

## 13-己基小檗碱类似物的合成及 CD36 拮抗活性的构效关系研究

李迎红<sup>#</sup>, 王 丽<sup>#</sup>, 洪 斌, 许艳妮, 司书毅, 蒋建东, 宋丹青<sup>\*</sup>

(中国医学科学院、北京协和医学院医药生物技术研究所, 北京 100050)

**摘要:** 清道夫受体 CD36 通过结合并内吞氧化低密度脂蛋白 (oxLDL) 使巨噬细胞泡沫化从而形成动脉粥样硬化的病灶中心, 被广泛认为是治疗动脉粥样硬化的潜在靶点。13-己基小檗碱 (**2**) 对清道夫受体 CD36 显示拮抗活性, 本研究以其为先导化合物, 设计合成了 21 个 **2** 的类似物, 应用 ELISA-like 高通量筛选模型对其 CD36 拮抗活性进行了评价。初步构效关系结果表明: 在 A 环 2 和 3 位或 D 环 9 位引入适当的基团均可提高化合物的活性。在 21 个类似物中, 化合物 **7g** (9 位为苯氧基) 的 CD36 拮抗活性最高, 其 IC<sub>50</sub> 为 7.7 μmol·L<sup>-1</sup>。此外, **7g** 的 CD36 拮抗活性也在另一高通量筛选模型中得到了验证。因此, 小檗碱衍生物是一类新型的 CD36 受体拮抗剂, 值得进一步研究。

**关键词:** 13-己基小檗碱; CD36; 拮抗活性; 构效关系; 氧化低密度脂蛋白

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 09-1128-06

## Synthesis and structure-activity relationship of 13-hexylberberine analogues as CD36 antagonists

LI Ying-hong<sup>#</sup>, WANG Li<sup>#</sup>, HONG Bin, XU Yan-ni, SI Shu-yi, JIANG Jian-dong, SONG Dan-qing<sup>\*</sup>

(Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract:** Scavenger receptor CD36 could bind and endocytose oxLDL into macrophages which were then differentiated into foam cells that constitute the atherosclerotic lesion core, and was considered to be a potential target to treat atherosclerosis. In the establishment of the compound library of berberine (BBR, **1**) analogues, we discovered that 13-hexylberberine (**2**) showed an antagonistic activity against CD36. Taking **2** as the lead compound, 21 derivatives were synthesized and their antagonistic activities were evaluated via an ELISA-like high-throughput screening (HTS) model. The primary structure-activity relationships were studied. It was indicated that the introduction of suitable groups at the 2- and 3-position of the aromatic ring A or at the 9-position of the aromatic ring D could enhance the activity. Among the 21 studied compounds, **7g** bearing a benzyloxyl group at the 9-position provided a highest CD36 antagonistic activity with the IC<sub>50</sub> value of 7.7 μmol·L<sup>-1</sup>. Besides, its antagonistic activity was further verified with Sf9 insect cell HTS model. So berberine analogues are a new family of CD36 receptor antagonists and worthy to be studied further.

**Key words:** 13-hexylberberine; CD36; antagonistic activity; structure-activity relationship; oxidized low density lipoprotein

收稿日期: 2010-01-27.

基金项目: “重大新药创制”科技重大专项资助项目 (2009ZX09301-003); 国家自然科学基金资助项目 (90813027).

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-63165268, E-mail: songdanqingsdq@sina.com

<sup>#</sup>表示为并列第一作者

CD36 是一类存在于单核细胞、巨噬细胞等多种细胞表面的多配基 B 族清道夫受体, 可以通过结合并内吞氧化低密度脂蛋白 (oxLDL) 使细胞泡沫化形成动脉粥样硬化的病灶中心, 在动脉粥样硬化病灶的发展过程起到了至关重要的作用<sup>[1-3]</sup>。鉴于此, CD36 被广泛认为是治疗动脉粥样硬化的潜在靶点<sup>[4]</sup>。

临床上用于治疗动脉粥样硬化的他汀类药物均能明显下调 CD36 受体的表达, 使细胞对 oxLDL 的摄取量下降, 从而减少泡沫样细胞的形成<sup>[5-7]</sup>。我国天然药物小檗碱 (berberine, BBR, **1**, 图 1) 也具有降低巨噬细胞中 CD36 mRNA 的表达以及 oxLDL 水平的作用<sup>[8]</sup>。

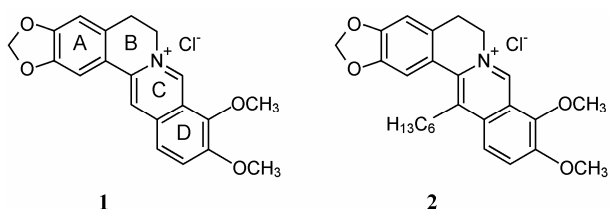
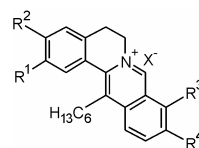


Figure 1 Chemical structures of compounds **1** and **2**

针对已构建的 BBR 类似物库<sup>[9, 10]</sup>, 作者利用以 CD36 为靶点的基于受体配基竞争性结合的 ELISA-like 高通量筛选模型<sup>[11]</sup>, 开展了对 CD36 受体拮抗活性的筛选, 发现 13-位拥有己基的 BBR, 即 13-己基小檗碱 (**2**, 图 1) 对 CD36 的拮抗活性与 BBR 相当 (表 1); 而 13-位拥有其他基团, 包括体积较小基团 (如甲基、乙基、丁基) 和体积较大基团 (如辛基和苄基), 均未显示 CD36 的拮抗活性。这一发现使作者有兴趣深入开展 **2** 的衍生物拮抗 CD36 活性的构效关系研究, 并从中寻找具有理想活性的全新化合物。因此, 本论文以 **2** 为先导化合物, 保留 13-位的己基取代, 针对分子中的 2-、3-、9-及 10-位开展了较为系统的结构修饰与优化, 共设计合成了 21 个新的 **2** 类似物 (表 1)。并通过评价其拮抗 CD36 的活性, 初步探讨了此类化合物的构效关系。

21 个目标化合物的合成路线如合成路线图 1 所示, 均以 BBR 为起始原料, 经半合成方法 (方法 A、B 或 C) 制得。其中关键中间体 **2** 经 BBR 的选择性还原、己基取代及氧化 3 步反应而得<sup>[10]</sup>。化合物 **2** 与均苯三酚在 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (60%) 中反应 (90~95 °C), 环氧五元环开环生成中间体 **4** (方法 A)<sup>[12]</sup>, 中间体 **6** 可在高温减压条件下经 9-位选择性去甲基反应获得 (方

Table 1 CD36 receptor antagonistic activities of **2** and its analogues. <sup>a</sup>Activities of compounds at 10.0 μg·mL<sup>-1</sup>, values are means of three experiments

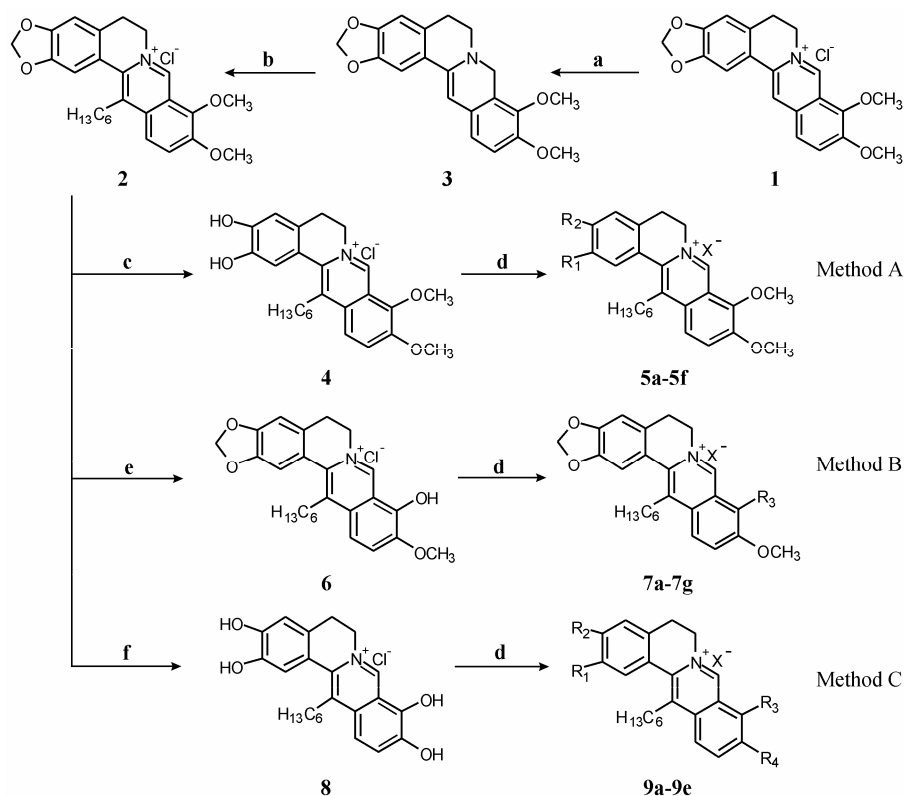


Compd.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	X	CD36 antagonism rate/% <sup>a</sup>
<b>1</b>						38.5 ± 7.1
<b>2</b>		-OCH <sub>2</sub> O-	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	Cl	37.2 ± 5.1
<b>4</b>	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	Cl	25.0 ± 3.7
<b>5a</b>	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	I	22.5 ± 1.8
<b>5b</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	I	36.2 ± 14.6
<b>5c</b>	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	Br	45.0 ± 1.0
<b>5d</b>	OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	I	43.5 ± 3.1
<b>5e</b>	OC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	OC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	Br	50.2 ± 6.1
<b>5f</b>	OCH <sub>2</sub> Ph	OCH <sub>2</sub> Ph	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	Br	46.3 ± 7.5
<b>6</b>		-OCH <sub>2</sub> O-	OH	OCH <sub>3</sub>	Cl	5.2 ± 0.9
<b>7a</b>		-OCH <sub>2</sub> O-	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OCH <sub>3</sub>	Br	53.0 ± 1.0
<b>7b</b>		-OCH <sub>2</sub> O-	OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	OCH <sub>3</sub>	I	35.8 ± 4.7
<b>7c</b>		-OCH <sub>2</sub> O-	OC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	OCH <sub>3</sub>	Br	28.0 ± 5.7
<b>7d</b>		-OCH <sub>2</sub> O-	OC <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	OCH <sub>3</sub>	Br	31.6 ± 2.4
<b>7e</b>		-OCH <sub>2</sub> O-	OC <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	OCH <sub>3</sub>	Cl	23.9 ± 2.3
<b>7f</b>		-OCH <sub>2</sub> O-	OC <sub>8</sub> H <sub>15</sub>	OCH <sub>3</sub>	Br	25.3 ± 0.4
<b>7g</b>		-OCH <sub>2</sub> O-	OCH <sub>2</sub> Ph	OCH <sub>3</sub>	Br	60.5 ± 5.4
<b>8</b>	OH	OH	OH	OH	Cl	2.8 ± 1.8
<b>9a</b>		-OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-	-OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-		Br	40.0 ± 7.1
<b>9b</b>	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Br	2.8 ± 1.8
<b>9c</b>	OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	I	34.5 ± 1.8
<b>9d</b>	OC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	OC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	OC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	OC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	Br	21.0 ± 1.6
<b>9e</b>	OCH <sub>2</sub> Ph	OCH <sub>2</sub> Ph	OCH <sub>2</sub> Ph	OCH <sub>2</sub> Ph	Br	10.7 ± 3.0

法 B)<sup>[13]</sup>, 另一关键中间体 **8** 则是通过 **2** 与 AlCl<sub>3</sub> 在甲苯中回流制备<sup>[14]</sup>。目标化合物 **5a~5f**、**7a~7g** 和 **9a~9e** 通过中间体 **4**、**6** 或 **8** 在 DMF 中分别与不同的卤代烷反应制得, 以强碱作为反应促进剂<sup>[15, 16]</sup>, 收率在 25%~60% 之间。由于受异喹啉环电子效应的影响, 2, 3-二羟基小檗碱进行单烷基取代反应时, 优先在 2-位氧原子上烷基化<sup>[17]</sup>, 因此化合物 **5a** 为 2-甲基取代产物。目标化合物的结构均经 <sup>1</sup>H NMR 和 HR-ESI-MS 确证。

## 结果与讨论

本研究设计合成的 21 个目标化合物均未见文献报道, 其结构与 CD36 受体拮抗活性见表 1, 光谱数据见表 2。初步构效关系显示, 在 A 环的 2-和 3-



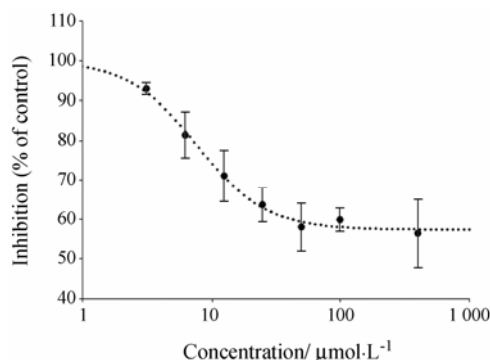
Reagents and conditions: (a) NaBH<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeOH, r. t.; (b) 80% EtOH, HOAc, *n*-C<sub>3</sub>H<sub>11</sub>CHO, 85–95 °C; (c) Phloroglucinol, 60% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 90–95 °C; (d) RX, KOH, 60 °C; (e) 30–40 mmHg, 195–210 °C; (f) AlCl<sub>3</sub>, toluene, reflux.

**Scheme 1** Synthetic routes of target compounds

位引入适宜的烷氧基能够增强活性。当五元环开环以及 2-和/或 3-位引入小体积基团所得产物 (**4**, **5a**, **5b**) 活性下降; 在 2-和/或 3-位引入大体积基团所得化合物 (**5c**~**5f**) 可以保留甚至增强 CD36 的拮抗活性。

另外, 在 D 环的 9-位引入芳香性的大体积基团有利于提高活性。9-位羟基产物 (**6**) 的活性完全消失; 进一步在 9-位引入一系列烷氧基包括丙氧基 (**7b**)、丁氧基 (**7c**)、戊氧基 (**7d**)、己氧基 (**7e**) 及辛氧基 (**7f**), 所得产物的活性均有不同程度的降低。但化合物 **7a** (9-乙氧基) 和 **7g** (9-苄氧基) 的活性有所提高。另外, 在 2-, 3-, 9-和 10-位引入相同的取代, 如羟基、亚乙二氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基和苄氧基, 所得衍生物 (**8**, **9a**~**9e**) 的活性均没有表现出明显的提高。

此外, 化合物 **7g** 的拮抗 CD36 活性进一步在表达人 CD36 的 Sf9 昆虫细胞模型<sup>[18]</sup>中得到了验证 (表 3)。由于 **7g** 显示出了强效的 CD36 拮抗活性, 本文利用两倍稀释法绘制了其量效关系曲线, 结果见图 2。根据 GraphPad Prism 4 软件的计算结果, 其 IC<sub>50</sub> 值为 7.7 μmol·L<sup>-1</sup>, 表明 **7g** 具有潜在的抑制 CD36



**Figure 2** The dose-response curve of compound **7g**

与 oxLDL 结合的活性, 值得进一步研究。

## 小结

本论文共设计合成了 21 个全新的 13-己基 BBR 类似物, 评价了它们的 CD36 受体拮抗活性并初步总结了构效关系。结果表明, 在 9-位引入合适的取代基有利于活性的提高, 其中 9-苄氧基取代产物 **7g** 具有潜在的 CD36 拮抗活性, IC<sub>50</sub> 值为 7.7 μmol·L<sup>-1</sup>。因此, BBR 衍生物是一类新型的 CD36 受体拮抗剂, 值得进一步研究。

**Table 2** Physical properties of target compounds

Compd.	Yield/%	Mp/°C	<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )	HR-ESI-MS [M-X] <sup>+</sup> (calc.) (found)
<b>4</b>	51	174–176	0.87 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.29 (m, 4H), 1.45 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 2.97 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.28 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H), 4.07 (s, 6H), 4.75 (m, 2H), 6.86 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 8.13 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 8.18 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 9.35 (br, 1H), 9.83 (s, 1H), 9.94 (br, 1H)	C <sub>25</sub> H <sub>30</sub> NO <sub>4</sub> Cl 408.217 8 408.217 5
<b>5a</b>	36	165–168	0.87 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.22 (m, 4H), 1.49 (m, 2H), 1.77 (m, 2H), 3.05 (m, 2H), 3.30 (m, 2H), 3.89 (s, 3H), 4.07 (s, 6H), 4.75 (m, 2H), 6.79 (s, 1H), 7.10 (s, 1H), 8.11 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 8.15 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 9.80 (br, 1H), 9.85 (s, 1H)	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> NO <sub>4</sub> I 422.235 3 422.233 1
<b>5b</b>	40	178–180	0.86 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.22 (m, 4H), 1.47 (m, 2H), 1.82 (m, 2H), 3.10 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.35 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 4.27 (s, 6H), 4.81 (m, 2H), 7.18 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 8.19 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 8.22 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 9.90 (s, 1H)	C <sub>27</sub> H <sub>34</sub> NO <sub>4</sub> I 436.252 0 436.254 7
<b>5c</b>	31	172–174	0.86 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.26 (m, 4H), 1.35–1.47 (m, 8H), 1.81 (m, 2H), 3.08 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.35 (m, 2H), 4.08 (s, 6H), 4.15 (q, <i>J</i> = 9.2 Hz, 2H), 4.19 (q, <i>J</i> = 6.8 Hz, 2H), 4.80 (m, 2H), 7.16 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 8.19 (s, 2H), 9.88 (s, 1H)	C <sub>29</sub> H <sub>38</sub> NO <sub>4</sub> Br 464.279 4 464.280 1
<b>5d</b>	35	176–178	0.86 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 0.98–1.08 (m, 6H), 1.26 (m, 4H), 1.28 (m, 2H), 1.74–1.81 (m, 6H), 2.67 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.35 (m, 2H), 4.02–4.06 (m, 4H), 4.08 (s, 6H), 4.80 (m, 2H), 7.17 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 8.19 (s, 2H), 9.88 (s, 1H)	C <sub>31</sub> H <sub>42</sub> NO <sub>4</sub> I 492.315 2 492.317 3
<b>5e</b>	65	174–176	0.86 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 0.98–1.08 (m, 6H), 1.28 (m, 4H), 1.44–1.48 (m, 6H), 1.50–1.81 (m, 6H), 3.06 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.30 (m, 2H), 4.02–4.06 (m, 4H), 4.11 (s, 6H), 4.80 (m, 2H), 7.17 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 8.17 (s, 2H), 9.88 (s, 1H)	C <sub>33</sub> H <sub>46</sub> NO <sub>4</sub> Br 520.341 4 520.342 7
<b>5f</b>	24	186–188	0.78 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.08 (m, 4H), 1.32 (m, 2H), 1.69 (m, 2H), 3.07 (m, 2H), 3.24 (m, 2H), 4.08 (s, 6H), 4.80 (m, 2H), 5.21 (s, 2H), 5.28 (s, 2H), 6.86 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.33–7.53 (m, 10H), 8.18 (s, 2H), 9.83 (s, 1H)	C <sub>39</sub> H <sub>42</sub> NO <sub>4</sub> Br 588.309 1 588.311 4
<b>6</b>	60	138–140	0.84 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.37 (m, 4H), 1.41 (m, 2H), 1.75 (m, 2H), 3.05 (t, <i>J</i> = 5.6 Hz, 2H), 3.28 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H), 4.02 (s, 3H), 4.75 (m, 2H), 6.17 (s, 2H), 7.13 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.86 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 8.08 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 9.93 (s, 1H), 11.29 (br, 1H)	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> NO <sub>4</sub> Cl 406.203 2 406.201 8
<b>7a</b>	32	126–128	0.85 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.25 (m, 4H), 1.39 (m, 2H), 1.44 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.75 (m, 2H), 3.19 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.30 (m, 2H), 4.08 (s, 3H), 4.35 (q, <i>J</i> = 6.8 Hz, 2H), 4.80 (m, 2H), 6.18 (s, 2H), 7.16 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 8.18 (s, 2H), 9.80 (s, 1H)	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> NO <sub>4</sub> Br 434.233 6 434.233 1
<b>7b</b>	38	138–140	0.85 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.44 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.66 (m, 4H), 1.79 (m, 2H), 2.16 (m, 2H), 2.28 (q, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 3.48 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.71 (m, 2H), 4.45 (s, 3H), 4.66 (s, 2H), 5.20 (m, 2H), 6.59 (s, 2H), 7.57 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 8.59 (s, 2H), 10.16 (s, 1H)	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> NO <sub>4</sub> I 448.247 0 448.248 8
<b>7c</b>	35	138–140	0.84 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 0.97 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.25 (m, 4H), 1.38 (m, 2H), 1.48 (q, 2H), 1.75 (m, 2H), 2.48 (q, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 3.07 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.45 (m, 2H), 4.45 (s, 3H), 4.28 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 4.80 (m, 2H), 6.18 (s, 2H), 7.16 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 8.18 (s, 2H), 9.74 (s, 1H)	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> NO <sub>4</sub> Br 462.264 1 462.264 4
<b>7d</b>	32	164–166	0.84 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 0.86 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.25 (m, 4H), 1.35–1.48 (m, 6H), 1.75 (m, 2H), 1.89 (m, 2H), 3.07 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.15 (m, 2H), 4.04 (s, 3H), 4.27 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 4.80 (m, 2H), 6.18 (s, 2H), 7.16 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 8.18 (s, 2H), 9.75 (s, 1H)	C <sub>30</sub> H <sub>38</sub> NO <sub>4</sub> Br 476.281 7 476.280 1
<b>7e</b>	30	168–170	0.84 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 0.89 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.25 (m, 4H), 1.35–1.47 (m, 8H), 1.75 (m, 2H), 1.86 (m, 2H), 3.06 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.29 (m, 2H), 4.06 (s, 3H), 4.27 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 4.80 (m, 2H), 6.18 (s, 2H), 7.16 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 8.18 (s, 2H), 9.74 (s, 1H)	C <sub>31</sub> H <sub>40</sub> NO <sub>4</sub> Br 490.299 0 490.295 7
<b>7f</b>	36	170–172	0.84–0.86 (m, 6H), 1.26–1.47 (m, 16H), 1.75 (m, 2H), 1.86 (m, 2H), 3.07 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.30 (m, 2H), 4.06 (s, 3H), 4.27 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 4.80 (m, 2H), 6.18 (s, 2H), 7.16 (s, 1H), 7.30 (s, 1H)	C <sub>33</sub> H <sub>44</sub> NO <sub>4</sub> Br 518.328 8 518.327 0
<b>7g</b>	48	118–120	0.84 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.25 (m, 4H), 1.36 (m, 2H), 1.74 (m, 2H), 3.05 (t, <i>J</i> = 5.6 Hz, 2H), 3.30 (m, 2H), 4.10 (s, 3H), 4.77 (m, 2H), 5.35 (s, 2H), 6.18 (s, 2H), 7.28 (s, 1H), 7.35–7.42 (m, 5H), 7.58 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 9.74 (s, 1H)	C <sub>32</sub> H <sub>34</sub> NO <sub>4</sub> Br 496.244 9 496.248 8
<b>8</b>	94	194–196	0.78 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.16 (m, 4H), 1.30 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 2.93 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.17 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H), 4.70 (m, 2H <sub>2</sub> ), 6.85 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.71 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 7.86 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 9.34 (br, 1H), 9.85 (s, 1H), 9.91 (br, 1H), 10.80 (br, 1H), 10.84 (br, 1H)	C <sub>23</sub> H <sub>26</sub> NO <sub>4</sub> Cl 380.184 9 380.186 2
<b>9a</b>	25	162–164	0.87 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.22–1.29 (m, 4H), 1.45 (m, 2H), 1.79 (m, 2H), 3.03 (m, 2H), 3.30 (m, 2H), 4.08 (s, 6H), 4.33–4.60 (m, 8H), 4.78 (m, 2H), 7.05 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.93 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 7.87 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 9.82 (s, 1H)	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> NO <sub>4</sub> Br 432.219 3 432.217 5
<b>9b</b>	26	182–184	0.86 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.27 (m, 4H), 1.35–1.47 (m, 14H), 1.82 (m, 2H), 3.07 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.28 (m, 2H), 4.09 (q, <i>J</i> = 9.2 Hz, 2H), 4.16 (q, <i>J</i> = 9.2 Hz, 2H), 4.35 (q, <i>J</i> = 9.2 Hz, 2H), 4.38 (q, <i>J</i> = 9.2 Hz, 2H), 4.82 (m, 2H), 7.16 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 8.19 (s, 2H), 9.80 (s, 1H)	C <sub>31</sub> H <sub>42</sub> NO <sub>4</sub> Br 492.311 0 492.311 4
<b>9c</b>	35	189–190	0.86 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 0.98–1.08 (m, 12H), 1.29 (m, 4H), 1.49 (m, 2H), 1.74–1.94 (m, 10H), 3.08 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.33 (m, 2H), 4.00–4.28 (m, 8H), 4.82 (m, 2H), 7.17 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.98 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 8.13 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 9.75 (s, 1H)	C <sub>35</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>4</sub> I 548.376 0 548.374 0
<b>9d</b>	29	181–183	0.86 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 0.92–1.06 (m, 12H), 1.27 (m, 4H), 1.30–1.56 (m, 12H), 1.69–1.90 (m, 8H), 3.08 (t, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.33 (m, 2H), 4.00–4.28 (m, 8H), 4.82 (m, 2H), 7.18 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 8.13 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 8.18 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 9.74 (s, 1H)	C <sub>39</sub> H <sub>58</sub> NO <sub>4</sub> Br 604.435 2 604.436 6
<b>9e</b>	35	165–167	0.77 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.17 (m, 4H), 1.30 (m, 2H), 1.68 (m, 2H), 3.07 (m, 2H), 3.25 (m, 2H), 4.78 (m, 2H), 5.21 (s, 2H), 5.28 (s, 2H), 5.33 (s, 2H), 5.50 (s, 2H), 6.86 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.33–7.53 (m, 20H), 8.18 (s, 2H), 9.83 (s, 1H)	C <sub>51</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>4</sub> Br 740.373 3 740.374 0

**Table 3** CD36 antagonistic effects of compounds **2** and **7g** on insect Sf9 cells. <sup>b</sup>Activities of compounds at 10.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , values are means of three experiments

Compd.	CD36 antagonism rate/% <sup>b</sup>
<b>2</b>	40.9 ± 4.7
<b>7g</b>	53.0 ± 7.7

## 实验部分

熔点用 RY-1 型熔点仪 (毛细管法) 测定, 温度计未经校正; 质谱用 MSDX300 和 VGZAS-2F 质谱仪测定, 溶剂为甲醇; 核磁共振氢谱用 Varian Mercury Pluss 400 测定 (400 MHz), TMS 为内标, 溶剂为 DMSO-*d*<sub>6</sub>; 荧光检测用上海顾村仪器厂的三用紫外分析仪, 一般薄层色谱 (TLC) 采用 E-Merck 公司预铺硅胶铝箔卷。所用试剂为 Acros 公司和国产分析纯或化学纯的试剂。

### 1 A 环取代衍生物 (**4**, **5a**~**5f**) 的合成

**1.1 2, 3-二羟基-9, 10-二甲氧基-13-己基原小檗碱氯化物 **4** 的制备** 90~95 °C 下, 将间苯三酚 (2.00 g, 15.15 mmol) 分批多次加入至 60% 硫酸 (40 mL, *v/v*) 中直至形成无色澄清溶液, 然后分批加入 **2**<sup>[11]</sup> (2.00 g, 4.39 mmol) 形成深红色溶液, 加完料后保温继续反应 10~15 min, TLC 检测反应完全。剧烈搅拌下, 将反应液趁热倾至饱和食盐水 (20 mL) 中, 室温搅拌 2 h, 然后放入 -20 °C 冰箱充分冷却。抽滤, 并将滤饼溶于 1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 水溶液 (20 mL), 随后用 2 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸 (20 mL) 将体系调成酸性, 抽滤收集析出的固体, 用乙醇-浓盐酸 (*V/V*=95:5) 溶液重结晶两次, 得到橙红色固体 **4** 1.02 g。

**1.2 2-羟基-3-甲氧基-9, 10-二甲氧基-13-己基原小檗碱碘化物 (**5a**)** 将 **4** (230.0 mg, 0.52 mmol) 溶于 DMF (10 mL), 然后加入研细的 KOH (90.0 mg, 1.56 mmol) 和碘甲烷 (34  $\mu\text{L}$ , 0.52 mmol), 加热至 40 °C 反应 5 h, 减压浓缩除去溶剂, 残余物用稀盐酸调 pH 至 3 左右, 抽滤收集析出的固体, 以二氯甲烷-甲醇 (40:1) 为流动相, 用减压硅胶柱快速分离纯化, 无水乙醇重结晶, 得到红褐色固体 **5a** 197.1 mg。

化合物 **5b**~**5f** 合成方法同 **5a**, 结构数据见表 2。

### 2 D 环取代衍生物 (**6**, **7a**~**7g**) 的合成

**2.1 2, 3-亚甲二氧基-9-羟基-10-甲氧基-13-己基原小檗碱氯化物 (**6**)** 将 **2** (2.45 g, 5.38 mmol) 置于 250 mL 圆底烧瓶中, 保持真空度为 30~40 mmHg, 加热至 195~210 °C 反应 10~15 min, 固体颜色由刚开始的黄色变为橙红色, 逐渐加深, 最后全部变为深红色。以二氯甲烷-甲醇 (20:1) 为流动相, 用减压

硅胶柱快速分离纯化, 得到红色碱式产物, 盐酸乙醇酸化得到黄色酸式产物 **6** 1.40 g。

**2.2 2, 3-亚甲二氧基-9-乙氧基-10-甲氧基-13-己基原小檗碱溴化物 (**7a**)** 将 **6** (230.0 mg, 0.52 mmol) 溶于 DMF (10 mL), 然后加入研细的 KOH (60.0 mg, 1.04 mmol) 和溴乙烷 (39  $\mu\text{L}$ , 0.52 mmol), 加热至 60 °C 反应 5 h, 减压浓缩除去溶剂, 残余物用稀盐酸调 pH 至 3, 抽滤收集析出的固体, 以二氯甲烷-甲醇 (40:1) 为流动相, 用减压硅胶柱快速分离纯化, 无水乙醇重结晶, 得到黄色固体 **7a** 85.2 mg。

化合物 **7b**~**7g** 合成方法同 **7a**, 结构数据见表 2。

### 3 A、D 环取代衍生物 (**8**, **9a**~**9e**) 的合成

**3.1 2, 3, 9, 10-四甲氧基-13-己基原小檗碱氯化物 (**8**)** 向混悬有 **2** (2.81 g, 6.15 mmol) 的甲苯 (140 mL) 溶液中加入 AlCl<sub>3</sub> (2.00 g, 15.0 mmol), 然后升温至 80~85 °C 反应 7 h, 减压浓缩除去溶剂, 然后向红色残余物中加入 4 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸 (140 mL) 回流 3 h, 冷却至室温。抽滤收集析出的黄色固体, 用甲醇-水重结晶两次, 得到黄色固体 **8** 2.42 g。

**3.2 2, 3-亚乙二氧基-9, 10-亚乙二氧基-13-正己基原小檗碱溴化物 (**9a**)** 将 **8** (220.0 mg, 0.53 mmol) 溶于 DMF (10 mL), 然后加入研细的 KOH (153.0 mg, 2.65 mmol) 和 1, 2-二溴丁烷 (100  $\mu\text{L}$ , 1.14 mmol), 加热至 60 °C 反应 5 h。减压浓缩除去溶剂, 残余物用稀盐酸调 pH 至 3 左右, 抽滤收集析出的固体, 以二氯甲烷-甲醇 (40:1) 为流动相, 用减压硅胶柱快速分离纯化, 无水乙醇重结晶, 得到深红褐色固体 **9a** 68.0 mg。

化合物 **9b**~**9e** 合成方法同 **9a**, 结构数据见表 2。

### 4 基于受体配基竞争性结合的 CD36 拮抗剂筛选模型<sup>[11]</sup>

将 oxLDL (5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 包被于 96 孔酶标板, 1% BSA 封闭, 然后加入大肠杆菌表达的含有 His-tag 标签的可溶性 CD36 (sCD36, 50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 和待测化合物 (10  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 共同孵育 2 h, 以不加待测化合物作为对照 (Veh), 用抗 His-tag 抗体 (1:1 250) 及 HRP 标记的二抗 (1:5 000) 进行检测, 用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 TMB 显色后用酶标仪测定其 OD<sub>450</sub> 值。受试化合物的抑制率可根据以下公式计算: 抑制率 (%) = (1 - 受试物的 OD<sub>450</sub> 值/Veh 的 OD<sub>450</sub> 值) × 100%, 表 1 中的数据为重复 3 次实验的平均值。

### 5 CD36 拮抗活性的昆虫细胞模型<sup>[18]</sup>

重组人 CD36 杆状病毒感染 *Spodoptera frugiperda* (Sf9) 昆虫细胞 72 h 后, 加入待测样品 (终浓度为 10

$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 以 oxLDL (终浓度为  $40 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 作为对照。27 °C 孵育 1 h 后, 加入荧光配基 DiI-acLDL (终浓度为  $2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 继续孵育 5 h。检测之前, 先检测自发荧光以及荧光淬灭, 以排除干扰。然后, 用 4% 多聚甲醛固定细胞 15 min, PBS 洗板 3 次, 最后用多功能读板仪检测 ( $\lambda_{\text{ex}} 520 \pm 10 \text{ nm}$ ;  $\lambda_{\text{em}} 590 \text{ nm}$ )。抑制率 (%) =  $[1 - (\text{样品} - \text{对照}) / (\text{Stf9}[\text{CD36}] - \text{对照})] \times 100\%$ , 表 3 中的数据为重复 3 次实验的平均值。

致谢: 质谱和核磁共振氢谱由中国医学科学院药物研究所分析测试中心测定。

## References

- [1] Ma XW, Bacci S, Mlynarski W, et al. A common haplotype at the CD36 locus is associated with high free fatty acid levels and increased cardiovascular risk in Caucasians [J]. *Hum Mol Genet*, 2004, 13: 2197–2205.
- [2] Kuang M, Febbraio M, Wagg C, et al. Fatty acid translocase/CD36 deficiency does not energetically or functionally compromise hearts before or after ischemia [J]. *Circulation*, 2004, 109: 1550–1557.
- [3] Collot-Teixeira S, Martin J, McDermott-Roe C, et al. CD36 and macrophages in atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 75: 468–477.
- [4] Marleau S, Harb D, Bujold K, et al. EP 80317, a ligand of the CD36 scavenger receptor, protects apolipoprotein E-deficient mice from developing atherosclerotic lesions [J]. *FASEB J*, 2005, 19: 1869–1871.
- [5] Han JH, Zhou XY, Yokoyama T, et al. Pitavastatin downregulates expression of the macrophage type B scavenger receptor, CD36 [J]. *Circulation*, 2004, 109: 790–796.
- [6] Bruni F. Different effect of statins on platelet oxidized-LDL receptor (CD36 and LOX-1) expression in hypercholesterolemic subjects [J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2005, 11: 417–428.
- [7] Ruiz-Velasco N, Dominguez A, Vega MA. Statins upregulate CD36 expression in human monocytes, an effect strengthened when combined with PPAR-gamma ligands putative contribution of Rho GTPases in statin-induced CD36 expression [J]. *Biochem Pharmacol*, 2004, 67: 303–313.
- [8] Chen SM, Xu M, Wang F, et al. Effect of berberine treatment on the expressions of oxLDL, CD36 and PPAR $\gamma$  of macrophages from diabetic rats [J]. *Chin J Diabetes (中国糖尿病杂志)*, 2008, 16: 434–437.
- [9] Yang P, Song DQ, Li YH, et al. Synthesis and structure-activity relationships of berberine analogues as a novel class of low-density-lipoprotein receptor up-regulators [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18: 4675–4677.
- [10] Li YH, Yang P, Kong WJ, et al. Berberine analogues as a novel class of the low-density-lipoprotein receptor up-regulators: synthesis, structure-activity relationships, and cholesterol-lowering efficacy [J]. *J Med Chem*, 2008, 52: 492–501.
- [11] Wang L, Bao Y, Yang Y, et al. Discovery of antagonists for human scavenger receptor CD36 via an ELISA-like high-throughput screening assay [J]. *J Biomol Screen*, 2010, 15: 239–250.
- [12] Zuo F, Nakamura N, Akao T, et al. Pharmacokinetics of berberine and its main metabolites in conventional and pseudo germ-free rats determined by liquid chromatography/ion trap mass spectrometry [J]. *Drug Metab Dispos*, 2006, 34: 2064–2072.
- [13] Iwasa K, Kamigauchi M, Ueki M, et al. Antibacterial activity and structure-activity relationships of berberine analogs [J]. *Eur J Med Chem*, 1996, 31: 469–478.
- [14] Kim JH, Jhong TN, Paik YK, et al. Cholesterol biosynthesis inhibitors: US, 6255317 [P]. 2001-07-03.
- [15] Wang LJ, Ye XL, Li XG, et al. Synthesis and antimicrobial activity of 3-alkoxyjatrochicine derivatives [J]. *Planta Med*, 2008, 74: 290–292.
- [16] Zhang WJ, Ou TM, Lu YJ, et al. 9-Substituted berberine derivatives as G-quadruplex stabilizing ligands in telomeric DNA [J]. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15: 5493–5501.
- [17] Cava MP, Reed TA. A synthesis of columbamine from berberine [J]. *J Org Chem*, 1967, 32: 1640–1641.
- [18] Xu YN, Wang J, Bao Y, et al. Identification of two antagonists of the scavenger receptor CD36 using a high-throughput screening model [J]. *Anal Biochem*, 2010, 400: 207–212.