银杏内酯衍生物和类似物的合成及 PAFR 和 GlyR 拮抗活性研究进展

惠爱玲^{*,a} 吴泽宇^a 袁媛^a 周安^b 潘见^a^(a) 合肥工业大学天然药物研究所 合肥 230009^(b) 安徽中医学院 安徽省中药研究与开发重点实验室 合肥 230038

摘要 银杏内酯是从银杏树中分离的二萜内酯成分, 它的结构是由 6 个五元环形成的笼状骨架并嵌有一个独特的叔丁基。研究已证实银杏内酯是血小板活化因子受体(PAFR)和甘氨酸受体(GlyR)的强有力拮抗剂, 它的结构变化将引起生物活性的改变。因此, 为了寻找更优的 PAFR 和 GlyR 拮抗剂, 人们合成了许多银杏内酯衍生物及类似物。重点综述了近年来银杏内酯类化合物的构效关系研究。

关键词 银杏内酯衍生物; 银杏内酯类似物; 血小板活化因子受体; 甘氨酸受体; 构效关系

Progress in Synthesis and Antagonistic Activities towards PAFR and GlyR of Ginkgolide Derivatives and Analogs

Hui, Ailing^{*,a} Wu, Zeyu^a Yuan, Yuan^a Zhou, An^b Pan, Jian^a^(a) Institute of Natural Medicine, Hefei University of Technology, Hefei 230009^(b) Anhui Province Key Laboratory of Research and Development of Chinese Medicine, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038

Abstract Ginkgolides are diterpene trilactones with a cage-like skeleton consisting of six five-membered rings and a unique *t*-Bu group from *Ginkgo biloba* tree. Many studies have demonstrated that they are highly potent and selective antagonists of platelet activating factor receptor (PAFR) and glycine receptor (GlyR). Ginkgolide skeleton modifications may conduce to physiological activities variation. Therefore, many ginkgolide derivatives and analogs have been synthesized for the optimal antagonistic activities towards PAFR or GlyR. This review covers the structure-activity relationship studies of ginkgolide derivatives and analogs.

Keywords ginkgolide derivatives; ginkgolide analogs; platelet activating factor receptor; glycine receptor; structure-activity relationship

银杏(*Ginkgo biloba* L.)是银杏科(*Ginkgoaceae*)银杏属植物, 又名白果、公孙树, 为我国特有的珍稀树种。银杏作为药用至今已有 600 余年历史, 银杏叶及果实均可入药。银杏叶中的有效成分对心脑血管疾病具有独特的药理作用, 被广泛地用于预防和治疗心脑血管疾病。随着研究的深入, 人们发现银杏萜内酯是银杏叶中的重要活性成分之一, 具有抗休克、抗过敏、抗炎等重要和广泛的药理作用。萜内酯包括银杏内酯和白果内酯, 目前从银杏叶提取物中已成功分离出五种银杏内酯, 它们分别为银杏内酯 A (Ginkgolide A, GA)、银杏内酯 B (Ginkgolide B, GB)、银杏内酯 C (Ginkgolide C, GC)、银

杏内酯 J (Ginkgolide J, GJ)、银杏内酯 M (Ginkgolide M, GM), 结构如图 1 所示。银杏内酯的结构有 21 个碳原子组成, 一般将其列为二萜。它的结构是由 6 个五元环组成的刚性骨架, 其中包括 1 个螺[4,4]壬烷、1 个四氢呋喃环(D 环)和 3 个五元内酯环(C, E, F 环), 骨架之外嵌有 1 个天然产物罕见的叔丁基结构。1985 年, Braquet 等^[1]证实银杏内酯对血小板活化因子受体(platelet activating factor receptor, PAFR)有强大的特异性抑制作用, 能高度选择性地拮抗由 PAF(图 2)诱导的血小板聚集, 从而防止血栓形成。近年的研究证实银杏内酯对甘氨酸受体(Glycine receptor, GlyR)^[2,3]和 γ -氨基丁酸(γ -amino-bu-

* E-mail: hailing@mail.ustc.edu.cn

Received September 20, 2012; revised December 19, 2012; published online December 25, 2012.

Project supported by the Science and Technology Project of Anhui Province (No. 11010401025).

安徽省科技计划(No. 11010401025)资助项目。

tyric acid, GABA)受体^[3]也有拮抗活性,因而具有中枢神经系统保护作用. GA, GB, GC, GJ 和 GM 的分子结构差别仅在于含有羟基的数目和羟基的位置不同,但是它们拮抗 PAFR, GlyR 的能力却有明显的差异. 由于银杏内酯是刚性笼状结构,且银杏内酯化合物在结构上的微小变化就能产生较大的生物活性改变,故通过对银杏内酯化合物系统的结构修饰和活性评价,有望得到疗效更高的 PAFR 或 GlyR 拮抗剂. 基于这一目标,国内外研究小组设计合成了一系列银杏内酯衍生物及类似物,并且研究了它们的生物活性. 在此以 PAFR 拮抗活性及 GlyR 拮抗活性为主线对各研究小组的工作分别作一概述.

GA $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = OH$
 GB $R^1 = OH, R^2 = H, R^3 = OH$
 GC $R^1 = OH, R^2 = H, R^3 = OH$
 GJ $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = OH$
 GM $R^1 = OH, R^2 = H, R^3 = H$

图1 银杏叶中分离得到的5个银杏内酯

Figure 1 Five ginkgolides from *Ginkgo biloba* leaf extract

图2 PAF 的结构

Figure 2 The structure of PAF

1 银杏内酯衍生物和类似物的合成及 PAFR 拮抗活性研究

1.1 Corey 等的研究工作

在对 GB 全合成^[4]过程中, Corey 等^[5]得到一系列结构较为简单而 PAFR 拮抗活性更强的银杏内酯类似物,并且发现 8-位叔丁基的存在对于 PAFR 拮抗性能是非常重要的. 典型的小分子类似物有 **1** 和 **2**(图 3), 它们拮抗 PAF 诱导的兔血小板聚集的半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})分别为 0.3 和 0.2 $\mu\text{mol/L}$, 而在同样条件下 GB 的 $IC_{50} = 0.6 \mu\text{mol/L}$ (± 0.2).

1.2 Braquet 等的研究工作

1985 年, Braquet 等^[1]发现银杏内酯是特异性的 PAFR 拮抗剂, 但是 GA, GB, GC, GM 的抑制活性不同, IC_{50} 分别为 0.74, 0.25, 7.1, 54.0 $\mu\text{mol/L}$, 其中 GB 的抑制

活性最强. 分子结构分析发现: GA, GB, GC 结构的差异仅在羟基的取代位置和羟基的数目不同. 据此他们推测羟基可能是一个重要的活性位点, 因此, 在羟基上做一些改变将对 PAFR 拮抗活性有较大的影响. 正是基于这一构思, GA, GB, GC 的甲氧基或乙氧基衍生物 **3**~**12** 被合成^[6]. 这些衍生物的合成是借助重氮甲烷或重氮乙烷将甲基或乙基引入银杏内酯的 C(1)或 C(10)位羟基. 有意思的是只有 GC 的甲基醚(**9** 和 **10**)相对于 GC ($IC_{50} = 7.1 \mu\text{mol/L}$)而言 PAFR 拮抗活性有所提高; 其余衍生物的拮抗活性与母体相比均有不同程度的下降, 如表 1 所示.

图3 典型的 GB 类似物

Figure 3 Efficient ginkgolide B analogs

表1 GA, GB, GC 的甲氧基和乙氧基衍生物及 PAFR 拮抗活性

Table 1 Antagonistic activities of methoxy and ethoxy derivatives of GA, GB, GC towards PAFR

Compd.	R^1	R^2	R^3	$IC_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$
GA	H	H	H	0.74
GB	OH	H	H	0.25
GC	OH	H	OH	7.1
3	H	CH_3	H	13
4	H	CH_3CH_2	H	62
5	OCH_3	H	H	0.66
6	OH	CH_3	H	0.29
7	OCH_2CH_3	H	H	1.1
8	OH	CH_3CH_2	H	7.2
9	OCH_3	H	OH	4.2
10	OH	CH_3	OH	3.0
11	OCH_2CH_3	H	OH	8.5
12	OH	CH_3CH_2	OH	9.3

1.3 Park 等的研究工作

真正系统地研究银杏内酯与 PAFR 构效关系是 Park 等^[7]开展的. 他们合成的 GB 衍生物超过 200 个, 这些衍生物绝大多数是 GB 的 C(10)位苯基醚产物, 极少数是

C(1)位苄基醚产物. 该类衍生物的合成只需 GB 与相应的苄基卤在碱性条件下室温反应即可, 碱性物质可选择三乙胺、碱金属碳酸盐或碳酸氢盐、碱金属氢化物(LiH, NaH, KH)等. 与 Braquet 等^[6]报道的衍生物不同, 它们的 PAFR 拮抗活性大都优于 GB ($IC_{50}=0.258 \mu\text{mol/L}$), 比较典型的 GB 衍生物结构及 IC_{50} 数值如图 4 所示, 其中拮抗活性最强的是含有吡啶环的产物 **17** ($IC_{50}=0.0245 \mu\text{mol/L}$), 其拮抗活性是 GB 的 10.5 倍, 这类衍生物有望成为潜在的 PAFR 拮抗剂.

图 4 Park 报道的 GB 的 C(10)位成醚衍生物

Figure 4 Etherification derivatives of GB at C(10) position reported by Park

1.4 胡立宏等的研究工作

在国内, 中国科学院上海药物研究所胡立宏等较系统研究银杏内酯结构与 PAFR 拮抗活性之间的关系^[8]. 他们运用比较分子力场分析(comparative molecular field analysis, CoMFA)方法对 24 个银杏内酯衍生物进行了三维定量构效关系(three-dimensional quantitative structure-activity relationship, 3D-QSAR)研究, 得到了 3D-QSAR 模型和可能的活性构象^[9]. 为进一步阐述银杏内酯类化合物的作用机理, 得到更多的设计新化合物的线索, 用半经验量子化学计算方法 AM1-SM1 计算了上述 24 个银杏内酯衍生物分别在正十六烷和水溶液中的分子结构和电子结构, 以此模拟药物和受体的作用, 由此得到银杏内酯类化合物与其作用“靶标”PAFR 可能的

相互作用模式^[10]. 基于以上研究, 他们设计并合成了一些化合物, 其中有 3 个新化合物 **20**, **21**, **22**(表 2)的拮抗活性优于 GB^[11].

表 2 GB 的 C(1)或 C(10)位衍生物及 PAFR 拮抗活性

Table 2 GB derivatives at C(1) or C(10) position and antagonistic activities towards PAFR

Compd.	R ¹	R ²	IC ₅₀ /($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
GB	H	H	0.1280
20	H	PhCH ₂ OCH ₂	0.0404
21	PhCH ₂ OCH ₂	H	0.0588
22	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄ CH ₂	H	0.0289
23	H	CH ₃ CH ₂ OOCCH ₂	0.0429
24	H	PhCH ₂	0.0404
25	H	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄ CH ₂	0.0289
26	H	<i>p</i> -FC ₆ H ₄ CH ₂	0.0440

在随后的几年内, 他们相继报道了一些含氮的银杏内酯衍生物^[12]、内酯羰基被还原的衍生物和无 F 环或无 C 环的类似物^[13]以及 GB 的羟基被醚化或酯化的衍生物^[14]. 遗憾的是含氮衍生物、被还原衍生物、无 F 环或无 C 环类似物的 PAFR 拮抗活性相对 GB 均有不同程度的下降. 而只有个别 GB 的 C(10)位醚化产物如 **23**~**26**^[14]的拮抗活性较 GB 强. 这些衍生物多是含有苄基的衍生物, 其苯环上带弱吸电子取代基(Cl, **25**)比强吸电子取代基(F, **26**)对拮抗活性更为有利.

2005 年, 该研究小组运用 CoMFA、比较分子类似指数分析(comparative molecular similarity indices analysis, CoMSIA)^[15]、全息定量构效关系(Hologram QSAR, HQSAR)^[16]选取 117 种化合物作为研究对象. 较之以前选取的 24 种化合物, 这 117 种化合物在结构上更具广泛性和普遍性, 因此获得的数据更具说服力. 通过对大量数据的分析处理, 重新构建了 QSAR 的预测模型. 这些模型清楚地说明原子的空间排列、静电作用、疏水作用以及单个原子是如何影响 PAFR 拮抗剂的生物活性, 也合理解释了为什么 GB 较其它银杏内酯具有更强的生物活性. 在充分考虑静电作用、疏水作用、氢键接受位点及供给位点信息的基础上, 他们^[17]推论出 PAFR 与银杏内酯配体可能的结合机制, 如图 5 所示.

1.5 Nakanishi 等的研究工作

此前对银杏内酯构效关系的研究已经表明: C(10)位的芳香取代基团体积增大将对 PAFR 拮抗活性有

图5 PAFR 和配体 GB 可能的相互作用机制

Figure 5 The possible binding mechanism between ligands and PAFR with GB displayed for visualization

利^[7,14]. 据此, Nakanishi 等^[18]将三个光敏基团二苯甲酮、三氟甲基双吡丙啉、四氟苯叠氮分别引入 GB, GC 的 C(10)位得到衍生物 27~33, 其中 27~32 是醚类衍生物, 它们由相应光敏基团的溴甲基衍生物与 GB 或 GC 在碱作用下室温反应而得到; 用 KH 作为碱较其它碱(三乙胺、碳酸钾等)的产物选择性更好, 醚化反应仅专一性地在 GB 或 GC 的 C(10)位发生, C(1)或 C(7)位不发生反应. 在 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳酰亚胺盐酸盐(EDC·HCl)和 4-二甲氨基吡啶(DMAP)作用下, GB 与 4-苯甲酰苯甲酸在 C(10)位发生酯缩合反应得到化合物 33.

27~33 的 PAFR 拮抗活性评价是采用放射性配体结合实验(radioligand binding assay, RBA)方法. 首先是放射性配体的选择, 起初尝试用 [³H] PAF 和 [³H] WEB2086 作为放射性配体与 PAFR 进行结合实验, WEB2086(图 6)也是一种有效的竞争性的 PAFR 拮抗剂. 与 [³H]PAF 相比而言, [³H] WEB2086 有更低程度的非特异性结合, 因此后续的活性评价均以 [³H] WEB2086 为放射性配体进行, 评价结果以抑制常数 K_i 表示. GB 衍生物 27, 29, 31, 33 的 K_i 数值为 0.09~0.15 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 其活性均优于母体 GB (0.56 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$); GC 衍生物 28, 30, 32 的 K_i 数值为 0.47~0.79 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 其活性与 GB 相差不多, 但均明显优于母体 GC (12.6 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)(表 3), 该类衍生物有望成为潜在的 PAFR 拮抗剂.

图6 WEB 2086 的结构

Figure 6 The structure of WEB 2086

2002 年, 通过控制反应条件实现 GC 的 C(1), C(3),

表3 银杏内酯衍生物结构及 K_i 数值
Table 3 K_i values and structure of ginkgolide derivatives

Compd.	R ¹	R ²	K_i^a / ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
GB	H	H	0.56
GC	OH	H	12.6
27	H		0.15
28	OH		0.58
29	H		0.15
30	OH		0.47
31	H		0.09
32	OH		0.79
33	H		0.13

^a Inhibition of [³H] WEB 2086 binding. Values are means of two independent experiments performed in triplicate.

C(7), C(10)位羟基选择性乙酰化, 从而得到一系列 GC 的醋酸酯产物^[19], 如: 以 DMF 为反应溶剂, GC 与过量醋酐(10 equiv.)在室温下反应, 反应产物以 10-乙酰基-GC 为主, 1-乙酰基-GC 为付, 二者比例为 5 : 1. 在催化量浓 H_2SO_4 作用下, GC 与醋酐的反应仅转化为 1,3,7,10-四乙酰基-GC. 以 CH_2Cl_2 作反应溶剂, 在弱碱 2,6-二甲基吡啶作用下, 反应产物以 10-乙酰基-GC 为主; 在吡啶存在下, 产物以 1,7,10-三乙酰基-GC 为主; 在更强碱 Et_3N 或 $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$ 作用下, GC 的 E 环 6,7-位内酯发生重排, 得到 1,6,10-三乙酰基-异 GC 34, 结构如图 7 所示. 类似地, 在 DMF 溶剂及吡啶作用下, GB 的乙

酰化也可顺利发生, 其中 10-乙酰基-GB 与 1-乙酰基-GB 的产率分别达到 91% 和 9%。一般来说这些乙酰化产物, 包括 GA, GB, GC 的各自不同位置的乙酰化产物及重排产物 **34**, 它们抑制 PAFR 的活性相对各自母体结构而言, 都有不同程度地下降。

图 7 GC 的醋酸酯

Figure 7 Acetates of ginkgolide C

2003 年, 他们^[20]以 GC 为起始原料经由 GC 的三氟甲磺酸酯 **35** 而得到一系列 C(7)取代的 GB 衍生物 **36**~**47**, 其中 **36**~**41** 的合成方法类似, 以 **36** 为例的合成路线如 Scheme 1 所示, **36** 在 NaOH 作用下水解又可得到 **37**; 第二步反应中的 CH_3COONa 换为 $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{COONa}$, NaN_3 , TBAF 或 TBACl 即得到相应的化合物 **38**~**41**. **42**~**44** 的合成是通过 **37** 的 Pd/C 氢化还原反应而实现, 如 Eq. 1 所示, 有意思的是反应溶剂直接影响产物结构, 上述反应分别在 MeOH, EtOH 及 THF 中进行才能获得预期产物 **42**~**44**. **45**~**47** 的合成是在 C(7)取代产物基础上再引入苄基. 以上衍生物的结构及 K_i 数值列于表 4, 结果表明 7 α -取代的 GB 衍生物对 PAFR 的拮抗活性要强于 7 β -位衍生物, 其中化合物 **41** 和 **46** 表现出极强的抑制活性, 其 K_i 值分别为 110 和 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 远高于 GB 的 880 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Scheme 1

2004 年, 该研究小组^[21]由 GC 经两步反应实现 C(7)位的氢被氚标记的^{[3]H}GB **48** 的合成(Scheme 2). 放射性标记 GB 合成为银杏内酯神经系统调节功能的研究提供重要手段。

Scheme 2

表 4 C(7)取代的 GB 衍生物及 K_i 数值Table 4 K_i values of GB derivatives at C(7) position

Compd.	R ¹	R ²	$K_i^a/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$
GB	H	H	0.88
GC	H	β -OH	12.6
36	H	α -OAc	7.84
37	H	α -OH	4.26
38	H	α -OCOBn	2.40
39	H	α -N ₃	0.55
40	H	α -F	0.99
41	H	α -Cl	0.11
42	H	α -NHMe	0.61
43	H	α -NHEt	1.62
44	H	α -NH ₂	8.64
24	Bn	H	0.12
45	Bn	β -OH	1.67
46	Bn	α -F	0.10
47	Bn	α -OH	0.60

^a Inhibition of [³H] WEB 2086 binding. Values are means of two independent experiments performed in triplicate.

2005 年, 他们报道无 F 环的银杏内酯类似物 **49** 在 NaBH_4 作用下, 2 个内酯环可分别还原得到 C(13)乳醇 **50** 和 C(11)乳醇 **51**^[22,23] (Scheme 3), 该反应在室温下仅需 5 min 即完成, 而且当 NaBH_4 过量或反应时间延长时, 均无二醇产物生成. 另外需要指出的是化合物 **49** 中 C(3)位酯键并没有发生还原反应. **50**, **51** 与对苯基苯甲酸 ($p\text{-PhC}_6\text{H}_4\text{COOH}$) 发生酯化反应分别得到 **52**, **53**, 二者选择性之比为 83 : 17. 该方法同样可扩展到天然银杏内酯的反应中, 如 Scheme 4 所示. GB 衍生物 **24** 经过 NaBH_4 还原及酰化后, 产物以 C(11)乳醇衍生物 **54** 为主 [C(11) : C(13) = 10 : 1], C(15)位内酯由于缺乏 α -烷氧基而未被还原. **54** 在 K_2CO_3 作用下发生水解得到相应的乳醇 **55**. 类似地, 化合物 **24** 在 3 倍量的 RMgX 或 RLi 作用下仅得到 C(11)乳醇产物 **56**^[23], 结构如图 8 所示.

Scheme 3

Scheme 4

图 8 10-氧-苯基银杏内酯 B 衍生物的烷基化

Figure 8 Alkylation of 10-O-benzylated ginkgolide B derivative

在还原剂二异丁基氢化铝(DIBAL-H)作用下, GA 的三个内酯羰基都被还原得到乳醇 **57**, 在 $\text{Et}_3\text{SiH}\cdot\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ 作用下可转化为 4 个四氢呋喃环的产物 **58**^[24], 如 Scheme 5 所示. 但是这些乳醇及含多个四氢呋喃环的银杏内酯类似物的生物活性还未见报道.

Scheme 5

后来, Nakanishi 等^[25]在对一系列银杏内酯类似物结构及 K_i 数据分析基础上, 归纳出银杏内酯与 PAFR 的构效关系(图 9), 这一构效关系充分说明了 C, D 环及叔丁基存在对于活性的重要性.

图 9 银杏内酯与 PAFR 构效关系

Figure 9 Structure-activity relationship on ginkgolides and PAFR

2007 年, 他们^[26]在银杏内酯结构中同时引入维生素 H 和苯甲酮合成一系列光亲和标记的生物探针, 结构如图 10 所示. 其中, **59**, **60** 的合成由 GA (GB) 经过三步反应得到, 第一步是在 KH 作用下 C(10)位羟基的苯甲

酮修饰, 其合成方法与化合物 **27**, **28** 类似; 随后两步是在二苯甲酮的芳香环上引入维生素 H. 而化合物 **61** 的合成则是首先对 GA 的 F 环的内酯羰基进行选择还原, 所得产物结构同 **57**; 随后分别在 C(15)及 C(10)位置引入维生素 H 及苯甲酮基团. 化合物 **62** 的合成与 **61** 类似, 区别是起始原料由 GA 换为 10-氧-苄基银杏内酯 B (**24**).

图 10 生物素酰化的光亲和标记银杏内酯
Figure 10 Biotinylate photoaffinity-labeled ginkgolides

1.6 其他小组的研究工作

除上述研究小组的工作外, 还有一些研究小组在银杏内酯的结构修饰及生物活性方面作了相应的贡献.

图 11 GC 衍生物的结构
Figure 11 The structure of GC derivatives

2001 年, 为验证银杏内酯对心肌层保护作用的程度是否与其抑制 PAFR 有关, Pietri 等^[27]合成了一些新的 GC 衍生物 **63**~**66**(图 11), 其中化合物 **63** 在浓度达到 1.2×10^{-4} mol/L 对爱尔兰家兔的血小板仍没有表现出 PAFR 抑制能力, 但是对心肌层具有很好的保护作用, 其保护能力远高于 GB 和 GC; 而 GB, GC 在浓度 0.35 μ mol/L 时已表现出对 PAFR 的抑制作用. 上述结果证实银杏内酯对心肌层的保护程度与拮抗 PAFR 的能力无

关.

2004 年, Suehiro 等^[28]利用 **35** 的 C(7)位三氟甲磺酸酯被 ^{18}F 亲核取代, 从而得到 ^{18}F 标记的 GB 衍生物 **67** (Scheme 6).

Scheme 6

Zhang 等^[29]报道 10-氧-二烷基氨基乙基-银杏内酯 B 衍生物 **68**~**71** 及拮抗 PAF 诱导的兔血小板聚集的 IC₅₀ (图 12), 当 R=R¹=CH₃ 时, 化合物 **68** 的 PAFR 拮抗能力与 GB 近似.

图 12 10-氧-二烷基氨基乙基-银杏内酯 B 及其 IC₅₀
Figure 12 10-O-dialkylaminoethyl ginkgolide B derivatives and their IC₅₀ values

Xu 等^[30]报道了一种新的 GB 醚类衍生物 XQ(图 13), 此为化合物 **68** 的甲磺酸盐. 与 GB 相比, XQ 水溶性大大改善, 为临床注射制剂开发提供便利. XQ 通过竞争 [³H]PAF 受体特定位置来抑制血小板聚集, 采用 RBA 方法以 [³H]PAF 作放射性配体测得 XQ 与 GB 的 K_i 分别为 87.2 和 713 nmol/L. Li 等^[31]的报道也证实体外缺氧及复氧条件下, 采用 XQ 预处理 24 h 能明显拮抗 PAFR, 并可抑制细胞内钙离子浓度增加及诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 的上调.

我们课题组^[32]设计合成一系列 GB 的前体药物, 其典型结构如图 14 所示, 这一设计旨在提高 GB 对缺血性脑血管疾病的疗效并改善 GB 脑部靶向性, 设计策略是在 GB 母体结构中引入对脑血管病有疗效的小分子, 例如烟酸、阿魏酸、芳杂环羧酸、肉桂酸、冰片、白藜芦醇等, GB 母体与小分子之间通过酯键或醚键构建新的单一分子. 其中, **72**, **73**, **74** 是由 GB 与小分子羧酸(烟

图 13 XQ 的结构

Figure 13 The structure of XQ

酸、杂环羧酸、肉桂酸)在 EDC/DMAP 作用下发生酯化反应而获得, 动物体内实验证实三者均能提高 GB 的脑部靶向性; 前药 **73** 的生物活性研究表明其不仅保留了 GB 拮抗 PAF 诱导的血小板聚集作用, 同时增加了拮抗 L-型钙离子通道受体活性的功能, 而钙离子拮抗活性为杂环羧酸所具备. **75**, **76** 是在 GB 的 C(10)位以酯键引入 1,4-二氢吡啶环. 该类分子的合成需要三步反应实现, 合成路线列于 Scheme 7 中, 第一步是 GB 烟酸酯 **72** 的合成, 第二步是在丙酮或乙醇中 GB 烟酸酯与卤代烃反应得到噹盐, 最后一步是在连二亚硫酸钠作用下吡啶环还原为 1,4-二氢吡啶得到 **75** 或 **76**. **75** 或 **76** 主要借助 1,4-二氢吡啶-吡啶噹盐的化学传递系统实现 GB 的脑靶向.

图 14 我们课题组设计合成的 GB 脑靶向前药

Figure 14 Brain targeting prodrugs of GB designed by our group

2 银杏内酯衍生物和类似物的合成及 GlyR 拮抗活性研究

Strömgaard 等^[3]研究 GA, GB, GC, GJ, GM 拮抗 GlyR 活性, 发现具有 1-OH 基团的 GB, GC, GM 的拮抗

Scheme 7

活性优于无 1-OH 基团的 GA, GJ, 从而提出银杏内酯的 1-OH 基团对于 GlyR 拮抗活性的重要性.

2004 年, Nakanishi 等^[2c]合成了 50 个银杏内酯衍生物, 并且研究了他们对 GlyR 的 $\alpha 1$ 亚型拮抗能力, 这也是银杏内酯衍生物与 GlyR 之间相互关系的首次报道. 这些在 GC 的 1,7,10 三个羟基位置的衍生物对 GlyR 拮抗活性均不利, 大多数衍生物的 GlyR 活性降低甚至消失. 这一构效关系与银杏内酯衍生物拮抗 PAFR 的构效关系是截然不同的, 例如: 异 GC 醋酸酯 **34** 不具有 PAFR 拮抗活性^[19], 而异 GC 醋酸酯或其它醋酸酯则具有一定程度的 GlyR 拮抗活性, 如表 5 所示. 其中化合物 **77** 的拮抗能力较优, 有望成为潜在的 GlyR 拮抗剂.

2007 年, Nakanishi 等^[2d]运用 GlyR 的 $\alpha 1, \alpha 1\beta, \alpha 2$ 三种亚型对 5 种天然银杏内酯 GA, GB, GC, GJ, GM 及 29 种类似物进行研究, 以期寻找银杏内酯拮抗 GlyR 活性的最简单结构. 然而, 29 种结构中有 23 个的 $IC_{50} > 100 \mu\text{mol/L}$, 仅有 **83**, **84**, **85**, **39**, **40**, **41** 对三种亚型的 IC_{50} 均在 $10 \mu\text{mol/L}$ 左右, 但它们仍不如 5 种天然银杏内酯. 在 5 种天然银杏内酯中, GM 的活性最优, 其对三种亚型的 IC_{50} 均在 $1 \mu\text{mol/L}$ 左右. 随后根据药效团模型进行虚拟筛选, 但 27 个候选结构均无 GlyR 活性, 据此推测银

表5 异GC衍生物的GlyR抑制活性

Table 5 Biological activity of iso-ginkgolide C derivatives

Compd.	R	R ¹	R ²	Inhibition ^a /%
77	Bn	H	Bz	90
78	Bn	Ac	Ac	21
79	PMB	Ac	Ac	36
80	Bn	Bz	Bz	42
81	PMB	H	Bz	49
82	H	H	Bz	63

^a Inhibition of 100 μmol/L glycine-induced response by 100 μmol/L of test compound; inhibition was calculated as: (Response_{glycine} - Response_{test})/Response_{glycine}. Values are means of three independent experiments performed in duplicate. PMB=*p*-methoxybenzyl, Bz=benzoyl.

杏内酯的紧凑结构对 GlyR 拮抗活性至关重要(图 15).

图 15 典型的 GB 类似物
Figure 15 Efficient GB analogs

3 结论

银杏内酯结构独特, 活性确切, 通过对银杏内酯酯基位置的修饰可以得到活性更优的 PAFR 拮抗剂; 但是在银杏内酯任何位置的修饰或改造均使 GlyR 拮抗活性降低甚至消失. 另外, 对银杏内酯的结构修饰也能改善其水溶性; 在银杏内酯母体结构中引入其它活性小分子构建全新的单一分子, 该类分子既保留和继承银杏内酯的功效和作用, 又增添了新的功能, 同时新分子具有脑部靶向性, 这发展和创新了银杏内酯衍生物的作用形式. 目前针对银杏内酯衍生物和类似物的研究报道大多停留在单纯的 PAFR 或 GlyR 拮抗活性的基础研究阶段, 一方面需要对其进行更为广泛的生物学评价, 另一方面通过动物实验和临床试验来证实其有效性、安全性、质量可控性, 相信随着其治疗机制的深入研究及相关技术的不断完善, 银杏内酯衍生物和类似物必将应用于脑血

管疾病的治疗.

References

- [1] (a) Braquet, P.; Spinnewyn, B.; Braquet, M. *Blood Vessels* **1985**, 16, 558.
(b) Braquet, P.; Drieu, K.; Etienne, A. *Actual. Chim. Ther.* **1986**, 13, 237.
- [2] (a) Kondratskaya, E. L.; Lishko, P. V.; Chatterjee, S. S.; Krishtal, O. A. *Neurochem. Int.* **2002**, 40, 647.
(b) Kondratskaya, E. L.; Krishtal, O. A. *Neurophysiology* **2002**, 34, 155.
(c) Jaracz, S.; Nakanishi, K.; Jensen, A. A.; Strömgaard, K. *Chem. Eur. J.* **2004**, 10, 1507.
(d) Jensen, A. A.; Begum, N.; Vogensen, S. B.; Knapp, K. M.; Gundertofte, K.; Dzyuba, S. V.; Ishii, H.; Nakanishi, K.; Kristiansen, U.; Strömgaard, K. *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 1610.
- [3] Ivic, L.; Sands, T. T. J.; Fishkin, N.; Nakanishi, K.; Kriegstein, A. R.; Strömgaard, K. *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 49279.
- [4] (a) Corey, E. J.; Kang, M.; Desai, M. C.; Ghosh, A. K.; Houpi, J. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 649.
(b) Corey, E. J.; Gava, A. V. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 3201.
(c) Crimmins, M. T.; Pace, J. M.; Nantermet, P. G.; Kim-Meade, A. S.; Thomas, J. B.; Watterson, S. H.; Wagman, A. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 10249.
(d) Wu, Y. L.; He, Z. L. *Highlights of Total Synthesis of Natural Products: Terpenes*, Science Press, Beijing, **2010**, pp. 457~468 (in Chinese)
(吴毓林, 何子乐, 天然产物全合成荟萃——萜类, 科学出版社, 北京, **2010**, pp. 457~468.)
- [5] (a) Corey, E. J.; Gava, A. V. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 6959.
(b) Corey, E. J.; Rao, K. S. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 4623.
- [6] Braquet, P.; Esanu, A. *GB 2211841*, **1989** [*Chem. Abstr.* **1990**, 112, 76805].
- [7] (a) Park, H. K.; Lee, S. K.; Park, P. U.; Kwak, W. J. *WO 9306107*, **1993** [*Chem. Abstr.* **1993**, 119, 138985].
(b) Park, P. U.; Pyo, S.; Lee, S. K.; Sung, J. H.; Kwak, W. J.; Park, H. K.; Cho, Y. B.; Ryu, G. H.; Kim, T. S. *WO 9518131*, **1995** [*Chem. Abstr.* **1995**, 123, 314213].
(c) Park, P. U.; Pyo, S.; Lee, S. K.; Sung, J. H.; Kwak, W. J.; Park, H. K.; Cho, Y. B.; Ryu, G. H.; Kim, T. S. *US 5541183*, **1996** [*Chem. Abstr.* **1995**, 123, 314213].
- [8] Xu, R. S. *Natural Products Chemistry*, Science Press, Beijing, **2003**, pp. 397~409 (in Chinese).
(徐任生, 天然产物化学, 科学出版社, 北京, **2003**, pp. 397~409.)
- [9] Chen, J. Z.; Hu, L. H.; Jiang, H. L. *The Fifth China—Japan Joint Symposium on Drug Design and Development*, Chengdu, **1997**, pp. 81~82.
- [10] Chen, J. Z.; Chen, K. X.; Jiang, H. L.; Gu, J. D.; Zhu, W. L.; Hu, Z. J.; Ji, R. Y. *Sci. China, Ser. B* **1998**, 28, 316 (in Chinese).
(陈建忠, 陈凯先, 蒋华良, 顾建德, 朱维良, 胡增建, 嵇汝运, 中国科学(B辑), **1998**, 28, 316.)
- [11] Chen, J. Z.; Hu, L. H.; Jiang, H. L.; Gu, J. D.; Zhu, W. L.; Chen, Z. L.; Chen, K. X.; Ji, R. Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 1291.
- [12] (a) Hu, L. H.; Chen, Z. L.; Xie, Y. Y.; Jiang, Y. Y.; Zhen, H. W. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2000**, 2, 103.
(b) Hu, L. H.; Chen, Z. L.; Xie, Y. Y. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2001**, 3, 219.
- [13] Hu, L. H.; Chen, Z. L.; Chen, X. F.; Xie, Y. Y. *Pure Appl. Chem.* **1999**, 71, 1153.
- [14] Hu, L. H.; Chen, Z. L.; Xie, Y. Y.; Jiang, Y. Y.; Zhen, H. W. *Bio-*

- org. Med. Chem.* **2000**, 8, 1515.
- [15] Klebe, G.; Abraham, U.; Mietzner, T. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 4130.
- [16] Tong, W.; Lowis, D. R.; Perkins, R.; Chen, Y.; Welsh, W. J.; Goddette, D. W.; Heritage, T. W.; Sheehan, D. M. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1998**, 38, 669.
- [17] Zhu, W. L.; Chen, G.; Hu, L. H.; Luo, X. M.; Gui, C. S.; Luo, C.; Puah, C. M.; Chen, K. X.; Jiang, H. L. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13, 313.
- [18] Strømgaard, K.; Saito, D. R.; Shindou, H.; Ishii, S.; Shimizu, T.; Nakanishi, K. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 4038.
- [19] Jaracz, S.; Strømgaard, K.; Nakanishi, K. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 4623.
- [20] Vogensen, S. B.; Strømgaard, K.; Shindou, H.; Jaracz, S.; Suehiro, M.; Ishii, S.; Shimizu, T.; Nakanishi, K. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 601.
- [21] Strømgaard, K.; Suehiro, M.; Nakanishi, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 5673.
- [22] Tanaka, K.; Kester, K. D.; Berova, N.; Nakanishi, K. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 531.
- [23] Tanaka, K.; Pimentel, M.; Berova, N.; Nakanishi, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2005**, 78, 1843.
- [24] Ishii, H.; Dzyuba, S. V.; Nakanishi, K. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 3471.
- [25] (a) Strømgaard, K.; Nakanishi, K. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2004**, 43, 1640.
(b) Nakanishi, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13, 4987.
(c) Dzyuba, S. V.; Bolshakov, S.; Li, J.; Nakanishi, K. *Heterocycles* **2005**, 66, 743.
- [26] Kato, E.; Howitt, R.; Dzyuba, S. V.; Nakanishi, K. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5, 3758.
- [27] Pietri, S.; Liebgott, T.; Finet, J.-P.; Culcasi, M.; Billottet, L.; Bernard-Henriet, C. *Drug Dev. Res.* **2001**, 54, 191.
- [28] Suehiro, M.; Simpson, N. R.; van Heertum, R. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2004**, 47, 485.
- [29] Guo, C. J.; Ren, Y.; Qin, Y. L.; Zhang, Q. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2008**, 10, 989.
- [30] Liu, C. D.; Pan, S. H.; Mao, L. S.; Gu, P. C.; Wei, M.; Xu, H. Q. *Chin. J. Nat. Med.* **2009**, 7, 301.
- [31] Deng, Y.; Fang, W. R.; Li, Y. M.; Cen, J.; Fang, F.; Lv, P.; Gong, S. B.; Mao, L. S. *Eur. J. Pharmacol.* **2009**, 616, 43.
- [32] (a) Wu, Z. Y.; Pan, J.; Yuan, Y.; Hui, A. L.; Yang, Y.; Zhou, A.; Tao, M.; Zhou, X. *J. Med. Chem. Res.* **2012**, 21, 4028.
(b) Pan, J.; Wu, Z. Y.; Yuan, Y.; Hui, A. L.; Yang, Y. *Lat. Am. J. Pharm.* **2011**, 30, 1167.
(c) Pan, J.; Wu, Z. Y.; Hui, A. L.; Tao, M. *Lishizhen Med. Mater. Med. Res.* **2011**, 22, 2397 (in Chinese).
(潘见, 吴泽宇, 惠爱玲, 陶敏, 时珍国医国药, **2011**, 22, 2397.)
(d) Pan, J.; Yuan, Y.; Hui, A. L.; Zhou, A.; Wu, Z. Y. *Chin. Pharm. Bull.* **2012**, 28, 1435 (in Chinese).
(潘见, 袁媛, 惠爱玲, 周安, 吴泽宇, 中国药理学通报, **2012**, 28, 1435.)
(e) Yuan, Y.; Pan, J.; Wu, Z. Y.; Hui, A. L.; Zhou, A. *J. Chromatogr. Sci.* **2012**, 51, 266.
(f) Chen, Y. *Ph.D. Dissertation*, Hefei University of Technology, Hefei, **2009** (in Chinese).
(陈彦, 博士论文, 合肥工业大学, 合肥, **2009**.)
(g) Wu, Z. Y. *Ph.D. Dissertation*, Hefei University of Technology, Hefei, **2012** (in Chinese).
(吴泽宇, 博士论文, 合肥工业大学, 合肥, **2012**.)
(h) Zhou, X. *J. M.S. Thesis*, Hefei University of Technology, Hefei, **2012** (in Chinese).
(周小健, 硕士论文, 合肥工业大学, 合肥, **2012**.)

(Li, L.)