

(2*E*,4*E*)-*N*-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺的合成及其降血脂作用

吐尔孙拜克·叶尔达*, 纳森巴特, 赵 静

伊犁师范学院化学与环境科学学院, 伊宁 835000

摘要:以金属钠为催化剂,加热回流合成(2*E*,4*E*)-*N*-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺(C₁₄H₁₆N₂O₃,胡椒酸乙二胺,EPA),利用XRD、IR、¹H、¹³C NMR对产物结构进行了表征和确认。以EPA的产率为指标,研究其最佳合成工艺参数。实验结果表明:当催化剂用量为1.0 g(通氮气保护),加热回流温度65~70 °C,反应时间45~48 h,为较好的合成工艺条件,EPA的合成收率达62.93%以上,论文研究结果可为工业化生产提供设计依据。同时,EPA能显著降低高脂血症大鼠的血清TC、TG和LDL-C水平,且呈剂量依赖性;2.5 mg/kg剂量时显著升高HDL-C水平;并能显著升高高脂血症大鼠血清SOD和GSH-PX活力降低MDA含量。由此可知,降血脂作用与传统降血脂药物辛伐他汀相比,以降LDL-C作用更为明显。EPA具有一定的辅助降血脂功能及抗氧化作用。

关键词:(2*E*,4*E*)-*N*-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺;合成;高脂血症大鼠模型;降血脂

中图分类号:O621.2

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.10.026

Synthesis of (2*E*,4*E*)-*N*-(2-amino ethyl-5-(benzo[d][1,3][dioxol]-5-yl) penta-2,4-dien Acid Amide and Its Hypolipidemic Effect

Tuersunbaike YEERDA*, Nasenbate, ZHAO Jing

College of Chemistry and Environment Science, Yili Normal College, Yining 835000, China

Abstract: Using sodium metal as a catalyst to synthesize (2*E*,4*E*)-*N*-(2-amino ethyl-5-(benzo[d][1,3][dioxol]-5-yl) penta-2,4-dien acid amide (C₁₄H₁₆N₂O₃, ethylenediamine pepper acid, EPA) by heating reflux, the structure was characterized and identified with XRD, IR, ¹H, ¹³C NMR. The yield of the EPA was served as the indicator to research the optimization of the synthetic technological condition. The results of the experiments indicated that the amount of catalyst was 1.0 g (N₂ protection), the temperature of heating reflux was 65-70 °C, and the reaction time was 45-48 h, which were the preferable synthetic technological condition, and the synthetic yield of EPA could reach over 62.93%. These results can provide the design basis for industrial production. In addition, aiming at the rats with hyperlipidemia, EPA Pepper acid hexamethylenediamine can dose-dependently reduce the serum LDL-C, TG and TC level. Besides, it can significantly elevate the HDL-C level, serum SOD and GSH-PX activities, and reduce the amount of MDA. Compared with simvastatin, EPA pepper acid hexamethylenediamine can mainly reduce LDL-C. Another, EPA also has some lipid-lowering and anti-oxidation efficents.

Key words: (2*E*,4*E*)-*N*-(2-amino ethyl-5-(benzo[d][1,3][dioxol]-5-yl) penta-2,4-dien acid amide; synthesis; hyperlipemia model rats; lower blood lipid

胡椒类降血脂药物的开发是目前化学及药学研究领域的一个热点^[1]。胺类包括一级、二级、三级胺,其广泛存在于自然界的各种生理活性天然产物

中^[5],如生物碱、激素、抗生素和蛋白质等;胺类化合物也是医药、农药、染料等许多化学品的重要原料和中间体^[5]。胺可以看作氨分子中的氢原子被烷基取代的衍生物^[6],胺类物质中的氮原子有一对孤对电子,具有碱性,与质子接触时就有了控制pH值的能力或者催化的效率,这一特征给了它们缩和反应活力和开环能力^[7];由于胺类容易失去电子,使

它表现出较好的防腐蚀的特性,可用作金属表面接触材料^[8];同时原子电负性强^[7,8],能与水形成氢键,因此胺类还广泛应用于表面活性剂领域^[9-12]。胡椒中有效成分的提取以及胡椒碱衍生物的合成研究已有较多报道^[2],但是未见胡椒酸酰胺的合成报道。

据《中国居民营养与慢性病状况报告(2015年)》,我国居民膳食结构尚不合理,脂肪摄入偏高^[13-16],全国18岁及以上成人超重率为30.1%,肥胖率为11.9%,肥胖成为影响人群健康的重要公共卫生问题之一。血脂异常是指体内脂质代谢的紊乱,包括血液中血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平增高,而HDL-C水平减少,是造成动脉粥样硬化的首要危险因素。因此,对血脂异常的病因机制进行研究并及时进行治疗和干预,对于预防心血管疾病有重要意义^[17,18]。为此,寻找低成本且高效降血脂的药物具有重要意义。

1 实验方法

1.1 仪器与试剂

胡椒碱购自西安瑞林生物科技有限公司,含量99%;乙二胺和羧甲基纤维素钠(CMC-Na)购自天津科密欧化学试剂有限公司;其余试剂均为国产分析纯或色谱纯。

岛津LC-20AB型高效液相色谱仪(HPLC);岛津IR Prestige-21傅立叶变换红外光谱仪(KBr压片);Bruker AV-600型核磁共振仪(DMSO-*d*₆为溶剂,TMS为内标);德国Vario EL cube元素分析仪;S212-10L型反应釜;BAO-35A型精密真空干燥箱;SHB-III型循环水式多用真空泵;JJ-1型精密增力电动搅拌器;WRS-1B型数字熔点仪,1mL注射器、小鼠灌胃针。

1.2 受试物和实验动物

不同时段合成的(2*E*,4*E*)-*N*-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺)样品A和样品B,由自制合成。

昆明种小白鼠,雌雄各半,共72只,18~22g,清洁级(SPF级),由新疆医科大学实验动物研究中心提供。实验动物质量合格证号:SCXK(新)2011-0004。

1.3 (2*E*,4*E*)-*N*-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺)的制备方法

首先水解胡椒碱合成胡椒酸,然后以胡椒酸为原料合成胡椒酸乙酯。接着将反应釜经过严格的试压试漏后,通过反复的真空-氮气置换,直到氮气检测满足实验所要求为止,加入所需剂量的无水乙醇为反应溶剂。控制反应温度65℃,取1.0g催化剂完全溶解后,加入26.7mL乙二胺以及24.6g胡椒酸乙酯。氮气保护的情况下搅拌回流45h,反应结束后,溶液中有白色沉淀析出。溶液充分冷却后,将冷却后的溶液加入到1230mL的蒸馏水中,继续搅拌3h后抽滤,待滤饼干燥后得到粗产物。粗产品用混合溶剂[V(乙酸乙酯):V(正己烷)=2:1]重结晶纯化,放入真空干燥箱干燥,得白色固体产品(2*E*,4*E*)-*N*-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺)。

1.4 (2*E*,4*E*)-*N*-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺)的急性毒性试验

实验方法:昆明种小白鼠60只,雌雄对半,随机分为对照组(20)、A样品给药组(20)、B样品给药组(,每组20只)。灌胃前禁食不禁水12h。由于样品很难溶于蒸馏水,故研磨后溶解在0.5%的羧甲基纤维素钠(CMC-Na),配制均匀混悬液,配制浓度:样品A、B混悬液均为5g/kg。给药组灌以不同浓度混悬液,而对照组只灌胃蒸馏水。灌胃后常规饲养,连续观察14天。观察小鼠给药后的反应、活动、皮毛、摄食量、粪便有无异常改变、并观察有无死亡情况。第14天采用断颈法处死所有小鼠,打开腹腔,观察心、肝、脾、肺、肾、胃、肠等脏器有无异常变化。

1.5 降血脂作用

实验方法:SD大鼠购入后测体重,记录基础体重值。基础饲料适应性饲养一周后禁食12h,内眦采血,制备血清,测定大鼠基础血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)水平。按随机数字表,抽取12只作为正常对照组,普通饲料喂养,余用高脂饲料喂养,自由饮水,建立高脂模型,每周测量一次体重,第4周末称取体重、禁食12h后内眦采血,再次检测TC及TG水平,比较大鼠造模前后TC和TG值,血脂上升,差异具有显著统计学意义,认为建模成功。

1.6 抗氧化作用

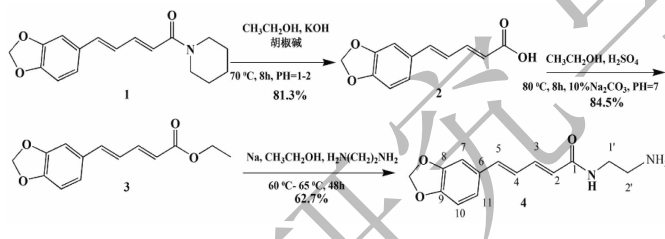
实验方法:将建模成功的72只大鼠按血脂水平

随机分为6组(每组12只),即高脂模型组、阳性药物对照组(辛伐他汀)、样品A中剂量组、样品B高剂量组、样品B中剂量组、样品B低剂量组。药物和样品研磨后溶解在0.5%的羧甲基纤维素钠(CMC-Na),配制成均匀混悬液,其中配制浓度:辛伐他汀10 mg/kg,样品A中剂量组5 mg/kg,样品B高剂量10 mg/kg,样品B中剂量5 mg/kg,样品B低剂量2.5 mg/kg。样品各剂量组浓度的配制根据预试验结果及参考文献^[3]而定。各组大鼠胃灌量为2 mL/100 g体重计算,其中空白对照组和模型对照组只灌胃0.5% CMC-Na。各组连续灌胃4周,每周称重,除空白对照组给予普通饲料,其它各组均给予高脂饲料。末次给药后,称量各组大鼠的体重,禁食不禁水12 h后,采用10%的水合氯醛,以0.35 mL/

100 g体重腹腔注射麻醉大鼠,打开腹腔,采腹主动脉血5~8 mL,3~5 mL放入普通采血管,2~3 mL放入EDTA抗凝管,所有血样离心10分钟(3500转),取上清液移入EP管,-20℃冻存待测。

2 实验结果

本论文的工作主要围绕(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺的合成展开,通过三步反应半合成了降血脂作用的(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺及其降血脂功效进行了研究,旨在为开发其药用价值提供科学依据。反应方程式如下:



反应产物经过XRD、IR、¹H NMR、¹³C NMR分析等手段进行结构表征,并对合成工艺进行了摸索,以期(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺的合成工艺设计奠定基础。

2.1 (2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺的XRD分析

本文以金属钠为催化剂,加热回流反应合成(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺(C₁₄H₁₆N₂O₃),在2θ为5~12(°)、14~16(°)、17~19(°)、25~29

(°)、30~55(°)五个范围内有特征吸收峰与标准(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺XRD标准卡片(PDF#48-2300)数据一致,结果图1所示。

进一步证明合成的该化合物为(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺。

2.2 (2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺的IR、¹H NMR、¹³C NMR分析

(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺的红外图谱分析结果中可以看到:波数为3 282.44 cm⁻¹为N-H伸缩振动吸收峰,波数为3 353.79 cm⁻¹为NH₂伸缩振动吸收峰,波数为1 598 cm⁻¹为羟基伸缩振动吸收峰,波数为1 094.72 cm⁻¹为C-O-C键不对称伸缩振动吸收峰,波数为1 465.29~1 358.87 cm⁻¹为苯环上的骨架C伸缩振动,波数2930.29 cm⁻¹为苯环上氢的伸缩振动吸收峰,波数为2 859.22 cm⁻¹为共轭烯炔上C-H的伸缩振动吸收峰,不对称伸缩振动吸收峰,符合(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺的结构特征。

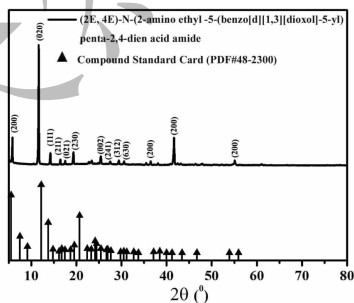


图1 (2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺的XRD

Fig. 1 XRD of (2E,4E)-N-(2-amino ethyl-5-(benzo[d][1,3][dioxol-5-yl]penta-2,4-dien acid amide

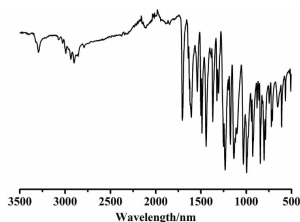


图2 (2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯)-5基)戊-2,4-二烯酰胺的IR

Fig. 2 The IR spectra of (2E,4E)-N-(2-amino ethyl-5-(benzo[d][1,3]

(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯)-5基)戊-2,4-二烯酰胺的¹H NMR、¹³C NMR分析谱图的分析结果中可以看到:

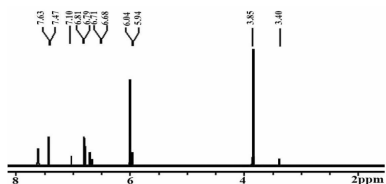


图3 (2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯)-5基)戊-2,4-二烯酰胺的¹H NMR

Fig. 3 ¹H NMR spectra of (2E,4E)-N-(2-amino ethyl-5-(benzo[d][1,3]

¹H NMR(δ): 5.94(d, 1H, $J=14.6$, C_2), 7.63(d, 1H, $J=7.6$, $J=6.1$, C_3), 6.79(d, d, 1H, $J=8.2$, $J=6.0$, C_4); 6.68(d, 1H, $J=8.4$, C_5); 7.47(s, 1H, C_7), 6.71(d, 1H, $J=8.0$, C_{10}), 6.81(d, 1H, $J=5.4$, C_{11}), 6.04(s, C_{12}), 3.85(t, 2H, $J=1.6$, C'_1), 3.40(t, 2H, $J=6.4$, C'_2); 7.10(s, 1H, N-H); 7.10(s, 2H, N-H)

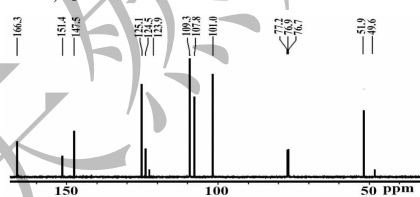


图4 (2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯)-5基)戊-2,4-二烯酰胺的¹³C NMR

Fig. 4 ¹³C NMR spectra of (2E,4E)-N-(2-amino ethyl-5-(benzo[d][1,3]

¹³C NMR(δ): 166.3(C_1); 151.4(C_8); 147.5(C_9); 125.1(C_3); 76.9(C_2); 107.8(C_4); 124.5(C_5); 123.9(C_6); 109.3(C_7); 77.2(C_{10}), 101.0

(C_{11}); 76.7(C_{12}), 51.9(C'_1); 49.6(C'_2)。

2.3 单因素实验

2.3.1 催化剂类型的选择

称取 24.6 g 胡椒酸乙酯,溶解在无水乙醇里,胡椒酸乙酯与无水乙醇比为 1:50(质量比),加入 26.7 mL 乙二胺,温度 65 °C,氮气保护的情况下搅拌回流 45 h 进行合成反应,考察不同催化剂金属对(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯)-5基)戊-2,4-二烯酰胺产率的影响,结果见图 5。

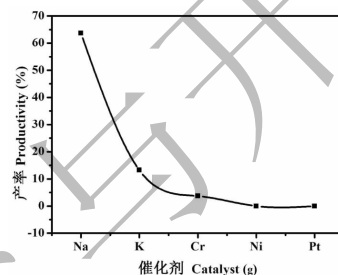


图5 不同催化剂对(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯)-5基)戊-2,4-二烯酰胺产率的影响

Fig. 5 Effect of different catalysts on the Yield of (2E,4E)-N-(2-amino ethyl-5-(benzo[d][1,3] [dioxol]-5-yl)penta-2,4-dien acid amide

由图 5 可知,选用金属钠为催化剂,反应速率快,(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯)-5基)戊-2,4-二烯酰胺产率最高。金属钾和金属铬的催化效果次之,镍、铂几乎不反应、金属钠很容易溶解于无水乙醇中,而且反应结束后粗产品里的钠很容易溶于离子水中;另外催化效率比其他金属催化效率高,因此我们选择使用金属钠作为催化剂。

2.3.2 催化剂剂量对(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯)-5基)戊-2,4-二烯酰胺产率的影响

称取 24.6 g 胡椒酸乙酯,溶解在无水乙醇里,胡椒酸乙酯与无水乙醇比为 1:50,加入 26.7 mL 乙二胺,温度 65 °C,氮气保护的情况下搅拌回流 45 h 进行合成反应,考察不同剂量催化剂金属钠对(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3]二氧杂环戊烯)-5基)戊-2,4-二烯酰胺产率的影响,结果见图 6。

当金属钠的用量为 0.2 ~ 2.5 g 时,如图 6 催化

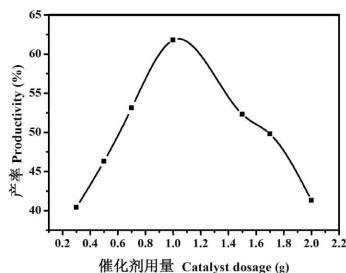


图6 催化剂用量对(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺产率的影响

Fig. 6 Effects of catalyst dosage on the Yield of (2E,4E)-N-(2-amino ethyl-5-(benzo[d][1,3][dioxol]-5-yl)penta-2,4-dien acid amide

剂的用量增加(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺的产率也随着增加,当催化剂过多时,产率不再增加或有所下降。这是因为催化剂的用量是增大时,所提供的活化中心增多。但随着催化剂用量的增加(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺转化率趋势减弱。当催化剂的用量增大到一定程度后,只是在反应初期增加(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺的转化。

2.3.3 反应时间的确定

称取24.6 g 胡椒酸乙酯,溶解在无水乙醇里,胡椒酸乙酯与无水乙醇比为1:50(质量比),加入26.7 mL 乙二胺,温度65℃,催化剂金属钠用量1 g,氮气保护的情况下搅拌回流进行合成反应,考察不同时间对(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d]

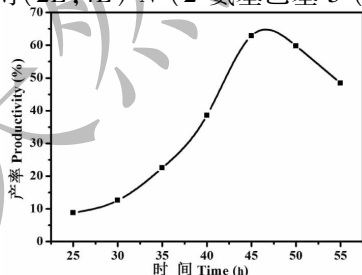


图7 反应时间对(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺产率的影响

Fig. 7 Influence of reaction time on Yield of (2E,4E)-N-(2-amino ethyl-5-(benzo[d][1,3][dioxol]-5-yl)penta-2,4-dien acid amide

[1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺产率的影响,结果见图7。

由图7可知,随着反应时间增加,生成(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺的量也慢慢增加,增加到一定程度时,生成(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺的量反而降低,这可能与反应时间过长发生了副反应有关,因此反应时间为45~48 h比较合适。

2.3.4 反应温度的确定

称取24.6 g 胡椒酸乙酯,溶解在无水乙醇里,胡椒酸乙酯与无水乙醇比为1:50,加入26.7 mL 乙二胺,催化剂金属钠用量1 g,氮气保护的情况下搅拌回流45 h进行合成反应,考察不同温度对(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺产率的影响,结果见图8。

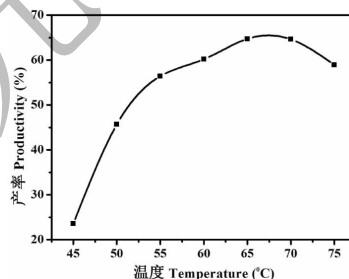


图8 反应温度对(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺产率的影响

Fig. 8 Effects of reaction temperature on the Yield of (2E,4E)-N-(2-amino ethyl-5-(benzo[d][1,3][dioxol]-5-yl)penta-2,4-dien acid amide

由图8可知,随着反应温度的升高,生成(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺的量也慢慢增加,当反应温度超过70℃后,胡椒酸乙二胺的产率开始下降,这可能与发生了部分副反应有关,温度控制在65~70℃的反应效果最好。

2.4 (2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺急性毒性实验

(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺急性毒性实验结果见表1。结果发现,观察期间所有小鼠活动自如,行为活泼,反应灵敏,毛发光泽,分泌物及排泄

物无异常,食量正常,体重正常增长,但是给药第 14 天,样品 A 组中雌性体重低于空白组,差异有统计学意义($P < 0.01$),样品 B 组中雄性体重高于空白组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。在观察期间(14 天)所有小鼠无死亡且全部健康存活(见表 2)。

实验结束后采用断颈法处死小鼠,解剖肉眼观察主要脏器颜色及形态学改变,结果与对照组相比,小鼠给予胡椒酸己二胺后,心、肝、脾、肺、肾、胃、肠等主要脏器未发现异常改变,说明该合成物对小鼠无急性中毒影响,属于毒性极低化合物。

表 1 (2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺急性毒性实验结果

Table 1 Effect of (2E,4E)-N-(2-amino ethyl-5-(benzo[d][1,3][dioxol]-5-yl)penta-2,4-dien acid amide Acute toxicity test results

组别 Group	性别 Gender	n	剂量 Dosage (g/kg)	观察天数 Days	死亡数 Death number
空白组 Blank group	雄性 Male	10	0	14	0
	雌性 Female	10	0	14	0
A 样品组 A Group	雄性 Male	10	5	14	0
	雌性 Female	10	5	14	0
B 样品组 B Group	雄性 Male	10	5	14	0
	雌性 Female	10	5	14	0

2.5 (2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺对大鼠血脂的影响

(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺干预后对大鼠血脂的影响见表 2。与正常对照组相比,阳性药物组和 PAH 各剂量组血清 TC、TG 水平较低,且差异均有统计学意义($P < 0.01$);而与高脂模型组比较,阳性药物组、PAH 高、中剂量组血清 TC 水平较低,差异也有统计学意义,并以 PAH 作用更为显著

($P < 0.01$),而对于 TG 水平的影响,只见 PAH 各剂量组较低低,差异显著($P < 0.01$)。另与空白对照组和高脂模型组比较,PAH 各剂量组 LDL-C 水平低,且以中、高剂量组差异显著($P < 0.01$);与药物对照组比较,PAH 以中、高剂量组 LDL-C 水平低较明显,并以高剂量组差异更为显著($P < 0.01$)。各干预组对 HDL-C 水平的影响,仅见 PAH 低剂量组明显高于空白组、高脂模型组和阳性药物组,以前两者差异更为显著($P < 0.01$)。

表 2 (2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺对大鼠血脂的影响 (mmol/L)

Table 2 Effect of (2E,4E)-N-(2-amino ethyl-5-(benzo[d][1,3][dioxol]-5-yl)penta-2,4-dien acid amide on blood lipids in rats (mmol/L)

组别 Group	总胆固醇 TC	甘油三酯 TG	低密度脂蛋白胆固醇 LDL-C	高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C
正常对照组 Normal control	1.90 ± 0.52	0.76 ± 0.19	0.53 ± 0.16	1.01 ± 0.21
高脂模型组 High fat model	1.96 ± 0.06	0.54 ± 0.03 ^{###}	0.54 ± 0.11	1.05 ± 0.12
阳性药物组 Positive drug	1.54 ± 0.25 ^{###*}	0.46 ± 0.09 ^{##}	0.46 ± 0.11	1.06 ± 0.19
A 中剂量 Crebanine-H	1.45 ± 0.22 ^{###**}	0.45 ± 0.09 ^{##}	0.46 ± 0.08	0.97 ± 0.17
B 低剂量 Crebanine-L	1.67 ± 0.40 ^{##}	0.36 ± 0.07 ^{###**}	0.40 ± 0.12 ^{**}	1.36 ± 0.42 ^{###**+}
B 中剂量 Crebanine-M	1.38 ± 0.18 ^{###**}	0.37 ± 0.11 ^{###**}	0.33 ± 0.08 ^{###**+}	1.08 ± 0.16
B 高剂量 Crebanine-H	1.33 ± 0.24 ^{###**}	0.38 ± 0.03 ^{###**}	0.30 ± 0.07 ^{###**++}	1.05 ± 0.21

注:与正常对照组比较:[#] $P < 0.05$,^{###} $P < 0.01$;与模型组比较:^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与阳性药物组比较:⁺ $P < 0.05$,⁺⁺ $P < 0.01$ 。

Note: Compare with normal control group:[#] $P < 0.05$,^{###} $P < 0.01$; compare with model group:^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$; compare with positive drug group,⁺ $P < 0.05$,⁺⁺ $P < 0.01$.

从表 2 看出,与正常对照组相比,阳性药物组和 PAH 各剂量组血清 TC、TG 水平较低,且差异均有统

计学意义($P < 0.01$);而与高脂模型组比较,阳性药物组、PAH 高、中剂量组血清 TC 水平较低,差异

也有统计学意义,并以 PAH 作用更为显著($P < 0.01$),而对于 TG 水平的影响,只见 PAH 各剂量组较低,差异显著($P < 0.01$)。另与空白对照组和高脂模型组比较,PAH 各剂量组 LDL-C 水平低,且以中、高剂量组差异显著($P < 0.01$);与药物对照组比较,PAH 以中、高剂量组 LDL-C 水平低较明显,并以高剂量组差异更为显著($P < 0.01$)。各干预组对 HDL-C 水平的影响,仅见 PAH 低剂量组明显高于空白组、高脂模型组和阳性药物组,以前两者差异更为显著($P < 0.01$)。

2.6 (2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺对高脂血症大鼠血清抗氧化能力的影响

(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺对高脂血症大鼠血清抗氧化影响见表3所示。结果表明高脂模

表3 (2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺对高脂血症大鼠血清抗氧化能力的影响

Table 3 Effect of (2E,4E)-N-(2-amino ethyl-5-(benzo[d][1,3][dioxol]-5-yl)penta-2,4-dien acid amide on serum antioxidant capacity in hyperlipidemic rats

组别 Group	丙二醛 MDA ($\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$)	超氧化物歧化酶 SOD ($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)	谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-PX ($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)
正常对照组 Normal control	1.23 ± 0.41	155.83 ± 35.93	1828.42 ± 473.04
高脂模型组 High fat mode	13.95 ± 11.79 ^{##}	100.45 ± 96.48	1711.57 ± 292.21
阳性药物组 Positive drug	6.94 ± 2.09 [*]	202.24 ± 64.91 [*]	1890.22 ± 457.77
B 低剂量组 Crebanine-L	4.76 ± 2.47 ^{**}	188.90 ± 34.52 [*]	1907.23 ± 348.29
B 中剂量组 Crebanine-M	3.85 ± 1.06 ^{**}	252.02 ± 92.02 ^{**}	2250.00 ± 599.56 [*]
B 高剂量组 Crebanine-H	1.57 ± 0.82 ^{**}	285.41 ± 86.62 ^{###}	2366.57 ± 488.10 ^{**}

注:与正常对照组比较:[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与高脂模型组比较:^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与阳性药物组比较:⁺ $P < 0.05$,⁺⁺ $P < 0.01$ 。
Note: Compare with normal control group: [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; compare with model group: ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$; compare with positive drug group, ⁺ $P < 0.05$, ⁺⁺ $P < 0.01$.

3 结论

通过正交试验,在研究范围内筛选确定了制备(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺的最佳工艺:即在反应时间为反应温度 65 °C,反应时间 45 h,催化剂用量 1.0 g。该制备条件安全、稳定、可行,可为工业化生产提供可靠的设计依据。参照《保健食品功能学评程序和检验方法》中相关规定^[8],总胆固醇 TC、甘油三酯 TG、高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C 等 3 项指标中至少有 2 项指标阳性,即可判定该受试样品具有调节动物血脂的作用。从急性毒性实验、降

型组大鼠血清中的 MDA 含量较正常对照组显著增加($P < 0.01$),而干预后各组 MDA 含量显著下降,以胡椒酸己二胺干预各组更为显著,且有剂量反应关系,以高剂量组下降最低($P < 0.01$),高剂量组与药物组比较差异也显著($P < 0.05$)。SOD 及 GSH-PX 活性较正常对照组下降,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。与正常对照组比较,胡椒酸己二胺中、高剂量组可提高 SOD 活性,尤以高剂量组更为显著($P < 0.01$);与高脂模型组比较,无论药物组还是胡椒酸己二胺各处理组均提高了 SOD 活性,并以 B 中、高剂量组作用更为显著($P < 0.01$),且高剂量组与药物组比较差异也显著($P < 0.05$)。GSH-PX 活性各干预组均提高,与正常对照组比较,只有 B 高剂量组差异显著($P < 0.01$);与高脂模型组比较,B 中、高剂量组显著升高,以高剂量组作用更显著($P < 0.01$)。

血脂作用和抗氧化作用相关指标的结果分析得到(2E,4E)-N-(2-氨基乙基-5-(苯并[d][1,3][二氧杂环戊烯]-5基)戊-2,4-二烯酰胺有以下几个方面的特点。

3.1 在观察期间(14 天)所有小鼠无死亡且全部健康存活。对小鼠无急性中毒影响,属于毒性极低化合物。

3.2 各干预组对 HDL-C 水平的影响,仅见 PAH 低剂量组明显高于空白组、高脂模型组和阳性药物组,以前两者差异更为显著($P < 0.01$)。可显著改善高脂大鼠血清总胆固醇 TC、甘油三酯 TG、高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C 等这 3 项指标,具有辅助降血脂

功能。

3.3 高脂模型组大鼠血清中的丙二醛 MDA 含量较正常对照组显著增加($P < 0.01$),而干预后各组丙二醛 MDA 含量显著下降,以胡椒酸己二胺干预各组更为显著,且有剂量反应关系,以高剂量组下降最低($P < 0.01$),高剂量组与药物组比较差异也显著($P < 0.05$)。超氧化物歧化酶 SOD 及谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-PX 活性较正常对照组下降,但差异无统计学意义($P < 0.05$),从抗氧化实验结果来看,胡椒酸己二胺具有很强的抗氧化作用,且呈现很好的剂量反应关系。本研究成果丰富了胡椒酸己二胺的合成方法及降血脂作用,为其进一步的研究开发提供参考资料。

参考文献

- Li PP(李萍萍),Lyu DZ(吕岱竹),Wu NC(吴南村),*et al.* Research progress on extraction and measurement of iperine[J]. *Chin J Trop Agri* (热带农业科学),2012,32:75-78.
- Liu W(刘文),Sun YZ(孙宇章),*et al.* Study on extraction process of piperine in pepper[J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志),2003,05:456-457.
- Han YF(韩英锋),Dong JX(董建霞),Yang DQ(杨定乔),*et al.* Synthesis of 6-nitropiperic acid[J]. *Chin J Syn Chem*(合成化学),2005,03:311-312.
- Wu Y(吴勇),Bo Gereletu(博·格日勒图),*et al.* Synthesis of piperinic esters and their antilipidic effect[J]. *J Med Pharm Chin Minorities* (中国民族医药杂志),2004,02:23-24.
- Fu B(傅滨),Li N(李楠),*et al.* Recent progress in reductive amination reaction[J]. *Chin J Org Chem* (有机化学),2007,27:1-7.
- Henrik JG,Bjorn LG,Matthias BL,*et al.* Novel improved ruthenium catalysts for the generation of hydrogen from alcohols[J]. *Chem Commun*,2007:522-524.
- Nam HK,Tapas KL,*et al.* Simultaneous reduction, functionalization and stitching of graphene oxide with ethylenediamine for composites application[J]. *J Mater Chem A*,2013,1:1349-1358.
- Liang SD(梁淑东),Huang KL(黄科林),*et al.* The nature and applications of ethylenediamine[J]. *Enter Sci Tech & Dev* (企业科技与发展),2010,10:16-18.
- Yang L(杨绿),He QL(何庆琳),*et al.* Production technology and application prospect of lower fatty amines[J]. *Fine Spec Chem* (精细与专用化学品),2011,19:9-12.
- Liu ZQ(刘志勤),Wang YG(王亚光),*et al.* Application prospect of higher fatty amines and their derivatives[J]. *Fine Spec Chem* (精细与专用化学品),2007,22:4-7.
- He LF(何丽芳),Guo ZC(郭忠诚),*et al.* Current situation and outlook of aromatic synthesis[J]. *Yunnan Metall* (云南冶金),2005,34:57-62.
- Ye JQ(叶建泉). Synthesis and application of dimethyl amine,three suits[J]. *Sur Sel Ind* (表面活性剂工业),1999,2:38-39.
- Neylon MK,Bej SK,Bennett CA,*et al.* Ethanol amination catalysis over early transition metal nitrides[J]. *Applied Catalysis,A*,2002,232:13-21.
- Castelli WP,Garrison RJ,Wilson PW,*et al.* Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. the framingham study[J]. *JAMA*,1986,256:2835-2838.
- Lin MJ,Hoke C,Ettinger B,*et al.* Evaluation of homogeneous high-density lipoprotein cholesterol assay on a BM/Hitachi 747-200 analyzer[J]. *Clin Chem*,1998,44:1050-1052.
- Rahilly-Tierney CR,Spiro A 3rd,Vokonas P,*et al.* Relation between high-density lipoprotein cholesterol and survival to age 85 years in men (from the VA normative aging study [J]). *Am J Cardiol*,2011,107:1173-1177.
- Vann W,El-Shall MS,*et al.* Novel approach to cationic polymerization using pulsed-laser vaporization/ionization of metals[J]. *J Am Chem Soc*,1993,115:4385-4386.
- Dagani R. Vaporized metal cations trigger polymerization [J]. *Chem & Engin News*,1993,5:24:31.