

二氢杨梅素结构修饰及生物活性研究进展

吴 聰¹, 王文茂³, 彭彩云^{1,2*}, 盛文兵^{1,2*}

¹湖南中医药大学 药学院; ²湖南中医药大学 中医药民族医药创新发展国际实验室,长沙 410208;

³湖南乾坤生物科技有限公司 张家界莓茶工程技术研究中心,张家界 427000

摘要:二氢杨梅素是一种二氢黄酮醇,具有抗菌、抗炎、抗肿瘤以及保肝护肝等多种生物活性。由于其结构中的6个羟基导致其脂溶性差及生物利用度低,因此对其进行结构修饰以期提高生物利用度和生物活性。本文综述了二氢杨梅素的化学法结构修饰及其生物活性等研究工作,化学修饰方法涉及醚化反应、酯化反应和金属配合物等方法,合成的衍生物具有抗病毒、抗菌、抗氧化、神经保护以及抑制肿瘤细胞增殖等活性,并且提出二氢杨梅素结构修饰过程中存在的挑战及发展方向,为更好地开发二氢杨梅素衍生物提供技术服务。

关键词:黄酮;二氢杨梅素;结构修饰;生物活性

中图分类号:R914

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2024)3-0540-14

DOI:10.16333/j.1001-6880.2024.3.017

Research advances of the structural modification and biological activity of dihydromyricetin

WU Cong¹, WANG Wen-mao³, PENG Cai-yun^{1,2*}, SHENG Wen-bing^{1,2*}

¹School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine; ²TCM and Ethnomedicine

Innovation and Development International Laboratory, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

³Zhangjiajie Meicha Technology Research Center, Hunan Qiankun Biotechnology Co., Ltd., Zhangjiajie 427000, China

Abstract: Dihydromyricetin is a kind of flavanone, which possesses a variety of biological activities such as antibacterial, anti-inflammatory, anti-tumor and liver protection. The six hydroxyl groups in structure lead to its poor lipid solubility and low bioavailability, and it is expected to improve its bioavailability and biological activity by structural modification. In this paper, we reviewed studies on the structural modification of dihydromyricetin and the biological activities of corresponding derivatives. The chemical modification methods involve etherification reactions, esterification reactions and metal complexe formation, and the derivatives of dihydromyricetin have antiviral, antibacterial, antioxidant, neuroprotection and antitumor activities. Then the challenges arising from the structural modification of dihydromyricetin and the development directions are presented. Further efforts on more thoughtful structural modification are necessary to improve both biological activity and druggability.

Key words: flavone; dihydromyricetin; structural modification; biological activity

二氢杨梅素(dihydromyricetin, DHM, 见图1)是显齿蛇葡萄(*Ampelopsis grossedentata* W. T. Wang)中最主要的黄酮类成分,约占其嫩芽干重30%^[1],具有抗氧化^[2]、抗炎^[3]、抗病毒^[4]、抗癌^[5]、抗菌^[6]、抗疲劳^[7]、抗焦虑^[8]、降糖^[9]、保肝护肝^[10,11]、心脏保护^[12]、缓解阿尔茨海默病^[13]和缓解哮喘^[14]等作用。

收稿日期:2023-03-02 接受日期:2023-08-21

基金项目:湖南省自然科学基金面上项目(2021JJ30502);湖南教育厅科研项目重点项目(21A0239);湖南中医药大学科研基金一般项目(2020XJJ014);湖南省天然药物资源与功能实验室开放基金一般项目(2022ZYYGN01)

*通信作者 E-mail:caiyunpeng@hnucm.edu.cn, wbs626@126.com

DHM 安全性良好,对大鼠与小鼠进行了 DHM 的急性口服毒性试验^[15]、长期毒性试验^[16]和基因毒性试验^[17],结果均为阴性。

DHM 的稳定性明显弱于其他黄酮类化合物,因为其具有6个羟基,特别是B环的羟基容易氧化。pH≥9、高温及光照均可加速 DHM 氧化,从而极大限制了其应用^[18]。DHM 在 25 ℃水中的溶解度为 263.54 mg/L,加热可以提高其水溶性^[19]。在模拟消化系统中,当 pH 值为 6.8 时 DHM 出现伪一级动力学降解成非黄酮类化合物。此外,pH 被认为是 DHM 在胃肠道中稳定性较差的根本原因,从而导致

其生物利用度较差^[20,21]。为了提高其抗肿瘤、抗菌、抗病毒、抗炎、抗氧化和神经保护等活性,科研人员对 DHM 展开了大量实验研究,并取得了一定的研究成果。本文从结构修饰和生物活性等方面展开综述,并且提出二氢杨梅素结构修饰过程中存在的问题及发展方向,为更好地开发二氢杨梅素衍生物提供技术服务。

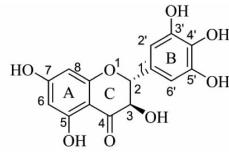


图 1 二氢杨梅素化学结构

Fig. 1 The chemical structure of dihydromyricetin

1 化学修饰及其相关生物活性

由于 DHM 在常温下易氧化成黄酮醇和查尔酮类化合物^[18],导致稳定性不好;在模拟肠液中表现油水分布系数为 0.93^[22],表明在小肠中不易吸收^[23];

在大鼠口服 DHM 实验中,绝对生物利用度仅为 0.122%,说明只有极少部分能进入体循环^[22]。上述实验结果表明,需要对 DHM 进行化学结构修饰,进一步提高 DHM 的生物活性。

1.1 DHM 结构修饰与抑制病毒活性研究

1.1.1 3-OH 位酰化修饰及抑制乙肝病毒 DNA 复制

Zhang 等^[24]合成了一系列含硝酸酯基 DHM 衍生物 1~9(见图 2),先保护或部分保护 DHM 酚羟基,后主要在 C-3 位醇羟基进行酯化修饰。在对 HepG2 细胞中的乙肝病毒 DNA 抑制活性实验显示,其中化合物 3、5 和 7 的 IC₅₀ 与阳性对照药拉米夫定接近,这三个化合物对乙肝病毒 DNA 的 IC₅₀ 分别为 1.48、1.62 和 1.76 μmol/L,化合物 3 和 5 在 80 μg/mL 剂量下对乙肝病毒 DNA 抑制率分别为 85.7%、81.5%。构效关系表明,通过乙酰化或甲基化保护 DHM 的部分酚羟基,保留 C-3 位醇羟基接入活性基团硝酸类化合物,脂溶性有所提高,生物活性有明显提升。

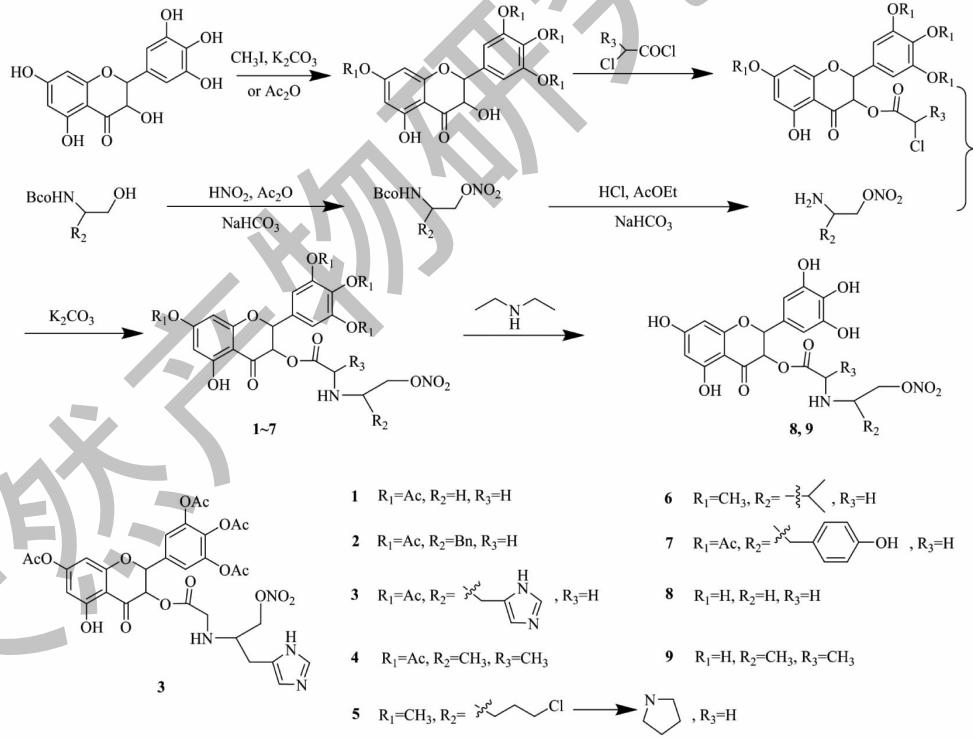


图 2 二氢杨梅素衍生物 1~9 的合成路线

Fig. 2 Synthetic route of dihydromyricetin derivatives 1-9

1.1.2 7-OH 烷基化或磷酰化修饰及抑制新冠病毒 3CL^{pro} 表达

随着新冠病毒(SARS-CoV-2)引起的新冠肺炎(COVID-19)大流行,科研工作者努力寻找相关治疗

药物。Su 等^[4]将 DHM 与硫酸二甲酯反应生成化合物 10,与磷酸类物质反应生成化合物 11,实验表明化合物 10、11(见图 3)对 SARS-CoV-2 抑制活性高于 DHM,且对 SARS-CoV-2 3CL^{pro}的抑制活性明显强

于 DHM。针对 SARS-CoV-2 3CL^{pro}, 化合物 **10**、**11** 的 IC₅₀ 值分别为 0.26 ± 0.02 、 1.84 ± 0.22 $\mu\text{mol/L}$, 对 SARS-CoV-2 细胞, 化合物 **10**、**11** 的 EC₅₀ 值为 11.50 ± 4.57 、 9.03 ± 1.36 $\mu\text{mol/L}$ 。化合物 **10** 表现出良好的抑制 SARS-CoV-2 3CL^{pro} 活性^[4], 但由于其亲脂

性较低, 较难通过细胞膜, 在 SARS-CoV-2 细胞活性实验中结果并不如意。构效关系表明, 改变 7 位羟基成酯基大小且保留连苯三酚结构可以不同程度地抑制 SARS-CoV-2 3CL^{pro}。

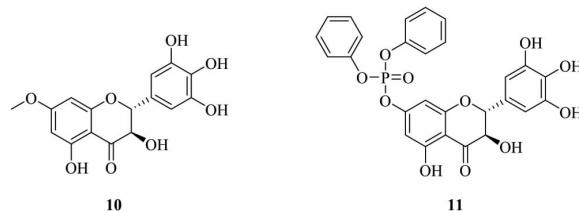


图 3 二氢杨梅素衍生物 **10**、**11** 的化学结构

Fig. 3 Structure of dihydromyricetin derivatives **10** and **11**

1.1.3 7-OH 烷基化修饰及抑制艾滋病病毒复制

研究报道,一些类黄酮化合物已经被证明具有抗艾滋病病毒活性,表明黄酮对 HIV-1 整合酶有抑制作用,说明黄酮类化合物具有潜在抑制 HIV-1 活性^[25]。Zhang 等^[26]通过先保护 DHM 部分羟基,应用威廉姆森醚合成法在 C-7 位羟基上引入 β -溴乙

基,然后与三氮唑类化合物发生亲核反应,最后三氮唑类化合物上的羧基发生酯化反应合成了化合物 **12~21** (见图 4),并对其进行了抗 HIV-1 活性测试,剂量为 $0.30 \mu\text{g}/\text{mL}$, 化合物 **12**、**13**、**14**、**16**、**18** 和 **19** 对 HIV-1 抑制效果接近 80%, 表明衍生物中游离羟基数量对抗 HIV-1 活性无明显影响。

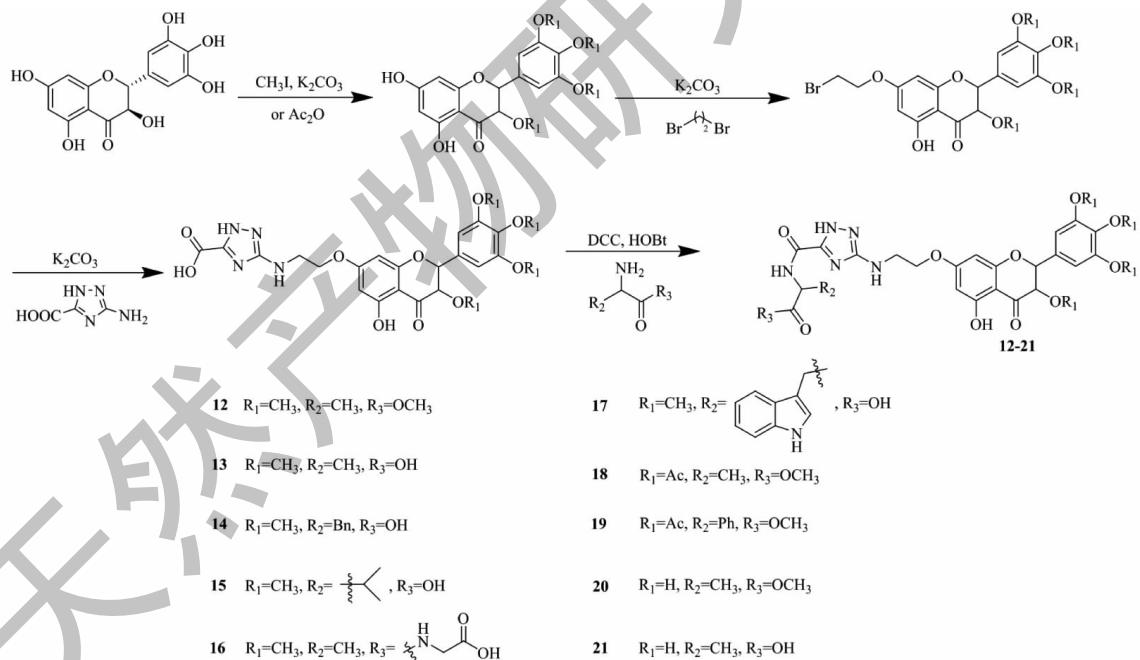


图 4 二氢杨梅素活性衍生物 **12~21** 的合成路线

Fig. 4 Synthetic route of dihydromyricetin active derivatives **12~21**

1.2 DHM 结构修饰与抗肿瘤活性研究

1.2.1 3-OH 位酰化修饰及逆转多药耐药人乳腺癌细胞株

Wong 等^[27]先将 5 个酚羟基甲基化, 再对 C-3

位羟基进行酯化修饰, 合成了 5,7,3',4',5'-五甲氧基 DHM 衍生物 **22~33** (见图 5), 并对这些衍生物逆转 P-糖蛋白介导的多药耐药人乳腺癌细胞株的抑制活性进行了评价, 结果表明仅有部分化合物表

现出良好的活性。紫杉醇能有效抑制人乳腺癌细胞株(IC_{50} 为 1.6 ± 0.3 nmol/L),而在治疗过程中容易产生耐药性,紫杉醇对多药耐药人乳腺癌细胞株 IC_{50} 为 144.6 ± 9.4 nmol/L。其中化合物**30**逆转活性最突出,在紫杉醇中加入 $1.0\ \mu\text{mol/L}$ 的化合物**30**后,对多药耐药人乳腺癌细胞株 IC_{50} 为 9.4 ± 1.6

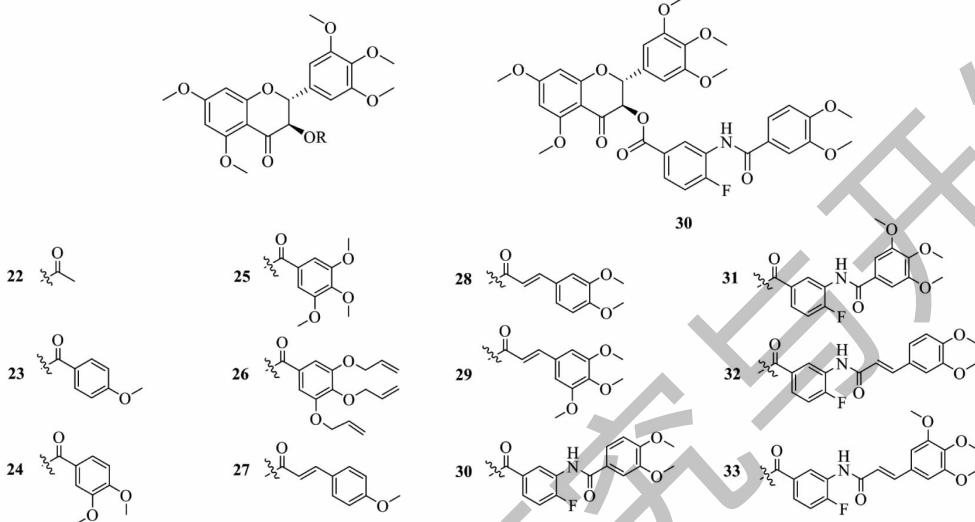


图 5 二氢杨梅素衍生物**22~33** 的结构

Fig. 5 Structure of dihydromyricetin derivatives **22-33**

1.2.2 C-8 位氯化修饰及抑制骨巨细胞瘤细胞增殖

针对骨巨细胞瘤细胞,二膦酸类化合物是一类有效抗异动力和抗痛觉过敏药物,同时对参与肿瘤形成的基质金属酶和含半胱氨酸的天门冬氨酸特异蛋白酶家族具有双靶向抑制作用,还能有效的抑制骨转移^[29]。利用拼接原理把 DHM 和二膦酸类化合物拼接起来,可能成为新的抗骨巨细胞瘤候选药物。Zhang 等^[30]用甲基化 DHM 与二膦酸类化合物连接得化合物**34~38**(见图 6),对骨巨细胞瘤细胞显示出显著的抑制效果。化合物**34~38**在 $200\ \text{nmol/L}$ 剂量下抑制率均优于阿仑膦酸钠。构效关系表明,DHM 与二膦酸类化合物拼接效果显著,且游离羟基数量并不明显影响衍生物对骨巨细胞瘤细胞抑制活性。

1.2.3 7-OH 和 C-8 位环化修饰及抑制小鼠肝癌细胞增殖

Zhang 等^[31]基于以上对 DHM 结构修饰研究基础,首先将 DHM 转变为四甲基或四乙酰基 DHM,再在 C-8 位引入硝基,还原,然后在 7-OH 引入酰基,最后利用羰基与氨基反应形成噁唑环,得到化合物

nmol/L。构效关系分析发现^[28]:增长 C-3 位成酯的长度可增加衍生物的逆转活性,尤其是引入 N 原子后的衍生物能明显抑制 P-糖蛋白,从而提高逆转活性。甲基化 DHM 衍生物对多药耐药肿瘤细胞有不错的逆转能力,有望成为逆转多药耐药肿瘤细胞的候选药物。

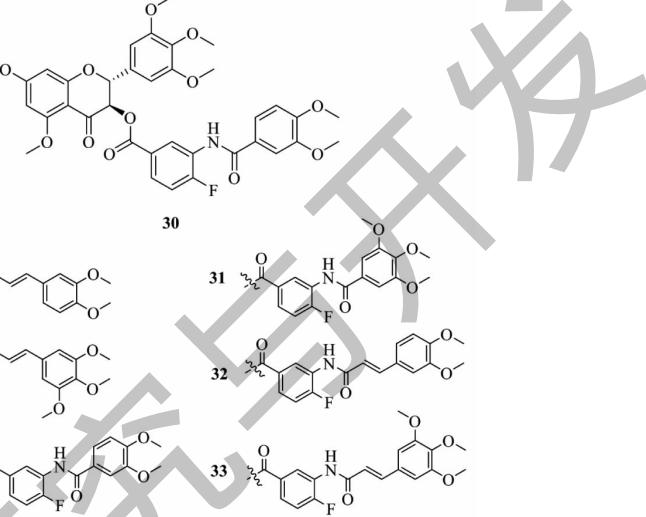


图 6 二氢杨梅素衍生物**34~38** 的结构

39~47(见图 7)。在小鼠肝癌(H₂₂)模型实验中所得化合物显示出较强活性,在 $20\ \text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 剂量下化合物**39**、**41**、**44**、**45** 抑制效果优于环磷酰胺,而化合物**40**、**42**、**43**、**46**、**47** 抑制效果接近环磷酰胺,同时,实验表明衍生物中增加 F 原子对活性无明显影响。

1.2.4 多位点修饰及广谱抗肿瘤增殖

Zhang 等^[32]在 DHM 部分羟基保护后,通过在 C-8 位引入硝基、还原,再通过亲核反应增长碳链,最后通过醚化反应与环磷酰胺化合物连接合成了化合物**48~55**(见图 8)。修饰后产物对 HL60、SGC-S03、MCF-7、HepG2、HeLa 等 5 种肿瘤细胞进行体外实验。化合物**48~55**对 5 种常见肿瘤细胞抑制活性均优于阳性对照药 5-氟尿嘧啶,其中化合物**48**、**54**、**55** 抑制肿瘤细胞效果最好。化合物**48**对 HL60 细胞、SGC-S03 细胞的 IC_{50} 值分别为 0.89 、 $13.51\ \mu\text{g}/\text{mL}$;化合物**54**对 HL60 细胞、MCF-7 细胞、HepG2 细胞的 IC_{50} 值分别为 0.71 、 1.87 、 $24.41\ \mu\text{g}/\text{mL}$;化合物**55**对 HL60 细胞、HeLa 细胞的 IC_{50} 值分别为 0.57 、 $4.81\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 。表明 DHM 与环磷酰胺形成李药,可以明显提高 DHM 的抗肿瘤活性。

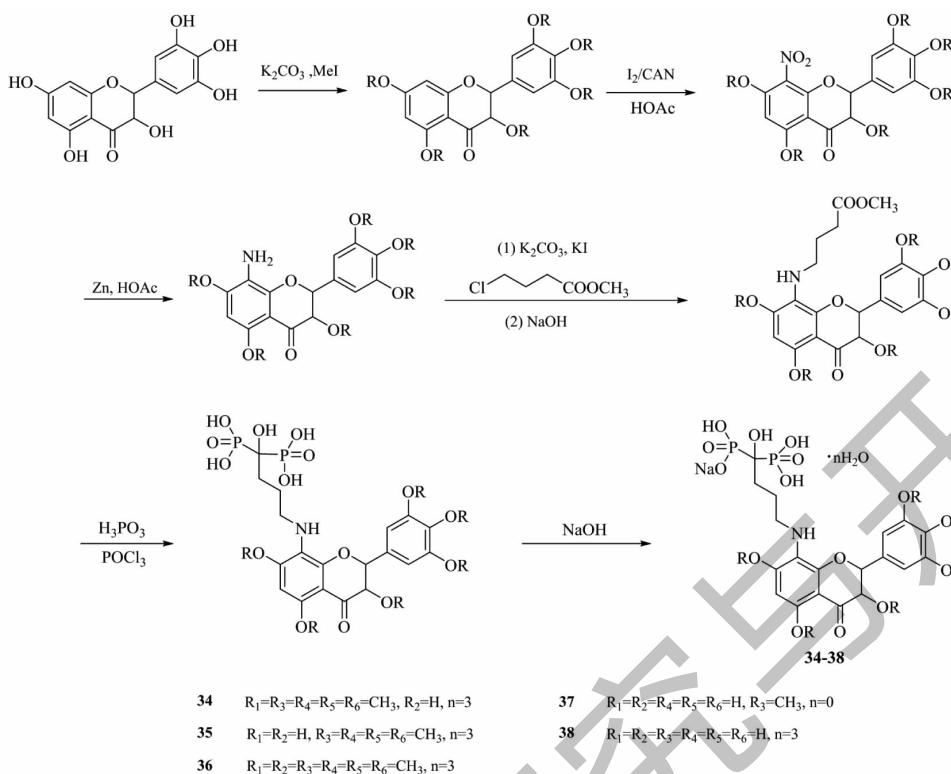


图 6 二氢杨梅素活性衍生物 34~38 的合成路线

Fig. 6 Synthetic route of dihydromyricetin active derivatives 34~38

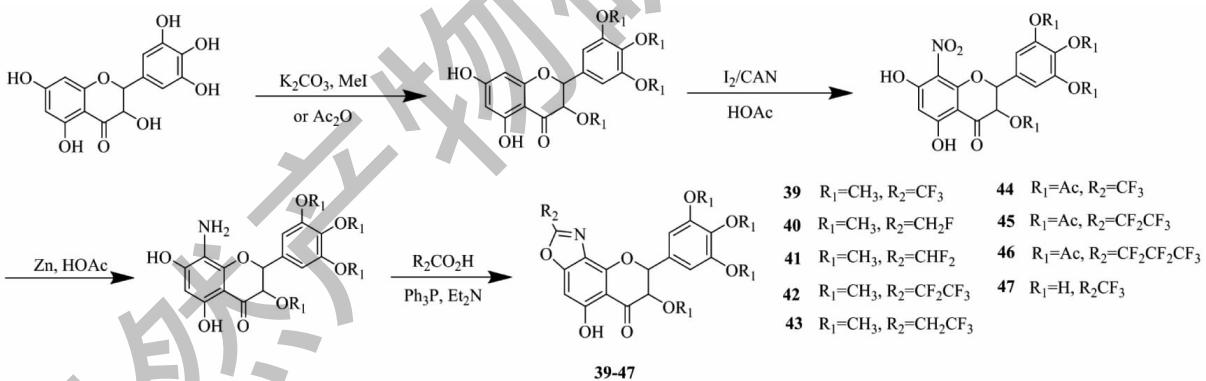


图 7 二氢杨梅素活性衍生物 39~47 的合成路线

Fig. 7 Synthetic route of dihydromyricetin active derivatives 39~47

Shi 等^[33]在甲基化或乙酰化 DHM 基础上引入卤素原子, 目的是增大脂溶性, 靶向性及细胞通透性。通过改变卤素原子位置, 甲基或乙酰基数量或位置, 合成了一系列含卤素的 DHM 衍生物 56~63(见图 9), DHM 与硝酸铈铵反应在 C-8 位直接引入硝基生成化合物 64(见图 9)。就抑制 HL-60、SGC-7901、SW-79、HT-29 细胞而言, 大部分衍生物都比临床应用的 5-氟尿嘧啶活性强。化合物 56、62

分别对 HL-60 细胞的抑制活性($2.97, 2.27 \mu\text{mol}/\text{L}$)约是 5-氟尿嘧啶的 5 倍($13.02 \mu\text{mol}/\text{L}$); 化合物 60 对 HT-29 细胞的抑制活性($1.87 \mu\text{mol}/\text{L}$)也约为 5-氟尿嘧啶的 5 倍($9.33 \mu\text{mol}/\text{L}$); 化合物 56~63 对 SGC-7901、SW-79 细胞具有中等抑制活性, 约是 5-氟尿嘧啶的 2 倍。构效分析表明: 在 DHM 部分羟基保护后, 在 A 环引入卤素原子会明显增强抗肿瘤活性。

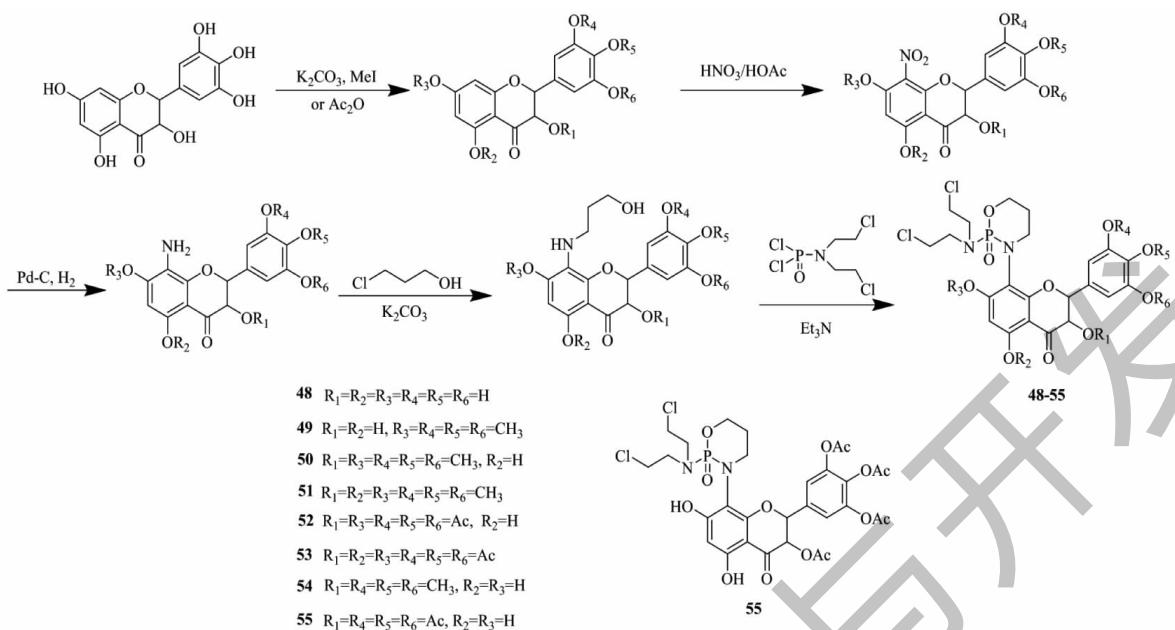


图 8 二氢杨梅素衍生物 48~55 的合成路线

Fig. 8 Synthetic route of dihydromyricetin derivatives 48-55

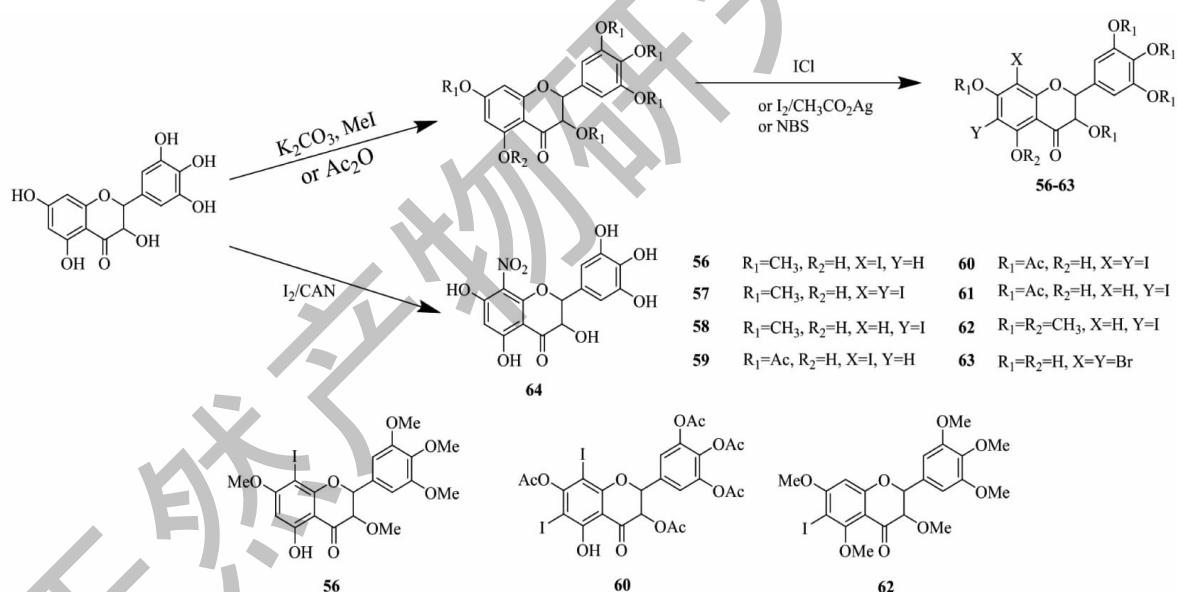


图 9 二氢杨梅素衍生物 56~64 的合成路线

Fig. 9 Synthetic route of dihydromyricetin derivatives 56-64

Xu 等^[34]把 DHM 与庚酰氯发生反应生成化合物 65(见图 10);与对羟基香豆酸和咖啡酸发生酯化反应生成化合物 66 和 67(见图 10)。在多种常见肿瘤细胞的体外实验中,化合物 65 对 MCF-7 细胞的 IC₅₀ 值为 $21.57 \pm 0.21 \mu\text{mol/L}$,与阳性对照药物 10-羟基喜树碱效果相当;化合物 67 对人白血病细

胞的 IC₅₀ 值为 $23.19 \pm 1.47 \mu\text{mol/L}$,比 10-羟基喜树碱效果稍好;在正常细胞体外实验中,化合物 66 对正常细胞无明显凋亡,10-羟基喜树碱对正常细胞 IC₅₀ 值为 $6.7 \pm 1.55 \mu\text{mol/L}$,表明 DHM 的多羟基酯化产物仍然具有良好的安全性,且抗肿瘤活性有一定的提升。

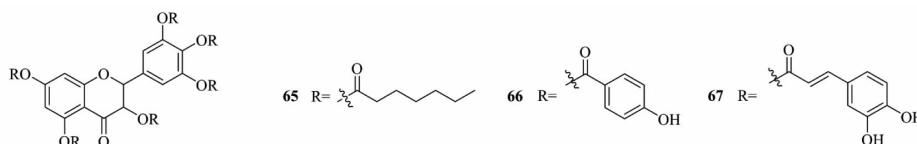


图 10 二氢杨梅素衍生物 65~67 的化学结构

Fig. 10 Chemical structure of dihydromyricetin derivatives 65-67

1.3 DHM 结构修饰及抗菌活性研究

DHM 可以通过破坏细胞壁,从而达到抑制细菌生长^[35]。科研人员对 DHM 抗菌修饰做了大量研究,开发了一系列有意义的 DHM 衍生物。

1.3.1 7-OH 或 C-8 位修饰

Shi 等^[36]通过多步反应在 DHM C-8 位引入三唑磺酰基类化合物,合成化合物 68~75(见图 11)。并对金黄色葡萄球菌、福氏志贺菌、奇异变形杆菌、铜绿假单胞菌、大肠杆菌、乙型副伤寒沙门氏菌、肺

炎克雷伯菌、枯草芽孢杆菌和副溶血性弧菌等 9 种细菌进行了体外实验,结果表明化合物 68~75 对这 9 种常见细菌大部分最低抑菌活性比 DHM 提升了近 100 倍(见图 12)。化合物 74 和 75 对多种细菌都表现出较强抑菌效果,对比其他衍生物,其结构特点是 5 个羟基均去除了保护,由此表明 5 个羟基在抑菌过程中发挥不可缺少作用。在针对抗菌活性的结构修饰过程中,保留多个酚羟基是个不错的选择。

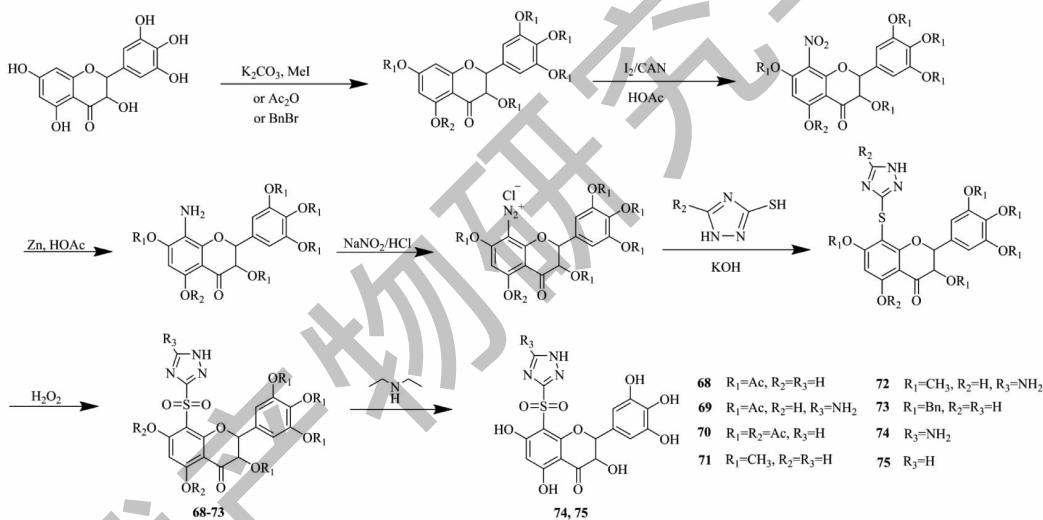


图 11 二氢杨梅素活性衍生物 68~75 的合成路线

Fig. 11 Synthetic route of dihydromyricetin active derivatives 68-75

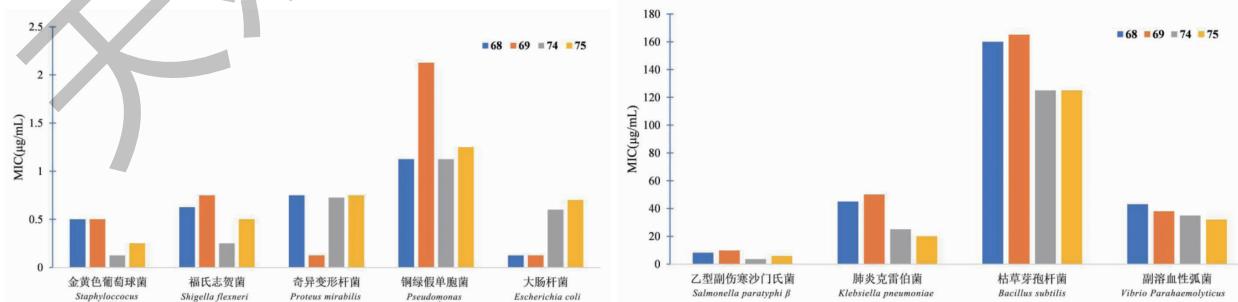


图 12 二氢杨梅素衍生物 68、69、74 和 75 的最小抑菌浓度

Fig. 12 MIC of dihydromyricetin derivatives 68, 69, 74 and 75

Xiao 等^[37]首次以 DNA 旋转酶和抑制外排泵为设计方向,设计并合成了 96 个多靶点黄酮-喹啉酮类化合物,其中有 6 个是 DHM 衍生物即化合物 76 ~ 81(见图 13)。并对表皮葡萄球菌、肺炎克雷伯菌和新型隐球菌做了体外抑菌实验,结果表明化合物 78 和 81 不仅显示出良好的抑菌活性,而且具有对 DNA 旋转酶和外排泵双重抑制作用,说明这类衍生物具有多靶点抑菌活性。化合物 78 的抑菌效果超过阳性对照药,对表皮葡萄球菌的 MIC_{50} 值为 0.73 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 阳性对照药卡拉霉素 MIC_{50} 值为 1.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 对肺炎克雷伯菌的 MIC_{50} 值为 0.38 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 阳性对照药青霉素 G MIC_{50} 值为 0.62 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 对新型隐球菌的 MIC_{50} 值为 0.91 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 阳性对照药酮康唑 MIC_{50} 值为 1.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。DHM 的喹啉酮类衍生物有很强的抗菌效果, MIC_{50} 接近或超过阳性对照药,表明喹啉酮类是一类很好抗菌活性基团,化合物 78 具备发展成新药的潜力。

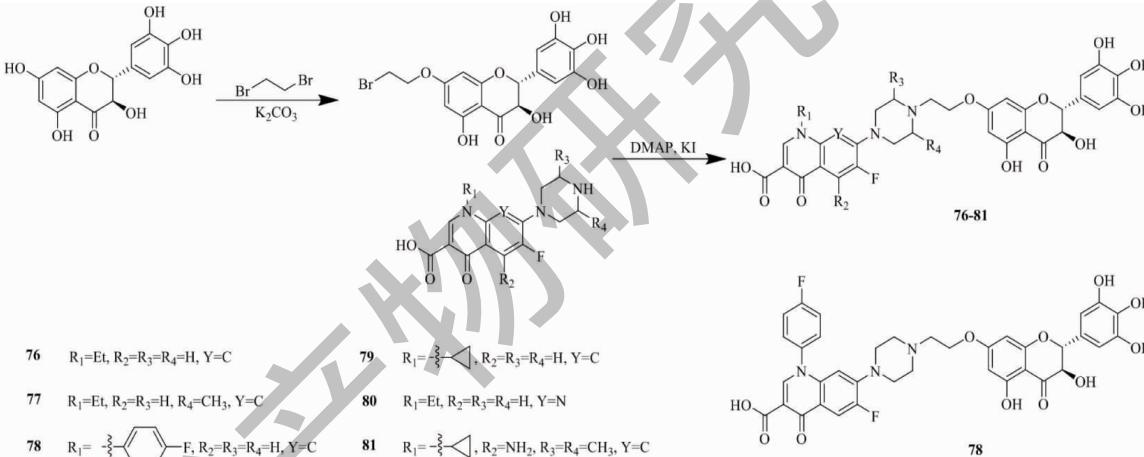


图 13 二氢杨梅素衍生物 76 ~ 81 的合成路线

Fig. 13 Synthetic route of dihydromyricetin derivatives 76-81

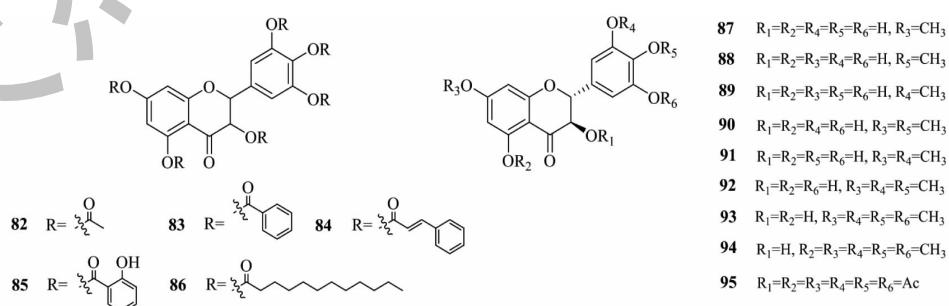


图 14 二氢杨梅素衍生物 82 ~ 95 的化学结构

Fig. 14 Chemical structure of dihydromyricetin derivatives 82-95

1.3.2 多羟基酰化修饰

Yan 等^[38]把不同结构的羧酸与 DHM 酯化分别得到化合物 82 ~ 86(见图 14),并对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、酿酒酵母和黑曲霉等四种细菌进行了体外抑菌实验,实验结果显示化合物 82 和 85 对大肠杆菌抑制效果一般;化合物 85 和 86 对金黄色葡萄球菌有中等抑制效果, MIC_{50} 均为 0.062 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 化合物 84 对酿酒酵母抑制效果不显著;这五种化合物对黑曲霉均无明显抑制效果。

Matsumoto 等^[39]研究了黄芩中主要抗真菌物质是 DHM,并合成了甲基化 DHM 化合物 87、90 ~ 95(见图 14),化合物 88 和 89(见图 14)是从植物中分离得到,他们试图寻找其构效关系。通过开展草本枝孢菌活性实验,发现化合物 87、88、90 和 92 的抗真菌活性是 DHM 的 2 ~ 4 倍,表明化合物的立体结构、官能团的位置对抗真菌活性有较大的影响。

1.4 DHM 结构修饰及抗氧化活性研究

DHM 酯类衍生物可以提高其脂溶性和稳定性。Li 等^[40]合成了 DHM 十二酸酯(化合物 98, 见图 15), 实验表明, 在相同的浓度下, 随着酯化度逐步增多, 清除自由基能力逐步减少; 通过量子化学计算分析可知, DHM 结构中的 6 个羟基发生酯化反应的活性顺序为 3-OH > 4'-OH > 5'-OH > 5-OH > 3'-OH > 7-OH。通过分子脱氢后的生成热与分子总生成热之差(ΔHOF), 抗氧化能力的强弱为 4'-OH ≈ 5'-OH > 3'-OH > 7-OH > 5-OH > 3-OH。表明 DHM 酯化衍生物设计时选择 3-OH 并保留其他酚羟基, 不仅能最大限度保留抗氧化能力, 而且还能提高脂溶性。

Guo 等^[41]将乙酸酐和 DHM 按不同比例进行反应(化合物 96, 见图 14), 得 DHM 单酯化物与多酯化物(图 15), 多酯化衍生物脂溶性大于单酯化衍生物, 但 DHM 过量酯化会降低其抗氧化活性, 而且热稳定性也会降低, 因此酯化程度以中等适宜。

Wu 等^[42]合成了 DHM 壴酸酯(化合物 97, 见图 15), 并比较了不同酯化度的抗氧化活性, 结果表明酯化度为 3 的产品在猪油中的抗氧化性比其他酯化度 DHM 壴酸酯较好。

Zhang 等^[43]合成了 DHM 硬脂酸酯(化合物 99, 见图 15), 抗氧化实验表明: 0.05% 的 DHM 硬脂酸酯与 0.02% 叔丁基对苯二酚(TBHQ)抗氧化作用相当。

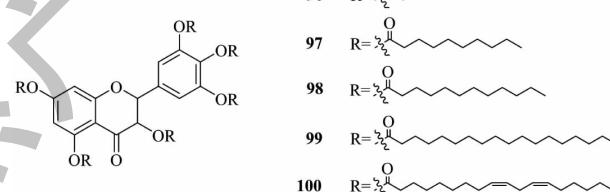
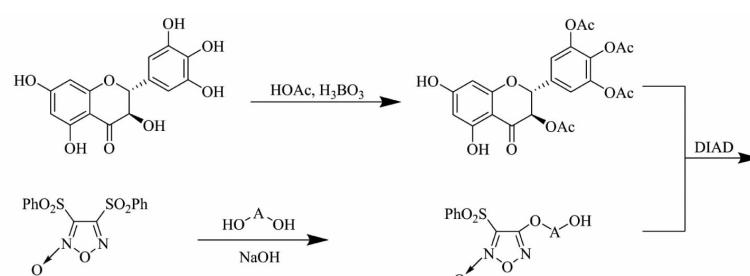


Fig. 15 Chemical structure of dihydromyricetin derivatives 96-100



Meng 等^[44]研究了火麻油的抗氧化能力, 先将亚油酸与 PCl_3 反应成亚麻酰氯, 再与 DHM 反应生成 DHM 亚油酸酯(化合物 100, 见图 15)。实验表明, 火麻油不加抗氧化剂室温保存不足 2 个月, 添加 0.05% DHM 后火麻油室温保存延长至 6 个月, 添加 0.05% DHM 亚油酸酯, 火麻油室温保存则达到了 20 个月, DHM 亚油酸酯的抗氧化性显著增加。

1.5 DHM 结构修饰及调节血糖研究

NO 是重要的信使物质, 与糖尿病病人动脉粥样硬化并发症的发展有关, 影响胰岛素介导的葡萄糖代谢, 有望成为抗高血压与抗糖尿病并发症靶向物质^[45]。1,2,5-噁二唑-2-氧化物是一类 NO 供体, 具有抑制血小板聚集和血管扩张活性, 能与多种药物拼接来增强药理活性^[46]。Shi 等^[47]在 DHM 部分羟基乙酰化后与 1,2,5-噁二唑-2-氧化物连接, 合成了化合物 101~110(见图 16)。并研究了该类衍生物对大鼠血清葡萄糖和胆固醇的影响: 治疗前血清葡萄糖和胆固醇含量分别平均在 18.0 mmol/L 和 7.0 mmol/L; 经一线降糖药优降糖 20 mg/kg 治疗后, 血清葡萄糖含量降至 4.61 ± 3.440 mmol/L, 胆固醇含量降至 2.72 ± 0.14 mmol/L, 也在同等剂量 20 mg/kg 下, 衍生物 101、102、104、107、108 治疗后血清葡萄糖含量降至 3.0~5.0 mmol/L, 胆固醇含量降至 2.0~4.0 mmol/L, 表明化合物 101、102、104、107 和 108 具有良好的降血糖和降胆固醇能力。

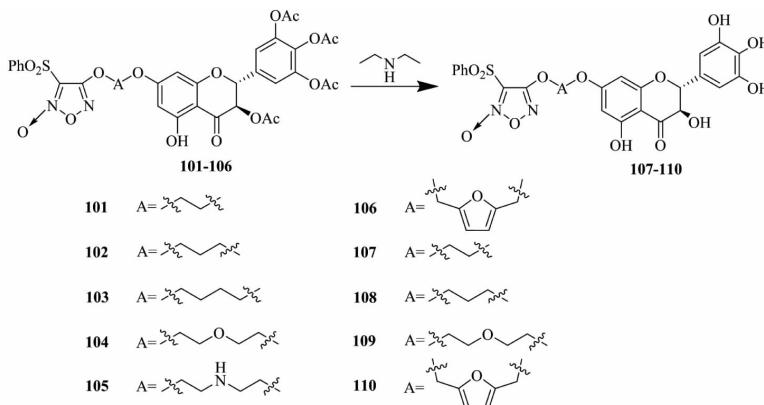


图 16 二氢杨梅素活性衍生物 101~110 的合成路线

Fig. 16 Synthetic route of dihydromyricetin active derivatives 101-110

1.6 DHM 结构修饰及神经保护研究

Liang 等^[48]把 DHM 与哌啶制备成化合物 111(见图 17),发现化合物 111 对阿尔茨海默病以及某些退行性疾病有良好的治疗效果。又以 2,4,6-三羟基苯乙酮为初始原料经过 4 步反应全合成 DHM,然后把 DHM 与四氢吡咯反应生成 DHM 四氢吡咯复合物^[49](化合物 112,见图 18),发现化合物 112 对神经系统功能障碍疾病有优良的生物活性和良好的生物安全性,相信在不久的将来会成为治疗神经类疾病的原创药。

的药效和生物利用度得到很大提升,对免疫细胞 A 型受体 GABA_ARs 的作用效果是 DHM 的 1 000 倍,其浓度为 0.1 nmol/L 以上时具有显著效果且呈浓度依赖性,同时表现出良好的安全性,在对大鼠的短期用药和长期评价中,无明显毒副作用。化合物 112 对神经系统功能障碍疾病有优良的生物活性和良好的生物安全性,相信在不久的将来会成为治疗神经类疾病的原创药。

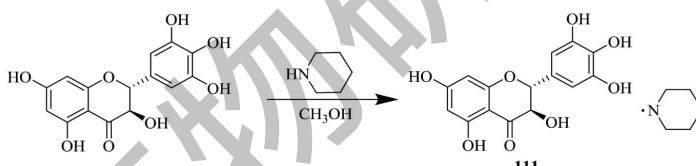


图 17 二氢杨梅素衍生物 111 的合成路线

Fig. 17 Synthetic route of dihydromyricetin derivatives 111

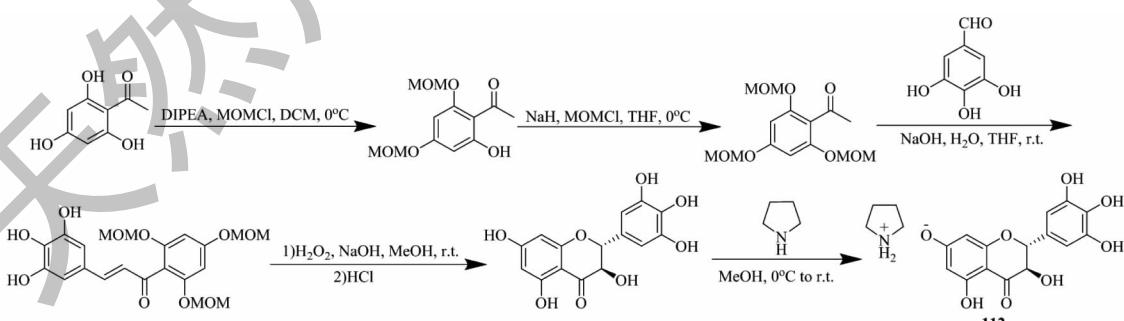


图 18 二氢杨梅素活性衍生物 112 的全合成路线

Fig. 18 Total synthetic route of dihydromyricetin active derivatives 112

1.7 DHM 半合成其他天然产物

DHM 由于在显齿蛇葡萄中大量存在,容易获取且分离提取手段趋向成熟,常被科研工作者半合

成其他较难获取的天然产物。高温高压氧化^[50]、电解脱氢^[51]、氢氧化钠^[52]的方法半合成杨梅素(化合物 113,见图 19)。

Xiao 等^[53]先使 DHM 在 15% NaOH 溶液中水解成羟基苯乙酮中间体,在脯氨酸催化作用下与 3,4-二羟基苯甲醛发生闭环反应合成出花旗松素(化合物 114,见图 19)。用同样方法将 4-羟基苯甲醛反应合成出二氢山柰酚,再经氧化成山柰酚^[54](化合物 115,见图 19)。

Xiao 等^[55]在 NaBH₄ 等作用下,利用 DHM 半合成没食子儿茶素(化合物 116,见图 19)。

2 金属化学修饰及其相关生物活性

金属配合物进入人体,与人体中细菌、病毒或肿瘤细胞作用,促使机体各系统恢复正常代谢^[56]。DHM 中由于羟基与羰基共存,同时具有特殊的空间构型,可以与金属离子形成配合物,金属配合物与活

性基团作用可以明显增强相应的药理功效^[57]。科研工作者做了大量工作合成了二氢杨梅素的配合物(Fe^[58]、Ga^[59]、Zn^[60]、Cu^[61]、Ni^[62]、Mn^[63]、Se^[64]等,见表 1),与 DHM 相比,以上配合物不同程度地提高了其抗氧化能力和清除自由基能力。

Guo 等^[65]制备了金纳米颗粒 DHM-AuCl₄(化合物 124,见表 1),应用于组织或肿瘤成像、生物标记、生物传感器设备、光热疗法和电化学免疫分析等。Ameen 等^[66]合成了银纳米颗粒 DHM-AgNPs(化合物 125,见表 1),并测试了其抗真菌活性:能明显抑制烟曲霉、内生菌和假丝酵母菌等生长,具有开发成抗真菌药物的潜力。

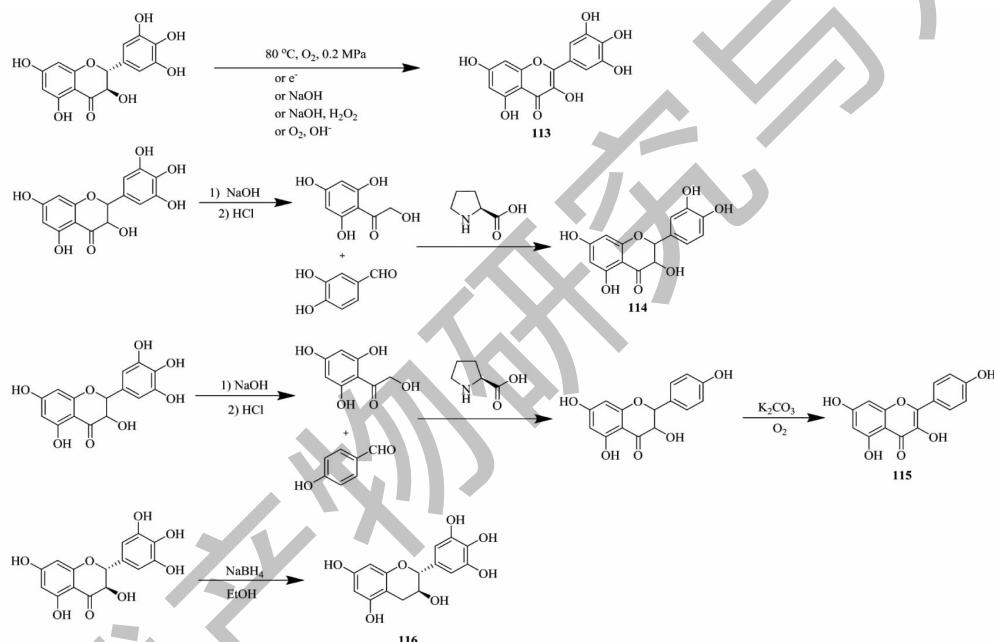


图 19 二氢杨梅素衍生物 113~116 的合成路线

Fig. 19 Synthetic route of dihydromyricetin derivatives 113-116

表 1 二氢杨梅素配合物 117~125 的生物活性

Table 1 Biological activities of dihydromyricetin complexes 117-125

化合物 Compound	络合离子 Complex cation	生物活性 Biological activity	参考文献 Ref.
117	Fe ²⁺	配合物添加量 > 0.06%, 抗氧化能力与 DHM 相当	58
118	Ga ²⁺	配合物清除 · OH 能力(82%) 低于 DHM(90%)	59
119	Zn ²⁺	破坏小牛胸腺 DNA 连续性	60
120	Cu ²⁺	配合物浓度 > 60 μg/mL, 对自由基清除率明显优于 DHM	61
121	Ni ²⁺	对白假丝酵母菌 MIC = 6.25 μg/mL, MBC = 12.5 μg/mL	62
122	Mn ²⁺	无明显生物活性	63
123	Se ⁴⁺	对 HSC-3 细胞的 IC ₅₀ = 21.27 μg/mL	64
124	AuNPs	应用于组织或肿瘤成像、生物标记和生物传感器设备等	65
125	AgNPs	对烟曲霉、内生菌和假丝酵母菌的 MIC 分别为 0.83、0.67、0.89 μg/mL	66

3 构效关系总结

DHM 是显齿蛇葡萄的主要活性成分,因其广泛的药理活性而受到广泛关注。由于 DHM 脂溶性差及生物利用度低,很大程度上限制了其应用。运用化学方法对 DHM 进行结构优化,修饰结果表明,保留其 B 环连三酚结构有助于提高其抗新冠病毒活性;引入甲氧基或增长碳链有利于逆转多药耐药活性;引入甲氧基或增长碳链有利于逆转多药耐药活性。

性;通过拼接原理将活性基团与 DHM 连接,效果往往比单一组分效果更好;含有多羟基的 DHM 衍生物较羟基全保护的衍生物抗菌活性明显增加;与胺类成盐的 DHM 衍生物很有可能成为治疗神经类疾病的原创药,DHM 的结构修饰及其构效关系总结如下(见图 20)。

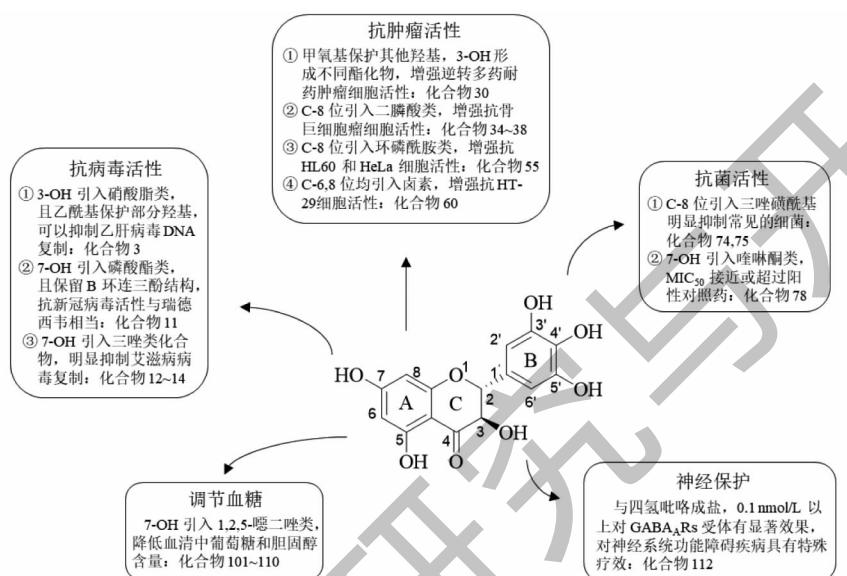


图 20 二氢杨梅素结构修饰构效关系图

Fig. 20 Structure-activity relationship diagram of structural modification of dihydromyricetin

4 结语与展望

天然产物成功的结构修饰需要从合成可行性、生物活性及理化性质等多方面进行评价,如 DHM 结构上引入一个甲基,就可以明显抑制新冠病毒^[15]。在以后的结构修饰过程中,修饰位点可以注重:①在二氢杨梅素 A 环上的修饰,运用 Friedel-Crafts 或 Mannich 反应在 C-6 或 8 位引入不同基团,再与现有药物拼接形成孪药;②可以采用经典修饰方法,在不同羟基上发生醚化反应或酯化反应,但需格外注意修饰后产物的构型改变;③还可以涉及未探讨过的只对 DHM 5-OH 修饰,而保留其他羟基,以期发现新的生物活性。DHM 结构修饰难点:①在保护和去保护羟基反应中,往往难以达到指定羟基保护或去保护;②反应与分离纯化过程中,DHM 易氧化成杨梅素或转变成查尔酮,导致产物复杂且难以分离。DHM 多样的药理活性,吸引着众多科研工作者通过化学修饰来提高药理活性和了解其潜在的药效基团,DHM 衍生物必将会给新药研发带来新希望。

参考文献

- Zhang H, et al. A multifaceted review on dihydromyricetin resources, extraction, bioavailability, biotransformation, bioactivities, and food applications with future perspectives to maximize its value [J]. eFood, 2021, 2: 164-184.
- Xie K, et al. Antioxidant properties of a traditional vine tea, *Ampelopsis grossedentata* [J]. Antioxidants, 2019, 8: 295.
- Chu JG, et al. Dihydromyricetin relieves rheumatoid arthritis symptoms and suppresses expression of pro-inflammatory cytokines via the activation of Nrf2 pathway in rheumatoid arthritis model [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 59: 174-180.
- Su H, et al. Identification of pyrogallol as a warhead in design of covalent inhibitors for the SARS-CoV-2 3CL protease [J]. Nat Commun, 2021, 12: 3623.
- Sun Y, et al. Combination of dihydromyricetin and ondansetron strengthens antiproliferative efficiency of adriamycin in K562/ADR through downregulation of SORCIN: A new strategy of inhibiting P-glycoprotein [J]. J Cell Physiol, 2019, 234: 3685-3696.
- Liang H, et al. Mechanism and antibacterial activity of vine

- tea extract and dihydromyricetin against *Staphylococcus aureus* [J]. *Sci Rep*, 2020, 10:21416.
- 7 Luo C, et al. Natural medicines for the treatment of fatigue: bioactive components, pharmacology, and mechanisms [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 148:104409.
- 8 Al Omran AJ, et al. Social isolation induces neuroinflammation and microglia overactivation, while dihydromyricetin prevents and improves them [J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19:2.
- 9 He J, et al. Dihydromyricetin attenuates metabolic syndrome and improves insulin sensitivity by upregulating insulin receptor substrate-1 (Y612) tyrosine phosphorylation in db/db mice [J]. *Diabet Metab Synd Ob*, 2019, 12:2237-2249.
- 10 Silva J, et al. Dihydromyricetin protects the liver via changes in lipid metabolism and enhanced ethanol metabolism [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2020, 44:1046-1060.
- 11 Ye J, et al. Self-assembled micelles improve the oral bioavailability of dihydromyricetin and anti-acute alcoholism activity [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2021, 22:111.
- 12 Chen Y, et al. Dihydromyricetin attenuates myocardial hypertrophy induced by transverse aortic constriction via oxidative stress inhibition and SIRT3 pathway enhancement [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19:2592.
- 13 Liu M, et al. Molecular level insight into the benefit of myricetin and dihydromyricetin uptake in patients with Alzheimer's diseases [J]. *Front Aging Neurosci*, 2020, 12:601603.
- 14 Xu B, et al. Antiinflammatory effects of dihydromyricetin in a mouse model of asthma [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15:3674-3680.
- 15 Su DL, et al. The acute toxicological evaluation of dihydromyricetin and its control effect for alcoholic hepatic injury [J]. *Hunan Agric Sci(湖南农业科学)*, 2009, 230:90-93.
- 16 Zhong ZX, et al. Experimental research on total flavone of *Ampelopsis grossedentata* from Guangxi in liver protection [J]. *Guangxi Sci(广西科学)*, 2002, 9:57-59.
- 17 Zhou YC, et al. Toxicological assessment on *Ampelopsis grossedentata* and its immune regulation study [J]. *Pract Prev Med(实用预防医学)*, 2001, 8:412-414.
- 18 He GX, et al. Studies on stability of dihydromyricetin [J]. *Chin J New Drugs(中国新药杂志)*, 2007, 16:1888-1890.
- 19 Lin SY, et al. Stability of dihydromyricetin and factors affecting the stability [J]. *J Jiangnan Univ(无锡轻工大学学报)*, 2004, 23:17-20.
- 20 Chen L, et al. Dihydromyricetin acts as a potential redox balance mediator in cancer chemoprevention [J]. *Mediators Inflamm*, 2021, 2021:6692579.
- 21 Xiang D, et al. Gastrointestinal stability of dihydromyricetin, myricetin, and myricitrin: an *in vitro* investigation [J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2017, 68:704-711.
- 22 Sun CC, et al. Physicochemical properties of dihydromyricetin and the effects of ascorbic acid on its stability and bioavailability [J]. *J Sci Food Agric*, 2021, 101:3862-3869.
- 23 Krämer SD. Absorption prediction from physicochemical parameters [J]. *Drug Discov Today*, 1999, 2:373-380.
- 24 Zhang BH, et al. A nitrate-containing dihydromyricetin derivative and its preparation and application (一种含硝酸酯基二氢杨梅素衍生物及其制备和应用): CN201710490041.7[P]. 2021-04-06.
- 25 Kaur R, et al. Structure-activity-relationship and mechanistic insights for anti-HIV natural products [J]. *Molecules*, 2020, 25:2070.
- 26 Zhang BH, et al. 1,2,4-Triazole-coupled dihydromyricetin derivatives and their preparation and application (1,2,4-三氮唑偶联的二氢杨梅素衍生物及其制备方法和应用): CN201710529748.4[P]. 2020-10-23.
- 27 Wong ILK, et al. Potent and nontoxic chemosensitizer of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in cancer: synthesis and evaluation of methylated epigallocatechin, gallicatechin, and dihydromyricetin derivatives [J]. *J Med Chem*, 2015, 58:4529-4549.
- 28 Liu T. Design, synthesis and activity evaluation of methylated dihydromyricetin derivatives as MDR reversal agents and design of metallo-beta-lactamase inhibitors of *Penicillium* alkanes sulfones [D]. Qingdao: Ocean University China (中国海洋大学), 2013.
- 29 Walker K, et al. Disease modifying and anti-nociceptive effects of the bisphosphonate, zoledronic acid in a model of bone cancer pain [J]. *Pain*, 2002, 100:219-229.
- 30 Zhang BH, et al. Dihydromyricetin bisphosphonic acid monosodium salt derivatives and their preparation method and application (二氢杨梅素双膦酸单钠盐衍生物及其制备方法和应用): CN2017105 55174.8[P]. 2017-11-21.
- 31 Zhang BH, et al. Fluorinated dihydromyricetin-containing derivatives and their preparation method and application (含氟二氢杨梅素衍生物及其制备方法和应用): CN201710529756.9[P]. 2017-09-26.
- 32 Zhang BH, et al. Dihydromyricetin cyclophosphamide derivatives and their preparation method and application (二氢杨梅素环磷酰胺衍生物及其制备方法和应用): CN201710529755.4[P]. 2017-10-10.
- 33 Shi LX, et al. Halogen-containing dihydromyricetin derivatives and their preparation method and application (含卤素二氢杨梅素衍生物及其制备方法和应用): CN201710490032.8[P]. 2017-09-01.
- 34 Xu Q, et al. Dihydromyricetin with broad-spectrum antitumor activity and its derivatives and application (具有广谱抗肿瘤活性的二氢杨梅素及其衍生物和应用): CN201911016708.5[P]. 2020-01-17.
- 35 Taguri T, et al. Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure [J]. Bi-

- ol Pharm Bull, 2006, 29: 2226-2235.
- 36 Shi LX, et al. A dihydromyricetin derivative and its preparation method and application(一种二氢杨梅素衍生物及其制备方法和应用):CN201710555284. 4[P]. 2017-10-10.
- 37 Xiao ZP, et al. A class of multi-targeted flavonoid-quinolone type compounds and their preparation and use(一类多靶点黄酮-喹啉酮型化合物及其制法和用途):CN201310414652. 5[P]. 2013-12-11.
- 38 Yan ZK, et al. Bacterial inhibition tests of several dihydromyricetin esters[J]. Jiangsu Agric Sci(江苏农业科学), 2010, 276: 313-314.
- 39 Matsumoto T, et al. Ampelopsin, a major antifungal constituent from *Salix sachalinensis*, and its methyl ethers[J]. Bull Chem Soc Jpn, 2001, 75: 659-667.
- 40 Li W, et al. Esterification of dihydromyricetin and their antioxidant activities [J]. Food Sci Technol(食品科技), 2007, 32: 198-201.
- 41 Guo QQ, et al. Effects of solubility, thermal stability and antioxidant properties of acylating dihydromyricetin [C]. Adv Mat Res, 2013, 791: 101-105.
- 42 Wu C, et al. Preparation and antioxidant activity of liposoluble dihydromyricetin[J]. Food Sci Technol(食品科学), 2011, 32: 69-71.
- 43 Zhang YS, et al. The synthesis of liposoluble dihydromyricetin (LDMDY) and its antioxidant characteristic [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2006, 18: 260-262.
- 44 Meng S, et al. Esterification modification and antioxidant properties of shelf-stable dihydromyricetin in fire sesame oil [J]. J Chin Cereals Oils Assoc(中国粮油学报), 2021, 36: 87-90.
- 45 Honing MLH, et al. Nitric oxide availability in diabetes mellitus[J]. Diabetes Metab Res Rev, 1998, 14: 241-249.
- 46 Ferioli R, et al. NO-mimetic furoxans: arylsulphonylfuroxans and related compounds[J]. Pharmacol Res, 1993, 28: 203-212.
- 47 Shi LX, et al. Nitric oxide donor type dihydromyricetin derivatives and their preparation and application(一氧化氮供体型二氢杨梅素衍生物及其制备和应用):CN201710490036. 6[P]. 2020-07-17.
- 48 Liang J. A phenol theophyllin and its preparation method and application(一种苯酚茶酸素及其制备方法和应用):CN201610045855. 5[P]. 2016-06-29.
- 49 Liang J. Dihydromyricetin tetrahydropyrrole complex and its preparation method and application(二氢杨梅素四氢吡咯复合物及其制备方法和应用):CN202210408113. X[P]. 2022-05-17.
- 50 Xiao JX, et al. A method for the preparation of 3,5,7,3',4',5'-hexahydroxyflavones(一种3,5,7,3',4',5'-六羟基黄酮的制备方法):CN202110273616. 6[P]. 2021-06-25.
- 51 Zhao YB, et al. A method for the dehydrogenation of dihydromyricetin(一种二氢杨梅素脱氢的方法):CN201811032759. 2[P]. 2019-01-25.
- 52 Yao YY, et al. A preparation method with efficient conversion of dihydromyricetin to prunetin(一种具有高效的二氢杨梅素转化为杨梅素的制备方法):CN201810325869. 1[P]. 2018-09-28.
- 53 Xiao JX, et al. A method for the preparation of taxifolin(一种花旗松素的制备方法):CN201811454063. 9[P]. 2019-02-22.
- 54 Xiao JX, et al. A method for the preparation of kaempferol (一种山柰酚的制备方法):CN201811455271. 0[P]. 2019-02-22.
- 55 Xiao ZP, et al. A method for the semi-synthesis of (+)-gallo-catechin using dihydromyricetin(一种利用二氢杨梅素半合成(+)-没食子儿茶素的方法):CN201010612390. X[P]. 2011-06-15.
- 56 Gu XX, et al. Advances in the application of metal complexes in the study and analysis of natural drugs[J]. J Anal Sci(分析科学学报), 2003, 19: 373-377.
- 57 Kasprzak MM, et al. Properties and applications of flavonoid metal complexes[J]. RSC Adv, 2015, 5: 45853-45877.
- 58 Guo QQ, et al. DMY Fe chelate and its inoxidizability[J]. Food Sci Technol(食品科学), 2005, 26: 370-372.
- 59 Meng Y. Purification of dihydromyricetin from Tengcha and preliminary study of its metallic complexes [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University(华中农业大学), 2008.
- 60 Yuan J, et al. Study on synthesis of dihydromyricetin-zinc complex and its interaction with DNA [J]. J Instrum Anal(分析测试学报), 2012, 31: 982-986.
- 61 Yuan J, et al. Study on antioxidant activities of the complex of DMY-Cu(Ⅱ)[J]. J Guangdong Univ Technol(广东工业大学学报), 2016, 33: 81-84.
- 62 Yang W, et al. Synthesis of dihydromyricetin-nickel complexes and a preliminary investigation of their cytotoxicity [J]. Hainan Med J(海南医学), 2015, 26: 2341-2344.
- 63 Li HX, et al. Application of layer chromatography in the preparation of dihydromyricetin-manganese complex[J]. J Hainan Med Univ(海南医学院学报), 2011, 17: 445-447.
- 64 Mao M, et al. Preparation of selenizing DMY and its inhibition on proliferation/metastasis of tumor cells[J]. Fine Chem(精细化工), 2022, 39: 950-955.
- 65 Guo Q, et al. Biosynthesis of gold nanoparticles using a kind of flavonol: dihydromyricetin [J]. Colloids Surf, 2014, 441: 127-132.
- 66 Ameen F, et al. Flavonoid dihydromyricetin-mediated silver nanoparticles as potential nanomedicine for biomedical treatment of infections caused by opportunistic fungal pathogens [J]. Res Chem Intermed, 2018, 44: 5063-5073.