·论著·

灯盏乙素苷元 4′N,N-双取代氨甲基苯甲酸醚类前药的合成*

李 靖,周 雯,刘 影,傅晓钟,欧 瑜,兰燕宇,王爱民,王永林**
(贵阳医学院 药学院,贵州 贵阳 550004)

[摘 要] **目的**:合成灯盏乙素苷元 4′ *N*,*N*-双取代氨甲基苯甲酸醚类衍生物。**方法**:以灯盏乙素苷元与 2-溴乙醇为原料,在偶联剂 1.8-二氮杂二环(5.4.0)十一稀-7(DBU)的作用下制备 6,7-二苯缩酮保护灯盏乙素苷元 4′-羟乙基醚(4a ~ 4c),后者与 *N*,*N*-双取代氨甲基苯甲酰氯在以 4Å 分子筛(MS)为脱水剂条件下缩合制备 6,7-二苯缩酮,保护灯盏乙素苷元 4′-*N*,*N*-双取代氨甲基苯甲酸醚(7a-c),后者经乙酰氯/甲醇体系脱去保护基,获得目标化合物灯盏乙素苷元 4′-*N*,*N*-双取代氨甲基苯甲酸醚衍生物(8a-c)。**结果**:合成的化合物及中间体均经过 ^{1}H NMR, ESI-MS 进行了结构表征,确证结构与目标产物一致。**结论**:采用的合成方法具有较好的实用性,能用于灯盏乙素苷元 4′-L-氨基酸酯的制备。

[关键词] 氨甲基苯甲酸类;药物前体;色谱法,液相
[中图分类号] R943 [文献标识码] A [文章编号] 1000-2707(2011)05-0441-05

Synthesis of 4′-N,N-Bis-substituted Aminomethylation Benzoate Ether Prodrug of Scutellarein Aglycone*

LI Jing, ZHOU Wen, LIU Ying, FU Xiaozhong, OU Yu, LAN Yanyu, WANG Aimin, WANG Yonglin**
(*School of Pharmacology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China*)

[**Abstract**] **Objective**: To synthesize 4′-*N*, *N*-bis-substituted aminomethylation benzoate ether derivatives of scutellarein aglycone. **Methods**: Scutellarein aglycone and 2-bromo-ethanol were used as starting material to synthesize scutellarein aglycone 4′-hydroxyethyl ether (4a-4c) protected by 6,7-diethylenebenzene ketal in the presence of 1, 8-dinitroge mixed bicyclic (5.4.0) hendecene-7- (DBU). The product was used to synthesize scutellarein aglycone 4′-*N*,*N*-Bis-substituted aminomethylation benzoate ether with *N*,*N*-Bis-substituted aminomethylation benzoyl chloride using 4Å molecular sieves (MS) as dehydrater. The protective group was then removed by using acetyl chloride/methanol system and target compounds (8a-c) were obtained. **Results**: The structure of synthesized compounds 8a-c and intermediate were confirmed by methods of 1H NMR, ESI-MS. **Conclusions**: The synthetic method is practical and can be used in synthesizing scutellarein aglycone 4′-*N*,*N*-bis-substituted aminomethylation benzoate ether derivatives.

[**Key words**] aminobenzoic acids; prodrugs; chromatography, liquid

灯盏乙素[Scutellarin,图 1(1)]是灯盏细辛(Breviscapine)最主要的活性成分,可显著降低脑组织过氧化产物丙二醛(MDA)的含量,升高超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-

*[基金项目]国家自然科学基金资助项目(81060359),贵州省中药现代化科技产业研究开发专项[黔科合社字(2010) 5019],贵州省社会发展攻关计划[黔科合 SY(2010) 3046 号],贵州省科技厅科技计划[黔科合计工字(2009) 4001],贵阳医学院科研项目基金资助项目 (2009)54,贵州省科技厅攻关计划黔科合 GY 字(2008)3028。

**通讯作者 E-mail:gywyl@gmc.edu.cn

Px)水平,抑制活性氧(Reactive oxygen species, ROS)的产生,显著改善海马区神经元的形态,减轻脑组织的过氧化损伤,从而对神经退行性疾病的治疗具有重要价值[1,2]。但是灯盏乙素临床应用中出现的水溶性差(0.056 mg/mL)、口服生物利用度低(0.4%)使其推广应用受到较大限制[3,4]。灯盏乙素体内真正的吸收与药效形式是灯盏乙素苷元[Scutellarein,图1(2)],但灯盏乙素苷元存在绝对生物利用度低(7% in rats),不易透肠吸收、水溶性差、稳定性差、消除半衰期短等缺陷[5,6]。报道显示,以中药的活性成分为先导化合物进行结构改造和发现新药是目前药物化学研究的热点,以灯盏乙素苷元为先导化合物,设计、合成新的灯盏乙素苷元衍生物的研究迅速发展[7~9],但未见其理化性质以及对氧化损伤的细胞保护方面的报道,本研究以灯盏乙素苷元为先导化合物进行结构修饰,在苷元结构的4′-位引入在胃肠道内稳定、而在血浆内能通过酶促降解迅速释放出原药,从而发挥较高的生物活性的*N*,*N*-双取代氨甲基苯甲酸结构片段,设计、合成灯盏乙素苷元4′-*N*,*N*双取代氨甲基苯甲酸醚类衍生物[图1(3)],以期达到改善其理化性质与提高抗氧化活性的目的[10]。

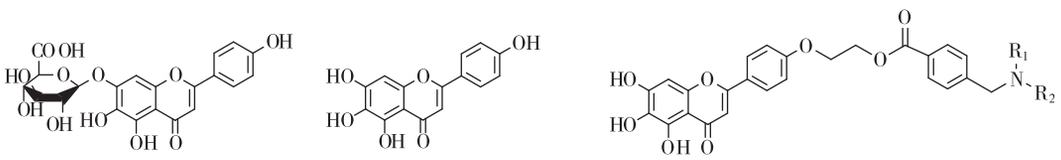


图1 灯盏乙素,灯盏乙素苷元及灯盏乙素苷元4′-*N*,*N*-双取代氨甲基苯甲酸醚衍生物结构

Fig. 1 Structures of seutellarein, seutellarein aglycone, and 4′-*N*, *N*-bis-substituted aminomethylation benzoate ether derivatives of scutellarein aglycone

1 材料与方法

1.1 材料

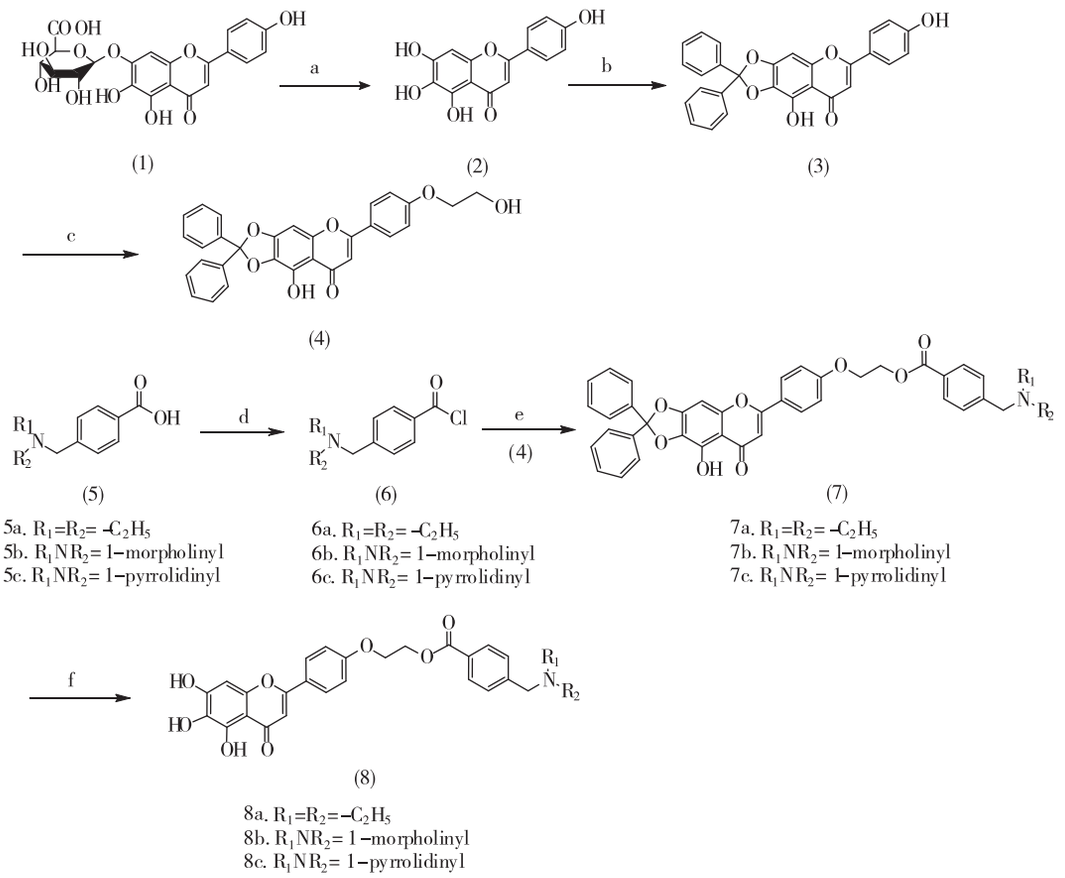
核磁共振用 Varian Mercury 400 型核磁共振仪,TMS 内标;质谱用 Waters ACQUITY TQD system 高效液相色谱-质谱联用仪测定;LC-10AVP 高效液相色谱仪(Shimadzu,Japan)测定,色谱柱 Hedera ODS-2(4.6 mm×250 mm,5μm)。灯盏乙素(以灯盏细辛药材为原料提取,HPLC 纯度90%)、4-氯甲基苯甲酸、二氯二苯甲烷(南京康满林化工有限公司)、DMAP、DEME、二乙胺、苄胺、吗啉、吡咯、4-甲基哌嗪、哌啶均为分析纯(国药集团上海化学试剂有限公司)。分离用硅胶为200~300目,其余试剂为分析纯。

1.2 合成方法

见图2。灯盏乙素(1)为反应原料经过稀硫酸回流水解,冷置、抽滤,不溶物干燥后用溶剂提取,获得高纯度灯盏乙素苷元(2),所得物与二氯二苯甲烷经缩合反应,获得6,7-二苯缩酮保护灯盏乙素苷元(3)[11,12]。将(3)与等摩尔量的2-溴乙醇共置于干燥*N*,*N*-二甲基甲酰胺(DMF)中,加入催化量的1.8-二氮杂二环(5.4.0)十一稀-7(DBU),加热至80 ℃,反应6 h,反应体系蒸干,柱层析得缩酮保护灯盏乙素苷元4′-羟乙基醚(4)。将N-取代氨甲基苯甲酸(5a-c)与2倍摩尔数的草酰氯置于干燥处理的二氯甲烷中,室温搅拌反应4 h至酰氯反应完全后,蒸干体系,得到白色N-取代氨甲基苯甲酰氯(6a-c)。将(4)溶解于干燥氯仿中加入适量4 Å分子筛,后滴加含有6a-c的氯仿溶液,滴毕,体系50 ℃反应15 h,体系蒸出溶剂后,柱层析分离得到缩酮保护灯盏乙素苷元4′-*N*,*N*-双取代氨甲基苯甲酸醚类衍生物(7a-c)。所得产物经乙酰氯/甲醇体系在低温下(0~5 ℃)脱去二苯缩酮保护基得到目标化合物(8a-5c)[13,14]。合成化合物经^{1}H NMR, ESI-MS 结构鉴定表明合成的化合物与目标产物结构一致。灯盏乙素苷元4′-L-缬氨酸酯的制备如下。

1.2.1 灯盏乙素苷元(2)的制备 将灯盏乙素5 g溶于新配制的8%的硫酸溶液中,加热搅拌至回流,反应18 h,抽滤,将滤饼用蒸馏水洗涤至中性后,用丙酮溶解,60 ℃减压蒸出水分,后用丙酮提取3次,合并取上清液,提取液减压蒸除溶剂,残余物经硅胶柱层析分离纯化,洗脱剂(丙酮:石油醚=3:7,V/V)得灯盏乙素苷元,纯度97%(HPLC),见图2(2)。

1.2.2 6、7-二苯缩酮保护灯盏乙素苷元(3)的制备 将灯盏乙素苷元0.2 g(0.7 mmol/L)溶于



试剂及反应条件:a) 8% dilute sulfuric acid aqueous 90 ℃,20 h;b) diphenyl dichloromethane, DMAP, DEME, 170 ℃, 2 h; c) 2-bromoethanol, DBU, 80 ℃ 6 h; d) $(COCl)_2$, CH_2Cl_2, DMF(cat.)

图 2　灯盏乙素苷元 4′-*N*,*N*-双取代氨甲基苯甲酸醚类衍生物的合成路线

Fig. 2　The synthesis route of 4′-*N*, *N*-bis-substituted aminomethylation benzoate ether derivatives of scutellarein aglycone

10 ml 二甘醇二甲醚(DME)中,加入 DMAP 0.1 g (0.81 mmol/L),加入二氯二苯甲烷 0.49 g (21 mmol/L),180 ℃条件下,回流反应 2 h。溶剂减压蒸尽,残余物经硅胶柱层析分离洗脱剂(氯仿: 甲醇 =80∶1,V/V)得浅棕黄色粉末状固体目标产物,见图 2 (3)。

1.2.3　6、7-二苯缩酮保护缩酮保护灯盏乙素苷元 4′-羟丙基醚(4)的制备　6,7-缩酮保护灯盏乙素苷元(50 mg,0.11 mmol/L)用 5 ml DMF 溶解,置于 25 ml 茄型瓶中,搅拌,向反应体系中依次加入 3-溴-1 丙醇(15.33 mg,0.11 mmol/L)以及 0.05 ml 1.8-二氮杂二环(5.4.0)十一稀-7(DBU)作催化剂,体系加热至 80 ℃,反应 6 h,TLC 监测反应完全,将体系减压浓缩,以石油醚∶乙酸乙酯 =3∶7为洗脱剂,经硅胶柱层析纯化,得浅黄色蜡状目标化合物。

1.2.4　6、7-二苯缩酮保护灯盏乙素苷元 4′ -N,N-双二乙胺基取代氨甲基苯甲酸乙醚(7a)的制备　将 N,N-二乙胺基取代胺甲基苯甲酸(0.2 g,0.975 mmol/L)置于 25 ml 二颈瓶中,加入 5 ml 干燥处理过的二氯甲烷溶液,搅拌下加入草酰氯(150 μl, 1.7 mmol/L),室温反应 4 h 至酰氯生成完全后,减压蒸除溶剂,得到白色 N,N-二乙胺基取代氨甲基苯甲酰氯(6a)干燥密封备用。将 6,7-缩酮保护灯盏乙素苷元 4′-羟丙基醚(6 mg,0.012 mmol/L),用 5 ml 氯仿溶解至 25 ml 茄型瓶中,加入数粒 4 Å 分子筛,搅拌,向反应体系缓慢滴加二乙胺甲基苯甲酰氯(2.7 mg,0.012 mmol/L)的氯仿溶液 5 ml,加热至 50 ℃反应 15 h,TLC 监测反应完全,将反应体系过滤、浓缩,残余物以氯仿∶甲醇 = 40∶1为洗脱剂,硅胶柱层析分离得到淡黄色目标产物,见图 2 (7a)。6、7-二苯缩酮保护灯盏乙素苷元 4′ -吗啉甲基苯甲酸乙醚(7b)以及 6、7-二苯缩酮保护灯盏乙素苷元 4′-四氢吡咯甲基苯甲酸乙醚(7c)的合成

分别以吗啉甲基苯甲酸(6b),四氢吡咯甲基苯甲酸(6c)以及6、7-二苯缩酮保护灯盏乙素苷元为反应原料,按照化合物7a的制备方法合成。

1.2.5 灯盏乙素苷元4′-*N*,*N*-双二乙胺基取代氨甲基苯甲酸乙醚(8a)的制备 冰盐浴条件下,依次将甲醇(27 μl,667 μmol/L)和乙酰氯(39 μl,556 μmol/L)加入到2 ml的乙酸乙酯中,保持冰盐浴搅拌反应3 h,将之前得到的二苯缩酮保护灯盏乙素苷元4′-*N*,*N*-双二乙胺基取代氨甲基苯甲酸醚类衍生物(7a)(30.6 mg,55.6 μmol/L)溶于1.5 ml乙酸乙酯后,加至上述反应体系中,继续保持冰盐浴反应2 h后,逐渐将反应温度升至室温,反应12 h,有橘黄色沉淀附壁,反应体系经超声、离心后,所得沉淀用乙酸乙酯洗涤三次得橘黄色油状目标产物。灯盏乙素苷元4′-吗啉甲基苯甲酸乙醚(8b)灯盏乙素苷元4′-四氢吡咯甲基苯甲酸(8c)的制备,按照化合物8a的方法合成。

2 结果

2.1 6、7-二苯缩酮保护灯盏乙素苷元(3)

浅棕黄色粉末状固体0.22 g,mp 250 ~ 252 ℃。^{1}H NMR (DMSO-*d*6, 400 MHz) δ: 12.57(brs, 1H, 5-OH),10.41(brs, 1H, 4′-OH),7.92(d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar'-$H_{3,5}$),7.56 ~ 7.53(m, 4H, Ph-*H*),7.46 ~ 7.44(m, 6H, Ph-*H*),7.04(s, 1H, Ar-H_8),6.90(d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar'-$H_{2,6}$),6.83(s, 1H, Ar-H_3);ESI-MS(*m/z*): 449.1 [M-H]$^-$。

2.2 6、7-二苯缩酮保护缩酮保护灯盏乙素苷元4′-羟乙基醚(4)

浅黄色蜡状半固体20 mg,收率53%。^{1}H NMR (DMSO-*d*6, 400 MHz) δ: 12.55(brs, 1H, 5-OH),7.92(d, *J* =8.8 Hz, 2H, Ar'-$H_{3,5}$),7.55 ~ 7.52(m, 4H, Ph-*H*),7.46 ~ 7.43(m, 6H, Ph-*H*),7.03(s, 1H, Ar-H_8),6.91(d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar'-$H_{2,6}$),6.81(s, 1H, Ar-H_3),4.51(t, *J* = 7.2 Hz, 2H, OCH_2CH_2OH),3.74(m, 2H, CH_2OH);ESI-MS (*m/z*):493.2 [M-H]$^-$。

2.3 6、7-二苯缩酮保护灯盏乙素苷元4′-N,N-双二乙胺基取代氨甲基苯甲酸乙醚(7a)

黄色油状物12 mg,收率为51.2%。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12.74(brs, 1H, 5-OH),8.36(brs, 1H, 6-OH),8.09 ~ 8.03(m, 4H, Ar'-$H_{3,5}$, Ar''-$H_{3,5}$),7.74(d, *J* = 8.8Hz, 2H, Ar'-$H_{2,6}$),7.18(d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar''-$H_{2,6}$),6.85(s, 1H, Ar-H_8),6.62(s, 1H, Ar-H_3),4.67(t, *J* = 6.0 Hz, 2H, Ar'-OCH_2),4.48(s, 2H, Ar''-CH_2N),4.38(t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_2OCO),3.18 ~3.05(m, 4H, 2 × NCH_2CH_3),1.21(t, *J* = 7.6 Hz, 6H, 2 × CH_3);ESI-MS (*m/z*):682.2 [M-H]$^-$。

2.4 灯盏乙素苷元4′-二乙胺甲基苯甲酸乙醚(8a)

黄色油状目标化合物,收率41.9%。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12.74(brs, 1H, 5-OH),8.36(brs, 1H, 6-OH),8.09 ~ 8.03(m, 4H, Ar'-$H_{3,5}$, Ar''-$H_{3,5}$),7.74(d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar'-$H_{2,6}$),7.18(d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar''-$H_{2,6}$),6.85(s, 1H, Ar-H_8),6.62(s, 1H, Ar-H_3),4.67(t, *J* = 6.0Hz, 2H, Ar'-OCH_2),4.48(s, 2H, Ar''-CH_2N),4.38(t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_2OCO),3.18 ~3.05(m, 4H, 2 × NCH_2CH_3),1.21(t, *J* = 7.6 Hz, 6H, 2 × CH_3). ESI - MS(*m/z*): 520.2[M + H]$^+$。

2.5 灯盏乙素苷元4′-吗啉甲基苯甲酸乙醚(8b)

黄色油状目标化合物,收率33.6%。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12.65 (s,1H,5-OH),10.65(s,1H,7-OH),8.76(brs, 1H, 6-OH),8.02 ~7.98 (m, 4H, Ar'-$H_{3,5}$, Ar''-$H_{3,5}$),7.70(d, *J* = 8.0 Hz, 2H, Ar'-$H_{2,6}$),7.14(d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar''-$H_{2,6}$),6.81 (s,1H,Ar-H_8),6.58(s,1H, Ar-H_3), 4.63 (m, 2H, Ar'-OCH_2), 4.44 (s, 2H, $PhCH_2N$), 4.37 (m, 2H, CH_2OCO), 3.51 ~ 3.28 (m,4H, 2 × OCH_2CH_2), 3.26 ~ 3.13 (m,4H,2 × NCH_2CH_2);ESI - MS(*m/z*): 534.1[M + H]$^+$。

2.6 灯盏乙素苷元4′-四氢吡咯甲基苯甲酸乙醚(8c)

黄色油状目标化合物,收率45.5%。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12.72(brs, 1H, 5-OH),10.81(brs, 1H, 7-OH),9.16(brs, 1H, 6-OH),8.03 ~7.99(m, 4H, Ar'-$H_{3,5}$, Ar''-$H_{3,5}$),7.94(d, *J* = 8.4Hz, Ar'-$H_{2,6}$),7.16(d, *J* = 8.8Hz, Ar''-$H_{2,6}$),6.83(s, 1H, Ar-H_8),6.62(s, 1H, Ar-H_3),4.65(s, 2H, Ar''-CH_2N),4.20(m, 2H, Ar'-OCH_2),4.05 ~4.01(m, 2H, CH_2OCO),3.15 ~3.04(m, 4H, 2 × CH_2N),2.54 ~2.50 (m, 4H, 2 × CH_2N),1.89 ~ 1.83(m, 4H, 2 × NCH_2CH_2);

ESI - MS(m/z)：518.1[M + H]$^+$。

3　讨论

6、7-二苯缩酮保护灯盏乙素苷元 4′-*N*,*N*-双取代氨甲基苯甲酸乙醚(7a-c)的制备中,若采用缩酮保护灯盏乙素苷元与 *N*,*N*-双取代氨甲基苯甲酸 2-溴乙基酯缩合反应制备,则化合物 7a-c 收率仅 5% ~20%,这可能是由于灯盏乙素苷元的 4′-羟基亲核性较弱,并且两个反应物结构片段的空间位阻较大,发生正向碰撞的几率较低,导致反应很难进行。将条件改为 4′-*N*,*N*-双取代氨甲基苯甲酰氯与 6、7-二苯缩酮保护灯盏乙素苷元 4′-羟乙基醚缩合时,7a-c 收率明显增加(45% ~57%)并且副产物减少。缚酸剂的选择上采用 1.8-二氮杂二环(5.4.0)十一稀-7(DBU)时制备化合物的收率高于用其它缚酸剂,如三乙胺、4-二甲氨基吡啶等。6、7-二苯缩酮保护灯盏乙素苷元 4′-N,N-双取代氨甲基苯甲酸乙醚脱保护基获得最终产物时,选择乙酰氯/甲醇体系低温下反应能有效脱去二苯缩酮基,若采用其它脱保护试剂如三氟乙酸,85%磷酸则目标化合物收率明显降低,杂质增加。

4　参考文献

[1] Liu H, Yang XL, Wang Y, et al. Protective effects of scutellarin on supero xide- induced oxidative stress in rat cortical synaptosomes [J]. Acta Pharmacol Sin, 2003 (24): 1113 - 1117.

[2] Chen XX, He B. Effects of breviscapine on the changes in antioxid ant enzyme activity induced by cerebral ischemia reperfusion in rats [J]. J Chin Pharm Sci, 1998(7): 91 - 93.

[3] Xu QY, Li XX. Influence of DZXX injection on blood viscosity in patients with high blood viscosity[J]. New Drugs Clin Rem, 1995(14): 233.

[4] Cao F, Guo JX, Ping QN, et al. Prodrugs of scutellarin: Ethyl, benzyl and N, N-diethylglycolamide ester synthesis, physicochemical properties, intestinal metabolism and oral bioavailability in the rats[J]. Eur J Pharm Sci, 2006(29): 385 - 393.

[5] Ge QH, Zhou Z, Zhi XJ, et al. Pharmacokinetics and absolute bioavailability of breviscapine in beagle dogs[J]. Chi J Pharm, 2003(34): 618 - 620.

[6] Birger B, Nielsen CU, Steffansen B, et al. Transport of Peptidomimetic Drugs by the intestinal di/tri-peptide transporter PepT1 [J]. Pharmacol Toxicol, 2002(90): 285 - 296.

[7] 邓勇. 灯盏乙素苷元氨基甲酸酯类衍生物、其制备方法和用途:中国 CN101337956A [P]. 2009 - 01 - 07.

[8] 邓勇. 一种野黄芩苷元衍生物、其制备方法和用途:中国 CN101337957A[P]. 2009 - 01 - 07.

[9] 唐于平. 灯盏乙素苷元衍生物及其制备方法和其应用:中国 CN101891728A[P]. 2010 - 11 - 24.

[10] Fu XZ, Xing FJ, Lan, YY, et al. Synthesis and in vitro Anti-oxidative Activity Studies of 4′-N-Substituted (Aminomethyl) Benzoate Derivatives of Scutellarein [J]. Chinese J Org Chem, 2011(7):1043 - 1048.

[11] Che QM. A method for preparation of scutellarein CN, 1683357A [P]. 2005 - 10 - 19.

[12] Chen ZW, Hu YZ, Wu HH, et al. Synthesis and vasorelaxation action of flavonoid[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2005 (40): 1001 - 1007.

[13] Li D, Yang HS, Xie LG, et al. Synthesis of N-[2-(1H-Indol-3-yl) ethyl]-2-acetyl thiazole-4-caboxamide and its analogues [J]. Chinese J Org Chem, 2010 (30): 238 - 243.

[14] Abu T. Khan, Ejabul Mondal. A highly efficient and useful synthetic protocol for the cleavage of tert-butyldimethylsilyl (TBS) ethers using a catalytic amount of acetyl chloride in dry methanol [J]. Synlett 2003(5): 694 - 698.

(2011 - 07 - 22 收稿,2011 - 09 - 07 修回)