

# 藁本内酯二聚体的合成工艺研究<sup>Δ</sup>

汪程远<sup>1,2\*</sup>, 谭月晗<sup>2</sup>, 张 燕<sup>2</sup>, 王元忠<sup>2</sup>(1.重庆工商大学催化与功能有机分子重庆市重点实验室/天然药物重庆高校市级重点实验室, 重庆 400067; 2.重庆利莫里亚生物科技有限公司, 重庆 400060)

中图分类号 R914.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)28-3923-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.28.12

**摘 要** 目的:研究藁本内酯二聚体(化合物 I)的全合成工艺。方法:以邻苯二甲酸酐(化合物 II)为原料,经硼氢化钠还原得到苯酐(化合物 III)后经 4 步反应得到藁本内酯二聚体,经质谱、核磁共振氢谱(<sup>1</sup>H-NMR)和核磁共振碳谱(<sup>13</sup>C-NMR)进行表征。以催化剂、反应温度、反应时间为因素,收率为指标,采用正交试验优化第 5 步合成工艺,并进行验证。结果:第 5 步的最优合成工艺为在 2% 三氯化铝的催化下以温度 150 ℃ 反应 5 h。成功合成目标产物,验证试验平均收率为 56.16% (RSD=1.23%, n=3);总的反应产率为 24.4%,得到目标产物的纯度为 99.4%。结论:成功合成藁本内酯二聚体,且本合成工艺稳定、质量可控。

**关键词** 藁本内酯;藁本内酯二聚体;合成;正交试验

## Research on Synthesis Technology of Ligustilide Dipolymer

WANG Cheng-yuan<sup>1,2</sup>, TAN Yue-han<sup>2</sup>, ZHANG Yan<sup>2</sup>, WANG Yuan-zhong<sup>2</sup>(1.Key Lab of Catalytic and Functional Organic Molecules, Chongqing Technology and Business University/Chongqing College Key Lab of Natural Drugs, Chongqing 400067, China; 2.Chongqing Lemuria Biological Technology Co., Ltd., Chongqing 400060, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the synthesis technology of Ligustilide dipolymer (compound I). METHODS: Using phthalic anhydride (compound II) as raw materials, sodium borohydride was reduced to phthalide (compound III), and then synthesize ligustilide dipolymer after 4 steps. Ligustilide dipolymer was characterized by <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR. The synthesis technology of fifth step was optimized by orthogonal test with catalyzer, reaction temperature and reaction time as factors using yield as index. The validation test was conducted. RESULTS: The optimal synthesis technology of fifth step was as follows as aluminium muriate of catalyzer, reaction temperature of 150 ℃, reaction time of 5 h. The average yield of validation test was 56.16% (RSD=1.23%, n=3). Total reaction yield was 24.4%, and the purity of target product was 99.4%. CONCLUSIONS: Ligustilide dipolymer is synthesized successfully; synthetic process is stable, and its quality is controllable.

**KEYWORDS** Ligustilide; Ligustilide dipolymer; Synthesis; Orthogonal test

藁本内酯(化合物 VI)是当归、川芎挥发油中的主要有效成分。大量药理研究报道其具有减少节律性收缩,使子宫松弛;通过降低心机的兴奋性,对心房纤维震颤起治疗作用并控制心脏的收缩幅度及频率;还有镇痛、抗炎、降血压、降血脂、防止动脉病变等功效<sup>[1-5]</sup>。但化合物 VI 的稳定性较差<sup>[6-7]</sup>,极大地制约了其进一步的研究开发。藁本内酯二聚体(化合物 I)不但保持化合物 VI 原有的某些生物活性<sup>[8-10]</sup>,且稳定性比化合物 VI 高,具有广阔的医药前景,但目前国内对化合物 I 的报道比较少。

本文参考文献[11-14],以邻苯二甲酸酐(化合物 II)为起始原料,通过硼氢化钠还原得到苯酐(化合物 III),化合物 III 经三步反应后得到化合物 VI,然后化合物 VI 在氩气保护下经高温反应 5 h,最终得到了化合物 I。化合物 I 的合成路线见图 1。

## 1 材料

### 1.1 仪器

HD-1733 型暗箱式紫外观察仪(北京杰瑞恒达科技有限公司);Agilent 1260 型液相色谱仪、Agilent 600MHz DD2 核磁共

[8] 夏颖,殷志爽,石晨,等.白芍提取物及其有效成分抗氧化活性的研究[J].首都医科大学学报,2013,34(1):120.

[9] Mensor LL, Menezes FS, Leitao GG, et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method[J]. *Phytother Res*, 2001, 15

Δ 基金项目:重庆高校优秀成果转化资助重大项目(No.KJ-ZH14105);重庆高校创新团队建设计划(No.KJTD201314)

\* 副研究员,博士。研究方向:中药新药新产品开发。E-mail: chyuanyang@163.com

(2):127.

[10] 刘志东,郭本恒,王荫榆.抗氧化活性检测方法的研究进展[J].天然产物研究与开发,2008,20(3):563.

[11] 于海平,孔祥密,施余杰,等.荆条花不同提取物抗氧化活性的比较研究[J].中国药房,2013,24(39):3 672.

[12] 曹玉娜,宋志前,魏征,等.抗氧化剂的抗氧化活性测定方法研究进展[J].中国药房,2013,24(1):86.

(收稿日期:2015-03-03 修回日期:2015-04-09)

(编辑:林 静)

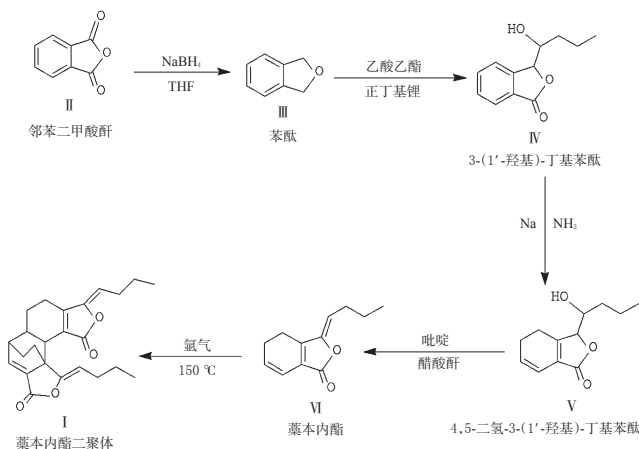


图1 藜本内酯二聚体的合成路线

Fig 1 The synthesis route of ligustilide dipolymer

振仪(‘H-NMR)[安捷伦科技(中国)有限公司];HKG-9055A型电热恒温干燥箱(广东环凯微生物科技有限公司);AL-204型电子天平(瑞士梅特勒托利多公司);LCMC-2020型质谱仪(日本岛津公司)。

## 1.2 药品与试剂

化合物 II (分析纯,纯度:99%)、二异丙胺(色谱纯,纯度:≥99.5%)、甲磺酰氯(分析纯,纯度:≥97%)、正丁醛(分析纯,纯度:98%)、三氯化铝、异丙醇铝、氯化亚铜购于阿拉丁试剂公司;吡啶、异丙醇、四氢呋喃、甲醇、异丙醇、石油醚、乙酸乙酯均为分析纯,购于川东化工集团。

## 2 方法

### 2.1 化合物 III 的合成

氩气保护下将化合物 II 32.1 g (0.22 mol) 用 200 ml 无水四氢呋喃(THF)溶解,冰盐浴(-10 °C)条件下缓慢加入硼氢化钠(NaBH<sub>4</sub>)5.1 g (0.22 mol),反应温度控制在-10 °C左右;搅拌 10 min 后缓慢补加 NaBH<sub>4</sub> 10.0 g (0.44 mol),反应温度控制在-10 °C左右;继续低温反应 30 min 后转移至室温反应 6 h 后,将反应液缓慢倒入 0 °C 冰水中淬灭反应。以 1.0 mol/L 的盐酸调 pH 至 1~2,温度控制在 0 °C 继续搅拌 40 min,反应液中析出白色固体。过滤后滤饼减压烘干得白色固体 26.9 g,收率为 91.2% (文献收率 88.2%<sup>[11]</sup>),色谱纯度为 98.8%,熔点(mp)为 71~72 °C (文献 mp 70~72 °C<sup>[11]</sup>),电喷雾质谱(ESI-MS), *m/z*:135.1[M+H]<sup>+</sup>。

### 2.2 化合物 IV 的合成

氩气保护下将二异丙胺 15.2 g (0.15 mol) 用 200 ml 无水 THF 溶解,液氮丙酮浴降温至-78 °C 的条件下缓慢滴加 5.5 ml 2.7 mol/L (0.15 mol) 正丁基锂,反应温度控制在-78 °C 左右;搅拌反应 10 min 后缓慢滴加化合物 III 13.4 g (0.10 mol) 的干燥 THF 溶液 200 ml,约 1 h 滴加完成,反应温度控制在-78 °C;继续反应 2 h 后缓慢滴加正丁醛 14 ml (0.15 mol),约 15 min 滴加完成;继续反应 30 min 后向反应液中加入 80 ml 水淬灭反应,升温至室温后浓缩除去有机溶剂。以 1.0 mol/L 的盐酸调 pH 至 3~4,用乙酸乙酯 300 ml×3 次萃取,合并有机相,无水硫酸镁干燥 1 h。过滤后真空浓缩,得黄色的油状物 20.1 g,收率为 97.5% (文献收率 96%<sup>[12]</sup>),色谱纯度为 97.6%,ESI-MS, *m/z*:207.2[M+H]<sup>+</sup>。

### 2.3 化合物 V 的合成

氩气保护下将化合物 IV 20.1 g (0.097 mol) 用 20 ml 无水 THF 和 1.2 L 液氮溶解,液氮丙酮浴降温至-78 °C 的条件下滴加异丙醇 29.1 g (0.49 mol),然后缓慢加入切碎的钠 33.4 g (1.45 mol),保持该温度反应 8 h;缓慢加入氯化铵固体至深蓝色完全褪去为止;缓慢滴加 1 L 水,约 1 h 滴加完成,升温至室温后浓缩除去 NH<sub>3</sub>。以 1.0 mol/L 的盐酸调 pH 至 1,用石油醚 500 ml×3 次萃取,合并有机相,用饱和氯化钠溶液洗至中性,无水硫酸镁干燥 1 h。过滤后真空浓缩,得棕黄色的油状物 14.9 g,收率为 74.3% (文献收率 68%<sup>[12]</sup>),色谱纯度为 95.3%,ESI-MS, *m/z*:209.1[M+H]<sup>+</sup>。

### 2.4 化合物 VI 的合成

避光和氩气保护下取化合物 V 14.9 g (0.071 mol),冰盐浴降温至-10 °C 的条件下滴加 200 ml 吡啶和 75 ml 醋酸酐;滴加完成后搅拌 30 min,缓慢滴加甲磺酰氯 12 ml (0.152 mol);滴加完毕后回流反应 90 min,降温至 0 °C。以 1.0 mol/L 的盐酸调 pH 至 2,用石油醚 300 ml×3 次萃取,合并有机相,用饱和氯化钠溶液洗至中性,无水硫酸镁干燥 1 h。过滤后真空浓缩,得棕黄色的油状物 8.9 g,收率为 65.9% (文献收率 59%<sup>[12]</sup>),色谱纯度为 98.3%,ESI-MS, *m/z*:191.1[M+H]<sup>+</sup>。

### 2.5 化合物 I 的合成

将化合物 VI 8.9 g (0.05 mol) 加入圆底烧瓶中,加入 2% 三氯化铝 0.2 g,往烧瓶中充入氩气,避光,排尽空气。反应温度升至 150 °C 开始计时,保温反应 5 h。反应完成后持续通入氩气至冷却到室温。将反应物用 80~100 目硅胶拌样后装入硅胶柱中,分别先后用石油醚-乙酸乙酯(10:1 和 5:1)依次梯度洗脱,分段收集。将收集的洗脱液用 HF254 硅胶板点样,用石油醚-乙酸乙酯(9:1)为展开剂,于展开缸中展开,在紫外 254、365 nm 波长下显色后观察结果。合并具有相同斑点的洗脱液,用旋转蒸发仪浓缩得到分离粗样品。将粗分离样品加入甲醇中溶解重结晶,过滤,用甲醇洗涤,烘干,得提纯样品 4.9 g,色谱纯度为 99.4%,收率为 56.1%。

### 2.6 化合物 I 的结构表征

化合物 I 经质谱(MS)、『H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 鉴定,结果 MS: 381[M+H]<sup>+</sup> (*m/z*);『H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ0.92 (3H, t, 7.5 Hz), 0.93 (3H, t, 7.5 Hz), 1.29 (2H, dd, J=7.0、7.5 Hz), 1.35 (2H, q, J=7.5 Hz), 1.42 (2H, q, J=7.5 Hz), 1.62 (4H, m), 1.87 (2H, m), 2.16 (2H, m), 2.28 (2H, ddd, J=7.8、7.8、2.2 Hz), 2.54 (1H, dd, J=7.5、7.5 Hz), 2.59 (1H, dd, J=8.4、6.8 Hz), 2.69 (1H, ddd, J=7.0、2.4、2.0 Hz), 2.97 (1H, ddd, J=8.4、6.3、6.0 Hz), 3.24 (1H, d, J=9.0 Hz), 5.09 (1H, t, J=7.8 Hz), 6.98 (1H, d, J=7.0 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ168.3, 147.9, 154.9, 19.6, 28.8, 38.1, 41.4, 126.4, 112.0, 27.8, 22.2, 13.9, 164.8, 150.4, 47.4, 30.8, 25.6, 41.4, 142.1, 133.9, 108.4, 27.3, 22.1, 13.7。与目标产物文献[13-17]报道的相同,证明合成得到的是目标产物。

### 2.7 化合物 I 合成条件优化

经过预试验发现,反应温度、反应时间、催化剂对化合物 I 的合成均有影响,因此以化合物 I 收率为指标,以反应时间(A)、反应温度(B)和催化剂的种类(C)为因素,利用 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) 正交表设计试验优化合成条件。因素与水平见表 1,正交试验安

排与结果见表2,方差分析结果见表3。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

| 水平 | 因素   |       |        |
|----|------|-------|--------|
|    | A, h | B, °C | C      |
| 1  | 4    | 120   | 2%异丙醇铝 |
| 2  | 5    | 150   | 2%氯化亚铜 |
| 3  | 6    | 180   | 2%三氯化铝 |

表2 正交试验安排与结果

Tab 2 Design and results of orthogonal tests

| 编号    | A      | B      | C      | 收率, % |
|-------|--------|--------|--------|-------|
| 1     | 1      | 1      | 1      | 36.31 |
| 2     | 1      | 2      | 2      | 50.99 |
| 3     | 1      | 3      | 3      | 48.55 |
| 4     | 2      | 1      | 2      | 41.41 |
| 5     | 2      | 2      | 3      | 56.78 |
| 6     | 2      | 3      | 1      | 40.58 |
| 7     | 3      | 1      | 3      | 44.88 |
| 8     | 3      | 2      | 1      | 41.61 |
| 9     | 3      | 3      | 2      | 47.66 |
| $K_1$ | 135.85 | 122.60 | 118.50 |       |
| $K_2$ | 138.77 | 149.38 | 140.05 |       |
| $K_3$ | 134.15 | 136.79 | 150.22 |       |
| R     | 1.54   | 8.93   | 10.57  |       |

表3 方差分析结果

Tab 3 Analysis results of variance

| 方差来源 | 离均差平方和 | 自由度 | 均方    | F     | P     |
|------|--------|-----|-------|-------|-------|
| A    | 3.64   | 2   | 1.82  | 0.25  | >0.05 |
| B    | 120.26 | 2   | 60.13 | 8.56  | >0.05 |
| C    | 174.88 | 2   | 87.44 | 12.45 | >0.05 |
| 误差   | 14.04  | 2   | 7.02  |       |       |

由表2和表3结果可知,影响化合物I收率的主次因素为C>B>A,最优合成条件为A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>,即用化合物VI以2%三氯化铝的催化下在150℃反应5h为最佳合成工艺。按最优合成条件合成化合物I,试验重复3次。验证试验结果显示,化合物I的平均含量为58.41%,平均收率为56.16%,RSD=1.23%(n=3),表明该合成条件产率较高、重现性佳。

### 3 讨论

本合成路线运用化合物II为原料成功合成了化合物I,总的反应产率为24.4%,纯度为99.4%。本试验对用化合物VI合成化合物I的最优合成条件进行了3批验证试验,结果表明,化合物VI以2%三氯化铝的催化下在150℃反应5h为最佳合成工艺。

参考文献[18-19]上常用的分离方法是常压或加压硅胶柱层析法,其耗时长、分离效果低、耗试剂量多。本试验采用减压硅胶柱层析来分离,结果发现此方法方便、快捷、有效,且其具有分离效果好、分离时间短、节约溶剂用量、处理量大、操作方便、装置简单安全等优点。因此采用减压硅胶柱层析法适合用于化合物I的分离,比常压和加压分离的效率更高。

### 参考文献

[1] 夏泉,张平,李绍平,等.当归的药理作用研究进展[J].时

珍国医药,2004,15(3):164.

[2] 李曦,张丽宏,王晓晓,等.当归化学成分及药理作用研究进展[J].中药材,2013,36(6):1023.

[3] 林乔,赵爱国,陈建南,等.藁本内酯的镇痛抗炎作用[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(11):165.

[4] 左爱华,王莉,肖红斌.藁本内酯药理学和药代动力学研究进展[J].中国中药杂志,2012,37(22):3350.

[5] Wu YC, Hsieh CL. Pharmacological effects of Radix Angelica Sinensis (Danggui) on cerebral infarction[J]. *Chin Med*, 2011, doi:10.1186/1749-8546-6-32.

[6] 李桂生,马成俊,李香玉,等.藁本内酯的稳定性研究及异构化产物的GC-MS分析[J].中草药,2000,31(6):405.

[7] 汪程远,尹君.藁本内酯稳定剂的研制及稳定性考察[J].中国药房,2012,23(35):3294.

[8] 刘庆山,李韶菁,路新华,等.抑制谷胱甘肽S-转移酶活性的化合物、其制备方法、其应用:中国,200810008038.8[P].2008-03-04.

[9] 杨鹏远,张卫东,芮耀斌,等.藁本内酯用于防治动脉粥样硬化的用途:中国,200310108859.6[P].2003-11-25.

[10] Lim LS, Shen P, Gong YH, et al. Dimeric progestins from rhizomes of Ligusticum chuanxiong[J]. *Phytochemistry*, 2006,67(7):728.

[11] 冯德日,汪亚伦,师秀艳.苯酐-3-羧酸合成工艺的改进[J].精细化工,2014,31(6):784.

[12] 赵志刚,邵太丽,金丹,等.三步反应合成藁本内酯研究[J].应用化工,2012,41(5):916.

[13] 李绍白,王志伟,方小平,等.藁本内酯的合成方法:中国,92111278.5[P].1992-09-30.

[14] Rios MY, Delgado G, Toscano RA. Chemical reactivity of phthalides. Relay synthesis of diligustilide, rel-(3' R)-3', 8'-dihydrodiligustilide and wallichilide[J]. *Tetrahedron*, 1998,54(5):3355.

[15] Rios MY, Delgado G, Espinosa-Pérez G. Base-catalyzed intramolecular condensations of diligustilide[J]. *Tetrahedron Letters*, 1998,39(23):6605.

[16] León A, Chávez MI, Delgado G. <sup>1</sup>H and DOSY NMR spectroscopy analysis of Ligusticum porteri rhizome extracts[J]. *Magn Reson Chem*, 2011,49(8):469.

[17] 郝淑娟,张振学,田洋,等.川芎化学成分研究[J].中国现代中药,2010,12(3):22.

[18] 钱敏,石力夫,高丽红,等.川芎挥发油中藁本内酯的制备分离[J].药学服务与研究,2008,8(5):355.

[19] 程媛媛,杨传彬,赵佳,等.硝酸银改性硅胶柱色谱法纯化川芎精油中的藁本内酯[J].中国现代应用药学,2014,31(5):552.

(收稿日期:2014-11-25 修回日期:2015-01-12)

(编辑:邹丽娟)