

(1*R*,2*R*)-1,2-环己烷二甲醇二甲磺酸酯的合成

王大果^{1*}, 陈年根², 邝少轶²(1.深圳市人民医院药理学部, 广东深圳 518020; 2.海南医学院药学院, 海口 571101)

中图分类号 R914.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)29-2713-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.29.10

摘要 目的:合成(1*R*,2*R*)-1,2-环己烷二甲醇二甲磺酸酯(化合物1)。方法:以(±)-反式-4-环己烯-1,2-二甲酸(化合物2)为原料,经钯碳还原、(*R*)-1-苯乙胺拆分、在甲醇中与氯化亚砷反应、硼氢化钠-无水氯化锂还原、甲基磺酰氯反应得到目标化合物,并进行核磁共振(¹H-NMR)或质谱(MS)表征。以(1*R*,2*R*)-1,2-环己烷二甲酸(化合物4)/氯化亚砷的投料比、反应温度和时间对酰化反应进行优化,以化合物4/硼氢化钠/无水氯化锂的投料比、反应温度和时间、溶剂对酯还原反应进行优化,筛选(1*R*,2*R*)-1,2-环己烷二甲醇(化合物5)的合成条件。结果:表征确证目标化合物为化合物1,总收率为27.9%,纯度>99%。化合物5的合成中,酰化反应条件为化合物4/氯化亚砷投料比为1.0:2.2,反应温度为65℃,反应时间为2h;酯还原反应条件为化合物4/硼氢化钾/无水氯化锂投料比为1.0:3.0:3.0,反应温度为20~30℃,反应时间为24h,溶剂为四氢呋喃。结论:所建立的反应条件温和、操作简便易行,各步原料价格低廉。

关键词 (1*R*,2*R*)-1,2-环己烷二甲醇二甲磺酸酯;拆分;合成

Synthesis of (1*R*,2*R*)-1,2-dimethyl Cyclohexane Dimethanol Sulfonate

WANG Da-guo¹, CHEN Nian-gen², KUANG Shao-yi²(1.Dept. of Pharmacy, Shenzhen People's Hospital, Guangdong Shenzhen 518020, China; 2.College of Pharmacy, Hainan Medical College, Haikou 571101, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To synthesize (1*R*,2*R*)-1,2-dimethyl cyclohexane dimethanol sulfonate (compound 1). METHODS: The target compound was synthesized from trans-4-cyclohexene-1,2-dicarboxylic acid (compound 2), through reduced by Pd/C, separated by (*R*)-1-phenethylamine, reacted with thionyl chloride in methanol, reduced by sodium borohydride-anhydrous lithium chloride and then reacted with methylsulfonyl chloride. The target compound was characterized by MS or ¹H-NMR. The acylation reaction was optimized by ratio of thionyl chloride to (1*R*,2*R*)-1,2-cyclohexane dicarboxylic acid (compound 4), reaction temperature and reaction time. The ester reduction reaction was optimized by ratio of compound 4 to sodium borohydride to anhydrous lithium chloride, reaction temperature and time, solvent. The synthesis condition was screened for (1*R*,2*R*)-1,2-cyclohexane dimethanol (compound 5). RESULTS: The target compound was confirmed as compound 1, with total yield of 27.9% and purity of 99%. The synthesis condition of compound 5 was as follows: acylation with ratio of compound 4 to thionyl chloride as 1.0:2.2, reaction temperature of 65℃, reaction time of 2h; ester reduction with ratio of compound 4 to potassium borohydride to anhydrous lithium chloride as 1.0:3.0:3.0, reaction temperature of 20-30℃, reaction time of 24h, solvent of diethylene oxide. CONCLUSIONS: The synthesis process is mild in reaction conditions and simple in operation. Raw materials of each step cost less.

KEY WORDS (1*R*,2*R*)-1,2-dimethyl cyclohexane dimethanol sulfonate; Resolution; Synthesis

盐酸鲁拉西酮(Lurasidone Hydrochloride),化学名为(3*aR*,4*S*,7*R*,7*aS*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-[4-(1,2-苯并异噻唑-3-基)哌嗪-1-基甲基]环己烷]六氢-4,7-亚甲基-1*H*-异吲哚-1,3(2*H*)-二酮酸盐,是一种非典型抗精神病药物。其对多巴胺D₂受体、5-羟色胺(5-HT)受体亚型如5-HT₇、5-HT_{2A}、5-HT_{1A}、5-HT_{2C}均具有高度亲和性。通过与其他抗精神病药物疗效比较发现,盐酸鲁拉西酮对于治疗有认知功能障碍的精神病患者有较好的疗效^[1-3]。

盐酸鲁拉西酮的合成中,(1*R*,2*R*)-1,2-环己烷二甲醇二甲磺酸酯(化合物1)是其中的1个关键中间体^[4]。有文献^[5]报道,化合物1的合成方法主要有两种:(1)以反式-1,2-环己烷二羧酸酐为原料,用氯化铝锂还原得反式-1,2-双(羟甲基)环己烷,还原物用甲基磺酰氯进行磺酰化得到化合物1;(2)以(1*R*,2*R*)-1,2-环己烷二甲酸(化合物4)为原料,用氯化铝锂还原得反式-1,2-双(羟甲基)环己烷,还原物用甲基磺酰氯进行磺酰化得化合物1。虽然上述两种方法简单易行,但均要用氯化铝锂,基于氯化铝锂的危险性,上述方法不适合工业化生产;且两种方法的原料

均较贵,合成成本高。笔者在参考文献^[5-10]方法的基础上,以(±)-反式-4-环己烯-1,2-二甲酸(化合物2)为原料,经还原、拆分、酯化、酯还原、磺酰化制备化合物1,合成路线见图1。

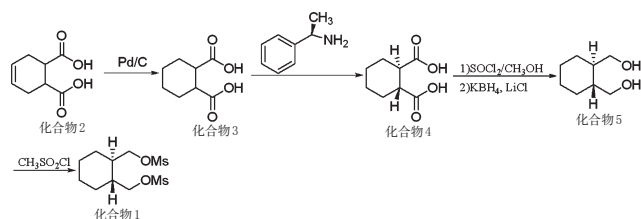


图1 化合物1的合成路线

Fig 1 Synthesis route of compound 1

1 材料

1.1 仪器

BS210S型电子天平(德国赛多利斯公司);WRS-1B数字熔点仪(上海精科物理光学仪器厂);Bruker-AV-400型核磁共振(¹H-NMR)仪(瑞士Bruker公司);WZZ-3自动旋光仪(上海精科物理光学仪器厂);API4000型质谱仪(美国AB公司)。

1.2 药品与试剂

* 副主任药师。研究方向:临床药理学。电话:0755-25533018-2963。E-mail:wangdaguo168@163.com

化合物2(上海乐济生化科技有限公司,批号:20100412,纯度:98%);钯碳(Pd/C,陕西瑞科催化剂有限公司,纯度:5%);(R)-1-苯乙胺(上海紫业化工有限公司,批号:20091217,纯度:99%);其余所用试剂均为市售分析纯。

2 方法与结果

2.1 (±)-反式-1, 2-环己烷二甲酸(化合物3)的合成

将42.5 g(0.25 mol)化合物2、5 g 5%钯碳、200 ml无水甲醇加入反应瓶,氢气置换3次,通氢气保持室温搅拌24 h,反应完毕;过滤,滤液旋干,加入石油醚室温搅拌打浆2 h,抽滤,40 °C真空干燥得类白色固体41.4 g,收率97.4%,熔点(mp)216~217 °C(文献^[5]:215~217 °C)。

2.2 化合物4的合成

取(R)-1-苯乙胺29.1 g(0.24 mol)、无水乙醇200 ml,降温至-15 °C,加入34.4 g(0.2 mol)化合物3,搅拌自然升温,升至室温析晶2 h,抽滤,淋洗,滤饼用无水乙醇和甲苯重结晶,室温析晶2 h,抽滤,淋洗,干燥得固体。

将上述固体溶于1 mol/L盐酸,搅拌0.5 h,用异丙醚萃取,无水硫酸钠干燥,抽滤,旋干,得类白色固体10.3 g,收率35.4%,mp 180~181 °C(文献^[4-7]:173~175 °C), $[\alpha]_D^{20} = -20.0^\circ$ (文献^[6-9]:-20.3°)。

2.3 (1R,2R)-1, 2-环己二甲醇(化合物5)的合成

取34.4 g(0.20 mol)化合物4、甲醇150 ml,冰浴冷却,滴加氯化亚砷52.4 g(0.44 mol),滴毕撤去冰浴,65 °C回流反应2 h,旋干,得残余物;再加入二氯甲烷200 ml,分液,有机相先用饱和碳酸氢钠洗涤,再用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,抽滤,蒸干,得残余物,加入四氢呋喃100 ml溶解备用。

取另一反应瓶,加入硼氢化钾32.4 g(0.6 mol)、无水氯化锂25.4 g(0.6 mol)、四氢呋喃500 ml,室温搅拌1 h,滴加上述溶液,温度为20~30 °C,滴毕,保温反应24 h;滴加稀盐酸100 ml,温度在20 °C以下,淬灭反应,调节pH约为4,二氯甲烷萃取,饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干,加入乙酸乙酯2 L析晶,抽滤,干燥,得类白色固体25.9 g,收率90%,mp 63.0~64 °C(文献^[6]:55~56 °C)。

2.4 化合物1的合成

取三口烧瓶,加入43.3 g(0.3 mol)化合物5、二氯甲烷300 ml、三乙胺30.3 g,温度为0~5 °C,滴加甲磺酰氯75.6 g(0.66 mol),滴毕,反应2 h,加水洗涤,先用饱和碳酸氢钠洗涤,再用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,抽滤,旋干,加入石油醚(200 ml)析晶,抽滤,干燥,得类白色固体81.1 g,收率90%,mp 83~86 °C。

2.5 结构表征

采用核磁共振(¹H-NMR)或质谱(MS)对“2.1”~“2.4”项下的合成产物进行结构表征。化合物3的表征结果显示,¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ:1.22(m, 4H), 1.70(m, 2H), 1.93(m, 2H), 2.35(m, 2H), 12.12(s, 2H, -COOH);质荷比(m/z):143.15[M-H]⁻。由于相对于化合物3,其他合成的化合物的结构无太大变化,故未进行MS表征。化合物4表征结果显示,¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ:1.21(d, 4H), 1.70(s, 2H), 1.93(d, 2H), 2.35(d, 2H), 12.12(s, 2H, -COOH)。化合物5表征结果显示,¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ:1.06(m, 2H), 1.14(m, 4H), 1.63(m, 4H), 3.26(m, 2H), 3.29(m, 2H), 4.36(m, 2H, -OH, 加重水消失)。化合物1表征结果显示,¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ:1.16(m, 4H), 1.68(m, 6H), 3.15(s, 6H, -CH₃), 4.16(m, 4H)。

2.6 反应条件的筛选

化合物5的合成分为两部分,首先是酸成酯,然后是酯再还原。由于化合物1的合成过程中化合物5的合成难度较大,现对其合成条件进行优化。

2.6.1 氯化亚砷对反应的影响。氯化亚砷可广泛用于各种羧酸的酰氯的制备,其反应操作比较简单,伴随酰氯化的同时,生成的二氧化硫和氯化氢均为气体,避免了杂质的引入。现以化合物4/氯化亚砷的投料比、反应时间和温度为影响因素,以化合物4的消耗情况为指标,综合考察其对酰化反应的影响,结果见表1。

表1 酰化反应结果

Tab 1 Results of acylation reaction

化合物4/氯化亚砷投料比	反应时间,h	反应温度,°C	化合物4的消耗情况
1.0:2.0	4	65	不完全
1.0:2.1	4	65	不完全
1.0:2.2	2	65	完全
1.0:2.4	2	65	完全

酰氯的合成成为吸热反应,低温对这种带有二羧酸的结构反应不利,故将温度提高至回流的65 °C。由表1可知,化合物4/氯化亚砷的投料比为1.0:2.0、1.0:2.1时,化合物4消耗不完全,即使延长了反应时间,化合物4的消耗情况也变化不大;化合物4/氯化亚砷的投料比为1.0:2.2、1.0:2.4时,化合物4消耗完全。综合考察成本,最终选择化合物4/氯化亚砷的投料比为1.0:2.2,反应时间为2 h,反应温度为65 °C。

2.6.2 硼氢化钾和无水氯化锂对酯还原反应的影响。硼氢化钾和硼氢化钾通常不能还原酯,是由于其为较温和的还原剂,还原能力较弱。为增强其还原性,常需要加入无机盐,常用的无机盐有氯化钙、氯化锂、三氯化铝和氯化锌等。加入氯化物后,因生成还原能力更强的硼氢化钙(锂、铝和锌等),从而提高酯还原的收率和速率。硼氢化钾/无水氯化锂还原体系可以用甲醇、乙醇、四氢呋喃、乙醚等作溶剂。试验中发现,其只有在醚类溶剂中效果较好,而由于乙醚的危险性,所以选择四氢呋喃为溶剂,以高收率得到产物。现以四氢呋喃为溶剂,化合物4/硼氢化钾/无水氯化锂的投料比、反应时间和温度为影响因素,以酯还原反应情况为指标,综合其考察对酯还原反应的影响,结果见表2(室温为20~30 °C)。

表2 酯还原反应结果

Tab 2 Results of ester reduction reaction

化合物4/硼氢化钾/无水氯化锂投料比	反应时间,h	反应温度	酯还原反应情况
1.0:1.0:1.0	24	室温至65 °C	不完全
1.0:2.0:2.0	24	室温至65 °C	不完全
1.0:3.0:3.0	24	室温	完全
1.0:4.0:4.0	24	室温	完全

由表2可知,酯还原反应与温度关系不大,综合考察成本,最终选择化合物4/硼氢化钾/无水氯化锂的投料比为1.0:3.0:3.0,反应时间为24 h,反应温度为室温(20~30 °C)。

3 讨论

以化合物2为起始原料,经钯碳还原、(R)-1-苯乙胺拆分、在甲醇中与氯化亚砷反应、硼氢化钾-无水氯化锂还原、甲磺酰氯反应,得到目标化合物。表征结果表明成功合成化合物1,总收率为27.9%,高效液相色谱法检测纯度>99%(面积归一化法)。

化合物3的拆分是以(R)-1-苯乙胺为拆分剂,在低温条件下拆分,本步骤的关键是拆分盐的重结晶溶剂选择和温度控制。

化合物1的合成中,反应为放热反应,需要注意的是温度的控制,以避免极性更小的杂质出现和颜色加深。

综上所述,本研究成功合成了化合物1,反应条件温和,操

他莫昔芬对肝癌 HepG2 细胞脂质代谢的影响

李霞*, 周望溪, 席美凤(湖南永州市中心医院北院药剂科, 湖南永州 425000)

中图分类号 R965;R979.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)29-2715-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.29.11

摘要 目的:研究他莫昔芬对肝癌 HepG2 细胞脂质代谢的影响。方法:体外培养 HepG2 细胞, MTT 法检测 0.5、1、5、15、30 $\mu\text{mol/L}$ 他莫昔芬对 HepG2 细胞增殖的影响;油红 O 染色检测 0.5、1、5 $\mu\text{mol/L}$ 他莫昔芬和 200 $\mu\text{mol/L}$ 棕榈酸(阳性对照)对 HepG2 细胞内脂质沉积的影响;荧光定量聚合酶链式反应法检测 5 $\mu\text{mol/L}$ 他莫昔芬对 HepG2 细胞内脂肪酸(FA)合成酶(FAS)、固醇调节元件结合蛋白 1c (Srebp-1c)、乙酰辅酶 A 羧化酶(ACC)的表达和 FA 氧化相关基因过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR- α)、解偶联蛋白 2(UCP-2)表达的影响;蛋白印迹法检测 5 $\mu\text{mol/L}$ 他莫昔芬对 HepG2 细胞内 ACC 蛋白表达及其磷酸化(P-ACC)水平的影响。以上检测结果均与空白对照组进行比较。结果:与空白对照组比较,0.5、1、5 $\mu\text{mol/L}$ 他莫昔芬对 HepG2 细胞增殖无明显影响($P>0.05$),15、30 $\mu\text{mol/L}$ 他莫昔芬能明显抑制 HepG2 细胞的增殖($P<0.05$);5 $\mu\text{mol/L}$ 他莫昔芬能明显增加细胞内脂质沉积,且与阳性对照相似,0.5、1 $\mu\text{mol/L}$ 他莫昔芬对细胞内脂质沉积无明显影响($P>0.05$);细胞内 FAS mRNA 表达明显增强,P-ACC 水平明显降低($P<0.05$),其余基因和蛋白表达无明显变化($P>0.05$)。结论:他莫昔芬能诱导 HepG2 细胞脂质沉积增加,可能与细胞内 P-ACC 水平降低、FAS mRNA 表达上调有关。

关键词 他莫昔芬;肝癌 HepG2 细胞;脂质沉积;脂肪酸合成

Effects of Tamoxifen on Lipid Metabolism of Hepatocellular Carcinoma HepG2 Cells

LI Xia, ZHOU Wang-xi, XI Mei-feng (Dept. of Pharmacy, North Branch, Yongzhou Central Hospital of Hunan Province, Hunan Yongzhou 425000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of tamoxifen on lipid metabolism of hepatocellular carcinoma HepG2 cells. METHODS: HepG2 cells were cultured *in vitro*. MTT assay was used to measure the effects of 0.5, 1, 5, 15 and 30 $\mu\text{mol/L}$ tamoxifen on the proliferation of HepG2 cells. The effects of 0.5, 1, 5 $\mu\text{mol/L}$ tamoxifen and 200 $\mu\text{mol/L}$ cetylic acid (positive control) on the lipid accumulation of HepG2 cells were detected by oil red O staining. Fluorescence quantitative PCR was applied to determine the effects of 5 $\mu\text{mol/L}$ tamoxifen on the expression of FAS, Srebp-1c and ACC in HepG2 cells and the expression of fatty acid oxidation related genes such as PPAR- α and UCP-2 were also determined. The effects of 5 $\mu\text{mol/L}$ tamoxifen on protein expression and the phosphorylation of ACC were examined with Western blotting assay. AU results above were compared with blank control group. RESULTS: Compared with blank control group, 0.5, 1 and 5 $\mu\text{mol/L}$ tamoxifen had no significant effects on the proliferation of HepG2 cells ($P>0.05$), while 15 and 30 $\mu\text{mol/L}$ tamoxifen could inhibit the proliferation of HepG2 cells significantly ($P<0.05$); 5 $\mu\text{mol/L}$ tamoxifen could increase lipid accumulation significantly, which was similar to positive control; 0.5 and 1 $\mu\text{mol/L}$ tamoxifen had no significant effect on it ($P>0.05$). The expression of FAS mRNA was increased by tamoxifen treatment while the protein levels of P-ACC were decreased ($P<0.05$). No change was found in other gene and protein expression ($P>0.05$). CONCLUSIONS: Tamoxifen can induce the lipid accumulation of HepG2 cells, which may be associated with the decrease of P-ACC level and the increase of FAS mRNA expression.

KEY WORDS Tamoxifen; Hepatocellular carcinoma HepG2 cells; Lipid accumulation; Fatty acid synthesis

作简便易行,各步原料价格低廉。

参考文献

- [1] 杨臻峰,孙大柠.抗精神病药 Lurasidone Hydrochloride[J]. 药学进展,2009,33(2):91.
- [2] 封宇飞.抗精神病新药鲁拉西酮的药理与临床研究进展[J].中国新药杂志,2011,20(10):853.
- [3] 曹运莉,朱珠.新型抗精神分裂症药物鲁拉西酮[J].药物流行病学杂志,2011,20(5):257.
- [4] 严寒,刘津爱,王明新,等.一种制备鲁拉西酮的方法:中国,102827157A[P].2012-12-19.
- [5] Goodridge RJ, Hambley TW, Ridley DD. Preparations and crystal structures of the 2-oxides of some octahydro-3,2,1-benzoxathiazines and octahydro-2h-3,1,2-benzoxaza-

phosphorines[J]. *Aust J Chem*, 1986,39(4):591.

- [6] William JB, Harold RG. Cyclic dienes I 1,2-dimethylencyclohexane[J]. *J Am Chem Soc*, 1953,75(19):4780.
- [7] Berkessel A, Glaubitz K, Lex J. Enantiomerically pure β -amino acids: a convenient access to both enantiomers of trans-2-aminocyclohexanecarboxylic acid[J]. *Eur J Org Chem*, 2002(17):2948.
- [8] 姜玲珠,张海军,郑淑亚.1R,2R-1,2-环己二甲酸合成工艺改进[J].大科技,2012(9):349.
- [9] Longeau A, Durand S, Spiegel A, et al. Synthesis of new C_2 -symmetrical diphosphines using chiral zinc organometallics[J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 1997,8(7):987.
- [10] Muto M, Ikutaro S, Tanno N, et al. Imide derivatives, and their production and use: US, 5532372[P].1996-07-02.

(收稿日期:2013-02-26 修回日期:2013-05-12)

* 主管药师。研究方向:医院药学。电话:0746-8334381。E-mail:leexial1976@163.com