

系列甘草次酸衍生物的合成与波谱测定[△]

陈 兰^{1*},李贵香¹,罗维早²,张宝喜³,王 欣²,阳 勇²,覃 瑶^{2,4#}(1.西南药业股份有限公司,重庆 400038; 2.重庆市中药研究院/中药资源学重庆市重点实验室,重庆 400065; 3.成都中医药大学药学院,成都 610041; 4.太极集团有限公司,重庆 401147)

中图分类号 R284.1;R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)03-0249-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.03.19

摘要 目的:合成一系列的甘草次酸衍生物,并对其进行波谱测定。方法:对甘草次酸30位羧基进行修饰,合成甘草次酸甲酯和甘草次酸乙酯;对甘草次酸3位羟基进行修饰,合成甘草次酸甲酯-3-O-乙酸酯和甘草次酸乙酯-3-O-乙酸酯;对甘草次酸11位羰基进行修饰,合成脱氧甘草次酸和脱氧甘草次酸甲酯;对合成物进行波谱测定。结果:合成的甘草次酸衍生物经紫外、红外、质谱、核磁共振氢谱与碳谱的鉴定,均为目标化合物。结论:合成的甘草次酸衍生物可为其后续抗炎活性及毒副作用的研究奠定基础。

关键词 甘草次酸;衍生物;合成;波谱测定

Synthesis of Serial Glycyrrhetic Acid Derivatives and Spectral Identification

CHEN Lan¹, LI Gui-xiang¹, LUO Wei-zao², ZHANG Bao-xi³, WANG Xin², YANG Yong², QIN Yao^{2,4} (1.Southwest Pharmaceutical Co., Ltd., Chongqing 400038, China; 2.Chongqing Institute of TCM/Chongqing Key Laboratory of TCM Resources, Chongqing 400065, China; 3.College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 610041, China; 4.Taiji Group Co., Ltd., Chongqing 401147, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To synthesize a series of Glycyrrhetic acid derivatives, and to determine the spectrum of it. METHODS: Glycyrrhetic acid methyl ester and glycyrrhetic acid ethyl ester were synthesized by modifying glycyrrhetic acid 30-carboxyl; glycyrrhetic acid methyl ester-3-O-acetate and glycyrrhetic ethyl-3-O-acetate were synthesized by modifying glycyrrhetic acid 3-hydroxy; deoxy glycyrrhetic acid and deoxy glycyrrhetic acid methyl ester were synthesized by modifying glycyrrhetic acid 11-carbonyl. The spectrum of the compound was determined. RESULTS: Identifying by UV, IR, MS, ¹H-NMR and ¹³C-NMR, that made sure the synthetic glycyrrhetic acid derivatives were just the target compound. CONCLUSIONS: The synthesis of glycyrrhetic acid derivatives lays the foundation for the follow-up research on activity and the toxicity.

KEYWORDS Glycyrrhetic acid; Derivatives; Synthesis; Spectral identification

甘草酸(Glycyrrhizic acid)是中药材甘草的有效成分,其在体内的水解产物甘草次酸(Glycyrrhetic acid)的化学结构与甾体类激素很相似,可作为配体竞争性地抑制糖皮质激素的代谢失活酶,表现出激素样作用;其本身也能竞争糖皮质激素受体,表现出部分激动-拮抗药的特征^[1]。甘草次酸在临床上被用于抗炎、抗溃疡、抗病毒(肝炎病毒、艾滋病毒等)、降血脂、防治肿瘤、促进胰岛素吸收等^[2-3],但临床大量使用该类药物时,常伴有类醛固酮增多症。为了减轻其副作用,改善其溶解性和吸收性,国内、外学者对其结构进行了修饰和改造,设计了一系列的甘草次酸衍生物^[4-8],且有研究证实该类衍生物是一种很好的靶向材料^[9]。本试验合成了甘草次酸甲/乙酯、甘草次酸甲/乙酯-3-O-乙酸酯、脱氧甘草次酸和脱氧甘草次酸甲酯6个衍生物,并对其结构进行了四谱[紫外光谱、红外光谱、质谱、核磁共振光谱(NMR)]鉴定,确定为目标化合物,可为后

续的抗炎活性及毒副作用研究奠定基础。

1 材料

1.1 仪器

BS224S型电子天平(万分之一,德国Sartorius公司);RE-2000A型旋转蒸发器(巩义市予华仪器有限责任公司);AM4000型NMR仪(德国Bruker公司);Nicolet 330型红外光谱仪(美国赛默飞公司);G6410型液-质联用仪(美国安捷伦公司)。

1.2 试剂

甘草次酸(西安富捷药业有限公司);剧毒氯化汞经过法定程序购买;草酰氯(化学纯,国药集团化学试剂有限公司,批号:20050930);水为蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 甘草次酸衍生物的合成

2.1 甘草次酸30位羧基的结构修饰

取甘草次酸4.70 g(10 mmol)溶于80 ml甲醇/乙醇中,完全溶解后加入15 ml浓盐酸,80℃搅拌回流12 h,用薄层色谱(TLC)指示反应终点。反应完全后向反应母液中加入5 g碳酸钙,充分振荡中和其中的盐酸,滤过后回收溶剂至小体积,加入150 ml氯仿充分溶解,以5%碳酸钠洗涤3次,除去未反应的

[△]基金项目:国家自然科学基金面上项目(No.81073062);重庆市科技攻关计划项目(No.CSTC2009AC5137)

*工程师。研究方向:新药研发。E-mail:252010764@qq.com

#通信作者:副研究员,博士。研究方向:新药研发。E-mail:trowa1982@126.com

甘草次酸,再以水冲洗至中性。减压回收氯仿溶液,以甲醇/乙醇重结晶,分别得到甘草次酸甲酯(白色无定形固体,共4.21 g,收率为86.9%,mp 251.6~252.5 ℃)和甘草次酸乙酯(白色晶状固体,共3.80 g,收率为76.6%,mp 214.4~217.6 ℃)。甘草次酸甲/乙酯的合成路线分别见图1、图2。

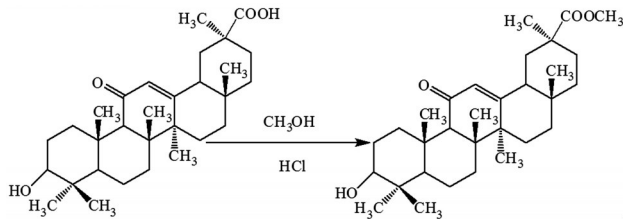


图1 甘草次酸甲酯的合成路线

Fig 1 Synthetic routes of glycyrrhetic acid methyl ester

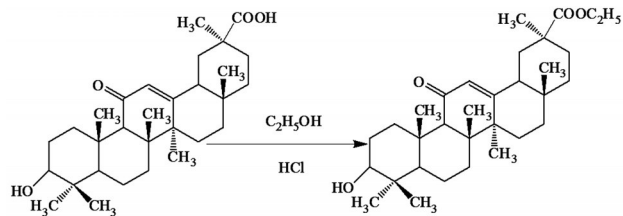


图2 甘草次酸乙酯的合成路线

Fig 2 Synthetic routes of glycyrrhetic acid ethyl ester

2.2 甘草次酸3位羟基的结构修饰

取3.00 g甘草次酸甲/乙酯溶于30 ml吡啶中,再加入50 ml无水乙酸酐,连接干燥管后常温搅拌24 h,待反应结束后将反应液倾入冰-水-稀盐酸中,放置过夜。抽滤,用2 mol/L盐酸冲至无吡啶味,以水冲洗至中性,再用甲醇重结晶,得白色粒状晶体,分别为甘草次酸甲酯-3-O-乙酸酯(共2.89 g,收率为86.0%,mp 294.6~296.1 ℃)和甘草次酸乙酯-3-O-乙酸酯(共3.01 g,收率为90.0%,mp 254.0~255.9 ℃)。甘草次酸甲/乙酯-3-O-乙酸酯的合成路线分别见图3、图4。

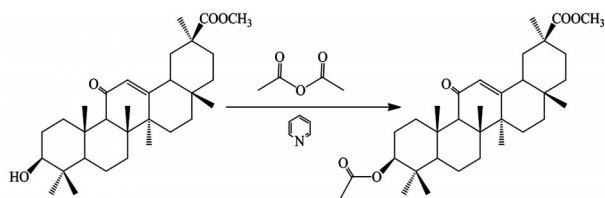


图3 甘草次酸甲酯-3-O-乙酸酯的合成路线

Fig 3 Synthetic routes of glycyrrhetic acid methyl ester-3-O-acetate

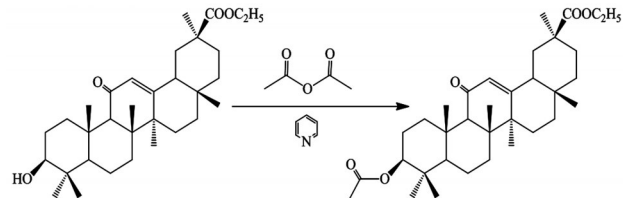


图4 甘草次酸乙酯-3-O-乙酸酯的合成路线

Fig 4 Synthetic routes of glycyrrhetic acid ethyl ester-3-O-acetate

2.3 甘草次酸11位羰基的结构修饰

2.3.1 锌汞齐的制备 取0.45 g氯化汞,加入15 ml浓度为1.2

mol/L的盐酸溶液,充分振摇使溶解,再加入处理过的锌粉4.50 g,充分振摇5 min后移除水相,用适量的二氧六环润洗2次,即得锌汞齐,备用。

2.3.2 11-脱氧甘草次酸的合成 取4.50 g锌汞齐置于圆底烧瓶中,加入4.70 g(10 mmol)甘草次酸和135 ml二氧六环,充分溶解。用冰水浴控制温度在10 ℃左右,于30 min内加入15 ml浓度为12 mol/L的盐酸,加完之后保持在10 ℃搅拌继续反应3 h,以TLC指示反应终点。反应母液加大量水使析出白色物质,干燥,以甲醇-丙酮(1:1, V/V)重结晶,即得(白色无定形固体,共4.27 g,收率为93.6%,mp 320.7~324.3 ℃)。11-脱氧甘草次酸的合成路线见图5。

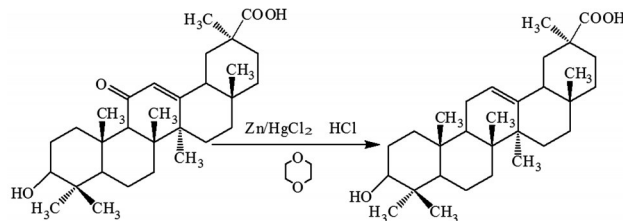


图5 11-脱氧甘草次酸的合成路线

Fig 5 Synthesis of 11-deoxy glycyrrhetic acid

2.3.3 11-脱氧甘草次酸甲酯的合成 取4.50 g锌汞齐置于圆底烧瓶中,加入4.84 g(10 mmol)甘草次酸甲酯和135 ml二氧六环,充分溶解。用冰水浴控制温度在10 ℃左右,于30 min内加入15 ml浓度为12 mol/L的盐酸,加完之后保持10 ℃搅拌继续反应3 h,以TLC指示反应终点。反应母液加大量水使析出白色物质,过柱纯化(硅胶柱,氯仿洗脱),以甲醇-丙酮(1:1, V/V)重结晶,即得(白色无定形固体,共3.48 g,收率为74.0%,mp 320.7~324.3 ℃)。11-脱氧甘草次酸甲酯的合成路线见图6。

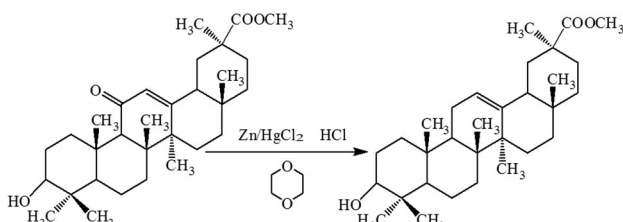


图6 11-脱氧甘草次酸甲酯的合成路线

Fig 6 Synthesis of 11-deoxy glycyrrhetic acid methyl ester

3 甘草次酸衍生物的鉴定

3.1 甘草次酸衍生物的紫外光谱

甘草次酸甲/乙酯与甘草次酸的紫外吸收基本一致,最大吸收峰在245 nm处左右,表明共轭结构未发生改变。甘草次酸甲酯-3-O-乙酸酯的最大吸收峰在249 nm处,甘草次酸乙酯-3-O-乙酸酯的最大吸收峰在248 nm处,与原料的吸收峰很接近。11-脱氧甘草次酸、11-脱氧甘草次酸甲酯与甘草次酸的紫外吸收相比,产生了较大的变化,它们的最大吸收峰分别在205 nm和206 nm处。6种甘草次酸衍生物的紫外光谱图见图7。

3.2 甘草次酸衍生物的红外光谱

3.2.1 甘草次酸甲酯 3 346 cm⁻¹(—OH),2 946 cm⁻¹(—CH₃),

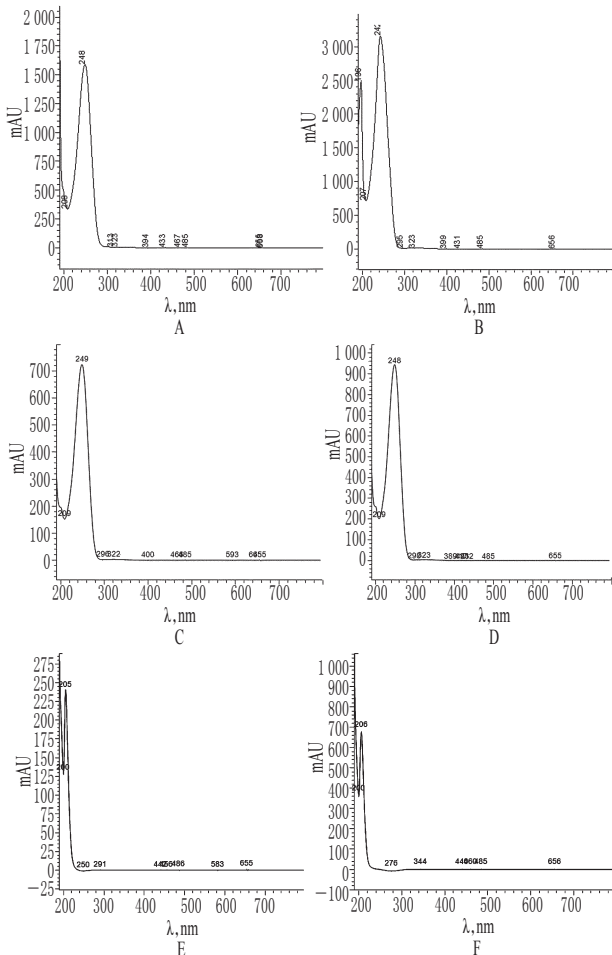


图7 6种甘草次酸衍生物的紫外光谱图

A. 甘草次酸甲酯; B. 甘草次酸乙酯; C. 甘草次酸甲酯-3-O-乙酸酯; D. 甘草次酸乙酯-3-O-乙酸酯; E. 11-脱氧甘草次酸; F. 11-脱氧甘草次酸甲酯

Fig 7 UV spectrum of 6 kinds of glycyrrhetic acid derivatives

A.glycyrrhetic acid methyl ester; B.glycyrrhetic acid ethyl ester; C. glycyrrhetic acid methyl ester-3-O-acetate; D.glycyrrhetic acid ethyl ester-3-O-acetate; E.11-deoxy glycyrrhetic acid; F.11-deoxy glycyrrhetic acid methyl ester

2 871 cm^{-1} ($-\text{CH}_2$), 1 723 cm^{-1} ($-\text{COO}$), 1 658 cm^{-1} ($-\text{C}=\text{O}$), 1 218 cm^{-1} ($-\text{OCH}_3$)。

3.2.2 甘草次酸乙酯 3 520 cm^{-1} ($-\text{OH}$), 2 973 cm^{-1} ($-\text{CH}_3$), 2 862 cm^{-1} ($-\text{CH}_2$), 1 727 cm^{-1} ($-\text{COO}$), 1 644 cm^{-1} ($-\text{C}=\text{O}$), 1 171 cm^{-1} ($-\text{O}-\text{CH}_2-$)。

3.2.3 甘草次酸甲酯-3-O-乙酸酯 2 955 cm^{-1} ($-\text{CH}_3$), 2 874 cm^{-1} ($-\text{CH}_2$), 1 729 cm^{-1} ($-\text{COO}$), 1 653 cm^{-1} ($-\text{C}=\text{O}$), 1 247 cm^{-1} ($-\text{OCH}_3$)。

3.2.4 甘草次酸乙酯-3-O-乙酸酯 2 955 cm^{-1} ($-\text{CH}_3$), 1 734 cm^{-1} ($-\text{COO}$), 1 653 cm^{-1} ($-\text{C}=\text{O}$), 1 214 cm^{-1} ($-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$)。

3.2.5 11-脱氧甘草次酸 1 720 cm^{-1} 左右的吸收峰消失,表明11位羰基被消除; 3 440 cm^{-1} ($-\text{OH}$), 2 944 cm^{-1} ($-\text{CH}_3$), 2 871 cm^{-1} ($-\text{CH}_2$), 1 705 cm^{-1} ($-\text{COOH}$), 1 176 cm^{-1} ($-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$)。

3.2.6 11-脱氧甘草次酸甲酯 3 346 cm^{-1} ($-\text{OH}$), 2 943 cm^{-1} ($-\text{CH}_3$), 2 868 cm^{-1} ($-\text{CH}_2$), 1 722 cm^{-1} ($-\text{COOH}$), 1 159 cm^{-1} ($-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$); 1 720 cm^{-1} 左右没有吸收峰,表明11位羰基被消除,符合预期结果。

6种甘草次酸衍生物的红外光谱图见图8。

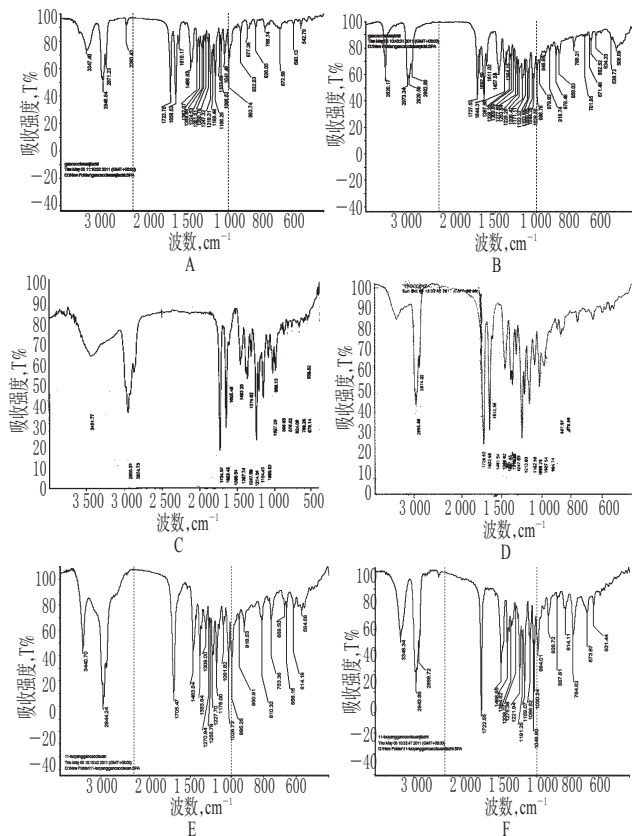


图8 6种甘草次酸衍生物的红外光谱图

A. 甘草次酸甲酯; B. 甘草次酸乙酯; C. 甘草次酸甲酯-3-O-乙酸酯; D. 甘草次酸乙酯-3-O-乙酸酯; E. 11-脱氧甘草次酸; F. 11-脱氧甘草次酸甲酯

Fig 8 UV spectrum of 6 kinds of glycyrrhetic acid derivatives

A.glycyrrhetic acid methyl ester; B.glycyrrhetic acid ethyl ester; C. glycyrrhetic acid methyl ester-3-O-acetate; D.glycyrrhetic acid ethyl ester-3-O-acetate; E.11-deoxy glycyrrhetic acid; F.11-deoxy glycyrrhetic acid methyl ester

3.3 甘草次酸衍生物的质谱

甘草次酸甲酯的[M+1]⁺为485,甘草次酸乙酯的[M+1]⁺为499。甘草次酸甲酯-3-O-乙酸酯的[M+1]⁺为527,甘草次酸乙酯-3-O-乙酸酯的[M+1]⁺为541。11-脱氧甘草次酸的M⁺为456,11-脱氧甘草次酸甲酯的M⁺为470。6种甘草次酸衍生物的快速原子轰击电离质谱(FAB-MS)图见图9。

3.4 甘草次酸衍生物的NMR

3.4.1 ¹H-NMR(400 MHz,CDCl₃,TMS) (1)甘草次酸甲酯:δ 0.81 (6H,s,2×-CH₃),1.03(3H,s,-CH₃),1.13(9H,s,3×-CH₃),1.14 (3H,s,-CH₃) 1.17(3H,s,-CH₃),2.34(1H,s,H-9),2.79(1H,m,H-18),3.23(1H,m,H-3),3.68(3H,s,-COOCH₃),5.67 (1H,s,H-12),7.26(CDCl₃); (2)甘草次酸乙酯:δ 0.69(3H,

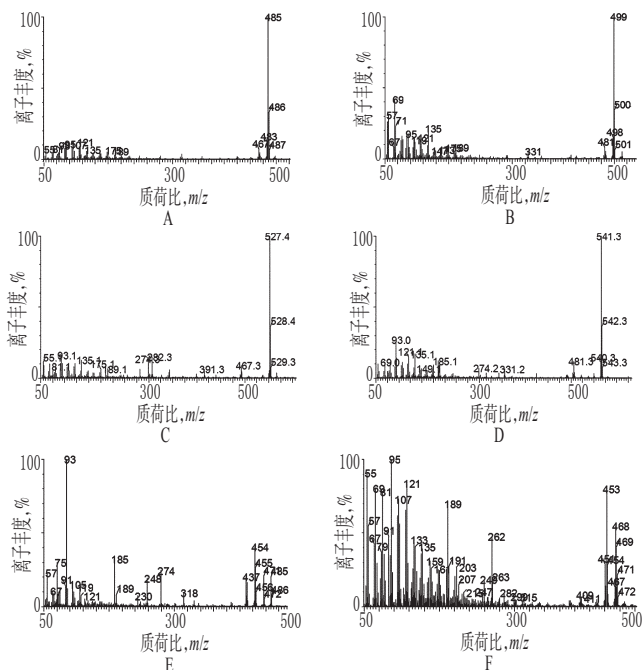


图9 6种甘草次酸衍生物的的FAB-MS图

A. 甘草次酸甲酯; B. 甘草次酸乙酯; C. 甘草次酸甲酯-3-O-乙酸酯; D. 甘草次酸乙酯-3-O-乙酸酯; E. 11-脱氧甘草次酸; F. 11-脱氧甘草次酸甲酯

Fig 9 FAB-MS spectrum of 6 kinds of glycyrrhetic acid derivatives

A.glycyrrhetic acid methyl ester; B.glycyrrhetic acid ethyl ester; C. glycyrrhetic acid methyl ester-3-O-acetate; D.glycyrrhetic acid ethyl ester-3-O-acetate; E.11-deoxy glycyrrhetic acid; F.11-deoxy glycyrrhetic acid methyl ester

s, —CH₃), 0.81 (9H, s, 3×—CH₃), 0.99 (3H, s, —CH₃), 2.34 (1H, s, H-9), 2.79 (1H, m, H-18), 3.22 (1H, m, H-3), 5.58 (1H, s, H-12), 7.26 (CDCl₃); (3) 甘草次酸甲酯-3-O-乙酸酯: δ 0.76 (3H, s, —CH₃), 0.88 (6H, s, 2×—CH₃), 1.16 (3H, s, —CH₃), 1.17 (3H, s, —CH₃), 1.19 (3H, s, —CH₃), 1.38 (3H, s, —CH₃), 2.06 (3H, s, —OCOCH₃), 2.36 (1H, s, H-9), 2.82 (1H, m, H-18), 3.69 (3H, s, —COOCH₃), 4.52 (1H, m, H-3), 5.67 (1H, s, H-12); (4) 甘草次酸乙酯-3-O-乙酸酯: δ 0.82 (3H, s, —CH₃), 0.89 (6H, s, 2×—CH₃), 1.15 (3H, s, —CH₃), 1.17 (3H, s, —CH₃), 1.18 (3H, s, —CH₃), 1.25 (3H, s, —CH₃), 1.38 (3H, s, —CH₃), 2.08 (3H, s, —OCOCH₃), 2.37 (1H, s, H-9), 2.80 (1H, m, H-18), 3.69 (2H, s, —COOCH₂), 4.53 (1H, m, H-3), 5.65 (1H, s, H-12); (5) 11-脱氧甘草次酸: δ 0.76 (3H, s, —CH₃), 0.78 (3H, s, —CH₃), 0.94 (3H, s, —CH₃), 0.98 (3H, s, —CH₃), 0.99 (3H, s, —CH₃), 1.13 (3H, s, —CH₃), 1.17 (3H, s, —CH₃), 3.14 (1H, m, H-3), 5.26 (1H, t, J=3.6 Hz, H-12), 4.86, 3.30 (CD₃OD); (6) 11-脱氧甘草次酸甲酯: δ 0.76 (3H, s, —CH₃), 0.78 (3H, s, —CH₃), 0.94 (3H, s, —CH₃), 0.96 (3H, s, —CH₃), 1.00 (3H, s, —CH₃), 1.12 (3H, s, —CH₃), 1.14 (3H, s, —CH₃), 3.14 (1H, m, H-3), 3.68 (3H, s, —COOCH₃), 5.27 (1H, t, J=3.6 Hz, H-12), 7.27

(CDCl₃)。

3.4.2 ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃, TMS) (1)甘草次酸甲酯: δ 200.2(C-11), 176.9(C-30), 169.1(C-13), 128.6(C-12), 78.8(C-3), 61.8(C-9), 55.0(C-5), 77.3(CDCl₃); (2)甘草次酸乙酯: δ 200.2(C-11), 178.3(C-30), 169.3(C-13), 128.5(C-12), 78.8(C-3), 61.8(C-31), 60.7(C-9), 77.3(CDCl₃); (3)甘草次酸甲酯-3-O-乙酸酯: δ 80.6(C-3), 128.5(C-12), 169.2(C₃—O—CO—), 171.0(C-13), 176.9(C-30), 200.0(C-11); (4)甘草次酸乙酯-3-O-乙酸酯: δ 80.6(C-3), 128.4(C-12), 169.3(C₃—O—CO—), 170.4(C-13), 176.4(C-30), 200.1(C-11); (5) 11-脱氧甘草次酸: δ 181.2(C-30), 146.0(C-13), 123.8(C-12), 79.8(C-3), 56.8(C-5), 45.1(C-9), 44.2(C-18), 49.5(CD₃OD); (6) 11-脱氧甘草次酸甲酯: δ 177.7(C-30), 144.4(C-13), 122.6(C-12), 79.0(C-3), 55.2(C-5), 47.7(C-31), 44.3(C-9), 77.2(CDCl₃)。

4 讨论

本研究对甘草次酸30位羧基、3位羟基和11位羰基进行了结构修饰,获得了6个目标化合物,经过四谱鉴定,确认了各衍生物的结构,之后将继续对6个化合物的抗炎活性及水钠潴留行为进行进一步研究(待发表)。

参考文献

- [1] 张明发,沈雅琴.甘草酸的糖皮质激素样作用[J].现代药物与临床,2011,26(1):33.
- [2] 姚新成,田晨煦,陈文.甘草次酸及其衍生物近年来研究状况[J].农垦医学,2004,26(4):304.
- [3] 李翠芹.甘草有效成分甘草酸和甘草次酸及其衍生物的药理作用研究进展[J].中华医学与实践,2004,2(3):48.
- [4] 雍建平.甘草次酸衍生物的合成[J].合成化学,2011,19(4):542.
- [5] 雍建平.甘草次酸/11-脱氧甘草次酸甲酯的合成[J].时珍国医国药,2011,22(11):2618.
- [6] 王彩兰,韩永生,刘文彬,等.11-脱氧甘草次酸衍生物的合成[J].有机化学,1996,16(2):189.
- [7] Schwarz S, Csuk R. Synthesis and antitumor activity of glycyrrhetic acid derivatives[J]. *Bioorg Med Chem*, 2010,18(21):7458.
- [8] Maitraie D, Hung CF, Tu HY, et al. Synthesis, anti-inflammatory, and antioxidant activities of 18 beta-glycyrrhetic acid derivatives as chemical mediators and xanthine oxidase inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17(7):2785.
- [9] 吴超,郭伟英,张磊.甘草次酸衍生物修饰去甲斑蝥素脂质体的制备及其小鼠肝靶向性实验研究[J].中国药房,2009,20(28):2184.

(收稿日期:2013-03-07 修回日期:2013-10-08)