

[2-¹⁵N]-川芎嗪的全合成*

唐刚华 王世真 吴淑琴 姜国辉

(中国医学科学院, 中国协和医科大学, 北京协和医院核医学科, 北京 100730)

为研究川芎嗪在动物体内的代谢转化, 以¹⁵N-甘氨酸为原料, 铝镍合金作催化还原剂, 首先合成[α-¹⁵N]-*dl*-色氨酸, 进而合成[2-¹⁵N]-川芎嗪。终产物经质谱(MS)、紫外光谱(UV)、薄层层析(TLC)等方法表征。总产率为 7.3%, ¹⁵N 丰度为 92%, 化学纯度为 98%。结果表明, 合成的[2-¹⁵N]-川芎嗪符合药理实验要求。

关键词 [2-¹⁵N]-川芎嗪 [α-¹⁵N]-*dl*-色氨酸 铝镍合金 合成

中图分类号 O·629.3

川芎嗪(Perbolyrine)即川芎Ⅲ号碱, 它是从中药川芎总生物碱中分离得到的一种有效活性生物碱^[1]。经结构分析证明, 为 1-(5-羟甲基-2-咪喃基)-9H-吡啶[3, 4-*b*]咪唑(I)^[2, 3]。初步药理实验证明它具有舒张冠脉, 增加缺血区血流量, 降低血压和心肌氧耗量, 对冠心病有一定的疗效作用^[4, 5]。为了进一步探讨其在动物体内代谢转化及药理作用机制, 本文合成了[2-¹⁵N]-1-(5-羟甲基-2-咪喃基)-9H-吡啶[3, 4-*b*]咪唑, 即[2-¹⁵N]-川芎嗪(I)。而[α-¹⁵N]-*dl*-色氨酸(VII)是合成化合物(I)的重要中间原料, 同时它也是研究人体内各种生理代谢过程及各种疾病, 特别是研究肝病发病机制的一个重要标记化合物, 但它价格相当昂贵。川芎嗪及³H-川芎嗪的合成方法已有文献报道^[2, 6~8], 但稳定核素标记川芎嗪未见文献报道。本文旨在以价格较便宜的¹⁵N-甘氨酸为原料, 首先合成[α-¹⁵N]-*dl*-色氨酸(VII), 然后以化合物(VII)为原料合成[2-¹⁵N]-川芎嗪(I)。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

¹⁵N-甘氨酸和碱性氧化铝层析板, 本实验室自制; 咪唑-3-甲醛和 *N*-甲基-*N*-(三甲基硅烷)-三氟乙酰胺(MSTFA), Sigma 化学公司; 铝镍合金, 常州新华活性材料研究所; 其它试剂均为国产分析纯。X4 型熔点测量显微镜, 北京第三光学仪器厂; 5890 II/5971A 型气相色谱-质谱联用仪(GCMS), Hewlett-Packard 公司; DU-600 型紫外光谱仪, Berkman 公司。

* 高等学校博士学科点专项科研基金和国家自然科学基金资助项目

收稿日期: 1997-12-05 收到修改稿日期: 1998-02-02

唐刚华: 男, 31 岁, 影像医学与核医学专业, 博士, 主治医师

1.2 合成路线

[2-¹⁵N]-川芎嗪合成路线示于图 1。

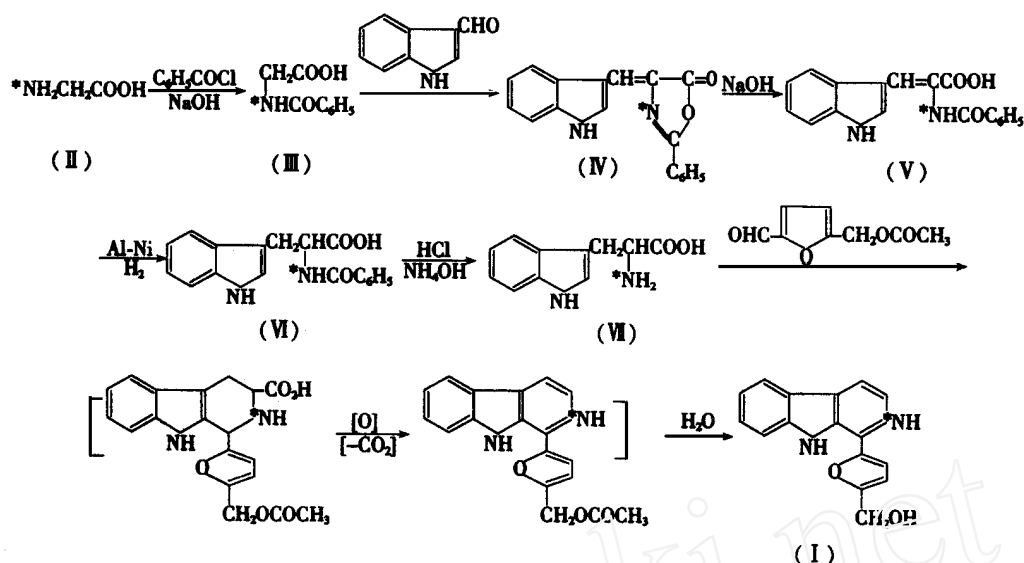


图 1 [2-¹⁵N]-川芎嗪的合成路线

Fig 1 The route of the sythesis of [2-¹⁵N]-perlopyrine

1.3 [2-¹⁵N]-川芎嗪的制备

1.3.1 ¹⁵N-马尿酸(¹⁵N-苯甲酰甘氨酸(III))的制备 按文献[9]方法操作。在 11 mL 100 g/L NaOH 溶液中加入 1.055 g ¹⁵N-甘氨酸(II), 在搅拌下慢慢滴加 4.8 mL 苯甲酰氯和 22.5 mL 100 g/L 氢氧化钠的混合溶液。搅拌混合溶液直至苯甲酰氯全部水解, 然后用浓盐酸酸化得沉淀, 用乙醚洗涤沉淀除去苯甲酸, 得马尿酸(III) 2.463 g, 产率为 97.8%, 熔点为 190~192 °C。

1.3.2 [3-¹⁵N]-4-(3-吲哚甲叉)-2-苯基-2-噁唑啉-5-酮(IV)的制备 按文献[10]方法操作。称取马尿酸(III) 1.000 g、吲哚-3-甲醛 0.972 g 和无水乙酸钠 0.388 g, 混合均匀, 滴加 1.8 mL 乙酸酐, 水浴加热 15 min, 趁热加数毫升沸水, 冷却, 收集固体, 干燥, 得粗品, 用冰醋酸重结晶, 得桔黄色晶体(IV) 1.352 g, 产率为 84%, 熔点为 200~202 °C。

1.3.3 [α-¹⁵N]-α-苯甲酰胺基-β-吲哚-3-丙烯酸(V)的制备 按文献[10]方法操作。取化合物(IV) 0.864 g, 加入其质量 100 倍的 10 g/L NaOH 溶液, 煮沸, 反复数次, 直至残余物全部溶解, 盐酸酸化, 冷却, 收集固体, 再用 70% 乙醇重结晶, 得浅黄色固体化合物(V) 0.685 g, 产率为 74.6%, 熔点为 226~228 °C。

1.3.4 [α-¹⁵N]-dl-N-苯甲酰色氨酸(VI)的制备 称取 α-苯甲酰胺基-β-吲哚-3-丙烯酸(V) 0.600 g 溶于 7 mL 1 mol/L NaOH 溶液中, 加入铝镍合金 0.322 g 中, 搅拌 6 h, 过滤, 水洗, 滤液用盐酸酸化, 收集固体, 用乙醇水溶液重结晶, 得粉色固体(VI) 0.580 g, 产率为 96%, 熔点为 190~192 °C, 与文献[11]一致。

1.3.5 [α-¹⁵N]-dl-色氨酸(dl-α-氨基-β-吲哚-丙酸, VII)的制备 按文献[11]操作。将 dl-N-苯甲酰色氨酸(VI) 0.500 g、氢氧化钡 2.750 g 和水 12.9 mL 搅拌混匀, 回流 24 min, 用 4 mol/L

H₂SO₄ 除去钡离子, 滤液蒸发至干, 残渣用乙醇洗涤去苯甲酸, 浅黄色固体用水重结晶得白色固体(VII) 0.264 g, 产率为 79.7%, 熔点为 283°C(分解)。用纸层析法分析: 展开剂为 V(正丁醇):V(乙酸):V(水)=12:3:5, $R_f=0.5$ 。UV(H₂O): $\lambda_{\max}=279\text{ nm}$ 。以上数据及其理化性质和色氨酸标准品一致。

1.3.6 [2-¹⁵N]-1-(5-羟甲基-2-呋喃基)-9H-吡啶[3,4-b]吡咯([2-¹⁵N]-川芎嗪(I))的制备 按文献[2,6,7]方法操作。将[α -¹⁵N]-*D*-L-色氨酸(VII) 0.264 g、5-乙酰氧甲基-2-呋喃甲醛(自制) 0.264 g及冰醋酸 7 mL 混合物于 80~90 °C加热 40 min 后, 倒入加热沸腾的 66.8 mL 重铬酸钾-硫酸水溶液中, 继续沸腾 1 min, 紧接着加入 140 g/L 的亚硫酸氢钠溶液 6.6 mL, 再加入 120 g/L 的草酸溶液 13 mL, 继续搅拌 5 min, 冷却。用碳酸钠调至 pH=8, 乙醚提取, 水洗, 无水硫酸钠干燥过夜。回收乙醚, 残余物加适量甲醇, 待溶解后加入等体积的浓氨水, 放置 3~4 d, 析出棕黄色针状晶体。粗品用乙酸乙酯重结晶得黄色针状结晶(I) 0.053 g, 产率为 15.5%, 熔点为 185~190°C, 150~160°C升华, 用薄层层析(TLC)法测定化学纯度为 98%, 终产物经 MSTFA 衍生化后

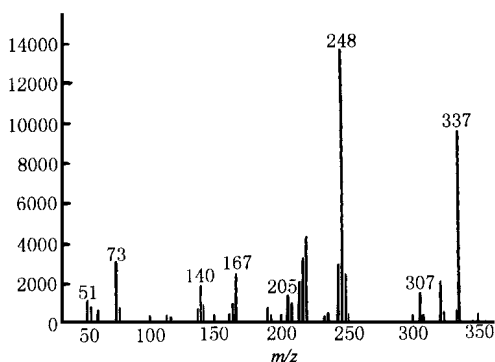


图2 [2-¹⁵N]-川芎嗪硅烷化(TM S) 衍生物的质谱图

Fig 2 The mass spectrum of the derivatized(TM S) [2-¹⁵N]-peroloryne

用 GC-MS 测定¹⁵N 丰度约为 92%。电子电离-质谱质荷比(EIMS m/z): 265(337-TM S+1, 分子离子峰, M^+), 质谱图示于图 2; UV(甲醇): 237, 255, 271, 293, 364, 381 nm, 这些数据与文献[2]一致; 用碱性氧化铝薄板层析法分析: 展开剂为: V(氯仿):V(甲醇)=9:1, $R_f=0.9$, 与标准川芎嗪显色位置一致。

2 结果与讨论

合成[2-¹⁵N]-川芎嗪的关键是制备色氨酸, 而氢化还原是本实验制备[α -¹⁵N]-*D*-L-色氨酸的关键步骤。实验曾选用氢碘酸-红磷、钠-汞齐以及锌粉-冰醋酸作还原剂合成[α -¹⁵N]-*D*-L-色氨酸, 产率很低。兰尼镍(Raney Ni)是催化氢化还原碳碳双键的较好活性催化剂, 它是利用铝镍合金和碱液作用去氢后制得的。利用铝镍合金和碱液作用可产生氢气和 Raney Ni 的特点, 将被氢化还原的反应物溶于氢氧化钠溶液中, 分多次加入铝镍合金, 反应产生 Raney Ni 和氢气, 氢气在 Raney Ni 催化作用下不断地还原反应物, 从而得到高产率的还原产物。使用铝镍合金操作简便, 反应时间和还原效果与 Raney Ni 相当, 且克服了 Raney Ni 催化氢化需要通氢和较复杂的还原反应装置的缺点, 适于氢化还原碳碳双键, 因此可将 Al-Ni 合金应用于制备[α -¹⁵N]-*D*-L-色氨酸, 从而可成功地合成[2-¹⁵N]-川芎嗪, 总产率为 7.3%。

[2-¹⁵N]-川芎嗪较不稳定, 不能直接用 GC-MS 法测定鉴别, 本文将产物经 MSTFA 衍生化后用 GC-MS 法测定效果较好, [2-¹⁵N]-川芎嗪化学纯度采用碱性氧化铝薄板层析(展开剂为 V(氯仿):V(甲醇)=9:1)法测定, 其化学纯度和同位素丰度都能满足药理实验要求。

参 考 文 献

- 1 北京制药工业研究所 川芎生物碱的提取和分离 北京医药工业, 1975, (4): 8
- 2 Jeffreys JAD. The Alkaloids of Perennial Rye-grass (*Lolium perenne* L.). Part IV. J Chem Soc (C), 1970: 1091
- 3 北京制药工业研究所 川芎生物碱的结构鉴定 北京医药工业, 1975, (4): 12
- 4 许正春, 陈文为 川芎Ⅲ号碱对鼠肝线粒体氧化磷酸化作用的研究 生物化学杂志, 1987, 3(1): 33
- 5 华英圣, 林肇辟, 龙长江, 等 川芎Ⅲ号碱药理作用的初步研究 中医药学报, 1989, (2): 40
- 6 北京制药工业研究所 川芎Ⅲ号碱的合成 北京医药工业, 1975, (4): 19
- 7 华英圣, 徐静娴, 仪明光, 等 ^3H -川芎碱(perlolyrine)标记合成研究 中医药学报, 1983, (6): 49
- 8 Gessner W P, Bross A. β -Carboline From Japanese Sake and Soy Sauce: Synthesis and Biological Activity of Flazin and Yellow Substance YS(perlolyrine). Arch Pharm (Weinheim), 1988, 321: 95
- 9 Borsook H, Deasy CL, Haagen-Smit AJ, et al α -Amino-4(or 5)-imidazolepropionic Acid J Biol Chem, 1952, 196: 669
- 10 Barger G, Ewins AJ. The Synthesis of Racemic α -2-methyltryptophan J Biochem, 1917, 11: 58
- 11 Elks J, Elliott DF, Hem BA. Studies in the Indole Series Part III Improved Synthesis of Tryptophan J Chem Soc, 1944, 629

SYNTHESIS OF [2- ^{15}N]-PERLOLYRINE FROM ^{15}N -GLYCINE

Tang Ganghua Wang Shizhen Wu Shuqin Jiang Guohui

(Department of Nuclear Medicine, PUMCH Hospital, CAMS and PUMC, Beijing 100730)

ABSTRACT

To study the metabolism of [2- ^{15}N]-Perlolyrine in animals, [α - ^{15}N]-*dl*-tryptophan and [2- ^{15}N]-perlolyrine are designed and synthesized. [α - ^{15}N]-*dl*-Tryptophan is first synthesized from ^{15}N -glycine via many steps by the use of Al-Ni alloy as a catalytic reduction agent, and then [2- ^{15}N]-perlolyrine is synthesized from [α - ^{15}N]-*dl*-tryptophan. The abundance of ^{15}N is determined by GC-MS, the chemical purity is determined by TLC and the final product is confirmed by MS, UV and TLC. The overall yield of the final product is 7.3%, the abundance of ^{15}N is 92% and the chemical purity is 98%. The synthetic [2- ^{15}N]-perlolyrine is suitable for pharmacological experiments.

Key words [2- ^{15}N]-Perlolyrine [α - ^{15}N]-*dl*-Tryptophan Al-Ni alloy Synthesis