

文章编号 : 0253-9950(2005)03-0190-03

[3,12-³H] 原人参二醇的合成

吴久伟, 廖 莎, 沈德存

中国原子能科学研究院 同位素研究所, 北京 102413

摘要: 根据原人参二醇在氯仿与水中的溶解度差异, 用酸性重铬酸钾溶液与其氯仿溶液进行反应, 制得原人参二醇氧化物, 然后用新制的硼氟化钠氟化还原合成 [3,12-³H] 原人参二醇。所得产物经高效液相色谱纯化后, 放射化学纯度大于 98%, 放射性比活度达 738 GBq/mmol, 各项指标能满足医、药学相关研究的要求。

关键词: 氟化还原; 硼氟化钠; [3,12-³H] 原人参二醇; HPLC

中图分类号: R817 **文献标识码:** A

中药的药学典籍《神农本草经》把人参列为上品^[1]。人参中含多种皂甙类, 从中分离出的重要人参皂甙如 R_{b1}, R_{b2}, R_{b3}, R_c, R_d 等的甙元主要是原人参二醇, 后者的放射性标记物对医学、药学等领域相关研究工作具有十分重要的意义^[2,3]。氟化还原技术是一种先进的有机合成方法, 它首先对原型药进行氧化, 然后选用合适的氟化还原剂进行还原, 得到氟标记的药物, 实现药物的高比活度定位标记^[4]。本文拟采用酸性重铬酸钾将原人参二醇分子结构中的两个羟基氧化成酮基^[5,6], 然后利用新制的硼氟化钠氟化还原合成 [3,12-³H] 原人参二醇。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

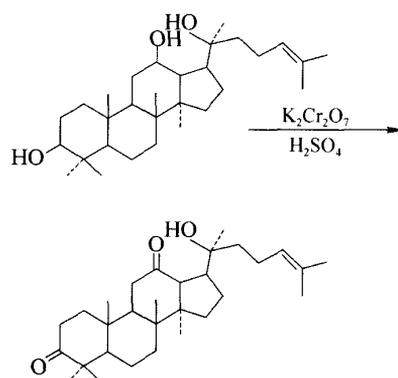
氟气, 丰度 99.0%, 购自俄罗斯; 原人参二醇, 99.0%, 吉林大学提供; 重铬酸钾, 浓硫酸, 无水甲醇, 无水乙醇和氯仿等, 分析纯, 北京化工厂产品; 硼氟化钠为美国 Sigma 公司产品。

真空系统、氟化系统、浓缩系统和焙烧反应瓶, 本院同位素研究所加工; UV-210A 型双光束紫外分光光度计和 LC-6A 型高效液相色谱仪, 日本 SHIMADZU 公司产品; FJ-2107P 型双道液体闪烁计数器, 西安核仪器厂产品。

1.2 原人参二醇的氧化

在硫酸溶液中, 原人参二醇在重铬酸钾作用

下, 发生如下反应:



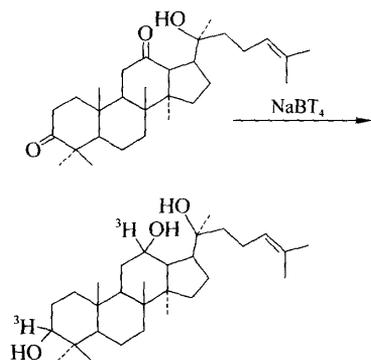
称取 250 mg 重铬酸钾置于玻璃反应瓶中, 加入 3 mL 重蒸水和 100 μL 浓硫酸, 搅拌使其溶解。加入用 2 mL 氯仿溶解的 50 mg 原人参二醇, 室温下搅拌反应 24 h。静置, 待溶液分相后, 取下层氯仿溶液, 用 5 mL 水洗涤, 分相后得到含有原人参二醇氧化物的氯仿溶液。减压蒸馏除去氯仿后, 得到原人参二醇氧化物固体。其收率约 80% ~ 90%。

1.3 [3,12-³H] 原人参二醇的合成

用硼氟化钠烧制硼氟化钠, 再还原原人参二醇氧化物, 得到 [3,12-³H] 原人参二醇。其反应如下:

收稿日期: 2004-12-09; 修订日期: 2005-03-23

作者简介: 吴久伟 (1975 -), 男, 重庆人, 工程师, 应用化学专业。



取上述合成的原人参二醇氧化物 5 mg, 加入到反应瓶(含搅拌子)中, 用氮气吹走溶剂后, 加入 1 mL 无水甲醇溶解。再加入新制的硼氢化钠 10 mg, 摇晃数分钟后室温下搅拌反应 1 h, 得到 [3,12-³H]原人参二醇甲醇溶液, 其收率约 30% ~ 40%。

用 5 mL 甲醇除游离和不稳定氚两次后, HPLC 纯化。采用反相色谱柱 (COSMOSIL 5C18-AR-₂, 5 μm, 10 mm × 250 mm), 流动相为 95% 甲醇, 紫外检测波长为 203 nm。进样纯化, 收集 [3,12-³H]原人参二醇产品洗脱液, 减压蒸馏除去溶剂后, 用无水乙醇定容并测量放射性活度, 产品于 -20 °C 保存。

2 结果与讨论

2.1 原人参二醇氧化物的表征

采用 HPLC 对氧化反应溶液的水层进样分析, 发现几乎没有原人参二醇及其相关产物存在, 说明反应基本在氯仿层发生。取新合成的原人参二醇氧化产物 5 mg, 用流动相溶解进样分析, 结果发现在标准品峰位置处没有任何峰出现, 即氧化完全。

取新合成的 5 mg 原人参二醇氧化物, 加入 1 mL 无水甲醇溶解。加入干燥的硼氢化钠 10 mg, 室温搅拌反应 1 h。反应产物 HPLC 进样分析, 检测出产物中有色谱峰的保留时间与标准品相同, 再将还原产物与原人参二醇标准品混合进样, 标准品保留时间位置出现一个单峰, 证明还原产物中存在原人参二醇, 即它经氧化后能还原回原型药。

采用红外光谱法分析原人参二醇标准品与其氧化物时发现, 氧化物在 1720 cm⁻¹ 附近增加了

一个极强的吸收峰, 表明羟基已经被氧化成酮基。

2.2 [3,12-³H]原人参二醇的表征

取纯化得到的 [3,12-³H]原人参二醇进行产品鉴定: 依次进样原人参二醇标准品 100 μL, [3,12-³H]原人参二醇 100 μL、等浓度的标准品与 [3,12-³H]原人参二醇各 100 μL 混合液。根据图谱峰面积计算得知混合液的峰面积为标准品峰和 [3,12-³H]原人参二醇峰的总和。由色谱峰的完全叠加, 确定所得到的氚标记产物即为所需的 [3,12-³H]原人参二醇。

放射性比活度测定: 精确称量 10 mg 原人参二醇标准品, 用无水甲醇溶解并定容到 100 mL 容量瓶中, 制得 0.1 mg/mL 溶液。取 2 mL 0.1 mg/mL 原人参二醇溶液作标准, 用紫外分光光度计来测定 2 mL [3,12-³H]原人参二醇甲醇溶液中溶质的化学量为 48 μg, 同时精确测量 2 mL [3,12-³H]原人参二醇的活度为 77 MBq。根据原人参二醇的分子量 460, 计算出 [3,12-³H]原人参二醇的放射性比活度为 738 GBq/mmol。

放射化学纯度测定: 采用反相色谱柱 (COSMOSIL 5C18-AR-₂, 5 μm, 4.6 mm × 250 mm), 流动相为 88% 甲醇, 紫外检测波长为 203 nm。取 HPLC 纯化的 [3,12-³H]原人参二醇产品液, 进样 50 μL, 按每分钟 1 mL 接取洗脱液至小试管中。每管各取 5 μL 测量放射性, 绘制放射化学纯度曲线并示于图 1。由图 1 曲线可知, 放射化学纯度大于 98%。

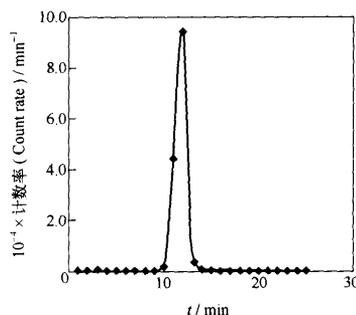


图 1 [3,12-³H]原人参二醇的放射化学纯度曲线

Fig. 1 Radiochemical purity of [3,12-³H] PPD monitored by HPLC

稳定性测定: [3,12-³H]原人参二醇产品于 -20 °C 分别放置 30, 90 和 180 d, 用 HPLC 测定

其放射化学纯度,均大于 98%。即产品在 - 20℃ 保存半年后放射化学纯度没有明显变化。

3 结 论

用新制的硼氟化钠还原原人参二醇氧化物,合成了[3,12-³H]原人参二醇,经 HPLC 纯化后其放射化学纯度与放射性比活度都较高,分别为 98%和 738 GBq/mmol。于 - 20℃ 保存半年仍比较稳定。

参考文献:

- [1] 张树臣. 中国人参[M]. 上海:上海科技教育出版社,1992. 93.
- [2] Takahide Ota, Masayo Maeda, Shizuo Odashima. Mechanism of Action of Ginsenoside Rh₂: Uptake and Metabolism of Ginsenoside Rh₂ by Cultured B16 Melanoma Cells [J]. J Pharm Sci. 1991, 80 (12):1 141.
- [3] 陈燕萍,孟勤,宋长春,等. 20(S)-原人参二醇组皂苷的制备及其转化制取人参皂苷-Rh₂ [J]. 中国药理学杂志. 1997. 32(5):273—275.
- [4] 廖莎,蔡晓冬,吴久伟,等. 高比活度的硼氟化钠的制备及其应用 [J]. 同位素, 2001, 14 (3, 4): 210—213.
- [5] 闻韧主编. 药物合成反应[M]. 第二版. 北京:化学工业出版社,2003. 301—304.
- [6] 黄宪,王彦广,陈振初. 新编有机合成化学[M]. 北京:化学工业出版社,2003. 246—263.

Synthesis of [3,12-³H] Protopanaxadiol

WU Jiu-wei, LIAO Sha, SHEN De-cun

Department of Isotope, China Institute of Atomic Energy, Beijing 102413, China

Abstract: According to the solubility difference of the protopanaxadiol between in chloroform and in water, acidic potassium dichromate solution is used to react with protopanaxadiol in chloroform, then the protopanaxadiol oxide is obtained. [3,12-³H] Protopanaxadiol is synthesized after reduction with the new-made sodium borotritide. The radiochemical purity of the product purified by HPLC is greater than 98%, and its specific activity is 738 GBq/mmol. The quality of the product could meet the demands of the relevant research on medicine or pharmacology.

Key words: tritiated reduction; sodium borotritide; [3,12-³H] protopanaxadiol; HPLC