

岩白菜素偶氮衍生物的制备^{*}

段文越¹, 郭巍怡¹, 邹 澄^{1△}, 赵 庆², 杨为民¹, 陈 晨¹

(1. 昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南 昆明 650500;

2. 云南中医学院中药学院, 云南 昆明 650500)

摘要: **目的** 设计合成岩白菜素偶氮衍生物。**方法** 对岩白菜素 7 位进行结构改造, 通过重氮化偶合反应制备其衍生物, 并通过波谱法进行结构鉴定。**结果** 制备了 7 个岩白菜素偶氮衍生物, 其中 7 个化合物均为新化合物。**结论** 这些化合物的合成成为大量合成同类衍生物并进行药理活性筛选奠定了研究基础, 为岩白菜素的深入研究与开发利用提供新的方法。

关键词: 岩白菜素; 含氮衍生物; 重氮化偶合反应

中图分类号: R284.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2016)02-0025-05

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.02.007

岩白菜素(Bergenin)是从岩白菜(*Bergenia purpurascens*)、落新妇(*Astilbe chinensis*)及矮地茶(*Herba ardisiae japonicae*)等 20 科 37 属 88 种植物中提取出来的有效成分, 分子式为 $C_{14}H_{16}O_9$, 属二氢异香豆素类化合物, 系白色疏松针状结晶或结晶性粉末, 其在甲醇中溶解, 在水、丙酮或乙醇中微溶^[1-2]。岩白菜作为民间中草药最早记录于《植物名实图考》中, 在 2015 年版《中国药典》一部中收录用于治疗腹泻、气管炎咳嗽、风湿疼痛等^[3]。岩白菜素作为岩白菜的主要有效成分已有多种剂型广泛用于临床, 但由于岩白菜素晶型结构以及分子中碳苷结构的存在, 导致其在许多溶剂中(如水、乙醇等)的溶解度较低, 且药代动力学研究也表明岩白菜素在生物体内亲脂性差、生物利用度低, 这些都限制了岩白菜素的开发和利用^[4-5]。近年来也有研究报道岩白菜素及其衍生物具有抗炎、护肝、抗溃疡、抗菌、降血脂、抗 HIV 病毒、治疗 2 型糖尿病、提高免疫力等作用^[6-10]。

岩白菜素天然植物来源丰富、药效作用肯定, 因此如何对岩白菜素进行结构改造以提高其生物利用度和活性是岩白菜素开发利用的一条有效途径^[11-12]。国内外已针对岩白菜素的植物来源、药理作用以及剂型改变方面进行研究, 而对岩白菜素结构

修饰的研究主要集中在乙酰化、磺酰化、甲基化及 Mannich 反应等衍生物的合成^[13-19]。本研究通过重氮化偶合反应将常见的芳胺试剂与岩白菜素进行偶联, 合成了 7 个岩白菜素偶氮衍生物, 其结构与合成路线如图 1 所示。

1 材料与方法

1.1 仪器

BUCHI R-200 旋转蒸发仪, FA2004 电子天平(上海瞬宇恒平科学仪器有限公司), KQ-100 型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司), SHZ-D 循环水式真空泵(巩义市裕华仪器有限公司), ML-902 型定时恒温磁力搅拌器(上海浦江分析仪器厂), Bruker AV III-500 型核磁共振波谱仪(波谱数据由中国科学院昆明植物研究所测试中心测定), 安捷伦 6520 系列高分辨 Q-TOF-ESI-MS。

1.2 试剂

岩白菜素由本实验室提供, 并经核磁共振检测其结构符合文献报道。所有化学合成试剂主要为分析纯购买于上海晶纯生化科技股份有限公司和上海泰坦科技股份有限公司。柱层析硅胶为青岛海洋化工生产, 薄层层析硅胶为青岛海洋化工生产的 GF254 硅胶板和默克公司生产的高效薄层层析硅胶板。

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金(81160388); 云南省教育厅科学研究基金项目(2014J042)

收稿日期: 2015-11-25

作者简介: 段文越(1989-), 男, 云南昆明人, 在读硕士研究生, 研究方向: 天然药物化学。

△通信作者: 邹澄, E-mail: zouchengkm@126.com

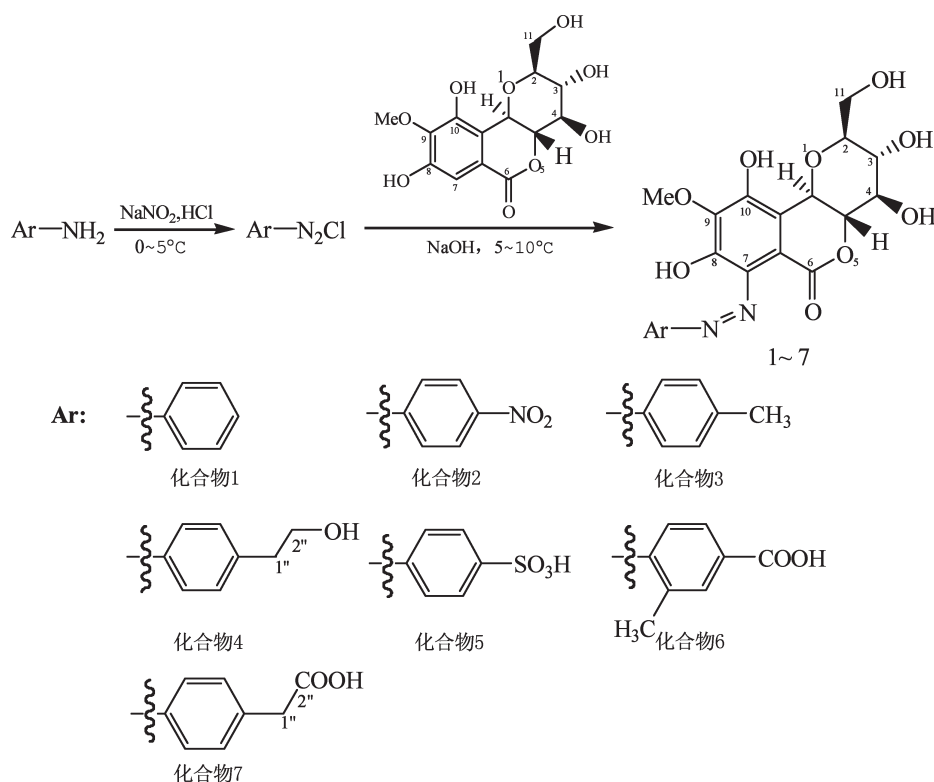


图 1 岩白菜素及岩白菜素偶氮衍生物结构及合成路线

1.3 方法

1.3.1 7-苯基偶氮岩白菜素的制备(化合物 1)

称取 15mg 苯胺溶解于 3mL 稀盐酸(2mol/L)并置于 50mL 圆底烧瓶中,搅拌下冰盐浴冷至 0~5℃,缓慢滴加溶于 3mL 含 13mg 亚硝酸钠的水溶液,用淀粉碘化钾试纸检测反应终点,生成重氮盐。另取 50mL 圆底烧瓶,将 50mg 的岩白菜素溶解于 3.5mL 的氢氧化钠(2mol/L)水溶液中,搅拌下逐滴加入已制备好的上述重氮盐溶液,控制反应温度不超过 10℃,保持反应体系成弱碱性反应 20min 后用稀盐酸调 PH 至酸性,反应 1 h 后用薄层色谱(TLC)检查偶合反应终点,待反应完全后减压蒸馏浓缩后经 300~400 目硅胶柱色谱分离,用乙酸乙酯:乙醇:水(16:4:1)洗脱,得到化合物 1(图 1),产率为 74%,其 ^{13}C NMR 波谱数据见表 1。

1.3.2 7-对硝基苯偶氮岩白菜素的制备(化合物 2)

称取 22mg 对硝基苯胺,13mg 亚硝酸钠,50mg 岩白菜素,反应方法及终点检测方法同化合物 1。减压蒸馏浓缩后经 300~400 目硅胶柱色谱分离,用乙酸乙酯:乙醇:水(14:6:1)洗脱,得到化合物 2(图 1),产率为 69%,其 ^{13}C NMR 波谱数据见表 1。

1.3.3 7-对甲基苯偶氮岩白菜素的制备(化合物 3)

称取 17mg 对甲基苯胺,13mg 亚硝酸钠,50mg 岩白菜素,反应方法及终点检测方法同化合物 1。减压蒸馏浓缩后经 300~400 目硅胶柱色谱分离,用乙酸乙酯:乙醇:水(17:3:1)洗脱,得到化合物 3(图 1),产率为 76%,其 ^{13}C NMR 波谱数据见表 1。

1.3.4 7-对苯乙醇偶氮岩白菜素的制备(化合物 4)

称取 21.5mg 对氨基苯乙醇,13mg 亚硝酸钠,50mg 岩白菜素,反应方法及终点检测方法同化合物 1。减压蒸馏浓缩后经 300~400 目硅胶柱色谱分离,用乙酸乙酯:乙醇:水(18:2:1)洗脱,得到化合物 4(图 1),产率为 71%,其 ^{13}C NMR 波谱数据见表 1。

1.3.5 7-对苯磺酸偶氮岩白菜素的制备(化合物 5)

称取 27mg 对氨基苯磺酸,13mg 亚硝酸钠,50mg 岩白菜素,反应方法及终点检测方法同化合物 1。减压蒸馏浓缩后经 300~400 目硅胶柱色谱分离,用乙酸乙酯:乙醇:水(12:8:1)洗脱,得到化合物 5(图 1),产率为 62%,其 ^{13}C NMR 波谱数据见表 1。

1.3.6 7-(3-甲基-4-苯甲酸偶氮)岩白菜素的制备(化合物 6)

称取 23.6mg 4-氨基-3-甲基苯甲酸,13mg 亚

表1 化合物1-7的¹³C NMR数据

C	化合物1	化合物2	化合物3	化合物4	化合物5	化合物6	化合物7
2	80.01(d)	80.20(d)	80.25(d)	83.08(d)	80.12(d)	80.26(d)	80.25(d)
3	71.13(d)	71.43(d)	71.26(d)	74.15(d)	71.33(d)	71.38(d)	71.28(d)
4	77.63(d)	77.68(d)	77.64(d)	75.60(d)	77.75(d)	77.60(d)	77.63(d)
4a	78.07(d)	78.14(d)	78.22(d)	80.53(d)	78.14(d)	77.63(d)	78.18(d)
6	174.82(s)	174.04(s)	174.71(s)	161.84(s)	174.60(s)	174.24(s)	174.66(s)
6a	116.98(s)	112.53(s)	111.55(s)	119.59(s)	116.85(s)	114.46(s)	111.81(s)
7	130.08(s)	131.03(s)	134.08(s)	132.14(s)	130.19(s)	135.17(s)	134.15(s)
8	137.06(s)	135.71(s)	141.31(s)	141.08(s)	136.13(s)	143.41(s)	138.57(s)
9	143.04(s)	144.21(s)	145.30(s)	144.74(s)	144.29(s)	144.78(s)	145.97(s)
10	144.24(s)	145.05(s)	152.67(s)	150.36(s)	146.60(s)	159.21(s)	153.26(s)
10a	126.27(s)	118.37(s)	128.07(s)	120.45(s)	126.60(s)	128.28(s)	128.25(s)
10b	69.24(d)	69.53(d)	69.64(d)	71.70(d)	69.47(d)	69.58(d)	69.63(d)
11	60.58(t)	60.76(t)	60.94(t)	62.61(t)	60.83(t)	60.92(t)	60.94(t)
9-OCH ₃	60.03(q)	60.30(q)	60.61(q)	61.07(q)	60.18(q)	60.43(q)	60.61(q)
1'	162.48(s)	149.32(s)	162.72(s)	152.18(s)	160.00(s)	160.86(s)	154.89(s)
2'	128.22(d)	125.43(d)	120.83(d)	123.51(d)	118.24(d)	132.01(s)	120.91(d)
3'	129.48(d)	125.55(d)	130.11(d)	131.25(d)	127.00(d)	130.17(d)	130.39(d)
4'	129.59(d)	148.83(s)	142.82(s)	150.16(s)	139.95(s)	132.41(s)	143.04(s)
5'	129.48(d)	125.55(d)	130.11(d)	131.25(d)	127.00(d)	130.11(d)	130.39(d)
6'	128.22(d)	125.43(d)	120.83(d)	123.51(d)	118.24(d)	115.31(d)	120.91(d)
1''				40.07(t)			179.31(d)
2''				63.75(t)			43.08(t)
2'-CH ₃						16.61(q)	
4'-CH ₃			20.42(q)				
4'-COOH						172.71(d)	

硝酸钠,50mg 岩白菜素,反应方法及终点检测方法同化合物1。减压蒸馏浓缩后经300~400目硅胶柱色谱分离,用乙酸乙酯:乙醇:水(15:5:1)洗脱,得到化合物6(图1),产率为68%,其¹³C NMR波谱数据见表1。

1.3.7 7-对苯乙酸偶氮岩白菜素的制备(化合物7)

称取23.6mg 4-氨基苯乙酸,13mg 亚硝酸钠,50mg 岩白菜素,反应方法及终点检测方法同化合物1。减压蒸馏浓缩后经300~400目硅胶柱色谱分离,用乙酸乙酯:乙醇:水(14:6:1)洗脱,得到化合物7(图1),产率为78%,其¹³C NMR波谱数据见表1。

1.4 光谱数据

化合物1-7的¹³C-DEPT波谱数据如下,见表1。

1.5 结构鉴定

化合物1:橙红色粉末状固体,易溶于水。高分辨Q-TOF-ESI-MS给出其分子离子峰m/z 433.0921[M+H]⁺,确定其分子式为C₂₀H₂₀N₂O₉(计算

值:433.1242)。¹H-NMR(400MHz,D₂O)δ:7.60(2H,m,H-3',5');7.53(1H,m,H-4');7.35(2H,m,H-2',6');4.75(1H,d,H-10b);4.45(1H,m,H-4a);4.35(1H,m,H-4);3.92(1H,m,H-2);3.88(1H,m,H-11);3.61(1H,m,H-3);¹³C-NMR(100MHz,D₂O)δ:174.82,162.48,144.24,143.04,137.06,130.08,129.59,129.48,128.22,126.27,116.98,80.01,78.07,77.63,71.13,69.24,60.58,60.03,由此推定该化合物为7-苯基偶氮岩白菜素。

化合物2:深红色粉末状固体,易溶于水。高分辨Q-TOF-ESI-MS给出其分子离子峰m/z 478.1231[M+H]⁺,确定其分子式为C₂₀H₁₉N₃O₁₁(计算值:478.1092)。¹H-NMR(500MHz,D₂O)谱给出δ:8.12(2H,m,H-3',5');7.53(2H,m,H-2',6');4.75(1H,d,H-10b);4.60(1H,m,H-4a);4.25(1H,m,H-4);4.09(1H,m,H-2);3.70(1H,m,H-11);3.38(1H,m,H-3);¹³C-NMR(125MHz,D₂O)δ:174.04,149.32,

148.83, 145.05, 144.21, 135.71, 131.03, 125.55, 125.43, 118.37, 112.53, 80.20, 78.14, 77.68, 71.43, 69.53, 60.76, 60.30, 由此推定该化合物为 7-对硝基苯偶氮岩白菜素。

化合物 3: 红色黏性固体, 易溶于水。高分辨 Q-TOF-ESI-MS 给出其分子离子峰 m/z 447.1443 $[M+H]^+$, 确定其分子式为 $C_{21}H_{22}N_2O_9$ (计算值: 447.1398)。 1H -NMR (500 MHz, D_2O) 谱给出 δ : 7.49 (2H, m, H-3', 5'); 7.17 (2H, m, H-2', 6'); 4.74 (1H, d, H-10b); 4.29 (1H, m, H-4a); 4.11 (1H, m, H-4); 3.73 (1H, m, H-2); 3.57 (1H, m, H-11); 3.37 (1H, m, H-3); 2.19 (3H, s, 4'-CH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, D_2O) δ : 174.71, 162.72, 152.67, 145.30, 142.82, 141.31, 134.08, 130.11, 128.07, 120.83, 111.55, 80.25, 78.22, 77.64, 71.26, 69.64, 60.94, 60.61, 20.42, 由此推定该化合物为 7-对甲基苯偶氮岩白菜素。

化合物 4: 橙红粉末状固体, 易溶于水。高分辨 Q-TOF-ESI-MS 给出其分子离子峰 m/z 477.1498 $[M+H]^+$, 确定其分子式为 $C_{22}H_{24}N_2O_{10}$ (计算值: 477.1504)。 1H -NMR (500 MHz, MeOD) 谱给出 δ : 7.81 (2H, m, H-3', 5'); 7.40 (2H, m, H-2', 6'); 4.98 (1H, d, H-10b); 4.14 (1H, m, H-4a); 4.03 (1H, m, H-4); 3.80 (1H, m, H-2); 3.69 (1H, m, H-11); 3.47 (1H, m, H-3); 3.87 (2H, m, 2''); 2.90 (2H, m, 1''); ^{13}C NMR (125 MHz, MeOD) δ : 161.84, 152.18, 150.36, 150.16, 144.74, 141.08, 132.14, 131.25, 123.51, 120.45, 119.59, 83.08, 80.53, 75.60, 74.15, 71.70, 62.61, 61.07, 由此推定该化合物为 7-对苯乙醇偶氮岩白菜素。

化合物 5: 黑褐色黏性固体, 易溶于水。高分辨 Q-TOF-ESI-MS 给出其分子离子峰 m/z 513.0814 $[M+H]^+$, 确定其分子式为 $C_{20}H_{20}N_2O_{12}S$ (计算值: 513.081)。 1H -NMR (500 MHz, MeOD) 谱给出 δ : 7.75 (2H, m, H-3', 5'); 7.58 (2H, m, H-2', 6'); 4.71 (1H, d, H-10b); 4.29 (1H, m, H-4a); 4.16 (1H, m, H-4); 3.75 (1H, m, H-2); 3.47 (1H, m, H-11); 3.36 (1H, m, H-3); ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ : 174.60, 160.00, 146.60, 144.29, 139.95, 136.13, 130.19, 127.00, 126.60, 118.24, 116.85, 80.12, 78.14, 77.75, 71.33, 69.47, 60.83, 60.18, 由此推定该化合物为 7-对苯磺酸偶氮岩白菜素。

化合物 6: 黑褐色粉末状固体, 易溶于水。高分辨 Q-TOF-ESI-MS 给出其分子离子峰 m/z 491.1318 $[M+H]^+$, 确定其分子式为 $C_{22}H_{22}N_2O_{11}$ (计算

值: 491.1296)。 1H -NMR (500 MHz, MeOD) 谱给出 δ : 7.64 (2H, m, H-3', 5'); 7.61 (2H, m, H-6'); 4.69 (1H, d, H-10b); 4.31 (1H, m, H-4a); 4.12 (1H, m, H-4); 3.77 (1H, m, H-2); 3.60 (1H, m, H-11); 3.37 (1H, m, H-3); 2.27 (3H, s, 2'-CH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ : 174.24, 172.71, 160.86, 159.21, 144.78, 143.41, 135.17, 132.41, 132.01, 130.17, 130.11, 128.28, 115.31, 114.46; δ : 80.26, 77.63, 77.60, 71.38, 69.58, 60.98, 60.44, 16.61, 由此推定该化合物为 7-(3-甲基-4-苯甲酸偶氮)岩白菜素。

化合物 7: 红褐色油状物, 易溶于水。高分辨 Q-TOF-ESI-MS 给出其分子离子峰 m/z 491.1285 $[M+H]^+$, 确定其分子式为 $C_{22}H_{22}N_2O_{11}$ (计算值: 491.1296)。 1H -NMR (500 MHz, MeOD) 谱给出 δ : 7.60 (2H, m, H-3', 5'); 7.26 (2H, m, H-2', 6'); 4.74 (1H, d, H-10b); 4.32 (1H, m, H-4a); 4.14 (1H, m, H-4); 3.75 (1H, m, H-2); 3.63 (1H, m, H-11); 3.29 (1H, m, H-3); 3.50 (2H, m, 1''); ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ : 179.31, 174.66, 154.89, 153.26, 145.97, 143.04, 138.57, 134.15, 130.39, 128.25, 120.91, 111.81, 80.25, 78.18, 77.63, 71.28, 69.63, 60.94, 60.61, 41.30, 由此推定该化合物为 7-对苯乙酸偶氮岩白菜素。

2 结果

采用重氮化偶合反应对岩白菜素分子进行结构修饰制备了 7 个岩白菜素衍生物, 其化学结构经波谱法鉴定, 其反应产率均保持在 60%~80% 之间, 且经 Scifinder 检索 7 个岩白菜素衍生物均为新化合物。

3 讨论

通过制备不同的芳香一级胺重氮盐溶液, 并在低温条件下与岩白菜素进行偶合反应可以得到一系列新的岩白菜素含氮衍生物。研究中发现岩白菜素偶氮衍生物的水溶性较岩白菜素有所提高, 可能由于在岩白菜素苯环中引入取代基后撑开了岩白菜素分子之间紧密的空间, 从而使水分子嵌入其中, 出现了溶解度提高现象。同时通过重氮化偶合反应合成的一系列岩白菜素衍生物中的偶氮键可被结肠菌丛产生的偶氮还原酶进行催化还原, 可用作一种高定位性的岩白菜素衍生物结肠靶向给药药物载体方法^[20], 在此基础上可进行药理活性筛选, 从中能有望发现较岩白菜素生物利用度更高、药理活性更强的先导化合物或者药物, 并在此基础上进

一步探讨岩白菜素高活性化合物的作用部位与作用机制。

参考文献:

- [1] 董成梅,杨丽川,邹澄,等. 岩白菜素的研究进展[J]. 昆明医学院学报,2012,33(1):150-154.
- [2] 刘斌,谭成玉,池晓会,等. 岩白菜素的研究进展[J]. 西北药学杂志,2015,30(5):660-662.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:210-211.
- [4] 王刚,麻兵继. 岩白菜素的研究概况[J]. 安徽中医学院学报,2002,21(6):59-61.
- [5] 李凤,周丹,秦瑄,等. 岩白菜素理化性质的研究[J]. 中国药学杂志,2009,44(2):92-95.
- [6] Gan B. Bajracharya. Diversity, pharmacology and synthesis of bergenin and its derivatives; Potential materials for therapeutic usages[J]. *Fitoterapia*, 2015, 101: 133-152.
- [7] Nighat Nazir, Surrinder Koul, Mushtaq Ahmad Qurishi, et al. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of Bergenin and its derivatives obtained by chemoenzymatic synthesis [J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 46(6): 2415-2420.
- [8] Rajesh Kumar, Dinesh K. Patel, Satyendra K. Prasad, et al. Type 2 antidiabetic activity of bergenin from the roots of *Caesalpinia digyna* Rottler[J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(2): 395-401.
- [9] Sonia Piacente, Cosimo Pizza, Nunziatina De Tommasi, et al. Constituents of *Ardisia japonica* and Their in Vitro Anti-HIV Activity[J]. *J Nat Prod*, 1996, 59(6): 565-569.
- [10] YAN DeBiao, ZHANG DongPing, LI Ming, et al. Synthesis and cytotoxic activity of 3,4,11-trihydroxyl modified derivatives of bergenin[J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(12): 929-936.
- [11] 邹澄,赵庆,郝小江,等. 丰产易得天然产物结构改造值得重视[J]. 中国民族民间医药杂志, 2004, 68(3): 135-137.
- [12] 李安良,李正香,王新红,等. 药物化学和生物利用度控制[J]. 华西药学杂志, 2000, 15(5): 364-366.
- [13] 王继良,何瑾,邹澄,等. 岩白菜素的部分甲基化乙酰化研究 [J]. 中国民族民间医药杂志, 2008, 17 (7): 29-30, 60.
- [14] T. Vijaya Kumar, Ashok K. Tiwari. Synthesis and antiglycation potentials of bergenin derivatives [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21(16): 4928-4931.
- [15] 孙科,王继良,邹澄,等. 岩白菜素含氮衍生物的仿生合成[J]. 中国民族民间医药, 2007(5): 256-258, 311.
- [16] 孙科,王继良,邹澄,等. 岩白菜素的 Mannich 反应[J]. 云南中医学院学报, 2008, 31(2): 25-27, 33.
- [17] 张韶湘,赵永娜,赵庆,等. 岩白菜素两个衍生物的合成及镇痛活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2008(3): 527-529.
- [18] Shreyans K. Jain, Surjeet Singh, Anamika Khajuria, et al. Pyrano-isochromanones as IL-6 Inhibitors; Synthesis, in Vitro and in Vivo Antiarthritic Activity [J]. *J Med Chem*, 2014, 57(16): 7085-7097.
- [19] Yusei Kashima, Hidehiko Yamaki, Takuya Suzuki, et al. Structure-activity relationships of bergenin derivatives effect on α -glucosidase inhibition[J]. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2013, 28 (6): 1162-1170.
- [20] 陈清元,沈家瑞,陈建海. 偶氮聚合物作为结肠靶向给药载体的研究进展 [J]. 中国医药工业杂志, 2002, 33(8): 412-416.

(陈柏君)

Synthesis of Bergenin Azo Derivatives

DUAN Wenyue¹, GUO Weiyi¹, ZOU Cheng¹, ZHAO Qing², YANG Weimin¹, CHEN Chen¹

(1. School of Pharmaceutical Sciences & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming 650500 China;

2. School of Chinese Medicine, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500 China)

ABSTRACT: **Objective** To design and synthesize bergenin azo derivatives. **Methods** A series of bergenin azo derivatives were synthesized by diazo coupling reaction. After purification the compounds were characterized by NMR. **Results** Seven derivatives were obtained and all of them were new compounds. **Conclusions** These compounds establish the research foundation for similar derivatives and pharmacological study. This provides a new approach for development and further research of bergenin.

KEY WORDS: Bergenin; Nitrogenous derivatives; Diazo coupling reaction