

## 四乙酰野黄芩素的合成

周荣光<sup>1</sup>, 杨兆祥<sup>1</sup>, 张颖君<sup>2</sup>, 赵加强<sup>1</sup>

(1. 昆明制药集团药物研究院, 云南 昆明 650100)

2. 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204)

**摘要:** 以灯盏花素为原料, 在乙二醇-水-盐酸体系中, 将原料中的灯盏花乙素水解转化为野黄芩素; 中间体野黄芩素在醋酸钾与吡啶的共同催化作用下, 经醋酐酰化制得最终产物四乙酰野黄芩素。第一步反应产率为 81.3%, 所得产物野黄芩素纯度达 99.8%; 第二步反应产率 86%, 所得产物四乙酰野黄芩素纯度达 98.4%。所得产物结构经 UV, IR, MS, <sup>13</sup>CNMR, <sup>1</sup>HNMR 所证实。

**关键词:** 灯盏花素; 灯盏花乙素; 野黄芩素; 四乙酰野黄芩素

中图分类号: TQ461. R284.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-275X(2010)03-0032-07

灯盏花又名灯盏细辛, 为菊科飞蓬属植物短葶飞蓬 (*Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand-Mazz.) 的全草, 主要分布于我国西南部的云南、广西、四川、贵州、西藏等地, 其性寒, 味微苦, 具有散热解表、活血化瘀、通经活络、祛风除湿、消炎止痛等功效<sup>[1]</sup>。灯盏花素 (breviscapine) 系从灯盏花全草中提取出的黄酮类有效成分的总称, 其主要药理成分为灯盏花乙素 (1, scutellarin, 又称野黄芩苷)<sup>[2]</sup>。药理研究表明, 灯盏花乙素具有增加脑及冠状血管血流量, 降低血管阻力, 抗血小板、红细胞凝聚, 降低血液粘稠度等作用<sup>[3]</sup>。但是, 灯盏花乙素由于其化学结构的特点, 特别是 B 环受吡喃环羰基的立体阻碍影响, 在空间上只能形成大的共轭体系而成为近似平面结构, 晶格排列紧密, 刚性强, 且 5, 6, 4' 位上的三个酚羟基可形成分子间氢键, 导致其脂溶性和水溶性均较差, 因而口服给药几乎不吸收。灯盏花乙素在水中的溶解度仅为 0.16 mg/mL<sup>[4]</sup>, pH 4.2 的 PBS 中 log P 为 -2.56<sup>[5]</sup>, Beagle 犬口服绝对生物利用度仅为 0.40 ± 0.19%<sup>[6]</sup>, 家犬静注半衰期短, 仅为 52 ± 29 min<sup>[7]</sup>, 其理化性质和体内行为限制了其临床应用。

为改善灯盏花乙素的理化性质, 克服其口服吸收差, 生物利用度低, 半衰期短的特点, 我们以化学方式对其进行结构改造。

药代学研究发现, 野黄芩素 (2, scutellarein, 即灯

盏花乙素的苷元, 化学名为 5, 6, 7, 4'-四羟基黄酮) 是灯盏花乙素在体内的主要代谢和吸收形式<sup>[8]</sup>。有研究表明, 野黄芩素口服易于吸收, 与灯盏花乙素相比, 其相对生物利用度为 301.8%<sup>[9]</sup>。然而, 野黄芩素和灯盏花乙素同属多酚羟基黄酮, 易被空气氧化。相比较而言, 灯盏花乙素结构中由于有葡萄糖醛酸基的存在, 分子相对稳定一些, 而野黄芩素则由于葡萄糖醛酸基的脱出同时多增加了一个易被氧化的酚羟基团, 使得稳定性变差, 在常温下也会氧化变色。为了得到更好的结构产物, 我们首先以市售灯盏花素为原料合成了中间体野黄芩素, 再进行乙酰化得到了四乙酰野黄芩素 (3, tetraacetyl scutellarein)。较野黄芩素而言, 由于四乙酰野黄芩素酚羟基均受到保护, 其产品在保存、使用和制剂加工成形过程中不会氧化变色, 稳定性大大加强, 其被人体吸收后, 在体内环境中能快速转化为高活性的野黄芩素而发挥疗效, 因此是一个较好的结构改造产物。

### 1 实验部分

#### 1.1 主要试剂与仪器

灯盏花素 (昆明振华制药厂), 灯盏花乙素标准品 (中国药品生物制品检定所), 乙二醇、盐酸、乙酸乙酯、丙酮、醋酐、吡啶、醋酸钾均为化学纯, HPLC 用甲醇 (色谱纯), 冰醋酸 (优级纯), 其他试



表 1 野黄芩素(2)和四乙酰野黄芩素(3)的碳谱和氢谱

Table 1 <sup>1</sup>HNMR (500MHz, DM SO-d6) and <sup>13</sup>CNMR (500MHz, DM SO-d6) of scutellarein(2) and tetraacetyl scutellarein(3)

No	<sup>13</sup> C	四乙酰野黄芩素(3)	
		<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H
2	163.5	161.4	
3	102.3	II	6.94 (s)
4	182.0	<sup>1</sup> H	
5	153.3	153.3	
6	129.2	132.6	
7	147.1	146.7	
8	93.9	111.1	7.83 (s)
9	149.7	153.6	
10	104.0	107.6	
1'	121.5	115.0	
2,6'	128.3	127.9	8.14 (d, 7.5)
3,5'	116.0	122.6	7.36 (d, 7.5)
4'	161.0	161.4	
CH <sub>3</sub> -CO-		20.9, 20.5, 20.4, 19.7	2.49, 2.36, 2.34, 2.30 (each s)
CH <sub>3</sub> -CO-		168.9, 167.8(x2), 167.5	

1.3 原料及产物的纯度检测

采用面积归一化法,通过高效液相色谱法(HPLC)测定产品纯度。色谱条件为:色谱柱 Agilent Zorbax Extend-C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相甲醇-水-冰醋酸 [V(甲醇):V(水醋酸) = 30:70:1],流速 1 ml min<sup>-1</sup>;柱温 40℃;检测波长:灯盏花乙素 335 nm,野黄芩素 294 nm,四

乙酰野黄芩素 278 nm。经检测,灯盏花素原料所含灯盏花乙素纯度为 83.5%,灯盏花乙素保留时间约为 26 min(图 2);所得中间体野黄芩素纯度达 99.8%,保留时间约为 54 min(图 3);所得最终产物四乙酰野黄芩素纯度达 98.4%,保留时间约为 62 min(图 4)。

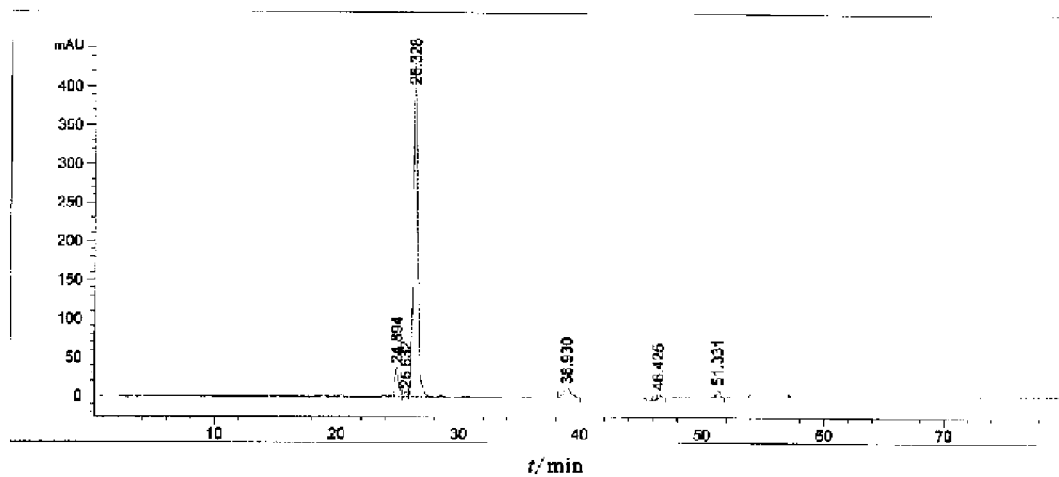


图 2 灯盏花乙素(1)液相色谱图  
Figure 2 HPLC of the raw material(1)

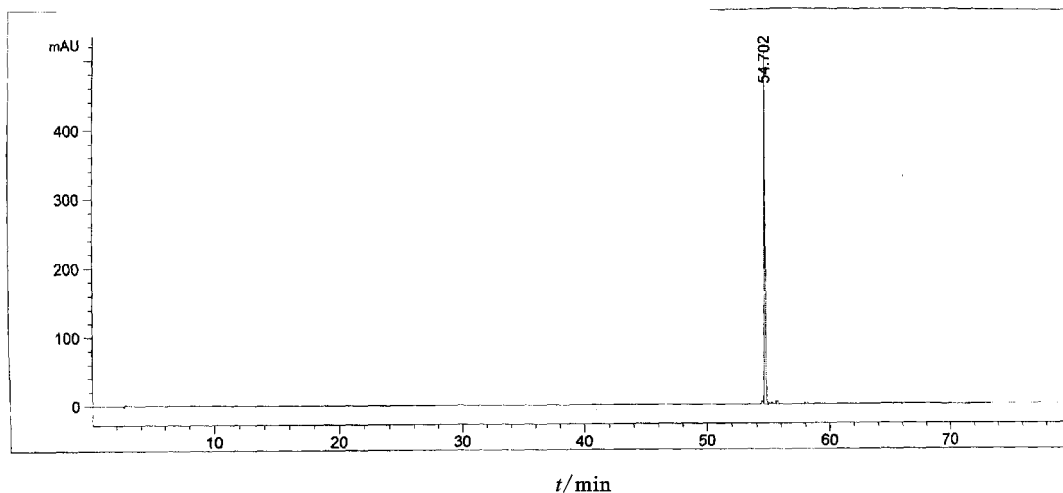


图 3 野黄芩素 (2)液相色谱图  
Figure 3 HPLC of the intermediate (2)

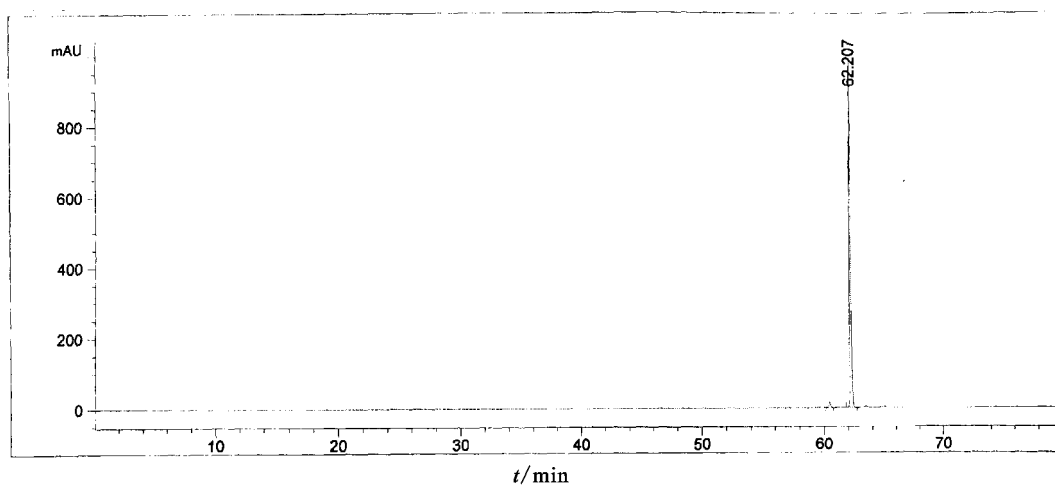


图 4 四乙酰野黄芩素 (3)液相色谱图  
Figure 4 HPLC of the target compound (3)

## 2 结果与讨论

### 2.1 野黄芩素 (2)的结构解析

化合物 2 呈浅黄色针状结晶, 在紫外灯 (365 nm) 下呈现弱的荧光, 无旋光性; 盐酸 - 镁粉显色反应为阳性; 三氯化铁反应呈蓝绿色, 显示其

结构中有酚羟基存在; Molish 显色反应后溶液无分层现象, 呈阴性, 表明化合物为黄酮类, 而非黄酮苷类。FAB-MS 谱图显示其准分子离子峰在  $m/z$  287 $[M^+H]^+$ 。野黄芩素 2 的  $^{13}C$ NMR 谱如图 5。

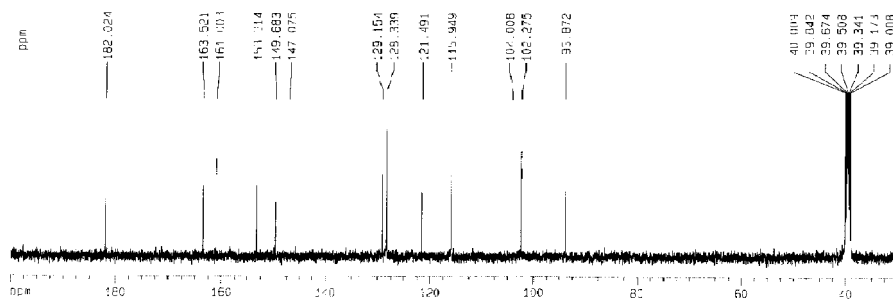


图 5 野黄芩素 (2)的碳谱

Figure 5 <sup>13</sup>CNMR of scutellarein (2) in DMSO-d<sub>6</sub> by 500MHz

图 5中,在 893.9~180.0之间共出现了 13条谱线,其中 B 环上 C-3, 5和 C-2, 6'分别为化学等价碳,谱线发生重合,因此<sup>13</sup>CNMR 清晰地显示了该化合物具有 15个碳原子,均为芳香碳原子。该化合物的<sup>13</sup>CNMR 数据与灯盏花乙素(化合物 1)的非常类似,仅比其少了一组葡萄糖醛酸的共振信号,提示该化合物为灯盏花乙素的苷元。该化合物的波谱数据与文献<sup>[10]</sup>报道的数据一致。由上述证据,化合物 2 的结构被鉴定为 5,6,7,4'-四羟基黄酮,即野黄芩素,分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>,分子量为 286

### 2.2 四乙酰野黄芩素(3)的结构解析

化合物 3呈白色针状结晶,红外光谱(图 6)显示分子中有羰基(1778, 1651 cm<sup>-1</sup>)及苯环

(1456 cm<sup>-1</sup>)的存在,3000 cm<sup>-1</sup>以上基本无红外吸收,提示分子中无游离羟基的存在。正离子高分辨 FAB-MS 谱(图 7)显示其准分子离子峰在 m/z 455.0967[M<sup>+</sup>H]<sup>+</sup>(计算值 455.0978 for C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>O<sub>10</sub>),结合<sup>13</sup>CNMR 及 DEPT 谱,推定其分子式为 C<sub>23</sub>H<sub>18</sub>O<sub>10</sub>,比化合物 2 多了 168 质量数,相当于 4 个乙酰基。正离子 FAB-MS 谱图在 m/z 455, 413, 370 和 328 分别显示了准分子离子峰及失去 1~3 个乙酰基的碎片离子峰。除 15 个黄酮骨架的碳信号外,<sup>13</sup>CNMR 谱图(表 1)亦显示了 4 个乙酰基的甲基和羧基信号,提示化合物 3 为化合物 2 的全乙酰化产物。由上述证据,化合物 3 的结构被鉴定为 5,6,7,4'-四乙酰基野黄芩素。

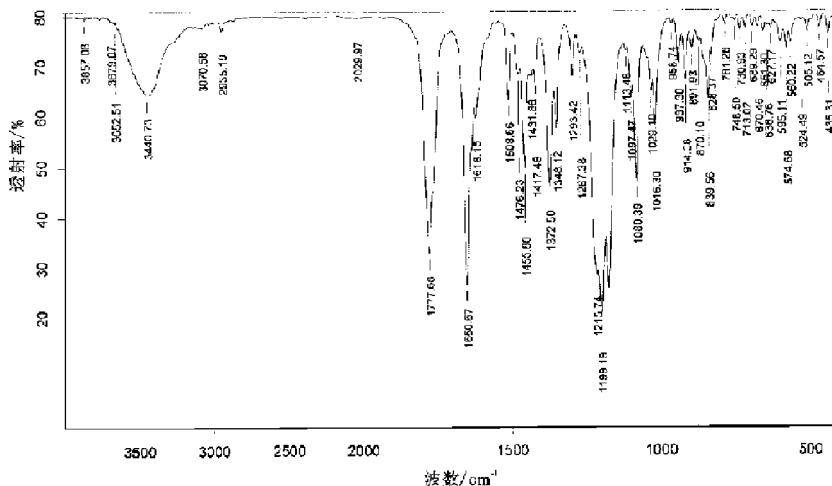


图 6 四乙酰野黄芩素 (3)的红外谱

Figure 6 IR of tetraacetyl scutellarein(3)

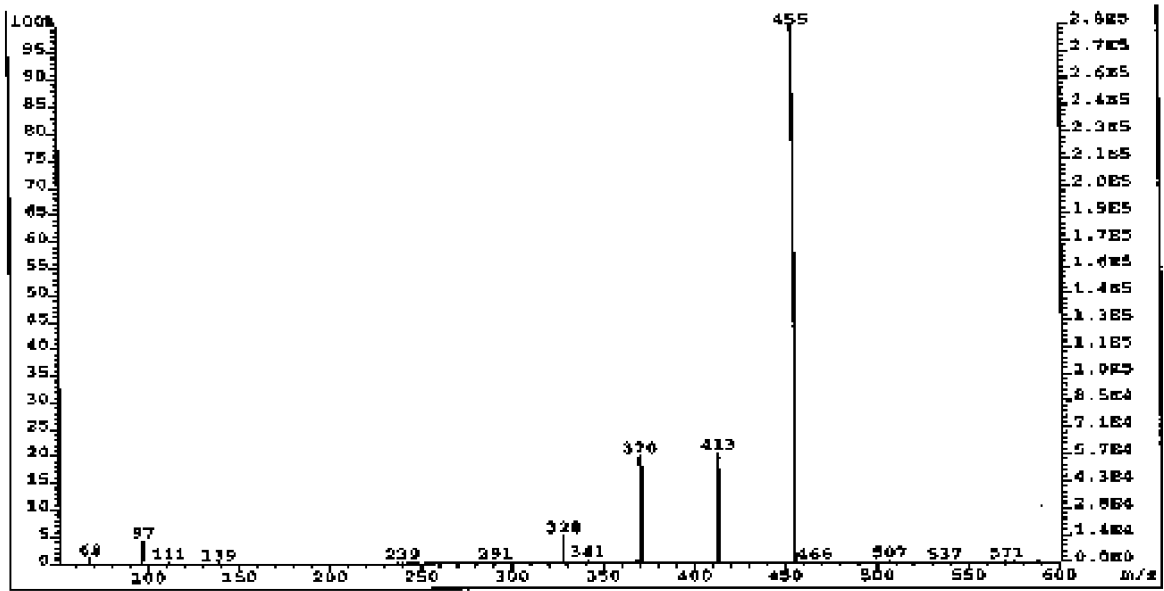


图7 正离子高分辨 FAB-MS谱

Figure 7 FAB-MS of tetraacetyl scutellarein (3)

### 2.3 苷的水解介质条件

苷水解的关键是苷键原子的质子化。灯盏花乙素在结构上属于葡萄糖醛酸苷,在水中几乎不溶,很难被质子化。实验中曾尝试按文献[11]方法,分别采用盐酸、硫酸和磷酸为催化剂,将灯盏花素置不同浓度的强酸介质中加热至沸,连续回流水解,TLC跟踪反应至完全。40%磷酸需7d以上,30%硫酸需4d而20%盐酸需5d。在如此苛刻条件下,灯盏花乙素本身极易发生氧化、开环裂解或降解,因此产物成分较为复杂,最终未能成功分离获得野黄芩素。本文以乙二醇-水-盐酸[V(乙二醇):V(水):V(盐酸) = 200:300:5]作为水解介质,由于灯盏花乙素在热的乙二醇水溶液中极易溶解质子化,故在很低的酸浓度下即可实现水解,反应时间也大为降低。该方法反应条件温和,收率较高,易于产业化。

### 2.4 酰化反应

野黄芩素存在4个酚羟基,进行乙酰化过程中,理论上可得到15种产物(即一乙酰化产物4种,二乙酰化产物6种,三乙酰化产物4种,四乙酰化产物1种)。最初尝试采用Hoesch法<sup>[12]</sup>进行乙酰化,未获成功;用 $AlCl_3/CH_3COCl/CH_3NO_2$ 体系进行乙酰化时,发现产物颜色和纯度很差,且

纯化困难;在醋酐-吡啶中,室温下反应72h会生成单乙酰化、二乙酰化、三乙酰化及全乙酰化多种产物,乙酰化的选择性差,无实际应用价值。最终我们以乙酸酐作乙酰化试剂,醋酸钾合并吡啶作催化剂,在回流的条件下,以较高的收率及良好的选择性实现了四乙酰野黄芩素的合成。

### 3 结论

以灯盏花素为原料,通过水解和酰化两步反应成功合成了四乙酰野黄芩素,产物结构经UV, IR, MS,  $^{13}C$ NMR和 $^1H$ NMR所证实。水解反应以乙二醇-水-盐酸[V(乙二醇):V(水):V(盐酸) = 200:300:5]为水解介质,加热回流约3h,产率可达81.3%;酰化反应以乙酸酐作酰化试剂,醋酸钾合并吡啶作催化剂,加热回流4h左右,产率86.1%。该方法具有原料易得,反应条件温和,操作简单等优点,适合工业化生产。

### 参考文献:

- [1] 云南省第一人民医院. 治疗瘫痪的中草药——灯盏花[J]. 中草药通讯, 1972, 3(2): 47-48
- [2] 张人伟. 灯盏花黄酮类成分的分离鉴定[J]. 中草药, 1988, 10(5): 7-9
- [3] 张俊, 李雪松, 张卫东. 中药灯盏花化学成分与药理活性研

究进展 [ J ]. 药学实践杂志, 2002, 20: 103-7.

[ 4 ] 张海燕, 平其能, 郭建新, 等. 灯盏花素及其  $\beta$ -环糊精包合物在大鼠体内的药代动力学 [ J ]. 药学报, 2005, 40(6): 563-567

[ 5 ] 操锋, 郭建新, 平其能, 等. 灯盏乙素酯类前药的合成、理化性质及降解研究 [ J ]. 药学报, 2006, 41(7): 595-602.

[ 6 ] 葛庆华, 周臻, 支晓瑾, 等. 灯盏花乙素在犬体内的药代动力学和绝对生物利用度研究 [ J ]. 中国医药工业杂志, 2003, 34(12): 618-620

[ 7 ] 蒋学华, 李素华, 兰轲, 等. 灯盏花素在家犬体内的药代动力学 [ J ]. 药学报, 2003, 38(5): 371-373

[ 8 ] Zhang J L, Che Q M, Li S Z. Study on metabolism of scutellarein in rats by HPLC-MS and HPLC-NMR [ J ]. J N at Prod 2003, 5(4): 249

[ 9 ] 车庆明, 潘丽怡, 陈颖, 等. 灯盏花乙素苷元的药动学研究 [ J ]. 中国药理学杂志, 2007, 42(18): 1418-1421.

[ 10 ] Tian Guilian, Zhang Ubai, Zhang Tianyou et al. Separation of flavonoids from the seeds of *Vernonia anthemifolia* Willd by high speed counter-current chromatography [ J ]. Journal of Chromatography A, 2004, 1049 (1-2), 219-222

[ 11 ] 车庆明. 一种制备灯盏乙素苷元的方法. 中国专利 CN1683357A [ P ]. 2005. 10. 19

[ 12 ] Spoerri P E. The hoesch synthesis [ J ]. Org Reaction 1949, 5 387-390

### Synthesis of Tetraacetyl Scutellarein

ZHOU Rong-guang<sup>1</sup>, YANG Zhao-xiang<sup>1</sup>, ZHANG Ying-jun<sup>2</sup>, ZHAO Jia-qiang<sup>1</sup>

(1. Institute for Drug Research and Development of Kunming Pharmaceutical Corporation, Kunming 50100, China  
 2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

**Abstract** Objective: To synthesize tetraacetyl scutellarein. Method: First, scutellarein was synthesized via a hydrolysis reaction of scutellarin, the main active component of breviscapine, in HCl/EG/HzO solution, then, tetraacetyl scutellarein was synthesized by acetylation of scutellarein with acetic anhydride catalyzed by CH<sub>3</sub>COOK/Py. Results: The first reaction has a yield of 81.3%, the purity of the compound scutellarein is 99.8%; the second reaction has a yield of 86%, the purity of the compound tetraacetyl scutellarein is 98.4%. The structures of these synthesized compounds were identified by UV, IR, MS, <sup>13</sup>CNMR and <sup>1</sup>HNMR. Conclusion: Tetraacetyl scutellarein was synthesized successfully starting from breviscapine. The method is simple, has the advantages of easy obtaining raw material and mild reaction condition, suitable for its industrialized production.

**Key words** breviscapine; scutellarin; scutellarein; tetraacetyl scutellarein

(上接第 15 页)

#### 参考文献:

[ 1 ] 国际肥料工业协会. 世界肥料使用手册 [ M ]. 北京: 中国农业出版社, 1999

[ 2 ] 化工部化肥工业研究所. 化肥工业译丛, 1990, 1: 31-34.

[ 3 ] 鲍碧娟. 磷石膏是一种良好的硫酸肥 [ J ]. 磷肥与复肥, 1998, 3: 65-66.

[ 4 ] Blair G, Pitala J, Yasm in N, et al. 澳大利亚和新西兰硫肥研究和应用进展 [ J ]. 安徽农业大学学报, 2000, 27(增刊): 12-24.

[ 5 ] 马常宝, 高祥照. 全球土壤缺硫与硫肥应用情况 [ J ]. 中国农技推广, 2008, 24(8): 31-33

### Preparation Research of Slow Release Urea Wrapped with Phosphogypsum

DONG Yun, ZHANG Zheng-qing

(1. Yunnan Research Institute of Chemical Industry, Kunming 650228, China; 2. Yun Tianhua Group, Kunming 650228, China)

**Abstract** Vast phosphogypsum has been brought with the preparation of phosphate. Stack of phosphogypsum in the open air is a huge potential safety hazard. And recovery of phosphogypsum is a universal problem. Phosphogypsum has been used in preparation of slow release urea in this research. With increasing of the utilization ratio of urea nitrogen, sulfur also has been provided for plant, and a lot of phosphogypsum has been consumed.

**Key words** slow release urea; phosphogypsum treatment