

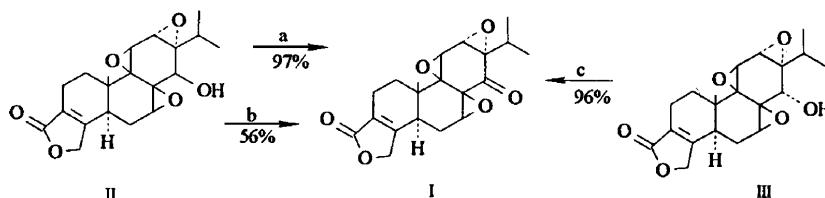
· 简 报 ·

雷公藤内酯酮的半合成方法研究^{*}马鹏程 闫 玮 吕 杨¹ 郑启泰¹(中国医学科学院·中国协和医科大学皮肤病研究所药物研究室,南京 210042;
中国医学科学院药物研究所,北京 100050)

关键词 雷公藤; 雷公藤内酯酮; 雷公藤内酯醇; 氧化

雷公藤环氧二萜内酯类化合物,是植物雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook f.)中起抗炎免疫及雄性抗生育活性的主要一类化合物。药理试验表明,在这类化合物中,雷公藤内酯酮(triptonide, I)反映的两类活性效价的差值最大,其抗生育单剂量效价比免疫抑制活性高约 12 倍^[1],具有一定的雄性抗生育活性优势,展现了一定的抗生育前景。但该

化合物由原植物提取的得率很低,从而限制了其进一步发展。本文报告用雷公藤中含量较高但毒性较大的同类化合物雷公藤内酯醇(triptolide, II)为反应起始物,通过吡啶-三氧化铬或铬酸氧化为雷公藤内酯酮。我们比较了一系列条件,结果表明,用重铬酸钾-三氧化铬-硫酸-水在丙酮中氧化的产率最高,得率达 97%。

a) $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{O}/(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ b) $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$

就雷公藤内酯醇和雷公藤内酯酮的化学结构而言,两者的主要区别在 14-C 处,前者为 β 型仲醇,后者为酮。我们选用常用的含六价铬(Cr^{6+})的试剂将仲醇氧化为酮。Ratcliffe 等^[2]曾用三氧化铬-吡啶混合物氧化某些仲醇,得率在 80%~99% 之间; Corey 等^[3]利用吡啶铬酰氯(pyridinium chlorochromate)氧化某些醇,也得到很高的得率。但我们采用上述两种方法氧化雷公藤内酯醇,得不到理想的结果,酮的得率均在 50% 以下。

我们在不影响内酯环的前提下,将 Ratcliffe 方法中氧化剂与醇的摩尔比由 6:1 增加到 10:1; 将 Corey 方法的反应时间由 1.5 h 增加到 4.5 h, 其酮的得率改变不大(见表 1)。

后来,我们改用重铬酸钾与硫酸组成的铬酸水溶液氧化^[5],产率提高到 71%~88%,同时看到反应在 2 h 后产率不增加。最后,我们在重铬酸钾与硫酸组成的氧化液中加入三氧化铬,以二氯甲烷为溶剂反应,雷公藤内酯酮的得率仅为 56%;当溶剂改为丙酮

Tab 1. Comparison of oxidation methods from triptolide(Ⅱ) and epitriptolide(Ⅲ) to triptonide(Ⅰ)

Sample	Weight, mg	Oxidizing agent	Solvent	Reaction time, h	Yield, %
Ⅱ	47 (0.13 mmol)	CrO ₃ , C ₅ H ₅ N (0.78 mmol, 1.56 mmol)	CH ₂ Cl ₂	3	44
Ⅱ	47 (0.13)	CrO ₃ , C ₅ H ₅ N (1.30 mmol, 2.60 mmol)	CH ₂ Cl ₂	3	45
Ⅱ	216 (0.6 mmol)	C ₅ H ₅ NHCro ₃ Cl (0.9 mmol)	CH ₂ Cl ₂	1.5	31
Ⅱ	216 (0.6 mmol)	C ₅ H ₅ NHCro ₃ Cl (0.9 mmol)	CH ₂ Cl ₂	4.5	31
Ⅱ	72 (0.2 mmol)	K ₂ Cr ₂ O ₇ , H ₂ SO ₄ , H ₂ O (0.1 ml)	CH ₂ Cl ₂	5.5	71
Ⅱ	72 (0.2 mmol)	K ₂ Cr ₂ O ₇ , H ₂ SO ₄ , H ₂ O (0.2 ml)	CH ₂ Cl ₂	2.4, 6.5	88
Ⅱ	72 (0.9 mmol)	K ₂ Cr ₂ O ₇ , H ₂ SO ₄ , H ₂ O (0.1 ml)	(CH ₃) ₂ CO	5	50
Ⅲ	360 (1 mmol)	K ₂ Cr ₂ O ₇ , H ₂ SO ₄ , CrO ₃ , H ₂ O (1.65 ml)	CH ₂ Cl ₂	0.33	96
Ⅱ	360 (1 mmol)	K ₂ Cr ₂ O ₇ , H ₂ SO ₄ , CrO ₃ , H ₂ O (1.65 ml)	CH ₂ Cl ₂	0.33	56
Ⅱ	1080 (3 mmol)	K ₂ Cr ₂ O ₇ , H ₂ SO ₄ , CrO ₃ , H ₂ O (4.95 ml)	(CH ₃) ₂ CO	0.33	97

时,雷公藤内酯酮的得率提高到 97%。有趣的是,我们以具有 14- α 羟基的表雷公藤内酯醇(epitriptolide, Ⅲ)为原料,同样以重铬酸钾-硫酸-三氧化铬在二氯甲烷溶剂中氧化,雷公藤内酯酮的得率却能达 96%。可见,不同溶剂对不同立体取向的仲醇的氧化影响也较大。

实验部分

熔点用 Yanaco 显微熔点仪测定(温度计未校正);核磁共振谱用 JNM-GX400 型核磁共振仪测定,TMS 为内标;雷公藤内酯醇原料、雷公藤内酯酮标准品及表雷公藤内酯醇原料均由本实验室从植物雷公藤中分离及制备^[6]。柱色谱条件:硅胶 H(青岛海洋化工厂),洗脱剂为乙酸乙酯-石油醚(1:1.5);TLC 条件:硅胶 G 薄层板,展开剂分别为乙酸乙酯-石油醚(1:1.5)、丙酮-乙醚(2:98)及乙醚^[4]。显色剂为 Kedde 试剂,雷公藤内酯醇、雷公藤内酯酮及表雷公藤内酯醇均显紫色。

红色。

1 三氧化铬-吡啶氧化

实验 1 取三氧化铬 78 mg(0.78 mmol)加到二氯甲烷 4 ml 中,水浴回流 15 min,再加无水吡啶 123 mg(1.56 mmol),继续回流 15 min 后,加入样品液[二氯甲烷 4 ml 中溶解雷公藤内酯醇 47 mg(0.13 mmol)],回流 3 h 后吸出溶液,残渣用乙醚 40 ml 洗涤,合并有机液,先后用 1 mol/L 氢氧化钠水溶液、1 mol/L 盐酸水溶液、饱和碳酸钠水溶液及饱和氯化钠水溶液洗涤。分出的有机层经浓缩后进行 TLC 检查,结果 I 的斑点与未反应完的 Ⅱ 的斑点大小相当。浓缩物经小柱色谱分离,得 I 20.7 mg(得率 44%)。

实验 2 采用与实验 1 相同的方法,以三氧化铬 130 mg(1.3 mmol)和吡啶 205 mg 在二氯甲烷中氧化雷公藤内酯醇 47 mg(0.13 mmol),得 I 21 mg(得率 44%)。

45%。

2 吡啶铬酰氯 (pyridinium chlorochromate, C₅H₅NHCrO₃Cl) 氧化

按文献 3 方法制备吡啶铬酰氯。

实验 3 将吡啶铬酰氯 194 mg (0.9 mmol) 置圆底烧瓶中, 再加入无水二氯甲烷 1.2 ml。电磁搅拌状态下加入溶有雷公藤内酯醇 216 mg (0.6 mmol) 的二氯甲烷样品液 4 ml, 继续搅拌 1.5 h, 加入无水乙醚 3 ml, 吸出有机层, 剩余物用无水乙醚洗 3 次, 合并有机层, TLC 检查, 可见到未反应完的 II 的斑点较产物 I 的斑点大得多。浓缩后进行小柱色谱, 得 I 67 mg (得率 31%)。

实验 4 采用与实验 3 相同的方法和用量, 仅将反应温度延长至 4.5 h, 结果得 I 68 mg (得率 31%)。

3 重铬酸钾/硫酸水溶液氧化

氧化液配制同文献^[5]。

实验 5 取雷公藤内酯醇 72 mg (0.2 mmol) 溶于二氯甲烷 6 ml 中, 边搅边加入上述氧化液 0.1 ml, 在 35~40℃ 下搅拌 2 h, 然后在自然温度下搅拌 3.5 h, 吸出二氯甲烷液, 残余物用二氯甲烷 5 ml 洗涤两次, 合并有机液, 先后用饱和碳酸氢钠及水洗涤, TLC 检查尚有部分未反应的雷公藤内酯醇。经小柱色谱得 I 51 mg (得率 71%)。

实验 6 采用与实验 5 相同的方法, 将加入的氧化液增加至 0.2 ml, 结果得 I 63 mg, (得率 88%)。

实验 7 采用与实验 6 相同的投料量及步骤, 以 TLC 检查反应 2 h、4 h 及 6.5 h 时的结果, 三种时间取样的薄层行为几乎无差异。

实验 8 按实验 5 的投料量进行, 仅将二氯甲烷改为丙酮, 结果得 I 36 mg (得率 50%)。

4 重铬酸钾/三氧化铬/硫酸水溶液氧化

氧化液配制: 取重铬酸钾 2.95 g (10 mmol) 和三氧化铬 1.35 g (13.5 mmol), 加热溶于 13.5 ml 蒸馏水中, 再加入 97% 硫酸 4.0 g (39.6 mmol) 混匀。

实验 9(双相法) 取预先配制的氧化液 1.65 ml 滴加到溶解了 360 mg 雷公藤内酯醇的二氯甲烷溶液中, 边加边搅拌, 50~60℃ 水浴上反应 20 min。减压蒸去溶剂, 残渣用氯仿和水处理, 分出氯仿层, 水层再以氯仿萃取两次, 合并氯仿液, 先后以饱和碳酸氢钠水溶液及蒸馏水洗涤, 氯仿层经无水硫酸钠干燥后, 减压浓缩, TLC 检查, 薄层板上 I 和未反应的雷公藤内酯醇斑点大小相当。经小柱色谱分离, 得 I 203 mg (得率 56%)。

实验 10(单相法) 取雷公藤内酯醇 1.08 g (3 mmol) 溶于丙酮中, 边搅边滴加氧化液 4.95 ml, 50~60℃ 水浴上反应 20 min, 后续处理步骤同实验 9。TLC 检查表明只有 I 斑点, 浓缩得 I 1.04 g (得率 97%)。分析用样品通过二氯甲烷-石油醚重结晶获得。mp 250.5~252.5℃; ¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz) δ ppm 0.86 (3H, d, J = 7Hz, 16-3H), 0.95 (3H, d, J = 7Hz, 17-3H), 1.04 (3H, s, 20-3H), 1.30 (1H, 3d, J = 12, 12, 6Hz, 1-H_a), 1.57 (1H, 2d, J = 12, 4Hz, 1-H_b), 1.96 (1H, 2d, J = 15, 14Hz, 6-H_b), 2.12 (1H, m, 2-H_a), 2.20 (1H, m, 6-H_a), 2.32 (1H, br. d, 2-H_a), 2.37 (1H, sept. J = 7Hz, 15-H), 2.79 (1H, br. d. 5-H), 3.39 (1H, d, J = 5Hz, 7-H), 3.82 (1H, d, J = 3Hz, 12-H), 4.04 (1H, d, J = 3Hz, 11-H), 4.65 (1H, d, J = 19Hz, 19-H_a), 4.76 (1H, d, J = 19Hz, 19-H_b)。与从雷公藤植物分离出的天然雷公藤内酯酮^[6]比较, 混合熔点不下降; 以三个展开系统进行 TLC 检测, 两者的 R_f 值完全一致。后经 X 射线晶体衍射证实为雷公藤内酯酮 (结晶参数存中科院药物研究所 X 衍射室)。

实验 11 取表雷公藤内酯醇 360 mg(1 mmol), 溶解于二氯甲烷中, 按实验 9 法进行氧化, 得雷公藤内酯酮 346 mg(得率 96%)。致谢 核磁共振谱承军事医学科学院仪器测试中心代测。

参 考 文 献

- 1 郑家润, 顾克显, 高纪传等. 雷公藤抗炎免疫及抗生育活性成分的筛选Ⅳ. 7个环氧二萜内酯化合物体内雄性抗生育活性的比较. 中国医学科学院学报, 1991; **13**(6):398
- 2 Ratcliffe R and Rodehorst R. Improved Procedure for oxidations with the chromium trioxide-pyridine com-

- plex. *J Org Chem*, 1970; **35**(11):4000
- 3 Corey EJ and William S J. Pyridinium chlorochromate. An efficient reagent for oxidation of primary and secondary alcohols to carbonyl compounds. *Tetrahedron Letters*, 1975; **31**:2647
- 4 马鹏程, 杨长林. 雷公藤中 12-表雷公藤内酯三醇的分离与结构研究. 植物学报, 1993; **35**(8):637
- 5 Brown HC, Garg CP and Liu KT. The Oxidation of secondary alcohols in diethyl ether with aqueous chromic acid. A convenient procedure for the preparation of ketones in high epimeric purity. *J Org Chem*, 1971; **36**(3):387
- 6 马鹏程, 吕燮余, 王莉莉. 雷藤氯内酯醇的半合成研究. 中国药科大学学报, 1992; **23**(3):135

Study on Semisynthesis of Triptonide

Ma Pengcheng, Yan Wei, Lu Yang*, Zheng Qitai*

Department of Materia Medica, Institute of Dermatology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Nanjing 210042; Institute of Materia Medica, Beijing 100050

Abstract Triptonide(I) is one of the epoxide diterpenes isolated from *Tripterygium wilfordii* Hook f. (TW). Pharmacologic assay showed that triptonide possesses a potent male antifertility effect, and its dose ratio of antifertility action to immunosuppressive action is lower than that of any other known epoxide diterpene from TW. It is inferred that triptonide may be developed into a male contraceptive, but the content of triptonide is very low in TW. We have semi-synthesized triptonide by the oxidation of triptolide(II) isolated from TW. It is clear from the data of some oxidation methods that the condition of oxidation with $K_2Cr_2O_7/CrO_3/H_2SO_4/H_2O/(CH_3)_2CO$ is better. Triptolide was converted into triptonide by 97%.

Key words *Tripterygium wilfordii*; Triptonide; Triptolide; Oxidation