

stonol 相同^[9],最后通过 X-射线单晶衍射确证了其结构,晶体结构投影图见图 1。实验所用晶体呈无色透明块状,大小为 0.1 mm×0.2 mm×0.2 mm,属正交晶系,空间群为 P2₁2₁2₁,晶胞参数:a=0.945 8(1),b=1.316 1(1),c=1.348 1(1) nm。晶胞体积 V=167.81(1) nm³,晶胞内分子数 Z=4。用 MAC DIP-2030K 面扫测仪收集衍射强度数据,MoK α 辐射,石墨单色器。获得独立衍射点 2 055 个,可观察点 ($|F|^2 \geq 3\sigma|F|^2$) 为 1 665 个。用直接法解析结构,从 E 图上获得 20 个非氢原子位置,交迭使用最小二乘法 and 差值 Fourier 法获得其他非氢原子位置,使用最小二乘法修正结构参数和判别原子种类,使用几何计算法和差值 Fourier 法获得全部氢原子位置,最终可靠因子 R_f = 0.041, R_w = 0.043 ($w = 1/\sigma|F|^2$)。

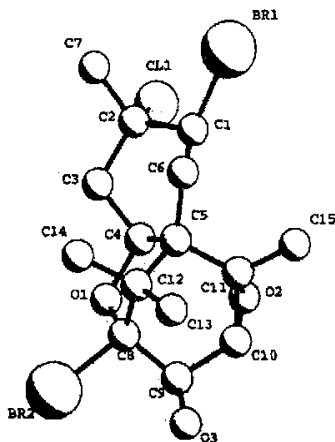


图 1 化合物 V 的 X-射线单晶衍射图
Fig. 1 Single-crystal X-ray diffraction analysis of compound V

4 人肿瘤细胞毒活性测试

用 MTT 法^[10]对上述 5 个化合物在 HCT-8、

Bel-7402、BGC-823、A549 和 HeLa 细胞上进行了人肿瘤细胞毒活性测试,结果表明发现化合物 IV 对所有测试细胞均具有毒性,IC₅₀分别为 1.77、1.91、1.22、1.68 和 1.61 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。化合物 III 对 HeLa 细胞显示中等强度的细胞毒活性(IC₅₀为 3.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$),其它化合物对所有细胞株均无明显毒性(IC₅₀> 10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。

References:

- [1] Ayyad S N, Jakupovic J, Abdel-Mogib M. A sesquiterpene ether from *Laurencia obtusa* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 36: 1077-1078.
- [2] Suzuki M, Daitoh M, Vairappan C S, et al. Novel halogenated metabolites from the Malaysian *Laurencia pannosa* [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64: 597-602.
- [3] Iliopoulou D, Roussis V, Pannecouque C, et al. Halogenated sesquiterpenes from the Malaysian *Laurencia pannosa* [J]. *Tetrahedron*, 2002, 58: 6749-6755.
- [4] Vairappan C S, Suzuki M, Ave T, et al. Halogenated metabolites with antibacterial activity from the Okinawan *Laurencia* species [J]. *Phytochemistry*, 2001, 58: 517-523.
- [5] Laronze Y, Boukili R E, Patigny D, et al. The rearrangement of some cyclopentanone-aryloximes; synthesis of (\pm)-aplysins, (\pm)-filiformin and of their debromo analogues [J]. *Tetrahedron*, 1991, 47(48): 10003-10014.
- [6] Harrowven D C, Lucas M C, Howes P D. The synthesis of natural product family; from debromoisolaurineterol to aplysins [J]. *Tetrahedron*, 2001, 57: 791-804.
- [7] Suzuki M, Kurosawa E. Halogenated and non-halogenated aromatic sesquiterpenes from the red algae *Laurencia okamuraiyamada* [J]. *Bull Chem Soc Jpn*, 1979, 52(11): 3352-3354.
- [8] Shizuri Y, Yamada K. Laurebiphenyl, a dimeric sesquiterpene of the cyclolaurane-type from the red alga *Laurencia nidifica* [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(6): 1385-1386.
- [9] Sims J J, William F. Marine natural product III johnstonoi, an unusual halogenated epoxide from the red alga *Laurencia johnstonii* [J]. *Tetrahedron Lett*, 1972, (3): 195-198.
- [10] Carmichael J, Degraff W G, Gazdar A F, et al. Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing [J]. *Cancer Res*, 1987, 47(4): 936-942.

新型含异噁唑的甘草次酸酰胺类衍生物的合成研究

汤立达^{1,2},王建武^{1*},张士俊²,雍建平³,刘利军³,王玉丽²,吴楠²,徐为人²

(1. 山东大学化学与化工学院,山东 济南 250100; 2. 天津药物研究院,天津 300193;

3. 宁夏大学化学学院,宁夏 银川 750021)

摘要:目的 合成甘草次酸酰胺的异噁唑衍生物,寻找活性好的抗炎药物。方法 以甘草次酸为原料,与 3-取代苯基-5-异噁唑甲胺进行偶联,合成了 6 个新型甘草次酸酰胺类衍生物,采用 IR、¹H-NMR、¹³C-NMR、MS 等方法确

收稿日期:2005-10-20

作者简介:汤立达(1963-),男,福建人,山东大学博士生,天津药物研究院研究员,主要从事新药的研究和评价工作。

* 通讯作者 王建武 E-mail: jwwang@sdu.edu.cn

定其化学结构。以二甲苯引起的小鼠耳肿模型和醋酸引起的小鼠腹膜炎模型评价了抗炎活性。结果 IR、¹H-NMR、¹³C-NMR、MS 等数据表明这些化学结构正确。其中,化合物 N 具有明显的抗炎活性。结论 合成的系列新化合物结构正确,发现了一个抗炎活性较强的化合物。

关键词:甘草次酸;酰胺衍生物;异噁唑;抗炎活性

中图分类号:R284.1 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2006)03-0332-06

Synthesis of novel acylamide derivatives of glycyrrhetic acid containing isoxazole

TANG Li-da^{1,2}, WANG Jian-wu¹, ZHANG Shi-jun², YONG Jian-ping³, LIU Li-jun³,

WANG Yu-li², WU Nan², XU Wei-ren²

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Shandong University, Ji'nan 250100, China; 2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China; 3. School of Chemistry, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: Objective To synthesize the novel derivatives of glycyrrhetic acid containing isoxazole ring with high anti-inflammatory activities. **Methods** Using 18 β -glycyrrhetic acid as a raw material, six novel glycyrrhetic 30-amide derivatives were synthesized by coupling of 18 β -glycyrrhetic acid with 3-R-Ar-5-isoxazole-methylamine. And the synthesized compounds were analyzed by means of IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, and MS. Their preliminary anti-inflammatory activities were evaluated by two models. They are ear swelling of mice induced by xylene and peritonitis of mice induced by acetic acid. **Results** The structures of all the novel compounds were identified and proven right. The compound IV showed a significant anti-inflammatory activity in two model tests and compounds I, II, and III were active only by inhibiting the ear swelling induced by xylene. **Conclusion** The modification of glycyrrhetic acid can produce a series of derivatives with correct structures and various activities, and a compound with significant anti-inflammation has been found.

Key words: glycyrrhetic acid; acylamide derivatives; isoxazole; anti-inflammatory activity

豆科植物甘草是一种重要的传统中药。药理研究表明,甘草具有抗炎、抗病毒、抗过敏^[1]、抗肿瘤、抗氧化、抗溃疡和抗变态反应作用^[2]。现代医学研究表明,甘草药理作用的主要有效成分是甘草酸、苷元甘草次酸及其衍生物^[3]。但是临床上应用常伴有假醛固酮增多症,表现为患者长期服用后出现低血钾现象^[4]。因此,有目的修饰其结构以寻找高效、不良反应低的新药引起人们的关注。取代异噁唑杂环是一类具有广泛生物活性的分子结构。药物分子中引入异噁唑杂环,可以改变药物分子与受体结合的性质。据此,结合甘草次酸的构效关系,笔者以取代苯甲醛为起始原料,经与羟胺反应成肟,再经 3+2 环加成、羟基转氨基的一系列反应,制备了 3-取代苯基-5-异噁唑甲胺衍生物。再用 3-取代苯基-5-异噁唑甲胺衍生物与甘草次酸进行偶联反应,合成了一类新型的含有异噁唑杂环的甘草次酰胺类衍生物。初步的活性实验表明,此类化合物均具有较高的抗炎活性。

1 材料

1.1 仪器:¹H-NMR、¹³C-NMR 均为 Bruker Avance Dpx400 核磁共振仪测定,IR 用岛津 STIR-8400S

(KBr 压片)测定,X-4 数字显示显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司产品),质谱在 ZAB.SPEC 型质谱仪(FAB 源上测定)。电子天平(北京赛德利斯仪器系统有限公司),岛津 UV 分光光度仪。

1.2 试剂:甘草次酸购于山东曙光植物制品有限公司,N,N'-二环己基碳二酰亚胺(DCC)、1-羟基苯并三氮唑(HOBt)均购于上海化学试剂站,试剂均为分析纯,二氯甲烷(DCM)或四氢呋喃(THF)使用时严格无水处理。

1.3 动物:健康 ICR 种小鼠,雌雄各半,体重 18~20 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,北京市实验动物质量合格证编号 0050625。健康昆明种小鼠,雌雄兼用,体重 18~20 g,由中国医学科学院试验动物研究所繁育场提供,北京市实验动物质量合格证编号 SCXK 京 2004-0001。

2 方法

2.1 3-取代苯基-5-氨基-异噁唑衍生物合成的一般过程^[5]

2.1.1 取代苯甲醛肟的制备:10.00 mmol R-取代苯甲醛溶解在 30 mL 30% 甲醇水溶液中,搅拌下加入 10.00 mmol 盐酸羟氨,溶解后缓慢加入 5.00

mmol 碳酸钠, 室温反应 2 h, 向体系加入 30 mL 水, 二氯甲烷(DCM)(3×30 mL)萃取, 合并有机层, 无水硫酸钠干燥。脱溶剂即得粗产物, 粗产物直接进行下一步反应。

2.1.2 3-取代苯基-5-羟甲基异噁唑的合成: 10.00 mmol 取代苯甲醛溶于 30 mL DCM 中, 搅拌下分批加入 1.60 g 氯代丁二酰亚胺(NCS)(12.00 mmol), 微微加热至 NCS 全部溶解后, 滴加 0.56 g (10.00 mmol) 2-丙炔-1-醇, 随后滴加 1.01 g (10.00 mmol) 三乙胺, 加完后体系回流。TLC 指示反应终点。反应完成后, 母液水洗, 无水硫酸钠干燥, 柱分离, 以石油醚(bp 60~90 °C)-醋酸乙酯(3:1)洗脱, 即得产物。

2.1.3 3-(取代苯基)-5-甲磺酰氧甲基-异噁唑的合成: 10.00 mmol 5-羟甲基-3-(R 基-苯基)-异噁唑溶于 30 mL DCM 中, 冰浴搅拌下将 1.01 g (10.00 mmol) 三乙胺滴加入体系中, 然后将 1.37 g (12.00 mmol) 甲磺酰氯(MSCL)用 5 mL DCM 稀释并滴加入体系中, 冰浴反应 2 h 后, 室温反应, TLC 指示反应终点。反应完成后, 母液水洗, 5%碳酸氢钠溶液

洗, 水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压脱溶剂得粗产物, 粗产物直接进行下一步反应。

2.1.4 3-(取代苯基)-5-叠氮甲基-异噁唑的合成: 5.00 mmol 3-(取代苯基)-5-甲磺酰氧甲基-异噁唑溶解在 20 mL DMF 中, 加入 0.34 g (5.20 mmol) 叠氮化钠, 室温搅拌溶解后, 置于 45~50 °C 油浴中反应, TLC 指示反应终点, 反应完成后, 向体系中加 100 mL 水, 用乙醚(5×30 mL)萃取, 合并有机层, 有机层水洗 2 次, 无水硫酸钠干燥, 脱溶液后得粗产物, 粗产物直接进行下面的还原反应。

2.1.5 3-(取代苯基)-5-氨基甲基-异噁唑的合成^[6]: 5.00 mmol 3-(取代苯基)-5-叠氮甲基-异噁唑溶解在 80 mL 乙醇和 20 mL 水的混合溶液中, 将 0.17 g (2.6 mmol) 锌粉和 0.28 g (5.2 mmol) NH₄Cl 加入体系, 回流 1 h, 真空脱去乙醇, 向体系加入 20 mL 水, 用 20% 氢氧化钠溶液调至 pH 12, 向体系中加入 50 mL DCM, 搅拌均匀后, 滤过, 滤渣再用少量的水溶解, 按上面的过程处理, 合并两次的滤液, 分出有机层, 水洗, 无水硫酸钠干燥, 真空脱溶液, 残渣柱分离得产物。合成路线见图 1。

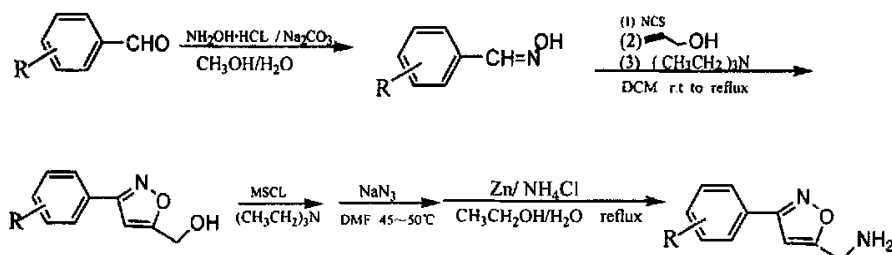


图 1 3-取代苯基-5-异噁唑甲基胺衍生物的制备路线

Fig. 1 Synthesis of 3-R-Ar-5-isoxazole-methylamine derivatives

2.2 *N*[(3-取代苯基-异噁唑-5-基)-甲基]-甘草次酰胺衍生物合成的一般过程^[7]: 将 0.50 mmol 甘草次酸(GTA)和 0.11 g (0.55 mmol) *N,N'*-二环己基碳二酰亚胺(DCC)溶解于 8 mL 二氯甲烷和 2 mL DMF 的混合溶液中, 室温搅拌 10 min 后将 0.08 g (0.60 mmol) 的 HOBt 溶解在 8 mL 二氯甲烷和 2 mL DMF 的混合溶液中, 冰浴搅拌下通过注射器滴加入上述体系中, 冰浴搅拌 30 min 后, 将 0.75 mmol 3-(取代苯基)-5-异噁唑甲胺溶解在 8 mL 二氯甲烷中, 冰浴搅拌下通过注射器滴加入上述体系中, 冰浴搅拌 2 h 后, 自然升至室温继续反应, TLC 指示反应进程, 反应结束后, 滤掉沉淀 DCU, 母液分别用 5%碳酸氢钠溶液(2×10 mL)、水、5%柠檬酸溶和水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 柱色谱分离, 以石油

醚(bp 60~90 °C)-醋酸乙酯(5:1~2:1)梯度洗脱即得目标产物。合成路线见图 2。

2.3 二甲苯致小鼠耳肿模型: 健康 ICR 小鼠, 18~22 g, 雌雄兼用, 按体重随机分组, 每组 8~10 只。分别为模型组、阳性药组和 11-脱氧甘草次酸衍生物不同结构 40 mg/kg 组。用于活性试验的样品, 试验时以 1% CMC-Na 配制成 2 mg/mL 溶液, 给药容量为 0.4 mL/20 g 体重, 相当于 40 mg/kg。模型对照组给予等容量的常水对照。根据体重 ig 给药, 给药后 30 min 后向小鼠右耳滴加 50 μL 二甲苯溶液, 30 min 后脱颈椎处死, 迅速剪下小鼠双耳, 用直径 0.6 cm 的打孔器取下相同部位的耳片, 称重。同一小鼠的肿胀耳与正常耳的差值作为肿胀的指标, 把同批实验的模型组的平均肿胀度定为 100%, 按公式:

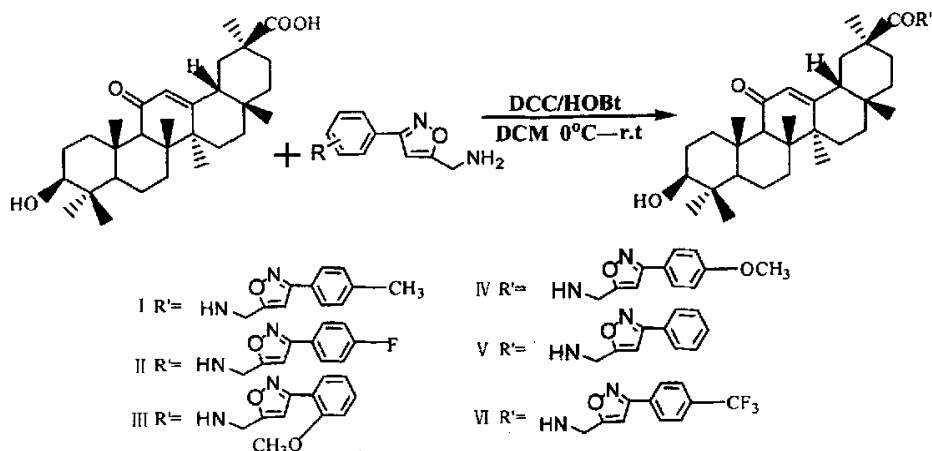


图 2 甘草次酸-30-酰胺衍生物的合成方法及化合物标号

Fig. 2 Synthesis of 30-acylamide derivatives of glycyrrhetic acid and their compounds labels

$$\text{肿胀系数} = \frac{\text{每个动物肿胀耳与正常耳差值}}{\text{模型组肿胀耳与正常耳差值平均值}} \times 100\%$$

计算各给药组的相对肿胀指数,结果用 *t* 检验进行生物统计学处理。

2.4 醋酸致小鼠腹膜炎模型:健康昆明种小鼠,18~22 g,雌雄兼用,按体重随机分为 9 组,每组 8~10 只。分别为模型组、不同 11-脱氧基甘草次酸衍生物 40 mg/kg 组。用于活性试验的样品,试验时以 1% CMC-Na 配制成 2 mg/mL 溶液,给药容量 0.4 mL/20 g 体重,相当于 40 mg/kg。模型对照组给予等容量的常水对照。根据体重 ig 给药,给药 40 min 后尾 iv 1%伊文思兰 0.1 mL/10 g 体重,随即 ip 0.6%醋酸 0.2 mL/只,20 min 后动物脱颈椎处死,用 2 mL 生理盐水洗涤腹腔 3 次,合并洗涤液,用生理盐水定量稀释至 6 mL 后离心,上清液在 590 nm 测定吸光度值。吸光度值直接作为炎性渗出的指标,把同批实验的模型组的平均吸光度值定为 100%,按公式:

$$\text{渗出指数} = \frac{\text{每个动物的吸光度}}{\text{模型组的平均吸光度}} \times 100\%$$

计算各给药组的相对渗出指数,结果用 *t* 检验进行生物统计学处理。

3 结果

3.1 3-(*R* 取代苯基)-5-氨基甲基-异噁唑中间体:通过上面的系列反应合成了如下的 3-(*R* 取代苯基)-5-氨基甲基-异噁唑中间体,结果见表 1。


3.2 甘草次酰胺衍生物的结构数据

3.2.1 *N*[(3-对甲基苯基-异噁唑-5-基)甲基]-甘草次酰胺(化合物 I):收率 43.39%,mp 249~250 °C,白色粉末。¹H-NMR(400 MHz,CDCl₃,TMS)δ: 0.80~0.89(6H,m),1.00~1.10(6H,m),1.13~1.21(12H,m),1.31~1.48(8H,m),1.53~1.58


表 1 3-(*R* 取代苯基)-5-氨基甲基-异噁唑中间体的结果


Table 1 Results of 3-*R*-Ar-5-isoxazole-methylamine

R	mp/°C	收率/%
<i>p</i> -CH ₃	62~63	79.0
<i>p</i> -F	74~76	85.0
<i>o</i> -OCH ₃	139~140	86.0
<i>p</i> -OCH ₃	78~80	86.7
H	40~41	79.0
<i>p</i> -CF ₃	57~58	82.8


(2H,m),1.68~2.03(6H,m),2.03~2.07(1H,t,H-18β),2.33(1H,s,H-C₉),2.39(3H,s,Ar-CH₃),2.78~2.81(1H,d),3.20~3.24(1H,t,H-C₃),4.59~4.66(2H,m),5.69(1H,s,H-Δ¹²),6.10(1H,brs,-NH-),6.44(1H,s,)⁺,7.24~7.67(4H,m,H-Ar)。IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3 460.06 (-NH-), 3 394.48 (-OH), 2 956.67, 2 927.74, 2 896.88, 1 654.81 (-C=O), 1 645.17 (-HN-C=O), 1 600.81, 1 456.16 (Ar-H), 1 529.45 (-C=N-), 1 384.79, 1 357.79,(齐墩果烷型五环三萜骨架 A 区的两特征峰),1 326.93,1 280.65,1 255.57(齐墩果烷型五环三萜骨架 B 区的三特征峰)。¹³C-NMR(400 MHz DMSO-d₆ TMS)δ: 199.05 (-C=O), 175.57 (NH-C=O), 171.41, 169.49, 161.61, 139.81, 129.63, 127.51, 126.41, 125.81, 99.37, 76.58 (C₃), 61.15, 54.09, 47.56, 44.79, 42.99, 36.64, 61.15, 54.10, 47.56, 44.79, 42.99, 36.64, 31.36, 28.33, 22.99, 20.92, 18.33, 16.14, 15.97 *m/z*: (FAB) for C₄₁H₅₆N₂O₄, calcd: 641.9 (M⁺+1),found: 641.6(M⁺+1)。


3.2.2 *N*[(3-对氟苯基-异噁唑-5-基)甲基]-甘草

次酰胺(化合物 I): 收率 55.57%, mp 243~244 °C, 白色粉末。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆ TMS) δ: 0.69~0.74(6H, m), 0.91(6H, t), 1.03~1.24(12H, m), 1.29~1.35(8H, m), 1.50(2H, d), 1.66~1.92(6H, m), 2.07~2.09(1H, t, H-18β), 2.32(1H, s, H-C₉), 2.57~2.60(1H, d, -OH), 3.00~3.02(1H, m, H-C₃), 4.45~4.50(2H, m), 5.51(1H, s, H-Δ¹²), 6.75(1H, s, )^H, 7.33(2H, t, H-Ar), 7.89(2H, t, H-Ar), 8.31(1H, t, -NH-), IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3 445.59(-NH-), 3 385.80(-OH), 2 964.39, 2 929.67, 2 869.88, 1 652.88(-C=O), 1 646.13(-HN-C=O), 1 435.90(Ar-H), 1 527.52(-C=N-), 1 386.72, 1 359.72(A 区的两特征峰), 1 326.93, 1 282.57, 1 234.36(B 区的三特征峰)。¹³C-NMR(400 MHz DMSO-d₆) δ: 119.05(-C=O), 175.58(NH-C=O), 171.69, 169.49, 164.35, 161.89, 160.85, 128.89, 127.513, 125.187, 116.112, 116.005, 99.524, 76.577(C₃), 61.159, 54.10, 47.54, 44.79, 42.98, 36.64, 34.93, 31.35, 28.38, 28.32, 28.12, 22.98, 18.33, 16.14, 15.97。FAB-MS *m/z*: for C₄₀H₅₃N₂O₄F, calcd: 645.5(M⁺+1), found: 645.6(M⁺+1)。

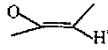
3.2.3 N[(3-邻甲氧基苯基-异噁唑-5-基)甲基]-甘草次酰胺(化合物 III): 收率 56.71%, mp 278~280 °C, 白色粉末。¹H-NMR(400 MHz DMSO-d₆ TMS) δ: 0.68~0.71(6H, d), 0.90~0.92(6H, m), 1.11~1.16(12H, m), 1.29~1.35(8H, m), 1.49~1.52(2H, d), 1.67~1.98(6H, m), 2.06~2.09(1H, t, H-18β), 2.57~2.61(1H, d), 2.99~3.02(1H, m, H-C₃), 3.81(3H, s, -OCH₃), 4.43~4.48(2H, m), 5.51(1H, s, H-Δ¹²), 5.58(1H, s, )^H, 7.01~7.73(4H, m, Ar-H), 8.29~8.31(1H, t, -NH-)。IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3 468.63(-NH-), 3 340.77(-OH), 2 970.17, 2 935.46, 2 967.95, 1 654.81(-C=O), 1 635.52(-HN-C=O), 1 600.81, 1 473.51(Ar-H), 1 506.30(-C=N-), 1 386.72, 1 361.65(A 区的两特征峰), 1 325.01, 1 278.72, 1 247.86(B 区的三特征峰)。¹³C-NMR(400 MHz DMSO-d₆ TMS) δ: 199.08(-C=O), 175.57(NH-C=O), 170.62, 169.51, 159.26, 156.83, 131.54, 128.69, 127.51, 120.74, 117.07, 112.19, 102.38, 76.54(HO-C), 61.14, 55.60,

54.05, 47.67, 44.79, 43.02, 36.61, 35.05, 31.38, 28.40, 28.29, 28.11, 22.99, 18.30, 16.16, 15.98。FAB-MS *m/z*: for C₄₁H₅₆N₂O₅, calcd: 657.5(M⁺), found: 657.6(M⁺+1)。

3.2.4 N[(3-对甲氧基苯基-异噁唑-5-基)甲基]-甘草次酰胺(化合物 IV): 收率 56.71%, mp 247~249 °C, 白色粉末。¹H-NMR(400 MHz DMSO-d₆ TMS) δ: 0.69~0.71(6H, d), 0.91(6H, m), 1.03~1.12(12H, m), 1.29~1.35(8H, m), 1.50(2H, d), 1.66~1.91(6H, m), 2.09(1H, t, H-18β), 2.32(1H, s, H-9), 2.57(1H, d, -OH), 3.00(1H, dt, H-3), 3.81(3H, s, -OCH₃), 4.44(2H, m), 5.52(1H, s, H-Δ¹²), 5.67(1H, s, )^H, 7.03~7.05(2H, d, Ar-H), 7.75~7.77(2H, d, Ar-H), 8.29(1H, t, -NH-)。IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3 447.52(-NH-), 3 297.08(-OH), 2 930.63, 2 871.81, 1 64.81(-C=O), 1 647.10(-HN-C=O), 1 600.81, 1 473.51, 829.3((Ar-H), 1 531.37(-C=N-), 1 385.76, 1 357.79(A 区的两特征峰), 1 326.93, 1 299.93, 1 255.57(B 区的三特征峰)。FAB-MS *m/z*: for C₄₁H₅₆N₂O₅, calcd: 657.5(M⁺+1), found: 657.8(M⁺+1)。

3.2.5 N[(3-苯基-异噁唑-5-基)甲基]-甘草次酰胺(化合物 V): 收率 58.57%, mp 214~216 °C, 白色粉末。¹H-NMR(400 MHz DMSO-d₆ TMS) δ: 0.69~0.71(6H, d), 0.91~0.97(6H, m), 1.03~1.08(12H, m), 1.30~1.35(8H, m), 1.50(2H, m), 1.66~1.92(6H, m), 2.07~2.09(1H, m, H-18β), 2.31(1H, s, H-9), 2.57~2.60(1H, d, -OH), 3.01~3.02(1H, m, H-3), 4.45~4.50(2H, m), 5.52(1H, s, H-Δ¹²), 6.74(1H, s, )^H, 7.49~7.83(5H, m, Ar), 8.31(1H, t, -NH-)。IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3 461.99(-NH-), 3 445.55(-OH), 2 964.38, 2 930.63, 2 868.92, 1 654.81(-C=O), 1 646.13(-NH-C=O), 1 529.45(C=N), 1 468.66, 1 441.69, 768.58(Ar), 1 385.76, 1 361.65(A 区的两特征峰), 1 325.97, 1 299.96, 1 258.66(B 区的三特征峰)。FAB-MS *m/z*: for C₄₀H₅₄N₂O₄, calcd: 627.9(M⁺+1), found: 627.7(M⁺+1)。

3.2.6 N[(3-对三氟甲基苯基-异噁唑-5-基)甲基]-甘草次酰胺(化合物 VI): 收率 62.86%, mp 175~176 °C, 白色粉末。¹H-NMR(400 MHz DMSO-d₆ TMS) δ: 0.70~0.71(6H, d), 0.77~0.81

(1H, m), 0.82~0.84(5H, m), 0.85~0.93(6H, d), 1.02~1.09(6H, d), 1.31~1.35(8H, m), 1.51~1.66(6H, m), 2.08(2H, m), 2.31(1H, s), 2.51~2.52(1H, d), 3.00~3.03(1H, m), 4.31(1H, s), 4.49~4.54(2H, m), 5.53(1H, s, H- Δ^{12}), 6.89(1H, s, ) , 7.86~7.88(2H, d, Ar-H), 8.07~8.09(2H, d, Ar-H), 8.33~8.36(1H, t, NH)。IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3 445.59(-NH-), 3 385.80(-OH), 2 964.39, 2 929.67, 2 869.88, 1 652.88(-C=O), 1 646.13(-HN-C=O), 1 435.90(Ar-H), 1 527.52(-C=N-), 1 386.72, 1 359.72(A区的两特征峰), 1 326.93, 1 282.57, 1 234.36(B区的三特征峰)。

3.3 抗炎活性测试

3.3.1 二甲苯致耳肿模型: 试验结果表明, 动物的右耳滴加了二甲苯后出现明显水肿, 重量较左耳明显上升, 证明了模型可靠性; 给予不同结构的甘草次酸衍生物后, 化合物 I~IV 能够明显抑制二甲苯引起的小鼠耳水肿(表 2), 部分化合物的抑制率略高于氢化可的松, 表明化合物具有较强的抗急性组织炎性肿胀的作用。

3.3.2 小鼠腹膜炎模型: 试验结果表明, 动物注射醋酸, 模拟炎症引的腹腔毛细血管通透性增加, 使染料渗出增加, 经给予不同结构的甘草次酸衍生物后, 化合物 IV 能明显降低血管的通透性, 使染料渗出减少(表 2), 表明具有较强的抗炎作用, 抑制率略高于阳性药氢化可的松。综合两个模型, 化合物 IV 的活性较强。

4 讨论

本实验以取代苯甲醛为起始原料, 经与羟胺反应成肟, 再经 3+2 环加成, 羟基转氨基的一系列反应, 制备了 3-取代苯基-5-异噁唑胺衍生物。再用 3-取代苯基-5-异噁唑胺衍生物与甘草次酸进行偶联反应, 合成了一类新型的含有异噁唑杂环的甘草次酰胺类衍生物。

在 2-炔丙-1 醇与取代苯基肟进行 3+2 环加成反应中, 由于 2-炔丙-1 醇中羟基的存在与氧化亚铜偶极体的氢键作用以及端基效应, 使得所得产物主要

为 3,5 取代异噁唑。以本合成路线合成 3-取代苯基-5-异噁唑胺, 每步的收率均较高, 且产物易于分离。在进行甘草次酸与 3-取代苯基-5-异噁唑胺的偶联反应中, 由于偶联剂的存在, 溶剂必须严格无水。

表 2 甘草次酸酰胺衍生物的抗炎活性测试结果

Table 2 Determination of anti-inflammatory activity of glycyrrhetic acid derivatives

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	肿胀指数/%	渗出指数/%
模型	40	100.0±27.4	100.0±48.9
氢化可的松	40	55.7±46.9*	54.1±31.5*
化合物 I	40	59.7±34.0*	91.6±57.7
化合物 II	40	53.8±31.5*	71.7±44.7
化合物 III	40	49.3±35.6**	94.7±57.1
化合物 IV	40	42.8±46.9**	38.1±18.7**
化合物 V	40	63.0±46.9	64.6±50.7
化合物 VI	40	80.1±37.2	53.9±31.2

与模型组相比: *P<0.05 **P<0.01

vs model group *P<0.05 **P<0.01

初步的抗炎活性表明此类化合物均具有较高的抗炎活性, 部分化合物显示出比氢化可的松更强的抗炎活性。这为抗炎活性药物的筛选提供了新的候选化合物, 具有一定的实用意义。

References:

[1] Inoub H, Mori T, Shibata S, et al. Pharmacological activities of glycyrrhetic acid derivatives analgesic and anti-type IV allergic effect [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(9): 3885-3893.

[2] Farina C, Pinza M, Pifferi G. Synthesis and anti-ulcer activity of new derivatives of glycyrrhetic oleanic and ursolic acids [J]. *IL Farmaco*, 1998, 53: 22-32.

[3] Hu Z H. The development and application of the derivatives of glycyrrhetic acid [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1988, 23: 553-560.

[4] Shibata S, Takahashi K, Yano S, et al. Chemical modification of glycyrrhetic acid in relation to the biological activities [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(5): 1910-1918.

[5] Feng Y. Study on the synthesis and development of PDF inhibitor [A]. *The Dissertation of Master Degree of Shandong University* (山东大学硕士学位论文) [D]. Jinan: Shandong University, 2005.

[6] Li X C, Wang Y L, Wang J Y. Selective and efficient oxidation of diaryl carbazide to diaryl carbazone with NaNO₂-acetic anhydride under mild conditions [J]. *Synth Commun*, 2002, 32(21): 3279-3284.

[7] Chen S T, Wu S H, Wang K T. A simple method for amine formation from protected amino acid and peptides [J]. *Synth Commun*, 1989, 1: 33-38.