

甲基化汉防己乙素制备汉防己甲素的研究和应用



丁世磊^{1,2}, 吴柳润¹, 梁其钦¹, 郝二伟², 邓家刚²

1. 广西中医药大学药学院 (南宁 530200)

2. 广西中医药大学广西农作物废弃物功能成分研究协同创新中心 (南宁 530200)

【摘要】目的 探寻绿色环保的甲基化汉防己乙素制备汉防己甲素方法, 实现浸膏中汉防己乙素向汉防己甲素的转化。**方法** 采用“一锅法”制备汉防己甲素, 以 HPLC 法检测分析产率, 通过单因素试验对催化剂、溶剂、反应时间、反应温度、催化剂用量等因素进行探究, 筛选出最佳合成工艺。**结果** 在汉防己乙素 0.3 g、碳酸二甲酯 100 μ L、*N,N*-二甲基甲酰胺 10 mL、离子液体 1-丁基-3-甲基咪唑溴盐 ([BMIm]Br) 1.0 g、反应温度 140 $^{\circ}$ C、反应时间 2 h、汉防己乙素与碳酸二甲酯摩尔比为 1 : 2.5 的条件下, 汉防己乙素几乎完全转化, 汉防己甲素产率为 62.93%。在该条件下, 可以实现浸膏中汉防己乙素向汉防己甲素的转化。**结论** 试验探究得到了绿色环保的汉防己甲素合成新方法, 成功将汉防己乙素转换成汉防己甲素。

【关键词】 甲基化; 汉防己甲素; 离子液体; 一锅法

【中图分类号】 F416.7

【文献标识码】 A

Preparation of tetrandrine by methylation of fangchinoline and its application

DING Shilei^{1,2}, WU Liurun¹, LIANG Qiqin¹, HAO Erwei², DENG Jiagang²

1. College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

2. Collaborative Innovation Center for Functional Component Research of Crop Waste in Guangxi, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

Corresponding author: DENG Jiagang, Email: dengjg53@126.com

【Abstract】Objective To seek a green and environmentally friendly method to prepare tetrandrine from methylated fangchinoline and realize the transformation of fangchinoline to tetrandrine in the extract. **Methods** The "one-pot method" was used to prepare tetrandrine. The catalyst, solvent, reaction time, reaction temperature, solid-liquid ratio and other factors were explored by single factor test, and the tetrandrine content was detected by HPLC to screen out the best synthesis process. **Results** Under the conditions of 0.3 g of frangchinoline, 100 μ L of dimethyl carbonate, 10 mL of *N,N*-dimethylformamide, 1.0 g of ionic liquid [BMIm]Br, reaction temperature of 140 $^{\circ}$ C, reaction time of 2 h, and the molar ratio of fangchinoline to dimethyl carbonate of 1 : 2.5, the transformation of fangchinoline was almost complete. The target product of tetrandrine was successfully synthesized with a yield of 62.93%. Under these conditions, it was possible to achieve the transformation of fangchinoline to tetrandrine in the extract. **Conclusion** The experiment has explored a new green synthesis method, which can successfully convert the frangchinoline to tetrandrine.

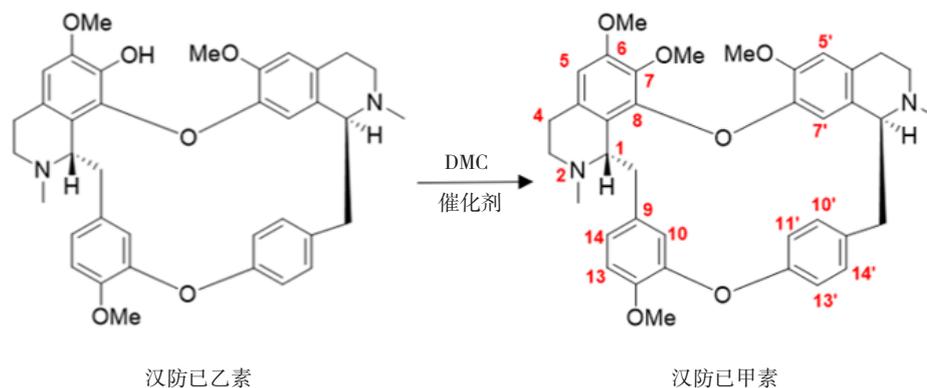
【Keywords】 Methylation; Tetrandrine; Ionic liquid; One-pot method

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202412017

基金项目: 广西自然科学基金项目 (2024GXNSFBA010168); 广西中医药大学引进博士科研启动基金项目 (2019BS005); 农作物废弃物功能成分研究协同创新中心资助课题 (CICAR2023-P1); 中医药生物新材料关键技术与智能装备开发学科交叉创新团队 (GZKJ2303)
通信作者: 邓家刚, 教授, 博士研究生导师, Email: dengjg53@126.com

汉防己甲素 (tetrandrine, Tet) 和汉防己乙素 (fangchinoline, Fra) 均是从防己科植物粉防己 *Stephaniae trandrian* S. Moore 根部提取出的具有双苄基异喹啉结构的生物碱, 其中 Tet 是粉防己药材的主要有效成分^[1-2]。Tet 是一种新型的钙调蛋白拮抗剂, 也可作为钙离子通道阻滞剂, 还可以调节机体的自噬功能, 具有抗癌、抗过敏、

抗风湿、抗高血压、抗肝纤维化、镇痛消炎、免疫抑制以及改善记忆等诸多作用^[3-5]。粉防己植物块根中含有多种化学成分^[6], 总生物碱含量约为 1.5%~2.3%, Tet 的含量仅有 1% 左右^[7], Fra 是提取 Tet 的副产物, 其与 Tet 化学结构相似, 见图 1。因此, 若是将 Fra 转化为 Tet, 不仅可以提高 Tet 的产量, 而且有助于粉防己药材的综合利用。



汉防己乙素

汉防己甲素

图1 Fra合成Tet的路径

Figure 1. Pathway of tetrandrine synthesis from fangchinoline

鲍玲等^[8]使用 Fra 为原料, 以硫酸二甲酯为甲基化试剂, 二氯甲烷/氢氧化钾为溶剂成功合成 Tet。傅志慧等^[9]使用 Fra 为原料, 以硫酸二甲酯为甲基化试剂, 在冠醚的作用下, 用 *N,N*-二甲基甲酰胺 (*N,N*-dimethylformamide, DMF) 作为溶剂, 也成功合成 Tet。但硫酸二甲酯的毒性较强, 环境危害较大, 故寻求绿色环保的甲基化试剂合成 Tet 的研究亟待解决^[10]。碳酸二甲酯可以代替光气、硫酸二甲酯以及卤代甲烷等剧毒或致癌物用作甲基化试剂, 普遍应用于 *O*-甲基化的反应中^[11-12]。然而, 碳酸二甲酯反应要求较高, 自身在高温环境下又不稳定, 使用碳酸二甲酯作甲基化试剂需要引入催化剂进行催化^[13]。同时, 本文拟通过“一锅法”合成, 减少催化转化的步骤, 简化生产过程, 减少杂质生成^[14], 实现 Fra 高效地转化为 Tet。

本文旨在开发甲基化 Fra 制备 Tet 的绿色合成新方法, 探究碳酸二甲酯、催化剂、溶剂等因素对 Fra 甲基化合成 Tet 的影响, 优化工艺条件, 减少环境污染、降低试验成本、提高原料利用效率、提高产率。并将其应用于粉防己浸膏中, 拟通过将浸膏中 Fra 催化转化为 Tet, 提高 Tet 提取率和降低 Tet 的分离纯化工艺。

1 材料

1.1 主要仪器

OHAUS AX124ZH 电子天平 (常州奥豪斯仪器有限公司); Waters Alliance e2695 高效液相色谱仪, 包括 Empower 3 色谱工作站和 2998 型 PDA 紫外检测器 (美国 Waters 公司); KQ5200E 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器 (巩义市予华仪器有限责任公司)。

1.2 主要药品和试剂

对照品: Tet (批号: K902585, 纯度 > 99.9%) 和 Fra (批号: DST230819, 纯度 > 99.9%) 购自成都德思特生物技术有限公司; 1-丁基-3-甲基碘化咪唑鎓 ([BmIm] I, 批号: H2231175)、1-丁基-3-甲基咪唑氯盐 ([BmIm] Cl, 批号: I2304425)、1-丁基-3-甲基咪唑溴盐 ([BmIm] Br, 批号: L2321144)、1-丁基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐 ([BmIm] [BF₄], 批号: J2308053)、1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐 ([BmIm] [PF₆], 批号: D2429149)、1-乙基-3-甲基咪唑溴盐 ([EmIm] Br, 批号: E2326591) 均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 碳酸二甲酯 (dimethyl carbonate, DMC, 批号: C13112545)、4-

二甲氨基吡啶 (4-dimethylaminopyridine, DMAP, 批号: D23013546) 均购自上海麦克林生化科技股份有限公司; 甲醇、乙腈均为色谱纯, 购自美国 Thermo Fisher 试剂公司; 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 Tet的合成

采用“一锅法”进行合成, 在圆底烧瓶中依次加入原料 Fra、溶剂、无机盐、催化剂和甲基化试剂, 置于油浴锅中加热反应一定时间, 测量最终反应完成溶液的体积。产物中 Tet 和原料 Fra 的含量通过 HPLC 法进行测量, Fra 的转化率和 Tet 的产率计算公式如下:

$$\text{产率}(\%) = m_1/m_0 \times 100\%$$

其中 m_1 为产物中 Tet 的含量; m_0 为 Tet 的理论产量, 即根据加入 Fra 的质量计算得到完成转化生成 Tet 的含量。

2.2 色谱条件

采用 WePure XP 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.08% 三乙胺 (75:25), 柱温为 30 °C, 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 280 nm, 进样量为 10 μL^[7]。

2.3 溶液的制备

2.3.1 混合对照品溶液

精密称取对照品 Tet 0.030 3 g 和 Fra 0.025 2 g, 加适量甲醇溶解后置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 得到 3.03 mg/mL Tet 和 2.52 mg/mL Fra 的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液

收集“2.1”项下合成反应的产物, 精密吸取一定体积反应液置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 即得到供试品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 系统适用性试验

精密量取混合对照品溶液和供试品溶液按“2.2”项下色谱条件进样, 记录色谱图。图 2 结果显示, 在相同的保留时间, 供试品色谱图与对照品色谱图有相同的色谱。

2.4.2 线性关系考察

精密吸取“2.3.1”项中混合对照品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 得到不同系列浓度的混合对照品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进样

测定, 记录色谱图。以对照品溶液质量浓度为横坐标 (X , mg/mL)、色谱峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 计算得 Tet 的线性回归方程为: $Y=1.379\ 78 \times 10^{-7}X-0.002\ 18$, $r=0.999\ 8$, 线性范围为 0.024~0.193 mg/mL; Fra 的线性回归方程为: $Y=1.569\ 82E-7X+0.002\ 54$, $r=1.000\ 0$, 线性范围为 0.020~0.161 mg/mL。

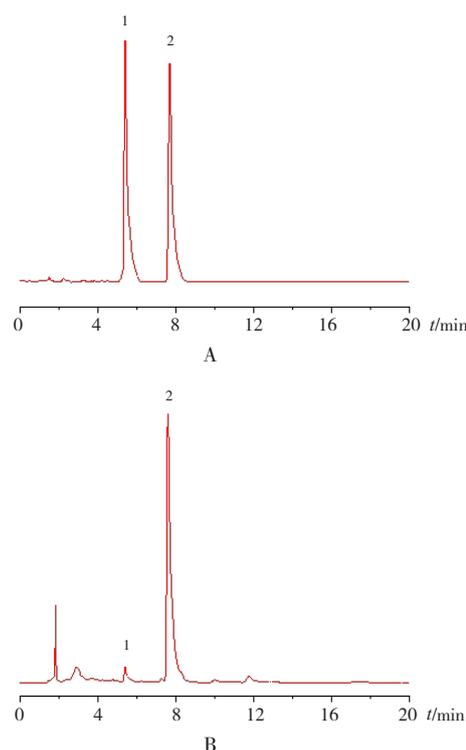


图2 HPLC色谱图

Figure 2. HPLC chromatogram

注: A. 混合对照品溶液; B. 供试品溶液; 1. Fra; 2. Tet。

2.4.3 精密度试验

取同一反应溶液, 按“2.2”项下色谱条件连续进样 6 次。记录相应的色谱峰面积, 计算得 Tet 和 Fra 峰面积的 RSD 分别为 0.62%、1.01% ($n=6$), 表明方法精密度良好。

2.4.4 稳定性试验

取同一供试品溶液, 按“2.2”项下方法, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定。记录相应的色谱峰面积, 计算得 Tet 和 Fra 峰面积的 RSD 分别为 0.71%、0.96% ($n=6$), 表明此制备方法下供试品中的 Tet 和 Fra 在 24 h 内稳定。

2.4.5 重复性试验

同一条件下的反应重复 6 次, 按“2.3.2”项下方法分别制备供试品溶液, 并按“2.2”项下色谱条件进样分析, 记录相应的色谱峰面积, 结果

计算得 Tet 和 Fra 峰面积的 *RSD* 分别为 0.86%、0.98% ($n=6$)，表明方法重复性良好。

2.4.6 回收率试验

按“2.1”项下方法进行合成反应，收集反应液；分别精密吸取反应液 50 μL 于 6 个 10 mL 量瓶中，精密称量反应液含量一半的 Tet 和 Fra 对照品 6 份，置于上述 6 个量瓶中，加甲醇溶解定容；按“2.2”项下色谱条件进样，测定溶液中 Tet 和 Fra 含量。计算得 Tet 的平均回收率为 101.58% ($RSD=2.53\%$, $n=6$)，Fra 的平均回收率 101.57% ($RSD=2.27\%$, $n=6$)，表明建立的 HPLC 回收率符合要求。

2.5 合成工艺的优化

2.5.1 催化剂类型的影响

分别以固-液相转移催化体系 $(\text{Bu})_4\text{NBr}/\text{K}_2\text{CO}_3$ 、含氮杂环化合物 DMAP 和离子液体 ($[\text{BMI}]\text{m}[\text{Cl}]$ 、 $[\text{BMI}]\text{m}[\text{Br}]$ 、 $[\text{BMI}]\text{m}[\text{I}]$ 、 $[\text{EMI}]\text{m}[\text{Br}]$ 、 $[\text{BMI}]\text{m}[\text{BF}_4]$ 、 $[\text{BMI}]\text{m}[\text{PF}_6]$) 3 类催化剂，在 0.3g Fra、10 mL DMF 为溶剂、100 μL DMC 为甲基化试剂、 K_2CO_3 控制溶液的酸碱度、反应温度 140 $^\circ\text{C}$ 、反应时间 5 h 的反应条件下进行反应，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，并按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，按“2.1”项下方法计算产率，结果见表 1。在离子液体、固液相转移催化体系和含氮杂环 3 类催化剂中，离子液体效果最好，故本文选择离子液体作为催化剂进行后续研究。并通过更改离子液体中阴离子与增减咪唑阳离子中碳链长度的方式变换离子液体种类，探究不同离子液体对反应的催化效率。结果表明，在 6 种离子液体中 $[\text{BMI}]\text{m}[\text{Br}]$ 催化 Fra 合成 Tet 的效果最佳，产率达到 60.73%。 $[\text{BMI}]\text{m}[\text{Cl}]$ 、 $[\text{BMI}]\text{m}[\text{I}]$ 、 $[\text{BMI}]\text{m}[\text{BF}_4]$ 、 $[\text{BMI}]\text{m}[\text{PF}_6]$ 作催化剂时，Tet 产率逐渐下降，分别为 38.53%、30.93%、30.23% 和 23.38%，结果表明离子液体中阴离子的种类对酚羟基甲基化的影响较大，这可能是由于阴离子不同卤元素吸电子能力和调节溶剂 pH 的能力不同造成。

2.5.2 溶剂类型的影响

分别以 10 mL DMF、DMSO、四氢呋喃、异丙醇、丙酮作为溶剂，在 0.3 g Fra、 $[\text{BMI}]\text{m}[\text{Br}]$ 为催化剂、100 μL DMC 为甲基化试剂、 K_2CO_3 控制溶液的酸碱度、反应温度 140 $^\circ\text{C}$ ，反应时间 5 h 的反应条件下进行反应，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，并按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，按“2.1”项下方法计算产率，

结果见表 2。5 种常见溶剂中 DMF 作为该反应的溶剂时效果最佳，产率达到 60.73%。当四氢呋喃、异丙醇、丙酮作为溶剂时，Tet 产率较低，其中异丙醇和丙酮对 Fra 的溶解性较差，反应液中存在较多固体，四氢呋喃对 Fra 的溶解性较前两者稍好，但反应过程中仍有少量固体。DMF 和 DMSO 作为溶剂时，该反应 Tet 产率相对提高，可能是因为 DMF 和 DMSO 对 Fra 的溶解性较好，且 DMF 和 DMSO 为极性非质子溶剂，能够有效地活化 DMC，降低反应条件^[15]。因此，本文选择 DMF 作为溶剂进行研究。

表1 催化类型对产率的影响 (%)

Table 1. Effect of catalytic types on yield (%)

| 催化剂 | 产率 | 催化剂 | 产率 |
|---|-------|-------------------------------------|-------|
| DMAP | 29.34 | $[\text{BMI}]\text{m}[\text{I}]$ | 30.93 |
| $(\text{Bu})_4\text{NBr}/\text{K}_2\text{CO}_3$ | 4.87 | $[\text{EMI}]\text{m}[\text{Br}]$ | 45.28 |
| $[\text{BMI}]\text{m}[\text{Cl}]$ | 38.53 | $[\text{BMI}]\text{m}[\text{BF}_4]$ | 30.23 |
| $[\text{BMI}]\text{m}[\text{Br}]$ | 60.73 | $[\text{BMI}]\text{m}[\text{PF}_6]$ | 23.38 |

表2 不同溶剂对产率的影响 (%)

Table 2. Effects of different solvents (%)

| 溶剂 | 产率 |
|------|-------|
| DMF | 60.73 |
| DMSO | 37.52 |
| 四氢呋喃 | 8.66 |
| 异丙醇 | 1.78 |
| 丙酮 | 9.77 |

2.5.3 酸碱性的影响

分别以碳酸钾、氢氧化钾、碳酸铯、碳酸钠、氢氧化钠控制溶液的酸碱度，在 0.3 g Fra、100 μL DMC 为甲基化试剂、 $[\text{BMI}]\text{m}[\text{Br}]$ 为催化剂、10 mL DMF 为溶剂、反应温度 140 $^\circ\text{C}$ 、反应时间 5 h 的反应条件下进行反应，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，并按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，按“2.1”项下方法计算产率，结果见表 3。选择碳酸钾时该反应的效果最佳，产率达到 60.73%。氢氧化钠和氢氧化钾均为强碱，两者在产率相差不大，碳酸钠、碳酸钾和碳酸铯三者碱性逐渐增加，产率先增加后降低。碳酸钾和碳酸铯对 DMC 有一定的活化作用，可以在一定程度上催化 DMC 参与的甲基化反应，但碳酸铯碱性过强，不适合 Tet 的合成，因此，使用碳酸钾时该反应产率最高，故碳酸钾为最佳加选择。

2.5.4 反应温度的影响

控制反应温度分别为 96、120、130、140、

150、160℃，在 0.3 g Fra、100 μL DMC 为甲基化试剂，[BMIm]Br 为催化剂、10 mL DMF 为溶剂、K₂CO₃ 控制溶液的酸碱度、反应时间 5 h 的反应条件下进行反应，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，并按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，按“2.1”项下方法计算产率，结果见图 3。DMC 作为甲基化试剂参与的反应通常反应条件较为苛刻，需要在较高的温度或者特殊的反应容器（如高压反应釜）中进行。Tundo 等^[16]曾指出，DMC 同时拥有甲基化性质和甲氧羰基化性质，正常情况下，当温度在 90℃左右时，DMC 主要表现为甲氧羰基化试剂性质，当温度达到 120℃以上时，DMC 主要表现为甲基化试剂性质。图 3 结果显示，从 DMC 的回流温度（96℃）开始升高温度，Fra 合成 Tet 的产率逐渐提高；当温度升高到 140℃时产率最高，达到 60.73%；之后继续升高温度产率逐渐下降。因此，反应温度控制在 140℃左右最佳。

表3 不同酸碱性对产率的影响 (%)

Table 3. Effects of media on yields (%)

| 无机盐 | 产率 |
|------|-------|
| 氢氧化钠 | 32.62 |
| 氢氧化钾 | 39.95 |
| 碳酸铯 | 46.81 |
| 碳酸钠 | 20.66 |
| 碳酸钾 | 60.73 |

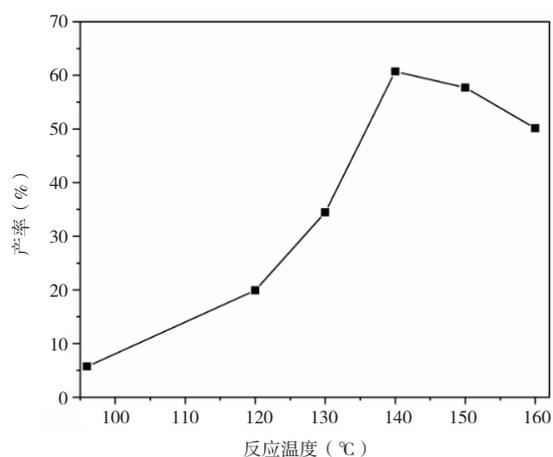


图3 反应温度对产率的影响

Figure 3. Effect of reaction temperature on yield

2.5.5 反应时间的影响

控制反应时间分别为 1、2、3、4 h，在 0.3 g Fra、100 μL DMC 为甲基化试剂、[BMIm]Br 为催化剂、10 mL DMF 为溶剂、K₂CO₃ 控制溶液的酸碱度、反应温度 140℃的反应条件下进行反应，

按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，并按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，按“2.1”项下方法计算产率，结果见图 4。当反应时间为 1 h 时，Fra 合成 Tet 的产率已经达到 57.82%；增加反应时间至 2 h 时，产率提高至 62.93%；继续增加反应时间，产率降低，因此反应时间控制在 2 h 较为适宜。

2.5.6 甲基化试剂用量的影响

控制 Fra 和碳酸二甲酯的摩尔比分别为 1:0.5、1:1.2、1:2、1:2.4、1:3，在 [BMIm]Br 为催化剂、10 mL DMF 为溶剂、K₂CO₃ 控制溶液的酸碱度、反应温度 140℃、反应时间 5 h 的反应条件下进行反应，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，并按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，按“2.1”项下方法计算产率，结果见表 4。随着 Fra 和甲基化试剂的摩尔比逐渐增加，产率先增加后降低，当 Fra 和 DMC 的摩尔比为 1:2.5 时达到最高产率，为 61.35%。

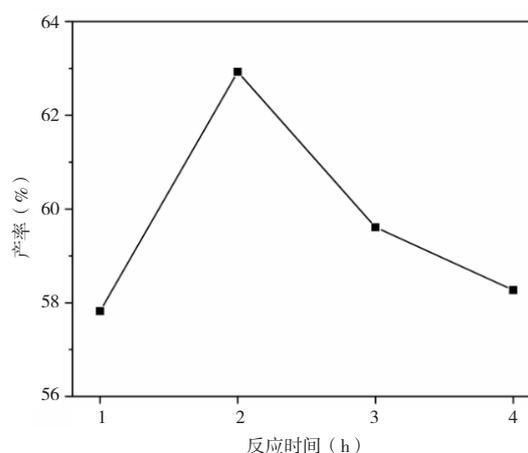


图4 反应时间对产率的影响

Figure 4. Effect of reaction time on yield

表4 不同甲基化试剂用量对产率的影响 (%)

Table 4. Effect of different methylation reagent dosage on yield (%)

| 甲基化试剂用量 | 产率 |
|---------|-------|
| 1:0.5 | 4.62 |
| 1:1.2 | 30.78 |
| 1:2.0 | 45.19 |
| 1:2.5 | 61.35 |
| 1:3.0 | 35.47 |

2.5.7 催化剂用量的影响

控制催化剂 [BMIm]Br 用量分别为 0.7、1.0、1.3、1.7、2.0 g，在 0.3 g Fra、100 μL DMC 为甲基化试剂、10 mL DMF 为溶剂、0.1 g K₂CO₃ 控制

溶液的酸碱度、反应温度 140℃、反应时间 5 h 的反应条件下进行反应,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.2”项下色谱条件进样分析,记录相应的色谱峰面积,按“2.1”项下方法计算产率,结果见表 5。随着催化剂 [BMIm]Br 用量逐渐增加,产率先增加后降低,当催化剂 [BMIm]Br 用量为 1.0 g 时达到最高产率,为 61.35%。

2.5.8 合成条件的验证

甲基化 Fra 生成 Tet 的最优条件为: DMC 为甲基化试剂, [BMIm]Br 为催化剂, DMF 为溶剂, 反应温度 140℃, 反应时间 2 h, Fra 与 DMC 甲基化试剂摩尔比约为 1 : 2.5, 催化剂用量为 1.0 g。对上述条件进行验证, 结果见表 6。

表5 不同催化剂用量对产率的影响 (%)
Table 5. Effect of catalyst dosage on yield (%)

| 催化剂用量 (g) | 产率 |
|-----------|-------|
| 0.7 | 35.08 |
| 1.0 | 61.35 |
| 1.3 | 48.01 |
| 1.7 | 44.68 |
| 2.0 | 45.98 |

表6 甲基化Fra合成Tet条件的验证结果 (%)
Table 6. Verification results for the synthesis of tetrandrine from methylated fangchinoline (%)

| 试验次数 | 产率 | 转化率 |
|------|-------|-------|
| 1 | 62.93 | 99.25 |
| 2 | 61.34 | 99.01 |
| 3 | 62.01 | 99.37 |
| 平均值 | 62.09 | 99.21 |
| RSD | 0.65 | 0.15 |

2.6 优化工艺在粉防己浸膏中的应用

2.6.1 汉防己浸膏的制作和测定

称取 20 g 粉防己药材粉末置于圆底烧瓶中, 加入 120 mL 的 70% 乙醇, 在 102℃ 油浴条件下回流提取 2 h, 静置, 取出上层清液后在圆底烧瓶中再加入 120 mL 的 70% 乙醇继续提取 2 h。提取完毕抽滤, 收集滤液, 旋蒸至无醇味呈浸膏状。取适量浸膏用甲醇溶解, 定容稀释后, 按“2.2”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 经过计算可知: 浸膏中 Tet 和 Fra 的质量比例为 Fra : Tet=0.7 : 1。

2.6.2 模拟应用试验

按“2.6.1”项下比例称量 Tet 和 Fra 对照品, 混合, 按筛选的最佳工艺进行合成反应, 按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 并按“2.2”项下色谱

条件进样测定, 记录色谱图, 按“2.1”项下方法计算产率, 结果见表 7。按照浸膏中两者的比例可以实现 Fra 转化为 Tet, 但产率较低, 可能是因为 Tet 的含量比 Fra 高, 过高的 Tet 含量降低了反应正向进行的速率和限度。经过 HPLC 分析发现: 反应结束后 Fra 含量大幅降低, 说明该条件下 Fra 的转化率很高, 但主要生成了副产物。

表7 应用试验结果 (%)

| Table 7. Application of experimental results (%) | | | |
|--|-------|------|------|
| 序号 | 产率 | 平均值 | RSD |
| 1 | 10.02 | 9.45 | 7.04 |
| 2 | 9.62 | | |
| 3 | 8.72 | | |

3 讨论

本研究通过对多种因素进行探究, 最终得到一种以 DMC 为甲基化试剂催化 Fra 合成 Tet 的方法。最优工艺为: 以 Fra 为原料, DMC 为甲基化试剂, [BMIm]Br 为催化剂, DMF 为溶剂, 碳酸钾调节反应体系酸性进行加热回流反应; 控制反应温度 140℃, 反应时间 2 h, Fra 与 DMC 甲基化试剂摩尔比约为 1 : 2.5, 催化剂用量为 1.0 g, 在此条件下, Fra 几乎完全转化, Tet 的产率达到 62.93%。

Fra 作为粉防己主要药效物质 Tet 提取过程的副产物, 其结构与 Tet 相比 7 号碳缺少 1 个甲基, 实现 Fra 向 Tet 的转化时, 常用硫酸二甲酯作为甲基化试剂, 但其具有较高的毒性和致癌性, 不符合医药安全生产的要求, 本文拟使用较为安全的碳酸二甲酯代替硫酸二甲酯。但碳酸二甲酯不稳定, 且作为甲基化试剂需要较高的活化能, 升高温度提高活化能会加快其分解, 并不能显著提高 Tet 的产率, 离子液体 [BMIm]Br 催化剂的加入可以降低活化能并加快反应, 为 Tet 的安全合成提供了参考。但使用碳酸二甲酯合成 Tet 的产率略低于硫酸二甲酯 (70%)^[9], 催化剂体系有待于进一步开发。

由于 Fr 与 Tet 结构相似, 造成 Tet 的分离纯化较为繁琐, 本文通过将 Fra 转化为 Tet 的合成方法, 降低浸膏中 Fra 含量提高 Tet 含量。结果显示: 按照浸膏中 Fra 和 Tet 的含量, 通过催化转化的方法, 可以实现 Fra 向 Tet 的转化, Fra 几乎完全转化, 但 Tet 的产率较低, 说明该方法可行, 但产率有待于进一步提高。

参考文献

- 1 赵明, 杨燕欢, 陈金龙, 等. 汉防己甲素纯化工艺的优化 [J]. 中国药师, 2022, 25(12): 2200–2204. [Zhao M, Yang YH, Chen JL, et al. Purification technology optimization for tetrandrine[J]. Chinese Pharmacist, 2022, 25(12): 2200–2204.] DOI: [10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2022.12.024](https://doi.org/10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2022.12.024).
- 2 席苑, 张海静, 叶祖光, 等. 汉防己甲素现代药理作用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(1): 20–28. [Xi Y, Zhang HJ, Ye ZG, et al. Research development on modern pharmacological effect of tetrandrine[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(1): 20–28.] DOI: [10.19540/j.cnki.cjmm.20190830.401](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjmm.20190830.401).
- 3 Lima EN, Lamichhane S, Bahadur KCP, et al. Tetrandrine for targeting therapy resistance in cancer[J]. *Curr Top Med Chem*, 2024, 24(12): 1035. DOI: [10.2174/0115680266282360240222062032](https://doi.org/10.2174/0115680266282360240222062032).
- 4 Calvillo-Paez VI, Plascencia-Jatomea M, Ochoa-Teran A, et al. Tetrandrine derivatives as promising antibacterial agents[J]. *ACS Omega*, 2023, 8(31): 28156–28164. DOI: [10.1021/acsomega.3c01368](https://doi.org/10.1021/acsomega.3c01368).
- 5 Song J, Liu Y, Guo Y, et al. Therapeutic effects of tetrandrine in inflammatory diseases: a comprehensive review[J]. *Inflammopharmacology*, 2024, 32(3): 1743–1757. DOI: [10.1007/s10787-024-01452-9](https://doi.org/10.1007/s10787-024-01452-9).
- 6 丁世磊, 莫惠晴, 江宗蔚, 等. 中草药粉防己药渣中多糖的提取、纯化和抗氧化活性研究 [J]. 中国饲料, 2023, (17): 41–48. [Ding SL, Mo HQ, Jiang ZW, et al. Extraction, purification and antioxidant activity of polysaccharides from dregs of *Stephania tetrandra* S. moore[J]. *China Feed*, 2023, (17): 41–48.] DOI: [10.15906/j.cnki.cn11-2975/s.2022100028-07](https://doi.org/10.15906/j.cnki.cn11-2975/s.2022100028-07).
- 7 陈伟英, 叶泽婷, 徐方方, 等. 不同产地粉防己中粉防己碱和防己诺林碱的含量测定 [J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(11): 1716–1719. [Chen WY, Ye ZT, Xu FF, et al. Simultaneous determination of tetrandrine and fangchinoline in *Stephania tetrandra* from different habitats by HPLC[J]. *Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology*, 2021, 32(11): 1716–1719.] DOI: [10.19378/j.issn.1003-9783.2021.11.017](https://doi.org/10.19378/j.issn.1003-9783.2021.11.017).
- 8 鲍玲, 崔文峰, 郁建平, 等. 甲基化防己诺林碱制备粉防己碱研究 [J]. 应用与环境生物学报, 2008, 14(2): 258–260. [Bao L, Cui WF, Yu JP, et al. Preparation of tetrandrine by methylation of fangchinoline[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2008, 14(2): 258–260.] DOI: [10.3321/j.issn:1006-687X.2008.02.023](https://doi.org/10.3321/j.issn:1006-687X.2008.02.023).
- 9 傅志慧, 应志洪, 严突明, 等. 汉防己甲素的合成 [J]. 中国医药工业杂志, 2015, 46(9): 948–949. [Fu ZH, Ying ZH, Yan TM, et al. Synthesis of tetrandrine[J]. *Chinese Journal of Pharmaceuticals*, 2015, 46(9): 948–949.] DOI: [10.16522/j.cnki.cjph.2015.09.004](https://doi.org/10.16522/j.cnki.cjph.2015.09.004).
- 10 刘咏梅, 陆强. 3 例职业性急性硫酸二甲酯中毒临床特点分析 [J]. 中国工业医学杂志, 2024, 37(1): 53–55. [Liu YM, Lu Q. Analysis of clinical characteristics of three cases of occupational acute dimethyl sulfate poisoning[J]. *Chinese Journal of Industrial Medicine*, 2024, 37(1): 53–55.] DOI: [10.13631/j.cnki.zggvyx.2024.01.014](https://doi.org/10.13631/j.cnki.zggvyx.2024.01.014).
- 11 Zhang Y, Khalid MS, Wang M, et al. New strategies on green synthesis of dimethyl carbonate from carbon dioxide and methanol over oxide composites[J]. *Molecules*. 2022, 27(17): 5417–5435. DOI: [10.3390/molecules27175417](https://doi.org/10.3390/molecules27175417).
- 12 舒婷, 李光兴. 碳酸二甲酯作甲基化试剂的研究进展 [J]. 化工中间体, 2008, (1): 20–23. [Shu T, Li GX. Progress in study of dimethyl carbonate as methylating reagent[J]. *Chemical Intermediates*, 2008, (1): 20–23.] DOI: [10.3969/j.issn.1672-8114.2008.01.007](https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-8114.2008.01.007).
- 13 顾雪菲. 微波辅助聚乙二醇催化酚羟基甲基化反应的研究 [D]. 黑龙江佳木斯: 佳木斯大学, 2015. DOI: [10.7666/d.D775998](https://doi.org/10.7666/d.D775998).
- 14 Fogel MS, Koide K. Recent progress on one-pot multisubstrate screening[J]. *Org Process Res Dev*, 2023, 27(7): 1235–1247. DOI: [10.1021/acs.oprd.3c00128](https://doi.org/10.1021/acs.oprd.3c00128).
- 15 魏太保, 师海雄, 张治仁, 等. 微波促进下 2-芳氧甲基苯并咪唑-1-乙酸衍生物的合成及生物活性研究 [J]. 有机化学, 2007, 27(9): 1116–1120. [Wei TB, Shi HX, Zhang ZR, et al. Microwave promoted synthesis and biology activity of 2-aryloxymethylbenzimidazole-1-acetic acid derivatives[J]. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2007, 27(9): 1116–1120.] https://wenku.baidu.com/view/d8b3f5305a8102d276a22fdd.html?fr=xueshu&_wktts_=1744881165547.
- 16 Tundo P, Musolino M, Arico F. Dialkyl carbonates in the green synthesis of heterocycles[J]. *Front Chem*, 2019, 7: 300. DOI: [10.3389/fchem.2019.00300](https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00300).

收稿日期: 2024 年 12 月 03 日 修回日期: 2025 年 03 月 18 日
本文编辑: 钟巧妮 桂裕亮