

油酰乙醇胺类似物的合成

孙翠玲¹, 秦文¹, 郑剑峰^{1*}, 金鑫^{2*}, 靳立人^{1,2}

(1. 厦门大学化学化工学院 化学生物学福建省重点实验室,

2. 厦门大学医学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 为研究油酰乙醇胺及其类似物在动脉粥样硬化中的作用. 本文以油酸为原料, 分别与乙醇胺、(*R/S*)-氨基丙醇发生酰胺化反应, 生成了油酰乙醇胺(3a)、和它的两个类似物: 化合物(3b)和化合物(3c); 然后, 再将油酰乙醇胺的双键经过环氧化和环丙烷化等反应步骤, 分别生成了油酰乙醇胺的另外两个类似物: 化合物4、化合物7. 产物经红外光谱、核磁共振谱和质谱进行了表征. 并初步测试了它们对过氧化物酶体增殖剂激活受体的作用强度.

关键词: 油酰乙醇胺; 环氧化; 环丙烷化

中图分类号: O 622.5

文献标识码: A

文章编号: 0438-0479(2007)06 0808 05

油酰乙醇胺是一种天然的脂肪酸乙醇胺, 脂肪酸乙醇胺是在动物体内自然产生的油脂家族, 它们的生理学功能在 50 年前就被发现, 但未引起人们的重视^[1-2]. 直到 anandamide 作为大麻受体的内源性配体被发现, 人们才对脂肪酸乙醇胺感兴趣^[3].

油酰乙醇胺是人们在研究肥胖症药物时发现的一种内源性油脂^[4], 是内生大麻素的一种天然类似物, 像 anandamide 一样, 油酰乙醇胺是受刺激情况下在细胞内产生的, 它出现在所有可表达过氧化物酶体增殖剂激活受体(Peroxisome Proliferator activated receptor alpha——PPAR α)的组织中包括大脑, 是细胞的重要组成部分, 是 PPAR α 的内源性高亲和力配体, 其半数有效浓度 EC₅₀ 值为 120 nmol/L. 在抑制食欲方面有惊人的功能, 且副作用极小, 是近期药物研究的热点^[5]. 我们正在研究它们在动脉粥样硬化中的作用.

试验证明油酰乙醇胺激活 PPAR α 具有结构选择性^[6], 基于油酰乙醇胺的结构特性, 本文在双键和醇胺部位对油酰乙醇胺结构进行了改造, 以期探索其构效关系, 为寻求具有生物活性和药物活性的新的药物先导物质奠定基础. 本文以油酸为原料, 分别与乙醇胺、(*R/S*)-氨基丙醇发生酰胺化反应, 生成了油酰乙醇胺(3a)、和它的两个类似物: 化合物(3b)和化合物(3c); 然后, 再将油酰乙醇胺的双键经过环氧化和环丙烷化等反应步骤, 分别生成了油酰乙醇胺的另外两个类似物: 化合物4、化合物7. 合成路线如图1所示.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

常用试剂均为市售分析纯, 所用试剂的处理方法均为标准方法. 所有操作均在干燥氮气氛下进行. 红外 IR 由 Nicolet AVATAR 360 FT-IR 计记录, 二氯甲烷液膜法; 核磁¹H-NMR, ¹³C-NMR 由 Bruker Avance 400 MHz 核磁共振仪测定, CDCl₃ 为溶剂, 四甲基硅烷(TMS)为内标; 质谱 MS 由 Bruker ESQUIRE-3000 离子阱型质谱仪测定; 旋光值由 Perkir Elmer 341 automatic polarimeter 测定; 熔点由北京泰克 X-4 数字显示显微熔点仪测定, 温度未经校正.

1.2 合成与表征

化合物 3a~ 3c 的合成与表征

参考文献[7]所提供的方法, 以化合物 3a(油酰乙醇胺)的合成与表征为例: 首先, 0.282 g(1 mmol)油酸溶于 5 mL 二氯甲烷, -10℃下搅拌 5 min 后, 将草酰氯(0.087 mL, 1 mmol)的二氯甲烷(5 mL)溶液慢慢滴入, 20 min 内滴完, 再加一滴 N,N-二甲基甲酰胺(DMF), -10℃下继续搅拌 2 h; 其次, 将 0.061 mL 乙醇胺(1.1 mmol)溶于 5 mL 二氯甲烷中, 再加 0.278 mL(2 mmol)三乙胺, 在-10℃下搅拌均匀; 最后, 将制得的酰氯溶液慢慢滴入胺的混合液中, -10℃下继续搅拌 2 h, 用 10% 碳酸钠溶液(10 mL)洗, 水层用二氯甲烷萃取(3×5 mL), 有机层用饱和食盐水(10 mL)洗, 无水硫酸镁干燥, 过滤后减压浓缩, 粗产品用快速硅胶柱层析(乙酸乙酯: 石油醚= 1: 1, by vol.)纯化得到 0.305 g 白色固体.

化合物 3a: 产率: 78%, m. p. 62.5~63.5℃; ¹H-

收稿日期: 2007-03-27

基金项目: 厦门市科技局资助

* 通讯作者: zj485@xmu.edu.cn; xinjin@xmu.edu.cn

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

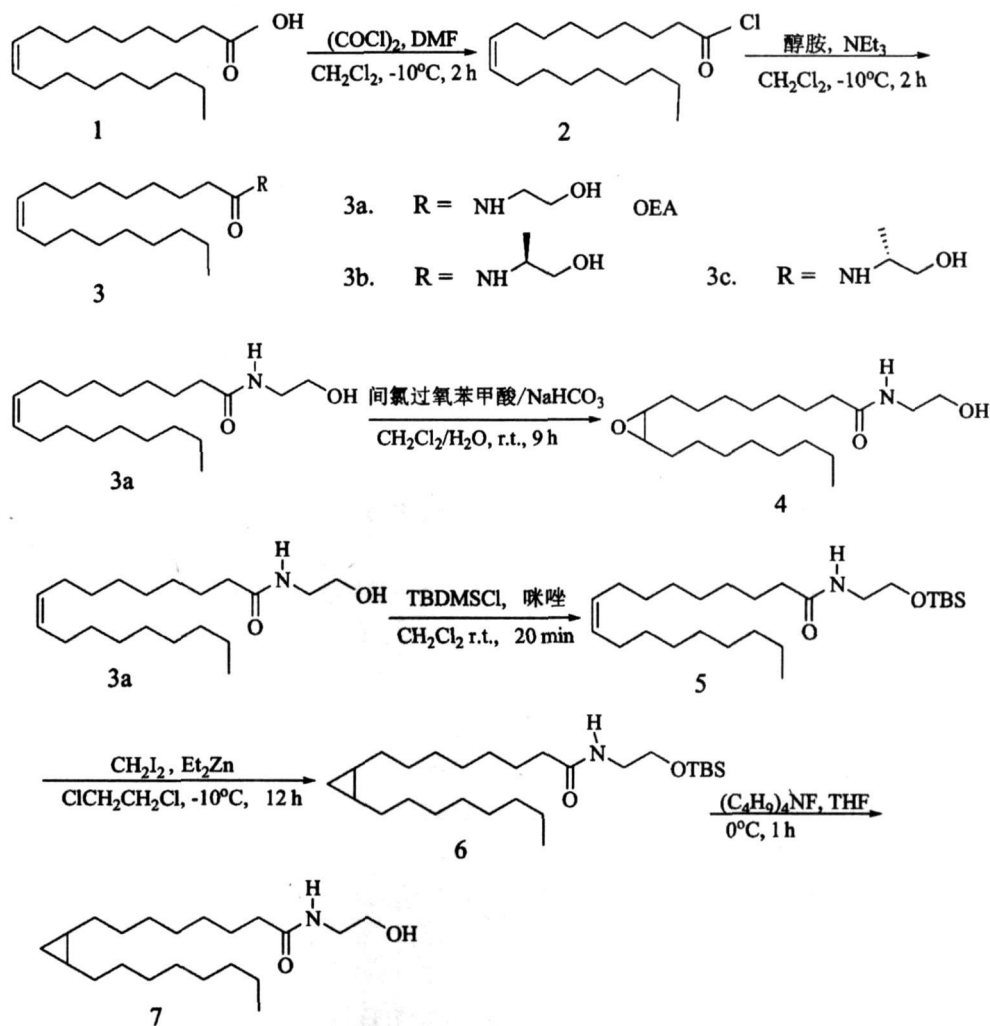


图 1 合成路线

Fig. 1 Synthesis route

NMR(CDCl₃, 400 MHz): 0.89(t, $J = 6.8$ Hz, 3 H, C H₃), 1.27~ 1.30(m, 22 H, 11 C H₂), 2.00~ 2.06(m, 4 H, 2 C=C-C H₂), 2.21(t, $J = 7.2$ Hz, 2 H, COC H₂), 3.14(s, 1 H, O H), 3.43(dd, $J = 5.6, 10.4$ Hz, 2 H, NHC H₂), 3.72(t, $J = 4.8$ Hz, 2 H, C H₂OH), 5.29~ 5.38(m, 2 H, 2 C=C H), 6.15(s, 1 H, N H); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): 14.09, 17.05, 22.66, 25.72, 27.20, 29.12, 29.21, 29.30, 29.44, 29.50, 29.60, 29.69, 29.75, 31.88, 36.81, 47.78, 67.34, 129.80, 130.01, 174.40; IR (film) ν : 3303, 3091, 3004, 2925, 2848, 1641, 1548, 1461, 1051, 719 cm⁻¹; MS(ESI): 326 m/z (M+ H⁺)

化合物 3b: 产率: 75%, m. p. 64~ 65 °C, $[\alpha]_D^{20}$ -10.8(c 1.3, CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 0.88(t, $J = 6.8$ Hz, 3 H, C H₃), 1.17(d, $J = 6.8$ Hz, 3 H, NHCHC H₃), 1.27~ 1.30(m, 22 H, 11 C H₂), 2.00~ 2.06(m, 4 H, 2 C=C-C H₂), 2.18(t, $J = 7.6$ Hz, 2

H, COC H₂), 3.01(s, 1 H, O H), 3.54(dd, $J = 4.8, 10.8$ Hz, 1 H, C H₂OH), 3.67(dd, $J = 4.8, 10.8$ Hz, 1 H, CH H₂OH), 4.04~ 4.09(m, 1 H, NHCHC H₃), 5.29~ 5.38(m, 2 H, 2 C=C H), 5.70(s, 1 H, N H); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): 14.09, 17.05, 22.66, 25.72, 27.15, 27.20, 29.12, 29.21, 29.30, 29.44, 29.50, 29.60, 29.69, 29.75, 31.88, 36.81, 47.78, 67.34, 129.80, 130.01, 174.40; IR (film) ν : 3294, 3091, 3005, 2925, 2853, 1643, 1548, 1461, 1052, 721 cm⁻¹; MS(ESI): 340 m/z (M+ H⁺)

化合物 3c: 产率: 75%, m. p. 65~ 67 °C, $[\alpha]_D^{20}$ +8.8(c 1.1, CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 0.88(t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, C H₃), 1.17(d, $J = 6.8$ Hz, 3 H, NHCHC H₃), 1.26~ 1.29(m, 22 H, 11 C H₂), 2.00~ 2.24(m, 4 H, 2 C=C-C H₂), 2.18(t, $J = 7.6$ Hz, 2 H, COC H₂), 3.01(s, 1 H, OH), 3.67(dd, $J = 4.8, 10.8$ Hz, 1 H, C H₂OH), 3.54(dd, $J = 4.8, 10.8$

H_z, H, C H₂OH), 4. 03~ 4. 07 (m, 1 H, NHC HCH₃), 5. 30~ 5. 38 (m, 2 H, 2 C= C H), 5. 70 (s, 1 H, N H); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): 14. 09, 17. 05, 22. 66, 25. 72, 27. 15, 27. 20, 29. 12, 29. 21, 29. 30, 29. 44, 29. 50, 29. 60, 29. 69, 29. 75, 31. 88, 36. 81, 47. 78, 67. 34, 129. 80, 130. 01, 174. 40; IR (film) ν 3 294, 3 091, 3 005, 2 925, 2 853, 1 643, 1 548, 1 461, 1 052, 721 cm⁻¹; MS (ESI): 340 *m/z* (M+ H⁺).

化合物 4 的合成与表征

参考文献[8]所提供的方法. 0. 325 g (1 mmol) 化合物 3a, 10 mL 二氯甲烷和 3 mL 0. 5 mol/L 的碳酸氢钠 (pH= 8. 3) 的混合物在室温下均匀搅拌. 然后将 0. 173 g (1. 2 mmol) 间氯过氧苯甲酸分批慢慢加入, 搅拌; 每小时进行氧化过氧化分析, 约 9 h 后, 反应完全. 分出有机相, 分别用 1 mol/L 氢氧化钠、水各 3 mL 洗, 无水硫酸镁干燥, 过滤后减压浓缩得粗产物, 用 95% 乙醇在 0℃ 下重结晶得 0. 293 g 白色颗粒状固体 4, 产率: 86%, m. p. 82~ 83℃ (文献值 79~ 80℃); ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 0. 89 (t, *J*= 6. 8 Hz, 3 H, C H₃), 1. 28~ 1. 32 (m, 22 H, 11 C H₂), 2. 01~ 2. 03 (m, 4 H, 2 C= C-H₂), 2. 21 (t, *J*= 7. 2 Hz, 2 H, COC H₂), 2. 91~ 2. 94 (m, 2 H, C H₂OC H), 3. 14 (s, 1H, O H), 3. 43 (dd, *J*= 5. 6, 10. 4 Hz, 2 H, NHC H₂), 3. 72 (t, *J*= 4. 8, 2 H, C H₂OH), 6. 15 (s, 1 H, N H); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): 14. 09, 15. 69, 15. 74, 22. 66, 25. 72, 28. 64, 28. 69, 28. 84, 29. 28, 29. 33, 29. 39, 29. 45, 29. 66, 30. 13, 30. 18, 31. 90, 36. 67, 42. 40, 62. 39, 174. 60; IR (film) ν 3 319, 3 004, 2 921, 2 851, 1 640, 1 548, 1 457, 1 063, 843 cm⁻¹; MS (ESI): 342 *m/z* (M+ H⁺).

中间体 5 的合成与表征

参考文献[9]方法, 50 mL 烧瓶里加入 0. 325 g (1 mmol) 化合物 3a, 0. 31 g (2 mmol) TBDMSCl 和 0. 408 g (6 mmol) 咪唑, 氮气氛围下加入 20 mL 二氯甲烷, 室温下搅拌, TLC 检测 20 min 后反应完全, 加入 10 mL 饱和氯化铵溶液调 pH 约为 7, 水层用二氯甲烷萃取 (3 × 5 mL), 合并有机层, 用饱和 NaCl 溶液 (20 mL) 洗, 无水硫酸镁干燥, 过滤后减压浓缩, 粗产物用快速硅胶柱层析 (乙酸乙酯: 石油醚= 1: 10, by vol.) 纯化得到 0. 422 g 无色透明油状物 5, 产率: 94%; ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 0. 06 (s, 6H, 2 SiC H₃), 0. 85~ 0. 92 (m, 12 H, 4C H₃), 1. 26~ 1. 30 (m, 22 H, 11 C H₂), 2. 00~ 2. 05 (m, 4 H, 2 C= C-H₂), 2. 18 (t, *J*= 7. 6, 2 H, COC H₂), 3. 37 (dd, *J*= 5. 6, 10. 8 Hz, 2 H, NHC H₂), 3. 68 (t, *J*= 5. 2 Hz, 2 H, C H₂OSi), 5. 81

(s, 1 H, N H); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): - 5. 37 (2 C, SiC H₃), 14. 05, 14. 09, 18. 26, 22. 66, 25. 87, 25. 73 (3 C, C (CH₃)₃), 27. 19, 27. 16, 29. 11, 29. 26, 29. 35, 29. 50, 29. 60, 29. 70, 29. 75, 31. 88, 36. 85, 41. 51, 61. 95, 129. 90, 130. 03, 173. 10; IR (film) ν 3 295, 3 079, 3 006, 2 921, 2 855, 1 646, 1 552, 1 463, 1 361, 1 254, 1 103, 812, 777, 722 cm⁻¹; MS (ESI): 462 *m/z* (M+ Na⁺).

中间体 6 的合成与表征

参考文献[10]方法, 0. 22 g (0. 5 mmol) 化合物 5 中加入 3 mL 新蒸的 1, 2-二氯乙烷, 在 0℃ 下搅拌 5 min, 再依次慢慢滴入 1 mL 1 mol/L 的二乙基锌的环己烷溶液和 0. 32 mL (2 mmol) 二碘甲烷, 反应混合物在 0℃ 下搅拌 2 h, 再升至室温继续搅拌, 并与干燥的空气相通, 12 h 后加入 8 mL 饱和氯化铵溶液, 搅拌 10 min 后, 用甲基叔丁基醚 (3 × 8 mL) 萃取, 合并有机层, 分别用水、饱和氯化钠各 8 mL 洗, 无水碳酸钾干燥, 过滤后减压浓缩, 粗产物用快速硅胶柱层析 (乙酸乙酯: 石油醚= 1: 13, by vol.) 纯化得到 0. 206 g 无色透明油状物 6, 产率: 91%; ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 0. 06 (s, 6 H, 2 SiC H₃), 0. 62~ 0. 66 (m, 2 H, CH (CH₂) CH), 0. 85~ 0. 92 (m, 12 H, 4C H₃), 1. 11~ 1. 17 (m, 2 H, C H (CH₂) C H), 1. 30~ 1. 34 (m, 22 H, 11 C H₂), 2. 21 (t, *J*= 7. 6, 2 H, COC H₂), 3. 06 (s, 1 H, OH), 3. 42 (dd, *J*= 6. 2, 10 Hz, 2 H, NHC H₂), 3. 72 (t, *J*= 4. 8, 2 H, C H₂OH), 6. 15 (s, 1 H, N H); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): - 5. 37 (2 C, SiC H₃), 10. 89, 14. 05, 14. 09, 18. 26, 22. 66, 25. 87, 25. 73 (3 C, C (CH₃)₃), 27. 19, 27. 16, 29. 11, 29. 26, 29. 35, 29. 50, 29. 60, 29. 70, 29. 75, 30. 13, 30. 18, 31. 88, 36. 85, 41. 51, 61. 95, 173. 10; IR (film) ν 3 307, 3 062, 3 006, 2 921, 2 855, 1 646, 1 552, 1 463, 1 361, 1 254, 1 103, 812, 777, 722 cm⁻¹; MS (ESI): 454 *m/z* (M+ H⁺).

化合物 7 的合成与表征

参考文献[8]方法, 0. 12 g (0. 26 mmol) 化合物 6 中加入 3 mL 新蒸的 THF, 在 0℃ 下搅拌 5 min 后, 再慢慢滴入 0. 53 mL (0. 53 mmol) 1 mol/L 四丁基氟化铵的四氢呋喃溶液, 继续搅拌, TLC 检测 1 h 后反应完全. 加入 1 mL 饱和氯化铵溶液调 pH= 7, 用乙酸乙酯 (3 × 3 mL) 萃取, 合并有机层, 用饱和氯化钠 (5 mL) 洗, 无水硫酸镁干燥, 过滤后减压浓缩, 粗产物用快速硅胶柱层析 (乙酸乙酯: 石油醚= 1: 2, by vol.) 纯化得到 0. 073 g 白色固体 7, 产率: 83%, m. p. 80~ 81℃; ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 0. 62~ 0. 66 (m, 2

H, CH(CH₂)CH), 1.11~1.17(m, 2H, CH(CH₂)CH), 0.88(t, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH₃), 1.30~1.34(m, 22H, 11CH₂), 2.21(t, *J* = 7.6 Hz, 2H, COCH₂), 3.06(s, 1H, OH), 3.42(dd, *J* = 6.2, 10 Hz, 2H, NCH₂), 3.72(t, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂OH), 6.15(s, 1H, NH); ¹³C-NMR(CDCl₃, 100 MHz): 10.89, 14.09, 15.69, 15.74, 22.66, 25.72, 28.64, 28.69, 28.84, 29.28, 29.33, 29.39, 29.45, 29.66, 30.13, 30.18, 31.90, 36.67, 42.40, 62.39, 174.61; IR(film) ν: 3073, 3062, 3004, 2921, 2855, 1644, 1544, 1461, 1378, 1063, 715 cm⁻¹; MS(ESI): 362 *m/z* (M + Na⁺).

2 结果与讨论

2.1 合成结果讨论

在化合物2~3的制备中, 反应为无水操作, 反应产率随着水在反应体系中含量的增加而递减, 故对反应底物溶剂的无水处理非常重要. 因此反应前我们把油酸在40℃油浴中进行真空干燥, 对溶剂进行无水处理. 考虑到经济问题, 可将酸和草酰氯稍过量为1.1倍当量, 醇胺为1倍当量. 在化合物4的制备中, 开始用醋酸作溶剂, 产率很低; 经调研发现, 在酸性和高温(高于30℃)情况下, 环氧环易开环, 故采用二氯甲烷和碳酸氢钠溶液组成的两相反应体系来控制溶液酸性, 反应在室温下进行, 分批加入过氧酸, 控制反应体系温度低于28℃, 此反应体系较温和, 产率达87%. 在化合物7的制备中, 关键的一步为环丙烷化反应, 分别用甲苯、四氢呋喃(THF)和1,2-二氯乙烷(DCE)作溶剂, 反应情况如表1所示.

表1 各种溶剂对反应的影响情况

Tab.1 Effect of different solvents to the reaction

方法	溶剂	时间/h	产率/%
1	甲苯	24	46
2	THF	27	< 5
3	DCE	12	95

从表1可看出, 用甲苯作溶剂时, 反应时间长, 且副产物很多, 产率较低; 用THF作溶剂基本不可行; 而改用DCE作溶剂后, 反应时间短且无副产物, 产率高达95%. 由此可见溶剂对该反应的影响非常大. 由于此反应为无水无氧反应, 推测可能极性大的溶剂对此反应有利.

在最后去TBS保护基时, 采用了3种方法, 结果

如表2所示. 由表2可看出, 强酸和强碱性反应体系都会使三元环开环, 性质温和的四丁基氟化胺[(C₄H₉)₄NF]反应体系, 效果最好.

2.2 生物活性测试

本文合成的这几个物质均为油酰乙醇胺的典型类似物, 简单易得. 初步测定它们的生物活性: 化合物3b、3c对过氧化物酶体激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor alpha, PPARα)的激活作用比OEA强, 它们的EC₅₀ < 120 nmol/L; 化合物4、7对PPARα激活作用很小, 它们的EC₅₀值远远大于120 nmol/L. 由此我们推断配体在与PPARα受体结合时, 双键和胺基部分起关键作用. 因此, 我们建议在以后设计药物时, 只改变胺基部分, 双键部分保留.

表2 3种反应体系的实验结果

Tab.2 The results of three reaction system

反应体系	时间	温度/℃	产率/%
AcCl, CH ₃ OH	30 min	0	60
NaOH, CH ₃ OH, H ₂ O	20 h	80~90	18
(C ₄ H ₉) ₄ NF, THF	1 h	0	83

参考文献:

- [1] Bachur N R, Masek K, Melmon K L, et al. Fatty acid amides of ethanolamine in mammalian tissues [J]. J Biol Chem, 1965, 240: 1019-1024.
- [2] Devane W A, Hanus L, Breuer A, et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor [J]. Science, 1992, 258: 1946-1949.
- [3] Di M V, Fontana A, Cadas H, et al. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons [J]. Nature, 1994, 372: 686-691.
- [4] Evan D R. Properties of rat liver N-acylethanolamine amidohydrolase [J]. Current Biology, 2003, 13: 961-963.
- [5] Fu J, Gaetani S, Oveisi F, et al. Oleyethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPARα [J]. Nature, 2003, 425: 90-93.
- [6] Patricia C, Schmid M, Lou Z A, et al. Properties of rat liver N-acylethanolamine amidohydrolase [J]. J Bio Chem, 1985, 260: 14145-14149.
- [7] Laurent M, Ceresiat M, Marchand Brynaert J. Regioselective baeyer villiger oxidation in 4-carbonyl-2-azetidinone series: a revisited route toward carbapenem precursor [J]. J Org Chem, 2004, 69: 3194-3197.
- [8] Anderson W K, Veysoglu T. A simple procedure for the epoxidation of acid sensitive olefinic compounds with m-

chloroperbenzoic acid in an alkaline biphasic solvent system[J]. *J Org Chem*, 1973, 38: 2267– 2268.

[9] Corey E J, Venkateswarlu A. Protection of hydroxyl groups as tert Butyldimethylsilyl derivatives [J]. *J Am*

Chem, 1972, 94: 6190– 6191.

[10] Denmark S E, Edwards J P. A comparison of (Chloroethyl)- and (Iodomethyl) zinc cyclopropanation reagents [J]. *J Org Chem*, 1991, 56: 6974– 6981.

Synthesis of Oleylethanolamide Analogues

SUN Cui ling¹, QIN Wen¹, ZHENG Jian feng^{1*},
JIN Xin^{2*}, JIN Li ren^{1, 2}

(1. Key Lab. of Fujian Province for Chemical Biology,

College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University,

2. Medical School, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The peroxisome proliferator activated receptors alpha (PPAR α) is important molecular targets for the development of drugs for the treatment of human metabolic diseases, inflammation and cancer. It is known to be activated by a variety of structurally diverse compounds. Using a structure based drug design approach, we designed and synthesized several novel OEA analogues, which are all PPAR α ligands possessing moderate affinities. Starting from oleic acid, Oleylethanolamide (OEA) was produced and four novel compounds which were (*S*)-*N*-(1-hydroxypropyl)oleamide, (*R*)-*N*-(1-hydroxypropyl)oleamide, *N*-(2-hydroxyethyl)-8-(3-octyloxiranyl)octanamide and *N*-(2-hydroxyethyl)-8-(2-octylcyclopropyl)octanamide were synthesized through several steps, such as epoxidation and cyclopropanation. Their structures were confirmed by ¹H-NMR, ¹³C-NMR, IR and MS spectra.

Key words: oleylethanolamide; epoxidation; cyclopropanation