



# (12)发明专利



(10)授权公告号 CN 103582635 B

(45)授权公告日 2019.02.19

(21)申请号 201280010653.7

(22)申请日 2012.01.24

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 103582635 A

(43)申请公布日 2014.02.12

(30)优先权数据

196/DEL/2011 2011.01.27 IN

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2013.08.27

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/IN2012/000052 2012.01.24

(87)PCT国际申请的公布数据

W02012/101652 EN 2012.08.02

(73)专利权人 斯法尔制药私人有限公司

地址 新加坡新加坡城

(72)发明人 松迪普·杜加尔 迪内希·马哈詹

潘泰利斯·彼得·詹努西斯 (续)

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司

公司 11227

代理人 郑斌 彭鲲鹏

(51)Int.Cl.

C07D 311/64(2006.01)

(56)对比文件

A.C. Waiss et al..Synthesis of flav-2-enes and flav-3-enes.《Chemistry and Industry》.1968,第743-744页.

A.C. Waiss et al..Synthesis of flav-2-enes and flav-3-enes.《Chemistry and Industry》.1968,第743-744页.

J. G. Sweeny et al..SYNTHESIS OF

ANTHOCYANIDINS-I THE OXIDATIVE GENERATION OF FLAVYLIUM CATIONS USING BENZOQUINONES.《Tetrahedron》.1977,第33卷第2923-2926页.

J. G. Sweeny et al..SYNTHESIS OF ANTHOCYANIDINS-I THE OXIDATIVE GENERATION OF FLAVYLIUM CATIONS USING BENZOQUINONES.《Tetrahedron》.1977,第33卷第2923-2926页.

Alessandro Bolli et al..Flavonoid binding to human serum albumin.

《Biochemical and Biophysical Research Communications》.2010,第398卷第444-449页.

B.J.Bergot et al..ANTHOCYANINS AND RELATED COMPOUNDS-V FORMATION OF BISFLAVENYLIDENES FROM FLAVONES BY REDUCTIVE DIMERIZATION.《Tetrahedron》.1965,第21卷第657-661页.

A Zanarotti.SYNTHESIS OF A FLAV-3-EN-3-OL VIA CINNAMYLPHENOL.《Tetrahedron Letters》.1982,第23卷(第38期),第3963-3964页.

A Zanarotti.SYNTHESIS OF A FLAV-3-EN-3-OL VIA CINNAMYLPHENOL.《Tetrahedron Letters》.1982,第23卷(第38期),第3963-3964页. (续)

审查员 迟丽娜

权利要求书2页 说明书23页

(54)发明名称

用于合成多酚的方法

(57)摘要

本发明提供了用于制备外消旋和/或光学纯

的表儿茶素、表没食子儿茶素和如其本身或如其多种官能化衍生物之相关多酚的合成方法。本公开内容的主要目的是提供获得异构体纯和/或外消旋形式之多酚的新的可用合成方法。

[转续页]

[接上页]

(72)发明人 维贾伊·辛格

卡马尔·基肖尔·卡普尔

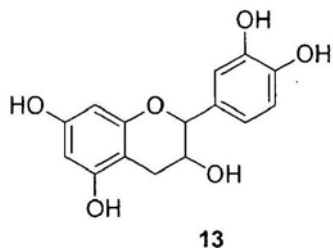
(56)对比文件

Hiroaki Yokoi et, al. Rapid  
characterization of wood extractives in  
Wood by thermal desorption-gas

Chromatography in the presence of  
Tetramethylammonium acetate.《Journal of  
Analytical and Applied Pyrolysis》.2003,第  
67卷第191-200页.

Zhong-Hua Zhou et. al.. Selective  
Monomethylation of Quercetin.《Synthesis》  
.2010,(第23期),第3980-3986页.

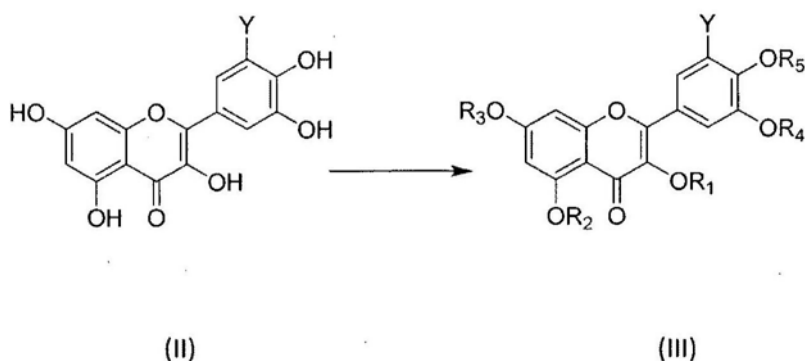
1. 用于制备化合物13或者其对映体或其混合物,或者其可药用盐的方法,



(2R,3R/ 2S,3S)- 表儿茶素,  
(2R,3R)-表儿茶素, 或  
(2S,3S)-表儿茶素

其中,所述方法包括以下步骤:

i. 用一个或多个保护基保护式 (II) 化合物的羟基,以得到式 (III) 化合物;

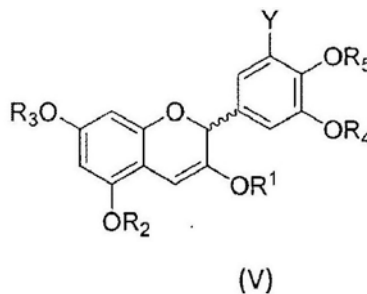
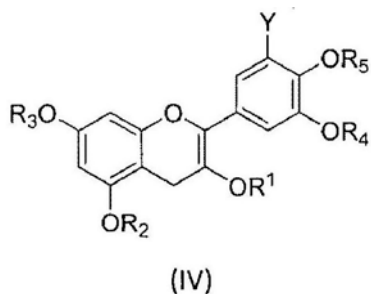


其中:

Y是H;

R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>和R<sub>5</sub>是苄基;

ii. 用还原剂处理所述式 (III) 化合物以产生式 (IV) 和式 (V) 化合物的混合物;以及



iii. 在催化剂的存在下对作为混合物或者单个化合物的式 (IV) 和式 (V) 化合物进行氢化以产生化合物13。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中步骤(i)包括:使式(II)化合物与烷化剂进行反应,所述烷化剂选自苄基卤化物;其中步骤(i)任选地在碱的存在下进行,所述碱选自碱金属氢氧化物、二烷基酰胺、双(三烷基甲硅烷基)酰胺、碱金属碳酸盐和碱金属氢氧化物;在有机溶剂的存在下进行,以得到式(III)化合物。

3. 根据权利要求2所述的方法,其中在碳酸钾的存在下在N,N-二甲基甲酰胺中使步骤(i)在60℃至80℃的温度下进行4至7小时,以得到式(III)化合物。

4. 根据权利要求1所述的方法,其中步骤(ii)包括:使式(III)化合物与还原剂进行反应,所述还原剂选自氢化铝锂;其中步骤(ii)任选地在一种或更多种另外的路易斯酸的存

在下进行,所述一种或更多种另外的路易斯酸选自氯化铝、氯化铈、氯化锌、三氟化硼或碘;并且在溶剂的存在下进行,所述溶剂选自甲基叔丁基醚、四氢呋喃、乙醚、甲苯和乙腈,以得到式 (IV) 和式 (V) 化合物的混合物。

5. 权利要求4的方法,其中在甲基叔丁基醚或四氢呋喃中于-10℃至80℃的温度下进行所述步骤 (ii),以得到式 (IV) 和式 (V) 化合物的混合物。

6. 根据权利要求1所述的方法,其中在催化剂的存在下使用氢气进行步骤 (iii),所述催化剂选自铂、钯/碳、氢氧化钯、钨、铑和镍;并且在溶剂的存在下使用氢气进行步骤 (iii),所述溶剂选自甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、乙酸及其混合物,以得到化合物13。

7. 权利要求6的方法,其中在钯/碳和选自甲醇、乙醇、乙酸乙酯及其混合物的溶剂的存在下于25℃至60℃的温度、4至50psi的压力下进行步骤 (iii)。

8. 根据权利要求1所述的方法,其还包括在酸催化剂的存在下、在溶剂的存在下使所述式 (V) 化合物转化成所述式 (IV) 化合物,所述酸催化剂选自对甲苯磺酸和一种或更多种选自以下的路易斯酸:氯化铝、氯化铈、氯化锌、三氟化硼和碘,所述溶剂选自甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、甲基叔丁基醚、乙醚、甲苯、乙腈和乙酸。

9. 根据权利要求8所述的方法,其中在对甲苯磺酸和甲苯的存在下于85℃至90℃的温度进行使所述式 (V) 化合物转化成所述式 (IV) 化合物。

10. 根据权利要求1所述的方法,其还包括将化合物13拆分成纯的立体异构体,其通过以下进行:酶拆分、化学拆分、手性色谱法、手性诱导分级结晶或者使相应酯的非对映体混合物发生部分结晶,所述相应酯通过用光学纯的扁桃酸或酒石酸使化合物13的一个羟基官能化并且保护化合物13的其他四个羟基而产生。

11. 根据权利要求10所述的方法,其中拆分包括以下步骤:

- i. 保护化合物13的任意四个羟基;
- ii. 使未经保护的羟基与光学纯的酸偶联以形成作为两种非对映体之混合物的酯;
- iii. 使所述两种非对映体分离以提供非对映体富集的酯;
- iv. 使所述非对映体富集的酯水解以获得对映体富集的经保护的化合物13;以及
- v. 使所述对映体富集的经保护的化合物13去保护以提供作为纯的对映体或对映体富集之混合物的化合物13。

12. 根据权利要求2所述的方法,其中所述有机溶剂选自乙腈、四氢呋喃、二甲基乙酰胺、二氧六环、N,N-二甲基甲酰胺、亚砷和N-甲基吡咯烷酮。

13. 根据权利要求2所述的方法,其中所述有机溶剂为二甲基亚砷和/或N,N-二甲基甲酰胺。

14. 根据权利要求2所述的方法,其中所述苄基卤化物为苄基溴。

15. 根据权利要求1所述的方法,其中所述还原剂为LiAlH<sub>4</sub>。

## 用于合成多酚的方法

### 技术领域

[0001] 本发明提供用于制备外消旋和/或光学纯的多酚及其多种官能化衍生物的合成方法。

### 背景技术

[0002] 多酚类天然产物目前受到重视,这是由于其多种生物活性、其在食物中的普遍存在以及其产生的与人健康的相关性。多酚类天然产物在其芳香环上具有一个或数个羟基并且常常在3位上具有另外的羟基。已经在自然中发现了A环和B环的数种不同的羟基化模式。代表性实例包括:(-)-表阿福豆素((-)-epiafzelechin)、(+)-儿茶素、(-)-表儿茶素、(-)-没食子儿茶素((-)-gallocatechin)、(-)-表没食子儿茶素、其各自的3-没食子酸酯以及两种3-(30-甲基)没食子酸酯,其在本文中统称为“儿茶素”。(+)-儿茶素、(-)-儿茶素、(+)-表儿茶素和(-)-表儿茶素是黄烷-3-醇,其中(+)-儿茶素、(-)-表儿茶素最丰富。儿茶素占新鲜茶叶干重的约25%,但是其总含量根据茶品种和生长条件而广泛地变化。儿茶素还存在于人饮食中(巧克力、水果、蔬菜和酒中)。已经发现儿茶素在治疗下述中的用途:急性冠脉综合征(acute coronary syndrome),包括但不限于心肌梗死和心绞痛;其他器官和组织中的急性缺血性事件,包括但不限于肾损伤、肾缺血和主动脉及其分支的疾病;由医疗干预导致的损伤,包括但不限于冠状动脉旁路移植(coronary artery bypass grafting,CABG)手术和动脉瘤修复;癌症;以及代谢疾病,包括但不限于糖尿病。儿茶素的健康益处明显归因于抗氧化性质、对肠微生物和营养物吸收的作用以及对新陈代谢和代谢酶的作用。

[0003] 通过植物提取,然后(如果需要)通过使用色谱法纯化单个儿茶素物质来获得作为药物和营养品制备物的儿茶素。为了确定地证明结构并研究赋予化合物(其从可可和其他来源中纯化)的结构活性关系,必须使合成制备的确定结构与多酚(如表儿茶素)进行比较。合成的单体、二聚体和寡聚体可用于药理活性的多种体外模型和最终的体内模型。

[0004] 然而,从纯粹合成的角度来看,这样的分子在控制期望的立体化学以及未经保护的化合物对酸、碱和氧化剂的敏感性中表现出困难。某些方法可用来合成表儿茶素,但是所述方法和原料非常昂贵或者最终产品具有非常低的产率,导致最终产品非常昂贵。因此,仍需要用于从商业可得来源大规模制备表儿茶素和儿茶素单体的高效合成方法。

[0005] 发明目的

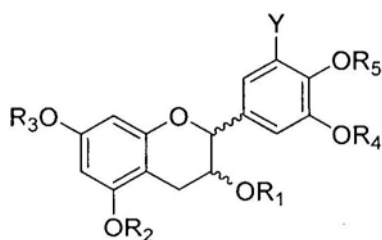
[0006] 本发明的目的是提供新的合成方法以获得异构体纯(isomerically pure)和/或外消旋形式的多酚。

[0007] 发明概述

[0008] 本发明涉及用于制备作为式(I)之外消旋混合物和对映体纯(enantiomerically pure)形式二者的多酚或其衍生物以及它们的可药用盐的新合成方法。

## 式(I)

[0009]

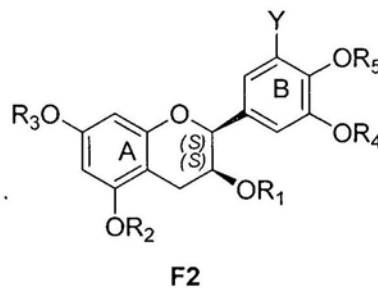
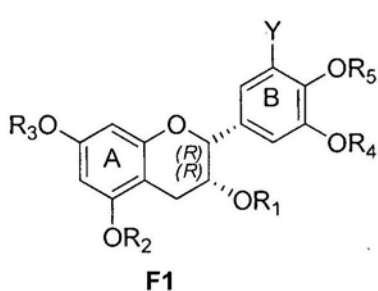


[0010] 其中

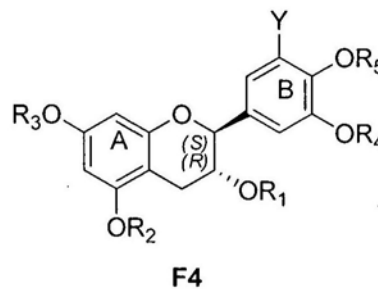
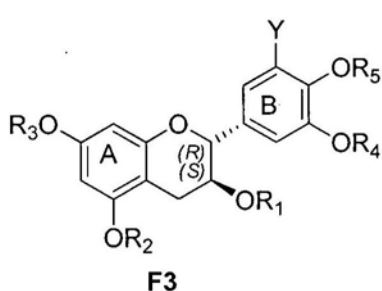
[0011] Y选自H和OR<sub>6</sub>;

[0012] R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>和R<sub>6</sub>独立地选自H、Ac、Bn、烯丙基、炔丙基、苄基、2-氟乙基、4-硝基苄基、4-氯苄基、4-甲氧基苄基、4-甲氧基苯甲腈、肉桂基、甲基4-巴豆酰基、丁-2-烯-1-基、2-戊烯基、(3-丙-1-烯-1基) 磺酰基苯、1-三甲基甲硅烷基-丙-1-炔-3-基、2-辛炔-1-基、2-丁炔-1-基、2-皮考基、3-皮考基、4-皮考基、喹啉-4-基-甲基、乙腈、2-甲基-环氧乙烷、氟甲基、硝基甲基、乙酸甲酯-2-基、甲氧基甲基、乙酰胺、1-苯乙酮-2-基、2-丁酮-1-基、氯甲基、甲基苯基砷、1-溴-丙-1-烯-3-基、叔丁基、甲基、乙基、烯丙基、三甲基-甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基乙基。

[0013] 可设想式(I)包含以下化合物F1至F4,



[0014]

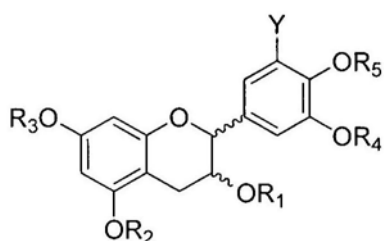
[0015] 其中Y、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>和R<sub>5</sub>如上所述。

[0016] 发明详述

[0017] 本发明涉及用于制备作为式(I)之外消旋混合物和对映体纯形式二者的多酚或其衍生物、它们的外消旋混合物、对映体、非对映体以及它们的可药用盐的新合成方法。

## 式(I)

[0018]



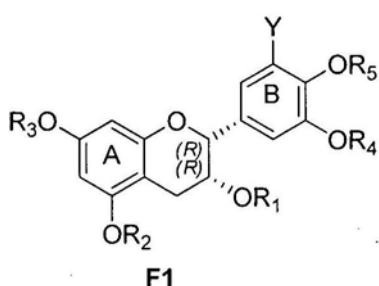
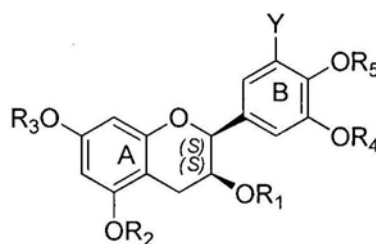
[0019] 其中

[0020] Y选自H和OR6;

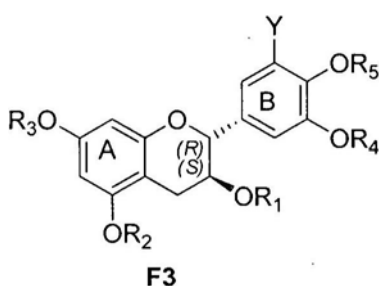
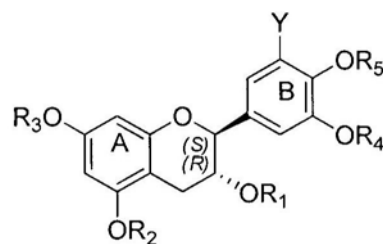
[0021] R1、R2、R3、R4、R5和R6独立地选自H、Ac、Bn、烯丙基、炔丙基、苄基、2-氟乙基、4-硝基苄基、4-氯苄基、4-甲氧基苄基、4-甲氧基苯甲腈、肉桂基、甲基4-巴豆酰基、丁-2-烯-1-基、2-戊烯基、(3-丙-1-烯-1-基) 磺酰基苯、1-三甲基甲硅烷基-丙-1-炔-3-基、2-辛炔-1-基、2-丁炔-1-基、2-皮考基、3-皮考基、4-皮考基、喹啉-4-基-甲基、乙腈、2-甲基-环氧乙烷、氟甲基、硝基甲基、乙酸甲酯-2-基、甲氧基甲基、乙酰胺、1-苯乙酮-2-基、2-丁酮-1-基、氯甲基、甲基苯基砷、1-溴-丙-1-烯-3-基、叔丁基、甲基、乙基、烯丙基、三甲基-甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基乙基。

[0022] 可设想式(I)包含以下化合物F1至F4,

[0023]

**F2**

[0024]

**F4**

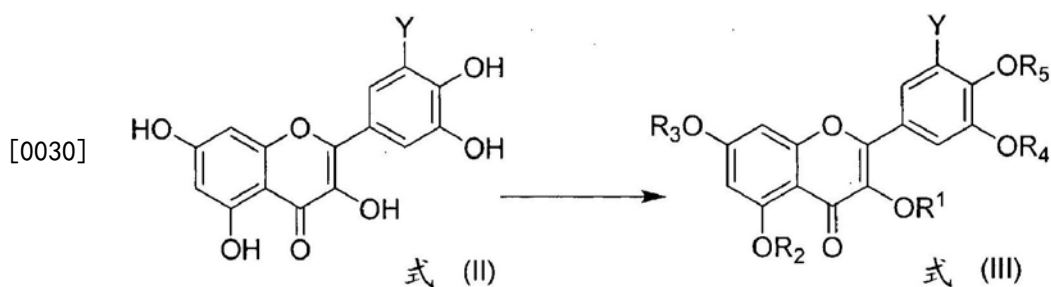
[0025] 其中Y、R1、R2、R3、R4和R5如上所述。

[0026] 本发明针对用于制备式(I)化合物或其可药用盐的新方法。

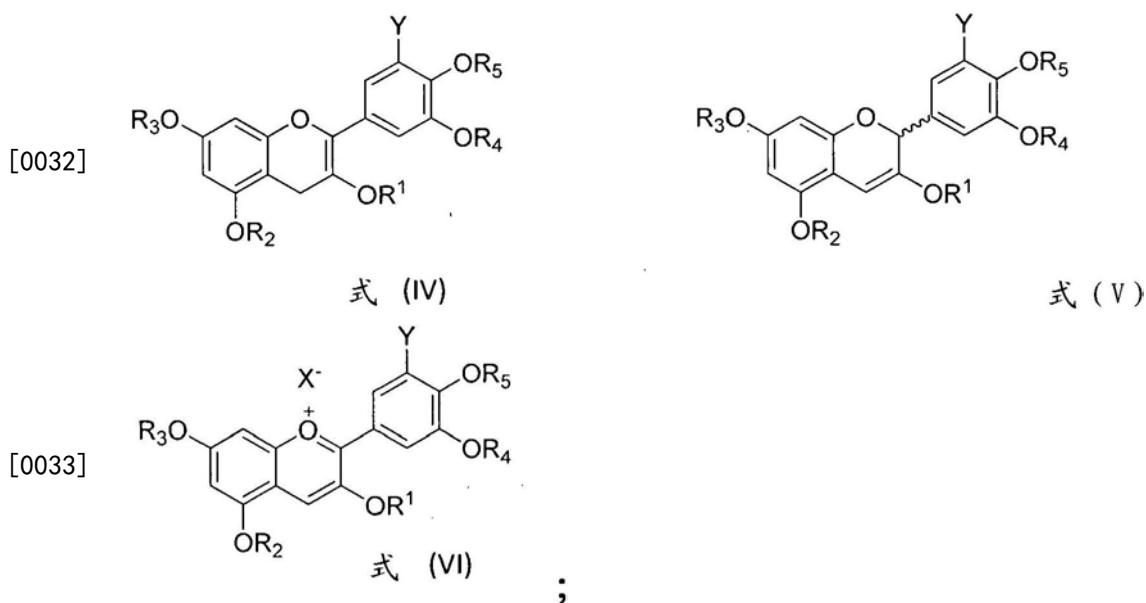
[0027] 本发明的方法包括一个或多个下述步骤,并在方案1中举例说明,

[0028] 所述方法包括以下步骤:

[0029] i. 用一个或多个保护基保护式(II)化合物的羟基,以得到式(III)化合物;



[0031] ii. 用还原剂处理所述式 (III) 化合物以产生选自式 (IV)、式 (V) 和式 (VI) 的组的化合物, 其中 X 选自卤素、乙酸、三氟乙酸、甲磺酸、羟基等

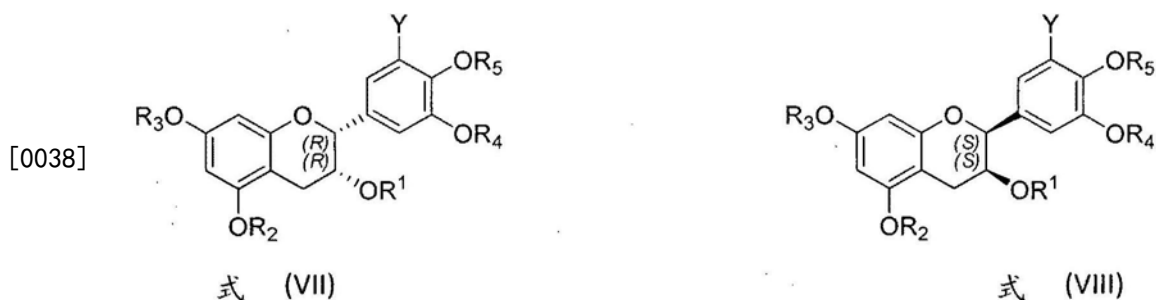


[0034] 以及

[0035] iii. 用还原剂处理选自式 (IV)、式 (V) 或式 (VI) 的组的化合物以产生式 (I) 化合物。

[0036] 本发明的方法可产生纯的式 (IV) 或式 (V) 或式 (VI) 或者式 (IV) 和 (V) 的混合物。

[0037] 化合物的还原可以是手性的或非手性的, 其可产生作为单一对映体或对映体富集 (enantiomerically enriched) 之混合物的式 (I) 化合物, 例如化合物 R, R 非对映体 (式 (VII))、S, S 非对映体 (式 (VIII)) 或其混合物:

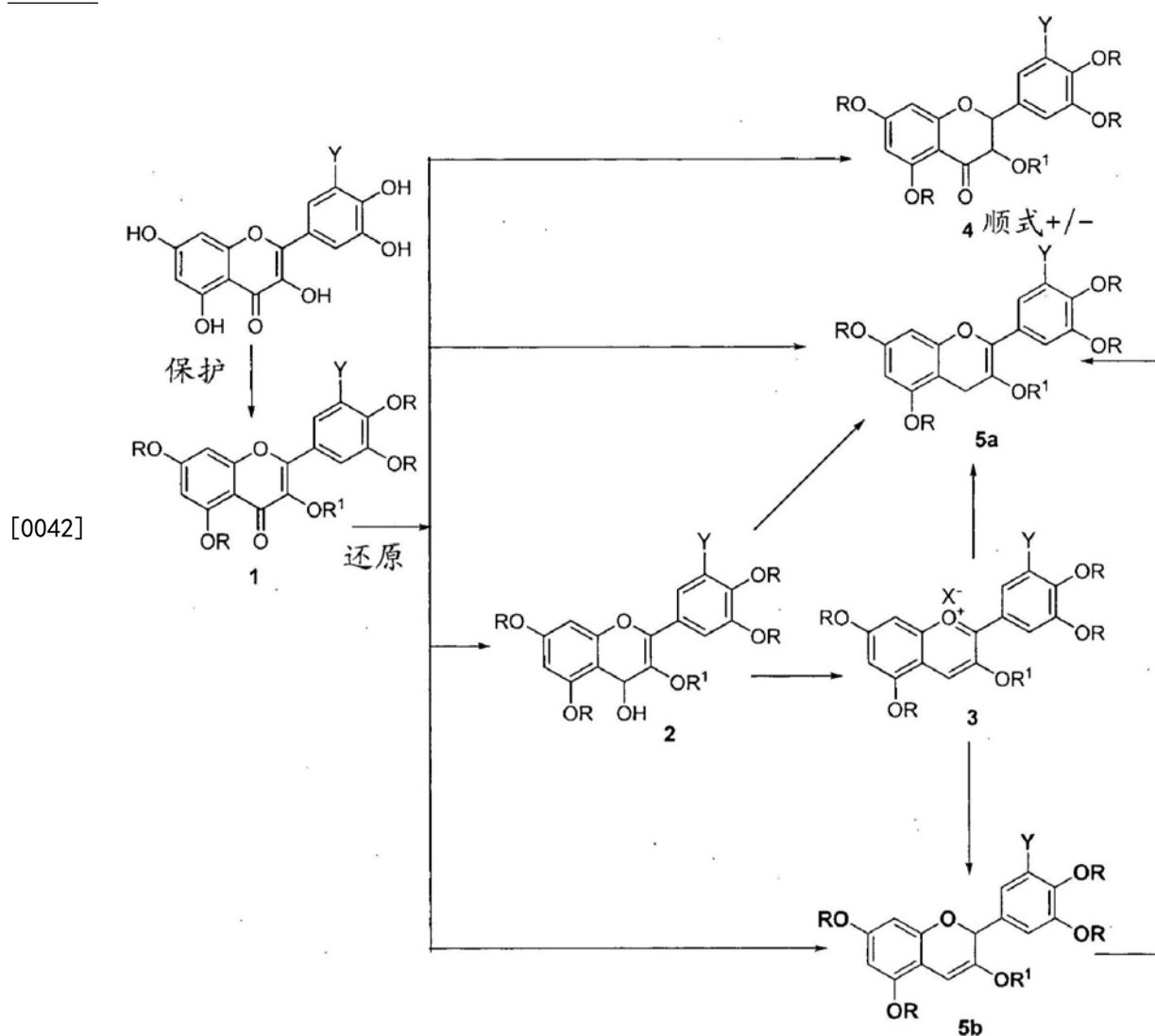


[0039] 本发明的方法可产生式 (I) 化合物, 例如 (S, S)-表儿茶素、(R, R)-表儿茶素、(S, S)-表儿茶素和 (R, R)-表儿茶素的混合物、(S, S)-表没食子儿茶素、(R, R)-表没食子儿茶素以及 (S, S)-表没食子儿茶素和 (R, R)-表没食子儿茶素的混合物。

[0040] 上述举例说明的步骤在一般合成方案 1 中图示地表示, 并举例说明了参与或可参与这些转化的多种中间体:



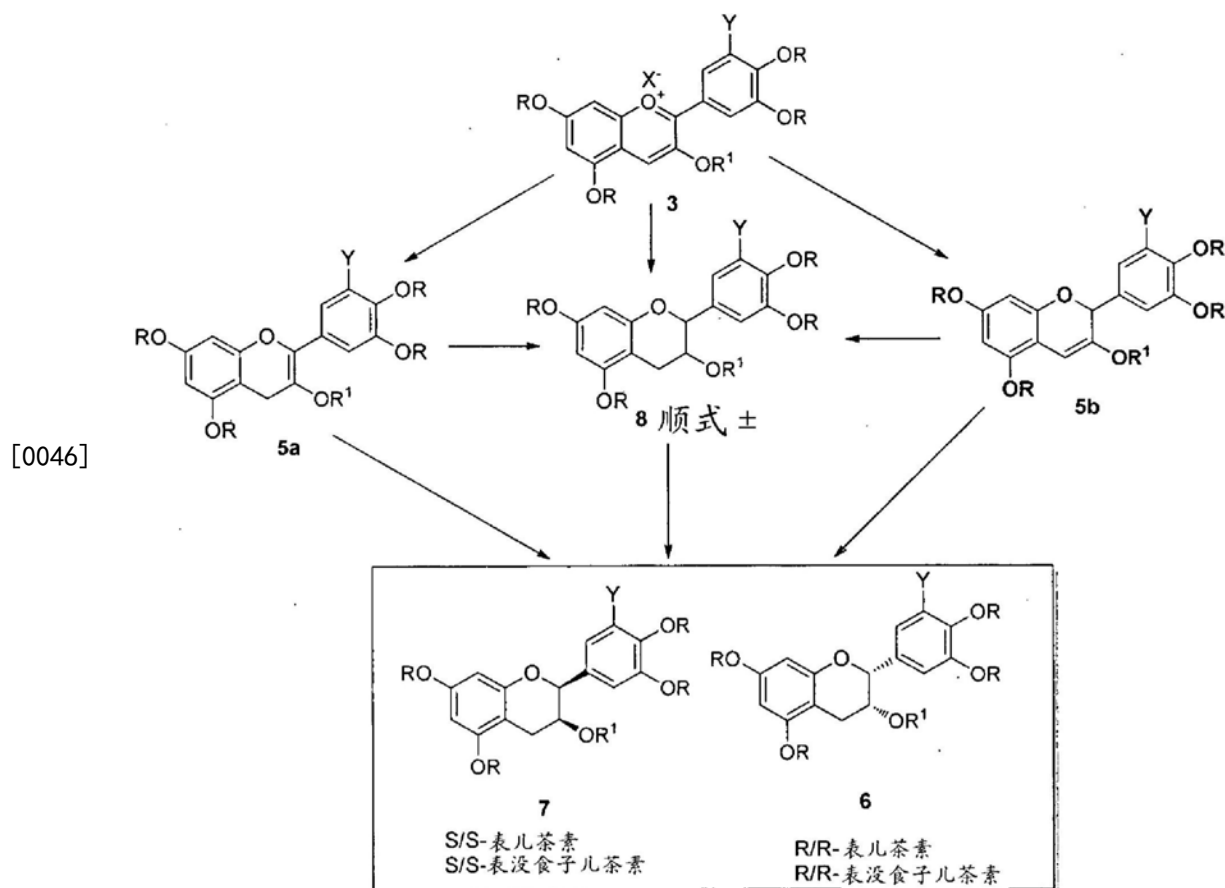
[0041] 方案1: 举例说明通过或可通过还原槲皮素或相关多酚获得多种中间体的一般合成方案



[0043] 可在溶剂(例如四氢呋喃)中使用合适还原剂(例如氢化铝锂)然后用酸(例如盐酸)处理直接或通过中间体[2]来使经保护的原料[1]还原成化合物(例如[3])。还可在溶剂(例如DCM)中使用还原剂(例如  $\text{NaCNBH}_3$ )使化合物3转化成[5a]和/或[5b]。还可在加热下在溶剂(例如四氢呋喃)中使用试剂(例如三乙基硅烷)使烯丙醇[2]转化成5a。还可在试剂(例如氢化铝锂)的存在下在含有或不含有作为共催化剂的铜盐的情况下在溶剂(例如四氢呋喃)中于60至80℃的温度下使[1]选择性地还原成[4]。

[0044] 上述方法可适于合成表儿茶素或表没食子儿茶素,如方案2所述。

[0045] 方案2: 表儿茶素和相关多酚的合成



[0047] 如方案2中,在还原气氛(例如氢)中用试剂(例如钯碳(palladium on carbon))对[3]和/或[5a/b]依次氢化和去保护可导致形成大量外消旋表儿茶素或表没食子儿茶素[8]和少量儿茶素类似物。可用文献中已知的技术(例如使用脂肪酶/酯酶的酶拆分和/或通过用手性酸制备非对映体的化学拆分)将外消旋的[8]拆分成纯对映体。在还原气氛(例如氢)下在溶剂(例如乙酸乙酯)中在催化剂(例如钯碳)的存在下对[3]或者[5a]和/或[5b]进行非手性氢化可得到外消旋的[8]。在溶剂(例如四氢呋喃)中用还原气氛(例如氢)在手性还原剂(例如金鸡纳树皮(cinchona))或其他经生物碱修饰的金属催化剂的存在下对[3]或者[5a]和/或[5b]进行手性还原可提供作为主要产物的光学富集的或纯的[6]或[7]。

[0048] 本发明化合物的保护

[0049] 可通过适合用于保护羟基的方法来保护包含多于一个羟基的式(I)化合物。

[0050] 式(I)化合物可通过天然来源或合成来源获得并且其可以是无水的、水合的或作为二水合物。

[0051] 可通过烷基化、硅烷化或酯化以形成醚、酯、乙酸酯、氯乙酸酯、三氟乙酸酯、新戊酸酯、苯甲酸酯、1,2-异亚丙基或1,3-异亚丙基来实现用于保护羟基的合适方法。

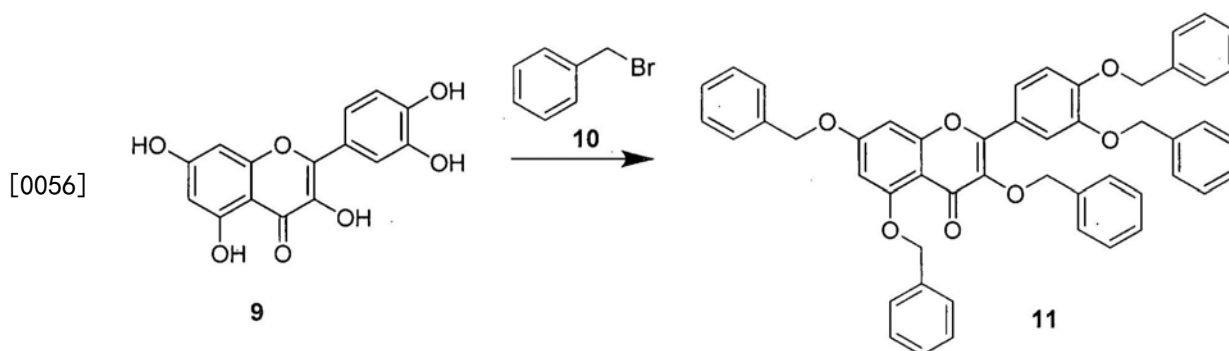
[0052] 保护羟基的合适方法涉及烷基化。烷化剂包括烷基氯、烷基溴、烷基碘或烷基磺酸酯/盐。烷化剂的具体实例包括烯丙基溴、炔丙基溴、苄基溴、2-氟乙基溴、4-硝基苄基溴、4-氯苄基溴、4-甲氧基苄基溴、 $\alpha$ -溴-对甲基苯甲腈、肉桂基溴、4-溴巴豆酸甲酯、巴豆基溴、1-溴-2-戊烯、3-溴-1-丙烯基苯基砷、3-溴-1-三甲基甲硅烷基-1-丙炔、3-溴-2-辛炔、1-溴-2-丁炔、2-皮考基氯、3-皮考基氯、4-皮考基氯、4-溴甲基喹啉、溴乙腈、表氯醇、溴氟甲烷、溴硝基甲烷、溴乙酸甲酯、甲氧基甲基氯、溴乙酰胺、2-溴苯乙酮、1-溴-2-丁酮、溴氯甲烷、

溴甲基苯基砒和1,3-二溴-1-丙烯。

[0053] 用于烷基化的优选试剂可以是苄基卤化物,例如苄基溴。

[0054] 例如,方案3描述了通过使用苄基卤化物作为烷基化剂的烷基化来保护多酚的羟基。

[0055] 方案3:通过使用苄基卤化物的烷基化保护羟基



[0057] 可在强碱和极性有机溶剂的存在下进行通过烷基化反应的羟基保护。

[0058] 碱可选自碱金属氢化物、二烷基酰胺、双(三烷基甲硅烷基)酰胺、碳酸盐或氢氧化物,更优选碱金属碳酸盐如碳酸钾。

[0059] 溶剂可以是选自以下的极性水可混溶溶剂:乙腈、四氢呋喃(四氢呋喃)、二甲基乙酰胺、二氧六环、N,N-二甲基甲酰胺、亚砒(例如二甲基亚砒)或N-甲基吡咯烷酮。优选地,所述溶剂为二甲基甲酰胺。

[0060] 用于保护槲皮素[9]之羟基的烷基化反应可进行4至7小时,优选地在大气压力下和在60至80℃的温度下通过与[10]反应以产生经保护的化合物[11]。

[0061] 本发明化合物的还原

[0062] 可通过使用合适的还原剂(例如金属氢化物)进行式(I)化合物的还原,所述金属氢化物可包括双(2-甲氧基乙氧基)氢化铝钠、氢化铝锂、硼氢化钠、氢化铝、二异丁基氢化铝、三烷氧基氢化铝、钠汞齐、锌汞齐和双(2-甲氧基乙氧基)氢化铝钠。优选地,还原剂为氢化铝锂。

[0063] 可在路易斯酸(例如氯化铝、氯化铈、氯化锌、三氟化硼、碘)的存在下进行还原。

[0064] 可在溶剂的存在下进行还原反应,所述溶剂可选自包含甲基叔丁基醚、四氢呋喃、乙醚、甲苯、乙腈等的组。优选地,溶剂为甲基叔丁基醚。可在-10℃至80℃的温度下进行所述反应。

[0065] 例如,可通过方案1举例说明式(I)化合物的还原。

[0066] 经保护的多酚的还原和/或去保护

[0067] 可通过使得同时进行还原和去保护反应的方法来进行这两个反应。

[0068] 氢化催化剂是选自铂、钯、钨、铑和镍等的氢化催化剂。

[0069] 优选的催化剂为在10%钯和碳的存在下使用氢。

[0070] 在选自甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、乙酸或其混合物的溶剂或溶剂混合物的存在下进行反应,其中,优选地,溶剂为甲醇、乙醇、乙酸乙酯或其混合物。

[0071] 可在25至60℃的温度下在4至50psi的压力下进行反应。

[0072] 如果槲皮素的保护是通过苄基,那么可通过氢解促进去保护。

[0073] 应理解,去保护和还原可产生儿茶素。因此,考虑可通过与本发明中要求保护的所

相同的并且包含在本发明范围内的方法来制备异构体纯的儿茶素和外消旋儿茶素。

[0074] 本发明包含通过使用还原剂使式(VI)化合物转化成式(IV)化合物的方法。

[0075] 还原剂可选自包含金属氢化物的组,所述金属氢化物可包括的双(2-甲氧基乙氧基)氢化铝钠、氢化铝锂、硼氢化钠、氰基硼氢化钠、氢化铝、异丁基氢化铝、三烷氧基氢化铝,含有或不含路易斯酸,所述路易斯酸例如氯化铝、氯化铈、氯化锌、三氟化硼或碘。另外,合适的还原剂可包括钠汞齐、锌汞齐。

[0076] 优选地,还原剂为氰基硼氢化钠。

[0077] 可在溶剂的存在下进行还原反应,所述溶剂选自甲醇、乙醇、乙酸、乙酸乙酯、甲基叔丁基醚、乙醚、甲苯、乙腈或四氢呋喃。

[0078] 可在氰基硼氢化钠、乙酸和二氯甲烷的存在下于0℃至35℃的温度下进行反应。

[0079] 外消旋多酚的不对称拆分:

[0080] 可使用不对称拆分技术来拆分未经保护的或部分地经保护的多酚以获得光学富集形式的两种对映体,所述不对称拆分技术例如:

[0081] (i) 使用适当手性相(例如,但不限于结合的多糖手性固定相)的手性制备型液相色谱法;

[0082] (ii) 使用酶(例如,但不限于人或猪的肝酯酶)对酯的酶促水解;

[0083] (iii) 使用适当脂肪酶和/或酯酶的脂肪酶催化不对称转酯化;

[0084] (iv) 通过相应酯的非对映体混合物的部分结晶,所述相应酯通过用光学纯酸(例如扁桃酸或酒石酸)使一个羟基官能化而产生。

[0085] 本发明的外消旋化合物的拆分

[0086] 如上所述,可通过例如未经保护的或选择性经保护之多酚的酶拆分、化学拆分、手性柱色谱法和手性诱导分级结晶的方法来拆分外消旋表儿茶素。

[0087] 在一个优选的方法中,可通过包括以下步骤的方法拆分外消旋多酚:

[0088] (i) 通过合适的非手性保护基保护多酚的任意四个羟基,使未经保护的羟基与光学纯的酸偶联以形成作为两种非对映体之混合物的酯,更优选通过光学纯的酸或活化的酸在3位酯化以获得作为两种非对映体之混合物的酯,

[0089] (ii) 通过采用非对映体的不同化学和/或物理性质(例如分级或优先结晶)使步骤(i)的两种非对映体分离以获得优选多酚的光学纯的或非对映体富集的酯,

[0090] (iii) 将非对映体富集的酯水解以获得对映体富集的优选多酚,

[0091] (iv) 使对映体富集的优选多酚去保护。

[0092] 对于如上述公开的拆分,保护羟基的合适方法涉及烷基化。烷基化剂包括烷基氯、烷基溴、烷基碘或烷基磺酸酯/盐。烷基化剂的实例包括烯丙基溴、炔丙基溴、苄基溴、2-氟乙基溴、4-硝基苄基溴、4-氯苄基溴、4-甲氧基苄基溴、 $\alpha$ -溴-对甲基苯甲腈、肉桂基溴、4-溴巴豆酸甲酯、巴豆基溴、1-溴-2-戊烯、3-溴-1-丙烯基苯基砷、4-溴甲基喹啉、溴乙腈、溴氟甲烷、溴乙酸甲酯、甲氧基甲基氯、溴乙酰胺、2-溴苯乙酮、1-溴-2-丁酮、溴氯甲烷、溴甲基苯基砷和1,3-二溴-1-丙烯。

[0093] 用于烷基化的合适试剂可以是苄基卤化物,例如苄基溴。在碱和极性有机溶剂的存在下进行通过烷基化反应的羟基的保护。

[0094] 碱可选自包含碱金属氢化物、二烷基酰胺、双(三烷基甲硅烷基)酰胺、碳酸盐或氢

氧化物的组,更优选碱金属碳酸盐如碳酸钾。

[0095] 溶剂可选自包含乙腈、四氢呋喃(四氢呋喃)、N,N-二甲基甲酰胺、亚砷(例如二甲基亚砷)或N-甲基吡咯烷酮的组。优选地,溶剂为二甲基甲酰胺。

[0096] 用于保护表儿茶素之羟基的烷基化反应可进行4至7小时,优选在大气压力下和在25至80℃的温度下。

[0097] 非对映体的形成和分离

[0098] 可通过使用手性化合物使经保护的多酚转化成其非对映体,所述手性化合物选自手性酒石酸或其衍生物、甲氧基苯乙酸、2-甲氧基-2-(1-萘基)-丙酸等。优选地,手性试剂为(S和/或R)-2-甲氧基-2-苯乙酸。

[0099] 在用于酯化的一般反应条件下进行反应,其中,可在溶剂(例如四氢呋喃、二氯甲烷、乙腈、二甲基甲酰胺等)中在碱(例如吡啶、三乙胺、二异丙基胺)的存在下在含有或不含催化剂(例如4-二甲氨基吡啶(DMAP)或N',N'-二环己基碳二亚胺(DCC))的情况下于0至50℃的温度用相应活化的或非活化的酰基化试剂来酯化多酚的羟基。优选地,反应条件包括在作为溶剂的二氯甲烷、作为碱的三乙胺和作为催化剂的4-二甲氨基吡啶中使用作为酰基的活化酸。可在室温下优选地进行反应。

[0100] 可通过本领域已知的任何方法(例如柱色谱法、分级结晶等)分离非对映异构体。优选地,通过分级结晶分离非对映异构体。

[0101] 可通过以下实现分级结晶:在单一溶剂中使化合物溶解,其中化合物在较高温度下易于溶解,但是非对映异构体之一在较低温度下是不溶的,从而选择性地沉淀一种非对映异构体并且在溶液中保留另一种。

[0102] 还可通过以下实现分级结晶:在溶剂中使化合物溶解,其中化合物易于溶解,添加其他溶剂,其中非对映异构体之一是不溶的,从而选择性地沉淀一种非对映异构体并且在溶液中保留另一种。

[0103] 可通过使用任何合适的溶剂实施多酚立体异构体的分级结晶。优选地,可通过以下进行分级结晶:使化合物溶解于二氯甲烷中,通过甲醇沉淀溶液从而选择性地以酯的形式过量地获得一种非对映体。可再一次重复该方法以得到期望水平的非对映过量。

[0104] 手性酯的水解

[0105] 可通过本领域已知的任何方法水解手性酯以获得手性纯的多酚。水解手性酯的一个优选方法是通过在溶剂(例如甲醇和/或二氯甲烷)中用碱(例如碳酸钾)处理非对映异构体纯的酯。

[0106] 光学纯之多酚的去保护

[0107] 在一个实例中,可通过本领域已知的一般氢解反应条件使光学纯的经苄基保护的多酚去保护。在氢气的气氛中,在合适的有机溶剂(例如甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、乙酸等或其混合物)中在合适催化剂(例如氢氧化钡、钡碳)的存在下于室温至60℃的温度下可优选地进行该反应。优选地,在氢气氛下于室温下,催化剂为氢氧化钡并且溶剂为乙酸乙酯。

[0108] 酯形成和酶促分离

[0109] 可通过使用酸或酰基的酯化使经保护的多酚转化成酯(例如烷基酯或芳基酯)。

[0110] 可在例如使用商业酶用于拆分前手性酯的本领域已知的一般酶水解条件下,在存

在碱添加来维持pH范围(其中酶仍有活性)的情况下,用水可混溶或不可混溶之溶剂(例如四氢呋喃、乙腈、二甲基甲酰胺或乙酸乙酯等)的混合物进行酶分离反应。可在室温下进行该反应。

[0111] 水解一经进行到期望点,可通过本领域已知的任何方法(例如柱色谱法、分级结晶等)将所得多酚的经手性水解的经保护的映体与未反应的酯分离。

[0112] 本发明的方法可针对用于制备表儿茶素和表没食子儿茶素或其可药用盐的新方法。

[0113] 用于制备表儿茶素和表没食子儿茶素的方法包括一个或更多个下述步骤,并在方案1中举例说明:

[0114] (i) 用一个或更多个保护基部分地或完全地和/或选择性地保护槲皮素或杨梅黄酮的羟基;

[0115] (ii) 用还原剂还原部分地或完全地和/或选择性地经保护的槲皮素或杨梅黄酮以产生未经保护的、部分或完全经保护的4H色烯或2H色烯或花青素或者相关产物;

[0116] (iii) 非手性还原未经保护的、部分或完全地和/或选择性地经保护的 4H色烯或2H色烯或花青素或者相关产物,随后或同时使该还原之产物完全或部分去保护以产生未经保护的或部分经保护的外消旋的表儿茶素或表没食子儿茶素;

[0117] (iv) 手性还原未经保护的、部分或完全经保护的4H色烯或2H色烯或花青素或者相关产物,随后或同时使该还原之部分经保护的或完全经保护的产物去保护以产生未经保护的或部分经保护的异构体纯的表儿茶素或表没食子儿茶素或者外消旋的表儿茶素或表没食子儿茶素;

[0118] (v) 拆分部分或完全经保护的4H色烯或2H色烯或花青素或者相关产物的非手性还原产物,随后或同时使该拆分之产物去保护以产生部分或完全未经保护的异构体纯的表儿茶素或表没食子儿茶素;

[0119] (vi) 使未经保护的或部分经保护的外消旋的表儿茶素或表没食子儿茶素拆分成异构体纯的未经保护的或部分经保护的表儿茶素或表没食子儿茶素;

[0120] (vii) 使花青素选择性或非选择性转化成4H色烯和/或2H色烯,然后手性或非手性还原成表儿茶素或表没食子儿茶素;

[0121] (viii) 使2H色烯转化成4H色烯,然后手性或非手性还原成表儿茶素或表没食子儿茶素。

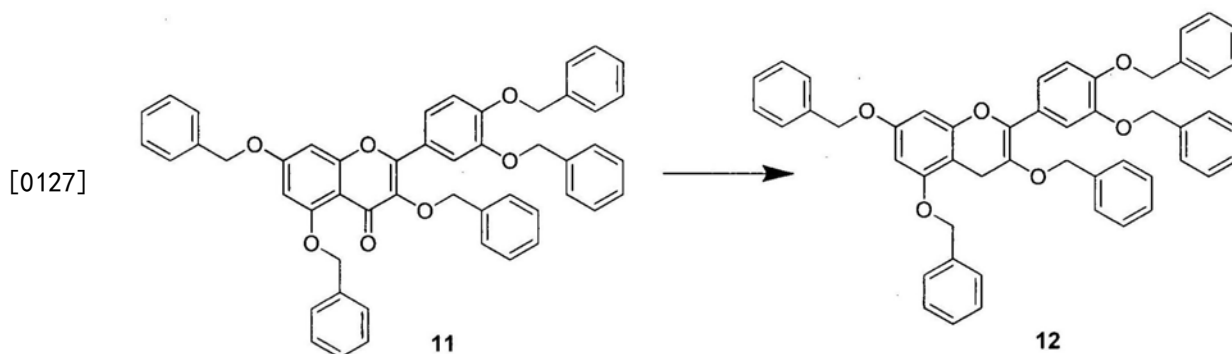
[0122] 用于制备表儿茶素和表没食子儿茶素的另一些步骤如下举例说明:

[0123] 槲皮素的保护

[0124] 可通过如方案3举例说明的方法进行槲皮素的保护。

[0125] 经保护的槲皮素还原成4H色烯

[0126] 方案4:



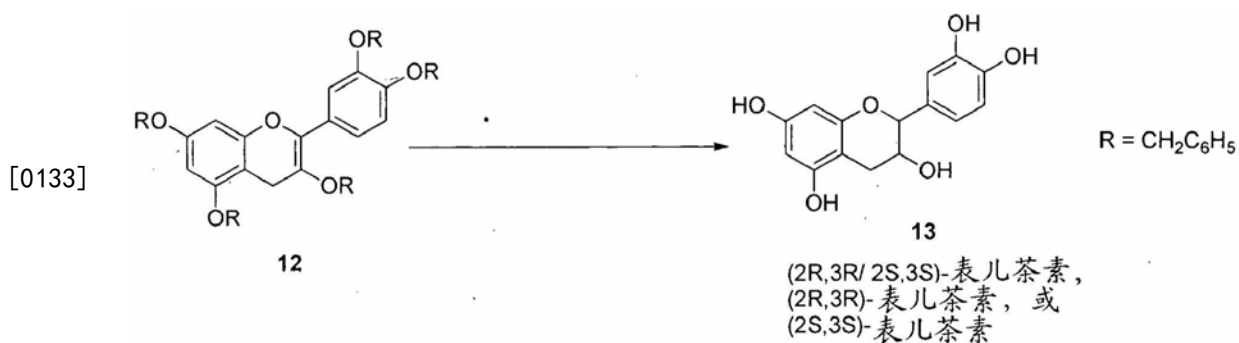
[0128] 通过如上所述的合适的还原剂还原经保护的槲皮素[11] (五苄基槲皮素; 3,5,7-三(苄氧基)-2-(3,4-双(苄氧基)苯基)-4H-色烯-4-酮) 以获得经保护的4H色烯[12] 3,5,7-三(苄氧基)-2-(3,4-双(苄氧基)苯基)-4H-色烯。

[0129] 通过经保护的4H色烯的还原和去保护合成表儿茶素

[0130] 方案5中举例说明了通过4H色烯的还原和去保护来合成外消旋的表儿茶素[13]。可使经保护的4H色烯[12]同时还原和去保护,或者使其依次还原和去保护,如一般合成方案5中所示。还可以在本领域中已知的手性催化剂和/或手性助剂的存在下进行色烯的还原,以提供异构体富集的还原产物。优选的方法是同时进行花青素的还原和去保护。

[0131] 在氢气的气氛下,可优选地在合适的有机溶剂(例如甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、乙酸等或其混合物)中在固体支持物上吸附之合适催化剂(例如Pd、Pt、Ni等)的存在下进行该反应。

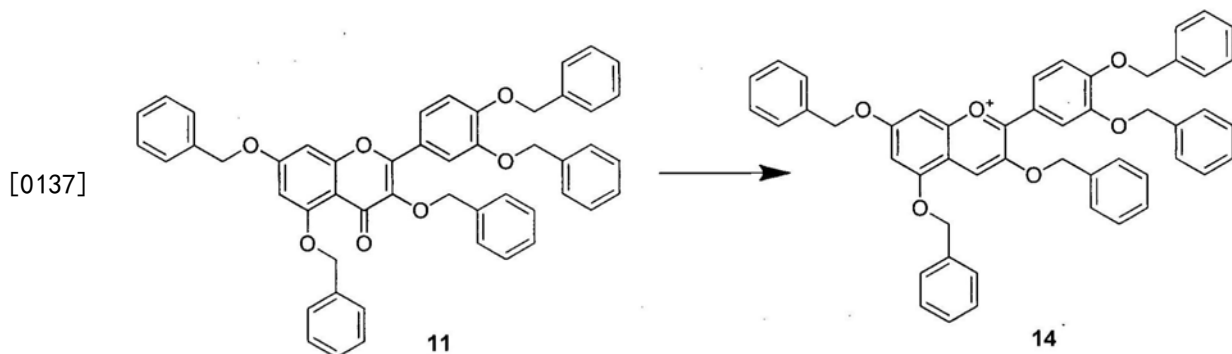
[0132] 方案5: 通过4H色烯的还原和去保护合成外消旋的表儿茶素



[0134] 可通过上述方法进行4H色烯的还原和去保护。

[0135] 将经保护的槲皮素还原成花青素

[0136] 方案6:



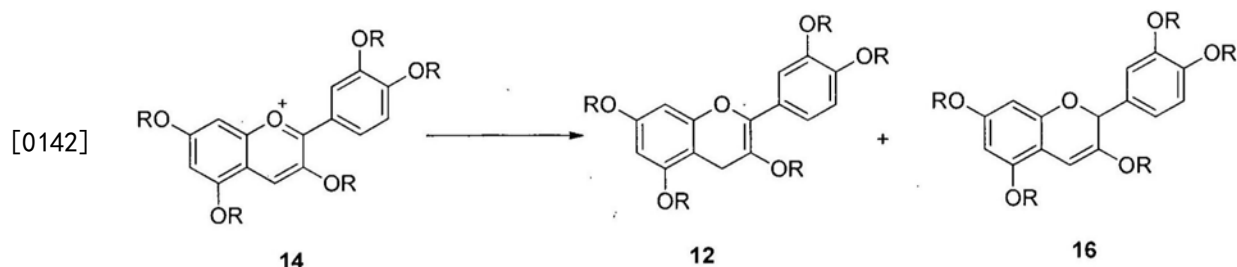
[0138] 通过合适的还原剂还原经保护的槲皮素[11] (五苄基槲皮素; 3,5,7-三(苄氧基)-2-(3,4-双(苄氧基)苯基)-4H-色烯-4-酮) 以获得经保护的4H色烯[12] 3,5,7-三(苄氧基)-2-(3,4-双(苄氧基)苯基)-4H-色烯。

基)-2-(3,4-双(苄氧基)苯基)-4H-色满-4-酮)以获得经保护的花青素 [14] (3,5,7-三(苄氧基)-2-(3,4-双(苄氧基)苯基)苯并吡喃鎓)。

[0139] 花青素转化成4H和/或2H色烯:

[0140] 方案7中举例说明了花青素的转化。可使用合适的还原剂使经保护的花青素转化成4H色烯和2H色烯。另外,可优化反应条件以得到作为唯一产物的4H色烯或2H色烯。

[0141] 方案7



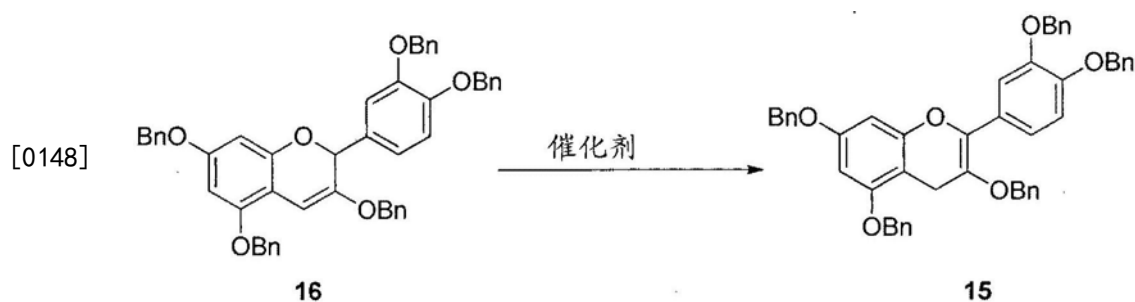
[0143] 如方案7公开的,可通过还原使花青素[14]转化成2H色烯[16]和4H色烯[12]。

[0144] 还原剂可选自金属氢化物,其可包括双(2-甲氧基乙氧基)氢化铝钠、氢化铝锂、硼氢化钠、氰基硼氢化钠、氢化铝、异丁基氢化铝、三烷氧基氢化铝,含有或不合路易斯酸例如氯化铝、氯化铈、氯化锌、三氟化硼或碘。合适的还原剂还可包括钠汞齐、锌汞齐,优选氰基硼氢化钠。

[0145] 可在溶剂的存在下进行该反应,所述溶剂选自甲醇、乙醇、乙酸、乙酸乙酯、甲基叔丁基醚、乙醚、甲苯、乙腈或四氢呋喃或者其混合物。优选地,溶剂为在0℃至35℃的温度下的乙酸和二氯甲烷的混合物。

[0146] 2H色烯转化成4H色烯

[0147] 在另一个方面中,如下中在方案8可使4H色烯转化成2H色烯。



[0149] 可通过使用催化剂使2H色烯转化成4H色烯。

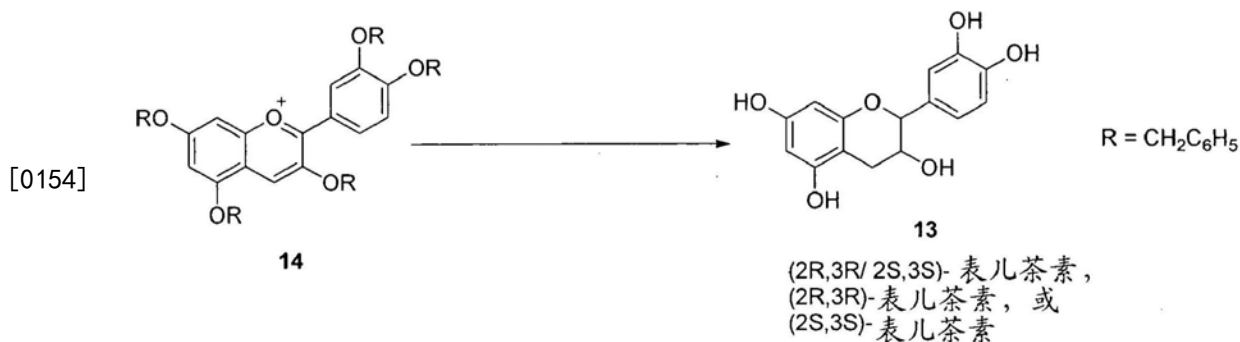
[0150] 催化剂可以是在20至150℃的温度下溶剂(例如THF、甲苯、二甲苯、硝基苯等)中的路易斯酸(例如氯化铝、氯化铈、氯化锌、三氟化硼和/或碘)或弱酸(例如对甲苯磺酸)。

[0151] 通过经保护的花青素的还原和去保护合成表儿茶素

[0152] 方案9中举例说明了通过花青素的还原和去保护来合成外消旋的表儿茶素[13]。可使经保护的花青素[14]同时还原和去保护,或者使其依次还原和去保护,如一般合成方案9中所示。还可以在本领域中已知的手性催化剂和/或手性助剂的存在下进行花青素的还原,以提供异构体富集的还原产物。优选的方法是同时进行花青素的还原和去保护。在氢气的气氛中,在合适的有机溶剂(例如甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、乙酸等或其混合物)中在固体支持物上吸附之合适催化剂(例如Pd、Pt、Ni等)的存在下可优选地进行该反应。



[0153] 方案9:通过花青素的还原和去保护合成外消旋的表儿茶素



[0155] 外消旋的表儿茶素和/或表没食子儿茶素及相关多酚的不对称拆分:

[0156] 可使用如下的本领域已知的不对称拆分技术来拆分未经保护的或部分经保护的外消旋表儿茶素和/或表没食子儿茶素或者相关酚以得到光学富集形式的两种对映体:

[0157] (i) 使用适当手性相(例如,但不限于结合的多糖手性固定相)的手性制备型液相色谱法;

[0158] (ii) 使用酶(例如,但不限于人或猪的肝酯酶)的酯之酶促水解;

[0159] (iii) 使用适当脂肪酶和/或酯酶的脂肪酶催化不对称转酯化;

[0160] (iv) 通过相应酯的非对映体混合物的部分结晶,所述相应酯通过用光学纯酸(例如扁桃酸或酒石酸)使一个羟基官能化而产生。

[0161] 在产物为期望异构体的酯(最终产物)的情况下,在该实例中,可通过方法进行酸催化水解或碱催化水解来水解酯部分以获得表儿茶素或表没食子儿茶素。

[0162] 本发明化合物的拆分

[0163] 可通过包括以下步骤的方法拆分本发明的化合物:

[0164] (i) 使用一种或更多种非手性保护基保护式(I)化合物之除了一个以外的全部羟基;

[0165] (ii) 使未经保护的羟基与光学纯的酸偶联以形成作为两种非对映体之混合物的酯;

[0166] (iii) 通过分级或优先结晶使步骤(ii)中形成的两种非对映异构体分离以获得光学纯或非对映体富集的酯;

[0167] (iv) 使光学纯或非对映体富集的酯水解以获得对映体富集的对映体富集的经保护的化合物;以及

[0168] (v) 使对映体富集的经保护的化合物去保护以得到式(I)化合物。

[0169] 可进行拆分使得在步骤(v)发生酯化。

[0170] 如上所述,可通过本领域已知的任何方法(例如未经保护的或选择性经保护的表儿茶素的酶拆分、化学拆分、手性柱色谱法和手性诱导分级结晶)拆分外消旋的表儿茶素。

[0171] 在一个优选的方法中,式(II)化合物为外消旋的槲皮素或杨梅黄酮。

[0172] 可通过以下进行外消旋的杨梅黄酮或槲皮素的拆分:

[0173] (i) 保护表儿茶素的任意四个羟基;

[0174] (ii) 使未经保护的羟基与光学纯的酸相偶联以形成作为两种非对映体之混合物的酯;

[0175] (iii) 使两种非对映异构体分离以得到非对映体富集的酯;

[0176] (iv) 使非对映体富集的酯水解以获得对映体富集的经保护的表儿茶素;以及

[0177] (v) 使对映体富集的经保护的表儿茶素去保护以提供作为基本上纯的对映体或者对映体富集之混合物的表儿茶素。

[0178] 在槲皮素和杨梅黄酮的拆分步骤(i)中的保护可以是表儿茶素的 5,7,3',4'位羟基。

[0179] 可通过光学纯的酸或活化的酸在3位优选地进行酯化以获得作为两种非对映体之混合物的酯。

[0180] 非对映异构体的形成和分离

[0181] 可通过使用选自手性酒石酸或其衍生物、甲氧基苯乙酸、2-甲氧基 -2-(1-萘基)-丙酸等的手性化合物使经保护的表儿茶素转化成其非对映异构体。优选地,手性试剂为(S和/或R)-2-甲氧基-2-苯乙酸。

[0182] 可通过本领域已知的任何方法(例如柱色谱法、分级结晶等)分离非对映异构体。优选地,通过分级结晶分离非对映异构体。

[0183] 手性酯的水解

[0184] 可通过本领域已知的任何方法水解手性酯以获得手性纯的表儿茶素。水解手性酯的一个优选方法可以是通过在溶剂(例如甲醇和/或二氯甲烷)中用碱(例如碳酸钾)处理非对映异构体纯的酯。

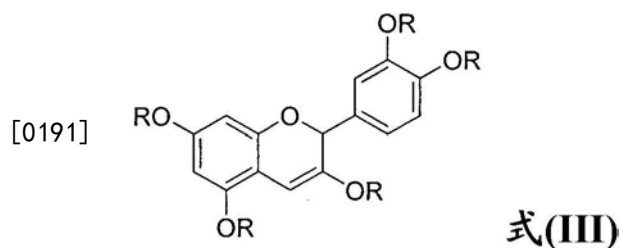
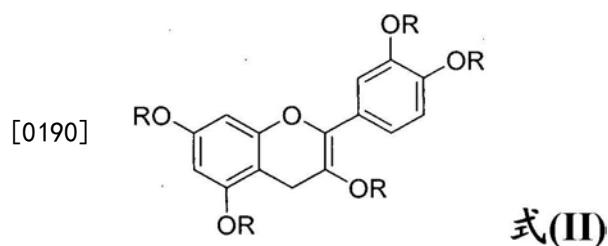
[0185] 光学纯的表儿茶素的去保护

[0186] 在一个实例中,可通过本领域已知的一般氢解反应条件使光学纯的苄基保护的表儿茶素去保护。

[0187] 酯形成和酶分离

[0188] 可通过使用酸或酰氯的酯化使经保护的表儿茶素转化成酯(例如烷基酯或芳基酯)。

[0189] 在另一个方面中,本发明涉及合成多酚之新方法的中间体。特别是,该方面公开了如下的未经保护的、部分经保护的和完全经保护的4H色烯[式(II)]和2H色烯[式(III)]结构:



[0192] 其中R选自H、CH<sub>3</sub>、Bn、Ac、Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、烯丙基。

[0193] 在另一个方面中,本发明涉及4H色烯和2H色烯在合成表儿茶素中的用途。

[0194] 在另一个方面中,本发明涉及制备包含儿茶素和/或表儿茶素之药物或营养品组合物的方法。这些方法包括通过本文中描述的方法制备儿茶素和/或表儿茶素或者其可药用盐,以及使它们与可药用或可营养品用 (neutraceutially acceptable) 的载体相组合。

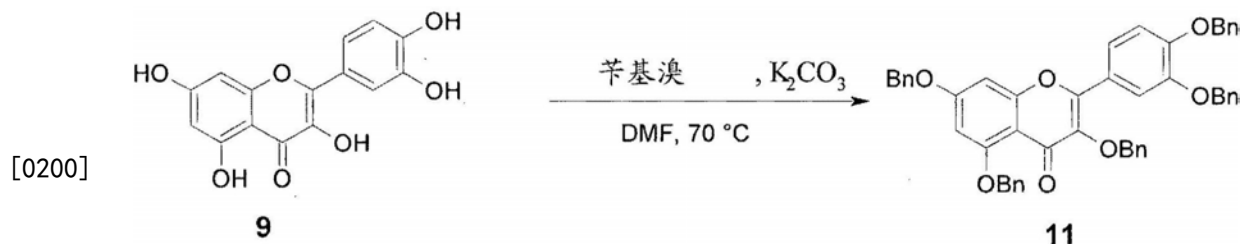
[0195] 在一个相关的方面中,本发明涉及向有此需要的对象施用这样的药物或营养品组合物。用于本发明的药物和营养品组合物的施用途包括胃肠外途径和经肠途径。优选的经肠施用途包括通过口(口服)、鼻、直肠和阴道途径的递送。优选的胃肠外施用途包括静脉内、肌内、皮下和腹膜内途径。

[0196] 优选地,以“有效量”施用本发明的药物或营养品组合物。该术语在下文中定义。除非另有明确的或其他说明,否则“有效量”不限于足以改善病症的最低量,或导致病症的最佳或最大改善的量。在当两种或更多种药物一起施用的情况下,一种这样的药物的有效量可能不在有效量内以及可能其本身不是有效量,但是当与另外的药物一起使用时可能是有效量。

[0197] 虽然对于本领域技术人员制备和使用本发明来说足够详细地描述并示例了本发明,但是在不背离本发明的精神和范围的情况下,多种替换、修改和改进应是显而易见的。本文中提供的实施例是优选实施方案的代表,是示例性的且旨在作为对本发明范围的限制。对于本领域技术人员而言将存在本文中的修改和其他用途。这些修改包括在本发明的精神内并由权利要求的范围所限定。

[0198] 实验

[0199] 实施例1: 五苄基化的槲皮素的合成



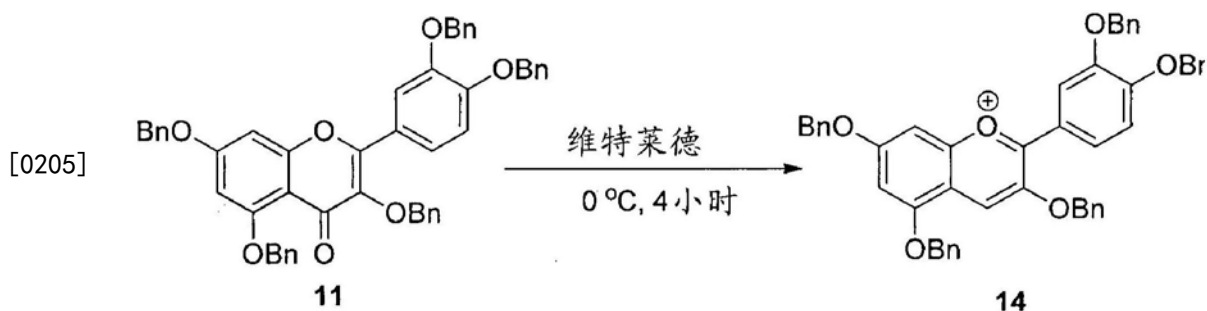
五苄基化的槲皮素

[0201] 向槲皮素[9] (5g) 在二甲基甲酰胺 (30ml) 中的溶液中添加碳酸钾 (34.3克), 然后在室温下逐滴添加苄基溴 (23.7ml)。使反应混合物在 70 °C 下加热15小时, 之后冷却至室温, 向其中添加水 (60ml) 并使搅拌再持续1小时。将沉淀的固体过滤, 用水洗涤五次并用乙酸乙酯洗涤两次以得到10g (80%) 期望产物[11]。

[0202] 分析数据:

[0203] ESIMS: 753 ( $M^+ + 1$ )

[0204] 实施例2: 五苄基化的花青素的合成

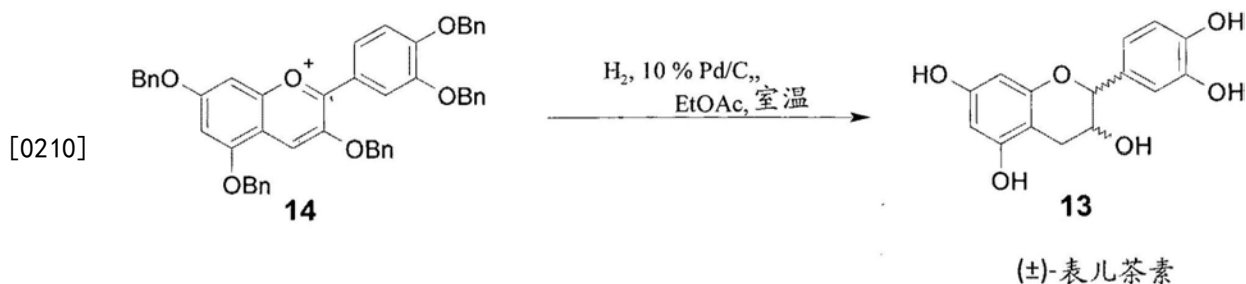


[0206] 在氮气氛下于0至5℃经5分钟的时间向[11] (25g, 0.0332mol) 在无水四氢呋喃中的搅拌溶液中添加维特莱德 (Vitride) 溶液 (56ml, 0.166 mmol)。在该温度下使反应搅拌4小时。反应完成后, 在冷却下用饱和 NaCl溶液淬灭反应混合物。再用乙酸乙酯稀释反应混合物, 将有机层分离, 经硫酸钠干燥, 在减压下蒸发以得到粗制淡黄色胶状 (gummy) 物料 (mass) (30.0g)。通过柱色谱在二氧化硅上使用乙酸乙酯/己烷作为洗脱剂来纯化上述粗制物料以产生黄色胶状物质 (15.0克), 再在0至5℃下用盐酸甲醇将其处理2小时, 之后在25至30℃下处理24小时。在真空下干燥所获得的湿饼 (wet cake), 以产生作为浅桃色固体的 [14]。

[0207] 分析数据:

[0208] ESIMS: 738 [M<sup>+</sup>+1]

[0209] 实施例3: 由花青素合成(±)-表儿茶素

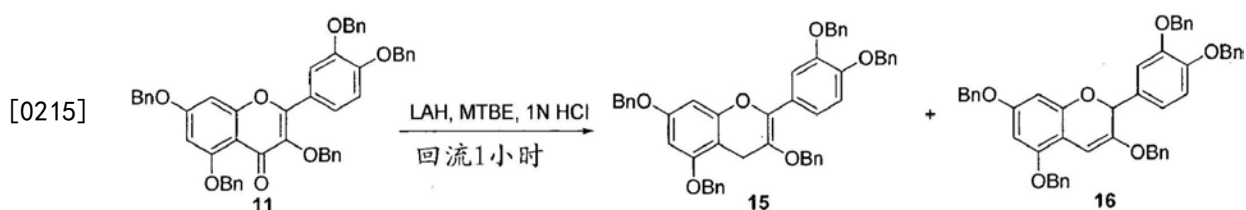


[0211] 在氮气氛下, 将粗制的五苄基化的花青素[14] (2g) 放入乙酸乙酯 (30 ml) 中并且向其中添加10%干燥Pd/C (0.2g) 在甲醇 (10ml) 中的浆液 (slurry)。在使用气球的氢压力下使所得溶液在50℃下搅拌5小时。在抽吸下通过硅藻土过滤并且将滤液浓缩得到粗制固体物质 (0.7g)。将固体物质放入丙酮 (30ml) 中并通过滤纸过滤。使滤液浓缩以产生0.2g粗制 (+/-) 表儿茶素 [13]。

[0212] 分析数据:

[0213] ESIMS: 291 (M<sup>+</sup>+1)

[0214] 实施例4: 由槲皮素合成4H-色烯[15]和/或2H-色烯[16]



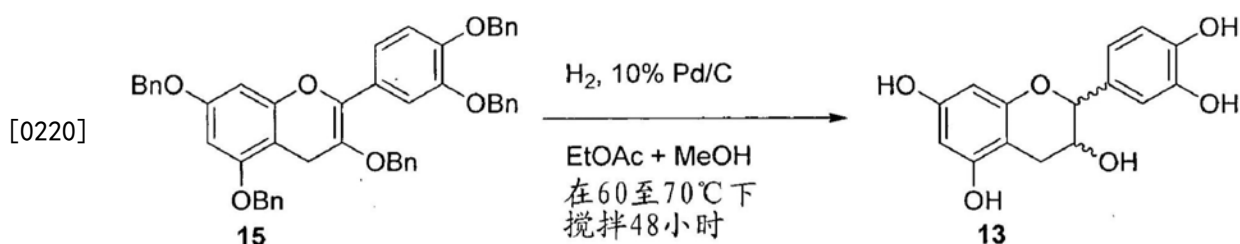
[0216] 在氮气氛下于室温向[11] (2.5g) 在甲基叔丁基醚 (75.0ml) 中的搅拌混悬液中分批添加氧化铝锂 (0.251mg, 3.6当量)。在该温度下搅拌 10分钟后, 使反应的温度升高至65

至70℃。在同一温度下搅拌1小时后,在0至5℃下用1N HCl (10ml) 淬灭反应物料,之后使反应物料的温度升高至室温。将乙酸乙酯 (10ml) 添加至反应物料并搅拌30分钟,之后倾析(decant) 有机层,用乙酸乙酯稀释水层,通过硅藻土床(celite bed) 过滤,分离水层和有机层二者。在减压下浓缩合并的有机层以产生灰白色固体 (2.5g)。在室温下将上述粗制化合物用乙酸乙酯 (10ml) 研磨4小时,之后过滤,用乙酸乙酯洗涤,在真空下干燥以产生1.0g (40%) 灰白色固体[4]。将[4]分离后,在减压下浓缩母液以得到浅黄色残余物。在室温下将所得半固体用50%乙酸乙酯:己烷 (250ml) 研磨30分钟以产生固体。再过滤固体并用50%乙酸乙酯:己烷 (200ml) 洗涤。在真空下干燥固体以获得作为灰白色固体的产物 (0.250g, 10%) [16]。

[0217] 分析数据:

[0218] ESIMS: 739 [M<sup>+</sup>+1]

[0219] 实施例5: 由4H-色烯[15]合成外消旋的表儿茶素[13]



[0221] 一般过程:

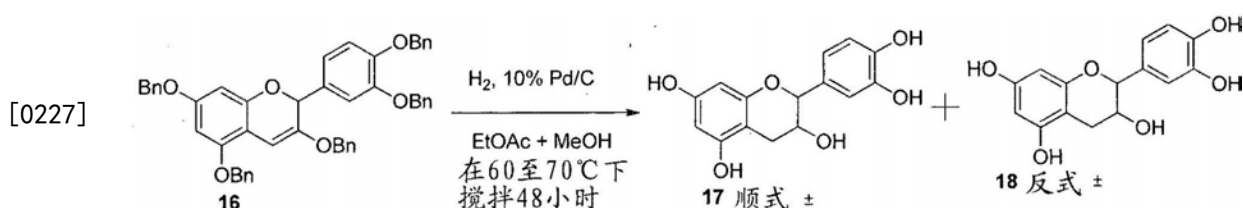
[0222] 在氮气氛下向[15] (5.00g, 6.7mmol) 在甲醇和乙酸乙酯之1:1混合物 (30ml) 中的搅拌溶液中添加10%干燥Pd/C (0.5g) 在甲醇 (5ml) 中的浆液。在氢压力下使所得溶液在60至70℃搅拌48小时。

[0223] 反应完成后,在抽吸下通过硅藻土床过滤反应混合物并且将滤液浓缩以得到粗制固体物质 (2.2g, 110%)。通过柱色谱使用甲醇/二氯甲烷作为洗脱剂将固体物质纯化以获得纯的[13] (1.65g, 66%)。使所获得的固体从水 (10ml) 中进一步重结晶以产生淡粉色固体。

[0224] 分析数据:

[0225] ESIMS: 291 [M<sup>+</sup>+1]

[0226] 实施例6: 由2H-色烯[16]合成外消旋的表儿茶素和外消旋的儿茶素



[0228] 一般过程:

[0229] 在氮气氛下向[16] (5.00g, 6.77mmol) 在甲醇和乙酸乙酯之1:1混合物 (30ml) 中的搅拌溶液中添加10%干燥Pd/C (0.5g) 在甲醇 (5ml) 中的浆液。在氢压力下使所得溶液在60至70℃搅拌48小时。反应完成后,在抽吸下通过硅藻土床过滤反应混合物并且在减压下将滤液浓缩以产生粗制固体物质 (2.23克)。通过柱色谱使用甲醇/二氯甲烷作为洗脱剂纯化固体物质以获得[2]和[4] (1.4克, 66%)。通过制备型HPLC分离上述获得的固体。

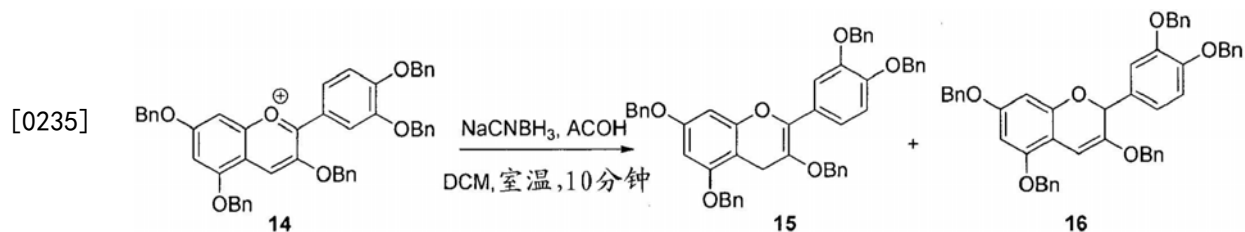
[0230] 产物:1) 外消旋表儿茶素[17]:0.960g (49%)。

[0231] 2) 外消旋儿茶素[18]:0.150g (8%)。

[0232] 分析数据:

[0233] ESIMS:291 [ $M^+ + 1$ ]

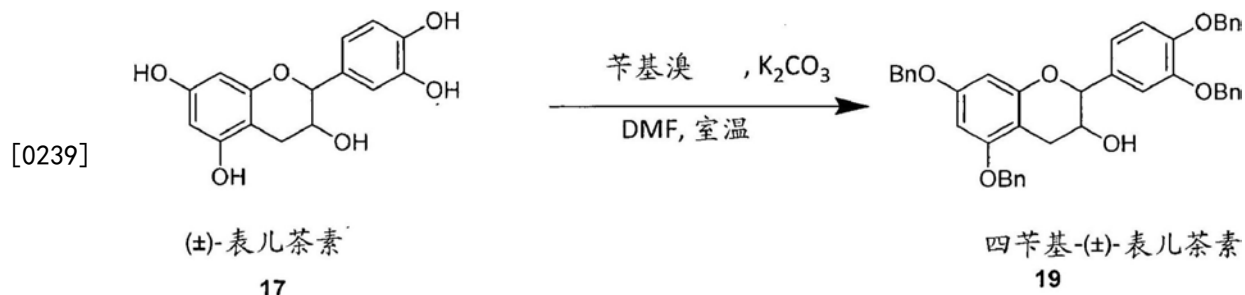
[0234] 实施例7:由花青素合成4H-色烯[16]和/或2H-色烯[14]



[0236] 在室温下向[14] (0.200g, 0.27mmol) 在二氯甲烷 (5ml) 中的搅拌溶液中添加乙酸 (7ml)。向所得深红色溶液中一次添加氰基硼氢化钠 (0.034g, 0.54mmol)。使反应混合物在室温下搅拌10分钟。通过添加水 (10ml) 淬灭反应混合物并通过乙酸乙酯 (50ml  $\times$  2) 进行萃取。在减压下蒸发有机层以产生淡黄色固体。从醚和戊烷中重结晶所述固体以产生灰白色固体[15和16] (0.150g, 75%)。

[0237] 分析数据:

[0238] 实施例8: ( $\pm$ )-5,7,3',4'-四-O-苄基-表儿茶素[19]的合成



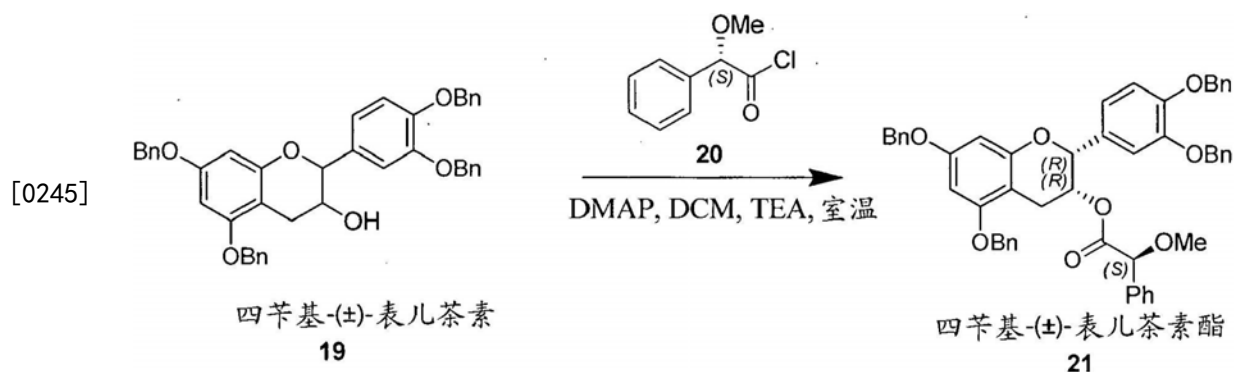
[0240] 向( $\pm$ )-表儿茶素[17] (0.500g, 1.724mmol) 在二甲基甲酰胺 (5.0ml) 中的溶液中添加碳酸钾 (1.43g, 10.345mmol), 然后在室温下逐滴添加苄基溴 (0.88ml, 7.241mmol)。使反应混合物在室温下搅拌20小时, 然后用水 (6ml) 淬灭。使用乙酸乙酯萃取产物。将有机层用水洗涤并经无水硫酸钠干燥。真空下在旋转蒸发仪上除去过量溶剂以提供1.1g (产率98%) 期望产物。通过柱色谱使用环己烷中5%至15%乙酸乙酯来纯化粗制固体以产生作为固体的期望产物[19] (0.7g, 78%, >85%纯度)。

[0241] 分析数据:

[0242] ESIMS:651 ( $M^+ + 1$ )

[0243]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz):  $\delta$  (ppm) 7.47–7.311 (m, 20H), 7.14–7.15 (d, 1H,  $J=1.5\text{Hz}$ ), 7.00–6.99 (d, 1H,  $J=1.5\text{Hz}$ ), 6.98 (s, 1H), 6.28 (s, 1H), 6.27 (s, 1H), 5.21 (s, 2H), 5.19 (s, 2H), 5.02 (s, 2H), 5.01 (s, 2H), 4.94–4.92 (d, 1H,  $J=6.0$ ), 4.22 (m, 1H), 4.06 (s, 1H), 3.08–2.98 (dd, 1H,  $J=2.4$ , 17.1) 2.96–2.89 (dd, 1H,  $J=4.5$ , 17.7)。

[0244] 实施例9: (S)-(2R,3R)-5,7-双(苄氧基)-2-(3',4'-双(苄氧基)苯基)色满-3-基2-甲氧基-2-苯乙酸酯[21]的合成



[0246] 在氮下于室温缓慢地向(±)-5,7,3',4'-四-O-苄基-表儿茶素[19](0.500g, 0.768mmol)、三乙胺(0.64ml, 4.61mmol)和二甲基氨基吡啶(0.025g 于5ml无水二氯甲烷中)的搅拌溶液中逐滴添加新鲜制备的(S)-2-甲氧基-2-苯基乙酰氯[20](0.426g, 2.31mmol)在二氯甲烷中的溶液。[通过使无水二氯甲烷中的(S)-2-甲氧基-2-苯基乙酸和亚硫酸酐与催化量的二甲基甲酰胺搅拌30分钟,在真空下除去过量亚硫酸酐和二氯甲烷来分别制备(S)-2-甲氧基-2-苯基乙酰氯[20]]。添加后,使反应混合物在40℃下搅拌5至6小时并通过TLC监测。当原料完全消耗时,使反应混合物冷却至环境温度并用水洗涤有机层,然后用盐水溶液洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩以产生0.500g稠密黏性(thick viscous)半固体。用甲醇(5ml)处理该黏性固体以产生固体沉淀。将沉淀过滤以得到作为固体的[21](0.235g),基于HPLC和<sup>1</sup>H NMR分析,其中期望非对映体富集,具有~85%的非对映过量(diastereomeric excess)。

[0247] 非对映体的分级结晶

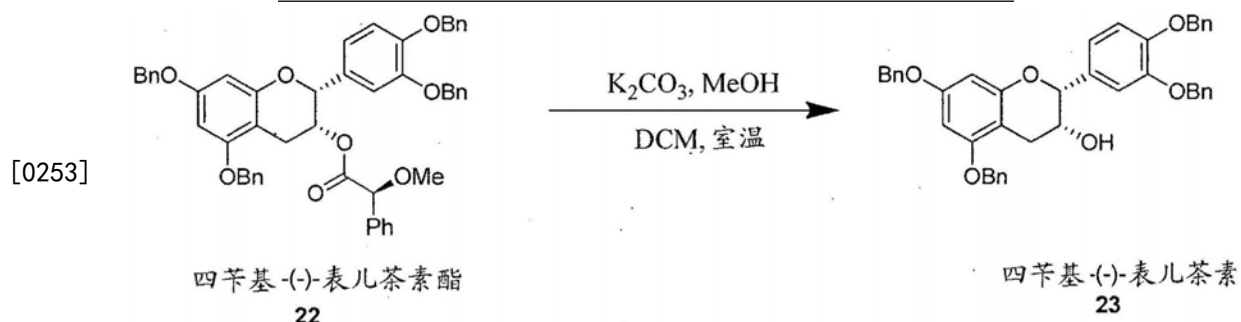
[0248] 将50mg该富集固体溶于最少量的二氯甲烷以形成澄清溶液。逐滴添加甲醇以使其浑浊并在环境温度(27℃)下放置过夜以产生沉淀,将沉淀滤出并干燥以得到25mg产物,其具有如通过分析型HPLC和<sup>1</sup>H NMR分析测定的>95%非对映过量。通过与由商业可得的(2R,3R)-表儿茶素制得的可信样品(S)-(2R,3R)-5,7-双(苄氧基)-2-(3',4'-双(苄氧基)苯基)色满-3-基-2-甲氧基-2-苯基乙酸酯进行HPLC比较来确定主要非对映异构体的绝对构型。

[0249] 分析数据:-

[0250] ESIMS: 799.8 (M<sup>+</sup>+1)

[0251] <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz): δ (ppm) 7.48-6.92 (m, 28H), 6.27-6.26 (d, 1H, J=2.1Hz), 6.20-6.19 (d, 1H, J=2.1Hz), 5.45 (m, 1H), 5.17 (s, 4H), 5.01-5.04 (d, s, 3H), 4.93-4.82 (dd, 2H, J=11.7, 21.6), 4.57 (s, 1H), 3.17 (s, 3H), 2.87-2.79 (dd, 1H, J=4.2, 16.2), 2.72-2.65 (dd, 1H, J=3.3, 15.6)。

[0252] 实施例10: (2R,3R)-5,7,3',4'-四-O-苄基-表儿茶素[23]的合成



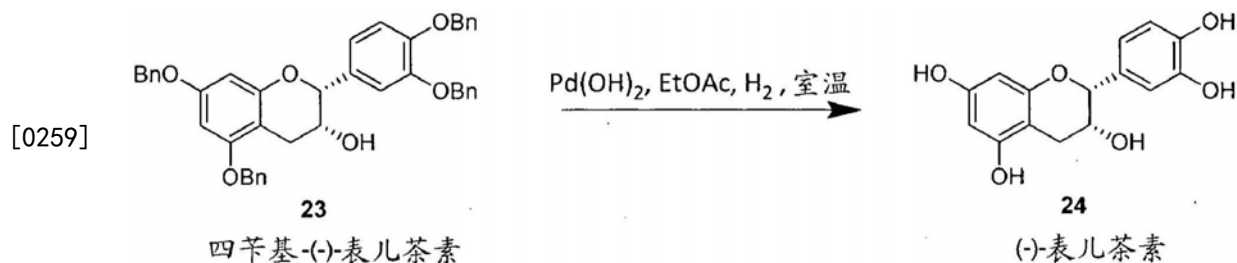
[0254] 在环境温度下向 (S)-(2R,3R)-5,7-双(苄氧基)-2-(3',4'-双(苄氧基)苯基)色满-3-基-2-甲氧基-2-苯基乙酸酯[22] (0.100g, 0.125mmol) 在甲醇 (1 ml) 和二氯甲烷 (2ml) 中的搅拌溶液中添加碳酸钾 (0.052g, 0.376mmol) 并使所得混合物在环境温度下搅拌25至30小时。完成反应后(通过TLC 分析), 蒸馏出过量溶剂, 将粗制固体溶于二氯甲烷中并用水洗涤, 然后用饱和盐水溶液洗涤。将有机层分离并经硫酸钠干燥后在真空下除去溶剂以得到粗制 (2R,3R)-5,7,3',4'-四-0-苄基-表儿茶素[23] (0.070g)。

[0255] 分析数据:

[0256] ESIMS: 651 ( $M^+ + 1$ )

[0257]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz):  $\delta$  (ppm) 7.47-7.311 (m, 20H), 7.14-7.15 (d, 1H,  $J=1.5\text{Hz}$ ), 7.00-6.99 (d, 1H,  $J=1.5\text{Hz}$ ), 6.98 (s, 1H), 6.28 (s, 1H), 6.27 (s, 1H), 5.21 (s, 2H), 5.19 (s, 2H), 5.02 (s, 2H), 5.01 (s, 2H), 4.94-4.92 (d, 1H,  $J=6.0$ ), 4.22 (m, 1H), 4.06 (s, 1H), 3.08-2.98 (dd, 1H,  $J=2.4, 17.1$ ), 2.96-2.89 (dd, 1H,  $J=4.5, 17.7$ ) .

[0258] 实施例11: (-)-表儿茶素[24]的合成



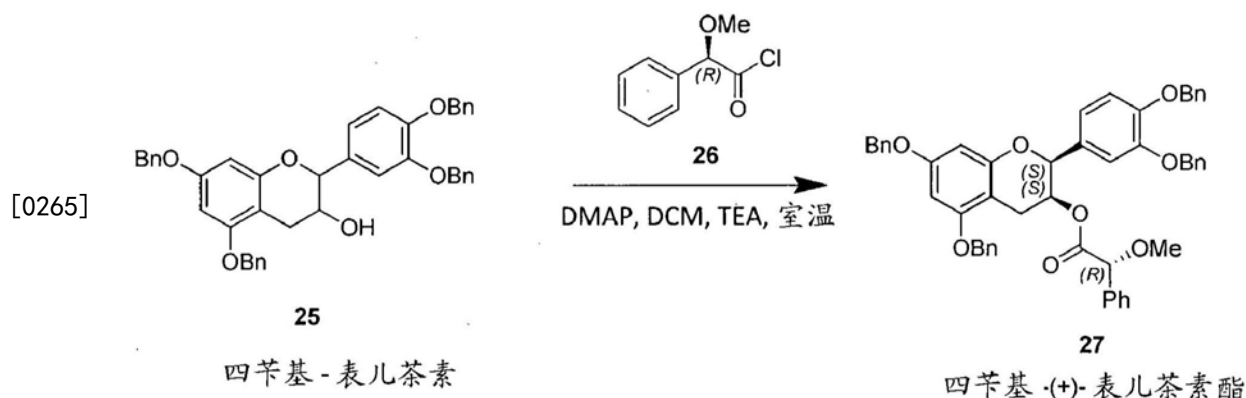
[0260] 在环境温度下向 (2R,3R)-5,7,3',4'-四-0-苄基-表儿茶素[23] (0.07g, 0.108mmol) 在乙酸乙酯 (5ml) 中的搅拌溶液中添加  $\text{Pd}(\text{OH})_2$  (0.011g) 在乙酸乙酯中的浆液。在使用压力气球的氢气氛下使混合物在环境温度下搅拌40小时。将反应物料经硅藻土过滤并在高真空下从滤液中除去溶剂, 从而生成0.010mg (-)-表儿茶素[24]。

[0261] 分析数据:

[0262] ESIMS: 291 ( $M^+$ )

[0263]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_6\text{-DMSO}$ , 300MHz):  $\delta$  (ppm) 9.11 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.65 (s, 2H), 5.89 (d, 1H,  $J=2.1\text{Hz}$ ), 5.70 (d, 1H,  $J=2.4\text{Hz}$ ), 4.72 (s, 1H), 4.66 (d, 1H,  $J=4.5\text{Hz}$ ), 3.98 (m, 1H), 2.63-2.71 (dd, 1H,  $J=4.2, 16.2$ ), 2.44-2.49 (dd, 1H,  $J=3.3, 15.6$ ) .

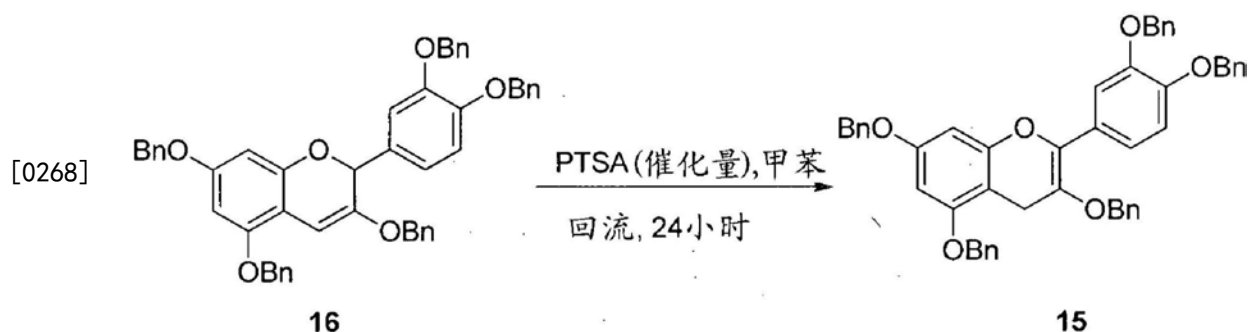
[0264] 实施例12: (R)-(25,35)-5,7-双(苄氧基)-2-(3',4'-双(苄氧基)苯基)色满-3-基-2-甲氧基-2-苯基乙酸酯[27]的合成





[0266] 在氮下于室温缓慢地向(±)-5,7,3',4'-四-O-苄基-表儿茶素[25] (0.700g, 1.077mmol)、三乙胺(1.5ml, 4.61mmol)和二甲基氨基吡啶(0.035g 于7ml无水二氯甲烷中)的搅拌溶液中逐滴添加新鲜制备的(R)-2-甲氧基-2-苄基乙酰氯[26] (0.59g, 3.231mmol)在二氯甲烷中的溶液。[通过使无水二氯甲烷中的(R)-2-甲氧基-2-苄基乙酸和亚硫酸氯与催化量的二甲基甲酰胺搅拌30分钟,高真空除去过量亚硫酸氯和二氯甲烷来单独制备(R)-2-甲氧基-2-苄基乙酰氯[S15]]。添加后,使反应物料在40℃下搅拌5至6小时并通过TLC监测。当原料完全消耗时,使反应混合物冷却至环境温度并用水洗涤有机层,然后用盐水溶液洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥并在真空下浓缩以产生高黏性半固体(900mg)。用10mL甲醇处理该黏性固体以产生固体沉淀。将沉淀过滤以得到固体(750mg),基于<sup>1</sup>H NMR和HPLC分析,其中期望的非对映体[27]富集,具有40%的非对映过量。

[0267] 实施例13:由2H-色烯[16]合成4H-色烯[15]



[0269] 在室温下向[16] (0.200g, 0.27mmol)在甲苯(10ml)中的搅拌溶液中添加对甲苯磺酸(0.013mmol)。使反应混合物在室温下搅拌15分钟,之后使反应温度升高至85至90℃并在该温度下搅拌过夜。添加水淬灭反应混合物并用乙酸乙酯进行稀释。将合并的有机层用饱和碳酸氢钠溶液洗涤并在减压下蒸发以得到深红色粘性物质[15],其在不进行任何纯化的情况下进一步用于转化成表儿茶素。

[0270] 实施例13:非对映异构体的分级结晶

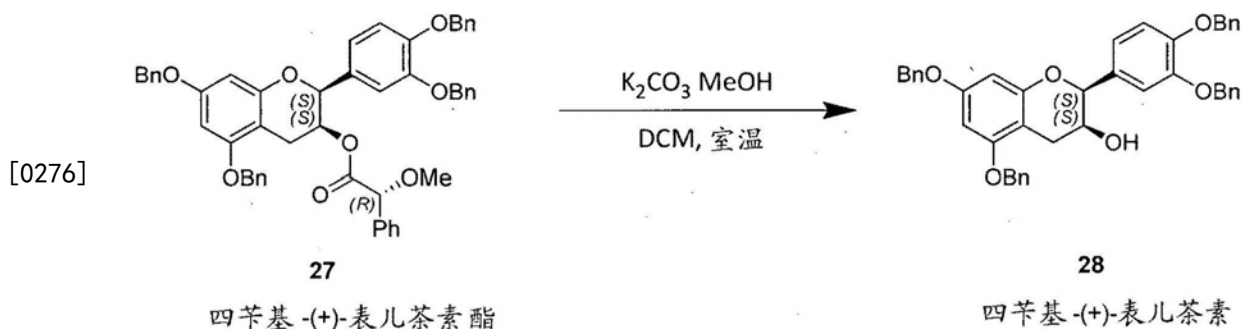
[0271] 然后将0.750g固体溶于最少量的二氯甲烷中,之后添加几滴甲醇以使其浑浊并放置过夜。由此滤出所获得的固体沉淀,干燥并使用HPLC和<sup>1</sup>H NMR评价非对映过量。将上述沉淀过程重复四次,产生50mg具有>92%非对映过量的产物[27]。(12%产率,由外消旋表儿茶素计)。

[0272] 分析数据:

[0273] ESIM5:799.8 (M<sup>+</sup>+1)

[0274] <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz): δ (ppm) 7.48-6.92 (m, 28H), 6.27-6.26 (d, 1H, J=2.1Hz), 6.20-6.19 (d, 1H, J=2.1Hz), 5.45 (m, 1H), 5.17 (s, 4H), 5.01-5.04 (d, s, 3H), 4.93-4.82 (dd, 2H, J= 11.7, 21.6), 4.57 (s, 1H) 3.17 (s, 3H), 2.87-2.79 (dd, 1H, J=4.2, 16.2) 2.72-2.65 (dd, 1H, J= 3.3, 15.6) .

[0275] 实施例14: (2S,3S)-5,7,3',4'-四-O-苄基-表儿茶素[28]的合成



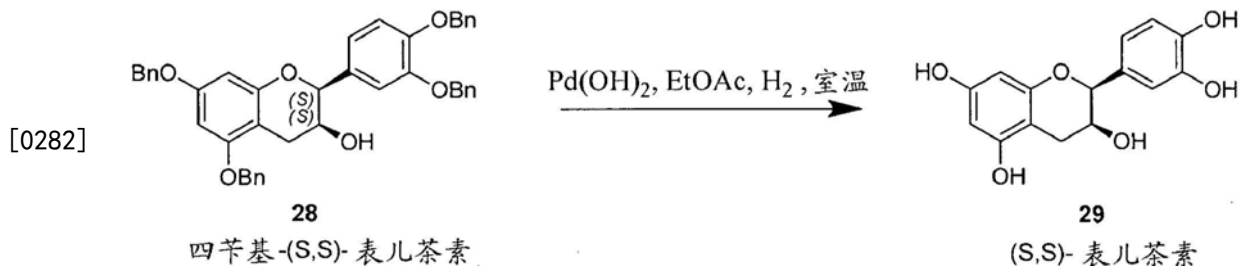
[0277] 在室温下向(R)-(2S,3S)-5,7-双(苄氧基)-2-(3',4'-双(苄氧基)苯基)色满-3-基2-甲氧基-2-苯基乙酸酯[27] (0.050g, 0.063mmol) 在甲醇(0.25ml) 和二氯甲烷(0.5ml) 中的搅拌溶液中添加碳酸钾(0.026g, 0.188mmol) 并且使所得混合物在环境温度下搅拌25至30小时。反应完成后(通过 TLC分析), 蒸馏出过量溶剂, 将粗制固体溶于二氯甲烷中并用水洗涤, 然后用饱和盐水溶液洗涤。将有机层分离并经硫酸钠干燥后在高真空下除去溶剂以产生0.040g (通过TLC检测为80%纯度) (2S,3S)-5,7,3',4'-四-O-苄基-表儿茶素[28]粗品(98%)。

[0278] 分析数据:

[0279] ESIMS: 651 ( $M^+ + 1$ )

[0280]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz):  $\delta$  (ppm) 7.47-7.31 (m, 20H), 7.14-7.15 (d, 1H,  $J=1.5\text{Hz}$ ), 7.00-6.99 (d, 1H,  $J=1.5\text{Hz}$ ), 6.98 (s, 1H), 6.28 (s, 1H), 6.27 (s, 1H), 5.21 (s, 2H), 5.19 (s, 2H), 5.02 (s, 2H), 5.01 (s, 2H), 4.94-4.92 (d, 1H,  $J=6.0$ ), 4.22 (m, 1H), 4.06 (s, 1H), 3.08-2.98 (dd, 1H,  $J=2.4, 17.1$ ) 2.96-2.89 (dd, 1H,  $J=4.5, 17.7$ ) .

[0281] 实施例15: (S,S)-表儿茶素[29]的合成



[0283] 在环境温度下向(2S,3S)-5,7,3',4'-四苄基化表儿茶素[28] (0.04g, 0.062mmol) 在乙酸乙酯(5ml) 中的搅拌溶液中添加Pd(OH)<sub>2</sub> (0.006g) 在乙酸乙酯中的浆液。在氢气气氛下使用压力气球使混合物在环境温度下搅拌40小时。将反应物料经硅藻土过滤并使用高真空从滤液中除去溶剂, 从而生成0.006g (33%产率) (S,S)-表儿茶素[29], 通过使用制备型TLC (溶剂系统: 二氯甲烷中15%甲醇) 将其纯化以得到0.004g (22%, 98.43%纯度) 期望化合物[29]。

[0284] 分析数据:

[0285] ESIMS: 291 ( $M^+$ )

[0286]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_6\text{-DMSO}$ , 300MHz):  $\delta$  (ppm) 9.11 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.65 (s, 2H), 5.89 (d, 1H,  $J=2.1\text{Hz}$ ), 5.70 (d, 1H,  $J=2.4\text{Hz}$ ), 4.72 (s, 1H), 4.66 (d, 1H,  $J=4.5\text{Hz}$ ), 3.98 (m, 1H), 2.63-2.71 (dd, 1H,  $J=4.2, 16.2$ ) 2.44-2.49 (dd, 1H,  $J=3.3, 15.6$ ) .

[0287] 实施例16:外消旋的表儿茶素/儿茶素的手性制备型HPLC拆分

[0288] 分离的分析型HPLC方法:

[0289] 将表儿茶素的外消旋混合物溶于甲醇中并在25℃的温度下在反相**CHIRAL PAK<sup>®</sup>** 1C (250×4.6) mm, 5μ柱上检查其手性纯度。所用流动相为己烷/乙醇/三氟乙酸//60/40/0.05 (v/v/v), 流速为1.0ml/分钟, 进样体积为10μl。用PDA在UV280nm下监测信号。用约1.6分钟的保留时间差分离两种异构体。在15分钟的运行中, 4.7分钟时洗脱出HPLC上较快移动的异构体, 而6.3分钟时出现较慢移动的异构体。

[0290] 分离的制备型HPLC方法:

[0291] 将外消旋混合物 (0.200g) 溶于甲醇中并在25℃的温度下通过制备型HPLC在**CHIRAL PAK<sup>®</sup>** IC (250×20) mm柱上将其分离。进样体积为2.0ml, 进料浓度为5mg/ml。所用流动相为己烷/EtOH//60/40v/v, 流速为18ml/分钟。用PDA在UV280nm下进行检测。在4.7分钟时洗脱出较快移动的表儿茶素异构体I (0.085g), 在6.3分钟时洗脱出较慢移动的表儿茶素异构体II (0.084g), 定性纯度分别为99.6%和99.8%。

[0292] 基于在类似HPLC条件下所合成外消旋表儿茶素之两种对映体的保留时间与商业可得天然表儿茶素 (2R,3R) 的保留时间相比较, 对每个经拆分的异构体指定绝对构型。基于保留时间, 将在6.3分钟时洗脱的缓慢移动的异构体指定为(-)-表儿茶素 ((2R,3R)-2-(3,4-二羟基苯基)-3,4-二氢 -1 (2H)-苯并吡喃-3,5,7-三醇) 异构体, 并且将在4.7分钟时洗脱的快速移动的异构体指定为(+)-表儿茶素 ((2S,3S)-2-(3,4-二羟基苯基)-3,4-二氢 -1 (2H)-苯并吡喃-3,5,7-三醇) 异构体。