

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200610038491.4

[51] Int. Cl.

C07C 59/52 (2006.01)

C07C 51/08 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2008年2月13日

[11] 授权公告号 CN 100368373C

[22] 申请日 2006.2.23

[21] 申请号 200610038491.4

[73] 专利权人 江苏省原子医学研究所

地址 214063 江苏省无锡市钱荣路20号

[72] 发明人 罗世能 朱玉松 谢敏浩 刘娅灵

邹霏 何拥军 吴军 王洪勇

俞惠新 陈波 奚月芬 沈永嘉

[56] 参考文献

CN1546455A 2004.11.17

US20030118617A1 2003.6.26

Cancer Chemopreventive Activity of Resveratrol, a Natural Product Derived from Grapes. Meishiang Jang, et al. Science, Vol. 275 No. 5297. 1997

白藜芦醇的有机合成方法. 杨琨等. 天津化工, 第18卷第3期. 2004

审查员 王晓东

[74] 专利代理机构 无锡市大为专利商标事务所

代理人 时旭丹

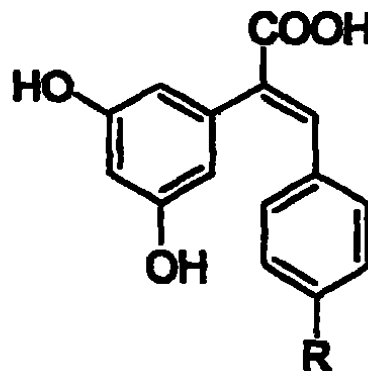
权利要求书1页 说明书7页

[54] 发明名称

一类有羧基取代基的白藜芦醇类的化合物及其制备方法

[57] 摘要

一类有羧基取代基的白藜芦醇类的化合物及其制备方法, 属于有机化学及药物化学领域, 其通式为: 见右式, 其中的 R 代表氢、羟基或硝基等。该类化合物的制备方法是 3, 5 - 二甲氧基苯乙酸与相应的对位取代 R 基苯甲醛发生 Perkin 反应, 然后脱除甲氧基保护后制得产物。该类产物是 1, 2 - 二苯乙烯衍生物, 白藜芦醇 (resveratrol, 3, 4', 5 - 三羟基 - 反式 - 均二苯代乙烯) 的类似化合物。本发明的产物是一种新的化合物, 可用于抗肿瘤、抗氧化、心血管保护等医学领域。



1. 一类有羧基取代基的白藜芦醇类的化合物的制备方法，其特征是 3,5-二甲氧基苄溴与氰化钠进行取代反应制得 3,5-二甲氧基苯乙腈，3,5-二甲氧基苯乙腈水解得到 3,5-二甲氧基苯乙酸，3,5-二甲氧基苯乙酸与对位 R 基苯甲醛进行 Perkin 反应制得 (E)-2-(3,5-二甲氧基苯基)-3-(4-R 基苯基) 丙烯酸，然后进行脱甲基反应得到产物(E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-(4-R 基苯基) 丙烯酸；

A. 取代反应：在容器中，将氰化钠加适量蒸馏水，搅拌使固体溶解；在三口烧瓶中放置适量无水乙醇，搅拌下缓慢加入氰化钠溶液，升温至 65℃，加入 3,5-二甲氧基苄溴，3,5-二甲氧基苄溴与氰化钠等摩尔反应，在 65℃保温反应 1.5 小时，反应后减压蒸出乙醇，冷至室温后析出固体，过滤，固体用甲醇/水体积比 1/1 重结晶得针状晶体 3,5-二甲氧基苯乙腈；

B. 水解反应：在三口烧瓶中，加入 3,5-二甲氧基苯乙腈和适量的甲醇，搅拌升温使固体溶解，在 50℃下加入适量蒸馏水和氢氧化钠，氢氧化钠的摩尔用量为 3,5-二甲氧基苯乙腈摩尔用量的 3-4 倍，继续升温至回流，反应 5 小时，用浓盐酸调至 pH 1~2，静置过夜，析出固体，过滤，固体用甲醇重结晶，得针状晶体 3,5-二甲氧基苯乙酸；

C. Perkin 反应：在三口烧瓶中，加入 3,5-二甲氧基苯乙酸，对位 R 基苯甲醛和乙酐，搅拌升温至 40℃待固体溶解，加入碳酸钾，3,5-二甲氧基苯乙酸和对位 R 基苯甲醛等摩尔反应，反应 2.5 小时，冷至室温，用盐酸调 pH 1~2，静置过夜，将固体滤出，固体用 95%乙醇重结晶得(E)-2-(3,5-二甲氧基苯基)-3-(4-R 基苯基) 丙烯酸；

D. 脱甲基反应：在烧瓶中加入(E)-2-(3,5-二甲氧基苯基)-3-(4-R 基苯基) 丙烯酸和干燥的二氯甲烷，慢慢滴加 BBr₃ 的 CH₂Cl₂ 溶液，控制 BBr₃ 的摩尔用量为(E)-2-(3,5-二甲氧基苯基)-3-(4-R 基苯基) 丙烯酸摩尔用量的 5 倍，滴毕于室温下反应 24-36h，反应毕，将反应液倾入适量的冰水混合物中，有大量固体析出，待冰完全熔化，过滤，固体用乙醇/水体积比 2/1-2/3 重结晶，干燥得产物 (E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-(4-R 基苯基) 丙烯酸；

所述 R 基代表羟基、氢或硝基。

一类有羧基取代基的白藜芦醇类的化合物及其制备方法

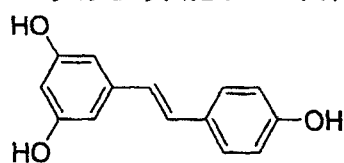
技术领域

一类有羧基取代基的白藜芦醇类的化合物及其制备方法，涉及一类 1,2-二苯乙烯的衍生物，属于有机化学和药物化学领域。

背景技术

白藜芦醇 (resveratrol, 化学结构如结构式 1 所示)，一种 1,2-二苯乙烯的衍生物，其化学名为 3,4',5-三羟基-反式-均二苯代乙烯 (3,4',5-trihydroxystilbene)，为无色针状结晶，易溶于乙醚、氯仿、甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯等有机溶剂。

在 365nm 的紫外光照射下产生荧光，并能和三氯化铁-铁氰化钾起显色反应。



Resveratrol

白藜芦醇

结构式 1

白藜芦醇最早是在 20 世纪 40 年代初由 Takaoka 从植物毛叶藜芦 (veratrum gradiflorum) 中提取得到的，最初被发现时认为是葡萄属植物产生的一种植物抗毒素。以后又相继在葡萄科 (爬山虎属、山葡萄属、蛇葡萄属)、百合科 (藜芦属、菝葜属)、蓼科 (蓼属、大黄属)、豆科 (槐属、花生属、决明属、三叶属、羊蹄甲属、冬青属)、姚金娘科 (桉属) 等 21 个科 31 个属的 72 种植物中被发现。后来发现白藜芦醇在未经酿造的葡萄籽、葡萄皮中含量相当高，分别为 12.45mg/g 和 3.44mg/g，并以反式为主。研究发现，白藜芦醇具有多种药理活性，其中，最令人瞩目和最有潜在应用效果的是其在抗癌、心血管保护、抗氧化方面的作用。

1997 年，Jang 等 [Jang M, Cai L, Udeani GO, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. Science, 1997, 275(5297):218] 较系统地报道了白藜芦醇的抗肿瘤作用，该研究发现白藜芦醇在癌症发生的 3 个阶段 (即起始、促进和发展阶段) 中，都有较大的防癌活性，且对癌症发生的 3 个阶段都有抑制作用乃至转录作

用:

1) 抑制起始活性作用: 白藜芦醇具有抗氧化性和抗突变作用, 能抑制自由基并诱导 II 期药代酶。

2) 抑制促进作用: 抑制环氧合酶 (COX) 和过氧化氢酶, 具有很强的抗炎作用。

3) 抑制发展作用: 抑制癌细胞增殖, 诱导癌细胞分化和凋亡。

1998 年, 新加坡国立大学科学家 Clement 等 [Clement MV, Hirpara JL, Chawdhury SH, et al. Chemopreventive agent Resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells. *Blood*, 1998, 92(3):996] 研究发现, 白藜芦醇可诱导人类 HL60 白血病细胞 DNA 的裂解, 并致使膜磷脂丧失其不对称性, 表明白藜芦醇可诱导人类 HL60 白血病细胞的程序性死亡。白藜芦醇作用 48 小时后, 肿瘤细胞死亡率超过 80%。

2000 年, Manna 等 [Manna SK, Mukhopadhyay A, Aggarwal BB. Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF- κ B, activator protein-1, and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation. *J Immunol*, 2000, 164(12):6509] 和 Holmes-McNary 等 [Holmes-McNary M, Baldwin AS Jr. Chemopreventive properties of trans-resveratrol are associated with inhibition of activation of the I κ B kinase. *Cancer Res*, 2000, 60:3477] 则发现白藜芦醇能以剂量和时间依赖方式阻断肿瘤坏死因子 (TNF) 诱导的核转录因子 κ B (NF- κ B) 的活化, 抑制 TNF 诱导的 NF- κ B 的 p65 亚单位磷酸化和核转位及 NF- κ B 依赖的报告基因的转录, 还能阻断由佛波酯、脂多糖、H₂O₂、okadaic 酸、神经酰胺等诱导的 NF- κ B 的活化, 也抑制 TNF 诱导的 MAPKK (有丝分裂原激活的蛋白激酶) 和 c-Jun N 末端激酶的活化。

2001 年, Ahmad 等 [Ahmad N, Adhami VM, Afaq, et al. Resveratrol causes WAF-1/p21-mediated G(I)-phase arrest of cell cycle and induction of apoptosis in human epidermoid carcinoma A431 cells. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(5):1466] 报道白藜芦醇能诱导细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 (CDK) 抑制蛋白 p21^{WAF-1} 的产生, 并能减少细胞周期蛋白 (cyclin) D1、D2、E 和 CDK2、CDK4、CDK6 的蛋白表达, 进而造成人表皮癌 A431 细胞的 G1 期停顿, 使细胞不能完成从 G1 期至 S 期的转化, 并认为这一过程是不可逆的, 将最终导致细胞凋亡。

1997 年后, 对白藜芦醇抗肿瘤活性研究逐渐成为热点, 人们通过各种实验已证实白藜芦醇对鼻咽癌、肺癌、肝癌、胃癌、白血病、乳腺癌, 前列腺癌等

均有一定的抑制和拮抗作用。由此可见，白藜芦醇这一广泛存在于自然界中的天然物质，是一种很有希望的天然抗肿瘤药物前体。但作为治疗癌症的药物，白藜芦醇的作用还不够强。因此，有必要对其结构进行进一步的改造，以期发现具有更高活性的化合物。各国的药物化学家纷纷以白藜芦醇为先导物，进行药物设计，合成了许多白藜芦醇类似物，并对这些类似物进行生物活性测试，以期寻找到结构简单、抗癌效果好、毒性低的抗癌结构分子。

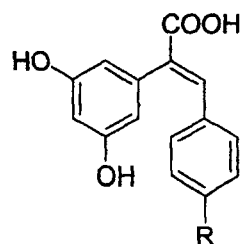
美国科学家 Pettit 等 [Pettit GR, Grealish MP, Jung MK, Hamel E, Pettit R K, Chapuis JC, Schmidt JM. Antineoplastic agents 465 structural modification of resveratrol: sodium resverastatin phosphate. J Med Chem, 2002, 45: 2534-2542.] 合成了多个白藜芦醇结构修饰物和含磷酸盐结构的白藜芦醇类似物作为抗癌药物研究，发现三甲氧基取代的 Z-白藜芦醇效果最佳。

英国科学家 Lion 等 [Lion CJ, Matthews CS, Stevens M FG, Westwell AD. Synthesis, antitumor evaluation, and apoptosis-inducing activity of hydroxylated (E)-stilbenes. J Med Chem, 2005, 48:1292-1295.] 合成了一系列白藜芦醇类似物，并进行了抗癌细胞测试，结果证实 2-甲氧基-3'-羟基-反式-均二苯代乙烯和 3,5-二甲氧基-3'-羟基-反式-均二苯代乙烯具有较好的抗癌细胞活性。

发明内容

本发明的目的是提供一类有羧基取代基的白藜芦醇类的化合物及其制备方法，是基于白藜芦醇被证实具有多种有益于人体的功能，特别是具有较高的抗癌活性，自行设计并制备了一类具有不同化学结构的白藜芦醇类似物，以期具有比白藜芦醇更强的抗癌活性和更低的毒性。

本发明的技术方案：本发明的有羧基取代基的白藜芦醇类的化合物为 (E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-(4-R 基苯基) 丙烯酸。其结构通式如结构式 2 所示：



结构式 2

其中的 R 代表羟基、氢或硝基。

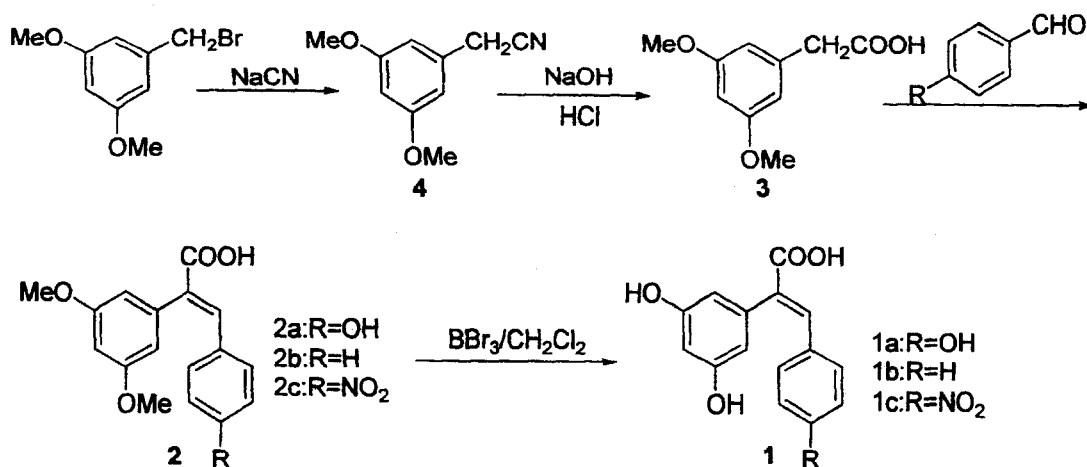
其中 R 为羟基，其化学名为 (E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-(4-羟基苯基) 丙烯酸。

其中 R 为氢，其化学名为 (E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-苯基丙烯酸。

其中 R 为硝基，其化学名为 (E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-(4-硝基苯基) 丙烯酸。

酸。

本发明结构式 2 的化合物的制备反应如反应式 1 所示：



反应式 1

制备方法：3,5-二甲氧基苄溴与氰化钠进行取代反应制得 3,5-二甲氧基苄乙腈，3,5-二甲氧基苄乙腈水解得到 3,5-二甲氧基苄乙酸，3,5-二甲氧基苄乙酸与对位 R 基苯甲醛进行 Perkin 反应制得 (E)-2-(3,5-二甲氧基苯基)-3-(4-R 基苯基) 丙烯酸，然后进行脱甲基反应得到产物 (E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-(4-R 基苯基) 丙烯酸。

A. 取代反应：在容器中，将氰化钠加适量蒸馏水，搅拌使固体溶解；在三口烧瓶中放置适量无水乙醇，搅拌下缓慢加入氰化钠溶液，升温至 65℃，加入 3,5-二甲氧基苄溴，3,5-二甲氧基苄溴与氰化钠等摩尔反应，在 65℃ 保温反应 1.5 小时，反应后减压蒸出乙醇，冷至室温后析出固体，过滤，固体用甲醇/水体积比 1/1 重结晶得针状晶体 3,5-二甲氧基苄乙腈；

B. 水解反应：在三口烧瓶中，加入 3,5-二甲氧基苄乙腈和适量的甲醇，搅拌升温使固体溶解，在 50℃ 下加入适量蒸馏水和氢氧化钠，氢氧化钠的摩尔用量为 3,5-二甲氧基苄乙腈摩尔用量的 3-4 倍，继续升温至回流，反应 5 小时，用浓盐酸调至 pH1~2，静置过夜，析出固体，过滤，固体用甲醇重结晶，得针状晶体 3,5-二甲氧基苄乙酸；

C. Perkin 反应：在三口烧瓶中，加入 3,5-二甲氧基苄乙酸，对位 R 基苯甲醛和乙酰，搅拌升温至 40℃ 待固体溶解，加入碳酸钾，3,5-二甲氧基苄乙酸和对位 R 基苯甲醛等摩尔反应，反应 2.5 小时，冷至室温，用盐酸调 pH 1~2，静置过夜，将固体滤出，固体用 95% 乙醇重结晶得 (E)-2-(3,5-二甲氧基苯基)-3-(4-R 基苯基) 丙烯酸；

D. 脱甲基反应：在烧瓶中加入 (E)-2-(3,5-二甲氧基苯基)-3-(4-R 基苯基) 丙烯酸和干燥的二氯甲烷，慢慢滴加 BBr₃ 的 CH₂Cl₂ 溶液，控制 BBr₃ 的摩尔用量为 (E)-2-(3,5-二甲氧基苯基)-3-(4-R 基苯基) 丙烯酸摩尔用量的 5 倍，滴

毕于室温下反应 24-36h, 反应毕, 将反应液倾入适量的冰水混合物中, 有大量固体析出, 待冰完全熔化, 过滤, 固体用乙醇/水体积比 2/1-2/3 重结晶, 干燥得产物 (E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-(4-R 基苯基) 丙烯酸。

该类化合物的抗肿瘤试验药理实验数据

实验方法: 肺癌细胞 H446, 正常肝细胞 L02 均用含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液 (含 100U/mL 青霉素, 100 μ g/mL 链霉素) 于 37°C, 5%CO₂ 及饱和湿度的培养箱中培养三天后进行测试。

表 1 化合物 1a-1c 对肺癌细胞 H446 的增殖抑制率及半致死浓度 (IC₅₀)

化合物	化合物浓度/ μ mol \cdot L ⁻¹					IC ₅₀ / μ mol \cdot L ⁻¹
	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	
增殖抑制率/%						
1a	0.8504	0.6418	0.5769	0.5326	0.5270	0.08134
1b	0.6061	0.5694	0.4831	0.3918	0.2456	0.3454
1c	0.8372	0.7671	0.5380	0.6191	0.5019	0.07225

化合物 1a-1c 对肺癌细胞 H446 均表现出好的抑制活性。

表 2 化合物 1a-1c 对正常肝细胞 L02 的增殖抑制率及半致死浓度 (IC₅₀)

化合物	化合物浓度/ μ mol \cdot L ⁻¹					IC ₅₀ / μ mol \cdot L ⁻¹
	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	
增殖抑制率/%						
1a	0.6771	0.4765	0.2035	0.07097	0	0.3755
1b	0.6159	0.2736	0.09306	0	0	0.7378
1c	0.7314	0.7356	0.5418	0.3884	0.2071	0.3155

各化合物中 1b 的毒性尤其为低。

本发明的有益效果: 产物 (E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-(4-R 基苯基) 丙烯酸是白藜芦醇的类似物, 以期发现具有比白藜芦醇更高的抗肿瘤、心血管保护或抗氧化活性的新化合物, 用于抗肿瘤、心血管保护和抗氧化等医学领域。

具体实施方案

实施例 1: (E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-(4-羟基苯基) 丙烯酸的合成

3,5-二甲氧基苄腈(4)的合成

将固体氰化钠 (14.3g, 0.29mol) 溶解于蒸馏水 (80mL) 中。在 250mL 三口烧瓶中加入无水乙醇 (80mL), 搅拌下缓慢加入氰化钠溶液, 加毕, 升温至 65°C, 加入 3,5-二甲氧基苄溴 (60g, 0.26mol), 加毕 65°C 保温反应 1.5h, 反应结束后减压蒸出乙醇, 冷至室温, 析出的固体过滤, 水洗, 用甲醇/水体积比 1/1

重结晶，干燥得产物，无色针状晶体 44g，收率 96%，m. p. 52~53℃。

3,5-二甲氧基苯乙酸(3)的合成

在 150 毫升三口烧瓶中，加入 3,5-二甲氧基苯乙腈(4)17.7 克(0.1mol)和甲醇 50 毫升，搅拌升温使固体溶解。在 50℃下加入 25 毫升蒸馏水和 15 克氢氧化钠，继续升温至回流，反应 5 小时。用浓盐酸调至 pH1~2，静置过夜，析出固体，过滤。用甲醇重结晶，得无色针状晶体 3,5-二甲氧基苯乙酸(3)16.2 克，收率 82%，熔点 100~102℃。

(E)-2-(3,5-二甲氧基苯基)-3-(4-羟基苯基)丙烯酸(2a)的合成

在 150 毫升烧瓶中，加入 3,5-二甲氧基苯乙酸(3)1.96 克(0.01mol)，对羟基苯甲醛 1.36 克(0.01mol)和乙醚 15 毫升(0.16mol)，搅拌升温至 40℃待固体溶解，加入碳酸钾 0.7 克(0.005mol)，反应 2.5 小时。冷至室温，用盐酸调 pH 至 1~2，静置过夜。将固体滤出，用 95%乙醇重结晶得淡黄色粉末(E)-2-(3,5-二甲氧基苯基)-3-(4-羟基苯基)丙烯酸(2a) 2.0 克，收率 65%，熔点 184~186℃。

(E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-(4-羟基苯基)丙烯酸(1a)的合成

在 500mL 烧瓶中加入 (2a) (6.8g, 0.02mol) 和干燥的二氯甲烷 (150mL)，常温搅拌 40min 后，慢慢滴加 BBr₃ 的 CH₂Cl₂ 溶液 (2mol/L, 50mL)，滴加完毕于室温下反应 36h。反应毕，不断搅拌下将反应液倾入冰水混合物中，有大量固体析出，待冰完全熔化，过滤，固体用乙醇/水体积比 2/3 重结晶，干燥得产物 (E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-(4-羟基苯基)丙烯酸(1a) 4.5g，收率 83%，熔点 177-178℃。

实施例 2: (E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-苯基丙烯酸的合成

(E)-2-(3,5-二甲氧基苯基)-3-苯基丙烯酸(2b)的合成

采用实施例 1 相似的反应条件，由 3,5-二甲氧基苯乙酸(3)1.96 克与 1.1 克苯甲醛反应，搅拌升温至 40℃待固体溶解，加入碳酸钾 0.7 克，反应 2.5 小时，得白色粉末固体 (E)-2-(3,5-二甲氧基苯基)-3-苯基丙烯酸(2b)1.7 克，收率 60%，熔点 203~205℃。

(E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-苯基丙烯酸(1b)的合成

采用实施例 1 相似的反应条件，由 5.7g(2b)和 50mL, 2mol/L BBr₃ 的 CH₂Cl₂ 溶液在 150mL 干燥的二氯甲烷中反应，室温下反应 30h，反应产物在冰水中析出，过滤，固体用乙醇/水体积比 1/1 重结晶，得淡黄色针晶(E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-苯基丙烯酸(1b) 4.4g，收率 87%，熔点 243-244℃。

实施例 3: (E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-(4-硝基苯基)丙烯酸的合成

(E)-2-(3,5-二甲氧基苯基)-3-(4-硝基苯基)丙烯酸(2c)的合成

采用实施例 1 相似的反应条件，由 3,5-二甲氧基苯乙酸(3)1.96 克与 1.5

克对硝基苯甲醛反应，搅拌升温至 40℃待固体溶解，加入碳酸钾 0.7 克，反应 2.5 小时，得黄色针状晶体(E)-2-(3,5-二甲氧基苯基)-3-(4-硝基苯基)丙烯酸(2c) 2.2 克，收率 67%，熔点 203~205℃。

(E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-(4-硝基苯基)丙烯酸(1c)的合成

采用实施例 1 相似的反应条件，由 6.6g(2c)和 50mL, 2mol/L BBr₃的 CH₂Cl₂溶液在 150mL 干燥的二氯甲烷中反应，室温下反应 24h，反应产物在冰水中析出，过滤，固体用乙醇/水体积比 2/1 重结晶，得黄色针晶(E)-2-(3,5-二羟基苯基)-3-(4-硝基苯基)丙烯酸(1c) 4.6g，收率 77%，熔点>300℃。