

文章编号 1006-8147(2014)01-0068-03

论 著

## 抗糖尿病先导化合物 Fla-CN 的合成工艺研究

岳小龙, 陈家浩, 秦楠, 段宏泉

(天津医科大学药学院, 基础医学研究中心, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津 300070)

**摘要** 目的: 对抗糖尿病先导化合物 Fla-CN (3-O-[(E)-4-(4-氰基苯基)-3-烯-2-酮丁基]山萘酚) 的合成工艺进行研究。方法: 以对氰基苯甲醛和山萘酚为合成起始原料, 先后经过 Claisen-Schmidt 反应,  $\alpha, \beta$ -不饱和酮的  $\alpha$  位溴代反应和醚化反应得到目标化合物 Fla-CN, 并从反应温度、底物浓度、反应物当量比以及催化剂等方面进行单因素考察试验, 摸索最佳反应条件, 建立合成工艺, 提高反应总收率。结果: 通过单因素考察等方法, 建立了 Fla-CN 的合成工艺, 目标产物的总收率显著提高, 达到 50%。结论: 该工艺采用价廉易得的原料, 简便的合成工艺与纯化手段, 提高了反应收率, 降低了生产成本。

**关键词** 抗糖尿病先导化合物; 黄酮衍生物 Fla-CN; 合成工艺; 单因素考察

中图分类号 R9

文献标志码 A

## Study on the synthesis process of anti-diabetic lead compound Fla-CN

YUE Xiao-long, CHEN Jia-hao, QIN Nan, DUAN Hong-quan

(School of Pharmacy, Research Center of Basic Medical Sciences, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

**Abstract** **Objective:** To explore the synthesis process of anti-diabetic lead compound Fla-CN (3-O-[(E)-4-(4-Cyanophenyl)-2-oxobut-3-en-1-yl] kaempferol). **Methods:** The target compound Fla-CN was prepared from 4-cyano benzaldehyde and kaempferol via Claisen-Schmidt condensation,  $\alpha$ -bromination of the  $\alpha, \beta$ -unsaturated ketone, and etherification reaction. To establish a suitable synthesis process for a high yield. The preferred reaction conditions including reaction temperature, substrate concentration, reactants proportion and the catalyst were explored by single-factor experiments. **Results:** The synthesis process of Fla-CN was established by single-factor experiments. The total yield had significantly increased to 50%. **Conclusion:** The preferred synthesis process could increase the total yield and reduce costs using cheap raw materials, convenient preparation and purification methods.

**Key words** anti-diabetes lead compound; flavonoid derivative Fla-CN; synthesis process; single-factor experiment

本课题组前期对临床应用确有疗效的中药委陵菜 (*Potentilla chinensis*) 开展了有效成分研究, 发现委陵菜黄酮 (Tiliroside) 是中药委陵菜抗糖尿病作用的主要有效成分。委陵菜黄酮能够显著控制糖尿病小鼠的体质量, 降低血糖, 改善脂代谢<sup>[1]</sup>。进一步的药代动力学研究结果表明, 委陵菜黄酮容易分解, 代谢迅速<sup>[2]</sup>。本课题组对委陵菜黄酮进行了衍生合成, 得到了具有很强抗糖尿病作用的黄酮衍生物 3-O-[(E)-4-(4-氰基苯基)-3-烯-2-酮丁基]山萘酚 (Fla-CN)<sup>[3]</sup>。Fla-CN 通过活化肝细胞 (HepG2 细胞) 的腺苷单磷酸激酶 (Adenosine-5'-monophosphate activated protein kinase, AMPK) 信号分子, 调节肝糖代谢, 显著提高胰岛素抵抗的 HepG2 细胞对于葡萄糖的消耗<sup>[3]</sup>, 并且 Fla-CN 还能促进骨骼肌细胞 (L6 和 C2C12 细胞) 中葡萄糖转运子 4 (Glucose transporter type 4, GLUT4) 的转位, 从而增加葡萄糖在骨

骼肌细胞中的代谢<sup>[4]</sup>。因此, 黄酮衍生物 Fla-CN 是一种结构新颖的抗糖尿病先导化合物。在前期衍生合成研究中, 成功实现了 Fla-CN 的半合成, 由三步反应完成<sup>[3]</sup>, 依次是克莱森-施密特 (Claisen-Schmidt) 反应、溴代反应和醚化反应, 总收率小于 20%。目前, 尚无其他课题组报道 Fla-CN 的合成方法。本文在前期合成的基础上, 针对 Fla-CN 的三步合成, 从反应温度、底物浓度、反应物当量比以及催化剂等方面进行单因素考察试验, 摸索最佳反应条件, 建立合成工艺, 提高反应总收率。

## 1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 SHB-III A 循环水式多用真空泵, 低温冷却液循环泵 (上海豫康科教仪器设备有限公司), DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器, Advance 2B/400 核磁共振仪 (Bruker 公司, TMS 为内标), DZX-3 型真空干燥箱, ZF-I 型三用紫外分析仪, EYELA PSL-1810 型低温反应器。薄层层析硅胶, 柱层析硅胶 300-400 目 (青岛海洋化学公司), Toyoperal HW-40c 型凝胶树脂 (日本 Tosoh 公司);

基金项目 国家自然科学基金面上项目 (81373297)

作者简介 岳小龙 (1988-), 男, 硕士在读, 研究方向: 天然产物结构改造; 通信作者: 段宏泉, E-mail: duanhq@tjmu.edu.cn。

4-氰基苯甲醛为工业原料(天津希尔贝思科技有限公司),吗啉,三氟乙酸(TFA),2-吡咯烷二酮氢三溴化物(Pyrrolidonehydrotribromide,PHT)购自北京百灵威化学技术有限公司,山萘酚购自陕西慧科植物技术开发有限公司,无水碳酸钾、无水硫酸镁购自天津市红岩化学试剂厂,石油醚、乙酸乙酯、四氢呋喃、1,4-二氧六环、二氯甲烷和甲醇购自天津基准化学试剂公司,丙酮购自天津市江天化工技术有限公司。4-氰基苯甲醛纯度为工业级,其他试剂均为分析纯。

## 1.2 试验方法

1.2.1 催化剂吗啉三氟乙酸盐的合成量 取 100 mL 石油醚加入反应瓶中,于 -20 °C 冰浴下搅拌,再量取 8.74 mL 吗啉加入反应瓶中。量取 50 mL 石油醚于恒压滴液漏斗中,再量取 8.42 mL 三氟乙酸加入到恒压滴液漏斗中,与石油醚混匀,然后缓慢滴加到反应瓶中,继续冰浴搅拌 1 h,抽滤,弃去滤液,沉淀用石油醚洗涤 3 次,干燥,得白色块状固体 19.8 g,产率 98.5%。

1.2.2 (E)-4-(4-氰基苯基)-3-烯-2-丁酮(1)的合成 称取对氰基苯甲醛 6.6 g 和吗啉三氟乙酸盐 5.0 g 于反应瓶中,加入 40 mL 丙酮溶解。于 75 °C 油浴下回流搅拌 24 h。TLC 监测完全后降至室温,加入蒸馏水适量,抽滤并水洗沉淀 3 次,干燥后得淡黄色固体 8.4 g,产率 98.1%。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.52 (2H, dd, *J* = 8.0 Hz), 7.48 (1H, d, *J* = 16.4 Hz), 7.09 (2H, t), 6.65 (1H, d, *J* = 16.4 Hz), 2.38 (3H, s)。

1.2.3 (E)-1-溴-4-(4-氰基苯基)-3-烯-2-丁酮(2)的合成<sup>[5]</sup> 称取 342.4 mg 中间体 1 于反应瓶中,加入 1.0 mL THF 溶解。称取 782.0 mg PHT,以 40 mL THF 溶解,缓缓滴加到反应瓶中,30 °C 下搅拌,反应 24 h 后,取样以 <sup>1</sup>H NMR 检测计算产率为 70.2%。反应液抽滤,滤液浓缩物以适量二氯甲烷溶解,饱和 NaHCO<sub>3</sub> 溶液洗涤 3 次,饱和食盐水洗涤 3 次后减压浓缩得到黄色油状物粗品。粗品经硅胶柱层析纯化,石油醚-乙酸乙酯(6:1)洗脱,分离得到白色固体 326.6 mg。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.72-7.69 (4H, m), 7.69 (1H, d, *J* = 15.7 Hz), 7.05 (1H, d, *J* = 15.7 Hz), 4.09 (2H, s)。

1.2.4 3-O-[(E)-4-(4-氰基苯基)-3-烯-2-酮丁基]山萘酚(Fla-CN)的合成 称取 137.4 mg 山萘酚和 66.3 mg 无水 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 于反应瓶中,加入 2.6 mL 1,4-二氧六环使之溶解,油浴升温至 80 °C 并搅拌。称取 100 mg 中间体 2,以 2.4 mL 1,4-二氧六环溶解,用恒压滴液漏斗缓缓滴加到反应瓶中,80 °C 搅拌

7.5 h。TLC 监测反应完全后,冷却至室温,加入稀盐酸适量终止反应,加入乙酸乙酯萃取 3 次,无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥,过滤,浓缩得黄褐色粗品 235.3 mg。取样以 <sup>1</sup>H NMR 检测计算产率 73.4%。粗品经 HW-40C 凝胶柱层析纯化,二氯甲烷-甲醇(2:1)洗脱,得黄色粉末状固体 119.3 mg。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, DM-SO-*d*<sub>6</sub>) δ: 12.53 (1H, s, OH), 10.89 (1H, s, OH), 10.25 (1H, s, OH), 8.04 (2H, d, *J* = 8.9 Hz), 7.91-7.86 (4H, m), 7.70 (1H, d, *J* = 16.4 Hz), 7.19 (1H, d, *J* = 16.4 Hz), 6.91 (2H, d, *J* = 8.9 Hz), 6.47 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.22 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 5.10 (2H, s)。<sup>13</sup>C NMR(100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 195.0, 177.9, 167.6, 164.7, 163.5, 161.6, 160.7, 159.0, 156.8, 155.7, 142.4, 140.8, 139.3, 136.7, 133.2, 133.1, 131.0, 129.6, 126.0, 121.0, 119.0, 116.0, 112.9, 104.5, 99.2, 94.2, 75.9。ESI-MS *m/z*: 453.9 [M-H]<sup>-</sup>。

## 2 结果

2.1 中间体 1 的制备条件考察 本文将文献方法稍作调整,以吗啉三氟乙酸盐替代 NaOH 作为反应的催化剂,结果该步反应的产率达到 98.1%。

### 2.2 中间体 2 的制备条件考察

2.2.1 反应温度的考察 本文基于不饱和酮溴代方法,首先考察了反应温度对产率的影响。结果显示该反应的产率随温度的升高而下降,在 30 °C 下进行反应得到的产率较高(表 1)。

表 1 反应温度对溴代反应产率的影响

Tab 1 Effects of temperature on yields of bromination

反应温度/°C	PHT 浓度/ (mmol/mL)	反应物 当量比	反应 24h 的 产率 %
30	0.06	1:1.2	70.2
40	0.06	1:1.2	69.8
50	0.06	1:1.2	64.8

<sup>a</sup> 以 <sup>1</sup>H NMR 检测计算

2.2.2 反应物当量比的考察 在一定的反应温度和 PHT 浓度下,考察中间体 1 与 PHT 的当量比对产率的影响。结果显示中间体 1-PHT 当量比在 1:0.8 至 1:1.2 时,产率升高至 70.2%,在 1:1.2 至 1:2.0 时产率逐步下降至 53.6%,在当量比为 1:1 和 1:1.2 时,产率较高(表 2)。

2.2.3 PHT 滴加浓度的考察 在一定的反应温度和反应物当量比下,进一步考察了 PHT 滴加浓度对产率的影响。结果显示 PHT 滴加浓度过高或者过低时产率都会降低,其最佳滴加浓度为 0.06 mmol/mL(表 3)。

表 2 反应物当量比对溴代反应产率的影响

Tab 2 Effects of reactants ratio on yields of bromination

反应物当量比	反应温度/℃	PHT 浓度/ (mmol/mL)	反应 24 h 的 产率 <sup>a</sup> /%
1:2.0	30	0.06	53.6
1:1.8	30	0.06	55.2
1:1.6	30	0.06	63.9
1:1.4	30	0.06	66.8
1:1.2	30	0.06	70.2
1:1.0	30	0.06	69.6
1:0.8	30	0.06	50.5

<sup>a</sup> 以 <sup>1</sup>H NMR 检测计算

表 3 PHT 滴加浓度对溴代反应产率的影响

Tab 3 Effects of PHT's adding concentrations on yields of bromination

PHT 浓度/ (mmol/mL)	反应物当量比	反应温 度/℃	反应 24 h 的 产率 <sup>a</sup> /%
0.03	1:1	30	66.5
0.06	1:1	30	68.6
0.12	1:1	30	63.8

<sup>a</sup> 以 <sup>1</sup>H NMR 检测计算

## 2.3 Fla-CN 的制备条件考察

2.3.1 反应温度的考察 本文基于醚化反应的一般机制,首先考察反应温度对反应完全所需时间以及产率的影响。结果显示,随着反应温度的升高,反应完全所需时间减小,在 80℃ 下进行反应得到的收率较高(表 4)。

表 4 反应温度对醚化反应产率的影响

Tab 4 Effects of temperature on yields of etheration

反应温度/℃	反应物 当量比	反应液浓度 <sup>a</sup> / (mmol/mL)	反应 时间/h	产率 <sup>b</sup> /%
101	1.2:1	0.08	6.5	55.7
90	1.2:1	0.08	7.0	66.9
80	1.2:1	0.08	7.5	73.4
70	1.2:1	0.08	7.5	71.4
60	1.2:1	0.08	10.0	68.4
50	1.2:1	0.08	11.0	63.9
40	1.2:1	0.08	19.0	53.9

<sup>a</sup> 中间体 2 在反应液中的浓度;<sup>b</sup> 以 <sup>1</sup>H NMR 检测计算

2.3.2 反应物当量比的考察 在一定温度与反应液浓度下,考察了山萘酚与中间体 2 的当量比对反应完全所需时间和产率的影响,结果显示当量比为 1.2:1 时,反应产率较高。各反应物当量比对反应完全所需时间没有明显影响(表 5)。

2.3.3 中间体 2 反应浓度的考察 在一定反应物当量比和反应温度下,进一步考察了中间体 2 在反应液中的浓度对反应完全所需时间和产率的影响,结果显示,当中间体 2 的浓度为 0.08 mmol/mL 时,

Fla-CN 的产率相对较高,中间体 2 的浓度对反应完全所需时间没有明显影响(表 6)。

表 5 反应物当量比对醚化反应产率的影响

Tab 5 Effects of reactants ratio on yields of etheration

反应物 当量比	反应 温度/℃	反应液浓度 <sup>a</sup> / (mmol/mL)	反应 时间/h	产率 <sup>b</sup> /%
1.2:1	80	0.08	7.5	73.4
1:1	80	0.08	7.0	68.6
1:1.2	80	0.08	7.0	71.7

<sup>a</sup> 中间体 2 在反应液中的浓度;<sup>b</sup> 以 <sup>1</sup>H NMR 检测计算

表 6 中间体 2 反应浓度对醚化反应产率的影响

Tab 6 Effects of concentrations in the reaction solution of  
intermediate 2 on yields of etheration

反应液浓度 <sup>a</sup> / (mmol/mL)	反应 温度/℃	反应物当量比	反应 时间/h	产率 <sup>b</sup> /%
0.11	80	1.2:1	8	64.4
0.08	80	1.2:1	7.5	73.4
0.05	80	1.2:1	8	71.3

<sup>a</sup> 中间体 2 在反应液中的浓度;<sup>b</sup> 以 <sup>1</sup>H NMR 检测计算

通过以上条件的考察,确定了 Fla-CN 的最优合成工艺(图 1)。

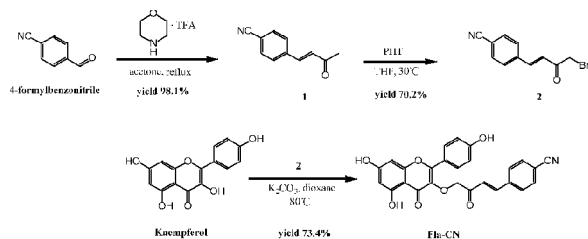


图 1 Fla-CN 最优合成工艺

Fig 1 The optimized synthetic route of Fla-CN

## 3 讨论

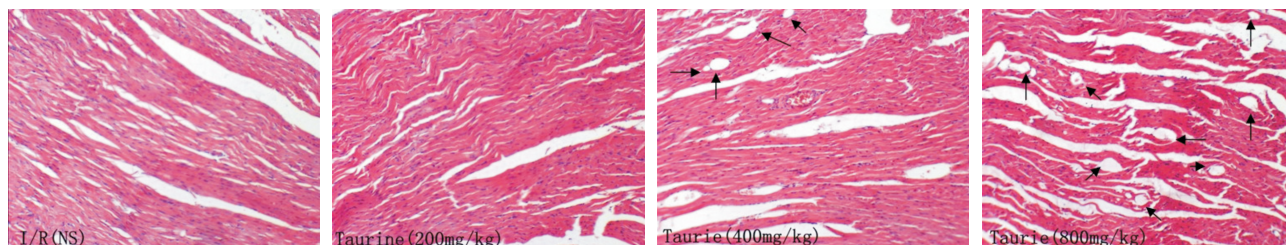
前期合成中首步反应使用 NaOH 来完成对氰基苯甲醛和丙酮的缩合<sup>[6]</sup>,产率为 50%,且生成的副产物较多,后处理工作繁琐。改用吗啉三氟乙酸盐为催化剂<sup>[7]</sup>后,反应产物单一,后处理步骤得到简化,中间体 1 的收率有很大的提高,达到 98.1%,该反应条件简单温和可用于工业化生产。

中间体 2 的制备为溴代反应,以 PHT 作为溴代试剂<sup>[8-10]</sup>,较高的温度、高浓度或者过量的 PHT 均能提高反应速度,但生成的目标产物会继续反应从而降低了中间体 2 的收率。因此,在单因素考察中,对反应温度、反应物当量比和 PHT 的滴加浓度进行了考察。试验结果表明,中间体 2 的收率随温度的升高而降低。中间体 1 和溴代试剂 PHT 的当量比在 1:1 和 1:1.2 时反应产率相当。从回收原料降低成本的

(下转封三)

# 牛磺酸对大鼠缺血心肌血管新生作用的研究

(正文见第 4 页)



黑色箭头所指均为标本 HE 染色后新生毛细血管横切面

图 4 各组大鼠心肌梗死区一般组织形态学观察(HE ×400)

Fig 4 Morphology changes in myocardium infarction for the groups(HE ×400)

(上接第 70 页)

角度出发,本研究选用 1:1 的物料当量比为优选反应条件。同时溴代试剂 PHT 的滴加浓度对产率也有影响,试验结果表明,0.06 mmol/mL 的 PHT 滴加浓度为优选浓度,低浓度时反应慢产率低,高浓度时反应迅速,同时副产物较多而产率较低。

最后一步醚化反应为亲核取代反应,山萘酚中有 4 个酚羟基,其中 5 位酚羟基与羰基形成稳定的氢键很难发生亲核取代反应,3 位、7 位和 4' 位羟基反应活性各不相同,3 位羟基反应活性大于 7 位羟基,而 4' 位羟基反应活性最弱。3、7 位羟基的竞争性反应是决定反应条件的关键因素。单因素考察试验的结果也证实了上述推断:较高的温度虽然加快了反应速度,但是副产物也更容易生成。进一步对反应物的当量比进行考察发现,山萘酚稍过量时反应产率较好。同样,过量或高浓度的中间体 2 会增加副产物,降低反应收率。

综合上述结果,结合生产成本的考虑,本文建立的 Fla-CN 的合成工艺为:吗啉三氟乙酸盐做催化剂,以丙酮为溶剂回流反应 24 h,合成中间体 1。30 °C 温度条件下,中间体 1 与 PHT 当量比为 1:1, PHT 滴加浓度为 0.06 mmol/mL 反应 24 h,合成中间体 2。80 °C 温度条件下,山萘酚与中间体 2 的当量比为 1.2:1,中间体 2 在反应液中浓度为 0.08 mmol/mL 反应 8 h,合成 Fla-CN。

## 参考文献:

- [1] 赵川,乔卫,张彦文,等.委陵菜抗糖尿病有效部位及有效成分的研究[J].中国中药杂志,2008,33(6):680
- [2] 齐悦,唐斌,段宏泉.委陵菜黄酮在大鼠体内的药动学研究[J].药物评价研究,2010,33(3):187
- [3] Qin N, Li C B, Jin M N, et al. Synthesis and biological activity of novel tilirosidederivants[J]. Eur J Med Chem, 2011, 46(10): 5189
- [4] Shi L H, Qin N, Hu L J, et al. Tiliroside -derivatives enhance GLUT4 translocation via AMPK in muscle cells[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2011, 92(2): e41
- [5] Babu K S, Li X C, Jacob M R, et al. Synthesis, antifungal activity, and structure-activity relationships of coruscanone A analogues[J]. J Med Chem, 2006, 49(26): 7877
- [6] Tatsuzaki J, Bastow K F, Nakagawa -Goto K, et al. Dehydrozingerone, chalcone, and isoeugenol analogues as in vitro anti-cancer agents[J]. J Nat Prod, 2006, 69(10): 1445
- [7] Zumbansen K, Doehring A, List B. Morpholiniumtrifluoroacetate - catalyzed aldol condensation of acetone with both aromatic and aliphatic aldehydes[J]. Adv Synth Catal, 2010, 352(7): 1135
- [8] Cromwell N H.  $\alpha,\beta$ -Unsaturated aminoketones V. reaction of pyrrolidine and tetrahydroquinoline with bromine derivatives of benzalacetophenone[J]. J Am Chem Soc, 1941, 63(11):2984
- [9] Harvey R G, Jung T H, Bukowska M. A new chromone and flavone synthesis and its utilization for the synthesis of potentially antitumorogenic polycyclic chromones and flavones[J]. J Org Chem, 1990, 55(25): 6161
- [10] Kreis L M, Carreira E M. Total synthesis of (-)-dendrobine[J]. Angew Chem Int Ed, 2012, 51(14):3436

(2013-09-24 收稿)