

# 新型大豆异黄酮萘磺酸酯前药的设计合成

彭游, 喻国贞, 郎少杰, 姜登钊

(九江学院 功能有机分子制备与应用九江市重点实验室, 江西 九江 332005)

**摘要:** 利用前药原理对大豆异黄酮染料木素进行化学修饰, 以提高染料木素的生物利用度进而改善其生物活性。结果成功设计合成了4个新型染料木素萘磺酸酯衍生物(2~5), 所有新化合物的结构均经IR、MS、元素分析和<sup>1</sup>H NMR确证。采用平行实验优选法优化关键中间体2的合成, 并对其烷基化反应化学进行了初步分析。

**关键词:** 大豆异黄酮; 染料木素; 萘磺酸酯; 合成; 烷基化

**中图分类号:** O629.9      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-9841(2013)06-0854-04

## Design and Synthesis of Novel Genistein Naphthylsulfonate Prodrugs

PENG You, YU Guo-zhen, LANG Shao-jie, JIANG Deng-zhao

(Key Laboratory of Jiujiang City for Preparation and Application of Organic Functional Molecules, Jiujiang Academy, Jiujiang 332005, China)

**Abstract:** To improve bioavailability and biological activity of genistein, we designed and synthesized the new soy isoflavone genistein derivatives(2-5) according to principles of prodrugs. Their structures were characterized by IR, MS, elemental analysis and <sup>1</sup>H NMR spectra. Synthesis of the key intermediate 2 was optimized by parallel experimental optimization method, and its alkylation reaction chemistry was analyzed preliminarily.

**Key words:** Soy isoflavone; Genistein; Naphthylsulfonate; Synthesis; Alkylation

一个分子可以通过它的最佳结构构型和理化性质在靶部位引起期望的疗效或生理功能。但是, 这个分子未必具有被传输至最终作用点的分子形式和性质, 因此它的结构仍然需要优化。以天然产物进行结构修饰的前药设计能优化药物(或功能分子)的传输, 可用于体外已证明有效的候选药物, 也可用于尚有各种不足的现有药物。通过衍生化, 保持母体药物的基本特征, 同时改善它们的传输性质, 由此提高药物的总体效果。因而, 前药设计优化药物的传输是一个重要的研究领域<sup>[1-3]</sup>。

大豆所含的异黄酮染料木素(genistein 1), 具有抗菌、抗氧化及雌激素等多种药理作用, 但因其生物体内的药理作用较低而难以在临床上广泛使用<sup>[4-5]</sup>。染料木素具有多酚羟基结构, 亲脂性弱, 同时由于羟基在分子间形成氢键, 晶格能较高, 亲水性也较差<sup>[6]</sup>。Zhou等<sup>[7]</sup>研究了口服3种剂量的染料木素药物动力学, 发现染料木素的生物利用度仅为19.0%~33.5%。在血液、胆汁以及尿液中均检测到其结合型葡萄糖醛酸苷。从胆汁、尿液中排出的也主要为染料木素的葡萄糖醛酸苷<sup>[8]</sup>。影响染料木素生物利用度的另一重要原因则是染料木素的溶解度, 溶解性增强有利于提高苷元的生物利用度。可见, 先导化合物染料木素具有溶解度低、严重的首过效应等缺点, 导致生物利用度低, 进一

步导致生物活性不理想, 因此迫切需要用化学修饰的方法转变成前药转运形式加以解决。

虽然对染料木素化学修饰开展较早<sup>[9-11]</sup>, 但大多是以染料木素为先导化合物, 加以结构修饰, 改善其药效学性质的途径, 迄今还未找到活性更强的染料木素衍生物。而以提高染料木素生物利用度为目的的前药修饰研究较少, 本课题组根据染料木素的体内传递缺陷, 利用前药原理成功设计合成了一系列染料木素萘磺酸酯前药, 药物代谢及体内药物动力学实验表明, 该系列衍生物相对于原药的药代动力学性质有很大改善, 相对生物利用度有大幅度提高<sup>[6, 12]</sup>, 为了深入研究该类衍生物的药动相构效关系, 寻找药效更优良的药用化学物, 利用前药原理成功设计合成了4个新型染料木素萘磺酸酯衍生物, 采用平行实验优选法优化关键中间体2的合成, 并对其烷基化反应化学进行了初步分析。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

WRR型数字显示显微熔点仪(北京泰克仪器有限公司), 温度计未经校正; Bruker 400 M核磁共振仪(溶剂为CDCl<sub>3</sub>), TMS为内标; Yanaco MT-3CHN元素分析仪; Agilent 6410M质谱仪; Bruker TENSOR27红外光谱仪。染料木素(纯度>98%)

收稿日期: 2013-04-19

基金项目: 国家自然科学基金(81160412); 江西省自然科学基金(2010GZN0106)。

第一作者简介: 彭游(1971-), 男, 博士, 副教授, 主要从事食品化学与营养研究。E-mail: trihydracid@126.com。

购于陕西慧科植物开发有限公司,其他试剂均为化学纯或分析纯。

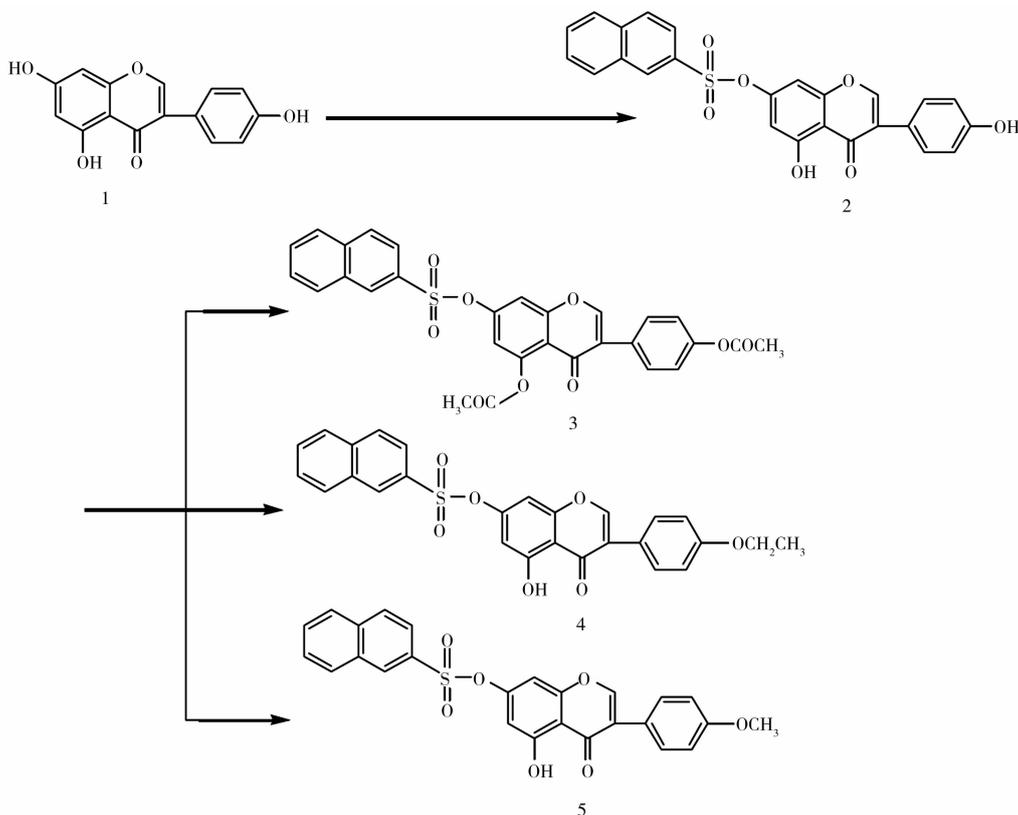


图1 染料木素萘磺酸酯的合成

Fig. 1 Synthesis of genistein naphthylsulfonate

## 1.2 目标化合物的合成

目标化合物合成路线见图1。

### 1.2.1 化合物2的合成 3-(4'-hydroxyphenyl)-5-hydroxy-7-(2''-naphthyl)sulfonyl-4H-chromen-4-one

取染料木素1(0.270 g, 1 mmol)分散于4 mL THF中,加入1 mL  $\text{Et}_3\text{N}$ ,于 $-20^\circ\text{C}$ 在Ar保护下,慢慢滴加0.34 g 2-萘磺酰氯,保温2.5 h后将混合物过滤,滤液减压旋干,柱层析纯化(三氯甲烷/丙酮=10:1)得纯品,黄色固体0.367 g,产率51%。m.p.  $193 \sim 195^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 12.8 (s, 1H, 5-OH), 8.48 (s, 1H, 1''-naphth H), 8.05 ~ 7.64 (m, 7H, ArH or naphth H), 7.39 (d, 2H, 2', 6'-ArH,  $J = 7.6\text{Hz}$ ), 6.92 (d, 2H, 3', 5'-ArH,  $J = 7.6\text{Hz}$ ), 6.79 (d, 1H, 8-ArH), 6.44 (d, 1H, 6-ArH), 5.07 (s, 1H, 4'-OH).  $m/z$  (EI) 461.2 ( $\text{M}^+ + 1$ , 100%). IR (KBr): 3342, 1651. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{16}\text{O}_7\text{S}$ : C 65.56, H 3.48, S 6.91; found C 65.21, H 3.50, S 6.96。

### 1.2.2 化合物3的合成 3-(4'-acetylphenyl)-5-acetyl-7-(2''-naphthyl)sulfonyl-4H-chromen-4-one

取中间体2(0.184 g)溶于10 mL 丙酮之中,加入0.1 g 碳酸钾,在室温下慢慢加入0.15 mL 醋酸酐,在室温下反应2 h。将反应混合物过滤,旋干滤液,柱层析纯化(三氯甲烷/石油醚=6:1)得纯品,浅黄色固

体,产率99%, mp.  $181 \sim 182^\circ\text{C}$ 。mp.  $190 \sim 192^\circ\text{C}$ ,  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.47 (s, 1H, 1''-naphth H), 8.05 (d,  $J = 8.4\text{Hz}$ , 1H, 3''-naphth H), 8.00 (d,  $J = 9.2\text{Hz}$ , 2H, 5', 8''-naphth H), 7.88 (s, 1H, 4''-naphth H), 7.85 (s, 1H, 2-ArH), 7.74 (m,  $J = 7.6, 8.0\text{Hz}$ , 2H, 6'', 7''-naphth H), 7.46 (d,  $J = 8.4\text{Hz}$ , 2H, 2', 6'-ArH), 7.17 (d, 1H,  $J = 2\text{Hz}$ , 8-ArH), 7.15 (d,  $J = 8.4\text{Hz}$ , 2H, 3', 5'-ArH), 6.75 (d,  $J = 2\text{Hz}$ , 1H, 6-ArH), 2.39 (s, 6H,  $\text{COCH}_3$ ).  $m/z$  (EI) 545.1 ( $\text{M}^+ + 1$ , 50%). IR (KBr): 3117, 1661. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{29}\text{H}_{20}\text{O}_9\text{S}$ : C 63.97, H 3.70, S 5.89; found C 63.01, H 3.80, S 5.81。

### 1.2.3 化合物4的合成 3-(4'-ethoxyphenyl)-5-hydroxy-7-(2''-naphthyl)sulfonyl-4H-chromen-4-one

取化合物3(0.184 g)溶于10 mL 丙酮之中,加入0.1 g 氢氧化钾和0.2 mL 水,在室温下慢慢加入0.15 mL 硫酸二乙酯,反应5 h。将反应混合物过滤,旋干滤液,柱层析纯化(三氯甲烷:丙酮=5:1)得纯品,浅黄色固体,产率77.9%, mp.  $148 \sim 150^\circ\text{C}$ ,  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 12.84 (s, 1H, 5-OH), 8.48 (s, 1H, 1''-naphth H), 8.05 (d,  $J = 8.8\text{Hz}$ , 1H, 3''-naphth H), 8.01 (d,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 2H, 5', 8''-naphth H), 7.95 (d,  $J = 8.8\text{Hz}$ , 1H, 4''-naphth H), 7.86 (s, 1H, 2-ArH), 7.75 (m,  $J = 6.8, 7.6\text{Hz}$ , 2H, 6'', 7''-

naphtha H), 7.46 (dd,  $J = 8.4$  Hz, 2H, 2', 6'-ArH), 6.99 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H, 3', 5'-ArH), 6.79 (d, 1H,  $J = 2$  Hz, 8-ArH), 6.44 (d,  $J = 2$  Hz, 1H, 6-ArH), 3.88 (m, 2H, 4'-OCH<sub>2</sub>-), 1.47 (t, 3H, 4'-CH<sub>3</sub>).  $m/z$  (EI) 487.3 ( $M^- - 1$ , 100%). IR (KBr): 3167, 1675. Anal. Calcd. for C<sub>27</sub>H<sub>20</sub>O<sub>7</sub>S: C 66.38, H 4.13, S 6.56; found C 66.01, H 4.09, S 6.51。

#### 1.2.4 化合物5的合成 3-(4'-methylfonylphenyl)-5-hydroxy-7-(2"-naphthyl) sulfonyl-4H-chromen-4-one

取化合物4(0.184 g)溶于10 mL 丙酮之中,加入0.1 g 碳酸钾,在室温下加入0.15 mL 硫酸二甲酯,反应5 h。将反应混合物过滤,旋干滤液,柱层析纯化(三氯甲烷/丙酮 = 5:1)得纯品,白色晶体,产率20.8%, mp. 143 ~ 145°C, <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 12.83 (s, 1H, 5-OH), 8.48 (s, 1H, 1"-naphth H), 8.05 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H, 3"-naphth H), 8.02 (m,  $J = 7.6$  Hz, 2H, 5''', 8"-naphth H), 7.90 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H, 4"-naphth H), 7.86 (s, 1H, 2-ArH), 7.75 (m,  $J = 7.6$  Hz, 2H, 6''', 7"-naphth H), 7.46 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H, 2', 6'-ArH), 6.97 (d,  $J = 6.8$  Hz, 2H, 3', 5'-ArH), 6.79 (d, 1H,  $J = 2$  Hz, 8-ArH), 6.44 (d,  $J = 2$  Hz, 1H, 6-ArH), 4.11 (m, 3H, 4'-CH<sub>3</sub>).  $m/z$  (EI) 473.1 ( $M^- - 1$ , 90%). IR (KBr): 3417, 1635. Anal. Calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>18</sub>O<sub>7</sub>S: C 65.81, H 3.82, S 6.76; found C 65.61, H 3.80, S 6.65。

## 2 结果与讨论

### 2.1 关键中间体2的区域选择性合成

采用平行实验优选法考察了反应时间、反应物配比、溶剂催化剂的比值对关键中间体2的区域选择性合成的影响。

2.1.1 溶剂催化剂的比值对选择性影响 在冰水混合物条件下,反应时间32 min,反应物的物质的量之比为(染料木素/萘磺酰氯)为1:1.2时,考察溶剂催化剂的比值对中间体2的产率与选择性的影响(表1)。

表1 溶剂催化剂的比值对产物选择性影响

Table 1 Effect of ratio of solvent and catalyst on the product selectivity

指标 Index	溶剂/催化剂(v/v) Ratio of solvent and catalyst		
	0	15/2	5/2
产率 Yield/%	0	51	40
选择性 Selectivity/%	0	91	62

由表1可以看出,当反应体系没有其他溶剂时,三乙胺既是催化剂,也是溶剂,此时,染料木素的3个羟基没有选择性,全部被酯化。当溶剂催化剂的比值为2.5时,染料木素的5-羟基较难酯化。主要生成单取代与双取代产物。当溶剂催化剂的比值

为7.5时,催化剂的浓度最小,反应中活性最高的7-羟基主要参与反应。

2.1.2 反应时间对选择性影响 在冰水混合物条件下,反应物的物质的量之比为(染料木素/萘磺酰氯)为1:1.2,溶剂催化剂的比值为7.5时,考察时间对中间体2的产率与选择性的影响(表2)。

表2 反应时间对选择性的影响

Table 2 The influence of reaction time on the selectivity

指标 Index	反应时间 Reaction time/min		
	24	32	199
产率 Yield/%	6	51	19
选择性 Selectivity/%	23	91	52

由表2可见,反应时间对产物的产率与选择性具有至关重要的影响。反应时间过短,产率当然不高,而选择性也低,表明染料木素的7位酯化后的单取代产物的4'位羟基的活性可能会提高到与未取代的染料木素的7位羟基的活性差别不大的水平,反应中TLC检测表明,反应体系中单双取代产物会同时出现。

2.1.3 反应物对比对选择性的影响 在冰水混合物条件下,反应时间32 min,溶剂催化剂的比值为7.5时(v/v),考察反应物的物质的量之比对中间体2的产率与选择性的影响(表3)。

表3 反应物对比对选择性的影响

Table 3 Effects of reactant ratio on the selectivity

指标 Index	反应物物质的量之比 Reactant ratio		
	1/3	1/1.2	1/1
产率 Yield/%	4	51	40
选择性 Selectivity/%	15	91	73

由表3可以看出,反应物的对比对产物的选择性有一定影响,磺酰氯的配比增加与减少对产率和选择性都有负面影响。当染料木素与磺酰氯的物质的量之比为1:3时,主要产物为双取代,单取代产物较少,产率与选择性均较低。

### 2.2 中间体2的烷基化反应

目标化合物3~5的合成是以2为中间体分别酰化或烷基化。在中间体2的烷基化过程中,无论是甲基化或乙基化,都不能生成5-羟基的烷基化产物,提高反应温度和反应时间,虽然5-羟基能够烷基化,然而7-萘磺酰基会被水解后再被烷基化,得到染料木素的7,5,4'-三烷基化产物。以2的甲基化为例,反应过程见图2。

在化合物2的甲基化过程中,羟基的酸性强弱至关重要,当2溶解于丙酮中,4-羟基与碱反应,形成烷氧负离子,亲核进攻硫酸二甲酯的甲基,生成目标产物5,然而通过调整反应物配料比,改变温

度,都得不到目标产物 6。研究表明,5-羟基的酸性在极性溶剂中远比 4-羟基要弱,显然与 5-羟基所处的位置有关。如图 2 所示,5-羟基与邻近的羰基形成分子内氢键,而且该氢键由于形成了分子内的六圆环而得到进一步加强,导致 5-羟基的酸性很大程

度的减弱,难以与碱形成亲核性强的负离子。同时在空间因素上,5-羟基邻近的羰基空间位阻也会导致其亲核性。温度提高,能提高羟基的反应性,但是 7-磺酸酯基在该条件下会水解,最后形成染料木素三甲基化产物 7,始终得不到目标产物 6。

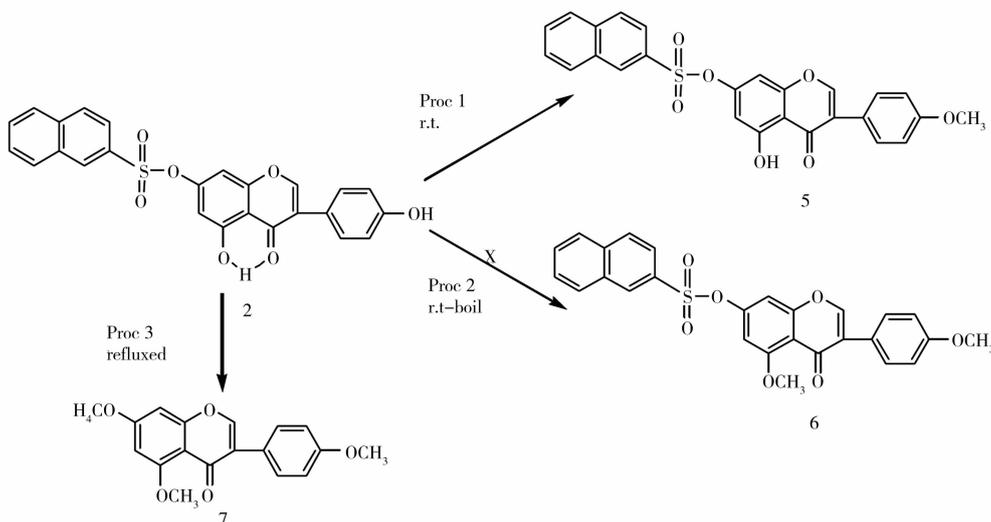


图 2 化合物 2 的甲基化反应  
Fig. 2 Methylation of compound 2

### 3 结 论

本研究根据前药原理成功设计合成了染料木素的萘磺酸酯系列衍生物,合成的化合物未见文献报道。利用平行实验优选法优化了关键中间体 2 的反应条件:在冰水混合物条件下,反应的物质的量之比(染料木素/萘磺酰氯)为 1:1.2,溶剂催化剂的比值(v/v)为 7.5,在反应 32 min 时达到最高产率为 51%,选择性高达 91%。以实验为基础分析了关键中间体 2 烷基化的反应规律,其 5-羟基的分子内氢键是其难以烷基化的根本原因。合成的衍生物的前药研究及体内药代性质正进一步研究,有望具有比原药染料木素更适宜的药性和药代动力学性质。

### 参考文献

- [1] Bundgaard H, Wermuth C G, Koga N, et al. Medicinal chemistry for 21st century [M]. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1994: 331-332.
- [2] 李安良,王新红,李正香. 前药和生物利用度控制[J]. 中国药理学杂志,2001,36(1):7-10. (Li A L, Wang X H, Li Z X. Prodrugs and bioavailability control [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2001,36(1):7-10.)
- [3] 彭游,黄齐,邓泽元,等. 槲皮素萘磺酸酯前药的设计合成[J]. 化学研究与应用,2011,23(7):821-827. (Peng Y, Huang Q, Deng Z Y, et al. Design and synthesis of quercetin benzenesulfonate prodrugs [J]. Chemical Research and Application, 2011,23(7):821-827.)
- [4] Perabo F G E, von Löw E C, Ellinger J, et al. Soy isoflavone

- genistein in prevention and treatment of prostate cancer [J]. Prostate Cancer & Prostatic Diseases, 2008, 11(1):6-12.
- [5] Naghma K, Farrukh A, Hasan M. Cancer chemoprevention through dietary antioxidants progress and promise [J]. Antioxidant Red Signal, 2008, 10(3):475-510.
- [6] Peng Y, Hu J N, Deng Z Y, et al. Oral bioavailability of novel genistein sulfonates and their pre-clinical pharmacokinetics [J]. Latin American Journal of Pharmacy, 2011, 30(8):1582-1589.
- [7] Zhou S Y, Hu Y Z, Zhang B L, et al. Dose dependent absorption, metabolism, and excretion of genistein in rats [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(18):8354-8359.
- [8] 彭游,钟婵娟,邓泽元,等. 植物雌激素染料木素的体内转运过程研究进展 [J]. 食品科技, 2011, 36(8):28-31. (Peng Y, Zhong C J, Deng Z Y, et al. Progress in transit process *in vivo* of phytoestrogen genistein [J]. Food Science and Technology, 2011, 36(8):28-31.)
- [9] 陈晓岚,郁章琦,袁金伟,等. 染料木素的磷酸化结构改造及与溶菌酶的弱相互作用 [J]. 药学报, 2007, 42(4):396-398. (Chen X L, Yu Z Q, Yuan J W, et al. Phosphorylated modification of genistein and their interaction with lysozyme [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2007, 42(4):396-398.)
- [10] Lewis P T, Wähälä K, Hoikkala A, et al. Synthesis of antioxidant isoflavone fatty acid esters [J]. Tetrahedron, 2000, 56(39):7805-7810.
- [11] 彭游,叶志刚,邓泽元,等. 染料木素的化学修饰研究进展 [J]. 化学通报, 2010, 73(12):1106-1109. (Peng Y, Ye Z G, Deng Z Y, et al. Progress in chemical modification of genistein [J]. Chemistry, 2010, 73(12):1106-1109.)
- [12] 彭游,陶春元,邓泽元. 新型大豆异黄酮萘磺酸酯的临床前药动力学 [J]. 广西植物, 2012, 32(3):392-399. (Peng Y, Tao C Y, Deng Z Y. Pre-clinical pharmacokinetics of novel soybean isoflavone sulfonate [J]. Guihaia, 2012, 32(3):392-399.)