

α 取代的 3,5-二甲氧基苯丙烯酸合成及其抗炎活性

郑丽玲^a 绪广林^b 敖桂珍^{a*} 吴 周^a

(^a苏州大学药学院 苏州 215123 ^b南京师范大学生命科学院新药研究中心 南京)

摘 要 以 3,5-二甲氧基苯甲醛为原料,与芳基乙酸经 Perkin 反应合成了 α 取代 3,5-二甲氧基苯丙烯酸化合物 (I₁₋₉)。化合物 I₇ 经铁粉还原得到化合物 I₁₀, 化合物 I₁₀ 乙酰化生成 I₁₁。目标化合物均为新化合物,其结构经过 ¹H NMR 红外和高分辨质谱测试技术分析确证。二甲苯致小鼠耳肿胀模型的药理初筛结果表明,大部分目标化合物具有抗炎活性,其中,化合物 I₆、I₉ 和 I₁₁ 与阳性对照 Aspirin 相比,表现出显著性差异 ($P < 0.05$ $P < 0.01$),说明其抗炎活性比 Aspirin 强。

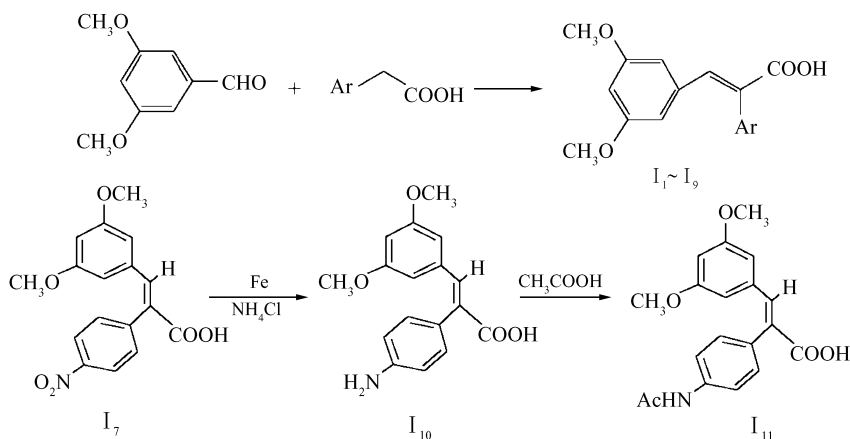
关键词 α 芳基取代二甲氧基苯丙烯酸, Perkin 反应, 抗炎作用

中图分类号: O622.5

文献标识码: A

文章编号: 1000-0518(2008)04-0481-04

非甾体抗炎药 (NSAIDs) 是目前用量大而产生不良反应多的药物之一, 如何降低 NSAID 的胃肠道 (GI) 副作用是近年来开发新型 NSAID 的基本研究项目之一。白藜芦醇 (化学名 3,4',5-三羟基二苯乙烯) 具有显著的抗炎、抗突变、抗氧化、抗自由基以及抑制血小板聚集的作用, 对其研究正日益深化, 在食品、医药等工业上的应用也越来越广。研究发现^[1-4], 某些 α 取代的对甲磺酰基苯丙烯酸及其酰胺、异羟肟酸、酰胺和一氧化氮供体酯具有较强的抗炎活性, 与双氯芬酸相当, 而致 G 溃疡副作用显著地小于双氯芬酸。最近 Moreau 等^[5] 研究表明, 部分 α 取代的对甲磺酰基苯丙烯酸衍生物具有同时抑制环氧酶-2 和 5 脂氧酶活性的作用。本文采用活性结构拼合原理, 用白藜芦醇分子中的 3,5-二羟基苯基替换对甲磺酰基苯丙烯酸衍生物分子中的对甲磺酰基苯基, 再将 3,5-二羟基甲基化, 设计了一系列 α 取代 3,5-二甲氧基苯丙烯酸化合物, 期望从中发现抗炎活性较强、G 副作用小的先导化合物, 而且可减少选择性环氧酶-2 抑制剂可能带来的心血管副作用, 其合成路线见 scheme 1。



Scheme 1 Synthetic route of the target compounds

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

Nicolet AVATAR360 型红外光谱仪 (美国 Thermo Electron 公司), KBr 压片; Varian UNITY NOVA 400 MHz 型核磁共振仪, CDCl₃ 为溶剂, TMS 为内标; Micromass TOF-M 质谱仪; XT5 显微熔点测定仪 (微电脑控温型, 北京科仪电光仪器厂)。试剂均为化学纯或分析纯。

2007-04-15 收稿, 2007-07-04 修回

通讯联系人: 敖桂珍, 女, 副教授; E-mail: aoguzhen2007@sohu.com; 研究方向: 药物合成

1.2 目标化合物 I₁~I₉的合成

将 3,5-二甲氧基苯甲醛 (1.66 g 0.01 mol)、芳基乙酸 (0.011 mol)、重蒸乙酸酐 (5 mL 0.053 mol) 和无水 K₂CO₃ (0.7 g 0.005 mol) 加入烧瓶中, 搅拌回流反应 3~5 h 稍冷, 加水至混浊, 放置析出棕红色油状物。分出水层, 油层加入 6 mL 2 mol/L NaOH 溶液, 室温搅拌 1 h 过滤, 滤液酸化, 析出固体。过滤, 滤饼用体积分数为 80% 乙醇重结晶, 干燥, 得目标产物 I₁~I₉。

1.3 目标化合物 I₁₀和I₁₁的合成

将氯化铵 (0.08 g 0.0015 mol) 溶于 5 mL 水中, 搅拌, 加热至 95 ℃, 加入铁粉 (0.55 g 0.010 mol) 保温 0.5 h 后, 加入化合物 I₇ (1.07 g 0.0033 mol), 搅拌反应 2 h 冷却, 加入质量分数为 20% Na₂CO₃ 溶液, 调 pH=9 过滤, 滤液用 6 mol/L HCl 调 pH=7, 析出沉淀。抽滤, 滤饼真空干燥, 得到化合物 I₁₀。将化合物 I₁₀ (2.4 g 0.016 mol)、醋酸 (7.25 mL 0.035 mol) 和 5 mL 水的混合物加热, 回流 30 min 冷却, 于 0 ℃放置 1 h 过滤, 得化合物 I₁₁。

1.4 抗炎活性实验

取小鼠 140 只, 雌雄兼用, 体重 (20±2) g 随机分 14 组, 每组 10 只, 给药前禁食 12 h 自由饮水。灌胃给药, 给药剂量按小鼠体重的 0.2 mL/g 的质量浓度给药。给药 1 h 后, 每只小鼠右耳涂二甲苯 20 μL 只致炎, 小鼠的左耳廓为空白对照。致炎 1 h 后处死小鼠, 用直径 7 mm 打孔器在双耳对称处打下耳片称重, 以右耳和左耳质量差异度为指标, 将对照组与给药组进行统计学处理, 计算抑制率。

2 结果与讨论

2.1 目标化合物的合成收率, 理化性质及结构表征

所有目标化合物的熔点、产率和光谱数据见表 1 和表 2

表 1 目标化合物的熔点、产率和高分辨质谱数据

Table 1 Structures, melting points, yields and HR-MS data of the target compounds

Compds	Ar	Melting point /℃	Yield/%	Appearance	HR-MS m/z (M) ⁺	
I ₁	Ph	199~200	53.6	white crystals	284.1049	284.1039
I ₂	4-CH ₃ -Ph	183~184	59.5	white crystals	298.1205	298.1196
I ₃	4-F-Ph	198~199	68.4	white crystals	302.0954	302.0943
I ₄	2-ClPh	151~152	63.2	pale yellow crystals	318.0659	318.0638
I ₅	4-ClPh	202~203	66.3	pale yellow crystals	318.0659	318.0578
I ₆	4-HO-Ph	215~216	66.8	white crystals	300.0998	300.0930
I ₇	4-NO ₂ -Ph	179~180	72.2	brown yellow crystals	329.0899	329.0813
I ₈	4-CH ₃ O-Ph	189~190	64.8	white crystals	314.1154	314.1087
I ₉	2,4-dClPh	170~171	50.0	white crystals	352.0269	352.0258
I ₁₀	4-NH ₂ -Ph	178~179	62.7	brown red crystals	299.1158	299.1146
I ₁₁	4-AcNH-Ph	185~186	58.5	brown solid	341.1263	341.1255

表 2 目标化合物的 IR 和 ¹H NMR 数据

Table 2 IR bands and ¹H NMR data of the target compounds

Compds	IR σ / cm ⁻¹	¹ H NMR δ
I ₁	3 300~2 700 (OH), 3 071 (C≡C-H), 2 945 (CH ₃), 1 671 (C=O), 1 624 1 588 1 465 1 426 (C≡C), 717 698 (C≡C-H)	3.52 (s 6H CH ₃), 6.24 (s 2H ArH), 6.34 (s 1H ArH), 7.35 (s 1H ArH), 7.38 (d 2H J=7.6 Hz ArH), 7.42 (d 2H J=6.4 Hz ArH), 7.87 (s 1H =CH)
I ₂	3 200~2 500 (OH), 3 071 (C≡C-H), 2 955 (CH ₃), 1 672 (C=O), 1 588 1 465 1 425 1 426 (C≡C), 705 731 679 (C≡C-H)	2.36 (s 3H CH ₃), 3.53 (s 6H CH ₃), 6.24 (s 2H ArH), 6.34 (s 1H ArH), 7.15 (d 2H J=7.6 Hz ArH), 7.21 (d 2H J=8.8 Hz ArH), 7.83 (s 1H =CH)
I ₃	3 200~2 400 (OH), 3 017 (C≡C-H), 2 955 (CH ₃), 1 670 (C=O), 1 625 1 589 1 511 1 426 (C≡C), 737 680 (C≡C-H)	3.57 (s 6H CH ₃), 6.23 (s 2H ArH), 6.36 (s 1H ArH), 7.11 (d 2H J=8.4 Hz ArH), 7.24 (d 2H J=7.6 Hz ArH), 7.88 (s 1H =CH)
I ₄	3 300~2 500 (OH), 3 054 (C≡C-H), 2 952 (CH ₃), 1 678 (C=O), 1 589 1 461 1 424 1 426 (C≡C), 679 (C≡C-H), 746 689 (C≡C-H)	3.54 (s 6H CH ₃), 6.23 (s 2H ArH), 6.37 (s 1H ArH), 7.21 (d 1H J=7.4 Hz ArH), 7.38 (m 2H ArH), 7.49 (d 1H J=8.0 Hz ArH), 7.94 (s 1H =CH)

续表 2

Compds	R σ / cm^{-1}	$^1\text{H NMR } \delta$
I ₅	3 200~2 600(OH), 3 026($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$), 2 951(CH_3), 1 670($\text{C}\equiv\text{O}$), 1 624 1 588 1 457 1 426($\text{C}\equiv\text{C}$), 695 677($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$)	3.57(d 6H CH_3), 6.22(s 2H A H), 6.35(s 1H A H), 7.21(d 2H J=8.0 Hz A H), 7.38(d 2H J=8.0 Hz A H), 7.88(s 1H =CH)
I ₆	3 429(OH), 3 100~2 500(OH), 3 048($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$), 2 985(CH_3), 1 669($\text{C}\equiv\text{O}$), 1 622 1 588 1 513 1 458 1 426($\text{C}\equiv\text{C}$), 690 679($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$)	3.59(s 6H CH_3), 6.22(s 2H A H), 6.39(s 1H A H), 7.14(d 1H J=8.0 Hz A H), 7.27(d 2H J=8.0 Hz A H), 7.52(s 1H A H), 7.94(s 1H =CH)
I ₇	3 225~2 500(OH), 3 013($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$), 2 967(CH_3), 1 671($\text{C}\equiv\text{O}$), 1 589 1 521 1 426($\text{C}\equiv\text{C}$), 726 698($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$)	3.57(s 6H CH_3), 6.18(s 2H A H), 6.38(s 1H A H), 7.46(d 2H J=8.4 Hz A H), 7.99(s 1H =CH), 8.26(d 2H J=8.4 Hz A H)
I ₈	3 500~2 800(OH), 3 011($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$), 2 996(CH_3), 1 672($\text{C}\equiv\text{O}$), 1 621 1 589 1 467 1 426($\text{C}\equiv\text{C}$), 729 698($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$)	3.65(s 6H CH_3), 3.83(s 3H CH_3), 6.28(s 2H A H), 6.62(s 1H A H), 6.95(d 2H J=6.4 Hz A H), 7.20(d 2H J=8.4 Hz A H), 7.84(s 1H =CH)
I ₉	3 200~2 800(OH), 3 028($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$), 3 003(CH_3), 1 674($\text{C}\equiv\text{O}$), 1 623 1 604 1 583 1 455 1 426($\text{C}\equiv\text{C}$), 819 677($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$)	3.59(s 6H CH_3), 6.22(s 2H A H), 6.40(s 1H A H), 7.14(d 1H J=8.0 Hz A H), 7.28(d 1H J=8.0 Hz A H), 7.52(s 1H A H), 7.96(s 1H =CH)
I ₁₀	3 414(NH), 3 200~2 700(OH), 3 026($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$), 3 003(CH_3), 1 672($\text{C}\equiv\text{O}$), 1 590 1 518 1 518 1 455 1 426($\text{C}\equiv\text{C}$), 697 682($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$)	3.57(s 6H CH_3), 6.20(s 2H A H), 6.40(s 1H A H), 7.34(d 2H J=8.0 Hz A H), 7.56(d 2H J=8.0 Hz A H), 7.74(s 1H =CH)
I ₁₁	3 344(NH), 3 200~2 800(OH), 3 017($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$), 2 975(CH_3), 1 672 1 685($\text{C}\equiv\text{O}$), 1 589 1 519 1 455 1 426($\text{C}\equiv\text{C}$), 705 689($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$)	2.99(s 3H CH_3), 3.74(s 6H CH_3), 6.17(s 2H A H), 6.35(s 1H A H), 7.33(s 1H =CH), 7.49(d 2H J=8.0 Hz A H), 7.90(d 2H J=8.0 Hz A H)

据文献^[1]报道, 此类化合物为 E 型即反式苯丙烯酸型化合物。在 IR 光谱分析中, 3 500 ~ 2 500 cm^{-1} 出现宽的羟基振动吸收峰, 1 670 cm^{-1} 左右出现 $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 的伸缩振动峰, 1 620 cm^{-1} 左右出现碳碳双键的伸缩振动峰, 强度较弱, 1 600 ~ 1 400 cm^{-1} 出现芳环骨架振动吸收峰, 在 650 ~ 690 cm^{-1} 出现碳碳双键氢的面外振动峰。在 $^1\text{H NMR}$ 中, 3,5-二甲氧基苯环的氢处于 δ 6.18~6.62 之间(单峰), 可能是由于甲氧基的供电子影响而处于较高场; α 位的苯环的氢在较低场 δ 6.22~6.70 由于有邻位氢的偶合, 为 6.4~8.0 Hz 化合物 I₁~I₉ 双键 β 位上的氢为单峰处于最低场 δ 7.83~7.99 可能是由于双键与 2 个苯环共轭, 特别是存在羰基的强吸电子作用。

2.2 主要副反应及反应条件对收率的影响

在进行 Perkin 反应时, 会生成 2 种副产物。1 种是 3,5-二甲氧基苯丙烯酸(II₁), $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ 3.83(s 6H CH_3), 6.43(d 1H J=16 Hz =CH), 6.53(s 1H A H), 6.70(s 2H A H), 7.71(d 1H J=16 Hz =CH); R(KBr), σ / cm^{-1} : 3 200~2 500(OH), 2 973(CH_3), 1 686($\text{C}\equiv\text{O}$), 1 589($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$), 927($\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$); HR-MS(ESI), m/z 208.071 4(M^-) ($\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_4$ 计算值 208.072 2)。另一种在紫外灯下呈很强的蓝紫色荧光, 经分离鉴定为反式二苯乙烯类化合物。以合成 E-3-(4-甲基苯基)-2-(3,5'-二甲氧基苯基)丙烯酸为例, 得到副产物 3,5-二甲氧基-4'-甲基反式二苯乙烯(II₂), $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ 2.29(s 3H CH_3), 3.80(s 6H CH_3), 6.38(s 1H A H), 6.65(s 2H A H), 6.97(d 2H J=16 Hz CH), 7.14(d 2H J=7.2 Hz A H), 7.39(d 2H J=7.2 Hz A H); mp 49~50 $^{\circ}\text{C}$ (文献^[5]: 50~52 $^{\circ}\text{C}$)。

反应物料比、时间和温度对产物收率的影响较大。例如, 对甲基苯乙酸的 Perkin 反应, 配料比 $n(3,5\text{-二甲氧基苯甲醛}):n(\text{对甲基苯乙酸}):n(\text{乙酸酐}):n(\text{碳酸钾})=2:2:2:10.6:1$, 在 140 $^{\circ}\text{C}$ 分别反应 2、3、4、5、6 和 7 h 其产率各为 44.6%、58.7%、59.5%、58.8%、58.2% 和 57.7%。反应时间延长, 则化合物 II₁ 增多, 因此反应时间控制在 3~5 h 较适宜。当配料比不变, 反应时间控制在 4 h 油浴, 温度分别为 120、130、140、150、160 和 170 $^{\circ}\text{C}$ 时, 产率各为 30.1%、46.3%、59.5%、59.2%、57.2% 和 54.0%。温度过高, 容易发生脱羧基反应, 化合物 II₁ 增加。由此可见, 反应温度控制在 140~150 $^{\circ}\text{C}$ 最佳。

2.3 抗炎活性

目标化合物及 CMC-N 阴性对照和 Aspirin 阳性对照灌胃给药对小鼠耳廓二甲苯致炎的抑制作用见表 3。大部分目标化合物对二甲苯致小鼠耳肿胀模型表现出一定的抗炎活性。化合物 I₆ 组与阴性对

照组 CMC-Na和阳性对照组 Aspirin相比,均表现非常显著的抗炎活性 ($P<0.01$);化合物 I₉与 CMC-Na和 Aspirin相比,表现显著的抗炎活性 ($P<0.05$);化合物 I₁₁与 CMC-Na相比,表现非常显著的抗炎活性 ($P<0.01$),与 Aspirin相比,也显示出显著性差异 ($P<0.05$)。研究结果表明,化合物 I₆、I₉和 I₁₁的抗炎活性均比 Aspirin强。

表 3 目标化合物对二甲苯致炎小鼠耳肿胀的影响

Table 3 Effect of the target compounds on xylene-induced mice ear swelling

Compds	Dose/(mg·kg ⁻¹)	Swollen extenymg	Inhibition/%	Compds	Dose/(mg·kg ⁻¹)	Swollen extenymg	Inhibition/%
CMC-Na	—	9.4±2.3	—	I ₆	9.6	2.9±1.3 ^b	69.1
Aspirin	200	5.2±1.8 ^a	44.7	I ₇	10.4	7.0±2.4	25.5
I ₁	9.0	6.9±1.8	26.6	I ₈	9.6	5.4±2.1	42.6
I ₂	9.4	6.2±3.8	34.06	I ₉	11.2	4.1±1.1 ^c	56.4
I ₃	9.6	8.0±3.6	14.9	I ₁₀	9.6	8.2±2.2	12.8
I ₄	10.0	6.7±1.3	28.7	I ₁₁	10.8	3.5±1.8 ^d	62.8
I ₅	10.0	7.7±2.0	18.1				

^a $P<0.05$ ^b $P<0.01$ vs CMC-Na; ^c $P<0.05$ ^d $P<0.01$ vs Aspirin

研究这类化合物的构效关系发现, α 取代的苯基上取代基对抗炎活性有一定的影响。如果苯环的对位为给电子基团时,如羟基、甲氧基,抗炎活性较强;如果为吸电子基团硝基,抗炎活性减弱。对于苯环卤素取代的活性则显示, 2,4- $\text{dCl}>2\text{-Cl}>4\text{-Cl}>4\text{-F}$

参 考 文 献

1 AO Gui-Zhen(敖桂珍), ZHANG Yi-Hua(张奕华), JI Hu(季晖), DENG Gang(邓钢), WU Yan-Jun(吴艳俊), PENG Si-Xun(彭司勋). J Chinese Phar Univ(中国药科大学学报) [J], 2002, 33(6): 460

2 AO Gui-Zhen(敖桂珍), ZHANG Yi-Hua(张奕华), JI Hu(季晖), DENG Gang(邓钢). Acta Pharmaceutica Sin(药理学报) [J], 2003, 38(9): 671

3 AO Gui-Zhen(敖桂珍), ZHANG Yi-Hua(张奕华), JI Hu(季晖). Chinese J Med Chem(中国药物化学) [J], 2004, 14(5): 257

4 AO Gui-Zhen(敖桂珍), ZHANG Yi-Hua(张奕华), JI Hu(季晖), DENG Gang(邓钢). J Chinese Phar Univ(中国药科大学学报) [J], 2004, 35(3): 200

5 Moreau A, Chen Q H, Praveen P N, Knaus E E. Bioorg and Med Chem [J], 2006, 14: 7716

6 Letcher R M. Org Magn Reson [J], 1981, 16(3): 220

Synthesis and Anti-inflammatory Activity of α -Substituted
3,5-Dimethoxyphenylpropenoic Acid Derivatives

ZHENG Li-Ling^a, XU Guang-Lin^b, AO Gui-Zhen^{a*}, WU Zhou^a

(^a College of Pharmaceutical Science, Suzhou University, Suzhou 215123;

^b Center for Drug Research and Development, College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing)

Abstract Nine α -substituted 3,5-methoxyphenylpropenoic acids(I₁₋₉) were synthesized from 3,5-dimethoxybenzaldehyde and aryl acetic acids by Perkin reaction respectively. I₁₀ was obtained through the reduction of I₇ with iron powder, and I₁₁ was obtained through acetylation of I₁₀. The structures of these novel compounds whose structures were identified by ¹H NMR, IR and HR-MS. Preliminary pharmacological tests on xylene-induced mice ear swelling model demonstrated that most of the target compounds had anti-inflammatory activity, especially compounds I₆, I₉ and I₁₁, compared with positive control aspirin ($P<0.05$ $P<0.01$).

Keywords α -substituted methoxyphenylpropenoic acids, Perkin reaction, anti-inflammatory activity