



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101538305 B

(45) 授权公告日 2013. 03. 20

(21) 申请号 200910011324. 4

(22) 申请日 2009. 04. 28

(73) 专利权人 沈阳药科大学

地址 110016 辽宁省沈阳市沈河区文化路
103 号

(72) 发明人 赵余庆 刘振洋 曹家庆

(74) 专利代理机构 沈阳杰克知识产权代理有限公司 21207

代理人 李宇彤

(51) Int. Cl.

C07J 9/00(2006. 01)

A61K 31/575(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

A61P 35/02(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101245089 A, 2008. 08. 20, 说明书第 1 页
第 1 段 - 第 7 页最后 1 段 .

US 20050287230 A1, 2005. 12. 29, 说明书第
1-296 段以及说明书附图第 1A-1F、2-12 幅 .

张锐等 . 20(S)- 原人参二醇对 SMMC-7721 细
胞体内外作用的研究 . 《中国药理学通报》. 2008,
第 24 卷 (第 11 期), 第 1504-1508 页 .

杨崇仁等 . 三七中达玛烷型皂甙的热不稳定性
及酸水解产物 . 《云南植物研究》. 1986, 第 8 卷
(第 1 期), 第 87-92 页 .

审查员 彭英桂

权利要求书 1 页 说明书 4 页

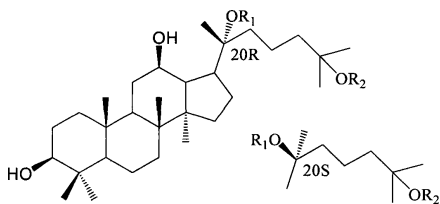
(54) 发明名称

人参二醇制备具有抗肿瘤活性化合物的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种人参二醇制备具有抗肿瘤活性化合物的方法,可制备多种具有达玛烷母核的化合物,其中涉及到两组具有显著抗肿瘤活性的原人参二醇衍生物。并公开了这些化合物的制备方法。它们的名称分别为:20(S)和20(R)-达玛烷-3β,12β,20,25-四醇、20(S)和20(R)-25-甲(或乙)氧基-达玛烷-3β,12β,20-三醇、20(S)和20(R)-20-甲(或乙)氧基-达玛烷-3β,12β,25-三醇和20(S)和20(R)-22,25-二甲(或乙)氧基-达玛烷-3β,12β-二醇。本发明简便易行,条件温和,产物易于分离纯化且

收率较好。



20(S)和20(R)-达玛烷-二醇衍生物的通式,其中,R1、R2可为OH、CH₃、CH₂CH₃

CN 101538305 B

1. 人参二醇制备具有抗肿瘤活性化合物的方法,其特征在于:以人参二醇为原料,加入有机溶剂中,通过酸解或碱解发生侧链开环反应获得,所述的抗肿瘤活性化合物为 20(S)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇、20(R)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇、20(S)-25-甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇、20(R)-25-甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇。

2. 按照权利要求 1 所述的人参二醇制备具有抗肿瘤活性化合物的方法,其特征在于:所述的人参二醇为植物总皂苷和单体皂苷通过酸碱水解或微生物及酶转化产生的人参二醇。

3. 按照权利要求 1 所述的人参二醇制备具有抗肿瘤活性化合物的方法,其特征在于:将人参二醇加有机溶剂于密闭容器中,溶解,加酸或碱,超声或微波反应;反应液中和后,乙酸乙酯萃取,得总反应产物经 200-300 目硅胶柱进行分离,流动相选择为石油醚:丙酮 10:1、5:1、3:1、1:1 梯度洗脱,得到抗肿瘤活性化合物。

4. 按照权利要求 3 所述的人参二醇制备具有抗肿瘤活性化合物的方法,其特征在于:所述的酸为路易斯酸,酸浓度为 1%~98%,酸解温度为 20~100 $^{\circ}$ C;所述的碱为路易斯碱,碱浓度为 1%~50%,碱解温度为 20~300 $^{\circ}$ C。

5. 按照权利要求 4 所述的人参二醇制备具有抗肿瘤活性化合物的方法,其特征在于:所述的路易斯酸为质子酸,所述的路易斯碱为碱金属氢氧化物。

6. 按照权利要求 3 所述人参二醇制备具有抗肿瘤活性化合物的方法,其特征在于:所用有机溶剂为甲醇、乙醇、丙酮、丁醇、乙酸乙酯,人参二醇为有机溶剂的 1%~50%;反应在无氧、超声、回流、微波、闪式和搅拌的密闭容器中进行。

7. 按照权利要求 1 所述人参二醇制备具有抗肿瘤活性化合物的方法,其特征在于:在甲醇为溶剂的情况下,酸解所获得的抗肿瘤活性的化合物为 20(R)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇、20(R)-25-甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇。

8. 按照权利要求 1 所述人参二醇制备具有抗肿瘤活性化合物的方法,其特征在于:在甲醇为溶剂的情况下,碱解所获得的抗肿瘤活性的化合物为 20(S)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇、20(S)-25-甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇。

9. 按照权利要求 1 所述人参二醇制备具有抗肿瘤活性化合物的方法,其特征在于:在乙醇为溶剂的情况下,生成如下开环产物:20(S)和 20(R)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇。

人参二醇制备具有抗肿瘤活性化合物的方法

技术领域：

[0001] 本发明涉及医药技术领域，涉及人参二醇 (Panaxdiol, PD) 制备具有显著抗肿瘤活性化合物的方法，具体涉及人参二醇通过侧链开环产生抗肿瘤化合物的方法。

背景技术：

[0002] 研究证明 20(S) 和 20(R)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇、20(S) 和 20(R)-25-甲(或乙)氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇、20(S) 和 20(R)-20-甲(或乙)氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 25-三醇和 20(S) 和 20(R)-22, 25-二甲(或乙)氧基-达玛烷-3 β , 12 β -二醇具有显著的抗癌活性，可以抑制人的肿瘤细胞，包括：人乳腺癌、人小细胞肺癌、人胃癌、人结肠癌、人神经胶质瘤、人黑色素瘤、人宫颈癌、人肝癌、早幼粒白血病、肉瘤 S-180、肝癌腹水型、小鼠宫颈癌-14 及艾氏腹水癌等的生长与增殖，还能抑制前列腺移植瘤的生长，并增加肿瘤对放化疗的敏感性，诱导肿瘤细胞分化、凋亡，抑制肿瘤新生血管生成、抑制肿瘤的浸润和转移、增强机体免疫力和降低化疗药物毒副作用等抗肿瘤活性。

[0003] 现已证明，无论是体内还是体外 20(S) 和 20(R)-25-甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇均具有许多显著的抗癌作用。尤其对人前列腺癌细胞 LNCaP(雄激素依赖) 和 PC3(雄激素独立) 有作用，比人参皂苷 Rh2, 人参皂苷 Rg3 和原人参二醇更有效。20(S) 和 20(R)-25-甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇可以缩短癌细胞存活，抑制增值，诱导细胞凋亡，还可以阻止第一代细胞停止分裂，此外还可以抑制前列腺癌细胞的转移。相对于化学方法或辐射相比，20(S) 和 20(R)-25-甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇副作用很小，而且也不像紫杉醇和 2, 2-二氟脱氧胞嘧啶核苷毒性那么强，动物实验表明没有明显的毒性。

[0004] 20(S) 和 20(R)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇、20(S) 和 20(R)-25-甲(或乙)氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇、20(S) 和 20(R)-20-甲(或乙)氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 25-三醇和 20(S) 和 20(R)-22, 25-二甲(或乙)氧基-达玛烷-3 β , 12 β -二醇均是 PPD 型人参皂苷元，区别仅仅在于侧链的不同。比目前在国内广泛用于抗癌药物的人参皂苷 Rg3 对肿瘤的生长抑制活性高 10-100 倍。目前还没有如上化合物的相关制备方法，而且未发现通过人参二醇来制备如上化合物的方法。

发明内容：

[0005] 本发明的目的在于提供一种通过人参二醇水解转化制备抗肿瘤活性化合物的方法。

[0006] 本发明提供了人参二醇的开环方法，以及具有显著抗肿瘤活性的 20(S) 和 20(R)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇、20(S) 和 20(R)-25-甲(或乙)氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇、20(S) 和 20(R)-20-甲(或乙)氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 25-三醇和 20(S) 和 20(R)-22, 25-二甲(或乙)氧基-达玛烷-3 β , 12 β -二醇的制备方法。

[0007] 本发明是通过如下技术方案实现的：

[0008] 人参二醇加有机溶剂于密闭容器中，溶解，加酸或碱，超声或微波反应；反应液中

和后,乙酸乙酯萃取,得总反应产物经硅胶(200-300目)柱进行分离,流动相选择为石油醚:丙酮梯度洗脱(10:1,5:1,3:1,1:1),得到20(S)和20(R)-达玛烷-3 β ,12 β ,20,25-四醇、20(S)和20(R)-25-甲(或乙)氧基-达玛烷-3 β ,12 β ,20-三醇、20(S)和20(R)-20-甲(或乙)氧基-达玛烷-3 β ,12 β ,25-三醇和20(S)和20(R)-22,25-二甲(或乙)氧基-达玛烷-3 β ,12 β -二醇。

[0009] 本发明提供的方法中,所用的原料为人参二醇和可通过酸碱水解或微生物及酶转化产生人参二醇的植物总皂苷和单体皂苷。

[0010] 本发明提供的方法中,原料的开环反应包括酸解和碱解。

[0011] 本发明提供的方法中,酸解所用的酸为质子酸或路易斯酸(如盐酸、硫酸、硝酸、BF₃、AlCl₃、SnCl₄、FeCl₃、ZnCl₂等);酸解在有机溶剂(如甲醇、乙醇(无水)、丙酮、丁醇、乙酸乙酯等)中进行;原料量为有机溶剂的1%~50%;酸浓度为1%~98%,酸解温度为20~100℃;酸解在无氧、超声、回流、搅拌的密闭容器中进行。

[0012] 本发明提供的方法中,碱解所用的碱为路易斯碱或碱金属氢氧化物(如氢氧化钠、氢氧化钾、路易斯碱);碱解在有机溶剂(如甲醇、无水乙醇、丙酮、乙酸乙酯等)中进行;原料量为有机溶剂的1%~50%;碱浓度为1~50%左右,碱解温度为20~100℃;碱解在无氧、超声、回流、微波、闪式和搅拌的密闭容器中进行。

[0013] 本发明提供的方法中,人参二醇侧链开环产物中,甲醇为溶剂酸解产物中具有显著的抗肿瘤活性的化合物为20(R)-达玛烷-3 β ,12 β ,20,25-四醇、20(R)-25-甲氧基-达玛烷-3 β ,12 β ,20-三醇、20(R)-20-甲氧基-达玛烷-3 β ,12 β ,25-三醇和20(R)-22,25-二甲氧基-达玛烷-3 β ,12 β -二醇。

[0014] 本发明提供的方法中,人参二醇侧链开环产物中,甲醇为溶剂碱解产物中具有显著的抗肿瘤活性的化合物为20(S)-达玛烷-3 β ,12 β ,20,25-四醇、20(S)-25-甲氧基-达玛烷-3 β ,12 β ,20-三醇、20(S)-20-甲氧基-达玛烷-3 β ,12 β ,25-三醇和20(S)-22,25-二甲氧基-达玛烷-3 β ,12 β -二醇。

[0015] 本发明简便易行,条件温和,产物易于分离纯化且收率较好。

具体实施方式:

[0016] 实施例1:

[0017] 人参二醇(5g)加250ml甲醇于可密闭容器中,超声溶解,加入250ml(1%-37%)HCL,20-60℃超声反应0.5-2小时。水解产物于HPLC分析,PD转化率 \geq 85%。反应液中和后,乙酸乙酯萃取,得总反应产物经硅胶(200-300目)柱进行分离,流动相选择为石油醚:丙酮梯度洗脱(10:1,5:1,3:1,1:1),得到20(R)-达玛烷-3 β ,12 β ,20,25-四醇(1.3g)、20(R)-25-甲氧基-达玛烷-3 β ,12 β ,20-三醇(1.6g)、20(R)-20-甲氧基-达玛烷-3 β ,12 β ,25-三醇(0.5g)和20(R)-22,25-二甲氧基-达玛烷-3 β ,12 β -二醇(0.3g)。

[0018] 实施例2:

[0019] 人参二醇(5g)加250ml甲醇于可密闭容器中,超声溶解,加入250ml(1%-37%)HCL,20-50℃微波反应0.5-2小时。水解产物于HPLC分析,PD转化率 \geq 85%。反应液中和后,乙酸乙酯萃取,得总反应产物经硅胶(200-300目)柱进行分离,流动相选择为石油醚:

丙酮梯度洗脱 (10 : 1.5 : 1.3 : 1.1 : 1), 得到 20(R)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇 (1.0g)、20(R)-25-甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇 (1.1g)、20(R)-20-甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 25-三醇 (0.7g) 和 20(R)-22, 25-二甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β -二醇 (0.2g)。

[0020] 实施例 3:

[0021] 人参二醇 (5g) 加 250ml 甲醇于可密闭容器中, 超声溶解, 加入 250ml (1-30%) NaOH, 20-60 $^{\circ}$ C 超声反应 0.5-2 小时。水解产物于 HPLC 分析, PD 转化率 \geq 80%。反应液中和后, 乙酸乙酯萃取, 得总反应产物经硅胶 (200-300 目) 柱进行分离, 流动相选择为石油醚: 丙酮梯度洗脱 (10 : 1.5 : 1.3 : 1.1 : 1), 得到 20(S)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇 (0.8g)、20(S)-25-甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇 (1.0g)、20(S)-20-甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 25-三醇 (0.1g) 和 20(S)-22, 25-二甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β -二醇 (0.1g)。

[0022] 实施例 4:

[0023] 人参二醇 (5g) 加 250ml 甲醇于可密闭容器中, 加热溶解, 加入 250ml (1-30%) NaOH, 20-50 $^{\circ}$ C 微波反应 0.5-2 小时。水解产物于 HPLC 分析, PD 转化率 \geq 78%。反应液中和后, 乙酸乙酯萃取, 得总反应产物经硅胶 (200-300 目) 柱进行分离, 流动相选择为石油醚: 丙酮梯度洗脱 (10 : 1.5 : 1.3 : 1.1 : 1), 得到 20(S)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇 (0.6g)、20(S)-25-甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇 (0.8g)、20(S)-20-甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 25-三醇 (0.1g) 和 20(S)-22, 25-二甲氧基-达玛烷-3 β , 12 β -二醇 (0.2g)。

[0024] 实施例 5:

[0025] 人参二醇 (5g) 加 200ml 无水乙醇于可密闭容器中, 超声溶解, 加入 250ml (1% -37%) HCL, 20-60 $^{\circ}$ C 超声反应 0.5-2 小时。水解产物于 HPLC 分析, PD 转化率 \geq 75%。反应液中和后, 乙酸乙酯萃取, 得总反应产物经硅胶 (200-300 目) 柱进行分离, 流动相选择为石油醚: 丙酮梯度洗脱 (10 : 1.5 : 1.3 : 1.1 : 1), 得到 20(R)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇 (0.6g)、20(R)-25-乙氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇 (0.7g)、20(R)-20-乙氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 25-三醇 (0.2g) 和 20(R)-22, 25-二乙氧基-达玛烷-3 β , 12 β -二醇 (0.2g)。

[0026] 实施例 6:

[0027] 人参二醇 (5g) 加 200ml 无水乙醇于可密闭容器中, 超声溶解, 加入 250ml (1% -37%) HCL, 20-50 $^{\circ}$ C 微波反应 0.5-2 小时。水解产物于 HPLC 分析, PD 转化率 \geq 80%。反应液中和后, 乙酸乙酯萃取, 得总反应产物经硅胶 (200-300 目) 柱进行分离, 流动相选择为石油醚: 丙酮梯度洗脱 (10 : 1.5 : 1.3 : 1.1 : 1), 得到 20(R)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇 (0.6g)、20(R)-25-乙氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇 (0.7g)、20(R)-20-乙氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 25-三醇 (0.2g) 和 20(R)-22, 25-二乙氧基-达玛烷-3 β , 12 β -二醇 (0.1g)。

[0028] 实施例 7:

[0029] 人参二醇 (5g) 加 200ml 无水乙醇于可密闭容器中, 超声溶解, 加入 250ml (1-30%) NaOH, 20-60 $^{\circ}$ C 超声反应 0.5-2 小时。。水解产物于 HPLC 分析, PD 转化率 \geq 80%。反应液

中和后, 乙酸乙酯萃取, 得总反应产物经硅胶 (200-300 目) 柱进行分离, 流动相选择为石油醚: 丙酮梯度洗脱 (10 : 1.5 : 1.3 : 1.1 : 1), 得到 20(S)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇 (0.6g)、20(S)-25-乙氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇 (0.5g)、20(S)-20-乙氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 25-三醇 (0.1g) 和 20(S)-22, 25-二乙氧基-达玛烷-3 β , 12 β -二醇 (0.1g)。

[0030] 实施例 8:

[0031] 人参二醇 (5g) 加 200ml 无水乙醇于可密闭容器中, 加热溶解, 加入 250ml (1-30%) NaOH, 20-50 $^{\circ}$ C 微波反应 0.5-2 小时。水解产物于 HPLC 分析, PD 转化率 \geq 75%。反应液中和后, 乙酸乙酯萃取, 得总反应产物经硅胶 (200-300 目) 柱进行分离, 流动相选择为石油醚: 丙酮梯度洗脱 (10 : 1.5 : 1.3 : 1.1 : 1), 得到 20(S)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇 (0.3g)、20(S)-25-乙氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 20-三醇 (0.4g)、20(S)-20-乙氧基-达玛烷-3 β , 12 β , 25-三醇 (0.1g) 和 20(S)-22, 25-二乙氧基-达玛烷-3 β , 12 β -二醇 (0.1g)。