



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114249783 B

(45) 授权公告日 2023.09.01

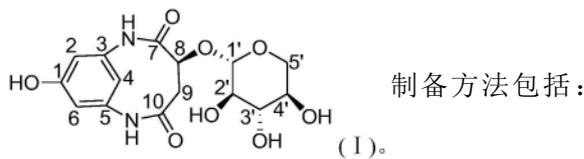
(21) 申请号 202111562554.7  
 (22) 申请日 2021.12.20  
 (65) 同一申请的已公布的文献号  
 申请公布号 CN 114249783 A  
 (43) 申请公布日 2022.03.29  
 (73) 专利权人 北京东方红航天生物技术股份有限公司  
 地址 101499 北京市怀柔区北房镇经纬工业开发区  
 (72) 发明人 于金倩 王岱杰 赵恒强 王晓耿岩玲  
 (74) 专利代理机构 济南圣达知识产权代理有限公司 37221  
 专利代理师 张晓鹏

(51) Int.Cl.  
 C07H 17/02 (2006.01)  
 C07H 1/08 (2006.01)  
 A61K 31/7052 (2006.01)  
 A61P 35/00 (2006.01)  
 (56) 对比文件  
 CN 104098632 A, 2014.10.15  
 CN 101032535 A, 2007.09.12  
 US 2003148962 A1, 2003.08.07  
 尚金燕等. 西洋参的药理作用研究进展. 人参研究. 2016, 49-51.  
 审查员 吴宏霞

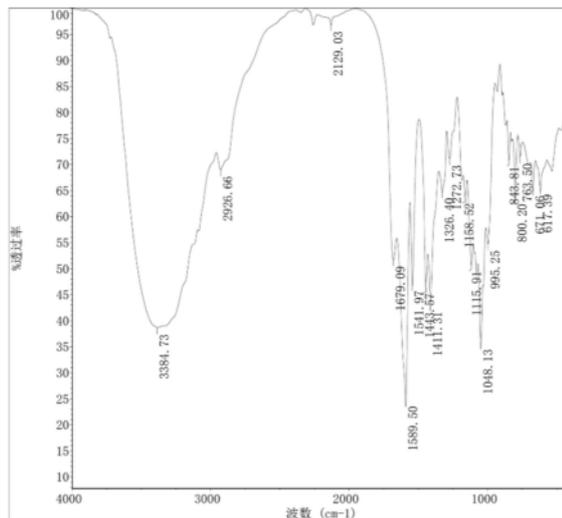
权利要求书2页 说明书6页 附图6页

(54) 发明名称  
 一种苯基丁二酰胺苷类化合物及其制备方法和应用

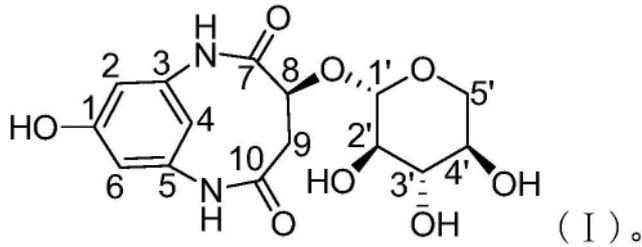
(57) 摘要  
 本发明涉及一种苯基丁二酰胺苷类化合物及其制备方法和应用。其具有式I所示结构：



将西洋参茎叶粉碎后利用含水有机提取剂回流提取，然后提取物依次利用树脂柱色谱、MCI中压柱色谱、RP-C<sub>18</sub>中压柱色谱进行洗脱，然后利用乙晴和水进行制备得到化合物I，该化合物具有显著的抗结肠癌活性。



1. 一种苯基丁二酰胺苷类化合物,其特征在于:其具有式I所示结构:



2. 权利要求1所述的苯基丁二酰胺苷类化合物的制备方法,其特征在于:化合物I提取自西洋参。

3. 权利要求2所述的制备方法,其特征在于:化合物I提取自西洋参茎叶。

4. 如权利要求3所述的制备方法,其特征在于:将西洋参茎叶粉碎后利用含水有机提取剂回流提取,然后提取物依次利用树脂柱色谱、MCI中压柱色谱、RP-C18中压柱色谱进行洗脱,然后利用乙腈和水进行制备得到化合物I。

5. 如权利要求4所述的制备方法,其特征在于:所述化合物I的制备方法包括:

- 1) 西洋参茎叶粉碎后利用含水有机提取剂回流提取,得到西洋参茎叶粗提物;
- 2) 西洋参茎叶粗提物用水溶解,然后通过树脂柱色谱进行洗脱,得到各洗脱部分;
- 3) 将步骤2)洗脱部分利用MCI中压柱色谱进行梯度洗脱得到洗脱部分、浓缩;
- 4) 然后将步骤3)浓缩后的物质利用RP-C18中压柱色谱进行梯度洗脱得到洗脱部分;
- 5) 将步骤4)洗脱部分采用乙腈和水进行制备得到化合物I。

6. 如权利要求5所述的制备方法,其特征在于:步骤1)中含水有机溶剂为70%的乙醇溶液,提取的固液比为1:1,时间分别为2h,2h,1h,然后浓缩得到西洋参茎叶粗提物。

7. 如权利要求5所述的制备方法,其特征在于:步骤2)中树脂柱色谱为D101大孔树脂柱。

8. 如权利要求5所述的制备方法,其特征在于:步骤2)中树脂柱色谱依次采用20%、40%、60%及90%乙醇水梯度洗脱。

9. 如权利要求8所述的制备方法,其特征在于:步骤3)中将步骤2)20%乙醇-水洗脱的部分利用MCI中压柱色谱进行洗脱。

10. 如权利要求5所述的制备方法,其特征在于:步骤3)中MCI中压柱色谱采用甲醇-水体系进行梯度洗脱。

11. 如权利要求10所述的制备方法,其特征在于:步骤3)中的梯度洗脱依次采用5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、100%的体系进行梯度洗脱。

12. 如权利要求11所述的制备方法,其特征在于:步骤4)中将步骤3)中30%甲醇-水的洗脱部分,利用RP-C18中压柱色谱进行分离。

13. 如权利要求12所述的制备方法,其特征在于:步骤4)中RP-C18中压柱色谱采用甲醇-水体系进行梯度洗脱。

14. 如权利要求13所述的制备方法,其特征在于:步骤4)中依次采用5%、10%、15%、25%、30%、40%、60%进行梯度洗脱。

15. 如权利要求14所述的制备方法,其特征在于:步骤5)中将步骤4)中的25%甲醇-水洗脱部分采用乙腈和水进行制备;采用乙腈和水进行制备的过程中,流速为3mL min<sup>-1</sup>,检测

波长为254nm。

## 一种苯基丁二酰胺苷类化合物及其制备方法和应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,具体涉及一种苯基丁二酰胺苷类化合物及其制备方法和应用。

### 背景技术

[0002] 公开该背景技术部分的信息仅仅旨在增加对本发明的总体背景的理解,而不必然被视为承认或以任何形式暗示该信息构成已经成为本领域一般技术人员所公知的现有技术。

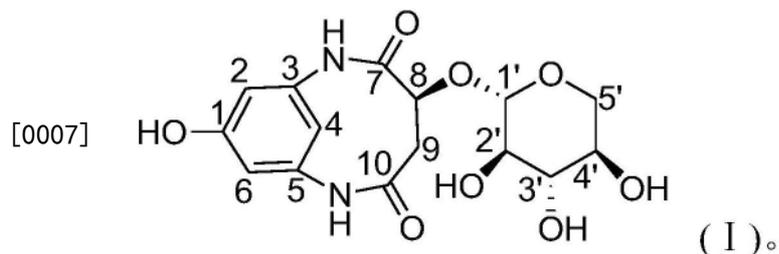
[0003] 西洋参一般以其地下部分为主要应用的部分,根部具有提高人体抵抗力的作用,现有的一些西洋参的研究多是针对西洋参的根部,从西洋参的根部中提取人参皂苷等成分。西洋参茎叶为五加科植物西洋参(*Panax quinquefolium* L.)的干燥茎叶,具有增强免疫功能、抗肿瘤、增强心脑血管供血不足、降血脂、抗炎、抗氧化等药理学作用。当发明人发现,现阶段对西洋参茎叶的研究较少。

### 发明内容

[0004] 针对上述现有技术中存在的问题,本发明的目的是提供一种苯基丁二酰胺苷类化合物及其制备方法和应用。

[0005] 为了解决以上技术问题,本发明的技术方案为:

[0006] 第一方面,提供一种苯基丁二酰胺苷类化合物,其具有式I所示结构:



[0008] 化合物I为(8S)-2-O-β-D-xylopyranosyl-N,N'-(5-hydroxy-1,3-phenylene)succinamide。

[0009] 第二方面,提供上述式I所示化合物的制备方法,其中上述化合物I提取自西洋参,优选提取自西洋参茎叶。

[0010] 在本发明的一些实施方式中,所述化合物I的制备方法包括:将西洋参茎叶粉碎后利用含水有机提取剂回流提取,然后提取物依次利用树脂柱色谱、MCI中压柱色谱、RP-C<sub>18</sub>中压柱色谱进行洗脱,然后利用乙晴和水进行制备得到化合物I。

[0011] 在本发明的一些实施方式中,所述化合物I的制备方法包括:

[0012] 1) 西洋参茎叶粉碎后利用含水有机提取剂回流提取,得到西洋参茎叶粗提物;

[0013] 2) 西洋参茎叶粗提物用水溶解,然后通过树脂柱色谱进行洗脱,得到各洗脱部分;

[0014] 3) 将步骤2)洗脱部分利用MCI中压柱色谱进行梯度洗脱得到洗脱部分、浓缩;

[0015] 4) 然后将步骤3) 浓缩后的物质利用RP-C<sub>18</sub>中压柱色谱进行梯度洗脱得到洗脱部分;

[0016] 5) 将步骤4) 洗脱部分采用乙晴和水进行制备得到化合物I。

[0017] 在本发明的一些实施方式中, 步骤1) 中含水有机溶剂为70%的乙醇溶液, 提取的固液比为1:1, 时间分别为2h, 2h, 1h, 然后浓缩得到西洋参茎叶粗提物。

[0018] 在本发明的一些实施方式中, 步骤2) 中大孔树脂为D101大孔树脂柱; 在一种实施方式中, 树脂柱色谱采用依次采用20%、40%、60%及90%乙醇-水梯度洗脱。所述乙醇浓度为体积浓度。

[0019] 在本发明的一些实施方式中, 步骤3) 中将步骤2) 20%乙醇-水洗脱的部分利用MCI中压柱色谱进行洗脱; 在一种实施方式中, MCI中压柱色谱采用甲醇-水体系进行梯度洗脱; 进一步, 依次采用5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、100%的体系进行梯度洗脱。

[0020] 在本发明的一些实施方式中, 步骤4) 中将步骤3) 中30%甲醇-水的洗脱部分, 利用RP-C<sub>18</sub>中压柱色谱进行分离; 在一种实施方式中, RP-C<sub>18</sub>中压柱色谱采用甲醇-水体系进行梯度洗脱; 进一步, 依次采用5%、10%、15%、25%、30%、40%、60%进行梯度洗脱。

[0021] 在本发明的一些实施方式中, 步骤5) 中将步骤4) 中的25%甲醇-水洗脱部分采用乙晴和水进行制备; 进一步, 采用乙晴和水进行制备的过程中, 流速为3mL min<sup>-1</sup>, 检测波长为254nm。

[0022] 第三方面, 提供一种组合物或药物制剂, 组合物或药物制剂包含本发明上述第一方面中所述的式I所示化合物或其药学上可接受的盐, 或者包含本发明上述第一方面中所述的式I所示化合物的西洋参茎叶提取物或浓缩液, 以及可以包含至少一种药学上可接受的辅料或载体。

[0023] 本发明所述的组合物或药物制剂通常安全、无毒且为生物学上所需要的。

[0024] 本发明的药物组合物或药物制剂本领域技术人员可根据实际情况有选择的以下述任意方式进行给药, 包括口服、喷雾、局部给药、鼻腔给药、皮下静脉注射、阴道给药、直肠给药等给药方式。

[0025] 在本发明的一些实施方式中, 给药剂型为液体剂型或固体剂型, 液体剂型可为真溶液类、胶体类、微粒剂型、乳剂剂型、混悬剂型。其它剂型例如片剂、胶囊丸剂、颗粒剂、贴剂、栓剂等。

[0026] 在本发明的一些实施方式中, 本发明的药物组合物或药物制剂中辅料可以包括活性组分、赋形剂、粘合剂、崩解剂、防腐剂、缓冲剂等中的一种或多种。

[0027] 在本发明的一些实施方式中, 所述组合物或药物自己通过还可以包括载体, 载体包括氧化铝、甘油、卵磷脂、纤维素物质、人血清蛋白等。

[0028] 第四方面, 本发明提供上述第一方面中所述的式I所示化合物或其药学上可接受的盐或者包含本发明上述第一方面中所述的式I所示化合物的西洋参茎叶提取物或浓缩液, 或者上述第三方面提出的组合物或药物制剂在制备抗癌药物中的应用;

[0029] 进一步, 式I所示化合物或其药学上可接受的盐或者包含本发明上述第一方面中所述的式I所示化合物的西洋参茎叶提取物或浓缩液, 或者上述第三方面提出的组合物或药物制剂在制备抗结肠癌药物中的应用。

[0030] 本发明一个或多个技术方案具有以下有益效果:

[0031] 本发明通过对西洋参茎叶中的化学成分进行研究,发现了一种新的苯基丁二酰胺昔类化合物,该化合物的丁二酰胺的N-N分别与苯环1,3位相连成环状,且在丁二酰胺的2位连有一个木糖,该化合物具有显著的抗结肠癌活性。

### 附图说明

[0032] 构成本发明的一部分的说明书附图用来提供对本申请的进一步理解,本发明的示意性实施例及其说明用于解释本发明,并不构成对本发明的不当限定。

[0033] 图1为(8S)-2-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-N,N'-(5-hydroxy-1,3-phenylene)succinamide的IR图谱;

[0034] 图2为(8S)-2-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-N,N'-(5-hydroxy-1,3-phenylene)succinamide的<sup>1</sup>H NMR图谱;

[0035] 图3为(8S)-2-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-N,N'-(5-hydroxy-1,3-phenylene)succinamide的<sup>13</sup>C NMR图谱;

[0036] 图4为(8S)-2-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-N,N'-(5-hydroxy-1,3-phenylene)succinamide的HMQC图谱;

[0037] 图5为(8S)-2-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-N,N'-(5-hydroxy-1,3-phenylene)succinamide的HMBC图谱;

[0038] 图6为(8S)-2-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-N,N'-(5-hydroxy-1,3-phenylene)succinamide的NOESY图谱;

[0039] 图7为(8S)-2-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-N,N'-(5-hydroxy-1,3-phenylene)succinamide的HRESIMS图谱。

### 具体实施方式

[0040] 应该指出,以下详细说明都是例示性的,旨在对本发明提供进一步的说明。除非另有指明,本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属技术领域的普通技术人员通常理解的含义。

[0041] 需要注意的是,这里所使用的术语仅是为了描述具体实施方式,而非意图限制根据本申请的示例性实施方式。如在这里所使用的,除非上下文另外明确指出,否则单数形式也意图包括复数形式,此外,还应当理解的是,当在本说明书中使用术语“包含”和/或“包括”时,其指明存在特征、步骤、操作、器件、组件和/或它们的组合。

[0042] 下面结合实施例对本发明进一步说明

[0043] 实施例1

[0044] 式I所示化合物的制备方法,步骤如下:

[0045] 1)取西洋参茎叶20kg,晒干后,粉碎,70%乙醇加热回流提取3次,提取的固液比为1:1,时间分别为2h,2h,1h。将提取液抽滤合并,浓缩至无醇味,得西洋参茎叶乙醇提取物2.1kg。

[0046] 2)将西洋参茎叶粗提物用水溶解后通过D101大孔树脂柱色谱依次采用水、20%、40%、60%及90%乙醇-水梯度洗脱,将各洗脱部分合并后减压浓缩至干。

[0047] 3)将所得到的20%乙醇-水洗脱部分(150g)用20%甲醇-水溶解,利用MCI中压柱

色谱进行分离,采用甲醇-水体系(5%→10%→20%→30%→40%→50%→60%→100%)进行梯度洗脱,每5000ml作为一个单位接收,浓缩得各馏分;

[0048] 4)将所得到的30%甲醇-水洗脱部分(5g)利用RP-C<sub>18</sub>中压柱色谱进行分离,采用甲醇-水体系(5%→10%→15%→25%→30%→40%→60%)进行梯度洗脱,每500ml作为一个单位接收,浓缩得各馏分;

[0049] 5)将所得到的25%甲醇-水洗脱部分(280mg)采用CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O(18:82, v/v)进行制备(流速:3mL min<sup>-1</sup>;检测波长:254nm),得到新化合物(8S)-2-O-β-D-xylopyranosyl-N,N'-(5-hydroxy-1,3-phenylene)succinamide(20mg)。

[0050] 结构鉴定:对分离得到的单体成分应用Agilent 5973N质谱仪和Burker 400MHz核磁共振波谱仪分别进行MS,NMR谱的测定(具体见附图1-7),所得核磁数据见表1,鉴定该新化合物的结构。

[0051] (8S)-2-O-β-D-xylopyranosyl-N,N'-(5-hydroxy-1,3-phenylene)succinamide:白色粉末;[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>:2.399(c=0.667,H<sub>2</sub>O);HR-ESI-MS:m/z 353.1971[M-H]<sup>-</sup>(理论值:354.1063,C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>)(具体见附图7),确定其分子式为:C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>,不饱和度为8。红外光谱在3384cm<sup>-1</sup>处有吸收表明存在羟基或氨基官能团,1679cm<sup>-1</sup>处的吸收表明存在羰基官能团,1589cm<sup>-1</sup>、1541cm<sup>-1</sup>处的吸收表明存在苯环官能团(具体见附图1)。

[0052] <sup>1</sup>H-NMR谱在低场区存在1个酚羟基信号δ<sub>H</sub>10.95(OH-1),3个苯环氢信号δ<sub>H</sub>7.65(1H,s,H-2)、δ<sub>H</sub>7.65(1H,s,H-6)、δ<sub>H</sub>7.19(1H,s,H-4),1个糖端基氢信号δ<sub>H</sub>4.28(1H,d,J=7.6Hz,H-1') (具体见附图2)。<sup>13</sup>C-NMR谱显示存在15个碳信号,包括2个酰胺羰基碳信号δ<sub>C</sub>175.0(C-7)和δ<sub>C</sub>170.8(C-10),3个季碳信号δ<sub>C</sub>142.3(C-1)、δ<sub>C</sub>134.4(C-3)、δ<sub>C</sub>134.4(C-5),8个CH信号(包括3个苯环烯碳信号δ<sub>C</sub>122.3(C-4)、δ<sub>C</sub>117.6(C-2)、δ<sub>C</sub>117.6(C-6),5个CH信号(包括1个δ<sub>C</sub>73.7(C-8)和4个连氧CH信号δ<sub>C</sub>101.8(C-1')、δ<sub>C</sub>76.9(C-3')、δ<sub>C</sub>72.5(C-2')、δ<sub>C</sub>69.9(C-4')),2个CH<sub>2</sub>信号(包括δ<sub>C</sub>41.6(C-9)和1个连氧CH<sub>2</sub>信号δ<sub>C</sub>66.5(C-5'))(具体见附图3)。通过<sup>1</sup>H-NMR和<sup>13</sup>C-NMR谱确定1个苯环、2个酰胺、1个糖官能团,其不饱和度共计7,表明该化合物还含有1个环或1个双键结构。通过二维谱图进一步确定其结构。在HMBC谱中,δ<sub>H</sub>10.95(OH-1)与δ<sub>C</sub>117.6(C-2)、δ<sub>C</sub>117.6(C-6)相关,δ<sub>H</sub>7.65(H-2)与δ<sub>C</sub>142.3(C-1)、δ<sub>C</sub>134.4(C-3)、δ<sub>C</sub>122.3(C-4)、δ<sub>C</sub>117.6(C-6)相关,δ<sub>H</sub>7.19(H-4)与δ<sub>C</sub>117.6(C-2)、δ<sub>C</sub>117.6(C-6)、δ<sub>C</sub>134.4(C-3)、δ<sub>C</sub>134.4(C-5)相关,δ<sub>H</sub>7.65(H-6)与δ<sub>C</sub>117.6(C-2)、δ<sub>C</sub>122.3(C-4)相关,δ<sub>H</sub>4.34(H-8)与δ<sub>C</sub>175.0(C-7)、δ<sub>C</sub>41.6(C-9)、δ<sub>C</sub>170.8(C-10)、δ<sub>C</sub>101.8(C-1')相关,δ<sub>H</sub>4.28(H-1')与δ<sub>C</sub>73.7(C-8)相关,δ<sub>H</sub>3.04(H-5')与δ<sub>C</sub>101.8(C-1')相关,δ<sub>H</sub>2.86(H-9)与δ<sub>C</sub>175.0(C-7)、δ<sub>C</sub>73.7(C-8)、δ<sub>C</sub>170.8(C-10)相关,δ<sub>H</sub>2.62(H-9)与δ<sub>C</sub>170.8(C-10)相关(具体见附图5),以及C-3和C-5位化学位移,确定化合物2的苷元结构为N,N'-(5-hydroxy-1,3-phenylene)succinamide。将化合物进行酸水解,经HPLC检测并与标准品进行比较确定化合物2含有一个D-xylose,进一步通过端基氢耦合常数J=7.6Hz,确定糖结构为β-D-xylose。通过HMBC谱中,H-8与C-1'的相关信号,H-1'与C-8的相关信号,确定糖结构连接与苷元的C-8位。进一步通过NOESY谱未检测到H-8与H-1'的相关信号,表明C-8为立体构型为S(具体见附图6)。最终,化合物2的结构确定为(8S)-2-O-β-D-xylopyranosyl-N,N'-(5-hydroxy-1,3-phenylene)succinamide。

[0053] 表1新化合物的<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)和<sup>13</sup>C NMR数据(100MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)

	位置	$\delta_{\text{H}}$ (ppm, 400 MHz, DMSO- $d_6$ )	$\delta_{\text{C}}$ (ppm, 100 MHz, DMSO- $d_6$ )
	1		142.3
	2,6	7.65(2H,s)	117.6
[0054]	3,5		134.4
	4	7.19(1H,s)	122.3
	7		175.0
	8	4.34 (1H,t, $J=6.4\text{Hz}$ )	73.7
	9	2.62(1H, dd, $J=6.0, 15.2$ Hz)	41.6
		2.86(1H, m)	
	10		170.8
	1'	4.28 (1H,d, $J=7.6\text{Hz}$ )	101.8
[0055]	2'	3.05(1H,m)	72.5
	3'	3.26(1H,m)	76.9
	4'	3.11(1H,m)	69.9
	5'	3.63(1H,m)	66.5
		3.04(1H,m)	
	OH-1	10.95(1H, s)	

[0056] 药理学实验:

[0057] 1、细胞的培养

[0058] HCT116细胞株的培养条件为高糖DMEM培养液,10%胎牛血清。放于5%CO<sub>2</sub>,37℃的细胞培养箱中培养。

[0059] 2、样品的配制

[0060] 精密称取各样品,用DMSO溶解配成浓度为90mmol/L的母液,储存于-20℃。使用无血清的高糖DMEM培养液将样品的母液分别稀释成90μmol/L、60μmol/L、30μmol/L、15μmol/L、7.5μmol/L、3.75μmol/L备用。

[0061] 3、MTT实验

[0062] 调整细胞浓度至 $1.0 \times 10^4$ /mL左右,96孔板中每孔加入100μL细胞液,培养箱中孵育24h后,取出,将细胞液吸出,加入上述各浓度样品溶液每孔100μL,每个浓度3个复孔,空白组加等体积的培养基,培养箱中孵育24h后,取出,每孔加入10μLMTT,培养箱中孵育4h后,即可进行检测。将上清液吸出,加入100μL DMSO,振荡均匀后,于酶标仪570nm处测得OD值。

[0063] 细胞抑制率(%) =  $(1 - OD_{\text{实验}} / OD_{\text{空白}}) \times 100\%$

[0064] 4、实验结果

[0065] (8S)-2-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-N,N'-(5-hydroxy-1,3-phenylene)succinamide 对HCT116细胞株活性的影响见表3。

[0066] 表3 (8S)-2-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-N,N'-(5-hydroxy-1,3-phenylene)succinamide对HCT116细胞株活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

分组 ( $\mu\text{M}$ )	化合物	
	OD 值	抑制率 (%)
0	0.5234 $\pm$ 0.02	
3.75	0.3595 $\pm$ 0.05	31.3
7.5	0.2684 $\pm$ 0.02	48.7
15	0.2587 $\pm$ 0.01	50.6
30	0.2282 $\pm$ 0.05	56.4
60	0.2001 $\pm$ 0.02	61.8
90	0.1643 $\pm$ 0.05	68.6
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )	12.11	

[0068] 结论:从图中数据可以看知,式I所示化合物(8S)-2-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-N,N'-(5-hydroxy-1,3-phenylene)succinamide对HCT116细胞具有明显的细胞毒活性,其IC<sub>50</sub>分别为12.11 $\mu\text{M}$ 。

[0069] 以上所述仅为本发明的优选实施例而已,并不用于限制本发明,对于本领域的技术人员来说,本发明可以有各种更改和变化。凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

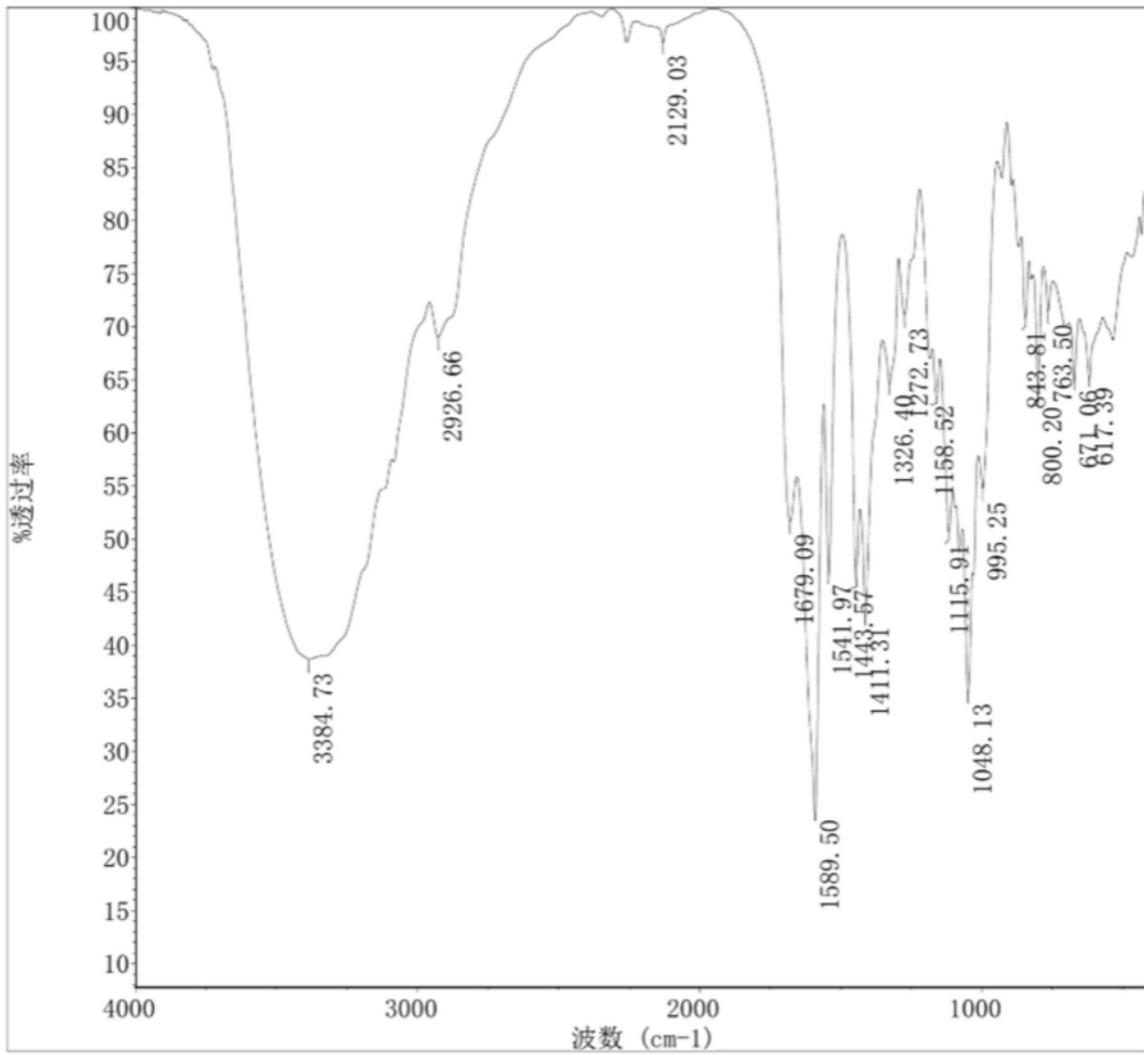


图1

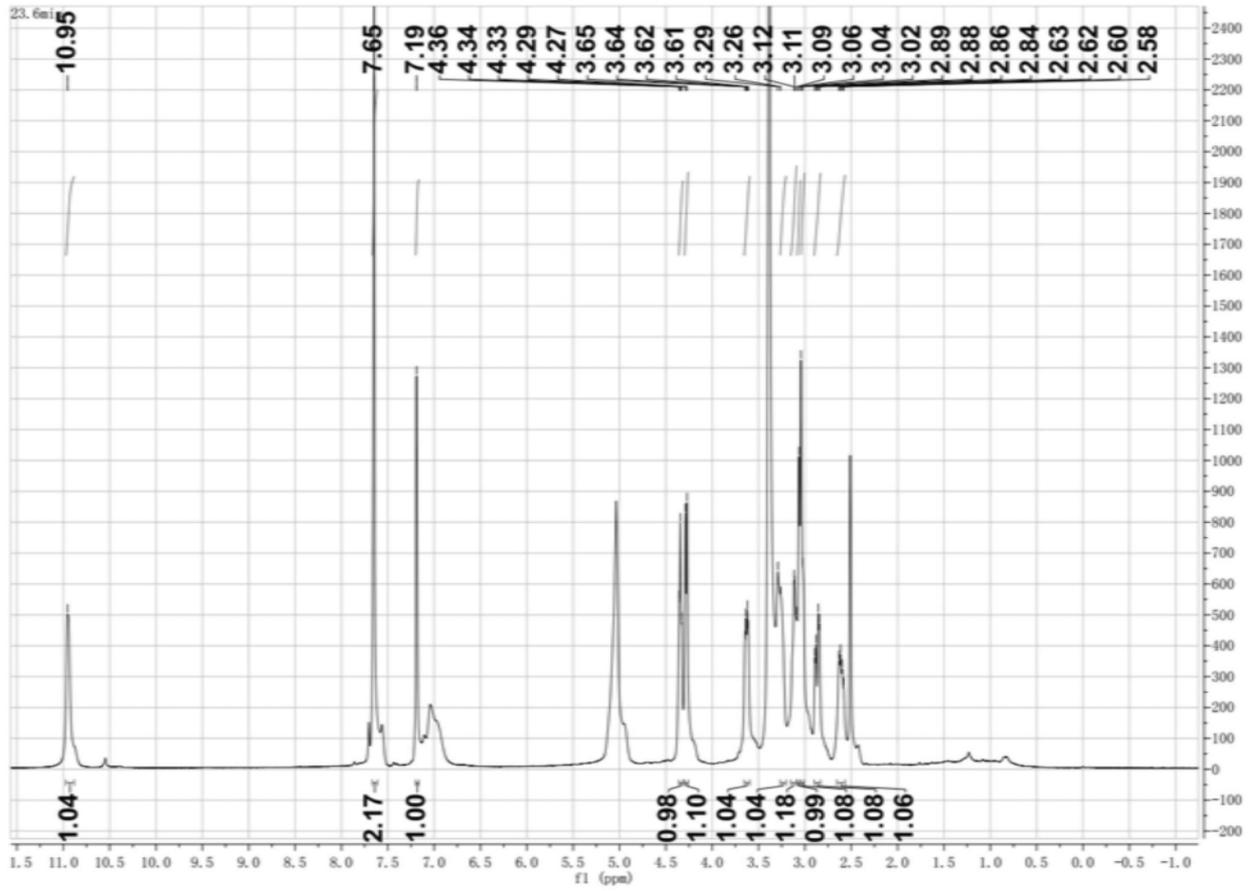


图2

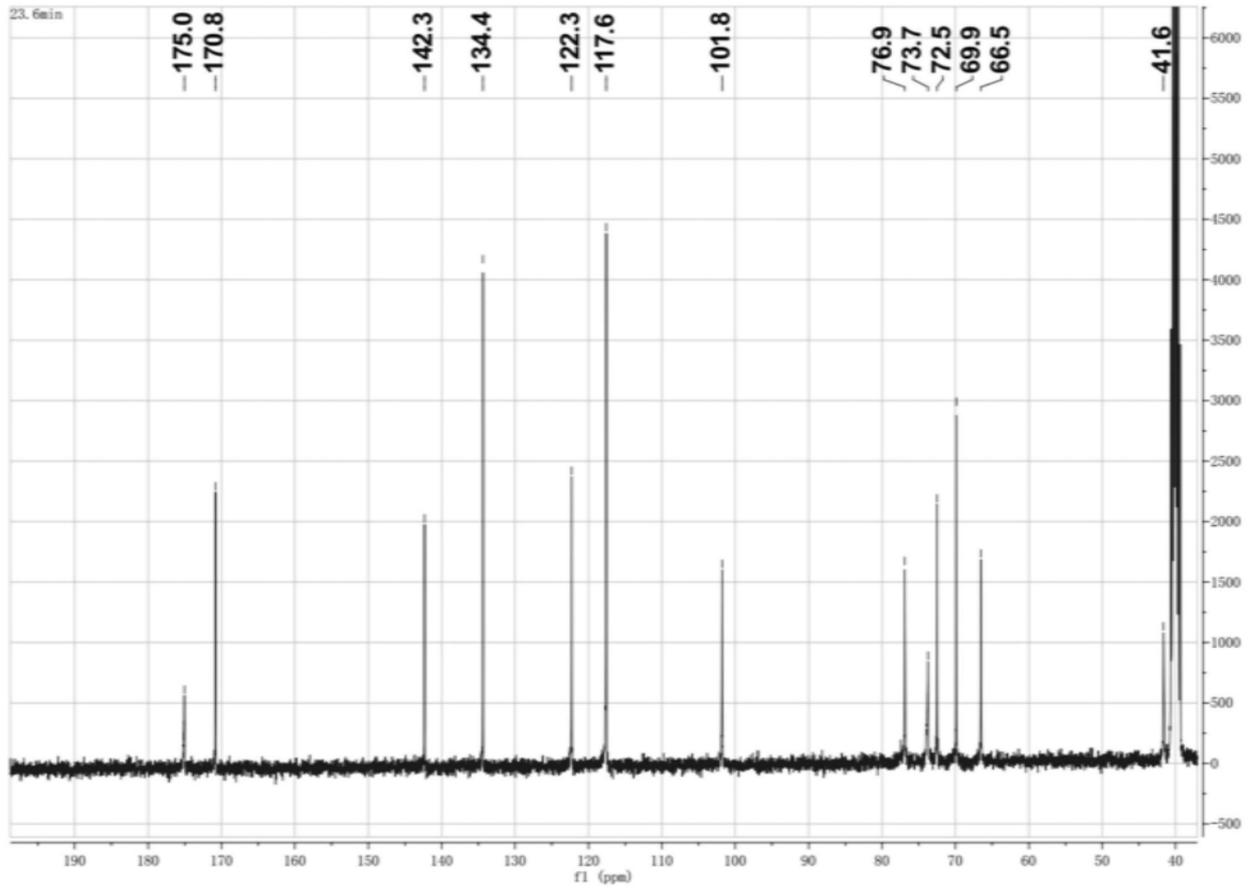


图3

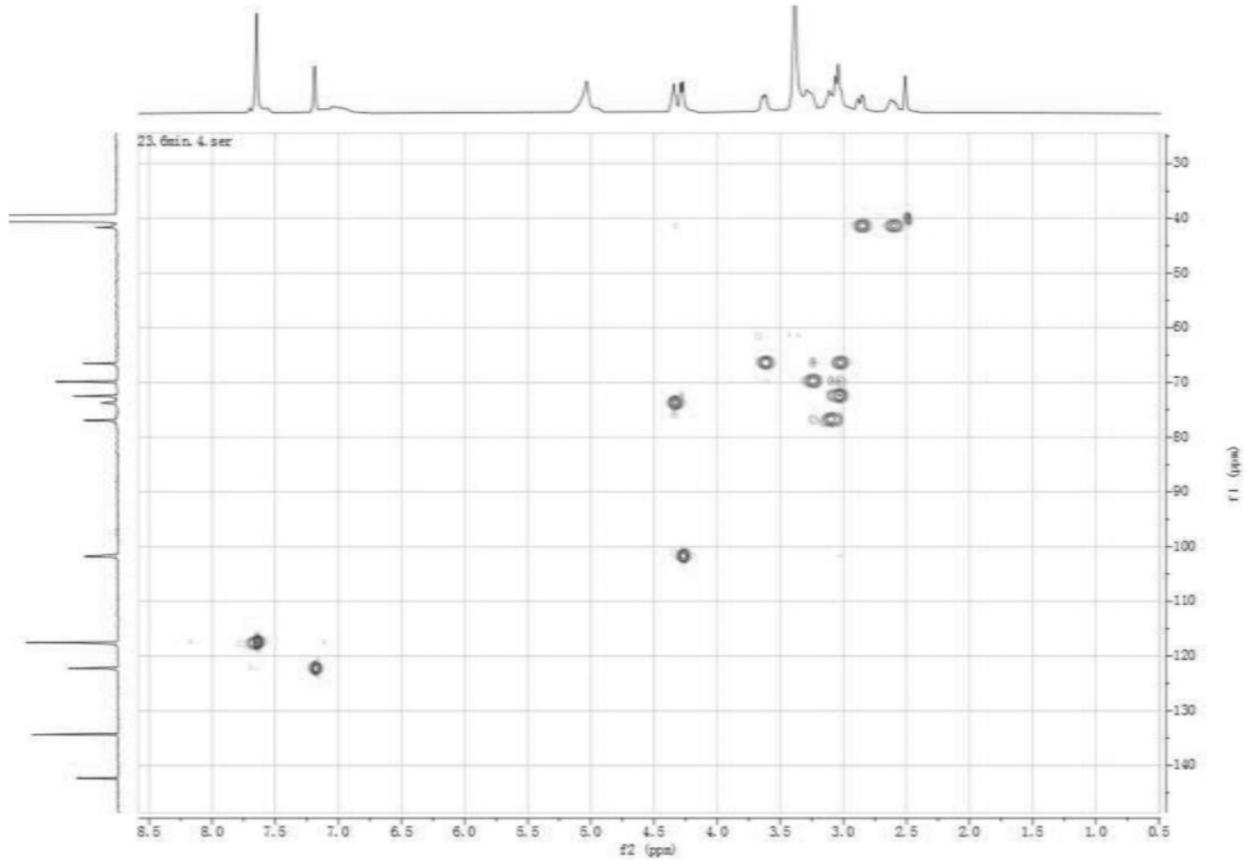


图4

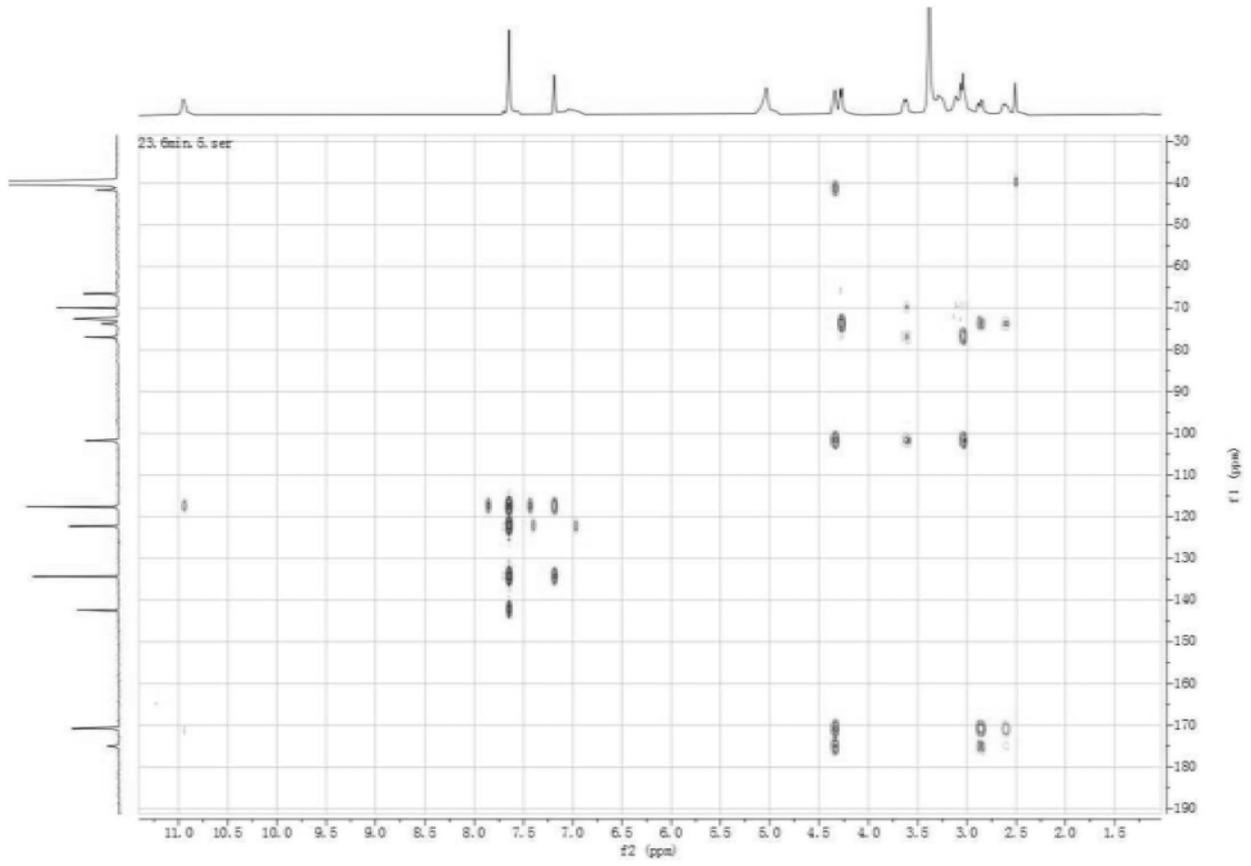


图5

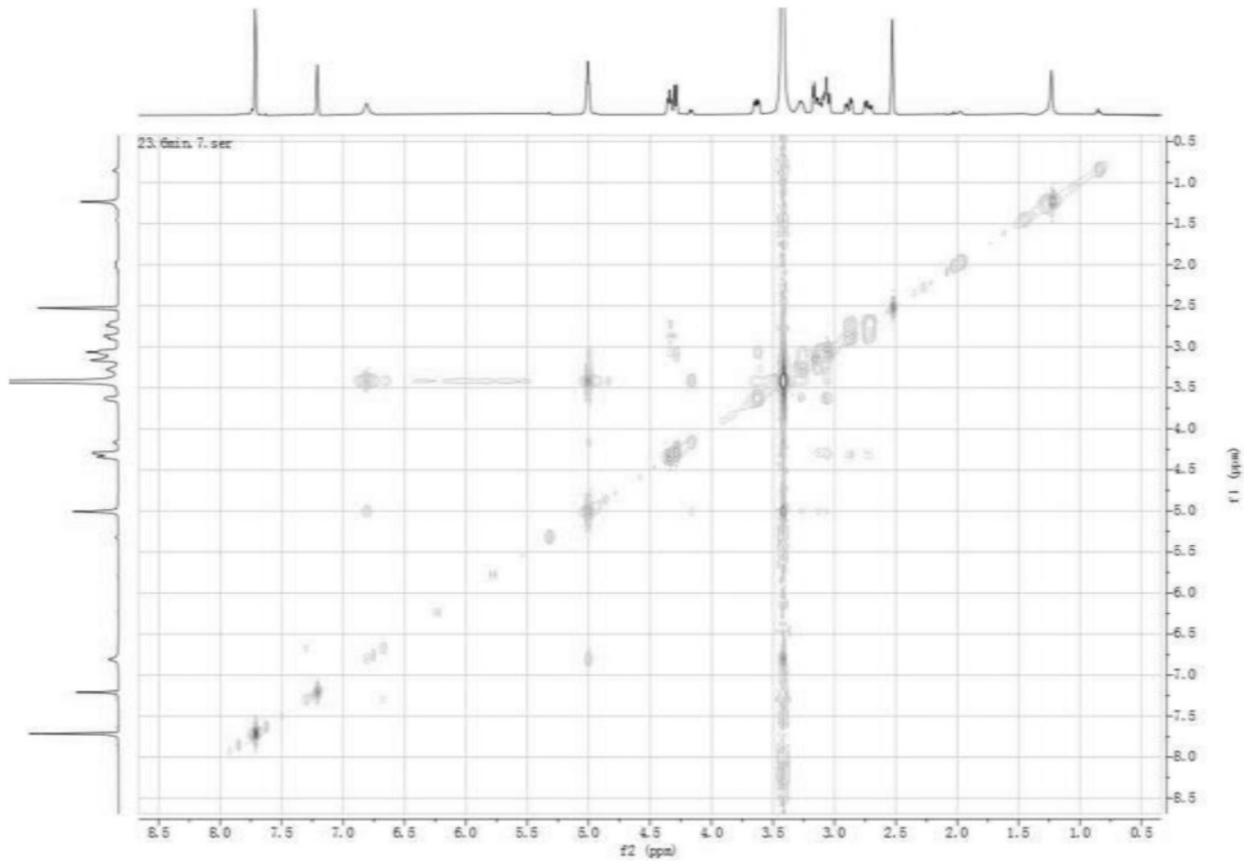


图6

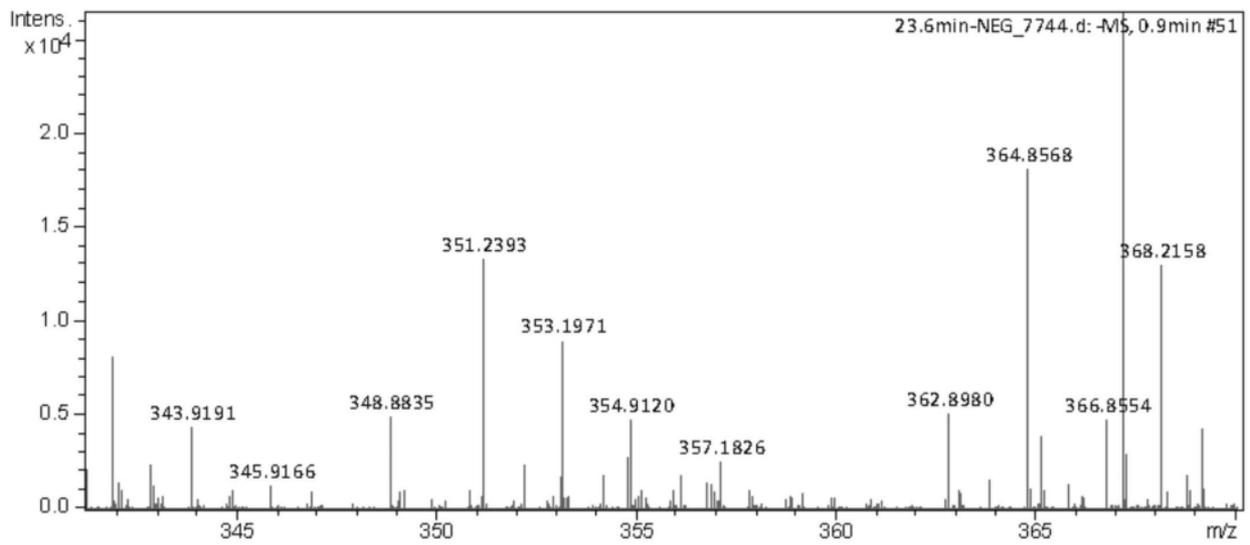


图7