



(21)申請案號：109133304

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 09 月 25 日

(51)Int. Cl.：

C07C39/19 (2006.01)

C07C51/00 (2006.01)

A61K31/192 (2006.01)

(71)申請人：國璽幹細胞應用技術股份有限公司 (中華民國) GWO XI STEM CELL APPLIED TECHNOLOGY CO., LTD. (TW)

新竹縣竹北市生醫路二段 22 號 3 樓

(72)發明人：莊明熙 CHUANG, MING-HSI (TW)；莊淋翔 CHUANG, LIN HSIANG (TW)；呂明軒 LU, MING HSUAN (TW)；沈文鵬 SHEN, WEN PENG (TW)；林芸甄 (TW)；莊季璇 CHUANG, CHI HSUAN (TW)

(74)代理人：何秋遠

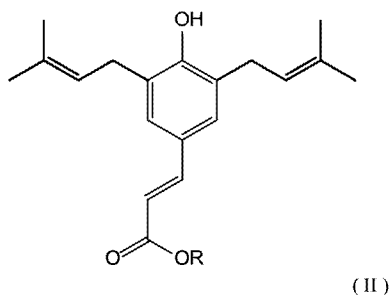
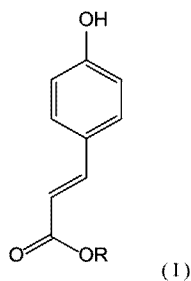
申請實體審查：有 申請專利範圍項數：10 項 圖式數：1 共 17 頁

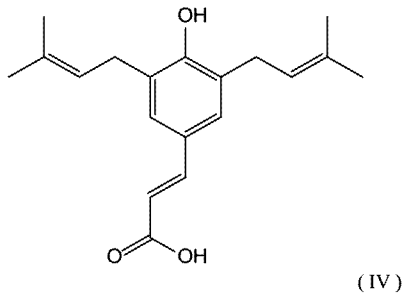
(54)名稱

阿特比靈 C(Artepillin C)以及其中間體化合物之合成方法

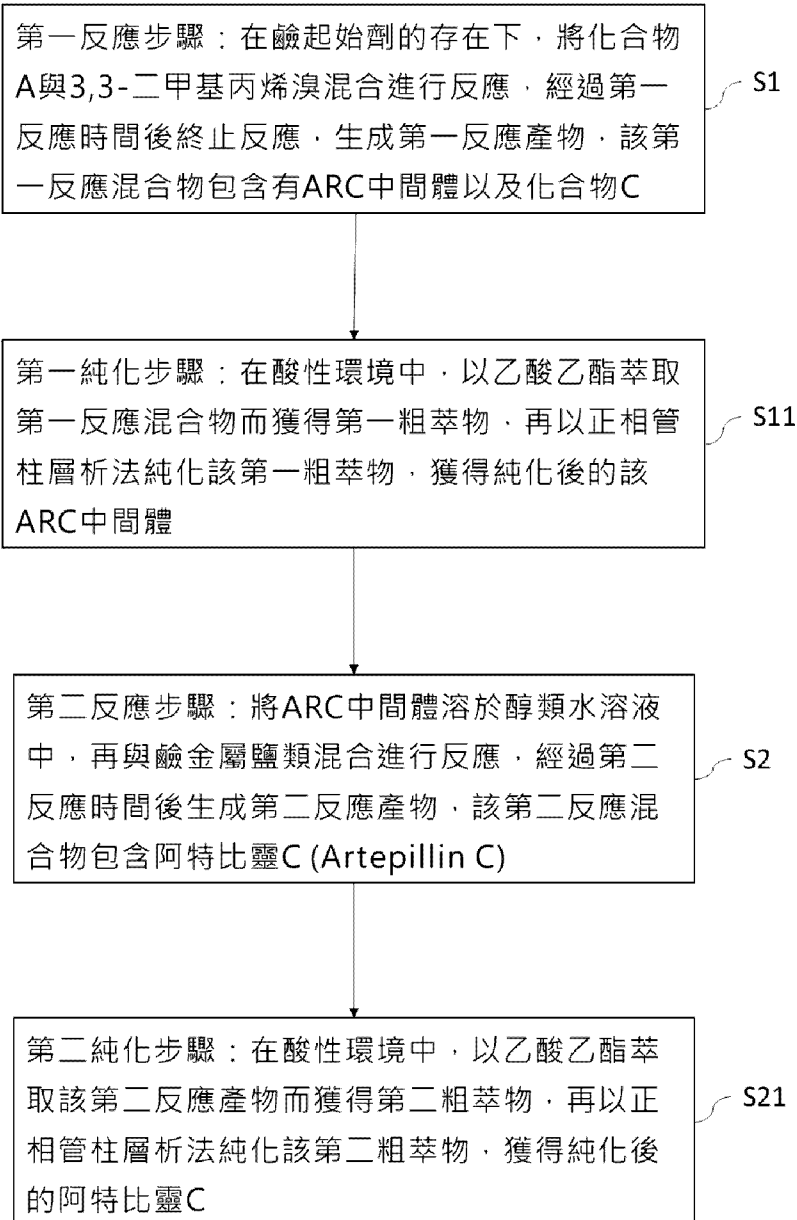
(57)摘要

本發明是關於一種阿特比靈 C(Artepillin C, ARC)之合成方法以及一種可供製備阿特比靈 C(Artepillin C)之中間體化合物的合成方法，其中阿特比靈 C 之結構式如下式(IV)所示，以及該中間體化合物如下式(II)所示。該合成方法包含以下步驟：第一反應步驟：在鹼起始劑的存在下，將如式 I 所示的化合物 A 與 3,3-二甲基丙烯溴混合進行反應，經過第一反應時間後終止反應，生成如式 II 所示的 ARC 中間體；第二反應步驟：將該 ARC 中間體溶於醇類水溶液中，再與鹼金屬鹽類混合進行反應，經過第二反應時間後生成阿特比靈 C (Artepillin C)。





指定代表圖：

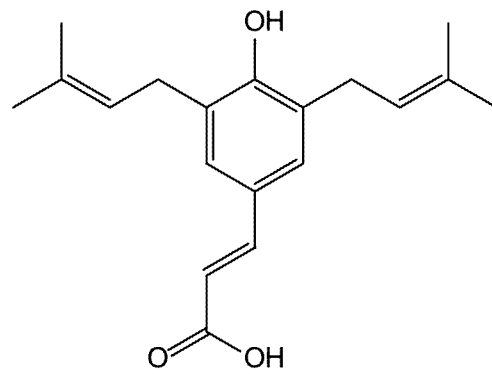


符號簡單說明：

S1、S11、S2、S21:  
步驟

【圖1】

特徵化學式：

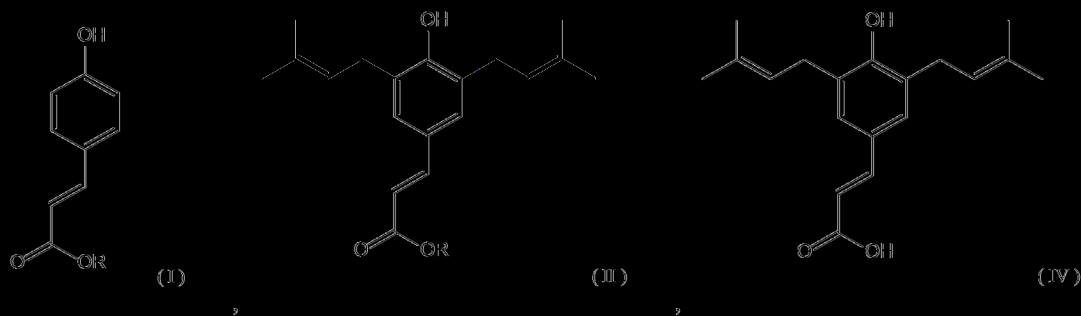


(IV)

# 〔發明摘要〕

〔中文發明名稱〕 阿特比靈C(Artepillin C)以及其中間體化合物之合成方法

〔中文〕 本發明是關於一種阿特比靈C(Artepillin C，ARC)之合成方法以及一種可供製備阿特比靈C(Artepillin C)之中間體化合物的合成方法，其中阿特比靈C之結構式如下式(IV)所示，以及該中間體化合物如下式(III)所示。該合成方法包含以下步驟：第一反應步驟：在鹼起始劑的存在下，將如式(I)所示的化合物A與3,3-二甲基丙烯溴混合進行反應，經過第一反應時間後終止反應，生成如式(II)所示的ARC中間體；第二反應步驟：將該ARC中間體溶於醇類水溶液中，再與鹼金屬鹽類混合進行反應，經過第二反應時間後生成阿特比靈C (Artepillin C)。



〔指定代表圖〕 圖1

〔代表圖之符號簡單說明〕

S1、S11、S2、S2.1：步驟



## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 阿特比靈C(Artepillin C)以及其中間體化合物之合成方法

### 【技術領域】

【0001】 本發明涉及藥物的製備方法，特別是關於阿特比靈C(Artepillin C)之合成方法、以及其中間體的合成方法。

### 【先前技術】

【0002】 蜂膠具有抗氧化、抗癌等多種功效，目前已有許多研究與論文發現或證實，蜂膠可有效縮小腫瘤、殺死癌細胞、抑制惡性腫瘤增大和轉移、減輕化療不良反應、提高抗癌免疫力，及改善纖維化等效果，這是因為蜂膠中含有類黃酮、阿特比靈C (Artepillin C)、酵素及有機酸等成分，具有抑制及殺滅不良癌細胞作用的功能。

【0003】 阿特比靈C(Artepillin C)為巴西蜂膠特有的活性成分。近年來，在蜂膠的研究中說明了阿特比靈C在癌細胞及神經修復的作用，其不僅具有抑制癌細胞增生、爬行及促進癌細胞凋亡之作用，也具有抗氧化及幫助神經突觸生長的作用，因阿特比靈C對於癌症醫學及神經再生領域被認為是未來發展成藥的候選成分。

【0004】 從巴西蜂膠中萃取阿特比靈C之方法已發展多年，例如歐洲專利EP0976399B1，是將浸泡粉碎蜂膠塊的乙醇，甘油和/或水的步驟中得到可用的蜂膠萃取物，再用陰離子交換樹脂處理萃取物中的類黃酮類與阿特比靈C成分；然而，此方法之有機溶劑處理去除蜂膠中蠟質成分之過程，會造成阿特比靈C與類黃酮成分之嚴重損失。另外，中國申請專利

CN1108057A則是將蜂膠置於甘油中浸泡、加熱、攪拌並進行熱過濾，製備出一種水溶性蜂膠，但該方法並無法去除蜂膠中蠟質成分，且助溶劑會大大地降低蜂膠中之阿特比靈C與類黃酮成分的純度，無法有效發揮蜂膠之機能功效，可知習知但利用萃取獲得阿特比靈C之方法皆存在純度無法提升之問題。再者，隨著巴西蜂膠的出口量逐年下降，利用萃取從巴西蜂膠中獲得Artepillin C 之作法的難度也隨之提升。

【0005】 因此，業界開始透過全合成之方式製備蜂膠中活性成分阿特比靈C，藉以克服純度不足以及蜂膠原料逐年下降的問題，也更易於品質管控。然而，現行合成阿特比靈C製程具有起始劑價格高昂、反應溶劑毒性高、步驟繁瑣、以及反應耗時且最終產率低等問題，僅適用於毫克層級的量，難以大量生產並應用於商業銷售。

【0006】 因此，各界莫不亟待能夠開發出一種新的合成方法，能夠克服上述問題，並且能夠有利於大量生產。

#### 【發明內容】

【0007】 因而，有鑑於此，本發明人乃對於上述習用技術之問題點潛心檢討各種可能的解決方案，經由大量的分析試驗研究後，進而發現一種新穎的阿特比靈C(Artepillin C)之合成方法，可以有效地解決案有技術存在的問題和缺點，不但簡化了合成步驟，更能夠大量生產應用於商業銷售之中。

【0008】 意即，本發明之目的在於提供一種阿特比靈C(Artepillin C，ARC)之合成方法，其係包含以下步驟：第一反應步驟：在鹼起始劑的存在下，將如式I所示的化合物A與3,3-二甲基丙烯溴混合進行反應，經過第一







**【圖式簡單說明】****【0015】**

圖1為顯示本發明之合成方法的步驟流程圖。

**【實施方式】**

**【0016】** 為了使本發明的目的、技術特徵及優點，能更為相關技術領域人員所瞭解，並得以實施本發明，在此配合所附的圖式、具體闡明本發明的技術特徵與實施方式，並列舉較佳實施例進步說明。以下文中所對照的圖式，為表達與本發明特徵有關的示意，並未亦不需要依據實際情形完整繪製。

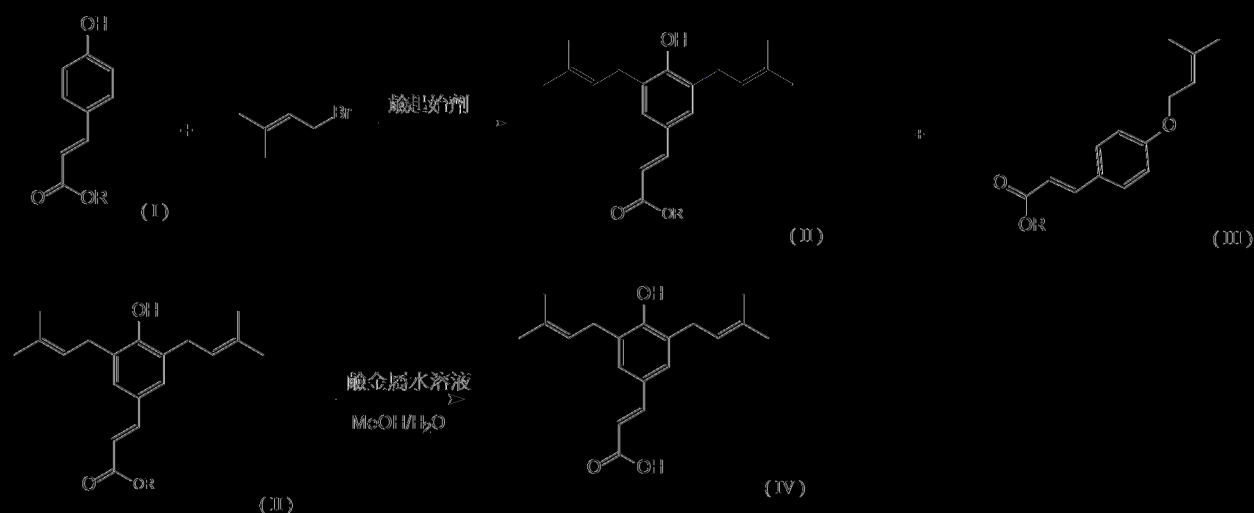
**【0017】** 本文所用單數形式「一」、「一個」及「該」亦包含複數形式，除非上下文清楚地指示其他情況。再者應瞭解，當用於此說明書時，術語「包括」及/或「包含」指定存在所述特徵、元件及/或單元，但是不排除存在或附加一或多個其他特徵、元件及/或單元，合先敘明。又，在以下配合參考圖式之各實施例的詳細說明中，將可清楚呈現，以下實施例所提到的方向用語，例如：「上」、「下」、「左」、「右」、「前」、「後」等，僅是參考附加圖示的方向。因此，使用的方向用語是用來說明，而非用來限制本發明。

**【0018】** 雖然用以界定本發明較廣範圍的數值範圍與參數皆是約略的數值，此處已儘可能精確地呈現具體實施例中的相關數值。然而，任何數值本質上不可避免地含有因個別測試方法所致的標準偏差。在此處，「約」通常係指實際數值在一特定數值或範圍的正負10%、5%、1%或0.5%之內。或者是，「約」一詞代表實際數值落在平均值的可接受標準誤差之內，視

本發明所屬技術領域中具有通常知識者的考量而定。除了實驗例之外，或除非另有明確的說明，當可理解此處所用的所有範圍、數量、數值與百分比(例如用以描述材料用量、時間長短、溫度、操作條件、數量比例及其他相似者)均經過「約」的修飾。因此，除非另有相反的說明，本說明書與附隨申請專利範圍所揭示的數值參數皆為約略的數值，且可視需求而更動。至少應將這些數值參數理解為所指出的有效位數與套用一般進位法所得到的數值。

〔0019〕 為了使本揭示內容的敘述更加詳盡與完備，下文針對本發明實施態樣與具體實施例提出說明性的描述；但這並非實施或運用本發明具體實施例的唯一形式。實施方式中涵蓋了多個具體實施例的特徵以及用以建構與操作這些具體實施例的方法步驟與其順序。然而，亦可利用其他具體實施例來達成相同或均等的功能與步驟順序。

〔0020〕 首先，配合圖1及以下反應流程說明本發明之合成方法：



〔0021〕 如同1所示，本發明之合成方法包含有以下步驟：

〔0022〕 第一反應步驟S1：在鹼起始劑的存在下，將如式I所示的化合物A與3,3-二甲基丙烯溴混合進行反應，經過第一反應時間後終止反應，

生成第一反應產物，該第一反應產物包含有如式II所示的ARC中間體以及如式III所示的化合物C。

【0023】 第二反應步驟S2：將ARC中間體溶於醇類水溶液中，再與鹼金屬鹽類混合進行反應，經過第二反應時間後生成第二反應產物，該第二反應產物包含有如式IV所示的阿特比靈C (Artepillin C)。

【0024】 根據本發明的技術思想，在式I及式II中，R為具有1到6個碳原子的支鏈或直鏈烷基(C1-6烷基)，舉例來說，可以是選自甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、正己基所構成之群組中之任一種；較佳可以是選自甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基所構成之群組中之任一種；更加可以是選自甲基、乙基、正丙基所構成之群組中之任一種；最佳為甲基、乙基。另外，該鹼起始劑一般為氫化鈉(NaH)。

【0025】 在該第一反應步驟中，該化合物A相對於3,3-二甲基丙烯溴的莫耳數比為在1：0.5~1：2.5之間，較佳為在1：1~1：2.5之間；更佳為在1：1.5~1：2.5之間；最佳莫耳數比為1：2；以及該化合物A相對於該鹼起始劑的莫耳數比為在1：0.5~1：2.5之間，較佳為在1：1~1：2.5之間；更佳為在1：1.5~1：2之間；最佳莫耳數比為1：2。另外，該第一反應步驟是在有機溶劑中進行，該有機溶劑可以是選自甲苯(Toluene)、二甲基甲醯胺(DMF)、四氫呋喃(THF)、或二甲基亞砜(DMSO)中之任一種。再者，為了避免鹼起始劑與空氣發生反應，該第一反應步驟較佳是在冰浴環境中進行。

【0026】 承上，第一反應時間取決於反應物是否完全反應完畢，可利用薄層層析法(TLC)進行確認；在本發明之實施例中，該第一反應時間一般為在72小時至120小時之間；較佳為在72小時至110小時之間；更佳為在72小時至100小時之間；最佳為在72小時至90小時之間，若反應時間過長會使

得ARC中間體降解成化合物C，導致作為第二反應步驟的反應物之ARC中間體的產量降低。

【0027】 根據本發明之創作思想，在該第一反應步驟之後還可以進一步包含有一第一純化步驟S11：在酸性環境中，將該第一反應產物以乙酸乙酯進行萃取而獲得第一粗萃物，再將該第一粗萃物以正相管柱層析法進行純化，獲得純化後的該ARC中間體(artepillin C methyl ester (3-(4-hydroxy-3,5-bis(3-methyl-2-butenyl)phenyl)acrylic acid methyl ester)。純化後的ARC中間體之產物收率為在35%以上，更佳為在40%以上；另外ARC中間體的純度為在95%以上，最佳為在98%以上。

【0028】 再者，在該第二反應步驟中，是將該ARC中間體溶解於醇類水溶液後再與鹼金屬鹽類水溶液混合進行反應獲得阿特比靈C。在本發明之實施例中，是將經過第一純化步驟純化後的ARC中間體溶解於醇類水溶液，ARC中間體在該醇類水溶液中的莫耳濃度為在0.5M~5.0M之間，較佳為在1.0M~4.0M之間；更佳為在2.0M~3.5M之間；最佳為在2.5M~3.0M之間；鹼金屬鹽類水溶液的莫耳濃度為在5M~10.0M之間，較佳為在5.5M~9.0M之間；更佳為在6.0M~7.0M之間；最佳為在6.0M~6.5M之間；以及該醇類水溶液相對於該鹼金屬鹽類水溶液體積比為在5: 1之間；較佳為在2.44: 1之間；更佳為在1.51:1之間；最佳為在1.12: 1之間。

【0029】 另外，根據本發明的創作思想，該醇類水溶液是濃度為50wt%的甲醇水溶液，但並不以此為限。

【0030】 與前述第一反應時間相同地，該第二反應時間取決於反應物是否完全反應完畢，可利用薄層層析法(TLC)進行確認；在本發明之實施例中，該第二反應時間一般為在8至20小時之間，較佳為在10至15小時之間，最佳為在12至15小時之間。

【0031】 根據本發明的創作思想，該第二反應步驟之後進一步包含有一第二純化步驟S21：在酸性環境中，將該第二反應混合物以乙酸乙酯進行萃取而獲得第二粗萃物，然後將該第二粗萃物以正相管柱層析法進行純化，獲得純化後的阿特比靈C，並且純化後的阿特比靈C的產物收率為在35%以上，較佳為在35~50%之間，更佳為在40~50%之間，另外阿特比靈C的純度為在95%以上，最佳為在98%以上。

【0032】 接著，以下以具體實施例來說明本發明。

#### 《實施例1》(第一反應步驟)

【0033】 首先，分別秤取9.0g(51.0mmol)的 4-羥基肉桂酸甲酯以及150ml的甲苯至三角燒瓶中，並以磁石攪拌器均勻攪拌使4-羥基肉桂酸甲酯完全溶解於甲苯中；接著將該三角燒瓶放置於冰浴中，緩慢加入4.4g(110.0mmol)的氫化鈉，同時持續攪拌至氫化鈉完全溶解後加入16.0g(107.0mmol)的 3,3-二甲基丙烯溴，然後對該三角燒瓶抽真空除氧並通入氬氣，在氬氣及冰浴環境中進行反應。

【0034】 反應經過72小時後，以TLC片(展開劑為正己烷：乙酸乙酯=10：1)確認反應起始物已完全反應完畢，將50ml的水緩慢倒入反應液中終止反應。接著，加入稀鹽酸，將反應液的pH值調整至1~5之間，再以250ml的乙酸乙酯進行萃取，取出有機層並將無水硫酸鎂加入該有機層中進行除水，再利用減壓濃縮機去除乙酸乙酯，獲得粗萃物。

【0035】 將粗萃物利用正相管柱層析法純化(固定相：矽膠；移動相：正己烷/乙酸乙酯，梯度為20：1至10：1)，得到ARC中間體(artepillin C methyl ester (3-(4-hydroxy-3,5-bis(3-methyl-2-butenyl)phenyl)acrylic acid methyl ester)，產物收率為45%)及副產物化合物C(產物收率為25%)，

並以核磁共振光譜儀確認ARC中間體(artepillin C methyl ester)及化合物C之結構及純度，ARC中間體的NMR光譜資料為：<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.60 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.17 (s, 2H), 6.28 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 5.66 (s, 1H), 5.31 (t, J = 6.83 Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.34 (d, J = 6.83 Hz, 4H), 1.79 (s, 6H), 1.77 ppm (s, 6H)；<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.5, 153.6, 143.6, 131.8, 128.0, 127.6, 127.0, 123.1, 115.1, 52.0, 28.5, 24.6, 18.6 ppm，純度為98%；化合物C的NMR光譜資料為：<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.65 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.90 (d, J= 8.8 Hz, 2H), 6.30 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 5.48 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 4.54 (d, J = 6.6 Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 1.80 (s, 3H), 1.75 ppm (s, 3H)；<sup>13</sup>C-NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 167.8, 160.7, 144.6, 138.7, 127.7, 127.0, 119.2, 115.2, 115.0, 64.9, 51.5, 25.8, 18.2 ppm，純度為98%。

#### 《實施例2》(第二反應步驟)

**【0036】** 將6.0g(20mmol) 的ARC中間體以及7.5ml的50vt%甲醇水溶液置於三角燒瓶中，並以磁石攪拌器均勻攪拌使ARC中間體完全溶解於甲醇水溶液中，接著加入7.5ml的6.0M的氫氧化鈉水溶液，於室溫環境中持續攪拌進行反應。反應經過12小時後，以TLC片(展開劑為正己烷：乙酸乙酯=5：1)確認反應起始物已完全反應完畢。

**【0037】** 接著，使用減壓濃縮機抽乾反應液中的甲醇，並使用稀鹽酸將反應液的pH值調整至1~5之間，再以100ml的乙酸乙酯進行萃取，取出有機層並加入無水硫酸鎂加入除水，再利用減壓濃縮機去除乙酸乙酯，獲得粗產物。

【0038】 將粗產物利用正相管柱層析法純化(固定相：矽膠；移動相：正己烷/乙酸乙酯，梯度為20：1至5：1)，得到阿特比靈C，在此階段所得的產物收率為90%，經換算後總產物收率約為40.5%)。並以核磁共振光譜儀確認阿特比靈C之結構及純度，阿特比靈C的NMR光譜資料為：<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.70 (d, J = 15.88 Hz, 1H), 7.20 (s, 2H), 6.29 (d, J = 15.84 Hz, 1H), 5.31 (m, 2H), 3.35 (d, J = 7.2 Hz, 4H), 1.78 ppm (d, J = 6.68 Hz, 12H)；<sup>13</sup>C-NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 172.8, 155.4, 147.4, 135.2, 128.4, 127.7, 126.4, 121.3, 114.1, 29.5, 25.8, 17.9 ppm，純度為98%。

【0039】 經由上述實施例可知，本發明提供了一種簡單且高效率的阿特比靈 C 的合成方法，解決了習知合成阿特比靈 C 製程具有起始劑價格高昂、反應溶劑毒性高、步驟繁瑣、以及反應耗時且最終產率低等問題，只需要兩個合成步驟既可，並且能夠放大量至公克層級反應，在短時間內獲得大量且高純度的阿特比靈 C。

【0040】 綜上所述，本發明之內容已以如上之實施例舉例說明了，然而本發明並非僅限定於此等實施方式而已。本發明所屬技術領域中具有通常知識者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可再進行各種之更動與修飾；例如，將前述實施例中所例示之各技術內容加以組合或變更而成為新的實施方式，此等實施方式亦當然視為本發明所屬內容之一。因此，本案所欲保護之範圍亦包括後述之申請專利範圍及其所界定之範圍。

## 【符號說明】

### 【0041】

S1、S11、S2、S21：步驟





在該第一反應步驟中，該化合物A相對於3,3-二甲基丙烯溴的莫耳數比為在1:0.5~1:2.5之範圍，並且反應是在甲苯、二甲基甲醯胺、四氫呋喃、或二甲基亞砷中進行，該第一反應時間為在72至120小時之間；以及

在該第二反應步驟中，該第二反應時間為在8至20小時之範圍。

**【請求項2】** 如請求項1之阿特比靈C(Artepillin C)之合成方法，其中該鹼起始劑為氫化鈉。

**【請求項3】** 如請求項1之阿特比靈C(Artepillin C)之合成方法，其中在該第一反應步驟之後進一步包含有一第一純化步驟：

在酸性環境中，以乙酸乙酯萃取該第一反應產物而獲得第一粗萃物，然後以正相管柱層析法純化該第一粗萃物，獲得純度為在95%以上的該ARC中間體。

**【請求項4】** 如請求項3之阿特比靈C(Artepillin C)之合成方法，其中純化後之該ARC中間體的產物收率為在35%以上。

**【請求項5】** 如請求項1之阿特比靈C(Artepillin C)之合成方法，其中在該第二反應步驟之後進一步包含有一第二純化步驟：

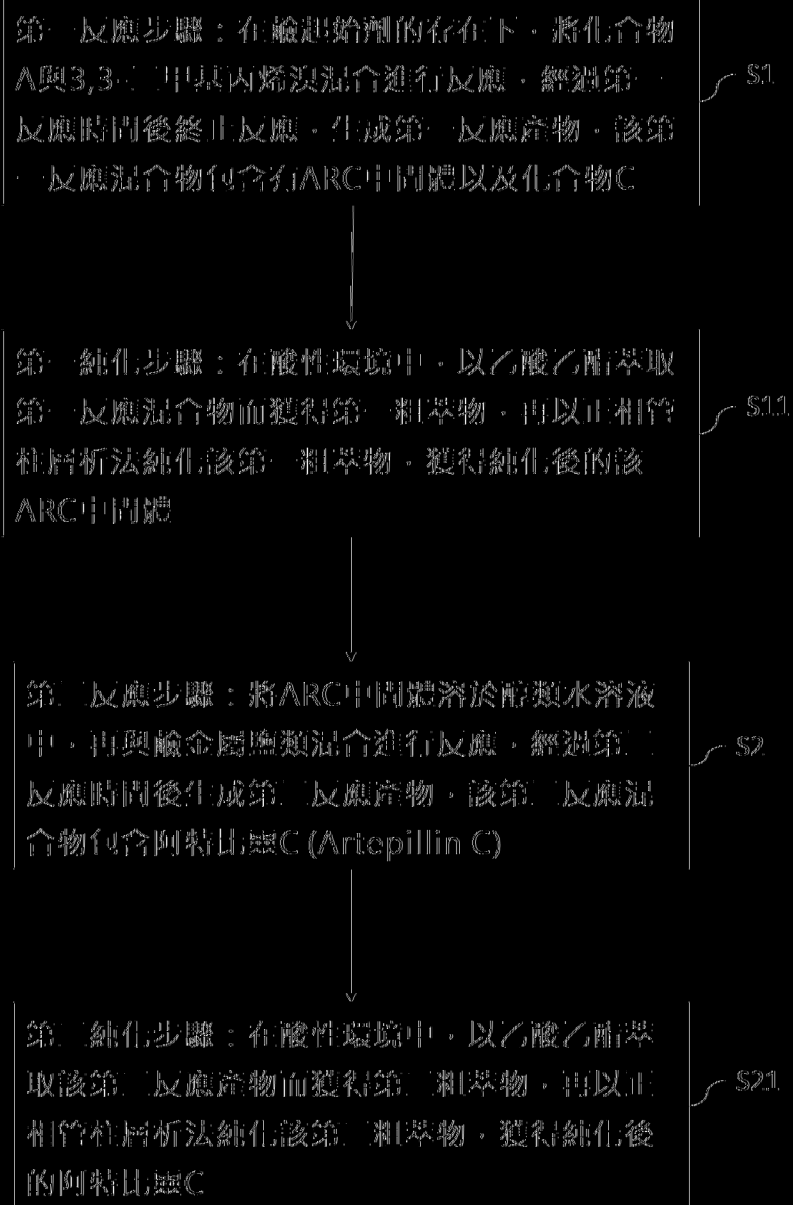
在酸性環境中，以乙酸乙酯萃取該第二反應產物而獲得第二粗萃物，然後以正相管柱層析法純化該第二粗萃物，獲得純度為在95%以上的阿特比靈C。

**【請求項6】** 如請求項35之阿特比靈C(Artepillin C)之合成方法，其中純化後之阿特比靈C的產物收率為在35%以上。

**【請求項7】** 一種阿特比靈C(Artepillin C，ARC)中間體之合成方法，其係包含以下步驟：



## [(發明圖式)]



[(圖1)]