

# 3-溴-2-(2',3'-二溴-4',5'-二甲氧基苯甲基)-4,5-二甲氧基苯甲酸甲酯的合成及其 PTP1B 酶抑制活性研究

郭书举<sup>1,2</sup>, 李敬<sup>1</sup>, 李婷<sup>1,2</sup>, 史大永<sup>1</sup>, 韩丽君<sup>1</sup>

(1. 中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

**摘要:** 为了研究海洋溴系列化合物的生物活性, 以香兰素(1)为起始原料, 经过溴代、还原、氧化、傅克酰基化及酯化等反应, 成功的合成了新化合物 3-溴-2-(2',3'-二溴-4',5'-二甲氧基苯甲基)-4,5-二甲氧基苯甲酸甲酯(9), 总收率为 19.6%。通过 <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 等方法对目标产物进行了结构表征。通过比色法对目标化合物进行了 PTP1B 酶抑制活性测定, 结果显示化合物浓度为 20 mg/L 时, PTP1B 酶抑制率为 55.84%, 表明该化合物有一定的 PTP1B 酶抑制活性。

**关键词:** 3-溴-2-(2',3'-二溴-4',5'-二甲氧基苯甲基)-4,5-二甲氧基苯甲酸甲酯; PTP1B 酶抑制活性; 合成; 海洋溴系列化合物

中图分类号: R914.5

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2010)07-0008-04

糖尿病是一种常见的代谢内分泌疾病, 其中 2 型糖尿病占 90% 以上。生物化学研究表明, 蛋白酪氨酸磷酸酶 1B(PTP1B) 是胰岛素信号转导的关键的负调控因子, PTP1B 基因敲除小鼠胰岛素敏感性升高, 且发育正常, 癌症发病率未见提高, 因此 PTP1B 逐渐成为治疗 2 型糖尿病的新靶点<sup>[1~3]</sup>。本课题组在对山东沿海海藻次生代谢产物的研究中发现, 来源于红藻松节藻 *Rhodomela confervoides* 中的溴酚化合物 2, 2', 3-三溴-3', 4, 4', 5-四羟基-6'-乙氧基甲基-二苯甲烷表现出独特的 PTP1B 酶抑制活性<sup>[4, 5]</sup>。为了研究该溴系列化合物的生物活性, 探索结构中各类官能团与 PTP1B 酶抑制活性的构效关系, 作者以化合物 2, 2', 3-三溴-3', 4, 4', 5-四羟基-6'-乙氧基甲基-二苯甲烷的母体结构为基础, 设计合成了新化合物 3-溴-2-(2',3'-二溴-4',5'-二甲氧基苯甲基)-4,5-二甲氧基苯甲酸甲酯, 并采用比色法对其进行了 PTP1B 酶抑制活性的测定。

## 1 仪器与材料

BRUKER AVANCE-500 型核磁共振仪; RY-1 型数字熔点仪(温度计未校正); 三氯甲烷、二氯甲烷、四氯化碳、石油醚、乙酸乙酯、冰乙酸、三氟乙酸酐、溴素、香草醛、N-溴代丁二酰亚胺、乙醇钠、乙醇均为分析纯; 柱色谱硅胶(160~200 目)和薄层色谱硅胶 GF254(60 型)为青岛海洋化工厂产品。

## 2 化合物的合成

### 2.1 目标化合物的合成路线

如图 1 所示, 以香草醛 1 为原料, 与溴素在甲醇中反应, 得到 5-溴香草醛 2, 收率为 93%; 2 与碘甲烷在碳酸钾的 N,N-二甲基甲酰胺悬浊液中反应生成 5-溴藜芦醛 3<sup>[6]</sup>, 收率可达 95%; 化合物 3 在二甘醇中于 120 °C 发生黄鸣龙还原得化合物 4, 收率为 90%; 3 在冰乙酸中进一步溴代生成 5,6-二溴藜芦醛 5<sup>[7]</sup>, 收率为 60%; 5 被高锰酸钾氧化以后得到 5,6-二溴藜芦酸 6, 收率 91%; 化合物 4 和 6 在三氟乙酸酐中发生傅克酰基化反应<sup>[8]</sup>, 生成化合物 7, 收率 90%; 化合物 7 在叔丁醇和水(体积比 1:1)的溶液中被高锰酸钾氧化成酸, 得到化合物 8, 收率 61%; 化合物 8 与甲醇发生酯化反应, 得到目标产物 9, 产率 82%。通过八步反应, 成功合成目标化合物 3-溴-2-(2',3'-二溴-4',5'-二甲氧基苯甲基)-4,5-二甲氧基苯甲酸甲酯, 总收率为 19.6%。

收稿日期: 2009-12-23; 修回日期: 2010-04-02

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2007AA09Z410, 2007AA091604); 重大新药创制科技专项项目(2009ZX09103-148)

作者简介: 郭书举(1981-), 男, 山东聊城人, 博士研究生, 研究方向为海洋天然产物, E-mail: guoshuju@qdio.ac.cn; 韩丽君, 通信作者, 电话: 0532-82898702, E-mail: ljhan@qdio.ac.cn; 史大永, 通信作者, 电话: 0532-82898719, E-mail: shidayong@qdio.ac.cn

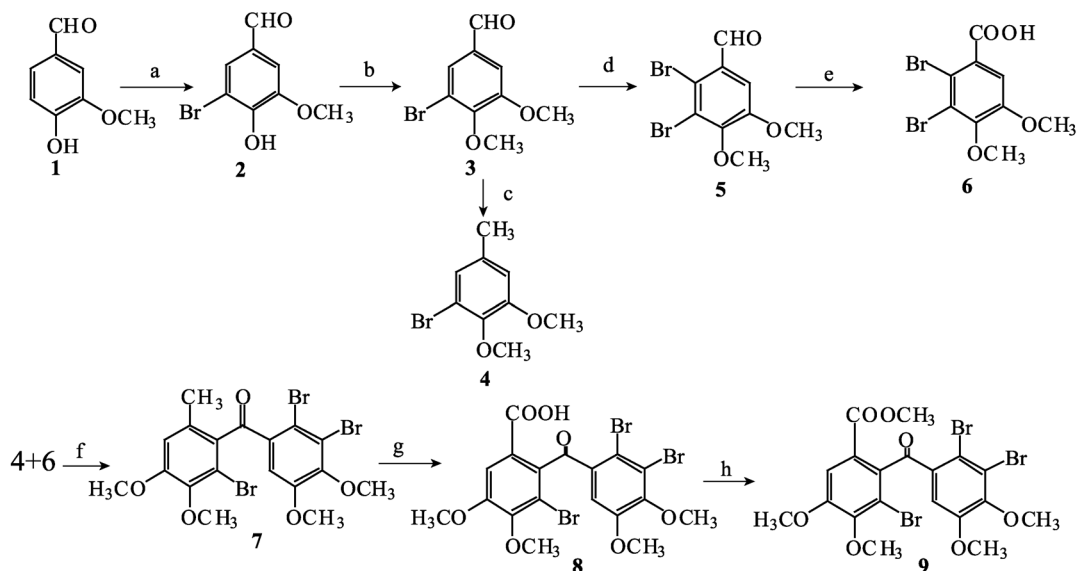


图 1 3-溴-2-(2',3'-二溴-4',5'-二甲氧基苯甲基)-4,5-二甲氧基苯甲酸甲酯的合成路线

Fig. 1 The synthesis route of methyl 3-bromo-2-(2',3'-dibromo-4',5'-dimethoxybenzoyl)-4,5-dimethoxybenzoate  
 a. Br<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>OH, 0 °C, 93%; b. CH<sub>3</sub>I, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, RT, 95%; c. 80% N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, KOH, diglycol, 120 °C, 90%; d. Br<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>COOH, 60 °C, 60%;  
 e. KMnO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, 90 °C, 91%; f. (CF<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O, RT, 90%; g. KMnO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O: *t*-BuOH 1:1, 90 °C, 61%; h. CH<sub>3</sub>OH, 98% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 60 °C, 82%

## 2.2 合成步骤

### 2.2.1 5-溴香草醛(2)

0 时, 向 60 mL 溶有 7.6g 香草醛的甲醇中, 滴加 2.8 mL Br<sub>2</sub>, 10 min 加完, 室温下搅拌 1 h, 然后在 0 下 20 min 内向其滴加 25 mL 水, 有沉淀析出, 滴加完成后继续搅拌 15 min, 将沉淀过滤, 用冰水洗沉淀, 干燥后固体称重 10.7 g, 产率 93%。

化合物 2 白色晶体, 熔点 160~162 °C。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 9.78(1H, s, H-7), 7.64(1H, d, *J* = 1.65 Hz, H-6), 7.36(2H, d, *J* = 1.65 Hz, H-2), 3.98(3H, s, H-8); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 189.5(C-7), 148.9(C-3), 147.7(C-4), 130.1(C-1), 130.0(C-2), 108.2(C-5), 108.1(C-6), 56.6(C-8)。以上数据与文献 [6] 报道数据一致, 因此确定化合物 2 为 5-溴香草醛。

### 2.2.2 5-溴藜芦醛(3)

室温下, 将 1.7 mL MeI 滴加到 4.26 g 化合物 2 和 3.84 g K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 的 DMF 的悬浊液中, 持续搅拌 24 h 后, 反应用浓盐水淬灭, 然后用甲基叔丁基醚萃取 3 次后, 有机相合并后用浓盐水洗涤, 用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥后, 减压蒸干溶剂, 得到白色固体 4.3 g, 产率 95%。

化合物 3 白色固体, 熔点 60~62 °C。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 9.84(1H, s, H-7), 7.64(1H, s, H-6), 7.38(1H, s, H-2), 3.94(3H, s, H-8), 3.93(s, 3H, H-9); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 189.7(C-7), 154.2(C-4),

151.8(C-3), 133.1(C-1), 128.7(C-6), 117.9(C-5), 110.2(C-2), 60.8(C-9), 56.2(C-8)。以上数据与文献 [6] 报道数据一致, 因此确定化合物 3 为 5-溴藜芦醛。

### 2.2.3 5-溴-3,4-二甲氧基甲苯(4)

室温下, 向 29.4 g 化合物 3 的二甘醇(200 mL) 溶液中, 加入 13 mL 80% 的水合肼, TLC 检测, 原料点消失后, 向反应液中加入 12 g 碳酸钾, 快速升温至 120 °C, 搅拌 2 h 后, 停止加热, 待反应液冷却后向其中加入 200 mL 蒸馏水, 用二氯甲烷萃取 3 次, 有机相合并后用 1 mol/L 的盐酸洗涤 3 次, MgSO<sub>4</sub> 干燥后, 有机相蒸干, 得无色油状物 24.9 g, 产率 90%。

化合物 4 无色油状液体。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 6.94(1H, s, H-2), 6.65(1H, s, H-6), 3.84(3H, s, H-8), 3.82(3H, s, H-9), 2.28(3H, s, H-7); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 153.3(C-4), 144.2(C-3), 135.0(C-1), 124.9(C-6), 117.2(C-5), 112.6(C-2), 60.4(C-9), 56.2(C-8), 20.9(C-7)。以上数据与文献 [9] 报道数据一致, 因此确定化合物 4 为 5-溴-3,4-二甲氧基甲苯。

### 2.2.4 5,6-二溴藜芦醛(5)

室温下, 将 100 mg Fe 粉, 10.8 mL 的 Br<sub>2</sub> 滴加到 24.5 g 的化合物 3 的乙酸溶液中。反应液 60 °C 回流 5 h 后, 冷却至室温, 蒸干溶剂, 所得固体混合物用氯仿溶解, 用质量分数 5% 的 Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 的水溶液洗涤 2 次后, 有机相蒸干, 固体用丙酮重结晶, 得无色针状结晶 19.5 g, 产率 60%。

化合物 5 白色针状结晶, 熔点 128~130 。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 10.27(1H, s, H-7), 7.48 (1H, s, H-2), 3.94(3H, s, H-8), 3.92(3H, s, H-9); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 191.5(C-7), 152.8(C-3,4), 131.0(C-1), 122.8(C-6), 121.9(C-5), 111.7(C-2), 60.8 (C-8), 56.3(C-9)。文献[7]报道了此化合物的合成。

### 2.2.5 5,6-二溴藜芦酸(6)

向 500 mL 三口瓶中加入 5.7 g NaHCO<sub>3</sub>, 38 g 化合物 5, 300 mL 水, 加热至 90 , 将 19 g 高锰酸钾分批加入到上述三口瓶中, TLC 检测反应完成后, 趁热过滤去二氧化锰, 滤液酸化后, 过滤干燥得白色固体 36.3 g, 产率 91%。

化合物 6 白色固体, 180~181 °C。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.39(1H, s, H-2), 3.90(3H, s, H-8), 3.87(3H, s, H-9); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 169.2(C-7), 153.6(C-4), 150.9(C-3), 132.8(C-1), 127.5 (C-6), 123.8(C-5), 114.5(C-2), 60.9(C-8), 56.9(C-9)。文献[10]报道了此化合物的合成。

### 2.2.6 (2'-溴-6'-甲基-3',4'-二甲氧基-苯基)-(2,3-二溴-4,5-二甲氧基-苯基)-甲酮(7)

冰水浴下, 将 2.4 g 化合物 6 加入到装有 15 mL 三氟乙酸酐的三口瓶中, 搅拌下依次加入 500 μL 85% 的磷酸, 1.71 g 化合物 4, 撤去冰水浴, 升温至 60 °C, TLC 检测, 原料点消失后, 将反应液倒入碎冰中, 氯仿萃取, 有机相用硫酸镁干燥后, 乙醇重结晶得白色晶体 3.5 g, 产率 90%。

化合物 7 白色晶体, 熔点 86~88 °C, <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.16(1H, s, H-6), 6.74(1H, s, H-5'), 3.91(3H, s, H-9), 3.90(3H, s, H-11), 3.81(3H, s, H-10), 3.79(3H, s, H-12), 2.22(3H, s, H-8); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 194.2(C-7), 154.0(C-4), 152.0 (C-4'), 150.8(C-5), 144.6(C-3'), 135.7(C-1), 133.7 (C-1'), 133.0(C-6'), 124.3(C-2), 116.3(C-2'), 115.5 (C-3), 115.1(C-6), 113.8(C-5'), 60.6(C-9,11), 56.3 (C-10), 56.0(C-12), 20.0(C-8)。EIMS *m/z*(%) 556/554/552/550 [M]<sup>+</sup> (20/52/52/20), 475/473/471(49/100/51), 394/392(52/51), 257/259(43/43)。此化合物为新化合物, 未见文献报道。

### 2.2.7 3-溴-2-(2',3'-二溴-4',5'-二甲氧基苯基)-4,5-二甲氧基苯甲酸(8)

将 500 mg 化合物 7 溶于叔丁醇与水(体积比 1:1)的混合液中, 80 回流, 分批加入 KMnO<sub>4</sub> 共 286 mg, TLC 检测, 原料点消失后, 停止反应, 趁热过滤掉 MnO<sub>2</sub>, 滤液中滴加浓盐酸至不再产生沉淀, 过滤后得白色固体, 所得固体在乙醇-水中重结晶, 得白色晶体 320 mg, 产率 61%。

化合物 8 白色晶体, 熔点 168~170 °C, <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 7.59(1H, s, H-6), 7.31(1H, s, H-6'), 3.94(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.82(6H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.74(3H, s, -OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 191.6(CO), 166.2(COOH), 153.4(C-4'), 152.0(C-4), 150.4(C-5), 149.3(C-5'), 135.8(C-1'), 134.0(C-1), 127.3(C-2), 124.2(C-2'), 116.4(C-3), 116.1(C-3'), 115.5(C-6'), 114.2(C-6), 60.8(OCH<sub>3</sub>), 60.9(OCH<sub>3</sub>), 56.8(2×OCH<sub>3</sub>)。EIMS *m/z*(%) 586/584/582/580[M]<sup>+</sup> (3/10/10/3), 520/518/516 (9/18/9), 519/517/515(10/20/10), 438/436(11/9), 325/323/321(8/16/10), 303/301(38/39), 96/94(98/100)。此化合物为新化合物。

### 2.2.8 3-溴-2-(2',3'-二溴-4',5'-二甲氧基苯基)-4,5-二甲氧基苯甲酸甲酯(9)

将 583 mg 化合物 8 溶于甲醇, 加入催化量的浓硫酸, 回流 12 h 后, 停止反应, 减压蒸干溶剂后, 用甲醇-水重结晶得白色固体 490 mg, 产率 82%。

化合物 9 白色晶体, 熔点 176~178 °C。<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.56(1H, s, H-6), 7.50(1H, s, H-6'), 3.97(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.92(6H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.83(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.76(3H, s, H-9); <sup>13</sup>C NMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 191.7(CO), 165.1(COO), 153.1(C-4'), 151.9(C-4), 151.0 (C-5), 150.1(C-5'), 136.9(C-1'), 133.5(C-1), 125.5(C-2), 124.5(C-2'), 117.3(C-3), 116.0(C-3'), 115.7(C-6'), 113.6 (C-6), 60.8(OCH<sub>3</sub>), 60.6(OCH<sub>3</sub>), 56.3(2×OCH<sub>3</sub>), 52.7 (C-9)。EIMS *m/z*(%) 600/598/596/594[M]<sup>+</sup>(8/23/23/8), 520/518/516(19/40/19), 519/517/515(30/50/25), 438/436 (27/26), 325/323/321(18/35/20), 303/301(99/100), 245/243(23/23)。此化合物为新化合物。

## 3 PTP1B 酶抑制活性测定

将化合物 9 用 DMSO 配制成浓度分别为 20 mg/L 和 5 mg/L 的供试品溶液, 取 2 μL 供试品溶液分别加入到标准的测活体系(50 mmol/L Tris-HCl, pH 6.5, 2 mmol/L pNNP, 2% DMSO, 30 nmol/L hGST-PTP1B)。阴性对照为 DMSO; 天然产物 2, 2', 3-三溴-3', 4, 4', 5-四羟基-6'-乙氧基甲基-二苯甲烷为阳性对照。反应温度为 30 , 动态测定波长为 405 nm 处的光吸收, 时间 2 min, 计算化合物 PTP1B 酶活力抑制率。结果表明(表 1), 目标化合物有一定的 PTP1B 酶抑制活性。

表 1 化合物 9 的 PTP1B 酶抑制率(%)  
Tab. 1 *In vitro* PTP1B inhibitory activity for compound 9 (%)

化合物	抑制率(浓度 20 mg/L)	抑制率 (浓度 5 mg/L)
9	55.34	23.82
阳性对照	74.17	24.11

## 4 结论

研究表明, PTP1B 是胰岛素转导通路关键的负调控因子, 是治疗 2 型糖尿病和肥胖症的有效靶点, 因此关于 PTP1B 酶抑制剂的研究也成为国际研究的热点之一。目前国际上通过天然产物分离或化学合成的 PTP1B 酶抑制剂, 由于电负性高、细胞膜通透性差及专一性差等原因, 距离最终成为临床药物还有一定距离。作者以海洋天然产物 2, 2', 3-三溴-3', 4, 4', 5-四羟基-6'-乙氧基甲基-二苯甲烷的结构为基础, 设计合成了新化合物 3-溴-2-(2',3'-二溴-4',5'-二甲氧基苯基)-4,5-二甲氧基苯甲酸甲酯, 并对其体外 PTP1B 酶抑制活性进行了测定, 结果表明该化合物表现出一定的 PTP1B 酶抑制活性, 为该溴系列化合物的合成提供了一条简便可靠的途径, 为以后进行构效关系的研究提供了实验基础。

### 参考文献:

- [1] Kathleen A K, Ezenta Anyanwu, Jerrold M Olefsky, *et al.* Protein-tyrosine phosphatase 1B is a negative regulator of insulin- and insulin-like growth factor-I-stimulated signaling[J]. *J Biol Chem*, 1996, **271**(33): 19 810-19 816.
- [2] Barry J G, Anna Bittner-Kowalczyk, Morris F W, *et al.* Tyrosine dephosphorylation and deactivation of insulin receptor substrate-1 by protein-tyrosine phosphatase 1B:

- Possible facilitation by the formation of a ternary complex with the GRB2 adaptor protein[J]. *J Biol Chem*, 2000, **275**(6): 4 283-4 289.
- [3] Saltiel A R, Kahn C R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism[J]. *Nature*, 2001, **414**(6 865): 799-806.
  - [4] Shi D Y, Xu F, He J, *et al.* Inhibition of bromophenols against PTP1B and anti-hyperglycemic effect of *Rhodomela confervoides* extract in diabetic rats[J]. *Chin Sci Bull*, 2008, **53** (16): 2 476-2 479.
  - [5] Li J, Guo S J, Su H, *et al.* Total synthesis of bis-(2,3-dibromo-4,5-dihydroxy phenyl)-methane as potent PTP1B inhibitor[J]. *Chin Chem Lett*, 2008, **19**(11): 1 290-1 292.
  - [6] Furstner A, Stelzer F, Rumbo A, *et al.* Total synthesis of the turrianes and evaluation of their DNA-cleaving properties[J]. *Chem Eur J*, 2002, **8**(8): 1 856-1 871.
  - [7] Ford P W, Davidson B S. Synthesis of varacin, a cytotoxic naturally occurring benzopentathiepin isolated from a marine ascidian[J]. *J Org Chem*, 1993, **58**(17): 4 522-4 523.
  - [8] Smyth T P, Corby B W. Industrially viable alternative to the Friedel-Crafts acylation reaction: Tamoxifen case study[J]. *Org Process Res Dev*, 1997, **1** (4): 264-267.
  - [9] Yang L, Williams D E, Mui A, *et al.* Synthesis of pelorol and analogues: Activators of the inositol 5-phosphatase SHIP[J]. *Org Lett*, 2005, **7** (6): 1 073-1 076.
  - [10] Wittmer Franklin B, Raiford L Chas. Oxidation of 3,4-dimethoxycinnamic acid and substitution products with alkaline potassium permanganate solution[J]. *J Org Chem*, 1945, **10**(6): 527-532.

# Synthesis and PTP1B inhibitory activity investigation of methyl 3-bromo-2-(2',3'-dibromo-4',5'-dimethoxy benzoyl)-4,5-dimethoxybenzoate

GUO Shu-ju<sup>1,2</sup>, LI Jing<sup>1</sup>, LI Ting<sup>1,2</sup>, SHI Da-yong<sup>1</sup>, HAN Li-jun<sup>1</sup>

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Received: Dec., 23, 2009

**Key words:** methyl 3-bromo-2-(2',3'-dibromo-4',5'-dimethoxybenzoyl)-4,5-dimethoxybenzoate; PTP1B inhibitory activity; synthesis; bromophenol derivatives

**Abstract:** Methyl 3-bromo-2-(2',3'-dibromo-4',5'-dimethoxybenzoyl)-4,5-dimethoxybenzoate **9** was synthesized employing bromination, reduction, oxidation, and Friedel-Crafts reaction, with an overall yield of 19.6%. The inhibitory activity against protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) of compound **9** was tested by a colorimetric assay. It was found that compound **9** displayed a good inhibitory activity against PTP1B (55.84% inhibition at 20 mg/L).

(本文编辑: 康亦兼)