

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

國科會專題研究計畫成果報告撰寫格式說明

Preparation of NSC Project Reports

計畫編號：NSC 90-2113-M-041-008

執行期限：90 年 8 月 1 日至 91 年 7 月 31 日

主持人：楊朝成

執行機構及單位名稱：嘉南藥理科技大學

化粧品應用與管理系

一、中文摘要

本報告主要利用有機合成方法，進行一系列多羥基取代二苯乙烯化合物 (polyhydroxylated stilbene)，經由電化學方法測試其氧化電位，探討其抗氧化效果。從實驗結果顯示，我們發覺多羥基取代二苯乙烯化合物其氧化電位之抗氧化作用與苯環上多羥基取代位置有關，間位較鄰對位者佳。另外我們也發覺多羥基取代二苯乙烯化合物除了有優良抗氧化效果外，對酪胺酸酵素活性抑制有美白作用，另外，其在紫外線也有很強之吸收，因此也有防曬效果，很值得應用於化粧品對抗老化美白防曬之化粧品利用研究。

關鍵詞：多羥基取代二苯乙烯，抗氧化、抗老化。

Abstract

The objective of this thesis is investigated to synthesis polyhydroxylated stilbenes, which was identified as a potent antioxidation by BAS 100B electrolytic analysis and applied to antiageing cosmetics. A number of the analogues displayed enhanced antioxidant and free radical inhibitive activity relative to the natural product. The most potent compounds in the series to be *trans-meta*-polyhydroxylated stilbenes.

Keywords: polyhydroxylated stilbenes, antioxidant activity, antiageing effect.

二、緣由與目的

由於科技發展，人類平均壽命延長，老年化社會來臨，抗老化產品已為二十一世紀主流商品，因此，許多科學家投入抗老化產品之研究。去年我們實驗室針對多

羥基取代二苯乙烯在抑制酪胺酸形成黑色素效果之研究，發展間位多羥基取代二苯乙烯對黑色素抑制有令人滿意的效果。

從文獻報導指出，多酚(polyphenol)化合物在抗自由基有良好效果，並廣泛應用於健康食品及抗老化保養品中，從文獻報導，我們發覺從葡萄籽萃取出之多酚對消除自由基有不錯之效果。也有許多文獻利用不同方法探討對其抗氧化之研究；而我們利用簡單的有機合成方法，合成一系列多羥基取代二苯乙烯化合物，利用電化學方法測試其氧化電位，探討其抗氧化產品效果應用。

三、研究報告應含的內容

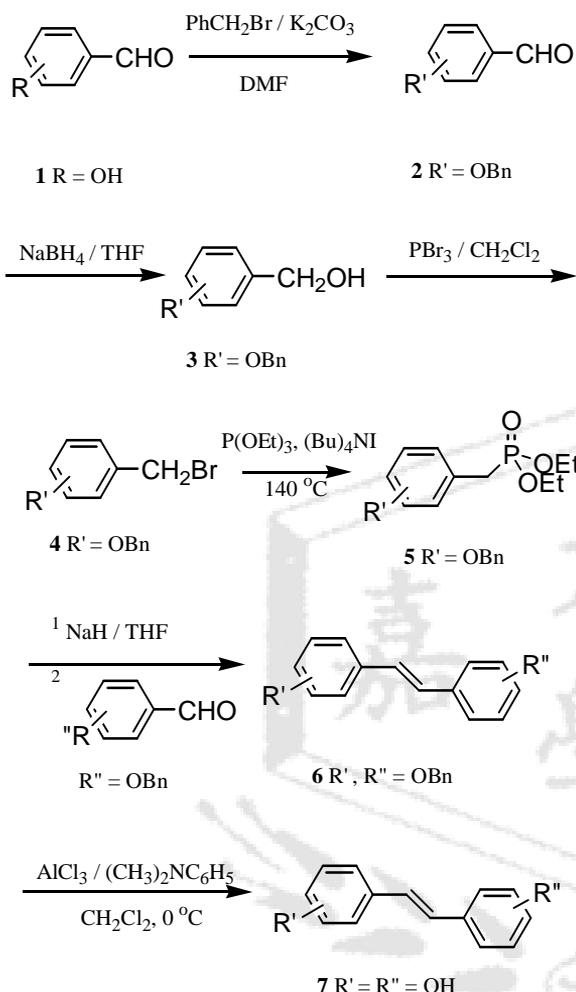
一、合成多羥基取代二苯乙烯化合物：

從文獻中我們可以取甲氧基取代之苯甲醛(methoxy benzaldehyde)化合物利用 Wittig Reaction 方法建構二苯乙烯結構，再利用去甲基反應方法(demethylation)即可得到多羥基取代二苯乙烯化合物。

首先我們從單取代或多取代之甲氧基取代苯甲醛與 Wittig 試劑進行 Wittig 反應得到 90-99 %高產率之甲氧基取代二苯乙烯化合物，但是，接下來，進行各種去甲基化反應方法，我們皆無法成功。

由於去甲基化反應之困難，我們將苄基(benzyl group)來作為酚上之保護，在進行 Wittig 反應，架構二苯乙烯(stilbenes)結構，再利用三氯化鋁(AlCl₃)及 *N,N*-二甲基苯胺(*N,N*-dimethylaniline)在二氯甲烷溶劑

於冰浴中，進行去苄基反應 (debenzylation)，得到一系列多羥基取代二苯乙烯化合物，如程式(一)及表(一)所示。



表(一) 合成多羥基取代二苯乙烯化合物

entry	Starting Material		Products (yield %)	
	R'	R''	R'	R''
1	6a 2,3-(OBn) ₂	H	7a (57) 2,3-(OH) ₂	H
2	6b 2,4-(OBn) ₂	H	7b (50) 2,4-(OH) ₂	H
3	6c 3,4-(OBn) ₂	H	7c (60) 3,4-(OH) ₂	H
4	6d 3,5-(OBn) ₂	H	7d (62) 3,5-(OH) ₂	H
5	6e 2-OBn	2-OBn	7e (55) 2-OH	2-OH
6	6f 2-OBn	3-OBn	7f (47) 2-OH	3-OH
7	6g 2-OBn	4-OBn	7g (52) 2-OH	4-OH
8	6h 3-OBn	4-OBn	7h (56) 3-OH	4-OH
9	6i 3-OBn	2,4-(OBn) ₂	7i (58) 3-OH	2,4-(OH) ₂
10	6j 4-OBn	3,5-(OBn) ₂	7j (65) 4-OH	3,5-(OH) ₂

二、多羥基取代二苯乙烯化合物抗氧化能力之研究：

我們利用 BAS 100B 電化學儀器，將多羥基取代二苯乙烯溶於乙腈(acetonitrile)中為 supporting electrolyte，以 glass carbon 電極及 platinum 電極為工作電極，Ag/AgCl 為參考電極，platinum 線為 counter 電極，進行電化學測試。進行 CV scan 後，以 bulk electrolysis 求出其化合物之電子氧化電位；其測試氧化電位如下：

表(二) 多羥基取代二苯乙烯氧化電位：

entry	Starting Material		Oxidant Potential (E/V)
	R'	R''	
1	7a (57) 2,3-(OH) ₂	H	1019;-6.11E-05
2	7b (50) 2,4-(OH) ₂	H	604;-4.52E-06
3	7c (60) 3,4-(OH) ₂	H	939;-1.31E-04
4	7d (62) 3,5-(OH) ₂	H	610;-5.38E-05
5	7e (55) 2-OH	2-OH	1123;-2.32E-05
6	7f (47) 2-OH	3-OH	1196;-6.40E-06
7	7g (52) 2-OH	4-OH	1475;-8.51E-06
8	7h (56) 3-OH	4-OH	623;-5.91E-07
9	7i (58) 3-OH	2,4-(OH) ₂	708;-2.46E-06
10	7j (65) 4-OH	3,5-(OH) ₂	503;-3.25E-04

由以上表(二)結果，我們可以發現間位及不同苯環取代之多羥基二苯乙烯化合物具有較低之氧化電位，也就是說較易氧化而具有較佳之抗氧化效果。雖然尚不能推測其機抗氧化的機構，我們將進一步對其氧化後之反應物分析其結果，探討其抗氧化能力，進一步應用於抗老化化粧品中。

結論

從實驗結果發覺多羥基取代二苯乙烯化合物其氧化電位與對酪胺酸酵素活性抑制作用皆與苯環上多羥基取代位置有關，間位較鄰對位者佳。另外我們也發現多羥基取代二苯乙烯化合物除了對抗老化及抑制酪胺酸酵素活性有美白作用外，其在紫外線也有很強之吸收，因此也有防曬效果，很值得應用於化粧品對抗老化、美白、防曬之利用研究。由於多羥基取代二苯乙

烯化合物上具有酚類結構，在化粧品主流抗老化作用下並對其細胞毒性，有繼續值得研究探討之議題，期待應用於保養產品上，造福人生。

實驗部分

所有反應均需攪拌，且於高純度之氬氣下操作，反應用之玻璃器皿需在 100 °C 烘箱中乾燥 2 小時以上，取出後置放於乾燥箱中冷卻後使用，反應用之無水(THF)需經金屬鈉除水後蒸餾出來使用，溶劑(DMF)也需經氫化鈣除水後蒸餾使用；二氯甲烷溶劑須氫化鈣除水後蒸餾使用。乙晴(CH₃CN)與 AlCl₃(15g/L)迴流 1 小時，蒸餾液再與 KMnO₄ 及 Li₂CO₃(各 10g/L)迴流 15 分鐘，再經 KHSO₄(15g/L)迴流 1 小時，蒸餾液再以 CaH₂ 除水。

苄基保護羥基取代苯甲醛反應步驟 2: 在 100 毫升之圓底燒瓶中加入 4-羥基取代苯甲醛 **1**(10 毫莫耳)加入 50 毫升 DMF 充分攪拌，加入過量無水碳酸鉀，在氬氣下反應 2 小時，再加入苄基溴(benzyl bromide)(15 毫莫耳)，加熱至 50 °C 反應 6 小時，加入冰水終止反應，加入乙酸乙酯 50 毫升，用水洗去 DMF 溶劑，加入飽和食鹽水，乾燥，利用減壓濃縮，經由 70-230 mesh 之矽膠管柱，以 5 % (EtOAc / n-hexane) 分離，得到高產率之苄氧基苯甲醛 **2** 化合物。

4-Benzyloxybenzaldehyde 2i : yield 95 % ; ¹HNMR(CDCl₃, 200 MHz) δ 5.31 (2 H, s), 7.25 (2 H, dd, *J* = 7 Hz, 2 Hz), 7.54-7.62 (5 H, m), 8.01 (2 H, dd, *J* = 7, 2 Hz), 10.06 (1 H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 50 MHz) δ 70.1 (t), 115.0 (2 C, d), 127.4 (2 C, d), 128.2 (d), 128.6 (2 C, d), 130.0 (s), 131.9 (2 C, d), 135.8 (s), 163.6 (s), 190.6 (d).

製備苄氧基苯甲基醇之一般步驟 3: 在 100 毫升之圓底燒瓶中加入苄氧基取代苯甲醛 **2**(10 毫莫耳)加入 40 毫升 THF 充分攪拌，加入 NaBH₄(0.4 克)之 10 毫升 THF

溶液，於 0 °C 反應 4 小時，加入冰水終止反應，先以減壓濃縮反應之 THF 溶劑，再以乙酸乙酯萃取(4 x 20 mL)，合併有機層，加入飽和食鹽水洗，用無水硫酸鈉乾燥，利用減壓濃縮，經由 70-230 mesh 之矽膠管柱，以 20 % (EtOAc / n-hexane) 分離，得到苄氧基苯甲基醇 **3** 化合物。

4-Benzyloxybenzyl alcohol 3i : yield 92% ; ¹HNMR(CDCl₃, 200 MHz) δ 2.70 (br s, OH), 4.49 (2 H, s), 5.03 (2 H, s), 6.92 (2 H, dd, *J* = 8, 2 Hz), 7.20 (2 H, dd, *J* = 8, 2 Hz), 7.40 (5 H, m).

製備苄氧基苯甲基溴之一般步驟 3: 在 100 毫升之圓底燒瓶中加入苄氧基取代苯甲基醇 **3**(8 毫莫耳)加入 40 毫升 CH₂Cl₂ 充分攪拌，加入三溴化磷(PBr₃)(1.22 當量)於 0 °C 反應 2 小時，再回溫反應 1 小時，加入冰水終止反應，先以減壓濃縮反應之 THF 溶劑，再以乙酸乙酯萃取(4 x 20 mL)，合併有機層，加入飽和食鹽水洗，用無水硫酸鈉乾燥，利用減壓濃縮，經由 70-230 mesh 之矽膠管柱，以 5 % (EtOAc / n-hexane) 分離，得到苄氧基苯甲基溴 **4** 化合物。

4-Benzyloxybenzyl bromide 4i : yield 82% ; ¹HNMR(CDCl₃, 200 MHz) δ 4.49 (2 H, s), 5.06 (2 H, s), 6.95 (2 H, dd, *J* = 8, 2 Hz), 7.37 (2 H, dd, *J* = 8, 2 Hz), 7.40 (5 H, m).

製備 Wittig 反應試劑之一般步驟 5: 再 100 毫升之圓底燒瓶中加入苄氧基取代苯甲基溴 **4**(8mmol)加入 40 毫升二甲苯中，加入三乙氧基化磷(P(OEt)₃)(1.5 當量)及添加催化劑量之碘化四丁基胺，加熱至 140 °C 反應過夜，利用真空濃縮除去二甲苯溶劑，得到純之 Wittig 反應試劑 **5**。

Diethyl [4-(benzyloxy)benzyl]phosphate 5i : ¹HNMR(CDCl₃, 200 MHz) δ 1.26 (6 H, t, *J* = 7 Hz), 3.08 (2 H, d, *J* = 22 Hz), 3.99 (4 H, q, *J* = 7 Hz), 5.02 (2 H, s), 6.89 (2 H, d, *J* = 8 Hz), 7.41 (2 H, dd, *J* = 8, 2 Hz), 7.50 (5 H, m).

製備二苯乙烯架構之化合物的一般步驟 6：在 100 毫升之圓底燒瓶中加入氫化鈉(100 毫克)及 20 毫升 THF 溶劑中，於 0 °C 時加入 Wittig 反應試劑 5(2.5 毫莫耳於 10 毫升 THF)，回溫至室溫反應 1 小時，加入苄氧基苯甲醛(2 毫莫耳於 10 毫升 THF)，反應 8 小時，加入飽和氯化銨水溶液終止反應，先以減壓濃縮反應之 THF 溶劑，再以乙酸乙酯萃取(4 x 20 mL)，合併有機層，加入飽和食鹽水洗，用無水硫酸鈉乾燥，利用減壓濃縮，經由 70-230 mesh 之矽膠管柱，以 2 % (EtOAc / n-hexane) 分離，得到苄氧基取代二甲苯乙烯 6 化合物。

(E)-1-[2,4-Bis(benzyloxy)phenyl]-2-phenylethene 6b : yield 85 % ; ¹H NMR(CDCl₃, 200 MHz) δ 5.05 (2 H, s), 5.10(2 H, s), 6.59-6.63 (2 H, m), 7.06 (1 H, d, *J* = 16 Hz), 7.23-7.55 (19 H); ¹³C NMR (CDCl₃, 50 MHz) δ 70.1 (t), 70.4 (t), 110.9(d), 106.5 (d), 120.1 (s), 123.3 (d), 126.3 (3 C, d), 126.5 (d), 127.0 (4 C, d), 127.3 (2 C, d), 127.4 (d), 127.5 (d), 127.9 (4 C, d), 128.0 (6 C, d), 136.8 (s), 136.9 (s), 138.2 (s), 157.1 (s), 159.5 (s).

去苄基保護之一般步驟 7：在一 50 毫升之圓底燒瓶中加入苄氧基取代二甲苯乙烯 6 化合物(1 毫莫耳於 20 毫升無水之 CH₂Cl₂ 溶劑)中，在氮氣下加入 *N,N*-二甲基苯胺(3 當量)及無水三氯化鋁(4 當量)於 0 °C 時反應 1 小時，加入水終止反應，在加入 1 M HCl 15 毫升中和，洗去 *N,N*-二甲基苯胺，再以乙酸乙酯萃取(4 x 20 mL)，合併有機層，加入飽和食鹽水洗，用無水硫酸鈉乾燥，利用減壓濃縮，經由 70-230 mesh 之矽膠管柱，以 20-30 % (EtOAc / n-hexane) 分離，得到苄氧基取代二甲苯乙烯 7 化合物。

(E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-phenylethene 7b : yield 56 % ; ¹H NMR(MeOD, 200 MHz) δ 6.35 (2 H, m), 7.01 (1 H, d, *J* = 16

Hz), 7.19-7.53 (7 H, m); ¹³C NMR (MeOD, 50 MHz) δ 103.7 (d), 108.6 (d), 118.0 (s), 125.0 (d), 126.4 (d), 127.1 (2 C, d), 127.7 (d), 128.6 (d), 129.7 (2 C, d), 140.2 (s), 157.5 (s), 159.4 (s).

多羥基取代二苯乙烯化合物抗氧化之氧化電位之一般試驗步驟：

取多羥基取代二苯乙烯化合物 20mg，溶於 10 毫升含有 0.1M TBA.PF₆(tetra-*n*-butylammonium PF₆) 之 acetonitrile 中備用。

以 glass carbon 電極及 platinum 電極為工作電極，Ag/AgCl 為參考電極，platinum 線為 counter 電極，進行電化學測試。進行 CV scan 後，以 bulk electrolysis 分別求出其化合物之電子氧化電位

謝誌

本研究感謝行政院國科會經費支持下得以完成，並感謝王詠騰老師實驗上之指導。

五、參考文獻

1. Martinez J.; Moreno J. J. *Biochem. Pharmacol.* **2000**, 59, 865.
2. Thakkar, K.; Geahlen, R. L. Cushman, M. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 2950.
3. Basly J.-P.; Francoise M.-F.; Bail Le J.-C.; Halbrioux G. *Life Sciences*, 2000, 66, 769
4. Jung, M. E; Lyster, M. A. *J. Org. Chem.* **1977**, 42, 3761.
5. Olah, G. A.; Narang, S. C.; Balaram Gupta, B. G.; Malhotra, R. *J. Org. Chem.* **1979**, 44, 1247.
6. Kutney, J. P.; Abdulrahman, N.; Quesne, P. L.; Piers, E.; Vlattas, I. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 3656.
7. Olas B.; Wachowicz B.; *Thrombosis Res.* **2002**, 106, 143.