

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810112375.1

[51] Int. Cl.

C07D 493/10 (2006.01)

A61K 31/365 (2006.01)

A61K 36/282 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 11 月 25 日

[11] 公开号 CN 101585841A

[22] 申请日 2008.5.22

[21] 申请号 200810112375.1

[71] 申请人 北京大学

地址 100871 北京市海淀区学院路 38 号北京大学医学部

[72] 发明人 屠鹏飞 温 晶 姜 勇 周思祥

[74] 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司

代理人 关 畅

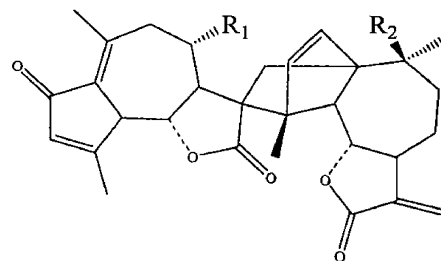
权利要求书 3 页 说明书 22 页

[54] 发明名称

愈创木内酯类倍半萜二聚体及其制备方法与应用

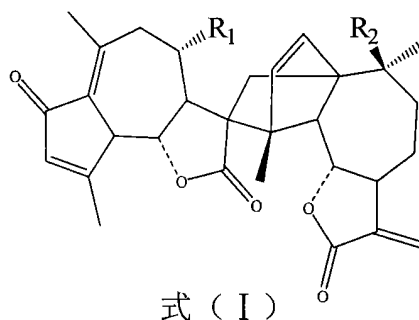
[57] 摘要

本发明公开了愈创木内酯类倍半萜二聚体及其制备方法与应用。该愈创木内酯类倍半萜二聚体，结构如式(I)所示。本发明用乙醇提取奇蒿全草，然后除去乙醇，收集提取物，经分离纯化，分别得到式(I)中  $R_1$  为羟基、 $R_2$  为乙酰氧基的化合物， $R_1$  为氢、 $R_2$  为羟基的化合物，以及  $R_1$  和  $R_2$  皆为羟基的化合物。并在羟基化合物的基础上进行一系列取代反应得到了多种愈创木内酯类倍半萜二聚体。体外抗癌及抗炎活性结果表明愈创木内酯类倍半萜二聚体具有良好的抗癌及抗炎活性。



式 ( I )

1、结构如式（I）所示的化合物：



其中， $R_1$  为氢、卤素、甲基、乙基、羟基、烷氧基、巯基、氨基、羟代烷氧基、羧代烷氧基、酰氧基、羧基或苄氧羰甲氧基；

$R_2$  为氢、卤素、甲基、乙基、羟基、烷氧基、巯基、氨基、羟代烷氧基、羧代烷氧基、酰氧基、羧基、苄氧羰甲氧基。

2、根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于：所述  $R_1$  为羟基，所述  $R_2$  为乙酰氧基。

3、根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于：所述  $R_1$  和  $R_2$  皆为羟基。

4、根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于：所述  $R_1$  为氢，所述  $R_2$  为羟基。

5、一种制备权利要求 2、3 或 4 所述化合物的方法，包括以下步骤：

1) 用乙醇提取奇蒿全草，然后除去乙醇，收集提取物；

2) 将所述提取物悬浮于水中，依次用石油醚、乙酸乙酯进行萃取；

3) 将乙酸乙酯层进行硅胶柱层析，用氯仿和甲醇进行梯度洗脱，收集体积比为 25：1 的氯仿和甲醇混合液的洗脱组分；

4) 将所述步骤 3) 得到的组分进行硅胶柱层析，用石油醚和丙酮进行梯度洗脱，收集体积比为 4：1 的石油醚和丙酮混合液的洗脱组分；

5) 将所述步骤 4) 得到的组分用羟丙基葡聚糖凝胶进行纯化，以体积比为 1：1 的氯仿-甲醇混合液作为洗脱液，收集洗脱组分；

6) 将所述步骤 5) 得到的组分用半制备型 HPLC 进行纯化，得到权利要求 2 所述的化合物或权利要求 3 所述的化合物或权利要求 4 所述的化合物；所述 HPLC 纯化中所用的流动相为体积比为 52：48 的甲醇-水混合液。

6、制备权利要求 1 所述化合物的方法，为下述 1) 至 10) 中的任一种方法：

1) 制备  $R_1$  为氯， $R_2$  为乙酰氧基的权利要求 1 所述化合物的方法，是将权利要求 2 所述的化合物与二氯亚砷进行反应得到权利要求 1 中  $R_1$  为氯， $R_2$  为乙酰氧基

的化合物 1;

2) 制备  $R_1$  为巯基,  $R_2$  为乙酰氧基的权利要求 1 所述化合物的方法, 是将权利要求 2 所述的化合物与三甲基氯硅烷进行反应, 将得到的反应产物再与硫脲进行反应, 得到权利要求 1 中  $R_1$  为巯基,  $R_2$  为乙酰氧基的化合物 2;

3) 制备  $R_1$  为乙酰氧基,  $R_2$  为乙酰氧基的权利要求 1 所述化合物的方法, 是将权利要求 2 所述的化合物与乙酰氯进行反应, 得到权利要求 1 中  $R_1$  为乙酰氧基,  $R_2$  为乙酰氧基的化合物 3;

4) 制备  $R_1$  为琥珀酰氧基,  $R_2$  为乙酰氧基的权利要求 1 所述化合物的方法, 是将权利要求 2 所述的化合物与琥珀酸酐进行反应, 得到权利要求 1 中  $R_1$  为琥珀酰氧基,  $R_2$  为乙酰氧基的化合物 4;

5) 制备  $R_1$  为苄氧羰甲氧基,  $R_2$  为乙酰氧基的权利要求 1 所述化合物的方法, 是将权利要求 2 所述的化合物与溴乙酸苄酯进行反应, 得到权利要求 1 中  $R_1$  为苄氧羰甲氧基,  $R_2$  为乙酰氧基的化合物 5;

6) 制备  $R_1$  和  $R_2$  皆为氯的的权利要求 1 所述化合物的方法, 是将权利要求 3 所述的化合物与二氯亚砷进行反应, 得到权利要求 1 中  $R_1$  和  $R_2$  皆为氯的化合物 6;

7) 制备  $R_1$  和  $R_2$  皆为巯基的的权利要求 1 所述化合物的方法, 是将权利要求 3 所述的化合物与三甲基氯硅烷进行反应, 将得到的反应产物再与硫脲进行反应, 得到权利要求 1 中  $R_1$  和  $R_2$  皆为巯基的化合物 7;

8) 制备  $R_1$  为氨基,  $R_2$  为乙酰氧基的权利要求 1 所述化合物的方法, 是将权利要求 2 所述的化合物与二氯亚砷进行反应, 将得到的反应产物再与氨的甲醇溶液进行反应, 得到权利要求 1 中  $R_1$  为氨基,  $R_2$  为乙酰氧基的化合物 8;

9) 制备  $R_1$  为氢,  $R_2$  为氯的权利要求 1 所述化合物的方法, 是将权利要求 4 所述的化合物与二氯亚砷进行反应, 得到权利要求 1 中  $R_1$  为氢,  $R_2$  为氯的化合物 9;

10) 制备  $R_1$  为氢,  $R_2$  为乙酰氧基的权利要求 1 所述化合物的方法, 是将权利要求 4 所述的化合物与乙酰氯进行反应, 得到权利要求 1 中  $R_1$  为氢,  $R_2$  为乙酰氧基的化合物 10。

7、根据权利要求 6 所述的方法, 其特征在于: 所述的权利要求 2 或权利要求 3 或权利要求 4 所述化合物的制备方法包括以下步骤:

- 1) 用乙醇提取奇蒿全草, 然后除去乙醇, 收集提取物;
- 2) 将所述提取物悬浮于水中, 依次用石油醚、乙酸乙酯进行萃取;
- 3) 将乙酸乙酯层进行硅胶柱层析, 用氯仿和甲醇进行梯度洗脱, 收集体积比

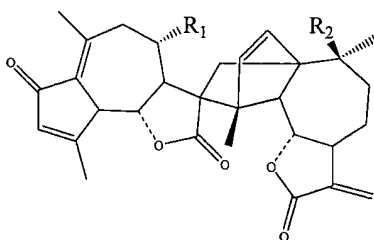
为 25：1 的氯仿和甲醇混合液的洗脱组分；

4) 将所述步骤 3) 得到的组分进行硅胶柱层析，用石油醚和丙酮进行梯度洗脱，收集体积比为 4：1 的石油醚和丙酮混合液的洗脱组分；

5) 将所述步骤 4) 得到的组分用羟丙基葡聚糖凝胶进行纯化，以体积比为 1：1 的氯仿-甲醇混合液作为洗脱液，收集洗脱组分；

6) 将所述步骤 5) 得到的组分用半制备型 HPLC 进行纯化，得到权利要求 2 或权利要求 3 或权利要求 4 所述的化合物；所述 HPLC 纯化中所用的流动相为体积比为 52：48 的甲醇-水混合液。

8、式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐在制备预防和/或治疗肿瘤药物和/或抗炎药物中的应用，



式 (I)

其中，R<sub>1</sub> 为氢、卤素、甲基、乙基、羟基、烷氧基、巯基、氨基、羟代烷氧基、羧代烷氧基、酰氧基、羧基、苄氧羰甲氧基；

R<sub>2</sub> 为氢、卤素、甲基、乙基、羟基、烷氧基、巯基、氨基、羟代烷氧基、羧代烷氧基、酰氧基、羧基、苄氧羰甲氧基。

9、一种预防和/或治疗肿瘤和/或抗炎的药物，它的有效成分为式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐。

10、根据权利要求 8 所述的应用或根据权利要求 9 所述的药物，其特征在于：所述肿瘤为人结肠癌、人肝癌、人胃癌、人肺癌和人卵巢癌中的任一种。

## 愈创木内酯类倍半萜二聚体及其制备方法与应用

### 技术领域

本发明涉及愈创木内酯类倍半萜二聚体及其制备方法与应用。

### 背景技术

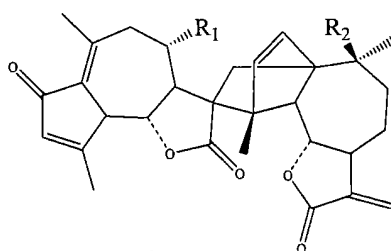
很多植物中均含有具有抗癌活性的化合物，如从太平洋紫杉（短叶红豆杉，*Taxus brevifolia*）树皮中提取出来的紫杉醇即是一种应用广泛的抗癌药物。同时很多植物中也含有具有抗炎活性的化合物。因此从植物提取物中寻找抗癌及抗炎药物是目前癌症及炎症治疗的研究热点。

奇蒿 *Artemisia anomala* S. Moore，又名南刘寄奴、六月霜、野马兰头、苦婆菜等。《中国植物志》记载奇蒿为菊科春黄菊族蒿属植物，本系我国有1种及1变种。其全草入药，具有敛疮消肿、破瘀通经的功效。主治跌打损伤、金疮出血、风湿痹痛、烫伤等症。我国南方等地尚用其泡茶，用以治疗肠炎、痢疾、中暑等症。据报道，奇蒿主要含黄酮类、香豆素类、挥发油类、倍半萜类以及芳香类等成分（江苏新医学院编.中药大辞典.上海：上海人民出版社，2006：1303；肖永庆等.药学报,1984,19(12):909；肖永庆等.植物学报,1986,28(3):307；Jakupovic J. et al, *Phytochemistry*. 1987; 26(10): 2777.）。

### 发明内容

本发明的目的是提供愈创木内酯类倍半萜二聚体及其制备方法。

本发明所提供的愈创木内酯类倍半萜二聚体，其结构如式（I）所示：



式（I）

其中， $R_1$ 为氢、卤素、甲基、乙基、羟基、烷氧基、巯基、氨基、羟代烷氧基、羧代烷氧基、酰氧基、羧基或苄氧羰甲氧基；

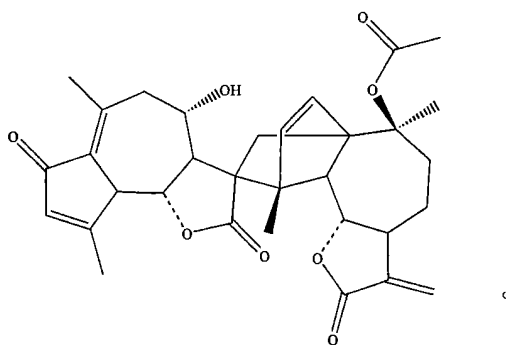
$R_2$ 为氢、卤素、甲基、乙基、羟基、烷氧基、巯基、氨基、羟代烷氧基、羧代烷氧基、酰氧基、羧基或苄氧羰甲氧基。

所述  $R_1$  具体可为卤素、甲基、乙基、羟基、烷氧基、巯基、氨基、羟代烷氧基、羧代烷氧基、酰氧基、羧基或苄氧羰甲氧基；所述  $R_2$  具体可为乙酰氧基。

所述  $R_1$ 、 $R_2$  可同时为氢、卤素、甲基、乙基、羟基、烷氧基、巯基、氨基、羟代烷氧基、羧代烷氧基、酰氧基、羧基或苄氧羰甲氧基。

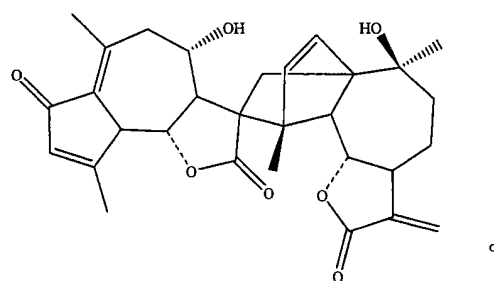
所述  $R_1$  具体可为氢，所述  $R_2$  具体可为氢、卤素、甲基、乙基、羟基、烷氧基、巯基、氨基、羟代烷氧基、羧代烷氧基、酰氧基、羧基或苄氧羰甲氧基。

所述式 (I) 中，当  $R_1$  为羟基， $R_2$  为乙酰氧基时，其结构如式 (II) 所示：



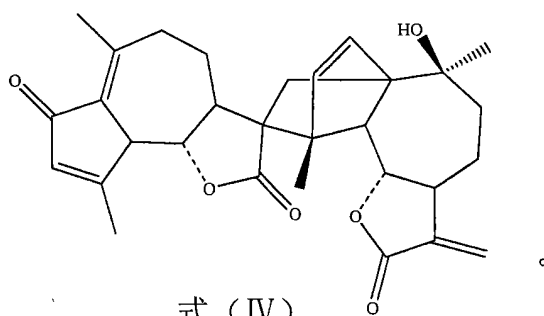
式 (II)

所述的式 (I) 中，当  $R_1$  为羟基， $R_2$  为羟基时，其结构如式 (III) 所示：



式 (III)

所述的式 (I) 中，当  $R_1$  为氢， $R_2$  为羟基时，其结构如式 (IV) 所示：



式 (IV)

本发明所提供的制备式（II）、式（III）或式（IV）所示化合物的方法，包括以下步骤：

- 1) 用乙醇提取奇蒿全草，然后除去乙醇，收集提取物；所述提取可以采用回流提取；
- 2) 将所述提取物悬浮于水中，依次用石油醚、乙酸乙酯进行萃取；
- 3) 将乙酸乙酯层进行硅胶柱层析，用氯仿和甲醇进行梯度洗脱，收集体积比为 25：1 的氯仿和甲醇混合液的洗脱组分；
- 4) 将所述步骤 3) 得到的组分进行硅胶柱层析，用石油醚和丙酮进行梯度洗脱，收集体积比为 4：1 的石油醚和丙酮混合液的洗脱组分；
- 5) 将所述步骤 4) 得到的组分用羟丙基葡聚糖凝胶进行纯化，以体积比为 1：1 的氯仿-甲醇混合液作为洗脱液，收集洗脱组分；
- 6) 将所述步骤 5) 得到的组分用半制备型 HPLC 进行纯化，仪器型号为 Waters 600 半制备型高效液相色谱仪，W2487 双波长检测器检测，所用半制备柱型号为 Waters Prep Nova-Pak<sup>®</sup> HR C<sub>18</sub> 7.8×300 mm，进行 HPLC 纯化，收集保留时间为 18.5min、19.6min 及 21min 的洗脱峰，得到式（III）、式（IV）及式（II）所示化合物；所述 HPLC 纯化中所用的流动相为体积比为 52：48 的甲醇-水混合液，所述流动相的流速为 2ml/min。

制备式（I）所述化合物的方法，为下述 1) 至 10) 中的任一种方法：

- 1) 制备 R<sub>1</sub> 为氯, R<sub>2</sub> 为乙酰氧基的式（I）所述化合物的方法，是将式（II）所述的化合物与二氯亚砷进行反应得到式（I）中 R<sub>1</sub> 为氯, R<sub>2</sub> 为乙酰氧基的化合物；
- 2) 制备 R<sub>1</sub> 为巯基, R<sub>2</sub> 为乙酰氧基的式（I）所述化合物的方法，是将式（II）所述的化合物与三甲基氯硅烷进行反应，将得到的反应产物再与硫脲进行反应，得到式（I）中 R<sub>1</sub> 为巯基, R<sub>2</sub> 为乙酰氧基的化合物；
- 3) 制备 R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 皆为乙酰氧基的式（I）所述化合物的方法，是将式（II）所述的化合物与乙酰氯进行反应，得到式（I）中 R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 皆为乙酰氧基的化合物；
- 4) 制备 R<sub>1</sub> 为琥珀酰氧基, R<sub>2</sub> 为乙酰氧基的式（I）所述化合物的方法，是将式（II）所述的化合物与琥珀酸酐进行反应，得到式（I）中 R<sub>1</sub> 为琥珀酰氧基, R<sub>2</sub> 为乙酰氧基的化合物；
- 5) 制备 R<sub>1</sub> 为苄氧羰甲氧基, R<sub>2</sub> 为乙酰氧基的式（I）所示化合物的方法，是将式（II）所述的化合物与溴乙酸苄酯进行反应，得到式（I）中 R<sub>1</sub> 为苄氧羰甲

氧基,  $R_2$  为乙酰氧基的化合物;

6) 制备  $R_1$  和  $R_2$  皆为氯的式 (I) 所述化合物的方法, 是将式 (III) 所述的化合物与二氯亚砷进行反应得到式 (I) 中  $R_1$  和  $R_2$  皆为氯的化合物;

7) 制备  $R_1$  和  $R_2$  皆为巯基的式 (I) 所述化合物的方法, 是将式 (III) 所述的化合物与三甲基氯硅烷进行反应, 将得到的反应产物再与硫脲进行反应, 得到式 (I) 中  $R_1$  和  $R_2$  皆为巯基的化合物;

8) 制备  $R_1$  为氨基,  $R_2$  为乙酰氧基的式 (I) 所述化合物的方法, 是将式 (II) 所述的化合物与二氯亚砷进行反应, 将得到的反应产物再与氨的甲醇溶液进行反应, 得到式 (I) 中  $R_1$  为氨基,  $R_2$  为乙酰氧基的化合物;

9) 制备  $R_1$  为氢,  $R_2$  为氯的式 (I) 所述化合物的方法, 是将式 (IV) 所述的化合物与二氯亚砷进行反应, 得到式 (I) 中  $R_1$  为氢,  $R_2$  为氯的化合物;

10) 制备  $R_1$  为氢,  $R_2$  为乙酰氧基的式 (I) 所述化合物的方法, 是将式 (IV) 所述的化合物与乙酰氯进行反应, 得到式 (I) 中  $R_1$  为氢,  $R_2$  为乙酰氧基的化合物。

其中, 式 (II)、式 (III) 及式 (IV) 所述化合物的制备方法包括以下步骤:

1) 用乙醇提取奇蒿全草, 然后除去乙醇, 收集提取物; 所述提取可以采用回流提取;

2) 将所述提取物悬浮于水中, 依次用石油醚、乙酸乙酯进行萃取;

3) 将乙酸乙酯层进行硅胶柱层析, 用氯仿和甲醇进行梯度洗脱, 收集体积比为 25:1 的氯仿和甲醇混合液的洗脱组分;

4) 将所述步骤 3) 得到的组分进行硅胶柱层析, 用石油醚和丙酮进行梯度洗脱, 收集体积比为 4:1 的石油醚和丙酮混合液的洗脱组分;

5) 将所述步骤 4) 得到的组分用羟丙基葡聚糖凝胶进行纯化, 以体积比为 1:1 的氯仿-甲醇混合液作为洗脱液, 收集洗脱组分;

6) 将所述步骤 5) 得到的组分用半制备型 HPLC 进行纯化, 仪器型号为 Waters 600 半制备型高效液相色谱仪, W2487 双波长检测器检测, 所用半制备柱型号为 Waters Prep Nova-Pak<sup>®</sup> HR C<sub>18</sub> 7.8×300 mm, 进行 HPLC 纯化, 收集保留时间为 18.5min、19.6min 及 21min 的洗脱峰, 得到式 (III)、式 (IV) 及式 (II) 所示化合物; 所述 HPLC 纯化中所用的流动相为体积比为 52:48 的甲醇-水混合液, 所述流动相的流速为 2ml/min。

本发明的另一个目的是提供式 (I) 所示的愈创木内酯类倍半萜二聚体的用途。



本发明所提供的愈创木内酯类倍半萜二聚体的用途是式(I)所示的化合物或其药学上可接受的盐在制备预防和/或治疗肿瘤药物及抗炎药物中的应用。

式(I)所示的愈创木内酯类倍半萜二聚体或其药学上可接受的盐,特别适合于制备预防和/或治疗人结肠癌、肝癌、胃癌、肺癌和卵巢癌药物以及抗炎药物。

所述预防和/或治疗肿瘤药物及抗炎药物可通过注射、喷射、滴鼻、滴眼、渗透、吸收、物理或化学介导的方法导入机体如肌肉、皮内、皮下、静脉、粘膜组织;或是被其他物质混合或包裹后导入机体。

以式(I)所示的愈创木内酯类倍半萜二聚体或其药学上可接受的盐为活性成分的抗肿瘤药物及抗炎药物,需要的时候,在上述药物中还可以加入一种或多种药学上可接受的载体。所述载体包括药学领域常规的稀释剂、赋形剂、填充剂、粘合剂、湿润剂、崩解剂、吸收促进剂、表面活性剂、吸附载体、润滑剂等。

用愈创木内酯类倍半萜二聚体或其药学上可接受的盐制备的预防和/或治疗肿瘤药物和抗炎药物可以制成口服、外用、注射剂等剂型,其中口服制剂包括片剂、胶囊剂、颗粒剂、合剂、酒剂、滴丸剂等;外用包括栓剂、搽剂、洗剂、膏剂、透皮贴剂;注射剂包括注射液、混悬液、冻干粉针等。上述各种剂型的药物均可以按照药学领域的常规方法制备。

本发明从奇蒿植物中提取、分离出三种新的愈创木内酯类倍半萜二聚体类化合物(奇蒿二聚体A,结构如式(II)所示;奇蒿二聚体B,结构如式(III)所示;奇蒿二聚体C,结构如式(IV)所示),并以此为基础制备出多种愈创木内酯类倍半萜二聚体类化合物。本发明通过实验证实:愈创木内酯类倍半萜二聚体类化合物具有对癌细胞的细胞毒活性,同时该类化合物对脂多糖(LPS)刺激的小鼠腹腔巨噬细胞 COX-2 活性有明显的抑制作用,可以作为抗癌及抗炎药物的活性成分。

### **具体实施方式**

#### **实施例 1、奇蒿二聚体 A、奇蒿二聚体 B 及奇蒿二聚体 C 的提取**

将 15kg 的奇蒿全草粗粉,用 95%乙醇回流提取 3h,共提取 3 次。减压回收溶剂,得到固体浸膏 4.52kg;将所述固体浸膏 4kg 悬浮于水中,用石油醚进行萃取,收集水层,用乙酸乙酯萃取该水层,收集乙酸乙酯层。将乙酸乙酯萃取物经硅胶柱层析,用 100~200 目硅胶装柱,柱床的长度为 1250cm,柱的内径为 25cm,按照 40ml/min 的流速用如下三个梯度的氯仿和甲醇混合液依次进行梯度洗脱:氯仿和甲醇的体积比为 100:1 的混合液 1、氯仿和甲醇的体积比为 50:1 的混合液 2,氯仿和甲醇的体积比为 25:1 的混合液 3。每个梯度洗脱量为三倍硅胶柱床体积。收集

氯仿-甲醇体积比为 25 : 1 时的洗脱组分。将上述收集的洗脱组分再进行硅胶柱层析, 用 200~300 目硅胶装柱, 柱床的长度为 550cm, 柱的内径为 13cm, 按照 40ml/min 的流速用如下三个梯度的石油醚和丙酮混合液依次进行梯度洗脱: 石油醚和丙酮的体积比为 15 : 1 的混合液 1、石油醚和丙酮的体积比为 8 : 1 的混合液 2, 石油醚和丙酮的体积比为 4 : 1 的混合液 3。每个梯度洗脱量为三倍硅胶柱体积。收集石油醚-丙酮体积比为 4 : 1 时的洗脱组分; 将此组分 60℃ 真空减压浓缩, 然后经羟丙基葡聚糖凝胶 (sephadex LH-20) 纯化, 以氯仿-甲醇(体积比为 1 : 1)作为洗脱液; 将纯化后的浓缩液再经过半制备型 HPLC 分离纯化, 仪器型号为 Waters 600 半制备型高效液相色谱仪, W2487 双波长检测器检测, 所用半制备柱型号为 Waters Prep Nova-Pak® HR C<sub>18</sub> 7.8×300 mm。以甲醇-水(体积比为 52 : 48)作为流动相进行分离, 流速为 2ml/min。收集保留时间为 18.5min、19.6min 及 21min 的洗脱峰, 得到式(III)、式(IV)及式(II)所示化合物, 60℃ 进行真空减压浓缩, 得到 492mg 奇蒿二聚体 A(式(II))、86mg 奇蒿二聚体 B(式(III))及 58 mg 奇蒿二聚体 C(式(IV))。

奇蒿二聚体 A(Artanomalide A), 结构式如式 II 所示, 为白色无定形粉末, 其熔点为 198℃~202℃, 所用仪器为 X4 型显微熔点测定仪(温度计未校正)。

结构确证:

$[\alpha]_D^{20} = +35.3$  ( $c = 0.15$ , CHCl<sub>3</sub>);

HRESIMS  $m/z$ : 549.24830  $[M+H]^+$  (calcd for C<sub>32</sub>H<sub>37</sub>O<sub>8</sub>: 549.24692);

UV (CHCl<sub>3</sub>)  $\lambda_{max}$  252nm;

IR(KBr)  $\nu_{max}$  3437(OH), 2923, 1765( $\gamma$ -内酯), 1691(环外双键)cm<sup>-1</sup>, 1647, 1617, 1261, 1240cm<sup>-1</sup>;

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>, 500MHz):  $\delta$ 6.29(1H, d,  $J=5.5$ , H-2'),  $\delta$ 6.19(1H, t,  $J=1.0$ , H-3),  $\delta$ 6.08(1H, d,  $J=3.0$ , H-13'),  $\delta$ 5.81(1H, d,  $J=5.5$ , H-3'),  $\delta$ 5.36(1H, d,  $J=3.0$ , H-13'),  $\delta$ 4.78(1H, dt,  $J=2.5; 11.0; 11.0$ , H-8),  $\delta$ 4.06(1H, t,  $J=10.0$ , H-6'),  $\delta$ 4.02(1H, dt,  $J=10.0; 11.0$ , H-6),  $\delta$ 3.26(1H, d,  $J=10.0$ , H-5),  $\delta$ 2.86(1H, d,  $J=10.0$ , H-5'),  $\delta$ 2.76(1H, m, H-7'),  $\delta$ 2.68(1H, t,  $J=11.0; 11.0$ , H-7),  $\delta$ 2.52(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 2.47(1H, dd,  $J=11.0; 13.5$ , H-9),  $\delta$ 2.39(3H, s, H-15),  $\delta$ 2.33(3H, s, H-14),  $\delta$ 2.31(1H, dd,  $J=5.0; 13.5$ , H-9),  $\delta$ 2.04(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 2.01(3H, s, H-2''),  $\delta$ 1.74(2H, q,  $J=7.0$ , H-9'),  $\delta$ 1.56(2H, q, H-8'),  $\delta$ 1.48(3H, s, H-14'),  $\delta$ 1.45(3H, s, H-15');

<sup>13</sup>C-NMR(CDCl<sub>3</sub>, 125MHz):  $\delta$ 194.8(C-2),  $\delta$ 178.7(C-12),  $\delta$ 170.2(C-4),  $\delta$ 169.6(C-12'),  $\delta$ 169.3(C-1''),  $\delta$ 143.9(C-10),  $\delta$ 140.1(C-11'),  $\delta$ 138.5(C-2'),  $\delta$ 136.1(C-3),  $\delta$ 134.9(C-3'),  $\delta$ 134.0

(C-1), $\delta$ 119.2(C-13'), $\delta$ 80.1(C-6), $\delta$ 78.0(C-6'), $\delta$ 72.8(C-10'), $\delta$ 68.0(C-8), $\delta$ 66.6(C-5'), $\delta$ 63.2(C-1'), $\delta$ 61.9(C-11), $\delta$ 59.4(C-7), $\delta$ 58.2(C-4'), $\delta$ 52.0(C-5), $\delta$ 44.4(C-9), $\delta$ 43.3(C-7'), $\delta$ 39.7(C-13), $\delta$ 37.0(C-9'), $\delta$ 23.7(C-15'), $\delta$ 23.0(C-8'), $\delta$ 21.5(C-2''), $\delta$ 20.5(C-15), $\delta$ 20.2(C-14), $\delta$ 17.0(C-14')。

奇蒿二聚体 B(Artanomalide B), 结构式如式III所示, 为白色无定形粉末, 其熔点为 196℃~201℃, 所用仪器为 X4 型显微熔点测定仪(温度计未校正)。

结构确证:

$[\alpha]_D^{20} = +32.1$  ( $c = 0.12$ ,  $\text{CHCl}_3$ );

HRESIMS  $m/z$ : 507.24330 $[M+H]^+$  (calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{O}_7$ : 507.23773);

UV ( $\text{CHCl}_3$ )  $\lambda_{\max}$  251 nm;

IR(KBr)  $\nu_{\max}$  3432(OH), 2918, 1762( $\gamma$ -内酯), 1684(环外双键) $\text{cm}^{-1}$ , 1636, 1622, 1252, 1241  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 500\text{MHz})$ :  $\delta$ 6.24(1H, d,  $J=5.0$ , H-2'),  $\delta$ 6.17(1H, t,  $J=1.0$ , H-3),  $\delta$ 6.12(1H, d,  $J=3.5$ , H-13'),  $\delta$ 5.85(1H, d,  $J=5.0$ , H-3'),  $\delta$ 5.32(1H, d,  $J=3.5$ , H-13'),  $\delta$ 4.72(1H, dt,  $J=2.5; 10.5; 10.5$ , H-8),  $\delta$ 4.08(1H, t,  $J=10.0$ , H-6'),  $\delta$ 4.04(1H, dt,  $J=10.0; 10.5$ , H-6),  $\delta$ 3.23(1H, d,  $J=10.0$ , H-5),  $\delta$ 2.84(1H, d,  $J=10.0$ , H-5'),  $\delta$ 2.73(1H, m, H-7'),  $\delta$ 2.64(1H, t,  $J=10.5; 11.0$ , H-7),  $\delta$ 2.55(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 2.45(1H, dd,  $J=11.0; 13.0$ , H-9),  $\delta$ 2.42(3H, s, H-15),  $\delta$ 2.31(3H, s, H-14),  $\delta$ 2.28(1H, dd,  $J=5.0; 13.0$ , H-9),  $\delta$ 2.06(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 1.78(2H, q,  $J=7.0$ , H-9'),  $\delta$ 1.56(2H, q, H-8'),  $\delta$ 1.46(3H, s, H-14'),  $\delta$ 1.43(3H, s, H-15')

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3, 125\text{MHz})$ :  $\delta$ 193.9(C-2),  $\delta$ 177.2(C-12),  $\delta$ 170.2(C-4),  $\delta$ 168.9(C-12'),  $\delta$ 143.9(C-10),  $\delta$ 139.2(C-11'),  $\delta$ 138.7(C-2'),  $\delta$ 135.6(C-3),  $\delta$ 134.9(C-3'),  $\delta$ 134.2(C-1),  $\delta$ 118.9(C-13'),  $\delta$ 80.5(C-6),  $\delta$ 78.2(C-6'),  $\delta$ 72.6(C-10'),  $\delta$ 67.6(C-8),  $\delta$ 66.9(C-5'),  $\delta$ 63.2(C-1'),  $\delta$ 61.9(C-11),  $\delta$ 59.5(C-7),  $\delta$ 58.7(C-4'),  $\delta$ 52.0(C-5),  $\delta$ 44.3(C-9),  $\delta$ 43.1(C-7'),  $\delta$ 39.6(C-13),  $\delta$ 37.3(C-9'),  $\delta$ 23.9(C-15'),  $\delta$ 22.8(C-8'),  $\delta$ 20.4(C-15),  $\delta$ 20.2(C-14),  $\delta$ 16.8(C-14')。

奇蒿二聚体 C(Artanomalide C), 结构式如式IV所示, 为白色无定形粉末, 其熔点为 195℃~198℃, 所用仪器为 X4 型显微熔点测定仪(温度计未校正)。

结构确证:

$[\alpha]_D^{20} = +30.5$  ( $c = 0.18$ ,  $\text{CHCl}_3$ );

HRESIMS  $m/z$ : 491.24302  $[M+H]^+$  (calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{O}_6$ : 491.24281);

UV ( $\text{CHCl}_3$ )  $\lambda_{\max}$  252 nm;

IR(KBr)  $\nu_{\max}$  3425(OH), 2918, 1762( $\gamma$ -内酯), 1696(环外双键) $\text{cm}^{-1}$ , 1643, 1622, 1258, 1237  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 500\text{MHz})$ :  $\delta$ 6.26(1H, d,  $J=5.5$ , H-2'),  $\delta$ 6.17(1H, t,  $J=1.0$ , H-3),  $\delta$ 6.06(1H, d,  $J=3.0$ , H-13'),  $\delta$ 5.83(1H, d,  $J=5.5$ , H-3'),  $\delta$ 5.34(1H, d,  $J=3.0$ , H-13'),  $\delta$ 4.04(1H, t,  $J=10.5$ , H-6'),  $\delta$ 4.02(1H, dt,  $J=10.5; 11.0$ , H-6),  $\delta$ 3.24(1H, d,  $J=10.5$ , H-5),  $\delta$ 2.83(1H, d,  $J=10.5$ , H-5'),  $\delta$ 2.72(1H, m, H-7'),  $\delta$ 2.64(1H, t,  $J=11.0; 11.0$ , H-7),  $\delta$ 2.55(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 2.36(3H, s, H-15),  $\delta$ 2.32(3H, s, H-14),  $\delta$ 2.04(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 1.92(2H, m, H-9),  $\delta$ 1.74(2H, q,  $J=7.0$ , H-9'),  $\delta$ 1.56(2H, q, H-8'),  $\delta$ 1.52(1H, m, H-8),  $\delta$ 1.24(1H, m, H-8),  $\delta$ 1.48(3H, s, H-14'),  $\delta$ 1.45(3H, s, H-15');

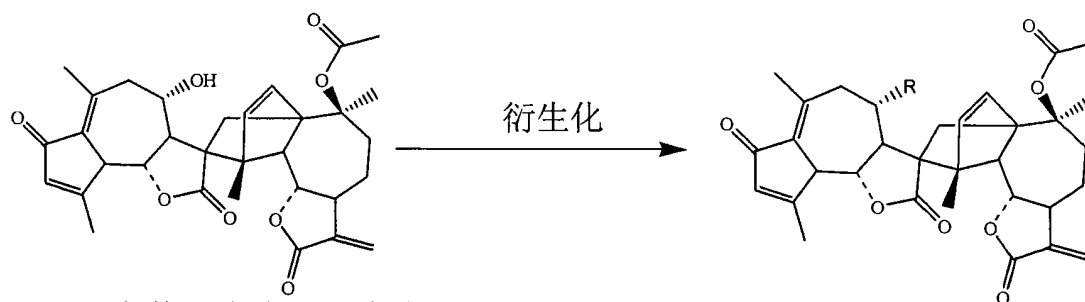
$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3, 125\text{MHz})$ :  $\delta$ 194.8(C-2),  $\delta$ 178.7(C-12),  $\delta$ 170.2(C-4),  $\delta$ 169.6(C-12'),  $\delta$ 143.9(C-10),  $\delta$ 140.1(C-11'),  $\delta$ 138.5(C-2'),  $\delta$ 136.1(C-3),  $\delta$ 134.9(C-3'),  $\delta$ 134.0(C-1),  $\delta$ 119.2(C-13'),  $\delta$ 80.1(C-6),  $\delta$ 78.0(C-6'),  $\delta$ 72.8(C-10'),  $\delta$ 66.6(C-5'),  $\delta$ 63.2(C-1'),  $\delta$ 61.9(C-11),  $\delta$ 59.4(C-7),  $\delta$ 58.2(C-4'),  $\delta$ 52.0(C-5),  $\delta$ 43.3(C-7'),  $\delta$ 39.7(C-13),  $\delta$ 37.0(C-9'),  $\delta$ 34.5(C-9),  $\delta$ 26.5(C-8),  $\delta$ 23.7(C-15'),  $\delta$ 23.0(C-8'),  $\delta$ 20.5(C-15),  $\delta$ 20.2(C-14),  $\delta$ 17.0(C-14')。

上述图谱结果表明所得化合物结构正确。

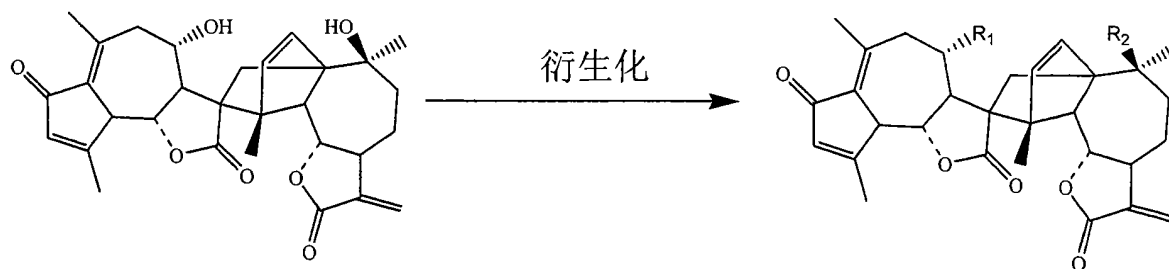
#### 实施例 2、其他衍生物的制备

以实施例 1 中得到的奇蒿二聚体 A、B 或 C 为反应物, 进行各种衍生化反应, 可以得到本发明的愈创木内酯类倍半萜二聚体化合物 A 的衍生物:

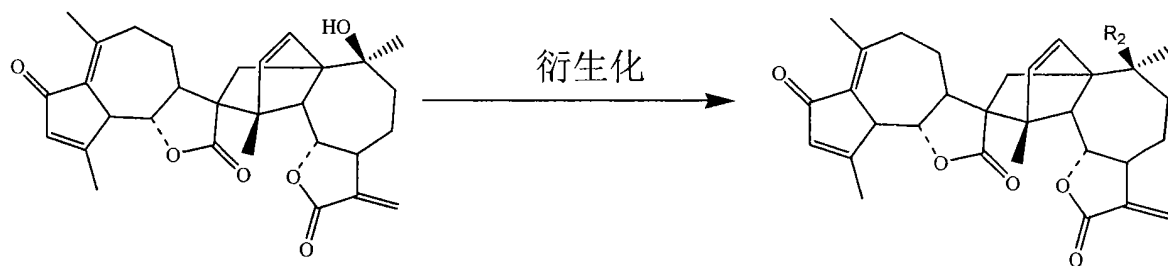
##### 1、奇蒿二聚体 A 衍生化反应



##### 2、奇蒿二聚体 B 衍生化反应



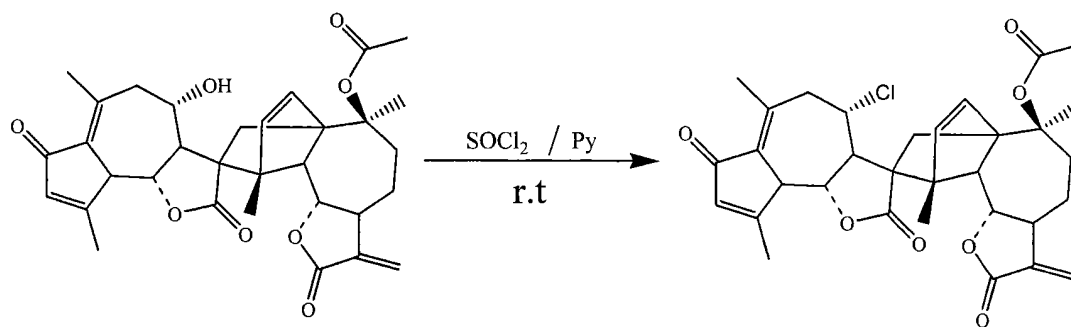
## 3、奇蒿二聚体 C 衍生化反应



具体如下：

1、奇蒿二聚体氯代物 1（式（I）中  $R_1$  为氯， $R_2$  为乙酰氧基）的制备

将实施例 1 中 10 mg 的奇蒿二聚体 A 溶于 5 ml 吡啶中，冰浴条件下滴加入 0.5 ml 二氯亚砷，反应 1 小时，减压除去溶剂，即得产物 1。



该氯代物 1 为白色粉末，其熔点为  $205^{\circ}\text{C} \sim 208^{\circ}\text{C}$ ，所用仪器为 X4 型显微熔点测定仪（温度计未校正）。

结构确证：

ESIMS  $m/z$ :  $567[\text{M} + \text{H}]^+$  ( $\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{ClO}_7$ ).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):  $\delta$  6.06 (1H, t,  $J=1.5$ , H-3),  $\delta$  3.14 (1H, d,  $J=11.0$ , H-5),  $\delta$  4.13 (1H, dt,  $J=11.0; 11.5$ , H-6),  $\delta$  2.82 (1H, t,  $J=11.5; 11.5$ , H-7),  $\delta$  4.96 (1H, dt,  $J=2.5; 11.5; 11.5$ , H-8),  $\delta$  2.49 (1H, dd,  $J=11.5; 13.0$ , H-9),  $\delta$  2.35 (1H, dd,  $J=3.0; 13.5$ , H-9),  $\delta$  2.46 (1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$  2.12 (1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$  2.23 (3H, s, H-14),  $\delta$  2.31 (3H, s, H-15),  $\delta$  6.21 (1H, d,  $J=5.5$ , H-2'),  $\delta$  5.75 (1H, d,  $J=5.5$ , H-3'),  $\delta$  2.76 (1H, d,  $J=10.5$ , H-5'),  $\delta$  4.02 (1H, t,  $J=10.5$ , H-6'),  $\delta$  2.72 (1H, m, H-7'),  $\delta$  1.52 (2H, q, H-8'),  $\delta$  1.65 (2H, q,  $J=7.0$ , H-9'),  $\delta$  6.04 (1H, d,  $J=3.0$ , H-13'),  $\delta$  5.31 (1H, d,  $J=3.0$ , H-13'),  $\delta$  1.42 (3H, s, H-14'),  $\delta$  1.40 (3H, s, H-15'),  $\delta$  2.03 (3H, s, H-2'');

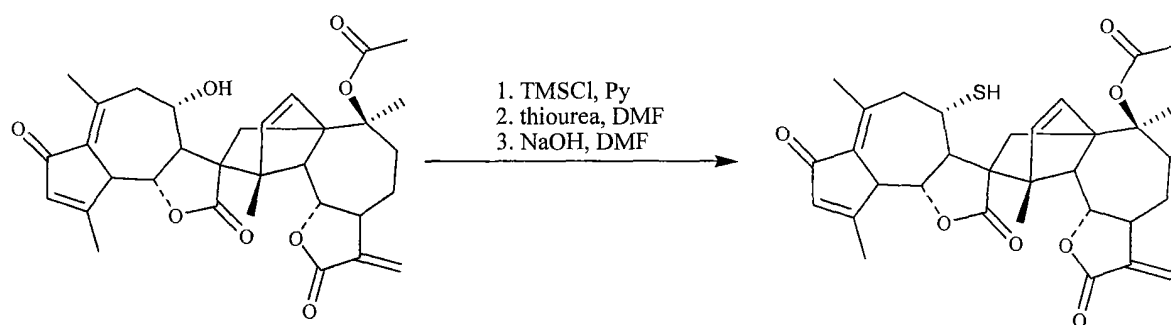
$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz):  $\delta$  132.5 (C-1),  $\delta$  195.2 (C-2),  $\delta$  134.2 (C-3),  $\delta$  172.1 (C-4),  $\delta$  50.8 (C-5),  $\delta$  79.8 (C-6),  $\delta$  57.6 (C-7),  $\delta$  49.5 (C-8),  $\delta$  42.1 (C-9),  $\delta$  142.6 (C-10),  $\delta$  60.8 (C-11),

8178.2(C-12),838.8(C-13),819.8(C-14),820.1(C-15),862.9(C-1'),8137.6(C-2'),8133.8(C-3'),857.7(C-4'),865.8(C-5'),877.4(C-6'),842.6(C-7'),822.6(C-8'),836.5(C-9'),872.1(C-10'),8139.1(C-11'),8169.2(C-12'),8118.6(C-13'),816.8(C-14'),823.3(C-15'),8170.2(C-1''),821.2(C-2'');

上述图谱结果表明所得化合物结构正确。

2、奇蒿二聚体硫化物 2 (式 (I) 中  $R_1$  为巯基,  $R_2$  为乙酰氧基) 的制备

将实施例 1 中的 100 mg 的奇蒿二聚体 A 溶于 10 ml 吡啶中, 室温下加入三甲基氯硅烷 20 mg, TLC 监测反应至原料奇蒿二聚体 A 完全消失, 待反应结束后, 减压除去溶剂, 收集残余物; 将上述残余物溶于二甲基甲酰胺 (DMF) 中, 加入硫脲, TLC 监测反应至原料奇蒿二聚体 A 完全消失, 反应结束后, 加入 NaOH 溶液进行皂化反应, 反应结束后重结晶得到产物 2。



该硫代物 2 为白色粉末, 其熔点为  $185^{\circ}\text{C} \sim 188^{\circ}\text{C}$ , 所用仪器为 X4 型显微熔点测定仪 (温度计未校正)。

结构确证:

ESIMS  $m/z$ : 565 $[M+H]^+$  ( $C_{32}H_{37}SO_7$ ).

$^1\text{H-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500MHz):  $\delta$ 6.02(1H, t,  $J=1.5$ , H-3),  $\delta$ 3.04(1H, d,  $J=10.5$ , H-5),  $\delta$ 4.05(1H, dt,  $J=10.5; 11.5$ , H-6),  $\delta$ 2.74(1H, t,  $J=11.0; 11.5$ , H-7),  $\delta$ 3.62(1H, dt,  $J=2.5; 11.0; 11.5$ , H-8),  $\delta$ 2.58(1H, dd,  $J=11.5; 13.0$ , H-9),  $\delta$ 2.32(1H, dd,  $J=3.0; 13.5$ , H-9),  $\delta$ 2.46(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 2.09(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 2.21(3H, s, H-14),  $\delta$ 2.26(3H, s, H-15),  $\delta$ 6.17(1H, d,  $J=5.5$ , H-2'),  $\delta$ 5.71(1H, d,  $J=5.5$ , H-3'),  $\delta$ 2.71(1H, d,  $J=10.5$ , H-5'),  $\delta$ 3.92(1H, t,  $J=10.5$ , H-6'),  $\delta$ 2.69(1H, m, H-7'),  $\delta$ 1.48(2H, q, H-8'),  $\delta$ 1.62(2H, q,  $J=7.0$ , H-9'),  $\delta$ 6.02(1H, d,  $J=3.0$ , H-13'),  $\delta$ 5.28(1H, d,  $J=3.0$ , H-13'),  $\delta$ 1.36(3H, s, H-14'),  $\delta$ 1.34(3H, s, H-15'),  $\delta$ 2.03(3H, s, H-2'');

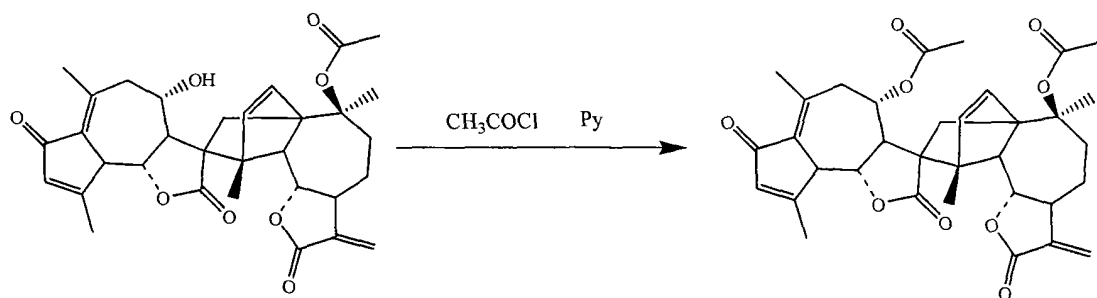
$^{13}\text{C-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125MHz):  $\delta$ 132.7(C-1),  $\delta$ 195.1(C-2),  $\delta$ 134.8(C-3),  $\delta$ 171.6(C-4),  $\delta$ 51.

8(C-5), $\delta$ 79.3(C-6), $\delta$ 59.8(C-7),42.5(C-8), $\delta$ 40.5(C-9), $\delta$ 142.2(C-10), $\delta$ 60.2(C-11), $\delta$ 177.6(C-12), $\delta$ 38.2(C-13), $\delta$ 18.3(C-14), $\delta$ 21.2(C-15), $\delta$ 64.1(C-1'), $\delta$ 135.7(C-2'), $\delta$ 134.2(C-3'), $\delta$ 56.3(C-4'), $\delta$ 64.4(C-5'), $\delta$ 76.8(C-6'), $\delta$ 43.8(C-7'), $\delta$ 23.2(C-8'), $\delta$ 37.8(C-9'), $\delta$ 71.2(C-10'), $\delta$ 137.6(C-11'), $\delta$ 169.8(C-12'), $\delta$ 117.5(C-13'), $\delta$ 16.9(C-14'), $\delta$ 24.3(C-15'), $\delta$ 169.3(C-1''), $\delta$ 21.5(C-2'');

上述图谱结果表明所得化合物结构正确。

3、奇蒿二聚体乙酰氧化物 3 (式 (I) 中  $R_1$  为乙酰氧基,  $R_2$  为乙酰氧基) 的制备

将实施例 1 中 50 mg 的奇蒿二聚体 A 溶于 5 ml 吡啶中, 室温下滴加入 1 ml 乙酰氯, TLC 监测反应至原料完全消失, 反应结束后, 减压除去溶剂, 加入少量二氯甲烷溶解, 有机层以 5 ml 饱和  $\text{NaHCO}_3$  洗涤三次, 二氯甲烷层以无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩至干, 即得产物 3。



该乙酰氧化物 3 为白色粉末。

结构确证:

ESIMS  $m/z$ : 591 $[M+H]^+$  ( $\text{C}_{34}\text{H}_{39}\text{O}_9$ ).

$^1\text{H-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500MHz): $\delta$ 6.19(1H,t, $J=1.5$ ,H-3), $\delta$ 3.26(1H,d, $J=10.5$ ,H-5), $\delta$ 4.05(1H,dt, $J=10.5$ ;11.5,H-6), $\delta$ 2.74(1H,t, $J=11.0$ ;11.5,H-7),4.88(1H,dt, $J=2.5$ ;11.0;11.5,H-8), $\delta$ 2.48(1H,dd, $J=11.5$ ;13.0,H-9), $\delta$ 2.29(1H,dd, $J=3.0$ ;13.5,H-9), $\delta$ 2.59(1H,d, $J=12.0$ ,H-13), $\delta$ 2.02(1H,d, $J=12.0$ ,H-13), $\delta$ 2.31(3H,s,H-14), $\delta$ 2.36(3H,s,H-15), $\delta$ 6.26(1H,d, $J=5.5$ ,H-2'), $\delta$ 5.56(1H,d, $J=5.5$ ,H-3'), $\delta$ 2.62(1H,d, $J=10.5$ ,H-5'), $\delta$ 3.94(1H,t, $J=10.5$ ,H-6'), $\delta$ 2.62(1H,m,H-7'), $\delta$ 1.62(2H,q,H-8'), $\delta$ 1.76(2H,q, $J=7.0$ ,H-9'), $\delta$ 6.02(1H,d, $J=3.0$ ,H-13'), $\delta$ 5.28(1H,d, $J=3.0$ ,H-13'), $\delta$ 1.32(3H,s,H-14'), $\delta$ 1.28(3H,s,H-15'), $\delta$ 2.01(3H,s,H-2''), $\delta$ 2.02(3H,s,H-2'');

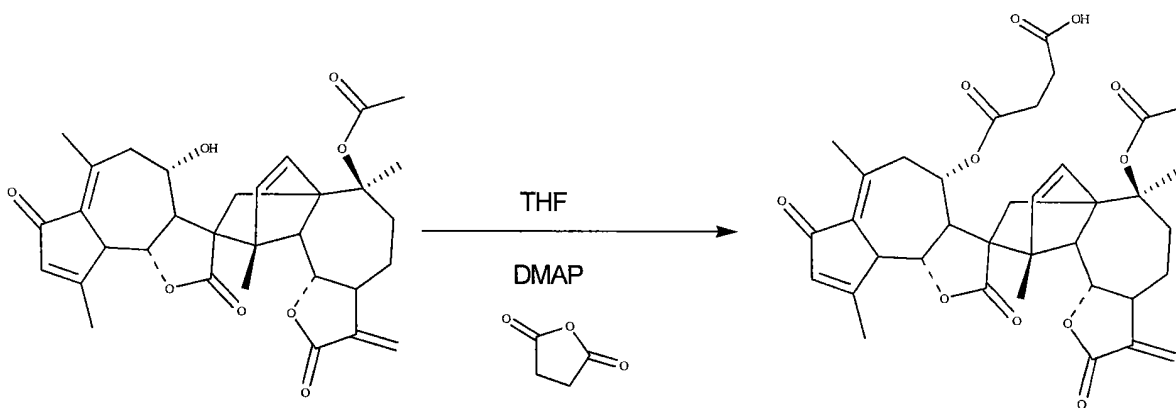
$^{13}\text{C-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125MHz): $\delta$ 134.2(C-1), $\delta$ 194.8(C-2), $\delta$ 135.8(C-3), $\delta$ 170.2(C-4), $\delta$ 51.

9(C-5), $\delta$ 80.3(C-6), $\delta$ 58.2(C-7),70.2(C-8), $\delta$ 43.2(C-9), $\delta$ 143.2(C-10), $\delta$ 61.2(C-11), $\delta$ 176.2(C-12), $\delta$ 40.3(C-13), $\delta$ 20.2(C-14), $\delta$ 20.6(C-15), $\delta$ 63.6(C-1'), $\delta$ 134.2(C-2'), $\delta$ 135.5(C-3'), $\delta$ 58.3(C-4'), $\delta$ 66.4(C-5'), $\delta$ 77.2(C-6'), $\delta$ 44.6(C-7'), $\delta$ 23.6(C-8'), $\delta$ 38.2(C-9'), $\delta$ 72.4(C-10'), $\delta$ 138.6(C-11'), $\delta$ 169.2(C-12'), $\delta$ 118.5(C-13'), $\delta$ 17.4(C-14'), $\delta$ 23.6(C-15'), $\delta$ 169.3(C-1''), $\delta$ 22.5(C-2''), $\delta$ 169.1(C-1'''), $\delta$ 22.2(C-2''');

上述图谱结果表明所得化合物结构正确。

4、奇蒿二聚体琥珀酰氧化物 4 (式 (I) 中  $R_1$  为琥珀酰氧基,  $R_2$  为乙酰氧基) 的制备:

将实施例 1 中 100 mg 的奇蒿二聚体 A 溶于 10 ml 四氢呋喃 (THF) 中, 室温下加入 25 mg 琥珀酸酐和 5 mg 4-二甲氨基吡啶 (DMAP), TLC 监测反应至原料奇蒿二聚体 A 完全消失, 反应结束后, 减压除去溶剂, 柱层析分离 (洗脱剂为体积比为 100: 3 的二氯甲烷与甲醇的混合液), 即得产物 4。



该琥珀酰氧化物 4 为白色粉末。

结构确证:

ESIMS  $m/z$ : 649 $[M+H]^+$  ( $C_{36}H_{41}O_{11}$ ).

$^1H$ -NMR( $CDCl_3$ , 500MHz):  $\delta$ 6.13(1H, t,  $J=1.5$ , H-3),  $\delta$ 3.22(1H, d,  $J=10.5$ , H-5),  $\delta$ 4.02(1H, dt,  $J=11.0; 11.0$ , H-6),  $\delta$ 2.82(1H, t,  $J=11.0; 11.0$ , H-7), 4.94(1H, dt,  $J=2.5; 11.0; 11.5$ , H-8),  $\delta$ 2.33(1H, dd,  $J=11.5; 13.0$ , H-9),  $\delta$ 2.24(1H, dd,  $J=3.0; 13.5$ , H-9),  $\delta$ 2.46(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 2.06(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 2.24(3H, s, H-14),  $\delta$ 2.31(3H, s, H-15),  $\delta$ 6.21(1H, d,  $J=5.5$ , H-2'),  $\delta$ 5.32(1H, d,  $J=5.5$ , H-3'),  $\delta$ 2.52(1H, d,  $J=10.5$ , H-5'),  $\delta$ 3.82(1H, t,  $J=10.5$ , H-6'),  $\delta$ 2.54(1H, m, H-7'),  $\delta$ 1.54(2H, q, H-8'),  $\delta$ 1.68(2H, q,  $J=7.0$ , H-9'),  $\delta$ 6.02(1H, d,  $J=3.0$ , H-13'),  $\delta$ 5.28(1H, d,  $J=3.0$ , H-13'),  $\delta$ 1.32(3H, s, H-14'),  $\delta$ 1.28(3H, s, H-15'),  $\delta$ 2.52(2H, m, H-2''),  $\delta$ 2.62(2H, m, H-3''),  $\delta$ 2.04(3H,



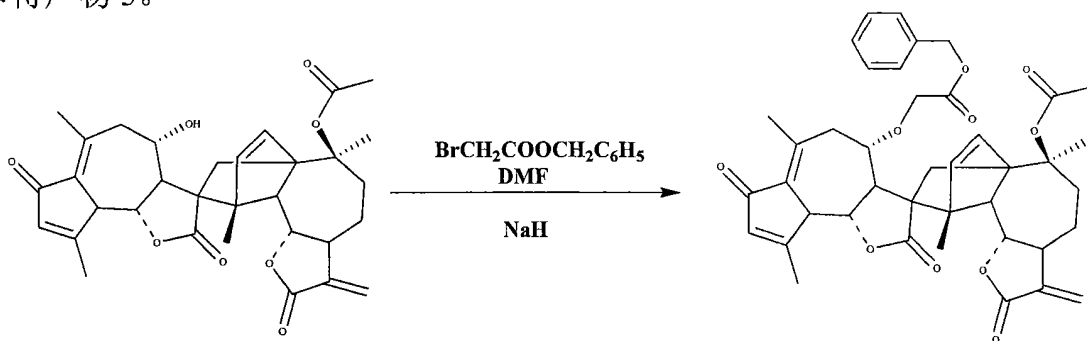
s,H-2''');

$^{13}\text{C}$ -NMR( $\text{CDCl}_3$ ,125MHz): $\delta$ 134.2(C-1), $\delta$ 194.8(C-2), $\delta$ 135.8(C-3), $\delta$ 170.2(C-4), $\delta$ 51.9(C-5), $\delta$ 80.3(C-6), $\delta$ 57.6(C-7), $\delta$ 68.5(C-8), $\delta$ 43.8(C-9), $\delta$ 143.2(C-10), $\delta$ 61.2(C-11), $\delta$ 176.2(C-12), $\delta$ 40.3(C-13), $\delta$ 20.2(C-14), $\delta$ 20.6(C-15), $\delta$ 63.6(C-1'), $\delta$ 134.2(C-2'), $\delta$ 135.5(C-3'), $\delta$ 58.3(C-4'), $\delta$ 66.4(C-5'), $\delta$ 77.2(C-6'), $\delta$ 44.6(C-7'), $\delta$ 23.6(C-8'), $\delta$ 38.2(C-9'), $\delta$ 72.4(C-10'), $\delta$ 138.6(C-11'), $\delta$ 169.2(C-12'), $\delta$ 118.5(C-13'), $\delta$ 17.4(C-14'), $\delta$ 23.6(C-15'), $\delta$ 172.8(C-1''), $\delta$ 29.2(C-2''), $\delta$ 31.5(C-3''), $\delta$ 174.5(C-4''), $\delta$ 169.1(C-1'''), $\delta$ 22.2(C-2''');

上述图谱结果表明所得化合物结构正确。

5、奇蒿二聚体苄氧羰甲氧基衍生物 5(式(I))中  $\text{R}_1$  为苄氧羰甲氧基,  $\text{R}_2$  为乙酰氧基)的制备:

将实施例 1 中 100 mg 的奇蒿二聚体 A 溶于 10 ml DMF 中,  $0^\circ\text{C}$  下加入 15 mg NaH, 反应 15 min 之后, 加入 60 mg 溴乙酸苄酯( $\text{BrCH}_2\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 升温至  $50^\circ\text{C}$  反应, TLC 监测反应至原料奇蒿二聚体 A 完全消失, 反应结束后, 减压除去溶剂, 即得产物 5。



该苄氧羰甲氧基衍生物 5 为白色粉末。

结构确证:

ESIMS  $m/z$ : 697 $[\text{M} + \text{H}]^+$  ( $\text{C}_{41}\text{H}_{45}\text{O}_{10}$ ).

$^1\text{H}$ -NMR( $\text{CDCl}_3$ ,500MHz): $\delta$ 6.12(1H,t,J=1.5,H-3), $\delta$ 3.35(1H,d,J=10.5,H-5), $\delta$ 4.02(1H,dt,J=10.5;11.0,H-6), $\delta$ 2.74(1H,t,J=11.0;11.0,H-7), $\delta$ 4.24(1H,dt,J=2.5;11.0;11.0,H-8), $\delta$ 2.21(1H,dd,J=11.5;13.0,H-9), $\delta$ 1.96(1H,dd,J=3.0;13.5,H-9), $\delta$ 2.62(1H,d,J=12.0,H-13), $\delta$ 2.14(1H,d,J=12.0,H-13), $\delta$ 2.29(3H,s,H-14), $\delta$ 2.32(3H,s,H-15), $\delta$ 6.22(1H,d,J=5.5,H-2'), $\delta$ 5.53(1H,d,J=5.5,H-3'), $\delta$ 2.48(1H,d,J=10.5,H-5'), $\delta$ 3.82(1H,t,J=10.5,H-6'), $\delta$ 2.62(1H,m,H-7'), $\delta$ 1.64(2H,q,H-8'), $\delta$ 1.82(2H,q,J=7.0,H-9'), $\delta$ 6.02(1H,d,J=3.0,H-13'), $\delta$ 5.34(1H,d,J=3.0,H-13'), $\delta$ 1.30(3H,s,H-14'), $\delta$ 1.25(3H,s,H-15'), $\delta$ 4.32(2H,d,J=13.0,H-1''), $\delta$ 5.32(2H,d,J=12.5,H-3'')

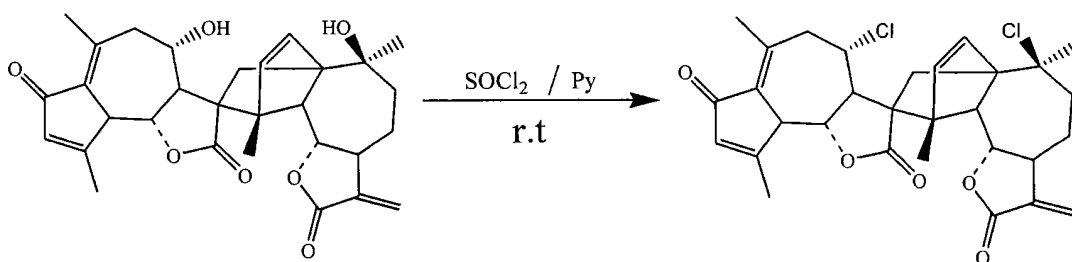
”),  $\delta$ 7.35(5H,m,H-Ar),  $\delta$ 2.02(3H,s,H-2’’’);

$^{13}\text{C-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125MHz):  $\delta$ 133.5(C-1),  $\delta$ 194.2(C-2),  $\delta$ 135.2(C-3),  $\delta$ 169.2(C-4),  $\delta$ 52.4(C-5),  $\delta$ 80.1(C-6),  $\delta$ 57.2(C-7),  $\delta$ 72.5(C-8),  $\delta$ 42.3(C-9),  $\delta$ 142.8(C-10),  $\delta$ 60.5(C-11),  $\delta$ 175.4(C-12),  $\delta$ 39.4(C-13),  $\delta$ 20.5(C-14),  $\delta$ 21.2(C-15),  $\delta$ 62.9(C-1’),  $\delta$ 133.7(C-2’),  $\delta$ 134.5(C-3’),  $\delta$ 57.6(C-4’),  $\delta$ 65.4(C-5’),  $\delta$ 75.2(C-6’),  $\delta$ 43.9(C-7’),  $\delta$ 23.3(C-8’),  $\delta$ 36.2(C-9’),  $\delta$ 73.4(C-10’),  $\delta$ 136.2(C-11’),  $\delta$ 170.3(C-12’),  $\delta$ 119.2(C-13’),  $\delta$ 18.6(C-14’),  $\delta$ 22.8(C-15’),  $\delta$ 64.9(C-1’’),  $\delta$ 168.5(C-2’’),  $\delta$ 68.9(C-3’’),  $\delta$ 140.5(Ar-C-1),  $\delta$ 126.6(Ar-C-2;6),  $\delta$ 128.9(Ar-C-3;5),  $\delta$ 127.4(Ar-C-4),  $\delta$ 169.1(C-1’’’),  $\delta$ 22.6(C-2’’’);

上述图谱结果表明所得化合物结构正确。

#### 6、奇蒿二聚体双氯代物 6 (式 (I) 中 $\text{R}_1$ 和 $\text{R}_2$ 皆为氯) 的制备

将实施例 1 中 8 mg 的奇蒿二聚体 B 溶于 5 ml 吡啶中, 冰浴条件下滴加入 0.5 ml 二氯亚砷, 反应 1 小时, 在减压除去溶剂, 即得产物 6。



该双氯代物 6 为白色粉末, 其熔点为  $207^\circ\text{C} \sim 210^\circ\text{C}$ , 所用仪器为 X4 型显微熔点测定仪 (温度计未校正)。

结构确证:

ESIMS  $m/z$ : 543 $[\text{M} + \text{H}]^+$  ( $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{Cl}_2\text{O}_5$ ).

$^1\text{H-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500MHz):  $\delta$ 6.04(1H,t,J=1.5,H-3),  $\delta$ 3.16(1H,d,J=11.0,H-5),  $\delta$ 4.11(1H,dt,J=11.0;11.5,H-6),  $\delta$ 2.81(1H,t,J=11.5;11.5,H-7),  $\delta$ 4.94(1H,dt,J=2.5;11.5;11.5,H-8),  $\delta$ 2.49(1H,dd,J=11.5;13.0,H-9),  $\delta$ 2.35(1H,dd,J=3.0;13.5,H-9),  $\delta$ 2.42(1H,d,J=12.0,H-13),  $\delta$ 2.16(1H,d,J=12.0,H-13),  $\delta$ 2.18(3H,s,H-14),  $\delta$ 2.28(3H,s,H-15),  $\delta$ 6.18(1H,d,J=5.5,H-2’),  $\delta$ 5.72(1H,d,J=5.5,H-3’),  $\delta$ 2.74(1H,d,J=10.5,H-5’),  $\delta$ 4.06(1H,t,J=10.5,H-6’),  $\delta$ 2.76(1H,m,H-7’),  $\delta$ 1.50(2H,q,H-8’),  $\delta$ 1.64(2H,q,J=7.0,H-9’),  $\delta$ 6.02(1H,d,J=3.0,H-13’),  $\delta$ 5.29(1H,d,J=3.0,H-13’),  $\delta$ 1.42(3H,s,H-14’),  $\delta$ 1.37(3H,s,H-15’);

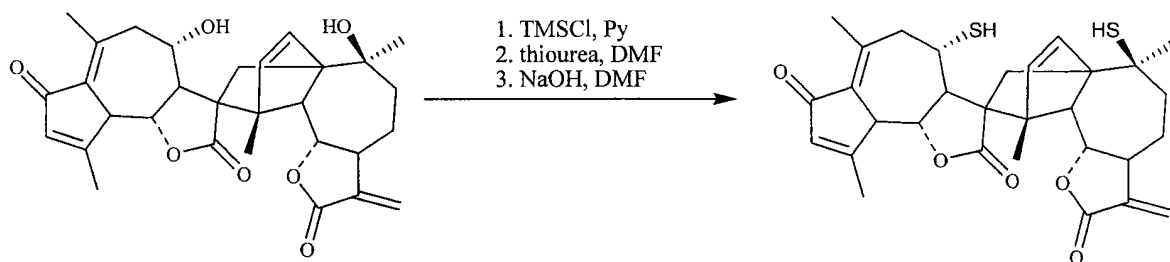
$^{13}\text{C-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125MHz):  $\delta$ 132.2(C-1),  $\delta$ 194.9(C-2),  $\delta$ 134.8(C-3),  $\delta$ 172.2(C-4),  $\delta$ 50.

9(C-5), $\delta$ 79.2(C-6), $\delta$ 57.4(C-7),49.6(C-8), $\delta$ 41.7(C-9), $\delta$ 141.5(C-10), $\delta$ 60.2(C-11), $\delta$ 178.4(C-12), $\delta$ 38.6(C-13), $\delta$ 19.8(C-14), $\delta$ 20.4(C-15), $\delta$ 62.7(C-1'), $\delta$ 137.8(C-2'), $\delta$ 133.6(C-3'), $\delta$ 57.4(C-4'), $\delta$ 65.4(C-5'), $\delta$ 77.2(C-6'), $\delta$ 42.7(C-7'), $\delta$ 22.9(C-8'), $\delta$ 39.2(C-9'), $\delta$ 58.4(C-10'), $\delta$ 138.7(C-11'), $\delta$ 168.9(C-12'), $\delta$ 117.8(C-13'), $\delta$ 16.7(C-14'), $\delta$ 23.2(C-15');

上述图谱结果表明所得化合物结构正确。

#### 7、奇蒿二聚体双硫化物 7 (式 (I) 中 $R_1$ 和 $R_2$ 皆为巯基) 的制备

将实施例 1 中的 30 mg 的奇蒿二聚体 B 溶于 10 ml 吡啶中, 室温下加入三甲基氯硅烷 15 mg, TLC 监测反应至原料奇蒿二聚体 B 完全消失, 待反应结束后, 减压除去溶剂, 收集残余物; 将上述残余物溶于二甲基甲酰胺 (DMF) 中, 加入硫脲, TLC 监测反应至原料奇蒿二聚体 B 完全消失, 反应结束后, 加入 NaOH 溶液进行皂化反应, 反应结束后重结晶得到产物 7。



该双硫代物 7 为白色粉末, 其熔点为  $181^{\circ}\text{C} \sim 184^{\circ}\text{C}$ , 所用仪器为 X4 型显微熔点测定仪 (温度计未校正)。

结构确证:

ESIMS  $m/z$ : 539 $[M+H]^+$  ( $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{S}_2\text{O}_5$ ).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500MHz):  $\delta$ 6.11(1H, t,  $J=1.5$ , H-3),  $\delta$ 3.08(1H, d,  $J=10.5$ , H-5),  $\delta$ 4.02(1H, dt,  $J=10.5; 11.0$ , H-6),  $\delta$ 2.68(1H, t,  $J=11.0; 11.0$ , H-7), 3.60(1H, dt,  $J=2.5; 11.0; 11.5$ , H-8),  $\delta$ 2.48(1H, dd,  $J=11.5; 13.0$ , H-9),  $\delta$ 2.35(1H, dd,  $J=3.0; 13.5$ , H-9),  $\delta$ 2.42(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 2.02(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 2.16(3H, s, H-14),  $\delta$ 2.24(3H, s, H-15),  $\delta$ 6.13(1H, d,  $J=5.5$ , H-2'),  $\delta$ 5.68(1H, d,  $J=5.5$ , H-3'),  $\delta$ 2.67(1H, d,  $J=10.5$ , H-5'),  $\delta$ 3.87(1H, t,  $J=10.5$ , H-6'),  $\delta$ 2.62(1H, m, H-7'),  $\delta$ 1.49(2H, q, H-8'),  $\delta$ 1.74(2H, q,  $J=7.0$ , H-9'),  $\delta$ 6.01(1H, d,  $J=3.5$ , H-13'),  $\delta$ 5.24(1H, d,  $J=3.5$ , H-13'),  $\delta$ 1.32(3H, s, H-14'),  $\delta$ 1.30(3H, s, H-15');

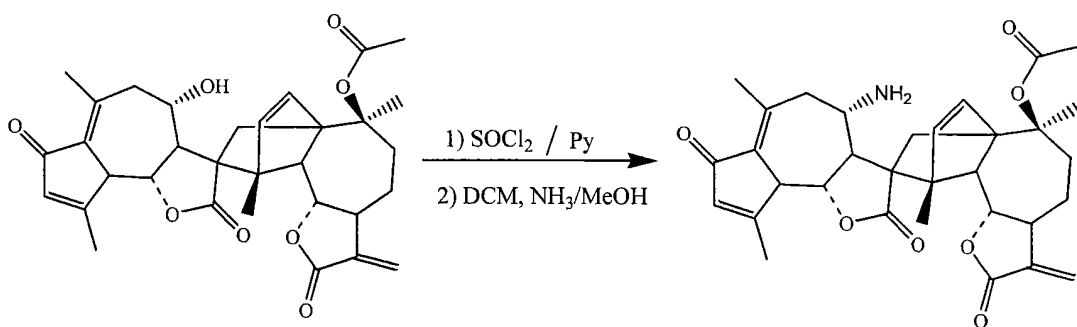
$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125MHz):  $\delta$ 132.2(C-1),  $\delta$ 194.6(C-2),  $\delta$ 132.7(C-3),  $\delta$ 170.4(C-4),  $\delta$ 51.

2(C-5), $\delta$ 79.6(C-6), $\delta$ 59.8(C-7),35.3(C-8), $\delta$ 42.5(C-9), $\delta$ 140.6(C-10), $\delta$ 60.2(C-11), $\delta$ 175.8(C-12), $\delta$ 38.7(C-13), $\delta$ 17.6(C-14), $\delta$ 21.2(C-15), $\delta$ 64.1(C-1'), $\delta$ 132.8(C-2'), $\delta$ 132.6(C-3'), $\delta$ 56.3(C-4'), $\delta$ 64.6(C-5'), $\delta$ 76.2(C-6'), $\delta$ 45.8(C-7'), $\delta$ 22.8(C-8'), $\delta$ 36.5(C-9'), $\delta$ 50.2(C-10'), $\delta$ 135.6(C-11'), $\delta$ 168.4(C-12'), $\delta$ 115.6(C-13'), $\delta$ 16.6(C-14'), $\delta$ 24.2(C-15');

上述图谱结果表明所得化合物结构正确。

8、奇蒿二聚体氨化物 8 (式 (I) 中  $R_1$  为氨基,  $R_2$  为乙酰氧基) 的制备

将实施例 1 中 8 mg 的奇蒿二聚体 A 溶于 5 ml 吡啶中, 冰浴条件下滴加入 0.5 ml 二氯亚砷, 反应 1 小时, 减压除去溶剂, 所得粗产品溶于无水二氯甲烷(DCM)中, 加入 1 ml 氨的甲醇溶液(1M), 室温搅拌 TLC 监测反应至氯代物消失, 减压浓缩即得产物 8。



该氨代物 8 为白色粉末。结构确证:

ESIMS  $m/z$ : 548 $[M+H]^+$  ( $C_{32}H_{38}NO_7$ ).

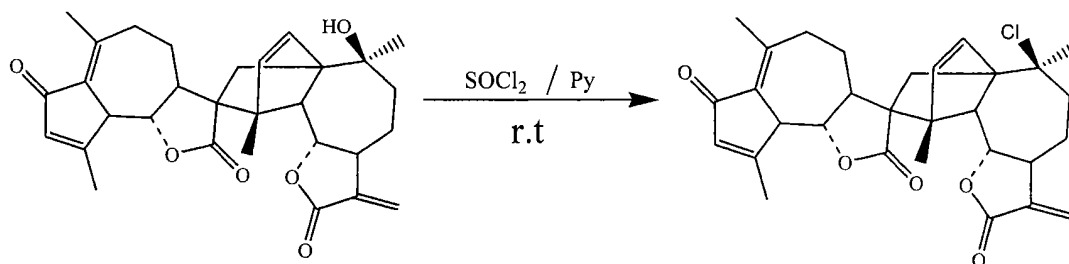
$^1H$ -NMR( $CDCl_3$ , 500MHz): $\delta$ 6.14(1H,t, $J$ =1.5,H-3), $\delta$ 3.12(1H,d, $J$ =11.0,H-5), $\delta$ 4.06(1H,dt, $J$ =11.0;11.0,H-6), $\delta$ 2.32(1H,t, $J$ =11.0;11.0,H-7),2.73(1H,dt, $J$ =2.0;11.0;11.5,H-8), $\delta$ 2.34(1H,dd, $J$ =11.5;13.5,H-9), $\delta$ 2.12(1H,dd, $J$ =3.0;13.5,H-9), $\delta$ 2.45(1H,d, $J$ =12.0,H-13), $\delta$ 2.06(1H,d, $J$ =12.0,H-13), $\delta$ 2.12(3H,s,H-14), $\delta$ 2.28(3H,s,H-15), $\delta$ 6.17(1H,d, $J$ =5.5,H-2'), $\delta$ 5.62(1H,d, $J$ =5.5,H-3'), $\delta$ 2.62(1H,d, $J$ =10.5,H-5'), $\delta$ 3.81(1H,t, $J$ =10.5,H-6'), $\delta$ 2.62(1H,m,H-7'), $\delta$ 1.52(2H,q,H-8'), $\delta$ 1.70(2H,q, $J$ =7.0,H-9'), $\delta$ 6.01(1H,d, $J$ =3.5,H-13'), $\delta$ 5.22(1H,d, $J$ =3.5,H-13'), $\delta$ 1.36(3H,s,H-14'), $\delta$ 1.28(3H,s,H-15');

$^{13}C$ -NMR( $CDCl_3$ , 125MHz): $\delta$ 131.2(C-1), $\delta$ 194.8(C-2), $\delta$ 132.4(C-3), $\delta$ 170.5(C-4), $\delta$ 51.4(C-5), $\delta$ 78.2(C-6), $\delta$ 42.3(C-7),46.2(C-8), $\delta$ 40.1(C-9), $\delta$ 143.6(C-10), $\delta$ 56.2(C-11), $\delta$ 176.2(C-12), $\delta$ 32.7(C-13), $\delta$ 17.4(C-14), $\delta$ 21.5(C-15), $\delta$ 64.2(C-1'), $\delta$ 133.4(C-2'), $\delta$ 132.6(C-3'), $\delta$ 56.6(C-4'), $\delta$ 64.2(C-5'), $\delta$ 76.2(C-6'), $\delta$ 45.6(C-7'), $\delta$ 22.4(C-8'), $\delta$ 36.6(C-9'), $\delta$ 50.1(C-10'), $\delta$ 135.2(C-11'), $\delta$ 168.2(C-12'), $\delta$ 115.4(C-13'), $\delta$ 16.7(C-14'), $\delta$ 24.4(C-15');

上述图谱结果表明所得化合物结构正确。

#### 9、奇蒿二聚体氯代物 9（式（I）中 $R_1$ 为氢， $R_2$ 为氯）的制备

将实施例 1 中 8 mg 的奇蒿二聚体 C 溶于 5 ml 吡啶中，冰浴条件下滴加入 0.5ml 二氯亚砷，反应 1 小时，减压除去溶剂，即得产物 9。



该氯代物 9 为白色粉末，其熔点为  $198^{\circ}\text{C} \sim 202^{\circ}\text{C}$ ，所用仪器为 X4 型显微熔点测定仪（温度计未校正）。

结构确证：

ESIMS  $m/z$ : 509 $[M+H]^+$  ( $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{ClO}_5$ ).

$^1\text{H-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500MHz):  $\delta$ 6.18(1H, d,  $J=5.5$ , H-2'),  $\delta$ 6.12(1H, t,  $J=1.0$ , H-3),  $\delta$ 6.02(1H, d,  $J=3.0$ , H-13'),  $\delta$ 5.81(1H, d,  $J=5.5$ , H-3'),  $\delta$ 5.31(1H, d,  $J=3.0$ , H-13'),  $\delta$ 3.98(1H, t,  $J=11.0$ , H-6'),  $\delta$ 3.95(1H, dt,  $J=11.0; 11.0$ , H-6),  $\delta$ 3.21(1H, d,  $J=10.5$ , H-5),  $\delta$ 2.80(1H, d,  $J=10.5$ , H-5'),  $\delta$ 2.69(1H, m, H-7'),  $\delta$ 2.62(1H, t,  $J=11.0; 11.0$ , H-7),  $\delta$ 2.51(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 2.32(3H, s, H-15),  $\delta$ 2.27(3H, s, H-14),  $\delta$ 2.02(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 1.89(2H, m, H-9),  $\delta$ 1.68(2H, q,  $J=7.0$ , H-9'),  $\delta$ 1.52(2H, q, H-8'),  $\delta$ 1.48(1H, m, H-8),  $\delta$ 1.20(1H, m, H-8),  $\delta$ 1.46(3H, s, H-14'),  $\delta$ 1.65(3H, s, H-15');

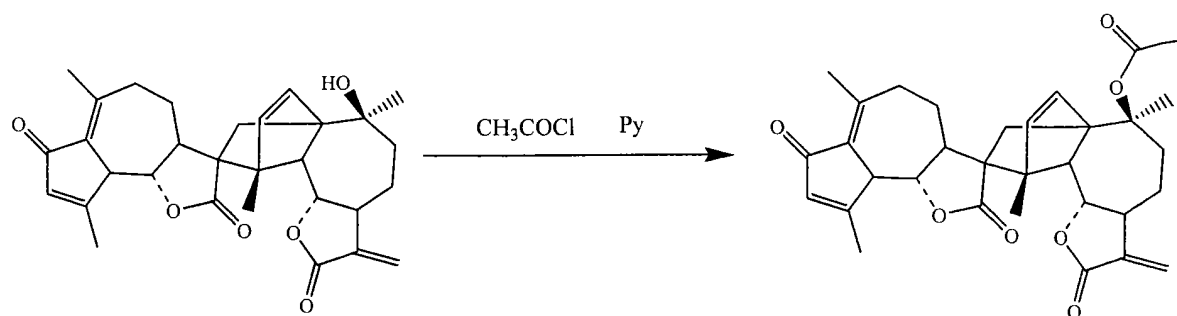
$^{13}\text{C-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125MHz):  $\delta$ 194.2(C-2),  $\delta$ 178.6(C-12),  $\delta$ 170.3(C-4),  $\delta$ 169.2(C-12'),  $\delta$ 143.2(C-10),  $\delta$ 140.3(C-11'),  $\delta$ 138.2(C-2'),  $\delta$ 135.8(C-3),  $\delta$ 133.7(C-3'),  $\delta$ 133.8(C-1),  $\delta$ 119.2(C-13'),  $\delta$ 80.5(C-6),  $\delta$ 77.2(C-6'),  $\delta$ 66.3(C-5'),  $\delta$ 63.2(C-1'),  $\delta$ 61.9(C-11),  $\delta$ 60.8(C-10'),  $\delta$ 59.4(C-7),  $\delta$ 58.2(C-4'),  $\delta$ 52.0(C-5),  $\delta$ 43.3(C-7'),  $\delta$ 39.7(C-13),  $\delta$ 39.6(C-9'),  $\delta$ 34.5(C-9),  $\delta$ 27.2(C-15'),  $\delta$ 26.5(C-8),  $\delta$ 23.0(C-8'),  $\delta$ 20.3(C-15),  $\delta$ 20.2(C-14),  $\delta$ 17.2(C-14')。

上述图谱结果表明所得化合物结构正确。

#### 10、奇蒿二聚体乙酰氧化物 10（式（I）中 $R_1$ 为氢， $R_2$ 为乙酰氧基）的制备

将实施例 1 中 35 mg 的奇蒿二聚体 C 溶于 5 ml 吡啶中，室温下滴加入 1 ml 乙酰氯，TLC 监测反应至原料完全消失，反应结束后，减压除去溶剂，加入少量二氯

甲烷溶解，有机层以 5 ml 饱和  $\text{NaHCO}_3$  洗涤三次，二氯甲烷层以无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩至干，即得产物 10。



该乙酰氧化物 10 为白色粉末。

结构确证：

ESIMS  $m/z$ : 533 $[M+H]^+$  ( $\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{O}_7$ ).

$^1\text{H-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500MHz):  $\delta$ 6.22(1H, d,  $J=5.5$ , H-2'),  $\delta$ 6.14(1H, t,  $J=1.0$ , H-3),  $\delta$ 6.03(1H, d,  $J=3.5$ , H-13'),  $\delta$ 5.76(1H, d,  $J=5.5$ , H-3'),  $\delta$ 5.33(1H, d,  $J=3.5$ , H-13'),  $\delta$ 3.95(1H, t,  $J=11.0$ , H-6'),  $\delta$ 3.92(1H, dt,  $J=11.0; 11.0$ , H-6),  $\delta$ 3.18(1H, d,  $J=10.5$ , H-5),  $\delta$ 2.82(1H, d,  $J=10.5$ , H-5'),  $\delta$ 2.72(1H, m, H-7'),  $\delta$ 2.64(1H, t,  $J=11.0; 11.0$ , H-7),  $\delta$ 2.52(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 2.32(3H, s, H-15),  $\delta$ 2.25(3H, s, H-14),  $\delta$ 2.06(1H, d,  $J=12.0$ , H-13),  $\delta$ 2.05(3H, s, H-2''),  $\delta$ 1.88(2H, m, H-9),  $\delta$ 1.70(2H, q,  $J=7.0$ , H-9'),  $\delta$ 1.52(2H, q, H-8'),  $\delta$ 1.46(1H, m, H-8),  $\delta$ 1.18(1H, m, H-8),  $\delta$ 1.48(3H, s, H-14'),  $\delta$ 1.65(3H, s, H-15');

$^{13}\text{C-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125MHz):  $\delta$ 194.2(C-2),  $\delta$ 178.6(C-12),  $\delta$ 170.3(C-4),  $\delta$ 169.2(C-12'),  $\delta$ 169.0(C-1''),  $\delta$ 143.2(C-10),  $\delta$ 140.3(C-11'),  $\delta$ 138.2(C-2'),  $\delta$ 135.8(C-3),  $\delta$ 133.7(C-3'),  $\delta$ 133.8(C-1),  $\delta$ 119.2(C-13'),  $\delta$ 81.2(C-10'),  $\delta$ 80.5(C-6),  $\delta$ 77.2(C-6'),  $\delta$ 66.3(C-5'),  $\delta$ 61.9(C-11),  $\delta$ 60.8(C-1'),  $\delta$ 59.4(C-7),  $\delta$ 58.2(C-4'),  $\delta$ 52.0(C-5),  $\delta$ 43.3(C-7'),  $\delta$ 39.7(C-13),  $\delta$ 36.2(C-9'),  $\delta$ 34.5(C-9),  $\delta$ 26.5(C-8),  $\delta$ 23.0(C-8'),  $\delta$ 21.5(C-2''),  $\delta$ 20.3(C-15),  $\delta$ 20.2(C-14),  $\delta$ 20.2(C-15'),  $\delta$ 17.2(C-14')。

上述图谱结果表明所得化合物结构正确。

### 实施例 3、愈创木内酯类倍半萜二聚体化合物抗癌活性

#### 1、实验细胞

人结肠癌细胞株 HCT-8，人肝癌细胞株 Bel<sub>7402</sub>，人胃癌细胞株 BGC<sub>823</sub>，人肺癌细胞株 A549，人卵巢癌细胞株 A2780。

将上述细胞株分别培养于添加 10% 灭活新生小牛血清的 RPMI1640 完全培养液

中。培养液中添加 100IU/mL 青霉素和 100 $\mu$ g/mL 链霉素及 10mM HEPES, 并置于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。实验用细胞均处于对数生长期。

## 2、实验药物

实施例 1-2 中制备的 8 种愈创木内酯类倍半萜二聚体化合物: 奇蒿二聚体 A、奇蒿二聚体 B、奇蒿二聚体氯代物 1、奇蒿二聚体硫化物 2、奇蒿二聚体乙酰氧化物 3、奇蒿二聚体琥珀酰氧化物 4、奇蒿二聚体苄氧羰甲氧基衍生物 5、奇蒿二聚体双硫化物 7; 并以紫杉醇(北京协和药厂, 生产批号: 060103) 作为阳性对照药物。以培养基配制浓度为 10nM -100 $\mu$ M 的药物溶液。

## 3、细胞抗癌细胞活性测定

采用 MTT 法进行测定:

取对数生长期细胞, 用胰蛋白酶-EDTA 消化液消化后, 配制成单细胞悬液, 将细胞悬液接种于 96 孔板, 每孔加 100 $\mu$ l, HCT-8、Bel<sub>7402</sub>、BGC<sub>823</sub>、A549 和 A2780 的接种密度分别为 6 $\times 10^4$ /ml、6 $\times 10^4$ /ml、5 $\times 10^4$ /ml、1 $\times 10^5$ /ml、7 $\times 10^4$ /ml 和 5 $\times 10^4$ /ml, 培养 24 小时后, 按组距 1:10 用培养液(即含 10% 胎牛血清的 1640 培养基)稀释 8 种愈创木内酯类倍半萜二聚体化合物和阳性对照药物紫杉醇的药物溶液, 使每种药物的浓度分别为 100 $\mu$ M、10 $\mu$ M、1 $\mu$ M、0.1 $\mu$ M、0.01  $\mu$ M, 继续培养 72 小时。然后, 每孔加 50 $\mu$ l MTT, 37 $^{\circ}$ C 孵育 4 小时后, 弃培养基和 MTT, 每孔立即加 200 $\mu$ l DMSO 溶解 MTT 甲簪颗粒, 微型振荡器振荡混匀后, 用酶标仪测定光密度(OD)值, 参考波长为 450nm, 检测波长为 570nm, 最后, 根据下述公式计算药物对肿瘤细胞的抑制率, 并按照中效方程计算 IC<sub>50</sub> 值:

抑制率(%)=(对照组平均 OD 值-给药组平均 OD 值)/对照组平均 OD 值 $\times 100\%$   
(其中 OD<sub>对照</sub>、OD<sub>实验</sub>为已经扣除 OD<sub>空白</sub>的实验数值)。

## 4、实验结果

实验测得的各种药物对 5 种癌细胞的 IC<sub>50</sub> 值如表 1 所示:

表 1 愈创木内酯类倍半萜二聚体化合物的细胞毒性试验结果

样 品	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)				
	HCT-8	Bel-7402	BGC-823	A549	A2780
紫杉醇	6.99 $\times 10^{-3}$	1.67 $\times 10^{-1}$	<1 $\times 10^{-4}$	>0.1	2.94 $\times 10^{-3}$
奇蒿二聚体 A	1.9	3	8.5	>10	1.8

奇蒿二聚体 B	4.3	6.2	>10	>10	3.2
奇蒿二聚体氯代物 1	3	5	1.2	4.2	0.4
奇蒿二聚体硫化物 2	7.4	1.8	>10	>10	3.4
奇蒿二聚体乙酰氧化物 3	2.5	2.4	4.2	>10	4.6
奇蒿二聚体琥珀酰氧化物 4	9.5	>10	6.2	1.2	0.5
奇蒿二聚体苄氧羰甲氧基衍生物 5	1.2	6.4	>10	3.8	>10
奇蒿二聚体双硫化物 7	>10	4.6	>10	>10	6.2

表 1 数据表明, 本发明 8 种愈创木内酯类倍半萜二聚体化合物均具有不同程度的抗癌细胞的细胞毒活性, 其中奇蒿二聚体 A 对结肠癌、肝癌及卵巢癌活性较好; 奇蒿二聚体 B 对结肠癌及卵巢癌活性较好; 奇蒿二聚体氯代物 1 对五种癌细胞抑制率都较好; 奇蒿二聚体硫化物 2 对肝癌及卵巢癌活性较好; 奇蒿二聚体乙酰氧化物 3 对除肺癌外其余四种癌细胞抑制率较好; 奇蒿二聚体琥珀酰氧化物 4 对肺癌和卵巢癌活性较好而奇蒿二聚体苄氧羰甲氧基衍生物 5 对结肠和肺癌细胞抑制率较好; 奇蒿二聚体双硫化物 7 对肝癌及卵巢癌活性较好。由此可以得出结论即本发明 8 种愈创木内酯类倍半萜二聚体化合物均具有不同程度的抗癌细胞的细胞毒活性, 可以用于癌症的治疗。



## 实施例 4、愈创木内酯类倍半萜二聚体化合物抗炎活性

### 1. 试剂与仪器

实验动物：C<sub>57</sub>BL/6J 小鼠，雄性，16~18g，购于中国医学科学院实验动物中心。试剂：东亚放免研究所 PGE<sub>2</sub> 检测试剂盒（中国人民解放军总医院）；4% 巯基乙醇酸钠培养基；5% 新生牛血清 RPMI 1640 培养基；D-Hank's 生理缓冲液。仪器：离心机、细胞培养箱。

### 2. 实验样品及配制方法

实施例 1-2 中制备的 4 种愈创木内酯类倍半萜二聚体化合物：奇蒿二聚体 A、奇蒿二聚体 B、奇蒿二聚体氯代物 1、奇蒿二聚体硫化物 2；以塞来昔布（Celecoxib）作为阳性对照药物，用 DMSO 配成 0.1mol/L 的储备液，实验时用 PBS 稀释成 10<sup>-5</sup>mol/L。

### 3. 细胞抗炎细胞活性测定

每只 C<sub>57</sub>BL/6J 小鼠腹腔注射 4% 巯基乙醇酸钠培养基 1ml，注射后第 4 天将小鼠断头处死，腹腔注射 D-Hank's 生理缓冲液 6~8ml，充分按摩后缓缓吸出腹腔中液体，再重复冲洗腹腔一次，合并细胞悬液。1000rpm 离心 5min，小心倾去上清，细胞用 RPMI 1640 培养基重悬，将细胞浓度调整为 1×10<sup>6</sup> 个/ml，接种于 48 孔(0.5ml/孔) 细胞板中。37℃，5% CO<sub>2</sub> 贴壁培养 2h。倾去培养基，用 D-Hank's 生理缓冲液洗两次，除去未贴壁细胞，每孔加入含有 5% 新生牛血清的 RPMI 1640 培养基待用。用台盼蓝拒染法测定细胞活性，Giemsa 染色法检查所得细胞中巨噬细胞百分率应大于 95%。

将不同药物加到上述 48 孔板中的小鼠腹腔巨噬细胞中，37℃，5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养细胞 60min，再加入终浓度 1 mg/L 脂多糖（LPS），继续培养细胞 12h。培养结束，收集细胞上清液，使用东亚放免研究所 PGE<sub>2</sub> 检测试剂盒测定细胞培养上清液中前列腺素 E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)的含量，用下列公式计算化合物对 COX-2 活性的抑制作用。其中 A<sub>LPS</sub>，A<sub>t</sub> 和 A<sub>c</sub> 分别表示 LPS 组，待测化合物组和空白对照组细胞培养上清中 PGE<sub>2</sub> 的浓度，IR % 表示抑制率。

$$IR (\%) = (A_{LPS} - A_t) / (A_{LPS} - A_c) \times 100\%$$

### 4. 实验结果

实验测得的各种药物对小鼠腹腔巨噬细胞 COX-2 活性的影响如表 2 所示：

表 2 愈创木内酯类倍半萜二聚体化合物对小鼠腹腔巨噬细胞 COX-2 活性的影响

组 别	剂量	PGE <sub>2</sub> 浓度 (ng/10 <sup>5</sup> cell)	抑制率(%)
空白		0.10±0.06	
LPS	1 μg/ml	22.89±18.69	
奇蒿二聚体 A	10 <sup>-5</sup> mol/L	0.22±0.10	99.5
奇蒿二聚体 B	10 <sup>-5</sup> mol/L	0.48±0.13	98.4
奇蒿二聚体 氯代物 1	10 <sup>-5</sup> mol/L	0.51±0.31	98.2
奇蒿二聚体 硫代物 2	10 <sup>-5</sup> mol/L	0.32±0.14	96.4

表 2 数据表明, 本发明的 4 种愈创木内酯类倍半萜二聚体化合物在 10<sup>-5</sup>mol/L 浓度时, 对 LPS 刺激的小鼠腹腔巨噬细胞 COX-2 活性均有明显的抑制作用, 因此该类化合物具有不同程度的抗炎活性。