



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102584760 A

(43) 申请公布日 2012. 07. 18

(21) 申请号 201110006815. 7

A61K 31/4184 (2006. 01)

(22) 申请日 2011. 01. 13

A61P 35/00 (2006. 01)

(71) 申请人 中国科学院上海药物研究所

地址 201203 上海市浦东张江祖冲之路 555 号

(72) 发明人 南发俊 张仰明 刘桦楠 丁健

蒙凌华 许承辉

(74) 专利代理机构 北京金信立方知识产权代理

有限公司 11225

代理人 朱梅 鲁云博

(51) Int. Cl.

C07D 311/00 (2006. 01)

C07D 491/02 (2006. 01)

A61K 31/352 (2006. 01)

A61K 31/498 (2006. 01)

A61K 31/53 (2006. 01)

权利要求书 11 页 说明书 34 页

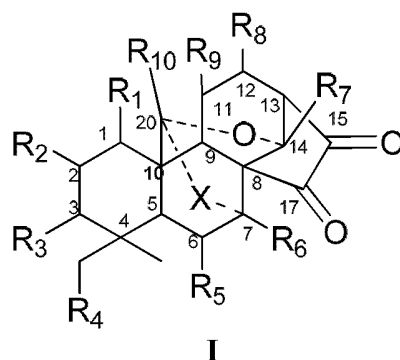
(54) 发明名称

一种对映-贝壳杉烷型二萜及其衍生物和制备方法

(57) 摘要

本发明属于化学合成领域,更具体而言,涉及一种将含有 α -亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜中 α -亚甲基环戊酮结构单元转化为环丁邻二酮结构单元的方法,以及由此得到的含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜和由该类化合物衍生得到的对映-贝壳杉烷型二萜“类天然”衍生物。含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜及其衍生得到的对映-贝壳杉烷型二萜“类天然”衍生物,保留了原对映-贝壳杉烷型二萜的抗肿瘤生物活性,可用于制备抗肿瘤药物。

1. 一种通式结构如式 I 所示的含有环丁邻二酮结构单元的对映 - 贝壳杉烷型二萜：



其中：

“——”表示该单键存在或不存在；

R_1 为 H、羟基、C1 ~ C6 烷基酰氧基或 C1 ~ C6 烷基磺酰氧基，或者与其相连的碳原子一起形成氧代基团；

R_5 为 H、羟基或 C1 ~ C6 烷基酰氧基，或者与其相连的碳原子一起形成氧代基团；

R_2 、 R_3 、 R_8 和 R_9 各自独立地为 H、羟基或 C1 ~ C6 烷基酰氧基；

R_4 和 R_{10} 各自独立地为 H 或羟基；

R_6 和 R_7 各自独立地为 H、羟基、C1 ~ C6 烷基酰氧基或 C1 ~ C6 烷基磺酰氧基，或者 R_6 和 R_7 通过 -O-C1 ~ C6 烷基 -O- 连接；

X 不存在或者为氧或直接键。

2. 根据权利要求 1 所述的通式结构如式 I 所示的含有环丁邻二酮结构单元的对映 - 贝壳杉烷型二萜，其中：

“——”表示该单键存在或不存在；

R_1 为 H、羟基、乙酰氧基或甲磺酰氧基，或者与其相连的碳原子一起形成氧代基团；

R_5 为 H、羟基或乙酰氧基，或者与其相连的碳原子一起形成氧代基团；

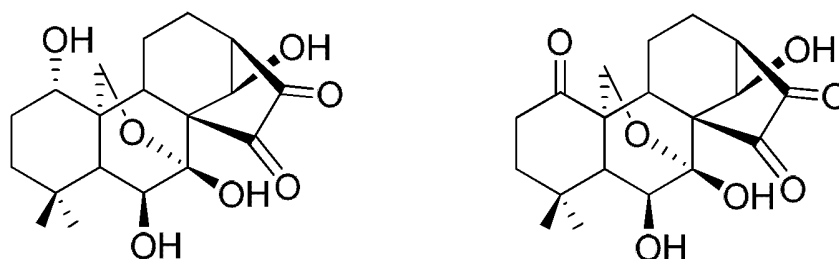
R_2 、 R_3 、 R_8 和 R_9 各自独立地为 H、羟基或乙酰氧基；

R_4 和 R_{10} 各自独立地为 H 或羟基；

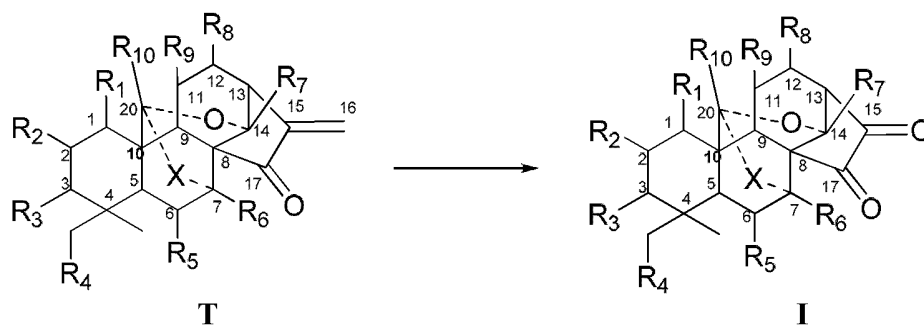
R_6 和 R_7 各自独立地为 H、羟基、乙酰氧基或甲磺酰氧基，或者 R_6 和 R_7 与所连接的碳原子通过 -O- 异丙基 -O- 连接；

X 不存在或者为氧或直接键。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的通式结构如式 I 所示的含有环丁邻二酮结构单元的对映 - 贝壳杉烷型二萜，其特征在于，该化合物选自但并不仅限于下列化合物：



4. 一种含有环丁邻二酮结构单元的对映 - 贝壳杉烷型二萜的制备方法，其采用下述方法制备：



其中，“——”、X、R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇、R₈、R₉ 和 R₁₀ 的定义与权利要求 1 中相同；

步骤 1)：在有机溶剂中，含有 α-亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜 T 与通入的臭氧反应，直至检测原料反应完全后停止通入臭氧；和

步骤 2)：向该反应体系中鼓入惰性气体以去除残余臭氧，而后向反应体系中加入还原剂进行还原反应，反应后得到含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜 I。

5. 根据权利要求 4 所述的制备方法，其特征在于，

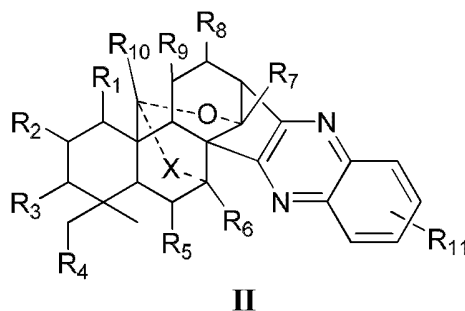
步骤 1) 中，所述反应在 1-3 个大气压下进行；所述反应的温度在 -45-120℃；所述反应时间为 0.5-5 小时；所述有机溶剂选自甲酰胺、DMF、DMA、环丁酮、DMSO、NMP、HMPA、丙酮、丁酮、苯、甲苯、乙酸乙酯、乙酸丁酯、异丙醚、四氢呋喃、二氧六环、甲基叔丁基醚、水、甲醇、乙醇、异丙醇、二氯甲烷和二氯乙烷中的一种或多种；

步骤 2) 中，所述惰性气体为空气、氮气或氩气；所述还原剂为亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、保险粉、二甲硫醚、三烷基膦或三苯基膦；所述还原剂的用量为 3-10 当量；所述还原反应的时间为 5-24h。

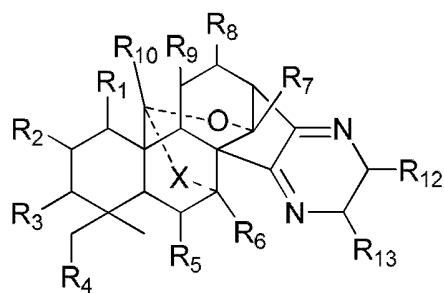
6. 权利要求 1 所述的通式结构如式 I 所示的含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜在制备抗肿瘤的药物中的用途。

7. 一类由权利要求 1 所述的通式结构如式 I 所示的含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜衍生的化合物：

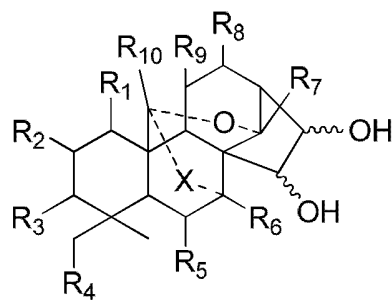
其中，“——”、X、R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇、R₈、R₉ 和 R₁₀ 的定义与权利要求 1 中相同；



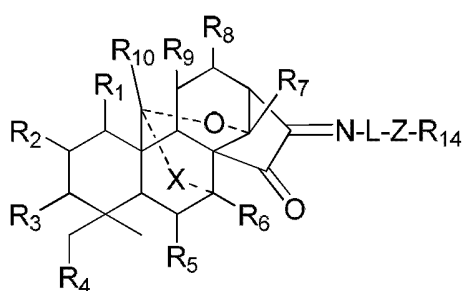
其中，R₁₁ 为 H、卤素、硝基、氨基、羧基、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、羟基、C1-C6 烷氧羰基、任选被卤素原子取代的 C1-C6 烷基或 C6-C10 芳酰基，或者 R₁₁ 与其所连接的苯环进一步形成一个 C6-C10 稠合芳环结构；所述卤素指的是 F、Cl、Br 或 I；或者，



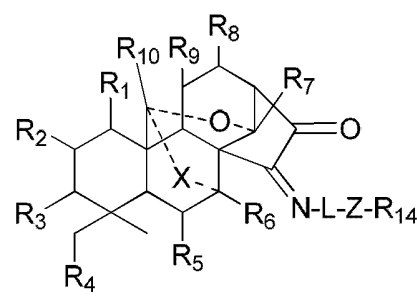
其中, R_{12} 和 R_{13} 各自独立地为 H 或 C1-C6 烷基, 或者 R_{12} 和 R_{13} 与它们所连接的碳原子共同形成一个环戊烷或是环己烷结构; 或者,



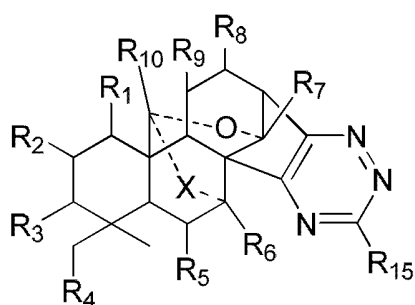
其中, “~”表示其所连接的手性中心为 R 或 S 构型; 或者,



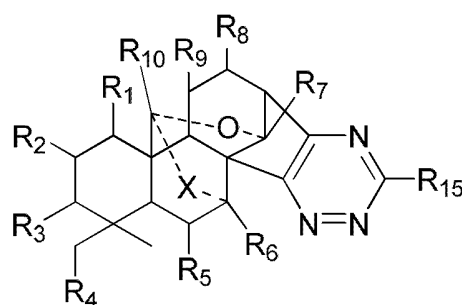
和



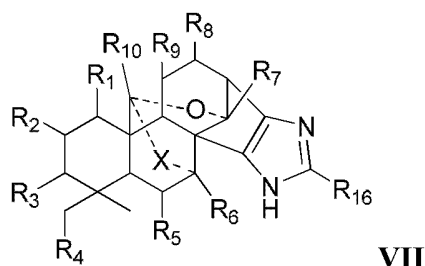
其中, R_{14} 为氨基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基或者含有一个选自 N、S 和 O 中杂原子的五元或六元杂芳基; 所述芳基或杂芳基非必须地被 C1-C6 烷基、硝基或卤素取代; Z 为不存在或者为羰基或硫代羰基; L 为不存在或者为 NH; 或者,



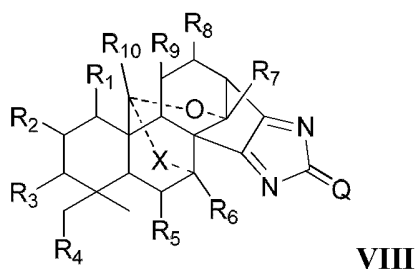
和



其中, R_{15} 为 C6-C10 芳基或者含有一个选自 N、S 和 O 中杂原子的五元或六元杂芳基; 或者,

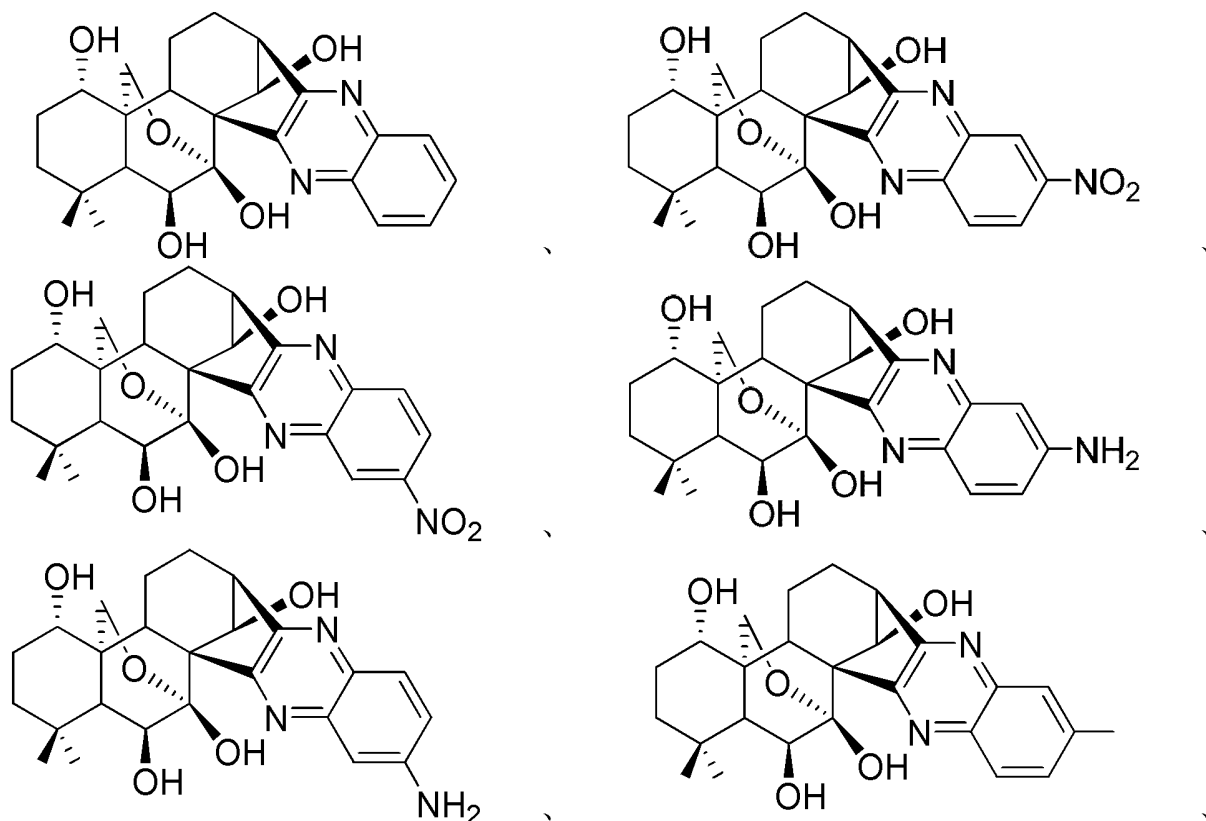


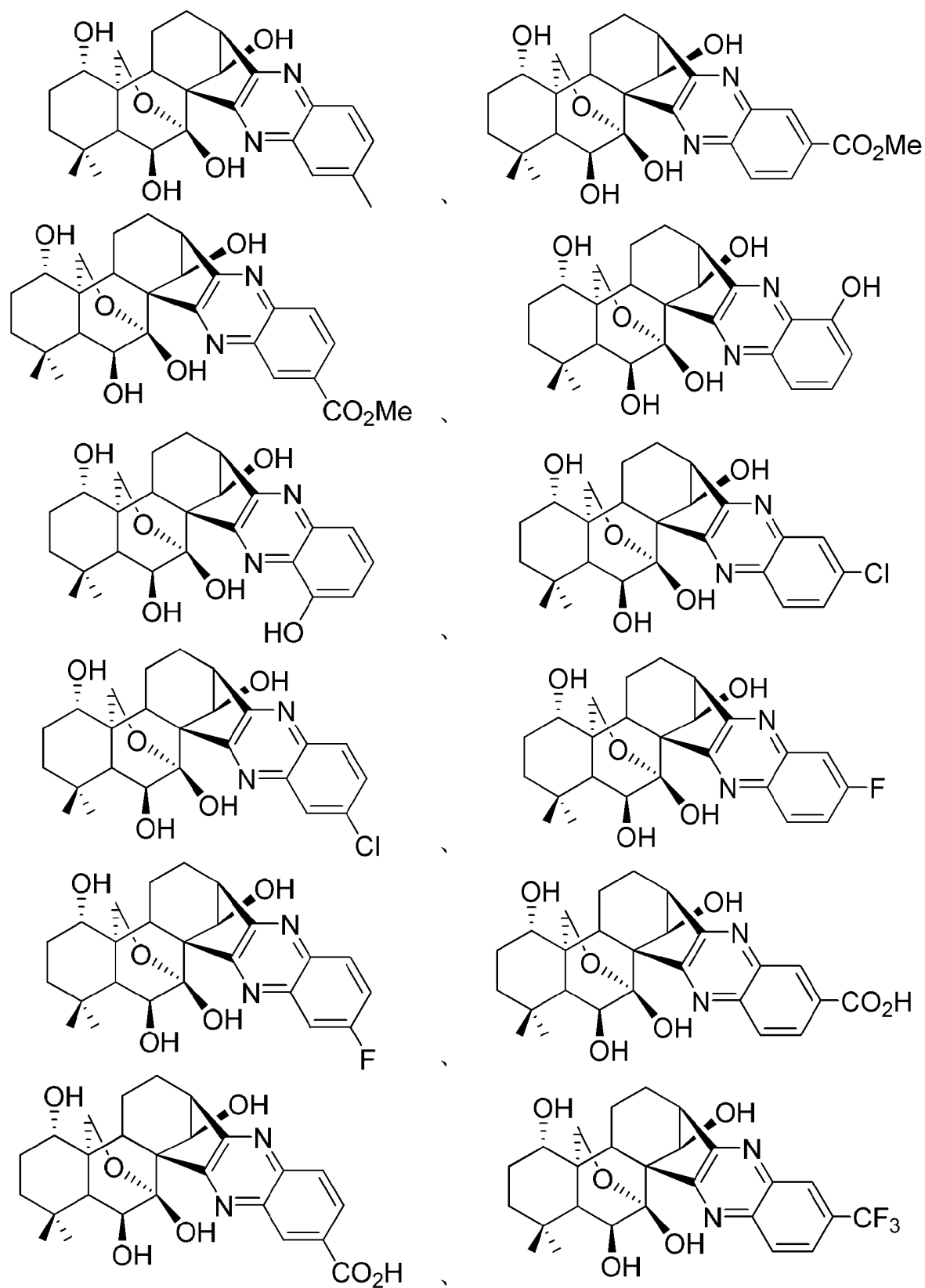
其中, R_{16} 为 C1-C6 烷基, C3-C6 环烷基, C6-C10 芳基取代的 C2-C6 烯基, 任选被 C1-C6 烷氧基或者 C6-C10 芳基取代的 C1-C6 烷基, 未取代或者任选被卤素、硝基、氨基、氰基、C1-C6 烷胺基、C1-C6 烷基、任选被卤素取代的 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、羟基或 C1-C6 烷氧羰基取代的 C6-C10 芳基, 或者未取代或任选被 C1-C6 烷基取代的含有一个选自 N、S 和 O 中杂原子的五元或六元杂芳基; 或者

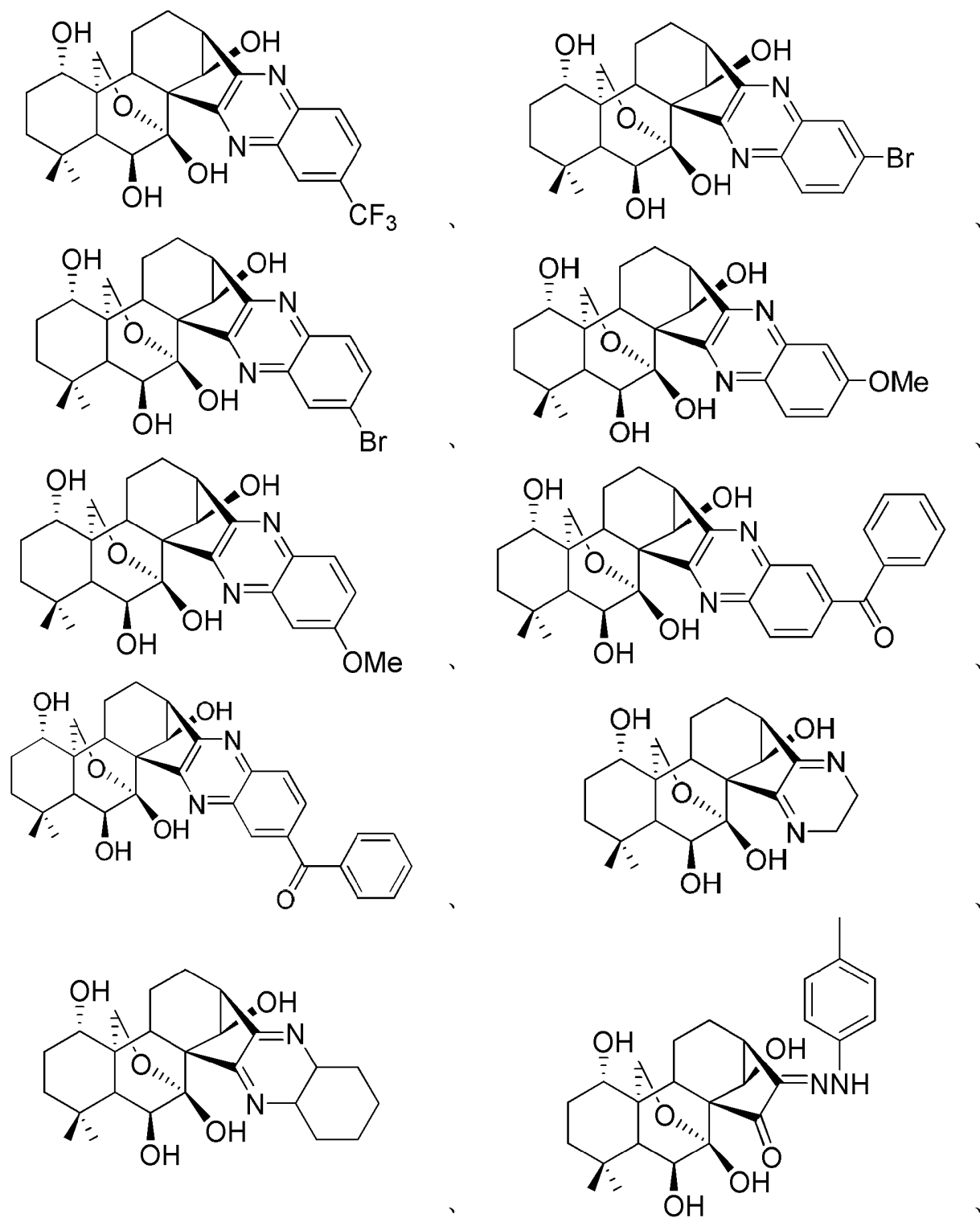


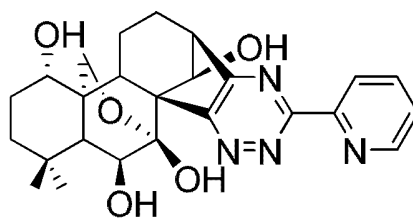
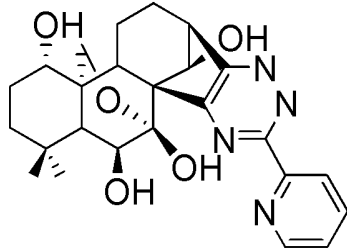
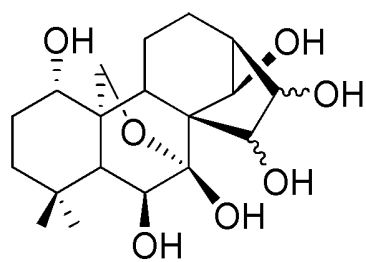
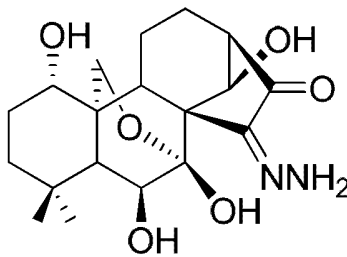
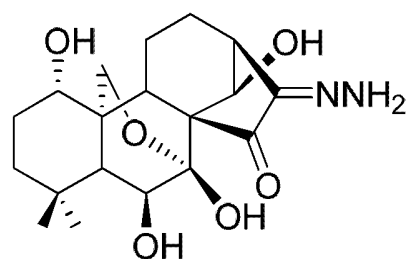
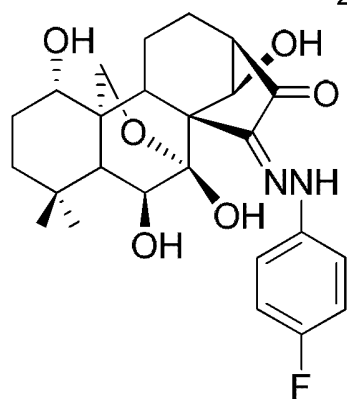
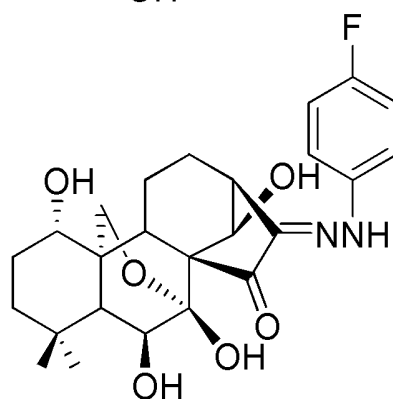
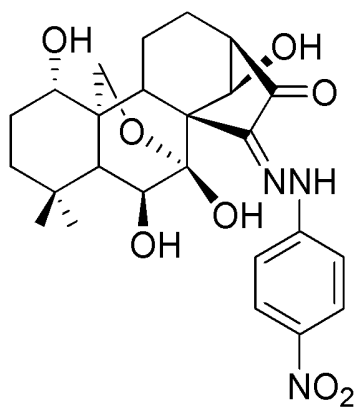
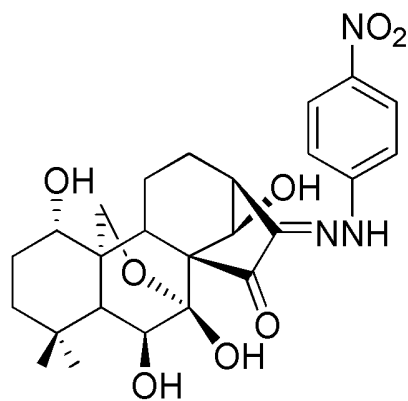
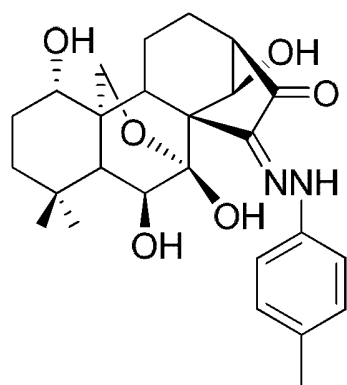
其中, Q 为 O 或者 S。

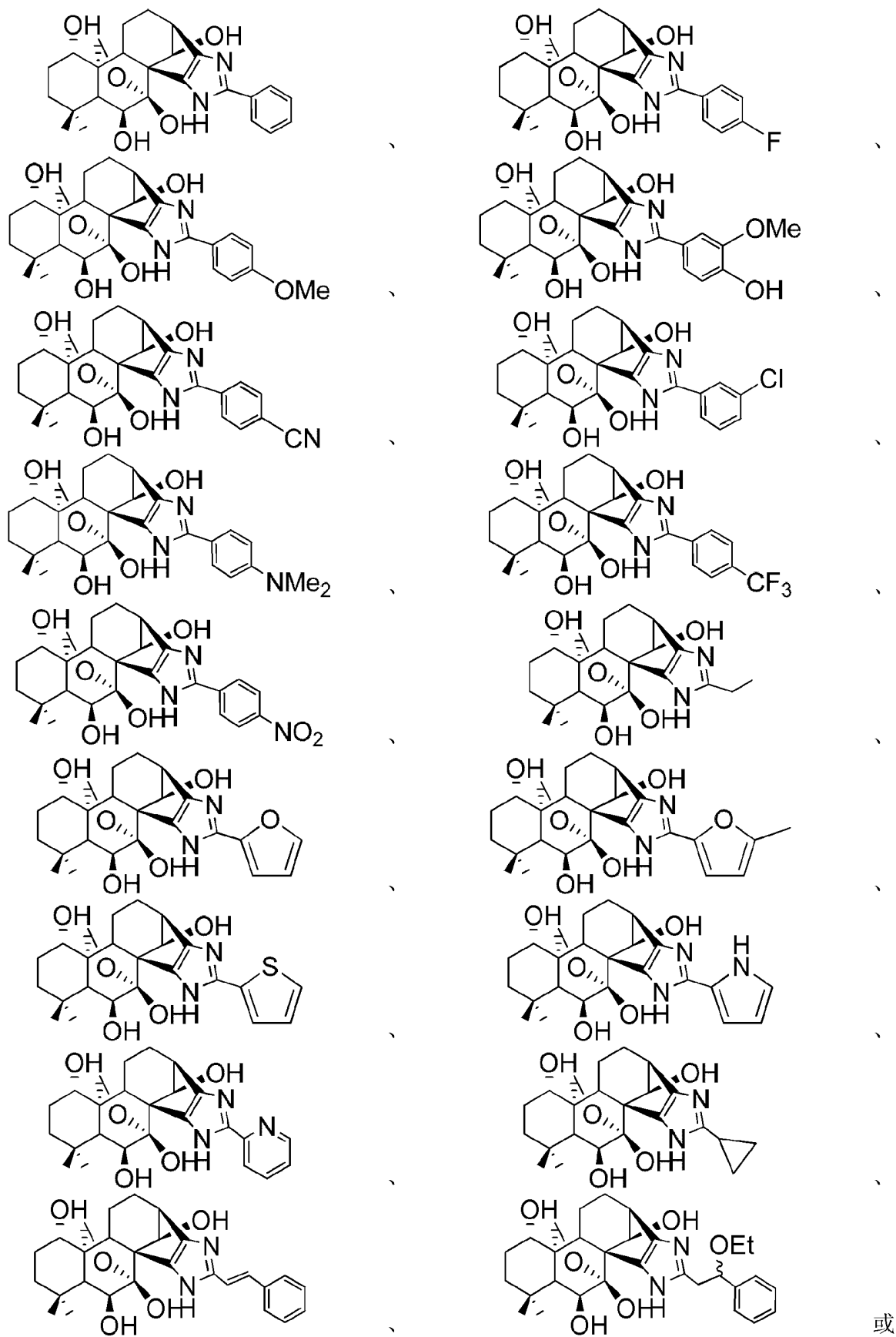
8. 根据权利要求 7 所述的通式结构如式 I 所示的含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜衍生的化合物, 其特征在于, 该化合物选自:

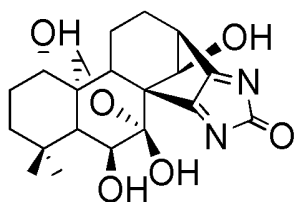








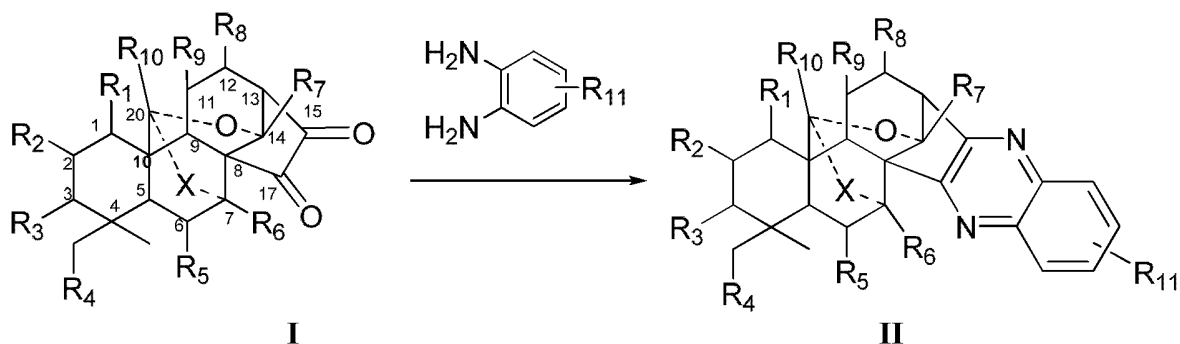




9. 权利要求7或8所述的通式结构如式I所示的含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜衍生的化合物的制备方法,其特征在于,采用以下方法中的一种;

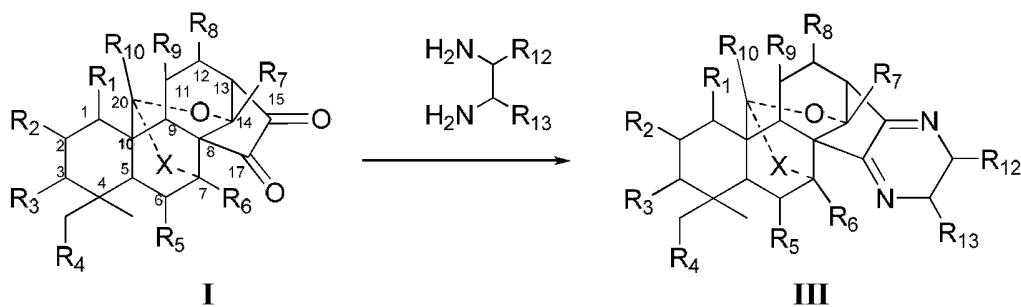
其中,“——”、“~”X、R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇、R₈、R₉、R₁₀、R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₄、R₁₅、R₁₆和Q的定义与权利要求7中相同;

(1) 通式II化合物的合成



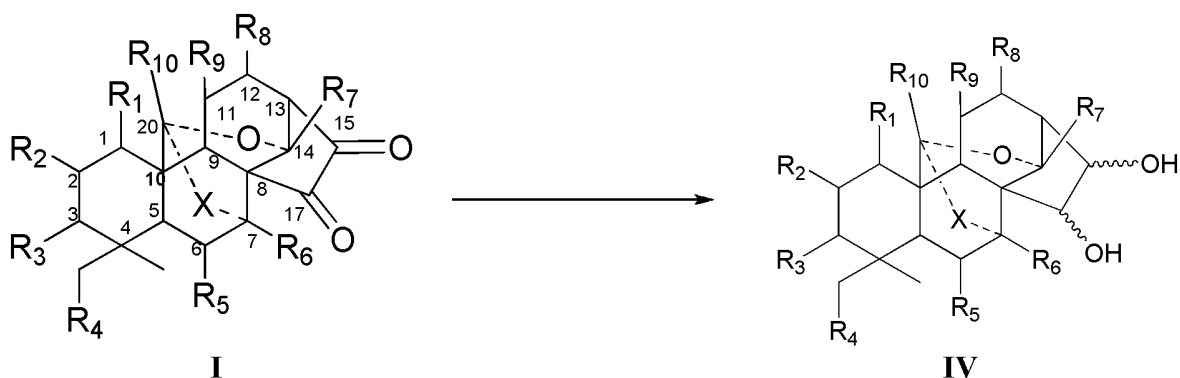
将化合物I与芳基邻二胺类化合物于溶剂中混合后在搅拌条件下反应过夜,即可得到化合物II;该反应所用的溶剂包括甲酰胺、DMF、DMA、环丁酮、DMSO、NMP、HMPA、丙酮、丁酮、苯、甲苯、乙酸乙酯、乙酸丁酯、异丙醚、四氢呋喃、二氧六环、甲基叔丁基醚、水、甲醇、乙醇、异丙醇中的一种或多种;或者,

(2) 通式III化合物的合成



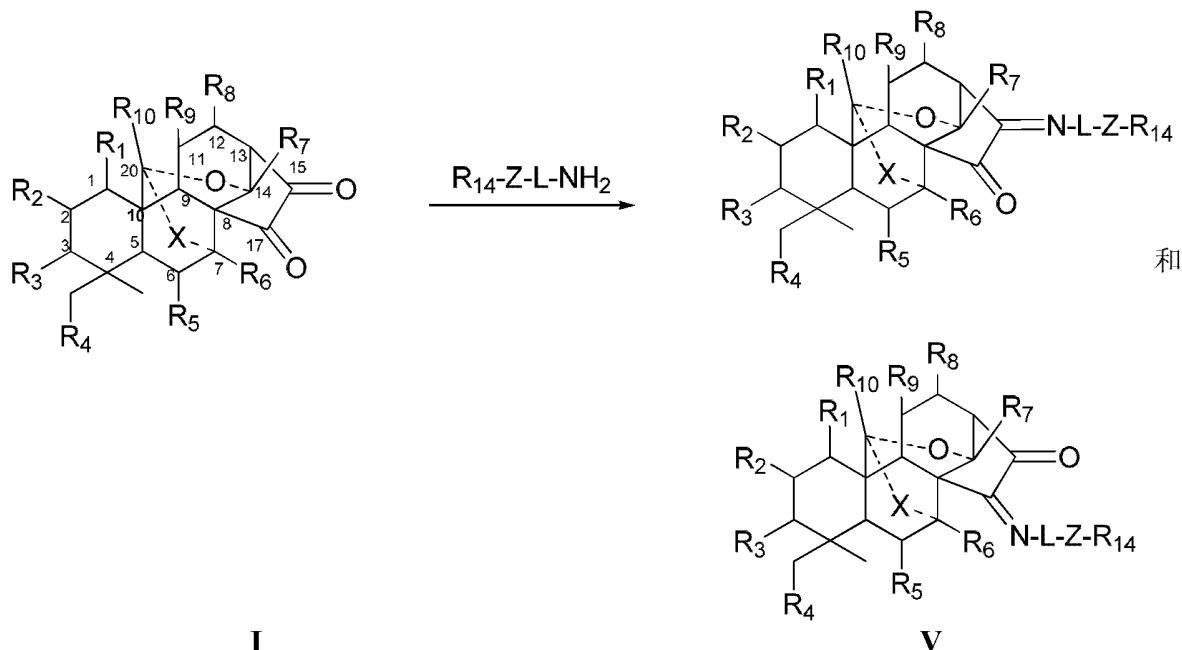
将化合物I与烷基邻二胺类化合物于溶剂中混合后在搅拌条件下反应过夜,即可得到化合物III;该反应所用的溶剂与上述(1)相同;或者,

(3) 通式IV化合物的合成



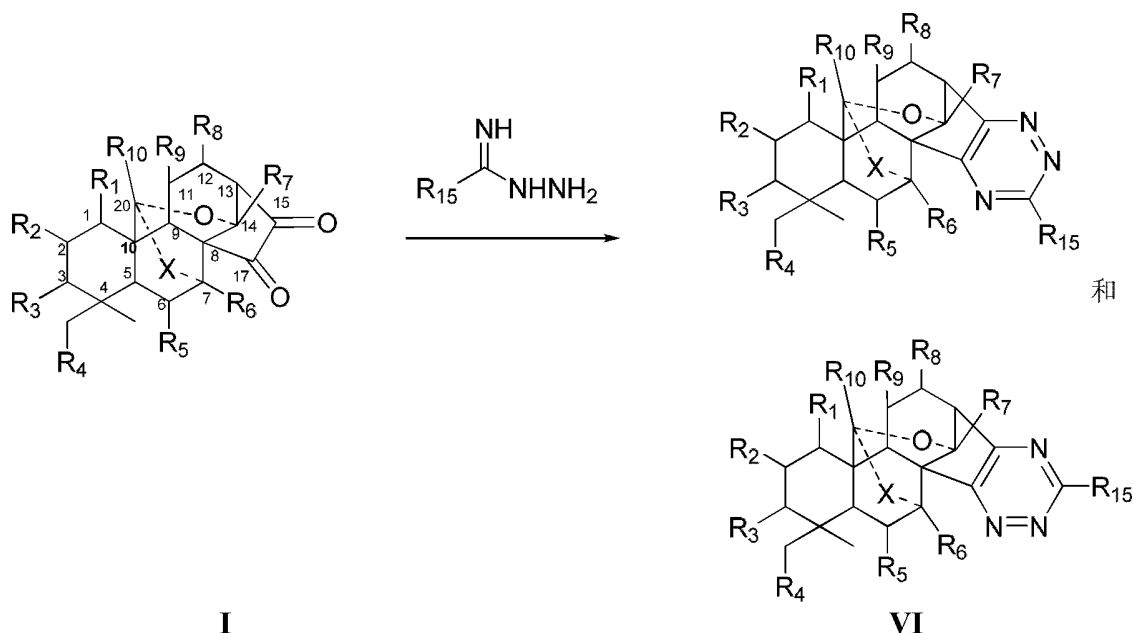
将化合物 I 溶于溶剂中, 然后加入还原剂进行反应, 即可得到化合物 IV; 其中, 所用的还原剂选自 LiAlH_4 以及变性的 LiAlH_4 、 NaBH_4 、 KBH_4 、 NaBH_3CN 或 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, 或者贵金属催化剂/ H_2 体系, 贵金属为 Pd、Pt、Rh 或是上述贵金属催化剂和载体的复合物; 所用的溶剂选自甲醇、乙醇和异丙醇中; 反应温度为 -5°C - 室温; 或者,

(4) 通式 V 化合物的合成



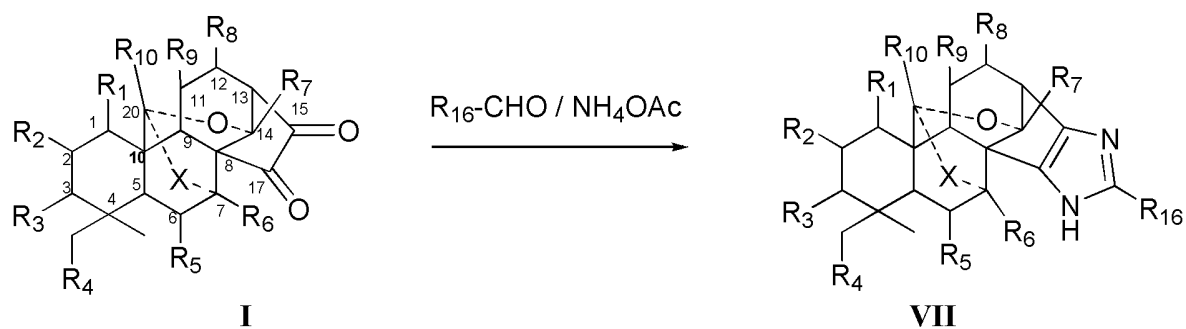
将化合物 I 溶于溶剂中, 然后加入胺或者肼, 室温或者回流反应, 即可得到化合物 V; 所用溶剂为甲醇、乙醇、异丙醇或乙二醇; 或者,

(5) 通式 VI 化合物的合成



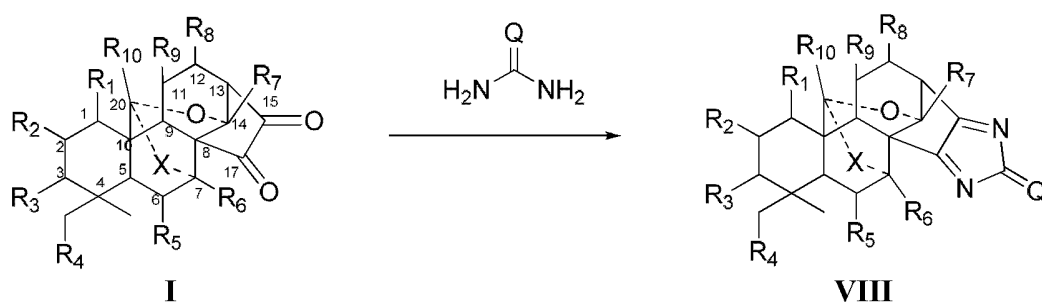
将化合物 I 溶于溶剂中, 然后加入肼基脒类化合物, 室温或者回流反应过夜, 即可得到化合物 VI; 所用溶剂为甲醇、乙醇、异丙醇或乙二醇; 或者,

(6) 通式 VII 化合物的合成



将化合物 I 溶于溶剂中, 然后加入醋酸铵和相应的醛, 室温至溶剂的回流温度反应过夜, 即可得到化合物 VII; 所用溶剂为甲醇、乙醇、异丙醇或乙二醇; 或者,

(7) 通式 VIII 化合物的合成



将化合物 I 溶于溶剂中, 然后加入醋酸铵以及相应的脲或硫脲, 室温反应或者回流过夜, 即可得到化合物 VIII; 所用溶剂为甲醇、乙醇、异丙醇或乙二醇。

10. 权利要求 7 或 8 所述的通式结构如式 I 所示的含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜衍生的化合物在制备抗肿瘤的藥物中的用途。

一种对映-贝壳杉烷型二萜及其衍生物和制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于化学合成领域,更具体而言,涉及一种将含有 α -亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型(ent-kaurane)二萜中 α -亚甲基环戊酮结构单元转化为环丁邻二酮结构单元的方法,以及由此得到的含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜和由该类化合物衍生得到的对映-贝壳杉烷型二萜“类天然”衍生物。含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜及其衍生得到的对映-贝壳杉烷型二萜“类天然”衍生物,保留了原对映-贝壳杉烷型二萜的抗肿瘤生物活性,可用于制备抗肿瘤药物。

背景技术

[0002] 天然产物在药物发现领域占有重要的地位,其广泛的生物活性源于大自然的生物多样性和漫长的进化选择,使其具有新奇的骨架、丰富的官能团、复杂的立体构型。当前天然产物仍然是药物先导物的主要来源之一,据统计 1981 ~ 2006 年间,全世界新推出的药物小分子新化学实体(NCEs)中,有 63%可追溯到天然产物或天然产物给予的灵感,其中包括:天然产物(5.7%),天然产物衍生物(27.6%),具有天然产物衍生药效团的合成化合物(17.1%),以及基于来自天然产物知识设计的合成化合物,即天然产物的模仿品(12.6%)(David JN, Natural Products as Leads to potential Drugs: An Old Process or the New Hope for Drug discovery, J. Med. Chem. 2008, 51: 2589-2599)。因此,以天然产物或其某一关键片段为起点,设计并构建分子多样性和结构复杂性的“类天然产物”化合物库(natural product-like library),就能保证后期活性筛选时较高的命中率,即:通过对天然产物化学空间的拓展,实现其相应生物学空间的拓展。因此,设计并合成“类天然产物”化合物库的中间体并以此为原料实现多种官能团的引入,是构建“类天然产物”化合物库的首要解决问题。

[0003] 近年来,香茶菜属植物中的二萜成分,特别是含有 α -亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型(ent-kaurane)二萜成分所具有的广泛的生物活性引起了科学家的注意,尤以该属植物冬凌草最具代表。冬凌草,又称冰凌草,系香茶菜属的一种多年生草本植物,其提取物具有杀菌消炎、抗肿瘤以及免疫抑制等多种生理活性。进一步研究发现其提取物中以冬凌草甲素和冬凌草乙素为代表的含有 α -亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜成分含量最多,且这些含有 α -亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜成分具有突出的抗肿瘤活性(冬凌草活性成分的提取及相关研究,郑州大学硕士学位论文,2004)。

[0004] 近来人们在关注这些含有 α -亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜成分生物活性的同时,也开始研究其衍生物的制备和结构改造(伍旭,赵烽,刘珂,中草药,2009, 40: 348-352),现有技术包括:通过与原有分子中的某些羟基发生酰化反应引入多种酰基,如碳酰基、磺酰基以及氨基酸等基团;或通过与某些羟基反应形成缩醛(酮)结构;或通过一系列官能团转化,在分子中的某些羟基位置通过糖苷化反应引入糖基,以改善原有化合物的水溶性;或利用一些含氧或含氮亲核试剂与二萜成分中的 α -亚甲基环戊酮单

元发生迈克尔加成反应引入官能团；或是通过氧化反应，选择性地氧化部分羟基为酮。

[0005] 然而囿于合成方法的局限性，当前针对这些含有 α -亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜成分的结构改造工作主要是围绕氧化还原、酰化或者迈克尔加成等方面开展的，化学手段不甚丰富，且衍生物的合成效率不高。因此，迫切需要发明一种具有较强普适性的化学方法并制备一种多能 (versatile) 中间体，以便后期利用相关的已有技术方案，通过简单有效的化学手段引入多种官能团，快速实现“类天然”产物的合成。

发明内容

[0006] 因此，本发明的目的在于提供一种含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜。

[0007] 本发明的另一目的在于提供一种能够选择性地将含有 α -亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜中 α -亚甲基环戊酮结构单元转化为环丁邻二酮结构单元的化学方法。

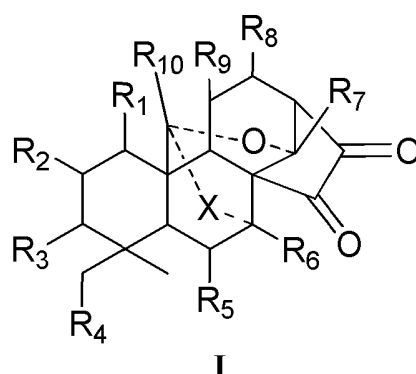
[0008] 本发明的再一目的在于提供含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜在制备抗肿瘤药物中的应用。

[0009] 本发明的还一目的在于提供一种由含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜衍生得到的对映-贝壳杉烷型二萜“类天然”衍生物，环丁邻二酮结构单元是一种反应活性基团，可以简便地衍生出一系列的对映-贝壳杉烷型二萜“类天然”衍生物，而实现对含有 α -亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜的结构改造。

[0010] 本发明的又一目的在于提供上述对映-贝壳杉烷型二萜“类天然”衍生物用于制备抗肿瘤药物的应用，该类衍生物由于保留原天然产物的分子骨架和抗肿瘤生物活性，而可用于制备抗肿瘤药物。

[0011] 根据本发明的一个方面，本发明提供一种通式结构如下式 I 所示的含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜：

[0012]



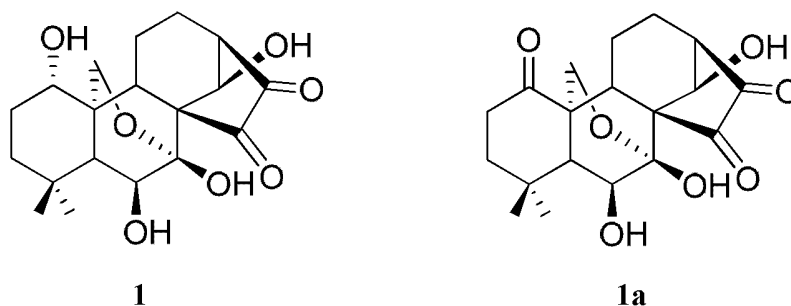
[0013] 其中：

[0014] “——”表示该单键存在或不存在；

[0015] R_1 为 H、羟基、C1 ~ C6 烷基酰氧基或 C1 ~ C6 烷基磺酰氧基，或者与其相连的碳原子一起形成氧代基团；且更优选为 H、羟基、乙酰氧基或甲磺酰氧基，或者与其相连的碳原子一起形成氧代基团；

二萜可以选自但并不局限于如下化合物：

[0034]



[0035] 根据本发明的又一方面，本发明所提供的化学方法包括以下步骤：

[0036] 步骤 1)：在有机溶剂中，含有 α -亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜 T 与通入的臭氧反应，直至检测原料反应完全后停止通入臭氧；和

[0037] 步骤 2)：向该反应体系中鼓入惰性气体以去除残余臭氧，而后向反应体系中加入还原剂进行还原反应，反应后得到含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜 I。

[0038] 在本发明中，含有 α -亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜 T 与臭氧的反应通常是在 1 个大气压的条件下进行的，当然也可以在较高的压力下，如 1-3 个大气压下进行。较高的压力有利于反应体系中保持较高的臭氧浓度，利于反应的进行。该反应可以在 -45 – 120°C 范围内进行，优选的反应温度范围是 -30 – 50°C ，更优选 -15 – 30°C 。

[0039] 含有 α -亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜 T 与臭氧的反应的有机溶剂选自常规溶剂，包括：甲酰胺、DMF (N,N-二甲基甲酰胺)、DMA (N,N-二甲基乙酰胺)、环丁砜、DMSO (二甲亚砜)、NMP (N-甲基吡咯烷酮)、HMPA (六甲基磷酰三胺) 等强极性非质子性溶剂；丙酮、丁酮等酮类溶剂；苯、甲苯等芳香性溶剂；乙酸乙酯、乙酸丁酯等酯类溶剂；异丙醚、四氢呋喃、二氧六环、甲基叔丁基醚等醚类溶剂；水、甲醇、乙醇、异丙醇等质子性溶剂；二氯甲烷、二氯乙烷等氯代烃类溶剂。反应的溶剂也可以是上面所述几种溶剂组成的混合溶剂。优选溶剂为：二氯甲烷、二氯乙烷等氯代烃类溶剂，异丙醚、四氢呋喃、二氧六环、甲基叔丁基醚等醚类溶剂，乙酸乙酯、乙酸丁酯等酯类溶剂，水、甲醇、乙醇、异丙醇等质子性溶剂，或是以上溶剂的混合溶剂。更优选：二氯甲烷、二氯乙烷等氯代烃类溶剂，水、甲醇、乙醇、异丙醇等质子性溶剂，或是上述两种溶剂组成的混合溶剂。最优选为二氯甲烷、二氯乙烷等氯代烃类溶剂和水、甲醇、乙醇、异丙醇等质子性溶剂组成的混合溶剂。

[0040] 所述反应可以在搅拌条件下进行，也可以在非搅拌的条件下进行，前提是通过含有臭氧的气体的鼓入使得体系能均匀混合。

[0041] 臭氧一般为将氧气或者空气通过市售的臭氧发生器制得，并直接通入反应体系中，并以通到反应液面以下为宜。不同臭氧发生器产生臭氧的原理可能不尽相同，但并不影响本发明的实施。通过其他的方法产生的臭氧，如电解法或是在反应现场生成臭氧，都可以用于实施本发明。

[0042] 一般情况下，遵循前面所述反应条件，臭氧化反应可以在 0.5–5 小时内顺利完成，通常情况下 0.5–1.5 小时即可完成。反应的终点可以通过薄层色谱法检测，当然也可以用高压液相的方法检测。

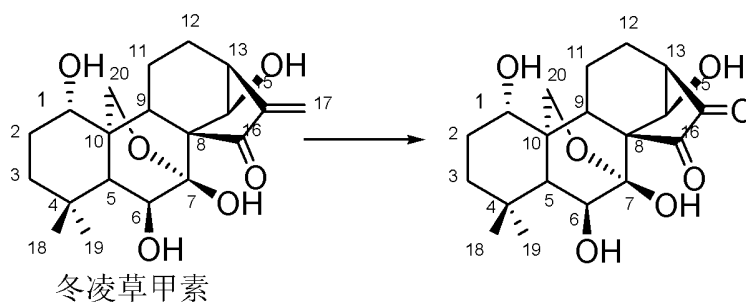
[0043] 反应结束后，一般情况下将反应体系升至室温，向反应体系中通入空气、氮气、氩气等惰性气体，以赶出反应体系中存在的过量臭氧，然后向反应体系中加入 1 当量（相对于

对映-贝壳杉烷型二萜 T) 以上, 优选 3-10 当量的还原剂, 室温反应 5-24h, 一般 10-15 小时即可反应完全。加入还原剂是为了断开反应中间体中的过氧桥键, 实现双键的断开并得到环丁邻二酮类产物。还原剂可以是无机还原剂, 如亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、保险粉等无机盐, 也可以是二甲硫醚、三烷基膦、三苯基膦等有机还原剂, 优选采用二甲硫醚、三烷基膦或三苯基膦等有机还原剂。

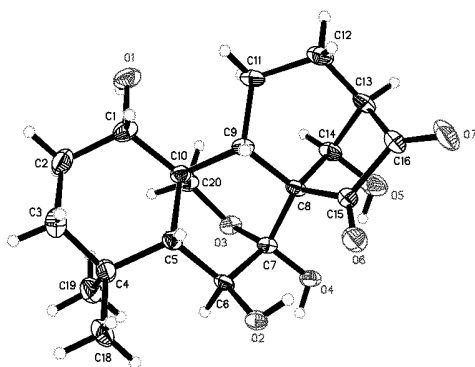
[0044] 反应体系浓缩后所得粗产物可以采用重结晶、柱层析等常规方法纯化, 得到含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜。也可以不经纯化而直接用于后续的衍生反应。

[0045] 本反应条件具有很高的选择性, 可高选择性地将 α -亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜中的 α -亚甲基环戊酮结构单元转化为环丁邻二酮结构单元, 而原二萜类化合物中的其他官能团, 如酯基(羧酸或磺酸)、羟基、羰基、缩酮、醚键等官能团均不受影响。例如根据本发明实施条件, 冬凌草甲素于混合溶剂二氯甲烷/甲醇(5/1, v/v) 中, 在内温 -5-15℃ 下, 进行臭氧化反应 0.5-1.5h。然后反应体系升至室温, 向反应体系中加入 5 当量的还原剂二甲硫醚, 室温反应 10-15h 后, 硅胶柱层析分离即可得到相应的环丁邻二酮产物, 并通过单晶 X-衍射确认了产物的结构。

[0046]



[0047]



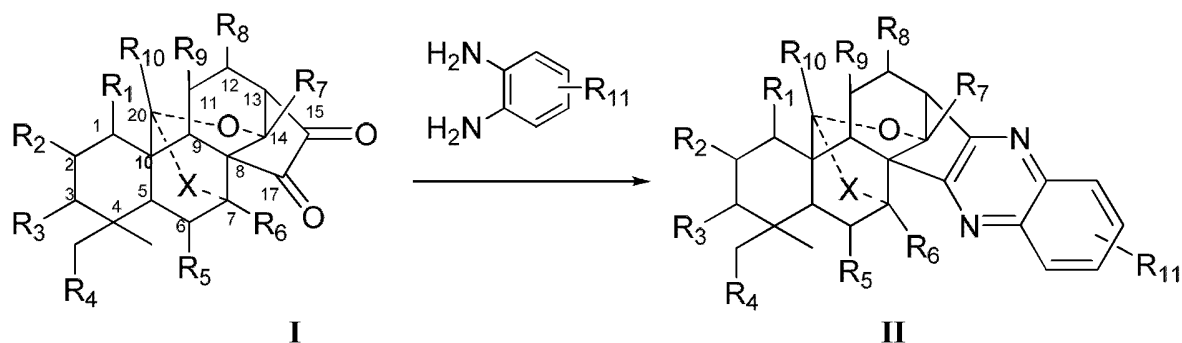
[0048] 根据本发明的另一方面, 由上述化学转化所得的含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜, 可以作为合成“类天然”化合物的“全能”中间体, 比如利用多种现有已知的邻二酮相关技术方案, 通过和多种试剂反应, 实现原二萜类化合物的结构改造, 用于制备多种对映-贝壳杉烷型二萜的“类天然”化合物。这些“类天然”化合物由于保留了原有二萜类化合物的分子骨架和其它官能团, 因此也保留或者增强了的原化合物的某些生物活性, 如抗肿瘤活性。比如化合物 10 (10a 和 10b 的混合物), 其在 10 μ M 时对人白血病细胞 HL-60 的抑制率为 52%, 同样浓度条件下, 冬凌草甲素的抑制率为 40%。

[0049] 以下但并不仅限于以下技术方案仅作为对本发明的进一步说明: 下列各式中,

“——”表示该单键存在或不存在。

[0050] (1) 与芳基邻二胺类化合物反应得到吡嗪类蒾类衍生物 (路线二)

[0051]



[0052] 路线二 吡嗪类衍生物的合成

[0053] 式中 R_{11} 为 H、卤素、硝基、氨基、羧基、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、羟基、C1-C6 烷氧羰基、任选被卤素原子取代的 C1-C6 烷基或 C6-C10 芳酰基 (优选为苯酰基), 或者 R_{11} 与其所连接的苯环进一步形成一个 C6-C10 稠合芳环结构。

[0054] 所述卤素指的是 F、Cl、Br 或 I。

[0055] 所述烷基为直链或支链烷基。

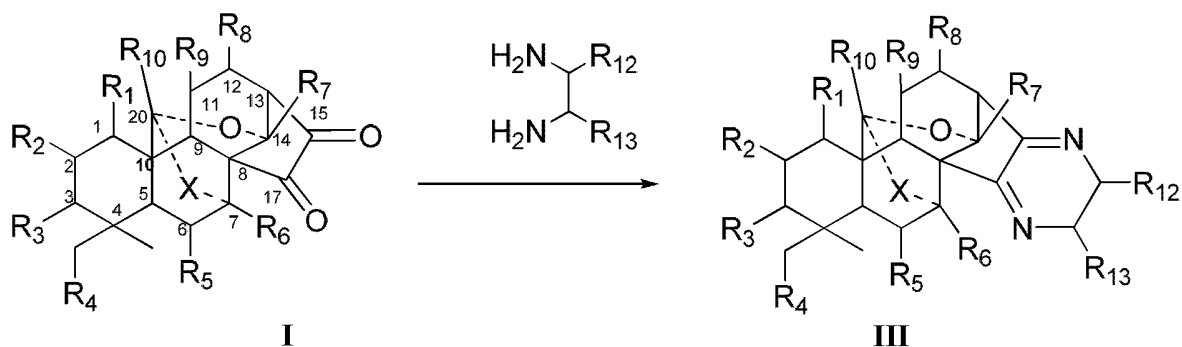
[0056] 反应通常在常规条件下进行, 将环丁邻二酮与芳基邻二胺类化合物于适当溶剂中混合后在搅拌条件下反应, 一般过夜即可反应完全。溶剂浓缩后粗产物经进一步纯化, 如正相硅胶柱层析, 即可得到吡嗪类衍生物。根据本发明条件, 由于产物中 R_{11} 取代位置的不同, 所得产物会以位置异构体混合物的形式存在, 虽本发明未对其进一步分离, 但这些化合物都应该受到本专利申请的保护。

[0057] 常规条件指的是常温常压, 通常升高温度有利于反应速度的提高, 但对于大多数底物, 室温下的反应速度是可以接受的, 有时某些酸的存在, 如醋酸的存在可以加速反应的进行。

[0058] 适当溶剂为选自常规溶剂, 包括: 甲酰胺、DMF、DMA、环丁砜、DMSO、NMP、HMPA (六甲基磷酰三胺) 等强极性非质子性溶剂; 丙酮、丁酮等酮类溶剂; 苯、甲苯等芳香性溶剂; 乙酸乙酯、乙酸丁酯等酯类溶剂; 异丙醚、四氢呋喃、二氧六环、甲基叔丁基醚等醚类溶剂; 水、甲醇、乙醇、异丙醇等质子性溶剂; 或以上溶剂的混合溶剂。优选溶剂为甲醇、乙醇或异丙醇等质子性溶剂。

[0059] (2) 与烷基邻二胺类化合物反应得到二氢吡嗪类衍生物 (路线三)

[0060]



[0061] 路线三 二氢吡嗪类衍生物的合成

[0062] 式中, R_{12} 和 R_{13} 各自独立地为 H 或 C1-C6 烷基, 或者 R_{12} 和 R_{13} 与它们所连接的碳原子共同形成一个环戊烷或是环己烷结构;

[0063] 所述烷基为直链或支链烷基。

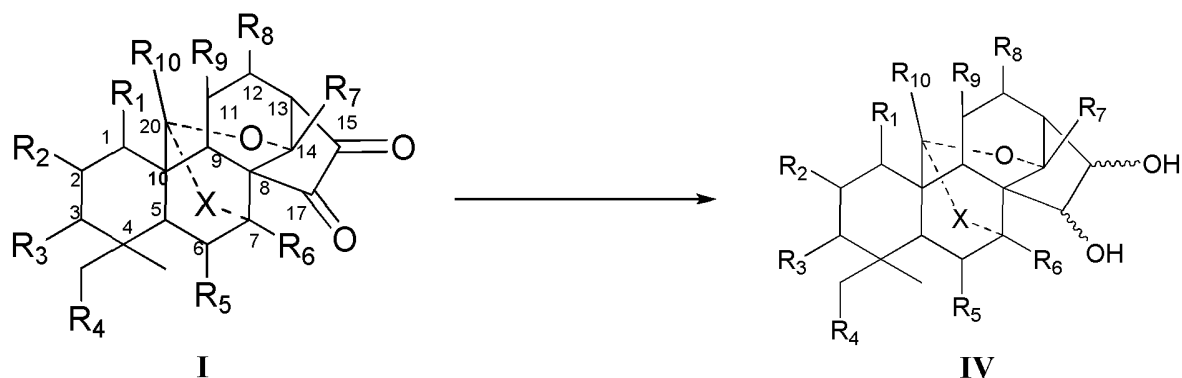
[0064] 反应通常在常规条件下进行, 环丁邻二酮与烷基邻二胺类化合物于适当溶剂中混合后在搅拌条件下开始反应, 一般过夜即可反应完全。溶剂浓缩后所得粗产物经进一步纯化, 如正相硅胶柱层析, 即可得到二氢吡嗪类衍生物。根据本发明条件, 因为产物中取代基位置的不同, 所得产物会以位置异构体混合物的形式存在, 本发明未对其进一步分离。当用氧化剂, 如 DDQ (二氯二氰基苯醌) 进一步处理某些二氢吡嗪类衍生物时, 就会进一步得到相应的吡嗪类衍生物。

[0065] 常规条件指的是室温常压, 通常升高温度有利于反应速度的提高, 但对于大多数底物, 室温下的反应速度是可以接受的, 有时酸的存在, 如醋酸的存在可以催化反应的进行。

[0066] 适当溶剂为选自常规溶剂, 包括: 甲酰胺、DMF、DMA、环丁酮、DMSO、NMP、HMPA (六甲基磷酰三胺) 等强极性非质子性溶剂; 丙酮、丁酮等酮类溶剂; 苯、甲苯等芳香性溶剂; 乙酸乙酯, 乙酸丁酯等酯类溶剂; 异丙醚、四氢呋喃、二氧六环、甲基叔丁基醚等醚类溶剂; 水、甲醇、乙醇、异丙醇等质子性溶剂; 或以上溶剂的混合溶剂。优选溶剂为甲醇、乙醇或异丙醇等质子性溶剂。

[0067] (3) 与还原剂反应得到相应的醇类化合物 (路线四)

[0068]



[0069] 路线四 邻二醇类衍生物的合成

[0070] 一般操作是将二酮类溶于适当的溶剂中, 然后加入还原剂。反应结束后, 减压下浓缩除去溶剂, 所得粗产物进一步分离纯化, 即可得到相应的邻二醇类衍生物。其中, “~”表示其所连接的手性中心为 R 或 S 构型;

[0071] 还原剂指的是金属氢化物可以是 LiAlH_4 以及变性的 LiAlH_4 (如红铝, DIBAL-H)、 NaBH_4 、 KBH_4 、 NaBH_3CN 或 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ 等, 也可以使用贵金属催化剂/ H_2 体系, 贵金属如 Pd、Pt、Rh 或是上述贵金属催化剂和某种载体的复合物, 如活性炭、硫酸钡等。

[0072] 适当的溶剂一般为选自甲醇、乙醇、异丙醇等质子性溶剂。

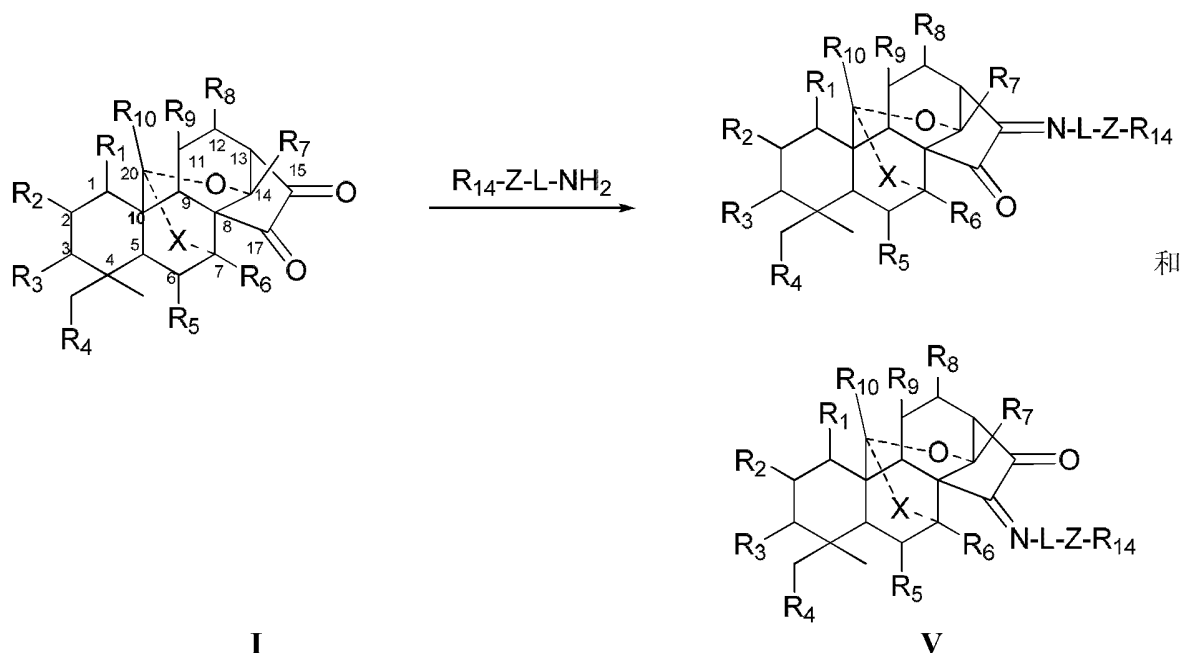
[0073] 反应温度以 -5°C - 室温为宜。

[0074] 因为所得醇类化合物的极性较大, 产物的分离纯化可以采用正相硅胶柱层析方法, 但以采用 C18 柱分离纯化为宜。由于产物中羟基立体构型的不同, 所得产物会以异构体

混合物的形式存在,本发明未对其进一步分离。

[0075] (4) 与胺或肼类化合物反应得到相应的亚胺或腙类衍生物(路线五)

[0076]



[0077] 路线五 亚胺或腙类衍生物的合成

[0078] 式中, R_{14} 为氨基、C1-C6 烷基、C6-C10 芳基(优选为苯基)或者含有一个选自 N、S 和 O 中杂原子的五元或六元杂芳基。所述芳基或杂芳基非必须地被 C1-C6 烷基、硝基或卤素取代。

[0079] Z 不存在或者为羰基或硫代羰基。

[0080] L 不存在或者为 NH。

[0081] 所述烷基为直链或支链烷基。

[0082] 一般操作是将环丁邻二酮溶于适当的溶剂中,然后加入胺或者肼,室温或者回流反应。反应结束后,减压下浓缩除去溶剂,粗产物进一步分离纯化,即可得到相应的亚胺或者腙类衍生物。有时酸(如醋酸)的存在可以加速反应的进行。

[0083] 溶剂一般为甲醇、乙醇、异丙醇或乙二醇等质子性溶剂。

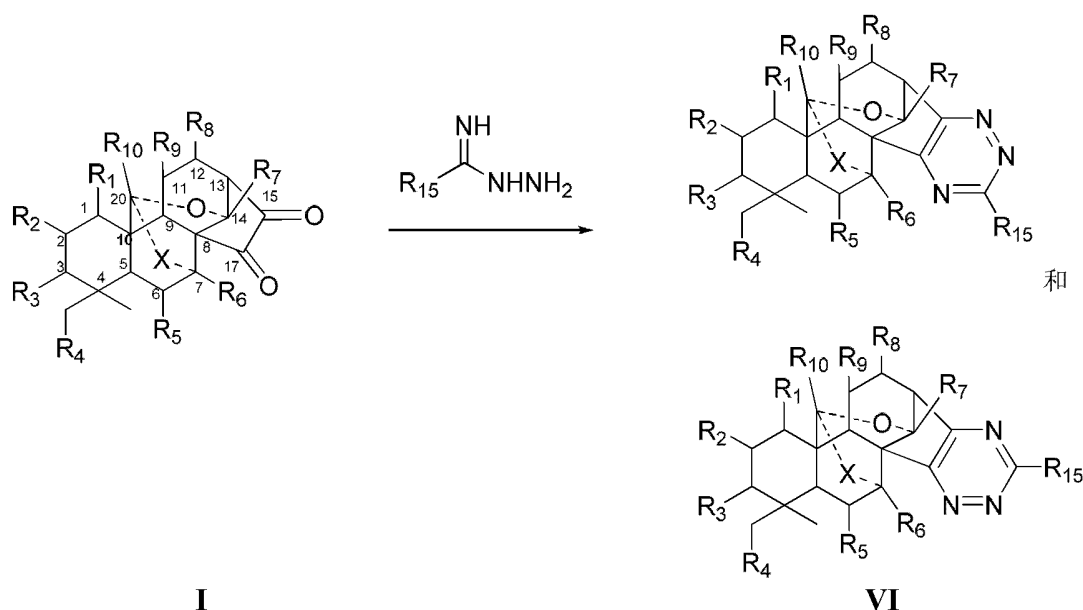
[0084] 反应温度以室温至溶剂的回流温度为宜,优选室温反应。

[0085] 分离纯化一般采用正相硅胶柱层析方法,部分化合物可以采用简单重结晶的方法纯化。

[0086] 以上反应会涉及并产生异构体,虽本发明并未对这些混合物实施进一步的分离,但这些化合物都应该受到本专利申请的保护。

[0087] (5) 与肼基脒类化合物反应生成三嗪类衍生物(路线六)

[0088]



[0089] 路线六 与肼基脒类化合物反应生成三嗪类衍生物

[0090] 式中 R_{15} 为 C6-C10 芳基（优选为苯基）或者含有一个选自 N、S 和 O 中杂原子的五元或六元杂芳基。

[0091] 试剂肼基脒类化合物可以由相应的氰基化合物和肼反应得到，可以分离或是不经分离而直接将氰基化合物和肼反应的产物与环丁邻二酮反应。

[0092] 一般操作是将环丁邻二酮溶于适当的溶剂中，然后加入肼基脒类化合物，室温或者回流反应过夜，减压下浓缩除去溶剂，所得粗产物进一步分离纯化后，即可得到相应的三嗪类衍生物。所得三嗪类衍生物因为取代基位置的不同会得到一位置异构体混合物，虽本发明并未对这些混合物实施进一步的分离，但这些化合物都应该受到本专利申请的保护。

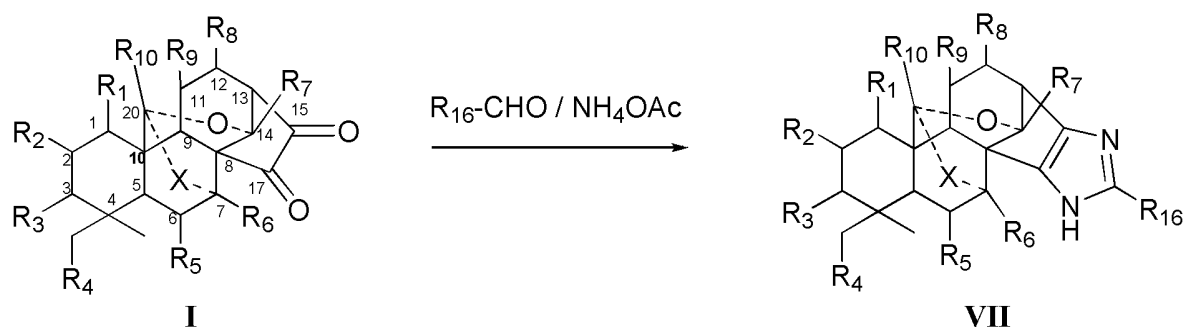
[0093] 溶剂一般为甲醇、乙醇、异丙醇或乙二醇等质子性溶剂。

[0094] 反应温度以室温至溶剂的回流温度为佳，优选室温反应。

[0095] 分离纯化一般采用正相硅胶柱层析方法，部分化合物可以采用简单重结晶的方法纯化。

[0096] (6) 与醛和醋酸铵反应生成咪唑类衍生物（路线七）

[0097]



[0098] 路线七 咪唑类衍生物的合成

[0099] 式中 R_{16} 为 C1-C6 烷基，C3-C6 环烷基，C6-C10 芳基（优选为苯基）取代的 C2-C6 烯基，任选被 C1-C6 烷氧基或者 C6-C10 芳基取代的 C1-C6 烷基，未取代或者任选被卤素、硝基、氨基、氰基、C1-C6 烷胺基、C1-C6 烷基、任选被卤素取代的 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、羟

基或 C1-C6 烷氧羰基取代的 C6-C10 芳基（优选为苯基），或者未取代或任选被 C1-C6 烷基取代的含有一个选自 N、S 和 O 中杂原子的五元或六元杂芳基。

[0100] 一般操作是将环丁邻二酮溶于适当的溶剂中，然后加入醋酸铵和相应的醛，室温反应过夜，即可反应完全。减压下浓缩除去溶剂，所得粗产物进一步分离纯化后，即可得到相应的咪唑类衍生物。所得咪唑类衍生物会因为双键顺反位置的不同会得到顺发异构体，虽本发明并未对这些混合物实施进一步的分离，但这些化合物都应该受到本专利申请的保护。

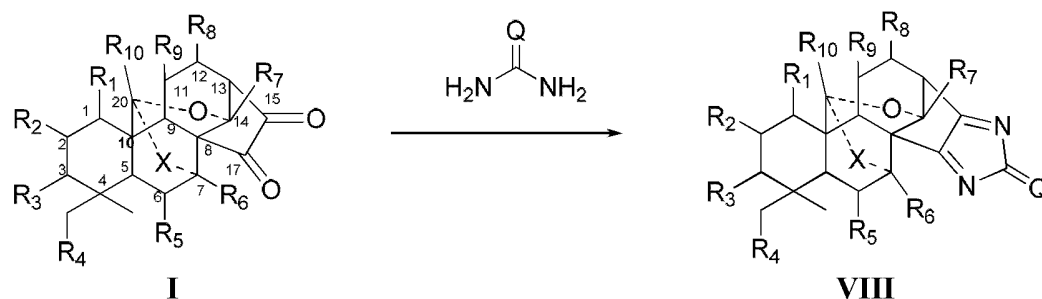
[0101] 溶剂一般为甲醇、乙醇、异丙醇或乙二醇等质子性溶剂，优选乙醇。

[0102] 反应温度以室温至溶剂的回流温度为佳，优选 40-50℃ 下反应。

[0103] 分离纯化一般采用正相硅胶柱层析方法，部分化合物可以采用简单重结晶的方法纯化。

[0104] (7) 与脲反应生成咪唑酮类衍生物（路线八）

[0105]



[0106] 路线八 咪唑酮类衍生物的合成

[0107] 式中 Q 为 O 或者 S。

[0108] 一般操作是将环丁邻二酮溶于适当的溶剂中，然后加入醋酸铵以及相应的脲或是硫脲，室温反应或者回流过夜，即可反应完全。减压下浓缩除去溶剂，所得粗产物进一步分离纯化后，即可得到相应的咪唑酮类衍生物。

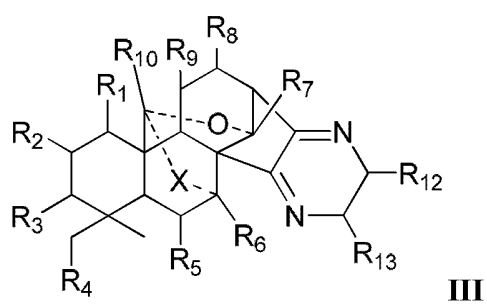
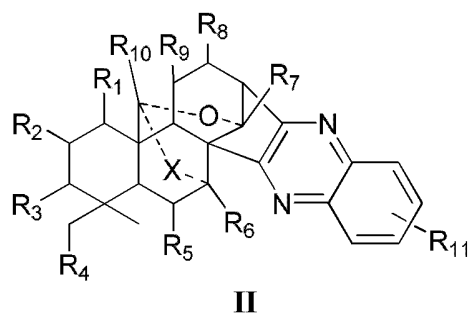
[0109] 溶剂一般为甲醇、乙醇、异丙醇或乙二醇等质子性溶剂，优选乙醇。

[0110] 反应温度以室温至溶剂的回流温度为佳，优选回流温度。

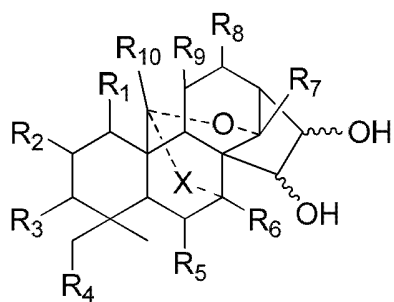
[0111] 分离纯化一般采用正相硅胶柱层析方法，因为咪唑酮类产物极性较大，以采用 C18 柱分离纯化为宜。

[0112] 由此，本发明还提供含有环丁邻二酮结构单元的对映 - 贝壳杉烷型二萜衍生的化合物：其中，“——”、“~” X、R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇、R₈、R₉、R₁₀、R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₄、R₁₅、R₁₆ 和 Q 的定义与上述相同；

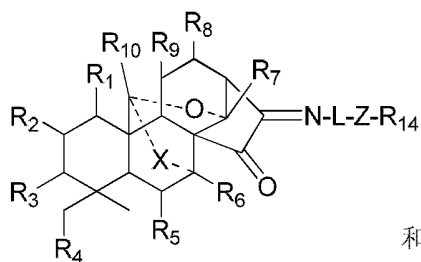
[0113]



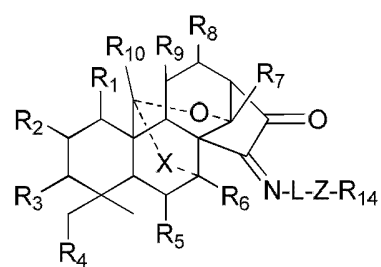
[0114]



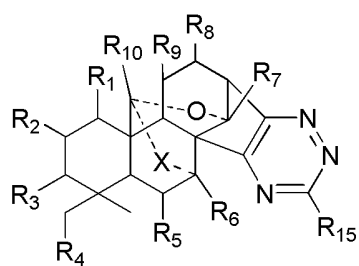
IV



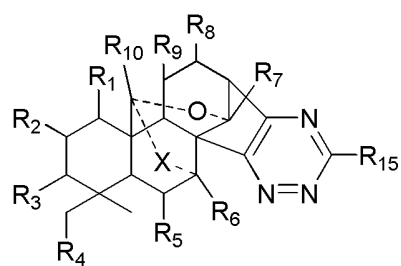
和



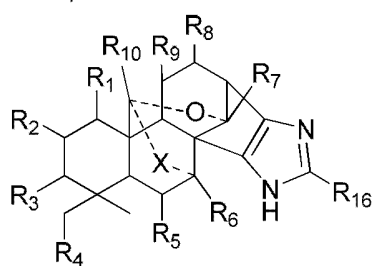
V



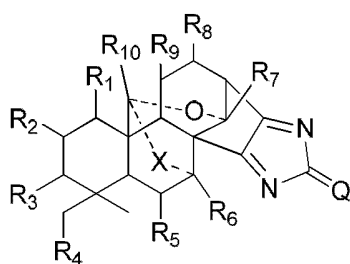
和



VI



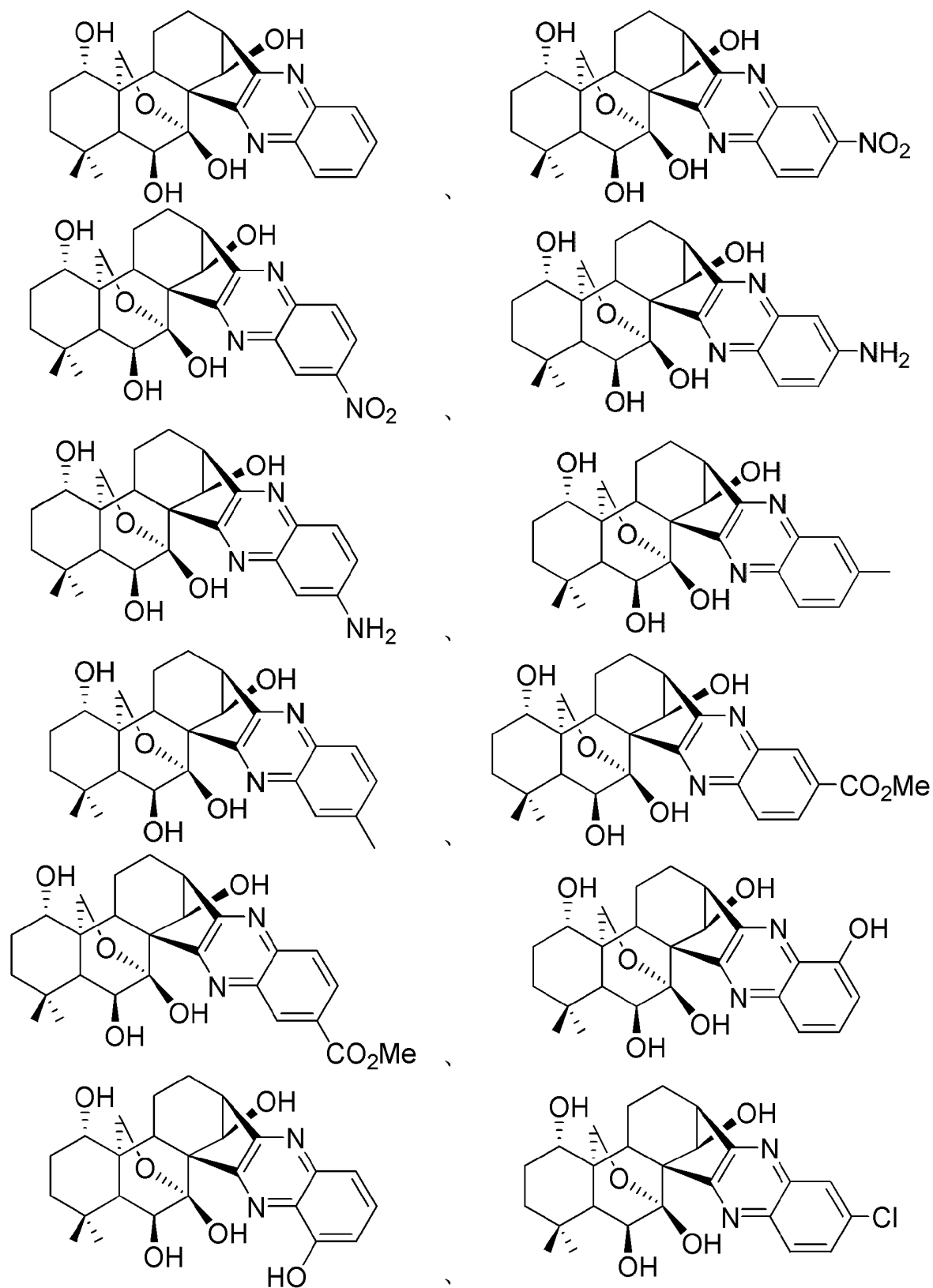
VII



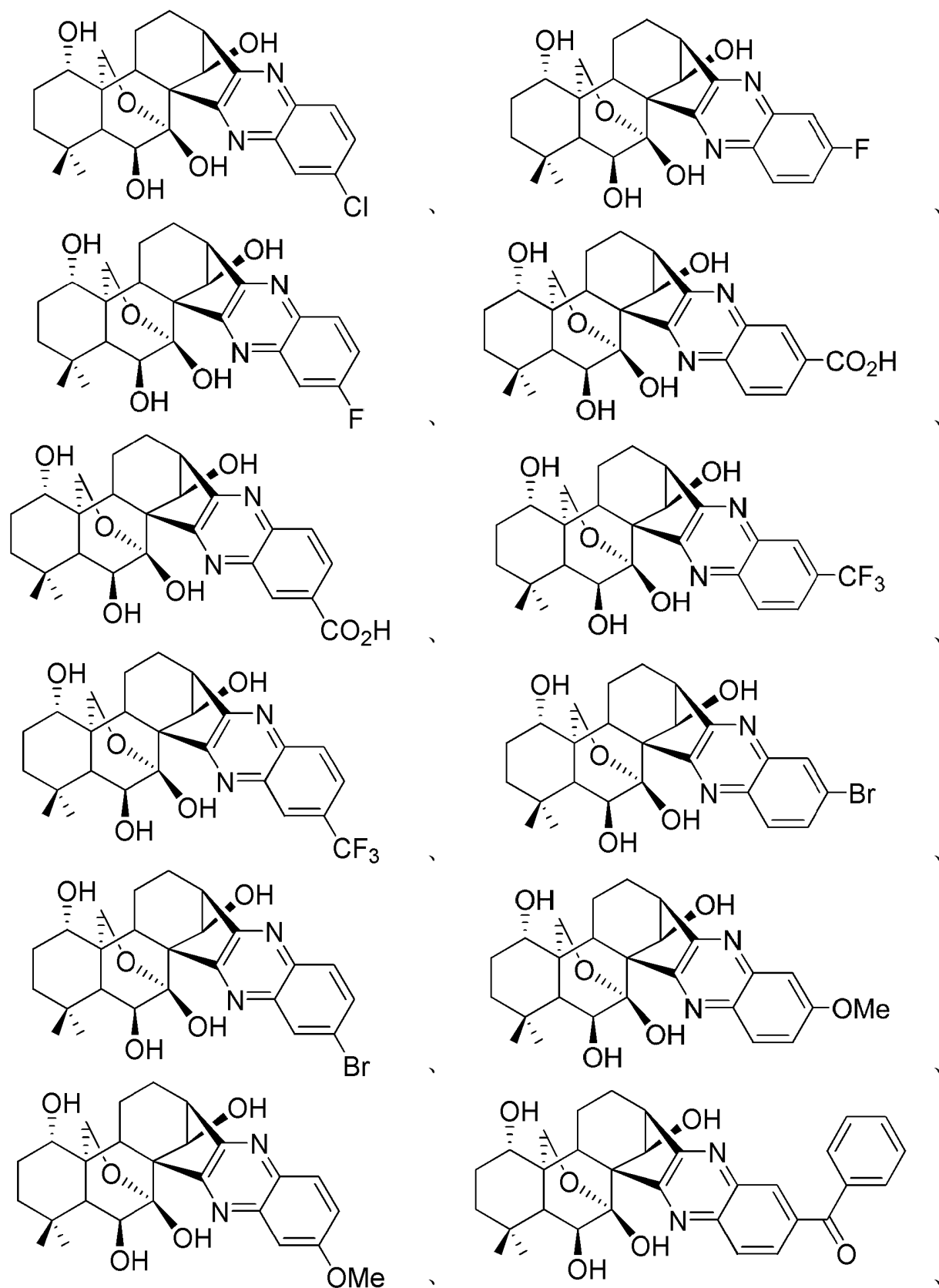
VIII

[0115] 具体地, 含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜衍生的化合物, 选自以下化合物中:

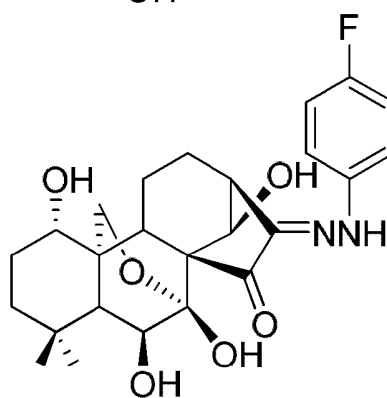
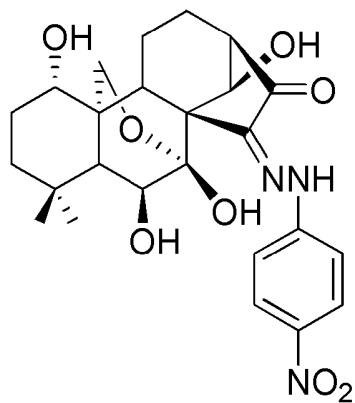
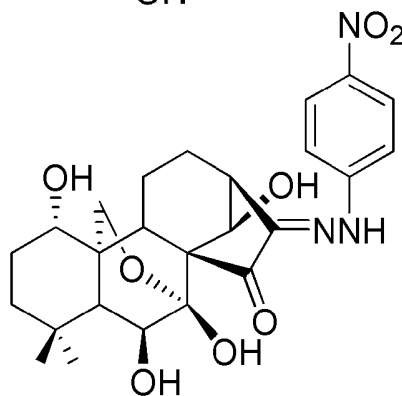
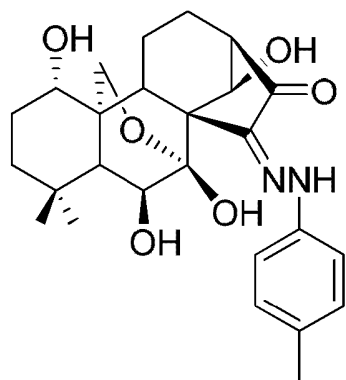
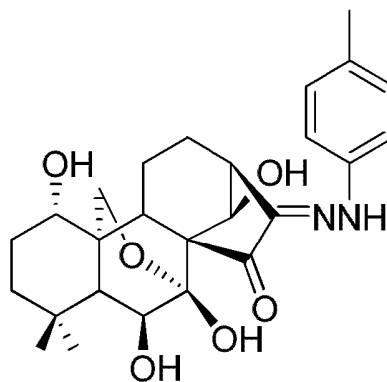
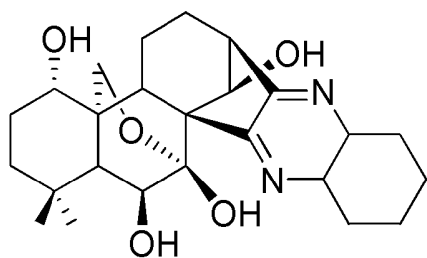
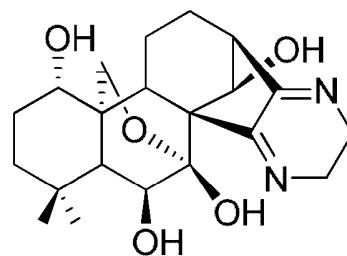
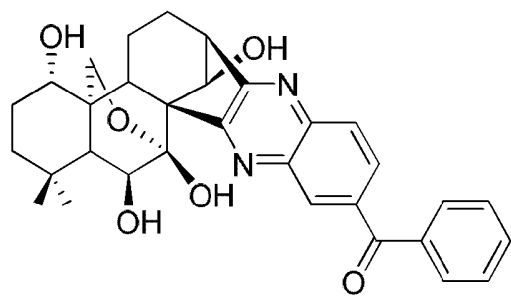
[0116]



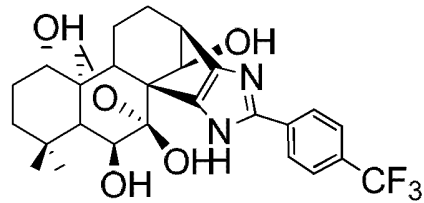
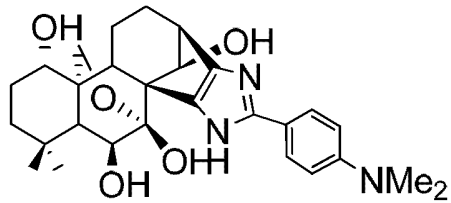
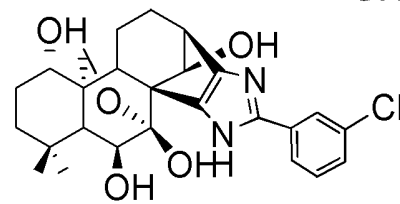
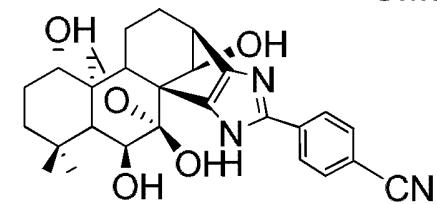
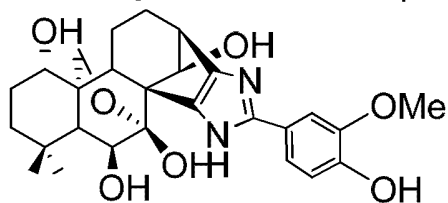
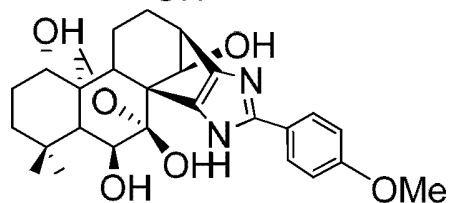
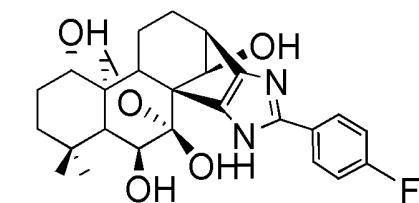
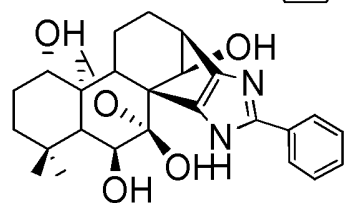
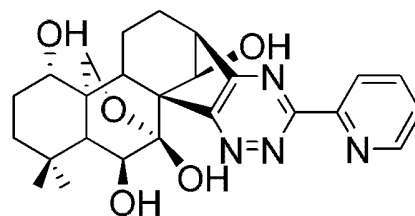
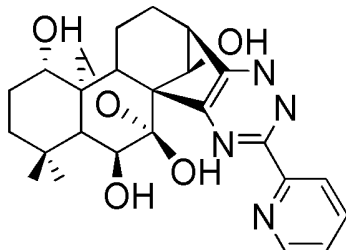
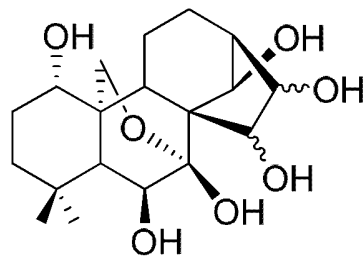
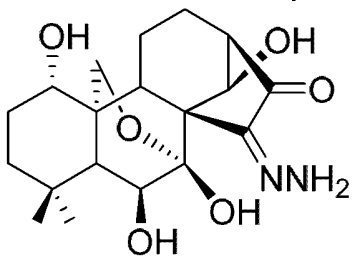
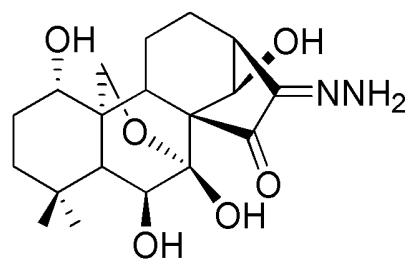
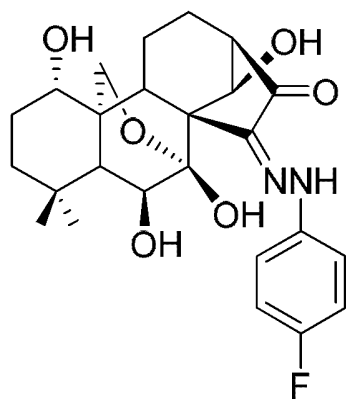
[0117]



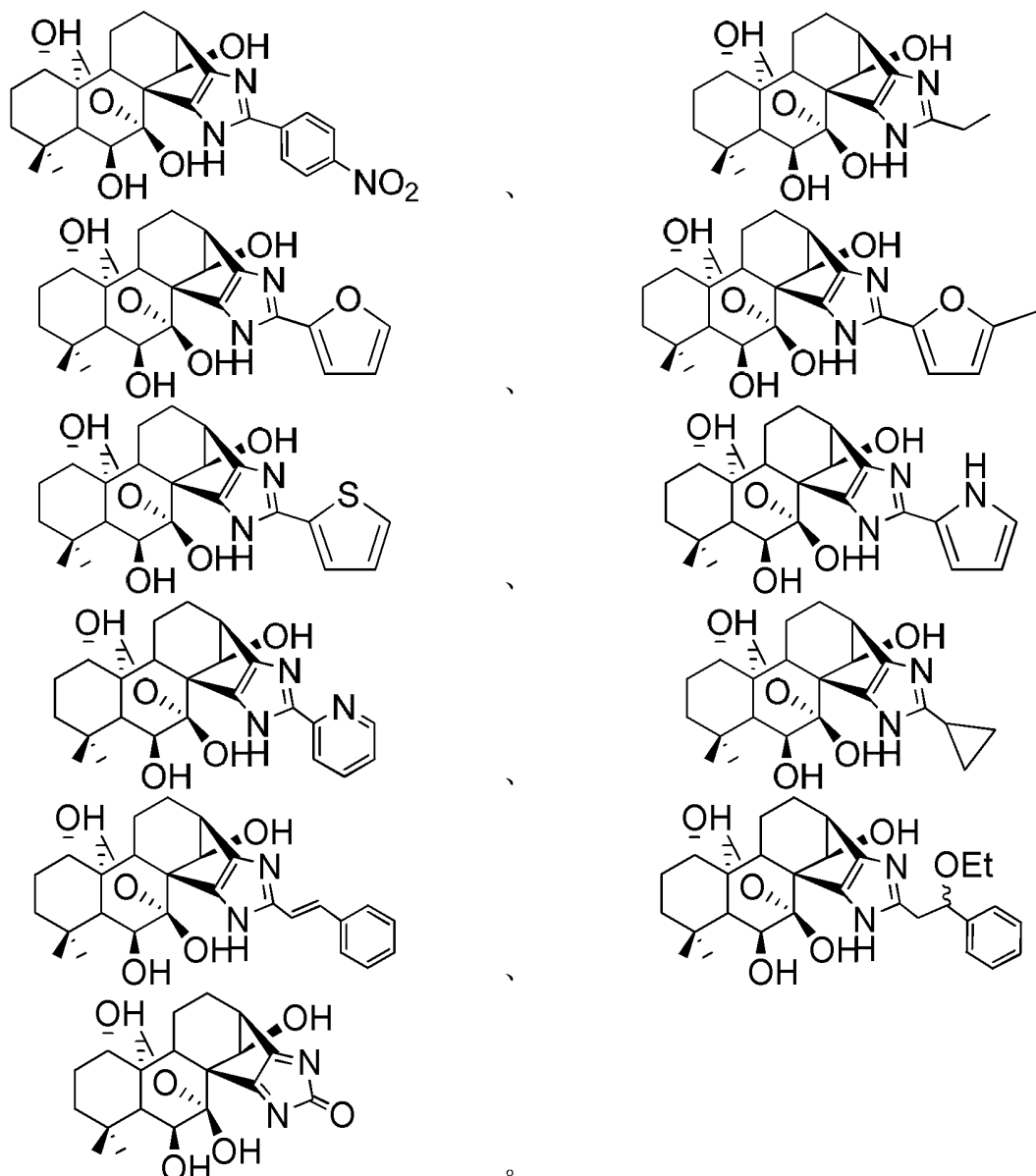
[0118]



[0119]



[0120]



[0121] 有益效果

[0122] 本发明提供一种能够选择性地含有 α -亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜中 α -亚甲基环戊酮结构单元转化为环丁邻二酮结构单元的化学方法,由此化学方法得到的含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜,其中的环丁邻二酮结构单元是一种反应活性基团,可以简便地衍生出一系列的对映-贝壳杉烷型二萜“类天然”衍生物,而实现对含有 α -亚甲基环戊酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜的结构改造。本发明的含有环丁邻二酮结构单元的对映-贝壳杉烷型二萜和由其衍生得到的对映-贝壳杉烷型二萜“类天然”衍生物,由于保留原天然产物的分子骨架和抗肿瘤生物活性,而可用于制备抗肿瘤药物。

具体实施方式

[0123] 下面结合具体实施例对本发明作进一步阐述,但本发明不局限于这些实施例。

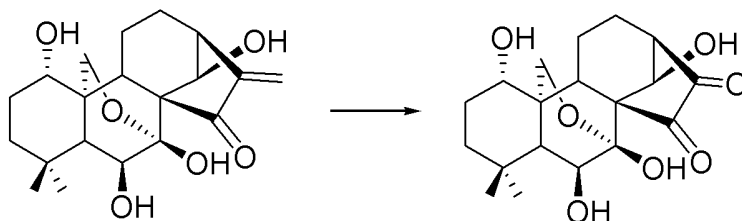
[0124] 在下述实施例中,NMR用Varian生产的Mercury-Vx 300M仪器测定,NMR定标: δ H

7. 26ppm(CDC_l₃), 2. 50ppm(DMSO-d₆) ;质谱用 Agilent 1200Quadrupole LC/MS 液质联用仪或 SHIMADZU GCMS-QP5050A 测定 ;试剂主要由上海化学试剂公司提供 ;TLC 薄层层析硅胶板由山东烟台会友硅胶开发有限公司生产, 型号 HSGF 254 ;化合物纯化使用的正相柱层析硅胶为山东青岛海洋化工厂分厂生产, 型号 zcx-11, 200-300 目。

[0125] 实施例一 冬凌草甲素类环丁邻二酮的合成

[0126] (1) 冬凌草甲素环丁邻二酮 (即化合物 1) 的合成

[0127]



冬凌草甲素

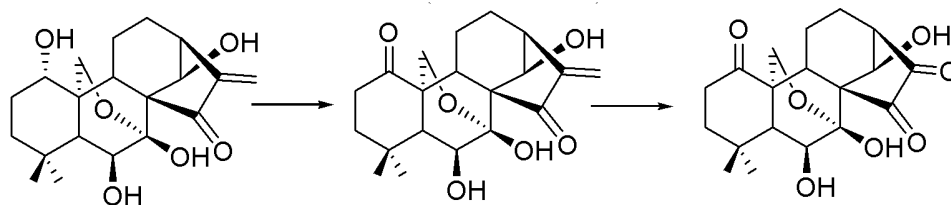
1

[0128] 取冬凌草甲素 (1. 5g, 4. 12mmol ;规格 :95%, 购于西安昊轩生物科技有限公司) 溶于二氯甲烷 (100mL) 和甲醇 (20mL) 中, 冰盐浴冷却并控制内温 (-5-15℃) 之间, 以 2-4L/min 的速度向上述体系的液面下鼓入含有臭氧的氧气 (BGF-YQ 型臭氧发生器, 2g/h, 60W, 北京北理国科臭氧应用技术有限公司), 并持续鼓气 0. 5-1. 5h, 此时体系颜色为黄色溶液, TLC 检测原料反应完全 (展开剂为 :氯仿 / 丙酮 / 甲醇 = 8/1/1 (v/v/v), 10wt% 磷钼酸显色)。然后, 鼓入氮气除去该反应体系中过量的臭氧, 并向反应体系中加入二甲硫醚 (1. 5mL), 室温下反应 10-15h。而后, 将该反应体系减压浓缩, 所得残余物用硅胶柱层析纯化 (氯仿 / 甲醇 = 20/1 (v/v) 洗脱), 收集产物点洗脱液, 合并并浓缩, 得到黄棕色固体, 丙酮中重结晶, 得化合物 1 为一黄色针状结晶性固体 (1. 00g), 摩尔收率 :67%。

[0129] ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) : δ 1. 06 (s, 3H), 1. 08 (s, 3H), 1. 98 (m, 2H), 2. 51 (m, 1H), 2. 93 (d, J = 11. 7Hz, 1H), 3. 27 (m, 1H), 3. 63 (dd, J = 6. 9, 10. 2Hz, 1H), 3. 89, 4. 15 (d, J = 10. 2Hz, 各 1H), 4. 48 (d, J = 5. 1Hz, 1H), 5. 02 (d, J = 10. 2Hz, 1H), 5. 06 (s, 1H), 6. 09 (s, 1H), 7. 22 (s, 1H)。ESI-MS (m/z) :365. 2 (M-H)⁻ (C₁₉H₂₅O₇, 理论值 :365. 16)。

[0130] (2) 1-羰基冬凌草甲素环丁邻二酮 (即化合物 1a) 的合成

[0131]



冬凌草甲素

1-羰基冬凌草甲素

1a

[0132] 冬凌草甲素 (50mg, 0. 14mmol ;规格 :95%, 购于西安昊轩生物科技有限公司) 溶于丙酮 (5mL) 中, 冰盐浴冷却下滴加 Jones' s 试剂, TLC 跟踪反应, 直至反应完全。然后, 该反应用异丙醇 (0. 5mL) 淬灭, 用水稀释, 乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 用饱和碳酸氢钠溶液洗涤该有机相。有机相经无水硫酸镁干燥, 过滤浓缩, 所得粗产物经硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷

/ 甲醇 = 80/1 (v/v) 洗脱), 得 1- 羧基冬凌草甲素为一白色固体 (33mg), 摩尔收率 :67%。

[0133] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) : δ 0.99 (s, 3H), 1.12 (s, 3H), 1.89 (m, 1H), 2.10 (m, 1H), 2.35 (m, 1H), 2.42 (m, 2H), 3.06 (d, $J = 9.3\text{Hz}$, 1H), 3.78 (dd, $J = 9.0, 12.0\text{Hz}$, 1H), 4.02, 4.28 (d, $J = 10.5\text{Hz}$, 各 1H), 4.43 (s, 1H), 4.86 (s, 1H), 4.89 (s, 1H), 5.65 (s, 1H), 5.70 (d, $J = 12.3\text{Hz}$, 1H), 6.26 (s, 1H)。ESI-MS (m/z) : 385.1 ($\text{M}+\text{Na}^+$) ($\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{NaO}_6$, 理论值 :385.16)。

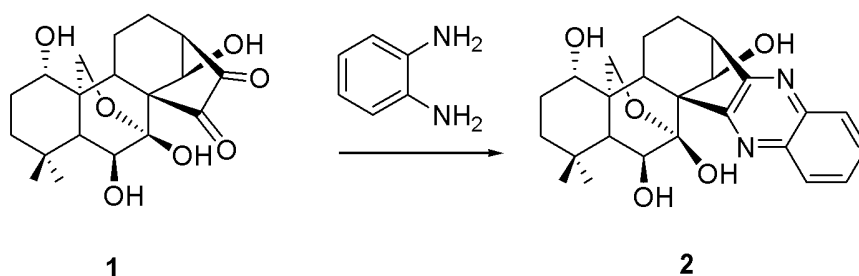
[0134] 取上述 1- 羧基冬凌草甲素 (50mg, 0.14mmol) 溶于二氯甲烷 (15mL) 和甲醇 (2.5mL) 中, 冰盐浴冷却并控制内温 ($0-15^\circ\text{C}$) 之间, 以 2-4L/min 的速度向上述体系的液面下鼓入含有臭氧的氧气 (BGF-YQ 型臭氧发生器, 2g/h, 60W, 北京北理国科臭氧应用技术有限公司), 并持续鼓气 0.5-1h, 直至体系颜色为黄色溶液, TLC 检测原料反应完全 (展开剂为 : 氯仿 / 丙酮 / 甲醇 = 8/1/1 (v/v/v), 10wt% 磷钼酸显色)。然后, 鼓入氮气除去该反应体系中过量的臭氧, 并向反应体系中加入三苯基膦 (200mg), 室温下反应 10-15h。而后, 将该反应体系减压浓缩, 所得残余物用硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷 / 甲醇 = 80/1 (v/v) 洗脱), 收集产物点洗脱液, 合并并浓缩, 得化合物 1a 为一黄色固体 (32mg), 摩尔收率 :64%。

[0135] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) : δ 1.00 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 2.06 (m, 1H), 2.28 (m, 1H), 2.45 (m, 2H), 2.95 (d, $J = 11.1\text{Hz}$, 1H), 3.88 (dd, $J = 9.3, 12.0\text{Hz}$, 1H), 4.04, 4.25 (d, $J = 10.5\text{Hz}$, 各 1H), 4.80 (d, $J = 12.3\text{Hz}$, 1H), 5.05 (br s, 1H), 5.16 (s, 1H), 6.07 (m, 1H)。ESI-MS (m/z) : 363.1 ($\text{M}-\text{H}^-$) ($\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{O}_7$, 理论值 :363.14)。

[0136] 实施例二 冬凌草甲素吡嗪类衍生物的合成

[0137]

(1)

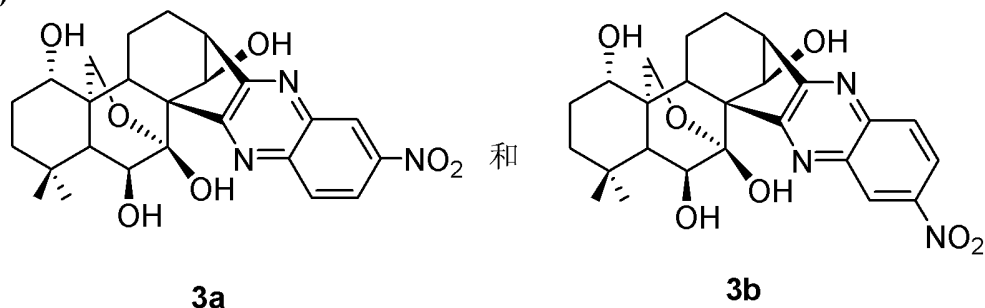


[0138] 化合物 1 (200mg, 0.55mmol) 溶于甲醇 (15mL) 中, 室温下向所得溶液中加入邻苯二胺 (300mg, 2.78mmol), 搅拌下反应过夜, 体系变为棕黄色溶液, TLC 检测原料反应完全。该反应体系浓缩后所得残余物经硅胶柱层析 (氯仿 / 甲醇 = 25/1, 20/1, 按体积比) 纯化, 收集产物点洗脱液, 浓缩后得化合物 2, 为一浅黄色固体 (180mg), 摩尔收率 :75%。

[0139] ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 1.17 (s, 3H), 1.20 (s, 3H), 1.92 (m, 1H), 2.43 (m, 2H), 3.26 (m, 2H), 3.67 (dd, $J = 6.0, 9.9\text{Hz}$, 1H), 3.97, 4.27 (2d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 4.34 (d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 5.17 (s, 1H), 6.22 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 7.71 (d, $J = 10.2\text{Hz}$, 1H), 7.79 (m, 2H), 7.92 (m, 1H), 8.03 (m, 1H)。ESI-MS (m/z) : 439.2 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$, 理论值 :438.22)。

[0140]

(2)

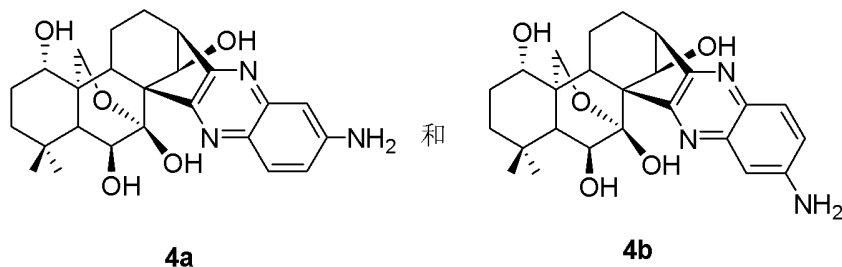


[0141] 以对硝基邻苯二胺为原料,参照实施例二(1)的操作,得到化合物 3a 和 3b 的混合物。

[0142] ^1H NMR (300MHz, DMSO-d_6) : δ 0.90-0.94 (2s, 6H), 1.68 (m, 1H), 2.21-2.28 (m, 2H), 3.10-3.17 (m, 2H), 3.52 (d, $J = 4.5\text{Hz}$, 1H), 3.62 (m, 1H), 3.85, 4.11 (2d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 5.01 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 6.58 (s, 1H), 7.19 (m, 1H), 7.84 (d, $J = 9.0\text{Hz}$, 1H), 8.13 (m, 1H), 8.55 (m, 1H)。ESI-MS (m/z) : 484.2 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_7$, 理论值 : 484.21)。

[0143]

(3)

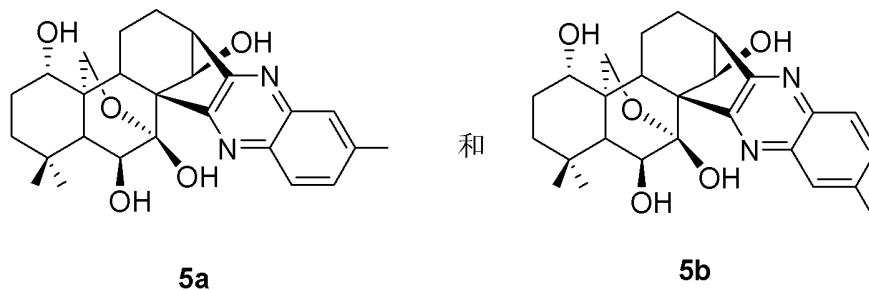


[0144] 化合物 3a 和 3b 的混合物不经分离,直接于甲醇中经 Pd-C(10%) 催化下氢化还原,得到化合物 4a 和 4b 的混合物。

[0145] ^1H NMR (300MHz, DMSO-d_6) : δ 0.88-0.91 (2s, 6H), 1.65 (m, 1H), 2.20-2.25 (m, 2H), 3.00-3.13 (m, 2H), 3.44 (d, $J = 4.3\text{Hz}$, 1H), 3.62 (m, 1H), 3.81, 4.03 (2d, $J = 10.2\text{Hz}$, 各 1H), 4.88 (s, 1H), 5.79 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 7.09 (m, 1H), 7.78 (d, $J = 9.0\text{Hz}$, 1H), 8.00 (m, 1H), 8.43 (m, 1H)。ESI-MS (m/z) : 454.2 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_5$, 理论值 : 454.23)。

[0146]

(4)



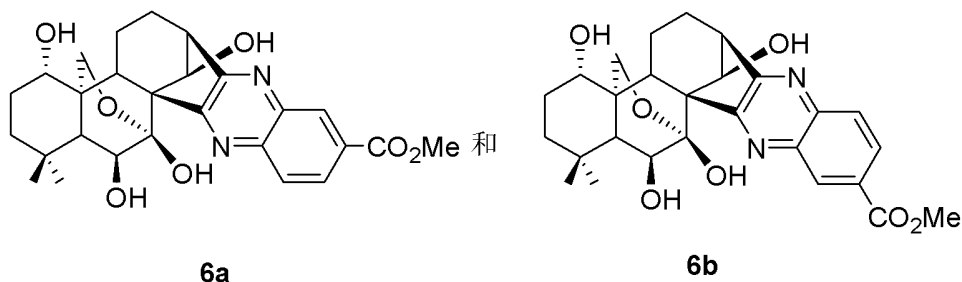
[0147] 以对甲基邻苯二胺为原料,参照实施例二(1)的操作,得到化合物 5a 和 5b 的混合物。

[0148] ^1H NMR (300MHz, DMSO-d_6) : δ 1.05-1.08 (2s, 6H), 1.86 (m, 1H), 2.34-2.38 (m, 2H), 2.50-2.53 (2s, 3H), 3.18 (m, 2H), 3.67 (m, 1H), 3.96, 4.28 (2d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 4.05 (m, 1H), 5.14 (s, 1H), 6.20 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 7.58-7.87 (m, 4H)。ESI-MS (m/z) :

453.2 (M+H)⁺ (C₂₆H₃₃N₂O₅, 理论值 :453.24)。

[0149]

(5)

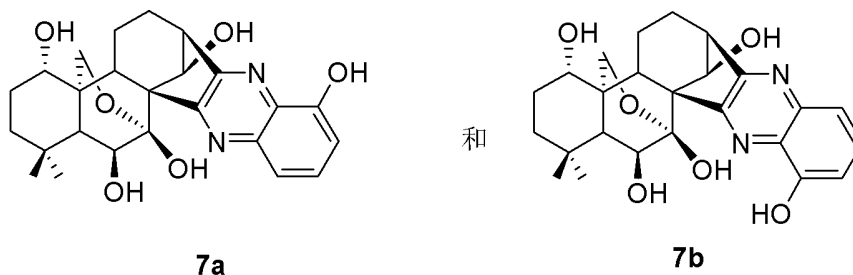


[0150] 以 3,4-二氨基苯甲酸甲酯为原料,参照实施例二(1)的操作,得到化合物 6a 和 6b 的混合物。

[0151] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) : δ 1.10 (s, 6H), 1.96 (m, 1H), 2.39-2.57 (m, 2H), 3.42 (m, 1H), 3.48 (s, 3H), 3.91-3.96 (m, 3H), 4.17, 4.43 (2d, J = 9.9Hz, 各 1H), 4.94 (br s, 1H), 5.34 (s, 1H), 6.16 (br s, 1H), 7.86-8.65 (m, 4H)。ESI-MS (m/z) :497.2 (M+H)⁺ (C₂₇H₃₃N₂O₇, 理论值 :497.23)。

[0152]

(6)



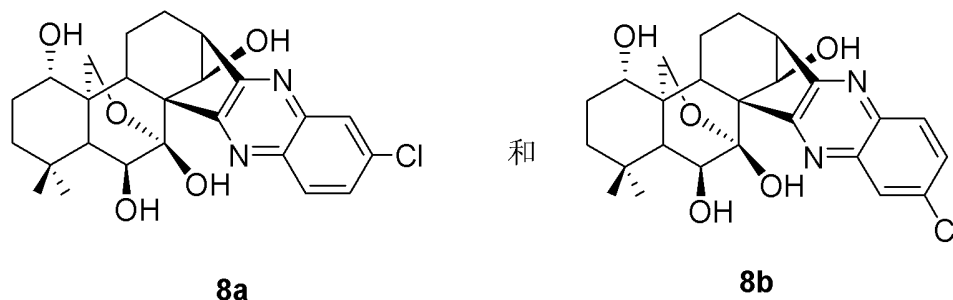
[0153] 以 2,3-二氨基苯酚为原料,参照实施例二(1)的操作,得到化合物 7a 和 7b 的混合物。

[0154] ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) : δ 0.82-0.86 (2s, 6H), 1.85 (m, 1H), 2.38-2.58 (m, 2H), 3.13 (m, 2H), 3.56 (d, J = 6.0Hz, 1H), 3.86, 4.12 (2d, J = 11.2Hz, 各 1H), 5.01 (s, 1H), 6.83 (d, J = 7.8Hz, 1H), 7.10 (d, J = 8.4Hz, 1H), 7.24 (m, 1H)。ESI-MS (m/z) : 455.2 (M+H)⁺ (C₂₅H₃₁N₂O₆, 理论值 :455.22)。

[0155]

(7)

[0156]

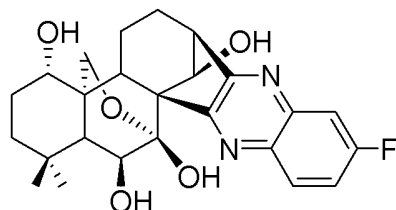


[0157] 以对氯邻苯二胺为原料,参照实施例二(1)的操作,得到化合物 8a 和 8b 的混合物。

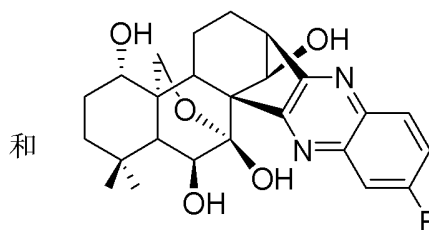
[0158] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) : δ 1.10 (s, 6H), 1.88 (m, 1H), 2.38-2.52 (m, 2H), 3.39-3.45 (m, 2H), 3.48 (s, 1H), 3.92 (dd, $J = 6.6, 10.8\text{Hz}$, 1H), 4.17, 4.43 (2d, $J = 10.2\text{Hz}$, 各 1H), 4.90 (br s, 1H), 5.32 (s, 1H), 6.16 (br s, 1H), 7.49-8.36 (m, 4H)。ESI-MS (m/z) : 473.2 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{ClN}_2\text{O}_5$, 理论值 : 473.184)。

[0159]

(8)



9a



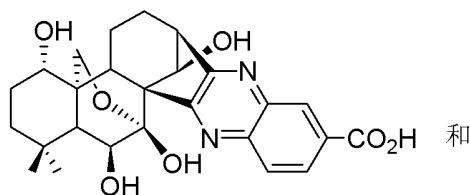
9b

[0160] 以对氟邻苯二胺为原料, 参照实施例二 (1) 的操作, 得到化合物 9a 和 9b 的混合物。

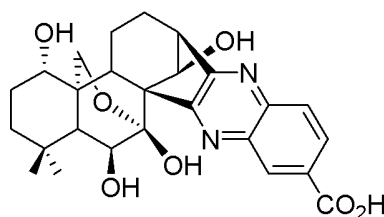
[0161] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) : δ 1.13 (s, 6H), 1.90 (m, 1H), 2.37-2.57 (m, 2H), 3.31-3.47 (m, 2H), 3.68 (m, 1H), 3.97 (m, 1H), 4.18, 4.45 (2d, $J = 10.2\text{Hz}$, 各 1H), 4.61 (br s, 1H), 5.34 (s, 1H), 5.62 (br s, 1H), 7.38-8.28 (m, 4H)。ESI-MS (m/z) : 457.2 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{FN}_2\text{O}_5$, 理论值 : 457.21)。

[0162]

(9)



10a



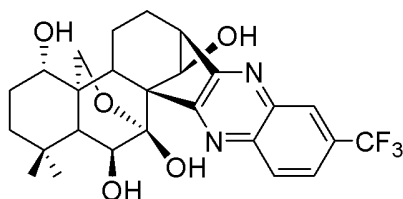
10b

[0163] 以 3,4-二氨基苯甲酸为原料, 参照实施例二 (1) 的操作, 得到化合物 10a 和 10b 的混合物。

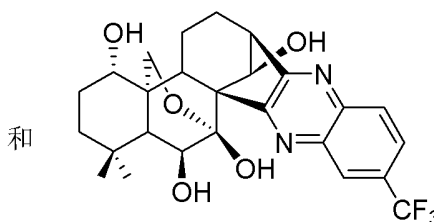
[0164] ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 1.06 (s, 3H), 1.09 (s, 3H), 1.96 (m, 1H), 2.35-2.52 (m, 2H), 3.31-3.42 (m, 2H), 3.67 (m, 1H), 4.01, 4.27 (2d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 4.36 (br s, 1H), 5.19 (s, 1H), 6.26 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 7.57 (m, 1H), 7.96-8.53 (m, 3H)。ESI-MS (m/z) : 483.3 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_7$, 理论值 : 483.21)。

[0165] (10)

[0166]



11a



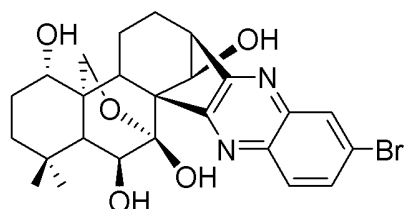
11b

[0167] 以对三氟甲基邻苯二胺为原料,参照实施例二(1)的操作,得到化合物 11a 和 11b 的混合物。

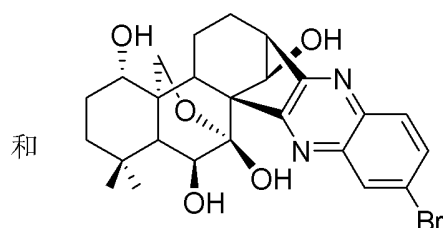
[0168] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) : δ 1.05 (s, 3H), 1.08 (s, 3H), 1.98 (m, 1H), 2.31-2.45 (m, 2H), 3.16-3.18 (m, 1H), 3.70 (m, 1H), 4.10 (m, 1H), 3.97, 4.27 (2d, $J = 10.2\text{Hz}$, 各 1H), 4.39 (br s, 1H), 5.20 (s, 1H), 6.28 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 7.32-7.45 (2d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 8.02-8.39 (m, 3H)。ESI-MS (m/z) : 507.2 ($M+H$) $^+$ ($C_{26}H_{30}F_3N_2O_5$, 理论值 : 507.21)。

[0169]

(11)



12a



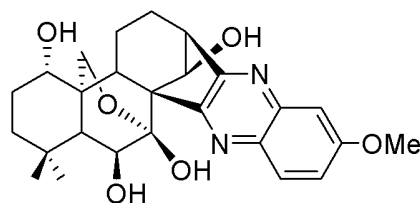
12b

[0170] 以对溴邻苯二胺为原料,参照实施例二(1)的操作,得到化合物 12a 和 12b 的混合物。

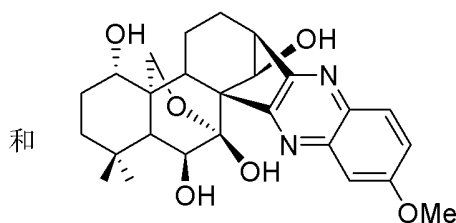
[0171] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) : δ 1.05-1.08 (2s, 6H), 1.97 (m, 1H), 2.42-2.50 (m, 2H), 3.16-3.25 (m, 2H), 3.65 (m, 1H), 3.96, 4.26 (2d, $J = 11.2\text{Hz}$, 各 1H), 4.35 (d, $J = 5.1\text{Hz}$, 1H), 5.17 (s, 1H), 6.23 (s, 1H), 6.84-6.86 (2s, 1H), 7.37-7.45 (2d, $J = 9.9\text{Hz}$, 1H), 7.87-8.24 (m, 3H)。ESI-MS (m/z) : 517.2 ($M+H$) $^+$ ($C_{25}H_{30}BrN_2O_5$, 理论值 : 517.13)。

[0172]

(12)



13a



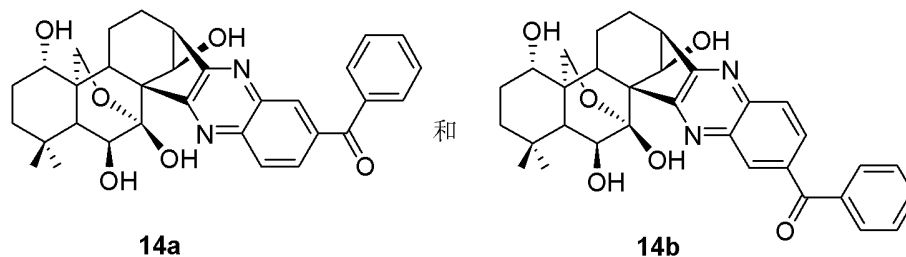
13b

[0173] 以对甲氧基邻苯二胺为原料,参照实施例二(1)的操作,得到化合物 13a 和 13b 的混合物。

[0174] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) : δ 1.05-1.08 (2s, 6H), 1.98 (m, 1H), 2.37-2.41 (m, 2H), 3.14-3.18 (m, 2H), 3.65 (m, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.97, 4.25 (2d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 4.33 (d, $J = 3.3\text{Hz}$, 1H), 5.15 (s, 1H), 6.21-6.24 (2s, 1H), 6.77-6.80 (2s, 1H), 7.23-7.93 (m, 4H)。ESI-MS (m/z) : 469.2 ($M+H$) $^+$ ($C_{26}H_{33}N_2O_6$, 理论值 : 469.23)。

[0175]

(13)



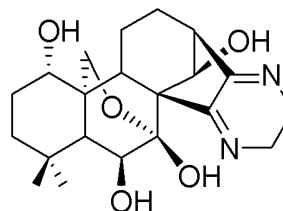
[0176] 以对苯甲酰基邻苯二胺为原料,参照实施例二(1)的操作,得到化合物 14a 和 14b 的混合物。

[0177] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) : δ 1.02–1.07 (s, 6H), 1.98 (m, 1H), 2.38–2.59 (m, 2H), 3.36 (s, 1H), 3.43–3.47 (m, 2H), 3.93 (dd, $J = 6.6, 10.8\text{Hz}$, 1H), 4.21, 4.45 (2d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 4.73 (s, 1H), 5.36 (s, 1H), 5.48 (s, 1H), 7.30–8.38 (m, 9H)。ESI-MS (m/z) : 543.2 (M+H) $^+$ ($\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_6$, 理论值 : 543.25)。

[0178] 实施例三 冬凌草甲素二氢吡嗪类衍生物的合成

[0179]

(1)



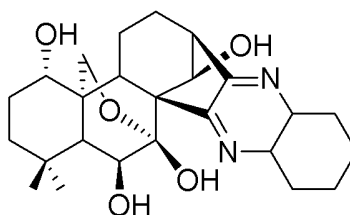
15

[0180] 以乙二胺为原料,参照实施例二(1)的操作,得到化合物 15。

[0181] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) : δ 1.03–1.08 (2s, 6H), 1.88 (m, 1H), 2.05, 2.44 (2m, 2H), 2.87 (d, $J = 10.5\text{Hz}$, 1H), 3.43–3.67 (m, 6H), 3.71 (d, $J = 6.6\text{Hz}$, 1H), 4.09, 4.29 (2d, $J = 10.2\text{Hz}$, 各 1H), 4.89 (s, 1H), 5.05, 6.00, 7.98 (3br s, 3H)。ESI-MS (m/z) : 391.2 (M+H) $^+$ ($\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_5$, 理论值 : 391.22)。

[0182]

(2)



16

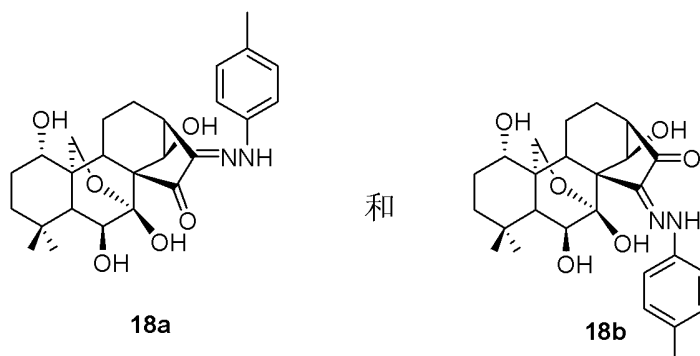
[0183] 以邻二氨基环己烷为原料,参照实施例二(1)的操作,得到化合物 16。

[0184] ^1H NMR (300MHz, DMSO-d_6) : δ 1.02–1.08 (2s, 6H), 2.06 (m, 1H), 2.58–2.61 (m, 2H), 3.17–3.25 (m, 2H), 3.40–3.48 (m, 3H), 3.86, 4.11 (2d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 4.31–4.33 (m, 1H), 4.73 (s, 1H), 5.86–6.03 (m, 1H), 6.63–7.51 (m, 2H)。ESI-MS (m/z) : 445.2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ ($\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_5$, 理论值 : 445.27)。

[0185] 实施例四 冬凌草甲素亚胺或脞类衍生物的合成

[0186]

(1)

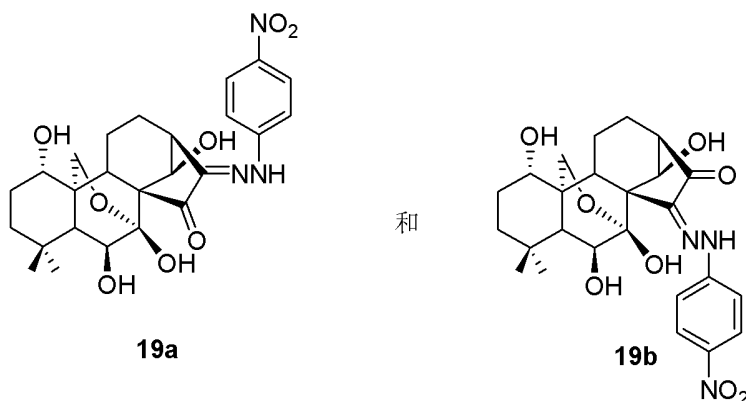


[0187] 以对甲基苯肼为原料,参照实施例二(1)的操作,得到化合物 18a 和 18b 的混合物。

[0188] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) : δ 1.03, 1.05 (2s, 6H), 1.82 (m, 1H), 2.23 (s, 3H), 2.23-2.55 (m, 2H), 3.38 (m, 1H), 3.63 (m, 1H), 3.65-3.70 (m, 1H), 4.02, 4.22 (2d, $J = 10.2\text{Hz}$, 各 1H), 5.00 (s, 1H), 5.82 (s, 1H), 6.48 (m, 1H), 6.75 (d, $J = 10.8\text{Hz}$, 1H), 7.01 (d, $J = 7.8\text{Hz}$, 2H), 7.27 (d, $J = 7.8\text{Hz}$, 2H), 9.27 (m, 1H), 11.42 (m, 1H)。ESI-MS (m/z) : 469.3 (M-H^-) ($\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_6$, 理论值 : 469.23)。

[0189]

(2)

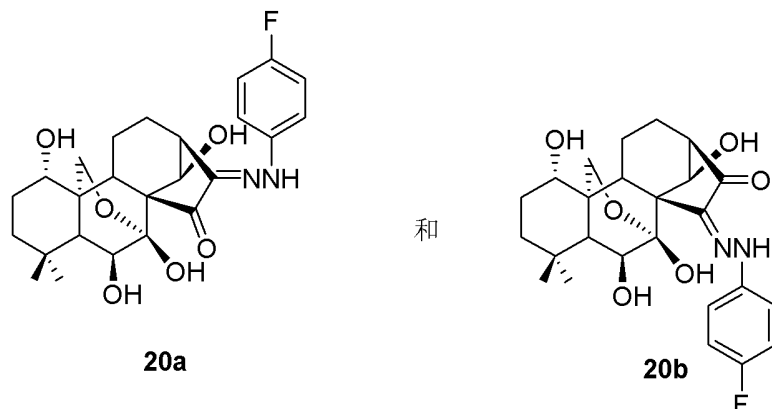


[0190] 以对硝基苯肼为原料,参照实施例二(1)的操作,得到化合物 19a 和 19b 的混合物。

[0191] ^1H NMR (300MHz, CD_3OD) : δ 1.10, 1.14 (2s, 6H), 1.96 (m, 1H), 2.23, 2.48 (2m, 各 1H), 3.39-3.47 (m, 2H), 3.75 (d, $J = 6.9\text{Hz}$, 1H), 4.08, 4.17 (2d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 5.03 (d, $J = 1.5\text{Hz}$, 1H), 7.48 (d, $J = 6.9\text{Hz}$, 2H), 8.21 (d, $J = 6.9\text{Hz}$, 2H)。ESI-MS (m/z) : 500.2 (M-H^-) ($\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_8$, 理论值 : 500.20)。

[0192]

(3)

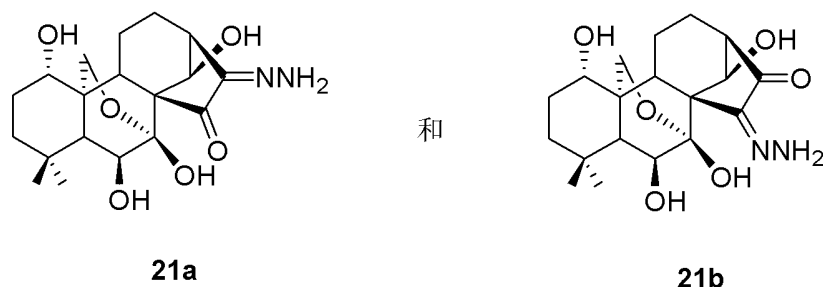


[0193] 以对氟苯肼为原料,参照实施例二(1)的操作,得到化合物 20a 和 20b 的混合物。

[0194] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) : δ 1.15, 1.25 (2s, 6H), 1.83 (m, 1H), 2.05, 2.41 (2m, 各 1H), 3.15 (m, 1H), 3.30 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 4.12-4.30 (m, 3H), 4.72 (m, 1H), 5.04 (s, 1H), 5.30 (s, 1H), 6.32 (2s, 1H), 7.01 (m, 2H), 7.19 (m, 2H), 7.97 (m, 1H)。ESI-MS (m/z) : 497.2 (M+Na) $^+$ ($\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{FN}_2\text{NaO}_6$, 理论值 : 497.21)。

[0195]

(4)

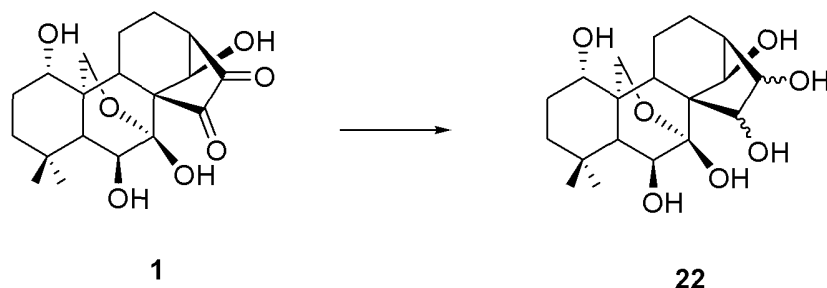


[0196] 以水合肼为原料,参照实施例二(1)的操作,得到化合物 21a 和 21b 的混合物。

[0197] ^1H NMR (300MHz, CD_3OD) : δ 1.07, 1.12 (2s, 6H), 1.85 (m, 1H), 2.20–2.34 (m, 2H), 3.08 (m, 1H), 3.44 (m, 1H), 3.69 (m, 1H), 4.04, 4.25 (2d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 4.94 (s, 1H)。ESI-MS (m/z) : 381.2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ ($\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_6$, 理论值 : 381.20)。

[0198] 实施例五 冬凌草甲素二醇类衍生物的合成

[0199]



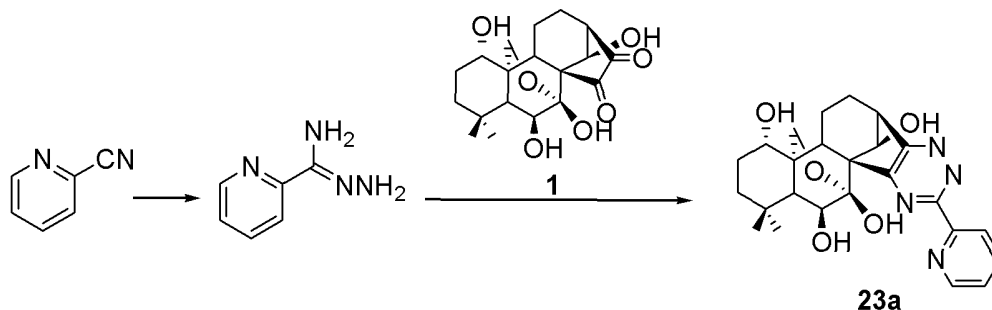
[2020] 冬凌草甲素环丁邻二酮（即化合物 1）（100mg, 0.27mmol）溶于甲醇（10mL）中，室温下向此溶液中加入硼氢化钠（30mg, 0.78mmol），数小时后 TLC 检测原料反应完全。该反应体系减压除去溶剂后，所得残余物溶于水并经 C18 反相柱层析纯化（洗脱剂为甲醇 / 水 = 1/1, 按体积比），得二醇化合物 22 为一白色固体（76mg），摩尔收率：76%。

[0201] ^1H NMR (300MHz, DMSO-d_6) : δ 0.93, 0.98 (2s, 6H), 1.83 (m, 1H), 2.02–2.11 (m, 2H),

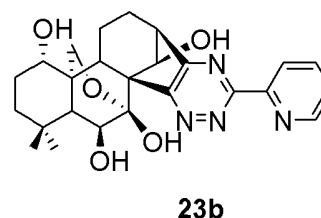
3. 16 (d, $J = 5.1\text{Hz}$, 1H), 3. 30 (m, 1H), 3. 73 (m, 1H), 3. 99–4. 26 (m, 5H), 4. 29 (s, 1H), 5. 03 (d, $J = 3.3\text{Hz}$, 1H), 5. 66 (s, 1H), 6. 46 (s, 1H)。ESI-MS (m/z): 393. 2 ($M+\text{Na}$)⁺ ($\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{NaO}_7$, 理论值: 393. 19)。

[0202] 实施例五 冬凌草甲素三嗪类衍生物的合成

[0203]



和



23b

[0204] 2- 氰基吡啶 (100mg, 0. 2mmol) 溶于乙醇 (2mL) 中, 加入水合肼 (0. 16mL), 室温反应 48h。向该反应体系中加入水 (0. 16mL), 减压浓缩除去乙醇, 所得残余物溶于氯仿中, 用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 得一浅黄色固体 (80mg), 摩尔收率: 62%。ESI-MS (m/z): 137. 1 ($M+\text{H}$)⁺ ($\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_4$, 理论值: 137. 08)。

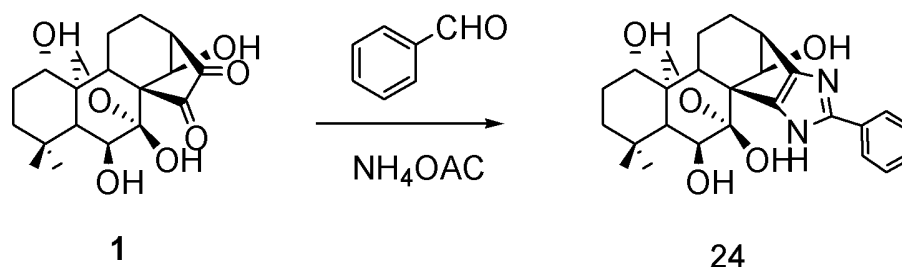
[0205] 取上述固体 (20mg, 0. 15mmol) 和冬凌草甲素环丁邻二酮 (即化合物 1) (30mg, 0. 08mmol) 溶于乙醇 (5mL) 中, 回流反应 6h。然后, 停止反应, 减压除去溶剂后所得残余物溶于氯仿中, 水洗 2 次, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤浓缩, 所得粗产物再经硅胶柱层析纯化 (二氯甲烷 / 甲醇 = 30/1 洗脱, 按体积比), 得产物为一浅黄色固体 (即化合物 23a 和 23b 的混合物) (12mg), 摩尔收率: 32%。

[0206] ¹H NMR (300MHz, CDCl_3): δ 1. 12 (s, 3H), 1. 14 (s, 3H), 1. 90 (m, 1H), 2. 48 (m, 2H), 3. 43 (m, 1H), 3. 45 (m, 1H), 3. 78 (dd, $J = 6. 6, 11. 1\text{Hz}$, 1H), 4. 17, 4. 42 (d, $J = 10. 8\text{Hz}$, 各 1H), 5. 05 (s, 1H), 5. 34 (s, 1H), 5. 76 (s, 1H), 7. 47 (m, 1H), 7. 90 (m, 1H), 8. 53 (d, $J = 7. 5\text{Hz}$, 1H), 8. 84 (d, $J = 4. 5\text{Hz}$, 1H)。ESI-MS (m/z): 467. 2 ($M+\text{H}$)⁺ ($\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{O}_5$, 理论值: 467. 22)。

[0207] 实施例六 冬凌草甲素咪唑类衍生物的合成

[0208]

(1)

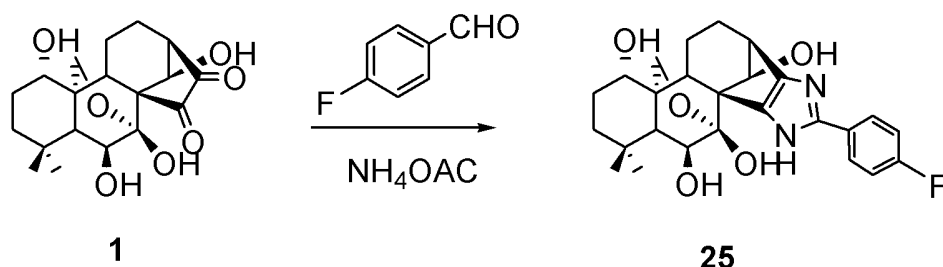


[0209] 取冬凌草甲素环丁邻二酮即化合物 1(100mg, 0.27mmol)、苯甲醛 (50mg, 0.47mmol) 和醋酸铵 (250mg, 3.24mmol) 溶于乙醇 (20mL) 中, 40℃下反应过夜。TLC 检测反应完全 (氯仿/丙酮/甲醇 = 8/1/1, 按体积比), 反应体系浓缩后, 粗产物经硅胶柱层析纯化 (氯仿/甲醇 = 15/1, 按体积比), 得化合物 24 为一暗黄色固体 (49mg), 摩尔收率: 41%。

[0210] ^1H NMR (300MHz, CD_3OD): δ 1.07 (s, 3H), 1.13 (s, 3H), 2.14 (m, 1H), 2.57 (m, 1H), 2.85 (d, $J = 8.1\text{Hz}$, 1H), 3.32 (m, 2H), 3.68 (d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 3.98, 4.23 (d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 5.25 (s, 1H), 7.34 (m, 3H), 7.69 (m, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.92 (m, 1H)。ESI-MS (m/z): 453.3 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_5$, 理论值: 453.24)。

[0211]

(2)

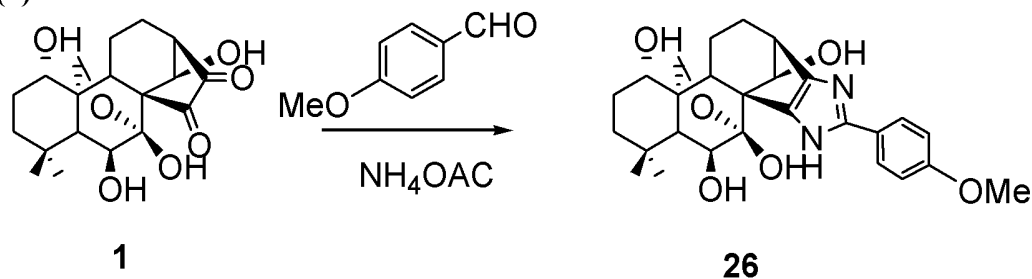


[0212] 以对氟苯甲醛为原料, 参照实施例六 (1) 的操作, 得到化合物 25 为一黄色固体 (23mg), 摩尔收率: 19%。

[0213] ^1H NMR (300MHz, CD_3OD): δ 1.09 (s, 3H), 1.12 (s, 3H), 2.08 (m, 1H), 2.42 (m, 1H), 2.87 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 3.34 (m, 2H), 3.69 (d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 4.00, 4.29 (d, $J = 10.5\text{Hz}$, 各 1H), 5.27 (s, 1H), 7.10 (m, 2H), 7.77 (m, 2H), 7.84 (s, 1H)。ESI-MS (m/z): 471.2 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{FN}_2\text{O}_5$, 理论值: 471.23)。

[0214]

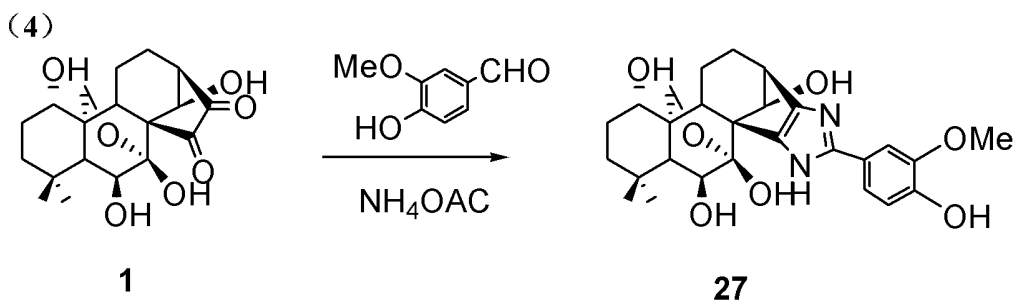
(3)



[0215] 以对甲氧基苯甲醛为原料, 参照实施例六 (1) 的操作, 得到化合物 26 为一浅棕色固体 (60mg), 摩尔收率: 44%。

[0216] ^1H NMR (300MHz, CD_3OD): δ 1.06 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 2.04 (m, 1H), 2.50 (m, 1H), 2.84 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 3.32 (m, 2H), 3.67 (d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 3.76 (s, 3H), 4.01, 4.23 (d, $J = 9.6\text{Hz}$, 各 1H), 5.25 (s, 1H), 6.91 (m, 2H), 7.64 (m, 2H), 7.82 (s, 1H)。ESI-MS (m/z): 483.3 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_6$, 理论值: 483.25)。

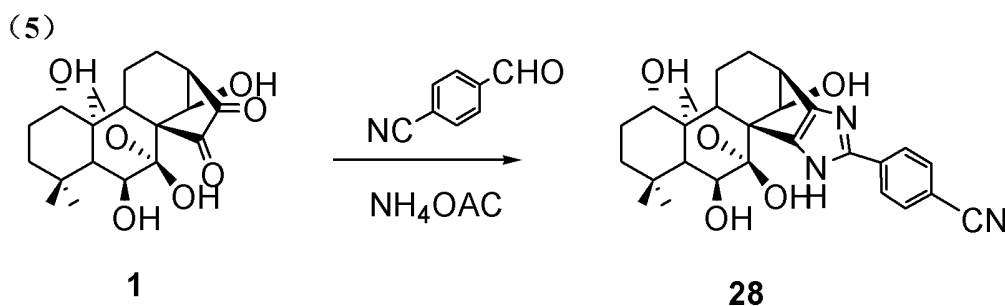
[0217]



[0218] 以香兰素为原料,参照实施例六(1)的操作,得到化合物 27 为一浅黄褐色固体(50mg),摩尔收率:38%。

[0219] ^1H NMR(300MHz, CD_3OD): δ 1.09(s, 3H), 1.18(s, 3H), 2.02(m, 1H), 2.50(m, 1H), 2.84(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 3.32(m, 2H), 3.67(d, $J = 4.5\text{Hz}$, 1H), 3.83(s, 3H), 3.98, 4.27(d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 5.25(s, 1H), 6.76(m, 1H), 7.15(m, 1H), 7.33(m, 1H), 7.82(s, 1H)。ESI-MS(m/z): 499.3($\text{M}+\text{H}^+$)($\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_7$, 理论值:499.24)。

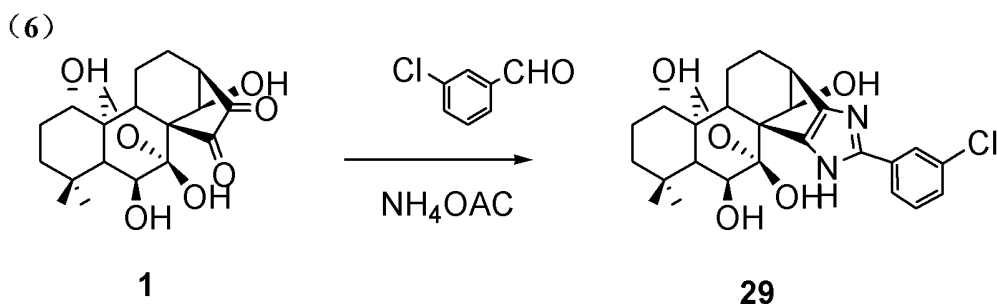
[0220]



[0221] 以对氰基苯甲醛为原料,参照实施例六(1)的操作,得到化合物 28 为一浅黄色固体(55mg),摩尔收率:42%。

[0222] ^1H NMR(300MHz, CD_3OD): δ 0.99(s, 3H), 1.12(s, 3H), 2.08(m, 1H), 2.41(m, 1H), 2.86(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 3.32(m, 2H), 3.68(d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 3.98, 4.24(d, $J = 10.5\text{Hz}$, 各 1H), 5.27(s, 1H), 7.68(m, 2H), 7.83(s, 1H), 7.87(m, 2H)。ESI-MS(m/z): 478.3($\text{M}+\text{H}^+$)($\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_5$, 理论值:478.23)。

[0223]



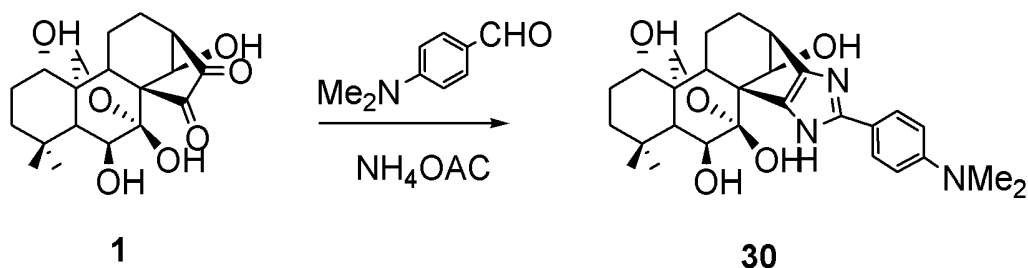
[0224] 以间氯苯甲醛为原料,参照实施例六(1)的操作,得到化合物 29 为一浅黄色固体(58mg),摩尔收率:44%。

[0225] ^1H NMR(300MHz, CD_3OD): δ 1.08(s, 3H), 1.15(s, 3H), 2.11(m, 1H), 2.48(m, 1H), 2.93(d, $J = 8.1\text{Hz}$, 1H), 3.35(m, 2H), 3.76(d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 4.06, 4.32(d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 5.34(s, 1H), 7.38(m, 2H), 7.71(m, 1H), 7.85(m, 1H), 7.91(s, 1H)。ESI-MS(m/z): 487.2($\text{M}+\text{H}^+$)($\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{ClN}_2\text{O}_5$, 理论值:487.20)。

[0226]

(7)

[0227]

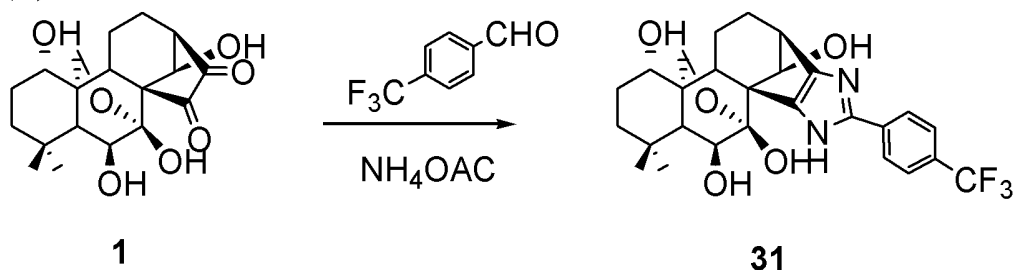


[0228] 以对二甲胺基苯甲醛为原料,参照实施例六(1)的操作,得到化合物 30 为一棕色固体(26mg),摩尔收率:19%。

[0229] ^1H NMR(300MHz, CD_3OD): δ 1.07(s, 3H), 1.15(s, 3H), 2.10(m, 1H), 2.48(m, 1H), 2.95(d, $J = 8.1\text{Hz}$, 1H), 3.02(s, 6H), 3.33(m, 2H), 3.76(d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 4.07, 4.31(d, $J = 10.2\text{Hz}$, 各 1H), 5.34(s, 1H), 6.81(m, 2H), 7.71(m, 2H), 7.91(s, 1H)。ESI-MS(m/z): 496.3($\text{M}+\text{H}^+$)($\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_5$, 理论值:496.28)。

[0230]

(8)

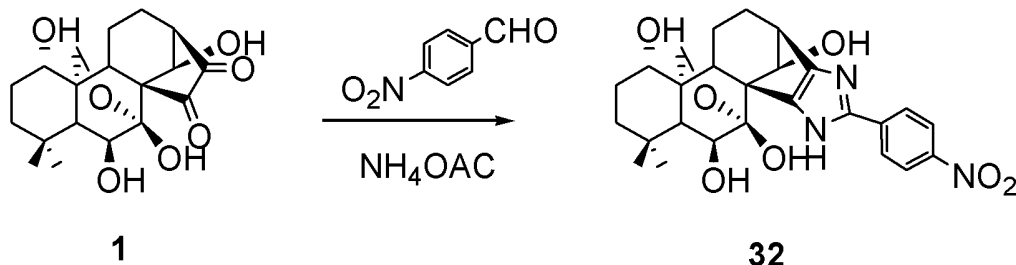


[0231] 以对三氟甲基苯甲醛为原料,参照实施例六(1)的操作,得到化合物 31 为一浅棕色固体(28mg),摩尔收率:20%。

[0232] ^1H NMR(300MHz, CD_3OD): δ 1.08(s, 3H), 1.15(s, 3H), 2.15(m, 1H), 2.49(m, 1H), 2.95(d, $J = 8.7\text{Hz}$, 1H), 3.37(m, 2H), 3.77(d, $J = 4.5\text{Hz}$, 1H), 4.07, 4.33(d, $J = 10.5\text{Hz}$, 各 1H), 5.35(s, 1H), 7.72(m, 2H), 7.90(s, 1H), 7.97(m, 2H)。ESI-MS(m/z): 521.2($\text{M}+\text{H}^+$)($\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_5$, 理论值:521.23)。

[0233]

(9)



[0234] 以对硝基苯甲醛为原料,参照实施例六(1)的操作,得到化合物 32 为一棕色固体(39mg),摩尔收率:29%。

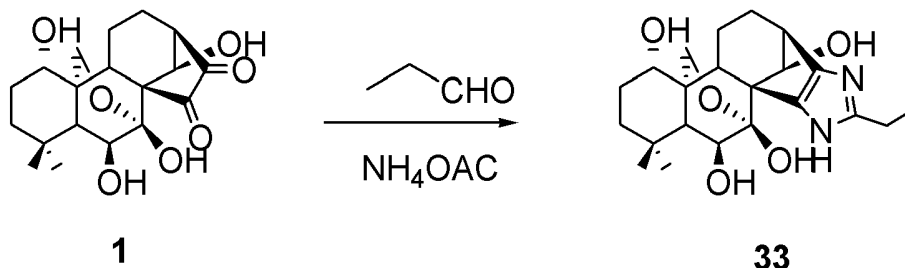
[0235] ^1H NMR(300MHz, CD_3OD): δ 1.08(s, 3H), 1.16(s, 3H), 2.15(m, 1H), 2.50(m, 1H), 2.96(d, $J = 8.7\text{Hz}$, 1H), 3.32(m, 2H), 3.77(d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 4.07, 4.33(d, J

= 10.5Hz, 各 1H), 5.36 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 8.01 (m, 2H), 8.29 (m, 2H)。ESI-MS (m/z) : 498.2 (M+H)⁺ (C₂₆H₃₂N₃O₇, 理论值 : 498.22)。

[0236]

(10)

[0237]

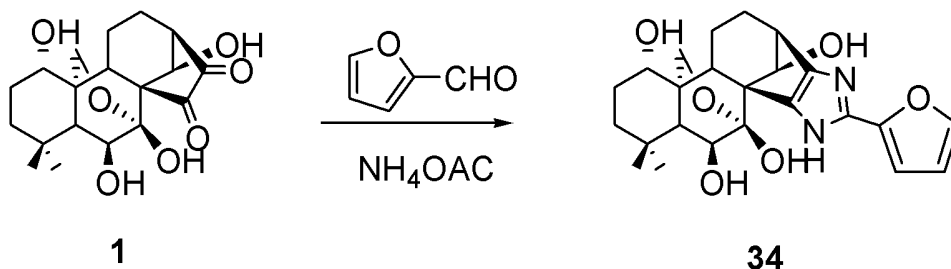


[0238] 以正丙醛为原料, 参照实施例六 (1) 的操作, 得到化合物 33 为一浅黄色固体 (56mg), 摩尔收率 : 64%。

[0239] ¹H NMR (300MHz, CD₃OD) : δ 1.05 (s, 3H), 1.16 (s, 3H), 1.32 (t, J = 7.8Hz, 3H), 2.08 (m, 1H), 2.46 (m, 1H), 2.88 (q, J = 7.8Hz, 2H), 2.93 (m, 1H), 3.32 (m, 2H), 3.65 (d, J = 4.5Hz, 1H), 4.05, 4.29 (d, J = 10.5Hz, 各 1H), 5.32 (s, 1H), 7.90 (s, 1H)。ESI-MS (m/z) : 405.2 (M+H)⁺ (C₂₂H₃₃N₂O₅, 理论值 : 405.24)。

[0240]

(11)

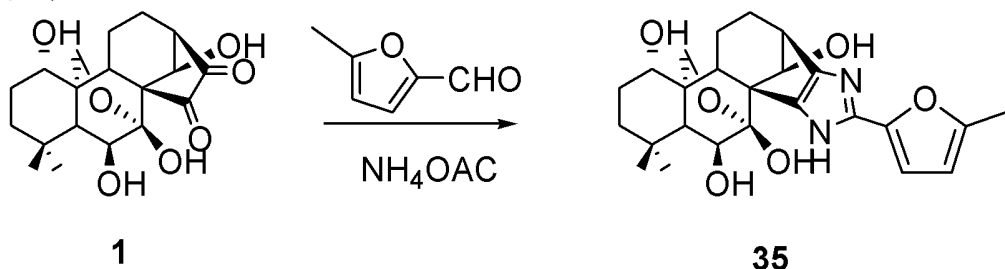


[0241] 以糠醛为原料, 参照实施例六 (1) 的操作, 得到化合物 34 为一浅黄色固体 (38mg), 摩尔收率 : 40%。

[0242] ¹H NMR (300MHz, CD₃OD) : δ 1.06 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 2.11 (m, 1H), 2.47 (m, 1H), 2.88 (d, J = 8.1Hz, 1H), 3.32 (m, 2H), 3.74 (d, J = 4.5Hz, 1H), 4.06, 4.30 (d, J = 10.5Hz, 各 1H), 5.32 (s, 1H), 6.54 (m, 1H), 6.78 (m, 1H), 7.55 (m, 1H), 7.90 (s, 1H)。ESI-MS (m/z) : 443.3 (M+H)⁺ (C₂₄H₃₁N₂O₆, 理论值 : 443.22)。

[0243]

(12)



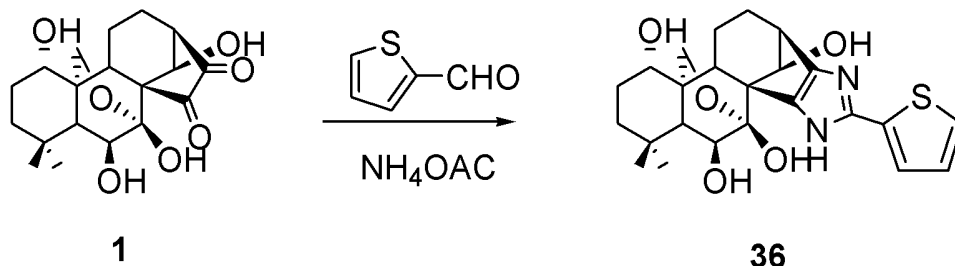
[0244] 以 5-甲基糠醛为原料, 参照实施例六 (1) 的操作, 得到化合物 35 为一浅棕色固体

(42mg), 摩尔收率 :42%。

[0245] ^1H NMR(300MHz, CD_3OD) : δ 1.06 (s, 3H), 1.14 (s, 3H), 2.12 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.47 (m, 1H), 2.86 (d, $J = 8.1\text{Hz}$, 1H), 3.34 (m, 2H), 3.74 (d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 4.05, 4.31 (d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 5.31 (s, 1H), 6.13 (m, 1H), 6.66 (m, 1H), 7.90 (s, 1H)。ESI-MS(m/z) : 457.2 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_6$, 理论值 :457.23)。

[0246] (13)

[0247]

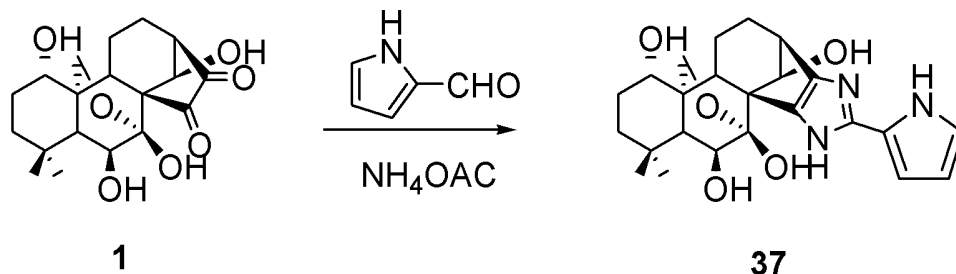


[0248] 以 2-噻吩甲醛为原料, 参照实施例六 (1) 的操作, 得到化合物 36 为一浅黄色固体 (40mg), 摩尔收率 :40%。

[0249] ^1H NMR(300MHz, CD_3OD) : δ 1.07 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 2.11 (m, 1H), 2.48 (m, 1H), 2.88 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 3.34 (m, 2H), 3.74 (d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 4.05, 4.31 (d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 5.32 (s, 1H), 7.08 (m, 1H), 7.40 (m, 2H), 7.90 (s, 1H)。ESI-MS(m/z) : 459.2 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$, 理论值 :459.20)。

[0250]

(14)

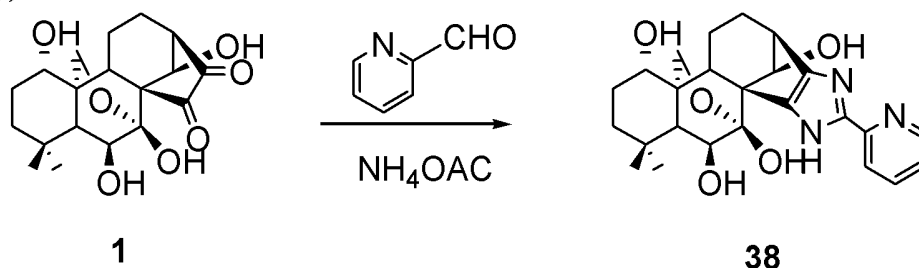


[0251] 以 2-吡咯甲醛为原料, 参照实施例六 (1) 的操作, 得到化合物 37 为一浅黄色固体 (18mg), 摩尔收率 :19%。

[0252] ^1H NMR(300MHz, CD_3OD) : δ 1.07 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 2.07 (m, 1H), 2.49 (m, 1H), 2.90 (d, $J = 8.7\text{Hz}$, 1H), 3.34 (m, 2H), 3.75 (d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 4.06, 4.31 (d, $J = 10.2\text{Hz}$, 各 1H), 5.32 (s, 1H), 6.18 (m, 1H), 6.60 (m, 2H), 6.86 (m, 1H), 7.90 (s, 1H)。ESI-MS(m/z) : 442.2 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_5$, 理论值 :442.23)。

[0253]

(15)

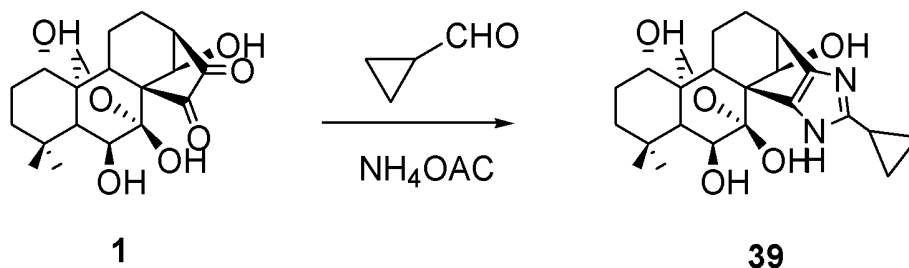


[0254] 以 2-吡啶甲醛为原料,参照实施例六(1)的操作,得到化合物 38 为一浅黄色固体(64mg),摩尔收率:65%。

[0255] ^1H NMR(300MHz, CD_3OD): δ 1.08 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 2.08 (m, 1H), 2.49 (m, 1H), 2.95 (d, $J = 8.1\text{Hz}$, 1H), 3.35 (m, 2H), 3.77 (d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 4.07, 4.33 (d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 5.36 (s, 1H), 7.44 (m, 1H), 7.78 (m, 1H), 7.90 (s, 1H), 8.58 (m, 2H)。ESI-MS(m/z): 454.3 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_5$, 理论值: 454.23)。

[0256] (16)

[0257]

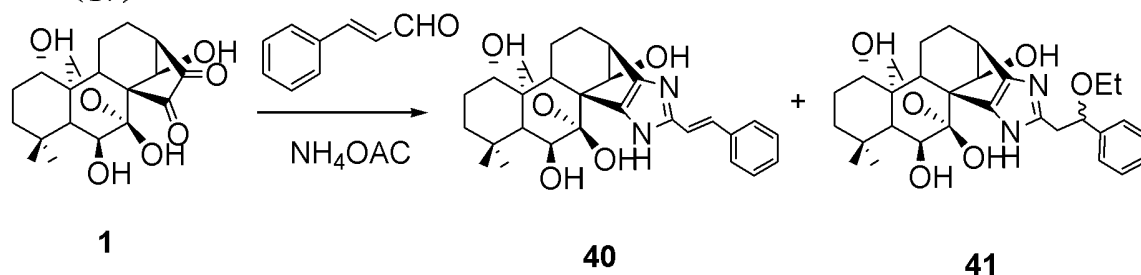


[0258] 以环丙基甲醛为原料,参照实施例六(1)的操作,得到化合物 39 为一浅黄色固体(100mg),定量收率。

[0259] ^1H NMR(300MHz, CD_3OD): δ 1.07 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.64 (m, 4H), 2.05 (m, 2H), 2.42 (m, 1H), 2.83 (d, $J = 8.1\text{Hz}$, 1H), 3.33 (m, 2H), 3.71 (d, $J = 4.5\text{Hz}$, 1H), 4.03, 4.28 (d, $J = 10.5\text{Hz}$, 各 1H), 5.28 (s, 1H), 7.90 (s, 1H)。ESI-MS(m/z): 417.2 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_5$, 理论值: 417.24)。

[0260]

(17)

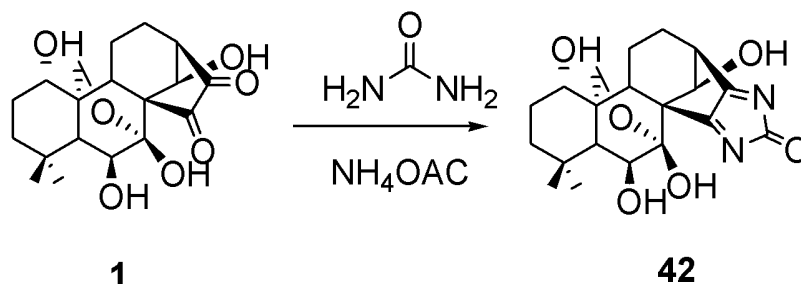


[0261] 以肉桂醛为原料,参照实施例六(1)的操作,硅胶柱层析分离得到化合物 40 为一浅棕色固体(6mg),摩尔收率:6%。 ^1H NMR(300MHz, CD_3OD): δ 1.07 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.64 (m, 4H), 2.12 (m, 1H), 2.43 (m, 1H), 2.88 (d, $J = 8.1\text{Hz}$, 1H), 3.33 (m, 2H), 3.75 (d, $J = 4.5\text{Hz}$, 1H), 4.06, 4.31 (d, $J = 9.9\text{Hz}$, 各 1H), 5.32 (s, 1H), 7.01-7.54 (m, 7H)。ESI-MS(m/z): 479.3 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_5$, 理论值: 479.25)。

[0262] 同时还得到产物化合物 40 的乙醇加成产物 41 (17mg), 浅黄色固体, 摩尔收率 18 %。¹H NMR (300MHz, CD₃OD) : δ 1.05 (s, 3H), 1.19 (s, 3H), 1.29 (m, 3H), 2.04 (m, 1H), 2.40 (m, 1H), 2.85 (dd, J = 8.4, 12.3Hz, 1H), 3.15 (m, 2H), 3.41 (m, 2H), 3.71 (dd, J = 4.8, 7.8Hz, 1H), 4.07 (m, 1H), 4.28 (m, 1H), 4.88 (m, 1H), 5.26, 5.30 (2s, 共 1H), 7.26-7.36 (m, 5H)。ESI-MS (m/z) : 525.3 (M+H)⁺ (C₃₀H₄₁N₂O₆, 理论值 : 525.30)。

[0263] 实施例七 冬凌草甲素咪唑酮类衍生物的合成

[0264]



[0265] 取冬凌草甲素环丁邻二酮即化合物 1 (50mg, 0.13mmol)、尿素 (40mg, 1.42mmol) 和醋酸铵 (200mg, 2.59mmol) 溶于乙醇 (15mL) 中, 回流反应过夜。TLC 检测反应完全 (氯仿 / 丙酮 / 甲醇 = 8/1/1, 体积比), 该反应体系浓缩后, 所得粗产物经硅胶柱层析纯化 (氯仿 / 甲醇 = 10/1, 10/3, 体积比), 得化合物 42 为一土黄色固体 (7mg), 摩尔收率 : 14%。

[0266] ¹H NMR (300MHz, CD₃OD) : δ 1.04 (s, 3H), 1.13 (s, 3H), 2.04 (m, 1H), 2.40 (m, 1H), 2.87 (d, J = 8.7Hz, 1H), 3.37 (m, 2H), 3.71 (d, J = 4.8Hz, 1H), 4.07, 4.31 (d, J = 9.9Hz, 各 1H), 5.28 (s, 1H)。ESI-MS (m/z) : 391.2 (M+H)⁺ (C₂₀H₂₇N₂O₆, 理论值 : 391.19)。

[0267] 实施例八 冬凌草甲素类衍生物的抗肿瘤活性评价

[0268] 将处于对数生长期的肿瘤细胞 HL-60 细胞 (购自上海生化与细胞研究所细胞库) 按照 5000 细胞 / 孔 (90ml) 的密度接种于 96 孔微量培养板内, 培养 24h 后加入药液 10ml / 孔, 对每个细胞株, 每个浓度均为三个复孔。另设无细胞调零孔, 如果药物有颜色要做相应药物浓度无细胞调零孔。肿瘤细胞在 37℃、5% CO₂ 条件下培养 48 小时后, 加 MTT (Sigma) 液 5mg/ml 用生理盐水配制 20ml / 孔; 继续培养 4 小时后, 加入三联液 (10% SDS-5% 异丁醇-0.01mol/L HCl) 50ml / 孔, 于 CO₂ 培养箱中过夜。然后用酶标仪测 OD₅₇₀ 值。按下列公式计算被测物对癌细胞生长的抑制率: 抑制率 (%) = (OD 值_{对照孔} - OD 值_{给药孔}) / OD 值_{对照孔} × 100%。实验重复三次以上, 计算平均值和标准差。

[0269] 对肿瘤细胞生长的抑制率 %

浓度(M) 化合物样品	HL-60				
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
冬凌草甲素	55.5	40.2	18.6	5.5	16.5
化合物 10	50.6	52.8	37.1	37.4	27.2

[0271] 测试结果表明, 化合物 10 的对肿瘤细胞 HL-60 的抑制率要优于天然产物冬凌草甲素。