

[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 200810300625.4

[51] Int. Cl.

C07C 47/57 (2006.01)

C07C 45/30 (2006.01)

C07C 39/21 (2006.01)

C07C 37/11 (2006.01)

C07C 251/48 (2006.01)

C07C 249/08 (2006.01)

[43] 公开日 2008 年 10 月 8 日

[11] 公开号 CN 101279901A

[51] Int. Cl. (续)

C07C 255/41 (2006.01)

C07C 253/30 (2006.01)

C07D 311/04 (2006.01)

C07D 261/20 (2006.01)

A61K 31/05 (2006.01)

A61K 31/11 (2006.01)

A61K 31/42 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[22] 申请日 2008.3.19

[21] 申请号 200810300625.4

[30] 优先权

[32] 2007.12.25 [33] CN [31] 200710050966.6

[71] 申请人 四川大学

地址 610065 四川省成都市一环路南一段 24 号

[72] 发明人 陈俐娟 魏于全 罗有福 徐咏斌
胡 佳 师键友

[74] 专利代理机构 成都虹桥专利事务所
代理人 武森涛

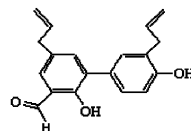
权利要求书 2 页 说明书 11 页

[54] 发明名称

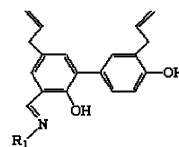
和厚朴酚系列衍生物及其制备方法和用途

[57] 摘要

本发明涉及和厚朴酚系列衍生物及其制备方法, 和以该系列衍生物为活性成分的药物组合物, 以及该药物组合物在治疗癌症中的应用, 属于药物化学技术领域。本发明的和厚朴酚系列衍生物主要为和厚朴酚的 3 位取代衍生物, 式 Ia 所示和厚朴酚衍生物为中间产物, 和厚朴酚系列衍生物结构式如式 II, R_1 为 H、卤素、羟基、氰基、硝基、胺基、烃基、卤代烃基、氰烷基、羧烷基、烯丙基、酰胺基、烷酰基、烷氧基、硫醇基、脂环基、苯基或杂环基中的一种。和厚朴酚系列衍生物通过细胞毒素试验和抗肿瘤细胞试验证明了这些衍生物具有较好的抗肿瘤作用。



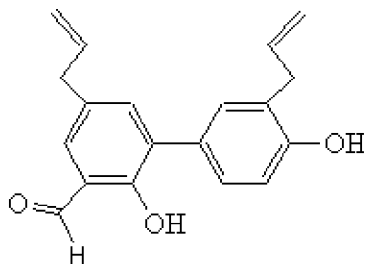
Ia



II

【权利要求1】和厚朴酚衍生物3',5'-二烯丙基-2,4'-二羟基联苯-3-醛,其结构

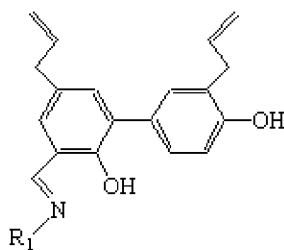
如式Ia:



Ia

【权利要求2】和厚朴酚衍生物,其特征在于:以权利要求1所述的3',5'-二烯丙基-2,4'-二羟基联苯-3-醛为中间体,与胺类化合物经醛氨缩合反应制得,其结构如通式II

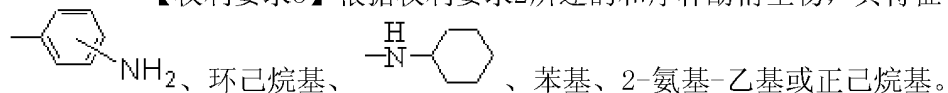
:



II

R_1 为H、卤素、羟基、氰基、硝基、胺基、烃基、卤代烃基、氰烷基、羧烷基、烯丙基、酰胺基、烷酰基、烷氧基、硫醇基、脂环基、苯基或杂环基中的一种。

【权利要求3】根据权利要求2所述的和厚朴酚衍生物,其特征在于: R_1 为羟基、



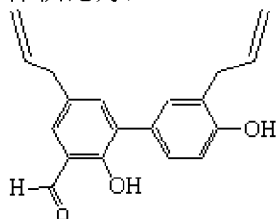
【权利要求4】制备权利要求1所述的和厚朴酚衍生物的方法,其特征在于:包括下列步骤:

1) 以四丁基溴化铵为相转移催化剂,以氯仿为溶剂,和厚朴酚和氢氧化钠于55~65℃

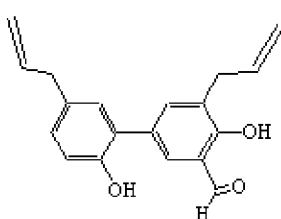
反应1~3h;

2) 将步骤1) 反应液pH值调到6~7, 氯仿萃取后合并有机相减压蒸馏, 蒸馏残余物经高速逆流色谱分离, 即得权利要求1所述的和厚朴酚衍生物Ia: 3', 5-二烯丙基-2, 4'-二羟基联苯-3-醛, 以及Ib: 3', 5-二烯丙基-2, 4'-二羟基联苯-5'-醛和Ic: 3', 5-二烯丙基-2, 4'-二羟基联苯-3, 5'-二醛;

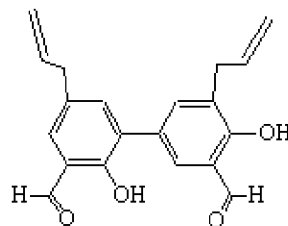
高速逆流色谱固定相为正己烷-乙酸乙酯, 体积比为: 1:0.7~1:0.2, 流动相为甲醇-水, 体积比为: 1:0.7~1:0.2;



Ia



Ib



Ic

【权利要求5】权利要求2的和厚朴酚衍生物的制备方法, 其特征在于: 以甲醇或乙醇为溶剂, 权利要求1所述的和厚朴酚衍生物Ia与胺类化合物加热反应1~3h, 反应产物加水并过滤得到和厚朴酚衍生物。

【权利要求6】根据权利要求5所述的和厚朴酚衍生物的制备方法, 其特征在于: 和厚朴酚衍生物Ia与胺类化合物的摩尔比为1: 1.5~10, 反应温度20~30℃。

【权利要求7】根据权利要求5所述的和厚朴酚衍生物的制备方法, 其特征在于: 胺类化合物为氨水、羟胺、卤代伯胺、氰基取代伯胺、硝基取代伯胺、肼、烃基取代伯胺、卤代烃基取代伯胺、氰烷基取代伯胺、羧烷基取代伯胺、烯丙基取代伯胺、酰胺取代伯胺、烷酰基取代伯胺、烷氧基取代伯胺、硫醇基取代伯胺、脂环基取代伯胺、芳香族伯胺或杂环基取代伯胺中的一种。

【权利要求8】根据权利要求7所述的和厚朴酚衍生物的制备方法, 其特征在于: 胺类化合物为羟胺、脂环基取代伯胺、芳香族伯胺、肼、氮烷基取代伯胺或烃基取代伯胺中的一种。

【权利要求9】药物组合物, 其特征在于: 以权利要求1~3所述的和厚朴酚衍生物为主要成分, 添加各种剂型需要的赋型剂。

【权利要求10】权利要求9所述的药物组合物在抗肿瘤药物中的应用。

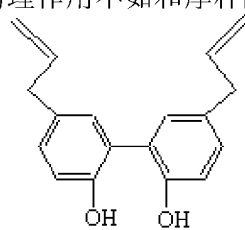
和厚朴酚系列衍生物及其制备方法和用途

技术领域

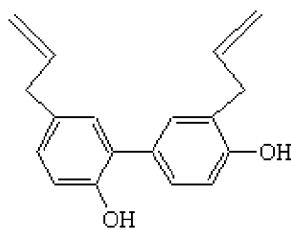
本发明涉及和厚朴酚系列衍生物及其制备方法，和以和厚朴酚衍生物为活性成分的药物组合物，以及该药物组合物在治疗癌症中的应用，属于药物化学技术领域。

背景技术

和厚朴酚是从中药厚朴中提纯分离的活性成分，现代医药学研究表明，和厚朴酚具有多种药理作用，包括抗氧化、抗血栓、抗菌、神经营养活性、抗焦虑、抗炎以及抗肿瘤作用。同样从从中药厚朴中提纯分离的厚朴酚（下图中a）是和厚朴酚（下图中b）的同分异构体，其药理作用不如和厚朴酚强。



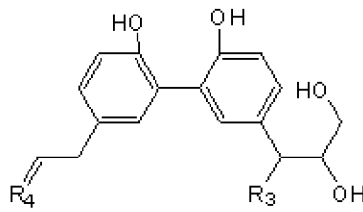
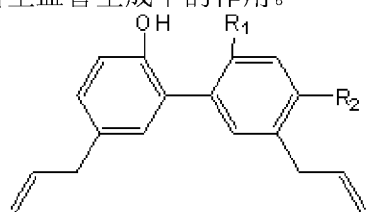
a



b

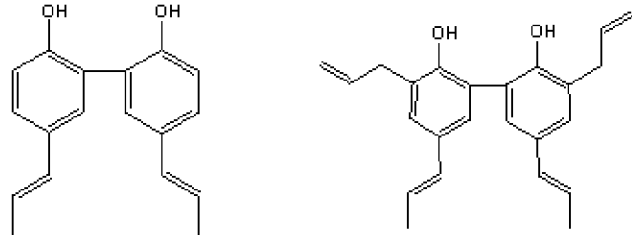
利用我国丰富的中草药资源，分离提取其中的活性成分，并以此为先导化合物，对其结构进行修饰，以改善其给药途径（比如增强水溶性），增强其药理活性，降低毒副作用，是实现中药现代化和创制新药的捷径。

国内外对厚朴酚magnolol和厚朴酚honokiol的衍生物和类似物（结构如下图所示）已有一定的研究。王振军、赵博（CN1511517A）公布了厚朴酚和厚朴酚及其简单衍生物在抑制新生血管生成中的作用。

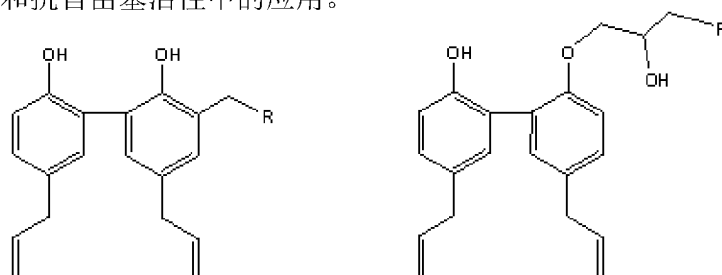


其中 R_1 为H或OH， R_2 为H、OH、 CH_3 、 $COOH$ 或 $OCOCH_3$ ； R_3 为H或OH，当 R_3 为OH时， R_4 为H，当 R_3 为H时， R_4 为CHO。

翁新楚等(CN1948249A)公布了两种厚朴酚衍生物(结构如下图所示)的制备方法。

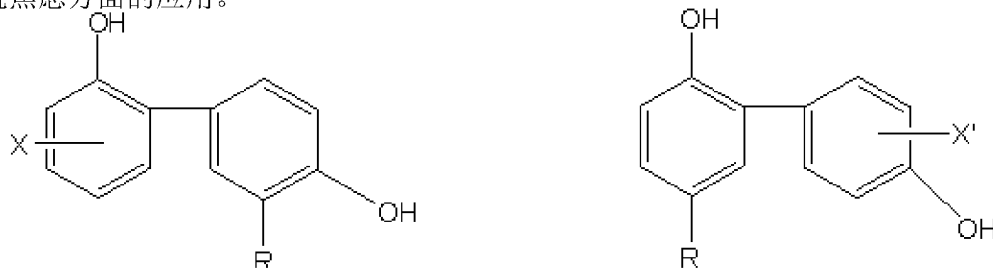


李安荣(CN1270168A)以厚朴酚为原料,与甲醛和一种仲胺发生Mannich反应,制备和厚朴酚的合成方法,并涉及到该化合物(结构如下图所示)和药物组合物在治疗降血压、抗氧化活性和抗自由基活性中的应用。

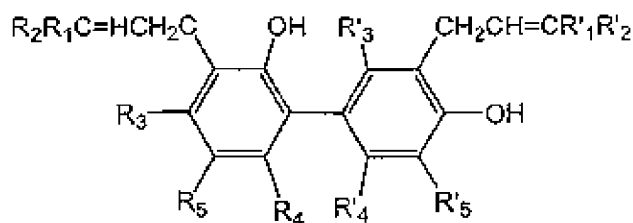


Esumi等(bioorganic & medicinal chemistry letters(2004)14:2621-2625)介绍了一种合成和厚朴酚的方法,并主要研究了酚甲基化和烯丙基氢化的衍生物在神经营养活性方面的作用,结论是5-烯丙基和4'-羟基是活性必须基团。

Stavinoha W. B.等(W09900346)公开了二氢和厚朴酚及其类似物(结构如下图所示)在抗焦虑方面的应用。



美国Emory大学的Arbiser J. L.等(W002076393, US20040105906, WO 2006107451)在专利中保护了一大类和厚朴酚类似物(结构如下图所示)在治疗癌症特别是骨癌等增生性疾病方面的应用。



其中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R'_1 、 R'_2 、 R'_3 、 R'_4 和 R'_5 可以独立的从以下基团中选择: H, OH, 酰胺基, 氨基, 烃基, 卤代烃基, 脂环烃基, 杂脂环烃基, 卤代杂脂环烃基, 苄基, 卤代苄基, 有机硒化合物类, 硫化物类, 羰基类, 硫醇类, 醚类, 二氮杂环类, 噻吩类, 吡啶类, 吡咯类, 咪唑类, 嘧啶类取代基。

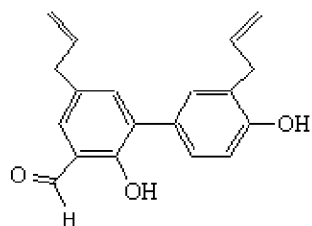
2007年, Emory大学的Arbiser J. L.等(Bioorg Med Chem Lett. (2007)17: 4428- 31)采用全合成的方法合成了10个和厚朴酚的类似物, 测定了其抗SVR增生和HIV-1病毒活性, 得出的结论是在两个苯环的之间连接结构(厚朴酚与和厚朴酚之间直接相连)上作结构变化, 也可以得到具有药理作用的新化学实体, 为和厚朴酚类似物的合成指出了一个新的方向。

综观国内外对和厚朴酚的结构类似物研究可以清楚发现, 采用全合成方法制备和厚朴酚的结构类似物的研究深入细致, 但以和厚朴酚为原料, 进行衍生化的研究鲜有报道。

发明内容

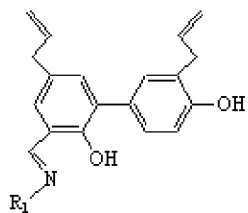
本发明的目的是提供一系列和厚朴酚衍生物及其制备方法, 同时还提供了以该系列衍生物为活性成分的药物组合物及其在治疗癌症中的应用。

和厚朴酚衍生物3', 5-二烯丙基-2, 4'-二羟基联苯-3-醛, 其结构如式Ia:




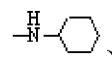
Ia

和厚朴酚衍生物, 其特征在于: 以3', 5-二烯丙基-2, 4'-二羟基联苯-3-醛为中间体, 与胺类化合物经醛氨缩合反应制得, 其结构如通式II:



II

R_1 为H、卤素、羟基、氰基、硝基、胺基、烃基、卤代烃基、氰烷基、羧烷基、烯丙基、酰胺基、烷酰基、烷氧基、硫醇基、脂环基、苯基或杂环基中的一种。

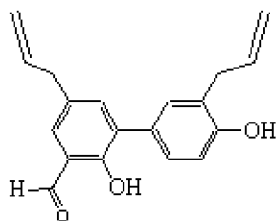
进一步的, R_1 优选为羟基、、环己烷基、、苯基、2-氨基-乙基或正己烷基。

式I所示结构的和厚朴酚衍生物3',5-二烯丙基-2,4'-二羟基联苯-3-醛的制备方法,包括下列步骤:

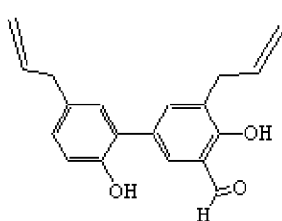
1) 以四丁基溴化铵为相转移催化剂,以氯仿为溶剂,和厚朴酚和氢氧化钠于55~65℃反应1~3h;

2) 将步骤1) 反应液pH值调到6~7,用氯仿萃取,合并有机相并减压蒸馏,蒸馏残余物经高速逆流色谱分离,即得权利要求1所述的和厚朴酚衍生物Ia: 3',5-二烯丙基-2,4'-二羟基联苯-3-醛,以及Ib: 3',5-二烯丙基-2,4'-二羟基联苯-5'-醛和Ic: 3',5-二烯丙基-2,4'-二羟基联苯-3,5'-二醛;高速逆流色谱固定相为正己烷-乙酸乙酯,体积比为:

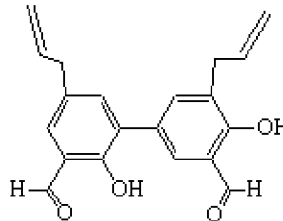
1:0.7~1:0.2,流动相为甲醇-水,体积比为: 1:0.7~1:0.2; Ia、Ib和Ic的结构如下图所示:



Ia



Ib



Ic

进一步的,步骤2)的蒸馏残余物用高速逆流色谱分离前,需用高效液相色谱(HPLC)确定蒸馏残余物中各个化合物的分配系数(K),具体为:将蒸馏残余物1ml放在数个10ml测试管中,分别加入2ml配置好的不同配比的两相溶剂体系:正己烷-乙酸乙酯-甲醇-水,剧烈摇动1min使其分配均匀,分别取两相溶液100 μ l并浓缩,浓缩后残渣分别溶于1ml甲醇并于HPLC中测定, $K = \text{上相峰面积} / \text{下相峰面积}$ 。

步骤2) 分离和厚朴酚衍生物Ia-c的高速逆流色谱实验的优选条件为：正己烷、乙酸乙酯、甲醇和水（体积比为1：1：1：1）混合均匀并分层后，上层油相：正己烷-乙酸乙酯作为高速逆流色谱的流动相，下层水相：甲醇-水作为固定相。流动相流速2ml/min、转速850 rpm、样品浓度20 mg/mL、上样量：20 ml、检测器波长：280nm。

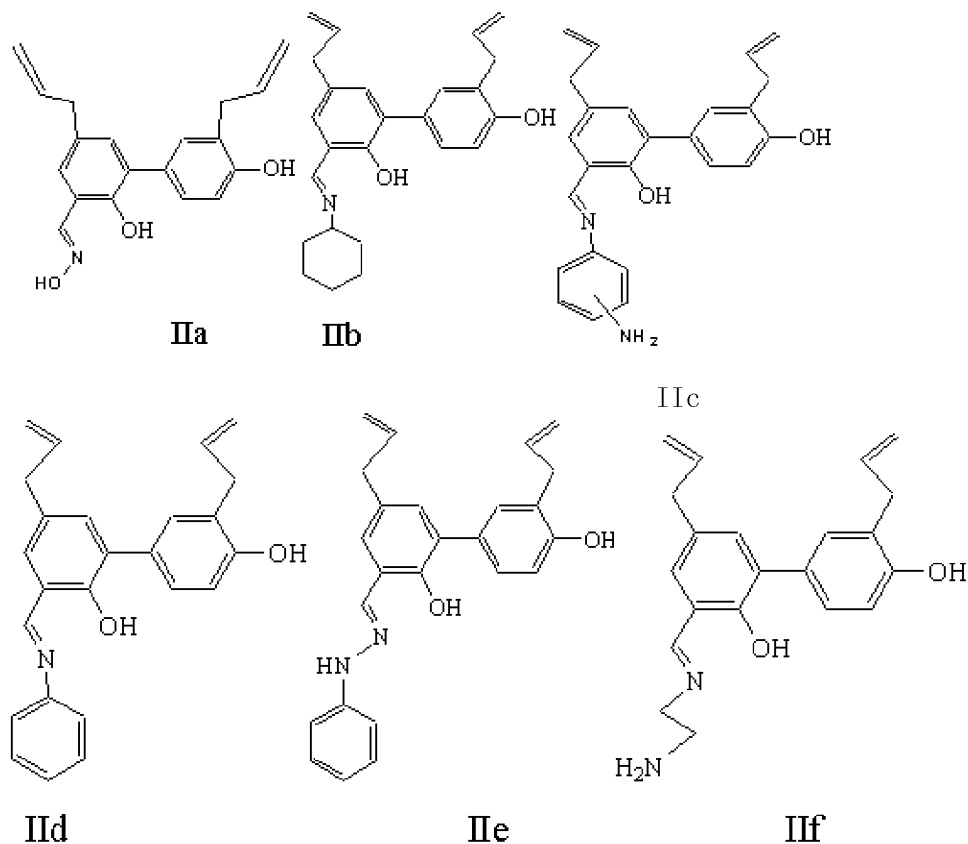
以式II所示结构的和厚朴酚衍生物的制备方法为：以甲醇或乙醇为溶剂，和厚朴酚衍生物Ia与胺类化合物加热反应1~3h，反应产物采用加水并过滤的方法获得和厚朴酚衍生物。

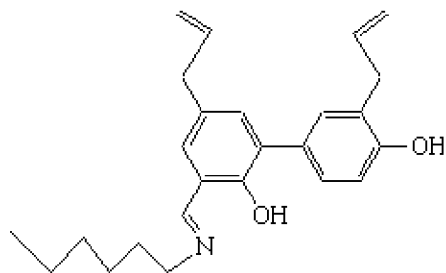
和厚朴酚衍生物Ia与胺类化合物反应的摩尔比为1：1.5~10，反应温度20~30℃。

所述胺类化合物为氨水、羟胺、卤代伯胺、氰基取代伯胺、硝基取代伯胺、肼、烃基取代伯胺、卤代烃基取代伯胺、氰烷基取代伯胺、羧烷基取代伯胺、烯丙基取代伯胺、酰胺取代伯胺、烷酰基取代伯胺、氨烷基取代伯胺、烷氧基取代伯胺、硫醇基取代伯胺、脂环基取代伯胺、芳香族伯胺或杂环基取代伯胺中的一种。

胺类化合物优选为羟胺、脂环基取代伯胺、芳香族伯胺、肼、氨烷基取代伯胺或烃基取代伯胺中的一种。

本发明优选的胺类化合物与Ia反应制得和厚朴酚系列衍生物IIa~IIg，其结构如下图所示：





IIg

以式Ia、式II的和厚朴酚衍生物为主要成分，添加各种剂型需要的赋型剂制成的药物组合物以及该药物组合物在抗肿瘤药物中的应用。

本发明以式Ia的和厚朴酚衍生物为中间产物，进一步制取式II的和厚朴酚系列衍生物，所有产物均采用柱层析分离提纯，并经高效液相色谱检验纯度，化学结构由HR-MS， ^1H NMR， ^{13}C NMR鉴定。

本发明的有益效果是：本发明设计并合成的和厚朴酚系列衍生物为全新结构的化学实体，具有与中药厚朴有效成分和厚朴酚更优良的抗肿瘤活性。

具体实施方式

以下结合实施例对本发明作进一步的阐述。实施例仅用于说明本发明，而不是以任何方式来限制本发明。

实施例1 3',5-二烯丙基-2,4'-二羟基联苯-3-醛（Ia）的制备

将7g氢氧化钠溶解于20ml水中，加入和厚朴酚0.266g，以四丁基溴化铵为相转移催化剂，然后将油浴温度升至65℃，缓慢滴加氯仿0.3ml，反应时间2h，将反应产物降至室温，用6mol/l盐酸调pH值为6~7，加入10ml的蒸馏水，搅匀后用氯仿萃取3次，合并有机相，用饱和食盐水洗涤2次，无水硫酸钠干燥后减压蒸馏，得棕色油状物混合产物。

用高速逆流色谱分离混合产物，流动相：正己烷-乙酸乙酯，固定相：甲醇-水，流动相流速2ml/min、转速850 rpm、样品浓度20 mg/mL、上样量：20 ml、检测器波长：280nm。

HPLC监测收取的产品：甲醇-水（75：25，v/v）、流速1ml/min，在200-400 nm处监测，分别得到Ia、Ib和Ic的纯产品。

用质谱、 ^1H NMR和 ^{13}C NMR鉴别收取的产品，实验数据如下：

和厚朴酚衍生物Ia：

^1H NMR (400MHz, CDCl_3), δ (ppm): 3.36 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.49 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 5.06-5.17 (m, 4H), 5.93-6.07 (m, 2H), 6.9 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.05 (d,

J = 2.0 Hz, 1H), 7.08 (dd, J = 8.2, 1.6 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 2.4, 1H), 9.92 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 11.36 (s, 1H);

^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 196.90, 157.27, 153.83, 138.22, 136.80, 136.32, 132.10, 131.42, 131.29, 130.18, 128.92, 128.79, 125.26, 120.64, 116.64, 116.51, 115.68, 38.98, 35.18;

MS: m/z 293.1178 (M^-)。

和厚朴酚衍生物Ib:

^1H NMR (400MHz, CDCl_3), δ (ppm): 11.64 (s, 1H), 10.41 (s, 1H), 9.52 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.24 (q, J = 2.0, 8.0 Hz, 1H), 7.22 (d, J = 2.0 Hz, 1H) 7.14 (1H, d, J = 2.0 Hz), 7.06 (d, J = 2.0 Hz, 1H) 6.86 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.91 - 6.04 (m, 2H), 5.00 - 5.11 (m, 4H), 3.33 (t, J = 6.4, 11.2 Hz, 4H);

^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 154.45, 152.33, 152.13, 151.68, 138.28, 137.56, 131.80, 131.17, 131.00, 129.22, 129.00, 128.74, 128.36, 125.90, 117.94, 116.17, 115.84, 114.92, 34.30;

MS: m/z 293.1178 (M^-)。

和厚朴酚衍生物Ic:

^1H NMR (400MHz, CDCl_3), δ (ppm): 8.55 (s, 1H), 7.49 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.35 (m, 1H), 7.33 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.31 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.93 - 6.11 (m, 2H), 5.12 - 5.21 (m, 4H), 4.41 (q, J = 7.2, 14.4 Hz, 2H), 3.47 (t, J = 8.0, 16.0 Hz, 4H), 1.41 (t, J = 7.2, 14.4 Hz, 3H);

^{13}C NMR (400MHz, CDCl_3), δ (ppm): 163.22, 157.18, 154.54, 150.49, 149.27, 136.60, 136.37, 136.20, 135.94, 131.16, 130.21, 126.74, 127.47, 127.06, 125.95, 118.26, 117.69, 116.99, 116.37, 115.77, 61.95, 39.21, 34.76, 14.19;

MS:m/z 321.1127 (M^-)。

实施例2 3',5-二烯丙基-2,4'-二羟基联苯-3-酮 (IIa) 的制备

3',5-二烯丙基-2,4'-二羟基联苯-3-醛 (Ia) 0.1mmol和甲醇2ml加入25ml反应管, 置于EYELA合成仪中, 温度25℃, 搅拌使之溶解, 加入盐酸羟胺1mmol, 用三乙胺调pH值为8, 25℃搅拌1小时。加入蒸馏水15ml, 过滤、蒸馏水洗涤, 将滤饼置真空干燥箱干燥, 得微黄色固体粉末, 收率88%。

用质谱、 ^1H NMR和 ^{13}C NMR鉴别产品, 实验数据如下:

^1H NMR (400MHz, $\text{d}^6\text{-DMSO}$), δ (ppm): 11.64 (s, 1H), 10.41 (s, 1H), 9.52 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.24 (q, $J = 2.0, 8.0$ Hz, 1H), 7.22 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.91 – 6.04 (m, 2H), 5.00 – 5.11 (m, 4H), 3.33 (t, $J = 6.4, 11.2$ Hz, 4H);

^{13}C NMR (400MHz, $\text{d}^6\text{-DMSO}$), δ (ppm): 154.45, 152.33, 152.13, 151.68, 138.28, 137.56, 131.80, 131.17, 131.00, 129.22, 129.00, 128.74, 128.36, 125.90, 117.94, 116.17, 115.84, 114.92, 34.30;

MS: m/z 309.1365 (M^+).

实施例3和厚朴酚衍生物IIb的制备

3',5-二烯丙基-2,4'-二羟基联苯-3-醛 (Ia) 0.1mmol和甲醇2ml加入25ml反应管, 置于EYELA合成仪中, 温度控制为25℃, 搅拌使之溶解, 加入环己胺0.2mmol, 用三乙胺调pH值为8, 25℃搅拌1小时。加入蒸馏水15ml, 将产生的沉淀过滤, 用蒸馏水洗涤, 将滤饼置真空干燥箱干燥, 得微黄色固体粉末, 收率85%。

用质谱、 ^1H NMR和 ^{13}C NMR鉴别产品, 实验数据如下:

^1H NMR (400MHz, CDCl_3), δ (ppm): 8.37 (s, 1H), 7.40 (q, $J = 1.6, 5.6$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.17 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 5.94 – 6.09 (m, 2H), 5.15–5.22 (m, 2H), 3.47 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H), 3.36 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H), 3.24 (s, 1H), 1.36–1.82 (m, 10H);

^{13}C NMR (400MHz, CDCl_3), δ (ppm): 162.43, 157.39, 153.44, 137.69, 136.60, 133.26, 131.32, 130.58, 129.77, 129.56, 129.41, 128.89, 124.87, 118.68, 116.47, 115.71, 115.58, 39.26, 35.42, 34.28, 34.28, 30.95, 25.49, 24.32;

MS: m/z 375.2198 (M^+).

实施例4 和厚朴酚衍生物IIc的制备

3',5-二烯丙基-2,4'-二羟基联苯-3-醛 (Ia) 0.1mmol和甲醇2ml加入25ml反应管, 置于EYELA合成仪中, 温度控制为25℃, 搅拌使之溶解, 加入1,4-苯二胺0.2mmol, 用三乙胺调pH值为8, 25℃搅拌1小时, 反应结束后直接加入蒸馏水15ml, 将产生的沉淀过滤, 蒸馏水洗涤, 将滤饼置真空干燥箱干燥, 得微黄色固体粉末, 收率87%。

用质谱、 ^1H NMR和 ^{13}C NMR鉴别产品, 实验数据如下:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 8.61 (s, 1H), 6.58 – 7.42 (m, 9H), 5.95 – 6.09 (m, 2H), 5.11 – 5.22 (m, 4H), 3.47 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H), 3.38 (d, $J = 4.0$

Hz, 2H);

^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 158.75, 156.59, 153.48, 145.81, 139.09, 137.59, 136.61, 133.59, 131.36, 130.42, 130.37, 130.09, 129.56, 128.86, 125.09, 122.34, 122.27, 119.44, 116.45, 115.84, 115.68, 115.68, 115.58, 39.28, 35.31;

MS: m/z 384.1838 (M^+).

实施例5 和厚朴酚衍生物IIId的制备

3',5-二烯丙基-2,4'-二羟基联苯-3-醛 (Ia) 0.1mmol和甲醇2ml加入25ml反应管, 置于EYELA合成仪中, 温度控制为25℃, 搅拌使之溶解, 加入苯胺0.2mmol, 用三乙胺调pH值为8, 25℃搅拌1小时。加入蒸馏水15ml, 将产生的沉淀过滤, 蒸馏水洗涤, 将滤饼置真空干燥箱干燥, 得微黄色固体粉末, 收率85%。

用质谱、 ^1H NMR和 ^{13}C NMR鉴别产品, 实验数据如下:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 8.66 (s, 1H), 6.88 – 7.44 (m, 10H), 5.96 – 6.10 (m, 2H), 5.09 – 5.24 (m, 4H), 3.48 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H), 3.40 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H);

^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 162.71, 156.81, 153.55, 148.24, 137.43, 136.50, 134.43, 131.39, 130.90, 130.32, 130.28, 129.73, 129.42, 129.33, 128.91, 126.91, 124.98, 121.15, 121.15, 119.12, 116.57, 115.98, 115.63, 39.22, 35.37;

MS: m/z 369.1729 (M^+).

实施例6 和厚朴酚衍生物IIe的制备

3',5-二烯丙基-2,4'-二羟基联苯-3-醛 (Ia) 0.1mmol和甲醇2ml加入25ml反应管, 置于EYELA合成仪中, 温度控制为25℃, 搅拌使之溶解, 加入苯肼0.2mmol, 用三乙胺调pH值为8, 25℃搅拌1小时。加入蒸馏水15ml, 将产生的沉淀过滤, 蒸馏水洗涤, 将滤饼置真空干燥箱干燥, 得微黄色固体粉末, 收率85%。

用质谱、 ^1H NMR和 ^{13}C NMR鉴别产品, 实验数据如下:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.83 (s, 1H), 7.43—6.87 (m, 10H), 6.07 — 5.94 (m, 2H), 5.24—5.06 (m, 4H), 3.48 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.35 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H);

^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 153.50, 152.41, 143.31, 141.36, 137.58, 136.49, 131.45, 131.42, 130.75, 130.65, 129.48, 129.48, 129.20, 128.98, 128.19, 124.94, 120.81, 118.52, 116.62, 115.80, 115.64, 112.63, 112.63, 39.27, 35.44;

MS: m/z 385 (M^+)。

实施例7 和厚朴酚衍生物II f的制备

3',5-二烯丙基-2,4'-二羟基联苯-3-醛 (Ia) 0.1mmol和甲醇2ml加入25ml反应管,置于EYELA合成仪中,温度控制为25℃,搅拌使之溶解,加入乙二胺0.2mmol,用三乙胺调pH值为8,25℃搅拌1小时。加入蒸馏水15ml,将产生的沉淀过滤,蒸馏水洗涤,将滤饼置真空干燥箱干燥,得微黄色固体粉末,收率85%。

用质谱、 ^1H NMR和 ^{13}C NMR鉴别产品,实验数据如下:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 8.33 (s, 1H), 7.36 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 7.35 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.97 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.84 (q, $J = 2.8, 8.0$ Hz, 1H), 5.88 – 6.08 (m, 2H), 5.02 – 5.22 (m, 2H), 3.45 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.32 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 0.88 (s, 1H);

^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 166.81, 156.70, 153.51, 137.46, 136.60, 133.64, 131.30, 130.27, 130.20, 129.88, 129.43, 128.81, 125.10, 118.51, 116.40, 115.85, 115.54, 59.59, 35.28, 30.93;

MS: m/z 336.1838 (M^+)。

实施例8 和厚朴酚衍生物II g的制备

3',5-二烯丙基-2,4'-二羟基联苯-3-醛 (Ia) 0.1mmol和甲醇2ml加入25ml反应管,置于EYELA合成仪中,温度控制为25℃,搅拌使之溶解,加入正辛胺0.2mmol,用三乙胺调pH值为8,25℃搅拌1小时。加入蒸馏水15ml,将产生的沉淀过滤,蒸馏水洗涤,将滤饼置真空干燥箱干燥,得微黄色固体粉末,收率85%。

用质谱、 ^1H NMR和 ^{13}C NMR鉴别产品,实验数据如下:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 9.90 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.41—7.31 (m, 2H), 7.18 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.88—6.84 (m, 1H), 6.09—5.94 (m, 2H), 5.23—5.05 (m, 4H), 3.59—3.31 (m, 6H), 1.66 (s, 2H), 1.30 – 1.23 (m, 11H), 0.87 (t, $J = 6.8, 13.6$ Hz, 3H);

^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 164.65, 157.45, 153.43, 137.64, 136.60, 133.36, 131.32, 130.53, 129.76, 129.58, 129.45, 128.87, 124.90, 118.59, 116.45, 115.75, 115.58, 59.21, 39.26, 35.37, 31.83, 30.82, 29.70, 29.31, 29.19, 27.15, 18.83;

MS: m/z 378 (M^+)。

实施例9 细胞毒素试验和抗肿瘤细胞试验结果

用常规方法测试实施例1~8产物及对照样品和厚朴酚的细胞毒素试验，将 1×10^4 肿瘤细胞铺于96孔板，用10%的牛胎血清培养细胞。将1mg/mL的各个和厚朴酚衍生物(二甲亚砜为溶剂)用培养基稀释后，立即加入到肿瘤细胞中。于37℃，5% CO₂条件下孵化过夜。加入10% 5mg/mL的MTT试剂，4小时后，吸去培养基，加入二甲亚砜，生成的有色物质用酶标仪测定其吸光率(SpectraMax M5, USA)，测定的半数抑制浓度(IC₅₀)数据见表1。

试验的肿瘤细胞为：K562白血病癌细胞、A549肺泡上皮细胞、SPC-A1体外腺癌细胞、A2780人卵巢癌敏感细胞株和A2780/cis人卵巢癌细胞耐顺铂细胞株。

表1

		编 号	M.W.	IC ₅₀ a(μM)				
				K562	SPC-A1	A549	A2780	A2780/ cis
和厚朴酚		1	272	21.1	36.1	35.0	30.5	41.2
式 I		Ia	294	38.8	38.4	41.8	n. t.*	n. t.
式 II -R ₁	-OH	IIa	309	20.7	45.0	40.4	33.0	37.2
	-cyclohexyl	IIb	375	90.7	88.0	93.3	n. t.	n. t.
	-C ₆ H ₅ NH ₂	IIc	384	29.2	40.1	38.8	n. t.	n. t.
	-C ₆ H ₅	IId	369	32.2	40.7	39.8	n. t.	n. t.
	-NH-C ₆ H ₅	IIe	384	>104.2	>104.2	>104.2	n. t.	n. t.
	-CH ₂ CH ₂ NH ₂	IIIf	336	42.6	50.3	41.1	n. t.	n. t.
	-Hexyl(n)	IIg	377	>106.1	>106.1	>106.1	n. t.	n. t.

n. t.：未检测，M.W.：分子量。

以上IC₅₀值为至少两次实验数据的几何平均值，其中每次实验取6个数据点。

由表1可以看出，本发明的和厚朴酚衍生物对癌细胞的抑制作用与和厚朴酚相当或优于其母体和厚朴酚，因此，这些衍生物在治疗癌症的药物中有广阔的应用前景。