



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103649031 A

(43) 申请公布日 2014. 03. 19

(21) 申请号 201280033556. X *C07C 39/215* (2006. 01)

(22) 申请日 2012. 05. 04 *A61P 31/00* (2006. 01)

(30) 优先权数据 *A61P 35/02* (2006. 01)

2011901663 2011. 05. 04 AU *A61K 31/03* (2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 01. 06

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/AU2012/000482 2012. 05. 04

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/149608 EN 2012. 11. 08

(71) 申请人 悉尼大学

地址 澳大利亚新南威尔士

(72) 发明人 科林·查尔斯·杜克

范·霍安·德兰

鲁吉·基卡吉·杜克

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限

责任公司 11240

代理人 余刚 张英

(51) Int. Cl.

C07C 39/205 (2006. 01)

权利要求书8页 说明书47页 附图11页

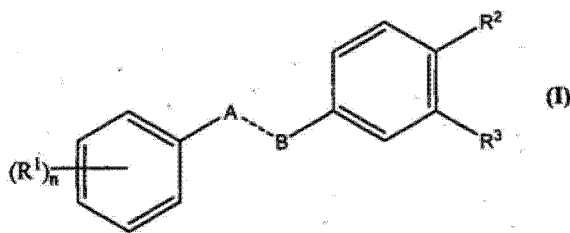
(54) 发明名称

异戊烯化羟基二苯乙烯

(57) 摘要

异戊烯化二苯乙烯化合物及此类化合物在治疗疾病和医学病症中的应用,所述疾病和医学病症为,例如,癌症、皮肤衰老、炎症、细菌或真菌感染、和免疫抑制。

1. 一种用于治疗癌症的方法,包括向需要其的患者给予治疗有效量的式(I)的化合物、或者药用盐、溶剂化物、或包含所述化合物的药物组合物:



其中:

R^1 独立地为 H、OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 、或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$, 其中至少一个 R^1 为 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 、或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$;

R^2 选自 OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 、或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$;

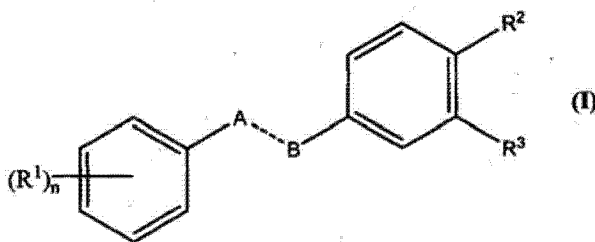
R^3 选自 H、OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 、或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$;

R^4 选自甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、或苄基;

n 是选自 1、2、3、或 4 组成的组中的整数;

并且 A—B 选自 $CH=CH$ 、 CH_2-CH_2 、 $CH=CHX$ 、或 CH_2-CH_2X , 其中 $X=(CH_2)_pCH_2$, 并且 p 为选自 0、1、2、或 3 组成的组中的整数;条件是当 R^2 为 OH 时, R^3 为 H 或 OH, A—B 为 $CH=CH$, n 为 3 且两个 R^1 基团为 OH, 则第三个 R^1 基团不是 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 。

2. 一种用于治疗癌症的方法,包括向需要其的患者给予治疗有效量的式(I)的化合物、或者药用盐、溶剂化物、或包含所述化合物的药物组合物:



其中:

R^1 独立地为 H、OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 、或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$, 其中至少一个 R^1 为 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 、或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$;

R^2 选自 OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 、或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$;

R^3 选自 H、OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 、或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$;

R^4 选自甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、或苄基;

n 是选自 1、2、3、或 4 组成的组中的整数;

并且 A---B 选自 $\text{CH}=\text{CH}$ 、 CH_2-CH_2 、 $\text{CH}=\text{CHX}$ 、或 $\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{X}$ ，其中 $\text{X}=(\text{CH}_2)_p\text{CH}_2$ ，并且 p 为选自由 0、1、2、或 3 组成的组中的整数。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的方法，其中所述癌症是白血病、非小细胞肺癌、结肠癌、CNS 癌、黑素瘤、卵巢癌、肾癌、前列腺癌、或乳腺癌。

4. 根据权利要求 3 所述的方法，其中所述癌症是白血病。

5. 根据权利要求 3 所述的方法，其中所述癌症是黑素瘤。

6. 一种用于治疗免疫抑制的方法，包括向需要其的患者给予治疗有效量的根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或包含所述化合物的药物组合物。

7. 一种用于治疗炎症的方法，包括向需要其的患者给予治疗有效量的根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或包含所述化合物的药物组合物。

8. 一种用于治疗细菌或真菌感染的方法，包括向需要其的患者给予治疗有效量的根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或包含所述化合物的药物组合物。

9. 一种用于治疗皮肤衰老的方法，包括向需要其的患者给予治疗有效量的根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或包含所述化合物的药物组合物。

10. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的应用。

11. 根据权利要求 10 所述的应用，其中所述癌症是白血病、非小细胞肺癌、结肠癌、CNS 癌、黑素瘤、卵巢癌、肾癌、前列腺癌、或乳腺癌。

12. 根据权利要求 11 所述的应用，其中所述癌症是白血病。

13. 根据权利要求 11 所述的应用，其中所述癌症是黑素瘤。

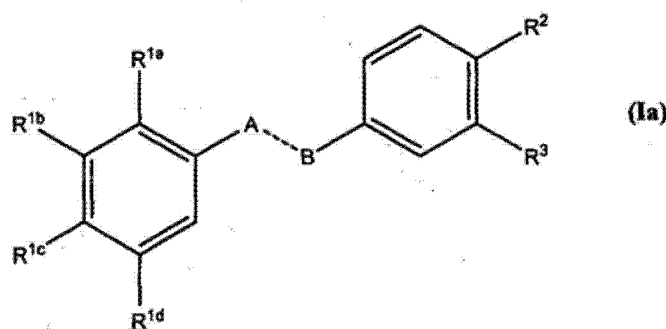
14. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其药物组合物在制备用于治疗免疫抑制的药物中的应用。

15. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其药物组合物在制备用于治疗炎症的药物中的应用。

16. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其药物组合物在制备用于治疗细菌或真菌感染的药物中的应用。

17. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物或其药物组合物在制备用于治疗皮肤衰老的药物中的应用。

18. 一种式 (Ia) 的化合物或者其药用盐或溶剂化物：



其中：

R^{1a} 、 R^{1b} 、 R^{1c} 、和 R^{1d} 各自独立地为 H、OH、 OR^4 、 $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、

$\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ 、 $\text{OCH}=\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$ 、或 $\text{OCH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ ，其中 R^{1a-1d} 中的至少一个为 $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{CH}=\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ 、 $\text{OCH}=\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$ 、或 $\text{OCH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ ；

R^2 选自 OH 、 OR^4 、 $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ 、 $\text{OCH}=\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$ 、或 $\text{OCH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ ；

R^3 选自 H 、 OH 、 OR^4 、 $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ 、 $\text{OCH}=\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$ 、或 $\text{OCH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ ；

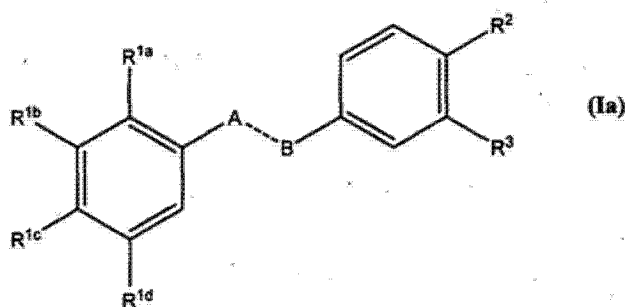
R^4 选自甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、或苄基；

并且 $\text{A}---\text{B}$ 选自 $\text{CH}=\text{CH}$ 、 CH_2-CH_2 、 $\text{CH}=\text{CHX}$ 、或 $\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{X}$ ，其中 $\text{X}=(\text{CH}_2)_p\text{CH}_2$ ，并且 p 为选自由 0、1、2、或 3 组成的组中的整数；条件是：

(i) 当 R^3 为 H 且 R^2 为 OH 或 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 时，则 R^{1b} 和 R^{1d} 独立地不是 OH 或 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ；

(ii) 当 R^3 为 H 、 R^{1a-1d} 中的一个为 H 并且 R^{1a-1d} 中的至少一个为 $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 时，则 $\text{A}---\text{B}$ 不是 $\text{CH}=\text{CH}$ 。

19. 一种式 (Ia) 的化合物或者其药用盐或溶剂化物：



其中：

R^{1a} 、 R^{1b} 、 R^{1c} 、和 R^{1d} 各自独立地为 H 、 OH 、 OR^4 、 $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ 、 $\text{OCH}=\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$ 、或 $\text{OCH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ ；其中 R^{1a-1d} 中的至少一个为 $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ 、 $\text{OCH}=\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$ 、或 $\text{OCH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ ；

R^2 和 R^3 各自独立地选自 OH 、 OR^4 、 $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ 、 $\text{OCH}=\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$ 、或 $\text{OCH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ ；

R^4 选自甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、或苄基；

并且 $\text{A}---\text{B}$ 选自 $\text{CH}=\text{CH}$ 、 CH_2-CH_2 、 $\text{CH}=\text{CHX}$ 、或 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{X}$ ，其中 $\text{X}=(\text{CH}_2)_p\text{CH}_2$ 且 p 为选自由 0、1、2、或 3 组成的组中的整数。

20. 根据权利要求 18 或 19 所述的化合物，其中 R^{1a-1d} 中的两个为 H 。

21. 根据权利要求 18 或 19 所述的化合物，其中 R^{1a-1d} 中的一个为 H 。

22. 根据权利要求 18 或 19 所述的化合物，其中 R^{1a-1d} 都不是 H 。

23. 根据权利要求 18-22 中任一项所述的化合物，其中 R^{1a-1d} 中的至少一个为 $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 。

24. 根据权利要求 18-22 中任一项所述的化合物，其中 R^{1a-1d} 中的至少一个为 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 。

25. 根据权利要求 18-22 中任一项所述的化合物，其中 R^{1a-1d} 中的至少一个为 OH 。

26. 根据权利要求 18 或 19 和 21-24 中任一项所述的化合物,其中 R^{1a-1d} 中的至少两个为 OH。

27. 根据权利要求 18-25 中任一项所述的化合物,其中 R^{1a-1d} 中的至少一个为 OR^4 且 R^4 为甲基。

28. 根据权利要求 18-25 中任一项所述的化合物,其中 R^{1a-1d} 中的至少一个为 OR^4 且 R^4 为苄基。

29. 根据权利要求 18-28 中任一项所述的化合物,其中 R^2 或 R^3 中的至少一个为 OH。

30. 根据权利要求 18-28 中任一项所述的化合物,其中 R^2 或 R^3 中的至少一个为 OR^4 且 R^4 为甲基。

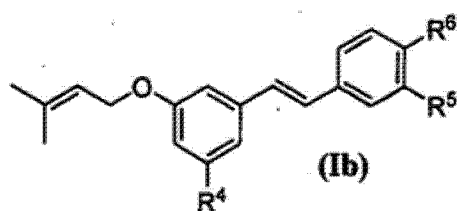
31. 根据权利要求 18-28 中任一项所述的化合物,其中 R^2 和 R^3 都为 OH。

32. 根据权利要求 18-28 中任一项所述的化合物,其中 R^2 或 R^3 中的至少一个为 OR^4 且 R^4 为苄基。

33. 根据权利要求 18-32 中任一项所述的化合物,其中 A—B 是 $CH=CH$ 或 $CH=CHX$, 其中 $X=(CH_2)_pCH_2$, 且 p 是选自 0、1、2、或 3 组成的组中的整数。

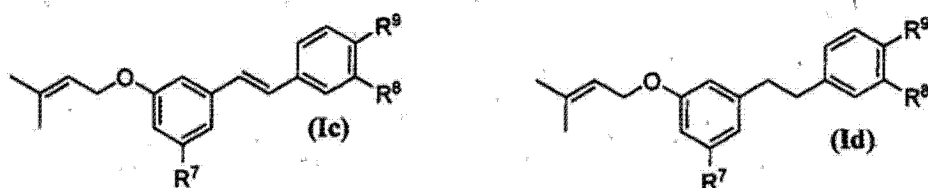
34. 根据权利要求 18-32 中任一项所述的化合物,其中 A—B 是 CH_2-CH_2 或 CH_2-CH_2X , 其中 $X=(CH_2)_pCH_2$, 且 p 是选自 0、1、2、或 3 组成的组中的整数。

35. 根据权利要求 18 或 19 所述的化合物,具有 (Ib) 的通式:



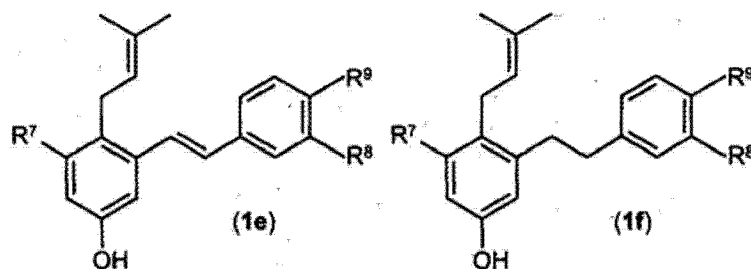
其中 R^4 、 R^5 、和 R^6 各自独立地选自基团 OMe、OEt、OPr、 O^iPr 、OBu、 O^iBu 、 O^tBu 、OBn。

36. 根据权利要求 18 或 19 所述的化合物,选自式 (Ic) 或式 (Id):



其中 R^7 、 R^8 、和 R^9 各自独立地选自基团 OH、OMe、OEt、OPr、 O^iPr 、OBu、 O^iBu 、 O^tBu 。

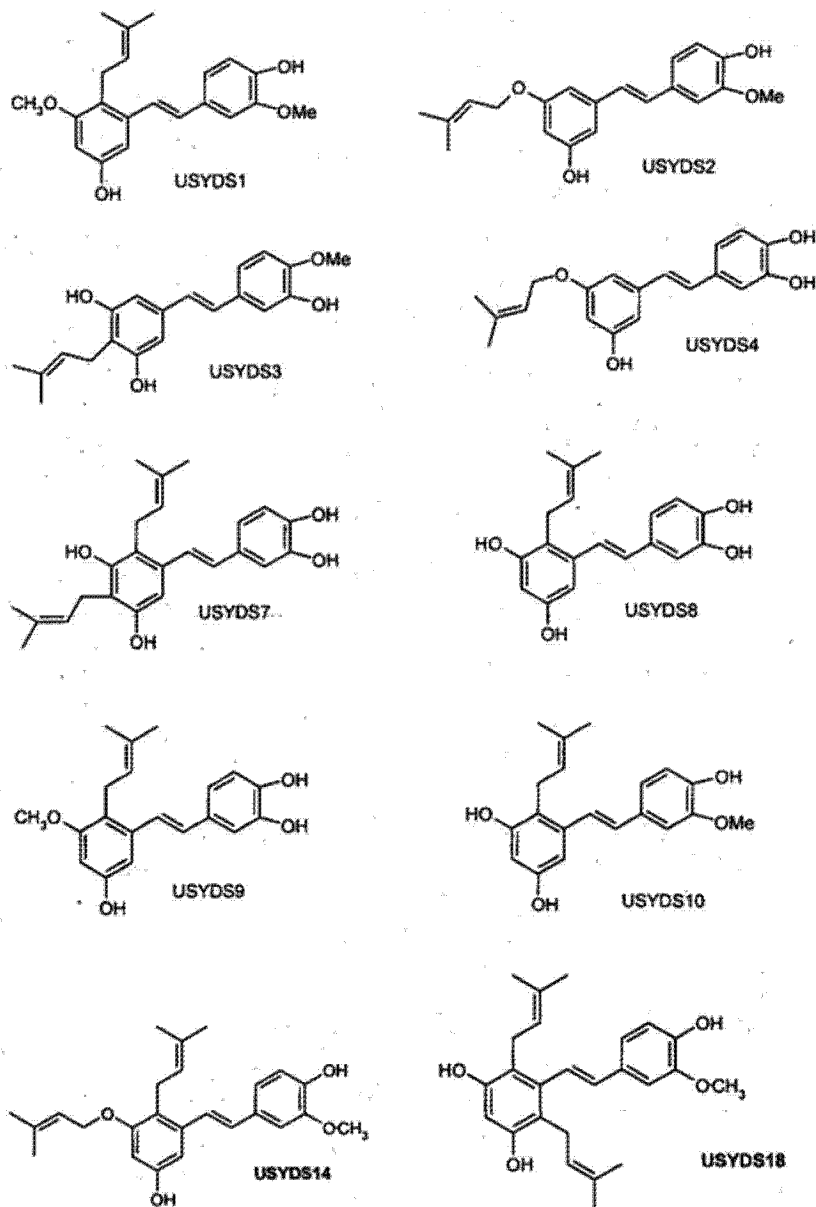
37. 根据权利要求 18 或 19 所述的化合物,选自式 (Ie) 或式 (If):



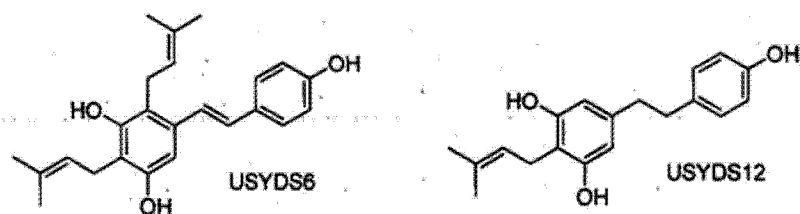
其中 R^7 、 R^8 、和 R^9 各自独立地选自基团 OH、OMe、OEt、OPr、 O^iPr 、OBu、 O^iBu 、 O^tBu 。

38. 根据权利要求 18 或 19 所述的化合物,选自由以下各项或者其药用盐或溶剂化物所

组成的组：



39. 根据权利要求 18 所述的化合物,选自由以下各项或者其药用盐或溶剂化物所组成的组：



40. 根据权利要求 18-39 中任一项所述的化合物,其中所述化合物是化学合成的。

41. 根据权利要求 18-39 中任一项所述的化合物,所述化合物分离自蜂胶,其中所述蜂胶源自鳞籽莎属的植物。

42. 根据权利要求 18-39 中任一项所述的化合物,所述化合物分离自鳞籽莎属的树脂、树胶、或渗出物。

43. 一种药物组合物, 包含根据权利要求 18-42 中任一项所述的化合物或者其药用盐或溶剂化物以及药用赋形剂。

44. 一种用于治疗癌症、免疫抑制、炎症、细菌感染、真菌感染、或皮肤衰老的方法, 包括向需要其的患者给予治疗有效量的根据权利要求 18-42 中任一项所述的化合物或包含所述化合物的药物组合物。

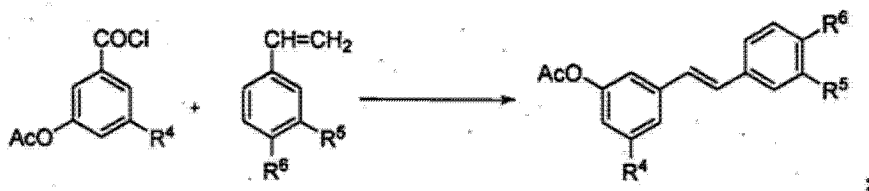
45. 根据权利要求 18-42 中任一项所述的化合物或其药物组合物在制备用于治疗癌症、免疫抑制、炎症、细菌感染、真菌感染、或皮肤衰老的药物中的应用。

46. 一种制备根据权利要求 35 所述的式 (Ib) 的化合物的方法, 包括:

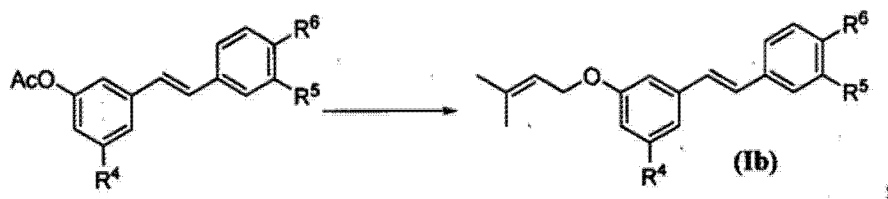
(i) 如下, 使用适合的试剂处理羧酸以提供酰氯:



(ii) 如下, 使相应的酰氯与芳基烯烃缩聚:



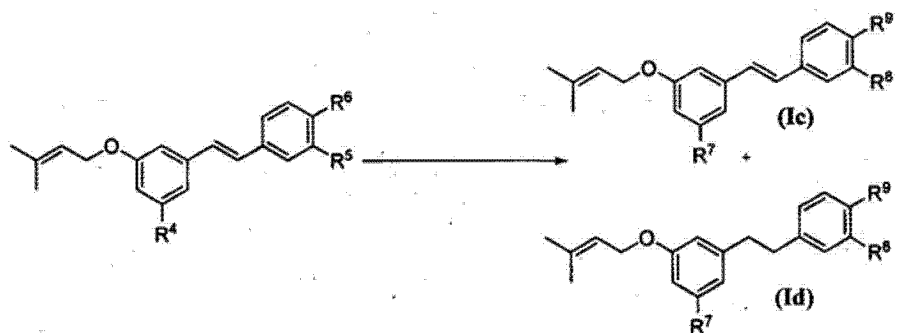
(iii) 如下, 对乙酸酯基脱保护并烷基化:



其中, R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地选自基团 OMe、OEt、OPr、 O^i Pr、OBu、 O^i Bu、 O^t Bu、OBn。

47. 根据权利要求 46 所述的方法, 用于制备根据权利要求 36 所述的式 (Ic) 和式 (Id) 的化合物, 包括以下另外的步骤:

(iv) 如下的氢化反应:



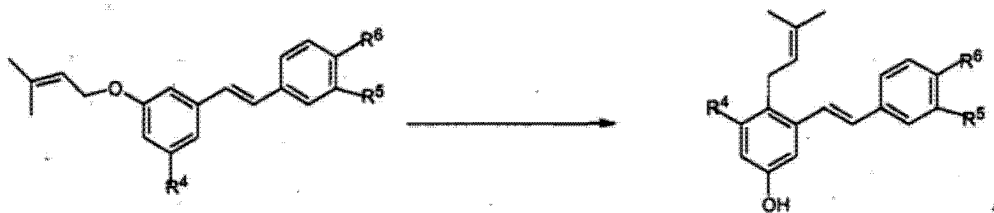
其中 R^4 、 R^5 和 R^6 如前述定义, 条件是 R^4 、 R^5 或 R^6 中的至少一个为 OBn;

R^7 、 R^8 和 R^9 各自独立地选自基团 OH、OMe、OEt、OPr、 O^i Pr、OBu、 O^i Bu、 O^t Bu。

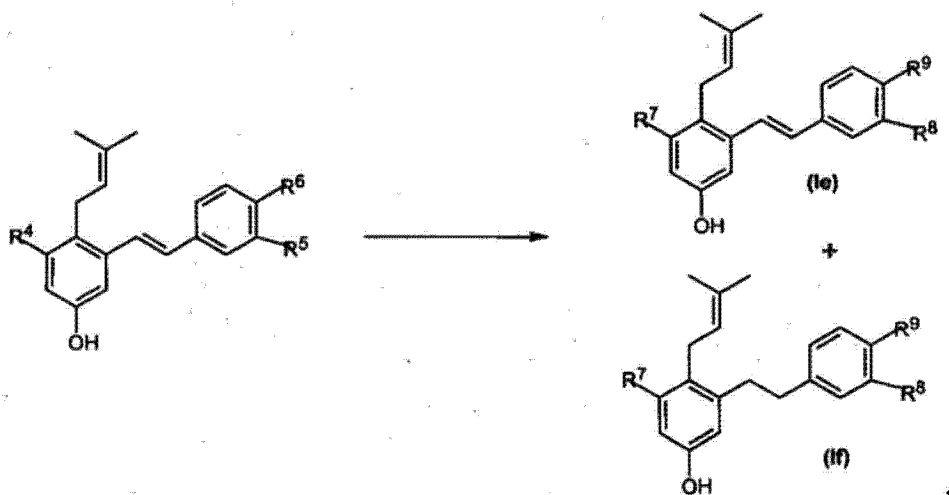
48. 根据权利要求 46 所述的方法, 用于制备根据权利要求 37 所述的式 (Ie) 和式 (If)

的化合物,包括以下另外的步骤:

(v) 如下的异戊烯基重排:



(vi) 以及如下的氢化反应:



其中, R^4 、 R^5 、和 R^6 如前述定义,条件是 R^4 、 R^5 、或 R^6 中的至少一个为 OBn;

R^7 、 R^8 、和 R^9 各自独立地选自基团 OH、OMe、OEt、OPr、 O^i Pr、OBu、 O^i Bu、 O^t Bu。

49. 根据权利要求 46-48 中任一项所述的方法,其中步骤(ii)中的所述缩聚反应是在钯催化剂存在下进行的。

50. 根据权利要求 49 所述的方法,其中所述钯催化剂是乙酸钯(II)。

51. 根据权利要求 46-48 中任一项所述的方法,其中步骤(iii)中的所述烷基化反应是在金属氢化物和卤代异戊烯基试剂存在下进行的。

52. 根据权利要求 51 所述的方法,其中所述金属氢化物是氢化钠。

53. 根据权利要求 51 或 52 所述的方法,其中所述卤代异戊烯基试剂是 $\text{BrCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 。

54. 根据权利要求 47 或 48 所述的方法,其中步骤(iv)或步骤(vi)中的所述氢化是在钯催化剂存在下在溶剂的混合物中进行的。

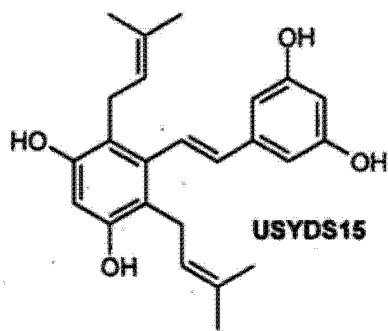
55. 根据权利要求 54 所述的方法,其中所述钯催化剂是碳载钯。

56. 根据权利要求 54 或 55 所述的方法,其中所述溶剂的混合物包含 1,4-环己二烯和乙醇。

57. 根据权利要求 48 所述的方法,其中步骤(v)中的所述重排是在硅酸镁颗粒、二氧化硅、或氧化铝颗粒存在下进行的。

58. 根据权利要求 48 或 57 所述的方法,其中步骤(v)中的所述重排是在微波辐射或光存在下进行的。

59. 一种根据结构 USYDS15 的化合物:



60. 根据权利要求 59 所述的化合物在制备用于治疗癌症、免疫抑制、炎症、真菌或细菌感染、或皮肤衰老的药物中的应用。

异戊烯化羟基二苯乙烯

[0001] 相关申请的引用

[0002] 本发明要求 AU2011901663 的优先权,其内容通过引用并入本文。

技术领域

[0003] 本发明涉及新型异戊烯化二苯乙烯化合物和此类化合物在治疗疾病和医学病症(例如癌症和皮肤衰老)中的应用。

背景技术

[0004] 蜂巢蜡胶或所谓的蜂胶是由工蜂(西方蜜蜂(*Apis mellifera*))从某些树木和灌木的嫩枝和芽的渗出物和分泌物中采集的复杂树脂状物质。蜜蜂将其用于封接蜂巢中的裂缝和孔洞并防止微生物感染。

[0005] 蜂巢蜡胶是生物活性物质的丰富来源,并且蜂巢蜡胶的药用用途可以追溯到古代文明。目前,蜂巢蜡胶被广泛用作天然保健产品,并且广泛应用于化妆品中。然而,其在药物中的现代应用是有限的,这主要是归因于其化学组成有很大不同,这种不同是由于蜜蜂从不同的植物来源或植物来源的混合物进行采集所造成的。蜂胶的组成取决于蜜蜂接触的周边植物群,并且同样地植物群的这种差异会导致蜂胶组成的差异。例如,已知类黄酮是欧洲蜂胶中的主要药理活性化合物,聚异戊烯化二苯甲酮是古巴蜂胶和委内瑞拉蜂胶中的主要物质,并且异戊烯化肉桂酸衍生物在巴西蜂胶中占主要地位。

[0006] 对由蜜蜂产生的蜂胶的植物来源的识别能够将巢箱放置在有利的位置,以便从单一植物来源生产蜂胶,从而能够制造高品质和高疗效的药物。

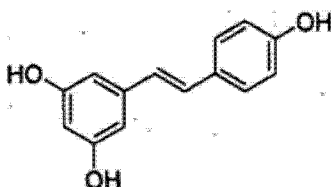
[0007] 蜂胶的药用唯一性是由蜜蜂的选择性采集能力所决定的,因为它们能够识别相对非极性的并具有抗菌性能的天然材料。据报道,蜂胶的常见来源是叶和花芽的渗出物,其具有高抗生素特性,从而保护柔弱的生长中的植物组织免受微生物的攻击。也已经报道了蜜蜂从受伤或患病的植物组织中采集渗出物。此种来源潜在地富含抗生素物质,这是由植物响应创伤或来自昆虫、微生物和病毒的攻击而产生的。

[0008] 从以往的研究中,尚不清楚蜜蜂是简单地采集已知为蜂胶的植物材料还是是否存在蜜蜂的代谢修饰或添加。但是,似乎没有蜜蜂添加了大量材料的证据或代谢转化的强有力证据。

[0009] 因此,需要更好地了解关于在特定的地理位置的蜂胶的组成,以能够利用它来充分发挥其益处。

[0010] 在涉及本发明的工作中,本发明人对分离自袋鼠岛(南澳大利亚)的蜂胶样品进行了调查,并且出乎意料地发现与通常含有类黄酮作为活性组分的其它蜂胶不同,袋鼠岛蜂胶含有二苯乙烯,更具体地是新的异戊烯化多羟基二苯乙烯(pPHOS),它们的核心结构类似于白藜芦醇(如下图所示)。

[0011]



[0012] 白藜芦醇

[0013] 白藜芦醇是红葡萄酒中的成分, 尽管高消耗非常丰富的食物, 但是法国人认为红葡萄酒对心脏病发作的低发病率做出了贡献。事实上, 已经证明了白藜芦醇抑制 LDL 氧化, 这种 LDL 氧化会导致动脉粥样硬化和冠状动脉心脏病。白藜芦醇也是预防性抗衰老药物中的主要化合物, 并且已经发现其具有抗癌和抗氧化活性。

[0014] 然而, 除了其治疗性能, 白藜芦醇显示出非常差的口服生物利用度并且在肠和肝脏中快速地代谢为葡萄糖醛酸盐 / 酯和磺酸盐 / 酯的偶联物。只在高浓度 (可达 5g) 下或在直接给予的情况下 (例如静脉注射或局部应用) 观察到了白藜芦醇的体内效力。

[0015] 最近, 葛兰素史克 (GSK) 药业进行了其白藜芦醇 (3-5g) 的专利制剂 SRT501 在治疗多发性骨髓瘤中的 IIa 期临床试验, 但是, 该试验由于制剂仅提供极小的疗效并且试验中的几个病人患上了肾衰竭而中止。

[0016] 已经报道在主要来自桑科 (桑树科, 包括桑 (*Morus alba*, 桑树), 和各种菠萝蜜物种) 和蝶形花科 (豆科, 包括花生 (*Arachis hypogaea*)) 的植物中有异戊烯化羟基二苯乙烯。据报道该分离的化合物示出了抗炎症、抗菌和抗氧化活性, 从而暗示异戊烯基不会不利地影响羟基二苯乙烯的生物活性。

[0017] 实际上, 异戊烯化羟基二苯乙烯基于其亲脂性而能够规避羟基二苯乙烯 (例如白藜芦醇) 的生物利用度低的问题。由于存在一个或多个异戊烯基, 所述化合物也许能够更容易穿过细胞膜并避免形成葡萄糖醛酸盐 / 酯和磺酸盐 / 酯的偶联物, 从而改善该化合物的生物利用度, 并且更普遍地提供用于开发新治疗剂的优异候选药物。先前已经证明白藜芦醇的四甲氧基衍生物能够比白藜芦醇更容易地穿过大鼠的血 - 脑屏障。

[0018] 因此, 从袋鼠岛的蜂胶样品中分离出的新型 pPHOS 衍生物是用于开发在治疗疾病 (如癌症) 中使用的新治疗剂的强有力候选物。

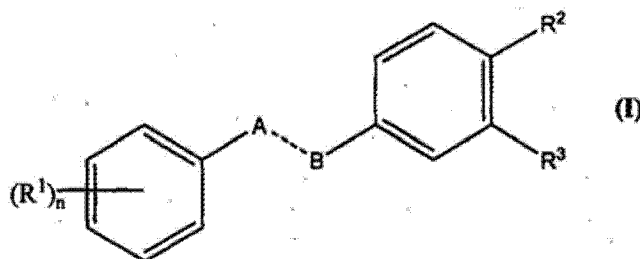
[0019] 包括于本说明书中的对文献、步骤、材料、装置、物品等的任何论述都不能被视为承认: 任一或所有这些事项为现有技术基础的组成部分或为本申请各项权利要求的优先权日之前存在的本发明相关领域的普通常识。

发明内容

[0020] 在涉及本发明的工作中, 本发明人已经分离和合成了多种新型异戊烯化多羟基二苯乙烯 (pPHOS) 衍生物并且进行了体外实验, 其中这些新型化合物在癌细胞系的组中示出了高的效力和选择性, 特别是在白血病和黑色素瘤细胞系中。在其它初步实验中, 发现了许多所述新型 pPHOS 衍生物调节 SIRT1 酶的活性, 这表明本发明的该新型 pPHOS 化合物可以是治疗一系列疾病的主要治疗剂。

[0021] 因此, 本发明的第一方面, 提供了一种治疗癌症的方法, 其包括向需要其的患者给予治疗有效量的式 (I) 的化合物、或者药用盐、溶剂化物或包含所述化合物的药物组合物:

[0022]



[0023] 其中：

[0024] R^1 独立地为 H、OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ ，其中至少一个 R^1 为 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ ；

[0025] R^2 选自 OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ ；

[0026] R^3 选自 H、OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ ；

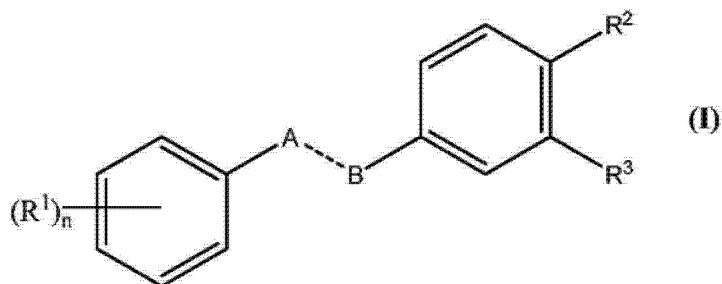
[0027] R^4 选自甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基或苄基；

[0028] n 是选自 1、2、3 或 4 组成的组中的整数；

[0029] 并且 A—B 选自 $CH=CH$ 、 CH_2-CH_2 、 $CH=CHX$ 或 CH_2-CH_2X ，其中 $X=(CH_2)_pCH_2$ ，并且 p 为选自 0、1、2 或 3 组成的组中的整数；条件是当 R^2 为 OH 时， R^3 为 H 或 OH，A—B 为 $CH=CH$ ， n 为 3 且两个 R^1 基团为 OH，则第三个 R^1 基团不是 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 。

[0030] 在本发明的第二方面，提供了一种治疗癌症的方法，包括向需要其的患者给予治疗有效量的式 (I) 的化合物、或者药用盐、溶剂化物或包括所述化合物的药物组合物，

[0031]



[0032] 其中：

[0033] R^1 独立地为 H、OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ ，其中至少一个 R^1 为 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ ；

[0034] R^2 选自 OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ ；

[0035] R^3 选自 H、OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ ；

[0036] R^4 选自甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基或苄基；

[0037] n 是选自 1、2、3 或 4 组成的组中的整数；

[0038] 并且 A—B 选自 $CH=CH$ 、 CH_2-CH_2 、 $CH=CHX$ 或 CH_2-CH_2X ，其中 $X=(CH_2)_pCH_2$ ，并且 p 为

选自自由 0、1、2 或 3 组成的组中的整数。

[0039] 在第三方面,提供了一种根据第一或第二方面的式(I)的化合物或其药物组合物作为药物的应用。

[0040] 在第四方面,提供了一种根据第一或第二方面的式(I)的化合物或其药物组合物在治疗中的应用。

[0041] 在本发明的第五方面,提供了一种根据第一或第二方面的式(I)的化合物或其药物组合物在治疗癌症中的应用。

[0042] 在本发明的第六方面,提供了一种治疗免疫抑制的方法,包括向需要其的患者给予治疗有效量的根据第一或第二方面的式(I)的化合物或包括所述化合物的药物组合物。

[0043] 在本发明的第七方面,提供了一种治疗炎症的方法,包含向需要治疗的患者给予治疗有效量的根据第一或第二方面的式(I)的化合物或包括所述化合物的药物组合物。

[0044] 在本发明的第八方面,提供了一种治疗细菌或真菌感染的方法,包括向需要其的患者给予治疗有效量的根据第一或第二方面的式(I)的化合物或包括所述化合物的药物组合物。

[0045] 在本发明的第九方面,提供了一种治疗皮肤老化的方法,包括向需要其的患者给予治疗有效量的根据第一或第二方面的式(I)的化合物或包括所述化合物的药物组合物。

[0046] 在本发明的第十方面,提供了根据第一或第二方面的式(I)的化合物或其药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的应用。

[0047] 在本发明的第十一方面,提供了根据第一或第二方面的式(I)的化合物或其药物组合物在制备用于治疗免疫抑制的药物中的应用。

[0048] 在本发明的第十二方面,提供了根据第一或第二方面的式(I)的化合物或其药物组合物在制备用于治疗炎症的药物中的应用。

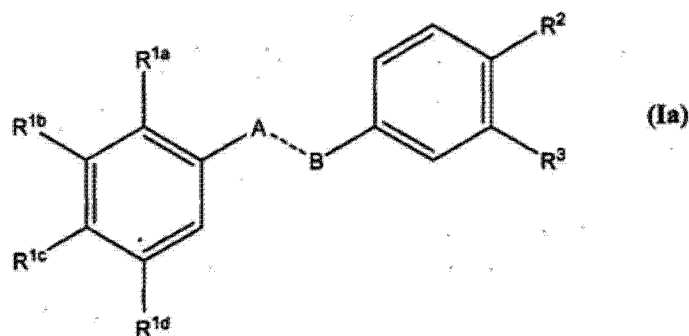
[0049] 在本发明的第十三方面,提供了根据第一或第二方面的式(I)的化合物或其药物组合物在制备用于治疗细菌或真菌感染的药物中的应用。

[0050] 在本发明的第十四方面,提供了根据第一或第二方面的式(I)的化合物或其药物组合物在制备用于治疗皮肤老化的药物中的应用。

[0051] 在本发明的进一步方面,提供了包含如上定义的化合物或药物组合物、和至少一种用于本文所述的方法和应用的其它治疗剂的组合。

[0052] 根据本发明的第十五方面,提供了一种式(Ia)的化合物或者其药用盐或溶剂化物:

[0053]



[0054] 其中:

[0055] R^{1a} 、 R^{1b} 、 R^{1c} 和 R^{1d} 各自独立地为 H、OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ ，其中 R^{1a-1d} 中的至少一个为 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ ；

[0056] R^2 选自 OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ ；

[0057] R^3 选自 H、OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ ；

[0058] R^4 选自甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基或苄基；

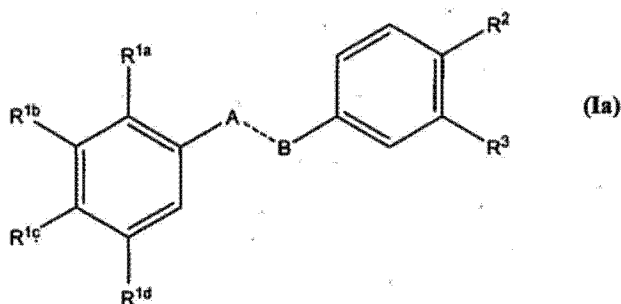
[0059] 并且 A—B 选自 $CH=CH$ 、 CH_2-CH_2 、 $CH=CHX$ 或 CH_2-CH_2X ，其中 $X=(CH_2)_pCH_2$ ，并且 p 为选自 0、1、2 或 3 组成的组中的整数；条件是：

[0060] (i) 当 R^3 为 H 且 R^2 为 OH 或 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 时， R^{1b} 和 R^{1d} 各自独立地不是 OH 或 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ ；

[0061] (ii) 当 R^3 为 H、 R^{1a-1d} 中的一个为 H 并且 R^{1a-1d} 中的至少一个为 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 时，A—B 不是 $CH=CH$ 。

[0062] 本发明的第十六方面，提供了一种式 (Ia) 的化合物或者其药用盐或溶剂化物：

[0063]



[0064] 其中：

[0065] R^{1a} 、 R^{1b} 、 R^{1c} 和 R^{1d} 各自独立地为 H、OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ ，其中 R^{1a-1d} 中的至少一个为 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ ；

[0066] R^2 和 R^3 各自独立地选自 OH、 OR^4 、 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$ 、 $CH=CHC(CH_3)=CH_2$ 、 $OCH=CHCH(CH_3)_2$ 或 $OCH=CHC(CH_3)=CH_2$ ；

[0067] R^4 选自甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基或苄基；

[0068] 并且 A—B 选自 $CH=CH$ 、 CH_2-CH_2 、 $CH=CHX$ 或 $-CH_2-CH_2X$ ，其中 $X=(CH_2)_pCH_2$ 且 p 为选自 0、1、2 或 3 组成的组中的整数。

[0069] 在本发明的第十七方面，提供了一种药物组合物，其包含根据第十五或十六方面的式 (Ia) 的化合物或者其药用盐或溶剂化物，以及药用赋形剂。

[0070] 根据第十八方面，提供了一种治疗癌症、免疫抑制、炎症、细菌感染、真菌感染或皮肤老化的方法，包括向需要其的患者给予治疗有效量的根据第十五或十六方面的式 (Ia) 的化合物或包括所述化合物的药物组合物。

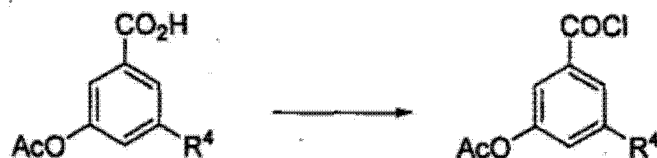
[0071] 根据本发明的第十九方面，提供了根据第十五或十六方面的式 (Ia) 的化合物或其药物组合物在制备用于治疗癌症、免疫抑制、炎症、细菌感染、真菌感染或皮肤老化的药物

中的应用。

[0072] 根据本发明的第二十方面,提供了一种制备通式(Ib)的化合物的方法,其包括下列步骤:

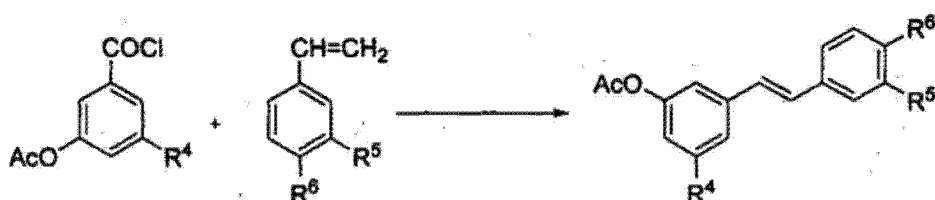
[0073] (i) 如下,用适合的试剂处理羧酸以提供酰氯;

[0074]



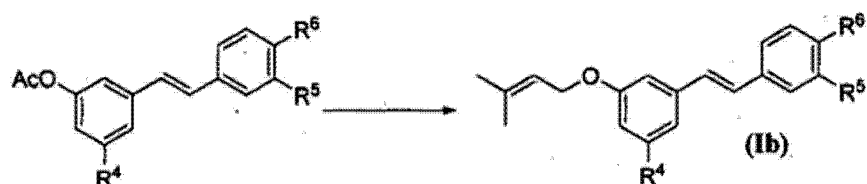
[0075] (ii) 如下,使该相应的酰氯与芳基烯烃缩聚;

[0076]



[0077] (iii) 如下,脱保护乙酸酯基团并烷基化;

[0078]

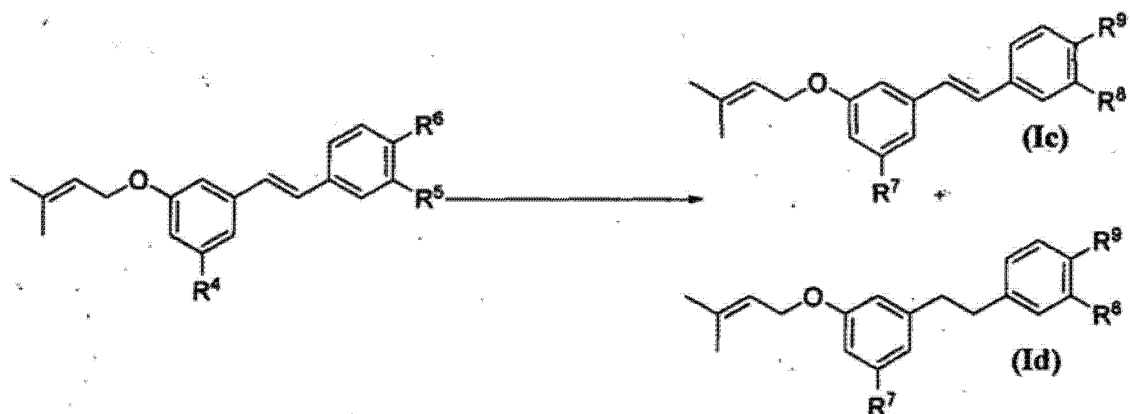


[0079] 其中, R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地选自基团 OMe、OEt、OPr、 O^i Pr、OBu、 O^i Bu、 O^t Bu、OBn。

[0080] 在一个实施方式中,所述方法包含如下另外的步骤:

[0081] (iv) 如下的氢化反应:

[0082]



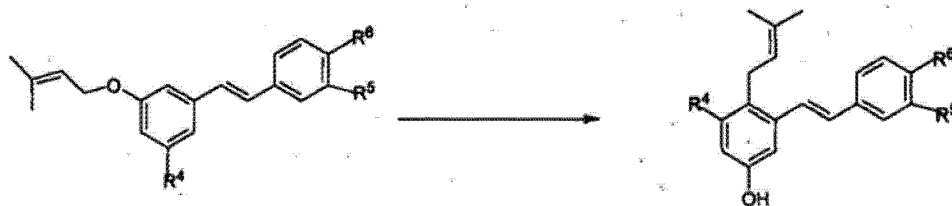
[0083] 其中 R^4 、 R^5 和 R^6 如前述定义,条件是 R^4 、 R^5 或 R^6 中的至少一个为 OBn;

[0084] R^7 、 R^8 和 R^9 各自独立地选自基团 OH、OMe、OEt、OPr、 O^i Pr、OBu、 O^i Bu、 O^t Bu。

[0085] 在另一个实施方式中,该方法包括如下的两个另外的步骤:

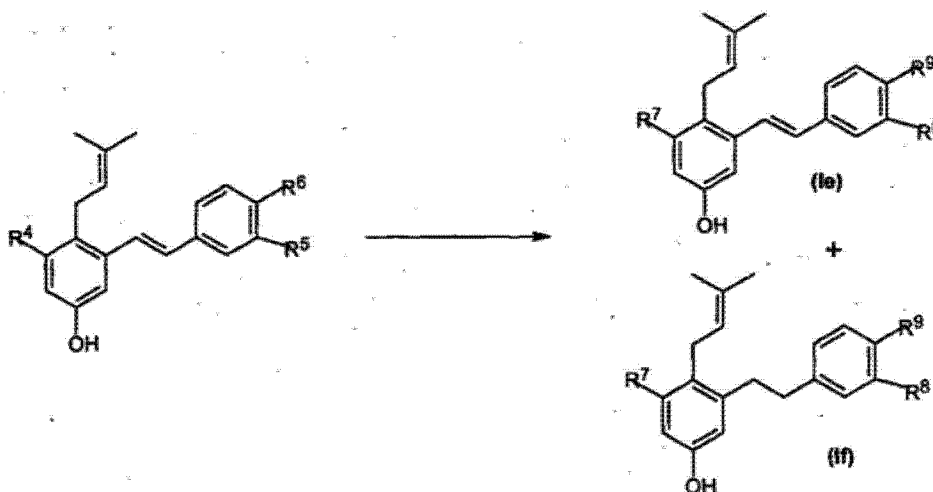
[0086] (v) 异戊烯基的重排,如下:

[0087]



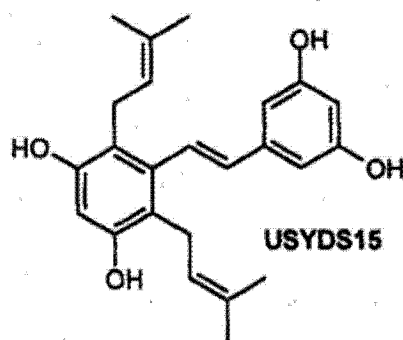
[0088] (vi) 以及如下所示的氢化反应：

[0089]

[0090] 其中, R^4 、 R^5 和 R^6 如前述的定义, 条件是 R^4 、 R^5 或 R^6 中的至少一个为 OBn ;[0091] R^7 、 R^8 和 R^9 各自独立地选自基团 OH、OMe、OEt、OPr、 O^i Pr、OBu、 O^i Bu、 O^t Bu。

[0092] 在本发明的第二十一方面, 提供了一种如下表示的 USYSDS15 的化合物：

[0093]



[0094] 还提供了一种药物组合物, 其包含根据第二十一方面的化合物 USYSDS15 或者其药用盐或溶剂化物以及药用赋形剂。

[0095] 在本发明的第二十三方面, 提供了根据第二十一方面的化合物或第二十二方面的组合物在制备用于治疗癌症、免疫抑制、炎症、细菌或真菌感染、或用于治疗皮肤老化的药物中的应用。

[0096] 本发明的优选实施方式的说明

[0097] 在本说明书的自始至终, 词语“包含”或其变形如“包括”或“含有”应该理解是指包含所述的要素、整数或步骤, 或者要素、整数或步骤的组, 但是不排除任何其它要素、整

数或步骤,或者要素、整数或步骤的组。

[0098] 虽然可以在治疗中使用治疗有效量的本文中定义的化合物或者其药用盐或溶剂化物,但是其可以作为主要产品给予;在本发明的一个方面,所述活性成分提供为药物组合物。因此,在本发明的进一步实施方式中,提供了一种药物组合物,其包含根据第一、第二、第十五和第十六方面的式(I)或(Ia)的化合物或者它们的药用盐或溶剂化物,并混合有一种或多种药用载体、稀释剂或赋形剂。在与制剂的其它成分的相容性以及不对其接受者造成损害的意义上来说,所述载体、稀释剂或赋形剂必需是可用的。

[0099] 当适用时,本发明的化合物(包括式(I)或(Ia)的化合物)可以为药用盐的形式和/或可以作为药用盐给予。

[0100] 本文所使用的术语“药用盐”是指用于毒理学上安全于全身给予的盐。该药用盐可以选自碱金属或碱土金属盐(包括钠、锂、钾、钙、镁等)以及无毒的铵、季铵和胺阳离子(包括,但不限于,铵、四甲基铵、四乙基铵、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺、乙胺、三乙醇胺等)。

[0101] 本文中所使用的术语“药用赋形剂”是指可安全用于全身给予的固体或液体填料、稀释剂或封装物质。取决于具体的给予途径,也可以使用本领域中公知的各种载体。这些载体或赋形剂可以选自包括糖、淀粉、纤维素及其衍生物、麦芽、明胶、滑石粉、硫酸钙、植物油、合成油、多元醇、海藻酸、磷酸盐缓冲溶液、乳化剂、等渗盐水和无热原水的组。

[0102] 本文中所使用的术语“溶剂化物”是指由溶质(在本发明中,式(I)或(Ia)的化合物或者其盐或其生理功能衍生物)与溶剂形成的可变化学计量的复合物。用于本发明目的的此种溶剂可以不干扰所述溶质的生物活性。适合的溶剂的实例包括,但不限于,水、甲醇、乙醇和乙酸。特别地,所使用的溶剂是药用溶剂。适合的药用溶剂的实例包括,但不限于,水、乙醇、乙酸、甘油、液体聚乙二醇及它们的混合物。特别的溶剂是水。

[0103] 式(I)或(Ia)的化合物可以以“前药”的形式给予。前药为无活性形式的化合物,其在体内转化为活性形式。适合的前药包括活性形式化合物的酯类、磷酸酯类等。

[0104] 应理解的是除了以上特别提及的成分之外,制剂还包括本领域中考虑到所讨论的制剂类型的其它试剂。

[0105] 本发明的化合物可以适合于治疗人类或动物患者的疾病。在一个实施方式中,患者是哺乳动物包括人、马、狗、猫、羊、牛或灵长类动物。在一个实施方式中,患者是人类。在进一步的实施方式中,患者不是人类。

[0106] 本文中所使用的术语“有效量”是指研究人员或临床医师所寻求的能够引起组织、系统、动物或人的生物学或医学响应的药物或药剂的量。另外,术语“治疗有效量”是指任何量,与未接受该量的相应受试者相比,其引起疾病、病症、或副作用的改善的治疗、治愈、预防或改善,或者其降低疾病或病症的恶化进度。该术语也包括在其范围内能有效地增强正常生理功能的量。

[0107] 本文中所使用的术语“治疗”是指与未给予包含本发明的化合物的药物组合物相比,预防或抑制症状、治疗症状、延迟症状的显现、降低症状恶化的严重程度、和/或减少个体患有的症状的数量和类型。术语治疗涵盖姑息性设置中的应用。

[0108] 本领域技术人员能够理解在本发明的化合物的制备中,需要和/或期望保护分子中的一个或多个敏感性基团以防止不希望的副反应。适合用于本发明的保护基为本领域技术人员熟知,并且可以以常规方法来使用。例如参见,T. W. Greene 和 P. G. M. Wuts 的

“Protective groups in organic synthesis”(John Wiley&sons1991)或P.J.Kocienski的“Protecting Groups”(Georg Thieme Verlag1994)。合适的氨基保护基的实例包括酰基型保护(例如甲酰基、三氟乙酰基、乙酰基)、芳族尿烷型保护基(例如,苄氧基羰基(Cbz)和取代的Cbz)、脂肪族尿烷型保护基(例如,9-苄基甲氧基羰基(Fmoc)、叔丁氧基羰基(Boc)、异丙氧基羰基、环己氧基羰基)和烷基型保护基(例如,苄基、三苯甲基、氯代三苯甲基)。

[0109] 根据本发明的第一、第二或第十八方面,待治疗的癌症是白血病、非小细胞肺癌、结肠癌、CNS 癌、黑色素瘤、卵巢癌、肾癌、前列腺癌或乳腺癌。最优选地,待治疗的癌症是白血病或黑色素瘤。

[0110] 在第一至第九方面的优选实施方式中,根据式(I)的化合物具有式(Ia)。

[0111] 根据本发明的第十或第十九方面,优选地该药物用于治疗以下癌症:白血病、非小细胞肺癌、结肠癌、CNS 癌、黑色素瘤、卵巢癌、肾癌、前列腺癌或乳腺癌。最优选地,该药物用于治疗白血病或黑色素瘤。

[0112] 在第十至第十四方面的优选实施方式中,根据式(I)的化合物具有式(Ia)。

[0113] 本发明的化合物的抗肿瘤效果可以应用为唯一的治疗或可以包括除此之外的一种或多种其它物质和/或治疗剂。此种联合治疗(conjoint treatment)可以通过同时、顺序或单独给予所述治疗的单个组分。在肿瘤医学领域,正常的做法是使用不同形式的治疗剂的组合来治疗患有癌症的各患者,例如手术、放射疗法和/或化学疗法的组合。特别地,已知放射或利用抗血管生成和/或血管渗透性降低剂的治疗可以提高肿瘤内的缺氧组织的量。因此,本发明的化合物的效果可以通过与放射疗法和/或利用抗血管生成剂的联合治疗来提高。

[0114] 此类组合的个体组分可以在疗程的不同时间单独地给予或同时地以分开或单一组合的形式给予。因此,本发明可以理解为包括所有此种同时或交替治疗的方式,并且术语“给予”也进行相应的解释。应理解的是本发明的化合物与其它抗肿瘤剂的组合的范围原则上包括与任何有助于治疗癌症的药物组合物的组合。

[0115] 当组合于同一制剂时,应理解所述两种化合物必需是稳定的并且彼此相容,与制剂中的其它组分相容,并且可以配制用于给予。当单独配制时,它们可以提供为任何方便的制剂,方便地以本领域中公知的用于该化合物的方式。

[0116] 本发明的药物组合物可以配制用于通过任何适合的途径给予,例如通过口腔(包括颊或舌下)、直肠、鼻、局部(包括颊、舌下或透皮)、阴道或肠胃外(包括皮下、肌内、静脉内或皮内)途径。因此,本发明的药物组合物可以配制为例如片剂、胶囊剂、粉剂、颗粒剂、锭剂、乳膏剂或液体制剂,如口服或无菌非肠道溶液剂或悬浮液。此类药物制剂可以通过制药领域已知的任何方法来制备,例如使活性成分与载体或赋形剂联合。此类药物制剂可以制备为肠溶包衣的颗粒剂、片剂或胶囊剂,以适合于口服和延迟释放制剂。

[0117] 当化合物与针对相同疾病具有活性的第二治疗剂组合使用时,各组分的剂量可以不同于当化合物单独使用时的量。合适的剂量是本领域技术人员容易理解的。

[0118] 在根据第十五方面的本发明的一个实施方式中,提供了一种式(Ia)的化合物,其中 R^{1a} - R^{1d} 、 R^2 、 R^3 、 R^4 和 A---B 如上文中的定义,条件是:

[0119] (i) 当 R^3 为 H 时, R^{1b} 和 R^{1d} 各自独立地不是 OH 或 $OCH_2CH=C(CH_3)_2$; 以及

[0120] (ii) 当 R^3 为 H、 R^{1a-1d} 中的一个为 H 且 R^{1a-1d} 中的至少一个为 $CH_2CH=C(CH_3)_2$ 时,

A---B 不是 CH=CH。

[0121] 根据第十五或十六方面,在本发明的优选实施方式中, R^{1a-1d} 的两个为 H。在其它优选实施方式中, R^{1a-1d} 中的一个为 H,且在其它实施方式中, R^{1a-1d} 都不为 H。

[0122] 在优选的实施方式中, R^{1a-1d} 中的至少一个为 $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$,并且在另一个优选的实施方式中, R^{1a-1d} 中的至少一个为 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 。

[0123] 在某些实施方式中, R^{1a-1d} 中的至少一个为羟基,并且在某些其它实施方式中, R^{1a-1d} 中的至少两个为羟基。在另一个实施方式中, R^{1a-1d} 中的至少一个为 OR^4 且 R^4 为甲基,并且在又一个实施方式中, R^4 为苄基。

[0124] 在根据第十五或十六方面的本发明的优选实施方式中, R^2 或 R^3 中的至少一个为羟基。在另一个优选的实施方式中, R^2 和 R^3 都为羟基。

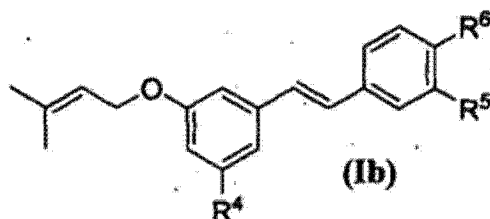
[0125] 在另一个实施方式中, R^2 或 R^3 中的至少一个为 OR^4 且 R^4 为甲基,并且在又一个实施方式中, R^4 为苄基。

[0126] 在本发明的优选实施方式中,式(Ia)中的基团 A---B 为 CH=CH 或 CH=CHX-,其中 $X=(\text{CH}_2)_p\text{CH}_2$,并且 p 为选自 0、1、2 或 3 组成的组中的整数。

[0127] 在本发明的其它实施方式中,式(Ia)中的基团 A---B 为 CH_2-CH_2 或 $\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{X}$,其中 $X=(\text{CH}_2)_p\text{CH}_2$,并且 p 独立地为选自 0、1、2 或 3 组成的组中的整数。

[0128] 在优选的实施方式中,根据第十五或十六方面的式(Ia)的化合物具有通式(Ib):

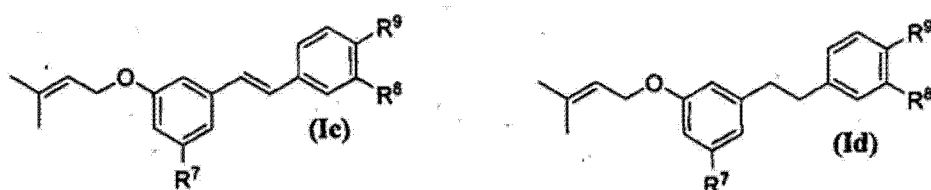
[0129]



[0130] 其中 R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地选自基团 OMe、OEt、OPr、 O^iPr 、OBu、 O^iBu 、 O^tBu 、OBn。

[0131] 在另一个优选的实施方式中,根据第十五或十六方面的式(Ia)的化合物具有式(Ic)或(Id):

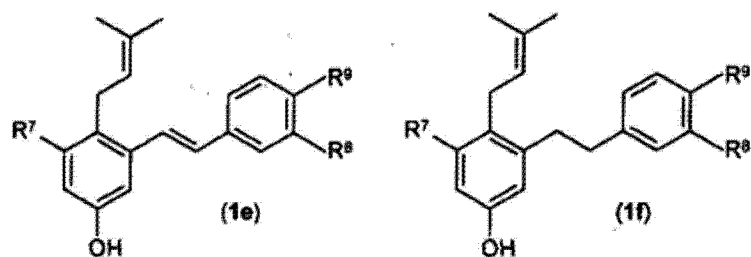
[0132]



[0133] 其中 R^7 、 R^8 和 R^9 各自独立地选自基团 OH、OMe、 $-\text{OEt}$ 、OPr、 O^iPr 、OBu、 O^iBu 、 O^tBu 。

[0134] 在又一个优选的实施方式中,根据第十五或十六方面的式(Ia)的化合物具有通式(Ie)或(If):

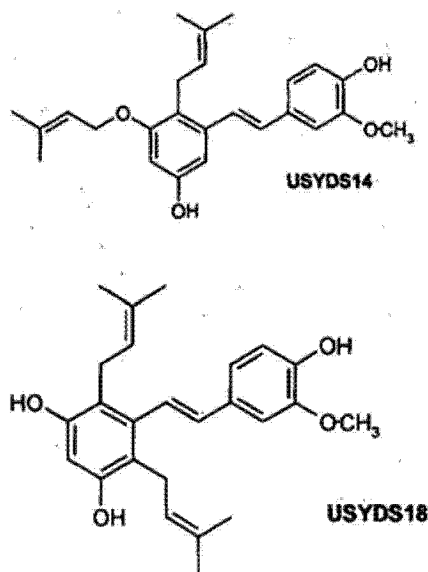
[0135]



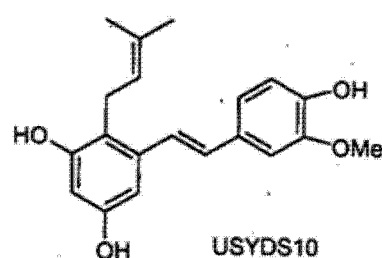
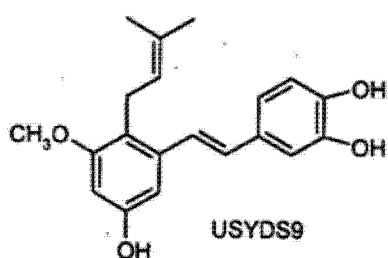
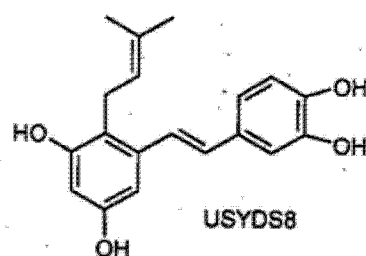
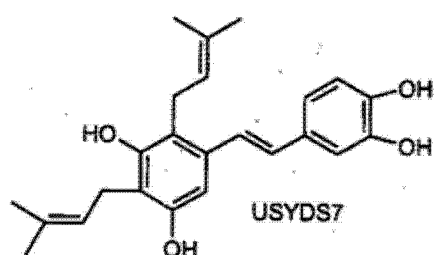
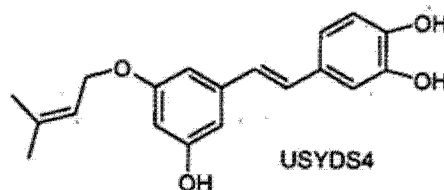
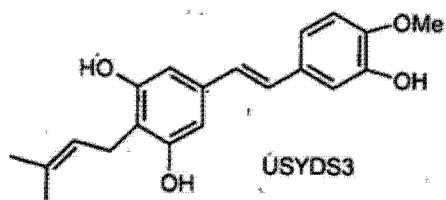
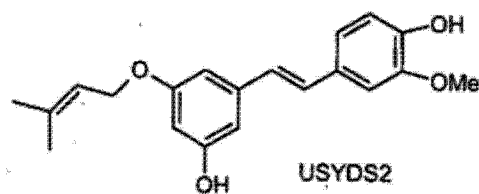
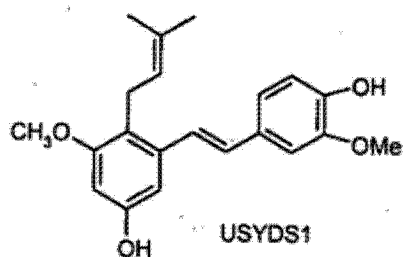
[0136] 其中 R^7 、 R^8 和 R^9 各自独立地选自基团 OH、OMe、OEt、OPr、 O^i Pr、OBu、 O^i Bu、 O^t Bu。

[0137] 优选地,根据第十五或十六方面的化合物或者其药用盐或溶剂化物选自以下各项组成的组:

[0138]

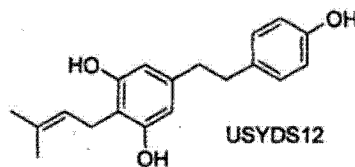
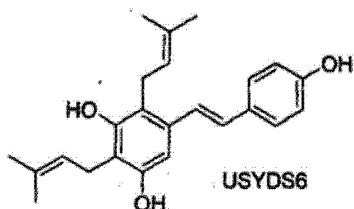


[0139]



[0140] 在另一个优选的实施方式中,根据第十五方面的化合物或者其药用盐或溶剂化物选自以下各项组成的组:

[0141]



[0142] 在研究异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物的初步体外试验中,本发明人观察到所有衍生物 USYDS1 至 USYDS7 对癌细胞生长的结构依赖性抑制。这些化合物的大多数表现出强效抑制几乎所有的白血病细胞系 (CCRF-CEM、HL-60 (TB)、K-562、MOLT-4、RPMI-8226、SR)。在一些细胞系中,生长在纳米摩尔浓度下受到抑制。在抑制癌细胞的生长上,USYDS1 表现出最有效的活性,然后是 USYDS10、USYDS9、USYD2,再就是 USYDS14。也观察到衍生物 USYDS10

和 14 对癌细胞生长的结构依赖性抑制。结构-活性研究显示在 3- 位具有甲氧基且在 2- 位的 C- 异戊烯化表现出抑制癌症细胞的最高效力。

[0143] 大多数本研究中的 pTHOS 具有基于已知天然存在的化合物白皮杉醇结构的结构, 其示出广谱的生物活性。由于其抑制各种肿瘤细胞(包括白血病、淋巴瘤; 乳腺癌、前列腺癌、结肠癌和黑素瘤)的增殖的能力, 其当前因其抗癌特性而倍受关注。认为其抗癌作用通过细胞周期停滞介导; 上调 Bid、Bax、Bik、Bok、Fas; P21WAF1 下调 Bcl-xL; BCL-2、cIAP、活化半胱天冬蛋白酶(caspase)、损耗线粒体膜电位和释放细胞色素 c。已经证明白皮杉醇抑制一些转录因子的激活, 这些转录因子包括 NF- κ B (其在响应由自由基、紫外线照射、细胞因子、或微生物抗原引起的细胞应激中起着核心作用)、JAK-1 (在控制响应细胞外因子的细胞活性的 STAT 路径中的关键转录物)。

[0144] 已经观察到在本研究中描述的 pTHOS 显示的生物活性谱类似于由白皮杉醇所显示的生物活性谱。另外, pTHOS (即 USYDS1, GI_{50} 值: $0.02 \mu M$ - $5 \mu M$) 在抑制几乎所有类型的肿瘤细胞的增殖上与白皮杉醇(IC_{50} 值: $5 \mu M$ - $100 \mu M$)相比, 显示出大约 250 倍以上的有效性。因此, 本申请中提出的 pTHOS 将会是药物研究和开发的极具吸引力的导向并作为进一步了解癌症的病理生理的生物工具。

[0145] 化合物 USYDS1 和化合物 USYDS2 的强效细胞毒性可以用它们的增加的疏水性来解释, 通过它们的计算得出的 Log 分配系数(Log P)值来表示。USYDS1 和 USYDS2 具有的 Log P 值几乎是羟基二苯乙烯白藜芦醇的两倍。Log P 值对治疗化合物的作用主要涉及组织穿透和分布。较高的 Log P 值将使得化合物能够更容易地穿过细胞膜和进入细胞。

[0146] 在其它初步实验中, 发现特定实例的 O- 异戊烯化羟基二苯乙烯衍生物和 C- 异戊烯化羟基二苯乙烯衍生物显示出对 SIRT1 酶的浓度依赖性抑制, 该 SIRT1 酶为 Sirtuin 蛋白家族(沉默信息调节子 2 蛋白, Sir2)的成员。

[0147] Sirtuin 已经成为模型生物体中用于衰老和长寿的关键调节子。对 sirtuin 的遗传学和生理学的研究证明这种酶家族在各种细胞过程中发挥了作用, 包括基因沉默、细胞死亡、脂肪酸代谢、神经元的保护和寿命延长。

[0148] 为了不受任何特定的理论的约束, 提出 SIRT1 活性的调节可以致使治疗疾病(包括癌症、代谢综合征、肥胖、神经退行性疾病和衰老-相关性疾病)用治疗剂的开发。

[0149] 在优选的实施方式中, 根据第十五或十六方面, 式(Ia)的化合物是化学合成的。在另一个优选的实施方式中, 式(Ia)的化合物分离自蜂胶, 其中所述蜂胶来源于鳞籽莎属(*Lepidosperma* genus)的植物。在又一个实施方式中, 式(Ia)的化合物分离自鳞籽莎属的树脂、树胶或渗出物。

[0150] 根据本发明的第二十方面, 在式(1b)、(1c)、(1d)、(1e)或(1f)的化合物的制备中, 优选地步骤(ii)中的缩聚反应是在钯催化剂的存在下进行的。优选地, 钯催化剂是乙酸钯(II)。

[0151] 优选地, 步骤(iii)中的烷基化反应是在金属氢化物和卤代异戊烯基试剂的存在下进行的。优选地, 所述金属氢化物是氢化钠, 但是本领域技术人员能够理解其它已知的金属氢化物也可以使用。最优选的卤代异戊烯基试剂是 $BrCH_2CH=C(CH_3)_2$ 。

[0152] 在优选的实施方式中, 步骤(iv)或(vi)中的氢化反应是在钯催化剂的存在下在溶剂的混合物中进行的。最优选地, 钯催化剂是碳载钯(palladium on carbon), 且溶剂的

混合物包含 1, 4- 环己二烯和乙醇。但是, 本领域技术人员能够理解任何其它适合的试剂和溶剂也可以使用。

[0153] 在优选的实施方式中, 步骤(v) 中的重排反应是在硅酸镁颗粒(**Florisil**[®])、二氧化硅或氧化铝颗粒的存在下进行的。在另一个优选的实施方式中, 所述重排反应可以在微波辐射或光的存在下进行。在又一个实施方式中, 步骤(v) 中的重排反应是在硅酸镁颗粒(**Florisil**[®])、二氧化硅或氧化铝颗粒的存在下和在微波辐射或光的存在下进行的。

附图说明

[0154] 图 1 为一些分离的和合成的异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物的总结。

[0155] 图 2 为概述新型 O- 异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物和 C- 异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物的合成的流程图。

[0156] 图 3 显示了对于各种细胞系, 化合物 USYDS1 对人类癌细胞生长的抑制的剂量响应曲线。

[0157] 图 4 显示了对于各种细胞系, 化合物 USYDS2 对人类癌细胞生长的抑制的剂量响应曲线。

[0158] 图 5 显示了对于各种细胞系, 化合物 USYDS3 对人类癌细胞生长的抑制的剂量响应曲线。

[0159] 图 6 显示了对于各种细胞系, 化合物 USYDS4 对人类癌细胞生长的抑制的剂量响应曲线。

[0160] 图 7 显示了对于各种细胞系, 化合物 USYDS9 对人类癌细胞生长的抑制的剂量响应曲线。

[0161] 图 8 显示了对于各种细胞系, 化合物 USYDS6 对人类癌细胞生长的抑制的剂量响应曲线。

[0162] 图 9 显示了对于各种细胞系, 化合物 USYDS7 对人类癌细胞生长的抑制的剂量响应曲线。

[0163] 图 10 用图表示出了二苯乙烯化合物对自由基清除的效果。

[0164] 图 11 用图表示出了二苯乙烯化合物对 NAD- 依赖性脱乙酰基酶 sirtuin-2(SIRT1) 的浓度依赖性抑制。

具体实施方式

[0165] 为了更好地理解本发明的本质, 现在将描述如下的若干实施例:

[0166] 材料

[0167] 将从莎草(鳞籽莎属粘质(*Lepidosperma viscidum*))收集的观察的蜜蜂捕获在塑料管中, 盖上盖子并冷冻。剪下并汇集带有蜂胶的蜜蜂后腿的部分。收集来自植物的树脂并存贮在 -20℃ 直到分析。得到植物样品并在 40℃ 下在通风烘箱(Thermoline, NSW Australia)中干燥过夜以提供植物学者鉴定用的凭证标本, A/Prof Murray Henwood, John Ray Museum, University of Sydney, Sydney, Australia, 并且登记为鳞籽莎属粘质(*Lepidosperma viscidum*)化学型 1a, 凭单号 Duke100222-42 和鳞籽莎属粘质化学型 2a, 凭

单号 Duke100221-21。

[0168] 使用 76 个由 3 个 10- 框架盒制成的蜂箱(每个蜂箱在蜂箱罩盖下配有蜂胶垫)来收集蜂胶样品。在位于袋鼠岛中南部地区的蜂房场所的位置上使用独立编号的蜂箱。

[0169] 正相短柱色谱(NPSCC)用的预涂有硅胶 60F₂₅₄ 和硅胶 60H 的薄层层析板购自 Merck。用 UVGL-58 矿物光灯 Multiband UV-2544/366 目测 TLC 板。

[0170] 在分离和合成中使用的所有化学品都购自 Sigma-Aldrich Pty Ltd (Castle Hill, NSW, Australia), 包括氘化的 NMR 溶剂(例如氯仿 -d 和甲醇 -d₄)、氘化的二甲基亚砜(d₆- 二甲基亚砜)。溶剂包括己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯、异丙醇、乙醇、甲醇和乙酸, 都是分析纯的并且购自 Ajax Fine Chem, Taren Point, NSW, Australia 或 Asia Pacific Specialty Chemical Ltd (APS)。

[0171] 使用 Rotavapor 型 R-114 旋转蒸发器以 40-60℃ 范围的水浴温度来蒸发溶剂馏分。真空泵 V-700 或 1684930_1.doc。

[0172] 使用具有真空控制器 V-800 或 V-850 的 Vacuubrand MD4C NT 隔膜泵(Vacuubrand GMBH, Wertheim, Germany)。使用 DirectTorr 真空泵(Sargent-Welch, Buffalo, USA) 通过 Napco5831 真空烘箱(NAPCO, Salt Lake City, USA) 进行最终的干燥。

[0173] 制备性 HPLC 是在反相柱(Grace, Alltima C185 μ M22mm ID $\times$ 250mm) 上的 Shimadzu 制备梯度 LC-8A 系统上进行的, 注射体积 500 μ L, 用甲醇(75%) 和水以 10mL/min 进行洗脱, 并且使用紫外-可见光检测器(Shimadzu SPD-20A) 在 280nm 下进行检测。分析 HPLC 是在 Shimadzu UFLC、LC-20AD 泵、SIL-20A HT 自动进样器上利用 Hewlett-Packard 柱(NUCLEOSIL100C18, 5 μ m, 4mm $\times$ 125mm) 来进行的, 注射体积 20 μ L, 用甲醇-水-乙酸(70:29.8:0.2) 在 1mL/min 下进行洗脱, 并且用紫外-可见光检测器(Shimadzu SPD-20A) 在 230nm 下进行检测。

[0174] ¹H 和 ¹³C 核磁共振(NMR) 分析是在具有 SMS 自动进样器的 Varian400MHz 系统(Palo Alto, California, USA) 上进行的。NMR 光谱以四甲基硅烷(TMS) 为参照物。质谱是从 ThermoFinnigan TSQ7000 (LC-MS/MS 系统) 和 Finnigan Polaris Ion Trap MS/MS 系统(Finnigan, San Jose, USA) 使用 Xcalibur1.2 数据系统来获得的。

[0175] 植物和蜂胶样本的 ¹H-NMR 化学概况(profile) 的测定

[0176] 在室温下将来自茎基部(0.1g)、蜜蜂后腿(0.1g) 和蜂箱蜂胶(1.0g) 的树脂样品用乙酸乙酯萃取 15min。过滤萃取液, 在减压下干燥并通过 ¹H-NMR 和 HPLC 分析。发现来自莎草 -1 型的样品含有作为主要成分的异戊烯化羟基二苯乙烯和肉桂酸酯, 而来自莎草 -2 型的那些样品显示只有异戊烯化二苯乙烯作为主要成分, 如上所述。然后选择蜂胶样品以分离出所述组分。

[0177] 来自袋鼠岛的蜂胶的异戊烯化多羟基二苯乙烯的分离和鉴定。

[0178] 一般方法

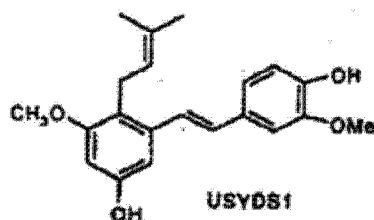
[0179] 在室温下用二氯甲烷以搅拌 1 小时来萃取蜂胶(10g)。使用正相短柱色谱(NPSCC) 纯化萃取物。采用由二氯甲烷(DCM) 和乙酸乙酯(EtOAc) 组成的以 0、1、2、4、8、10、15、20、50 和 100% 组成的逐步梯度流动相(2 $\times$ 100mL) 来洗脱各组分, 然后通过 TLC 和 NMR 分析。如果需要, 随后在相同的 NPSCC 上以不同的由己烷和 EtOAc 或由己烷和异丙醇组成的流动相进一步纯化化合物。当需要进一步纯化化合物时, 也采用正相制备 HPLC (Shimadzu LC-8A)。

在室温下,以含 2% 异丙醇的己烷为流动相,以 10mL/min 的流速使化合物洗脱通过硅胶柱 (Altima® silica 10 μ m, 10cm x 250cm)。用 UV 检测器 (UV/Vis SPD-20A) 在 280nm 下监控化合物的洗脱。通过 ^1H - 和 ^{13}C -NMR 和质谱 (包括高分辨质谱) 来表征这些纯化合物的结构和特性。当需要时,也使用梯度异核多重键的相干性 (GHMBC) 通过 2D-NMR 来进行分离的化合物的详细结构分析。

[0180] 分离的异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物:

[0181] (E)-2-(3-甲基-2-丁烯-1-基)-4',5-二羟基-3,3'-二甲氧基二苯乙烯 (USYDS1)。

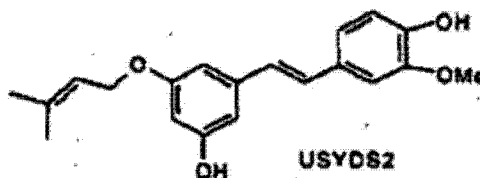
[0182]



[0183] 浅黄色液体。C₂₁H₂₄O₄ ^1H NMR (甲醇- d_4) 400MHz): R_t 14.64min. δ 7.16 (d, J=16Hz, H), 7.07 (d, J=4Hz, H), 6.94 (dd, J=8, 4Hz, H), 6.86 (d, J=19Hz, H), 6.78 (d, J=8Hz, H), 6.63 (d, J=4Hz, H), 6.34 (d, J=4Hz, H), 5.06 (m, H), 3.89 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.39 (m, 2H), 1.80 (bs, 3H), 1.66 (bs, 3H). ^{13}C -NMR (CDCl₃, 100MHz) δ 158.5, 154.4, 146.7, 145.6, 138.1, 130.6, 130.4, 130.3, 124.3, 123.7, 120.7, 120.6, 114.5, 108.2, 103.9, 98.2, 55.9, 55.7, 25.8, 24.5, 18.0; CI-MS: m/z 339 (M-1)⁻, HRESIMS: m/z 341.1749 (M+H)⁺, C₂₁H₂₅O₄ 的计算值 341.1747.

[0184] (E)-3-(3-甲基-2-丁烯基氧基)-4',5-二羟基-3'-甲氧基二苯乙烯 (USYDS2)。

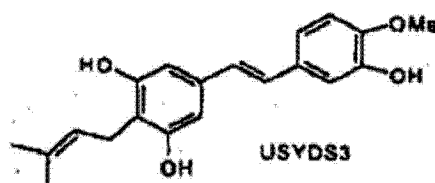
[0185]



[0186] 浅黄色液体。C₂₀H₂₂O₄ ^1H NMR (甲醇- d_4 , 400MHz): R_t 15.46min. δ 7.12 (d, J=4Hz, 1H), 7.01 (d, J=16Hz, 1H), 6.97 (dd, J=8, 4Hz, 1H), 6.88 (d, J=16Hz, 1H), 6.78 (d, J=8Hz, 2H), 6.56 (m, 1H), 6.24 (m, 1H), 5.46 (m, 1H), 4.52 (d, J=4Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 1.79 (bs, 3H), 1.76 (bs, 3H). ^{13}C -NMR (CDCl₃, 100MHz) δ 160.2, 156.9, 146.7, 145.5, 139.9, 138.6, 129.9, 129.2, 126.2, 120.6, 119.4, 114.7, 108.4, 105.9, 105.4, 101.5, 65.0, 55.9, 25.8, 18.2; CI-MS m/z 325 (M-1)⁻, HRESIMS m/z 327.15938 (M+H)⁺, C₂₀H₂₃O₄ 的计算值 327.1591.

[0187] (E)-4-(3-甲基-2-丁烯-1-基)-3,3',5-三羟基-4'-甲氧基二苯乙烯 (USYDS3)。

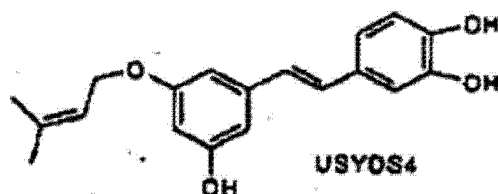
[0188]



[0189] 浅黄色液体。C₂₀H₂₂O₄¹H NMR(甲醇 -d₄, 400MHz): R_t11.46min. δ 7.08(d, J=4Hz, 1H), 6.93(dd, J=8, 4Hz, 1H), 6.91(d, J=16Hz, 1H), 6.78(d, J=16Hz, 1H), 6.77(d, J=8Hz, 1H), 6.46(s, 2H), 5.23(m, 1H), 3.89(s, 3H), 3.28(m, 2H), 1.76(bs, 3H), 1.65(bs, 3H); CI-MS:m/z325 (M-1)⁻; HRMS:325.14453[M-1]⁻, (C₂₀H₂₁O₄ 的计算值 325.14398).

[0190] (E)-3-(3-甲基-2-丁烯氧基)-3',4',5-三羟基二苯乙烯(USYDS4)。

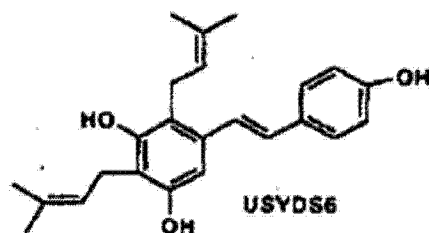
[0191]



[0192] 浅黄色液体。C₁₉H₂₀O₄¹H NMR(甲醇 -d₄, 400MHz): R_t18.62min. δ 6.98(d, J=4Hz, 1H), 6.94(d, J=16Hz, 1H), 6.85(dd, J=8, 4Hz, 1H), 6.80(d, J=16Hz, 1H), 6.74(d, J=8Hz, 1H), 6.53(m, 2H), 6.23(m, 1H), 5.46(m, 1H), 4.51(d, J=4Hz, 2H), 1.79(bs, 3H), 1.76(bs, 3H); ¹³C NMR(甲醇 -d₄, 100MHz): δ 160.2, 158.2, 145.2, 145.1, 139.8, 136.9, 129.5, 128.5, 125.5, 119.9, 118.8, 114.9, 112.4, 105.2, 103.8, 100.7, 64.4, 24.4, 16.8; CI-MS:m/z311 (M-1)⁻; HREIMS:m/z335.1252 (M+Na)⁺, C₁₉H₂₀O₄Na 的计算值 335.1259.

[0193] (E)-2,4-二(3-甲基-2-丁烯-1-基)-3,4',5-三羟基二苯乙烯(USYDS6)。

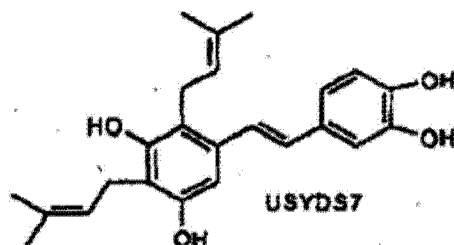
[0194]



[0195] 灰白色固体。C₂₄H₂₈O₃¹H NMR(甲醇 -d₄, 400MHz): R_t9.35min. δ 7.30(d, J=8Hz, 2H), 7.11(d, J=16Hz, 1H), 6.80(d, J=16Hz, 1H), 6.76(d, J=8Hz, 2H), 6.63(s, 1H), 5.21(m, 1H), 5.10(m, 1H), 3.41(m, 2H), 3.35(m, 2H), 1.81(bs, 3H), 1.78(bs, 3H), 1.68(bs, 6H); CI-MS:m/z363 (M-1)⁻.

[0196] (E)-2,4-二(3-甲基-2-丁烯-1-基)-3,3',4',5-四羟基二苯乙烯(USYDS7)。

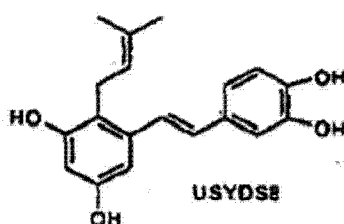
[0197]



[0198] 灰白色固体。C₂₄H₂₈O₄¹H NMR(甲醇 -d₄, 400MHz): R_t10.46min. δ 7.07(d, J=16Hz, 1H), 6.94(d, J=4Hz, 1H), 6.79(dd, J=8, 4Hz, 1H), 6.73(d, J=16Hz, 1H), 6.71(d, J=8Hz, 1H), 6.62(s, 1H), 5.21(m, 1H), 5.10(m, 1H), 3.41(m, 2H), 3.35(m, 2H), 1.81(bs, 3H), 1.78(bs, 3H), 1.68(bs, 6H); CI-MS:m/z379 (M-1)⁻; HRMS:379.19148[M-1]⁻, (C₂₄H₂₇O₄ 的计算值 379.19092).

[0199] (E)-2-(3-甲基-2-丁烯-1-基)-3,3',4',5-四羟基二苯乙烯(USYDS8)。

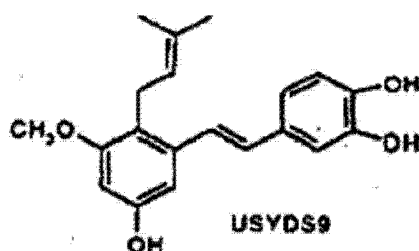
[0200]



[0201] $C_{19}H_{20}O_4$ 1H NMR(丙酮- d_6 , 400MHz): δ 7.07(d, J=2Hz, 1H), 7.15(d, J=16Hz, 1H), 6.89(dd, J=8, 2Hz, 1H), 6.81(d, J=8Hz, 1H), 6.80(d, J=16Hz, 1H), 6.35(d, J=2Hz, 1H), 6.63(d, J=2Hz, 1H), 5.15(t, J=7Hz, 1H), 3.42(d, J=7Hz, 2H), 1.81(s, 3H), 1.65(s, 3H). ^{13}C NMR(丙酮- d_6 , 100MHz): δ 155.9, 155.8, 145.4, 145.3, 138.4, 130.1, 129.7, 129.4, 124.5, 123.9, 117.4, 119.0, 115.4, 112.9, 103.4, 101.6, 24.0, 25.0, 17.2. HRESIMS: (m/z) 313.1434(M+H) $^+$, $C_{19}H_{21}O_4$ 的计算值 313.1440.

[0202] (E)-2-(3-甲基-2-丁烯-1-基)-3',4',5-三羟基-3-甲氧基二苯乙烯(USYDS9)。

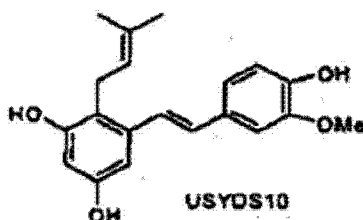
[0203]



[0204] $C_{20}H_{22}O_4$ 1H NMR(丙酮- d_6 , 400MHz): δ 7.16(d, J=16Hz, 1H), 7.07(d, J=2Hz, 1H), 6.90(dd, J=8, 2Hz, 1H), 6.85(d, J=16Hz, 1H), 6.82(d, J=8Hz, 1H), 6.71(d, J=2Hz, 1H), 6.39(d, J=2.3Hz, 1H), 5.09(1H, t, J=7Hz, 1H), 3.78(s, 3H), 3.40(d, J=7Hz, 2H), 1.80(s, 3H), 1.64(s, 3H). ^{13}C NMR(丙酮- d_6 , 100MHz): δ 158.5, 156.3, 145.3(2C), 138.0, 130.1, 130.0, 129.6, 123.7, 124.2, 119.1, 118.9, 115.3, 112.9, 103.7, 98.1, 55.0, 25.0, 23.9, 17.2. HRESIMS: m/z 327.1592(M+H) $^+$, $C_{20}H_{23}O_4$ 的计算值 327.1596.

[0205] (E)-2-(3-甲基-2-丁烯-1-基)-3,4',5-三羟基-3'-甲氧基二苯乙烯(USYDS10)。

[0206]

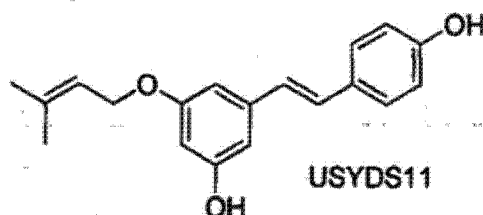


[0207] $C_{20}H_{22}O_4$ 1H NMR(丙酮- d_6 , 400MHz): δ 7.13(d, J=16Hz, 1H), 7.02(dd, J=8, 2Hz, 1H), 7.00(s, 1H), 6.92(d, J=8Hz, 1H), 6.85(d, J=16Hz, 1H), 6.66(d, J=2Hz, 1H), 6.30(d, J=2Hz, 1H), 5.20(t, J=7Hz, 1H), 3.95(s, 3H), 3.43(d, J=7Hz, 2H), 1.84(s, 3H), 1.75(s, 3H). ^{13}C NMR(丙酮- d_6 , 100MHz): δ 155.4, 154.4, 146.7, 145.7, 138.8, 133.6, 131.2, 130.1, 124

. 2, 122. 5, 120. 5, 117. 7, 114. 6, 108. 4, 105. 3, 102. 5, 55. 9, 25. 8, 25. 1, 18. 0. HRESIMS: m/z 349. 1411 ($M+Na$)⁺, $C_{20}H_{22}O_4Na$ 的计算值 349. 1416.

[0208] (E)-3-(3-甲基-2-丁烯氧基)-4',5-二羟基二苯乙烯(USYDS11)。

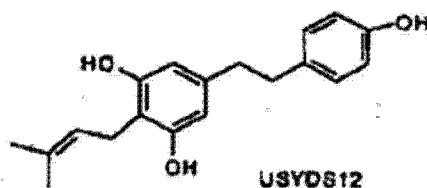
[0209]



[0210] $C_{19}H_{22}O_3$ 1H NMR($CDCl_3$, 400MHz): δ 7. 38 (dd, $J=7$, 2Hz, 2H), 7. 00 (d, $J=16$ Hz, 1H), 6. 84 (d, $J=16$ Hz, 1H), 6. 82 (dd, $J=7$, 2Hz, 2H), 6. 64 (t, $J=2$ Hz, 1H), 6. 56 (t, $J=2$ Hz, 1H), 6. 33 (t, $J=2$ Hz, 1H), 5. 50 (t, $J=7$ Hz, 1H), 4. 51 (d, $J=7$ Hz, 2H), 1. 81 (s, 3H), 1. 76 (s, 3H). ^{13}C NMR($CDCl_3$, 100MHz): δ 160. 4, 156. 7, 155. 4, 139. 9, 138. 4, 130. 1, 128. 8, 128. 0 (2C), 126. 3, 119. 5, 115. 6 (2C), 105. 6, 105. 5, 101. 3, 64. 9, 25. 8, 18. 2.

[0211] 4-(3-甲基-2-丁烯-1-基)-3,4',5-三羟基二氢二苯乙烯(USYDS12)。

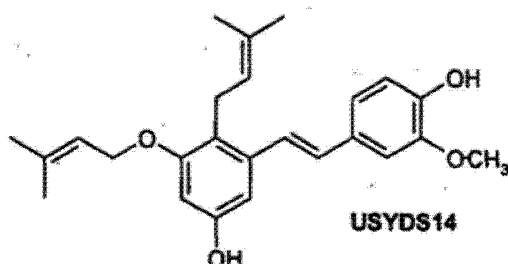
[0212]



[0213] $C_{19}H_{22}O_4$ 1H NMR(CD_3OD , 400MHz) δ 6. 97 (d, $J=8$ Hz, 2H), 6. 66 (d, $J=8$ Hz, 2H), 6. 13 (s, 2H), 5. 22 (t, $J=7$ Hz, 1H), 3. 24 [d, $J=7$ Hz, 2H], 2. 72 (m, 2H), 2. 64 (m, 2H), 1. 74 (s, 3H), 1. 64 (s, 3H). ^{13}C NMR(CD_3OD , 100MHz): δ 155. 5 (2C), 154. 9, 140. 3, 132. 9, 129. 4, 128. 9 (2C), 123. 6, 114. 6 (2C), 112. 3, 106. 5 (2C), 38. 0, 36. 8, 24. 5, 21. 7, 16. 5.

[0214] (E)-2-(3-甲基-2-丁烯-1-基)-3-(3-甲基-2-丁烯氧基)-3',4',5-三羟基二苯乙烯(USYDS14)。

[0215]

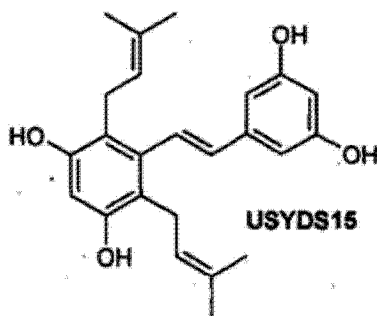


[0216] 无色固体, 产量 12mg。ESI-MS: m/z 379 [$M-1$]⁻, 1H -NMR(400MHz, CD_3OD): δ 7. 07 (d, $J=16$ Hz, 1H), 6. 96 (d, $J=4$ Hz, 1H), 6. 80 (dd, $J=8$, 4Hz, 1H), 6. 79 (d, $J=16$ Hz, 1H), 6. 74 (d, $J=8$ Hz, 1H), 6. 61 (d, $J=4$ Hz, 1H), 6. 32 (d, $J=4$ Hz, 1H), 5. 47 (m, 1H), 5. 06 (m, 1H), 4. 48 (m, 2H), 3. 37 (m, 2H), 1. 78 (m, 6H), 1. 75 (m, 3H), 1. 66 (m, 3H). ^{13}C -NMR(100MHz, CD_3OD): δ 16. 75, 16. 80, 23. 84, 24. 45, 24. 54, 64. 86, 99. 04, 103. 41, 112. 39, 114. 96, 118. 71, 119. 14, 120. 14, 123. 54, 123. 97, 129. 51, 129. 70, 130. 01, 136. 78, 137. 95, 145. 08, 145. 09, 155. 5

9, 157. 47. HRMS: 379. 19148 [M-1]⁻, (C₂₄H₂₇O₄ 的计算值 379. 19092).

[0217] (E)-2, 6-二(3-甲基-2-丁烯-1-基)-3, 3', 5, 5'-四羟基二苯乙烯 USYDS15

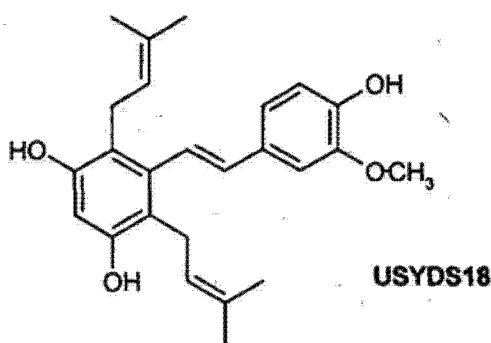
[0218]



[0219] 无色固体, 产量 9mg。ESI-MS: m/z 379 [M-1]⁻, ¹H NMR (400MHz, CD₃OD): δ 6. 91 (s, 1H), 6. 82 (d, J=16Hz, 1H), 6. 73 (s, 1H), 6. 72 (s, 1H), 6. 28 (s, 1H), 6. 27 (d, J=16Hz, 1H), 5. 12 (m, 1H), 3. 26 (m, 2H), 1. 65 (m, 6H), 1. 59 (m, 6H). ¹³C-NMR (100MHz, CD₃OD): δ 16. 75 (2C), 24. 53 (2C), 25. 60 (2C), 100. 93, 112. 27, 114. 86, 117. 66 (2C), 118. 24, 124. 06, 124. 63 (2C), 128. 93 (2C), 130. 20, 133. 33, 139. 41, 144. 73, 144. 97, 153. 04 (2C). HRMS: 379. 19149 [M-1]⁻, (C₂₄H₂₇O₄ 的计算值 379. 19092).

[0220] (E)-2, 6-二(3-甲基-2-丁烯-1-基)-3, 4', 5-三羟基-3'-甲氧基二苯乙烯 USYDS18

[0221]



[0222] 产量 5mg。ESI-MS: m/z 393 [M-1]⁻. ¹H NMR: (CD₃OD, 400MHz) δ 7. 03 (d, J=2Hz, 1H), 6. 87 (d, J=17Hz, 1H), 6. 85 (dd, J=8, 2Hz, 1H), 6. 77 (d, J=8Hz, 1H), 6. 33 (d, J=17Hz, 1H), 6. 30 (s, 1H), 5. 14 (br t, J=6Hz, 2H), 3. 88 (s, 3H), 3. 26 {br d, J=6Hz, 4H}, 1. 66 {br s, 6H}, 1. 60 (br s, 6H). ¹³C NMR (CD₃OD, 100MHz): δ 18. 37. (2C), 26. 12 (2C), 27. 20 (2C), 56. 53, 102. 58, 110. 27, 116. 42, 119. 23 (2C), 121. 03, 126. 02 (2C), 126. 31, 130. 41 (2C), 131. 7, 134. 87, 140. 95, 147. 51, 149. 26, 154. 65 (2C). HRMS: 417. 20363 [M+23]⁺, (C₂₅H₃₀O₄Na 的计算值 417. 20418).

[0223] 异戊烯化多羟基二苯乙烯的化学改性及合成

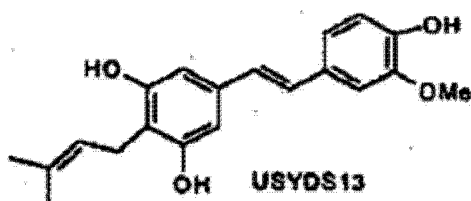
[0224] A. 0-异戊烯基多羟基二苯乙烯至 C-异戊烯基多羟基二苯乙烯的重排

[0225] 在微波反应器 (CEM Discover Microwave) 中于 120℃ 将 USYDS2 (5mg) 和 Florisil (5mg) 在二甲苯 (2ml) 中的混合物加热 30min。在减压下干燥产物并使用 NPSCC 纯化。检测到两种重排产物, 组合产率为约 30%。

[0226] 检测到的主产物为 (E)-4-(3-甲基-2-丁烯-1-基)-3, 4', 5-三羟基-3'-甲氧基二苯乙烯

基二苯乙烯(USDYS13) :

[0227]



[0228] 检测到的次产物为 (E)-2-(3-甲基-2-丁烯-1-基)-3,4',5-三羟基-3'-甲氧基二苯乙烯(USDYS10)。

[0229] B. 异戊烯化多羟基二苯乙烯的合成

[0230] 1. 3,5-二羟基苯甲酸甲酯(1)的制备

[0231] 向 3,5-二羟基苯甲酸(10g, 64.9mmol)的无水甲醇(150mL)溶液中滴加乙酰氯(2mL, 28.1mmol)。在 N₂ 下将混合物加热回流 17 小时。蒸去溶剂并将残留物溶解于乙酸乙酯(100mL)中,然后用饱和碳酸氢钠(3x100mL)洗涤。用水(2x100mL)洗涤合并的有机层,用硫酸钠干燥,过滤并真空浓缩得到作为无色固体的 2 (9.80g, 90%): mp167-168°C (lit. ¹mp168-169°C); ¹H NMR(400MHz, 丙酮-d₆) δ 8.66(s, 2H), 7.00(d, J=2.4Hz, 2H), 6.59(t, J=2.4Hz, 2H), 3.83(s, 3H)。

[0232] 2. 3-羟基-5-苄氧基苯甲酸甲酯(2)的制备

[0233] 在 0°C 在 N₂ 下,向 NaH(60% 分散于矿物油中, 3.3g, 137.3mmol)的无水 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)(100mL)的悬浮液中加入 2 (10g, 59.5mmol)的无水 DMF (30mL)溶液,然后滴加苄基溴(6.4mL, 53.8mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 2 小时,用冷水(50mL)冷激,用冷的 1M HCl(20mL)酸化并且使用二乙醚(3x50mL)萃取。用水(2x50mL)洗涤合并的有机萃取物,用硫酸钠干燥,过滤并真空浓缩。使用 NPSCC 使用由氯仿/乙醇组成的逐步梯度纯化产物得到灰白色固体的 2 (4.5g, 60%)²: mp97-98°C (lit. ³mp98°C); C₁₅H₁₄O₄¹ ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 8.01(s, 1H), 7.43-7.33(m, 5H), 7.24(dd, J=2.0, 1.2Hz, 1H), 7.20(dd, J=2.0, 1.2Hz, 1H), 6.70(t, J=2.0Hz, 1H), 5.07(s, 2H), 3.90(s, 3H)。

[0234] 3. 3-羟基-5-苄氧基苯甲酸(3)的制备

[0235] 向 2 (4.5g, 16.7mmol)的甲醇(30mL)溶液中加入 1M NaOH(60mL, 60mmol)。在 45°C 在 N₂ 下,将所得到的反应混合物搅拌 4 小时,然后加入 1M HCl(50mL)以酸化该溶液,然后用乙酸乙酯(3x40mL)萃取。用水(2x30mL)洗涤合并的有机萃取液并用硫酸钠干燥。在真空下蒸发出溶剂得到作为灰白色固体的 3 (4.02g, 94%): mp196-198°C; C₁₄H₁₂O₄¹ ¹H NMR(400MHz, 丙酮-d₆) δ 7.42-7.33(m, 5H), 7.21(dd, J=2.4, 1.2Hz, 1H), 7.11(dd, J=2.4, 1.2Hz, 1H), 6.68(t, J=2.4Hz, 1H), 5.07(s, 2H)。

[0236] 4. 3-羟基-5-甲氧基苯甲酸(4)的制备

[0237] 使用甲基碘代替苄基溴如上所述来制备标题化合物,得到作为灰白色固体的 4, mp199-200°C (lit. ⁴mp. 199-200°C); C₈H₈O₄¹ ¹H NMR(400MHz, 丙酮-d₆) δ 8.01(s, 2H), 7.16(t, J=1.2Hz, 1H), 7.13(t, J=1.2Hz, 1H), 6.15(t, J=2.4Hz, 1H), 3.82(s, 3H)。

[0238] 5. 3-乙酰氧基-5-苄氧基苯甲酸(5)的制备

[0239] 向 3 (4.02g, 17.6mmol)的乙酸酐(20mL, 21.6mmol)溶液中加入吡啶(10%, 0.15mL,

1.76mmol)。将该混合物在室温下搅拌 4 小时,用水(30mL)冷激,通过 0.1M HCl (10mL)酸化并且使用乙酸乙酯(3x40mL)萃取。用水(2x30mL)洗涤合并的有机萃取液,用硫酸钠干燥并且过滤。真空蒸去溶剂并且在己烷/乙酸乙酯的(1:1)混合物中重结晶得到作为粉红色晶体的 5 (3.86g,96%)⁵:mp133-134°C;C₁₆H₁₄O₅¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7.59(dd, J=2.4, 1.2 Hz, 1H), 7.45(dd, J=2.4, 1.2Hz, 1H), 7.43-7.34(m, 5H), 6.99(t, J=2.4Hz, 1H), 5.1(s, 2H), 2.32(s, 3H)。

[0240] 6.3-乙酰氧基-5-甲氧基苯甲酸(6)的制备

[0241] 如 5 中所述的制备标题化合物,得到作为灰白色固体的 6:mp151-153°C;C₁₀H₁₀O₅¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7.50(dd, J=2.0, 1.4Hz, 1H), 7.43(dd, J=2.0, 1.4Hz, 1H), 6.90(t, J=2.0Hz, 1H), 3.86(s, 3H), 2.32(s, 3H)。

[0242] 7.3-甲氧基-4-苄氧基苯甲醛(7)的制备

[0243] 在 0°C 在 N₂ 下,通过注射器向 NaH (60% 分散于矿物油中,1.6g,66.6mmol) 的无水 DMF (50mL) 的悬浮液中缓慢加入香草醛(4-羟基-3-甲氧基苯甲醛,4g,26.3mmol) 的无水 DMF (20mL) 溶液,然后逐滴加入苄基溴(3mL,25.2mmol)。将该混合物在室温下搅拌 4 小时,用冷水(30mL)冷激,用冷的 1M HCl (15mL) 酸化并且使用二乙醚(3x40mL) 萃取。用水(2x30mL) 洗涤合并的有机萃取液,用硫酸钠干燥并且减压干燥得到作为无色固体的 7 (6g,92%):mp60-62°C (lit.⁶mp61-62°C);C₁₅H₁₄O₃¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 9.84(s, 1H), 7.43-7.31(m, 7H), 7.00(d, J=8.4Hz, 1H), 5.25(s, 2H), 3.95(s, 3H)。

[0244] 8.4-甲氧基-3-苄氧基苯甲醛(8)的制备

[0245] 如 7 中所述的制备标题化合物,得到作为无色固体的 8:mp61-63 °C (lit.⁷mp61-63 °C);C₁₅H₁₄O₃¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 9.80(s, 1H), 7.49-7.31(m, 7H), 7.00(d, J=8.1Hz, 1H), 5.20(s, 2H), 3.97(s, 3H)。

[0246] 9.4-乙烯基-2-甲氧基-1-苄氧基苯(9)的制备

[0247] 在 0°C 在 N₂ 下,向甲基三苯基溴化膦(6.5g,18.2mmol) 的无水四氢呋喃(THF) (15mL) 的悬浮液中加入叔丁醇钾(2.3g,20.5mmol),并且将反应混合物温热至室温。逐滴地加入苄基香草醛(7) (4g,16.5mmol) 的无水 THF (15mL) 溶液并搅拌 2 小时,然后用冷水(20mL)冷激,用 0.1M HCl (20mL) 酸化,并且使用乙酸乙酯(3x40mL) 萃取。用 20% 氯化钠水溶液(20mL) 洗涤合并的有机萃取液,然后减压干燥。使用 NPSCC 使用由己烷/乙酸乙酯组成的逐步梯度流动相纯化产物,得到作为无色固体的 9 (3.37g,85%);mp53-54°C (lit.⁸mp50-51°C);C₁₆H₁₆O₂¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7.45-7.28(m, 5H), 6.99(d, J=2Hz, 1H), 6.90(dd, J=4, 1Hz, 1H), 6.83(d, J=4Hz, 1H), 6.68(dd, J=17, 1Hz, 1H), 5.64(dd, J=17, 1Hz, 1H), 5.17(s, 2H), 5.14(d, J=1Hz, 1H), 3.92(s, 3H)。

[0248] 10.5-乙烯基-2-甲氧基-1-苄氧基苯(10)的制备

[0249] 如 9 中所述的制备标题化合物,得到作为灰白色固体的 10:mp68-69 °C (lit.⁹mp68-69°C);C₁₆H₁₆O₂¹H NMR(400MHz, CDCl₃): δ 7.48-7.31(m, 5H), 7.01(d, J=2Hz, 1H), 6.97(dd, J=8, 2Hz, 1H), 6.85(d, J=8Hz, 1H), 6.64(dd, J=17, 1Hz, 1H), 5.56(dd, J=17, 1Hz, 1H), 5.17(s, 2H), 5.12(d, J=1Hz, 1H), 3.92(s, 3H)。

[0250] 11.E-1-[3-乙酰氧基-5-苄氧基苯基]-2-[3-甲氧基-4-苄氧基苯基] 乙烯(11)的制备:

[0251] 在 N_2 下在室温下, 向 N,N-二(2,6-二异丙基)二氢氯化咪唑(0.093g, 10%, 0.217mmol) 和 $Pd(OAc)_2$ (0.048g, 10%, 0.217mmol) 的二甲苯(3mL) 溶液中加入 5 的酰氯(0.7g, 2.17mmol) 的二甲苯溶液 2mL, 随后加入 4-乙基吗啉(0.04mL, 0.316mmol) 和试剂 9 (0.627g, 2.61mmol) 的二甲苯(3mL) 溶液。将该混合物在 130℃ 加热 18-22 小时。真空蒸去溶剂并且使用 NPSCC (己烷 / 乙酸乙酯 3:1 作为流动相) 纯化该产物得到作为黄色油状物的 11 (0.33g, 31.6%); $C_{31}H_{28}O_5$ 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.45-7.28(m, 13H), 7.06(d, J=2.0Hz, 1H), 7.02(d, J=17Hz, 1H), 6.97(dd, J=6, 2Hz, 1H), 6.89(m, 1H), 6.62(t, J=2Hz, 1H), 5.18(s, 2H), 5.07(s, 2H), 3.94(s, 3H), 2.30(s, 3H); ^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 169.39, 159.78, 151.81, 149.79, 148.32, 139.82, 137.00, 136.57, 130.48, 129.78, 128.63(2C), 128.58(2C), 128.10, 127.88, 127.55(2C), 127.24(2C), 126.02, 119.98, 113.95, 112.02, 110.50, 109.48, 107.28, 71.0, 70.27, 56.02, 21.19; CI-MS m/z (%): 481 ($M+1$)⁺, 503 ($M+Na$)⁺; HRMS: m/z 503.1828 ($M+Na$)⁺, $C_{31}H_{28}O_5Na$ 的计算值 503.1834。

[0252] 12.E-1-[3-乙酰基-5-苄氧基苯基]-2-[3-苄氧基-4-甲氧基苯基] 乙烯(12) 的制备

[0253] 如 11 中所述的将 5 的酰氯与试剂 10 缩聚来制备标题化合物。从己烷 / 甲苯的混合物(2:1) 中对产物进行重结晶得到微黄色针状结晶; $C_{31}H_{28}O_5$ mp 133-134℃; 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.49-7.29(m, 10H), 7.07(d, J=2Hz, 1H), 7.05(dd, J=8, 2Hz, 1H), 6.97(d, J=16Hz, 1H), 6.95(t, J=2Hz, 1H), 6.89(d, J=8Hz, 1H), 6.84(t, J=2Hz, 1H), 6.82(d, J=16Hz, 1H), 6.62(t, J=2Hz, 1H), 5.18(s, 2H), 5.07(s, 2H), 3.94(s, 3H), 2.30(s, 3H); ^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 169.39, 159.76, 151.80, 149.90, 148.34, 139.83, 137.05, 136.58, 129.94, 129.78, 128.64(2C), 128.60(2C), 128.11, 127.94, 127.58(2C), 127.38(2C), 125.88, 120.59, 112.00, 111.91, 111.81, 110.52, 107.22, 71.16, 70.27, 56.06, 21.18 (CH_3CO); CI-MS m/z 481 ($M+1$)⁺, 503 ($M+Na$)⁺; HRMS m/z 503.1832 ($M+Na$)⁺, $C_{31}H_{28}O_5Na$ 的计算值 503.1834。

[0254] 13.E-1-[3-乙酰氧基-5-甲氧基苯基]-2-[3-甲氧基-4-苄氧基苯基] 乙烯(13) 的制备

[0255] 如 11 中所述的将 6 的酰氯与试剂 9 缩聚来制备标题化合物, 得到作为灰白色固体的标题化合物; mp 104-106℃; $C_{25}H_{24}O_5$ 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.45-7.30(m, 8H), 7.07(d, J=2Hz, 1H), 7.03(d, J=16Hz, 1H), 6.98(dd, J=8, 2Hz, 1H), 6.90(d, J=16Hz, 1H), 6.88(m, 1H), 5.18(s, 2H), 3.95(s, 3H), 3.83(s, 3H), 2.31(s, 3H); ^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 169.41, 160.58, 151.83, 149.78, 148.31, 139.76, 137.00, 130.49, 129.72, 128.58(2C), 127.88, 127.24(2C), 126.07, 119.97, 113.94, 111.73, 109.67, 109.46, 106.54, 71.01, 56.02, 55.50, 21.18; CI-MS m/z 405 [$M+1$]⁺; HRMS m/z 405.1695 ($M+H$)⁺, $C_{25}H_{24}O_5$ 的计算值 405.1702。

[0256] 14.E-1-[3-羟基-5-苄氧基苯基]-2-[3-甲氧基-4-苄氧基苯基] 乙烯(14) 的制备

[0257] 在 0℃ 在 N_2 下, 向二苯乙烯 11 (0.04g, 0.083mmol) 在混合溶剂(MeOH/THF/ H_2O , 3/3/3mL) 的溶液中加入 NaOH (0.02g, 0.35mmol)。将反应混合物温热至室温并且搅拌 3 小时。用 0.1M HCl(5mL) 将溶液酸化并且使用乙酸乙酯(3x20mL) 萃取。用 20% 氯化钠水溶液

(10mL)洗涤合并的有机相,用硫酸钠干燥和真空蒸发。使用 NPSCC(己烷 / 乙酸乙酯的流动相)纯化产物,然后重结晶得到作为无色固体的 14(0.016g, 44.5%); mp 114-115°C ; $C_{29}H_{26}O_4$ 1H NMR(400MHz, 甲醇- d_4) δ 7.45-7.28(m, 10H), 7.06(d, J=2Hz, 1H), 7.00(d, J=16Hz, 1H), 6.98(dd, J=8, 2Hz, 1H), 6.87(d, J=8Hz, 1H), 6.86(d, J=16Hz, 1H), 6.71(t, J=2.0Hz, 1H), 6.59(t, J=2Hz, 1H), 6.38(t, J=2Hz, 1H), 5.18(s, 2H), 5.07(s, 2H), 3.95(s, 3H); ^{13}C NMR(100MHz, 甲醇- d_4) δ 160.29, 156.78, 149.76, 148.19, 139.92, 136.98, 136.84, 130.65, 129.20, 128.61(2C), 128.57(2C), 128.02, 127.88, 127.49(2C), 127.26(2C), 126.54, 119.94, 113.96, 109.45, 105.97, 105.69, 101.54, 71.02, 70.01, 56.03; CI-MS: 461(M+Na) $^+$, 439(M+1) $^+$; HRMS m/z 439.1908(M+H) $^+$, $C_{29}H_{27}O_4$ 的计算值 439.1909。

[0258] 15.E-1-[3-羟基-5-苄氧基苯基]-2-[3-苄氧基-4-甲氧基苯基]乙烯(15)的制备

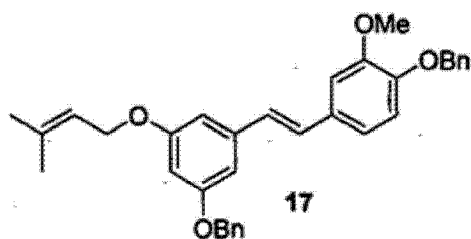
[0259] 如对化合物 14 所述的对 12 进行碱性水解得到作为无色固体的标题化合物; mp 117-119°C ; $C_{29}H_{26}O_4$ 1H NMR(400MHz, 甲醇- d_4) δ 7.49-7.30(m, 10H), 7.07(d, J=2.0Hz, 1H), 7.06(dd, J=8.4, 2.0Hz, 1H), 6.96(d, J=16.0Hz, 1H), 6.87(d, J=8.0Hz, 1H), 6.79(d, J=16.4Hz, 1H), 6.99(t, J=1.6Hz, 1H), 6.57(t, J=2.0Hz, 1H), 6.38(t, J=2.4Hz, 1H), 5.19(s, 2H), 5.07(s, 2H), 3.90(s, 3H)。 ^{13}C NMR(100MHz, 甲醇- d_4) δ 160.20, 158.30, 149.68, 148.25, 139.70, 137.41, 137.31, 130.62, 128.16, 128.07(2C), 128.05(2C), 127.52, 127.41(3C), 127.15(2C), 126.62, 120.35, 111.95(2C), 105.67, 104.09, 101.11, 70.88, 69.56, 55.10; CI-MS: m/z 461(M+Na) $^+$, 439(M+1) $^+$; HRMS m/z 439.1907(M+H) $^+$, $C_{29}H_{27}O_4$ 的计算值 439.1909。

[0260] 16.E-1-[3-羟基-5-甲氧基苯基]-2-[3-甲氧基-4-苄氧基苯基]乙烯(16)的制备

[0261] 如对化合物 14 所述的对 13 进行碱性水解得到作为淡黄色固体的标题化合物; mp 110-112°C ; $C_{23}H_{22}O_4$ 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.45-7.28(m, 5H), 7.07(d, J=2Hz, 1H), 7.00(d, J=16Hz, 1H), 6.98(dd, J=8, 2Hz, 1H), 6.87(d, J=17Hz, 1H), 6.85(d, J=8Hz, 1H), 6.62(t, J=2Hz, 1H), 6.57(t, J=2Hz, 1H), 6.31(t, J=2Hz, 1H), 5.17(s, 2H), 3.94(s, 3H), 3.81(s, 3H); ^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 161.08, 156.86, 149.73, 148.16, 139.85, 136.96, 130.69, 129.11, 128.57(2C), 127.90, 127.29(2C), 126.61, 119.95, 113.97, 109.47, 105.72, 104.73, 100.72, 71.03, 56.0-3, 55.36; CI-MS, m/z 384(M+Na) $^+$, 363(M+1) $^+$; HRMS m/z 363.1592(M+H) $^+$, $C_{23}H_{23}O_4$ 的计算值 363.1596。

[0262] 17.E-1-[3-(3-甲基丁烯基-2-烯氧基)-5-苄氧基苯基]-2-[3-甲氧基-4-苄氧基苯基]乙烯(17)的制备

[0263]

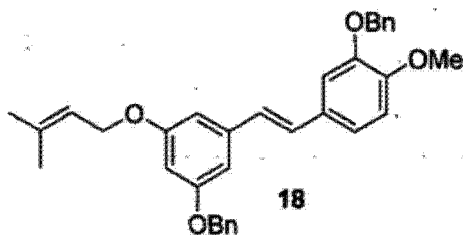


[0264] 在 0°C 在 N_2 下,向 NaH (60% 分散于矿物油中,0.0051g,0.213mmol) 的无水 DMF

(5mL) 悬浮液中逐滴加入二苯乙烯 14 (0.04g, 0.091mmol) 的 DMF (3mL) 溶液, 然后逐滴加入 3, 3- 二甲基烯丙基溴 (0.011mL, 0.091mmol)²。将该混合物在室温下搅拌 2-3 小时, 然后用冷水 (5mL) 冷激, 用冷的 0.1M HCl (5mL) 酸化并且使用二乙醚 (3x10mL) 萃取。用水 (2x10mL) 洗涤合并的有机萃取液并且减压干燥。使用 NPSCC (己烷 / 乙酸乙酯作为流动相) 对产物进行纯化得到作为淡黄色油状物的 17 (0.02g, 43.3%); $C_{34}H_{34}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.46-7.28 (m, 10H), 7.07 (d, J=2Hz, 1H), 7.01 (d, J=16Hz, 1H), 6.96 (d, J=2Hz, 1H), 6.90 (d, J=16Hz, 1H), 6.87 (d, J=8Hz, 1H), 6.73 (t, J=2Hz, 1H), 6.68 (t, J=2Hz, 1H), 6.48 (t, J=2Hz, 1H), 5.52 (m, 1H), 5.17 (s, 2H), 5.07 (s, 2H), 4.52 (d, J=7Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 1.80 (d, J=1Hz, 3H), 1.76 (d, J=1Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 160.21, 160.12, 149.78, 148.14, 139.49, 138.35, 137.03, 136.94, 130.76, 128.94, 128.59 (2C), 128.56 (2C), 127.94, 127.86, 127.54 (2C), 127.24 (2C), 126.97, 119.87, 119.53, 113.98, 109.43, 105.38, 105.32, 101.14, 71.01, 70.09, 64.84, 56.03, 25.85, 18.22; CI-MS: m/z 529 (M+Na)⁺, 507 (M+1)⁺; HRMS m/z 507.2528 (M+H)⁺, $C_{34}H_{35}O_4$ 的计算值 507.2535。

[0265] 18. E-1-[3-(3- 甲基丁烯基 -2- 烯氧基)-5- 苄氧基苯基]-2-[3- 苄氧基-4- 甲氧基苯基] 乙烯 (18) 的制备

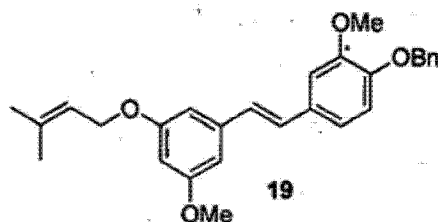
[0266]



[0267] 如对化合物 17 所述的对 15 进行异戊烯化得到作为灰白色固体的标题化合物; mp 88-90 °C; $C_{34}H_{34}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.49-7.32 (m, 10H), 7.08 (d, J=2Hz, 1H), 7.06 (dd, J=8, 2Hz, 1H), 6.97 (d, J=16Hz, 1H), 6.89 (d, J=8Hz, 1H), 6.82 (d, J=16Hz, 1H), 6.71 (t, J=2Hz, 1H), 6.66 (t, J=2Hz, 1H), 6.47 (t, J=2Hz, 1H), 5.53 (m, 1H), 5.20 (s, 2H), 5.07 (s, 2H), 4.52 (d, J=6Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 1.80 (d, J=1Hz, 3H), 1.75 (d, J=1Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 161.04, 160.95, 150.51, 149.11, 140.24, 139.03, 137.81, 137.67, 130.91, 129.57, 129.27 (4C), 128.66, 128.58, 128.22 (2C), 128.05 (2C), 127.50, 121.10, 120.20, 112.48, 112.40, 105.95, 105.86, 101.60, 71.55, 70.47, 65.18, 56.36, 026.00, 18.33; CI-MS: m/z 529 (M+Na)⁺, 507 (M+1)⁺; HRMS m/z 507.2530 (M+H)⁺, $C_{34}H_{35}O_4$ 的计算值 507.2535。

[0268] 19. E-1-[3-(3- 甲基丁烯基 -2- 烯氧基)-5- 甲氧基苯基]-2-[3- 甲氧基-4- 苄氧基苯基] 乙烯 (19) 的制备

[0269]



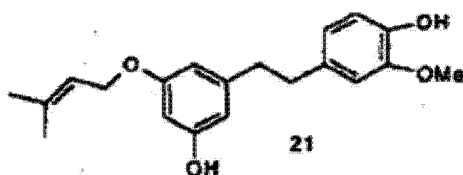
[0270] 如对化合物 17 所述的对 16 进行异戊烯化得到作为灰白色晶体的标题化合物；mp66–69 °C； $C_{28}H_{30}O_4$ 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.45–7.28(m, 5H), 7.08(d, $J=2Hz$, 1H), 7.02(d, $J=16Hz$, 1H), 6.98(d, $J=2Hz$, 01H), 6.90(d, $J=16Hz$, 1H), 6.87(d, $J=8Hz$, 1H), 6.67(t, $J=2Hz$, 1H), 6.64(t, $J=2Hz$, 1H), 6.40(t, $J=2Hz$, 1H), 5.53(m, 1H), 5.17(s, 2H), 4.53(d, $J=7Hz$, 2H), 3.96(s, 3H), 3.81(s, 3H), 1.81(d, $J=1Hz$, 3H), 1.76(d, $J=1Hz$, 3H); ^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 160.91, 160.23, 149.76, 148.14, 139.46, 138.35, 137.04, 130.78, 128.90, 128.56(2C), 127.87, 127.25(2C), 127.02, 119.86, 119.56, 113.98, 109.44, 5104.96, 104.49, 100.37, 71.02, 64.82, 56.04, 55.36, 25.86, 18.22; CI-MS: m/z 453 ($M+Na$)⁺; HRMS m/z 453.2036 ($M+Na$)⁺, $C_{28}H_{30}O_4Na$ 的计算值 453.2042。

[0271] 20. (E)-3-(3-甲基-2-丁烯氧基)-4',5-二羟基-3'-甲氧基二苯乙烯(20, 相当于 USYDS2) 的制备

[0272] 向 17 (0.02g, 0.035mmol) 的无水乙醇(8mL) 溶液中加入 1,4-环己二烯(3mL, 0.030mmol) 和 Pd-C (10%, 0.002g)。在 N_2 下搅拌该混合物并且在 80°C 下回流 4 小时。将溶液过滤并且在减压下干燥得到油状残留物, 将其通过高效液相色谱法(HPLC) 进行纯化得到作为淡黄色油状物的 20; $C_{20}H_{22}O_4$ 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 7.02(d, $J=2Hz$, 1H), 7.00(d, $J=16Hz$, 1H), 6.99(d, $J=2Hz$, 1H), 6.91(dd, $J=8, 1Hz$, 1H), 6.85(d, $J=16Hz$, 1H), 6.64(t, $J=2Hz$, 1H), 6.56(t, $J=2Hz$, 1H), 6.33(t, $J=2Hz$, 1H), 5.53(m, 1H), 4.52(d, $J=7Hz$, 2H), 3.95(s, 3H), 1.82(d, $J=1Hz$, 3H), 1.76(d, $J=1Hz$, 3H); ^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 160.38, 156.70, 146.67, 145.69, 139.87, 138.37, 129.73, 129.29, 126.15, 120.63, 119.49, 114.54, 108.24, 105.58, 105.38, 101.29, 64.85, 55.92, 25.85, 18.22; CI-MS: m/z 325 ($M-1$)⁻; HRMS m/z 327.1588 ($M+H$)⁺, $C_{20}H_{23}O_4$ 的计算值 327.1596。

[0273] 21. 3-(3-甲基-2-丁烯氧基)-4',5-二羟基-3'-甲氧基二氢二苯乙烯(21)的制备

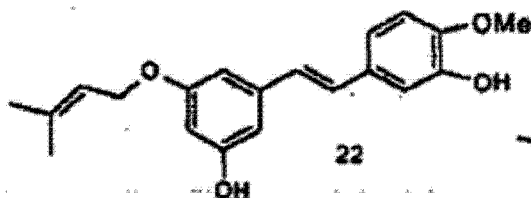
[0274]



[0275] 在脱除化合物 20 上的苄基的过程中, 通过氢化侧链上的双键获得标题化合物。得到的标题化合物为浅黄色油状物; $C_{20}H_{24}O_4$ 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 6.84(d, $J=8Hz$, 1H), 6.69(dd, $J=8, 2Hz$, 1H), 6.62(d, $J=2Hz$, 1H), 6.34(t, $J=2Hz$, 1H), 6.26(t, $J=2.0Hz$, 1H), 6.24(t, $J=2Hz$, 1H), 5.46(m, 1H), 5.46(s, 1H), 4.68(s, 1H), 4.53(d, $J=7Hz$, 2H), 3.84(s, 3H), 2.85(m, 4H), 1.80(d, $J=0.4Hz$, 3H), 1.73(d, $J=0.5Hz$, 3H); ^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) δ 160.11, 156.44, 146.22, 144.46, 143.73, 138.23, 133.61, 120.95, 119.55, 114.15, 111.10, 107.89, 107.58, 99.62, 64.72, 55.84, 38.29, 37.23, 25.84, 18.18; CI-MS: m/z 351 ($M+Na$)⁺; HRMS m/z 351.1566 ($M+Na$)⁺, $C_{20}H_{24}O_4Na$ 的计算值 351.1572。

[0276] 22. (E)-3-(3-甲基-2-丁烯氧基)-3',5-二羟基-4'-甲氧基二苯乙烯(22)的制备

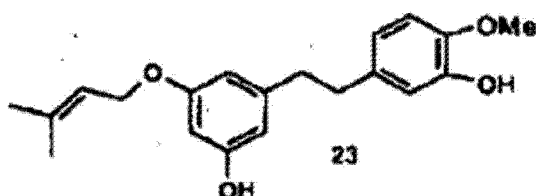
[0277]



[0278] 如对化合物 20 所述的脱除 18 的苄基得到作为浅黄色油状物的标题化合物； $C_{20}H_{22}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.13 (d, $J=2$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J=16$ Hz, 1H), 6.97 (dd, $J=8, 2$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J=8$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J=16$ Hz, 1H), 6.64 (t, $J=2$ Hz, 1H), 6.57 (t, $J=2$ Hz, 1H), 6.33 (t, $J=2$ Hz, 1H), 5.60 (s, 1H), 5.52 (m, 1H), 4.77 (s, 1H), 4.52 (d, $J=9$ Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 1.82 (d, $J=1$ Hz, 3H), 1.76 (d, $J=1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 160.37, 156.69, 146.51, 145.75, 139.83, 138.36, 130.87, 128.92, 126.78, 119.51, 119.40, 111.84, 110.62, 105.66, 105.48, 101.33, 65.18, 56.36, 26.00, 18.33; CI-MS: m/z 349.1408 ($M+Na$) $^+$, $C_{20}H_{22}O_4Na$ 的计算值 349.1416。

[0279] 23. 3-(3-甲基-2-丁烯氧基)-3',5-二羟基-4'-甲氧基二氢二苯乙烯(23)的制备

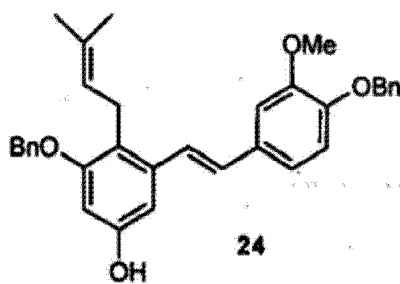
[0280]



[0281] 在脱除化合物 18 上的苄基的过程中,通过氢化侧链上的双键获得标题化合物。所获得的标题化合物为浅黄色油状物; $C_{20}H_{24}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 6.79 (d, $J=2$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J=4$ Hz, 1H), 6.66 (dd, $J=8, 2$ Hz, 1H), 6.35 (t, $J=2$ Hz, 1H), 6.27 (m, 1H), 5.56 (s, 1H), 5.50 (m, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.46 (d, $J=7$ Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 2.80 (m, 4H), 1.80 (d, $J=1$ Hz, 3H), 1.74 (d, $J=1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 160.11, 156.42, 145.41, 144.80, 144.51, 138.18, 135.07, 119.73, 119.59, 114.59, 110.55, 107.81, 107.49, 99.64, 64.73, 55.00, 38.05, 36.89, 25.83, 18.18; CI-MS: m/z 351 ($M+Na$) $^+$; HRMS m/z 351.1566 ($M+Na$) $^+$, $C_{20}H_{24}O_4Na$ 的计算值 351.1572。

[0282] 24. E-1-[2-(3-甲基-2-丁烯基)-5-羟基-3-苄氧基苯基]-2-[3-甲氧基-4-苄氧基苯基]乙烯(24)的制备

[0283]

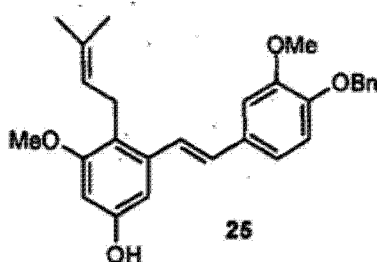


[0284] 向 17 (0.024g, 0.061mmol) 的甲苯(30mL)溶液中加入 100-200 目 Florisil (0.24g, 10x) 并且在 110℃ 在 N_2 下加热 4 小时。将反应混合物过滤,真空蒸发并且使用

NPSCC (己烷 / 乙酸乙酯作为流动相) 对红棕色残留物进行纯化得到微褐色固体 (0.014g, 58.3%)。在己烷 / 乙酸乙酯 (3:1) 混合物中对产物进行重结晶得到作为灰白色固体的 24; mp 145–150 °C; $C_{34}H_{34}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.46–7.28 (m, 10H), 7.20 (d, $J=16$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J=2$ Hz, 1H), 6.97 (dd, $J=8, 2$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J=16$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J=8$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J=2$ Hz, 1H), 6.40 (d, $J=2$ Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 5.17 (m, 1H), 5.05 (s, 2H), 4.69 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.48 (d, $J=7$ Hz, 2H), 1.73 (d, $J=1$ Hz, 3H), 1.67 (d, $J=1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 157.60, 154.27, 149.76, 148.08, 138.31, 137.14, 137.04, 131.18, 130.59, 130.35, 128.56 (2C), 128.49 (2C), 127.86, 127.78, 127.23 (2C), 127.21 (2C), 124.74, 123.63, 121.13, 119.85, 113.99, 109.47, 104.31, 99.53, 71.03, 70.29, 55.98, 25.77, 24.69, 18.01。

[0285] 25. (E)-1-[2-(3-甲基-2-丁烯基)-5-羟基-3-甲氧基苯基]-2-[3-甲氧基-4-苄氧基苯基] 乙烯 (25) 的制备

[0286]



[0287] 如对化合物 24 所述的对 19 进行重排得到粉红色固体: mp 161–162 °C; $C_{28}H_{30}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.46–7.28 (m, 5H), 7.19 (d, $J=16$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J=2$ Hz, 1H), 6.97 (d, $J=8, 2$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J=16$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J=8$ Hz, 1H), 6.66 (t, $J=2$ Hz, 1H), 6.40 (t, $J=2$ Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 5.13 (m, 1H), 4.64 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.42 (d, $J=6$ Hz, 2H), 1.80 (d, $J=1$ Hz, 3H), 1.68 (d, $J=1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ 158.56, 154.35, 149.76, 148.07, 138.11, 137.04, 131.21, 130.63, 130.24, 128.56 (2C), 127.86, 127.22 (2C), 124.73, 123.61, 120.78, 119.84, 113.99, 109.42, 103.88, 98.21, 71.03, 55.97, 55.68, 25.77, 24.46, 17.98; CI-MS: m/z 453 ($M+Na$)⁺, 431 ($M+1$)⁺; HRMS m/z 431.2217 ($M+1$)⁺, $C_{28}H_{31}O_4$ 的计算值 431.2222。

[0288] 26. (E)-2-(3-甲基-2-丁烯-1-基)-3,4',5-三羟基-3'-甲氧基二苯乙烯 (26, 相当于 USYDS10) 的制备

[0289] 向 24 (0.02g, 0.035mmol) 的纯乙醇 (6mL) 的溶液中加入 1,4-环己二烯 (3mL) 和 Pd-C (10%, 0.0035mmol)。在 N_2 下搅拌该混合物并且在 80 °C 下加热 4 小时。将溶液过滤并真空蒸发得到油状残留物, 使用 NPSCC (己烷 / 乙酸乙酯作为流动相) 对其进行纯化, 然后用正相 HPLC (2:1 己烷 / 异丙醇为流动相) 进行纯化得到浅黄色油状的标题化合物: 数据类似于 USYDS10。

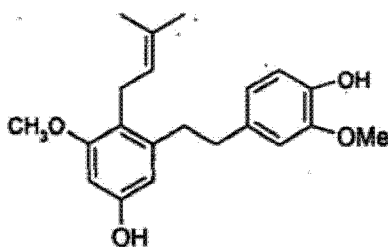
[0290] 27. (E)-2-(3-甲基-2-丁烯-1-基)-5,4'-二羟基-3',3-二甲氧基二苯乙烯 (27, 相当于 USYDS1) 的制备

[0291] 使用如对化合物 25 所述的程序制备标题化合物, 得到作为浅黄色油状物的 27; $C_{21}H_{24}O_4$ 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.17 (d, $J=16$ Hz, 1H), 7.01 (dd, $J=12, 2$ Hz, 1H), 7.0 (d, $J=2$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J=8$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J=16$ Hz, 1H), 6.66 (t, $J=2$ Hz, 1H), 6.36 (t, $J=2$ Hz, 1H), 5.1

5 (m, 1H), 4.64 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.42 (d, J=7Hz, 2H), 1.81 (d, J=1Hz, 3H), 1.68 (d, J=1Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ 158.57, 154.37, 146.68, 145.60, 138.18, 130.61, 130.44, 130.27, 124.28, 123.67, 120.73, 120.58, 114.55, 108.26, 103.88, 98.18, 55.88, 55.71, 25.79, 24.48, 17.98; CI-MS: m/z 339 ($\text{M}-1$)⁻; HRMS m/z 363.1566 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Na}$ 的计算值 363.1572。

[0292] 28. 2-(3-甲基-2-丁烯-1-基)-5,4'-二羟基-3',3-二甲氧基二氢二苯乙烯 (28) 的制备

[0293]



[0294] 在脱除化合物 27 上的苄基的过程中,通过氢化侧链上的双键获得标题化合物。所获得的标题化合物为浅黄色油状物; $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_4$ ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 6.86 (d, J=8Hz, 1H), 6.70 (dd, J=8, 2Hz, 1H), 6.64 (d, J=2Hz, 1H), 6.30 (d, J=2Hz, 1H), 6.24 (d, J=2Hz, 1H), 5.48 (s, 1H), 5.07 (m, 1H), 4.67 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.28 (d, J=6Hz, 2H), 2.82 (m, 4H), 1.74 (d, J=1Hz, 3H), 1.66 (d, J=1Hz, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ 158.63, 154.23, 146.23, 143.73, 142.01, 133.93, 130.59, 123.87, 120.92, 120.67, 114.21, 111.02, 107.96, 96.90, 55.84, 55.60, 37.19, 35.49, 25.76, 24.38, 17.95; CI-MS: m/z 365 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺; HRMS m/z 365.1723 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{Na}$ 的计算值 365.1729。

[0295] 异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物的生物学评价

[0296] 1. 异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物的抗癌活性

[0297] A) 在美国国家癌症研究所 (National Cancer Institute, NCI) 中, 针对 60 种细胞系, 评价七种异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物 (即, USYDS1 至 USYDS7) 在一系列浓度 (1×10^{-8} – 1×10^{-4} M) 浓度下对细胞生长的抑制, 如下表 1 中所示。

[0298] 体外癌症筛选的方法: NCI 所采用的一般方法

[0299] 将人类肿瘤细胞系生长于含有 5% 牛胎血清和 2mM L-谷氨酰胺的 RPMI1640 培养基中。对于典型实验, 取决于个体细胞系的倍增时间, 以 5000–40000 细胞 / 孔范围内的接种密度, 以 100 μL 将细胞接种到 96 孔微量滴定板中。在细胞接种后, 将该微量滴定板在 37°C、5% CO_2 、95% 空气和 100% 相对湿度的条件下温育 24 小时, 然后加入药物。

[0300] 24h 后, 用三氯乙酸 (TCA) 原位固定两个板的各细胞系, 以表示在加入药物时各细胞系的细胞群的测量。以 400 倍于所需的最终最大测试浓度将实验药物溶解于二甲基亚砜 (DMSO) 中, 并且在使用前冷冻保存。在药物添加时, 解冻等分试样的冷冻浓缩物, 并且用含有 50 $\mu\text{g/mL}$ 庆大霉素的完全培养基将其稀释至两倍于所需的最终最大测试浓度。将 100 μL 等分试样的药物加入到已经含有 100 μL 培养基的适合微滴板孔中, 得到所需的最终药物浓度。

[0301] 在加入药物后, 将板在 37°C、5% CO_2 、95% 空气和 100% 相对湿度的条件下再温育 48h。对于贴壁细胞, 通过添加冷的 TCA 来终止实验。通过温和添加 50 μL 冷的 50% (w/

v) TCA (最终浓度, 10%TCA) 来原位固定细胞, 并且在 4℃ 下温育 60 分钟。弃去上清液, 用自来水将板洗涤五次并风干。向每个孔中加入 0.4% (w/v) 处于 1% 乙酸中的磺基罗丹明 B (SRB) 溶液 (100 μ L), 并且将板在室温下温育 10 分钟。染色后, 用 1% 的乙酸洗涤五次去除未结合的染料, 并且将板风干。随后用 10mM trizma 碱溶解结合的染料, 并且在自动酶标仪上在 515nm 的波长下读取吸光度。对于悬浮细胞, 方法是一样的, 除了实验是通过温和地添加 50 μ L 80% 的 TCA (最终浓度, 16%TCA) 而将沉降的细胞固定在孔的底部来终止的, 并在在自动酶标仪上在 515nm 的波长下读取吸光度。计算 USYDS1-USYDS7 各自的 GI_{50} 值 (细胞生长的 50% 抑制所需的浓度)、TGI 值 (细胞生长的完全抑制所需的浓度) 和 LC_{50} 值 (50% 细胞致死率或死亡所需的浓度), 结果如以下表 1-3 所示。

[0302] 表 1 : pPHOS USYDS1 至 USYDS3 对人类癌症细胞生长的影响

[0303]

化合物	USYDS1 (μM)			USYDS2 (μM)			USYDS3 (μM)		
白血病	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀
CCRF-CEM	0.35	24.6	>100	5.06	>100	>100	6.56	>100	>100
HL-60 (TB)	0.02	0.06	68.9	1.34	9.77	>100	2.55	17.1	>100
K-562	0.04	11.7	>100	0.48	>100	>100	4.08	57.5	>100
MOLT-4	0.43	12.3	80.2	4.16	28.3	>100	2.95	13.7	>100
RPMI-8226	0.11	14.8	>100	4.32	52.8	>100	9.05	51.6	>100
SR	0.04	24.4	>100	0.54	>100	>100	2.80	>100	>100
非小细胞肺癌									
A549/ATCC	0.50	11.3	40.3	3.28	13.0	42.1	4.01	20.4	>100
EKVX	10.8	24.3	54.4	9.04	25.2	66.4	12.8	54.6	>100
HOP-62	0.44	16.0	42.2	4.44	18.5	43.4	5.66	20.4	53.7
HOP-92	0.06	12.3	39.6	3.98	21.1	60.1	5.96	30.5	>100
NCI-H226	3.13	13.3	45.6	5.43	19.1	46.4	10.9	50.1	>100
NCI-H23	0.28	15.1	62.5	2.89	23.6	>100	5.66	28.0	>100
NCI-H322M	11.8	25.7	55.9	9.64	22.7	52.3	5.90	28.5	>100
NCI-H460	0.23	1.38	42.0	2.47	10.9	58.7	3.09	15.6	>100
NCI-H522	0.02	-	44.8	1.14	3.57	14.7	2.13	59.8	25.6
结肠癌									
COLO 205	3.86	16.1	42.6	17.3	31.7	57.9	15.6	28.9	53.8
HCC-2998	1.07	11.5	35.8	4.61	17.3	46.4	11.0	30.6	85.3
HCT-116	0.30	11.1	40.4	2.09	11.9	40.0	4.33	15.6	45.6
HCT-15	0.05	16.1	>100	0.76	17.8	97.3	4.25	20.5	84.5
HT29	4.73	15.3	44.4	17.4	32.2	59.6	17.8	36.9	76.8
KM12	0.32	13.9	46.7	2.09	11.7	45.0	3.15	16.1	49.0
SW-620	0.04	15.1	44.3	0.53	14.0	40.7	3.98	15.9	42.8
CNS 癌									
SF-268	0.25	14.1	50.2	4.50	19.2	51.6	6.17	32.9	>100
SF-295	0.65	16.2	55.7	3.94	14.7	49.2	5.22	23.5	77.5
SF-539	0.04	14.4	48.6	1.92	13.8	50.2	7.32	29.9	>100
SNB-19	0.17	19.3	51.5	5.02	20.4	53.6	8.02	24.2	64.5
SNB-75	0.03	20.2	72.0	2.14	10.3	55.8	5.47	36.6	>100
U251	0.37	10.9	36.0	2.96	14.7	41.0	5.47	20.7	57.6
黑素瘤									
LOX IMVI	0.05	16.2	58.8	1.56	19.4	>100	4.48	20.2	80.0
MALME-3M	3.47	25.8	78.3	1.88	26.2	94.9	5.53	32.1	>100
M14	0.04	13.9	44.0	0.53	15.4	49.4	4.92	18.5	51.6
MDA-MB-435	0.03	13.8	43.0	0.34	11.0	41.3	3.08	15.9	>100

[0304]

SK-MEL-2	0.32	10.6	38.0	1.25	9.59	41.6	3.09	9.37	40.2
SK-MEL-28	10.9	23.8	51.7	5.04	19.4	46.7	5.64	22.5	70.5
SK-MEL-5	0.05	0.75	5.99	1.58	11.5	34.3	2.50	8.54	29.2
UACC-257	2.53	17.7	45.4	7.89	20.6	46.0	5.35	18.1	44.0
UACC-62	1.62	18.3	46.6	3.73	15.9	44.6	5.30	19.7	58.8
卵巢癌									
IGROV1	2.65	27.9	>100	5.84	46.7	>100	6.70	86.2	>100
OVCAR-3	0.26	-	37.3	3.02	10.7	36.1	7.98	39.8	>100
OVCAR-4	0.58	18.4	52.0	5.34	28.0	>100	9.68	74.8	>100
OVCAR-5	6.0	21.4	55.3	10.1	24.8	60.9	13.9	79.3	>100
OVCAR-8	0.08	11.7	50.0	2.80	14.8	44.6	5.48	59.8	>100
ADR-RES	0.03	-	70.7	0.40	4.95	>100	4.41	>100	>100
SK-OV-3	0.19	11.6	34.7	3.69	14.9	38.9	7.96	36.2	>100
肾癌									
786-0	0.48	14.0	>100	3.55	15.9	98.8	5.24	24.5	>100
A498	1.84	8.45	32.2	10.3	23.8	55.2	3.88	21.0	63.5
ACHN	0.07	14.0	44.6	3.76	17.5	52.1	5.11	>100	>100
CAKI-1	4.77	39.3	>100	6.13	>100	>100	5.90	>100	>100
RXF-393	0.03	-	39.1	1.35	5.46	23.6	5.48	18.9	46.5
SN12C	0.99	16.9	54.2	4.02	18.8	60.2	7.16	>100	>100
TK-10	4.10	15.7	40.5	4.69	14.3	40.1	6.98	31.4	>100
UO-31	0.25	16.0	51.3	2.60	16.9	48.9	4.16	38.1	>100
前列腺癌									
PC-3	0.42	16.1	47.9	3.84	18.7	65.8	6.36	>100	>100
DU-145	0.06	12.7	38.6	3.05	12.5	37.8	6.82	31.6	>100
乳腺癌									
MCF7	0.23	13.0	52.9	1.24	15.0	41.0	0.68	19.9	82.7
MDA-MB-231	0.15	2.43	61.2	0.25	2.10	15.7	1.63	7.82	>100
BT-549									
HS-578T	0.02	-	>100	1.28	10.3	>100	2.40	15.0	>100
T-47D	0.72	19.8	67.4	5.66	33.6	>100	2.92	14.7	70.5
MDA-MB-468	0.36	8.37	33.2	2.72	9.41	36.8	1.68	7.63	>100

[0305] 表 2 :pPHOS USYDS4 至 USYDS6 对人类癌症细胞生长的影响

[0306]

化合物	USYDS4 (μM)			USYDS5 (μM)			USYDS6 (μM)		
白血病	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀
CCRF-CEM	3.50	>100	>100	2.14	>100	>100	2.96	9.17	82.1
HL-60 (TB)	2.59	6.04	>100	0.20	0.43	0.95	2.07	4.83	15.4
K-562	2.35	>100	>100	0.33	13.9	>100	1.46	4.13	22.6
MOLT-4	4.31	21.6	>100	1.27	6.77	>100	1.59	4.27	16.8
RPMI-8226	2.35	25.4	>100	0.45	>100	>100	2.34	5.61	62.0
SR	0.95	>100	>100	-	-	-	-	-	-
非小细胞肺癌									

[0307]

A549/ATCC	4.74	25.6	>100	2.62	41.5	>100	2.69	8.42	33.7
EKVX	9.55	59.6	>100	26.4	>100	>100	7.19	21.4	54.4
HOP-62	6.49	26.3	83.4	2.87	>100	>100	5.11	17.5	44.0
HOP-92	1.92	13.6	62.3	0.62	>100	>100	1.86	4.67	14.5
NCI-H226	5.14	23.1	78.0	18.6	57.9	>100	1.47	30.1	61.5
NCI-H23	3.42	20.8	81.9	1.43	>100	>100	3.38	15.7	47.6
NCI-H322M	12.8	54.7	>100	0.76	>100	>100	1.16	25.5	56.2
NCI-H460	3.65	20.3	>100	0.47	10.3	75.7	1.89	3.90	8.06
NCI-H522	1.07	2.54	6.04	0.15	0.45	44.8	2.18	5.15	17.8
结肠癌									
COLO 205	9.72	23.0	53.5	21.7	83.6	>100	16.0	30.2	57.2
HCC-2998	5.16	19.0	53.4	4.18	21.2	>100	2.81	8.78	32.2
HCT-116	4.55	16.0	40.6	1.40	12.8	75.0	1.89	3.78	7.54
HCT-15	1.77	34.9	>100	0.43	>100	>100	2.13	6.26	48.2
HT29	16.3	32.5	64.7	18.6	46.6	>100	5.44	17.6	48.3
KM12	3.27	14.2	46.5	0.52	12.2	63.9	2.21	4.37	8.64
SW-620	2.97	16.6	46.5	0.31	15.3	75.0	1.84	3.54	6.82
CNS 癌									
SF-268	3.89	23.2	>100	0.63	37.6	>100	2.78	8.97	44.3
SF-295	7.29	24.3	70.9	2.60	20.5	>100	6.78	20.8	53.2
SF-539	3.45	22.3	97.5	0.28	1.02	>100	4.48	17.6	57.1
SNB-19	10.5	25.8	63.8	0.55	>100	>100	6.38	20.6	52.7
SNB-75	1.77	9.11	48.3	0.24	-	>100	6.67	21.4	54.0
U251	3.67	1.56	45.5	0.59	19.6	>100	2.33	5.31	16.7
黑素瘤									
LOX IMVI	3.82	19.3	58.5	0.64	58.6	>100	1.76	3.42	6.68
MALME-3M	7.25	30.6	>100	0.62	>100	>100	2.80	8.56	37.1
M14	0.91	15.4	46.3	0.30	5.69	>100	2.82	8.46	33.4
MDA-MB-435	0.36	21.6	>100	0.13	0.42	>100	3.37	10.8	42.1
SK-MEL-2	2.18	6.57	31.0	2.17	12.1	>100	13.1	33.6	86.1
SK-MEL-28	9.18	27.6	77.9	8.14	>100	>100	11.2	24.0	51.3
SK-MEL-5	1.42	8.35	30.0	0.39	2.52	>100	2.29	6.17	22.1
UACC-257	5.44	19.4	48.6	6.15	59.2	>100	3.49	14.4	39.8
UACC-62	4.53	16.8	44.4	3.22	34.8	>100	10.3	23.5	53.8
卵巢癌									
IGROV1	3.74	44.8	>100	4.57	>100	>100	5.23	17.7	54.1
OVCAR-3	3.98	15.0	44.9	0.90	3.84	24.8	2.10	4.31	8.85
OVCAR-4	3.98	50.4	>100	5.48	>100	>100	4.40	16.1	43.5
OVCAR-5	15.9	51.4	>100	30.7	>100	>100	5.86	20.0	53.3
OVCAR-8	4.94	31.1	>100	0.50	38.3	>100	2.95	9.51	42.9
ADR-RES	1.11	48.3	>100	0.29	3.69	>100	3.46	15.2	51.2
SK-OV-3	8.91	57.0	>100	0.50	5.12	>100	13.9	27.1	53.2
肾癌									

[0308]

786-0	4.41	20.5	>100	2.99	18.7	>100	2.46	6.96	28.8
A498	9.07	23.5	55.2	10.3	53.5	>100	11.7	25.0	53.1
ACHN	4.57	>100	>100	0.66	>100	>100	3.94	14.6	50.4
CAKI-1	5.25	>100	>100	19.1	>100	>100	8.37	22.6	55.7
RXF-393	2.17	15.3	46.0	0.23	0.63	>100	2.15	5.39	18.7
SN12C	3.94	20.0	74.1	1.76	83.5	>100	2.85	7.98	30.8
TK-10	3.87	9.66	>100	5.34	41.2	>100	3.36	9.33	31.2
UO-31	3.31	20.7	66.7	0.46	>100	>100	2.51	7.50	33.5
前列腺癌									
PC-3	4.47	22.0	87.9	2.92	>100	>100	1.80	3.89	8.44
DU-145	6.37	44.6	>100	0.35	2.62	>100	3.47	12.9	40.1
乳腺癌									
MCF7	2.57	18.2	51.1	2.81	>100	>100	4.02	18.0	60.5
MDA-MB-231	1.04	18.4	>100	0.38	2.61	>100	1.72	4.54	17.2
HS-578T	1.00	7.11	>100	0.20	0.73	>100	1.67	5.29	35.8
T-47D	2.13	6.93	>100	4.78	36.9	>100	5.03	20.3	57.9
MDA-MB-468	2.53	9.51	55.1	2.42	8.48	>100	2.30	6.39	26.0

[0309] 表 3 :pPHOS USYDS7 对人类癌症细胞生长的影响

[0310]

化合物	USYDS7 (μM)						
白血病	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	黑素瘤	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀
CCRF-CEM	2.73	8.48	71.2	LOX IMVI	1.71	3.41	6.81
HL-60 (TB)	2.39	5.06	13.8	MALME-3M	1.97	4.46	10.4
K-562	2.14	4.78	17.4	M14	1.79	3.71	7.73
MOLT-4	2.01	5.19	26.5	MDA-MB-435	2.29	6.47	31.7
RPMI-8226	2.31	6.01	61.1	SK-MEL-2	3.20	7.82	42.9
非小细胞肺癌				SK-MEL-28	3.65	11.8	36.7
A549/ATCC	1.88	4.06	8.78	SK-MEL-5	1.80	3.68	7.54
EKVX	4.25	14.7	44.9	UACC-257	2.18	5.93	23.0
HOP-62	3.67	15.0	51.6	UACC-62	2.80	7.84	31.5
HOP-92	1.52	4.21	14.2	卵巢癌			
NCI-H226	2.28	6.24	28.1	IGROV1	3.12	8.39	36.7
NCI-H23	1.81	5.22	29.5	OVCAR-3	1.82	3.36	6.19
NCI-H322M	5.29	18.1	44.7	OVCAR-4	2.85	11.1	66.8
NCI-H460	1.64	3.22	6.33	OVCAR-5	3.04	11.6	39.0
NCI-H522	1.61	3.57	7.92	OVCAR-8	1.68	3.65	7.95
结肠癌				ADR-RES	2.23	7.90	42.4
COLO 205	1.79	4.34	12.2	SK-OV-3	5.98	19.4	46.5
HCC-2998	1.95	4.26	9.34	肾癌			
HCT-116	1.57	3.02	5.82	786-0	1.99	4.47	10.2
HCT-15	1.29	3.78	22.0	A498	11.1	23.8	50.8
HT29	1.29	3.78	22.0	ACHN	2.58	9.12	37.6
KM12	1.93	3.88	7.79	CAKI-1	4.24	16.2	49.0
SW-620	1.58	3.19	6.42	RXF-393	1.53	3.23	6.80

[0311]

CNS 癌				SN12C	1.65	3.16	6.03
SF-268	2.26	5.47	22.7	TK-10	3.62	11.2	34.3
SF-295	3.37	11.4	44.6	UO-31	1.60	3.46	7.46
SF-539	2.21	6.14	35.2	乳腺癌			
SNB-19	2.80	8.64	39.9	MCF7	2.10	12.0	57.9
SNB-75	2.98	12.8	49.1	MDA-MB-231	1.49	3.89	10.7
U251	1.49	2.93	5.74	HS-578T	1.84	8.09	50.9
前列腺癌				T-47D	1.88	6.09	43.5
PC-3	2.02	4.57	11.3	MDA-MB-468	2.12	4.84	13.9
DU-145	2.65	7.62	28.3				

[0312] 概括来说,所有的异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物 USYDS1 至 USYDS7 都示出了对癌细胞生长的结构依赖性抑制。在一些细胞系中,生长在纳摩尔浓度下受到抑制。在抑制癌细胞生长方面,USYDS1 表现出了最有效的活性,然后是 USYDS5,再是 USYDS2。测试的其它 pPHOS 化合物被证明是中度的抑制剂。图 3- 图 9 所示为对于上表中所示的各细胞系,化合物 USYDS1 至 USYDS7 对人类癌细胞生长的剂量响应曲线。

[0313] 值得注意的是,相对于抑制细胞生长所需的浓度(GI_{50} 值),这些 pPHOS 需要至少 10 倍的过量浓度才能导致细胞死亡(LC_{50} 值)或导致坏死。这表明所述 pPHOS 可能会引起癌细胞经受程序性细胞死亡(凋亡)或细胞周期停滞。

[0314] B) 美国国家癌症研究所(NCI),针对所述细胞系在一系列浓度(1×10^{-8} – 1×10^{-4} M)下,评价了两种异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物(即 USYDS10 和 USYDS14)对细胞生长的抑制,如下表 4A 和 4B 所示。

[0315] 表 4A :USYDS10 对癌细胞生长的抑制效果

[0316]

	GI_{50}	TGI	LC_{50}
白血病			
HL-60 (TB)	3.27E-7	1.88E-6	> 1.00E-4
K-562	3.86E-7	3.17E-5	> 1.00E-4
MOLT	5.96E-7	1.99E-5	>1.00E-4
RPMI	3.24E-7	1.63E-5	>1.00E-4
SR	1.88E-7	> 1.00E-4	>1.00E-4
非小细胞肺癌			
A549/ATCC	6.60E-7	2.25E-5	>1.00E-4
EKVX	1.22E-5	7.34E-5	>1.00E-4
HOP	5.81E-7	1.77E-5	4.23E-5
HOP	3.98E-7	2.63E-5	9.32E-5
NCI-H226	5.35E-6	3.50E-5	>1.00E-4
NCI-H23	3.80E-7	1.52E-5	7.83E-5
NCI-H322M	1.18E-5	3.14E-5	8.37E-5

[0317]

NCI-H460	3.81E-7	1.29E-5	6.61E-5
NCI-H522	3.49E-7	1.46E-5	4.22E-5
结肠癌			
COLO	1.53E-5	2.97E-5	5.77E-5
HCC-2998	1.81E-6	1.19E-5	3.98E-5
HCT-116	4.80E-7	1.30E-5	4.27E-5
HCT-15	4.98E-7	2.09E-5	>1.00E-4
HT29	5.72E-6	2.13E-5	6.90E-5
KM12	4.97E-7	1.53E-5	8.58E-5
SW-620	3.62E-7	2.15E-5	8.55E-5
CNS 癌			
SF-268	1.40E-6	4.96E-5	>1.00E-4
SF-295	2.01E-6	1.91E-5	>1.00E-4
SF-539	3.76E-7	1.29E-5	4.17E-5
SNB-19	6.13E-7	2.28E-5	>1.00E-4
SNB-75	2.36E-7	1.22E-5	3.61E-5
U251	4.19E-7	1.62E-5	7.88E-5
黑素瘤			
LOX IMVI	5.72E-7	1.93E-5	8.00E-5
MALME-3M	1.87E-5	4.17E-5	9.29E-5
M14	2.84E-7	1.42E-5	4.16E-5
MDA-MB-435	3.85E-8	2.56E-7	>1.00E-4
SK-MEL-2	5.76E-7	3.26E-5	>1.00E-4
SK-MEL-28	5.72E-7	1.69E-5	4.30E-5
SK-MEL-5	2.91E-7	1.27E-5	3.60E-5
UACC-257	1.17E-5	2.94E-5	7.37E-5
UACC-62	5.21E-7	1.55E-5	4.28E-5
卵巢癌			
IGROV1	2.03E-6	>1.00E-4	>1.00E-4
OVCAR-3	3.72E-7	2.03E-5	>1.00E-4
OVCAR-4	1.03E-6	1.82E-5	5.77E-5
OVCAR-5	8.92E-6	2.80E-5	8.31E-5
OVCAR-8	4.67E-7	6.50E-5	>1.00E-4
NCI/ADR-RES	1.83E-7	8.04E-7	>1.00E-4
SK-OV-3	4.22E-7	1.14E-5	3.42E-5
肾癌			
786-0	6.81E-7	2.01E-5	7.45E-5
A498	2.17E-6	7.85E-6	3.48E-5
ACHN	9.03E-7	3.79E-5	>1.00E-4
CAKI-1	5.39E-7	6.68E-5	>1.00E-4
RXF 393	2.21E-7	—	3.76E-5
SN12C	6.71E-7	2.98E-5	>1.00E-4
TK-10	9.55E-6	5.15E-5	>1.00E-4
UO-31	8.78E-7	2.17E-5	9.52E-5
前列腺癌			
PC-3	2.27E-6	3.12E-5	>1.00E-4
DU-145	4.42E-7	2.05E-5	>1.00E-4
乳腺癌			
MCF7	3.32E-7	1.30E-5	5.06E-5

[0318]

MDA-MB-231/ATCC	6.42E-7	3.20E-5	>1.00E-4
HS 578T	2.92E-7	2.60E-5	>1.00E-4
BT-549	7.98E-7	1.90E-5	4.93E-5
T-47D	1.47E-6	2.47E-5	>1.00E-4
MDA-MB-468	3.73E-7	1.44E-5	4.49E-5

[0319] 表 4B :USYDS14 对癌生长的抑制效果

[0320]

	GI50	TGI	LC50
白血病			
HL-60 (TB)	4.06E-6	1.63E-5	>1.00E-4
K-562	8.33E-7	1.42E-5	>1.00E-4
MOLT-4	4.03E-6	2.10E-5	>1.00E-4
RPMI-8226	4.07E-6	2.45E-5	>1.00E-4
SR	6.70E-7	2.46E-5	>1.00E-4
非小细胞肺癌			
A549/ATCC	4.33E-6	1.65E-5	4.55E-5
EKVX	6.45E-6	2.12E-5	5.17E-5
HOP-62	1.43E-6	3.77E-6	9.98E-6
HOP-92	1.49E-6	7.58E-6	3.29E-5
NCI-H226	1.72E-6	3.60E-6	7.52E-6
NCI-H23	2.92E-6	1.73E-5	5.76E-5
NCI-H322M	1.25E-5	2.57E-5	5.28E-5
NCI-H460	3.87E-6	1.49E-5	5.12E-5
NCI-H522	7.50E-7	2.26E-6	5.85E-6
结肠癌			
COLO 205	1.46E-5	2.85E-5	5.57E-5
HCC-2998	2.90E-6	1.06E-5	4.07E-5
HCT-116	4.20E-6	1.60E-5	4.66E-5
HCT-15	2.06E-6	1.04E-5	4.33E-5
HT29	1.40E-5	2.91E-5	6.09E-5
KM12	3.74E-6	1.44E-5	5.74E-5
SW-620	2.88E-6	1.67E-5	6.38E-5
CNS 癌			
SF-268	4.65E-6	1.78E-5	4.85E-5
SF-295	3.91E-6	1.53E-5	4.31E-5
SF-539	2.96E-6	1.05E-5	3.78E-5
SNB-19	5.01E-6	2.01E-5	5.22E-5
SNB-75	1.79E-6	7.80E-6	2.93E-5
U251	3.09E-6	1.27E-5	3.94E-5
黑素瘤			
LOX IMVI	1.36E-6	3.37E-6	8.35E-6
MALME-3M	3.14E-6	2.18E-5	5.48E-5
M14	2.95E-6	1.36E-5	5.00E-5
MDA-MB-435	3.73E-7	8.45E-6	4.00E-5
SK-MEL-2	3.72E-6	1.25E-5	4.12E-5
SK-MEL-28	3.05E-6	1.64E-5	4.16E-5
SK-MEL-5	5.54E-7	1.87E-6	4.46E-6
UACC-257	1.02E-5	2.35E-5	5.40E-5

[0321]

UACC-62	2.61E-6	1.32E-5	3.91E-5
卵巢癌			
IGROV1	3.65E-6	1.37E-5	6.54E-5
OVCAR-3	3.52E-6	1.35E-5	4.11E-5
OVCAR-4	2.98E-6	1.36E-5	3.86E-5
OVCAR-5	1.24E-5	2.58E-5	5.36E-5
OVCAR-8	3.59E-6	1.56E-5	6.49E-5
NCI/ADR-RES	7.80E-7	1.14E-5	4.93E-5
SK-OV-3	2.85E-6	1.37E-5	3.72E-5
肾癌			
786-0	3.44E-6	1.18E-5	4.00E-5
A498	1.30E-5	2.66E-5	5.46E-5
ACHN	2.98E-6	1.25E-5	3.65E-5
CAKI-1	3.59E-6	1.75E-5	4.54E-5
RXF 393	1.07E-6	3.58E-6	1.48E-5
SN12C	3.61E-6	1.51E-5	4.20E-5
TK-10	3.79E-6	1.21E-5	3.54E-5
UO-31	3.71E-6	1.79E-5	4.63E-5
前列腺癌			
PC-3	6.65E-6	2.16E-5	5.50E-5
DU-145	8.20E-6	2.11E-5	4.75E-5
乳腺癌			
MCF7	2.74E-6	1.18E-5	4.19E-5
MDA-MB-231/ATCC	3.15E-6	1.43E-5	4.53E-5
HS 578T	2.71E-6	2.05E-5	>1.00E-4
BT-549	4.27E-6	1.63E-5	4.69E-5
T-47D	2.71E-6	7.84E-6	6.18E-5
MDA-MB-468	1.42E-6	4.12E-6	1.64E-5

[0322] 概括来说,所有的异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物 USYDS10 和 USYDS14 都显示出了对癌细胞生长的结构依赖性抑制。

[0323] 2. 各种羟基二苯乙烯的计算的 Log 分配系数(Log P) 值

[0324] USYDS1 和 USYDS2 以及已知的羟基二苯乙烯的计算的 Log P 值如下表 5 所示。

[0325] 表 5. 各种羟基二苯乙烯的计算的 Log P

[0326]

化合物 USYDS2	5.37	丹叶大黄素	2.82
化合物 USYDS1	5.58	无异戊烯基的化合物 USYDS1	3.49
白藜芦醇	3.14	赤松素	3.68
白皮杉醇	1.90		

[0327] pPHOS 化合物(例如 USYDS1 和 USYDS2)的有效抑制可以依据它们增加的疏水性来说明,通过它们的计算的 Log 分配系数(Log P)值来表示。USYDS1 和 USYDS2 具有的 Log P 值几乎是羟基二苯乙烯白藜芦醇的两倍。Log P 对治疗化合物的作用主要涉及组织穿透和分布。较高的 LogP 值将使得化合物能够更加容易地穿过细胞膜并进入细胞。

[0328] 3. 异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物对经 UV- 辐射的人类皮肤细胞的影响

[0329] 在 12- 孔培养板中将正常成年人类角质细胞(NHK)(Invitrogen, Vic, Australia)

培养于角质细胞生长培养基 Epilife 中直到达到亚汇合状态,所述培养基补充钙和人类角质细胞生长增补物(HKGS,含有 0.2ng EGF 每 mL,5mg 胰岛素每 mL,5mg 铁传递蛋白每 mL,0.18mg 氢化可的松每 mL 和 0.2% 牛垂体提取物)(Invitrogen,Vic,Australia)。在 37℃ 下在具有 5% 二氧化碳的增湿培养箱中,在 24-孔板中将细胞培养 24h 至密度为 5×10^3 细胞每 mL/孔,并且根据以下所述的方法来测试:

[0330] UV 辐射的最佳剂量的测定

[0331] 使用 PBS (磷酸盐缓冲液)将如上所述的密度接种的细胞洗涤两次,然后使用一系列公知为 MED (最小红斑量,1MED=25.43/光强度)的 UVA 和 UVB 剂量进行辐射。将细胞更换生长培养基并且在 37℃ 于具有 5% 二氧化碳的增湿培养箱中温育约 24h。使用 MTS 检测((CellTiter 96[®] AQ_{ueous} 单溶液细胞增殖检测)(Promega,Vic Australia)测量细胞活力。

[0332] 救援(rescue)检测

[0333] 用 PBS 将细胞洗涤两次,用 PBS 薄层进行更换,然后用如所确定的最佳剂量的 UVA 和 UVB 进行辐射。在辐射后,立即地用含有一系列浓度的测试样品的新鲜培养基对细胞进行更换,并且在增湿的 CO₂ 培养箱中在 37℃ 下再温育 24 小时。收集上清液并且保持在 -80℃ 直到使用 ELISA 试剂盒测量 PGE2 和细胞因子(IL1、IL6、IL8、IL10 和 IL12)的浓度。

[0334] 防护检测

[0335] 用 PBS 将细胞洗涤两次,用含有不同浓度的测试化合物的 PBS 薄层进行更换,然后使用如上所确定的最佳剂量的 UVA 和 UVB 进行辐射。在辐射后,立即用新鲜培养基对细胞进行更换,并且在增湿的 CO₂ 培养箱中在 37℃ 下再温育 24 小时。收集上清液并且保持在 -80℃ 直到使用 ELISA 试剂盒测量 PGE2 和细胞因子(IL1、IL6、IL8、IL10 和 IL12)的浓度。

[0336] 同样的对假处理的对照培养物进行处理,但是不进行 UV 辐射。二苯乙烯化合物包括 USYDS1、USYDS2、USYDS3、USYDS5 和 USYDS7 并且蜂胶在 0.1、1 和 10 μ M 或 μ g/mL 进行测试。

[0337] 测量最佳剂量的 UV 辐射的结果显示在 1MED 的 UVA 和 UVB 辐射下,对细胞活力没有显著影响。因此,选择该条件用于研究二苯乙烯和蜂胶提取物对救援测试中细胞因子的水平的影响。

[0338] 在对 UV 辐射的人类表皮角质细胞(HEK)中细胞因子生产的调节的初步研究中,观察到 USYDS1 和 USYDS2 的混合物适度地抑制 IL-6、TGF α 、G-CSF 和 GM-CSF 的生产(2-3 倍)。然而,发现该异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物显著地增加 UV 辐射的细胞对 IL-8 和 IL-1r α 的生产(4-5 倍)。已知 IL-8 在免疫响应的发病中发挥作用。另一方面,IL-1r α (天然存在的细胞因子受体拮抗剂)在抑制炎症过程中 IL-1 的有毒效应中发挥作用。因此,这些初步结果表明本发明的异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物可以是用于治疗与免疫抑制和炎症相关的病症的优良候选物。

[0339] 4. 二苯乙烯和蜂胶提取物的抗氧化活性

[0340] 1,1-二苯基-2-苦肟基(DPPH*)清除活性检测

[0341] (1,1-二苯基-2-苦肟基) DPPH 检测通常用于测试化合物或天然产物的提取物的自由基清除能力,其在 517nm 下测量 DPPH* 自由基的减少。以其自由基形式的 DPPH* 由于其奇电子而在 517nm 下显示出强大的吸收。一旦被抗氧化剂或自由基清除剂减少,

该吸收即消失并且通过清除自由基所产生的脱色与吸收的电子数量成化学计量关系($\text{DPPH}^* + \text{AH} \rightarrow \text{DPPH:H} + \text{A}^*$)。该 DPPH 检测是以如下所述的程序逐步进行的。

[0342] 在室温下在暗容器中将 DPPH (0.1mM) 的甲醇溶液搅拌 20min。在 400–750nm 之间扫描该溶液以获得最大波长 (λ_{max} , 约 510nm)。用甲醇调节 DPPH 溶液的浓度以得到约 1.0 的最大吸光度。将不同浓度的测试样品和标准抗氧化剂溶液 (0.05mL) 加入到比色杯中的 0.95mL 甲醇 DPPH 溶液中。所述测试样品的最终浓度为 0.1、1、10、50、100 和 200 μM 。剧烈振摇所述混合物并且在室温下将其在暗处静置 30min。在最大波长 (约 510nm) 下测量所得溶液的吸光度。吸光度的降低指示所述测试样品的自由基清除效果。建立所述测试样品的剂量响应曲线以研究它们的 IC_{50} 值 (显示 UV 吸光度减少 50% 的浓度)。

[0343] 结果

[0344] 除了 USYDS7 显示出了强烈的效果外, 本研究中的 pPHOS 化合物显示出中度至微弱的自由基清除效果。这些结果显示在图 10 中。

[0345] 5. 二苯乙烯衍生物对烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD) – 依赖性脱乙酰酶 sirtuin-2 (SIRT1) 的影响

[0346] SIRT1 是 Sir2 家族 (III 类) 的成员, 其是 NAD- 依赖性组蛋白脱乙酰酶。SIRT1 酶的脱乙酰基作用可以靶向许多底物, 包括组蛋白、肿瘤抑制因子 p53、叉头转录因子 (FOXO)、过氧化物酶体增殖物 – 激活受体 – γ (PPAR γ) 和共 – 活化因子 –1 α (PGC-1 α)。¹⁰ 已经证明 SIRT1 参与许多病理生理过程的调控, 如炎症、细胞衰老、细胞凋亡 / 增殖、代谢和细胞周期调控 (Chung, Yao et al. 2010)。因此, 调节 SIRT1 的活性可能是靶向控制许多疾病如癌症、代谢综合征、肥胖、神经退行性疾病、骨骼肌功能障碍和与衰老相关的疾病的潜在治疗¹¹。

[0347] SIRT1 检测试剂盒 (Cayman Chemical, Ann Arbor, Michigan, USA) 提供了一种基于荧光的用于筛选 SIRT1 抑制剂或活化剂的方法。该检测是根据来自制造商的说明进行的。简单地说, 该检测由两步组成, 该两步都是在相同的板中进行的。在第一步中, 用人类重组体 SIRT1 和其辅助底物 NAD^+ 一起温育包含 p53 序列 Arg-His-Lys-Lys (ϵ – 乙酰基) – AMC (7- 氨基 –4- 甲基香豆素) 的底物。脱乙酰基作用敏化底物以使在第二步中使用显影剂的处理能够释放出荧光产物, 使用荧光酶标仪在 350–360nm 的激发波长和 450–465nm 的发射波长下分析该荧光产物。在三个浓度 (1、10 和 100 μM) 下检测了二苯乙烯。数据表示两个独立的实验, 每个实验重复进行三次。

[0348] 结果

[0349] 除了白藜芦醇, 所有的二苯乙烯都显示出了对 SIRT1 的浓度依赖性抑制, 如图 11A 和图 11B 中所示。对 SIRT1 活性的调节能够使得对用于治疗疾病包括癌症、代谢综合征、肥胖、神经退行性疾病、和衰老相关性疾病的治疗剂的开发。

[0350] 6. USYDS1、USYDS2 和莎草 1 型蜂胶的乙醇提取物的抗菌活性

[0351] 概要

[0352] 使用 14 种菌株和 4 种化合物进行最小抑制浓度 (MIC) 筛选。根据临床和实验室标准化研究所 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 指南的肉汤稀释法测定 MIC。在含有 64–0.06 $\mu\text{g/ml}$ 的 2 倍稀释系列的化合物的 96- 孔板上进行 MIC 筛选。使用来自适当的琼脂平板上培养菌在阳离子调节的 Mueller Hinton 培养基肉汤中制备细

菌接种,所述琼脂平板每周都新制。在每个检测板中都包括生长对照和无菌对照。在环境空气的培养箱中在 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 将所述检测板温育 16-20 小时(对于 MRSA 温育 24 小时),观察并记录细胞的生长。MIC 筛选中的参照化合物左氧氟沙星的所有 MIC 都处于 CLSI S100-A20 中描述的标准范围内。3 个测试样品的效力的顺序为 USYDS1>USYDS2> 乙醇蜂胶提取物。

[0353] 1. 材料

[0354] 1.1. 菌株

[0355] 用于 MIC 筛选的细菌组

[0356]

微生物	革兰氏	菌株	¹ 抗药性	² 质粒	培养条件	MIC 筛选条件
大肠杆菌	G ⁻	ATCC (25922)			TSA, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$	CAMHB, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 20 hr
假单胞杆菌	G ⁻	ATCC (27853)			TSA, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$	CAMHB, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 20 hr
肺炎杆菌	G ⁻	ATCC (700603)	AMP, AZT, CFX, CPD, CAZ, CHL, PIP, TET	是	TSA, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$	CAMHB, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 20 hr
流感嗜血杆菌	G ⁻	ATCC (49247)			巧克力琼脂, 5% CO ₂ , $35 \pm 2^\circ\text{C}$	HTM, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 20 hr
乙酸钙不动杆菌	G ⁺	ATCC (51432)	IMI		TSA, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$	CAMHB, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 20 hr
尿肠球菌	G ⁺	ATCC (700221)	VAN		TSA+5% 羊血, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$	CAMHB, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 20 hr
粪肠球菌	G ⁺	ATCC (29212)			TSA + 5% 羊血, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$	CAMHB, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 20 hr
酿脓链球菌	G ⁺	ATCC (700492)			TSA + 5% 羊血, 5% CO ₂ , $35 \pm 2^\circ\text{C}$	CAMHB + 3% 马血, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 20 hr
肺炎链球菌	G ⁺	ATCC (49619)	PEN		TSA + 5% sheep, 5% CO ₂ , $35 \pm 2^\circ\text{C}$	CAMHB + 3% 马血, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 20 hr
肺炎链球菌	G ⁺	临床分离株	ERY		TSA + 5% 羊血, 5% CO ₂ , $35 \pm 2^\circ\text{C}$	CAMHB + 3% 马血, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 20 hr
金黄色葡萄球菌	G ⁺	ATCC (29213)			TSA, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$	CAMHB, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 20 hr

[0357]

金黄色葡萄球菌	G ⁺	ATCC (43300)	MET, OXA		TSA, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$	CAMHB, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 20 hr
金黄色葡萄球菌	G ⁺	临床分离株	LEV		TSA, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$	CAMHB, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 20 hr
金黄色葡萄球菌	G ⁺	临床分离株	MET, ERY, CLI		TSA, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$	CAMHB, 环境空气, $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 20 hr

[0358] ¹ 公知的抗药性; ² 公知存在质粒

[0359] 缩写: TSA, 胰酶大豆琼脂; CAMHB, 阳离子调节的 Mueller Hinton 肉汤; HTM, 嗜血

杆菌试验培养基 ;AMP, 氨苄西林 ;AZT, 氨基曲南 ;CFX, 头孢西丁 ;CPD, 头孢泊肟 ;CAZ, 头孢他啶 ;CHL, 氯霉素 ;PIP, 哌拉西林 ;TET, 四环素 ;IMI, 亚胺培南 ;VAN, 万古霉素 ;PEN, 青霉素 ;ERY, 红霉素 ;MET, 甲氧西林 ;OXA, 苯唑西林 ;LEV, 左氧氟沙星 ;CLI, 克林霉素。

[0360] 1.2. 培养基和试剂

[0361] 胰酶大豆琼脂(BD211043), 阳离子调节的 Mueller Hinton 肉汤(BD212322), 嗜血杆菌试验培养基(Fluka51295), 氯化血红素(Fluka51280), β -NAD (Fluka43410), 左氧氟沙星(Sigma28266), 羊血(Quad Five630-500), 溶解的马血(Quad Five205-500), 0.5McFarland 硫酸钡标准, 无菌 0.85%NaCl (w/v)。

[0362] 2. 方法

[0363] 2.1 制备细菌菌株

[0364] A. 在进行 MIC 筛选的两天前从冷冻保存(-80℃)中将细菌菌株复活。划线至适合琼脂平板的表示上, 并且将板在 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 于合适的气氛中温育 20-24 小时。

[0365] 链球菌属 :TSA II, 5%CO₂

[0366] 肠球菌 :TSA II, 环境空气

[0367] 流感嗜血杆菌 :巧克力琼脂, 5%CO₂

[0368] 组中的其它菌株 :TSA, 环境空气

[0369] B. 使用无菌环选择 5-10 孔形态相似的孤立菌落并且重新划线至新鲜的琼脂平板上。如上所述将板在 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 于合适的气氛中温育 20-24 小时。

[0370] 2.2. 制备化合物板

[0371] 在进行 MIC 筛选的当天在 100%DMSO 中制备化合物的储备液, 并且立即使用。化合物储备浓度 = [(最高测试浓度) $\times 103 \mu\text{l} / 3 \mu\text{l}$] (例如, 如果在测试板中所需的最高测试浓度为 $64 \mu\text{g/ml}$, 则储备浓度 = $64 \times 103 / 3 = 2.2 \text{mg/ml}$)。除非另有说明, 否则将测试化合物的效力设为 100%, 而根据制造商的分析数据来计算参照化合物的效力。

[0372] 每种化合物制备 11 个 2 倍稀释, 然后转移 $3 \mu\text{l}$ 至测试板的各孔中。DMSO 在 MIC 筛选中的最终浓度为约 3%。

[0373] 2.3. 制备细菌接种物

[0374] A. 从 4°C 冰箱中取出培养基肉汤并使其湿热至室温。

[0375] B. 用无菌环从新鲜培养板中将菌落转移至 5ml 盐水中并且混合均匀。使用浊度计测量并调节其浊度至 0.5McFarland 硫酸钡标准。或者, 转移 1-2 个菌落至 $500 \mu\text{l}$ 盐水中并且使用酶标仪调节 OD₆₂₅ 至约 0.1。

[0376] C. 对革兰氏阳性和偏好性菌株以 1:280 且对于革兰氏阴性菌株以 1:400 将细菌接种物稀释至相应的培养基肉汤 (CAMHB, CAMHB+3% 溶解的马血, HTM) 中 (例如 $35.6 \mu\text{l}$ 接种物至 10ml 的 CAMHB 或 $25 \mu\text{l}$ 接种物至 10ml 的 CAMHB)。

[0377] 流感嗜血杆菌 :HTM

[0378] 链球菌属 :CAMHB+3% 溶解的马血

[0379] 组中的其它菌株 :CAMHB

[0380] 2.4. 制备检测板

[0381] A. 除了孔 B12、D12、F12 和 H12 之外, 各所述化合物板的每个孔中加入 $100 \mu\text{l}$ 的细菌接种物。

[0382] B. 向所述化合物板的孔 B12、D12、F12 和 H12 中加入 100 μ l 的培养基肉汤。

[0383] C. 将四个板堆叠在一起并盖上无菌板盖。在环境空气培养箱中在 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 下温育 16–20 小时 (对于 MRSA 温育 24 小时)。

[0384] 2.5. 进行菌落计数

[0385] A. 在盐水溶液中将细菌接种物 (0.5McFarland) 稀释至 10^{-1} 至 10^{-7} 的系列 (例如, 100 μ l 细胞接种物 +900 μ l 盐水)。

[0386] B. 将 100 μ l 各稀释液 (10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 和 10^{-7}) 散布在 CAMHA 板上, 每个稀释液各三份, 使液体渗入至琼脂中 10 分钟, 反转该琼脂平板并在 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 下温育 24 小时。

[0387] 2.6. 记录 MIC 并计算 CFU

[0388] A. 打开化合物板, 定位在化合物管理系统中, 并且检查检测板的条形码。

[0389] B. 将所述检测板放置在 MIC 读数器的上部, 并且调节放大倍率镜以读取各孔, 记录生长状态作为原始数据。(可选的) 使用高速高分辨率扫描仪记录各测试板的图像。

[0390] C. 根据 CLSI 指南确定 MIC 折点。

[0391] D. 计数菌落并计算细菌接种物的 CFU。

[0392] 3. 结果

[0393] 3.1. MIC 汇总表

[0394] 使用 14 个细菌菌株 (11 个 ATCC 菌株和 3 个临床分离株) 和 4 种化合物 (USYDS1、USYDS2 和蜂胶的乙醇提取物和参照化合物左氧氟沙星) 进行 MIC 筛选。所述 MIC 汇总于以下表 6 中。在本研究获得的参照化合物左氧氟沙星的 MIC 值处于 S100–A20[2] 中描述的标准范围内。DMSO 在 MIC 筛选中的最终浓度为约 3%, 并且不会抑制大多数微生物的生长。

[0395] 表 6. USYDS1、USYDS2 和蜂胶的乙醇提取物针对 14 种细菌菌株的 MIC ($\mu\text{g/ml}$)。左氧氟沙星是参照化合物。

[0396]

化合物	左氧氟沙星		USYDS1		USYDS2		乙醇蜂胶提取物	
	实验 1	实验 2	实验 1	实验 2	实验 1	实验 2	实验 1	实验 2
乙酸钙不动杆菌	4	4	>64	>64	>64	>64	>64	>64
大肠杆菌	<0.0625	<0.0625	16	16	64	32	>64	>64
粪肠球菌 (ATCC 29212)	1	1	16	16	32	32	64	64
屎肠球菌 (ATCC 700221)	>64	>64	8	16	32	32	64	32
流感嗜血杆菌	<0.0625	<0.0625	32	32	32	32	64	64
肺炎杆菌	1	1	>64	>64	>64	>64	>64	>64
绿脓杆菌	1	1	>64	>64	>64	>64	>64	>64
金黄色葡萄球菌 (ATCC 29213)	0.5	0.25	16	8	32	16	32	32
金黄色葡萄球菌	0.25	0.25	8	8	16	16	32	32

[0397]

(ATCC 43300)								
金黄色葡萄球菌 (左氧氟沙星耐 药性)	64	64	8	8	16	16	16	16
金黄色葡萄球菌 (MRSA, 红霉素 耐药性和克林霉 素耐药性)	8	8	8	8	16	16	32	32
肺炎链球菌 (ATCC 49619)	0.5	0.5	32	32	32	32	32	32
酿脓链球菌 (ATCC700942)	0.5	0.5	64	64	64	64	>64	>64
肺炎链球菌 (红霉素耐药性)	1	1	32	32	32	64	64	>64

[0398] 4. 讨论

[0399] 异戊烯化四羟基二苯乙烯 USYDS1 和 USYDS2 显示出中度的抗菌活性,其效力等级为 USYDS1>USYDS2>蜂胶的乙醇提取物。

[0400] 7. USYDS1、USYDS2 和 USYDS10 化合物对激酶活性的影响

[0401] 以下为该研究中的激酶列表。

[0402]

序号	激酶	序号	激酶	序号	激酶	序号	激酶
1	ABL2	20	CDK4/CyclinD3	39	FGFR3	58	PKA γ
2	AKT1	21	CDK5/CyclinP25	40	FGR	59	PKC α
3	AKT2	22	CDK6/CyclinD1	41	FLT1 (VEGFR1)	60	PKC β 1
4	AKT3	23	CDK6/CyclinD3	42	FLT3	61	PKC γ
5	ALK1	24	CDK7/CyclinH1/MNAT1	43	GSK3 α	62	PKC ϵ
6	AMPK (A1/B1/G1)	25	CHK1	44	HER2	63	PKC θ
7	AMPK (A2/B1/G1)	26	c-KIT	45	IGF1R	64	PKC δ
8	Aurora A	27	c-KIT (V654A)	46	InsR	65	PKC δ
9	Aurora B	28	EGFR (T790M,L858R)	47	KDR	66	PKC ι
10	Aurora C	29	EphA1	48	LCK	67	PLK2
11	AXL	30	EphA2	49	NEK2	68	PLK3
12	BLK	31	EphA3	50	P38 β	69	RAF1
13	BTK	32	EphA4	51	PDGFR β	70	BRAF
14	CAMK1	33	EphB1	52	PI2K α	71	BRAF (v599E)
15	CDK1/CyclinA2	34	EphB2	53	PI3K β	72	RET
16	CDK1/CyclinB	35	EphB3	54	PI3K γ	73	RON
17	CDK2/CyclinA2	36	ERK1	55	PI3K δ	74	SRC
18	CDK3/CyclinE1	37	FGFR1 (V561M)	56	PKA α	75	TrkA
19	CDK4/CyclinD1	38	FGFR2	57	PKA β	76	TrkB

[0403] 实验

[0404] 材料

[0405] • 激酶 -Glo (Plus) /ADP-Glo 检测缓冲液

[0406] 25mM HEPES, 10mM MgCl₂, 0.01% Triton X-100, 100 μg/mL BSA, 2.5mM DTT, pH7.4。

[0407] • Caliper 检测缓冲液

[0408] 100mM HEPES, 10mM MgCl₂, 100 μg/mL Brij35 (30%), 1mM DTT, pH7.4。

[0409] 检测底物

[0410] • MBP 蛋白、未活化的 MEK1、Rb 蛋白均购自 SignalChem。聚 (glu:tyr) (4:1) 购自 Sigma。PIP2 购自 Cayman。肽底物是在 HD Biosciences, China 合成的。

[0411] ATP 购自 Sigma。激酶 GloPlus 试剂、激酶 Glo 试剂和 ADP Glo 试剂均购自 Promega。

[0412] 检测工序—Caliper 形式

[0413] 在 96-孔检测板中混合激酶、底物、ATP 和化合物, 总体积为 50 μL。在 30℃ 下将所述检测板温育 1 小时。加入 20 μL 的 35mM EDTA 停止反应并且转移 26 μL 停止的反应物至 384-孔检测板中。在酶标仪上读取该检测板。

[0414] 检测工序—ADP-Glo 形式

[0415] 在 384-孔检测板中混合激酶、底物、ATP 和化合物, 总体积为 10 μL。在 30℃ 下将所述检测板温育 1 小时。向检测板中加入 10 μL/孔的 ADP Glo 试剂, 在 27℃ 下温育 40min。

[0416] 向所述检测板中加入 20 μL/孔的检测试剂, 在 27℃ 下温育 30min。在酶标仪上读取该检测板。

[0417] 检测工序—激酶 -Glo (Plus) 形式

[0418] 在 384-孔检测板中混合激酶、底物、ATP 和化合物, 总体积为 10 μL。在 30℃ 下将所述检测板温育 1 小时。向反应混合物中加入 10 μL/孔的激酶 Glo (Plus) 试剂, 然后在 27℃ 下温育 20min。在酶标仪上读取该检测板。

[0419] • 在没有化合物和酶但含有 ATP 和底物的条件下, 产生了 100% 的效果。

[0420] • 在没有化合物但含有 ATP、底物和酶的条件下, 产生了 0% 的效果。

[0421] • SB202190 为激酶 p38 β 的参照化合物; 十字孢碱 (STSP) 为其余激酶的参照化合物。

[0422] 结果

[0423] 被抑制多于 60% 的激酶汇总于下表中。有趣的是注意到所有这三个化合物都抑制激酶 TrkA 和 PI3K δ 和 PI3K γ。针对所述激酶, USYDS1 和 USYDS10 似乎表现出类似的抑制活性。

[0424]

化合物	激酶
USYDS1	FLT3, TrkA, CDK2/CyclinA2, CDK4/CyclinD3, PI3Kα, PI3Kδ, PI3Kγ
USYDS2	TrkA, PI3Kβ, PI3Kδ, PI3Kγ
USYDS10	FLT3, TrkA, KDR, FLT1, CDK2/CyclinA2, PI3Kα, PI3Kβ, PI3Kδ, PI3Kγ, CDK1/CyclinB

[0425] 8. USYDS1 的急性毒性研究

[0426] 方法

[0427] 给单个的小鼠进行 400mg/kg 的单一 IP 注射; 第二只小鼠接受 200mg/kg IP 的剂量且第三只小鼠接受 100mg/kg IP 的单一剂量。观察小鼠 2 周。如果它们失去多于 20% 的

体重或者如果有其它显著毒性的体征,就将它们杀死。如果所有 3 只小鼠都必须杀死,则以类似的方式进行下一个 3 剂量水平(50、25、12.5mg/kg)。重复该过程直到找到耐受剂量。则该剂量标示为最大耐受剂量(MTD),并且将其用于计算抗肿瘤测试期间给予实验小鼠的材料量。可以使小鼠自由采食喂食和水。将药物以 200mg/mL 的浓度溶解于 100%DMSO 中。

[0428] 结果

[0429]

组	剂量(mg/kg/ 剂量)	途径	死亡天数	存活 / 总天数 15	注射体积
1	100	IP	无	1/1	0.5 μ L/gm 体重
2	200	IP	1	0/1	1 μ L/gm 体重
3	400	IP	1	0/1	2 μ L/gm 体重

[0430] USYDS1 的 MTD 被确定为 100mg/kg。这个浓度表示对哺乳动物毒性低,并且用于进一步的抗肿瘤测试。USYDS1 的中空纤维检测(BEC/C)正在进行中。该中空纤维检测是它们在小鼠异种移植模型中的评价之前,用于评价新颖推测的化疗化合物针对一系列癌症细胞系的初步快速筛选。与常规异种移植模型相比,中空纤维模型具有更短的评价时间和减少的化合物需求。该模型还使得在异种移植中能够有效选择癌症细胞的类型。

[0431] 产生作为异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物的来源的树脂的植物的化学型

[0432] 通过定量 $^1\text{H-NMR}$ ($q\text{-NMR}$) 分析来自不同位置的鳞籽莎属的植物中获得的树脂、树胶和渗出物以分析异戊烯化多羟基二苯乙烯含量,其包括 C- 异戊烯化的和 O- 异戊烯化的、O- 甲基化的和非 O- 甲基化的衍生物。来自树脂的这些异戊烯化多羟基二苯乙烯的不同比例相应地形成对植物分类的基础。

[0433] 迄今已经鉴定出鳞籽莎属植物至少有 3 个不同的化学型,并且这些植物的每一种又显示为若干亚化学型。类型 1 是最常见的植物,其含有大约相等比例的 C- 异戊烯化的和 O- 异戊烯化的衍生物。类型 2 植物仅含有 C- 异戊烯化的衍生物。而类型 3 植物不含有 O- 甲基化的异戊烯化多羟基二苯乙烯衍生物。

[0434] 本领域技术人员能够理解,在不脱离概括描述的本发明的范围的条件下,可以对如具体实施方式中所示的发明进行多种变化和 / 或改变。因此,本发明的实施方式在所有方面都应被认为是示例性的而不是限制性的。

[0435] 参考文献

[0436] (1) Denmark, E.; Regens, C. S.; Tetsuya, K. J. of Am. Chem. Soc. 2007, 129, 2774-2276.

[0437] (2) Ali, I. A. I.; Fathalla, W. Heteroatom Chemistry 2006, 17, 280-288.

[0438] (3) Krohn, K.; Thiem, J. J. Chem. Soc, Perkin Trans. 1 1977, 1186-1 190.

[0439] (4) Soerme, P.; Arnoux, P.; Kahl-Knutsson, B.; Leffler, H.; Rini, J. M.; Nilsson, U. J. J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, 1737-1743.

[0440] (5) Andrus, M. B.; Liu, J.; Meredith, E. L.; Nartey, E. Tetrahedron Lett. 2003, 44, 4819-4822.

- [0441] (6) Rao, M. L. N. ; Awasthi, D. K. ; Banerjee, D. Tetrahedron Lett. 2010, 51, 1979-1981.
- [0442] (7) Yang, P. -Y. ; Zhou, Y. -G. Tetrahedron Asymmetry 2004, 15, 1145-1149.
- [0443] (8) Rooney, J. M. Journal of Macromolecular Science, Part A 1986, 23, 823-829.
- [0444] (9) Batsomboon, P. ; Phakhodee, W. ; Ruchirawat, S. ; Ploypradith, P. J. Org. Chem. 2009, 74, 4009-4012.
- [0445] (10) Michan, S. ; Sinclair D. Biochem. J. 2007, 404, 1-13.
- [0446] (11) Yamamoto H. ; Schoonjans K. ; Auwerx J. Mol. Endocrinol. 2007, 21, 1745-1755。

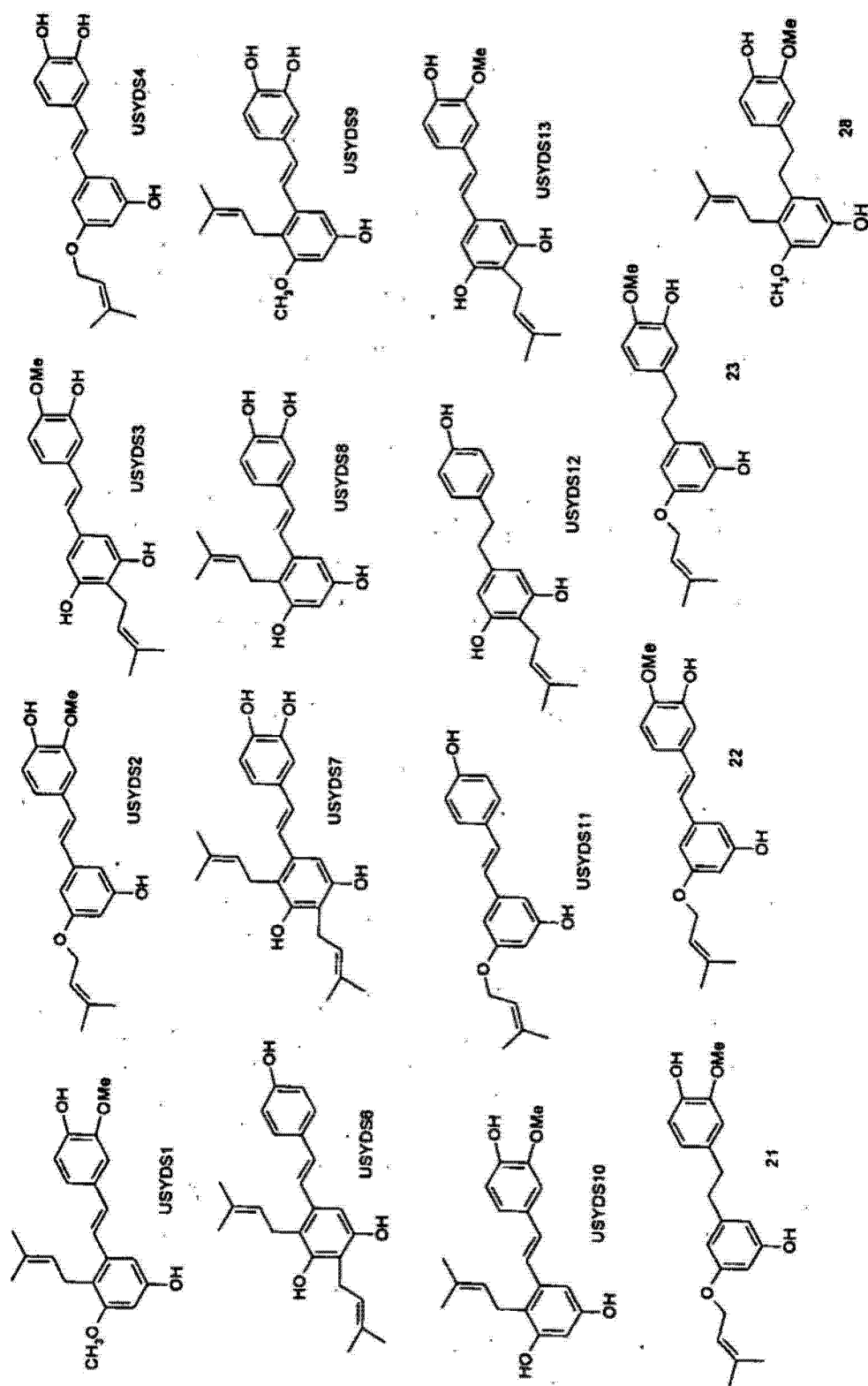


图 1

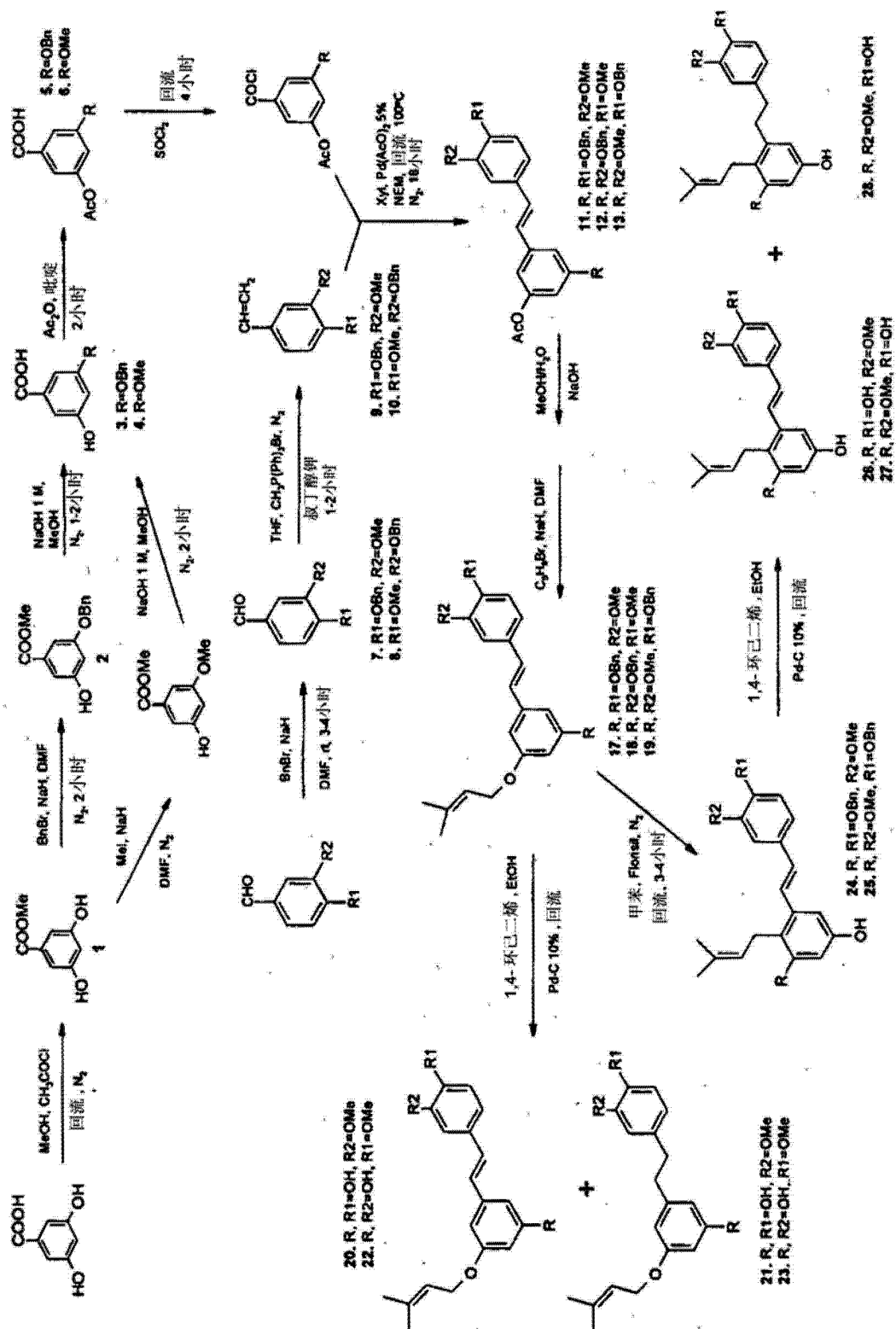


图 2

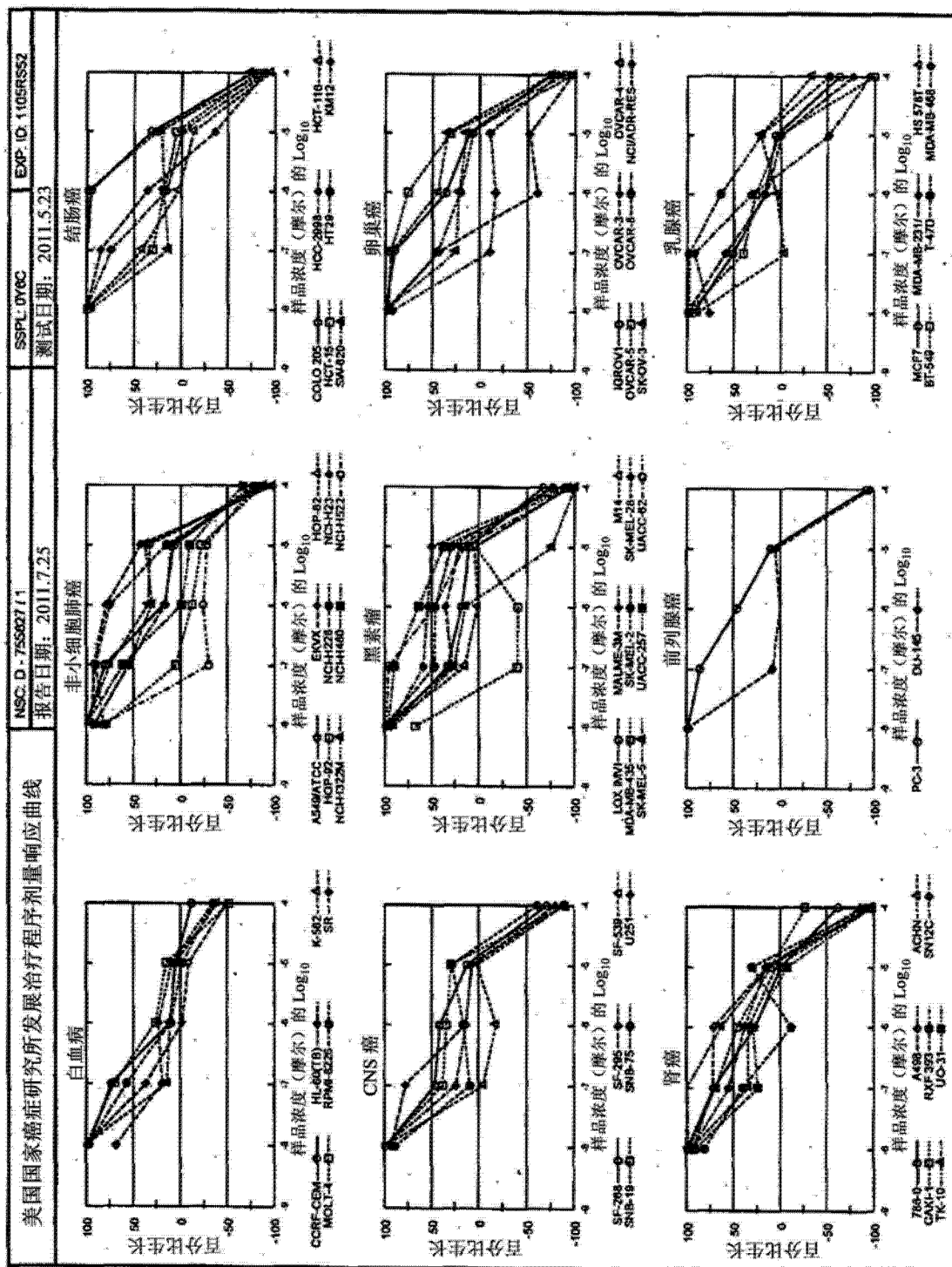


图 3

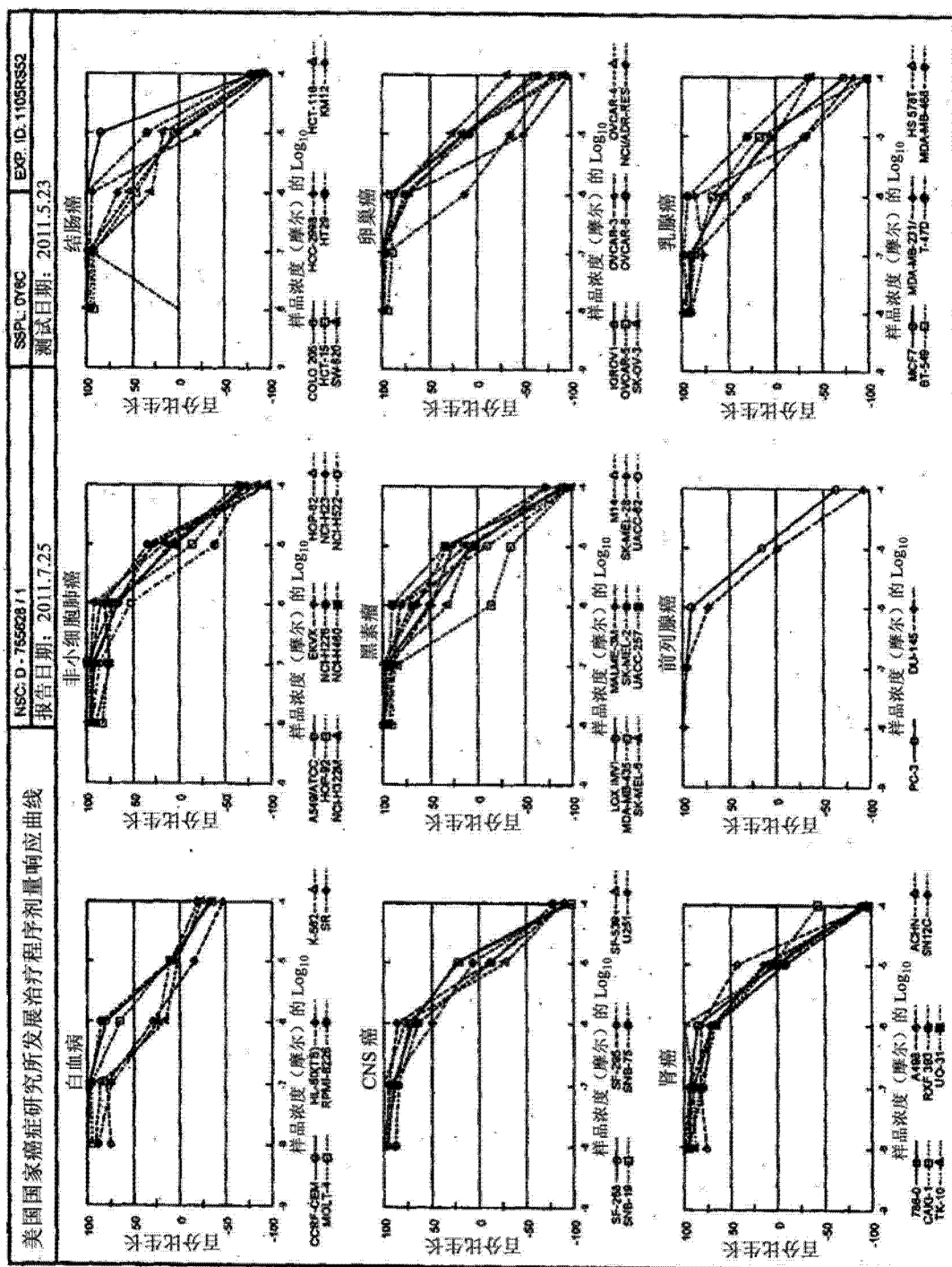


图 4

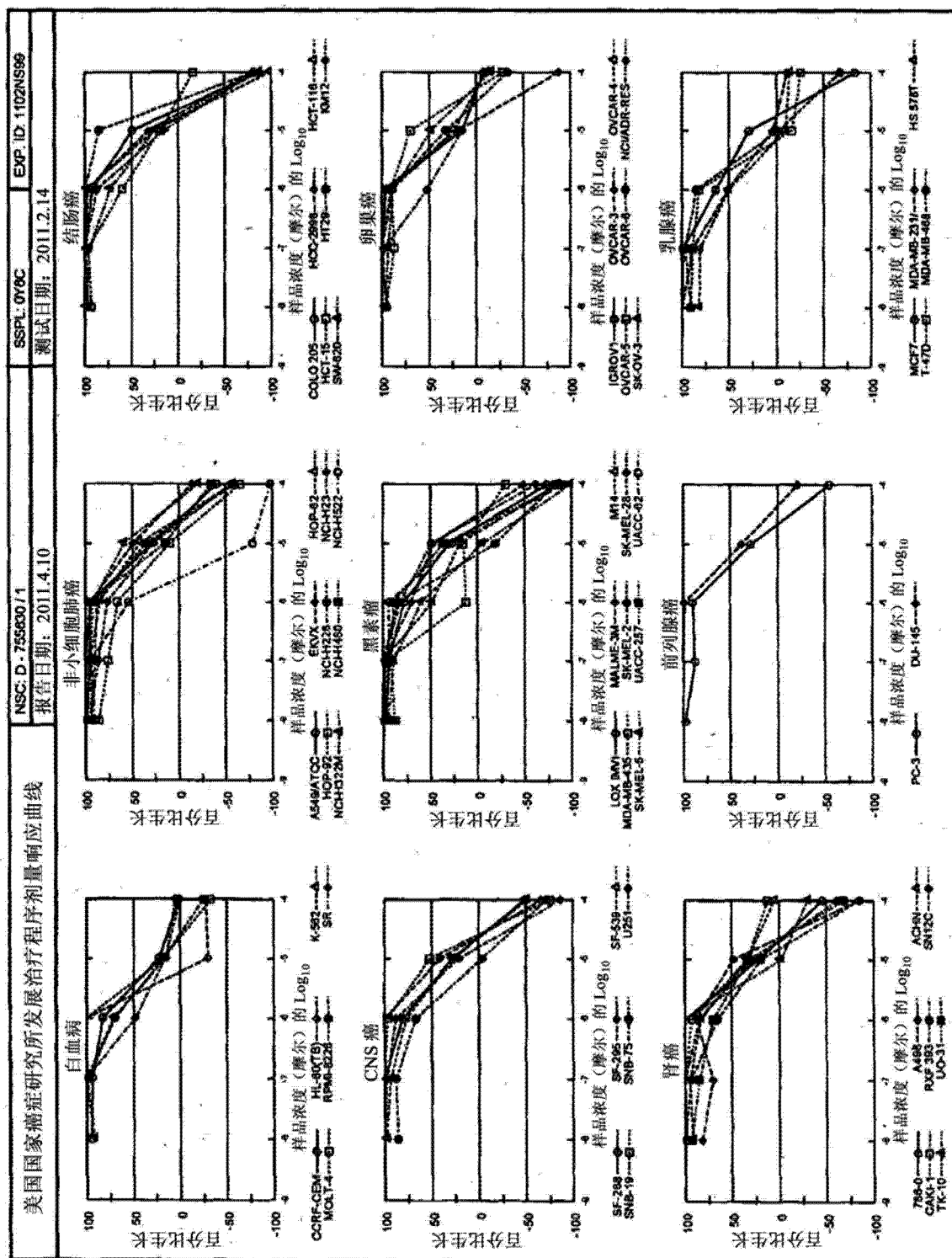


图 6

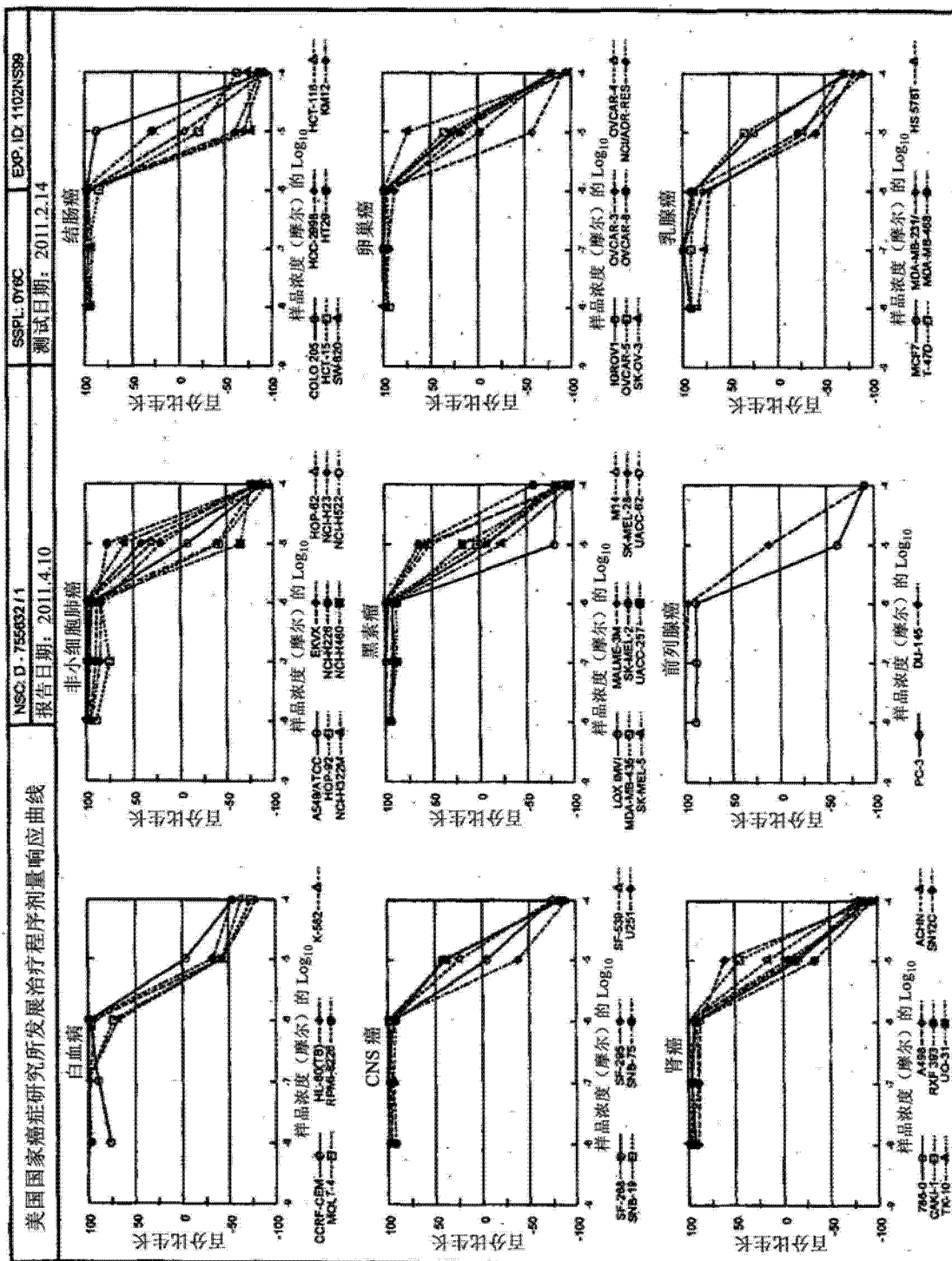


图 8

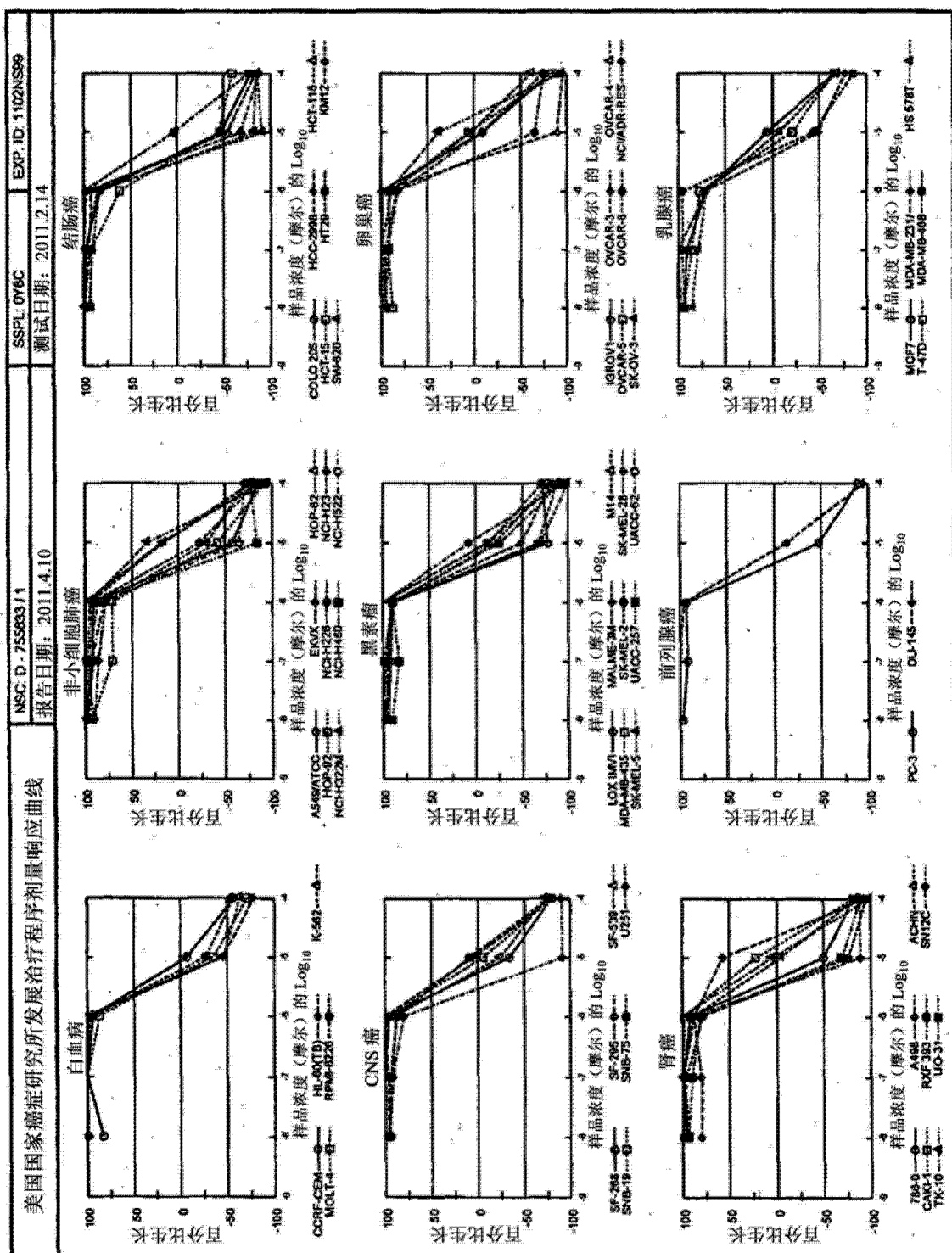


图 9

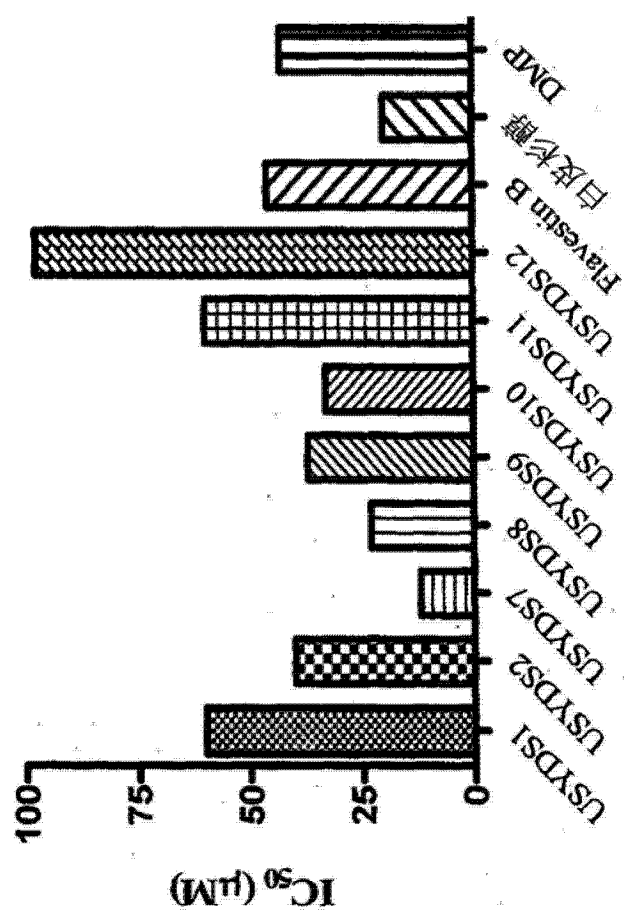


图 10

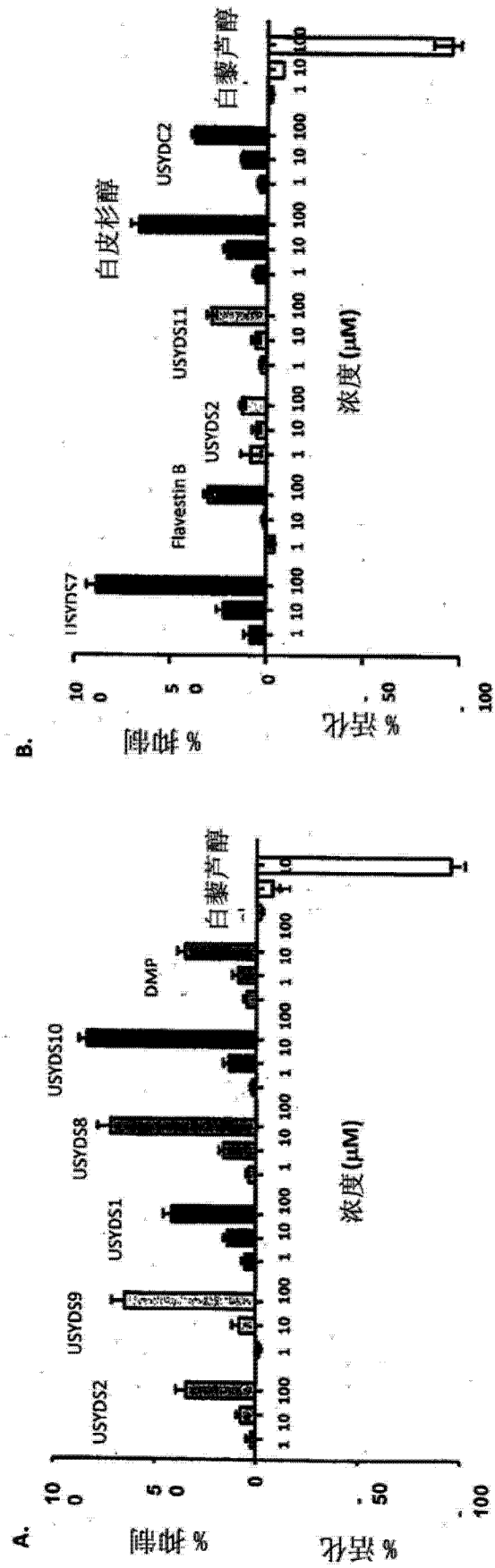


图 11