



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109320552 B

(45) 授权公告日 2020.10.16

(21) 申请号 201811156463.1

(22) 申请日 2018.09.30

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 109320552 A

(43) 申请公布日 2019.02.12

(73) 专利权人 浙江药苑生物科技有限公司
地址 314100 浙江省嘉兴市嘉善县大云镇
创业路555号D7幢(住所申报)

(72) 发明人 余代英

(74) 专利代理机构 佛山卓就专利代理事务所
(普通合伙) 44490

代理人 陈雪梅

(51) Int.Cl.

C07F 9/6558 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 103044409 A, 2013.04.17

CN 103288809 A, 2013.09.11

CN 102443027 A, 2012.05.09

CN 1800196 A, 2006.07.12

审查员 何旭东

权利要求书3页 说明书10页

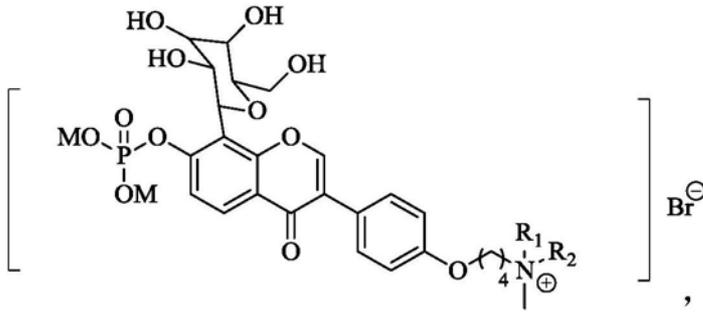
(54) 发明名称

具有良好生物活性的葛根素衍生物及其制备方法以及应用

(57) 摘要

本发明涉及一种葛根素衍生物及其制备方法以及应用,该葛根素衍生物以葛根素为原料先经5步反应制得化合物6,之后化合物6与一些列叔胺反应制得相应的葛根素衍生物,本发明制得的一系列葛根素衍生物具有良好的水溶性,适合做注射剂,另外该葛根素衍生物具有良好的抗肿瘤效果,经实验验证,该葛根素衍生物对肺癌细胞、结肠癌细胞、胃癌细胞、肝癌细胞以及宫颈癌(HeLa)细胞均具有良好的抑制作用。

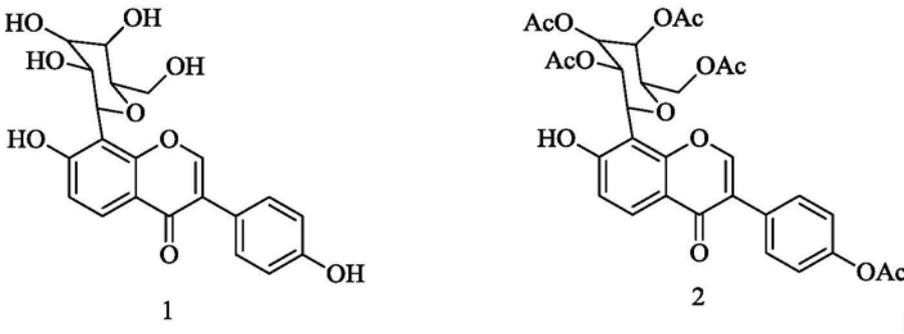
1. 一种葛根素衍生物,其特征在于:其结构式如下:



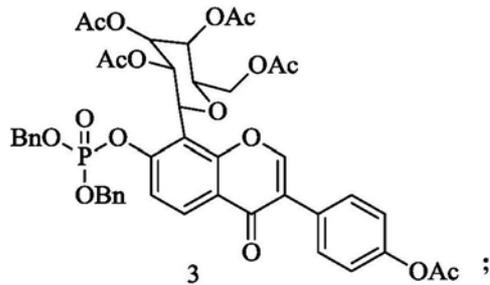
其中,M为 Na^+ ;所述 R_1 为 C_9 的饱和直链烷基;所述 R_2 为 C_8 的饱和直链烷基。

2. 根据权利要求1所述的葛根素衍生物的制备方法,其特征在于:它包括以下步骤:

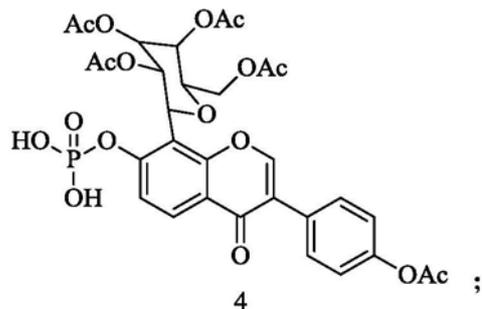
(1) 化合物2的合成:将化合物1溶解于吡啶中,再与乙酸酐反应制得化合物2;其中化合物1与化合物2的结构式分别为:



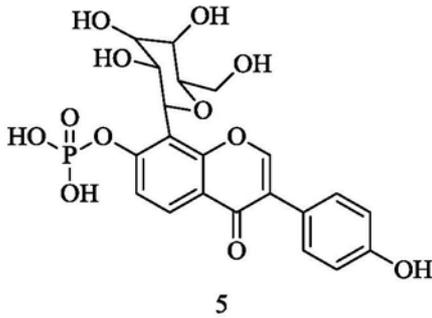
(2) 化合物3的合成:将步骤(1)所得的化合物2,在二异丙基乙胺的作用下,与氯代亚磷酸二苄酯反应得化合物3,其中化合物3的结构式为:



(3) 化合物4的合成:将步骤(2)所得的化合物3与 Pd/C , H_2 作用,得化合物4,其中化合物4的结构式为:

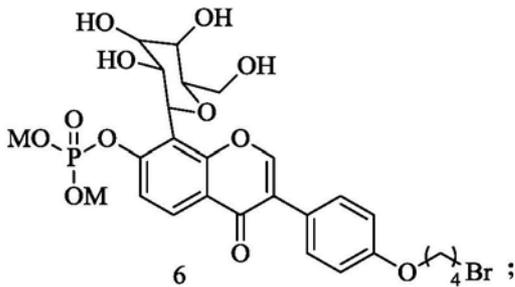


(4) 化合物5的合成:将步骤(3)所得的化合物4与氨水作用,得化合物5,其中化合物5的结构式为:



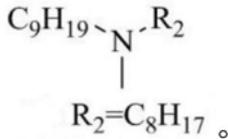
;

(5) 化合物6的合成:将步骤(4)所得的化合物5与1,4-二溴丁烷以及MOH反应得化合物6;其中MOH为NaOH,所述化合物6的结构式为:



其中,M为Na⁺;

(6) 葛根素衍生物的合成:将步骤(5)所得的化合物6与叔胺反应,得葛根素衍生物;其中,所述叔胺为叔胺Z₂,其结构式为:



3. 根据权利要求2所述的葛根素衍生物的制备方法,其特征在于:步骤(1)的具体操作方法为:在化合物1中加入经干燥后的吡啶,使化合物1完全溶解,之后加入乙酸酐,常温下搅拌25-35min,室温下放置18-24h得混合物A,将混合物A缓慢的倒入冰水中,充分搅拌,析出大量固体,抽滤得固体A,将固体A用二氯甲烷溶解,加入5%的碳酸氢钠水溶液,常温下搅拌45-60min,用分液漏斗分液并收集有机层,有机层减压回收溶剂至干,得固体B,固体B经硅胶柱层析,以石油醚-乙酸乙酯作为洗脱剂进行梯度,收集石油醚与乙酸乙酯体积比为15:1时的洗脱部分,回收溶剂,再利用丙酮重结晶,得化合物2;

其中,化合物1与乙酸酐的摩尔比为1:8-1:10。

4. 根据权利要求2所述的葛根素衍生物的制备方法,其特征在于:步骤(2)的具体操作方法为:

a. 氯代亚磷酸二苄酯的制备:将亚磷酸二苄酯与N-氯代丁二酰亚胺反应得氯代亚磷酸二苄酯;

b. 将步骤(1)所得的化合物2溶解于二氯甲烷中,加入二异丙基乙胺,然后将反应体系的温度降到0℃,往反应体系中滴加氯代亚磷酸二苄酯的甲苯溶液,滴加完毕后,室温搅拌10-12h,待反应结束后,向反应体系中加入水,然后利用二氯甲烷萃取,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥得到化合物3。

5. 根据权利要求4所述的葛根素衍生物的制备方法,其特征在于:步骤a的操作方法为:

将亚磷酸二苄酯用干燥的甲苯溶解后,加入N-氯代丁二酰亚胺,氮气保护下室温搅拌3-5小时,反应结束后,过滤,收集滤液,即得氯代亚磷酸二苄酯的甲苯溶液。

6. 根据权利要求2所述的葛根素衍生物的制备方法,其特征在于:步骤(3)的具体操作方法为:将步骤(2)所得的化合物3用甲醇溶解,加入5%钨碳,在氢气加压下氢化2-3小时,利用TLC检测反应进程,待反应结束后,过滤,收集滤液,可得所述化合物4。

7. 根据权利要求2所述的葛根素衍生物的制备方法,其特征在于:步骤(4)的具体操作方法为:

将步骤(3)所得的化合物4溶于甲醇中,之后加入氨水,室温搅拌3-4小时,停止反应,将反应液减压浓缩,固体用水溶解,阳离子交换树脂处理,过滤,滤液减压浓缩,得到化合物5。

8. 根据权利要求2所述的葛根素衍生物的制备方法,其特征在于:步骤(5)的具体操作方法为:将NaOH置于反应瓶中,加入无水乙醇,在85-90℃下回流30-45min至MOH溶解,之后加入步骤(4)所得的化合物5,继续回流2-3h至化合物5溶解,接着再加入1,4-二溴丁烷,继续回流反应10-12h,待反应结束后,减压回收溶剂,得淡黄色固体粉末,淡黄色固体粉末利用甲醇重结晶,干燥得到白色粉末状化合物6。

9. 根据权利要求2所述的葛根素衍生物的制备方法,其特征在于:步骤(6)的具体操作方法为:将步骤(5)所得化合物6置于反应瓶中,加入无水乙醇,在85-90℃下回流搅拌30-45min,之后再加入叔胺Z₂,继续回流反应20-24h,其中叔胺与化合物6的摩尔比为1:1-1.5;待反应结束后,冷却,减压回收乙醇至干,得淡黄色固体粉末,将该淡黄色固体粉末利用硅胶柱层析分离提纯,以氯仿-甲醇作为洗脱剂,按照氯仿与甲醇的体积比依次为50:1、40:1、30:1、20:1、10:1、8:1的洗脱顺序进行梯度洗脱,收集氯仿与甲醇体积比为8:1时的洗脱部分,收集的洗脱部分经减压除去洗脱剂后得淡黄色固体粉末,即为所述葛根素衍生物。

10. 根据权利要求1所述的葛根素衍生物的应用,其特征在于:在制备治疗肺癌、肝癌、宫颈癌药物中的应用。

具有良好生物活性的葛根素衍生物及其制备方法以及应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种具有良好生物活性的葛根素衍生物及其制备方法以及应用。

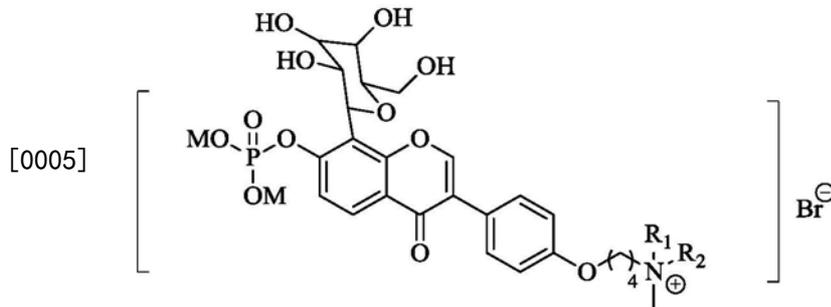
背景技术

[0002] 葛根素是多年生豆科植物野葛 (*Pueraria Lobata* (Willd.) ohwi) 或甘葛藤 (又称粉葛) (*Pueraria thomsonii* Benth) 的干燥根中提取的一种黄酮苷。化学名为7,4'-二羟基-8-β-D-葡萄糖异黄酮, 分子式为 $C_{21}H_{20}O_9$, 分子量416.38, CAS号为82373-94-3。作为葛根的特有成份, 具有独特的化学结构、生物活性和药理作用。葛根素有扩张冠状动脉和脑血管作用, 同时具有降血糖及血脂、抗氧化、抗肿瘤的作用。然而, 葛根素在水中溶解度较低, 这极大的影响了葛根素的使用以及对其进行更深层次的药理、药效的研究。另外, 在葛根素的药效研究方面, 大多仅研究其在心脑血管疾病方面上的作用, 而对抗肿瘤方面的研究甚少。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种合成方法简单且集良好水溶性与显著抗肿瘤效果为一体的具有良好生物活性的葛根素衍生物及其制备方法以及应用。

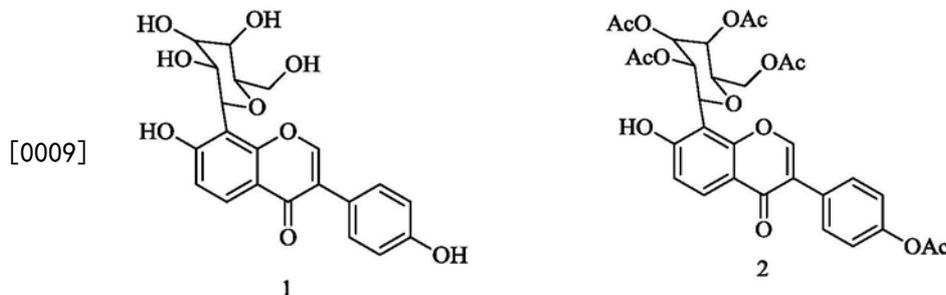
[0004] 本发明的目的通过如下技术方案实现: 一种葛根素衍生物, 其结构式如下:



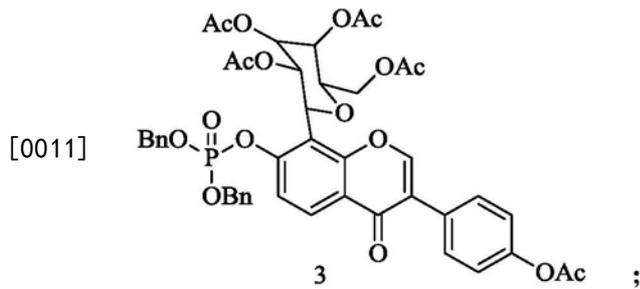
[0006] 其中, M为 Na^+ 或 K^+ 中的一种; 所述 R_1 为 C_8-C_{12} 的饱和直链烷基; 所述 R_2 为 C_8-C_{12} 的饱和直链烷基。

[0007] 所述的葛根素衍生物的制备方法, 它包括以下步骤:

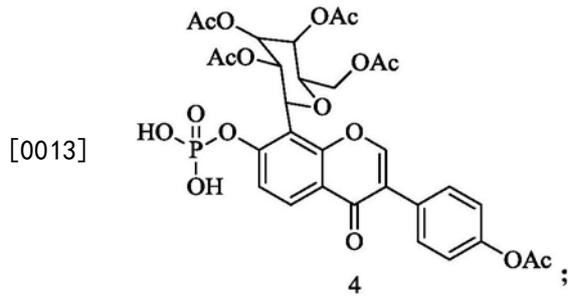
[0008] (1) 化合物2的合成: 将化合物1溶解于吡啶中, 再与乙酸酐反应制得化合物2; 其中化合物1与化合物2的结构式分别为:



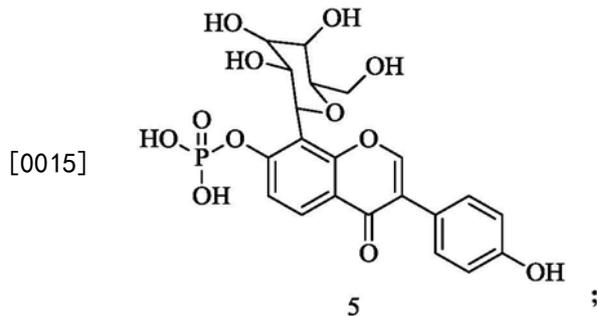
[0010] (2) 化合物3的合成: 将步骤(1)所得的化合物2, 在二异丙基乙胺的作用下, 与氯代亚磷酸二苄酯反应得化合物3, 其中化合物3的结构式为:



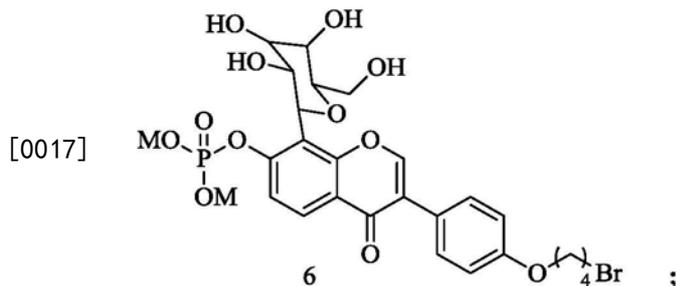
[0012] (3) 化合物4的合成:将步骤(2)所得的化合物3与Pd/C, H₂作用,得化合物4,其中化合物4的结构式为:



[0014] (4) 化合物5的合成:将步骤(3)所得的化合物4与氨水作用,得化合物5,其中化合物5的结构式为:



[0016] (5) 化合物6的合成:将步骤(4)所得的化合物5与1,4-二溴丁烷以及MOH反应得化合物6;其中MOH为NaOH或KOH中的一种,所述化合物6的结构式为:



[0018] (6) 葛根素衍生物的合成:将步骤(5)所得的化合物6与一系列叔胺反应,得葛根素衍生物。

[0019] 所述的葛根素衍生物的应用,在制备治疗肺癌、肝癌、宫颈癌药物中的应用。

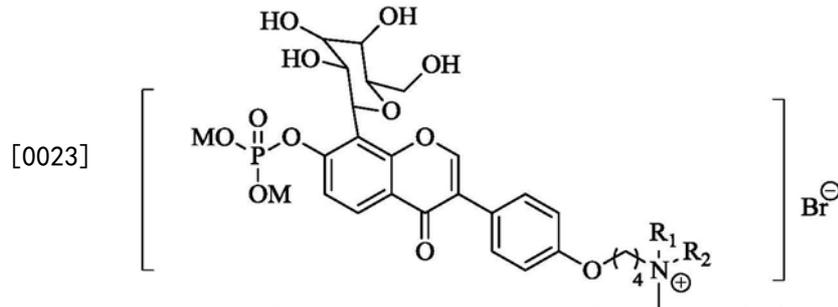
[0020] 较之现有技术而言,本发明的优点在于:1. 本发明制得的一系列葛根素衍生物具有良好的水溶性,适合做注射剂,另外,该葛根素衍生物同时具备良好的脂溶性,能够很好的进入细胞,进而最大程度的发挥其药效,由此可知该葛根素衍生物是一种既亲水又亲脂

的双亲型化合物。2. 该葛根素衍生物具有良好的抗肿瘤效果, 经实验验证, 该葛根素衍生物对肺癌细胞、结肠癌细胞、胃癌细胞、肝癌细胞以及宫颈癌 (HeLa) 细胞均具有良好的抑制作用, 且对HeLa细胞的抑制作用尤为显著, 可见该葛根素衍生物可以作为潜在的抗癌药物。3. 本发明制备葛根素衍生物的制备方法简单, 易于葛根素衍生物的合成。

具体实施方式

[0021] 下面结合实施例对本发明内容进行详细说明:

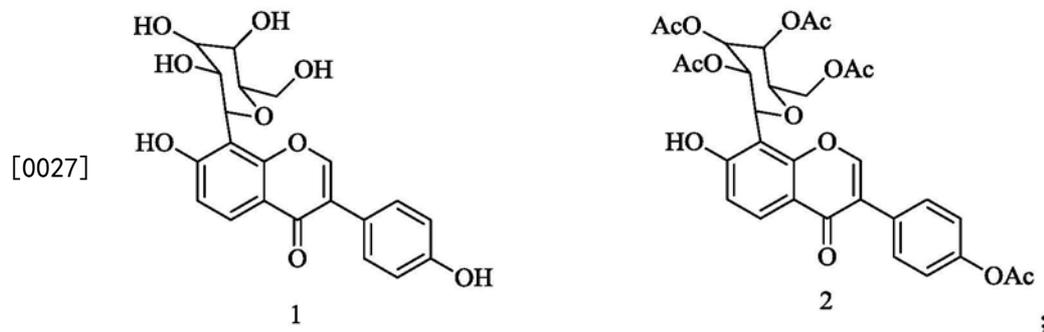
[0022] 一种葛根素衍生物, 其结构式如下:



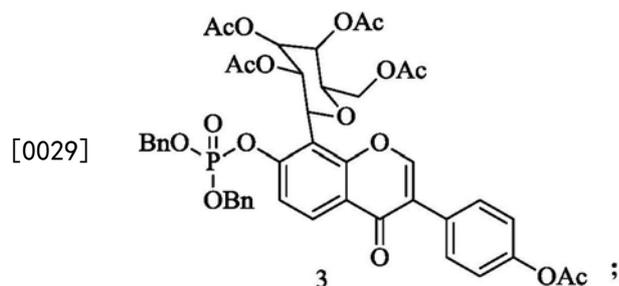
[0024] 其中, M为 Na^+ 或 K^+ 中的一种; 所述 R_1 为 C_8 - C_{12} 的饱和直链烷基; 所述 R_2 为 C_8 - C_{12} 的饱和直链烷基。

[0025] 所述的葛根素衍生物的制备方法, 它包括以下步骤:

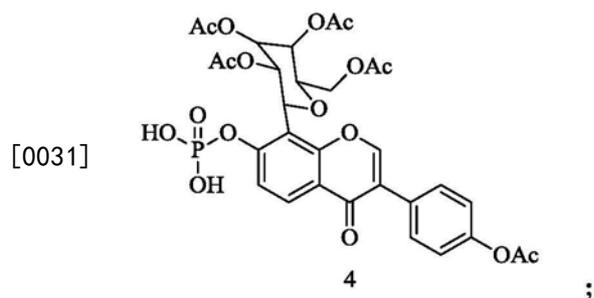
[0026] (1) 化合物2的合成: 将化合物1溶解于吡啶中, 再与乙酸酐反应制得化合物2; 其中化合物1与化合物2的结构式分别为:



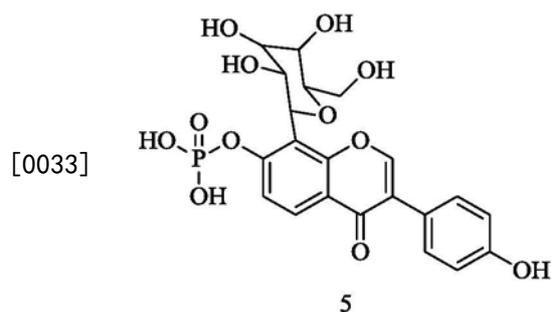
[0028] (2) 化合物3的合成: 将步骤(1)所得的化合物2, 在二异丙基乙胺的作用下, 与氯代亚磷酸二苄酯反应得化合物3, 其中化合物3的结构式为:



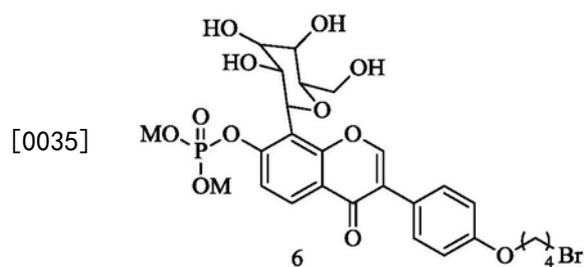
[0030] (3) 化合物4的合成: 将步骤(2)所得的化合物3与 Pd/C , H_2 作用, 得化合物4, 其中化合物4的结构式为:



[0032] (4) 化合物5的合成:将步骤(3)所得的化合物4与氨水作用,得化合物5,其中化合物5的结构式为:

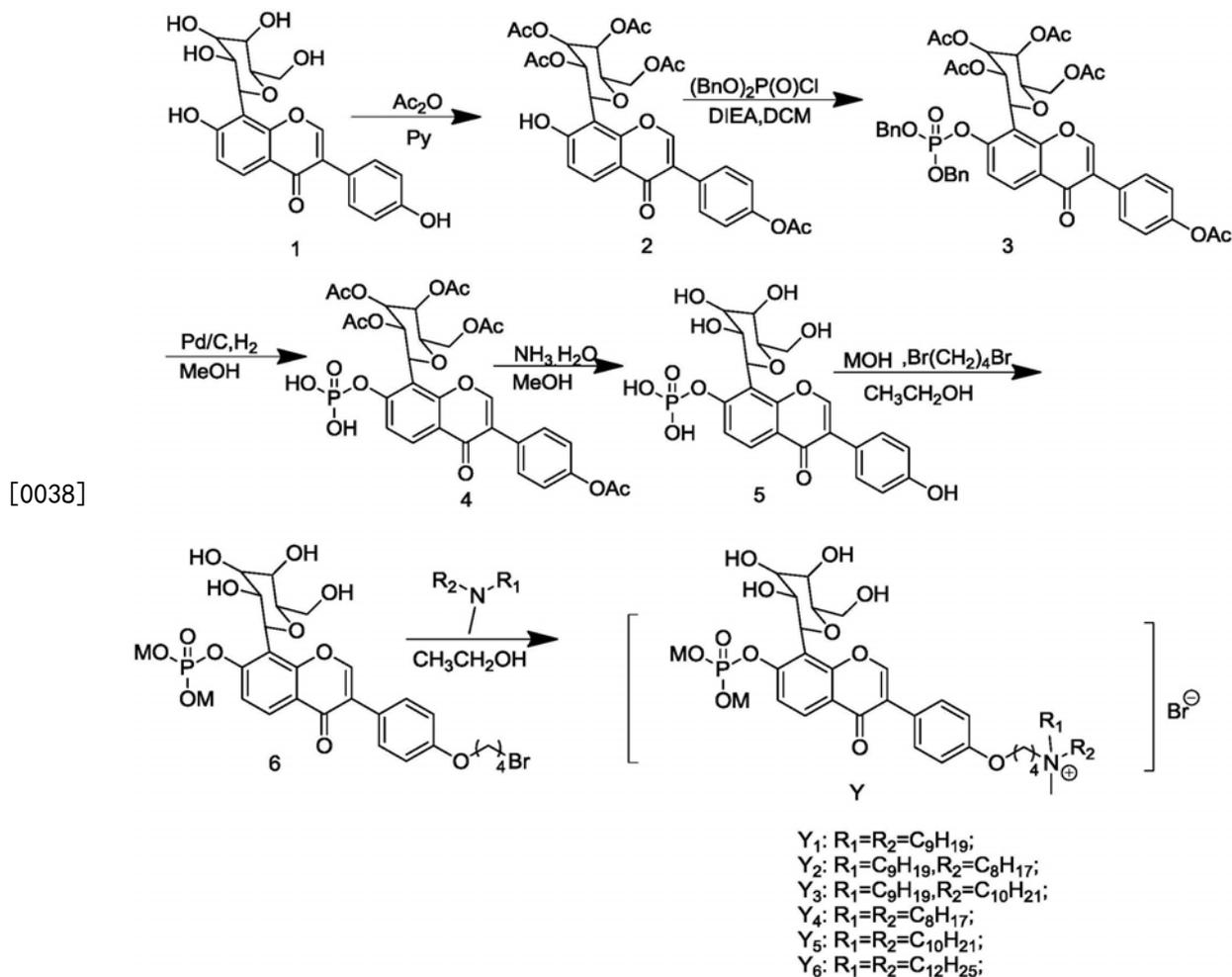


[0034] (5) 化合物6的合成:将步骤(4)所得的化合物5与1,4-二溴丁烷以及MOH反应得化合物6;其中MOH为NaOH或KOH中的一种,所述化合物6的结构式为:



[0036] (6) 葛根素衍生物的合成:将步骤(5)所得的化合物6与一系列叔胺反应,得葛根素衍生物。

[0037] 所述葛根素衍生物的合成路线如下:



[0039] 其中,步骤(1)的具体操作方法为:在化合物1中加入经干燥后的吡啶,使化合物1完全溶解,之后加入乙酸酐,常温下搅拌25-35min,室温下放置18-24h得混合物A,将混合物A缓慢的倒入冰水中,充分搅拌,析出大量固体,抽滤得固体A,将固体A用二氯甲烷溶解,加入5%的碳酸氢钠水溶液,常温下搅拌45-60min,用分液漏斗分液并收集有机层,有机层减压回收溶剂至干,得固体B,固体B经硅胶柱层析,以石油醚-乙酸乙酯作为洗脱剂进行梯度,收集石油醚与乙酸乙酯体积比为15:1时的洗脱部分,回收溶剂,再利用丙酮重结晶,得化合物2;

[0040] 其中,化合物1与乙酸酐的摩尔比为1:8-1:10。

[0041] 步骤(2)的具体操作方法为:

[0042] a. 氯代亚磷酸二苄酯的制备:将亚磷酸二苄酯与N-氯代丁二酰亚胺反应得氯代亚磷酸二苄酯;

[0043] b. 将步骤(1)所得的化合物2溶解于二氯甲烷中,加入二异丙基乙胺,然后将反应体系的温度降到0℃,往反应体系中滴加氯代亚磷酸二苄酯的甲苯溶液,滴加完毕后,室温搅拌10-12h,待反应结束后,向反应体系中加入水,然后利用二氯甲烷萃取,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥得到化合物3;

[0044] 步骤a的操作方法为:将亚磷酸二苄酯用干燥的甲苯溶解后,加入N-氯代丁二酰亚胺,氮气保护下室温搅拌3-5小时,反应结束后,过滤,收集滤液,记得所述氯代亚磷酸二苄酯。

[0045] 步骤(3)的具体操作方法为:将步骤(2)所得的化合物3用甲醇溶解,加入5%钯碳,在氢气加压下氢化2-3小时,利用TLC检测反应进程,待反应结束后,过滤,收集滤液,即得所述化合物4。

[0046] 步骤(4)的具体操作方法为:将步骤(3)所得的化合物4溶于甲醇中,之后加入氨水,室温搅拌3-4小时,停止反应,将反应液减压浓缩,固体用水溶解,阳离子交换树脂处理,过滤,滤液减压浓缩,得到化合物5。

[0047] 步骤(5)的具体操作方法为:将MOH置于反应瓶中,加入无水乙醇,在85-90℃下回流30-45min至MOH溶解,之后加入步骤(4)所得的化合物5,继续回流2-3h至化合物5溶解,接着再加入1,4-二溴丁烷,继续回流反应10-12h,待反应结束后,减压回收溶剂,得淡黄色固体粉末,淡黄色固体粉末利用甲醇重结晶,干燥得到白色粉末状化合物6。

[0048] 步骤(6)的具体操作方法为:将步骤(5)所得化合物6置于反应瓶中,加入无水乙醇,在85-90℃下回流搅拌30-45min,之后再加入叔胺,继续回流反应20-24h,其中叔胺与化合物6的摩尔比为1:1-1.5;待反应结束后,冷却,减压回收乙醇至干,得淡黄色固体粉末,将该淡黄色固体粉末利用硅胶柱层析分离提纯,以氯仿-甲醇作为洗脱剂,按照氯仿与甲醇的体积比依次为50:1、40:1、30:1、20:1、10:1、8:1的洗脱顺序进行梯度洗脱,收集氯仿与甲醇体积比为8:1时的洗脱部分,收集的洗脱部分经减压除去洗脱剂后得淡黄色固体粉末,即为所述葛根素衍生物。

[0049] 下面结合实施例对本发明的发明内容作更细致的阐释:

[0050] 实施例一:化合物6的合成:

[0051] (1) 化合物2的制备:

[0052] 在50g化合物1中加入经干燥后的吡啶300mL,使化合物1完全溶解,之后加入乙酸酐100g,常温下搅拌30min,室温下放置24h得混合物A,将混合物A缓慢的倒入冰水中,充分搅拌,析出大量固体,抽滤得固体A,将固体A用二氯甲烷溶解,加入5%的碳酸氢钠水溶液,常温下搅拌60min,用分液漏斗分液并收集有机层,有机层减压回收溶剂至干,得固体B,固体B经硅胶柱层析,以石油醚-乙酸乙酯作为洗脱剂进行梯度,按照石油醚与乙酸乙酯的体积比依次为45:1、35:1、30:1、25:1、15:1的洗脱顺序进行梯度洗脱,收集石油醚与乙酸乙酯体积比为15:1时的洗脱部分,回收溶剂,再利用丙酮重结晶,得化合物2(20g);

[0053] 其中,化合物2的¹H NMR结果为:¹H NMR(CDCl₃, δ, ppm) 8.20(d, 1H, J=9.5Hz), 7.57(d, 2H, J=8.5Hz), 7.17(d, 2H, 8.5Hz), 7.01(d, 1H, 8.5Hz), 5.40(m, 3H), 5.35(m, 1H), 4.37(dd, 1H, J=12.5Hz, 3.5Hz), 4.21(dd, 1H, J=12.5Hz, 2Hz), 3.99(m, 1H), 2.32(s, 3H), 2.14(s, 3H), 2.09(s, 3H), 2.02(s, 3H), 1.67(s, 3H)。

[0054] (2) 化合物3的制备:

[0055] a. 氯代亚磷酸二苄酯的制备:将亚磷酸二苄酯(160g, 0.610mol)用500mL干燥的甲苯溶解后,往里加入N-氯代丁二酰亚胺(115g, 0.861mol),氮气保护下室温搅拌4小时,之后过滤,收集滤液,即得氯代亚磷酸二苄酯的甲苯溶液,氯代亚磷酸二苄酯的甲苯溶液直接用于下步反应。

[0056] b. 将步骤(1)所得的化合物2(60g, 95.76mmol)溶解于600mL二氯甲烷中,加入二异丙基乙胺(22.0g, 0.169mmol),然后将反应体系的温度降到0℃,往反应体系中滴加80mL步骤a所得的氯代亚磷酸二苄酯的甲苯溶液,滴加完毕后,室温搅拌12h, TLC检测反应进程,待

反应结束后,向反应体系中加入水500mL,然后利用二氯甲烷(300mL×3)萃取,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥得到化合物3(60.2g)。

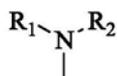
[0057] (3) 化合物4的制备:取步骤(2)所得的化合物3(55g,61.93mmol)用500mL甲醇溶解,加入5%钨碳(2.7g),氢气加压下氢化2小时,TLC检测反应完全。过滤,收集滤液,即得化合物4的甲醇溶液,化合物4的甲醇溶液直接用于下步反应。

[0058] (4) 化合物5的制备:往步骤(3)所得的化合物4的甲醇溶液中加入50mL氨水,室温搅拌4小时,HPLC检测显示反应完全。停止反应,将反应液减压浓缩,固体用100mL水溶解,阳离子交换树脂处理,过滤,滤液减压浓缩,得到化合物5(31g)。

[0059] (5) 化合物6的制备:将NaOH(1.7g,42.5mmol)置于反应瓶中,加入无水800mL乙醇,在90℃下回流30min至NaOH溶解,之后加入步骤(4)所得的化合物5(4.96g,10mmol),继续回流2-3h至化合物5溶解,接着再加入1,4-二溴丁烷(2.591g,12mmol),继续回流反应12h,待反应结束后,减压回收溶剂,得淡黄色固体粉末,淡黄色固体粉末利用甲醇重结晶,干燥得到白色粉末状化合物6。

[0060] 化合物6的¹H NMR结果为:¹H NMR(D₂O,δ,ppm) 8.34(d,1H,J=11.0Hz),8.25(d,1H,J=7.7Hz),7.73(d,2H,J=7.8Hz),7.44(d,2H,6.52Hz),6.97(d,1H,6.5Hz),4.54(d,1H),4.14(t,1H),4.07-4.11(m,3H),3.69(M,1H),3.44-3.47(M,3H),3.23-3.24(m,2H),1.88-2.16(m,4H),1.81-1.84(m,4H)。NaOH也可以用KOH来替代。

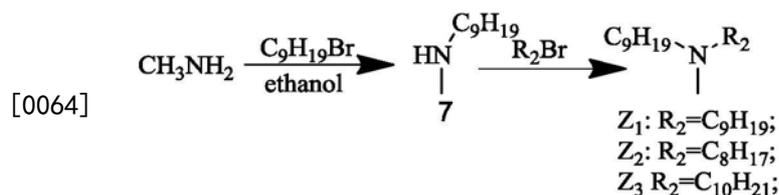
[0061] 实施例二:叔胺的合成:



[0062] 所述叔胺的结构式为:
 $Z_1: R_1=R_2=C_9H_{19};$
 $Z_2: R_1=C_9H_{19},R_2=C_8H_{17};$ 叔胺Z₁至Z₆的碳链均为饱和的直链。
 $Z_3: R_1=C_9H_{19},R_2=C_{10}H_{21};$
 $Z_4: R_1=R_2=C_8H_{17};$
 $Z_5: R_1=R_2=C_{10}H_{21};$
 $Z_6: R_1=R_2=C_{12}H_{25};$

其中叔胺Z₁、Z₂以及Z₃均为含有9个碳的长链叔胺,市面上暂无销售,因此叔胺Z₁、Z₂以及Z₃由本发明的发明人合成。其他叔胺Z₄、Z₅、Z₆从国药化学试剂有限公司购置。

[0063] 叔胺Z₁、Z₂以及Z₃制备路线为:



[0065] a. 化合物7的合成:

[0066] 在反应瓶中加入50mL甲胺水溶液、12mL溴代正壬烷以及20mL乙醇,常温搅拌45min后,将反应液用水洗涤(除去过量的甲胺)、氯仿萃取,将氯仿萃取所得的有机相用污水硫酸钠干燥,旋蒸,旋到没有液滴滴下为止,得到淡黄色的粘稠液体即为粗产品化合物7。之后将该淡黄色的粘稠液体进行硅胶柱层析,利用二氯甲烷与乙醇体积比为35:1的混合溶剂洗脱,利用TLC配合碘缸显色检测洗脱进程,洗脱结束后,将收集的流出液进行旋蒸,得无色粘稠液体化合物7。

[0067] 化合物7的¹H NMR结果为:¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 3.69 (s, 1H, -NH), 2.61 (t, 2H, J = 6.801Hz, -CH₂-), 1.53 (m, 2H, -NCH₂CH₂-), 1.26 (m, 12H, -(CH₂)₆-), 0.87 (t, J = 6.80Hz, 3H, -CH₃), 化合物7的ESI-MS m/z 158.20 (M+H)⁺.

[0068] b. 叔胺Z₁的制备:

[0069] 在反应瓶中加入0.02mol的化合物7、0.02mol的溴代正壬烷C₉H₁₉Br、NaOH (0.8g, 0.02mol) 以及乙醇, 回流搅拌5h, 之后将反应冷却, 用水洗涤除去无机盐, 水洗3遍, 水洗过程中用大量的氯仿萃取。合并有机相, 有机相用无水硫酸钠干燥, 旋蒸, 得到淡黄色黏稠物质即为粗产品叔胺Z₁。粗产品叔胺Z₁经硅胶柱层析, 利用二氯甲烷洗脱, 利用TLC配合碘缸显色检测洗脱进程, 洗脱结束后, 将收集的流出液进行旋蒸, 得无色粘稠液体叔胺Z₁。

[0070] 叔胺Z₁的¹H NMR结果为:¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 2.33 (t, J = 7.6Hz, 4H, -CH₂-N-CH₂-), 2.22 (s, 3H, N-CH₃), 1.47 (m, 4H, 2 × -NCH₂CH₂-), 1.27 (m, 24H, 2 × -(CH₂)₆-), 0.88 (t, J = 7.2Hz, 6H, 2 × -CH₃), 叔胺Z₁的ESI-MS m/z 284.34 (M+H)⁺.

[0071] c. 叔胺Z₂的制备: 叔胺Z₂的制备方法与叔胺Z₁的制备方法相同, 仅将原料溴代正壬烷C₉H₁₉Br替换成溴代正辛烷C₈H₁₇Br。叔胺Z₂的¹H NMR结果为:¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 2.33 (m, 4H, -CH₂-N-CH₂-), 2.23 (s, 3H, N-CH₃), 1.48 (m, 4H, 2 × -NCH₂CH₂-), 1.29 (m, 22H, -(CH₂)₅-), -(CH₂)₆-), 0.90 (m, 6H, 2 × -CH₃), 叔胺Z₂的ESI-MS m/z 270.37 (M+H)⁺.

[0072] d. 叔胺Z₃的制备: 叔胺Z₃的制备方法与叔胺Z₁的制备方法相同, 仅将原料溴代正壬烷C₉H₁₉Br替换成溴代正癸烷C₁₀H₂₁Br。叔胺Z₃的¹H NMR结果为:¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 2.32 (t, J = 7.6Hz, 4H, -CH₂-N-CH₂-), 2.22 (s, 3H, N-CH₃), 1.47 (m, 4H, 2 × -NCH₂CH₂-), 1.28 (m, 26H, -(CH₂)₆-), -(CH₂)₇-), 0.89 (t, J = 6.8Hz, 6H, 2 × -CH₃), 叔胺Z₃的ESI-MS m/z 298.39 (M+H)⁺.

[0073] 实施例三: 葛根素衍生物Y₁的合成:

[0074] 取0.250mmol实施例一步骤(5)中所得化合物6置于反应瓶中, 加入500mL无水乙醇, 在90℃下回流搅拌45min, 之后再加入0.252mmol实施例二所得的叔胺Z₁, 继续回流反应24h, 待反应结束后, 冷却, 减压回收乙醇至干, 得淡黄色固体粉末, 将该淡黄色固体粉末利用硅胶柱层析分离提纯, 以氯仿-甲醇作为洗脱剂, 按照氯仿与甲醇的体积比依次为50:1、40:1、30:1、20:1、10:1、8:1的洗脱顺序进行梯度洗脱, 收集氯仿与甲醇体积比为8:1时的洗脱部分, 收集的洗脱部分经减压除去洗脱剂后得淡黄色固体粉末, 即为所述葛根素衍生物Y₁。室温下, 葛根素衍生物Y₁在水中的溶解度约为353mg/mL。

[0075] 葛根素衍生物Y₁的¹H NMR结果为:

[0076] ¹H NMR (D₂O, δ, ppm): 8.44 (d, 1H, J = 11.0Hz), 8.35 (d, 1H, J = 7.7Hz), 7.63 (d, 2H, J = 7.8Hz), 7.51 (d, 2H, 6.52Hz), 6.98 (d, 1H, 6.5Hz), 4.54 (d, 1H), 4.14 (t, 2H), 3.65-4.07 (m, 10H), 3.47 (m, 6H, -CH₂-N-CH₂-), 3.34 (s, 3H, N-CH₃), 1.88-1.74 (m, 8H, 3 × -N-CH₂-CH₂-), -O-CH₂-CH₂-), 1.43-1.26 (m, 24H, 2 × -(CH₂)₆-), 0.89 (t, J = 6.8Hz, 6H, 2 × -CH₃)。

[0077] 实施例四: 葛根素衍生物Y₂的合成: 葛根素衍生物Y₂的制备方法与葛根素衍生物Y₁的制备方法相同, 仅将叔胺Z₁替换为实施例二所得的叔胺Z₂。室温下, 葛根素衍生物Y₂在水中的溶解度约为365mg/mL。葛根素衍生物Y₂的¹H NMR结果为:

[0078] ¹H NMR (D₂O, δ, ppm): 8.42 (d, 1H, J = 11.0Hz), 8.34 (d, 1H, J = 7.7Hz), 7.61 (d, 2H, J = 7.8Hz), 7.49 (d, 2H, 6.52Hz), 7.01 (d, 1H, 6.5Hz), 4.52 (d, 1H), 4.13 (t, 2H), 3.63-4.11

(m, 10H), 3.47 (m, 6H, $-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-$), 3.34 (s, 3H, N-CH₃), 1.83-1.76 (m, 8H, $3 \times -\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 1.42-1.31 (m, 22H, $-(\text{CH}_2)_5-$, $-(\text{CH}_2)_6-$), 0.90 (t, J=6.8Hz, 6H, $2 \times -\text{CH}_3$)。

[0079] 实施例五:葛根素衍生物Y₃的合成:葛根素衍生物Y₃的制备方法与葛根素衍生物Y₁的制备方法相同,仅将叔胺Z₁替换为实施例二所得的叔胺Z₃。室温下,葛根素衍生物Y₃在水中的溶解度约为372mg/mL。葛根素衍生物Y₃的¹H NMR结果为:

[0080] ¹H NMR (D₂O, δ, ppm): 8.31 (d, 1H, J=11.0Hz), 8.35 (d, 1H, J=7.7Hz), 7.59 (d, 2H, J=7.8Hz), 7.50 (d, 2H, 6.52Hz), 6.99 (d, 1H, 6.5Hz), 4.51 (d, 1H), 4.12 (t, 2H), 3.58-4.03 (m, 10H), 3.47 (m, 6H, $-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-$), 3.34 (s, 3H, N-CH₃), 1.86-1.80 (m, 8H, $3 \times -\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 1.41-1.27 (m, 26H, $-(\text{CH}_2)_7-$, $-(\text{CH}_2)_6-$), 0.89 (t, J=6.8Hz, 6H, $2 \times -\text{CH}_3$)。

[0081] 实施例六:葛根素衍生物Y₄的合成:葛根素衍生物Y₄的制备方法与葛根素衍生物Y₁的制备方法相同,仅将叔胺Z₁替换为叔胺Z₄。室温下,葛根素衍生物Y₄在水中的溶解度约为389mg/mL。

[0082] 葛根素衍生物Y₄的¹H NMR结果为:

[0083] ¹H NMR (D₂O, δ, ppm): 8.41 (d, 1H, J=11.0Hz), 8.33 (d, 1H, J=7.7Hz), 7.60 (d, 2H, J=7.8Hz), 7.52 (d, 2H, 6.52Hz), 7.02 (d, 1H, 6.5Hz), 4.55 (d, 1H), 4.13 (t, 2H), 3.66-4.08 (m, 10H), 3.45 (m, 6H, $-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-$), 3.31 (s, 3H, N-CH₃), 1.83-1.76 (m, 8H, $3 \times -\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 1.41-1.32 (m, 20H, $2 \times -(\text{CH}_2)_5-$), 0.90 (t, J=6.8Hz, 6H, $2 \times -\text{CH}_3$)。

[0084] 实施例七:葛根素衍生物Y₅的合成:葛根素衍生物Y₅的制备方法与葛根素衍生物Y₁的制备方法相同,仅将叔胺Z₁替换为叔胺Z₅。室温下,葛根素衍生物Y₅在水中的溶解度约为362mg/mL。葛根素衍生物Y₅的¹H NMR结果为:

[0085] ¹H NMR (D₂O, δ, ppm): 8.42 (d, 1H, J=11.0Hz), 8.34 (d, 1H, J=7.7Hz), 7.61 (d, 2H, J=7.8Hz), 7.49 (d, 2H, 6.52Hz), 7.01 (d, 1H, 6.5Hz), 4.52 (d, 1H), 4.13 (t, 2H), 3.63-4.11 (m, 10H), 3.47 (m, 6H, $-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-$), 3.31 (s, 3H, N-CH₃), 1.83-1.78 (m, 8H, $3 \times -\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 1.43-1.30 (m, 28H, $2 \times -(\text{CH}_2)_7-$), 0.89 (t, J=6.8Hz, 6H, $2 \times -\text{CH}_3$)。

[0086] 实施例八:葛根素衍生物Y₆的合成:葛根素衍生物Y₆的制备方法与葛根素衍生物Y₁的制备方法相同,仅将叔胺Z₁替换为叔胺Z₆。室温下,葛根素衍生物Y₆在水中的溶解度约为356mg/mL。葛根素衍生物Y₆的¹H NMR结果为:

[0087] ¹H NMR (D₂O, δ, ppm): 8.41 (d, 1H, J=11.0Hz), 8.35 (d, 1H, J=7.7Hz), 7.59 (d, 2H, J=7.8Hz), 7.51 (d, 2H, 6.52Hz), 7.01 (d, 1H, 6.5Hz), 4.53 (d, 1H), 4.14 (t, 2H), 3.62-4.08 (m, 10H), 3.47 (m, 6H, $-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-$), 3.33 (s, 3H, N-CH₃), 1.82-1.78 (m, 8H, $3 \times -\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 1.42-1.31 (m, 36H, $2 \times -(\text{CH}_2)_9-$), 0.89 (t, J=6.8Hz, 6H, $2 \times -\text{CH}_3$)。实施例九:

葛根素衍生物体外细胞活性测试:

[0088] 将葛根素衍生物Y₁₋₆分别作为受试药物,用培养基将药物稀释,并分别配置成不同的浓度梯度;

[0089] 取肺癌细胞H446、肝癌细胞HepG2、人宫颈癌细胞HeLa和正常细胞HELFL,将其密度调整为 1×10^5 个/ml,接种于96孔板,每孔100μl,置37℃、5%CO₂培养箱中培养24h;

[0090] 移去旧的培养基,加入受试药物,每孔100μl,另设空白对照组和葛根素组,每组设3个复孔。药物作用48h后,吸弃含药培养基,于每孔中加入无血清、无酚红1640培养基100μl,再加入MTT溶液10μl,继续孵育4h,终止培养;

[0091] 小心吸弃96孔板孔内上清液,每孔加入100 μ l DMSO,振荡10min,在酶标仪上于570nm波长处测定各孔光吸收值(OD值),计算细胞的增殖抑制率:抑制率(%) = (1-用药组的OD平均值 \div 空白对照组的OD平均值) \times 100%,使用SPSS13.0软件对数据进行处理,并计算癌细胞半数抑制浓度IC₅₀值。结果如表1所示。

[0092] 表1处理后癌细胞和正常细胞的活性(IC₅₀, μ mol/L)

[0093]

	葛根素	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆
肺癌细胞H446	>90	8.18	5.33	7.78	9.37	9.23	9.10
肝癌细胞HepG2	>90	7.76	5.13	6.32	8.35	7.71	8.11
人宫颈癌细胞HeLa	>90	6.53	4.42	6.11	7.12	6.98	6.03
正常细胞HELFL	>90	30.15	30.01	28.14	32.33	29.13	31.17

[0094] 实验结果表明,葛根素衍生物Y₁₋₆均显示出对肺癌细胞H446、肝癌细胞HepG2、人宫颈癌细胞HeLa的抗癌活性,其中葛根素衍生物Y₂对人宫颈癌细胞HeLa具有显著的抑制作用,其抗癌活性明显强于比葛根素且其对正常细胞HELFL毒性较小,可以作为潜在的抗癌药物。