



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113173857 A

(43) 申请公布日 2021.07.27

(21) 申请号 202110248495.X

A61P 35/00 (2006.01)

(22) 申请日 2021.03.09

(71) 申请人 昆明理工大学

地址 650093 云南省昆明市五华区学府路  
253号

(72) 发明人 李蓉涛 全丽秋 李洪梅 刘丹  
叶瑞绒 陈宣钦 张治军

(74) 专利代理机构 昆明人从众知识产权代理有  
限公司 53204

代理人 李晓亚

(51) Int. Cl.

C07C 69/84 (2006.01)

C07C 69/92 (2006.01)

C07C 69/65 (2006.01)

C07C 67/08 (2006.01)

权利要求书1页 说明书9页 附图10页

(54) 发明名称

一种大麻二酚衍生物及其制备方法与应用

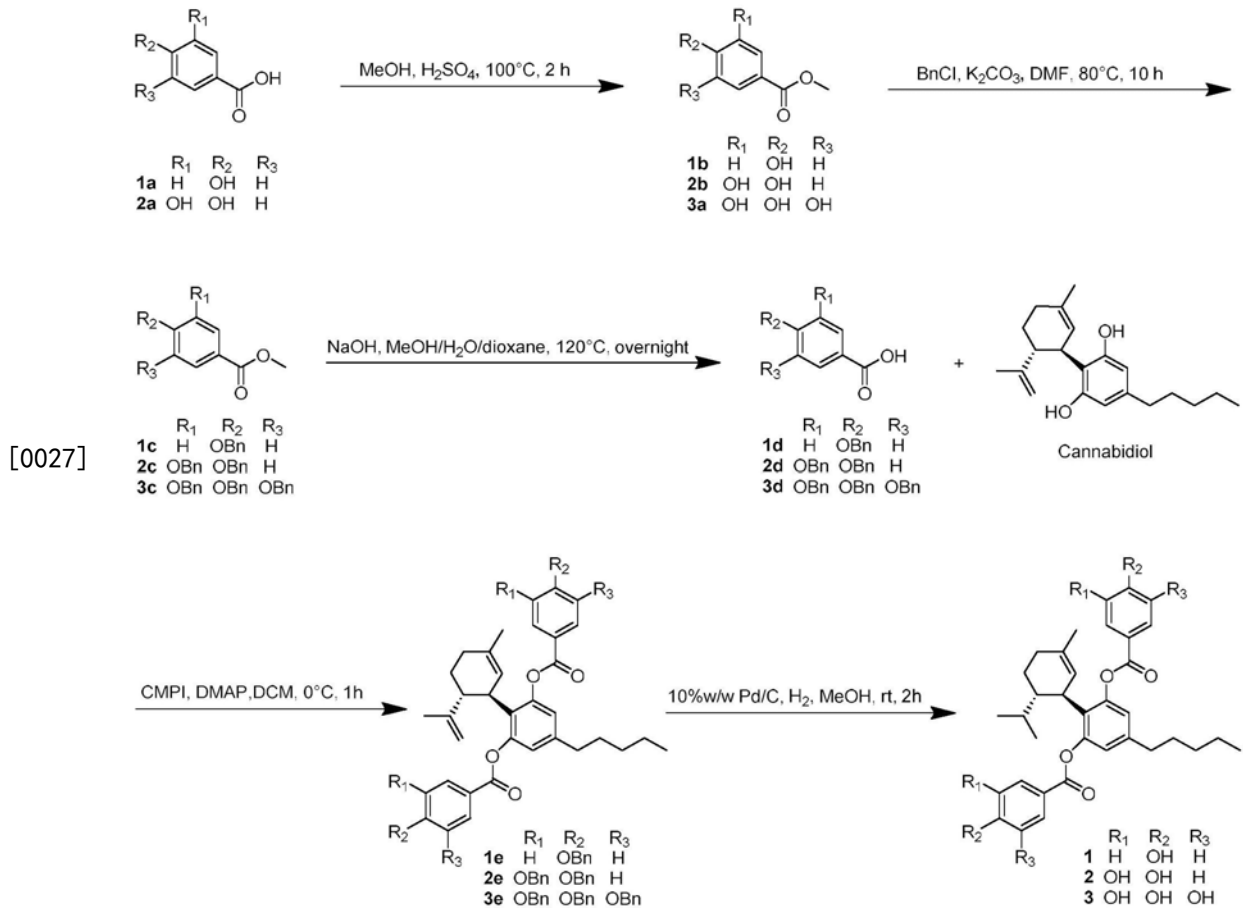
(57) 摘要

本发明公开一种大麻二酚衍生物及其制备方法与应用,属于药物化学技术领域,以大麻二酚为主体,通过合成手段得到其衍生物,抗肿瘤活性测定结果表明,本发明制备的大麻二酚衍生物对肺癌细胞株、人乳腺癌细胞株和鼻咽癌及其耐药株均有抑制作用。



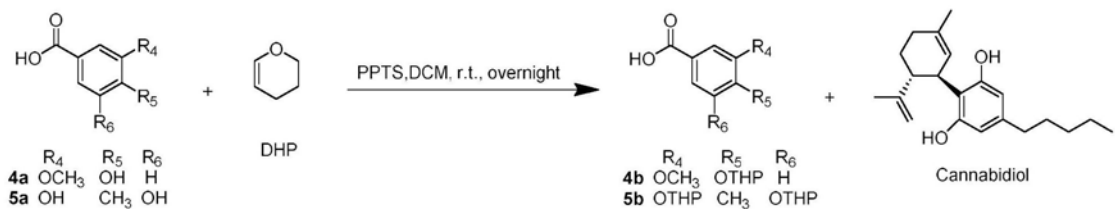




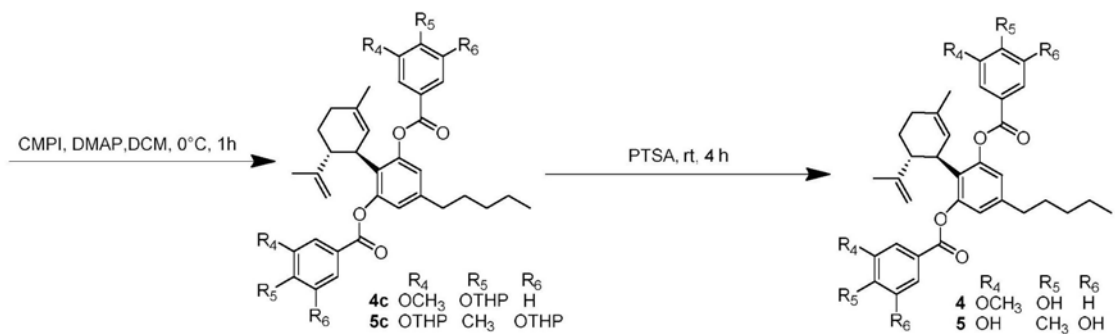


[0028] 以1a和2a为原料,对其进行甲基化反应,苄基保护,脱甲基化反应,再与大麻二酚酯化,脱苄基保护后得到化合物1和化合物2,以3a为原料,对其进行苄基保护,脱甲基化反应,再与大麻二酚酯化,脱苄基保护后得到化合物3。

[0029] 路线2:

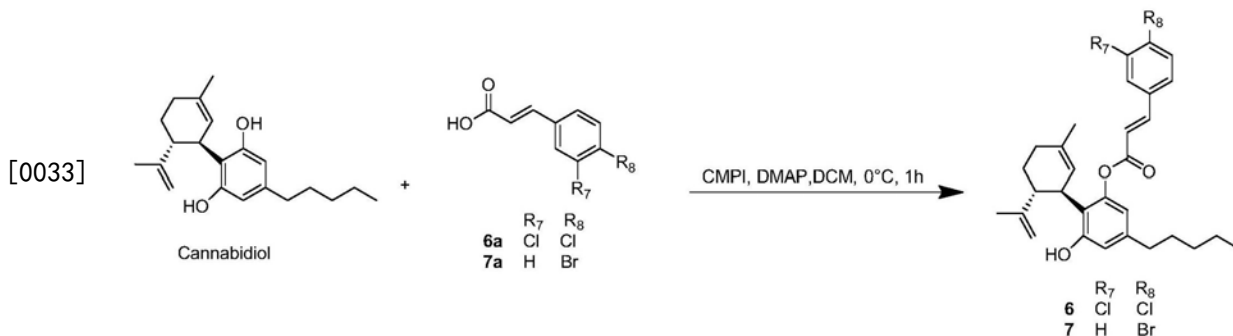


[0030]



[0031] 化合物4a和5a分别通过与3,4-二氢吡喃(DHP)反应,保护其羟基,再分别与大麻二酚反应得到中间产物4c和5c,最后通过2-四氢吡喃(THP)脱保护得到化合物4和化合物5。

[0032] 路线3:



[0034] 在CMPI和DMAP的作用下,大麻二酚分别与6a和7a反应,分别得到化合物6和化合物7。

[0035] 实施例1

[0036] 大麻二酚衍生物化合物1的制备方法,包括以下步骤:

[0037] 步骤1.将化合物1a (18mmol) 加入到19mL甲醇MeOH溶液中,搅拌,再加入0.45mL质量分数98.3%的H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,反应混合物在100℃下回流2小时,减压蒸馏,将残余物溶于水,并用二氯甲烷(DCM)萃取,有机层用饱和食盐水洗涤,无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,滤液减压浓缩,得到化合物1b (2.68g);

[0038] 步骤2.把化合物1b (17.11mmol) 和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (17.11mmol) 加入到25mL二甲基甲酰胺溶液(DMF)中,搅拌,再加入苄基氯(BnCl, 17.11mmol),反应液在氮气保护,80℃的条件下,搅拌反应10小时,加水,再用二氯甲烷萃取,有机层用饱和食盐水洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,并真空浓缩,再经硅胶柱色谱法(正己烷:二氯甲烷,体积比1:1)纯化得到化合物1c (3.04g);

[0039] 步骤3.将化合物1c (14.88mmol) 加入到甲醇(MeOH, 20mL),二恶烷(40mL)和H<sub>2</sub>O (15mL)的混合溶液中,再加入NaOH (0.50mol),搅拌反应一夜结束,反应混合物在120℃下回流反应一夜,减压浓缩去除溶剂,然后把残余物用DCM萃取,有机层用饱和食盐水洗涤,无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,真空浓缩得到化合物1d (2.69g);

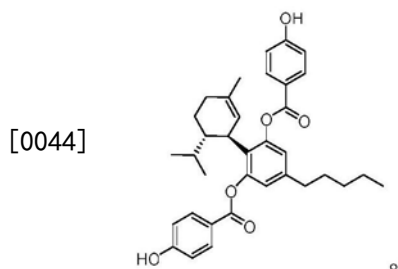
[0040] 步骤4.在0℃,氮气保护下,将化合物1d (0.96mmol) 和大麻二酚 (0.48mmol) 加入到DCM (15mL) 溶液中搅拌,再将CMPI (0.96mmol) 和DMAP (0.96mmol) 添加到反应液里,反应混合物搅拌反应1小时,将反应沉淀物滤出,滤液依次用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和饱和食盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,真空浓缩,再经硅胶柱色谱(正己烷:丙酮,体积比95:5)纯化得到化合物1e (110.4mg);

[0041] 步骤5.在H<sub>2</sub>存在的条件下,把10%w/w钯炭(184mg) 和化合物1e (0.29mmol) 加入到甲醇中,室温下反应2小时,过滤,滤液浓缩,得到57.8mg白色油状物,即为化合物1,产率为72.22%。

[0042] 化合物1的核磁共振谱图如图1、2所示,数据如下:<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>H</sub> 7.99 (d, J=8.7Hz, 4H), 6.88 (d, J=8.8Hz, 4H), 6.83 (s, 2H), 5.11 (s, 1H), 3.45 (d, J=10.5Hz, 1H), 2.63-2.59 (m, 2H), 1.97-1.91 (m, 1H), 1.71-1.59 (overlap, 5H), 1.55-1.50 (m, 1H), 1.36-1.35 (m, 4H), 1.23 (s, 3H), 1.17-1.06 (m, 1H), 0.90 (t, J=6.7Hz, 3H), 0.82 (d, J=6.8Hz, 3H), 0.65 (d, J=6.8Hz, 3H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CH<sub>3</sub>OD): δ<sub>C</sub> 166.7, 166.7, 164.3, 164.3, 151.7, 151.7, 143.5, 134.7, 133.6, 133.6, 133.6, 133.6, 128.7, 128.7, 125.5, 125.5, 121.2, 121.2, 116.4, 116.4, 116.4, 116.4, 44.4, 39.1, 36.1, 32.6, 31.8, 31.4, 29.1,

23.5, 23.5, 23.4, 22.0, 16.8, 14.4. ESI-MS:  $m/z$  555.80  $[M-H]^-$ 。

[0043] 得出本实施例得到的化合物的结构式如下：



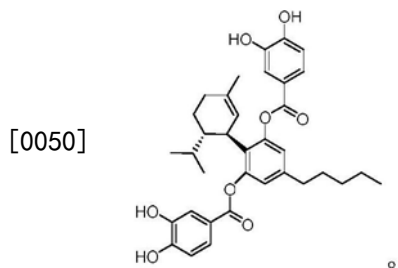
[0045] 实施例2

[0046] 大麻二酚衍生物化合物2的制备方法,包括以下步骤:

[0047] 将实施例1中的化合物1a替换为化合物2a,其它试剂不变,按照实施例1的方法制备得到无色油状物34.2mg,即化合物2,最后一步产率为96.89%。

[0048] 化合物2的核磁共振谱图如图3、4所示,数据如下: $^1H$  NMR (400MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_H$  7.57-7.55 (overlap, 4H), 6.87 (d,  $J=8.8Hz$ , 2H), 6.83 (s, 2H), 5.09 (s, 1H), 3.46 (d,  $J=10.6Hz$ , 1H), 2.64-2.60 (m, 2H), 2.01-1.95 (m, 1H), 1.70-1.63 (overlap, 5H), 1.57-1.50 (m, 1H), 1.39-1.34 (m, 4H), 1.24 (s, 3H), 1.19-1.09 (m, 1H), 0.91 (t,  $J=6.8Hz$ , 3H), 0.85 (d,  $J=6.8Hz$ , 3H), 0.67 (d,  $J=6.8Hz$ , 3H).  $^{13}C$  NMR (100MHz,  $CH_3OD$ ):  $\delta_C$  166.9, 166.9, 152.4, 152.4, 151.8, 151.8, 146.4, 146.4, 143.5, 134.9, 128.8, 128.8, 125.4, 125.4, 124.5, 124.5, 121.7, 121.7, 118.0, 118.0, 115.9, 115.9, 44.3, 39.0, 36.1, 32.6, 31.8, 31.3, 29.1, 23.5, 23.5, 23.5, 22.0, 16.8, 14.4. ESI-MS:  $m/z$  587.75  $[M-H]^-$ 。

[0049] 得出本实施例得到的化合物的结构式如下：



[0051] 实施例3

[0052] 大麻二酚衍生物化合物3的制备方法,包括以下步骤:

[0053] 将实施例1中的化合物1b替换为化合物3a,其它试剂不变,制备方法按照实施例1中的步骤2-5,得到淡紫色粉末98.1mg,即化合物3,最后一步产率为93.07%。

[0054] 化合物3的核磁共振谱图如图5、6所示,数据如下: $^1H$  NMR (400MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_H$  7.19 (s, 4H), 6.81 (s, 2H), 5.07 (s, 1H), 3.47 (d,  $J=10.5Hz$ , 1H), 2.65-2.61 (m, 2H), 2.04-1.99 (m, 1H), 1.83-1.71 (m, 2H), 1.68-1.64 (m, 3H), 1.58-1.49 (s, 1H), 1.40-1.34 (m, 4H), 1.24 (s, 3H), 1.21-1.10 (m, 1H), 0.92 (t,  $J=6.6Hz$ , 3H), 0.86 (d,  $J=6.8Hz$ , 3H), 0.68 (d,  $J=6.8Hz$ , 3H).  $^{13}C$  NMR (100MHz,  $CH_3OD$ ):  $\delta_C$  167.1, 167.1, 151.8, 151.8, 146.6, 146.6, 146.6, 146.6, 143.4, 140.7, 140.7, 135.1, 128.9, 128.9, 125.2, 125.2, 120.4, 120.4, 110.8, 110.8, 110.8, 110.8, 44.3, 39.0, 36.2, 32.6, 31.8, 31.3, 29.2, 23.6, 23.6, 23.5, 22.0, 16.9, 14.4. ESI-MS:  $m/z$  619.65  $[M-H]^-$ 。

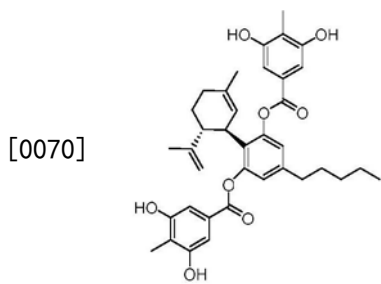




[0067] 将实施例4中的化合物4a替换为化合物5a,其它试剂不变,按照实施例4中的步骤1-3的方法,得到无色油状物7.1mg,即为化合物5,最后一步产率为28.87%。

[0068] 化合物5的核磁共振谱图如图9、10所示,数据如下:<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>H</sub> 7.12 (s, 4H), 6.81 (s, 2H), 5.08 (s, 1H), 4.54 (s, 1H), 4.50 (s, 1H), 3.54 (dd, J=10.4, 1.5Hz, 1H), 2.91-2.84 (m, 1H), 2.64-2.60 (m, 2H), 2.13 (s, 6H), 1.72-1.56 (m, 6H), 1.55 (s, 3H), 1.37-1.33 (m, 4H), 1.18 (s, 3H), 0.91 (t, J=6.9Hz, 3H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CH<sub>3</sub>OD): δ<sub>C</sub> 166.9, 166.9, 157.6, 157.6, 157.6, 157.6, 151.5, 151.5, 149.1, 143.4, 135.0, 128.4, 128.4, 128.2, 124.7, 119.2, 119.2, 119.2, 119.2, 111.8, 109.0, 109.0, 109.0, 109.0, 47.2, 40.0, 36.1, 32.5, 31.8, 30.9, 29.9, 23.5, 23.5, 20.0, 14.4, 9.0, 9.0. ESI-MS: m/z 613.50 [M-H]<sup>-</sup>。

[0069] 得出本实施例得到的化合物的结构式如下:



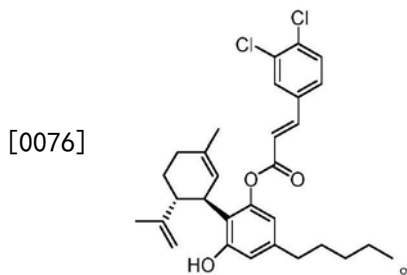
[0071] 实施例6

[0072] 大麻二酚衍生物化合物6的制备方法,包括以下步骤:

[0073] 在0℃,氮气保护下,将化合物6a (0.38mmol) 和大麻二酚 (0.19mmol) 加入到DCM (5mL) 的溶液中,搅拌,再把CMPI (0.38mmol) 和DMAP (0.38mmol) 加入到反应混合物中,搅拌反应1小时,将反应沉淀物滤出,滤液依次用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液和饱和食盐水洗涤,Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,浓缩,最后用硅胶柱色谱(正己烷:丙酮,体积比,95:5)纯化得到10.6mg白色油状物,即为化合物6,产率为10.89%。

[0074] 化合物6的核磁共振谱的数据如下:<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub> 7.71 (d, J=16.0Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.50 (d, J=8.3Hz, 1H), 7.39 (d, J=8.3Hz, 1H), 6.58 (s, 1H), 6.54 (d, J=16.0Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 5.56 (br s, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.45 (s, 1H), 3.54 (br s, 1H), 2.54-2.50 (overlap, 3H), 2.23-2.17 (m, 1H), 2.08-2.03 (m, 1H), 1.81-1.70 (overlap, 4H), 1.61 (s, 3H), 1.59 (s, 3H), 1.33-1.29 (m, 4H), 0.88 (t, J=6.9Hz, 3H). ESI-MS: m/z 511.25 [M-H]<sup>-</sup>。

[0075] 得出本实施例得到的化合物的结构式如下:



[0077] 实施例7

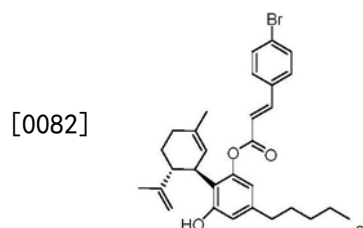
[0078] 大麻二酚衍生物化合物7的制备方法,包括以下步骤:

[0079] 将实施例6中的化合物6a替换为化合物7a,其它试剂不变,按照实施例6的方法,得

到20.0mg白色油状物,即为化合物7,产率为20.16%。

[0080] 化合物7的核磁共振谱的数据如下:<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub> 7.76 (d, J=16.0Hz, 1H), 7.56 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.42 (d, J=8.4Hz, 2H), 6.58 (s, 1H), 6.55 (d, J=16.0Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 5.56 (br s, 1H), 4.62 (s, 1H), 4.45 (s, 1H), 3.55 (br s, 1H), 2.53-2.49 (overlap, 3H), 2.22-2.19 (m, 1H), 2.08-2.03 (m, 1H), 1.83-1.67 (overlap, 4H), 1.61 (s, 3H), 1.59 (s, 3H), 1.33-1.28 (m, 4H), 0.88 (t, J=6.9Hz, 3H). ESI-MS: m/z 523.20 [M+H]<sup>+</sup>。

[0081] 得出本实施例得到的化合物的结构式如下:



[0083] 实施例8

[0084] 采用磺酰罗丹明B蛋白染色法 (Sulforhodamine B, SRB) 来测定大麻二酚衍生物对肺癌细胞株 (A549), 人乳腺癌细胞株 (MDA-MB-231), 鼻咽癌及其耐药株 (KB, KB-VIN) 和人乳腺癌细胞株 (MCF-7) 的抑制率达到50%时的药物浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>), Paclitaxel为阳性药物。

[0085] 具体步骤如下:

[0086] (1) RPMI 1640培养基中加入25mM HEPES (4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸), 2mM L-谷氨酰胺, 10%热灭活的胎牛血清, 100IU青霉素, 100μg/mL链霉素和0.25μg/mL两性霉素B;

[0087] (2) 细胞的培养: 将不同的肿瘤细胞株采用上述培养液, 在37℃, 5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养;

[0088] (3) 药物的配制: 将实施例1-7制备得到的七种化合物用DMSO制备为10mM的储备液;

[0089] (4) 种板: 调细胞悬液浓度为每孔8000-22000个细胞, 混匀后加入96孔板中, 每孔(100μL), 在37℃, 5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养;

[0090] (5) 加药: 将步骤(3)的药物分别加入到96孔培养板中, 至终浓度分别为100μM, 10μM, 1μM, 0.1μM, 每个浓度梯度设3个平孔, 培养72h; 实验分为药物组、对照组(只有培养液和细胞)和空白组(只有培养液);

[0091] (6) 检测: 将细胞固定在质量分数10%的三氯乙酸中, 然后用0.04% sulforhodamine B染色, 用10mM Tris碱溶解结合了蛋白质的染料, 并使用带有Gen5软件的ELx800酶标仪在515nm处测量吸光度(OD)。

[0092] 细胞存活率(%) = (实验组OD - 空白组OD) / (对照组OD - 空白组OD) × 100%

[0093] 根据药物浓度-细胞生长抑制率的标准曲线, 求其IC<sub>50</sub>。

[0094] 大麻二酚衍生物对肿瘤细胞的抑制作用见表1。

[0095] 表1抗肿瘤活性作用测试结果

化合物 编号	IC <sub>50</sub> ± SD (μM)				
	A549	MDA-MB-231	KB	KB-VIN	MCF-7
1	4.928 ± 0.046	4.975 ± 0.098	4.681 ± 0.141	7.366 ± 0.307	4.977 ± 0.138
2	4.675 ± 0.007	5.046 ± 0.059	4.446 ± 0.169	6.357 ± 0.176	4.701 ± 0.150
3	5.041 ± 0.003	7.387 ± 0.071	5.154 ± 0.216	>10	2.369 ± 0.016
4	5.003 ± 0.120	7.070 ± 0.196	4.529 ± 0.035	7.161 ± 0.093	4.641 ± 0.304
5	2.957 ± 0.091	3.745 ± 0.071	4.193 ± 0.174	4.930 ± 0.063	4.200 ± 0.047
6	11.380 ± 1.760	12.030 ± 0.705	9.980 ± 1.001	15.999 ± 0.593	14.040 ± 0.578
7	9.783 ± 0.259	8.518 ± 0.033	8.141 ± 0.422	10.652 ± 0.522	11.053 ± 1.306
大麻二酚	8.969 ± 0.231	16.810 ± 0.472	7.581 ± 0.285	7.699 ± 0.006	14.761 ± 0.302
paclitaxel	6.392 × 10 <sup>-3</sup> ± 0.59 2 × 10 <sup>-3</sup>	7.422 × 10 <sup>-3</sup> ± 0.416 × 10 <sup>-3</sup>	5.145 × 10 <sup>-3</sup> ± 0.110 × 10 <sup>-3</sup>	1.374 ± 0.072	7.650 × 10 <sup>-3</sup> ± 0.25 3 × 10 <sup>-3</sup>

[0097] 结果表明,化合物1-5对5种癌细胞系(A549,MDA-MB-231,KB,KB-VIN和MCF-7)的抑制作用比大麻二酚好,特别是化合物5的活性最为显著,IC<sub>50</sub>值在2.96-4.93μM之间,化合物6和7与大麻二酚的抗肿瘤活性相当。

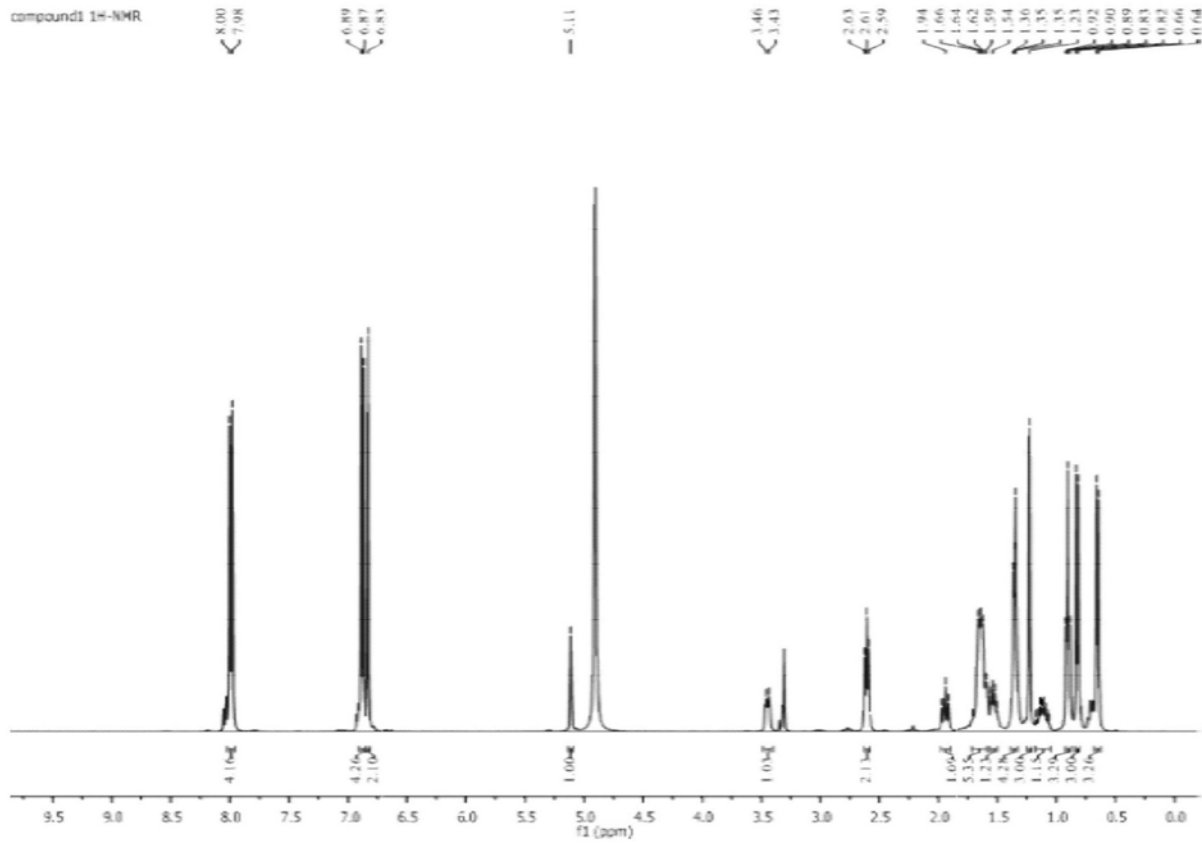


图1

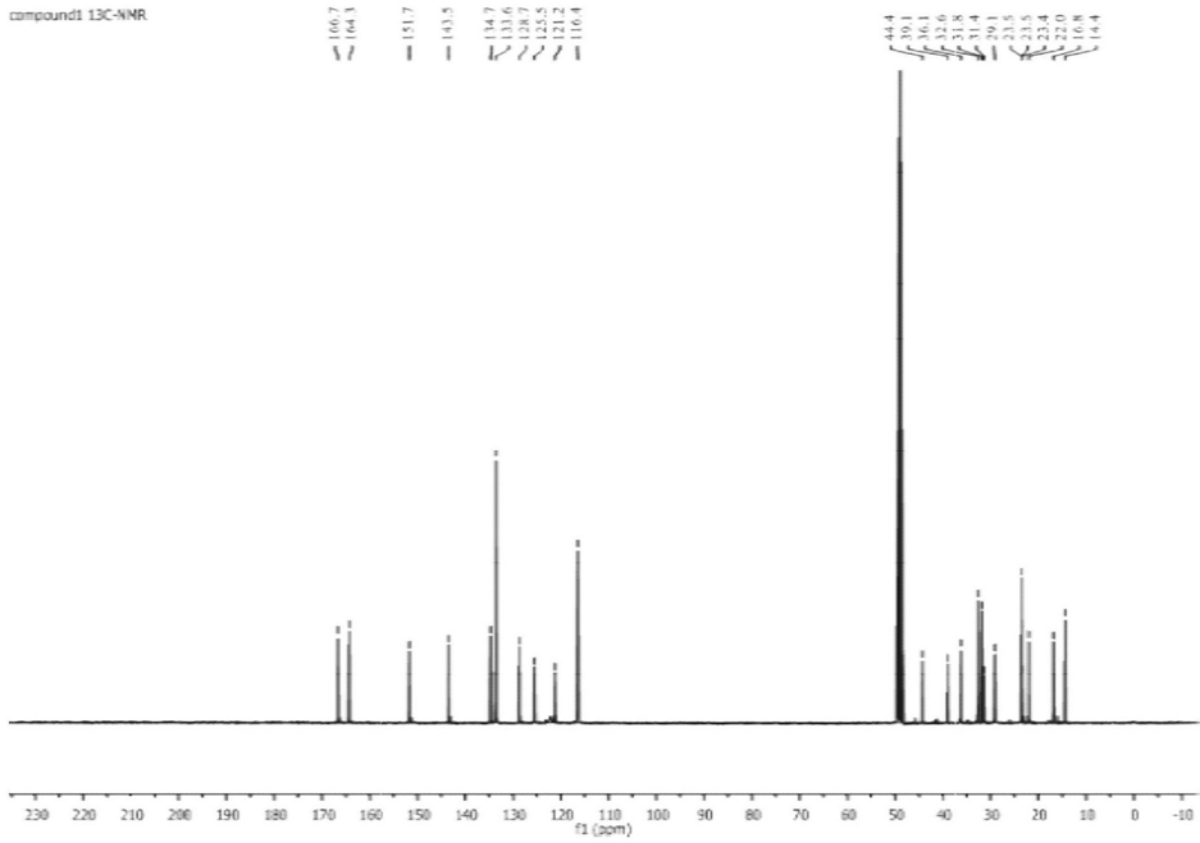


图2

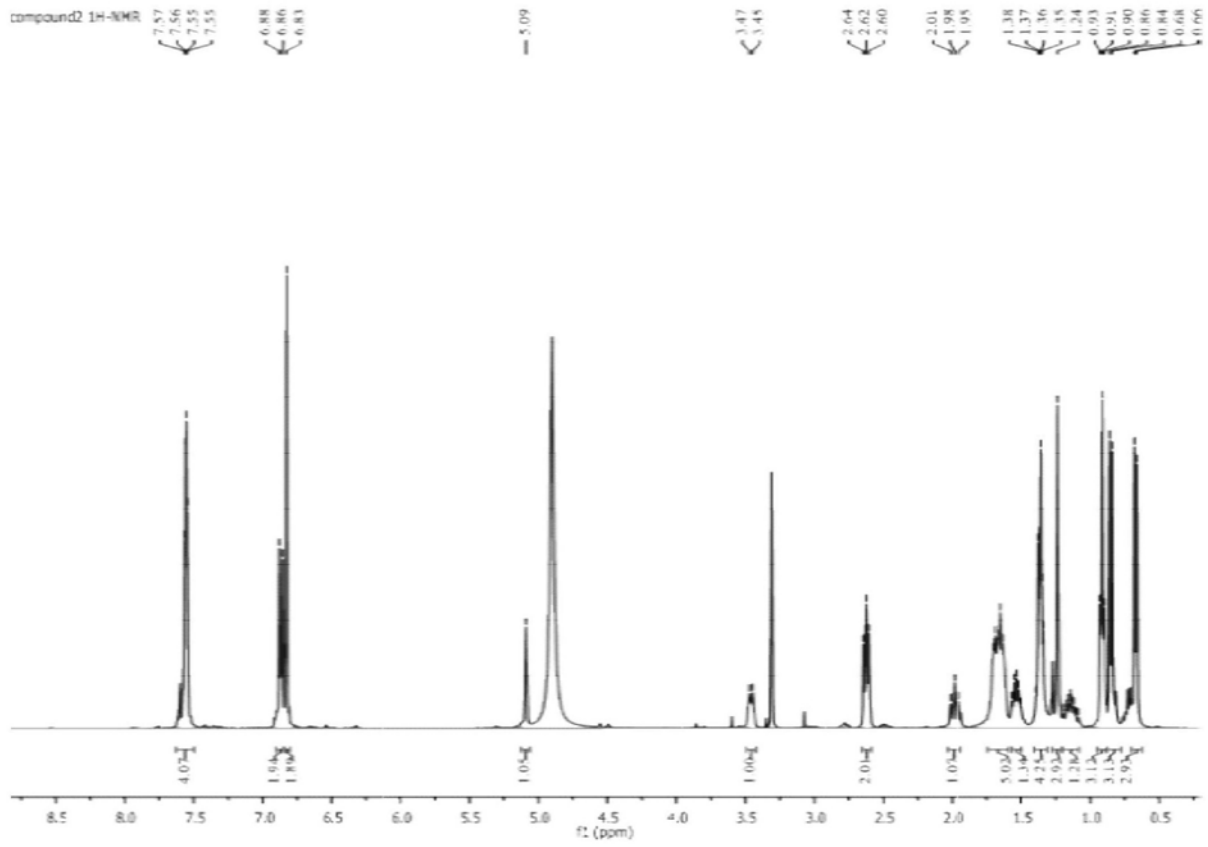


图3

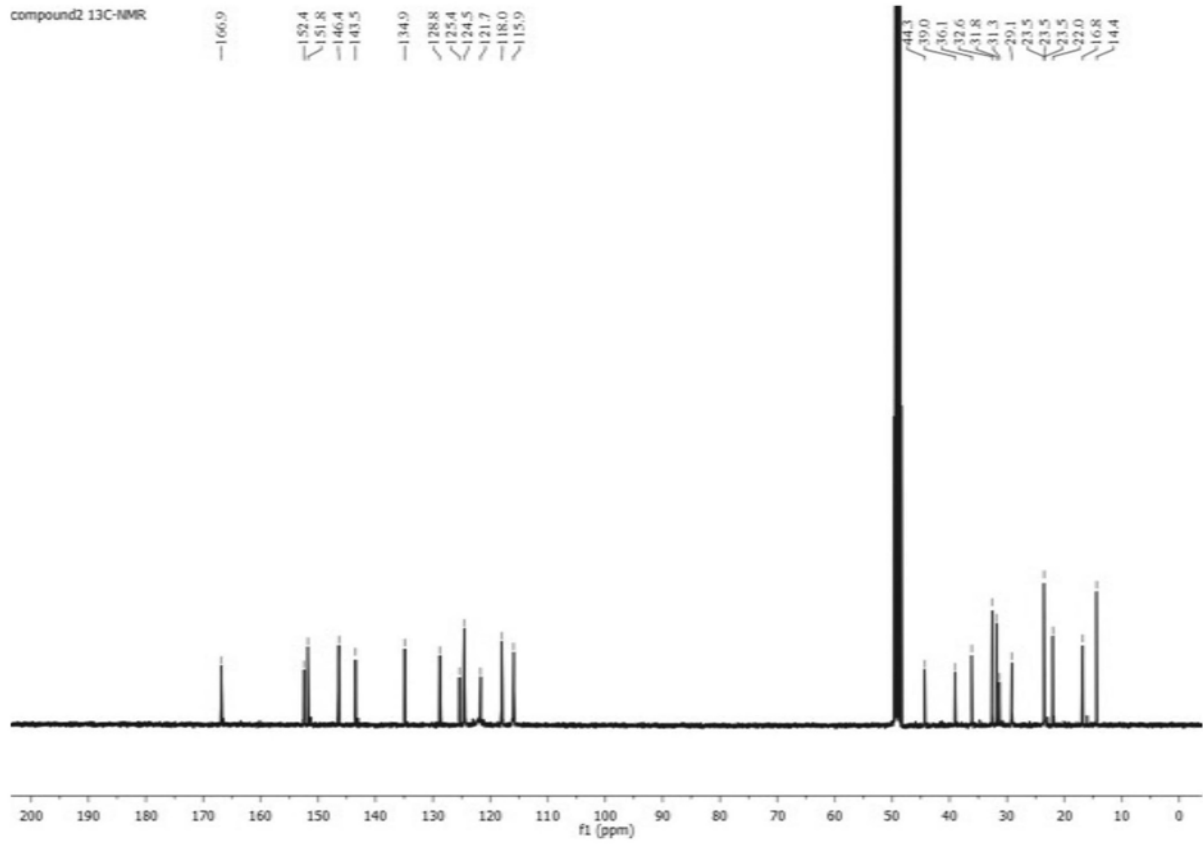


图4

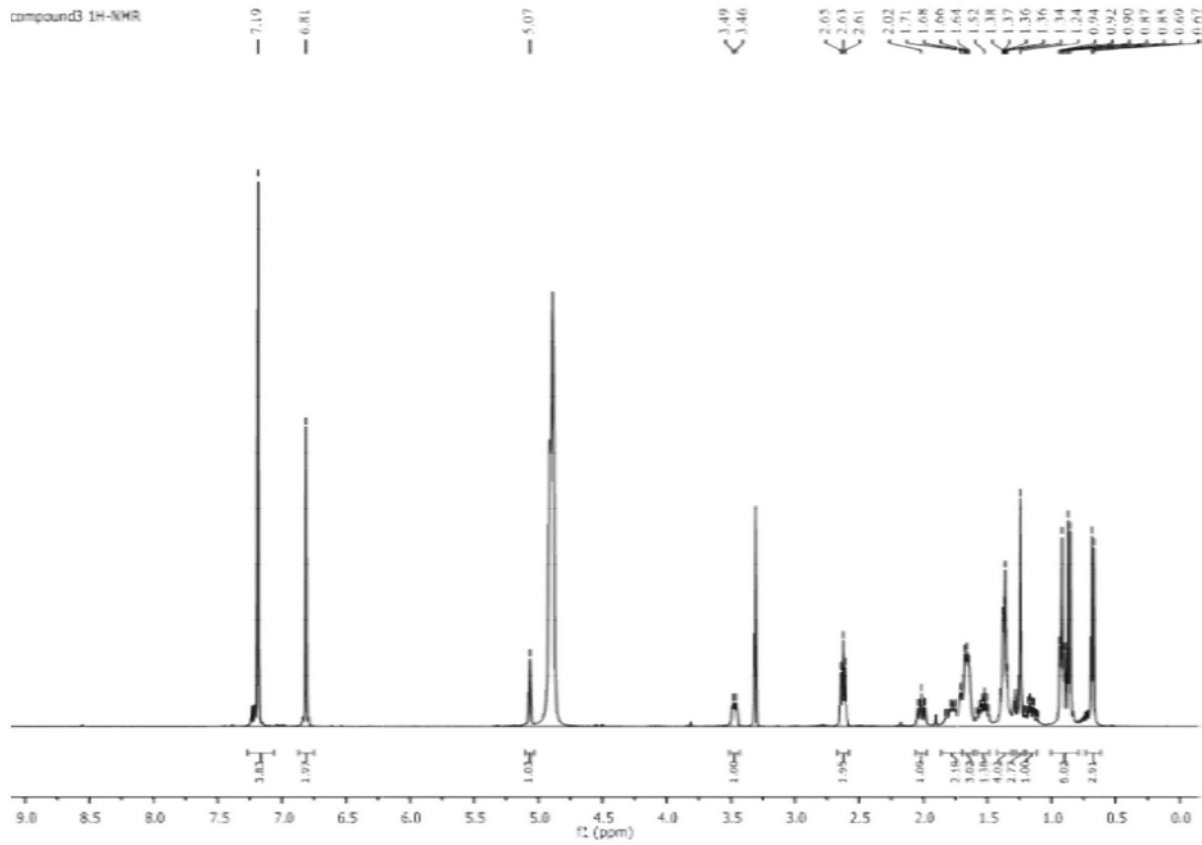


图5



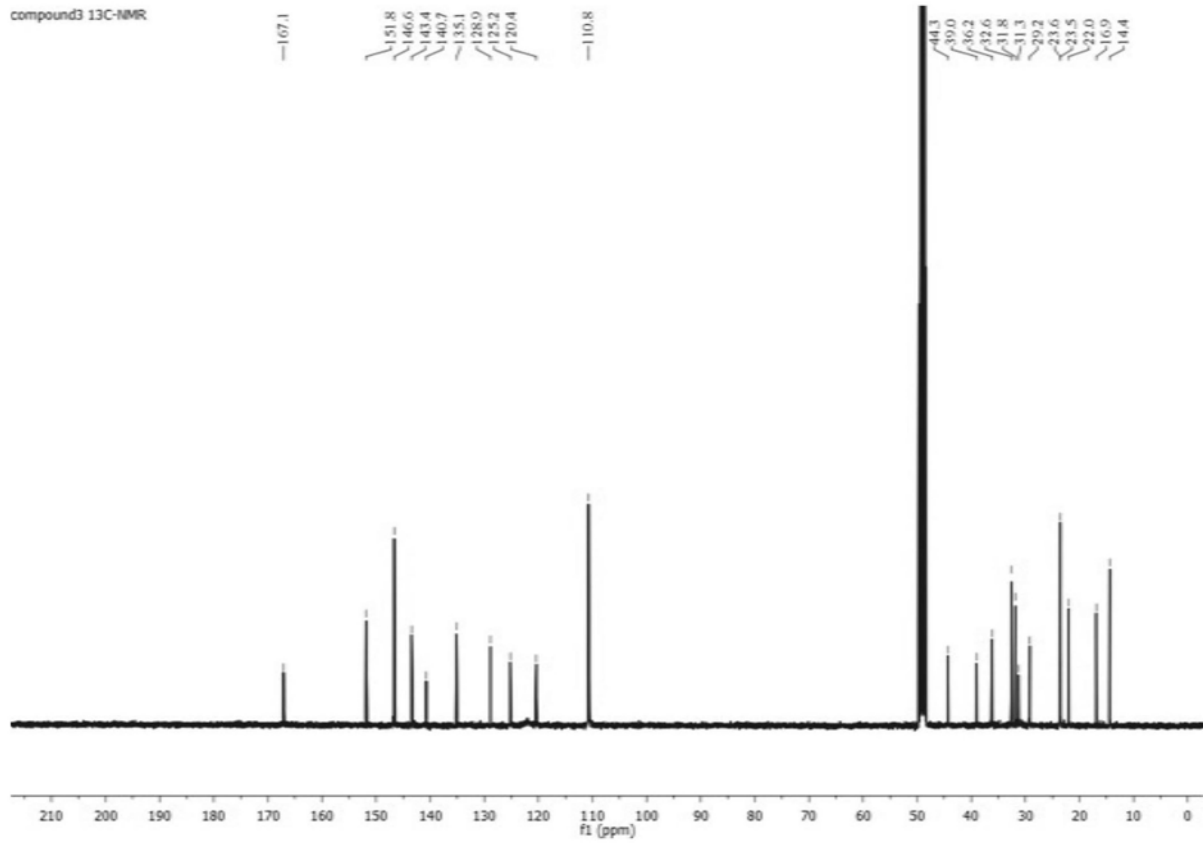


图6

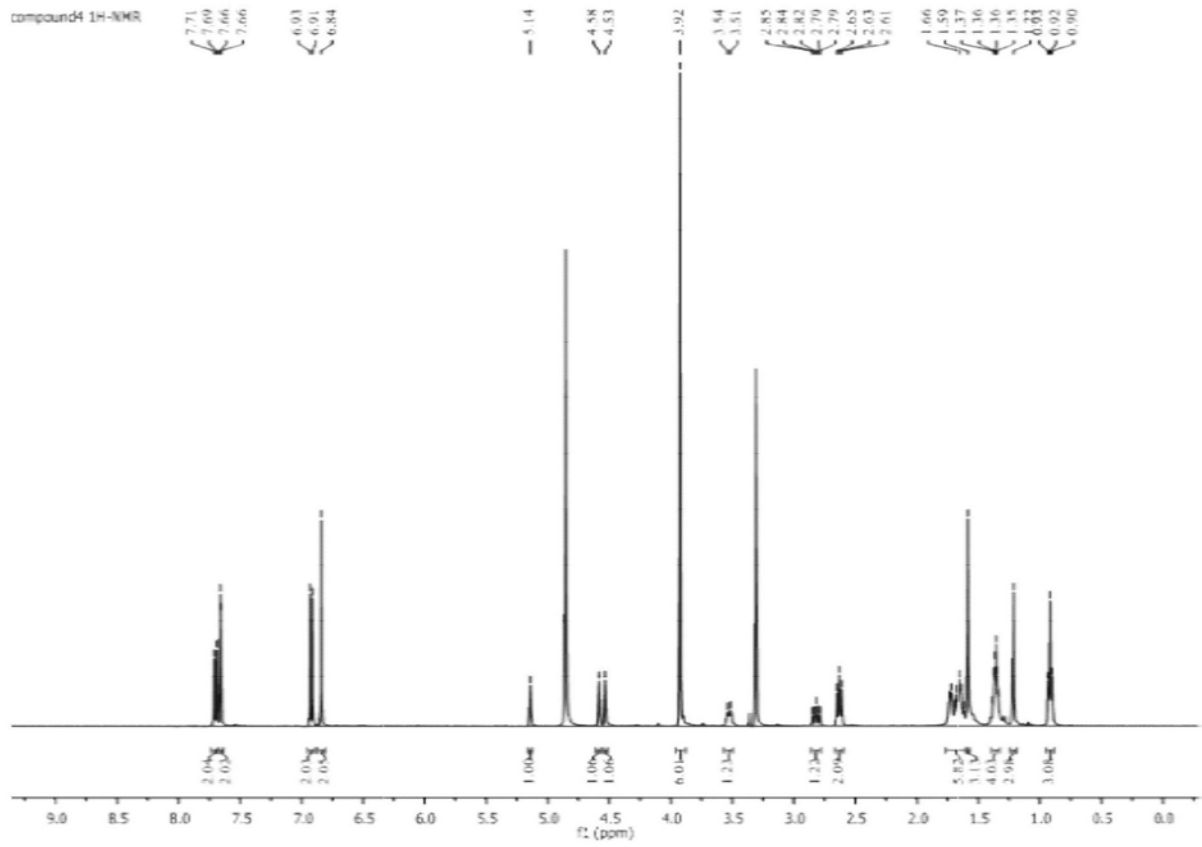


图7

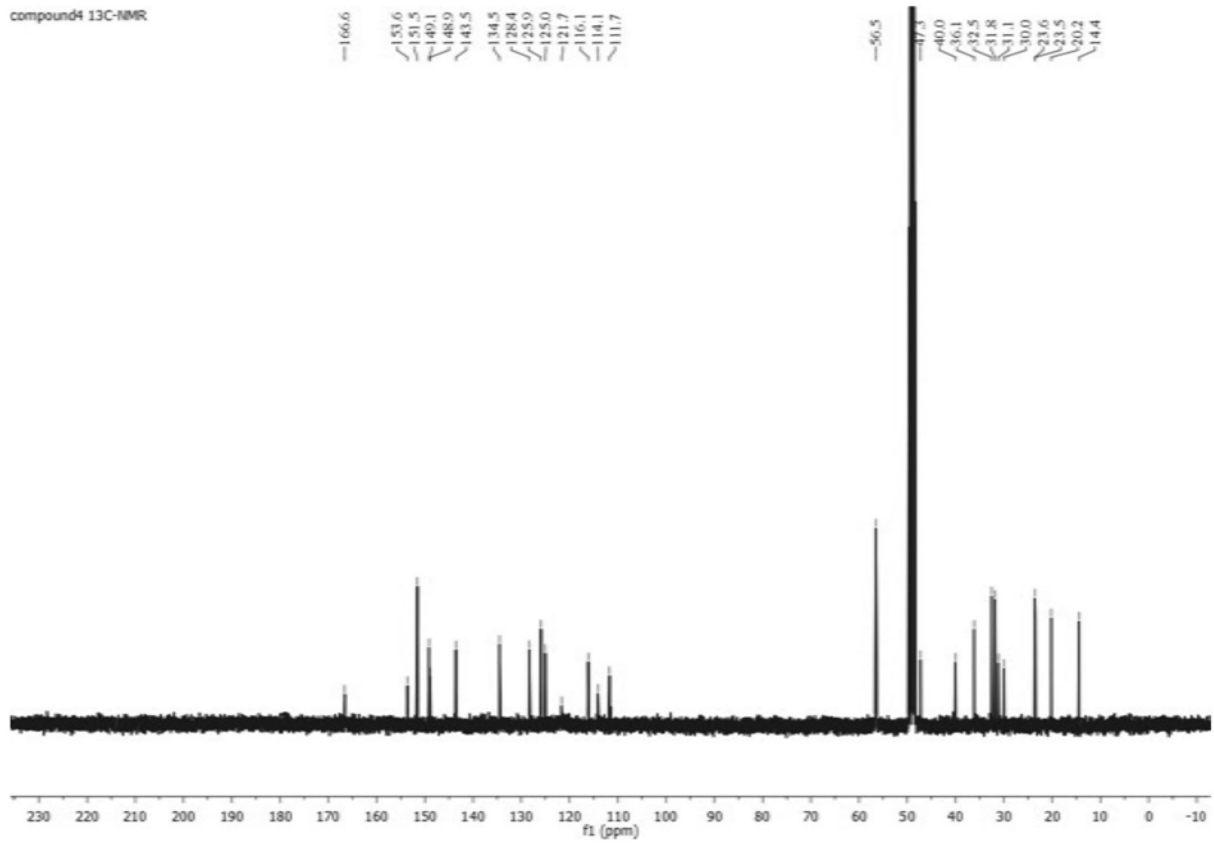


图8

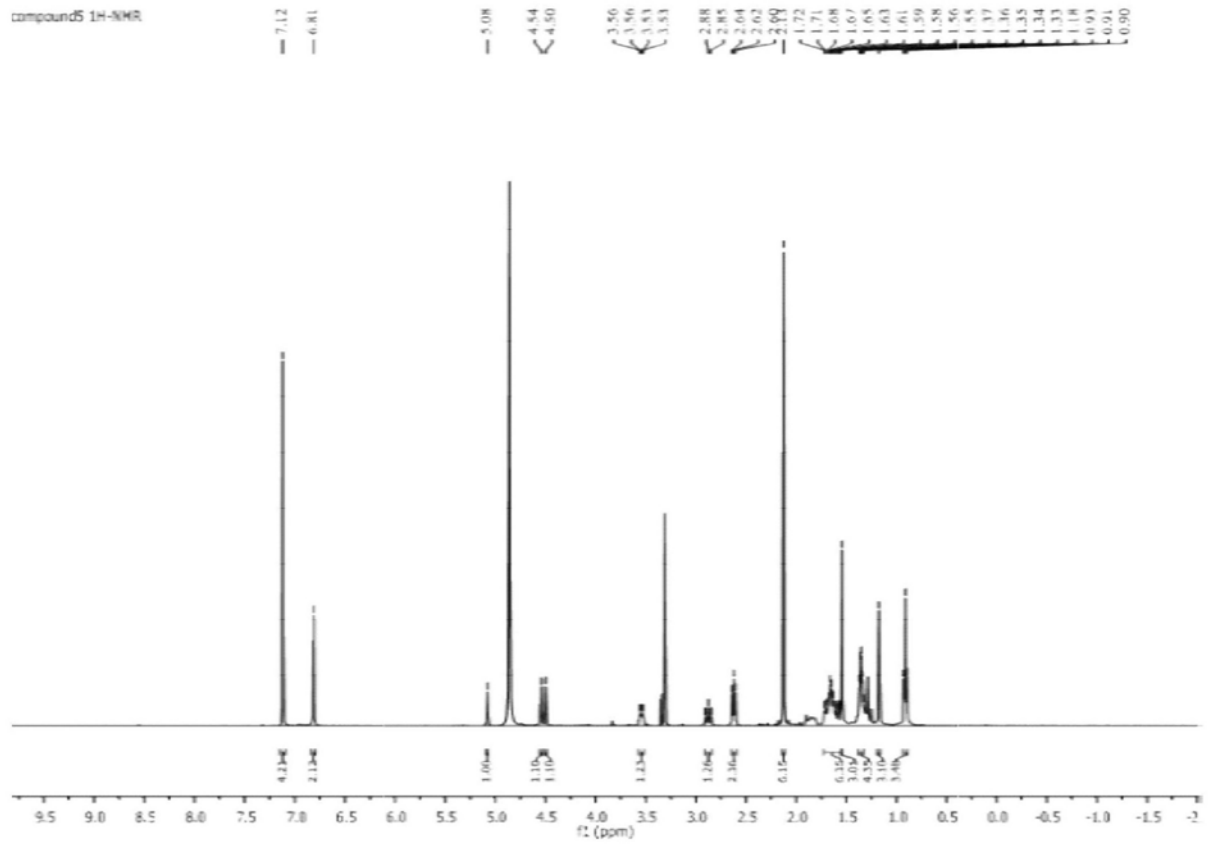


图9

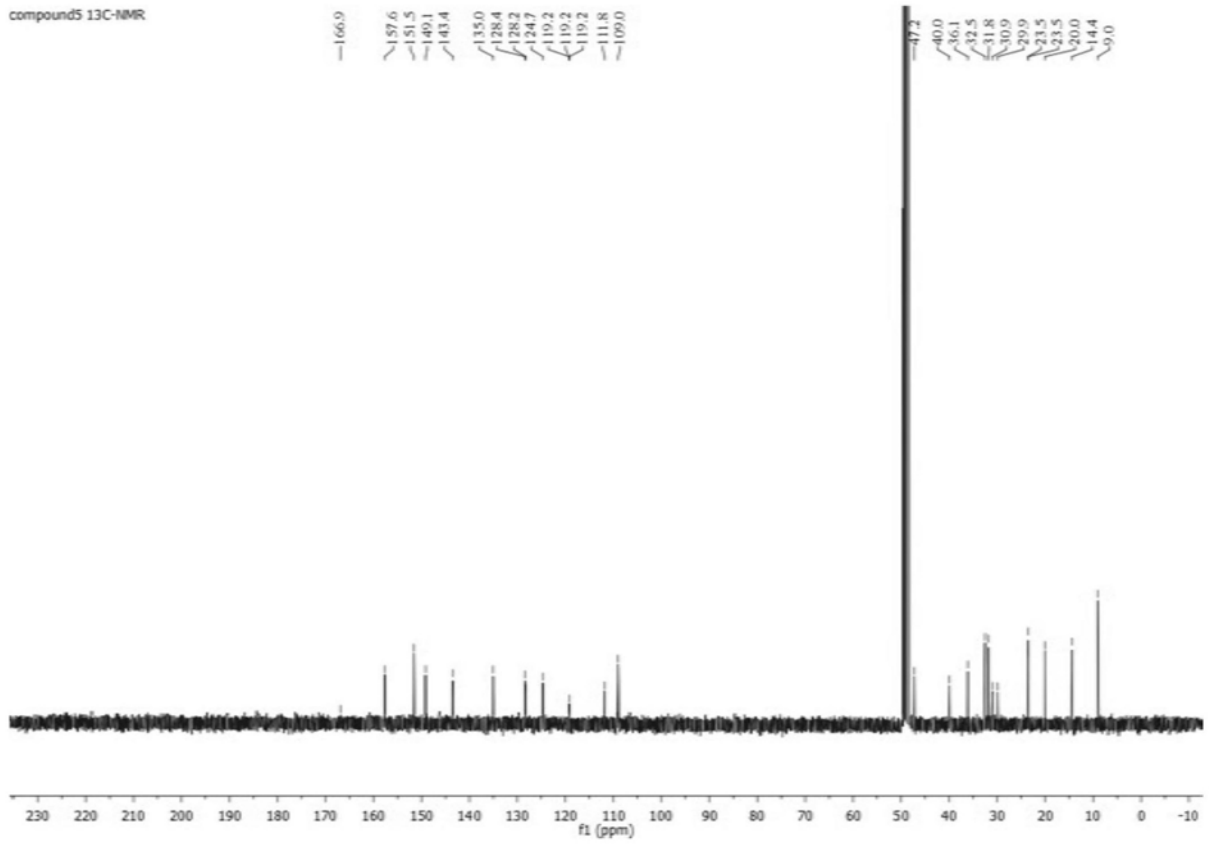


图10