



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108084201 B

(45)授权公告日 2020.07.31

(21)申请号 201711168517.1

(22)申请日 2017.11.21

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108084201 A

(43)申请公布日 2018.05.29

(73)专利权人 成都大学
地址 610106 四川省成都市龙泉驿区外东
十陵镇

(72)发明人 刘悦 李俊龙 杨开川 李青竹
张鹰 冷海军 沈旭东 戴青松

(续)

(74)专利代理机构 成都高远知识产权代理事务
所(普通合伙) 51222

代理人 李高峡 张娟

(51)Int.Cl.

C07D 491/20(2006.01) (续)

(56)对比文件

W0 2012038307 A1,2012.03.29

Sheng Ming et al..Chiral squaramide-
catalysed enantioselective Michael/
cyclization cascade reaction of 3-
hydroxyoxindoles with α, β -unsaturated
N-acylated succinimides.《Organic &
Biomolecular Chemistry》.2017,第15卷6205-
6213. (续)

审查员 李莎莎

权利要求书3页 说明书7页 附图1页

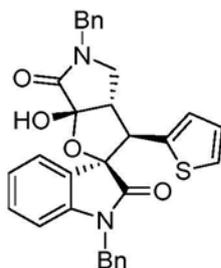
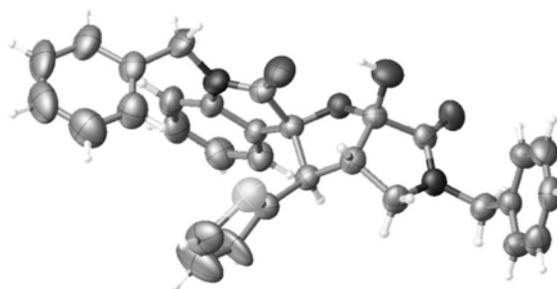
(54)发明名称

一种氧化吡啶螺四氢呋喃骨架物及其晶体
和其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种氧化吡啶螺四氢呋喃骨
架物及其制备方法,它的结构式如式I所示,本发
明还公开了式I所示化合物的晶型:该晶型为单
斜晶系,晶胞参数为 $a=9.7010(3)$

\AA , $b=9.3331(3)\text{\AA}$, $c=14.7752(5)\text{\AA}$, $\alpha=90^\circ$,
 $\beta=94.278(3)^\circ$, $\gamma=90^\circ$,空间群为 $P2_1$, $Z=2$,
晶胞体积为 $1334.03(8)\text{\AA}^3$ 。本发明还公开了制
备这种晶型的方法,并公开了本发明化合物、或
其晶型、或其溶剂合物、或其药学上可接受的盐



式 I

在制备抗肿瘤药物中的用途。

CN 108084201 B

[接上页]

(72)发明人 张翔 曾荣 刘宇

(51)Int.Cl.

A61K 31/407(2006.01)

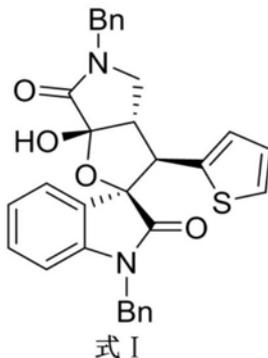
A61P 35/00(2006.01)

(56)对比文件

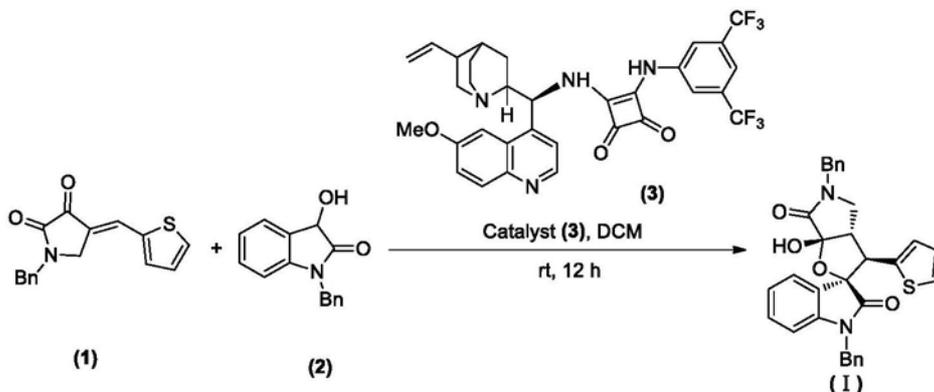
Lin Chen et al..Organocatalytic

Asymmetric Michael/Cyclization Cascade Reactions of 3-Hydroxyoxindoles/3-Aminooxindoles with α, β -Unsaturated Acyl Phosphonates for the Construction of Spirocyclic Oxindole- γ -lactones/lactams. 《The journal of Organic Chemistry》.2015, 第80卷12668-12675.

1. 一种氧化吡咯螺四氢呋喃骨架物,其特征为:它的结构式如式I所示:



2. 一种制备式I所示化合物的方法:其特征为:它包括以下步骤:

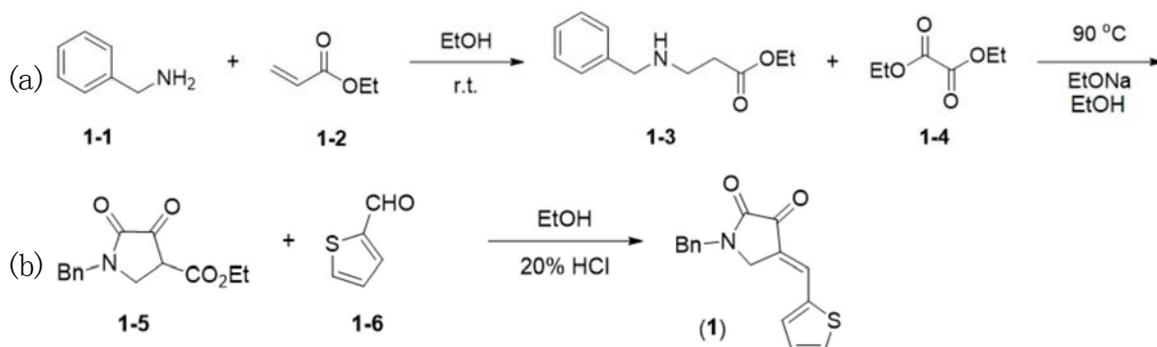


(1) 将式1所示化合物、式2所示化合物、式3所示手性方酰胺叔胺催化剂加入二氯甲烷中,室温下搅拌12h,反应结束后,除去溶剂,得残留物;

(2) 取残留物,柱层析,得洗脱液,除去溶剂,得式I所示化合物。

3. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征为:步骤(1)中,所述式1所示化合物、式2所示化合物、式3所示催化剂的摩尔比为1:1.5:0.2;和/或,步骤(2)中,所述柱层析是以石油醚:乙酸乙酯=3:1为洗脱剂;和/或,所述洗脱液是利用薄层色谱法,收集其展开剂为石油醚:乙酸乙酯=2:1, R_f为0.2~0.4的洗脱部分。

4. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征为:步骤(1)中,所述式1所示化合物是通过以下方法制备得到:



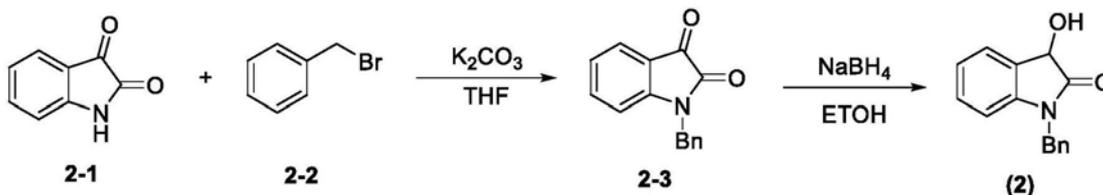
(a) 将苯甲胺、丙烯酸乙酯加入到无水乙醇A中,室温下搅拌 16 ± 2 h,加入草酸二乙酯、乙醇钠、无水乙醇B,升温至 90°C ,反应1h,浓缩,溶解,析出,干燥得式1-5所示化合物;

(b) 将式1-5所示化合物、2-噻吩甲醛、20% HCl溶液加入到无水乙醇中, 90°C 下反应4h,

降温至 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ，过滤得残余物，加入乙酸乙酯， 90°C 下放置至溶液澄清，冷却至 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ，析出得式1所示化合物。

5. 根据权利要求4所述的制备方法，其特征在于：步骤(a)中，所述苯甲胺、丙烯酸乙酯、草酸二乙酯、乙醇钠的摩尔比为1:1:1:1.5；和/或，所述苯甲胺、无水乙醇A、无水乙醇B的投料量比为3:1:1mmol/mL/mL；和/或，所述溶解为去离子水溶解；和/或，所述析出为加入浓盐酸至 $\text{pH}=1$ ；和/或，步骤(b)中，所述式1-5所示化合物与2-噻吩甲醛的摩尔比为1:1；和/或，所述式1-5所示化合物、20% HCl溶液、无水乙醇的投料量比为0.77:1.7:1mmol/mL/mL。

6. 根据权利要求2所述的制备方法，其特征在于：步骤(1)中，所述式2所示化合物是通过以下方法制备得到：

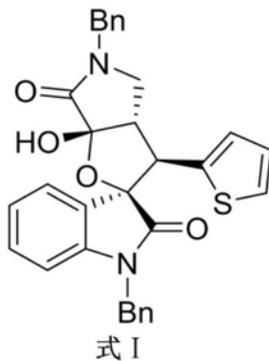


①将式2-1所示化合物、苄溴、碳酸钾加入到THF中， $60 \pm 2^\circ\text{C}$ 下，反应36h，浓缩，洗涤得式2-3所示化合物；

② 0°C 下，将硼氢化钠、式2-3所示化合物溶于乙醇中，搅拌，0.33h，淬灭反应，析出固体，过滤得固体，纯化得式2所示化合物。

7. 根据权利要求6所述的制备方法，其特征在于：步骤①中，所述式2-1所示化合物、苄溴、碳酸钾的摩尔比为1:1.2:1.5；和/或，所述式2-1所示化合物与THF的摩尔体积比为1:2.94mmol/mL；和/或，所述洗涤是分别用水和石油醚洗涤；和/或，步骤②中，所述硼氢化钠与式2-3所示化合物的摩尔比为1:0.8；和/或，所述式2-3所示化合物与乙醇的摩尔体积比为1:4.5mmol/mL；和/或，所述淬灭反应是用水淬灭；和/或，所述纯化是用二氯甲烷溶解、无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩后重结晶。

8. 一种式I所示化合物的晶型，其特征在于：该晶型为单斜晶系，晶胞参数为 $a=9.7010(3)\text{Å}$ ， $b=9.3331(3)\text{Å}$ ， $c=14.7752(5)\text{Å}$ ， $\alpha=90^\circ$ ， $\beta=94.278(3)^\circ$ ， $\gamma=90^\circ$ ；所述式I所示化合物的结构如下所示：



9. 根据权利要求8所述的晶型，其特征在于：所述晶型的空间群为 $P2_1$ ， $Z=2$ ，晶胞体积为 $1334.03(8)\text{Å}^3$ ；和/或，所述晶型的ee值 $>99\%$ ；和/或，所述晶型的熔点为 $174\sim 176^\circ\text{C}$ 。

10. 一种制备权利要求8或9所述晶型的方法，其特征在于：它包括以下步骤：

(1) 按照权利要求2~7任意一项的制备方法，得到式I所示化合物；

(2) 取步骤(1)式I所示化合物,在乙酸乙酯/石油醚混合溶剂中结晶,得到式I所示化合物的晶型。

11. 根据权利要求10所述的方法,其特征在于:步骤(2)中,所述乙酸乙酯与石油醚的体积比为1:4~9。

12. 根据权利要求11所述的方法,其特征在于:步骤(2)中,所述乙酸乙酯与石油醚的体积比为1:7。

13. 权利要求1、8或9所述式I所示化合物、或其晶型、或其药学上可接受的盐在制备抗肿瘤药物中的用途。

14. 根据权利要求13所述的用途,其特征在于:所述肿瘤为乳腺癌或黑色素瘤。

15. 一种药物组合,其特征在于:它是以权利要求1、8或9所述化合物、或其晶型、或其药学上可接受的盐为活性成分,加上药学上可接受的辅料制备成药学上常用的制剂。

一种氧化吡啶螺四氢呋喃骨架物及其晶体和其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种氧化吡啶螺四氢呋喃骨架物的晶体及其制备方法。

背景技术

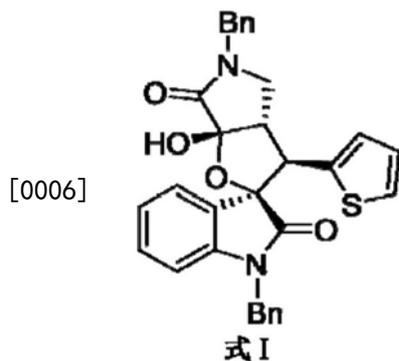
[0002] 氧化吡啶螺四氢呋喃骨架广泛存在于天然产物、合成药物中,相关研究表明含有该骨架的化合物具有多种重要的生物活性和药物活性,具有广泛的应用前景。

[0003] 对于同一种化合物来说,通常会有两种或多种不同的结晶状态,而不同的晶型则通常会表现出不同的生物利用度、溶出度、溶解速率、稳定性、熔点、颜色、可滤性、密度和流动性等。因此,对于药物而言,研制出溶解性和稳定性更好的晶型具有非常重要的意义。

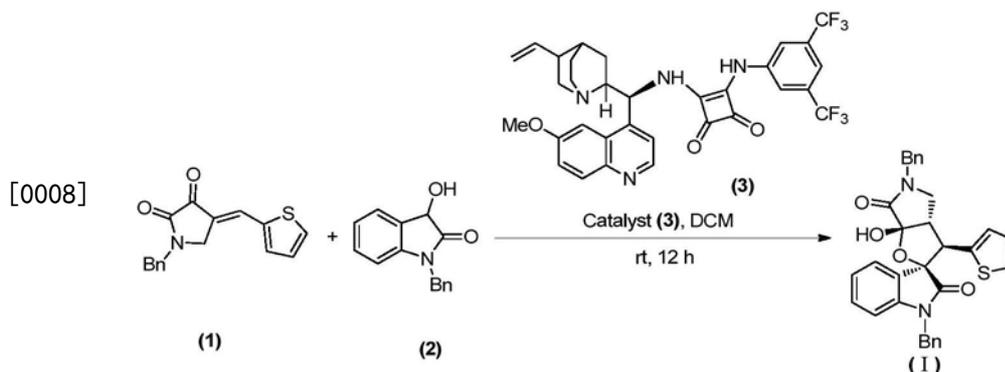
发明内容

[0004] 为了解决上述问题,本发明提供了一种氧化吡啶螺四氢呋喃骨架物及其晶体和其制备方法。

[0005] 本发明公开了一种氧化吡啶螺四氢呋喃骨架物,它的结构式如式I所示:



[0007] 本发明提供了一种制备式I所示化合物的方法:它包括以下步骤:



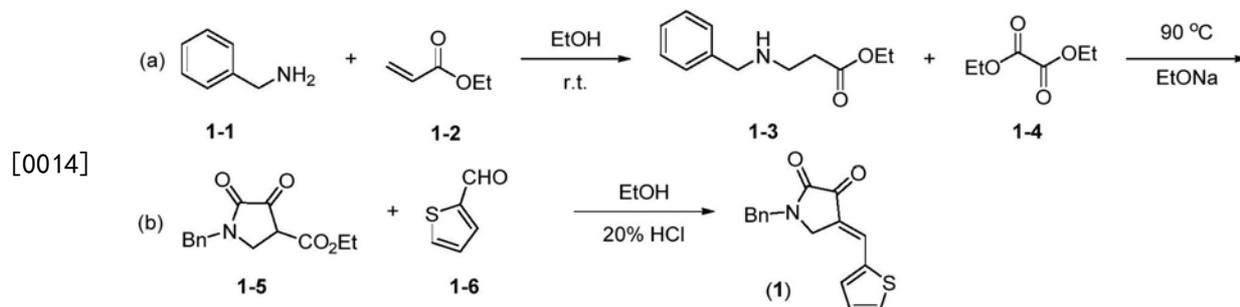
[0009] (1) 将式1所示化合物、式2所示化合物、式3所示手性方酰胺叔胺催化剂加入二氯甲烷中,25±2℃下搅拌,反应结束后,除去溶剂,得残留物;

[0010] (2) 取残留物,柱层析,得洗脱液,除去溶剂,得式I所示化合物。

[0011] 步骤(1)中,所述式1所示化合物、式2所示化合物、式3所示催化剂的摩尔比为1:1.5:0.2;和/或,所述反应的时间为12h。

[0012] 其中,步骤(2)中,所述柱层析是以石油醚:乙酸乙酯=3:1为洗脱剂;和/或,所述洗脱液是利用薄层色谱法,收集其展开剂为石油醚:乙酸乙酯=2:1,Rf为0.2~0.4的洗脱部分。

[0013] 其中,步骤(1)中,所述式1所示化合物是通过以下方法制备得到:



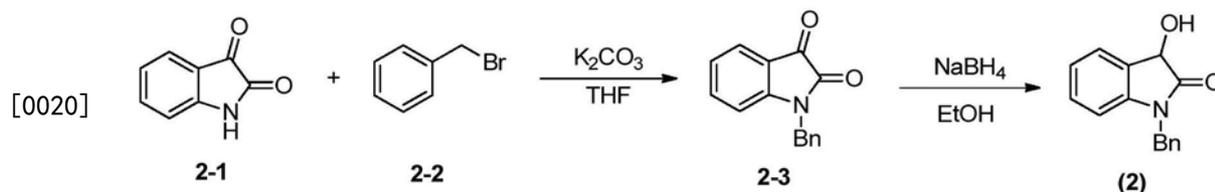
[0015] (a) 将苯甲胺、丙烯酸乙酯加入到无水乙醇A中,25±2℃下搅拌16±2h,加入草酸二乙酯、乙醇钠、无水乙醇B,升温至90℃,反应1h,浓缩,溶解,析出,干燥得式1-5所示化合物;

[0016] (b) 将式1-5所示化合物、噻吩甲醛、20%HCl溶液加入到无水乙醇中,90℃下反应4h,降温至25±2℃,过滤得残余物,加入乙酸乙酯,90℃下放置至溶液澄清,冷却至25±2℃,析出得式1所示化合物。

[0017] 其中,步骤(a)中,所述苯甲胺、丙烯酸乙酯、草酸二乙酯、乙醇钠的摩尔比为1:1:1:1.5;和/或,所述苯甲胺、无水乙醇A、无水乙醇B的投料量比为3:1:1mmol/mL/mL;和/或,所述溶解为去离子水溶解;和/或,所述析出为加入浓盐酸至pH=1。

[0018] 其中,步骤(b)中,所述式1-5所示化合物与噻吩甲醛的摩尔比为1:1;和/或,所述式1-5所示化合物、20%HCl溶液、无水乙醇的投料量比为0.77:1.7:1mmol/mL/mL。

[0019] 步骤(1)中,所述式2所示化合物是通过以下方法制备得到:



[0021] ①将式2-1所示化合物、苄溴、碳酸钾加入到THF中,60±2℃下,反应36h,浓缩,洗涤得式2-3所示化合物;

[0022] ②0℃下,将硼氢化钠、式2-3所示化合物溶于乙醇中,搅拌,0.33h,淬灭反应,析出固体,过滤得固体,纯化得式2所示化合物。

[0023] 其中,步骤①中,所述式2-1所示化合物、苄溴、碳酸钾的摩尔比为1:1.2:1.5;和/或,所述式2-1所示化合物与THF的摩尔体积比为1:2.94mmol/mL;和/或,所述洗涤是分别用水和石油醚洗涤。

[0024] 其中,步骤②中,所述硼氢化钠与式2-3所示化合物的摩尔比为1:0.8;和/或,所述式2-3所示化合物与乙醇的摩尔体积比为1:4.5mmol/mL;和/或,所述淬灭反应是用水淬灭;和/或,所述纯化是用二氯甲烷溶解、无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩后重结晶。

[0025] 本发明提供了一种式I所示化合物的晶型,该晶型为单斜晶系,晶胞参数为

$a=9.7010(3) \text{ \AA}$, $b=9.3331(3) \text{ \AA}$, $c=14.7752(5) \text{ \AA}$, $\alpha=90^\circ$, $\beta=94.278(3)^\circ$, $\gamma=90^\circ$ 。

[0026] 进一步地,所述晶型的空间群为P21,Z=2,晶胞体积为1334.03(8) \AA^3 。

[0027] 进一步地,所述晶型的ee值>99%。

[0028] 进一步地,所述晶型的熔点为174~176℃。

[0029] 本发明提供了一种制备权利上述晶型的方法,它包括以下步骤:

[0030] (1) 按照前述制备方法,得到式I所示化合物;

[0031] (2) 取步骤(1)式I所示化合物,在乙酸乙酯/石油醚混合溶剂中结晶,得到式I所示化合物的晶型。

[0032] 步骤(2)中,所述乙酸乙酯与石油醚的体积比为1:4~9,优选为1:7。

[0033] 上述式I所示化合物、或其晶型、或其溶剂合物、或其药学上可接受的盐在制备抗肿瘤药物中的用途。

[0034] 优选地,所述肿瘤为乳腺癌或黑色素瘤。

[0035] 本发明提供了一种药物组合,它是以上述化合物、或其晶型、或其溶剂合物、或其药学上可接受的盐为活性成分,加上药学上可接受的辅料或辅助成分制备成药学上常用的制剂。

[0036] 本发明所述室温为 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 。

[0037] 本发明的“浓盐酸”一般特指普通的试剂规格,其含量均为30~37.5%,12mol/L。

[0038] 本发明的有益效果:本发明提供了一种式I所述化合物及其制备方法,同时提供了它的晶型,本发明晶型的收率和纯度高,容易得到高纯度的化合物的晶型,操作简便,成本低,非常有利于式I所述化合物质量的控制。

[0039] 显然,根据本发明的上述内容,按照本领域的普通技术知识和惯用手段,在不脱离本发明上述基本技术思想前提下,还可以做出其它多种形式的修改、替换或变更。

[0040] 以下通过实施例形式的具体实施方式,对本发明的上述内容再作进一步的详细说明。但不应将此理解为本发明上述主题的范围仅限于以下的实例。凡基于本发明上述内容所实现的技术均属于本发明的范围。

附图说明

[0041] 图1为本发明式I所示化合物的晶型,其立体结构投影图。

具体实施方式

[0042] 本发明具体实施方式中使用的原料、设备均为已知产品,通过购买市售产品获得。

[0043] 1) 材料与试剂

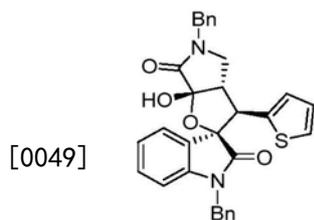
[0044] 手性方酰胺催化剂购自大赛璐药物手性技术(上海)有限公司。

[0045] 2) 主要仪器

[0046] 天平、磁力搅拌器、旋转蒸发仪等。

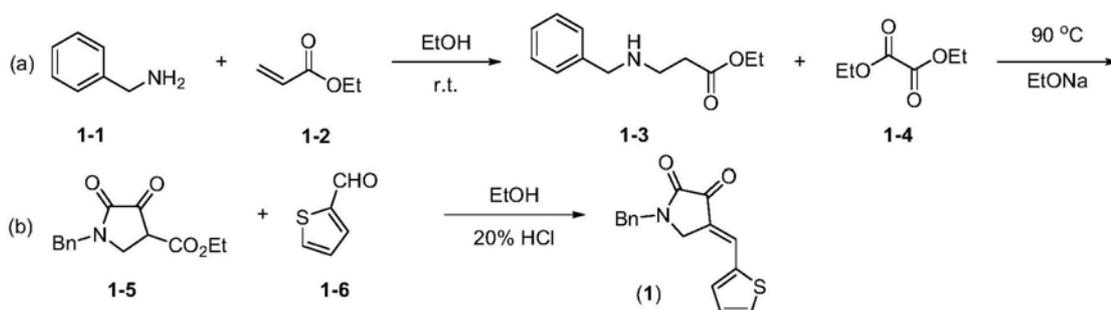
[0047] 实施例1

[0048] 1、式I所示化合物的制备



式 I

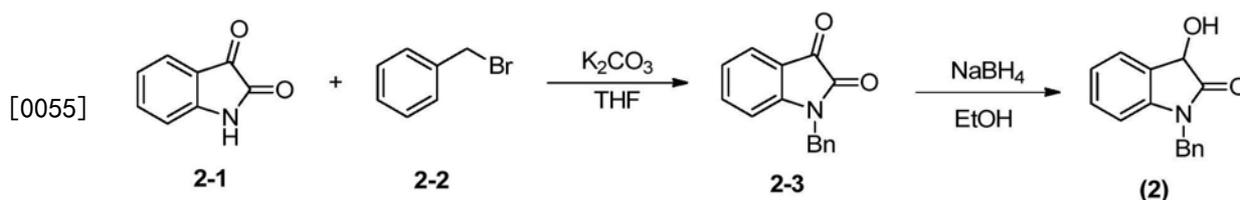
[0050] (1) 式1所示化合物的制备



[0052] (a) 取一只150mL的圆底烧瓶,分别量取30mmol的苯甲胺1-1,10mL的无水乙醇,及30mmol丙烯酸乙酯1-2,室温下搅拌16h。称取30mmol草酸二乙酯1-4,45mmol乙醇钠加入第一步的反应液中,并补加10mL无水乙醇,将体系移至90℃的油浴锅中回流反应1h。后处理:真空旋干反应液中的无水乙醇,冷却至室温后加入70mL去离子水,再加入浓盐酸调节体系pH=1,此时体系放热,故移至冰浴中冷却,此时有黄白色固体析出。倾倒上清液,干燥所得固体得化合物1-5。

[0053] (b) 取一只150mL的圆底烧瓶,称取7.7mmol产物1-5,分别量取17mL的无水乙醇,10mL的20% HCl溶液,以及7.7mmol 2-噻吩甲醛1-6,90℃下回流4h。回流结束后,待体系冷却至室温后,滤出固体中并加入乙酸乙酯,90℃回流至溶液澄清,移出油浴锅,冷却至室温,有淡黄色晶体析出,析出的淡黄色晶体粉末即为化合物1。

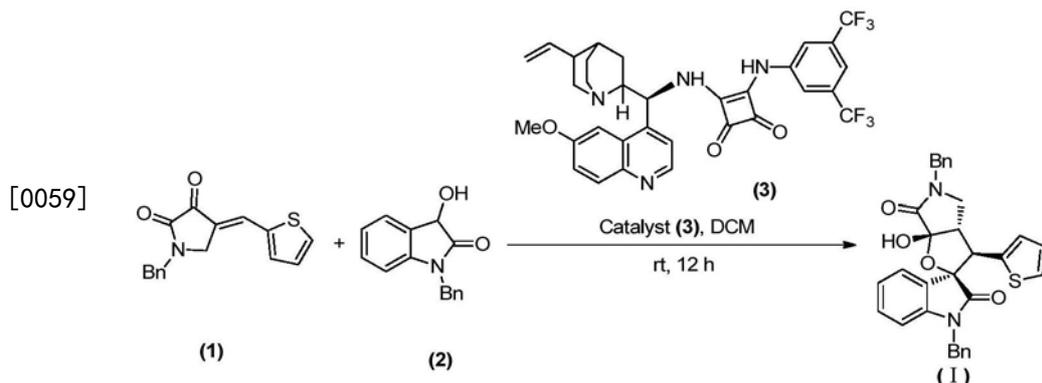
[0054] (2) 式2所示化合物的制备



[0056] 在150mL的圆底烧瓶中,称取33.98mmol靛红2-1和50.97mmol碳酸钾(1.5equiv),溶解于100mL THF溶剂中后加入40.78mmol苄溴2-2(1.2equiv),于60℃回流36h。TLC监测反应完全后,旋干,水洗除去碳酸钾,并用石油醚洗去苄溴2-2,得N-苄基吲哚醯2-3。

[0057] 在150mL的圆底烧瓶中,用30mL的乙醇将25mmol的硼氢化钠超声溶解,冷却至0℃,将20mmol的N-苄基吲哚醯2-3用剩余的乙醇溶解并冷却至0℃(乙醇共90mL),在冰浴下缓慢的将NaBH₄加入烧瓶中,冰浴下搅拌,红色即刻消失,TLC监测反应完全后,加水淬灭反应,固体析出。大量水洗去硼氢化钠,固体用二氯甲烷溶解并用无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩后析出固体,过滤得化合物(2)。

[0058] (3) 式I所示化合物的制备



[0060] 在反应试管中,依次加入,吡咯烷酮缺电子二烯化合物1 (0.05mmol),羟基氧化吲哚2 (0.075mmol),二氯甲烷(1mL),和手性方酰胺叔胺催化剂(3) (0.01mmol)在25℃下搅拌12小时,用TCL法监测原料1消失,待反应完全后将反应液浓缩,用硅胶柱分离纯化,石油醚:乙酸乙酯=3:1洗脱,薄层跟踪,展开剂为石油醚:乙酸乙酯2:1,合并Rf为0.2~0.4洗脱液,除去溶剂,所得纯化物即得式I化合物。

[0061] 对制备得到的化合物进行表征,得到其高分辨数据、氢谱及碳谱,证实所得化合物为式I所示化合物。

[0062] HRMS (ESI): m/z calculated for $C_{31}H_{26}N_2O_4SH^+$: 523.1613, found: 523.1694.

[0063] 1H NMR (600MHz, $CDCl_3$): δ (ppm): 7.43 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 7.38-7.35 (m, 2H), 7.32-7.30 (m, 3H), 7.22-7.12 (m, 5H), 7.08 (d, $J=6.6$ Hz, 1H), 6.83 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 6.64-6.30 (m, 3H), 6.48 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 5.37 (s, 1H), 4.99 (d, $J=15.0$ Hz, 1H), 4.63 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 4.54 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 4.36 (d, $J=16.2$ Hz, 1H), 3.76-3.66 (m, 3H), 3.01 (d, $J=10.2$ Hz, 1H).

[0064] ^{13}C NMR (150MHz, $CDCl_3$): δ (ppm): 176.6, 168.3, 143.6, 135.3, 134.6, 134.3, 130.9, 128.9, 128.7, 128.3, 128.0, 127.4, 127.2, 126.5, 126.0, 125.3, 124.9, 124.1, 123.7, 109.9, 107.9, 89.1, 58.2, 47.5, 47.1, 47.1, 43.8.

[0065] 实施例2本发明晶型I的制备

[0066] 取实施例1制备得到的式I化合物38.2mg,在石油醚:乙酸乙酯=85:15 (v/v)中常温下缓慢挥发结晶,得到式I的单晶21.0mg, ee值>99%,该晶型通过单晶衍射,其晶体结构数据如表1所示,其立体结构投影图如图1所示。

[0067] 表1单晶衍射中晶体结构数据

	实验式 (Empirical formula)	C ₃₁ H ₂₆ N ₂ O ₄ S
	分子量 (Formula weight)	522.60
	温度/K (Temperature)	298.58(10)
	晶系 (Crystal system)	monoclinic
	空间群 (Space group)	P2 ₁
	a/Å	9.7010(3)
	b/Å	9.3331(3)
	c/Å	14.7752(5)
	α/°	90
	β/°	94.278(3)
	γ/°	90
	晶胞体积/Å ³ (Volume)	1334.03(8)
	Z (Z 是指单位晶胞中所含分子个数)	2
[0068]	ρ _{calc} /cm ³ (ρ _{calc} 是指单晶直径的平方)	1.301
	μ/mm ⁻¹ (衍射线波长)	1.400
	F(000) (晶胞中电子的数目)	548.0
	Crystal size/mm ³ (衍射实验晶体的尺寸)	0.65 × 0.6 × 0.35
	Radiation	CuKα (λ = 1.54184)
	2θ range for data collection/°	10.558 to 145.386
	Index ranges (最小与最大衍射指标)	-8 ≤ h ≤ 11, -11 ≤ k ≤ 11, -18 ≤ l ≤ 18
	Reflections collected (衍射点收集)	14750
	Independent reflections (独立衍射点数目)	5208 [R _{int} = 0.0250, R _{sigma} = 0.0211]
	Data/restraints/parameters	5208/7/364
	Goodness-of-fit on F ²	1.028
	Final R indexes [I ≥ 2σ (I)]	R ₁ = 0.0463, wR ₂ = 0.1263
	Final R indexes [all data]	R ₁ = 0.0485, wR ₂ = 0.1314
	Largest diff. peak/hole / e Å ⁻³	0.14/-0.28
	Flack parameter	0.014(9)

[0069] 实验例1:体外抗肿瘤研究

[0070] 1、实验肿瘤细胞株

[0071] 人乳腺癌MB468细胞株、人乳腺癌SKBR3细胞株、人乳腺癌MB231细胞株、小鼠黑色素瘤A375细胞株,均由四川大学生物治疗国家重点实验室提供,以上肿瘤细胞均冻存于四川大学生物治疗国家重点实验室。

[0072] 2、实验方法

[0073] 2.1细胞的准备及处理

[0074] 4种肿瘤细胞均培养于含10%灭活新生小牛血清的RPMI-1640培养液,37℃、5%CO₂培养箱中生长至80%细胞融合,用0.1%胰酶溶液消化,制成单细胞悬液,调整细胞浓度为5×10⁴个/mL,均匀接种于96孔微量培养板中,每组3个复孔,100μl/孔,置37℃饱和湿度、5%CO₂孵箱内培养24h后,正常对照组加入含等量的培养液;加入浓度梯度的受试药物(100、50、25、12.5、6.25μg/mL),每个浓度设3个复孔,实验平行2次。待药物与细胞作用24h后,每孔加入10μL MTT溶液(5mg/mL),继续培养4h后每孔加入100μL DMSO,振荡混匀,使结晶物充分溶解,在酶标仪490nm波长处测其吸光度值(A值),各个浓度组取其平均值。

[0075] 2.2细胞增殖抑制率的测定

[0076] 按下列公式计算细胞增殖抑制率:细胞增殖抑制率(%)=(1-试验组A值/对照组A值)×100%。所有实验数据采用SPSS 13.0进行统计分析。实验结果采用Probit求得IC₅₀值。

[0077] 2.3实验结果

[0078] 表2本发明晶型I对受试细胞生长的抑制情况

[0079]	MB468	A375	SKBR3	MB231
IC ₅₀ (μg/mL)	62.30	19.12	51.46	83.52

[0080] 上述实验结果表明,本发明提供的晶型I化合物具有抗肿瘤活性。

[0081] 综上,本发明提供了一种式I所述化合物及其制备方法,同时提供了它的晶型,本发明晶型的收率和纯度高,容易得到高纯度的化合物的晶型,操作简便,成本低,非常有利于式I所述化合物质量的控制。

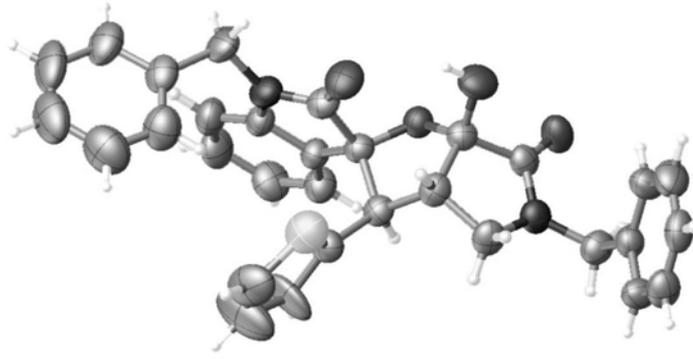


图1