



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103012394 B

(45) 授权公告日 2015.03.25

(21) 申请号 201210465345.5

(22) 申请日 2012.11.19

(73) 专利权人 苏州大学

地址 215123 江苏省苏州市工业园区仁爱路199号

(72) 发明人 敖桂珍 楚小晶 宋恒 刘金宜 王盼盼

(74) 专利代理机构 苏州广正知识产权代理有限公司 32234

代理人 刘述生

(51) Int. Cl.

C07D 417/12(2006.01)

A61K 31/427(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

(56) 对比文件

CN 102058585 A, 2011.05.18,

CN 102058585 A, 2011.05.18,

WO 2009065926 A2, 2009.05.28,

CN 1039246 A, 1990.01.31,

Mitali Chattopadhyay 等. Hydrogen sulfide-releasing aspirin suppresses NF-κB signaling in estrogen receptor negative breast cancer cells in vitro and in vivo. 《Biochemical Pharmacology》. 2011, 第83卷(第6期),

Chengguo Xing 等. Development of selective inhibitors for anti-apoptotic Bcl-2 proteins from BHI-1. 《Bioorganic & Medicinal Chemistry》. 2006, 第15卷(第5期),

审查员 耿元硕

权利要求书1页 说明书6页

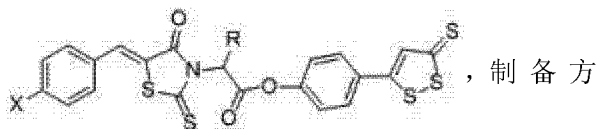
(54) 发明名称

一种罗丹宁衍生物及其制备方法

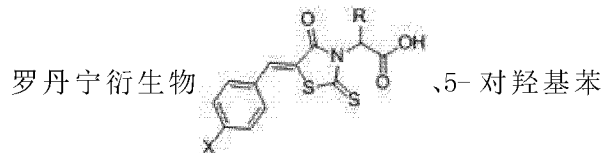
且其抗肿瘤活性比修饰前的第一罗丹宁衍生物的活性更强。

(57) 摘要

本发明公开了一种罗丹宁衍生物, 结构为:

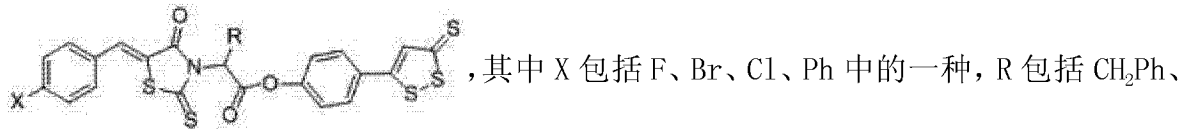


制备方法为将具有抗肿瘤作用的 Bcl-2 抑制剂第一



罗丹宁衍生物 基 -1, 2- 二硫杂环戊烯 -3- 硫酮、缩合剂和碱按物质的量比为 1:1~2:1~2:0.001~0.1 在溶剂中混合, 在 25~100℃ 下反应 0.5~24 小时后纯化得到, 其中 X 包括 F、Br、Cl、Ph 中的一种, R 包括 CH₂Ph、CH₂CH(CH₃)₂、CH(CH₃)₂ 中的一种, 还包括罗丹宁衍生物和药学上能接受的载体组成的抗肿瘤药物。通过上述方式, 本发明提供的一种罗丹宁衍生物及其制备方法, 得到的罗丹宁衍生物含能够释放气体信号分子硫化氢的药效基团, 可产生抗肿瘤的协同作用, 其对肿瘤细胞具有良好的抑制作用,

1. 一种罗丹宁衍生物,其特征在于,结构为:



$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 中的一种。

2. 根据权利要求 1 所述的罗丹宁衍生物的制备方法,其特征在于,包括步骤为:将第一罗丹宁衍生物、5-对羟基苯基-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮、缩合剂和碱按物质的量比为 1:1~2:1~2:0.001~0.1 在溶剂中混合,在 25~100℃下反应 0.5~24 小时后纯化,得到第二罗

丹宁衍生物,其中所述第一罗丹宁衍生物的结构为:

X 包括 F、Br、Cl、Ph

中的一种, R 包括 CH_2Ph 、 $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 中的一种。

3. 根据权利要求 2 所述的制备方法,其特征在于,所述缩合剂包括二环己基碳二亚胺、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺、N,N'-羰基二咪唑或苯并三氮唑-1-基氧基三(二甲基氨基)磷鎓六氟磷酸盐。

4. 根据权利要求 2 所述的制备方法,其特征在于,所述碱包括对二甲氨基吡啶、4-吡咯烷基吡啶。

5. 根据权利要求 2 所述的制备方法,其特征在于,所述溶剂为二氯甲烷。

6. 一种抗肿瘤药物,其特征在于,包括罗丹宁衍生物和药学上能接受的载体。

7. 根据权利要求 6 所述的抗肿瘤药物,其特征在于,所述罗丹宁衍生物占所述抗肿瘤药物的重量百分比为 0.05~90%。

8. 根据权利要求 7 所述的抗肿瘤药物,其特征在于,所述罗丹宁衍生物占所述抗肿瘤药物的重量百分比为 15~60%。

9. 根据权利要求 6 所述的抗肿瘤药物,其特征在于,所述罗丹宁衍生物为 Z-2-[5-(4-溴苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-4-甲基戊酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)苯酯、Z-2-[5-(4-溴苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-3-甲基丁酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)苯酯、Z-2-[5-(4-氯苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-3-甲基丁酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)苯酯或 Z-2-[5-(4-苯基苄亚基)-4-氧代-2-硫代噻唑烷-3-基]-苯丙酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)苯酯。

10. 根据权利要求 6 所述的抗肿瘤药物,其特征在于,所述载体包括溶剂、稀释剂、片剂、胶囊、分散粉末或颗粒剂。

一种罗丹宁衍生物及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及抗肿瘤药物领域,特别是涉及一种罗丹宁衍生物及其制备方法。

背景技术

[0002] 恶性肿瘤是对人类威胁最大的疾病之一,每年全球癌症死亡人数约为 700 万人,其中 24% 发生在中国,同时我国癌症死亡率一直呈持续增长趋势,但中国癌症患者的生存患者和治愈患者仅为 13%,癌症已经成为严重威胁我国人民健康的头号杀手。目前对癌细胞的病变和转移以及药物对癌细胞的作用机理仍不清晰,因此现在肿瘤的治疗很大程度上仍是以抗肿瘤药物的化学治疗为主。但是化学药物存在毒副作用大、产生多药耐药性问题等,始终是人类战胜癌症的最大障碍。

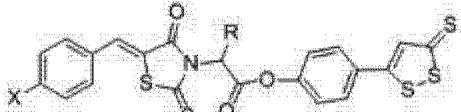
[0003] 近年来大量研究表明 Bcl-2 蛋白是控制细胞凋亡的最终调节者,其超量表达所致的细胞不适当生存可能是肿瘤形成和化疗耐药的主要原因之一,以 Bcl-2 蛋白为靶点设计开发抗肿瘤药物逐渐成为抗肿瘤研究的热点。化合物 BHI-1 是一个罗丹宁衍生物,是通过高通量筛选获得的一个靶点为抗细胞凋亡 Bcl-2 蛋白家族的抗癌先导化合物,其酰胺衍生物 WL-276 不但对 Bcl-2、Bcl-x1 具有抑制作用,而且对耐药性的 PC-3 细胞表现出很强的抑制活性。

[0004] 内源性硫化氢在神经系统、循环系统和消化系统具有重要生理效应,其代谢异常与许多疾病有关,被称为继一氧化氮和一氧化碳后的第三类气体信号分子。外源性硫化氢供体硫氢化钠会引起人肺成纤维细胞的 DNA 损伤,作用机制为诱导下游凋亡蛋白如 p21、Bax 和细胞色素 c 水平,但不上调抗凋亡蛋白 Bcl-2 水平,同时硫氢化钠半衰期很短,浓度较大时对细胞特别是神经细胞产生毒性,而 5- 对羟基苯基 -1, 2- 二硫杂环戊烯 -3- 硫酮是一种可缓慢释放硫化氢的化合物。

发明内容

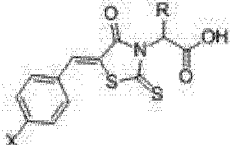
[0005] 本发明主要解决的技术问题是提供一种罗丹宁衍生物及其制备方法,所得罗丹宁衍生物能够抑制肿瘤细胞的增殖。

[0006] 为解决上述技术问题,本发明采用的一个技术方案是:提供一种罗丹宁衍生物,结

构为:  ,其中 X 包括 F、Br、Cl、Ph 中的一种, R 包括 CH₂Ph、

CH₂CH(CH₃)₂、CH(CH₃)₂中的一种。

[0007] 提供一种罗丹宁衍生物的制备方法,包括步骤为:将第一罗丹宁衍生物、5- 对羟基苯基 -1, 2- 二硫杂环戊烯 -3- 硫酮、缩合剂和碱按物质的量比为 1:1~2:1~2:0.001~0.1 在溶剂中混合,在 25~100℃ 下反应 0.5~24 小时后纯化,得到第二罗丹宁衍生物,其中所述

第一罗丹宁衍生物是具有抗肿瘤作用的 Bcl-2 抑制剂,其结构为:  , X 包括

F、Br、Cl、Ph 中的一种, R 包括 CH_2Ph 、 $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 中的一种。

[0008] 在本发明一个较佳实施例中,所述缩合剂包括二环己基碳二亚胺、1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、N,N'-羰基二咪唑或苯并三氮唑-1-基氧基三(二甲氨基)磷鎓六氟磷酸盐。

[0009] 在本发明一个较佳实施例中,所述碱包括对二甲氨基吡啶、4-吡咯烷基吡啶。

[0010] 在本发明一个较佳实施例中,所述溶剂为二氯甲烷。

[0011] 提供一种抗肿瘤药物,其特征在于,包括罗丹宁衍生物和药学上能接受的载体。

[0012] 在本发明一个较佳实施例中,所述罗丹宁衍生物占所述抗肿瘤药物的重量百分比为 0.05-90%。

[0013] 在本发明一个较佳实施例中,所述罗丹宁衍生物占所述抗肿瘤药物的重量百分比为 15-60%。

[0014] 在本发明一个较佳实施例中,所述罗丹宁衍生物为 Z-2-[5-(4-溴苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-4-甲基戊酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)苯酯、Z-2-[5-(4-溴苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-3-甲基丁酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)苯酯、Z-2-[5-(4-氯苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-3-甲基丁酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)苯酯或 Z-2-[5-(4-苯基苄亚基)-4-氧代-2-硫代噻唑烷-3-基]-苯丙酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)苯酯。

[0015] 在本发明一个较佳实施例中,所述载体包括溶剂、稀释剂、片剂、胶囊、分散粉末或颗粒剂。

[0016] 本发明的有益效果是:本发明的罗丹宁衍生物及其制备方法,得到的罗丹宁衍生物含有能够释放气体信号分子硫化氢的药效基团,所述罗丹宁衍生物是通过具有抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 的第一罗丹宁衍生物与具有上调促凋亡蛋白 Bax 的硫化氢供体偶联后获得的,所得罗丹宁衍生物对肿瘤细胞具有良好的抑制作用,产生抗肿瘤的协同作用,且其抗肿瘤活性比修饰前的第一罗丹宁衍生物的活性更强。

具体实施方式

[0017] 下面对本发明的较佳实施例进行详细阐述,以使本发明的优点和特征能更易于被本领域技术人员理解,从而对本发明的保护范围做出更为清楚明确的界定。

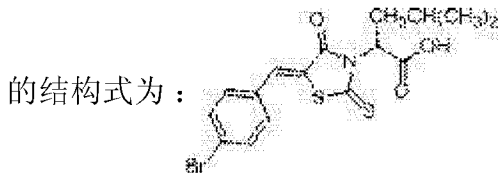
[0018] 实施例一:

[0019] (1) 将 0.494g、2.0mmol 的 2-[4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-4-甲基戊酸, 0.368 g、2.0 mmol 的对溴苯甲醛和 0.313g、4.1mmol 的乙酸铵加至 20mL 甲苯中,加热回流 1h,减压蒸去溶剂,用洗脱剂石油醚和乙酸乙酯体积比为 4:1 进行柱层析得到淡黄色固体,产率 75.9%,熔点 148.5~152.0℃。产物 Z-2-[5-(4-溴苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-4-甲基戊酸的氢谱 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.94(d, 3H, $J=6.6\text{Hz}$, CH_3), 0.98(d, 3H, $J=6.5\text{Hz}$, CH_3), 1.48~1.61(m, 1H, CH), 2.08~2.16(m, 1H,

CH₂), 2.25~2.32(m, 1H, CH₂), 5.79~5.80(m, 1H, CH), 7.35(d, 2H, J=8.4Hz, ArH), 7.62(d, 2H, J=8.0Hz, ArH), 7.63(s, 1H, =CH)。

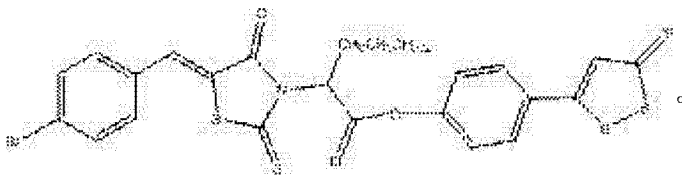
[0020] (2) 将 495.576mg、1.2mmol 的 Z-2-[5-(4-溴苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-4-甲基戊酸, 299mg、1.5mmol 的二环己基碳二亚胺, 326mg、1.4mmol 的 5-对羟基苯基-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮和 1.71mg、0.014mmol 的二甲氨基吡啶溶于 20mL 二氯甲烷中, 室温搅拌 30min, 过滤, 滤液蒸干用乙酸乙酯-石油醚重结晶, 得到红色固体, 产率 69.8%, 熔点 187.2~188.6℃。产物 Z-2-[5-(4-溴苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-4-甲基戊酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)苯酯的氢谱 ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ : 0.98(d, 3H, J=6.6Hz, CH₃), 1.04(d, 3H, J=6.5Hz, CH₃), 1.59~1.68(m, 1H, CH), 2.21~2.36(m, 2H, CH₂), 5.59~5.95(m, 1H, CH), 7.22(d, 2H, J=8.5Hz, ArH), 7.37(d, 2H, J=8.6Hz, ArH), 7.39(s, 1H, =CH), 7.64(d, 2H, J=8.6Hz, ArH), 7.67(d, 2H, J=8.7Hz, ArH), 7.70(s, 1H, =CH); IR(KBr, ν, cm⁻¹): 1769.9 (C=O), 1711.0 (C=O), 1600.8 (C=C), 1581.9 (C=C); HR MS Calcd. For C₂₅H₂₀BrNO₃S₅ [M+H]⁺ 621.9303, Found 621.9280。

[0021] 化合物 Z-2-[5-(4-溴苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-4-甲基戊酸



, 化合物 Z-2-[5-(4-溴苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻

唑烷-3-基]-4-甲基戊酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)苯酯的结构式为:

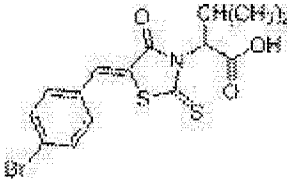


[0022] 实施例二:

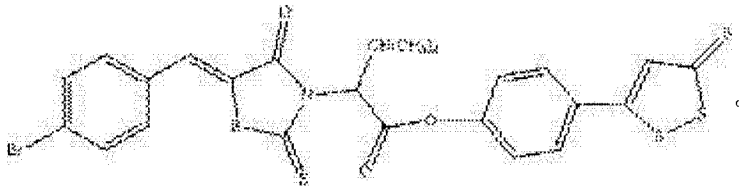
[0023] (1) 以对溴苯甲醛和 2-(4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基)-3-甲基丁酸为原料, 制备过程同实施例一步骤(1), 得到淡黄色固体, 产率 78.4%, 熔点 157.9~160.1℃。产物 Z-2-[5-(4-溴苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-3-甲基丁酸的氢谱 ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ : 0.83(d, 3H, J=6.8Hz, CH₃), 1.27(d, 3H, J=6.3Hz, CH₃), 2.83~2.92(m, 1H, CH), 5.37(d, 1H, J=9.1Hz, CH), 7.35(d, 2H, J=8.4Hz, ArH), 7.62(d, 2H, J=8.4Hz, ArH), 7.64(s, 1H, =CH)。

[0024] (2) 以 Z-2-[5-(4-溴苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-3-甲基丁酸和 5-对羟基苯基-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮为原料, 制备过程同实施例一步骤(2), 得到红色固体, 产率 73.4%, 熔点 159.5~160.7℃。产物 Z-2-[5-(4-溴苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-3-甲基丁酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)苯酯的氢谱 ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ : 0.91(d, 3H, J=6.9Hz, CH₃), 1.33(d, 3H, J=6.5Hz, CH₃), 2.94~3.05(m, 1H, CH), 5.52(d, 1H, J=9.4Hz, CH), 7.21(d, 2H, J=8.6Hz, ArH), 7.37~7.39(m, 3H, ArH, =CH), 7.63~7.67(m, 4H, ArH), 7.72(s, 1H, =CH). IR(KBr, ν, cm⁻¹): 1777.3 (C=O), 1706.4 (C=O), 1601.1 (C=C), 1582.2 (C=C); HR MS: Calcd. For C₂₄H₁₈BrNO₃S₅ [M+H]⁺ 607.9146, Found 607.9122。

[0025] 化合物 Z-2-[5-(4-溴苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-3-甲基丁酸

的结构式为：，化合物 Z-2-[5-(4-溴苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻

唑烷-3-基]-3-甲基丁酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)苯酯的结构式为：

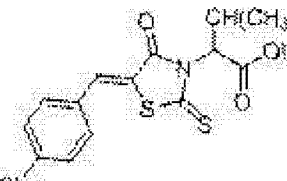


[0026] 实施例三：

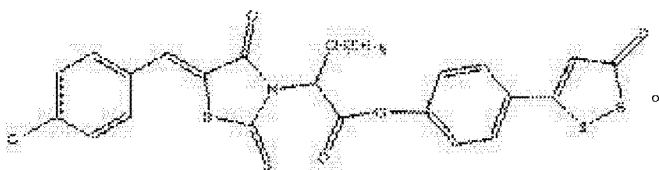
[0027] 以对氯苯甲醛和 2-(4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基)-3-甲基丁酸为原料，制备过程同实施例一步骤(1)，得到淡黄色固体，产率 80.3%，熔点 152.0~154.3℃。产物 Z-2-[5-(4-氯苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-3-甲基丁酸的氢谱 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.87(d, 3H, $J=6.6\text{Hz}$, CH_3), 1.26(d, 3H, $J=6.9\text{Hz}$, CH_3), 2.84~2.93(m, 1H, CH), 5.37(d, 1H, $J=9.0\text{Hz}$, CH), 7.41~7.47(m, 4H, ArH), 7.66(s, 1H, =CH)。

[0028] 以 Z-2-[5-(4-氯苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-4-甲基丁酸和 5-对羟基苯基-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮为原料，制备过程同实施例一步骤(2)，得到红色固体，产率 70.1%，熔点 164.3~165.2℃。产物 Z-2-[5-(4-氯苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-4-甲基丁酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)苯酯的氢谱 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.91(d, 3H, $J=6.9\text{Hz}$, CH_3), 1.33(d, 3H, $J=6.5\text{Hz}$, CH_3), 2.94~3.03(m, 1H, CH), 5.52(d, 1H, $J=8.6\text{Hz}$, CH), 7.21(d, 2H, $J=8.7\text{Hz}$, ArH), 7.38(s, 1H, =CH), 7.44~7.49(m, 4H, ArH), 7.66(d, 2H, $J=8.7\text{Hz}$, ArH), 7.74(s, 1H, =CH); IR(KBr, ν , cm^{-1}): 1777.0(C=O), 1704.4(C=O), 1601.6(C=C), 1583.3(C=C); HR MS Calcd. For $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{ClNO}_3\text{S}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 563.9652, Found 563.9644。

[0029] 化合物 Z-2-[5-(4-氯苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-3-甲基丁酸

的结构式为：，化合物 Z-2-[5-(4-氯苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻

唑烷-3-基]-3-甲基丁酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)苯酯的结构式为：



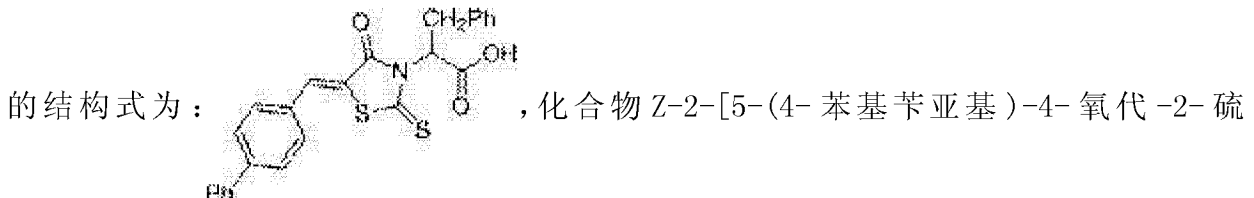
[0030] 实施例四：

[0031] 以对苯基苯甲醛和 Z-2-(4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基)-苯丙酸为原料，制备过程同实施例一步骤(1)。得到淡黄色固体，产率 73.8%，熔点 114.8~116.2℃。产物

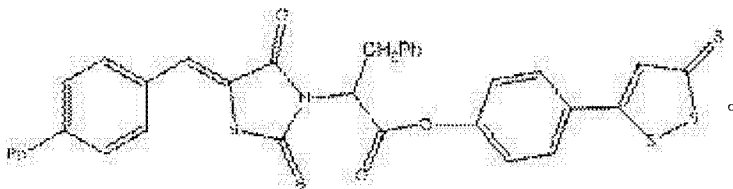
Z-2-[5-(4-苯基苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-苯丙酸的氢谱¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ :3.60~3.66(m, 2H, CH₂), 6.01~6.09(m, 1H, CH), 7.18~7.24(m, 5H, ArH), 7.42(d, 1H, J=7.2Hz, ArH), 7.48(t, 2H, J=7.5Hz, ArH), 7.54(d, 2H, J=8.2Hz, ArH), 7.63(d, 2H, J=7.9Hz, ArH), 7.71(d, 2H, J=7.1Hz, ArH), 7.72(s, 1H, =CH)。

[0032] 以 Z-2-[5-(4-苯基苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-苯丙酸和 5-对羟基苯基-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮为原料,制备过程同实施例一步骤(2),得到红色固体,产率 68.5%,熔点 168.4~171.4℃。产物 Z-2-[5-(4-苯基苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-苯丙酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)的氢谱¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ :3.55~3.65(m, 2H, CH₂), 6.27~6.32(m, 1H, CH), 7.17~7.30(m, 5H, ArH), 7.29(d, 2H, J=8.7Hz, ArH), 7.41(d, 1H, J=7.1Hz, ArH), 7.46~7.51(m, 2H, ArH, =CH), 7.71~7.75(m, 4H, ArH), 7.80(s, 1H, =CH), 7.87(t, 3H, J=7.7Hz, ArH), 7.99(d, 2H, J=8.7Hz, ArH); IR(KBr, ν, cm⁻¹): 1771.3(C=O), 1704.6(C=O), 1590.5(C=C), 1520.7(C=C); HR MS: Calcd. For C₃₄H₂₃NO₃S₅ [M+H]⁺ 654.0354, Found 654.0346。

[0033] 化合物 Z-2-[5-(4-苯基苄亚基)-4-氧代-2-硫代-噻唑烷-3-基]-苯丙酸



代-噻唑烷-3-基]-苯丙酸 4-(3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮-5-基)的结构式为:



[0034] 采用四甲基氮唑蓝比色法(MTT)评价上述所得化合物对人癌细胞株肝癌细胞 HepG2 和前列腺癌细胞 DU145 乳腺癌的抗增殖活性。

[0035] 药液配制:化合物先用二甲亚砜溶解,在用培养基稀释成所需浓度,每个化合物设六个浓度(1, 10, 20, 40, 80, 160 μmol/L)。采用 MTT 法对所合成的化合物进行体外抗肿瘤活性评价,以 5-氟尿嘧啶(5-Fu)作为阳性对照。

[0036] 细胞培养:人前列腺癌 DU145 细胞和人肝癌 HepG2 细胞均生长于 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中,置 37℃、5% CO₂培养箱孵育。实验时取对数生长期细胞。

[0037] 实验步骤:取对数生长期状态良好的细胞一瓶,加入 0.25% 胰蛋白酶消化,使贴壁细胞脱落,制成每毫升含 5×10⁶~6×10⁶ 个细胞的悬液。取细胞悬液种于 96 孔板上,每孔 50 μL。置恒温 CO₂ 培养箱中培养 24 小时。换液,加入受试化合物,每孔 50 μL。分阴性对照组、空白对照组和实验组,每组设 5 个复孔。培养 48 小时。将 MTT 溶液(5mg/mL)加入 96 孔板中,每孔 20 μL,培养箱中反应 4 小时。将培养液吸掉,加入 DMSO,每孔 150 μL。用酶联免疫测试仪在波长 570nm 处测定每孔的吸收度,计算细胞抑制率。每次实验重复三次。

[0038] 细胞抑制率(%)=(阴性对照组 OD 值-受试物组 OD 值)/(阴性对照组 OD 值-空白对照组 OD 值)×100%,结果见下表:

[0039]

| 化合物 | X | R | HepG2 IC ₅₀ ($\mu\text{mol/L}$) | DU145 IC ₅₀ ($\mu\text{mol/L}$) |
|-------------|----|---|--|--|
| 实施例一步骤(1)产物 | Br | CH ₂ CH(CH ₃) ₂ | 65.8 | 48.1 |
| 实施例二步骤(1)产物 | Br | CH(CH ₃) ₂ | >100 | 81.1 |
| 实施例三步骤(1)产物 | Cl | CH(CH ₃) ₂ | 20.42 | 48.7 |
| 实施例四步骤(1)产物 | Ph | CH ₂ Ph | 62.0 | 52.2 |
| 实施例一步骤(2)产物 | Br | CH ₂ CH(CH ₃) ₂ | 26.65 | 0.25 |
| 实施例二步骤(2)产物 | Br | CH(CH ₃) ₂ | 11.03 | 2.46 |
| 实施例三步骤(2)产物 | Cl | CH(CH ₃) ₂ | 42.75 | 21.26 |
| 实施例四步骤(2)产物 | Ph | CH ₂ Ph | 2.11 | 5.33 |
| 5-氟尿嘧啶 | | | 17.56 | 10.45 |

[0040] 药理初筛结果表明：实施例一、三、四中步骤(1)的产物对 HepG2 细胞和 DU145 细胞的增殖均具有较强的抑制作用，偶联物实施例一、二、三、四中步骤(2)的产物对 HepG2 细胞和 DU145 细胞的增殖均具有较强的抑制作用，且对 DU145 细胞抑制活性更强，因此可以得出实施例一、二、三、四中步骤(1)的产物经与 5- 对羟基苯基 -1, 2- 二硫杂环戊烯 -3- 硫酮偶联后，得到的实施例一、二、三、四中步骤(2)的产物对 HepG2 细胞和 DU145 细胞增殖抑制活性增强，同时实施例一、二、三、四中步骤(1)的产物的抗肿瘤活性均比阳性对照药 5- 氟尿嘧啶(5-Fu) 弱，而实施例二、四中步骤(2)的产物对 HepG2 细胞抑制作用比 5- 氟尿嘧啶强，实施例一、二、四中步骤(2)的产物抑制 DU145 细胞增殖活性比 5- 氟尿嘧啶强。

[0041] 提供一种抗肿瘤药物，包括罗丹宁衍生物和药学上能接受的载体。所述罗丹宁衍生物可以单独或与一种以上可接受的载体组合剂制成制剂给药，例如采用溶剂、稀释剂等，也可以口服剂型给药，如片剂、胶囊、可分散粉末、颗粒剂等。本发明药物组合物的各种剂型可以按照药学领域中熟知的方法进行制备。所述罗丹宁衍生物占所述抗肿瘤药物的重量百分比为 0.05-90%，更优选占所述抗肿瘤药物的重量百分比为 15-60%，可以按照 0.005~5000mg/kg/ 天给药，也可根据疾病严重程度或剂型的不同超出此剂量范围给药。

[0042] 所述罗丹宁衍生物还可以与其他抗肿瘤药物，如烷化剂、抗代谢药、拓扑异构酶抑制剂、有丝分裂酶抑制剂、DNA 插入剂联合应用，还可以与放射治疗联合应用。这些其他抗肿瘤药或放射治疗可以与所述罗丹宁衍生物同时或在不同时间给予，可以产生协同作用，从而有助于改善治疗效果，其中肿瘤为肝癌或前列腺癌。

[0043] 以上所述仅为本发明的实施例，并非因此限制本发明的专利范围，凡是利用本发明说明书所作的等效结构或等效流程变换，或直接或间接运用在其他相关的技术领域，均同理包括在本发明的专利保护范围内。