



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103864811 A

(43) 申请公布日 2014. 06. 18

(21) 申请号 201210537272. 6

(22) 申请日 2012. 12. 13

(71) 申请人 天津科技大学

地址 300457 天津市滨海新区塘沽经济技术
开发区第十三大街 29 号天津科技大学
生物工程学院

(72) 发明人 郁彭 温少鹏 贾海永 郭娜

吕建 吕蕾 王义乾 宋彬彬

(51) Int. Cl.

C07D 491/22 (2006. 01)

A61K 31/4745 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

A61P 35/02 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书4页 附图2页

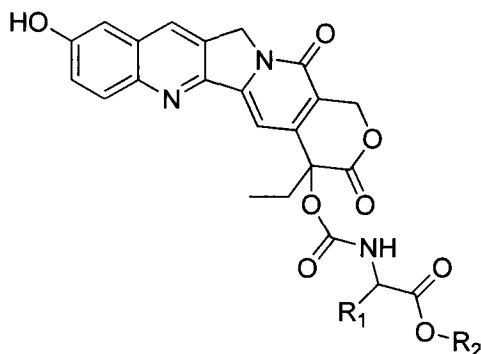
(54) 发明名称

一种新颖的 10-羟基喜树碱 20 位衍生物制备方法及其在抗肿瘤药物中的应用

(57) 摘要

本发明涉及一种新颖的 10-羟基喜树碱 20 位衍生物制备方法及其在抗肿瘤药物中的应用。本发明以 10-羟基喜树碱为原料,通过羟基保护,缩合反应,取代反应,脱保护等反应得到具有抗癌活性,并增加 10-羟基喜树碱水溶性的衍生物。

1. 10-羟基喜树碱 20 位衍生物, 衍生物的结构通式如下:



其中 R_1 为 H、低级烷基或含取代基的低级烷基。

其中 R_2 为 H, 甲基或乙基。

2. 根据权利要求 1 所述的 10-羟基喜树碱 10 位衍生物, 其特征在于: 所述 R_1 为 H, R_2 为 H, 甲基, 乙基。

3. 根据权利要求 1 所述的 10-羟基喜树碱 10 位衍生物, 其特征在于: 所述 R_1 为甲基, R_2 为 H, 甲基, 乙基。

4. 根据权利要求 1 所述的 10-羟基喜树碱 10 位衍生物, 其特征在于: 所述 R_1 为 2-甲基-丙基, R_2 为 H, 甲基, 乙基。

5. 根据权利要求 1 所述的 10-羟基喜树碱 10 位衍生物, 其特征在于: 所述 R_1 为 1-甲基-丙基, R_2 为 H, 甲基, 乙基。

6. 根据权利要求 1 所述的 10-羟基喜树碱 10 位衍生物, 其特征在于: 所述 R_1 为 2-丙基, R_2 为 H, 甲基, 乙基。

7. 根据权利要求 1 所述的 10-羟基喜树碱 10 位衍生物, 其特征在于: 所述 R_1 为甲硫基丙基, R_2 为 H, 甲基, 乙基。

8. 根据权利要求 1 所述的 10-羟基喜树碱 10 位衍生物, 其特征在于: 所述 R_1 为羟甲基, R_2 为 H, 甲基, 乙基。

9. 根据权利要求 1 所述的 10-羟基喜树碱 10 位衍生物, 其特征在于: 所述 R_1 为 1-羟基-2-乙基, R_2 为 H, 甲基, 乙基。

10. 根据权利要求 1 所述的 10-羟基喜树碱 10 位衍生物, 其特征在于: 所述 R_1 为巯甲基, R_2 为 H, 甲基, 乙基。

11. 根据权利要求 1 所述的 10-羟基喜树碱 10 位衍生物在肺癌, 宫颈癌, 卵巢癌, 肠癌, 胃癌, 肾癌, 肝癌, 淋巴瘤, 白血病, 多发性骨髓瘤, 食管癌, 膀胱癌, 乳腺癌, 胰腺癌以及心脏病, 糖尿病中的应用。

一种新颖的 10-羟基喜树碱 20 位衍生物制备方法及其在抗肿瘤药物中的应用

技术领域

[0001] 本发明属于新化合物制备方法领域,尤其是一种新颖的 10-羟基喜树碱 20 位衍生物制备方法及其在抗肿瘤药物中的应用。

背景技术

[0002] 据世界卫生组织估计,全世界每年约有 500 万人因患各种恶性肿瘤而死亡,仅美国每年诊断出 130 万例癌症。癌症已成为严重危害人类生命健康、且难以治愈的疾病之一。喜树碱 (CPT) 是一种来源于植物的抗癌药物,从中国中南、西南分布的喜树中提取得到。早期的生物试验表明,天然喜树碱具有明显的抗肿瘤活性,尤其对消化道、白血病、膀胱癌等具有显著的治疗效果。

[0003] 喜树碱及其衍生物是高效的拓扑异构酶 I 的抑制剂。其抗肿瘤机理是通过稳定拓扑异构酶 I-DNA 的复合物,影响 DNA 的复制来实现的。内酯环形式的喜树碱作用于拓扑异构酶 I-DNA 复合物的结合位点,形成稳定的 CPT-DNA-TopoI 三元复合物,使 DNA 断裂。在细胞周期的 S 期, DNA 复制叉遇到三元复合物形成的路障,抑制了 DNA 的合成,最终导致细胞在 s 周期的凋亡。

[0004] 其中抗癌药 10-羟基喜树碱在中国已被批准上市。但是临床用药 10-羟基喜树碱是未经修饰的天然产物,毒性较大,抗肿瘤活性较低,因而在临床应用中受到了限制。对抗癌药 10-羟基喜树碱进行结构修饰研究,进一步开发出疗效更为优良的衍生物将具有重要意义。为提高药物的治疗效果,降低毒副作用,适应制剂要求,方便应用,本文保持抗癌药 10-羟基喜树碱的基本结构,既不破坏其内酯环,又改善其水溶性,仅在某些功能基上作一定的化学结构改变。选择恰当的结构改变,使在生理条件下,能释放母体药物,并根据机体组织有酶、受体、pH 等条件的差异,使母体药物释放有差异,而达到下述目的:改善药物的转运与代谢过程,提高生物利用度;改善药物理化性质;有利于药物与受体或酶的相互作用,引起相应的生物化学和生物物理的转变。最终开发出具有广阔市场前景的新药,造福于人类。

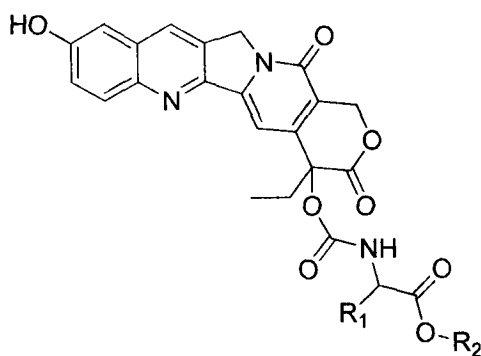
发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供 10-羟基喜树碱 20 位衍生物及其制备方法及其应用,本发明具有操作简单、反应条件温和、合成路线短、收率较高、成本低等优点。

[0006] 本发明的目的通过以下技术方案实现的:

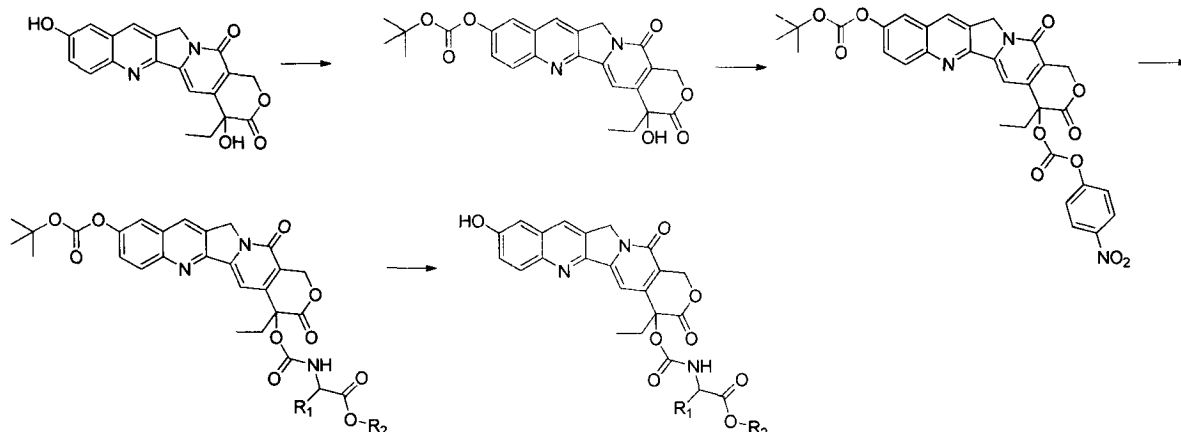
[0007] 10-羟基喜树碱 20 位衍生物,其特征在于:衍生物的结构通式如下:

[0008]



- [0009] 其中 R₁ 为 H、低级烷基或含取代基的低级烷基。
- [0010] 其中 R₂ 为 H, 甲基或乙基。
- [0011] 本发明特别化合物包括
- [0012] 1. 10-[20-(甘氨酸)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0013] 2. 10-[20-(甘氨酸甲酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0014] 3. 10-[20-(甘氨酸乙酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0015] 4. 10-[20-(丙氨酸)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0016] 5. 10-[20-(丙氨酸甲酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0017] 6. 10-[20-(丙氨酸乙酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0018] 7. 10-[20-(亮氨酸)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0019] 8. 10-[20-(亮氨酸甲酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0020] 9. 10-[20-(亮氨酸乙酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0021] 10. 10-[20-(异亮氨酸)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0022] 11. 10-[20-(异亮氨酸甲酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0023] 12. 10-[20-(异亮氨酸乙酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0024] 13. 10-[20-(缬氨酸)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0025] 14. 10-[20-(缬氨酸甲酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0026] 15. 10-[20-(缬氨酸乙酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0027] 16. 10-[20-(甲硫氨酸)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0028] 17. 10-[20-(甲硫氨酸甲酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0029] 18. 10-[20-(甲硫氨酸乙酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0030] 19. 10-[20-(丝氨酸)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0031] 20. 10-[20-(丝氨酸甲酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0032] 21. 10-[20-(丝氨酸乙酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0033] 22. 10-[20-(苏氨酸)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0034] 23. 10-[20-(苏氨酸甲酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0035] 24. 10-[20-(苏氨酸乙酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0036] 25. 10-[20-(半胱氨酸)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0037] 26. 10-[20-(半胱氨酸甲酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
 - [0038] 27. 10-[20-(半胱氨酸乙酯)氨基甲酸酯]-喜树碱
- [0039] 发明详述
- [0040] 合成路线

[0041]



[0042] 说明 1

[0043] 10-叔丁氧羰基-喜树碱

[0044] 将 10-羟基喜树碱 (1g, 2.74mmol) 加入到 100mL 圆底烧瓶中, 然后加 DMF (28mL) 溶解, 待充分溶解后再加入二碳酸二叔丁酯 (1.2g, 5.5mmol), 搅拌 5 分钟后, 加入吡啶 (10mL), 塞上瓶口, 置于避光的地方反应 24 小时。反应结束后, 将反应液倒入 250mL 分液漏斗中, 加入 90mL 二氯甲烷溶解, 然后每次加入 150mL 水萃取, 萃取 3 次; 再加入 1mol/L 的盐酸 36mL、水 114mL 萃取, 同样萃取三次; 最后用 150mL 饱和食盐水萃取一遍。有机相用无水 NaSO_4 干燥, 减压旋去溶剂, 二氯甲烷: 甲醇 = 120 : 1, 200-300 目硅胶柱纯化。得化合物 10-叔丁氧羰基-喜树碱 1.2g, 产率 95%。

[0045] $^1\text{H NMR}$ (d_6 -DMSO 400MHz): δ /ppm 0.875-0.911 (m, 3H), 1.545 (s, 9H), 5.295 (s, 2H), 5.435 (s, 2H), 6.532 (s, 1H), 7.350 (s, 1H), 7.721-7.751 (m, 1H), 8.099 (d, 1H), 8.208 (d, 2H), 8.681 (s, 1H)。

[0046] 说明 2

[0047] 10-叔丁氧羰基-20-硝基碳酸苯酯-喜树碱

[0048] 称取 10-叔丁氧羰基-喜树碱 (1g, 2.15mmol) 加入到 100mL 的圆底烧瓶中, 然后加入二氯甲烷 (40mL) 溶解, 加入 1.3g 对硝基氯甲酸苯酯 (0.8g, 4.41mmol) 和 DMAP (0.53g, 4.41mmol), 反应 6h 后将反应液倒入 250mL 分液漏斗中, 加入 70mL 水萃取两遍, 最后用 70mL 饱和食盐水萃取一遍。有机相用无水 NaSO_4 干燥。然后将干燥后的液体用旋蒸仪旋干, 加入适量硅胶拌样, 进行柱层析纯化, 得 10-叔丁氧羰基-20-硝基碳酸苯酯-喜树碱 1.2g, 产率 90%。

[0049] $^1\text{H NMR}$ (d_6 -DMSO 400MHz): δ /ppm 0.96 (t, 3H), 1.54 (s, 9H), 2.253-2.510 (m, 2H), 5.284 (s, 2H), 5.567 (d, 2H), 7.281 (s, 1H), 7.528 (d, 2H), 7.727-7.755 (m, 1H), 8.013 (s, 1H), 8.211 (d, 1H), 8.281 (d, 2H), 8.681 (s, 1H)。

[0050] 说明 3

[0051] 10-叔丁氧羰基-20-甘氨酸甲酯氨基甲酸酯-喜树碱

[0052] 取中间体 10-叔丁氧羰基-20-硝基碳酸苯酯-喜树碱 1g (1.0g, 1.59mmol) 溶于 DMF (20mL) 中, 0°C 下加入碳酸钾 (0.5g, 3.78mmol), 甘氨酸甲酯盐酸盐 (0.51g, 3.78mmol), 0°C 下反应 5 小时, 反应 5h 后 TLC 检测原料消失, 加入 50mL 水, 然后二氯甲烷萃取 (50mL \times 3), 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 减压旋去溶剂, 二氯甲烷: 甲醇 = 120 : 1,

200-300 目硅胶柱纯化。得 10-叔丁氧羰基-20-甘氨酸甲酯氨基甲酸酯-喜树碱 0.8g, 产率 90%。

[0053] 说明 4

[0054] 10-[20-(甘氨酸甲酯)氨基甲酸酯]-喜树碱

[0055] 取中间体 10-叔丁氧羰基-20-甘氨酸甲酯氨基甲酸酯-喜树碱 (1.0g, 173mmol) 溶于 DCM (20mL) 中, 0°C 下加入三氟乙酸 1mL, 反应 6h 结束后, 减压旋去溶剂, 得 10-[20-(甘氨酸甲酯)氨基甲酸酯]-喜树碱 0.7g, 产率 80%。

[0056] ^1H NMR (d_6 -DMSO 400MHz): δ /ppm 0.876-0.924 (m, 3H), 2.050-2.136 (m, 2H), 3.539 (s, 3H), 3.732 (d, 2H), 5.229 (s, 2H), 5.424 (s, 2H), 6.980 (s, 1H), 7.280 (d, 1H), 7.402-7.431 (m, 1H), 8.042 (d, 1H), 8.224-8.255 (m, 1H), 8.447 (s, 1H), 10.340 (s, 1H)

[0057] 说明 5

[0058] 10-羟基喜树碱 20 位衍生物对 K562、TH-29、HepG2 选择性抑制的实验

[0059] 细胞 K562、HT-29、HepG2 购于上海细胞库, 取处于生长对数期的 K562、TH-29、HepG2 细胞接种于 96 孔板中, 每孔 5×10^3 个细胞 /100 μL , 在 37°C, 同时通入 5% 的 CO_2 条件下培养 24 小时。将药物溶于二甲基亚砜 (用于测定 K562 的药物溶于盐酸异丙醇中) 中制备 5 个不同药物浓度以备测定 (药物浓度范围为 0-10 μM), 取 0.5 μL 各个浓度梯度的药物溶液加入 96 孔板中在 37°C 下继续培养 48 小时, 弃去培养液 (K562 为悬浮细胞, 无需弃去培养液), 每孔加入 0.5g/mL 的四甲基偶氮唑蓝 (MTT), 在 490 波长下测定 96 孔板每一孔的光密度 OD 值 (在 570 的波长下测定 K562 的光密度)。每一测试设 3-4 个平行孔, 重复 3-4 次。

[0060] 药物对细胞的生长抑制率 (%) = (溶液对照组平均 OD 值 - 用药组平均 OD 值) / 对照组平均 OD 值, 然后根据不同药物浓度对细胞的生长抑制率 (%) 计算药物的 IC_{50} 值, 都小于 30 μmol

附图说明

图 1 为化合物 10-叔丁氧羰基-20-硝基碳酸苯酯-喜树碱的核磁共振氢谱分析图;
图 2 为化合物 10-[20-(甘氨酸甲酯)氨基甲酸酯]-喜树碱的核磁共振氢谱分析图。



Current Data Parameters
 NAME asp-4008-23-1-1
 EXPNO 1
 PROCNO 1
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20120312
 Time 9.49
 INSTRUM spect
 PULPROG zgpg30
 TD 65536
 SOLVENT DMSO
 NS 15
 DS 4
 SWH 8223.685 Hz
 FIDRES 0.125483 Hz
 AQ 3.9846387 sec
 RG 655.36
 GC 116.870 usec
 DB 60.000 usec
 DE 6.50 usec
 TE 293.2 K
 D1 1.00000000 sec
 CHANNEL f1 1H
 NUC1 1001
 P1 14.80 usec
 PL 0.00 dB
 FWHM 12.5000000 W
 SFO1 400.1324710 MHz
 F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 400.1300000 MHz
 EQN 1
 GB 0
 LB 0
 GB 0
 PC 1.00

0.942
 0.960
 0.978
 1.540
 2.253
 2.272
 2.506
 2.510
 3.374
 5.284
 5.559
 5.575
 7.287
 7.517
 7.540
 7.727
 7.732
 7.750
 7.755
 8.013
 8.200
 8.223
 8.270
 8.293
 8.681

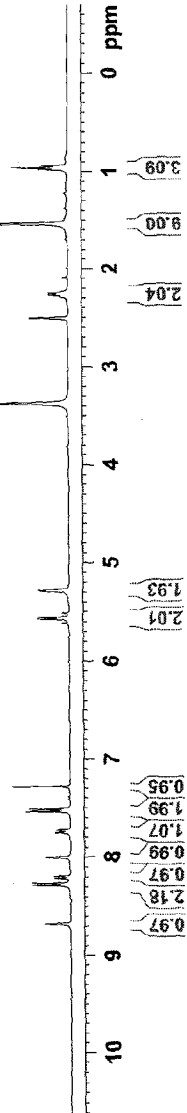
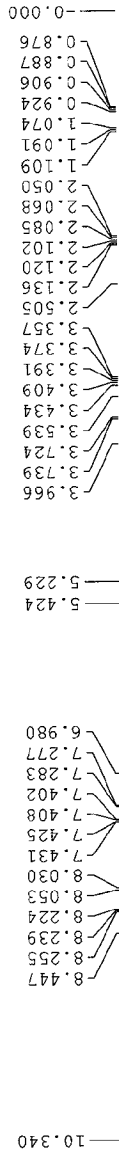


图 1



Current Data Parameters
 MSF-A006-07-1-1
 NAME
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20121017
 Time_ 07:07
 INSTRUM spect
 PROHD 5 mm PABBO BB-
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT DMSO
 DS 2
 SWH 8012.820 Hz
 FIDRES 0.122266 Hz
 AQ 4.089465 sec
 RG 193.70 usec
 DE 66.90 usec
 TE 296.9 K
 D1 1.00000000 sec
 T20 1

===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 400.1324710 MHz
 NUC1 1H
 P1 14.80 usec
 PL1 12.50000000 W
 FWH1

F2 - Processing Parameters
 SI 65536
 SF 400.1300014 MHz
 WDW 0 BK
 SSB 0
 LB 0
 GB 0
 PC 1.00

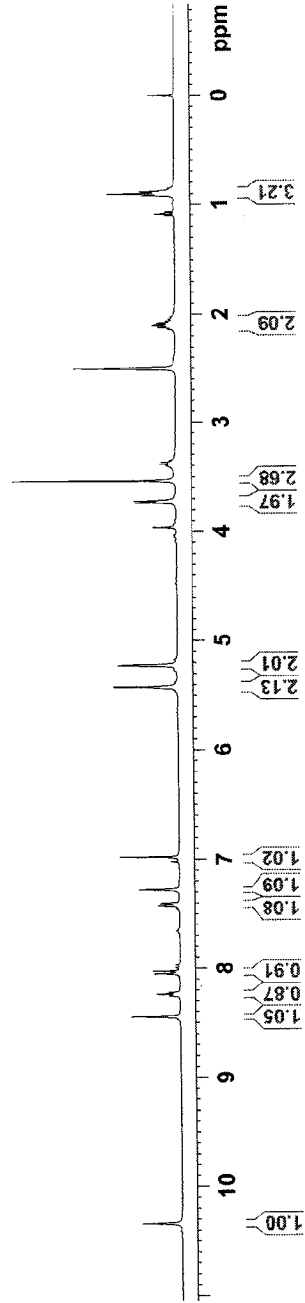


图 2