

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710181898.7

[51] Int. Cl.

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2008年3月12日

[11] 公开号 CN 101139347A

[22] 申请日 2007.10.15

[21] 申请号 200710181898.7

[71] 申请人 新疆华世丹药物研究有限责任公司

地址 830011 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市
河南东路175号

[72] 发明人 武嘉林 曹日晖 于富生 王子厚
彭文烈

[74] 专利代理机构 乌鲁木齐中科新兴专利事务所
代理人 张莉

权利要求书3页 说明书25页

[54] 发明名称

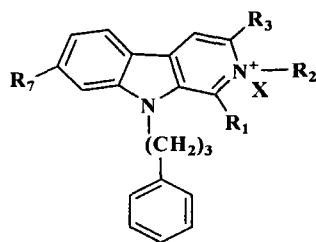
去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物及其应用

[57] 摘要

本发明涉及一种去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物及其应用,该化合物通过对去氢骆驼蓬碱的 β -咪唑母核的1、2、3、7和9五个位点进行结构修饰,合成具有增强抗肿瘤活性,并且没有神经系统毒性的新的去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物。通过体外和体内抗肿瘤实验模型的筛选研究,发现了具有显著抗肿瘤活性(荷瘤小鼠实验模型的抑瘤率高达63.5%),没有神经毒性,具有临床应用前景的去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物。该化合物制备方法简便,得率高,可用于制备治疗各种肿瘤疾病的药物。

1、一种去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物，其特征在于下述通式 (I)

化合物：



其中：

R_1 是选自氢、 C_{1-4} 烷基或芳基 (C_{1-6}) 烷基；

R_2 是选自氢、直链或支链(C_{1-6})烷基或芳基 (C_{1-6}) 烷基；

X 选自药理学上接受的有机或无机酸根，或 R_2 和 X 同时不存在；

R_3 是选自氢或羧酸酯；

R_7 是选自氢、羟基、直链或支链(C_{1-15})烷氧基或芳基 (C_{1-6}) 烷氧基；

当 R_2 和 X 同时不存在时，所有化合物可与药学上可接受的酸形成加成盐；

R_1 、 R_2 、 R_7 中所述芳基为苯基、萘基、四氢萘基或二氢萘基，各自任选地被一个或多个相同或不同的基团取代；取代基选自羟基、硝基、卤素、氨基、直链或支链 C_{1-6} 烷基、直链或支链 C_{1-6} 烷氧基、直链或支链 C_{1-6} 烷基氨基、直链或支链 C_{1-6} 烷基酰基、直链或支链 C_{1-6} 烷氧基羰基、直链或支链 C_{1-6} 烷氧基羰基氨基；取代基选自直链或支链 C_{1-4} 烷基酰基、芳基酰基；

2、根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于 R_1 是氢或甲基；

3、根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于 R_2 为氢、苄基、苯丙基或磺酸基；X 选自药理学上接受的氯、溴和碘，或者 R_2 和 X 同时不存在；

4、根据权利要求1所述的化合物，其特征在于R₃为氢或乙氧基羰基。

5、根据权利要求4所述的化合物，其特征在于R₃为氢。

6、根据权利要求1所述的化合物，其特征在于R₇为氢或正丁氧基。

7、根据权利要求6所述的化合物，其特征在于R₇为正丁氧基。

8、根据权利要求6所述的化合物，其特征在于R₇为氢。

9、根据权利要求1所述的化合物，其特征在于R₁为氢或甲基；R₂选自氢、苄基、苯丙基或磺酸基，X选自氯或溴；R₃为氢、乙氧基羰基；R₇为氢或正丁氧基；或者R₂和X同时不存在。

10、根据权利要求9所述的化合物，其特征在于R₁为氢或甲基；R₂为氢或苄基，X为氯或溴；R₃为氢；R₇为氢或正丁氧基；或者R₂和X同时不存在。

11、根据权利要求10所述的化合物，其特征在于R₁为氢；R₂苄基，X为溴；R₃为氢；R₇为氢。

12. 根据权利要求10所述的化合物，其特征在于R₁为甲基；R₂为氢，X为氯；R₃为氢；R₇为正丁氧基。

13. 根据权利要求10所述的化合物，其特征在于R₁为甲基；R₂为苄基，X为溴；R₃为氢；R₇为正丁氧基。

14、根据权利要求1所述的化合物，它分别选自下列任意一种化合物及其它们与药理学上可接受的酸所形成的加成盐：

9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

1-(4'-氯苯基)-9-苯丙基-β-咔啉；

7-羟基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-异丙氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-异丁氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-(3'-戊烷)氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-[(2'-甲基)-2'-丁烯]氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-正辛烷氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-苄氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；
7-(2',3',4',5',6'-五氟苄氧基)-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；
7-苯丙氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；
7-(3'-氯苄氧基)-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；
7-(4'-氟苄氧基)-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；
乙基 9-苯丙基-1-(3',4',5'-三甲氧基)苯基-β-咔啉-3-羧酸酯。

15、根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于它分别选自下列任意一种化合物：

2, 9-二苯丙基-β-咔啉溴盐；
9-苯丙基-2-苄基-β-咔啉溴盐；
2-(3'-氯苄基)-9-苯丙基-β-咔啉溴盐；
2-(4'-氟苄基)-9-苯丙基-β-咔啉溴盐；
7-甲氧基-9-苯丙基-2-丁基-1-甲基-β-咔啉碘盐；
7-甲氧基-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基-β-咔啉溴盐；
7-甲氧基-9-苯丙基-2-(4'-氟苄基)-1-甲基-β-咔啉溴盐；
7-甲氧基-9-苯丙基-2-乙基-1-甲基-β-咔啉碘盐；
7-甲氧基-2,9-二苯丙基-1-甲基-β-咔啉溴盐；
7-(3'-戊烷)氧基-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基-β-咔啉溴盐；
7-正辛氧基-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基-β-咔啉溴盐；
7-苯丙氧基-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基-β-咔啉溴盐；
7-(3'-氯苄氧基)-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基-β-咔啉溴盐；
7-(4'-氟苄氧基)-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基-β-咔啉溴盐。

16、根据权利要求 1-15 任意一项的化合物作为活性成分，单独或结合一种或几种药学上可接受的、惰性的、无毒的赋形剂或载体组成药物组合物。

17、根据权利要求 1-15 任意一项的化合物作为制备治疗抗肿瘤药物的用途。

去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物及其应用

技术领域

本发明涉及药物化合物，尤其是生物碱类化合物，更具体涉及通式 (I) 去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物及其应用。

背景技术

去氢骆驼蓬碱最早是 Gobel 于 1841 年从植物 *Pegannum harmala L.* 的种子中分离出来的。随后，人们从多种植物中分离得到了去氢骆驼蓬碱。因去氢骆驼蓬碱的化学结构中含有三环 β -吡啶结构，所以后来人们才将它与其他含有 β -吡啶共同结构的化合物归类于 β -吡啶生物碱。

去氢骆驼蓬碱及其类似物广泛分布于自然界。自首次分离到去氢骆驼蓬碱类化合物以来，人们已经从海洋生物、植物以及哺乳动物的体液和组织中分离到了各种各样的去氢骆驼蓬碱类似物。

去氢骆驼蓬碱及其类似物具有广泛的药理作用，但主要有两个方面：神经活性和抗肿瘤活性。80 年代以前，国际上对去氢骆驼蓬碱的研究集中在神经系统方面。很多文献报道，去氢骆驼蓬碱及其衍生物对大脑皮层及运动中枢、脊髓等具有兴奋作用，可引起幻觉、震颤、阵发性惊厥、兴奋脑桥以及引起某些特异性动作及四肢僵直。自 1980 年起，新疆医学院和原中山医科大学肿瘤研究所合作，对从骆驼蓬种子中提取的骆驼蓬总碱的抗肿瘤作用进行研究，发现去氢骆驼蓬碱和骆驼蓬碱的两种混合生物碱对 6 种体外培养人肿瘤细胞株有显著的细胞毒作用，对 3 种杂种鼠移植性肿瘤和 3 种人癌裸鼠移植植物有明显的抑瘤作用，与顺铂或阿霉素合用有协同作用。90 年代后，新疆医科大学孙殿甲等对去氢骆驼蓬碱单体开展了抗肿瘤药理学、药理学和毒理

等临床前研究，包括胶囊剂、脉冲释药胶囊剂和微球等剂型研究，及其质量标准、稳定性、药代动力学、药理毒理等研究，但由于发现去氢骆驼蓬碱具有显著的神经毒性（主要表现为跳跃、震颤和扭曲等）而未能申报临床。

近年来，Ishida 等人对去氢骆驼蓬碱的 7、9 位进行了结构修饰，并研究了其体外抗肿瘤的构效关系，发现 9 位乙基取代可以显著提高体外的细胞毒性，7 位烷氧基链的长度既影响细胞毒性，又影响对肿瘤细胞系的特异性；林伟等对 β -咪啉母核的 3 位进行了修饰，证实 3 位烷基胺基侧链取代对 DNA 分子的亲和力有很大影响，从而影响其体外抗肿瘤活性；Song 等对 β -咪啉母核的 1,4,5,6,7 等位点进行了结构修饰，证实 β -咪啉类生物碱是与细胞分裂周期密切相关 CDK（cyclin-dependent kinases）的特异性抑制剂；Al-Allaf 等合成了 β -咪啉-铂金属复合物并证实其具有体外抗肿瘤活性。武嘉林等（中国发明专利，申请号：03136406.3；PCT，申请号：PCT/CN2004/000591）对去氢骆驼蓬的化学结构进行了系统的改造，发现了体内抗肿瘤活性明显提高且神经毒性显著降低的去氢骆驼蓬衍生物。但是迄今为止已经公开的去氢骆驼蓬碱衍生物的抗肿瘤活性较低（已有文献报道去氢骆驼蓬碱衍生物对荷瘤小鼠试验模型的最高抑瘤率为 46.9%），没有临床开发应用的价值。

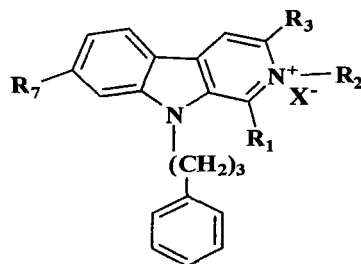
发明内容

本发明的目的在于，提供一种去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物及其应用，该化合物是在前期研究工作（中国发明专利，申请号：03136406.3；PCT，申请号：PCT/CN2004/000591）的基础上，克服上述现有技术的缺陷，针对进一步提高抗肿瘤活性并消除神经毒性的目标，以去氢骆驼蓬碱的化学结构为基础，对去氢骆驼蓬碱的 1、2、3、7、9 等结构位点的取代基团进行了深入的优化研究，通过体外和体内抗肿瘤实验模型的筛选研究，发现了具有显著抗肿瘤活性（荷瘤小

鼠实验模型的抑瘤率高达 63.5%), 且没有神经毒性, 具有临床应用前景的去氢骆驼蓬碱衍生物。

本发明的另一目的是提供去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物在制备治疗癌症药物方面的用途。

本发明所述的去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物, 具有通式 (I) 的结构:



其中:

R_1 是选自氢、 C_{1-4} 烷基或芳基 (C_{1-6}) 烷基;

R_2 是选自氢、直链或支链(C_{1-6})烷基或芳基 (C_{1-6}) 烷基;

X 选自药理学上接受的有机或无机酸根, 或 R_2 和 X 同时不存在;

R_3 是选自氢或羧酸酯;

R_7 是选自氢、羟基、直链或支链(C_{1-15})烷氧基或芳基 (C_{1-6}) 烷氧基;

当 R_2 和 X 同时不存在时, 所有化合物可与药学上可接受的酸形成加成盐;

R_1 、 R_2 、 R_7 中所述芳基为苯基、萘基、四氢萘基或二氢萘基, 各自任选地被一个或多个相同或不同的基团取代; 取代基选自羟基、硝基、卤素、氨基、直链或支链 C_{1-6} 烷基、直链或支链 C_{1-6} 烷氧基、直链或支链 C_{1-6} 烷基氨基、直链或支链 C_{1-6} 烷基酰基、直链或支链 C_{1-6} 烷氧基羰基、直链或支链 C_{1-6} 烷氧基羰基氨基; 取代基选自直链或支链 C_{1-4} 烷基酰基、芳基酰基;

上述通式 (I) 化合物, 优选 R_1 选自氢或甲基;

优选 R_2 选自氢、苄基、苯丙基或磺酸基;

优选 X 选自药理学上接受的氯、溴，或者 R₂ 和 X 同时不存在；

优选 R₃ 选自氢或乙氧基羰基；

优选 R₇ 选自氢或正丁氧基。

上述通式 (I) 化合物，最优选 R₁ 选自氢或甲基；

最优选 R₂ 选自氢或苄基；最优选 X 选自氯或溴；最优选 R₃ 选自氢；最优选 R₇ 选自氢或正丁氧基。

上述通式 (I) 化合物，特别优选 R₁ 为氢或甲基；

特别优选 R₂ 为苄基，X 为溴；特别优选 R₃ 为氢；特别优选 R₇ 为氢或正丁氧基。

按照本发明，优选化合物选自下列化合物：

9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

1-(4'-氯苯基)-9-苯丙基-β-咔啉；

7-羟基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-异丙氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-正丁氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-异丁氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-(3'-戊烷)氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-[(2'-甲基)-2'-丁烯]氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-正辛烷氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-苄氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-(2',3',4',5',6'-五氟苄氧基)-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-苯丙氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-(3'-氯苄氧基)-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

7-(4'-氟苄氧基)-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉；

乙基 9-苯丙基-1-(3',4',5'-三甲氧基)苯基-β-咔啉-3-羧酸酯。

同时，优选化合物还选自下列任意一种化合物：

2, 9-二苯丙基-β-咔啉溴盐；

9-苯丙基-2-苄基- β -咔啉溴盐；
2-(3'-氯苄基)-9-苯丙基- β -咔啉溴盐；
2-(4'-氟苄基)-9-苯丙基- β -咔啉溴盐；
7-甲氧基-9-苯丙基-2-丁基-1-甲基- β -咔啉碘盐；
7-甲氧基-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基- β -咔啉溴盐；
7-甲氧基-9-苯丙基-2-(4'-氟苄基)-1-甲基- β -咔啉溴盐；
7-甲氧基-9-苯丙基-2-乙基-1-甲基- β -咔啉碘盐；
7-甲氧基-2,9-二苯丙基-1-甲基- β -咔啉溴盐；
7-正丁氧基-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基- β -咔啉溴盐；
7-(3'-戊烷)氧基-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基- β -咔啉溴盐；
7-正辛氧基-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基- β -咔啉溴盐；
7-苯丙氧基-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基- β -咔啉溴盐；
7-(3'-氯苄氧基)-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基- β -咔啉溴盐；
7-(4'-氟苄氧基)-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基- β -咔啉溴盐。

上述优选化合物以及它们与药学上可接受的酸所形成的加成盐构成本发明完整内容的一部分。

本发明还涉及药物组合物，包含至少一种式(I)化合物作为活性成分，单独或结合一种或几种药学上可接受的、惰性的、无毒的赋形剂或载体。

在按照本发明的药物组合物中，可以特别提到适用于口服、胃肠外(静脉内、肌肉或皮下)、经皮或透皮、经鼻、经舌、经眼或呼吸、直肠给药的方式，尤其是片剂或糖衣丸、舌下片、胶囊剂、栓剂、气雾剂、霜剂、软膏剂、皮肤凝胶、可注射或可饮用制剂、滴眼剂、滴鼻剂等。

本发明的化合物具有抗癌活性，含有至少一种式(I)化合物作为活性成分的药物组合物可以用于各种癌症的治疗。

作为药物，有效剂量因患者年龄、体重、给药途径、疾病性质、

严重性以及其所接受的任何其它治疗而异。

下述实施例阐述而非限制本发明。

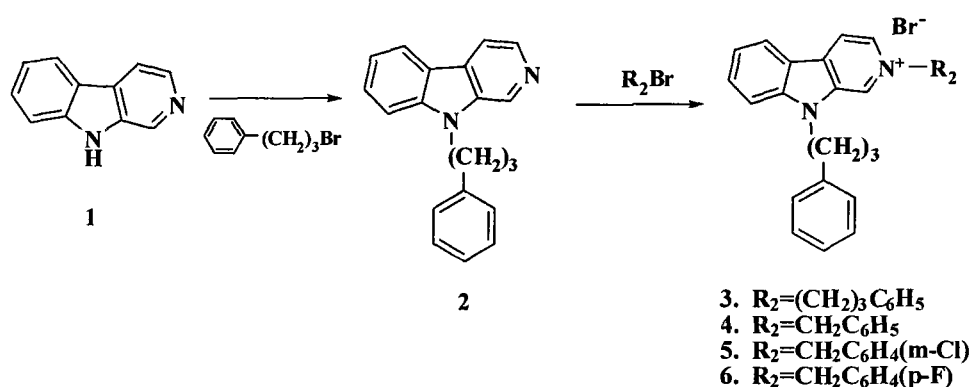
所用原料或试剂是已知产品，或者是按照已知操作制备的产品。

实施例和合成步骤中所述化合物的结构是按照常规的光谱学技术（红外光谱、质谱、核磁共振光谱等）测定的。

具体实施方式

2,9-二取代- β -咔啉类生物碱的合成

合成路线 I



操作步骤

实施例 1: 9-苯丙基- β -咔啉 (2) 合成

N,N -二甲基甲酰胺 (100ml)、1-溴-3-苯基丙烷 (15mmol) 和碘化钾 (15mmol) 混合, 60°C 水浴加热搅拌反应 3 h, 然后冷却反应液至室温, 加入氢化钠 (1.2g, 30mmol) 和 β -咔啉 1 (1.68g, 10mmol), 室温搅拌反应, TLC 跟踪检测。反应完毕, 将反应混合物倾入冰水中, 乙酸乙酯萃取, 有机相用水洗, 饱和盐水洗; 然后有机相用浓盐酸酸化, 减压浓缩至干, 无水乙醇带水数次, 残留物用丙酮重结晶, 得白色晶体。将白色晶体溶于水, 碳酸氢钠碱化, 乙酸乙酯萃取, 有机相水洗, 饱和盐水洗, 无水硫酸钠干燥; 过滤, 滤液减压浓缩, 残留物用乙醚重结。得白色颗粒状晶体 2.5g, 收率 87%, m.p. $99-100^\circ\text{C}$ 。

实施例 2: 2-取代 9-苯丙基- β -咔啉生物碱衍生物的通用合成工艺(3-6)

9-苯丙基- β -咔啉 **2** (5 mmol), 加 75ml 乙酸乙酯使其完全溶解, 加入相应的溴或碘代烷烃 (10mmol), 加热回流 8 小时, 冷却至室温, 过滤析出的固体, 乙酸乙酯洗涤, 随后将固体溶于 50 ml 无水乙醇中, 加热回流至澄清, 趁热过滤, 放置冰箱重结晶, 过滤, 无水乙醇洗涤, 即得产物。

实施例 3-6 均按上述操作步骤操作:

实施例 3 2, 9-二苯丙基- β -咔啉溴盐(3): 得黄色晶体, m.p. 120-121°C。

实施例 4 9-苯丙基-2-苄基- β -咔啉溴盐(4): 得黄色晶体, 收率 46%, m.p.201-203°C。

实施例 5 2-(3'-氯苄基)-9-苯丙基- β -咔啉溴盐(5): 得黄色晶体, 收率 30%, m.p.194-195°C。

实施例 6 2-(4'-氟苄基)-9-苯丙基- β -咔啉溴盐(6): 得黄色晶体, 收率 30%, m.p.194-195°C。

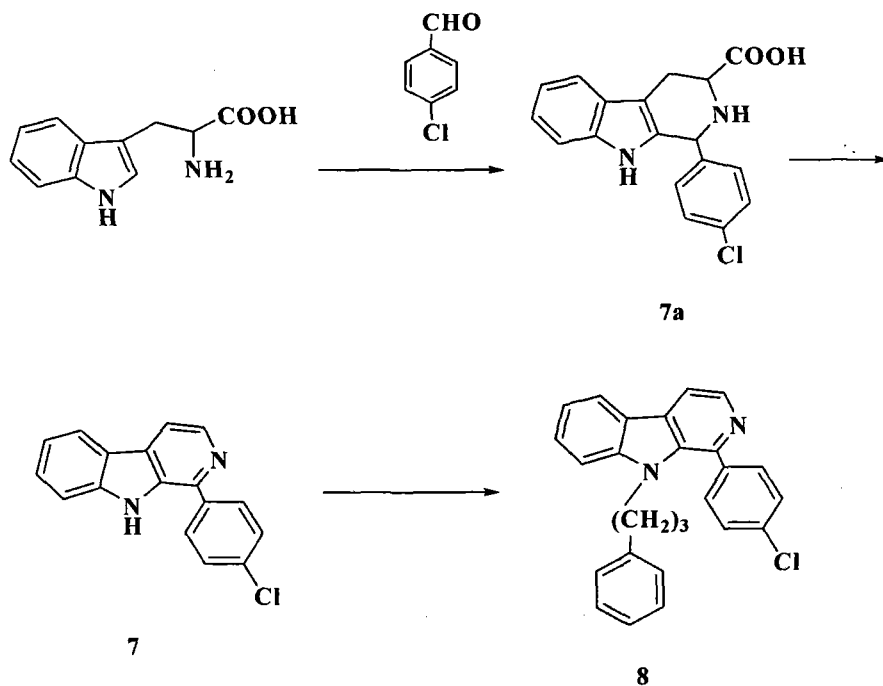
实施例 1 和 3-6 化合物的光谱学分析

表 1 2,9-二取代的 β -咔啉衍生物的质谱和红外光谱数据

| 化合物 | 分子式 | 质谱 FAB-MS m/e(M+1) | 红外 KBr, cm^{-1} |
|----------|---|--------------------------|---|
| 2 | $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2$ | 287 | 3046, 3027, 2942, 2852, 1621, 1557, 1492, 1448, 1330, 1257, 1218, 1150, 1024, 820, 752 |
| 3 | $\text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{Br}$ | 406 | 1650-3050, 1641.02, 1607.12, 1575.80, 1510.40, 1455.78, 1396.14, 1337.66, 1225.57, 1182.75, 1147.36, 1067.51, 1033.98, 822.13 |
| 4 | $\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{Br}$ | 378 | 1650-3100, 1637.7, 1607.6, 1510.4, 1456.2, 1396.8, 1341.2, 1270.9, 1247.3, 1210.1, 1143.2, 1069.8, 844.7 |
| 5 | $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{BrCl}$ | 412 | 1650-3050, 1639.4, 1601.0, 1574.9, 1511.7, 1470.7, 1336.7, 1182.2, 1143.6, 1075.7, 797.2 |
| 6 | $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{BrF}$ | 396 | 1650-3100, 1637.8, 1606.4, 1574.1, 1511.0, 1456.8, 1340.5, 1271.4, 1227.4, 1178.3, 1143.3, 1070.8, 831.0 |

表 2 2,9-二取代的 β -咔啉衍生物的氢核磁共振数据

| 化合物 | 氢核磁共振 (δ , DMSO- d_6) |
|-----|---|
| 2 | 8.83 (1H, s, H-1); 8.47-8.49 (1H, d, H-3); 8.16-8.18 (1H, d, H-4); 7.97-7.99 (1H, m, H-5); 7.58-7.62 (1H, m, H-8); 7.18-7.41 (7H, m, H-6, H-7, PhH); 4.40-4.43 (2H, t, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.73-2.77 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.27-2.31 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph) |
| 3 | 9.732 (1H, s, H-4); 8.807-8.823 (1H, d, H-1); 8.749-8.765 (1H, d, H-8); 8.542-8.544 (1H, d, H-3); 7.856-7.939 (2H, m, H-5, H-6); 7.490-7.530 (1H, t, H-7); 7.099-7.260 (10H, m, Ph-H); 4.787-4.822 (2H, t, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 4.672-4.707 (2H, t, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.663-2.718 (4H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.349-2.425 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.171-2.228 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph) |
| 4 | 9.907 (1H, s, H-1); 8.820 (2H, s, H-3, H-8); 8.506-8.526 (1H, d, H-4); 7.872-7.958 (2H, m, H-5, H-6); 7.590-7.608 (2H, d, H-7, NCH ₂ Ph-H); 7.425-7.514 (4H, m, NCH ₂ Ph-H); 7.034-7.151 (5H, m, NC ₃ H ₆ Ph-H); 5.960 (2H, s, NCH ₂ Ph); 4.702-4.735 (2H, d, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.644-2.664 (2H, d, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.196-2.214 (2H, d, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph) |
| 5 | 9.992 (1H, s, H-1); 8.831 (2H, s, H-3, H-8); 8.515-8.536 (1H, d, H-4); 7.873-7.967 (2H, m, H-5, H-6); 7.791 (1H, s, H-7); 7.597-7.624 (1H, m, NCH ₂ Ph-H); 7.496-7.524 (3H, m, NCH ₂ Ph-H); 7.046-7.155 (5H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph-H); 5.994 (2H, s, NCH ₂ Ph); 4.720-4.754 (2H, d, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.661-2.701 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.205-2.243 (2H, t, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph) |
| 6 | 9.907 (1H, s, H-1); 8.829 (2H, s, H-8, H-3); 8.515-8.536 (1H, d, H-4); 7.879-7.966 (2H, m, H-5, H-6); 7.697-7.732 (2H, m, H-7, NCH ₂ Ph-H); 7.506-7.543 (1H, t, NCH ₂ Ph-H); 7.293-7.339 (1H, t, NCH ₂ Ph-H); 7.047-7.168 (5H, m, NC ₃ H ₆ Ph-H); 5.956 (2H, s, NCH ₂ Ph); 4.708-4.743 (2H, t, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.655-2.694 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.206-2.244 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph) |

1,9-二取代的 β -咔啉衍生物合成路线

实施例7 1-(4'-氯苯基)-9-苯丙基- β -咔啉(8)的合成:

L-色氨酸(100mmol)和冰醋酸(150ml)混合,加热溶解,再加入

对氯苯甲醛 (10.6mmol), 加热回流, TLC 跟踪反应进程。待反应完全, 倒入加热沸腾的水中, 再加入重铬酸钾(23.0g), 继续加热约 20min 后, 停止加热, 取出冷却。加入无水 Na_2SO_3 (22.7g) 并不断搅拌, 用固体 NaOH 调 pH 至 9-10, 随后反应混合液用乙酸乙酯萃取, 有机相水洗, 饱和氯化钠溶液洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到淡黄色固体, 乙醇重结晶即得化合物 7。

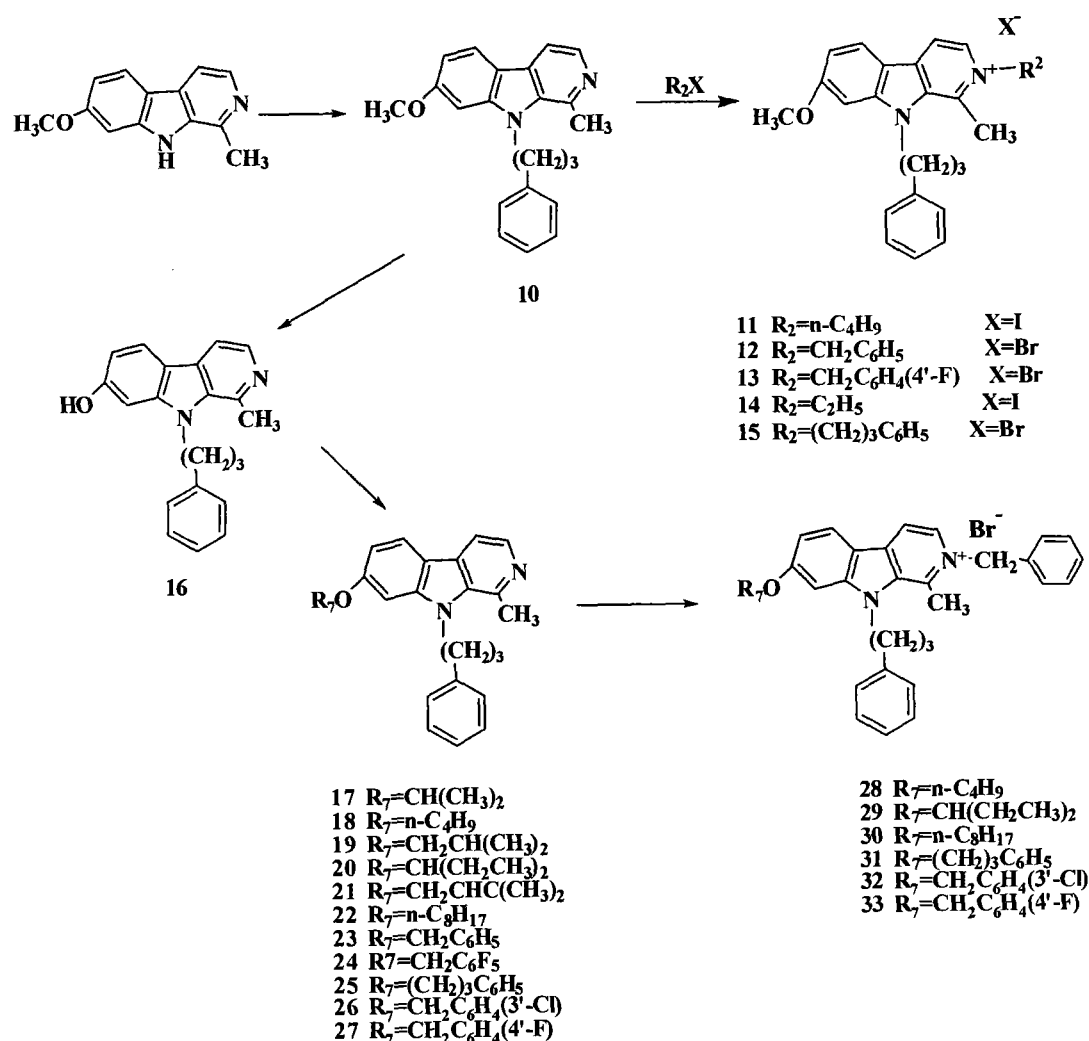
N,N -二甲基甲酰胺 (100ml)、1-溴-3-苯基丙烷 (15mmol) 和碘化钾 (15mmol) 混合, 60°C 水浴加热搅拌反应 3 h, 然后冷却反应液至室温, 加入氢化钠 (30mmol) 和化合物 7 (10mmol), 室温搅拌反应, TLC 跟踪检测。反应完毕, 将反应混合物倾入冰水中, 乙酸乙酯萃取, 水洗, 饱和盐水洗; 乙酸乙酯相用浓盐酸酸化, 减压浓缩至干, 无水乙醇带水数次, 残留物用丙酮重结晶, 得白色晶体; 将白色晶体溶于水, 碳酸氢钠碱化, 乙酸乙酯萃取, 有机相水洗, 饱和盐水洗, 无水硫酸钠干燥; 过滤, 滤液减压浓缩, 残留物乙醚重结晶。得白色晶体, 收率 45%, m.p.121-123 $^\circ\text{C}$;

质谱: m/e (M+1) m/e 396;

红外: (KBr, cm^{-1}) 1650-3100, 1622.7, 1613.6, 1550.3, 1495.4, 1453.0, 1391.0, 1282.6, 1244.5, 1209.1, 1177.8, 1100, 1077.7, 1032.0, 1013.2, 911.0, 829.8, 785.2, 745.2;

氢核磁共振(CDCl_3): δ 8.514-8.501 (1H, d, H-4); 8.164-8.140 (1H, d, H-8); 7.965-7.952 (1H, d, H-3); 7.581-7.531 (3H, m, H-5, H-6, H-7); 7.500-7.468 (2H, m, Ph-H); 7.335-7.272 (2H, m, Ph-H); 7.231-7.152 (3H, m, $\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{Ph-H}$); 6.924-6.902 (2H, t, $\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{Ph-H}$); 4.008-3.969 (2H, t, $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_2\text{Ph}$); 2.181-2.142 (2H, t, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 1.697-1.618 (2H, t, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$).

1,2,7,9-四取代的 β -咪啉衍生物合成路线



实施例 8 7-甲氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉 (10):

去氢骆驼蓬碱 (2.12g, 10mmol)、N,N-二甲基甲酰胺 (50ml)、60%NaH(0.8g, 20mmol)混合, 室温搅拌 10min, 加入 1-溴-3-苯基丙烷(20 mmol), 室温搅拌, TLC 跟踪检测(展开剂: 丙酮/石油醚=1:1)。反应完毕, 将反应混合溶液倒入 100ml 冰水中, 搅拌 2h, 过滤, 用 300ml 水洗。将固体溶于无水乙醇, 用浓盐酸调 pH 3-4, 减压浓缩至干, 无水乙醇带水数次, 丙酮重结晶, 得白色固体, 将白色固体溶于水, 碳酸氢钠碱化, 乙酸乙酯萃取, 有机相水洗, 饱和盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 乙醚重结晶, 得白色晶体 3.0g, 收率 91%。

实施例 9 2-取代 7-甲氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉衍生物的通

用合成工艺:

7-甲氧基-9-苯丙基-1-甲基- β -咔啉(2mmol), 加 75ml 乙酸乙酯使其完全溶解, 加入相应的溴或碘代烷烃(30mmol), 加热回流 8 小时, 冷却至室温, 过滤析出的固体, 固体用乙酸乙酯洗涤, 随后将固体溶于 50ml 无水乙醇中, 加热回流至澄清, 趁热过滤, 放置冰箱重结晶, 过滤, 无水乙醇洗涤, 即得晶体。

实施例 10-14 均按上述操作步骤合成

实施例 10 7-甲氧基-9-苯丙基-2-丁基-1-甲基- β -咔啉碘盐(11): 得黄色晶体, m.p. 203-204°C;

实施例 11 7-甲氧基-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基- β -咔啉溴盐(12): 得浅黄色晶体, m.p. 226-227°C;

实施例 12 7-甲氧基-9-苯丙基-2-(4'-氟苄基)-1-甲基- β -咔啉溴盐(13): 得浅黄色晶体, m.p. 189-190°C;

实施例 13 7-甲氧基-9-苯丙基-2-乙基-1-甲基- β -咔啉碘盐(14): 得浅黄色晶体, m.p. 207-209°C;

实施例 14 7-甲氧基-2,9-二苯丙基-1-甲基- β -咔啉溴盐(15): 得白色晶体, m.p. 251-253°C;

实施例 15 7-羟基-9-苯丙基-1-甲基- β -咔啉 (16) 的合成:

7-甲氧基-9-苯丙基-1-甲基- β -咔啉 (10mmol)、冰醋酸 (50ml)、40% 氢溴酸 (75ml) 混合, 加热回流, TLC 跟踪检测(展开剂: 丙酮/石油醚=1:1), 反应完毕, 将反应混合物倒入 300ml 冰水中, 搅拌下先用 10M 氢氧化钠调节 pH 至 6, 然后用碳酸氢钠调节 pH 至 8, 过滤, 水洗, 随后将固体溶解于 150ml 无水乙醇, 活性炭脱色, 过滤, 减压浓缩, 无水乙醇重结晶得白色颗粒状晶体, m.p. 258-259°C。

实施例 16 7-烷氧基-9-苯丙基-1-甲基- β -咔啉衍生物的通用合成工艺:

将 7-羟基-9-苯丙基-1-甲基- β -咔啉 (2.0 mmol)、N,N-二甲基甲

酰胺 (30ml)、60%氢氧化钠 (0.2g, 5mmol) 混合, 室温或冰浴下搅拌 5min, 随后加入相应的溴或碘代烷烃 (5mmol), 室温搅拌反应, TLC 跟踪检测 (展开剂: 丙酮/石油醚=1:1), 反应完毕, 将反应混合物倒入水中, 加入 10M 氢氧化钠至 pH 14.0 以上, 室温搅拌反应过夜, 过滤, 水洗, 将固体溶于无水乙醇, 用浓盐酸调 pH 至 2.0, 减压浓缩, 无水乙醇带水数次, 丙酮或丙酮/乙醚重结晶, 得白色或浅黄色固体。将固体溶于乙酸乙酯/水的混合溶液, 用碳酸氢钠碱化, 乙酸乙酯萃取, 有机相水洗, 饱和盐水洗, 干燥, 活性炭脱色, 过滤, 滤液减压浓缩, 乙醚或乙醚/石油醚混合溶液重结晶, 得白色晶体。

实施例 17-27 均按上述操作步骤合成

实施例 17 7-异丙氧基-9-苯丙基-1-甲基- β -咔啉 (17): 得白色晶体 0.54g, 收率 76%, m.p. 121-122 °C;

实施例 18 7-正丁氧基-9-苯丙基-1-甲基- β -咔啉 (18): 得白色晶体 0.61g, 收率 82%, m.p. 92-93 °C;

实施例 19 7-异丁氧基-9-苯丙基-1-甲基- β -咔啉 (19): 得白色晶体 0.57g, 收率 76%, m.p. 123-124 °C;

实施例 20 7-(3'-戊氧基)-9-苯丙基-1-甲基- β -咔啉 (20): 得白色晶体 0.52g, 收率 68%, m.p. 93-94 °C;

实施例 21 7-[(2'-甲基)-2'-丁烯]氧基-9-苯丙基-1-甲基- β -咔啉 (21): 得白色晶体 0.50g, 收率 65%, m.p. 95-96 °C;

实施例 22 7-正辛烷氧基-9-苯丙基-1-甲基- β -咔啉 (22): 得白色晶体 0.61g, 收率 71%, m.p. 79-81 °C;

实施例 23 7-苄氧基-9-苯丙基-1-甲基- β -咔啉 (23): 得白色晶体 0.68g, 收率 84%, m.p. 139-140 °C;

实施例 24 7-五氟苄氧基-9-苯丙基-1-甲基- β -咔啉 (24): 得白色晶体 0.72g, 收率 73%, m.p. 149-151 °C;

实施例 25 7-苯丙氧基-9-苯丙基-1-甲基- β -咔啉 (25): 得白色晶

体 0.74g, 收率 85%, m.p. 118-119°C;

实施例 26 7-(3'-氯苄氧基)-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉(26): 得白色晶体, 收率 81%, m.p. 127-128°C;

实施例 27 7-(4'-氟苄氧基)-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉(27): 得白色晶体, 收率 78%, m.p. 158-159°C;

实施例 28 7-烷氧基-2-苄基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉溴盐的通用合成工艺:

将 7-烷氧基-9-苯丙基-1-甲基-β-咔啉(1mmol)、乙酸乙酯(30ml)、相应的溴或碘代烷烃(10mmol)混合, 加热回流, TLC 跟踪检测, 待反应原料大部分反应完毕, 停止回流, 将反应混合液冷却, 过滤, 20ml 乙酸乙酯洗涤, 将得到的固体物质溶于 50ml 无水乙醇, 加热回流至澄清, 趁热过滤, 滤液冰箱重结晶, 得白色或浅黄色颗粒状晶体。

实施例 29-34 均按上述操作步骤合成

实施例 29 7-正丁氧基-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基-β-咔啉溴盐(28): 得白色晶体 0.44g, 收率 82%, m.p. 204-205 °C;

实施例 30 7-(3'-戊氧基)-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基-β-咔啉溴盐(29): 得浅黄色晶体 0.43g, 收率 78%, m.p. 216-217 °C;

实施例 31 7-正辛氧基-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基-β-咔啉溴盐(30): 得白色晶体 0.45g, 收率 75%, m.p. 185-186 °C;

实施例 32 7-苯丙氧基-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基-β-咔啉溴盐(31): 得浅黄色晶体 0.53g, 收率 87%, m.p. 207-208°C;

实施例 33 7-(3'-氯苄氧基)-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基-β-咔啉溴盐(32): 得浅黄色晶体, 收率 81%, m.p. 206-208°C;

实施例 34 7-(4'-氟苄氧基)-9-苯丙基-2-苄基-1-甲基-β-咔啉溴盐(33): 得乳白色晶体, 收率 79%, m.p. 216-218°C。

表 3 1,2,7,9-四取代的 β -咪啉衍生物的质谱和红外数据

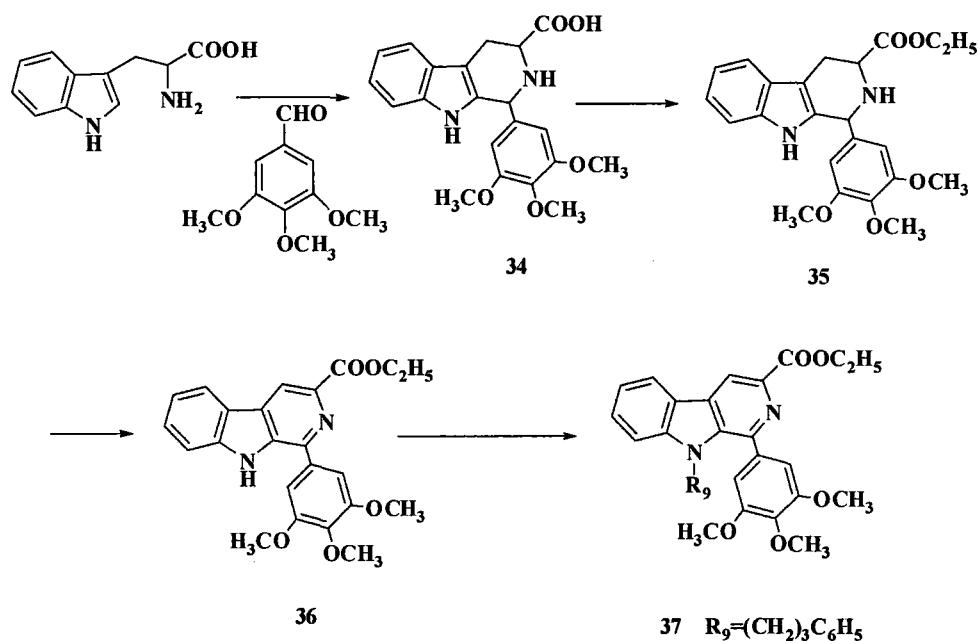
| 化合物 | 分子式 | 质谱 FAB-MSm/e(M+1) | 红外 KBr, cm^{-1} |
|-----|--|----------------------|--|
| 11 | $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{OI}$ | 388 | 1650-3050, 1622.5, 1577.9, 1516.2, 1459.6, 1338.2, 1245.7, 1161.2, 1126.6, 1030.7, 825.8 |
| 12 | $\text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{OBr}$ | 422 | 1650-3050, 1622.4, 1578.8, 1515.3, 1453.4, 1348.0, 1249.6, 1154.2, 1134.3, 1031.5, 823.1 |
| 13 | $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{OBrF}$ | 440 | 1650-3050, 1624.7, 1579.3, 1511.4, 1456.4, 1347.9, 1247.9, 1156.2, 1134.8, 1032.9, 823.9 |
| 14 | $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{OI}$ | 360 | 1650-3050, 1624.1, 1579.0, 1514.8, 1452.0, 1338.0, 1237.1, 1162.8, 1130.0, 1032.8, 823.5 |
| 15 | $\text{C}_{31}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{OBr}$ | 450 | 1650-3100, 1622.6, 1576.4, 1452.8, 1345.5, 1245.7, 1152.2, 1134.4, 1031.1, 824.0 |
| 16 | $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}$ | 318 | 3500-1750, 1613, 1567, 1492, 1452, 1412, 1352, 1246, 1194, 1160, 978, 823, 746 |
| 17 | $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}$ | 360 | 2975, 2927, 2858, 1621, 1563, 1494, 1448, 1409, 1374, 1326, 1240, 1158, 1111, 975, 813, 754 |
| 18 | $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}$ | 374 | 3024, 2955, 2868, 1622, 1565, 1497, 1447, 1409, 1368, 1241, 1161, 810, 738 |
| 19 | $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}$ | 374 | 3415, 2961, 2934, 2869, 1622, 1565, 1495, 1447, 1411, 1365, 1242, 1205, 1161, 1039, 817, 744 |
| 20 | $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}$ | 388 | 2967, 2934, 2874, 1621, 1564, 1494, 1449, 1409, 1238, 1202, 1158, 974, 815, 739 |
| 21 | $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}$ | 386 | 2962, 2927, 2856, 1622, 1567, 1446, 1409, 1239, 1159, 988, 817, 753 |
| 22 | $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}$ | 430 | 2947, 2920, 2852, 1622, 1564, 1496, 1448, 1412, 1244, 1161, 1039, 807, 745 |
| 23 | $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}$ | 408 | 3060, 3026, 2938, 2863, 1620, 1563, 1495, 1448, 1412, 1385, 1224, 1160, 1001, 816, 742 |
| 24 | $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{OF}_5$ | 498 | 2934, 1623, 1565, 1505, 1448, 1205, 1162, 1135, 1058, 943, 814, 744 |
| 25 | $\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}$ | 436 | 2932, 2867, 1623, 1567, 1495, 1449, 1411, 1366, 1240, 1161, 1042, 813, 752 |
| 26 | $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{OCl}$ | 443 | 1650-3000, 1622.8, 1494.0, 1455.9, 1346.5, 1250.2, 1163.2, 1030.2, 823.2 |
| 27 | $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{OF}$ | 426 | 1650-3100, 1620.3, 1493.7, 1448.0, 1344.0, 1226.1, 1159.2, 1034.4, 815.8 |
| 28 | $\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{OBr}$ | 465 | 3401, 3024, 2931, 2868, 1621, 1579, 1453, 1372, 1243, 1255, 1135, 1025, 827, 755, 700 |
| 29 | $\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{OBr}$ | 479 | 3405, 2964, 2874, 1620, 1579, 1456, 1374, 1247, 1223, 1137, 1107, 1030, 979, 935, 826 |
| 30 | $\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{OBr}$ | 521 | 3421, 2993, 2926, 2856, 1620, 1579, 1453, 1371, 1248, 1155, 1134, 1031, 827, 727 |
| 31 | $\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{OBr}$ | 527 | 3401, 3022, 2938, 1620, 1579, 1453, 1373, 1348, 1248, 1135, 1028, 825, 737, 700 |
| 32 | $\text{C}_{35}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{OBrCl}$ | 534 | 1650-3050, 1623.1, 1578.4, 1514.4, 1453.1, 1344.9, 1246.5, 1154.1, 1135.3, 1032.6, 815.9 |
| 33 | $\text{C}_{35}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{OBrF}$ | 517 | 1650-3050, 1622.3, 1580.0, 1510.9, 1455.1, 1345.2, 1253.9, 1153.8, 1138.4, 1029.5, 834.0 |

表 4 1,2,7,9-四取代的 β -咔啉衍生物的氢核磁共振数据

| 化合物 | 氢核磁共振 (δ , CDCl_3) |
|-----|---|
| 11 | 8.652-8.668 (1H, d, H-5); 8.175-8.192 (1H, d, H-3); 8.030-8.052 (1H, d, H-4); 7.331-7.368(2H, m, H-8, H-6); 7. 243-7.280 (3H, m, Ph-H); 6.969-6.997 (1H, dd, Ph-H); 6.599-6.604 (1H, d, Ph-H); 4.809-4.848 (2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 4.544-4.585 (2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 3.857 (3H, s, CH_3O); 3.163 (3H, s, CH_3); 2.834-2.868(2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 2.222-2.298 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.885-1.963 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.479-1.554 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 0.986-1.022 (3H, t, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) |
| 12 | 8.838-8.854 (1H, d, H-5); 8.255-8.272 (1H, d, H-3); 8.068-8.090 (1H, d, H-4); 7.304-7.335(5H, m, H-8, H-6, Ph-H); 7.175-7.228 (5H, m, Ph-H); 6.958-6.985(1H, dd, Ph-H); 6.524-6.529 (1H, d, Ph-H); 6.285 (2H, t, Ph- CH_2); 4.426-4.468 (2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 3.829 (3H, s, CH_3O); 3.144 (3H, s, CH_3); 2.756-2.790 (2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 2.168-2.208 (2H, m, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$) |
| 13 | 8.925-8.940 (1H, d, H-5); 8.206-8.222 (1H, d, H-3); 8.060-8.082 (1H, d, H-4); 7.276-7.348(4H, m, H-8, H-6, Ph-H); 7.208-7.249 (3H, m, Ph-H); 6.992-7.033 (1H, t, Ph-H); 6.507-6.512 (1H, d, Ph-H); 6.366 (2H, s, Ph- CH_2); 4.422-4.462 (2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 3.830 (3H, s, CH_3O); 3.188 (3H, s, CH_3); 2.768-2.801 (2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 2.215 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$) |
| 14 | 8.706-8.723 (1H, d, H-5); 8.175-8.190 (1H, d, H-3); 8.036-8.058 (1H, d, H-4); 7.338-7.374(2H, m, H-8, H-6); 7. 282 (2H, s, Ph-H); 7. 262 (1H, s, Ph-H); 6.985-7.012 (1H, dd, Ph-H); 6.599-6.604 (1H, d, Ph-H); 4.908-4.944 (2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 4.536-4.576 (2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 3.860 (3H, s, CH_3O); 3.166 (3H, s, CH_3); 2.835-2.869(2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 2.253-2.291 (2H, m, NCH_2CH_3); 1.633-1.680 (3H, t, NCH_2CH_3) |
| 15 | 8.610-8.626 (1H, d, H-5); 8.486-8.502 (1H, d, H-3); 8.329-8.351 (1H, d, H-4); 7.067-7.317 (12H, m, H-8, H-6, Ph-H); 4.650-4.707 (4H, dd, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 3.941 (3H,s, CH_3O); 2.727-2.765 (4H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 2.129-2.195 (4H, m, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 1.682 (3H, s, CH_3) |
| 16 | δ 9.74 (1H, s, OH); 8.11-8.12 (1H, d, H-3); 7.95-7.97 (1H, d, H-4); 7.77-7.78 (1H, d, H-5); 7.17-7.30 (5H, m, PhH); 6.87-6.88 (1H, m, H-6); 6.74-6.76 (1H, m, H-8); 4.43-4.46 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 2.77 (3H, s, CH_3); 2.70-2.73 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 1.98-2.05 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$) |
| 17 | δ 8.25-8.26 (1H, d, J=5.5Hz, H-3); 7.92-7.94 (1H, d, J=8.0Hz, H-4); 7.71-7.72 (1H, d, J=5.5Hz, H-5); 7.19-7.32 (5H, m, PhH); 6.84-6.86 (1H, m, H-6); 6.68-6.69 (1H, m, H-8); 4.59-4.61 (1H, m, $\text{OCH}[\text{CH}_3]_2$); 4.41-4.45 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 2.89 (3H, s, CH_3); 2.74-2.77 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 2.12-2.18 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 1.38-1.39 (6H, m, $\text{OCH}[\text{CH}_3]_2$) |
| 18 | δ 8.25-8.26 (1H, d, J=5.5Hz, H-3); 7.92-7.94 (1H, d, J=8.5Hz, H-4); 7.71-7.72 (1H, d, J=5.5Hz, H-5); 7.20-7.32 (5H, m, PhH); 6.85-6.87 (1H, m, H-6); 6.63-6.64 (1H, m, H-8); 4.41-4.45 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 3.97-4.00 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 2.90 (3H, s, CH_3); 2.74-2.77 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 2.12-2.18 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 1.80-1.84 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.52-1.59(2H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.01-1.04 (3H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) |
| 19 | δ 8.27-8.29 (1H, d, H-3); 7.94-7.97 (1H, d, H-4); 7.72-7.73 (1H, d, H-5); 7.23-7.34 (5H, m, PhH); 6.87-6.90 (1H, dd, H-6); 6.66-6.67 (1H, d, H-8); 4.45-4.49 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 3.77-3.78 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}[\text{CH}_3]_2$); 2.91 (3H, s, CH_3); 2.77-2.81 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 2.16-2.20 (3H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$, $\text{OCH}_2\text{CH}[\text{CH}_3]_2$); 1.10-1.12 (3H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}[\text{CH}_3]_2$) |
| 20 | δ 8.24-8.25 (1H, d, J=5.5Hz, H-3); 7.92-7.94 (1H, d, J=8.5Hz, H-4); 7.71-7.72 (1H, d, J=5.0Hz, H-5); 7.19-7.32 (5H, m, PhH); 6.86-6.88 (1H, m, H-6); 6.71-6.72 (1H, m, H-8); 4.42-4.45 (2H, m, |

| | |
|----|--|
| | NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 4.19-4.21 (1H, m, OCH[CH ₂ CH ₃] ₂); 2.90 (3H, s, CH ₃); 2.74-2.77 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.12-2.18 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 1.71-1.76 (4H, m, OCH[CH ₂ CH ₃] ₂); 0.97-1.01 (6H, m, OCH[CH ₂ CH ₃] ₂) |
| 21 | δ 8.25-8.26 (1H, d, J=5.5Hz, H-3); 7.93-7.95 (1H, d, J=8.5Hz, H-4); 7.73-7.74 (1H, d, J=5.5Hz, H-5); 7.19-7.32 (5H, m, PhH); 6.88-6.90 (1H, m, H-6); 6.70-6.71 (1H, m, H-8); 5.52-5.56 (1H, m, OCH ₂ CH=C[CH ₃] ₂); 4.54-4.56 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 4.43-4.46 (1H, m, OCH ₂ CH=C[CH ₃] ₂); 2.91 (3H, s, CH ₃); 2.74-2.77 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.12-2.19 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 1.80-1.83 (6H, m, OCH ₂ CH=C[CH ₃] ₂) |
| 22 | δ 8.25-8.26 (1H, d, J=5.5Hz, H-3); 7.93-7.95 (1H, d, J=8.5Hz, H-4); 7.74-7.75 (1H, d, J=5.0Hz, H-5); 7.20-7.33 (5H, m, PhH); 6.86-6.89 (1H, m, H-6); 6.64-6.65 (1H, m, H-8); 4.42-4.46 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 3.97-3.99 (2H, m, OCH ₂ [CH ₂] ₆ CH ₃); 2.92 (3H, s, CH ₃); 2.75-2.78 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.13-2.19 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 1.81-1.87 (2H, m, OCH ₂ CH ₂ [CH ₂] ₅ CH ₃); 1.30-1.54 (10H, m, O[CH ₂] ₂ [CH ₂] ₅ CH ₃); 1.01-1.04 (3H, m, O[CH ₂] ₇ CH ₃) |
| 23 | δ 8.25-8.26 (1H, d, J=5.5Hz, H-3); 7.94-7.96 (1H, d, J=8.5Hz, H-4); 7.72-7.73 (1H, d, J=5.0Hz, H-5); 7.18-7.48 (10H, m, PhH); 6.94-6.96 (1H, m, H-6); 6.72-6.73 (1H, m, H-8); 5.09 (2H, s, OCH ₂ Ph); 4.40-4.44 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.91(3H, s, CH ₃); 2.71-2.74 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.09-2.15 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph) |
| 24 | δ 8.27-8.28 (1H, d, J=5.0Hz, H-3); 7.98-8.00 (1H, d, J=9.0Hz, H-4); 7.77-7.78 (1H, d, J=5.5Hz, H-5); 7.19-7.33 (5H, m, PhH); 6.91-6.93 (1H, m, H-6); 6.74-6.75 (1H, m, H-8); 5.14 (2H, s, OCH ₂ Ph); 4.45-4.48 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.94 (3H, s, CH ₃); 2.76-2.79 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.14-2.20 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph) |
| 25 | δ 8.25-8.26 (1H, d, J=5.5Hz, H-3); 7.95-7.97 (1H, d, J=8.5Hz, H-4); 7.77-7.78 (1H, d, J=5.5Hz, H-5); 7.18-7.32 (10H, m, PhH); 6.89-6.91 (1H, m, H-6); 6.62-6.63 (1H, m, H-8); 4.42-4.45 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 3.98-4.00 (2H, m, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.92 (3H, s, CH ₃); 2.85-2.89 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.74-2.77 (2H, m, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.13-2.20 (4H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph) |
| 26 | 8.269-8.283 (1H, d, H-5); 7.967-7.989 (1H, d, H-3); 7.742-7.756 (1H, d, H-4); 7.499 (1H, s, H-8); 7.205-7.352 (8H, m, H-6, Ph-H); 6.929-6.956 (1H, d, Ph-H); 6.686-6.692 (1H, d, Ph-H); 5.050 (2H, s, Ph-CH ₂); 4.418-4.458 (2H, m, Ph-CH ₂ CH ₂ CH ₂); 2.915 (3H, s, CH ₃); 2.727-2.763 (2H, t, Ph-CH ₂ CH ₂ CH ₂); 2.115-2.154 (2H, t, Ph-CH ₂ CH ₂ CH ₂) |
| 27 | 8.270-8.283 (1H, d, H-5); 7.967-7.989 (1H, d, H-3); 7.748-7.761 (1H, d, H-4); 7.437-7.472 (2H, m, H-8, H-6); 7.310-7.347 (2H, m, Ph-H); 7.086-7.250 (5H, m, Ph-H); 6.930-6.957 (1H, d, Ph-H); 6.707-6.712 (1H, d, Ph-H); 5.038 (2H, s, Ph-CH ₂); 4.429-4.469 (2H, t, Ph-CH ₂ CH ₂ CH ₂); 2.922 (3H, s, CH ₃); 2.733-2.770 (2H, t, Ph-CH ₂ CH ₂ CH ₂); 2.124-2.164 (2H, t, Ph-CH ₂ CH ₂ CH ₂) |
| 28 | δ 8.78-8.79 (1H, d, J=6.5Hz, H-3); 8.59-8.61 (1H, d, J=6.5Hz, H-4); 8.36-8.37 (1H, d, J=8.5Hz, H-5); 7.07-7.43 (12H, m, H-6, H-8, PhH); 6.03 (2H, s, NCH ₂ Ph); 4.64-4.68 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 4.14-4.17 (2H, m, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃); 2.97 (3H, s, CH ₃); 2.68-2.71 (2H, s, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.04-2.11 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 1.77-1.83 (2H, m, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃); 1.48-1.56 (2H, m, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃); .098-1.00 (3H, m, OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃) |
| 29 | δ 8.78-8.79 (1H, d, J=6.5Hz, H-3); 8.59-8.61 (1H, d, J=6.5Hz, H-4); 8.36-8.38 (1H, d, J=9.0Hz, H-5); 7.09-7.43 (12H, m, PhH, H-6, H-8); 6.03 (2H, s, NCH ₂ Ph); 4.65-4.68 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 4.56-4.61 (1H, m, OCH[CH ₂ CH ₃] ₂); 2.97 (3H, s, CH ₃); 2.68-2.71 (2H, m, NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 2.03-2.10 (NCH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph); 1.65-1.78 (4H, m, OCH[CH ₂ CH ₃] ₂); 0.91-0.97 (6H, m, OCH[CH ₂ CH ₃] ₂) |

| | |
|----|---|
| 30 | δ 8.79-8.80 (1H, d, $J=6.5\text{Hz}$, H-3); 8.60-8.61 (1H, d, $J=6.5\text{Hz}$, H-4); 8.36-8.38 (1H, d, $J=9.0\text{ Hz}$, H-5); 7.07-7.43 (12H, m, H-6, H-8, PhH); 6.04 (2H, s, NCH_2Ph); 4.65-4.68 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 4.13-4.16 (2H, m, $\text{OCH}_2[\text{CH}_2]_5\text{CH}_3$); 2.97 (3H, s, CH_3); 2.68-2.71 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 2.04-2.11 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 1.78-1.84 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2[\text{CH}_2]_5\text{CH}_3$); 1.28-1.51 (10H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2[\text{CH}_2]_5\text{CH}_3$); 0.85-0.88 (3H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2[\text{CH}_2]_5\text{CH}_3$) |
| 31 | δ 8.79-8.81 (1H, d, $J=6.0\text{Hz}$, H-3); 8.61-8.62 (1H, d, $J=6.5\text{Hz}$, H-4); 8.37-8.39 (1H, d, $J=9.0\text{ Hz}$, H-5); 7.10-7.43 (17H, m, H-6, H-8, PhH); 7.19-7.21 (2H, d, $J=7.0\text{Hz}$, PhH); 7.09-7.11 (1H, m, PhH); 6.04 (2H, s, NCH_2Ph); 4.64-4.67 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 4.15-4.18 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 2.98 (3H, s, CH_3); 2.81-2.84 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 2.67-2.70 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 2.05-2.15 (4H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$) |
| 32 | 8.766-8.782 (1H, d, H-5); 8.607-8.623 (1H, d, H-3); 8.400-8.422 (1H, d, H-4); 7.634 (1H, s, H-8); 7.122-7.530 (15H, m, H-6, Ph-H); 6.017 (2H, s, Ph- CH_2); 5.357 (2H, s, Ph- CH_2); 4.658-4.695 (2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 2.950 (3H, t, CH_3); 2.639-2.676 (2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 2.028-2.066 (2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$) |
| 33 | 8.761-8.778 (1H, d, H-5); 8.604-8.620 (1H, d, H-3); 8.388-8.410 (1H, d, H-4); 7.591-7.627 (2H, m, H-8, H-6); 7.385-7.446 (4H, m, Ph-H); 7.141-7.272 (10H, m, Ph-H); 6.016 (2H, s, Ph- CH_2); 5.303 (2H, s, Ph- CH_2); 4.659-4.679 (2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 2.955 (3H, t, CH_3); 2.650-2.688 (2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 2.035-2.070 (2H, t, Ph- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$) |

1,3,9-三取代的 β -咔啉衍生物合成路线

实施例 35 乙基 1-(3',4',5'-三甲氧基)苯基-9-苯丙基- β -咔啉-3-羧酸酯 (37) 的合成

取 L-色氨酸 (40.8g, 200mmol)、3,4,5-三甲氧基苯甲醛 (40g, 200mmol) 和冰醋酸 250ml 混合, 加热回流 3h, 将反应液倒入冰水中,

氢氧化钠调节 pH 至 5-6,析出淡黄色固体,过滤,水洗,干燥即得化合物 34 (淡黄色固体, 76.0g), 不需纯化, 即可直接用于下一步反应;

化合物 34 (76.0g)、无水乙醇 1000ml 和二氯亚砷 (30ml) 混合, 加热回流反应 6 小时, 减压蒸除乙醇, 残留物溶于冷水, 碳酸氢钠碱化, 乙酸乙酯萃取; 有机相水洗, 饱和盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 活性炭脱色, 过滤, 减压浓缩, 得黄色油状物, 乙酸乙酯重结晶, 析出白色晶体, 过滤, 乙醚洗涤, 干燥, 得化合物 35 白色固体 53.0g。

化合物 35(53.0g, 130mmol)、硫(16g, 500mmol)、二甲苯(250ml) 混合, 加热回流 10h, 冷却, 析出黄色晶体, 过滤, 冷二甲苯洗涤, 随后石油醚充分洗涤, 干燥, 乙酸乙酯完全溶解, 活性炭脱色, 过滤, 减压浓缩, 乙酸乙酯重结晶, 得化合物 36 白色晶体 46.3g。

化合物 36 (4.1g, 10mmol)、N,N-二甲基甲酰胺 (200ml)混合, 室温搅拌至澄清, 加入 60%NaH (1.2g, 30mmol), 搅拌至无气泡产生, 滴加 1-溴-3-苯基丙烷 (30mmol), 室温搅拌反应 5h。将反应混合物倒入冰水中, 乙酸乙酯萃取, 合并萃取液, 水洗, 饱和盐水洗, 加入乙醇 100ml, 浓盐酸调节 pH 至 2~3, 减压浓缩至干, 无水乙醇带水数次, 得黄色油状物, 丙酮重结晶, 析出黄色晶体, 过滤, 丙酮洗, 乙醚洗涤。将固体溶于水中, 碳酸氢钠碱化, 乙酸乙酯萃取, 水洗, 无水硫酸钠干燥, 活性炭脱色, 过滤, 减压浓缩, 残留物用乙醚重结晶。得白色晶体 3.6 g, 收率 68%, mp 138-139°C;

质谱: m/e (M+1) 525;

红外(KBr, cm^{-1}) : 3061, 3025, 2938, 2840, 1729, 1704, 1621, 1583, 1504, 1452, 1412, 1367, 1242, 1124, 1008, 745;

氢核磁共振 (500MHz, CDCl_3): δ 8.94 (1H, s, H-4); 8.47-8.49 (1H, d, J=10.0Hz, H-6); 7.72-7.74 (1H, d, J=10.5Hz, H-8); 7.64-7.68 (1H, m, H-5); 7.36-7.39 (1H, m, H-7); 7.01-7.29 (7H, m, PhH); 4.34-4.41 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 4.02-4.06 (2H, m, OCH_2CH_3); 3.79 (9H, m, OCH_3); 2.16-2.20 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 1.74-1.76 (2H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 1.34-1.38 (3H, m, OCH_2CH_3).

实施例 36

本发明所述去氢骆驼蓬碱衍生物类化合物作为制备治疗癌症药物的用途的药理研究:

体外抗癌筛选试验:

分别选用 HeLa(宫颈癌细胞)、HepG₂(人肝癌细胞)、BGC(人胃癌细胞)、Bel7402(人肝癌细胞)、MCF-7(人乳腺癌细胞)、U251(人胶质瘤细胞)、KB(人口腔上皮癌细胞)、A549(肺癌细胞)等细胞株,采用 MTT 法进行测试。具体方法如下: 分别将生长状态良好、处于对数生长期的细胞株以 1×10^4 个/ml 的浓度接种于 96 孔板,置于 37°C、含 5%CO₂ 的培养箱中培养 24 小时,弃旧液,换新鲜培养液,加入灭菌处理的化合物,继续培养 48 小时后,弃去培养液,每孔加 20ul 含 5mg/ml MTT 的 RPMI1640 培养液,继续培养 4 小时,小心除去上清后,每孔加入 100μl 的 DMSO,振荡约 10min 溶解沉淀,随后用酶标仪检测 OD 值,波长 490nm。用下式求出每一样品浓度下的细胞存活率:

$$\text{存活率}\% = \text{样品组平均 OD 值} / \text{对照组平均 OD 值} \times 100\%$$

以细胞存活率对药物浓度对数作图,按作图法求出每个样品的 IC₅₀ 值。

试验结果见表 5。

表 5 去氢骆驼蓬碱类生物碱对 8 个细胞株的 IC₅₀ 值 (μmol/ml)

| 细胞株 化合物 | HeLa | Bel-7402 | BGC-823 | HepG2 | MCF7 | U251 | KB | A549 |
|------------|--------|----------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 3 | ND | 9.6 | 9.6 | 14.2 | 6.7 | 6.8 | 2.6 | 6.7 |
| 4 | 11 | 14.5 | 8.5 | 7.9 | ND | 25.2 | 6.2 | 21.7 |
| 5 | 5.4 | 13.7 | 40.7 | 3.077 | 4.99 | 14.8 | 5.5 | 12.2 |
| 6 | 9.99 | 76.9 | 37.8 | 15.9 | 16.17 | 50.5 | 8.3 | 21.3 |
| 9 | >125.1 | >25.2 | >25.2 | >125.9 | >125.9 | >125.9 | >125.9 | >125.9 |
| 11 | 4.81 | >19.5 | 8.9 | 15.7 | 6.3 | 21.2 | 3.2 | 6.4 |
| 12 | 2.8 | 3.47 | 6.8 | 11.4 | 4.1 | 9.2 | 1.3 | 1.6 |
| 13 | 5.6 | 5.19 | 11.6 | 11.4 | 7.8 | 8.5 | 5.4 | 4.4 |
| 14 | 16.4 | >41.2 | 8.5 | >103 | 29.4 | ND | ND | ND |

| | | | | | | | | |
|----|--------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|
| 15 | 36.8 | 5.4 | 10.3 | 10.3 | 8.3 | ND | ND | ND |
| 16 | >283 | ND | 35.1 | 29.9 | 34.5 | ND | ND | ND |
| 17 | >253 | 25.4 | 16 | 14.6 | >253 | ND | ND | ND |
| 18 | 88.7 | 34.8 | 14 | 12.4 | 68.9 | ND | ND | ND |
| 19 | >244 | 39.3 | 23 | 12.9 | >244 | ND | ND | ND |
| 20 | 70.1 | 34.3 | 18.3 | <10.1 | 41.9 | ND | ND | ND |
| 21 | >237 | 24.7 | 32.3 | 21.1 | >238 | ND | ND | ND |
| 22 | >215 | >116.8 | 21.8 | 17.4 | 45.98 | ND | ND | ND |
| 23 | >226 | >123.2 | 19.5 | 15.7 | >230 | ND | ND | ND |
| 24 | 147.4 | 73.5 | 18.6 | <7.88 | >187 | ND | ND | ND |
| 25 | >212 | >115.2 | 19.8 | 16.7 | 102.1 | ND | ND | ND |
| 26 | 3.59 | 34.2 | 34.5 | 36 | 10.3 | 76.8 | 41.6 | 35.9 |
| 27 | >117.8 | >117.8 | 83.97 | 75.3 | >117.8 | ND | ND | ND |
| 28 | 3.9 | 2.54 | 4.11 | 4.07 | 3.8 | 3.7 | <1.4 | 1.7 |
| 29 | 1.5 | <1.4 | <7.01 | <7.01 | 1.8 | 2.1 | <1.4 | 2 |
| 30 | 3.1 | 1.98 | 2.46 | 3.85 | 6.6 | 2.9 | 0.74 | 3.3 |
| 31 | 4 | 2.2 | 2 | 3.89 | >83.5 | 2.9 | <1.3 | 1.6 |
| 32 | 6 | 5.7 | 3.9 | >134 | 6.5 | 8.2 | 5.3 | 4.3 |
| 33 | <1.3 | 7.5 | 4.2 | 3.2 | ND | 14.8 | 12.6 | 14.4 |
| 37 | ND | >381.7 | >95.4 | ND | ND | >95.4 | >95.4 | >95.4 |

注：ND表示未做。

小鼠急性毒性试验：

昆明种小鼠（新疆实验动物中心提供，合格证号：SCXk(新)2003-0002），体重 18-22g，雌雄兼用。每 10 只小鼠一组。溶剂采用生理盐水和 0.5% CMC-Na（羧甲基纤维素钠）溶液；根据预试结果，各样品设计五档剂量，剂量间距 0.5 倍。各样品称量后，实验时加少量吐温 80 湿润助溶，然后逐渐加入 0.5%CMC-Na 溶液至所需浓度即可。实验体积 0.5ml/20g 小鼠。采用单次腹腔给药。取昆明种小鼠，按性别随机分组，各组按剂量设置分别腹腔给药，观察小鼠给药后的即时反应。死亡动物进行解剖观察，存活动物继续观察二周，并记录二周内动物死亡情况。二周后将存活动物进行解剖，观察实质性脏器的病变，具有实质性病变的脏器作病理检查。根据各组动物的死亡数，以 Bliss 方法计算药物的半致死剂量（LD₅₀ 值）。

表6 化合物4对小鼠腹腔途径给药急性毒性实验

| 性别 | 剂量 mg/kg | 动物数 只 | 死亡分布(天) 123456789...21 | 死亡率 % | LD ₅₀ mg/kg |
|----|-------------|----------|---------------------------|----------|---------------------------|
| 雌 | 100 | 5 | 50000000...0 | 100 | 12.5 |
| | 50 | 5 | 50000000...0 | 100 | |
| | 25 | 5 | 41000000...0 | 100 | |
| | 12.5 | 5 | 02000000...0 | 40 | |
| | 6.25 | 5 | 01000000...0 | 20 | |
| 雄 | 100 | 5 | 50000000...0 | 100 | |
| | 50 | 5 | 50000000...0 | 100 | |
| | 25 | 5 | 32000000...0 | 100 | |
| | 12.5 | 5 | 03000000...0 | 60 | |
| | 6.25 | 5 | 01000000...0 | 20 | |
| 雌雄 | 100 | 10 | 100000000...0 | 100 | |
| | 50 | 10 | 100000000...0 | 100 | |
| | 25 | 10 | 730000000...0 | 100 | |
| | 12.5 | 10 | 050000000...0 | 50 | |
| | 6.25 | 10 | 020000000...0 | 20 | |

表7 化合物5对小鼠腹腔途径给药急性毒性实验

| 性别 | 剂量 mg/kg | 动物数 只 | 死亡分布(天) 123456789...21 | 死亡率 % | LD ₅₀ mg/kg |
|----|-------------|----------|---------------------------|----------|---------------------------|
| 雌 | 100 | 5 | 50000000...0 | 100 | 30 |
| | 50 | 5 | 50000000...0 | 100 | |
| | 25 | 5 | 02000000...0 | 40 | |
| | 12.5 | 5 | 01000000...0 | 20 | |
| | 6.25 | 5 | 00000000...0 | 0 | |
| 雄 | 100 | 5 | 50000000...0 | 100 | |
| | 50 | 5 | 41000000...0 | 100 | |
| | 25 | 5 | 02000000...0 | 40 | |
| | 12.5 | 5 | 00000000...0 | 0 | |
| | 6.25 | 5 | 00000000...0 | 0 | |
| 雌雄 | 100 | 10 | 100000000...0 | 100 | |
| | 50 | 10 | 910000000...0 | 100 | |
| | 25 | 10 | 040000000...0 | 40 | |
| | 12.5 | 10 | 010000000...0 | 10 | |
| | 6.25 | 10 | 000000000...0 | 0 | |

表 8 化合物 6 对小鼠腹腔途径给药急性毒性实验

| 性别 | 剂量 mg/kg | 动物数 只 | 死亡分布 (天) 123456789...21 | 死亡率 % | LD ₅₀ mg/kg |
|----|-------------|----------|----------------------------|----------|---------------------------|
| 雌 | 100 | 5 | 500000000...0 | 100 | 12.5 |
| | 50 | 5 | 500000000...0 | 100 | |
| | 25 | 5 | 320000000...0 | 100 | |
| | 12.5 | 5 | 210000000...0 | 60 | |
| | 6.25 | 5 | 020000000...0 | 40 | |
| 雄 | 100 | 5 | 500000000...0 | 100 | |
| | 50 | 5 | 410000000...0 | 100 | |
| | 25 | 5 | 120000000...0 | 60 | |
| | 12.5 | 5 | 110000000...0 | 40 | |
| | 6.25 | 5 | 000000000...0 | 0 | |
| 雌雄 | 100 | 10 | 1000000000...0 | 100 | |
| | 50 | 10 | 910000000...0 | 100 | |
| | 25 | 10 | 440000000...0 | 80 | |
| | 12.5 | 10 | 320000000...0 | 50 | |
| | 6.25 | 10 | 020000000...0 | 20 | |

表 9 化合物 12 对小鼠腹腔途径给药急性毒性实验

| 性别 | 剂量 mg/kg | 动物数 只 | 死亡分布 (天) 123456789...21 | 死亡率 % | LD ₅₀ mg/kg |
|----|-------------|----------|----------------------------|----------|---------------------------|
| 雌 | 50 | 5 | 500000000...0 | 100 | 6.25 |
| | 25 | 5 | 500000000...0 | 100 | |
| | 12.5 | 5 | 400000000...0 | 80 | |
| | 6.25 | 5 | 210000000...0 | 60 | |
| | 3.125 | 5 | 020000000...0 | 40 | |
| 雄 | 50 | 5 | 410000000...0 | 100 | |
| | 25 | 5 | 320000000...0 | 100 | |
| | 12.5 | 5 | 120000000...0 | 60 | |
| | 6.25 | 5 | 200000000...0 | 40 | |
| | 3.125 | 5 | 010000000...0 | 20 | |
| 雌雄 | 50 | 10 | 910000000...0 | 100 | |
| | 25 | 10 | 820000000...0 | 100 | |
| | 12.5 | 10 | 520000000...0 | 70 | |
| | 6.25 | 10 | 410000000...0 | 50 | |
| | 3.125 | 10 | 030000000...0 | 30 | |

表 10 化合物 13 对小鼠腹腔途径给药急性毒性实验

| 性别 | 剂量 mg/kg | 动物数 只 | 死亡分布 (天) 123456789...21 | 死亡率 % | LD ₅₀ mg/kg |
|----|-------------|----------|----------------------------|----------|---------------------------|
| 雌 | 200 | 5 | 50000000...0 | 100 | 37.5 |
| | 100 | 5 | 41000000...0 | 100 | |
| | 50 | 5 | 22000000...0 | 80 | |
| | 25 | 5 | 20000000...0 | 40 | |
| | 12.5 | 5 | 01000000...0 | 20 | |
| 雄 | 200 | 5 | 50000000...0 | 100 | |
| | 100 | 5 | 41000000...0 | 100 | |
| | 50 | 5 | 20000000...0 | 40 | |
| | 25 | 5 | 11000000...0 | 40 | |
| | 12.5 | 5 | 01000000...0 | 20 | |
| 雌雄 | 200 | 10 | 100000000...0 | 100 | |
| | 100 | 10 | 82000000...0 | 100 | |
| | 50 | 10 | 42000000...0 | 60 | |
| | 25 | 10 | 31000000...0 | 40 | |
| | 12.5 | 10 | 02000000...0 | 20 | |

表 11 化合物 28 对小鼠腹腔途径给药急性毒性实验

| 性别 | 剂量 mg/kg | 动物数 只 | 死亡分布 (天) 123456789...21 | 死亡率 % | LD ₅₀ mg/kg |
|----|-------------|----------|----------------------------|----------|---------------------------|
| 雌 | 50 | 5 | 50000000...0 | 100 | 3.125 |
| | 25 | 5 | 50000000...0 | 100 | |
| | 12.5 | 5 | 31000000...0 | 80 | |
| | 6.25 | 5 | 21000000...0 | 60 | |
| | 3.125 | 5 | 21000000...0 | 60 | |
| 雄 | 50 | 5 | 50000000...0 | 100 | |
| | 25 | 5 | 41000000...0 | 100 | |
| | 12.5 | 5 | 21000000...0 | 60 | |
| | 6.25 | 5 | 21000000...0 | 60 | |
| | 3.125 | 5 | 11000000...0 | 40 | |
| 雌雄 | 50 | 10 | 100000000...0 | 100 | |
| | 25 | 10 | 91000000...0 | 100 | |
| | 12.5 | 10 | 52000000...0 | 70 | |
| | 6.25 | 10 | 42000000...0 | 60 | |
| | 3.125 | 10 | 32000000...0 | 50 | |

表 12 化合物 29 对小鼠腹腔途径给药急性毒性实验

| 性别 | 剂量 mg/kg | 动物数 只 | 死亡分布 (天) 123456789...21 | 死亡率 % | LD ₅₀ mg/kg |
|----|-------------|----------|----------------------------|----------|---------------------------|
| 雌 | 50 | 5 | 500000000...0 | 100 | 6.25 |
| | 25 | 5 | 410000000...0 | 100 | |
| | 12.5 | 5 | 220000000...0 | 80 | |
| | 6.25 | 5 | 210000000...0 | 60 | |
| | 3.125 | 5 | 110000000...0 | 40 | |
| 雄 | 50 | 5 | 410000000...0 | 100 | |
| | 25 | 5 | 400000000...0 | 80 | |
| | 12.5 | 5 | 200000000...0 | 40 | |
| | 6.25 | 5 | 110000000...0 | 40 | |
| | 3.125 | 5 | 110000000...0 | 40 | |
| 雌雄 | 50 | 10 | 910000000...0 | 100 | |
| | 25 | 10 | 810000000...0 | 90 | |
| | 12.5 | 10 | 420000000...0 | 60 | |
| | 6.25 | 10 | 320000000...0 | 50 | |
| | 3.125 | 10 | 220000000...0 | 40 | |

表 13 化合物 31 对小鼠腹腔途径给药急性毒性实验

| 性别 | 剂量 mg/kg | 动物数 只 | 死亡分布 (天) 123456789...21 | 死亡率 % | LD ₅₀ mg/kg |
|----|-------------|----------|----------------------------|----------|---------------------------|
| 雌 | 60 | 5 | 500000000...0 | 100 | 7.5 |
| | 30 | 5 | 500000000...0 | 100 | |
| | 15 | 5 | 310000000...0 | 80 | |
| | 7.5 | 5 | 210000000...0 | 60 | |
| | 3.75 | 5 | 200000000...0 | 40 | |
| 雄 | 60 | 5 | 500000000...0 | 100 | |
| | 30 | 5 | 410000000...0 | 100 | |
| | 15 | 5 | 210000000...0 | 60 | |
| | 7.5 | 5 | 110000000...0 | 40 | |
| | 3.75 | 5 | 010000000...0 | 20 | |
| 雌雄 | 60 | 10 | 1000000000...0 | 100 | |
| | 30 | 10 | 910000000...0 | 100 | |
| | 15 | 10 | 520000000...0 | 70 | |
| | 7.5 | 10 | 410000000...0 | 50 | |
| | 3.75 | 10 | 210000000...0 | 30 | |

体内抗癌试验

昆明种小鼠（新疆实验动物中心提供，合格证号：SCXk(新)）

2003-0002), 体重均为 18-22g, 雌雄皆可, 每批实验使用同一性别。抗肿瘤实验昆明种小鼠 10 只小鼠一组; 瘤源采用小鼠肉瘤 S180 (由新疆华世丹药物研究有限责任公司药理室传代维持); 溶剂采用生理盐水和 0.5%CMC-Na 溶液; 受试药物剂量组以该药物腹腔单次给药 LD₅₀ 值的 1/5 为基准; 称取各受试样品, 实验时加少量 Tween-80 湿润助溶, 逐渐加入 0.5%CMC-Na 溶液至所需浓度即可。实验体积为 0.5ml/20g 小鼠。腹腔给药, 每天 1 次, 连续给药 10 天, 共给药 10 次。阴性对照给以等体积的相应溶剂, 给药方案均为腹腔途径, 每天 1 次, 连续 10 天。阳性对照 CTX (环磷酰胺) 按 30mg/kg 的剂量, 每天一次, 连续 7 天。采用体内抗肿瘤腋皮下接种模型: 无菌条件下取生长旺盛的瘤源, 以匀浆法制备成约 1×10^7 /ml 的细胞悬液, 于相应宿主腋皮下接种 0.2ml/鼠, 次日按实验设计方案给药, 三周左右处死各组动物, 剖取肿瘤称重, 按下式计算抑瘤率:

抑瘤率% = [(阴性对照组平均瘤重 - 给药组平均瘤重) / 阴性对照组平均瘤重] × 100%。

在给药后, 同时观察小鼠的即时反应, 重点观察是否出现跳跃、震颤、扭曲等神经毒性症状。

试验结果见下表 14。

表 14 对小鼠肉瘤 S180 的抗肿瘤疗效实验结果

| 样品 | 剂量 mg/ml | 给药 方案 | 动物数 (只) 始/终 | 动物体重 (g) | | 瘤重 | | 抑瘤率 | |
|----------|-------------|----------|-------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|-------|
| | | | | 始/终 | | X±SD(g) | | % | |
| | | | | 第 1 次 | 第 2 次 | 第 1 次 | 第 2 次 | 第 1 次 | 第 2 次 |
| 4 | 1.25 | ip×10qd | 10/10 | 20.2/25.8 | 20.2/21.9 | 1.06±0.36 | 0.97±0.34 | 63.5 | 60.6 |
| 5 | 3 | ip×10qd | 10/10 | 20.3/27.8 | 20.5/26.3 | 1.64±0.45 | 1.39±0.61 | 43.4 | 43.5 |
| 12 | 3 | ip×10qd | 10/10 | 19.8/29.6 | 20.4/26.8 | 2.39±0.21 | 1.97±0.92 | 17.6 | 19.9 |
| 13 | 2 | ip×10qd | 10/10 | 19.7/24.1 | 20.3/22.8 | 2.75±0.17 | 2.38±0.63 | 5.2 | 3.2 |
| 16 | 30 | ip×10qd | 10/10 | 20.6/25.4 | 20.2/25.1 | 1.23±0.32 | 1.15±0.35 | 57.6 | 53.3 |
| 28 | 0.3 | ip×10qd | 10/10 | 20.8/23.4 | 20.2/26.5 | 2.12±0.41 | 1.88±0.45 | 26.9 | 23.6 |
| 29 | 0.5 | ip×10qd | 10/10 | 20.3/26.0 | 20.8/22.7 | 1.77±0.60 | 1.37±0.59 | 38.9 | 44.3 |
| 31 | 0.75 | ip×10qd | 10/10 | 20.5/28.8 | 20.2/24.0 | 1.91±0.60 | 1.59±0.49 | 34.1 | 35.4 |
| 阴性 对照 | 生理 盐水 | ip×10qd | 10/10 | 20.7/25.3 | 20.4/26.7 | 2.91±0.63 | 2.46±0.49 | | |
| CTX | 30 | ip×7qd | 10/10 | 20.0/22.5 | 20.1/22.3 | 0.09±0.03 | 0.10±0.03 | 96.9 | 95.9 |