



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112661739 A

(43) 申请公布日 2021.04.16

(21) 申请号 202011610502.8

(22) 申请日 2020.12.30

(71) 申请人 福建省中科生物股份有限公司
地址 362000 福建省泉州市安溪县湖头镇
横山村光电产业园

(72) 发明人 张靖 林祖铭 张婷 单世斌

(74) 专利代理机构 厦门市宽信知识产权代理有限公司 35246

代理人 巫丽青 宁霞光

(51) Int. Cl.

C07D 311/80 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)

A61K 33/24 (2019.01)

A61P 35/00 (2006.01)

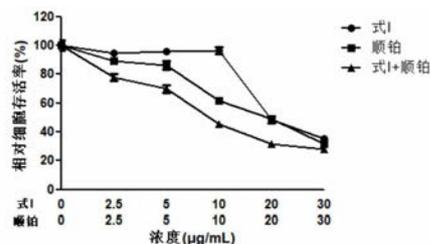
权利要求书1页 说明书5页 附图3页

(54) 发明名称

一种萘酚类化合物及其与顺铂联用在抗肿瘤医药上的用途

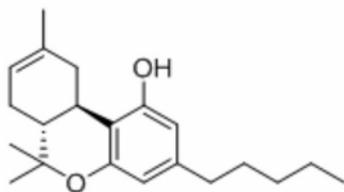
(57) 摘要

本发明公开了一种萘酚类化合物及其与顺铂联用在抗肿瘤医药上的用途,该化合物通过合成获得,且通过细胞实验发现,该化合物具有较好的抗肿瘤细胞增殖活性,尤其在肝癌细胞中,抑制肿瘤细胞增殖效果明显。且通过本发明方法得到的化合物纯度高,稳定性好,且具备良好的生物活性。并且同顺铂联合使用时,抑制肿瘤细胞增殖效果更加明显。



| 金氏公式 Q 值 | 浓度:µg/mL | 式 I | | | | | |
|----------|----------|-----|------|------|------|------|------|
| | 顺铂 | 0 | 2.5 | 5 | 10 | 20 | 30 |
| 0 | \ | \ | \ | \ | \ | \ | \ |
| 2.5 | \ | \ | 1.46 | \ | \ | \ | \ |
| 5 | \ | \ | \ | 1.74 | \ | \ | \ |
| 10 | \ | \ | \ | \ | 1.34 | \ | \ |
| 20 | \ | \ | \ | \ | \ | 0.90 | \ |
| 30 | \ | \ | \ | \ | \ | \ | 0.81 |

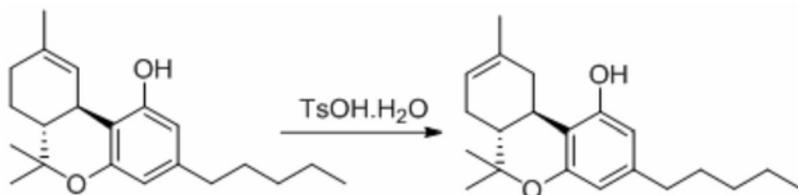
1. 一种萜酚类化合物,其特征在于,具有式I所示结构:



式 I

2. 一种权利要求1所述的式I所示化合物的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

取反应瓶,加入底物THC、对甲苯磺酸、甲苯,然后将反应瓶置于60℃油浴中至反应完毕;冷却至室温,向反应瓶加入饱和碳酸氢钠淬灭反应,乙醚萃取,合并有机相,用饱和食盐水洗以及无水硫酸钠干燥,减压浓缩,硅胶柱纯化得目标化合物;反应路线如下所示:



Scheme 1

3. 根据权利要求2所示的制备方法,其特征在于,硅胶柱层析洗脱体系为正己烷:丙酮=25:1等梯度洗脱。

4. 式I所示化合物在制备抗肿瘤药物上的用途。

5. 根据权利要求4所述的用途,其特征在于,所述肿瘤为肝癌。

6. 一种抗肿瘤药物,其特征在于,包括活性成分和药学上可接受的辅料,所述活性成分包括式I所示化合物。

7. 根据权利要求6所述的抗肿瘤药物,其特征在于,所述抗肿瘤药物包括但不限于肿瘤细胞增殖抑制剂。

8. 式I所示化合物和顺铂联用在制备抗肿瘤药物上的用途。

9. 根据权利要求8所述的用途,其特征在于,所述抗肿瘤药物中,顺铂和式I所示化合物之间的质量浓度比为0.16:1至0.5:1。

10. 一种抗肿瘤药物组合物,其特征在于,该抗肿瘤药物组合物含有药物活性组分和药学上可接受的辅料,所述药物活性组分包括顺铂和式I所示化合物,顺铂和式I所示化合物之间的质量浓度比为0.16:1至0.5:1。

一种萘酚类化合物及其与顺铂联用在抗肿瘤医药上的用途

技术领域

[0001] 本发明涉及一种药物化合物,具体涉及一种萘酚类化合物及其与顺铂联用在抗肿瘤医药上的用途。

背景技术

[0002] 麻类植物种化合物种类多样,药理活性丰富。以萘酚类化合物为苗头化合物经过一系列的结构修饰也能获得药理活性较好的小分子。比如HU-210、JWH-133、CP 47,497等,它们均在一定程度上表现出对神经系统的保护作用、镇痛等功能,有些药理作用甚至强于四氢大麻酚和大麻二酚。

[0003] 癌症(恶性肿瘤)是指由于调控细胞增殖机制的失常而引发的疾病,是当今人类中最严重的疾病之一。通常有如下治疗方法:外科手术法、化疗法、放射治疗、免疫治疗和单克隆抗体治疗,但单一的治疗药物常常难以达到预期的治疗效果且易产生肿瘤的多药耐药性。在临床上通常使用联合用药克服耐药性的发生,且联合治疗还可通过剂量调节产生最佳组合剂量使副作用最小化。

[0004] 萘酚化合物的抗肿瘤功能已有许多报道:比如大麻二酚或四氢大麻酚能在乳腺癌、前列腺癌、神经胶质瘤、白血病、肺癌、皮肤癌、甲状腺癌和胰腺癌等肿瘤中均呈现明显的抑制作用。这使得麻类化合物有可能成为新的治疗药物,这些化合物可以作为抗肿瘤剂单独使用,或与现有的抗肿瘤药物联合使用,能增强药效、克服耐药、缓解癌症疼痛和减轻不良反应,可能成为一种很有应用前景的临床抗肿瘤治疗方案。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种通过合成而得的具有抑制肿瘤细胞活性作用的化合物。

[0006] 本发明的另一个目的是提供制备该化合物的方法。

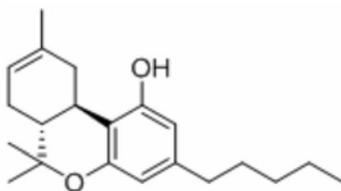
[0007] 本发明的再一个目的是提供该化合物在制备抗肿瘤药物中的应用。

[0008] 本发明的再一个目的是提供该化合物和顺铂联用在制备抗肿瘤药物上的用途。

[0009] 有鉴于此,本发明的目的之一是获得了一种化合物,该化合物可用以制备抗肿瘤药物,该化合物通过合成获得。

[0010] 本发明为实现其目的采用的技术方案是:

[0011] 一种萘酚类化合物,所述化合物其结构式如式I所示:



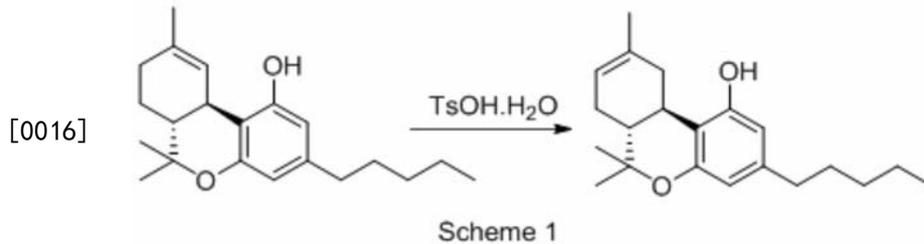
[0012]

式 I

[0013] 该化合物分子式为C₂₁H₃₀O₂,分子量为314.22。

[0014] 相应地,本发明还提供了式I所示化合物的制备方法,包括如下步骤:

[0015] 取反应瓶,加入底物THC、对甲苯磺酸、甲苯,然后将反应瓶置于60℃油浴中至反应完毕;冷却至室温,向反应瓶加入饱和碳酸氢钠淬灭反应,乙醚萃取,合并有机相,用饱和食盐水洗以及无水硫酸钠干燥,减压浓缩,上柱(普通硅胶:300~400目,自填装)层析纯化得目标化合物;反应路线如下所示:



[0017] 为了更好的实现本发明,上柱(普通硅胶:300~400目,自填装)层析洗脱体系为正己烷:丙酮=25:1等梯度洗脱。

[0018] 本发明还提供了式I所示化合物在制备抗肿瘤药物上的用途。

[0019] 为了更好的实现本发明,所述肿瘤为肝癌。

[0020] 本发明还提供了一种抗肿瘤药物,包括活性成分和药学上可接受的辅料,所述活性成分包括式I所示化合物。

[0021] 为了更好的实现本发明,所述抗肿瘤药物包括但不限于肿瘤细胞增殖抑制剂。

[0022] 本发明还提供了式I所示化合物和顺铂联用在制备抗肿瘤药物上的用途。

[0023] 上述抗肿瘤药物中,顺铂和式I所示化合物之间的质量浓度比为0.16:1至0.5:1。

[0024] 本发明还提供了一种抗肿瘤药物组合物,该抗肿瘤药物组合物含有药物活性组分和药学上可接受的辅料,所述药物活性组分包括顺铂和式I所示化合物,顺铂和式I所示化合物之间的质量浓度比为0.16:1至0.5:1。

[0025] 本发明的有益效果是:本发明提供了一种萜酚类化合物,通过合成获得,且通过细胞实验发现,该化合物具有较好的抗肿瘤细胞增殖活性,尤其在肝癌细胞中,抑制肿瘤细胞增殖效果明显。且通过本发明方法得到的化合物纯度高,稳定性好,且具备良好的生物活性。并且同顺铂联合使用时,抑制肿瘤细胞增殖效果更加明显。

附图说明

[0026] 图1为CKK8比色法检测联合用药对肿瘤细胞存活性能的影响;

[0027] 图2为CCK8比色法检测联合用药对肿瘤细胞存活性能的影响;

[0028] 图3为细胞划痕实验检测联合用药对肿瘤细胞迁移性能的影响;

[0029] 图4为细胞克隆形成实验检联合用药对肿瘤细胞增殖的影响。

具体实施方式

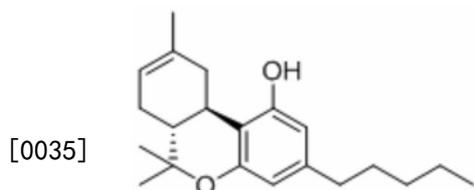
[0030] 下面结合实施例对本发明作进一步地详细说明,但本发明的实施方式不限于此,在不脱离本发明上述技术思想情况下,根据本领域普通技术知识和惯用手段,做出各种替换和变更,均应包括在本发明的范围内。

[0031] 实施例1

[0032] 一种化合物的制备方法,包括如下步骤:

[0033] 取10ml反应瓶,加入底物THC(330mg,1.05mmol)、对甲苯磺酸(400mg,2.10mmol)、甲苯(5ml)置于60℃油浴中,反应24h,HPLC检测反应完毕。冷却至室温,往反应体系加入饱和碳酸氢钠淬灭反应,乙醚萃取,合并有机相,饱和食盐水洗以及无水硫酸钠干燥,减压浓缩,上柱(普通硅胶:300~400目,自填充)层析纯化(正己烷:丙酮=25:1)得目标化合物(210mg,产率64%)。

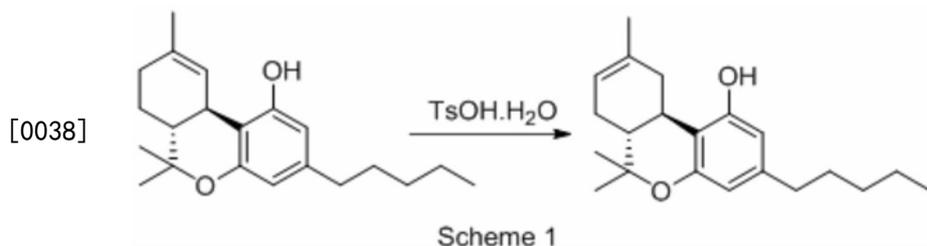
[0034] 目标化合物的结构解析:最终经过质谱、核磁共振谱等数据,综合鉴定了该化合物的结构如式I所示:



式 I

[0036] 目标化合物数据信息为:(¹H NMR(400MHz,CDC13) δ:6.27(d,J=1.4Hz,1H),6.11(d,J=1.5Hz,1H),5.43(d,J=4.7Hz,1H),4.72(s,1H),3.19(dd,J=15.8,4.3Hz,1H),2.69(td,J=10.8,4.6Hz,1H),2.44(td,J=7.4,2.3Hz,2H),2.20-2.08(m,1H),1.91-1.75(m,3H),1.70(s,3H),1.59-1.51(m,2H),1.37(s,3H),1.35-1.26(m,5H),1.10(s,3H),0.88(t,J=6.9Hz,3H);GC-MS(EI):314.

[0037] 上述制备方法的具体反应路线如下所示:



[0039] 实施例2

[0040] 联合用药抗肿瘤细胞增殖活性的测定方法:

[0041] (1) CCK8比色法检测联合用药对肿瘤细胞存活性能的影响

[0042] 取对数生长期人肝癌细胞(HepG2),用DMEM培养液配制适宜浓度细胞悬液,细胞密度约50000个/mL(即每100μL培养液中约含5000个细胞),以每孔100μL细胞悬液将细胞接种于96孔板,37℃培养箱中培养至细胞贴壁。以DMSO为溶剂分别配制浓度20mg/mL的式I所示化合物溶液和顺铂化合物溶液,实验时用培养液稀释至所需工作浓度。96孔板弃培养液后,单药组分别加入工作浓度为2.5μg/mL、5μg/mL、10μg/mL、20μg/mL、30μg/mL的顺铂溶液100μL;另一单药组加入同样浓度梯度的式I所示化合物溶液100μL,联药组含顺铂和式I所示化合物溶液100μL,联药的工作浓度为(2.5μg/mL+2.5μg/mL)、(5μg/mL+5μg/mL)、(10μg/mL+10μg/mL)、(20μg/mL+20μg/mL)、(30μg/mL+30μg/mL);将96孔板继续放置培养箱中48h后用CCK8试剂检测细胞存活率,实验重复3次取平均值。协同指数参考金式公式计算Q值,通过Q值判断两种药物联合使用后的治疗效果,如果Q在0.85-1.15之间为单纯相加(+),在1.15-20之

间为增强(++), $Q>20$ 为显著增强(+++),在0.85-0.55之间为拮抗, $Q<0.55$ 为明显拮抗(--);根据生物实验大约有15%的误差,将效应相加的Q值扩展为0.85-1.15; $Q>1.15$ 即为协同作用。

[0043] 结果如图1所示,与对照组相比,随着式I所示化合物及顺铂的浓度增加,人肝癌细胞(HepG2)的存活率越低,当两药联合使用时,细胞存活率比单药组更低,说明联药对人肝癌细胞(HepG2)存活性能的抑制作用越强。通过Q值计算,说明低浓度的顺铂和式I化合物联用作用HepG2细胞48h时,对HepG2细胞有协同抑制作用。

[0044] (2) CCK8比色法检测联合用药对肿瘤细胞存活性能的影响

[0045] 细胞铺板方法同上,本实验中联合用药浓度设置根据(1)中实验结果,设置单一浓度式I化合物与浓度梯度顺铂联用。单药组加固定浓度 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 的顺铂溶液 $100\mu\text{L}$,另一单药组加工作浓度为 $2.5\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $10\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $20\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $30\mu\text{g}/\text{mL}$ 的式I所示化合物溶液 $100\mu\text{L}$;联药组含式I所示化合物额顺铂溶液 $100\mu\text{L}$,联药的工作浓度为($2.5\mu\text{g}/\text{mL}+5\mu\text{g}/\text{mL}$)、($5\mu\text{g}/\text{mL}+5\mu\text{g}/\text{mL}$)、($10\mu\text{g}/\text{mL}+5\mu\text{g}/\text{mL}$)、($20\mu\text{g}/\text{mL}+5\mu\text{g}/\text{mL}$)、($30\mu\text{g}/\text{mL}+5\mu\text{g}/\text{mL}$);将96孔板继续放置培养箱中48h后用CCK8试剂检测细胞存活率,实验重复3次取平均值,协同指数计算同上。

[0046] 结果如图2所示,与对照组相比,随着式I所示化合物浓度的增加,人肝癌细胞(HepG2)的存活率越低,不同浓度的式I所示化合物与 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 顺铂联用时,对HepG2细胞抑制率更高。通过Q值计算,说明低浓度式I化合物同顺铂联用作用HepG2细胞48h时,对HepG2细胞有协同抑制作用。

[0047] (3) 细胞划痕实验检测联合用药对肿瘤细胞迁移性能的影响

[0048] 取对数生长期人肝癌细胞(HepG2),用DMEM培养液配制适宜浓度细胞悬液,细胞密度约 200000 个/ mL ,以每孔 1mL 细胞悬液将细胞接种于24孔板, 37°C 培养箱中培养至细胞贴壁。以DMSO为溶剂配制浓度 $20\text{mg}/\text{mL}$ 的式I所示化合物溶液,实验时用培养液稀释至所需工作浓度。24孔板弃培养液后,用 $200\mu\text{L}$ 的枪头沿着孔中央作直划痕,用PBS轻轻洗去划痕产生的细胞团,实验组中单药组分别加入工作浓度为 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 的顺铂溶液 1mL 、 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 的式I化合物溶液 1mL 、联药组加入含 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 顺铂和 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 的式I化合物溶液 1mL ,空白对照组加入培养液 1mL ;拍照并记录0h、24h、48h各孔的划痕宽度并计算每孔平均值,最后计算平均划痕修复率,实验重复3次取平均值,组间使用T-test分析差异显著性, $P<0.05$ 有统计学意义。

[0049] 划痕修复率(%) = (0小时划痕面积 - Nh划痕面积) / 0小时划痕面积 * 100

[0050] 结果如图3所示,划痕实验结果表明,与对照组相比,低浓度式I所示化合物及低浓度顺铂均能抑制HepG2细胞的迁移作用,两药联合时,划痕修复率比单药组更低,说明两种药物联用时,能显著抑制HepG2细胞迁移能力。

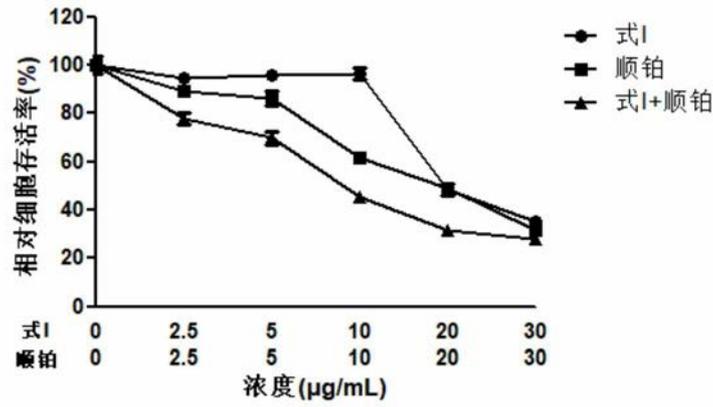
[0051] (4) 细胞克隆形成实验检联药对肿瘤细胞增殖的影响

[0052] 取对数生长期人肝癌细胞(HepG2),用DMEM培养液配制适宜浓度细胞悬液,细胞密度约 117 个/ mL (即每 1mL 培养液中约含 117 个细胞),以每孔 3mL 细胞悬液将细胞接种于6孔板, 37°C 培养箱中培养至细胞贴壁。以DMSO为溶剂配制浓度 $20\text{mg}/\text{mL}$ 的式I所示化合物溶液,实验时用培养液稀释至所需工作浓度。6孔板弃培养液后,实验组中单药组分别加入工作浓度为 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 的顺铂溶液 3mL 、 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 的式I化合物溶液 3mL 、联药组加入含 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 顺铂和 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 的式I化合物溶液 3mL ,空白对照组加入培养液 3mL ;将6孔板继续放置培养箱中,每2-3天更换新鲜的培养液或含药物的培养液,持续培养两周左右,持续观察细胞形态,当培养皿中

出现肉眼可见的克隆时,终止培养。弃培养液,用PBS小心浸洗2次,加入4%多聚甲醛(PFA) 1mL固定细胞30min。弃PFA后每孔加入1mL0.1%的结晶紫染色30min,超纯水洗去染色液,6孔板晾干后拍照(图5)并计算克隆形成率,组间使用T-test分析差异显著性, $P < 0.05$ 有统计学意义。

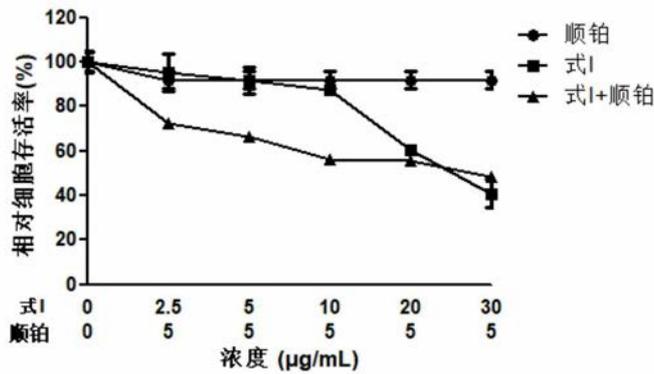
[0053] 结果如图4所示,与对照组相比,低浓度式I所示化合物及低浓度顺铂均能抑制HepG2细胞的克隆形成,两药联合时,克隆形成率比单药组更低,说明两种药物联用时,对HepG2增殖具有显著的协同抑制作用。

[0054] 尽管已经对上述各实施例进行了描述,但本领域内的技术人员一旦得知了基本创造性概念,则可对这些实施例做出另外的变更和修改,所以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保护范围,凡是利用本发明说明书及附图内容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之内。



| 金氏公式 Q值 | 浓度:µg/mL | 式 I | | | | | |
|---------|----------|------|------|------|------|------|----|
| | 顺铂 | 0 | 2.5 | 5 | 10 | 20 | 30 |
| 0 | \ | \ | \ | \ | \ | \ | \ |
| 2.5 | \ | 1.46 | \ | \ | \ | \ | \ |
| 5 | \ | \ | 1.74 | \ | \ | \ | \ |
| 10 | \ | \ | \ | 1.34 | \ | \ | \ |
| 20 | \ | \ | \ | \ | 0.90 | \ | \ |
| 30 | \ | \ | \ | \ | \ | 0.81 | \ |

图1



| 金氏公式 Q值 | 浓度:µg/mL | 式 I | | | | | |
|---------|----------|------|------|------|------|------|----|
| | 顺铂 | 0 | 2.5 | 5 | 10 | 20 | 30 |
| 0 | \ | \ | \ | \ | \ | \ | \ |
| 5 | \ | 2.19 | \ | \ | \ | \ | \ |
| 5 | \ | \ | 2.08 | \ | \ | \ | \ |
| 5 | \ | \ | \ | 2.21 | \ | \ | \ |
| 5 | \ | \ | \ | \ | 1.00 | \ | \ |
| 5 | \ | \ | \ | \ | \ | 0.82 | \ |

图2

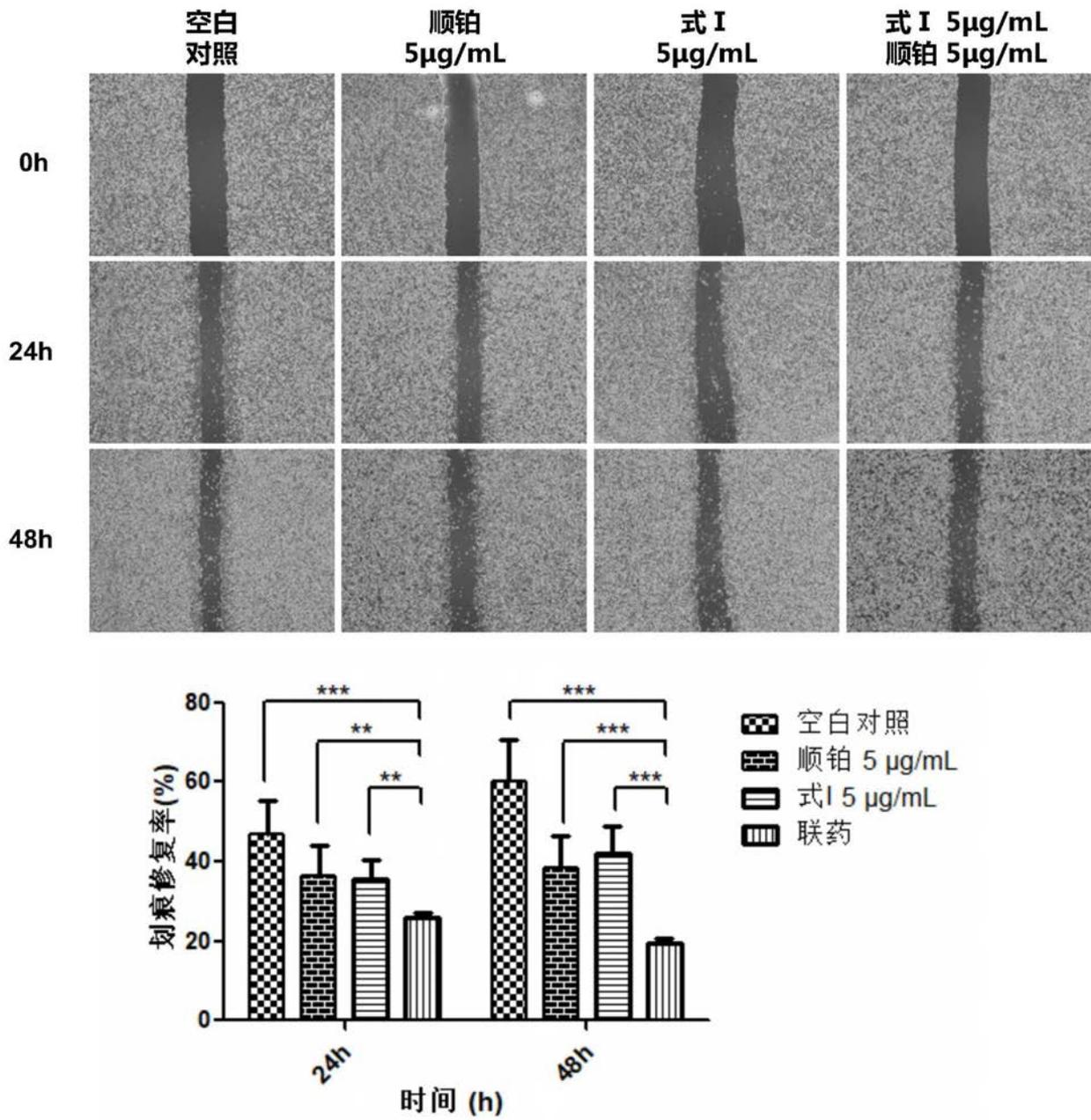
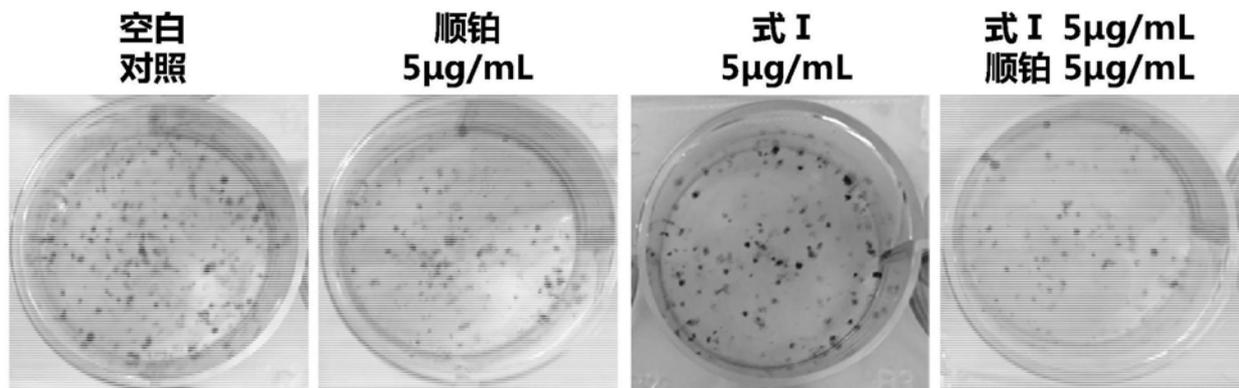


图3



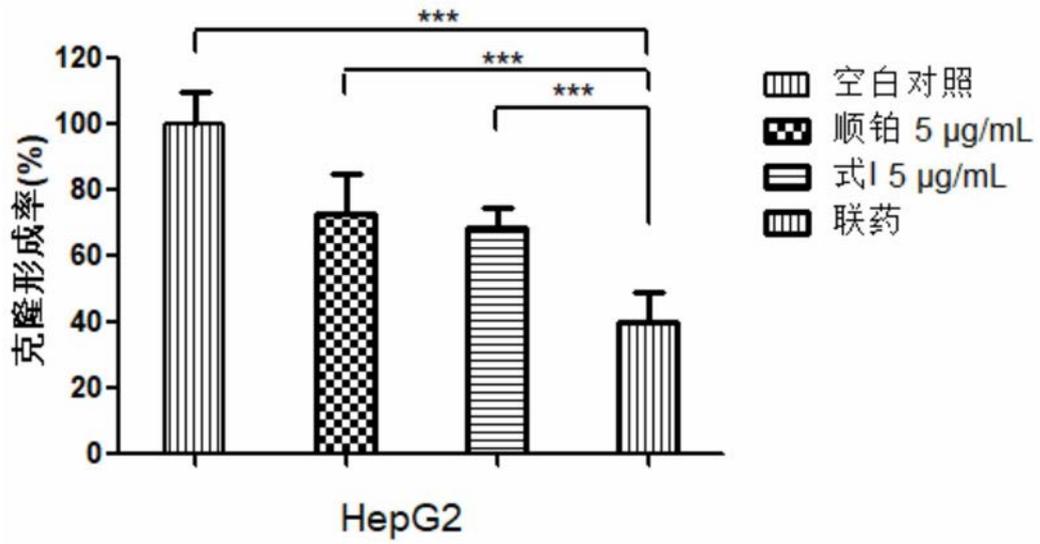


图4