



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102924550 B

(45) 授权公告日 2015. 02. 04

(21) 申请号 201210385724. 3

1-10 页.

(22) 申请日 2012. 10. 12

CN 1840538 A, 2006. 10. 04, 全文.

(73) 专利权人 沈阳药科大学

US 20060241017 A1, 2006. 10. 26, 全文.

地址 110016 辽宁省沈阳市沈河区文化路 103 号

谭昀杜熙, 等. 治疗骨髓增生异常综合征新药 - 地西他滨. 《中国新药杂志》. 2010, 第 19 卷 (第 2 期), 第 91-94 页.

(72) 发明人 孙进 何仲贵 张又夕 王永军 孙英华 刘晓红

Xueqin Song, 等. Amino Acid Ester Prodrugs of the Anticancer Agent

(74) 专利代理机构 沈阳杰克知识产权代理有限公司 21207

Gemcitabine: Synthesis, Bioconversion, Metabolic Bioevasion, and hPEPT1-Mediated Transport. 《MOLECULAR PHARMACEUTICS》. 2005, 第 2 卷 (第 2 期), 第 157-167 页.

代理人 李宇彤

审查员 王丽

(51) Int. Cl.

C07H 19/12 (2006. 01)

C07H 1/00 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101812105 A, 2010. 08. 25, 说明书第

权利要求书1页 说明书8页 附图1页

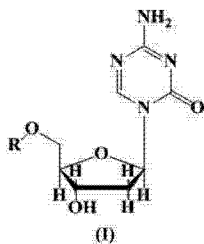
(54) 发明名称

地西他滨 5'-O-氨基酸酯类前药及其制备方法

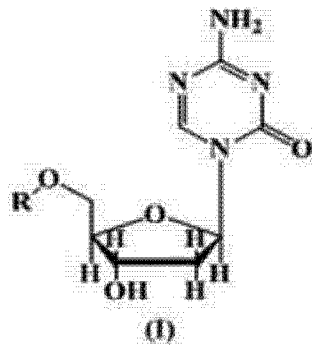
(57) 摘要

本发明属于医药技术领域,公开了一种治疗骨髓异常综合症的药物地西他滨的 5'-O-氨基酸酯类前药和其制备方法。本发明对地西他滨进行有目的的结构修饰,使地西他滨与不同氨基酸结合,设计并合成 (I) 结构的化合物地西他滨 5'-O-氨基酸酯类前药。在 (I) 中, R 为氨基酸, 优选 L- 缬氨酸、D- 缬氨酸、L- 异亮氨酸、L- 苯丙氨酸或 L- 色氨酸。本发明的前药与口服地西他滨相比生物利用度提高显著,有望开发出一种疗效更确切的治疗骨髓异常综合症的载体前药。

CN 102924550 B

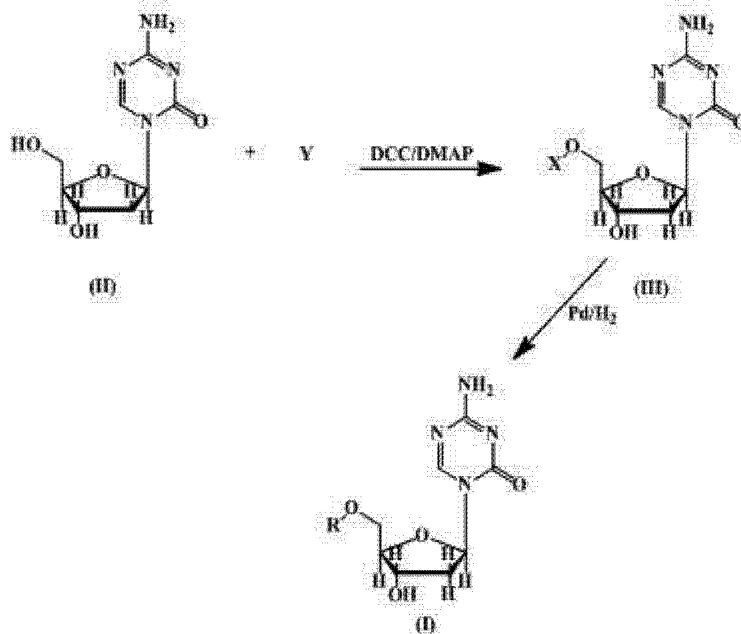


1. 地西他滨 5'-O-氨基酸酯类前药,其特征在於:地西他滨的 5' 位羟基被氨基酸酯化,其结构通式如下:



其中 R 是氨基酸残基,所述的前药是地西他滨和氨基酸通过酯键连接而成,其中 R 为 L-缬氨酸、D-缬氨酸、L-异亮氨酸、L-苯丙氨酸或 L-色氨酸。

2. 一种如权利要求 1 所述的地西他滨 5'-O-氨基酸酯类前药的制备方法,其特征在於:地西他滨(II)和苄氧羰基保护的氨基酸 Y 在二环己基碳二亚胺和 N,N'-4-二甲基氨基吡啶催化条件下,进行成酯反应,然后经催化氢化脱去保护基形成地西他滨 5'-O-氨基酸酯类前药(I),反应式如下:



其中 Y 为 N-苄氧羰基-L-缬氨酸、N-苄氧羰基-D-缬氨酸、N-苄氧羰基-L-异亮氨酸、N-苄氧羰基-L-苯丙氨酸或 N-苄氧羰基-L-色氨酸, X 为 N-苄氧羰基-氨基酸残基,所述的 N-苄氧羰基-氨基酸残基是:N-苄氧羰基-L-缬氨酸、N-苄氧羰基-D-缬氨酸、N-苄氧羰基-L-异亮氨酸、N-苄氧羰基-L-苯丙氨酸或 N-苄氧羰基-L-色氨酸, R 为氨基酸残基,所述的氨基酸残基为:L-缬氨酸、D-缬氨酸、L-异亮氨酸、L-苯丙氨酸或 L-色氨酸。

3. 权利要求 1 所述的地西他滨 5'-O-氨基酸酯类前药在制备治疗骨髓异常综合征药物中的应用。

地西他滨 5'-O-氨基酸酯类前药及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,涉及地西他滨(5-氮杂-2-脱氧胞嘧啶核苷)前体药物及其制备方法,具体涉及一种治疗骨髓异常综合征的5-氮杂-2-脱氧胞嘧啶核苷的5'-O-氨基酸酯前药及其制备方法。

背景技术

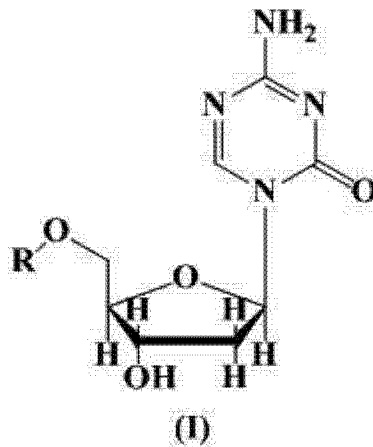
[0002] 地西他滨化学名称为5-氮杂-2-脱氧胞嘧啶核苷。地西他滨作为特异的DNA甲基化转移酶抑制剂,被脱氧胞苷激酶磷酸化,以磷酸盐的形式与DNA掺合,可逆转DNA的甲基化过程,诱导肿瘤细胞向正常细胞分化或诱导肿瘤细胞凋亡。地西他滨2006年在美国批准上市,商品名为Dacogen。但是地西他滨极性大,小肠膜渗透性差,导致其口服生物利用度仅为3.9%~14%。因此有必要寻找一种途径来提高地西他滨的膜渗透性,进而提高其口服生物利用度。根据大量的文献报道,如果对核苷类药物的自由羟基进行修饰,可能提高这类药物的膜渗透性和口服生物利用度。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种5-氮杂-2-脱氧胞嘧啶核苷的5'-O-氨基酸酯前药,也就是地西他滨的5'-O-氨基酸酯类前药及其制备方法。

[0004] 所述的地西他滨的5'-O-氨基酸酯类前药结构通式为:

[0005]

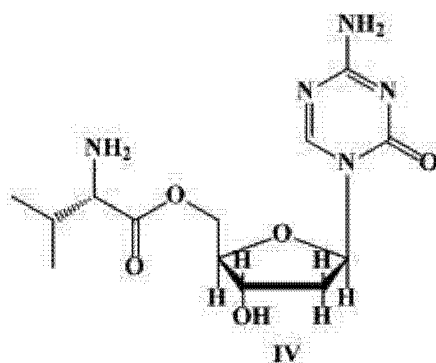


[0006] 其中R是氨基酸残基,所述的氨基酸残基选自L-缬氨酸、D-缬氨酸、L-异亮氨酸、L-苯丙氨酸或L-色氨酸。

[0007] 所述的地西他滨5'-O-氨基酸酯包括如下化合物:

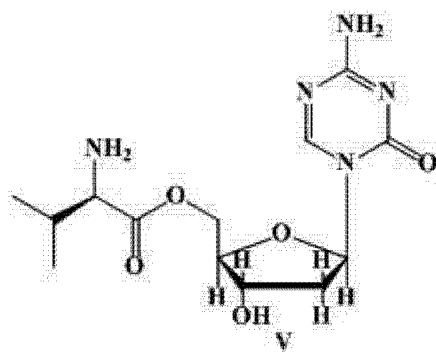
[0008] a. 5'-O-L-缬氨酰地西他滨(IV),结构如下:

[0009]



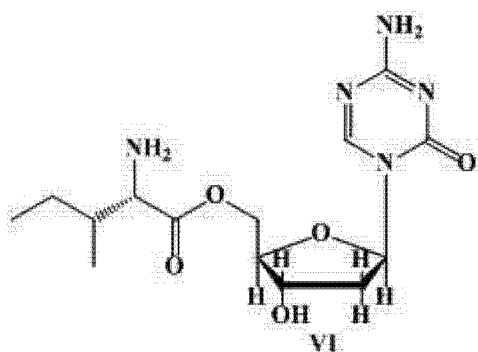
[0010] b. 5'-O-D-缬氨酰地西他滨(V)

[0011]



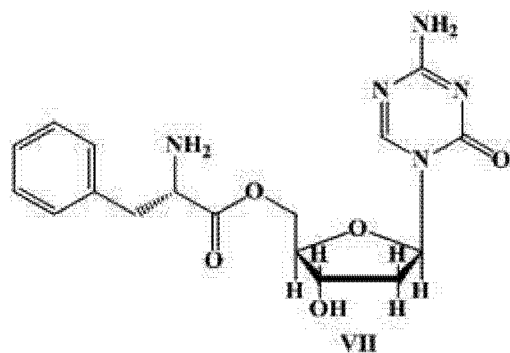
[0012] c. 5'-O-L-异亮氨酰地西他滨(VI)

[0013]



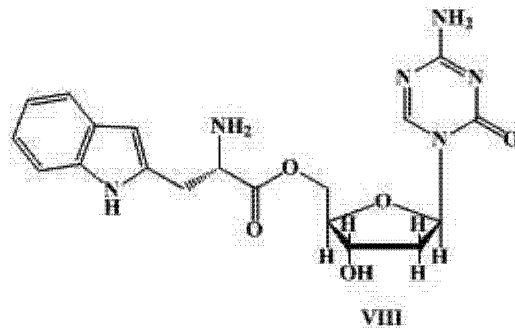
[0014] d. 5'-O-L-苯丙氨酰地西他滨(VII)

[0015]



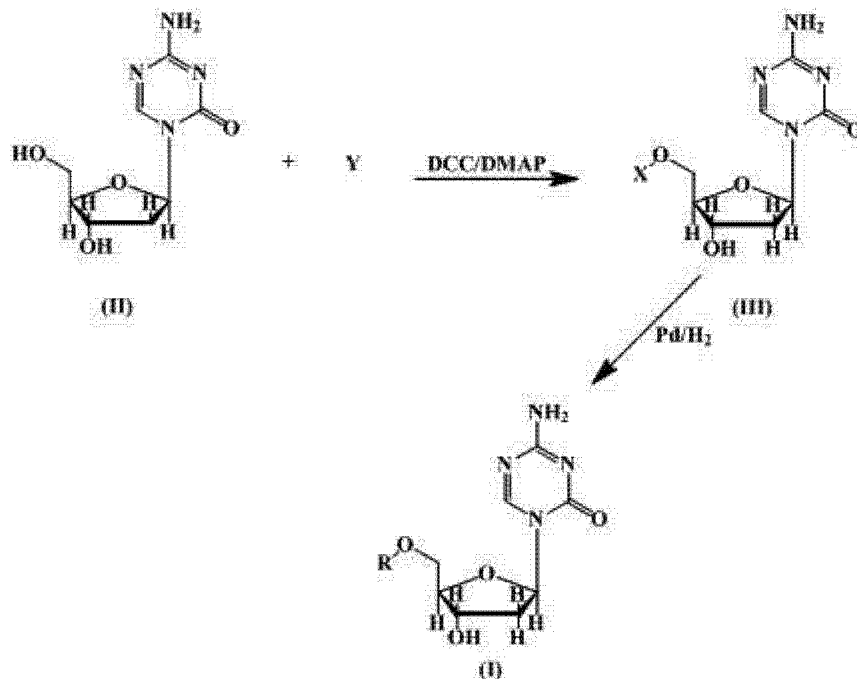
[0016] e. 5'-O-L-色氨酰地西他滨(VIII)

[0017]



[0018] 本发明的地西他滨 5'-O-氨基酸酯类前药是通过如下方法制备的：地西他滨和保护的氨基酸在二环己基碳二亚胺和 N,N-4-二甲基氨基吡啶催化条件下,进行酯化反应,然后进行催化氢化脱去保护基形成地西他滨 5'-O-氨基酸酯前药,反应式如下：

[0019]



[0020] 其中 Y 为苄氧羰基保护的氨基酸, X 为苄氧羰基保护氨基酸的残基, R 为氨基酸残基。Y 优选 N-苄氧羰基-L-缬氨酸、N-苄氧羰基-D-缬氨酸、N-苄氧羰基-L-异亮氨酸、N-苄氧羰基-L-苯丙氨酸或 N-苄氧羰基-L-色氨酸。

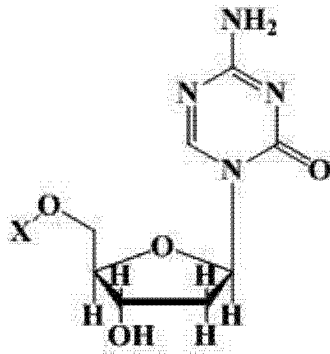
[0021] 地西他滨的 5'-O-氨基酸酯的具体合成方法按照以下通用路线进行：

[0022] 第一步：

[0023] 在 0° C 条件下,将 50mmol N-苄氧羰基氨基酸和 50mmol 二环己基碳二亚胺混合,搅拌 1h,用滴液漏斗逐渐滴加 11.8g (50mmol) 地西他滨和 5mmol N,N-4-二甲基氨基吡啶的 N,N-二甲基甲酰胺 (250ml) 溶液,滴加完毕后,缓慢升温到室温,继续反应 12 小时。反应结束后,抽滤,减压蒸去滤液中的 N,N-二甲基甲酰胺,残余物用乙酸乙酯溶解,然后依次用蒸馏水、

[0024] 饱和碳酸氢钠,饱和食盐水洗,收集乙酸乙酯层,过硫酸钠干燥柱,滤液和硅胶柱样,蒸干,固体经硅胶柱分离,乙酸乙酯和石油醚梯度洗脱,得到化合物 (III),结构如下：

[0025]



(III)

[0026] 其中 X 是 N- 苄氧羰基 - 氨基酸残基。N- 苄氧羰基 - 氨基酸优选以下几种：N- 苄氧羰基 - L- 缬氨酸、N- 苄氧羰基 - D- 缬氨酸、N- 苄氧羰基 - L- 异亮氨酸、N- 苄氧羰基 - L- 苯丙氨酸或 N- 苄氧羰基 - L- 色氨酸。

[0027] 第二步：

[0028] 将 10mmol 的 (III) 加入到 100ml 乙酸乙酯溶液中，搅拌条件下加入适量 5% 钯碳 (W/W) 作催化剂，在氢气条件下进行催化氢化，薄层板监测反应进程 40° C 反应 6 小时，待反应完全后，过滤，滤液减压蒸干得到化合物 (IV - VIII)。

[0029] 本发明制备的地西他滨 5' -O- 氨基酸酯类前药能够较好的提高地西他滨的膜渗透性和口服生物利用度。

附图说明

[0030] 图 1 为大鼠体内地西他滨及其 5' -O- 氨基酸酯类前药经时血药浓度图。

具体实施方式

[0031] 根据上述通用合成路线，分别制的实施例 1-5 的化合物 (见表 2)。

[0032] 实施例 1：

[0033] N- 苄氧羰基 - L- 缬氨酸与二环己基碳二亚胺反应，反应溶剂是无水四氢呋喃、二氯甲烷或 N, N-4- 二甲基甲酰胺，反应温度是 0°C 至 80°C，优选 0°C - 50°C，反应时间为 1 小时；将该反应液慢慢滴加到地西他滨和 N, N-4- 二甲基氨基吡啶的混合液中。加毕，继续反应 12 小时，温度为 0°C - 40°C，优选 10-30°C；将反应液冷却至室温，减压蒸去溶剂，残余物用乙酸乙酯或二氯甲烷提取，并依次用蒸馏水、饱和碳酸氢钠和饱和食盐水洗，收集有机层，过硫酸钠干燥柱，滤液蒸干后，在乙酸乙酯、二氯甲烷或异丙醇做溶剂下，加入 Pd/C 做催化剂，在氢气条件下进行催化氢化，反应时间为 6 小时，抽滤，减压蒸去滤液，即得化合物 (IV)。

[0034] 实施例 2：

[0035] N- 苄氧羰基 - D- 缬氨酸与二环己基碳二亚胺反应，反应溶剂是无水四氢呋喃、二氯甲烷或 N, N-4- 二甲基甲酰胺，反应温度是 0°C 至 80°C，优选 0°C - 50°C，反应时间为 1 小时；将该反应液慢慢滴加到地西他滨和 N, N-4- 二甲基氨基吡啶的混合液中。加毕，继续反应 12 小时，温度为 0°C - 40°C，优选 10-30°C；将反应液冷却至室温，减压蒸去溶剂，残余物用乙酸乙酯或二氯甲烷提取，并依次用蒸馏水、饱和碳酸氢钠和饱和食盐水洗，收集有机层，

过硫酸钠干燥柱,滤液蒸干后,在乙酸乙酯、二氯甲烷或异丙醇做溶剂下,加入 Pd/C 做催化剂,在氢气条件下进行催化氢化,反应时间为 6 小时,抽滤,减压蒸去滤液,即得化合物(V)。

[0036] 实施例 3:

[0037] N- 苄氧羰基 -L- 异亮氨酸与二环己基碳二亚胺反应,反应溶剂是无水四氢呋喃、二氯甲烷或 N,N-4- 二甲基甲酰胺,反应温度是 0℃ 至 80℃,优选 0℃ -50℃,反应时间为 1 小时;将该反应液慢慢滴加到地西他滨和 N,N-4- 二甲基氨基吡啶的混合液中。加毕,继续反应 12 小时,温度为 0℃ -40℃,优选 10-30℃;将反应液冷却至室温,减压蒸去溶剂,残余物用乙酸乙酯或二氯甲烷提取,并依次用蒸馏水、饱和碳酸氢钠和饱和食盐水洗,收集有机层,过硫酸钠干燥柱,滤液蒸干后,在乙酸乙酯、二氯甲烷或异丙醇做溶剂下,加入 Pd/C 做催化剂,在氢气条件下进行催化氢化,反应时间为 6 小时,抽滤,减压蒸去滤液,即得化合物(VI)。

[0038] 实施例 4:

[0039] N- 苄氧羰基 -L- 苯丙氨酸与二环己基碳二亚胺反应,反应溶剂是无水四氢呋喃、二氯甲烷或 N,N-4- 二甲基甲酰胺,反应温度是 0℃ 至 80℃,优选 0℃ -50℃,反应时间为 1 小时;将该反应液慢慢滴加到地西他滨和 N,N-4- 二甲基氨基吡啶的混合液中。加毕,继续反应 12 小时,温度为 0℃ -40℃,优选 10-30℃;将反应液冷却至室温,减压蒸去溶剂,残余物用乙酸乙酯或二氯甲烷提取,并依次用蒸馏水、饱和碳酸氢钠和饱和食盐水洗,收集有机层,过硫酸钠干燥柱,滤液蒸干后,在乙酸乙酯、二氯甲烷或异丙醇做溶剂下,加入 Pd/C 做催化剂,在氢气条件下进行催化氢化,反应时间为 6 小时,抽滤,减压蒸去滤液,即得化合物(VII)。

[0040] 实施例 5:

[0041] N- 苄氧羰基 -L- 色氨酸与二环己基碳二亚胺反应,反应溶剂是无水四氢呋喃、二氯甲烷或 N,N-4- 二甲基甲酰胺,反应温度是 0℃ 至 80℃,优选 0℃ -50℃,反应时间为 1 小时;将该反应液慢慢滴加到地西他滨和 N,N-4- 二甲基氨基吡啶的混合液中。加毕,继续反应 12 小时,温度为 0℃ -40℃,优选 10-30℃;将反应液冷却至室温,减压蒸去溶剂,残余物用乙酸乙酯

[0042] 或二氯甲烷提取,并依次用蒸馏水、饱和碳酸氢钠和饱和食盐水洗,收集有机层,过硫酸钠干燥柱,滤液蒸干后,在乙酸乙酯、二氯甲烷或异丙醇做溶剂下,加入 Pd/C 做催化剂,在氢气条件下进行催化氢化,反应时间为 6 小时,抽滤,减压蒸去滤液,即得化合物(VIII)。

[0043] 实例 6:

[0044] 利用大鼠在体小肠单灌流技术,选取 10cm 长的大鼠空肠,两端插管. 将地西他滨和化合物(IV)-(VIII)分别溶解在 Kreb-Ringer' s 营养液(pH=5.5),浓度是 0.05mM,以 0.2mL/min 灌流通过大鼠空肠,得到地西他滨和化合物(IV)-(VIII)在空肠的膜通透率。

[0045] 地西他滨和化合物(IV)-(VIII)的膜通透率

[0046]

化合物	小肠通透率 ($\times 10^{-6}$ cm/s)
地西他滨	1.3
IV	10.7
V	3.8
VI	8.9
VII	11.8
VIII	3.4

[0047] 实施例 7：

[0048] Sprague-Dawley 大鼠体内药物动力学研究

[0049] 给实验组和对照组 Sprague-Dawley 大鼠分别灌胃(II)即地西他滨、化合物(IV)即 5'-O-L-缬氨酰地西他滨和化合物(VII)即 5'-O-L-苯丙氨酰地西他滨(以地西他滨计均为 15mg/Kg)，测定大鼠血浆中地西他滨的浓度。同时给 Sprague-Dawley 大鼠尾静脉注射地西他滨生理盐水水溶液(15mg/Kg)。由表 1 和图 1 可得出，化合物IV和化合物VII与口服地西他滨相比生物利用度有明显提高，达到了预期设计目的。

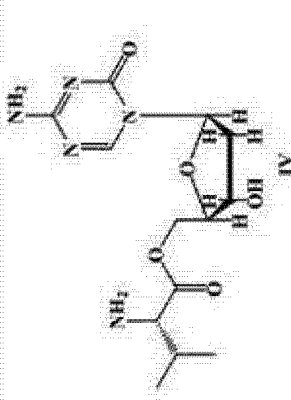
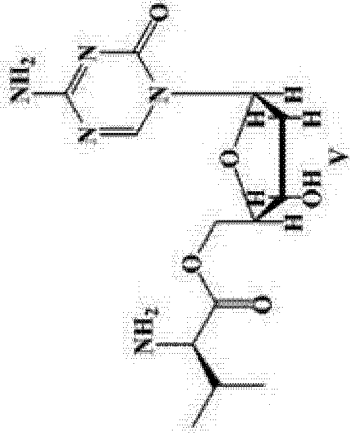
[0050] 表 1 分别口服(IV) (VII)和地西他滨后，大鼠体内地西他滨的药动力学参数(以地西他滨计 15mg/Kg)

[0051]

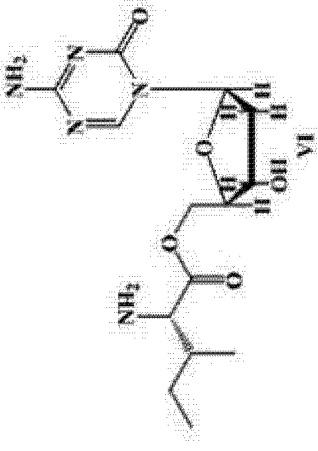
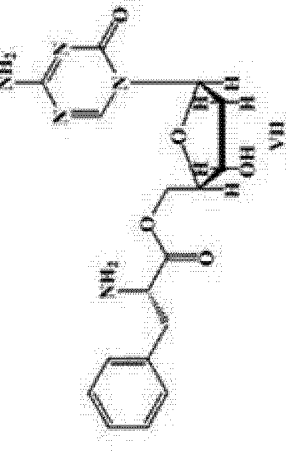
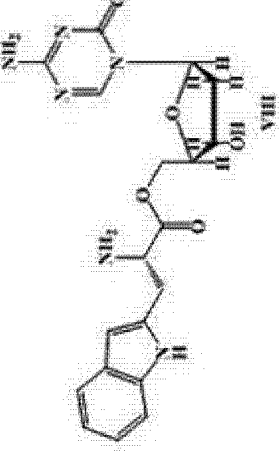
给药途径	AUC ₀₋₁ (ng/mL)	t _{1/2} (h)	Tmax (h)	C _{max} (ng /mL)	F (%)
化合物 (IV) (口服)	11690	3.8	0.833	2240	172%
化合物 (VII) (口服)	12678	7.2	1.5	2071	186%
地西他滨 (口服)	6817	2.8	1.79	1882	
地西他滨 (尾静脉注射, 5mg/Kg)	11684	3.6		2917	

[0052]

表2 地西他滨前体药物 1-5 的相关信息

实施例序号	氨基酸类型	化合物名称	结构式	¹ H NMR (DMSO-d ₆) δ (ppm)	熔点 (°C)	收率
1	N-苄氧羰基-L-缬氨酸	5'-O-L-缬氨酰地西他滨	 IV	8.29 (1H), 7.52 (2H), 6.03 (1H), 5.38 (1H), 4.24 (3H), 3.98 (1H), 3.13 (1H), 2.28 (1H), 2.22 (1H), 1.82 (1H), 0.85 (6H)	110~113	45%
2	N-苄氧羰基-D-缬氨酸	5'-O-D-缬氨酰地西他滨	 V	8.30 (1H), 7.53 (d 2H), 6.03 (1H), 5.39 (1H), 4.29 - 4.17 (3H), 3.97 (1H), 3.13 (1H), 2.29 (1H), 2.22 (1H), 1.82 (1H), 0.88 (3H), 0.83 (3H)	111~114	47%

[0053]

3	<p>N-苄氧 羰基-L- 异亮氨 酸</p>	<p>5'-O-L-异 亮氨酰地 西他滨</p>	 <p style="text-align: center;">VI</p>	<p>8.29 (1H), 7.53 (2H), 6.04 (1H), 5.25 (1H), 4.24 (3H), 4.04 - 3.94 (2H), 3.19 (1H), 2.29 (1H), 2.25 - 2.19 (1H), 1.57 (1H), 1.44 - 1.34 (1H), 0.84 - 0.79 (6H)</p>	<p>107-110</p> <p style="text-align: right;">49%</p>
4	<p>N-苄氧 羰基-L- 本丙氨 酸</p>	<p>5'-O-L-苯 丙氨酰地 西他滨</p>	 <p style="text-align: center;">VII</p>	<p>8.30 (1H), 7.55 (2H), 7.25 (, 2H), 7.22 - 7.12 (3H), 6.05 - 5.98 (1H), 5.35 (1H), 4.19 (2H), 4.11 (1H), 3.95 (1H), 3.60 (1H), 2.86 (1H), 2.78 (1H), 2.24 - 2.15 (2H)</p>	<p>115-118</p> <p style="text-align: right;">52%</p>
5	<p>N-苄氧 羰基-L- 色氨酸 酸</p>	<p>5'-O-L-色 氨酸酰地 西他滨</p>	 <p style="text-align: center;">VIII</p>	<p>10.82 (1H), 8.30 (1H), 7.55 (2H), 7.47 (1H), 7.32 (1H), 7.12 (1H), 7.04 (1H), 6.94 (1H), 5.01 (1H), 5.32 (1H), 4.19 (1H), 4.12 (1H), 4.05 (1H), 3.95 (1H), 3.64 (1H), 3.01 (1H), 2.93 (1H), 2.16 - 2.11 (1H), 2.08 (1H)</p>	<p>123-126</p> <p style="text-align: right;">55%</p>

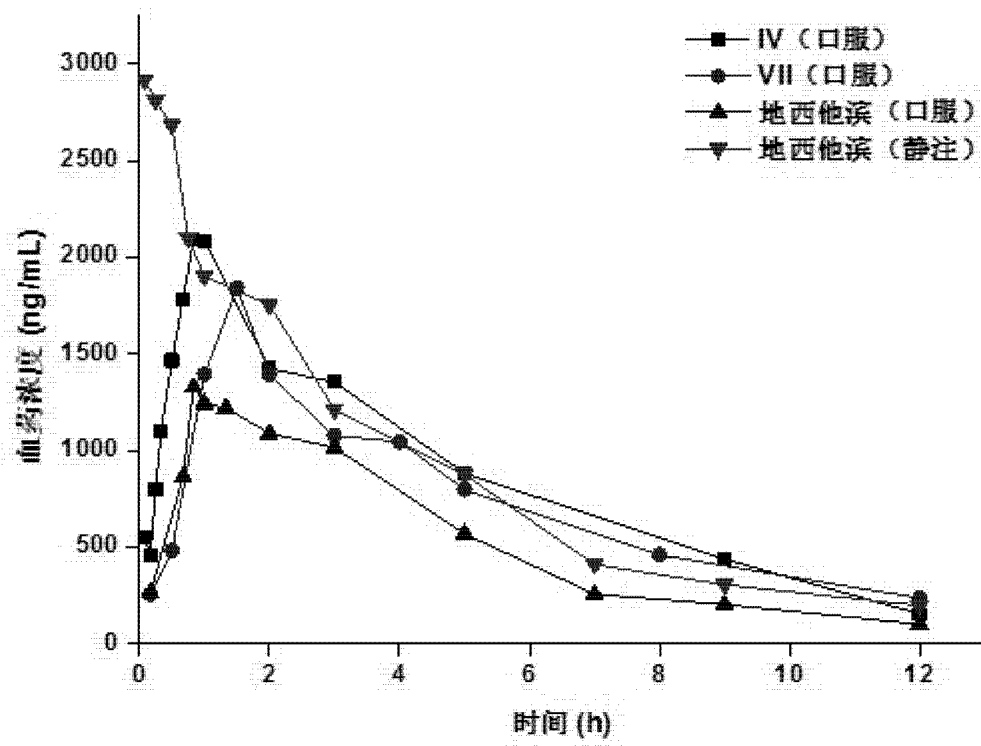


图 1