



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106928213 B

(45)授权公告日 2019.08.30

(21)申请号 201710141174.3

C07D 313/00(2006.01)

(22)申请日 2017.03.10

A61K 31/4245(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106928213 A

(56)对比文件

(43)申请公布日 2017.07.07

CN 105622607 A,2016.06.01,

CN 102850369 A,2013.01.02,

(73)专利权人 沈阳药科大学

CN 105294641 A,2016.02.03,

地址 110016 辽宁省沈阳市沈河区文化路
103号

CN 105153136 A,2015.12.16,

WO 9931084 A1,1999.06.24,

(72)发明人 李达翊 华会明 潘华奇 李占林
田康涛 李佳

Anadu, N O,等.Synthesis and

Anticancer Activity of Brefeldin A Ester

Derivatives.《Journal of Medicinal

Chemistry》.2006,第49卷(第13期),3897-3905.

(74)专利代理机构 沈阳杰克知识产权代理有限
公司 21207

审查员 刘冬

代理人 靳玲

(51)Int.Cl.

C07D 413/14(2006.01)

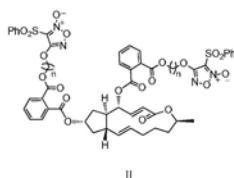
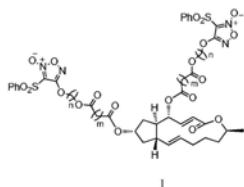
权利要求书2页 说明书9页

(54)发明名称

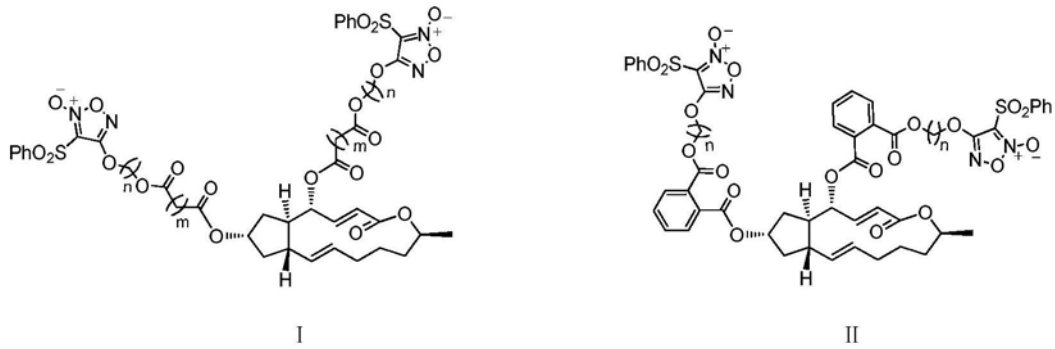
布雷菲德菌素A的4,7-位双呋咱NO供体取代
衍生物及其制备方法和用途

(57)摘要

本发明涉及药物化学领域,涉及布雷菲德菌
素A的4,7-位同时进行修饰的衍生物.具体涉及
4,7-位呋咱类NO供体取代的布雷菲德菌素A衍
生物及其制备方法和在制备抗肿瘤药物中的用途.
所述的布雷菲德菌素A衍生物如通式I或II所示,
其中,m、n分别为1-8的整数。



1. 如通式I或II所示的布雷菲德菌素A衍生物或其药学上可接受的盐:

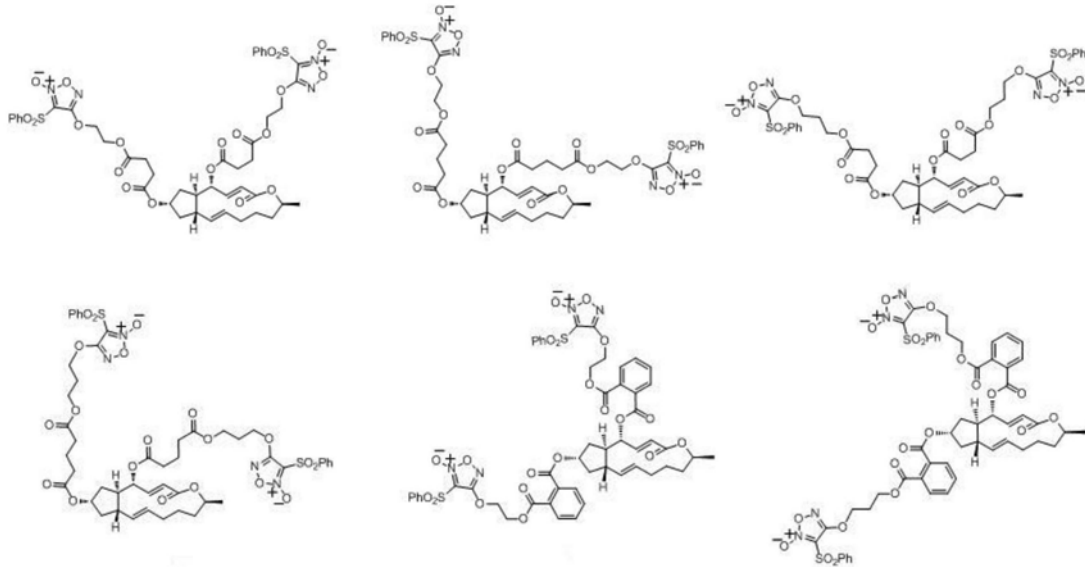


其中,m,n分别为1-4的整数。

2. 权利要求1所述的通式I或II所述的布雷菲德菌素A衍生物或其药学上可接受的盐:

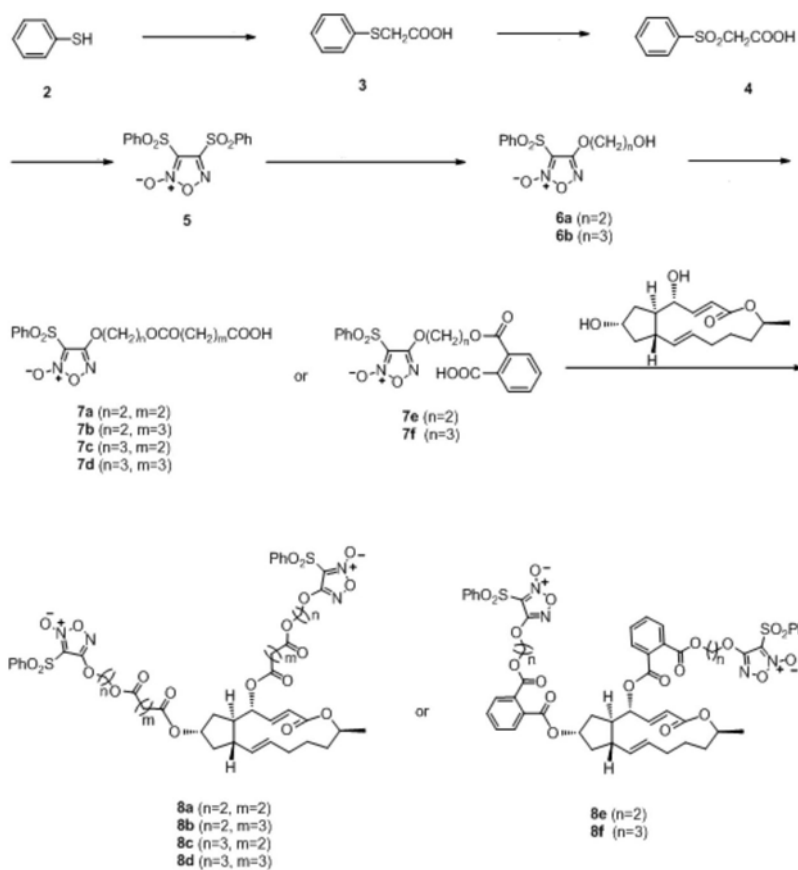
其中,m,n分别为2或3。

3. 权利要求1或2所述的布雷菲德菌素A衍生物或其药学上可接受的盐,选自:



4. 一种药物组合物,其中含有治疗有效量的权利要求1-3任何一项所述的衍生物或其药学上可接受的盐及药学上可接受的载体。

5. 如权利要求3所述的布雷菲德菌素A衍生物或其药学上可接受的盐的制备方法,其特征在于,将苯磺酐2与氯乙酸在碱性条件下反应得苯磺乙酸3,然后经30% H_2O_2 氧化生成苯磺酰乙酸4,化合物4在发烟 HNO_3 存在下加热环合成3,4-二苯磺酰基呋喃氮氧化物5,化合物5的4-位苯磺酰基被乙二醇或丙二醇取代生成单苯磺酰基呋喃氮氧化物类NO供体化合物6a和6b,化合物6a或6b再与丁二酸酐、戊二酸酐或邻苯二甲酸酐经DMAP,三乙胺催化反应得到NO供体7a-f,将布雷菲德菌素A与过量的呋喃NO供体7a-f在EDCI/DMAP条件下缩合得目标化合物8a-f,硅胶柱层析条件石油醚:乙酸乙酯为1:1至10:1;



6. 权利要求1-3任何一项所述的衍生物或其药学上可接受的盐在制备治疗肿瘤疾病的药物中的用途。

7. 权利要求4所述的药物组合物在制备治疗肿瘤的药物中的用途。

8. 如权利要求6或7所述的用途,其特征在於,所述的肿瘤为肝癌、结肠癌或前列腺癌。

布雷菲德菌素A的4,7-位双呔咱NO供体取代衍生物及其制备方法 和用途

技术领域

[0001] 本发明涉及药物化学领域,涉及布雷菲德菌素A-4,7位进行修饰的衍生物。具体涉及4,7-位双呔咱NO供体取代的布雷菲德菌素A衍生物及其制备方法和在制备抗肿瘤药物中的用途。

背景技术

[0002] 布雷菲德菌素A(brefeldin A)是一种大环内酯类抗生素,首次从Penicillium decumbens中分离得到。它具有广泛的生物学特性,其中包括抗肿瘤、抗病毒、抗真菌和抗有丝分裂活性等。美国国家肿瘤研究院(NCI)的检测数据显示,布雷菲德菌素A对60种肿瘤细胞系的平均GI₅₀为40nM。布雷菲德菌素A的作用机制与高尔基体的分解有密切联系,高尔基体可逆的分解导致蛋白质转运的中断,进而导致高尔基体蛋白质重新分布进入内质网。虽然它具有开发为肿瘤化疗药物的潜力,但是较低的水溶性、较差的生物利用度以及在动物研究中产生的神经毒性都限制了布雷菲德菌素在医药领域的应用。因此,开发一种保持生物活性、提高治疗特性和低毒的布雷菲德菌素A衍生物一直是医药开发领域的热点。

[0003] NO在肿瘤发生、发展和死亡中的作用已成为肿瘤生物学的研究热点之一。NO供体型抗肿瘤药物一般是指NO供体通过连接基团与现有的抗肿瘤药物(或活性基团)结合。呔咱氮氧化物是一类重要的NO供体,不诱导产生耐受性是其优点。

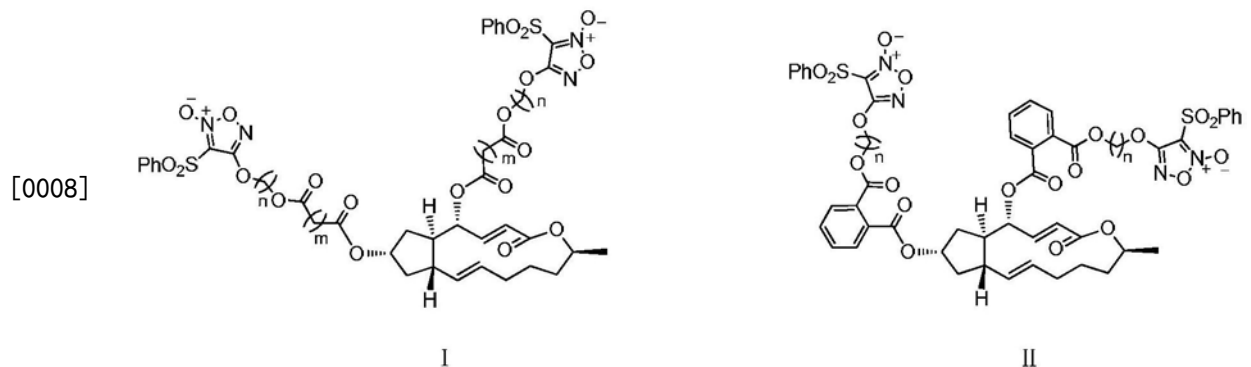
[0004] 本发明以布雷菲德菌素A为先导化合物,利用拼合原理,选择能够产生高浓度NO的呔咱氮氧化物作为NO供体,将其通过连接基团连接到其分子结构的4位和7位上,设计并合成了通式为I和II的NO供体型布雷菲德菌素A衍生物。

发明内容

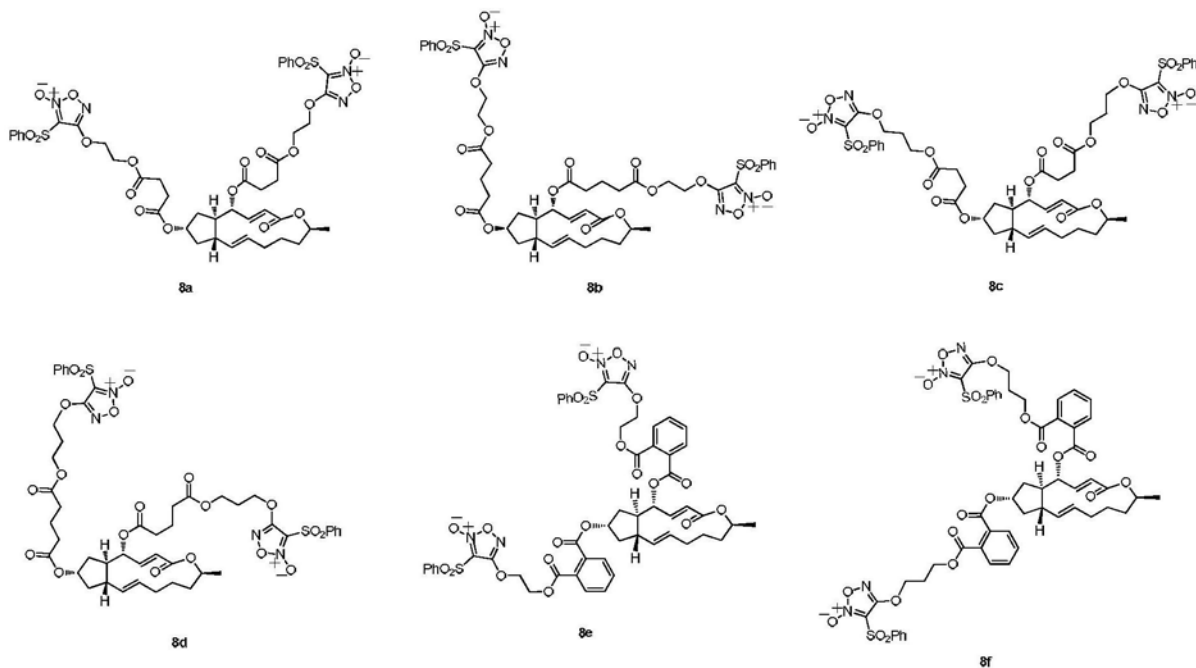
[0005] 本发明要解决的技术问题是寻找抗肿瘤活性好的NO供体型布雷菲德菌素A衍生物,并进一步提供一种以该衍生物作为活性成分的治疗肿瘤及其它疾病或病症的药物组合物。

[0006] 为解决上述技术问题,本发明提供如下技术方案:

[0007] 通式I或II所示呔咱NO供体型布雷菲德菌素A衍生物或其药学上可接受的盐:

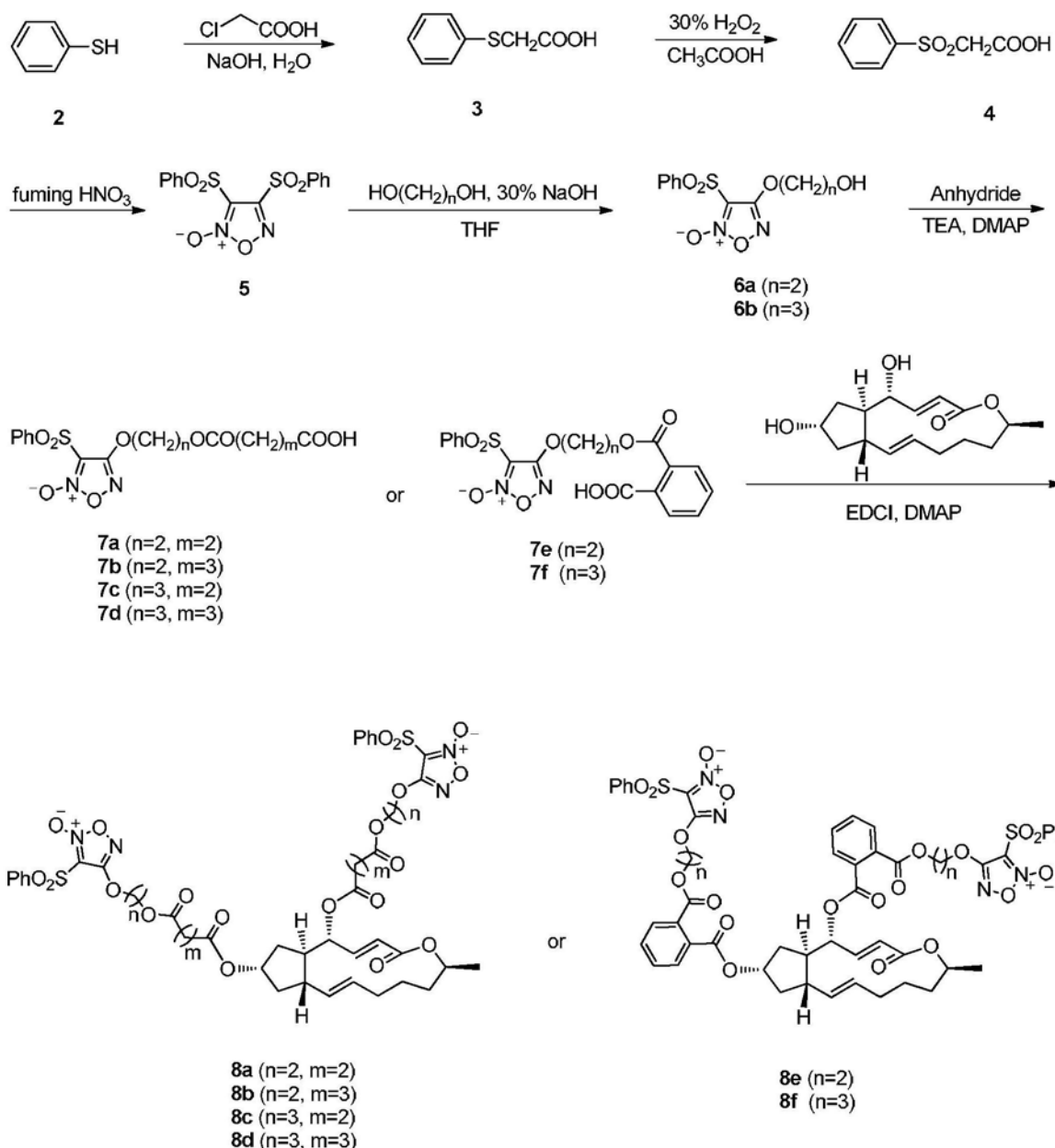


- [0009] 其中,m、n分别为1-8的整数。
 [0010] 优选地,m、n分别为1-4的整数;
 [0011] 更优选地,m、n分别为2或3。
 [0012] 本发明所述化合物优选为如下化合物:
 [0013]



- [0014] 本发明通式I或II的衍生物可用下列方法制备得到:

[0015]



[0016] 将苯硫酚(2)与氯乙酸在碱性条件下反应得苯硫乙酸(3),然后经30% H_2O_2 氧化生成苯磺酰乙酸(4)。化合物4在发烟 HNO_3 存在下加热环合成3,4-二苯磺酰基咪唑氮氧化物(5)。化合物5的4-位苯磺酰基被乙二醇或丙二醇取代生成单苯磺酰基咪唑氮氧化物类N0供体化合物6a和6b。化合物6a或6b再与丁二酸酐、戊二酸酐或邻苯二甲酸酐经DMAP,三乙胺催化反应得到N0供体7a-f。将布雷菲德菌素A与过量的咪唑N0供体7a-f在EDCI/DMAP条件下缩合得目标化合物8a-f,柱层析(石油醚:乙酸乙酯为1:1至10:1)得到单体化合物。

具体实施方式

[0017] 实验设备与试剂

仪器 超净工作台(苏净集团安泰公司)

[0018]

恒温培养箱(Thermo electron Corporation)

- 酶标仪 (BIO-RAD 公司)
- 倒置生物显微镜(重庆光学仪器厂)
- 试剂 细胞培养基 RPMI-1640、F12、MEM、DMEM (高糖)(GIBCO 公司)
- [0019] 胎牛血清(杭州四季清有限公司)
- 四甲基偶氮唑蓝(MTT)(Sigma 公司产品)
- DMSO(Sigma 公司)
- 细胞株 人肝癌细胞株 HepG-2、人结肠癌细胞株 HT-29、人前列腺癌细胞株 PC-3、人肝癌细胞株 Bel-7402
- [0020] 实验方法
- [0021] 细胞抑制活性实验方法
- [0022] 细胞在37℃、5%CO₂饱和湿度的培养箱中常规培养。培养液为含10%热灭活胎牛血清,青霉素100U/mL和链霉素100U/mL的RPMI1640细胞培养基。48h更换培养液,细胞贴壁后,用0.25%胰蛋白酶消化传代。实验用细胞均处于对数生长期,台盼蓝拒染法表明细胞活力>95%。
- [0023] 取处于对数生长期状态良好的细胞一瓶,加入消化液(0.125%胰蛋白酶+0.01% EDTA)消化,计数2~4×10⁴cell/mL,制成细胞悬液接种于96孔板上,180μL/孔,置恒温CO₂培养箱中培养24小时。换液,加入受试药物,20μL/孔,培养72小时。将MTT加入96孔板中,20μL/孔,培养箱中孵育4小时。吸去上清液,加DMSO,150μL/孔,平板摇床上震荡10分钟。用酶联免疫检测仪在波长为570nm处测定每孔的吸光度,分别计算各浓度下的细胞抑制率。
- [0024] 抑制率计算方法:
- [0025] 细胞抑制率 =
$$\frac{\text{阴性对照孔相对 OD 值} - \text{药敏孔相对 OD 值}}{\text{阴性对照孔相对 OD 值}} \times 100\%$$
- [0026] 药敏孔相对OD值 = 药敏孔绝对OD值 - 空白对照孔绝对OD值
- [0027] 实验结果
- [0028] 表1实施例对3种人类癌细胞株抗增殖活性的IC₅₀值 (nM)
- [0029]

样品	PC-3	HT-29	HepG-2	Bel-7402
实施例 1	56±2	217±13	510±18	9±1

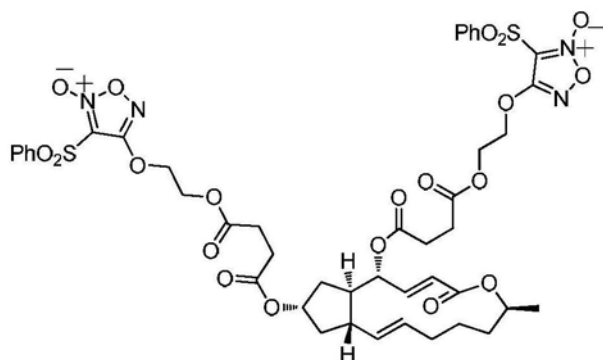
[0030]

实施例 2	25 ± 1	162 ± 12	178 ± 10	18 ± 1
实施例 3	118 ± 8	1244 ± 50	842 ± 41	13 ± 1
实施例 4	83 ± 8	623 ± 30	384 ± 22	27 ± 2
实施例 5	125 ± 7	229 ± 10	552 ± 29	29 ± 2
实施例 6	1260 ± 94	4387 ± 276	4029 ± 252	23 ± 1

[0031] 药理试验证明,本发明的部分布雷菲德菌素A衍生物具有更好的抗肿瘤作用,可以用于进一步制备抗肿瘤药物。

[0032] 实施例1

[0033]

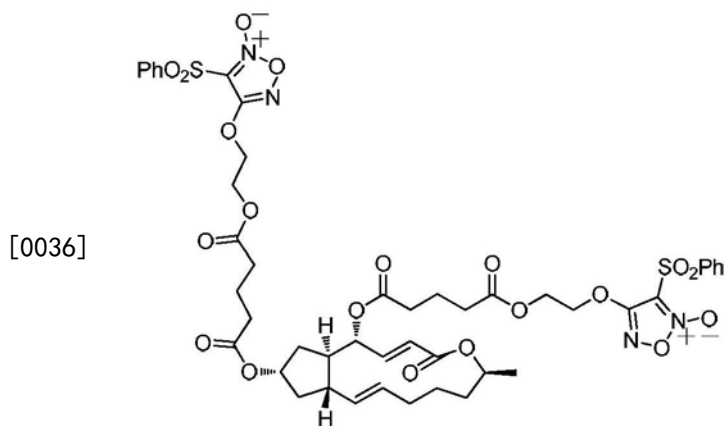


8a

[0034] 将60g NaOH与480mL H₂O配成的溶液倒入反应瓶中,取苯硫酚(75mL,0.63mol),而后加入氯乙酸(78g,0.825mol),反应液中有大量白色沉淀析出。加入6N HCl,得白色固体苯硫乙酸(3)。将3(20g,0.12mol)溶于90mL冰乙酸中,加入24.3mL 30% H₂O₂,室温搅拌。待反应完全,加入发烟HNO₃ 48mL。升温反应,4h后,有白色针状晶体析出,过滤,干燥得3,4-二苯磺酰基咪唑氮氧化物(5)。将乙二醇(0.56mL,10mmol)和5(1g,2.7mmol)溶于10mL THF中,滴入30% NaOH水溶液(0.5mL,3mmol),反应2h。倾入20mL H₂O中,用EtOAc(3×20mL)萃取,有机层合并后加饱和食盐水洗一次,用无水硫酸钠干燥、过滤、滤液浓缩、重结晶,得白色固体化合物6a。将化合物6a(202mg,0.71mmol)溶于10mL二氯甲烷中,加入丁二酸酐(111mg,1.11mmol)。依次加入催化量的DMAP,三乙胺0.3mL,室温搅拌1h。待反应结束后,无水硫酸钠干燥、过滤、滤液浓缩,硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯=1:1),得到白色粉末状固体7a。将化合物7a溶于10mL无水二氯甲烷中,加入布雷菲德菌素A(81mg,0.29mmol),EDCI(112mg,0.58mmol),催化量的DMAP,室温搅拌12h。TLC监测反应,待反应完全或不继续进行,停止反应。有机相用饱和食盐水洗,再用无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩,硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯=2:1),得到白色粉末状固体8a,产率70.9%:mp.60-65°C;¹H-NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 7.72~8.02(10H,m,Ar-H),7.22(1H,dd,J=15.84Hz and 3.12Hz,C₃-H),5.75(1H,m,C₁₁-H),5.64(1H,dd,J=15.74Hz and 1.88Hz,C₂-H),5.27(1H,d,J=9.64Hz,C₁₀-H),5.18(1H,dd,J=15.04Hz and 9.64Hz,C₄-H),5.00(1H,m,C₇-H),4.72(1H,m,C₁₅-H),4.37~4.60(8H,t,J=4.41Hz,2OCH₂CH₂O),2.55~2.76(8H,m,2COCH₂CH₂CO),0.72~2.54(15H,m,C₅,2C₆,2C₈,C₉,2C₁₂,2C₁₃,2C₁₄-H,CH₃);¹³C-NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 171.87,171.83,171.39,170.93,

164.87, 158.68, 158.68, 148.02, 137.22, 137.20, 136.11, 136.09, 135.76, 130.66, 129.97, 129.97, 129.97, 129.97, 128.33, 128.33, 128.33, 128.33, 117.24, 110.46, 110.44, 76.09, 75.06, 71.25, 69.21, 69.21, 61.59, 61.46, 49.14, 49.14, 42.43, 40.06, 37.38, 33.38, 31.29, 28.78, 28.57, 28.47, 26.26, 20.56; HR-MS (ESI, M+Na) m/z: calcd for $C_{44}H_{48}N_4O_{20}S_2$: 1039.2196, found 1039.2197.

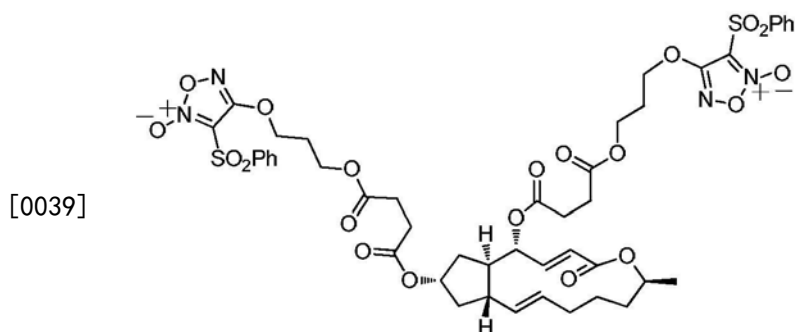
[0035] 实施例2



8b

[0037] 参照实施例1的合成方法。黄色油状物,产率13.4%; 1H -NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 7.72~8.02 (10H, m, Ar-H), 7.23 (1H, dd, $J=15.70$ Hz and 3.29Hz, C_3 -H), 5.73 (1H, m, C_{11} -H), 5.60 (1H, dd, $J=15.80$ Hz and 1.69Hz, C_2 -H), 5.28 (1H, m, C_{10} -H), 5.16 (1H, dd, $J=15.14$ Hz and 9.75Hz, C_4 -H), 5.01 (1H, m, C_7 -H), 4.73 (1H, m, C_{15} -H), 4.43~4.62 (8H, m, $20CH_2CH_2O$), 2.39~2.63 (8H, m, $2COCH_2CH_2CH_2CO$), 0.73~2.34 (19H, m, $C_5, 2C_6, 2C_8, C_9, 2C_{12}, 2C_{13}, 2C_{14}$ -H, $2COCH_2CH_2CH_2CO, CH_3$); ^{13}C -NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 172.83, 172.29, 172.05, 171.56, 164.86, 158.69, 158.69, 148.34, 137.21, 136.13, 136.13, 136.10, 135.78, 130.68, 129.97, 129.97, 129.97, 129.97, 128.31, 128.31, 128.31, 128.31, 117.13, 110.46, 110.46, 75.76, 74.74, 71.26, 69.33, 69.33, 61.28, 61.24, 51.28, 42.43, 42.40, 37.43, 33.40, 32.71, 32.66, 32.40, 32.28, 31.27, 26.26, 20.57, 19.82, 19.77; HR-MS (ESI, M+Na) m/z: calcd for $C_{46}H_{52}N_4O_{20}S_2$: 1067.2509, found 1067.2510.

[0038] 实施例3

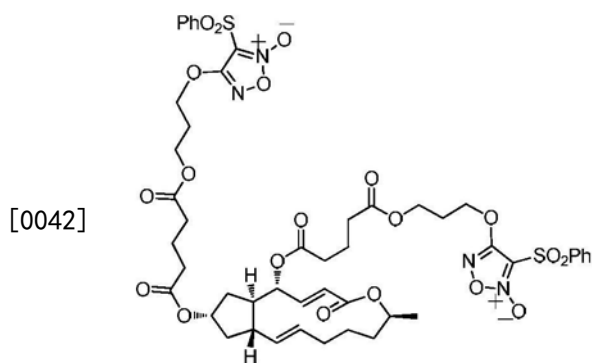


8c

[0040] 参照实施例1的合成方法。黄色油状物,产率8.7%; 1H -NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 7.71~8.01 (10H, m, Ar-H), 7.22 (1H, dd, $J=15.86$ Hz and 3.25Hz, C_3 -H), 5.74 (1H, m, C_{11} -H),

5.63 (1H, dd, $J=15.80\text{Hz}$ and 1.67Hz , $C_2\text{-H}$), 5.25 (1H, m, $C_{10}\text{-H}$), 5.18 (1H, dd, $J=15.04\text{Hz}$ and 9.74Hz , $C_4\text{-H}$), 4.94 (1H, m, $C_7\text{-H}$), 4.71 (1H, m, $C_{15}\text{-H}$), 4.15~4.45 (8H, t, $J=6.13\text{Hz}$, $20\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.52~2.70 (8H, m, $2\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 0.72~2.52 (19H, m, $C_5, 2C_6, 2C_8, C_9, 2C_{12}, 2C_{13}, 2C_{14}\text{-H}, 20\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}, \text{CH}_3$); $^{13}\text{C}\text{-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 172.36, 172.36, 171.83, 171.40, 165.26, 159.15, 159.15, 148.45, 137.53, 137.50, 136.50, 136.50, 136.16, 131.03, 130.37, 130.37, 130.37, 130.37, 128.72, 128.72, 128.72, 128.72, 117.60, 110.88, 110.88, 76.43, 75.42, 71.62, 68.62, 68.56, 60.90, 60.73, 49.57, 42.80, 40.42, 37.78, 33.76, 31.67, 29.22, 28.98, 28.90, 28.90, 27.75, 27.75, 26.64, 20.93; HR-MS (ESI, $\text{M}+\text{Na}$) m/z : calcd for $\text{C}_{46}\text{H}_{52}\text{N}_4\text{O}_{20}\text{S}_2$:1067.2509, found 1067.2456.

[0041] 实施例4

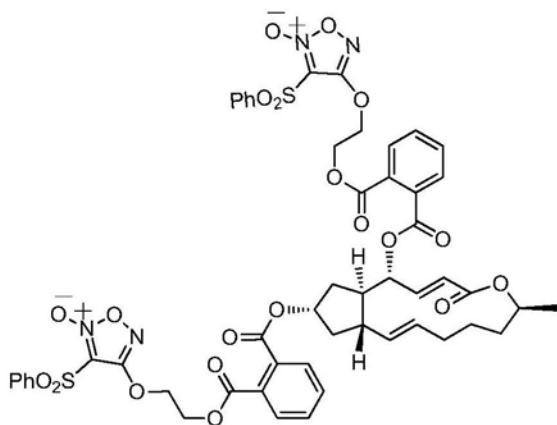


8d

[0043] 参照实施例1的合成方法。黄色油状物,产率19.3%; $^1\text{H}\text{-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 7.70~7.99 (10H, m, Ar-H), 7.21 (1H, dd, $J=15.79\text{Hz}$ and 3.33Hz , $C_3\text{-H}$), 5.72 (1H, m, $C_{11}\text{-H}$), 5.56 (1H, dd, $J=15.86\text{Hz}$ and 1.80Hz , $C_2\text{-H}$), 5.26 (1H, m, $C_{10}\text{-H}$), 5.15 (1H, dd, $J=15.22\text{Hz}$ and 9.77Hz , $C_4\text{-H}$), 4.99 (1H, m, $C_7\text{-H}$), 4.69 (1H, m, $C_{15}\text{-H}$), 4.10~4.44 (8H, m, $20\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.30~2.48 (8H, m, $2\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 0.70~2.65 (23H, m, $C_5, 2C_6, 2C_8, C_9, 2C_{12}, 2C_{13}, 2C_{14}\text{-H}, 20\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}, 2\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}, \text{CH}_3$); $^{13}\text{C}\text{-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 172.79, 172.76, 172.37, 171.92, 165.21, 159.15, 159.15, 148.68, 137.56, 137.56, 136.49, 136.49, 136.13, 131.07, 130.36, 130.36, 130.36, 130.36, 128.70, 128.70, 128.70, 128.70, 117.52, 110.86, 110.86, 76.15, 75.13, 71.62, 68.60, 68.60, 60.60, 60.57, 55.27, 49.60, 42.82, 37.80, 33.77, 33.10, 32.81, 32.81, 32.70, 31.67, 27.75, 27.75, 26.63, 20.93, 20.21, 20.21; HR-MS (ESI, $\text{M}+\text{Na}$) m/z : calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_{20}\text{S}_2$:1095.2822, found 1095.2771.

[0044] 实施例5

[0045]

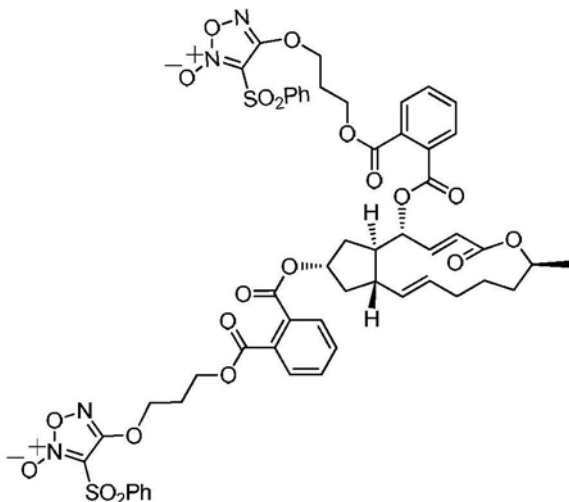


8e

[0046] 参照实施例1的合成方法。白色粉末状固体,产率27.3%:mp. 50-54°C; $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 7.51~7.92 (18H, m, Ar-H), 7.25 (1H, dd, $J=15.83\text{Hz}$ and 3.49Hz , $\text{C}_3\text{-H}$), 5.75 (1H, m, $\text{C}_{11}\text{-H}$), 5.58 (1H, dd, $J=15.84\text{Hz}$ and 1.59Hz , $\text{C}_2\text{-H}$), 5.51 (1H, m, $\text{C}_{10}\text{-H}$), 5.24 (1H, m, $\text{C}_4\text{-H}$), 5.16 (1H, dd, $J=14.98\text{Hz}$ and 9.81Hz , $\text{C}_7\text{-H}$), 4.71 (1H, m, $\text{C}_{15}\text{-H}$), 4.63 (8H, m, $20\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 0.73~2.32 (15H, m, $\text{C}_5, 2\text{C}_6, 2\text{C}_8, \text{C}_9, 2\text{C}_{12}, 2\text{C}_{13}, 2\text{C}_{14}\text{-H}, \text{CH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 167.05, 167.02, 166.54, 165.79, 165.10, 159.06, 159.02, 147.84, 137.54, 137.54, 136.36, 136.29, 135.90, 132.45, 132.32, 132.20, 132.01, 131.92, 131.81, 131.54, 131.26, 131.06, 130.17, 130.17, 130.09, 130.09, 129.37, 129.33, 129.29, 129.15, 128.62, 128.62, 128.56, 128.56, 117.96, 110.82, 110.74, 77.83, 76.91, 71.68, 69.41, 69.31, 62.99, 62.92, 49.73, 42.99, 40.43, 37.77, 33.81, 31.67, 26.49, 20.87; HR-MS (ESI, M+Na) m/z : calcd for $\text{C}_{52}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_{20}\text{S}_2$: 1135.2196, found 1135.2176.

[0047] 实施例6

[0048]



8f

[0049] 参照实施例1的合成方法。黄色油状物,产率8.4%: $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 7.69~7.99 (18H, m, Ar-H), 7.28 (1H, dd, $J=15.84\text{Hz}$ and 3.60Hz , $\text{C}_3\text{-H}$), 5.77 (1H, m, $\text{C}_{11}\text{-H}$), 5.69 (1H, dd, $J=15.82\text{Hz}$ and 1.67Hz , $\text{C}_2\text{-H}$), 5.50 (1H, m, $\text{C}_{10}\text{-H}$), 5.21 (2H, m, $\text{C}_4\text{-H}, \text{C}_7\text{-H}$), 4.74 (1H, m, $\text{C}_{15}\text{-H}$), 4.34~4.44 (8H, m, $20\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 0.74~2.32 (19H, m, $\text{C}_5, 2\text{C}_6, 2\text{C}_8, \text{C}_9$,

$2C_{12}, 2C_{13}, 2C_{14-H}, 2OCH_2CH_2CH_2O, CH_3$; ^{13}C -NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 167.36, 167.25, 166.63, 165.77, 165.16, 159.16, 159.14, 147.91, 137.50, 137.49, 136.48, 136.48, 135.95, 132.49, 132.34, 132.09, 131.97, 131.97, 131.91, 131.79, 131.26, 130.66, 130.33, 130.33, 130.33, 130.33, 129.34, 129.20, 129.11, 129.04, 128.70, 128.70, 128.70, 128.70, 118.06, 110.89, 110.89, 76.90, 71.71, 71.52, 68.53, 67.78, 62.11, 61.87, 49.83, 43.01, 40.44, 40.44, 38.45, 30.17, 28.74, 27.58, 23.62, 22.77; HR-MS (ESI, M+Na) m/z: calcd for $C_{54}H_{52}N_4O_{20}S_2$: 1163.2509, found 1163.2464.