

[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 200910085964. X

[51] Int. Cl.

C07D 221/06 (2006.01)

C07D 221/18 (2006.01)

A61K 31/473 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 11 月 11 日

[11] 公开号 CN 101575315A

[22] 申请日 2009.6.9

[21] 申请号 200910085964. X

[71] 申请人 北京大学

地址 100191 北京市海淀区学院路 38 号北京大学医学部

[72] 发明人 李中军 孟祥豹 钟文和

[74] 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司

代理人 牛利民

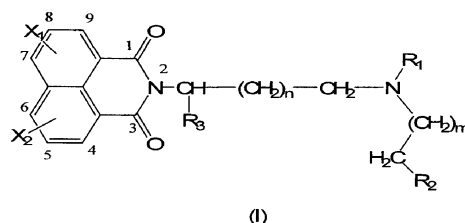
权利要求书 7 页 说明书 28 页

[54] 发明名称

一种新的萘酰亚胺衍生物及其制备方法和用途

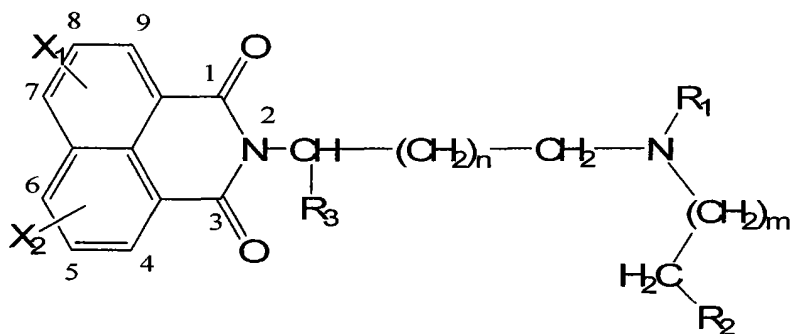
[57] 摘要

本发明公开了一种新的萘酰亚胺衍生物，即式 (I) 化合物，其具有抗肿瘤活性，各个基团的定义详见说明书。此外，本发明还公开了该衍生物的制备方法以及含有该衍生物的药物组合物。



(I)

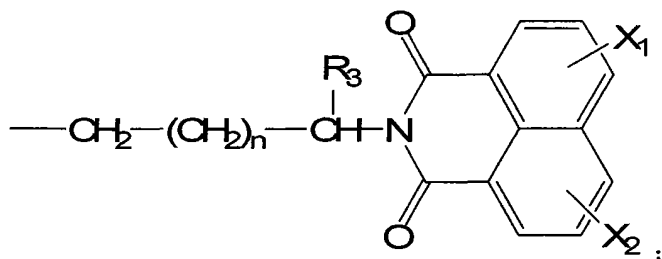
1. 式 (I) 化合物, 或其药学上可接受的酸盐或溶剂化物:



(I)

其中, X_1 和 X_2 各自独立地选自氢、硝基、氨基、卤素、或 C1-C4 烷基氧基, 而且, X_1 在 7、8、或 9 位上; X_2 在 4、5、或 6 位上;

R_1 选自氢、C1-C4 烷基或者下式:



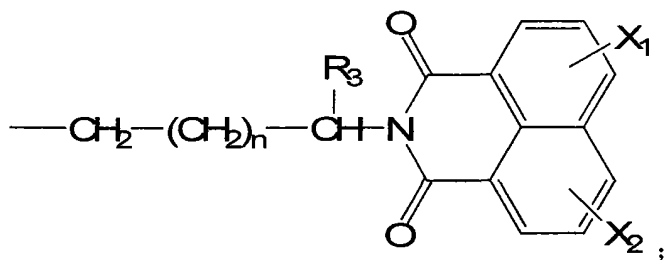
R_2 选自羟基、二乙醇胺基、二氯乙胺基, 或者卤素原子;

R_3 选自氢、或 C1-C4 的烷基;

m 为 0 至 4 的整数; n 为 1 到 4 的整数。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中, X_1 和 X_2 各自独立地选自氢、硝基或氨基; 而且, X_1 在 8 位上; X_2 在 5 位上;

R_1 选自氢、甲基或下式:

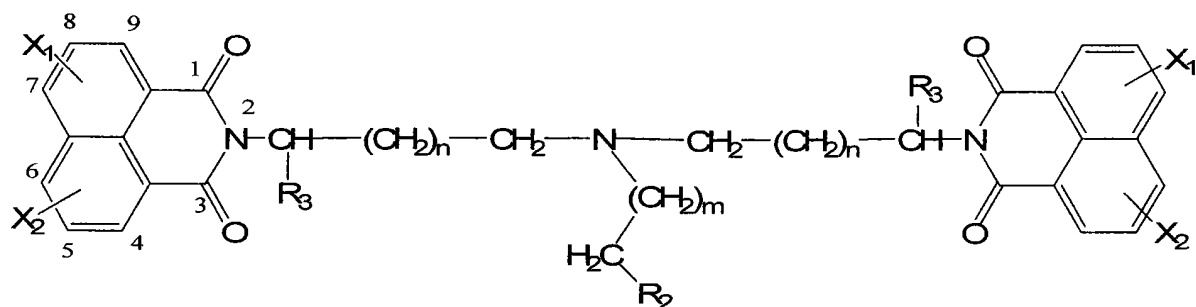


R_2 选自羟基、二乙醇胺基、二氯乙胺基、氯原子、或溴原子；

R_3 选自氢或甲基；

m 为 0、1、或 2； n 为 1、或 2。

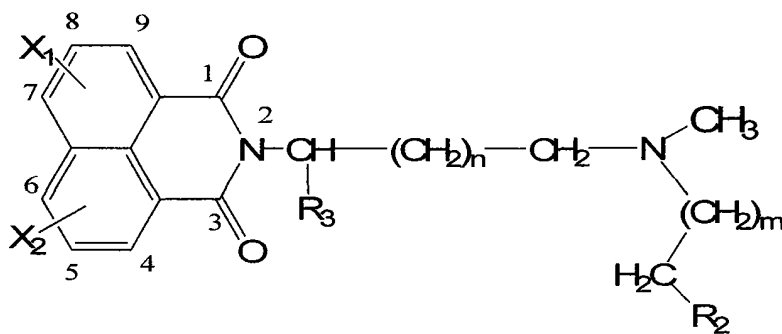
3. 式 (II) 化合物：



(II)

其中，取代基 X_1 、 X_2 、 R_3 和 R_2 ，以及 m 和 n 的定义如权利要求 1 或 2 中式 (I) 所定义的。

4. 式 (III) 化合物：



(III)

其中，取代基 X_1 、 X_2 、 R_3 和 R_2 的定义，以及 m 和 n 的定义如权利要求 1 或 2 中式 (I) 所定义的。

5. 一种下列化合物，或其药学上可接受的酸盐或溶剂化物：

N, N - 双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- 乙醇胺；

N, N - 双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- 3-氨基-1-丙醇；

N, N-双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N',N'-双(2-羟乙基)-乙二胺;

N, N-双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N',N'-双(2-羟乙基)-1,3-二胺;

N, N-双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N',N'-双(2-氯乙基)-乙二胺;

N, N-双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N',N'-双(2-氯乙基)-1,3-二胺;

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- 乙醇胺;

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- 3-氨基-1-丙醇;

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N-甲基-乙醇胺;

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N-甲基-3-氨基-1-丙醇;

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N-甲基-2-氯乙胺;

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N-甲基-3-氯丙烷-1-胺;

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N-甲基-N',N'-双(2-羟乙基)-乙二胺;

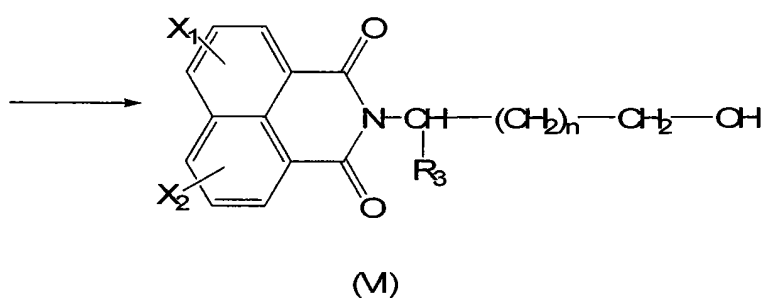
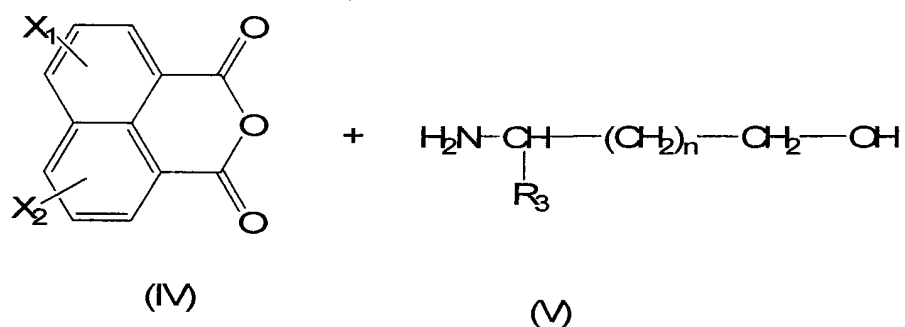
N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N-甲基-N',N'-双(2-羟乙基)-1,3-二胺;

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N-甲基-N',N'-双(2-氯乙基)-乙二胺;

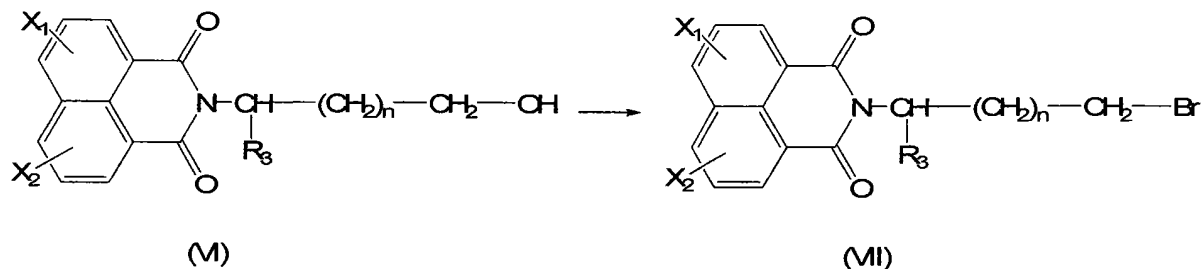
或 N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N-甲基-N',N'-双(2-氯乙基)-1,3-二胺。

6. 权利要求 1 至 5 中任一权利要求所述化合物的制备方法, 包括下列步骤:

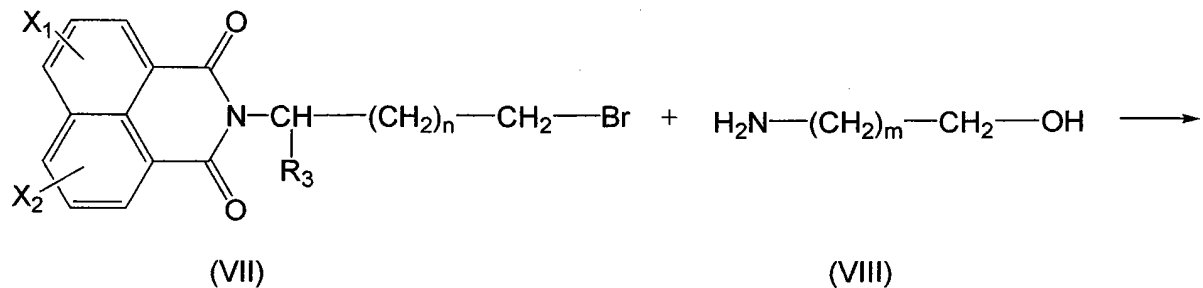
(1) 以萘二甲酸酐式 (IV) 化合物为起始原料, 与醇胺式 (V) 化合物反应, 得到式 (VI) 化合物;

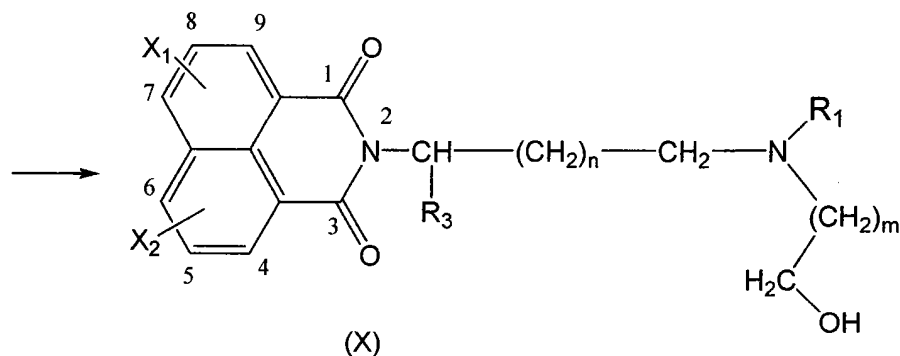
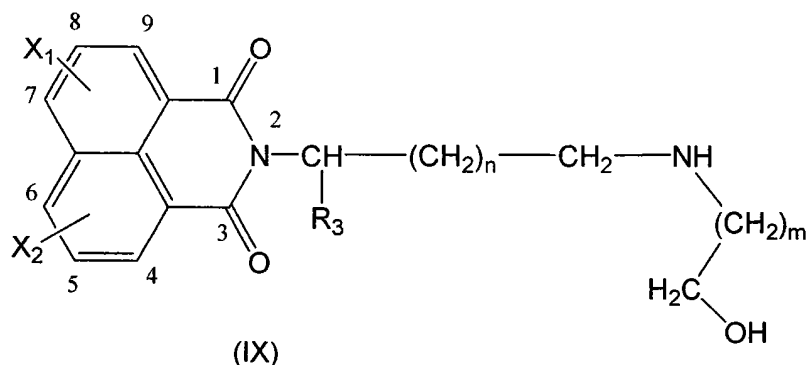


(2) 式 (VI) 与溴化试剂反应, 得到式 (VII) 化合物;



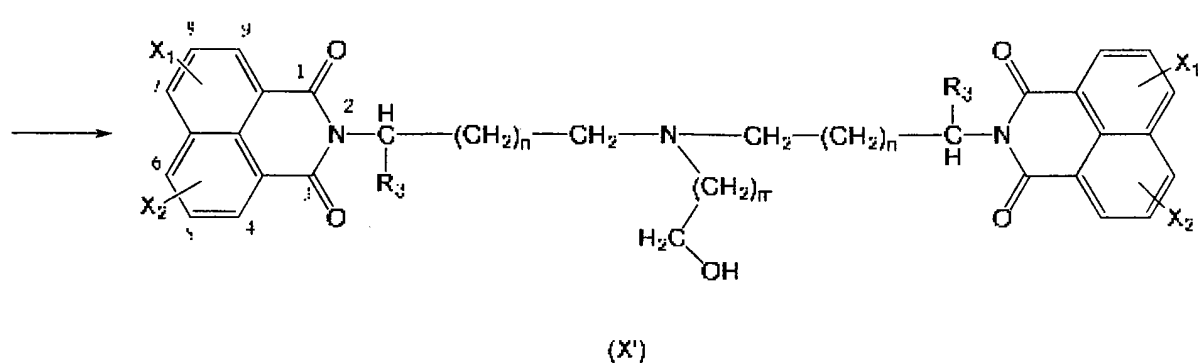
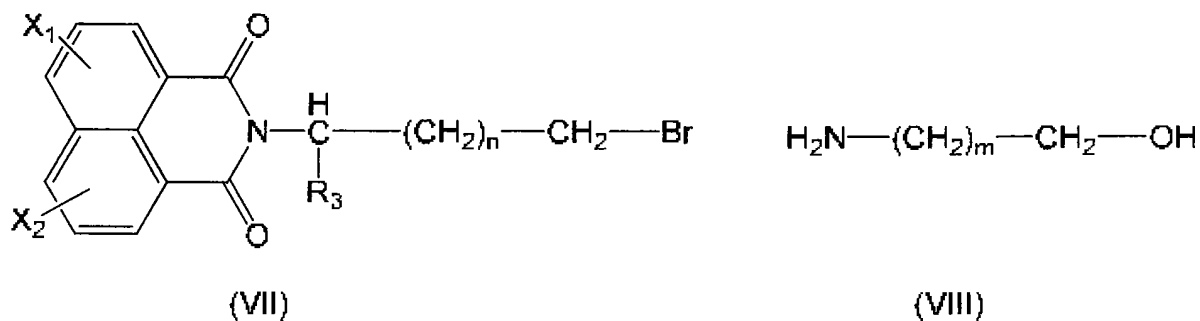
(3) 一当量式 (VII) 化合物与醇胺式 (VIII) 化合物反应, 得到式 (IX) 化合物; 式 (IX) 化合物与醛还原胺化, 得到式 (X) 化合物;



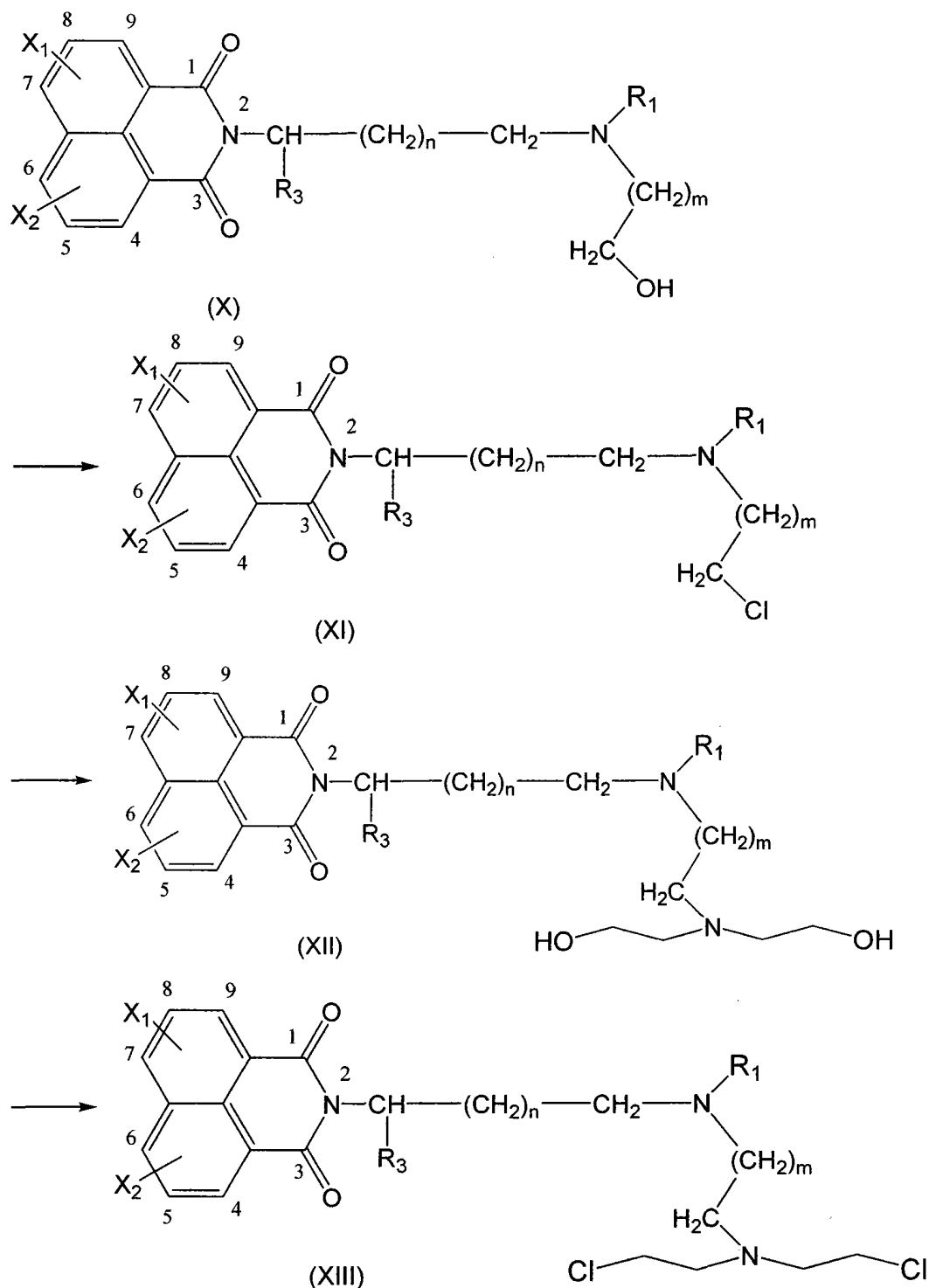


或者，二当量式 (VII) 化合物与醇胺式 (VIII) 化合物反应得到式 (X')

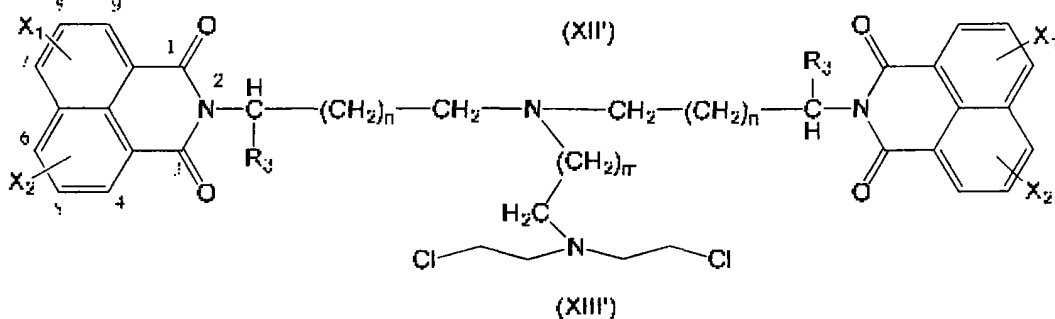
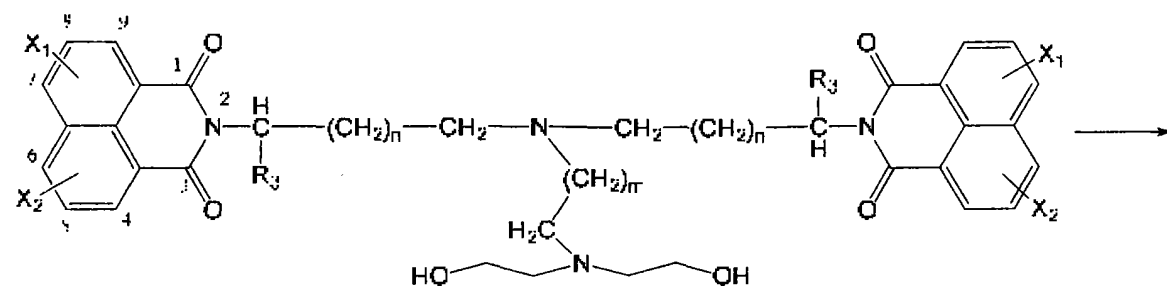
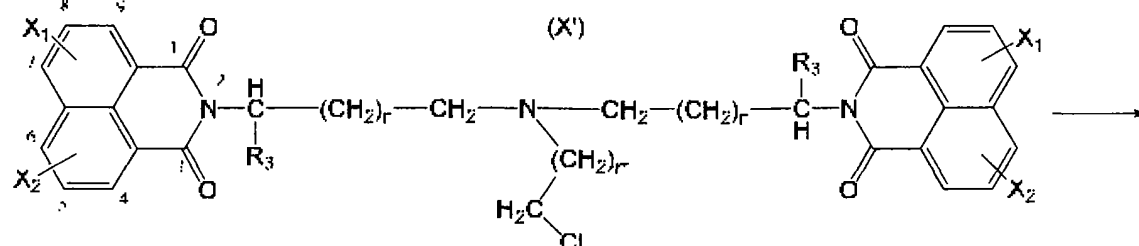
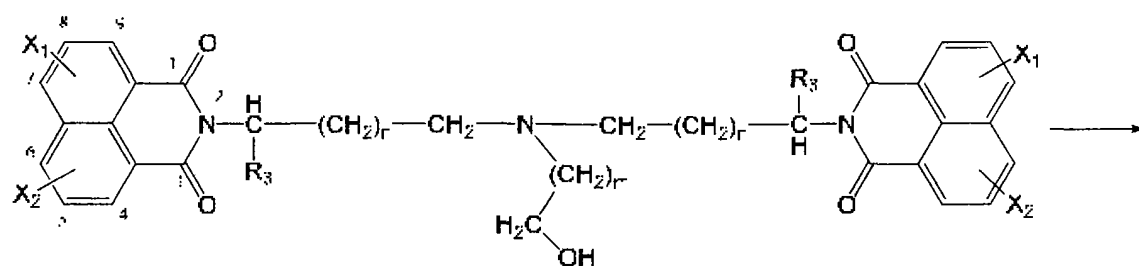
化合物；



任选地，式 (X) 与氯代试剂反应得到式 (XI) 化合物；然后，式 (XI) 化合物与二乙醇胺反应得到式 (XII) 化合物；最后，式 (XII) 化合物再与氯代试剂反应得到式 (XIII) 化合物；



或者, 式 (X') 与氯代试剂反应得到式 (XI') 化合物; 然后, 式 (XI') 化合物与二乙醇胺反应得到式 (XII') 化合物; 最后, 式 (XII') 化合物再与氯代试剂反应得到式 (XIII') 化合物;



这里，在上述各化合物中的取代基 X_1 、 X_2 、 R_3 和 R_1 ，以及 m 和 n 如权利要求 1 至 5 中所定义的。

7. 根据权利要求 6 所述的方法，其中，所述的溴化试剂为 N-溴代琥珀酰亚胺；所述的氯代试剂为二氯亚砷。

8. 根据权利要求 6 所述的方法，其中所述的醛为甲醛。

9. 一种包含权利要求 1 至 5 中任一权利要求所述化合物的药物组合物。

10. 权利要求 1 至 5 中任一权利要求所述化合物、权利要求 9 所述药物组合物在制备抗肿瘤药物中的应用。

一种新的萘酰亚胺衍生物及其制备方法和用途

技术领域

本发明涉及药物化学领域，更具体地说，涉及一种新的萘酰亚胺衍生物及其制备方法和用途。

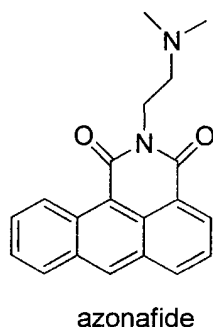
背景技术

西班牙的 Brana 等于 1973 年首次报道 3-硝基的萘酰亚胺类化合物能够强烈抑制人类宫颈癌 Hela 细胞和 KB 细胞的生长，并能抑制 DNA 和 RNA 的合成。

随后，该类化合物的改造集中在萘酰亚胺母体环和酰亚胺侧链的改造；QSAR 关系研究表明，侧链必须含有 N 原子，对细胞毒性至关重要；并且当萘环上有氨基或硝基取代时，活性要相对较高。其中，两个有名的化合物 amonafide 和 mitonafide 已进入临床 II 期。[Rosell R., Carles J., Abad A., et al., *Invest. New Drugs*, 1992, 10, 171-175.], [Llombat M., Poveda A., Former E., et al., *Invest. New Drugs*, 1992, 10, 177-181.], [Diaz-Rubio E., Martin M., Lopez-Vega J.M., et al., *Invest. New Drugs*, 1994, 12, 277-281.], [Malviya V.K., Liu P.Y., Alberts D.S., et al., *Am. J. Clin. Oncol.*, 1992, 15, 41-44.], [Ratiain M. J., Mick R., Berezin F., et al., *Cancer Res.*, 1993, 53, 2304-2308.], [Allen S L, Budman D. R., Fusco D., et al., *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 1994, 35, 225-240.]

根据嵌插剂与 DNA 的分子力学作用原理，主要是嵌插剂的发色团与

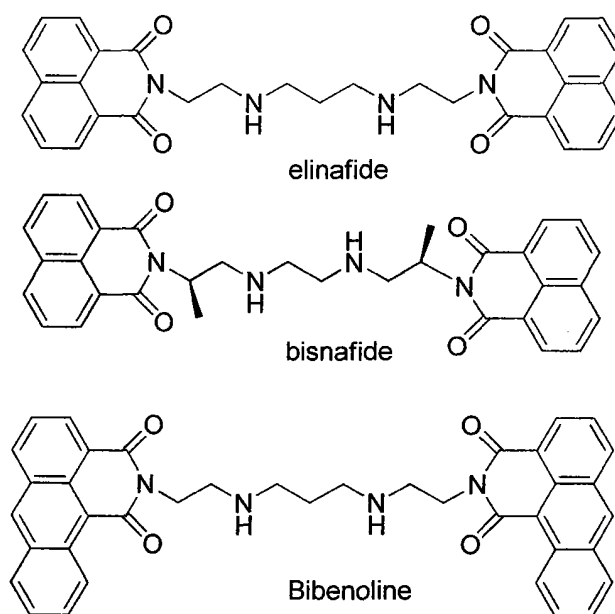
DNA 碱基对之间通过 π -堆积力相互作用，当发色团的共轭平面越大，越有利于与碱基的结合；Remers 等于 1993 年提出了更有效的结构改造方法：用蒽环代替了原来的萘环，具有更大的共轭平面，衍生出新的抗肿瘤化合物 azonafide，其抗肿瘤活性明显高于 amonafide。[Sami S. M., Dorr R. T., Solyom A. M., et al., *J. Med. Chem.*, 1993, 36, 765-770.], [Sami S. M., Dorr R. T., Solyom A. M., et al., *J. Med. Chem.*, 1995, 38, 983-993.]



azonafide 的结构

为了增强萘酰亚胺类化合物的抗肿瘤活性，另外一种改造方法是将两个单萘酰亚胺母体通过氨基长链的“手臂”连接起来，得到对称或不对称的双萘酰亚胺嵌插剂。双萘酰亚胺的典型例子是 Elinafide，其抗肿瘤活性要比单萘酰亚胺高很多。[Brana M. F., Castellano M., Moran M.J., et al., *Anti-Cancer Drug Des.*, 1993, 8, 257-268.], [Brana M. F., Castellano M., Moran M.J., et al., *Anti-Cancer Drug Des.*, 1996, 11, 297-309.]

另外一个著名的双萘酰亚胺类化合物是由 Dupont Merck 公司开发的 DMP-840 (bisnafide)，该化合物与 Elinafide 具有相似的抗肿瘤谱，目前已进入临床 II 期。同样，以 Azonafide 为母体结构的双萘酰亚胺化合物 Bibenoline，其对入结肠癌细胞 (HT-29) 的活性 (IC_{50} 为 4 nM) 远远好于 Azonafide (IC_{50} 为 140 nM)，也好于 Elinafide (IC_{50} 为 17 nM)。



几种萘酰亚胺双嵌插剂结构

总之，萘酰亚胺类化合物良好的抗肿瘤作用、明确的作用靶点和抗多药耐药的作用，使其成为很有发展前景的抗肿瘤药物；因而设计合成新的萘酰亚胺类衍生物并探究其抗肿瘤活性，对发展新抗肿瘤药具有重要意义。

发明内容

本发明采用萘二甲酸酐和醇胺为主要原料，通过醇胺延长胺链和引入各种衍生化基团，从而制备一系列具有抗肿瘤活性的萘酰亚胺类衍生物。

本发明的目的是提供新的萘酰亚胺衍生物。

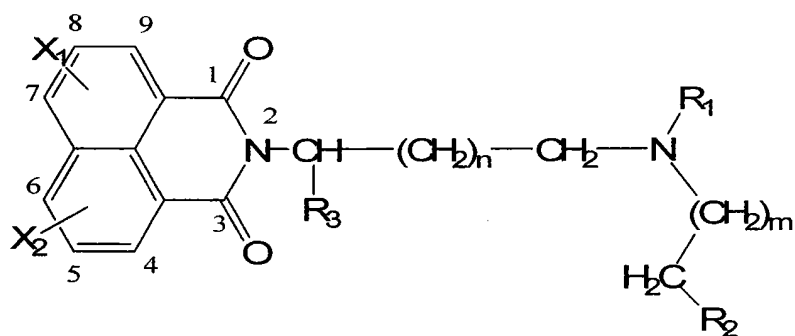
本发明的另一个目的是提供上述衍生物的制备方法。

本发明的另一个目的是提供上述衍生物的运用。

本发明的再一个目的是提供含有上述衍生物的药物组合物。

本发明是通过如下技术方案而实施：

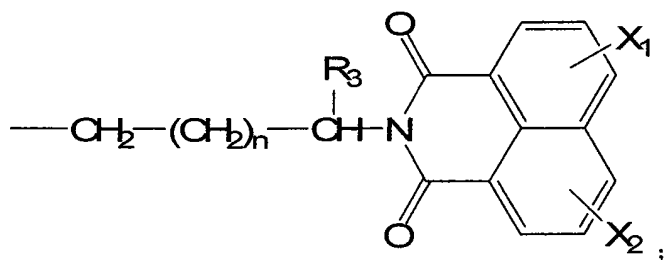
一方面，本发明提供了新的萘酰亚胺衍生物，即式(I)化合物，或其药学上可接受的酸盐或溶剂化物：



(I)

其中, X_1 和 X_2 各自独立地选自氢、硝基、氨基、卤素(如氟、氯、溴或碘)、或 C1-C4 烷氧基, 优选地, 各自独立地氢、硝基或氨基; 而且, X_1 在 7、8、或 9 位上, 优选地在 8 位上; X_2 在 4、5、或 6 位上, 优选地在 5 位上;

R_1 选自氢、C1-C4 烷基或者下式, 更优选地为, 氢、甲基或下式:



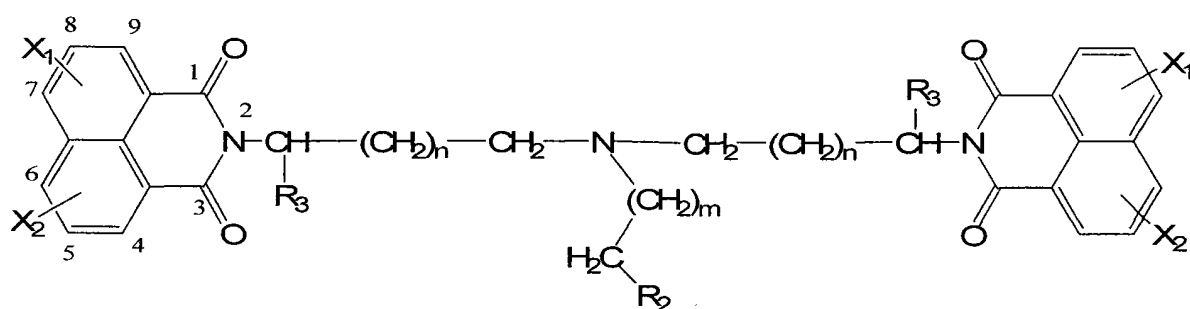
R_2 选自羟基、二乙醇胺基、二氯乙胺基, 或者卤素原子, 优选地氯原子, 溴原子;

R_3 选自氢、或 C1-C4 的烷基, 优选地, 为氢或甲基, 更优选地为氢;

m 为 0 至 4 的整数, 优选地为 0、1、或 2; n 为 1 到 4 的整数, 优选地为 1、或 2。

在本发明所提供的新的萘酰亚胺衍生物中, 所述的药学上可接受的酸盐选自无机酸盐或有机酸盐; 所述的无机酸盐选自氢卤酸盐(如盐酸盐、氢溴酸盐、或氢碘酸盐等)、硫酸盐、硫酸氢盐、或磷酸盐等, 优选地为盐酸盐; 所述的有机酸盐选自甲磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、枸橼酸盐、或苹果酸盐等。所述溶剂化物, 可选自水合物等。

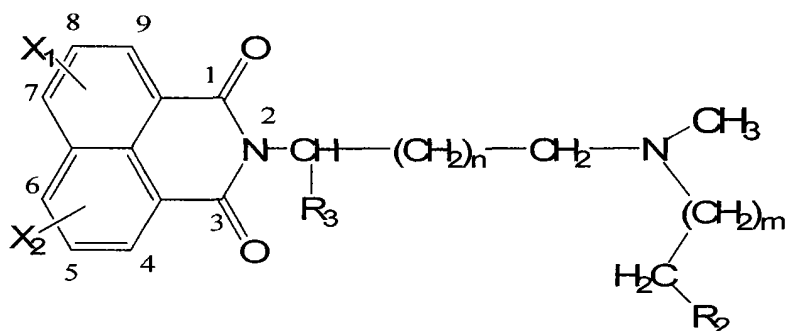
优选地, 本发明提供了式 (II) 化合物:



(II)

其中，取代基 X_1 、 X_2 、 R_3 和 R_2 ，以及 m 和 n 的定义如式 (I) 中所定义的。

优选地，本发明提供了式 (III) 化合物：



(III)

其中，取代基 X_1 、 X_2 、 R_3 和 R_2 的定义，以及 m 和 n 的定义如式 (I) 中所定义的。

特别优选地，本发明提供了下列化合物：

N, N - 双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- 乙醇胺(化合物 3a)；

N, N - 双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- 3-氨基-1-丙醇 (化合物 3b)；

N, N - 双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N',N'-双(2-羟乙基)- 乙二胺(化合物 5a)；

N, N - 双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N',N'-双(2-羟乙基)-1,3-二胺 (化合物 5b)；

N, N-双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N',N'-双(2-氯乙基)-乙二胺(化合物 6a);

N, N-双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N',N'-双(2-氯乙基)-1,3-二胺(化合物 6b);

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-乙醇胺(化合物 7a);

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-3-氨基-1-丙醇(化合物 7b);

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N-甲基-乙醇胺(化合物 8a);

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N-甲基-3-氨基-1-丙醇(化合物 8b);

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N-甲基-2-氯乙胺(化合物 9a);

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N-甲基-3-氯丙烷-1-胺(化合物 9b);

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N-甲基-N',N'-双(2-羟乙基)-乙二胺(化合物 10a);

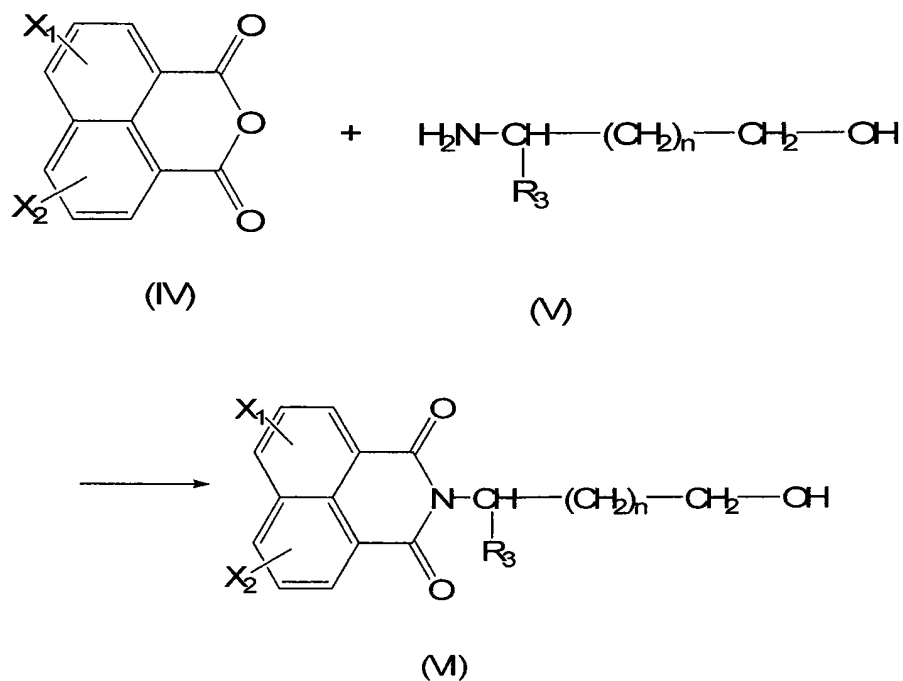
N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N-甲基-N',N'-双(2-羟乙基)-1,3-二胺(化合物 10b);

N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N-甲基-N',N'-双(2-氯乙基)-乙二胺(化合物 11a);

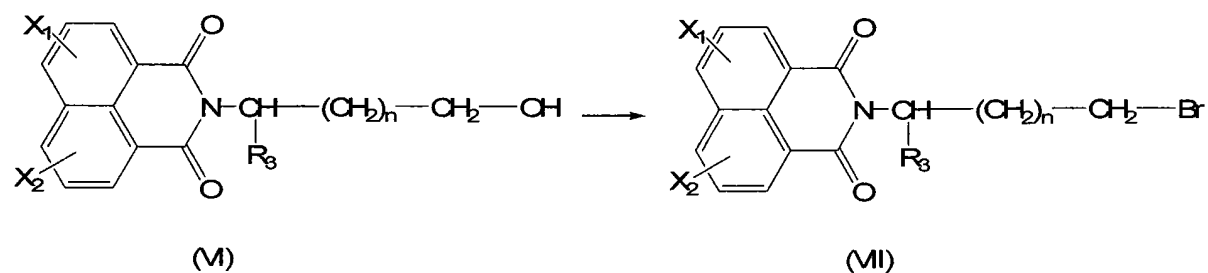
或 N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N-甲基-N',N'-双(2-氯乙基)-1,3-二胺(化合物 11b)。

此外,本发明还提供了上述化合物的制备方法,其包括如下步骤:

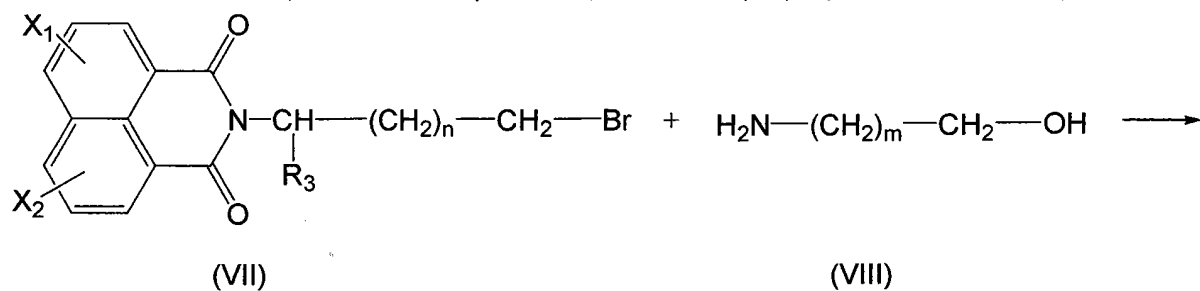
(1) 以萘二甲酸酐式(IV)化合物为起始原料,与醇胺式(V)化合物反应,得到式(VI)化合物;

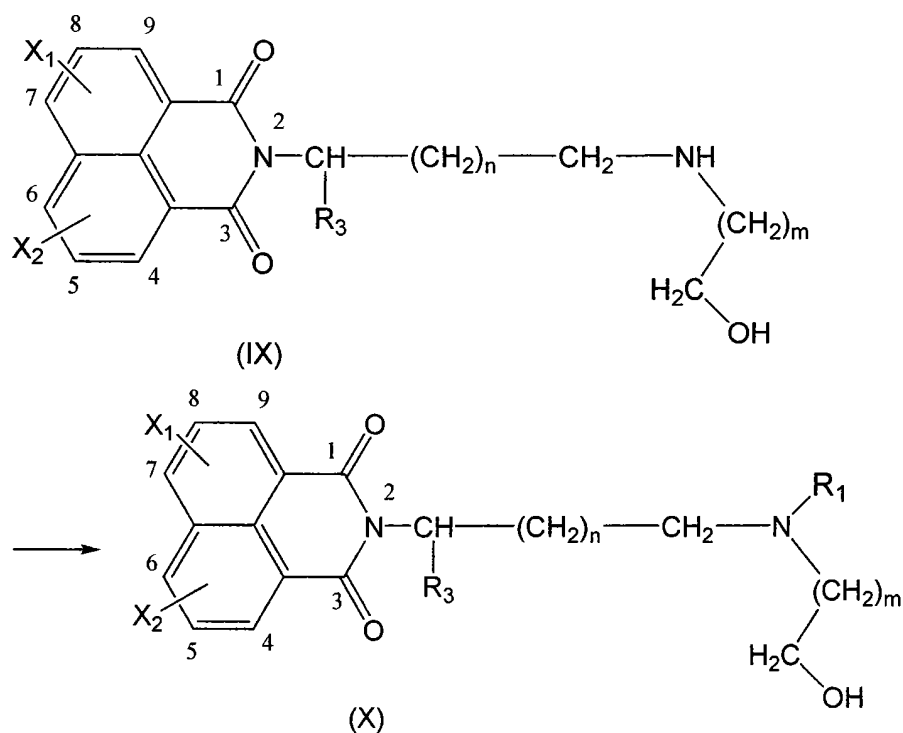


(2) 式 (VI) 与溴化试剂 (如 N-溴代琥珀酰亚胺, NBS) 反应, 得到式 (VII) 化合物;

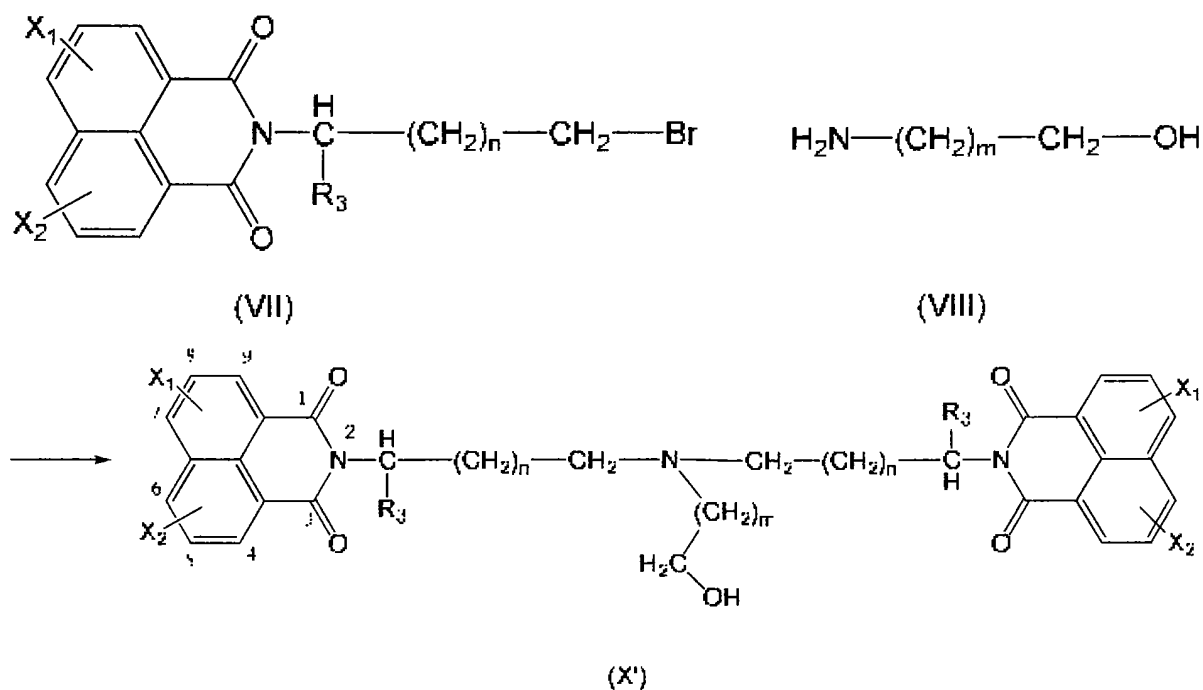


(3) 式 (VII) 与醇胺式 (VIII) 反应, 得到式 (IX) 化合物; 式 (IX) 化合物与醛 (如甲醛、乙醛等) 还原胺化, 得到式 (X) 化合物;

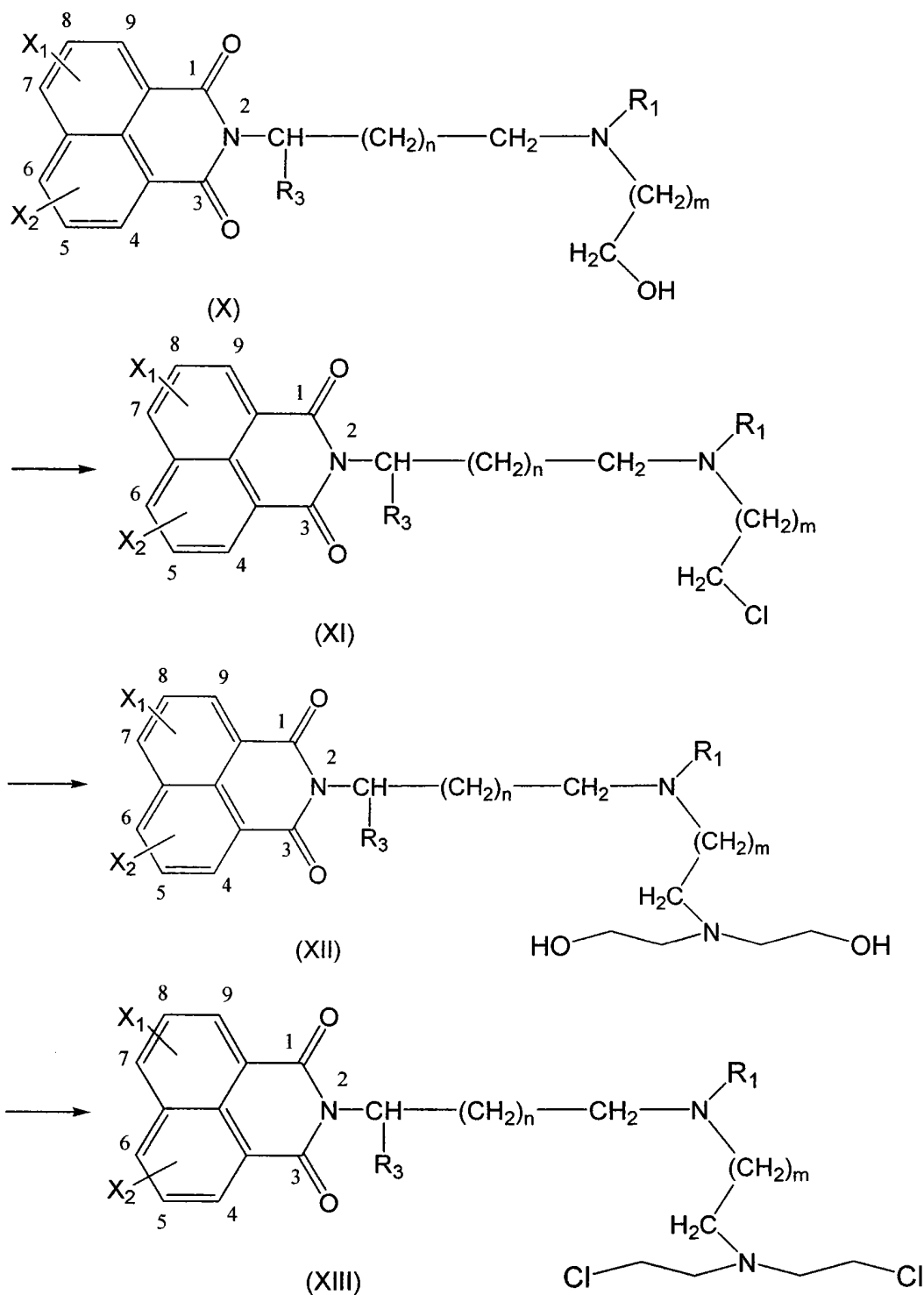




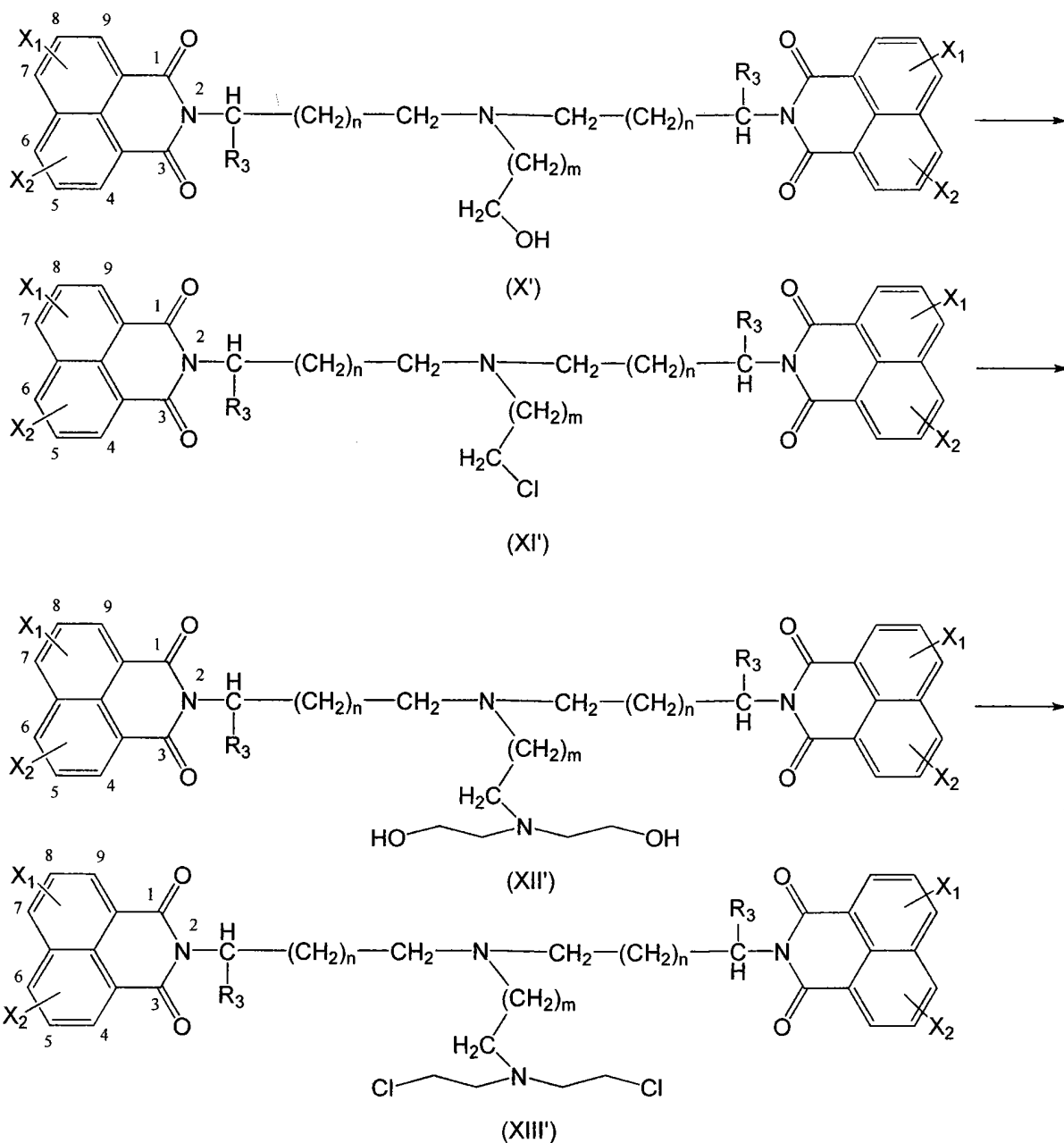
或者，二当量式 (VII) 化合物与醇胺式 (VIII) 化合物反应得到式 (X') 化合物；



任选地，式 (X) 与氯代试剂（如二氯亚砷）反应得到式 (XI) 化合物；然后，式 (XI) 化合物与二乙醇胺反应得到式 (XII) 化合物；最后，式 (XII) 化合物再与氯代试剂（如二氯亚砷）反应得到式 (XIII) 化合物；

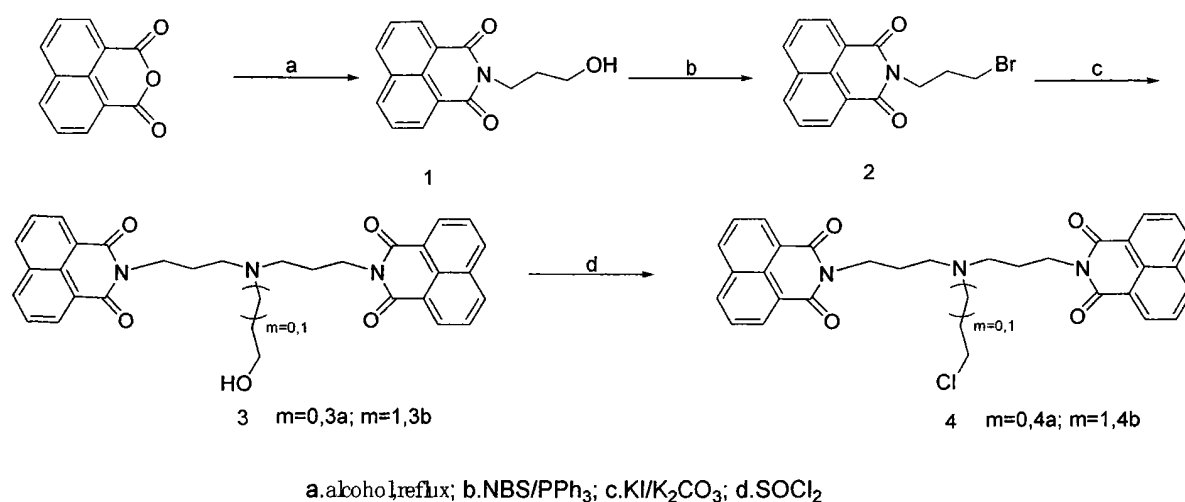


或者，式 (X') 与氯代试剂（如二氯亚砷）反应得到式 (XI') 化合物；然后，式 (XI') 化合物与二乙醇胺反应得到式 (XII') 化合物；最后，式 (XII') 化合物再与氯代试剂（如二氯亚砷）反应得到式 (XIII') 化合物；

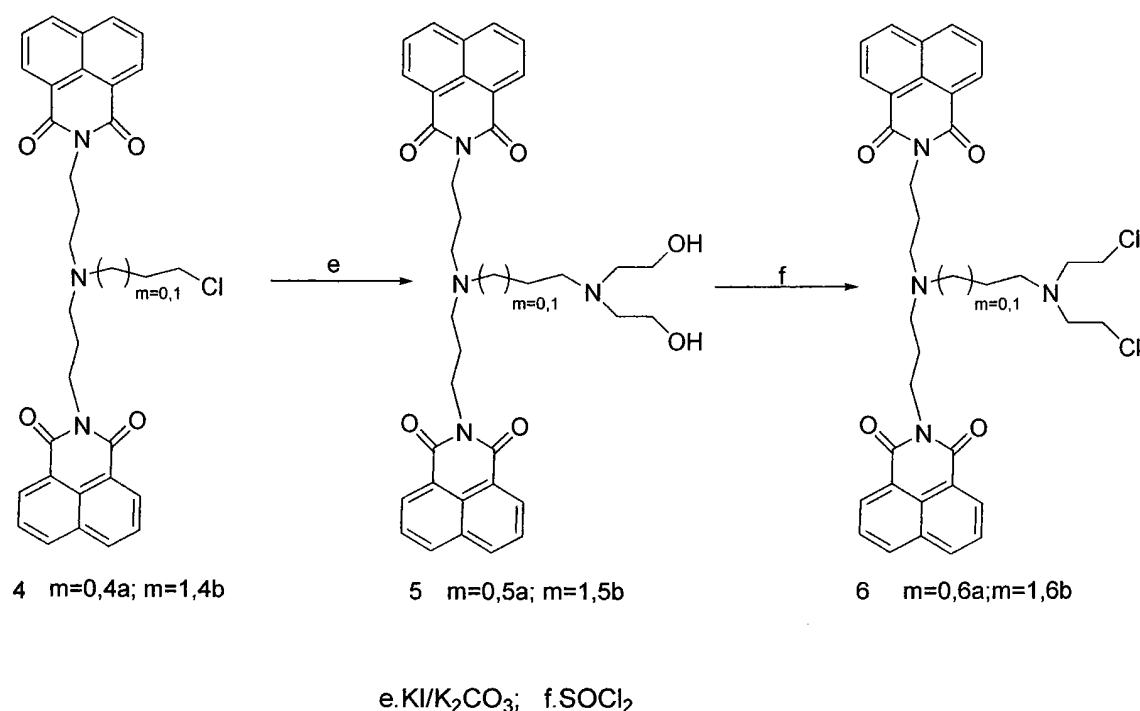


这里，在上述各化合物中的取代基 X_1 、 X_2 、 R_3 和 R_1 ，以及 m 和 n 如在本发明所提供的化合物中所定义的。

对于本发明所提供的化合物制备方法，具体地说，以萘二甲酸酐为起始原料，与正丙醇胺缩合后甩出羟基端，然后羟基转换为离去基溴，一方面双分子与醇胺发生取代反应，继而羟基转变为离去基氯，再引入二乙醇胺；另一方面单分子与醇胺发生取代反应，胺还原甲基化后，羟基转变为离去基氯，再引入二乙醇胺。

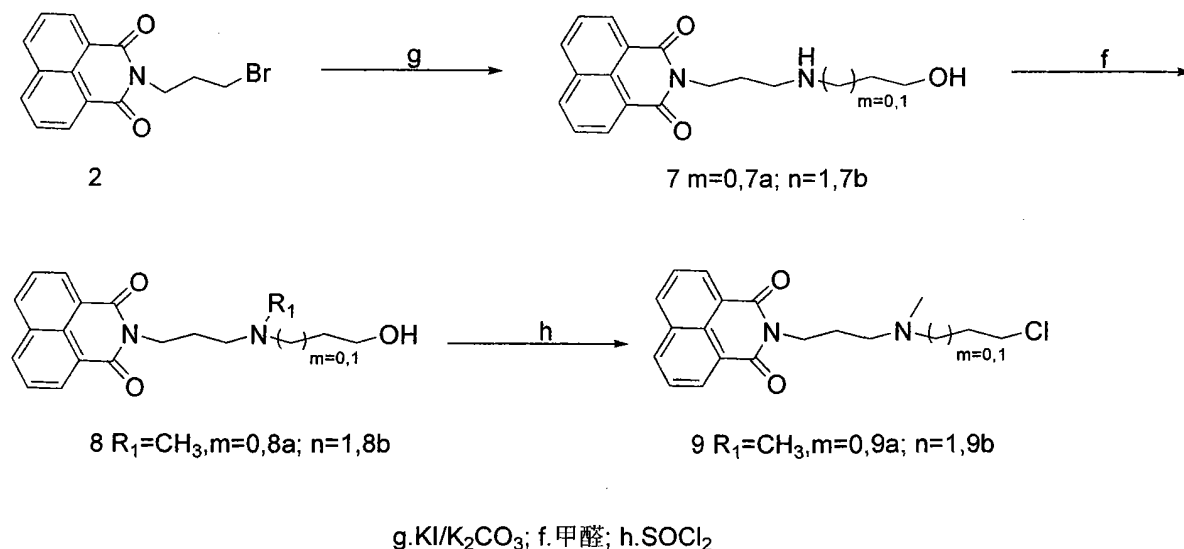


酞二甲酸酐为起始原料，在乙醇回流条件下与醇胺缩合得到化合物 1，然后在 NBS/ PPh_3 条件下羟基溴代得到化合物 2；两分子的化合物 2 与一分子的醇胺发生取代反应，得到氨基双取代的产物 3，然后化合物 3 在二氯亚砷的条件下氯代，羟基转化为二乙醇胺的引入位点。

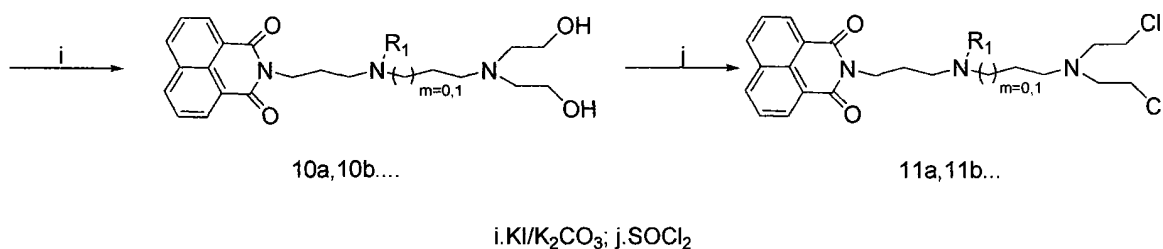


化合物 4 的氯原子在乙腈回流条件下被二乙醇胺取代，得到化合物 5，然后在二氯亚砷的条件下二羟基氯代得到产物 6。

化合物 2 也可以通过另一条路线转化, 得到另一系列的萘酰亚胺衍生物:

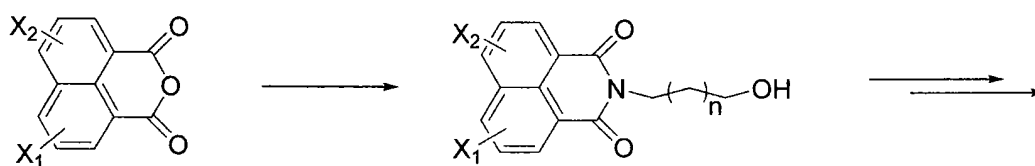


过量的醇胺与化合物 2 在含有碘化钾和碳酸钾, 乙腈加热条件下得到化合物 7, 然后与各种醛还原胺化得到化合物 8 的一系列衍生物, 在二氯亚砷的条件下羟基氯代得到化合物 9 的一系列衍生物。



化合物 9 及其衍生物与二乙醇胺发生取代反应后得到化合物 10 的一系列衍生物, 进而在二氯亚砷条件下氯代后得到化合物 11 的一系列衍生物。

当以不同取代的萘二甲酸酐为原料反应, 按照上述的路线反应的教导得到相应系列的衍生物。



另一方面, 本发明提供了上述新的萘酰亚胺衍生物作为抗肿瘤化合物的用途。体外肿瘤细胞抑制活性测定实验表明, 本发明萘酰亚胺类新化合物具有良好的抗肿瘤活性, 例如化合物 3b、5a、5b、6b、11b 对三个瘤株 MCF-7 (乳腺癌), A549 (非小细胞肺癌), HCT-116 (结肠癌) 的抑制活性都要强于阳性对照 5-氟尿嘧啶, 达到 μM 级别。

本发明还提供了包含上述新的萘酰亚胺衍生物的药物组合物。在药物组合物中含有效成分的合适范围从 1.0 毫克到 500 毫克每单位; 在这些药物组合物里, 通常有效成分的总质量占有所有成分总质量的 0.5-95%。有效成分可以通过口服以固体剂型的形式, 如胶囊, 片剂, 粉剂, 或者以液体剂型形式, 如糖浆, 混悬液, 也可以采用注射灭菌的液体剂型。

本发明提供以下药物剂型:

片剂

大量的片剂可以通过传统的制备方法制备, 单位剂量如下: 100mg 有效成分, 0.2mg 滑石粉, 5mg 硬脂酸镁, 275mg 微晶纤维素, 11mg 淀粉, 98.8mg 乳糖。采用适当的包衣提高可口性或者达到缓释作用。

胶囊剂

大量的单位胶囊制备通过填充标准两块硬胶囊, 每块含有 100mg 粉末活性成分, 175mg 乳糖, 24mg 滑石粉, 6mg 硬脂酸镁。

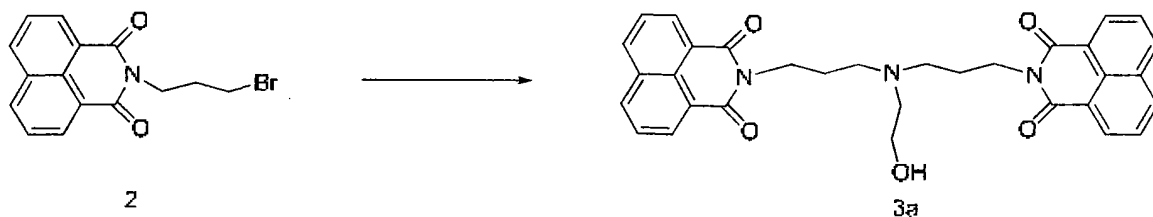
注射剂

通过肠外给药的药物注射剂通过如下制备: 搅拌 1.5% (质量) 的活性成分和 10% (体积) 的丙二醇及水, 得到的溶液加入氯化钠配成等渗液并灭菌。

具体实施方式

实施例 1

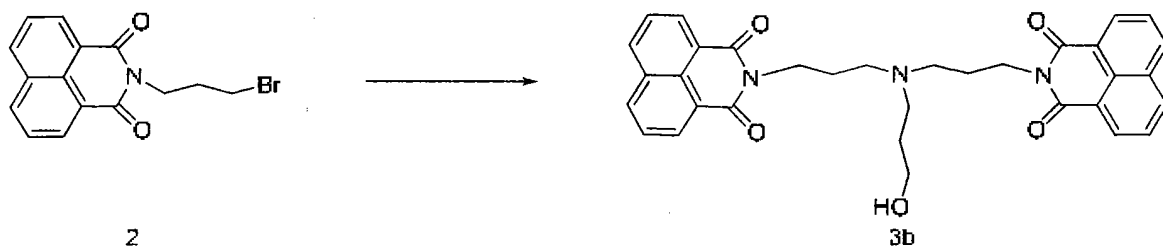
化合物 3a {N, N-双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-乙醇胺}:



将 785mg (2.63mmol) 原料 7a 和 1.004g(3.16mmol)化合物 2 加入到 15ml 重蒸乙腈中, 加入 97mg 四丁基碘化铵(0.26mmol)和 450mg 碳酸钾 (3.26mmol), 70℃油浴下反应 36h, 停止反应, 过滤除去碳酸钾固体, 收集滤液硅胶拌样柱层析分离 (二氯甲烷:甲醇 =30: 1~20: 1) 得 1.16g 淡黄色固体产物, 产率 82%。¹HNMR (300M, CDCl₃): δ 8.55-8.53 (2H, d, J=7.52Hz, ArH), 8.17-8.14 (2H, d, J=8.1Hz, ArH), 7.73-7.68 (2H, t, J=7.5Hz, ArH), 4.27-4.22 (4H, t, J=7.5Hz, CONCH₂), 3.64-3.61 (2H, t, J=4.8Hz, CH₂O), 2.69-2.64 (6H, m, CH₂), 1.96-1.87 (4H, m, CH₂); ¹³CNMR (75MHz, CDCl₃): δ 164.0, 133.8, 131.4, 131.1, 128.0, 126.8, 122.6, 59.1, 56.3, 51.6, 38.6, 25.7; HR-ESI-MS: Calcd for C₃₂H₃₀N₃O₅: 536.2180 [M+H]⁺, Found:536.2184 [M+H]⁺

实施例 2

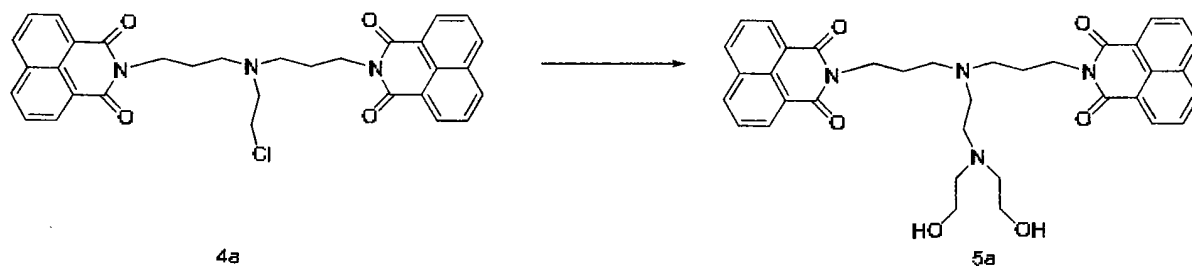
化合物 3b {N, N-双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-3-氨基-1-丙醇}



将 0.752g(2.37mmol)原料 2 和 0.616g (1.97mmol) 原料 7b 溶于 20ml 乙腈中, 加入 552mg(4mmol)碳酸钾, 油浴 75℃下反应 12h, 停止反应, 过滤除去碳酸钾固体, 滤液减压旋干后柱层析分离(氯仿: 甲醇=50: 1)得 874mg 黄色油状物, 产率 80.3%。 ^1H NMR (300M, CDCl_3): δ 8.50-8.48 (2H, d, $J=7.5$ Hz, ArH), 8.17-8.14 (2H, d, $J=8.4$ Hz, ArH), 7.71-7.66 (2H, t, $J=7.2$ Hz, ArH), 4.24-4.19 (2H, t, $J=7.5$ Hz, CONCH_2), 3.89-3.86 (1H, t, $J=4.8$ Hz, CH_2O), 2.72-2.64 (3H, m, CH_2), 1.97-1.93 (2H, t, $J=6.6$ Hz, CH_2), 1.76 (1H, brs, CH_2); ^{13}C NMR (75MHz CDCl_3): δ 163.9, 133.7, 131.3, 130.9, 127.8, 126.7, 122.3, 62.9, 52.7, 51.6, 38.7, 28.4, 25.2; HR-ESI-MS: Calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_5$: 550.2336 $[\text{M}+\text{H}]^+$, Found: 550.2346 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

实施例 3

化合物 5a {N, N-双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N',N'-双(2-羟乙基)-乙二胺}

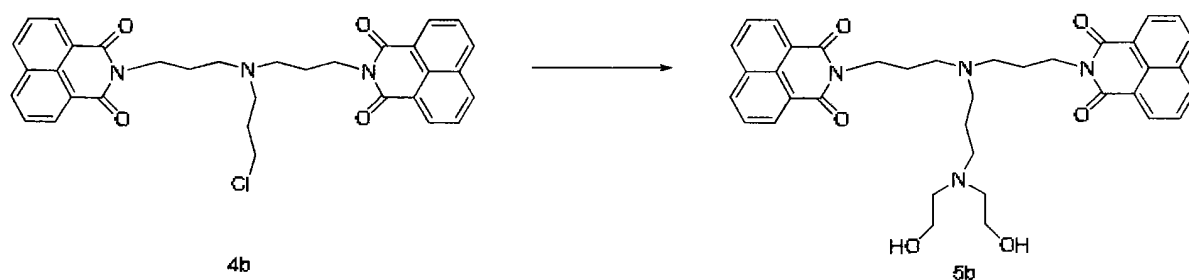


将 350mg(0.63mmol)原料 4a、540mg (3.9mmol) 碳酸钾固体、100mg 碘化钾(0.6mmol)和 0.8ml 二乙醇胺加入到 15ml 重蒸乙腈中, 氮气保护下油浴 80℃反应 60h, 停止反应, 过滤除去碳酸钾固体, 收集滤液, 减压旋干, 柱层析分离(氯仿: 甲醇=30: 1)得 340mg 黄色油状物, 产率 86%。 ^1H NMR (300M, CDCl_3): δ 8.55-8.53 (4H, d, $J=7.2$ Hz, ArH), 8.19-8.16 (4H, d,

$J=8.1\text{Hz}$, ArH), 7.74-7.69 (4H, t, $J=7.2\text{Hz}$, ArH), 4.24-4.19 (4H, t, $J=6.6\text{Hz}$, CONCH_2), 3.62(6H, brs, OH, CH_2O), 2.70-2.62 (12H, m, CH_2), 1.97-1.92 4H, t, $J=6.9\text{Hz}$, CH_2); $^{13}\text{CNMR}$ (75MHz, CDCl_3): δ 164.1, 33.8, 131.4, 131.1, 126.8, 122.6, 59.9, 57.2, 52.4, 51.4, 38.9, 24.8; HR-ESI-MS: Calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_6$: 536.2180 $[\text{M}+\text{H}]^+$, Found: 536.2848 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

实施例 4

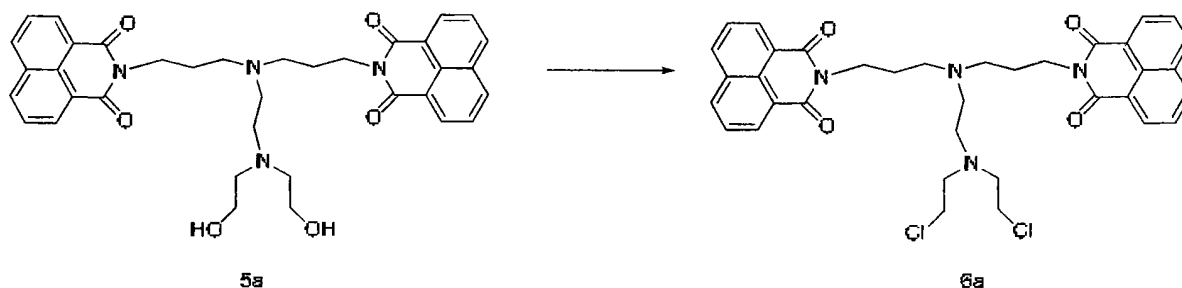
化合物 5b { N,N-双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N',N'-双(2-羟乙基)-1,3-二胺 }



原料 547mg(0.96mmol)4b 溶于 15ml 重蒸乙腈中,加入 0.8ml 二乙醇胺,然后加入 800mg (5.8mmol) 碳酸钾和 200mg(1.2mmol)碘化钾,油浴 70°C 下反应 48h,停止反应,减压旋干,加入 50ml 水,用 60ml 二氯甲烷萃取,收集有机相,无水硫酸钠干燥,柱层析分离 (氯仿:甲醇=30:1) 得到 500mg 黄色油状物产物,产率 81.6%。 $^1\text{HNMR}$ (300M, CDCl_3): δ 8.56-8.53 (2H, d, $J=7.5\text{ Hz}$, ArH), 8.19-8.16 (2H, d, $J=7.8\text{Hz}$, ArH), 7.75-7.70 (2H, d, $J=7.5\text{Hz}$, ArH), 4.25-4.20 (2H, t, $J=7.2\text{Hz}$, CONCH_2), 3.67-3.64 (2H, t, $J=5.1\text{Hz}$, CH_2O), 3.38 (1H, brs, OH), 2.68-2.56 (6H, m, CH_2), 1.96-1.89 (2H, m, CH_2), 1.73-1.68 (1H, t, CH_2); $^{13}\text{CNMR}$ (75MHz, CDCl_3): δ 164.2, 133.8, 131.5, 131.2, 128.0, 126.9, 122.6, 59.8, 56.6, 52.8, 51.8, 51.1, 39.0, 25.3, 24.8; HR-ESI-MS: Calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{41}\text{N}_4\text{O}_6$: 637.3021 $[\text{M}+\text{H}]^+$, Found: 637.3027 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

实施例 5

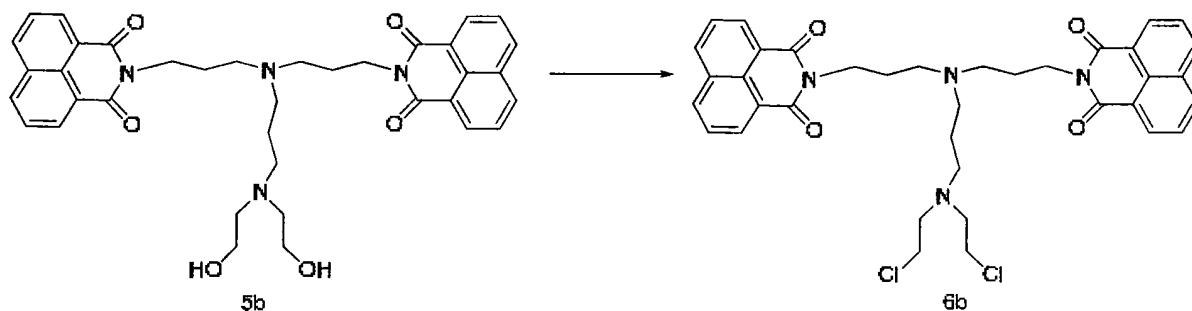
化合物 6a { N, N-双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-

N',N'-双(2-氯乙基)-乙二胺}

将 50mg (0.08mmol) 原料 5a 溶于 1ml 二氯亚砷中, 室温下反应过夜, 减压旋干溶剂, 加入乙醚减压旋干数次后 (除去残余的二氯亚砷), 加入甲醇 (加少量二氯甲烷) 溶解后, 滴加 1 滴浓盐酸, 析出白色固体, 抽滤得到白色固体 30mg, 产率 51%。¹HNMR (300M, DMSO-d₆): δ 8.44-8.36 (8H, m, ArH), 7.85-7.80 (4H, t, J=7.8 Hz, ArH), 4.11-4.07 (4H, t, J=6.3Hz, CONCH₂), 3.77, 3.610, 3.284, 3.072 (16H, brs, CH₂), 2.087 (4H, brs, CH₂); ¹³CNMR (75MHz, DMSO-d₆): δ 163.7, 134.5, 131.3, 130.8, 127.4, 127.2, 122.1, 54.4, 50.3, 47.6, 37.2, 22.1; HR-ESI-MS: Calcd for C₃₆H₃₇Cl₂N₄O₄: 659.2186 [M+H]⁺, Found: 659.2180[M+H]⁺

实施例 6

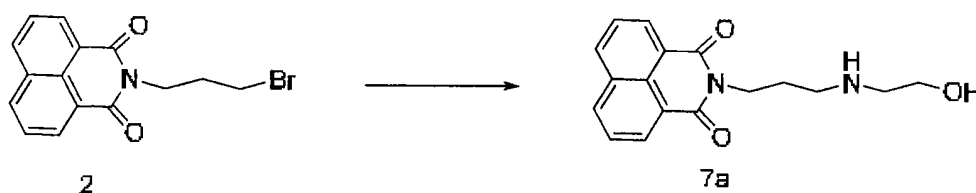
化合物 6b {N, N-双[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N',N'-双(2-氯乙基)-1,3-二胺}



将 190mg(0.30mmol)原料 5b 溶于重蒸的 25ml 氯仿中,滴加 0.15ml 二氯亚砷,反应液变成白色浑浊液,转移至 65℃油浴下反应,反应液变澄清,反应 2h 后,反应液变浑浊,停止反应,将反应液减压旋干后,加入 20ml 水,加入碳酸钠固体,搅拌数分钟后,加入 50ml 二氯甲烷萃取,分液,有机层再用饱和食盐水洗 2 次,收集有机相,无水硫酸镁干燥,柱层析分离(氯仿:甲醇=50:1)得 155mg 黄色油状物产物,产率 77%。¹HNMR (300M, CDCl₃): δ 8.55-8.53 (4H, d, J=7.2 Hz, ArH), 8.19-8.16 (4H, d, J=7.8Hz, ArH), 7.74-7.69 (4H, t, J=7.8Hz, ArH), 4.25-4.20 (4H, t, J=7.2Hz, 2×CONCH₂), 3.54-3.49 (4H, t, J=7.2Hz, 2 ×CH₂Cl), 2.88-2.83 (4H t, J=7.2Hz, CH₂), 2.67-2.63 (8H, m, CH₂), 1.92 (4H, brs, CH₂), 1.65 (2H, brs, CH₂); ¹³CNMR (75MHz, CDCl₃): δ 164.0, 133.7, 131.5, 131.1, 128.0, 126.8, 122.6, 56.4, 52.7, 51.6, 51.3, 42.0, 38.8, 25.2; HR-ESI-MS: Calcd for C₃₇H₃₉Cl₂N₄O₄: 673.2343 [M+H]⁺, Found: 673.2341[M+H]⁺.

实施例 7

化合物 7a { N -[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- 乙醇胺 }

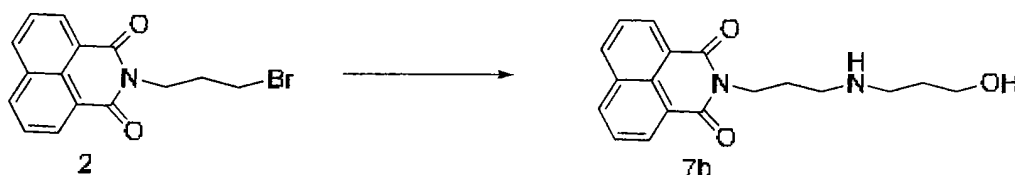


将 1g (3.14mmol) 原料 2 加入到乙腈中,加入 2ml 乙醇胺,油浴 70℃下反应 30h,停止反应,加入一定量的碳酸钠固体,搅拌 0.5h 后,减压旋干,将得到的固体残渣溶于 80ml 水中,用 100ml 二氯甲烷萃取,收集有机相,无水硫酸钠干燥,柱层析分离(二氯甲烷:甲醇=20: 1~10: 1)得淡黄色固体产物 785mg,产率 80%。¹HNMR (300M, CDCl₃): δ 8.61-8.59 (2H, m, ArH), 8.23-8.20 (2H, t, ArH), 7.78-7.73 (2H, t, J=7.5Hz, ArH), 4.31-4.27 (2H, t, J=6.9Hz, CONCH₂), 3.67-3.64 (2H, t, J=5.1Hz, CH₂O), 2.84-2.80 (2H, t, J=5.1Hz, CH₂N), 2.76-2.71 (2H, t, J=6.6Hz, NCH₂), 2.45 (2H, s, NH, OH), 2.01-1.96 (2H, t, J=6.9Hz); ¹³CNMR (75MHz, CDCl₃): δ 164.3, 134.0,

131.3, 126.9, 122.5, 60.6, 50.9, 46.2, 38.1, 28.3; HR-ESI-MS: Calcd for $C_{17}H_{19}N_2O_3$: 299.1390 $[M+H]^+$, Found: 299.1383 $[M+H]^+$.

实施例 8

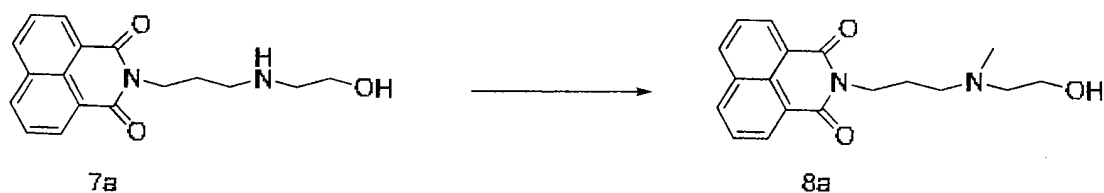
化合物 7b { N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-3-氨基-1-丙醇 }



将原料 2 (1g, 3.14mmol) 加入到 20ml 重蒸乙腈中, 加入 2ml 正丙醇胺和 1.8g (13mmol) 碳酸钾, 油浴 65℃ 下反应 48h, 停止反应, 过滤除去碳酸钾固体, 收集滤液减压旋干得到黄色油状物, 溶于 50ml 二氯甲烷, 用 40ml 水洗, 收集有机相, 无水硫酸钠干燥。柱层析分离 (二氯甲烷: 甲醇=50:1 ~ 20:1) 得黄色油状物 892mg, 产率 91%。 1H NMR (300M, $CDCl_3$): δ 8.57-8.55 (2H, d, $J=6$ Hz, ArH), 8.20-8.18 (2H, d, $J=7.2$ Hz, ArH), 7.76-7.70 (2H, m, ArH), 4.26-4.22 (2H, t, $J=6.3$ Hz, CONCH₂), 3.84-3.81 (2H, t, $J=9.9$ Hz, CH₂O), 3.47-3.46 (3H, t, $J=3$ Hz, NH, OH), 2.92-2.88 (2H, t, $J=10.8$ Hz, CH₂N), 2.75-2.70 (2H, t, $J=6.6$ Hz, NCH₂), 1.99-1.95 (2H, t, $J=6.6$ Hz, CH₂), 1.76-1.73 (2H, t, $J=5.4$ Hz); ^{13}C NMR (75MHz, $CDCl_3$): δ 164.2, 133.9, 131.4, 131.2, 126.8, 122.3, 63.7, 63.6, 49.2, 46.7, 37.9, 30.6, 27.9; HR-ESI-MS: Calcd for $C_{18}H_{21}N_2O_3$: 313.1547 $[M+H]^+$, Found: 313.1555 $[M+H]^+$.

实施例 9

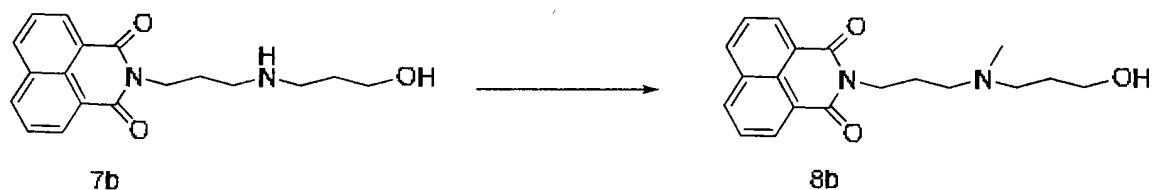
化合物 8a { N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N-甲基-乙醇胺 }



冰浴下将 5ml 甲酸滴加到 1.2ml 甲醛中，所得的溶液加入到 711mg(2.39mmol)原料 7a 中，冰浴下搅拌 10min，转移至油浴 105℃反应过夜，停止反应，减压旋干除去大部分甲酸和甲醛，加入水溶解得到的残渣，加入固体碳酸钠碱化，二氯甲烷萃取，收集有机相，无水硫酸镁干燥。柱层析分离(氯仿:甲醇=30:1)得 637mg 黄色油状物，产率为 85.6%。¹HNMR (300M, CDCl₃): δ 8.61-8.59 (2H, m, ArH), 8.23-8.20 (2H, d, J=8.4Hz, ArH), 7.78-7.73 (2H, t, J=7.5Hz, ArH), 4.28-4.23 (2H, t, J=7.2Hz, CONCH₂), 3.62-3.59 (2H, t, J=5.1Hz, CH₂O), 3.02 (1H, s, OH), 2.59-2.54 (4H, m, CH₂), 2.29 (1H, s, CH₃), 1.99-1.90 (2H, m, CH₂); ¹³CNMR (75MHz, CDCl₃): δ 164.2, 133.9, 131.5, 131.2, 126.9, 122.6, 59.0, 58.5, 55.2, 41.4, 38.5, 25.7; HR-ESI-MS: Calcd for C₁₈H₂₁N₂O₃: 313.1547 [M+H]⁺, Found: 313.1560 [M+H]⁺.

实施例 10

化合物 8b { N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N-甲基-3-氨基-1-丙醇}



冰浴下将 5ml 甲酸加入到 1.2ml 甲醛溶液 (37%) 中，得到的溶液加

入到 688mg (2.21mmol) 原料 3 中, 冰浴下搅拌反应 10min 后, 转移至 105 °C 油浴中反应过夜, 停止反应, 加压旋干除去大部分甲醛和甲酸, 加入 7ml 水, 然后加入固体碳酸钠, 搅拌 1h 后, 用二氯甲烷萃取, 收集有机相, 无水硫酸钠干燥。柱层析分离 (二氯甲烷: 甲醇=30: 1 ~ 20: 1) 得 551mg 黄色油状物 (有时呈固液混合物), 产率 77%。¹HNMR (300M, CDCl₃): δ 8.61-8.58 (2H, d, J=7.2Hz, ArH), 8.23-8.20 (2H, d, J=8.4Hz, ArH), 7.78-7.73 (2H, t, J=8.4Hz, ArH), 5.30 (1H, brs, OH), 4.25-4.20 (2H, t, J=7.8Hz, CONCH₂), 3.85-3.82 (2H, t, J=5.4Hz, CH₂O), 2.66-2.62 (2H, t, J=5.7Hz, CH₂N), 2.58-2.58 (2H, t, J=7.5Hz, NCH₂), 2.31 (3H, s, CH₃), 2.00-1.91 (2H, m, CH₂), 1.77-1.70 (2H, m, CH₂); ¹³CNMR (75MHz, CDCl₃): δ 164.1, 133.9, 131.5, 131.2, 128.0, 126.9, 122.5, 64.3, 57.8, 55.9, 45.9, 41.8, 38.5, 27.8, 25.6; HR-ESI-MS: Calcd for C₁₉H₂₃N₂O₃: 327.1703 [M+H]⁺, Found: 327.17038[M+H]⁺

实施例 11

化合物 9a { N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N-甲基-2-氯乙胺}

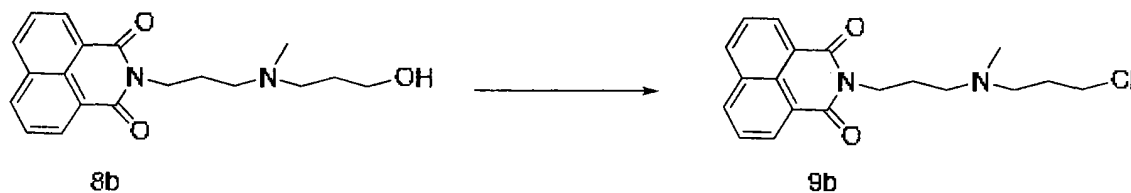


将 579mg (1.86mmol) 原料 8a 溶于 30ml 氯仿中, 滴加 2ml 二氯亚砷, 室温下反应, 24h 后反应液出现少量白色浑浊, 48h 后将反应液减压旋干, 加入 30ml 水, 然后加入固体碳酸钠碱化, 搅拌数分钟后二氯甲烷萃取, 有机相用饱和食盐水洗, 有机相用无水硫酸镁干燥。柱层析分离 (氯仿:

甲醇=50:1)得489mg黄白色固体产物,产率为80%。¹HNMR (300M, CDCl₃): δ 8.61-8.58 (2H, d, J=7.2Hz, ArH), 8.22-8.19 (2H, d, J=8.1Hz, ArH), 7.78-7.73 (2H, t, J=7.8Hz, ArH), 4.26-4.21 (2H, t, J=7.5Hz, CONCH₂), 3.58-3.54 (2H, t, J=7.2Hz, CH₂Cl), 2.77-2.72 (2H, t, J=7.2Hz, NCH₂), 2.62-2.57 (2H, t, J=7.2Hz, CH₂N), 2.32 (3H, s, CH₃), 1.97-1.97 (2H, m, CH₂); ¹³CNMR (75MHz, CDCl₃): δ 164.2, 133.9, 131.6, 131.2, 131.1, 126.9, 122.7, 58.9, 55.3, 42.1, 41.6, 42.1, 41.6, 38.7, 25.7; HR-ESI-MS: Calcd for C₁₈H₂₀ClN₂O₂: 331.1208 [M+H]⁺, Found: 331.1219 [M+H]⁺

实施例 12

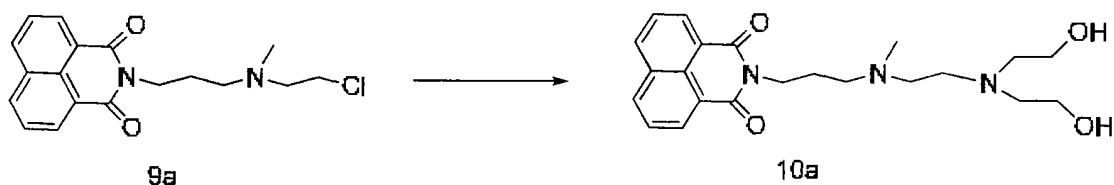
化合物 9b { N-[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]-N-甲基-3-氯丙烷-1-胺}



将470mg(1.44mmol)原料8b溶于10ml氯仿中(重蒸),滴加1ml二氯亚砷,室温下反应48h,停止反应,将反应液减压旋干得到淡黄色固体残渣,硅胶拌样柱层析分离(二氯甲烷:甲醇=40:1)得412mg淡黄白色固体,产率82.9%。¹HNMR (300M, CDCl₃): δ 8.61-8.59 (2H, d, J=7.2Hz, ArH), 8.27-8.24 (2H, d, J=8.4Hz, ArH), 7.81-7.76 (2H, t, J=7.8Hz, ArH), 4.35-4.30 (2H, t, J=6.9Hz, CONCH₂), 3.69-3.65 (2H, t, J=5.4Hz, CH₂Cl), 3.16 (4H, brs, CH₂NCH₂), 2.79 (3H, s, CH₃), 2.39-2.36 (4H, brs, CH₂); ¹³CNMR (75MHz, CDCl₃): δ 164.2, 134.4, 131.6, 128.1, 127.0, 122.1, 54.3, 54.1, 41.8, 40.1, 37.6, 26.9, 22.9; HR-ESI-MS: Calcd for C₁₉H₂₂ClN₂O₂: 345.1364 [M+H]⁺, Found: 345.1361[M+H]⁺.

实施例 13

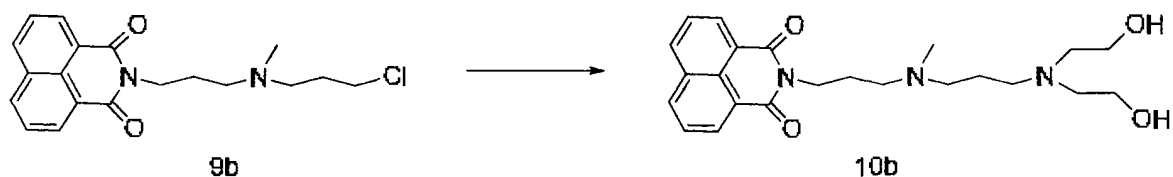
化合物 10a { N -[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N-甲基-N',N'-双(2-羟乙基)- 乙二胺 }



将 431mg (1.30mmol) 原料 9a、300mg(2.17mmol)碳酸钾固体、100mg(0.6mmol)碘化钾和 0.8ml 二乙醇胺加入到乙腈中，氮气保护下 80℃ 油浴反应 72h，停止反应，减压旋干，加入 50ml 水，二氯甲烷萃取 (60ml × 2)，收集有机相，无水硫酸镁干燥。柱层析分离 (氯仿:甲醇=30: 1 ~ 10: 1) 得 300mg 黄色油状物，产率为 58%。¹HNMR (300M, CDCl₃): δ 8.57-8.54 (2H, d, J=7.2Hz, ArH), 8.20-8.17 (2H, d, J=8.1Hz, ArH), 7.75-7.70 (2H, m, ArH), 4.345 (2H, brs, OH), 4.23-4.18 (2H, t, J=7.5Hz, CONCH₂), 3.59-3.56 (4H, t, J=4.2Hz, CH₂O), 2.71-2.28 (10H, m, CH₂), 2.17 (3H, s, CH₃), 1.98-1.93 (2H, t, J=7.5Hz); ¹³CNMR (75MHz, CDCl₃): δ 164.0, 133.8, 131.4, 131.1, 126.8, 122.4, 59.9, 57.3, 56.1, 55.1, 51.7, 41.5, 38.6, 25.0; HR-ESI-MS: Calcd for C₂₂H₃₀N₃O₄: 400.2231 [M+H]⁺, Found: 400.2241 [M+H]⁺

实施例 14

化合物 10b { N -[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N-甲基-N',N'-双(2-羟乙基)- 1,3-二胺 }



将 332mg(0.96mmol)原料 9b 加入到 15ml 乙腈中, 滴加 0.45ml 二乙醇胺, 然后加入 498mg (3.61mmol) 碳酸钾固体、15mg (0.09mmol) 碘化钾, 油浴 70℃ 下反应 48h, 过滤除去碳酸钾固体, 柱层析分离 (氯仿: 甲醇=30: 1 ~ 10: 1) 得到 362mg 黄色油状物, 产率为 91.2%。¹HNMR (300M, CDCl₃): δ 8.59-8.56 (2H, d, J=7.5Hz, ArH), 8.21-8.18 (2H, d, J=8.1Hz, ArH), 7.77-7.71 (2H, t, J=7.5Hz, ArH), 4.23-4.18 (2H, t, J=7.5Hz, CONCH₂), 3.99 (2H, brs, OH), 3.64-3.61 (4H, t, J=5.1Hz, CH₂O), 2.65-2.47 (10H, m, CH₂), 2.25 (3H, s, CH₃), 1.97-1.92 (2H, t, J=6.9Hz, CH₂), 1.68-1.63 (2H, t, J=6.3Hz, CH₂); ¹³CNMR (75MHz, CDCl₃): δ 164.1, 133.9, 131.4, 131.1, 128.0, 126.9, 122.5, 59.9, 56.1, 54.9, 54.6, 52.0, 41.9, 38.8, 25.0, 24.4; HR-ESI-MS: Calcd for C₂₃H₃₂N₃O₄: 414.2387 [M+H]⁺, Found: 414.2384[M+H]⁺

实施例 15

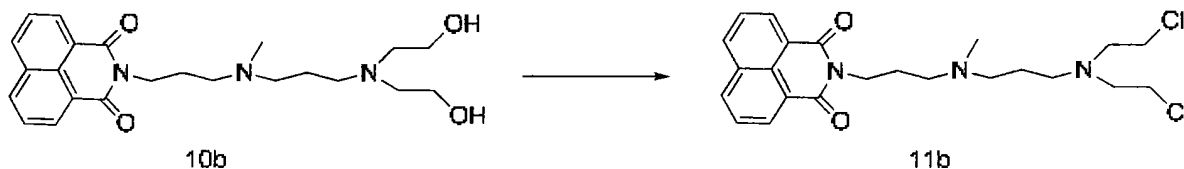
化合物 11a { N -[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N-甲基- N',N'-双(2-氯乙基)- 乙二胺 }



将 75mg(0.19mmol)化合物 10a 溶于 2ml 二氯亚砷, 室温下搅拌反应过夜, 加入乙醚, 析出黄白色固体, 减压旋干, 再用乙醚带减压旋干数次, 得到棕黄色泡状固体, 加入二氯甲烷溶解, 然后加入乙醚得到白色浑浊液, 抽滤得到 70mg 灰白色固体, 产率为 85%。¹HNMR (300M, D₂O): δ 7.78-7.72 (4H, t, 10.5Hz, ArH), 7.30-7.24 (2H, d, J=8.4Hz, ArH), 3.86-3.46 (14H, m, CH₂), 2.88 (3H, s, CH₃), 1.93 (2H, brs, CH₂); HR-ESI-MS: Calcd for C₂₂H₂₈Cl₂N₃O₂: 436.1553 [M+H]⁺, Found: 436.1559 [M+H]⁺

实施例 16

化合物 11b { N -[2-(1,3-二氧-2,3-二氢-1H-苯基[de]异喹啉-2-基)丙基]- N-甲基- N',N'-双(2-氯乙基)- 1,3-二胺 }



将 123mg (0.30mmol) 原料 10b 溶于 20ml 氯仿中，滴加 0.15ml 二氯亚砷，反应液变浑浊，转移至油浴 65℃ 下反应，反应液逐渐变澄清，4h 后停止反应，减压旋干反应液，加入 20ml 饱和碳酸氢钠溶液，用二氯甲烷萃取，再用饱和氯化钠溶液洗有机层，收集有机相用无水硫酸镁干燥，柱层析分离(氯仿:甲醇=50: 1)得 60mg 黄色油状物，产率为 45%。¹HNMR (300M, CDCl₃): δ 8.58-8.56 (2H, d, J=7.2Hz, ArH), 8.21-8.18 (2H, d, J=7.8Hz, ArH), 7.76-7.71 (2H, t, J=7.8Hz, ArH), 4.24-4.19 (2H, t, J=7.5Hz, CONCH₂), 3.53-3.48 (4H, t, J=6.9Hz, CH₂Cl), 2.87-2.82 (4H, t, J=7.2Hz, CH₂), 2.62-2.52 (4H, m, CH₂), 2.45-2.41 (2H, t, J=6.6Hz, CH₂), 2.27 (3H, s, CH₃), 1.99-1.92 (2H, m, CH₂), 1.64-1.59 (2H, t, J=7.2Hz, CH₂); ¹³CNMR (75MHz, CDCl₃): δ 164.0, 133.8, 131.4, 131.1, 127.9, 126.8, 122.5, 56.3, 55.2, 54.9, 52.4, 41.9, 41.7, 38.7, 25.4, 25.2; HR-ESI-MS: Calcd for C₂₃H₃₀Cl₂N₃O₂: 450.1710 [M+H]⁺, Found:450.1716[M+H]⁺

体外抗肿瘤活性测定实验

实验材料与方法

采用四氮唑盐(micocrultuertetrozolum, MTT)还原法对化合物进行体

外肿瘤细胞抑制活性实验,对照药为 5-氟尿嘧啶,肿瘤株选用非小细胞肺癌 A549,结肠癌 HCT-116,乳腺癌 MCF-7。

操作如下:按不同肿瘤生长速率,将一定数量处于对数生长期的肿瘤细胞 $90\ \mu\text{l}$ /孔接种于 96 孔微量培养板内,培养 24h 后加入药液 $10\ \mu\text{l}$ /孔,对每个细胞株,每个浓度均为三个复孔。另设无细胞调零孔,如果药物有颜色,要做相应药物浓度无细胞调零孔。肿瘤细胞在 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 条件下培养 48h 后,加 MTT 液 5mg/ml 用生理盐水配制 $20\ \mu\text{l}$ /孔;继续培养 4h 后,加入三联液 ($10\%\text{SDS}$ - 5% 异丁醇- 0.01MHCl) $50\ \mu\text{l}$ /孔,于 CO_2 培养箱中过夜。然后用酶标仪测 OD570 值。按下列公式计算被测物对癌细胞生长的抑制率:

$$\text{肿瘤抑制率} = (\text{对照组 OD 值} - \text{治疗组 OD 值}) / \text{对照组 OD 值} \times 100\%。$$

实验结果:

5 种化合物对 A549(非小细胞肺癌)、HCT-116(结肠癌)、MCF-7(乳腺癌)

细胞的 MTT 测试结果:

化合物对 MCF-7,A549,HCT-116 细胞的 MTT 测试结果:

MCF-7

实验编号	化合物代码	浓度 (ug/mL)	OD 1	OD2	OD 3	OD 平均值	OD 平均值-本底平均值	抑制率
1	7b	10	1.374	1.39	1.386	1.38	1.17	0.34
2	8b	10	1.199	1.234	1.2	1.21	1.00	0.43
3	9b	10	1.796	2.073	1.964	1.94	1.73	0.02
4	10b	10	1.608	1.459	1.323	1.46	1.25	0.29
5	11b	10	0.57	0.564	0.585	0.57	0.36	0.79
6	3b	10	0.21	0.217	0.224	0.22	0.01	1.00
7	4b	10	1.884	2.376	2.37	2.21	2.00	-0.13
8	5b	10	0.245	0.211	0.219	0.23	0.02	0.99
9	6b	10	0.357	0.371	0.392	0.37	0.16	0.91
10	7a	10	1.135	1.089	0.725	0.98	0.77	0.56
11	8a	10	1.219	1.315	1.307	1.28	1.07	0.40
12	9a	10	1.669	1.883	1.361	1.64	1.43	0.19

13	10a	10	1.763	1.679	1.672	1.70	1.49	0.16
14	11a	10	2.354	2.178	1.951	2.16	1.95	-0.10
15	5a	10	0.682	0.798	0.481	0.65	0.44	0.75
16	6a	10	2.634	2.68	2.704	2.67	2.46	-0.39
17	ST	10	0.86	0.985	0.872	0.91	0.70	0.61
5-FU		10	0.927	1.022	0.96	0.97	0.76	0.42
空白(1-19)			2.009	1.932	1.985	1.98	1.77	
本底(1-19)			0.205	0.212	0.215	0.21		
空白(5-Fu)			1.517	1.519	1.534	1.52	1.31	
本底(5-Fu)			0.208	0.21	0.222	0.21		

注：1) 阳性对照：ST (mitonafide); 5-Fu (5-氟尿嘧啶)。

A549

实验编号	化合物代码	浓度 (ug/mL)	OD1	OD2	OD3	OD 平均值	OD 平均值-本底平均值	抑制率
1	7b	10	0.354	0.378	0.391	0.37	0.16	0.87
2	8b	10	0.426	0.403	0.493	0.44	0.23	0.82
3	9b	10	0.602	0.682	0.721	0.67	0.46	0.65
4	10b	10	0.483	0.479	0.601	0.52	0.31	0.76
5	11b	10	0.219	0.216	0.206	0.21	0.00	1.00
6	3b	10	0.235	0.224	0.238	0.23	0.02	0.98
7	4b	10	0.939	1.219	1.356	1.17	0.96	0.26
8	5b	10	0.205	0.205	0.206	0.21	0.00	1.00
9	6b	10	0.235	0.228	0.226	0.23	0.02	0.98
10	7a	10	0.369	0.358	0.382	0.37	0.16	0.88
11	8a	10	0.361	0.357	0.358	0.36	0.15	0.89
12	9a	10	0.48	0.454	0.356	0.43	0.22	0.83
13	10a	10	0.551	0.538	0.507	0.53	0.32	0.75
14	11a	10	1.121	0.927	0.907	0.99	0.78	0.40
15	5a	10	0.238	0.243	0.246	0.24	0.03	0.98
16	6a	10	1.425	1.371	1.522	1.44	1.23	0.05
17	ST	10	0.272	0.28	0.26	0.27	0.06	0.95
5-FU		10	0.412	0.392	0.381	0.40	0.17	0.83
空白(1-19)			1.472	1.488	1.571	1.51	1.30	
本底(1-19)			0.2	0.201	0.214	0.21		
空白(5-Fu)			1.25	1.139	1.152	1.18	0.95	
本底(5-Fu)			0.249	0.224	0.222	0.23		

注：1) 阳性对照：ST (mitonafide); 5-Fu (5-氟尿嘧啶)。

HCT-116

实验编号	化合物代码	浓度(ug/mL)	OD 1	OD 2	OD 3	OD 平均值	OD 平均值-本底平均值	抑制率
1	7b	10	0.732	0.777	0.831	0.78	0.57	0.76
2	8b	10	0.886	0.77	0.766	0.81	0.60	0.75
3	9b	10	0.818	0.758	0.928	0.83	0.62	0.74

4	10b	10	0.825	0.972	0.825	0.87	0.66	0.72
5	11b	10	0.535	0.574	0.572	0.56	0.35	0.85
6	3b	10	0.207	0.202	0.225	0.21	0.00	1.00
7	4b	10	1.875	2.54	3.018	2.48	2.27	0.06
8	5b	10	0.246	0.216	0.209	0.22	0.01	0.99
9	6b	10	0.331	0.373	0.384	0.36	0.15	0.94
10	7a	10	0.963	0.794	0.655	0.80	0.59	0.75
11	8a	10	0.68	0.77	0.832	0.76	0.55	0.77
12	9a	10	0.565	0.445	0.423	0.48	0.27	0.89
13	10a	10	0.729	0.891	0.822	0.81	0.60	0.75
14	11a	10	2.891	2.697	2.025	2.54	2.33	0.03
15	5a	10	0.23	0.225	0.222	0.23	0.02	0.99
16	6a	10	2.419	2.535	2.591	2.52	2.31	0.04
17	ST	10	0.546	0.58	0.452	0.53	0.32	0.87
5-FU		10	0.354	0.354	0.36	0.36	0.15	0.94
空白			2.513	2.523	2.819	2.62	2.41	
本底			0.205	0.212	0.215	0.21		

注：1) 阳性对照：ST (mitonafide); 5-Fu (5-氟尿嘧啶)。

对活性较好的化合物测定了 IC_{50} ：

IC_{50} (μM) 注：5-FU 为阳性对照

化合物	A549	HCT-116	MCF-7
11b	4.2	6	14
3b	4	2.4	9.3
5b	3	3.5	6.7
6b	1.8	3.6	6.4
5a	6.1	5.7	9.3
5-FU	21.8	27.5	35.9