



# (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102633856 A

(43) 申请公布日 2012. 08. 15

(21) 申请号 201210092658. 0

(22) 申请日 2012. 03. 31

(71) 申请人 广西师范大学

地址 541004 广西壮族自治区桂林市育才路  
15 号

(72) 发明人 程克光 梁宏 苏春华 陈振锋

王恒山 莫伟彬

(74) 专利代理机构 桂林市持衡专利商标事务所

有限公司 45107

代理人 唐智芳

(51) Int. Cl.

C07J 63/00 (2006. 01)

A61K 31/58 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

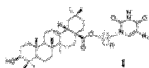
权利要求书 5 页 说明书 25 页

(54) 发明名称

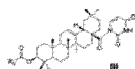
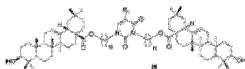
齐墩果酸-嘧啶类缀合物及其制备方法和应用

(57) 摘要

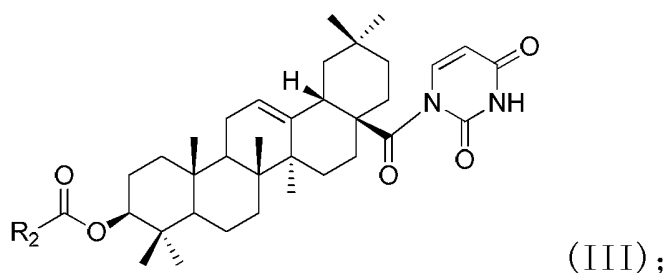
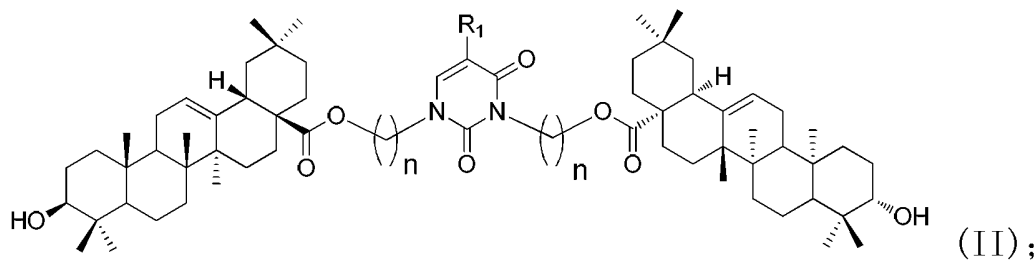
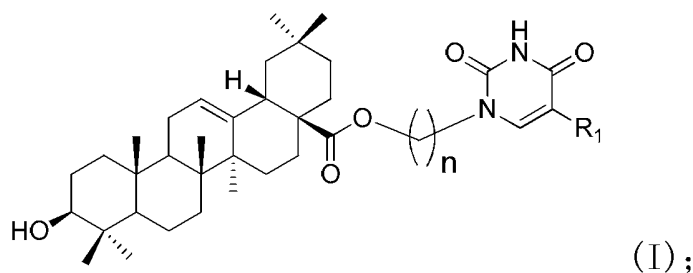
本发明公开了一种齐墩果酸-嘧啶类缀合物及其制备方法, 以及上述齐墩果酸-嘧啶类缀合物在制药领域中的应用。申请人发现上述的齐墩果酸-嘧啶类缀合物具有的抗肿瘤活性大大高于其母体齐墩果酸, 为研制新的抗肿瘤药物提供了先导化合物。所述的缀合物具有如下通式 (I)、



(II) 或 (III) 所示的结构。



1. 具有下述通式 (I)、(II) 或 (III) 所示结构的齐墩果酸-嘧啶类缀合物或其药学上可接受的盐或酯：



其中：

通式 (I) 和 (II) 中,  $n = 1 \sim 30$ ,  $R_1$  代表氢或甲基；

通式 (III) 中,  $R_2$  代表 1 ~ 30 个碳的非取代的或 X 取代的直链或支链烷烃、烯烃、炔烃、苯基、苄基、萘基；

X 代表 F、Cl、Br、I、CN、NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、CF<sub>3</sub>、SH、OH、SO<sub>3</sub>H、COOH、OR<sub>3</sub>、COR<sub>4</sub> 或 COOR<sub>5</sub>；

$R_3$  代表 F、Cl、Br、I、CN、NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、CF<sub>3</sub>、1 ~ 30 个碳的直链或支链烷烃、烯烃、炔烃、苯基或取代的苯基；

$R_4$  代表 NH<sub>2</sub>、CF<sub>3</sub>、1 ~ 30 个碳的直链或支链烷烃、烯烃、炔烃、苯基或取代的苯基；

$R_5$  代表 CF<sub>3</sub>、1 ~ 30 个碳的直链或支链烷烃、烯烃、炔烃、苯基或取代的苯基。

2. 根据权利要求 1 所述的齐墩果酸-嘧啶类缀合物,其特征在于：

所述通式 (I) 和 (II) 中,  $n = 2 \sim 12$ ；

所述通式 (III) 中,  $R_2$  为甲基、乙基、丙基、丁基、戊烷基、己烷基、庚烷基、十一烷基或十五烷基。

3. 根据权利要求 1 所述的齐墩果酸-嘧啶类缀合物,其特征在于：

所述通式 (I) 化合物为：

3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-乙基]酯；

3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-乙基]酯；

3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正丙基]酯；

3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正丙基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正丁基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正丁基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正戊基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正戊基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正己基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正己基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正庚基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正庚基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正辛基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正辛基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正壬基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正壬基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正癸基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正癸基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十一烷基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十一烷基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十二烷基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十二烷基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十三烷基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十三烷基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十四烷基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十四烷基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十五烷基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十五烷基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十六烷基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十六烷基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十七烷基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十七烷基]酯；  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十八烷基]酯；或  
3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十八烷基]酯；

所述通式(II)化合物为：

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧乙基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮；

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧乙基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮；

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧丙基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮；

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧丙基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮；

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧丁基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮；

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧丁基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧戊基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧戊基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧己基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧己基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧庚基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧庚基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧辛基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧辛基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧壬基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧壬基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧癸基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧癸基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十一烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十一烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十二烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十二烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十三烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十三烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十四烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十四烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十五烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十五烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十六烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十六烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十七烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十七烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十八烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;  
或

5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十八烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

所述通式 (III) 化合物为:

3 $\beta$ -乙酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;

3 $\beta$ -丙酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;

3 $\beta$ -丁酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;

3 $\beta$ -戊酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;

3 $\beta$ -己酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;

3 $\beta$ -庚酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;

3 $\beta$ -辛酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;

3 $\beta$ -十二酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;或

3 $\beta$ -棕榈酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺。

4. 权利要求 1 中所述的齐墩果酸-嘧啶类缀合物的制备方法,其特征在于:

所述通式 (I) 和 (II) 所示的齐墩果酸-嘧啶类缀合物的制备方法包括以下步骤:

a) 按 1 : 1.2 ~ 1.3 : 2 ~ 5 的摩尔比称取齐墩果酸、二卤代烃和碱,置于有机溶剂中反应 0.5 ~ 24h,旋除溶剂,残余物用乙酸乙酯溶解,洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,滤液浓缩,所得残留物上硅胶柱层析,以由体积比为 4 ~ 8 : 1 的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱,洗脱液蒸干溶剂,得到卤代烷烃齐墩果酸酯;

b) 按 1 : 2 ~ 3.5 : 2 ~ 5 的摩尔比称取卤代烷烃齐墩果酸酯、尿嘧啶或胸腺嘧啶以及碱置于有机溶剂反应 0.5 ~ 72h,减压旋除溶剂,残余物用乙酸乙酯溶解,洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,滤液浓缩,所得残留物上硅胶柱层析,以由体积比为 3 ~ 5 : 1 的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱,洗脱液蒸干溶剂,得到通式 (II) 所示的齐墩果酸嘧啶类缀合物;继而以由体积比为 3 ~ 1 : 1 的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱,洗脱液蒸干溶剂,得到通式 (I) 所示的齐墩果酸-嘧啶类缀合物;

所述通式 (III) 所示的齐墩果酸-嘧啶类缀合物的制备方法包括以下步骤:

1) 制备氧酰基齐墩果酸衍生物;

2) 按 1 : 3 ~ 20 的摩尔比称取氧酰基齐墩果酸衍生物和酰卤化试剂,搅拌反应 0.5 ~ 72h,减压旋除溶剂,得到氧酰基齐墩果酸酰氯化合物;

3) 所得氧酰基齐墩果酸酰氯化合物用有机溶剂溶解,然后加入相当于氧酰基齐墩果酸衍生物摩尔量 2 ~ 8 倍的尿嘧啶和 5 ~ 35 倍的碱,再不加入或加入相当于氧酰基齐墩果酸衍生物摩尔量 0.1 ~ 0.5 倍的催化剂,于氮气保护下反应 0.5 ~ 72h,减压旋除溶剂,残余物用二氯甲烷溶解,洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,滤液浓缩,所得残留物上硅胶柱层析,以由体积比为 5 ~ 1 : 1 的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱,洗脱液蒸干溶剂,得到通式 (III) 中所示的齐墩果酸-尿嘧啶缀合物。

5. 根据权利要求 4 所述的制备方法,其特征在于:在通式 (I) 和 (II) 所示的齐墩果

酸-嘧啶类缀合物的制备方法的步骤 a) 中,所述的二卤代烃为二氟烷烃、二氯烷烃、二溴烷烃或二碘烷烃。

6. 根据权利要求 4 或 5 所述的制备方法,其特征在于:在通式 (I) 和 (II) 所示的齐墩果酸-嘧啶类缀合物的制备方法的步骤 a) 和 b) 中,所述的碱为吡啶、三乙胺、氨水、4-二甲氨基吡啶、碳酸钾、碳酸钠、碳酸钙、碳酸氢钠或碳酸氢钾;所述的有机溶剂为选自四氢呋喃、吡啶、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲酸乙酯、氯仿、甲苯、二氧六环和 N, N-二甲基甲酰胺中的一种或任意两种以上的组合。

7. 根据权利要求 4 所述的制备方法,其特征在于:在通式 (III) 所示的齐墩果酸-嘧啶类缀合物的制备方法的步骤 2) 中,所述的酰卤化试剂为二氯亚砷或草酰氯,所述氧酰基齐墩果酸衍生物与二氯亚砷或草酰氯的摩尔比为 1 : 10 ~ 20。

8. 据权利要求 4 所述的制备方法,其特征在于:在通式 (III) 所示的齐墩果酸-嘧啶类缀合物的制备方法的步骤 1) 中,所述氧酰基齐墩果酸衍生物的制备方法为:将齐墩果酸、碱和酯化试剂置于有机溶剂中,加入或不加入催化剂反应 0.5 ~ 24h,减压旋除溶剂,残余物用稀盐酸溶解,再用乙酸乙酯萃取 1 ~ 3 次,合并有机层,洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,滤液浓缩,所得残留物用由体积比为 5 ~ 6 : 4 ~ 5 的乙醇和石油醚组成的混合溶剂重结晶,即得;或者将残留物上硅胶柱层析,以由体积比为 10 ~ 20 : 1 的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱,洗脱液蒸干溶剂,即得。

9. 据权利要求 4 或 8 所述的制备方法,其特征在于:所述的催化剂为 4-二甲氨基吡啶。

10. 权利要求 1 所述的具有通式 (I)、(II) 或 (III) 所示结构的齐墩果酸-嘧啶类缀合物在制备预防或治疗抗肿瘤药物中的应用。

## 齐墩果酸-嘧啶类缀合物及其制备方法和应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及医药技术领域,具体涉及一种齐墩果酸-嘧啶类缀合物及其制备方法和应用。

### 背景技术

[0002] 肿瘤尤其是恶性肿瘤仍然是对人类生命健康危害极大的疾病。国际癌症研究机构(IARC)根据全球癌症发病信息数据库指出,癌症发病正在从发达国家向发展中国家扩散,各类肿瘤疾病导致的死亡是仅次于心血管疾病的第二大死因。近几年来,肿瘤化疗取得了相当大的进步,肿瘤患者的生存时间明显延长,特别是对白血病,恶性淋巴瘤等的治疗有了突破性进展,但对危害人类生命健康最严重的、占恶性肿瘤 90% 以上的实体瘤的治疗还未能达到满意的效果,为此我国医药学领域的专家正在不断地研究新药和寻找新途径。

[0003] 齐墩果酸是一种齐墩果烷型五环三萜类化合物,广泛分布于自然界,并具有护肝、解肝毒、抗肿瘤、抗 HIV、降血糖、降血脂等多种生物活性(孙宏斌,五环三萜类天然产物的研究进展,药物化学进展,2006,4:253-279)。齐墩果酸能显著降低谷丙转氨酶和谷草转氨酶的活性,保护肝谷胱甘肽的排空,减轻肝细胞的变性及降低炎症反应(Jeong, H.G. Inhibition of cytochrome P450 2E1 expression by oleanolic acid: hepatoprotective effects against carbon tetrachloride-induced hepatic injury. Toxicol Lett, 1999, 105(3):215-222)。齐墩果酸在具有保肝护肝活性的同时具有良好的广谱抗肿瘤活性,能作用于肿瘤发生的不同阶段,包括抑制肿瘤的形成、阻碍肿瘤诱发和诱导肿瘤细胞分化以及有效地抑制肿瘤新生血管生成,阻止肿瘤细胞的侵害和转移(Ovesna, Z., Vachalkova, A. et al. Pentacyclic triterpenoic acids: New chemoprotective compounds. Neoplasma, 2004, 51(5):327-333);虽然齐墩果酸能作用于肿瘤发生的不同阶段,但其抗肿瘤活性相对较弱(黄敏珊,黄炜,吴其年等. 齐墩果酸诱导人乳腺癌细胞凋亡及与细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  水平的研究,中国现代医学杂志,2004,14(16):58-60)。

[0004] 嘧啶类化合物在生命活动中是一类很重要的物质,广泛存在于自然界中,如生命所需的核酸中最常见的 5 种含氮碱性组分中就有 3 种含嘧啶结构(尿嘧啶、胞嘧啶和胸腺嘧啶),维生素 B1 中也含有嘧啶环。因此,嘧啶环作为新药分子设计和合成的基本砌块早已引起人们的关注(白素贞,娄新华,尹桂玲. 嘧啶化合物的应用研究进展,山西化工,2009,29(1):17-19),基于嘧啶类衍生物抗代谢的作用点各异,交叉耐药性相对较少,此类化合物主要用于抗肿瘤药物的研究(王卫东. 5-氟尿嘧啶类抗癌药物的分子修饰研究进展,药学进展,2008,32(12):536-542)。目前,对天然产物的结构进行修饰和改造来增强药物活性的课题引起了药物化学工作者的广泛关注,将嘧啶类小分子作为新药分子设计和合成的基本砌块已成为抗肿瘤药物研究的重要途径。

### 发明内容

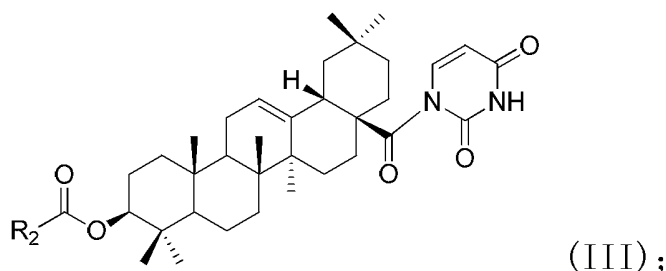
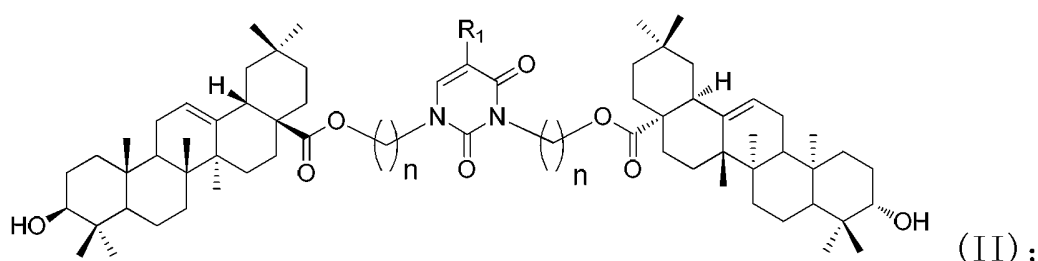
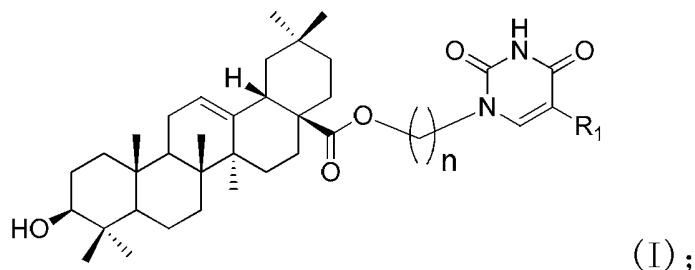
[0005] 本发明要解决的技术问题是提供一种新的齐墩果酸-嘧啶类缀合物及其制备方

法,以及上述齐墩果酸-嘧啶类缀合物在制药领域中的应用。

[0006] 为解决上述技术问题,本发明采用以下技术方案:

[0007] 具有下述通式 (I)、(II) 或 (III) 所示结构的齐墩果酸-嘧啶类缀合物或其药学上可接受的盐或酯:

[0008]



[0009] 其中:

[0010] 通式 (I) 和 (II) 中,  $n = 1 \sim 30$ ,  $R_1$  代表氢或甲基;

[0011] 通式 (III) 中,  $R_2$  代表 1 ~ 30 个碳的非取代的或 X 取代的直链或支链烷烃、烯烃、炔烃、苯基、苄基、萘基;

[0012] X 代表 F、Cl、Br、I、CN、NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、CF<sub>3</sub>、SH、OH、SO<sub>3</sub>H、COOH、OR<sub>3</sub>、COR<sub>4</sub> 或 COOR<sub>5</sub>;

[0013]  $R_3$  代表 F、Cl、Br、I、CN、NO<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、CF<sub>3</sub>、1 ~ 30 个碳的直链或支链烷烃、烯烃、炔烃、苯基或取代的苯基;

[0014]  $R_4$  代表 NH<sub>2</sub>、CF<sub>3</sub>、1 ~ 30 个碳的直链或支链烷烃、烯烃、炔烃、苯基或取代的苯基;

[0015]  $R_5$  代表 CF<sub>3</sub>、1 ~ 30 个碳的直链或支链烷烃、烯烃、炔烃、苯基或取代的苯基。

[0016] 在述通式 (I) 和 (II) 中, 优选  $n = 2 \sim 12$ ; 通式 (III) 中,  $R_2$  优选为甲基、乙基、丙基、丁基、戊烷基、己烷基、庚烷基、十一烷基或十五烷基。

[0017] 其中优选的通式 (I) 化合物为:

[0018] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-乙基]酯;

[0019] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-乙基]酯;

[0020] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正丙基]酯;



- [0021] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正丙基]酯；
- [0022] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正丁基]酯；
- [0023] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正丁基]酯；
- [0024] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正戊基]酯；
- [0025] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正戊基]酯；
- [0026] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正己基]酯；
- [0027] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正己基]酯；
- [0028] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正庚基]酯；
- [0029] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正庚基]酯；
- [0030] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正辛基]酯；
- [0031] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正辛基]酯；
- [0032] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正壬基]酯；
- [0033] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正壬基]酯；
- [0034] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正癸基]酯；
- [0035] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正癸基]酯；
- [0036] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十一烷基]酯；
- [0037] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十一烷基]酯；
- [0038] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十二烷基]酯；
- [0039] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十二烷基]酯；
- [0040] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十三烷基]酯；
- [0041] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十三烷基]酯；
- [0042] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十四烷基]酯；
- [0043] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十四烷基]酯；
- [0044] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十五烷基]酯；
- [0045] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十五烷基]酯；
- [0046] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十六烷基]酯；
- [0047] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十六烷基]酯；
- [0048] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十七烷基]酯；
- [0049] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十七烷基]酯；
- [0050] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十八烷基]酯；或
- [0051] 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十八烷基]酯；
- [0052] 优选的通式(II)化合物为：
- [0053] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧乙基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮；
- [0054] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧乙基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮；
- [0055] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧丙基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮；
- [0056] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧丙基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮；
- [0057] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧丁基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮；

- [0058] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧丁基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0059] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧戊基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0060] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧戊基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0061] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧己基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0062] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧己基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0063] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧庚基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0064] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧庚基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0065] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧辛基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0066] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧辛基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0067] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧壬基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0068] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧壬基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0069] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧癸基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0070] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧癸基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0071] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十一烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0072] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十一烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0073] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十二烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0074] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十二烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0075] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十三烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0076] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十三烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0077] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十四烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0078] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十四烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0079] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十五烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;
- [0080] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十五烷基)-2,4(1H,

3H)-嘧啶二酮;

[0081] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十六烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

[0082] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十六烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

[0083] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十七烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

[0084] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十七烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

[0085] 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十八烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;或

[0086] 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十八烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮;

[0087] 优选的通式(III)化合物为:

[0088] 3 $\beta$ -乙酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;

[0089] 3 $\beta$ -丙酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;

[0090] 3 $\beta$ -丁酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;

[0091] 3 $\beta$ -戊酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;

[0092] 3 $\beta$ -己酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;

[0093] 3 $\beta$ -庚酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;

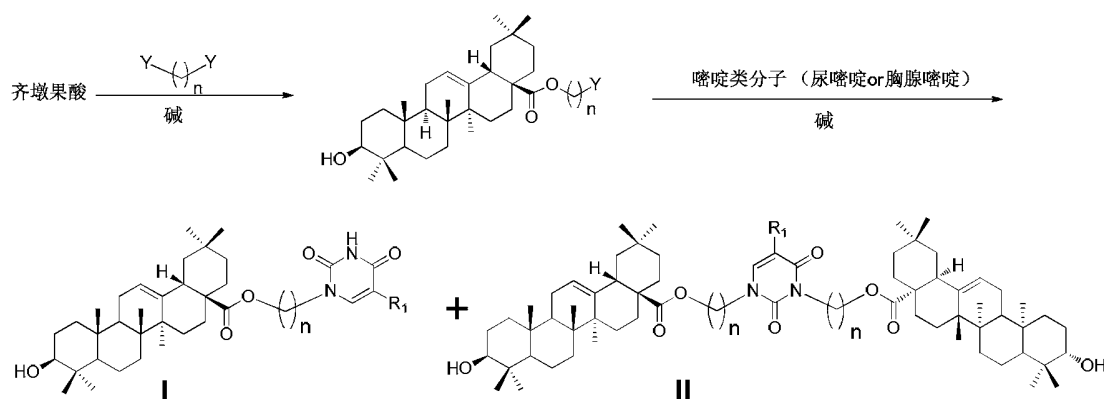
[0094] 3 $\beta$ -辛酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;

[0095] 3 $\beta$ -十二酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺;或

[0096] 3 $\beta$ -棕榈酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺。

[0097] 上述结构通式(I)和(II)所示的齐墩果酸-嘧啶类缀合物的合成路线如下:

[0098]



[0099] 其中,Y代表卤素原子;n=1~30,R<sub>1</sub>代表氢或甲基。

[0100] 具体的制备方法包括以下步骤:

[0101] a) 按1:1.2~1.3:2~5的摩尔比称取齐墩果酸、二卤代烃和碱,置于有机溶剂中反应0.5~24h,旋除溶剂,残余物用乙酸乙酯溶解,洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,滤液浓缩,所得残留物上硅胶柱层析,以由体积比为4~8:1的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱,洗脱液蒸干溶剂,得到卤代烷烃齐墩果酸酯;

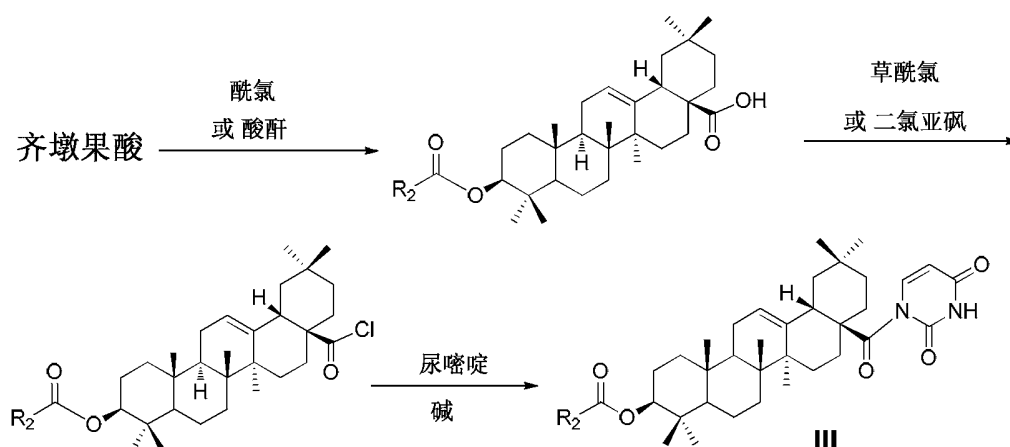
[0102] b) 按 1 : 2 ~ 3.5 : 2 ~ 5 的摩尔比称取卤代烷烃齐墩果酸酯、尿嘧啶或胸腺嘧啶以及碱置于有机溶剂反应 0.5 ~ 72h, 减压旋除溶剂, 残余物用乙酸乙酯溶解, 洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物上硅胶柱层析, 以由体积比为 3 ~ 5 : 1 的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱, 洗脱液蒸干溶剂, 得到通式 (II) 所示的齐墩果酸 - 嘧啶类缀合物; 继而以由体积比为 3 ~ 1 : 1 的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱, 洗脱液蒸干溶剂, 得到通式 (I) 所示的齐墩果酸 - 嘧啶类缀合物。

[0103] 上述方法的步骤 a) 中, 所述的二卤代烃为二氟烷烃、二氯烷烃、二溴烷烃或二碘烷烃, 优选为二氯烷烃或二溴烷烃。所述反应的温度为 0 ~ 60℃, 优选在室温下进行; 反应的时间优选 8 ~ 12h。

[0104] 上述方法的步骤 a) 和 b) 中, 所述的碱为吡啶、三乙胺、氨水、4-二甲氨基吡啶 (DMAP)、碳酸钾、碳酸钠、碳酸钙、碳酸氢钠或碳酸氢钾; 所述的有机溶剂为选自四氢呋喃 (THF)、吡啶、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲酸乙酯、氯仿、甲苯、二氧六环和 N, N-二甲基甲酰胺 (DMF) 中的一种或任意两种以上的组合; 所述有机溶剂的用量为常规用量, 即只要能将反应物全部溶解即可。

[0105] 上述结构通式 (III) 所示的齐墩果酸 - 嘧啶类缀合物的合成路线如下:

[0106]



[0107] 其中,  $R_2$  的定义如前所述。

[0108] 具体的制备方法包括以下步骤:

[0109] 1) 制备氧酰基齐墩果酸衍生物;

[0110] 2) 按 1 : 3 ~ 20 的摩尔比称取氧酰基齐墩果酸衍生物和酰卤化试剂, 搅拌反应 0.5 ~ 72h, 减压旋除溶剂, 得到氧酰基齐墩果酸酰氯化合物;

[0111] 3) 所得氧酰基齐墩果酸酰氯化合物用有机溶剂溶解, 然后加入相当于氧酰基齐墩果酸衍生物摩尔量 2 ~ 8 倍的尿嘧啶和 5 ~ 35 倍的碱, 再不加入或加入相当于氧酰基齐墩果酸衍生物摩尔量 0.1 ~ 0.5 倍的催化剂, 于氮气保护下反应 0.5 ~ 72h, 减压旋除溶剂, 残余物用二氯甲烷溶解, 洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物上硅胶柱层析, 以由体积比为 5 ~ 1 : 1 的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱, 洗脱液蒸干溶剂, 得到通式 (III) 中所示的齐墩果酸 - 尿嘧啶缀合物。

[0112] 上述结构通式 (III) 所示的缀合物的制备方法中:

[0113] 步骤 1) 中, 所述氧酰基齐墩果酸衍生物的制备方法为现有常规的制备方法, 具体可以是: 将齐墩果酸、碱和酯化试剂置于有机溶剂中, 加入或不加入催化剂反应 0.5 ~ 24h,

旋除溶剂,残余物用稀盐酸溶解,再用乙酸乙酯萃取 1~3 次,合并有机层,洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,滤液浓缩,所得残留物用由体积比为 5~6:4~5 的乙醇和石油醚组成的混合溶剂重结晶,即得;或者将残留物上硅胶柱层析,以由体积比为 10~20:1 的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱,洗脱液蒸干溶剂,即得。所述的酯化试剂可以是酰氯或酸酐等,当氧酰基齐墩果酸衍生物由齐墩果酸、酰氯以及碱在有机溶剂中反应得到时,它们的摩尔比为 1:3~4:5~35;当氧酰基齐墩果酸衍生物是由齐墩果酸、酸酐以及碱在有机溶剂中反应得到,它们的摩尔比为 1:1.5~2.0:5~35。该步骤中,反应的温度为 0~60℃,优选在室温下进行;反应的时间优选 8~12h;重结晶的温度优选为 70~90℃,所述的碱和有机溶剂的选择如前所述。所述的催化剂为 4-二甲氨基吡啶,其加入量为齐墩果酸摩尔量的 0.1~0.5 倍,加入催化剂的目的是提高本步骤的收率;在该步骤中,当直接以 4-二甲氨基吡啶作为碱使用时,则不需要再另外加入催化剂用量的 4-二甲氨基吡啶。

[0114] 步骤 2) 中,所述的酰卤化试剂为二氯亚砷或草酰氯;所述氧酰基齐墩果酸衍生物与二氯亚砷或草酰氯的摩尔比为 1:10~20,优选为 1:15。

[0115] 步骤 3) 中,所述的碱为吡啶、三乙胺、氨水、4-二甲氨基吡啶(DMAP)、碳酸钾、碳酸钠、碳酸钙、碳酸氢钠或碳酸氢钾;所述的有机溶剂为选自四氢呋喃(THF)、吡啶、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲酸乙酯、氯仿、甲苯、二氧六环和 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中的一种或任意两种以上的组合;所述有机溶剂的用量为常规用量,即只要能将反应物全部溶解即可。所述的催化剂为 4-二甲氨基吡啶,其加入量为齐墩果酸摩尔量的 0.1~0.5 倍,加入催化剂的目的是提高本步骤的收率,通常在不加入催化剂时本步骤的收率较低,在 5~30%左右,而加入催化剂时,本步骤的收率在 50~90%;在该步骤中,当直接以 4-二甲氨基吡啶作为碱使用时,则不需要再另外加入催化剂用量的 4-二甲氨基吡啶。

[0116] 本发明还包括上述具有通式(I)、(II)或(III)所示结构的齐墩果酸-嘧啶类缀合物在制备预防或治疗抗肿瘤药物中的应用。

[0117] 与现有技术相比,本发明提供了一种新的齐墩果酸-嘧啶类缀合物及其制备方法和它们在制药领域中的应用,申请人发现上述的齐墩果酸-嘧啶类缀合物具有的抗肿瘤活性大大高于其母体齐墩果酸,为研制新的抗肿瘤药物提供了先导化合物。

## 具体实施方式

[0118] 下面以具体实施例对本发明作进一步说明,但本发明并不局限于这些实施例。

[0119] 实施例 1:3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-乙基]酯(I<sub>1</sub>)和 1,3-二-(3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧乙基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮(II<sub>1</sub>)的制备

[0120] a) 将 4.99mmol (2.28g) 齐墩果酸溶解于 10mL DMF 中,加入 24.95mmol (3.44g) 碳酸钾和 6.49mmol (0.56mL) 1,2-二溴乙烷,60℃搅拌反应 0.5 小时,减压旋除溶剂,残余物用 50mL 乙酸乙酯溶解,依次用 1N 的 HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,滤液浓缩,所得残留物经硅胶柱层析纯化,以石油醚:乙酸乙酯=8:1(体积比)的混合溶剂洗脱,洗脱液蒸干溶剂,得 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-(2-溴乙基)酯 1.60g(白色固体,收率 57%);<sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.74, 0.78, 0.93, 0.99 and 1.14(5s, each 3H), 0.90(s, 6H), 0.71-1.98(m, 23H), 2.87(dd, 1H), 3.20(dd, 1H), 3.49(t,

2H), 4. 23-4. 42(m, 2H), 5. 30(s, 1H). APCI-MS  $m/z$ : 545. 36  $[M-OH]^-$ .

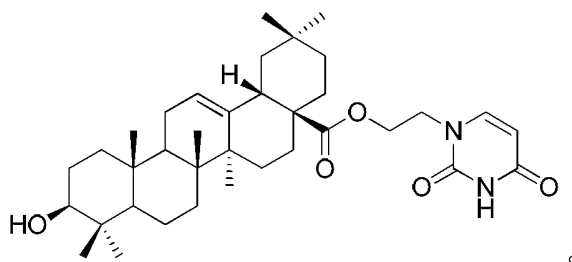
[0121] b) 取  $3\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-(2-溴乙基)酯 0. 71mmol (0. 40g) 溶解于 3mL DMF 中, 加入 3. 55mmol (0. 49g) 碳酸钾和 2. 49mmol (0. 28g) 尿嘧啶,  $50^\circ\text{C}$  下搅拌反应 0. 5 小时, 减压旋除溶剂, 残余物用 50mL 乙酸乙酯溶解, 然后依次用 1N 的 HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物经硅胶柱层析纯化, 以石油醚: 乙酸乙酯 = 5 : 1 (体积比) 的混合溶剂洗脱, 薄层层析跟踪检测, 收集洗脱液, 洗脱液蒸干溶剂, 得到 0. 12g 化合物 II<sub>1</sub> (白色固体, 收率 31%); 继而以由体积比为 3 : 1 的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱, 薄层层析跟踪检测, 收集洗脱液, 洗脱液蒸干溶剂, 得到 0. 27g 化合物 II<sub>1</sub> (白色固体, 收率 64%)。

[0122] 所得化合物 I<sub>1</sub> 经质谱和核磁共振氢谱检测:

[0123] m. p.  $289-291^\circ\text{C}$ . APCI-MS  $m/z$ : 621. 53  $[M+C_2H_5]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0. 66, 0. 77, 0. 89, 0. 99 and 1. 13 (5s, each 3H), 0. 91 (s, 6H) 0. 71-2. 03 (m, 23H), 2. 80 (d, 1H), 3. 21 (d, 1H), 3. 39-4. 05 (m, 2H), 4. 25 (d, 2H), 5. 24 (s, 1H), 5. 69 (d, 1H), 7. 18 (d, 1H, ), 8. 38 (brs, 1H)。

[0124] 因此, 可确定化合物 I<sub>1</sub> 为  $3\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-乙基]酯, 其结构式如下:

[0125]

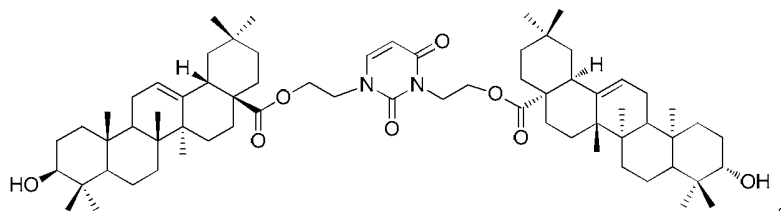


[0126] 所得化合物 II<sub>1</sub> 经质谱和核磁共振氢谱检测:

[0127] m. p.  $185-187^\circ\text{C}$ . APCI-MS  $m/z$ : 1077. 76  $[M-CH_3]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0. 63, 0. 64, 0. 895, 0. 899, 0. 90, 1. 08 and 1. 10 (7s, each 3H), 0. 76 and 0. 96 (2s, each 6H), 0. 87 (s, 9H), 0. 71-1. 73 (m, 46H), 2. 73-2. 85 (m, 2H), 3. 18 (dd, 2H), 3. 83-4. 23 (m, 8H), 5. 21 (dd, 2H), 5. 70 (d, 1H), 7. 13 (d, 1H)。

[0128] 因此, 可确定化合物 II<sub>1</sub> 为 1, 3-二-( $3\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧乙基)-2, 4(1H, 3H)-嘧啶二酮, 其结构式如下:

[0129]



[0130] 实施例 2:  $3\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-乙基]酯 (I<sub>2</sub>) 和 5-甲基-1, 3-二-( $3\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧乙基)-2, 4(1H, 3H)-嘧啶二酮 (II<sub>2</sub>) 的制备

[0131] a) 将 4. 99mmol (2. 28g) 齐墩果酸溶解于 10mL DMF 中, 加入 24. 95mmol (3. 44g) 碳

酸钾和 6.49mmol (0.56mL) 1,2-二溴乙烷, 60℃ 搅拌反应 0.5 小时, 减压旋除溶剂, 残余物用 50mL 乙酸乙酯溶解, 依次用 1N 的 HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物经硅胶柱层析纯化, 以石油醚: 乙酸乙酯 = 8 : 1 (体积比) 的混合溶剂洗脱, 洗脱液蒸干溶剂, 得 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-(2-溴乙基) 酯 1.60g (白色固体, 收率 57%) ;  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 0.74, 0.78, 0.93, 0.99 and 1.14 (5s, each 3H), 0.90 (s, 6H), 0.71-1.98 (m, 23H), 2.87 (dd, 1H), 3.20 (dd, 1H), 3.49 (t, 2H), 4.23-4.42 (m, 2H), 5.30 (s, 1H). APCI-MS  $m/z$  : 545.36  $[\text{M}-\text{OH}]^-$ 。

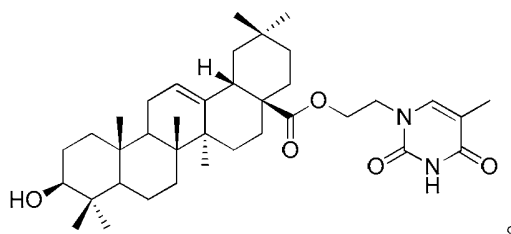
[0132] b) 取 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-(2-溴乙基) 酯 0.71mmol (0.40g) 溶解于 3mL DMF 中, 加入 3.55mmol (0.49g) 碳酸钾和 2.49mmol (0.31g) 胸腺嘧啶, 50℃ 下搅拌反应 0.5 小时, 减压旋除溶剂, 残余物用 50mL 乙酸乙酯溶解, 然后依次用 1N 的 HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物经硅胶柱层析纯化, 以石油醚: 乙酸乙酯 = 5 : 1 (体积比) 的混合溶剂洗脱, 薄层层析跟踪检测, 收集洗脱液, 洗脱液蒸干溶剂, 得到 0.18g 化合物 II<sub>2</sub> (白色固体, 收率 47%)。继而以由体积比为 3 : 1 的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱, 薄层层析跟踪检测, 收集洗脱液, 洗脱液蒸干溶剂, 得到 0.13g 化合物 I<sub>2</sub> (白色固体, 收率 31%)。

[0133] 所得化合物 I<sub>2</sub> 经质谱和核磁共振氢谱检测:

[0134] m. p. 162-165℃.  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.73, 0.77, 0.88, 0.90, 0.91, 0.97 and 1.11 (7s, each 3H), 1.19 (s, 3H), 0.63-2.03 (m, 23H), 2.79 (d, 1H), 3.20 (dd, 1H), 3.95 (m, 2H), 4.17-4.28 (m, 2H), 5.22 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 8.61 (s, 1H)。

[0135] 因此, 可确定化合物 I<sub>2</sub> 为 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-乙基] 酯, 其结构式如下:

[0136]

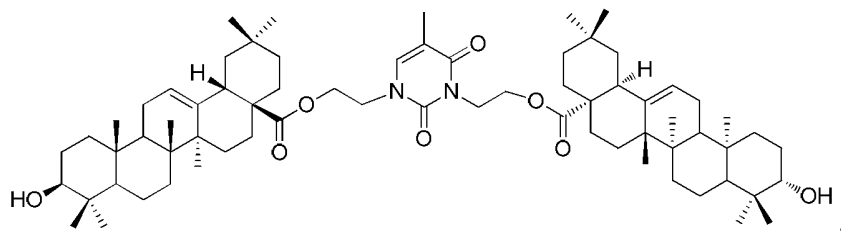


[0137] 所得化合物 II<sub>2</sub> 经质谱和核磁共振氢谱检测:

[0138] m. p. 172-175℃. APCI-MS  $m/z$  : 1113.88  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  0.65, 0.77, 0.88, 0.90, 0.91, 0.97 and 1.11 (7s, each 6H), 1.91 (s, 3H), 0.64-2.06 (m, 46H), 2.79 (d, 2H), 3.20 (dd, 2H), 3.95 (m, 2H), 4.16-4.33 (m, 6H), 5.19 (s, 1H), 5.22 (s, 1H), 6.98 (s, 1H)。

[0139] 因此, 可确定化合物 II<sub>2</sub> 为 5-甲基-1,3-二-(3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧乙基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮, 其结构式如下:

[0140]



[0141] 实施例3:3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正丁基]酯(I<sub>3</sub>)和1,3-二-(3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧丁基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮(II<sub>3</sub>)的制备

[0142] a) 将4.99mmol(2.28g)齐墩果酸溶解于10mL DMF中,加入14.97mmol(2.07g)碳酸钾和0.72mL(5.99mmol)1,4-二溴丁烷,0℃搅拌反应72小时,旋除溶剂,残余物用50mL乙酸乙酯溶解,依次用1N的HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,滤液浓缩,所得残留物经硅胶柱层析纯化,以石油醚:乙酸乙酯=4:1(体积比)的混合溶剂洗脱,洗脱液蒸干溶剂,得3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-(4-溴丁基)酯1.78g(白色固体,收率61%);<sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.72, 0.77, 0.89, 0.90, 0.92, 0.98 and 1.12(7s, each 3H), 0.71-1.98(m, 27H), 2.85(dd, 1H), 3.20(dd, 1H), 3.42(t, 2H), 4.04(t, 2H), 5.27(s, 1H). APCI-MS m/z :575.40[M-OH]<sup>-</sup>.

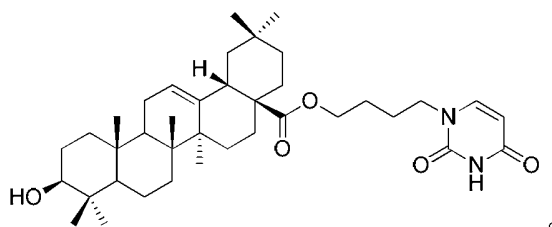
[0143] b) 取3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-(4-溴丁基)酯0.10mmol(0.59g)溶解于3mL DMF中,加入4.00mmol(0.55g)碳酸钾和2.50mmol(0.61g)尿嘧啶,50℃下搅拌反应24小时,减压旋除溶剂,残余物用50mL乙酸乙酯溶解,然后依次用1N的HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,滤液浓缩,所得残留物经硅胶柱层析纯化,以石油醚:乙酸乙酯=4:1(体积比)的混合溶剂洗脱,薄层层析跟踪检测,收集洗脱液,洗脱液蒸干溶剂,得到0.17g化合物II<sub>3</sub>(白色固体,收率30%);继而以由体积比为2:1的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱,薄层层析跟踪检测,收集洗脱液,洗脱液蒸干溶剂,得到0.400g化合物I<sub>3</sub>(白色固体,收率64%)。

[0144] 所得化合物I<sub>3</sub>经质谱和核磁共振氢谱检测:

[0145] m. p. 131-134 °C. APCI-MS m/z :623.54[M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.71, 0.78, 0.89, 0.90, 0.92, 0.99 and 1.13(7s, each 3H), 0.71-2.03(m, 27H), 2.80(d, 1H), 3.21(d, 1H), 3.75(t, 2H), 4.06(t, 2H), 5.27(s, 1H), 5.69(d, 1H), 7.18(d, 1H), 9.56(s, 1H).

[0146] 因此,可确定化合物I<sub>3</sub>为3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正丁基]酯,其结构式如下:

[0147]



[0148] 所得化合物II<sub>3</sub>经质谱和核磁共振氢谱检测:

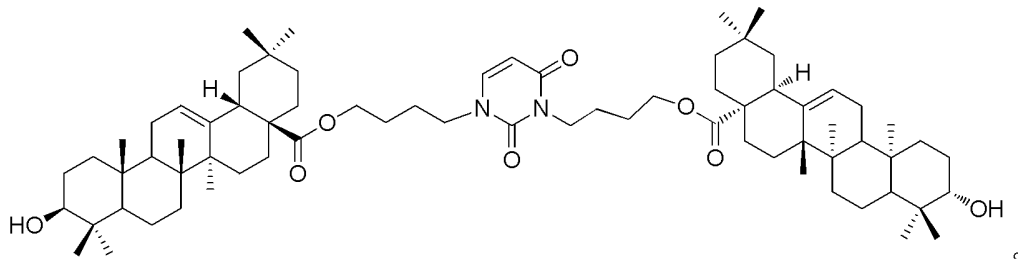
[0149] m. p. 149-151 °C. APCI-MS m/z :1133.80[M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 0.72, 0.80, 0.88, 0.98 and 1.13(5s, each 6H), 0.90(s, 12H), 0.72-2.06(m, 50H), 2.86(dd, 2H),



3. 21 (dd, 2H) , 3. 75 (m, 2H) , 3. 96 (m, 2H) , 4. 00 (dd, 4H) , 5. 27 (s, 2H) , 5. 71 (d, 1H) , 7. 08 (d, 1H) 。

[0150] 因此,可确定化合物 II<sub>3</sub> 为 1,3-二-(3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧丁基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮,其结构式如下:

[0151]



[0152] 实施例 4 :3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正丁基]酯 (I<sub>4</sub>) 和 5-甲基-1,3-二(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧丁基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮 (II<sub>4</sub>) 的制备

[0153] a) 将 4.99mmol (2.28g) 齐墩果酸溶解于 10mL DMF 中, 加入 14.97mmol (2.07g) 碳酸钾和 0.72mL (5.99mmol) 1,4-二溴丁烷, 0℃ 搅拌反应 72 小时, 旋除溶剂, 残余物用 50mL 乙酸乙酯溶解, 依次用 1N 的 HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物经硅胶柱层析纯化, 以石油醚: 乙酸乙酯 = 4 : 1 (体积比) 的混合溶剂洗脱, 洗脱液蒸干溶剂, 得 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28 酸-(4-溴丁基) 酯 1.78g (白色固体, 收率 61%) ; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.72, 0.77, 0.89, 0.90, 0.92, 0.98 and 1.12 (7s, each 3H), 0.71-1.98 (m, 27H), 2.85 (dd, 1H), 3.20 (dd, 1H), 3.42 (t, 2H), 4.04 (t, 2H), 5.27 (s, 1H). APCI-MS m/z : 575.40 [M-OH]<sup>-</sup>。

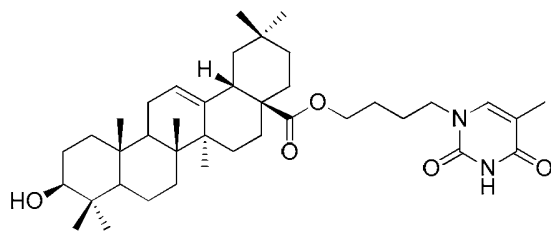
[0154] b) 取 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-(4-溴丁基)酯 0.676mmol (0.40g) 溶解于 3mL DMF 中, 加入 2.70mmol (0.37g) 碳酸钾和 1.69mmol (0.41g) 胸腺嘧啶, 50℃ 下搅拌反应 24 小时, 减压旋除溶剂, 残余物用 50mL 乙酸乙酯溶解, 然后依次用 1N 的 HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物经硅胶柱层析纯化, 以石油醚: 乙酸乙酯 = 4 : 1 (体积比) 的混合溶剂洗脱, 薄层层析跟踪检测, 收集洗脱液, 洗脱液蒸干溶剂, 得到 0.25g 化合物 II<sub>4</sub> (白色固体, 收率 65%); 继而以由体积比为 2 : 1 的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱, 薄层层析跟踪检测, 收集洗脱液, 洗脱液蒸干溶剂, 得到 0.04g 化合物 I<sub>4</sub> (白色固体, 收率 8%)。

[0155] 所得化合物 I<sub>4</sub> 经质谱和核磁共振氢谱检测：

[0156] m. p. 133–136 °C . APCI-MS m/z :637. 44[M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.72, 0.77, 0.88, 0.89, 0.91, 0.98 and 1.12(7s, each 3H), 1.19(s, 3H), 0.73–2.10(m, 27H), 2.85(dd, 1H), 3.20(dd, 1H), 3.72(t, 2H), 4.05(t, 2H), 5.26(s, 1H), 7.98(s, 1H), 8.84(s, 1H)。

[0157] 因此,可确定化合物 I<sub>4</sub> 为 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正丁基]酯,其结构式如下:

[0158]

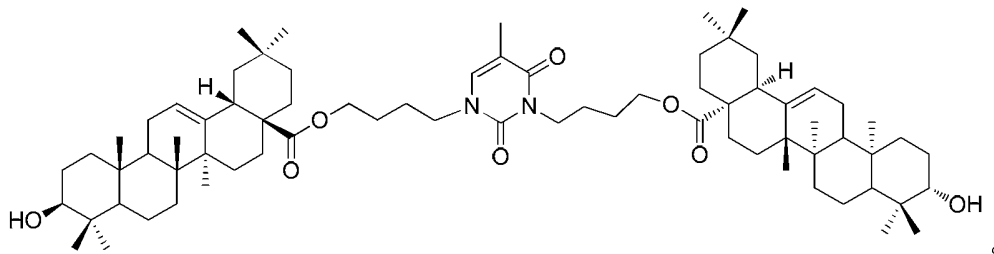


[0159] 所得化合物 II<sub>4</sub> 经质谱和核磁共振氢谱检测：

[0160] m. p. 157-160 °C . APCI-MS m/z : 1148. 96 [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 0. 73, 0. 86, 0. 90, 0. 96 and 1. 13 (5s, each 6H), 0. 88 (s, 12H), 1. 90 (s, 3H), 0. 69-2. 06 (m, 50H), 2. 83 (d, 2H), 3. 19 (d, 2H), 3. 71 (t, 2H), 3. 95 (t, 2H), 4. 02 (m, 4H), 5. 24 (s, 2H), 6. 94 (s, 1H)。

[0161] 因此, 可确定化合物 II<sub>4</sub> 为 5-甲基-1,3-二-(3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧丁基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮, 其结构式如下：

[0162]



[0163] 实施例 5: 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正己基]酯 (I<sub>5</sub>) 和 1,3-二-(3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧己基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮 (II<sub>5</sub>) 的制备

[0164] a) 将 4.99mmol (2.28g) 齐墩果酸溶解于 10mL DMF 中, 加入 19.96mmol (2.76g) 碳酸钾和 6.24mmol (0.96mL) 1,6-二溴己烷, 40°C 搅拌反应 12 小时, 旋除溶剂, 残余物用 50mL 乙酸乙酯溶解, 依次用 1N 的 HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物经硅胶柱层析纯化, 以石油醚: 乙酸乙酯=6:1 (体积比) 的混合溶剂洗脱, 洗脱液蒸干溶剂, 得 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-(6-溴己基) 酯 1.80g (白色固体, 收率 58%) ; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.73, 0.77, 0.92, 0.98 and 1.13 (5s, each 3H), 0.89 (s, 6H), 0.71-1.98 (m, 31H), 2.86 (d, 1H), 3.21 (d, 1H), 3.40 (t, 2H), 4.02 (m, 2H), 5.27 (s, 1H). APCI-MS m/z : 601. 45 [M-OH]<sup>-</sup>。

[0165] b) 取 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-(6-溴己基) 酯 0.83mmol (0.51g) 溶解于 3mL DMF 中, 加入 1.66mmol (0.23g) 碳酸钾和 1.66mmol (0.41g) 尿嘧啶, 50°C 下搅拌反应 72 小时, 减压旋除溶剂, 残余物用 50mL 乙酸乙酯溶解, 然后依次用 1N 的 HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物经硅胶柱层析纯化, 以石油醚: 乙酸乙酯=3:1 (体积比) 的混合溶剂洗脱, 洗脱液蒸干溶剂, 得到 0.22g 化合物 II<sub>5</sub> (白色固体, 收率 44%) ; 继而以由体积比为 1:1 的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱, 洗脱液蒸干溶剂, 得到 0.239g 化合物 I<sub>5</sub> (白色固体, 收率 44%)。

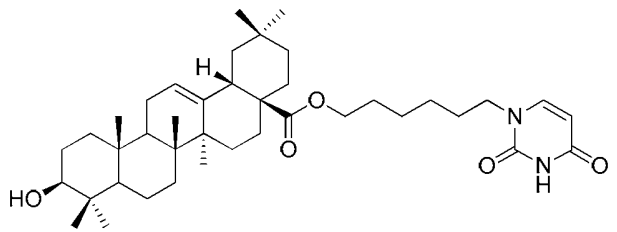
[0166] 所得化合物 I<sub>5</sub> 经质谱和核磁共振氢谱检测：

[0167] m. p. 126-128°C . APCI-MS m/z : 651. 56 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.71, 0.76,

0.90, 0.97 and 1.12 (5s, each 3H), 0.88 (s, 6H), 0.71–2.03 (m, 31H), 2.84 (d, 1H), 3.20 (d, 1H), 3.70 (t, 2H), 3.99 (t, 2H), 5.25 (s, 1H), 5.68 (d, 1H), 7.13 (d, 1H), 9.34 (brs, 1H)。

[0168] 因此,可确定化合物 I<sub>5</sub> 为 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正己基]酯,其结构式如下:

[0169]

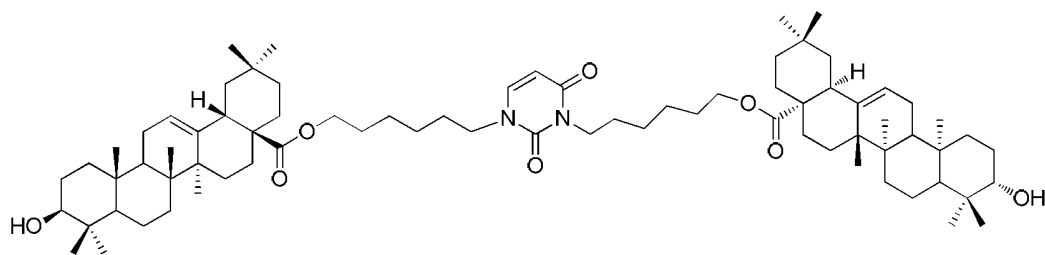


[0170] 所得化合物 II<sub>5</sub> 经质谱和核磁共振氢谱检测:

[0171] m. p. 140–142 °C. APCI-MS m/z: 1189.87 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.73, 0.78, 0.89, 0.90, 0.93, 0.98 and 1.13 (7s, each 6H), 0.72–2.06 (m, 62H), 2.86 (dd, 2H), 3.21 (dd, 2H), 3.70–3.73 (m, 2H), 3.91–3.94 (m, 2H), 4.01 (dd, 4H), 5.21 (s, 2H), 5.71 (d, 1H), 7.08 (d, 1H)。

[0172] 因此,可确定化合物 II<sub>5</sub> 为 1,3-二-(3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧己基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮,其结构式如下:

[0173]



[0174] 实施例 6: 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正己基]酯 (I<sub>6</sub>) 和 5-甲基-1,3-二(3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧己基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮 (II<sub>6</sub>) 的制备

[0175] a) 将 4.99mmol (2.28g) 齐墩果酸溶解于 10mL DMF 中,加入 19.96mmol (2.76g) 碳酸钾和 6.24mmol (0.96mL) 1,6-二溴己烷,40℃搅拌反应 12 小时,旋除溶剂,残余物用 50mL 乙酸乙酯溶解,依次用 1N 的 HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,滤液浓缩,所得残留物经硅胶柱层析纯化,以石油醚:乙酸乙酯=6:1(体积比)的混合溶剂洗脱,洗脱液蒸干溶剂,得 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-(6-溴己基)酯 1.80g(白色固体,收率 58%); <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.73, 0.77, 0.92, 0.98 and 1.13 (5s, each 3H), 0.89 (s, 6H), 0.71–1.98 (m, 31H), 2.86 (d, 1H), 3.21 (d, 1H), 3.40 (t, 2H), 4.02 (m, 2H), 5.27 (s, 1H). APCI-MS m/z: 601.45 [M-OH]<sup>-</sup>。

[0176] b) 取 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-(6-溴己基)酯 0.81mmol (0.50g) 溶解于 3mL DMF 中,加入 1.62mmol (0.22g) 碳酸钾和 1.62mmol (0.20g) 胸腺嘧啶,50℃下搅拌反应 72 小时,减压旋除溶剂,残余物用 50mL 乙酸乙酯溶解,然后依次用 1N 的 HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,滤液浓缩,所得残留物经硅胶柱层析纯化,以石油醚:乙酸乙酯=3:1(体积比)的混合溶剂洗脱,薄层层析跟踪检测,收

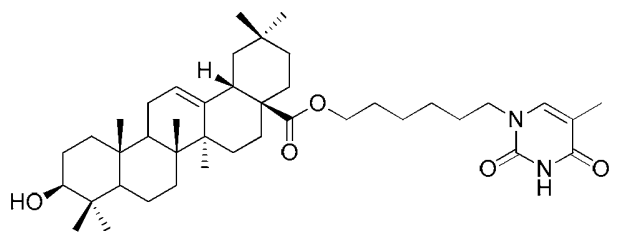
集洗脱液,洗脱液蒸干溶剂,得到 0.20g 化合物 II<sub>6</sub>(白色固体,收率 42%);继而以由体积比为 1:1 的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱,薄层层析跟踪检测,收集洗脱液,洗脱液蒸干溶剂,得到 0.122g 化合物 I<sub>6</sub>(白色固体,收率 23%)。

[0177] 所得化合物 I<sub>6</sub> 经质谱和核磁共振氢谱检测:

[0178] m. p. 115-119°C. APCI-MS m/z :663.40 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.73, 0.77, 0.91, 0.98 and 1.12(5s, each 3H), 0.89(s, 6H), 1.19(s, 3H), 0.73-2.10(m, 31H), 2.85(d, 1H), 3.20(dd, 1H), 3.68(t, 2H), 4.00(t, 2H), 5.26(s, 1H), 6.96(s, 1H), 8.90(s, 1H)。

[0179] 因此,可确定化合物 I<sub>6</sub> 为 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正己基]酯,其结构式如下:

[0180]

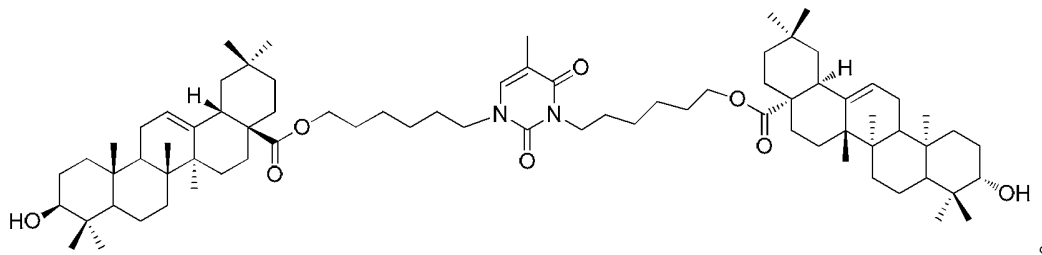


[0181] 所得化合物 II<sub>6</sub> 经质谱和核磁共振氢谱检测:

[0182] m. p. 135-139 °C. APCI-MS m/z :1226.04 [M+Na]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.71, 0.76, 0.90, 0.95 and 1.11(5s, each 6H), 0.88(s, 12H), 1.91(s, 3H), 0.69-2.06(m, 62H), 2.85(dd, 2H), 3.19(dd, 2H), 3.67(t, 2H), 3.95(t, 2H), 3.98(dd, 4H), 5.25(s, 2H), 6.93(s, 1H)。

[0183] 因此,可确定化合物 II<sub>6</sub> 为 5-甲基-1,3-二-(3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧己基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮,其结构式如下:

[0184]



[0185] 实施例 7:3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正辛基]酯(I<sub>7</sub>)和 1,3-二-(3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧辛基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮(II<sub>7</sub>)的制备

[0186] a) 将 4.99mmol (2.28g) 齐墩果酸溶解于 10mL DMF 中,加入 9.98mmol (1.38g) 碳酸钾和 6.49mmol (1.08mL) 1,8-二溴辛烷,室温搅拌反应 18 小时,蒸除溶剂,残余物用 50mL 乙酸乙酯溶解,依次用 1N 的 HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,滤液浓缩,所得残留物经硅胶柱层析纯化,以石油醚:乙酸乙酯=5:1(体积比)的混合溶剂洗脱,洗脱液蒸干溶剂,得 3β-羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-(8-溴辛基)酯 2.03g(白色固体,收率 63%);<sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.72, 0.77, 0.89, 0.90, 0.93, 0.98 and 1.13(7s, each 3H), 0.71-2.03(m, 35H), 2.86(dd, 1H), 3.20(dd, 1H), 3.39(t, 2H), 3.97-4.02(m, 2H), 5.27(s, 1H). APCI-MS m/z :631.50 [M-CH<sub>3</sub>]<sup>-</sup>。

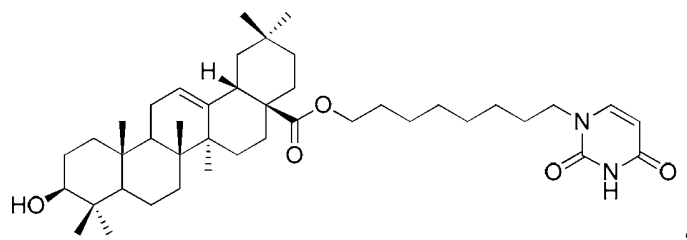
[0187] b) 取 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-(8-溴辛基)酯 0.23mmol (0.15g) 溶解于 3mL DMF 中, 加入 0.69mmol (0.09g) 碳酸钾和 0.69mmol (0.17g) 尿嘧啶, 50 $^{\circ}\text{C}$  下搅拌反应 48 小时, 减压旋除溶剂, 残余物用 50mL 乙酸乙酯溶解, 然后依次用 1N 的 HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物经硅胶柱层析纯化, 以石油醚: 乙酸乙酯 = 3.5 : 1 (体积比) 的混合溶剂洗脱, 薄层层析跟踪检测, 收集洗脱液, 洗脱液蒸干溶剂, 得到 0.103g 化合物 II<sub>7</sub> (白色固体, 收率 72%); 继而以由体积比为 1.5 : 1 的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱, 薄层层析跟踪检测, 收集洗脱液, 洗脱液蒸干溶剂, 得到 0.016g 化合物 I<sub>7</sub> (白色固体, 收率 11%)。

[0188] 所得化合物 I<sub>7</sub> 经质谱和核磁共振氢谱检测:

[0189] m. p. 101-105  $^{\circ}\text{C}$ . APCI-MS m/z : 679.60 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.73, 0.78, 0.92, 0.98 and 1.13 (5s, each 3H), 0.90 (s, 6H), 0.71-2.03 (m, 35H), 2.86 (dd, 1H), 3.21 (dd, 1H), 3.71 (t, 2H), 4.00 (t, 2H), 5.27 (s, 1H), 5.68 (d, 1H), 7.13 (d, 1H), 8.61 (brs, 1H)。

[0190] 因此, 可确定化合物 I<sub>7</sub> 为 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正辛基]酯, 其结构式如下:

[0191]

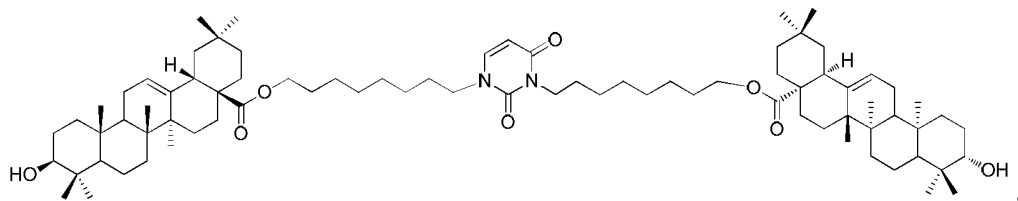


[0192] 所得化合物 II<sub>7</sub> 经质谱和核磁共振氢谱检测:

[0193] m. p. 125-128  $^{\circ}\text{C}$ . APCI-MS m/z : 1245.90 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.72, 0.77, 0.92, 0.98 and 1.12 (5s, each 6H), 0.89 (s, 12H), 0.71-2.06 (m, 70H), 2.86 (dd, 2H), 3.21 (dd, 2H), 3.69-3.72 (m, 2H), 3.89-3.92 (m, 2H), 3.99 (dd, 4H), 5.27 (s, 2H), 5.70 (d, 1H), 7.08 (d, 1H)。

[0194] 因此, 可确定化合物 II<sub>7</sub> 为 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧辛基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮, 其结构式如下:

[0195]



[0196] 实施例 8: 3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正辛基]酯 (I<sub>8</sub>) 和 5-甲基-1,3-二(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧辛基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮 (II<sub>8</sub>) 的制备

[0197] a) 将 4.99mmol (2.28g) 齐墩果酸溶解于 10mL DMF 中, 加入 9.98mmol (1.38g) 碳酸钾和 6.49mmol (1.08mL) 1,8-二溴辛烷, 室温搅拌反应 18 小时, 蒸除溶剂, 残余物用 50mL 乙酸乙酯溶解, 依次用 1N 的 HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁

干燥,过滤,滤液浓缩,所得残留物经硅胶柱层析纯化,以石油醚:乙酸乙酯=5:1(体积比)的混合溶剂洗脱,洗脱液蒸干溶剂,得3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-(8-溴辛基)酯2.03g(白色固体,收率63%);<sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.72, 0.77, 0.89, 0.90, 0.93, 0.98 and 1.13(7s, each 3H), 0.71-2.03(m, 35H), 2.86(dd, 1H), 3.20(dd, 1H), 3.39(t, 2H), 3.97-4.02(m, 2H), 5.27(s, 1H). APCI-MS m/z :631.50[M-CH<sub>3</sub>]<sup>-</sup>。

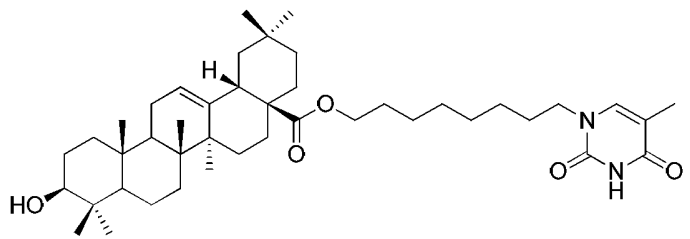
[0198] b) 取3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-(8-溴辛基)酯0.23mmol(0.15g)溶解于3mL DMF中,加入0.69mmol(0.09g)碳酸钾和0.69mmol(0.09g)胸腺嘧啶,50℃下搅拌反应48小时,减压旋除溶剂,残余物用50mL乙酸乙酯溶解,然后依次用1N的HCl、水、饱和碳酸氢钠、水以及饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,滤液浓缩,所得残留物经硅胶柱层析纯化,以石油醚:乙酸乙酯=3.5:1(体积比)的混合溶剂洗脱,薄层层析跟踪检测,收集洗脱液,洗脱液蒸干溶剂,得到0.026g化合物II<sub>8</sub>(白色固体,收率18%);继而以由体积比为1.5:1的石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂洗脱,薄层层析跟踪检测,收集洗脱液,洗脱液蒸干溶剂,得到0.100g化合物I<sub>8</sub>(白色固体,收率62%)。

[0199] 所得化合物I<sub>8</sub>经质谱和核磁共振氢谱检测:

[0200] m. p. 101-104℃. APCI-MS m/z :693.48[M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.72, 0.76, 0.91, 0.97 and 1.12(5s, each 3H), 0.89(s, 6H), 1.31(s, 3H), 0.73-2.10(m, 35H), 2.85(d, 1H), 3.20(dd, 1H), 3.68(t, 2H), 3.92(d, 1H), 4.00(t, 2H), 5.26(s, 1H), 6.95(s, 1H)。

[0201] 因此,可确定化合物I<sub>8</sub>为3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正辛基]酯,其结构式如下:

[0202]

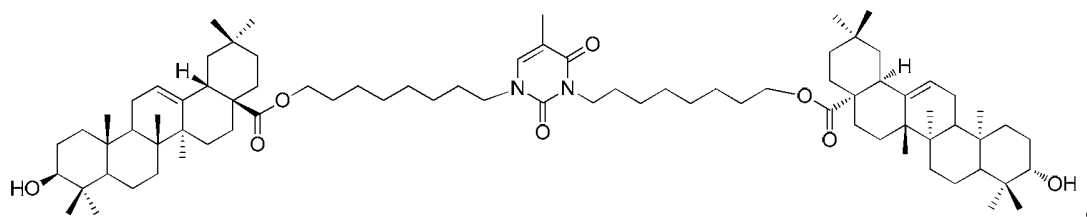


[0203] 所得化合物II<sub>8</sub>经质谱和核磁共振氢谱检测:

[0204] m. p. 116-119 °C. APCI-MS m/z :1282.15[M+Na]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.71, 0.76, 0.91, 0.97 and 1.12(5s, each 6H), 0.88(s, 12H), 1.91(s, 3H), 0.69-2.06(m, 70H), 2.85(d, 2H), 3.20(d, 2H), 3.67(t, 2H), 3.95(t, 2H), 3.98(d, 4H), 5.26(s, 2H), 6.93(s, 1H)。

[0205] 因此,可确定化合物II<sub>8</sub>为5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧辛基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮,其结构式如下:

[0206]



[0207] 实施例9:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正丙基]酯和1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧丙基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0208] 参照实施例 1 的制备方法,只是用 1,3-二溴丙烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0209] 实施例 10:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正丙基]酯和 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧丙基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0210] 参照实施例 2 的制备方法,只是用 1,3-二溴丙烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0211] 实施例 11:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正戊基]酯和 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧戊基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0212] 参照实施例 1 的制备方法,只是用 1,5-二溴戊烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0213] 实施例 12:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正戊基]酯和 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧戊基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0214] 参照实施例 2 的制备方法,只是用 1,5-二溴戊烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0215] 实施例 13:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正庚基]酯和 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧庚基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0216] 参照实施例 1 的制备方法,只是用 1,7-二溴庚烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0217] 实施例 14:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正庚基]酯和 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧庚基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0218] 参照实施例 2 的制备方法,只是用 1,7-二溴庚烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0219] 实施例 15:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正壬基]酯和 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧壬基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0220] 参照实施例 1 的制备方法,只是用 1,9-二溴壬烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0221] 实施例 16:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正壬基]酯和 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧壬基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0222] 参照实施例 2 的制备方法,只是用 1,9-二溴壬烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0223] 实施例 17:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正癸基]酯和 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧癸基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0224] 参照实施例 1 的制备方法,只是用 1,10-二溴癸烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0225] 实施例 18:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正癸基]酯和 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧癸基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0226] 参照实施例 2 的制备方法,只是用 1,10-二溴癸烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0227] 实施例 19:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十一烷基]酯和 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十一烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0228] 参照实施例 1 的制备方法,只是用 1,11-二溴十一烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0229] 实施例 20:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十一烷基]酯和 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十一烷基)-2,4(1H,

### 3H)-嘧啶二酮的制备

[0230] 参照实施例 2 的制备方法,只是用 1,11-二溴十一烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0231] 实施例 21:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十二烷基]酯和 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十二烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0232] 参照实施例 1 的制备方法,只是用 1,12-二溴十二烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0233] 实施例 22:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十二烷基]酯和 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十二烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0234] 参照实施例 2 的制备方法,只是用 1,12-二溴十二烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0235] 实施例 23:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十三烷基]酯和 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十三烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0236] 参照实施例 1 的制备方法,只是用 1,13-二溴十三烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0237] 实施例 24:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十三烷基]酯和 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十三烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0238] 参照实施例 2 的制备方法,只是用 1,13-二溴十三烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0239] 实施例 25:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十四烷基]酯和 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十四烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0240] 参照实施例 1 的制备方法,只是用 1,14-二溴十四烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0241] 实施例 26:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十四烷基]酯和 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十四烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0242] 参照实施例 2 的制备方法,只是用 1,14-二溴十四烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0243] 实施例 27:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十五烷基]酯和 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十五烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0244] 参照实施例 1 的制备方法,只是用 1,15-二溴十五烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0245] 实施例 28:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十五烷基]酯和 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十五烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0246] 参照实施例 2 的制备方法,只是用 1,15-二溴十五烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0247] 实施例 29:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十六烷基]酯和 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十六烷基)-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮的制备

[0248] 参照实施例 1 的制备方法,只是用 1,16-二溴十六烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0249] 实施例 30:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十六烷



基]酯和 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十六烷基)-2,4(1H, 3H)-嘧啶二酮的制备

[0250] 参照实施例 2 的制备方法,只是用 1,16-二溴十六烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0251] 实施例 31:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十七烷基]酯和 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十七烷基)-2,4(1H, 3H)-嘧啶二酮的制备

[0252] 参照实施例 1 的制备方法,只是用 1,17-二溴十七烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0253] 实施例 32:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十七烷基]酯和 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十七烷基)-2,4(1H, 3H)-嘧啶二酮的制备

[0254] 参照实施例 2 的制备方法,只是用 1,17-二溴十七烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0255] 实施例 33:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(尿嘧啶-1)-正十八烷基]酯和 1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十八烷基)-2,4(1H, 3H)-嘧啶二酮的制备

[0256] 参照实施例 1 的制备方法,只是用 1,18-二溴十八烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0257] 实施例 34:3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酸-[(胸腺嘧啶-1)-正十八烷基]酯和 5-甲基-1,3-二-(3 $\beta$ -羟基-齐墩果烷-12-烯-28-酰氧十八烷基)-2,4(1H, 3H)-嘧啶二酮的制备

[0258] 参照实施例 2 的制备方法,只是用 1,18-二溴十八烷代替 1,2-二溴乙烷。

[0259] 实施例 35:3 $\beta$ -乙酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺(III1)的制备

[0260] 1) 取齐墩果酸 11mmol (5.00g) 溶解于无水吡啶/二氯甲烷 (8mL, 7/1, v/v) 中, 加入 DMAP 1.10mmol (0.13g) 和乙酸酐 16.5mmol (58.2mL), 室温搅拌反应 12 小时, 浓缩反应液, 残余物用 2N HCl 溶解, 用乙酸乙酯萃取 2 次, 合并有机层; 将有机层依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物用乙醇和石油醚混合溶剂 ( $V_{\text{乙醇}}:V_{\text{石油醚}}=6:5$ ) 于 80℃ 重结晶, 得到 3 $\beta$ -乙酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-酸 4.90g (白色固体, 收率 89%) ;  $^1\text{H NMR}$  (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 0.76, 0.85, 0.87, 0.91, 0.93, 0.94 and 1.13 (7s, each 3H), 2.04 (s, 3H), 0.63-2.10 (m, 22H), 2.82 (d, 1H), 3.52 (brs, 1H), 4.50 (t, 1H), 5.28 (s, 1H)。

[0261] 2) 取 3 $\beta$ -乙酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-酸 2.00mmol (1.00g) 溶于无水二氯甲烷 1mL, 0℃ 下滴加草酰氯 30.0mmol (2.6mL), 室温搅拌反应 7 小时, 浓缩反应液, 得到残余物;

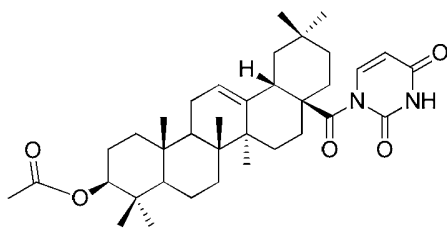
[0262] 3) 步骤 2) 所得残余物用 1mL 无水 THF 溶解, 然后加入尿嘧啶 4.00mmol (0.45g) 和三乙胺 1.00mmol (0.14mL), 氮气保护下室温搅拌反应 48 小时, 浓缩反应液, 残余物用 50mL 二氯甲烷溶解, 再依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物经硅胶柱层析纯化, 以二氯甲烷和甲醇组成的混合溶剂 ( $V_{\text{石油醚}}:V_{\text{乙酸乙酯}}=3:1$ ) 洗脱, 薄层层析跟踪检测, 收集洗脱液, 洗脱液蒸干溶剂, 得到 0.349g 化合物 III1 (白色固体, 收率 29%)。

[0263] 上述化合物经核磁共振氢谱检测:

[0264] m. p. 208-211°C.  $^1\text{H}$  NMR(500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 0.69, 0.85, 0.86, 0.99 and 1.13 (5s, each 3H), 0.92 (s, 6H), 1.17 (s, 3H), 0.63-2.10 (m, 22H), 2.99 (d, 1H), 4.47-4.60 (m, 1H), 5.28 (s, 1H), 5.74 (d, 1H), 7.51 (d, 1H), 8.20 (brs, 1H)。

[0265] 因此,可确定化合物  $\text{III}_1$  为 3 $\beta$ -乙酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺,其结构式如下:

[0266]



[0267] 实施例 36:3 $\beta$ -丙酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺 ( $\text{III}_2$ ) 的制备

[0268] 1) 取齐墩果酸 2.2mmol (1.00g) 溶解于无水吡啶/二氯甲烷 (8mL, 7/1, v/v) 中, 加入 DMAP 1.10mmol (0.13g) 和丙酸酐 4.4mmol (0.57mL), 室温搅拌反应 12 小时, 浓缩反应液, 残余物用 2N HCl 溶解, 用乙酸乙酯萃取 1 次, 将有机层依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物用乙醇和石油醚混合溶剂 ( $V_{\text{乙醇}}:V_{\text{石油醚}}=5:5$ ) 于 70°C 重结晶, 得到 3 $\beta$ -丙酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸 0.85g (白色固体, 收率 76%);  $^1\text{H}$  NMR(500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.74, 0.90, 0.92, 0.93 and 1.12 (5s, each 3H), 0.85 (s, 6H), 0.81-2.10 (m, 25H), 2.32 (q, 2H), 2.81 (d, 1H), 4.40-4.57 (m, 1H), 5.27 (s, 1H)。

[0269] 2) 取 3 $\beta$ -丙酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸 0.59mmol (0.30g) 溶于无水二氯甲烷 1mL, 0°C 下滴加草酰氯 5.90mmol (0.51mL), 0°C 搅拌反应 12 小时, 浓缩反应液, 得到残余物;

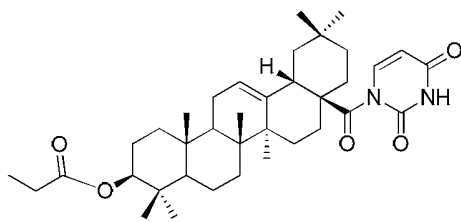
[0270] 3) 步骤 2) 所得残余物用 1mL 无水 THF 溶解, 然后加入尿嘧啶 1.77mmol (0.43g)、DMAP 0.118mmol (0.014g) 和三乙胺 7.17mmol (1mL), 氮气保护下室温搅拌反应 24 小时, 浓缩反应液, 残余物用 50mL 二氯甲烷溶解, 再依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物经硅胶柱层析纯化, 以二氯甲烷和甲醇组成的混合溶剂 ( $V_{\text{石油醚}}:V_{\text{乙酸乙酯}}=5:1$ ) 洗脱, 薄层层析跟踪检测, 收集洗脱液, 洗脱液蒸干溶剂, 得到 0.21g 化合物  $\text{III}_2$  (白色固体, 收率 60%)。

[0271] 上述化合物经核磁共振氢谱检测:

[0272] m. p. 119-122°C.  $^1\text{H}$  NMR(500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 0.69, 0.846, 0.85, 0.98 and 1.13 (5s, each 3H), 0.91 (s, 6H), 0.63-2.10 (m, 25H), 2.32 (q, 2H), 2.99 (d, 1H), 4.47-4.60 (m, 1H), 5.28 (s, 1H), 5.74 (d, 1H), 7.50 (d, 1H), 8.98 (brs, 1H)。

[0273] 因此,可确定化合物  $\text{III}_2$  为 3 $\beta$ -丙酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺,其结构式如下:

[0274]



[0275] 实施例 37 :3β-丁酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺 (III<sub>3</sub>) 的制备

[0276] 1) 取齐墩果酸 2.2mmol (1.00g) 溶解于无水吡啶/二氯甲烷 (8mL, 7/1, v/v) 中, 加入 DMAP 1.10mmol (0.13g) 和丁酸酐 2.75mmol (0.45mL), 室温搅拌反应 10 小时, 浓缩反应液, 残余物用 2N HCl 溶解, 用乙酸乙酯萃取 2 次, 合并有机层; 将有机层依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物用乙醇和石油醚混合溶剂 ( $V_{\text{乙醇}} : V_{\text{石油醚}} = 6 : 4$ ) 于 90℃ 重结晶, 得到 3β-丁酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸 0.79g (白色固体, 收率 68%) ; <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.74, 0.90, 0.92, 0.93, 1.12 and 1.25 (6s, each 3H), 0.85 (s, 6H), 0.63-2.10 (m, 24H), 2.28 (t, 2H), 2.81 (d, 1H), 3.66 (s, 1H), 4.50 (d, 1H), 5.27 (s, 1H)。

[0277] 2) 取 3β-丁酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸 0.38mmol (0.20g) 溶于无水二氯甲烷 1mL, 0℃ 下滴加草酰氯 6.93mmol (0.59mL), 60℃ 搅拌反应 0.5 小时, 浓缩反应液, 得到残余物;

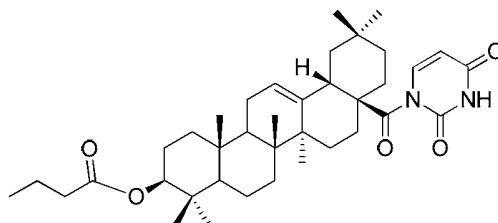
[0278] 3) 步骤 2) 所得残余物用 1mL 无水 THF 溶解, 然后加入尿嘧啶 1.73mmol (0.19g)、DMAP 0.035mmol (0.004g) 和三乙胺 12.1mmol (1.69mL), 氮气保护下室温搅拌反应 12 小时, 浓缩反应液, 残余物用 50mL 二氯甲烷溶解, 再依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物经硅胶柱层析纯化, 以石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂 ( $V_{\text{石油醚}} : V_{\text{乙酸乙酯}} = 5 : 1$ ) 洗脱, 薄层层析跟踪检测, 收集洗脱液, 洗脱液蒸干溶剂, 得到 0.13g 化合物 III<sub>3</sub> (白色固体, 收率 56%)。

[0279] 上述化合物经质谱和核磁共振氢谱检测:

[0280] m. p. 285-287℃. APCI-MS  $m/z$ : 619.38 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.69, 0.85, 0.86, 0.92, 0.96, 0.99 and 1.18 (7s, each 3H) 0.63-2.10 (m, 27H), 2.28 (t, 2H), 2.99 (d, 1H), 4.49 (dd, 1H), 5.28 (s, 1H), 5.74 (d, 1H), 7.50 (d, 1H), 8.13 (brs, 1H)。

[0281] 因此, 可确定化合物 III<sub>3</sub> 为 3β-丁酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺, 其结构式如下:

[0282]



[0283] 实施例 38 :3β-十二酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺 (III<sub>4</sub>) 的制备

[0284] 1) 取齐墩果酸 2.2mmol (1.00g) 溶解于 3mL 四氢呋喃中, 加入十二酰氯

6.6mmol (1.57mL) 和三乙胺 11mmol (1.53mL), 室温搅拌反应 20 小时, 浓缩反应液, 残余物用 50mL 二氯甲烷溶解, 依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物经硅胶柱层析纯化, 以混合溶剂洗脱 ( $V_{\text{乙酸乙酯}} : V_{\text{石油醚}} = 1 : 20$ ), 洗脱液蒸干溶剂, 得到  $3\beta$ -十二酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸 1.04g (白色固体, 收率 75%);  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 0.76, 0.85, 0.89, 0.90, 0.92, 0.93 and 1.13 (7s, each 3H), 0.63-2.10 (m, 43H), 2.29 (t, 2H), 2.76 (dd, 1H), 4.48-4.61 (m, 1H), 5.27 (s, 1H)。

[0285] 2) 取  $3\beta$ -十二酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸 0.44mmol (0.28g) 溶于无水二氯甲烷 1mL,  $0^\circ\text{C}$  下滴加二氯亚砷 4.39mmol (0.31mL),  $60^\circ\text{C}$  搅拌反应 0.5 小时, 浓缩反应液, 得到残余物;

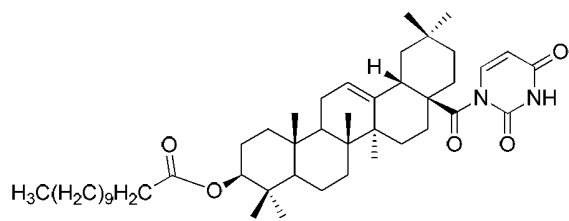
[0286] 3) 步骤 2) 所得残余物用 1mL 无水 THF 溶解, 然后加入尿嘧啶 4.08mmol (0.34g)、和三乙胺 7.48mmol (1.04mL), 氮气保护下室温搅拌反应 24 小时, 浓缩反应液, 残余物用 50mL 二氯甲烷溶解, 再依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物经硅胶柱层析纯化, 以石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂 ( $V_{\text{石油醚}} : V_{\text{乙酸乙酯}} = 4 : 1$ ) 洗脱, 薄层层析跟踪检测, 收集洗脱液, 洗脱液蒸干溶剂, 得到 0.072g 化合物  $\text{III}_4$  (白色固体, 收率 22%)。

[0287] 上述化合物经核磁共振氢谱检测:

[0288]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 0.70, 1.00 and 1.19 (3s, each 3H), 0.87 and 0.93 (2s, each 6H), 0.63-2.10 (m, 43H), 2.30 (s, 2H), 3.01 (d, 1H), 4.50 (s, 1H), 5.30 (s, 1H), 5.74 (d, 1H), 7.52 (d, 1H), 8.72 (brs, 1H)。

[0289] 因此, 可确定化合物  $\text{III}_4$  为  $3\beta$ -十二酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺, 其结构式如下:

[0290]



[0291] 实施例 39:  $3\beta$ -棕榈酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺 ( $\text{III}_5$ ) 的制备

[0292] 1) 取齐墩果酸 2.2mmol (1.00g) 溶解于 3mL 四氢呋喃中, 加入棕榈酰氯 8.8mmol (2.69mL) 和三乙胺 7.7mmol (10.2mL), 室温搅拌反应 12 小时, 浓缩反应液, 残余物用 50mL 二氯甲烷溶解, 依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物经硅胶柱层析纯化, 以混合溶剂洗脱 ( $V_{\text{乙酸乙酯}} : V_{\text{石油醚}} = 1 : 15$ ), 薄层层析跟踪检测, 收集洗脱液, 洗脱液蒸干溶剂, 得到  $3\beta$ -棕榈酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸 1.35g (白色固体, 收率 89%);  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 0.76, 0.85, 0.89, 0.90, 0.93, 0.94 and 1.14 (7s, each 3H), 2.29 (t, 2H), 0.63-2.10 (m, 51H), 2.82 (dd, 1H), 4.50 (dd, 1H), 5.27 (s, 1H)。

[0293] 2) 取  $3\beta$ -棕榈酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸 0.50mmol (0.35g) 溶于无水二氯甲烷 1mL,  $0^\circ\text{C}$  下滴加二氯亚砷 7.40mmol (0.52mL), 室温搅拌反应 12 小时, 浓缩反应液,

得到残余物；

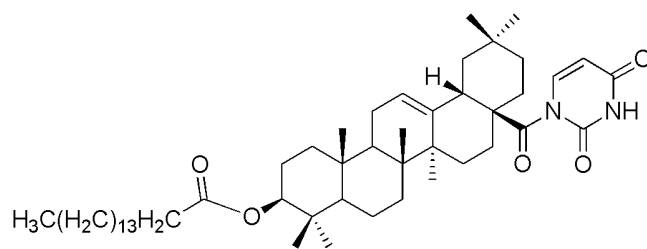
[0294] 3) 步骤2) 所得残余物用 1mL 无水 THF 溶解, 然后加入尿嘧啶 1.11mmol (0.124g) 和三乙胺 6.17mmol (0.86mL), 氮气保护下室温搅拌反应 24 小时, 浓缩反应液, 残余物用 50mL 二氯甲烷溶解, 再依次用水、饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩, 所得残留物经硅胶柱层析纯化, 以石油醚和乙酸乙酯组成的混合溶剂 ( $V_{\text{石油醚}} : V_{\text{乙酸乙酯}} = 4 : 1$ ) 洗脱, 薄层层析跟踪检测, 收集洗脱液, 洗脱液蒸干溶剂, 得到 0.04g 化合物 III<sub>5</sub> (白色固体, 收率 11%)。

[0295] 上述化合物经质谱和核磁共振氢谱检测：

[0296] m. p. 89-91 °C . APCI-MS  $m/z$  : 787.71  $[M-H]^-$ .  $^1H$  NMR (500MHz,  $CDCl_3$ ) 0.69, 0.85, 0.86, 0.99 and 1.18 (5s, each 3H), 0.92 (s, 6H), 0.63-2.10 (m, 51H), 2.29 (t, 2H), 2.99 (dd, 1H), 4.47-4.60 (m, 1H), 5.28 (s, 1H), 5.74 (d, 1H), 7.50 (d, 1H), 8.17 (brs, 1H)。

[0297] 因此, 可确定化合物 III<sub>5</sub> 为 3 $\beta$ -棕榈酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺, 其结构式如下：

[0298]



[0299] 实施例 40 : 3 $\beta$ -戊酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺的制备

[0300] 参照实施例 38 的制备方法, 只是用正戊酰氯代替十二酰氯。

[0301] 实施例 41 : 3 $\beta$ -己酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺的制备

[0302] 参照实施例 38 的制备方法, 只是用己酰氯代替十二酰氯。

[0303] 实施例 42 : 3 $\beta$ -庚酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺的制备

[0304] 参照实施例 38 的制备方法, 只是用庚酰氯代替十二酰氯。

[0305] 实施例 43 : 3 $\beta$ -辛酰氧基-齐墩果烷-12-烯-28-羧酸尿嘧啶酰胺的制备

[0306] 参照实施例 38 的制备方法, 只是用辛酰氯代替十二酰氯。

[0307] 为了充分说明本发明所述的缀合物在制药中的应用, 申请人将实施例 1~8 及实施例 35~39 制得的化合物对多种人类肿瘤株进行体外抗肿瘤细胞增殖活性实验 (采用常规四甲基氮唑蓝比色法)：

[0308] 1、细胞株与细胞培养

[0309] 本实验选用 HepG-2 (人肝癌细胞株)、A549 (人肺癌细胞株)、BGC-823 (胃癌细胞株)、MCF-7 (乳腺癌细胞株)、PC-3 (前列腺癌细胞株)。

[0310] 所有细胞株均培养在含有 10% 胎牛血清的 1640 培养基中, 在 37°C 5%  $CO_2$  的细胞培养箱中培养至细胞达到对数生长期。

[0311] 2、初筛

[0312] 所用化合物的纯度均  $\geq 95\%$ , 将所有化合物配制成 100  $\mu\text{mol/L}$ , 助溶剂 DMSO 终浓度  $\leq 0.5\%$ , 测试该浓度下化合物对肿瘤细胞生长的抑制程度。当化合物终浓度为 10  $\mu\text{mol/L}$  时, 抑制率  $\geq 50\%$  即判定为初筛有效。

## [0313] 3、实验 (MTT)

[0314] 将待测的受试化合物以 DMSO 助溶后, 配成  $100 \mu\text{mol/L}$ 、 $50 \mu\text{mol/L}$ 、 $10 \mu\text{mol/L}$ 、 $5 \mu\text{mol/L}$ 、 $1 \mu\text{mol/L}$  和  $0.1 \mu\text{mol/L}$  的工作液浓度, 存放于  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱保存, 供测试受试化合物对所选肿瘤细胞株的  $\text{IC}_{50}$  值使用。

[0315] 取处于指数生长期状态良好的细胞一瓶, 加入  $0.25\%$  胰蛋白酶消化液, 消化使贴壁细胞脱落, 计数  $2 \sim 4 \times 10^4$  个 /mL, 制成细胞悬液; 取细胞悬液接种于 96 孔板上,  $180 \mu\text{L}$  /孔, 置恒温  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 24 小时; 换液, 加入受试化合物,  $20 \mu\text{L}$  /孔, 培养 72 小时; 将 MTT 加入 96 孔板中,  $20 \mu\text{L}$  /孔, 培养箱中反应 4 小时; 吸去上清液, 加入 DMSO,  $150 \mu\text{L}$  /孔, 平板摇床上振摇 5 分钟; 用酶联免疫检测仪在波长为  $570\text{nm}$  处测定每孔的吸光值, 并计算细胞抑制率 (细胞抑制率  $\% = (\text{阴性对照组 OD 值} - \text{受试物组 OD 值}) / \text{阴性对照组 OD 值} \times 100\%$ )。测得各受试化合物的体外抗肿瘤细胞增殖活性的数据 ( $\text{IC}_{50}$ ,  $\mu\text{mol/L}$  或  $\mu\text{M}$ ) 如以下表 1 所示:

[0316] 表 1:

[0317]

肿瘤细胞株 化合物	HepG-2	A549	BGC-823	MCF-7	PC-3
	肿瘤细胞株 ( $\text{IC}_{50}$ , $\mu\text{mol/L}$ )				
I <sub>1</sub>	15.23	0.34	0.37	45.90	9.61
I <sub>2</sub>	5.41	35.07	0.16	10.21	1.93
I <sub>3</sub>	4.21	0.11	0.93	70.4	1.45
I <sub>4</sub>	2.41	4.73	1.13	1.03	0.43
I <sub>5</sub>	3.98	3.16	1.28	2.75	0.18
I <sub>6</sub>	5.09	<0.1	0.37	4.01	8.37
I <sub>7</sub>	1.05	8.47	14.9	<0.1	20.86
I <sub>8</sub>	8.72	1.11	0.29	16.11	0.23
II <sub>1</sub>	110.83	9.21	0.86	29.8	NI
II <sub>2</sub>	5.19	0.79	1.89	3.02	1.16
II <sub>3</sub>	3.95	4.09	0.15	129.6	4.79
II <sub>4</sub>	3.02	<0.1	16.01	3.69	1.28
II <sub>5</sub>	0.99	6.98	0.68	<0.1	15.52
II <sub>6</sub>	4.84	<0.1	0.62	33.6	0.87
II <sub>7</sub>	10.32	37.15	0.27	3.78	22.23
II <sub>8</sub>	4.83	<0.1	3.11	4.45	20.03
III <sub>1</sub>	7.83	4.01	<0.1	<0.1	NI
III <sub>2</sub>	2.81	15.5	<0.1	6.53	NI
III <sub>3</sub>	5.24	3.01	0.22	6.99	0.28
III <sub>4</sub>	8.49	0.27	0.11	3.51	10.61

[0318]

III <sub>5</sub>	4.19	8.76	<0.1	5.26	2.51
------------------	------	------	------	------	------

[0319] IC<sub>50</sub> 值为三次实验的平均值 ;NI 表示在 100 μ mol/L 浓度时没有活性。

[0320] 据文献报道,本发明所述缀合物的母体化合物齐墩果酸对肝癌 HepG-2 细胞和肺癌 A549 细胞的 IC<sub>50</sub> 值分别为 70 μ M 和 39 μ M(Zheng, M. S. ;Lee, Y. K. ;Li, Y. ;et al. Inhibition of DNA topoisomerases I and II and cytotoxicity of compounds from *Ulmus davidiana* var. *japonica*. Archives of Pharmacal Research, 2010, 33(9), 1307-1315) ;对乳腺癌 MCF-7 细胞的 IC<sub>50</sub> 值 88.36 μ M(黄敏珊,黄炜,吴其年等. 齐墩果酸诱导人乳腺癌细胞凋亡及与细胞内 Ca<sup>2+</sup> 水平的研究,中国现代医学杂志,2004,14(16) : 58-60)。而表 1 中药理实验数据显示,在所测试的化合物中,化合物 II<sub>5</sub> 具有最高的抗肝癌 HepG-2 细胞增殖活性 (IC<sub>50</sub> = 0.99 μ M),是母体化合物齐墩果酸 (IC<sub>50</sub> = 70 μ M) 相应活性的 70 倍 ;化合物 I<sub>6</sub>、II<sub>4</sub>、II<sub>6</sub> 和 II<sub>8</sub> 具有非常好抗肺癌 A549 细胞增殖活性 (IC<sub>50</sub> < 0.1 μ M),是母体化合物齐墩果酸 (IC<sub>50</sub> = 39 μ M) 相应活性的 390 倍以上 ;化合物 I<sub>7</sub>、II<sub>5</sub> 和 III<sub>1</sub> 具有很高的抗乳腺癌 MCF-7 细胞增殖活性 (IC<sub>50</sub> < 0.1 μ M),至少是母体化合物齐墩果酸 (IC<sub>50</sub> = 88.36 μ M) 相应活性的 880 倍。另外化合物 III<sub>1</sub>、III<sub>2</sub> 和 III<sub>5</sub> 表现出非常好的抗胃癌 BGC-823 细胞增殖活性 (IC<sub>50</sub> < 0.1 μ M)。

[0321] 根据表 1 中药理实验数据显示,本发明通式 (I)、(II) 或 (III) 化合物具有良好的抗肿瘤活性,对所测试肿瘤细胞的抑制 IC<sub>50</sub> 值大部分都在微摩尔水平 ;所测试化合物中,优秀化合物的活性甚至是母体化合物齐墩果酸活性的 800 多倍 ;因此,本发明所述的具有上述通式 (I)、(II) 或 (III) 所示结构的化合物具有良好的抗肿瘤活性,可用于制备预防或治疗肿瘤疾病的药物。具有上述通式 (I)、(II) 或 (III) 所示结构化合物的药学上可接受的盐或酯,它们与通式 (I)、(II) 或 (III) 化合物一样可用于制备预防或治疗肿瘤疾病的药物。

[0322] 本发明中所述的齐墩果酸-嘧啶类缀合物的药物制剂可采用通常的胶囊、片剂、颗粒或其它口服制剂,也可以进行肠胃外给药,可采取任何常规形式,例如注射剂、软膏剂、经皮给药、吸入剂等。