



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102382073 A

(43) 申请公布日 2012.03.21

(21) 申请号 201110213499.0

(22) 申请日 2011.07.28

(71) 申请人 中国科学院新疆理化技术研究所

地址 830011 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市
北京南路 40 号附 1 号

(72) 发明人 阿吉艾克拜尔·艾萨 赵江瑜

(74) 专利代理机构 乌鲁木齐中科新兴专利事务
所 65106

代理人 张莉

(51) Int. Cl.

C07D 261/08 (2006.01)

A61K 31/415 (2006.01)

A61P 31/16 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 5 页

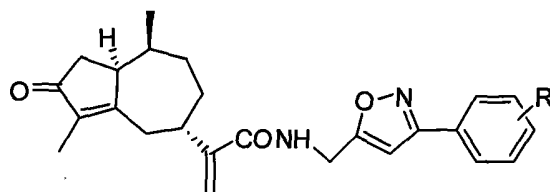
(54) 发明名称

一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物及其制备方法
和用途

(57) 摘要

本发明涉及一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物及其制备方法和用途,该类衍生物是由一枝蒿酮酸和 3-取代苯基-5-氨基-异噁唑衍生物为原料,在缩合剂 N,N'-二环己基碳二酰亚胺的作用下合成而得,并对所合成的衍生物进行了初步的体外抗甲 (H3N2, H1N1) 和乙型流感病毒活性测试。实验结果表明,化合物 2c(N-[(3-对氟苯基-异噁唑-5-基)-甲基]-一枝蒿酮酸酰胺)对甲型 H3N2 流感病毒表现出一定的抑制活性;化合物 2c(N-[(3-对氟苯基-异噁唑-5-基)-甲基]-一枝蒿酮酸酰胺)和 2e(N-[(3-邻甲氧基苯基-异噁唑-5-基)-甲基]-一枝蒿酮酸酰胺)对乙型流感病毒表现出一定的抑制活性。该方法反应条件温和,实验步骤简捷。

1. 一种一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物,其特征在于该衍生物的结构如通式(I):



(I)

其中 R 为氢、对氯、对氟、对甲氧基、邻甲氧基或对甲基。

2. 根据权利要求 1 所述的一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物的制备方法,其特征在于按下列步骤进行:

a、将一枝蒿酮酸和 N, N- 二环己基碳二酰亚胺溶解在干燥的四氢呋喃中,冰浴下搅拌反应 10min;

b、将 1- 羟基苯并三氮唑和 4- 二甲氨基吡啶溶解在干燥的四氢呋喃中,滴加到步骤 a 体系中,冰浴搅拌 30min;

c、再将 3-(取代苯基)-5- 氨基异噁唑加入步骤 b 反应体系中,继续冰浴搅拌 30min 后,自然升至室温继续反应, TLC 检测反应完全后,真空脱溶剂,将残渣采用柱层析梯度洗脱,洗脱剂为石油醚和乙酸乙酯,即得目标产物。

3. 根据权利要求 2 所述方法,其特征在于步骤 c 中所述洗脱剂体积比为石油醚:乙酸乙酯 = 5 : 1-2 : 1。

4. 根据权利要求 1 所述的一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物在制备抗甲型流感病毒的药物中的用途。

一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物及其制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明涉及从维药一枝蒿中分离得到的单体化合物一枝蒿酮酸及以它为母体化合物所合成的一系列一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物,该类衍生物经活性检测部分化合物具有抗甲、乙型流感病毒感染的药物用途。

背景技术

[0002] 菊科植物新疆一枝蒿 (*Artemisia rupestris* L.) 在新疆民间用药历史悠久,具有抗炎、抗过敏、抗菌、抗癌、增强免疫力、解蛇毒、保肝、抗氧化等活性。目前对新疆一枝蒿的研究主要侧重于其化学成分的鉴定,而且有几种以一枝蒿为主要成分的复方药品已经上市。下面是已上市的代表性复方药品:

[0003] 药品名称:复方一枝蒿颗粒;

[0004] 生产企业:新疆西域药业有限公司批准文号:国药准字 Z20026711;

[0005] 成份:一枝蒿,大青叶,板蓝根;

[0006] 用途:解毒利咽,用于感冒,发烧,咽喉肿痛。

[0007] 一枝蒿酮酸 (Rupestonic acid) 是从新疆一枝蒿中分离出的一种含多官能团的倍半萜类化合物,率先对此单体化合物进行了初步的抗甲、乙型流感病毒和单纯 I、II 型疱疹病毒活性研究,结果表明此母体化合物对乙型流感病毒具有一定的抑制活性。

[0008] 取代异噁唑杂环是一类具有广泛生物活性的分子结构,药物分子中引入异噁唑杂环,可以改变药物分子与受体结合的性质。

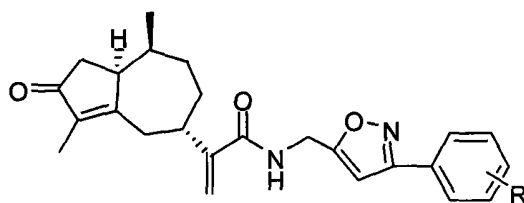
[0009] 本发明将取代的异噁唑杂环引入到一枝蒿酮酸分子中,合成了一系列一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物,反应条件温和,实验步骤简捷。

发明内容

[0010] 本发明的目的在于,提供一种一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物及其制备方法和用途,该类衍生物以一枝蒿酮酸和 3-取代苯基-5-氨基-异噁唑为原料,在缩合剂的作用下合成而得。该方法反应条件温和,实验步骤简捷。本发明所述的一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物作为制备抗甲型或乙型流感病毒的药物用途。

[0011] 本发明所述的一种一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物,其结构如通式 (I):

[0012]



(I)

[0013] 其中 R 为氢 (H)、对氯 (p-Cl)、对氟 (p-F)、对甲氧基 (p-CH₃O)、邻甲氧基 (o-CH₃O)

或对甲基 (p-CH₃)。

[0014] 所述的一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物的制备方法,按下列步骤进行:

[0015] a、将一枝蒿酮酸和 N, N- 二环己基碳二酰亚胺溶解在干燥的四氢呋喃中,冰浴下搅拌反应 10min;

[0016] b、将 1- 羟基苯并三氮唑和 4- 二甲氨基吡啶溶解在干燥的四氢呋喃中,滴加到步骤 a 体系中,冰浴搅拌 30min;

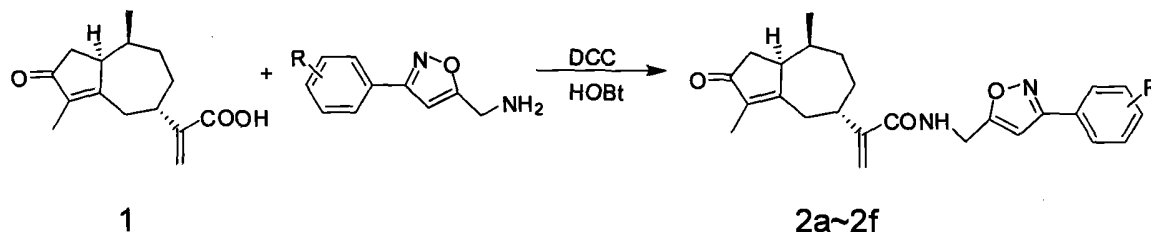
[0017] c、再将 3-(取代苯基)-5- 氨基甲基异噁唑加入步骤 b 反应体系中,继续冰浴搅拌 30min 后,自然升至室温继续反应, TLC 检测反应完全后,真空脱溶剂,将残渣采用柱层析梯度洗脱,洗脱剂为石油醚和乙酸乙酯,即得目标产物。

[0018] 步骤 c 中所述洗脱剂体积比为石油醚:乙酸乙酯=5:1-2:1。

[0019] 所述一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物在制备抗甲型或乙型流感病毒的药物中的用途。

[0020] 本发明所述的一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物,是将取代的异噁唑环引入到一枝蒿酮酸分子中,合成一系列一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物,化学反应式为:

[0021]



[0022] 其中 R 为 2a :H(氢)、2b :p-Cl(对氯)、2c :p-F(对氟)、2d :p-CH₃O(对甲氧基)、2e :o-CH₃O(邻甲氧基) 或 2f :p-CH₃(对甲基)。对所合成的衍生物进行了初步的体外抗甲型 (H3N2, H1N1) 和乙型流感病毒活性测试,实验结果表明,化合物 2c (N-[(3- 对氟苯基 - 异噁唑 -5- 基) - 甲基] - 一枝蒿酮酸酰胺) 对甲型 H3N2 流感病毒表现出一定的抑制活性;化合物 2c (N-[(3- 对氟苯基 - 异噁唑 -5- 基) - 甲基] - 一枝蒿酮酸酰胺) 和 2e (N-[(3- 邻甲氧基苯基 - 异噁唑 -5- 基) - 甲基] - 一枝蒿酮酸酰胺) 对乙型流感病毒表现出一定的抑制活性。

具体实施方式

[0023] 依据实施例对本发明进一步说明,但本发明不仅限于这些实施例。试剂:

[0024] 一枝蒿酮酸按常规方法分离,纯度:98%, HPLC 检测,其余的试剂均为市售的分析纯。

[0025] 实施例 1 :N-[(3- 苯基 - 异噁唑 -5- 基) - 甲基] - 一枝蒿酮酸酰胺的制备

[0026] a、将 0.05g (0.20mmol) 一枝蒿酮酸和 0.05g (0.22mmol) N, N- 二环己基碳二酰亚胺溶解于 8mL 干燥的四氢呋喃中,冰浴下搅拌反应 10min;

[0027] b、将 0.04g (0.30mmol) 1- 羟基苯并三氮唑和 0.03g (0.22mmol) 4- 二甲氨基吡啶溶解在 3mL 干燥的四氢呋喃中,滴加到步骤 a 体系中,冰浴搅拌 30min;

[0028] c、再将 0.05g (0.30mmol) 3- 苯基 -5- 氨基甲基 - 异噁唑加入步骤 b 反应体系中,冰浴搅拌 30min 后,自然升至室温继续反应, TLC 检测反应完全后,真空脱溶剂,将残渣采用柱层

析梯度洗脱剂为体积比石油醚：乙酸乙酯 = 5 : 1-2 : 1 洗脱, 即可得到 N-[(3- 苯基 - 异噁唑 -5- 基) - 甲基] - 一枝蒿酮酸酰胺。

[0029] 实施例 2 : N-[(3- 对氯苯基 - 异噁唑 -5- 基) - 甲基] - 一枝蒿酮酸酰胺的制备

[0030] a、将 0.05g (0.20mmol) 一枝蒿酮酸和 0.05g (0.22mmol) N,N- 二环己基碳二酰亚胺溶解于 8mL 干燥的四氢呋喃中, 冰浴下搅拌反应 10min ;

[0031] b、将 0.04g (0.30mmol) 1- 羟基苯并三氮唑和 0.03g (0.22mmol) 4- 二甲氨基吡啶溶解在 3mL 干燥的四氢呋喃中, 滴加到步骤 a 体系中, 冰浴搅拌 30min ;

[0032] c、再将 0.06g (0.30mmol) 3- 对氯苯基 -5- 氨基 - 异噁唑加入步骤 b 反应体系中, 冰浴搅拌 30min 后, 自然升至室温继续反应, TLC 检测反应完全后, 真空脱溶剂, 将残渣采用柱层析梯度洗脱剂为体积比石油醚：乙酸乙酯 = 5 : 1-2 : 1 洗脱, 即可得到 N-[(3- 对氯苯基 - 异噁唑 -5- 基) - 甲基] - 一枝蒿酮酸酰胺。

[0033] 实施例 3 : N-[(3- 对氟苯基 - 异噁唑 -5- 基) - 甲基] - 一枝蒿酮酸酰胺的制备

[0034] a、将 0.05g (0.20mmol) 一枝蒿酮酸和 0.05g (0.22mmol) N,N- 二环己基碳二酰亚胺溶解于 8mL 干燥的四氢呋喃中, 冰浴下搅拌反应 10min ;

[0035] b、将 0.04g (0.30mmol) 1- 羟基苯并三氮唑和 0.03g (0.22mmol) 4- 二甲氨基吡啶溶解在 3mL 干燥的四氢呋喃中, 滴加到步骤 a 体系中, 冰浴搅拌 30min ;

[0036] c、再将 0.06g (0.30mmol) 3- 对氟苯基 -5- 氨基 - 异噁唑加入步骤 b 反应体系中, 冰浴搅拌 30min 后, 自然升至室温继续反应, TLC 检测反应完全后, 真空脱溶剂, 将残渣采用柱层析梯度洗脱剂为体积比石油醚：乙酸乙酯 = 5 : 1-2 : 1 洗脱, 即可得到 N-[(3- 对氟苯基 - 异噁唑 -5- 基) - 甲基] - 一枝蒿酮酸酰胺。

[0037] 实施例 4 : N-[(3- 对甲氧基苯基 - 异噁唑 -5- 基) - 甲基] - 一枝蒿酮酸酰胺的制备

[0038] a、将 0.05g (0.20mmol) 一枝蒿酮酸和 0.05g (0.22mmol) N,N- 二环己基碳二酰亚胺溶解于 8mL 干燥的四氢呋喃中, 冰浴下搅拌反应 10min ;

[0039] b、将 0.04g (0.30mmol) 1- 羟基苯并三氮唑和 0.03g (0.22mmol) 4- 二甲氨基吡啶溶解在 3mL 干燥的四氢呋喃中, 滴加到步骤 a 体系中, 冰浴搅拌 30min 后 ;

[0040] c、再将 0.06g (0.30mmol) 3- 对甲氧基苯基 -5- 氨基 - 异噁唑加入步骤 b 反应体系中, 冰浴搅拌 30min 后, 自然升至室温继续反应, TLC 检测反应完全后, 真空脱溶剂, 将残渣采用柱层析梯度洗脱剂为体积比石油醚：乙酸乙酯 = 5 : 1-2 : 1 洗脱, 即可得到 N-[(3- 对甲氧基苯基 - 异噁唑 -5- 基) - 甲基] - 一枝蒿酮酸酰胺。

[0041] 实施例 5 : N-[(3- 邻甲氧基苯基 - 异噁唑 -5- 基) - 甲基] - 一枝蒿酮酸酰胺的制备

[0042] a、将 0.05g (0.20mmol) 一枝蒿酮酸和 0.05g (0.22mmol) N,N- 二环己基碳二酰亚胺溶解于 8mL 干燥的四氢呋喃中, 冰浴下搅拌反应 10min ;

[0043] b、将 0.04g (0.30mmol) 1- 羟基苯并三氮唑和 0.03g (0.22mmol) 4- 二甲氨基吡啶溶解在 3mL 干燥的四氢呋喃中, 滴加到步骤 a 体系中, 冰浴搅拌 30min ;

[0044] c、再将 0.06g (0.30mmol) 3- 邻甲氧基苯基 -5- 氨基 - 异噁唑加入步骤 b 反应体系中, 冰浴搅拌 30min 后, 自然升至室温继续反应, TLC 检测反应完全后, 真空脱溶剂, 将残渣采用柱层析梯度洗脱剂为体积比石油醚：乙酸乙酯 = 5 : 1-2 : 1 洗脱, 即可得到

N-[(3-邻甲氧基苯基-异噁唑-5-基)-甲基]-一枝蒿酮酸酰胺。

[0045] 实施例 6 :N-[(3-对甲基苯基-异噁唑-5-基)-甲基]-一枝蒿酮酸酰胺的制备

[0046] a、将 0.05g (0.20mmol) 一枝蒿酮酸和 0.05g (0.22mmol) N,N-二环己基碳二酰亚胺溶解于 8mL 干燥的四氢呋喃中,冰浴下搅拌反应 10min ;

[0047] b、将 0.04g (0.30mmol) 1-羟基苯并三氮唑和 0.03g (0.22mmol) 4-二甲氨基吡啶溶解在 3mL 干燥的四氢呋喃中,滴加到步骤 a 体系中,冰浴搅拌 30min ;

[0048] c、再将 0.06g (0.30mmol) 3-对甲基苯基-5-氨基-异噁唑加入步骤 b 反应体系中,冰浴搅拌 30min 后,自然升至室温继续反应, TLC 检测反应完全后,真空脱溶剂,将残渣采用柱层析梯度洗脱剂为体积比石油醚:乙酸乙酯=5 : 1-2 : 1 洗脱,即可得到 N-[(3-对甲基苯基-异噁唑-5-基)-甲基]-一枝蒿酮酸酰胺。

[0049] 实施例 7

[0050] 本发明将所合成的一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物 2a-2f 进行了初步的体外抗流感病毒活性测试,并对抗甲、乙型流感病毒的生物活性进行了测定:

[0051] 测试原理:以 MDCK (狗肾) 细胞为病毒宿主细胞,测定样品抑制病毒引起细胞病变程度 (CPE)。

[0052] 测试的材料:

[0053] (1) 病毒株:甲型流感病毒 [312-2006 (H3N2), 219-2006 (H1N1)], 乙型流感病毒 (济防 97-13), 2006 年 9 月在鸡胚尿囊腔内培养传代,温度 -80℃ 保存。

[0054] (2) 样品处理:样品溶于二甲亚砜,再用培养液配成适宜的初始浓度,用培养液做 3 倍稀释,各 8 个稀释度。

[0055] (3) 阳性对照药:病毒唑,浙江康裕药业有限公司生产 (批号 20050612)。

[0056] 方法:

[0057] (一) 测试样品溶液的配制

[0058] 将各样品溶于适量的 DMSO,再用培养液配制成 1000 μ g/mL 的初始浓度,然后用培养液依次做 3 倍稀释,各 8 个稀释度 (浓度依次为 250, 62.5, 15.6, 3.9, 1.0, 0.2, 0.06, 0.02 μ g/mL)。

[0059] (二) 抗流感病毒活性测试

[0060] 将狗肾细胞接种于 96 孔培养板,置于 5% CO₂, 温度 37℃ 培养 24 小时,狗肾细胞分别加入流感甲型病毒 10⁻³ (316 倍 TCID₅₀)、流感乙型病毒 (济防 97-13) 1/2 10⁻² (158 倍 TCID₅₀), 温度 37℃ 吸附 2 小时后移出病毒液,分别加入不同稀释度的药物。设病毒对照和细胞对照,温度 37℃ 培养待病毒对照组病变程度 (CPE) 达 4+ 时观察各组细胞病变程度 (CPE) (约 36 小时),计算各样品对流感病毒半数抑制浓度 (IC₅₀) 值。一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物 2a-2f 活性结果如表 1、表 2 所示:

[0061] 表 1 一枝蒿酮酸衍生物 2a-2f 抗甲型流感病毒 (H3N2、H1N1) 的活性数据

[0062]

化合物	TC ₅₀ (μM)	抗 H3N2 型流感病毒		抗 H1N1 型流感病毒	
		IC ₅₀ (μM)	SI	IC ₅₀ (μM)	SI
1	4653	25.8	180.6	>1344	—
2a	30.6	10.2	3.00	27.5	1.11
2b	107.9	>9.4	—	>0.94	—
2c	22.7	1.09	20.83	>0.97	—
2d	768.0	>85.3	—	230.6	3.33
2e	66.22	>9.5	—	>0.94	—
2f	6.8	>3.3	—	>3.3	—
阳性对照 药病毒唑	1278	3.88	329.4	1.92	665.6
奥司米韦	1260	1.11	1135.1	15.5	81.29

[0063] 表 2 一枝蒿酮酸异噁唑酰胺类衍生物 2a-2f 抗乙型流感病毒的活性数据

[0064]

化合物	TC ₅₀ (μM)	抗乙型流感病毒	
		IC ₅₀ (μM)	SI
1	>4032	>4032	—
2a	30.6	>10.2	—
2b	107.9	>9.4	—
2c	22.7	3.3	6.99
2d	768.0	>85.3	—
2e	66.22	9.5	6.98
2f	6.8	>3.3	—
阳性对照药 病毒唑	1278	14.7	86.9
奥司米韦	1260	>500	—

[0065] TC₅₀:半数有毒浓度。

[0066] —:样品在最大无毒计量时无抗流感病毒活性。

[0067] SI:选择指数。

[0068] $SI = TC_{50}/IC_{50}$ 。

[0069] 1 母体化合物(一枝蒿酮酸)。