

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

C07D 491/22 (2006.01)

A61K 31/4375 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810156789.4

[43] 公开日 2009 年 3 月 4 日

[11] 公开号 CN 101376658A

[22] 申请日 2008.9.26

[21] 申请号 200810156789.4

[71] 申请人 中国科学技术大学

地址 230026 安徽省合肥市金寨路 96 号

共同申请人 中国科学院上海药物研究所

[72] 发明人 李明宗 楼丽广 尤田耙 唐卫东
金 炜 王 欣

[74] 专利代理机构 合肥金安专利事务所

代理人 金惠贞

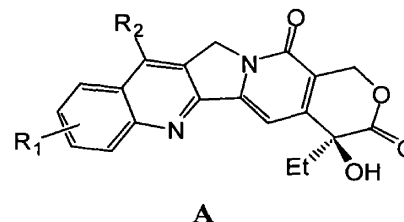
权利要求书 2 页 说明书 8 页

[54] 发明名称

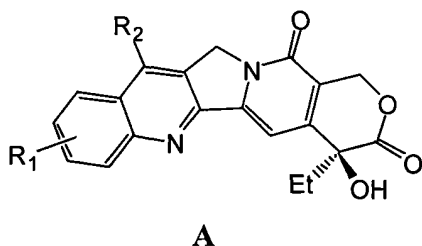
一种 7 - 位环烷基取代的喜树碱衍生物及合成方法和用途

[57] 摘要

一种 7 - 位环烷基取代的喜树碱衍生物是以下化学式所示的化合物。式 A 中 R_1 表示 9 或 10 或 11 位上有 0 - 3 个相同或不同的取代基； R_2 表示 7 位上有 $C_3 - C_8$ 的环烷基。式 A 所示的化合物由喜树碱或取代喜树碱与环烷基甲醛于酸性溶剂中有硫酸亚铁和双氧水存在条件下于 0 - 10℃ 反应 0.5 - 4 小时合成制备的。式 A 所示的化合物的用途是在制备抗肿瘤药物中的应用。



1、一种 7-位环烷基取代的喜树碱衍生物，其特征在于：为以下化学式所示的化合物



其中：

R₁代表 9 或 10 或 11-位上有 0-3 个相同或不同的取代基，这些取代基选自卤原子或羟基或烷氧基或硝基或氨基或烷基氨基或二烷基氨基；

R₂代表 7 位上有 C₃-C₈的环烷基，选自环丙甲酰基或环丁基或环戊基或环己基或环庚基或环辛基。

2、根据权利要求所述 1 的喜树碱衍生物，其特征在于：

其中：

R₁代表 9-NO₂或 9-NH₂或 9-NHCH₃、10-OH 或 10-OCH₃或 10-F 或 11-OH；

R₂代表环戊基或环己基或环庚基或环辛基或环丙甲酰基。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的喜树碱衍生物，其特征在于：

其中：

R₁代表 H 或 10-OH 或 10-OCH₃；

R₂代表环戊基或环己基或环丙甲酰基。

4、根据权利要求 3 的喜树碱衍生物，其特征在于：为以下化合物：

- 7- 环戊基喜树碱
- 7- 环己基喜树碱
- 7- 环丙甲酰基喜树碱
- 7- 环戊基-10-羟基喜树碱
- 7- 环己基-10-羟基喜树碱
- 7- 环丙甲酰基-10-羟基喜树碱
- 7- 环戊基-10-甲氧基喜树碱
- 7- 环己基-10-甲氧基喜树碱
- 7- 环丙甲酰基-10-甲氧基喜树碱。

5、由权利要求 1 所述的喜树碱衍生物的合成方法，以喜树碱或取代喜树碱和环烷基甲醛为原料，包括合成、分离和纯化，其特征在于：所述的合成是将喜树碱或取代喜树碱和硫酸亚铁在搅拌下投入酸性溶剂中并冷却至 0-10℃，然后依次加入环烷基甲醛和双氧水搅拌反应 0.5-4 小时；反应结束后加冰水稀释、用氯仿萃取分离，得到萃取液，将萃取液真空脱溶后得到目标产物；所述的酸性溶剂是浓硫酸与醋酸和水按 1 : 2-5 : 4-6 的体积比混合得到酸性溶剂。

6、根据权利要求 5 所述的合成方法，其特征在于：所述的酸性溶剂是浓硫酸与醋酸和水的体积比为 1 : 5 : 5。

7、根据权利要求 5 或 6 所述的合成方法，其特征在于：合成反应温度为 1-8℃。

8、根据权利要求 7 所述的合成方法，其特征在于：合成反应温度为 2-5℃。

9、由权利要求 1 所述的喜树碱衍生物的用途，其特征在于：7-位环烷基取代的喜树碱衍生物在制备抗肿瘤药物中的应用。

一种 7-位环烷基取代的喜树碱衍生物及合成方法和用途

一、技术领域

本发明涉及一种生物碱衍生物及其制备方法和医药用途，具体地说是一种 7-位环烷基取代的喜树碱衍生物及合成方法和用途。

二、背景技术

喜树碱 (camptothecine) 是从我国特有的珙桐科植物喜树 (*Camptotheca acuminata*) 中分离出的具有很强抗肿瘤活性的喹啉类生物碱，其抗肿瘤活性是通过抑制拓扑异构酶 I (Topo I) 发挥作用的，而 Topo I 在许多癌细胞中的表达要比正常细胞高得多，因此有希望从喜树碱的新衍生物中开发出高效低毒的抗癌药。为克服喜树碱直接服用的副作用问题，自上世纪 80 年代末以来，喜树碱新衍生物的合成和抗癌活性研究一直是抗癌药的研究热点之一。至今已有两种喜树碱衍生物依利替康 (Irinotecan) 和拓扑替康 (Topotecan) 被批准用于临床治疗各种癌症。还有多种喜树碱新衍生物处于各期临床试验 (Mitsu 等 *Jpn J Cancer Res*, 1995, 86: (8), 776-782; Luzzio 等 *J Med Chem*, 1995, 38(3), 395-401; Penco 等 *US Pat*: 6242457, 2001-06-05; Lavergne 等 *J Med Chem*, 2000, 43(11), 2285-2289)。大量的构效关系研究表明：喜树碱的 7-位取代通常能显著提高其抗肿瘤活性，如 Curran 等报道的 7-硅烷基取代的喜树碱 (*Bioorg Med Chem Lett* 1997, 7(24), 3189) 及随后在公开专利中提供的 7-硅烷取代的喜树碱和高喜树碱 (CN 1514841A; WO 00/61146); 潘显道等报道的 (Pan X.D. *Bioorg Med Chem Lett* 2003, 13, 3739) 并在随后专利中公开的 7-芳氧乙酰氧甲基取代的喜树碱及其衍生物 (CN 1482128A); 刘健利等在中国专利中公开的 7-羟基、烷氧基或胺甲基取代的喜树碱 (CN 1597683A); 还有 Wani 等报道的 7-饱和链烷基取代的喜树碱及其衍生物 (*Bioorg Med Chem Lett* 2004, 14, 5377); Dallavalle 等报道的 7-亚胺、多胺取代的喜树碱衍生物 (*J Med Chem* 2006, 49, 5177)。在这些不同类型 7-位取代的喜树碱衍生物中都发现有些个体化合物其抗肿瘤活性明显高于相应 7-位未取代的母体化合物。7-位有饱和链烷基取代的喜树碱衍生物 (7-乙基喜树碱) 其抗肿瘤活性明显高于喜树碱，是众所周之的事实。

三、发明内容

申请人在研究喜树碱 7-位的取代反应时发现，当 7-位的取代基为环烷基时，其抗肿瘤活性比相应的链烷基取代物更高，有希望开发成有效的抗肿瘤剂。因此系统合成了 7-位不

同大小环烷基取代的喜树碱衍生物，并进行相应的抗肿瘤活性试验。

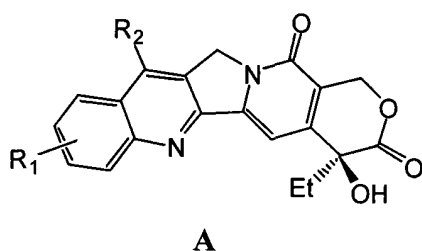
本发明的目的是提供一种 7-位为环烷基或环烷甲酰基取代的新的喜树碱衍生物。

本发明的另一个目的是提供制备 7-位环烷基或环烷甲酰基取代的喜树碱衍生物的合成方法。

本发明的另一个目的是通过抗肿瘤活性试验提供 7-位环烷基或环烷甲酰基取代的喜树碱衍生物作为抗肿瘤药物的应用。

该衍生物具有活性高，制备简单，且化合物稳定的特点。

本发明提供的喜树碱新衍生物，如以下化学式所示的化合物：



其中：

R_1 代表 9 或 10 或 11 位上有 0-3 个相同或不同的取代基，这些取代基选自卤原子或羟基或烷氧基或氨基或硝基或烷基氨基或二烷基氨基；

R_2 代表 7 位上有 C_3 - C_8 的环烷基，选自环丙甲酰基或环丁基或环戊基或环己基或环庚基或环辛基。

优选的化合物是：

R_1 代表 9- NO_2 或 9- NH_2 或 9- $NHCH_3$ 、10- OH 或 10- OCH_3 或 10- F 或 11- OH ；

R_2 代表环戊基或环己基或环庚基或环辛基或环丙甲酰基。

最优的化合物是：

R_1 代表 H 或 10- OH 或 10- OCH_3 ；

R_2 代表环戊基或环己基或环丙甲酰基。

最优的化合物有以下九种，其化学名称分别是：

7-环戊基喜树碱，编号 2an，

7-环己基喜树碱，编号 2ao，

7-环丙甲酰基喜树碱，编号 2am；

7-环戊基-10-羟基喜树碱，编号 2bn，

7-环己基-10-羟基喜树碱，编号 2bo，

7-环丙甲酰基-10-羟基喜树碱, 编号 2bm;

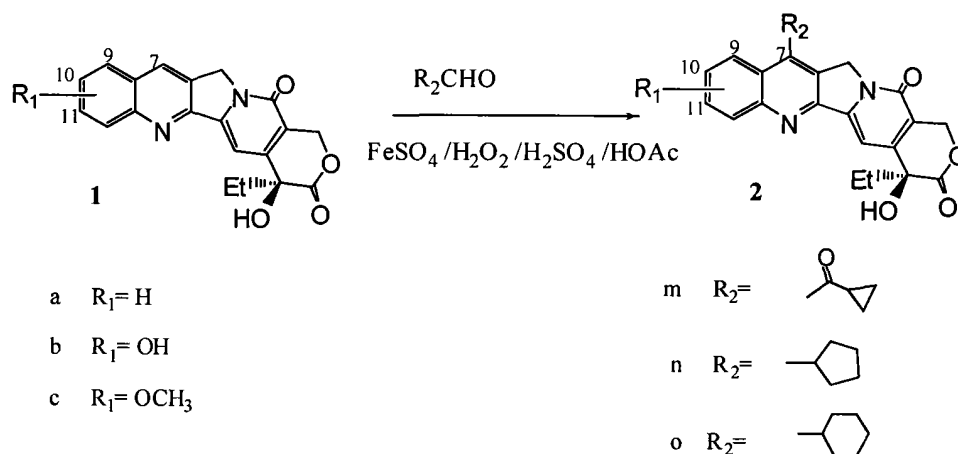
7-环戊基-10-甲氧基喜树碱, 编号 2cn,

7-环己基-10-甲氧基喜树碱, 编号 2co,

7-环丙甲酰基-10-甲氧基喜树碱, 编号 2cm。

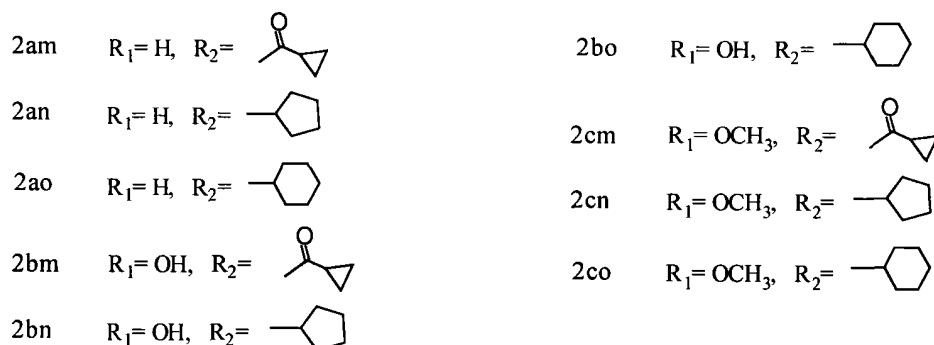
在 A 式中, 当 R_1 和 R_2 均为 H 时即是喜树碱母体。为叙述的统一, 下称母体喜树碱为喜树碱; 当 9 位或 10 位或 11 位上有取代基 R_1 时称取代喜树碱, 式 A 称喜树碱衍生物, 即本发明目标产物。

本发明涉及的式 A 化合物可以采用以下方法合成, 合成反应式如下:



式中 R_1 、 R_2 的定义同通式 A

当 a、b、c 所示的取代基 R_1 和 m、n、o 所示的取代基 R_2 分别组合时便构成上述九种最优选的化合物, 其组合和编号如下:



由式 1 化合物与环烷基甲醛 R_2CHO 反应得到式 2 化合物, 该合成机理是首先由过量的环烷基甲醛与硫酸亚铁及过氧化氢作用, 生成环烷基自由基中间体, 然后, 该自由基中间体进

一步与通式 1 代表的喜树碱或取代喜树碱反应,生成目标产物 7-位环烷基取代的喜树碱衍生物。

所述的反应必须在低温和酸性溶剂中进行。

所述的反应在 0.5-4 小时内完成,对于 10-羟基喜树碱底物,反应宜在 2 小时内结束,否则容易生成 7, 11-双环烷基取代的副产物,既降低了目标产物的产率,又增加分离纯化的难度。

所述的低温是指 0-10℃,较适宜的温度为 1-8℃,最适宜的温度是 2-5℃;所述的酸性溶剂是用浓硫酸、醋酸和水按 $\text{H}_2\text{SO}_4:\text{HOAc}:\text{H}_2\text{O}=1:2-5:4-6$ (体积比)混合的酸性溶剂,优选 $\text{H}_2\text{SO}_4:\text{HOAc}:\text{H}_2\text{O}=1:5:5$ (体积比)混合的酸性溶剂。

本合成方法以喜树碱或取代喜树碱和环烷基甲醛为原料,包括合成、分离和纯化,其特征是将喜树碱或取代喜树碱和硫酸亚铁在搅拌下投入酸性溶剂中并冷却至 0-10℃,然后依次加入环烷基甲醛和双氧水搅拌反应 0.5-4 小时。反应结束后加冰水稀释、用氯仿萃取分离,得到萃取液,将萃取液真空脱溶后得到目标产物粗品。所述的酸性溶剂是浓硫酸与醋酸和水按 1:2-5:4-6 的体积比混合得到酸性溶剂,优选浓硫酸:醋酸:水=1:5:5 体积比混合的酸性溶剂。

反应温度优选 1-8℃,以 2-5℃为佳。

所述的纯化是对粗品用硅胶柱层析纯化。具体方法是将粗品溶于氯仿中,或者直接将氯仿萃取液浓缩上硅胶层析柱,用氯仿与甲醇或氯仿与乙醇按 100:0.2-1 的体积比混合的混合溶剂洗脱,收集洗脱液,真空脱溶后得到目标产物纯品。纯品用核磁共振法进行结构测定并进行抗肿瘤活性实验。

本 7-位环烷基取代的喜树碱衍生物的用途是该衍生物在制备抗肿瘤药物中的应用。

四、具体实施方式:

以下通过实施例对本发明做进一步的说明,但不作为对本发明的限制。

实施例 1: 7-环丙甲酰基喜树碱 (2am) 的合成

348mg 喜树碱和 480mg 的 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,溶于 2.4ml 浓 H_2SO_4 , 6ml HOAc , 12ml 二次蒸馏水的混合溶剂中,冰盐浴冷却, 5℃时加入 180 μl 环丙基甲醛,当温度降到 2℃时,加入 400 μl 30% H_2O_2 ,冰浴下继续反应 2 小时。用 60ml 的冰水稀释反应混合物, CHCl_3 萃取,有机相经干燥 (Na_2SO_4), 浓缩,硅胶柱层析纯化 ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=100:0-0.2$)。得到 176mg 产物,产率 41%。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , TMS) δ : 1.05(3H, t, $J=7.4\text{Hz}$, 18-H), 1.45(2H, m, 环丙基氢), 1.61(2H, m, 环丙基氢), 1.90(2H, m, 19-H), 2.50(1H, m, 环丙基氢), 3.79(1H, br,

20-OH), 5.29(1H, d, J=16.4Hz, 17-H), 5.33(2H, s, 5-H), 5.74(1H, d, J=16.4Hz, 17-H), 7.69(1H, s, 14-H), 7.71(1H, t, J=8.24, 10-H), 7.87(1H, t, J=8.30Hz, 11-H), 8.17(1H, d, J=8.44Hz, 9-H), 8.29(1H, d, J=8.52, 12-H); C^{13} -NMR (400MHz, $CDCl_3$, TMS) δ : 7.80, 14.36, 14.42, 23.47, 31.65, 49.97, 66.97, 72.71, 98.21, 119.17, 123.80, 125.30, 128.84, 130.54, 130.79, 150.05, IR(KBr, cm^{-1}), 3449.04, 1750.24, 1658.21, 1602.85, 1157.89; EIS-MS: 417.3

实施例 2: 7-环戊基喜树碱(2an)的合成

55mg 喜树碱和 116mg 的 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 溶于 0.6ml 浓 H_2SO_4 , 3ml $HOAc$, 3ml 二次蒸馏水的混合溶剂中, 冰盐浴冷却至 $5^\circ C$ 时加入 65 μ l 环戊基甲醛, 当温度降到 $2^\circ C$ 时, 加入 50 μ l 的 30% H_2O_2 , 冰浴下继续反应 2 小时。用 30ml 的冰水稀释反应混合物, $CHCl_3$ 萃取, 有机相经干燥 (Na_2SO_4), 浓缩, 硅胶柱层析纯化 ($CHCl_3$: $MeOH$ = 100 : 0 - 0.2)。得到 54mg 产物, 产率 80.6%。 H^1 -NMR (300MHz, $CDCl_3$, TMS) δ : 1.04(3H, t, J=7.35Hz, 1.95-2.06(8H, m, 环戊基氢), 2.24(2H, m, 19-H), 3.82(1H, br, 20-OH), 3.87(1H, m, 环戊基氢), 5.30(1H, d, J=16.2Hz, 17-H), 5.35(2H, s, 5-H), 5.75(1H, d, J=16.2Hz), 7.61(1H, t, J=8.25Hz, 10-H), 7.69(1H, s, 14-H), 7.78(1H, t, J=7.65Hz, 11-H), 8.21(2H, m, 9-H and 12-H);

实施例 3: 7-环己基喜树碱(2ao)的合成

1.154g 喜树碱和 929mg 的 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 溶于 9.8ml 浓 H_2SO_4 , 48ml $HOAc$, 52ml 二次蒸馏水的混合溶剂中, 冰盐浴冷却至 $5^\circ C$ 时加入 65 μ l 环己基甲醛, 当温度降到 $2^\circ C$ 时, 加入 1ml 的 30% H_2O_2 , 冰浴下继续反应 2 小时。用 400ml 的冰水稀释反应混合物, $CHCl_3$ 萃取, 有机相经干燥 (Na_2SO_4), 浓缩, 硅胶柱层析纯化 ($CHCl_3$: $MeOH$ = 100 : 0 - 0.2)。得到 1.05g 产物, 产率 74%。 H^1 -NMR (300MHz, $CDCl_3$, TMS) δ : 1.20(3H, t, J=6.9Hz, 18-H), 1.43-2.03(12H, m, 环己基氢、19-H), 3.65(1H, br, 20-OH), 3.74(1H, m, 环己基氢), 5.31(1H, d, 16.5Hz, 17-H), 5.43(2H, s, 5-H), 5.76(1H, d, J=16.5Hz, 17-H), 7.68(1H, t, J=7.65Hz, 10-H), 7.78(1H, s, 14-H), 7.81(1H, t, J=8.10Hz, 11-H), 8.29(2H, m, 9-H and 12-H); C^{13} -NMR (400MHz, $CDCl_3$, TMS) δ :

实施例 4: 7-环丙基甲酰基-10-羟基喜树碱(2bm)的合成

48mg 10-羟基喜树碱和 67mg 的 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 溶于 0.35ml 浓 H_2SO_4 , 1.5 ml $HOAc$, 1.5 ml 二次蒸馏水的混合溶剂中, 冰盐浴冷却至 $5^\circ C$ 时加入 25 μ l 环丙基甲醛, 当温度降到 $2^\circ C$ 时, 加入 55 μ l 的 30% H_2O_2 , 冰浴下继续反应 2 小时。用 5ml 的冰水稀释反应混合物, $CHCl_3$ 萃取, 有机相经干燥 (Na_2SO_4), 浓缩, 硅胶柱层析纯化 ($CHCl_3$: $MeOH$ = 100 : 0 - 1)。得到 21mg 产物, 产率 47.4%。 H^1 -NMR (300MHz, $DMSO-d_6$, TMS) δ : 0.89(3H, t, J=6.74Hz,

1.33(4H, m, 环丙基), 1.88(2H, m, 19-H), 2.70(1H, m, 环丙基), 5.31(2H, s, 17-H), 5.42(2H, s, 5-H), 6.51(1H, br, 20-H), 7.29(1H, s, 14-H), 7.39(1H, s, 9-H), 7.47(1H, d, $J=9\text{Hz}$), 8.11(1H, d, $J=9\text{Hz}$, 12-H), 10.57(1H, br, 10-OH); $\text{C}^{13}\text{-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6 , TMS) δ : 7.73, 13.58, 22.59, 30.27, 50.06, 65.20, 72.37, 95.97, 106.12, 118.51, 123.29, 124.94, 126.92, 131.45, 138.20, 144.14, 149.43, 150.07, 156.07, 157.69, 172.41, 203.44.

实施例 5: 7-环戊基-10-羟基喜树碱(2bn)的合成

197mg (0.54mmol) 的 10-OH-喜树碱和 451mg 的 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 溶于 2.6ml 浓 H_2SO_4 , 12ml HOAc, 12ml 二次蒸馏水的混合溶剂中, 冰盐浴冷却至 5°C 时加入 192 μl 环戊基甲醛, 当温度降到 2°C 时, 加入 210 μl 的 30% H_2O_2 , 冰浴下继续反应 2 小时。用 40ml 的冰水稀释反应混合物, CHCl_3 萃取, 有机相经干燥 (Na_2SO_4), 浓缩, 硅胶柱层析纯化 ($\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} = 100 : 0 - 1$)。得到 180mg 产物, 产率 76.1%。还有 17mg 的 7-环戊基-10-羟基-11-环戊基喜树碱。 $\text{H}^1\text{-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6 , TMS) δ : 0.88(3H, t, $J=7.19\text{Hz}$, 18-H), 1.85-2.0(8H, m, 环戊基氢), 2.13(2H, m, 19-H), 3.70(1H, m, 环戊基氢), 5.33(2H, s, 17-H), 5.41(2H, s, 5-H), 6.47(1H, s, D_2O exchanged, 20-OH), 7.39(1H, dd, $J=9.03\text{Hz}$, 2.16Hz, 11-H), 7.49(1H, d, $J=2.07\text{Hz}$, 9-H), 8.02(1H, d, $J=9.03\text{Hz}$, 12-H), 10.26(1H, s, D_2O exchanged, 10-OH); $\text{C}^{13}\text{-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6 , TMS) δ : 7.70, 25.98, 30.23, 31.24, 38.69, 41.07, 50.16, 65.23, 72.40, 95.55, 105.81, 117.85, 122.18, 127.46, 128.28, 131.80, 143.80, 144.24, 146.14, 149.07, 150.10, 156.30, 156.71, 172.52;

实施例 6: 7-环戊基-10-甲氧基喜树碱(2cn)的合成

22mg 的 7-环戊基-10-OH-喜树碱和 38mg 的 K_2CO_3 以及 25 μl 的 MeI, 溶于 8ml 丙酮中, 加热回流过夜。浓缩, 硅胶柱层析提纯 ($\text{CHCl}_3 : \text{EtOH} = 100 : 0 - 1$)。得到 20mg 产物, 产率 88.1%。 $\text{H}^1\text{-NMR}$ (300MHz, CDCl_3 , TMS) δ : 1.03(3H, t, $J=7.34\text{Hz}$, 18-H), 1.89-2.24(10H, m, 8H 环戊基氢、19-H), 3.76(1H, m, 环戊基氢), 3.84(1H, br, 20-OH), 3.98(3H, s, 10-OMe), 5.29(1H, d, $J=16.3\text{Hz}$, 17-H), 5.31(2H, s, 5-H), 5.74(1H, d, $J=16.3\text{Hz}$, 17-H), 7.42-7.46(2H, m, 14-H and 11-H), 7.61(1H, s, 9-H), 8.13(1H, d, $J=8.94\text{Hz}$, 12-H); $\text{C}^{13}\text{-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , TMS) δ : 7.92, 26.72, 31.70, 32.08, 41.81, 50.40, 55.74, 66.48, 72.90, 97.31, 103.17, 117.79, 122.17, 126.78, 128.50, 132.30, 145.51, 145.87, 147.08, 149.87, 150.34, 157.66, 158.52, 174.10.

实施例 7: 7-环己基-10-羟基喜树碱(2bo)的合成

108mg (0.3mmol) 的 10-OH-喜树碱和 250mg 的 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 溶于 1.5ml 浓 H_2SO_4 , 7ml HOAc, 7ml 二次蒸馏水的混合溶剂中, 冰盐浴冷却至 5°C 时加入 130 μl 环己基甲醛, 当

温度降到 2℃ 时, 加入 120μl 的 30% H_2O_2 , 冰浴下继续反应 2 小时。用 6ml 的冰水稀释反应混合物, CHCl_3 萃取, 有机相经干燥 (Na_2SO_4), 浓缩, 硅胶柱层析纯化 (CHCl_3 : MeOH = 100 : 0 - 1)。得到 79mg 产物, 产率 60%。还有 17mg 的 7-环戊基-10-羟基-11-环戊基喜树碱。 ^1H -NMR (400MHz, DMSO-d_6 - CDCl_3 , TMS) δ : 0.96(3H, t, $J=7.38\text{Hz}$, 18-H), 1.48~2.00(12H, m, 环己基氢、19-H), 3.72(1H, m, 环己基氢), 5.30(1H, d, $J=16.12\text{Hz}$, 17-H), 5.33(2H, s, 5-H), 5.53(1H, d, $J=15.12\text{Hz}$, 17-H), 7.37(2H, m, 11-H and 9-H), 7.52(1H, br, 20-OH), 7.97(1H, d, $J=9.08\text{Hz}$, 12-H), 8.02(1H, s, 9-H), 9.99(1H, br, 10-OH); ^{13}C -NMR (400MHz, DMSO-d_6 - CDCl_3 , TMS) δ : 7.42, 25.48, 26.41, 30.46, 49.98, 65.07, 72.22, 95.89, 117.31, 121.89, 127.87, 131.27, 144.97, 150.24, 156.66, 172.43

实施例 8: 7-环己基-10-甲氧基喜树碱(2co)的合成

18mg 的 7-环己基-10-OH-喜树碱和 40mg 的 K_2CO_3 以及 25μl 的 MeI, 溶于 7ml 丙酮中, 加热回流过夜。浓缩, 硅胶柱层析提纯 (CHCl_3 : EtOH = 100 : 0 - 1)。得到 18mg 产物, 产率 97.0%。 ^1H -NMR (400MHz, CDCl_3 , TMS) δ : 1.03(3H, t, $J=7.40\text{Hz}$, 18-H), 1.46-2.04(12H, m, 10H 环己基氢、19-H), 3.45(1H, br, 20-OH), 3.81(1H, m, 环己基氢), 4.00(3H, s, 10-OMe), 5.29(1H, d, $J=16.2\text{Hz}$, 17-H), 5.37(2H, s, 5-H), 5.75(1H, d, $J=16.2\text{Hz}$, 17-H), 7.45(2H, m, 14-H and 11-H), 7.61(1H, s, 9-H), 8.13(1H, d, $J=9.6\text{Hz}$, 12-H); ^{13}C -NMR (400MHz, CDCl_3 , TMS) δ : 7.92, 26.15, 27.12, 31.68, 41.81, 50.72, 55.69, 66.50, 72.91, 97.33, 103.16, 117.77, 121.93, 126.78, 128.25, 132.23, 145.52, 145.87, 146.76, 149.77, 150.34, 157.63, 158.51, 174.12.

实施例 9: 本发明化合物的抗肿瘤活性试验

对本发明化合物进行了肿瘤细胞增殖抑制试验, 试验方法采用常规的 SRB 法。细胞株选用人肺癌细胞 A549/ATCC、结肠癌细胞 HT29、非小细胞肺癌 NCI-H460、人早幼粒白血病细胞 HL60。用上市的抗肿瘤药拓扑替康和 SN-38 作为对照。

试验方法

化合物体外抗肿瘤活性采用磺酰罗丹明 B (Sulforhodamine B, SRB) 方法。肿瘤细胞用 RPMI 1640 或 DMEM 培养基(Gibco)培养, 内含 10%胎牛血清, 培养条件为 37℃, 5% CO_2 。根据肿瘤细胞类型, 分别接种 $0.4\text{--}1.0 \times 10^4$ 细胞/孔于 96 孔板, 24 小时后, 加入 10 倍稀释的目标化合物; 化合物至少含 5 个浓度。化合物处理 72 小时后, 弃去培养液, 用 10%冷三氯醋酸固定细胞。然后用磺酰罗丹明 B (Sulforhodamine B, SRB) 溶液染色。洗去未结合 SRB 后, 用 Tris 溶解与蛋白结合的 SRB, 用酶标仪在 515nm 波长下测定 OD 值, 以下列公式计算细胞生长抑制率:

抑制率= (OD 值对照孔-OD 值给药孔) / OD 值对照孔×100%

根据各浓度抑制率, 采用 Logit 法计算半数抑制浓度 IC₅₀。

试验结果见表 1, 其中样品是指相应实施例中合成的各喜树碱衍生物。

表 1 测试的化合物对肿瘤细胞半数抑制浓度 IC₅₀(单位: μM)

样品	A549	HT29	NCI-H460	HL60
2am	0.179	0.098	0.0045	0.0024
2an	0.0658	0.094	<0.001	<0.001
2ao	0.024	0.020	0.0023	<0.001
2bm	1.280	0.570	0.0280	0.0042
2bn	0.071	0.058	<0.001	<0.001
2bo	0.030	0.018	<0.001	<0.001
2cn	0.031	0.030	<0.001	<0.001
2co	0.039	0.035	<0.001	<0.001
Topotecan	0.475	0.373	0.036	0.0042
SN38	0.0795	0.124	----	-----