



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101792477 A

(43) 申请公布日 2010.08.04

(21) 申请号 201010115913. X

(22) 申请日 2010.03.02

(71) 申请人 福州大学

地址 350108 福建省福州市闽侯县上街镇大学城学园路 2 号

(72) 发明人 白锴凯 于舟 孟春 石贤爱
郭养浩

(74) 专利代理机构 福州元创专利商标代理有限公司 35100

代理人 蔡学俊

(51) Int. Cl.

C07J 63/00 (2006.01)

A61K 31/56 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 4 页 附图 1 页

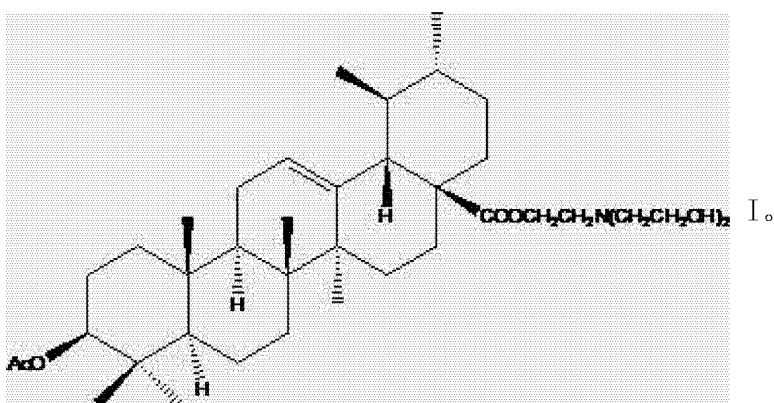
(54) 发明名称

具抗癌活性的乙酰熊果酰三乙醇胺单酯及其制备方法

(57) 摘要

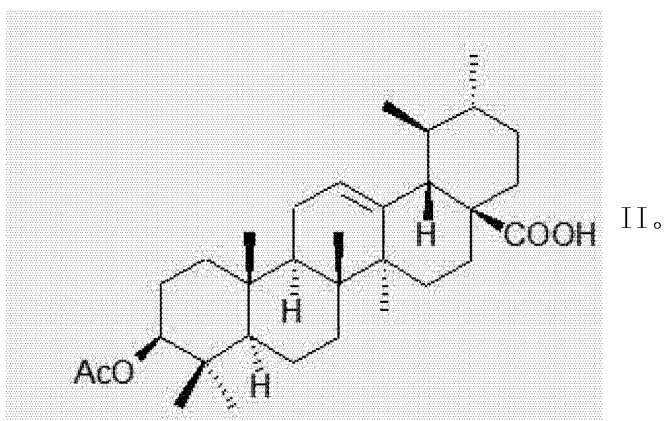
本发明以熊果酸为母体化合物,通过与三乙醇胺接合,合成具抗癌活性的乙酰熊果酰三乙醇胺单酯。体外药理试验表明,乙酰熊果酰三乙醇胺单酯对人肝癌 HepG2、人结肠癌 PC-3、人胃癌 AGS、BGC-823、MKN45 具有明显的体外抑制能力。

1. 具抗癌活性的乙酰熊果酰三乙醇胺单酯,其特征在于结构式如式 I 所示:



2. 制备权利要求 1 所述的乙酰熊果酰三乙醇胺单酯的方法,其特征在于该方法包括以下步骤:

- (1) 熊果酸与乙酸酐反应,生成乙酰熊果酸;乙酰熊果酸的结构式如式 II 所示;
- (2) 乙酰熊果酸与草酰氯反应,再与三乙醇胺反应得乙酰熊果酰三乙醇胺单酯。



3. 制备权利要求 1 所述的乙酰熊果酰三乙醇胺单酯的方法,其特征在于该方法包括以下步骤:

a. 10g~20g 熊果酸用 40~80ml 吡啶溶解,溶液在 -5~5℃ 下加入 25~45ml 醋酸酐后,在 10~30℃ 下反应 8~12h,之后减压蒸除溶剂,残余物用二氯甲烷完全溶解后,并依次用稀盐酸、蒸馏水、饱和氯化钠溶液洗涤,所得有机溶液用无水硫酸钠除水 2~6h,滤液于 40~50℃ 下减压后烘干至恒重,所得粗产品用无水乙醇重结晶,得到乙酰熊果酸;

b. 2~4g 乙酰熊果酸用二氯甲烷完全溶解, -5~5℃ 条件下滴入 2~4ml 草酰氯,控制速度使其在 25~35min 内滴完,滴加完毕后继续维持此温度搅拌 0.5~1h,后于室温下继续反应 12h 以上,反应完毕,将上述溶液减压蒸馏,得黄色泡沫状固体,加入 20~40ml 二氯甲烷溶解,为备用溶液,将 1~2g 三乙醇胺(纯度为 80%)完全溶于 50~100ml 二氯甲烷,然后于 -5~5℃ 下将前述备用溶液滴入其中,同时控制滴加速度,使其在 25~35min 内滴完,滴毕继续维持 -5~5℃ 下反应 0.5~1h,后撤除冰浴,于 10~30℃ 下反应 6~12h,依次用稀盐酸、蒸馏水、饱和氯化钠溶液洗涤有机层,有机层加入无水硫酸钠除水 2~3h 后过滤,滤液于 40~50℃ 下减压蒸馏后烘干至恒重,得到粗品浅黄色固体,黄色固体用硅胶柱层析纯化,得淡黄色粉末状乙酰熊果酰三乙醇胺单酯。

4. 权利要求 1 所述的乙酰熊果酰三乙醇胺单酯,其特征在于具有抗肿瘤活性,可用于

治疗肿瘤疾病药物的制备。

具抗癌活性的乙酰熊果酰三乙醇胺单酯及其制备方法

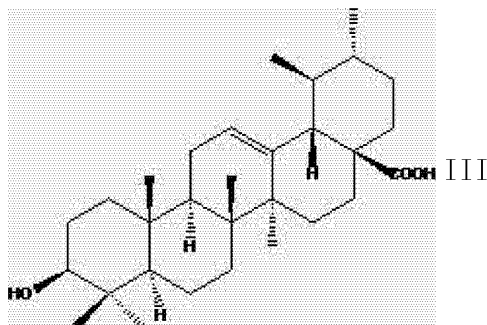
技术领域

[0001] 本发明涉及一种天然产物的化学修饰物及其制备方法,具体说是一种具有抗肿瘤活性的熊果酸衍生物及其制备方法,更具体的说是具有抗癌活性的乙酰熊果酰三乙醇胺单酯及其制备方法。

背景技术

[0002] 熊果酸 (Ursolic acid, UA), 又名乌索酸、乌苏酸, 属五环三萜类化合物, 化学名 (3 β)-3-Hydroxyurs-12-en-28-oic acid, 分子式 $C_{30}H_{48}O_3$ 。其在自然界分布较广, 在多种植物中以游离形式存在或与糖结合成甙存在。药理研究发现, 熊果酸具有广泛的生物学效应, 除保肝、抗炎、抗病毒、抗菌、调节中枢神经系统等作用外, 还具有显著的抗癌功效, 且副作用小, 毒性低, 显示出较大的临床应用潜力。

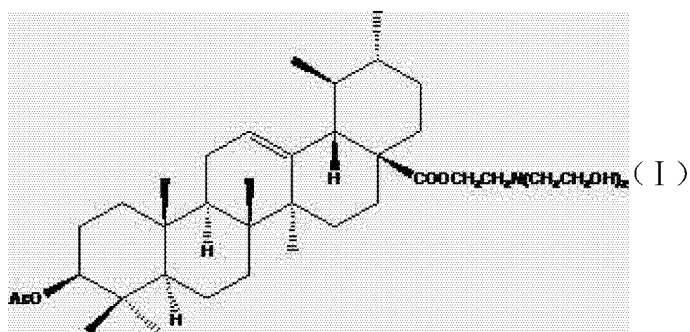
[0003] 熊果酸的化学结构式为:



目前, 国内对熊果酸的研究报告多集中在熊果酸的提取分离工艺和药理学研究, 对熊果酸的合成改造设计较少。其中对熊果酸的抗癌作用研究较深入。如王涛等的“熊果酸抗肿瘤作用及其机制研究进展”(《药物生物技术》, 2008, 15[2]); 熊斌等的“熊果酸药理学研究进展”(《国外医学药学分册》, 2004, 31[3]); 夏国豪等的“熊果酸抗肿瘤作用研究进展”(《国外医学肿瘤学分册》, 2002, 29[6]); 等等。研究表明, 熊果酸抗始发突变、抗促癌作用、抗氧化作用、细胞毒作用、诱导癌细胞分化、抗血管生成作用、诱导细胞凋亡。国内的白育军等报道了 6 种熊果酸母核修饰物(《华西药学杂志》, 2003, 18[2]); 杨定菊等报道了具有生物活性的聚乙二醇支载熊果酸(《中国药科大学大学学报》, 2008, 39[1]), 并发表了专利《亲水性聚乙二醇支载熊果酸系列新药及其制备方法》; 孟艳秋等开发了熊果酸修饰氨基酸、氨基醇、胺、杂环等系列衍生物等多项专利。本发明的立足点在于研发新型的具抗癌活性的乙酰熊果酰三乙醇胺单酯及其制备方法, 国内外未见其报道。

发明内容

[0004] 本发明的目的是以熊果酸为先导化合物,合成具有抗癌活性的乙酰熊果酰三乙醇胺单酯。其结构式如式(I)所示:

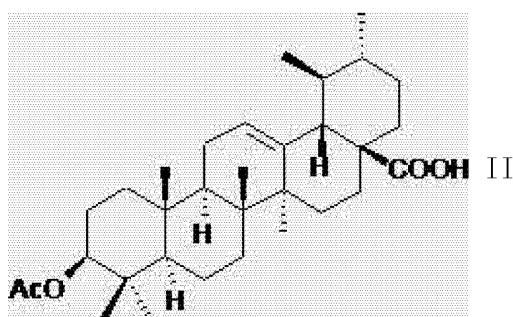


如上所示的具有抗肿瘤活性的乙酰熊果酰三乙醇胺单酯,具有抗肿瘤活性,可用于治疗肿瘤疾病。

[0005] 本发明的反应流程,是通过下列步骤完成的:

(1) 熊果酸与乙酸酐反应,生成乙酰熊果酸;乙酰熊果酸的结构式如式 II 所示。

[0006] (2) 乙酰熊果酸与草酰氯反应,再与三乙醇胺反应得乙酰熊果酰三乙醇胺单酯;



反应流程可见附图 1。

[0007] 本发明的优点在于,本发明对天然产物熊果酸进行化学改造,得到乙酰熊果酰三乙醇胺单酯,经过药理学试验表明,其对所有测试细胞株均具有良好的抑制能力,其中对 HepG2、PC-3、MKN45 的抑制作用优于母核熊果酸。

[0008] 附图说明

图 1 为本发明中乙酰熊果酰三乙醇胺单酯的合成路线。

具体实施例

[0009] 通过下面给出的本发明的具体实施例以及对比实施例可以进一步清楚地了解本发明,但是它们不是对本发明的限定:

实施例 1

乙酰熊果酸的制备:

10g 熊果酸用 45mL 吡啶溶解,在冰浴条件下缓慢滴加 25mL 乙酸酐,滴毕室温下反应

8h。停止反应,减压蒸除吡啶,残余物用二氯甲烷溶解,并依次用盐酸(5%)、蒸馏水、饱和氯化钠溶液洗涤有机相,有机相用无水硫酸钠干燥过夜,过滤,滤液于45℃下减压浓缩后烘干至恒重,所得粗产品为10.50g。粗产物用无水乙醇重结晶,得白色针状晶体8.59g。结晶产率为83.3%,总产率为80.5%。mp:282~283℃。

[0010] ^1H NMR(600MHz, CDCl_3): 5.32 (t, 1H, $J=3.6\text{Hz}$, H-12), 4.42 (t, 1H, $J=5.6$, H-3), 2.22 (d, 1H, $J=11.2\text{Hz}$, H-18), 2.04 (s, 3H, CH_3CO), 0.92 (d, 3H, $J=6.4\text{Hz}$, CH_3), 0.85 (d, 3H, $J=3.6\text{Hz}$, CH_3), 1.09, 1.00, 0.91, 0.78, 0.74 (s, 15H, each, CH_3)。

[0011] IR(KBr): 3366, 2972, 2928, 1736, 1700, 1455, 1370, 1246 cm^{-1} 。

[0012] 实施例 2

乙酰熊果酰三乙醇胺单酯的制备:

2.00g 乙酰熊果酸用二氯甲烷溶解,冰浴条件下缓慢滴入 2ml 草酰氯,滴加完毕后继续维持冰浴搅拌 1h,后于室温下继续反应 24h。反应完毕,将上述溶液减压蒸馏,得黄色泡沫状固体。分 2 次各加入少量二氯甲烷并减压蒸干溶剂,所得产物为浅黄色固体,用 100mL 二氯甲烷溶解,备用。

[0013] 在冰浴及充分搅拌条件下,将上述备用溶液缓慢滴入含 1g 三乙醇胺(80%)的 50mL 二氯甲烷中。滴毕,继续冰浴 30min,后撤除冰浴,室温反应 12h。分别用 5% 盐酸、蒸馏水、饱和氯化钠依次洗涤有机层,直至有机层澄清且呈中性,分出有机层,加入足量的无水硫酸钠干燥,过滤,减压蒸馏,得到粗品浅黄色固体。黄色固体用硅胶柱层析纯化,洗脱剂为乙酸乙酯/石油醚=1:2 (V/V),得 1.03g 淡黄色粉末乙酰熊果酰三乙醇胺单酯,产率为 40.7%。mp:184~186℃。

[0014] ^1H NMR(600MHz, CDCl_3): 6.38 (br, 1H, $\text{N}[\text{H}]^+$), 5.33 (t, 1H, $J=3.6\text{Hz}$, H-12), 4.43~4.41 (t, 1H, $J=5.6$, H-3), 3.70~3.67 (m, 2H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.48~3.45 (m, 1H, OH_a), 3.25~3.22 (m, 1H, OH_b), 2.04 (s, 3H, CH_3CO), 0.88 (d, 3H, $J=6.4\text{Hz}$, CH_3), 1.09, 0.95, 0.94, 0.87, 0.85, 0.81 (s, 3H, each, CH_3)。

[0015] IR(KBr): 3406, 2972, 2925, 1735, 1633, 1527, 1455, 1370, 1245, 1145, 1027 cm^{-1} 。

[0016]

实施例 3

乙酰熊果酰三乙醇胺单酯的抗癌活性

37℃、5% CO_2 条件下常规培养 HepG2、PC-3、AGS、BGC 及 MKN45。癌细胞接种于 96 孔板中,细胞浓度为 2500 个/孔,待测药物用 DMSO 助溶, DMSO 终浓度不超过 0.5%,采用 MTT 法测试熊果酸修饰物酸性氨基酸的抗癌活性。结果见表 1。

表 1 熊果酸及乙酰熊果酰三乙醇胺单酯对不同癌细胞株的抑制作用 (抑制率%)

细胞株	熊果酸		乙酰熊果酰三乙醇胺单酯	
	Inhibition(%) ^a	IC ₅₀ (μ mol/L)	Inhibition(%) ^a	IC ₅₀ (μ mol/L)
HepG2 ^a	28.5	16.9	55.3	<10
PC-3 ^b	16.3	28.7	25.7	17.0
AGS ^b	80.1	<10	39.8	10.8
BGC ^b	2.5	19.8	29.7	16.7
MKN45 ^b	2.3	42.7	23.6	19.1

表 1 中, a——药物作用时间为 24h;

b——药物作用时间为 48h;

c——药物作用浓度为 10 μ mol/L 时测得的抑制率;

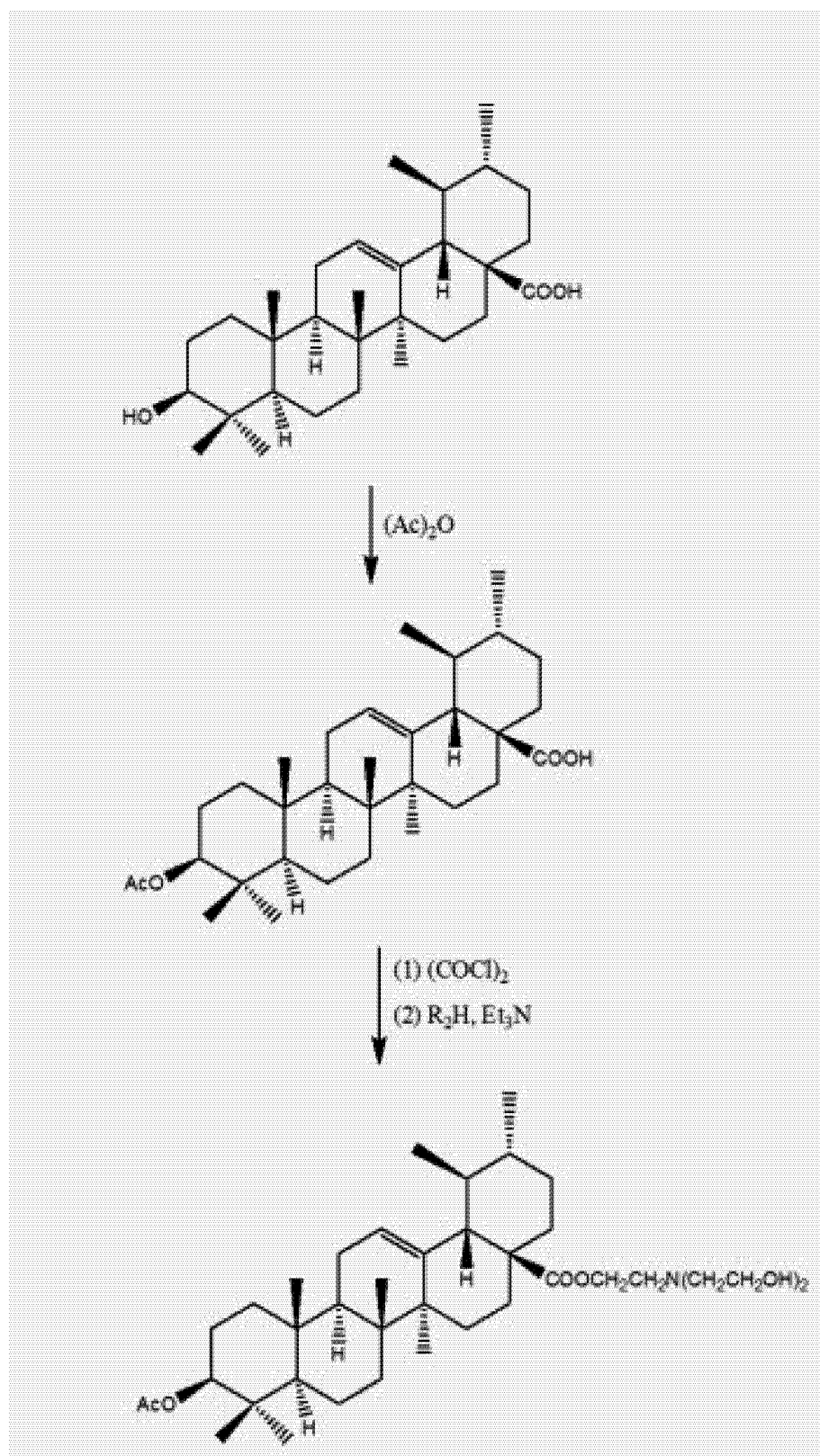


图 1