

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日:
2003年3月6日(06.03.2003)

PCT

(10) 国际公布号:
WO 03/018591 A1

(51) 国际分类号⁷: C07D 521/00, A61K 31/558, A61P 31/10, 35/00

中国北京市朝阳区慧忠路5号远大中心B座18层, Beijing 100101 (CN)。

(21) 国际申请号: PCT/CN02/00562

(81) 指定国(国家): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(22) 国际申请日: 2002年8月14日(14.08.2002)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
01126479.9 2001年8月14日(14.08.2001) CN

(84) 指定国(地区): ARIPO专利(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 中国科学院上海药物研究所(SHANGHAI INSTITUTE OF MATERIA MEDICA, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国上海市太原路294号, Shanghai 200031 (CN)。

(72) 发明人;及

(75) 发明人/申请人(仅对美国): 岳建民(YUE, Jianmin) [CN/CN]; 杨升平(YANG, Shengping) [CN/CN]; 丁健(DING, Jian) [CN/CN]; 肖东(XIAO, Dong) [CN/CN]; 袁胜涛(YUAN, Shengtao) [CN/CN]; 吴艳(WU, Yan) [CN/CN]; 童云广(TONG, Yunguang) [CN/CN]; 董蕾(DONG, Lei) [CN/CN]; 中国上海市太原路294号中国科学院上海药物研究所, Shanghai 200031 (CN)。

根据细则4.17的声明:

— 关于申请人在国际申请日有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))对除美国以外的所有指定国
— 发明人资格(细则4.17(iv))仅对美国

本国际公布:

— 包括国际检索报告。

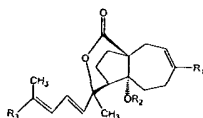
(74) 代理人: 隆天国际专利商标代理有限公司(LUNG TIN INT'L PATENT & TRADEMARK AGENT LTD.);

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: NOVEL PSEUDOLARIC ACID-B DERIVATIVES, THEIR PREPARATION AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS

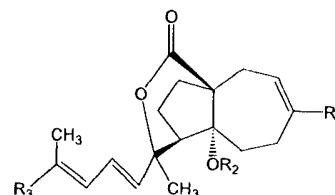
(54) 发明名称: 新的土槿皮酸类衍生物、其制备方法及其药物组合物

(57) Abstract: The invention relates to pseudolaric acid-B derivatives of general formula (I), wherein (a) R¹ is cyano, heterocyclyl, COXR' or CON(R'')₂, wherein X is O or NH, R' is H, cycloalkyl, alkyl, heterocyclicalkyl or arylalkyl, each R'' is independently alkyl, cycloalkyl or heterocyclicalkyl; (b) R² is H, alkylacyl, arylalkylacyl, arylacyl or heterocyclylacyl; (c) R³ is COXY, amino, heteroatomsubstituted alkyl, tertiary amino-substituted ammonioalkyl, aryl, arylalkyl or polyhydroxyalkyl. The invention also relates to processes for preparing such derivatives and antitumor or antifungal pharmaceutical compositions containing them.



(57) 摘要

提供了式 (I) 所示的土槿皮酸类衍生物, 其中(a) R¹ 为腈基、杂环基、COXR'或 CON(R'')₂, 其中 X 为 O 或 NH, R' 为 H、环烷基、烷基、杂环烷基或芳基烷基, R''各自独立地为烷基、环烷基或杂环烷基; (b) R² 为 H、烷基酰基、芳基烷基酰基、芳基酰基或杂环基酰基; (c) R³ 为 COXY、胺基或卤素, 其中 X 为 O 或 NH, Y 为 H、NH₂、羟基、烷基、环烷基、杂环烷基、杂原子取代的烷基、叔胺基取代的季铵盐烷基、芳基、芳基烷基或多羟基烷基。还提供该类衍生物的制备方法和含该类衍生物的抗肿瘤和抑制真菌药物组合物。



WO 03/018591 A1

新的土槿皮酸类衍生物、其制备方法及其药物组合物

技术领域

本发明涉及半合成抗肿瘤或抗真菌药物，具体涉及新的半合成土槿皮酸类衍生物以及它们的制备方法和药物组合物。

发明背景

目前研究发现，土槿皮酸类化合物及与其结构相关的其它化合物具有重要的生物活性，这些化合物的分离方法和药理实验结果公开于下列文献中：

1. 吴绍熙等，《中华皮肤科杂志》 Vol. 8 (1960), pp.18;
2. Li zhulian (李珠莲), Zhou Bingnan (周炳南) et al., "The proceeding of sino-American symposium on chemistry of Natural products", 《Chemistry of Natural Products》 (1982), pp.150-155;
- 15 3. 李珠莲, 徐光漪等的“土槿皮新二萜成分研究”, 《化学学报》 Vol. 40(1982), pp.447-456;
4. 王伟成等的“土荆皮乙酸的抗生育作用”, 《中国药理学报》, Vol. 3(1982), pp. 188-192;
5. Erguang Li, Alice M. Clark and Charles D. Hufford,
20 “Antifugal evaluation of Pseudolaric acid B, a major constituent of *pseudolarix kaempferi*”, 《Journal of Natural Product》, Vol. 58(1995), pp.57-67;
6. De-Ji Pan (潘德济), Zhu-lian Li (李珠莲) et al., “The cytotoxic principles of *pseudolarix kaempferi* : Pseudolaric acid-A and
25 -B and related derivatives”, 《Plant medica》, Vol. 56(1990), pp. 383-385。

以上文献均引入本文作为参考。

人们发现，肿瘤组织内血管的形成与肿瘤的恶性增生和转移有关。如果抑制肿瘤组织内的血管生长，使肿瘤细胞所需的氧及养分的供应减少，分裂繁殖即可受到抑制。同时，肿瘤细胞通过肿瘤组织内新生的血管侵入循环系统的通道被切断，从而可防止肿瘤的转移。关于血管生成与癌症之间的关系，公开于下列文献中：

1. Cockerill G.W., Gamble T.R., Vadas M.A., "Angiogenesis: models and modulators", *Int. Rev. Cytol.*, Vol.159(1995), pp.113-160;
2. Senger D.R., Van de water L., Brown L.F., et al., "Vascular permeability factor(VPF, VEGF) in tumor biology", *Cancer Metastasis Rev.*, Vol.12(1993), pp.303-324;
3. Donovan D., Harmey J.H., Redmond H.P. et al., "Ascites revisited: a novel role for tamoxifen", *Eur. J. Surg. Oncol.*, Vo.123(1997), pp. 570;
4. Ingber D, Fujita T., Kishimoto S. et al., "Synthetic analogues of fumagillin that inhibit angiogenesis and suppress tumor growth", *Nature*, Vol.348 (1990), pp. 555-560;
5. Jiang W.G., Puntis M.C.A., Hallett M.B., "molecular and cellular basis of cancer invasion and metastasis: implications for treatment", *Br. J. Surg*, Vol.81 (1994), pp. 1576-1590;
6. Fidler I.J., Gerstein D.M., Hart I.R., "The biology of cancer invasion and metastasis", *Adv. Cancer Res.*, Vol.28(1978), pp.149-250;
7. Hanahan D., Folkman J., "Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis", *Cell.*, Vol.86(1996), pp. 353-364;
8. Ferrara N., "The role of vascular endothelial growth factor in pathological angiogenesis", *Breast Cancer Res. Treat*, Vol.36(1995), pp.

127-137;

9. O'Reilly M., Holmgren L., Shing Y., et al., "Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma", *Cell.*, Vol.79(1994), pp. 689-692;

5 10. O'Reilly M.S., Holmgren L., Chen C., et al., "Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumors in mice", *Nature Med.*, Vol.2(1996), pp.689-692;

11. O'Reilly M.S., Boehm J., Shing Y., et al., "Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth", *Cell.*,
10 Vol.88(1997), pp. 277-285;

12. Frank R.E., Saclarides T.J., Sue Leurgans, et al., "Tumor angiogenesis as a predictor of recurrence and survival in patients with node-negative colon cancer", *Ann. Surg.*, Vol.222(1995)), pp. 695-699。

以上文献均引入本文作为参考。

15

虽然已知在癌症治疗中使用血管生长抑制剂可提高治疗效果，防止肿瘤转移和复发，但是目前尚无作用于此靶标的药物上市。

20 本发明者在长期研究过程中发现土槿皮酸类化合物及其新的衍生物可以抑制人微血管内皮细胞的生长，因而可以通过抑制肿瘤组织内血管的形成来减少肿瘤细胞所需的氧及养分的供应，抑制肿瘤细胞的分裂繁殖，从而导致肿瘤萎缩甚至消失。

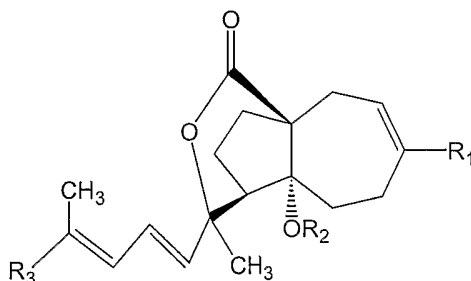
因此，本发明的一个目的是提供新的土槿皮酸类衍生物。

本发明的另一个目的是提供该类衍生物的制备方法。

25 本发明的再一个目的是提供含该类衍生物的抗肿瘤或抑制真菌的药物组合物。

发明概述

本发明提供具有如下式 (I) 结构的土槿皮酸类衍生物:



式中: (I)

(a) R_1 为腈基、杂环基、 COXR' 或 $\text{CON}(\text{R}'')_2$, 其中 X 为 O 或 NH,
5 R' 为 H、环烷基、烷基、杂环烷基或芳基烷基, R'' 各自独立地为烷基、环烷基或杂环烷基;

(b) R_2 为 H、烷基酰基、芳基烷酰基、芳基酰基或杂环基酰基;

(c) R_3 为 COXY 、胺基或卤素, 其中 X 为 O 或 NH, Y 为 H、 NH_2 、
10 羟基、烷基、环烷基、杂环烷基、杂原子取代的烷基、叔胺基取代的季铵盐烷基、芳基、芳基烷基或多羟基烷基,

但是, 土槿皮乙酸、土槿皮丙酸、土槿皮丙₂酸、去乙酰基土槿皮丙₂酸、土槿皮乙酸对溴苯甲酯、土槿皮丙酸丙酯、土槿皮乙酸甲酯、19-丙氧基土槿皮丙酸、19-丁氧基土槿皮丙酸、19-丙氧基土槿皮乙酸和 19-丁氧基土槿皮乙酸除外。

15 本发明还提供具有式 (I) 结构的土槿皮酸类衍生物的如下制备方法:

a. 当 R_1 为 CONHR 或 $\text{CONR}'\text{R}''$ 时, 以 R_1 为 COOR' 的具有式 (I) 所示土槿皮乙酸母核的化合物为原料, 在胺的水溶液中以酸性催化剂催化胺解制得, 反应温度为 -10°C 至 100°C , pH 为 1 至 6, 原料化合物:
20 胺=1: 1 至 1: 300;

b. 当 R_1 为 COOR' 时, 以 R_1 为 COOR' 的具有式 (I) 所示土槿皮乙酸母核的化合物为原料, 在无水条件下以强碱催化与过量的醇醇

解而制得，反应温度为 0 至溶剂回流温度，pH 值为 9 至 14，原料化合物：醇=1：1.1 至 1：500；

5 c. 当 R_2 为烷基酰基、芳基取代的烷基酰基、芳基酰基、杂环基酰基时，以 R_2 为 H 的具有式 (I) 所示土槿皮乙酸母核的化合物为原料酰化制得，反应温度为 0°C 至 80°C ，原料化合物:酰化剂=1:5 至 1:500；和

d. 当 R_3 为 COXY 时，以 $R_3=\text{COOH}$ 的具有式 (I) 所示土槿皮乙酸母核的化合物为原料，先在过量的酰卤化试剂作用下生成酰卤，然后在缚酸剂存在下与醇或胺反应获得，反应温度低于 -20 至 30°C 。

10 本发明进一步提供一种抗肿瘤或抑制真菌的药物组合物，所述药物组合物包含治疗有效量的具有式 (I) 结构的土槿皮酸类衍生物和药学上可接受的载体。

发明详述

15 除非特别说明，本文所用的取代基具有如下定义：“烷基”指饱和或不饱和的、取代或非取代的直链、支链烷烃链，优选丙基、2-甲基丙基、2,2-二甲基丙基；“环烷基”指取代和非取代的五元或六元环烷基，优选环己基；“芳基”指取代和非取代的、杂环的和非杂环的芳香基团；“芳基烷基”指芳基上取代的和非取代的芳基烷基；“杂
20 环烷基”指取代和非取代的、芳香族和非芳香族杂环基烷基，优选 (α -呋喃) 基亚甲基。

本发明的土槿皮酸类衍生物中较佳的是如下化合物：其中 R_1 为 CONHR' 或 $\text{CON}(\text{R}'')_2$ 时， R_2 为 H、烷基酰基、芳基烷基酰基、芳基酰基或杂环基酰基， R_3 为 $-\text{COOH}$ 。

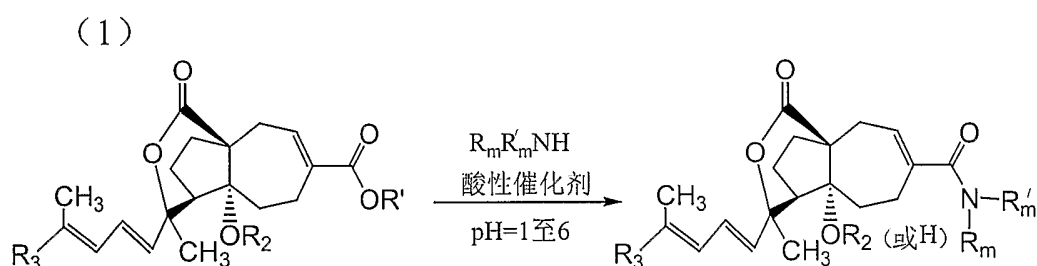
25 本发明的土槿皮酸类衍生物中较佳的还有如下化合物：其中 R_1 为 $-\text{COOR}'$ 时， R_2 为 H、烷基酰基、芳基烷基酰基、芳基酰基、杂环基酰基， R_3 为 $-\text{COOH}$ 。

本发明的土槿皮酸类衍生物中较佳的还有如下化合物：其中 R_3 为 COXY 时，则 R_1 为 COOR'， R_2 为 H、烷酰基、芳基烷酰基、芳基酰基、杂环基酰基。

本发明化合物的取代基中，按活性排列， R_1 优选酯基， R_2 优选乙
5 酰基， R_3 优选羧基或（间羟基苯胺）基酰基。

本发明的化合物可以采用土槿皮乙酸或具有土槿皮酸类化合物的母核的衍生物为原料（原料的制备可参考文献：De-Ji Pan（潘德济），Zhu-lian Li（李珠莲） et al., “The cytotoxic principles of *pseudolarix kaempferi* : Pseudolaric acid-A and -B and related derivatives”, 《Plant
10 medica》, Vol. 56 (1990), pp. 383-385），经过数步反应制得，反应条件温和，方法简便，收率较高，易于扩大工业化。

本发明的化合物可用以下流程中的一个或几个流程结合制备得到：



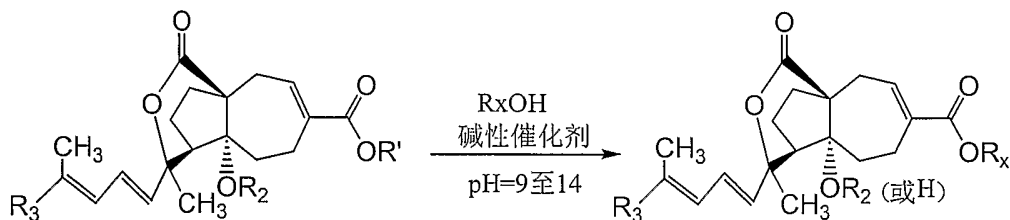
15

式中， R_m, R'_m 可以相同或不同地为 H 或甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基等，或 $R_m=R'_m=-(\text{CH}_2)_n-$ ，其中 $n=2-5$ 。

酸性催化剂可以选用 H_2SO_4 、 H_3PO_4 、 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ 或 HCl ，优选 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ 。

20 反应在水或有机溶剂中于搅拌下进行，有机溶剂可以是液体的胺本身或苯、氯仿、乙醚、四氢呋喃等溶剂，反应温度为 $-10-100^\circ\text{C}$ 。

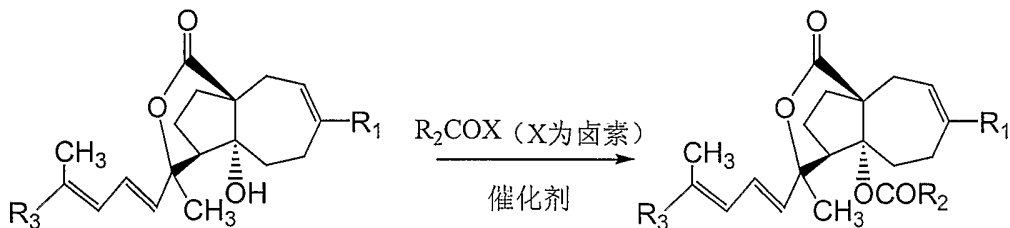
(2)



碱性催化剂可以选用金属氨合物，如氨基钠、氨基钾；金属醇盐，如醇钠或醇钾。优选的是醇钠或醇钾。

- 5 将反应混合物在非水条件下搅拌进行反应。反应溶剂为反应试剂本身或其它无水惰性溶剂（如无水乙醚、四氢呋喃或叔丁醇等）。反应温度为-4℃至溶剂回流温度。

(3)

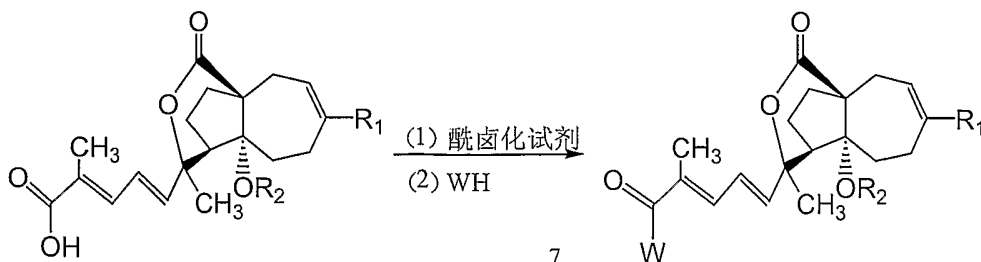


- 10 以上反应的催化剂可以采用 DCC、AgCN、DMAP 或吡啶，优选 AgCN。

一般用酰卤作为酰化剂,当反应中采用乙酰氯、丙酰氯等作酰化剂时可不使用催化剂。

- 15 以酰卤本身或无水乙醚等为溶剂时，于常温搅拌或加热回流下进行反应。

(4)



反应在常温搅拌或加热回流下进行。

WH 为醇、酚、伯胺或仲胺。

可以有有机胺、 CaCO_3 、 K_2CO_3 、 Na_2CO_3 、 NaHCO_3 、 KOH 或 NaOH 等为缚酸剂，优选 Na_2CO_3 或 NaHCO_3 。

5

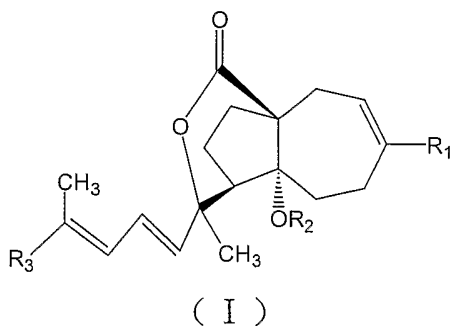
本发明的组合物包括安全、有效剂量范围内的本发明化合物和药学上可以接受的载体。

“安全、有效剂量”指的是：化合物的量足以明显改善病情，而不至于产生严重的副作用。化合物的安全、有效剂量根据治疗对象的
10 年龄、病情、疗程等具体情况来确定。本发明的组合物宜包含 0.1wt%(重量百分比)至 99.9wt%的化合物，最佳为 20%至 60%。

“药学上可以接受的载体”指的是：一种或多种相容性固体或液体填料或凝胶物质,它们适合于人使用,而且必须有足够的纯度和足够低的毒性。“相容性”在此指的是组合物中各组份能和本发明的化合物
15 物以及它们之间相互掺和,而不明显降低化合物的药效。药学上可以接受的载体部分例子有糖(如葡萄糖、蔗糖、乳糖等),淀粉(如玉米淀粉、马铃薯淀粉等),纤维素及其衍生物(如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素钠、纤维素乙酸酯等),明胶,滑石,固体润滑剂(如硬脂酸、硬脂酸镁),硫酸钙,植物油(如豆油、芝麻油、花生油、橄
20 榄油等),多元醇(如丙二醇、甘油、甘露醇、山梨醇等),乳化剂(如吐温®)、润湿剂(如十二烷基硫酸钠),着色剂,调味剂,稳定剂,抗氧化剂,防腐剂,无热原水等。本发明的组合物对载体的选择取决于化合物的给药方式。在用作抗肿瘤药物时,较佳的方式是口服或注射,最好采取注射方式。当用作抗真菌药物时,较佳的方式是
25 皮肤表面局部用药或体内注射。

具体实施方式

按照本发明方法制得的部分化合物具有例如表 1 所示具体结构：



5

表 1

编号	R ₁	R ₂	R ₃
PEX-1	CO ₂ CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	CO ₂ H
PEX-4	CO ₂ CH ₂ CH ₃	H	CO ₂ H
PEX-4Y	CO ₂ CH ₂ CH ₃	AC	CO ₂ H
PEX-6Y	CO ₂ CH ₃	AC	CONH ₂
PEX-7Y	CO ₂ CH ₃	AC	CONHOH
PEX-8Y	CO ₂ CH ₃	AC	CON(CH ₂) ₂
PEX-9Y	CO ₂ CH ₃	AC	CONHCH ₂ CH ₂ OH
PEX-10Y	CO ₂ CH ₃	AC	CO ₂ CH ₂ CH ₃
PEX-11Y	CO ₂ CH ₃	AC	CONHC(CH ₂ OH) ₃
EX-12Y	CO ₂ CH ₃	AC	CONHCH ₂ CO ₂ H
PEX-13Y	CO ₂ CH ₃	AC	CONHCH ₂ CONH ₂
PEX-14Y	CO ₂ CH ₃	AC	COph
PEX-15Y	CO ₂ CH ₃	AC	CONH-(m-OH)ph
PEX-16Y	CO ₂ CH(CH ₃) ₂	AC	CO ₂ H
PEX-18Y	CO ₂ CH ₂ ph	AC	CO ₂ H
PEX-21	CO ₂ (CH ₂) ₂ CH(CH ₃) ₂	H	CO ₂ H
PEX-21Y	CO ₂ (CH ₂) ₂ CH(CH ₃) ₂	AC	CO ₂ H
PEX-23Y	CO ₂ CH ₃	COph	CO ₂ H
PEX-24Y	CO ₂ CH ₃	COCH ₂ (P-Cl)ph	CO ₂ H
PEX-25Y	CO ₂ CH ₂ (α-咪喃)	AC	CO ₂ H

续表 1

PEX-26Y	CO ₂ CH ₃	CO(α-呋喃)	CO ₂ H
PEX-30Y	CO ₂ CH ₂ (α-四氢呋喃)	AC	CO ₂ H
PEX-30	CO ₂ CH ₂ (α-四氢呋喃)	H	CO ₂ H
PEX-31Y	CO ₂ CH ₂ (环己基甲基)	AC	CO ₂ H
PAM-1Y	CONH ₂	AC	CO ₂ H
PAM-2Y	CONH ₂	H	CO ₂ H
PAM-5Y	CONHCH ₃	H	CO ₂ H
PAM-7Y	CON(CH ₂ CH ₂) ₂	H	CO ₂ H
PAM-8Y	CONHCH ₃	AC	CO ₂ H
PBX-1Y	CO ₂ CH ₂ CH(CH ₃) ₂	AC	CO ₂ H
PBX-2Y	CO ₂ CH ₂ C(CH ₃) ₃	AC	CO ₂ H
PBX-3Y	CO ₂ Me	CO(CH ₂) ₂ CH ₃	CO ₂ H
PBX-4Y	CO ₂ (CH) ₂ OH	AC	CO ₂ H
PBX-5Y	2-噁唑啉基	AC	CO ₂ H
PBX-6Y	CO ₂ CH ₂ CH(C ₂ H ₅) ₂	AC	CO ₂ H
PBX-7Y	CO ₂ CH ₂ CH(SCH ₂) ₂ CH ₂	AC	CO ₂ H
PBX-8Y	CO ₂ CH ₂ CH(CH ₂ CH ₂) ₂	AC	CO ₂ H
PBX-9Y	CO ₂ (CH ₂) ₂ CH(CH ₃) ₂	AC	CO ₂ H
PBX-10Y	CO ₂ CH(CH ₂) ₂	AC	CO ₂ H
PBX-11Y	CO ₂ (CH ₂) ₃ OCH ₃	AC	CO ₂ H
PBX-12Y	CO ₂ (CH ₂) ₂ OCH ₃	AC	CO ₂ H
PBX-13Y	CO ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂	AC	CO ₂ H
PBX-14Y	CO ₂ CH ₂ CH ₂ SCH ₃	AC	CO ₂ H
PBX-15Y	CO ₂ CH ₂ CH ₂ CN	AC	CO ₂ H
PBX-16Y	CO ₂ CH ₂ CF ₃	AC	CO ₂ H
PBX-17Y	CO ₂ CH ₂ CH(SCH ₂) ₂	AC	CO ₂ H

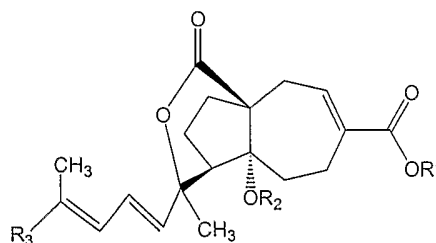
表 2 本发明部分化合物的 MS 和 IR 数据:

编号	ESI-MS		IR (cm ⁻¹), KBr 压片
	电离方式	准分子离子峰	
PEX-1	+	455(M+23)	—
PEX-4Y	+	469(M+23)	3434.7, 1741.4, 1706.7, 1643.1
PEX-4	+	427(M+23)	—
PEX-6Y	+	454(M+23)	3500, 3392.2, 1739.5, 1700, 1646.9
PEX-7Y	+	470(M+1)	3545, 3367.2, 1739.5, 1701, 1648.9
PEX-8Y	+	458(M+1)	3428.9, 1739.5, 1708.6, 1643.1
PEX-9Y	+	476(M+1)	3407.7, 1739.5, 1710.6, 1648.9
PEX-10Y	+	483(M+23)	3453.9, 1741.4, 1708.6, 1643.1
PEX-11Y	+	536(M+1)	3399.9, 1739.5, 1712.5, 1629.6
PEX-12Y	-	488(M-1)	3399.9, 1739.5, 1700, 1648.9
PEX-13Y	-	487(M-1)	3415.4, 1739.5, 1708.6, 1658.5
PEX-14Y	+	508(M+1)	3390.3, 1739.5, 1700.0, 1666.2, 1598.7, 1529.3, 1440.6, 756.0, 694.3
PEX-15Y	-	522(M-1)	3390.3, 1739.5, 1716.4, 1648.9, 1602.6, 1538.9, 1444.4, 775.3, 690.4
PEX-16Y	+	483(M+23)	3446.2, 1741.4, 1702.9, 1645.0
PEX-18Y	+	531(M+23)	1741.4, 1708.6, 1643.1
PEX-21	+	469(M+23)	—
PEX-21Y	+	511(M+23)	3434.7, 1743.4, 1706.7, 1643.1
PEX-23Y	+	517(M+23)	3457.8, 1776.1, 1712.5, 1639.2
PEX-24Y	+	565(M+23)	3434.7, 1737.6, 1708.6, 1643.1
PEX-25Y	+	521(M+23)	3434.7, 1739.5, 1708.6, 1643.0, 1600.0, 1500.0
PEX-26Y	-	483(M-1)	3457.8, 1776.1, 1712.5, 1639.2, 1600, 1469.5
PEX-30Y	+	525(M+23)	3434.7, 1741.4, 1706.7, 1645.0
PEX-31Y	-	513(M-1)	3444.0, 1743.4, 1704.8, 1635.0
PAM-1Y	—	—	3430.8, 3203.2, 1743.4, 1689.4, 1635.0
PAM-2Y	—	—	3426.9, 1706.7, 1685.5
PAM-5Y	—	—	3390.3, 1712.5, 1654.7

表 3 本发明部分化合物的 MS 和 ^1H NMR 数据 (表 2 中某些化合物的 ^1H NMR 数据在此略去) :

编号	ESI-MS		^1H NMR δ (ppm), J (Hz), 在没有特别注明的情况下溶剂为 CD_3Cl
	电离方式	准分子离子峰	
PEX-1	—	—	0.94 (d, 6H, 16.6), 1.70 (s, 3H), 1.95 (d, 3H, 1.5), 3.88 (dd, 2H, 1.8, 6.6), 5.93 (d, 1H, 15.0), 6.55 (dd, 1H, 15.0, 11.4), 7.25 (m, 2H).
PBX-1Y	—	—	0.94 (d, 6H, 6.6), 1.60 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 3.89 (dd, 2H, 6.2, 1.8), 5.92 (d, 1H, 15.0), 6.56 (dd, 1H, $J=15.0, 11.7$), 7.20 (m, 1H), 7.27 (d, 1H, 11.7).
PBX-2Y	+	497 (M+23)	—
PBX-3Y	—	—	1.17 (t, 3H, $J=7.3$), 1.60 (s, 3H), 1.96 (d, 3H, $J=1.1$), 2.41 (q, 2H, $J=8.1$), 3.72 (s, 3H), 5.92 (d, 1H, $J=15.0$), 6.56 (dd, 1H, $J=15.0, 11.7$), 7.22 (m, 1H), 7.26 (d, 1H, $J=11.7$).
PBX-4Y	—	—	1.60 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 2.13 (m, 3H), 3.86 (t, 2H, 4.4), 4.27 (m, 2H), 5.92 (d, 1H, 15.0), 6.55 (dd, 1H, 15.0, 11.7), 7.26 (m, 2H).
PBX-5Y	+	488 (M+1)	—
PBX-6Y	+	505 (M+23)	—
PBX-7Y	+	551 (M+1)	—
PBX-8Y	-	502 (M-1)	—
PBX-9Y	+	511 (M+23)	—
PBX-10Y	+	481 (M+23)	—
PBX-11Y	+	513 (M+23)	—
PBX-12Y	+	499 (M+23)	—
PBX-13Y	—	—	1.45 (s, 3H), 1.83 (d, 3H, 1.1), 1.93 (s, 3H), 3.21 (t, 2H, 5.3), 3.53 (t, 2H, 5.3), 5.81 (d, 1H, 15.4), 6.39 (dd, 1H, 15.4, 11.4), 7.09 (d, 1H, 11.4)
PBX-14Y	+	493 (M+1)	—
PBX-15Y	+	472 (M+1)	—
PBX-16Y	-	472 (M-1)	—
PBX-17Y	+	559 (M+23)	—
PAM-7Y	—	—	(in CD_3OD : 1.42 (s, 3H), 1.76 (s, 3H), 3.32 (m, 4H), 5.93 (m, 2H), 6.37 (dd, 1H, 14.9, 11.4), 7.06 (d, 1H, 11.4)
PAM-8Y	—	—	1.57 (s, 3H), 1.94 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.81 (d, 3H, 4.1), 5.89 (d, 1H, 15.1), 6.4 (m, 1H), 6.52 (dd, 1H, $J=15.1, 11.6$), 7.2 (d, 1H, $J=11.6$).

本发明抗肿瘤活性较佳的化合物结构如下:



编号	R'	R ₃
PEX-15Y	甲基	(间羟基苯胺)基酰基
PEX-25Y	(α -呋喃)基亚甲基	羧基
PEX-31Y	环己基亚甲基	羧基

5

为评价抗肿瘤的药理活性,本发明采用 P388 (小鼠白血病细胞)模型或 A549 (人肺腺癌细胞)模型,来评价本发明的化合物对肿瘤细胞的抑制能力;采用 HMEC (人微血管内皮细胞)模型,来评价本发明的化合物抑制血管生成—抗肿瘤的一个较新的靶标的活性。同时以土槿皮乙酸和羟基喜树碱作为参照化合物,来评价本发明的化合物。

P388, A549 和 HMEC 细胞增殖抑制筛选方法

15 材料: DMEM 购自 Gibco 公司 (Life Technologies, Grand Island, NY, USA); 磺酰罗单明 B (sulforodamine B, SRB), 四氮唑盐 (MTT) 购自 Sigma 公司; 三氯醋酸 (TCA)、醋酸和 Tris base unbuffer 均为国产分析纯。

SRB 法: 根据细胞生长速率,将处于对数生长期的肿瘤细胞以 90 ml/孔接种于 96 孔培养板,贴壁生长 24 小时再加药 10 ml/孔。每个浓

度设三复孔。并设相应浓度的生理盐水溶媒对照及无细胞调零孔。肿瘤细胞在 37℃、5%CO₂ 条件下培养 72 小时，然后倾去培养液，用 10%冷 TCA 固定细胞，4℃放置 1 小时后用蒸馏水洗涤 5 次，空气中自然干燥。然后加入由 1%冰醋酸配制的 SRB (Sigma) 4mg/ml 溶液 100ml/孔，室温中染色 15 分钟，去上清液，用 1%醋酸洗涤 5 次，空气中干燥。最后加入 150ml/孔的 Tris 溶液，酶标仪 520nm 波长下测定 OD 值

MTT 法：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 90ml/孔接种于 96 孔微量培养板内，培养 24h 后加入药液 10 ml/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℃、5%CO₂ 条件下培养 48 小时后，加 MTT(Sigma)液 5mg/ml 用生理盐水配制 20ml/孔；继续培养 4 小时后，加入三联液（10%SDS-5%异丁醇-0.01mol/lHCl）50ml/孔，于 CO₂ 培养箱中过夜。然后在 570nm 用酶标仪测定 OD 值。

按下列公式计算被测物对癌细胞生长的抑制率，半数抑制量 IC₅₀ 值采用 Logit 法计算。

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

20 本发明中在 P388 模型上较佳的化合物（具体结构见附录）

编号	IC ₅₀ (mol/L)	编号	IC ₅₀ (mol/L)
PEX-4Y	4.4×10 ⁻⁸	PEX-17Y	1.6×10 ⁻¹⁰
PEX-18Y	4.8×10 ⁻¹⁰	PEX-21Y	< 1.0×10 ⁻¹⁰
PEX-20Y	3.4×10 ⁻¹⁰	PEX-25Y	< 1.0×10 ⁻¹⁰
PEX-24Y	2.6×10 ⁻¹⁰	PEX-31Y	< 1.0×10 ⁻¹⁰
PEX-30Y	< 1.0×10 ⁻¹⁰	土槿皮乙酸	8.3×10 ⁻¹⁰

本发明中在 A549 模型上较佳的化合物（具体结构见附录）

编号	IC ₅₀ (mol/L)	编号	IC ₅₀ (mol/L)
PEX-14Y	9.8×10 ⁻⁸	PEX-15Y	1.5×10 ⁻⁸
PEX-18Y	1.3×10 ⁻⁸	PEX-25Y	5.5×10 ⁻⁸
PEX-24Y	6.9×10 ⁻⁸		
PEX-31Y	< 1.0×10 ⁻¹⁰	土槿皮乙酸	2.8×10 ⁻⁸

本发明中在 HMEC 模型上较佳的化合物（具体结构见附录）

编号	IC ₅₀ (mol/L)	编号	IC ₅₀ (mol/L)
PEX-8Y	9.6×10 ⁻⁷		
PEX-25Y	1.0×10 ⁻⁹		
土槿皮乙酸	8.0×10 ⁻⁸	羟基喜树碱	4.7×10 ⁻⁷

- 5 药理筛选的结果，表明本发明的许多化合物在 P388，A549 模型上活性优于土槿皮乙酸；在 HMEC 模型上，不少化合物活性优于或相当于羟基喜树碱；有的化合物在 P388，A549 和 HMEC 模型上活性均超过土槿皮乙酸或羟基喜树碱。它们中的一些化合物极有希望成为新的抗肿瘤药物。

10

抗真菌活性筛选方法

白色念珠菌用液体稀释法测定，观测最低浓度药物管无真菌生长即为最低抑菌浓度。

- 15 红色发癣菌用琼脂稀释法测定，观测最低浓度药物培养皿无真菌生长即为最低抑菌浓度。具体测定方法见参考文献：张卓然 主编，《医学微生物实验学》，科学出版社，1998 年，102-103 页。

本发明中抗真菌活性较佳的化合物（以土槿皮乙酸为参照化合物，R₁ 为 CO₂R'，R₂ 为乙酰基，R₃ 为羧基）

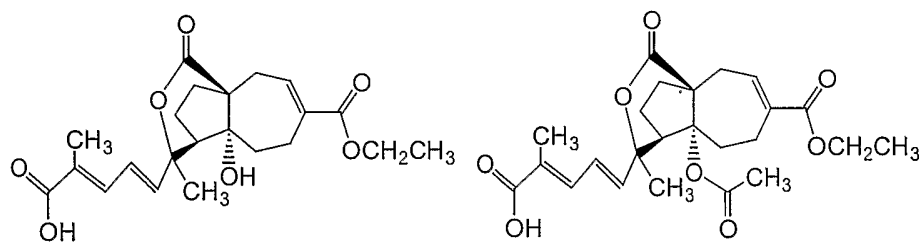
编号	R'	白色念珠菌 MIC ($\mu\text{g/ml}$)	红色发癣菌 MIC ($\mu\text{g/ml}$)
PEX-4Y	乙基	6.25	12.5
PEX-25Y	(α -呋喃)基 亚甲基	6.25	12.5
土槿皮 乙酸		12.5	50.0

抗真菌药理筛选的结果，表明本发明的一些化合物活性优于土槿皮乙酸，它们有希望成为新的抗真菌药物。

下面结合实施例对本发明作进一步阐述，但这些实施例绝不是对本发明的任何限制。

5 实施例 1

制备：



PEX-4

PEX-4Y

步骤 1：在 25ml 反应瓶中，加入土槿皮乙酸 0.060g(0.139mmol)，无水乙醇 10ml，在室温搅拌下，滴加饱和的乙醇钠溶液（由金属钠和无水乙醇反应制得），至 pH 试纸表明 pH 在 12 左右，密封反应瓶（严禁水气进入），每 1 至 2 小时，用 TLC 检测反应。至反应完全后，在室温下，滴加无水乙酸至 pH 值为 6，然后，在旋转蒸发仪上蒸去乙醇，加入 10ml 水，用乙酸乙酯提取水相三次，合并酯层，在旋转蒸发仪上蒸干，残留物即为标题化合物（PEX-4）的粗品（进一步柱层析可得到纯品）。

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 1.25 (t, 3H, J=7.13Hz), 1.56 (s, 3H), 1.91

(S, 3H), 4.12 (m, 2H), 6.18 (d, 1H, J=15.11Hz), 6.52 (dd, 1H, J=15.11、11.24Hz), 7.13(m, 1H), 7.22 (d, 1H, J=11.24Hz).

同法制得 PEX-1, PEX-19, PEX-20, PEX=21 和 PEX-30 等衍生物。

步骤 2: 在装有上述粗品的反应瓶中, 加入乙酰氯 10ml, 开启电
5 磁搅拌器, 密封反应瓶, 每隔 1 小时用 TLC 跟踪反应一次, 5 小时
后, 反应结束。在旋转蒸发仪上蒸去低沸物, 加入水 10ml, 然后用
乙酸乙酯提取水层三次, 合并酯层, 减压蒸干后, 残留物用石油醚:
乙酸乙酯:甲酸=3:1:0.1 在硅胶柱 (H60) 上分出白色固体 0.0535g (总
收率 86.4%), 为标题化合物 (PEX-4Y)。

10 $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 1.27(t, 3H, 7.23Hz), 1.59(S, 3H), 1.95(S,
3H), 2.11(S, 3H), 4.15(m, 2H), 5.91(d, 1H, J=15.02Hz), 6.54(dd, 1H,
J=15.02, 11.42Hz), 7.18(m, 1H), 7.25(d, 1H, J=11.42Hz).

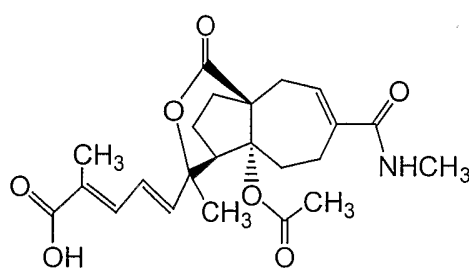
IR(KBr) (cm^{-1}): 3434.7, 1741.4, 1706.7, 1643.1.

同法制得 PEX-1Y 至 PEX-31Y, PBX-1Y 至 PBX-17Y 等衍生物。

15

实施例 2

制备:



PAM-8Y

20 将 0.432g (1mmol)土槿皮乙酸悬浮在 40ml 蒸馏水中, 加入含有
1.5mmol 甲胺的水溶液中, 搅拌 5 分钟后, 加入 0.5mmol 的乙酸。反
应在常温常压下搅拌 6 小时, TLC 表明反应完全。加入 60ml 水稀释
反应液, 以乙酸乙酯提取 5 次, 酯层以无水硫酸钠干燥过夜。过滤,
滤液蒸干后, 在硅胶柱上以氯仿:甲醇=15:1 分得淡黄色固体 0.400g(总

收率 92.8%)，为标题化合物 (PAM-8Y)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 1.57(s, 3H), 1.94(s, 3H), 2.10(s, 3H), 2.81(d, 3H, $J=4.11\text{Hz}$), 5.89(d, 1H, $J=15.08\text{Hz}$), 5.91(brs, 1H), 6.42(m, 1H), 6.52(dd, 1H, $J=15.08, 11.57\text{Hz}$), 7.23(d, 1H, $J=11.57\text{Hz}$).

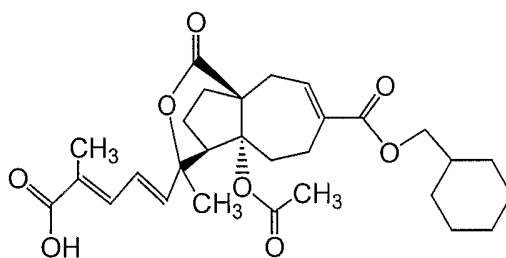
5 IR (KBr) (cm^{-1}): 3390.3, 1712.5, 1654.7, 1612.2.

同法制得 PAM-1Y 至 PAM-8Y 等衍生物。

实施例 3

制备:

10



PEX-31Y

在反应瓶中加入土槿皮乙酸 0.05g(0.116mmol)和干燥的环己基甲醇 3ml, 在室温搅拌下, 分批加入叔丁醇钾粉末, 至 $\text{pH}=13$, 马上密封反应瓶, 室内温搅拌 24 小时后, TLC 检测表明反应完全, 用无水乙酸中和至 $\text{pH}=6$, 减压蒸馏, 蒸去环己基甲醇及乙醇, 残留物直接在硅胶柱上进行层析 (石油醚:乙酸乙酯:甲醇=3:1:0.1), 分出 0.032g 淡黄色固体 (总收率 55.0%), 为标题化合物 (PEX-31Y)。

15

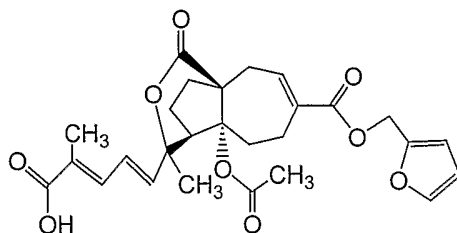
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 1.55(s, 3H), 1.94(s, 3H), 2.10(s, 3H), 3.89(m, 2H), 5.89(d, 1H, $J=15.01\text{Hz}$), 6.52(dd, 1H, $J=15.01, 11.35\text{Hz}$), 7.19(m, 1H), 7.26(d, 1H, $J=11.35\text{Hz}$).

20

IR (KBr) (cm^{-1}): 3444, 1743.4, 1704.8, 1635.0.

实施例 4

制备:



PEX-25Y

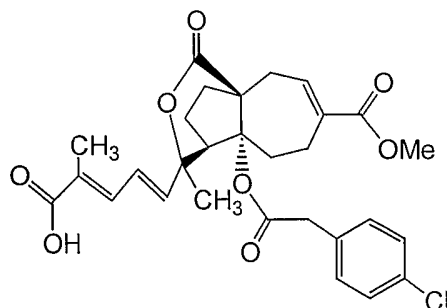
在 10ml 反应瓶中，投入土槿皮乙酸 0.050g(0.116mmol)和干燥的 α -呋喃甲醇 2ml，室温搅拌下，分批加入叔丁醇钾粉末，至 pH=11，
 5 装上回流冷凝管和氯化钙干燥管。室温下搅拌 3 小时，然后升温至 80-90°C 反应过夜，以无水乙酸中和至 PH=6，减压蒸馏，蒸去糠醇和乙醇，残留物用石油醚:乙酸乙酯:水=3:1:0.1，进行硅胶柱层析，得一棕色固体，然后在 RP-18 柱上以甲醇:水=7:3 分得一个浅黄色固体 0.045g（总收率 78.1%），得标题化合物（PEX-25Y）。

10 ^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 1.59 (s, 3H), 1.91(s, 3H), 2.13 (s, 3H), 5.04 (d, 1H, J=13.2Hz), 5.15 (d, 1H, J=13.2Hz), 5.91(d, 1H, J=14.8Hz), 6.38 (d, 1H), 6.55 (dd, 1H, J=14.8, 11.6Hz), 7.21-7.27 (m, 4H).

IR (KBr) (cm^{-1}): 3434.7, 1739.5, 1708.6, 1643.1, 1600.0, 1500.0.

15 实施例 5

制备:



PEX-24Y

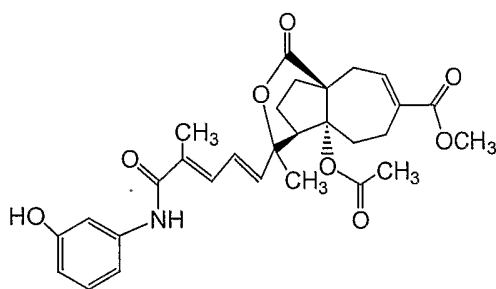
在反应瓶中，加入土槿皮丙酸 0.050g(0.129mmol)，AgCN 0.172g(1.28mmol)，再加入无水乙醚 0.5ml 使土槿皮丙酸完全溶解后，在搅拌下，滴加对氯苯乙酰氯 3ml，加完后，在室温下剧烈搅拌反应 24 小时。滤去 AgCN，并用无水乙醚洗涤 AgCN 固体几次，滤液先在常压下蒸去乙醚，然后减压蒸馏，蒸去对氯苯乙酰氯，残留物用石油醚:乙酸乙酯:甲酸=3:1:0.1，在硅胶柱 (H60) 上进行层析，分得 0.030g 标题化合物 (PEX-24Y)，(收率 43.0%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 1.56 (s, 3H), 1.94 (s, 3H), 3.64 (s, 2H), 3.72 (s, 3H), 5.87 (d, 1H, $J=15.6\text{Hz}$), 6.52 (dd, 1H, $J=15.6, 11.2\text{Hz}$), 7.21-7.36 (m, 6H).

IR (KBr) (cm^{-1}): 3434.7, 1737.6, 1708.6, 1643.1, 1492.7, 1438.7, 810.0, 771.4.

实施例 6

15 制备:



PEX-15Y

步骤 1: 在反应瓶中，加入土槿皮乙酸 0.030g(0.069mmol)和 1ml 无水乙醚，搅拌使其溶解。然后在室温下滴加 0.5ml SOCl_2 ，装上回流冷凝管和 CaCl_2 干燥管，室温搅拌 1 小时，升温至 40-50 $^\circ\text{C}$ ，并反应 3 小时。减压蒸去低沸物，残留物用绝对乙醚 1ml 溶解，制成溶液 A。

步骤 2: 在冰盐浴下, 在反应瓶中加入 3ml 丙酮, 1ml 水, 0.10g(1.2mmol)NaHCO₃ 和 0.10g(0.92mmol)对羟基苯胺并快速搅拌。待温度降至-2°C 时滴加溶液 A (期间温度绝对不超过 0°C), 用 TLC 检测反应。待反应完全后, 酸化至 PH=6 (用 CH₃CO₂H) 减压蒸去丙酮。水相用乙醚提取三次, 将乙醚液合并后蒸干, 残留物用氯仿: 甲醇=10:1, 进行硅胶层析, 分出 0.030g 产品 (总收率 82.6%), 得标题化合物 (PEX-15Y)。

¹HNMR (DMCO) δ (ppm): 1.61 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 6.12 (d, 1H, J=15.2Hz), 6.52-6.58 (m, 2H), 6.99 (d, 1H, J=11.0Hz), 7.06-7.12 (m, 3H).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3390.3, 1739.5, 1716.4, 1648.9, 1602.6, 1500.0, 1444.4, 775.3, 690.4.

实施例 7 药物组合物的制备例

15

配方:

组分	用量
化 合 物	200 毫克
PEX-25Y	
乙醇	2 毫升
甲基纤维素	0.2 毫升
生理盐水	7.0 毫升
吐温 80	0.8 毫升

配制方法: 称取 PEX-25Y 200 毫克, 加入吐温 80 0.8 毫升, 乙醇 2 毫升, 在研钵中研磨均匀, 5 分钟后加入生理盐水 7.0 毫升和甲基纤维素 0.2 毫升, 配制成 20 毫克/毫升溶液。

20

实施例 8

采用 18-22 克雌性 KM 小鼠 30 只, 取生长良好的 7-11 天的 S-180 瘤种, 将瘤组织制成细胞悬液, 接种于小鼠右侧腋部皮下, 约 4.5-5

×10⁶ 细胞/只，接种 24 小时后随机分组。给药方案如下：治疗组按不同剂量从接种第二天开始腹腔给药，连续 6 天，对照组给以相应的赋形剂。停药后 48 小时处死动物，称体重、瘤重，计算各组平均瘤重，求出肿瘤生长抑制率并进行 t 检验。

5 计算公式如下：

$$\text{肿瘤抑制率 (\%)} = \frac{\text{空白对照组平均瘤重} - \text{治疗组平均瘤重}}{\text{空白对照组平均瘤重}} \times 100\%$$

实验结果

组别	剂量	动物数(只)		体重(克)		瘤重	抑癌率 %
		开始	最后	开始	最后		
PEX-25 Y	5 mg/kg	10	10	20.4	21.1	0.30±0.23	64.3
PEX-25 Y	10 mg/kg	10	9	20.4	19.7	0.26±0.11	69.0
PEX-25 Y	15 mg/kg	10	10	20.5	21.2	0.28±0.13	66.7
对照组	----	20	17	20.7	21.5	0.84±0.25	---

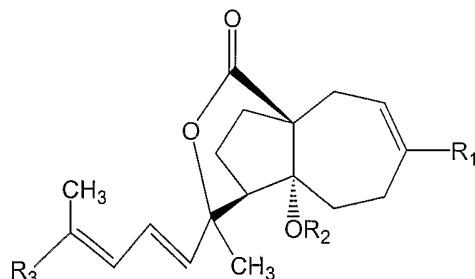
10

以上的实施例仅仅是举例说明本发明化合物、组合物的制备方法和药理实验结果，但对本领域的技术人员来说可以对此作出种种修改和变化，而不背离本发明的精神和范围，所附的权利要求书覆盖本发明范围内的所有这些修改。

15

权 利 要 求

1、具有如下式 (I) 结构的土槿皮酸类衍生物



式中：

5 (a) R_1 为腈基、杂环基、 $COXR'$ 或 $CON(R'')_2$ ，其中 X 为 O 或 NH， R' 为 H、环烷基、烷基、杂环烷基或芳基烷基， R'' 各自独立地为烷基、环烷基或杂环烷基；

(b) R_2 为 H、烷基酰基、芳基烷酰基、芳基酰基或杂环基酰基；

10 (c) R_3 为 $COXY$ 、胺基或卤素，其中 X 为 O 或 NH，Y 为 H、 NH_2 、羟基、烷基、环烷基、杂环烷基、杂原子取代的烷基、叔胺基取代的季铵盐烷基、芳基、芳基烷基或多羟基烷基，

但是，土槿皮乙酸、土槿皮丙酸、土槿皮丙₂酸、去乙酰基土槿皮丙₂酸、土槿皮乙酸对溴苯甲酯、土槿皮丙酸丙酯、土槿皮乙酸甲酯、19-丙氧基土槿皮丙酸、19-丁氧基土槿皮丙酸、19-丙氧基土槿皮
15 乙酸和 19-丁氧基土槿皮乙酸除外。

2、如权利要求 1 所述的土槿皮酸类衍生物，其特征在于当 R_1 为 $CONHR'$ 或 $CON(R'')_2$ 时， R_2 为 H、烷基酰基、芳基烷酰基、芳基酰基或杂环基酰基， R_3 为 $-COOH$ 。

20 3、如权利要求 1 所述的土槿皮酸类衍生物，其特征在于当 R_1 为 $-COOR'$ 时， R_2 为 H、烷酰基、芳基烷酰基、芳基酰基、杂环基酰基， R_3 为 $-COOH$ 。

4、如权利要求 1 所述的土槿皮酸类衍生物，其特征在于当 R_3 为 $COXY$ 时，则 R_1 为 $COOR'$ ， R_2 为 H、烷酰基、芳基烷酰基、芳基酰基、杂环基酰基。

5、权利要求 1 所述土槿皮酸类衍生物的制备方法，其特征在于：

a. 当 R_1 为 CONHR 或 CONR'R'' 时，以 R_1 为 COOR' 的具有式 (I) 所示土槿皮乙酸母核的化合物为原料，在胺的水溶液或有机溶剂中以酸性催化剂催化胺解制得，反应温度为 -10°C 至 100°C ，pH 为 1 至 6，

5 原料化合物：胺=1：1 至 1：300；

b. 当 R_1 为 COOR' 时，以 R_1 为 COOR' 的具有式 (I) 所示土槿皮乙酸母核的化合物为原料，在无水条件下以强碱催化与过量的醇醇解而制得，反应温度为 0 至溶剂回流温度，pH 值为 9 至 14，原料化合物：醇=1：1.1 至 1：500；

10 c. 当 R_2 为烷基酰基、芳基取代的烷基酰基、芳基酰基、杂环基酰基时，以 R_2 为 H 的具有式 (I) 所示土槿皮乙酸母核的化合物为原料酰化制得，反应温度为 0°C 至 80°C ，原料化合物:酰化剂=1:5 至 1:500；或

d. 当 R_3 为 COXY 时，以 R_3 =COOH 的具有式 (I) 所示土槿皮乙酸母核的化合物为原料，先在过量的酰卤化试剂作用下生成酰卤，然后在缚酸剂存在下与醇或胺反应获得，反应温度低于 -20 至 30°C 。

6、如权利要求 5 所述的方法，其中所述酸性催化剂选自盐酸、乙酸、硫酸和磷酸。

7、如权利要求 5 所述的方法，其中所述碱性催化剂选自氨基钠、氨基钾、醇钠或醇钾。

8、如权利要求 7 所述的方法，其中所述碱性催化剂为醇钠或醇钾。

9、如权利要求 5 所述的方法，其中所述酰化剂为酰卤。

10、如权利要求 5 所述的方法，其中所述酰卤化试剂选自 SOCl_2 、
25 POCl_3 、 PCl_5 、 S_2Cl_2 、 PBr_3 和 PCl_3 。

11、如权利要求 5 所述的方法，其中所述缚酸剂选自有机胺、 CaCO_3 、 K_2CO_3 、 Na_2CO_3 、 NaHCO_3 、KOH 和 NaOH。

12、用于抗肿瘤或抑制真菌的药物组合物，其特征在于，包含治疗有效量的权利要求 1 所述化合物和药学上可接受的载体。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN02/00562

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC⁷: C07D521/00, A61K31/558, A61P31/10, A61P 35/00
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC⁷: C07D521/00, 311/02, 313/06, A61K 31/558

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA, STN

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	CN, A, 1361106 (MEDICAL COLLEGE OF PEOPLE'S ARMED POLICE FORCES), 311 pub. 2002 (31.07.02), see the whole document	1-12
X	HUANG ZHI-HENG ETAL: " Studies on the mass spectra of Pseudolaric acids and their Derivatives" ACTA CHIMICA SINICA, Vol.49, No. 9, 1984, pages 886-892	1,3,4
X	DE-JI PAN ETAL: " The Cytotoxic Principles of Pseudolarix kaempferi:Pseudolaric Acid-A and -B and Related Derivatives" Planta Med., Vol 56, 1990, pages 383-385	1,3,4,12
X	ERGUANG LI ETAL: "ANTIFUGAL EVALUATION OF PSEUDOLARIC ACID B, ..." ¹⁹⁷⁵ Journal of Natural Products, Vol. 58, No. 1, pp.57-67	1-12

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>
--	---

Date of the actual completion of the international search
13 November 2002 (13.11.02)

Date of mailing of the international search report
12 DEC 2002 (12.12.02)

Name and mailing address of the ISA/CN
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District,
100088 Beijing, China
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer

FENG WUZHAN

Telephone No. 86-10-62093847

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN02/00562

Patent document Cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
CN 1361106 A	29-12-2002	none	

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN 02/00562

A. 主题的分类		
IPC ⁷ : C07D521/00, A61K 31/558, A61P 31/10, A61P 35/00		
按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类		
B. 检索领域		
检索的最低限度文献(标明分类体系和分类号)		
IPC ⁷ : C07D521/00, 311/02, 313/06, A61K 31/558		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称和, 如果实际可行的, 使用的检索词)		
CA,STN		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求编号
P,X	CN, A,1361106 (中国人民武装警察部队医学院 31.7月第02(第 07. d2),全文	1-12
X	化学学报, 第 49 卷,第 9 期, 1984 年 9 月出版, 黄知恒等 “土槿皮酸类化合物的质谱研究”, 第 886-892 页	1,3,4
X	De-Ji Pan 等, “The Cytotoxic Principles of Pseudolarix kaempferi: Pseudolaric Acid-A and -B and Related Derivatives, Planta Med., Vol. 56, No. 4, 1990, pages 383-385	1,3,4,12
X	ERGUANG LI 等: “ANTIGUNGAL EVALUATION OF PSEUDOLARIC ACID b, A MAJOR CONSTITUENT OF PSEUDOLARIX KAEMPFERI” Journal of Natural Products, Vol.58, No.1, 1995, pages 57-67	1-12
<input type="checkbox"/> 其余文件在 C 栏的续页中列出。		<input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。
* 引用文件的专用类型: “A” 明确叙述了被认为不是特别相关的一般现有技术的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先的申请或专利 “L” 可能引起对优先权要求的怀疑的文件, 为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件		“T” 在申请日或优先权日之后公布的在后文件, 它与申请不相抵触, 但是引用它是为了理解构成发明基础的理论或原理 “X” 特别相关的文件, 仅仅考虑该文件, 权利要求所记载的发明就不能认为是新颖的或不能认为是有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 权利要求记载的发明不具有创造性 “&” 同族专利成员的文件
国际检索实际完成的日期 13.11 月 2002 (13.11.02)	国际检索报告邮寄日期 12.12月 2002 (12.12.02)	
国际检索单位名称和邮寄地址 ISA/CN 中国北京市海淀区西土城路 6 号(100088) 传真号: 86-10-62019451	受权官员 冯铭战 电话号码: 86-10-62093847	

国际检索报告
关于同族专利成员的情报

国际申请号
PCT/CN 02/00562

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利成员	公布日期
CN-1361106A	31.7 月.2002 (31.07.02)	无	