



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 90104190.4

[51]Int.Cl⁵

C07H 17/04

[45]授权公告日 1994 年 4 月 13 日

[24]颁证日 94.1.16

[21]申请号 90104190.4

[22]申请日 90.6.4

[30]优先权

[32]89.6.7 [33]US[31]362,555

[73]专利权人 布里斯托尔-迈克斯斯奎布公司

地址 美国纽约州

[72]发明人 大沼毅 小島利嘉

龟井英夫 内藤隆之

A61K 31/70

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 马崇德 王其灏

说明书页数:

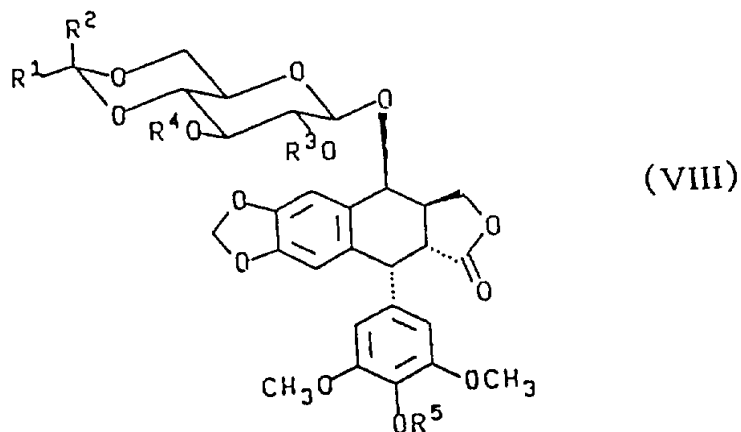
附图页数:

[54]发明名称 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙的酰化衍生物的制备方法

[57]摘要

本文介绍了表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙的酰化衍生物的制备方法。所公开的表鬼臼毒葡萄糖甙为在其结构的糖部分的一个或两个羟基上是被酰化了的。这些化合物对 P388 鼠白血病显示了显著的活性。

1. 一种制备式(V III)化合物的方法, 其中



3. 权利要求 2 的方法, 其中 R^3 和 R^4 分别是 C_{1-5} 烷基。
4. 权利要求 2 的方法, 其中 R^3 和 R^4 之一是 H, 另一个是 C_{1-5} 烷基。
5. 权利要求 3 的方法, 其中 R^3 和 R^4 均为乙酰基。
6. 权利要求 2 的方法, 其中 R^3 和 R^4 均为苯甲酰基。
7. 权利要求 2 的方法, 其中 R^3 和 R^4 之一是 H, 另一个是 C_{2-5} 烷基。
8. 权利要求 2 的方法, 其中 R^3 和 R^4 之一是 H, 另一个是 苯甲酰基。

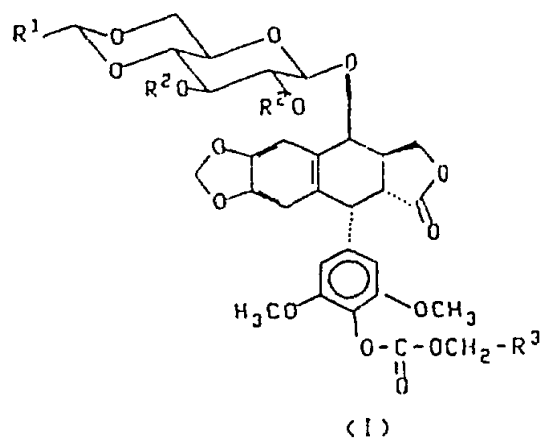
表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙的酰化衍生物的制备方法

本发明涉及表鬼臼毒(epipodophyllotoxin)的衍生物,它们作为抗肿瘤药剂的应用以及含有它们的药物组合物。更具体地说,本发明的新化合物是4'-脱甲基表鬼臼毒葡萄糖甙的酰化衍生物。

表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙(Etoposide)和表鬼臼毒噻吩糖甙(Teniposide)是从天然存在的木酚素,鬼臼毒衍生的临床有效的抗肿瘤药剂。当前,表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙在美国是以“Vepesid”的商标作为治疗小细胞肺肿瘤和睾丸肿瘤的药在市场上销售。表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙和表鬼臼毒噻吩糖甙的优良的药理学性质激励着人们非常积极地去研究其他同类的活性类似物。

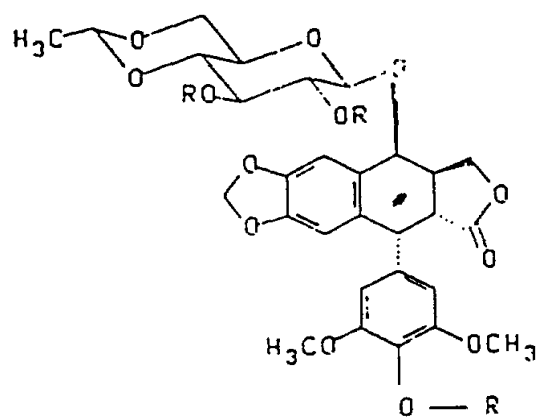
在文献中曾经作为中间体报导了其中糖部分的羟基被酰化的4'-O-去甲基表鬼臼毒葡萄糖甙,用以制备相应的4'-去甲基表鬼臼毒葡萄糖甙,然而,这些化合物的酚基也是被保护了的。

加拿大专利号956939公开了式(I)的化合物



其中, R^1 为 C_1-C_5 烷基; R^2 为乙酰基或甲酰基; R^3 为苯基或取代苯基; 所指出可能的取代的苯基为对-硝基苯基和对-甲氧苯基, 但没有实例说明。

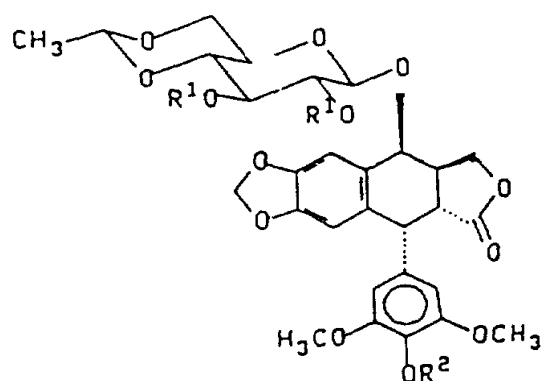
美国专利456675公开了式(II)的化合物



(II)

其中, R 为 $-C(O)CH_2X$, X 为卤原子。

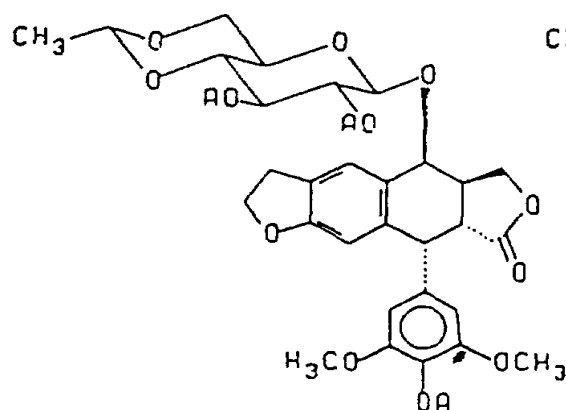
欧洲专利申请162701公开了式(III)的化合物



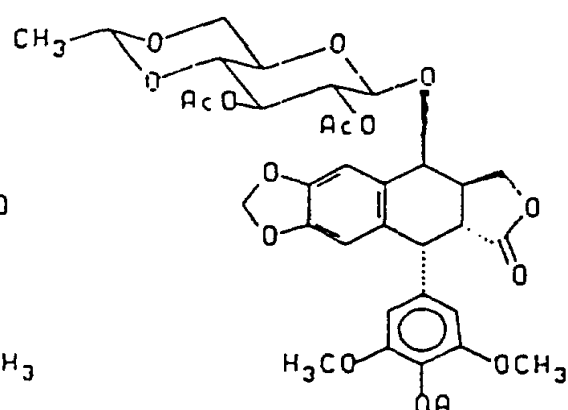
(III)

其中 R^1 和 R^2 可相或不同, 并各自表示 $-C(O)CHX_2$ 或 $-C(O)CX_3$, 其中 X 为卤素。

日本公开58/225096(德温特摘要号84-034268/06)和58/219196(德温特摘要号84-027495/05)分别公开了式(IV)和式(V)的化合物



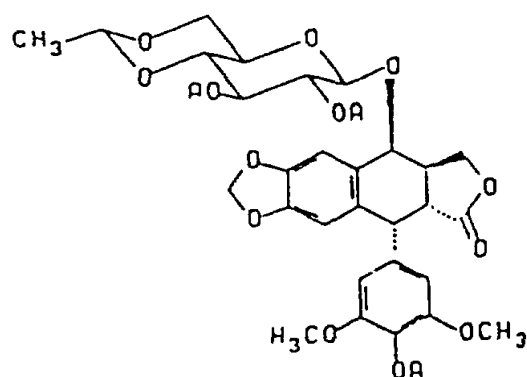
(IV)



(V)

其中A 代表 $-\text{CO}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})_m(\text{X})_n$, 此处X 为卤素原子, m 为0-2, n 为1-3, 而 $m+n=3$, AC为酰基。

欧洲专利申请226202公开了具有式(VI)结构的合成表鬼白毒吡喃葡萄糖苷的中间体

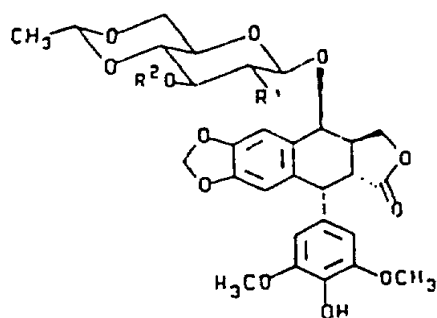


(VI)

其中A 表示乙酰基。

在J.Pharm.Biomed.Anal.,1987,5(1):11-20中公开了具有式(VII)

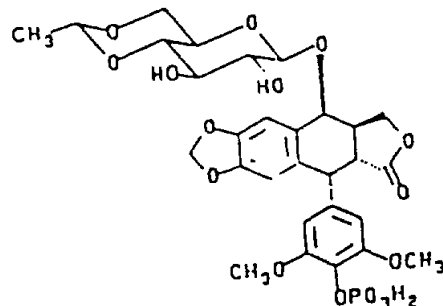
的表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙的单- 半琥珀酸酯衍生物



(VII)

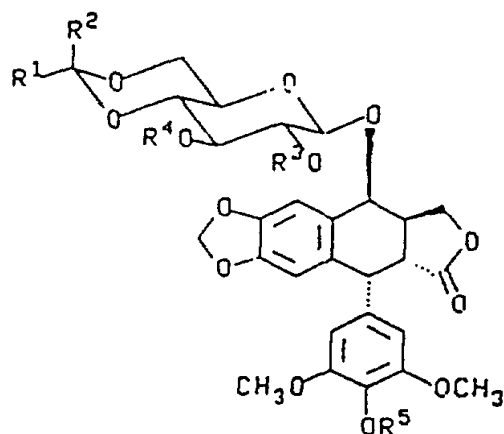
其中, R^1 与 R^2 中的一个为氢, 而另一个为 $-\text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$ 。这些化合物用作使表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙与牛血清白蛋白结合的手段。

日本公开63/192793 公开了表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙的4'- 磷酸酯及其二钠盐。



表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙磷酸酯

本发明提供式 (VIII) 的化合物



(VIII)

其中, R^2 为氢, R^1 为选自下列基团: (C_{1-10}) 烷基、 (C_{2-10}) 链烯基、 (C_{5-6}) 环烷基、2-呋喃基、2-噻吩基、 (C_{6-10}) 芳基、 (C_{7-14}) 芳烷基; 或 R^1 和 R^2 各自为 (C_{1-10}) 烷基; 或 R^1 、 R^2 和与它们相连的碳原子联结在一起表示 (C_{5-6}) 环烷基; R^3 与 R^4 中的一个为氢, 而另一个为选自 (C_{1-5}) 烷酰基和苯甲酰基的基团; 或 R^3 与 R^4 是相同的并为选自 (C_{1-5}) 烷酰基和苯甲酰基的基团; R^5 为氢或磷酰基(phosphate group)。

本发明的另一方面提供了含有抗肿瘤有效量的式(VIII)化合物和药物可接受的载体的药物组合物。

本发明还有一个方面, 提供了对一个患有肿瘤的哺乳类宿主抑制其肿瘤生长的方法, 该方法包括对所说的宿主给予抗肿瘤有效量的式(VIII)化合物。

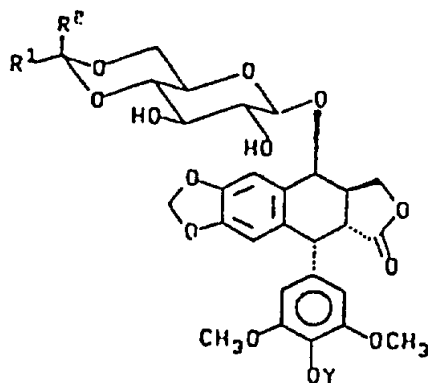
式(VIII)的化合物的一个优选的实施例含有这样一些化合物, 其中 R 为氢, R 选自甲基、2-噻吩基和苯基, 而甲基是最优选的取代基。

一个更优选的实施例提供了其中 R^3 和 R^4 各为 (C_{1-5}) 烷酰基的式(VIII)的化合物; 而最优选的实施例是 R^3 和 R^4 各为甲酰基的式(VIII)的化合物。

一个更优选的实施例还提供了 R^3 和 R^4 中, 一个是氢, 而另一个是 (C_{1-5}) 烷酰基或苯甲酰基的式(VIII)化合物。

在这里所用的术语“磷酰基”包括 H_2PO_3 -基团及其医药可接受的盐类。医药上可接受的盐类包括一元的和二元的盐类，其中的阳离子包括（但不限于）碱金属，例如钠、钾和锂；碱土金属，例如镁、钙和钡；有机胺盐，如铵。

本发明的新化合物可以通过使式(IXa)的4'-酚基被保护的4'-去甲基表鬼臼毒葡萄糖甙与所需要的羧酸或其酰化等价物反应，再除去酚基上的保护基团。



IXa : Y = 保护基团

IXb : Y = H

对于酚基保护基团没有特别的限制，对分子的其他部分几乎没有或没有不利影响的任何能被导入而又易于除去的基团都可以。特别是，酚基保护基必须能以不影响其最终产物的糖部分的酰氧基官能度的方法除去。保护酚基的方法是本领域中公知的，作为酚基保护基团的一般类型的例子，可以提及如醚、缩醛、酯和碳酸酯。对本发明来说，我们发现苄氧羰基对这样的应用很方便。这样，在低温下，如 $-150^{\circ}C$ ，在惰性有机溶剂如二氯甲烷中和在叔有机碱如吡啶的存在下，使式(IXb)的4'-去甲基表鬼臼毒葡萄糖甙与氯甲酸苄酯反应可以得到相应的4'-O-苄氧羰基-4'-去甲基表鬼臼毒葡萄糖甙。美国专利3524844 公开了式(IXb)的化合物及其合成方法。

使用所需要的羧酸或从其衍生的酰化剂可以实现式(IXa)化合物的糖羟基的酰化反应，例如酰基卤如酰氯、从N-羟基琥珀酰亚胺或1-羟基三唑衍生的活性酯和对称的或混合的酸酐。当使用羧酸作为酰化剂时，最好同时使用缩合剂，例如碳化二亚胺（如二环己基碳化二亚胺）。如上所述，酰化剂是C₁₋₅链烷酸和苯甲酸及其酰化等价物。链烷酸包括（但不限于）甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、戊酸和支链链烷酸如2-甲基丙酸和3-甲基丁酸。

可以在惰性有机溶剂如吡啶中进行酰化反应，当副产物是酸时，最好在反应混合物中包括一种酸接受剂；适宜的酸接受剂是例如吡啶、三乙胺、二异丙基乙胺及其他的叔胺碱类或是如碳酸钠和碳酸钾等无机碱。该反应可在有利于生成所需产物的温度进行，如从约-15-50℃；可能要进行几分钟至几天才能使反应完全，这取决于反应物的性质和对如温度等反应条件的选择。

酰化反应并不是区域选择性的，它可得到2''-单酰化产物、3''-单酰化产物和2'',3''-双酰化产物的混合物。然而，当相对表鬼臼毒反应物至少使用2个当量的酰化剂时，主要生成双酰化衍生物。按照本技术领域的实践的普通原理，通过控制反应参数可以将单酰化产物和双酰化产物的比例控制到某种程度，例如改变反应物的相对量或改变如温度和反应时间等反应条件。一般说来，当使用等摩尔的反应物时，降低反应温度和缩短反应时间会使生成的单酰化产物的量增加，另一种办法是通过先将4'-酚基被保护的表鬼臼毒葡萄糖甙原料的一个糖羟基保护起来，可得到单酰化产物。为了减少两羟基都被衍生化的程度，糖羟基的保护基优选的是体积大的取代基，如叔丁基二甲基甲硅烷基。再者，糖羟基的保护不是区域选择性的，然而，如果需要，2''-位保护的或3''-位保护的化合物可以很容易用色谱法分开。我们曾经进行了表鬼臼毒吡喃葡萄糖的甲酰化反应，可是我们并没有成功地分离期望得到的任一个表鬼臼毒

吡喃葡萄糖甙单甲酰化衍生物。

应用常规的分离技术，如柱层析，可以将含有酚羟基保护了的酰化衍生物的产物混合物分离为单独的成份。酚羟基的去保护，如果需要，加上糖羟基的去保护，就提供了本发明的化合物。可以在单独成分的分离之前或以后进行去保护反应；次序是不严格的。通过使用对于所选择的保护基合适的方法除去保护基团，这些方法在本技术领域中公知。例如，当保护基团为苄氧羰基时，可在常压下，用Pd-C作为催化剂，通过催化氢化脱去；通过在醇的水溶液中加热或用氟阴离子或醋酸水溶液处理；可以脱去叔丁基二甲基甲硅烷基。

在脱去酚的保护基团之后，4'-位酚羟基可进一步衍生化以得到式（Ⅷ）的4'-位磷酸酯。使用常规的方法可以进行4'-位酚基的磷酸化反应。例如，一个其中R⁵为氢的式（Ⅷ）的化合物可以与如三氯氧化磷磷酰化剂反应；磷酰氯中间体就地水解得到4'-位磷酸酯。在碱（如碳酸氢钠）的存在下，水解得到相应的盐。美国专利申请GB 2207664公开了这个步骤和其他可有效应用的磷酸化方法，该专利申请引入本文作为参考。

应当理解，本发明化合物的合成并不限于上述概略指出的步骤和试剂。还可包括可以酰化4'-去甲基表鬼臼毒葡萄糖甙的糖部分的羟基的其他方法。反应条件当然将随着起始物的选择而变化，但可以由本领域的熟练技术人员确定而不需过多的试验。

测定过本发明的代表性的化合物对鼠的可移植的P388白血病的抗肿瘤活性。以0.4毫升含有10⁶淋巴白血病P388细胞的稀释腹水液体对雌性CDF小鼠进行腹膜内培育。在第1天以单剂量腹膜内施用试验化合物并观察动物50天。测定处理动物的平均存活时间(MST)超过未处理的对照动物平均存活时间的百分数增加，并以% T/C形式报告。显示% T/C值为125或更大的化合物被认为有显著的抗肿瘤活性。表I介绍了体内

评价所得的结果，仅报告了最大的% T/C 值和给出最大效应的剂量。

表 I 对P388白血病的抗肿瘤活性

化合物	剂量(毫克/公斤/天)	% T/C MST
实施例1	30	165
实施例3	30	240
实施例4	30	210
Et opo s i d e	30	182
实施例6	120	> 500 (3/4)*
实施例8	120	145
实施例9	60	420 (1/4)
实施例10	120	125
表鬼白毒吡喃葡萄糖甙	120	> 390 (6/12)

*50 天时的存活数 / 试验数

离体测定本发明化合物对B16-F10 鼠黑色素瘤和莫塞尔(Moser) 人结肠癌细胞系的细胞毒性。收集和计数指数生长的B16-F10 和莫塞尔细胞，并分别以 1.5×10^4 和 3×10^4 细胞/ 毫升的浓度悬浮于培养介质中。在细胞悬浮液(180 μ cl) 植入一个96井的微量滴定板的井中24小时后，将试验材料(20 μ cl)加入井中并将板培育72小时。在用中性红溶液对生存的活细胞染色后，在540 nm以比色分析法测定对肿瘤细胞的细胞毒性。结果总结于表II。

表 II 对鼠和人肿瘤细胞的离体的细胞毒性

化合物	IC ₅₀ (mcg/ml)	
	B16-F10	Moser
实施例3	1.6	1.1
实施例4	1.4	未测定
实施例1	1.3	< 0.8
实施例8	0.92	未测定
实施例9	0.17	0.83
实施例10	4.4	未测定
实施例6	2.0	0.84
表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙	0.45	未测定

因此，本发明提供了一种抑制哺乳动物肿瘤的方法，该方法包括对患有肿瘤的宿主给予有效的肿瘤抑制剂量的一种式(VIII)的抗肿瘤化合物。为此目的，可以通过常规途径，包括(但不限于此)静脉内、肌肉内、瘤内、动脉内、淋巴内和口服给药。

本发明另一方面提供了一种药物组合物，它包括式(VIII)的化合物和药物可接受的载体。可将抗肿瘤组合物制成任何适合于所需给药途径的药剂形式。这种组合物的例子包括：口服的固体组合物，如片剂，胶囊、丸剂、粉剂和颗粒；口服的液体组合物，如溶液、悬浮液、糖浆或剂和肠胃外给药的制剂，如无菌溶液、悬浮液或乳剂。它们也可以制成消毒的固体组合物的形式，在使用前可立即将其溶解于无菌的水、生理盐水或某些其他无菌的可注射的介质中。

对于一个给定的哺乳动物的宿主，本领域熟练的技术人员很容易确定最佳的剂量和方式。当然，应该使所使用的实际的剂量随着配制的特定组合物、使用的特定化合物、应用的方式和待治疗的特定部位、宿主以及病症而变化。应该考虑到能影响药物作用的许多因素，包括年龄、

体重、性别、食物、服药的时间、给药的途径、排泄的速度、病人的状态、配合使用的药物、反应的敏感性和病症的严重程度等。

以下的实施例仅仅是为了说明本发明，不能认为是限制本发明的范围，本发明的范围仅由附加于说明书的权利要求限定。4'-O- 苄氧羰基表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙的制备(4'-CBZ-etoposide)。

保持在-15 °C，将氯甲酸苄酯(1.98 毫升,15 毫摩尔)在30分钟内加到etoposide(5.88克,10 毫摩尔)和吡啶(10 毫升)于二氯甲烷(100 毫升)中的混合物中。混合物在-15 °C再搅拌1 小时。依次用5%盐酸碳酸氢钠水溶液和水洗涤，然后用无水硫酸钠干燥。蒸去溶剂得到8.05 克粗产物，粗产物在硅胶柱上纯化(5% 甲醇- 二氯甲烷)得到6.93克(96%) 无色的半固体的4'-O- 苄氧羰基表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙，熔点:152 -155°C。

IR $\nu_{\max}$ (Nujol) cm^{-1} : 3200-3600 (OH), 1760

(丙酮和4'-O- 苄氧羰基),1600(芳香)

^1H NMR (60 MHz, CDCl_3) δ 7.36 (5H, s, $\text{OCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 6.81 (1H, s, 5-H), 6.50 (1H, s, 8-H), 6.25 (2H, s, 2'- and 6'-H), 5.94 (2H, br.s, O- CH_2 -O), 5.23 (2H, s, $-\text{OCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 4.89 (1H, d, $J=4$ Hz, 4-H), 3.66 (6H, s, 3',5'- OCH_3), 2.8-3.0 (2H, m, 2'',3''-OH, D_2O exchanged), 1.38 (3H, d, $J=5$ Hz, 7''- CH_3).

实施例I

2'',3''-二-O- 乙酰基表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙(VII, $\text{R}^1=\text{CH}_3$, $\text{R}^2=\text{H}$, $\text{R}^3=\text{R}^4=\text{CH}_3\text{CO}-$)的制备

(a)4'-o-苄氧羰基表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙2'',3''-二-O- 乙酸酯的制备

将乙酸酐(1毫升)加到4'-CBZ-表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙(500毫克,0.69毫摩尔)的吡啶(10毫升)溶液中,混合物于室温下搅拌4小时.反应混合物以甲醇(2毫升)骤冷,以二氯甲烷稀释,然后依次用水、5%盐酸和水洗涤.将有机层用硫酸钠干燥、过滤,并将滤液减压浓缩,得到无色固体(551毫克,99%).粗固体在甲醇中重结晶,得到无色晶体4'-O- 苄氧羰基表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙2'',3''-二-O- 乙酸酯(第一次395毫克,第二次60毫克),熔点:236-238℃.

IR $\nu_{\max}$ (KPr) cm^{-1} 3500(br), 1770, 1610.
UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 290 (3950).

元素分析: $\text{C}_{41}\text{H}_{42}\text{O}_{17}$

计算值: C, 61.04; H, 5.25

实测值: C, 60.64; H, 5.36

(b) 2'',3''- 二-O- 乙酰基- 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙的制备

在1大气压下, (a)步产物(405毫克,0.5毫摩尔)溶于乙醇- 丙酮(4:1,15毫升)的搅拌着的溶液,在10% Pd-C(400毫克)存在下,氢化1.5小时,然后滤除催化剂.将滤液减压浓缩,得到无色固体(360毫克,约100%),在乙酸乙酯- 甲醇中重结晶,得到无色结晶的标题化合物(204毫克),测定纯度:90%(HPLC),熔点: 287-289℃

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3500(br), 1760, 1610.
UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 240(sh, 12780), 285 (4060).

元素分析: $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$

计算值: C, 58.93; H, 5.39

实测值: C, 58.56; H, 5.41

实施例2

4'-O- 苄氧羰基表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙 2''-O- 乙酸酯与 3''-O- 乙酸酯的制备

保持在 -10 °C, 将乙酸酐 (20 微升, 0.18 毫摩尔) 和 4-二甲氨基吡啶 (5 毫克) 加到 4'-CBZ 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙 (142 毫克, 0.2 毫摩尔) 溶于吡啶 (8 毫升) 的溶液中。混合物在 -10 °C 搅拌 30 分钟, 再加入附加的乙酸酐 (20 微升, 0.18 毫摩尔)。反应混合物在 -10 °C 再搅拌 30 分钟, 然后以二氯甲烷稀释, 依次用水、5% 盐酸、碳酸氢钠水溶液和水洗涤。用 Na₂SO₄ 干燥有机相, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到含有四个组份的无色粉末 (117 毫克) (硅胶 TLC, R_f 值 0.56、0.46、0.34 和 0.24, 己烷/ 丙酮 = 1/1)。混合物以硅胶柱层析分离 (2.5% 甲醇- 二氯甲烷)。合并 R_f 值为 0.56 的洗脱部分并减压蒸干, 得到 1 毫克 (1%) 2'', 3''-二-O- 乙酰基-4', -O-苄氧羰基表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙 (4)。与此类似, 从 R_f 值为 0.46、0.34 和 0.24 的洗脱液部份分别得到 3''-O- 乙酰基-4'-O-苄氧羰基表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙 (3)、2''-O- 乙酰基-4'-O-苄氧羰基表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙 (2) 和无色粉状的 4''-CBZ- 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙 (1, 60 毫克, 42%)。从各个洗脱液馏份之间的相接部分可以得到 3 和 4 (18 毫克)、2 和 3 (15 毫克) 以及 1 和 2 (6 毫克) 的混合物。

2''-O- 乙酰基-4'-O-苄氧羰基表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙, 熔点: 224-227 °C

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3400(br), 1740, 1600.

UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 291 (4200).

元素分析: $\text{C}_{39}\text{H}_{40}\text{O}_{16} \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$

计算值: C, 61.25; H, 5.27

实测值: C, 60.84; H, 5.25

3''-O-乙酰基-4'-O-苄氧羰基表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙, 熔点: 139-145 °C

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3500(br), 1770, 1600.

UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 291 (3920).

元素分析: $\text{C}_{39}\text{H}_{40}\text{O}_{16} \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$

计算值: C, 60.54; H, 5.34

实测值: C, 60.27; H, 5.26

实施例3

2''-O-乙酰基表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙(Ⅷ, $\text{R}^1=\text{CH}_3$, $\text{R}^2=\text{H}$, $\text{R}^3=\text{CH}_3\text{CO}-$, $\text{R}^4=\text{H}$) 的制备

用2''-O-乙酰基-4'-O-苄氧羰基-表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙(25 毫克, 0.03毫摩尔) 按照实施例1 步(b) 描述的步骤, 得到无色粉状的标题化合物(21 毫克, 约100%)。测得的纯度为90%(HPLC法)。熔点: 144-147 °C。

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3450(br), 1770, 1740, 1610.

UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 240(sh 12900), 284 (4030).

元素分析: $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{O}_{14}$

计算值: C, 59.04; H, 5.43

实测值: C, 58.65; H, 5.46

实施例4

3''-O-乙酰基-表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙(VIII, $\text{R}^1\text{-CH}_3$, $\text{R}^2\text{-H}$, $\text{R}^3\text{-H}$, $\text{R}^4\text{-CH}_3\text{CO}$)的制备

用3''-O-乙酰基-4'-O-苄氧羰基-表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙(10毫克, 0.01毫摩尔)按照实施例1步(b)描述的步骤, 得到无色粉末的标题化合物(9毫克, 约100%)。测得的纯度为85%(HPLC法)。

熔点: 226-228 °C

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3450(br), 1760, 1610.

UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 240(sh, 12610), 285 (3960).

元素分析: $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{O}_{14} \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$

计算值: C, 58.21; H, 5.52

实测值: C, 58.22; H, 5.42

实施例5

从2和3的混合物制备2''-O-乙酰基-表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙和3''-O-乙酰基-表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙

在1大气压下, 在10% Pd-C(30毫克)存在下, 搅拌并氢化2和3

的混合物(60 毫克,0.08 毫摩尔)于乙醇-丙酮(4:1,5毫升)的溶液,氢化结束后滤除催化剂。浓缩滤液,得到区域异构体混合物(50 毫克,约100%),以硅胶柱层析分离此混合物,得到无色粉状的2''-O-乙酰基-表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙(10 毫克,20%)、3''-O-乙酰基-表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙(4毫克,8%)和它们的混合物(30 毫克,61%)。

实施例6

制备2'',3''-二-O-甲酰基-表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙(VIII;R¹-CH₃,R²-H,R³-R⁴-HCO-)

a.4'-O-苄氧羰基-表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙2'',3''-二-O-甲酸酯的制备

在0 °C,向4'-CBZ etoposide(100毫克,0.14 毫摩尔)的吡啶(0.7 毫升)溶液中滴入99% 甲酸(1.4毫升)和乙酸酐(0.56 毫升)的混合物。反应混合物在室温搅拌4 小时,加入二氯甲烷稀释,然后用水洗涤。以Na₂SO₄干燥有机相,滤除硫酸钠,滤液减压浓缩,得到无色固体(122毫克),以硅胶柱层析(甲醇:二氯甲烷=1:50)纯化该固体,得4'-O-苄氧羰基-表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙2'',3''-二-O-甲酸酯(91 毫克,84%)无定形粉末。

¹H NMR (CDCl₃) δ 8.04 & 7.80 (each 1H, s, CHO), 7.36 (5H, s, PhCH₂CO), 6.72 (1H, s, H-5), 6.53 (1H), s, H-8), 6.23 (2H, s, 2',6'-H), 5.97 (2H, s, OCH₂O), 5.23 (2H, s, PhCH₂CO), 5.4-4.0 (9H, m), 3.66 (6H, s, 3',5'-OCH₃), 3.6-2.6 (6H, m), 1.35 (3H, d, J=5 Hz, 8''-CH₃)。

b.2'',3''-二-O-甲酰基-表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙的制备

在1 大气压下,在10% Pd-C(50 毫克)存在下,搅拌并氢化(a)步的产物(71 毫克,0.009毫摩尔)于乙醇-丙酮(4:1,2.5毫升)的溶液1.5 小时。滤除催化剂并减压浓缩滤液,得到无色粉状的标题化合物

(59 毫克, 约100%)。用HPLC法测得其纯度为80%。

熔点: 278-280 °C

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3400, 1760, 1740, 1610

UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 236 (sh, 14,100), 285 (4,230)

^1H NMR (CDCl_3) δ 8.04 & 7.83 (each 1H, s, CHO), 6.72 (1H, s, H-5), 6.53 (1H, s, H-8), 6.23 (2H, s, 2',6'-H), 5.48 (2H, s, OCH_2O), 5.6-4.1 (9H, m), 3.76 (6H, s, 3',5'- OCH_3), 3.7-2.6 (6H, m), 1.35 (3H, d, $J=5\text{ Hz}$, 8''- CH_3).

元素分析: $\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$

计算值: C, 57.26; H, 5.00

实测值: C, 57.09; H, 5.00

实施例7

4''- 苄氧羰基- 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙2''-O- 苯甲酸酯, 3''-O- 苯甲酸酯以及2'', 3''-二-O- 苯甲酸酯的制备

将苯甲酰氯(100微升, 0.86 毫摩尔) 加到4'-O-CBZ- 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙(500毫克, 0.7毫摩尔) 于吡啶(5毫升) 的溶液中。反应混合物在室温搅拌3 天, 以二氯甲烷稀释, 然后依次用水、5%盐酸和水洗涤。有机层用 Na_2SO_4 干燥、过滤、减压浓缩滤液, 得到含有三种新成份的淡黄色油(硅胶薄层层析: 二氯甲烷/ 甲醇= 100/1, Rf值各为0.50、0.38和0.21)。以硅胶柱层析(40%己烷- 丙酮) 分离该混合物, 得到2'', 3''-二-O- 苯甲酸酯7(Rf值0.50, 30 毫克, 5%)、3''-O- 苯甲酸酯6(Rf值0.38, 227毫克, 40%)、2''-O- 苯甲酸酯5(Rf值0.21, 70 毫克, 12%) 和回收4'-CBZ- 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙1(215 毫克, 43%)。

4'- 苄氧羰基- 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙2''-O- 苯甲酸酯(5)

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3400(br), 1700, 1720, 1600

UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 281 (4,050)

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.3-7.9 (10H, m, $2\times\text{C}_6\text{H}_5$, 5.17 (1H, t, $J=8$ Hz, 2''-HO), 5.01 (1H, d, $J=8$ Hz, 1''-H), 4.77 (1H, q, $J=5$ Hz, 7''-H), 3.2-3.8 (1H, m, 3''-H), 2.75 (1H, br, 3''-OH), 1.31 (3H, d, $J=5$ Hz, 7''-CH₃).

元素分析: $\text{C}_{44}\text{H}_{42}\text{O}_{16}$

计算值: C, 63.92; H, 5.12

实测值: C, 63.80; H, 5.17

4'-O- 苄氧羰基- 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙3''-O- 苯甲酸酯(6)

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3500(br), 1770, 1600

UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 225 (sh, 30,890), 281 (4,300)

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.4-8.0 (10H, m, $2\times\text{C}_6\text{H}_5$, 5.34 (1H, t, $J=9$ Hz, 3''-H), 4.74 (1H, d, $J=8$ Hz, 1''-H), 4.68 (1H, q, $J=5$ Hz, 7''-H), 3.60 (1H, m, 2''-H), 1.28 (3H, d, $J=5$ Hz, 7''-CH₃).

元素分析: $\text{C}_{44}\text{H}_{42}\text{O}_{16}$

计算值: C, 62.55; H, 5.25

实测值: C, 62.73; H, 5.29

4'-O- 苄氧羰基- 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙2'',3''-二-O- 苯甲酸酯(7)

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 1770, 1730, 1600

UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 227 (sh, 40,270), 282 (4,550)

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.3-7.9 (10H, m, $2\times\text{C}_6\text{H}_5$), 5.55 (1H, t, $J=8$ Hz, 3"-H), 5.32 (1H, t, $J=8$ Hz, 2"-H), 4.93 (1H, d, $J=8$ Hz, 1"-H), 4.50 (1H, q, 7"-H), 1.31 (3H, d, $J=5$ Hz, 7"- CH_3).

元素分析: $\text{C}_{51}\text{H}_{46}\text{O}_{17}$

计算值: C, 65.80; H, 4.55

实测值: C, 65.28; H, 4.98

实施例8

制备2"-O- 苯甲酰基- 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙(VIII, $\text{R}^1=\text{CH}_3$, $\text{R}^2=\text{H}$, $\text{R}^3=\text{PhCO}-$, $\text{R}^4=\text{H}$)

在1 大气压下, 在10%Pd-C(50毫克) 存在下, 搅拌并氢化4'- 苄氧羰基- 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙2"-O- 苯甲酸酯(54 毫克, 0.07 毫摩尔) 于乙醇- 丙酮(2:1, 3毫升) 的溶液2 小时。滤除催化剂并减压浓缩滤液, 得到无色粉状的标题化合物(40 毫克, 88%)。用HPLC法测得其纯度为95%。

熔点: 289-292 $^{\circ}\text{C}$ 。

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3450, 1760, 1730

UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 283 (4,470)

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.4-7.8 (5H, m, COC_6H_5), 5.07 (1H, dd, $J=7.7$ & 9.2 Hz, 2"-H), 4.89 (1H, d, $J=7.7$ Hz, 1"-H), 4.80 (1H, q, $J=5.1$ Hz, 7"-H), 4.23 (1H, dd, $J=4.8$ & 10.3 Hz, 6"-Heq), 3.98 (1H, dt, $J=3.3$ & 9.2 Hz, 3"-H), 3.64 (1H, t, $J=10.3$ Hz, 6"-Hax), 3.47 (1H, t, $J=9.2$ Hz, 4"-H), 3.40 (1H, dt, $J=4.8$ & 10 Hz, 5"-H), 2.74 (1H, d, $J=3.3$ Hz, 3"=OH), 1.41 (3H, d, $J=5.1$ Hz, 7"- CH_3).

元素分析: $C_{36}H_{36}O_{14} \cdot H_2O$

计算值: C, 60.84; H, 5.11

实测值: C, 61.10; H, 5.40

实施例9

3''-O- 苯甲酰基- 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙的制备 (VII, R^1 -CH₃, R^2 -H, R^3 -H, R^4 -PhCO-)

按照实施例8 的步骤, 将4 -O- 苄氧羰基- 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙3''-O- 苯甲酸酯 (34 毫克, 0.04 毫摩尔) 氢化, 得到无色固体的标题化合物 (27 毫克, 95%), 将此固体在硅胶柱上层析纯化, 得到无色结晶。用HPLC法测得其纯度为95%。

熔点: 188-191 °C。

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3400 (br), 1730.

UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 223 (35,900), 280 (4,030).

¹H NMR (CDCl₃) δ 7.4-7.8 (5H, m, COPh), 5.38 (1H, t, J=9.2 Hz, 3''-H), 4.79 (1H, d, J=7.7 Hz, 1''-H), 4.72 (1H, q, J=5.1 Hz, 7''-H), 4.22 (1H, dd, J=5 & 10 Hz, 6''-Heq), 3.67 (1H, brt, J=8 Hz, 2''-H), 3.61 (1H, t, J=10 Hz, 6''-Hax), 3.59 (1H, t, J=9.4 Hz, 4''-H), 3.47 (1H, m, 5''-H), 2.58 (1H, br, 2''-OH), 1.31 (3H, d, J=5.1 Hz, 7''-CH₃).

元素分析: $C_{36}H_{36}O_{14} \cdot 2H_2O$

计算值: C, 59.31; H, 4.98

实测值: C, 59.14; H, 5.10

实施例10

2'',3''-二-O- 苯甲酰基- 表鬼臼毒吡喃葡糖甙(VIII, R¹-CH₃, R²-H, R³=R⁴=Phco-)的制备

按照实施例8 的步骤, 搅拌并氢化4'-O- 苄氧羰基- 表鬼臼毒吡喃葡糖甙2'',3''-二-O- 苯甲酸酯(130毫克, 0.14 毫摩尔) 于乙酸乙酯- 乙醇- 丙酮(4:4:1, 4.5毫升) 的溶液, 得到无色粉末状的标题化合物(112毫克, 约100%), 用APLC法测得其纯度为90%。熔点> 295 °C。

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 1770, 1730.

UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 226 (sh, 24,200), 281, (3,470).

¹H NMR (CDCl₃) δ 7.3-8.0 (10H, m, 2xCOC₆H₅), 5.67 (1H, t, J=9.5 Hz, 3''-H), 5.35 (1H, dd, J=8.1 & 9.7 Hz, 2''-H), 4.98 (1H, d, J=8.1 Hz, 1''-H), 4.73 (1H, q, J=4.8 Hz, 7''-H), 4.28 (1H, dd, J=4.4 & 10.3 Hz, 6''-Heq), 3.69 (1H, t, J=9.5 Hz, 4''-H), 3.67 (1H, t, J=10 Hz, 6''-Hax), 3.56 (1H, dt, J=9.5 & 10 Hz, 5''-H), 1.33 (3H, d, J=4.8 Hz, 7''-CH₃).

元素分析: C₄₃H₄₀O₁₅ · H₂O

计算值: C, 63.39; H, 5.20

实测值: C, 62.99; H, 4.99

实施例11

用4'-CBZ- 表鬼臼毒噻吩糖甙代替4'-CBZ- 表鬼臼毒吡喃葡糖甙进行实施例1 描述的实验步骤, 得到2'',3''-二-O- 乙酰基- 表鬼臼毒噻吩糖甙。

实施例12

用4'-CBZ- 表鬼臼毒噻吩糖甙代替4'-CBZ- 表鬼臼毒吡喃葡糖甙重复实施例2-4 描述的实验步骤, 得到2''-O- 乙酰基- 表鬼臼毒噻吩糖甙和3''-O- 乙酰基- 表鬼臼毒噻吩糖甙。

实施例13

用4'-CBZ- 表鬼臼毒噻吩糖甙代替4'-CBZ- 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙重复实施例6 描述的实验步骤，得到2'',3''-二-O- 甲醛基- 表鬼臼毒噻吩糖甙。

实施例14

用4'-CBZ- 表鬼臼毒噻吩糖甙代替4'-CBZ- 表鬼臼毒吡喃葡萄糖甙重复实施例7-10的实验步骤，得到2''-O- 苯甲酰基- 表鬼臼毒噻吩糖甙、3''-O- 苯甲酰基- 表鬼臼毒噻吩糖甙和2'',3''-二-O- 苯甲酰基- 表鬼臼毒噻吩糖甙。