(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
2015 年 10 月 29 日 (29.10.2015)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2015/161745 A1

(51) 国际专利分类号:
C07D 493/04 (2006.01) *A61K 31/4709* (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 31/365 (2006.01) *A61P 35/02* (2006.01)
A61K 31/4025 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2015/076505

(22) 国际申请日: 2015 年 4 月 14 日 (14.04.2015)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201410172493.7 2014 年 4 月 25 日 (25.04.2014) CN

(71) 申请人: **中国医药工业研究总院 (CHINA STATE INSTITUTE OF PHARMACEUTICAL INDUSTRY)** [CN/CN]; 中国上海市浦东新区哈雷路 1111 号 1 幢 4 层, Shanghai 201203 (CN)。 **上海医药工业研究院 (SHANGHAI INSTITUTE OF PHARMACEUTICAL INDUSTRY)** [CN/CN]; 中国上海市静安区北京西路 1320 号, Shanghai 200040 (CN)。

(72) 发明人: **肖旭华 (XIAO, Xuhua)**; 中国上海市静安区北京西路 1320 号, Shanghai 200040 (CN)。 **孙亚飞 (SUN, Yafei)**; 中国上海市静安区北京西路 1320 号, Shanghai 200040 (CN)。 **姚利霞 (YAO, Lixia)**; 中国上海市静安区北京西路 1320 号, Shanghai 200040 (CN)。 **沈舜义 (SHEN, Shunyi)**; 中国上海市静安区北京西路 1320 号, Shanghai 200040 (CN)。 **刘全海 (LIU, Quanhai)**; 中国上海市静安区北京西路 1320 号, Shanghai 200040 (CN)。

(74) 代理人: **上海弼兴律师事务所 (SHANGHAI BESHINING LAW OFFICE)**; 中国上海市小木桥路 681 号外经大厦 21 楼, Shanghai 200032 (CN)。

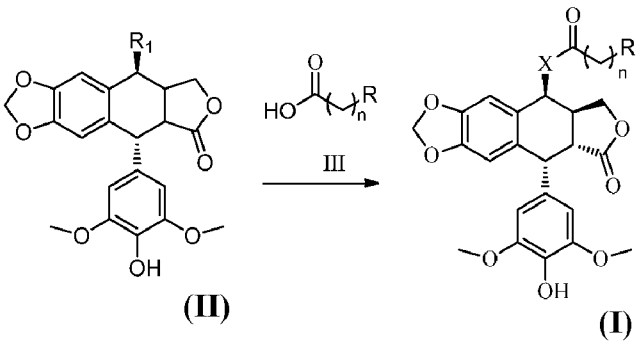
(81) 指定国 (除另有指明，要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明，要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE,

[见续页]

(54) **Title**: PODOPHYLLOTOXIN DERIVATIVE, AND PREPARATION METHOD, PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND USE THEREOF

(54) **发明名称**: 鬼臼毒素衍生物、其制备方法、药物组合物及应用



(II) (I)

(57) **Abstract**: Disclosed in the present invention is a podophyllotoxin derivative, and a preparation method, pharmaceutical composition and use thereof. The preparation method disclosed in the present invention comprises the following step: in an organic solvent, in the presence of a base, carrying out a condensation reaction between the compound as shown in formula II and the compound as shown in formula III under the action of a condensating agent. The pharmaceutical composition disclosed in the present invention comprises the podophyllotoxin derivative as shown in formula I and a pharmaceutically acceptable excipient. Also disclosed in the present invention is the use of the podophyllotoxin derivative as shown in formula I in the preparation of a drug for treating a cancer. The podophyllotoxin derivative of the present invention has a good tumour cell inhibitory activity, and the preparation method and post-treatment thereof are simple, with good prospects for market development.

(57) **摘要**:

[见续页]

WO 2015/161745 A1

IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则 4.17 的声明:

— 关于申请人有权申请并被授予专利(细则 4.17(ii))

— 发明人资格(细则 4.17(iv))

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

本发明公开了一种鬼臼毒素衍生物、其制备方法、药物组合物及应用。本发明公开的制备方法，其包含下列步骤：有机溶剂中，碱的存在下，在缩合剂的作用下，将如式 II 所示的化合物与如式 III 所示的化合物进行缩合反应。本发明公开的药物组合物，其包含通式 I 所示鬼臼毒素衍生物以及药学上可接受的赋形剂。本发明还公开了通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物在制备用于治疗癌症的药物中的应用。本发明的鬼臼毒素衍生物具有良好的肿瘤细胞抑制活性，其制备方法和后处理简单易行，具有良好的市场开发前景。

鬼臼毒素衍生物、其制备方法、药物组合物及应用

本申请要求申请日为2014年4月25日的中国专利申请CN201410172493.7的优先权。本申请引用上述中国专利申请的全文。

技术领域

本发明涉及一种鬼臼毒素衍生物、其制备方法、药物组合物及应用。

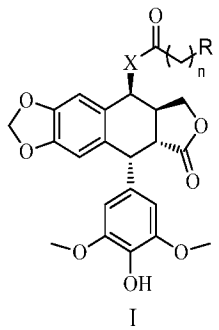
背景技术

依托波苷（Etoposide，VP-16）和替尼泊苷（VM-26）是临床上治疗肿瘤的鬼臼毒素类衍生物，依托泊苷在临床上常与顺铂联合用于治疗肺癌及睾丸癌，疗效较好，也用于淋巴瘤的治疗。替尼泊苷主要治疗何杰金和非何杰金淋巴瘤且具有明显效应，对脑瘤，儿童淋巴细胞性白血病也有治疗作用。但是，上述抗肿瘤药物的抑瘤谱比较窄，同时伴有严重的骨髓抑制及胃肠道副反应等。因此，本领域亟需一种抗瘤谱广、无明显骨髓抑制及胃肠道副反应的鬼臼毒素类衍生物，作为抗肿瘤药物应用于临床。

发明内容

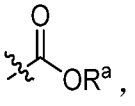
本发明所要解决的技术问题是为了解决现有的鬼臼毒素衍生物的抑瘤谱比较窄，有严重的骨髓抑制及胃肠道副反应等，而提供了一种与现有技术完全不同的鬼臼毒素衍生物、其制备方法、药物组合物及应用。本发明的鬼臼毒素衍生物及其药物组合物具有良好的肿瘤细胞抑制活性，其制备方法和后处理简单易行，具有良好的市场开发前景。

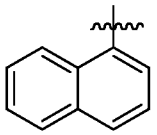
本发明提供了一种通式I所示的鬼臼毒素衍生物：

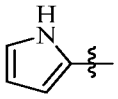
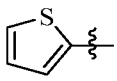
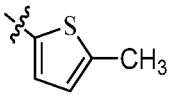
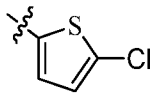
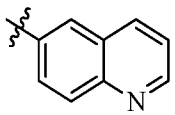
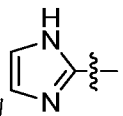
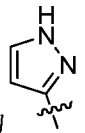
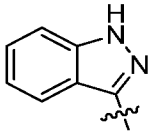
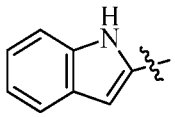
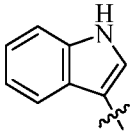
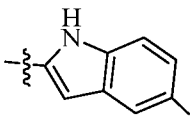
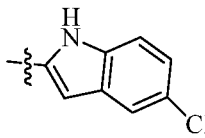
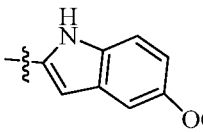


I

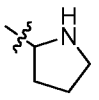
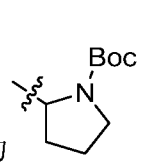
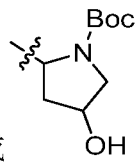
其中，X为氧或氮；R为取代或未取代的C_5~C_{10}的芳基、取代或未取代的C_2~C_{10}的杂芳基，或取代或未取代的C_2~C_{10}的杂环烷基；n为0、1、2、3或4；当n为0时，R不为取代或未取代的苯基或取代或未取代的吡啶基，当n=1，X为N时，R不为取代或

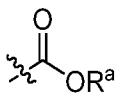
未取代的吲哚基或取代或未取代的噻吩基；所述的取代的 C_5~C_{10} 的芳基、所述的取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基或所述的取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基中所述的取代是指被下列一个或多个取代基所取代：卤素（优选氟、氯、溴或碘）、硝基、氨基、羟基、C_1~C_4 的烷基（优选甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基或叔丁基）或，其中，R^a 为 C_1~C_4 的烷基（优选甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基或叔丁基），当取代基为多个时，所述的取代基相同或不同。

所述的“取代或未取代的 C_5~C_{10} 的芳基”较佳地为取代或未取代的萘基。所述的萘基较佳地为。

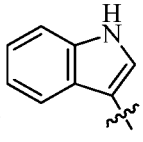
所述的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基较佳地是指杂原子为 N、O 或 S，杂原子数为 1~4 个的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基。所述的杂原子为 N、O 或 S，杂原子数为 1~4 个的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基较佳地是指杂原子为 N 或 S，杂原子数为 1 或 2 个的取代或未取代的 C_4~C_{10} 的杂芳基。所述的取代或未取代的 C_4~C_{10} 的杂芳基较佳地为取代或未取代的吡咯基、取代或未取代的噻吩基、取代或未取代的喹啉基、取代或未取代的咪唑基、取代或未取代的吡唑基、取代或未取代的苯并吡唑基或取代或未取代的吲哚基。其中，所述的吡咯基较佳地为。所述的噻吩基较佳地为或。所述的取代的噻吩基较佳地为或。所述的喹啉基较佳地为。所述的咪唑基较佳地为。所述的吡唑基较佳地为。所述的苯并吡唑基较佳地为。所述的吲哚基较佳地为和。所述的取代的吲哚基较佳地为、或。

所述的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基较佳地是指杂原子为 N、O 或 S，杂原子

数为 1~4 个的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基。所述的杂原子为 N、O 或 S，杂原子数为 1~4 个的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基较佳地是指杂原子为 N，杂原子数为 1 个的取代或未取代的 C_4~C_8 的杂环烷基。所述的取代或未取代的 C_4~C_8 的杂环烷基较佳地为取代或未取代的四氢吡咯基（例如 ）。其中，所述的取代的四氢吡咯基较佳地为  或 。

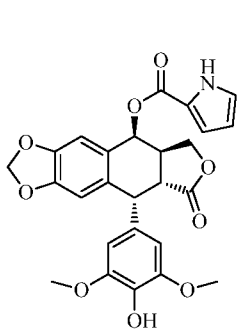
本发明一方面，所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物中，较佳地，R 为取代或未取代的 C_5~C_{10} 的芳基、取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基或取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基，n 为 0、1、2 或 3。当 R 为取代或未取代的 C_5~C_{10} 的芳基时，X 为氧；当 R 为取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基时，所述的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基较佳地为取代或未取代的吡咯基、取代或未取代的噻吩基、取代或未取代的咪唑基、取代或未取代的吡唑基、取代或未取代的苯并吡唑基或取代或未取代的吲哚基；当 R 为取代的噻吩基，且所述的取代为被 C_1~C_4 的烷基所取代时，X 为氮。当 R 为取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基时，所述的取代是指被羟基和  所取代。

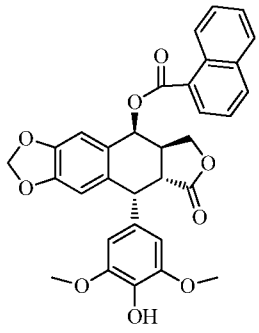
本发明另一方面，所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物中，较佳地，R 为取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基，或取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基；n 为 0、1、2 或 3。

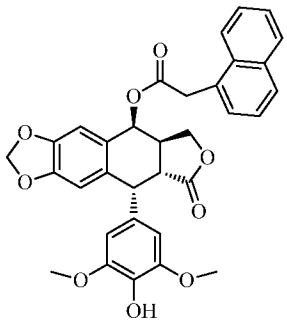
本发明另一方面，所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物中，较佳地，R 为取代或未取代的 C_5~C_{10} 的芳基，或取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基，n 为 0、1、2 或 3。当 R 为取代或未取代的 C_5~C_{10} 的芳基时，n 为 1，X 为氧；当 R 为取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基时，所述的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基较佳地为取代或未取代的吡咯基、取代或未取代的噻吩基、取代或未取代的咪唑基或取代或未取代的吲哚基。当 R 为取代的噻吩基，且所述的取代为被 C_1~C_4 的烷基所取代时，X 为氧。当 R 为取代或未取代的吲哚基，n 为 1、2 或 3 时，X 为 O；当所述的吲哚基为  时，n 为 0，X 为 N。当 R 为取代的吲哚基，所述的取代为被卤素所取代，n 为 0 时，X 为 O；当 R 为取代的吲哚基，所述的取代为被 C_1~C_4 的烷氧基所取代，n 为 0 时，X 为 N。

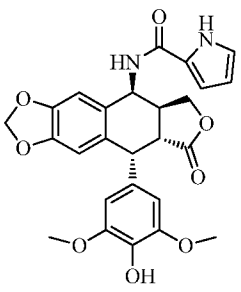
本发明另一方面，所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物中，较佳地，R 为取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基，n 为 0、1、2 或 3。较佳地，当所述的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基为取代或未取代的吡咯基、取代或未取代的噻吩基或吲哚基时，X 为 N；当 R 为取代的吲哚基，所述的取代为被卤素所取代，n 为 0 时，X 为 O。本发明另一方面，所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物中，较佳地，R 为取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基，n 为 0 或 1；所述的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基较佳地为取代或未取代的吡咯基、取代或未取代的噻吩基、取代或未取代的咪唑基或取代或未取代的吲哚基；当所述的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基为取代或未取代的吡咯基、取代或未取代的噻吩基或吲哚基时，X 为 N；当 R 为取代的吲哚基，所述的取代为被卤素所取代时，X 为 O；当 R 为取代的吲哚基，所述的取代为被 C_1~C_4 的烷氧基所取代时，X 为 N。

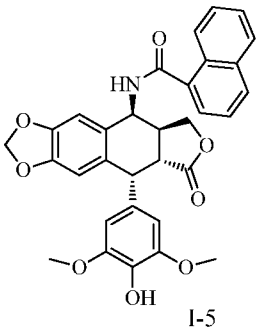
所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物，最佳地，其为如下任一化合物：

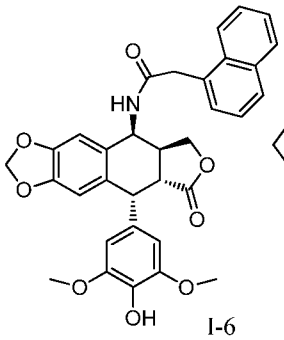

I-1

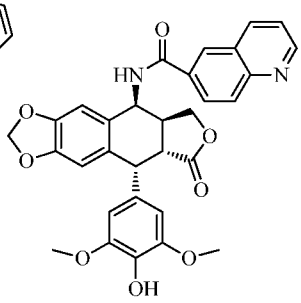

I-2

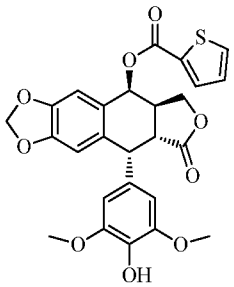

I-3

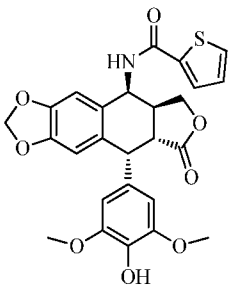

I-4

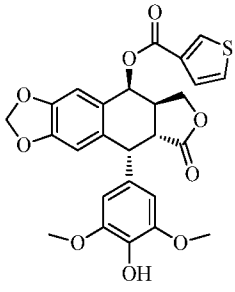

I-5

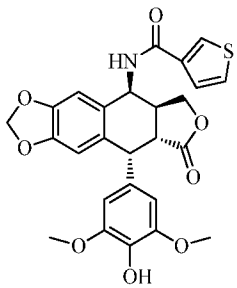

I-6

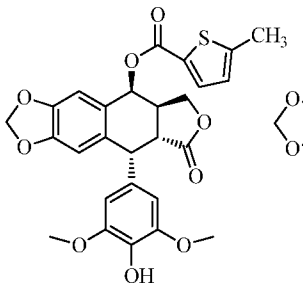

I-7


I-8

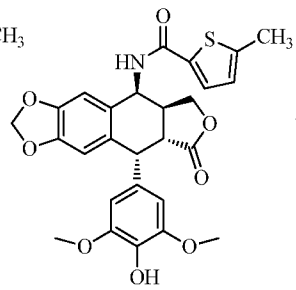

I-9


I-10

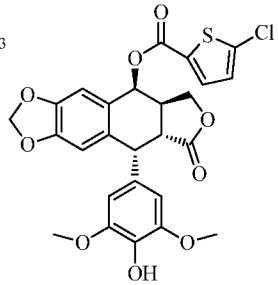

I-11



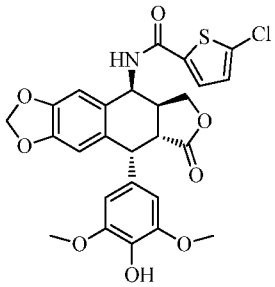
I-12



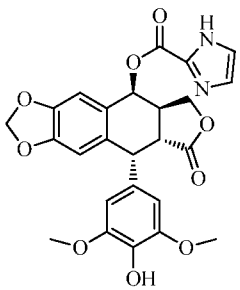
I-13



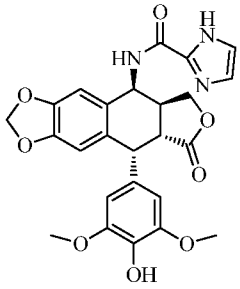
I-14



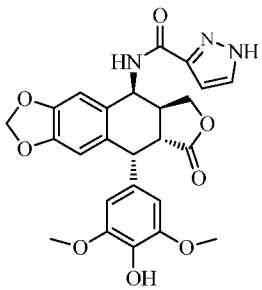
I-15



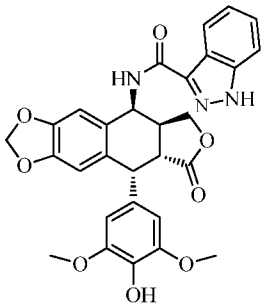
I-16



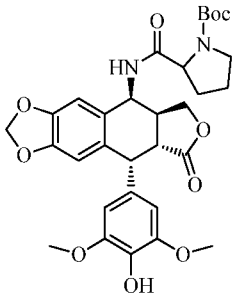
I-17



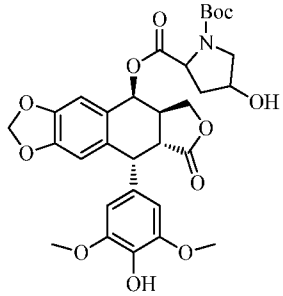
I-18



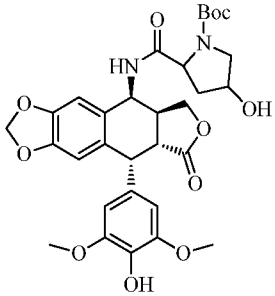
I-19



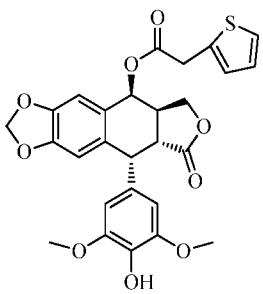
I-20



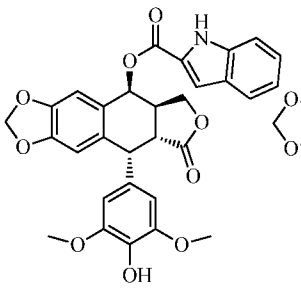
I-21



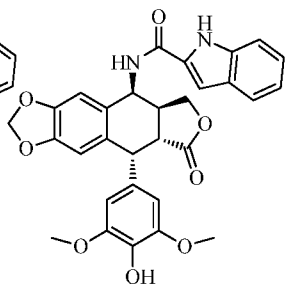
I-22



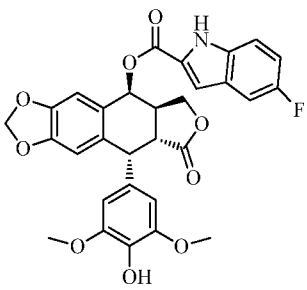
I-23



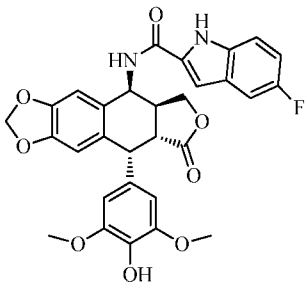
I-24



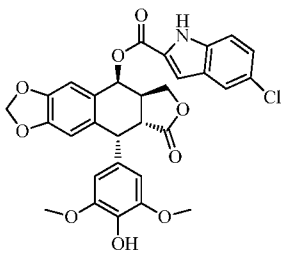
I-25



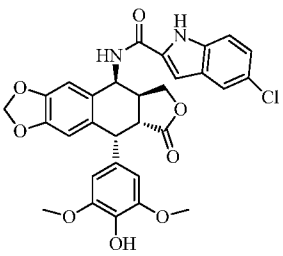
I-26



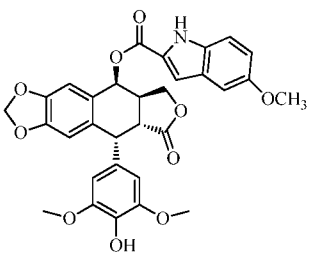
I-27



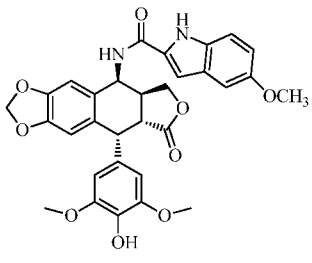
I-28



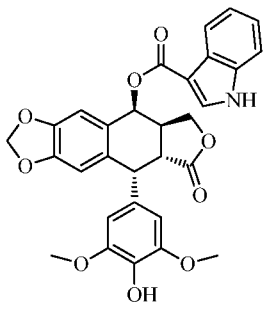
I-29

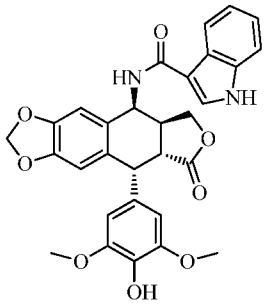


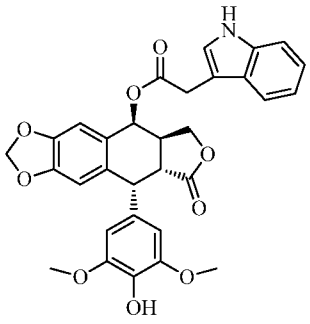
I-30

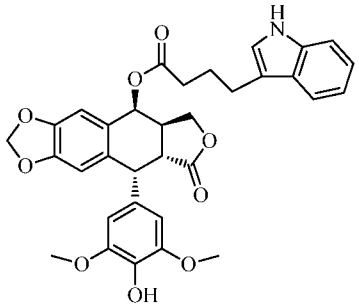


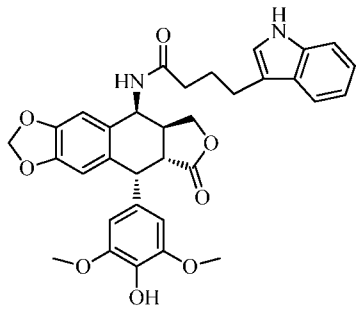
I-31


I-32

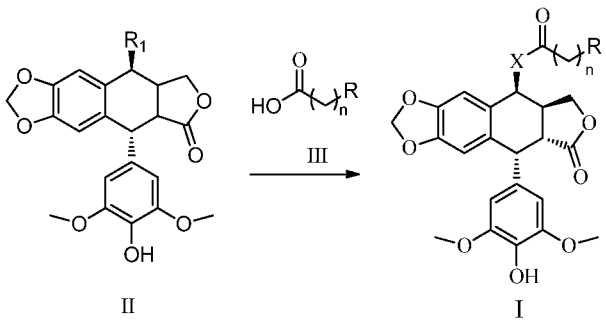

I-33


I-34


I-35


I-36

本发明还提供了一种所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物的制备方法，其包含下列步骤：有机溶剂中，碱的存在下，在缩合剂的作用下，将如式 II 所示的化合物与如式 III 所示的化合物进行如下所示的缩合反应，即可；


II III I

其中，R_1 为羟基（-OH）或氨基（$-NH_2$）；X、R 和 n 的定义均同前所述。

所述的缩合反应的方法和条件可为本领域此类反应常规的方法和条件。本发明特别优选下列方法和条件：有机溶剂中，碱的存在下，在缩合剂和催化剂的作用下，将如式 II 所示的化合物与如式 III 所示的化合物进行所述的缩合反应。其中，所述的如式 II 所示的化合物也可以盐酸盐的形式参与到反应中。所述的有机溶剂较佳地为卤代烃类溶剂和/或酰胺类溶剂。所述的卤代烃类溶剂较佳地为氯代烃类溶剂。所述的氯代烃类溶剂较佳地为二氯甲烷。所述的酰胺类溶剂较佳地为 N,N-二甲基甲酰胺（DMF）。所述的缩合剂较佳地为 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸（EDCI）、1-羟基苯并三氮唑（HOBt）、

2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基六氟磷酸酯（HATU）、N,N'-二环己基碳二酰亚胺（DCC）和氰基磷酸二乙酯（DEPC）中的一种或多种，更佳地为 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸（EDCI）和/或 1-羟基苯并三氮唑（HOBt）。当所述的缩合剂为 EDCI 和 HOBt 时，所述的 EDCI 和 HOBt 的摩尔比较佳地为 1:1。所述的碱较佳地为有机碱。所述的有机碱较佳地为三乙胺。所述的催化剂较佳地为 4-二甲氨基吡啶（DMAP）。所述的催化剂的用量可为本领域此类反应催化剂的常规用量，较佳地，所述的催化剂与如式 II 所示的化合物的摩尔比为 0.05:1~0.5:1。所述的有机碱与如式 II 所示的化合物的摩尔比较佳地为 1:1~3:1。所述的缩合剂与如式 II 所示的化合物的摩尔比较佳地为 1:1~4:1。所述的如式 II 所示的化合物与如式 III 所示的化合物的摩尔比较佳地为 1:1~1:3。所述的有机溶剂与如式 II 所示的化合物的质量体积比较佳地为 1mL/g~10mL/g。所述的缩合反应的温度较佳地为 0℃~30℃。所述的缩合反应的进程可以采用本领域中的常规测试方法（如 TLC、HPLC 或 NMR）进行监控，反应时间较佳地为 1~24 小时。

所述的缩合反应结束后，较佳地，还可包括后处理步骤。所述的后处理步骤的方法和条件可为本领域后处理常规的方法和条件，较佳地包含下列方法：

方法一：上述反应结束后，加水淬灭反应，采用酯类溶剂（例如乙酸乙酯）或卤代烃类溶剂（例如二氯甲烷）萃取（3 次），有机层用饱和碳酸氢钠水溶液、水洗，或者饱和碳酸氢钠、水、盐水（饱和氯化钠水溶液）洗；有机层干燥（例如用无水硫酸钠干燥），过滤，除去溶剂（例如减压蒸馏），所得粗品经柱层析（石油醚/乙酸乙酯体系、二氯甲烷/乙酸乙酯体系或者二氯甲烷/甲醇体系（3:1~1:3，v/v）），即得目标化合物，或者所得粗品经重结晶后，即得目标化合物。

方法二：上述反应结束后，当反应液中有固体生成时，过滤，洗涤（例如 DCM）滤饼，干燥，即得。

方法三：当采用 DEPC 作为缩合剂时，上述反应结束后，将反应液与水混合，采用酯类溶剂（例如乙酸乙酯）或卤代烃类溶剂（例如二氯甲烷）萃取，有机层依次用 5%的盐酸水溶液，饱和碳酸氢钠水溶液，水洗，有机层用 1%氢氧化钠溶液调 pH 至 7-8，水洗 3 次，无水硫酸钠干燥，活性炭脱色，除去乙酸乙酯后，即得目标化合物；或所得粗品经柱层析分离纯化（石油醚/乙酸乙酯体系、二氯甲烷/乙酸乙酯体系或者二氯甲烷/甲醇体系（3:1~1:3，v/v））即得目标化合物。

本发明还提供了一种药物组合物，其包含上述通式 I 所示鬼臼毒素衍生物以及药学上可接受的赋形剂。

根据治疗目的，可将上述药物组合物制成各种类型的给药单位剂型，例如：水性分

散剂、液体、喏哩、糖浆、西也剂、药浆、悬浮液、气雾剂、控释剂、速溶剂、泡腾剂、冻干剂、片剂、粉末、药丸、糖衣完、胶囊、延迟释放剂、延长释放剂、脉冲控释剂、多微粒剂、或立即释放剂。

本发明还提供了所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物在制备用于治疗癌症的药物中的应用。所述的癌症较佳的为肺癌、口腔癌、肝癌或白血病。所述的肺癌较佳地为人非小细胞肺癌。所述的口腔癌较佳地为人口腔上皮癌。所述的癌症的肿瘤细胞较佳地为人非小细胞肺癌细胞、人口腔癌上皮细胞、人肝癌细胞或小鼠淋巴白血病细胞。所述的人非小细胞肺癌细胞较佳地为人非小细胞肺癌细胞株 A549。所述的人口腔癌细胞较佳地为人口腔癌上皮细胞株 KB。所述的人肝癌细胞较佳地为人肝癌细胞株 HepG2。所述的小鼠淋巴白血病细胞较佳地为小鼠淋巴细胞白血病细胞株 L1210。

本发明中，室温是指 0~30℃。冰浴是指-5~0℃。

在不违背本领域常识的基础上，上述各优选条件，可任意组合，即得本发明各较佳实例。

本发明所用试剂和原料均市售可得。

本发明的积极进步效果在于：

本发明的鬼臼毒素衍生物具有良好的肿瘤细胞抑制活性，其制备方法和后处理简单易行，具有良好的市场开发前景。

附图说明

图 1 为效果实施例 2 中的化合物 I-4 静脉给药对 ICR 小鼠 S180 移植瘤瘤生长抑制的照片图。

具体实施方式

下述实施例中，如未作特别说明，其投料比一般是指摩尔比。室温是指 0~30℃。冰浴是指-5~0℃。

①关键中间体的合成：

实施例 1

4β-氨基-4'-去甲基表鬼臼毒素的合成 4β-氯代乙酰胺基-4'-去甲基表鬼臼毒素的合成

室温下，将 4'-去甲基表鬼臼毒素（10g, 25mmol）加入至氯乙腈（15mL, 250mmol）中，滴加 0.15mL98%浓硫酸，搅拌，可看到不溶物溶解并迅速有白色固体生成，加入 50mL 异丙醇稀释固体，抽滤，滤饼继续用 100mL 异丙醇分洗 2 次，后用水洗至中性。放置真

空干燥箱干燥 40℃干燥 4h，得白色固体粉末 10g，收率：84%。

ESI-MS：476 ($M+H^+$)/493($M+H_3O^+$).

^{1}HNMR(DMSO-d_6)：8.60 (1H, dd, NH), 8.20 (1H, d, OH 重水交换), 6.89 (1H, d, 5H), 6.52 (1H, d, 8H), 6.23 (2H, s, H-2′, 6′), 6.00 (2H, d,-OCH_2O), 5.19 (1H, dd, H-4), 4.5 (1H, d, H-1), 4.34 (1H, t, H-11α), 3.79 (1H, t, H-11β), 4.19 (2H, s CH_2), 3.89 (6H, s, 2', 6'-O-CH_3), 3.21 (1H, dd, s, H-1), 3.15 (1H, m, 3H).

实施例 2

4β-氨基-4'-去甲基表鬼臼毒素的制备

将 4β-氯代乙酰基-4'-去甲基表鬼臼毒素（10g, 21mmol）加入至 50mL 冰醋酸中，升温至 80℃，加入硫脲（2.4g, 31mmol），约 10min 内可看到反应液有浑浊变为澄清，维持在 80℃搅拌 2.5h，有白色固体生成，至沉淀不再生成，停止反应，继续加入 50mL 冰醋酸，稀释固体，抽滤，滤饼用无水乙醚 150mL 洗涤三次，转移至真空干燥箱中干燥，4β-氨基-4'-去甲基表鬼臼毒素盐酸盐 6.85g 收率：84%。

ESI-MS：400($M+H^+$).

^{1}HNMR(DMSO-d_6)：8.60(2H,s,-NH_2 重水交换消失),8.20(1H,s,OH 重水交换消失), 7.20(1H, d, 5H), 6.80(1H, d, 8H), 6.19(2H, s, H-2′, 6′), 6.00(2H, d, -OCH_2O), 4.78(1H, d, H-4), 4.57(1H, d, H-1), 4.34(2H, m, H-11α, β), 3.60(6H, s, 2',6'-O-CH_3), 3.08(1H, m, H-3).

②目标化合物的合成

方法一：

室温下，将化合物 III：化合物 II（4'-去甲基表鬼臼毒素 DMEP)：DMAP（1.5eq：1eq：0.05eq）投入适量二氯甲烷中，并滴入三乙胺（1eq）搅拌 15min，加入 DCC（1.5eq）至反应液中，继续反应 3-5h，反应过程中有固体生成，TLC 检测反应不再进行，停止反应。后处理：抽滤（或者过滤），滤饼用适量溶剂洗涤（例如二氯甲烷），干燥，即得目标化合物。

方法二：

室温下，化合物 III：化合物 II（4'-去甲基表鬼臼毒素 DMEP)：DMAP（2eq：1eq：0.1eq）投入适量二氯甲烷中，并滴入三乙胺（2eq），搅拌 0.5h，将 EDCI（2eq）加入反应液中，4.5h 后，TLC 检测反应完全，停止反应。后处理：加水淬灭反应。二氯甲烷(DCM)抽提 3 次，合并二氯甲烷层，依次用饱和碳酸氢钠水溶液、水洗涤，有机层用无水硫酸钠干燥，过滤，减压蒸除溶剂，所得粗品经柱层析（石油醚/乙酸乙酯）纯化后即得目标化合物，或者所得粗品经重结晶（甲醇）后即得目标化合物。

方法三：

室温下，将化合物 III：EDCI：HOBt（1.5:1.5:1.5）加入至适量二氯甲烷中，搅拌 0.5h 后，向反应液中加入 4'-去甲基表鬼臼毒素(DMEP，1eq）和三乙胺（2eq），TLC 检测反应不再进行时，加水淬灭反应。二氯甲烷(DCM)抽提 3 次，合并二氯甲烷层，用饱和 $NaHCO_3$ 溶液、水、盐水洗涤有机层。有机层用无水硫酸钠干燥过夜，过滤除去无水硫酸钠，滤液减压蒸干，所得固体经柱层析，以 DCM/EA 为洗脱剂梯度洗脱得到目标化合物。

方法四：

室温下，将化合物 III：EDCI：DMAP（1.5:1.5:0.1）加入至适量的二氯甲烷中，搅拌 0.5h 后，向反应液中加入 4'-去甲基表鬼臼毒素(DMEP，1eq）和三乙胺（2eq），TLC 检测反应不再进行时，加水淬灭反应。二氯甲烷(DCM)抽提 3 次，合并二氯甲烷层，用饱和 $NaHCO_3$ 溶液、水、盐水洗涤有机层。有机层用无水硫酸钠干燥过夜，过滤除去无水硫酸钠，滤液减压蒸干，所得固体经柱层析，以 DCM/EA 为洗脱剂梯度洗脱得到目标化合物。

方法五：

室温下，将化合物 III：2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基六氟磷酸酯(HATU)（1.5:1.4）加入至适量的 N,N-二甲基甲酰胺（DMF）中，搅拌 5~15min 后，加入三乙胺(Et_3N, 3eq)，反应液变黄。继续搅拌 30min 加入 4β-氨基 4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素盐酸盐(1eq)。0.5~3h 后 TLC 检测原料点消失，停止反应。加水淬灭反应。乙酸乙酯(EA)抽提 3 次，合并乙酸乙酯层，用饱和 NaHCO3 溶液、5%的盐酸水溶液、水、盐水洗涤有机层。有机层用无水硫酸钠干燥过夜，过滤除去无水硫酸钠，滤液减压蒸干，所得固体经柱层析，以 DCM/EA 为洗脱剂梯度洗脱得到目标化合物。

方法六：

室温下，将化合物 III：EDCI：DMAP（1.5eq：1.5eq：0.1eq）加入至适量的干燥的二氯甲烷中，搅拌 0.5h 后，向反应液中加入 4'-去甲基表鬼臼毒素（DMEP，1eq）和三乙胺（2eq），TLC 检测反应不再进行时，加水淬灭反应。用适量的二氯甲烷抽提 3 次，合并二氯甲烷层，用饱和 $NaHCO_3$ 溶液、水、盐水（饱和氯化钠水溶液）洗涤有机层。有机层用无水硫酸钠干燥过夜，过滤除去无水硫酸钠，滤液减压蒸干，所得固体经柱层析，以二氯甲烷/乙酸乙酯(DCM/EA)为洗脱剂梯度洗脱得到目标化合物。

方法七：

室温下，将化合物 III：EDCI：HOBt（1.5eq：1.5eq：1.5eq）加入至干燥的二氯甲烷

中，搅拌 0.5h 后，向反应液中加入 4'-去甲基表鬼臼毒素（DMEP，1eq）和三乙胺（2eq），TLC 检测反应不再进行时，加水淬灭反应。用适量的二氯甲烷抽提 3 次，合并二氯甲烷层，用饱和 $NaHCO_3$ 溶液、水、盐水（饱和氯化钠水溶液）洗涤有机层。有机层用无水硫酸钠干燥过夜，过滤除去无水硫酸钠，滤液减压蒸干，所得固体经柱层析，以二氯甲烷/乙酸乙酯(DCM/EA)为洗脱剂梯度洗脱得到目标化合物。

方法八：

室温下，将化合物 III：EDCI：HOBt（1.5eq：1.5eq：1.5eq）加入至适量的干燥的 N,N-二甲基甲酰胺中，搅拌 0.5h 后，向反应液中加入 4β-氨基 4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素盐酸盐（1eq）和三乙胺（2eq），TLC 检测反应不再进行时，加水淬灭反应。用适量乙酸乙酯抽提 3 次，合并乙酸乙酯层，用饱和 $NaHCO_3$ 溶液、水、盐水（饱和氯化钠水溶液）洗涤有机层。有机层用无水硫酸钠干燥过夜，过滤除去无水硫酸钠，滤液减压蒸干，所得固体经柱层析，以二氯甲烷/乙酸乙酯（DCM/EA）为洗脱剂梯度洗脱得到目标化合物。

方法 A：

室温下，化合物 III，HOBt 和 EDCI 按照 1.5:1.5:1.5 的投料比加入适量的二氯甲烷中，搅拌 2h，将 1eq 的 4β-氨基-4'-去甲基表鬼臼毒素盐酸盐加入反应液，滴加 2eq 的三乙胺，继续反应 2h，TLC 检测反应完全，停止反应。后处理：加水淬灭反应。乙酸乙酯(EA)抽提 3 次，合并乙酸乙酯层，用饱和碳酸氢钠水溶液洗，水洗，无水硫酸钠干燥，过滤，减压蒸除溶剂，所得粗品经柱层析纯化，二氯甲烷/乙酸乙酯梯度洗脱（3:1~1:3，v/v），纯化，得目标化合物。

方法 B：

冰浴下，将化合物 II（4'-去甲基表鬼臼毒素 DMEP）和化合物 III（1:1），适量的 N,N-二甲基甲酰胺（DMF）中，冰浴下搅拌 2h 后，依次加入氰基磷酸二乙酯（DEPC, 1eq）和三乙胺（Et_3N, 2eq），在冰浴下继续反应 3h，TLC 检测反应完全后，向反应液中加入 5 倍体积水，并用乙酸乙酯萃取，依次用 5%的盐酸水溶液，饱和碳酸氢钠水溶液和水洗涤乙酸乙酯层，有机层用 1%氢氧化钠溶液调 pH 至 7-8，水洗 3 次，无水硫酸钠干燥，活性炭脱色，除去乙酸乙酯后，即得目标化合物；或所得粗品经柱层析分离纯化即得目标化合物。

实施例 3

4β-(2-吡咯甲酰氧基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(化合物 I-1)的制备

DCM 5mL，2-吡咯甲酸(206mg, 1.875mmol)，DMEP(500mg, 1.25mmol)，其余操作和

投料比参照方法四，制备 I-1，得到白色固体 128mg，收率：20.8%。

ESI-MS：516($M+Na^+$)

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ11.93(s,1H),7.08(d,J=0.8Hz,1H), 6.95 (s, 1H), 6.92 (d, *J*=8.4Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.36 (s, 2H), 6.23 (s,1H), 5.98 (d, *J*=2.4Hz, 2H), 5.49(d,J=6Hz, 1H), 4.78(dd, 3.6Hz, 4Hz, 1H), 4.61 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.37 (t, *J* = 15.6Hz, 1H), 4.21 (m,1H), 3.60 (s, 6H), 3.39 – 3.30 (m,2H), 2.87 – 2.81 (m, 1H).

实施例 4

4β-(1-萘甲酰氧基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(化合物 I-2)的制备

以 1-萘甲酸（258mg, 1.5mmol）为原料，2mL 的 DCM，30℃条件下，其余操作和投料比参照方法二，制备化合物 4β-(1-萘甲酰氧基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素，反应结束后，所得粗品经柱层析分离（石油醚与乙酸乙酯梯度洗脱）得目标化合物 277mg，收率 50%。

EI-MS：577 ($M+Na^+$).

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ6.98-7.98(6H, 萘环氢), 6.69 (s, 1H), 6.49 (s, 2H), 6.27 (s, 2H), 6.96 (d, *J* = 17.2 Hz, 2H), 5.18(dd,*J* = 8.0, 4.7 Hz, 1H), 4.52 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.38 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 3.74 (s, 6H).

实施例 5

4β-(1-萘乙酰氧基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(化合物 I-3)的制备

1-萘乙酸（1.16g, 6mmol），4'-去甲基表鬼臼毒素（800mg, 2mmol）和 EDCI（1.12g, 6mmol），1.2mL 的 DCM，15℃条件下，其余操作和投料比参照方法二，制备化合物 4β-(1-萘乙酰氧基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素，反应结束后，所得粗品经柱层析分离，石油醚与乙酸乙酯梯度洗脱，得目标化合物 158mg，收率 14%。

ESI-MS：591 ($M+Na^+$).

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ7.465-8.297 (7H, 萘环氢), 6.94 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 6.31 (s, 2H), 5.42 (s, *J* = 6 Hz, 1H), 4.75 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.33 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.19 (t, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.57 (s, 6H), 2.74-2.83(m, 1H).

实施例 6

4β-(2-吡咯酰胺)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(化合物 I-4)的制备

以 2-吡咯羧酸（166mg, 1.5mmol）和 4β-氨基 4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素（65mg,1.5mmol）为原料，0.5mL 的 DCM，0℃条件下，其余操作和投料比参照方法 B，得白色固体 563mg，收率 76.3%。

ESI-MS：493($M+H^+$)/515($M+Na^+$).

^{1}H-NMR:1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6)：δ 11.47 (s, 1H), 8.19 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.88 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.82 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.27 (s, 2H), 6.08 (s, 1H), 5.99 (d, *J* = 11.4 Hz, 2H), 5.44 (dd, *J* = 8.3, 4.8 Hz, 1H), 4.54 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.35 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.81-3.72 (m, 1H), 3.66 (s, 6H), 3.40 (dd, *J* = 14.4, 5.2 Hz, 1H), 3.10-2.95 (m, 1H).

实施例 7

4β-(1-萘酰胺)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(化合物 I-5)的制备

DCM 3mL，以 245mg 的 2-萘酸，DECI 作为缩合剂，其余操作和投料比参照方法一，得白色固体 380mg，收率：69%。

ESI-MS：554($M+H^+$)/576($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.5-9.0(8H, H-萘环和 NH)，7.01 (IH, s, H-5), 6.91 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 6.32 (s, 2H), 6.00 (d,*J* = 11.8 Hz, 2H), 5.53 (dd, *J* = 8.1, 4.8 Hz, 1H), 4.51 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.97 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 3.89-3.80 (m, 1H), 3.60 (s, 6H), 3.36 (dd, *J* = 14.4, 5.2 Hz, 1H), 3.14-3.03 (m, 1H).

实施例 8

4β-(2-萘乙酰胺)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(化合物 I-6)的制备

DCM 3mL，以 279mg 2-萘乙酸为原料，采用 DECP 作为缩合剂，其余操作和投料比参照方法一，得白色固体 400mg，收率：70.5%。

ESI-MS：567($M+H^+$)/590($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.5-9.0(8H, H-萘环和 NH), 6.73 (s,IH), 6.55 (s, 1H), 6.25 (s, 2H), 6.00 (d, *J* = 11.8 Hz, 2H), 5.20 (dd, *J* = 8.1, 4.8 Hz, 1H), 4.54 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.18 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 3.97 (s, 2H), 3.66-3.71 (m, 7H), 2.93 (m, 1H).

实施例 9

4β-(5-喹啉酰胺)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(化合物 I-7)的制备

DCM 2mL，以 173mg 的 6-喹啉羧酸，以 DEPC 为缩合剂，其余操作和投料比参照方法二，所得粗品用 20mL 无水甲醇重结晶，得白色固体 150mg，收率：27 %。

ESI-MS：555($M+H^+$)/577($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.99 (dd, *J* = 4.2, 1.7 Hz, 1H), 9.02-8.88 (m, 2H), 8.93 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.58 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.58 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.47 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.47 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.25-8.17 (m, 2H), 8.08 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.61 (dd, *J* = 8.3, 4.2 Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.60 (s, 1H), 6.32 (s, 2H), 6.00 (d, *J* = 11.8 Hz, 2H), 5.53 (dd, *J* = 8.1, 4.8 Hz,

1H), 4.56 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.41 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 3.89-3.80 (m, 1H), 3.67 (s, 5H), 3.49 (dd, *J* = 14.4, 5.2 Hz, 1H), 3.14-3.03 (m, 1H).

实施例 10

4β-(2-噻吩甲酰氧基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(化合物 I-8)的制备

DCM 5mL，2-噻吩甲酸(240mg, 1.875mmol)，DMEP(500mg, 1.25mmol)，其余操作和投料比参照方法四，制备 I-8，得到白色固体 128mg，收率：20%。

ESI-MS：533($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.05 (dd, *J* = 5.0, 1.2 Hz, 1H), 8.01 – 7.68 (m, 1H), 7.38 – 7.15 (m, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.38 (s, 2H), 6.01 (d, *J* = 3.5 Hz, 2H), 5.48 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.77 (dd, *J* = 5.7, 3.6Hz,1H), 4.63 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.55 – 4.29 (m, 1H), 4.21 (dt, *J* = 23.1, 11.6 Hz, 1H), 3.62 (s, 6H), 3.38 – 3.31 (m, 1H), 3.05 – 2.64 (m, 1H).

实施例 11

4β-(2-噻吩甲酰胺基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(化合物 I-9)的制备

DMF 3mL，2-噻吩甲酸(147mg, 1.15mmol)，4β-氨基 4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素盐酸盐(500mg, 1.15mmol)，其余操作和投料比参照方法 B，制备 I-9，所得粗品经柱层析（洗脱剂：二氯甲烷/乙酸乙酯梯度洗脱）纯化，得到黄色固体 160mg，收率：27.4%。

ESI-MS：532($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.69(d, *J* = 8.4Hz, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.84(d, *J*=2.4Hz, 1H), 7.75(m, 1H), 7.14(m, 1H), 6.83(d, *J*=2Hz, 1H), 6.55(d, *J*=2.4Hz, 1H), 6.28(s,2H), 5.98(d, *J*=10.4Hz,2H), 5.41(s,1H), 4.53(d, *J*=2.8Hz, 1H), 4.36 (t, *J*=8Hz, 1H), 3.76(t, *J*=8.8Hz, 1H), 3.65(s, 6H), 3.40-3.37(m, 1H), 3.04-3.01(m, 1H).

实施例 12

4β-(3-噻吩甲酰氧基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(化合物 I-10)的制备

DCM 3mL，3-噻吩甲酸(240mg, 1.875mmol)，DMEP(500mg, 1.25mmol)，其余操作和投料比参照方法四，制备 I-10，得到白色固体 400mg，收率：62.74%。

ESI-MS：533($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.51 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.71 (dd, *J* = 4.9, 3.0 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.37 (s, 2H), 6.01 (d, *J* = 3.7 Hz, 2H), 5.48 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.77 (dd, *J* = 5.4, 3.7 Hz, 1H), 4.63 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.38 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.22 (dd, *J* = 10.4, 8.6 Hz, 1H), 3.61 (s, 6H), 3.32 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 2.90 – 2.78 (m, 1H).

实施例 13

4β-(3-噻吩甲酰胺基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(化合物 I-11)的制备

DMF 4mL，3-噻吩甲酸(147mg, 1.15mmol)，4β-氨基 4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素盐酸盐(500mg, 1.15mmol) 其余操作和投料比参照方法 B，制备 I-11，所得粗品经柱层析（洗脱剂：二氯甲烷/乙酸乙酯梯度洗脱）纯化，得到黄色固体 220mg，收率：37.58%。

ESI-MS：532($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.54 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.60 - 7.54 (m, 2H), 6.83 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.28 (s, 2H), 5.99 (d, *J* = 11.9 Hz, 2H), 5.42 (dd, *J* = 8.1, 4.8 Hz, 1H), 4.54 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.35 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.74 (dd, *J* = 10.5, 9.0 Hz, 1H), 3.65 (s, 6H), 3.41 (dd, *J* = 14.4, 5.2 Hz, 1H), 3.08 - 2.97 (m, 1H).

实施例 14

4β-(5-甲基-2-噻吩甲酰氧基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(I-12)的制备

DCM 4mL，5-甲基-2-噻吩甲酸(267mg, 1.875mmol)，DMEP (500mg, 1.25mmol)，其余操作和投料比参照方法四，制备 I-12，得到白色固体 460mg，收率：70.23%。

ESI-MS：547($M+Na^+$)/ 563($M+K^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.76 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 6.99 (dd, *J* = 3.7, 0.8 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.56 (s, 1H), 6.36 (s, 2H), 6.01 (d, *J* = 3.4 Hz, 2H), 5.48 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.76 (dd, *J* = 5.7, 3.6 Hz, 1H), 4.62 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.37 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.21 (dd, *J* = 10.6, 8.4 Hz, 1H), 3.61 (s, 6H), 3.36-3.31 (m, 1H), 2.89 - 2.77 (m, 1H), 2.54 (s, 3H).

实施例 15

4β-(5-甲基-2-噻吩甲酰胺基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(I-13)的制备

DMF 3mL，5-甲基-2-噻吩甲酸(164mg, 1.15mmol)，4β-氨基 4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素盐酸盐(500mg, 1.15mmol)，其余操作和投料比参照方法 B，制备 I-13，所得粗品经柱层析（洗脱剂：二氯甲烷/乙酸乙酯梯度洗脱）纯化，得到白色固体 255mg，收率：42.43%。

ESI-MS：524($M+H^+$)/546($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.60 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.66 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 6.83 (d, *J* = 3.1 Hz, 2H), 6.57 (s, 1H), 6.28 (s, 2H), 5.99 (d, *J* = 11.2 Hz, 2H), 5.38 (dd, *J* = 8.2, 4.8 Hz, 1H), 4.53 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.34 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.73 (dd, *J* = 10.6, 8.9 Hz, 1H), 3.65 (s, 6H), 3.40 (dd, *J* = 14.4, 5.3 Hz, 1H), 3.08 - 2.96 (m, 1H), 2.46 (s, 3H).

实施例 16

4β-(5-氯-2-噻吩甲酰氧基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(I-14)的制备

DCM 5mL，5-氯-2-噻吩甲酸(305mg, 1.875mmol)，DMEP (500mg, 1.25mmol)，其余操作和投料比参照方法四，制备 I-14，得到白色固体 553mg，收率 81.32%。

ESI-MS：567($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.85 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.56 (s, 1H), 6.37 (s, 2H), 6.01 (d, *J* = 2.9 Hz, 2H), 5.48 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.76 (dd, *J* = 5.7, 3.6 Hz, 1H), 4.63 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.37 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.21 (dd, *J* = 10.6, 8.4 Hz, 1H), 3.62 (s, 6H), 3.36 -3.32 (m, 1H), 2.89 - 2.78 (m, 1H).

实施例 17

4β-(5-氯-2-噻吩甲酰胺基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(I-15)的制备

DMF 2mL，5-氯-2-噻吩甲酸(187mg, 1.15mmol)，4β-氨基 4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素盐酸盐(500mg, 1.15mmol)，其余操作和投料比参照方法 B，制备 I-15，所得粗品（白色固体）经柱层析（洗脱剂：二氯甲烷/乙酸乙酯梯度洗脱）纯化，得到白色固体 275mg，收率：44.07%。

ESI-MS：566($M+Na^+$)/582($M+K^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.82 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.75 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 7.17 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.28 (s, 2H), 6.00 (d, *J* = 11.1 Hz, 2H), 5.37 (dd, *J* = 8.0, 4.7 Hz, 1H), 4.54 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 4.34 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.74 (dd, *J* = 10.4, 9.1 Hz, 1H), 3.65 (s, 6H), 3.38 (s, 1H), 3.03 (ddd, *J* = 18.8, 13.1, 7.6 Hz, 1H).

实施例 18

4β-(咪唑-2-甲酰氧基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(I-16)的制备

将咪唑-2-甲酸(504mg, 4.5mmol)，EDCI(573mg, 3mmol)，HOBt (405mg, 3mmol)加入 3mL 二氯甲烷中，室温下搅拌 0.5h 后加入 DMEP (600mg, 1.5mmol)和 DMAP(55mg, 0.3mmol)，TLC 检测反应完全后，后处理方法与方法三相同，得到白色固体 114mg，收率：15.4%。

ESI-MS：517($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.47(s, 1H), 13.21(s, 1H), 8.18(s, 1H), 7.43 (d, *J*=16.4Hz, 1H), 7.23(d, *J*=21.2Hz, 2H), 7.03(d, *J*=28Hz, 2H), 6.60(d, *J*=14.8Hz, 1H), 6.38(s, 2H), 6.35(d, *J*=3.6Hz, 1H), 6.00(dd, *J*=11.2Hz, 9.2Hz, 1H), 5.43(d, *J*=6Hz, 1H), 4.77 (t, J = 3.6 Hz, 1H), 4.63 (d, *J* = 5.2Hz, 2H), 4.39 (m, 2H), 4.21(t, *J*=2Hz,1H), 4.00 (t, *J*=2Hz,1H), 3.36 - 3.23 (m, 1H).

实施例 19

4β-(咪唑-2-甲酰胺基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(I-17)的制备

DMF 3mL，咪唑-2-甲酸(168mg,1.5mmol)，其余操作和投料比参照方法五，制备 I-17，得到白色固体 130mg，收率：26.34%。

ESI-MS：516($M+Na^+$).

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.11 (s, 1H), 8.66 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 6.27 (s, 2H), 5.99 (d, *J* = 11.9 Hz, 2H), 5.42 (dd, *J* = 8.7, 4.9 Hz, 1H), 4.48 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.35 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.79 (dd, *J* = 10.7, 8.7 Hz, 1H), 3.71 - 3.59 (m, 7H), 3.10 - 2.96 (m, 1H).

实施例 20

4β-(吡唑-3-甲酰胺基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(I-18)的制备

DMF 4mL，吡唑-3-甲酸(168mg, 1.5mmol)，其余操作和投料比参照方法五，制备 I-18，得到白色固体 80mg，收率：16.23%。

ESI-MS：516($M+Na^+$).

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.26 (s, 1H), 8.38 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 6.27 (s, 2H), 5.99 (d, *J* = 12.3 Hz, 2H), 5.43 (dd, *J* = 8.5, 4.9 Hz, 1H), 4.48 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 4.35 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.75 (dd, *J* = 10.7, 8.8 Hz, 1H), 3.68 - 3.54 (m, 7H), 3.02 (s, 1H).

实施例 21

4β-(吲唑-3-甲酰胺基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(I-19)的制备

DMF 5mL，吡唑-3-甲酸(186mg, 1.15mmol)，其余操作和投料比参照方法 B，制备 I-19，所得粗品经柱层析（洗脱剂：二氯甲烷/乙酸乙酯梯度洗脱）纯化，得到白色固体 100mg，收率：16.02%。

ESI-MS：566($M+Na^+$).

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.61 (s, 1H), 8.65 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.21 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.43 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.27 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.29 (s, 2H), 5.99 (d, *J* = 13.1 Hz, 2H), 5.53 (dd, *J* = 8.6, 4.9 Hz, 1H), 4.50 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 4.41 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.88 - 3.80 (m, 1H), 3.69 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.66 (s, 6H), 3.11 - 3.00 (m, 1H).

实施例 22

4β-(N-Boc-DL-脯氨甲酰胺基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(I-20)制备

将 N-Boc-DL-脯氨酸(560mg, 2.6mmol)，HATU(532mg, 1.4mmol)加入至 5mL N,N-二

甲基甲酰胺(DMF)中，室温搅拌 0.5h 后加入三乙胺(0.35mL, 2.5mmol)，反应液变黄，加入 4β-氨基 4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素盐酸盐(435mg, 1.0mmol)。后处理方法与方法五相同。经柱层析（洗脱剂：二氯甲烷/乙酸乙酯梯度洗脱）纯化，得到白色固体 160mg，收率：26.85%。

ESI-MS：619($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.33 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.29 - 8.18 (m, 1H), 6.73 (dd, *J* = 14.7, 5.8 Hz, 1H), 6.58 - 6.49 (m, 1H), 6.25 (s, 2H), 5.98 (dd, *J* = 18.1, 4.6 Hz, 2H), 5.25 - 5.17 (m, 1H), 5.11 (dd, *J* = 12.1, 7.5 Hz, 1H), 4.49 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 4.27 (dt, J = 33.2, 7.8 Hz, 1H), 4.02 (ddt, *J* = 29.6, 19.8, 10.1 Hz, 1H), 3.81 - 3.69 (m, 1H), 3.63 (s, 5H), 3.31 - 3.14 (m, 2H), 2.95 (s, 1H), 2.15 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 1.79 (dd, *J* = 15.2, 9.3 Hz, 3H), 1.41 - 1.29 (m, 8H).

实施例 23

4β-(N-Boc-L-羟脯氨酸-2-甲酰氧基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(I-21)制备

将 N-Boc-L-羟脯氨酸(300mg, 1.3mmol)，EDCI(597mg, 3.125mmol)，DMAP(61mg, 0.5mmol)加入 3mL 二氯甲烷中，室温下搅拌 0.5h 后加入 DMEP(400mg, 1.0mmol)，TLC 检测反应完全后，后处理方法与方法三相同。得到白色固体 255mg，收率：41.6%。

ESI-MS：636($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.74(s,1H), 6.49(s,1H), 6.29(s,2H), 5.95(d, J=11.6Hz,2H), 5.63(s,1H), 5.19(d, *J*=8Hz,1Hz), 4.54(t, 10.4Hz, 3H), 4.35(m, 2H), 3.76(s, 6H), 3.48(s, 2H), 2.93(s, 2H), 1.99(m, 4H), 1.43(s, 9H).

实施例 24

4β-(N-Boc-L-羟脯氨甲酰胺基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(I-22)制备

将 N-Boc-L-羟脯氨酸(395mg, 1.725mmol)投入至 3mL N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中，其余操作和投料比参照方法三，制备 I-22，得到白色固体 333mg，收率：47.39%。

ESI-MS：635($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 6.74(s, 1H), 6.49(s, 1H), 6.29(s, 2H), 5.95 (d, *J* = 11.6 Hz, 2H), 5.63(s,1H), 5.19(d, *J* = 8Hz, 1H), 4.54(t, *J* = 13.2 Hz, 2H), 4.37(m, 2H), 3.80(d, *J*=19.2Hz,8H), 3.49(s, 2H), 2.93(s, 2H), 2.70(s,1H), 2.42(s,1H), 1.43(s, 10H).

实施例 25

4β-(2-噻吩乙酰氧基)-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(I-23)的制备

DCM 3mL，2-噻吩乙酸(266mg, 1.875mmol)，DMEP(500mg, 1.25mmol)，其余操作和投料比参照方法四，制备 I-23，得到白色固体 360mg，收率 54.96%。

ESI-MS：547($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.43 (dd, *J* = 5.1, 1.2 Hz, 1H), 7.05 (dd, *J* = 3.3, 0.7 Hz, 1H), 6.99 (dd, *J* = 5.1, 3.5 Hz, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.32 (s, 2H), 6.00 (d, *J* = 1.4 Hz, 2H), 5.47 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.75 (dd, *J* = 5.8, 3.6 Hz, 1H), 4.60 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.36 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.23 - 4.15 (m, 3H), 3.60 (s, 6H), 3.34 -3.29 (m, 1H), 2.87 - 2.75 (m, 1H).

实施例 26

4β-(吲哚-2-乙酰氧基)-4-脱氧-4′-去甲基表鬼臼毒素(I-24)的制备

DCM 3mL，吲哚-2-甲酸(364mg, 2.25mmol)按照方法七所示投料和后处理，得到白色固体 120mg，收率为 21.4%。

ESI-MS：566($M+Na^{+)}$.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ11.98 (s, 1H), 7.71 (d, *J*=8Hz, 1H), 7.50 (d, *J*=8.4Hz, 1H), 7.30 (t, *J*=7.2Hz, 2H), 7.11 (t, *J*=8Hz, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.58 (s, 1H), 6.41 (s, 2H), 6.01 (d, *J*=2.8Hz, 2H), 5.72 (s, 1H), 5.44 (d, J=5.6Hz, 1H), 4.78 (t, *J*=3.6Hz, 1H), 4.65 (d, *J*=5.6Hz, 1H), 4.39 (t, *J*=8Hz, 1H), 4,23(t, *J*=10.8Hz, 1H), 3.64 (s, 6H), 3.36 (dd, *J*=5.6Hz, 5.6Hz, 1H).

实施例 27

4β-(吲哚-2-乙酰胺基)-4-脱氧-4′-去甲基表鬼臼毒素(I-25)的制备

DMF 3mL，吲哚-2-甲酸(242mg, 1.5mmol)按照方法八所示投料和后处理，得到白色固体 175mg，收率为 32.3%。

ESI-MS：565($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ11.54 (s, 1H), 8.65 (d, *J*=8.4Hz), 8.17-7.88 (m, 1H), 7.60 (d, *J*=8Hz, 1H), 7.45 (d, 8.4Hz, 1H), 7.22 (t, *J*=5.6Hz, 1H), 7.19 (d, *J*=1.2Hz, 1H), 7.03 (t, *J*=8Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.58 (s, 1H), 6.30(s, 1H), 6.00 (d, *J* = 12Hz, 1H), 5.72 (d, *J* =0.4Hz, 1H), 5.50 (dd, *J* = 4.8Hz, 4.8Hz, 1H), 4.56 (d, *J*=5.2Hz, 1H), 4.38 (t, *J* = 8Hz, 1H), 4.04 (dd, J=6.8Hz, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.47 (dd, *J*=5.2Hz, 5.2Hz, 1H), 3.07 (m, 1H), 2.89 (s, 2H), 2.73(s, 1H), 1.98 (d, *J*=9.2Hz, 1H), 1.17 (m,1H).

实施例 28

4β-(5-氟吲哚-2-乙酰氧基)-4-脱氧-4′-去甲基表鬼臼毒素(I-26)制备

DCM 4mL，5-氟吲哚-2-甲酸(215mg, 1.2mmol)按照方法七所示投料和后处理，得到白色固体 220mg，收率为 27 %。

ESI-MS：584($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ12.12 (s, 1H), 7.48 (m,2H), 7.30 (d, *J*=1.2Hz, 1H), 7.17(m,

1H), 6.97 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.40 (s, 2H), 6.01 (d, *J*=2.4Hz, 2H), 4.78(d, *J*=3.2Hz, 1H), 4.64(d, *J*=5.6Hz, 1H), 4.39 (t, *J*=8Hz, 1H), 4.23 (t, *J*=6.4Hz, 1H), 4.04 (dd, *J*=7.2Hz, 7.2Hz, 1H), 3.64 (m, 6H), 2.86-2.83 (m,1H).

实施例 29

4β-(5-氟吲哚-2-乙酰胺基)-4-脱氧-4′-去甲基表鬼臼毒素(I-27)制备

DMF 4mL，5-氟吲哚-2-甲酸(269mg, 1.5mmol)按照方法八所示投料和后处理，得到白色固体 170mg，收率为 30.4 %。

ESI-MS：583($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ11.67 (s, 1H), 8.70 (d, *J*=8.4Hz, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.44 (m, 2H), 7.22 (d, *J*=2.4Hz, 1H), 7.05 (m, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.58 (s, 1H), 6.30 (s, 2H), 6.00 (s, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.72 (s, 1H), 5.50 (m, 1H), 4.56 (d, *J*=5.2Hz, 1H), 4.37 (t, *J*=8.4Hz, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.66 (s, 6H), 3.47-3.42(m, 1H).

实施例 30

4β-(5-氯吲哚-2-乙酰氧基)-4-脱氧-4′-去甲基表鬼臼毒素(I-28)制备

DCM 5mL，5-氯吲哚-2-甲酸(235mg, 1.2mmol)按照方法七所示投料和后处理，得到白色固体 116mg,收率为 20 %。

ESI-MS：600 ($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.21 (s, 1H), 7.77 (d, *J* =1.6Hz, 1H), 7.51 (d, *J*=8.8Hz, 1H), 7.30 (m, 2H), 6.97 (s, 1H), 6.57 (s,1H), 6.40 (s, 2H), 6.01 (d, *J*=2.4Hz, 2H), 5.72 (s, 1H), 5.43 (d, *J*=4.8Hz, 1H), 4.78 (s, 1H), 4.64(d, *J*=5.2Hz, 1H), 4.39 (t, *J*=7.6Hz, 1H), 4.23 (t, *J*=8.4Hz, 1H), 3.64 (s, 6H), 2.87-2.83 (m, 1H).

实施例 31

4β-(5-氯吲哚-2-乙酰胺基)-4-脱氧-4′-去甲基表鬼臼毒素(I-29)制备

DMF 5mL，5-氯吲哚-2-甲酸(293mg, 1.5mmol)按照方法八所示投料和后处理，得到白色固体 214mg，收率为 37.1 %。

ESI-MS：599($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ11.77(s,1H), 8,74 (d, J=8.4Hz, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7,45 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.20 (m, 2H), 6.86 (s, 1H), 6.58 (s, 1H), 6.30 (s, 2H), 6.00 (d, J=11.6Hz, 2H), 5.51-5.48 (m, 1H), 4.56 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.37 (t, J=8Hz, 1H), 3.80 (t, J=11.2Hz, 1H), 3.66 (s, 6H), 3.47-3.42 (m, 1H).

实施例 32

4β-(5-甲氧基吲哚-2-乙酰氧基)-4-脱氧-4′-去甲基表鬼臼毒素(I-30)制备

DCM 3mL，5-甲氧基吲哚-2-甲酸(288g, 1.5mmol)按照方法七所示投料和后处理，得到淡黄色固体 240mg，收率为 41.9 %。

ESI-MS：596($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ11.84 (s, 1H), 7.39 (d, *J*=9.2Hz, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.14 (d, *J*=2Hz, 1H), 6.91 (m, 2H), 6.57 (s, 1H), 6.39 (s, 2H), 6.01 (d, *J*=3.2Hz, 2H), 5.43 (d, *J*=6.4Hz, 1H), 4.77 (t, *J*=5.2Hz, 1H), 4.64 (d, *J*=5.2Hz, 1H), 4.38 (t, *J*=8Hz, 1H), 4.22 (t, *J*=10.8Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.63 (s, 6H), 2.86-2.83 (m, 1H).

实施例 33

4β-(5-甲氧基吲哚-2-乙酰胺基)-4-脱氧-4′-去甲基表鬼臼毒素(I-31)制备

DMF 3mL，5-甲氧基吲哚-2-甲酸(288g,1.5mmol)按照方法八所示投料和后处理，得到淡黄色固体 232mg，收率为 40.6 %。

ESI-MS：595 ($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ11.39 (s, 1H), 8.60 (d, *J*=8.4Hz, 1H), 8.15 (s,1H), 7.34 (d, *J*=8.8.Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.87-6.84 (m, 2H), 6.58 (s, 1H), 6.31 (s, 2H), 6.00 (d, *J*=11.6Hz, 2H), 5.72 (s, 1H), 5.52-5.48 (m, 1H), 4.56 (d, *J*=4.8Hz, 1H), 4.37 (t, *J*=8.4Hz, 1H), 3.80 (t, *J*=10.4Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.66 (s, 6H), 3.45 (dd, *J*=5.2Hz, 5.2Hz, 1H), 3.07-3.05 (m, 1H).

实施例 34

4β-(吲哚-3-甲酰氧基)-4-脱氧-4′-去甲基表鬼臼毒素(I-32)的制备

DCM 4mL，吲哚-3-甲酸(242mg, 1.5mmol)按照方法七所示投料和后处理，得到白色固体 150mg，收率为 27.6%。

ESI-MS：566($M+Na^+$)，582($M+K^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.61 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.20 – 8.14 (m, 2H), 7.44 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.19 – 7.09 (m, 2H), 6.88 (s, 1H), 6.59 (s, 1H), 6.31 (s, 2H), 6.00 (d, *J* = 11.7 Hz, 2H), 5.52 (dd, *J* = 8.3, 4.8 Hz, 1H), 4.56 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 4.40 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 3.89 – 3.79 (m, 1H), 3.67 (s, 6H), 3.45 (dd, *J* = 14.4, 5.2 Hz, 1H), 3.04 (dd, *J* = 25.2, 7.3 Hz, 1H).

实施例 35

4β-(吲哚-3-甲酰胺基)-4-脱氧-4′-去甲基表鬼臼毒素(II-33)的制备

DMF 3mL，吲哚-3-甲酸(242mg,1.5mmol)按照酰胺类合成方法八所示投料和后处理，得到白色固体 95mg，收率为 17.5%。

ESI-MS：565($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.61 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.23 – 8.10 (m, 3H), 7.44 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.15 (t, *J* = 14.9 Hz, 2H), 6.88 (s, 1H), 6.58 (s, 1H), 6.31 (s, 2H), 5.99 (d, *J* = 11.7 Hz, 2H), 5.53 (s, 1H), 4.56 (s, 1H), 4.42 (s, 1H), 4.05 (dd, *J* = 18.9, 11.9 Hz, 1H), 3.83 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H), 3.66 (s, 6H), 3.03 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H).

实施例 36

4β-(吲哚-3-乙酰氧基)-4-脱氧-4′-去甲基表鬼臼毒素(I-34)的制备

DCM 5mL，吲哚-3-甲酸(242mg, 1.5mmol)按照方法七所示投料和后处理，得到白色固体 150mg，收率为 27.6%。

ESI-MS：566($M+Na^+$)，582($M+K^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.94 (s, 1H), 7.55 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.10 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.01 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 6.32 (s, 2H), 5.99 (s, 2H), 5.49 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.77 – 4.73 (m, 1H), 4.59 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.41 – 4.32 (m, 1H), 4.20 (dd, *J* = 10.6, 8.4 Hz, 1H), 3.98 (s, 2H), 3.62 (s,6H), 3.32 (dd, *J* = 14.3, 5.4 Hz, 1H), 2.88 – 2.74 (m, 1H).

实施例 37

4β-(吲哚-3-丁酰氧基)-4-脱氧-4′-去甲基表鬼臼毒素(I-35)的制备

DCM 3mL，吲哚-3-丁酸(302mg, 1.49mmol)按照方法六所示投料和后处理，得到白色固体 466mg，收率为 63.8%，纯度：92.26%。

ESI-MS：608($M+Na^+$)，624($M+K^+$).

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10.72 (s, 1H), 7.45 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.32 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.06 (dd, *J* = 14.6, 4.7 Hz, 2H), 6.95 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.56 (s, 1H), 6.23 (s, 2H), 6.09 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 6.01 (d, *J* = 17.2 Hz, 2H), 4.56 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.31 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 3.84 (t, *J*= 12.0 Hz, 1H), 3.64 (s, 6H), 3.21 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.08-2.97 (m, 1H), 2.70 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.43 (dd, *J* = 14.7, 7.4 Hz, 2H), 1.96 - 1.87 (m, 2H).

实施例 38

4β-(吲哚-3-丁酰胺基)-4-脱氧-4′-去甲基表鬼臼毒素(I-36)的制备

DMF 3mL，吲哚-3-丁酸(302mg, 1.49mmol)按照方法八所示投料和后处理，得到白色固体 88mg，收率为 15.0%，纯度：90.50%。

ESI-MS：607($M+Na^+$).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.06 (s, 1H), 7.58 (d, *J*=7.6Hz, 1H), 7.36 (d, *J*=8Hz, 1H),

7.19 (t, *J*=3.2Hz, 1H), 7.10 (t, *J*=4Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.50 (s, 1H), 6.29 (s, 2H), 5.97 (d, *J*=4.8Hz, 2H), 5.61 (d, *J*=6.8Hz, 1H), 5.21 (t, *J*=6.4Hz, 1H), 4.51 (d, *J*=4.4Hz, 1H), 4.37 (t, *J*=8.4Hz, 1H), 3.75 (m, 6H), 2.91 (m, 3H), 2.69 (m, 1H), 2.31 (t, *J*=7.2Hz, 2H), 2.11 (m, 2H), 1.36 (m, 2H).

效果实施例 1 化合物抑制肿瘤细胞的活性实验

1、实验目的

在体外用 MTT 法实验测定本发明的鬼臼类衍生物对人体肿瘤细胞株的细胞毒作用

2、仪器设备

（1）CO_2 细胞培养箱，PHARMA SCIENTIFIC。

（2）酶联免疫检测仪，Labsystems, wellscan, MK.2。

（3）垂直单面双人超净工作台，苏州净化设备厂。

（4）倒置生物显微镜，37XB/37×BTV，上海光学仪器六厂。

3、实验材料及配制

（1）细胞株：人肺癌（A549）、人肝癌（HepG2）、人口腔癌（KB）、小鼠白血病细胞（L1210），细胞株均购自中科院细胞所。

（2）DMEM 细胞培养基（GIBCO）：含 10%灭活新生小牛血清（上海赛达生物药业有限公司）；L-谷氨酰氨（进口分装，SANGON）；丙酮酸钠；$1\times10^5 U.L^{-1}$ 青霉素，$100mg.L^{-1}$ 链霉素；无菌过滤，4℃保存。

（3）0.25%胰蛋白酶溶液（Trypsin）：购自 Invitrogen 公司，-20℃保存。

（4）磷酸缓冲液（PBS）：NaCl8g，KCl0.2g，$Na_2HPO_4$1.15g，KH_2PO_4 0.2g，溶于 1L 双蒸水，121℃高压消毒 20min，4℃保存。

（5）MTT（AMRESCO）溶液：用 PBS 配成 5mg/mL 溶液。

（6）溶解液：每 100mL 去离子双蒸水含 SDS10g，异丁醇 5mL，浓硫酸 0.12mL。

（7）样品：本发明鬼臼毒素衍生物。

（8）对照品：依托泊苷注射液，购自江苏恒瑞医药股份有限公司。

4、实验方法

鬼臼类化合物对上述肿瘤细胞株的细胞毒性通过 MTT 法测得。具体步骤如下：

（1）细胞培养：①将细胞从液氮中取出，在 37℃水浴中迅速解冻，细胞在无菌操作台中移入 10mL 无菌离心管中，加 6mL DMEM 细胞培养基，1000 转/分离心 5 分钟。弃去上清液，沉淀中加入 5-6mL DMEM 细胞培养基，滴管吹打使其悬浮后移入细胞培养瓶中，置 37℃细胞培养箱内。②次日，自培养箱中取出细胞，弃去细胞瓶中 DMEM 细胞

培养基〔除 K562（人慢性髓原白血病细胞株和 L1210（小鼠淋巴白血病细胞株）等悬浮细胞〕，加入 5-6mL DMEM 细胞培养基，置 37℃细胞培养箱内。③隔日，自培养箱中取出细胞，弃去细胞瓶中 DMEM 细胞培养基〔除 K562（人慢性髓原白血病细胞株）和 L1210（小鼠淋巴白血病细胞株）等悬浮细胞〕，加入 PBS（PH7.4）2-3mL 晃动清洗，倒掉 PBS 溶液后再重复一次清洗。在培养瓶中加入 3-5 滴 0.25%胰蛋白酶溶液晃动均匀，加盖置于 37℃细胞培养箱内 3 分钟左右，于显微镜下观察发现细胞自培养瓶壁上脱离，加 DMEM 细胞培养基 2mL，滴管吹打使细胞完全脱离瓶壁后，分别移入 2 个干净培养瓶中，加入 DMEM 细胞培养基 5-6mL 吹打均匀，置于 37℃细胞培养箱内。K562（人慢性髓原白血病细胞株）和 L1210（小鼠淋巴白血病细胞株）等悬浮细胞取出 1-2mL 悬浮液，分别移入 2 个干净培养瓶中，加入 DMEM 细胞培养基 5-6mL，置于 37℃细胞培养箱内。④隔日，重复步骤③的操作。在整个培养过程中，贴壁细胞不允许生长过密，悬浮细胞始终保持对数生长期。

（2）样品制备：将样品溶解于二甲亚砜中，得到浓度为 10mg/mL 的溶液。再用 PBS 作梯度稀释，得到浓度分别为 1000μg/mL、100 μg/mL、10 μg/mL、1 μg/mL、0.1 μg/mL、0.01 μg/mL 的稀释样品。

对照品制备：将依托泊苷注射液用 PBS 作梯度稀释，得到浓度分别为 1000μg/mL、100 μg/mL、10 μg/mL、1 μg/mL、0.1 μg/mL、0.01 μg/mL 的稀释对照品。

（3）将稀释好的样品和对照品加入平底 96 孔板中，每孔 10μL，每点作两个平行测试。将 DMSO 相应作梯度稀释后加入板中，作为对照。

（4）取处于对数生长期的细胞，细胞经胰酶消化并洗涤后悬浮于含 10%小牛血清的 DMEM 培养基中，经苔盼蓝染色排除法计活细胞数，并调节细胞悬浮液密度至 2×10^5 细胞/mL。

（5）在平底 96 孔板中，每孔加入 90μL 细胞，于 37℃、5%CO_2 细胞培养箱中培养过夜。

（6）将加入细胞的平底 96 孔板在 37℃、5%CO_2 细胞培养箱中培养 48 小时。

（7）每孔中加入 20μL 5mg/mLMTT 溶液，继续在培养箱中保温 3~4 小时。

（8）每孔加入 100 μL 溶解液，继续在培养箱中保温过夜，使生成的甲臜晶体充分溶解。测定 492nm 光吸收值。

（9）根据光吸收值计算化合物处理后细胞相对存活率。计算公式如下：

$$\text{细胞相对存活率}=\frac{\text{药物处理组的光吸收值}-\text{背景光吸收值}}{\text{DMSO处理组的光吸收值}-\text{背景光吸收值}}\times100\%$$

（10）通过软件计算化合物对各肿瘤细胞的 IC_{50}。

其中，表 1.1 中编号 I-24、1-2~I-7 和 VP16 是在中国专利申请 CN201410172493.7 的申请日之前由发明人孙亚飞所测活性结果，而表 1.2 中编号 I-1、I-8~I-23、I-25~I-37 和 VP16 在中国专利申请 CN201410172493.7 的申请日之后由发明人姚利霞所测活性结果。

表 1.1 MTT 法所测活性结果

编号	IC_{50}（μg/mL）			
	HepG2	A549	KB	L1210
I-24	6.37	3.80	1.77	2.95
I-2	6.13	>100	9.82	26.57
I-3	2.42	>100	3.54	>100
I-4	5.77	6.75	3.87	0.89
I-5	>100	>100	>100	>100
I-6	>100	>100	>100	>100
I-7	42.85	18.72	19.89	2.77
VP16	18.25	>100	5.48	2.01

表 1.2 MTT 法所测活性结果

编号	IC_{50}（μg/mL）			
	HepG2	A549	KB	L1210
I-1	8.43	10.12	4.36	>100
I-8	17.68	15.10	2.04	76.65
I-9	4.52	10.72	4.37	2.51
I-10	15.47	13.52	1.59	19.88
I-11	6.37	9.82	3.11	1.92
I-12	97.02	7.71	1.84	65.54
I-13	6.03	8.56	5.98	3.33
I-14	19.26	16.011	2.69	16.79
I-15	5.39	9.70	3.57	0.99
I-16	6.50	12.03	3.75	2.70
I-17	14.48	12.51	1.79	1.53
I-18	21.48	10.237	5.40	1.46
I-19	13.57	7.30	7.62	1.14

I-20	60.49	23.237	19.31	8.56
I-21	21.60	12.23	10.33	11.27
I-22	25.55	23.03	7.08	9.39
I-23	14.30	16.40	2.27	8.54
I-25	17.97	6.37	3.72	3.25
I-26	5.18	11.50	2.11	3.65
I-27	20.22	15.88	5.61	4.93
I-28	2.53	6.27	1.54	2.75
I-29	22.66	16.99	7.40	4.47
I-30	21.83	14.32	6.50	1.76
I-31	13.18	11.86	4.20	2.95
I-32	27.49	22.90	20.61	4.63
I-33	5.66	7.74	3.80	0.51
I-34	6.23	5.51	2.79	9.85
I-35	9.45	5.00	1.69	5.16
I-36	14.15	19.19	29.54	0.64
VP-16	31.82	>100	4.99	3.89

效果实施例 2 化合物 I-4 对 ICR 小鼠 S180 移植瘤的药效学研究

1、试验目的

以 ICR 小鼠 S180 移植瘤为模型（S180 细胞购自中科院细胞所）对 I-4 的抗肿瘤作用进行研究。

2、试验内容

试验样品

样品：化合物 I-4，白色粉末状。

阳性对照：注射用依托泊苷，江苏恒瑞医药股份有限公司，产品批号：10110731，5mL/0.1g/瓶。

3、配制方法

样品：化合物 I-4，配制时先加 0.5%DMSO 溶解样品，再用 4%的吐温-80 助溶，再用生理盐水稀释至所需浓度。

阳性对照：依托泊苷，配制时用生理盐水稀释。

4、动物和瘤株

ICR 小鼠 60 只，雌性，体重 18~20g，由西必凯实验动物有限责任公司提供，合格证：SCXK（沪）2008-0016。

瘤株：S180 腹水瘤，取自 S180 腹水瘤的 ICR 小鼠。

5、试验方法

取生长旺盛期的 ICR 小鼠 S180 腹水瘤 2 只，无菌条件下抽取腹水，用生理盐水 1:6 稀释，按 0.2mL/只给小鼠腋皮下接种（共接种 60 只）。次日将小鼠随机均分为 6 组，每组 10 只。

分别为空白溶媒组、I-4 10mg/kg iv 组（连续给药 4 天，iv 表示静脉注射法）、I-4 5mg/kg iv 组（连续给药 4 天）、I-4 2.5mg/kg iv 组（连续给药 4 天）、I-4 1.25mg/kg iv 组（连续给药 4 天）、依托泊苷 5mg/kg iv（连续给药 7 天）。

ICR 小鼠接种后第二天开始给药，给药剂量及给药方案见表 2。治疗结束后存活下来的动物被执行安乐死，取瘤块称重，计算抑瘤率。

$$\text{抑瘤率} \quad \frac{\text{对照组瘤重-给药组瘤重}}{\text{对照组瘤重}} \times 100\%$$

表 2 ICR 小鼠给药剂量及给药方式

组别	受试物	物数量	剂量（mg/kg）	浓度（mg/mL）	体积（mL/20g）	给药途径
1	空白溶媒	0	/	/	/	/
2	I-4	0	10	0.4	0.5	i.v.
3	I-4	0	5	0.2	0.5	i.v.
4	I-4	0	2.5	0.1	0.5	i.v.
5	I-4	0	1.25	0.05	0.5	i.v.
6	依托泊苷	0	5	0.2	0.5	i.v.

6、结果

化合物 I-4 静脉给药对 ICR 小鼠 S180 移植瘤的抑瘤率见表 3。

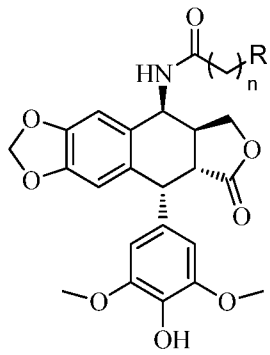
表 3 化合物 I-4 静脉给药对 ICR 小鼠 S180 移植瘤的抑瘤率

组别	实验动物数（只）		体重（g）		瘤重（g）	抑瘤率%
	始	终	始	终（去瘤）		
空白溶媒	10	10	19.97±0.86	21.54±2.08	2.30±0.21	/

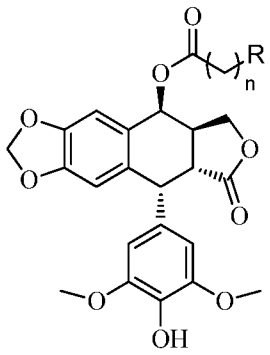
I-4 10mg/kg iv	10	0	19.90±0.77	/	/	/
I-4 5mg/kg iv	10	10	20.15±0.55	20.66±0.64	0.48±0.09	78.99
I-4 2.5mg/kg iv	10	10	20.29±1.06	21.76±1.30	1.11±0.12	51.95
I-4 1.25mg/kg iv	10	10	19.95±0.62	22.75±2.34	1.53±0.29	33.59
依托泊苷 5mg/kg iv	10	10	19.92±0.83	17.23±0.39	0.97±0.14	57.94

I-4 10mg/kg iv 组及 I-4 5mg/kg iv 组的 ICR 小鼠给药 4 天后与空白对照组相比体重减轻>20%，因此从第 5 天起 I-4 的各组 ICR 小鼠均停止给药，阳性对照组依托泊苷 5mg/kg 继续给药至第 7 天。I-4 10mg/kg iv 组 ICR 小鼠于给药后第 6 天开始死亡，至治疗结束全部死亡，而 I-4 5mg/kg iv 组 ICR 小鼠体重开始恢复，其余各组 ICR 小鼠均无死亡。对上述各组 ICR 小鼠进行解剖，化合物 I-4 静脉给药对各组 ICR 小鼠 S180 移植瘤瘤生长抑制的照片图见图 1，其中，A 排表示 I-4 5mg/kg iv 组 10 只 ICR 小鼠中 S180 移植瘤、B 排表示 I-4 2.5mg/kg iv 组 10 只 ICR 小鼠中 S180 移植瘤、C 排表示 I-4 1.25mg/kg iv 组 10 只 ICR 小鼠中 S180 移植瘤、D 排表示依托泊苷 5mg/kg iv 组 10 只 ICR 小鼠中 S180 移植瘤、E 排表示空白溶媒组。从图 1 中可以看出：化合物 I-4 5mg/kg iv 组 ICR 小鼠给药后，S180 移植瘤均未继续生长，相对于空白溶媒组对抑制 S180 移植瘤生长的有明显的抑制作用，并且比依托泊苷 5mg/kg iv 抑制效果好。

根据本发明的效果实施例，对于本发明的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物的构效关系进行分析：当 X 为 N 时，通式 I 化合物为 I-a 所示；当 X 为 O 时，通式 I 化合物为 I-b 所示：



I-a



I-b

在通式 I-a 所示的鬼臼毒素衍生物中，当 R 为较大基团时：如萘基、喹啉基或吲哚基等，抗肿瘤活性比 R 为吡咯基、噻吩基等小分子基团时的活性低。当 R 基团的碳原子数相当的情况下，例如 R 为萘基和喹啉基时，当 R 为喹啉基时，化合物抗肿瘤活性较 R 为萘基好，说明 R 为杂芳基时，抗肿瘤活性较芳基好。当 R 为小分子基团时，例如吡咯或噻吩，所得到的化合物除对 HepG2、KB 和 L1210 等细胞株均有抑制作用，并且对 VP-16

抑制作用较弱的 A549 细胞株也有抑制作用。

对于 R 为吲哚基的情况：①R 基团以α和β位连接 4-氨基-4′-去甲基表鬼臼毒素时，对肿瘤细胞的抑制活性有影响。I-25 和 I-33 相比，对所测肿瘤细胞系 KB 和 A549 细胞系抑制作用相当，对 HepG2 和 L1210 细胞的抑制作用 I-33 优于 I-25，即 β位取代优于α位；②R 基团上引入供电子取代基对活性有影响；I-25 和 I-27、I-29、I-31 相比，吲哚环上5位甲氧基、卤素取代时对四种肿瘤细胞系的抑制作用略有降低，5 位为甲氧基取代时增强了对 HepG2 和 L1210 细胞系的抑制作用，引入卤素降低了四种细胞系的抑制活性；③连接链长度影响抗肿瘤活性。I-33 和 I-16 相比，碳链增长对四种细胞系的抑制作用都有所降低。得到的所有化合物除对 HepG2、KB 和 L1210 等细胞株均有抑制作用，并且对 VP-16 无效的 A549 细胞株也有抑制作用。

在通式 I-b 所示的鬼臼毒素衍生物中，当 R 为较大基团时：如萘基，其对 HepG2 和 KB 细胞株的活性较好，并且增加碳链的长度（即 n 的取值较大时），抗肿瘤活性有所升高。

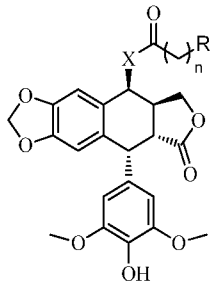
对于 R 为吲哚基的情况：①R 基团以α和β位连接 4-羟基-4′-去甲基表鬼臼毒素时，对肿瘤细胞的抑制活性有影响。I-24 和 I-32 相比，对所测四种肿瘤细胞系的抑制作用 I-24 优于 I-32，即α位取代优于β位；②R 基团上引入供电子取代基对活性有影响。I-24 和 I-26、I-28、I-30 相比，吲哚环上5位甲氧基、卤素取代时对四种肿瘤细胞系的抑制作用并未有很大改善，5 位为甲氧基取代时增强了对 L1210 细胞系的抑制作用，引入氯增强了对 HepG2、KB 和 L1210 的抑制活性；③连接链长度影响抗肿瘤活性。I-32 和 I-34、I-35 相比，碳链增长对 HepG2、A549 和 KB 细胞的抑制作用增强，但对 L1210 细胞系的抑制作用降低。得到的所有化合物除对 HepG2、KB 和 L1210 等细胞株均有抑制作用，并且对 VP-16 无效的 A549 细胞株也有抑制作用。

综上所述，当 R 为较大基团时，通式 I-b 所示的鬼臼毒素衍生物对部分细胞株的杀伤力较好，如 HepG2、KB 细胞株，但其抗肿瘤谱较通式 I-a 所示的鬼臼毒素衍生物窄。本发明得到的通式 I-a 所示的鬼臼毒素衍生物抗肿瘤谱宽，当 R 中含有杂原子时，有利于提高化合物的抗肿瘤活性。

虽然以上描述了本发明的具体实施方式，但是本领域的技术人员应当理解，这些仅是举例说明，在不背离本发明的原理和实质的前提下，可以对这些实施方式做出多种变更或修改。因此，本发明的保护范围由所附权利要求书限定。

权利要求

1、一种通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物：



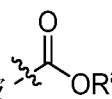
I

其中，X 为氧或氮；R 为取代或未取代的 C_5~C_{10} 的芳基、取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基，或取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基；n 为 0、1、2、3 或 4；当 n 为 0 时，R 不为取代或未取代的苯基或取代或未取代的吡啶基，当 n=1，X 为 N 时，R 不为取代或未取代的吲哚基或取代或未取代的噻吩基；所述的取代的 C_5~C_{10} 的芳基、所述的取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基或所述的取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基中所述的取代是指被下列一个或多个取代基所取代：卤素、硝基、氨基、羟基、C_1~C_4 的烷基或 ，其中，R^a 为 C_1~C_4 的烷基，当取代基为多个时，所述的取代基相同或不同。

2、如权利要求 1 所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物，其特征在于，

当所述的取代的 C_5~C_{10} 的芳基、所述的取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基或所述的取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基中所述的取代为被卤素所取代时，所述的卤素为氟、氯、溴或碘；

当所述的取代的 C_5~C_{10} 的芳基、所述的取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基或所述的取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基中所述的取代为被 C_1~C_4 的烷基所取代时，所述的 C_1~C_4 的烷基为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基或叔丁基；

当所述的取代的 C_5~C_{10} 的芳基、所述的取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基或所述的取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基中所述的取代为被  所取代时，R^a 中，所述的 C_1~C_4 的烷基为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基或叔丁基。

3、如权利要求 1 或 2 所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物，其特征在于，

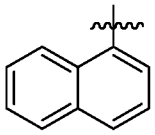
所述的取代或未取代的 C_5~C_{10} 的芳基为取代或未取代的萘基；

和/或，所述的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基是指杂原子为 N、O 或 S，杂原子数

为 1~4 个的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基；

和/或，所述的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基是指杂原子为 N、O 或 S，杂原子数为 1~4 个的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基。

4、如权利要求 3 所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物，其特征在于，

所述的萘基为；

和/或，所述的杂原子为 N、O 或 S，杂原子数为 1~4 个的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基是指杂原子为 N 或 S，杂原子数为 1 或 2 个的取代或未取代的 C_4~C_{10} 的杂芳基；

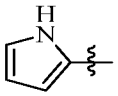
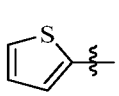
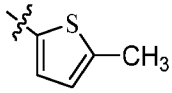
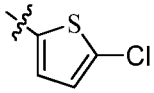
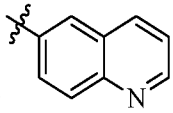
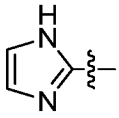
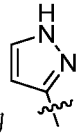
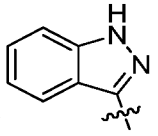
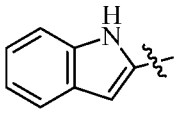
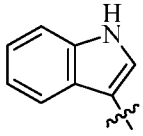
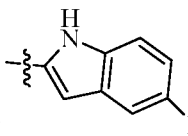
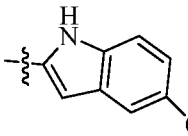
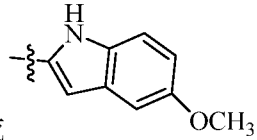
和/或，所述的杂原子为 N、O 或 S，杂原子数为 1~4 个的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基是指杂原子为 N，杂原子数为 1 个的取代或未取代的 C_4~C_8 的杂环烷基。

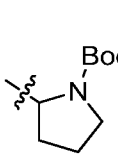
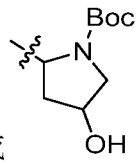
5、如权利要求 4 所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物，其特征在于，

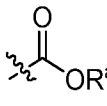
所述的取代或未取代的 C_4~C_{10} 的杂芳基为取代或未取代的吡咯基、取代或未取代的噻吩基、取代或未取代的喹啉基、取代或未取代的咪唑基、取代或未取代的吡唑基、取代或未取代的苯并吡唑基或取代或未取代的吲哚基；

和/或，所述的取代或未取代的 C_4~C_8 的杂环烷基为取代或未取代的四氢吡咯基。

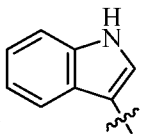
6、如权利要求 5 所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物，其特征在于，

所述的吡咯基为；和/或，所述的噻吩基为或；和/或，所述的取代的噻吩基为或；和/或，所述的喹啉基为；和/或，所述的咪唑基为；和/或，所述的吡唑基为；和/或，所述的苯并吡唑基为；和/或，所述的吲哚基为或；所述的取代的吲哚基为、或；和/或，所述的取代的四氢吡咯

基为  或  。

7、如权利要求 1~6 中至少一项所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物，其特征在于，所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物中，R 为取代或未取代的 C_5~C_{10} 的芳基、取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基或取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基，n 为 0、1、2 或 3；当 R 为取代或未取代的 C_5~C_{10} 的芳基时，X 为氧；当 R 为取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基时，所述的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基为取代或未取代的吡咯基、取代或未取代的噻吩基、取代或未取代的咪唑基、取代或未取代的吡唑基、取代或未取代的苯并吡唑基或取代或未取代的吲哚基；当 R 为取代的噻吩基，且所述的取代为被 C_1~C_4 的烷基所取代时，X 为氮；当 R 为取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基时，所述的取代是指被羟基和  所取代。

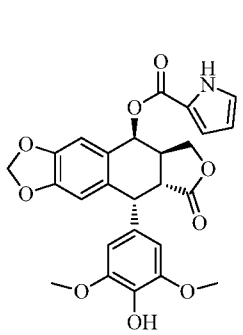
8、如权利要求 1~6 中至少一项所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物，其特征在于，所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物中，R 为取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基，或取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂环烷基；n 为 0、1、2 或 3。

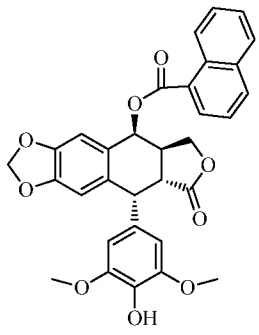
9、如权利要求 1~6 中至少一项所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物，其特征在于，所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物中，R 为取代或未取代的 C_5~C_{10} 的芳基，或取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基，n 为 0、1、2 或 3；当 R 为取代或未取代的 C_5~C_{10} 的芳基时，n 为 1，X 为氧；当 R 为取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基时，所述的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基为取代或未取代的吡咯基、取代或未取代的噻吩基、取代或未取代的咪唑基或取代或未取代的吲哚基；当 R 为取代的噻吩基，且所述的取代为被 C_1~C_4 的烷基所取代时，X 为氧；当 R 为取代或未取代的吲哚基，n 为 1、2 或 3 时，X 为 O；当所述的吲哚基为  时，n 为 0，X 为 N；当 R 为取代的吲哚基，所述的取代为被卤素所取代，n 为 0 时，X 为 O；当 R 为取代的吲哚基，所述的取代为被 C_1~C_4 的烷氧基所取代，n 为 0 时，X 为 N。

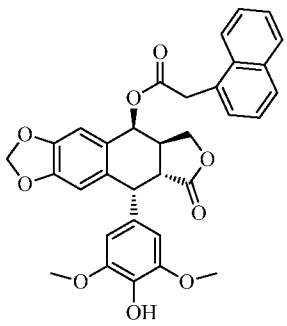
10、如权利要求 1~6 中至少一项所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物，其特征在于，所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物中，R 为取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基，n 为 0、1、2 或 3；当所述的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基为取代或未取代的吡咯基或吲哚基时，X 为 N；当 R 为取代的吲哚基，所述的取代为被卤素所取代，n 为 0 时，X 为 O。

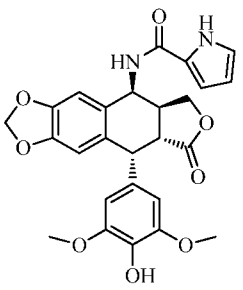
11、如权利要求 1~6 中至少一项所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物，其特征在于，所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物中，R 为取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基，n 为 0 或 1；所述的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基为取代或未取代的吡咯基、取代或未取代的噻吩基、取代或未取代的咪唑基或取代或未取代的吲哚基；当所述的取代或未取代的 C_2~C_{10} 的杂芳基为取代或未取代的吡咯基或者取代或未取代的噻吩基时，X 为 N；当 R 为取代的吲哚基，所述的取代为被卤素所取代时，X 为 O；当 R 为取代的吲哚基，所述的取代为被 C_1~C_4 的烷氧基所取代时，X 为 N。

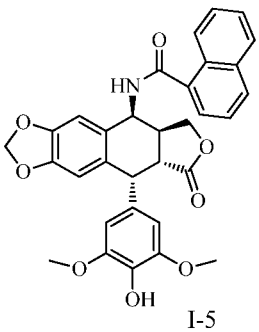
12、如权利要求 1~11 中至少一项所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物，其特征在于，其为如下任一化合物：

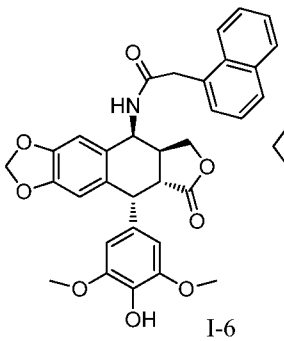

I-1

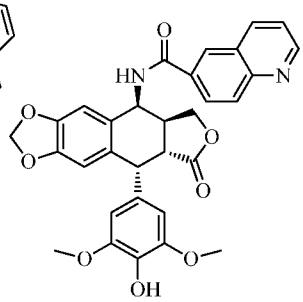

I-2

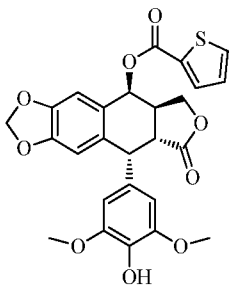

I-3

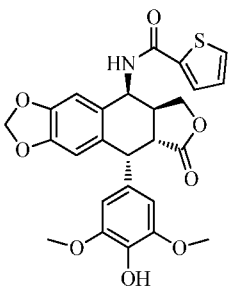

I-4

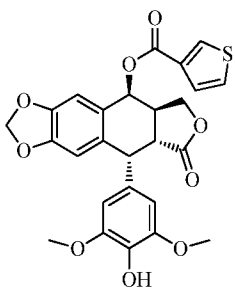

I-5

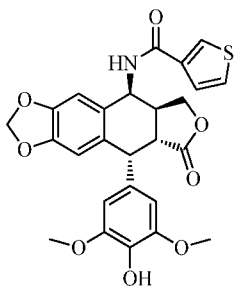

I-6

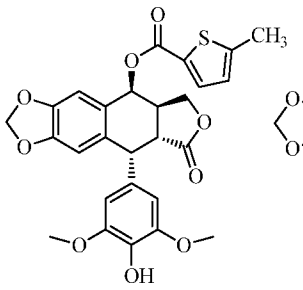

I-7


I-8

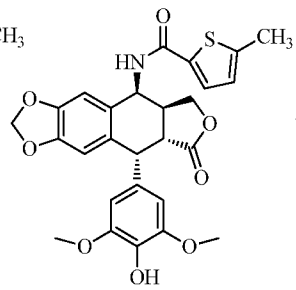

I-9


I-10

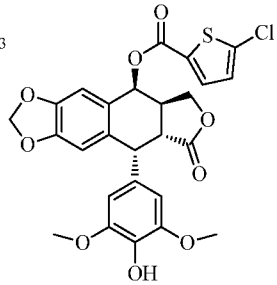

I-11



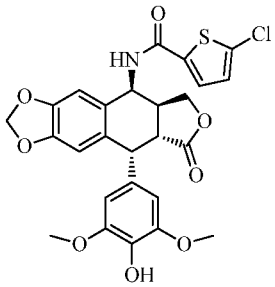
I-12



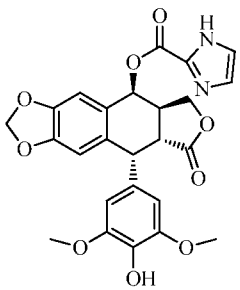
I-13



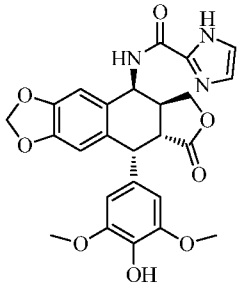
I-14



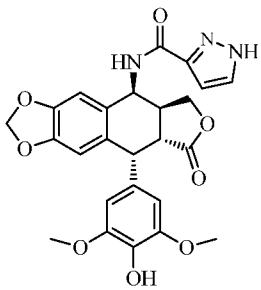
I-15



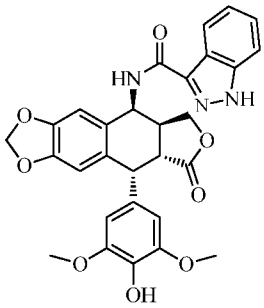
I-16



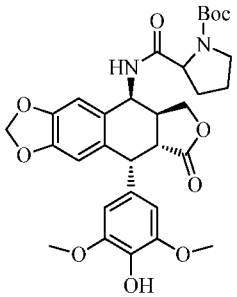
I-17



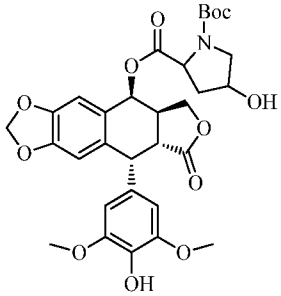
I-18



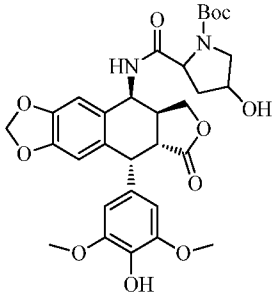
I-19



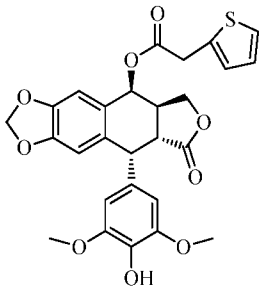
I-20



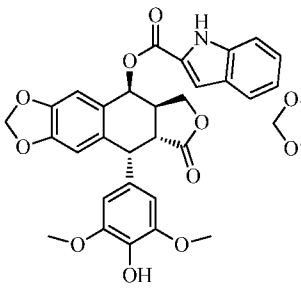
I-21



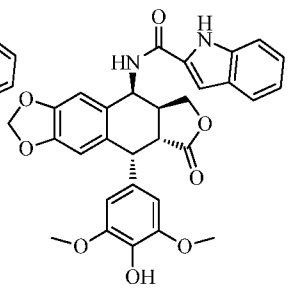
I-22



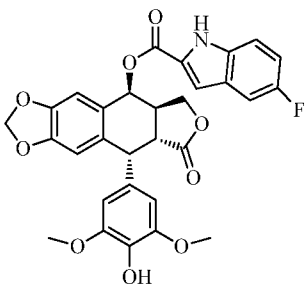
I-23



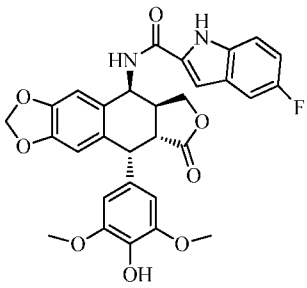
I-24



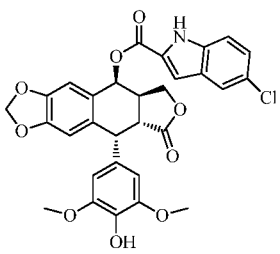
I-25



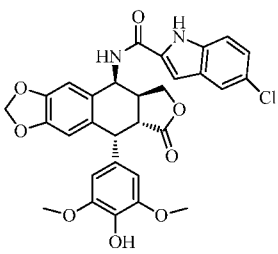
I-26



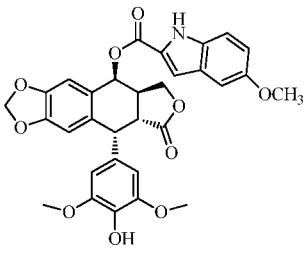
I-27



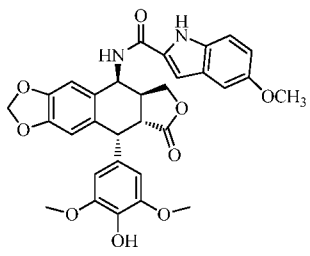
I-28



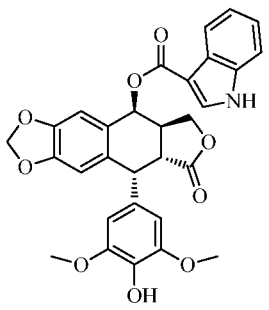
I-29

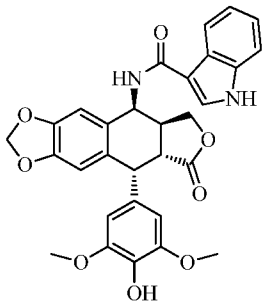


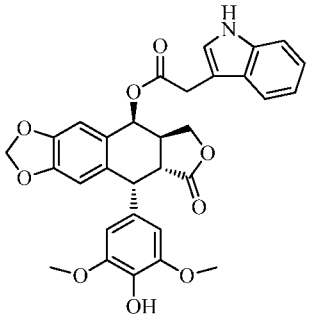
I-30

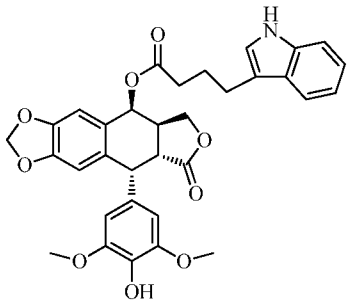


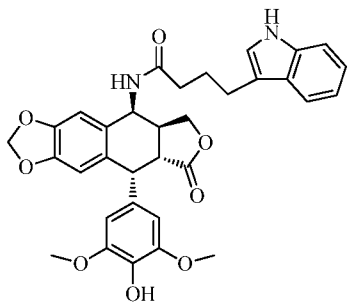
I-31


I-32


I-33

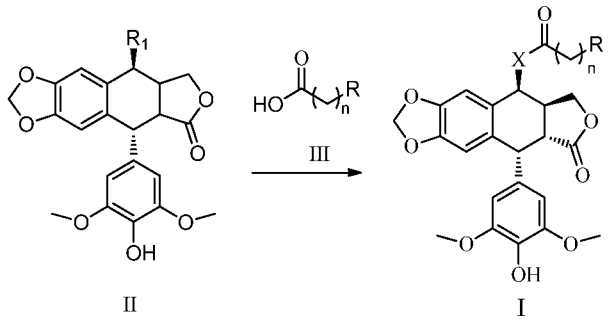

I-34


I-35


I-36

。

13、一种如权利要求 1~12 中至少一项所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物的制备方法，其包含下列步骤：有机溶剂中，碱的存在下，在缩合剂的作用下，将如式 II 所示的化合物与如式 III 所示的化合物进行如下所示的缩合反应，即可；


II III I

R_1 为羟基或氨基；X、R 和 n 的定义均如权利要求 1~12 任一项所述。

14、如权利要求 13 所述的制备方法，其特征在于，所述的缩合反应的方法包括下列步骤：有机溶剂中，碱的存在下，在缩合剂和催化剂的作用下，将如式 II 所示的化合物与如式 III 所示的化合物进行所述的缩合反应。

15、如权利要求 14 所述的制备方法，其特征在于，所述的如式 II 所示的化合物以盐酸盐的形式参与到反应中；所述的有机溶剂为卤代烃类溶剂和/或酰胺类溶剂；所述的缩合剂为 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸、1-羟基苯并三氮唑、2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基六氟磷酸酯、N,N'-二环己基碳二酰亚胺和氰基磷酸二乙酯中的一种或多种；所述的碱为有机碱；所述的催化剂为 4-二甲氨基吡啶；所述的催化剂与如式 II

所示的化合物的摩尔比为 0.05:1~0.5:1；所述的有机碱与如式 II 所示的化合物的摩尔比为 1:1~3:1；所述的缩合剂与如式 II 所示的化合物的摩尔比为 1:1~4:1；所述的如式 II 所示的化合物与如式 III 所示的化合物的摩尔比为 1:1~1:3；所述的有机溶剂与如式 II 所示的化合物的质量体积比为 1mL/g~10mL/g；所述的缩合反应的温度为 0℃~30℃；所述的缩合反应的时间为 1~24 小时。

16、一种药物组合物，其特征在于，所述的药物组合物包含如权利要求 1~12 任一项所述的通式 I 所示鬼臼毒素衍生物以及药学上可接受的赋形剂。

17、一种如权利要求 1~12 中至少一项所述的通式 I 所示的鬼臼毒素衍生物在制备用于治疗癌症的药物中的应用。

18、如权利要求 17 所述的应用，其特征在于，所述的癌症为肺癌、口腔癌、肝癌或白血病。

19、如权利要求 18 所述的应用，其特征在于，所述的肺癌为人非小细胞肺癌；所述的口腔癌为人口腔上皮癌；所述的癌症的肿瘤细胞为人非小细胞肺癌细胞、人口腔癌上皮细胞、人肝癌细胞或小鼠淋巴白血病细胞。

20、如权利要求 19 所述的应用，其特征在于，所述的人非小细胞肺癌细胞为人非小细胞肺癌细胞株 A549；所述的人口腔癌细胞为人口腔癌上皮细胞株 KB；所述的人肝癌细胞为人肝癌细胞株 HepG2；所述的小鼠淋巴白血病细胞为小鼠淋巴细胞白血病细胞株 L1210。

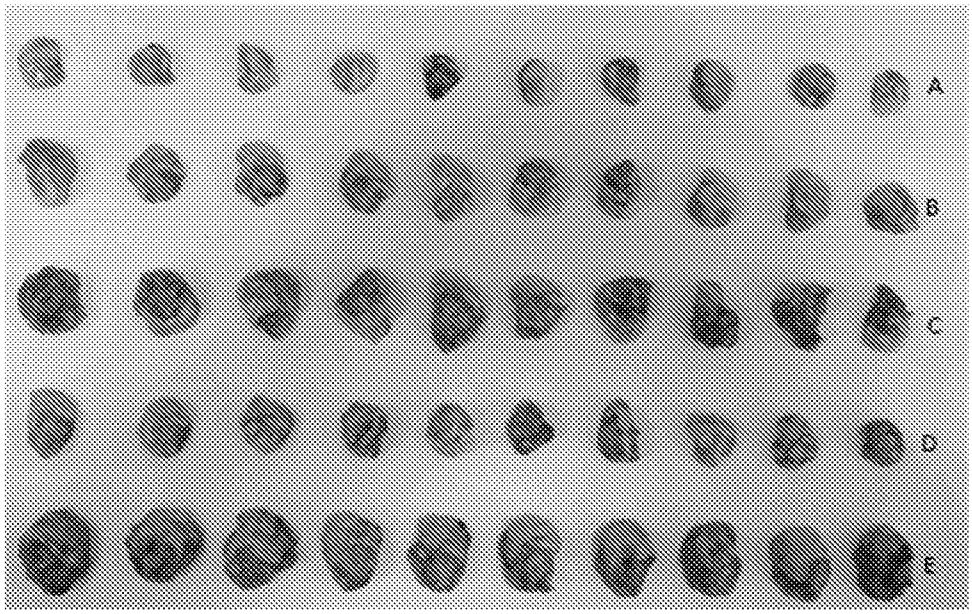


图 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2015/076505

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 493/04 (2006.01) i; A61K 31/404 (2006.01) i; A61K 31/365 (2006.01) i; A61K 31/4025 (2006.01) i; A61K 31/4709 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i; A61P 35/02 (2006.01) i

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)

C07D 493/-, A61P 35/-

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)

CNPAT; CNKI; WPI; EPODOC; REG; CAPLUS: podophyllin, cancer, tumor, structure search according to formula I

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 102850364 A (SHANGHAI INSTITUTE OF PHARMACEUTICAL INDUSTRY et al.), 02 January 2013 (02.01.2013), claims 1-17, and description, page 4, table, compounds 4, 6, 10 and 12, and pages 5-6, embodiments 4, 6, 10 and 12-18	1-20
X	CN 103351394 A (TANG, Yajie), 16 October 2013 (16.10.2013), description, compound of formula (v), embodiments 1, 2 and 4, and table 1	1-20
X	CN 103351395 A (TANG, Yajie), 16 October 2013 (16.10.2013), description, compound of formula (v), embodiments 1, 2 and 5, and table 1	1-20
X	CN 1946727 A (PIERRE FABRE MÉDICAMENT), 11 April 2007 (11.04.2007), description, compound of formula (I), embodiments 13 and 15, and page 27, table I, and claims 1, 4, 10 and 11	1-20
X	CN 1068330 A (SHANGHAI INSTITUTE OF PHARMACEUTICAL INDUSTRY OF CHINA STATE INSTITUTE OF PHARMACEUTICAL INDUSTRY), 27 January 1993 (27.01.1993), description, tables 1, II3, II4, II7 and II12, table 2, and embodiment 3	1-20
X	US 5332811 A (UNIV NORTH CAROLINA), 26 July 1994 (26.07.1994), description, column 31, table 4, embodiments 34-36, 38, 41 and 42, and column 39, scheme 5, and claims	1-20

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

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"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)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"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

"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

"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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
04 July 2015 (04.07.2015)	**22 July 2015 (22.07.2015)**
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer **XU, Chi** Telephone No.: (86-10) **62086349**

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2015/076505

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	YANG, Hua et al.; "Synthesis and Anticancer Activity of the Derivatives of 4β-halogenated Arylacylester-4'-demethylepipodophylloloxin", JOURNAL OF LANZHOU UNIVERSITY (NATURAL SCIENCES), vol. 38, no. 2, 30 April 2002 (30.04.2002), pages 101-105, abstract, figure 2, compounds 1-12, and table 4	1-20
X	SANG, C.Y. et al.; "Synthesis and Evaluation of the Apoptosis Inducing and CT DNA Interaction Properties of a Series of 4β-carbamoyl 4'-0-demethylepipodophyllotoxins", EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, no. 70, 06 October 2013 (06.10.2013), pages 59-67, abstract, page 61, scheme 1, compounds 15-16, and page 62, table 2	1-20
X	XIAO, Zhiyan et al.; "Antitumor Agents. 213.Modeling of Epipodophyllotoxin Derivatives Using Variable Selection k Nearest Neighbor QSAR Method", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 45, no. 11, 24 April 2002 (24.04.2002), pages 2294-2309, abstract, and tables 1 and 2, compounds 59-62, 64, 67-71, and 143-146	1-20
X	GUPTA, R.S. et al.; "Synthesis and Biological Activities of the C-4 Esters of 4'-demethylepipodophyllotoxin", ANTI-CANCER DRUG DESIGN, vol. 2, no. 1, 31 December 1987 (31.12.1987), pages 13-23, abstract, figures 2 and 3, compounds XXX-XXXIV, and tables I and II	1-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2015/076505

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102850364 A	02 January 2013	None	
CN 103351394 A	16 October 2013	None	
CN 103351395 A	16 October 2013	None	
CN 1946727 A	11 April 2007	CA 2562617 C	11 June 2013
		CA 2562617 A1	27 October 2005
		DK 1742952 T3	27 October 2008
		AU 2005233382 B2	16 July 2009
		BR PI0509912 A	18 September 2007
		JP 2007532628 A	15 November 2007
		WO 2005100363 A1	27 October 2005
		MY 137712 A	27 February 2009
		HR P20080542 T3	31 December 2008
		MX PA06011886 A	14 December 2006
		SI 1742952 T1	31 December 2008
		HK 1095812 A1	16 January 2009
		EP 1742952 A1	17 January 2007
		FR 2869035 B1	14 July 2006
		US 7846926 B2	07 December 2010
		US 2011053967 A1	03 March 2011
		DE 602005008578 D1	11 September 2008
		US 2009170843 A1	02 July 2009
		RS 50628 B	30 June 2010
		AT 402938 T	15 August 2008
		CY 1108444 T1	09 April 2014
		AU 2005233382 C1	04 February 2010
		JP 4876070 B2	15 February 2012
		PT 1742952 E	27 October 2008
		WO 2005100363 A8	26 October 2006
		FR 2869035 A1	21 October 2005
		AR 048607 A1	10 May 2006
		ES 2311985 T3	16 February 2009
		AU 2005233382 A1	27 October 2005
		EP 1742952 B1	30 July 2008
		CN 1946727 B	11 August 2010
		ZA 200609055 A	25 June 2008
CN 1068330 A	27 January 1993	None	
US 5332811 A	26 July 1994	None	

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2015/076505

A. 主题的分类

C07D 493/04(2006.01)i; A61K 31/404(2006.01)i; A61K 31/365(2006.01)i; A61K 31/4025(2006.01)i; A61K 31/4709(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 35/02(2006.01)i

按照国际专利分类(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(标明分类系统和分类号)

C07D493/-, A61P 35/-

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，和使用的检索词（如使用）)

CNPAT;CNKI; WPI; EPODOC;REG;CAPLUS: 鬼臼，癌症，肿瘤，podophyllin，cancer, tumor,根据式I进行了结构式检索

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
X	CN 102850364 A (上海医药工业研究院等) 2013年 1月 2日 (2013-01-02) 权利要求1-17，说明书第4页表格化合物4，6，10和12，第5-6页，实施例4，6，10，12-18	1-20
X	CN 103351394 A (汤亚杰) 2013年 10月 16日 (2013-10-16) 说明书式(V)化合物，实施例1，2和4，表1	1-20
X	CN 103351395 A (汤亚杰) 2013年 10月 16日 (2013-10-16) 说明书式(V)化合物，实施例1，2和5，表1	1-20
X	CN 1946727 A (皮埃尔法布雷医药公司) 2007年 4月 11日 (2007-04-11) 说明书通式(I)化合物，实施例13和15，说明书第27页表I，权利要求1，4，10，11	1-20
X	CN 1068330 A (国家医药管理局上海医药工业研究院) 1993年 1月 27日 (1993-01-27) 说明书表1的II3，II4，II7，II12，表2，实施例3	1-20
X	US 5332811 A (UNIV NORTH CAROLINA) 1994年 7月 26日 (1994-07-26) 说明书第31栏表4，实施例34-36，38，41，42，第39栏流程5，权利要求书	1-20

☑ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：

"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或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（如具体说明的）

"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，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件

"X" 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

"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，要求保护的发明不具有创造性

"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2015年 7月 4日	2015年 7月 22日

ISA/CN的名称和邮寄地址	受权官员
中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 中国	徐赤
传真号 (86-10)62019451	电话号码 (86-10)62086349

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
X	杨桦等. "4β-卤代芳香酸4'-去甲表鬼臼酯类的合成及抗肿瘤活性" 兰州大学学报（自然科学版）, 第第38卷卷, 第第2期期, 2002年 4月 30日 (2002-04-30), 第101-105页，摘要，图2，化合物1-12，表4	1-20
X	SANG, Chun-Yan等. "Synthesis and evaluation of the apoptosis inducing and CT DNA interaction properties of a series of 4β-carbamoyl 4'-O-demethylepipodophyllotoxins" European Journal of Medicinal Chemistry, 第第70期期, 2013年 10月 6日 (2013-10-06), 第59-67页，摘要，第61页流程1化合物15-16，第62页表2	1-20
X	XIAO, Zhiyan等. "Antitumor Agents. 213.Modeling of Epipodophyllotoxin Derivatives Using Variable Selection k Nearest Neighbor QSAR Method" Journal of Medicinal Chemistry, 第第45卷卷, 第第11期期, 2002年 4月 24日 (2002-04-24), 第2294-2309页，摘要，表1和表2化合物59-62，64，67-71，143-146	1-20
X	GUPTA, R. S.等. "Synthesis and biological activities of the C-4 esters of 4'-demethylepipodophyllotoxin" Anti-Cancer Drug Design, 第第2卷卷, 第第1期期, 1987年 12月 31日 (1987-12-31), 第13-23页，摘要，图2，图3，化合物XXX-XXXIV，表I和II	1-20

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2015/076505

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	102850364	A	2013年 1月 2日	无			
CN	103351394	A	2013年 10月 16日	无			
CN	103351395	A	2013年 10月 16日	无			
CN	1946727	A	2007年 4月 11日	CA	2562617	C	2013年 6月 11日
				CA	2562617	A1	2005年 10月 27日
				DK	1742952	T3	2008年 10月 27日
				AU	2005233382	B2	2009年 7月 16日
				BR	PI0509912	A	2007年 9月 18日
				JP	2007532628	A	2007年 11月 15日
				WO	2005100363	A1	2005年 10月 27日
				MY	137712	A	2009年 2月 27日
				HR	P20080542	T3	2008年 12月 31日
				MX	PA06011886	A	2006年 12月 14日
				SI	1742952	T1	2008年 12月 31日
				HK	1095812	A1	2009年 1月 16日
				EP	1742952	A1	2007年 1月 17日
				FR	2869035	B1	2006年 7月 14日
				US	7846926	B2	2010年 12月 7日
				US	2011053967	A1	2011年 3月 3日
				DE	602005008578	D1	2008年 9月 11日
				US	2009170843	A1	2009年 7月 2日
				RS	50628	B	2010年 6月 30日
				AT	402938	T	2008年 8月 15日
				CY	1108444	T1	2014年 4月 9日
				AU	2005233382	C1	2010年 2月 4日
				JP	4876070	B2	2012年 2月 15日
				PT	1742952	E	2008年 10月 27日
				WO	2005100363	A8	2006年 10月 26日
				FR	2869035	A1	2005年 10月 21日
				AR	048607	A1	2006年 5月 10日
				ES	2311985	T3	2009年 2月 16日
				AU	2005233382	A1	2005年 10月 27日
				EP	1742952	B1	2008年 7月 30日
				CN	1946727	B	2010年 8月 11日
				ZA	200609055	A	2008年 6月 25日
CN	1068330	A	1993年 1月 27日	无			
US	5332811	A	1994年 7月 26日	无			