

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D471/14

A61K 31/435

/(C07D471/14, 22

1: 00, 221: 00, 209: 00)

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 97194492. X

[45] 授权公告日 2002 年 4 月 10 日

[11] 授权公告号 CN 1082509C

[22] 申请日 1997. 5. 2 [24] 颁证日 2002. 4. 10

[21] 申请号 97194492. X

[30] 优先权

[32] 1996. 5. 10 [33] IT [31] MI96A000944

[86] 国际申请 PCT/EP97/02244 1997. 5. 2

[87] 国际公布 WO97/43290 英 1997. 11. 20

[85] 进入国家阶段日期 1998. 11. 9

[73] 专利权人 因迪纳有限公司

地址 意大利米兰

[72] 发明人 E·鲍姆巴德利 L·威罗塔

[56] 参考文献

CN1121075 1996. 4. 24 C07D471/04

审查员 陈 真

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事
务所

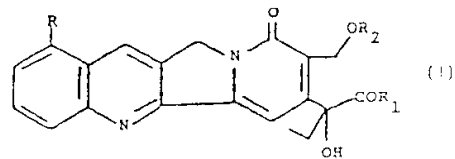
代理人 唐伟杰

权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 从马比木分离的喜树碱骨架化合物及其
作为新药物及治疗剂的合成子的用途

[57] 摘要

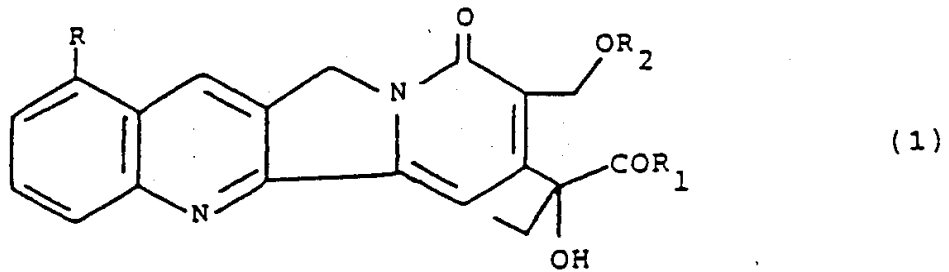
本发明涉及式(1)新的生物碱的分离或半合成, 该生物碱存在于马比木的各个部分, 本发明还涉及使用所述生物碱的药物以及该生物碱作为制备具有抗肿瘤和抗病毒活性的化合物的新合成子的用途; 所述物质是用于制备喜树碱和 Foetidine I 和 II 的新类似物的新的合成子。这些新化合物的水溶性具有非常重要的意义, 因为无需进行衍生化即可进行胃肠外给药。



ISSN 1008-4274

权利要求书

1. 式(1)化合物:



其中 R 是氢原子或甲氧基; R_1 是羟基、OM 基团, 其中 M 是碱的阳离子, C_1-C_6 烷氧基、选择性取代的苯氧基、氨基、 C_1-C_6 单烷基氨基或 C_2-C_{12} 二烷基氨基, 其中的烷基部分可选择性地被氨基取代, 或芳基氨基; R_2 是 C_1-C_6 烷基或式 COR_3 的基团, 其中的 R_3 是 C_1-C_6 烷基或选择性取代的苯基或苄基, 条件是 R, R_1 和 R_2 不同时分别为 H, $NHCH(CH_3)_2$, $COCH_3$ 或 COC_5H_{11} 。

2. 根据权利要求 1 的化合物, 其中 M 为选自钠和钾的碱阳离子。

3. 根据权利要求 1 的化合物, 其中 R 是氢或甲氧基, R_1 是羟基或 OM 基团, R_2 是乙酰基。

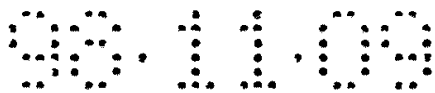
4. 权利要求 3 的化合物作为中间体的用途。

5. 权利要求 3 化合物的制备方法, 包括将预先在低于 $50^\circ C$ 的温度下干燥的马比木植物材料用脂族的酮或脂族的酯萃取, 然后用脂族醇萃取。

6. 权利要求 3 化合物的制备方法, 包括将喜树碱的 C_{17} 羟基在碱性溶媒中选择性乙酰化。

7. 权利要求 1 化合物的制备方法, 包括将权利要求 3 的化合物用已知方法酯化或酰胺化。

8. 用于制备抗肿瘤细胞毒性药物的含有权利要求 1-3 的化合物作为活性成分的药物组合物。



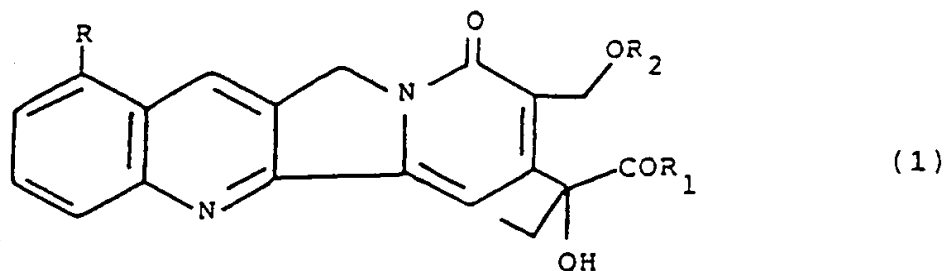
说明书

从马比木分离的喜树碱骨架化合物 及其作为新药物及治疗剂的合成子的用途

本发明涉及从马比木分离的喜树碱骨架生物碱或通过半合成从所述生物碱制得的喜树碱骨架化合物。

马比木是一种生长在印度次大陆的植物，已知在其各个部分、尤其是种子中含有喜树碱、mappicine 和 foetidine I 和 II(EP-A-685481)，“药物化学杂志”，1979, vol. 22 No. 3 记载了喜树碱衍生物及其制备。

本发明的生物碱具有如下结构通式：



其中 R 是氢原子或甲氧基；R₁ 是羟基、OM 基团，其中的 M 是碱的阳离子，优选钠或钾、C₁-C₆ 烷氧基、选择性取代的苯氧基、氨基、C₁-C₆ 单烷基氨基或 C₂-C₁₂ 二烷基氨基，其中的烷基部分可选择性地被氨基取代、芳基氨基；R₂ 是 C₁-C₆ 烷基或式 COR₃ 的基团，其中的 R₃ 是 C₁-C₆ 烷基或选择性取代的苯基或苄基。

苯氧基、苯基或苄基可以被卤原子、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、硝基、氰基、C₁-C₃ 卤代烷基取代。

其中的 R 是氢或甲氧基，R₁ 是羟基或 OM 基团(M = 钠或钾)，R₂ 是乙酰基的化合物 1 可以从马比木分离得到：对在不超过约 50 °C、优选 35 °C 的温度下人工干燥的植物材料进行萃取，首先用脂族的酮或脂族的酯，然后用脂族醇萃取。在该操作条件下，可以以高的收率萃取到喜树碱的 17-乙酰基衍生物和 9-甲氧基-喜树碱酸(camptothecinic acid)。尽管将马比木作为喜树碱的选择性来源对其进行了广泛的研究，但并未鉴定出上述的生物碱，这可能是由于在用不适当溶剂萃取的过程中它们

降解成了喜树碱。在脂族醇的存在下，这些生物碱即使是在萃取的中性 pH 下也很容易转变成喜树碱。

通过在碱性溶媒中选择性乙酰化喜树碱的 C₁₇ 羟基可得到同样的化合物。

所得到的化合物随后又可用作制备其中 R₂ 不是乙酰基和/或 R₁ 是以上定义的烷氧基、苯氧基或氨基的其它式 1 化合物或制备 Foetidines I 和 II 的原料。为此，可使用制备酯或酰胺的常规方法，例如，将其中 R₁ 是 OM 基团的化合物 1 与烷基卤化物如溴乙酸乙酯或苄酯反应来制备酯，或将其中 R₁ 是 OH 的化合物 1 与胺和二环己基碳二亚胺反应来制备酰胺。

化合物 1 对肿瘤细胞系具有细胞毒性。例如，表 1 给出了对结肠癌系 (HCT116) 和对最常用的化疗剂具有抗药性的同种品系 (HCT116/VM46) 的细胞毒性。结果证实了本发明的化合物比喜树碱更为有效。

表 1: 17-乙酰基-喜树碱酸和喜树碱的细胞毒性

	IC ₅₀ (nMoles/ml)	
	HCT116 品系	HCT116/VM46 品系
喜树碱	10.5	96.7
17-乙酰基-喜树碱酸	8.2	25.3

因此，可将化合物 1 用作抗肿瘤药物组合物的活性成分与适宜载体如可注射生理溶液混合。剂量可在宽的范围(5-500mg/天)内变动，但原则上为约 10mg 生物碱/天。

用以下实施例进一步说明本发明。

实施例 1

17-乙酰基-喜树碱酸和 17-乙酰基-9-甲氧基喜树碱酸的分离

将 3 Kg 马比木种子用无水丙酮在室温下萃取三次(3 × 3l)。将合并

的萃取液浓缩至干得到 580g 蜡状物质，其中含有喜树碱、9-甲氧基-喜树碱和少量的 17-乙酰基-喜树碱酸。将用丙酮萃取后的植物材料用甲醇于 10 °C 下再次反复萃取(3 × 3l)；将萃取液低温下浓缩后得到 200g 干燥残余物，将其悬浮于 1l 水中，用 500ml 正丁醇萃取三次；将合并的丁醇萃取液于不超过 30 °C 的温度下真空浓缩至干。得到 28.9g 富含 17-乙酰基-喜树碱酸和 9-甲氧基-17-乙酰基-喜树碱酸的混合物的生物碱馏份，将其用 RP18 柱进行反相色谱，用甲醇/水和甲醇洗脱得到分别由香豆酰胍基丁胺和喜树碱酸组成的三种馏份。将该馏份进一步通过硅胶纯化得到 3.8g 17-乙酰基-喜树碱酸，其具有如下波谱学和物理化学特征：m.p.: 258 °C, $\alpha_D =$

+63.4 (c=0.05, H₂O); ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 0.85 (t, 3H, H-18), 1.95 (m+s, 5H, H-19+COCH₃), 5.20 (s, 2H, H-17), 5.40, 6.0 (q, $J_{AB} = 10.6$ Hz, H-5), 7.65-8.65 (m, 6H, arom).

9-甲氧基-17-乙酰基-喜树碱酸的量为 17-乙酰基-喜树碱酸的五分之一，其具有如下波谱学和物理化学特征：m.p. 208 °C, $\alpha_D = 56.4$ (c = 0.05H₂O).

实施例 2

从喜树碱制备 17-乙酰基-喜树碱酸

将 1g 喜树碱悬浮在 30ml 水中，加入 340mg 氢氧化钠并在 40 °C 下搅拌 2 小时或直至完全溶解；真空蒸除水并将残余物加入 20ml DMF 中，反应剧烈；向溶液中逐渐加入 600mg 乙酸酐并将反应混合物搅拌约 2 小时。真空蒸除溶剂，残余物在氯仿/甲醇/水 5: 6: 4 混合物之间进行分配。将甲醇相浓缩至干并将残余物结晶得到具有与实施例 1 中报道的特征相同的 17-乙酰基-喜树碱酸。

实施例 3

17-乙酰基喜树碱-21-甲酯

将 17-乙酰基喜树碱(100mg, 0.25mmol)溶于无水 DMF(8ml)，向其

中加入无水碳酸钾(68mg, 0.49mmol)和碘甲烷(69mg, 0.49mmol), 室温下搅拌 20 小时。将反应混合物过滤并用氯仿(5ml)洗涤。将滤液用氯仿(10ml)稀释并用水(5ml × 3)洗涤。将有机相用无水硫酸钠干燥。过滤后, 真空蒸除溶剂并将残余物(170mg)进行闪式色谱(氯仿: 甲醇 = 9: 1)。得到固体状标题化合物(45mg, 收率 45%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.02 (t, $J=7$ Hz, 3H, H-18), 2.09 (s, 3H, OCOCH_3), 2.26-2.45 (m, 2H, H-19), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 5.38 (s, 2H, H-5), 5.52 (s, 2H, H-17), 7.51-8.42 (m, 6H, arom)

MS (EI) M^+ 422

m.p. (分解) : 234-235°C.

按照相同的方法, 但用溴乙酸乙酯或溴乙酸叔丁酯代替碘甲烷, 得到相应的乙酯(a)或叔丁酯(b):

(a) $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.10 (t, $J=7.5$ Hz, 3H, H-18), 1.30 (t, $J=7.5$ Hz, 3H, CH_3), 2.10 (s, 3H, OCOCH_3), 2.30-2.55 (m, 2H, H-19), 4.25 (q, $J=7.5$ Hz, 2H, CH_2), 4.70 (q, $J_{\text{AB}}=15$ Hz, 2H, OCOCH_2CO), 5.32 (s, 2H, H-5), 5.52 (s, 2H, H-17), 7.6 (m, 5H, arom).

(b) $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.10 (t, $J=7.5$ Hz, 3H, H-18), 1.46 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.10 (s, 3H, OCOCH_3), 2.35-2.52 (m, 2H, H-19), 4.60 (q, $J_{\text{AB}}=15$ Hz, 2H, OCOCH_2CO), 5.30 (s, 2H, H-5), 5.52 (s, 2H, H-17), 7.58-8.38 (m, 6H, arom).

实施例 4

1-脱乙酰基-喜树碱酸, 21-酯

将化合物 b(60mg, 0.11mmol)溶于无水氯仿(2ml)。于 0 °C 及氮气气氛下加入碘代三甲基硅烷(33mg, 0.17mmol), 0 °C 下搅拌 1 小时, 然后室

温搅拌 1 小时。将反应混合物倒入 5% 碳酸氢钠溶液(5ml)中。将水相反复用氯仿洗涤，直至氯仿相成为无色。将水相用 2.5% 盐酸于 0℃ 下中和至 pH7 并用丁醇(5ml × 6)萃取。合并丁醇相并真空蒸发得到残余物(51mg)，将其进行闪式硅胶色谱，用氯仿-甲醇洗脱得到标题化合物(11mg)。

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : (ppm) 0.82 (t, $J=7\text{Hz}$, 3H, H-18), 2.12 (s+m, 5H, H-19 and H-17), 4.29 (f, $J_{\text{AB}} = 15\text{ Hz}$, 2H, $\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{OCH}_3\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}$), 5.22 (s, 2H, H-5), 6.62 (s, 1H, OH), 7.50-8.62 (m, 6H, arom).

^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : (ppm) 7.7 (t, C-19), 13.7 (t, C-17), 30.01 (f, C-18), 50.2 (f, C-5), 63.9 (f, C-5), 77.5 (s, C-20), 99.1 (d, C-14), 125.9 (s, C-16), 127.3 (d, C-10), 127.8 (s, C-8), 128.6 (d, C-9), 128.9 (d, C-12), 129.7 (s, C-6), 130.3 (d, C-11), 131.4 (d, C-7), 141.3 (s, C-3), 148.0 (s, C-13), 150.7 (s, C-15), 153.9 (s, C-2), 160.8 (s, 16a), 171.0 (s, $-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{COH}$), 172.8 (s, C-21).