

(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
2013年2月28日 (28.02.2013)



(10) 国际公布号
WO 2013/026383 A1

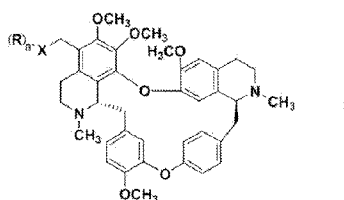
- (51) 国际专利分类号:
C07D 491/18 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/4748 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2012/080384
- (22) 国际申请日: 2012年8月20日 (20.08.2012)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
PCT/CN2011/078622 2011年8月19日 (19.08.2011)
CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 杭州本生药业有限公司 (HANGZHOU BENSHENG PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市滨江区江陵路 88 号 6 幢 4 层, Zhejiang 310051 (CN)。
- (72) 发明人; 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): 徐荣臻 (XU, Rongzhen) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市黄姑山路 20 号 1 幢 3 单元 101 室, Zhejiang 310012 (CN)。 荣风光 (RONG, Frank) [US/CN]; 中国浙江省杭州市西湖区天目山路 150 号世贸丽晶城初阳苑 3 单元 501 室, Zhejiang 310012 (CN)。 谢福文 (XIE, Fuwen) [CN/CN]; 中国福建省龙岩市上杭县临江镇东方花园西区 3 号, Fujian 364200 (CN)。 赖洪喜 (LAI, Hongxi) [CN/CN]; 中国福建省龙岩市上杭县临江镇解放路 641 号, Fujian 364200 (CN)。
- (74) 代理人: 北京市金杜律师事务所 (KING & WOOD MALLESONS); 中国北京市朝阳区东三环中路 1 号环球金融中心办公楼东楼 20 层, Beijing 100020 (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, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, 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, 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, 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, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: TETRANDRINE DERIVATIVES WITH SUBSTITUTED 5-CARBON, PREPARATION METHOD AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物、及其制备方法和应用



(57) Abstract: The present invention belongs to the field of natural medicine and medicinal chemistry, in particular relating to novel tetrandrine derivatives with substituted 5-carbon of general formula (I) or pharmaceutically acceptable adducts, complexes and salts thereof, to preparation methods therefor, to pharmaceutical compositions containing the compound, and to use thereof in preparing antitumour drugs.

(57) 摘要: 本发明属于天然药物及药物化学领域, 具体涉及通式 (I) 的新型 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的加成物, 复合物和盐, 制备这些化合物的方法、包含该化合物的药物组合物及其在制备抗肿瘤药物中的用途。



WO 2013/026383 A1

5-位碳取代的汉防己甲素衍生物、及其制备方法和应用

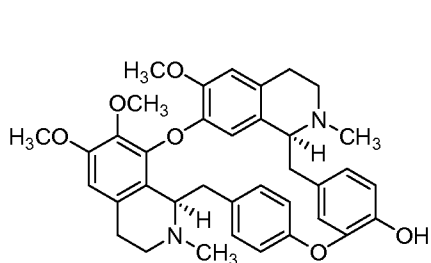
技术领域

5 本发明属于天然药物及药物化学领域，并涉及新型汉防己甲素衍生物，特别是5-位碳取代的汉防己甲素衍生物，及制备这些化合物的方法、包含该化合物的组合物及其在制备抗肿瘤药物中的用途。

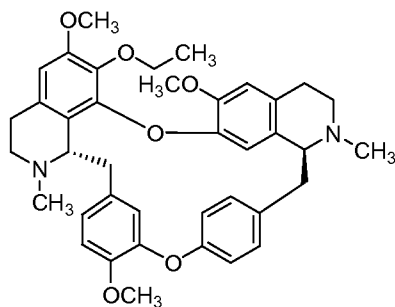
背景技术

10 汉防己甲素(tetrandrine, TTD)，又叫粉防己碱，化学式(6,6',7,12-四甲氧基-2,2'二甲基小檗胺)，是从中草药防己的根块中提取的双苜基异喹啉类生物碱。汉防己甲素对中枢神经有抑制作用，有消炎、镇痛、退热作用，由于其直接扩张周围血管，降压作用显著而持久，因此可用于风湿性疼痛、关节炎、神经痛、肌肉痛及各种类型的高血压。汉防己甲素对心脏有负性肌力作用，负性频率作用及负性传导作用，并降低心
15 肌耗氧量，可延长心肌的不应期和房室传导，增加心肌血流量，降低总外周血管阻力，使血压下降，降压时无反射性心率增快，由于后负荷降低，心输出量可增加。这些作用均与其钙拮抗作用有关。因此，各国的科学家对汉防己甲素及其衍生物和类似物进行了广泛的研究。(季宇彬等. 中药抗肿瘤有效成分药理与应用. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社,
20 1995; Su, J. Y. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol. 1993. 347:445-451; Wei, N.; Sun, H.; Wang, F. P. Cancer Chemother Pharmacol. 2011, 67:1017-1025; Rahman, A. U. Chem Pharm Bull, 2004, 52(7): 802; 汪纪武等. 植物药有效成分手册. 北京: 人民卫生出版社, 1986; Knox, V. D. Use of tetrandrine and its derivatives to treat malaria. [P]. US 5025020.
25 1991; Virginio, C.; Graziani, F.; Terstappen, G. C. Neuroscience Letters. 2005. 381:299-304; Karen, O. L.; Carolina, G. A.; Alexey, v. E.; Anatoly, K. Y. Org. Biomol. Chem. 2004, 2:1712-1718; 林沐彬等, 粉防己碱-N-氧化物的化学研究, 化学学报, 1984, 42(2):199-203; Tsutsumi, T.; Kobayashi, S.; Liu, Y. Y.; Kontani, H. Biol. Pharm. Bull. 26(3):313-317.)

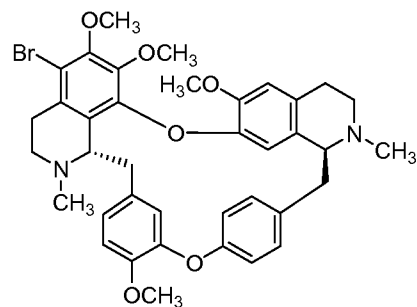
30



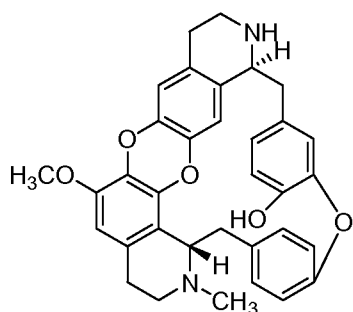
Oxyacanthine
尖刺碱
CAS: 15352-74-6



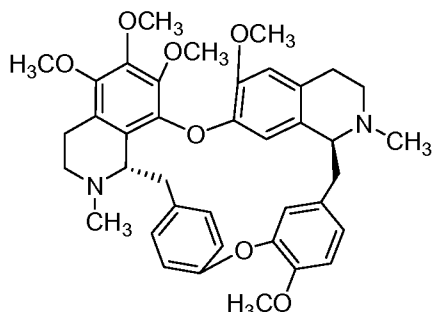
7-O-ethyl tetrandrine
7-O-乙基汉防己甲素



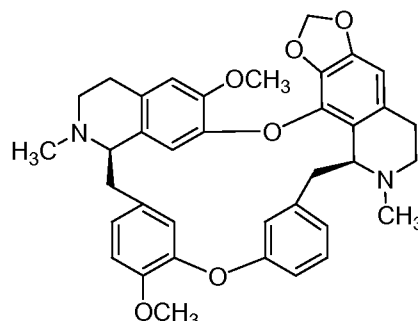
5-Bromotetrandrine
5-溴代汉防己甲素



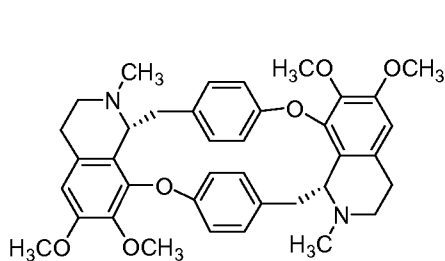
Cocsoiline
防己索林
CAS: 54352-70-4



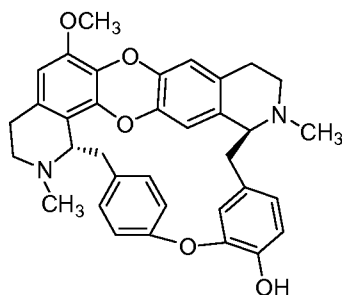
Thalrugosaminine
绉唐松草宁
CAS: 22226-73-9



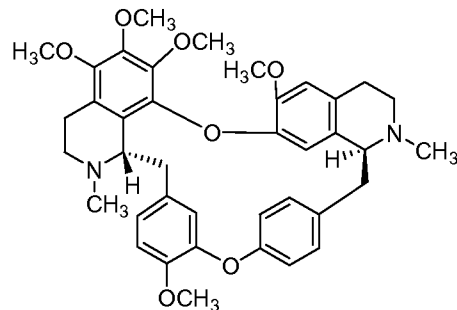
Cepharanthine
千金藤素
CAS: 481-49-2



Cycleanine
环轮藤宁
CAS: 518-94-5

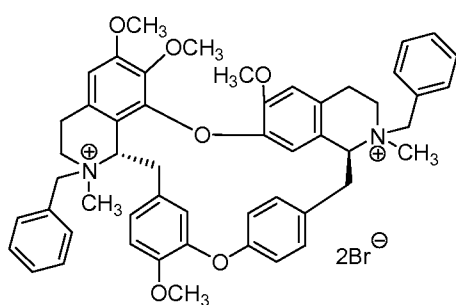


Cocsoiline
防己苏林
CAS: 26279-88-9

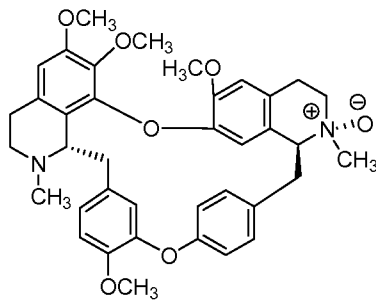


Hernandezine
鹤氏唐松草碱
CAS: 6681-13-6

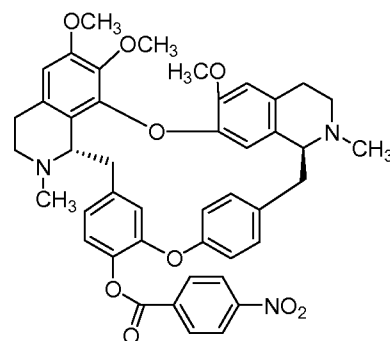
5



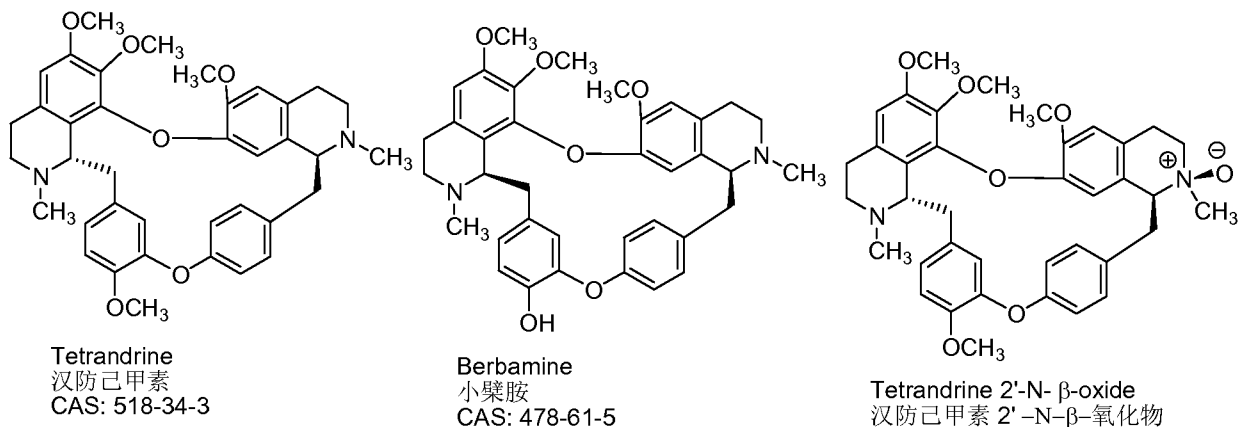
N,N'-dibenzyl-tetrandrine
N,N'-二苄基-汉防己甲素



Tetrandrine 2'-N-α-oxide
汉防己甲素 2'-N-α-氧化物



E6-berbamine
12-对硝基苯甲酰氧基-汉防己甲素



汉防己甲素及其衍生物和类似物

汉防己甲素对宫颈癌HeLa细胞具有增殖抑制作用，研究采用MTT法，
5 检测汉防己甲素在不同浓度及不同时间对人宫颈癌HeLa细胞株的增殖抑制作用。通过流式细胞仪和激光共聚焦显微镜检测细胞凋亡情况。实验证明，汉防己甲素对宫颈癌HeLa细胞具有增殖抑制作用，且呈时间、浓度依赖性。（朱克修等，粉防己碱诱导宫颈癌细胞凋亡的定性定量研究，西安交通大学学报(医学版)，2010，31(1)，102）。

10 汉防己甲素能抑制肝癌细胞的增殖。汉防己甲素作用于肝癌细胞后，在2小时内引起活性氧的产生，随着剂量的增大，ROS产生明显增加，提示汉防己甲素可能通过干扰细胞线粒体的功能而产生活性氧，引起细胞脂质过氧化、损伤DNA分子或调节细胞凋亡相关基因而抑制肝癌细胞的增殖。（荆绪斌等，汉防己甲素诱导肝癌细胞氧化损伤的实验研究，临床肝胆病杂志，2002，18(6)，366）。

15 此外报道了体外汉防己甲素对人神经母细胞瘤 TGW 有明显的生长抑制作用。研究显示，随着剂量的增大，抑制作用逐渐增强，随着作用时间的延长抑制作用也明显增强，有着良好的剂量时间相关性（李巍松等，临床儿科杂志，汉防己甲素诱导神经母细胞瘤株 TDW 凋亡作用的实验研究，2006，24(6)，512）。

汉防己甲素具有上述干扰肿瘤细胞，抑制其分裂增殖，诱导细胞凋亡，肿瘤生长之外，还能调节 P-糖蛋白介导的多药耐药细胞的耐药性及下调耐药基因 *mdr1*mRNA 表达。

25 有报道通过体外实验证明汉防己甲素用于耐药肺癌后，耐药指数有用阿霉素时的 5.43 降至 1.89，说明汉防己甲素可以逆转 GLC-82/ADR 耐药肺癌细胞对阿霉素的耐药。此外，有研究汉防己甲素对人乳腺癌多药耐药株 MCF-7/ADR 的逆转作用，发现 2.5 μmol/L 的汉防己甲素可使阿霉素对耐药肿瘤的细胞毒性增加 20.4 倍。证明汉

防己甲素对肿瘤 ADR 逆转具有极大的潜在作用。(徐萌等, 汉方己甲素逆转肺癌化疗耐药和凋亡抗性的实验研究, 实用癌症杂志, 2003, 18(4): 347; Fu, L. W, et al. The multidrug resistance of tumour cells was reversed by tetrandrine in vitro and in xenografts derived from human breast adenocarcinoma MCF-7/adr cells. *European Journal of Cancer*, 2002, 38(3):418)。

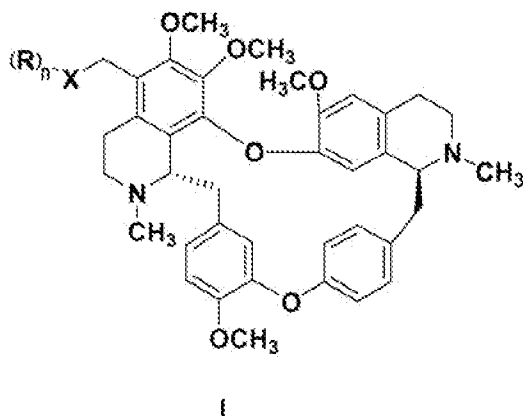
此外, 临床实验还证实, 汉防己甲素可促进照射后的癌细胞由 G2 期进入 M 期, 减少放疗细胞损伤修复时间, 从而达到放疗增敏的目的。

有报道通过对汉防己甲素增加乳腺癌细胞放射敏感性的实验研究得出, 细胞受照射后诱导的周期阻滞与 p53 基因功能有密切关系。细胞在受到 γ 射线照射后, 其 Cyclin B1 与 Cdc2 蛋白表达水平明显降低, 分裂指数也明显降低, 说明汉防己甲素是一种 G2 期阻滞清除剂, 能显著增加 γ 射线对人乳腺癌细胞的杀伤作用。除此之外, 还有研究发现汉防己甲素对人食管癌 TE1 细胞立体实验具有放射增敏作用。实验选取低浓度汉防己甲素来研究放射增敏效应, 发现 TE1 细胞存活分数随辐射剂量增高呈指数型下降, 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 药物浓度时放射增敏最大达 1.62, 说明汉防己甲素对体外培养的食管癌细胞具有一定放射增敏作用, 其机制可能是通过增加周期蛋白 cyclin B1 表达解除细胞 G2+M 期阻滞。(田庆中等, 汉方己甲素增加乳腺癌细胞放射敏感性的实验研究, 东南大学学报, 2005, 24(4), 233; 于静萍等, 汉防己甲素对体外培养食管癌细胞放射增敏作用的初步研究, 中华放射肿瘤学杂志, 2010, 19(6), 568)。

显而易见, 市场仍需高活性的汉防己甲素药物。迄今, 尚未见到 5-位被碳原子取代与修饰的汉防己甲素衍生物的合成和应用的报道。

发明内容

本发明的目的之一是提供特征为通式(I)的新型 5-位取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的加成物, 复合物或者盐:



I

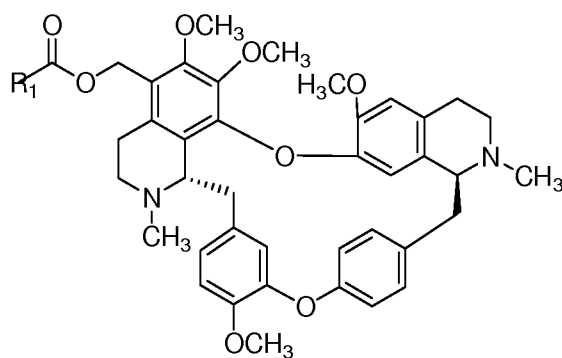
其中，

X 选自氧、硫、氮和羰氧基；

n 为 1 或 2，其中当 X 为氧或硫时，n=1；当 X 为氮时，n=2；

- 5 R 独立地选自 H、C₁-C₆ 烷基、C₃-C₇ 环烷基或环烯基、芳基或杂芳基、芳基-C₁-C₃ 烷基、杂芳基-C₁-C₃ 烷基、芳氧基-C₁-C₃ 烷基、杂芳氧基-C₁-C₃ 烷基，当 X 为羰氧基时，R 还可以为 C₁-C₆ 烷氧基或 C₁-C₆ 烷硫基，当 X 为氮时，两个 R 可以与它们连接的氮原子一起形成非芳香含氮杂环或含氮杂芳基；所述非氢基团任选地被选自下组的基团取代：卤素、氨基、
- 10 C₁-C₆ 烷基氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、巯基和 C₁-C₆ 烷硫基；所述环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、含氮杂环或含氮杂芳基任选地被选自 C₁-C₆ 烷基、羟基 C₁-C₆ 烷基、巯基 C₁-C₆ 烷基和苯基的基团取代。

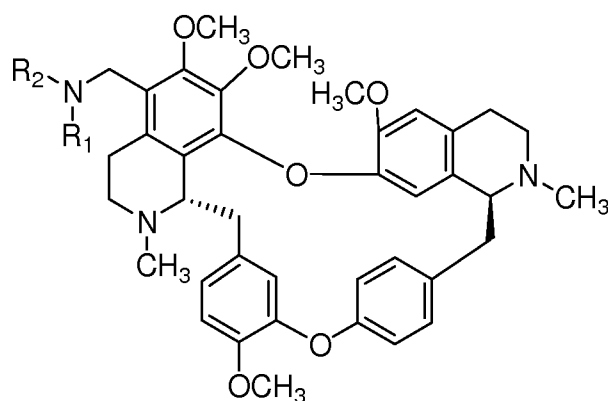
- 根据本发明的一个实施方案，本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素
- 15 衍生物或其药学上可接受的盐由通式(I-b)代表（式 I 中 X 为羰氧基）



I-b

其中， R_1 选自 H、 C_1 - C_6 烷基、芳基或杂芳基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷硫基，所述非氢基团任选地被选自下组的基团取代：卤素、氨基、 C_1 - C_6 烷基氨基、硝基、氰基、羟基、 C_1 - C_6 烷氧基、巯基和 C_1 - C_6 烷硫基；所述芳基和杂芳基任选地被选自 C_1 - C_6 烷基、羟基 C_1 - C_6 烷基和巯基 C_1 - C_6 烷基的基团取代。

根据本发明的另一实施方案，本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐由通式(I-c)代表（式 I 中 X 为氮）



I-c

10

其中， R_1 和 R_2 独立地选自氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_7 环烷基或环烯烃基、芳基- C_1 - C_3 烷基、杂芳基- C_1 - C_3 烷基、芳氧基- C_1 - C_3 烷基、杂芳氧基- C_1 - C_3 烷基，或者 R_1 和 R_2 与它们连接的氮原子一起形成非芳香含氮杂环或含氮杂芳基；所述非氢基团任选地被选自下组的基团取代：卤素、氨基、 C_1 - C_6 烷基氨基、硝基、氰基、羟基、 C_1 - C_6 烷氧基、巯基和 C_1 - C_6 烷硫基；所述环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、含氮杂环或含氮杂芳基任选地被选自 C_1 - C_6 烷基、羟基 C_1 - C_6 烷基、巯基 C_1 - C_6 烷基的基团取代和苯基的基团取代。

20 根据本发明的另一实施方案，本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐由通式(I-d)或 (I-e) 代表（式 I 中 X 为氧或硫），

本发明的目的之三是提供包含本发明化合物的药物组合物，所述药物组合物包括至少一种本发明化合物，和任选的药学上可以接受的赋形剂。

- 5 本发明的目的之四是提供本发明化合物或包含该化合物的药物组合物在制备药物、特别是抗肿瘤药物中的用途。相应地，本发明提供一种治疗肿瘤患者的方法，包括给予需要治疗的患者治疗有效量的至少一种本发明的化合物。所述肿瘤特别选自白血病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、肝癌、胃癌、乳腺癌、胆管细胞癌、胰腺癌、肺癌、大肠癌、
10 骨肉瘤、黑色素瘤、人宫颈癌、神经胶质瘤、鼻咽癌、喉癌、食管癌、中耳肿瘤、前列腺癌等。

本发明还涉及用于治疗肿瘤的本发明的化合物。

附图简要说明

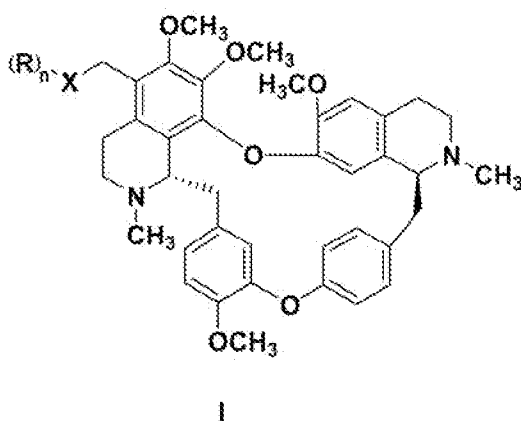
- 15 图 1: BS-TE-403 和 BS-TE-333 对裸鼠体重影响的动态变化;
图 2: BS-TE-403 和 BS-TE-333 对裸鼠人肺癌移植瘤影响的动态曲线;
图 3: 在施用 BS-TE-403 和 BS-TE-333 的裸鼠中的人肺癌移植瘤照片;
20 图 4: BS-TE-403 和 BS-TE-333 对裸鼠人肺癌移植瘤重量的影响;
图 5: BS-TE-403 和 BS-TE-333 对裸鼠人肺癌移植瘤的抑制作用;
图 6: BS-TE-354 对裸鼠体重影响的动态变化;
图 7: BS-TE-354 对裸鼠人肺癌移植瘤影响的动态曲线;
图 8: 在施用 BS-TE-354 的裸鼠中的人肺癌移植瘤照片;
25 图 9: BS-TE-354 对裸鼠人肺癌移植瘤重量的影响;
图 10: BS-TE-354 对裸鼠人肺癌移植瘤的抑制作用。

具体实施方式

- 本发明提供一类具有抗肿瘤活性的新型汉防己甲素衍生物、特别
30 是 5-位取代的汉防己甲素衍生物。

本发明涉及通式(I)的 5-位取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可

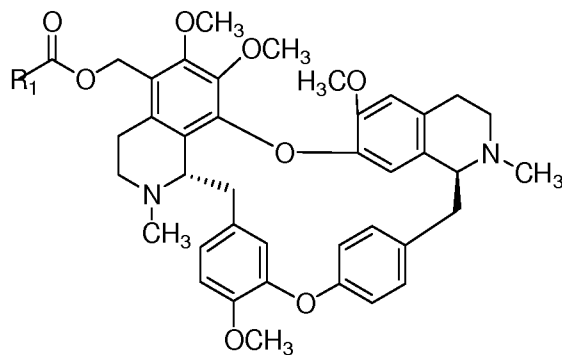
接受的加成物、复合物或者盐。



其中，

- 5 X选自氧、硫、氮和羰氧基；
 n为1或2，其中当X为氧或硫时，n=1；当X为氮时，n=2；
 R独立地选自H、C₁-C₆烷基、C₃-C₇环烷基或环烯基、芳基或杂芳基、芳基-C₁-C₃烷基、杂芳基-C₁-C₃烷基、芳氧基-C₁-C₃烷基、杂芳氧基-C₁-C₃烷基，当X为羰氧基时，R还可以为C₁-C₆烷氧基或C₁-C₆烷硫基，当X
 10 为氮时，两个R可以与它们连接的氮原子一起形成非芳香含氮杂环或含氮杂芳基；所述非氢基团任选地被选自下组的基团取代：卤素、氨基、C₁-C₆烷基氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆烷氧基、巯基和C₁-C₆烷硫基；所述环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、含氮杂环或含氮杂芳基任选地被选自C₁-C₆烷基、羟基C₁-C₆烷基、巯基C₁-C₆烷基和苯基的基团取
 15 代。

当式(I)中X为羰氧基时，本发明的5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐由通式(I-b)代表



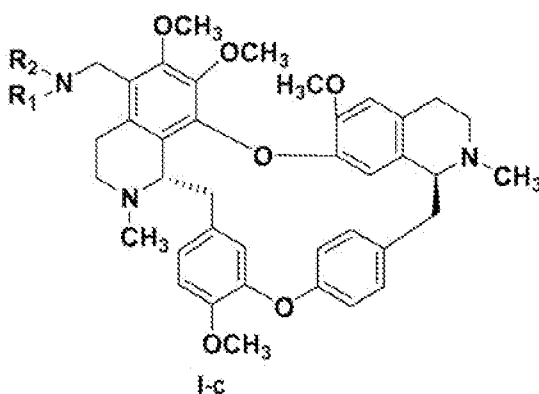
I-b

其中, R_1 选自 H、 C_1 - C_6 烷基、芳基或杂芳基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷硫基, 所述非氢基团任选地被选自下组的基团取代: 卤素、氨基、 C_1 - C_6 烷基氨基、硝基、氰基、羧基、 C_1 - C_6 烷氧基、巯基和 C_1 - C_6 烷硫基; 所述芳基和杂芳基任选地被选自 C_1 - C_6 烷基、羧基 C_1 - C_6 烷基和巯基 C_1 - C_6 烷基的基团取代。

优选地, 式(I-b)的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐中, R_1 选自 C_1 - C_6 烷基、芳基和杂芳基。

更优选地, 式(I-b)的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐中, R_1 选自甲基、乙基、丙基、异丙基、苯基、二甲基氨基苯基、呋喃基、噻吩基、甲基噻吩基等。

当式(I)中 X 为氮时, 本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐由通式(I-c)代表,



I-c

其中, R_1 和 R_2 独立地选自氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_7 环烷基或环烯基、芳

基-C₁-C₃烷基、杂芳基-C₁-C₃烷基、芳氧基-C₁-C₃烷基、杂芳氧基-C₁-C₃烷基，或者 R₁ 和 R₂ 与它们连接的氮原子一起形成非芳香含氮杂环或含氮杂芳基；所述非氢基团任选地被选自下组的基团取代：卤素、氨基、C₁-C₆烷基氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆烷氧基、巯基和 C₁-C₆烷硫基；所述环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、含氮杂环或含氮杂芳基任选地被选自 C₁-C₆烷基、羟基 C₁-C₆烷基、巯基 C₁-C₆烷基的基团取代和苯基的基团取代。

优选地，式(I-c)的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其要学上可接受的盐中，R₁ 和 R₂ 独立地选自氢、C₁-C₆烷基、C₃-C₇环烷基、芳基-C₁-C₃烷基、杂芳基-C₁-C₃烷基，或者 R₁ 和 R₂ 与它们连接的氮原子一起形成非芳香含氮杂环或含氮杂芳基。

优选地，式(I-c)的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药理学上可接受盐中，所述非氢基团被选自下组的基团取代：氨基、C₁-C₆烷基氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆烷氧基；所述环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、含氮杂环或含氮杂芳基被选自 C₁-C₆烷基、羟基 C₁-C₆烷基和苯基的基团取代。

优选地，式(I-c)的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药理学上可接受的盐中，R₁ 和 R₂ 独立地选自氢、任选地被羟基或 C₁-C₆烷氧基取代的 C₁-C₆烷基、任选地被羟基或 C₁-C₆烷氧基取代的 C₃-C₇环烷基、芳基上任选地被 C₁-C₆烷基取代的芳基-C₁-C₃烷基、杂芳基上任选地被 C₁-C₆烷基取代的杂芳基-C₁-C₃烷基，或者 R₁ 和 R₂ 与它们连接的氮原子一起形成非芳香含氮杂环基或含氮杂芳基，所述非芳香含氮杂环基任选地被选自羟基、羟基 C₁-C₆烷基、氨基、C₁-C₆烷基氨基、C₁-C₆烷基、氰基、硝基和苯基的基团取代。

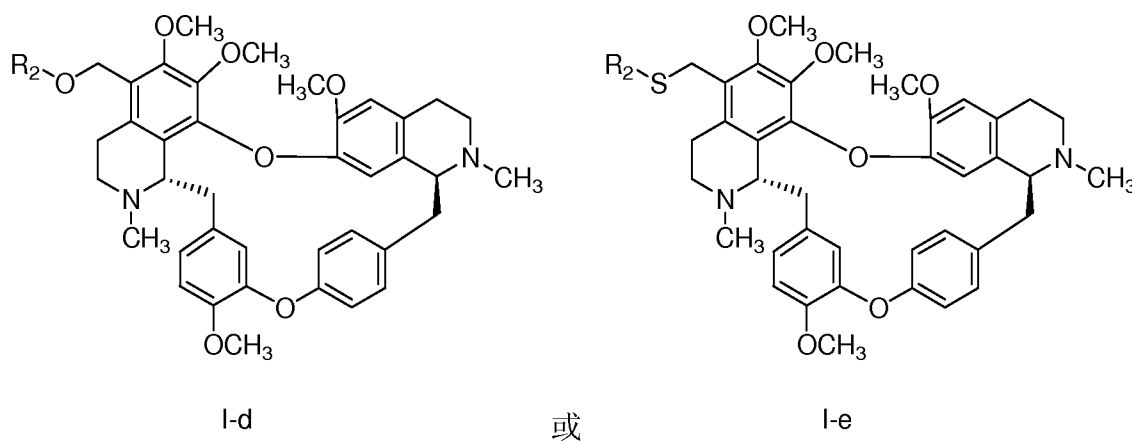
优选地，式(I-c)的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药理学上可接受的盐中，R₁ 和 R₂ 独立地选自氢、C₁-C₃烷氧基取代的 C₁-C₃烷基、C₃-C₆环烷基、芳基甲基、芳基（甲基）甲基、杂芳基甲基，或者 R₁ 和 R₂ 与它们连接的氮原子一起形成非芳香含氮杂环基，所述非芳香含氮杂环基任选地被选自羟基、羟基 C₁-C₆烷基、氨基、C₁-C₆烷基氨基、C₁-C₆

烷基、氰基、硝基和苯基的基团取代。

5 优选地,式(I-c)的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐中,所述非芳香含氮杂环为 5-7 元环,任选地除了与 R_1 和 R_2 连接的氮原子外还含有 1-2 个选自氮、氧和硫的杂原子;更优选地所述非芳香含氮杂环为吡咯烷基、吡咯啉基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、二氮杂环庚烷基。

10 优选地,式(I-c)的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐中,所述含芳基基团中的芳基优选为苯基;所述含杂芳基的基团中的杂芳基优选为任选被 C_1 - C_3 烷基取代的吡啶基、任选被 C_1 - C_3 烷基取代的咪唑基或任选被 C_1 - C_3 烷基取代的噻吩基。

当式(I)中 X 为氧或硫时,本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐由通式(I-d)或(I-e)代表,



其中, R_2 选自 C_1 - C_6 烷基、芳基、 C_3 - C_7 环烷基或环烯基、芳基- C_1 - C_3 烷基、杂芳基- C_1 - C_3 烷基、杂环基- C_1 - C_3 烷基、芳氧基- C_1 - C_3 烷基、杂芳氧基- C_1 - C_3 烷基,所述基团任选地被选自下组的基团取代: 卤素、氨基、
20 C_1 - C_6 烷基氨基、硝基、氰基、羧基、 C_1 - C_6 烷氧基、巯基和 C_1 - C_6 烷硫基;所述环烷基、环烯基、芳基和杂芳基任选地被选自 C_1 - C_6 烷基、羧基 C_1 - C_6 烷基和巯基 C_1 - C_6 烷基的基团取代。

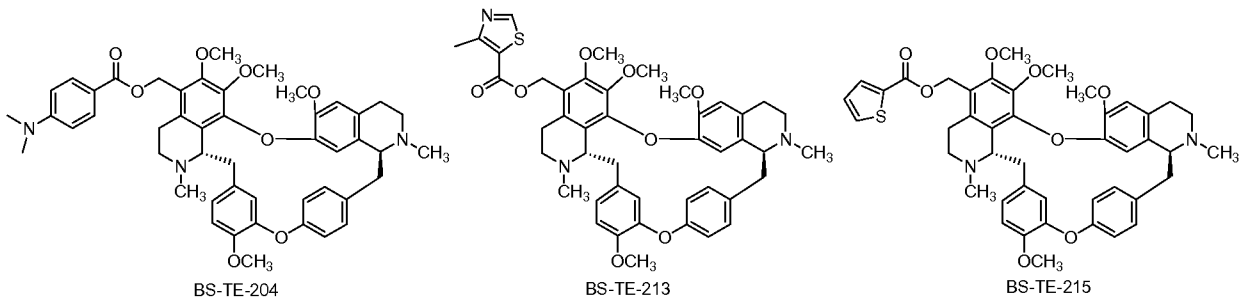
优选地,在式(I-d)或(I-e)的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药

学上可接受的盐中，R₂选自芳基-C₁-C₃烷基、杂芳基-C₁-C₃烷基、芳氧基-C₁-C₃烷基、杂芳氧基-C₁-C₃烷基。

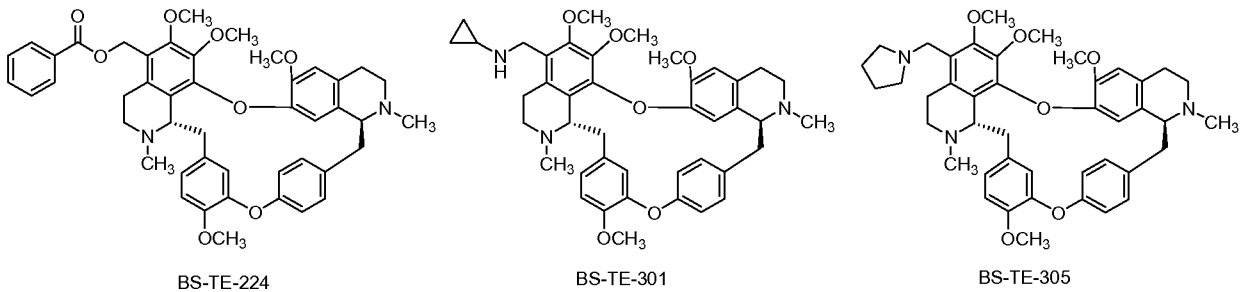
更优选地，式(I-d)或(I-e)的5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐中，所述含芳基基团中的芳基或含杂芳基基团中的杂芳基被选自卤素和C₁-C₆烷氧基的基团取代。

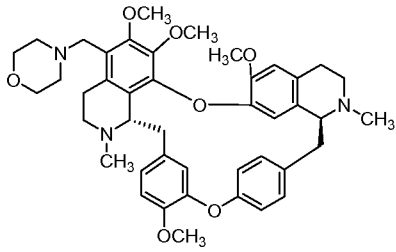
更优选地，式(I-d)或(I-e)的5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐中，所述含芳基基团中的芳基优选为苯基；所述含杂芳基基团中的杂芳基优选为吡啶基、咪唑基或噻吩基。

10 本发明的部分5-位碳取代的汉防己甲素衍生物如下所示。这些实施例只对本发明做进一步说明，并不对本发明的范围构成任何限制。

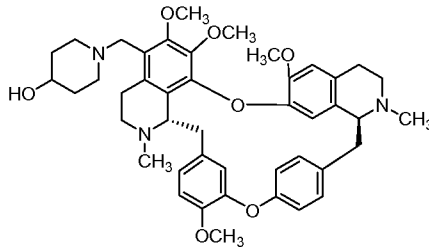


15

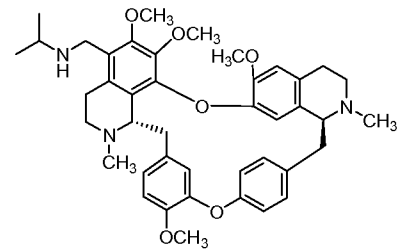




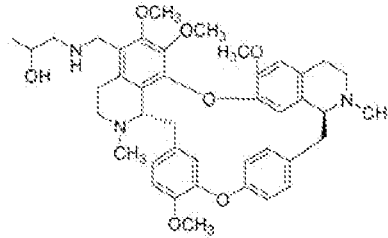
BS-TE-307



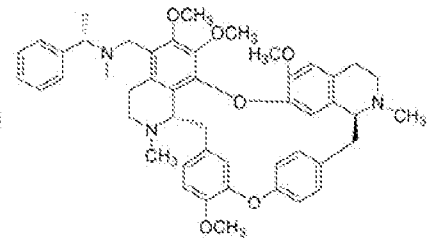
BS-TE-308



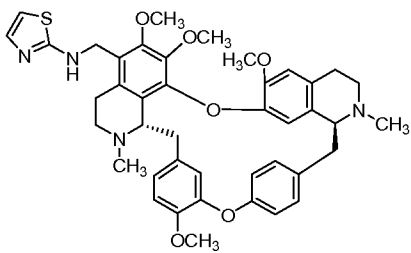
BS-TE-311



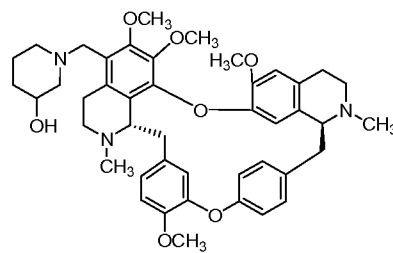
BS-TE-315



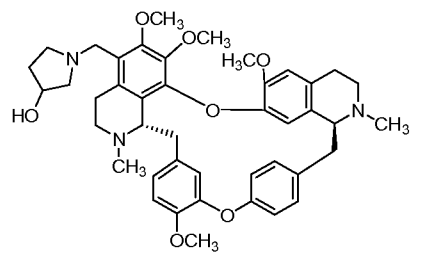
BS-TE-317



BS-TE-320

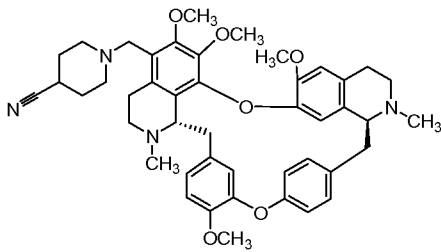


BS-TE-321

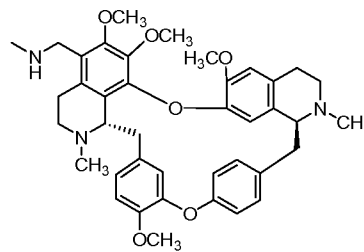


BS-TE-322

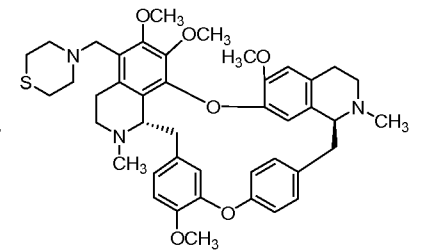
5



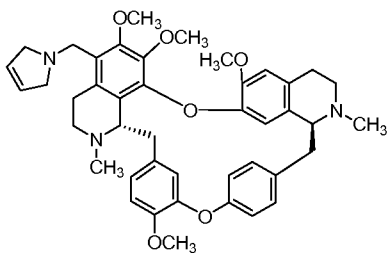
BS-TE-323



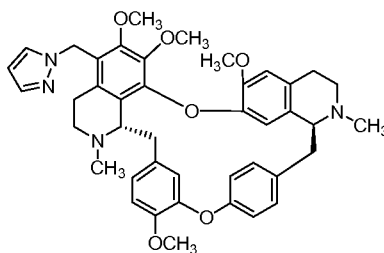
BS-TE-326



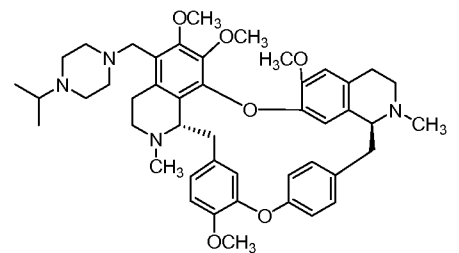
BS-TE-328



BS-TE-329

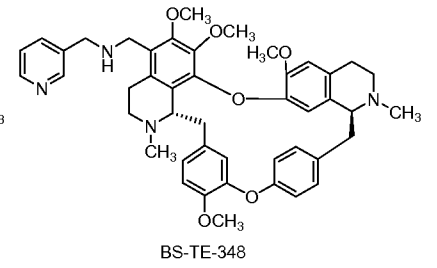
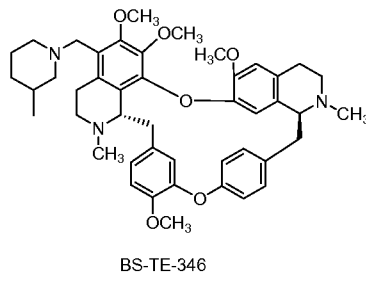
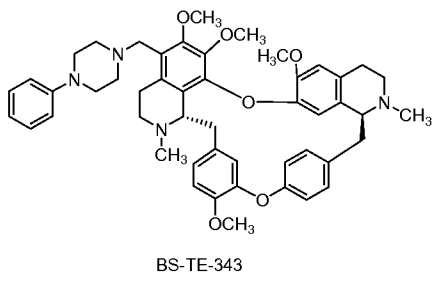
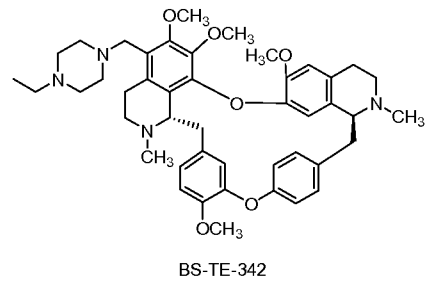
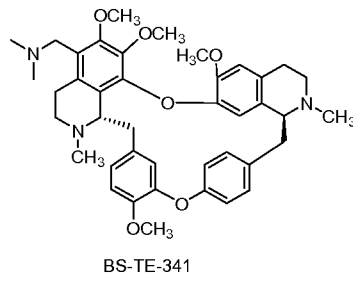
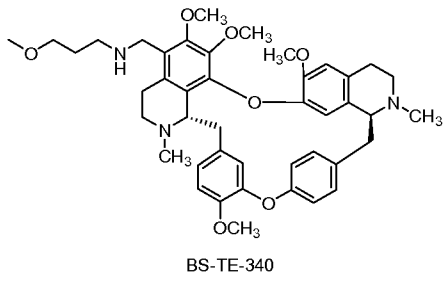
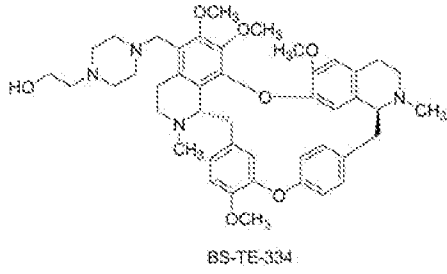


BS-TE-330

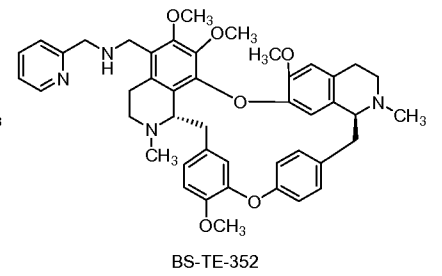
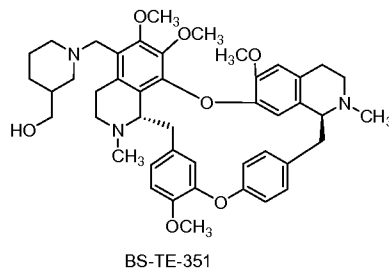
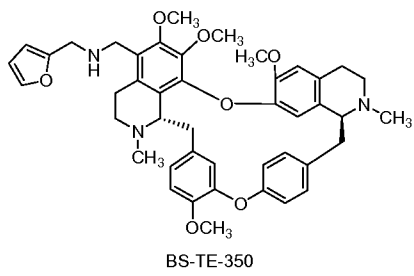


BS-TE-333

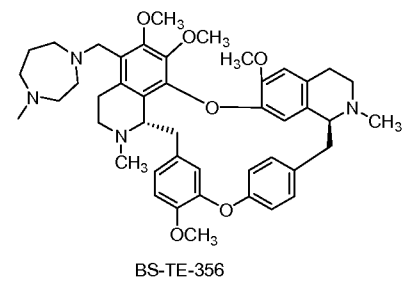
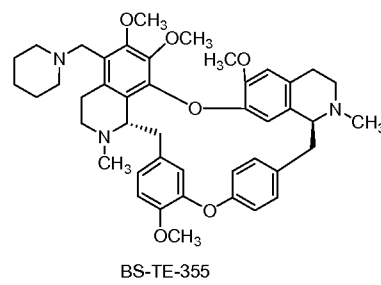
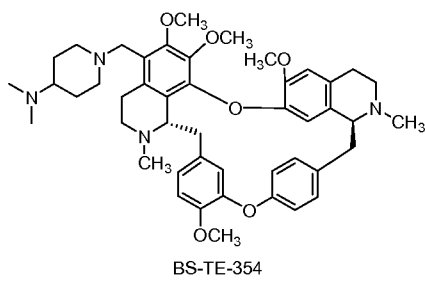
10

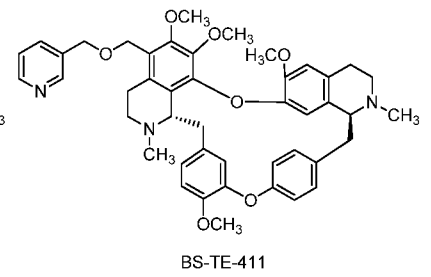
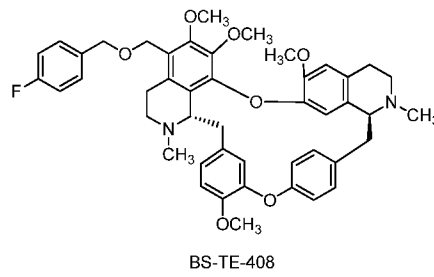
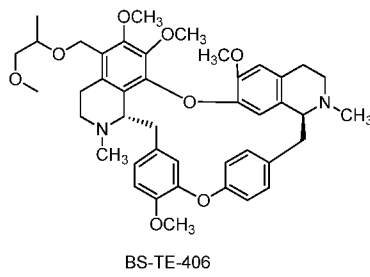
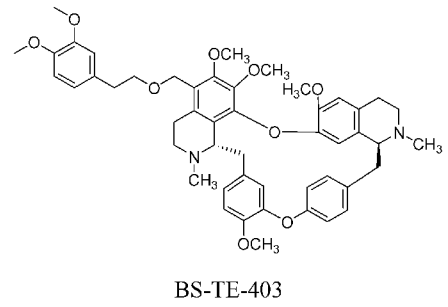
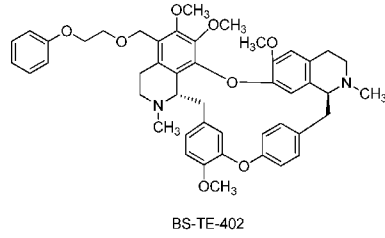
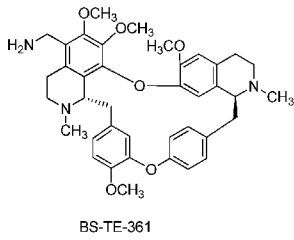
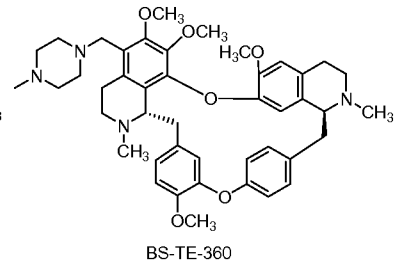
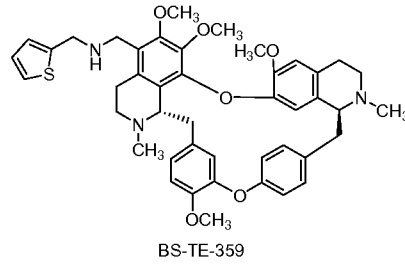
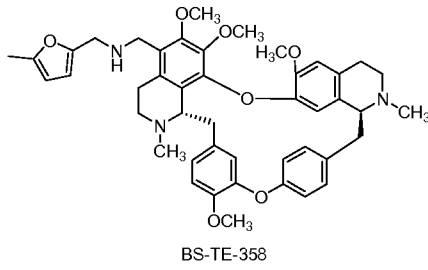


5

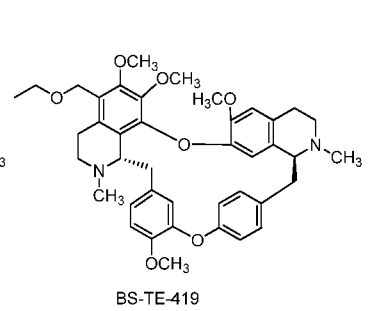
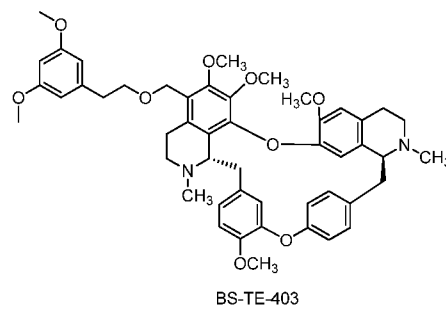
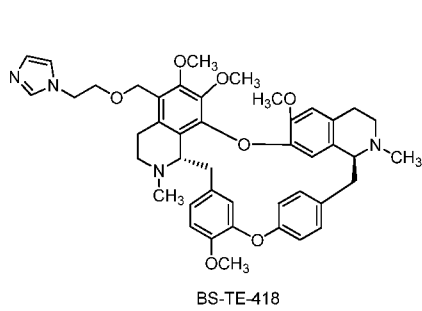
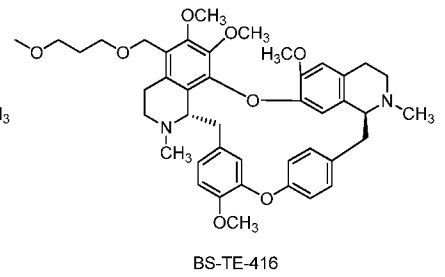
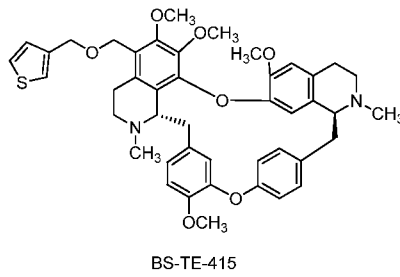
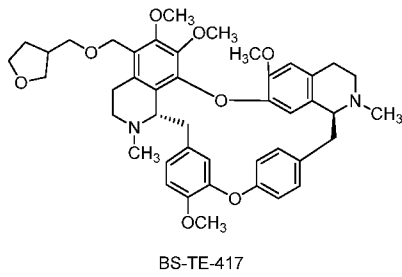


10

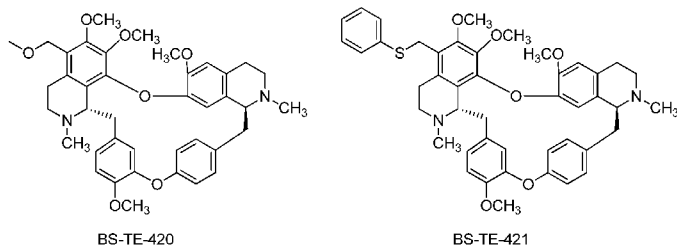




5



10

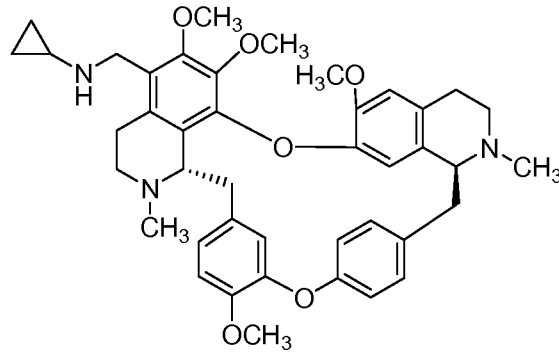


上面所列化合物的部分数据如下表所示:

化合物编号	分子式	分子量	外观	状态	两步反应收率(%)
BS-TE-204	C ₄₈ H ₅₃ N ₃ O ₈	799.95	暗黄色	粉末状固体	18
BS-TE-213	C ₃₉ H ₄₄ N ₂ O ₇	652.776	浅黄色	油状	22
BS-TE-215	C ₄₄ H ₄₆ N ₂ O ₈ S	762.91	黄色	粉末状固体	32
BS-TE-216	C ₄₄ H ₄₆ N ₂ O ₉	746.32	白色	粉末状固体	4
BS-TE-223	C ₄₁ H ₄₆ N ₂ O ₈	694.33	白色	粉末状固体	13
BS-TE-224	C ₄₆ H ₄₈ N ₂ O ₈	756.882	浅黄色	块状固体	8
BS-TE-301	C ₄₂ H ₄₉ N ₃ O ₆	691.36	白色	粉末状固体	4
BS-TE-305	C ₄₃ H ₅₁ N ₃ O ₆	705.38	白色	粉末状固体	22
BS-TE-307	C ₄₃ H ₅₁ N ₃ O ₇	721.88	浅红色	粉末状固体	42
BS-TE-308	C ₄₄ H ₅₃ N ₃ O ₇	735.91	黄色	粉末状固体	52
BS-TE-311	C ₄₂ H ₅₁ N ₃ O ₆	693.87	浅黄色	粉末状固体	23
BS-TE-315	C ₄₂ H ₅₁ N ₃ O ₇	709.87	浅黄色	粉末状固体	55
BS-TE-317	C ₄₈ H ₅₅ N ₃ O ₆	769.97	橘红色	粉末状固体	10
BS-TE-320	C ₄₂ H ₄₆ N ₄ O ₆ S	734.903	桔黄色	粉末状固体	8
BS-TE-321	C ₄₄ H ₅₃ N ₃ O ₇	735.91	棕黄色	粉末状固体	4
BS-TE-322	C ₄₃ H ₅₁ N ₃ O ₇	721.88	桔黄色	粉末状固体	10
BS-TE-323	C ₄₅ H ₅₂ N ₄ O ₆	744.92	白色	粉末状固体	23
BS-TE-326	C ₄₀ H ₄₇ N ₃ O ₆	665.818	浅黄色	粉末状固体	5
BS-TE-328	C ₄₃ H ₅₁ N ₃ O ₆ S	737.95	黄色	粉末状固体	5
BS-TE-329	C ₄₃ H ₄₉ N ₃ O ₆	703.866	白色	粉末状固体	9
BS-TE-330	C ₄₂ H ₄₆ N ₄ O ₆	702.34	白色	粉末状固体	12
BS-TE-333	C ₄₆ H ₅₈ N ₄ O ₆	762.44	白色	粉末状固体	34
BS-TE-334	C ₄₅ H ₅₆ N ₄ O ₇	764.41	白色	粉末状固体	19
BS-TE-340	C ₄₃ H ₅₃ N ₃ O ₇	723.39	白色	粉末状固体	6
BS-TE-341	C ₄₁ H ₄₉ N ₃ O ₆	679.844	白色	粉末状固体	30

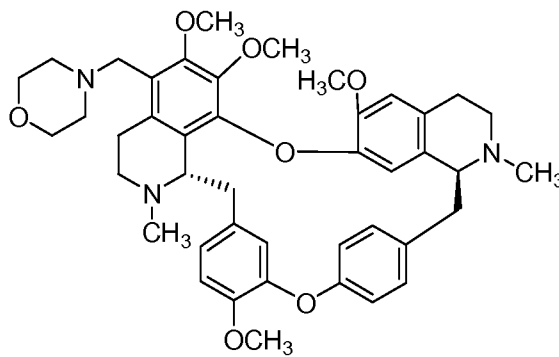
BS-TE-342	$C_{45}H_{56}N_4O_6$	748.95	黄褐色	粉末状固体	22
BS-TE-343	$C_{49}H_{56}N_4O_6$	796.99	浅粉色	粉末状固体	22
BS-TE-346	$C_{45}H_{55}N_3O_6$	733.94	白色	粉末状固体	24
BS-TE-348	$C_{45}H_{50}N_4O_6$	742.9	黄色	粉末状固体	18
BS-TE-350	$C_{44}H_{49}N_3O_7$	731.88	橙黄色	粉末状固体	18
BS-TE-351	$C_{45}H_{55}N_3O_7$	749.93	黄色	粉末状固体	32
BS-TE-352	$C_{45}H_{50}N_4O_6$	742.9	棕色	粉末状固体	32
BS-TE-354	$C_{46}H_{58}N_4O_6$	762.976	白色	粉末状固体	12
BS-TE-355	$C_{44}H_{53}N_3O_6$	719.91	白色	粉末状固体	29
BS-TE-356	$C_{45}H_{56}N_4O_6$	748.949	白色	粉末状固体	35
BS-TE-358	$C_{45}H_{51}N_3O_7$	745.902	白色	粉末状固体	18
BS-TE-359	$C_{44}H_{49}N_3O_6S$	747.941	白色	粉末状固体	15
BS-TE-360	$C_{44}H_{54}N_4O_6$	734.92	黄色	粉末状固体	25
BS-TE-361	$C_{39}H_{45}N_3O_6$	651.33	白色	粉末状固体	7
BS-TE-402	$C_{47}H_{52}N_2O_8$	772.92	黄色	粉末状固体	1
BS-TE-403	$C_{49}H_{56}N_2O_9$	816.4	白色	粉末状固体	14
BS-TE-406	$C_{43}H_{52}N_2O_8$	724.88	白色	粉末状固体	6
BS-TE-408	$C_{46}H_{49}FN_2O_7$	760.35	白色	粉末状固体	17
BS-TE-411	$C_{45}H_{49}N_3O_7$	743.36	白色	粉末状固体	11
BS-TE-415	$C_{44}H_{48}N_2O_7S$	748.32	白色	粉末状固体	10
BS-TE-416	$C_{43}H_{52}N_2O_8$	724.88	浅黄色	粉末状固体	9
BS-TE-417	$C_{44}H_{52}N_2O_8$	736.37	白色	粉末状固体	12
BS-TE-418	$C_{44}H_{50}N_4O_7$	746.37	白色	粉末状固体	17
BS-TE-419	$C_{41}H_{48}N_2O_7$	680.83	浅黄色	粉末状固体	30
BS-TE-420	$C_{40}H_{46}N_2O_7$	666.8	浅黄色	粉末状固体	11
BS-TE-421	$C_{45}H_{48}N_2O_6S$	744.94	浅黄色	粉末状固体	35
BS-TE-V1	$C_{44}H_{53}N_3O_8$	751.38	浅黄色	黏状固体	8

在另一种实施方式中，本发明特别优选如下的通式 (I) 化合物：



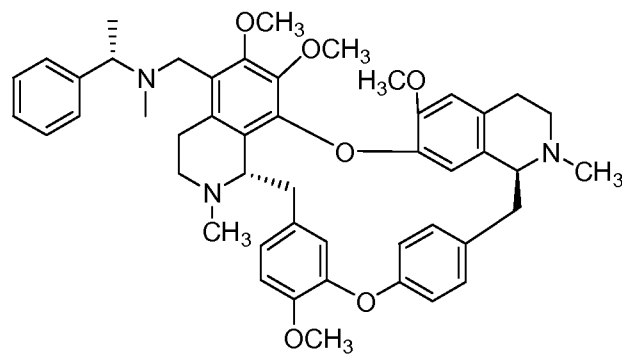
BS-TE-301

5-(环丙烷基-氨基-亚甲基)-汉防己甲素



BS-TE-307

5-(吗啡啉基-亚甲基)-汉防己甲素

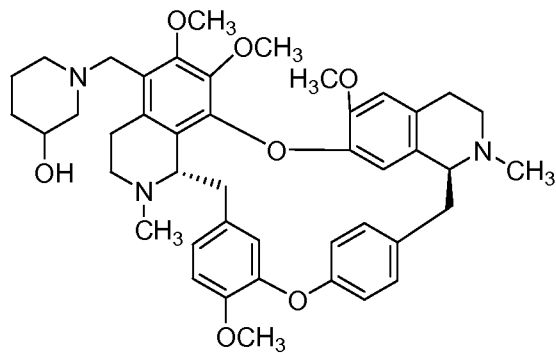


BS-TE-317

5-[(R)-N-甲基-苯乙胺基-亚甲基]-汉防己甲素

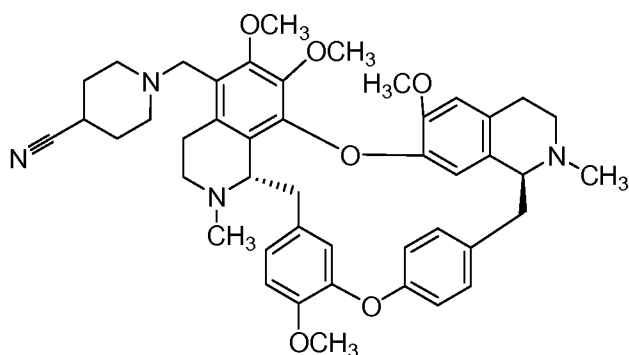
5

10



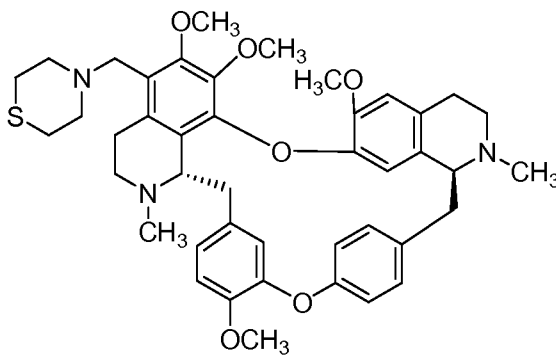
BS-TE-321

5-(*m*-羟基哌啶-亚甲基)-汉防己甲素



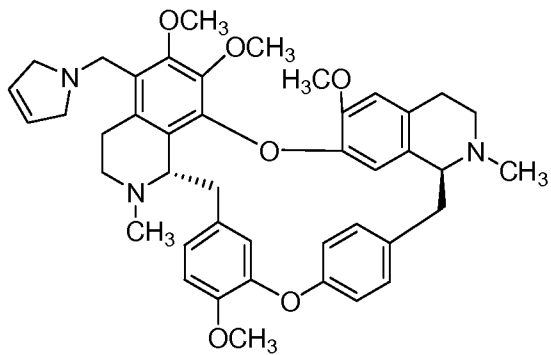
BS-TE-323

5-(*p*-氰基哌啶-亚甲基)-汉防己甲素



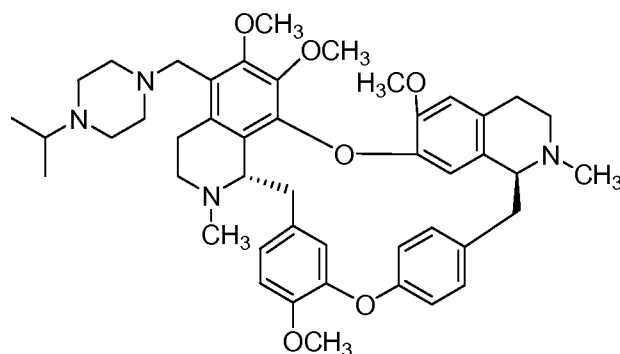
BS-TE-328

5-(硫代吗啉-亚甲基)-汉防己甲素



BS-TE-329

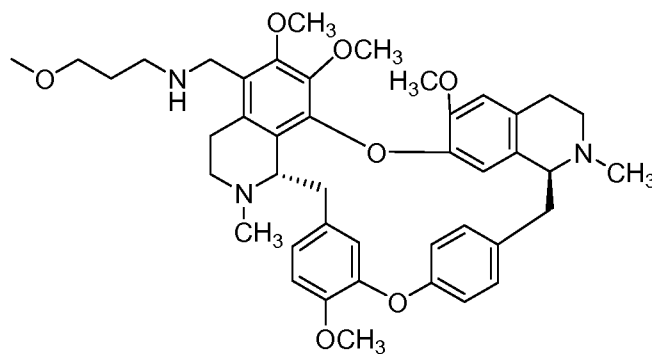
5-(2, 5-二氢吡咯-亚甲基)-汉防己甲素



5

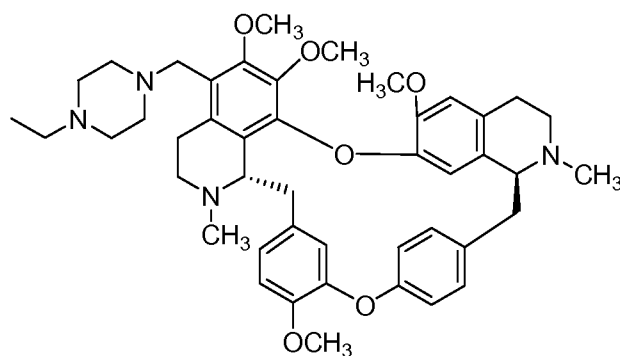
BS-TE-333

5-(N-异丙基哌嗪-亚甲基)-汉防己甲素



BS-TE-340

5-(甲氧基-丙胺基-亚甲基)-汉防己甲素



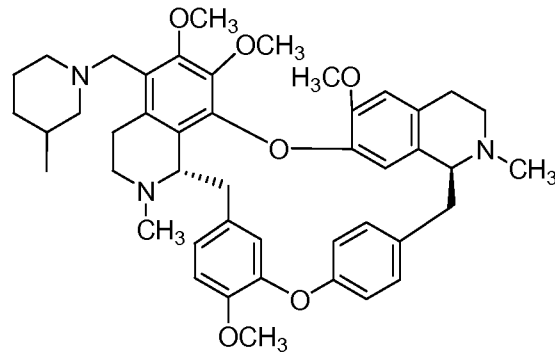
10

BS-TE-342

5-(N-乙基哌嗪-亚甲基)-汉防己甲素

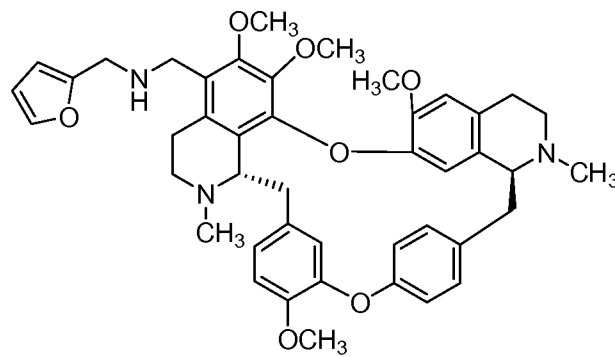


15



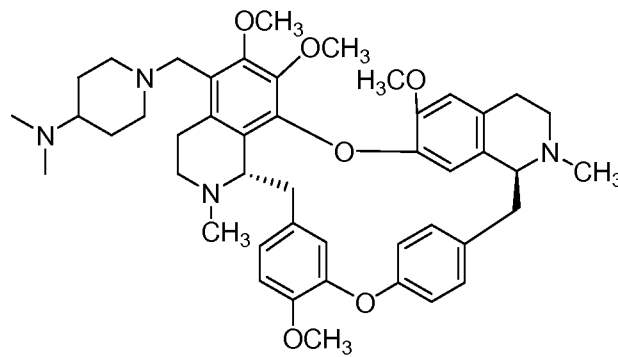
BS-TE-346

5-(*m*-甲基哌啶-亚甲基)-汉防己甲素



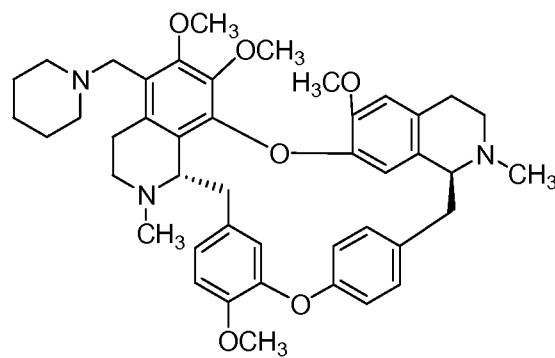
BS-TE-350

5-(呋喃-甲胺基-亚甲基)-汉防己甲素



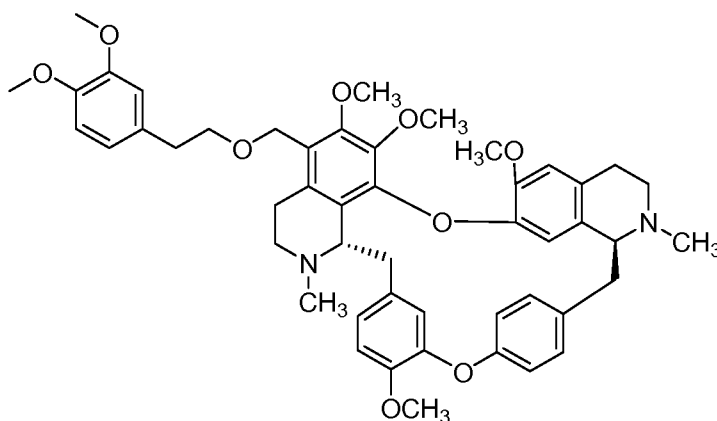
BS-TE-354

5-(4-二甲胺基哌啶-亚甲基)-汉防己甲素



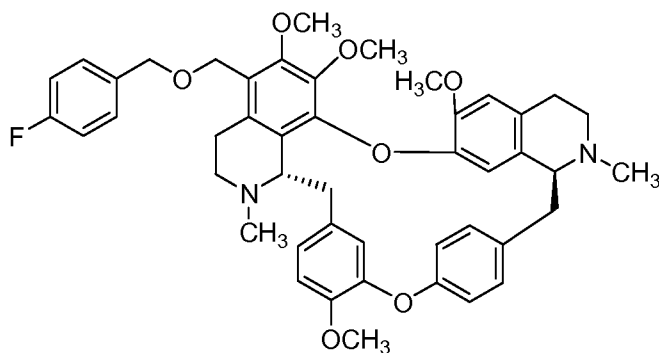
5

10



BS-TE-403

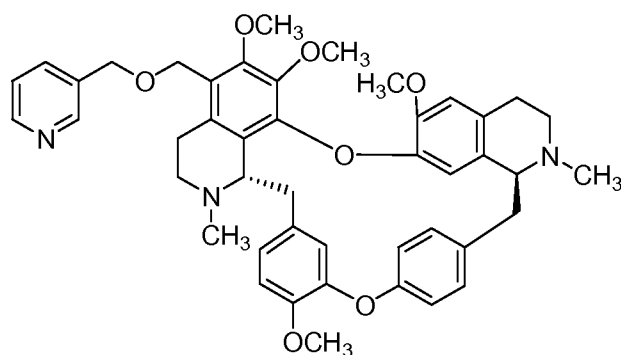
5-(3,4-二甲氧基-苄乙氧基-亚甲基)-汉防己甲素



BS-TE-408

5-(*p*-氟-苄甲氧基-亚甲基)-汉防己甲素

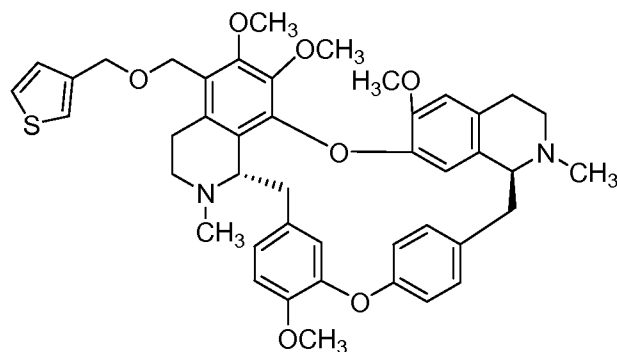
5



BS-TE-411

5-(*m*-吡啶甲氧基-亚甲基)-汉防己甲素

10



BS-TE-415

5-(*m*-噻吩甲氧基-亚甲基)-汉防己甲素

- 5 已经证明本发明化合物具有抗肿瘤活性，本发明优选的化合物具有显著优于汉防己甲素 TTD 的抗肿瘤活性。

本发明涉及以下形式的本发明的式(I)化合物：它们的盐、溶剂化物、水合物、加成物、复合物、多晶型物和前药。

- 10 如本文所使用，术语“烷基”是指含有指定碳原子数的直链或支链烷基，例如 C₁-C₆烷基、C₁-C₅烷基、C₁-C₄烷基、C₁-C₃烷基等。烷基的例子包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、叔丁基、正戊基、正己基等。

- 15 术语“C₃-C₇环烷基或环烯基”是指饱和（环烷基）或不饱和（环烯基）的 3-7 元单环烃基，包括 3-4 元环、3-5 元环、3-6 元环。例如 C₃-C₇环烷基可以为环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环戊烯基和环己烯基。

- 20 术语“芳基”是指含有 6-14 个碳原子的单碳环芳香基或稠合或非稠合的多碳环芳香基，在多碳环的情况下，只要一个碳环是芳香的即可。芳基也包括与杂环基稠合的芳基。所述芳基的例子有苯基、联苯基、萘基、5,6,7,8-四氢萘基、2,3-二氢苯并呋喃基等。

- 25 术语“杂芳基”是指在环中含有 1-4 个杂原子（例如 1、2、3 或 4 个杂原子）作为环成员的芳香环基团。杂原子是指氮、氧或硫。杂芳基可以是具有 5-7 个环原子的单环杂芳基，或者具有 7-11 个环原子的双环杂芳基。所述双环芳基中只要一个环是芳香杂环即可，另一个可以是

芳香的或非芳香的、含杂原子的或不含杂原子的。杂芳基的例子有例如吡咯基、吡唑基、咪唑基、噁唑基、吡啶基、嘧啶基、呋喃基、噻吩基、异噁唑基、吲哚基等。“含氮杂芳基”是指至少含有一个氮原子作为环成员的如上所定义的“杂芳基”。

- 5 “杂环基”含有 1-4 个杂原子（例如 1、2、3 或 4 个杂原子）作为环成员的非芳香环基团。杂原子是指氮、氧或硫。杂环基可以是具有 4-8 个环原子的单环杂环基（例如 4-7 元环、5-7 元环、5-6 元环），或者具有 7-11 个环原子的双环杂环基。杂环基可以是饱和的，或者不
- 10 饱和但非芳香的。杂环基的例子有氮杂环丁基、吡咯烷基、吡咯啉基、四氢呋喃基、二氢呋喃基、哌嗪基、哌啶基、吗啉基、硫代吗啉基、四氢吡喃基、四氢噻吩基等。

“含氮杂环基”是指至少含有一个氮原子作为环成员的如上所定义的“杂环基”。

术语“卤素”是指氟、氯、溴或碘。

- 15 术语“烷基氨基”是指被一个或两个具有指定碳原子数的烷基（包括环烷基）取代的氨基。

术语“烷氧基”包括烷氧基和环烷基氧基。

术语“烷硫基”烷硫基和环烷基硫基。

- 20 术语“式(I)化合物的药学上可以接受的加和物和复合物”是指本发明的化合物进一步与其他小分子或生物大分子以非化学键或者非共价分子间力结合的产物。

- 如本文所使用，术语“式(I)化合物的药学上可以接受的盐”的例子是由形成药学上可以接受的阴离子的有机酸形成的有机酸盐；这些有机酸盐包括但不限于甲苯磺酸盐、甲磺酸盐、苹果酸盐、醋酸盐、柠檬酸盐、丙二酸盐、酒石酸盐、琥珀酸盐、苯甲酸盐、抗坏血酸盐、 α -酮戊二酸盐和 α -甘油磷酸盐；也可形成合适的无机盐；这些无机酸盐包括但不限于盐酸盐、硫酸盐、硝酸盐、碳酸氢盐和碳酸盐、磷酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐等。
- 25

药学上可以接受的盐可使用本领域熟知的标准程序获得。例如，通过将足量的碱性化合物和提供药学上可以接受的阴离子的合适的酸反应生成。

如本文所使用，术语“多晶型物”是指本发明的化合物或其复合物的固体晶体形式。相同化合物的不同的多晶型物可以显示不同的物理、化学和/或光谱性质。不同的物理性质包括但不限于稳定性（例如，对热或光）、可压缩性和密度（对于配制制剂和产品生产是重要的）和溶解速率（其可以影响生物吸收度和利用度）。稳定性的不同会造成化学反应性（例如差异氧化，使得当由一种多晶型物构成时比由另一多晶型物构成时剂型更快地褪色）或机械性能（例如，储存时作为动力学有利的多晶型物的片剂碎末转化成热力学更加稳定的多晶型物）或两者（例如，一种多晶型物的片剂在高潮湿度时更加容易破碎）中的变化。多晶型物的不同的物理性质可以影响它们的加工。例如，一种多晶型物可能比另一种更可能形成溶剂化物或可能比另一种更加难以过滤或洗去杂质，这是由于其颗粒的形状或大小分布不同的缘故。

如本文所使用，术语“水合物”是指本发明的化合物或其盐，其进一步包含通过非共价分子间力结合的化学计量的或非化学计量的水。

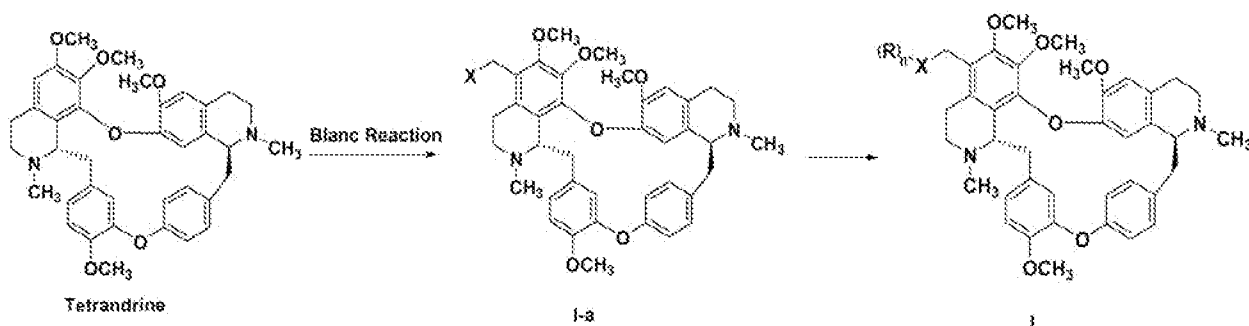
如本文所使用，除非另外说明，术语“前药”是指可以在生物学条件（体外或体内）下水解、氧化或进行其他反应以提供本发明的化合物的衍生物。前药仅在生物学条件下经过该反应成为活性化合物，或者它们在它们不反应的形式中具有活性。通常可以使用公知的方法制备前药，例如 1 Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery (1995) 172-178, 949-982 (Manfred E. Wolff Editor, 5th Edition) and J. Rautio's Prodrugs and Targeted Delivery (2011) 31-60 (Wiley-VCH, Methods and Principles in Medicinal Chemistry, Vol. 47) and G. Thomas's Fundamentals of Medicinal Chemistry (2003) 195-200(Wiley) 中描述的那些方法。

本发明化合物中 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物的两个手性中心

具有式 (I) 结构式所显示的立体化学结构。本文使用的立体化学的定义和约定一般遵循 MCGRAW-HILL DICTIONARY OF CHEMICAL TERMS (S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Book Company, New York, 1984); ELIEL, E. 和 WILEN, S., STEREOCHEMISTRY OF ORGANIC COMPOUNDS (John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994)。许多有机化合物以光学活性形式存在, 即它们具有旋转平面偏光的平面的能力。

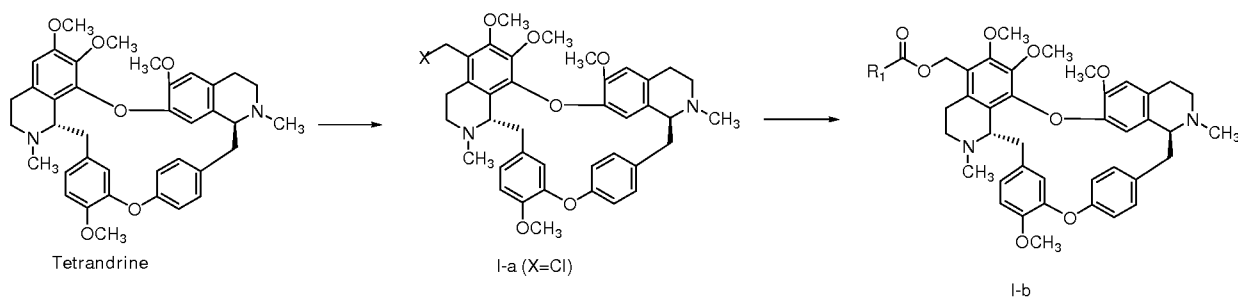
本文使用的术语“治疗”一般是指获得需要的药理和/或生理效应。该效应根据完全或部分地预防疾病或其症状, 可以是预防性的; 和/或根据部分或完全稳定或治愈疾病和/或由于疾病产生的副作用, 可以是治疗性的。本文使用的“治疗”涵盖了对患者疾病的任何治疗, 包括: (a) 预防易感染疾病或症状但还没诊断出患病的患者所发生的疾病或症状; (b) 抑制疾病的症状, 即阻止其发展; 或 (c) 缓解疾病的症状, 即, 导致疾病或症状退化。

本发明的化合物可以按照常规的有机化学合成方法制备。例如, 本发明的式(I)化合物的制备方法如下:



式(I)的原料汉防己甲素可由天然提取分离得到。汉防己甲素与甲醛在盐酸和二氯化锌存在下, 由布兰克(Blanc Reaction)氯甲基化反应, 生成 5-氯甲基汉防己甲素(I-a, X=Cl); 布兰克(Blanc Reaction)氯甲基化反应一般在低温或室温下进行。5-氯甲基汉防己甲素(I-a, X=Cl)可与小分子反应, 例如: 水、氨或氢碘酸, 生成相应的取代亚甲基衍生物, 5-羟甲基汉防己甲素(I-a, X=OH), 5-氨基汉防己甲素(I-a, X=NH₂), 和 5-碘甲基汉防己甲素(I-a, X=I)。5-氯甲基汉防己甲素(I-a, X=Cl)与相应的有机小分子, 经取代反应或缩合反应生成通式 (I) 5-位取代的汉防己甲素衍生物。

式(I)中 R 和 X 与上文在通式(I)中的定义相同。



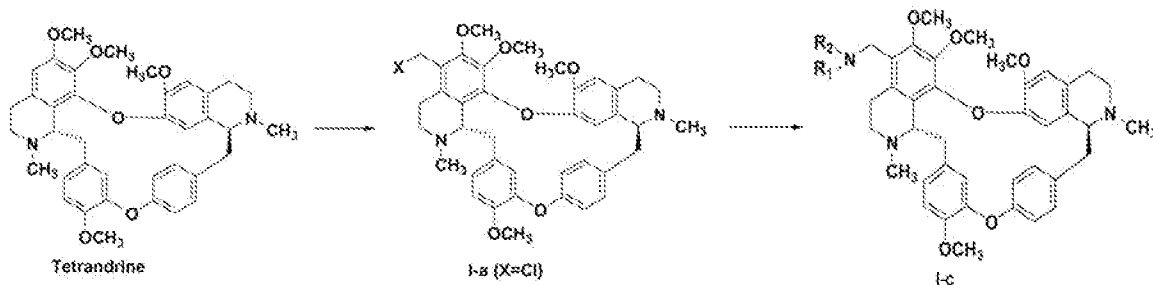
本发明通式 (I-b) 的 5-位酯化亚甲基的汉防己甲素衍生物可按上式所示
 5 反应制取。先由布兰克(Blanc Reaction)氯甲基化反应, 生成 5-氯甲基汉防己甲素(I-a, X=Cl); 再由其与相应的有机酸钠在碱存在下, 在有机溶剂中加热, 经亲核取代反应生成通式 (I-b) 的 5-位酯化亚甲基汉防己甲素衍生物。

上述反应使用的碱包括但不限于无机碱。例如: 氢化钠、氢氧化钠、
 10 氢氧化钾、氢氧化锂。有机酸钠可以是商购的反应原料, 也可使用有机酸在反应体系中生成有机酸钠。

上述反应的温度取决于有机酸根的反应活性, 可以是 50-80°C。

上述反应一般在溶剂中进行。反应的溶剂包括但不限于乙腈, N,N-二甲基甲酰胺, 四氢呋喃。

15 式(I-b)中 R₁ 和 X 与上文在通式(I)中的定义相同, X (为 Cl) 在反应中作为离去基团。



本发明通式 (I-c) 的 5-位烷基胺化亚甲基汉防己甲素衍生物可按上
 20 式所示反应制取。先由布兰克(Blanc Reaction)氯甲基化反应, 生成 5-氯甲基汉防己甲素(I-a, X=Cl); 再由其与相应的有机胺在碱存在下, 在有机溶剂中加热, 经亲核取代反应生成通式 (I-c) 的 5-位烷基胺化亚甲基

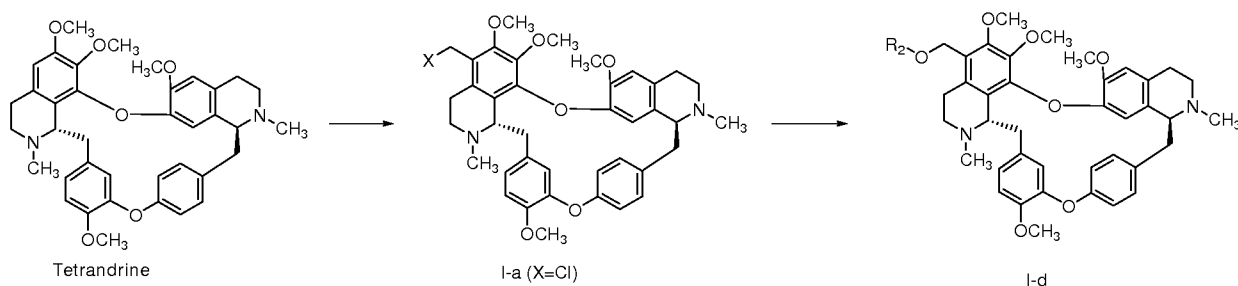
汉防己甲素衍生物。

上述反应使用的碱包括但不限于有机碱。例如：N,N-二异丙基乙基胺。(DIPEA)，三乙基胺(TEA)，吡啶，4-二甲胺基吡啶(DMAP)。

上述反应的温度取决于有机酸胺的反应活性，可以是 50–80°C。

5 上述反应一般在溶剂中进行。反应的溶剂包括但不限于乙腈，N,N-二甲基甲酰胺，四氢呋喃。

式(I-c)中 R_1 、 R_2 和 X 与上文在通式(I)中的定义相同。X (为 Cl) 在反应中作为离去基团。



15 本发明通式 (I-d) 的 5-位烷氧亚甲基汉防己甲素衍生物可按上式所示反应制取。先由布兰克(Blanc Reaction)氯甲基化反应，生成 5-氯甲基汉防己甲素(I-a, X=Cl)；再与其与相应的有机醇或有机醇钠在碱存在下，在有机溶剂中加热，经亲核取代反应生成通式 (I-d) 的 5-位烷氧亚甲基汉防己甲素衍生物。

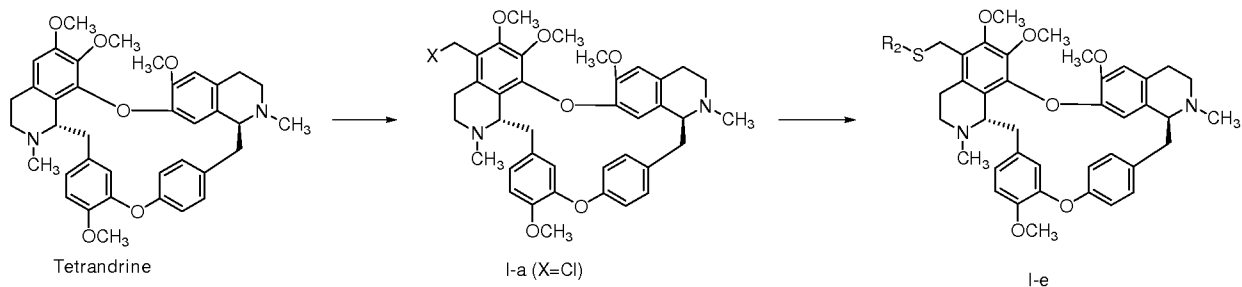
上述反应使用的碱包括但不限于无机碱。例如：例如：氯化钠、氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化锂。有机醇钠可以是商购的反应原料，也可使用醇在反应体系中生成有机醇钠。

20 上述反应的温度取决于醇的反应活性，可以是 50–80°C。

上述反应一般在溶剂中进行。反应的溶剂包括但不限于乙腈，N,N-二甲基甲酰胺，四氢呋喃。

式(I-d)中 R_1 和 X 与上文在通式(I)中的定义相同。X (为 Cl) 在反应中作为离去基团。

25



本发明通式 (I-e) 的 5-位烷硫基亚甲基汉防己甲素衍生物可按上式所示反应制取。先由布兰克(Blanc Reaction)氯甲基化反应, 生成 5-氯甲基汉防己甲素(I-a, X=Cl); 再与其与相应的有机硫醇或有机硫醇钠在碱存在下, 在有机溶剂中加热, 经亲核取代反应生成通式 (I-e) 的 5-位烷硫基亚甲基汉防己甲素衍生物。

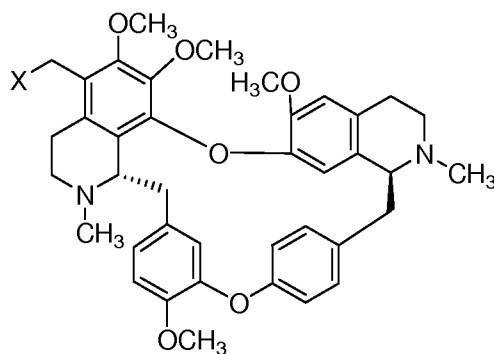
上述反应使用的碱包括但不限于无机碱。例如: 例如: 氯化钠、氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化锂。有机硫醇钠可以是商购的反应原料, 也可使用有机硫醇在反应体系中生成有机硫醇钠。

上述反应的温度取决于有机硫醇的反应活性, 可以是 50-80°C。

上述反应一般在溶剂中进行。反应的溶剂包括但不限于乙腈, N,N-二甲基甲酰胺, 四氢呋喃。

式(I-e)中 R_1 和 X 与上文在通式(I)中的定义相同. X (为 Cl) 在反应中作为离去基团。

本发明还涉及可用于制备本发明化合物的中间体式 I-a 化合物或其盐,



I-a

其中, X 选自羟基、巯基、氨基和卤素。

上述反应的原料: 有机酸、有机酸钠盐、有机酸酐、有机酰卤、醇、

硫醇、醇钠、硫醇钠、有机胺全部可以在市场上购买获得。汉防己甲素原料由天然产物提取分离得到，可从市场购买获得。

上述反应的一般操作可以是但不局限于：向 5-氯甲基汉防己甲素的乙氰溶液中，投入合适比例的反应物原料和碱或缩合剂。在加热搅拌下反应数小时，然后用有机溶剂萃取生成的产物，经水洗和饱和食盐水洗、干燥、浓缩，得到粗品。再用高效液相色谱仪纯化，得到产物纯品。

布兰克(Blanc Reaction)氯甲基化反应(G. Blanc, Bull. Soc. Chim. France 33(4), 313 (1923); R. C. Fuson, C. H. McKeever, Org. React. 1, 63 (1942))和弗-克反应(Friedel-Crafts Reaction)按经典成熟的条件操作(C. C. Price, Org. React. 3, 1 (1946))。

常规的化学转换可用于实施本发明。本领域的技术人员可以决定用于这些化学转换的适当的化学试剂、溶剂、保护基和反应条件。相关信息描述于R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers (1989); T. W. Greene and P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Ed., John Wiley and Sons(1999); L. Fieser and M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1994); L. A. Paquette editor, *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995)及其后来的版本。

保护基指那些一旦连接活性部分(例如，羟基或氨基)，防止这些部分被后来的反应干扰并可在反应后通过常规的方法去除的基团。羟基保护基的例子包括但不限于，烷基、苯甲基、烯丙基、三苯甲基(即，三苯基甲基)、酰基(例如，苯甲酰基、乙酰基或HOOC-X''-CO-, X''为亚烷基、亚链烯基、亚环烷基或亚芳基)、甲硅烷基(例如，三甲基硅烷基、三乙基硅烷基和叔丁基二甲基硅烷基)、烷氧基羰基、氨基羰基(例如，二甲基氨基羰基、甲基乙氨基羰基和苯基氨基羰基)、烷氧甲基、苯甲氧甲基和烷基硫甲基。氨基保护基的例子包括但不限于，烷氧基羰基、烷酰基、芳氧基羰基、芳基取代的烷基等。羟基和氨基保护基已在T.W. Greene and P. G. M. Wuts, *Protective Groups in*

Organic Synthesis, 2nd Edition, John Wiley and Sons(1991)中讨论。羟基和氨基保护基都可在反应后通过常规的方法去除。

本发明还提供了包含本发明式 I 化合物的药物组合物。

5 本发明提供了这样的药物组合物,其中包含至少一种如上所述的本发明的式 I 化合物,和任选的药学上可以接受的赋形剂。

制备各种含有一定量的活性成分的药物组合物的方法是已知的,或根据本发明的公开内容对于本领域技术人员是显而易见的。如 REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, Martin, E.W., ed., Mack Publishing Company, 19th Edition (1995)所述。制备所述药物组合物的方法包括掺入适当的药学赋形剂、载体、稀释剂等。

10 以已知的方法制造本发明的药物制剂,包括常规的混合、溶解或冻干方法。

本发明的化合物可以制成药物组合物,并向患者以适于选定的施用方式的各种途径施用,例如口服或肠胃外(通过静脉内、肌内、局部或皮下途径)。

因此,本发明的化合物结合药学上可以接受的载体(如惰性稀释剂或可食用的载体)可以全身施用,例如,口服。它们可以封闭在硬或软壳的明胶胶囊中,可以压为片剂。对于口服治疗施用,活性化合物可以结合一种或多种赋形剂,并以可吞咽的片剂、颊含片剂、含片、胶囊剂、20 酏剂、悬浮剂、糖浆、圆片等的形式使用。这种组合物和制剂应该包含至少 0.1%的活性化合物。这种组合物和制剂的比例当然可以变化,可以占给定的单位剂型重量的大约 1%至大约 99%。在这种治疗有用的组合物中,活性化合物的量使得能够获得有效剂量水平。

25 片剂、含片、丸剂、胶囊剂等也可以包含:粘合剂,如黄蓍胶、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶;赋形剂,如磷酸氢二钙;崩解剂,如玉米淀粉、马铃薯淀粉、藻酸等;润滑剂,如硬脂酸镁;和甜味剂,如蔗糖、果糖、乳糖或阿司帕坦;或调味剂,如薄荷、冬青油或樱桃香味。当单位剂型是胶囊时,除了上面类型的材料,它还可以包含液体载体,如植物油或聚乙二醇。各种其他材料可以存在,作为包衣,或以其他方式改

变固体单位剂型的物理形式。例如，片剂、丸剂或胶囊剂可以用明胶、蜡、虫胶或糖等包衣。糖浆或酏剂可以包含活性化合物，蔗糖或果糖作为甜味剂，对羟苯甲酸甲酯或对羟苯甲酸丙酯作为防腐剂，染料和调味剂（如樱桃香料或桔子香料）。当然，用于制备任何单位剂型的任何材料应该是药学上可以接受的且以应用的量基本上无毒。此外，活性化合物可以掺入缓释制剂和缓释装置中。

活性化合物也可以通过输注或注射到静脉内或腹膜内施用。可以制备活性化合物或其盐的水溶液，任选可混和的无毒的表面活性剂。也可以制备在甘油、液体聚乙二醇、甘油三乙酸酯及其混合物以及油中的分散剂。在普通的储存和使用条件下，这些制剂包含防腐剂以防止微生物生长。

适于注射或输注的药物剂型可以包括包含适于无菌的可注射或可输注的溶液或分散剂的即时制剂的活性成分（任选封装在脂质体中）的无菌水溶液或分散剂或无菌粉末。在所有情况下，最终的剂型在生产和储存条件下必须是无菌的、液体的和稳定的。液体载体可以是溶剂或液体分散介质，包括，例如水、乙醇、多元醇（例如，甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等）、植物油、无毒的甘油酯及其合适的混合物。可以维持合适的流动性，例如，通过脂质体的形成，通过在分散剂的情况下维持所需的粒子大小，或通过表面活性剂的使用。可以通过各种抗细菌剂和抗真菌剂（如对羟苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等）产生预防微生物的作用。在许多情况下，优选包括等渗剂，如糖、缓冲剂或氯化钠。通过使用延缓吸收剂的组合物（例如，单硬脂酸铝和明胶）可以产生可注射的组合物的延长吸收。

通过将合适的溶剂中的需要量的活性化合物与需要的上面列举的各种其他成分结合，然后进行过滤灭菌，制备无菌可注射溶液。在用于制备无菌注射溶液的无菌粉末的情况下，优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术，这会产生活性成分加上任何另外需要的以前无菌过滤溶液中存在的成分的粉末。

有用的固体载体包括粉碎的固体（如滑石、粘土、微晶纤维素、二氧化硅、氧化铝等）。有用的液体载体包括水、乙醇或乙二醇或水-乙醇/乙二醇混合物，本发明的化合物可以任选在无毒的表面活性剂的帮助下以有效含量溶解或分散在其中。可以加入佐剂（如香味）和另外的抗微生物剂来优化对于给定用途的性质。

增稠剂（如合成的聚合物、脂肪酸、脂肪酸盐和酯、脂肪醇、改性纤维素或改性无机材料）也可和液体载体用于形成可涂覆的糊剂、凝胶、软膏、肥皂等，直接用于使用者的皮肤上。

化合物或其活性盐或衍生物的治疗需要量，不仅取决于选择的特定的盐，而且取决于施药方式、待治疗的疾病的本质和患者的年龄和状态，最终取决于在场医师或临床医生的决定。

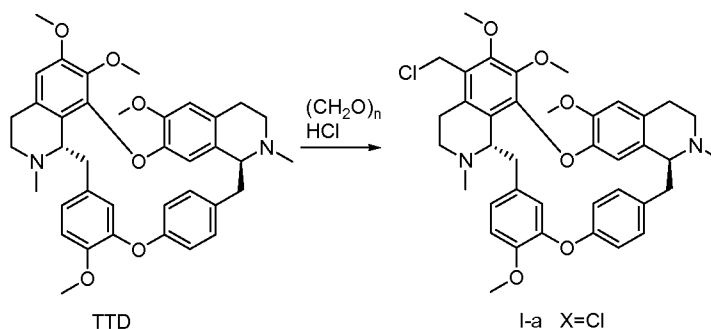
上述制剂可以以单位剂型存在，该单位剂型是含有单位剂量的物理分散单元，适于向人体和其它哺乳动物体给药。单位剂型可以是胶囊或片剂，或是很多胶囊或片剂。根据所涉及的具体治疗，活性成分的单位剂量的量可以在大约 0.1 到大约 1000 毫克或更多之间进行变化或调整。

本发明还提供本发明的化合物或包含该化合物的组合物在制备药物、特别是抗肿瘤药物中的用途。相应地，本发明提供一种治疗肿瘤患者的方法，包括给予需要治疗的患者治疗有效量的至少一种本发明的化合物。本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐例如可用于治疗白血病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、肝癌、胃癌、乳腺癌、胆管细胞癌、胰腺癌、肺癌、大肠癌、骨肉瘤、黑色素瘤、人宫颈癌、神经胶质瘤、鼻咽癌、喉癌、食管癌、中耳肿瘤、前列腺癌等肿瘤。

在下列实施例中，将更加具体地解释本发明。但应理解，下列实施例旨在说明本发明而不对本发明的范围构成任何限制。

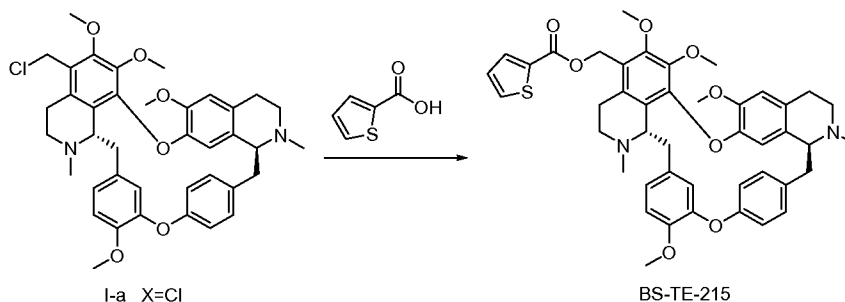
以下实施例中所用的化学原料均为商购获得或通过本领域熟知的合成方法获得。

实施例 1: 化合物 BS-TE-215 的合成



5 式中: (CH₂O)_n: 多聚甲醛

将汉防己甲素(1.0 g, 1.6 mmol) 溶于浓盐酸 (5 mL) 中, 在 0 °C 条件下加入多聚甲醛(50 mg, 1.68 mmol)。升至室温搅拌 3 小时。将反应液浓缩后得到亮黄色固体粗产品, 直接用于下一步反应。



10

向溶有 5-氯甲基-汉防己甲素 (120 mg, 0.17 mmol), 噻吩-2-甲酸 (44 mg, 0.34 mmol) 的乙腈 (3 mL) 中加入氢氧化钠 (15 mg, 0.34 mmol), 加热升温至 75 °C 搅拌 2 小时后, 将反应液过滤, 滤液浓缩后得到的粗产品经制备色谱分离纯化后得到白色固体粉末化合物 BS-TE-215(36.8 mg, 32%)。

15

LC-MS: 1.36min (97.64%), m/z 382.8 [1/2 M+H]⁺.

¹H NMR (300 MHz, partial assignment of signals in CD₃OD) δ 7.79 (dd, J=3.6 Hz, 1.2 Hz, 1H), 7.74 (dd, J=4.8 Hz, 1.2 Hz, 1H), 7.55 (d, J=8.1 Hz, 2.8 Hz, 1H), 7.14-7.13 (m, 2H), 6.95 (m, 2H), 6.54-6.48 (m, 2H), 6.14 (s, 1H), 4.50 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.42 (s, 3H), 2.97 (s, 3H), 2.65 (s, 3H), 2.43 (s, 3H)。

20

按照制备 BS-TE-215 的方法, 使用同样的试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-
汉防己甲素与 N,N-二甲基甘氨酸反应, 制备了化合物 BS-TE-202:

LC-MS 1.04min (63.88%), 1.13min (31.41%, 异构体); m/z 739.6
5 [M+H]⁺.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.60 (d, 1H), 7.16 (d, 1H), 7.02 (m, 2H),
6.89 (d, 1H), 6.57-6.52 (m, 2H), 6.19 (s, 1H), 4.25 (m, 1H), 3.91 (s, 3H),
3.76 (s, 3H), 3.49 (s, 3H), 3.33 (s, 3H), 3.14 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 2.50 (s,
3H)。

10 按照制备 BS-TE-215 的方法, 使用同样的试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-
汉防己甲素与 4-二甲氨基苯甲酸反应, 制备了化合物 BS-TE-204:

LC-MS 1.36min (90.68%); m/z 800.9 [M+H]⁺, 401.4 [1/2 M+H]⁺.

15 ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.81 (d, *J*=9 Hz, 2 H), 7.50 (d, 1H), 7.11
(d, 1H), 6.93 (m, 2H), 6.77 (m, 2H), 6.67 (d, 2H), 6.55 (s, 1H), 3.89 (s,
3H), 3.73 (s, 3H), 3.41 (s, 3H), 3.34 (s, 3H), 3.01 (s, 6H), 2.85 (s, 3 H),
2.36 (s, 3H)。

20 按照制备 BS-TE-215 的方法, 使用同样的试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-
汉防己甲素与 4-甲基噻唑-5-甲酸反应, 制备了化合物 BS-TE-213:

LC-MS 1.13min (42.48%), 1.20min (57.52%, 异构体); m/z 653.8
[M+H]⁺, 327.8 [1/2 M+H]⁺.

25 ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.62 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.8 Hz, 1H), 7.13 (dd,
J=8.4 Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.03 (d, 2H), 6.88 (s, 1H), 6.86 (d, 1H), 6.55 (d,
1H), 6.53 (s, 1H), 6.20 (s, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.47 (s, 3H),
3.34 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 2.73 (s, 3H)。

按照制备 BS-TE-215 的方法, 使用同样的试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-
汉防己甲素与 2-呋喃甲酸反应, 制备了化合物 BS-TE-216:

30 LC-MS 1.27min (98.44%). m/z 747.8 [M+H]⁺, 374.9 [1/2 M+H]⁺.

35 ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.71 (dd, *J*=1.5 Hz, 0.6 Hz, 1H), 7.47 (dd,
J=8.4 Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.19 (d, 1H), 7.09 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.7 Hz, 1H),
6.90 (d, 1H), 6.86 (dd, *J*=8.1 Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.79 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.4 Hz,
1H), 6.68 (s, 1H), 6.56 (m, 2H), 6.42 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.03(s,
1H), 4.03 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.37 (s,3H), 3.24 (s, 3H),
2.65 (s, 3H), 2.25 (s, 3 H)。

按照制备 BS-TE-215 的方法, 使用同样的试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 5-甲基异恶唑-4-甲酸反应, 制备了化合物 BS-TE-220: LC-MS 1.27min (88%). m/z 762.9 $[M+H]^+$ 。

5 按照制备 BS-TE-215 的方法, 使用同样的试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与乙酸反应, 制备了化合物 BS-TE-223:

LC-MS 1.19min (91.97%). m/z 695.8 $[M+H]^+$, 348.8 $[1/2 M+H]^+$ 。

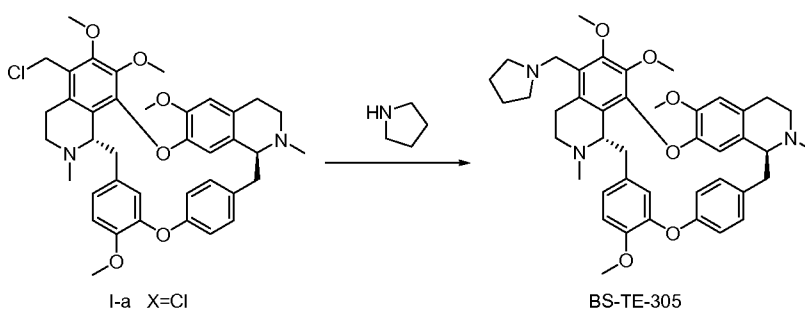
1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.52 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 7.47 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.94 (d, 1H), 6.89 (dd, $J=7.8$ Hz, 2.1 Hz, 1H),
10 6.82 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.76 (s, 1H), 6.53 (d, 1H), 6.47 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.09(s, 1H), 4.32 (m, 1H), 3.97 (d, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.41 (s, 3H), 3.25 (s, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.72-2.55 (m, 4H), 2.35 (s, 3 H), 2.03 (s, 3H)。

15 按照制备 BS-TE-215 的方法, 使用同样的试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与苯甲酸反应, 制备了化合物 BS-TE-224:

LC-MS 1.38min (85.3%). m/z 757.8 $[M+H]^+$, 379.9 $[1/2 M+H]^+$ 。

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.98 (m, 2H), 7.58-7.42 (m, 4H), 7.10 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.95-6.87 (m, 2H), 6.82 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz,
20 1H), 6.76 (s, 1H), 6.54 (d, 1H), 6.47 (dd, $J=8.4$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.09(s, 1H), 4.30 (m, 1H), 4.01 (d, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.40 (s, 3H), 3.26 (s, 3H), 2.83 (s, 3H), 2.34 (s, 3 H)。

实施例 2: 化合物 BS-TE-305 的合成



25

向溶有 5-氯甲基-汉防己甲素 (120 mg, 0.17 mmol, N, N-二异丙基乙胺 (60 μ L, 0.34 mmol), 吡咯烷 (24 mg, 0.34 mmol) 的乙腈 (3 mL)

中加入氢氧化钠 (15 mg, 0.34 mmol), 加热升温至 75 °C 搅拌 2 小时后, 将反应液过滤, 滤液浓缩后得到的粗产品经制备色谱分离纯化后得到白色固体粉末化合物 BS-TE-305 (30.5 mg, 22%)。

LC-MS: 1.05min (91.95%), m/z 706.9 [M+H]⁺, 354.4 [1/2 M+H]⁺.

5 ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.54 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.14 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.95 (d, 1H), 6.91 (dd, *J*=8.1 Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.85-6.81 (m, 2H), 6.51-6.48 (m, 2H), 6.14 (s, 1H), 4.49 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.44 (s, 3H), 3.31 (s, 3H), 2.95 (s, 3H), 2.35 (s, 3H)。

10 按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与环丙胺反应, 制备了化合物 BS-TE-301:

LC-MS 1.06min (74.25%). m/z 692.9 [M+H]⁺, 347.3 [1/2 M+H]⁺.

15 ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.46 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.07 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.90 (d, 1H), 6.86 (dd, *J*=8.1 Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.75 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.54 (d, 1H), 6.41 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.80 (d, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 3.23 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.25 (s, 3H)。

20 按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与吗啉反应, 制备了化合物 BS-TE-307:

LC-MS 1.01min (91.41%). m/z 722.8 [M+H]⁺, 362.4 [1/2 M+H]⁺.

25 ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.53 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.11 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.96 (d, 1H), 6.93 (dd, *J*=7.8 Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.81 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.76 (s, 1H), 6.54 (d, 1H), 6.48 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.10 (s, 1H), 4.34 (m, 1H), 4.13 (d, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.38 (s, 3H), 3.26 (s, 3H), 2.85 (s, 3H), 2.69 (d, 1H), 2.45 (s, 3H)。

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 4-羟基哌啶反应, 制备了化合物 BS-TE-308:

30 LC-MS 1.00min (80.99%). m/z 736.9 [M+H]⁺, 369.3 [1/2 M+H]⁺.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.65 (d, *J*=9.0 Hz, 1H), 7.15 (dd, *J*=8.4 Hz, 1.8 Hz, 1H), 7.07 (s, 2H), 6.90 (m, 2H), 6.59 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.23 (s, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 3.34 (s, 3H), 3.11 (s, 3H), 2.79 (s, 3H)。

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与异丙胺反应, 制备了化合物 BS-TE-311:

LC-MS 1.08min (69.65%). m/z 694.9 $[M+H]^+$, 348.4 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.64 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 7.14 (dd, $J=7.8$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.04 (s, 2H), 6.90 (m, 2H), 6.57 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.51 (s, 1H), 6.23 (s, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.50 (s, 3H), 3.34 (s, 3H), 3.11 (s, 3H), 2.75 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 4-氨基-1-甲基哌啶反应, 制备了化合物 BS-TE-313:

LC-MS 1.01min (58.11%), 1.12min (29.03%, 异构体). m/z 750.9 $[M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.64 (d, 1H), 7.15 (dd, 1H), 7.04 (s, 2H), 6.90 (s, 2H), 6.51 (m, 2H), 6.24 (s, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 3.11 (s, 3H), 2.79 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 1-氨基-2-丙醇反应, 制备了化合物 BS-TE-315:

LC-MS 1.04min (94.45%). m/z 710.9 $[M+H]^+$, 356.4 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.47 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.08 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.93 (d, 1H), 6.85 (dd, $J=8.4$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.78 (d, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.38 (dd, $J=8.4$ Hz, 1.5 Hz), 6.01 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 3.23 (s, 3H), 2.62 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 1.29 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 (S)-N-甲基-1-苯基乙胺反应, 制备了化合物 BS-TE-317:

LC-MS 1.11min (97.03%). m/z 770.9 $[M+H]^+$, 386.5 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.65 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.15 (dd, $J=8.4$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 7.07 (s, 2H), 6.90 (s, 2H), 6.59 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.23 (s, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 3.34 (s, 3H), 3.11 (s, 3H), 2.79 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 2-氨基噻唑反应, 制备了化合物 BS-TE-320:

LC-MS 1.10min (55.04%), 1.20min (13.08%, 异构体). m/z 735.8

$[M+H]^+$, 368.8 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.50 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.09 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.14 Hz, 1H), 6.93 (d, 1H), 6.85 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.75 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.68 (s, 1H), 6.55 (d, 1H), 6.42 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.20 (m, 2H), 6.03 (s, 1H), 3.96 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.38 (s, 3H), 3.26 (s, 3H), 2.74 (s, 3H), 2.22 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 3-羟基哌啶反应, 制备了化合物 BS-TE-321:

10 LC-MS 1.01min (95.15%). m/z 736.9 $[M+H]^+$, 369.4 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.45 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.06 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.91 (d, 1H), 6.87 (dd, $J=7.8$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.77 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.56 (d, 1H), 6.42 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.02 (s, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.35 (d, 3H), 3.24 (d, 3H), 2.66 (s, 3H), 2.55 (d, 1H), 2.27 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 3-羟基吡咯烷反应, 制备了化合物 BS-TE-322:

20 LC-MS 1.03min (59.49%), 1.11min (31.36%, 异构体). m/z 722.9 $[M+H]^+$, 362.3 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.47 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 7.07 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.90 (d, 1H), 6.85 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.77 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.65 (s, 1H), 6.55 (d, 1H), 6.41 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 4.29 (s, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 3.23 (s, 3H), 2.62 (s, 3H), 2.23 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 4-氰基哌啶反应, 制备了化合物 BS-TE-323:

30 LC-MS 1.11min (81.69%). m/z 745.9 $[M+H]^+$, 373.8 (1/2 $M+H$).

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.47 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.07 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.91 (d, 1H), 6.83 (dd, $J=7.8$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.78 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.56 (d, 1H), 6.41 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.57 (s, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.73 (s, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.33 (s, 3H), 3.23 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.24 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与甲胺反应, 制备了化合物 BS-TE-326:

LC-MS 1.16min (83.64%). m/z 666.8 $[M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.49 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.09 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.92 (d, 1H), 6.88 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.78 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.53 (d, 1H), 6.41 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.04 (s, 1H), 4.56 (s, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.37 (s, 3H), 3.27 (s, 3H), 2.71 (s, 3H), 2.55 (d, 1H), 2.26 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与硫代吗啉反应, 制备了化合物 BS-TE-328:

LC-MS 1.11min (88.79%), 1.25min (10.42%, 异构体), 1.41min (0.79%). m/z 738.8 $[M+H]^+$, 370.3 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.46 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.07 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.90 (d, 1H), 6.86 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.78 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.65 (s, 1H), 6.55 (d, 1H), 6.41 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 4.29 (s, 1H), 4.00 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.32 (s, 3H), 3.22 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.23 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 2,5-二氢吡咯反应, 制备了化合物 BS-TE-329:

LC-MS 1.10min (45.45%), 1.34min (31.32%, 异构体). m/z 704.9 $[M+H]^+$, 353.3 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.44 (dd, $J=8.41$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 7.08 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.90 (d, 1H), 6.85 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.77 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.55 (d, 1H), 6.41 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.01 (m, 2H), 6.005.78 (s, 1H), 4.00 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 3.24 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.51 (d, 1H), 2.25 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与吡唑反应, 制备了化合物 BS-TE-330:

LC-MS 1.20min (58.93%), 1.22min (39.49%, 异构体). m/z 703.8 $[M+H]^+$, 352.9 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.44 (m, 2H), 7.28 (d, 1H), 7.07 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.89 (d, 1H), 6.85 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.77 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.54 (d, 1H), 6.41 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.23 (t, 1H), 6.02 (s, 1H), 4.00 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.61 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 3.25 (s, 3H), 2.62 (s, 3H), 2.20 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 1-异丙基哌嗪反应, 制备了化合物 BS-TE-333:

LC-MS 1.06min (97.06%). m/z 763.9 $[M+H]^+$, 383.0 $[1/2 M+H]^+$.

5 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.47 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.08 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.91 (d, 1H), 6.86 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.79 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.56 (d, 1H), 6.43 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 4.29 (s, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 3.34 (s, 3H), 3.24 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.24 (s, 3H).

10

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 N-羟乙基哌嗪反应, 制备了化合物 BS-TE-334:

LC-MS 1.02min (98.72%). m/z 765.9 $[M+H]^+$, 384.0 $[1/2 M+H]^+$.

15 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.47 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 7.07 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.91 (d, 1H), 6.86 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.77 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.56 (d, 1H), 6.41 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 4.29 (s, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.33 (s, 3H), 3.23 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.24 (s, 3H).

20 按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 3-甲氧基丙胺反应, 制备了化合物 BS-TE-340:

LC-MS 1.07min (73.86%), 1.12min (14.47%, 异构体). m/z 724.9 $[M+H]^+$, 363.4 $[1/2 M+H]^+$.

25 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.47 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.07 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.91 (d, 1H), 6.85 (dd, $J=8.4$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.77 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.54 (d, 1H), 6.41 (dd, $J=8.4$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.02 (s, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 3.24 (s, 3H), 2.62 (s, 3H), 2.49 (d, 1H), 2.24 (s, 3H).

30 按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与二甲基胺反应, 制备了化合物 BS-TE-341:

LC-MS 1.07min (71.60%), 1.17min (16.12%, 异构体). m/z 680.9 $[M+H]^+$, 341.3 $[1/2 M+H]^+$.

35 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.65 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.20 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.91 (d, 1H), 6.88 (m, 1H), 6.59 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.24 (s, 1H), 4.35 (d, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 3.34 (s, 3H), 3.11 (s, 3H), 2.89 (s, 6H), 2.74 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 N-乙基哌嗪反应, 制备了化合物 BS-TE-342:

LC-MS 1.09min (77.97%), 1.17min (20.17%, 异构体). m/z 749.9 $[M+H]^+$, 375.9 $[1/2 M+H]^+$.

5 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.47 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.07 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.91 (d, 1H), 6.86 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.79 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.56 (d, 1H), 6.41 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 4.29 (s, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.33 (s, 3H), 3.23 (s, 3H), 2.62 (s, 3H), 2.24 (s, 3H),
10 1.28 (s, 3H)。

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 N-苯基哌嗪反应, 制备了化合物 BS-TE-343:

LC-MS 1.44min (79.45%), 1.63min (9.06%). m/z 797.9 $[M+H]^+$, 400.0 $[1/2 M+H]^+$.

15 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.47 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.256-7.173 (m, 2H), 7.08 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.00-6.92 (m, 3H), 6.87 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.83-6.76 (m, 2H), 6.69 (s, 1H), 6.56 (d, 1H), 6.43 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.04 (s, 1H), 4.29 (s, 1H), 4.10 (m, 1H), 3.97 (d, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 3.26 (s, 3H),
20 2.69 (s, 3H), 2.30 (s, 3H)。

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 3-甲基哌啶反应, 制备了化合物 BS-TE-346:

25 LC-MS 1.35min (90.37%). m/z 734.9 $[M+H]^+$, 368.4 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.47 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.07 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.91 (d, 1H), 6.85 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.78 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.55 (d, 1H), 6.41 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.02 (s, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 3.25 (s, 3H), 2.64 (s, 3H), 2.25 (s, 3H)。
30

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 3-吡啶甲胺反应, 制备了化合物 BS-TE-348:

LC-MS 1.24min (21.76%, 异构体), 1.32 (69.43%). m/z 743.9 $[M+H]^+$, 372.9 $[1/2 M+H]^+$.

35 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.56 (d, 1H), 8.45 (dd, $J=4.8$ Hz, 1.5 Hz, 1H), 7.90 (d, 1H), 7.50 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.45-7.40 (m, 2H), 7.10 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.92 (d, 1H), 6.88 (dd, $J=7.8$ Hz, 2.1 Hz,

1H), 6.80 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.52 (d, 1H), 6.45 (dd, $J=8.7$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.05 (s, 1H), 4.20 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.37 (s, 3H), 3.25 (s, 3H), 2.74 (s, 3H), 2.54 (d, 1H), 2.31 (s, 3H)。

5 按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 3-咪喃甲胺反应, 制备了化合物 BS-TE-350:

LC-MS 1.13min (99.16%). m/z 732.5 $[M+H]^+$, 366.7 $[M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.52 (d, 1H), 7.49 (dd, $J=7.8$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.09 (dd, $J=8.7$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.94 (d, 1H), 6.86 (dd, $J=8.4$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.76 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.52 (d, 1H), 6.41 (m, 3H), 6.04(s, 1H), 4.11 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.37 (s,3H), 3.25 (s, 3H), 2.7 (s, 3H) 2.28 (s, 3H)。

15 按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 3-羟甲基哌啶反应, 制备了化合物 BS-TE-351:

LC-MS 1.28min (83.02%), 1.42min (16.98%, 异构体). m/z 750.9 $[M+H]^+$, 376.4 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.47 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.07 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.91 (d, 1H), 6.87 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.77 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.55 (d, 1H), 6.41 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.00 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.34 (s, 3H), 3.24 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.53 (d, 1H), 2.24 (s, 3H)。

25 按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 2-甲氨基吡啶反应, 制备了化合物 BS-TE-352:

LC-MS 1.33min (54.28%), 1.74min (0.28%, 异构体). m/z 743.9 $[M+H]^+$, 372.9 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.49 (d, 1H), 7.79 (td, 1H), 7.45 (m, 2H), 7.30 (m, 1H), 7.05 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.90 (d, 1H), 6.85 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.77 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.65 (s, 1H), 6.53 (d, 1H), 6.40 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 3.33 (s, 3H), 3.23 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.24 (s, 3H)。

35 按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 4-二甲氨基哌啶反应, 制备了化合物 BS-TE-354:

LC-MS 1.21min (91.1%). m/z 763.9 $[M+H]^+$, 383.0 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.47 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.07 (dd,

$J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.91 (d, 1H), 6.85 (dd, $J=7.8$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.79 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.56 (d, 1H), 6.41 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.33 (s, 3H), 3.23 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.35 (s, 6H), 2.23 (s, 3H)。

5

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与哌啶反应, 制备了化合物 BS-TE-355:

LC-MS 1.31min (89.22%). m/z 720.9 $[M+H]^+$, 361.4 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.45 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.06 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.91 (d, 1H), 6.84 (dd, $J=8.4$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.76 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.56 (d, 1H), 6.39 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 5.96 (s, 1H), 3.98 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 3.34 (s, 3H), 3.24 (s, 3H), 2.62 (s, 3H), 2.23 (s, 3H)。

15 按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 N-甲基高哌啶反应, 制备了化合物 BS-TE-356:

LC-MS 1.24min (84.77%). m/z 750.0 $[M+H]^+$, 375.9 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.47 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.07 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.91 (d, 1H), 6.86 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.79 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.56 (d, 1H), 6.42 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.33 (s, 3H), 3.23 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.64 (s, 3H), 2.24 (s, 3H)。

25 按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 5-甲基-2-咪喃甲胺反应, 制备了化合物 BS-TE-358:

LC-MS 1.42min (98.01%). m/z 747.0 $[M+H]^+$, 374.4 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.52 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.10 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.92 (d, 1H), 6.87 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.82 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.74 (s, 1H), 6.51 (d, 1H), 6.46 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.41 (d, 1H), 6.07 (s, 1H), 6.05 (dd, $J=3.3$ Hz, 1.2 Hz, 1H), 4.24 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.39 (s, 3H), 3.27 (s, 3H), 2.79 (s, 3H), 2.30 (s, 3H)。

35 按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 2-噻吩甲胺反应, 制备了化合物 BS-TE-359:

LC-MS 1.37min (99.05%). m/z 748.8 $[M+H]^+$, 375.4 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.46 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.32 (dd,

$J=5.1$ Hz, 1.2 Hz, 1H), 7.07 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.01 (d, 1H), 6.98-6.95 (m, 2H), 6.90 (d, 1H), 6.85 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.77 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.54 (d, 1H), 6.40 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.70 (d, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 3.23 (s, 3H), 2.62 (s, 3H), 2.23 (s, 3H)。

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 N-甲基哌嗪反应, 制备了化合物 BS-TE-360:

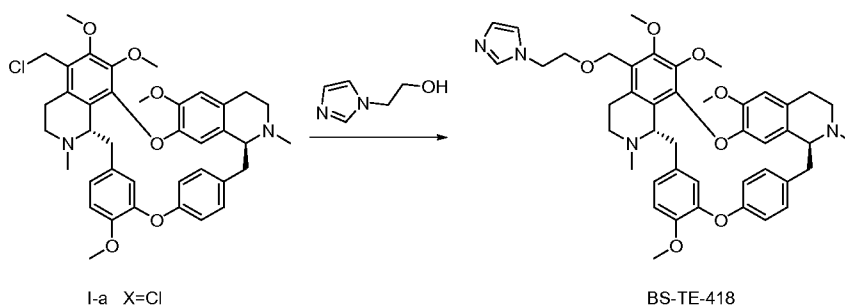
LC-MS 1.26min (81.86%), 1.41min (14.19%, 异构体). m/z 735.9 $[M+H]^+$, 368.9 $[1/2 M+H]^+$ 。

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.47 (dd, $J=7.5$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.07 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.91 (d, 1H), 6.86 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.79 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.55 (d, 1H), 6.42 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.5 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.33 (s, 3H), 3.23 (s, 3H), 2.64 (s, 3H), 2.24 (d, 6H)。

按照制备 BS-TE-305 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与氨水反应, 制备了化合物 BS-TE-361:

LC-MS 0.72min (89.40%). m/z 651.0 $[M+H]^+$, 326.6 $[1/2 M+H]^+$ 。

实施例 3: 化合物 BS-TE-418 的合成



向溶有 5-氯甲基-汉防己甲素 (120 mg, 0.17 mmol), 1-(2-羟乙基)咪唑(20 mg, 0.25 mmol)的乙腈 (3 mL) 中, 加入氢氧化钠(15 mg, 0.34 mmol), 加热升温至 75 °C 搅拌 2 小时后, 将反应液过滤, 滤液浓缩后得到的粗产品经制备色谱分离纯化, 得到白色固体粉末化合物 BS-TE-418 (20 mg, 18%)。

LC-MS: 1.07min (95.52%), m/z 747 [M+H]⁺, 374 [1/2 M+H]⁺.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.60 (s, 1H), 7.45 (dd, *J* = 8.4 Hz, 1.8 Hz, 1H), 7.10 (s, 1H), 7.07 (dd, *J* = 8.4 Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.94-6.91 (m, 2H), 6.86 (dd, *J* = 8.1 Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.77 (d, *J* = 8.4 Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.53 (d, 1H), 6.41 (dd, *J* = 8.1 Hz, 2.1 Hz, 1H), 4.02 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.61 (s, 3H), 3.34 (s, 3H), 3.21 (s, 3H), 2.65 (s, 3H), 2.22 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-418 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 2-苯氧乙醇反应, 制备了化合物 BS-TE-402:

10 LC-MS 1.67min (91.83%). m/z 773.9 [M+H]⁺, 387.9 [1/2 M+H]⁺.
¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.44 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.23 (m, 2H), 7.06 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.92-6.87 (m, 4H), 6.84 (dd, *J*=8.1 Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.76 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.65 (s, 1H), 6.54 (d, 1H), 6.38 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 4.59 (s, 1H), 4.11 (m, 15 2H), 3.99 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.82 (m, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.34 (s, 3H), 3.20 (s, 3H), 2.62 (s, 3H), 2.48 (d, 1H), 2.22 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-418 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 3,5-二甲氧基苯乙醇反应, 制备了化合物

20 BS-TE-403:
LC-MS 1.32min (95.19%). m/z 817.9 [M+H]⁺, 410.0 [1/2 M+H]⁺.
¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.44 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.05 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.90 (d, 1H), 6.90-6.85 (m, 3H), 6.76-6.71 (m, 2H), 6.64 (s, 1H), 6.52 (d, 1H), 6.38 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.1 Hz, 1H), 5.99 (s, 25 1H), 4.48 (m, 2H), 3.99 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.62 (s, 3H), 3.19 (s, 3H), 2.62 (s, 3H), 2.17 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-418 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 1-甲氧基-2-丙醇反应, 制备了化合物 BS-TE-406:

30 LC-MS 1.22min (85.14%). m/z 725.8 [M+H]⁺, 363.8 [1/2 M+H]⁺.
¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.44 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.08 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.93-6.86 (m, 2H), 6.75 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.54 (d, 1H), 6.38 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 3.33 (s, 3H), 35 3.32 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 1.28 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-418 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯

甲基-汉防己甲素与 4-氟苯甲醇反应，制备了化合物 BS-TE-408:

LC-MS 1.36min (83.62%). m/z 761.9 $[M+H]^+$, 382.0 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.44 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.38-7.33 (m, 2H), 7.08-7.02 (m, 3H), 6.92 (m, 1H), 6.85 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.75 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.54 (d, 1H), 6.38 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.52 (m, 4H), 3.96 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 3.21 (s, 3H), 2.62 (s, 3H), 2.49 (d, 1H), 2.24 (s, 3H).

10 按照制备 BS-TE-418 的方法，使用同样的碱性试剂和溶剂，将 5-氯甲基-汉防己甲素与 3-吡啶甲醇反应，制备了化合物 BS-TE-411:

LC-MS 1.08min (85.44%). m/z 744.9 $[M+H]^+$, 373.4 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.51 (d, 2H), 8.22 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 7.81 (d, 1H), 7.46 (m, 2H), 7.08 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.92 (m, 1H), 6.85 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.76 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.54 (d, 1H), 6.38 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.59 (d, 2H), 3.99 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 3.22 (s, 3H), 2.62 (s, 3H), 2.49 (d, 1H), 2.24 (s, 3H).

20 按照制备 BS-TE-418 的方法，使用同样的碱性试剂和溶剂，将 5-氯甲基-汉防己甲素与 3-噻吩甲醇反应，制备了化合物 BS-TE-415:

LC-MS 1.31min (95.23%). m/z 749.8 $[M+H]^+$, 375.9 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.46 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.33 (m, 1H), 7.09-7.04 (m, 2H), 6.92 (m, 1H), 6.85 (dd, $J=8.4$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.76 (dd, $J=7.8$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.68 (s, 1H), 6.54 (d, 1H), 6.39 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.03 (s, 1H), 4.55 (m, 3H), 3.99 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 3.22 (s, 3H), 2.66 (s, 3H), 2.50 (d, 1H), 2.26 (s, 3H).

30 按照制备 BS-TE-418 的方法，使用同样的碱性试剂和溶剂，将 5-氯甲基-汉防己甲素与 3-甲氧基丙醇反应，制备了化合物 BS-TE-416:

LC-MS 1.22min (92.15%). m/z 725.9 $[M+H]^+$, 363.8 $[1/2 M+H]^+$.

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.44 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.07 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.90 (d, 1H), 6.85 (dd, $J=8.1$ Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.75 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.54 (d, 1H), 6.40 (dd, $J=8.1$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.55 (m, 3H), 3.99 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.54 (t, 2H), 3.44 (t, 2H), 3.36 (s, 3H), 3.21 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.50 (d, 1H), 2.26 (s, 3H).

按照制备 BS-TE-418 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与 3-四氢呋喃甲醇反应, 制备了化合物 BS-TE-417:
LC-MS 1.20min (99.34%). m/z 737.9 [M+H]⁺, 369.8 [1/2 M+H]⁺.

5 ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.46 (dd, *J*=7.8 Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.07 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.90 (d, 1H), 6.85 (dd, *J*=7.8 Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.75 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.55 (d, 1H), 6.40 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.50 (m, 2H), 3.99 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 3.21 (s, 3H), 2.62 (s, 3H), 2.50 (d, 1H),
10 2.24 (s, 3H)。

按照制备 BS-TE-418 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与乙醇反应, 制备了化合物 BS-TE-419:

LC-MS 1.22min (96.86%). m/z 681.9 [M+H]⁺, 341.8 [1/2 M+H]⁺.

15 ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.50 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.09 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.96 (d, 1H), 6.90 (dd, *J*=8.1 Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.84 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.53 (d, 1H), 6.40 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 4.61 (s, 2H), 4.41 (m, 1H), 4.10 (d, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.58 (t, 2H), 3.42 (s, 3H), 3.26 (s, 3H),
20 2.89 (s, 3H), 2.68 (d, 1H), 2.47 (s, 3H)。

按照制备 BS-TE-418 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与环丙胺反应, 制备了化合物 BS-TE-420:

LC-MS 1.21min (100%). m/z 667.8 [M+H]⁺, 334.8 [1/2 M+H]⁺.

25 ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.50 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.1 Hz, 1H), 7.08 (dd, *J*=8.1 Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.94 (d, 1H), 6.85 (dd, *J*=8.1 Hz, 1.8 Hz, 1H), 6.75 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.7 Hz, 1H), 6.74 (s, 1H), 6.54 (d, 1H), 6.45 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.07 (s, 1H), 4.50 (s, 2H), 4.24 (q, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.40 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 3.24 (s, 3H), 2.80 (s, 3H),
30 2.60 (d, 1H), 2.37 (s, 3H)。

按照制备 BS-TE-418 的方法, 使用同样的碱性试剂和溶剂, 将 5-氯甲基-汉防己甲素与苯硫酚反应, 制备了化合物 BS-TE-421:

LC-MS 1.41min (97.69%). m/z 746.5[M+H]⁺, 373.8 [1/2 M+H]⁺.

35

实施例 5: 本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物抗白血病的活性

测定

(1) 实验材料

白血病细胞株：白血病细胞株：K562/adr (耐药慢性髓系白血病，CML)、NB4 (急性早幼粒细胞白血病，AML)、Kasumi-1 (急性髓系白血病 M2 型，AML-M2)、Jurkat (急性淋巴细胞白血病，ALL)，以上细胞系均受赠于浙江大学肿瘤研究所；H9 (急性淋巴细胞白血病，ALL)，购自中国典型培养物保藏中心。

试剂：汉防己甲素(TTD) 标准品购自陕西慈缘生物技术有限公司，本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物

主要仪器：Thermo Scientific 3111 细胞培养箱，Bio-Rad iMark 酶标仪。

(2) 实验方法

取生长良好的白血病细胞 6000 个，接种到 96 孔细胞培养板孔内。培养液为含 10 %胎牛血清的 1640 细胞培养液。加入不同浓度的汉防己甲素类化合物，混匀后，置于二氧化碳 (5% CO₂) 细胞培养箱 37°C 培养 72 小时。然后用 MTT 法测定活细胞浓度。在本实验中对照组 (不加化合物处理) 细胞活力设为 100 %，并计算出化合物作用后细胞活力 (%) 和 72 小时白血病细胞半数生长抑制浓度(72 小时 IC₅₀ 值和 IC₉₀ 值)。

(3) 实验结果

实验结果见表 1。表 1 显示本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物能诱导人慢性髓系白血病、急性髓系白血病和急性淋巴细胞白血病细胞死亡和抑制这些白血病细胞生长，与汉防己甲素本身比较，本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物抗白血病细胞活性明显增强，其中本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物 BS-TE-329 抗 K562/adr(耐药慢性髓系白血病，CML) 活性提高近 4 倍；BS-TE-305，BS-TE-321，BS-TE-329, BS-TE-346, BS-TE-350，BS-TE-354, BS-TE-355, BS-TE-359, BS-TE-360 比汉防己甲素抗 Kasumi-1 (急性髓系白血病 M2 型，AML-M2) 活性提高 3 至 4 倍；BS-TE-346，BS-TE-350，BS-TE-354，BS-TE-355，BS-TE-358，BS-TE-360 比汉防己甲素抗 Jurkat (急性淋巴细胞白血病，

ALL)活性提高近4倍; BS-TE-402 抗NB4 (急性早幼粒细胞白血病, AML)活性提高近8倍; BS-TE-360, BS-TE-402 比汉防己甲素抗H9 (急性淋巴细胞白血病, ALL)活性提高近12倍。

- 5 表1: 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物对白血病细胞, 人多发性骨髓瘤和淋巴瘤细胞生长抑制浓度测定(72小时, IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)值和 IC_{90} ($\mu\text{g/mL}$)值)。

Compound ID	K562/ADR		Kasumi-1		Jurkat	
	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}
TTD	0.44	2.14	1.69	8.24	2.09	9.85
BS-TE-204	1.47	14.50	2.32	7.50	2.66	9.06
BS-TE-213	3.70	11.11	7.74	>16	>16	>16
BS-TE-215	2.18	8.89	4.92	15.51	4.64	10.92
BS-TE-216	3.06	16.00	3.15	8.98	2.52	8.03
BS-TE-223	0.50	9.91	2.00	8.00	3.42	11.26
BS-TE-224	0.67	4.65	3.19	7.36	3.39	7.65
BS-TE-301	0.49	2.81	1.67	5.53	1.09	6.61
BS-TE-305	0.44	7.20	0.52	3.11	1.35	4.96
BS-TE-307	0.25	7.80	1.00	4.79	3.08	13.25
BS-TE-308	3.54	12.36	1.76	8.69	3.91	12.74
BS-TE-311	1.97	12.00	1.33	5.63	3.15	9.19
BS-TE-315	4.78	10.42	1.99	7.72	4.53	11.04
BS-TE-317	0.36	1.58	0.88	3.57	1.13	4.75
BS-TE-320	0.84	3.36	0.78	3.65	2.00	6.19
BS-TE-321	0.49	3.02	0.48	2.55	0.94	5.75
BS-TE-322	1.10	3.24	1.22	3.83	1.67	3.97
BS-TE-323	0.21	2.16	1.23	4.60	1.28	9.00
BS-TE-326	0.89	2.14	0.96	2.37	1.41	3.98
BS-TE-328	1.46	5.12	0.84	3.76	2.09	8.00
BS-TE-329	0.10	1.33	0.50	3.40	0.91	3.31
BS-TE-330	0.56	2.83	1.45	6.95	2.37	5.51
BS-TE-333	0.43	1.91	0.77	3.29	0.81	4.18
BS-TE-334	1.49	5.99	1.06	3.64	1.88	7.85
BS-TE-340	0.98	2.39	0.66	1.80	2.24	4.00

BS-TE-341	1.80	16.00	5.64	16.00	9.14	>16
BS-TE-342	0.55	2.15	0.75	3.10	0.80	4.05
BS-TE-343	0.68	2.38	2.24	6.95	1.90	5.27
BS-TE-346	0.31	2.05	0.50	2.68	0.58	3.79
BS-TE-348	1.45	5.70	1.96	7.37	1.82	9.94
BS-TE-350	0.33	1.60	0.54	2.52	0.59	2.97
BS-TE-351	0.82	3.11	0.76	3.59	1.00	5.02
BS-TE-352	0.63	3.00	1.10	4.84	1.38	4.74
BS-TE-354	0.99	2.65	0.37	1.97	0.50	2.23
BS-TE-355	0.44	8.50	0.46	2.55	0.48	4.52
BS-TE-356	0.79	2.40	1.24	3.20	1.41	5.41
BS-TE-358	0.63	3.15	1.10	3.71	0.55	4.00
BS-TE-359	0.36	2.18	0.42	1.83	0.65	5.00
BS-TE-360	0.33	2.40	0.41	2.28	0.50	4.50
BS-TE--361	1.64	4.00	0.80	2.78		
BS-TE-402	0.83	2.55	1.29	4.77	2.34	5.60
BS-TE-403	0.72	3.07	0.78	3.42	1.29	5.68
BS-TE-406	1.44	5.38	1.33	6.67	1.57	9.90
BS-TE-408	0.87	2.78	2.52	8.00	2.94	6.94
BS-TE-411	0.79	3.59	0.75	3.58	1.00	8.50
BS-TE-415	0.57	2.06	1.95	6.41	2.22	5.71
BS-TE-416	0.98	5.59	2.11	8.17	3.45	11.68
BS-TE-417	0.88	4.63	1.80	9.69	3.64	12.13
BS-TE-418	1.53	3.91	1.46	7.46	2.98	13.81
BS-TE-419	1.42	5.71	3.62	11.82	4.18	10.34
BS-TE-420	0.82	3.85	2.16	9.83	5.21	15.99
BS-TE-421	0.90	7.91	3.02	7.51		

表 1 (续)

Compound ID	NB4		H9	
	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀
TTD	1.60	4.10	2.69	6.40
BS-TE-204			2.88	5.84
BS-TE-213			>16	>16
BS-TE-215	2.60	4.00	4.86	7.60
BS-TE-216	1.40	2.00	2.53	7.29
BS-TE-223	2.57	7.42	4.19	8.89

BS-TE-224			2.99	4.75
BS-TE-301	0.80	2.00	1.02	2.12
BS-TE-305	0.29	2.00	0.70	1.44
BS-TE-307	0.73	4.35	0.87	1.99
BS-TE-308	1.43	6.61	1.70	4.68
BS-TE-311	0.83	4.00	2.29	3.99
BS-TE-315	1.63	5.66	2.60	4.83
BS-TE-317	0.90	2.10	0.70	1.11
BS-TE-320			1.98	3.36
BS-TE-321	0.80	1.90	0.91	1.78
BS-TE-322	0.83	3.48	1.08	2.19
BS-TE-323	1.50	4.50	0.95	2.13
BS-TE-326	1.20	1.80	0.88	1.35
BS-TE-328	1.80	4.40	1.54	3.15
BS-TE-329	2.05	3.90	1.19	2.00
BS-TE-330			2.03	4.03
BS-TE-333	0.48	1.00	1.14	1.84
BS-TE-334	>16	>16	1.30	2.40
BS-TE-340	1.07	2.87	1.93	3.23
BS-TE-341			6.87	22.12
BS-TE-342	0.60	1.60	1.11	2.32
BS-TE-343	1.18	3.06	1.62	2.75
BS-TE-346	0.54	1.50	1.01	2.30
BS-TE-348	1.14	4.78	1.33	2.97
BS-TE-350	0.30	1.00	1.11	1.92
BS-TE-351	0.70	1.90	0.72	1.58
BS-TE-352	1.05	3.88	1.31	4.50
BS-TE-354	0.40	1.00	0.78	1.25
BS-TE-355	0.40	1.40	0.63	1.96
BS-TE-356	0.63	2.17	1.54	2.21
BS-TE-358	0.80	2.00	1.45	2.40
BS-TE-359	0.40	1.00	1.25	2.30
BS-TE-360	0.50	1.40	0.22	1.71
BS-TE-402	0.20	1.41	0.25	1.25
BS-TE-403	1.10	2.70	1.22	2.20
BS-TE-406	1.70	5.50	1.38	3.41
BS-TE-408			2.50	3.99
BS-TE-411	0.70	2.60	1.23	2.50

BS-TE-415			1.71	2.50
BS-TE-416			2.31	4.40
BS-TE-417			2.03	4.37
BS-TE-418			2.38	5.00
BS-TE-419			4.64	7.26
BS-TE-420			4.40	7.68

实施例 6: 本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物抗人多发性骨髓瘤和淋巴瘤细胞活性测定

(1) 实验材料

5 骨髓瘤和淋巴瘤细胞株: RPMI8226(多发性骨髓瘤), 购自上海复祥生物科技有限公司。

试剂: 同实施例 5

主要仪器: Thermo Scientific 3111 细胞培养箱, Bio-Rad iMark 酶标仪。

10 (2) 实验方法

取生长良好的上述肿瘤细胞 6000 个, 接种到 96 孔细胞培养板孔内。培养液为含 10% 胎牛血清的 1640 细胞培养液。加入不同浓度的汉防己甲素衍生物, 混匀后, 置于二氧化碳 (5% CO₂) 细胞培养箱 37°C 培养 72 小时。然后用 MTT 法测定活细胞浓度。在本实验中对照组 (不加化合物处理) 细胞活力设为 100%, 并计算出化合物作用后细胞活力 (%) 和 72 小时白血病细胞半数生长抑制浓度 (72 小时 IC₅₀ 值和 IC₉₀ 值)。

(3) 实验结果

实验结果见表 2。表 2 显示本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物能诱导人骨髓瘤和淋巴瘤细胞死亡和抑制这些肿瘤细胞生长, 其中本
20 发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物 BS-TE-305, BS-TE-342 比汉防己甲素抗 RPMI8226(多发性骨髓瘤) 活性提高 60 倍以上, BS-TE-329 提高近 90 倍。

实施例 7: 本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物抗人实体瘤作用

测定

(1) 实验材料

人实体瘤细胞株：Hep-2(喉癌)、A549(人肺癌)、CaES-17(食道癌细胞)、PC-3(前列腺癌)、CNE(鼻咽癌细胞)、SK-OV-3(卵巢癌细胞)，均购自中国典型培养物保藏中心；RKO(人结肠腺癌细胞)、MGC 803(人胃癌细胞)、MG63(骨肉瘤)、U87 MG(恶性脑胶质瘤细胞)，均购自上海复祥生物科技有限公司；PANC-1(胰腺癌)、Huh7(人肝癌细胞)、Becap37(人乳腺癌细胞)、Hela(人宫颈癌细胞)，均受赠于浙江大学肿瘤研究所。

试剂：同实施例 5

10 主要仪器：Thermo Scientific 3111 细胞培养箱，Bio-Rad iMark 酶标仪。

(2) 实验方法

取生长良好的人实体瘤细胞 4000 个，接种到 96 孔细胞培养板孔内。培养液为含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖细胞培养液。置于二氧化碳(5% CO₂) 细胞培养箱 37°C 培养 24 小时，然后，加入不同浓度的汉防己甲素衍生物，混匀后，继续置二氧化碳(5% CO₂) 细胞培养箱 37°C 培养 72 小时。然后用 MTT 法测定活细胞浓度，并计算出药物作用后细胞活力(%)。在本实验中对照组(不加化合物处理)细胞活力设为 100%。

(3) 实验结果

20 实验结果见表 2。表 2 显示本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物能诱导人实体瘤细胞死亡和抑制这些肿瘤细胞生长，与汉防己甲素本身比较，本发明 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物抗实体瘤细胞活性明显增强，其中本发明的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物 BS-TE-305 抗 A549(人肺癌)活性提高近 3 倍；BS-TE-317, BS-TE-354 抗 PANC-1(胰腺癌)活性提高达 2 倍，BS-TE-354 抗 Huh7(人肝癌细胞)活性提高近 8 倍；BS-TE-317, BS-TE-333, BS-TE-346, BS-TE-350, BS-TE-354, BS-TE-355, BS-TE-359, BS-TE-360 抗 MGC 803(人胃癌细胞)活性提高 2 倍以上；BS-TE-354 和 BS-TE-402 抗 Becap37(人乳腺癌细胞)活性提高分别为 17 倍和 13 倍；BS-TE-305 和 BS-TE-317 抗 PC-3(前列腺癌)活性提高将近

4 倍; BS-TE-360 和 BS-TE-402 抗 RKO(人结肠腺癌细胞) 活性提高分别为 22 倍和 16 倍; BS-TE-402 抗 Hep-2(喉癌)、CaES-17(食道癌细胞)、MG63(骨肉瘤)、Hela(人宫颈癌细胞) 活性分别提高 7 倍、14 倍、27 倍和 9 倍; BS-TE-342, BS-TE-350, BS-TE-351, BS-TE-354, BS-TE-359, 5 BS-TE-360 抗 U87 MG(恶性脑胶质瘤细胞) 活性提高 2 倍以上; BS-TE-354, BS-TE-360 抗 CNE(鼻咽癌细胞) 活性提高达 5 至 6 倍; BS-TE-354, BS-TE-402 抗 SK-OV-3(卵巢癌细胞) 活性也提高达 6 倍以上。

表 2: 汉防己甲素衍生物对人实体瘤细胞半数生长抑制浓度测定 (72 小时, IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)值和 IC_{90} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)值)

Compound ID	RPMI8226		A549		PANC-1		MGC-803	
	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}
TTD	0.37	2.54	2.9	12.5	3.16	7.02	1.97	7.41
BS-TE-204	0.47	1.92	3.12	14.18	6.47	11.08	2.57	9.00
BS-TE-213	1.95	8	>16	>16	>10	>10	18.95	64.43
BS-TE-215	0.87	5.13	11.90	>16	5.11	15.00	5.78	8.00
BS-TE-216	0.54	3.14	8.60	>16	15.77	>16	2.51	4.00
BS-TE-223	0.23	2.29	4.45	14.20	10.73	16.00	3.54	38.06
BS-TE-224	0.27	1.44	>16	>16	5.68	8.76	2.45	3.72
BS-TE-301	0.06	2.95	5.10	>16	2.79	7.35	1.74	7.10
BS-TE-305	0.006	0.42	1.00	5.25	3.72	13.43	1.00	10.00
BS-TE-307	0.07	0.42	2.30	8.00	3.47	8.88	3.74	14.14
BS-TE-308	0.28	0.76	2.79	11.15	6.54	14.68	4.44	23.00
BS-TE-311	0.18	1.74	1.89	9.07	6.31	13.18	3.17	11.79
BS-TE-315	0.30	2.07	1.96	9.36	5.89	14.68	3.63	10.46
BS-TE-317	0.06	1.49	2.20	5.80	1.40	4.18	0.73	1.00
BS-TE-320	0.06	2	2.98	7.85	3.52	9.25	1.72	2.76
BS-TE-321	0.08	3.63	4.40	16.00	2.60	9.14	1.78	6.73
BS-TE-322	0.14	0.7	1.83	6.34	3.29	5.41	2.29	>10
BS-TE-323	0.12	3.88	6.20	16.00	2.46	7.10	3.04	8.00
BS-TE-326	0.27	0.64	1.80	4.90	1.63	5.16	1.46	5.38
BS-TE-328	0.15	0.96	3.70	9.90	2.99	7.15	1.68	4.00
BS-TE-329	0.004	0.29	2.36	4.77	>10	>10	1.26	1.82

BS-TE-330	0.18	1.22	5.44	15.96	6.17	9.80	1.61	6.48
BS-TE-333	0.06	2.34	1.50	11.00	1.69	9.93	0.84	5.30
BS-TE-334	0.05	1.11	4.00	14.61	3.99	11.00	2.22	10.00
BS-TE-340	0.18	0.999	2.36	6.66	3.61	5.72	2.34	5.54
BS-TE-341	0.35	3.31	>16	>16	>10	>10	9.67	15.10
BS-TE-342	0.006	0.45	3.20	16.00	1.92	6.84	1.38	6.55
BS-TE-343	0.05	0.7	3.54	11.97	2.84	4.84	1.10	2.88
BS-TE-346	0.02	0.06	2.50	8.00	2.31	8.26	0.90	4.98
BS-TE-348	0.09	1	9.94	>16	4.55	13.92	1.93	5.53
BS-TE-350	0.05	1.51	3.00	11.00	1.83	6.04	0.89	4.11
BS-TE-351	0.09	2.43	3.90	16.00	1.87	7.79	1.49	7.42
BS-TE-352	0.09	0.76	1.35	4.58	5.79	9.00	4.38	>10
BS-TE-354	0.08	1.58	1.80	9.80	1.25	6.31	0.83	3.93
BS-TE-355	0.04	3.08	3.40	14.90	2.27	8.22	0.92	12.00
BS-TE-356	0.11	2.43	3.50	10.52	1.62	4.58	1.26	1.88
BS-TE-358	0.08	3.69	4.00	16.00	2.66	9.71	1.39	7.08
BS-TE-359	0.05	1.42	3.30	12.80	2.44	8.04	0.88	6.00
BS-TE-360	0.05	1.5	1.70	9.20	1.88	9.54	0.80	5.17
BS-TE--361			1.66	5.10	5.07	10.67		
BS-TE-402	0.25	1.17	1.35	4.79	1.34	4.04	1.50	3.62
BS-TE-403	0.29	1.26	4.96	11.70	1.74	5.66	2.47	7.05
BS-TE-406	0.52	2.81	8.40	>16	2.73	16.00	2.87	8.00
BS-TE-408	0.23	1.13	3.10	7.05	6.00	9.90	2.59	3.97
BS-TE-411	0.26	1.35	5.50	15.50	2.29	8.92	2.15	9.02
BS-TE-415	0.14	0.89	2.44	5.61	2.76	4.90	1.06	1.90
BS-TE-416	0.29	2.76	4.05	10.96	4.63	10.00	5.17	8.33
BS-TE-417	0.27	2	3.88	10.11	4.66	9.50	5.09	8.27
BS-TE-418	0.15	2.12	4.50	11.04	4.57	9.50	4.40	6.85
BS-TE-419	0.28	2.09	5.61	9.75	5.99	9.31	5.16	7.50
BS-TE-420	0.29	2.25	4.41	12.17	>10	>10	5.01	7.56
BS-TE-421	0.19	1.28	3.40	8.00	3.76	6.73	3.44	4.80

表 2 (续)

Compound ID	Becap-37		PC-3		Huh-7		RKO	
	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀
TTD	6.9	15	6.01	10.78	5.05	7.81	2.72	6.3
BS-TE-204	3.66	6.19	6.55	9.00	2.08	3.88	3.12	4.70

BS-TE-213	9.95	>10	>10	>10	8.54	15.09		
BS-TE-215	8.30	15.00	7.08	9.00	3.54	9.62	6.04	9.22
BS-TE-216	5.80	13.00	4.11	7.84	2.66	4.71	2.21	4.67
BS-TE-223	6.77	15.00	5.60	27.97	4.14	7.97	4.23	7.50
BS-TE-224	2.85	4.18	6.38	9.00	2.40	3.93		
BS-TE-301	2.30	5.60	3.02	4.68	1.27	2.40	1.22	2.94
BS-TE-305	1.44	6.24	1.56	4.90	1.28	2.30	0.66	1.65
BS-TE-307	1.79	6.94	2.88	6.99	3.00	4.90	0.95	3.27
BS-TE-308	4.76	11.49	5.39	8.99	3.10	4.95	1.77	4.03
BS-TE-311	2.50	7.86	6.04	8.00	3.50	4.90	1.96	4.25
BS-TE-315	2.95	9.79	6.41	8.00	3.07	4.98	1.64	3.39
BS-TE-317	1.30	3.20	1.59	2.14	1.55	3.72	1.15	2.49
BS-TE-320	1.60	2.17			2.00	3.92		
BS-TE-321	1.40	4.50	2.01	3.84	0.81	1.24	0.69	1.71
BS-TE-322	2.31	4.00	2.26	4.06	1.42	1.94	0.90	2.40
BS-TE-323	3.20	8.00	1.88	3.83	1.33	3.88	1.07	2.60
BS-TE-326	1.30	2.00	3.60	5.80	1.15	1.76	0.87	2.22
BS-TE-328	2.00	4.00	3.07	4.98	1.52	3.70	1.76	3.00
BS-TE-329	1.62	2.48			8.16	15.87		
BS-TE-330	6.00	12.00	3.68	7.59	2.96	4.90	2.50	4.64
BS-TE-333	1.00	4.50	1.85	2.90	1.64	2.45	0.54	1.74
BS-TE-334	3.09	8.39	3.35	6.05	2.55	4.38	0.82	2.04
BS-TE-340	1.99	4.12	3.43	4.00	2.52	4.85	1.29	2.45
BS-TE-341	9.80	>10			4.71	7.88		
BS-TE-342	1.10	4.50	1.79	2.40	1.31	2.46	0.69	1.75
BS-TE-343	6.96	8.17	2.72	4.28	2.14	4.85	2.25	3.24
BS-TE-346	0.80	2.30	2.92	4.90	1.63	2.49	0.73	1.90
BS-TE-348	3.84	13.59	4.44	8.36	3.05	8.00	1.77	3.83
BS-TE-350	0.90	3.60	1.87	2.83	1.82	2.43	0.45	0.92
BS-TE-351	1.08	4.50	1.82	3.32	1.30	2.41	0.45	1.25
BS-TE-352	1.40	4.85	4.53	7.51	3.61	4.98		
BS-TE-354	0.40	2.40	1.90	2.50	0.65	0.98	0.25	0.51
BS-TE-355	0.76	2.69	1.83	3.65	1.28	2.45	0.25	1.18
BS-TE-356	1.63	3.00	3.40	5.00	1.30	1.67	0.51	0.91
BS-TE-358	1.96	4.50	3.70	5.90	1.35	1.92	0.60	1.67
BS-TE-359	1.10	2.00	3.00	4.70	1.19	1.68	0.58	1.01
BS-TE-360	1.20	3.70	1.85	2.50	0.93	2.40	0.12	1.02
BS-TE--361					1.24	1.88		

BS-TE-402	0.52	2.15	2.05	4.71	1.09	4.97	0.17	0.60
BS-TE-403	3.30	5.80	2.68	5.43	1.87	2.40	0.89	2.04
BS-TE-406	3.50	10.80	3.32	6.95	2.31	3.43	0.89	1.99
BS-TE-408	4.89	36.60	5.77	9.09	1.84	3.51		
BS-TE-411	1.90	4.90	2.41	5.56	1.13	1.66	0.26	0.60
BS-TE-415	1.90	3.31	3.50	5.76	1.09	1.91		
BS-TE-416	1.80	4.31	4.19	9.49	2.93	5.07		
BS-TE-417	1.77	3.79	4.10	7.91	2.48	3.76		
BS-TE-418	1.98	4.40	4.98	9.43	3.08	5.77		
BS-TE-419	4.22	6.88	6.67	10.51	2.54	6.16		
BS-TE-420	5.60	11.50	5.68	10.95	4.22	7.06		
BS-TE-421	3.50	4.86			1.52	3.27		

表 2 (续)

Compound ID	MG-63		CAES-17		Hep 2		Hela	
	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀
TTD	1.9	3.7	8.34	>16	3.88	11.86	4.05	9.24
BS-TE-204	1.72	4.69	6.81	16.61				
BS-TE-213	9.93	26.11	9.89	30.16				
BS-TE-215	6.20	10.40	8.69	27.04	9.90	22.22	6.52	13.03
BS-TE-216	4.50	8.80	5.36	29.91	5.42	16.00	3.82	10.79
BS-TE-223	5.13	7.64	9.80	37.50				
BS-TE-224	2.76	4.51	2.40	7.23				
BS-TE-301	2.00	3.80	2.93	22.29	3.50	12.47	1.97	3.83
BS-TE-305	0.74	2.05	1.10	16.97				
BS-TE-307	0.82	2.32	1.10	18.81				
BS-TE-308	1.38	4.84	3.43	27.42				
BS-TE-311	1.89	4.00	4.05	25.61				
BS-TE-313	9.77	25.90	9.90	25.30				
BS-TE-315	1.41	3.11	2.40	20.84				
BS-TE-317	1.30	1.90	1.61	7.40	1.96	4.25	0.94	2.02
BS-TE-320	1.10	2.18	2.11	12.18				
BS-TE-321	1.10	3.20	2.25	19.08	3.51	9.80	1.48	4.31
BS-TE-322	1.00	2.24	1.58	9.61				
BS-TE-323	2.60	5.50	3.60	23.00	2.49	5.59	1.20	3.89
BS-TE-326	1.40	1.90	2.50	6.18	3.62	6.57	1.90	3.01

BS-TE-328	2.10	3.90	3.13	12.18	9.63	15.90	2.49	4.91
BS-TE-329	6.87	35.59	7.20	26.47				
BS-TE-330	1.96	4.38	2.40	7.94				
BS-TE-333	0.70	1.30	2.35	17.09	1.72	9.69	1.69	5.00
BS-TE-334	0.84	2.44	2.35	21.49				
BS-TE-340	0.60	1.19	1.83	7.21				
BS-TE-341	3.16	9.80	4.80	25.79				
BS-TE-342	0.90	1.90	2.21	12.38	1.86	7.19	1.69	4.10
BS-TE-343	1.15	2.47	2.09	8.09				
BS-TE-346	0.80	1.50	1.29	7.23	1.79	6.83	1.83	5.00
BS-TE-348	1.52	4.06	2.30	14.54				
BS-TE-350	0.80	1.60	1.03	5.13	1.51	4.67	0.95	2.50
BS-TE-351	1.20	2.00	1.38	8.19	3.07	8.13	1.25	3.61
BS-TE-352	1.26	4.35	3.06	9.92				
BS-TE-354	0.68	0.90	0.91	4.89	2.05	6.19	1.07	2.81
BS-TE-355	0.77	1.27	1.42	10.99	3.22	8.45	2.00	6.92
BS-TE-356	0.49	0.62	1.00	9.26	3.37	7.54	1.55	5.00
BS-TE-358	1.50	2.80	2.69	10.06	3.37	7.54	2.12	3.97
BS-TE-359	1.10	1.98	1.61	7.67	4.60	8.29	1.09	2.56
BS-TE-360	0.80	1.90	1.75	10.47	2.40	9.39	1.20	6.00
BS-TE--361								
BS-TE-402	0.07	1.11	0.60	4.90	0.58	3.58	0.45	2.29
BS-TE-403	2.03	4.00	2.97	8.86	2.81	5.90	1.19	3.04
BS-TE-406	2.49	6.36	3.94	16.45	2.40	6.87	1.07	2.89
BS-TE-408	2.88	9.84	4.80	14.94				
BS-TE-411	1.26	3.07	2.76	11.79	2.15	5.69	1.49	3.45
BS-TE-415	1.31	4.75	1.74	5.98				
BS-TE-416	1.08	2.49	2.30	16.59				
BS-TE-417	1.06	3.66	2.04	12.03				
BS-TE-418	1.48	4.45	1.71	9.90				
BS-TE-419	3.07	9.69	4.98	18.42				
BS-TE-420	2.72	9.89	4.72	18.93				
BS-TE-421	1.08	4.46						

表 2 (续)

Compound	U87		CNE		SK-OV-3	
	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀

ID						
TTD	0.66	3.58	3.3	6.2	9.04	>16
BS-TE-215	3.14	8.00	6.97	12.17	7.50	>16
BS-TE-216	1.24	3.74	3.86	13.30	7.00	>16
BS-TE-301	0.69	3.05	3.70	6.20	3.77	24.28
BS-TE-317	0.50	1.81	2.30	3.50	2.00	8.10
BS-TE-321	0.57	2.51	2.80	6.60	3.50	>16
BS-TE-323	0.98	4.02	4.80	10.40	8.00	>16
BS-TE-326	0.75	2.40	3.20	4.95	1.91	5.21
BS-TE-328	1.44	5.39	6.02	>16	6.80	>16
BS-TE-333	0.50	1.51	2.60	5.60	3.04	>16
BS-TE-342	0.30	1.16	1.60	3.70	2.00	>16
BS-TE-346	0.19	0.57	2.50	5.40	3.90	>16
BS-TE-350	0.30	1.13	1.30	3.30	1.80	12.90
BS-TE-351	0.28	0.67	1.32	3.84	3.50	>16
BS-TE-354	0.31	1.44	0.54	1.62	1.40	>16
BS-TE-355	0.37	1.16	1.17	3.64	3.50	>16
BS-TE-356	1.11	2.02	0.94	2.59	2.19	4.00
BS-TE-358	0.65	1.99	2.26	4.12	4.00	>16
BS-TE-359	0.33	1.01	1.57	2.83	2.00	14.40
BS-TE-360	0.33	1.55	0.64	3.55	1.62	3.22
BS-TE-402	0.55	1.78	1.03	2.49	1.37	3.89
BS-TE-403	1.35	2.45	2.12	4.46	3.50	15.10
BS-TE-406	2.86	6.66	1.60	3.49	7.10	>16
BS-TE-411	1.09	2.55	1.32	3.33	8.00	>16

从实施利 6 和 7 的体外试验数据可以看出，所测试的本发明化合物均具有抗肿瘤活性。与式(I-b)的化合物相比，式(I-c)化合物以及式(I-d)和式(I-e)化合物具有更强的抗肿瘤活性。值得注意的是，所测试的式(I-c)、式(I-d)和式(I-e)化合物至少对于一个肿瘤细胞系的 IC₅₀ 值低于或相当于对照化合物 TTD。

实施例 8：本发明的部分 5-碳取代汉防己甲素衍生物抗体内肿瘤的活性测定及毒性的初步测试。

实验 8-1: BS-TE-403 及 BS-TE-333 对裸鼠人肺癌移植瘤的抑制作用

(1) 实验材料:

细胞系: 人非小细胞肺癌细胞株 A549, 来源于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC);

5 动物: BALB/c 裸鼠, 8 周, 雌性, 购自中国科学院上海实验动物中心。

(2) 试剂: BS-TE-403 及 BS-TE-333 (本发明), 汉防己甲素 TTD 来源于江西金芙蓉生物有限公司。所有化合物均为 50mg/kg 体重/次的剂量

10 (3) 主要仪器: 细胞培养箱 (Thermo Scientific CO₂ 培养箱, 3111 型), 生物安全柜 (Heal Force, Hfsafe-1200A2), 层流架 (苏杭牌洁净动物饲养柜, DJ-2 型)。

(4) 实验方法

15 无菌条件下收集对数生长期上述肿瘤细胞, 以 $5 \times 10^6 / 0.2 \text{ml}$ / 只裸鼠的细胞量 (活细胞率 > 95%), 经皮下注射于裸鼠右腋下, 建立人非小细胞肺癌裸鼠移植瘤模型。

实验共分 4 组: 阴性对照组 (溶剂组), 阳性对照组 (先导化合物 TTD 组), BS-TE-403 组和 BS-TE-333 组。

20 接种后第三天开始给药, 每只鼠每次灌胃 0.4 mL, 每天用药 3 次, 用药时间为 8 点, 14 点, 20 点, 间隔时间为 6 小时, 连续给药 10 天。以给药前一天为第 0 天, 每隔 5 天测体重及瘤径, 做出体重及肿瘤生长动态图。第 27 天解剖取出瘤体称重, 以对照组抑瘤率为 0, 计算出药物作用后的肿瘤抑制率 (%)。

测定值用平均数 ± 标准误 (M ± SD) 表示。

25

表 3: BS-TE-403 和 BS-TE-333 对裸鼠人肺癌移植瘤的影响

组别	剂量 (mg/kg 体重/次)	动物数 (只)		体重 (g)		瘤块质量 (mg)	抑瘤率 (%)
		始	末	始	末		
对照组		4	4	22.33±0.26	20.48±2.29	928.50±197.72	--
TTD	50	3	3	22.40±0.26	19.10±2.02	799.00±349.09	13.95
BS-TE-403	50	4	4	24.25±0.19	21.70±0.92	658.50±532.71	29.08
BS-TE-333	50	4	4	21.3±0.24	16.95±2.30	639.25±285.20	31.15

图 1 显示 BS-TE-403 和 BS-TE-333 对裸鼠体重影响的动态变化。如

图 1 所示, BS-TE-403 与对照组体重比较, 体重下降不明显, 表明 BS-TE-403 在这个剂量下尚无明显毒副作用。BS-TE-333 与对照组体重比较, 体重下降较明显, 表明 BS-TE-333 在这个剂量下有毒副作用。

5 图 2 显示 BS-TE-403 和 BS-TE-333 对裸鼠人肺癌移植瘤影响的动态曲线。如图 2 所示, BS-TE-403 和 BS-TE-333 对裸鼠人肺癌移植瘤有抑瘤作用。

10 图 3 显示裸鼠人肺癌移植瘤图, 图 4 显示 BS-TE-403 和 BS-TE-333 对裸鼠人肺癌移植瘤重量的影响。图 5 显示 BS-TE-403 和 BS-TE-333 对裸鼠人肺癌移植瘤的抑制作用。

如上述表、图所示, 在体内实验中, BS-TE-403 对裸鼠人肺癌移植瘤的抑制率为 29.08%, BS-TE-333 对裸鼠人肺癌移植瘤的抑制率为 31.15%, BS-TE-403 和 BS-TE-333 对裸鼠人肺癌移植瘤具有抑制作用。

实验 8-2: BS-TE-354 对裸鼠人肺癌移植瘤的抑制作用

(1) 实验材料:

20 细胞系: 人非小细胞肺癌细胞株 A549, 来源于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC);

动物: BALB/c 裸鼠, 8 周, 雌性, 购自中国科学院上海实验动物中心。

(2) 试剂: BS-TE-354 (本发明), 为 50mg/kg 体重/次的剂量

25 (3) 主要仪器: 细胞培养箱 (Thermo Scientific CO₂ 培养箱, 3111 型), 生物安全柜 (Heal Force, Hfsafe-1200A2), 层流架 (苏杭牌洁净动物饲养柜, DJ-2 型)。

(4) 实验方法

30 无菌条件下收集对数生长期上述肿瘤细胞, 以 $1.3 \times 10^7 / 0.2 \text{ml}$ / 只裸鼠的细胞量 (活细胞率 > 95%), 经皮下注射于裸鼠右腋下, 建立人非小细胞肺癌裸鼠移植瘤模型。

实验共分 3 组: 阴性对照组 (溶剂组), 阳性对照组 (吉非替尼, Jef), BS-TE-354 组。

35 接种后第三天开始给药, 每只鼠每次灌胃 0.4 ml, 每天用药 3 次, 用药时间为 8 点, 14 点, 20 点, 间隔时间为 6 小时, 连续给药 10 天。以给药前一天为第 0 天, 每隔 5 天测体重及瘤径, 做出体重及肿瘤生长动态图。第 29 天解剖取出瘤体称重, 以对照组抑瘤率为 0, 计算出药物

作用后的肿瘤抑制率 (%)。

测定值用平均数±标准误 (M±SD) 表示。

表 4: BS-TE-354 对裸鼠人肺癌移植瘤的影响

组别	剂量 (mg/ kg 体重/ 次)	动物数 (只)		体重 (g)		瘤块质量 (mg)	抑瘤 率 (%)
		始	末	始	末		
对照组		4	4	22.28±0.33	20.60±0.88	750.50±397.49	--
Jef	50	3	3	22.1±0.17	21.8±0.99	883±273.32	-17.65
BS-TE-354	50	4	4	22.25±0.29	16.08±1.00	423.25±364.28	43.60

5

图 6 显示 BS-TE-354 对裸鼠体重影响的动态变化。如图 6 所示，BS-TE-354 与对照组体重比较，体重下降较明显，表明 BS-TE-354 在这个剂量下有毒副作用。

10

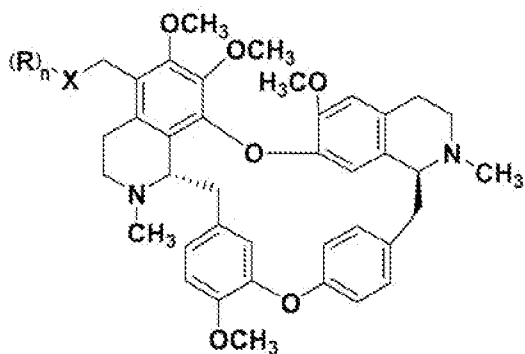
图 7 显示 BS-TE-354 对裸鼠人肺癌移植瘤影响的动态曲线。图 8 显示裸鼠人肺癌移植瘤图。图 9 显示 BS-TE-354 对裸鼠人肺癌移植瘤重量的影响。图 10 显示 BS-TE-354 对裸鼠人肺癌移植瘤的抑制作用。

15

如上述表、图所示，在体内实验中，BS-TE-354 对裸鼠人肺癌移植瘤的抑制率为 43.60%，BS-TE-354 对裸鼠人肺癌移植瘤具有抑制作用。

权利要求书

1. 通式(I)的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐,



5

其中,

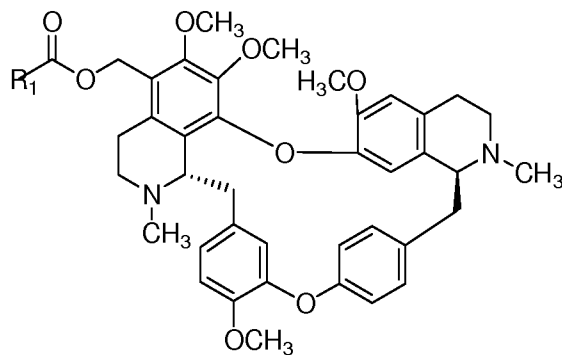
X 选自氧、硫、氮和羰氧基;

n 为 1 或 2, 其中当 X 为氧或硫时, n=1, 当 X 为氮时, n=2;

R 独立地选自 H、C₁-C₆ 烷基、C₃-C₇ 环烷基或环烯基、芳基或杂芳基、
 10 芳基-C₁-C₃ 烷基、杂芳基-C₁-C₃ 烷基、芳氧基-C₁-C₃ 烷基、杂芳氧基-C₁-C₃ 烷基, 当 X 为羰氧基时, R 还可以为 C₁-C₆ 烷氧基或 C₁-C₆ 烷硫基, 当 X 为氮时, 两个 R 可以与它们连接的氮原子一起形成非芳香含氮杂环基或含氮杂芳基; 所述非氢基团任选地被选自下组的基团取代: 卤素、氨基、
 15 C₁-C₆ 烷基氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、巯基和 C₁-C₆ 烷硫基; 所述环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、含氮杂环或含氮杂芳基任选地被选自 C₁-C₆ 烷基、羟基 C₁-C₆ 烷基、巯基 C₁-C₆ 烷基和苯基的基团取代。

2. 根据权利要求 1 的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐, 其中 X 为羰氧基, 式(I)化合物由通式(I-b)代表

20

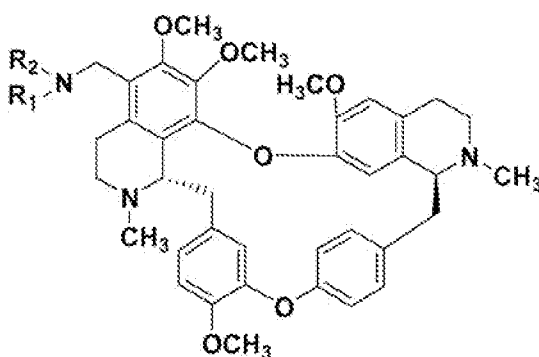


I-b

其中， R_1 选自 H、 C_1-C_6 烷基、芳基或杂芳基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基，所述非氢基团任选地被选自下组的基团取代：卤素、氨基、 C_1-C_6 烷基氨基、硝基、氰基、羧基、 C_1-C_6 烷氧基、巯基和 C_1-C_6 烷硫基；所述芳基和杂芳基任选地被选自 C_1-C_6 烷基、羧基 C_1-C_6 烷基和巯基 C_1-C_6 烷基的基团取代。

3. 根据权利要求 1 的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 X 为氮，式(I)化合物由通式(I-c)代表

10

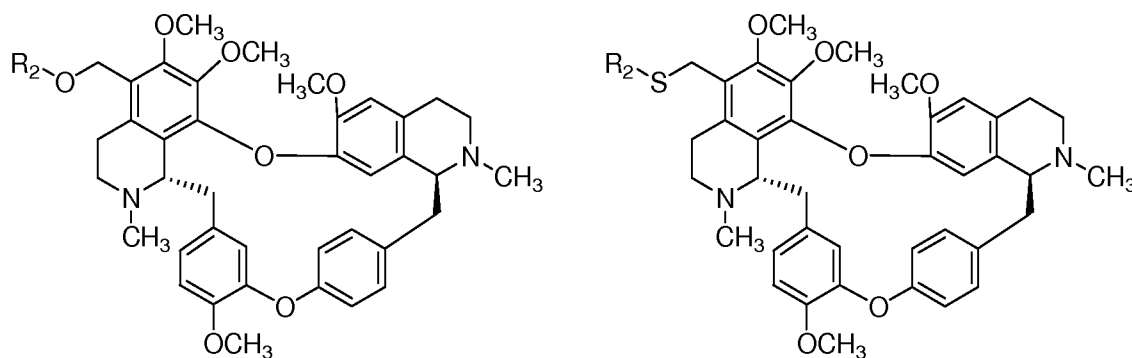


I-c

其中， R_1 和 R_2 独立地选自氢、 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_7 环烷基或环烯基、芳基- C_1-C_3 烷基、杂芳基- C_1-C_3 烷基、芳氧基- C_1-C_3 烷基、杂芳氧基- C_1-C_3 烷基，或者 R_1 和 R_2 与它们连接的氮原子一起形成非芳香含氮杂环或含氮杂芳基；所述非氢基团任选地被选自下组的基团取代：卤素、氨基、 C_1-C_6 烷基氨基、硝基、氰基、羧基、 C_1-C_6 烷氧基、巯基和 C_1-C_6 烷硫基；所述环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、含氮杂环或含氮杂芳基任选地被选自 C_1-C_6 烷基、羧基 C_1-C_6 烷基、巯基 C_1-C_6 烷基的基团取代和苯

基的基团取代。

4. 根据权利要求 1 的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 X 为氧或硫，式(I)化合物由通式(I-d)或(I-e)代表，



5

I-d

或

I-e

其中，R₂选自 C₁-C₆烷基、芳基、C₃-C₇环烷基或环烯基、芳基-C₁-C₃烷基、杂芳基-C₁-C₃烷基、杂环基-C₁-C₃烷基、芳氧基-C₁-C₃烷基、杂芳氧基-C₁-C₃烷基，所述基团任选地被选自下组的基团取代：卤素、氨基、
10 C₁-C₆烷基氨基、硝基、氰基、羧基、C₁-C₆烷氧基、巯基和 C₁-C₆烷硫基；所述环烷基、环烯基、芳基和杂芳基任选地被选自 C₁-C₆烷基、羧基 C₁-C₆烷基和巯基 C₁-C₆烷基的基团取代。

5. 根据权利要求 2 的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 R₁选自 C₁-C₆烷基、芳基和杂芳基。

15 6. 根据权利要求 5 的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 R₁选自甲基、乙基、丙基、异丙基、苯基、二甲基氨基苯基、呋喃基、噻吩基、甲基噻吩基。

7. 根据权利要求 3 的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 R₁和 R₂独立地选自氢、C₁-C₆烷基、C₃-C₇环烷基、芳基-C₁-C₃烷基、杂芳基-C₁-C₃烷基，或者 R₁和 R₂与它们连接的氮原子一起形成非芳香含氮杂环或含氮杂芳基。
20

8. 根据权利要求 3 或 7 的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受盐，其中所述非氢基团被选自下组的基团取代：氨基、C₁-C₆

烷基氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆烷氧基；所述环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、含氮杂环或含氮杂芳基被选自 C₁-C₆烷基、羟基 C₁-C₆烷基和苯基的基团取代。

9. 根据权利要求 8 的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中，R₁ 和 R₂ 独立地选自氢、任选地被羟基或 C₁-C₆烷氧基取代的 C₁-C₆烷基、任选地被羟基或 C₁-C₆烷氧基取代的 C₃-C₇环烷基、芳基上任选地被 C₁-C₆烷基取代的芳基-C₁-C₃烷基、杂芳基上任选地被 C₁-C₆烷基取代的杂芳基-C₁-C₃烷基，或者 R₁ 和 R₂ 与它们连接的氮原子一起形成非芳香含氮杂环基或含氮杂芳基，所述非芳香含氮杂环基任选地被选自羟基、羟基 C₁-C₆烷基、氨基、C₁-C₆烷基氨基、C₁-C₆烷基、氰基、硝基和苯基的基团取代。

10. 根据权利要求 9 的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中，R₁ 和 R₂ 独立地选自氢、C₁-C₃烷氧基取代的 C₁-C₃烷基、C₃-C₆环烷基、芳基甲基、芳基（甲基）甲基、杂芳基甲基，或者 R₁ 和 R₂ 与它们连接的氮原子一起形成非芳香含氮杂环基，所述非芳香含氮杂环基任选地被选自羟基、羟基 C₁-C₆烷基、氨基、C₁-C₆烷基氨基、C₁-C₆烷基、氰基、硝基和苯基的基团取代。

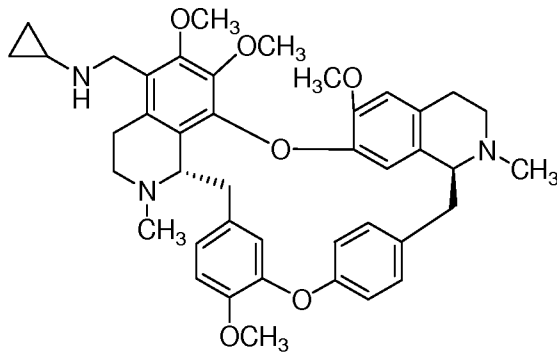
11. 根据权利要求 3、7-10 任一项的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述非芳香含氮杂环为 5-7 元环，任选地除了与 R₁ 和 R₂ 连接的氮原子外还含有 1-2 个选自氮、氧和硫的杂原子；优选地所述非芳香含氮杂环为吡咯烷基、吡咯啉基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、二氮杂环庚烷基。

12. 根据权利要求 3、7-10 任一项的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述含芳基基团中的芳基优选为苯基；所述含杂芳基的基团中的杂芳基优选为任选被 C₁-C₃烷基取代的吡啶基、任选被 C₁-C₃烷基取代的咪唑基或任选被 C₁-C₃烷基取代的噻吩基。

13. 根据权利要求 4 的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐，R₂ 选自芳基-C₁-C₃烷基、杂芳基-C₁-C₃烷基、芳氧基-C₁-C₃烷基、杂芳氧基-C₁-C₃烷基。

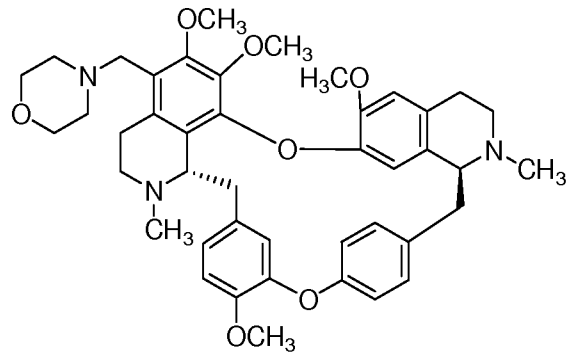
14. 根据权利要求 4 或 13 的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述含芳基基团中的芳基或含杂芳基基团中的杂芳基被选自卤素和 C₁-C₆ 烷氧基的基团取代；所述含芳基基团中的芳基优选为苯基；所述含杂芳基基团中的杂芳基优选为吡啶基、咪唑基或噻吩基。

15. 根据权利要求 1 的 5-位碳取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐，选自下述化合物：



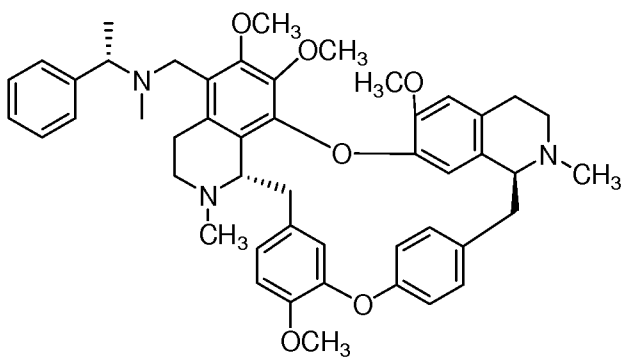
BS-TE-301

5-(环丙烷基-氨基-亚甲基)-汉防己甲素



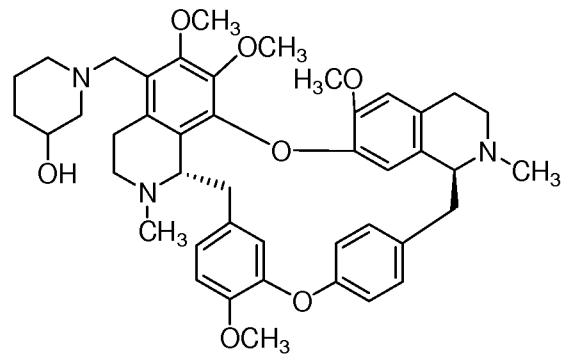
BS-TE-307

5-(吗啡啉基-亚甲基)-汉防己甲素



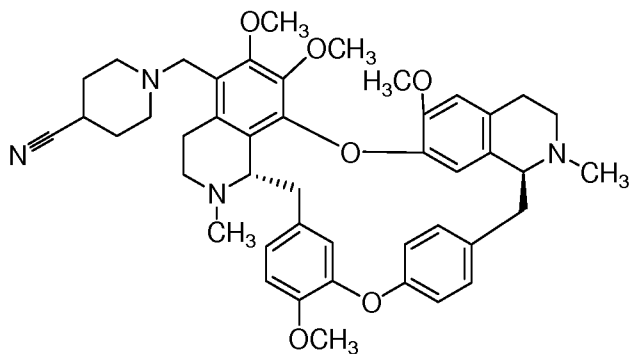
BS-TE-317

5-[(R)-N-甲基-苯乙胺基-亚甲基]-汉防己甲素



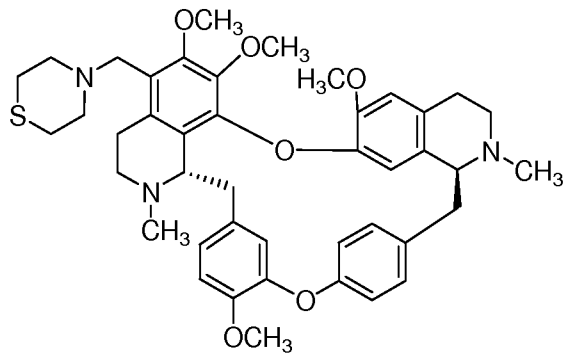
BS-TE-321

5-(m-羟基哌啶-亚甲基)-汉防己甲素



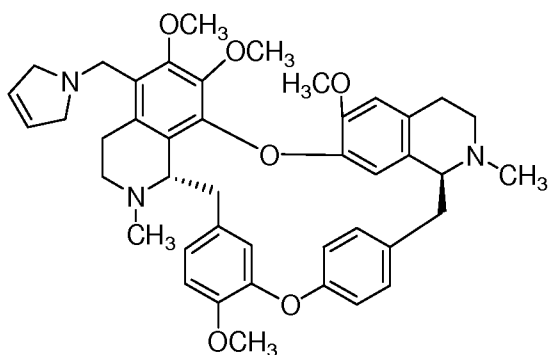
BS-TE-323

5-(p-氰基哌啶-亚甲基)-汉防己甲素



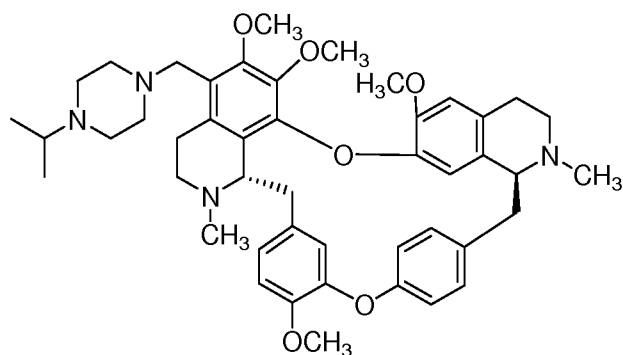
BS-TE-328

5-(硫代吗啉-亚甲基)-汉防己甲素



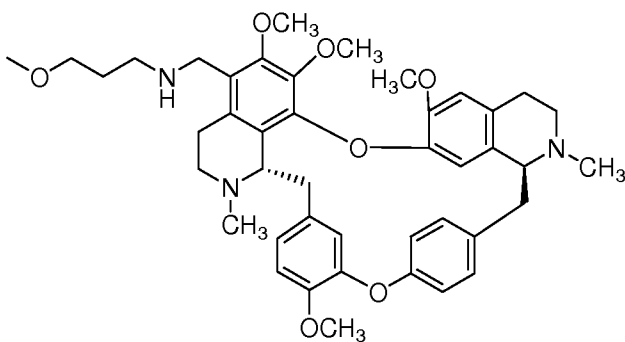
BS-TE-329

5-(2,5-二氢吡咯-亚甲基)-汉防己甲素



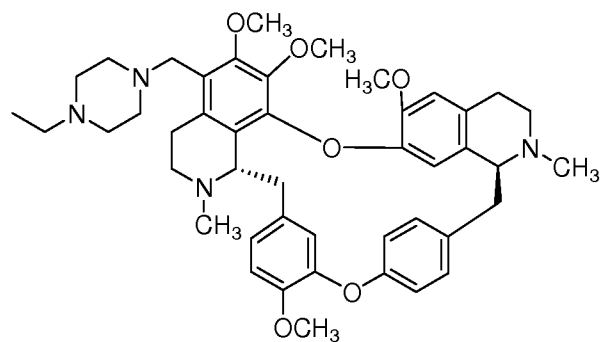
BS-TE-333

5-(N-异丙基哌嗪-亚甲基)-汉防己甲素



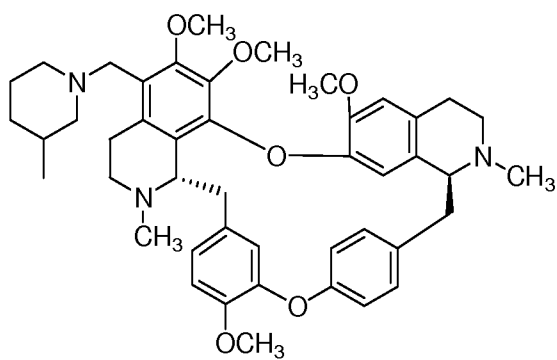
BS-TE-340

5-(甲氧基-丙胺基-亚甲基)-汉防己甲素



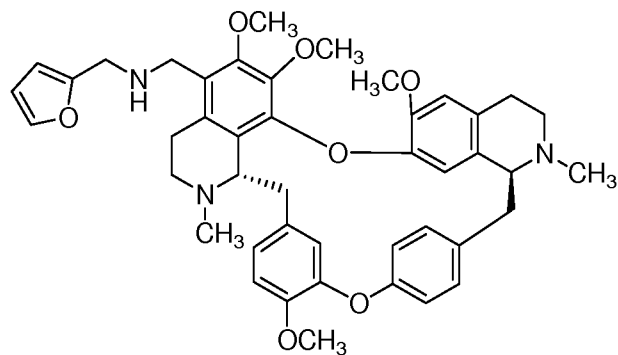
BS-TE-342

5-(N-乙基哌嗪-亚甲基)-汉防己甲素



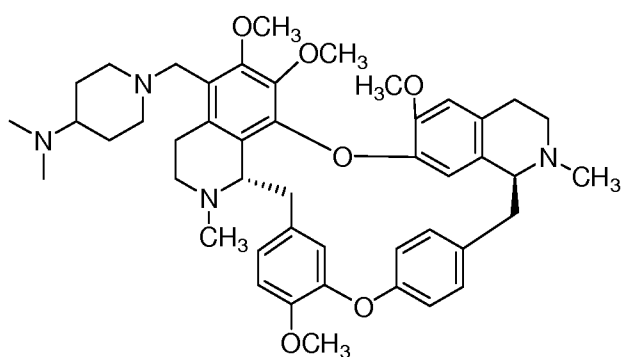
BS-TE-346

5-(m-甲基哌啶-亚甲基)-汉防己甲素



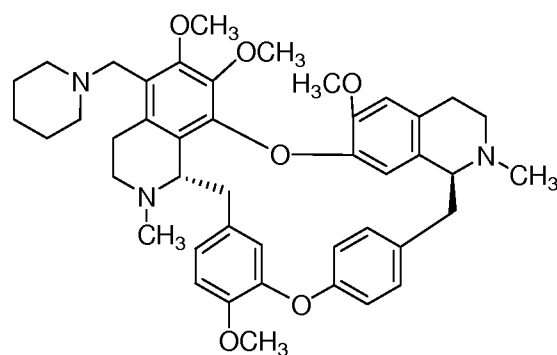
BS-TE-350

5-(呋喃-甲胺基-亚甲基)-汉防己甲素



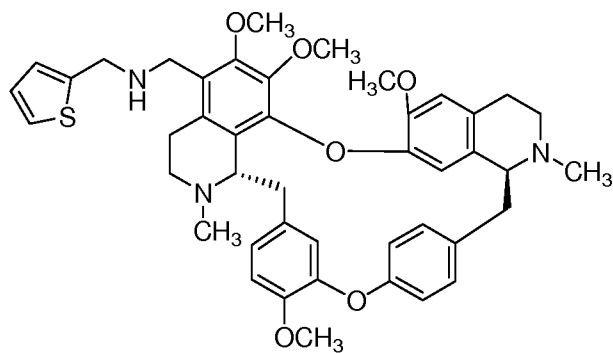
BS-TE-354

5-(4-二甲氨基哌啶-亚甲基)-汉防己甲素



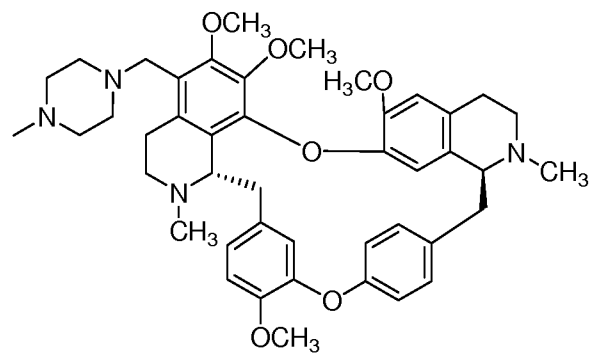
BS-TE-355

5-(哌啶基-亚甲基)-汉防己甲素



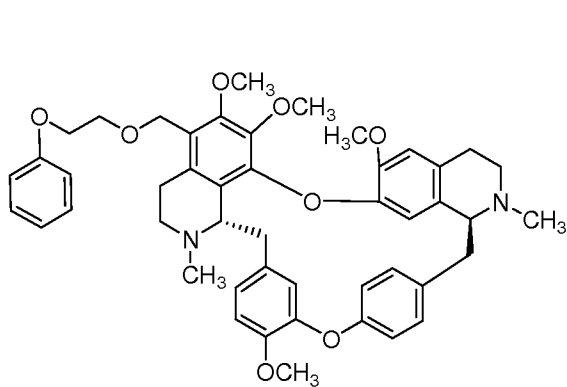
BS-TE-359

5-(N-甲基哌啶-亚甲基)-汉防己甲素



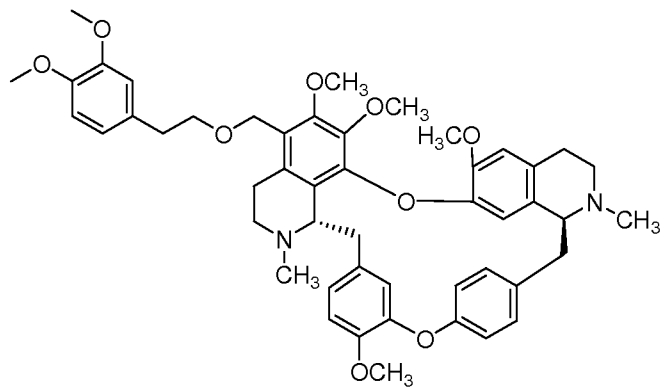
BS-TE-360

5-(N-甲基哌啶-亚甲基)-汉防己甲素



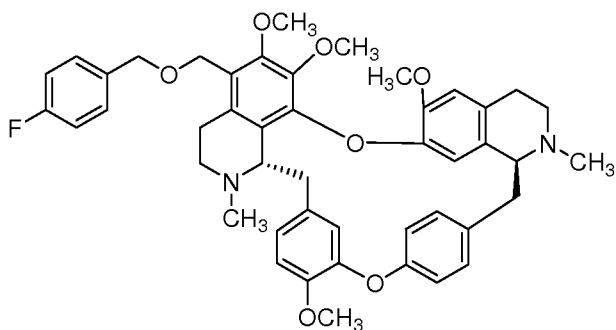
BS-TE-402

5-(苯氧基-乙氧基-亚甲基)-汉防己甲素



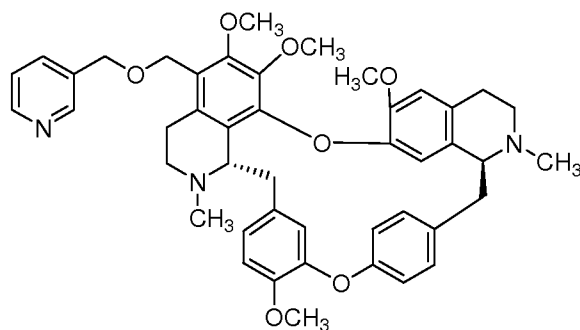
BS-TE-403

5-(3,4-二甲氧基-苯乙氧基-亚甲基)-汉防己甲素



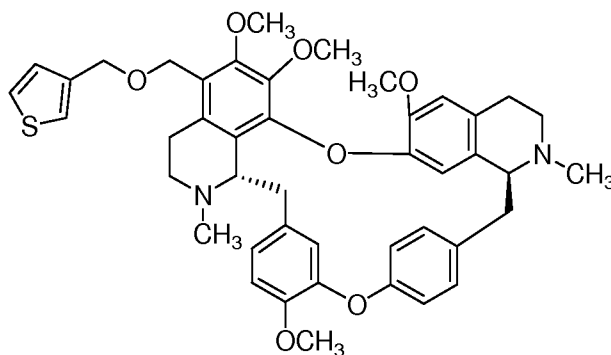
BS-TE-408

5-(p-氟-苯甲氧基-亚甲基)-汉防己甲素



BS-TE-411

5-(m-吡啶甲氧基-亚甲基)-汉防己甲素

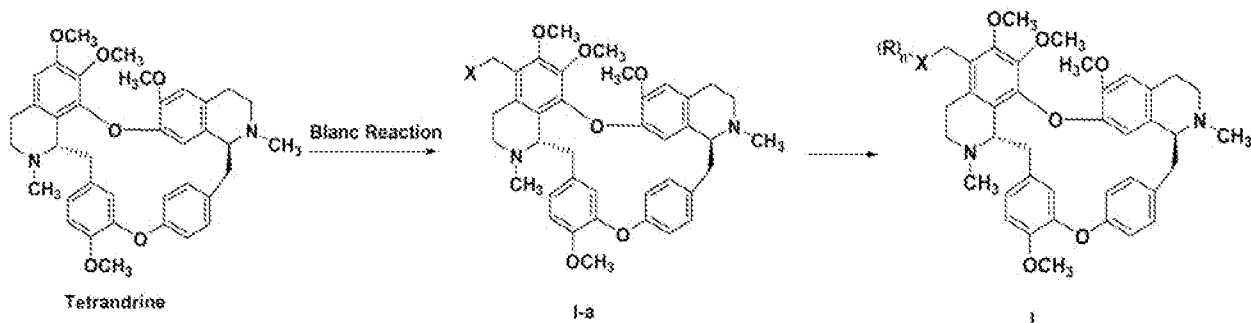


BS-TE-415

5-(m-噻吩甲氧基-亚甲基)-汉防己甲素

5

16. 一种制备式 (I) 化合物的方法



包括将汉防己甲素与甲醛在盐酸和二氯化锌存在下，由布兰克(Blanc Reaction)氯甲基化反应，生成 5-氯甲基汉防己甲素(I-a, X=Cl)；再由 5-氯甲基汉防己甲素(I-a, X=Cl)经酯化、胺化或醚化反应，生成通式 (I) 5-位取代的汉防己甲素衍生物，式(I)中 R 和 X 与权利要求 1 的定义相同。

17. 一种药物组合物，其中包含权利要求 1-15 中任一项的 5-位取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐和药学上可以接受的赋形剂。

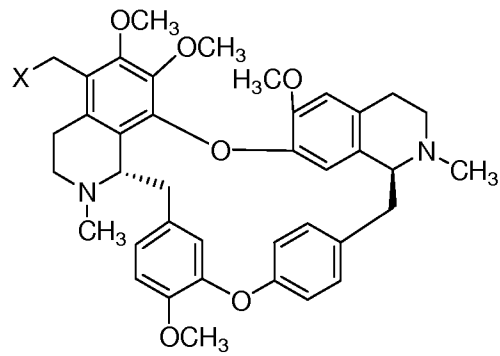
10 18. 权利要求 1-15 中的任一项的 5-位取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐在制备抗肿瘤药物中的用途。

19. 一种治疗肿瘤患者的方法，包括给予需要治疗的患者治疗有效量的根据权利要求 1-15 任一项的 5-位取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐。

15 20. 作为抗肿瘤治疗剂的权利要求 1-15 任一项的 5-位取代的汉防己甲素衍生物或其药学上可接受的盐。

21. 根据权利要求 18、19 或 20 的用途、方法或 5-位取代的汉防己甲素衍生物，其中，所述肿瘤选自白血病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、肝癌、胃癌、乳腺癌、胆管细胞癌、胰腺癌、肺癌、大肠癌、骨肉瘤、人宫颈癌、神经胶质瘤、鼻咽癌、喉癌、食管癌、中耳肿瘤、黑色素瘤和前列腺癌。

22. 式 I-a 化合物或其盐，



I-a

其中，X选自羟基、巯基、氨基和卤素。

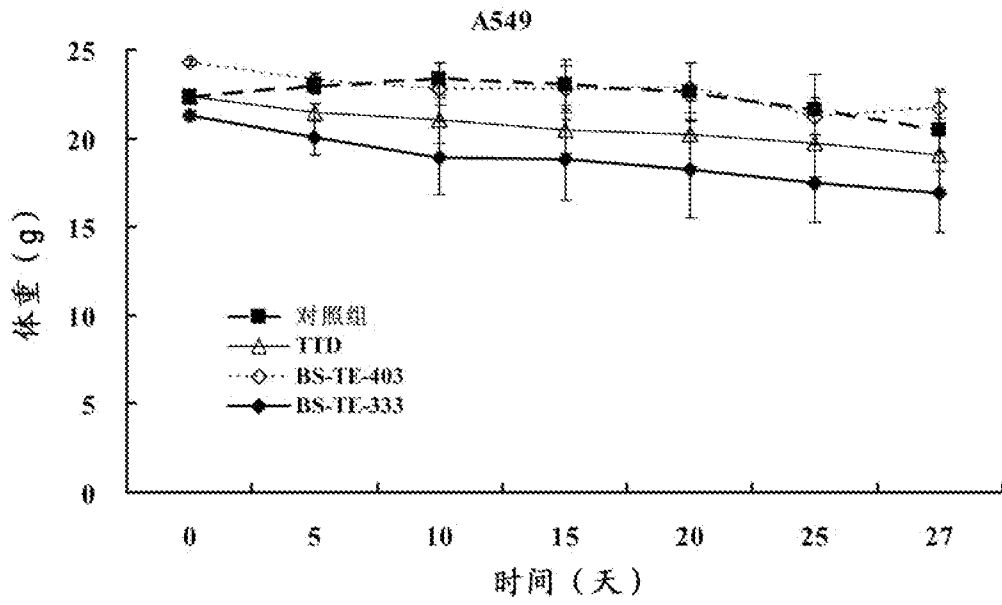


图 1

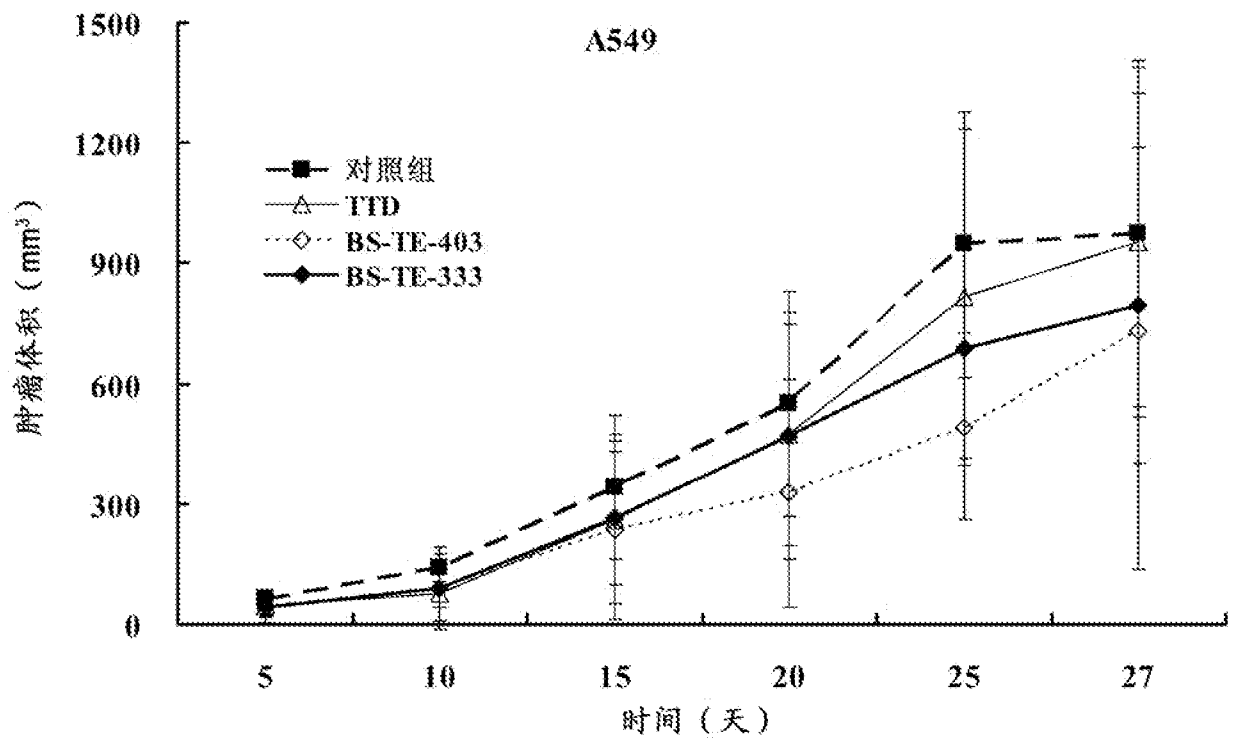


图 2

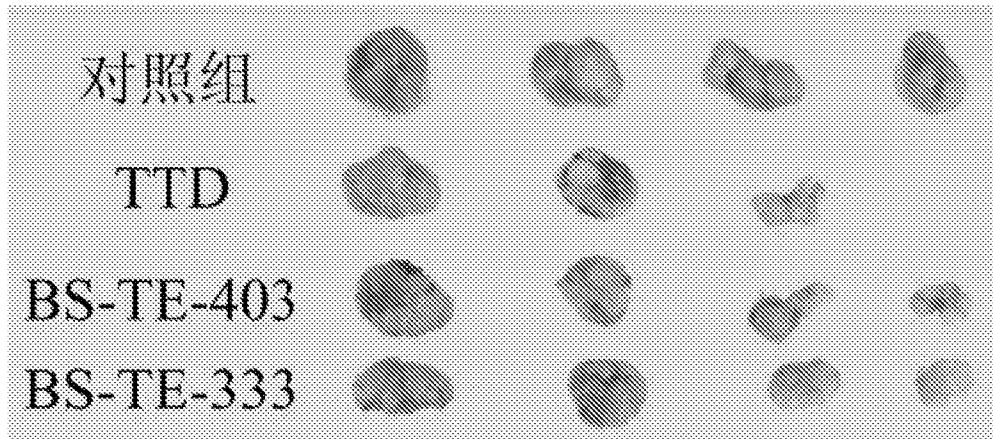


图 3

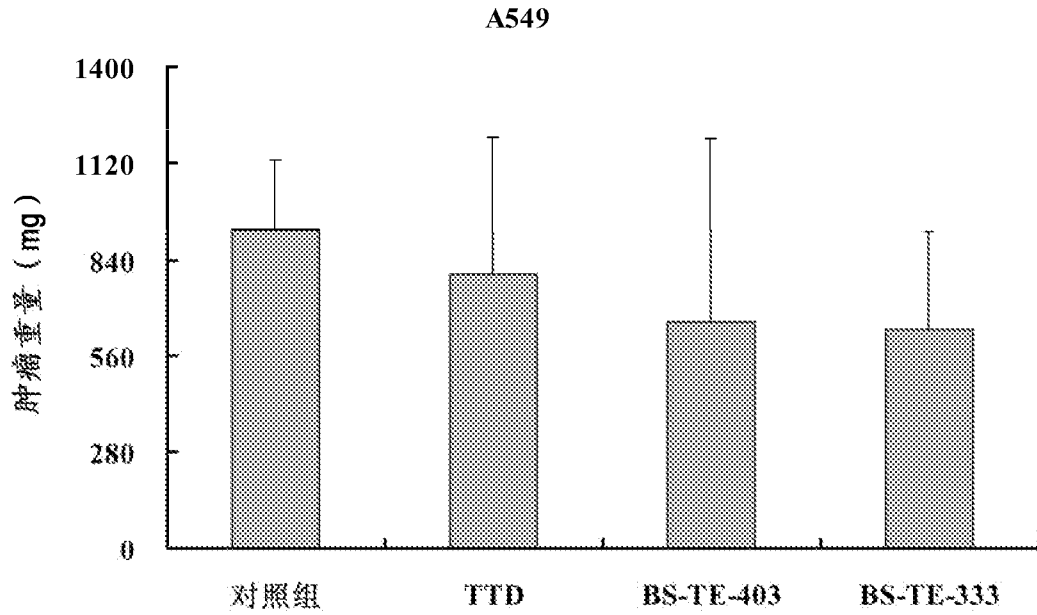


图 4

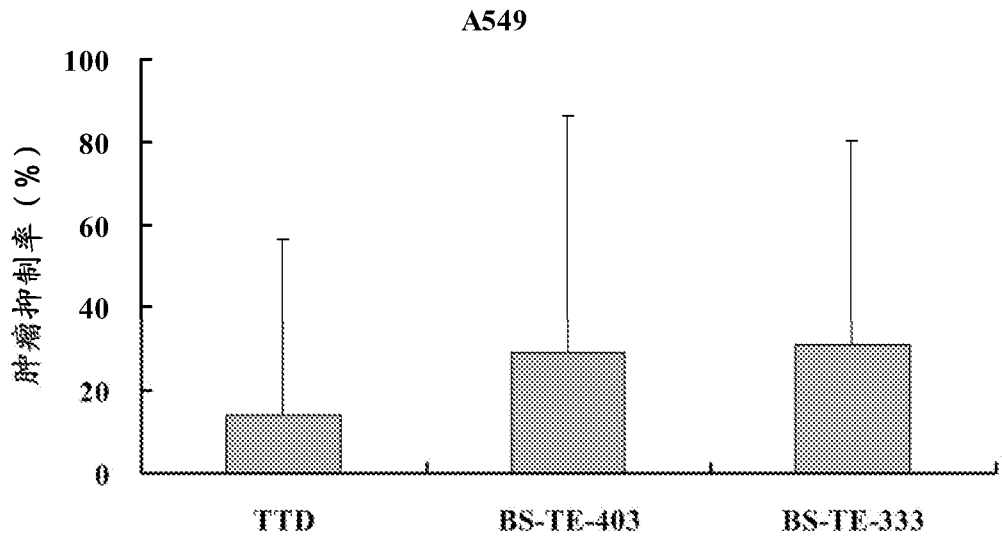


图 5

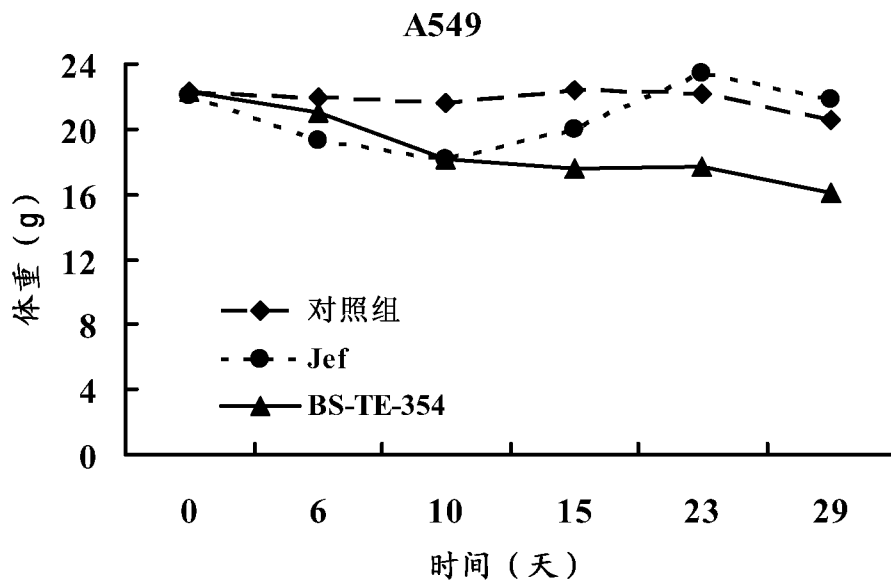


图 6

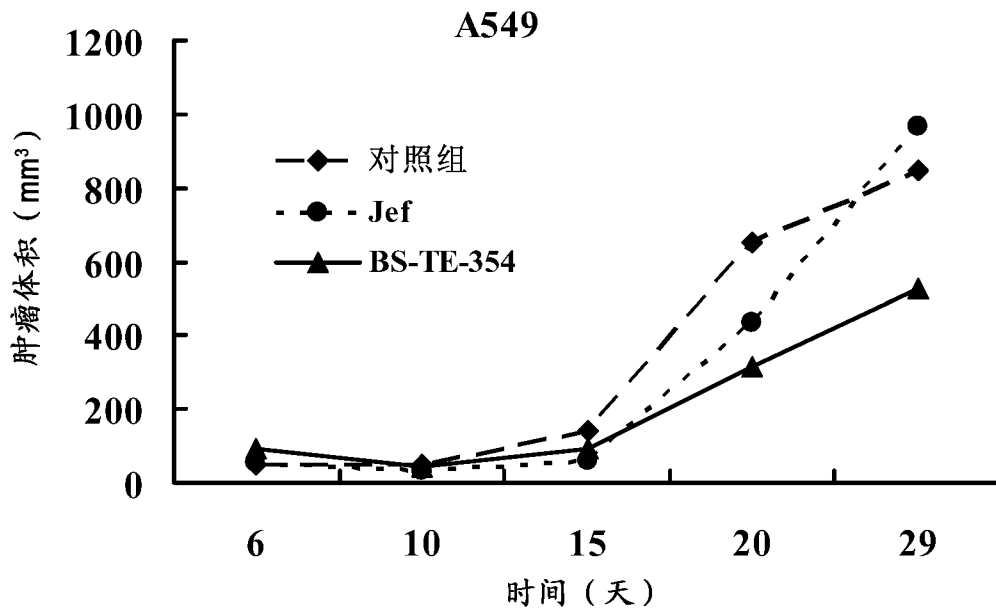


图 7

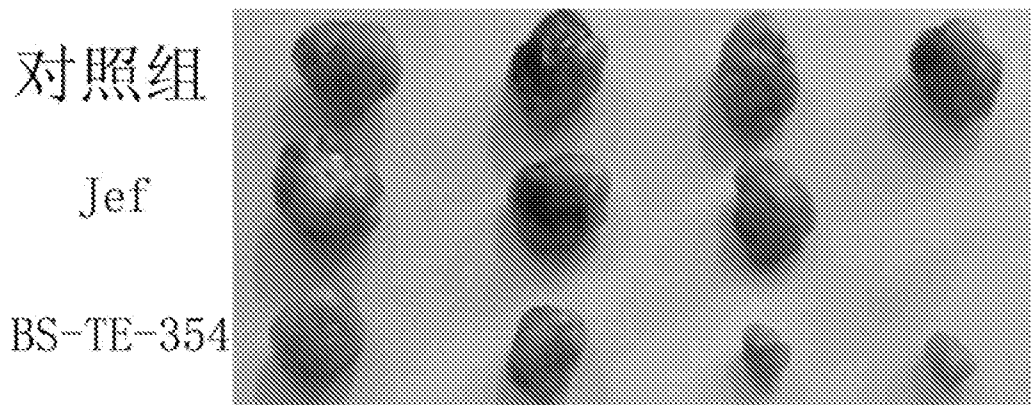


图 8

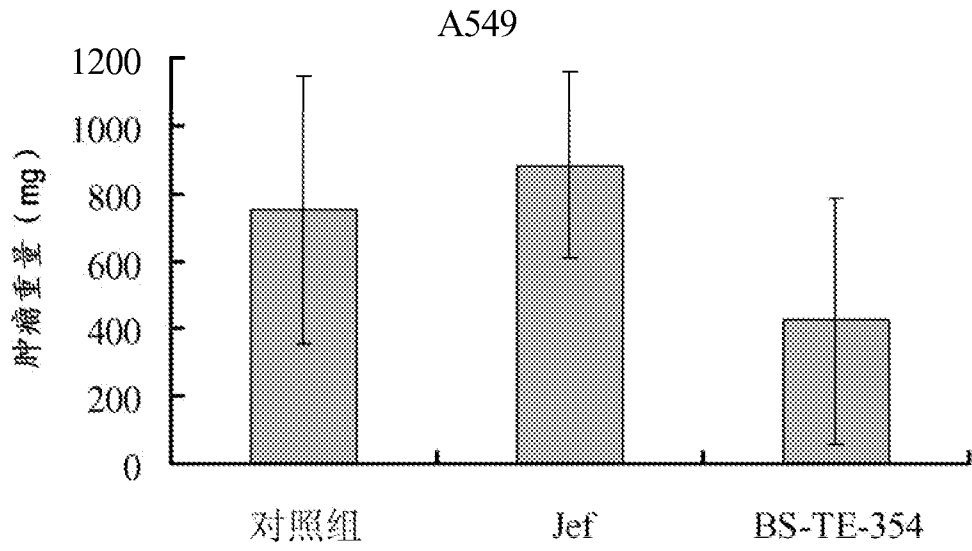


图 9

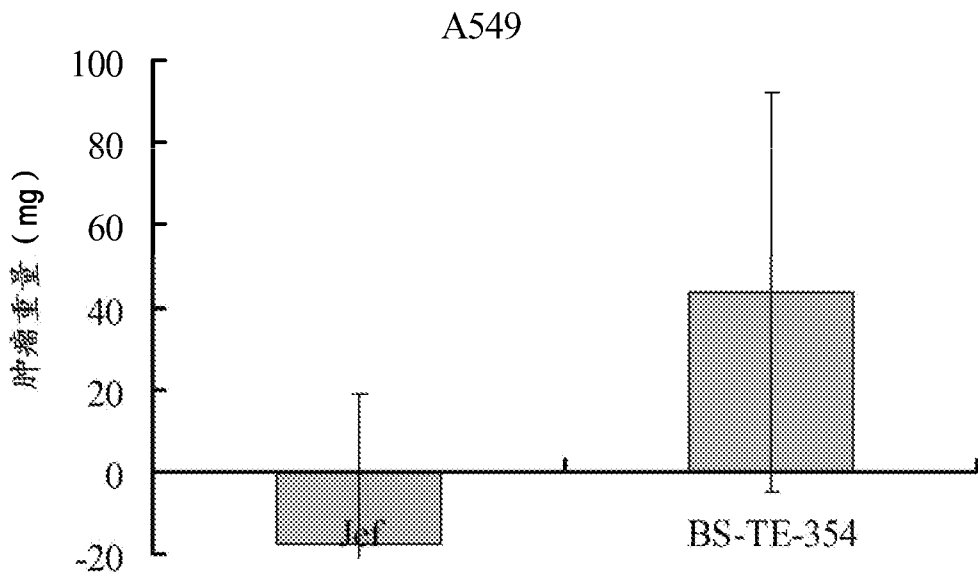


图 10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/080384

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See the extra sheet

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)

IPC: C07D; A61K; A61P

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)

CNKI (CN); CPRS (CN); WPI; EPODOC; Registry (US); CAplus (US); EMBASE; China Pharmaceutical Abstracts (CN); Tetrandrine; Jinake; sinomenine; berbamine; pheanthine; modifi+; derivative?; preparation; production; STN structure search of compounds of formula (I)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 101780082 A (ZHANG, Hong), 21 July 2010 (21.07.2010), the whole document, particularly description, page 3, paragraphs 17-18	1-22

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

* Special categories of cited documents:	“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
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“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
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“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
“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)	“&” document member of the same patent family
“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	

Date of the actual completion of the international search
15 November 2012 (15.11.2012)Date of mailing of the international search report
06 December 2012 (06.12.2012)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) 62019451Authorized officer
GE, Jia
Telephone No.: (86-10) **62411193**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/080384

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 19, 21
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 19 and 21 relate to methods of treatment of the human or animal body by therapy (PCT Rule 39.1(iv)). However, the examiner has carried out a search on the basis of the subject matter reasonably expected, i.e. the use of said compound in preparing antineoplastic drugs.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2012/080384

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 101780082 A	21.07.2010	None	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/080384

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:

C07D 491/18 (2006.01) i

A61K 31/4748 (2006.01) i

A61P 35/00 (2006.01) i

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a), 对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下:

1. 权利要求: 19,21
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题, 即:
权利要求 19,21 涉及治疗人体或动物体的方法 (细则第 39.1(iv) PCT), 但是审查员还是基于合理预期的主题即所述化合物在制备抗肿瘤药物的用途进行了检索。

2. 权利要求:
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分, 以致不能进行任何有意义的国际检索,
具体地说:

3. 权利要求:
因为它们是从属权利要求, 并且没有按照细则 6.4(a)第 2 句和第 3 句的要求撰写。

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明, 即:

1. 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费, 本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。
2. 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索, 本单位未通知缴纳任何附加费。
3. 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费, 本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求。
具体地说, 是权利要求:

4. 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此, 本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明; 包含该发明的权利要求是:

关于异议的说明: 申请人缴纳了附加检索费, 同时提交了异议书, 适用时, 缴纳了异议费。
 申请人缴纳了附加检索费, 同时提交了异议书, 但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。
 缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2012/080384

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN101780082 A	21.07.2010	无	

主题的分类:

C07D491/18 (2006.01) i

A61K31/4748 (2006.01) i

A61P35/00 (2006.01) i