

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

C07F 9/09

A61K 31/661

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 96106851.5

[45]授权公告日 2001年5月23日

[11]授权公告号 CN 1066151C

[22]申请日 1996.6.6 [24]颁证日 2001.1.27

[21]申请号 96106851.5

[30]优先权

[32]1995.6.6 [33]US [31]469247

[73]专利权人 布里斯托尔-迈尔斯斯奎布公司

地址 美国新泽西州

[72]发明人 P·M·施科拉 J·F·卡道

D·M·怀亚斯

[56]参考文献

EP604910 1995.2.22 C07F9/6558

审查员 张轶东

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 张元忠

权利要求书2页 说明书29页 附图页数0页

[54]发明名称 派克利太素衍生物的药物前体

[57]摘要

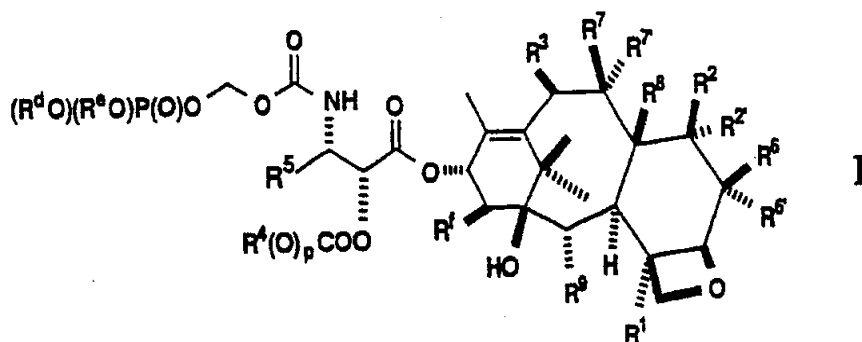
本发明涉及新的派克利太素(paclitaxel)衍生物,其作为抗肿瘤剂的应用,和药物制剂。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

00.00.25

权利要求书

1. 通式 I 的化合物或其药用盐,



其中 R^1 是 $-OC(O)R^x$;

R^2 是氢, 羟基;

$R^{2'}$ 是氢, 羟基;

R^3 是氢;

R^4 是氢;

R^5 是 $-OC(O)R^x$;

R^6 是甲基;

R^7 是 $-OC(O)R^x$;

条件是当 R^2 是羟基时, $R^{2'}$ 是氢;

R^7 和 $R^{7'}$ 一起形成氧代基;

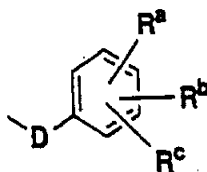
R^4 和 R^5 各自独立地为芳基;

P 是 O;

R^d 和 R^e 各自独立地为氢, C_{1-6} 烷基, 芳基;

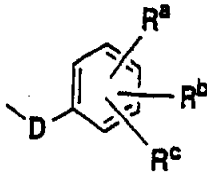
R^f 是氢;

R^x 是 C_{1-6} 烷基, 该基团可任意地取代有 1-6 个相同或不同的卤原子; 或 R^x 是如下基团:



其中 D 是 C_{1-6} 烷基; 和 R^a , R^b 和 R^c 各自独立地为氢, 硝基, 卤素, C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基.

2. 权利要求1的化合物, 其中 R^1 是 $-OC(O)R^x$; R^2 是羟基; $R^{2'}$ 是氢; R^3 是 $-OC(O)R^x$; R^4 是甲基; R^6 和 R^6' 是氢; R^9 是 $-OC(O)R^x$; R^7 和 $R^{7'}$ 一起形成氧代基; R^4 和 R^5 各自是芳基; ; P是O; R^d 和 R^e 是氢; R^f 是氢; R^x 是 C_{1-6} 烷基, 该基团可任意地取代有1个至6个相同或不同的卤原子; 或 R^x 是下式所示基团:



其中D是 C_{1-6} 烷基; 和 R^a , R^b 和 R^c 各自是氢, 硝基, 卤素, C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基。

3. 权利要求2的化合物, 它是N-脱苯甲酰基-N-[(磷酰氧甲基)氧]羰基-2-O-苯甲酰基派克利太素。

4. 权利要求3化合物的三乙醇胺盐。

5. 一种药物制剂, 含有抗肿瘤有效量的权利要求1的化合物和药用载体。

6. 权利要求1的化合物在制备抑制肿瘤在哺乳动物宿主中生长的药物方面的用途。

7. 权利要求6的用途, 其中所述药物为口服药物。

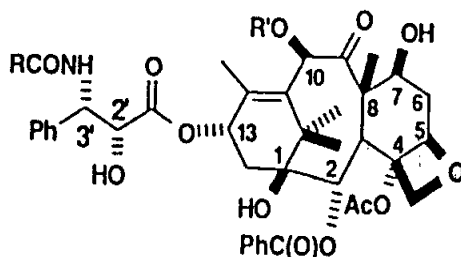
说明书

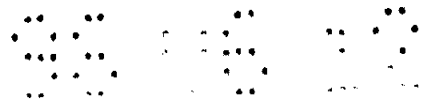
派克利太素衍生物的药物前体

本发明涉及抗肿瘤化合物。更具体地说，本发明提供新的派克利太素(Paclitaxel)衍生物，其药物制剂，和其作为抗肿瘤剂的应用。

Taxol[®](派克利太素)是一种从太平洋紫杉(Taxus brevifolia)树皮提取的天然产物。已经显示其在动物模型体内有优良的抗肿瘤活性，和新近的研究已阐明了其独特的作用方式，包括微管蛋白和有丝分裂的破裂的反正聚合作用。最近已批准用于治疗难以控制的前期卵巢癌和乳房癌，和包括其它癌病的研究也已显示出有远景的结果。派克利太素的临床研究结果已有许多作者评述，例如 Rowinsky 和 Donehower 的“*The Clinical Pharmacology and Use of Antimicrotubule Agents in Cancer Chemotherapeutics*”，*Pharmac. Ther.*, 52: 35-84, 1991; Spencer 和 Faulds 的“*Paclitaxel, A Review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and Therapeutic potential in the Treatment of Cancer,*” *Drugs*, 48(5) 794-847, 1994; 和 K. C. Nicolaou 等的“*Chemistry and Biology of Taxol,*” *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 33: 15-44, 1994, 引证于本文作参考。

以 Taxotere[®](docetaxel)命名的半合成类似物已被发现在动物模型中也具有好的抗肿瘤活性。最近，在欧洲和美国也对 Taxotere[®]作了临床试验。如下所示，派克利太素和 Taxotere[®]的结构和分子的常规编号系统表明它们属于同一类。这样的编号系统也用于本申请中。





Taxol[®] : R = 苯基, R' = 乙酰基

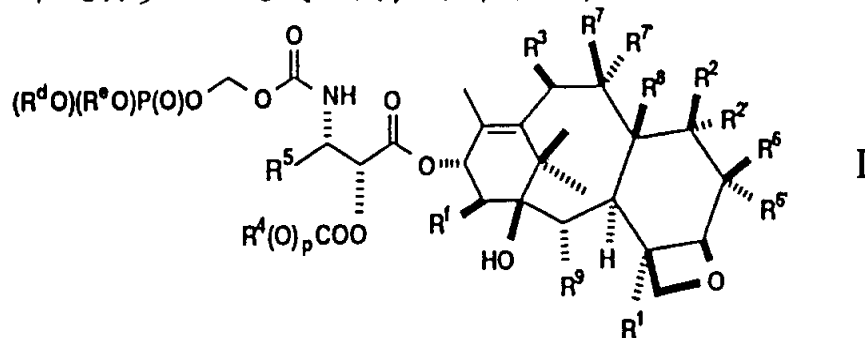
Taxotere : R = 叔-丁氧基, R' = 氢

派克利太素的一个缺点是它的非常有限的水溶性要求它必须在非水药物载体中配制。一种常用的载体是本身对人有不希望的副作用的 Cremophor EL。因此,一些研究组已制备了水溶性的派克利太素衍生物,其中一些公开于以下文献中:

- (a) Haugwitz et al, U.S. Patent No. 4,942,184;
- (b) Kingston et al, U.S. Patent No. 5,059,699;
- (c) Stella et al, U.S. Patent No. 4,960,790;
- (d) European Patent Application 0,558,959 A1, published September 8, 1993;
- (e) Vyas et al, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1993, 3:1357-1360; and
- (f) Nicolaou et al, Nature, 1993, 364:464-466
- (g) European Patent Application 0,604,910 A1, published July 6, 1994.

本发明的化合物是水溶性的派克利太素的膦酰氧甲基氨基甲酸酯衍生物及其药用盐。盐的水溶性促进药物制剂的制备。

本发明涉及由通式 I 代表的新的抗肿瘤化合物, 或其药用盐,



其中 R¹ 是羟基, -OC(O)R^X 或 -OC(O)OR^X;

R² 是氢, 羟基, -OC(O)R^X 或 -OC(O)OR^X;

R^{2'} 是氢, 羟基或氟;

R⁶ 是氢或羟基;

R⁶ 是氢, 或者 R² 和 R⁶ 一起形成环氧乙烷环或键;

R³ 是氢, 羟基, C₁₋₆ 烷氧基, -OCONR¹¹R¹², -OC(O)R^X 或 -OC(O)OR^X;

R^8 是甲基或羟甲基, 或者 R^8 和 R^2 一起形成环丙烷环;

R^9 是羟基或 $-OC(O)R^X$, 条件是 R^8 和 R^2 形成环丙烷环, R^2 是氢;

当 R^2 和 R^6 形成环氧乙烷环或双键时, R^2 和 R^6 是氢; 当 R^2 是羟基, $-OC(O)R^X$ 或 $-OC(O)OR^X$ 时, R^2 是氢; 当 R^2 是氟时, R^2 是氢;

R^7 或 R^7 之一是氢, 而另一个是羟基, $-OC(O)R^X$ 或 $-OC(O)OR^X$, 或者 R^7 和 R^7 一起形成氧代基;

R^{11} 和 R^{12} 各自独立地为 C_{1-6} 烷基, 氢, 芳基或取代的芳基;

R^4 和 R^5 各自独立地为 C_{1-6} 烷基, C_{2-6} 链烯基, C_{2-6} 炔基, 或 $-Z-R^{10}$;

Z 是单键, C_{1-6} 烷基或 C_{2-6} 链烯基;

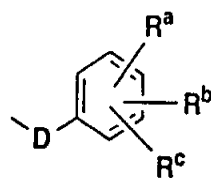
R^{10} 是芳基, 取代的芳基, C_{3-6} 环烷基或杂芳基;

P 是 0 或 1;

R^d 和 R^e 各自独立地为氢, C_{1-6} 烷基, 芳基, 取代的芳基或磷酰保护基;

R^f 是氢或羟基;

R^X 是 C_{3-6} 环烷基, C_{2-6} 链烯基或 C_{1-6} 烷基, 所有这些基团可任意地取代有 1-6 个相同或不同的卤原子; 或 R^X 是如下基团:



其中 D 是键或 C_{1-6} 烷基; 和 R^a , R^b 和 R^c 各自独立地为氢, 硝基, 氨基, C_{1-6} 烷基氨基, 二- C_{1-6} 烷基氨基, 卤素, C_{1-6} 烷基, 羟基或 C_{1-6} 烷氧基.

本发明的另一方面, 提供一种抑制哺乳动物体内肿瘤的方法. 该方法包括给该哺乳动物抗肿瘤有效量的通式(I)化合物.

本发明的又一方面, 提供一种药物制剂, 它包括与一种或多种药用载体, 赋形剂, 稀释剂或助剂结合的抗肿瘤有效量的通式(I)化合

物。

在本申请中，除非另有清楚地规定或根据上下文理解，一般使用如下定义。

符号“C”后下标中的数字定义一特定基团可含的碳原子数目。例如“C₁₋₆烷基”是指含有1-6个碳原子的直链或支链饱和碳链，如包括甲基，乙基，正丙基，异丙基，正丁基，仲丁基，异丁基，叔丁基，正戊基，仲戊基，异戊基和正己基。根据上下文，“C₁₋₆烷基”也涉及桥接两个端基的C₁₋₆亚烷基，例如包括丙-1, 3-二基，丁-1, 4-二基，2-甲基-丁-1, 4-二基等。“C₂₋₆链烯基”是指含有至少一个碳-碳双键和2-6个碳原子的直链或支链碳链；例如包括乙烯基，丙烯基，异丙烯基，丁烯基，异丁烯基，戊烯基和己烯基。根据上下文，“C₂₋₆链烯基”也可涉及桥接两个端基的C₂₋₆链烯二基，例如包括乙烯-1, 2-二基，2-甲基-2-丁烯-1, 4-二基，2-己烯-1, 6-二基等。“C₂₋₆炔基”是指含有至少一个碳-碳三键和2-6个碳原子的直链或支链碳链，例如包括乙炔基，丙炔基，丁炔基和己炔基。

“芳基”是指有6-10个碳原子的芳烃基，例如苯基和萘基。“取代的芳基”是指任意取代有1-5个(优选1-3个)选自C₁₋₆烷酰氧基，羟基，卤素；C₁₋₆烷基，三氟甲基，C₁₋₆烷氧基，芳基，C₂₋₆链烯基，C₁₋₆烷酰基，硝基，氨基，C₁₋₆烷基氨基，二-C₁₋₆烷基氨基和酰氨基的芳基。“卤素”是指氟，氯，溴和碘。

“杂芳基”是指含有至少一个和至多四个选自氧，硫和氮的非碳原子的五-或六-元芳香环。杂芳基的例子包括噻吩基，呋喃基，吡咯基，咪唑基，吡唑基，噻唑基，异噻唑基，噁唑基，异噁唑基，三唑基，噻二唑基，噁二唑基，四唑基，噻三唑基，噁三唑基，吡啶基，嘧啶基，吡嗪基，哒嗪基，三嗪基，四嗪基等。

“羟基保护基”包括但不限于醚类如甲基，叔丁基，苄基，对-甲氧基苄基，对硝基苄基，烯丙基，三苯甲基，甲氧基甲基，甲氧基乙氧基甲基，乙氧基乙基，四氢吡喃基，四氢噻喃基；二烷基甲硅烷基醚如二甲基甲硅烷基醚；和三烷基甲硅烷基醚如三甲基甲硅烷基

醚, 三乙基甲硅烷基醚和叔丁基二甲基甲硅烷基醚; 酯类如苯甲酰基, 乙酰基, 苯基乙酰基, 甲酰基; 单-, 二-和三-卤代乙酰基如氯乙酰基, 二氯乙酰基, 三氯乙酰基, 三氟乙酰基; 和碳酸酯类如甲基, 乙基, 2,2,2-三氯乙基, 烯丙基, 苄基和对-硝基苯基。

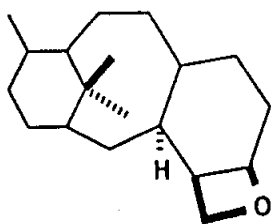
“膦酰基”是指 -P(O)(OH)_2 和“(膦酰氧甲基)氧”是指 $\text{-OCH}_2\text{OP(O)(OH)}_2$ 。

“膦酰基保护基”是指可用于屏蔽或保护膦酰基功能基团的部分, 优选的这种保护基是可以通过不明显影响分子的其余部分的方法除去的那些基团。适宜的膦酰氧保护基是本技术领域熟悉的那些, 包括例如苄基和烯丙基。

羟基和膦酰基保护基的另一些例子可以在一些标准参考书中找到, 例如Greene和Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2d Ed., 1991, John Wiley & Sons and McOmie;和*Protective Groups in Organic Chemistry*, 1975, Plenum Press。导入和除去保护基的方法在这样的教科书中也可以找到。

“药用盐”是指酸性膦酰基的金属或胺盐, 其中的阳离子不明显地提供活性化合物的毒性或生物活性。适宜的金属盐包括锂, 钠, 钾, 钙, 钡, 镁, 锌和铝盐。优选的金属盐是钠和钾盐。适宜的胺盐是例如氨, 氨基丁三醇, 三乙胺, 普鲁卡因, N,N' -双苄基乙撑二胺, 二苄胺, 氯普鲁卡因, 胆碱, 二乙醇胺, 三乙醇胺, 乙二胺, 葡糖胺, N -甲基葡糖胺, 赖氨酸, 精氨酸, 乙醇胺等等。

术语“紫杉烷(taxane)”或“紫杉烷核”是指结构如下的骨架部分:



可由通式(I)中的 R^8 和 R^2 组成的环丙烷基可任意地指 *Tetrahedron Letters*, Vol 35, No. 43, pp 7893-7896(1994)中的“7 β ,8 β

- 亚甲基”或1993年10月19日颁发的U.S. 5,254,580中的“环丙环”。当R²和R⁶形成键时，自然地在C₇和C₆之间成双键。

在通式I化合物中，R^x的例子包括甲基，羟甲基，乙基，正丙基，异丙基，正丁基，异丁基，氯甲基，2,2,2-三氯乙基，氯丙基，氯丁基，氯戊基，环己基，乙烯基，2-丙烯基，戊烯基，苄基，溴苯基，4-氨基苯基，4-甲氨基苯基，4-甲基苯基，4-甲氧基苯基等。R⁴和R⁵的例子包括2-丙烯基，异丁烯基，3-咪喃基，3-噻吩基，苯基，萘基，4-羟基苯基，4-甲氧基苯基，4-氟苯基，4-三氟甲基苯基，甲基，乙基，正丙基，异丙基，正丁基，异丁基，特丁基，乙烯基，2-丙烯基，2-丙炔基，苄基，苯乙基，苯乙烯基，3,4-二甲氧苯基，2-咪喃基，2-噻吩基，2-(2-咪喃基)乙烯基，2-甲基丙基，环丙基，环丁基，环戊基，环己基，环己基甲基，环己基乙基等。

通式I的新产物对于反常细胞增生显示显著的抑制作用和具有治疗性质，这使其能够治疗与反常细胞增生有关的病理状态的患者。病理状态包括各种组织和/或器官中恶性或非恶性细胞的反常细胞增生，非限制性地包括，肌肉，骨骼和/或连接组织；皮肤，脑，肺和性器官；淋巴和/或肾系统；乳房细胞和/或血细胞；肝，消化系统，和胰；和甲状腺和/或肾上腺。这些病理状态也可以包括牛皮癣；固体肿瘤；卵巢癌，乳房癌，脑癌，前列腺癌，结肠癌，胃癌，肾癌，和/或睾丸癌，Kaposi肉瘤；肝胆癌；绒毛膜癌；成神经细胞癌；Wilm肿瘤，Hodgkin病；黑瘤；多发性骨髓瘤；慢性淋巴细胞白血病；和急性或慢性粒细胞淋巴瘤。本发明的新产品在治疗非-Hodgkin淋巴瘤，多发性骨髓瘤，黑瘤，和卵巢癌，urothelial，食道癌，肺癌，和乳房癌方面特别有用。本发明的产品可以用于预防或延迟这些病理状态的表象或再表象，或治疗。

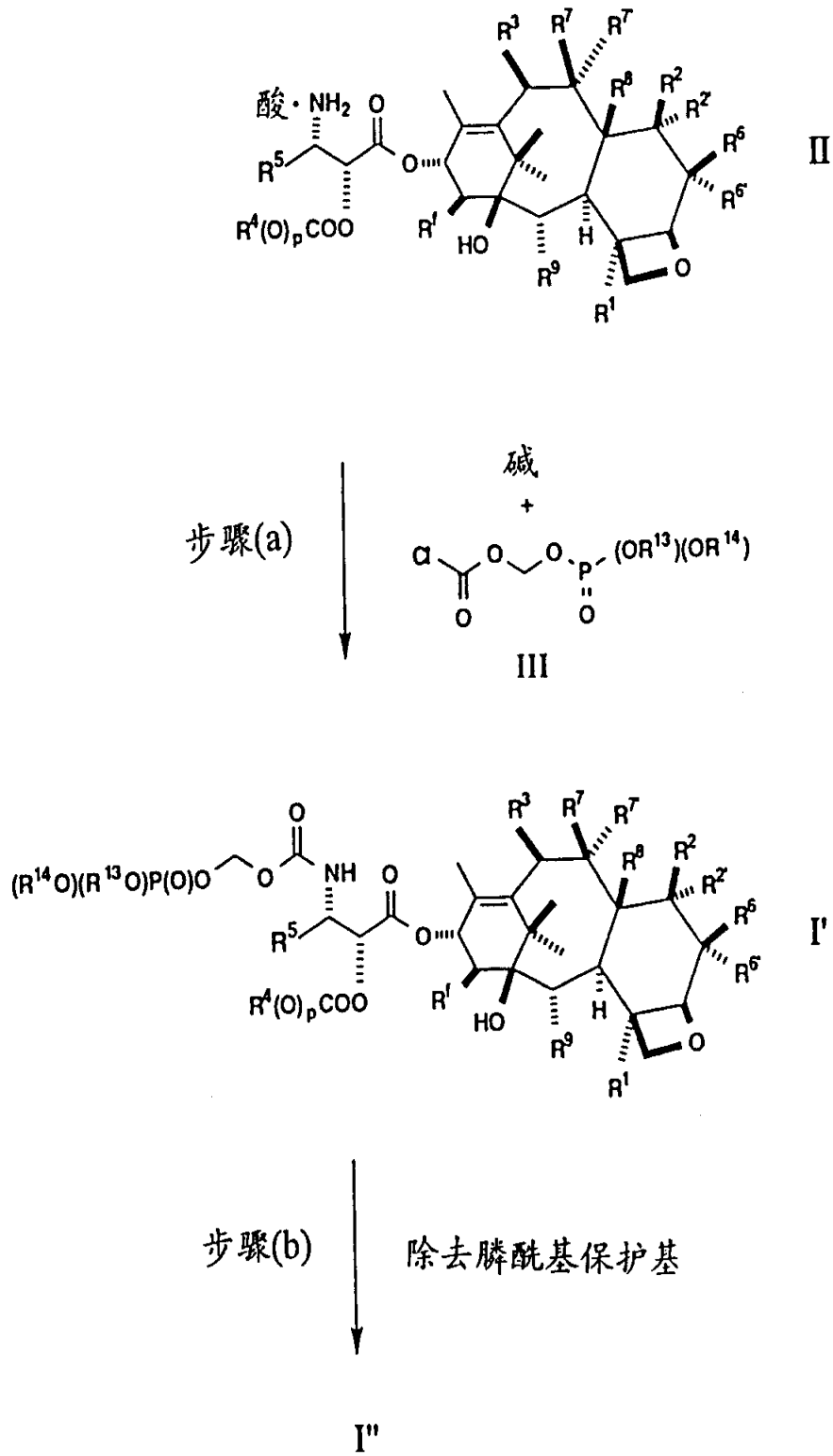
本发明的化合物可以通过常规有机化学合成方法制备。描述制备通式I范围内化合物的方法，仅仅限于说明的目的，并不限制以任何其它方法制备化合物。

通式II化合物中的“酸”是能质子化C₃-氨基的任何酸。酸成

盐的例子包括与无机酸如 HCl, H₂SO₄ 或 HNO₃; 或与有机酸如三氟乙酸, 乙酸, 对-甲苯磺酸, 甲磺酸等生成的盐。步骤(a)包括与碱释放 C₃'-氨基, 接着, 释放的氨基与通式 III 反应, 其中 R¹³ 和 R¹⁴ 各自为 C₁₋₆ 烷基, 芳基, 取代的芳基或膦酰基保护基。碱可以是中和质子化氨基的酸的任何碱, 该碱也起胺与通式 III 的氯代甲酸酯反应期间产生的质子的接受剂的作用。优选的碱的例子包括无机碱或有机碱如二异丙基乙基胺, 三乙胺, 吡啶, 二甲氨基吡啶等。

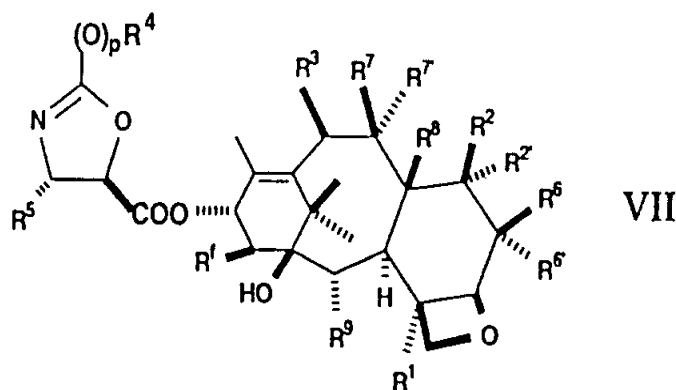
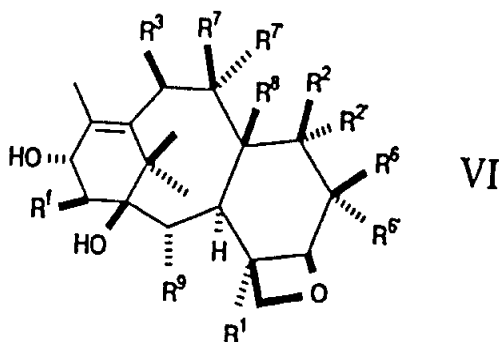
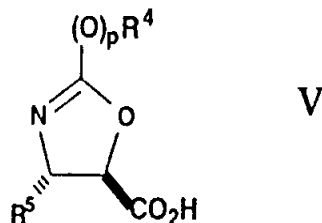
当 R¹³ 和/或 R¹⁴ 是膦酰基保护基时, 它在步骤(b)中被除去并提供通式 I 范围内的另一些化合物。

反应式 I



通式 II 化合物的合成在 1994 年 7 月 7 日公开的申请人的 PCT 申请 WO94/14787 中详细地被叙述。简言之，它们可通过以下步骤制备：

(a) 偶联通式 V 的噁唑啉与通式 VI 的紫杉烷的 C₁₃ 羟基，得到通式 VII 的化合物，



(b) 使通式 VII 化合物与能够打开通式 VII 化合物中噁唑啉环的酸接触，得到通式 II 化合物或其盐。

通式 V 的噁唑啉已经在 1994 年 7 月 7 日公开的 PCT 申请 WO94/14787 中详细叙述。

通式 II, III, V, VI 和 VII 中，P, R^f, R¹, R², R^{2'}, R³, R⁴, R⁵, R⁶, R^{6'}, R⁷, R^{7'}, R⁸ 和 R⁹ 的定义同前。

至今，有许多出版物讲叙到将派克利太素紫杉烷核的取代基转化为其它基团。利用这些既定方法或其明显改变，可以容易地制备通式 VI 的紫杉烷化合物。例如，为了转化 C₄ - 乙酰氧基成为其它功能基，请参见 S. H. Chen. 等, J. Organic Chemistry, 59, pp 6156-6158 (1994)

和 1994 年 7 月 7 日公开的 PCT 申请 WO 94/14787; 为了转化 C₂ - 苯甲酰氧基成为其它基团, 请参见 S. H. Chen. 等, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 4, No. 3, pp 479-482 (1994)和 1994 年 9 月 28 日公开的欧洲专利申请 617,034A1; 为了改进 C₁₀ - 乙酰氧基, 请参见 J. Kant 等, *Tetrahedron Letters*, Vol. 35, No. 31, pp 5543-5546 (1994)和 1994 年 3 月 15 日颁发的 US. 5294637; 为了制备 C₁₀ 和/或 C₇ 未取代的(脱氧)衍生物, 请参见 1994 年 4 月 6 日公开的欧洲专利申请 590267A2 和 1993 年 4 月 1 日公开的 PCT 申请 WO 93/06093; 为了制备 7 β , 8 β - 亚甲基, 6 α , 7 α - 二羟基和 6,7-烯基, 请参见 R. A. Johnson, *Tetrahedron Letters*, Vol. 35, No.43, pp 7893-7896(1996), 1993 年 10 月 19 日颁布的 U. S. Patent No. 5254580, 和 1994 年 7 月 8 日公开的欧洲专利申请 600517A1; 为了制备 C₇/C₆ 紫杉烷, 请参见 X. Liang 和 G. I. Kingston, *Tetrahedron Letters*, Vol. 36, No. 17, pp 2901-2904(1995); 为了制备 C₇ - 表氟, 请参见 G. Roth 等, *Tetrahedron Letters*, Vol 36, pp 1609-1612 (1993); 为了生成 C₇ 酯和碳酸酯, 请参见 1993 年 12 月 21 日颁布的 U. S. Patent No. 5272171 和 S. H. Chen. 等, *Tetrahedron*, 49, No. 14, pp 2805-2828 (1993); 为了制备 9 α - 和 9 β - 羟基紫杉烷, 请参见 L. L. Klein, *Tetrahedron Letters*, Vol. 34, No. 13, pp 2047-2050 (1993); 1994 年 4 月 28 日公开的 PCT 申请 WO 94/08984, 1994 年 10 月 4 日颁布的 U. S. Patent No. 5352806, 和 1994 年 9 月 15 日公开的 PCT 申请 WO 94/20485.

下面的实施例是为了进一步阐明本发明化合物的合成, 而不构成对本发明范围的限制. 为了生产本发明所包括的化合物, 方法可以改变, 但不特别地公开. 以稍微不同方式生产同样化合物的方法改变, 对于熟悉本领域的技术人员来说是显然的.

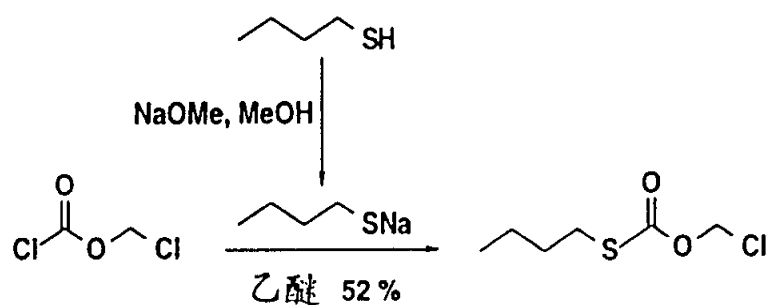
在下面实验过程中, 所有温度如无专门说明都指摄氏温度(°C). 核磁共振光谱(NMR)中化学位移(δ)是以对作为参考标准的四甲基硅的百万分之几(ppm)表示. 在质子 NMR 光谱数据中报告的各种位移的相对面积符合于分子中特殊功能型氢原子的数目. 多重性位移被报告

为宽单峰(bs 或 brs), 宽双峰(bd 或 brd), 宽三重峰(bt 或 brt), 宽四重峰(bq 或 brq), 单峰(s), 多重峰(m), 双峰(d), 四重峰(q), 三重峰(t), 双双重峰(dd), 三双重峰(dt), 和四双重峰(dq). NMR 光谱所用溶剂是丙酮-d₆(氘化丙酮), DMSO-d₆(全氘化二甲基亚砜), D₂O(氘化水), CDCl₃(氘化氯仿)和其它常规氘化溶剂. 红外光谱(IR)仅仅包括有功能基鉴定值的吸收波数.

Celite 是 Johns-Manville 公司对硅藻土的一种注册商标.

文中所用缩写是本技术领域广泛使用的常规缩写. 其中的一些是: DAB(脱乙酰基浆果赤霉素 III); MS(质谱); HRMS(高分辨质谱); AC(乙酰基); ph(苯基); v/v(体积/体积); FAB(快速原子轰击); NOBA(m-硝基苄醇); min(分钟); h 或 hr(小时); BOC(特丁氧基羰基); CBZ 或 Cbz(苄氧羰基); Bn(苄基); Bz(苯甲酰基); Troc (2, 2, 2-三氯乙氧羰基); DMS(二甲基硅烷基); TBAF(氟化四丁铵); DMAP(4-二甲氨基吡啶); TES(三乙基硅烷基); DMSO(二甲基亚砜); THF(四氢呋喃); HMDS(六甲基二硅氮烷); MeOTf (methyltriflate).

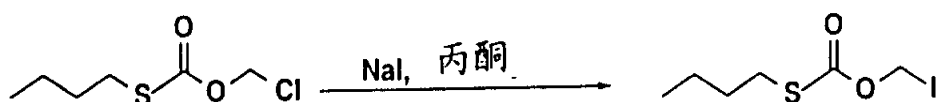
1. O-氯甲基-S-丁基硫代碳酸酯的制备



O-氯甲基-S-丁基硫代碳酸酯紧接着 Folkman, M. 和 Lund, F 在 Synthesis, 1990, 1159 中所述方法被制备. 向冷至 0 °C 的甲醇钠的甲醇溶液(43ml, 200mmol, 25%(重量), Aldrich)中滴加丁硫醇(16.0ml, 200mmol), 并搅拌混合物 2 小时. 真空浓缩反应混合物并将残留固体悬浮于无水乙醚(300ml)中. 然后, 将此非均相溶液冷却至 -78 °C 并于 40 分钟内滴加氯甲酸氯甲酯(17.6ml, 200mmol)的乙醚(70ml)溶液. 再于 -78 °C 下搅拌所得溶液 2 小时, 然后, 温热反应混合物至室温并搅拌 13 小时. 用硅藻土垫板抽滤反应混合物, 收集后的盐用乙醚洗,

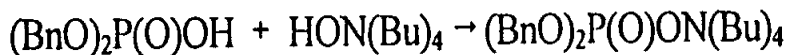
真空浓缩滤液。所得残留油经分馏提纯(b. p. 103-107 °C; 真空度大约为 25-30 毫巴, Lit. bp 99-101 °C, 24 毫巴); 中间馏分为所要的 O-氯甲基-S-丁基硫代碳酸酯(18g, 52%)。 ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ 5.72(2H, s), 2.90(2H, dd, J = 8.7, 8.7Hz), 1.63-1.51(2H, m), 1.45-1.31(2H, m), 0.91-0.82(3H, m)。

2.O-碘甲基-S-丁基硫代碳酸酯的制备



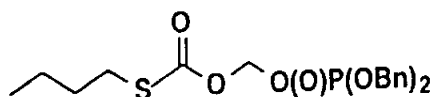
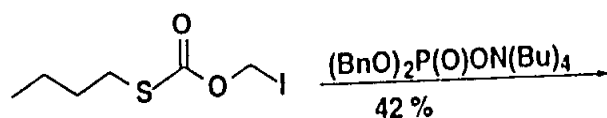
于室温下, 将 O-氯甲基-S-丁基硫代碳酸酯(10.0g, 0.054mol)的丙酮(10ml)溶液加到碘化钠(16.4g, 0.108mol, 2 当量)和碳酸氢钠(0.461g, 0.0054mol, 0.1 当量)的丙酮(200ml)溶液中。加热反应混合物至 45 °C 和搅拌 2 小时。部分反应混合物被真空浓缩并以 ¹H NMR 检验残留油以确定原料的消耗和单一产物的形成。剩余的反应混合物用硅藻土垫板过滤并真空浓缩滤液。残留油在水和戊烷间分配, 有机层进一步用 5% 碳酸氢钠水溶液, 1% 硫代硫酸钠水溶液和盐水洗涤。用戊烷反提取水层并与有机层合并, 硫酸钠干燥和真空浓缩。所得残留油经 ¹H NMR 分析, 所需 O-碘甲基-S-丁基硫代碳酸酯不经提纯即可使用。 ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 5.93(2H, s, 相应于氯化化合物的低磁场位移), 2.83(2H, dd, J = 8.7, 8.7Hz), 1.62-1.51(2H, m), 1.48-1.36 (2H, m), 0.92-0.84 (3H, m)。

3.磷酸二苄基酯四丁基铵盐的制备



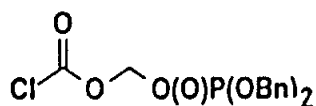
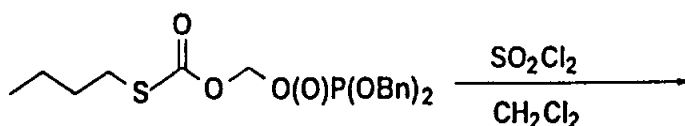
于室温下, 将磷酸二苄基酯(15.0g, 0.054mol)加到氢氧化四丁铵(40% (重量)水溶液, Aldrich, 35.0g, 0.054mol)水溶液中, 所得均匀溶液在干冰-丙酮浴中冷却直至固化完成。经冷冻干燥去水后, 得到所需的盐为粘性油, 不经提纯可直接使用。

4.O-二苄基磷酰氧基甲基-S-丁基硫代碳酸酯的制备



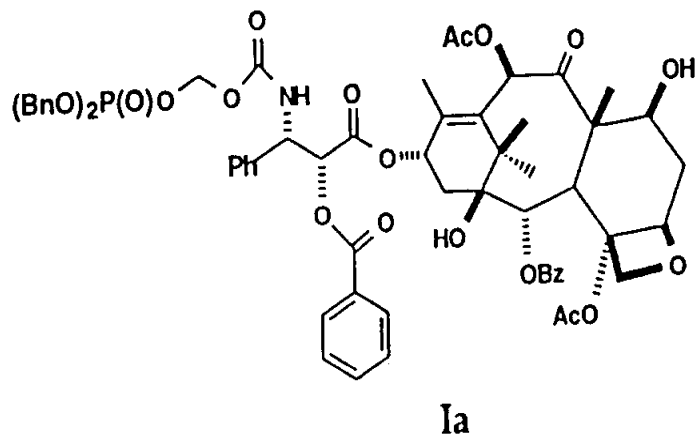
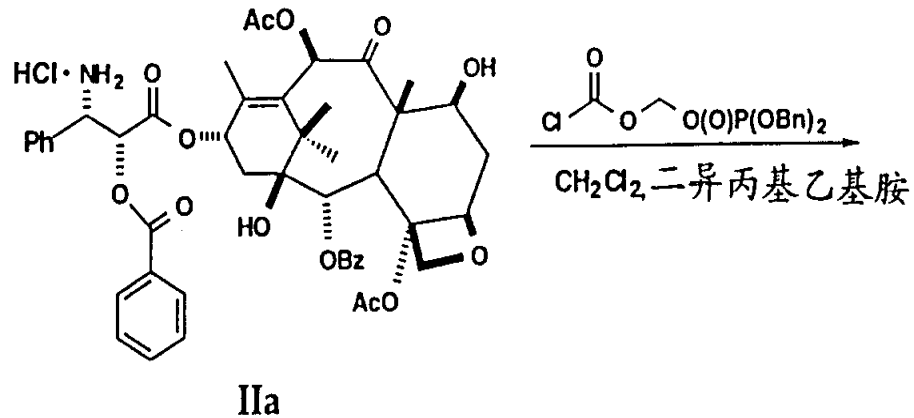
于室温下，将 O-碘甲基-S-丁基硫代碳酸酯(粗产物，0.054mol)的 THF (20ml)溶液加到磷酸二苄基酯四丁基铵(28.5g, 0.054mol)的 THF (150ml)溶液中并搅拌混合物 24 小时。用硅藻土垫板过滤，真空浓缩滤液。经快速色谱(己烷/乙酸乙酯洗脱)提纯残留油，其中间馏份为所需的 O-二苄基磷酰氧基甲基-S-丁基硫代碳酸酯(10.0g, 42.5%)，为淡黄色油。¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ 7.34(10H, brs), 5.62(2H, d, J = 14.0Hz), 5.05(4H, d, J = 7.8Hz), 2.82(2H, dd, J = 7.3Hz), 1.62-1.51(2H, m), 1.41-1.30(2H, m), 0.89(3H, dd, J = 9.4Hz).

5.O-二苄基磷酰氧基甲基氯甲酸酯的制备



将蒸馏过的硫酰氯(1.29ml, 0.0160mol, 1.2 当量)分批加入冷至 -40 °C 的 O-二苄基磷酰氧基甲基-S-丁基硫代碳酸酯(5.7g, 0.0134mol, 1.0 当量)的二氯甲烷溶液中。于此温度下搅拌反应混合物 20 分钟，然后，撤去冷浴并温热反应混合物至室温和搅拌 3 小时。真空浓缩反应混合物，残留物经高真空除去反应副产物和任何未反应的硫酰氯。粗氯甲酸酯的¹H NMR 分析表明，大约 60%的原料 O-二苄基磷酰氧基甲基-S-丁基硫代碳酸酯转化为相应的氯甲酸酯，不必提纯即可用于下一步的反应。¹H NMR，氯甲酸酯的选择共振(300MHz, CDCl₃) δ 5.59 (2H, d, J = 14.0Hz, 相应于硫代碳酸酯高磁场位移), 5.10 (4H, d, J = 7.8Hz, 相应于硫代碳酸酯的低磁场位移).

6.N-脱苯甲酰基-N-[[[(二苄基磷酰氧基)甲基]氧]羰基-2-O-苯甲酰基派克利太素(I a)的制备

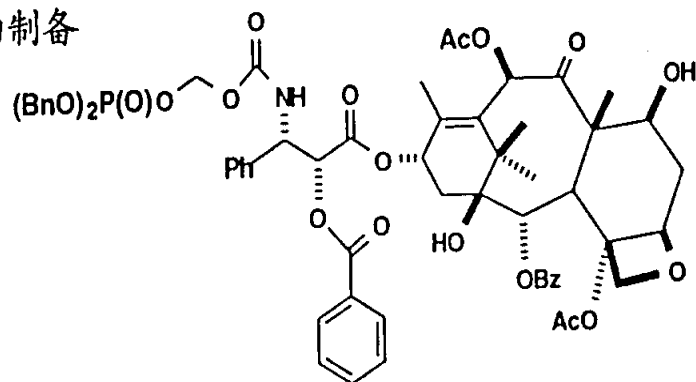


向冷至 0 ℃ 的氯甲酸酯(约 0.0080mol, 1.7 当量 60%转化)的二氯甲烷溶液中加入二异丙基乙基胺(4.7ml, 0.0208mol, 5 当量)和加 N-脱苯甲酰基-2-O-苯甲酰基派克利太素盐酸盐(4.0g, 0.00449mol)。再加二异丙基乙基胺(4.7ml, 0.0208mol), 撤去冷浴, 将反应混合物温热至室温并搅拌 1.5 小时。用乙酸乙酯稀释反应混合物并加饱和碳酸氢钠水溶液停止反应。移出有机层, 先后用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤。水层再以乙酸乙酯反提取, 合并有机相, 硫酸钠干燥, 真空浓缩, 得到淡黄色油状固体。经快速色谱(己烷/乙酸乙酯洗脱)提纯粗产物, 得到 2.9g(55%)所需二苄基磷酸酯, 为白色固体。

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 8.19-8.11 (2H, m), 7.98-7.89 (2H, m), 7.61-7.18 (21H, m), 7.10-7.07 (1H, m), 6.43 (1H, dd, $J = 8.6, 8.6$ Hz), 6.12 (1H, d, $J = 9.9$ Hz), 5.78-5.61 (4H, m), 5.18 (1H, dd, $J = 5.2$ Hz, 14.2 Hz), 5.01-4.92 (2H, m), 4.75-4.55 (2H, m), 4.51-4.42 (1H, m), 4.31-4.27 (2H, m), 3.86 (1H, d, $J = 7.2$ Hz), 3.62 (1H, brs), 2.67-1.65 (16H, m, 包括 2.51, 2.23, 2.01 和 1.22

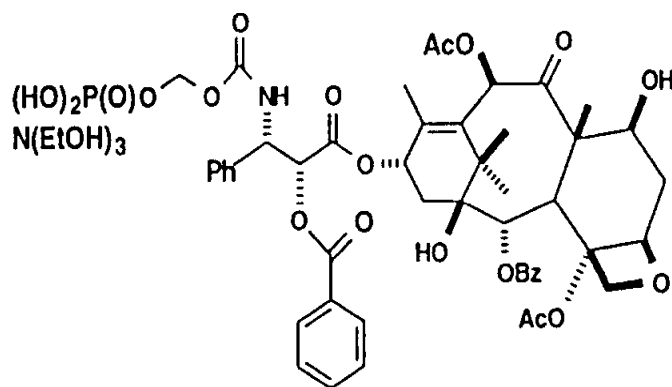
处, 每个3H的单峰), 1.21(3H, s), 1.15 (3H, s); 质谱(M+Na⁺)1210.

7.N-脱苯甲酰基-N-[(磷酰氧甲基)氧]羰基-2-O-苯甲酰基派克利太素(I b)的制备



Ia

1. H₂, EtOAc
2. N(EtOH)₃, EtOAc, MeOH
3. C18 色谱



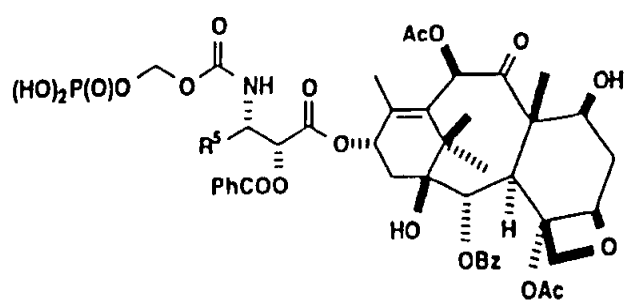
Ib

将乙酸乙酯(200ml)加到装有 10%钯/碳(3.0g)的镍铬铜合金氢化器中。然后, 加 N-脱苯甲酰基-N-[(二苄基磷酰氧甲基)氧]羰基-2-O-苯甲酰基派克利太素(I a)(2.9g, 0.0024mol)的乙酸乙酯(50ml)溶液, 并在反应器上装镍铬铜合金氢化装置。用普通真空泵对反应混合物抽气约 1 分钟后, 以氢气加压至 50psi。该过程重复三次后, 反应器保持于 50psi 并振荡 12 小时。用烧结玻璃漏斗(细孔)过滤反应混合物, 在此过程中, 加甲醇(约 50ml)以便完全溶解磷酸酯和加速过程。真空浓缩含药物前体滤液的一部分, 做 HPLC 分析(实际纯度为 85%)。向剩余的滤液中加三乙醇胺的乙酸乙酯溶液(0.1M, 23ml, 0.0023mol,

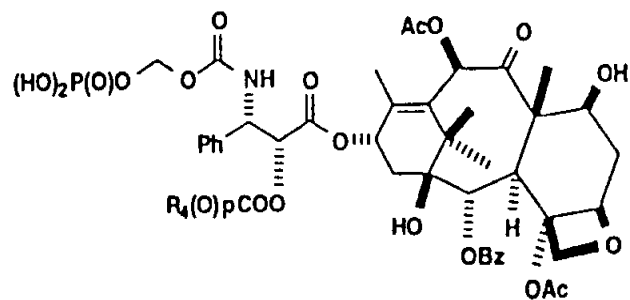
0.95eq.)并真空浓缩所得溶液。经中压 C18 色谱法提纯粗药物前体的盐。在此过程中,粗产物磷酸酯胺盐转为在水中的 5%乙腈的悬浮液(约 50-80ml)并加到 C18 色谱柱上(用在水中的 5%乙腈平衡)。梯度洗脱(5%乙腈: 95%水, 10%: 90%, 15%: 85%, 20%: 80%, 25%: 75%, 30%: 70%)并合并含化合物 I b 的流分(HPLC 分析, 纯度>95%), 真空浓缩除去乙腈。剩下的化合物 I b 的水溶液被冷冻并经冷冻干燥除水, 得到 1.34g (51%)化合物 I b, 为白色固体。

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD} : \text{CDCl}_3$ approx. 2 : 1, v/v) δ 8.11-8.02 (4H, m), 7.66-7.35 (11H, m), 7.24 (1H, dd, $J = 7.2, 7.2$ Hz), 6.24 (1H, dd, $J = 8.7, 8.7$ Hz), 5.65-5.43 (5H, m), 4.97 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 4.37 (1H, dd, $J = 6.5, 10.7$ Hz), 4.25-4.19 (2H, m), 3.85-3.79 (7H, m), 3.33-3.29 (6H, m), 2.54-1.66 (16H, m, 包括在 2.49, 2.16, 1.97, 和 1.66 处每个 3H 单峰), 1.18(3H, s), 1.13(3H, s); 质谱(M-1) 1006(一致)。

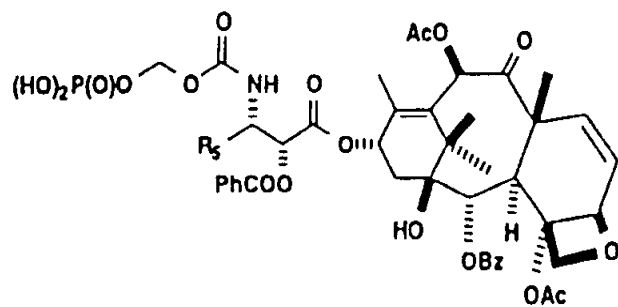
按照上述方法, 可以合成本发明范围内的以下化合物。



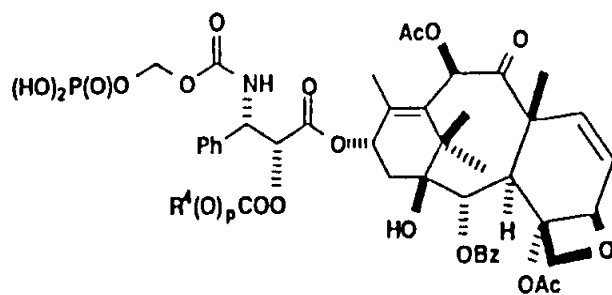
R5
3-呋喃基
2-呋喃基
p-氟苯基
p-氯苯基
p-甲基苯基
p-甲氧基苯基
p-溴苯基
p-羟基苯基
p-氨基苯基
p-硝基苯基
2-噻吩基
3-噻吩基
环己基
环戊基
环丁基
环丙基
异丁烯基
异丙基
异丁基



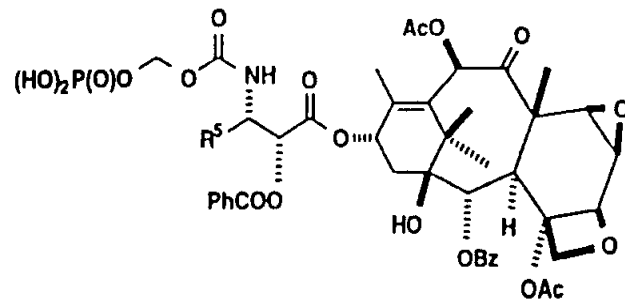
$R_4(O)_P$
3-咪喃基
2-咪喃基
p-氟苯基
p-氯苯基
p-甲基苯基
p-甲氧基苯基
p-溴苯基
p-羟基苯基
p-氨基苯基
p-硝基苯基
2-噻吩基
3-噻吩基
环己基
环戊基
环丁基
环丙基
异丁烯基
异丙基
异丁基



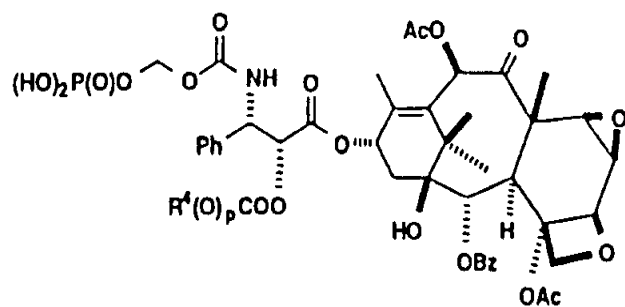
R ⁵
3-咪喃基
2-咪喃基
p-氟苯基
p-氯苯基
p-甲基苯基
p-甲氧基苯基
p-溴苯基
p-羟基苯基
p-氨基苯基
p-硝基苯基
2-噻吩基
3-噻吩基
环己基
环戊基
环丁基
环丙基
异丁烯基
异丙基
异丁基



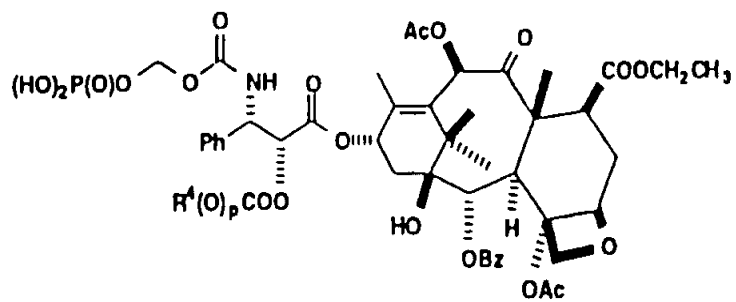
$R^4(O)_p$
3-呋喃基
2-呋喃基
p-氟苯基
p-氯苯基
p-甲基苯基
p-甲氧基苯基
p-溴苯基
p-羟基苯基
p-氨基苯基
p-硝基苯基
2-噻吩基
3-噻吩基
环己基
环戊基
环丁基
环丙基
异丁烯基
异丙基
异丁基



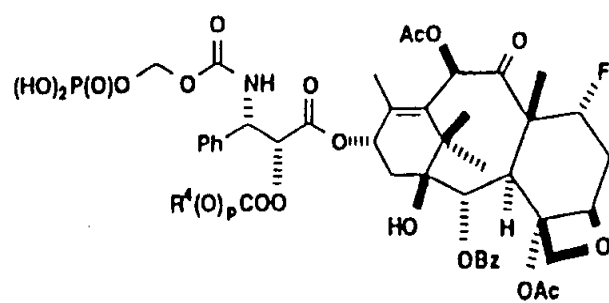
R5
3-呋喃基
2-呋喃基
P-氟苯基
P-氯苯基
P-甲基苯基
P-甲氧基苯基
p-溴苯基
P-羟基苯基
P-氨基苯基
P-硝基苯基
2-噻吩基
3-噻吩基
环己基
环戊基
环丁基
环丙基
异丁烯基
异丙基
异丁基



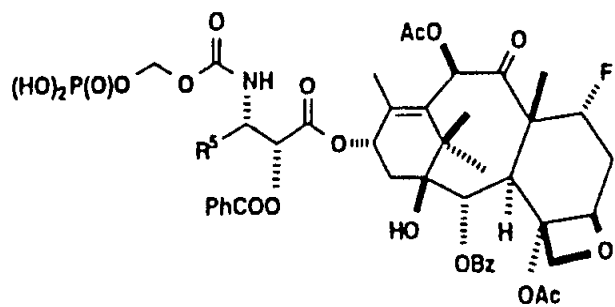
$R^4(O)_p$
3-咪喃基
2-咪喃基
P-氟苯基
P-氯苯基
P-甲基苯基
P-甲氧基苯基
p-溴苯基
P-羟基苯基
P-氨基苯基
P-硝基苯基
2-噻吩基
3-噻吩基
环己基
环戊基
环丁基
环丙基
异丁烯基
异丙基
异丁基



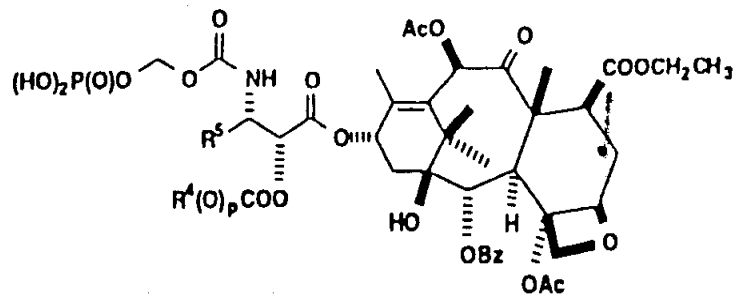
$R^4(O)_p$
3-呋喃基
2-呋喃基
P-氟苯基
P-氯苯基
P-甲基苯基
P-甲氧基苯基
p-溴苯基
P-羟基苯基
P-氨基苯基
P-硝基苯基
2-噻吩基
3-噻吩基
环己基
环戊基
环丁基
环丙基
异丁烯基
异丙基
异丁基



$R^4(O)_p$
3-咪喃基
2-咪喃基
p-氟苯基
p-氯苯基
p-甲基苯基
p-甲氧基苯基
p-溴苯基
p-羟基苯基
p-氨基苯基
p-硝基苯基
2-噻吩基
3-噻吩基
环己基
环戊基
环丁基
环丙基
异丁烯基
异丙基
异丁基



R5
3-咪喃基
2-咪喃基
p-氟苯基
p-氯苯基
p-甲基苯基
p-甲氧基苯基
p-溴苯基
p-羟基苯基
p-氨基苯基
p-硝基苯基
2-噻吩基
3-噻吩基
环己基
环戊基
环丁基
环丙基
异丁烯基
异丙基
异丁基



R ⁵
3-咪喃基
2-咪喃基
P-氟苯基
P-氯苯基
P-甲基苯基
P-甲氧基苯基
p-溴苯基
P-羟基苯基
P-氨基苯基
P-硝基苯基
2-噻吩基
3-噻吩基
环己基
环戊基
环丁基
环丙基
异丁烯基
异丙基
异丁基

本发明的通式 I 化合物是一种有效的肿瘤抑制剂，和在人药和/或兽药方面是有用的。例如，1994 年 7 月 6 日公开的欧洲专利申请 6040910A1 所述，它们在体内试验治疗肿瘤方面是有效的。在一个试验中，Balb/c × DBA₂F₁(CDF₁)杂种小鼠被皮下植入 0.1ml 2%(w/v) M109 肺癌浆(参见 W. Rose “Evaluation of Madison 109 Lung Carcinoma as a Model for Screening Antitumor Drugs,” Cancer Treatment Reports, 65, No. 3-4, pp299-312(1981))。试验化合物和参考药派克利太素静脉注射给数组小鼠。每组以不同剂量接受一种化合物，每个化合物评价 3 或 4 种不同剂量。此外，试验化合物被类似地口服评价。

逐日观察小鼠存活情况直至死亡或注射约 90 天后。每组试验都留一只未处理小鼠作对照。每周测定一次或两次肿瘤并按照公布的方法(同上)以 mm 尺寸评估肿瘤重。化合物处理的小鼠的中值存活时间(T)与对照组小鼠的中值存活时间比较。每种化合物处理的小鼠组的两个值之比乘以 100 为百分率(即，%T/C)。另外，处理组的中值时间和生长肿瘤至 1gm 的对照组的中值时间之间的差值，即以天数表示的 T-C 值也被测定。T-C 值越大，最初肿瘤生长的延迟越大。T/C ≥ 125%和/或 T-C ≥ 4.0 天的那些化合物被认为在此 M109SC 模型中是活性的。

按照上述过程评价了化合物 I b(作为其三乙醇胺盐)。在一个试验中，当静脉注射剂量范围为 20-45mg/kg 时，肿瘤植入 4 天后开始每天一次，连续 5 天，其 T/C 值为 132-145%和 T-C 值为 8.8-14.0。当肿瘤植入 4 天后开始，每天口服给化合物 200-400mg/kg，连续 5 天，其 T/C 值为 132-179%和 T-C 值为 10.5-24.3 天。

本发明的另一方面涉及抑制人和/或其它哺乳动物肿瘤的方法。该方法包括给带肿瘤的宿主抗肿瘤有效量的通式 I 化合物。

为了治疗各种肿瘤，本发明的通式 I 化合物可以按照类似于派克利太素的方式使用，例如，参见 physician's Desk Reference, 49th Edition, Medical Economics, p682, 1995。本发明化合物的给药剂量、方式和日

程没有特别的限制，熟悉癌治疗技术的肿瘤工作者，不需要过多的试验就可制定一个使用本发明化合物的治疗方案。通式 I 化合物可以通过任何适宜的给药途径给药，肠胃外给药或口服。肠胃外给药包括静脉内、腹膜内、肌内和皮下给药。

执行本发明方法所用的剂量是，使其能有助于预防治疗或能给予最大治疗应答的剂量。剂量改变取决于给药方式，所选的特定产物，和治疗主体的具体特征。一般来说，该剂量应是治疗反常细胞增殖引起的病症的有效量。本发明产物应按必须量给药以便获得要求的治疗效果。一些患者可能对较高或低剂量迅速应答，这样，需要中等维持量或完全无需维持量。经静脉注射时，剂量可以是例如约 20-约 500mg m²，需 1-100 小时。经口服给药时，其剂量可以是 5-1000mg/kg/日。实际用量会根据配制的特定化合物，给药途径，和要处理肿瘤的位置、宿主和类型而改变。在决定剂量时，改变药物作用的许多因素要考虑，包括患者的年龄，体重，性别，饮食和身体状况。

本发明也提供含有抗肿瘤有效量的通式 I 化合物和一种或多种药用载体，赋形剂，稀释剂或助剂的药物制剂(组合物)。这样的组合物可按常规方法制备。配制派克利太素或其衍生物的例子可以在例如 U. S. P. No. 4960790 和 4814470 中找到，和可以按这些例子配制本发明的化合物。例如，通式 I 化合物可以配制成片，丸，粉末混合物，胶囊，注射剂，溶液，栓剂，乳剂，分散剂，混合食物，和其它适合的形式。它也可制成无菌固体组合物形式，例如经冷冻干燥，和如果需要，与其它药用赋形剂结合。这样的固体组合物可以与无菌水，生理盐水，或水和有机溶剂如甘油、乙醇等的混合物；或其它无菌注射介质，在肠胃外给药之前临时重新配制。

典型的药用载体是，例如，甘露糖醇，脲素，葡聚糖，乳糖，土豆淀粉和玉米淀粉，硬脂酸镁，滑石，植物油，聚亚烷基二醇，乙基纤维素，聚乙烯基吡咯烷酮，碳酸钙，油酸乙酯，肉豆蔻酸异丙酯，苯甲酸苄酯，碳酸钠，明胶，碳酸钾，硅酸，药物制剂也可以含无毒的辅助物质，如乳化剂，防腐剂，润湿剂等，例如，脱水山梨糖醇单

月桂酸酯, 三乙醇胺油酸酯, 聚氧乙烯单硬脂酸酯, 三软脂酸甘油酯, 磺基丁二酸二辛酯等.