



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103524349 A

(43) 申请公布日 2014. 01. 22

(21) 申请号 201310494676. 6

A61P 35/02(2006. 01)

(22) 申请日 2013. 10. 19

(71) 申请人 山东大学

地址 250100 山东省济南市历城区山大南路
27 号

(72) 发明人 孙隆儒 马铭悱 季梅

(74) 专利代理机构 济南金迪知识产权代理有限
公司 37219

代理人 杨磊

(51) Int. Cl.

C07C 69/96(2006. 01)

C07C 68/02(2006. 01)

A61K 31/265(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

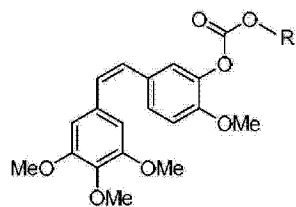
权利要求书2页 说明书13页 附图1页

(54) 发明名称

CA-4 碳酸酯类衍生物、其制备方法、药物组合物与医药用途

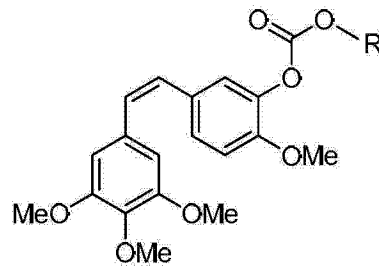
(57) 摘要

本发明涉及 CA-4 碳酸酯类衍生物、其制备方法、药物组合物与医药用途。所述 CA-4 碳酸酯类衍生物是具有通式 6 的化合物,是 CA-4 分子中的酚羟基被氯甲酸酯酯化后而制得的一类侧链含有烷基酯基的 CA-4 酯类衍生物。本发明还提供该 CA-4 碳酸酯类衍生物的制备方法和药物组合物。所述 CA-4 碳酸酯类衍生物用于制备抗肿瘤药物,特别是在抗人乳腺癌或白血病药物中的应用。



式 6

1. CA-4 碳酸酯类衍生物,是具有通式 6 的化合物,

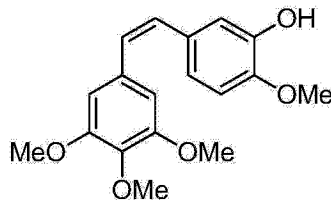


式 6

其中, R 为 C1-18 直链或支链的链状烷基、苯基或苄基。

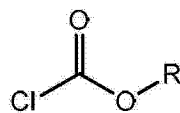
2. 如权利要求 1 所述的 CA-4 碳酸酯类衍生物,其特征在于, R 为 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_3$ 、 $-\text{Ar}$ 或 $-\text{CH}_2\text{Ar}$ 。

3. 权利要求 1 或 2 所述的 CA-4 碳酸酯类衍生物的制备方法,使下式 CA-4 化合物:



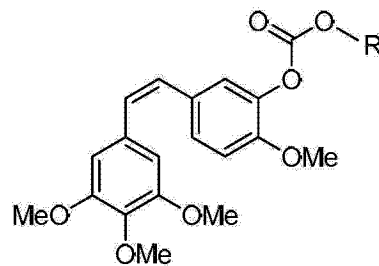
CA-4

与式 5 化合物



式 5

在吡啶存在下于溶剂中进行酯化反应,制得式 6 化合物;



式 6

其中,式 5 中的 R 与式 6 中的 R 含义相同, R 为 C1-18 直链或支链的链状烷基、苯基或苄基;

所述反应温度 $10 \sim 30^\circ\text{C}$, CA-4 化合物与式 5 化合物的用量摩尔比为 $1:2 \sim 6$, 反应时间 $12 \sim 48$ 小时。

4. 如权利要求 3 所述的 CA-4 碳酸酯类衍生物的制备方法,其特征在于所述式 5 化合物选自氯甲酸甲酯、氯甲酸乙酯、氯甲酸正丙酯、氯甲酸异丙酯、氯甲酸正丁酯、氯甲酸异丁酯、氯甲酸正戊酯、氯甲酸苯酯、氯甲酸苄酯、氯甲酸正十二烷基酯或氯甲酸正十六烷基酯。

5. 如权利要求3所述的CA-4碳酸酯类衍生物的制备方法,其特征在于所述溶剂是二氯甲烷或三氯甲烷。

6. 如权利要求3所述的CA-4碳酸酯类衍生物的制备方法,其特征在于步骤如下:

(1) CA-4化合物用无水二氯甲烷溶解,CA-4化合物与二氯甲烷比例为1:1.5~20,单位mmol/mL,置于0℃酒精浴中,搅拌冷却至0℃;

(2) 按CA-4化合物与吡啶比例为1:1.5~2,单位mmol/mL,加入无水吡啶,搅拌5分钟;按CA-4化合物与式5化合物摩尔比为1:2~6,滴加式5化合物,通入氮气保护,在0℃搅拌15~30分钟,使反应物充分混合均匀,然后,

(3) 于10~30℃温度下继续搅拌反应12~48小时,得产物;

(4) 产物纯化:将上述产物通过柱层析色谱分离得到油状固体。

7. 如权利要求3或5所述的CA-4碳酸酯类衍生物的制备方法,其特征在于反应温度为20~25℃,CA-4化合物与式5化合物的用量摩尔比为1:3~4,反应时间为24~36小时。

8. 一种药物组合物,其中含有权利要求1或2任一种式6化合物和药学上可接受的载体或药用辅料。

9. 如权利要求8所述的药物组合物,其中该药物组合物制成片剂、胶囊剂、滴丸、栓剂或软膏剂的剂型之一。

10. 权利要求1或2所述CA-4碳酸酯类衍生物的医药用途,其中式6化合物在制备抗肿瘤药物中的应用;进一步优选在制备抗人乳腺癌或白血病药物中的应用。

CA-4 碳酸酯类衍生物、其制备方法、药物组合物与医药用途

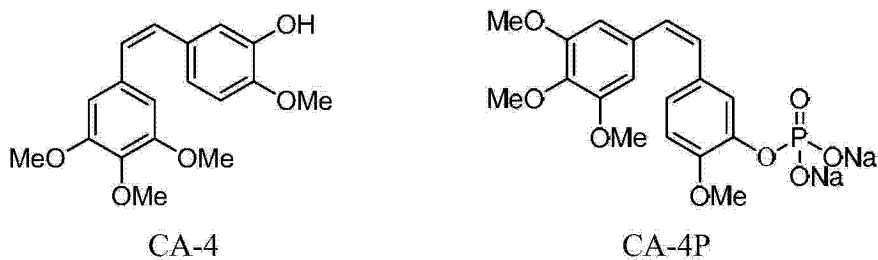
技术领域

[0001] 本发明涉及一种 CA-4 碳酸酯类衍生物及其制备方法和用途,属于碳酸酯类化合物合成技术领域。

背景技术

[0002] Combretastatins A-4 (CA-4) 是从南非灌木矮生柳树 (*Combretum caffrum*) 树皮中分离得到的天然抗有丝分裂的芪类化合物,其中 Combretastatin-4 (CA-4) 是这类化合物中抗肿瘤活性最好毒性最小的化合物之一,最早于 1982 年由 Pettit 等人分离、鉴定。CA-4 能够识别肿瘤组织和正常组织内皮细胞的差异,选择性抑制肿瘤细胞微管蛋白的聚合,抑制肿瘤血管增生,从而作为一种强效的微管聚合抑制剂发挥抗肿瘤作用。由于 CA-4 的水溶性极差,限制了其临床应用。然而 CA-4 的磷酸酯前药 (CA-4P) 目前已进入 III 期临床研究。

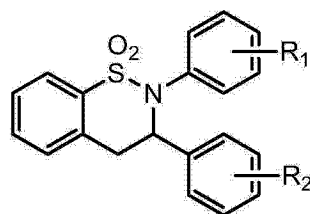
[0003]



[0004] 构效关系研究表明, CA-4 结构中二苯乙烯的顺式结构和 3,4,5-三甲氧基苯基是抗肿瘤活性的必要条件。而 4'-甲氧基和 3'-羟基则不是其活性的必要基团。CA-4 极不稳定,顺式结构见光易异构成活性很低的反式构型,3'-羟基在空气中易氧化成醌。

[0005] CN101362736A 公开了一种苯并磺酰胺类 CA-4 类似物、合成方法及应用。化合物具有如通式 I 的结构,在结构特点上,与 CA-4 的化学结构具有较大的差别。制备方法是以前 N-叔丁基-苯磺酰胺衍生物为原料,在金属试剂作用下产生相应的碳负离子,再分别与含甲氧基和其它官能团取代的苯甲醛反应,生成仲醇,然后用氧化剂把仲醇进行氧化,再利用三甲基硅氯 /NaI/ 乙腈试剂诱导的新型环合反应,合成一系列构象限制的 CA-4 类似物。目标化合物体外细胞生长抑制活性试验结果表明可作为抗肿瘤药物应用。

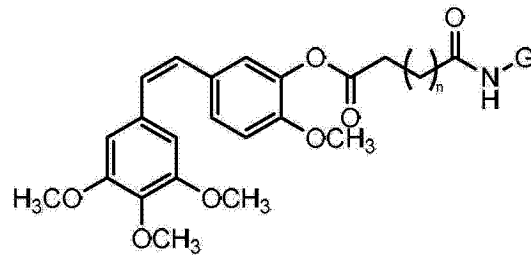
[0006]



通式 I

[0007] CN102219811A 提供了一类 CA-4 衍生物（通式 II）、制备方法、以及对肿瘤血管抑制作用。通式（II）的化合物如下：

[0008]



通式 II

[0009] 该衍生物是将 CA-4 中的羟基通过丙二酸、丁二酸等连接臂与氨基糖分子中的氨基偶联，得到多靶点的血管生成抑制剂。药理实验证明，本发明化合物可以用于治疗各种与血管生成相关的疾病，这些疾病包括各种癌症和慢性炎症，以及其它血管原性的疾病。该类化合物在原 CA-4 的结构中增加了 1 个糖基，增大了该化合物的水溶性，与本发明申请的设计理念恰好相反。

发明内容

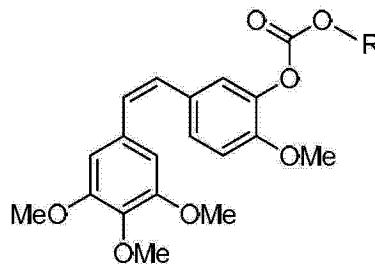
[0010] 针对现有技术的不足，本发明提供一类新的 CA-4 碳酸酯类衍生物、制备方法及应用。

[0011] 本发明的技术方案如下：

[0012] 一、化合物

[0013] CA-4 碳酸酯类衍生物，是具有通式 6 的化合物，

[0014]



式 6

[0015] 其中，R 为 C1-18 直链或支链的链状烷基、苯基或苄基。

[0016] 根据本发明优选的，R 为 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_3$ 、 $-\text{Ar}$ 、 $-\text{CH}_2\text{Ar}$ （Ar 表示苯环）。

[0017] 根据本发明优选的，CA-4 碳酸酯类衍生物是下列化合物之一：

[0018]

化合物编号	名称
6-1	CA-4 碳酸甲酯,
6-2	CA-4 碳酸乙酯,
6-3	CA-4 碳酸丙酯,
6-4	CA-4 碳酸异丙酯,
6-5	CA-4 碳酸正丁酯,
6-6	CA-4 碳酸异丁酯,
6-7	CA-4 碳酸正戊酯,

[0019]

6-8	CA-4 碳酸正十二烷基酯,
6-9	CA-4 碳酸正十六烷基酯,
6-10	CA-4 碳酸苯酯,
6-11	CA-4 碳酸苄酯。

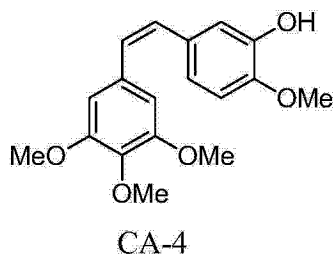
[0020] 为了表达简介明了,在本说明书中通用以上 11 种具体化合物的编号,含义相同。

[0021] 二、制备方法

[0022] 本发明的 CA-4 碳酸酯类衍生物(式 6 的化合物)是 CA-4 分子中的羟基被含有侧链的氯甲酸酯取代而制得的。

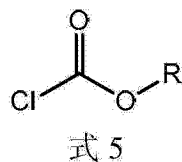
[0023] 本发明的 CA-4 碳酸酯类衍生物的制备方法,使下式 CA-4 化合物:

[0024]



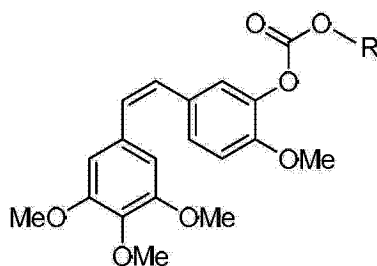
[0025] 与式 5 化合物

[0026]



[0027] 在吡啶存在下于溶剂中进行酯化反应制得式 6 化合物;

[0028]



式 6

[0029] 其中,式 5 中的 R 与式 6 中的 R 含义相同, R 为 C1-18 直链或支链的链状烷基、苯基或苄基;

[0030] 反应温度 10 ~ 30°C, CA-4 化合物与式 5 化合物的用量摩尔比为 1:2 ~ 6, 反应时间 12 ~ 48 小时。

[0031] 根据本发明优选的, 式 5 化合物(含有侧链的氯甲酸酯)为氯甲酸甲酯、氯甲酸乙酯、氯甲酸正丙酯、氯甲酸异丙酯、氯甲酸正丁酯、氯甲酸异丁酯、氯甲酸正戊酯、氯甲酸苯酯、氯甲酸苄酯、氯甲酸正十二烷基酯或氯甲酸正十六烷基酯。

[0032] 根据本发明优选的, 所述溶剂是二氯甲烷、三氯甲烷。

[0033] 根据本发明, 一个优选的方案, CA-4 碳酸酯类衍生物的制备方法, 步骤如下:

[0034] (1) CA-4 化合物用无水二氯甲烷溶解, CA-4 化合物与二氯甲烷比例为 1:1.5 ~ 20, 单位 mmol/mL, 置于 0°C 酒精浴中, 搅拌冷却至 0°C;

[0035] (2) 按 CA-4 化合物与吡啶比例为 1:1.5 ~ 2, 单位 mmol/mL, 加入无水吡啶, 搅拌 5 分钟; 按 CA-4 化合物与式 5 化合物摩尔比为 1:2 ~ 6, 滴加式 5 化合物, 通入氮气保护, 在 0°C 搅拌 30 分钟, 使反应物充分混合均匀, 然后,

[0036] (3) 于 10 ~ 30°C 温度下继续搅拌反应 12 ~ 48 小时, 得产物。

[0037] 继续以下步骤可得到纯化产品:

[0038] (4) 产物纯化: 将上述步骤(3)的产物通过柱层析色谱分离得到纯化产品。纯化产品外观为浅黄色糖浆状物或者浅黄色固体。

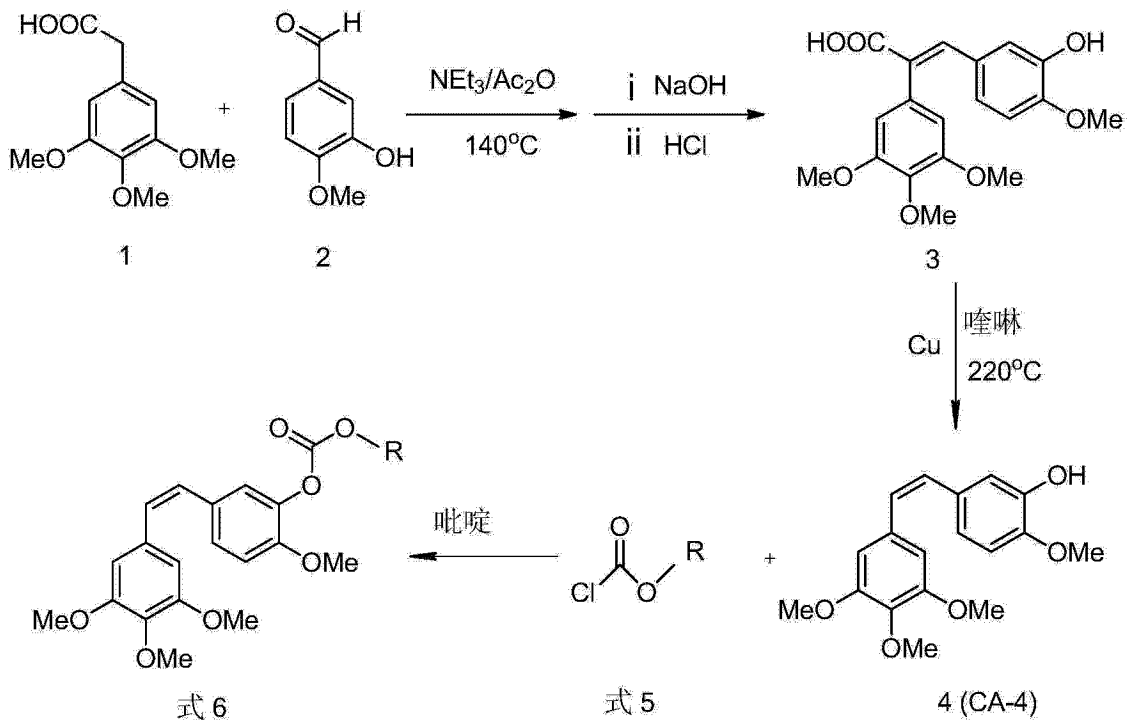
[0039] 根据本发明, 进一步优选的, 所述反应温度为 20 ~ 25°C, CA-4 化合物与式 5 化合物的用量摩尔比为 1:3 ~ 4, 反应时间为 24 ~ 36 小时。

[0040] 上述方法所用原料 CA-4 可为天然植物中提取的, 也可按照文献方法 (Gaukroger, K. et al, The Journal of Organic Chemistry, 2001, 66, 8135) 制得。本发明提供以下 CA-4 的制备方法:

[0041] (1) CA-4 的制备: ① 3, 4, 5-三甲氧基苯乙酸(化合物 1)、异香草醛(化合物 2)、醋酸、三乙胺 140°C 回流 3 小时发生珀金缩合(Perkin 缩合), 生成 3'-羟基乙酰化产物, 该乙酰化产物 3 再水解 17 小时生成 2-(3, 4, 5-三甲氧基苯基)-3'-羟基-4'-甲氧基-(E) 苯乙烯酸(化合物 3)。② 化合物 3 与铜粉和喹啉于 220°C 发生脱羧反应生成 CA-4。快速柱层析色谱法分离得到纯的 CA-4。

[0042] 以 3, 4, 5-三甲氧基苯乙酸(化合物 1) 为初始原料合成本发明目标化合物的合成路线如下:

[0043]



[0044] 三、组合物

[0045] 根据本发明，一种药物组合物，其中含有任一种式 6 化合物和药学上可接受的载体或药用辅料。

[0046] 所述的药物组合物制成不同剂型的药物制剂。可按照药剂学常规生产工艺制成片剂、胶囊剂、滴丸和栓剂的剂型之一。

[0047] 所述的不同剂型的药物制剂详细说明如下：

[0048] 1、CA-4 碳酸酯类衍生物胶囊剂的制备

[0049] 取 CA-4 碳酸酯类衍生物，以 CA-4 碳酸酯类衍生物重量为基数计，加入淀粉 12 ~ 14 重量倍，糊精 2 ~ 3 重量倍，少量的微晶纤维素和硬脂酸镁，混匀，制粒，整粒，装入胶囊壳，即得。

[0050] 2、CA-4 碳酸酯类衍生物滴丸的制备

[0051] 取一种 CA-4 碳酸酯类衍生物，以 CA-4 碳酸酯类衍生物重量为基数计，加入 3 ~ 5 倍重量体积比 (g/mL) 的无水乙醇，溶解，滤过，将滤液加入 6 ~ 8 重量倍的聚乙二醇 4000 熔融液中，60°C 水浴恒温搅拌，挥尽乙醇，85°C 条件下滴制滴丸，以二甲基硅油为冷凝液冷却，收集滴丸，即得。

[0052] 3、CA-4 碳酸酯类衍生物栓剂的制备

[0053] 取一种 CA-4 碳酸酯类衍生物，加入已加热融化的 36 型半合成脂肪酸甘油酯中，搅拌，50°C 条件下注入栓模中，凝固，刮平，取出，即得。或者，

[0054] 取一种 CA-4 碳酸酯类衍生物，加入已加热融化的 PEG4000 和 PEG6000 (7:1 质量比) 的混合物中，搅拌均匀，注入涂有液状石蜡的栓模中，冷却凝固，刮平，取出，即得。

[0055] 4、CA-4 碳酸酯类衍生物软膏剂的制备

[0056] 取液体石蜡或植物油中的一种，加入凡士林或羊毛脂中的一种，再加入尼泊金类抑菌剂如尼泊金乙酯，研匀，即得其油脂性软膏剂基质。然后加入一种 CA-4 碳酸酯类衍生物，研匀，即得。或者，

[0057] 取硬脂酸、单硬脂酸甘油酯、白凡士林、甘油或液体石蜡中的一种或若干种，加入油酸和尼泊金类抑菌剂如尼泊金乙酯，加热至 80℃ 左右使熔化，搅拌均匀，再加入一种 CA-4 碳酸酯类衍生物药物，搅拌均匀，得含药的油相。另取十二烷基硫酸钠、海藻酸钠或吐温 80 中的一种或者两种，加入蒸馏水、乳化剂三乙醇胺，加热至约 80℃，搅拌均匀，得水相。在 80℃ 条件下，将水相缓缓加入到油相中，边加入边搅拌，至均匀，冷却至室温，即得。

[0058] 本发明的具有抗肿瘤作用的 CA-4 碳酸酯类衍生物及其药物组合物制剂用于肿瘤的治疗。

[0059] 四、医药用途

[0060] 根据本发明，CA-4 碳酸酯类衍生物的医药用途，其特征在于式 6 化合物（CA-4 碳酸酯类衍生物）在制备抗肿瘤药物中的应用。尤其是在制备抗人乳腺癌或白血病药物中的应用。

[0061] 本发明提供的系列 CA-4 碳酸酯类衍生物，用人乳腺癌细胞 MCF-7 和人白血病细胞 K562 细胞株进行初步活性筛选，发现这些 CA-4 衍生物对测试的肿瘤细胞均有很强的抑制增殖作用，活性与 CA-4 相似， IC_{50} 值均达到了 nM 数量级，其中某些化合物显示了比 CA-4 更高的抗肿瘤活性，如 CA-4 与氯甲酸乙酯的反应产物 CA-4 碳酸乙酯（化合物 6-2），对上述测试细胞的 IC_{50} 值在 0.0013-0.0025 μ M 之间，均小于 CA-4 的 IC_{50} 值。更为详细的实验将在具体实施方式中加以说明。

[0062] 本发明对 CA-4 的结构修饰是在保留顺势结构和 3, 4, 5-三甲氧基苯基活性部分的基础上，对 3'-羟基进行结构改造，引入一系列长链，由于空间位阻作用，阻碍 CA-4 双键的异构化，从而增加其稳定性，保留其抗肿瘤活性。

[0063] 本发明的特点是以天然产物 CA-4 为先导化合物，将一系列甲酸酯接到 CA-4 的羟基侧链上得到一系列的 CA-4 衍生物。这是一类结构全新的化合物，初步药理活性筛选试验表明这些化合物均具有较好的抗肿瘤活性，某些化合物表现出比 CA-4 更优的抗肿瘤活性。本发明设计合理，制备简单，适于实用。

附图说明

[0064] 图 1 为实施例 1 的产物化合物 6-1 的氢谱。

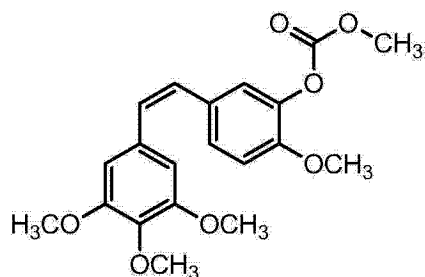
具体实施方式

[0065] 本发明结合实例作进一步的说明。以下的实例是说明本发明的，而不是以任何方式限制本发明。

[0066] 实施例 1 :CA-4 碳酸甲酯（化合物 6-1）的制备

[0067] 使 CA-4 与氯甲酸甲酯酯化反应，得通式 6 中 R 为甲基的化合物 6-1。

[0068]



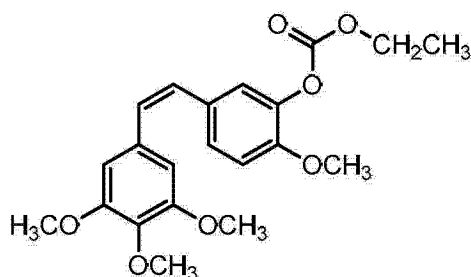
化合物 6-1

[0069] 步骤如下:CA-4 (0.316g, 1mmol) 用 20mL 无水 CH_2Cl_2 溶解, 转移至 50mL 三颈瓶, 放置 0°C 酒精浴中, 搅拌冷却至 0°C 。加入无水吡啶 2ml, 搅拌 5 分钟。缓慢滴加氯甲酸甲酯 0.3mL (3.9mmol), 滴加完后, 通入氮气保护, 在 0°C 搅拌 30 分钟后, 移至室温下继续搅拌 24 小时, 停止反应, 得到 CA-4 的氯甲酸甲酯的修饰产物粗品。通过柱层析色谱分离得到浅黄色糖浆状物, 收率:61%。

[0070] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ =7.09–7.15 (m, 2H, Ar-H \times 2), 6.87 (d, J =8.7Hz, 1H, Ar-H), 6.49 (s, 2H, Ar-H \times 2), 6.46 (s, 2H, =C-H \times 2), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 3.70 (s, 6H, $\text{OCH}_3\times$ 2)。

[0071] 实施例 2:CA-4 碳酸乙酯 (化合物 6-2) 的制备

[0072]



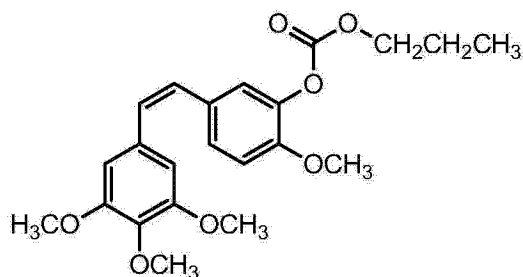
化合物 6-2

[0073] 使 CA-4 与氯甲酸乙酯进行酯化反应, 得通式 6 中 R 为乙基的化合物 6-2。步骤操作过程、反应时间、反应温度、各试剂的量及反应物摩尔比均与实施例 1 相同, 所不同的是用氯甲酸乙酯代替氯甲酸甲酯, 得到浅黄色糖浆状物, 收率 62%。

[0074] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ =7.11–7.14 (m, 2H, Ar-H \times 2), 6.86 (d, J =9.3Hz, 1H, Ar-H), 6.50 (s, 2H, Ar-H \times 2), 6.45 (s, 2H, =C-H \times 2), 4.27 (q, J =7.2Hz, 2H, OCH_2), 3.83 (s, 3H, OCH_3), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 3.69 (s, 6H, $\text{OCH}_3\times$ 2), 1.34 (t, J =7.2Hz, 3H, CH_3)。

[0075] 实施例 3:CA-4 碳酸正丙酯 (化合物 6-3) 的制备

[0076]

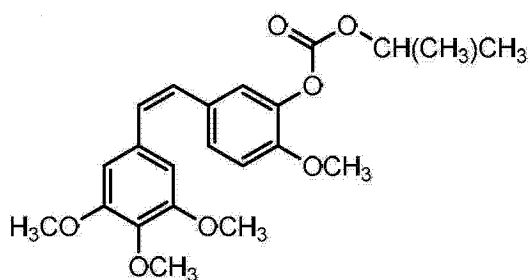


化合物 6-3

[0077] 使 CA-4 与氯甲酸正丙酯进行酯化反应,得通式 6 中 R 为正丙基的化合物 6-3。步骤操作过程、各试剂的量与实施例 1 相同,所不同的是用氯甲酸正丙酯代替氯甲酸甲酯,加入的 CA-4 与氯甲酸正丙酯的摩尔比为 1:5,10°C 条件下反应时间为 12 小时,得到浅黄色糖浆状物,收率 52%。

[0078] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ = 7.11-7.14 (m, 2H, Ar-H \times 2), 6.87 (d, J=9Hz, 1H, Ar-H), 6.50 (s, 2H, Ar-H \times 2), 6.45 (s, 2H, =C-H \times 2), 4.18 (t, J=6.9Hz, 2H, OCH_2), 3.83 (s, 3H, OC H_3), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 3.70 (s, 6H, $\text{OCH}_3 \times 2$), 1.69-1.80 (m, 2H, CH_2), 0.99 (t, J=7.8Hz, 3H, C H_3)。实施例 4 :CA-4 碳酸异丙酯 (化合物 6-4) 的制备

[0079]



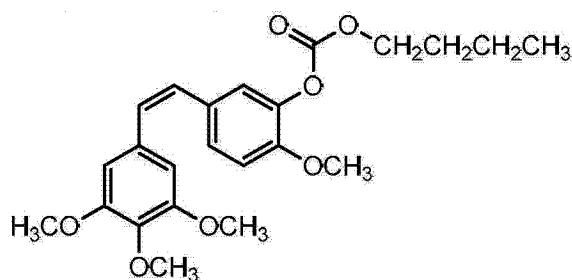
化合物 6-4

[0080] 使 CA-4 与氯甲酸异丙酯进行酯化反应,得通式 6 中 R 为异丙基的化合物 6-4。步骤操作过程、反应时间、各试剂的量及反应物摩尔比均与实施例 1 相同,所不同的是用氯甲酸异丙酯代替氯甲酸甲酯,在 20°C 条件下进行反应,得到浅黄色糖浆状物,收率 58%。

[0081] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ = 7.10-7.14 (m, 2H, Ar-H \times 2), 6.85 (d, J=9.0Hz, 1H, Ar-H), 6.50 (s, 2H, Ar-H \times 2), 6.84 (s, 2H, =C-H \times 2), 4.88-4.96 (m, 1H, OCH), 3.83 (s, 3H, OC H_3), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 3.70 (s, 6H, $\text{OCH}_3 \times 2$), 1.35 (d, J=6.3Hz, 6H, $\text{CH}_3 \times 2$)。

[0082] 实施例 5 :CA-4 碳酸正丁酯 (化合物 6-5) 的制备

[0083]



化合物 6-5

[0084] 使 CA-4 与氯甲酸正丁酯进行酯化反应,得通式 6 中 R 为正丁基的化合物 6-5。步

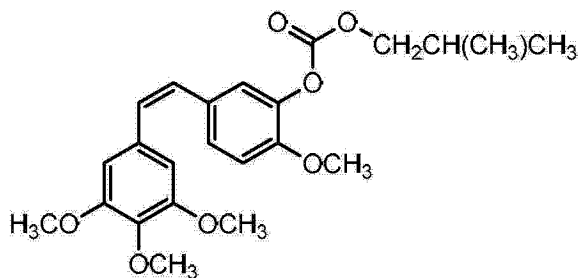
骤操作过程、反应温度、反应时间与实施例 1 相同,所不同的是用氯甲酸正丁酯代替氯甲酸甲酯,

[0085] 加入的 CA-4 与氯甲酸异丁酯的摩尔比为 1:3.5,得到浅黄色糖浆状物,收率 63%。

[0086] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ =7.11-7.14(m, 2H, Ar-H \times 2), 6.85(d, J=8.1Hz, 1H, Ar-H), 6.50(s, 2H, Ar-H \times 2), 6.45(s, 2H, =C-H \times 2), 4.22(t, J=6.6Hz, 2H, OCH_2), 3.84(s, 3H, OCH_3), 3.82(s, 3H, OCH_3), 3.70(s, 6H, $\text{OCH}_3\times$ 2), 1.66-1.75(m, 2H, CH_2), 1.38-1.50(m, 2H, CH_2), 0.96(t, J=7.2Hz, 3H, CH_3).

[0087] 实施例 6 :CA-4 碳酸异丁酯(化合物 6-6)的制备

[0088]



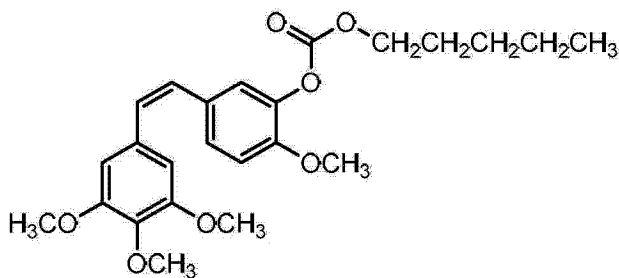
化合物 6-6

[0089] 使 CA-4 与氯甲酸异丁酯进行酯化反应,得通式 6 中 R 为异丁基的化合物 6-6。步骤操作过程实施例 1 相同,所不同的是用氯甲酸异丁酯代替氯甲酸甲酯,加入的 CA-4 与氯甲酸异丁酯的摩尔比为 1:5.6,反应在温度为 20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行,反应时间为 12h,得到浅黄色糖浆状物,收率 58%。

[0090] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ =7.11-7.14(m, 2H, Ar-H \times 2), 6.86(d, J=8.4Hz, 1H, Ar-H), 6.50(s, 2H, Ar-H \times 2), 6.46(s, 2H, =C-H \times 2), 4.01(d, J=6.6Hz, 2H, OCH_2), 3.84(s, 3H, OCH_3), 3.82(s, 3H, OCH_3), 3.70(s, 6H, $\text{OCH}_3\times$ 2), 1.97-2.10(m, 1H, CH), 0.98(d, J=6.6Hz, 6H, $\text{CH}_3\times$ 2).

[0091] 实施例 7 :CA-4 碳酸正戊酯(化合物 6-7)的制备

[0092]



化合物 6-7

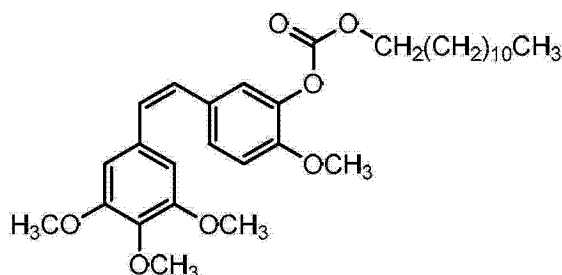
[0093] 使 CA-4 与氯甲酸正戊酯进行酯化反应,得通式 6 中 R 为正戊基的化合物 6-7。步骤操作过程实施例 1 相同,所不同的是用氯甲酸正戊酯代替氯甲酸甲酯,加入的 CA-4 与氯甲酸正戊酯的摩尔比为 1:2.4,反应在室温条件下进行,反应时间为 48h,得到浅黄色糖浆状物,收率 54%。

[0094] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ =7.09-7.13(m, 2H, Ar-H \times 2), 6.86(d, J=8.7Hz, 1H, Ar-H), 6.48(s, 2H, Ar-H \times 2), 6.44(s, 2H, =C-H \times 2), 4.20(t, J=6.9Hz, 2H, OCH_2), 3.82(s, 3H, OCH_3),

H₃), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 6H, OCH₃ × 2), 1.67–1.77 (m, 2H, CH₂), 1.31–1.42 (m, 4H, CH₂ × 2), 0.84–0.97 (m, 3H, CH₃).

[0095] 实施例 8 : 碳酸正十二烷基酯 (化合物 6-8) 的制备

[0096]



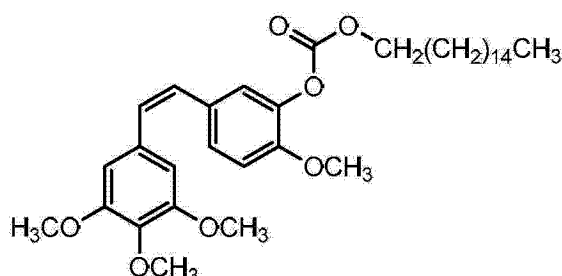
化合物 6-8

[0097] 使 CA-4 与氯甲酸十二烷基酯进行酯化反应, 得通式 6 中 R 为十二烷基的化合物 6-8。步骤操作过程实施例 1 相同, 所不同的是用氯甲酸十二烷基酯代替氯甲酸甲酯, 加入的 CA-4 与氯甲酸十二烷基酯的摩尔比为 1:2.5, 反应在 30℃ 条件下进行, 反应时间为 36 小时, 得到浅黄色糖浆状物, 收率 54%。

[0098] ¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ = 7.11–7.14 (m, 2H, Ar-H × 2), 6.85 (d, J=8.1Hz, 1H, Ar-H), 6.49 (s, 2H, Ar-H × 2), 6.46 (s, 2H, =C-H × 2), 4.21 (t, J=6.9Hz, 2H, OCH₂), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.70 (s, 6H, OCH₃ × 2), 1.65–1.77 (m, 2H, CH₂), 1.20–1.45 (m, 18H, CH₂ × 9), 0.88 (t, J=6.9Hz, 3H, CH₃).

[0099] 实施例 9 : 碳酸正十六烷基酯 (化合物 6-9) 的制备

[0100]



化合物 6-9

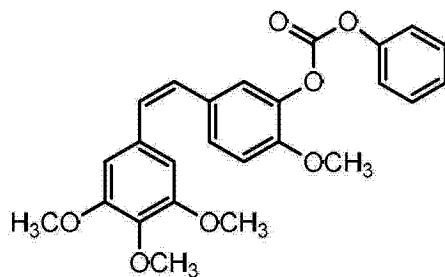
[0101] 使 CA-4 与氯甲酸十六烷基酯进行酯化反应, 得通式 6 中 R 为十六烷基的化合物 6-9。步骤操作过程实施例 1 相同, 所不同的是用氯甲酸十六烷基酯代替氯甲酸甲酯, 加入的 CA-4 与氯甲酸十六烷基酯的摩尔比为 1:2, 反应在温度 20℃ 条件下进行, 反应时间为 12 小时,

[0102] 得到浅黄色固体, 收率 45%。

[0103] ¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ = 7.11–7.14 (m, 2H, Ar-H × 2), 6.85 (d, J=8.4Hz, 1H, Ar-H), 6.49 (s, 2H, Ar-H × 2), 6.45 (s, 2H, =C-H × 2), 4.21 (t, J=6.9Hz, 2H, OCH₂), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.70 (s, 6H, OCH₃ × 2), 1.65–1.78 (m, 2H, CH₂), 1.20–1.47 (m, 26H, CH₂ × 13), 0.88 (t, J=6.9Hz, 3H, CH₃) ppm.

[0104] 实施例 10 : CA-4 碳酸苯酯 (化合物 6-10) 的制备

[0105]



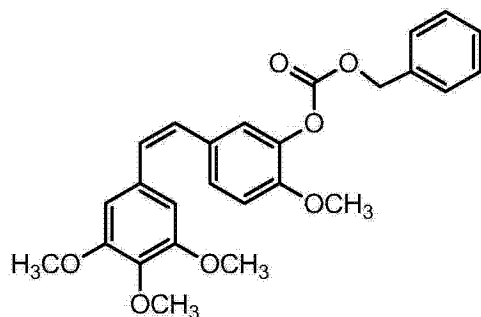
化合物 6-10

[0106] 使 CA-4 与氯甲酸苯酯进行酯化反应,得通式 6 中 R 为苯基的化合物 6-10。步骤操作过程实施例 1 相同,所不同的是用氯甲酸苯酯代替氯甲酸甲酯,加入的 CA-4 与氯甲酸苯酯的摩尔比为 1:6,反应持续在温度 15℃ 条件下进行,反应时间为 24 小时,得到浅黄色糖浆状物,收率 57%。

[0107] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ = 7.36-7.41 (m, 2H, Ar-H \times 2), 7.19-7.25 (m, 4H, Ar-H \times 4), 7.13-7.17 (m, 1H, Ar-H), 6.88 (d, J=8.4Hz, 1H, Ar-H), 6.50 (s, 2H, Ar-H \times 2), 6.47 (s, 2H, =C-H \times 2), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.83 (s, 3H, OCH_3), 3.68 (s, 6H, $\text{OCH}_3 \times 2$).

[0108] 实施例 11 :CA-4 碳酸苄酯(化合物 6-11) 的制备

[0109]



化合物 6-11

[0110] 使 CA-4 与氯甲酸苄酯进行酯化反应,得通式 6 中 R 为苄基的化合物 6-11。步骤操作过程实施例 1 相同,所不同的是用氯甲酸苄酯代替氯甲酸甲酯,加入的 CA-4 与氯甲酸苄酯的摩尔比为 1:5,反应在温度 10℃ 条件下进行,反应时间为 18 小时,得到浅黄色糖浆状物,收率 50%。

[0111] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ = 7.32-7.44 (m, 5H, Ar-H \times 5), 7.11-7.14 (m, 2H, Ar-H \times 2), 6.85 (d, J=8.4Hz, 1H, Ar-H), 6.49 (s, 2H, Ar-H \times 2), 6.45 (s, 2H, =C-H \times 2), 5.24 (s, 2H, OCH_2), 3.83 (s, 3H, OCH_3), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.69 (s, 6H, $\text{OCH}_3 \times 2$).

[0112] 实施例 12 :CA-4 碳酸酯类衍生物片剂的制备

[0113] 实施例 1 所得的 CA-4 碳酸酯类衍生物 10g,加入淀粉 100g,糊精 50g,蔗糖粉 5g,羧甲基淀粉钠 17.5g,混匀,制成颗粒,整粒,加入滑石粉 1.5g,羧甲基淀粉钠 17.5g,混匀,压制成 1000 片。

[0114] 实施例 13 :CA-4 碳酸酯类衍生物胶囊剂的制备

[0115] 实施例 2 所得的 CA-4 碳酸酯类衍生物 20g,加入淀粉 250g,糊精 45g,微晶纤维素 3.5g,混匀,制成颗粒,整粒,加入硬脂酸镁 1.5g,混匀,装入胶囊壳 1000 粒,即得。

[0116] 实施例 14 :CA-4 碳酸酯类衍生物滴丸的制备

[0117] 实施例 4 中所得的 CA-4 碳酸酯类衍生物 10g,加入 30 ~ 50ml 无水乙醇,微热溶解,滤过,将滤液加入 85g 的聚乙二醇 4000 熔融液中,60℃ 水浴恒温搅拌,挥尽乙醇,85℃ 条

件下滴制滴丸,滴距 3cm,以二甲基硅油为冷凝液,控制冷凝液温度 20℃至 0℃梯度冷却,收集滴丸,制得滴丸约 1000 粒。

[0118] 实施例 15 :CA-4 碳酸酯类衍生物栓剂的制备(1)

[0119] 取实施例 7 中所得的 CA-4 碳酸酯类衍生物 2g,另取 36 型半合成脂肪酸甘油酯(市售) 98g,置水浴上加热融化,待温度降至约 60℃时,加入准备好的 CA-4 衍生物,搅拌至约 50℃,注入栓模中,凝固,刮平,取出,制得栓剂 100 粒。

[0120] 实施例 16 :CA-4 碳酸酯类衍生物栓剂的制备(2)

[0121] 取实施例 7 中所得的 CA-4 碳酸酯类衍生物 1g,另取 87g 的 PEG4000 和 12g 的 PEG6000,混合加热至融化,再将所取得 CA-4 衍生物加入融化的 PEG 混合物中,继续加热搅拌均匀,然后注入涂有液状石蜡的栓模中,冷却凝固,刮平,取出,制备栓剂 100 粒。

[0122] 实施例 17 :CA-4 碳酸酯类衍生物软膏剂的制备(1)

[0123] 取液体石蜡 3mL,加入羊毛脂 10g,再加入尼泊金乙酯 0.2g,研匀,即得其油脂性软膏剂基质。将实施例 2 所得的 CA-4 碳酸乙酯 1g 加入上述软膏基质中,研匀,即得。

[0124] 实施例 18 :CA-4 碳酸酯类衍生物软膏剂的制备(2)

[0125] 取单硬脂酸甘油酯 5g,液体石蜡 4.5mL,加入油酸 0.5g,尼泊金乙酯 0.2g,80℃水浴中研匀,将实施例 2 所得的药物 CA-4 碳酸乙酯 1.5g 加入,搅拌均匀,得含药的油相。另取十二烷基硫酸钠 1.8g,甘油 2.5g,乳化剂三乙醇胺 0.2g,加入蒸馏水 12mL,80℃水浴中搅拌均匀,得水相。80℃水浴条件下,将水相缓缓加入油相中,边加边搅拌至混合均匀,冷却至室温,即得。

[0126] 实施例 19 :CA-4 碳酸酯类衍生物对不同肿瘤细胞的体外抑制作用

[0127] 1. 实验材料

[0128] 细胞株 :人乳腺癌细胞 MCF-7、人白血病细胞 K562。

[0129] 培养基 :RPMI1640 培养基,含 10% 胎牛血清。

[0130] 药物及配置 :药物为上述合成的 CA-4 碳酸酯类类似物,药物首先溶于 DMSO,然后用培养基稀释后加入细胞中。

[0131] 2. 实验方法

[0132] (1)肿瘤细胞体外培养

[0133] 选取肿瘤细胞 MDA-MB-231, MCF-7, K562, A549 于 37℃、5%CO₂ 细胞培养箱中孵育,待细胞长到 80%-90% 时传代,用于以后实验所需。

[0134] (2) WST-1 法测定 CA-4 碳酸酯类衍生物对不同肿瘤细胞的体外抑制作用

[0135] 将肿瘤细胞以合适浓度接种于 96 孔培养板中,每孔 100 μL,培养六小时后加不同浓度的药,使最终体系为 200 μL,每个浓度设 5 个复孔。细胞在 37℃、5%CO₂ 细胞培养箱中孵育 72h 后,每孔加入 WST-1 溶液 10 μL,37℃恒温箱放置 2h 避光,用酶标仪于 450nm 和 630nm 双波长下测定各孔的 OD 值,计算细胞抑制率。

[0136] 细胞抑制率 % = (对照组 OD 值 - 用药组 OD 值) / 对照组 OD 值 × 100% 用 Bliss 法求出 IC₅₀。

[0137] (3)实验结果

[0138] CA-4 碳酸酯类衍生物作用于肿瘤细胞 72h 后,测定 OD 值,计算 IC₅₀ 值。结果参见表 1。结果表明,这类化合物都具有显著的抗肿瘤活性,大部分化合物的抗肿瘤活性与 CA-4

接近,其中活性最好的化合物是化合物 6-2,该化合物表现出比 CA-4 更强的肿瘤细胞抑制作用,其 IC_{50} 值在 0.0013-0.0025 μ M 之间。

[0139] 表 1CA-4 碳酸酯类衍生物 72 小时对肿瘤细胞的体外抑制作用

化合物	IC_{50} (nM)	
	MCF-7	K562
CA-4	10.49	5.75
6-1	8.00	7.68
6-2	1.32	<2.50
6-3	8.38	14.78
[0140] 6-4	7.59	14.88
6-5	10.04	14.90
6-6	11.29	8.76
6-7	10.39	9.42
6-8	10.85	9.65
6-9	66.09	80.84
6-10	12.46	12.28
6-11	7.09	8.85

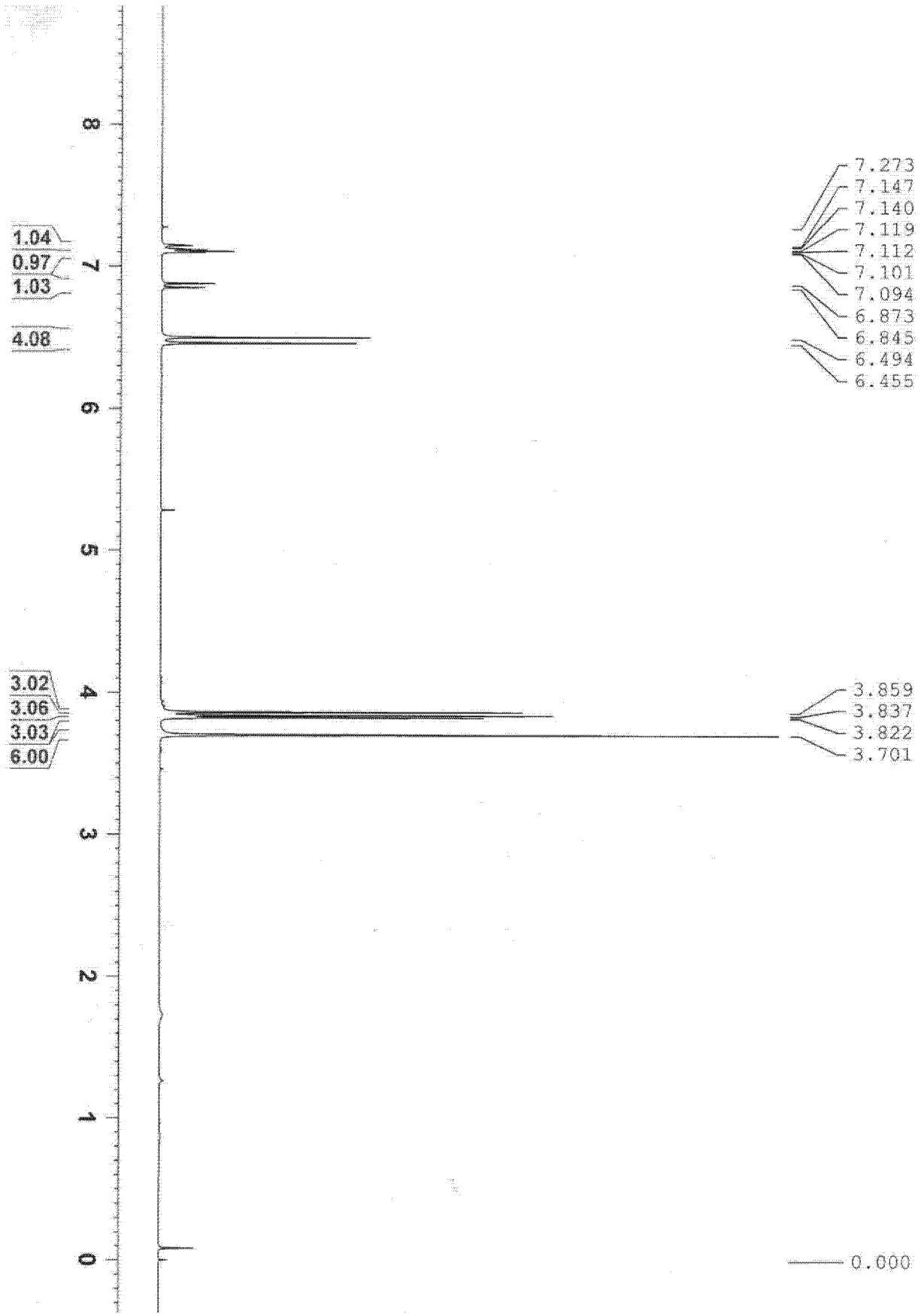


图 1