(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103687859 B
(45)授权公告日 2016.08.17

(21)申请号 201280027457.0
(22)申请日 2012.08.20
(66)本国优先权数据
PCT/CN2011/078586 2011.08.18 CN
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2013.12.05
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CN2012/080349 2012.08.20
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2013/023620 ZH 2013.02.21
(73)专利权人 杭州本生药业有限公司
地址 310051 浙江省杭州市滨江区江陵路88号6幢4层
(72)发明人 荣风光 徐荣臻 谢福文 赖洪喜
(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
代理人 陈文平
(51)Int.Cl.
C07D 491/02(2006.01)
A61K 31/55(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)
A61P 35/04(2006.01)
(56)对比文件
CN 1300289 A,2001.06.20,
CN 1660848 A,2005.08.31,
CN 1474821 A,2004.02.11,
审查员 吴永英

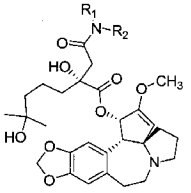
权利要求书6页 说明书27页

(54)发明名称

高三尖杉酯碱的胺化衍生物、及其制备方法和应用

(57)摘要

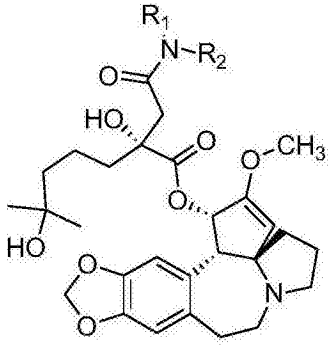
本发明属于天然药物及药物化学领域，具体涉及通式I的新型高三尖杉酯碱的胺化衍生物或其药学上可接受的盐，制备这些化合物的方法、包含该化合物的药物组合物及其在制备抗肿瘤药物中的用途。



(I)

CN 103687859 B

1.通式(I)的高三尖杉酯碱的胺化衍生物或其药学上可接受的盐，



(I)

其中R_1为氢和R_2独立地选自杂芳基、杂芳基-C_1-C_4烷基，其中所述杂芳基是噻唑基、呋喃基或噻吩基，

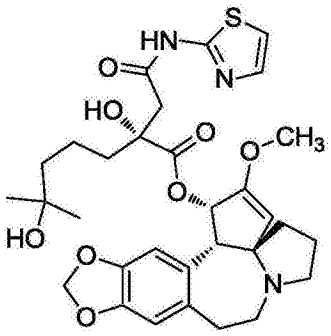
或者R_1和R_2与它们所连接的氮原子一起形成含氮杂环、芳基-含氮杂环或杂芳基-含氮杂环，其中所述含氮杂环是哌嗪基、吗啉基、吡咯烷基、硫代吗啉基、吡咯啉基或哌啶基，所述芳基是苯基，所述杂芳基是吡啶基，

所述基团每个任选地被一个或多个选自下组的取代基所取代：C_1-C_4烷基、卤素、C_1-C_6烷基氨基、氰基、羟基、羟基C_1-C_6烷基。

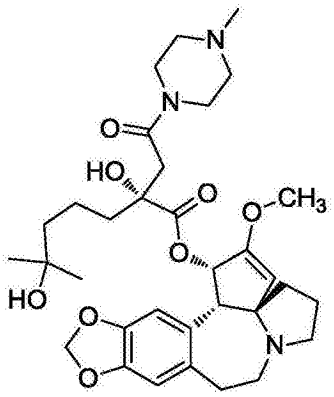
2.根据权利要求1的高三尖杉酯碱衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述取代基选自甲基、乙基、异丙基、羟甲基、羟乙基、羟基、氰基、氟或氯。

3.根据权利要求1的高三尖杉酯碱衍生物或其药学上可接受的盐，其中R_1为氢和R_2独立地选自呋喃甲基或甲基呋喃甲基，或者R_1和R_2与它们所连接的氮原子一起形成吡咯烷基、哌啶基、二甲氨基哌啶基、4-苯基哌嗪-1-基或4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-基。

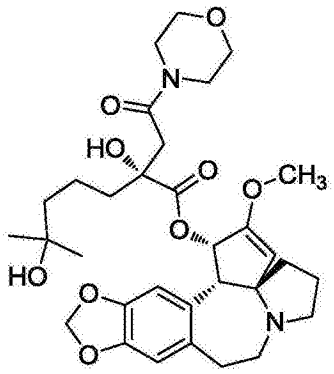
4.根据权利要求1的高三尖杉酯碱衍生物或其药学上可接受的盐，其为选自下组的化合物：



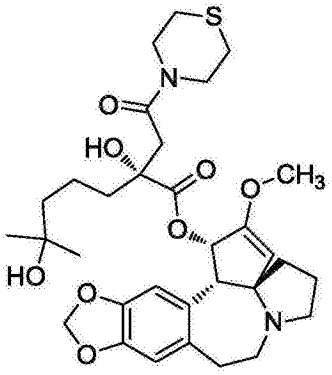
BS-HH-008



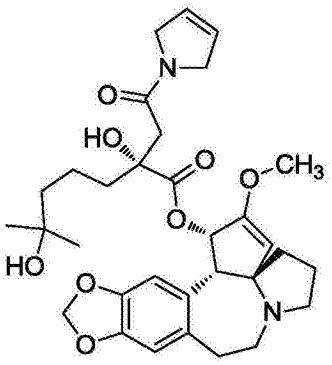
BS-HH-009



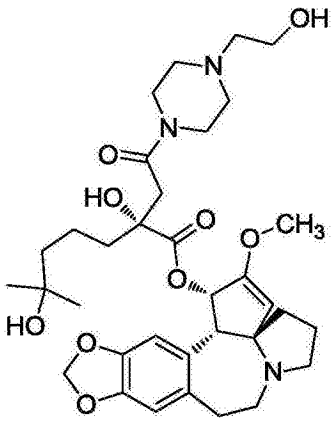
BS-HH-011



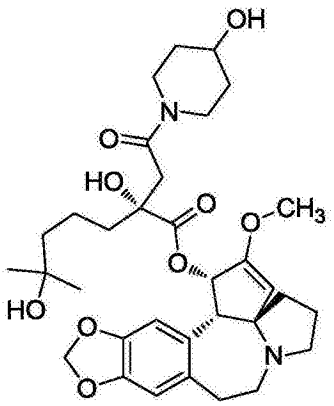
BS-HH-014



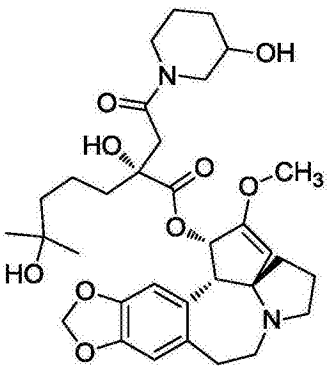
BS-HH-018



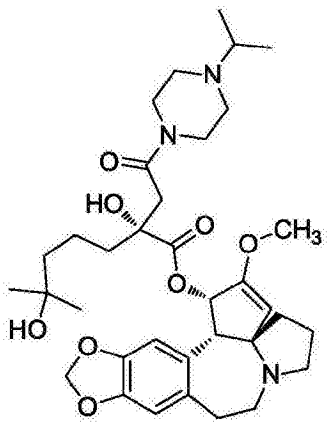
BS-HH-020



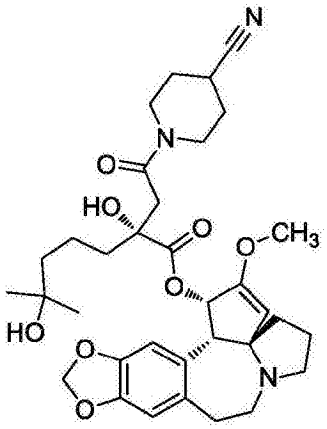
BS-HH-021



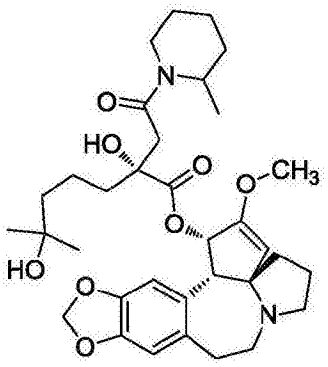
BS-HH-025



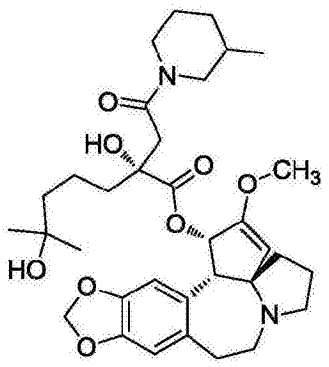
BS-HH-034



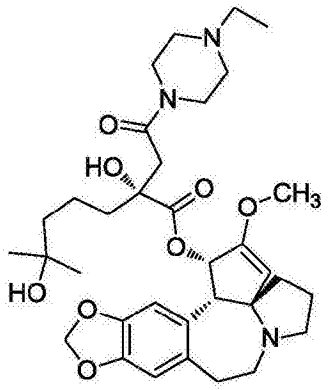
BS-HH-035



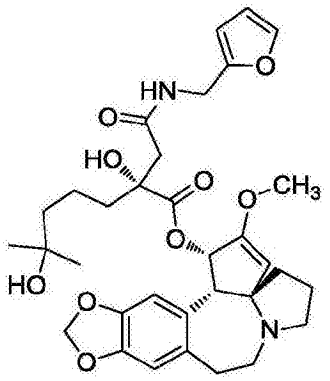
BS-HH-037



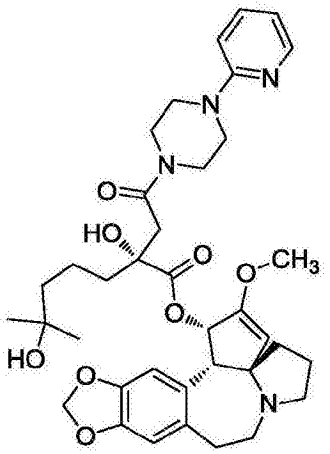
BS-HH-038



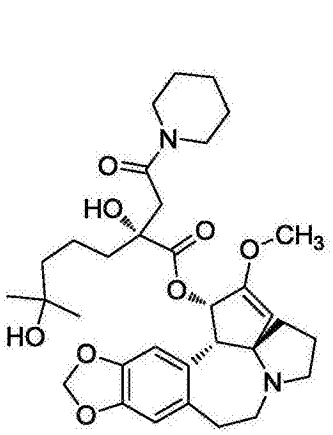
BS-HH-041



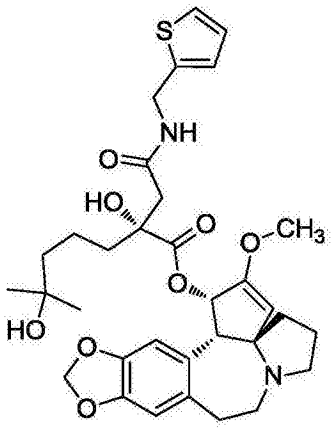
BS-HH-043



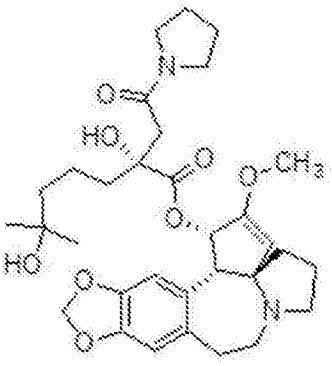
BS-HH-044



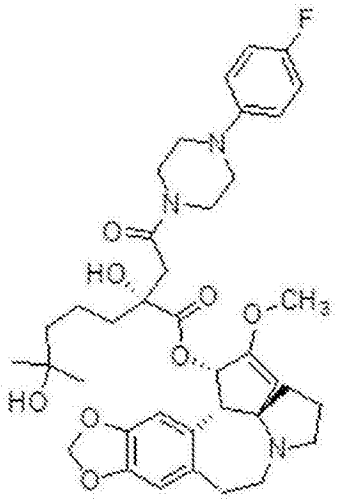
BS-HH-051



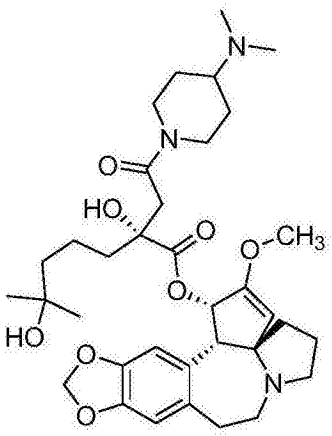
BS-HH-055



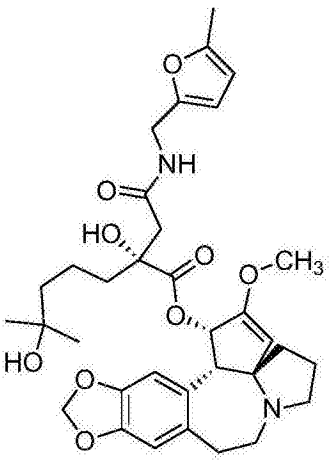
BS-HH-012



BS-HH-046

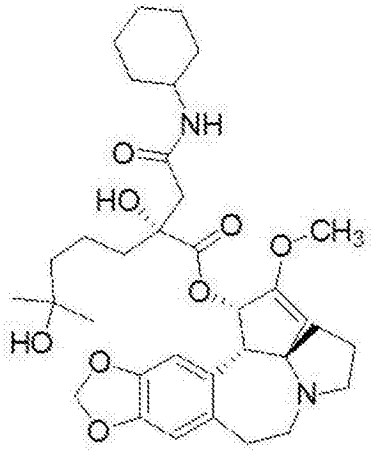


BS-HH-050



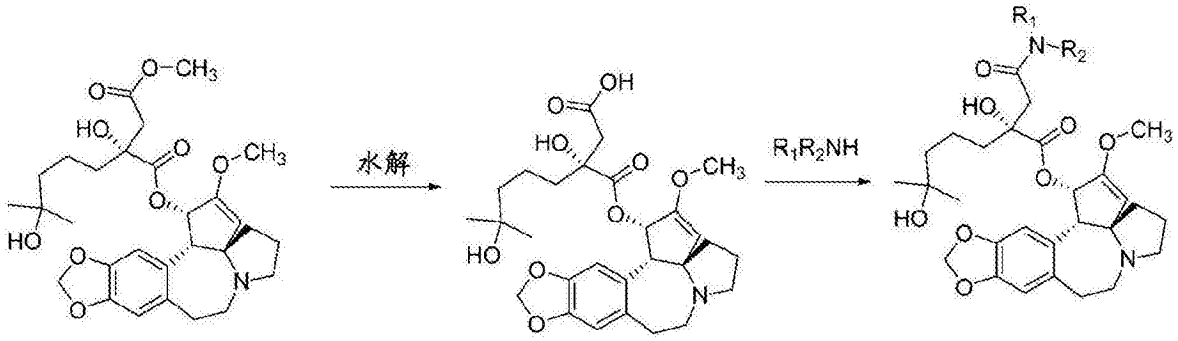
BS-HH-054

5.高三尖杉酯碱衍生物或其药学上可接受的盐,其为由下式表示的化合物:



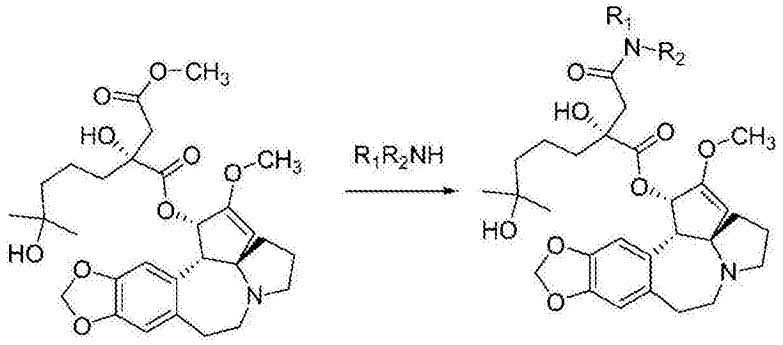
BS-HH-042

6.一种制备式(I)化合物的方法



HHT HHT 酸 (I)

包括将高三尖杉酯碱在碱或碱性试剂存在下，温和水解生成高三尖杉酯碱的酸中间体，再由高三尖杉酯碱的酸中间体与相应的有机胺R_1R_2NH在有缩合剂和碱的存在下，缩合胺化而成高三尖杉酯碱的胺化或酰胺化衍生物，



HHT (I)

或者由高三尖杉酯碱与相应的有机胺R_1R_2NH在有缩合剂或者碱性试剂存在下，一步缩合胺化而成高三尖杉酯碱的胺化或酰胺化衍生物，

各式中R_1和R_2与权利要求1-5中任一项所述高三尖杉酯碱衍生物中对应位置取代基的定义相同。

7.一种药物组合物，其中包含权利要求1-5中任一项的高三尖杉酯碱胺化衍生物或其

药学上可接受的盐和药学上可以接受的赋形剂。

8.权利要求1-5中的任一项的高三尖杉酯碱胺化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，其中所述肿瘤选自白血病、多发性骨髓瘤、喉癌、肺癌、食道癌、前列腺癌、鼻咽癌、卵巢癌、结肠癌、胃癌、骨肉瘤、恶性脑胶质瘤、胰腺癌、肝癌、乳腺癌和宫颈癌。

高三尖杉酯碱的胺化衍生物、及其制备方法和应用

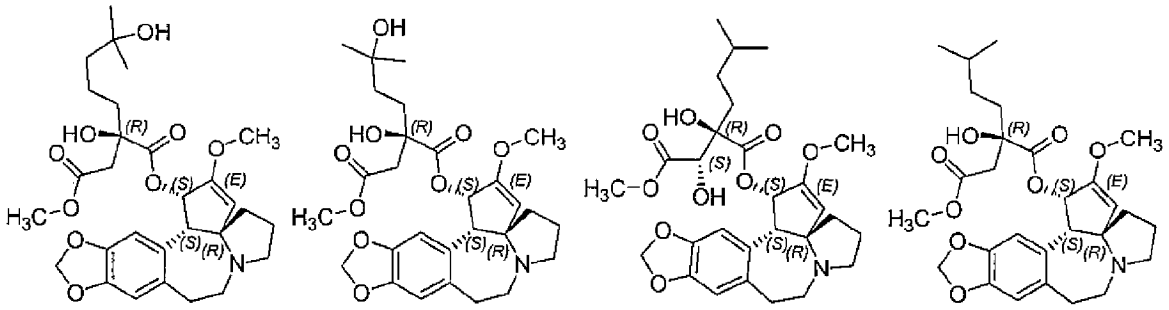
技术领域

[0001] 本发明属于天然药物及药物化学领域并涉及新型高三尖杉酯碱衍生物，特别是高三尖杉酯碱的胺化衍生物，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

[0002] 高三尖杉酯碱(Homoharringtonine，HHT)又称为氧-3-[(2R)-2,6-二羟基-2-(2′-甲氧基-2′-氧代乙基)-6-甲基庚酰基]粗榧碱(O-3-[(2R)-2,6-dihydroxy-2-(2'-methoxy-2'-oxoethyl)-6-methylheptanoyl]cephalotaxine)是从中国中草药三尖杉科植物三尖杉(cephatotaxus fortuneif)或其同属植物中，提取分离得到的生物碱。三尖杉科三尖杉属植物共9种，其中8种产于中国。此属植物中含有多种生物碱，其中三尖杉酯碱(harringtonine)、高三尖杉酯碱(homoharringtonine)、异三尖杉酯碱(isoharringtonine)及脱氧三尖杉酯碱(deoxyharringtonine)被提取分离、鉴定，并得到了广泛的研究(钟三保等，三尖杉酯类生物碱的半合成及结构和抗肿瘤活性的关系，药学学报，1994,29(1),33-39；王定志等，三尖杉属植物中生物碱的研究，药学学报，1992,03,178-184)。此外非酯碱的三尖杉碱(即粗榧碱cephalotacine)也作为主要成分被分离出来。

[0003]



[0004] 临床研究证明HHT应用于急性髓系细胞白血病的诱导缓解及缓解后治疗，骨髓增生异常综合征(MDS)、慢性粒细胞性白血病及真性红细胞增多症及恶性淋巴瘤等，尤其是应用于治疗急性非淋巴细胞白血病(章志学等，HAG方案治疗中高危骨髓增生异常综合征及急性髓性白血病的临床研究，井冈山大学学报，2010,31(6),108-110；邓建群等，高三尖杉酯碱对白血病原癌基因bcl-1，c-myc，抑癌基因p15的影响，临床合理用药杂志，2010,3(7),15-16；陈丽娟等，阿糖胞苷，高三尖杉酯碱诱导急性非淋巴细胞凋亡的临床应用，江苏医药，1999,25(4),257-258；张辉等，LD-HA方案治疗急性髓性白血病27例临床分析，苏州医学院学报，1997,17(4),689-690；丁素心等，LD-HA方案治疗低增生性白血病26例临床分析，苏州医学院学报，1997,17(1),89-90；薛艳萍等，HAD方案治疗成人急性非淋巴细胞白血病的临床观察，中华血液学杂志，1995,16(2),59-61)。

[0005] HHT可促进细胞分化及凋亡(王昀等，高三尖杉酯碱诱导K562和CML细胞凋亡及分

化的实验研究，上海医学，2001，24(3)，166-168；卢大用等，高三尖杉酯碱对白血病细胞分化和肿瘤转移的影响，上海大学学报，1999，5(2)，175-177)。

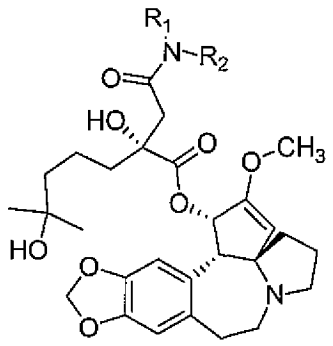
[0006] 从对同步化KB(人类口腔表皮样癌)细胞的研究显示，HHT具有细胞周期特异性，其对G1和G2期细胞杀伤作用最强，而对S期细胞作用较小(金伟等，高三尖杉酯碱对HL-60细胞QCY7703细胞的作用研究，中医药学报，2001，29(3)，44-45；罗晨美等，高三尖杉酯碱和血栓通对人翼状胬肉成纤维细胞周期性变化的影响，中国中医眼科杂志，1999，9(2)，67-70)。

[0007] HHT的药理学作用主要抑制真核细胞的蛋白质合成，抑制氨酰基-tRNA对核糖的结合及其核糖体与肽链的形成，因此影响多聚体形成的早期阶段，并使多聚核糖体解聚，干扰蛋白质核糖体功能，对细胞内DNA的合成也有抑制作用(蔡真等，凋亡相关基因Survivin，Bcl-2和bax表达在高三尖杉酯碱诱导骨髓增生异常综合征MUTZ-1细胞凋亡作用，中华实用肿瘤杂志，2003，18(3)，188-191；蔡真等，surviving mRNA表达水平与高三尖杉酯碱诱导恶性血液病细胞凋亡的相关性研究，浙江大学学报，2006，35(2)，204-208；王恒等，高三尖杉酯碱通过抑制P210-bcr/abl诱导K562细胞凋亡，中国试验血液学杂志，2000，8(4)，287-289；陈春燕等，高三尖杉酯碱启动白血病细胞凋亡的比较蛋白质组学研究，中华血液学杂志，2003，24(12)，624-628；李玉峰等，高三尖杉酯碱对慢性粒细胞白血病患者骨髓CD34+细胞端粒酶活性的影响，白血病·淋巴瘤，2004，13(1)，42-43；李玉峰等，高三尖杉酯碱对慢性粒细胞白血病患者骨髓CD34~+CD7~+细胞的影响，中华血液学杂志，2007，28(10)，706-707；李玉峰等，高三尖杉酯碱对慢性粒细胞白血病患者骨髓T细胞亚群和Th细胞亚群的影响，白血病·淋巴瘤，2006，15(1)，37-39；李玉峰等，高三尖杉酯碱对慢性粒细胞白血病患者骨髓及K562细胞端粒酶活性的影响，中华血液学杂志，2003，24(6)，329-329；孟小莉，高三尖杉酯碱诱导HL60细胞端粒酶活性的变化，郑州大学学报，2004，39(3)，440-442；谢万灼等，端粒酶在高三尖杉酯碱诱导HL-60细胞凋亡中的作用，中华医学遗传学杂志，2002，19(2)，169-171)。

[0008] 另一方面胺化或酰胺化的小分子在药物的研发和应用中得到广泛的应用，但是尚未见到胺化或酰胺化的高三尖杉酯碱衍生物的合成和应用的报道

发明内容

[0009] 本发明的目的之一是提供特征为通式(I)的新型高三尖杉酯碱的胺化或酰胺化衍生物或其药学上可接受的加成物，复合物或者盐：

[0010] 

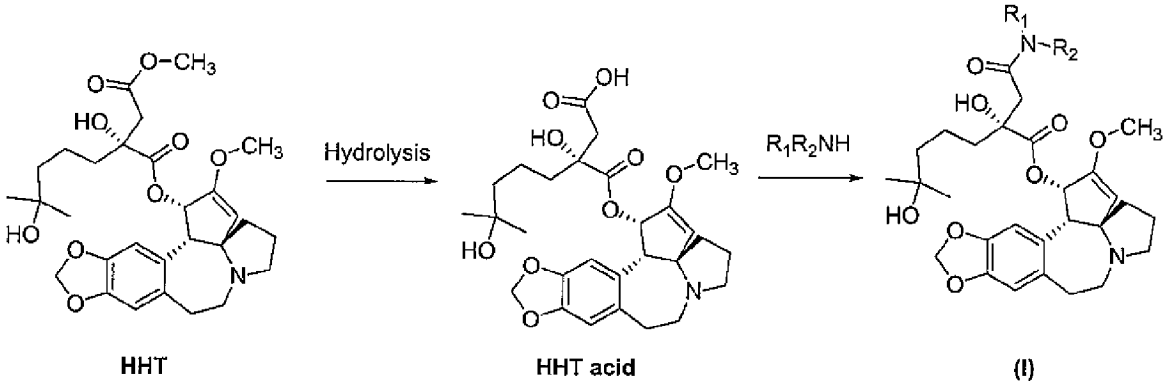
(I)

[0011] 其中R_1和R_2选自H、取代或无取代的C_1-G_{18}烷基、取代或无取代的C_2-C_{18}烯烃基或炔

烃基，取代或无取代的C_3-C_7环烷基或环烯烃基，取代或无取代的芳烃基，取代或无取代的杂环基或芳香杂环基。取代基选自卤素，胺基，C_1-C_6取代胺基，硝基，氰基，羟基，C_1-C_6烷氧基，巯基，C_1-C_6烷硫基。R_1和R_2可以相同，也可以不同，也可以成环合为一体。

[0012] 本发明的目的之二是提供制备本发明通式(I)的高三尖杉酯碱的胺化或酰胺化衍生物的方法：

[0013]



[0014] 本发明的高三尖杉酯碱的胺化或酰胺化衍生物(I)可按上式所示由两步反应制取。先将高三尖杉酯碱在碱或碱性试剂存在下，温和水解生成高三尖杉酯碱的酸中间体；再由高三尖杉酯碱的酸中间体与相应的有机胺在有缩合剂和碱的存在下，缩合胺化而成高三尖杉酯碱的胺化或酰胺化衍生物。也可以由高三尖杉酯碱与相应的有机胺在有缩合剂或者碱性试剂存在下，一步缩合胺化而成高三尖杉酯碱的胺化或酰胺化衍生物。式(I)中R_1和R_2与上文在通式(I)中的定义相同。

[0015] 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。

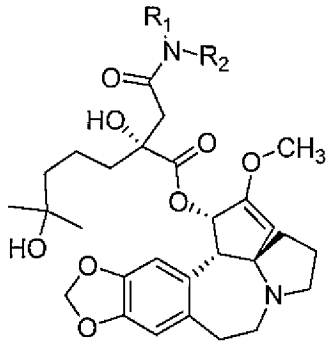
[0016] 本发明的目的之四是提供本发明化合物或包含该化合物的药物组合物在制备药物、特别是抗肿瘤药物中的用途。相应地，本发明提供一种治疗肿瘤患者的方法，包括给予需要治疗的患者治疗有效量的至少一种本发明的化合物。所述肿瘤特别选自白血病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、肝癌、胃癌、乳腺癌、胆管细胞癌、胰腺癌、肺癌、大肠癌、骨肉瘤、黑色素瘤、人宫颈癌、神经胶质瘤、鼻咽癌、喉癌、食管癌、中耳肿瘤、前列腺癌等。

[0017] 本发明还涉及用于治疗肿瘤的本发明的化合物。

具体实施方式

[0018] 本发明特别涉及如下内容。

[0019] 1.通式(I)的新型高三尖杉酯碱的胺化或酰胺化衍生物或其药学上可接受的加成物、复合物或者盐，

[0020] 

(I)

[0021] 其中R_1和R_2独立地选自H、C_1-C_{18}烷基、C_2-C_{18}烯烃基、C_2-C_{18}炔烃基、C_3-C_7环烷基或环烯烃基、芳基、杂环基、杂芳基、芳基-C_1-C_4烷基、杂芳基-C_1-C_4烷基、杂环基-C_1-C_4烷基，或者R_1和R_2与它们所连接的氮原子一起形成含氮杂环、芳基-含氮杂环或杂芳基-含氮杂环，所述基团每个任选地被一个或多个选自下组的取代基所取代：C_1-C_4烷基、卤素、氨基、C_1-C_6烷基氨基、硝基、氰基、羟基、羟基C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷氧基、巯基和C_1-C_6烷硫基。

[0022] 2.根据上述第1项的高三尖杉酯碱的胺化衍生物或其药学上可接受的盐，其中R_1和R_2独立地选自H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯烃基、C_2-C_6炔烃基、C_3-C_7环烷基或环烯烃基、芳基、杂环基、杂芳基、芳基-C_1-C_4烷基、杂芳基-C_1-C_4烷基、杂环基-C_1-C_4烷基，或者R_1和R_2与它们所连接的氮原子一起形成含氮杂环、芳基-含氮杂环或杂芳基-含氮杂环，所述基团每个任选地被一个或多个选自下组的取代基所取代：C_1-C_4烷基、卤素、氨基、C_1-C_6烷基氨基、硝基、氰基、羟基、羟基C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷氧基、巯基和C_1-C_6烷硫基。

[0023] 3.根据上述第1项的高三尖杉酯碱胺化衍生物或其药学上可接受的盐，其中R_1和R_2独立地选自H、C_1-C_6烷基、C_3-C_7环烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_4烷基，或者R_1和R_2与它们所连接的氮原子一起形成含氮杂环、芳基-含氮杂环或杂芳基-含氮杂环，所述基团每个任选地被一个或多个选自下组的取代基所取代：C_1-C_4烷基、卤素、氨基、C_1-C_6烷基氨基、硝基、氰基、羟基、羟基C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷氧基、巯基和C_1-C_6烷硫基。

[0024] 4.根据上述第1-3任一项的高三尖杉酯碱胺化衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述芳基是苯基或萘基。

[0025] 5.根据上述第1-4任一项的高三尖杉酯碱胺化衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述杂芳基是呋喃基、噻吩基、吡咯基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、吡唑基或吡啶基；优选呋喃基、噻吩基或噻唑基。

[0026] 6.根据上述第1-5任一项的高三尖杉酯碱胺化衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述杂环基或含氮杂环是哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、哌啶基、吡咯烷基、吡咯啉基、噁唑烷基、异噁唑烷基、噻唑烷基、吡唑烷基。

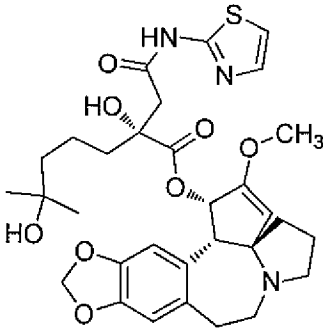
[0027] 7.根据上述第1-6任一项的高三尖杉酯碱衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述C_3-C_7环烷基是环丙基、环丁基、环戊基或环己基。

[0028] 8.根据上述第1-7任一项的高三尖杉酯碱衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述取代基选自卤素、氨基、C_1-C_6烷基氨基、硝基、氰基、羟基C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷基；优选甲基、乙基、异丙基、甲氧基、乙氧基、羟甲基、羟乙基、羟基、硝基、氰基、氟或氯。

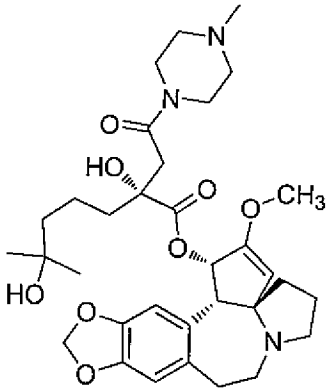
[0029] 9.根据上述第1-8任一项的高三尖杉酯碱衍生物或其药学上可接受的盐，其中R_1和R_2独立地选自H、C_3-C_7环烷基如环已基、杂芳基-C_1-C_4烷基如呋喃甲基或甲基呋喃甲基，或者R_1和R_2与它们所连接的氮原子一起形成含氮杂环如吡咯烷基、哌啶基或二甲氨基哌啶基或芳基-含氮杂环如4-苯基哌嗪-1-基或4-(4-氟苯基)-哌嗪-1-基。

[0030] 本发明的部分高三尖杉酯碱的胺化或酰胺化衍生物如下所示。这些实施例举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。

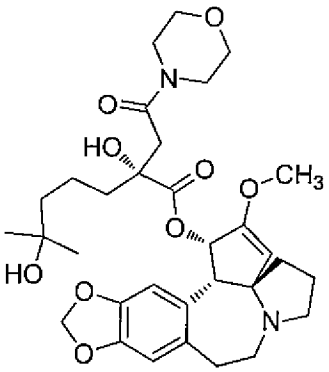
[0031]



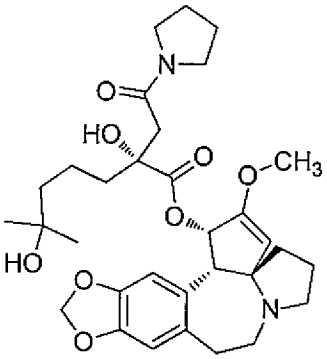
BS-HH-008



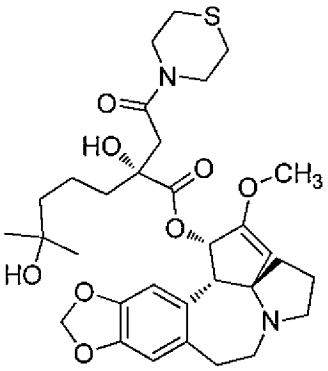
BS-HH-009



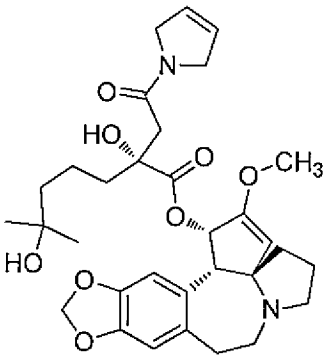
BS-HH-011



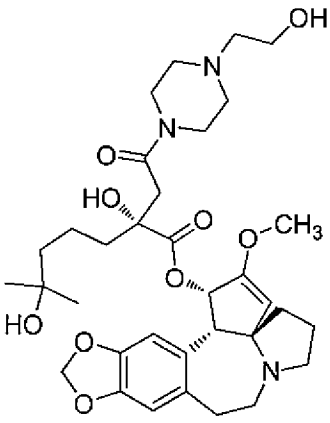
BS-HH-012



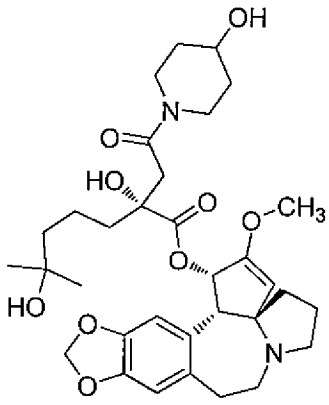
BS-HH-014



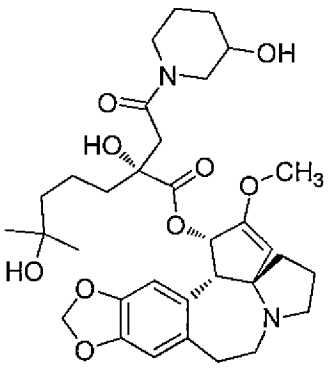
BS-HH-018



BS-HH-020

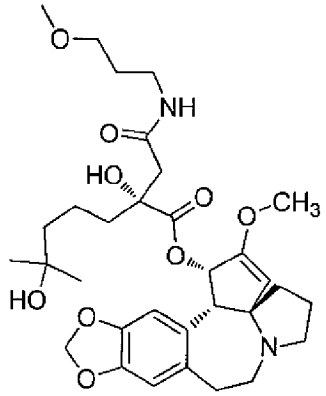


BS-HH-021

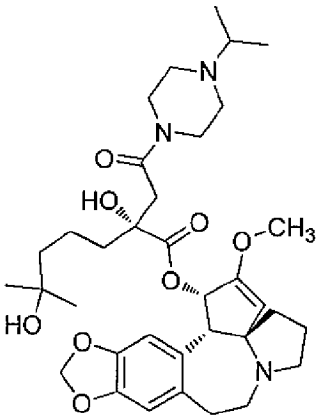


BS-HH-025

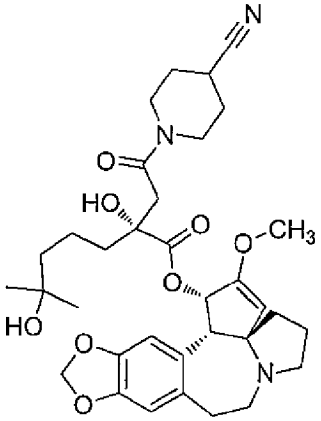
[0032]



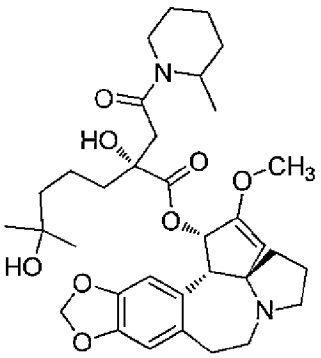
BS-HH-028



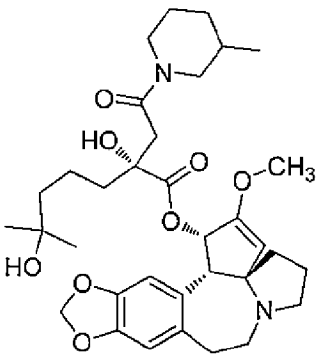
BS-HH-034



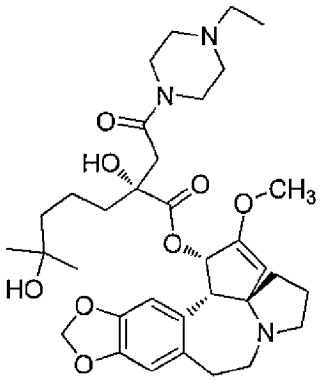
BS-HH-035



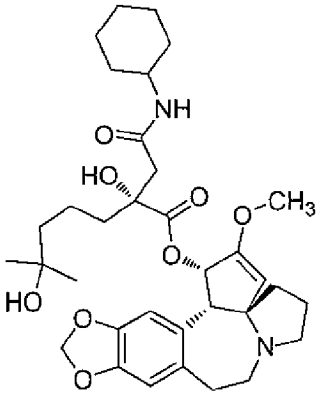
BS-HH-037



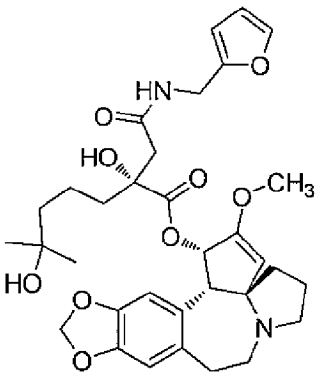
BS-HH-038



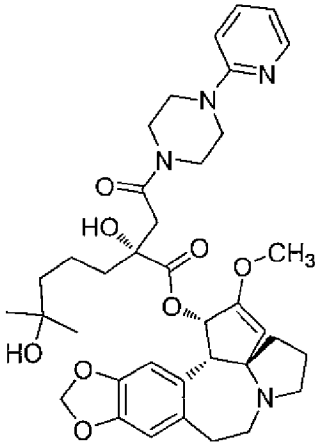
BS-HH-041



BS-HH-042

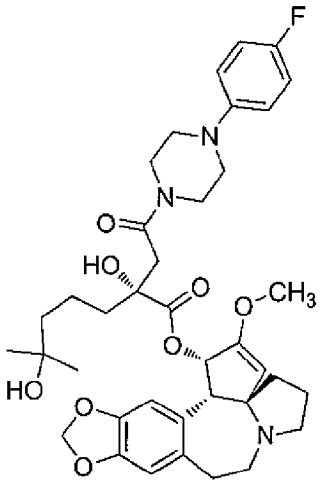


BS-HH-043

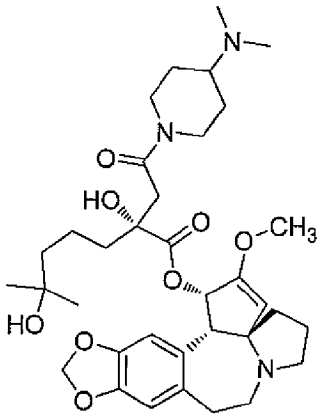


BS-HH-044

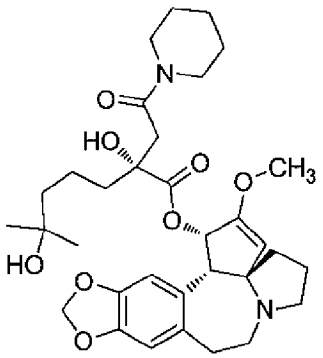
[0033]



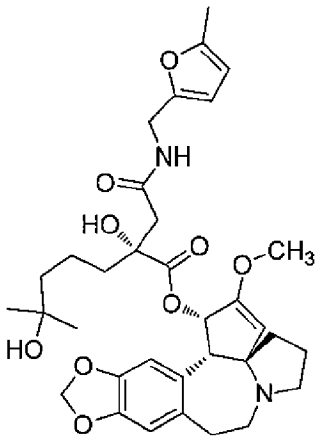
BS-HH-046



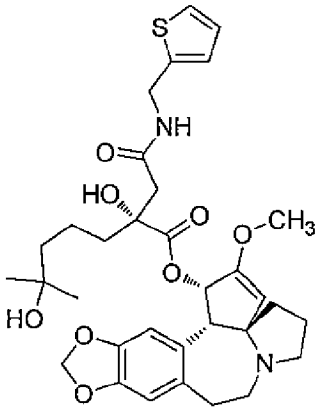
BS-HH-050



BS-HH-051



BS-HH-054



BS-HH-055

[0034] 上述化合物的部分数据列于下表：

[0035]

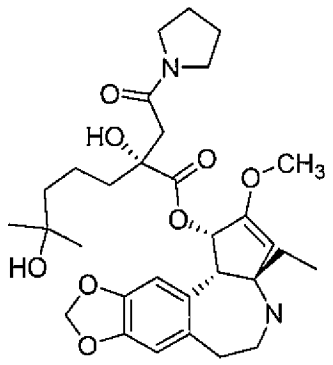
化合物编号	分子式	分子量	外观	状态	两步反应总收率（%）
BS-HH-008	$C_{31}H_{39}N_3O_8S$	613.7	白色	粉末	11
BS-HH-009	$C_{33}H_{47}N_3O_8$	613.7	浅黄色	黏状物	24
BS-HH-011	$C_{32}H_{44}N_2O_9$	600.7	白色	固体	37
BS-HH-012	$C_{32}H_{44}N_2O_8$	584.7	白色	固体	41

[0036]

BS-HH-014	$C_{32}H_{44}N_2O_8S$	616.8	白色	固体	44
BS-HH-018	$C_{32}H_{42}N_2O_8$	582.7	白色	固体	43
BS-HH-020	$C_{34}H_{49}N_3O_9$	643.8	白色	固体	34
BS-HH-021	$C_{33}H_{46}N_2O_9$	614.7	白色	固体	42
BS-HH-025	$C_{33}H_{46}N_2O_9$	614.7	白色	固体	39
BS-HH-028	$C_{32}H_{46}N_2O_9$	602.7	浅黄色	粉末	11
BS-HH-034	$C_{35}H_{51}N_3O_8$	641.8	白色	固体	38
BS-HH-035	$C_{34}H_{45}N_3O_8$	623.7	白色	固体	41
BS-HH-037	$C_{34}H_{48}N_2O_8$	612.8	黄褐色	黏状物	27
BS-HH-038	$C_{33}H_{46}N_2O_8$	612.8	浅黄色	黏状物	38
BS-HH-041	$C_{34}H_{49}N_3O_8$	627.8	浅黄色	黏状物	33
BS-HH-042	$C_{34}H_{48}N_2O_8$	612.8	浅黄色	黏状物	32
BS-HH-043	$C_{33}H_{42}N_2O_9$	610.7	白色	油状物	6
BS-HH-044	$C_{37}H_{48}N_4O_8$	676.8	浅黄色	黏状物	37
BS-HH-046	$C_{38}H_{48}FN_3O_8$	693.8	浅黄色	固体	42
BS-HH-050	$C_{35}H_{51}N_3O_8$	641.8	黄色	黏状物	29
BS-HH-051	$C_{33}H_{46}N_2O_8$	598.7	黄色	黏状物	34
BS-HH-054	$C_{34}H_{44}N_2O_9$	624.7	浅黄色	粉末	25
BS-HH-055	$C_{33}H_{42}N_2O_8S$	626.8	浅黄色	油状物	9

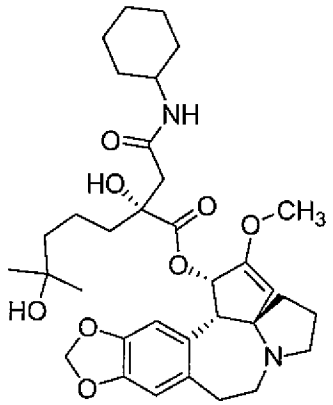
[0037] 在另一种实施方式中，本发明特别优选如下的通式(I)化合物：

[0038]



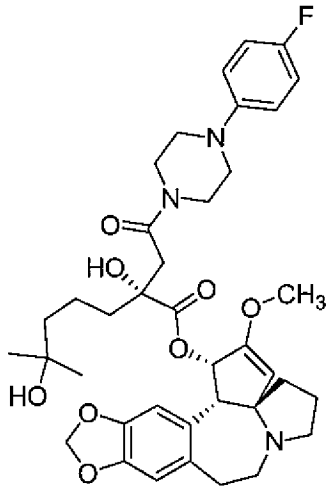
BS-HH-012

[0039] 氧-3-[(2R)-2,6-二羟基-2-(2′-吡咯基-2′-氧代乙基)-6-甲基庚酰基]粗榧碱.

[0040] 

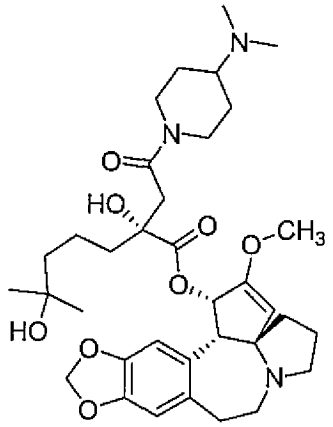
BS-HH-042

[0041] 氧-3-[(2R)-2,6-二羟基-2-(2′-环已烷胺基-2′-氧代乙基)-6-甲基庚酰基]粗榧碱.

[0042] 

BS-HH-046

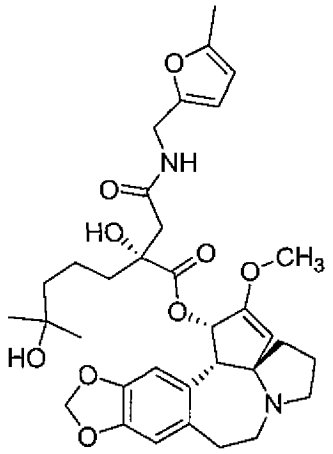
[0043] 氧-3-[(2R)-2,6-二羟基-2-(2′-(4-(4-氟苯基)哌嗪基)-2′-氧代乙基)-6-甲基庚酰基]粗榧碱.

[0044] 

BS-HH-050

[0045] 氧-3-[(2R)-2,6-二羟基-2-(2′-(4-N,N,-二甲基胺哌啶基)-2′-氧代乙基)-6-甲

基庚酰基]粗榧碱.

[0046] 

BS-HH-054

[0047] 氧-3-[(2R)-2,6-二羟基-2-(2′-(5-甲基)呋喃-2-甲胺基-2′-氧代乙基)-6-甲基庚酰基]粗榧碱.

[0048] 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。

[0049] 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C_1-C_{18}烷基、C_1-C_6烷基、C_1-C_4烷基、C_1-C_3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、正己基和正十八烷基等。

[0050] 术语“烯烃基”是指含有指定碳原子数的直链或支链的含有至少一个碳-碳双键的烃基,例如C_2-C_{18}烯烃基、C_2-C_{10}烯烃基、C_2-C_8烯烃基、C_2-C_7烯烃基、C_2-C_6烯烃基、C_2-C_4烯烃基和C_2-C_3烯烃基。烯烃基的例子包括但不限于乙烯基、烯丙基、和十八碳烯基。

[0051] 术语“炔烃基”是指含有指定碳原子数的直链或支链的含有至少一个碳-碳三键的烃基,例如C_2-C_{18}炔烃基、C_2-C_{10}炔烃基、C_2-C_8炔烃基、C_2-C_7炔烃基、C_2-C_6炔烃基、C_2-C_4炔烃基和C_2-C_3炔烃基。炔烃基的例子包括但不限于乙炔基、炔丙基、和十八碳炔基。

[0052] 术语“C_3-C_7环烷基或环烯烃基”是指饱和或不饱和的3-7元单环烃基,例如C_3-C_7环烷基可以为环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环丙烯基和环己烯基。

[0053] 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。

[0054] 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)作为环原子的芳香环基团。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。

[0055] “杂环基”含有1-4个杂原子(例如1、2、3或4个杂原子)作为环原子的非芳香环基团。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,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,或者不饱和但非芳香的。杂环基的例子有氮杂

环丁基、吡咯烷基、四氢呋喃基、二氢呋喃基、哌嗪基、哌啶基、四氢吡喃基、四氢噻吩基等。

[0056] 术语“卤素”是指氟、氯、溴或碘。

[0057] 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。

[0058] 术语“烷氧基”包括烷氧基和环烷基氧基。

[0059] 术语“烷硫基”烷硫基和环烷基硫基。

[0060] 术语“式(I)化合物的药学上可以接受的加合物和复合物”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。

[0061] 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。

[0062] 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。

[0063] 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。

[0064] 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。

[0065] 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1Burger'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。

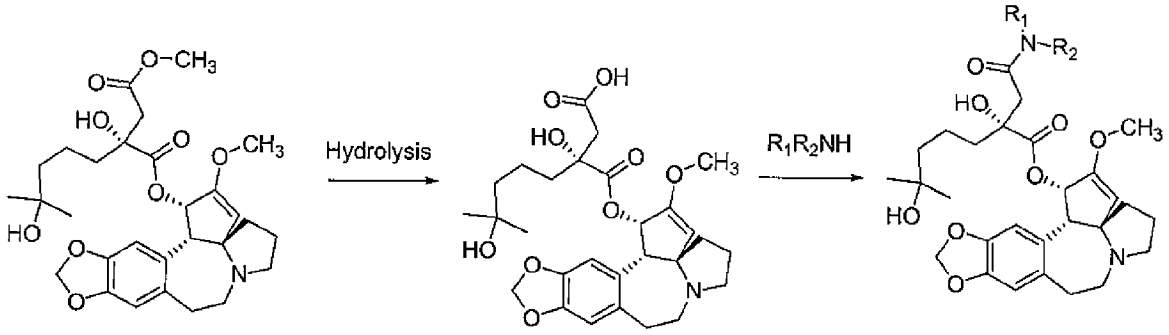
[0066] 本发明化合物中高三尖杉酯碱衍生物的四个手性中心具有式(I)结构式所显示的立体化学结构。本文使用的立体化学的定义和约定一般遵循MCGRAW-HILL DICTIONARY OF CHEMICAL TERMS(S.P.Parker,Ed.,McGraw-Hill Book Company,New York,1984);ELIEL,E.和WILEN,S.,STEREOCHEMISTRY OF ORGANIC COMPOUNDS(John Wiley&Sons,Inc.,New

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。

[0067] 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。

[0068] 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:

[0069]



[0070] 式(I)的高三尖杉酯碱的胺化衍生物可由天然提取分离的高三尖杉酯碱(HHT)先经水解,再和相应的有机胺缩合反应制取。式(I)中R_1和R_2与上文在式(I)中的定义相同。

[0071] 上述的水解反应一般在有碱或有碱性试剂存在下进行。这里碱可以是但不限于无机碱。例如:氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化锂。

[0072] 上述的水解反应一般在溶剂中进行。使用的溶剂包括但不限于极性溶剂。例如甲醇、水、或甲醇与水的混合溶剂等。

[0073] 上述的水解反应的反应温度一般为0℃至40℃。反应温度随所用的碱或其浓度的不同而变化。

[0074] 水解反应的原料是高三尖杉酯碱(HHT)。该原料是由天然产物提取分离而得到,可以在市场上购买获得。胺化或酰胺化反应的有机胺全部可以在市场上购买获得。

[0075] 高三尖杉酯碱的水解产物,酸中间体,与相应的有机胺在有缩合剂和碱的存在下,缩合胺化而成式(I)的高三尖杉酯碱的胺化或酰胺化衍生物。

[0076] 胺化或酰胺化反应一般在有缩合剂存在下进行。这里缩合剂可以是但不限于有机缩合剂。例如:2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N′,N′-四甲基脲六氟磷酸酯(HATU),苯并三氮唑-N,N,N′,N′-四甲基脲六氟硼酸盐(HBTU),苯并三氮唑-1-基氧基三(二甲基氨基)磷鎓六氟磷酸盐(BOP),苯并三氮唑-N,N,N′,N′-四甲基脲六氟硼酸盐(TBTU)。

[0077] 胺化或酰胺化反应一般在有碱存在下进行。这里碱可以是但不限于有机碱。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)。

[0078] 胺化或酰胺化反应一般在溶剂中进行,也可在无溶剂存在下进行。使用的溶剂包括但不限于有机极性溶剂。例如:二氯甲烷(DCM),四氢呋喃(THF),N,N-二甲基甲酰胺(DMF),二甲亚砜(DMSO)等。

[0079] 胺化或酰胺化反应的一般操作可以是但不局限于:向二氯甲烷溶剂中,投入合适比例的反应物原料,碱和缩合剂。在常温下搅拌24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.

[0080] 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。

[0081] 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、苯甲氧甲基和烷基巯甲基。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。

[0082] 本发明还提供了包含本发明式I化合物的药物组合物。

[0083] 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。

[0084] 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 ed.(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。

[0085] 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。

[0086] 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)。

[0087] 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、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。

[0088] 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。

[0089] 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，任选的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。

[0090] 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。

[0091] 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。

[0092] 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。

[0093] 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。

[0094] 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。

[0095] 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。

[0096] 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

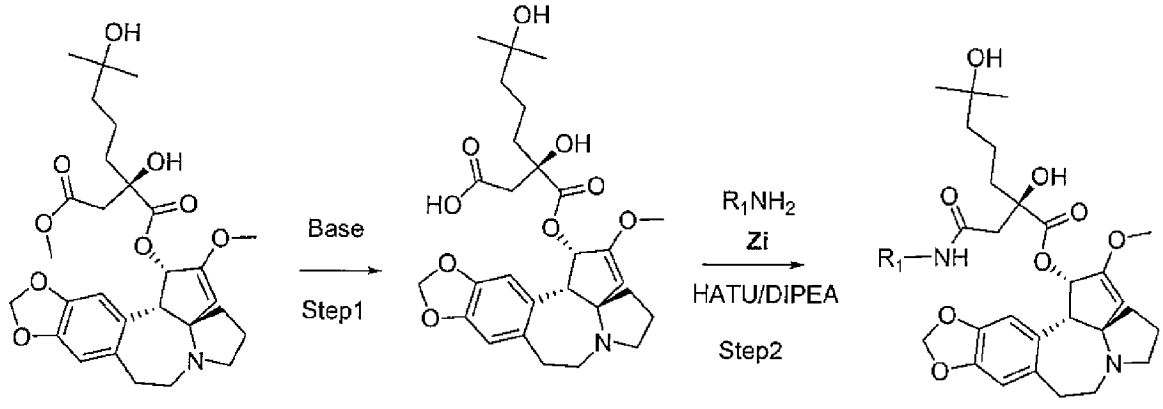
治疗有效量的至少一种本发明的化合物。本发明的单酰化和双酰化的高三尖杉酯碱衍生物或其药学上可接受的盐例如可用于治疗白血病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、肝癌、胃癌、乳腺癌、胆管细胞癌、胰腺癌、肺癌、大肠癌、骨肉瘤、黑色素瘤、人宫颈癌、神经胶质瘤、鼻咽癌、喉癌、食管癌、中耳肿瘤、前列腺癌等肿瘤。

[0097] 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。

[0098] 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。

[0099] 胺化反应的通式与方法：

[0100]



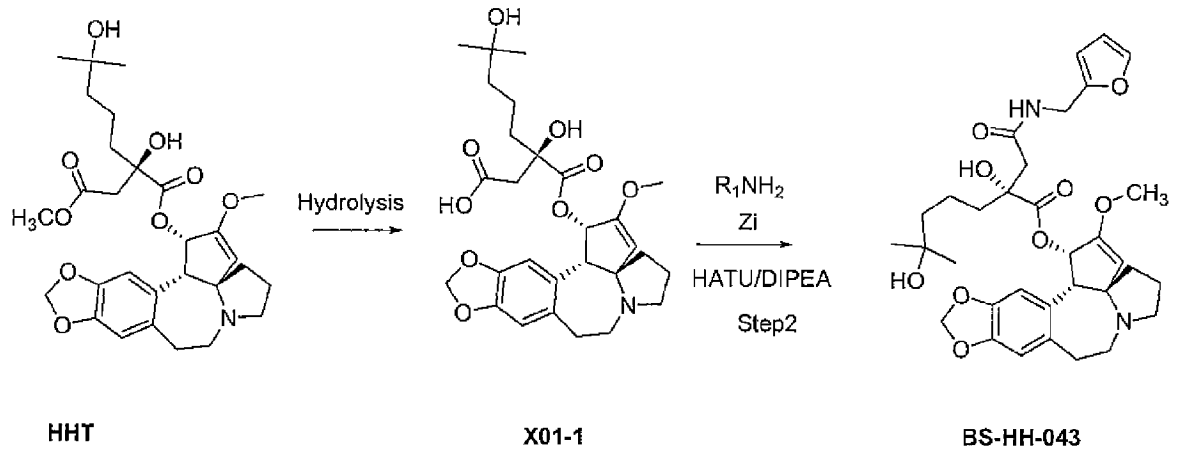
HHT X01-1 X01Zi

[0101] 将高三尖杉酯碱HHT(2.5g,4.58mmol)溶于甲醇(18mL)，加入1M碱溶液(4.6mL)，碱可以是氢氧化钠，也可以是氢氧化锂，常温搅拌7小时，用1N酸溶液调节反应液的pH至5-7，酸可以是盐酸也可以是其他无机酸，浓缩除去有机溶剂，剩下的水溶液用甲苯处理若干次，浓缩干燥得到白色固体高三尖杉酯碱酸(2.5g)，纯度为88％。另外5％的原料可回收。回收后可进行二次水解。

[0102] 将高三尖杉酯碱酸X01-1(1.0eq)和胺(1.0-1.5eq)溶于无水N,N-二甲基甲酰胺(20-50eq)，加入N,N-二异丙基乙胺(2.0eq)和2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N′,N′-四甲基脲六氟磷酸酯(1.5eq)，常温搅拌2小时后，往反应液中加入水，再用乙酸乙酯萃取，有机相用饱和食盐水洗涤，干燥，浓缩，粗品用高效液相色谱法纯化，得到2'-氨化高三尖杉酯碱。

[0103] 实施例1：化合物BS-HH-043的合成

[0104]



HHT **X01-1** **BS-HH-043**

[0105] 式中,X01-1:高三尖杉酯碱酸;Zi:呋喃-2-乙基胺;HATU:2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N′,N′-四甲基脲六氟磷酸酯;DIPEA:N,N-二异丙基乙胺。

[0106] 按上面所述的通用方法将高三尖杉酯碱进行水解。而后,再将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1(106mg,0.2mmol)和2-胺甲基呋喃(24mg,0.24mmol)溶于无水N,N-二甲基甲酰胺(2mL),加入N,N-二异丙基乙胺(52mg,0.4mmol)和2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N′,N′-四甲基脲六氟磷酸酯(114mg,0.3mmol),在30℃条件下搅拌3小时,在5-10℃条件下加入水(6mL),用乙酸乙酯萃取,用饱和食盐水洗涤有机相,干燥,浓缩,粗品用硅胶柱分离(二氯甲烷:甲醇=10:1)纯化得到无色油状物产品BS-HH-043(9mg,6%)。

[0107] LC-MS:保留时间:1.18min(60.6%),m/z:611.4$[M+H]^+$.

[0108] ^1H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ7.34(s,1H),6.67(s,1H),6.58(s,1H),6.31(d,1H),6.20(d,1H),5.94-5.87(m,3H),4.34(m,2H),3.81(s,1H),3.71(s,3H),2.02(m,3H),1.17(s,6H).

[0109] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与2-胺基噻唑反应得到BS-HH-008:LC-MS:保留时间:1.09min(90.35%),m/z:614.5$[M+H]^+$.

[0110] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与1-甲基哌嗪反应得到BS-HH-009:LC-MS:保留时间:1.08min(94.6%),m/z:308.2$[1/2M+H]^+$.

[0111] ^1H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.60(s,1H),6.59(s,1H),5.95(m,2H),5.80-5.8(s,1H),5.02(s,1H),4.49(s,1H),3.78(d,J=12.0Hz,1H),3.68(s,3H),3.13-3.39(m,4H),2.95(m,1H),2.39(m,2H),2.28(s,3H),2.26-2.16(m,4H),1.69(m,6H),1.18(d,6H).

[0112] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与吗啉反应得到BS-HH-011:LC-MS:保留时间:1.05min(90.03%),m/z:601.3$[M+H]^+$.

[0113] ^1H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.60(d,2H),5.97(m,2H),5.81(s,1H),5.02(s,1H),4.31(s,1H),3.79(d,1H),3.68(s,3H),3.57(m,2H),2.59(m,2H),2.38(m,1H),2.00(s,3H),1.05(s,6H).

[0114] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体

酸X01-1与吡咯烷反应得到BS-HH-012:LC-MS:保留时间:1.14min(95.15%),m/z:585.4[M+H]+.

[0115] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.60(d,2H),5.89(m,2H),5.79(s,1H),5.01(s,1H),4.76(s,1H),3.78(d,1H),3.68(s,3H),3.36(m,2H),3.27-3.01(m,4H),2.59(m,2H),2.38(m,1H),1.18(s,6H).

[0116] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与硫代吗啉反应得到BS-HH-014:LC-MS:保留时间:1.17min(100%),m/z:617.4[M+H]+.

[0117] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.58(d,2H),6.00(m,2H),5.80(s,1H),5.02(s,1H),4.32(s,1H),3.75(d,J=9Hz,1H),3.68(s,3H),3.48(m,2H),2.95(m,1H),2.37(m,1H),2.23(d,1H),1.19(s,6H).

[0118] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与2,5-二氢吡咯反应得到BS-HH-018:LC-MS:保留时间:1.08min(100%),m/z:583.3[M+H]+.

[0119] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.60(s,1H),6.58(s,1H),6.02(d,J=9Hz,1H),5.85(m,2H),5.78(m,2H),5.01(s,1H),4.37(s,1H),3.78(d,1H),3.67(s,3H),2.56(m,2H),2.38(m,1H),2.24(d,1H),2.00(s,3H),1.19(s,6H).

[0120] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与2-(哌嗪-1-基)乙醇反应得到BS-HH-020:LC-MS:保留时间:0.91min(96.62%),m/z:644.5[M+H]+.

[0121] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.59(d,2H),5.93(m,2H),5.80(s,1H),5.02(s,1H),4.43(s,1H),3.79(d,1H),3.68(s,3H),3.61(m,2H),2.95(m,1H),2.61-2.54(m,5H),2.00(m,4H),1.32(m,6H),1.18(s,6H).

[0122] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与4-羟基哌啶反应得到BS-HH-021:LC-MS:保留时间:1.02min(98.13%),m/z:615.4[M+H]+.

[0123] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.60(s,1H),6.58(s,1H),5.99-5.90(m,2H),5.80(s,1H),5.01(s,1H),4,54(d,1H),3.78(d,1H),3.68(s,3H),2.61(m,2H),2.39(m,1H),2.26(m,2H),1.18(s,6H).

[0124] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与3-羟基哌啶反应得到BS-HH-025:LC-MS:保留时间:1.04min(97.26%),m/z:615.3[M+H]+.

[0125] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.61(d,2H),5.90(m,2H),5.81(s,1H),5.02(s,1H),4.60(s,1H),3.76(d,1H),3.68(s,3H),2.63-2.56(m,2H),2.36(m,1H),1.18(s,6H).

[0126] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与3-甲氧基丙胺反应得到BS-HH-028:LC-MS:保留时间:1.06min(69.32%),m/z:603.8[M+H]+.

[0127] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与1-异丙基哌嗪反应得到BS-HH-034:LC-MS:保留时间:0.95min(98.32%),m/z:

642.4[M+H]$^+$.

[0128] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.58(d,2H),5.95(m,2H),5.82(d,1H),5.01(s,1H),4.56(s,1H),3.79(d,1H),3.68(s,3H),2.72(m,1H),2.55(m,4H),2.36(m,3H),2.25(s,2H),2.00(s,3H),1.31(m,6H),1.18(s,6H),1.01(d,6H).

[0129] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与4-氰基哌啶反应得到BS-HH-035:LC-MS:保留时间:1.11min(99.31%),m/z:624.3[M+H]$^+$.

[0130] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.61(d,2H),5.9(m,2H),5.79(d,1H),5.01(s,1H),4.30(d,1H),3.67(s,3H),3.35(m,2H),2.59(m,2H),2.38(m,1H),2.24(m,1H),2.16(d,1H),1.66-1.87(m,4H),1.19(s,6H).

[0131] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与2-甲基哌啶反应得到BS-HH-037:LC-MS:保留时间:1.59min(98.91%),m/z:613.6[M+H]$^+$.

[0132] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.60(d,2H),5.88(m,2H),5.82(s,1H),5.02(s,1H),4.41(d,1H),3.80(d,1H),3.69(s,3H),2.59(m,2H),2.38(m,1H),1.18(s,6H).

[0133] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与3-甲基哌啶反应得到BS-HH-038:LC-MS:保留时间:1.57min(98.69%),m/z:613.6[M+H]$^+$.

[0134] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.59(d,2H),5.97-5.88(m,2H),5.81(m,1H),5.02(d,1H),4.64(m,1H),3.80(m,1H),3.69(s,3H),2.59(m,2H),2.28(m,2H),1.18(d,6H),0.92-0.84(m,3H).

[0135] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与1-乙基哌嗪反应得到BS-HH-041:LC-MS:保留时间:1.08min(100%),m/z:628.6[M+H]$^+$.

[0136] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.58(d,2H),5.94(m,2H),5.80(s,1H),5.01(s,1H),3.77(d,1H),3.68(s,3H),3.35-3.05(m,4H),1.75(m,4H),1.18(s,6H),1.07(t,3H).

[0137] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与2-胺甲基呋喃反应得到BS-HH-042:LC-MS:保留时间:1.57min(85.35%),m/z:613.6[M+H]$^+$.

[0138] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.66(d,2H),5.97-5.88(m,3H),4.91(s,1H),4.74(d,1H),3.78(s,3H),3.48(m,2H),3.19(m,2H),2.90(m,2H),1.88(m,4H),1.20-1.17(m,10H).

[0139] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与1-(吡啶-2-基)哌嗪反应得到BS-HH-044:LC-MS:保留时间:1.17min(100%),m/z:677.6[M+H]$^+$.^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ8.20(dd,J=4.8Hz,1.2Hz,1H),7.50(m,1H),6.68-6.63(m,2H),6.60(d,2H),5.96(d,1H),5.81(s,1H),5.74(s,1H),5.02(s,1H),4.39(s,1H),3.83-3.73(m,3H),3.68(s,3H),3.45-3.30(m,5H),2.63-2.56(m,2H),1.19(s,6H).

[0140] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与1-(4-氟苯基)哌嗪反应得到BS-HH-046:LC-MS:保留时间:1.61min(89.27%),m/z:694.6[M+H]$^+$.

[0141] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.98(m,2H),6.85(m,2H),6.61(d,2H),5.98(d,1H),5.88(d,1H),5.78(d,1H),5.02(s,1H),4.36(s,1H),3.79(d,1H),3.68(s,3H),3.44(m,3H),3.12(m,4H),2.93(m,2H),2.59(s,1H),1.19(s,6H).

[0142] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与4-(N,N-甲基胺基)哌啶反应得到BS-HH-050:LC-MS:保留时间:1.10min(90.31%),m/z:642.6$[M+H]^+$.

[0143] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.59(d,2H),5.98-5.86(m,2H),5.80(m,1H),5.02(m,1H),3.80(m,1H),3.69(s,3H),3.57(s,1H),2.59(m,3H),2.28(d,6H),1.71(m,8H),1.19(s,6H).

[0144] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与哌啶反应得到BS-HH-051:LC-MS:保留时间:1.48min(98.45%),m/z:599.5$[M+H]^+$.

[0145] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.59(d,2H),5.95-5.81(m,3H),5.01(s,1H),4.72(s,1H),3.78(d,1H),3.68(s,3H),3.25-2.90(m,6H),2.59(m,2H),2.40(m,1H),2.26(s,1H),1.69(m,6H),1.18(s,6H).

[0146] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与5-甲基-2-胺甲基呋喃反应得到BS-HH-054:LC-MS:保留时间:1.23min(63.39%),m/z:625.8$[M+H]^+$.

[0147] ^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ6.73(s,1H),6.62(s,1H),6.06-5.89(m,4H),4.30(s,1H),3.78(s,3H),2.26(s,3H),1.33(s,6H).

[0148] 按照实例1的操作方法,使用相同的偶合试剂,将高三尖杉酯碱水解得到的中间体酸X01-1与2-胺甲基噻吩反应得到BS-HH-055:LC-MS:保留时间:1.21min(83.64%),m/z:627.8$[M+H]^+$.

[0149] 实施例2:本发明的高三尖杉酯碱胺化衍生物抗白血病的活性测定

[0150] (1)实验材料:

[0151] 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。

[0152] 试剂:高三尖杉酯碱(HHT)标准品购自泰华天然生物制药有限公司(陕西),本发明高三尖杉酯碱胺化衍生物。

[0153] 主要仪器:Thermo Scientific 3111细胞培养箱,Bio-Rad iMark酶标仪

[0154] (2)实验方法

[0155] 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。加入不同浓度的高三尖杉酯碱胺化衍生物,混匀后,置于二氧化碳(5%CO_2)细胞培养箱37℃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IC_{50}值)。

[0156] (3)实验结果

[0157] 实验结果见表1。表1显示本发明的高三尖杉酯碱胺化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，其中本发明高三尖杉酯碱胺化衍生物BS-HH-012、BS-HH-042，BS-HH-050和BS-HH-054显示了较强的抗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)和H9(急性淋巴细胞白血病，ALL)活性.

[0158] 表1：高三尖杉酯碱胺化衍生物对白血病细胞生长抑制浓度测定(72小时，IC_{50}(μg/mL)值和IC_{90}(μg/mL)值)

[0159]

	K562/adr		Kasumi-1		NB4	
化合物	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}
HHT	0.035	0.98	0.005	0.024	0.006	0.012
BS-HH-008	>16	>16	5	>16	5.62	12.83
BS-HH-009	>16	>16	8.54	>16	2.97	11.2
BS-HH-011	>16	>16	8.28	>16	3.22	9.54
BS-HH-012	0.65	9.87	0.038	0.14	0.08	0.23
BS-HH-014	>16	>16	1.33	8.61	1.29	3.7
BS-HH-018	7.77	>16	0.47	2.32	0.38	1
BS-HH-020	>16	>16	>16	>16	7.46	15.79
BS-HH-021	>16	>16	14.58	>16	8	16
BS-HH-025	>16	>16	>16	>16	8.31	>16
BS-HH-028	>16	>16	2.75	13	2.59	7.52
BS-HH-034	4.53	16	0.31	1.77	0.48	2.3
BS-HH-035	14.1	>16	0.8	2.96	0.72	6.3
BS-HH-037	>16	>16	1.58	16	0.7	5.08

[0160]

BS-HH-038	>16	>16	2	12.02	0.32	4.24
BS-HH-041	>16	>16	2.79	14.99	1.85	16
BS-HH-042	3.2	16	0.048	0.21	0.06	0.13
BS-HH-043	>16	>16	11.06	>16	15	>16
BS-HH-044	5.18	16	0.38	2.25	0.25	0.64
BS-HH-046	14.5	>16	0.26	2.26	0.19	0.5
BS-HH-050	0.72	8.99	0.041	0.18	0.08	0.17
BS-HH-051	>16	>16	2	16	1.5	16
BS-HH-054	0.66	4.4	0.053	0.19	0.09	0.2
BS-HH-055	6.24	16	1.3	6.68	2.38	7.61

[0161] 表1(续)：

[0162]

	Jurkat		H9	
化合物	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}
HHT	0.007	16	0.02	0.046
BS-HH-008	4.69	16	13.43	>16
BS-HH-009	3	>16	8	>16
BS-HH-011	6.7	>16	>16	>16
BS-HH-012	0.058	16	0.27	3.49
BS-HH-014	2	>16	8.25	>16
BS-HH-018	0.88	16	2.69	>16
BS-HH-020	15.14	>16	>16	>16
BS-HH-021	13.4	>16	>16	>16
BS-HH-025	>16	>16	>16	>16
BS-HH-028	3.56	15.04	6.52	>16
BS-HH-034	0.46	16	0.6	2.7
BS-HH-035	0.87	>16	5.49	>16
BS-HH-037	0.41	>16	3.69	>16
BS-HH-038	1.47	16	7.37	>16
BS-HH-041	0.89	>16	3.2	>16
BS-HH-042	0.037	16	0.04	0.1
BS-HH-043	13	>16	>16	>16
BS-HH-044	0.48	16	1.41	16
BS-HH-046	0.32	15.21	0.5	7.84

[0163]

BS-HH-050	0.12	16	0.13	0.35
BS-HH-051	1.3	>16	7.26	>16
BS-HH-054	0.11	16	0.17	0.43
BS-HH-055	1.58	8	4	10.64

[0164] 实施例3:本发明高三尖杉酯碱胺化衍生物抗人多发性骨髓瘤和淋巴瘤细胞活性测定

[0165] (1)实验材料

[0166] 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。

[0167] 试剂:同实施例2

[0168] 主要仪器:Thermo Scientific 3111细胞培养箱,Bio-Rad iMark酶标仪。

[0169] (2)实验方法

[0170] 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。加入不同浓度的高三尖杉酯碱类化合物，混匀后，置于二氧化碳(5％CO_2)细胞培养箱37℃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IC_{50}值)。

[0171] (3)实验结果

[0172] 实验结果见表2。表2显示本发明的高三尖杉酯碱胺化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，其中本发明的高三尖杉酯碱胺化衍生物BS-HH-012，BS-HH-042，BS-HH-054显示了较强的抗RPMI8226(多发性骨髓瘤)效果。

[0173] 实施例4：本发明高三尖杉酯碱的胺化衍生物抗人实体瘤作用测定

[0174] (1)实验材料

[0175] 人实体瘤细胞株：Hep-2(人肝细胞肝癌，HCC)、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)、U87MG(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。

[0176] 试剂：同实施例2

[0177] 主要仪器：Thermo Scientific 3111细胞培养箱，Bio-Rad iMark酶标仪。

[0178] (2)实验方法

[0179] 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％CO_2)细胞培养箱37℃培养24小时，然后，加入不同浓度的高三尖杉酯碱类化合物，混匀后，继续置二氧化碳(5％CO_2)细胞培养箱37℃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％。

[0180] (3)实验结果见表2。

[0181] 表2显示本发明的高三尖杉酯碱的胺化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，其中本发明的高三尖杉酯碱的胺化衍生物BS-HH-012，BS-HH-042，BS-HH-046，BS-HH-050和BS-HH-054，显示了较强的抗人实体瘤A549(人肺癌)，PANC-1(胰腺癌)，Becap37(人乳腺癌细胞)，MG63(骨肉瘤)，抗Huh7(人肝癌细胞)，RKO(人结肠腺癌细胞)，Hela(人宫颈癌细胞)，CaES-17(食道癌细胞)，CNE(鼻因癌细胞)，Hep-2(喉癌)，PC-3(前列腺癌)，和SK-OV-3(卵巢癌细胞)的效果。

[0182] 表2：高三尖杉酯碱胺化衍生物对淋巴瘤和多发性骨髓瘤和人实体瘤细胞生长抑制浓度测定(72小时，IC_{50}(μg/mL)值和IC_{90}(μg/mL)值)。

[0183]

	RPMI8226		A549		PANC-1		Becap37	
化合物	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}
HHT	0.006	0.027	0.03	>16	0.035	>16	0.01	11.56
BS-HH-008	10.97	>16	16	>16	>16	>16	>16	>16
BS-HH-009	3.6	16	10.25	>16	16	>16	3.09	>16
BS-HH-011	6.71	>16	>16	>16	>16	>16	11.32	>16
BS-HH-012	0.057	0.36	0.45	>16	0.26	>16	0.26	16
BS-HH-014	2.43	16	9.79	>16	8	>16	6.89	>16
BS-HH-018	0.6	5.66	4.09	>16	2.89	>16	1.7	>16
BS-HH-020	16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
BS-HH-021	16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
BS-HH-025	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
BS-HH-028	4.92	>16	16	>16	16	>16	13.14	>16
BS-HH-034	0.47	3.72	1.74	>16	1.94	>16	0.81	>16
BS-HH-035	1.44	14.13	5.41	>16	5.02	>16	3.75	>16
BS-HH-037	1	9.86	1.96	>16	6.47	>16	1.5	>16
BS-HH-038	1.22	16	5.72	>16	8.83	>16	1.95	>16
BS-HH-041	1.96	13.36	8.11	>16	6.35	>16	0.9	>16
BS-HH-042	0.042	0.24	0.45	>16	0.13	>16	0.17	>16
BS-HH-043	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
BS-HH-044	0.48	3.36	1.76	>16	1.91	>16	0.71	>16
BS-HH-046	0.17	0.72	0.84	>16	0.45	>16	0.4	>16
BS-HH-050	0.1	0.38	0.7	>16	0.23	>16	0.26	16
BS-HH-051	1.7	16	6.96	>16	6.84	>16	1.99	>16
BS-HH-054	0.092	0.24	0.72	>16	0.15	>16	0.14	16
BS-HH-055	2.1	16	11.21	>16	8	>16	5.9	>16

[0184] 表2(续)

[0185]

	MG 63		Huh7		RKO		U87 MG	
化合物	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}
HHT	0.01	1.2	0.004	0.049	0.003	0.009	0.004	0.018
BS-HH-008	15.5	>16	11.22	>16	4.44	16		
BS-HH-009	1.72	>16	6.7	>16	1.46	5.72		
BS-HH-011	6.33	>16	16	>16	4	>16		
BS-HH-012	0.18	>16	0.2	>16	0.11	0.43	0.24	1.13

[0186]

BS-HH-014	6.24	>16	4	>16	1.25	5.36		
BS-HH-018	0.96	>16	2.5	>16	0.34	1.5		
BS-HH-020	14.14	>16	>16	>16	8.38	>16		
BS-HH-021	>16	>16	>16	>16	8.51	>16		
BS-HH-025	>16	>16	>16	>16	15.35	>16		
BS-HH-028	6.8	>16	5.93	>16				
BS-HH-034	0.32	16	1.05	>16	0.18	1.25	0.89	5.74
BS-HH-035	1.98	>16	4.46	>16				
BS-HH-037	1.44	16	16	>16				
BS-HH-038	3.71	>16	16	>16				
BS-HH-041	1.97	>16	16	>16				
BS-HH-042	0.12	16	0.044	>16	0.029	0.23	0.12	13.03
BS-HH-043	>16	>16	>16	>16				
BS-HH-044	0.8	>16	0.94	>16	0.16	2.37	0.64	16
BS-HH-046	0.23	>16	1.37	>16	0.054	0.93	0.25	>16
BS-HH-050	0.19	7.22	0.1	16	0.053	0.23	0.24	1.06
BS-HH-051	2.72	>16	>16	>16				
BS-HH-054	0.12	8.07	0.12	16	2.75	6.97	0.32	16
BS-HH-055	3.83	16	4.83	>16	2.75	6.97	6.54	>16

[0187] 表2(续)

[0188]

	Hela		CaES-17		CNE		Hep2	
化合物	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}
HHT	0.019	16	0.037	>16	0.038	>16	0.014	>16
BS-HH-012	0.35	>16	0.43	>16	0.13	>16	0.15	>16
BS-HH-034	1.97	>16	1.91	16	0.49	16	1.29	>16
BS-HH-042	0.45	>16	0.29	16	0.13	>16	0.97	>16
BS-HH-044	1.91	>16	1.63	16	0.76	>16	1.23	>16
BS-HH-046	1.56	>16	0.98	16	0.3	16	0.27	>16
BS-HH-050	0.46	>16	0.46	16	0.15	>16	0.31	>16
BS-HH-054	0.3	>16	1.37	>16	0.15	16	0.23	>16

[0189] 表2(续)

[0190]

	MGC 803		PC-3		SK-OV-3	
化合物	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}

[0191]

HHT	0.016	0.2	0.004	0.049	0.003	0.009
BS-HH-012	0.24	6.84	0.32	>16	0.41	>16
BS-HH-014	2.92	15.5				
BS-HH-018	0.94	4.96				
BS-HH-020	7.5	>16				
BS-HH-021	>16	>16				
BS-HH-025	>16	>16				
BS-HH-028	8.62	24.34				
BS-HH-034	0.81	11.81	0.91	>16	2.81	>16
BS-HH-035	1.79	9.2				
BS-HH-037	0.9	9.29				
BS-HH-041	1	11.84				
BS-HH-042	0.096	0.25	0.31	>16	0.21	>16
BS-HH-043	>16	>16				
BS-HH-044	0.74	>16	0.78	>16	3.97	>16
BS-HH-046	0.39	8.28	0.78	>16	1.89	>16
BS-HH-050	0.18	0.48	0.45	>16	0.57	>16
BS-HH-051	1.9	26.73				
BS-HH-054	0.15	6	0.46	>16	0.47	>16
BS-HH-055	6.06	18.97				