



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105601622 B

(45)授权公告日 2019.03.05

(21)申请号 201510997476.1

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2013.01.21

C07D 405/12(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

A61K 31/453(2006.01)

申请公布号 CN 105601622 A

A61P 35/00(2006.01)

(43)申请公布日 2016.05.25

A61P 35/02(2006.01)

(66)本国优先权数据

PCT/CN2012/000124 2012.01.21 CN

(56)对比文件

CN 102295649 A,2011.12.28,

(62)分案原申请数据

CN 102295649 A,2011.12.28,

201380004934.6 2013.01.21

CN 101139350 A,2008.03.12,

(73)专利权人 本生药业(上海)有限公司

徐星星 等.冬凌草甲素衍生物的合成及其

地址 201201 上海市浦东新区凯庆路131号  
102室

抗t( 8

21)白血病活性研究.《中国药物化学杂志》

.2011,第21卷(第1期),第1-5页.

(72)发明人 徐荣臻 荣风光 谢福文 赖洪喜

审查员 张雄辉

(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

代理人 陈文平

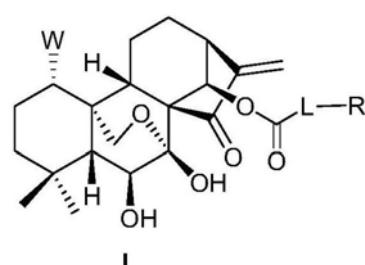
权利要求书3页 说明书52页

(54)发明名称

1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物、及其制备方法和应用

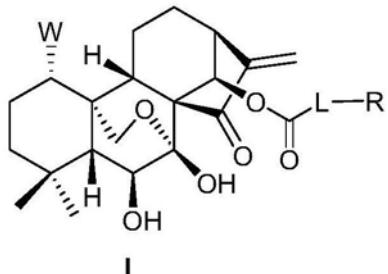
(57)摘要

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1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素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



。

1. 通式(I)的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐，



式中,W为氧代或- $O(CO)R'$ ；

L选自哌啶子基羰基或哌啶子基磺酰基；

$R'$ 为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；

R为苯基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；

其中,所述苯基任选地被选自下组的取代基取代:卤素、硝基、氰基。

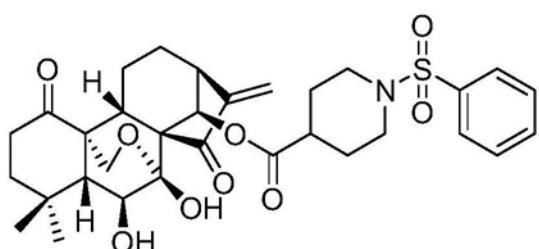
2. 根据权利要求1的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐,其中W为氧代或甲酰氨基。

3. 根据权利要求1的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐,其中所述取代基为氟、氯、溴、硝基、氰基。

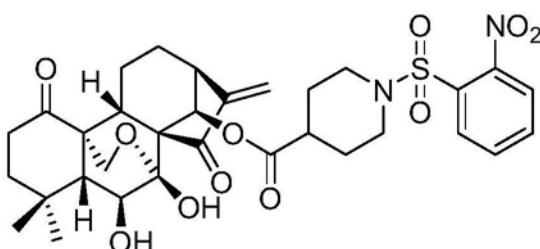
4. 根据权利要求1或2的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐,其中R为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。

5. 根据权利要求4的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐,其中R为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基。

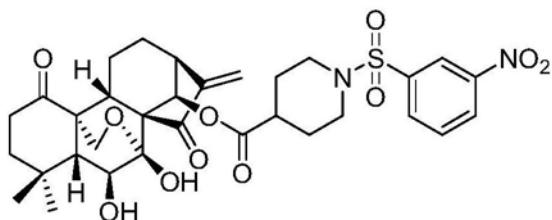
6. 根据权利要求1的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受盐,选自下述化合物:



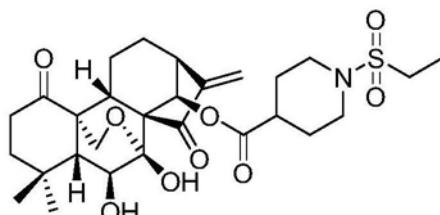
BS-OR-032



BS-OR-034



BS-OR-037

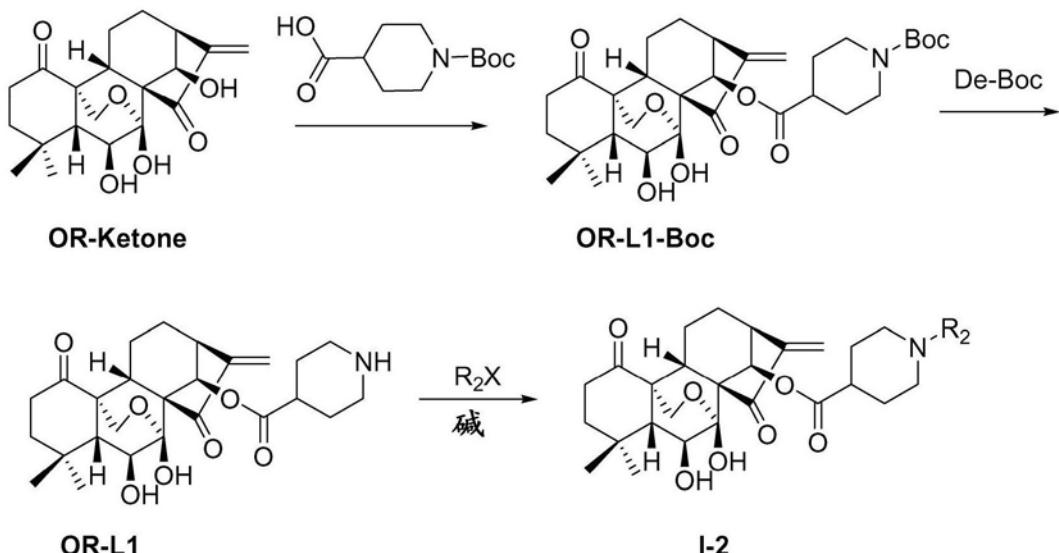


BS-OR-038

。

7. 制备权利要求1的式(I)化合物的方法,其中

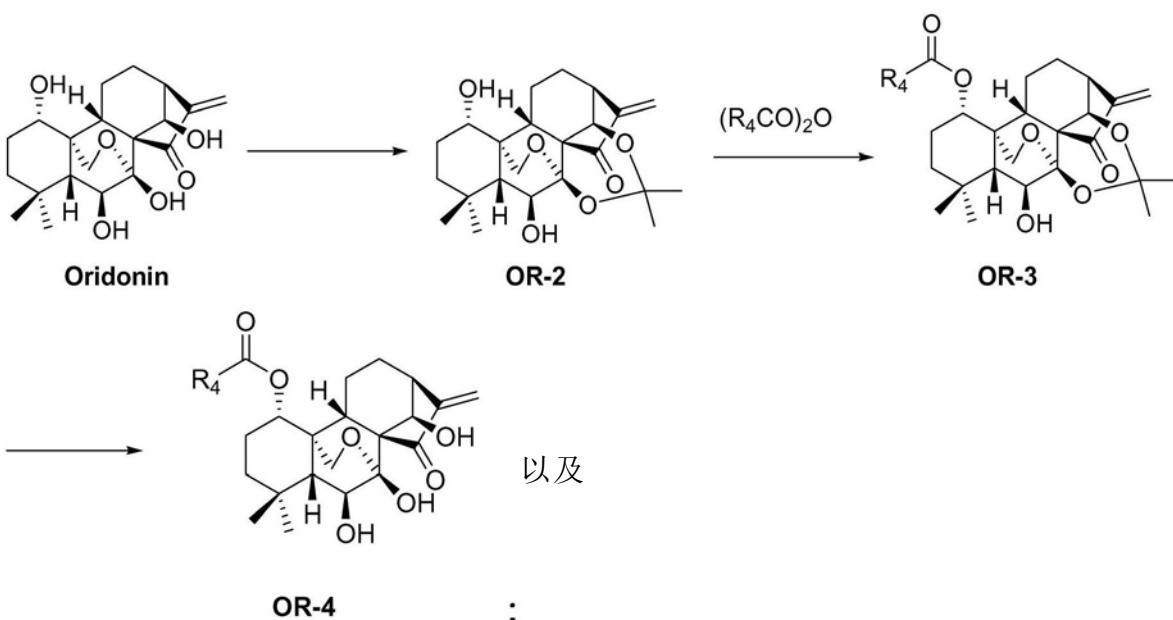
1) 对于W为氧代、L为哌啶子基羰基或哌啶子基磺酰基的式(I)化合物即式(I-2)化合物,其中R<sub>2</sub>为-C(0)R或-C(0)S(0)R<sub>2</sub>,所述R如权利要求1中所定义,该方法包括



1-氧代冬凌草甲素中间体(OR-Ketone)与N-叔丁氧碳基哌啶-4-羧酸,在有碱和缩合剂存在下,反应生成1-氧代-14-(N-叔丁氧碳基4-哌啶酰氨基)冬凌草甲素中间体(OR-L1-Boc),此中间体经酸处理,去除叔丁氧碳基保护基,得到胺(铵盐)中间体(OR-L1);此胺(铵盐)中间体在有碱存在下,与相应的有机酸、有机酸酐、有机酰氯、磺酰氯反应,生成式(I-2)的1-氧代-14-(哌啶酰氨基)冬凌草甲素衍生物;或

2) 对于W为-O(CO)R'、L为哌啶子基羰基或哌啶子基磺酰基的式(I)化合物,其中R'如权利要求1中所定义,该方法包括

i) 先将冬凌草甲素的7,14-位的羟基用缩醛保护生成OR-2;而后对1-位羟基酰化,得到中间体OR-3;OR-3经酸处理脱保护,得中间体OR-4,其中R<sub>4</sub>如权利要求1中对R'的定义,示意如下所示



i i) 按照上述1)中的方法,将OR-Ketone用OR-4替代,得到目标1-酰化-14-(哌啶酰氨基)冬凌草甲素衍生物。

8. 一种药物组合物,其中包含权利要求1-6中任一项的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐和任选的药学上可以接受的赋形剂。

9. 权利要求1-6中的任一项的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草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。

10. 根据权利要求9的用途,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。

## 1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物、及其制备方法和应用

[0001] 本申请是申请日为2013年1月21日、申请号为201380004934.6、发明名称为“1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物、及其制备方法和应用”的专利申请的分案申请。

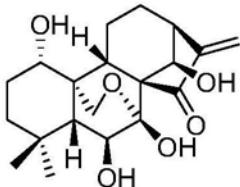
### 技术领域

[0002] 本发明属于天然药物及药物化学领域并涉及新型冬凌草甲素衍生物,特别是1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物,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。

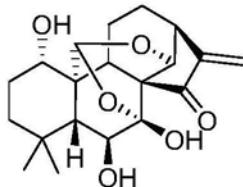
### 背景技术

[0003] 冬凌草甲素(Oridonin)是从唇形科(Labteas)香茶菜属(Rabdosia)植物碎米桠中分离出的一种贝壳烯二萜类天然有机化合物,是冬凌草的主要成分,具有清热解毒,活血化瘀,抗菌消炎,抗肿瘤等功效。(赵永星等.冬凌草甲素纳米粒制备及其体外抗肿瘤活性[J].中国医院药学杂志,2008,28(11):864-867;刘晨江等.冬凌草甲素的抗肿瘤作用[J].中国药学杂志,1998,33:577)。

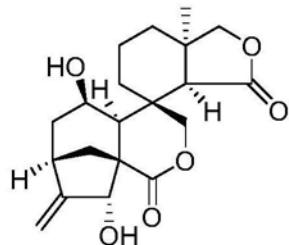
[0004] 科学家对冬凌草甲素及其相似物进行了大量的研究,包括分离、提纯、结构鉴定与修饰、体内与体外的生物活性研究,以期发现可用于临床的新的药物(刘珂等.冬凌草甲素衍生物及其制备方法[P].CN 101723951,2010;卢金健等.从中草药中分离得到的抗癌天然产物[J].中国中药杂志,2011,6:27-27;赵明等.HPLC-PDA/(-)ESI-MS单联方法鉴定香茶菜属植物中30种水溶性成分[J].Journal of Chromatography, B:Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences,2011,879(26):2783-2793;赵鹏等.UPLC方法测定香茶菜属植物中冬凌草甲素含量[J].中成药,2011,3(3):540-542;孙汉董等,香茶菜属植物二萜化合物,科学出版社,2001;徐进宜等.冬凌草甲素衍生物及其制备方法[P].CN 102002050,2008;徐进宜等.具有抗肿瘤活性的ent-6,7-开环贝壳杉烷型冬凌草甲素衍生物、其制备方法及用途[P].CN 101139351,2011;徐进宜等.具有抗肿瘤活性的冬凌草甲素及6,7-开环冬凌草甲素含氟衍生物、制备方法及用途[P].CN102295649,2011)。



冬凌草甲素

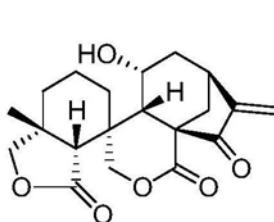


冬凌草乙素

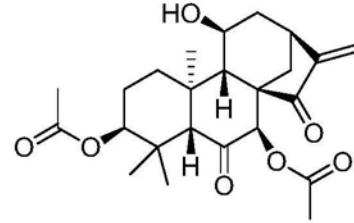


贵州冬凌草素

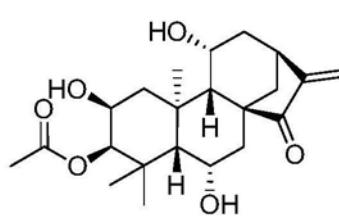
[0005]



卢氏冬凌草甲素



信阳冬凌草甲素



鲁山冬凌草丁素

[0006] 研究发现,冬凌草甲素具有细胞毒作用,其抗瘤谱很广,包括急性髓性白血病,慢性粒性白血病,子宫癌,乳房癌,淋巴癌,骨肉癌,胃癌,食管癌,肝癌,胆囊癌,鼻咽癌,肺癌,黑色素瘤,皮肤癌等(刘佳音等.冬凌草甲素的研究进展以及抗肿瘤活性[J].中国新药与临床杂志,2010,29(2):81-84)。

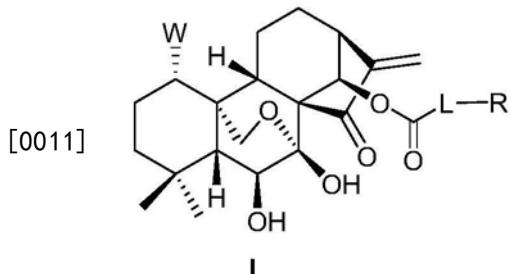
[0007] 冬凌草甲素通过控制线粒体凋亡路径引导肿瘤细胞的凋亡,主要控制以下转换途径p53,Ras/Raf/ERK,PI3K/Akt和NF-kB,达到阻断细胞周期和恶性增长的作用(李春阳等.冬凌草甲素:具有阻断细胞周期,引导细胞凋亡和自体吞噬的癌症治疗活性二萜[J].国际生物化学和细胞生物学杂志,2011,43(5):701-704;李晓杰等.冬凌草甲素通过控制信号转换路径调节线粒体凋亡[J].肿瘤研究与临床,2010,22(4):286-288)。

[0008] 由于冬凌草甲素的水溶性差和生物利用率低,限制了在临床上的应用。人们对冬凌草甲素进行结构改造,试图找到活性更好的化合物。日本Fujita小组对冬凌草甲素14位羟基进行了结构改造,发现只有长链脂肪酸在14位酰化后的衍生物活性显著高于冬凌草甲素本身的生物活性(Fujita,Eiichi.Biologic and physiological activity.II Antitumor activity of acylated oridonin[J],Chemic&Pharmaceutical Bulletin,1981,29(11):3208-3213)。

[0009] 本领域需要新的具有抗肿瘤活性、特别是具有更高抗肿瘤活性的化合物。

## 发明内容

[0010] 本发明的目的之一是提供通式(I)的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐,



[0012] 式中,W为氧代或- $O(CO)R'$ ;

[0013] L选自直接键、 $-(CH=CH)_n-$ 、哌啶子基羰基、哌啶子基磺酰基、环己基氨基羰基、环己基氨基磺酰基;

[0014] n为1或2;

[0015] R'为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

[0016] R为芳基、杂芳基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烯基、杂环基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、氨基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、二(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、羟基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、芳基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、或杂芳基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

[0017] 其中,所述芳基、杂芳基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烯基和杂环基各自任选地被选自下组的取代基取代:卤素、氨基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基氨基、二(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>卤代烷氧基、巯基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷硫基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、羟基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基和C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>卤代烷基;所述C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烯基还任选地被羧基取代;

[0018] 其中,当W为- $O(CO)CH_3$ 时,L-R不为甲基。

[0019] 本发明的目的之二是提供制备本发明通式(I)的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物的方法。

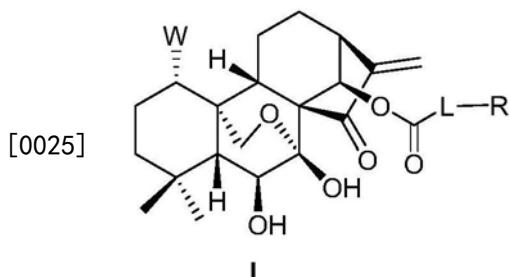
[0020] 本发明的目的之三是提供包含本发明化合物的药物组合物,所述药物组合物包括至少一种本发明化合物,和任选的药学上可以接受的赋形剂。

[0021] 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。

[0022] 本发明还涉及用于治疗肿瘤的本发明的化合物。

[0023] 本发明还涉及以下项目:

[0024] 1.通式(I)的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐,



[0026] 式中,W为氧代或- $O(CO)R'$ ;

[0027] L选自直接键、 $-(CH=CH)_n-$ 、哌啶子基羰基、哌啶子基磺酰基、环己基氨基羰基、环

己基氨基磺酰基；

[0028] n为1或2；

[0029] R'为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；

[0030] R为芳基、杂芳基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烯基、杂环基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、氨基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、二(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、羟基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、芳基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、或杂芳基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；

[0031] 其中，所述芳基、杂芳基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烯基和杂环基各自任选地被选自下组的取代基取代：卤素、氨基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基氨基、二(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>卤代烷氧基、巯基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷硫基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、羟基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基和C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>卤代烷基；所述C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烯基还任选地被羧基取代；

[0032] 其中，当W为-O(CO)CH<sub>3</sub>时，L-R不为甲基。

[0033] 2. 根据项目1的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中W为氧化或甲酰氧基。

[0034] 3. 根据项目1或2的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述芳基为苯基。

[0035] 4. 根据项目1或2的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述杂芳基为含氧、氮或硫杂原子的五元或六元芳环基团。

[0036] 5. 根据项目4的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中杂芳基为呋喃基、噻吩基、吡咯基、吡啶基。

[0037] 6. 根据项目1-5任一项的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述所述芳基、杂芳基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烯基和杂环基各自任选地被选自下组的取代基取代：卤素、氨基、硝基、氰基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>卤代烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷硫基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。

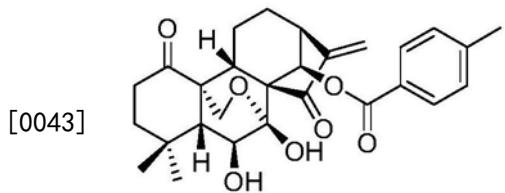
[0038] 7. 根据项目6的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述取代基为氟、氯、溴、硝基、氰基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、甲基、乙基、丙基、异丙基、三氟甲基、正丁基、异异丁基、叔丁基。

[0039] 8. 根据项目1或2的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中R为C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烯基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、氨基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、芳基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、或杂芳基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。

[0040] 9. 根据项目8的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中R为环丙基、环戊基、环己基、环戊烯基、环己烯基、甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、氨基丁基、芳基甲基、或芳基乙基。

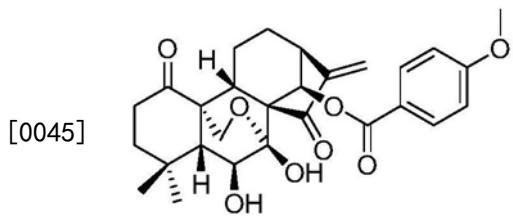
[0041] 10. 根据项目1的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受盐，选自下述化合物：BS-OR-001、BS-OR-003、BS-OR-004、BS-OR-005、BS-OR-007、BS-OR-008、BS-OR-010、BS-OR-011、BS-OR-012、BS-OR-015、BS-OR-017、BS-OR-019、BS-OR-020、BS-OR-032、BS-OR-034、BS-OR-037、BS-OR-038、BS-OR-083、BS-OR-090、BS-OR-091、BS-OR-093、BS-OR-094。

[0042] 11. 根据项目1的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受盐，选自下述化合物：



BS-OR-004

[0044] 1-氧代-14-(4-甲基)苯甲酰氧基冬凌草甲素



BS-OR-005

[0046] 1-氧代-14-(4-甲氧基)苯甲酰氧基冬凌草甲素



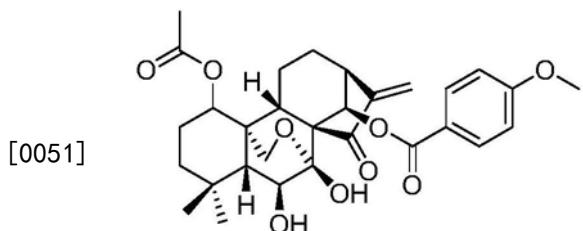
BS-OR-019

[0048] 1-氧代-14-苯基丙烯酰氧基冬凌草甲素



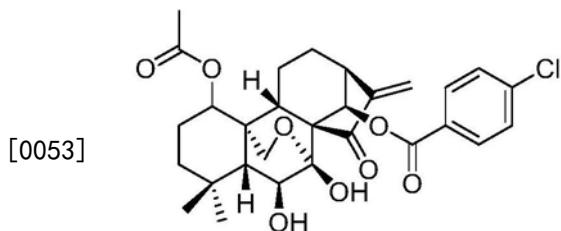
BS-OR-090

[0050] 1-乙酰基-14-(4-甲基)苯甲酰氧基冬凌草甲素



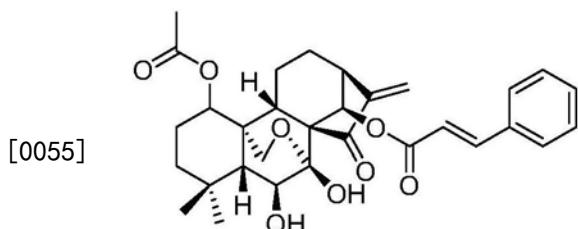
BS-OR-091

[0052] 1-乙酰基-14-(4-甲氧基)苯甲酰氧基冬凌草甲素



BS-OR-093

[0054] 1-乙酰基-14-对氯苯甲酰氧基冬凌草甲素



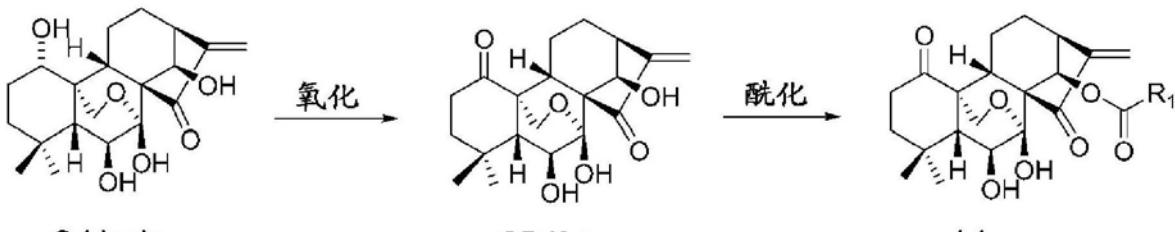
BS-OR-094

[0056] 1-乙酰基-14-苯基丙烯酰氧基冬凌草甲素

[0057] 12. 制备项目1的式(I)化合物的方法,其中

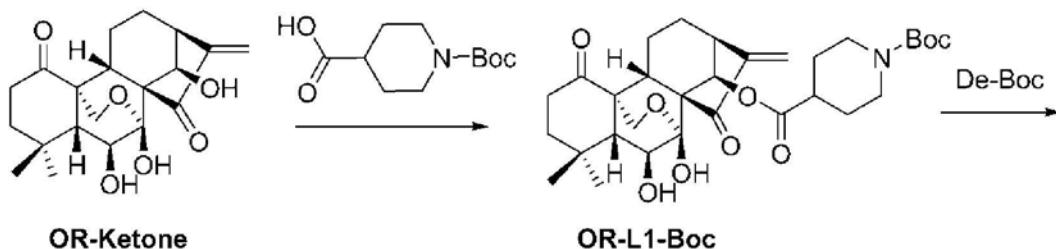
[0058] 1) 对于W为氧化、L为直接键或 $-(CH=CH)_n-$ 的式(I)化合物即式(I-1)化合物,其中R<sub>1</sub>如项目1中对R的定义,n如项目1中所定义,该方法包括

[0059]

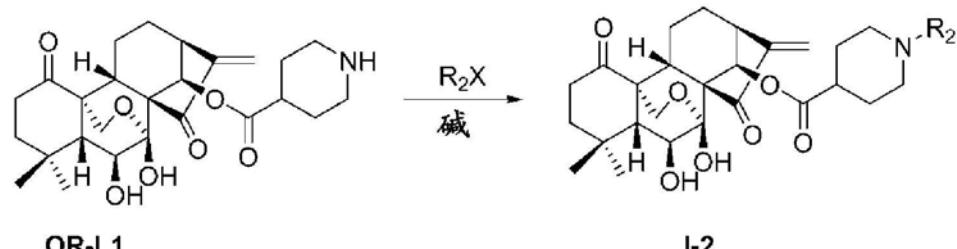


[0060] 先将冬凌草甲素的1-位羟基选择性的氧化,生成1-氧化冬凌草甲素中间体(OR-Ketone);再将此中间体与相应的有机酸、有机酸酐或有机酰氯,在有碱的存在下发生酰化反应,生成1-氧化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物(I-1);

[0061] 2) 对于W为氧化、L为哌啶子基羰基或哌啶子基磺酰基的式(I)化合物即式(I-2)化合物,其中R<sub>2</sub>为-C(O)R或-C(O)S(O)<sub>2</sub>R,所述R如项目1中所定义,该方法包括

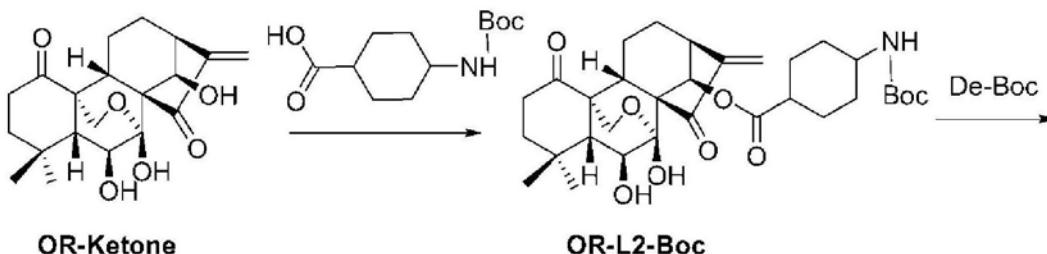


[0062]

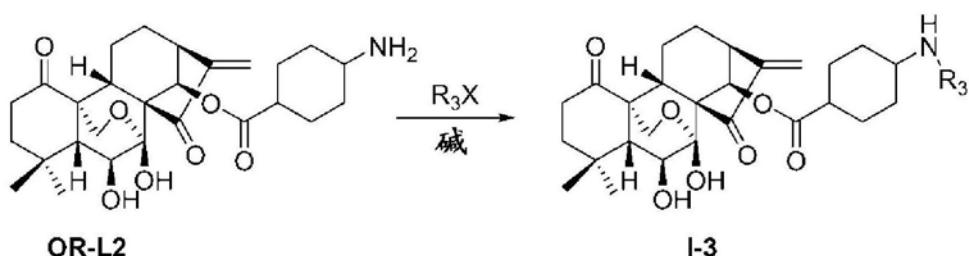


[0063] 1-氧化冬凌草甲素中间体(OR-Ketone)与N-叔丁氧碳基哌啶-4-羧酸,在有碱和缩合剂存在下,反应生成1-氧化-14-(N-叔丁氧碳基4-哌啶酰氧基)冬凌草甲素中间体(OR-L1-Boc),此中间体经酸处理,去除叔丁氧碳基保护基,得到胺(铵盐)中间体(OR-L1);此胺(铵盐)中间体在有碱存在下,与相应的有机酸、有机酸酐、有机酰氯、磺酰氯反应,生成式(I-2)的1-氧化-14-(哌啶酰氧基)冬凌草甲素衍生物;

[0064] 3)对于W为氧化、L为环己氨基羰基或环己氨基磺酰基的式(I)化合物即式(I-3)化合物,其中R<sub>3</sub>为-C(O)R或-C(O)S(O)<sub>2</sub>R,所述R如项目1中所定义,该方法包括



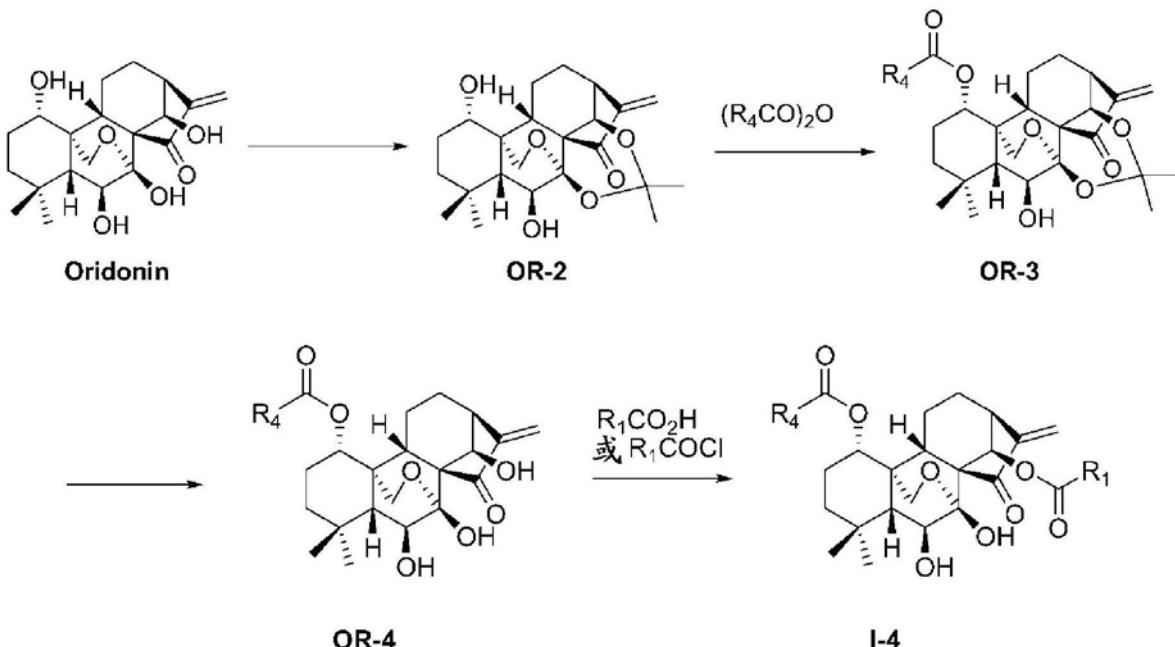
[0065]



[0066] 1-氧化冬凌草甲素中间体(OR-Ketone)与1-(N-叔丁氧碳基)氨基-4-环己基羧酸,在有碱和耦合试剂存在下,反应生成1-氧化-14-(1-(N-叔丁氧碳基氨基)-4-环己酰氧)冬凌草甲素中间体(OR-L2-Boc),此中间体经酸处理,去除叔丁氧碳基保护基,得到胺(铵盐)中间体(OR-L2);此胺(铵盐)中间体在有碱存在下,与相应的有机酸、有机酸酐、有机酰氯或磺酰氯反应,生成式(I-3)的1-氧化-14-(1-(胺基)环己基-4-酰氧基)冬凌草甲素衍生物;

[0067] 4)对于W为-O(CO)R'、L为直接键或-(CH=CH)<sub>n</sub>-的式(I)化合物即式(I-4)化合物,其中R<sub>1</sub>如项目1中对R的定义,R<sub>4</sub>如项目1中对R'的定义,n如项目1中所定义,该方法包括

[0068]



[0069] 先将7,14-位的羟基用缩醛保护生成OR-2;而后对1-位羟基酰化,得到中间体OR-3;OR-3经酸处理脱保护,得中间体OR-4;对OR-4进行酰化,即得1,14-双酰化的冬凌草甲素衍生物(I-4);

[0070] 5) 对于W为 $-O(CO)R'$ 、L为哌啶子基羰基或哌啶子基磺酰基的式(I)化合物,其中R'如项目1中所定义,该方法包括按照上述2)中的方法进行,其中将OR-Ketone用上述4)中的OR-4替代;或

[0071] 6) 对于W为 $-O(CO)R'$ 、L为环己氨基羰基或环己氨基磺酰基的式(I)化合物,其中R'如项目1中所定义,该方法包括按照上述3)中的方法进行,其中将OR-Ketone用上述4)中的OR-4替代。

[0072] 13.一种药物组合物,其中包含项目1-11中任一项的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐和任选的药学上可以接受的赋形剂。

[0073] 14.项目1-11中的任一项的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草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。

[0074] 15.一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项目1-11任一项的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐。

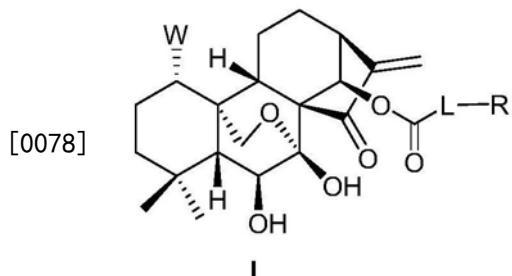
[0075] 16.作为抗肿瘤治疗剂的项目1-11任一项的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐。

[0076] 17.根据项目14、15或16的用途、方法或1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物,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。

### 具体实施方式

[0077] 本发明涉及通式(I)的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可

接受的盐，



[0079] 式中,W为氧代或-0(CO)R'；

[0080] L选自直接键、-(CH=CH)<sub>n</sub>-、哌啶子基羰基、哌啶子基磺酰基、环己基氨基羰基、环己基氨基磺酰基；

[0081] n为1或2；

[0082] R'为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；

[0083] R为芳基、杂芳基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烯基、杂环基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、氨基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、二(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、羟基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、芳基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、或杂芳基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基；

[0084] 其中,所述芳基、杂芳基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烯基和杂环基各自任选地被选自下组的取代基取代:卤素、氨基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基氨基、二(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>卤代烷氧基、巯基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷硫基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、羟基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基和C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>卤代烷基;所述C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烯基还任选地被羧基取代;

[0085] 其中,当W为-0(CO)CH<sub>3</sub>时,L-R不为甲基。

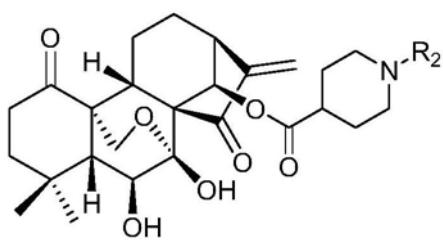
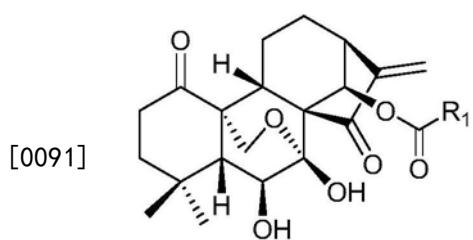
[0086] 本发明的化合物具有抗肿瘤活性。本申请中所测试的本发明化合物均显示出优于未经修饰的冬凌草甲素的抗肿瘤活性。

[0087] 当W为氧代、L为直接键或-(CH=CH)<sub>n</sub>时,式(I)化合物即为式(I-1)化合物,其中R<sub>1</sub>如式(I)中对R的定义,n如式(I)中所定义。

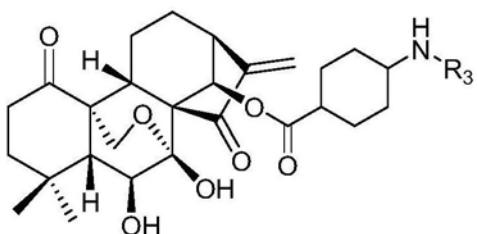
[0088] 当W为氧代、L为哌啶子基羰基或哌啶子基磺酰基时,式(I)化合物即为式(I-2)化合物,其中R<sub>2</sub>为-C(O)R或-C(O)S(O)<sub>2</sub>R,所述R如式(I)中所定义。

[0089] 当W为氧代、L为环己基氨基羰基或环己基氨基磺酰基时,式(I)化合物即为式(I-3)化合物,其中R<sub>3</sub>为-C(O)R或-C(O)S(O)<sub>2</sub>R,所述R如式(I)中所定义。

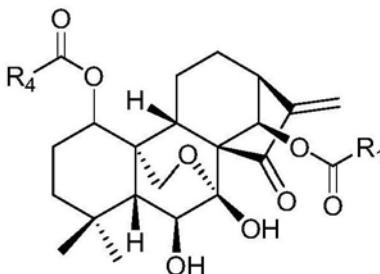
[0090] 当W为-0(CO)R'、L为直接键或-(CH=CH)<sub>n</sub>的式(I)化合物即式(I-4)化合物,其中R<sub>1</sub>如式(I)中对R的定义,R<sub>4</sub>如式(I)中对R'的定义,n如式(I)中所定义。



[0092]



I-3



I-4

[0093] 根据式(I)的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中优选W为氧化或甲酰氧基。

[0094] 根据式(I)的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中优选所述芳基为苯基。

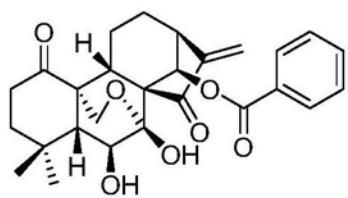
[0095] 根据式(I)的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐，优选其中所述杂芳基为含氧、氮或硫杂原子的五元或六元芳环基团，更优选杂芳基为呋喃基、噻吩基、吡咯基、吡啶基、噁唑等。

[0096] 根据式(I)的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐，其中优选所述所述芳基、杂芳基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烯基和杂环基各自任选地被选自下组的取代基取代：卤素、氨基、硝基、氰基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>卤代烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷硫基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。更优选所述取代基为氟、氯、溴、硝基、氰基、甲氨基、乙氨基、丙氨基、甲基、乙基、丙基、异丙基、三氟甲基、正丁基、异丁基、叔丁基。

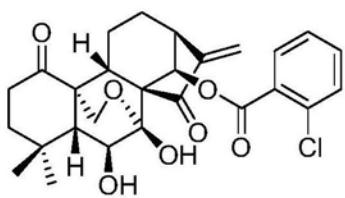
[0097] 根据式(I)的1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物或其药学上可接受的盐，优选其中R为C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烯基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、氨基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、芳基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、或杂芳基C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。更优选所述R为环丙基、环戊基、环己基、环戊烯基、环己烯基、甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、氨基丁基、芳基甲基、或芳基乙基等。

[0098] 本发明的部分1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物如下所示。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。

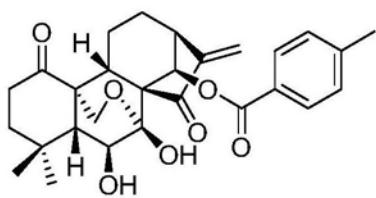
[0099]



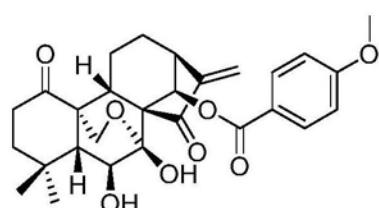
BS-OR-001



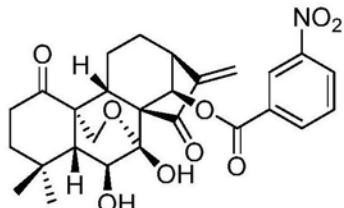
BS-OR-003



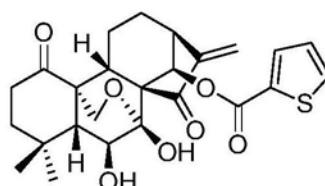
BS-OR-004



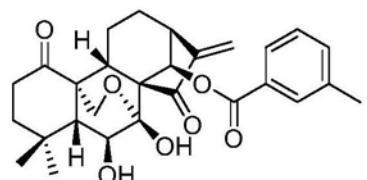
BS-OR-005



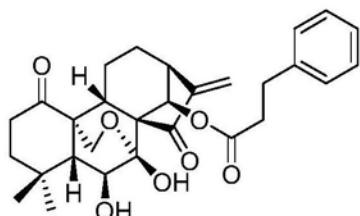
BS-OR-006



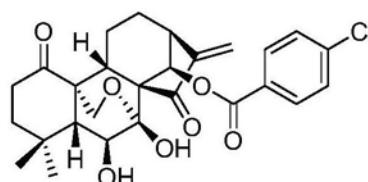
BS-OR-007



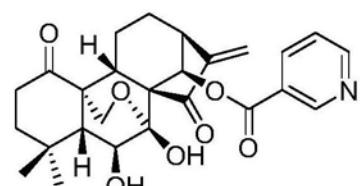
BS-OR-008



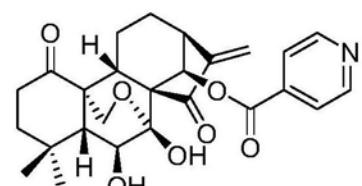
BS-OR-009



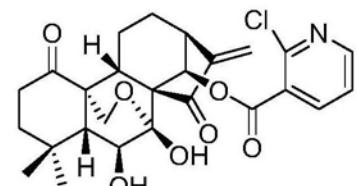
BS-OR-010



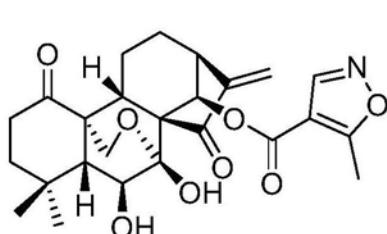
BS-OR-011



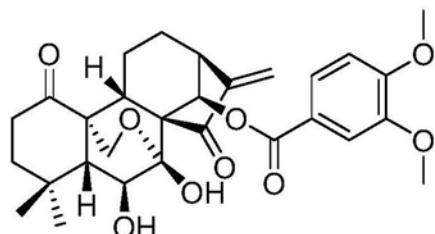
BS-OR-012



BS-OR-013

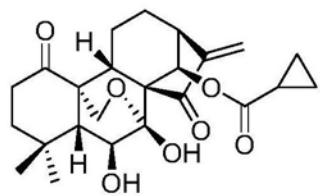


BS-OR-014

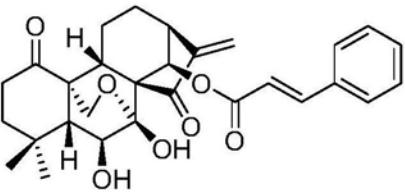


BS-OR-015

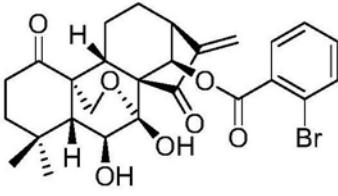
[0100]



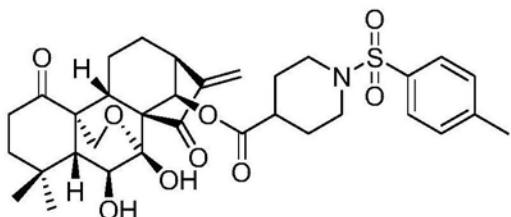
BS-OR-017



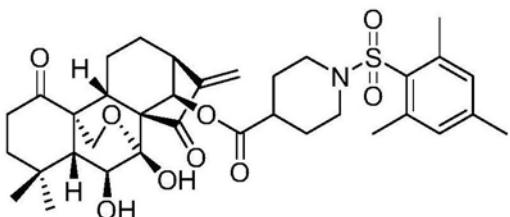
BS-OR-019



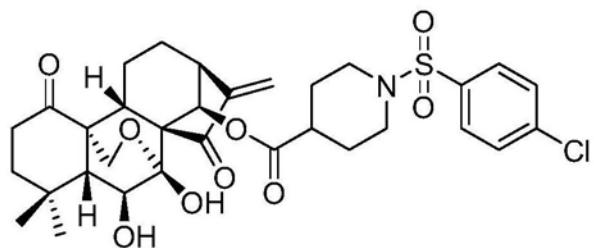
BS-OR-020



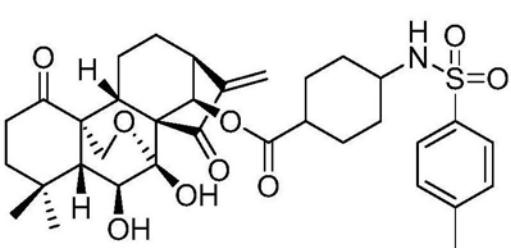
BS-OR-025



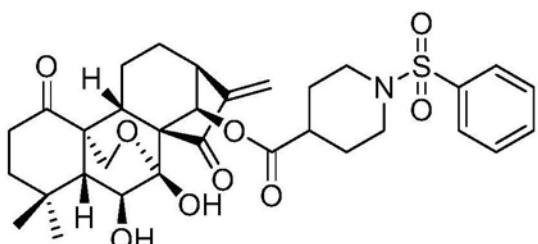
BS-OR-026



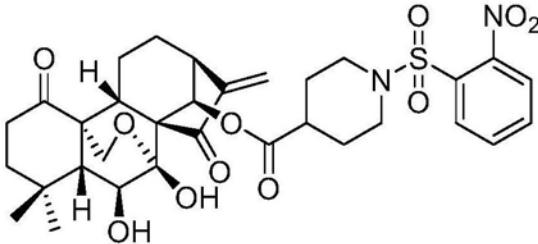
BS-OR-027



BS-OR-029

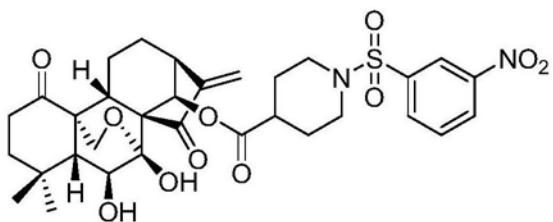


BS-OR-032

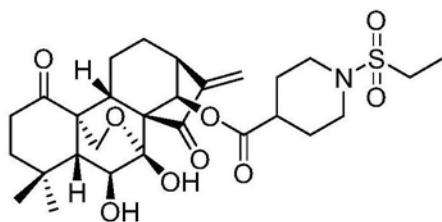


BS-OR-034

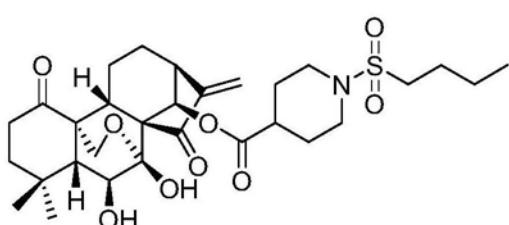
[0101]



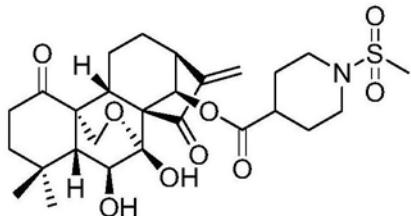
BS-OR-037



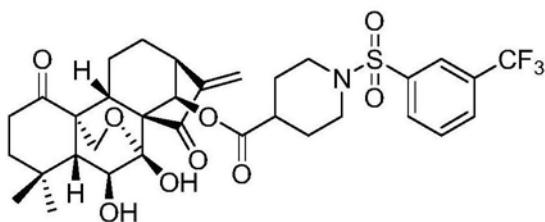
BS-OR-038



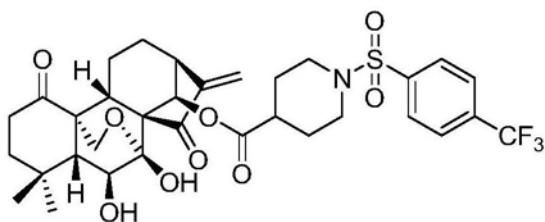
BS-OR-039



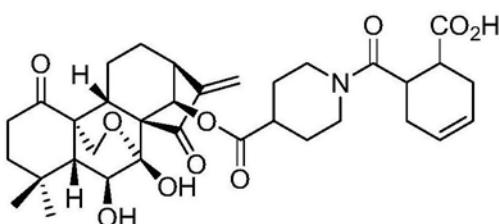
BS-OR-040



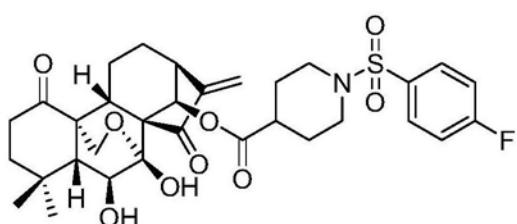
BS-OR-041



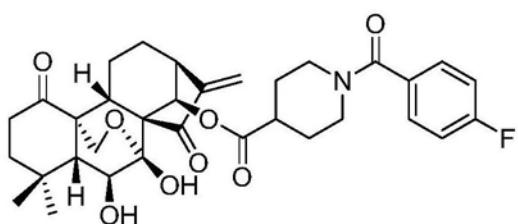
BS-OR-042



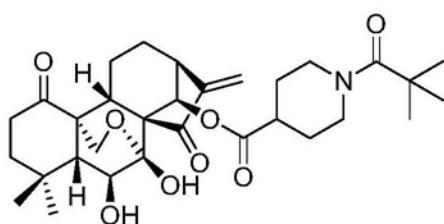
BS-OR-043



BS-OR-044

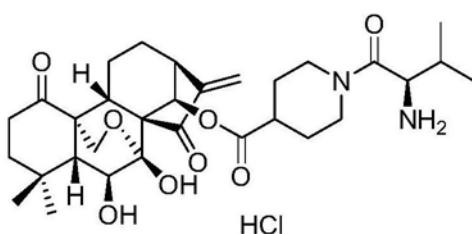
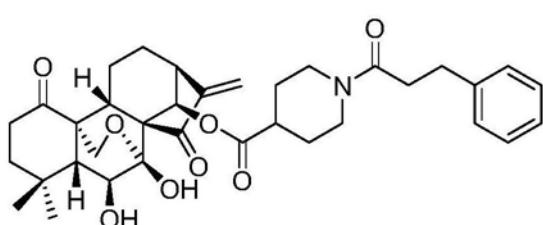
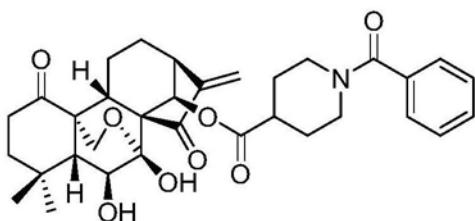
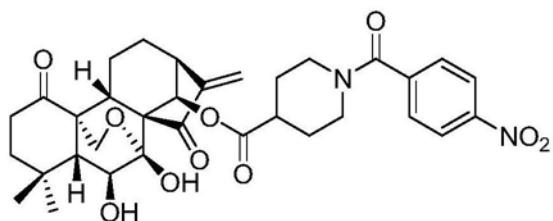
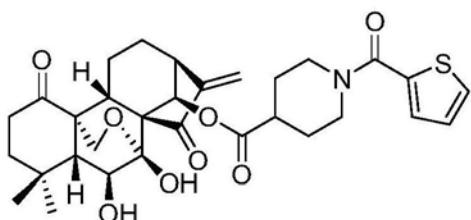
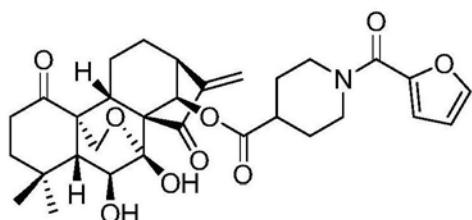
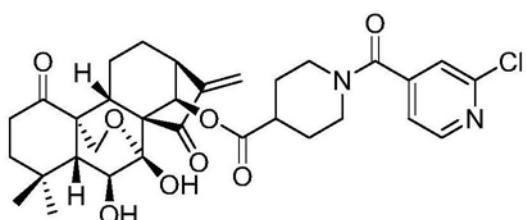
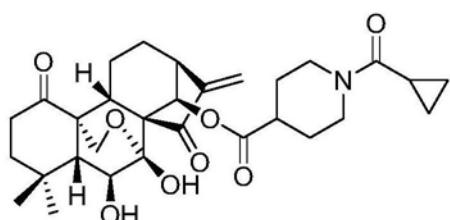
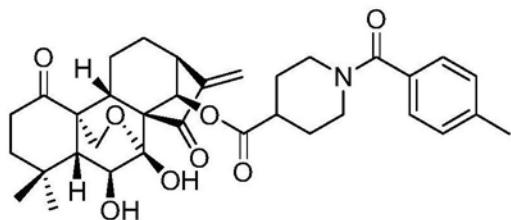
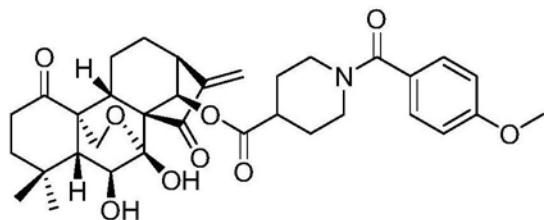


BS-OR-047

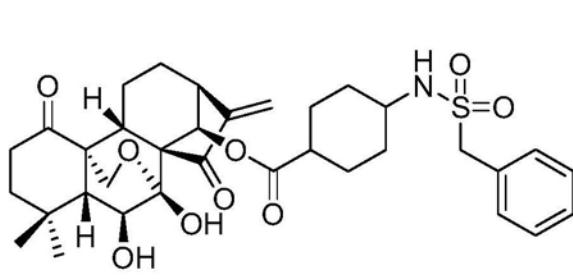
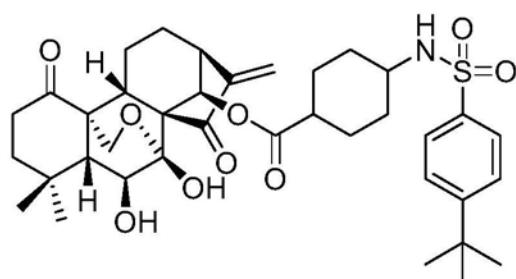
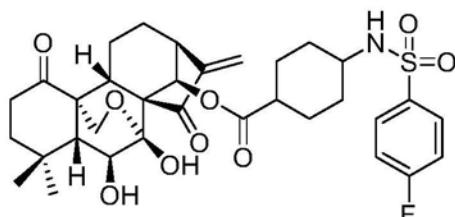
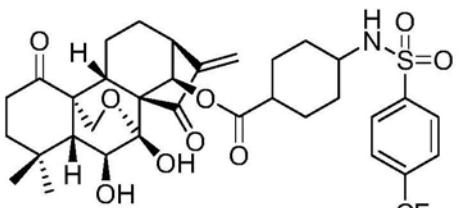
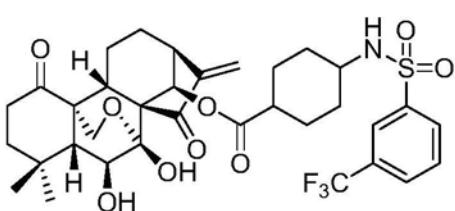
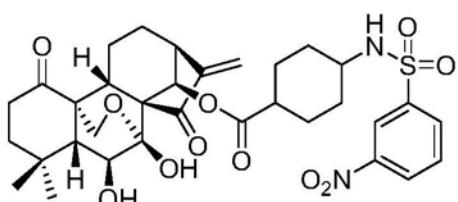
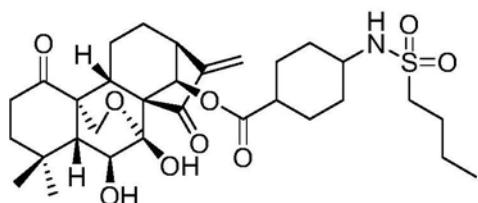
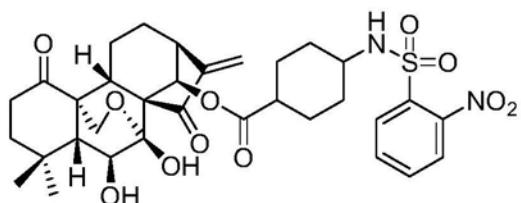
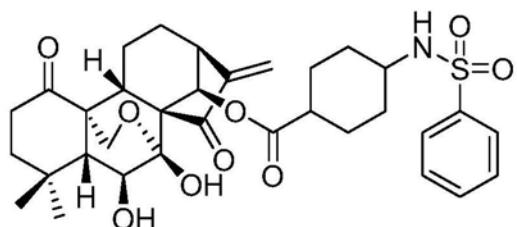


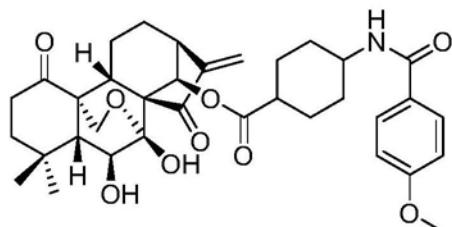
BS-OR-048

[0102]

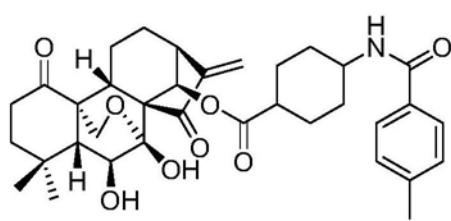


[0103]

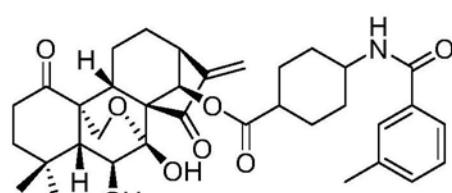




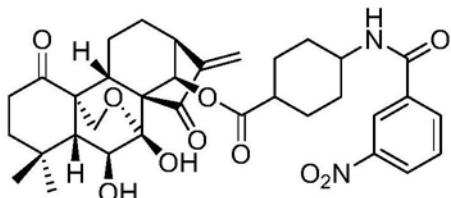
BS-OR-071



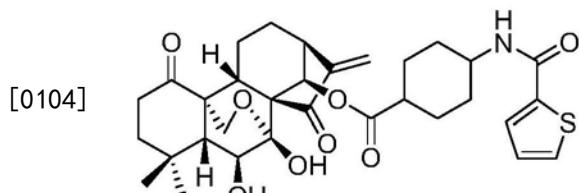
BS-OR-072



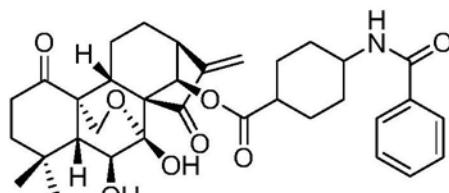
BS-OR-073



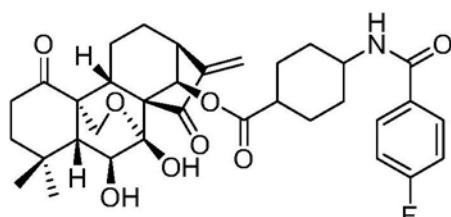
BS-OR-074



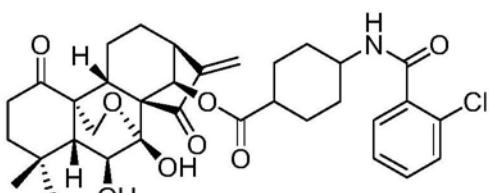
BS-OR-075



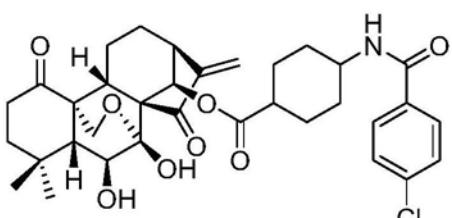
BS-OR-076



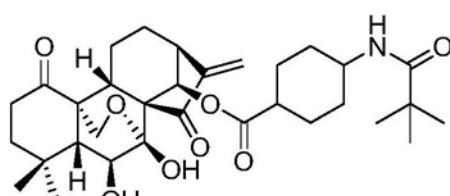
BS-OR-077



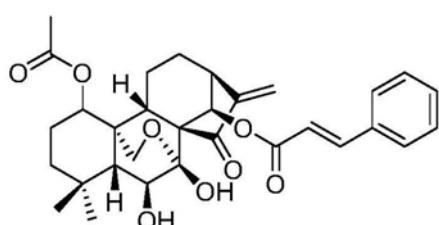
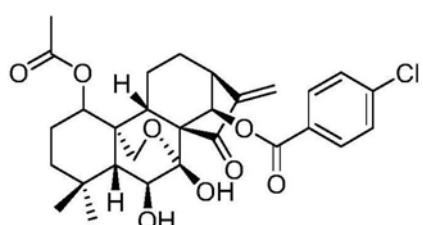
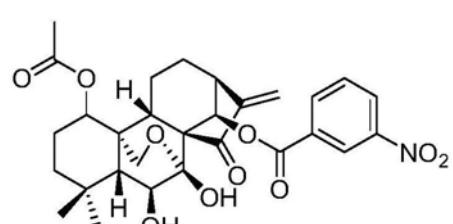
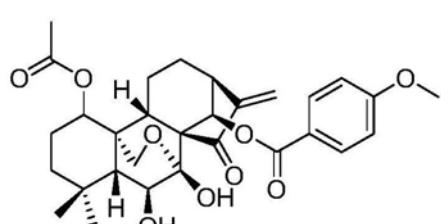
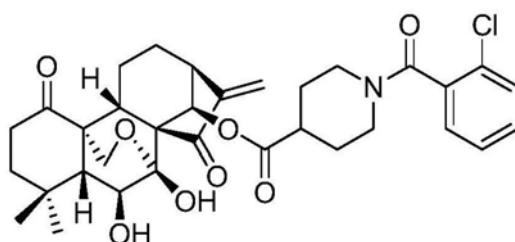
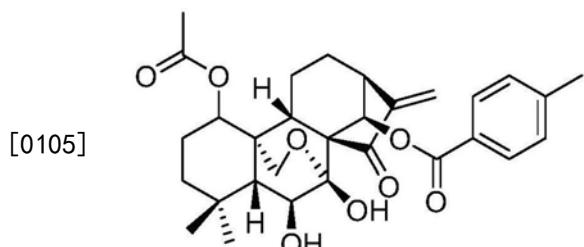
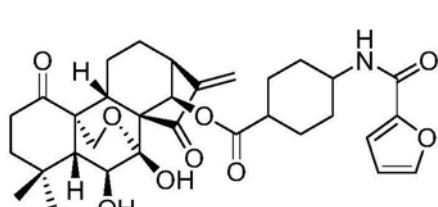
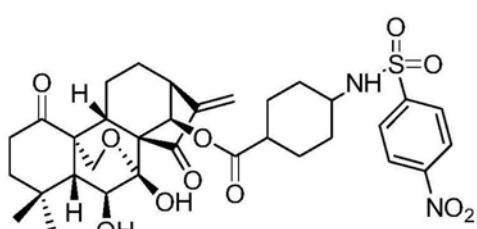
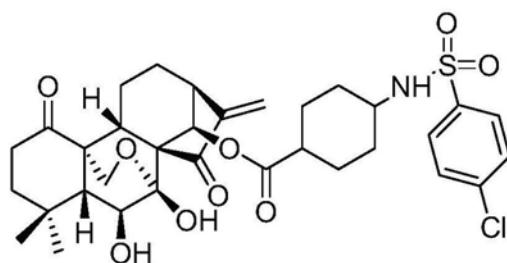
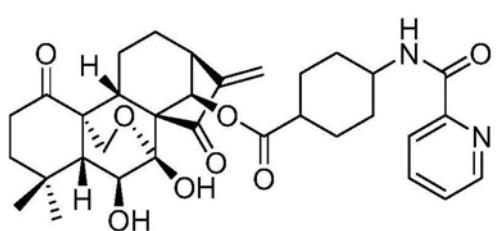
BS-OR-078



BS-OR-079



BS-OR-080



[0106] 上述化合物的部分数据列于下表：

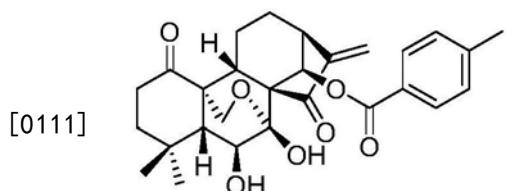
[0107]

化合物编号	分子式	分子量	外观	状态	收率总收率 (%)
BS-OR-001	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>7</sub>	466.5	白色	粉末	65.32
BS-OR-003	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> ClO <sub>7</sub>	501	无色	晶体	62.48
BS-OR-004	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>7</sub>	480.6	无色	晶体	63.9
BS-OR-005	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>8</sub>	496.6	无色	晶体	44.73
BS-OR-006	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>9</sub>	511.5	无色	晶体	61.06
BS-OR-007	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> O <sub>7</sub> S	472.6	无色	晶体	56.8
BS-OR-008	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> O <sub>7</sub>	480.6	白色	固体	58.93
BS-OR-009	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>7</sub>	494.6	白色	粉末	51.83
BS-OR-010	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> ClO <sub>7</sub>	501	白色	粉末	67.45
BS-OR-011	C <sub>26</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>7</sub>	467.5	无色	晶体	56.09
BS-OR-012	C <sub>26</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>7</sub>	467.5	白色	粉末	53.25
BS-OR-013	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> ClNO <sub>7</sub>	502	无色	晶体	49.7
BS-OR-014	C <sub>25</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>8</sub>	471.5	无色	晶体	42.6
BS-OR-015	C <sub>29</sub> H <sub>34</sub> O <sub>9</sub>	526.6	无色	晶体	61.77
BS-OR-017	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>7</sub>	430.5	白色	粉末	53.25
BS-OR-019	C <sub>29</sub> H <sub>32</sub> O <sub>7</sub>	492.6	白色	晶体	65.32
BS-OR-020	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> BrO <sub>7</sub>	545.4	白色	粉末	67.45
BS-OR-025	C <sub>33</sub> H <sub>41</sub> NO <sub>9</sub> S	627.8	白色	固体	65.57
BS-OR-026	C <sub>35</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>9</sub> S	655.8	白色	固体	63.99
BS-OR-027	C <sub>32</sub> H <sub>38</sub> ClNO <sub>9</sub> S	648.2	白色	固体	68.73
BS-OR-029	C <sub>34</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>9</sub> S	641.7	白色	固体	61.62
BS-OR-032	C <sub>32</sub> H <sub>39</sub> NO <sub>9</sub> S	613.7	白色	固体	47.4
BS-OR-034	C <sub>32</sub> H <sub>38</sub> N <sub>2</sub> O <sub>11</sub> S	658.7	浅黄色	固体	50.56
BS-OR-035	C <sub>32</sub> H <sub>38</sub> N <sub>2</sub> O <sub>11</sub> S	658.7	浅黄色	固体	48.98
BS-OR-037	C <sub>32</sub> H <sub>38</sub> N <sub>2</sub> O <sub>11</sub> S	658.7	白色	粉末	55.3
BS-OR-038	C <sub>28</sub> H <sub>39</sub> NO <sub>9</sub> S	565.7	白色	固体	35.55
BS-OR-039	C <sub>30</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>9</sub> S	593.7	白色	固体	23.7

[0108]	BS-OR-040	$C_{27}H_{37}NO_9S$	551.7	白色	固体	39.5
	BS-OR-041	$C_{33}H_{38}F_3NO_9S$	681.7	白色	固体	52.14
	BS-OR-042	$C_{33}H_{38}F_3NO_9S$	681.7	白色	固体	53.72
	BS-OR-043	$C_{34}H_{43}NO_{10}$	625.7	浅黄色	固体	45.03
	BS-OR-044	$C_{32}H_{38}FNO_9S$	631.7	浅黄色	晶体	53.72
	BS-OR-047	$C_{31}H_{43}NO_8$	557.7	白色	固体	35.55
	BS-OR-048	$C_{34}H_{41}NO_9$	607.7	白色	固体	49.77
	BS-OR-049	$C_{34}H_{41}NO_8$	591.7	白色	固体	37.92
	BS-OR-050	$C_{30}H_{39}NO_8$	541.6	白色	固体	58.46
	BS-OR-051	$C_{32}H_{37}ClN_2O_8$	613.1	白色	固体	48.98
	BS-OR-052	$C_{31}H_{37}NO_9$	567.6	白色	固体	44.24
	BS-OR-053	$C_{31}H_{37}NO_8S$	583.7	白色	粉末	55.3
	BS-OR-054	$C_{33}H_{38}N_2O_{10}$	622.7	白色	固体	41.87
	BS-OR-055	$C_{33}H_{39}NO_8$	577.7	白色	晶体	19.75
	BS-OR-056	$C_{35}H_{43}NO_8$	605.7	无色	晶体	47.4
	BS-OR-057	$C_{31}H_{44}N_2O_8$	572.7	无色	晶体	39.5
	BS-OR-058	$C_{31}H_{44}N_2O_8$	572.7	黄色	晶体	52.14
	BS-OR-059	$C_{33}H_{41}NO_9S$	627.7	无色	晶体	41.87
	BS-OR-061	$C_{33}H_{40}N_2O_{11}S$	672.7	无色	晶体	44.24
	BS-OR-062	$C_{31}H_{45}NO_9S$	607.8	无色	晶体	45.82
	BS-OR-063	$C_{33}H_{40}N_2O_{11}S$	672.7	无色	晶体	48.98
	BS-OR-064	$C_{34}H_{40}F_3NO_9S$	695.7	无色	晶体	58.46
	BS-OR-065	$C_{34}H_{40}F_3NO_9S$	695.7	无色	晶体	53.72
	BS-OR-066	$C_{33}H_{40}FNO_9S$	645.7	无色	晶体	42.66
	BS-OR-067	$C_{37}H_{49}NO_9S$	683.9	无色	晶体	44.24
	BS-OR-070	$C_{34}H_{43}NO_9S$	641.8	无色	晶体	55.3
	BS-OR-071	$C_{35}H_{43}NO_9$	621.7	无色	晶体	45.82
	BS-OR-072	$C_{35}H_{43}NO_8$	605.7	无色	晶体	52.14
	BS-OR-073	$C_{35}H_{43}NO_8$	605.7	无色	晶体	41.87
	BS-OR-074	$C_{34}H_{40}N_2O_{10}$	636.7	无色	晶体	48.98

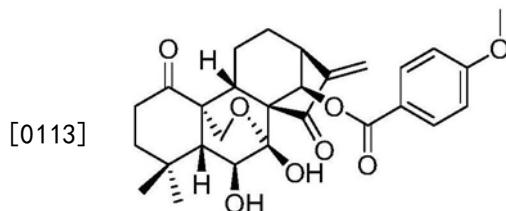
	BS-OR-075	C <sub>32</sub> H <sub>39</sub> NO <sub>8</sub> S	597.7	无色	晶体	58.46
	BS-OR-076	C <sub>34</sub> H <sub>41</sub> NO <sub>8</sub>	591.7	无色	晶体	37.92
	BS-OR-077	C <sub>34</sub> H <sub>40</sub> FNO <sub>8</sub>	609.7	无色	晶体	40.29
	BS-OR-078	C <sub>34</sub> H <sub>40</sub> ClNO <sub>8</sub>	626.1	无色	晶体	45.82
	BS-OR-079	C <sub>34</sub> H <sub>40</sub> ClNO <sub>8</sub>	626.1	无色	晶体	48.98
	BS-OR-080	C <sub>32</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>8</sub>	571.7	无色	晶体	58.46
	BS-OR-083	C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	592.7	无色	晶体	35.55
[0109]	BS-OR-086	C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> ClNO <sub>9</sub> S	662.2	无色	晶体	51.35
	BS-OR-087	C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> N <sub>2</sub> O <sub>11</sub> S	672.7	无色	晶体	41.87
	BS-OR-088	C <sub>32</sub> H <sub>39</sub> NO <sub>9</sub>	581.7	无色	晶体	45.82
	BS-OR-090	C <sub>30</sub> H <sub>36</sub> O <sub>8</sub>	524.6	无色	晶体	16.33
	BS-OR-091	C <sub>30</sub> H <sub>36</sub> O <sub>9</sub>	540.6	无色	晶体	16.80
	BS-OR-092	C <sub>29</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>10</sub>	555.6	无色	晶体	17.74
	BS-OR-093	C <sub>29</sub> H <sub>33</sub> ClO <sub>10</sub>	545	无色	晶体	16.80
	BS-OR-094	C <sub>31</sub> H <sub>36</sub> O <sub>8</sub>	536.6	无色	晶体	16.80
	BS-OR-095	C <sub>33</sub> H <sub>38</sub> ClNO <sub>8</sub>	612.1	白色	固体	31.6
	BS-OR-099	C <sub>35</sub> H <sub>42</sub> ClNO <sub>9</sub>	656.2	白色	固体	24.02

[0110] 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-OR-004

[0112] 1-氧代-14-(4-甲基)苯甲酰氧基冬凌草甲素



BS-OR-005

[0114] 1-氧代-14-(4-甲氧基)苯甲酰氧基冬凌草甲素



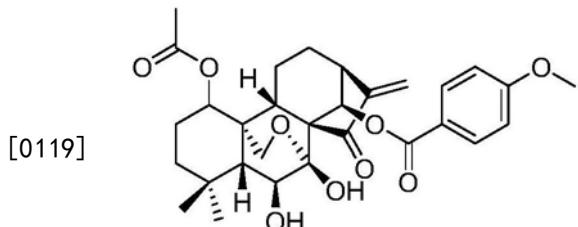
BS-OR-019

[0116] 1-氧代-14-苯基丙烯酰氧基冬凌草甲素



BS-OR-090

[0118] 1-乙酰基-14-(4-甲基)苯甲酰氧基冬凌草甲素



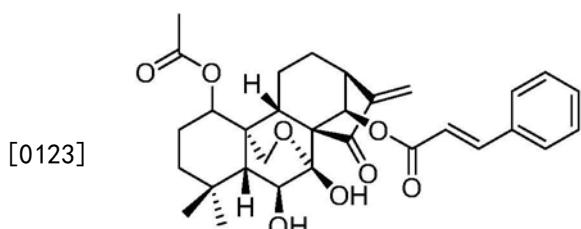
BS-OR-091

[0120] 1-乙酰基-14-(4-甲氧基)苯甲酰氧基冬凌草甲素



BS-OR-093

[0122] 1-乙酰基-14-对氯苯甲酰氧基冬凌草甲素



BS-OR-094

[0124] 1-乙酰基-14-苯基丙烯酰氧基冬凌草甲素

[0125] 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、多晶型物或前药。

[0126] 如本文所使用,术语“OR”是指Oridonin冬凌草甲素。

[0127] 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的烷基。所述烷基可以包含1-6个、1-5个、1-4个或1-3个碳原子。烷基的例子包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、叔丁基、正戊基和正己基。

[0128] 术语“烯基”是指含有指定碳原子数的直链或支链的烯基。所述烯基可以包含2-6个、2-5个、2-4个或2-3个碳原子。烯基的例子包括但不限于乙烯基、烯丙基、丁烯基、异丁烯基。

[0129] 术语“炔基”是指含有指定碳原子数的直链或支链的炔基。所述炔基可以包含2-6个、2-5个、2-4个或2-3个碳原子。炔基的例子包括但不限于乙炔基和丙炔基。

[0130] 术语“C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基或环烯基”是指具有饱和或不饱和环的3-7元单环系统的烃基。C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>环烷基或环烯基可以为环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环丙烯基和环己烯基。

[0131] 术语“芳基”是指含有6-14个(例如6-12个、6-20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。

[0132] 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。

[0133] 术语“杂环基”是指含有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。杂环基可以是芳香或非芳香的。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。

[0134] 术语“卤素”是指氟、氯、溴或碘。

[0135] 术语“烷基氨基”是指被一个或两个如上所定义的烷基取代的氨基。

[0136] 术语“烷氧基”包括烷基-O-基团,其中所述烷基如上所定义。

[0137] 术语“烷硫基”烷基-S-基团,其中所述烷基如上所定义。

[0138] 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。

[0139] 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、乳酸盐、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。

[0140] 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。

[0141] 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,这是由于例如其颗粒的形状或大小分布不同的缘故。

[0142] 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。

[0143] 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Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery (1995) 172-178, 949-982 (Manfred E.Wolff编,第5版) 和J.Rautio's Prodrugs and Targeted Delivery (2011) 31-60 (Wiley-VCH, Methods and Principles in Medicinal Chemistry第47卷) 和G.Thomas's Fundamentals of Medicinal Chemistry (2003) 195-200 (Wiley) 中描述的那些方法。

[0144] 本文所述“抗肿瘤活性”是指对肿瘤细胞或组织的直接抑制或杀伤作用。本申请实施例部分测定了本发明化合物的抗肿瘤活性。

[0145] 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。

[0146] 本发明还提供制备本发明式(I)化合物的方法，其中

[0147] 1) 对于W为氧代、L为直接键或 $-\text{CH}=\text{CH}_n-$ 的式(I)化合物即式(I-1)化合物,其中R<sub>1</sub>如式(I)中对R的定义,n如式(I)中所定义,该方法包括

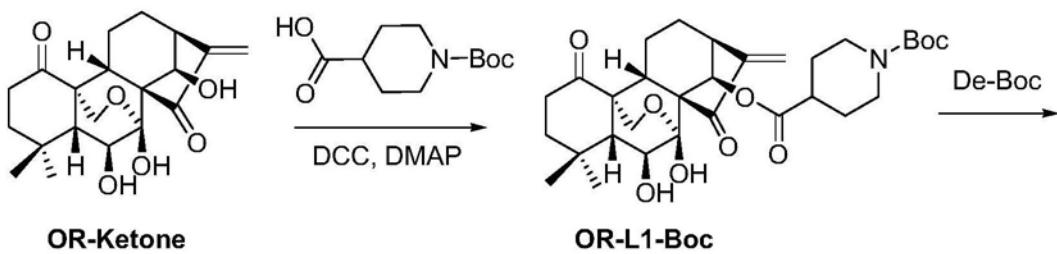
[0148]



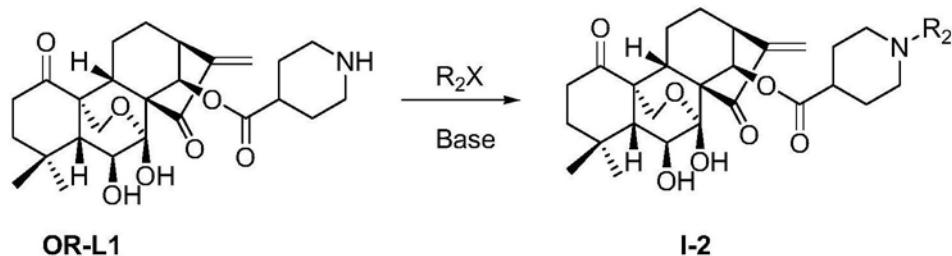
[0149] 先将冬凌草甲素的1-位羟基选择性的氧化,生成1-氧化冬凌草甲素中间体(OR-Ketone);再将此中间体与相应的有机酸、有机酸酐或有机酰氯,在有碱的存在下发生酰化

反应,生成1-氧化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物(I-1) ;

[0150] 2) 对于W为氧化、L为哌啶子基羧基或哌啶子基磺酰基的式(I)化合物即式(I-2)化合物,其中R<sub>2</sub>为-C(0)R或-C(0)S(0)<sub>2</sub>R,所述R如式(I)中所定义,该方法包括

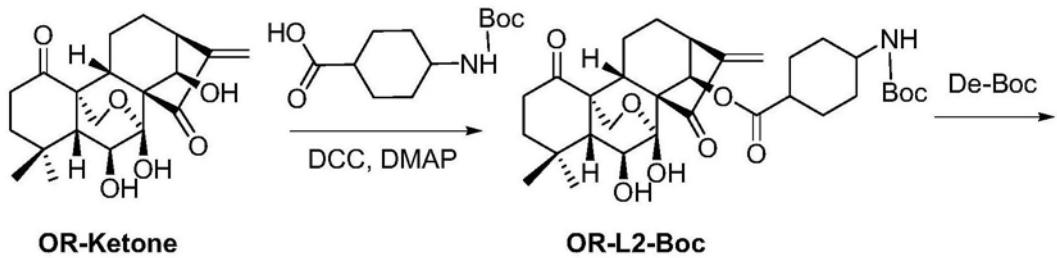


[0151]

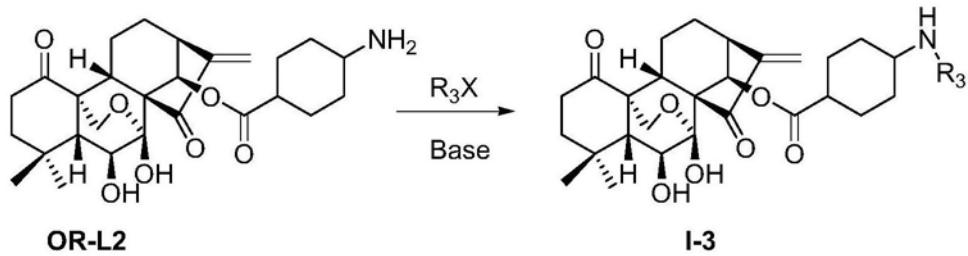


[0152] 1-氧化冬凌草甲素中间体(OR-Ketone)与N-叔丁氧碳基哌啶-4-羧酸,在有碱和缩合剂存在下,反应生成1-氧化-14-(N-叔丁氧碳基4-哌啶酰氧基)冬凌草甲素中间体(OR-L1-Boc),此中间体经酸处理,去除叔丁氧碳基保护基,得到胺(铵盐)中间体(OR-L1);此胺(铵盐)中间体在有碱存在下,与相应的有机酸、有机酸酐、有机酰氯、磺酰氯反应,生成式(I-2)的1-氧化-14-(哌啶酰氧基)冬凌草甲素衍生物;

[0153] 3) 对于W为氧化、L为环己基氨基羰基或环己基氨基磺酰基的式(I)化合物即式(I-3)化合物,其中R<sub>3</sub>为-C(0)R或-C(0)S(0)<sub>2</sub>R,所述R如式(I)中所定义,该方法包括



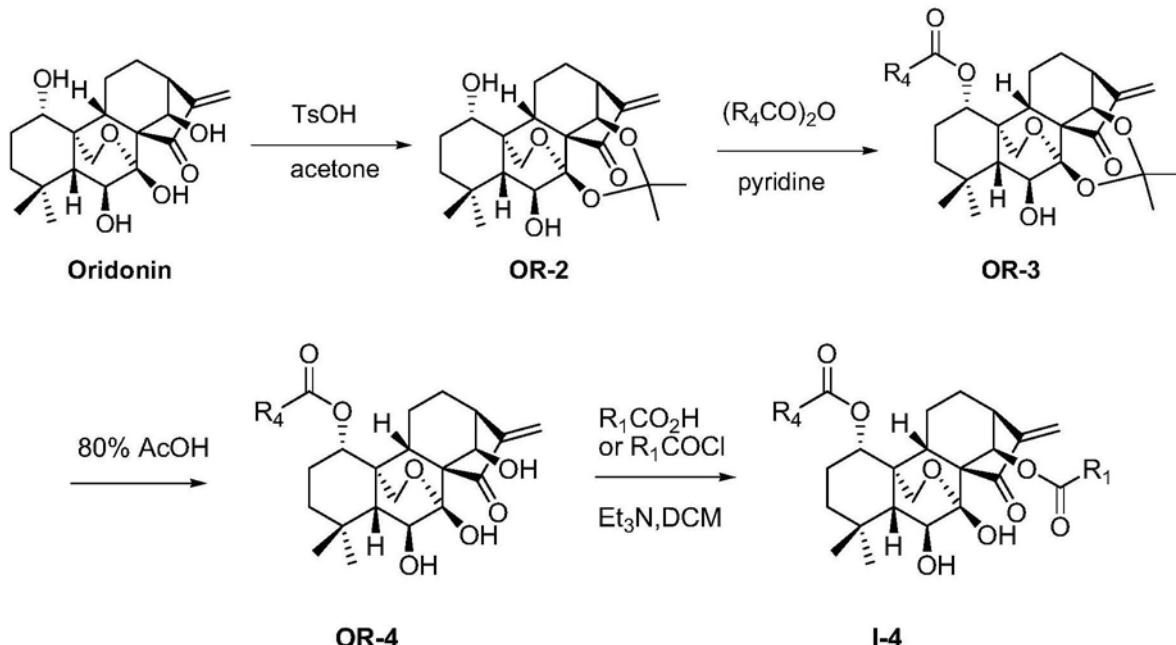
[0154]



[0155] 1-氧化冬凌草甲素中间体(OR-Ketone)与1-(N-叔丁氧碳基)氨基-4-环己基羧酸,在有碱和耦合试剂存在下,反应生成1-氧化-14-(1-(N-叔丁氧碳基氨基)-4-环己酰氧)冬凌草甲素中间体(OR-L2-Boc),此中间体经酸处理,去除叔丁氧碳基保护基,得到胺(铵盐)中间体(OR-L2);此胺(铵盐)中间体在有碱存在下,与相应的有机酸、有机酸酐、有机酰氯或磺酰氯反应,生成式(I-3)的1-氧化-14-(1-(胺基)环己基-4-酰氧基)冬凌草甲素衍生物;

[0156] 4) 对于W为 $-O(CO)R'$ 、L为直接键或 $-(CH=CH)_n-$ 的式(I)化合物即式(I-4)化合物,其中R<sub>1</sub>如式(I)中对R的定义,R<sub>4</sub>如式(I)中对R'的定义,n如式(I)中所定义,该方法包括

[0157]



[0158] 先将7,14-位的羟基用缩醛保护生成OR-2;而后对1-位羟基酰化,得到中间体OR-3;OR-3经酸处理脱保护,得中间体OR-4;对OR-4进行酰化,即得1,14-双酰化的冬凌草甲素衍生物(I-4);

[0159] 5) 对于W为 $-O(CO)R'$ 、L为哌啶子基羰基或哌啶子基磺酰基的式(I)化合物,其中R'如式(I)中所定义,该方法包括按照上述2)中的方法进行,其中将OR-Ketone用上述4)中的OR-4替代;或

[0160] 6) 对于W为 $-O(CO)R'$ 、L为环己基氨基羰基或环己基氨基磺酰基的式(I)化合物,其中R'如式(I)中所定义,该方法包括

[0161] 按照上述3)中的方法进行,其中将OR-Ketone用上述4)中的OR-4替代。

[0162] 例如,本发明的式(I)化合物可以按如下的方法制备:

[0163]



[0164] 本发明的1-氧化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物(I:I-1)可按上式所示两步反应制取。由天然药材提取分离得到的冬凌草甲素的1-位羟基经选择性的氧化,生成1-氧化冬凌草甲素中间体(OR-Ketone)。氧化反应可用高锰酸钾或琼斯氧化剂。氧化反应的温度可以是室温。氧化1-位的羟基时,其他羟基不需要特定保护。反应一般在溶剂中进行。使用的溶剂包括但不限于有机极性溶剂。例如:丙酮、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。

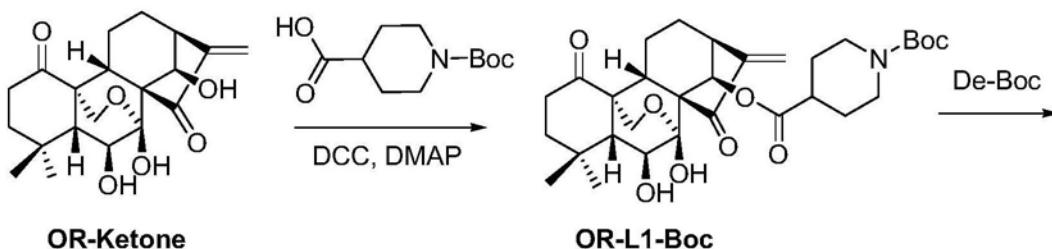
[0165] 1-氧代冬凌草甲素中间体(OR-Ketone)的14-位羟基与有机酸、有机酰卤或有机酸酐反应,生成1-氧代-14-酰化的冬凌草甲素衍生物(I:I-1)。该反应一般在有碱和缩合试剂存在下进行。这里碱可以为有机碱或无机碱。例如:4-二甲氨基吡啶,三乙胺和碳酸钾。

[0166] 用于酰化反应的缩合剂可以是1,3-二环己基碳二亚胺,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-基氨基三(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)。

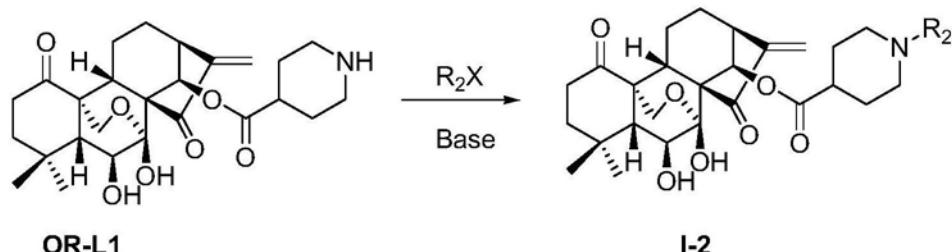
[0167] 用于酰化反应的酰化试剂可以是相应的有机酸、有机酰卤或有机酸酐。用于碘酰化反应的碘酰化试剂可以是相应的有机碘酰卤。

[0168] 酰化反应一般在溶剂中进行。溶剂的选择取决于原料的极性和溶解性。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)。

[0169] 酰化反应的反应温度取决于反应底物的反应活性,一般在低温或室温下进行。



[0170]



[0171] 1-氧代冬凌草甲素中间体(OR-Ketone)与N-叔丁氧碳基哌啶-4-羧酸,在有碱和缩合剂存在下,反应生成1-氧代-14-(N-叔丁氧碳基4-哌啶酰氧基)冬凌草甲素中间体(OR-L1-Boc)。上述的酰化反应条件(反应温度、反应时间、缩合剂和碱)适用于本反应。

[0172] 1-氧代-14-(N-叔丁氧碳基4-哌啶酰氧基)冬凌草甲素中间体(OR-L1-Boc)经酸处理,去除叔丁氧碳基保护剂,得到胺(铵盐)中间体(OR-L1)。反应所用的酸可以是有机酸或无机酸,例如:三氟乙酸与盐酸。反应的生成物一般是形成相应的铵盐。反应的收率一般是定量的。

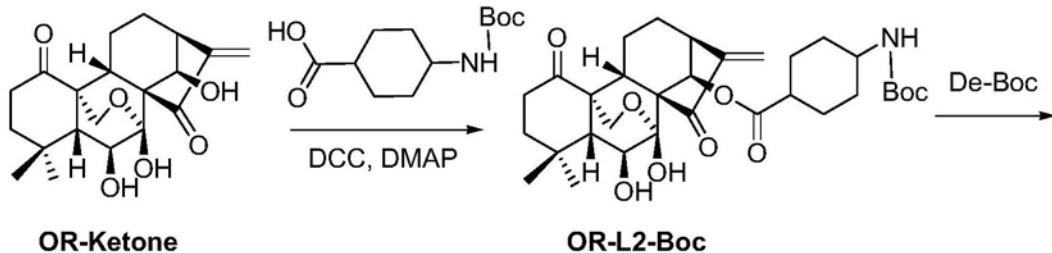
[0173] 1-氧代-14-(4-哌啶酰氧基)冬凌草甲素中间体(OR-L1)胺(铵盐)在有碱存在下,与相应的卤代烃、有机酸、有机酸酐、有机酰氯、或有机碘酰氯反应,生成式(I:I-2)的1-氧代-14-(哌啶酰氧基)冬凌草甲素衍生物。式中R<sub>2</sub>与上文在通式(I:I-2)中的定义相同。

[0174] (OR-L1)胺(铵盐)中间体的酰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-基氨基三(二

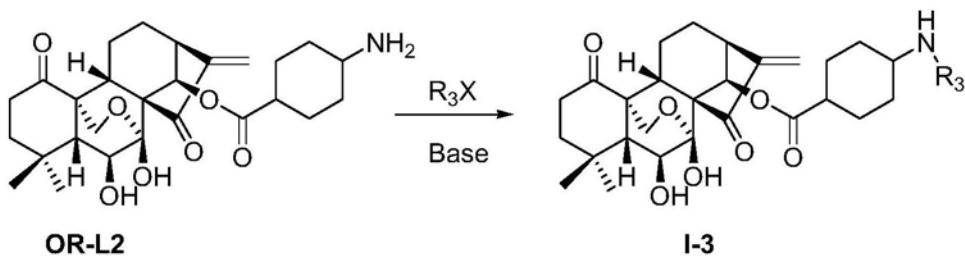
甲基氨基)磷鎂六氟磷酸盐(BOP),苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脲六氟硼酸盐(TBTU)。

[0175] (OR-L1) 胺(铵盐)中间体的酰化反应必须在有碱存在下进行。碱的作用是中和铵盐中的酸给出游离的胺和参与此胺中间体与有机酸、酸酐或酰氯的缩合酰化反应。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)。

[0176] 胺的酰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。



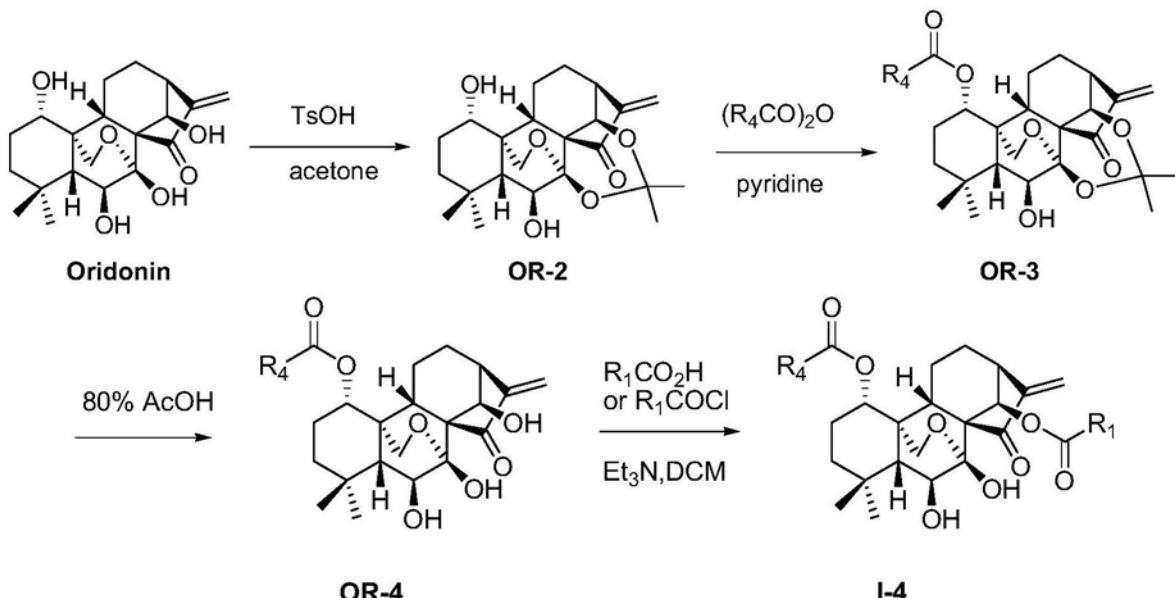
[0177]



[0178] 1-氧化冬凌草甲素中间体(OR-Ketone)与1-(N-叔丁氧碳基)氨基-4-环己基羧酸,在有碱和耦合试剂存在下,反应生成1-氧化-14-(1-(N-叔丁氧碳基氨基)-4-环己酰氧)冬凌草甲素中间体(OR-L2-Boc),此中间体经酸处理,去除叔丁氧碳基保护剂,得到胺(铵盐)中间体(OR-L2);此胺(铵盐)中间体在有碱存在下,与相应的卤代烃、有机酸、有机酸酐或有机酰氯、磺酰氯反应,生成式(I-3)的1-氧化-14-(1-(胺基)环己基-4-酰氧基)冬凌草甲素衍生物。式中R<sub>3</sub>与上文在通式(I-3)中的定义相同。

[0179] 制取式(I-3)的1-氧化-14-(1-(胺基)环己基-4-酰氧基)冬凌草甲素衍生物以及相对应的中间体,在反应温度、反应溶剂、反应试剂和反应操作等方面,与制取式(I-2)的1-氧化-14-(哌啶酰氧基)冬凌草甲素衍生物基本相似。

[0180]



[0181] 1,14-双酰化的冬凌草甲素衍生物(I-4)可按上式所示由四步反应制取。先将7,14位的羟基按常规方法用缩醛保护生成OR-2。保护试剂可以是相应的酮或者醛。保护反应需要在催化量的酸存在下进行。

[0182] 中间体OR-2的1位羟基可按常规方法进行酰化,得到中间体OR-3。酰化试剂可以是有机酸、有机酸酐或有机酰氯。酰化反应需要在溶剂和碱存在下进行。

[0183] 中间体OR-3经酸处理脱保护,得中间体OR-4。脱保护的试剂可以是有机酸,如80%的醋酸。反应温度取决于反应底物的活性。

[0184] 对中间体OR-4进行酰化,即得1,14-双酰化的冬凌草甲素衍生物(I-4)。OR-4的酰化反应在反应温度、反应溶剂、反应试剂和反应操作等方面,与制取式(I-1)的1-氧化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物基本相似。式中R<sub>1</sub>、R<sub>4</sub>与上文在通式(I-4)中的定义相同。

[0185] 常规的化学转换与操作可用于实施本发明。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。

[0186] 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HOO-C-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,烷氨基、烷酰基、芳氨基、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。

[0187] 本发明还提供了包含本发明式I化合物的药物组合物。

[0188] 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。

[0189] 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。

[0190] 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。

[0191] 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，肠胃灌注，静脉内注射或肌内与皮下注射。

[0192] 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、颗粒片剂、含片、胶囊剂、酏剂、悬浮剂、糖浆、圆片等形式使用。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量重量的大约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。

[0193] 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。当单位剂量型是胶囊时，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，或其他方式改变固体单位剂量型的物理形式。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量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。

[0194] 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。

[0195] 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。

[0196] 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。

[0197] 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。

[0198] 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。

[0199] 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。

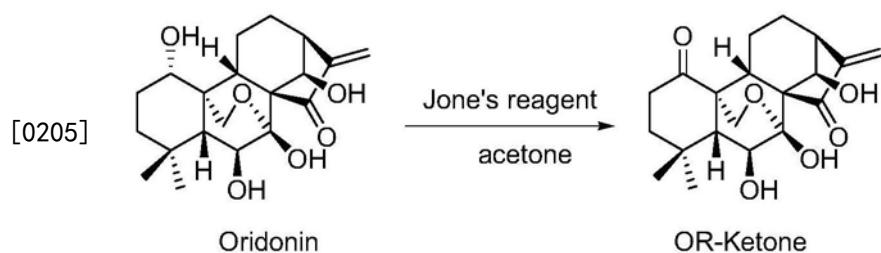
[0200] 上述制剂可以以单位剂型存在,该单位剂型是含有单位剂量的物理分散单元,适于向人体和其它哺乳动物体给药。单位剂型可以是胶囊或片剂,或是很多胶囊或片剂。根据所涉及的具体治疗,活性成分的单位剂量的量可以在大约0.1到大约1000毫克或更多之间进行变化或调整。

[0201] 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1-氧化/酰化-14-酰化的冬凌草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。

[0202] 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。

[0203] 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。

### [0204] 实施例1:化合物(BS-0R-003)的合成

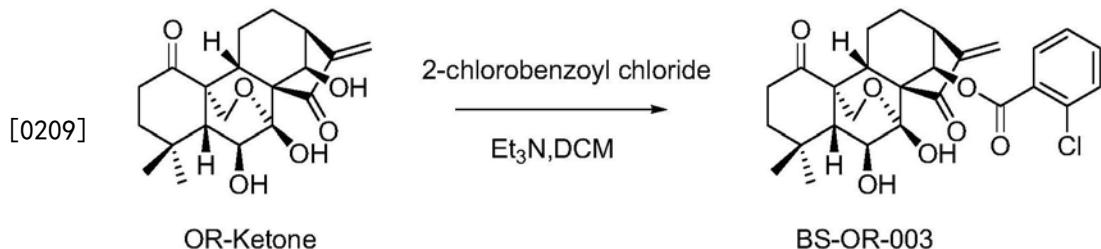


[0206] 将三氧化铬(240mg, 2.4mmol)溶于2mL的水中, 在0℃条件下加入0.22mL浓硫酸, 然后加入3mL水, 搅拌, 制成Tone's琼斯试剂备用。

[0207] 向冬凌草甲素(730mg,2mmol)中加入丙酮(20mL)成悬浊液,在冰浴条件下慢慢滴入琼斯试剂(2.4mmol三氧化铬),搅拌3小时后,反应液温度升至室温,反应用异丙醇淬灭,除去丙酮溶剂。粗产物用二氯甲烷(30mL\*3)萃取三次,有机相用饱和碳酸氢钠洗涤,然后用

饱和食盐水洗涤,干燥,旋干。所得粗品经硅胶柱(石油醚:乙酸乙酯=1:1)分离纯化,得到白色粉末状1-氧代冬凌草甲素(520mg,收率71%),同时回收100mg冬凌草甲素,回收率为14%。

[0208] MS (m/z) : 363 [M+H]<sup>+</sup>, 385 [M+Na]<sup>+</sup>。



[0210] 式中2-chlorobenzoyl chloride为2-氯苯甲酰氯。

[0211] 将1-氧代冬凌草甲素(36.5mg, 0.1mmol)和2-氯苯甲酰氯(87mg, 0.5mmol)溶于干燥的二氯甲烷(2mL)中, 在0℃条件下滴入三乙胺(50.5mg, 0.5mmol), 反应升至室温, 搅拌1小时。反应结束后, 用30mL二氯甲烷稀释, 用冰的5%碳酸钠水溶液洗涤两次, 然后经水洗, 饱和食盐水洗, 有机相干燥, 旋干, 得到的粗产品用硅胶柱(乙酸乙酯:石油醚=1:2)分离纯化, 最终得到无色晶体BS-OR-003(41.8mg, 收率88%)。

[0212] MS (*m/z*) : 501 [M+H]<sup>+</sup>, 523 [M+Na]<sup>+</sup>.

[0213]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 87.77–7.79 (m, 1H, H-苯环), 7.39–7.41 (m, 2H, H-苯环), 7.26–7.29 (m, 1H, H-苯环), 6.28 (s, 1H, H-17), 6.14 (s, 1H, H-14), 5.65 (s, 1H, H-17), 5.39 (d, 1H, J=15.5Hz, OH-6), 4.36 (d, 1H, J=14.3Hz), 4.06 (d, 1H, J=12.3Hz), 4.0 (s, 1H), 3.75–3.82 (m, 1H), 3.31 (d, 1H, J=12.4Hz), 2.30–2.61 (m, 5H), 1.78–1.99 (m, 3H), 1.55–1.73 (m, 2H), 1.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0214] 按照BS-OR-003的方法,使用上述同样的试剂,将化合物1-氧化冬凌草甲素与苯甲酰氯反应,制备了BS-OR-001:

[0215] MS (m/z) : 467 [M+H]<sup>+</sup>, 489 [M+Na]<sup>+</sup>.

[0216] 按照BS-OR-003的方法,使用上述同样的试剂,将化合物1-氧化冬凌草甲素与对甲基苯甲酰氯反应,制备了BS-OR-004:

[0217] MS (*m/z*) : 481 [M+H]<sup>+</sup>, 503 [M+Na]<sup>+</sup>.

[0218]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.80 (d, 2H, J=11.0Hz, H-苯环), 7.20 (d, 2H, J=11.3Hz, H-苯环), 6.28 (s, 1H, H-17), 6.06 (s, 1H, H-14), 5.61 (s, 1H, H-17), 5.43 (d, 1H, J=15.4Hz, OH-6), 4.34 (d, 1H, J=14.3Hz), 4.16 (s, 1H), 4.05 (d, 1H, J=14.3Hz), 3.77–3.84 (m, 1H), 3.28 (d, 1H, J=12.4Hz), 2.36 (s, 3H, H-CH<sub>3</sub>), 2.27–2.46 (m, 5H), 1.77–1.99 (m, 3H), 1.55–1.76 (m, 2H), 1.21 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0219] 按照BS-OR-003的方法,使用上述同样的试剂,将化合物1-氧代冬凌草甲素与对甲氧基苯甲酰氯反应,制备了BS-OR-005:

[0220] MS (m/z) : 497 [M+H]<sup>+</sup>, 519 [M+Na]<sup>+</sup>.

[0221]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>): 87.84–7.88 (m, 2H, H-苯环), 6.86–6.89 (m, 2H, H-苯环), 6.28 (s, 1H, H-17), 6.03 (s, 1H, H-14), 5.61 (s, 1H, H-17), 5.44 (d, 1H, J=15.4Hz, OH-6), 4.34 (d, 1H, J=14.2Hz), 4.19 (s, 1H), 4.03–4.07 (m, 1H), 3.83 (s, 3H, H-CH<sub>3</sub>), 3.77–3.84 (m,

1H), 3.26–3.29 (m, 1H), 2.26–2.65 (m, 5H), 1.89–2.09 (m, 3H), 1.56–1.79 (m, 2H), 1.21 (s, 3H, CH<sub>3</sub>–18), 1.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>–19).

[0222] 按照BS-OR-003的方法,使用上述同样的试剂,将化合物1-氧化冬凌草甲素与3-硝基苯甲酰氯反应,制备了BS-OR-006:

[0223] MS (*m/z*) : 512 [M+H]<sup>+</sup>, 534 [M+Na]<sup>+</sup>.

[0224] 按照BS-OR-003的方法,使用上述同样的试剂,将化合物1-氧化冬凌草甲素与2-噻吩甲酸反应,制备了BS-OR-007:

[0225] MS (m/z) : 473 [M+H]<sup>+</sup>, 495 [M+Na]<sup>+</sup>.

[0226] 按照BS-OR-003的方法,使用上述同样的试剂,将化合物1-氧化冬凌草甲素与3-甲基苯甲酰氯反应,制备了BS-OR-008:

[0227] MS (m/z) : 481 [M+H]<sup>+</sup>, 503 [M+Na]<sup>+</sup>.

[0228] 按照BS-OR-003的方法,使用上述同样的试剂,将化合物1-氧代冬凌草甲素与苯丙酰氯反应,制备了BS-OR-009:

[0229] MS (m/z) : 495 [M+H]<sup>+</sup>, 517 [M+Na]<sup>+</sup>.

[0230] 按照BS-OR-003的方法,使用上述同样的试剂,将化合物1-氧化冬凌草甲素与对氯苯甲酰氯反应,制备了BS-OR-010:

[0231] MS (m/z) : 501 [M+H]<sup>+</sup>, 523 [M+Na]<sup>+</sup>, 539 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间 5.507 min (99.85%).

[0232]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.87 (d, 2H, J=8.7Hz, H-苯环), 7.38 (d, 2H, J=8.7Hz, H-苯环), 6.30 (s, 1H, H-17), 6.12 (s, 1H, H-14), 5.64 (s, 1H, H-17), 5.44 (d, 1H, J=12Hz, OH-6), 4.37 (d, 1H, J=10.5Hz), 4.06 (d, 1H, J=10.5Hz), 3.80 (m, 1H), 3.25 (d, 1H, J=9.6Hz), 1.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0233] 按照BS-OR-003的方法,使用上述同样的试剂,将化合物1-氧化冬凌草甲素与苯基丙烯酰氯反应,制备了BS-OR-019:

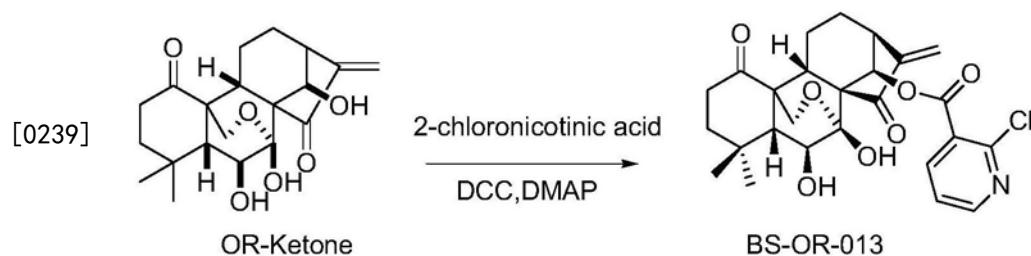
[0234] MS (m/z) : 493 [M+H]<sup>+</sup>, 515 [M+Na]<sup>+</sup>, 531 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间 5.372 min (100.00%).

[0235] 按照BS-OR-003的方法,使用上述同样的试剂,将化合物1-氧代冬凌草甲素与邻溴苯甲酰氯反应,制备了BS-OR-020:

[0236] MS (m/z) : 545 [M+H]<sup>+</sup>, 567 [M+Na]<sup>+</sup>, 583 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间6.471min (98.05%) .

[0237]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.76 (m, 1H, H-苯环), 7.63 (m, 1H, H-苯环), 7.34 (m, 2H, H-苯环), 6.28 (s, 1H, H-17), 6.14 (s, 1H, H-14), 5.65 (s, 1H, H-17), 5.41 (d, 1H, J=8.7Hz, OH-6), 4.37 (d, 1H, J=10.5Hz), 4.08 (dd, 1H, J=10.5Hz, 1.5Hz), 3.97 (s, 1H), 3.77 (m, 1H), 3.33 (d, 1H, J=9.9Hz), 1.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

### [0238] 实施例2:化合物(BS-OR-013)的合成



[0240] 式中2-chloronicotinic acid为2-氯烟酸;DCC为1,3-二环己基二亚胺;DMAP为4-二甲胺基吡啶。

[0241] 将1,3-二环己基二亚胺(31mg,0.15mmol)溶于2mL二氯甲烷,在0℃条件下,加入1-氧化冬凌草甲素(36.5mg,0.1mmol),搅拌0.5小时后,加入2-氯烟酸(23.6mg,0.15mmol)和4-二甲胺基吡啶(10mg,催化量),室温搅拌过夜,旋干溶剂,所得粗产品用硅胶柱(乙酸乙酯:石油醚=1:1)分离纯化,最终得到无色晶体BS-OR-013(35.5mg,收率为70%)。

[0242] MS (m/z) : 502 [M+H]<sup>+</sup>, 524 [M+Na]<sup>+</sup>, 540 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间3.804min (95.14%) .

[0243] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 88.48 (d, 1H, J=4.8Hz, H-吡啶基), 8.17 (m, 1H, H-吡啶基), 7.30-7.36 (m, 1H, H-吡啶基), 6.29 (s, 1H, H-17), 6.22 (s, 1H, H-14), 5.67 (s, 1H, H-17), 5.38 (d, 1H, J=16.0Hz, OH-6), 4.36 (d, 1H, J=4.2Hz), 4.03-4.07 (m, 2H), 3.85 (s, 1H), 3.71-3.78 (m, 1H), 2.05-2.70 (m, 5H), 1.70-1.95 (m, 3H), 1.57-1.67 (m, 2H), 1.19 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19) .

[0244] 按照BS-OR-013的方法,使用上述同样的试剂,将化合物1-氧化冬凌草甲素与3,4-二甲氧基苯甲酸反应,制备了BS-OR-015:

[0245] MS (m/z) : 527 [M+H]<sup>+</sup>, 549 [M+Na]<sup>+</sup>, 565 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间4.750min (96.42%) .

[0246] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 87.45-7.52 (m, 3H, H-苯环), 6.28 (s, 1H, H-17), 6.03 (s, 1H, H-14), 5.62 (s, 1H, H-17), 5.46 (d, 1H, J=15.4Hz, OH-6), 4.36 (m, 1H), 4.15 (s, 1H), 4.03-4.07 (m, 1H), 3.91 (s, 3H, H-CH<sub>3</sub>), 3.88 (s, 3H, H-CH<sub>3</sub>), 3.30 (m, 1H), 1.91-2.04 (m, 3H), 1.71-1.89 (m, 2H), 1.21 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19) .

[0247] 按照BS-OR-013的方法,使用上述同样的试剂,将化合物1-氧化冬凌草甲素与3-吡啶甲酸反应,制备了BS-OR-011:

[0248] MS (m/z) : 468 [M+H]<sup>+</sup>, 490 [M+Na]<sup>+</sup>, 506 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间3.079min (99.92%) .

[0249] 按照BS-OR-013的方法,使用上述同样的试剂,将化合物1-氧化冬凌草甲素与4-吡啶甲酸反应,制备了BS-OR-012:

[0250] MS (m/z) : 468 [M+H]<sup>+</sup>, 490 [M+Na]<sup>+</sup>, 506 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间3.160min (99.99%) .

[0251] 按照BS-OR-013的方法,使用上述同样的试剂,将化合物1-氧化冬凌草甲素与5-甲基-4-异恶唑甲酸反应,制备了BS-OR-014:

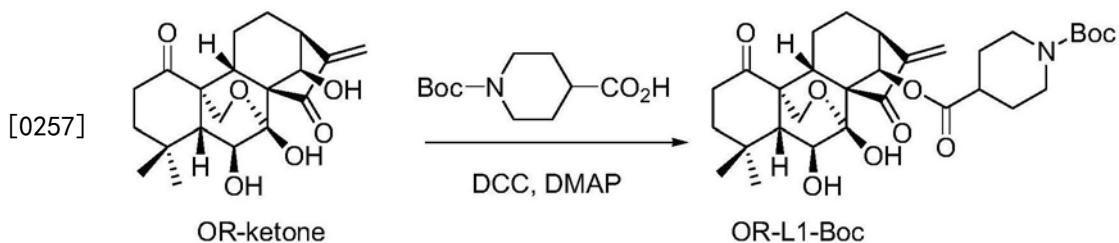
[0252] MS (m/z) : 494 [M+Na]<sup>+</sup>, 510 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间3.765min (98.81%) .

[0253] 按照BS-OR-013的方法,使用上述同样的试剂,将化合物1-氧化冬凌草甲素与环丙甲酸反应,制备了BS-OR-017:

[0254] MS (m/z) : 431 [M+H]<sup>+</sup>, 453 [M+Na]<sup>+</sup>, 469 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间3.535min (98.26%) .

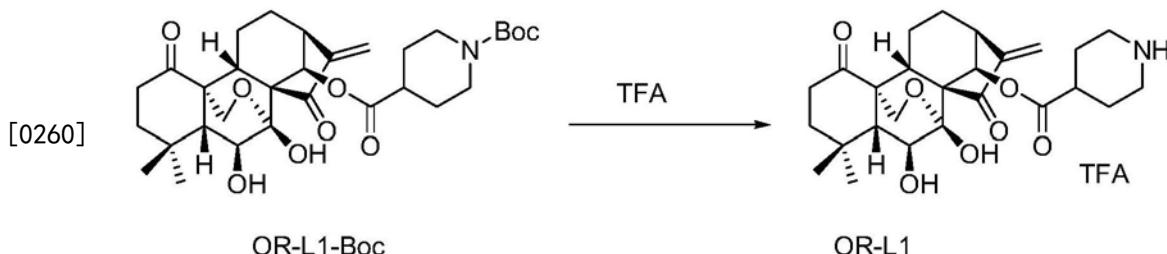
[0255] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 86.26 (s, 1H, H-17), 5.80 (s, 1H, H-14), 5.61 (s, 1H, H-17), 5.42 (d, 1H, J=11.4Hz, OH-6), 4.30 (d, 1H, J=10.5Hz), 4.05 (d, 1H, J=10.5Hz), 3.84 (dd, J=11.4Hz, 8.7Hz, 1H), 1.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19) .

[0256] 实施例3:化合物(BS-OR-043)的合成



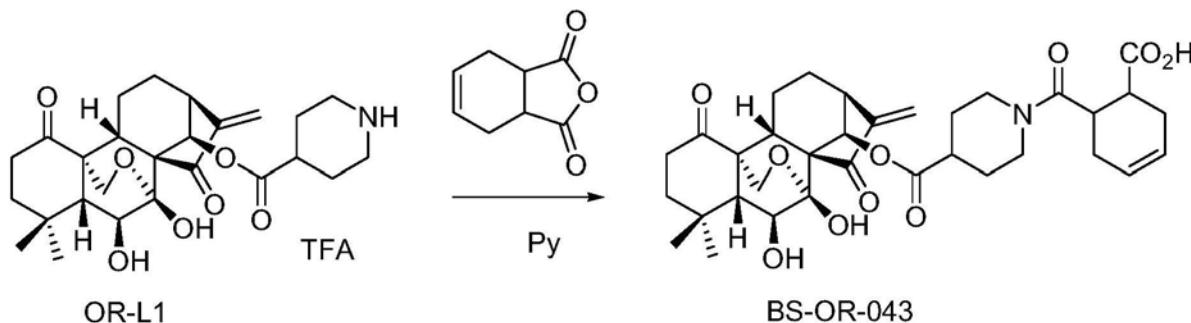
[0258] 将1,3-二环己基碳二亚胺(247mg,1.2mmol)溶于10mL干燥的二氯甲烷中,在0℃条件下加入N-叔丁氧羰基哌啶-4-羧酸(251mg,1.1mmol),搅拌半小时后,加入1-氧代冬凌草甲素(362mg,1mmol)和4-二甲氨基吡啶(10mg,催化量),室温搅拌过夜。所得粗产品用硅胶柱

[0259] 分离纯化,得到1-氧化-14-(4-甲基)苯甲酰氨基冬凌草甲素(435mg,收率79%)。



[0261] 将1-氧代-14-(N-叔丁氧羰基-4-酰氧基哌啶)冬凌草甲素(114mg,0.2mmol)溶于5mL二氯甲烷中,加入三氟乙酸(0.2mL),室温搅拌1小时后,旋干溶剂得到的粗产品(114.2mg)不经纯化直接用于下一步反应。

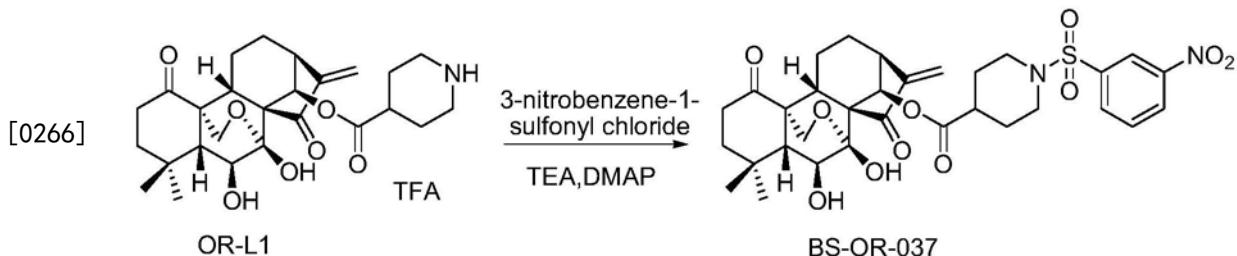
[0262]



[0263] 将1-氧代-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐(114.2mg,0.2mmol)和吡啶(0.1mL)溶于5mL的二氯甲烷中,在0℃条件下加入四氢苯酐(45.6mg,0.3mmol),室温搅拌4小时,薄层色谱法检测原料消失,加入二氯甲烷(30mL)稀释,用5%的盐酸溶液洗涤,再经水洗,饱和食盐水洗涤后,有机相干燥,浓缩,所得粗品用硅胶柱分离纯化,得到白色固体BS-OR-043(56.0mg,收率45.03%)。

[0264] MS (m/z) : 626 [M+H]<sup>+</sup>, 648 [M+Na]<sup>+</sup>, 664 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间 4.199min (99.31%).

## [0265] 实施例4: 化合物(BS-0R-037)的合成



[0267] 式中3-nitrobenzene-1-sulfonyl chloride为3-硝基苯磺酰氯。

[0268] 将1-氧代-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐(114.2mg,0.2mmol),三乙胺(0.3mL)和4-二甲胺基吡啶(10mg,催化量)溶于5mL的二氯甲烷中,在0℃条件下加入3-硝基苯磺酰氯(66.3mg,0.3mmol),室温搅拌3小时后,用二氯甲烷(30mL)稀释,经饱和碳酸氢钠水溶液洗涤,饱和食盐水洗涤,有机相干燥,旋干,所得粗品用硅胶柱分离纯化,得到白色固体BS-OR-037(26.2mg,收率83%)。

[0269] MS (m/z) : 681 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间3.885min (100.00%).

[0270]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 88.586 (m, 1H, H-苯环), 8.46 (d, 1H, J=8.1Hz, H-苯环), 8.07 (d, 1H, J=7.5Hz, H-苯环), 7.76 (t, 1H, H-苯环), 6.24 (s, 1H, H-17), 5.92 (s, 1H, H-14), 5.62 (s, 1H, H-17), 5.36 (d, 1H, J=11.9Hz, OH-6), 4.27 (d, 1H, J=10.0Hz), 3.90-3.95 (m, 2H), 3.71 (dd, 1H, H-6), 3.59-3.70 (m, 2H), 3.00 (d, 1H, J=8.8Hz, H-13), 1.60-1.80 (m, 3H), 1.25-1.40 (m, 2H), 1.17 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 0.98 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0271] 按照BS-OR-037的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧化-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐与3-(三氟甲基)苯磺酰氯反应,制备了BS-OR-041:

[0272] MS (m/z) : 704 [M+Na]<sup>+</sup>, 720 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间3.173min (99.30%).

[0273]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.98 (s, 1H, H-苯环), 7.93 (d, 1H, J = 7.8Hz, H-苯环), 7.87 (d, 1H, J = 7.5Hz, H-苯环), 7.69 (t, 1H, H-苯环), 6.23 (s, 1H, H-17), 5.92 (s, 1H, H-14), 5.60 (s, 1H, H-17), 5.33 (d, 1H, J = 12.0Hz, OH-6), 4.26 (d, 1H, J = 10.6Hz), 3.90 (d, J = 10.2Hz 1H), 3.89 (s, 1H), 3.71 (dd, 1H, H-6), 3.58-3.70 (m, 2H), 3.00 (d, 1H, J = 9.0Hz, H-13), 1.17 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 0.98 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19)。

[0274] 按照BS-OR-037的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧化-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐与4-(三氟甲基)苯磺酰氯反应,制备了BS-OR-042:

[0275] MS (m/z) : 704 [M+Na]<sup>+</sup>, 720 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间3.944min (96.09%).

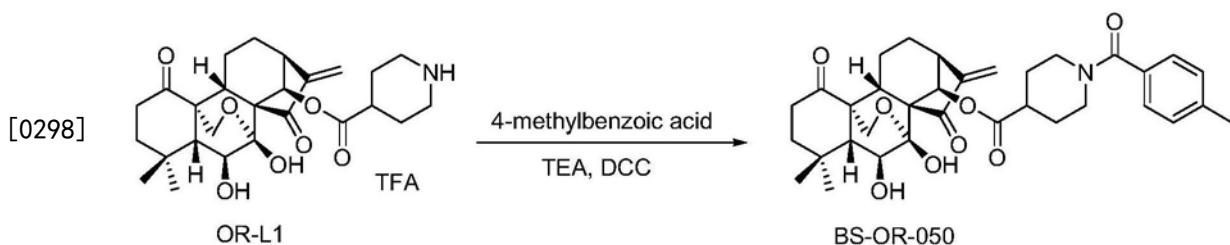
[0276]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 87.78–7.87 (m, 4H, H-苯环), 6.23 (s, 1H, H-17), 5.92 (s, 1H, H-14), 5.60 (s, 1H, H-17), 5.33 (d, 1H, J=11.9Hz, OH-6), 4.28 (d, 1H, J=10.5Hz), 4.00 (d, 1H, J=10.5Hz), 3.89 (s, 1H) 3.70 (dd, 1H, H-6), 3.58–3.70 (m, 2H), 3.00 (d, 1H, J=9.0Hz, H-13), 1.60–1.80 (m, 3H), 1.22–1.35 (m, 2H), 1.17 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 0.98 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19)。

[0277] 按照BS-OR-037的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧化-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐与对甲基苯磺酰氯反应,制备了BS-OR-025:

[0278] MS (m/z) : 628 [M+H]<sup>+</sup>, 650 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间6.005min (92.55%).

[0279] 按照BS-OR-037的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧化-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐与2,4,6-三甲基苯磺酰氯反应,制备了BS-OR-026:

- [0280] MS (m/z) : 678 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间 12.816min (99.65%).
- [0281] 按照 BS-OR-037 的方法, 使用上述同样的试剂, 将 1- 氧代 -14-(4- 酰氨基哌啶 ) 冬凌草甲素三氟乙酸盐与对氯苯磺酰氯反应, 制备了 BS-OR-027:
- [0282] MS (m/z) : 670 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间 10.437min (98.79%).
- [0283] 按照 BS-OR-037 的方法, 使用上述同样的试剂, 将 1- 氧代 -14-(4- 酰氨基哌啶 ) 冬凌草甲素三氟乙酸盐与苯磺酰氯反应, 制备了 BS-OR-032:
- [0284] MS (m/z) : 636 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间 4.285min (99.10%).
- [0285] 按照 BS-OR-037 的方法, 使用上述同样的试剂, 将 1- 氧代 -14-(4- 酰氨基哌啶 ) 冬凌草甲素三氟乙酸盐与邻硝基苯磺酰氯反应, 制备了 BS-OR-034:
- [0286] MS (m/z) : 681 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间 6.485min (98.08%).
- [0287] 按照 BS-OR-037 的方法, 使用上述同样的试剂, 将 1- 氧代 -14-(4- 酰氨基哌啶 ) 冬凌草甲素三氟乙酸盐与对硝基苯磺酰氯反应, 制备了 BS-OR-035:
- [0288] MS (m/z) : 681 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间 7.550min (100.00%).
- [0289] 按照 BS-OR-037 的方法, 使用上述同样的试剂, 将 1- 氧代 -14-(4- 酰氨基哌啶 ) 冬凌草甲素三氟乙酸盐与乙基磺酰氯反应, 制备了 BS-OR-038:
- [0290] MS (m/z) : 588 [M+Na]<sup>+</sup>, 604 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间 3.849min (99.05%).
- [0291] 按照 BS-OR-037 的方法, 使用上述同样的试剂, 将 1- 氧代 -14-(4- 酰氨基哌啶 ) 冬凌草甲素三氟乙酸盐与正丁基磺酰氯反应, 制备了 BS-OR-039:
- [0292] MS (m/z) : 616 [M+Na]<sup>+</sup>, 632 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间 6.844min (100.00%).
- [0293] 按照 BS-OR-037 的方法, 使用上述同样的试剂, 将 1- 氧代 -14-(4- 酰氨基哌啶 ) 冬凌草甲素三氟乙酸盐与甲磺酰氯反应, 制备了 BS-OR-040:
- [0294] MS (m/z) : 574 [M+Na]<sup>+</sup>, 590 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间 3.618min (100.00%).
- [0295] 按照 BS-OR-037 的方法, 使用上述同样的试剂, 将 1- 氧代 -14-(4- 酰氨基哌啶 ) 冬凌草甲素三氟乙酸盐与对氟苯磺酰氯反应, 制备了 BS-OR-044:
- [0296] MS (m/z) : 654 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间 5.203min (91.89%).
- [0297] 实施例 5: 化合物 (BS-OR-050) 的合成



- [0299] 4-methylbenzoic acid 为对甲基苯甲酸。
- [0300] 将对甲基苯甲酸 (41mg, 0.3mmol) 溶于 2mL 二氯甲烷, 在 0℃ 条件下加入 1,3- 二环己基碳二亚胺 (65mg, 0.25mmol), 搅拌 1 小时后, 加入 1- 氧代 -14-(4- 酰氨基哌啶 ) 冬凌草甲素三氟乙酸盐 (114.2mg, 0.2mmol), 加入溶有三乙胺 (0.3mL) 的二氯甲烷 (3mL), 常温搅拌 8 小时后, 所得粗产品经硅胶柱纯化, 得到白色固体 BS-OR-050 (34.1mg, 收率 74%)。
- [0301] MS (m/z) : 592 [M+H]<sup>+</sup>, 614 [M+Na]<sup>+</sup>, 630 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间 4.901min (98.49%).
- [0302] 按照 BS-OR-050 的方法, 使用上述同样的试剂, 将 1- 氧代 -14-(4- 酰氨基哌啶 ) 冬凌草甲素三氟乙酸盐与对氟苯甲酸反应, 制备了 BS-OR-047:

- [0303] MS (m/z) : 596 [M+H]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间8.615min (92.83%).

[0304] 按照BS-OR-050的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐与特戊酸反应,制备了BS-OR-048:

[0305] MS (m/z) : 558 [M+H]<sup>+</sup>, 580 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间3.453min (96.79%).

[0306] 按照BS-OR-050的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐与对甲氨基苯甲酸反应,制备了BS-OR-049:

[0307] MS (m/z) : 608 [M+H]<sup>+</sup>, 620 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间4.044min (97.96%).

[0308] 按照BS-OR-050的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐与环丙甲酸反应,制备了BS-OR-051:

[0309] MS (m/z) : 542 [M+H]<sup>+</sup>, 564 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间3.809min (100.00%).

[0310] 按照BS-OR-050的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐与2-氯异烟酸反应,制备了BS-OR-052:

[0311] MS (m/z) : 635 [M+Na]<sup>+</sup>, 651 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间4.281min (90.77%).

[0312] 按照BS-OR-050的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐与糠酸反应,制备了BS-OR-053:

[0313] MS (m/z) : 568 [M+H]<sup>+</sup>, 590 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间4.065min (98.6386%).

[0314] 按照BS-OR-050的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐与2-噻吩甲酸反应,制备了BS-OR-054:

[0315] MS (m/z) : 623 [M+H]<sup>+</sup>, 645 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间4.361min (97.90%).

[0316] 按照BS-OR-050的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐与对硝基苯甲酸反应,制备了BS-OR-055:

[0317] MS (m/z) : 584 [M+H]<sup>+</sup>, 606 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间4.610min (98.78%).

[0318] 按照BS-OR-050的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐与苯甲酸反应,制备了BS-OR-056:

[0319] MS (m/z) : 578 [M+H]<sup>+</sup>, 600 [M+Na]<sup>+</sup>, 616 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间4.986min (98.68%).

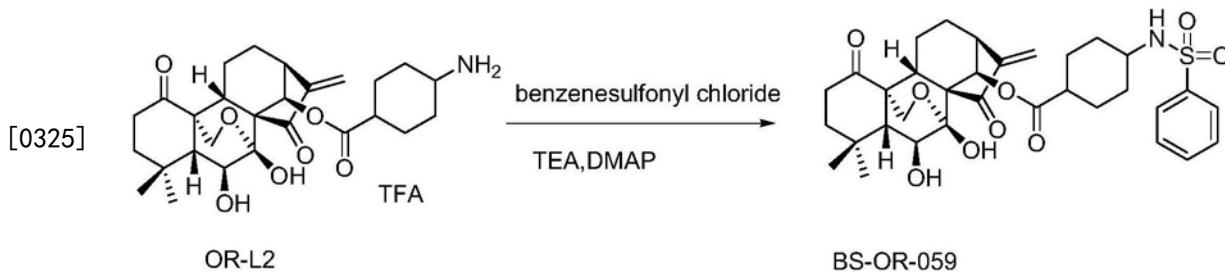
[0320] 按照BS-OR-050的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐与苯丙酸反应,制备了BS-OR-057:

[0321] MS (m/z) : 606 [M+H]<sup>+</sup>, 628 [M+Na]<sup>+</sup>, 644 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间8.003min (98.08%).

[0322] 按照BS-OR-050的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐与D-缬氨酸反应,制备了BS-OR-058:

[0323] MS (m/z) : 556 [M+H]<sup>+</sup>, 578 [M+Na]<sup>+</sup>, 594 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间6.586min (98.80%).

[0324] 实施例6:化合物(BS-OR-059)的合成



[0326] 式中benzenesulfonyl chloride为苯磺酰氯。

[0327] 将1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐(116.8mg,0.2mmol),三乙胺(0.3mL)和4-二甲胺基吡啶(10mg,催化量)溶于5mL的二氯甲烷中,在冰浴条件下加入苯磺酰氯(53mg,0.3mmol),常温搅拌3小时后,用30mL二氯甲烷稀释,用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤再用饱和食盐水洗涤,干燥,旋干,所得粗品用硅胶柱分离纯化得到白色固体BS-OR-059(21.0mg,收率为53%)。

[0328] MS (m/z) : 650 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间4.869min (95.26%) .

[0329] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 87.85–7.87 (m, 2H, H-苯环), 7.50–7.57 (m, 3H, H-苯环), 6.24 (s, 1H, H-17), 5.87 (s, 1H, H-14), 5.61 (s, 1H, H-17), 5.38 (d, 1H, J=15.8Hz, OH-6), 4.68–4.72 (m, 1H), 4.29 (d, 1H, J=13.8Hz), 4.15 (s, 1H), 4.02 (d, 1H, J=13.9Hz), 3.74–3.81 (m, 1H), 3.07 (d, 1H, J=11.8Hz, H-13), 2.18–2.54 (m, 5H), 1.74–1.96 (m, 3H), 1.26–1.35 (m, 2H), 1.17 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 0.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19) .

[0330] 按照BS-OR-059的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与间硝基苯磺酰氯反应,制备了BS-OR-063:

[0331] MS (m/z) : 695 [M+Na]<sup>+</sup>, 711 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间5.356min (100.00%) .

[0332] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 88.71–8.72 (m, 1H, H-基), 8.41–8.44 (m, 1H, H-苯环), 8.20–8.23 (m, 1H, H-苯环), 7.71–7.76 (m, 1H, H-苯环), 6.25 (s, 1H, H-17), 5.93 (s, 1H, H-14), 5.62 (s, 1H, H-17), 5.39–5.41 (m, 1H, OH-6), 4.27–4.31 (m, 2H), 4.03 (d, 1H, J=13.9Hz), 3.80 (t, 1H, J=13.7Hz), 3.32–3.41 (m, 1H), 3.07 (d, 1H, J=4.2Hz, H-13), 2.18–2.54 (m, 5H), 1.68–1.96 (m, 3H), 1.26–1.35 (m, 2H), 1.19 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19) .

[0333] 按照BS-OR-059的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与3-(三氟甲基)苯磺酰氯反应,制备了BS-OR-064:

[0334] MS (m/z) : 718 [M+Na]<sup>+</sup>, 734 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间6.755min (100.00%) .

[0335] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 88.05–8.14 (m, 2H, H-苯环), 7.82–7.84 (m, 1H, H-苯环), 7.64–7.69 (m, 1H, H-苯环), 6.24 (s, 1H, H-17), 5.93 (s, 1H, H-14), 5.61 (s, 1H, H-17), 5.39–5.41 (m, 1H, OH-6), 4.29 (d, 2H, J=14.4Hz), 4.03 (d, 1H, J=12.9Hz), 3.79–3.82 (m, 1H), 3.28–3.37 (m, 1H), 3.06 (d, 1H, J=11.9Hz, H-13), 2.19–2.52 (m, 5H), 1.78–1.96 (m, 3H), 1.20–1.29 (m, 2H), 1.19 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19) .

[0336] 按照BS-OR-059的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与对甲基苯磺酰氯反应,制备了BS-OR-029:

[0337] MS (m/z) : 664 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间6.893min (100.00%) .

[0338] 按照BS-OR-059的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与邻硝基苯磺酰氯反应,制备了BS-OR-061:

[0339] MS (m/z) : 695 [M+Na]<sup>+</sup>, 711 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间4.315min (100.00%) .

[0340] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 88.15 (m, 1H, H-苯环), 7.90 (m, 1H, H-苯环), 7.75 (m, 2H, H-苯环), 6.24 (s, 1H, H-17), 5.86 (s, 1H, H-14), 5.63 (s, 1H, H-17), 5.37 (d, 1H, OH-6), 4.31 (d, 1H, J=10.2Hz), 4.04 (m, 1H), 3.79 (dd, J=12Hz, 6Hz, 1H), 3.51 (m, 1H), 3.11 (d, 1H, J=9.9Hz, H-13), 1.95 (d, J=9.3Hz, 1H), 1.27–1.34 (m, 2H), 1.19 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 0.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19) .

[0341] 按照BS-OR-059的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与丁基磺酰氯反应,制备了BS-OR-062:

[0342] MS (m/z) : 630 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间4.994min (97.54%) .

[0343] 按照BS-OR-059的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与4-(三氟甲基)苯磺酰氯反应,制备了BS-OR-065:

[0344] MS (m/z) : 718 [M+Na]<sup>+</sup>, 734 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间6.942min (98.94%) .

[0345] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 88.01 (d, 1H, J=8.4Hz, H-苯环), 7.79 (d, 1H, J=8.7Hz, H-苯环), 6.24 (s, 1H, H-17), 5.89 (s, 1H, H-14), 5.61 (s, 1H, H-17), 5.39 (d, 1H, J=11.7Hz, OH-6), 4.87 (d, 1H, J=6.6Hz), 4.31 (d, 1H, J=10.5Hz), 4.12 (s, 1H), 4.04 (d, J=10.2Hz, 1H), 3.77 (dd, J=11.7Hz, 8.7Hz, 1H), 3.36 (m, 1H), 3.07 (d, 1H, J=9.0Hz, H-13), 1.96 (d, J=9.3Hz, 1H), 1.19 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19) .

[0346] 按照BS-OR-059的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与4-氟苯磺酰氯反应,制备了BS-OR-066:

[0347] MS (m/z) : 668 [M+Na]<sup>+</sup>, 684 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间4.681min (93.63%) .

[0348] 按照BS-OR-059的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与4-叔丁基苯磺酰氯反应,制备了BS-OR-067:

[0349] MS (m/z) : 706 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间8.732min (97.67%) .

[0350] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 87.78 (d, 1H, J=8.1Hz, H-苯环), 7.61 (d, 1H, J=8.4Hz, H-苯环), 6.24 (s, 1H, H-17), 5.86 (s, 1H, H-14), 5.61 (s, 1H, H-17), 5.37 (d, 1H, OH-6), 4.55 (d, 1H), 4.31 (d, 1H, J=10.8Hz), 4.04 (d, J=10.8Hz, 1H), 3.77 (m, 1H), 3.30 (m, 1H), 3.09 (d, 1H, J=9.3Hz, H-13), 1.96 (d, J=7.8Hz, 1H), 1.19 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19) .

[0351] 按照BS-OR-059的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与苄基磺酰氯反应,制备了BS-OR-070:

[0352] MS (m/z) : 664 [M+Na]<sup>+</sup>, 680 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间5.296min (90.88%) .

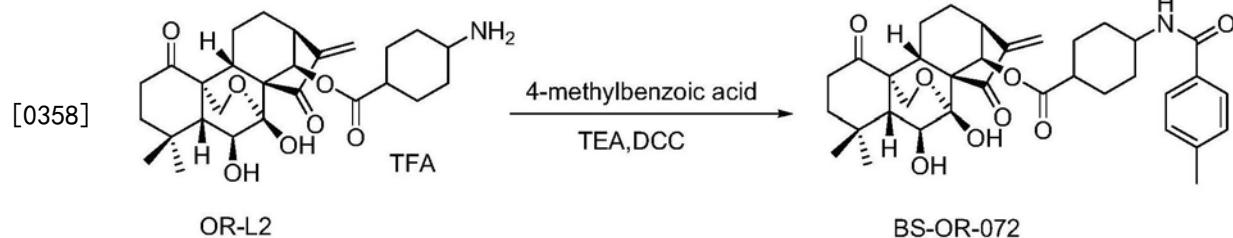
[0353] 按照BS-OR-059的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与对氯苯磺酰氯反应,制备了BS-OR-086:

[0354] MS (m/z) : 684 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间8.923min (93.73%) .

[0355] 按照BS-OR-059的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与对硝基苯磺酰氯反应,制备了BS-OR-087:

[0356] MS (m/z) : 673 [M+H]<sup>+</sup>, 695 [M+Na]<sup>+</sup>, 711 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间4.121min (90.67%) .

[0357] 实施例7:化合物(BS-OR-072)的合成



[0360] 将对甲基苯甲酸(41mg, 0.3mmol)溶于2mL二氯甲烷,在冰浴条件下加入1,3-二环

己基碳二亚胺(65mg, 0.25mmol), 搅拌1小时后, 加入1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐(116.8mg, 0.2mmol), 随后加入溶有三乙胺(0.3mL)的二氯甲烷(3mL), 室温搅拌8小时后, 所得粗产品用硅胶柱分离纯化, 得到白色固体BS-OR-072(40.0mg, 收率为66%)。

[0361] MS (m/z) : 606 [M+H]<sup>+</sup>, 628 [M+Na]<sup>+</sup>, 644 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间6.475min (93.18%).  
[0362] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 87.61–7.64 (m, 2H, H-苯环), 7.26–7.27 (m, 2H, H-苯环), 6.25 (s, 1H, H-17), 6.00–6.02 (m, 1H), 5.84–5.89 (m, 1H, H-14), 5.62 (s, 1H, H-17), 5.35–5.39 (m, 1H, OH-6), 4.27–4.28 (m, 1H), 4.02–4.13 (m, 2H), 3.78–3.79 (m, 1H), 3.07–3.11 (m, 1H, H-13), 2.35 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-苯环), 2.21–2.47 (m, 5H), 1.40–1.72 (m, 1H), 1.26–1.32 (m, 3H), 1.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.07–1.11 (m, 2H), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0363] 按照BS-OR-072的方法, 使用上述同样的试剂, 将1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与对氯苯甲酸反应, 制备了BS-OR-079:

[0364] MS (m/z) : 648 [M+Na]<sup>+</sup>, 664 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间7.276min (93.66%).  
[0365] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 87.66–7.69 (m, 2H, H-苯环), 7.38–7.42 (m, 2H, H-苯环), 6.25 (s, 1H, H-17), 6.00–6.02 (m, 1H), 5.87 (d, 1H, J=19.6Hz, H-14), 5.62 (s, 1H, H-17), 5.39 (d, 1H, J=16.0Hz, OH-6), 4.30 (d, 1H, J=14.0Hz), 4.02–4.10 (m, 2H), 3.73–3.80 (m, 1H), 3.04–3.11 (m, 1H, H-13), 2.21–2.47 (m, 5H), 1.40–1.72 (m, 10H), 1.26–1.32 (m, 3H), 1.19 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.07–1.11 (m, 2H), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0366] 按照BS-OR-072的方法, 使用上述同样的试剂, 将1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与特戊酸反应, 制备了BS-OR-080:

[0367] MS (m/z) : 572 [M+H]<sup>+</sup>, 594 [M+Na]<sup>+</sup>, 610 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间5.584min (94.02%).  
[0368] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 86.26 (s, 1H, H-17), 5.86 (d, 1H, J=25.4Hz, H-14), 5.62 (s, 1H, H-17), 5.32–5.38 (m, 1H, OH-6), 4.26–4.31 (m, 1H), 4.02–4.06 (m, 2H), 3.64–3.85 (m, 2H), 3.08–3.12 (m, 1H), 2.22–2.44 (m, 5H), 1.62–1.72 (m, 10H), 1.29–1.32 (m, 3H), 1.17 (s, 12H, H-CH<sub>3</sub>), 1.07–1.14 (m, 2H), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0369] 按照BS-OR-072的方法, 使用上述同样的试剂, 将1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与2-吡啶甲酸反应, 制备了BS-OR-083:

[0370] MS (m/z) : 593 [M+H]<sup>+</sup>, 615 [M+Na]<sup>+</sup>, 631 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间5.072min (98.23%).  
[0371] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 88.58–8.60 (m, 1H, H-吡啶基), 8.16–8.19 (m, 1H, H-吡啶基), 7.83–7.87 (m, 1H, H-吡啶基), 7.41–7.44 (m, 1H, H-吡啶基), 6.26 (s, 1H, H-17), 5.87 (d, 1H, J=12.44Hz, H-14), 5.62 (s, 1H, H-17), 5.37–5.43 (m, 1H, OH-6), 4.23–4.33 (m, 2H), 4.07–4.11 (m, 1H), 4.02–4.07 (m, 1H), 3.76–3.82 (m, 1H), 3.14 (d, 1H, J=13.0Hz, H-13), 2.35–2.47 (m, 5H), 1.62–1.72 (m, 10H), 1.29–1.32 (m, 3H), 1.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.07–1.14 (m, 2H), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0372] 按照BS-OR-072的方法, 使用上述同样的试剂, 将1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与对甲氧基苯甲酸反应, 制备了BS-OR-071:

[0373] MS (m/z) : 622 [M+H]<sup>+</sup>, 644 [M+Na]<sup>+</sup>, 660 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间5.520min (90.14%).  
[0374] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 87.71 (d, 1H, J=9.0Hz, H-苯环), 6.94 (d, 1H, J=8.7Hz, H-苯环), 6.25 (s, 1H, H-17), 5.90 (d, 1H, J=12.44Hz, H-14), 5.62 (s, 1H, H-17), 5.39 (d, 1H, J=12.44Hz, H-14), 5.37 (d, 1H, J=13.0Hz, H-13), 2.35–2.47 (m, 5H), 1.62–1.72 (m, 10H), 1.29–1.32 (m, 3H), 1.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.07–1.14 (m, 2H), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

=11.1Hz,OH-6),4.32(d,J=10.5Hz,1H),4.05(d,J=9.6Hz,1H),3.85(s,3H),3.13(d,1H,H-13),1.29-1.32(m,2H),1.20(s,3H,CH<sub>3</sub>-18),1.00(s,3H,CH<sub>3</sub>-19).

[0375] 按照BS-OR-072的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与3-甲基苯甲酸反应,制备了BS-OR-073:

[0376] MS (m/z) : 606 [M+H]<sup>+</sup>, 628 [M+Na]<sup>+</sup>, 644 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC:保留时间6.575min (94.92%).

[0377] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 87.55 (m, 2H, H-苯环), 7.30 (m, 2H, H-苯环), 6.25 (s, 1H, H-17), 5.90 (s, 1H, H-14), 5.62 (s, 1H, H-17), 5.40 (d, 1H, J=11.7Hz, OH-6), 4.32 (d, J=10.5Hz, 1H), 4.05 (d, J=10.2Hz, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.13 (d, 1H, H-13), 2.47 (s, 3H), 1.29-1.32 (m, 2H), 1.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0378] 按照BS-OR-072的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与3-硝基苯甲酸反应,制备了BS-OR-074:

[0379] MS (m/z) : 637 [M+H]<sup>+</sup>, 659 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC:保留时间5.965min (100.00%).

[0380] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 88.58 (s, 1H, H-苯环), 8.37 (d, 1H, J=7.2Hz, H-苯环), 8.12 (d, 1H, H-苯环), 7.68 (t, 1H, J=7.8Hz, H-苯环), 6.25 (s, 1H, H-17), 5.92 (s, 1H, H-14), 5.63 (s, 1H, H-17), 5.42 (d, 1H, J=11.1Hz, OH-6), 4.33 (d, J=10.5Hz, 1H), 4.05 (d, J=10.2Hz, 1H), 3.09 (d, 1H, H-13), 1.25 (m, 2H), 1.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0381] 按照BS-OR-072的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与2-噻吩甲酸反应,制备了BS-OR-075:

[0382] MS (m/z) : 598 [M+H]<sup>+</sup>, 620 [M+Na]<sup>+</sup>, 636 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC:保留时间4.937min (95.67%).

[0383] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 87.47 (d, 2H, J=7.8Hz, H-噻吩), 7.09 (t, 1H, H-噻吩), 6.26 (s, 1H, H-17), 5.90 (s, 1H, H-14), 5.62 (s, 1H, H-17), 5.40 (d, 1H, J=11.7Hz, OH-6), 4.30 (d, J=10.2Hz, 1H), 4.06 (d, J=10.5Hz, 1H), 3.12 (d, 1H, J=9.6Hz, H-13), 1.26 (m, 2H), 1.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0384] 按照BS-OR-072的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与苯甲酸反应,制备了BS-OR-076:

[0385] MS (m/z) : 592 [M+H]<sup>+</sup>, 614 [M+Na]<sup>+</sup>, 630 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC:保留时间4.923min (97.14%).

[0386] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 87.74 (d, 2H, J=6.6Hz, H-苯环), 7.46 (m, 3H, H-苯环), 6.25 (s, 1H, H-17), 5.90 (s, 1H, H-14), 5.62 (s, 1H, H-17), 5.40 (d, 1H, J=11.4Hz, OH-6), 4.29 (d, 1H), 4.06 (d, J=10.2Hz, 1H), 3.09 (d, 1H, H-13), 1.26 (m, 2H), 1.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0387] 按照BS-OR-072的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与对氟苯甲酸反应,制备了BS-OR-077:

[0388] MS (m/z) : 610 [M+H]<sup>+</sup>, 632 [M+Na]<sup>+</sup>, 648 [M+K]<sup>+</sup>; HPLC:保留时间5.824min (97.27%).

[0389] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 87.77 (d, 2H, J=8.1Hz, H-苯环), 7.11 (d, 2H, J=8.1Hz, H-苯环), 6.25 (s, 1H, H-17), 5.90 (s, 1H, H-14), 5.62 (s, 1H, H-17), 5.36 (d, 1H, OH-6), 4.29 (d, 1H), 4.06 (d, J=10.8Hz, 1H), 3.08 (d, 1H, H-13), 1.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0390] 按照BS-OR-072的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氧基环己基胺)冬凌草甲素三氟乙酸盐与邻氯苯甲酸反应,制备了BS-OR-078:

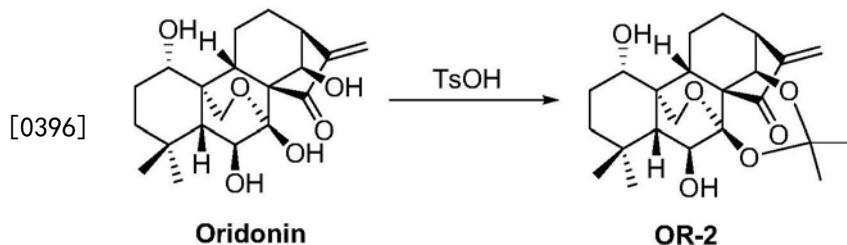
[0391] MS (m/z) : 626 [M+H]<sup>+</sup>, 648 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC:保留时间5.344min (95.34%).

[0392]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.66 (m, 1H, H-苯环), 7.41 (m, 3H, H-苯环), 6.25 (s, 1H, H-17), 5.88 (s, 1H, H-14), 5.61 (s, 1H, H-17), 5.40 (d, 1H, OH-6), 4.31 (d,  $J=10.2\text{Hz}$ , 1H), 4.05 (d,  $J=10.8\text{Hz}$ , 1H), 3.08 (d, 1H, H-13), 1.20 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -18), 1.00 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -19).

[0393] 按照BS-OR-072的方法,使用上述同样的试剂,将1-氧代-14-(4-酰氨基环己基)冬凌草甲素三氟乙酸盐与2-呋喃甲酸反应,制备了BS-OR-088:

[0394] MS ( $m/z$ ) : 582 [ $\text{M}+\text{H}]^+$ , 604 [ $\text{M}+\text{Na}]^+$ ; HPLC:保留时间6.675min (95.92%).

[0395] 实施例8:化合物(OR-090)的合成

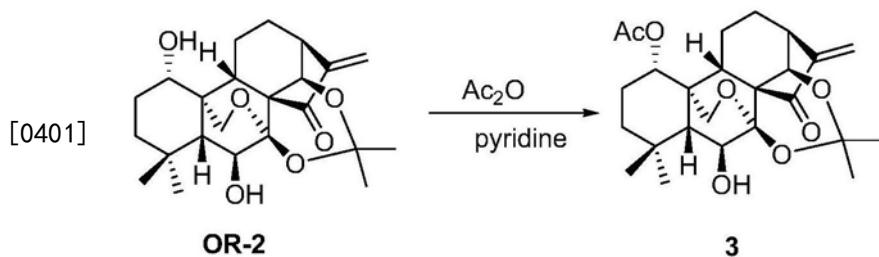


[0397] 式中,TsOH为苯磺酸。

[0398] 将冬凌草甲素(3g, 8.23mmol)溶于90mL丙酮,加入催化量的苯磺酸(90mg, 0.52mmol),25℃搅拌过夜。TLC检测反应(乙酸乙酯:石油醚=1:1)结束后,加入饱和碳酸氢钠淬灭,经二氯甲烷萃取(40mL\*3),合并有机相,饱和食盐水洗,干燥,浓缩,所得粗产物用硅胶柱分离纯化(石油醚:乙酸乙酯=1:1),得到白色固体化合物OR-2(1.05g,收率31.5%)。

[0399] MS ( $m/z$ ) : 427 [ $\text{M}+\text{Na}]^+$ .

[0400]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  86.15 (s, 1H, H-17), 5.78 (d, 1H,  $J=15.76\text{Hz}$ , H-14), 5.55 (s, 1H, H-17), 4.80 (s, 1H, OH-6), 4.25 (d, 1H,  $J=13.12\text{Hz}$ ), 4.03-4.07 (m, 1H), 3.86-3.93 (m, 1H), 3.45-3.50 (m, 1H), 3.07 (d, 1H,  $J=12.6\text{Hz}$ , H-13), 2.50-2.55 (m, 1H), 1.88-2.00 (m, 1H), 1.25-1.77 (m, 9H), 1.33 (s, 6H), 1.17 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -18), 1.15 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -19).

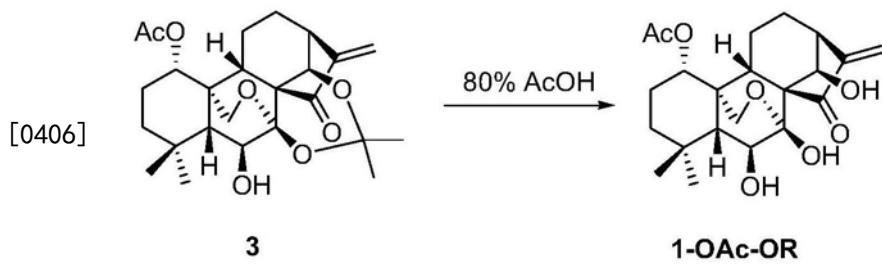


[0402] 式中Ac<sub>2</sub>O为醋酐。

[0403] 将化合物OR-2(1.05g, 2.6mmol)溶于70mL的无水吡啶,慢慢滴入醋酐(3.5g, 3.9mmol),室温搅拌过夜。旋干除去溶剂,所得粗产品用硅胶柱分离纯化(石油醚:乙酸乙酯=3:1),得到白色固体化合物3(1.1g,收率95%)。

[0404] MS ( $m/z$ ) : 447 [ $\text{M}+\text{H}]^+$ , 469 [ $\text{M}+\text{Na}]^+$ .

[0405]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  86.18 (s, 1H, H-17), .81 (d, 1H,  $J=15.8\text{Hz}$ , H-14), 5.57 (s, 1H, H-17), 4.77 (s, 1H, OH-6), 4.59-4.65 (m, 1H), 4.15-4.25 (m, 2H), 3.90-3.97 (m, 1H), 3.07 (d, 1H,  $J=12.3\text{Hz}$ , H-13), 2.45-2.53 (m, 1H), 1.99 (s, 3H), 1.25-1.83 (m, 9H), 1.33 (s, 6H), 1.17 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -18), 1.15 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -19).

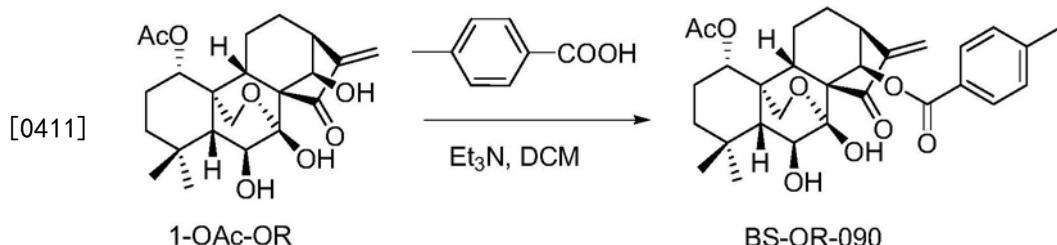


[0407] 式中1-OAc-OR为1-乙酰基冬凌草甲素。

[0408] 将化合物3(1.1g, 2.46mmol)溶于33mL的80%醋酸溶液中, 40℃条件反应12小时。反应结束后, 反应液浓缩, 得到的粗产品经硅胶柱分离纯化(二氯甲烷:甲醇=20:1), 得到白色固体1-乙酰基冬凌草甲素(780mg, 收率78%)。

[0409] MS (m/z) : 429 [M+Na]<sup>+</sup>.

[0410] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 6.46 (m, 1H), 6.20 (s, 1H, H-17), 5.58 (s, 1H, H-17), 4.87 (s, 1H, OH-6), 4.58–4.62 (m, 1H), 4.18–4.26 (m, 2H), 3.75–3.82 (m, 2H), 3.50 (s, 1H), 3.08 (d, 1H, J=12.7Hz, H-13), 2.32–2.45 (m, 1H), 2.00 (s, 3H), 1.25–1.83 (m, 9H), 1.33 (s, 6H), 1.16 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.15 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).



[0412] 将对甲基苯甲酸(30.6mg, 0.225mmol)溶于干燥的二氯甲烷(5mL), 加入草酰氯(38mg, 0.30mmol), 常温搅拌1.5小时后, 旋干得到对甲基苯甲酰氯; 将1-乙酰基冬凌草甲素(61.0mg, 0.15mmol), 三乙胺(45.5mg, 0.45mmol)溶于二氯甲烷(5mL), 加入前述得到的对甲基苯甲酰氯, 室温搅拌2小时后, 加入二氯甲烷(30mL)和饱和碳酸氢钠溶液(30mL); 有机相经5%的盐酸洗涤, 饱和食盐水洗涤, 干燥, 旋干, 得到的粗产物经硅胶柱分离纯化(石油醚:乙酸乙酯=3:1)得到白色固体BS-OR-090(29mg, 收率70%)。

[0413] MS (m/z) : 525 [M+H]<sup>+</sup>, 547 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC:保留时间7.170min (97.37%).

[0414] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.78–7.81 (m, 2H, H-苯环), 7.22–7.26 (m, 2H, H-苯环), 6.14–6.19 (m, 2H), 6.04 (s, 1H), 5.50 (s, 1H, H-17), 4.63–4.67 (s, 1H, OH-6), 4.33 (d, 1H, J=12Hz, H-13), 4.20–4.22 (m, 2H), 3.78–3.83 (m, 1H), 3.31 (d, 1H, J=12Hz, H-13), 2.50–2.70 (m, 1H), 2.35 (s, 3H, H-苯环甲基), 2.02 (s, 3H), 1.26–1.80 (m, 9H), 1.15 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.13 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0415] 按照BS-OR-090的方法, 使用上述同样的试剂, 将1-乙酰基冬凌草甲素与对甲氧基苯甲酸反应, 制备了BS-OR-091:

[0416] MS (m/z) : 541 [M+H]<sup>+</sup>, 563 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC:保留时间4.079min (93.44%).

[0417] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.85–7.88 (m, 2H, H-苯环), 6.87–6.90 (m, 2H, H-苯环), 6.16–6.19 (m, 2H), 6.03 (s, 1H), 5.50 (s, 1H, H-17), 4.63–4.69 (s, 1H, OH-6), 4.32 (d, 1H, J=12Hz, H-13), 4.20–4.22 (m, 2H), 3.84 (s, 3H, H-甲基), 3.78–3.83 (m, 1H), 3. (d, 1H, J=12Hz, -13), 2.50–2.70 (m, 1H), 2.35 (s, 3H, H-苯环甲基), 2.02 (s, 3H), 1.25–1.80 (m, 9H),

1.15 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.13 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0418] 按照BS-OR-090的方法,使用上述同样的试剂,将1-乙酰基冬凌草甲素与3-硝基基苯甲酸反应,制备了BS-OR-092:

[0419] MS (m/z) : 556 [M+H]<sup>+</sup>, 578 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC:保留时间3.973min (94.52%).

[0420] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 88.82-8.83 (m, 1H, H-苯环), 8.37-8.42 (m, 1H, H-苯环), 8.25-8.28 (m, 1H, H-苯环), 7.57-7.62 (m, 1H, H-苯环), 6.24 (s, 1H, H-17), 6.17 (s, 1H), 6.07 (d, 1H, J=16Hz), 5.58 (s, 1H, H-17), 4.63-4.69 (m, 1H, OH-6), 4.37 (d, 1H, J=16Hz, H-13), 4.22 (d, 1H, J=16Hz), 3.70-3.76 (m, 1H), 3.62 (s, 1H), 3.27 (d, 1H, J=12Hz, H-13), 2.50-2.70 (m, 1H), 2.02 (s, 3H), 1.25-1.80 (m, 9H), 1.14 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0421] 按照BS-OR-090的方法,使用上述同样的试剂,将1-乙酰基冬凌草甲素与对氯苯甲酸反应,制备了BS-OR-093:

[0422] MS (m/z) : 567 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC:保留时间6.305min (93.27%).

[0423] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 87.85-7.88 (m, 2H, H-苯环), 7.36-7.39 (m, 2H, H-苯环), 6.21 (s, 1H, H-17), 6.15 (s, 1H), 6.09 (d, 1H, J=12Hz), 5.53 (s, 1H, H-17), 4.63-4.68 (m, 1H, OH-6), 4.33 (d, 1H, J=12Hz, H-13), 4.20 (d, 1H, J=16Hz), 3.87 (s, 1H), 3.74-3.80 (m, 1H), 3.27 (d, 1H, J=16Hz, H-13), 2.50-2.70 (m, 1H), 2.02 (s, 3H), 1.26-1.80 (m, 9H), 1.14 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.13 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

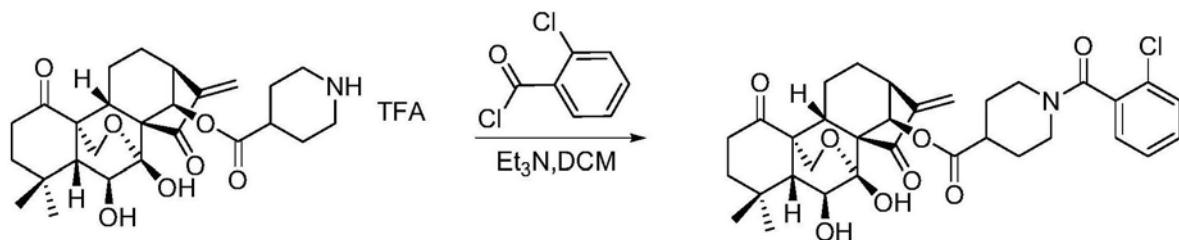
[0424] 按照BS-OR-090的方法,使用上述同样的试剂,将1-乙酰基冬凌草甲素与苯丙烯酸反应,制备了BS-OR-094:

[0425] MS (m/z) : 559 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC:保留时间4.785min (99.80%).

[0426] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 87.66 (d, 1H, J=20Hz, 烯氢), 7.37-7.51 (m, 5H, H-苯环), 6.35 (d, 1H, J=20Hz, 烯氢), 6.15-6.19 (m, 2H), 5.93 (s, 1H), 5.52 (s, 1H, H-17), 4.63-4.67 (m, 1H, OH-6), 4.19-4.33 (m, 3H), 3.79-3.85 (m, 1H), 3.27 (d, 1H, J=12Hz, H-13), 2.50-2.70 (m, 1H), 2.02 (s, 3H), 1.26-1.80 (m, 9H), 1.14 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-18), 1.13 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-19).

[0427] 实施例9:化合物(BS-OR-095)的合成

[0428]



OR-L1

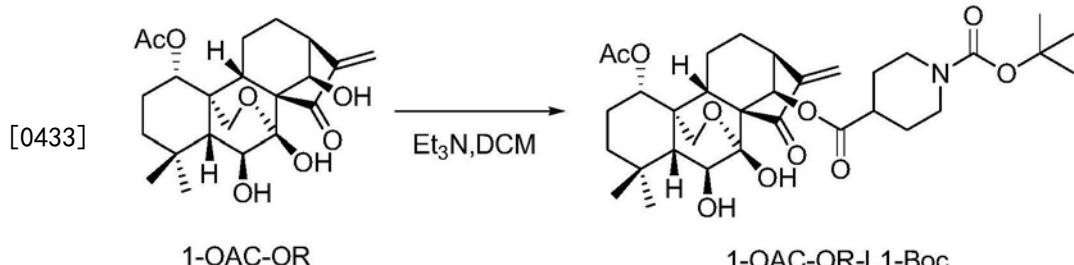
BS-OR-095

[0429] 向1-氧代-14-(4-酰氨基哌啶)冬凌草甲素三氟乙酸盐(0.1mmol)中加入邻氯苯甲酰氯(26.3mg, 0.15mmol), 三乙胺(30.3mg, 0.3mmol), 反应室温搅拌2小时。反应结束后, 向反应液中加入二氯甲烷(30mL), 饱和碳酸氢钠(30mL), 反应液分层分离得到有机相, 经饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 旋干后得到的粗产物经硅胶柱(石油醚:乙酸乙酯=2:1~1:1)分离纯化后得到白色固体化合物BS-OR-095(30mg, 收率49%)。

[0430] MS (m/z) : 612.3 [M+H]<sup>+</sup>, 634.3 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC:保留时间5.132min (93.37%).

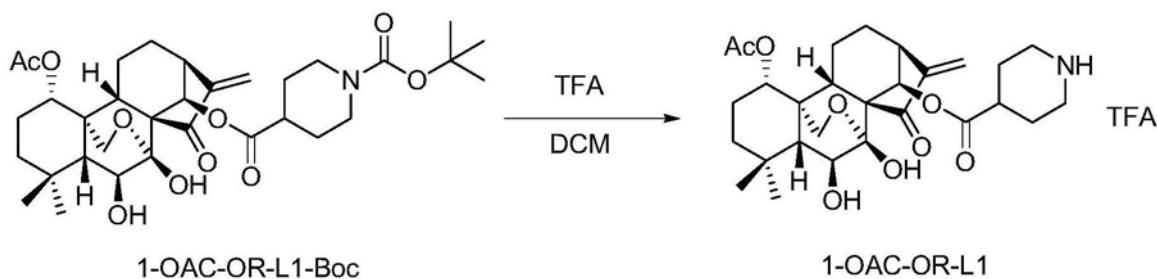
[0431]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.38–7.19 (m, 4H), 6.266.24 (m, 1H), 5.93 (s, 1H, H-14), 5.6–5.61 (d, 1H), 5.36–5.32 (d, 1H,  $J=12.0\text{Hz}$ , OH-6), 4.59–4.47 (m, 1H), 4.31–4.28 (d, 1H,  $J=10.5\text{Hz}$ , H-20), 4.03–4.00 (d, 1H,  $J=10.5\text{Hz}$ , H-20), 3.93–3.91 (m, 1H), 3.78–3.70 (m, 1H), 3.44–3.33 (m, 1H), 3.09–2.87 (m, 3H), 1.18 (s, 3H), 0.98 (s, 3H).

[0432] 实施例10: 化合物(BS-OR-099)的合成



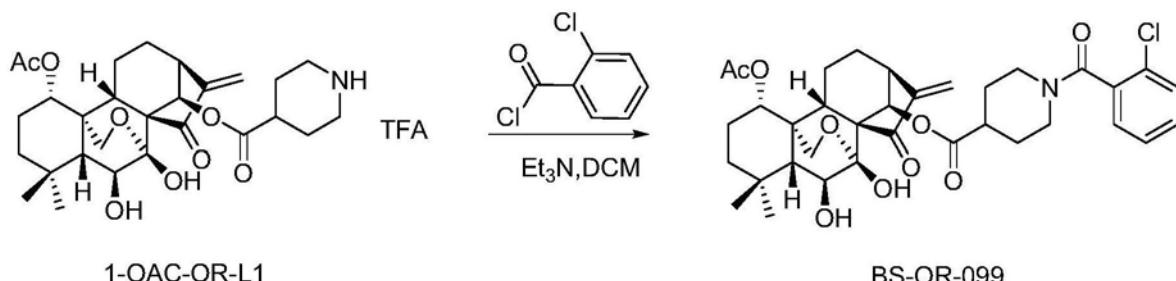
[0434] 向干燥的二氯甲烷(10mL)中加入N-Boc-4哌啶甲酸(183.3mg, 0.74mmol), 随后加入草酰氯(140mg, 1.1mmol), 反应液室温搅拌1.5小时后移除溶剂, 接着加入溶有1-乙酰基冬凌草甲素(200mg, 0.49mmol), 三乙胺(222mg, 2.2mmol)的二氯甲烷(5mL), 反应室温搅拌2小时。反应结束后, 向反应液中加入二氯甲烷(30mL), 饱和碳酸氢钠(30mL), 反应液分层分离得到有机相, 经饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 旋干后得到的粗产物经硅胶柱(石油醚:乙酸乙酯=3:1)分离纯化后得到白色固体化合物1-乙酰基-14-(N-Boc-4-哌啶酰氧基)冬凌草甲素(230mg, 收率76%)。

[0435]



[0436] 向二氯甲烷(3mL)中加入1-乙酰基-14-(N-Boc-4-哌啶酰氧基)冬凌草甲素(92mg, 0.15mmol), 然后逐滴加入三氟乙酸(0.3mL), 反应液室温搅拌1小时。反应结束后旋干溶剂, 得到的粗产物不经纯化直接用于下一步反应。

[0437]



[0438] 向二氯甲烷(5mL)中加入上步反应得到的粗产物(0.15mmol), 随后加入三乙胺(222mg, 2.2mmol), 2-氯苯甲酰氯(40mg, 0.225mmol), 反应液室温搅拌2小时。反应结束后, 向反应液中加入二氯甲烷(30mL), 饱和碳酸氢钠(30mL), 反应液分层分离得到有机相, 经饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 旋干后得到的粗产物经硅胶柱(石油醚:乙酸乙酯=3:1)分

离纯化后得到白色固体化合物BS-OR-099 (28mg, 收率28.5%)。

[0439] MS (m/z) : 656.3 [M+H]<sup>+</sup>, 678.3 [M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: 保留时间6.253min (90.49%) .

[0440] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.38–7.23 (m, 1H), 6.16–6.11 (m, 2H), 5.86 (s, 1H, H-14), 5.53–5.49 (d, 1H, J=10.2Hz), 4.64–4.56 (m, 2H), 4.30–4.26 (d, 1H, J=11.1Hz, H-20), 4.20–4.16 (m, 1H), 4.03–4.073.99 (m, 1H), 3.80–3.73 (m, 1H), 3.45–3.33 (m, 1H), 2.60–2.45 (m, 2H), 1.99 (s, 3H), 1.12 (m, 6H) .

[0441] 实施例11:本发明的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物抗白血病的活性测定

[0442] (1) 实验材料

[0443] 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。

[0444] 试剂:冬凌草甲素(OR) 标准品购自西安昊轩生物有限公司,本发明的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物。

[0445] 主要仪器:细胞培养箱(型号:Thermo Scientific 3111),酶标仪(型号:Bio-Rad iMark)。

[0446] (2) 实验方法

[0447] 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RPMI-1640细胞培养液。第二天加入不同浓度的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物,混匀后,置于二氧化碳(5%CO<sub>2</sub>)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<sub>50</sub>值,μg/mL)。

[0448] (3) 实验结果

[0449] 实验结果见表1。

[0450] 表1显示本发明的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物能有效的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。与冬凌草甲素本身比较,本发明的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物具有明显的抗细胞株活性,其中化合物BS-OR-090,BS-OR-093尤为突出,抗K562/adr、Kasumi-1和Jurkat细胞株活性均提高3至4倍,而在抗NB4和H9细胞株上活性更是提高至15倍及22倍;此外,BS-OR-004和BS-OR-005衍生物抗Kasumi-1细胞株活性提高3倍以上;BS-OR-005和BS-OR-010在抗Jurkat细胞株上活性也都提高近4倍左右。

[0451] 表1:1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物对白血病细胞生长抑制浓度测定(72小时, IC<sub>50</sub> (μg/mL) 值和IC<sub>90</sub> (μg/mL) 值)。

[0452]

	K562/ADR	Kasumi-1	NB4	Jurkat	H9
--	----------	----------	-----	--------	----

[0453]

化合物	IC <sub>50</sub>	IC <sub>90</sub>								
OR	1.32	3.46	1.32	3.72	0.78	2.4	1.89	3.95	1.36	3.57
BS-OR-001	0.6	1.73	0.72	1.86	0.14	0.47	0.68	2.63	0.45	0.95
BS-OR-003	0.71	2.07	0.72	2.25	0.22	0.81	0.81	2.72	0.83	1.82
BS-OR-004	0.41	1.72	0.41	1.68	0.13	0.76	0.62	2.7	0.34	0.83
BS-OR-005	0.4	1.44	0.43	1.05	0.07	0.49	0.44	2.88	0.38	0.92
BS-OR-007	0.47	1.86	0.71	1.76	0.08	0.47	0.71	4.45	0.41	0.92
BS-OR-008	0.52	2.33	0.73	1.84	0.29	0.92	0.73	2.6	0.76	1.79
BS-OR-010	0.44	1.98	0.57	1.76	0.15	0.95	0.48	6.06	0.38	0.96
BS-OR-011	0.75	2.35	1.03	1.94	0.27	0.9	0.87	5.24	0.56	1.23
BS-OR-012	0.75	3.2	1.15	2.39	0.32	1.3	0.99	5.77	0.75	1.99
BS-OR-015	0.51	1.97	0.51	1.15	0.11	0.43	0.69	2.31	0.45	1.82
BS-OR-017	0.52	1.9	0.69	1.7	0.14	0.82	0.92	5.63	0.53	0.98
BS-OR-019	0.43	1.74	0.58	1.55	1.02	3.66	0.58	2.48	2.69	5.41
BS-OR-020	0.73	2.31	0.76	2.85	0.27	1.34	0.88	4.31	0.89	1.84
BS-OR-032	1.09	2.97	1.5	2.92	4.09	9.77	0.93	6.15	6.71	12.73
BS-OR-034	1.52	4.77	1.58	3.46	0.5	1.94	1.32	5.36	0.78	1.73
BS-OR-037	1.32	3.6	1.41	3.19	0.35	1.66	1.16	4.4	1.64	3.46
BS-OR-038	1.43	3.92	1.1	3.95	0.44	2.63	1.36	5.91	1.42	3.01
BS-OR-083	0.58	1.94	1.09	2.59	0.31	0.99	0.89	4.13	0.56	1.54
BS-OR-090	0.36	1.48	0.37	1.3	0.05	0.94	0.4	2.62	0.06	0.37
BS-OR-091	0.45	1.72	0.52	1.22	0.13	0.73	0.55	2.31	0.14	0.46
BS-OR-093	0.37	1.57	0.41	1.31	0.05	0.47	0.44	3.03	0.06	0.33
BS-OR-094	0.7	2.17	0.72	1.72	0.1	0.49	0.65	2.68	0.19	0.49

[0454] 实施例12:本发明1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物抗人多发性骨髓瘤细胞活性测定

[0455] (1) 实验材料

[0456] 骨髓瘤细胞株:RPMI 8226(多发性骨髓瘤),购自上海复祥生物科技有限公司。

[0457] 试剂:同实施例11

[0458] 主要仪器:Thermo Scientific 3111细胞培养箱,Bio-Rad iMark酶标仪。

[0459] (2) 实验方法

[0460] 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RPMI-1640细胞培养液。第二天加入不同浓度的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物,混匀后,置于二氧化碳(5%CO<sub>2</sub>)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<sub>50</sub>值,μg/mL)。

[0461] (3) 实验结果

[0462] 实验结果见表2。

[0463] 表2显示本发明的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物能诱导人骨髓瘤细胞死亡和抑制这些肿瘤细胞生长。与冬凌草甲素本身相比,其中本发明1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物BS-OR-005,BS-OR-010,BS-OR-090,BS-OR-093在抗RPMI 8226细胞活性上提高9倍以上。

[0464] 实施例13:本发明1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物抗人实体瘤作用测定

[0465] (1) 实验材料

[0466] 人实体瘤细胞株:

[0467] 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)、MG-63(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)、Becap-37(人乳腺癌细胞)、HeLa(人宫颈癌细胞)、Hep G2(人肝癌细胞)均受赠于浙江大学肿瘤研究所。

[0468] 试剂:同实施例11

[0469] 主要仪器:Thermo Scientific 3111细胞培养箱,Bio-Rad iMark酶标仪。

[0470] (2) 实验方法

[0471] 取生长良好的人实体瘤细胞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DMEM高糖细胞培养液。置于二氧化碳(5%CO<sub>2</sub>)细胞培养箱37℃培养24小时,然后,加入不同浓度的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物,混匀后,继续置二氧化碳(5%CO<sub>2</sub>)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<sub>50</sub>值)。

[0472] (3) 实验结果

[0473] 实验结果见表2。

[0474] 表2显示本发明的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物具有明显的抗人实体瘤的活性,诱导人实体瘤细胞死亡或抑制这些肿瘤细胞生长。与冬凌草甲素本身相比,本发明的1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物BS-OR-090和BS-OR-091抗MGC-803及Hep-2活性分别提高近10倍及5倍;BS-OR-004、BS-OR-005、BS-OR-019和BS-OR-093抗CaEs-17活性提高3倍以上;BS-OR-004和BS-OR-090抗CNE活性提高近6倍;此外,BS-OR-090和BS-OR-093抗SK-OV-3活性提高7倍以上;BS-OR-004、BS-OR-005和BS-OR-090在抗PANC-1和Hep G2细胞株上活性均提高近7至8倍;BS-OR-004及BS-OR-005抗Becap-37和RKO活性也均提高7倍以上;BS-OR-004、BS-OR-005、BS-OR-019和BS-OR-090抗MG-63活性提高5倍以上;BS-OR-090抗HeLa活性提高5倍以上;BS-OR-005和BS-OR-090抗PC-3活性也都提高5倍以上。

[0475] 表2:1-氧代/酰化-14-酰化的冬凌草甲素衍生物对人实体瘤细胞生长抑制浓度测定(72小时,IC<sub>50</sub>(μg/mL)值和IC<sub>90</sub>(μg/mL)值)。

	RPMI 8226		A549		PANC-1	
化合物	IC <sub>50</sub>	IC <sub>90</sub>	IC <sub>50</sub>	IC <sub>90</sub>	IC <sub>50</sub>	IC <sub>90</sub>
OR	2.73	5.68	13.7	>16	9.1	16
BS-OR-001	0.41	1.89	2.6	6.08	1.79	6.42
BS-OR-003	0.46	1.79	2.82	5.64	2.34	8.51
BS-OR-004	0.31	1.77	1.71	4.9	1.31	8.24
BS-OR-005	0.26	0.96	1.71	4.31	1.26	4.91
BS-OR-007	0.37	2.59	2.13	5.34	1.63	8.55
BS-OR-008	0.37	1.72	2.75	6.86	1.73	11.36
BS-OR-010	0.28	1.78	2.83	7.29	1.86	10.69
BS-OR-011	0.9	1.93	5.58	9.47	2.99	7.92
BS-OR-012	0.92	3.48	5.55	10.69	4.11	10.18
BS-OR-015	0.3	1.85	2.38	5.33	1.88	9.81
BS-OR-017	0.5	1.88	2.93	6.29	1.96	5.76
BS-OR-019	0.34	1.7	1.66	4.43	1.53	9.62
BS-OR-020	0.59	3.84	2.76	5.78	2.32	6.09
BS-OR-032	1.34	2.95	5.68	9.98	3.61	7.88
BS-OR-034	1.48	3.83	6.43	11.94	4.99	11.9
BS-OR-037	1.7	3.73	5.72	10.14	4.98	11.07
BS-OR-038	0.97	3.58	6.1	10.21	4.7	11.38
BS-OR-083	0.85	2.92	5.07	11.32	3.14	9.16
BS-OR-090	0.2	1.61	1.82	6.27	1.31	4.41
BS-OR-091	0.37	1.8	2.38	7.54	1.69	5.65
BS-OR-093	0.2	1.55	1.78	6.68	1.69	9.36
BS-OR-094	0.49	1.75	2.87	9.95	1.82	9.91

[0478] 表2(续)

[0479]

化合物	Becap-37		MG-63		Hep G2		RKO	
	IC <sub>50</sub>	IC <sub>90</sub>						
OR	5.06	12.95	1.86	5.6	6.77	13.12	2.24	3.96
BS-OR-001	1.12	3.79	0.47	0.99	0.98	10.61	0.46	0.94
BS-OR-003	1.12	3.09	0.48	2.74	1.69	7.48	0.66	1.49
BS-OR-004	0.66	3.3	0.33	0.87	0.85	7.84	0.31	0.87
BS-OR-005	0.7	2.78	0.28	0.75	0.84	5.27	0.31	0.84
BS-OR-007	1.02	3.8	0.42	0.96	1.54	10.84	0.43	0.95
BS-OR-008	1.08	3.35	0.42	0.98	1.74	12.57	0.47	0.94
BS-OR-010	1.03	3.72	0.46	0.95	0.99	11.71	0.46	0.95
BS-OR-011	1.96	6.11	0.74	3.01	2.53	12.6	0.59	1.44
BS-OR-012	2.39	6.29	0.99	3.84	3.01	16	1.01	1.98
BS-OR-015	0.99	3.17	0.4	0.96	0.94	5.47	0.42	0.94
BS-OR-017	1.13	4.58	0.47	1.8	1.61	8.04	0.6	1.91
BS-OR-019	0.89	8.43	0.35	0.79	0.94	14.61	0.38	0.89
BS-OR-020	1.31	3.95	0.76	4.52	1.68	7.35	0.84	1.94
BS-OR-032	2.93	10.47	0.98	1.97	3.17	17.17	0.89	1.99

[0480]

BS-OR-034	3.24	10.13	1.28	3.22	3.81	>16	1.21	1.97
BS-OR-037	2.75	7.47	1.2	3.1	3.33	>16	0.91	1.84
BS-OR-038	3.04	7.59	0.95	4.89	3.37	13.2	1.01	1.93
BS-OR-083	2.21	6.5	0.76	1.7	2.83	11.94	0.68	1.68
BS-OR-090	0.99	3.01	0.36	0.92	0.74	7.09	0.35	0.88
BS-OR-091	1.26	2.48	0.49	1.46	1.4	6.28	0.41	0.93
BS-OR-093	1.1	1.99	0.45	2.31	0.96	7.13	0.41	0.92
BS-OR-094	1.15	3.31	0.47	1	1.42	7.47	0.38	0.75

[0481] 表2(续)

[0482]

化合物	U87-MG		HeLa		CaEs-17		CNE	
	IC <sub>50</sub>	IC <sub>90</sub>						
OR	2.58	6.67	5.22	10.71	3.31	6.86	5.45	10.53
BS-OR-001	0.8	2.36	1.65	4.67	1.21	5.47	1.41	5.45
BS-OR-003	0.99	2.82	1.84	5.31	1.49	5.23	1.93	6.62
BS-OR-004	0.8	3.24	1.28	3.87	0.88	4.58	0.95	4.67
BS-OR-005	0.7	2.16	1.16	3.4	0.81	3.03	1.09	4.45
BS-OR-007	0.78	3.21	1.64	4.92	0.93	5.32	1.33	5.16
BS-OR-008	0.86	2.4	1.45	3.9	1.22	4.75	2.16	10.47
BS-OR-010	0.94	2.78	1.49	5.31	1.1	5.51	1.39	5.94
BS-OR-011	1.17	3.29	2.53	6.79	1.41	5.24	2.26	8.1
BS-OR-012	1.88	6.17	2.42	6.3	2.01	10.03	2.47	9.36
BS-OR-015	0.87	2.41	1.53	3.75	0.95	3.05	1.05	4.05
BS-OR-017	1.24	3.64	1.35	3.86	1.32	5.89	1.13	4.96
BS-OR-019	0.77	2.43	1.43	3.74	0.89	5.62	7.19	>16
BS-OR-020	1.19	3.69	1.79	7.19	1.78	7.28	1.8	7.21
BS-OR-032	1.26	4.56	2.63	5.67	1.62	11.72	>16	>16
BS-OR-034	2.16	6.75	2.98	7.76	3.48	11.02	3.73	10.25
BS-OR-037	1.86	4.68	3.41	10.06	3.07	11.16	2.95	8.76
BS-OR-038	1.98	6.78	3.01	6.16	2.18	7.64	3.29	10.86
BS-OR-083	1.29	4.61	1.92	4.95	1.71	10.22	1.52	4.42
BS-OR-090	0.51	1.67	0.96	3.67	0.9	3.65	0.98	4.59
BS-OR-091	0.67	1.98	1.28	3.51	0.99	4.83	1.18	4.52
BS-OR-093	0.56	1.89	1.02	3.45	0.86	5.21	1.31	5.02
BS-OR-094	0.6	1.86	1.54	4.45	0.94	6.26	1.32	5.04

[0483] 表2(续)

[0484]

	Hep-2	MGC-803	PC-3	SK-OV-3
--	-------	---------	------	---------

[0485]

化合物	IC <sub>50</sub>	IC <sub>90</sub>						
OR	4.66	7.99	5.88	7.95	7.94	12.96	7.94	12.96
BS-OR-001	1.64	7.7	0.88	10.96	1.67	3.8	1.67	3.8
BS-OR-003	1.85	7.56	1.43	10.73	1.82	3.82	1.82	3.82
BS-OR-004	1.38	6.79	0.65	4.88	1.45	3.94	1.45	3.94
BS-OR-005	1.3	5.6	0.7	5.4	1.22	3.16	1.22	3.16
BS-OR-007	1.76	9.2	0.95	9.79	1.69	4.6	1.69	4.6
BS-OR-008	3.11	13.18	1.39	3.89	1.59	3.67	1.59	3.67
BS-OR-010	1.8	9.11	0.68	9.04	1.66	4.77	1.66	4.77
BS-OR-011	3.8	14.06	1.6	11.94	2.53	4.87	2.53	4.87
BS-OR-012	3.61	14.74	1.79	3.99	3.48	7.54	3.48	7.54
BS-OR-015	1.12	5.05	0.84	4.68	1.66	3.04	1.66	3.04
BS-OR-017	1.62	6.93	0.91	4.16	1.99	3.92	1.99	3.92
BS-OR-019	10.71	>16	4.98	12.04	1.41	3.86	1.41	3.86
BS-OR-020	1.92	7.4	1.65	8.86	2.56	7.07	2.56	7.07
BS-OR-032	>16	>16	12.7	>16	3.07	5.41	3.07	5.41
BS-OR-034	3.97	13.35	2.89	8.83	3.88	9.45	3.88	9.45
BS-OR-037	3.58	15.26	3.18	6.35	3.48	7.08	3.48	7.08
BS-OR-038	4.34	13.93	3.36	9.55	5.3	11.57	5.3	11.57
BS-OR-083	3.13	15.5	1.26	5.57	3.16	6.8	3.16	6.8
BS-OR-090	0.96	5.71	0.52	6.3	1.35	5.37	1.35	5.37
BS-OR-091	0.96	6.65	0.59	5.7	1.75	4.71	1.75	4.71
BS-OR-093	1.42	6.91	0.79	6.73	1.6	5.12	1.6	5.12
BS-OR-094	1.68	7.46	1.39	12.08	1.66	4.52	1.66	4.52