

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810107095.1

[51] Int. Cl.

C07C 225/36 (2006.01)

A61K 31/135 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 2 月 11 日

[11] 公开号 CN 101362702A

[22] 申请日 2008.9.12

[21] 申请号 200810107095.1

[71] 申请人 南昌大学

地址 330031 江西省南昌市红谷滩新区学府大道 999 号

[72] 发明人 陆 豫 余 勃 姜 伟 伍晓春

[74] 专利代理机构 南昌新天下专利代理有限公司

代理人 施秀瑾

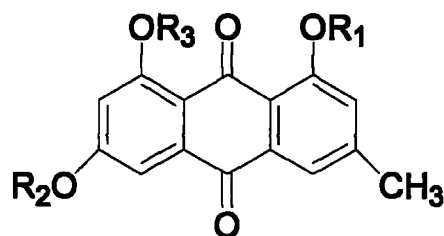
权利要求书 1 页 说明书 4 页

[54] 发明名称

大黄素衍生物及其在制备抗癌药物中的应用

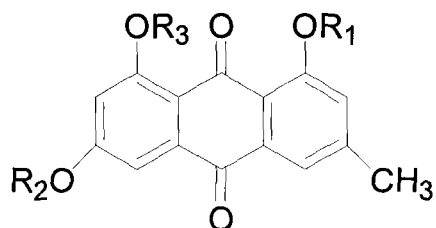
[57] 摘要

一种大黄素衍生物及其在制备抗癌药物中的应用，本发明所述的大黄素衍生物的化学结构式如式 I 所示，式中 R_1 ， R_2 ， R_3 如说明书所定义，本发明所提供的大黄素及其衍生物，是以天然大黄素为母体的化合物，根据药物分子学的原理进行结构修饰，设计出的高活性化合物，实验证明本发明的大黄素衍生物对多种肿瘤细胞株具有明显的抑制作用，可用于制备治疗癌症的药物。



式 I

1、一种大黄素衍生物，为下式所示：



式中的 R_1 , R_2 , R_3 所代表的基团为：

R_1 为 CH_3 ； R_2 为 CH_3 ； R_3 为 $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2)$, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2)_4$ 或 $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2)_5$ 。

2、权利要求 1 所述的大黄素衍生物作为制备治疗癌症的药物中的应用。

3、一种用于治疗癌症的药物，其特征是含有权利要求 1 所述的大黄素衍生物以及药学上可接受的辅助剂。

4、根据权利要求 3 所述的药物，其特征是该药物作为注射剂、片剂、丸剂、胶囊、悬浮剂或者乳剂。

大黄素衍生物及其在制备抗癌药物中的应用

所属技术领域

本发明涉及大黄素衍生物及其在制备用于治疗癌症药物中的应用。

背景技术

癌症目前已经成为威胁人类健康和生活素质的最大的疾病之一，利用我国丰富的自然资源，从中寻找前有效单体，并通过修饰改造获得高效、高选择性、低毒的抗癌药物是当前抗癌药物的主要研究方向。

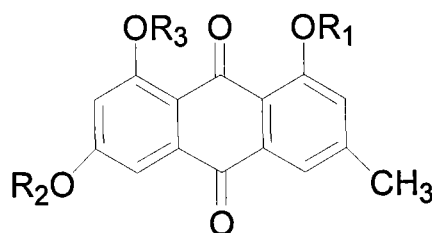
已在多种中草药中分离得到的活性成分大黄素已经证实具有一定的抗癌活性，主要是通过抑制癌细胞的 DNA 合成，但是由于大黄素的抗癌活性不够高，目前未能在临床上作为抗癌药物使用。古练权等人的中国发明专利 ZL200310112459.2 对大黄素的 6 位和 8 位进行了改造，引入含氮的基团，所得衍生物对多种肿瘤细胞有抑制作用，并且对正常细胞毒性显著降低。

以天然产物中的活性成分为母体化合物，根据药物分子学的原理进行结构修饰，设计出可能具有高活性、低毒副作用的半合成化合物，从而发现可能应用于临床的新分子实体是目前新药开发的一种重要手段。

发明内容

本发明的目的是提供一种经过化学修饰的大黄素衍生物，及其在用于治疗癌症的药物的应用。

本发明的大黄素衍生物为以下式 I 所示：



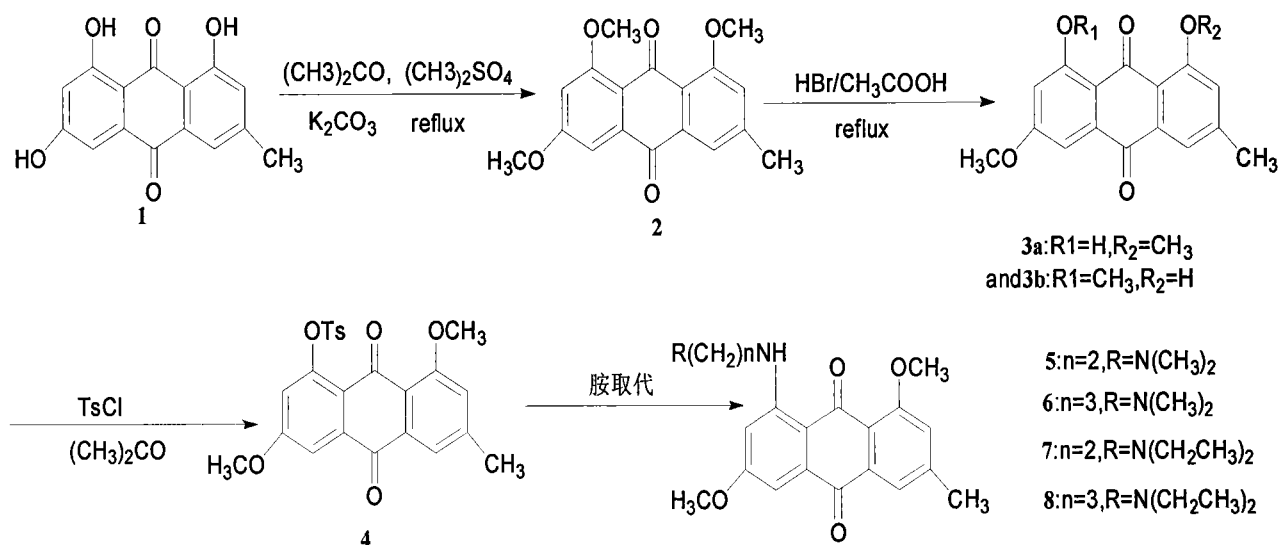
式 I

式 I 中的 R_1 , R_2 , R_3 所代表的基团为：

R_1 为 CH_3 ; R_2 为 CH_3 ; R_3 为 $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2)_4$ 或 $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2)_5$

本发明所述的大黄素衍生物，是从虎杖、大黄等中药中提取，经分离纯化得到的大黄素经过化学修饰得到的化合物。

制备本发明的大黄素衍生物的反应如以下反应式所示：



通过体外癌细胞抑制试验表明, 本发明的大黄素衍生物对多种肿瘤细胞诸如白血病细胞、肺癌细胞、人结肠癌细胞等有显著的抑制作用, 而对正常细胞毒性较低。尤其对肺癌细胞 (A-549) 具有很强的细胞毒性; 比大黄素高 4 倍以上。因此发明的大黄素衍生物可用于制备治疗癌症的药物。

本发明还提供了一种用于治疗癌症的药物, 其含有上述本发明的大黄素衍生物以及药学上可接受的辅助剂。该药物可以制成注射剂、片剂、丸剂、胶囊剂、悬浮剂或乳剂的形式使用, 其给药途径可为口服、经皮、静脉或肌肉。

具体实施方式

本发明将通过以下实施例作进一步说明:

实施例 1.

大黄素 (1) 的分离、提取及纯化。

称取 1Kg 虎仗, 粉碎过 20 目筛, 用 95% 工业酒精, 在水浴上回流提取两次, 合并滤液, 减压浓缩到 500ml, 加入 3Mol 硫酸 100-500ml, 回流 0.5-1h 后加入 1500ml 水, 静置过夜, 抽滤干燥, 得 180g 粉红色粉末。将得到的红色粉末放入索氏提取器, 用乙醚提取至索氏提取器中乙醚接近无色, 先用 5% (w/w) NaHCO₃ 溶液 (6 × 100ml), 萃取乙醚层, 水相抛弃。再用 5% (w/w) Na₂CO₃ 溶液 (8 × 100ml), 萃取乙醚层, 合并前 2 × 100ml 萃取液用 5Mol. 盐酸调 pH<4, 过滤、干燥、经丙酮结晶, 得到桔黄色结晶 2.75g 化合物大黄素 (1), 产物经 IR, NMR, Ms 和元素分析数据确认。

大黄素, 橙红色针状结晶, m. p. 254-256°C, ¹H NMR (DMSO-d₆/TMS): δ : 2.35 (s, 3H), 6.50 (d, J=2.5Hz, 1H), 7.01 (d, J=2.5 Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 7.34 (s, 1H), 11.26 (br, 1H); IR (KBr), σ /cm⁻¹: 3300, 1675, 1625; FAB-MSm/z (%): 271 [M+H]⁺, 元素分析 (C₁₅H₁₀O₅): 实测值 (计算值) /%: C 66.73 (66.67), H 3.69 (3.73)。

实施例 2.

中间产物(2)的制备。

称取 2.1 g (7.8 mmol) 大黄素(1), 研磨后的无水碳酸钾 8 g (28.6 mmol), 加入硫酸二甲酯 5 ml (25 mmol), 丙酮 190 ml, 搅拌 16 h, 浓缩, 加水搅拌, 过滤, 用少量冷丙酮洗涤, 得淡黄色粉末, 2.2 g, 产率 91.8%, 熔点 226 ~ 228 °C。¹H NMR (CDCl₃/TMS): δ : 2.46 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 6.76 (d, J =2.5 Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 7.32 (d, J =2.5 Hz, 1H), 7.64 (s, 1H); IR (KBr), σ /cm⁻¹: 3070, 2943, 2843, 1661, 1245; FAB-MS m/z (%): 313 [M+H]⁺, 元素分析 (C₁₈H₁₆O₅): 实测值(计算值)/%: C 69.28 (69.23), H 5.10 (5.12)。

实施例 3。

中间产物(3a)和(3b)混合异构体的制备。

称取 100 mg 化合物(2)加入 15 ml 冰醋酸在加入 2 ml HBr/AcOH, 在室温下搅拌过夜, 析出沉淀, 过滤, 硅胶柱分离(氯仿), 得橙红色结晶 55 mg, 产率 55%, 熔点 194 ~ 196 °C。¹H NMR (CDCl₃/TMS): δ : 2.43 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.99 (s, 3H), 4.03 (s, 3H), 4.05 (s, 3H), 6.70 (d, J =2.5 Hz, 1H), 6.79 (d, J =2.5 Hz, 1H), 6.07 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 7.30 (d, J =2.5 Hz, 1H), 7.46 (d, J =2.5 Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 13.08 (s, 1H), 13.25 (s, 1H); IR (KBr) σ /cm⁻¹: 3074, 2946, 2845, 1734, 1677, 1345; FAB-MS m/z (%): 299 [M+H]⁺, 元素分析 (C₁₇H₁₄O₅): 实测值(计算值)/%: C 68.55 (68.45), H 4.70 (4.73)。

实施例 4。

中间产物(4)的制备。

称取 0.10 g 混合物(3), 加入 0.50 g 对甲苯磺酰氯, 在加入 100 ml 丙酮, 0.70 g 碳酸钾, 加热回流 5 h, 过滤浓缩, 硅胶柱分离(环己烷: 乙酸乙酯 = 8:2), 得淡黄色粉末 0.03 g, 产率 10%, 熔点 213 ~ 215 °C。¹H NMR (CDCl₃/TMS): δ : 2.38 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 7.08 (s, 1H), 7.10 (d, J =2.5 Hz, 1H), 7.29 (d, J =8.0 Hz, 2H), 7.62 (d, J =2.5 Hz, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.91 (d, J =8.0 Hz, 2H); IR (KBr) σ /cm⁻¹: 3090, 3020, 2925, 2847, 1670, 1338, 1251; FAB-MS m/z (%): 453 [M+H]⁺, 元素分析 (C₂₄H₂₀O₇S): 实测值(计算值)/%: C 63.81 (63.71), H 4.40 (4.45)。

实施例 5。

3-甲基-8-[[2-(二甲基氨基)乙基]-氨基]-1, 6-二甲氧基-9, 10-蒽醌(5)的制备。

称取 0.1 g 化合物(4)加入 10 ml DMSO 在加入 0.10 g N,N-二甲基乙二胺, 在氮气保护下, 加热回流 4 h, 用 10 倍水稀释, 用乙酸乙酯萃取 3-4 次, 再用水洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 硅胶柱(氯仿: 甲醇 = 98:2)分离, 得紫红色粉末 0.04 g, 产率 41%, 熔点 158.3 ~ 160.7 °C。¹H NMR (CDCl₃/TMS): δ : 2.361 (s, 6H), 2.467 (s, 3H), 2.688 (m, J =6.5, 2H), 3.406 (m, J =6.5 Hz, 2H), 3.919 (s, 3H), 4.017 (s,

3H), 6.444 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 7.113 (t, $J=2.5$ Hz, 1H), 7.263 (s, 1H), 7.706 (s, 1H), 9.793 (br, 1H); IR(KBr) σ/cm^{-1} 3265, 2937, 2856, 1665, 1620, 1320, 1232; ESI -MSm/z (%): 369.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 元素分析 ($\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{N}_2$): 实测值 (计算值) /%: C 68.56 (68.48), H6.50 (6.52)。

同种方法可以制备 (6), (7), (8) 等化合物。

实施例 6。

大黄素及其衍生物对肿瘤细胞株生长的抑制作用

选择本发明的衍生物以及天然大黄素对白血病细胞 (HL-60)、肺癌细胞 (A-549)、人结肠癌细胞 (Caco) 的细胞毒作用。采用 MTT 法, 作用时间: 72h, 测定其吸光度, 分别计算抑制细胞生长达 50% 时化合物浓度, 以 IC_{50} 表示。实验结果见表 1。

表 1 化合物 1、5~8 对 HL-60、A-549、Caco 细胞株的 IC_{50} 值

compd	$\text{IC}_{50} (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$		
	HL-60	A-549	Caco
1	80.4	61.1	27.1
5	43.9	36.4	11.1
6	55.6	53.1	15.2
7	64.2	17.6	17.7
8	44.5	16.3	26.3