



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 99815768.6

[45] 授权公告日 2004 年 12 月 1 日

[11] 授权公告号 CN 1177850C

[22] 申请日 1999.12.15 [21] 申请号 99815768.6

[30] 优先权

[32] 1998.12.15 [33] US [31] 09/212,178

[86] 国际申请 PCT/US1999/029937 1999.12.15

[87] 国际公布 WO2000/035924 英 2000.6.22

[85] 进入国家阶段日期 2001.7.20

[71] 专利权人 匹兹堡大学

地址 美国宾夕法尼亚州

[72] 发明人 D·P·柯伦 H·乔森 D·博

T·G·伯克

审查员 王景华

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所

代理人 徐 迅

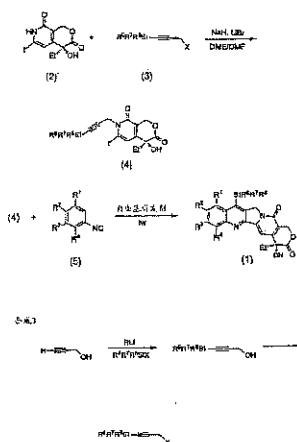
权利要求书 6 页 说明书 66 页 附图 25 页

[54] 发明名称 喜树碱类似物及其制备方法

[57] 摘要

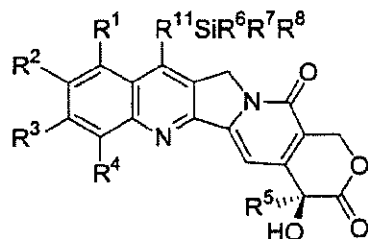
一种呈通式(1)的化合物及其药学上可接受的盐和它们的制备方法: 式中 R^1 和 R^2 各是相同的或不同的, 为氢、烷基、链烯基、苄基、炔基、烷氧基、芳氧基、酰氧基、 $-OC(O)OR^d$, 其中 R^d 是烷基、氨基甲酰氧基、卤素、羟基、硝基、氰基、叠氮基、甲酰基、胍基、酰基、氨基、 $-SR^e$, 式中 R^e 是氢、酰基、烷基或芳基, 或 R^1 和 R^2 一起形成式 $-O(CH_2)_nO-$ 基团, 其中 n 代表整数 1 或 2; R^3 是 H、F、卤素原子、硝基、氨基、羟基或氰基; 或 R^2 和 R^3 也可结合在一起形成式 $-O(CH_2)_nO-$ 基团, 其中 n 代表整数 1 或 2; R^4 是 H、三烷基甲硅烷基、F、C1-3 烷基、C2-3 链烯基、C2-3 炔基、或 C1-3 烷氧基; R^5 是 C1-10 烷基、烯苄基或炔丙基; R^6 、 R^7 和 R^8 各是 C1-10 烷基、C2-10 链烯基、C2-10 炔基、芳基或 $-(CH_2)_NR^9$ 基团, 式中 N 是范围在 1-10 的整数, R^9 是羟基、烷氧

基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、卤素原子、氰基或硝基; R^{11} 是亚烷基或亚链烯基。

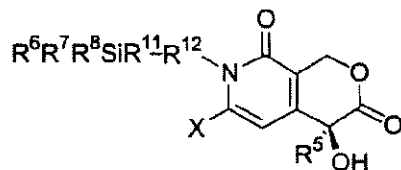


知识产权出版社出版

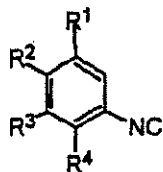
1. 一种合成下式化合物及其药学上可接受的盐的方法:



5 其特征在于, 通过 4+1 自由基成环/环化作用, 将前体



与下式的芳基异腈反应:



R^1 和 R^2 各是相同的或不同的, 为: 氢; 烷基; 羟基烷基; 卤代烷基; 氨烷基; 氨基氨基烷基; 二烷基氨基烷基; 链烯基; 炔基; 烷氧基; 芳氧基; 酰氧基; 10 $-OC(O)OR^d$, 其中 R^d 是烷基; 氨基甲酰氧基; 卤素; 羟基; 硝基; 氰基; 叠氮基; 甲酰基; 胍基; $-C(O)R^f$, 式中 R^f 是烷基、烷氧基、氨基或羟基; 氨基; 烷基氨基; 二烷基氨基; $-SR^e$, 式中 R^e 是氢、 $-C(O)R^f$ 和烷基, 或者芳基; 或 R^1 和 R^2 一起形成式 $-O(CH_2)_nO-$ 基团, 其中 n 代表整数 1 或 2;

15 R^3 是 H、卤素、硝基、氨基、羟基或氰基; 或 R^2 和 R^3 也可结合在一起形成式 $-O(CH_2)_nO-$ 基团, 其中 n 代表整数 1 或 2;

R^4 是 H、F、C1-3 烷基、C2-3 链烯基、C2-3 炔基、三烷基甲硅烷基或 C1-3 烷氧基;

R^5 是 C1-10 烷基、烯丙基、苄基或炔丙基;

20 R^6 、 R^7 和 R^8 各是 C1-10 烷基、C2-10 链烯基、C2-10 炔基、芳基或 $-(CH_2)_N R^9$ 基团, 式中 N 是范围在 1-10 的整数, R^9 是羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、卤素原子、氰基或硝基;

R^{11} 是亚烷基、亚链烯基或亚炔基;

R^{12} 是 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_2-$; X 是 Cl、Br 或 I。

2. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 所述的 R^4 是 H。

3. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 所述的 R^1 和 R^2 各是相同的或不同的, 是 H、羟基、卤素、氨基、硝基、氰基、C1-3 烷基、C2-3 链烯基、C2-3 炔基或 C1-3 烷氧基。

4. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 所述的 R^1 和 R^2 各是相同的或不同的, 是 H、C1-3 全卤代烷基、C1-3 氨基烷基、C1-3 烷基氨基或 C1-3 二烷基氨基。

5. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 所述的 R^1 和 R^2 各是相同的或不同的, 是 H、甲基、氨基、硝基、氰基或羟基。

6. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 所述的 R^1 和 R^2 各是相同的或不同的, 是 H、甲基氨基、二甲基氨基、乙基氨基、二乙基氨基、羟甲基、氨基甲基、甲基氨基甲基、或二甲基氨基甲基。

7. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 所述的 R^3 是 F、氨基或羟基。

8. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 所述的 R^5 是乙基。

9. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 所述的 R^6 、 R^7 和 R^8 各是相同的或不同的, 是 C1-6 烷基、苯基或 $-(\text{CH}_2)_N\text{R}^9$, 其中 N 是范围在 1-6 的整数, R^9 是羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、卤原子、氰基或硝基。

10. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 所述的 R^6 、 R^7 和 R^8 是甲基。

11. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 所述的 R^2 和 R^3 形成亚甲基二氧基或 1, 2-亚乙基二氧基。

12. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 所述的 R^2 是 OH。

13. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 所述的 R^2 是 NH_2 。

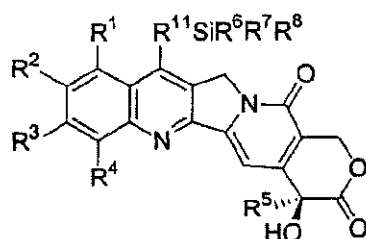
14. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 所述的 R^{11} 是 C1-C10 亚烷基、C2-C10 亚链烯基或 C2-C10 亚炔基。

15. 如权利要求 14 所述的方法, 其特征在于, 所述的 R^{11} 是 C1-C6 亚烷基、C2-C6 亚链烯基或 C2-C6 亚炔基。

16. 如权利要求 14 所述的方法, 其特征在于, 所述的 R^{11} 是 $(\text{CH}_2)_m$, 其中 m 是 1-6 的整数。

17. 如权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 所述的 X 是 Br 或 I。

18. 一种呈下式的化合物:



及其药学上可接受的盐，其特征在于， R^1 和 R^2 各是相同的或不同的，为：氢；烷基；羟基烷基；卤代烷基；氨基烷基；氨基氨基烷基；二烷基氨基烷基；链烯基；炔基；烷氧基；芳氧基；酰氧基； $-OC(O)OR^d$ ，其中 R^d 是烷基；氨基甲酰氧基；
 5 卤素；羟基；硝基；氰基；叠氮基；甲酰基；肼基； $-C(O)R^f$ ，式中 R^f 是烷基、烷氧基、氨基或羟基；氨基；烷基氨基；二烷基氨基； $-SR^e$ ，式中 R^e 是氢、 $-C(O)R^f$ 和烷基，或者芳基；或 R^1 和 R^2 一起形成式 $-O(CH_2)_nO-$ 基团，其中 n 代表整数 1 或 2；

R^3 是 H、卤素、硝基、氨基、羟基或氰基；或 R^2 和 R^3 也可结合在一起形成
 10 式 $-O(CH_2)_nO-$ 基团，其中 n 代表整数 1 或 2；

R^4 是 H、F、C1-3 烷基、C2-3 链烯基、C2-3 炔基、三烷基甲硅烷基或 C1-3 烷氧基；

其中， R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 中至少有一个不是 H、卤素、烷基、氨基或硝基；

R^5 是 C1-10 烷基、烯丙基、苄基或炔丙基；

15 R^6 、 R^7 和 R^8 各是 C1-10 烷基、C2-10 链烯基、C2-10 炔基、芳基或 $-(CH_2)_N R^9$ 基团，式中 N 是范围在 1-10 的整数， R^9 是羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、卤素原子、氰基或硝基；

R^{11} 是亚烷基、亚链烯基或亚炔基。

19. 如权利要求 18 所述的化合物，其特征在于，所述的 R^4 是 H。

20 20. 如权利要求 18 所述的化合物，其特征在于，所述的 R^1 和 R^2 各是相同的或不同的，是 H、羟基、卤素、氨基、硝基、氰基、C1-3 烷基、C2-3 链烯基、C2-3 炔基或 C1-3 烷氧基。

21. 如权利要求 18 所述的化合物，其特征在于，所述的 R^1 和 R^2 各是相同的或不同的，是 H、C1-3 全卤代烷基、C1-3 氨基烷基、C1-3 烷基氨基或 C1-3
 25 3 二烷基氨基。

22. 如权利要求 18 所述的化合物，其特征在于，所述的 R^1 和 R^2 各是相同的或不同的，是 H、甲基、氨基、硝基、氰基或羟基。

23. 如权利要求 18 所述的化合物，其特征在于，所述的 R^1 和 R^2 各是相同的或不同的，是 H、甲基氨基、二甲基氨基、乙基氨基、二乙基氨基、羟甲基、氨

基甲基、甲基氨基甲基、或二甲基氨基甲基。

24. 如权利要求 18 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^3 是 F、氨基或羟基。

25. 如权利要求 18 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^5 是乙基。

5 26. 如权利要求 18 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^6 、 R^7 和 R^8 各是相同的或不同的, 是 C1-6 烷基、苯基或 $-(CH_2)_N R^9$, 其中 N 是范围在 1-6 的整数, R^9 是羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、卤原子、氰基或硝基。

27. 如权利要求 18 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^6 、 R^7 和 R^8 是甲基。

28. 如权利要求 18 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^2 和 R^3 形成亚甲基
10 二氧基或 1, 2-亚乙基二氧基。

29. 如权利要求 18 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^2 是 OH。

30. 如权利要求 18 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^2 是 NH_2 。

31. 如权利要求 18 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^{11} 是 C2-C10 亚烷基、C2-C10 亚链烯基或 C1-C10 亚炔基。

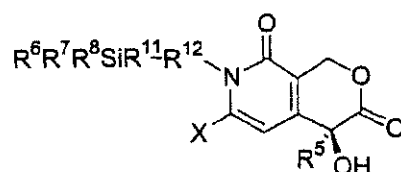
15 32. 如权利要求 31 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^{11} 是 C2-C6 亚烷基、C2-C6 亚链烯基或 C1-C6 亚炔基。

33. 如权利要求 31 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^{11} 是 $(CH_2)_m$, 其中 m 是 1-6 的整数。

34. 如权利要求 18 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 中
20 至少两个不是 H。

35. 如权利要求 18 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^5 是甲基、C3-10 烷基、烯丙基、苄基或炔丙基。

36. 一种呈下式的化合物:



25 其特征在于, 式中 R^5 是 C1-10 烷基、烯丙基、苄基或炔丙基;

R^6 、 R^7 和 R^8 各是 C1-10 烷基、C2-10 链烯基、C2-10 炔基、芳基或 $-(CH_2)_N R^9$ 基团, 式中 N 是范围在 1-10 的整数, R^9 是羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、卤素原子、氰基或硝基;

R^{11} 是亚烷基或亚链烯基; 和

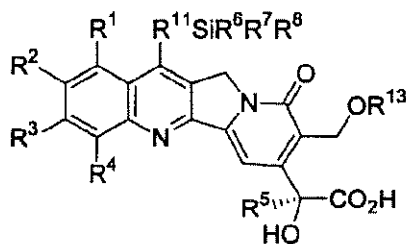
30 R^{12} 是 $-CH=CH-CH_2-$ 或 $-C\equiv C-CH_2-$; X 是 Cl、Br 或 I。

37. 如权利要求 36 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^6 、 R^7 和 R^8 各是相同的或不同的, 为 C1-6 烷基、苯基、或 $-(CH_2)_N R^9$ 基团, 式中 N 是范围在 1-6 的整数, R^9 是羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、卤素原子、氰基或硝基。

5 38. 如权利要求 36 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^6 、 R^7 和 R^8 是甲基。

39. 如权利要求 36 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 X 是 Br 或 I。

40. 一种呈下式的化合物:



及其药学上可接受的盐, 其特征在于, R^1 和 R^2 各是相同的或不同的, 为: 氢; 烷基; 羟基烷基; 卤代烷基; 氨烷基; 氨基氨基烷基; 二烷基氨基烷基; 链烯基; 炔基; 烷氧基; 芳氧基; 酰氧基; $-OC(O)OR^d$, 其中 R^d 是烷基; 氨基甲酰氧基; 卤素; 羟基; 硝基; 氰基; 叠氮基; 甲酰基; 胍基; $-C(O)R^f$, 式中 R^f 是烷基、烷氧基、氨基或羟基; 氨基; 烷基氨基; 二烷基氨基; $-SR^e$, 式中 R^e 是氢、 $-C(O)R^f$ 和烷基, 或者芳基; 或 R^1 和 R^2 一起形成式 $-O(CH_2)_nO-$ 基团, 其中 n 代表整数 1 或 2;

R^3 是 H、卤素、硝基、氨基、羟基或氰基; 或 R^2 和 R^3 也可结合在一起形成式 $-O(CH_2)_nO-$ 基团, 其中 n 代表整数 1 或 2;

R^4 是 H、F、C1-3 烷基、C2-3 链烯基、C2-3 炔基、三烷基甲硅烷基或 C1-3 烷氧基;

20 R^5 是 C1-10 烷基、烯丙基、苄基或炔丙基;

R^6 、 R^7 和 R^8 各是 C1-10 烷基、C2-10 链烯基、C2-10 炔基、芳基或 $-(CH_2)_N R^9$ 基团, 式中 N 是范围在 1-10 的整数, R^9 是羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、卤素原子、氰基或硝基;

R^{11} 是亚烷基、亚链烯基或亚炔基;

25 R^{13} 是 H、 $-C(O)R^f$ 、或 $-C(O)OR^d$ 。

41. 如权利要求 40 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^4 是 H。

42. 如权利要求 40 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^1 和 R^2 各是相同的或不同的, 是 H、羟基、卤素、氨基、硝基、氰基、C1-3 烷基、C2-3 链烯基、C2-3 炔基或 C1-3 烷氧基。

43. 如权利要求 40 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^1 和 R^2 各是相同的或不同的, 是 H、C1-3 全卤代烷基、C1-3 氨基烷基、C1-3 烷基氨基或 C1-3 二烷基氨基。

5 44. 如权利要求 40 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^1 和 R^2 各是相同的或不同的, 是 H、甲基、氨基、硝基、氰基或羟基。

45. 如权利要求 40 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^1 和 R^2 各是相同的或不同的, 是 H、甲基氨基、二甲基氨基、乙基氨基、二乙基氨基、羟甲基、氨基甲基、甲基氨基甲基、或二甲基氨基甲基。

10 46. 如权利要求 40 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^3 是 F、氨基或羟基。

47. 如权利要求 40 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^5 是乙基。

48. 如权利要求 40 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^6 、 R^7 和 R^8 各是相同的或不同的, 是 C1-6 烷基、苯基或 $-(CH_2)_N R^9$, 其中 N 是范围在 1-6 的整数, R^9 是羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、卤原子、氰基或硝基。

15 49. 如权利要求 40 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^6 、 R^7 和 R^8 是甲基。

50. 如权利要求 40 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^2 和 R^3 形成亚甲基二氧基或 1, 2-亚乙基二氧基。

51. 如权利要求 40 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^2 是 OH。

52. 如权利要求 40 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^2 是 NH_2 。

20 53. 如权利要求 40 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^{11} 是 C1-C10 亚烷基、C2-C10 亚链烯基或 C2-C10 亚炔基。

54. 如权利要求 53 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^{11} 是 C1-C6 亚烷基、C2-C6 亚链烯基或 C2-C6 亚炔基。

25 55. 如权利要求 53 所述的化合物, 其特征在于, 所述的 R^{11} 是 $(CH_2)_m$, 其中 m 是 1-6 的整数。

56. 权利要求 18 所述的化合物或其药学上可接受的盐的用途, 其特征在于, 用于制备治疗癌症或白血病用的药剂。

57. 如权利要求 56 所述的用途, 其特征在于, 所述治疗是治疗脑癌、乳腺癌或白血病。

喜树碱类似物及其制备方法

5 相关申请

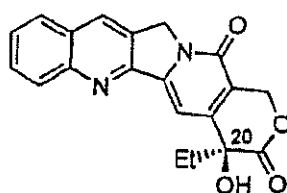
本申请是美国专利申请 No.08/921,102 的部分延续，其是美国专利申请 No.08/436,799 的部分延续，它又是美国专利申请 NO.08/085,190 的部分延续，本文将它们全部纳入作为参考。

10 发明领域

本发明涉及新型化合物及其制备方法，具体说涉及甲硅烷基喜树碱衍生物或类似物和这种甲硅烷基喜树碱类似物的制备方法。

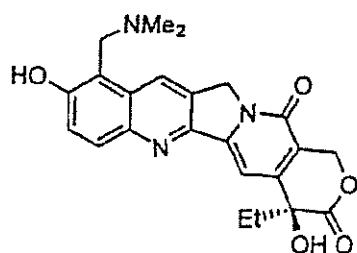
发明背景

- 15 (20S)-喜树碱(CPT, 如下)及其衍生物是最有希望用于化疗来治疗实体肿瘤的化合物。见如 Wall,M.E.等人, 民族药理学杂志, 51,239(1996), “喜树碱: 新型抗癌药”, Potmesil,M.和 Pinedo,H.,编辑; CRC,Boca Raton, FL(1995), Bonneterre, J.,Bull.Canc.,82, 623(1995); Sinha,D.K.,药物, 49,11(1995)。1996 年 Wall 首先从一种中国植物旱莲木(*Camptotheca accuminata*)提取物中分离出天然喜树碱。
- 20 Wall,M.E.等人, J.Am.Chem.Soc.,88,3888(1996)。如下所述, 喜树碱含有一稠环系统, 通常包括与 2-吡啶酮环(环 D)耦合的吡咯并[3, 4-b]喹啉系统(环 ABC), 且前者还稠合于内酯环(环 E)。

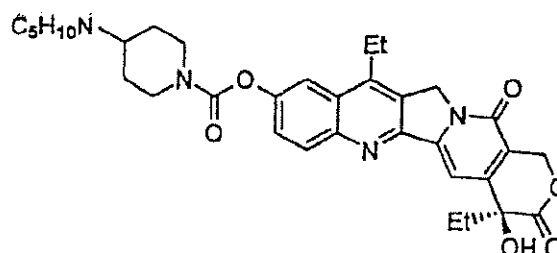


(20S)-喜树碱, CPT

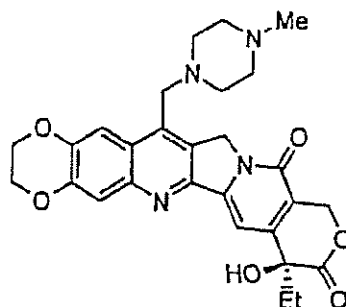
自左向右标记环 A-E



拓扑替康, TPT



依立替康, IRT



GI-147211C

5

喜树碱属于局部异构酶 I 毒物。见如 Froelich-Ammono, S.J. 等人, *J. Biol. Chem.*, 270, 21429 (1995)。现有的研究有力地表明：这种分子通过细胞内酶化局部异构酶 I (一种通常在恶性细胞中过量表达的酶)，起到干扰超螺旋 DNA 解旋的作用。在高度复制的癌细胞中，这将引发导致细胞调亡和细胞程序死亡的串联事件。见

10 Slichenmyer, W.J. 等人, *J. Natl. Cancer Inst.*, 85, 271 (1993)。Pommier, Y. 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 8861 (1995) 评论了在分子药理学水平的新发展。

由于喜树碱在生理相容性介质中的低溶解性，使其在最初的临床试验中受到限制。此外，早期通过用氢氧化钠打开内酯环企图形成一种水溶性喜树碱钠盐，而形成的化合物抗肿瘤活性很差。后来有报道说闭合的内酯形式是抗肿瘤活性绝对需要的。见 Wani, M.C. 等人, *J. Med. Chem.*, 23, 554 (1980)。最近，结构-活性研究鉴定了具有较好的溶解性和较佳的抗肿瘤活性的类似化合物。如最近许可在美国出售的拓扑替康 (topotecan) (TRT) 和依立替康 (irinotecan) (IRT)，而 GI-147211C 已进入后期临床试验。这些类似物能有效的抵抗各种顽固性实体瘤，如恶性黑色素瘤、胃癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌和结肠直肠癌，且似乎特别有希望用于治疗

15 分裂慢的癌系。见如 Kingsbury, W.D. 等人, *J. Med. Chem.*, 34, 98 (1991); Sawada, S. 等人, *Chem. Pharm. Bull.*, 39, 1446 (1991); Luzzio, M.J. 等人, *J. Med. Chem.*, 38, 395 (1995); Abigerges, D. 等人, *J. Clin. Oncol.*, 13, 210 (1995)。另外，当与顺铂、放疗或热疗联合治疗时，还观察到有协同或附加的效应。见 Fukuda, M. 等人，

20

Canc. Res., 56, 789 (1996); Goldwasser, F. 等人, Clin. Canc. Res., 2, 687 (1996); Wang, D.S. 等人, Biol. Pharm. Bull., 19, 354 (1996)。

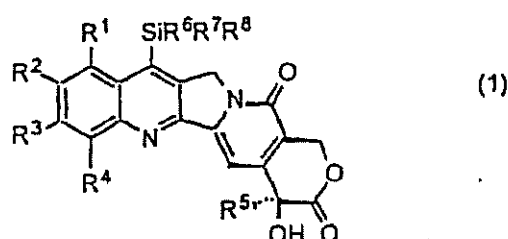
虽然大多数研究的重点是开发喜树碱的水溶性衍生物, 但最近开发出了新型制剂, 如脂类络合物、脂质体胶囊和湿磨技术。这些制剂为用水难溶性喜树碱进行治疗提供了新的机会。见 Daoud, S.S. 等人, Anti-Cancer Drug, 6, 83 (1996); Merisko-Liversidge, E. 等人, Pharm. Res., 13, 272 (1996) 和 Pantazis, P., Leukemia Res., 19, 775 (1995)。这些制剂有吸引力的特征是它们对药物体内分布的影响。Sugarman 及其合作者最近报道了: 游离喜树碱在肺实体中达到最大浓度, 而脂类复合的喜树碱在肠胃道浓度最高。这些结果对治疗结肠癌提供了一个崭新的和令人感兴趣的视角。见 Sugarman, S.M. 等人, Canc. Chemother. Pharmacol., 37, 531 (1996)。用不溶性喜树碱类似物的另一个令人感兴趣的方面是: 它们通常比它们的水溶性同类分子 (congener) 更有活性, 且看似不易产生药物引起的抗性, 可能是因为它们不是 p-糖蛋白多药物转运蛋白的底物。见 Pantazis, P., Clin. Canc. Res., 1, 1235 (1995)。

在本文中, 新型的喜树碱类似物将极佳的抗肿瘤活性与不同的溶解性和体内分布特性结合, 在治疗各种类型癌症中它能起治疗火药库的关键作用。

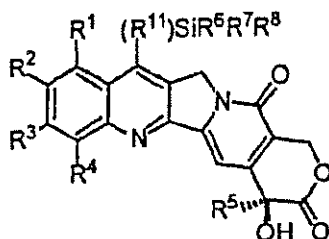
由于喜树碱及其类似物有利的生物活性, 希望开发其他的喜树碱类似物和制备喜树碱类似物的方法。

发明概述

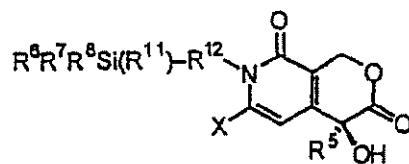
20 本发明主要提供一种呈下式(1)的化合物:



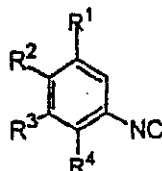
本发明还提供一种合成下式(2)化合物的方法:



通过 4+1 自由基成环/环化作用, 其中将前体

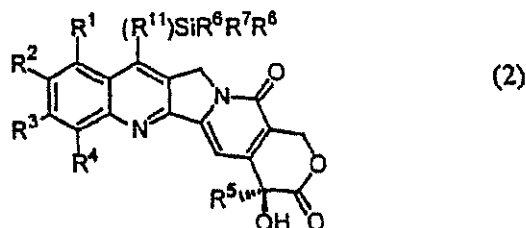


与下式的芳基异腈反应



- R^1 和 R^2 各是相同的或不同的, 较佳地是: 氢; 烷基; 羟基烷基; 卤代烷基; 氨基烷基; 氨基氨基烷基; 二烷基氨基烷基; 链烯基; 炔基; 烷氧基; 芳氧基; 酰氧基; $-OC(O)OR^d$, 其中 R^d 是烷基; 氨基甲酰氧基; 卤素; 羟基; 硝基; 氰基; 叠氮基; 甲酰基; 胍基; $-C(O)R^f$, 式中 R^f 是烷基、烷氧基、氨基或羟基; 氨基; 烷基氨基; 二烷基氨基; $-SR^c$, 式中 R^c 是氢、 $-C(O)R^f$ 和烷基, 或者芳基; 或 R^1 和 R^2 一起形成式 $-O(CH_2)_nO-$ 基团, 其中 n 代表整数 1 或 2。
- R^3 较佳地是 H、卤素、硝基、氨基、羟基或氰基。 R^2 和 R^3 也可结合在一起形成式 $-O(CH_2)_nO-$ 基团, 其中 n 代表整数 1 或 2。
- R^4 较佳地是 H、F、三烷基甲硅烷基、C1-3 烷基基团、C2-3 链烯基、C2-3 炔基或 C1-3 烷氧基。 R^5 较佳地是 C1-10 烷基。优选的烷基是乙基。对 R^5 而言优选的取代的烷基是烯丙基、炔丙基和苄基。
- R^6 、 R^7 和 R^8 较佳地各自是(相同的或不同的)C1-10 烷基、C2-10 链烯基、C2-10 炔基, 或芳基。对 R^6 、 R^7 和 R^8 而言优选取代的烷基是一 $(CH_2)_N R^9$ 基团, 式中 N 是范围在 1-10 的整数, R^9 是羟基、烷氧基、氨基、卤素原子、氰基或硝基。对 R^9 而言优选的氨基包括烷基氨基和二烷基氨基。
- R^{11} 较佳地是亚烷基、亚链烯基(alkenylene)或亚炔基(alkynylene)。 R^{12} 优选地是 $-CH=CH-CH_2-$ 或 $-C\equiv C-CH_2-$ 。X 优选地是 Cl、Br 或 I。较佳地, X 是 Br 或 I。更佳地, X 是 Br。

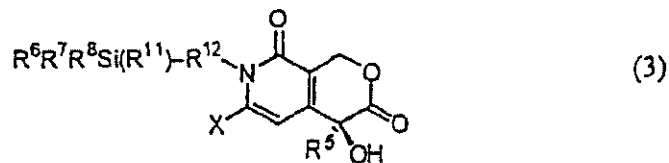
本发明还提供一种下式(2)的化合物:



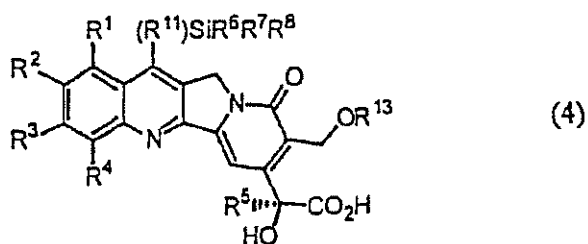
- 式中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^{11} 的定义如上。本发明还提供一种呈上式的化合物, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 中的一个不是 H。本发明还提供一种呈上

式的化合物, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^{11} 的定义如上, 且式中 R^5 是甲基、C3-10 烷基、烯丙基、苄基或炔丙基。

本发明还提供一种呈下式(3)的化合物:



5 本发明还提供一种呈下式(4)的化合物:



除特别指出的以外, 术语“烷基”、“芳基”和其他基团通常指未取代的或取代的基团。除特别指出以外, 烷基是烃类基团, 且优选的是 C1-15(即有 1-15 个碳原子)烷基, 更佳的是 C1-10 烷基, 且可以是支链或非支链的、非环状或环状的。当基团是其他基团上的取代基时(如烷基是烷基氨基或二烷基氨基上的取代基), 上述对烷基的定义以及其他定义也同样适用。术语“芳基”指苯基或萘基(naphthyl)。如本文所用, 术语“卤素”或“卤”指氟、氯、溴和碘。

术语“烷氧基”指 $-OR^d$, 式中 R^d 是烷基。术语“芳氧基”指 $-OR^e$, 式中 R^e 是芳基。术语酰基指 $-C(O)R^f$ 。术语“链烯基”指直链或支链的至少有一个双键的烃类基团, 较佳地含有 2-15 个碳原子, 更佳地带有 3-10 个碳原子(如 $-CH=CHR^g$)。术语“炔基”指直链或支链的含有至少一个三键的烃类基团, 较佳地含有 2-15 个碳原子, 更佳地含有 3-10 个碳原子(如 $-C\equiv CR^h$)。术语“亚烷基”、“亚链烯基”和“亚炔基”分别指烷基、链烯基和炔基的二价形式。

上述基团可被许多不同的取代基取代, 来合成保留活性的喜树碱类似物。例如, 烷基较佳地可被一个或多个基团取代, 这些取代基包括(但不限于): 苄基、苯基、烷氧基、羟基、氨基(包括, 如游离的氨基、烷基氨基、二烷基氨基和芳基氨基)、链烯基、炔基和酰氧基。当是氨基($-NR^aR^b$)时, R^a 和 R^b 较佳地各是氢、酰基、烷基或芳基。较佳地酰基(即 R^f)可以被烷基、卤代烷基(如全氟烷基)、烷氧基、氨基和羟基取代。较佳地, 炔基和链烯基(即分别指 R^g 和 R^h)可被一个或多个基团取代, 这些取代基包括(但不限于)烷基、烷氧基烷基、氨基烷基和苄基。

本文所用的术语“酰氧基”指基团 $-OC(O)R^d$ 。

本文所用的术语“烷氧基羰基氧基”指基团 $-OC(O)OR^d$ 。

本文所用的术语“氨基甲酰氧基”指基团 $-OC(O)NR^aR^b$ 。

- 5 氨基和羟基可包括本领域已知的保护基团。氨基的优选保护基团包括叔丁氧基羰基、甲酰基、乙酰基、苄基、对一甲氧基苄氧基羰基、三苯甲基。本领域技术人员已知的其他保护基团公开于 Greene, T., Wuts, P.G.M., “有机合成中的保护基团”, Wiley(1991), 本文将其纳入作为参考。

通常, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^6 、 R^7 和 R^8 较佳地不是过度的庞大, 以维持产生的喜树碱类似物的活性。较佳地, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^6 、 R^7 和 R^8 各分子量小于约 250。更佳的是, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^6 、 R^7 和 R^8 各分子量小于约 200。

- 10 可将本发明的一些喜树碱类似物制备成与无机酸如(但不限于)盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸和硝酸的盐, 来作为药物。也可将喜树碱类似物制成与有机酸如(但不限于)乙酸、酒石酸、延胡索酸、丁二酸、柠檬酸、甲磺酸、对一甲苯磺酸和硬脂酸的盐。其他酸可在制备本发明化合物及其药学上可接受的盐的过程中作为中间物。

- 15 对于纯化、给药或其他目的而言, 可用碱金属如(但不限于)氢氧化钠或氢氧化钙来打开 E-环(内酯环), 形成 E-环开环的式(1)化合物的类似物, 如上述式(4)的化合物。如此得到的中间体在水中的溶解性更大, 用酸处理后可纯化产生纯化形式的本发明喜树碱类似物。

- 20 也可修饰 E-环从而产生在水中或其他溶剂中具有不同溶解性的式(1)化合物的类似物。实现此目的的方法包括(但不限于)用氢氧化物或水溶性氨基打开 E-环或用水溶性基团如聚乙二醇基团将 E-环 20 位的羟基官能化。如此制备的类似物可作为前体药物。换言之, 当给予活生物时这些类似物能再生出式(1)化合物(含有闭合的 E-环结构)。见 Greenwald, R.B. 等人, J. Med. Chem., 39, 1938(1996)。

- 25 本发明的类似物高度亲脂性且在体内和体外表现出活性提高。另外, 它们的 A-环取代显示出提高血液稳定性。

- 30 本发明还提供治疗患者的方法, 所述的方法包括给予药用有效剂量的式(1)和/或(2)化合物或其药学上可接受的盐。通过常规给药方式包括(但不限于)静脉内、肌内、口服、皮下、肿瘤内、皮内和肠胃外给药, 化合物可以例如给予患癌症和/或白血病的患者。药用有效量或剂量较佳地为每千克体重 0.01 到 60mg 一种式(1)和(2)的化合物。更佳的是, 药用有效量或剂量是每千克体重 0.1 到 40mg 一种式(1)和(2)的化合物。通常药用有效量或剂量所含的一种式(1)和(2)化合物的量能有效起到抗白血病和/或抗肿瘤(抗癌)作用。含有一种式(1)和(2)活性成分或其药学上可接

受的盐,并结合有药学上可接受的载体或稀释剂的药物组合物也含盖在本发明范围中。

本发明还提供了一种药物组合物,含有任何式(1)和(2)的化合物和药学上可接受的载体。该组合物可例如含有 0.1mg 到 3g,较佳地为 0.1mg 到 500mg 式(1)、(2)和/或(4)的化合物,且可以制成任何适合于给药模式的形式。

附图简述

图 1 是制备式(1)化合物的一般合成流程示意图。

图 2 是合成(20S)-11-氟-7-三甲基甲硅烷基喜树碱的示意图。

10 图 3 是合成(20S)-10-乙酰氧基-7-三甲基甲硅烷基喜树碱和(20S)-10-羟基-7-三甲基甲硅烷基喜树碱的示意图。

图 4 是合成(20S)-10-氨基-7-三甲基甲硅烷基喜树碱的示意图。

图 5 是合成(20S)-10-氨基-11-氟-7-三甲基甲硅烷基喜树碱的示意图。

15 图 6 是合成新型依立替康类似物的示意图。

图 7 是三种代表性式(2)甲硅烷基喜树碱类似物的示意图。

图 8 是合成炔丙基溴前体的示意图。

图 9 是合成式(3)基前体的示意图。

图 10 是图 9 的自由基前体与三种异腈反应的示意图。

20 图 11 是合成图(7)代表性甲硅烷基喜树碱类似物的最后步骤的示意图。

图 12 是 $1\mu\text{M}$ (20S)-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱、7-TMSEt CPT、(36c)(DB-172)的激发和发射荧光光谱。

图 13 是 $1\mu\text{M}$ (20S)-10-氨基-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱、10-NH₂-7-TMSEt CPT(DB-173)的发射荧光光谱。

25 图 14 是 $1\mu\text{M}$ (20S)-10-羟基-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱、10-OH-7-TMSEt CPT(DB-174)的发射荧光光谱。

图 15 是 $1\mu\text{M}$ (20S)-10-羟基-7-(叔-丁基二甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱、10-OH-7-TBS CPT(DB-67),在乙醇、0.29M DMPG 和 PBS 中的发射荧光光谱。

30 图 16 是喜树碱类似物与 DMPC 平衡结合的示意图。

图 17 是本发明的高度亲脂性喜树碱类似物与 DMPC 平衡结合的示意图。

图 18 是本发明的高度亲脂性喜树碱类似物与 DMPG 平衡结合的示意图。

图 19 是本发明的高度亲脂性喜树碱类似物与 DMPC 小单层 (unilamellar) 微泡体(SUVs) 在 37°C 结合的双重一倒数图。

图 20 是本发明的高度亲脂性喜树碱类似物与 DMPG SUVs 在 37°C 结合的双重一倒数图。

5 图 21 是 37°C 在 pH7.4 的 PBS 缓冲液中 DB-172 的稳定性示意图。

图 22 是 DB-172 荧光强度与时间和药物浓度的相关性示意图。

图 23 是 DB-172 荧光强度与时间和浓度的相关性示意图。

图 24 是羧化物形式 DB-172 的总荧光强度与时间和 pH 的相关性示意图。

图 25 是本发明几种喜树碱类似物的总荧光强度与时间的相关性示意图。

10 图 26 是磷酸盐缓冲盐水(PBS)和人血液中本发明几种喜树碱类似物的药物稳定性示意图。

图 27 是在 PBS、全血和 PBS/人血清白蛋白(HSA)中本发明的几种喜树碱类似物的药物稳定性示意图。

图 28 是口服后 DB-67 的血浆浓度示意图。

15

发明详述

化合物

在式(1)和(2)化合物中, 那些在 E-环 20 位具有(S)-构型的化合物在药用中是优选的。

20 R^1 和 R^2 较佳地各是(相同的或不同的)H、羟基、卤素、氨基、硝基、氰基、C1-3 烷基、C1-3 全卤烷基、C1-3 链烯基、C1-3 炔基、C1-3 烷氧基、C1-3 氨基烷基、C1-3 烷基氨基、C1-3 双烷基氨基, 或 R^1 和 R^2 一起形成式 $-O(CH_2)_nO-$ 基团, 其中 n 代表整数 1 或 2。更佳的是, R^1 和 R^2 各是(相同的或不同的)H、甲基、氨基、硝基、氰基、羟基、羟甲基、甲基氨基、二甲基氨基、乙基氨基、二乙基氨基、氨基甲基、甲基氨基甲基、二甲基氨基甲基等。

25

较佳地 R^3 是 F、氨基或羟基。较佳地, R^4 是 H、三烷基甲硅烷基或 F。较佳地 R^5 是乙基。较佳地, R^6 、 R^7 和 R^8 各是(相同的或不同的)C1-6 烷基、苯基或 $-(CH_2)_N R^{10}$ 基团, 其中 N 是 1-6 之间的整数, R^{10} 是卤素或氰基。

30

制备方法

可按图(1)所示的一般合成流程制备本发明的式(1)化合物。在图(1)的合成流程中, 首先用炔丙基衍生物(3)将碘代吡啶酮(2)N-烷基化, 产生自由基前体(4)。

然后用芳基异腈让自由基前体(4)经历串联式自由基反应,生成产物(1)。N-烷基化反应在如下优化条件下进行。见 Curran,D.P. 等人, *Tetrahedron Lett.*,36,8917(1995), 本文将其纳入作为参考。碘代吡啶酮(2)的合成和串联式自由基反应的条件先前已有报道。用适当的甲硅烷基化试剂 $R^6R^7R^8SiX$ 将炔丙醇的双阴离子进行标准甲硅烷基化,然后将炔丙醇转化成离去基团如溴、碘或磺酸盐,从而易制备出炔丙基化试剂(3)。见 Curran,D.F.等人, *Angew.Chem.Int.Ed.Engl.*,34, 2683(1995)本文将其纳入作为参考,和 1995 年 5 月 8 日递交的美国专利申请 NO.08,436,799, 本文将其纳入作为参考。

通常,在自由基串联式反应中可用各种试剂,包括(但不限于)六甲基二锡、六甲基乙硅烷、或四(三甲基甲硅烷基)甲硅烷。该反应的能量来源是太阳灯或紫外灯。较佳地将温度设在约 25—150°C。更佳地将温度设置在约 70°C。除对自由基串联式反应是惰性的溶剂以外,对溶剂的选择一般没有限制。优选的溶剂包括苯、甲苯、乙腈、THF 和叔丁醇。同样对炔烃和异腈上的取代基的选择范围也非常广,因为反应条件很温和。

图 2 显示了合成(20S)-11-氟-7-三甲基甲硅烷基喜树碱(12)的一般合成流程的实例。这种合成流程存在的问题是:当芳基异腈的两个邻位都可能发生环化时,对自由基串联式反应的区域选择性的控制(即在式(1)最终化合物中 R^4 是 H)。这个问题的一种解决方案是在芳基异腈上引入三甲基甲硅烷基(如 3-氟-2-三甲基甲硅烷基苯基异腈(9))。三甲基甲硅烷基封阻了环化中异腈的一个邻位,且在串联式反应后通过氢化脱硅烷化反应可除去。在该实例中,该选择性还要继续进行到在最后一步中仅除去一个三甲基甲硅烷基基团。

图 3-6 和实施例中还显示了式(1)几种新型喜树碱衍生物的一般合成流程的其他实例。

图 7-11 显示了式(2)化合物的制备。由此图 7 显示了三种代表性的、新型 A、B 环取代的甲硅烷基喜树碱化合物(36a)、(36b)和(36c)。

合成这些类似物的第一步是制备炔丙基溴(41),如图 8 所示。将购得的三甲基甲硅烷基丙醇(37)进行 Swern 氧化可得到三甲基甲硅烷基丙醛(38),收率为 85%。Sakar,T.K.等人, *Tetrahedron* 46,1885(1990)。按照 Corey,E.J.和 Fuchs,P.L., *Tetrahedron Lett.*,36,3769(1972)的步骤 A,将醛(38)转化成二溴烯烃(39),收率为 55%。Piers,E.和 Gaval,A.V.*J.Org.Chem.*,55,2374(1990)。-78°C 在 THF 中加入 2 当量 $n-BuLi$,然后升温至 22°C,回流时用聚甲醛淬灭,产生(40),收率为 84%。最后,用无水 CH_2Cl_2 配制的三苯基膦和 Br_2 溶液产生炔丙基溴(41),收率为 87%。

制备完炔丙基溴(41)后,如图9所示制备自由基前体(43)。按照N-烷基化程序,用(41)将(42)烷基化产生所需的自由基前体(43),收率为74%。(43)分别与异腈(44a)或(44b)的反应,形成被保护的甲硅烷基喜树碱衍生物(45a)和(45b),收率分别为55%和56%,如图10所示。最后,用MeOH/H₂O配制的2当量K₂CO₃溶液去保护,产生收率为47%的10-羟基衍生物(36a),如图10所示。最后用CH₂Cl₂配制的三氟乙酸处理将(45b)转化成10-氨基衍生物(36b),收率为65%。

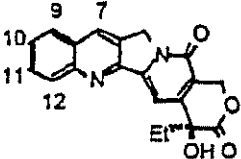
本发明的方法还提供(20S)-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱(36c,图7)的合成。将苯基异腈与碘代吡啶酮(43)反应,以52%收率产生此衍生物(图10)。最近由Hausheer等人在国际专利申请公开号WO98/07727中描述了(20S)-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱(36c)和(20S)-7-(2-三甲基甲硅烷基)喜树碱(美国专利申请No.08/436,799所公开的)的结构。国际专利申请公开号WO98/07727中公开的这些化合物的特征信息似乎不正确。具体说,提供的这些化合物的光谱数据与指定的结构不符,且与本专利实施例中所报道的光谱数据也不吻合。另外,WO98/07727的所有含甲硅烷基的喜树碱的光谱数据看来都与指定的结构不一致。

本发明因此提供了一种非常适用于喜树碱家族中已知结构-活性关系的快速且有效的合成流程。实际上,喜树碱骨架的生物活性对7和/或9-11位以外上的取代基通常是敏感的或耐性非常弱。合成后,这些取代基分别通过炔基衍生物(3)和芳基异腈(5)引入。

抗肿瘤活性和人血液稳定性特性

表1列出了式(1)若干化合物的抗肿瘤活性,且用以下所述的分析方法将它们与一些熟知的喜树碱类似物作了比较。表1中所列出的本发明的各种示范化合物的合成将在本文实施例部分进行详细描述。

表 1.(20S)-7-甲硅烷基-喜树碱衍生物的生物活性

						癌细胞生长的抑制 IC50(nM)			Topo I 介导的 DNA 切割的 提高	Topo I 介导的 的 DNA 驰 豫的抑制
实例	7 ^a	9	10	11	12	HL-60	833K	DC-3F		
CPT	H	H	H	H	H	5	10	6-9	+++	+++
IRT	Et	H	OPP ^a	H	H	270	487	372	-	-
1	TMS	H	H	H	H	3.8	5.6	4.2	++++	+++
2	TBDMS	H	H	H	H	0.12	1.2	2.9	++++	+++
3	TBDPS	H	H	H	H	339	243	663	++	+
4	TMS	H	OAc	H	H	2.7		6.7	++++	+++++
5	TMS	H	OH	H	H	2.6	7.0	6.9	++++	+++++
5a	实例5,打开的E环					9.7	15.0	14.2	+++	+
6	TMS	H	OPP ^a	H	H	66	214	256	-	-
7	TMS	H	H	F	H	0.75	0.92	2.0	++++	+++++
7a	TMS	F	H	H	H	3.0	2.9	8.2	++++	++++
	TMS	H	H	F	H (2:1)					
8	TMS	H	NH ₂	H	H	0.52	5.7	0.72	-	-
9	TMS	H	H	NH ₂	H	2.6	7.4	6.4	-	-
10	TMS	H	NH ₂	F	H	0.07	0.14	0.29	++++	++++
11	TMS	H	H	F	F	1.01	2.1	2.5	+++	+++
	TMS	F	F	H	H (3/1)					
12	TIPS	H	H	H	H	1506	10730	1038	-	-
13	TES	H	H	H	H	31.9	122	57.1	-	-
14	DMNPS	H	H	H	H	66.9	197	64.1	-	-
15	DMCPS	H	H	H	H	0.91	2.7	2.7	-	-
16	DMHPS	H	H	H	H	2.1	5.4	2.3	-	-
17	TBDMS	H	OAc	H	H	1.86	-	3.57	-	-
18	TBDMS	H	OH	H	H	2.60	-	5.20	-	-

a) OPP=依立替康的氨基甲酸吡咯烷基吡咯烷酯; TMS=三甲基甲硅烷基; TVDMS=叔-丁基二甲基甲硅烷基; TBDPS=叔-丁基二苯基甲硅烷基; TES=三乙基甲硅烷基; TIPS=三异丙基甲硅烷基; DMNPS=二甲基降蒎基(dimethylnorpinyl)甲硅烷基; DMCPS=二甲基-3-氰基丙基甲硅烷基; DMHPS=二甲基-3-卤丙基甲硅烷基; b)用 BD₂F₁ 小鼠测试在 S-180 中比 CPT 活性高。c) 用 BD₂F₁ 小鼠测试在 Lewis 肺癌中比 CPT 活性高。符号“-”表示“未测试到”。

如表 1 所示,与喜树碱(CPT)和依立替康(IRT)相比本发明的化合物表现出良好至极佳的抗肿瘤活性。

细胞毒性分析

体外评估喜树碱衍生物对 HL-60(人早幼粒细胞性白血病)、833K(人畸胎癌)

和 DC-3F(仓鼠肺)细胞生长的细胞毒性作用。将初始密度为 5×10^{-4} 个细胞/ml 的细胞进行培养。37°C 5% CO₂ 潮湿气氛中将它们维持在 RPMI-1640 介质(GIBCO-BRL Grand Island, New York)中, 该介质含有青霉素(10μ/ml)/链霉素(100μg/ml)(GIBCO-BRL)和 10% 热灭活的胎牛血清。用 96 孔微板一式二份进行该分析。培养 72 小时后, 用 XTT-显微培养四唑分析确定化合物对 HL-60 的细胞毒性。Scudiero,D.A.,等人, Cancer Res.,48,4827(1988),本文将其纳入作为参考。在预热的(37°C)无血清的介质中制备 1mg/ml 2',3'-二(一甲氧基-4-硝基-5-磺基苯基(sulphenyl))-5-[(苯基氨基)羰基]-2H-氢氧化四唑(XTT)。将吩嗪硫酸甲酯(PMS)与新配制的 XTT 混合得到 0.075mM PMS-XTT 溶液(每 5ml 1mg/ml XTT 中加入 25μl 5mM PMS 原液)。在培养 72 小时后将 55μl 这种混合物加到细胞培养物的各孔中。37°C 培养 4 小时后, 用微板读数仪(EL340, Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, Vermont)测定 450nm 和 630nm 的吸光度。

用 Skehan 等人所述的用于测定细胞内蛋白含量的方法, 测定喜树碱混合物对 833K 畸胎瘤实体瘤细胞和 DC-3F 仓鼠肺细胞的细胞毒性。Skehan 等人, “用于抗癌药物筛选的新型细胞毒性比色分析”, J.Nat'l Cancer Inst.,82,1107(1990), 本文将其纳入作为参考。用三氯乙酸固定培养物, 然后用溶解在 1% 乙酸中的 0.4% 磺基罗丹明(sulforhodamine)B 染色 30 分钟。用乙酸冲洗除去未结合的染料, 用非缓冲的 Tris 碱[三(羟基-甲基)氨基甲烷]提取结合蛋白质的染料, 以测定在 96 孔微板读数仪中 570nm 时的吸光度。该试验用 5-6 种浓度的测试药物一式二份进行。用计算机软件分析数据。见 Chou,J.和 Chou,T.C., “微型计算机进行剂量影响的分析: ED₅₀、LD₅₀ 的定量、协同作用、拮抗作用、低剂量风险、受体-配体结合和酶动力学”, 第二版, Biosoft,Cambridge(1987); 和 Chou,T.C., “中值有效理论和协同作用和拮抗作用定量的组合指数”, Synergism and Antagonism in Chemotherapy, Academic Press, San Diego,61-102(1991), 本文将它们纳入作为参考。

Topo I 介导的 DNA 切割的分析

对 DNA 切割分析而言, 反应混合物含有 10mM Tris-HCl 缓冲液(pH 7.5); 0.125μg/ml PBR₃₂₂ 超螺旋双链环状 DNA(4363 个碱基对, 来自 Boehringer Mannheim Biochemicals); 浓度为 1、10 和 100μM 的药物(喜树碱或其衍生物); 纯化的 DNA 局部异构酶 I, 终体积为如上所述的 20μl。Hsiang,Y.H.等人“通过哺乳动物 DNA 局部异构酶 I 喜树碱诱导的连接蛋白质的 DNA 断裂”, J.Biol.Chem.,260,

14873(1985), 本文将其纳入作为参考。在 37℃培养 60 分钟。加入加样缓冲液染料(2%十二烷基硫酸钠、0.05%溴酚蓝和 6%甘油)终止反应。用 1%琼脂糖凝胶及溴化乙锭(1μg/ml)在 TBE 缓冲液(Tris-碱-硼酸-EDTA)中进行电泳, 在 25V 跑样 18 小时。用 55/N 型号的 Polaroid 胶片在 UV 灯下拍摄照片, 如制造商所示显影。

抑制 Topo I 介导的超螺旋 DNA 的弛豫

为了研究对 DNA 局部异构酶 I 介导的 DNA 弛豫的抑制作用, 使用 Liu 和 Miller 所述的方法。Liu, H.F. 等人, “用哺乳动物 DNA 局部异构酶 II 切割 DNA”, J. Biol. Chem., 258, 15365 (1980), 本文将其纳入作为参考。在该分析中, 在 37℃在反应混合物(20μl, 含有 50mM Tris-HCl, pH7.5, 120mM KCl, 10mM MgCl₂, 0.5mM DTT, 0.5mM EDTA, 30μg/ml BSA, 20μg/ml PBR₃₂₂ DNA 和不同含量的酶)中培养 0.18μg PBR₃₂₂ DNA、0.5U Topo I (GIBCO-BRL)、各种浓度(1-100μM)喜树碱或其类似物 30 分钟, 用 5% SBS 和 150μg/ml 蛋白酶 K 终止反应。将样品加样到在 TAE 电泳缓冲液中的 1%琼脂糖上, 39V 电泳过夜, 用 EtBr 染色, 在 UV 光下拍照。

体内抗肿瘤活性

用患有肉瘤-180 或鼠类 Lewis 肺实体瘤的 B₆D₂F₁ 小鼠进行喜树碱衍生物的抗肿瘤活性测试。对 S-180, 在第 3 天皮下接种 3×10⁶ 个细胞。在第 1 天每天两次进行腹腔内抗肿瘤处理, 共 5 天。第 7 天和第 14 天测量肿瘤的体积。平均肿瘤体积表示为处理组的相对于未处理对照组的比例(T/C)。第 7 天和第 14 天对照组(仅用 DMSO 载体处理)的肿瘤体积分别为 0.11cm³ 和 0.61cm³。将 T/C 喜树碱设定为“+++”。第 14 天 2mg/kg 剂量, 相对于喜树碱 T/C 增加或减少 10%分别指示为增加或减少一个“+”单位。

对于 Lewis 肺癌, 在第 0 天皮下接种肿瘤细胞(1×10⁶), 第 1 天开始处理, 腹腔内每天两次共 5 天。如上所述将作用分级。

如表 1 所示, 在 1-3 种细胞系, 许多在体外测试抗肿瘤细胞毒性的式(1)喜树碱衍生物表现比喜树碱高的效力。大部分表现出较高抗肿瘤细胞毒性的那些化合物同样也表现出在提高 DNA-局部异构酶 I-介导的 PBR₃₂₂ DNA 切割中也有较高的效力, 或在抑制 DNA-局部异构酶 I-介导的 PBR₃₂₂ DNA 弛豫中也有较高的效力。这些结果表明喜树碱化合物的抗肿瘤细胞毒性与它们抑制 DNA-局部异构酶 I 功能间有很强的关联。

对于患肿瘤的小鼠的体内化疗作用,如 7-三甲基甲硅烷基喜树碱与喜树碱相比显示出:在 $B_6D_2F_1$ 小鼠中一些相当的剂量以剂量依赖性形式在肿瘤体积减少中,抗肉瘤的活性比喜树碱高。类似地对 Lewis 肺癌而言,7-三甲基甲硅烷基-11-氟喜树碱在比喜树碱剂量低 4 倍时,对减少肿瘤体积方面表现出与喜树碱类似的抗肿瘤作用。所以,在体内抗肿瘤作用中 7-三甲基甲硅烷基-11-氟喜树碱比喜树碱更有效。

人血液中的稳定性

最近研究了内酯和羟基形式喜树碱的内在荧光发射,以评估它们与人血液成分的明显不同的相互作用。Burke,T.G.和 Mi,Z.,“7 位上的乙基取代延长了 10-羟基喜树碱在人血清白蛋白中的半衰期”,*J.Med.Chem.*36:2580-2582(1993);Burke,T.G., Mishra,A.K.,Wani,M.C.和 Wall,M.E.,“喜树碱药物的脂双层分配及其稳定性”,*Biochemistry*,32:5352-5364(1993);Burke,T.G.和 Mi,Z.,“人血清白蛋白与羧酸形式喜树碱的择优结合”(1993)*Anal.Biochem.*212,285-287;Burke,T.G.和 Mi,Z.,“喜树碱与人血清白蛋白相互作用的结构基础:对药物稳定性的影响”(1994)*J.Med.Chem.* 37,40-46;Burke,T.G.Munshi,C.B.,Mi,Z.和 Jiang,Y.,“在决定喜树碱抗癌药物相对的人血液稳定性中白蛋白的重要作用”(1995)*J.Pharma.Sci.* 84,518-519;Mi,Z.和 Burke,T.G.,“喜树碱内酯和羧酸形式喜树碱与人血液成分间的不同相互作用”,(1994)*Biochemistry*,33,10325-10336;Mi,Z.和 Burke,T.G.,“不同品种喜树碱与血清白蛋白相互作用的显著差异:频域荧光光谱研究”,(1994)*Biochemistry* 33,12540-12545;Mi,Z.,Malak,H.和 Burke,T.G.,“减少白蛋白结合促进拓扑替康在人血液中的稳定性和活性”,(1995)*Biochemistry*,34,13722-13728,本文将它们全部纳入作为参考。

在 pH7.4 的磷酸盐缓冲盐水(PBS)中,频域荧光生存期光谱揭示出人血清白蛋白(HSA)择优地结合有羧酸形式的喜树碱,此结合能力比内酯形式喜树碱的结合高 200 倍。这些相互作用导致:与无 HSA 相比,存在 HSA 时喜树碱开环更迅速且更完全。在人血浆中, pH 7.4 和 37°C,喜树碱内酯迅速、完全开环成喜树碱羧酸形式, $t_{1/2}$ 值为 11 分钟,且处于平衡值的内酯%几乎可忽略,为 0.2%。与血浆相比,在全血中,喜树碱显示出稳定性提高($t_{1/2}$ 值为 22 分钟,处于平衡值的内酯%为 5.3%)。已发现人血液中喜树碱内酯稳定性的提高是因为药物与红血细胞脂双层的结合。喜树碱与红细胞膜结合,药物局限在酰基链区域,从而相应地保留了抗水解的保护。

已比较了有临床重要性的若干喜树碱类似物的人血液稳定性。如在喜树碱中所观察到的,观察到 9-氨基喜树碱在含有 HSA 的 PBS 溶液中几乎完全水解(>97%)。虽然由于它们显著减少的荧光量子产率(相对于喜树碱),没有尝试用光谱定量内酯和羧酸形式的 9-氨基喜树碱的相对结合亲和力,但 HPLC 数据与 HSA 择优结合羧酸形式喜树碱(与内酯形式相比)相一致。在血浆中,观察到>99.5% 9-氨基类似物转化成羧化物,这一发现与用喜树碱观察到的稳定性数据非常平行。在全血中,9-氨基喜树碱和喜树碱分别有<0.5%和 5.3%处于平衡的内酯形式。相对于 9-氨基喜树碱,保持在喜树碱平衡的内酯的水平要高约 10 倍,这部分可能是由于亲脂性的提高和喜树碱较高的从含水环境转移入全血中红细胞膜的能力。

与全人血中残留的处于平衡的低水平内酯(即喜树碱和 9-氨基喜树碱分别为<0.5%和 5.3%)完全相反,拓扑替康(11.9%)、CPT-11(21.0%)和 SN-38(19.5%)都表现出改善的血液稳定性。平衡中的拓扑替康内酯水平比 9-氨基喜树碱的高 20 倍,对 IRT(CPT-11)和 10-羟基-7-乙基喜树碱(SN-38)的相应内酯水平约比 9-氨基喜树碱的高 40 倍。拓扑替康、CPT-11 和 SN-38 相对稳定性的如此显著增效可能与它们和 HSA 有利的相互作用有关。这些试剂在 7-和 9-位含有结构取代基,这阻碍和防止了羧基药物形式与 HSA 的择优结合。最近将时间分辨荧光向异性技术用于确定:在喜树碱羧化物与 HSA 结合并在溶液中翻滚都与该蛋白质密切相关的实验条件下,羧化物形式的拓扑替康和 CPT-11 不与 HSA 结合。对于 SN-38 而言,获得的直接光谱表明 HSA 择优结合于该试剂的内酯形式,因此内酯-羧化物平衡偏向内酯。

所以,从这些观察中可以清楚看出 HSA 在决定喜树碱的相对人血液稳定性中起着重要作用。对喜树碱和 9-氨基喜树碱而言,HSA 作为羧化物形式药物的接受器,结合开环物并因此将内酯-羧化物平衡偏向羧化物。但对拓扑替康、CPT-11 和 SN-38 而言,未观察到 HSA 对羧化物形式药物的这种择优结合。与喜树碱及其 9-氨基类似物的情况相反,HSA 择优地结合于内酯形式的 SN-38,从而促进该生物活性物的较高循环水平。

活性药物(现有临床相关的喜树碱)迅速和大量的损失表明:迫切需要一种与蛋白质结合相互作用性低的喜树碱,且在人血液中的稳定性也要提高。由此来看,本发明的喜树碱类似物表现出独有的特性:表现出改善的在人血液中的稳定性,同时维持很高的抗癌活性。

测定脂双层分配(即亲脂性)和内酯环稳定性的试验方法

化学制剂: 所有喜树碱类似物都是呈(20S)构型, 且用荧光检测的 HPLC 分析都是高纯度的(>98%)。所有其他试剂都是试剂等级的, 且使用时无需进一步纯化。在所有试验中使用由 Milli-Q UV PLUS 纯化系统(Bedfor,MA)提供的高纯度水。

5 药物原液的制备: 用二甲基亚砷(A.C.S.分光光度级, Aldrich, Milwaukee, WI)制备药物原液, 浓度为 $2 \times 10^{-3} \text{M}$, 且储存在 4°C 暗处。从 Avanti Polar Lipids, Alabaster, Al 获得 L- α -二肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱(DMPC)和 L- α -二肉豆蔻酰基磷脂酰甘油(DMPG), 且无需进一步纯化直接使用。所有其他活性制剂都是试剂等级的, 均不经过其他纯化可直接使用。

10 微泡体的制备: 在试验当天用 Burke 和 Tritton, 在“单层磷脂酰胆碱微泡体蒽环类抗生素选择性的结构基础: 平衡 binoinl 研究”, Biochem 24:1768—1776(1985)中的方法制备单层微泡体(SUV)。简单地说, 通过涡流混合 5—10 分钟(超过脂类的 T_m), 用磷酸盐缓冲盐水(PBS, pH7.4)配制含有 200mg/ml 脂类的脂类悬浮原液。然后用浴式超声处理器(Laboratory Supplies C., Hicksville, NY)超声处理脂类悬

15 浮液 3—4 小时直到其看上去呈清澈。用 DMPG 制备 SUV 时观察到 pH 从 7.4 降至 6.8, 因此用少量 PBS 配制的 2.5M NaOH 将这些 SUV 悬浮液调节到 7.4, 然后再进行超声处理。37 $^{\circ}\text{C}$ 将各种类型的微泡体悬浮液退火 30 分钟, 然后再用于试验。

20 荧光设备: 由装配有恒温比色杯室的 SLM 型号 9850 荧光分光光度计进行稳态荧光测量。将该设备与 IBM PS/2 型号 55SX 计算机连接。记录激发和发射光谱, 激发分辨率为 8nm, 发射分辨率为 4nm。通过减去空白的光谱, 所有光谱都与由未标记的脂质或由溶剂产生的背景荧光和散射校准。稳态荧光强度测量是在无偏光器的条件下进行的。稳态向异性(a)测定是用处于“T-格式”的测量设备进行的同时测定两种极化强度。按常规, 用水配制的 0.25 μm 聚苯乙烯微球体

25 (Polysciences, Inc, Warrington, PA)的稀释悬浮液校正偏光器的定位, 且得到向异性值为 >0.99。另外, 用水配制的糖元稀释液校正偏光器的取向。用式 $a = (I_{VV} - GI_{VH}) / (I_{VV} + GI_{VH})$ 计算向异性, 其中 $G = I_{VH} / I_{HH}$, 下标分别指激发和发射偏光器的垂直和水平取向。

30 在每个发射道用 370nm 的激发光和长程滤波器进行喜树碱向异性的测定, 从背景散射和/或残留荧光中分离出药物荧光信号。所有发射滤波器都是从 Oriel Corp(Stamford, CT)购得的。激发光和发射滤波器的联合使用可以从背景信号中充分分离出荧光。背景荧光以及发射光的贡献通常小于总强度的 1%。因为喜树碱

及其相关化合物的内酯环在水性介质中发生水解,半衰期约为 20 分钟,所以这些测定都要在将药物原液与热预平衡溶液混合后最短时间内(0.5—1 分钟)完成,从而使实验在无水解产物的情况下完成。

平衡结合常数的确定:将 Burke,T.G.,Mishra,A.K.,Wani,M.C.和 Wall,M.E. “喜树碱药物的脂双层分配和稳定性”, Biochemsitry.32:5352—5364(1993)中报道的荧光向异性滴定的方法用于,测定含有总药物浓度为 $1 \times 10^{-6} \text{M}$ 和各种浓度脂质的脂质体悬浮液中游离的和结合的药物浓度。所有试验都在玻璃管中进行。总结合常数的定义为 $K = [A_B]/[A_F][L]$, 其中 $[A_B]$ 代表结合的药物浓度, $[A_F]$ 代表游离药物的浓度, $[L]$ 表示样品中总脂质浓度。结合等温线的双倒数图 $\{1/(\text{药物的结合分数}) \text{ 对 } 1/(\text{脂质})\}$ 是线性的,用线性最小二乘法从它们的斜率确定 K 值。基于 $K = [A_B]/[A_F][L]$ 关系式编写计算机程序,以预计特定 K 值和总药物条件下的结合药物水平。

内酯开环的动力学

用文献中所述的定量 C18 反相高效液相色谱(HPLC)测定存在不同血液成分时喜树碱的水解动力学。Mi 和 Burke(1994)见上。如前所述制备全血和分级血样。使用 Sigma Chemical(St.Louis,MO)的高纯度($>97\%$)结晶 HSA。用 PBS 缓冲液制备的 HSA 的终 pH 为 7.40 ± 0.05 。在 278nm 用消光系数 $39,800 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (Porter,1992)的 UV 吸光度测定 HSA 的浓度。所有其他试剂都是试剂等级的,且使用时无需进一步纯化。在所有试验中使用由 Milli-Q UV PLUS 纯化系统(Bedfor,MA)提供的高纯度水。

在细胞培养试验中体外测定本发明高度亲脂性喜树碱的抗癌活性

细胞:用 MDA-MB-435 致瘤人乳腺癌细胞进行细胞毒性测定。将细胞与一定范围浓度的药物接触 72 小时,然后用磺基若丹明 B(SRB)分析其生命力。用标准分析进行 SRB 分析。

25 荧光向异性滴定证明:本发明的喜树碱类似物对脂质微泡体表现出特别高的平衡结合常数。

图 12—15 显示:几种新型喜树碱类似物的荧光激发和发射光谱。图 12 显示在磷酸盐缓冲盐水中 $1 \mu\text{M}$ DB-172 的激发和发射光谱。该图表明,将脂双层引入样品后,化合物的荧光激发增加,表明药物和膜间发生了相互作用。将溶剂变成乙醇,荧光也改变。图 13—15 分别显示存在或不存在膜时, DB-173、DB-174 和 DB-67 的发射光谱。当药物分配到脂双层时,每种药物的荧光强度都有显著增加。在每种情况下,当药物与膜相互作用时,发射光谱都发生蓝移或移向较短

波长。图 12-15 显示的光谱数据清晰地表明新型试剂是荧光性的且一旦脂双层膜加到样品中时药物的光谱常数就发生改变。表 2 将新型喜树碱类似物的最大激发和发射波长与已有的类似物进行了比较。喜树碱的内在荧光性使得在测定各种类似物与脂双层结合相互作用强度的测定中可以使用稳态荧光向异性滴定的敏感方法。

表 2 溶液中和结合于 DMPC 和 DMPG SUVs 喜树碱类似物的荧光光谱参数

化合物	激发(nm)	发射(nm)		
		PBS	DMPC	DMPG
喜树碱	367	430	422	415
7-甲基喜树碱	366	421	418	405
7-乙基喜树碱	367	422	419	406
7-丙基喜树碱	366	422	419	406
7-甲基-10-乙氧基喜树碱	376	430	401	400
7-乙基-10-甲氧基喜树碱	376	430	403	406
7-丙基-10-甲氧基喜树碱	376	430	404	404
DB-67	400	550	445	440
DB-172	370	424	424	422
DB-173	395	526	503	502
DB-174	380	550	433	431
DB-202	377	450	439	437
CHJ-792	400	531	517	519

以下是所用的命名：DB-172, (20S)-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱(36c); DB-173, (20S)-10-氨基-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱(36b); DB-174, (20S)-10-羟基-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱(36a); DB-67, (20S)-10-羟基-7-(叔-丁基二甲基甲硅烷基)喜树碱; DB-148, (20S)-7-(3-氯丙基二甲基甲硅烷基)喜树碱; DB-158, (20S)-10-羟基-7-(3-氯丙基二甲基甲硅烷基)喜树碱; DB-202, (20S)-7-(叔-丁基二甲基甲硅烷基)喜树碱; CHJ-792, 10-氨基-7-三甲基甲硅烷基喜树碱(20); DB-124, 10-羟基-7-(3-二甲基氨基丙基二甲基甲硅烷基)喜树碱盐酸盐; 和 DB-104, 7-(3-二甲基氨基丙基二甲基甲硅烷基)喜树碱盐酸盐。

通过如下的 Perrin 方程式稳态荧光向异性(a)的量度与荧光分子的旋转速率相

关:

$$a_0/a = 1 + (\tau/\phi)$$

式中 a_0 是无去极化旋转时的极限荧光向异性, τ 是激发态生存期, 和 ϕ 是荧光团的旋转相关时间。上述等式表明, 荧光化合物的 τ 或 ϕ 值的变化都能调节其稳态向异性。

37°C测定在 PBS、乙醇和甲醇中喜树碱的激发态生存期值。测得生存期值分别为 4.7ns、3.8ns 和 3.5ns。类似地, 在 37°C测得当与 DMPC 双层结合时喜树碱的生存期值, 得到与膜结合的药物平均值为 3.7ns。

由上述生存期测定表明激发态喜树碱的激发态生存期对微环境中的变化(如溶剂变化或荧光团从水性环境易位到磷脂膜)相对不敏感。对于在强烈影响其转动运动的变迁中(如溶剂粘度的变化或荧光团结合于大分子量的组件如脂质体颗粒), τ 值仍保持相对稳定的荧光而言, Perrin 方程式表明 a 和 ϕ 值间存在直接的相关性(即, 随着荧光化合物 ϕ 值的增加, 其稳态向异性值也增加)。

喜树碱类似物的稳态荧光向异性值对溶剂粘度高度敏感, 且对与小单层脂质微泡体结合也极敏感。例如, 拓扑替康在 PBS 中的 a 值为 0.008, 而在粘性溶剂辛醇和甘油中该 a 值分别增加 9 倍和 40 倍。当药物与由 DMPC 或 DMPG 构成的微泡体结合时, 观察到喜树碱的 a 值提高了 21 倍。由于喜树碱 a 值对膜结合的敏感性, 可用荧光向异性滴定来研究喜树碱类似物与脂双层的平衡结合。如上所述, 试验包括确定一系列样品的 a 值, 各样品中药物的浓度维持恒定(通常为 1 或 20 2 μ M), 而膜中脂质的浓度设为在 0—0.29M 间变化。

由于新合成的喜树碱的明亮(brilliant)的荧光发射的结果(表 2 中列出了光谱参数的概略), 图 16—18 中总结的吸附等温线相对无任何背景信号。用浓度为 1 μ M 的药物和长程滤波器将背景信号(即, 因可能存在的杂质而引起的散射激发光和外界荧光信号)与发射光分离, 溶解在 PBS 缓冲液中的药物信号水平无膜时通常为 99.97%, 存在膜时则大于 98%。用吸附等温线确定喜树碱药物的总结合常数。总结合常数的定义如下:

$$K = [A_B]/[A_F][L]$$

式中 $[A_B]$ 表示结合药物的浓度, $[A_F]$ 代表游离药物的浓度, 和 $[L]$ 表示微泡体悬浮液中总的脂质浓度。当游离脂质的浓度与总脂质浓度几乎相同时(即游离脂质的浓度显著超过结合药物的浓度), 这个方程式有效。如果满足条件, K 可从双倒数图的斜率的倒数测得。在该双倒数图中(图 19 和 20 显示了代表性数据), 总结合药物的 1/分数相对于 1/脂质浓度作图, 其中 y 截距为 1(对表现出结合位点均一的系

统而言)。新型喜树碱类似物与 DMPC 和 DMPG 小单层微泡体(SUV)制剂缔合的双倒数图是线性的,具有很好的相关系数。这些图的线性以及药物与其他类型膜制剂缔合的相应的图表明:在这些脂质浓度的荧光团结合适合于用上述方程式描述。

- 5 表 3 所总结的研究检测了喜树碱与脂双层结合的结构基础。在这些研究中包括了两种类型的膜,研究在接近生理条件的 pH 和温度中进行;这些膜包括液相和电中性的 L- α -二肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱(DMPC);和液相和带负电荷的 L- α -二肉豆蔻酰基磷脂酰甘油(DMPG)。DMPC 和 DMPG 具有相同的链长,但端部的基团上的电荷有差异。

10

表 3. 37°C在 pH 7.4 的 PBS 缓冲液中喜树碱类似物与电中性的 DMPC、带负电荷的 DMPG 的单层微泡体相互作用的总结合常数

化合物	$K_{\text{DMPC}}(\text{M}^{-1})$	$K_{\text{DMPG}}(\text{M}^{-1})$
20(S)-喜树碱	100	100
7-甲基-20(S)-喜树碱	150	180
7-乙基-20(S)-喜树碱	250	300
7-丙基-20(S)-喜树碱	540	600
7-甲基-10-甲氧基喜树碱	220	200
7-乙基-10-甲氧基喜树碱	340	330
7-丙基-10-甲氧基喜树碱	440	570
7-甲基-10-羟基喜树碱	220	90
7-乙基-10-羟基喜树碱	260	160
7-丙基-10-羟基喜树碱	550	250
7-丁基-10-羟基喜树碱	2100	1270
DB-67	2700	2800
DB-172	10500	10600
DB-172(羧化物形式)	385	155
DB-173	5800	5800
DB-174	9000	6600
DB-174(羧化物形式)	540	600
CHJ-792	820	360

在表 3 的研究中,用荧光向异性滴定该构建结合等温线,由双倒数图的斜率

确定 K 值。K 值的有 10% 的误差。大体来说, 表 3 中所列出的数据的最显著的特点是在 7 位的单取代或在 7 和 10 位的双取代能实现强调制。表 3 中所包括的是已知的喜树碱化合物。所列出的这些数据表现出: 相对于已知的化合物, 新型喜树碱具有高度亲脂性特性。已发现拓扑替康对 DMPC 脂质体的 K 值比喜树碱的小约 10 倍。表 3 清楚地显示, 本发明的化合物比喜树碱或拓扑替康更亲脂得多。例如, DB67 对 DMPC 或 DMPG 构成的膜的亲和力比喜树碱相应的数据分别大 27 倍和 28 倍。DB172 和 DB174 比喜树碱与 DMPC 的结合要高 100 倍和 90 倍。DB173 同样也具有高度亲脂性, 表现出对 DMPC 的 K 值比喜树碱的高约 58 倍。总而言之, 发现表 3 所列出的本发明的新型化合物与其他化合物(已有的含有相同 α -羟基- δ -内酯环系统的喜树碱类似物)相比具有最高的膜亲和力。

在水溶液中比较高度亲脂性的喜树碱的表现

图 21 显示了在生理温度 pH 7.4 的磷酸盐缓冲盐水中 DB172 的稳定性。如图所示, 在不同浓度 DB172 内酯部分作为时间的函数。将药物从浓 DMSO 原液加至溶液中, 使得相对于水的体积 DMSO 的体积非常小(小于 0.5%)。发现药物的稳定性明显取决于所添加的药物浓度。在较稀的药物浓度, 药物的水解如先前在其他含有 α -羟基- δ -内酯部分的喜树碱中所观察到的。在高药物浓度则观察到 DB-172 的内酯环明显稳定化, 而这通常在其他喜树碱中没有观察到。

图 22 显示了 DB172 的荧光强度是时间和 pH 的函数。在这些试验中, 将 DB172 以内酯形式加入溶液中。在低 pH, 药物保持内酯形式, 强度随时间的变化最低。在 pH10, 内酯较易水解形成羧化物, 观察到荧光强度有明显的变化。看来在 pH10 由内酯构成的非荧光的胶束聚集体发生解聚集, 并形成开环的羧化物形式(在溶液中趋于以单体荧光分子存在)。

图 23 研究了 DB172 的强度密度作为浓度的函数。在将低浓度内酯药物添加到溶液后, 荧光信号变化最大, 而在高浓度药物(10 μ M)时荧光强度的变化最小。据信, 在低浓度荧光度低的 DB172 的胶束聚集可以解聚集并形成荧光的羧化物分子, 但在较高的药物的浓度平衡有利于使试剂保持团聚或低荧光的状态。图 24 显示了当将羧化物形式的 DB172 加到 pH10 的溶液中时, 荧光信号没有观察到变化, 而在较低的 pH 值(可能形成内酯)荧光强度随着时间减少。同样在 pH 下降时发生的荧光的降低看来是由于形成了低荧光量子产率的内酯聚集体。

图 21-24 是与在微摩尔药物浓度的 DB172 内酯自身结合和形成胶束的独特能力一致的。DB172 聚集体表现出荧光减少。如果条件允许发生水解使得形成羧化物形式, 样品的荧光强度将增加。图 25 比较了在将内酯药物形式添加到溶液

之后样品荧光发射的相对变化。在这些试验中，在 0 时将各药物的值归一化为 1，随着时间观察各种类似物解缔合的能力(如果在 0 时药物聚集体)。对一些药物而言，形成羧化物的水解在溶液中进行。由于羧化物形式较不易自身结合，且表现出减少的荧光，药物水解使聚集体解体将增加荧光强度。在 0 时 DB172 以特别高的程度自身结合，而其他药剂自身结合程度要低许多，所以随时间的变化它们的信号比较稳定，对水解反应也不是很敏感。相对于 DB172，DB173 和 DB67 更易在溶液中以单体药物存在。这于要将溶液给予患者而言是有利的特征，因为比聚集的 DB172 悬浮液更均匀。

在人血液中高度亲脂性喜树碱稳定性的显著增加

还证明了与水溶性类似物相比，本发明的高度亲脂性喜树碱的内酯形式在组织如血液中保持的时间更长。图 26 比较了一些游离形式的新型喜树碱类似物在 PBS 缓冲液(图 A)与全血(图 B)中的稳定性。这些化合物包括：7-叔-丁基二甲基甲硅烷基喜树碱(DB202)、7-叔-丁基二甲基甲硅烷基-10-羟基喜树碱(DB67)、7-(3-氯丙基)二甲基甲硅烷基喜树碱(DB148)和 7-(3-氯丙基)-二甲基甲硅烷基-10-羟基喜树碱(DB158)。图 27 总结了 DB172、DB173 和 DB174 在 PBS 缓冲液中(图 A)、含有相当于生理 30mg/ml 水平 HSA 的 PBS 缓冲液(图 B)和人血(图 C)的稳定性数据。所有试验都在生理温度进行。

发现高度生物活性和亲脂性化合物 7-叔-丁基二甲基甲硅烷基-10-羟基喜树碱(DB-67)在人血中表现出极佳的稳定性， $t_{1/2}$ 为 130 分钟，处于平衡值的 % 内酯为 30(与在人全血中 % 内酯的平衡值相比：分别为 9-氨基喜树碱(<0.3%)、喜树碱(5.3%)、拓扑替康(8.6%)、CPT-11(21.0%)和 SN-38(19.5%))。表 4 列出了稳定性数据。发现新型 DB67 的亲脂性比喜树碱高 25 倍，发现其 10-羟基官能团明显促进它的稳定性(存在 HSA 时)。DB67 可能是治疗脑癌的理想候选药物。由于固有活性比喜树碱高若干倍，DB67 在人血液中表现出非常高的平衡内酯水平，且不象喜树碱和 9-氨基喜树碱那样与人白蛋白紧密结合，且所具有的高度亲脂性使该药剂更易透过血脑屏障。

表 3 在不同生物液体中喜树碱类似物的稳定性参数

药物名称和液体	$t_{1/2}$ (分钟)	处于平衡的内酯百分数
DB202		
全血	71.9+/-4.2	1.0+/-0.1
HSA	46.3+/-1.0	0.1+/-0.2
PBS	27.9+/-1.9	12.2+/-0.4

RBC	79.4+/-3.3	59.4+/-0.0
DB148		
全血	85.6+/-9.2	2.2+/-3.6
HSA	16.0+/-0.2	2.7+/-0.2
PBS	23.3+/-2.4	12.0+/-0.5
RBC	59.7+/-2.9	59.4+/-0.8
DB67		
全血	133.0+/-15.9	30.5+/-1.9
HSA	119.0+/-5.3	10.5+/-2.0
PBS	31.8+/-0.4	10.2+/-0.3
RBC	51.4+/-0.5	41.4+/-0.7
CHJ792		
全血	37.6+/-6.2	12.3+/-0.0
HSA	32.0+/-1.3	3.7+/-0.3
PBS	31.3+/-0.6	10.5+/-0.3
DB67		
全血	65.3+/-9.0	17.8+/-2.0
HSA	48.0+/-0.9	17.2+/-0.7
PBS	29.5+/-1.7	11.3+/-1.8
RBC	67.7+/-8.5	50.2+/-1.7
7 TMS		
全血	54.6+/-3.6	23.7+/-0.0
HSA	58.5+/-6.8	16.4+/-1.9
PBS	34.6+/-1.0	11.1+/-0.1
SN 38		
全血	50.7+/-1.4	20.2+/-1.9
HSA	88.1+/-2.9	24.3+/-0.7
拓扑替康		
全血	30.9+/-1.4	8.61+/-0.4
HSA	22.1+/-0.7	7.06+/-0.3
DB172		

全血	103.6+/-10.8	24.1+/-2.6
HSA	86.1+/-10.3	4.3+/-1.0
DB173		
全血	69.0+/-4.0	36.3+/-1.7
HSA	49.0+/-1.3	15.5+/-0.5
PBS	45.3+/-2.0	11.9+/-0.3
DB174		
全血	40.3+/-3.2	33.0+/-0.4
HSA	37.7+/-0.9	20.4+/-0.2
PBS	29.7+/-0.4	13.7+/-0.7
DB124		
全血	63.1+/-7.4	31.8+/-0.8
HSA	40.0+/-0.3	12.2+/-0.3
PBS	30.3+/-1.0	8.9+/-0.3
DB104		
全血	77.2+/-1.8	48.1+/-2.0
HSA	29.6+/-0.8	8.5+/-0.2
PBS	24.1+/-1.0	7.5+/-0.2
喜树碱		
全血	21.6+/-2.6	5.3+/-0.6
HSA	11.9+/-0.3	<0.5
PBS	23.8+/-1.3	17+/-2.0

同样值得注意的是 DB-173 (36%内酯处于平衡)和 DB174(33%内酯处于平衡) 的高人血稳定性。这些值明显高于临床相关的水溶性喜树碱，且它们与亲脂性喜树碱如含有未取代 A-环的 DB-172 有利地竞争。

高度亲脂性喜树碱表现出口服的生物可利用性

- 5 图 28 所包括的数据证明 DB-67 由肠胃道吸收。为了评估在 5mg/kg 剂量所到达的血液水平，使四只动物胃内注射 0.1ml 溶解在 DMSO 中的 DB-67。原液含有浓度为 1.6mg/ml 的 DB67。在 30 分钟、1 小时、2 小时和 4 小时采集 1ml 血样，用心穿刺法收集。将血样离心 3 分钟，冰冻储存直至进行分析。观察到 DB67 水平超过 40ng/ml 水平，大部分药物仍保持为活性内酯药物。所以，本文所述的新型高度亲脂性类似物可以口服给药，且在给药后将在血流中出现。
- 10

即使存在人血清白蛋白时高度亲脂性喜树碱也表现出高度抗癌效力。

如上所述，在水溶液中喜树碱的自发性水解产生开环羧化物形式，其比闭环内酯形式的活性低许多。所以，内酯和羧化物形式间的平衡是药物活性的最重要的决定性因素。已有的研究表明人血清白蛋白(HSA)对此平衡有很大的影响，且因偏向与羧化物形式相互作用而使平衡有利于喜树碱的羧化物。由于这种 HSA 的作用，在肿瘤位点生物活性的喜树碱内酯形式的水平减弱。通过药物结构的修饰可控制这种药物—HSA 间的相互作用：10—OH 取代使药物与 HSA 的亲合力约减少 20 倍，7—乙基的取代进一步以有利于内酯的形式改变此结合。为了测定 HSA 对本发明血液稳定的喜树碱类似物的细胞毒性的影响，对喜树碱类似物的细胞毒性作用进行了研究。

使用磺基若丹明 B(SRB)分析法。该分析法测定活细胞中总的蛋白质水平。裂解死细胞的蛋白质，将其在 TCA 固定前在冲洗步骤中除去。但是可能处于死亡初期的细胞的膜还是完整的，所以其中还含有蛋白质。因此，490nm 的光密度有时会过高，细胞毒性则被低估了。为了使 SRB 分析有效，已在多种肿瘤细胞系中测试了多范围的化疗试剂，发现与标准四唑(MIT)分析和促克隆形成(clonogenic)分析有密切关联。如今 SRB 分析已是很成熟的分析方法，最近由 NCI 推荐为抗癌药物筛选的标准分析方法。

表 5 列出了，存在或不存在 1mg/mlHSA 时，各种喜树碱对 MDA—MB—436 致肿瘤转移人乳腺癌细胞的细胞毒性。表 5 中列出了细胞与药物接触 72 小时后的细胞毒性值。总的来说，HSA 能强烈减弱喜树碱的 IC₅₀ 值，但 HSA 调节新型高度亲脂性类似物的细胞毒性的程度显著降低。事实上，1mg/ml HSA 对 DB173 的细胞毒性没有影响。存在 HAS 时，DB173 显示出低 nM 的抗人乳腺癌细胞的效力。即使存在白蛋白时该药剂保持效力的能力是有潜在的重要性的，因为在身体的血液和组织中该蛋白存在的量非常大。

表 4 存在或不存在人血清白蛋白时，喜树碱和其类似物抗 MDA—MB—435 致瘤转移人乳腺癌细胞的 IC₅₀ 值。

化合物	IC ₅₀ (nM)(w/o HSA)	IC ₅₀ (nM)(w/HSA)
喜树碱	8	>200
7—乙基—10—羟基喜树碱(SN—38)	20	—
DB—174	12	—
DB—67	7	22
DB—173	4	4

因此,本发明发现,在喜树碱结构的7位引入甲硅烷基或甲硅烷基烷基基团(如三甲基甲硅烷基或三甲基甲硅烷基乙基基团),通常得到的化合物与喜树碱(见如,将实施例1的化合物与(20S)-CPT和其他已有的喜树碱类似物相比)相比具有更好的抗肿瘤活性和人血液稳定性。在7和10位双取代的是更优选的(如见化合物5 DB-173和DB-174)。在依立替康系列中甲硅烷基或甲硅烷基烷基基团也是有益的(见如,实施例6化合物与依立替康相比)。

当将羟基引入实施例1化合物的10位以生成实施例5的化合物时,抗肿瘤活性保持基本不变。实施例6的化合物是SN-38的相关物,是依立替康的活性代谢产物。最近将三甲基甲硅烷基引入的同时将氟原子引入11位(见如,实施例10 7的化合物)或在10或11位引入伯胺(分别见实施例8和9)的研究中也观察到很高的活性。在12位引入氟原子形成的类似物的效力也仅比喜树碱低约2倍(见如,实施例11与(20S)-CPT相比)。考虑到先前所报道的12-取代的喜树碱的低活性,该结果是令人惊奇的。

本发明的新型喜树碱类似物具有独特的生物物理和生理特性。这些高度亲脂性的喜树碱类似物,含有B-环修饰和A-和B-环修饰,在人血液中表现出明显改善的 α -羟基- δ -内酯环稳定性。本发明的喜树碱类似物还表现出口服生物可利用性和强烈的抗癌活性(即使存在人血清白蛋白)。

因此哺乳动物(人或动物)可用如下方法治疗:给予药用有效剂量的式(1)化合物或其药学上可接受的盐。由此可改善哺乳动物的病症。

20 本发明的化合物可以各种剂型给予,包括如:肠胃外给药(如静脉内、皮内、肌肉或皮下);口服(如以片剂、锭剂、胶囊、悬浮液或水溶液的形式);以栓剂的形式直肠或阴道给药;或表面给药(如软胶、乳膏或洗液)。

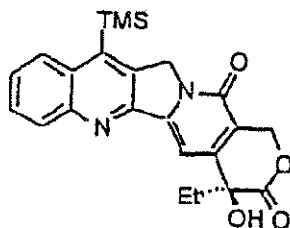
可由本领域技术人员确定给药的最佳剂量,且根据所使用的式(1)化合物、制剂的强度、给药的模式、给药的时间和频率、和患者病症的阶段而不同。其他取25 决于特定患者的因素也需要对剂量进行调节。这些因素包括患者的年龄、体重、性别和饮食。在不同的时间间隔可一次给药或分成若干较小的剂量给药。

实施例

提供以下实施例来说明本发明,但对本发明没有限制作用。

30 实施例1

制备(20S)-7-三甲基甲硅烷基喜树碱



(1) (S)-4-乙基-4-羟基-6-碘-3-氧代-7-(3-三甲基甲硅烷基-2-丙炔基)-1H-吡喃并[3,4-c]-8-吡啶酮

0℃氩气下,在用 DME(2.5ml)和 DMF(0.60ml)配制的(S)-4-乙基-4-羟基-6-碘-3-氧代-1H-吡喃并[3,4-c]-8-吡啶酮[碘代吡啶酮(2), 250mg,0.746mmol]中加入用矿物油配制的 60%NaH (31.3mg,0.783mmol)。10 分钟后加入 LiBr(150mg,1.75mmol)。室温 15 分钟后,注射入 3-三甲基甲硅烷基-2-丙炔溴(430mg,2.24mmol),暗处在 65℃加热此反应混合物的 20 小时。将最终的溶液倾倒入盐水(20ml)中,用 AcOEt(6×15ml)提取并干燥(Na₂SO₄)。除去溶剂后,将残留物进行快速层析(CHCl₃/AcOEt 95:5),得到 283mg(85%)泡沫状物:

$[\alpha]_D^{20} +36.7$ (c 1, CHCl₃); IR(纯, cm⁻¹) 3384, 2940, 2166, 1730, 1634, 1518, 1406, 1130, 841, 752; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.14 (s, 9 H), 0.95 (t, *J* = 7.4 Hz, 3 H), 1.77 (m, 2 H), 3.66 (s, 1 H), 5.00 (d, *J* = 17.2 Hz, 1 H), 5.10 (d, *J* = 16.4 Hz, 1 H), 5.15 (d, *J* = 17.2 Hz, 1 H), 5.49 (d, *J* = 16.4 Hz, 1 H), 7.16 (s, 1 H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ -0.40, 7.7, 31.5, 44.5, 66.3, 71.8, 90.9, 97.9, 116.5, 118.1, 148.6, 157.9, 173.3; HRMS (EI) *m/z* C₁₆H₂₀INO₄Si (M⁺) 的计算值 445.0206, 实测值 445.0203; LRMS (EI) *m/z* 445 (M⁺), 430, 416, 386.

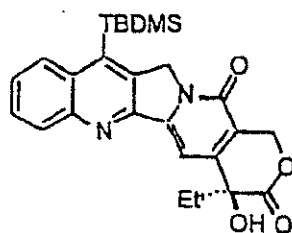
(2)(20S)-7-三甲基甲硅烷基喜树碱

70℃,在 275W GE 太阳灯照射下,将(1)中制备的化合物(36.6mg,0.082mmol)、苯基异腈(0.25mmol)和六甲基二锡(42mg,0.123mmol)的苯溶液(1.3ml)中搅拌 10 小时。将最终的反应混合物的浓缩,作快速层析(CHCl₃/MeOH 96:4)得到 18.8mg(54%)淡黄色固体:

$[\alpha]_D^{20} +39.0$ (c 0.2, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 4:1); ^1H NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 3:1) δ 0.50 (s, 9 H), 0.83 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H), 1.74 (m, 2 H), 3.72 (br s, 1 H), 5.12 (d, $J = 16.4$ Hz, 1 H), 5.16 (br s, 2 H), 5.47 (d, $J = 16.4$ Hz, 1 H), 7.49 (t, $J = 8.1$ Hz, 1 H), 7.54 (s, 1 H), 7.62 (t, $J = 8.1$ Hz, 1 H), 8.02 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H), 8.07 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 3:1) δ 0.9, 7.2, 29.3, 31.0, 51.7, 65.5, 98.3, 118.4, 127.3, 128.0, 129.7, 130.0, 131.8, 134.3, 144.7, 145.6, 147.3, 151.1, 173.5; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4\text{Si}$ (M^+) 的计算值 420.1505, 实测值 420.1501; LRMS (EI) m/z 420 (M^+), 391, 376, 361, 347, 320, 291.

实施例 2

制备(20S)-7-叔-丁基二甲基甲硅烷基喜树碱(DB-202)



5

(1) (S)-4-乙基-4-羟基-6-碘-3-氧代-7-(3-叔-丁基二甲基甲硅烷基-2-丙炔基)-1H-吡喃并[3,4-c]-8-吡啶酮

按实施例 1-(1)所述的流程, 用碘代吡啶酮(2)(200mg,0.60mmol)和 3-叔-丁基二甲基甲硅烷基-2-丙炔溴(280mg,1.20mmol)进行反应, 快速层析
10 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 9:1)后, 得到 173mg(59%)白色泡沫状物:

$[\alpha]_D^{20} +58$ (c 0.2, CHCl₃); IR (CHCl₃, cm⁻¹) 3548, 2950, 2927, 2859, 1745, 1648, 1526; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.08 (s, 6 H), 0.92 (m, 12 H), 1.79 (m, 2 H), 3.77 (br s, 1 H), 5.00-5.25 (m, 3 H), 5.50 (d, J = 16.4 Hz, 1 H) 7.19 (s, 1 H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ -4.9, 7.63, 16.6, 26.0, 31.6, 44.5, 66.3, 71.8, 89.4, 98.6, 100.0, 116.5, 118.1, 148.6, 158.0, 173.2; HRMS (EI) m/z C₁₉H₂₆INO₄Si (M⁺) 的计算值 487.0679, 实测值 487.0676; LRMS (EI) m/z 487 (M⁺), 430, 386, 96, 81, 57.

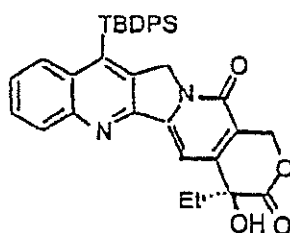
(2) (20S)-7-叔-丁基二甲基甲硅烷基喜树碱

按实施例 1-(2)所述的流程, 用(1)制备的化合物(48.7mg, 0.10mmol)进行反
5 应, 快速层析(CH₂Cl₂/丙酮 9:1)后, 得到 24.8mg(54%)灰黄色固体:

$[\alpha]_D^{20} +35.5$ (c 0.2, CHCl₃); IR (CHCl₃, cm⁻¹) 3028, 2980, 2960, 2932, 2859, 1741, 1658, 1600, 1555, 1257, 1198, 1158, 1045; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.69 (s, 6 H), 0.98 (s, 9 H), 1.03 (t, J = 7.3 Hz, 3 H), 1.86 (m, 2 H), 3.86 (s, 1 H), 5.29 (d, J = 16.3 Hz, 1 H), 5.31 (s, 2 H), 5.73 (d, J = 16.3 Hz, 1 H), 7.60 (t, J = 6.3 Hz, 1 H), 7.60 (t, J = 7.0 Hz, 1 H), 7.66 (s, 1 H), 7.74 (t, J = 7.3 Hz, 1 H) 8.20 (t, J = 8.1 Hz, 2 H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ -0.56, 7.80, 19.2, 27.1, 31.6, 52.4, 66.3, 72.8, 97.7, 118.2, 127.0, 129.5, 129.6, 130.8, 132.7, 136.0, 143.0, 146.4, 148.0, 150.1, 150.6, 157.4, 173.9; HRMS (EI) m/z C₂₆H₃₀N₂O₄Si (M⁺) 的计算值 462.1974, 实测值 462.1975; LRMS (EI) m/z 462 (M⁺), 450, 361, 331, 304, 245, 223, 57.

实施例 3

制备(20S)-7-叔-丁基二苯基甲硅烷基喜树碱



(1) (S)-4-乙基-4-羟基-6-碘-3-氧代-7-(3-叔-丁基二苯基甲硅烷基-2-丙炔基)-1H-吡喃并[3,4-c]-8-吡啶酮

按实施例 1-(1)所述的流程,用碘代吡啶酮(2)(200mg,0.60mmol)和 3-叔-
5 丁基二苯基甲硅烷基-2-丙炔溴(428mg,1.20mmol)进行反应,快速层析($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 9:1)后,得到 258mg(70%)白色泡沫状物:

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} +45.1$ (c 0.2, CHCl_3);

IR (CHCl_3 , cm^{-1}) 3546, 2928, 2855, 1741, 1658, 1526; ^1H

NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.97 (t, $J = 7.3$ Hz, 3 H), 1.08 (s, 9 H), 1.80 (m, $J = 7.1$ Hz, 2 H), 3.76 (br s, 1 H), 5.13 (d, $J = 16.4$ Hz, 1 H), 5.29 (d, $J = 2.5$ Hz, 2 H), 5.52 (d, $J = 16.4$ Hz, 1 H), 7.22 (s, 1 H), 7.32-7.40 (m, 6 H), 7.76-7.78 (m, 4 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 7.6, 18.6,

27.0, 31.6, 44.6, 60.4, 66.3, 71.8, 86.5, 99.9, 102.2, 116.6, 127.7, 129.6, 132.6, 135.6, 148.7, 157.8, 173.2;

HRMS (EI) m/z $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{INO}_4\text{Si}$ ($\text{M}-\text{C}_4\text{H}_9^+$) 的计算值 554.0279,

实测值 554.0285; LRMS (EI) m/z 554 ($\text{M}-\text{C}_4\text{H}_9^+$), 587, 510, 220, 143, 105.

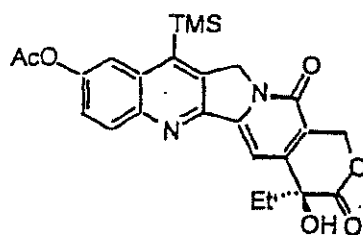
(2) (20S)-7-叔-丁基二苯基甲硅烷基喜树碱

10 按实施例 1-(2)所述的流程,用(1)制备的化合物(61.1mg,0.10mmol),快速层析($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 96:1; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{丙酮}$ 9:1)后,得到 26.5mg(45%)淡黄色固体:

$[\alpha]_D^{20} +35.2$ (c 0.2, CHCl_3); IR (CHCl_3 , cm^{-1}) 3003, 2984, 2969, 2958, 2935, 1741, 1658, 1599, 1555, 1428, 1226, 1216, 1158, 1102; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.00 (t, $J = 7.3$ Hz, 3 H), 1.44 (s, 9 H), 1.84 (m, 2 H), 3.75 (s, 1 H), 4.21 (d, $J = 5.7$ Hz, 2 H), 5.19 (d, $J = 16.3$ Hz, 1 H), 5.64 (d, $J = 16.3$ Hz, 1 H), 7.43 (m, 5 H), 7.51 (t, $J = 7.3$ Hz, 2 H), 7.62 (s, 1 H), 7.69 (m, 5 H), 8.10 (d, $J = 8.5$ Hz, 1 H), 8.22 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 7.9, 20.4, 30.2, 31.6, 52.2, 66.4, 72.8, 97.5, 118.2, 126.3, 128.6, 129.8, 130.3, 130.7, 131.9, 132.2, 134.6, 134.64, 136.4, 136.5, 138.1, 140.9, 146.2, 148.4, 149.9, 151.3, 157.1, 174.1; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_4\text{Si}$ (M^+) 的计算值 586.2281, 实测值 586.2288; LRMS (EI) m/z 586 (M^+), 542, 529, 485, 428, 407, 321, 181, 131, 69.

实施例 4

制备(20S)-10-乙酰氧基-7-三甲基甲硅烷基喜树碱(见图 3)



5

(1) 4-乙酰氧基苯基异腈(14)

0℃在用 CH_2Cl_2 (10ml)配制的 4-乙酰氧基苯基异腈(13)(358mg,1.0mmol)溶液中加入四溴甲烷(0.70g,2.1mmol)、三苯基膦(525mg,2.1mmol)和三乙胺(320ml,2.1mmol),暗处将此化合物回流 3 小时。蒸发掉溶剂后,在冰冻的 Et_2O (20ml)中研磨粗品,过滤。蒸发掉溶剂快速层析(己烷/ AcOEt 8: 2)纯化残留物,得到 243mg(76%)微棕色固体:

10

IR (neat, cm^{-1}) 2127, 1768, 1501, 1370, 1201, 1180, 909; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 2.29 (s, 3 H), 7.11 (d, $J = 8.8$ Hz, 2 H), 7.38 (d, $J = 8.8$ Hz, 2 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 21.0, 122.8, 127.6, 150.8, 164.3, 168.8; HRMS (EI) m/z $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}_2$ (M^+) 的计算值 161.0477, 实测值 161.0474; LRMS (EI) m/z 161 (M^+), 133, 119, 91.

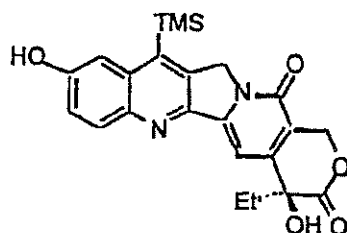
(2)(20S)-10-乙酰氧基-7-三甲基甲硅烷基喜树碱(15)

按实施例 1-(2)所述的流程,用实施例 1-(1)制备的化合物(44.5mg,0.10mmol)和(1)制备的化合物(48.3mg,0.30mmol)进行反应,快速层析(CHCl_3 /丙酮 10:1)后,得到 29.9mg(63%)淡黄色油:

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} +29.9$ (c 0.5, CHCl_3); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.61 (s, 9 H), 0.98 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H), 1.86 (m, 2 H), 2.38 (s, 3 H), 4.13 (br s, 1 H), 5.24 (d, $J = 16.4$ Hz, 1 H), 5.27 (s, 2 H), 5.68 (d, $J = 16.4$ Hz, 1 H), 7.46 (dd, $J = 9.2, 2.5$ Hz, 1 H), 7.60 (s, 1 H), 7.96 (d, $J = 2.5$ Hz, 1 H), 8.13 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 1.4, 7.8, 21.4, 31.5, 51.7, 66.2, 97.6, 118.3, 118.9, 124.6, 132.1, 135.0, 145.7, 146.1, 148.9, 150.1, 150.7, 157.3, 169.1, 173.7; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$ (M^+) 的计算值 478.1560, 实测值 478.1582; LRMS (EI) m/z 478 (M^+), 436, 392, 377, 336, 277.

实施例 5

10 制备(20S)-10-羟基-7-三甲基甲硅烷基喜树碱(16)



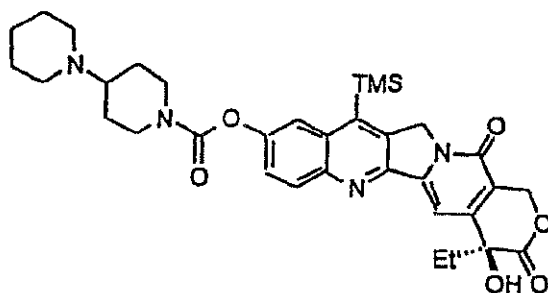
室温, 将实施例 5-(2)制备的化合物(15)(16.8mg,0.035mmol)和 K_2CO_3 (9.6mg, 0.070mmol)在 MeOH(100ml)和 H_2O (100ml)中搅拌 1 小时 30 分钟。用 AcOH(2 滴)酸化反应混合物, 用盐水(10ml)稀释, AcOEt(10×10ml)提取。干燥(Na_2SO_4)合并的有机层, 蒸发, 快速层析($CHCl_3/MeOH/AcOH$ 90:10:2; $CHCl_3$ /丙酮 2: 1)对残留物进行纯化, 得到 15.1mg(99%)白色固体:

$[\alpha]_D^{20} +18.9$ (c 0.2, $CHCl_3/MeOH$ 4:1); 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3/CD_3OD$ 4:1) δ 0.45 (s, 9 H), 0.84 (t, $J = 7.3$ Hz, 3 H), 1.75 (m, 2 H), 5.12 (br s, 2 H), 5.12 (d, $J = 16.3$ Hz, 1 H), 5.48 (d, $J = 16.3$ Hz, 1 H), 7.24 (dd, $J = 9.1, 2.5$ Hz, 1 H), 7.39 (d, $J = 2.5$ Hz, 1 H), 7.87 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3/CD_3OD$ 4:1) δ 0.8, 7.4, 31.1, 51.8, 65.7, 97.5, 109.8, 117.5, 122.3, 131.3, 133.7, 134.6, 141.7, 142.6, 146.3, 147.5, 151.1, 156.3, 157.6; HRMS (EI) m/z $C_{23}H_{24}N_2O_5Si$ (M^+)的计算值 436.1454, 实测值 436.1450; LRMS (EI) m/z 436 (M^+), 392, 377, 336, 323.

将此化合物与 $NH_2CH_2CH_2NMe_2$ 进行反应, 然后与 EtCOCl 进行反应, 得到 E-环开环的类似物, 进行生物测试。

10 实施例 6

制备(20S)-三甲基甲硅烷基-依立替康(见图 6)



(1) [1,4']联哌啶基-1'-羧酸 4-硝基-苯酯(32)

15 -78℃, 在 150ml 干 THF 配制的氯甲酸 4-硝基苯酯(31)(5.15g,25.6mmol)溶液中加入三乙胺(10.7ml,76.2mmol), 然后再加入用 40ml THF 配制的 4-哌啶基哌啶(30)(4.51g,25.6mmol)。搅拌此溶液 2 小时, 然后除去溶剂, 用 AcOEt 提取残

留物, 过滤、蒸发。用 AcOEt 作为洗脱液, 将粗制黄色固体通过中性氧化铝层, 蒸发后得到 6.73g(79%)白色固体:

IR (CHCl₃, cm⁻¹) 3046, 2937, 2859, 1704, 1620, 1513, 1466, 1242, 1197; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.20-1.80 (m, 8 H), 1.90 (d, *J* = 12.7 Hz, 2 H), 2.20-2.70 (m, 5 H), 2.87 (t, *J* = 12 Hz, 1 H), 3.01 (t, *J* = 12 Hz, 1 H), 4.30 (br s, 2 H), 7.29 (d, *J* = 9 Hz, 2 H), 8.26 (d, *J* = 9 Hz, 2 H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 24.6, 26.3, 27.5, 28.2, 40.1, 44.4, 50.1, 62.0, 122.2, 124.9, 144.8, 151.9, 156.3; HRMS (EI) *m/z* C₁₇H₂₃N₃O₄ (M⁺) 的计算值 333.1676, 实测值 333.1688; LRMS (EI) *m/z* 333 (M⁺), 195, 167, 124, 110, 96, 55.

5 (2) [1,4']联哌啶基-1'-羧酸 4-氨基-苯酯

在用 AcOEt(125ml)配制的(1)中制备的化合物(1.012g,3.03mmol)溶液中加入 10 %Pd/C(0.15g)。用氩气吹扫此系统若干次, 加入 1L 气瓶的 H₂。室温搅拌此混合物 12 小时后, 用硅藻土过滤除去催化剂, 蒸发掉溶剂, 得到 835mg(91%)白色固体:

IR (CHCl₃, cm⁻¹) 3453, 3400, 3028, 2936, 2859, 1703, 1513, 1429, 1242, 1226, 1210, 1197; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.30-1.70 (m, 8 H), 1.86 (d, *J* = 12.6 Hz, 2 H), 2.33-2.62 (m, 5 H), 2.68-3.04 (m, 2 H), 3.58 (br s, 2 H), 4.30 (br s, 2 H), 6.64 (d, *J* = 6.0 Hz, 2 H), 6.87 (d, *J* = 6.0 Hz, 2 H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 24.6, 26.3, 27.5, 28.1, 43.8, 43.9, 50.1, 62.3, 115.4, 122.3, 143.4, 143.7, 154.1; HRMS (EI) *m/z* C₁₇H₂₃N₃O₂ (M⁺) 的计算值 303.1944, 实测值 303.1947; LRMS (EI) *m/z* 303 (M⁺), 195, 167, 124, 108, 96, 80, 65, 55.

10

(3) [1,4']联哌啶基-1'-羧酸 4-甲酰氨基-苯酯(33)

0℃, 搅拌用 CH_2Cl_2 (5ml)配制的二环己基碳二亚胺(272mg,1.32mmol)溶液, 逐滴加入 98%甲酸(60.7mg,1.32mmol)。10 分钟后, 0℃用注射器将此混合物加到用吡啶(5ml)配制的实施例 2 制备的化合物(200mg,0.66mmol)溶液中。然后让反应混合物升温至室温, 搅拌 3 小时。蒸去吡啶, 用 CH_2Cl_2 提取残留物, 过滤、蒸发, 直接加样到碱性氧化铝柱上($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5), 得到 118mg(83%)白色固体, 室温时该固体是由顺式和反式旋转异构体(由受阻的围绕甲酰胺碳-氮键旋转而产生的)构成:

IR (CHCl_3 , cm^{-1}) 3025, 3013, 2937, 2888, 2861, 1703, 1517, 1466, 1275, 1226, 1210; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.38-1.80 (m, 8 H), 1.90 (d, $J = 12$ Hz, 2 H), 2.40-2.70 (m, 5 H), 2.83 (t, $J = 12$ Hz, 1 H), 2.97 (t, $J = 12$ Hz, 1 H), 4.32 (m, 2 H), 7.03-7.11 (m, 3 H), 7.37 (br s, .5 H) (cis), 7.46 (d, $J = 10$ Hz, 1 H), 7.53 (d, $J = 11$ Hz, .5 H) (trans), 8.32 (d, $J = 2$ Hz, .5 H) (cis), 8.59 (d, $J = 11$ Hz, .5 H) (trans); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 24.6, 26.3, 27.6, 28.1, 44.2, 44.0, 50.1, 82.2, 120.0, 121.0, 122.1, 123.0, 133.9, 134.3, 147.5, 148.9, 153.9, 153.4, 159.1, 162.5; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_3$ (M^+) 的计算值 331.1884, 实测值 331.1896; LRMS (EI) m/z 331 (M^+), 244, 202, 167, 124, 80, 55.

10 (4) [1,4]联哌啶基-1'-羧酸 4-异腈基-苯酯(34)

0℃, 在用 CH_2Cl_2 (5ml)配制的实施例(3)制备的化合物(90.1mg,0.272mmol)的溶液中依次加入三乙胺(69.5mg,0.688mmol), 然后逐滴加入用干 C_2HCl_2 (10ml)配制的三光气溶液(68mg,0.229mmol)。室温搅拌此混合物 2 小时, 用 7% NaHCO_3 (5ml)洗涤, 并干燥(MgSO_4)。蒸发掉溶剂后, 得到的粗制棕色残留物进行快速层析 ($\text{Et}_2\text{O}/\text{Et}_2\text{NH}$ 95:5), 得到 67.2mg(79%)白色固体:

IR (CHCl₃, cm⁻¹) 3034, 2937,
2131, 1718, 1504, 1429, 1233, 1224, 1213, 1198, 1184; ¹H
NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.32-1.75 (m, 8 H), 1.90 (br d, J
= 12.4 Hz, 2 H), 2.32-2.65 (m, 5 H), 2.84 (t, J = 12.3
Hz, 1 H), 2.98 (t, J = 12.1 Hz, 1 H), 4.20-4.40 (m, 2 H),
7.14 (d, J = 8.8 Hz, 2 H), 7.37 (d, J = 8.8 Hz, 2 H);
¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 25.0, 26.5, 27.8, 28.5, 44.4,
50.6, 62.7, 123.3, 127.8, 152.1, 153.1, 164.4; HRMS (EI)
m/z C₁₈H₂₃N₃O₂ (M⁺) 的计算值 313.1779, 实测值 313.1790;
LRMS (EI) m/z 313 (M⁺), 195, 167, 124, 110, 84, 55.

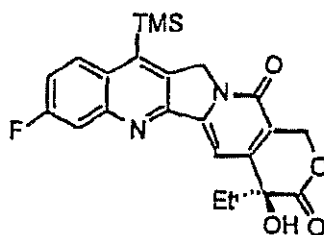
(5) (20S)-7-三甲基甲硅烷基-依立替康(35)

- 按实施例 1-(2)所述的流程, 70°C在 275W GE 太阳灯照射下, 在干苯(1.5ml)
5 中搅拌实施例 1-(1)制备的化合物(44.5mg,0.10mmol)、(4)制备的化合物(93.9mg,
0.3mmol)和六甲基二锡(50mg,0.15mmol)9 小时。蒸发反应物, 溶解在带有几滴
DMSO(辅助溶解)的 MeOH 中, 注射到 Waters 反相 HPLC 中。以下为用于进行分
离的条件。使用 Waters 600E 系统控制器, 其装备有 Waters 490E 程控多波长探测
器、Sargent Welch 绘图仪和 Waters C-18 25×10 柱体。梯度洗脱, [5:95
10 MeCN/H₂O(0.1% TFA)到 30:70 MeCN/H₂O(0.1%TFA)], 进行 40 分钟, 20ml/分,
干冻后得到半纯化灰色的固体。用 1mm 板在层析管(chromatotron)上进一步纯
化(CH₂Cl₂/EtOH 70:30)此灰色固体, 得到 12mg(19%)黄色固体:

$[\alpha]_D^{20} +14.8$ (c 0.2, CHCl₃); IR (CHCl₃, cm⁻¹) 3023, 2957, 2933, 1720, 1659, 1601, 1216, 1191, 1175, 1158; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.64 (s, 9 H), 1.03 (t, $J = 7.3$ Hz, 3 H), 1.50-1.51 (br m, 2 H), 1.51-1.52 (br m, 6 H), 1.84 (m, $J = 7.3$ Hz, 2 H), 2.01-2.10 (br m, 2 H), 2.60-2.75 (br s, 5 H), 2.75-3.12 (br m, 2 H), 4.30-4.50 (br m, 2 H), 5.30 (d, $J = 16.3$ Hz, 1 H), 5.31 (s, 2 H), 5.74 (d, $J = 16.3$ Hz, 1 H), 7.55 (dd, $J = 9.0, 2.4$ Hz, 1 H), 7.63 (s, 1 H), 8.01 (d, $J = 2.3$ Hz, 1 H), 8.19 (d, $J = 9$ Hz, 1 H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 1.5, 7.8, 25.4, 29.7, 31.5, 43.8, 50.1, 51.8, 62.5, 66.3, 72.8, 97.5, 118.1, 119.0, 125.1, 132.0, 132.3, 134.9, 143.4, 145.6, 146.4, 150.1, 150.5, 152.8, 157.4, 174.0; HRMS (EI) m/z C₃₄H₄₂N₄O₆Si (M⁺) 的计算值 630.2898, 实测值 630.2874; LRMS (EI) m/z 630 (M⁺), 586, 501, 457, 195, 167, 153, 124, 111, 96, 84.

实施例 7

制备(20S)-11-氟-7-三甲基甲硅烷基喜树碱(见图 2)



5

(1) 3-氟-2-三甲基甲硅烷基苯甲醛(7)

通过邻位金属取代制备 3-氟-2-三甲基甲硅烷基苯甲醛。见 Comins,D.L. 等人, J.Org.Chem.,49,1078(1984)。还可参见 Snieckus,V.,Chem.Rev.,90,879(1990)。-20℃, 在用 THF(50ml)配制的 N,N,N'-三甲基乙二胺(2.70ml,20mmol)溶液中慢慢加入用己烷配制的 1.6N 正-BuLi(13ml,21mmol), 15 分钟后再加入 3-氟苯甲
10 醛(2.10ml,20mmol)。该温度 15 分钟后, 注射入用己烷配制的 1.6N 正-BuLi(38ml,60mmol), -35℃ 搅拌此溶液 1 小时。加入氯代三甲基硅烷(15ml,120mmol), 室温搅拌此反应混合物的过夜。将最终的溶液倾倒入冰冻 1N

HCl(150ml)中, 用 Et_2O (3×100)迅速提取, 盐水洗涤, 干燥(Na_2SO_4)。蒸发掉溶剂后, 快速层析(己烷/ AcOEt 95:5)纯化, 得到 3.25g(83%)油:

IR (纯, cm^{-1}) 1701, 1440, 1252,
1233, 1109, 848, 764; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.40 (d, $J = 2.6$ Hz, 9 H), 7.18 (br t, $J = 9.0$ Hz, 1 H), 7.47 (ddd, $J_1 = J_2 = 8.1$ Hz, $J_3 = 5.4$ Hz, 1 H), 7.70 (br d, $J = 7.5$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 1.8, 120.8 (d, $J_{\text{CF}} = 29$ Hz), 126.8, 128.2, 131.2, 143.3, 167.6 (d, $J_{\text{CF}} = 244$ Hz), 192.4; HRMS (EI) m/z $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{FDSi}$ ($\text{M}-\text{CH}_3^+$) 的计算值 181.0485, 实测值 181.0482; LRMS (EI) m/z 181 ($\text{M}-\text{CH}_3^+$), 151, 125, 103, 91.

5 (2) 3-氟-2-三甲基甲硅烷基苯甲酸

然后进行标准氧化成游离酸。见 Hill, L.R. 等人, J.Org.Chem., 50, 470 (1985)。在叔-丁醇(20ml)配制的(1)制备的化合物(3.41g, 17.3mmol)溶液中, 逐次加入用 THF 配制的 2N 2-甲基-2-丁烯(55ml, 110mmol)溶液, 然后在 10 分钟内缓慢加入用水(18ml)配制的 80% NaClO_2 (2.55g, 22.5mmol)和 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (3.10g, 22.5mmol)溶液。室温搅拌得到混合物 16 小时, 蒸发掉叔-丁醇, 用 1N NaOH (50ml)吸收残留物, 用己烷($3 \times 20\text{ml}$)洗涤。用 1N HCl 将水层酸化至 pH 2, 用 NaCl 饱和, 用 Et_2O ($3 \times 50\text{ml}$)提取。干燥(Na_2SO_4)混合的有机层, 蒸发得到 3.13g(85%)白色固体:

IR (NaCl , cm^{-1}) 2982, 1700, 1434, 1294, 1271, 1253, 1230, 849, 763; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.39 (d, $J = 2.6$ Hz, 9 H), 7.16 (br t, $J = 9.1$ Hz, 1 H), 7.41 (ddd, $J_1 = J_2 = 7.9$ Hz, $J_3 = 5.6$ Hz, 1 H), 7.73 (br d, $J = 7.7$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 1.3, 119.5 (d, $J_{\text{CF}} = 27$ Hz), 126.0, 127.3, 130.9, 138.0, 167.5 (d, $J_{\text{CF}} = 243$ Hz), 174.5; HRMS (EI) m/z $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{FO}_2\text{Si}$ ($\text{M}-\text{CH}_3^+$) 的计算值 197.0434, 实测值 197.0433; LRMS (EI) m/z 197 ($\text{M}-\text{CH}_3^+$), 179, 133, 115, 105.

(3) 3-氟-2-三甲基甲硅烷基苯基异氰酸酯(8)

用 Curtius 重排法进行中间体异氰酸酯的制备。见 Capson, T.L. 等人, *Tetrahedron Lett.*, 25, 3515 (1984) 和其中的参考文献。在用 CH_2Cl_2 (20ml) 配制的 (2) 制备的化合物 (3.03g, 14.3mmol) 的溶液中加入草酰氯 (1.30ml, 15.0mmol), 室温搅拌得到的混合物
5 3 小时。蒸发掉溶剂后将得到的残留物用 THF (10ml) 稀释, 注射到剧烈搅拌的冰冻的用 H_2O (20ml) 和丙酮 (50ml) 配制的 NaN_3 (3.70g, 57mmol) 溶液中。0℃ 15 分钟、室温 1 分钟后, 用 Et_2O (4×50ml) 提取溶液并干燥 (Na_2SO_4)。蒸发掉溶剂后得到的残留物在甲苯中回流 1 小时 30 分钟, 除去上述溶剂后得到 2.85g (79%) 淡黄色油:

IR (纯, cm^{-1}) 2269, 1598, 1433, 1252, 1228, 846, 788; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.38 (d, $J = 1.9$ Hz, 9 H), 6.82 (br t, $J = 8.3$ Hz, 1 H), 6.90 (br d, $J = 8.2$ Hz, 1 H), 7.25 (ddd, $J_1 = J_2 = 8.1$ Hz, $J_3 = 6.6$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 0.4, 112.6 (d, $J_{\text{CF}} = 26$ Hz), 120.5, 122.5, 131.5, 139.2, 167.4 (d, $J_{\text{CF}} = 241$ Hz).

10

(4) 3-氟-2-三甲基甲硅烷基苯基异腈(9)

然后进行脱氧反应得到期望的异腈。见 Baldwin, J.E. 等人, *Tetrahedron*, 39, 2989 (1983)。0℃ 缓慢地将三乙胺 (4.10ml, 29.3mmol) 加到用 CH_2Cl_2 配制的 2N 三氯硅烷 (8.40ml, 16.8mmol) 溶液中, 5 分钟后加入实施例 (3) 制备的化合物 (2.35g, 11.2mmol)。
15 0℃ 1 小时 30 分钟和室温 30 分钟后, 用 NH_3 饱和此溶液, 硅藻土过滤, 用 5% NaH_2PO_4 洗涤, 干燥 (Na_2SO_4)。蒸发掉溶剂后得到的粗品进行快速层析 (己烷/ AcOEt 95:5), 得到 1.42g (66%) 淡紫色液体:

IR (纯, cm^{-1}) 2114, 1598, 1440, 1254, 1237, 1110, 943, 848, 793; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.45 (d, $J = 1.8$ Hz, 9 H), 7.01 (br t, $J = 8.3$ Hz, 1 H), 7.17 (br d, $J = 7.7$ Hz, 1 H), 7.32 (ddd, $J_1 = J_2 = 8.0$ Hz, $J_3 = 6.1$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 0.1, 116.5 (d, $J_{\text{CF}} = 26$ Hz), 124.3, 131.6, 166.8 (d, $J_{\text{CF}} = 243$ Hz), 166.9; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{FNSi}$ (M^+) 的计算值 193.0723, 实测值 193.0715; LRMS (EI) m/z 193 (M^+), 178, 150, 116, 105.

(5) (20S)-11-氟-7,12-二(三甲基甲硅烷基)喜树碱(11)

按实施例1-(2)所述的流程,用实施例1-(1)制备的化合物(43.5mg,0.098mmol)和实施例(4)制备的化合物(76mg,0.39mmol)进行反应,快速层析(CH_3Cl /丙酮 20:1)后得到 33.4mg(67%)淡黄色油:

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} +23.6$ (c 0.2, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.53 (d, $J = 1.7$ Hz, 9 H), 0.60 (s, 9 H), 1.02 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H), 1.88 (m, 2 H), 3.82 (br s, 1 H), 5.28 (d, $J = 16.3$ Hz, 1 H), 5.29 (br s, 2 H), 5.72 (d, $J = 16.3$ Hz, 1 H), 7.31 (t, $J = 8.7$ Hz, 1 H), 7.46 (s, 1 H), 8.18 (dd, $J = 9.2, 5.9$ Hz, 1 H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 1.6, 1.7, 7.7, 31.4, 51.8, 66.3, 72.7, 97.2, 117.8 (d, $J_{\text{CF}} = 33$ Hz), 124.3 (d, $J_{\text{CF}} = 28$ Hz), 128.9, 131.1, 133.1, 144.4, 146.7, 150.1, 153.4, 157.4, 167.6 (d, $J_{\text{CF}} = 245$ Hz), 173.9; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{FN}_2\text{O}_4\text{Si}_2$ (M^+) 的计算值 510.1806, 实测值 510.1806; LRMS (EI) m/z 510 (M^+), 495, 466, 451, 395, 319.

5

(6) (20S)-11-氟-7-三甲基甲硅烷基喜树碱(12)

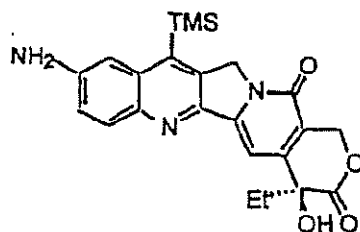
50℃加热用 48% HBr (1ml)配制的实施例(5)制备的化合物(19.5mg,0.038mmol)溶液 20 小时。缓慢将反应混合物的倾倒入剧烈搅拌的饱和 NaHCO_3 (10ml)中,用 AcOEt (6×20ml)提取,并干燥(Na_2SO_4)。蒸发掉溶剂后,快速层析(CHCl_3 /丙酮 8:

10 1)纯化残留物,得到 12.5mg(83%)淡黄色固体:

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} +39.6$ (c 0.2, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.62 (s, 9 H), 1.01 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H), 1.87 (m, 2 H), 3.81 (br s, 1 H), 5.28 (d, $J = 16.4$ Hz, 1 H), 5.28 (br s, 2 H), 5.72 (d, $J = 16.4$ Hz, 1 H), 7.31 (ddd, $J = 9.6, 7.8, 2.8$ Hz, 1 H), 7.61 (s, 1 H), 7.78 (dd, $J = 9.7, 2.7$ Hz, 1 H), 8.19 (dd, $J = 9.4, 5.8$ Hz, 1 H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 1.6, 7.8, 31.5, 51.7, 66.3, 72.7, 97.8, 114.3 (d, $J_{\text{CF}} = 20$ Hz), 117.7 (d, $J_{\text{CF}} = 26$ Hz), 118.5, 128.9, 130.0, 133.9, 144.4, 146.1, 149.3, 150.1, 151.7, 157.4, 162.6 (d, $J_{\text{CF}} = 250$ Hz), 173.9; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{FN}_2\text{O}_4\text{Si}$ (M^+) 的计算值 438.1411, 实测值 438.1412; LRMS (EI) m/z 438 (M^+), 409, 394, 379, 365, 338, 309.

实施例 8

制备(20S)-10-氨基-7-三甲基甲硅烷基喜树碱(见图 4)(CHJ-792)



(1) 4-叔-丁氧基羰基氨基苯基异腈(18)

5 通过标准 Boc 保护和脱水反应分两步制备该异腈。见 Einhorn, J.等人, Synlett, 37(1991)。清洗浴(cleaning bath)中超声处理用纯 EtOH(50ml)配制的 4-氨基甲酰苯胺(1.71g, 12.6mmol)、焦碳酸二-叔-丁酯(2.87g, 13.2mmol)和 NaHCO₃ (1.11g, 13.2mmol)混合物 4 小时。将最终的溶液用硅藻土片过滤, 浓缩至干燥。残留物吸收到半盐水(half brine)(50ml)中, 用 AcOEt(6×30mL)提取, 并干燥
10 (Na₂SO₄)。蒸发掉溶剂后, 将残留的油进行快速层析(CHCl₃/MeOH 95:5), 得到 2.85g(96%)呈白色固体的 4-叔-丁氧基羰基氨基甲酰苯胺。将此中间体(945g, 4.0mmol)进行如实施例 5-(1)所述的条件下进行处理, 快速层析(己烷/AcOEt 9:1)后, 得到 502mg(58%)微棕色固体:

IR (纯, cm⁻¹) 3370, 2121, 1691, 1524, 1412, 1364, 1239, 1158, 832; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.48 (s, 9 H), 6.75 (br s, 1 H), 7.26 (d, J = 8.8 Hz, 2 H), 7.37 (d, J = 8.8 Hz, 2 H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 28.2, 81.3, 118.5, 127.1, 139.4, 152.3, 162.7; HRMS (EI) m/z C₁₂H₁₄N₂O₂ (M⁺) 的计算值 218.1055, 实测值 218.1044; LRMS (EI) m/z 218 (M⁺), 162, 144.

15

(2) (20S)-10-叔-丁氧基羰基氨基-7-三甲基甲硅烷基喜树碱(19)

按实施例 1-(2)所述的流程, 用实施例 1-(1)制备的化合物(44.5mg, 0.10mmol)和实施例(1)制备的化合物(65mg, 0.30mmol)进行, 快速层析(CHCl₃/丙酮 6: 1)后, 得到 32.5mg(60%)淡黄色固体:

$[\alpha]_D^{20} +28.0$ (c 0.2, CHCl₃); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)

δ 0.63 (s, 9 H), 0.99 (t, J = 7.4 Hz, 3 H), 1.53 (s, 9 H), 1.86 (m, 2 H), 4.03 (br s, 1 H), 5.24 (d, J = 16.2 Hz, 1 H), 5.26 (s, 2 H), 5.70 (d, J = 16.2 Hz, 1 H), 7.00 (br s, 1 H), 7.47 (dd, J = 9.2, 2.3 Hz, 1 H), 7.55 (s, 1 H), 8.02 (d, J = 9.2 Hz, 1 H), 8.56 (br s, 1 H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 1.3, 7.8, 28.2, 31.5, 51.8, 66.3, 72.8, 97.1, 114.4, 117.8, 122.6, 131.3, 132.8, 135.0, 137.2, 142.9, 144.3, 146.6, 149.2, 150.1, 157.4, 173.9; HRMS (EI) m/z C₂₃H₂₅N₃O₄Si (M⁺) 的计算值 (M-Boc⁺) 435.1614, 实测值 435.1612; LRMS (EI) m/z 535 (M⁺), 479, 435, 391, 362, 335.

(3) (20S)-10-氨基-7-三甲基甲硅烷基喜树碱(20)

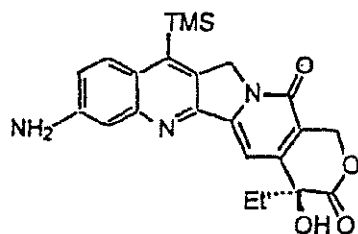
室温搅拌用 CH₂Cl₂(2ml)配制的实施例(2)制备的化合物(75.5mg,0.141mmol)和
5 TFA(500ml)溶液 3 小时。然后将反应混合物的倾倒入饱和的 NaHCO₃(50ml)中,用 AcOEt(10×15ml)提取并干燥 (Na₂SO₄)。蒸发掉溶剂后,快速层析(CHCl₃/MeOH 95:5)残留物,得到 55.4mg(90%)黄色固体:

$[\alpha]_D^{20} +18.7$ (c

0.15, CHCl₃/MeOH 4:1); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃/CD₃OD 4:1) δ 0.40 (s, 9 H), 0.80 (t, J = 7.4 Hz, 3 H), 1.70 (m, 2 H), 5.05 (s, 2 H), 5.08 (d, J = 16.3 Hz, 1 H), 5.43 (d, J = 16.3 Hz, 1 H), 7.05 (br s, 1 H), 7.07 (d, J = 8.0 Hz, 1 H), 7.38 (s, 1 H), 7.74 (d, J = 8.0 Hz, 1 H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃/CD₃OD 4:1) δ 0.6, 7.2, 30.8, 51.8, 65.5, 72.7, 97.0, 107.2, 116.8, 122.0, 130.7, 134.0, 134.7, 139.9, 141.7, 145.8, 146.9, 151.2, 157.5, 173.7; HRMS (EI) m/z C₂₃H₂₅N₃O₄Si (M⁺) 的计算值 435.1614, 实测值 435.1613; LRMS (EI) m/z 435 (M⁺), 391, 376, 335, 290.

实施例 9

制备(20S)-11-氨基-7-三甲基甲硅烷基喜树碱



(1) 3-叔-丁氧基羰基氨基苯基异脒

5 按实施例 9-(1)所述的相同流程分两步制备该异脒。在第一步中, 对 3-氨基甲酰苯胺(1.80g,13.2mmol)进行 Boc-保护, 快速层析($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95:5)后得到呈白色固体的 2.65g(85%)3-叔-丁氧基羰基氨基甲酰苯胺。然后将此中间体(412mg,1.74mmol)置于实施例 5-(1)所述的条件下, 快速层析(己烷/ AcOEt 9:1)后得到 190mg(50%)褐色固体:

IR (纯., cm^{-1}) 3318,
2126, 1715, 1603, 1547, 1433, 1236, 1162, 782; ^1H NMR
(300 MHz, CDCl_3) δ 1.49 (s, 9 H), 6.67 (br s, 1 H), 7.00
(m, 1 H), 7.20-7.30 (m, 2 H), 7.60 (br s, 1 H); ^{13}C NMR
(75 MHz, CDCl_3) δ 28.2, 81.3, 116.0, 118.9, 120.6, 129.8,
139.5, 152.3, 163.6; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ (M^+) 的计算值
218.1055, 实测值 218.1047; LRMS (EI) m/z 218 (M^+),
196, 162, 152, 118.

(2) (20S)-11-氨基-7-三甲基甲硅烷基喜树碱

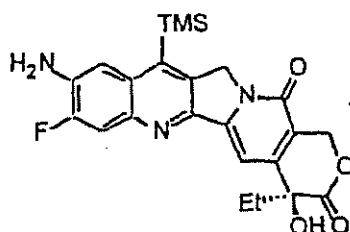
15 按实施例 1-(2)所述的流程,用实施例 1-(1)制备的化合物(44.5mg,0.10mmol)和实施例(1)制备的化合物(65.5mg,0.3mmol)进行, 快速层析($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95:5; $\text{CHCl}_3/\text{丙酮}$ 5: 1)后, 得到 23.1mg(43%)淡黄色油。然后在实施例 9-(3)所述的条件下将此中间体(14.7mg,0.027mmol)去保护, 快速层析($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1)后, 得到 11.8mg(99%)呈黄色固体的(20S)-11-氨基-7-三甲基甲硅烷基喜树碱, 不含其他异构体:

$[\alpha]_D^{20} +15.0$ (c

0.1, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 4:1); ^1H NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 4:1) δ 0.44 (s, 9 H), 0.86 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H), 1.76 (m, 2 H), 5.08 (s, 2 H), 5.14 (d, $J = 16.4$ Hz, 1 H), 5.50 (d, $J = 16.3$ Hz, 1 H), 6.97 (dd, $J = 9.2, 2.5$ Hz, 1 H), 7.07 (d, $J = 2.5$ Hz, 1 H), 7.50 (s, 1 H), 7.84 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 4:1) δ 1.1, 7.4, 31.0, 51.7, 65.6, 97.9, 107.9, 117.8, 119.7, 125.9, 127.1, 129.0, 130.4, 135.4, 144.3, 149.5, 149.9, 151.1, 157.6, 175.3; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4\text{Si}$ (M^+) 的计算值 435.1614, 实测值 435.1626; LRMS (EI) m/z 435 (M^+), 406, 391, 376, 335.

实施例 10

5 制备(20S)-11-氟-10-氨基-7-三甲基甲硅烷基喜树碱(见图 5)



(1) 4-叔-丁氧基羰基氨基-3-氟-1-硝基苯(22)

在用 CH_2Cl_2 (25ml) 配制的 2-氟-4-硝基苯胺(21)[按 Katritsky, A.R. 等人, J. Org. Chem., 51, 5039 (1986) 所述的方法制备] (2.16g, 13.9mmol) 溶液中逐次加入焦碳
 10 酸二-叔-丁酯(3.19g, 14.6mmol)、三乙胺(2.95ml, 20.8mmol) 和 4-二甲基氨基吡啶(210mg, 1.67mmol), 室温搅拌此反应混合物的 16 小时。用 CH_2Cl_2 (75ml) 稀释最
 15 终的溶液, 用冰冻 5% 柠檬酸(4×50ml) 洗涤, 干燥(Na_2SO_4)。蒸发掉溶剂后, 将
 残留物进行快速层析(己烷/ AcOEt 9:5), 按洗脱顺序首先得到 1.95g (55%) 单保护的衍
 生物 4-叔-丁氧基羰基氨基-3-氟-1-硝基苯, 然后得到 1.13g (23%) 双-保
 护衍生物, 4-二-叔-丁氧基羰基氨基-3-氟-1-硝基苯。单保护衍生物的特
 性如下:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.52 (s, 9 H), 6.99 (br s, 1 H), 7.95 (m, 1 H), 8.03 (br d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 8.34 (br t, $J = 8.5$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 28.1, 82.5, 110.9 (d, $J_{\text{CF}} = 23$ Hz), 118.3, 120.8, 133.5, 141.7, 150.1 (d, $J_{\text{CF}} = 243$ Hz), 151.4; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{O}_4$ (M^+) 的计算值 256.0859, 实测值 258.0854; LRMS (EI) m/z 256 (M^+), 200, 182, 57.

(2)4-叔-丁氧基羰基氨基-3-氟苯胺(24)

按如下常规流程将硝基还原成胺官能团。见 Ram,S.等人, Tetrahedron Lett.,25,3415(1984)。在用无水 MeOH(12ml)配制的实施例(1)制备的化合物 (1.62g,6.32mmol)和甲酸铵(1.70g,27mmol)溶液中加入 10% Pd-C(400mg)。室温 2 小时后,用硅藻土过滤最终的溶液,浓缩,直接将残留物进行快速层析($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1),得到 1.40g(98%)微黄色油:

^1H NMR (300 MHz, CD_3SOCD_3) δ 1.40 (s, 9 H), 5.22 (s, 2 H), 6.25-6.35 (m, 2 H), 6.93 (br t, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 8.29 (br s, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 28.5, 80.4, 102.1 (d, $J_{\text{CF}} = 24$ Hz), 110.7, 117.2, 122.8, 143.4, 153.1, 154.1 (d, $J_{\text{CF}} = 244$ Hz); HRMS (EI) m/z $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{O}_2$ (M^+) 的计算值 226.1118, 实测值 226.1116; LRMS (EI) m/z 226 (M^+), 170, 126, 83, 57.

10

(3)4-叔-丁氧基羰基氨基-3-氟苯基异脒(25)

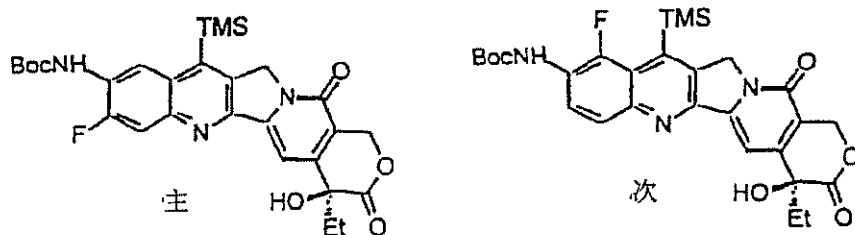
0℃在搅拌的 CH_2Cl_2 (15ml)配制的二环己基碳二亚胺(1.51g,7.31mmol)溶液中逐滴加入甲酸(275ml,7.31mmol)。10 分钟后, 0℃将得到的混合物加到用 CH_2Cl_2 (10ml)和吡啶(0.61ml,5.66mol)配制的实施例 2 制备的化合物(1.28g, 5.66mol) 15 溶液中, 为时 5 分钟。然后让反应混合物升温至室温, 并搅拌 16 小时。用硅藻土过滤后, 浓缩最终的溶液, 作快速层析($\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ 85:15)得到 1.44g(100%)白色固体 4-叔-丁氧基羰基氨基-3-氟甲酰胺。将此中间体(1.38g,5.43mmol)溶解在 CH_2Cl_2 (20ml)中, 在 0℃依次加入四溴甲烷(1.93g,5.80mmol)、三苯基膦(1.52g,5.80mmol)和 1, 4-二氮杂二环[2.2.2]辛烷(DABCO,650mg,5.80mol)。让反

应混合物升温至室温, 搅拌 2 小时。蒸发掉溶剂后, 在冰冻的 Et₂O(20ml)中研磨此粗品, 用硅藻土过滤。蒸发掉溶解后得到的残留物用快速层析(己烷/AcOEt 95:5 到 9: 1)纯化, 得到 660mg(51%)微棕色固体:

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.51 (s, 9 H), 6.76 (br s, 1 H), 7.05-7.20 (m, 2 H), 8.17 (br t, J = 8.6 Hz, 1 H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 28.1, 81.8, 113.3 (d, J_{CF} = 25 Hz), 119.7, 123.0, 128.6, 150.6 (d, J_{CF} = 242 Hz), 151.8, 164.2; HRMS (EI) m/z C₁₂H₁₃FN₂O₂ (M⁺) 的计算值 236.0961, 实测值 236.0952; LRMS (EI) m/z 236 (M⁺), 180, 163, 136, 08, 57.

5

(4)(20S)-10-叔-丁氧基羰基氨基-11-氟-7-三甲基甲硅烷基-喜树碱
(26)和(20S)-10-叔-丁氧基羰基氨基-9-氟-7-三甲基甲硅烷基喜树碱
(27)(1.9: 1 的混合物)



10 按实施例 1-(2)的流程制备, 使用实施例 1-(1)(66.8mg, 0.15mmol)和实施例(3)所述的化合物(110mg, 0.50mmol), 快速层析(CHCl₃/MeOH 96:4, CHCl₃/丙酮 10: 1)后, 得到 47.6mg(57%)呈微黄色油的上述区域异构体:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.54 (d, $J = 4.9$ Hz, 9 次要), 0.65 (s, 9 主要), 0.99 (t, $J = 7.3$ Hz, 3 H), 1.86 (m, 2 H), 3.93 (br s, 1 H), 5.24 (d, $J = 16.3$ Hz, 1 次要), 5.25 (br s, 2 主要), 5.25 (d, $J = 16.3$ Hz, 1 主要), 5.30 (br s, 2 主要), 5.68 (d, $J = 16.3$ Hz, 1 主要), 5.69 (d, $J = 16.3$ Hz, 1 主要), 6.98 (d, $J = 3.6$ Hz, 1 主要), 7.02 (d, $J = 3.6$ Hz, 1 主要), 7.52 (s, 1 主要), 7.53 (s, 1 主要), 7.74 (d, $J = 12.1$ Hz, 1 主要), 7.92 (br d, $J = 9.3$ Hz, 1 主要), 8.60 (br t, $J = 8.4$ Hz, 1 主要), 9.08 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 主要); HRMS (EI) m/z 计算值 $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{FN}_3\text{O}_6\text{Si}$ 553.2044, 实测值 553.2022; LRMS (EI) m/z 553 (M^+), 493, 479, 453, 435, 424, 409, 394, 380, 353.

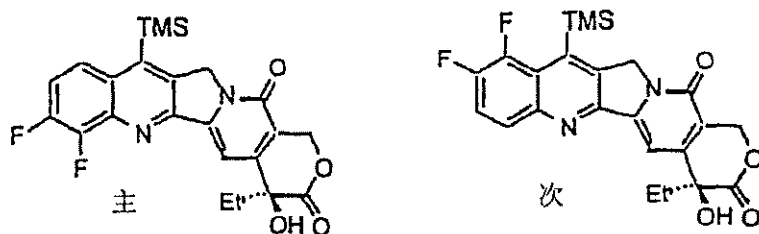
(5)(20S)-10-氨基-11-氟-7-三甲基甲硅烷基喜树碱(28)

按实施例 9-(3)所述的条件将实施例(4)制备的化合物(41.3mg, 0.0746mmol)去保护。后处理(workup)后, 将粗品进行快速层析(CHCl_3 /丙酮/MeOH 70:10:1.5), 按洗脱的顺序, 首先得到 14.1mg(42%)纯(20S)-10-氨基-11-氟-7-三甲基甲硅烷基喜树碱, 然后是 15.2mg 约为 1:1 混合的(20S)-10-氨基-11-氟-7-三甲基甲硅烷基喜树碱和(20S)-10-氨基-9-氟-7-三甲基甲硅烷基喜树碱。(20S)-10-氨基-11-氟-7-三甲基甲硅烷基喜树碱的特性如下:

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} +20.0$ (c 0.2, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 4:1); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.59 (s, 9 H), 1.00 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H), 1.86 (m, 2 H), 3.86 (br s, 1 H), 4.31 (br s, 2 H), 5.21 (br s, 2 H), 5.26 (d, $J = 16.4$ Hz, 1 H), 5.69 (d, $J = 16.4$ Hz, 1 H), 7.30 (d, $J = 9.3$ Hz, 1 H), 7.50 (s, 1 H), 7.69 (d, $J = 11.8$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 10:1) δ 1.4, 7.7, 31.4, 51.9, 66.1, 72.7, 97.1, 109.4, 113.6 (d, $J_{\text{CF}} = 20$ Hz), 117.3, 130.8, 134.4, 136.4, 140.2, 142., 146.5, 147.6, 150.6, 153.9, 154.0 (d, $J_{\text{CF}} = 251$ Hz), 157.6, 173.9; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{FN}_3\text{O}_4\text{Si}$ (M^+)的计算值 453.1520, 实测值 453.1500; LRMS (EI) m/z 453 (M^+), 424, 409, 394, 352, 181, 131, 119.

实施例 11

制备(20S)-11, 12-二氟-7-三甲基甲硅烷基喜树碱和(20S)-9, 10-二氟-7-三甲基甲硅烷基喜树碱(3: 1 的混合物)



- 5 按实施例 1-(2)所述的流程,用实施例 1-(1)制备的化合物(44.5mg,0.10mmol)和 2, 3-二氟苯基异腈(以 20%收率制备,按 Weber,W.P.等人, Tetrahedron Lett.,13,1637(1972)所述的方案,在后处理前在室温搅拌 2 天)(42mg,0.30mmol),快速层析($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95:5; $\text{CHCl}_3/\text{丙酮}$ 10:1 到 4: 1)后,得到含有上述区域异构体的 22.6mg(50%)微黄色油:

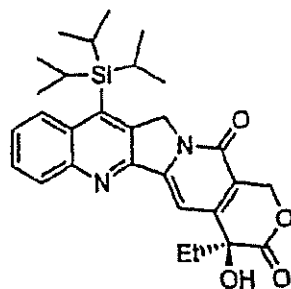
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.56 (d, $J = 4.8$ Hz, 1 次要), 0.65 (s, 9 主要), 1.00 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H), 1.86 (m, 2 H), 3.87 (br s, 1 次要), 3.97 (br s, 1 主要), 5.0-5.47 (m, 3 H), 5.68 (d, $J = 16.5$ Hz, 1 H), 5.70 (d, $J = 16.4$ Hz, 1 次要), 7.31 (m, 1 次要), 7.44 (dt, $J = 9.4, 7.4$ Hz, 1 主要), 7.59 (s, 1 次要), 7.60 (s, 1 主要), 7.68 (m, 1 次要), 7.93 (m, 1 主要); HRMS (EI) m/z

计算值 $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_4\text{Si}$ (M^+) 456.1317, 实际值 456.1321;

10 LRMS (EI) m/z 456 (M^+), 438, 428, 412, 383, 356, 327.

实施例 12

制备 20S-7-三异丙基甲硅烷基喜树碱



- 15 (1)(S)-4-乙基-4-羟基-6-碘-3-氧代-7-(三异丙基甲硅烷基)-2-

丙炔基)-1H-吡喃并[3, 4-c]-8-吡啶酮

按实施例 1-(1)所述的流程, 将碘代吡啶酮 2(200mg,0.598mmol)与三异丙基甲硅烷基-2-丙炔溴(329mg,1.196mmol)混合。层析($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 9:1)得到 41.1mg(13%)白色泡沫状物:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.91

(t, $J = 7$ Hz, 6 H), 0.99 (s, 18 H), 1.71 (m, $J = 7$ Hz, 2 H), 3.65 (s, 1 H), 5.0-5.2 (m, 3 H), 5.45 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 7.13 (s, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 7.7, 11.2, 18.7, 31.7, 44.6, 66.5, 71.9, 87.7, 100.1, 116.6, 118.2, 148.6, 158.0, 173.4; HRMS (EI) m/z

$\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{INO}_4\text{Si}(\text{M}^+)$ 的计算值 529.1162, 实测值 529.1145; LRMS (EI)

m/z 529 (M^+), 486, 442, 82, 59.

5

(2)(20S)-7-三异丙基甲硅烷基喜树碱

按实施例 1-(2)所述的流程, 用所述的吡啶酮(41mg,0.077mmol)得到 23.3mg(60%)淡黄色固体:

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} +31.7$ (c 0.2,

CH_2Cl_2); IR (CHCl_3 , cm^{-1}) 3026, 3008, 2996, 2962, 2950, 2932, 2892, 2869, 1742, 1658, 1598, 1555, 1466, 1230, 1220, 1158; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.02 (t, $J = 7$

Hz, 3 H), 1.18 (d, $J = 7$ Hz, 18 H), 1.60-2.0 (m, 5 H), 2.17 (s, 1 H), 5.31 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5.41 (s, 2 H), 5.76 (d, $J = 16$, 1 H), 7.61 (t, $J = 7$ Hz, 1 H), 7.69 (s, 1 H), 7.78 (t, $J = 7$ Hz 1 H), 8.20 (t, $J = 7$ Hz, 2 H);

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 7.9, 13.5, 19.2, 31.7, 52.6, 66.5, 72.9, 98.4, 118.6, 127.1, 129.7, 130.2, 130.4, 133.6, 136.3, 145.0, 146.0, 150.3, 150.6, 157.4, 174.1;

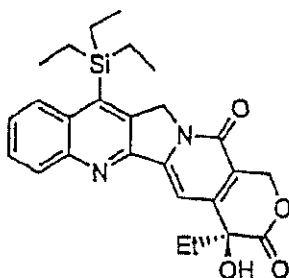
HRMS (EI) m/z $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{Si}(\text{M}^+)$ 的计算值 504.2444,

实测值 504.2436; LRMS (EI) m/z 504 (M^+), 461, 433, 419, 405, 391, 375, 361, 347, 311, 275, 174, 93, 69, 59.

10

实施例 13

制备 20S-7-三异丙基甲硅烷基喜树碱



5 (1)(S)-4-乙基-4-羟基-6-碘-3-氧代-7-(三乙基甲硅烷基-2-呋丙基)-1H-吡喃并[3,4-c]-8-吡啶酮

按实施例 1—(1)所述的流程, 将碘代吡啶酮 2(150mg, 0.450mmol)与三乙基甲硅烷基-2-丙炔溴(210mg, 0.90mmol)混合。层析($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 9:1)得到 97.0mg(45%)白色泡沫状物:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.54 (q, $J = 8$ Hz, 6 H), 0.92 (t, $J = 8$ Hz, 12 H), 1.74 (m, $J = 7$ Hz, 2 H), 3.57 (s, 1 H), 4.9-5.1 (m, 3 H), 5.46 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 7.13 (s, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 4.1, 7.4, 7.6, 31.5, 44.5, 66.3, 71.8, 88.7, 99.2, 100.0, 116.5, 118.1, 148.5, 158.0, 173.2; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{INO}_4\text{Si}(\text{M}^+)$ 的计算值 487.0676, 实测值 487.0688; LRMS (EI) m/z 487 (M^+), 458, 430, 420, 402, 360, 332, 153, 141, 125, 96, 83, 68, 57.

10

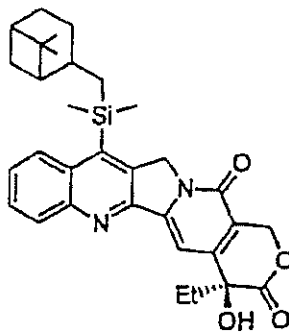
(2)(20S)-7-三乙基甲硅烷基喜树碱

按实施例 1-(2)所述的流程, 用所述的吡啶酮(48.7mg, 0.1mmol)得到 29.8mg(65%)淡黄色固体:

$[\alpha]_D^{20} +35.9$ (c 0.2, CH₂Cl₂); IR (CHCl₃, cm⁻¹) 3015, 3002, 2960, 2935, 1741, 1658, 1599, 1219, 1199, 1158; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.80-1.00 (m, 12 H), 1.0-1.18 (m, 6 H), 1.70-1.90 (m, 2 H), 5.22-5.27 (m, 3 H), 5.69 (d, *J* = 16 Hz, 1 H), 7.58 (t, *J* = 7 Hz, 1 H), 7.63 (s, 1 H), 7.72 (t, *J* = 7 Hz, 1 H), 8.18 (m, 2 H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 5.0, 7.6, 7.9, 31.7, 52.1, 66.5, 72.9, 97.7, 118.3, 127.4, 127.9, 129.7, 131.2, 132.6, 136.1, 142.6, 146.6, 147.9, 150.2, 150.9, 157.6, 174.1; HRMS (EI) *m/z* C₂₆H₃₀N₂O₄Si(M⁺)的计算值 462.1975, 实测值 462.1982; LRMS (EI) *m/z* 462 (M⁺), 433, 418, 405, 389, 361, 256, 220, 205, 189, 178, 149, 137, 123, 109, 95, 81, 69, 57.

实施例 14

制备(20S)-7-(二甲基-(1'S,2'S,5'S)7, 7-二甲基降蒎基甲硅烷基)喜树碱



5

(1)(S)-4-乙基-4-羟基-6-碘-3-氧代-7-(二甲基-(1S,2S,5S)7, 7-二甲基降蒎基甲硅烷基-2-丙炔基)-1H-吡喃并[3, 4-c]-8-吡啶酮

按实施例 1-(1)所述的流程, 将碘代吡啶酮 2(150mg,0.450mmol)与二甲基-(1S,2S,5S)7, 7-二甲基降蒎基甲硅烷基-2-丙炔溴(281mg,0.90mmol)混合。层析

10 (CH₂Cl₂/AcOEt 9:1)后得到 100.8mg(39%)白色泡沫状物:

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.10 (d, $J = 2$ Hz, 6 H), 0.48-0.70 (m, 2 H), 0.72 (s, 3 H), 0.93 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1.10 (s, 3 H), 1.15-1.40 (m, 3 H), 1.60-1.85 (m, 6 H), 1.88-2.00 (m, 1 H), 2.05-2.20 (m, 1 H), 3.58 (s, 1 H), 4.95 (m, 3 H), 5.46 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 7.13 (s, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 0.78, 7.8, 20.2, 23.1, 24.0, 24.8, 25.3, 27.0, 31.3, 31.7, 39.7, 40.7, 44.7, 49.1, 66.5, 71.9, 91.0, 98.5, 100.3, 116.6, 118.3, 148.7, 158.0, 173.4.

(2)(20S)-7-(二甲基-(1'S,2'S,5'S)7,7-二甲基降蒎基甲硅烷基)喜树碱

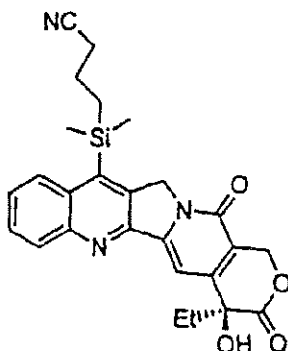
按实施例1-(2)所述的流程,用上述吡啶酮(57.0mg,0.1mmol)得到29.4mg(54%)淡黄色固体:

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} +29.2$ (c 0.2, CH_2Cl_2); IR (CHCl_3 , cm^{-1}) 3020, 3000, 2980, 2972, 2939, 2914, 2824, 2867, 1741, 1658, 1599, 1556, 1264, 1231, 1201, 1157, 843; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.50-0.70 (m, 8 H), 0.90-1.10 (m, 9 H), 1.10-1.35 (m, 4 H), 1.40-1.60 (m, 3 H), 1.72 (m, 1 H), 1.80-1.95 (m, 2 H), 2.05-2.11 (m, 2 H), 5.25 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5.27 (s, 2 H), 5.69 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 7.58 (t, $J = 8$ Hz, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.72 (t, $J = 8$ Hz, 1 H), 8.10-8.2 (m, 2 H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 1.4, 7.9, 19.9, 23.0, 24.6, 25.3, 26.8, 31.6, 31.7, 39.6, 40.5, 49.3, 52.0, 66.5, 72.9, 97.7, 118.3, 127.3, 128.3, 129.7, 131.2, 132.1, 134.6, 144.6, 146.6, 148.0, 150.2, 150.9, 157.6, 174.0; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_4\text{Si}$ (M^+) 的计算值 542.2601, 实测值 542.2588; LRMS (EI) m/z 542 (M^+), 498, 487, 460, 443, 431, 406, 387, 377, 362, 333, 318, 304, 289, 275, 219, 178, 166, 141, 115, 95, 67.

5

实施例 15

(20S)-7-(3-氰基丙基二甲基甲硅烷基)喜树碱



(1)(S)-4-乙基-4-羟基-6-碘-3-氧代-7-(3-氰基丙基二甲基甲硅烷基-2-丙炔基)-1H-吡喃并[3,4-c]-8-吡啶酮

- 5 按 Rico 及其合作者所述的流程(J.Org.Chem.1994,59,415), 将碘代吡啶酮 2(150mg,0.450mmol)与 3-氰基丙基二甲基甲硅烷基-2-丙炔溴(165mg, 0.678mmol)、 K_2CO_3 (124mg,0.90mmol)、 $Bu_4N^+Br^-$ (14.5mg,0.045mmol)、 H_2O (0.02ml)和甲苯(3.6ml)混合。将此混合物回流 1 小时。过滤和层析($CH_2Cl_2/AcOEt$ 9:1)后, 得到 34.0mg(15%)白色的油:

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 0.17 (s, 6 H), 0.70-0.80 (m, 2 H), 0.98 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1.70-1.90 (m, 4 H), 2.39 (t, $J = 7$, 2 H), 3.66 (s, 1 H), 4.9-5.22 (m, 3 H), 5.51 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 7.19 (s, 1 H); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ -2.1, 7.8, 15.4, 20.5, 20.6, 31.6, 44.6, 66.4, 71.9, 89.1, 99.6, 100.0, 116.7, 118.3, 119.7, 148.8, 158.0, 173.3; HRMS (EI) m/z $C_{19}H_{23}IN_2O_4Si$ (M^+) 的计算值 498.0472, 实测值 498.0480; LRMS (EI) m/z 498 (M^+), 483, 470, 445, 430, 416, 402, 392, 371, 348, 335, 306, 290, 266, 223, 202, 185, 163, 136, 126, 109, 98, 81, 69, 57.

10

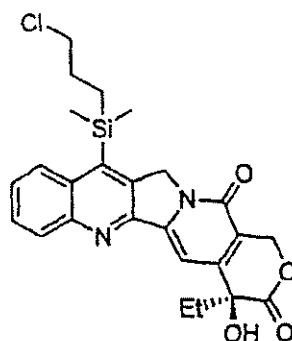
(2)(20S)-7-(3-氰基丙基二甲基甲硅烷基)喜树碱

按实施例 1-(2)所述的流程,用上述吡啶酮(25.0mg,0.05mmol)得到 9.8mg(41%)淡黄色固体:

$[\alpha]_D^{20} +34.3$ (c 0.2, CH₂Cl₂); IR (CHCl₃, cm⁻¹) 3025, 3016, 1741, 1659, 1600, 1264, 1222; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.71 (s, 6 H), 1.05 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1.26 (m, 2 H), 1.66 (m, 2H), 1.90 (m, 2 H), 2.35 (t, $J = 7$ Hz, 2 H), 3.76 (s, 1 H), 5.31 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5.31 (s, 2 H), 5.75 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 7.67 (m, 2 H), 7.82 (t, $J = 8$ Hz, 1 H), 8.17 (d, $J = 8$ Hz 1 H), 8.24 (d, $J = 8$ Hz, 1 H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 0.2, 7.9, 16.8, 20.7, 20.73, 31.7, 50.9, 66.5, 72.8, 97.9, 118.5, 119.2, 127.7, 127.8, 130.0, 131.4, 131.9, 135.2, 141.9, 146.3, 148.1, 150.3, 151.1, 157.5, 174.0; HRMS (EI) m/z 计算值 C₂₆H₂₇N₃O₄Si (M⁺) 473.1771, 实际值 473.1755; LRMS (EI) m/z 473 (M⁺), 444, 429, 414, 400, 389, 373 362, 344, 331, 303, 289, 275, 245, 219, 166, 152, 130, 98, 71.

实施例 16

制备(20S)-7-(3-卤代丙基二甲基甲硅烷基)喜树碱(氯代丙基衍生物为 DB-148)



5

(1S)-4-乙基-4-羟基-6-碘(和 6-溴)-3-氧代-7-(3-氯丙基二甲基甲硅烷基-2-丙炔基)-1H-吡喃并[3,4-c]-8-吡啶酮

按实施例 1-(1)所述的流程, 将碘代吡啶酮 2(150mg,0.450mmol)与 3-氯丙基二甲基甲硅烷基-2-丙炔溴(228mg,0.90mmol)混合。层析(CH₂Cl₂/AcOEt 9:1)后
10 得到 75.4mg(33%)清澈的油。NMR 分析显示除所需的氯代衍生物外还存在烷基溴(以 1.6: 1 的比例前者居多):

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.09 (s, 6 H), 0.60-0.70 (m, 2 H), 0.85-0.89 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1.60-1.95 (m, 4 H), 3.33 (t, $J = 7$ Hz, 2 H, 指定为碘代物), 3.44 (t, $J = 7$ Hz, 2 H, 指定为溴代物), 3.75 (s, 1 H), 4.91-5.18 (m, 3 H), 5.42 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 7.12 (s, 1 H).

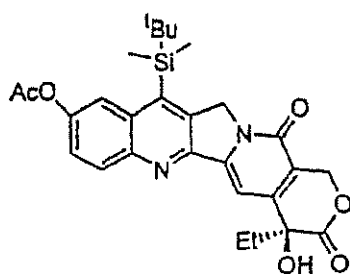
(2)(20S)-7-(3-卤代丙基二甲基甲硅烷基)喜树碱

按实施例 1-(2)所述的流程, 用上述吡啶酮(51mg, 0.1mmol)得到 23mg(49%) 淡黄色固体。光谱数据分析显示: 该固体是以 1.6: 1: 1.3 比例相应氯、溴和碘衍生物的混合物:

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} +30.8$ (c 0.2, CH_2Cl_2); IR (CHCl_3 , cm^{-1}) 3029, 3012, 2980, 2963, 2933, 1742, 1658, 1600, 1556, 1258, 1233, 1218, 1200, 1158, 1045, 843, 822, 794; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.69 (s, 6 H), 1.04 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1.18-1.30 (m, 2 H), 1.60-2.0 (m, 4 H), 3.15 (t, $J = 7$ Hz, 2 H, 指定为碘), 3.36 (t, $J = 7$ Hz, 2 H, 指定为溴), 3.48 (t, $J = 7$ Hz, 2 H, 指定为氧), 3.88 (s, 1 H), 5.30 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5.31 (s, 2 H), 5.74 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 7.62-7.66 (m, 2 H), 7.87 (t, $J = 8$ Hz, 1 H), 8.18 (d, $J = 8$ Hz, 1 H), 8.22 (d, $J = 8$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 0.2, 7.9, 14.7, 27.5, 31.7, 47.4, 51.9, 66.4, 72.8, 98.2, 118.6, 127.7, 127.9, 130.0, 131.0, 132.0, 135.2, 146.1, 147.6, 150.2, 157.5, 174.0; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{ClN}_2\text{O}_4\text{Si}$ (M^+) 的计算值 482.1429, 实测值 482.1413; LRMS (EI) m/z 482 (M^+), 453, 438, 361, 305, 275.

实施例 17

制备(20S)10-乙酰氧基-7-叔-丁基二甲基甲硅烷基喜树碱



按实施例 1-(2)所述的流程, 用上述吡啶酮(34.5mg,0.071mmol)和对-乙酰氧基异脲得到 21.3mg(58%)淡黄色固体:

$[\alpha]_D^{20} +36.2$ (c 0.2, CH_2Cl_2); IR (CHCl_3 , cm^{-1}) 3029, 3000, 2958, 2931, 2902, 2885, 2859, 1742, 1659, 1600, 1557, 1504, 1464, 1371, 1256, 1232, 1195, 1166, 1045; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.69 (s, 6 H), 0.90 (s, 9 H), 1.04 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1.80-2.00 (m, $J = 7$ Hz, 2 H), 2.40 (s, 3 H), 3.81 (s, 1 H), 5.30 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5.31 (s, 2 H), 5.75 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 7.53 (dd, $J_1 = 9$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, 1 H), 7.65 (s, 1 H), 8.08 (d, $J = 2$ Hz, 1 H), 8.21 (d, $J = 9$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 0.6, 7.9, 19.3, 21.5, 27.2, 31.7, 52.5, 66.5, 72.9, 97.7, 118.4, 120.4, 124.8, 132.1, 133.2, 136.7, 142.8, 146.2, 146.4, 149.0, 150.2, 150.8, 157.5, 169.1, 174.1; LRMS (EI) m/z 520 (M^+), 478, 463, 421, 377, 347, 320, 291, 57.

5

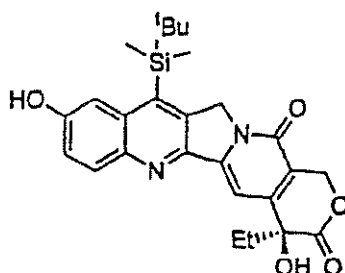
实施例 18

(2)(20S)10-乙酰氧基-7-叔-丁基二甲基甲硅烷基喜树碱

按实施例 2-(2)所述的流程, 用所述的吡啶酮(34.5mg,0.071mmol) 在相同的层析条件下得到 21.3mg(58%)淡黄色的固体:

$[\alpha]_D^{20} +36.2$ (c 0.2, CH₂Cl₂); IR (CHCl₃, cm⁻¹) 3029, 3000, 2958, 2931, 2902, 2885, 2859, 1742, 1659, 1600, 1557, 1504, 1464, 1371, 1256, 1232, 1195, 1166, 1045; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.69 (s, 6 H), 0.90 (s, 9 H), 1.04 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1.80- 2.00 (m, $J = 7$ Hz, 2 H), 2.40 (s, 3 H), 3.81 (s, 1 H), 5.30 (d, $J = 16$ Hz 1 H), 5.31 (s, 2 H), 5.75 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 7.53 (dd, $J_1 = 9$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, 1 H), 7.65 (s, 1 H), 8.08 (d, $J = 2$ Hz, 1 H), 8.21 (d, $J = 9$ Hz, 1 H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 0.6, 7.9, 19.3, 21.5, 27.2, 31.7, 52.5, 66.5, 72.9, 97.7, 118.4, 120.4, 124.8, 132.1, 133.2, 136.7, 142.8, 146.2, 146.4, 149.0, 150.2, 150.8, 157.5, 169.1, 174.1; HRMS (EI) m/z C₂₈H₃₂N₂O₆Si(M⁺)的计算值 520.2030, 实测值 520.2014 LRMS (EI) m/z 520 (M⁺), 478, 463, 421, 377, 347, 320, 291, 57.

实施例 19



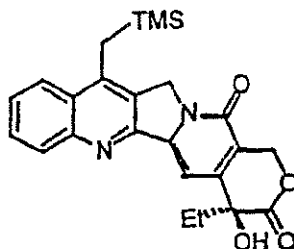
5 (20S)-10-羟基-7-叔-丁基-二甲基甲硅烷基喜树碱(DB-67)

用实施例 5 所述的流程, 将实施例 18 所述的化合物(13.4mg,0.026mmol)转化成羟基衍生物。在 TLC 制备板上纯化(2: 1 CH₂Cl₂:丙酮), 得到 10.6mg(85%)黄色固体:

$[\alpha]_D^{20} +17.4$ (c 0.2, 3:1 CH₂Cl₂/MeOH); ¹H NMR (300 MHz, 3:1 CDCl₃/CD₃OD) δ 0.66 (s, 6 H), 0.88-1.05 (m, 12 H), 1.80- 2.00 (m, 2 H), 5.25-5.30 (m, 3 H), 5.70 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 7.37 (dd, $J_1 = 9$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, 1 H), 7.54 (d, $J = 2$ Hz, 1 H), 7.60 (s, 1 H), 8.05 (d, $J = 9$ Hz, 1 H); ¹³C NMR (125 MHz, (3:1) CDCl₃:CD₃OD) δ 8.1, 20.6, 27.6, 30.4, 31.9, 53.6, 66.5, 73.9, 98.6, 112.1, 118.8, 123.3, 132.1, 135.6, 137.4, 141.6, 143.8, 147.3, 148.4, 152.6, 157.5, 158.7, 174.7; HRMS (EI) m/z C₂₆H₃₀N₂O₅Si (M⁺) 的计算值 478.1924, 实测值 478.1947 LRMS (EI) m/z 478 (M⁺), 434, 421, 377, 304, 284, 227, 178, 149, 137, 109, 97, 83, 69, 57.

实施例 20

制备(20S)-7-(三甲基甲硅烷基甲基)喜树碱



5

(1)(S)-4-乙基-4-羟基-6-碘-3-氧代-7-(4-三甲基甲硅烷基-2-丁炔基)-1H-吡喃并[3,4-c]-8-吡啶酮

按实施例 1-(1)所述的流程, 用碘代吡啶酮 2(200 mg,0.60mmol)和 4-三甲基甲硅烷基-2-丁炔溴(245mg,1.20mmol), 在快速层析后(CH₂Cl₂/AcOEt 9:1)后得

10 到 77.7mg(28%)白色泡沫状物:

$[\alpha]_D^{20} +62.7$ (c 0.2, CHCl₃); IR (CHCl₃, cm⁻¹) 3540, 3026, 2955, 1742, 1649, 1607, 1529, 1250, 1219, 1208, 1158, 1140; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.06 (s, 9 H), 0.92 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H), 1.44 (t, $J = 2.4$ Hz, 2 H), 1.76 (m, $J = 7.4$ Hz, 2 H), 3.74 (s, 1 H), 4.98 (br s, 2 H), 5.07 (d, $J = 15$ Hz, 1 H), 5.48 (d, $J = 16.4$ Hz, 1 H), 7.15 (s, 1 H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ -1.96, 7.5, 7.6, 31.5, 44.8, 66.3, 71.7, 84.3, 100.3, 116.3, 118.1, 148.3, 157.9, 173.3; HRMS (EI) m/z C₁₇H₂₂INO₄Si (M⁺) 的计算值 459.0352, 实测值 459.0363; LRMS (EI) m/z 459 (M⁺), 444, 386, 348, 73, 57.

(2)(20S)-7-(三甲基甲硅烷基甲基)喜树碱

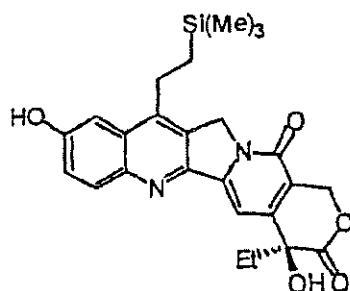
按实施例 1-(2)所述的流程, 用(1)中制备的化合物(46mg, 0.10mmol), 在快速层析(CH₂Cl₂/MeOH 96:4, CH₂Cl₂/丙酮 9:1)后, 得到 16.2mg(38%)淡黄色固体:

$[\alpha]_D^{20} +37.6$ (c 0.2, CHCl₃); IR (CHCl₃, cm⁻¹) 3002, 2984, 2962, 1741, 1659, 1601, 1572, 1559, 1253, 1219, 1197, 1157, 849; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ -0.34 (s, 9 H), 0.62 (t, $J = 7.3$ Hz, 3 H), 1.48 (m, 2 H), 2.31 (d, $J = 3.0$ Hz, 2 H), 3.53 (s, 1 H), 4.74 (s, 2 H), 4.89 (d, $J = 16.2$ Hz, 1 H), 5.34 (d, $J = 16.2$ Hz, 1 H), 6.85 (s, 1 H), 7.20 (t, $J = 7.8$ Hz, 1 H), 7.36 (t, $J = 7.4$ Hz, 1 H), 7.57 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 7.78 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ -0.32, 1.1, 7.9, 31.6, 50.3, 66.4, 72.9, 98.1, 112.3, 124.4, 125.84, 126.91, 127.2, 130.1, 130.5, 144.6, 147.4, 149.2, 150.3, 151.5, 157.7, 174.1; HRMS (EI) m/z C₂₄H₂₆N₂O₄Si (M⁺) 的计算值 434.1676, 实测值 434.1662; LRMS (EI) m/z 434 (M⁺), 390, 362, 316, 290, 242, 223, 185, 147, 93, 73.

5

实施例 21

(20S)-10-羟基-7-[(2-三甲基甲硅烷)乙基]喜树碱(36a)(DB-174)



(1)(4,4-二溴-丁-3-烯基)三甲基甲硅烷

这种已知的化合物是按 Piers, E.; Gavai, A. V. J. Org. Chem. 1990, 55, 2374 的改进流程进行制备。在火焰干燥的烧瓶中加入干 CH_2Cl_2 (150ml) 和三苯基膦 (16g, 61.2mmol)。将温度降至 0°C ，分批加入 CBr_4 (10.15g, 30.6mmol)。30 分钟后，加入用干 CH_2Cl_2 (20ml) 配制的 3-三甲基甲硅烷基丙醛 (2.0g, 15.3mmol)。 0°C 1 小时后，用乙醚稀释反应物，硅藻土过滤。用乙醚 (4 × 50ml) 漂洗硅藻土，然后用 H_2O (100ml)、饱和的 NaHCO_3 (100ml)、饱和的 NH_4Cl (100ml) 和盐水 (100ml) 提取混合的乙醚溶液。干燥 (MgSO_4) 有机层，过滤、蒸发得到粗制白色固体。用戊烷洗涤固体残留物。浓缩戊烷溶液，在硅胶 (戊烷 100%) 上层析油状残留物得到 3.7g 呈清澈油体的 (4,4-二溴-丁-3-烯基) 三甲基甲硅烷。 ^1H NMR 显示受 27% 残留的戊烷的污染，校正的收率为 62%:

IR (neat, cm^{-1}) 2953, 2922, 2898, 1620, 1443, 1413, 1249, 1176, 1034, 986, 859, 837; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.03 (s, 9 H), 0.62-0.67 (m, 2 H), 2.06-2.14 (m, 2 H), 6.41 (t, $J = 7$ Hz 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ -1.9, 15.1, 27.7, 87.5, 141.2.

15

(2) 5-三甲基硅烷基戊-2-炔-1-醇(40)

在火焰干燥的烧瓶中加入 (4,4-二溴-丁-3-烯基) 三甲基甲硅烷 (3.43g, 12mmol)。加入干 THF (150ml)，将混合物冷却至 -78°C 。加入用己烷配制的 1.6N BuLi (24mmol, 15ml)， -78°C 搅拌此混合物 1 小时，升温至 22°C ，再搅拌 1 小时。最后，加入聚甲醛 (1.4g)，回流混合物。3.5 小时后，将反应混合物冷却至 22°C ，加入饱和的 NH_4Cl (50ml)。将烧瓶中的内容物转移到分液漏斗中，用乙醚 (3 × 200ml) 提取。干燥 (Na_2SO_4) 有机层，过滤，蒸发得到粗制黄色油。在硅胶使

快速层析(戊烷/乙醚 5: 1)得到 1.57g(84%)5-三甲基硅烷基戊-2-炔-1-醇:

IR (纯, cm^{-1}) 3350, 2953, 2219, 1436, 1412, 1318, 1249, 1178, 1124, 1015, 905, 853; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ -0.003 (s, 9 H), 0.76 (t, $J = 8$ Hz, 2 H), 1.75 (s, 1 H), 2.20-2.24 (m, 2 H), 4.21 (br s, 2 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ -1.3, 13.8, 16.4, 51.7, 78.2, 88.9; HRMS (EI) m/z $\text{C}_7\text{H}_{13}\text{OSi}$ (M- CH_3) 的计算值 141.0736, 实测值 141.0733 LRMS (EI) m/z 141 (M - CH_3), 123, 113, 103, 97, 91, 85, 75, 66, 59.

(3)(5-溴戊-3-炔基)三甲基甲硅烷基(41)

- 5 在火焰干燥的烧瓶中加入 PPh_3 (1.76g, 6.73mmol), 然后加入干 CH_2Cl_2 (60ml)。将混合物置于冰浴中, 逐滴加入溴(0.34ml, 6.41mmol)。加入少量 PPh_3 直到反应物从黄色变成无色。0℃0.5 小时后, 将 5-三甲基甲硅烷基戊-2-炔-1-醇(1.0g, 6.41mmol)溶解在 CH_2Cl_2 (5ml)中, 逐滴加入。0℃4 小时后, 将反应混合物的倾倒入分液漏斗, 用戊烷(250ml)稀释, 用 H_2O (100ml)和饱和 NaHCO_3 (100ml)提取。
- 10 干燥(MgSO_4)有机层, 过滤, 体积减至 50ml。在硅胶片上用戊烷(500ml)层析此粗制溶液。蒸发掉戊烷后, 得到呈清澈油体的(5-溴戊-3-炔基)三甲基甲硅烷基(1.2g, 87%):

IR (neat, cm^{-1}) 2953, 2922, 2899, 2230, 1431, 1317, 1248, 1208, 852; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.03 (s, 9 H), 0.79 (t, $J = 8$ Hz, 2 H), 2.28 (tt, $J_1 = 8$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, 2 H), 3.92 (t, $J = 2$ Hz, 2 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 1.7, 13.6, 15.7, 15.8, 74.6, 90.2; HRMS (EI) m/z $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{BrSi}$ (M- CH_3) 的计算值 202.9892, 实测值 202.9889 LRMS (EI) m/z 203 (M - CH_3), 137, 73, 66.

- 15 (4)(20S)-4-乙基-4-炔基-6-碘-3-氧代-7-(5-三甲基甲硅烷基戊-2-炔基)-1H-吡喃并[3, 4-c]-8-吡啶酮(43)

按实施例 1-(1)所述的流程, 用碘代吡啶酮 2(0.2g, 0.6mmol)和(5-溴戊-3-炔基)三甲基甲硅烷基(260mg, 1.19mmol), 在快速层析($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 95:5)后得到

0.21g(74%)呈白色泡沫的(20S)-4-乙基-4-羟基-6-碘-3-氧代-7-(5-三甲基甲硅烷基)-戊-2-炔基)-1H-吡喃并[3,4-c]-8-吡啶酮:

$[\alpha]_D^{20} +54.4$ (c 0.2, CH_2Cl_2); IR

(CHCl_3 , cm^{-1}) 2952, 1746, 1648, 1528, 1427, 1138, 856,

755; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ - 0.03 (s, 9 H), 0.76 (t,

$J = 8$ Hz, 2 H), 0.96 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1.70-2.00 (m, J

$= 7$ Hz, 2 H), 2.16 (t, $J = 8$ Hz, 2 H), 3.77 (s, 1 H),

5.04 (s, 2 H), 5.10 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5.49 (d, $J = 16$

Hz, 1 H), 7.16 (s, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ -1.6,

7.8, 13.6, 15.7, 31.7, 44.8, 66.5, 71.9, 72.4, 88.1,

100.5, 116.6, 118.3, 148.6, 158.2, 173.5; HRMS (EI) m/z

$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{INO}_4\text{Si}$ (M^+) 的计算值 473.0519, 实测值 473.0507

LRMS (EI) m/z 473 (M^+), 458, 386, 360, 346, 139, 73, 57.

(5)(20S)-10-乙酰氧基-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱(45)

- 5 按实施例 1-(2)所述的流程, 用上述(4)制备的碘代吡啶酮(56.8mg,0.12mmol)和对-乙酰氧基苯基异腈(48mg,0.3mmol), 在快速层析(CH_2Cl_2 /丙酮 10:1)后, 得到 33.2mg(55%)呈棕褐色固体的(20S)-10-乙酰氧基-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱:

$[\alpha]_D^{20} +21.0$ (c 0.2, CH_2Cl_2); IR (CHCl_3 , cm^{-1}) 3039, 2996, 2954, 1744, 1660, 1602, 1509, 1371, 1229, 1177; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.17 (s, 9 H), 0.88-0.95 (m, 2 H), 1.03 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1.80-2.00 (m, $J = 7$ Hz, 2 H), 2.42 (s, 3 H), 3.00 (m, 2 H), 4.01 (br s, 1 H), 5.22 (s, 2 H), 5.30 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5.74 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 7.54 (dd, $J_1 = 9$ Hz, $J_2 = 2$ Hz 1 H), 7.66 (s, 1 H), 7.72 (d, $J = 2$ Hz, 1 H), 8.22 (d, $J = 2$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ -1.8, 7.9, 17.7, 21.4, 24.3, 31.7, 49.3, 66.4, 72.9, 98.1, 114.5, 118.6, 125.4, 126.6, 127.2, 132.2, 146.8, 147.0, 147.5, 149.6, 150.3, 151.9, 157.7, 169.4, 174.0; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$ (M⁺) 的计算值 506.1873, 实测值 506.1869 LRMS (EI) m/z 506 (M⁺), 464, 436, 420, 347, 336, 277, 193, 151, 109, 73.

(6)(20S)-10-羟基-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱(36a)

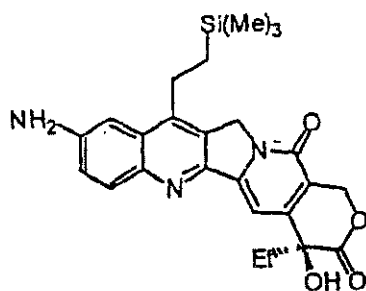
- 室温将上述(5)所制备的化合物(17.7mg, 0.035mmol)和 K_2CO_3 (9.7mg, 0.07mmol) 在 MeOH (0.2ml) 和 H_2O (0.2ml) 中的混合物搅拌 1.5 小时。用 AcOH (8 滴) 酸化此混合物, 用盐水 (10ml) 稀释, EtOAc (10×20ml) 提取。干燥 (Na_2SO_4) 混合的有机层, 蒸发。将粗制残留物进行两次层析 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ 96:3:1, 然后用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{丙酮}$ 5:1) 得到 7.6mg (47%) 呈黄色固体的 (20S)-10-羟基-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱:

$[\alpha]_D^{20} +31.3$ (c 0.2, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 3:1); ^1H
 NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.15 (s, 9 H), 0.84-0.95 (m, 2 H),
 0.99 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1.80- 2.00 (m, $J = 7$ Hz, 2 H),
 2.99-3.05 (m, 2 H), 5.20 (s, 2 H), 5.29 (d, $J = 16$ Hz 1
 H), 5.62. (d, $J = 16$ Hz 1 H), 7.33 (d, $J = 2$ Hz, 1 H),
 7.40 (dd, $J_1 = 9$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, 1 H), 7.63 (s, 1 H), 8.01
 (d, $J = 9$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ -1.8, 8.3,
 17.9, 25.1, 32.2, 66.9, 74.4, 99.1, 106.0, 116.1, 119.7,
 124.0, 128.4, 129.8, 132.3, 145.5, 146.8, 148.3, 150.1,
 153.0, 158.6, 159.4, 175.1; HRMS (EI) m/z
 $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5\text{Si}$ (M^+)的计算值 464.1767, 实测值 464.1788 LRMS (EI) m/z
 464 (M^+), 420, 405, 391, 364, 347, 167, 149, 104, 91, 73.

在几个胶质瘤细胞(U87、A172、SG388、T98G、LN-Z308)株中, 此化合物表现出具有抑制细胞增生的活性, 有效浓度中值为 10-100ng/ml。

5 实施例 22

(20S)-10-氨基-7-[2-(三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱(36b)(DB-173)



(1)(20S)-10-叔-丁氧基羰基氨基-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱
 (45b)

- 10 按实施例 1-(2)所述的流程, 将上述实施例 21-(4)制备的碘代吡啶酮
 (56.8mg, 0.12mmol)与 4-叔-丁氧基羰基氨基苯基异腈(65.4mg, 0.3mmol)反应。柱
 层析(CH_2Cl_2 /丙酮 10: 1)得到 38mg(56%)呈棕褐色固体的(20S)-10-叔-丁氧基
 羰基氨基-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱:

$[\alpha]_D^{20} + 18.5$ (c 0.2, CH_2Cl_2);

IR (CHCl_3 , cm^{-1}) 3019, 1738, 1658, 1600, 1531, 1215, 1155, 761; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.19 (s, 3 H), 0.90-0.96 (m, 2 H), 1.03 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1.58 (s, 9 H), 1.8-2.0 (m, 2 H), 3.02-3.08 (m, 2 H), 3.89 (s, 1 H), 5.21 (s, 2 H), 5.30 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5.75 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 6.85 (br s, 1 H), 7.57 (dd, $J_1 = 9$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, 1 H), 7.61 (s, 1 H), 8.11 (d, $J = 9$ Hz, 1 H), 8.31 (br s, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ -1.7, 8.0, 17.5, 24.4, 28.5, 31.8, 49.5, 66.5, 73.0, 77.4, 81.4, 97.7, 110.1, 118.2, 123.3, 126.7, 127.6, 131.4, 137.8, 146.2, 147.4, 150.37, 150.4, 152.6, 157.8, 174.1; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_6\text{Si}$ (M^+) 的计算值 (M^+) 563.2452, 实测值 563.2426 LRMS (EI) m/z 463 ($\text{M} - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$), 419, 404, 363, 363, 346, 332, 289, 246, 149, 131, 73, 57.

(2)(20S)-10-氨基-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱(36b)

将上述(1)制备的喜树碱衍生物(17.5mg, 0.031mmol)溶解在 CH_2Cl_2 (1ml)中, 加入三氟乙酸(0.25ml)。22°C 3 小时后, 将混合物倾倒入饱和 NaHCO_3 (20ml)中, 用 5 EtOAc (10×15ml)提取。干燥(Na_2SO_4)有机层, 浓缩、层析, 得到 9.4mg (65%) 黄色固体:

$[\alpha]_D^{20} + 17.0$ (c 0.2, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$

3:1); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.15 (s, 9 H), 0.85-0.91 (m, 2 H), 0.99 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1.87-2.05 (m, 2 H), 2.85-2.98 (m, 2 H), 5.04 (d, $J = 19$ Hz, 1 H), 5.09 (d, $J = 19$ Hz, 1 H), 5.29 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5.58 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 7.01 (d, $J = 2$ Hz, 1 H), 7.25 (dd, $J_1 = 9$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, 1 H), 7.54 (s, 1 H), 7.84 (d, $J = 9$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 1.8, 8.1, 17.4, 24.5, 31.8, 50.0, 66.4, 73.8, 98.4, 102.3, 118.2, 123.4, 127.2, 129.6, 131.3, 144.1, 145.2, 147.6, 147.9, 148.5, 152.4, 158.7, 174.6; HRMS (EI) m/z $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_5\text{Si}$ (M^+) 的计算值

463.1927, 实测值 463.1941 LRMS (EI) m/z 463 (M^+), 434, 419, 404, 390, 362, 346, 332, 167, 131, 104, 91, 73, 57.

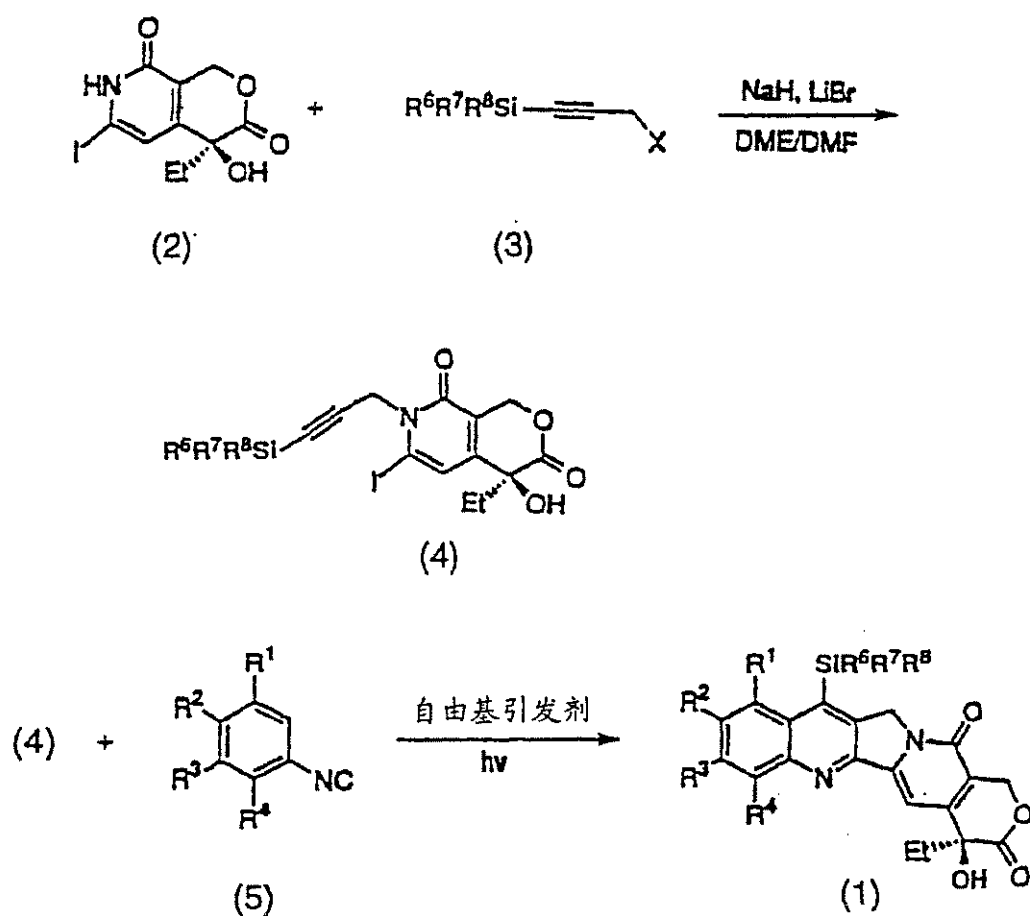
实施例 23

(20S)-7-[(2-三甲基甲硅烷基)乙基]喜树碱(36c)(DB-172)

按实施例 1-(2)所述的流程, 用上述实施例 21-(4)制备的碘代吡啶酮
(43)(56.8mg, 0.12mmol)和苯基异腈(30.9mg, 0.3mmol)的混合物, 快速层析(CH_2Cl_2 /
5 丙酮 10: 1)后得到 28mg(52%)呈棕褐色固体的(20S)-7-[(2-三甲基甲硅烷基)
乙基]喜树碱:

$[\alpha]_D^{20} + 29.8$ (c 0.2, CH_2Cl_2); IR (CHCl_3 , cm^{-1})
2996, 2954, 1742, 1659, 1601, 1557, 1250, 1158, 856; ^1H
NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.18 (s, 9 H), 0.90-0.96 (m, 2 H),
1.04 (t, $J = 7.3$ Hz, 3 H), 1.86-1.95 (m, 2 H), 3.07-3.13
(m, 2 H), 3.87 (s, 1 H), 5.23 (s, 2 H), 5.31 (d, $J = 16.3$
Hz, 1 H), 5.76 (d, $J = 16.3$ Hz, 1 H), 7.64-7.69 (m, 2 H),
7.80 (td, $J_1 = 8$ Hz, $J_2 = 0.87$ Hz, 1 H), 8.03 (d, $J = 8.3$
Hz, 1 H), 8.23 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (75 MHz,
 CDCl_3) δ - 1.75, 7.95, 17.9, 24.2, 31.7, 49.4, 66.5,
72.9, 98.1, 118.5, 123.4, 126.1, 126.7, 127.7, 130.3,
130.8, 147.1, 147.2, 149.6, 150.2, 152.0, 157.8, 174.1;
HRMS (EI) m/z $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4\text{Si}$ (M^+) 的计算值 448.1818,
实测值 448.1819 LRMS (EI) m/z 448 (M^+), 431, 374, 358,
311, 301, 208, 195, 165, 149, 131, 118, 105, 93, 73.

虽然本发明用上述实施例进行了详细描述, 但易看出这些详细描述仅用于说
10 明, 本领域技术人员可不脱离本发明的范围对本发明进行改善, 且本发明的范围
仅受附带的权利要求的限制。



合成3

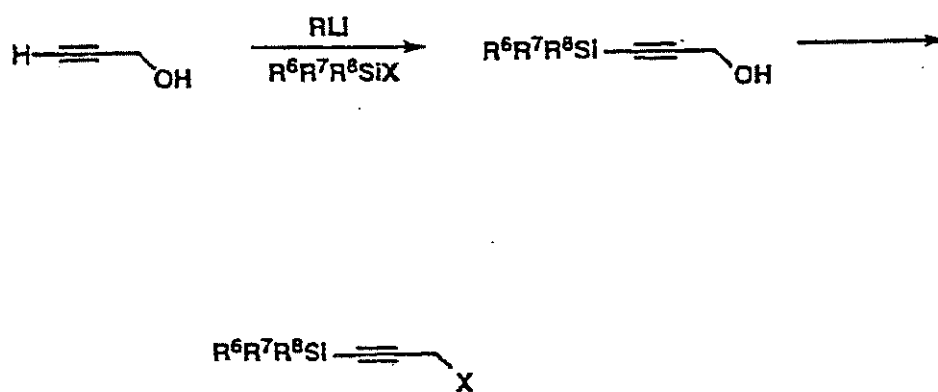
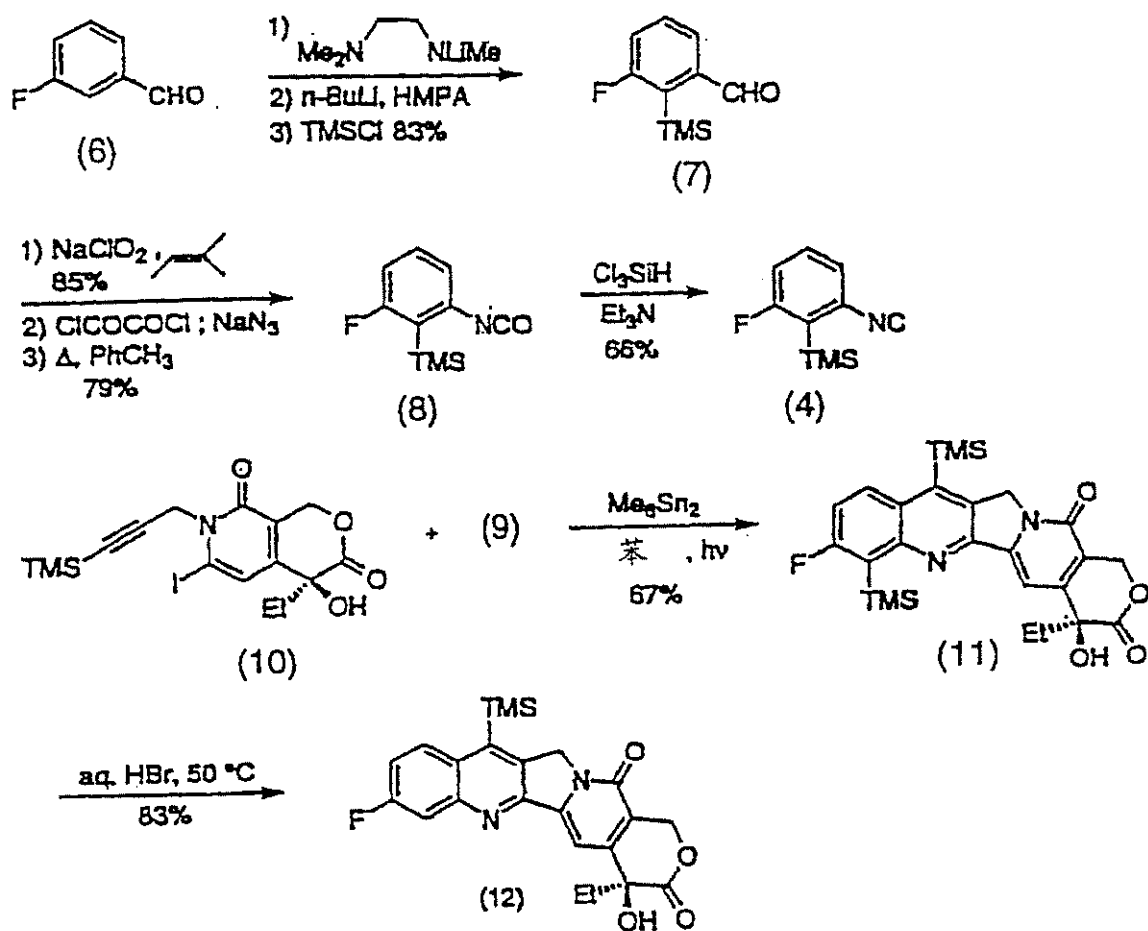


图 1



图

2

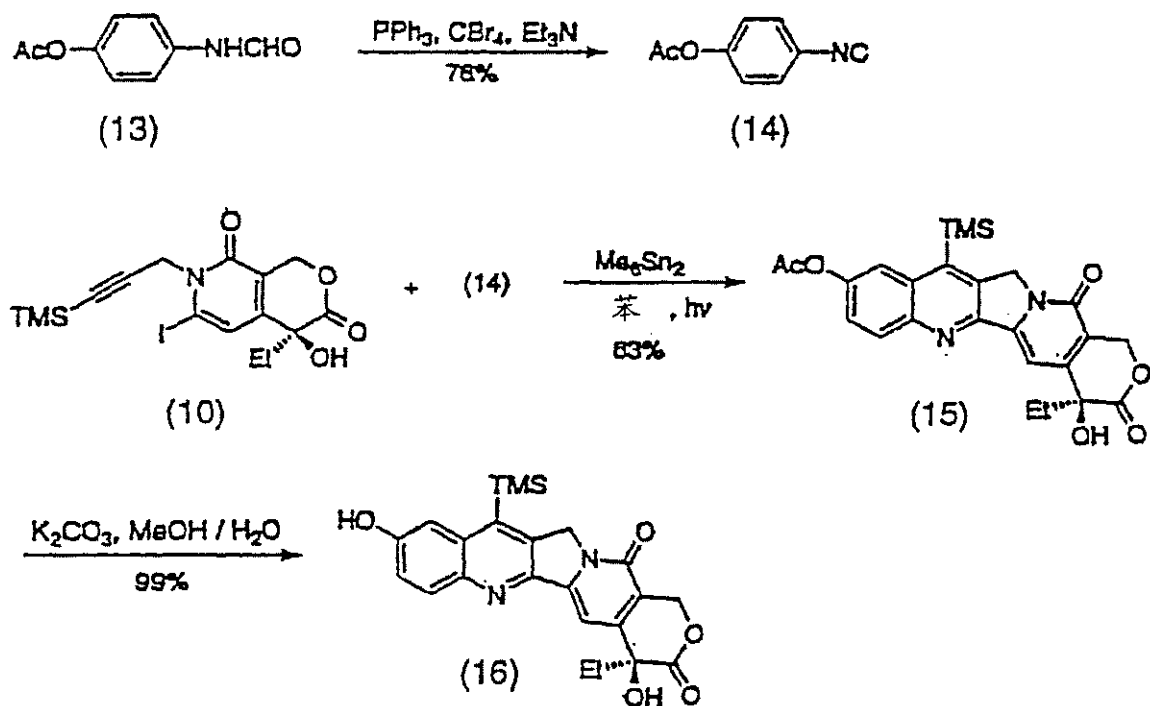


图 3

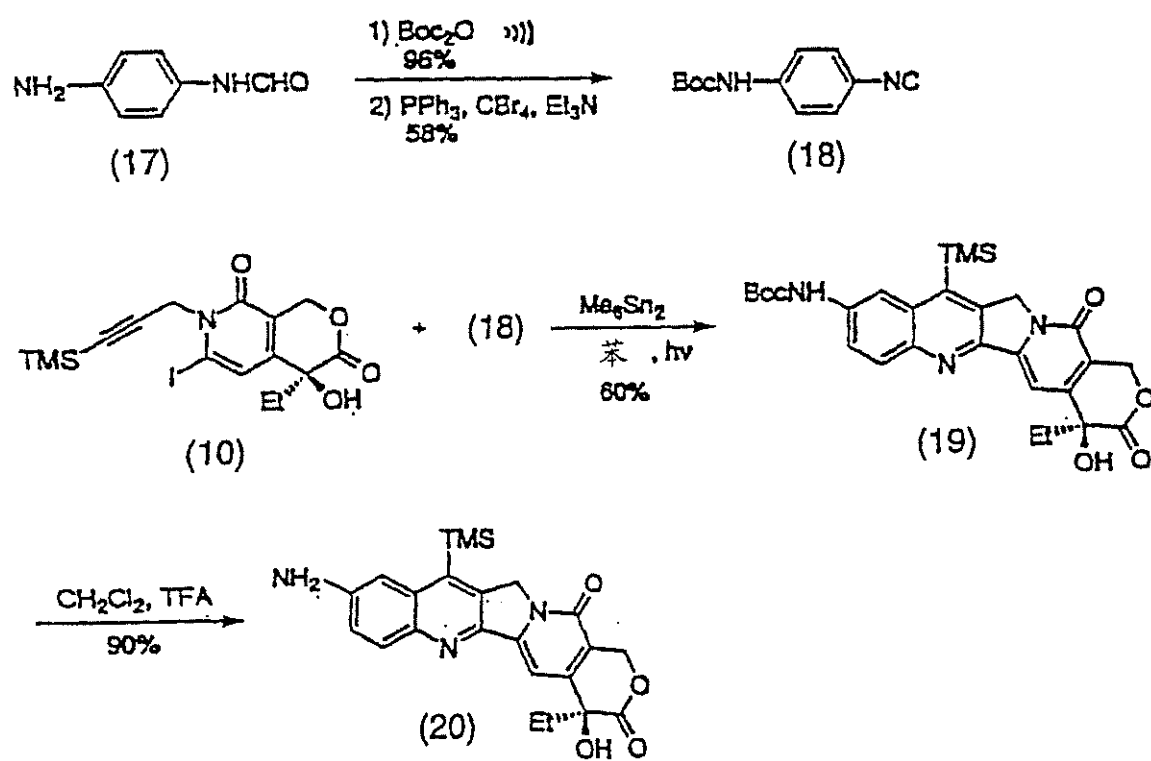
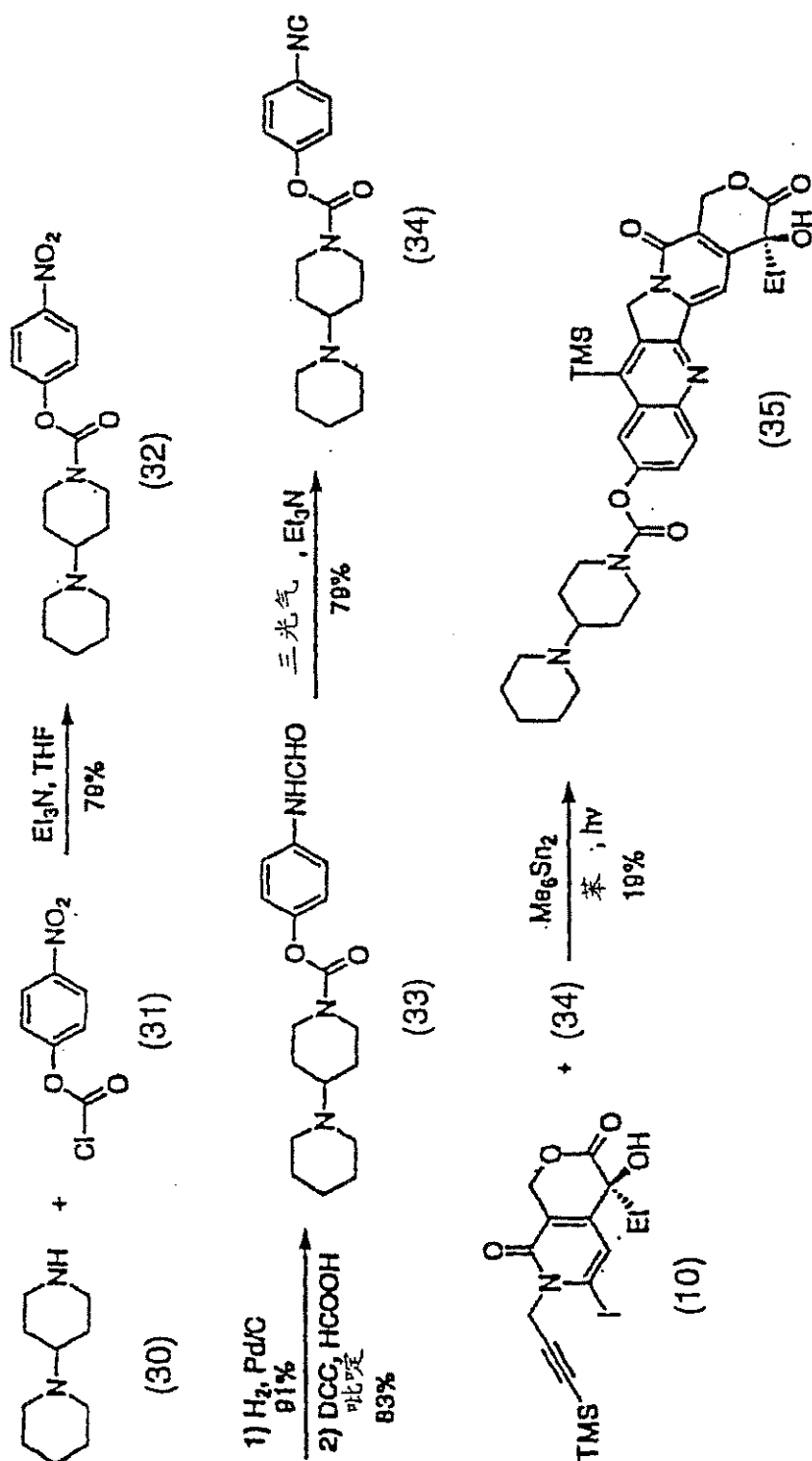


图 4



6

图

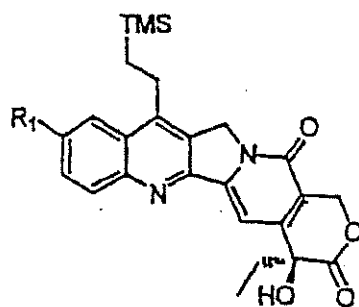
(36a) $R^1 = \text{OH}$ (36b) $R^1 = \text{NH}_2$ (36c) $R^1 = \text{H}$

图 7

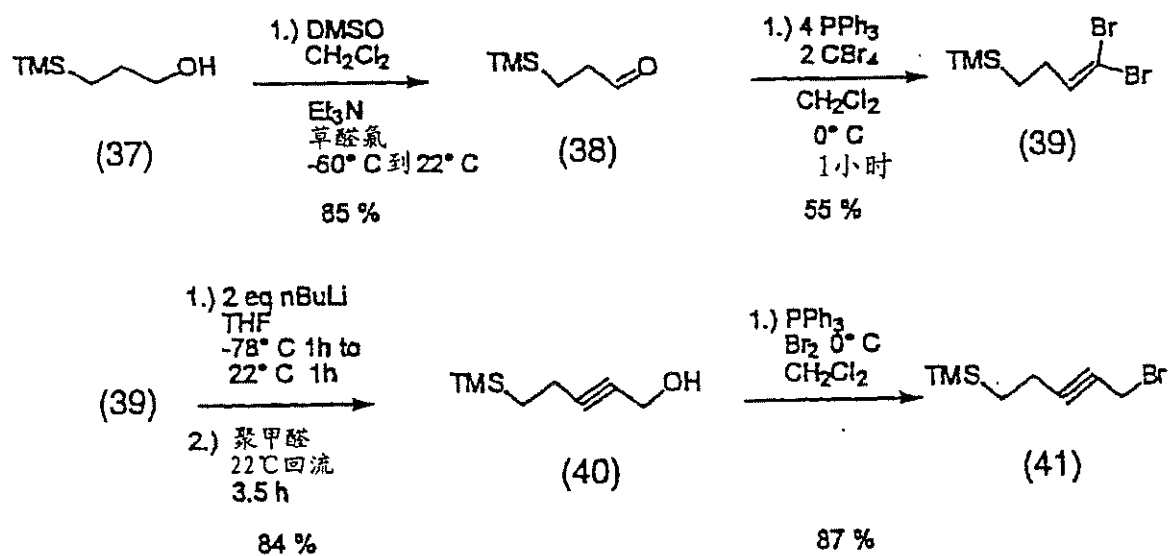


图 8

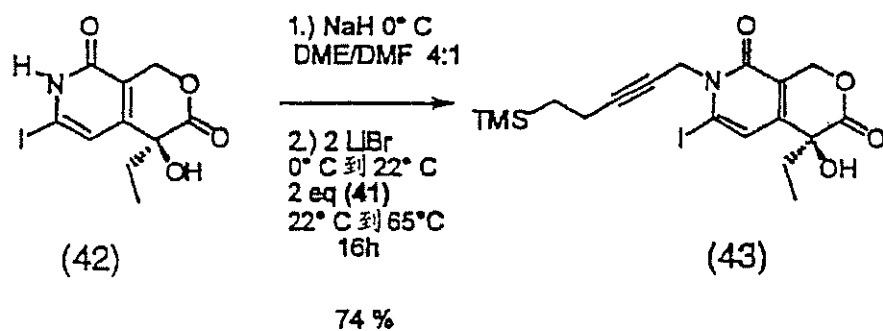


图 9

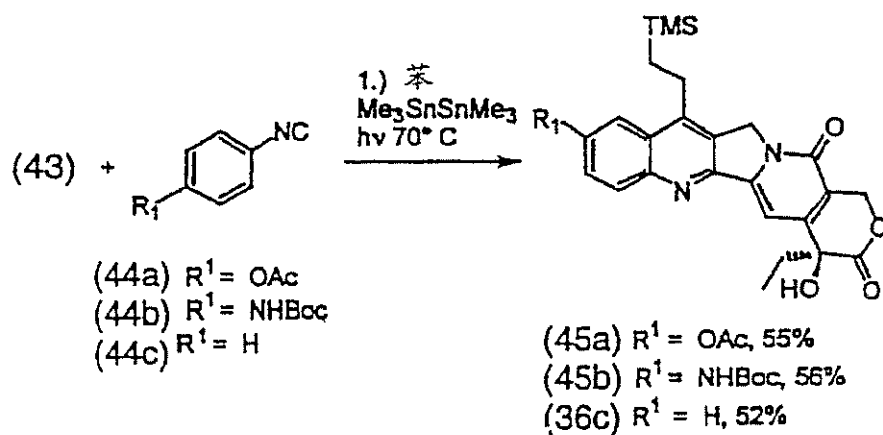


图 10

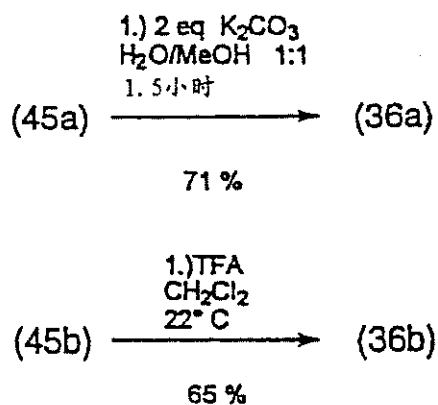


图 11

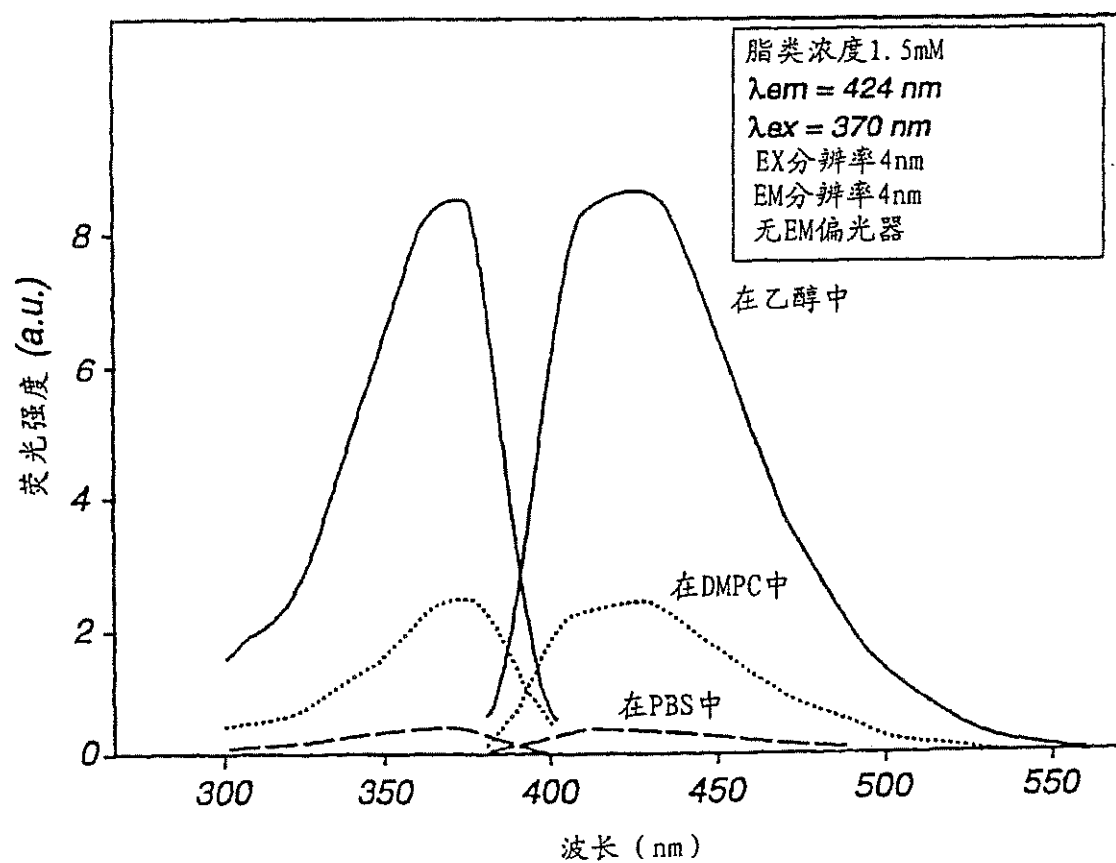


图 12

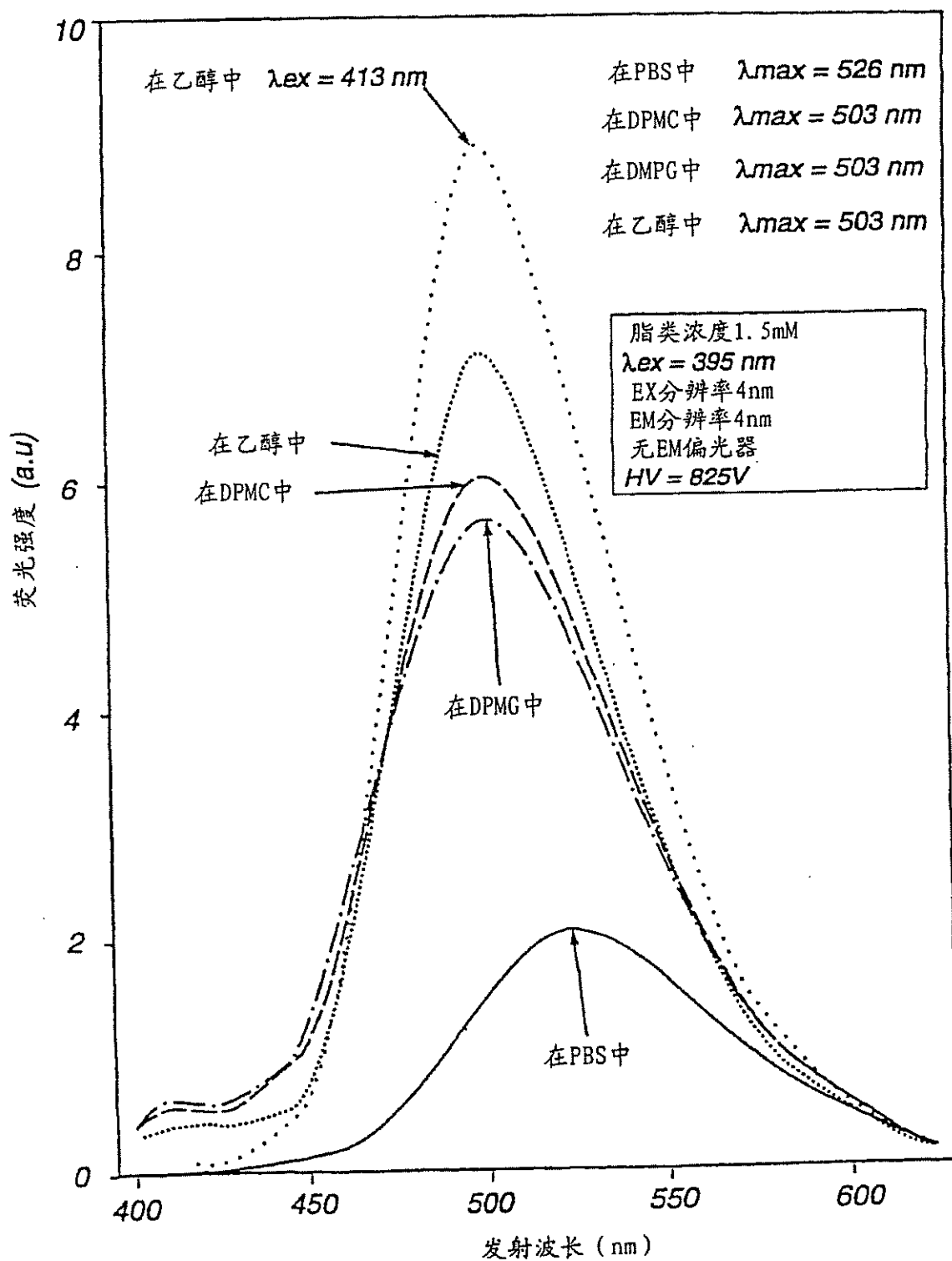


图 13

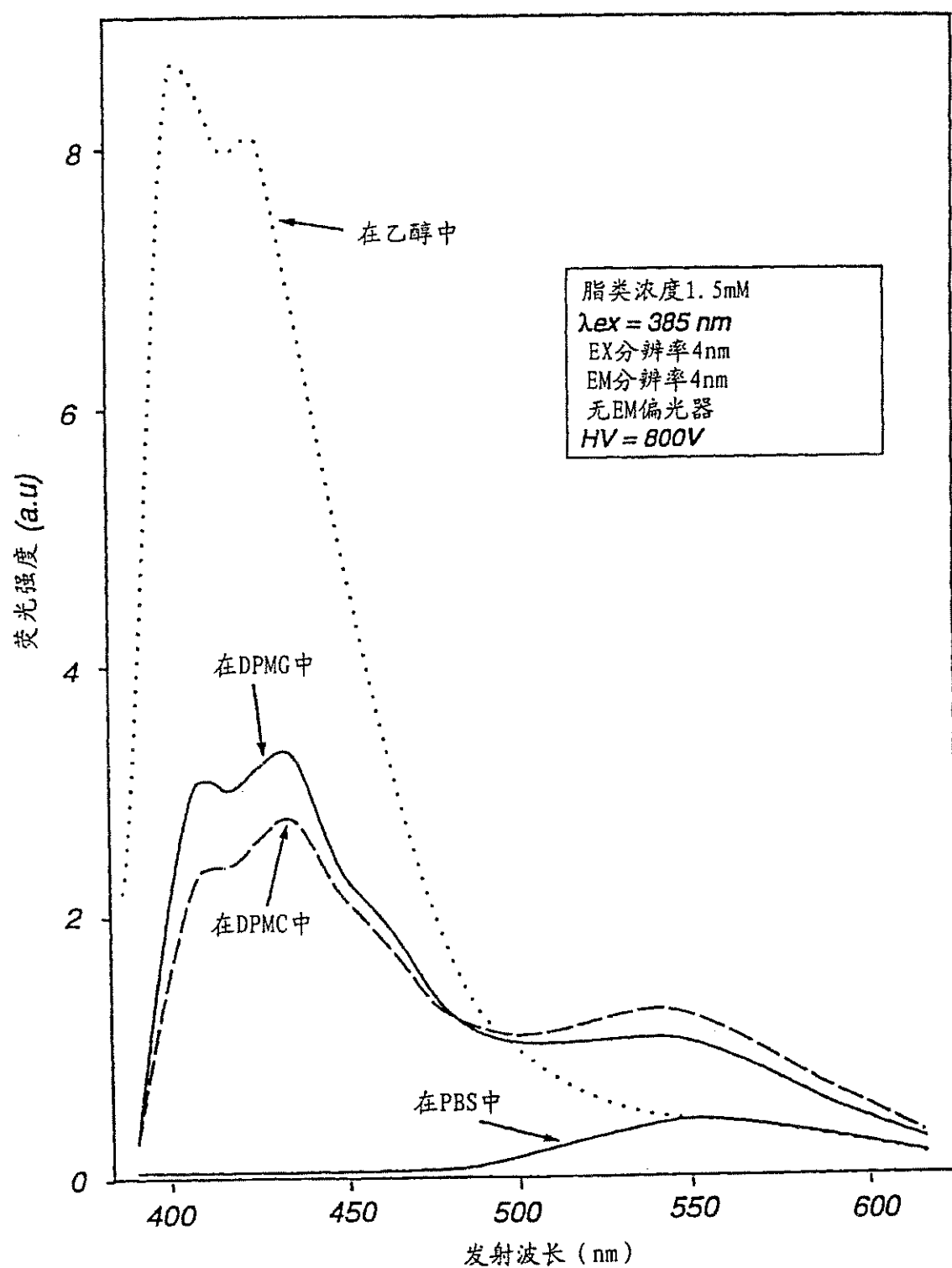


图 14

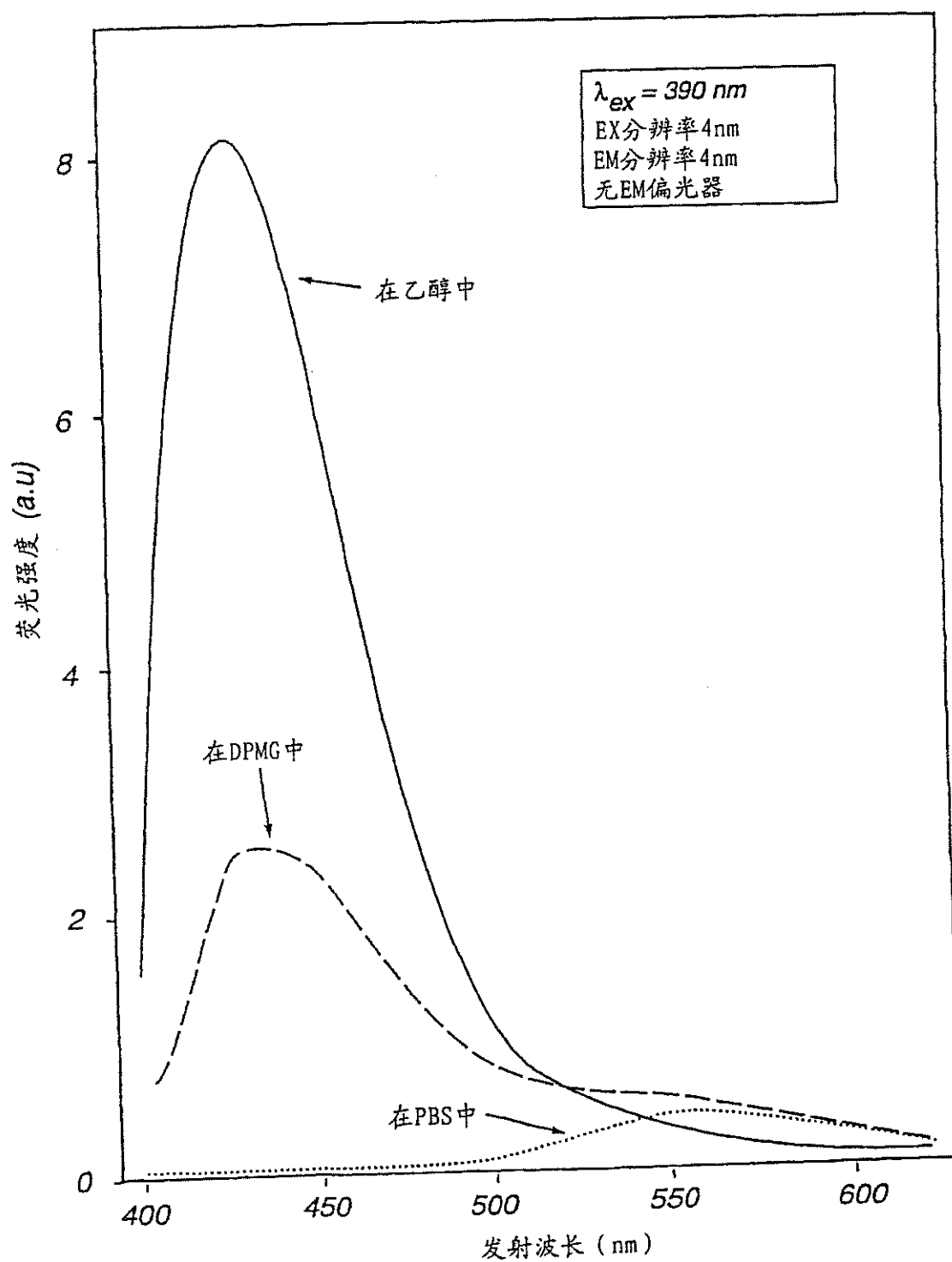


图 15

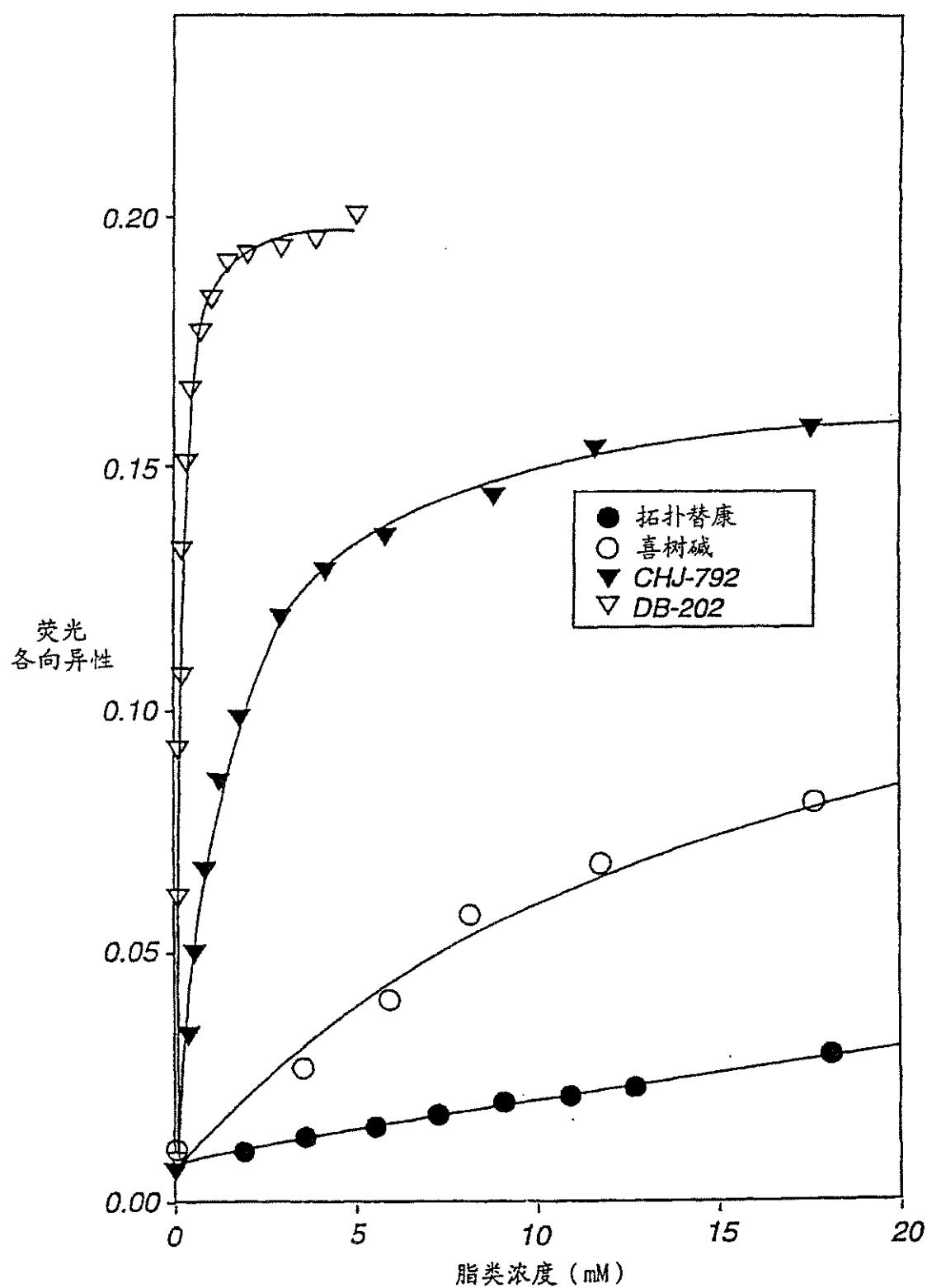


图 16

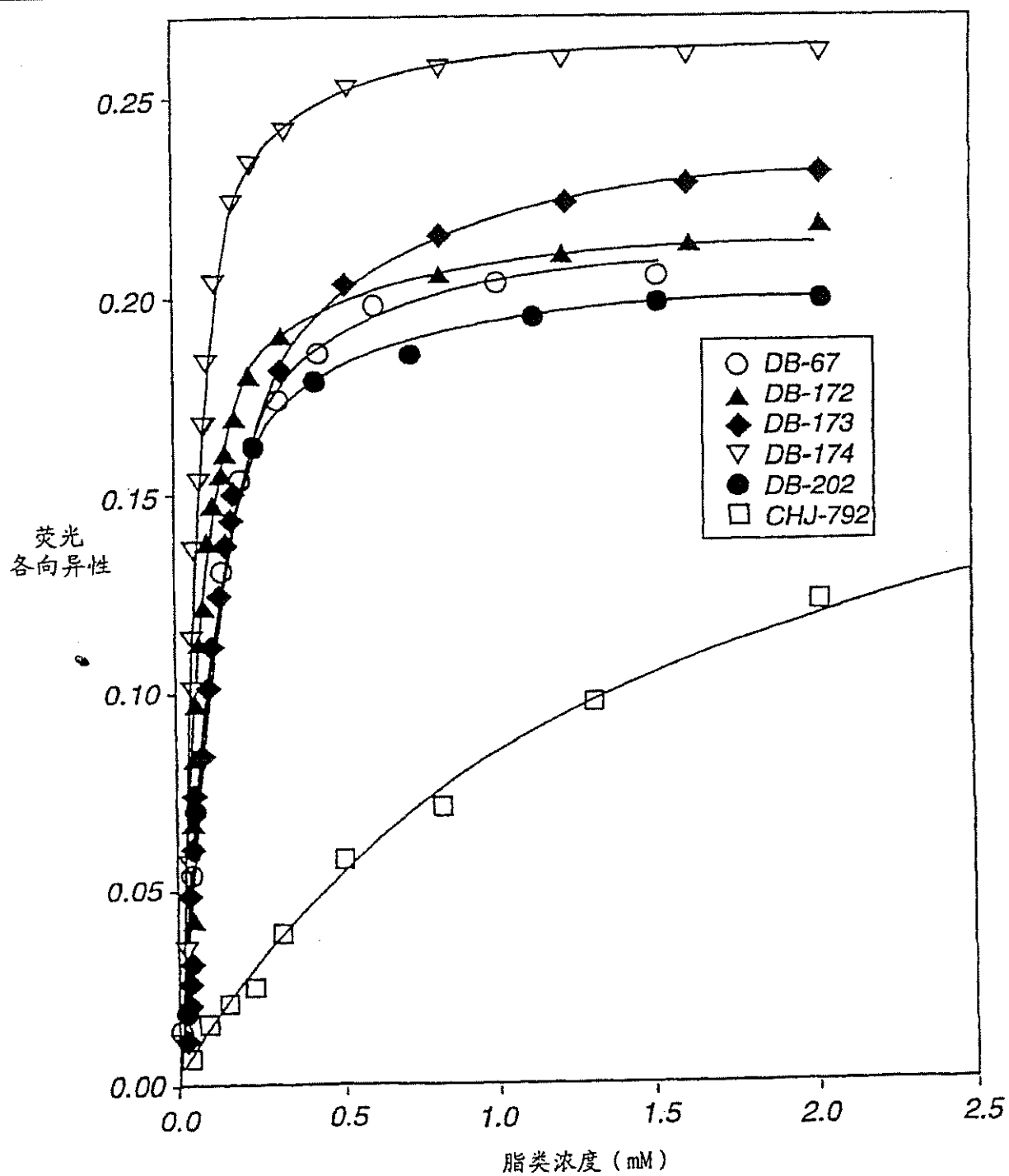


图 17

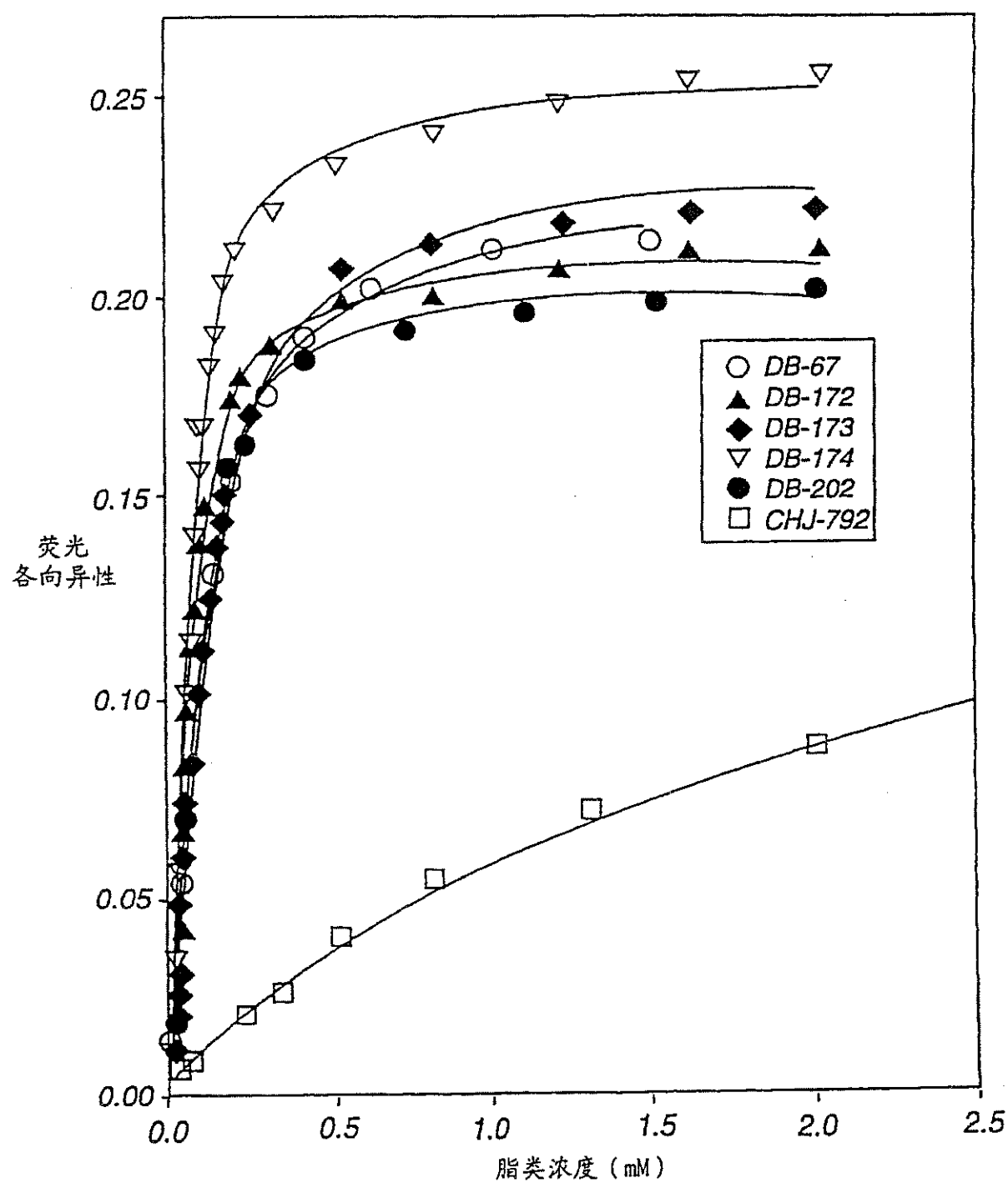


图 18

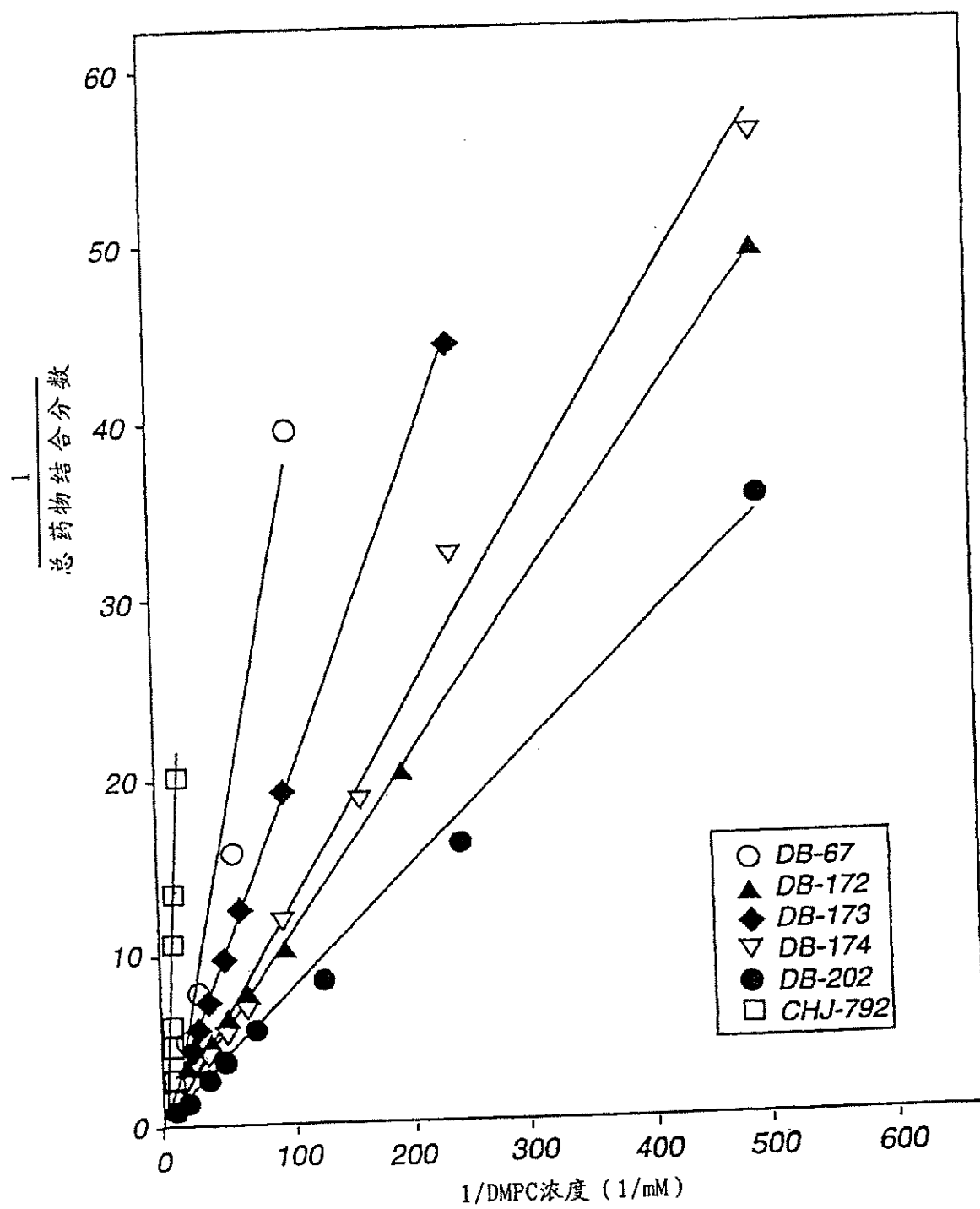


图 19

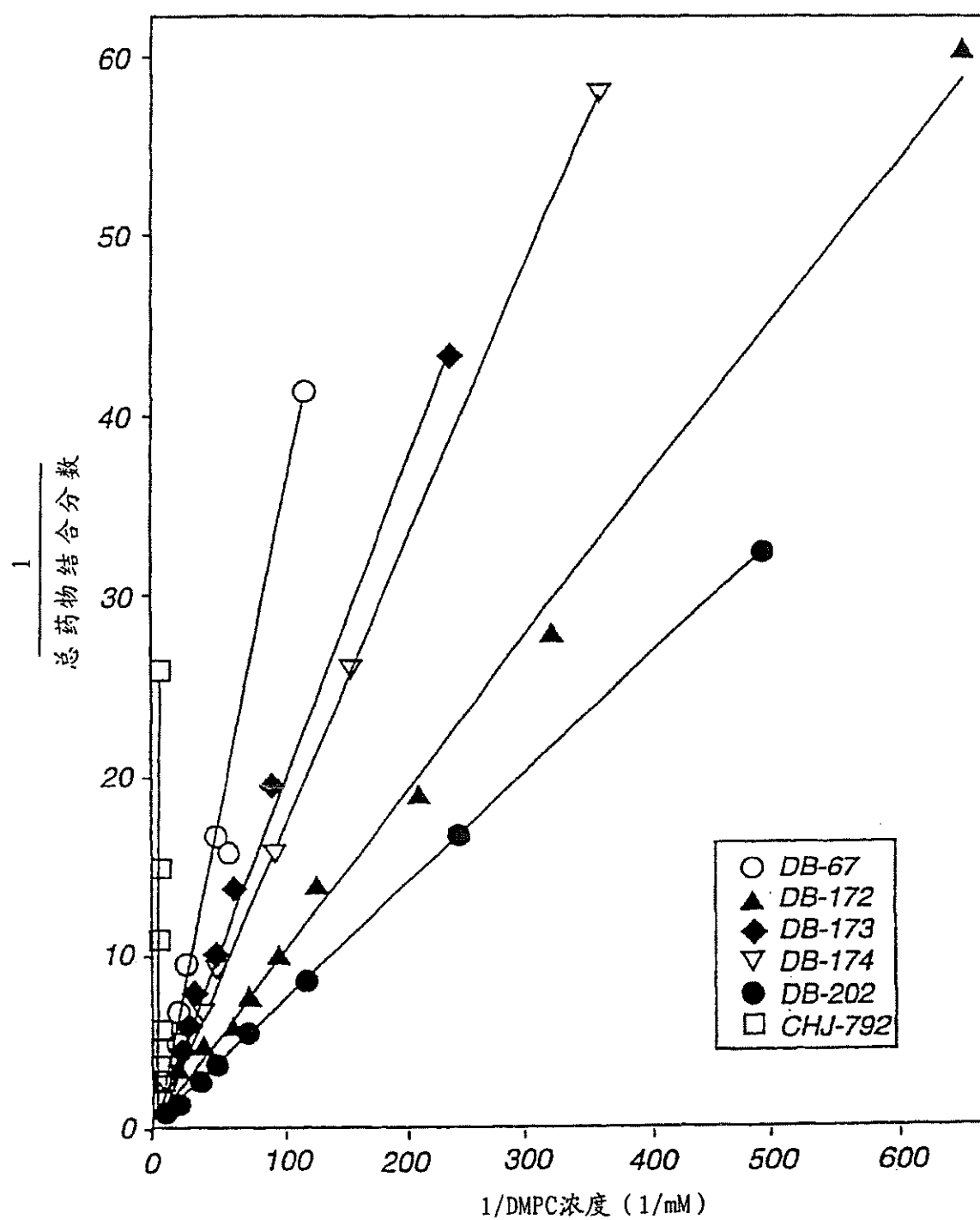


图 20

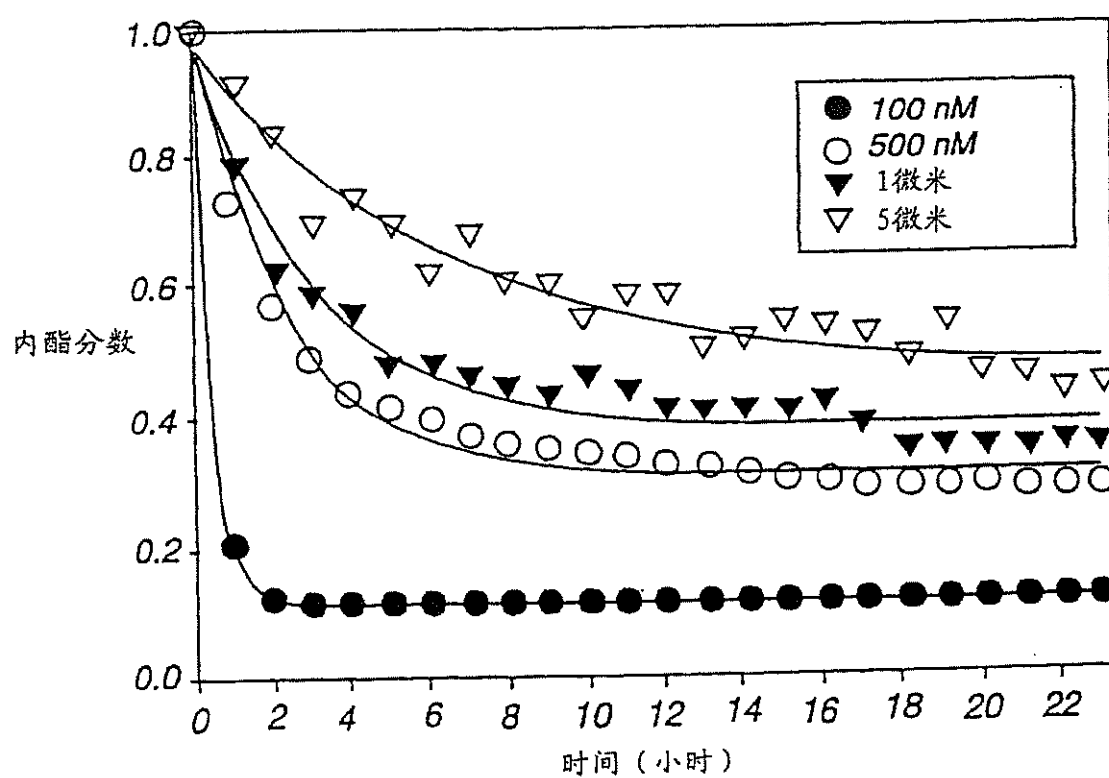


图 21

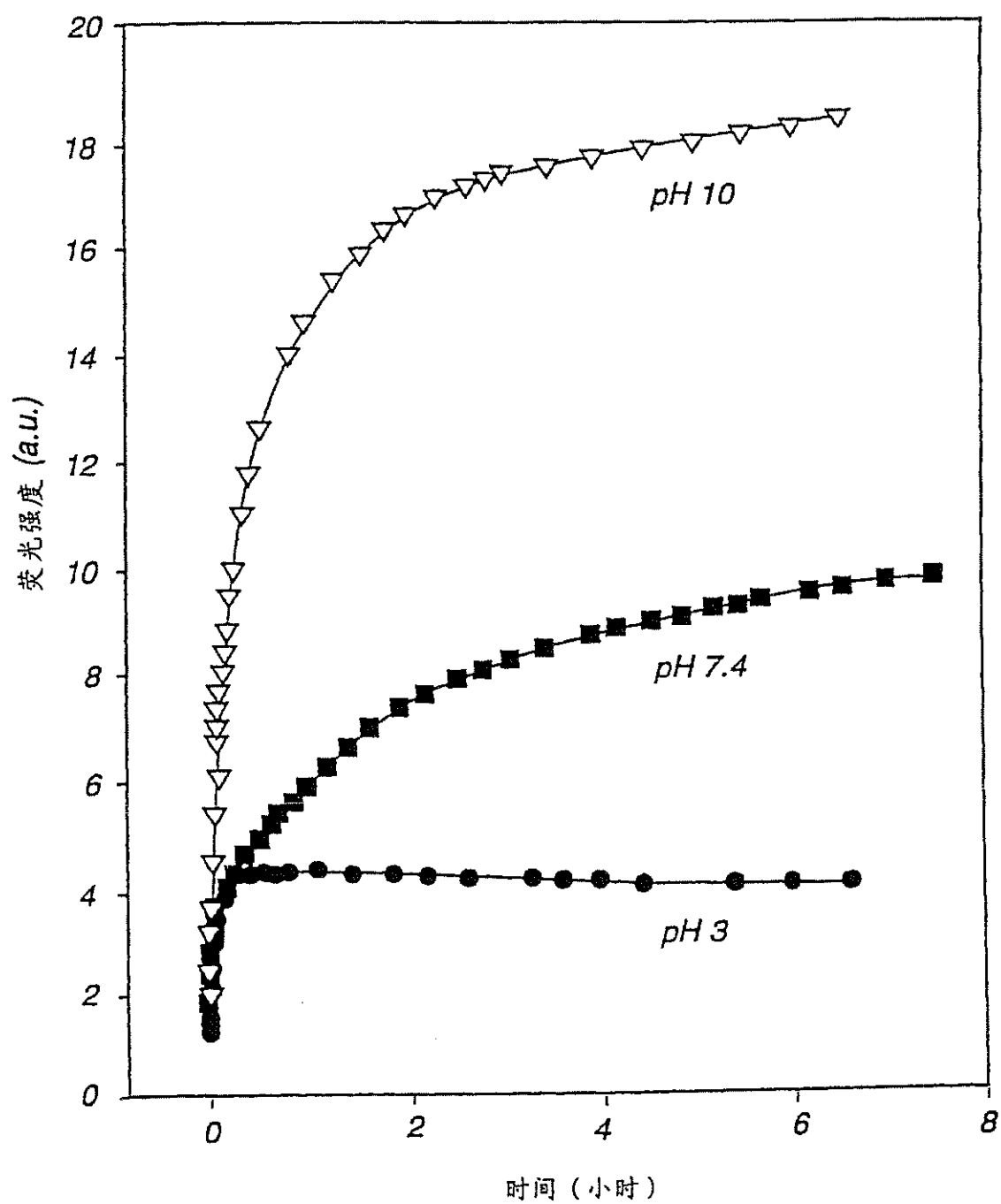


图 22

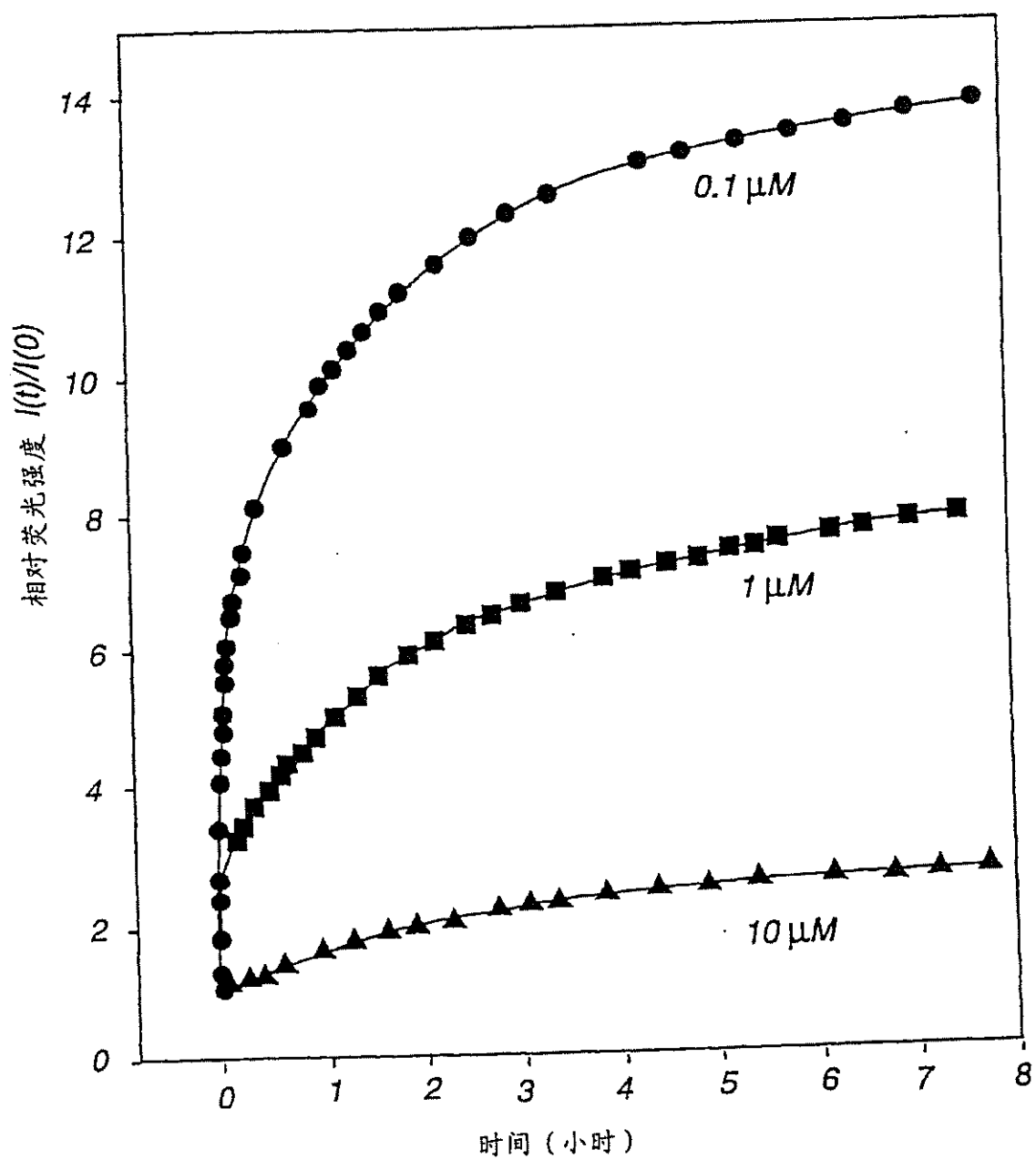


图 23

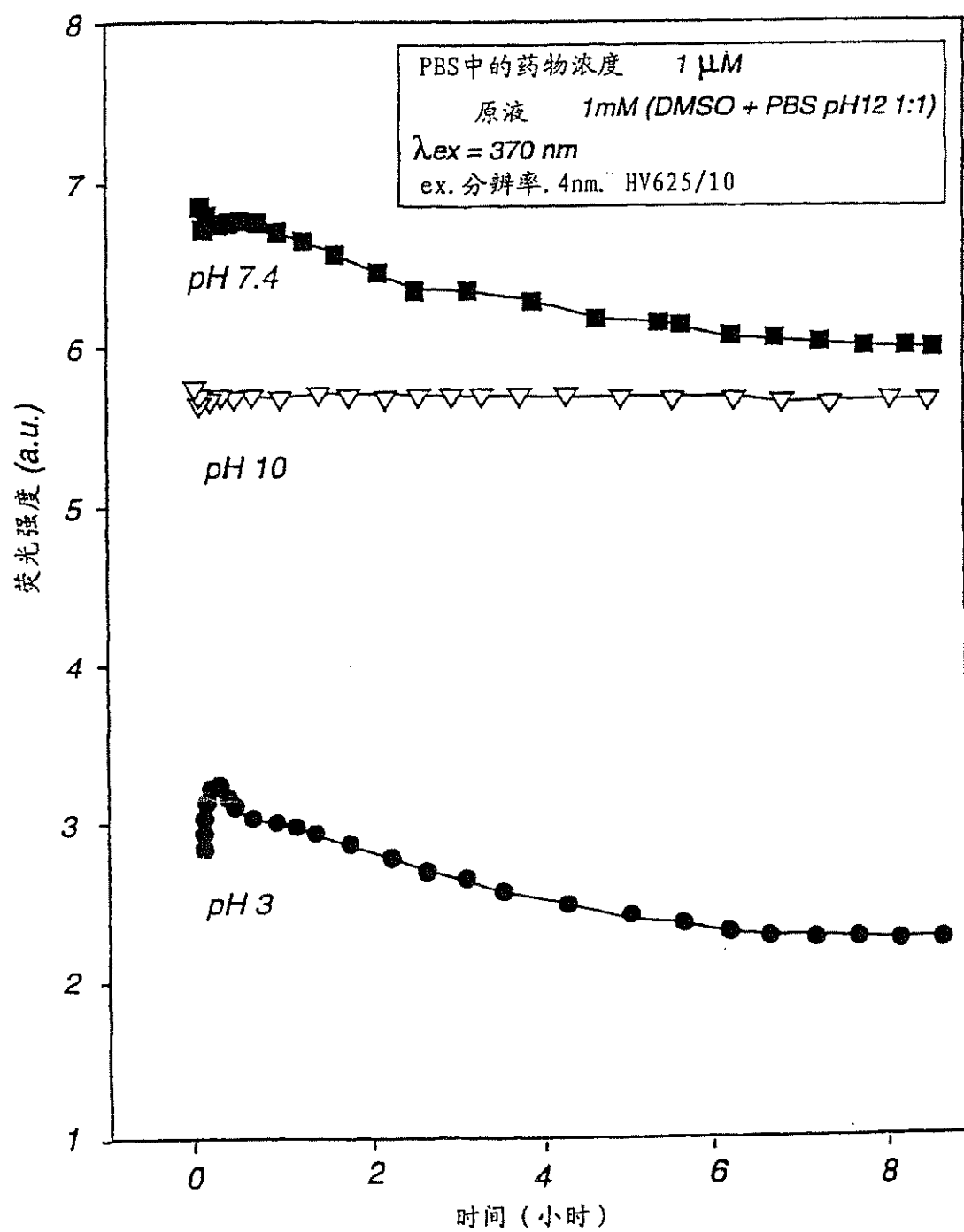


图 24

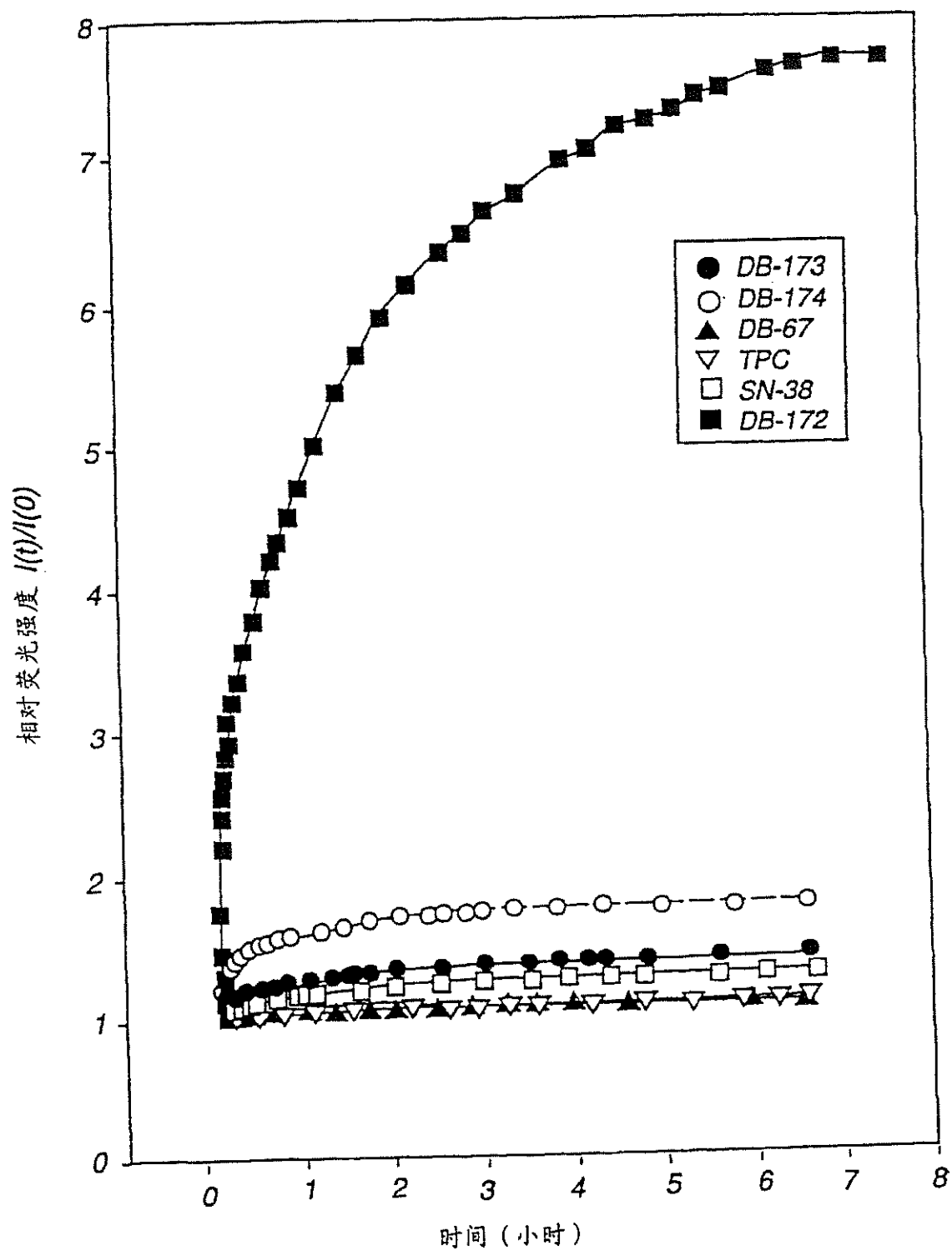


图 25

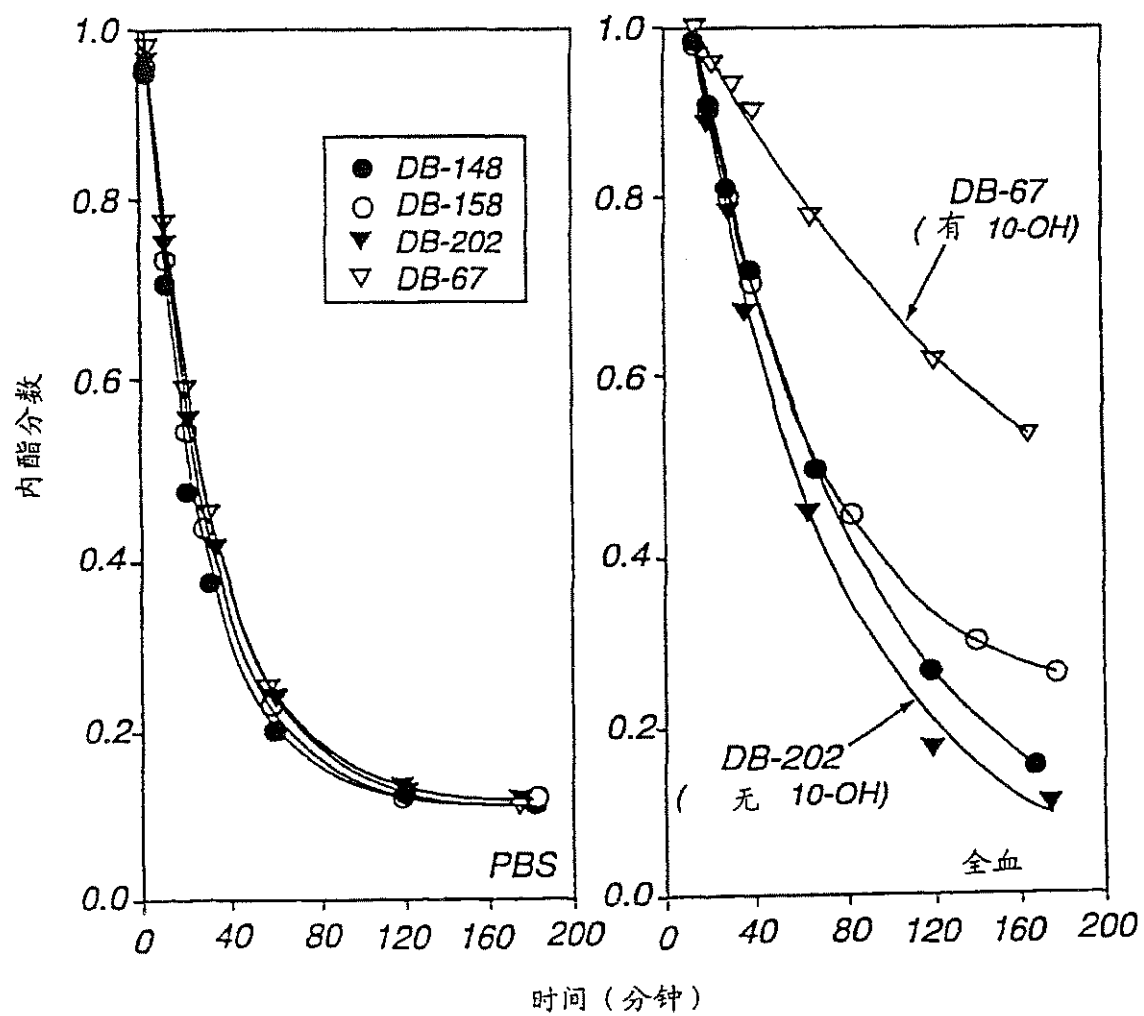


图 26

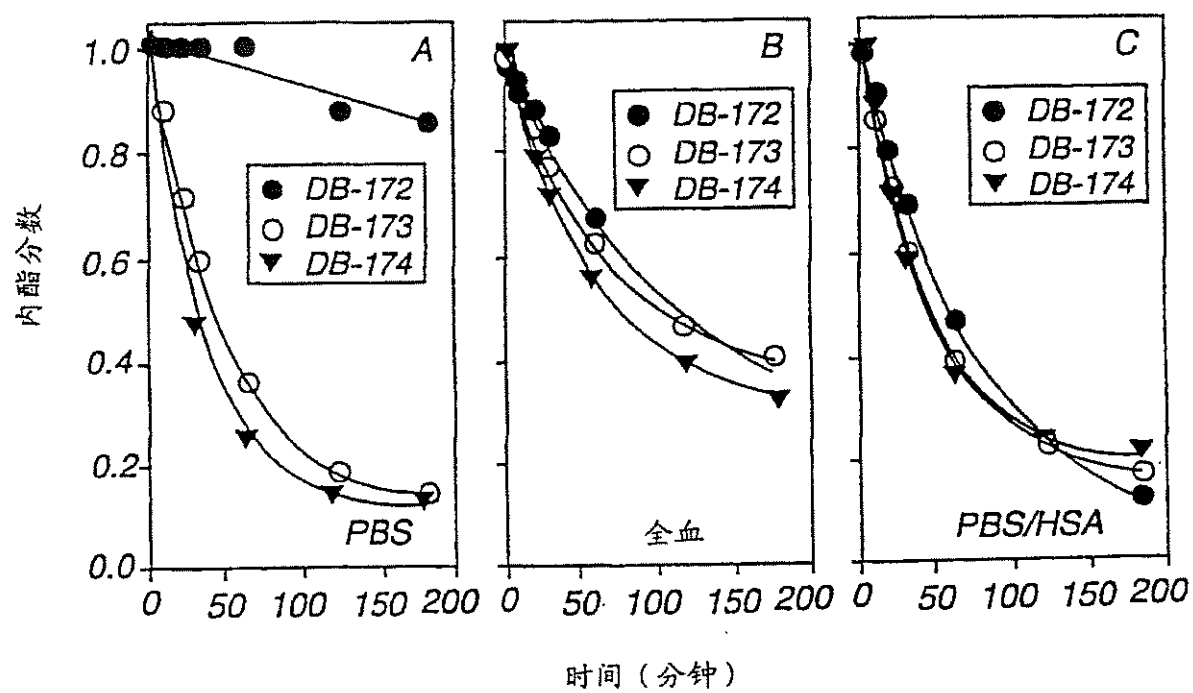


图 27

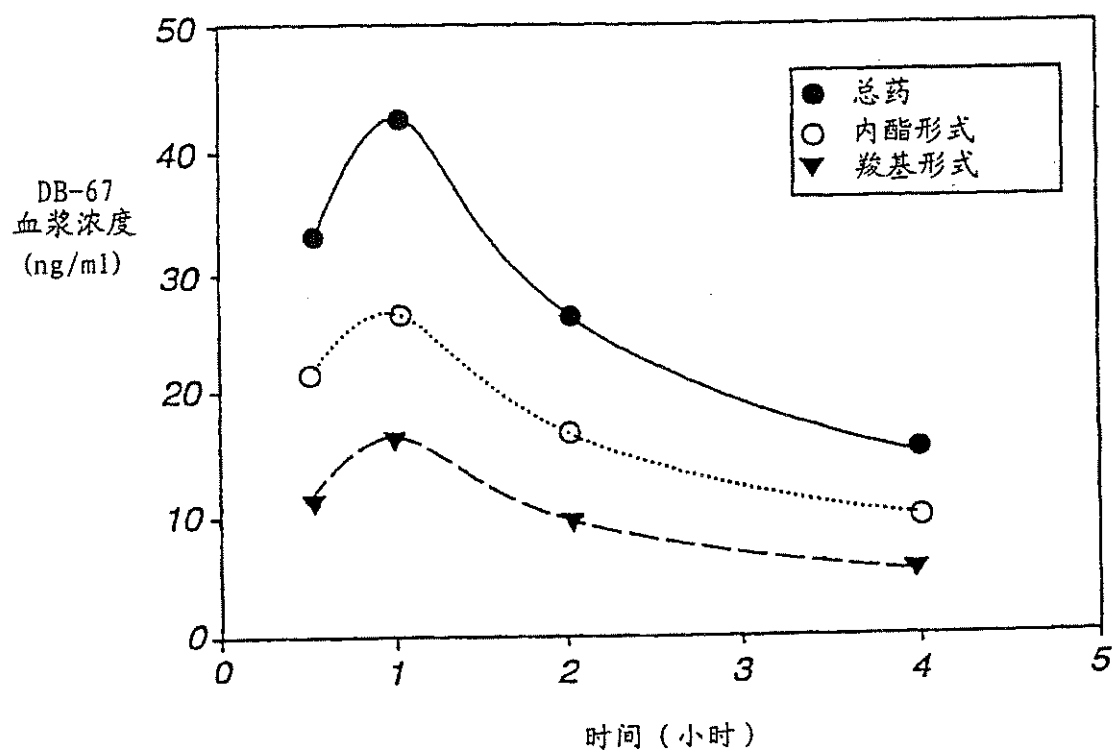


图 28