



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103012248 B

(45) 授权公告日 2014. 11. 05

(21) 申请号 201310011060. 9

A61P 27/02(2006. 01)

(22) 申请日 2013. 01. 11

A61P 17/06(2006. 01)

(73) 专利权人 浙江大德药业集团有限公司

A61P 37/00(2006. 01)

地址 322000 浙江省义乌市江滨西路 289 号

A61P 27/06(2006. 01)

A61P 31/04(2006. 01)

(72) 发明人 王建平 王建国

A61P 31/10(2006. 01)

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

A61P 31/22(2006. 01)

司 31100

A61P 33/02(2006. 01)

代理人 张睿

A61P 1/02(2006. 01)

A61P 31/18(2006. 01)

(51) Int. Cl.

A61P 15/00(2006. 01)

C07D 211/62(2006. 01)

C07D 401/04(2006. 01)

C07D 409/04(2006. 01)

C07D 213/82(2006. 01)

C07D 213/81(2006. 01)

C07D 213/84(2006. 01)

A61K 31/4468(2006. 01)

A61K 31/4545(2006. 01)

A61K 31/454(2006. 01)

A61K 31/4535(2006. 01)

A61K 31/455(2006. 01)

A61K 31/44(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

A61P 35/02(2006. 01)

A61P 29/00(2006. 01)

A61P 19/02(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101085743 A, 2007. 12. 12, 权利要求 1-10, 说明书第 6-7 页.

US 5430062 A, 1995. 07. 04, 说明书第 2-23 栏.

US 5561122 A, 1996. 10. 01, 说明书第 1-8 栏.

CN 1465580 A, 2004. 01. 07, 说明书第 1-4 页.

审查员 张建宏

权利要求书2页 说明书16页

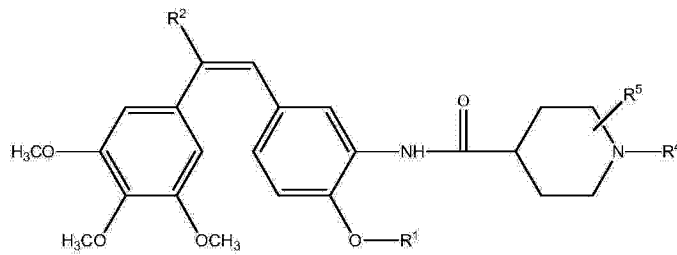
(54) 发明名称

氨基康普立停衍生物的合成及其作为口服抗肿瘤药物的应用

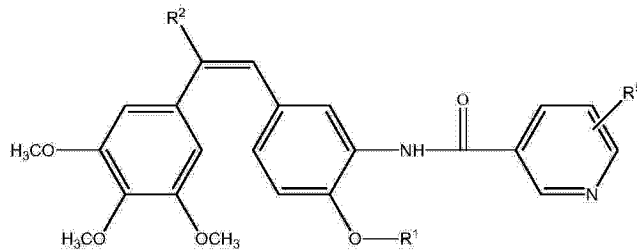
(57) 摘要

本发明公开了式(I)所示的用于抑制肿瘤新生血管生成的化合物、及其可药用盐或其构型异构体。其中取代基 R¹、R²、R³如说明书中所定义。本发明还公开了包括所示式(I)化合物的制备方法、药物组合物,以及这些化合物作为微管蛋白抑制剂在抑制肿瘤新生血管方面的用途,尤其是作为口服制剂方面的应用。

1. 一种通式 II (a) 或 II (b) 表示的化合物或其药学上可接受的盐：



II a



II b

其中

R¹ 是甲基, 乙基, 二氟甲基；

R² 是氢；

R⁴ 是氢, 甲基, 乙基, 呋喃基, 吡咯基, 哌啶基；

R⁵ 独立地选自氢, 甲基, 氨基, 氨甲酰基。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中所述的化合物优选自：
(Z)-1-(3, 4, 5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-乙氧基苯基) 乙烯；

(Z)-1-(3, 4, 5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基) 乙烯；

(Z)-1-(3, 4, 5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-二氟甲氧基苯基) 乙烯；

(Z)-1-(3, 4, 5-三甲氧基苯基)-2-(3-(吡啶-3-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基) 乙烯。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物在药学上可接受的盐, 所述的盐是与柠檬酸成盐。

4. 一种药物组合物, 其特征在于, 它含有治疗有效量的如权利要求 1-3 任一项所述的化合物和药学上可接受的载体。

5. 根据权利要求 4 所述的药物组合物, 药学上可接受的载体主要包括口服制剂所使用的稀释剂, 润滑剂, 聚乙二醇。

6. 根据权利要求 5 所述的药物组合物, 药学上可接受的载体还包含粉碎剂, 吸附剂, 染料, 调味剂, 增甜剂。

7. 根据权利要求 5 所述的药物组合物, 所述口服制剂为片剂。

8. 一种如权利要求 1-3 任一项所述的化合物在制备微管蛋白聚集抑制剂中的应用。

9. 一种如权利要求 1-3 任一项所述的化合物在制备治疗非正常新生血管引起的疾病的药物中的应用;所述非正常新生血管引起的疾病包括各种肿瘤,主要有:肺癌、肝癌、胰腺癌、胃癌、骨癌、食道癌、乳房癌、肾癌、胆管癌、前列腺癌、睾丸癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、子宫颈癌、支气管癌、黑色素瘤、腺癌、汗腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、囊性腺癌、胶质细胞瘤、星型细胞瘤、成神经管细胞瘤、成神经细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、成血管细胞瘤、少突神经胶质瘤、脑膜瘤、神经纤维瘤、纤维肉瘤、成纤维细胞瘤、纤维瘤、粘液肉瘤、粘液囊瘤、脂肪瘤、脂肪腺瘤、软骨肉瘤、软骨瘤、软骨肌瘤、脊索瘤、绒毛膜腺瘤、绒毛血管瘤、绒毛上皮瘤、成绒毛膜细胞瘤、骨肉瘤、成骨细胞瘤、破骨细胞瘤、骨软骨纤维瘤、骨软骨肉瘤、股囊瘤、骨牙质瘤、骨纤维瘤、骨纤维肉瘤、血管瘤、血管肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管瘤、淋巴瘤、内皮瘤、滑膜瘤、滑膜肉瘤、间皮瘤、结缔组织瘤、尤因瘤、平滑肌瘤、平滑肌肉瘤、横纹肌瘤、横纹肌肉瘤、急性淋巴性白血病、急性骨髓性白血病、慢性白血病、红细胞增多症、多发性骨髓瘤。

10. 根据权利要求 9 所述的应用,所述肺癌为小细胞肺癌。

氨基康普立停衍生物的合成及其作为口服抗肿瘤药物的应用

技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,涉及一系列的康普立停(Combretastatin)A4 衍生物及其制备方法,及其在制备微管蛋白抑制剂中的用途。

背景技术

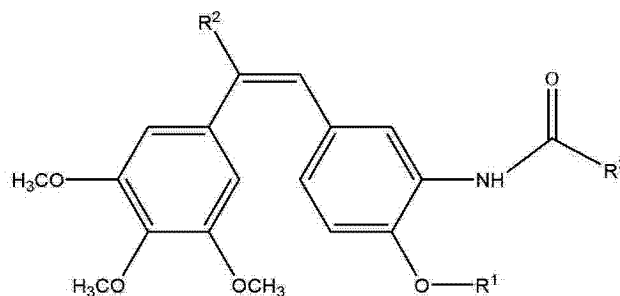
[0002] Combretastatins 系列化合物最初是从南非 Combretum caffrum 树干中提取分离得到的。它具有抗肿瘤活性,可以直接作用于内皮细胞,诱导增殖的内皮细胞凋亡,从而抑制肿瘤新生血管的生成,达到消灭肿瘤的目的。Combretastatins 系列化合物具有顺式 1,2-二苯乙烯结构。其中 combretastatin A-4[CA-4,康普立停,顺式 -1-(3,4,5-三甲氧基)苯基 -2-(3'-羟基 -4'-甲氧基)苯基乙烯]具有最强的抑制微管聚合作用(Pettit G R, et al. J. Med. Chem(1995)38 1666-1672)。最近,由于 CA-4 作为肿瘤血管靶向试剂,显示出其阻断肿瘤血管的优良特性(Thorpe PE. Clin Cancer Res. 2004,Jan 15,10(2):415-27; West CM, Price P. Anticancer Drugs. 2004 Mar,15(3):179-87; Young SL, Chaplin DJ. Expert Opin Investig Drugs. 2004 Sep,13(9):1171-82.)。美国 Oxigene, Inc. 公司用 CA-4 作为抗肿瘤新药,已进入 III 期临床研究。1997 年日本味之素株式会社(Ajinomoto Co.) T. Hatanaka 等人发现把 CA-4 的 3' 位的羟基改造成氨基,其抗癌活性大大提高(USP5674906)。

[0003] 但是,Combretastatins 系列化合物的水溶性很差,使其临床应用受到很大的限制。而且将 CA-4 的 3' 位的羟基改造成氨基后,目前通常的将 CA-4 改造成其磷酸盐的方法并不适用。虽然日本味之素株式会社已经将氨基 CA-4 用氨基酸进行了修饰,增加了其水溶性,使其成为针剂能对癌症病人使用。但其使用方法还是有诸多不便。因此,本发明将提供一种新的氨基 CA-4 衍生物,该化合物通过消化道吸收,并通过血液传输到全身各部位,对各种肿瘤都有一定的疗效,尤其是肝癌和结肠癌。

发明内容

[0004] 本发明提供了一种含有下面通式(I)表示的化合物或其药学上可接受的盐:

[0005]



[0006] (I)

[0007] 其中

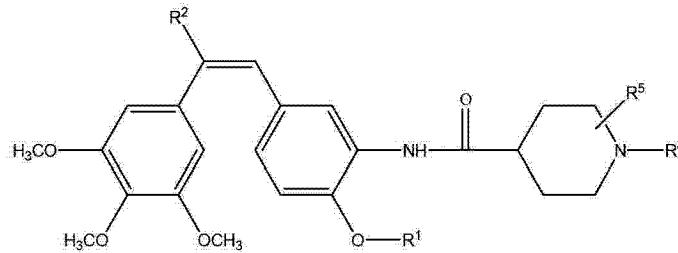
[0008] R^1 独立地选自 C_1-C_3 的烷基, 卤代烷基;

[0009] R^2 独立地选自氢, 甲基, 乙基, 卤素;

[0010] R^3 是可被任意取代的含有一个或多个杂原子的杂环或杂环烷基, 其中至少有一个杂原子为 N。

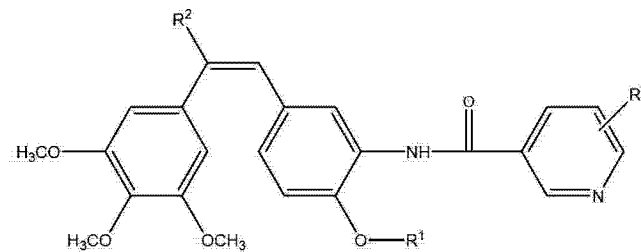
[0011] 在本发明所述式(I)化合物中, 优选是具有通式 II (a) 或 II (b) 化合物:

[0012]



[0013] II a

[0014]



[0015] II b

[0016] 其中

[0017] R^1 独立地选自 C_1-C_3 的烷基, 卤代烷基;

[0018] R^2 独立地选自氢, 甲基, 乙基, 卤素;

[0019] R^4 独立地选自氢, C_1-C_3 的烷基, 卤代烷基, 环烷基, 芳基, 杂环芳基, 杂环烷基, 烷酰基, 烷氧羰基;

[0020] R^5 独立地选自氢, 卤素, 烷基, 环烷基, 烷氧基, 烯基, 炔基, 羟基, 巯基, 氨基, 硝基, 氰基, NR^aR^b , $NR^dC(O)R^c$, $C(O)NR^aR^b$, $S(O)_2NR^aR^b$, $NR^dS(O)_2R^c$, $NR^d(CH_2)_nR^c$, $(CH_2)_nNR^aR^b$, $NHC(O)NH R^c$, $(CH_2)_nNHC(O)R^c$, $NHC(NH)R^c$;

[0021] R^a, R^b 分别独立地选自氢, 烷基, 环烷基, 或可与 N、O、S 原子形成一个 5、6 或 7 元的杂环或杂环烷基;

[0022] R^c 独立地选自烷基, 环烷基, 芳基, 杂环芳基, 杂环烷基;

[0023] R^d 独立地选自氢, 烷基, 环烷基, 芳基, 杂环芳基;

[0024] 以上所述的烷基, 环烷基, 烷氧基, 烯基, 炔基, 杂环基, 杂环烷基可以被以下任意一个或多个基团取代: 卤素, 氨基, 烷氨基, 二烷基胺, 酰胺, 芳基, 杂环基, 硝基, 氰基, 羧基, 烷氧羰基, 羟基, 烷氧基, 酰氧基, $=O$, $=S$, $=NH$ 。

[0025] 本发明所述式(I)化合物或其药学上可接受的盐, 其中所述的化合物更优选自:

[0026] (Z)-1-(3, 4, 5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-乙氧基苯基)乙烯;

[0027] (Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯;

[0028] (Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-二氟甲氧基苯基)乙烯;

[0029] (Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-三氟乙氧基苯基)乙烯;

[0030] (Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-羟甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯;

[0031] (Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(2-吡咯基哌啶-4-甲酰基))氨基-4-甲氧基苯基)乙烯;

[0032] (Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(吡啶-3-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯;

[0033] (Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(2-乙酰氨基吡啶-5-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯;

[0034] (Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(2-三氟甲基吡啶-5-甲酰基))氨基-4-甲氧基苯基)乙烯;

[0035] (Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(2-氟吡啶-5-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯;

[0036] (Z)-1-氟-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯;

[0037] (Z)-1-甲基-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯。

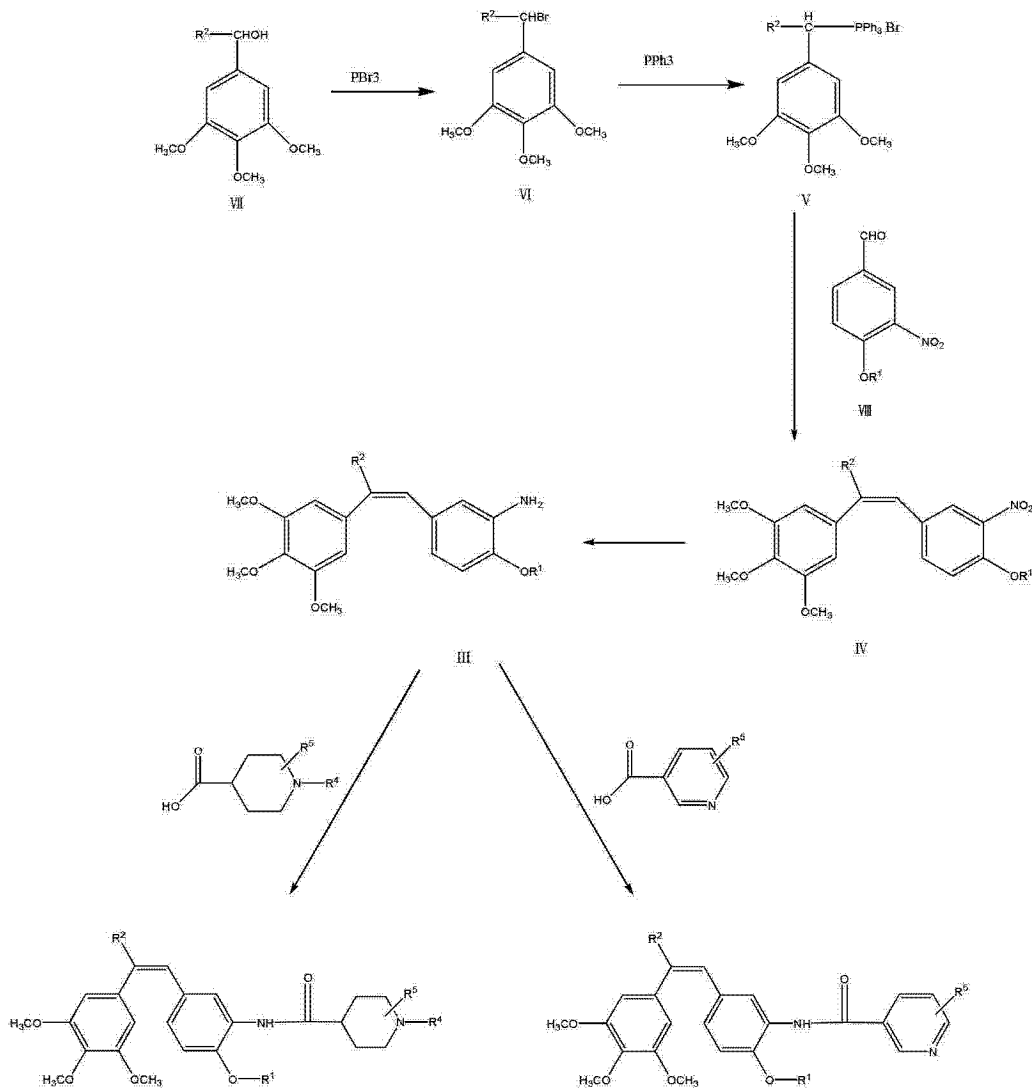
[0038] 本发明所述式(I)化合物在药学上可接受的盐,或含至少一个碱性成盐基团,与其成盐的酸可以是药学上常用的无机酸或有机酸,包括无机酸:盐酸、硫酸、磷酸;有机羧酸:乙酸、丙酸、三氟乙酸、乙醇酸、琥珀酸、马来酸、富马酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、草酸、各种天然的或合成的氨基酸、苯甲酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、扁桃酸、肉桂酸、烟酸、异烟酸;有机磺酸:甲磺酸、三氟甲磺酸、乙磺酸、2-羟基乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、2-萘磺酸。当存在多个碱性基团时,可以生成多酸加成盐。

[0039] 本发明的化合物和药学上可接受的盐还包括溶剂化物或水合物的形式。一般来说,溶剂化物或水合物的形式与非溶剂化的或非水合的形式等同,一并涵盖在本发明的范围内。本发明中的有些化合物有可能存在多晶体或无定形的形式。总的来说,所有的物理形式具有同等的用途,并且涵盖在本发明的范围内。

[0040] 本发明涵盖呈混合物形式或者呈纯形式的本发明化合物的所有立体异构体。本发明化合物的定义包含所有可能的立体异构体及其混合物。其非常具体地包含外消旋形式和分离的具有特定活性的光学异构体。外消旋形式可通过物理方法来进行拆分,所述物理方法诸如对非对映异构体衍生物进行分级结晶、分离或者通过手性柱色谱进行分离。可通过常规方法例如光学活性酸形式成盐接着结晶而从外消旋体得到单独的光学异构体。

[0041] 此外,本发明还提供了合成式(I)化合物的方法。其工艺过程如下所示:

[0042]



[0043] II a

II b

[0044] 本发明所述的合成方法通过化合物VII的溴代、与三苯基膦反应后得到相应的磷盐,再将磷盐与化合物VIII通过 wittig 反应得到顺式的二苯乙烯结构 (IV)。二苯乙烯用二溴二辛基联吡啶和金属钐粉作为还原剂将结构中的硝基还原成氨基,就得到了氨基康普立停 A-4 (III)。然后以氨基康普立停 A-4 为原料,与吡啶甲酸或哌啶甲酸通过酰氯或活性酯的方法连接成酰胺 (结构 II a 或 II b),最后与酸成盐得到最终产物。

[0045] 本发明还涉及包含有效量的式 (I) 化合物和药理上可接受的载体的药物组合物,该组合物适用于局部的、肠内的或肠外的给药,可以是无机的或有机的,固态的或液态的。对于口服,尤其用片剂或胶囊。这种片剂或胶囊包含活性成分和稀释剂(如乳糖、葡萄糖、蔗糖、甘露糖醇、山梨醇、纤维素、丙三醇),润滑剂(如滑石、硬脂酸盐),聚乙二醇。片剂还可包含粘合剂,淀粉,明胶,甲基纤维素,羧甲基纤维素钠和 / 或聚乙烯吡咯烷酮,必要时还可包含粉碎剂(如淀粉、琼脂、藻酸及其盐),泡腾混合物,或吸附剂,染料,调味剂,增甜剂。这些组合物还可以肠胃外给药的形式或以针剂的形式被适用。此类剂型优选等渗水溶液或乳液,如在仅由活性成分和一种载体(如甘露醇)组成的冻干组合物的情况下,此类溶液可以在使用前制备。这些药物组合物可以是无菌的,或包含赋形剂的,或加溶剂、调节渗透压的盐。

[0046] 本发明还涉及式(I)化合物在制备治疗非正常新生血管引起的疾病的药物中的应用。非正常新生血管引起的疾病包括各种肿瘤,主要有:肺癌、小细胞肺癌、肝癌、胰腺癌、胃癌、骨癌、食道癌、乳房癌、肾癌、胆管癌、前列腺癌、睾丸癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、子宫颈癌、支气管癌、黑色素瘤、腺癌、汗腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、囊性腺癌、胶质细胞瘤、星型细胞瘤、成神经管细胞瘤、成神经细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、成血管细胞瘤、少突神经胶质瘤、脑膜瘤、神经纤维瘤、纤维肉瘤、成纤维细胞瘤、纤维瘤、粘液肉瘤、粘液囊瘤、脂肪瘤、脂肪腺瘤、软骨肉瘤、软骨瘤、软骨肌瘤、脊索瘤、绒毛膜腺瘤、绒毛血管瘤、绒毛上皮瘤、成绒毛膜细胞瘤、骨肉瘤、成骨细胞瘤、破骨细胞瘤、骨软骨纤维瘤、骨软骨肉瘤、股囊瘤、骨牙质瘤、骨纤维瘤、骨纤维肉瘤、血管瘤、血管肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管瘤、淋巴瘤、内皮瘤、滑膜瘤、滑膜肉瘤、间皮瘤、结缔组织瘤、尤因瘤、平滑肌瘤、平滑肌肉瘤、横纹肌瘤、横纹肌肉瘤、急性淋巴性白血病、急性骨髓性白血病、慢性白血病、红细胞增多症、多发性骨髓瘤。

[0047] 非正常新生血管引起的疾病还包括:风湿性关节炎、糖尿病视网膜病、早熟视网膜病、视网膜静脉闭塞、牛皮癣、红斑痤疮、卡波济肉瘤、特异性反应性角膜炎、流行性角膜结膜炎、新生血管性青光眼、细菌性溃疡、真菌性溃疡、单纯性疱疹感染、带状疱疹感染、原生动感染、分支杆菌感染、多动脉炎、肉样瘤、巩膜炎、潮红、口干眼燥关节炎综合症、全身性红斑狼疮、艾滋病综合症、梅毒。

[0048] 本发明还涉及了式(I)化合物在制备微管蛋白聚集抑制剂中的应用。

[0049] 本发明还提供了一种动物试验的方法,通过这种方法可以验证化合物(I)在动物体内的吸收和对肿瘤的抑制能力。

具体实施方式

[0050] 下面将详细描述本发明的示例性实施方案。然而,这些实施方案仅为说明目的,并不旨在限制本发明的范围。

[0051] 以下是可在本说明书中使用的术语的定义。除非另有说明,本专利就基团或术语而言提供的初始定义适用于在说明书通篇中的所述基团或者术语,不论是单独使用还是作为另一基团的部分使用。

[0052] 术语“烷基”是指直链的或支链的未取代的烃基,其具有1-20个碳原子,优选的是1-6个碳原子,尤其是指甲基、乙基、丙基(包括正丙基和异丙基)、丁基(包括正丁基、异丁基、叔丁基)等。

[0053] 术语“烯基”是指具有一个或多个碳碳双键的烃基,如乙烯基、丙烯基、1,3-丁二烯、顺丁烯、反丁烯等。

[0054] 术语“炔基”是指具有一个或多个碳碳三键的烃基,如乙炔基、丙炔基等。

[0055] 术语“卤素”或者“卤代”是指氟(氟代)、氯(氯代)、溴(溴代)、碘(碘代)。

[0056] 术语“芳基”是指单环或多环的芳香族碳氢化合物,例如苯、萘、蒽、菲等。

[0057] 术语“杂环芳基”是指任选取代的芳香族环状基团,其中至少含有一个碳原子被其它杂原子取代,杂原子包括氮、氧、硫。该氮和硫杂原子也可任选被氧化,氮杂原子也可任选被季铵化。该杂环基团可在任何杂原子或碳原子处连接。优选的杂环芳基包括但不限于,吡啶、吡嗪、嘧啶、哒嗪、三嗪、呋喃、噻吩、咪唑、三唑、四唑、噻唑、异噻唑、吡咯、吡唑、噁唑、

异噁唑、苯并呋喃、苯并噻唑、苯并噻吩、吡啶、喹啉、异喹啉、嘌呤、咪唑、苯并咪唑、吡咯并吡啶、吡咯并嘧啶等。

[0058] 术语“环烷基”是指非芳香族的碳环,包括单环、稠环或螺环。环烷基还包括具有一个或多个芳香环稠合(即有一个共同的键)的环,有一个或多个芳香环稠合的环烷基可以通过芳香环或非芳香环部分与其他基团相连接。

[0059] 术语“杂环烷基”是指非芳香杂环,其中一个或多个成环原子是杂原子,如氧、氮、硫原子。杂环烷基可以包括单环或多环(如有 2、3、4 个稠合环)、螺环。优选的杂环烷基包括氮丙啶、氮杂环丁烷、四氢呋喃、四氢噻吩、吡咯烷、噁唑烷、噻唑烷、异噻唑烷、咪唑烷、吡啶烷、吗啉、硫代吗啉、哌嗪、哌啶等。杂环烷基还包括具有一个或多个芳香环稠合的杂环,例如 2,3-二氢苯并呋喃、1,3-苯并二氧戊环、苯并-1,4-二噁烷、苯二甲酰胺等。具有一个或多个芳香环稠合的杂环烷基可以通过芳香环或非芳香环部分与其它基团连接。

[0060] 术语“氰基”是指基团 $-CN$ 。

[0061] 术语“硝基”是指基团 $-NO_2$ 。

[0062] 术语“巯基”是指基团 $-SH$ 。

[0063] 术语“烷氧羰基”是指基团 $-C(=O)OR^6$,其中 R^6 是指烷基。

[0064] 术语“烷氧基”是指基团 $-OR^7$,其中 R^7 是指烷基。

[0065] 术语“酰氧基”是指基团 $-OC(=O)R^8$,其中 R^8 是指烷基。

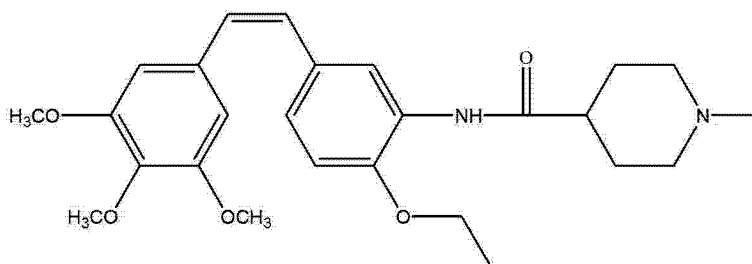
[0066] “可选的”意味着随后描述的事件或情况可以发生或者不发生,所述描述摆阔其中所述事件或情况发生的例子和其中它不发生的例子。

[0067] 本文所用的“药学可接受的载体”包括任何核全部的溶剂、分散介质、包衣、抗细菌和抗真菌药剂、等渗和吸收延迟剂等。这样的介质和药剂用于药学活性物质在本领域是众所周知的。除非任何常规介质或药剂与活性成分不相容,其在治疗组合物中的应用时可预期的。补充的活性成分也可并入组合物中。

[0068] 实施例 1

[0069] (Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-乙氧基苯基)乙烯的合成

[0070]



[0071] 步骤 1:溴化三甲氧基苄基三苯基膦的合成

[0072] 将 3,4,5-三甲氧基苯甲醛 4Kg 溶于无水乙醇,搅拌,在 $35^{\circ}C$ 以下少量多次加入硼氢化钠 1.4Kg。加完后反应过夜。反应完成后,旋转蒸发除去乙醇。加入乙酸乙酯(10L \times 4)萃取,合并乙酸乙酯层,无水硫酸镁干燥,过滤,减压蒸去乙酸乙酯,得到 3200ml 产物。

[0073] 将 3,4,5-三甲氧基苄醇 3200ml 溶于 20L 甲苯中,搅拌,降温到 $-5-0^{\circ}C$,滴加三溴化磷 1L,同时控温在 $-5-0^{\circ}C$ 。滴加完成后,低温反应 2h,恢复到室温,反应过夜。

[0074] 加入纯化水 14L 终止反应,搅拌 30min,分液,分出水层。有机层用饱和碳酸氢钠溶液洗涤到 Ph 值 7.5-8,无水硫酸镁干燥,过滤,得到三甲氧基苄溴的甲苯溶液。

[0075] 在此溶液中加入三苯基磷 5.6Kg,搅拌 48h 以上,有固体析出,过滤,即得到产物粗品,湿重 13Kg。产品用无水乙醇重结晶。

[0076] 步骤 2:(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-氨基-4-甲氧基苯基)乙烯的合成

[0077] 在化学合成器中,氩气保护下,将溴化三甲氧基苯基亚甲基三苯磷 15g(28.7mmol)悬浮于 300ml THF 中,冷却到-15℃左右。滴入 1.6mol/L 的正丁基锂环己烷溶液 22ml,反应 1 小时。然后,将 5.7 克(29mmol)4-乙氧基-3-硝基苯甲醛 24ml THF 溶液,缓慢滴加入反应中。TLC 跟踪,搅拌过夜,反应温度升到室温。次日,将溶液温度降到-5℃,加入饱和食盐水中止反应。分出有机层,除去溶剂。经常压柱层析(硅胶柱,4:1 正己烷/乙酸乙酯)分离得到 6.5 克浅黄色晶体,即为 (Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-硝基-4-乙氧基苯基)乙烯,产率 63%。

[0078] 在干燥的 5L 四颈瓶中加入 3.5L 新蒸异丙醇,二溴二辛基联吡啶 50g,金属钯粉 120g,最后加入 (Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-硝基-4-乙氧基苯基)乙烯 50g,搅拌,加热至回流。TLC 点板跟踪,直至反应结束。反应完成后,抽滤,浓缩,柱色谱分离,洗脱剂石油醚/乙酸乙酯=4/1。收率 30~40%。

[0079] 步骤 3:(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-乙氧基苯基)乙烯的合成

[0080] 1-甲基哌啶-4-甲酸盐(10g,55.6mmol),加入 100ml 二氯亚砷,搅拌,加热回流 12h,冷却,减压蒸去二氯亚砷,得到类白色固体。加入 50ml 干燥的 THF,蒸干溶剂,再重复此操作 2 次,得到的固体直接用于下一步反应。

[0081] 将上一步反应得到的固体溶于 100ml 吡啶,加入氨基 CA-4(12.2g,37mmol),搅拌,加热到 60℃,反应 6h。反应结束后,将反应液倒入 500ml 水中,加入 NaOH 溶液调节 pH 值到 9,有固体析出,过滤,得到的固体经过柱(洗脱剂:氯仿/甲醇=9/0.3)提纯后得到产物 (Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-乙氧基苯基)乙烯 14g,收率 83%。MS(M+)=455.5。

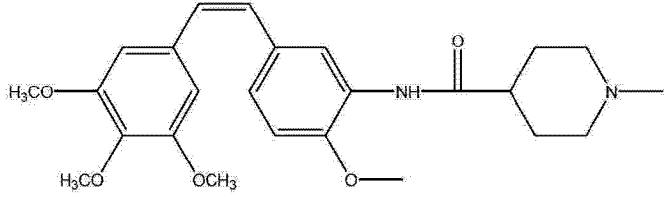
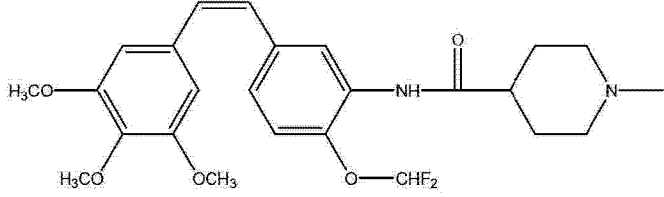
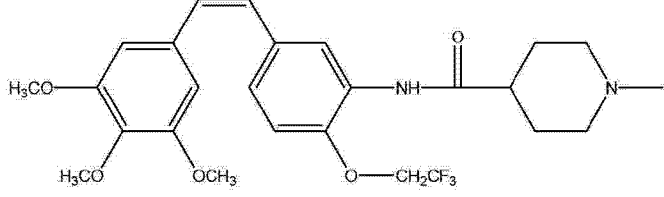
[0082] 实施例 2

[0083] (Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-乙氧基苯基)乙烯柠檬酸盐的制备

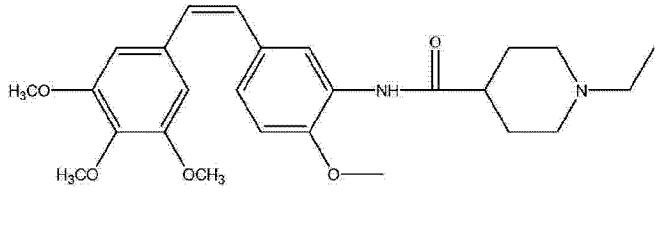
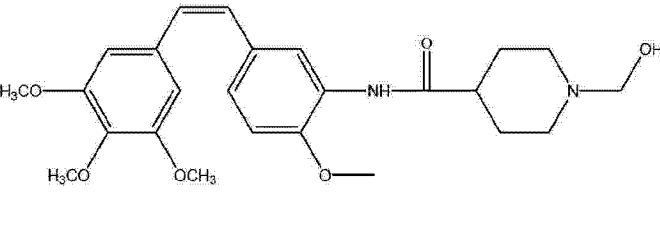
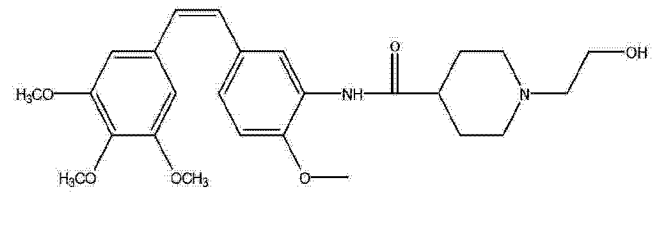
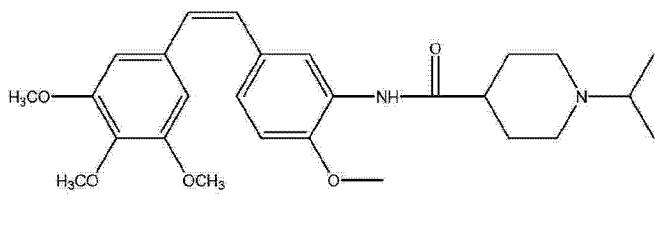
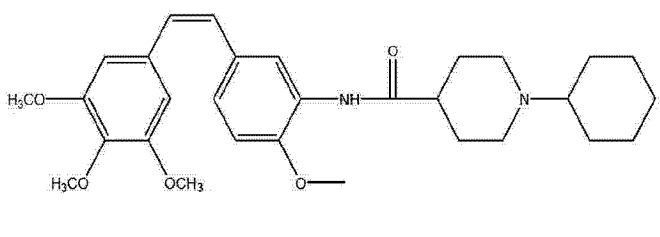
[0084] 将 (Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-乙氧基苯基)乙烯 20g 加入到 200ml 丙酮中,加热溶解,加入柠檬酸 10g,继续加热回流 3h,冷却后过滤析出的沉淀,并用乙醇重结晶后得到标题所示化合物。

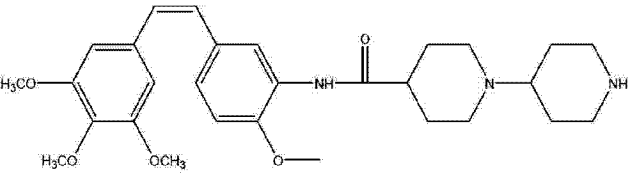
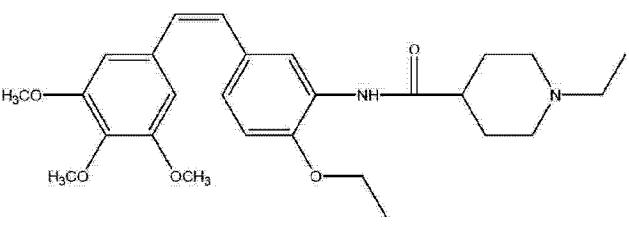
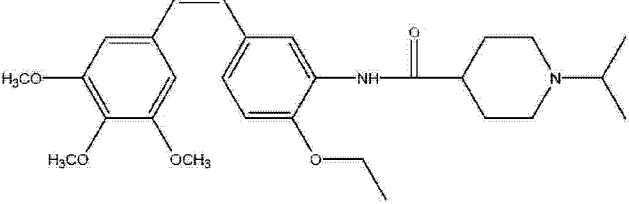
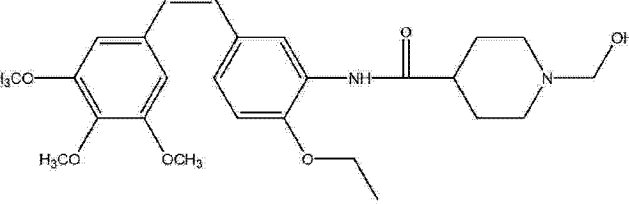
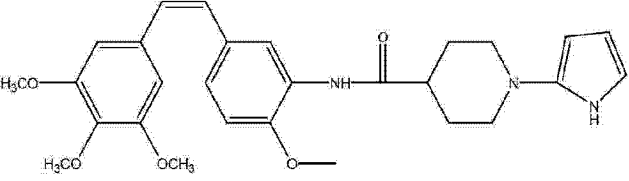
[0085] 利用不同的原料,通过实施例 1 类似的方法,分别合成了以下各种化合物:

[0086]

序号	化学结构式	化学名称
实施例 3		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 4		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-二氟甲氧基苯基)乙烯
实施例 5		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-三氟乙氧基苯基)乙烯

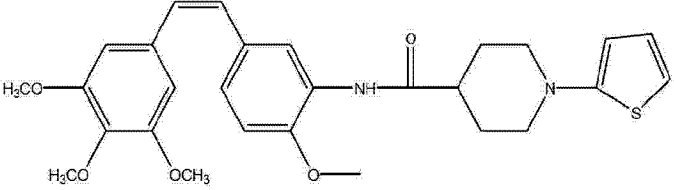
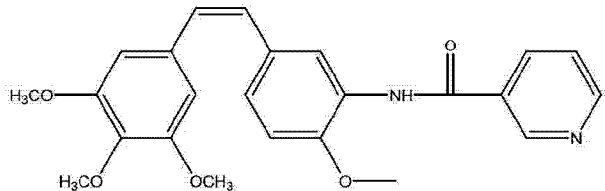
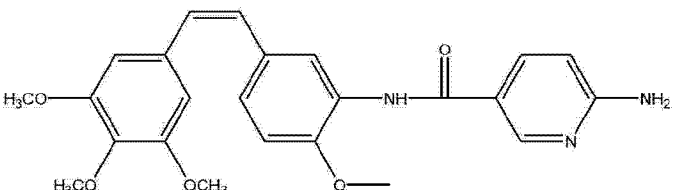
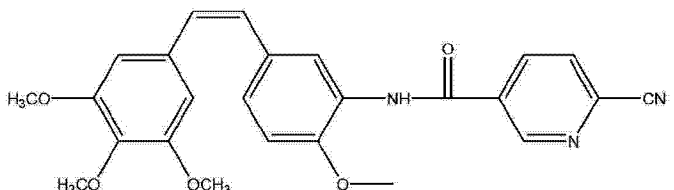
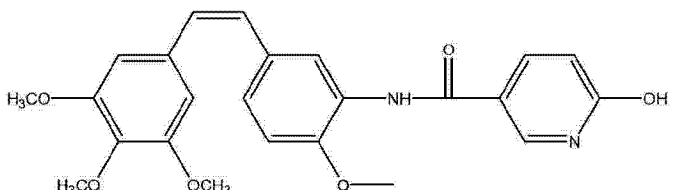
[0087]

实施例 6		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-乙基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 7		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-羟甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 8		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-羟乙基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 9		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-异丙基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 10		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-环己基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯

<p>实施例 11</p>		<p>(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-(4-哌啶基)氨基)-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯</p>
<p>实施例 12</p>		<p>(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-乙基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-乙氧基苯基)乙烯</p>
<p>实施例 13</p>		<p>(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-异丙基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-乙氧基苯基)乙烯</p>
<p>实施例 14</p>		<p>(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-羟甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-乙氧基苯基)乙烯</p>
<p>实施例 15</p>		<p>(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-(2-吡咯基)哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯</p>

[0088]

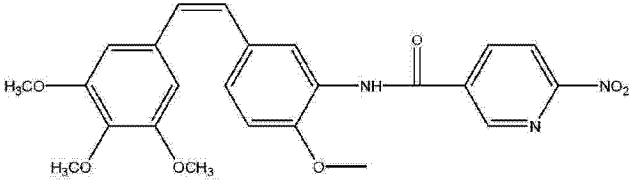
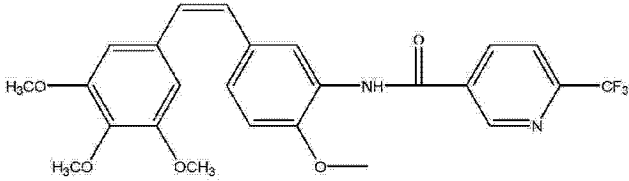
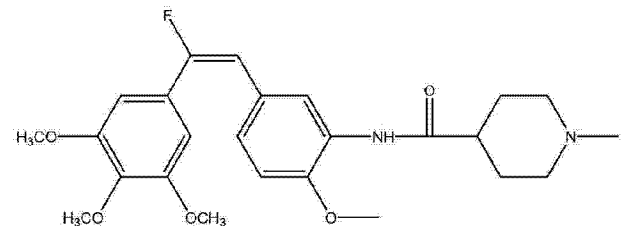
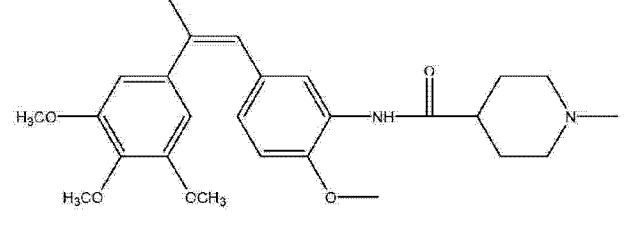
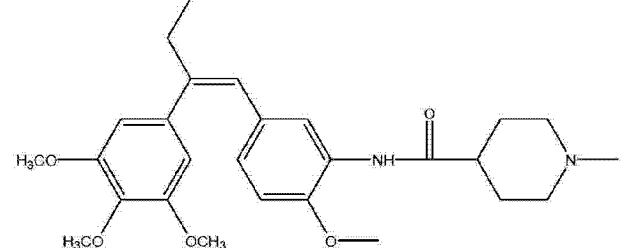
[0089]

实施例 16		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-(2-噻吩基)哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 17		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(吡啶-3-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 18		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(2-氨基吡啶-5-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 19		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(2-氰基吡啶-5-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 20		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(2-羟基吡啶-5-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯

[0090]

实施例 21		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(2-甲基吡啶-5-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 22		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(2-乙基吡啶-5-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 23		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(2-氨基甲酰基吡啶-5-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 24		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(2-氟吡啶-5-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 25		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(2-氯吡啶-5-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯

[0091]

实施例 26		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(2-硝基吡啶-5-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 27		(Z)-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(2-三氟甲基吡啶-5-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 28		(Z)-1-氟-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 29		(Z)-1-甲基-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯
实施例 30		(Z)-1-乙基-1-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(3-(N-甲基哌啶-4-甲酰基)氨基-4-甲氧基苯基)乙烯

[0092] 实施例 31 药物制剂配方

[0093] 本发明提供了几种与新生血管异常增生相关的疾病的药物组合物的配方,其药物

组合物主要有片剂、胶囊等口服制剂。以下以“活性化合物”表示本发明所示的化合物。

		(a) 片剂 I	(mg)
		活性化合物	100
		乳糖	188.75
[0094]		微晶纤维素	100
		交联羧甲基纤维素钠	6
		淀粉	2.25
		硬脂酸镁	3
		(b) 片剂 II	(mg)
		活性物质	50
		乳糖	218
[0095]		交联羧甲基纤维素钠	12
		淀粉	15
		聚乙烯吡咯烷酮	2
		硬脂酸镁	3
		(c) 胶囊	(mg)
		活性物质	10
[0096]		乳糖	487.5
		硬脂酸镁	2.5

[0097] 实施例 32 对体外培养的肿瘤细胞的抗肿瘤活性试验

[0098] 细胞以含 10% 胎牛血清的培养液培养,使细胞一直处于对数生长期。细胞接种于 96 培养板,密度 $4-7 \times 10^4/\text{ml}$ (HUVEC 密度 $3 \times 10^4/\text{ml}$)。37°C, 5%CO₂ 培养箱预培养 24 小时加药,药物设 6 个浓度,每个浓度设两个复孔,连续作用 72 小时。药物作用结束后,用三氯乙酸固定细胞,清洗后加入 SRB 工作液,15min 后,用 1% 醋酸溶液洗涤,用 Tris base 溶解与蛋白结合的 SRB,NOCoStar 酶标仪 545nm 波长下测定每个小孔的 OD 值。阳性对照药选择 CA-4。

[0099] 根据 OD 值,计算细胞生长抑制率。

[0100] 抑制率 (%) = (对照组 OD 值 - 用药组 OD 值) / 对照组 OD 值 100

[0101] 根据不同浓度下药物对细胞生长的抑制率,以 Logitech 方法计算 IC₅₀ 值。

[0102] 表 1 活性化合物对体外培养肿瘤细胞的抗肿瘤活性

[0103]

细胞株	肿瘤类型	IC ₅₀ (μ M)	
		EACA	CA-4
Bel-7402	肝癌	3.9×10^{-3}	2.8
HT-29	结肠癌	1.0×10^{-4}	0.3
SGC-7901	胃癌	2.7×10^{-4}	4.5×10^{-3}
A549	非小细胞肺癌	0.4	4.3
HUVEC	人脐静脉内皮细胞	9.1×10^{-3}	3.3×10^{-3}

[0104] 注：EACA 为本发明实施例 1 所述化合物。

[0105] 结论：本发明所示化合物对多种体外培养的肿瘤细胞均具有明显的抗肿瘤活性；对人脐静脉内皮细胞增殖也有显著的抑制作用；EACA 抑制作用显著强于阳性对照物 CA-4。

[0106] 实施例 32 裸小鼠移植瘤的疗效实验

[0107] BALB/cA-nude 裸小鼠，6-7 周，♀，购自上海斯莱克实验动物有限责任公司。裸小鼠皮下分别接种人肝癌 Bel-7402 细胞、结肠癌 HT-29 细胞、胃癌 SGC-7901 细胞和非小细胞肺癌 A549 细胞，待肿瘤生长至 100-250mm³ 后，将动物随机分组 (d0)。每周测 2-3 次瘤体积，称鼠重，记录数据。肿瘤体积 (V) 计算公式为：

[0108] $V = 1/2 \times a \times b^2$ 其中 a、b 分别表示长、宽；

[0109] $T/C(\%) = (T - T_0) / (C - C_0) \times 100$ 其中 T、C 为实验结束时的肿瘤体积；

[0110] T₀、C₀ 为实验开始时的肿瘤体积。

[0111] 将所试样品均用 50%PEG400 蒸馏水稀释成所需浓度。用药方式为每天给药 1 次，灌胃给药，连用 21 天。分别对实施例 1, 3, 4, 17, 23 所示化合物对人肝癌 Bel-7402、结肠癌 HT-29 细胞、胃癌 SGC-7901 细胞和非小细胞肺癌 A549 细胞的裸小鼠移植瘤的疗效进行了试验，其结果如表 2 所示。

[0112] 表 2 活性化合物多种癌细胞裸小鼠移植瘤的疗效

[0113]

分组	Bel-7402		HT-29		SGC-7901		A549	
	%T/C	%抑瘤率	%T/C	%抑瘤率	%T/C	%抑瘤率	%T/C	%抑瘤率
	D21	D21	D21	D21	D21	D21	D21	D21
1	49	51	45	55	66	34	70	30
3	51	49	47	53	69	31	77	23
4	49	51	41	59	63	37	69	31
17	55	45	39	61	71	29	63	37
23	51	49	44	56	82	18	68	32

[0114] 结论：本发明所示化合物可以在灌胃给药条件下明显抑制人肝癌 Be1-7402、结肠癌 HT-29 细胞、胃癌 SGC-7901 细胞和非小细胞肺癌 A549 细胞裸小鼠移植瘤的生长。