



# (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102702113 A

(43) 申请公布日 2012. 10. 03

(21) 申请号 201210171382. 5

(22) 申请日 2012. 05. 28

(71) 申请人 兰州大学

地址 730000 甘肃省兰州市天水南路 222 号

(72) 发明人 贺殿 杨欢 李晓军 黄金程

(74) 专利代理机构 兰州振华专利代理有限责任  
公司 62102

代理人 张晋

(51) Int. Cl.

*C07D 239/553* (2006. 01)

*A61P 35/00* (2006. 01)

*A61P 35/02* (2006. 01)

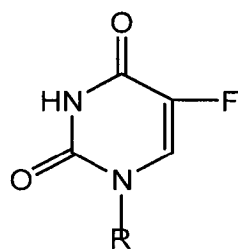
权利要求书 1 页 说明书 12 页 附图 3 页

## (54) 发明名称

5- 氟尿嘧啶衍生物及制备方法和用途

## (57) 摘要

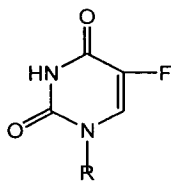
本发明涉及一类新有机化合物、这类化合物的用途及制备方法。更确切地讲是一种 5- 氟尿嘧啶衍生物, 以及这种化合物的用途和制备方法。本发明的化合物 5- 氟尿嘧啶衍生物如下式所示,



式 1 其中 R 为  $-\text{COCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2-\text{o}$ ,

或  $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2-\text{o}$  或  $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{OC}_6\text{H}_4\text{NO}_2-\text{o}$ ,  
或  $-\text{COCH}_2\text{OC}_6\text{H}_4\text{NO}_2-\text{o}$ , 或  $-\text{COC}_6\text{H}_4\text{NO}_2-\text{o}$ 。

1. 如式 1 示 5- 氟尿嘧啶衍生物,



式 1

其中 R 为  $-\text{COCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2-\text{o}$ , 或  $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2-\text{o}$ , 或  $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{OC}_6\text{H}_4\text{NO}_2-\text{o}$ , 或  $-\text{COCH}_2\text{OC}_6\text{H}_4\text{NO}_2-\text{o}$ , 或  $-\text{COC}_6\text{H}_4\text{NO}_2-\text{o}$ 。

2. 权利要求 1 所述 5- 氟尿嘧啶衍生物的制备方法,其特征是将 5- 氟尿嘧啶加入三乙胺和 DMF 的混合液中,搅拌,在冰浴条件下将相应的芳酰氯缓慢滴加到混合物中,搅拌均匀后在室温下充分反应,除去 DMF,残留物中加入乙醚搅拌至出现固体,除去乙醚层后再次加入乙醚搅拌,再经过滤、水洗、干燥后得到目标化合物。

3. 权利要求 2 所述 5- 氟尿嘧啶衍生物的制备方法,其特征是将 10mmol 5 氟尿嘧啶加入 10mmol 三乙胺和 15ml DMF 中,搅拌和冰浴条件下将相应的芳酰氯 11mmol 缓慢滴加到上述混合物中,混合均匀后移去冰浴,在室温下充分反应后除去 DMF,在残留物中加入 30ml 乙醚搅拌至出现固体,倒掉乙醚层再加入 30ml 乙醚搅拌,过滤,水洗,干燥得到目标化合物。

4. 权利要求 1 所述的 5- 氟尿嘧啶衍生物在制备抗肿瘤药物上的应用。

## 5- 氟尿嘧啶衍生物及制备方法和用途

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一类新有机化合物、这类化合物的用途及制备方法。更确切地讲是一种 5- 氟尿嘧啶衍生物,以及这种化合物的用途和制备方法。

### 背景技术

[0002] 1957 年由 Duschinsky 等合成 5- 氟尿嘧啶 (以下简称 5-Fu),并同年由 Curreri 和 Ausfield 首先应用于临床后,即成为人们熟知的一类抗瘤谱广、有效率高的抗代谢药物,对增殖性细胞均有杀伤性作用。在临床上表现出了不可替代的重要作用。它是根据电子等排概念,用氟原子取代尿嘧啶中的氢原子后,由于氟的原子半径和氢的原子半径相近,氟化物的体积与原化合物几乎相等,加之 C-F 键特别稳定,在代谢过程中不易分解,分子水平代替正常代谢物,因而是胸腺嘧啶合成酶 (TS) 抑制剂。5-Fu 及其衍生物在体内首先转变成氟尿嘧啶脱氧核苷酸 (FUDRP),与 TS 结合,再与辅酶 5,10- 次甲基四氢叶酸作用,由于 C-F 键稳定,导致不能有效地合成胸腺嘧啶脱氧核苷酸 (TDRP),使酶 (TS) 失活,从而抑制 DNA 的合成,最后肿瘤细胞死亡。

[0003] 5-Fu 疗效虽好,但主要缺点是口服吸收困难、毒副作用较大、脂溶性小,可引起严重的消化道反应和骨髓抑制等副作用。为了降低毒性,提高疗效,多年来人们对 5-Fu 进行了大量的化学修饰工作,研制了大量的衍生物。根据 5-Fu 的结构特点,其分子中的 N 是主要的修饰部位。目前上市药有以下几种:①替加氟 (Tegafur) 和双呋氟尿嘧啶 (Difuradin) ②卡莫氟 (Carmofur) ③去氧氟尿苷 (氟铁龙, Doxifluridine, 5'-DUFR)。

[0004] 5- 氟尿嘧啶作为应用较多的一类抗肿瘤抗代谢药物,它是用氟原子取代尿嘧啶中的氢原子的产物,通过干扰核酸的合成而抑制癌细胞的增生。5- 氟尿嘧啶对正常组织细胞增生亦有一定的抑制作用,因而有很多毒副作用并且其选择性低。5- 氟尿嘧啶与载体相连的化学键强度是影响其抗肿瘤活性和毒性的重要因素,化学键越弱,抗肿瘤活性越高,但同时相应的毒性也越大。现有技术可参考:Duschinsky R, Plevin E, Heidelberger C. The synthesis of 5-fluoropyrimidines. J Am Chem Sci, 1957, 79(16): 4559-4560. 王彦广, 李景新等, 氟尿嘧啶自旋标记衍生物的合成与抗肿瘤活性, 高等学校化学学报, 1993, 14: 1399. L Caram, M Doeleman, J H Perrin, Synthesis of 1-and 3-Arylcarbonyl Derivatives of 5-Fluorouracil[J], J Heterocyclic Chem 1999, 36, 397-401. Tai-Shun Lin, Lin Wang, (o-and p-Nitrobenzyloxycarbonyl)-5-Fluorouracil Derivatives as Potential Conjugated Bioreductive Alkylating Agents[J], J Med Chem, 1986, 29, 84-9. K Kigasawa, M Hiiragi, K Wakisaka, et al, Studies on the Synthesis of Chemotherapeutics: Synthesis and Antitumor Activity of N-Acyl-and N-(Alkoxy carbonyl)-5-Fluorouracil Derivatives[J], J Med Chem, 1980, 23, 1324-9.

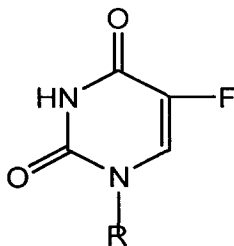
### 发明内容

[0005] 本发明提供一类新的 5- 氟尿嘧啶衍生物,这类化合物可克服现有技术的不足,能

够提高 5-氟尿嘧啶作用的选择性和抗肿瘤活性,能够更好地满足临床用药的需求。同时本发明同时提供这种化合物的用途及其制备方法。

[0006] 本发明的化合物 5-氟尿嘧啶衍生物如式 1 示,

[0007]



[0008] 式 1

[0009] 其中 R 为  $-\text{COCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2-\text{o}$ , 或  $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2-\text{o}$  或  $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{OC}_6\text{H}_4\text{NO}_2-\text{o}$ , 或  $-\text{COCH}_2\text{OC}_6\text{H}_4\text{NO}_2-\text{o}$ , 或  $-\text{COC}_6\text{H}_4\text{NO}_2-\text{o}$ 。

[0010] 本发明的 5-氟尿嘧啶衍生物的优选制备方法是将 10mmol 5-氟尿嘧啶加入 10mmol 三乙胺和 15ml DMF 中,搅拌和冰浴条件下将相应的芳酰氯 11mmol 缓慢滴加到上述混合物中,混合均匀后移去冰浴,在室温下充分反应后除去 DMF,在残留物中加入 30ml 乙醚搅拌至出现固体,倒掉乙醚层再加入 30ml 乙醚搅拌,过滤,水洗,干燥得到目标化合物。

[0011] 本发明的 5-氟尿嘧啶衍生物可在制备抗肿瘤药物方面应用。

[0012] 本发明将邻硝基苯乙酸及其类似物与 5-FU 的 1 位缩合,使 5-FU 钝化,不能形成 FUDRP,无法掺入 DNA 合成途径,不能导致致死合成。但肿瘤细胞酰胺水解酶与还原酶活性比正常细胞的高,而 pH 值低,使硝基在肿瘤细胞中优先还原,而酰胺在高活性酰胺水解酶、低 pH 值和硝基还原所得氨基的邻助效应下,邻硝基苯乙酸及其类似物迅速环化为稳定的五元环或六元环,释放足量的活化 5-FU 在肿瘤细胞中产生细胞毒作用,提高了 5-FU 对肿瘤细胞的选择性;同时硝基未还原而酰胺直接水解部分也释放活化 5-FU 和邻硝基苯乙酸及其类似物,二者产生协同抗肿瘤作用,5-FU 该活化途径亦对肿瘤细胞有选择性。

[0013] 根据相关的试验可知本发明的 5-氟尿嘧啶衍生物其抗肿瘤活性明显优于现在临床上所使用的 5-氟尿嘧啶,是一种非常有前景的抗肿瘤药物;本发明给出的制备方法反应条件温和,试剂廉价且毒性小,反应物易处理,而且不需柱层析就可以得到纯的目标化合物,产物收率高。

## 附图说明

[0014] 图 1 至图 7 为受试小鼠体征的照片,其中:图 1 至图 5 分别为服用本发明的化合物 1 至 5 的小鼠体征照片,图 6 为服用 5-氟尿嘧啶的小鼠体征照片,图 7 为模型组小鼠体征照片。

[0015] 图 8 至图 14 为瘤体病理切片图,其中:图 8 为模型组瘤体病理切片图,图 9 为 5-FU 组瘤体病理切片图,图 10 为化合物 1 中剂量组瘤体病理切片图,图 11 为化合物 2 中剂量组瘤体病理切片图,图 12 为化合物 3 中剂量组瘤体病理切片图,图 13 为化合物 4 中剂量组瘤体病理切片图,图 14 为化合物 5 中剂量组瘤体病理切片图。

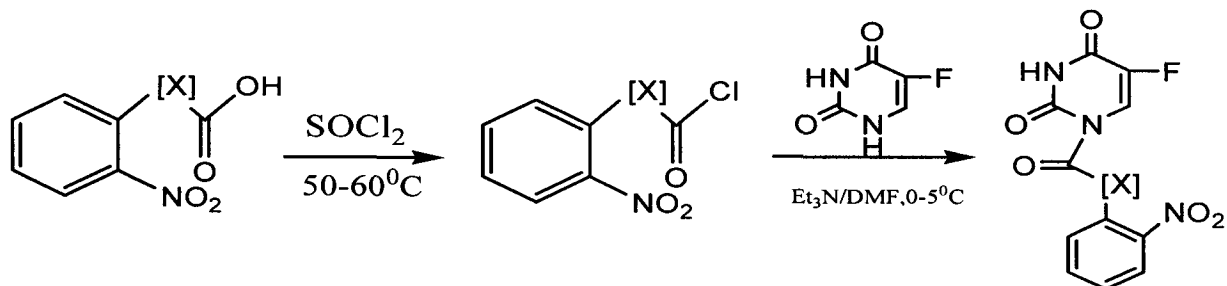
## 具体实施方式

[0016] 以下提供本发明的实施例。

[0017] 本发明的化合物制备方法是：

[0018] 5-Fu(10mmol) 置干燥反应瓶中,加入三乙胺 (10mmol),DMF15ml 搅拌,冰浴下将芳酰氯 (11mmol) 缓慢滴加到上述混合物中,0.5h 后移去冰浴,室温反应 24h 停止反应。30℃ 减压蒸出 DMF,残留物中加入 30ml 乙醚搅拌至出现固体,倒掉乙醚层再加入 30ml 乙醚搅拌,过滤,水洗,干燥得到目标化合物,其反应路线如式 2。

[0019]



[0020] X = —, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, OCH<sub>2</sub>

[0021] 式 2

[0022] 以下是本发明的化合物的具体制备过程：

[0023] 一、药物制备

[0024] (一) 首先准备芳香酸:邻硝基苯丙酸 (C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>)、邻硝基苯氧乙酸 (C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>5</sub>) 和邻硝基苯氧丙酸 (C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>5</sub>),或按以下方式分别制备：

[0025] 1、邻硝基苯丙酸制备

[0026] 取 39g 丙二酸,45ml 乙酸酐置 150ml 锥形瓶中,冰浴搅拌下慢慢滴加 45 滴 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(浓),0.5h 后加入 33ml 丙酮,搅拌至出现固体,放置冰箱冷冻 12h,过滤,水洗至黄色褪去,得白色棱状晶体丙二酸亚异丙酯 43.7g,收率 94.9%。(与文献一致:a:Tao Ma, Li Liu, Hai Xue, Li Li, Chun-Yan Han, Lin Wang, Zhi-Wei Chen, Gang Liu, Chemical Library and Structure-Activity Relationships of 11-Demethyl-12-oxo Calanolide A Analogues as Anti-HIV-1 Agents, Journal of Medicinal Chemistry. 51(2008)1432-1446.

[0027] b:Jorge E. Gomez-Galeno, Qun Dang, Thanh H. Nguyen, Serge H. Boyer, Matthew P. Grote, Zhili Sun, Mingwei Chen, A potent and selective AMPK activator that inhibits de novo lipogenesis, ACS Medicinal Chemistry Letters.1(2010)478-482.)

[0028] 37g 邻硝基苯甲醛,42g 丙二酸亚异丙酯,3ml 哌啶 7.6ml 乙酸,400ml 苯置 500ml 单口瓶中,装分水器,加热搅拌回流 4h,蒸出苯,冷却后加入 100ml 乙醇,搅拌,过滤得黄色粉末固体邻硝基苯丙烯二酸异丙酯 58g,收率 87%。mp119-120℃(与文献一致:Y. Hu, P. Wei, H. Huang, Z.-G. Le, Z.-C. Chen, Organic reactions in ionic liquids: ionic liquid ethylammonium nitrate-promoted knoevenagel condensation of meldrum' s acid with aromatic aldehydes, Synth. Commun. 35(2005)23, 2955-2960.)。

[0029] 58g 邻硝基苯丙烯二酸异丙酯置于 500ml 单口瓶中,加入 270ml 甲醇,室温下将 8.3g NaBH<sub>4</sub> 分批次加入,搅拌 0.5h 后向混合物中加入稀盐酸(1:1),搅拌至出现固体,向混合物中加入适量水,将混合物过滤,水洗得黄色粉末邻硝基苯丙二酸异丙酯 58g,收率

99%。mp 118-119°C (与文献一致 Dhevalapally B. Ramachary, Mamillapalli Kishor, Y. Vijayendar Reddy, Development of Pharmaceutical Drugs, Drug Intermediates and Ingredients by Using Direct Organo-Click Reactions, Eur. J. Org. Chem. 2008, 975-993.)。

[0030] 58g 邻硝基苯丙二酸异丙酯置于 500mL 单口瓶中,加入 250mL 稀醋酸 (4 : 1),回流 4h 后,加入 30mL 浓盐酸,继续回流 4h,冷却,加入适量水搅拌,过滤,得淡黄色固体邻硝基苯丙酸 34g。mp 113-114°C (与文献一致 Abdol Reza Hajipour, Arnold E. Ruoho, Nitric acid in the presence of P205 supported on silica gel-a useful reagent for nitration of aromatic compounds under solvent-free conditions, Tetrahedron Letters. 46(2005)8307-8310.)。

[0031] 2、邻硝基苯氧乙酸的制备

[0032] 称取 2.28g NaOH 配制成 25% 的溶液,6.05g 2-氯乙酸置于小烧杯中,加少量水溶解,冰浴下将上述 NaOH 溶液逐滴滴入,滴毕测量 PH 值在 9 ~ 10 之间,得氯乙酸钠溶液备用。

[0033] 三口瓶中加 5.56g 邻硝基苯酚,同时加入含 1.76g NaOH 的 25% 的溶液,10% 氯乙酸量的 KI,将混合物加热至溶解,60°C 左右缓慢滴加上述氯乙酸钠溶液,回流 6h,回流期间每隔 0.5h 检测一次 PH 值,通过加入 NaOH 溶液来调节 PH 值并始终保持在 9 ~ 10 之间,完毕冷却,用浓 HCl 酸化至 PH < 1,并出现大量固体,重结晶后得浅黄色针状晶体 3.0g,收率 38%。mp 156-158°C; <sup>1</sup>HNMR (TMS, Me<sub>2</sub>S<sub>0</sub>-d<sub>6</sub>, 400MHz); δ : 13.25 (s, 1H, OH), 7.88 (d, 1H, J = 8.0Hz, H-3), 7.62 (t, 1H, J = 8.0Hz, H-5), 7.27 (d, 1H, J = 8.4Hz, H-6), 7.14 (t, 1H, J = 8.2Hz, H-4), 4.93 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>)。 <sup>13</sup>CNMR δ : 169.37 (CO), 150.44 (C<sup>1</sup>), 139.73 (C<sup>5</sup>), 134.12 (C<sup>2</sup>), 124.94 (C<sup>3</sup>), 121.08 (C<sup>4</sup>), 115.06 (C<sup>6</sup>), 65.28 (-CH<sub>2</sub>); IR (KBr) v : 3116 (O-H), 3050 (Ph-H), 2989 (CH<sub>2</sub>), 1734 (C = O), 1607-1490 (PhC = C), 1253 (Ph-O), 1098 (O-CH<sub>2</sub>) cm<sup>-1</sup>。

[0034] 3、邻硝基苯氧丙酸的制备

[0035] 按邻硝基苯氧乙酸的制备方法,由邻硝基苯酚和 3-氯丙酸制得浅黄色针状晶体邻硝基苯氧丙酸,收率 32%。mp 158-159°C; <sup>1</sup>HNMR (TMS, DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ : 13.26 (s, 1H, OH), 7.88 (d, 1H, J = 6.8Hz, H-3), 7.63 (t, 1H, J = 7.2Hz, H-5), 7.27 (d, 1H, J = 8.0Hz, H-4), 7.14 (t, 1H, J = 7.6Hz, H-6), 4.93 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>CO), 2.09 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>-)。 <sup>13</sup>CNMR δ : 176.24 (CO), 134.08 (C<sup>2,5</sup>), 125.60 (C<sup>1</sup>), 121.01 (C<sup>3,4</sup>), 115.11 (C<sup>6</sup>), 64.97 (Ph OCH<sub>2</sub>), 33.97 (PhOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)。 IR (KBr) v : 3036 (Ph-H), 2933 (PhOCH<sub>2</sub>-), 2784 (-CH<sub>2</sub>CO), 1703 (C = O), 1610-1488 (PhC = C), 1255 (Ph-O), 1030 (O-CH<sub>2</sub>) cm<sup>-1</sup>。

[0036] (二) 芳酰氯的制备

[0037] 将按上述内容得到的芳香酸 10mmol 加入到 15mmol 的氯化亚砷中,在 50 ~ 60°C 回流 2 ~ 3 小时,再减压除去过量的氯化亚砷,得油状的相应芳酰氯,即:邻硝基苯乙酰氯、邻硝基苯丙酰氯、邻硝基苯氧丙酰氯、邻硝基苯氧乙酰氯、邻硝基苯甲酰氯,其收率都在 90% 以上。

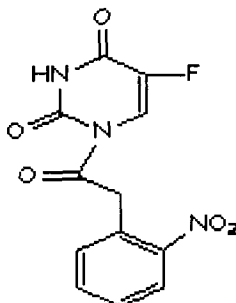
[0038] (三) 目标化合物的制备

[0039] 将 5-氟尿嘧啶 (以下简称 5-Fu) (10mmol) 置干燥反应瓶中,加入三乙胺 (10mmol), DMF 15ml 搅拌,冰浴下将 11mmol 的相应芳酰氯缓慢滴加到上述混合物中,0.5h 后

移去冰浴,室温反应 24h 停止反应。30℃减压蒸出 DMF,残留物中加入 30ml 乙醚搅拌至出现固体,倒掉乙醚层再加入 30ml 乙醚搅拌,过滤,水洗,干燥得到目标化合物。以下是所得到的各化合物及表征测试数据:

[0040] 化合物 1-N<sub>1</sub>-邻硝基苯乙酰基-5-氟尿嘧啶结构式如式 3,

[0041]

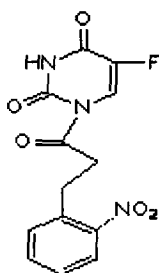


[0042] 式 3

[0043] 为淡黄色晶体,收率 54%, mp (160℃开始变黑,最后不熔化);  $R_f = 0.41$  ( $\text{CHCl}_3 : \text{EtOAc} = 4 : 1$ ),  $^1\text{H NMR}$  (TMS,  $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ , 400MHz)  $\delta$ : 12.33 (s, 1H, 5-Fu-N<sub>3</sub>-H), 8.38 (d, 1H,  $J = 7.2\text{Hz}$ , 3'-H-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub>-o), 8.16 (d, 1H,  $J_{\text{H-F}} = 8.0\text{Hz}$ , 5-Fu-C<sub>6</sub>-H), 7.77 (t, 1H,  $J = 7.4\text{Hz}$ , 5'-H-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub>-o), 7.64 (d, 1H,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 6'-H-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub>-o), 7.59 (t, 1H,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 4'-H-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub>-o), 4.8 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub>-o);  $^{13}\text{C NMR}$   $\delta$ : 169.89 (PhCH<sub>2</sub>CO), 157.08 (d,  $J = 17.6\text{Hz}$ , 5-Fu-C<sup>4</sup>), 148.36 (5-Fu-C<sup>2</sup>), 142.64 (C<sup>2</sup>' ), 140.28 (5-Fu-C<sup>5</sup>), 134.11 (C<sup>5</sup>' ), 133.71 (C<sup>1</sup>' ), 129.72 (C<sup>6</sup>' ), 129.05 (C<sup>4</sup>' ), 124.89 (C<sup>3</sup>' ), 121.44 (d,  $J = 37.0\text{Hz}$ , 5-Fu-C<sup>6</sup>), 43.51 (PhCH<sub>2</sub>);  $m/z$  (%): 293 (0.21), 256 (0.36), 206 (0.37), 171 (0.16), 164 (100), 136 (50.57), 130 (79.73), 92 (75.78), 78 (48.54); HRMS (ESI): (M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) 311.0781 (calculated 311.0786), error = 1.6ppm; IR (KBr)  $\nu$ : 3196 (NH), 3149 (NH), 3100 (CH = CF), 1741-1683 (C = O), 1610-1460 (PhC = C)  $\text{cm}^{-1}$ .

[0044] 化合物 2-N<sub>1</sub>-邻硝基苯丙酰基-5-氟尿嘧啶结构式如式 4,

[0045]



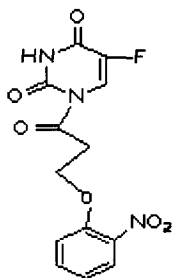
[0046] 式 4

[0047] 为白色晶体,收率 64%, mp 188-190℃;  $R_f = 0.53$  ( $\text{CHCl}_3 : \text{EtOAc} = 4 : 1$ );  $^1\text{H NMR}$  (TMS,  $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ , 400MHz)  $\delta$ : 12.16 (s, 1H, 5-Fu-N<sub>3</sub>-H), 8.39 (d, 1H,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 3'-H-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub>-o), 7.96 (d, 1H,  $J_{\text{H-F}} = 8.4\text{Hz}$ , 5-Fu-C<sub>6</sub>-H), 7.69 (t, 1H,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 5'-H-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub>-o), 7.59 (d, 1H,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 6'-H-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub>-o), 7.51 (t, 1H,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 4'-H-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub>-o), 3.43 (t, 2H,  $J = 7.4\text{Hz}$ , -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub>-o), 3.16 (t, 2H,  $J = 7.2\text{Hz}$ , -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub>-o);  $^{13}\text{C NMR}$   $\delta$ : 171.47 (PhCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 157.18 (d,  $J = 27.6\text{Hz}$ , 5-Fu-C<sup>4</sup>), 149.25 (5-Fu-C<sup>2</sup>), 148.33 (C<sup>2</sup>' ), 141.23 (d,  $J = 235.5\text{Hz}$ , 5-Fu-C<sup>5</sup>), 134.87 (C<sup>1</sup>' ),

133.43(d,  $J = 11.0\text{Hz}$ ,  $C^{5'}$ ), 131.80( $C^{6'}$ ), 127.82(d,  $J = 14.2\text{Hz}$ ,  $C^{4'}$ ), 124.43(d,  $J = 8.6\text{Hz}$ ,  $C^{3'}$ ), 121.60(d,  $J = 36.2\text{Hz}$ , 5-Fu- $C^6$ ), 34.24( $\text{PhCH}_2\text{CH}_2$ ), 26.97(d,  $J = 29.9\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ),  $m/z$  (%): 307(0.09), 256(0.26), 218(0.55), 185(0.13), 178(100), 150(56.26), 130(25.79), 77(34.79); HRMS (ESI): ( $M+\text{NH}_4^+$ ) 325.0940(calculated 325.0943), error = 0.9ppm; IR(KBr)  $\nu$ : 3240(NH), 3095(CH = CF), 1740-1674, (C = O), 1608-1443(PhC = C)  $\text{cm}^{-1}$ .

[0048] 化合物 3- $N_1$ -邻硝基苯氧丙酰基-5-氟尿嘧啶结构式如式 6,

[0049]

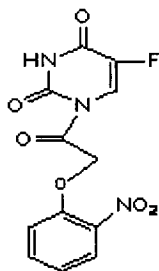


[0050] 式 6

[0051] 为白色粉末, 收率 73.33%, mp 150-153 °C;  $R_f = 0.38$  ( $\text{CHCl}_3 : \text{EtOAc} = 4 : 1$ ),  $^1\text{HNMR}$  (TMS,  $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ , 400MHz)  $\delta$ : 11.84(s, 1H, 5-Fu- $N_3$ -H), 8.13(d, 1H,  $J = 8.0\text{Hz}$ , 3'-H- $\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ -o), 8.08(d, 1H,  $J_{\text{H-F}} = 6.4\text{Hz}$ , 5-Fu- $C_6$ -H), 7.82(t, 1H,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 5'-H- $\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ -o), 7.54(t, 1H,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 4'-H- $\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ -o), 7.47(d, 1H,  $J = 8.4\text{Hz}$ , 6'-H- $\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ -o), 3.96(t, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ -o), 3.08(t, 2H,  $-\text{CH}_2\text{OC}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ -o);  $^{13}\text{CNMR}$   $\delta$ : 169.03( $N^1\text{CO}$ ), 157.49(d,  $J = 26.0\text{Hz}$ , 5-Fu- $C^4$ ), 149.59(5-Fu- $C^2$ ), 141.66(d,  $J = 230.8\text{Hz}$ , 5-Fu- $C^5$ ), 141.42( $C^{5'}$ ), 138.22( $C^{2'}$ ), 135.59( $C^{3'}$ ), 130.72( $C^{4'}$ ), 130.39( $C^{6'}$ ), 127.45( $C^{1'}$ ), 125.43(d,  $J = 48.1\text{Hz}$ , 5-Fu- $C^6$ ), 43.83( $\text{PhOCH}_2$ ), 32.24( $\text{PhOCH}_2\text{CH}_2$ ); HRMS (ESI): ( $M+\text{NH}_4^+$ ) 341.0896(calculated 341.0892), error = 1.2ppm; IR(KBr)  $\nu$ : 3190(NH), 3072(CH = CF), 1768-1660(C = O), 1603-1450(PhC = C)  $\text{cm}^{-1}$ .

[0052] 化合物 4- $N_1$ -邻硝基苯氧乙酰基-5-氟尿嘧啶结构式如式 5,

[0053]



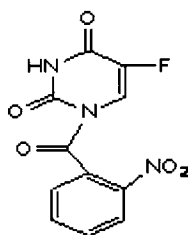
[0054] 式 5

[0055] 为白色粉, 收率 84%, mp 136-140 °C;  $R_f = 0.34$  ( $\text{CHCl}_3 : \text{EtOAc} = 4 : 1$ ),  $^1\text{HNMR}$  (TMS,  $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ , 400MHz)  $\delta$ : 12.39(s, 1H, 5-Fu- $N_3$ -H), 8.41(d, 1H,  $J = 5.2\text{Hz}$ , 3'-H- $\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ -o), 7.9(d, 1H,  $J_{\text{H-F}} = 7.6\text{Hz}$ , 5-Fu- $C_6$ -H), 7.59(t, 1H,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 5'-H- $\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ -o), 7.4(d, 1H,  $J = 8.4\text{Hz}$ , 6'-H- $\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ -o), 7.15(t, 1H,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 4'-H- $\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ -o), 5.54(s, 2H,  $-\text{CH}_2\text{OC}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ -o),  $^{13}\text{CNMR}$   $\delta$ : 167.81( $\text{PhOCH}_2\text{CO}$ ), 157.03(d,

$J = 28.4\text{Hz}$ ,  $5\text{-Fu-C}^4$ ),  $150.31$  ( $5\text{-Fu-C}^2$ ),  $148.25$  ( $\text{C}^1$ '),  $141.47$  (d,  $J = 238.7\text{Hz}$ ,  $5\text{-Fu-C}^5$ ),  $139.70$  ( $\text{C}^5$ '),  $133.99$  ( $\text{C}^2$ '),  $124.88$  ( $\text{C}^3$ '),  $121.30$  ( $\text{C}^4$ '),  $120.95$  ( $\text{C}^6$ '),  $115.50$  ( $5\text{-Fu-C}^6$ ),  $69.91$  ( $\text{PhOCH}_2$ );  $m/z$  (%):  $309$  (0.09),  $220$  (0.25),  $197$  (0.23),  $171$  (53.38),  $152$  (58.24),  $130$  (29.07),  $122$  (100),  $78$  (65.31); HRMS (ESI):  $(\text{M}+\text{NH}_4^+)$   $327.0731$  (calculated  $327.0735$ ),  $\text{error} = 1.2\text{ppm}$ , IR (KBr)  $\nu$ :  $3189$  (NH),  $3147$  (NH),  $3070$  (CH = CF),  $1741\text{-}1682$  (C = O),  $1605\text{-}1486$  (PhC = C)  $\text{cm}^{-1}$ .

[0056] 化合物 5- $\text{N}_1$ -邻硝基苯甲酰基-5-氟尿嘧啶结构式如式 7,

[0057]



[0058] 式 7

[0059] 为白色粉末, 收率 84%, mp  $209\text{-}212\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.52$  ( $\text{CHCl}_3$  :  $\text{EtOAc} = 4 : 1$ ),  $^1\text{H NMR}$  (TMS,  $\text{Me}_2\text{SO-d}_6$ ,  $400\text{MHz}$ )  $\delta$ :  $12.25$  (s, 1H,  $5\text{-Fu-N}_3\text{-H}$ ),  $8.67$  (d, 1H,  $J = 6.8\text{Hz}$ ,  $3'$  - $\text{H-C}_6\text{H}_4\text{NO}_2\text{-o}$ ),  $8.32$  (d, 1H,  $J = 8.0\text{Hz}$ ,  $6'$  - $\text{H-C}_6\text{H}_4\text{NO}_2\text{-o}$ ),  $7.93$  (t, 1H,  $J = 7.6\text{Hz}$ ,  $5'$  - $\text{H-C}_6\text{H}_4\text{NO}_2\text{-o}$ ),  $7.78$  (t, 1H,  $J = 8.0\text{Hz}$ ,  $4'$  - $\text{H-C}_6\text{H}_4\text{NO}_2\text{-o}$ ),  $7.71$  (d, 1H,  $J_{\text{H-F}} = 7.6\text{Hz}$ ,  $5\text{-Fu-C}_6\text{-H}$ );  $^{13}\text{C NMR}$   $\delta$ :  $164.90$  (PhCO),  $157.06$  (d,  $J = 28.3\text{Hz}$ ,  $5\text{-Fu-C}^4$ ),  $147.49$  ( $5\text{-Fu-C}^2$ ),  $144.17$  ( $\text{C}^2$ '),  $141.89$  (d,  $J = 239.4\text{Hz}$ ,  $5\text{-Fu-C}^5$ ),  $135.18$  ( $\text{C}^5$ '),  $132.45$  ( $\text{C}^4$ '),  $130.81$  ( $\text{C}^1$ '),  $127.35$  ( $\text{C}^6$ '),  $24.01$  ( $\text{C}^3$ '),  $121.18$  (d,  $J = 38.6\text{Hz}$ ,  $5\text{-Fu-C}^6$ );  $m/z$  (%):  $279$  (0.13),  $233$  (0.17),  $167$  (0.49),  $150$  (100),  $76$  (66.33); HRMS (ESI):  $(\text{M}+\text{NH}_4^+)$   $297.0629$  (calculated  $297.0630$ ),  $\text{error} = 0.3\text{ppm}$ ; IR (KBr)  $\nu$ :  $3197$  (NH),  $3151$  (NH),  $3064$  (CH = CF),  $1729\text{-}1688$  (C = O),  $1576\text{-}1458$  (PhC = C)  $\text{cm}^{-1}$ .

[0060] 二、本发明的 5-氟尿嘧啶衍生物抗肿瘤活性评价

[0061] 1 体外细胞毒性实验

[0062] 1.1 试验方法

[0063] 所合成的 5 个 5-氟尿嘧啶衍生物委托兰州大学生命科学学院进行生物活性体外筛选试验, 采用四氮唑盐还原法 (MTT) 分别对 K562 (人红细胞白血病细胞株)、MGC-830 (胃腺癌细胞系)、A549 (人肺腺癌细胞株) 以及原代培养的正常人成纤维细胞 (Fibroblast) 进行细胞活性试验。

[0064] 1.2 药品、试剂与仪器

[0065] 四甲基偶氮唑盐 (MTT) 为 Sigma 产品; DMEM 和胰蛋白酶为 Gibco 公司产品; 新生牛血清 (NBS) 由河北医科大学第四附属医院科研中心生产;  $\text{CO}_2$  恒温培养箱为英国 Galaxy B 型; 自动酶标仪为芬兰 MultiskanMK3 型。

[0066] 1.3 细胞株

[0067] 选用的细胞用含 10% NBS 的 DMEM 培养液 (含青霉素  $1 \times 10^5 \text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$ , 链霉素  $100 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 在含 5%  $\text{CO}_2$  的  $37\text{ }^\circ\text{C}$  培养箱中培养, 用 0.25% 胰蛋白酶消化传代。人成纤维细胞 (Fibroblast) 原代培养。

## [0068] 1.4 细胞增殖抑制实验 (MTT 法)

[0069] 四唑氮蓝 (MTT) 法如下:取处于对数生长期的 K562 细胞,加入 96 孔培养板中,90  $\mu\text{L}$ /孔。阴性对照为生理盐水,阳性对照为 5-氟尿嘧啶。每孔分别加入 10  $\mu\text{L}$  不同浓度的样品,各浓度加样组及对照组均设 4 个复孔,每块板均设有 12 个空白对照孔。各化合物和阳性对照 5-氟尿嘧啶的最终浓度  $10^{-3}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 细胞在  $\text{CO}_2$  培养箱中分别孵育 72h 后,加入 10  $\mu\text{L}$ /孔的 MTT。继续培养 4h,加入三联液 [10% SDS-5% 异丁醇-0.012mol/LHCl (w/v/v)] 100  $\mu\text{L}$ /孔,放置过夜,用酶标仪分别在 570 和 630nm 双波长下测定各孔的 OD (吸光度) 值,减去空白孔吸光度值。按以下公式计算药物对各细胞株体外增殖的抑制率 (IR%) :  $\text{IR}\% = (1 - \text{OD}_{\text{sample}} / \text{OD}_{\text{control}}) \times 100\%$ 。用 SPSS17.0 统计软件包计算目标化合物的半数抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ ),并且用该统计软件包处理三次测量的数据。实验结果见表 1:

[0070] 表 1 5-Fu 与各化合物的半数抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ ) ( $\bar{x} \pm S$ )

[0071]

化合物	$\text{IC}_{50}$ , ( $\mu\text{M}$ )			
	Fibroblast	K562	MGC-803	A549
5-Fu	11.94 $\pm$ 0.31	33.42 $\pm$ 2.03	5.46 $\pm$ 0.33	3.62 $\pm$ 0.11
1	9.45 $\pm$ 0.48	1.79 $\pm$ 0.21	3.57 $\pm$ 0.17	1.97 $\pm$ 0.29
2	9.10 $\pm$ 0.47	2.35 $\pm$ 0.19	3.76 $\pm$ 0.22	5.57 $\pm$ 0.14
3	8.35 $\pm$ 0.24	1.24 $\pm$ 0.07	0.96 $\pm$ 0.02	0.73 $\pm$ 0.05
4	9.05 $\pm$ 0.10	2.46 $\pm$ 0.17	1.75 $\pm$ 0.12	2.49 $\pm$ 0.21
5	10.33 $\pm$ 0.26	3.13 $\pm$ 0.39	1.26 $\pm$ 0.26	3.37 $\pm$ 0.10

[0072] 从表中可以看出,受试的 5-氟尿嘧啶衍生物对三种肿瘤细胞株都有很好的抑制作用,尤其对 K562 细胞的抑制作用明显优于 5-Fu。而这 5 个受试的化合物对正常成纤维细胞的细胞毒活性较低,体现出了对肿瘤细胞与对正常细胞的细胞毒作用的差异,但这一现象还不能作为受试化合物选择性的判断依据,因为人成纤维细胞仅是人正常组织细胞的一种。对受试化合物选择性的测试需进一步通过以下的急性毒性实验和体内抗肿瘤活性实验说明。

[0073] 2 急性毒性实验 ( $\text{LD}_{50}$  的测定)

## [0074] 2.1 实验材料

[0075] 昆明种小鼠,体重在 20 ~ 25 克,雌雄兼用,购于兰州大学动物实验中心。饲养于 20 ~ 25 $^{\circ}\text{C}$  环境中,相对湿度为 35 ~ 45%,实验前 12 小时动物禁食但可自由饮水。1mL 注射器、电子秤,所有受试化合物均溶解于含 0.5% 羧甲基纤维素钠的生理盐水中,腹腔注射给药。

## [0076] 2.2 实验方法和结果

[0077] 通过初步活性筛选,对抗肿瘤作用有效的化合物进行进一步活性试验,按改良寇氏 (Karber) 法测定各化合物的  $\text{LD}_{50}$ ,定量评价所合成的化合物的急性毒性。结果见表 2。

[0078] 表 2  $\text{LD}_{50}$  及置信限

[0079]

化合物	LD <sub>50</sub> (mg.kg <sup>-1</sup> )	95%置信限(mg.kg <sup>-1</sup> )
1	184.14	145.15-232.07
2	187.54	149.73-234.05
3	198.94	159.00-249.17
4	189.49	149.54-240.34
5	181.09	144.20-227.47
5-Fu	139.90	109.12-178.27

[0080] 3 体内抗肿瘤活性实验

[0081] 3.1 实验材料

[0082] 昆明种小鼠,体重在 20 ~ 25 克,雌雄兼用,购于兰州大学动物实验中心。实验前一周饲养于 20 ~ 25℃环境中,相对湿度为 35 ~ 45%,除实验时间外动物可以自由觅食和饮水。1mL 注射器、电子秤,含 5‰ CMC-Na 生理盐水, S<sub>180</sub> 细胞株。

[0083] 3.2 实验方法

[0084] 3.2.1 小鼠移植瘤株

[0085] S<sub>180</sub> 细胞株的传代:复苏后的 S<sub>180</sub> 瘤株,注入昆明小鼠腹腔内,待 5 ~ 7d 后,小鼠腹围增至最大,行动迟缓时,抽取腹水,按文献的方法传代 2 ~ 3 次,备用。

[0086] 3.2.2 肿瘤模型建立与分组给药

[0087] 于超净工作台中,先取 S<sub>180</sub> 肉瘤瘤液 0.1mL,以生理盐水 20 倍稀释。光学显微镜下计算 1mL 瘤液中活体瘤细胞数,以此计算瘤液的稀释倍数,用生理盐水稀释成 2\*10<sup>6</sup> 个/0.2ml 置于冰水中保存,75%酒精消毒小鼠右腋皮肤,按每鼠 0.2mL 接种于小鼠右腋皮下。

[0088] 接种后 24 小时,随机将受试小鼠分为以下 18 组,每组 8 只小鼠(雌雄各半),其中:第 1 组为空白对照组,第 2 组病理模型对照组,第 3 组为 5-FU 剂量组,第 4-18 组分别为化合物 1-5 的高、中、低剂量受试组。分别按表 2.1 剂量腹腔注射给药,其中:1(高、中、低剂量)组使用药物为化合物 1-N<sub>1</sub>-邻硝基苯乙酰基-5-氟尿嘧啶,2(高、中、低剂量)组使用药物为化合物 2-N<sub>1</sub>-邻硝基苯丙酰基-5-氟尿嘧啶,3(高、中、低剂量)组使用药物为化合物 3-N<sub>1</sub>-邻硝基苯氧丙酰基-5-氟尿嘧啶,4(高、中、低剂量)组使用药物为化合物 4-N<sub>1</sub>-邻硝基苯氧乙酰基-5-氟尿嘧啶,5(高、中、低剂量)组使用药物为化合物 5-N<sub>1</sub>-邻硝基苯甲酰基-5-氟尿嘧啶。受试鼠接种成瘤率 100%,平均瘤重为 0.34±0.08g。试验中给药组小鼠每日给药 1 次,连续给药 10 天,空白对照组和病理模型对照组小鼠每日给予 0.6ml 生理盐水。受试组小鼠给药剂量见表 1。

[0089] 表 3 化合物给药剂量 (mg/Kg/d)

[0090]

	5-Fu	1	2	3	4	5
高剂量组	----	26.00	47.00	28.00	27.00	45.00
中剂量组	20.00	20.00	38.00	22.00	21.00	36.00
低剂量组	----	15.00	27.00	17.00	16.00	26.00

[0092] 3.2.3 观察方法

[0093] 造模后,观察各组小鼠局部瘤组织情况,小鼠活动、进食、精神状态等情况。造模后,各组小鼠局部足组织肿胀,左足变形,行动困难,严重者左下肢肿胀变形。给药后各组小鼠不同程度出现活动减少,毛色变暗。实验过程中,由于各种原因,小鼠会有死亡,其生物学特征如图1至图7示。试验中发现,服用本发明各化合物的受试小鼠其体征均优于服用5-氟尿嘧啶,其各组受试小鼠的皮毛状态和精神均较模型组和服用5-氟尿嘧啶的要好。

[0094] 3.2.4 取材及病理制片

[0095] 停药次日,称量各组小鼠体质量,用摘眼球法取血,脱颈椎处死后取胸腺及脾,并称质量。严格标准剥离干净各组小鼠右足爪垫皮下肿瘤组织,避开坏死和出血区,使用电子秤称量瘤重(精确到0.01g),称重后立即放入福尔马林溶液,固定12h后,常规脱水,透明,石蜡包埋。超薄切片机切片,HE染色片厚5 $\mu$ m,免疫组化染色片厚4 $\mu$ m,自然凉干,镜下观察,参见附图8至14。

[0096] 病理切片观察显示,模型组肉瘤细胞排列紧密,核大深染,核分裂相多见,表明瘤组织生长旺盛。5-氟尿嘧啶组细胞排列较松散,但坏死细胞较少。各受试药物的中剂量组细胞排列稀疏,可见大片坏死区,细胞结构严重受损,核固缩、破碎、溶解,胞浆内可见空泡,胞质边界不明显。结果表明,与5-氟尿嘧啶组相比,各受试药物的中剂量组的抗肿瘤效果更为突出。

[0097] 3.2.5 免疫器官指数及抑瘤率的测定

[0098] 分别按以下公式计算脾脏指数和胸腺指数(mg/10g)。脾脏指数=脾脏质量(mg)/体质量(g),胸腺指数=胸腺质量(mg)/体质量(g),抑瘤率=(对照组平均瘤重-给药组平均瘤重)/对照组平均瘤重 $\times$ 100%,各组S<sub>180</sub>瘤小鼠相关免疫器官指数与抑瘤率见表4。所有数据采用SPSS17.0统计软件包进行统计学分析,计量资料用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm S$ )表示,采用t检验;等级资料比较采用秩和检验。

[0099] 表4 各组相关免疫器官指数 mg/g ( $\bar{x}\pm S$ )及抑瘤率

[0100]

化合物	组别	n (只数)	脾脏指数	胸腺指数	白细胞数目	瘤重	抑瘤率%
1	高剂量组	8	10.72±0.18	2.66±0.12*	6.78±0.12*	0.39±0.04*	69.05
	中剂量组	8	8.68±0.10***	2.49±0.08*	5.04±0.28***	0.42±0.11*	66.67
	低剂量组	8	8.64±0.16***	2.57±0.14*	5.13±0.24***	0.47±0.16*	62.70
2	高剂量组	8	8.07±0.38***	2.34±0.11*	4.97±0.11***	0.52±0.15*	58.73
	中剂量组	8	8.19±0.22***	2.52±0.13*	4.68±0.29***	0.50±0.07*	60.32
	低剂量组	8	9.86±0.33*	2.49±0.14*	4.95±0.23***	0.62±0.13	50.79
3	高剂量组	8	10.18±0.39	3.08±0.06	7.21±0.29	0.34±0.07*	73.02
	中剂量组	8	10.71±0.10	3.47±0.10	6.73±0.22*	0.39±0.06*	69.05
	低剂量组	8	8.04±0.14***	2.60±0.17*	4.49±0.14***	0.46±0.12*	63.49
4	高剂量组	8	9.77±0.32*	2.93±0.11	6.82±0.17*	0.35±0.13*	72.22
	中剂量组	8	10.89±0.21	2.97±0.09	6.97±0.18	0.38±0.12*	69.84
	低剂量组	8	8.91±0.16***	2.67±0.07*	4.97±0.26***	0.44±0.09*	65.08
5	高剂量组	8	8.44±0.17***	2.52±0.09*	4.59±0.29***	0.23±0.11*	81.75
	中剂量组	8	8.21±0.12***	2.30±0.05*	4.62±0.22***	0.34±0.06*	73.02
	低剂量组	8	8.59±0.36***	2.22±0.08*	4.46±0.16***	0.31±0.17*	75.40
5-Fu	20mg/kg	8	8.75±0.37***	2.65±0.11*	4.81±0.14***	0.51±0.13*	59.52
	空白	8	8.59±0.33	2.49±0.07	4.47±0.15	—	—
模型(对照)		8	10.68±0.12	3.52±0.09	7.70±0.26	1.26±0.22	—

[0101] 受试药物组与病理模型对照组比较, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.001

[0102] 实验结果表明,使用本发明的化合物组小鼠的瘤重比空白组显著减小,说明这些化合物对抑制瘤体大小有积极的作用,临床应用于肿瘤的治疗将是有益的。由表可见,各化合物高、中、低剂量组均能使 $S_{180}$ 瘤小鼠胸腺指数、脾脏指数和白细胞数得到改善,与病理模型对照组比较,其差异有统计学意义(\*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.001)。此外,各组受试化合物的抑瘤率均高于5-FU组。尤其是化合物3与4,在比5-Fu低的剂量下亦显示出优于5-Fu的抗肿瘤活性(5-Fu给药剂量相当于 $1/7LD_{50}$ ,化合物3、4给药剂量相当于 $1/9$ 或 $1/12LD_{50}$ ),说明本发明中的化合物对肿瘤的抑制作用优于5-FU且其选择性比5-Fu有很大的提高,即它们的安全指数高于5-FU。

[0103] 5 脂水分配系数测定

[0104] 以正辛醇-水为模拟系统,采用摇瓶法-紫外分光光度法,测定各化合物的脂水分配系数。公式表达如下:  $LgP = Lg(Co/Cw)$ 。其中,Co和Cw分别表示化合物在非水相中的平衡浓度与其在水相中的中性形式的平衡浓度。结果见表4。

[0105] 表5 化合物脂水分配系数 LgP(正辛醇-水)

[0106]

	1	2	3	4	5	5-Fu
测量值	-1.1	-0.81	-0.17	-0.73	-0.11	-0.55
模拟值	-0.29	0.16	-0.24	-0.69	-0.48	-0.9

[0107] 从表可以看出本发明化合物3、5的脂溶性比5-Fu有了较大的改善,如果能作为临床用药,其理化性质满足临床需要的要求。

[0108] 综上所述:新化合物的抗肿瘤作用优于5-氟尿嘧啶并且其选择性高于5-氟尿嘧啶;新化合物能显著改善 $S_{180}$ 移植小鼠模型的胸腺指数、脾脏指数和白细胞数,其效果优

于 5- 氟尿嘧啶。此外,化合物 3、5 的脂溶性比 5-Fu 有了较大的改善。所以新化合物能更好的满足临床用药的需求。

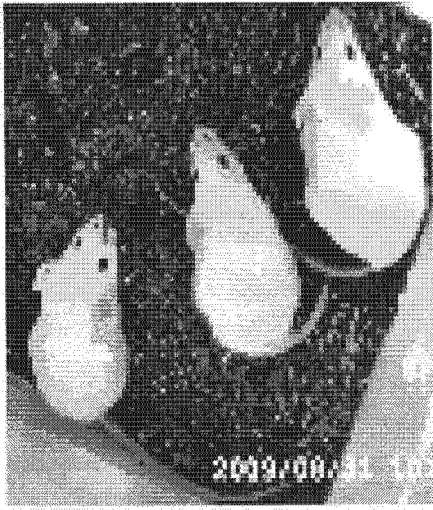


图 1

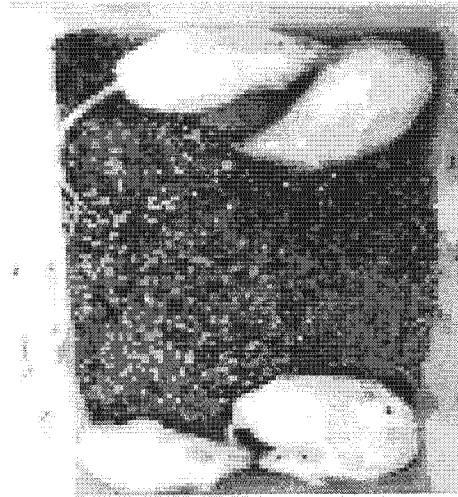


图 2

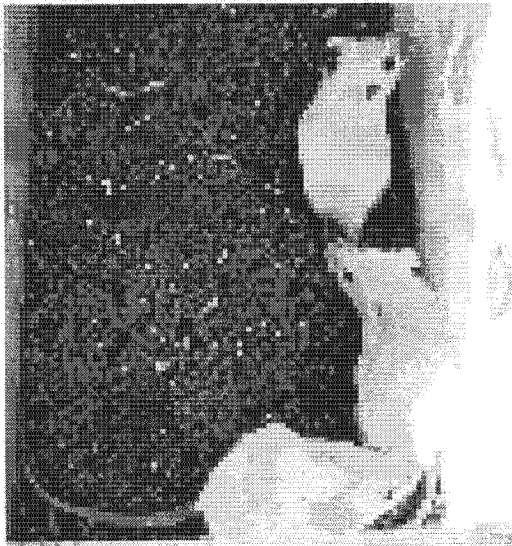


图 3

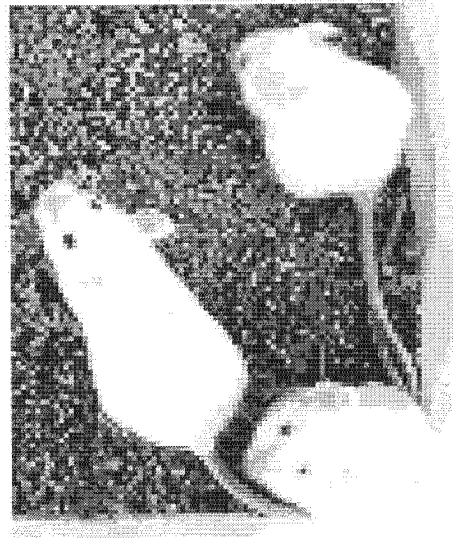


图 4

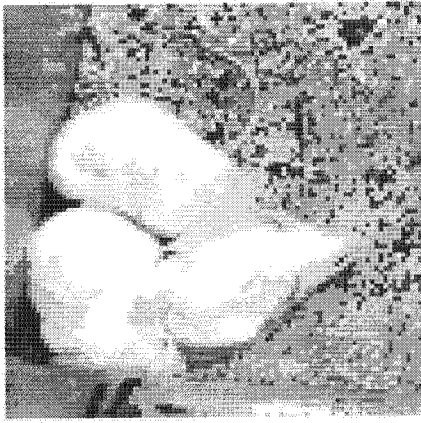


图 5



图 6

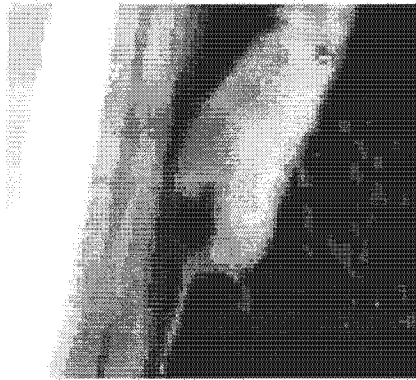


图 7

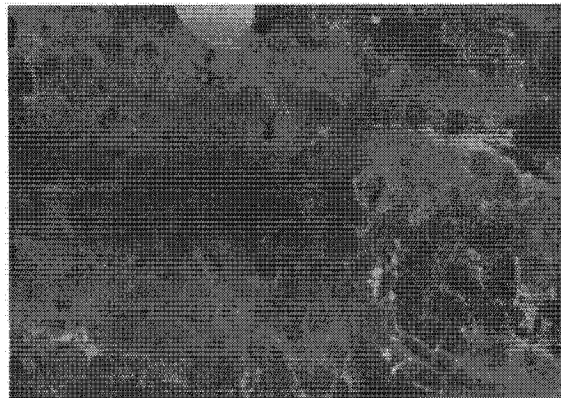


图 8

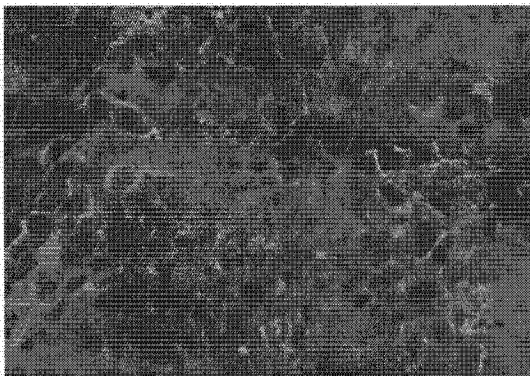


图 9

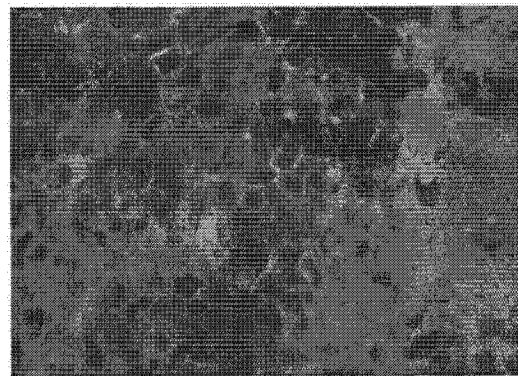


图 10

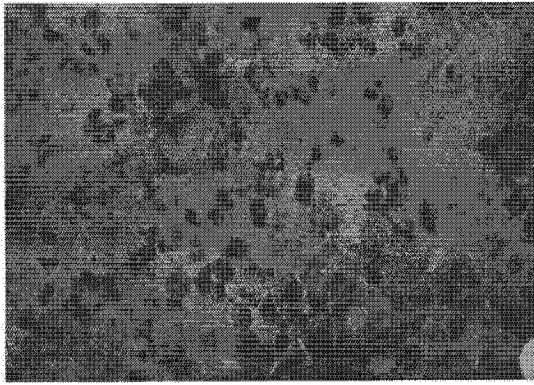


图 11

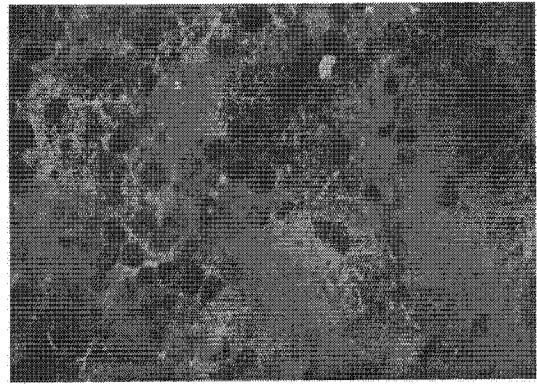


图 12

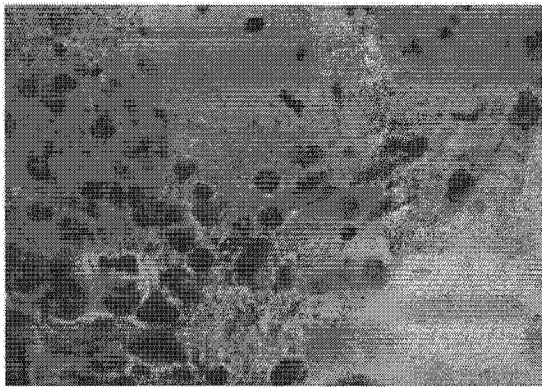


图 13

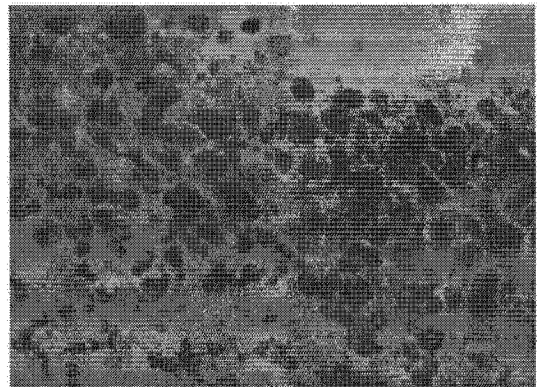


图 14