(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103945852 B
(45)授权公告日 2016.10.19

(21)申请号 201280056729.X
(22)申请日 2012.11.30
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 103945852 A
(43)申请公布日 2014.07.23
(66)本国优先权数据
PCT/CN2011/083288 2011.12.01 CN
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2014.05.19
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CN2012/085652 2012.11.30
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2013/079018 ZH 2013.06.06
(73)专利权人 杭州本生药业有限公司
地址 310051 浙江省杭州市滨江区江陵路88号6幢4层
(72)发明人 徐荣臻 荣风光 赖洪喜 谢福文
(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
代理人 陈文平
(51)Int.Cl.
A61K 31/56(2006.01)
C07J 63/00(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
(56)对比文件
WO 2009146216 A2,2009.12.03,
CN 1874765 A,2006.12.06,
CN 101974059 A,2011.02.16,
WO 2009129545 A1,2009.10.22,
Hua SUN et al..Structure-activity relationships of oleanane- and ursanetype triterpenoids.《Botnical Studies》.2006,第47卷339-368.
审查员 赵保忠

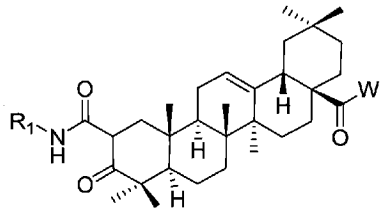
权利要求书3页 说明书38页

(54)发明名称

2-位取代的齐墩果酸衍生物、及其制备方法和应用

(57)摘要

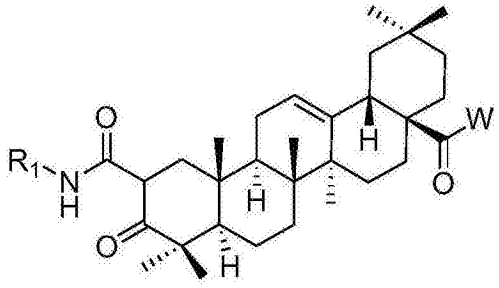
本发明属于天然药物及药物化学领域，具体涉及通式I的新型2-位取代的齐墩果酸衍生物或其药学上可接受的盐，制备这些化合物的方法、包含该化合物的药物组合物及其在制备抗肿瘤药物中的用途。



I

CN 103945852 B

1.通式(I)的2-位取代的齐墩果酸衍生物或其药学上可接受的盐，

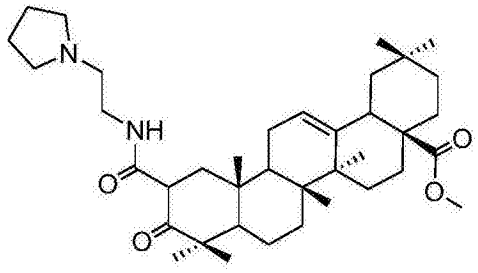


I

式中R_1选自二(C_1-C_6烷基)氨基-C_1-C_4烷基或杂环基-C_1-C_4烷基，所述杂环基为吡咯烷-1-基、哌嗪-1-基、4-甲基哌嗪-1-基、吗啉代基或吡啶基；以及

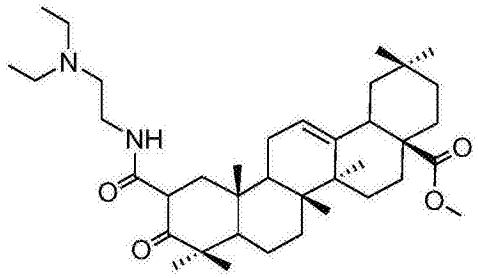
式中W选自C_1-C_6烷氧基。

2.根据权利要求1的2-位取代的齐墩果酸衍生物或其药学上可接受的盐，选自下述化合物：



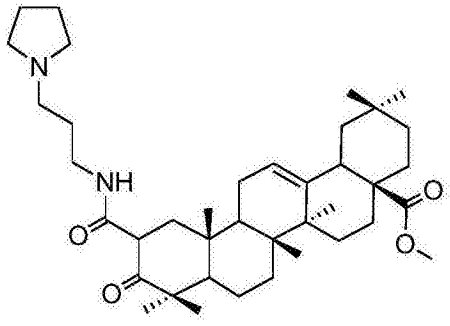
BS-OA-005

1-氧代-2-(N-(吡咯烷基乙基))胺羰基齐墩果酸甲酯



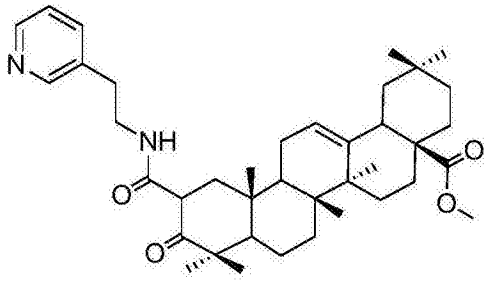
BS-OA-012

1-氧代-2-(N-(二乙基胺乙基))胺羰基齐墩果酸甲酯



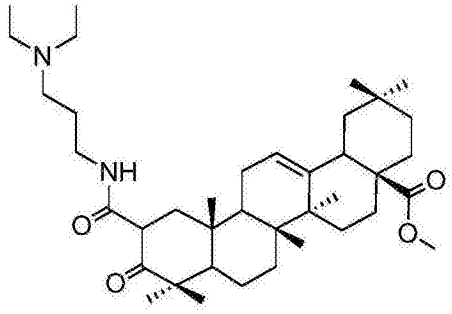
BS-OA-016

1-氧代-2-(N-(吡咯烷基丙基))胺羰基齐墩果酸甲酯



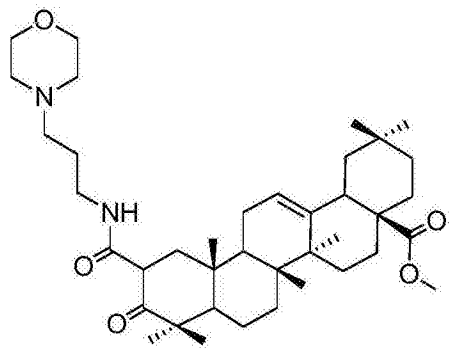
BS-OA-027

1-氧代-2-(N-(3-吡啶基乙基))胺羰基齐墩果酸甲酯



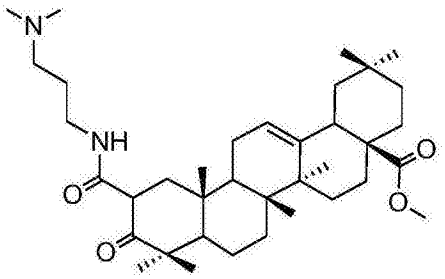
BS-OA-035

1-氧代-2-(N-(二乙基胺丙基))胺羰基齐墩果酸甲酯



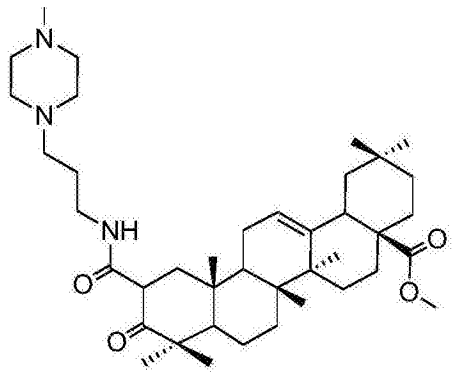
BS-OA-037

1-氧代-2-(N-(吗啡啉基丙基))胺羰基齐墩果酸甲酯



BS-OA-042

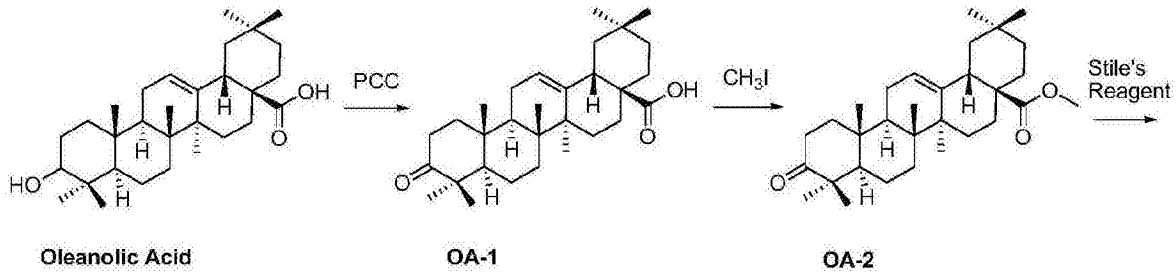
1-氧代-2-(N-(二甲基胺丙基))胺羰基齐墩果酸甲酯



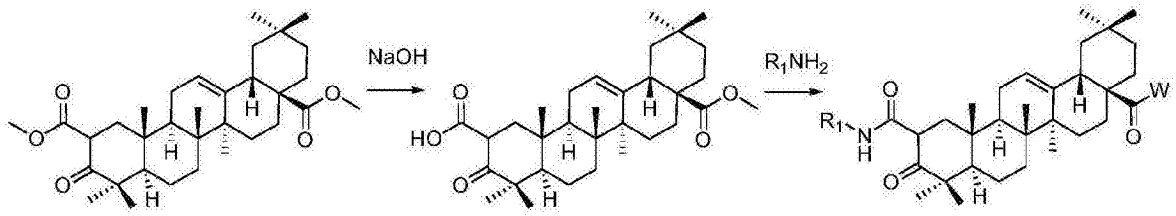
BS-OA-078

1-氧代-2-(N-(N-甲基哌嗪基丙基))胺羰基齐墩果酸甲酯。

3.一种制备式I化合物的方法



Oleanolic Acid OA-1 OA-2



OA-3 OA-4 I

齐墩果酸(OA)经氧化,生成齐墩果酸的酮中间体(OA-1);此中间体经甲酯化,生成齐墩果酸的(酮)甲酯中间体(OA-2);此中间体与斯迪勒试剂反应,在酮羰基的邻位引入甲氧羰基生成齐墩果酸的双酯中间体(OA-3);此双酯中间体经水解,得齐墩果酸的单羧基中间体(OA-4);引入甲氧羰基和水解反应也可一锅反应完成得齐墩果酸的单羧基中间体(OA-4);此单羧基中间体与有机胺经酰胺键形成反应,生成2-位取代的齐墩果酸衍生物(I);式中R_1和W与权利要求1中通式(I)中的定义相同。

4.一种药物组合物,其中包含权利要求1-2中任一项的2-位取代的齐墩果酸衍生物或其药学上可接受的盐和任选的药学上可以接受的赋形剂。

5.权利要求1-2中的任一项的2-位取代的齐墩果酸衍生物或其药学上可接受的盐在制备抗肿瘤药物中的用途。

6.根据权利要求5的用途,其中,所述肿瘤选自白血病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、肝癌、胃癌、乳腺癌、胆管细胞癌、胰腺癌、肺癌、大肠癌、骨肉瘤、人宫颈癌、神经胶质瘤、鼻咽癌、喉癌、食管癌、中耳肿瘤、黑色素瘤和前列腺癌。

2-位取代的齐墩果酸衍生物、及其制备方法和应用

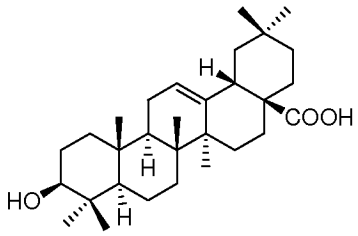
技术领域

[0001] 本发明属于天然药物及药物化学领域并涉及新型齐墩果酸衍生物，特别是2-位取代的齐墩果酸衍生物，及制备这些化合物的方法、包含该化合物的组合物及其在制备抗肿瘤药物中的用途。

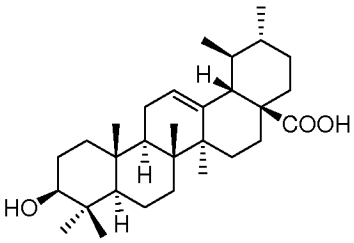
背景技术

[0002] 齐墩果酸(Oleanolic acid,OA)，别名土当归酸，是一种五环三萜类化合物。从木樨科，龙胆科，茜草科，苋科等植物的叶和果实中提取，主要以游离形式和(或)与糖结合形式存在。国内外许多科学家对五环三萜类化合物做了广泛的研究。据文献报道，齐墩果酸及其衍生物，类似物具有多种生物活性，如抗炎，抗肿瘤，抗病毒，调节免疫功能，抑制血小板凝聚，降血脂保肝，护肾，抗艾滋病毒等。(李英霞等，一种齐墩果酸乳糖缀合物及其制备方法和用途[P]CN 1414012 A.2003;张奕华等，一种齐墩果酸衍生物，其制备方法及用途[P]CN 102070697 A.2011;Lin,Z.H.;Zhang,Y.;Zhang,Y.N.;Shen,H.;Hu,L.H.;Jiang,H.L.;Shen,X.Oleanolic acid derivative NPLG441 potently stimulates glucose transport in 3T3-L1 adipocytes via a multi-target mechanism.Biochemical Pharmacology.2008,76,1251-1262;Chen,J.;Gong,Y.C.;Liu,J.;Hua,W.Y.;Zhang,L.Y.;Sun,H.B.Synthesis and biological Evaluation of novel pyrazolo[4,3-b]oleanane derivatives as inhibitors of glycogen phosphorylase.Chemistry& Biodiversity.2008,5,1304-1312)。

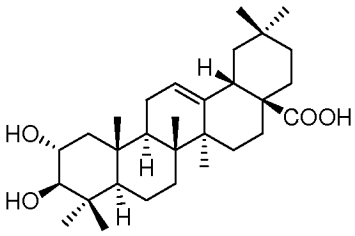
[0003]



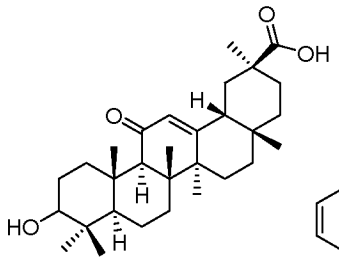
齐墩果酸



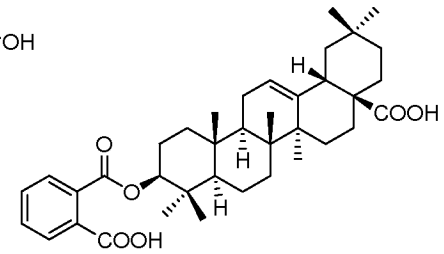
熊果酸



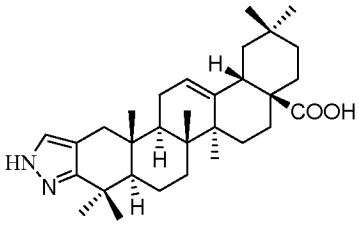
山楂酸



甘草次酸

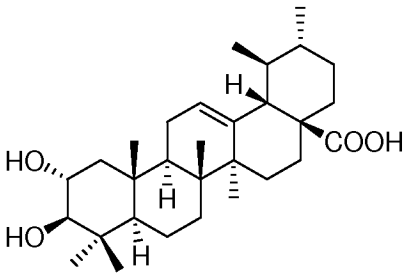


3-邻甲酸苯甲酰氧基-齐墩果酸

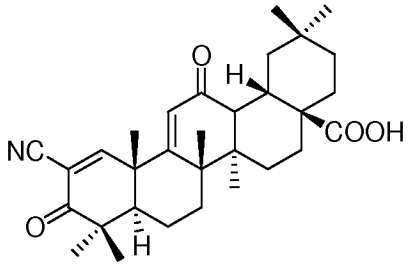


吡唑-[4,3b]-齐墩果酸

[0004]



科罗索酸



2-氰基-3,12-二氧代齐墩果酸

[0005] 齐墩果酸及其衍生物和类似物

[0006] 恶性肿瘤是目前最严重的威胁人类健康的常见病，抗癌类药物的开发是现今医学界的重大研究课题。从中药植物中寻找高效低毒的药物，已成为国内外抗癌研究的热点。齐墩果酸毒性小，中药资源丰富，是一类非常有前途的抗肿瘤药物。

[0007] 近年来，有文献报道了齐墩果酸抗人肺癌细胞增殖，侵袭和诱导细胞凋亡的作用。研究者通过细胞增殖抑制试验、软琼脂集落形成试验等测定观察齐墩果酸对PGCL3细胞侵袭能力的影响，结果表明，齐墩果酸可降低PGCL3细胞增殖能力并呈剂量依赖性，具有抗PGCL3人肺癌细胞增殖和侵袭作用，并有诱导PGCL3细胞凋亡的作用。其抗侵袭机理不是对侵袭的某一环节的阻断，而是对侵袭各个基本环节都有抑制作用。此外，还有研究者探索了齐墩果酸对A549细胞的作用及其可能的机制，研究结果表明，齐墩果酸具有浓度依赖性诱导人肺腺癌细胞凋亡的作用。(张东方等，齐墩果酸抗人肺癌细胞增殖、侵袭和诱导细胞凋亡的研究.肿瘤防治研究，2003，30(3)，081-381；卫小红等，齐墩果酸诱导人肺腺癌细胞A549凋亡及其与细胞内钙离子的关系.同济大学学报(医学版)，2009，30(5)，19-23)。

[0008] 有文献报道了研究者通过细胞增殖抑制试验，MTT法检测肿瘤细胞的活性，研究了齐墩果酸对卵巢癌细胞株IGROV1和人乳腺癌细胞株MDA-MB-231的抑制作用。结果显示，齐墩果酸可降低IGROV1和MDA-MB-231的细胞增殖能力并呈剂量依赖性。表明齐墩果酸对这两株恶性肿瘤细胞具有抑制活性。(吴林蔚等，齐墩果酸对卵巢癌细胞IGROV1和乳腺癌细胞MDA-MB-231生长的抑制作用.应用与环境生物学报，2010，16(2)，202-204)。

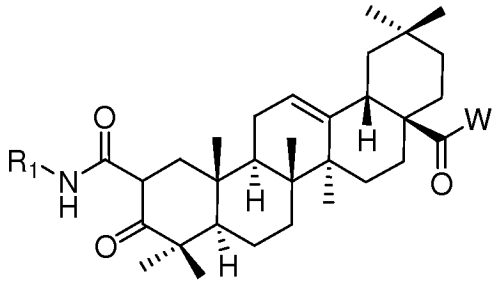
[0009] 近期，林秀坤等人报道了齐墩果酸及其药物制剂具有很好的抗胰腺癌作用，表现在对体外人胰腺癌细胞具有明显的抑制活性，并对此肿瘤细胞的裸鼠移植瘤具有显著的抑瘤活性。此外，林秀坤等人还研究了齐墩果酸对宫颈癌的抑制作用。研究结果表明，齐墩果酸及其药物制剂对体外人宫颈癌细胞具有明显的抑制活性，并对此肿瘤细胞的裸鼠移植瘤具有明显的抑瘤活性。(林秀坤等，齐墩果酸的抗胰腺癌作用及其药物制剂.[P]CN 102151275 A.2011；林秀坤等，齐墩果酸的抗宫颈癌作用及其药物制剂.[P]CN 102133219

A.2011)。

[0010] 齐墩果酸由于其多种药理学活性且毒性较低被广泛应用于临床上,但是该类药物在人体内的生物利用度较低,因此开发高效低毒的齐墩果酸衍生物具有良好的前景。本发明对齐墩果酸的2-位进行取代修饰,引入功能性基团,以提高其生物活性及利用度。本发明的方法以及2-位取代的齐墩果酸尚未见文献报道。

发明内容

[0011] 本发明的目的之一是提供通式(I)的2-位取代的齐墩果酸衍生物或其药学上可接受的盐,

[0012] 

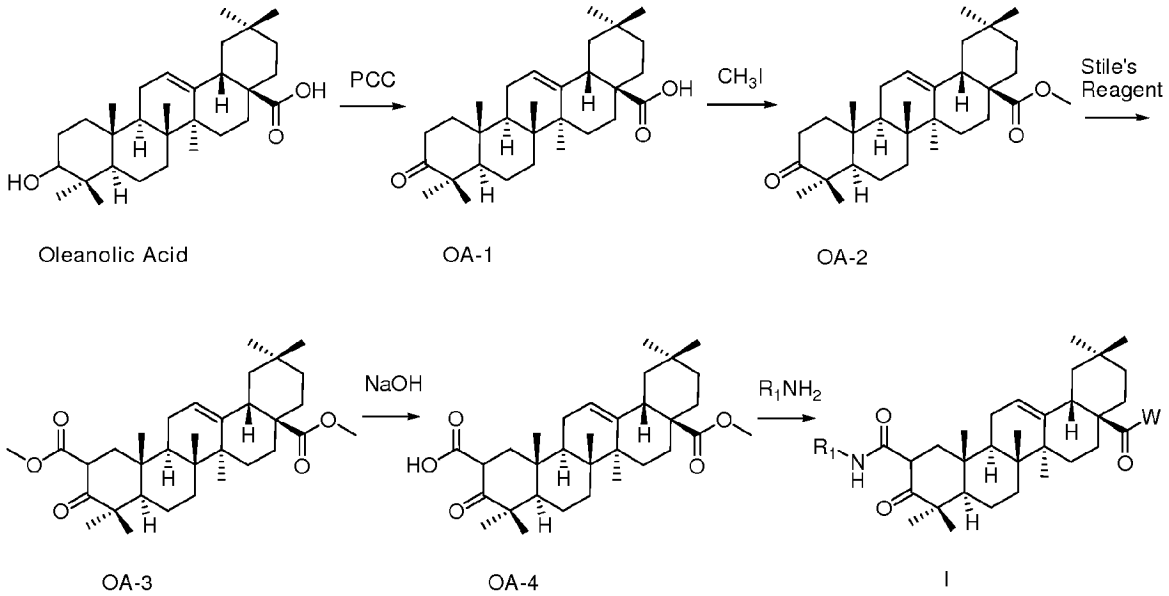
I

[0013] 式中R_1选自H、任选取代的C_1-C_{18}的烷基、任选取代的C_2-C_{18}烯基或炔基、任选取代的C_3-C_7环烷基或环烯基、任选取代的芳基、任选取代的杂环基或杂芳基,所述任选取代的取代基选自卤素、硝基、氰基、氨基、羟基、巯基、羧基、C_1-C_6烷基氨基、二(C_1-C_6烷基)氨基、C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷硫基,所述C_3-C_7环烷基或环烯基、芳基、杂环基或杂芳基还任选地被C_1-C_6烷基取代,或者R_1为由选自所述C_3-C_7环烷基或环烯基、芳基、杂环基或杂芳基的基团取代的C_1-C_6烷基;以及

[0014] 式中W选自羟基、氨基、C_1-C_6烷基氨基、二(C_1-C_6烷基)氨基、C_1-C_6烷氧基和C_1-C_6烷硫基。

[0015] 本发明的目的之二是提供制备本发明通式(I)的2-位取代的齐墩果酸衍生物的方法:

[0016]



[0017] 齐墩果酸(OA)经氧化,生成齐墩果酸的酮中间体(OA-1);此中间体经甲酯化,生成齐墩果酸的(酮)甲酯中间体(OA-2);此中间体与斯迪勒试剂反应,在酮羰基的邻位引入甲氧羰基生成齐墩果酸的双酯中间体(OA-3);此双酯中间体经水解,得齐墩果酸的单羧基中间体(OA-4);引入甲氧羰基和水解反应也可一锅反应完成得齐墩果酸的单羧基中间体(OA-4);此单羧基中间体与有机胺经酰胺键形成反应,生成2-位取代的齐墩果酸衍生物(I);式中R_1和W与上文通式(I)中的定义相同。

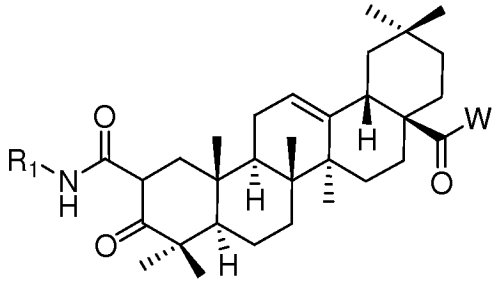
[0018] 本发明的目的之三是提供包含本发明化合物的药物组合物,所述药物组合物包括至少一种本发明化合物,和任选的药学上可以接受的赋形剂。

[0019] 本发明的目的之四是提供本发明化合物或包含该化合物的药物组合物在制备药物、特别是抗肿瘤药物中的用途。相应地,本发明提供一种治疗肿瘤患者的方法,包括给予需要治疗的患者治疗有效量的至少一种本发明的化合物。所述肿瘤特别选自白血病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、肝癌、胃癌、乳腺癌、胆管细胞癌、胰腺癌、肺癌、大肠癌、骨肉瘤、黑色素瘤、人宫颈癌、神经胶质瘤、鼻咽癌、喉癌、食管癌、中耳肿瘤、前列腺癌等。

[0020] 本发明还涉及用于治疗肿瘤的本发明的化合物。

具体实施方式

[0021] 本发明涉及通式(I)的2-位取代的新型齐墩果酸衍生物或其药学上可接受的盐,

[0022] 

I

[0023] 式中R_1选自H、任选取代的C_1-C_{18}的烷基、任选取代的C_2-C_{18}烯烃基或炔烃基、任选取代的C_3-C_7环烷基或环烯烃基、任选取代的芳基、任选取代的杂环基或杂芳基，所述任选取代的取代基选自卤素、硝基、氰基、氨基、羟基、巯基、羧基、C_1-C_6烷基氨基、二(C_1-C_6烷基)氨基、C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷硫基，所述C_3-C_7环烷基或环烯烃基、芳基、杂环基或杂芳基还任选地被C_1-C_6烷基取代，或者R_1为由选自所述C_3-C_7环烷基或环烯烃基、芳基、杂环基或杂芳基的基团取代的C_1-C_6烷基；以及

[0024] 式中W选自羟基、氨基、C_1-C_6烷基氨基、二(C_1-C_6烷基)氨基、C_1-C_6烷氧基和C_1-C_6烷硫基。

[0025] 根据本发明一个优选的实施方式，其中R_1为C_4-C_8烷基、环烷基-C_1-C_6烷基、杂环基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基-C_1-C_6烷基、二(C_1-C_6烷基)-C_1-C_6烷基、杂芳基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷氧基-C_1-C_6烷基，所述环烷基、杂环基和杂芳基任选地被卤素、羟基、C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷基、氨基、C_1-C_6烷基氨基、二(C_1-C_6烷基)氨基所取代。

[0026] 根据本发明另一个优选的实施方式，其中R_1为C_4-C_6烷基、环烷基-C_1-C_4烷基、杂环基-C_1-C_4烷基、C_1-C_6烷基氨基-C_1-C_4烷基、二(C_1-C_6烷基)-C_1-C_4烷基、杂芳基-C_1-C_4烷基、C_1-C_6烷氧基-C_1-C_4烷基，所述环烷基、杂环基和杂芳基任选地被卤素、羟基、C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷基、氨基、C_1-C_6烷基氨基、二(C_1-C_6烷基)氨基所取代。

[0027] 根据本发明一个优选的实施方式，其中所述杂环基为饱和杂环基。

[0028] 根据本发明另一个优选的实施方式，其中所述杂环含有氮原子作为环原子并作为连接点。

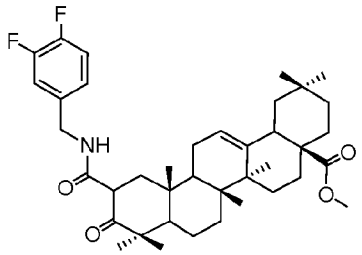
[0029] 根据本发明一个特别优选的实施方式，其中所述杂环基为吡咯烷-1-基、哌啶子基、哌嗪-1-基、4-甲基哌嗪-1-基、吗啉代基、噁唑烷基、咪唑烷基、异噁唑烷基。

[0030] 根据本发明另一个特别优选的实施方式，其中W为羟基或C_1-C_6烷氧基。

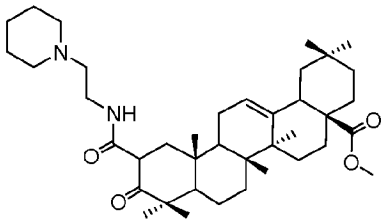
[0031] 根据本发明一个优选的实施方式，其中所述杂芳基为吡啶基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、吡喃基、咪唑基。

[0032] 本发明的部分优选的2-位取代的新型齐墩果酸衍生物如下所示。这些实施例举只对本发明做进一步说明，并不对本发明的范围构成任何限制。

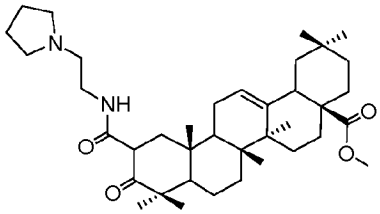
[0033]



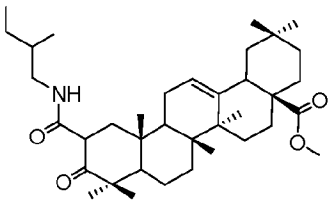
BS-OA-003



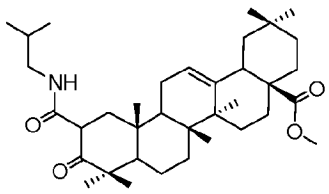
BS-OA-004



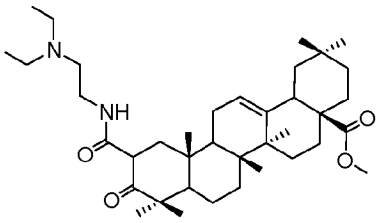
BS-OA-005



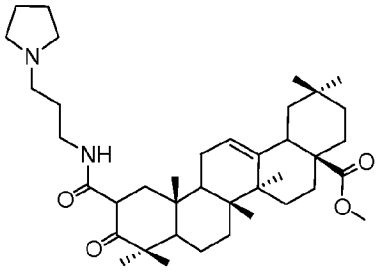
BS-OA-008



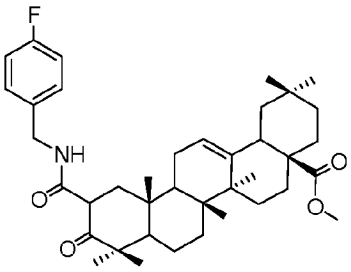
BS-OA-011



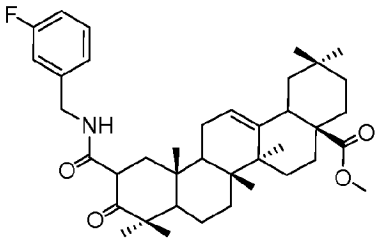
BS-OA-012



BS-OA-016

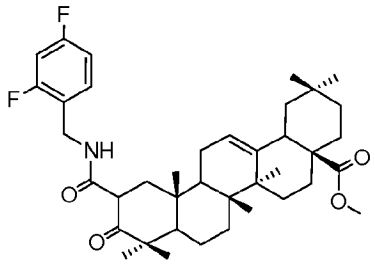


BS-OA-017

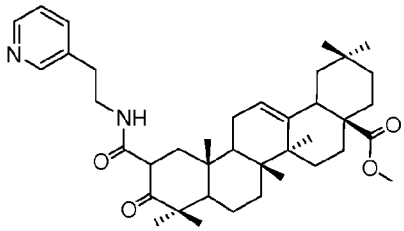


BS-OA-021

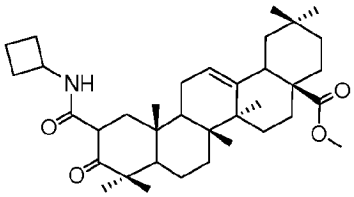
[0034]



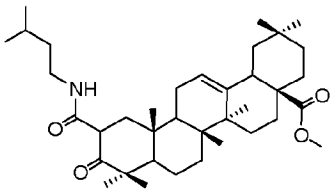
BS-OA-024



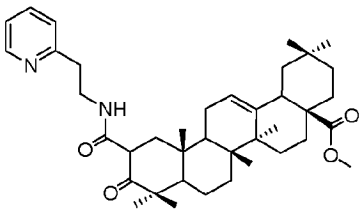
BS-OA-027



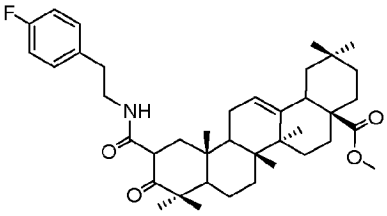
BS-OA-028



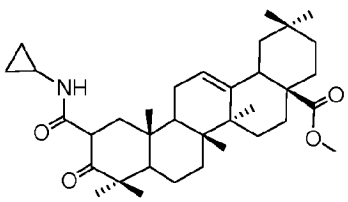
BS-OA-031



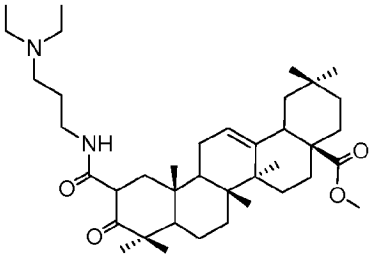
BS-OA-032



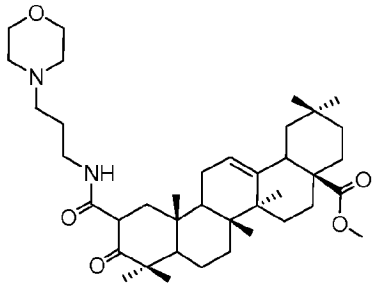
BS-OA-033



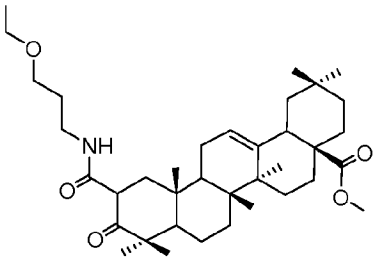
BS-OA-034



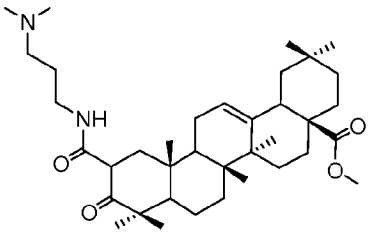
BS-OA-035



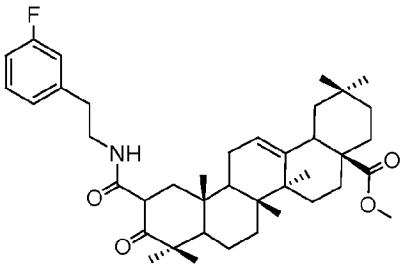
BS-OA-037



BS-OA-038

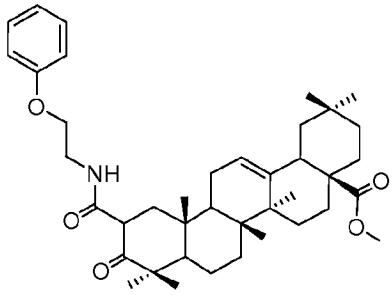


BS-OA-042

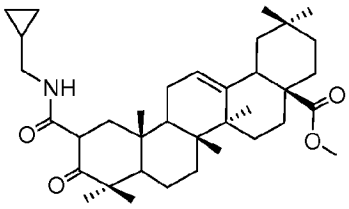


BS-OA-044

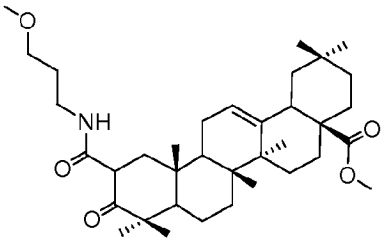
[0035]



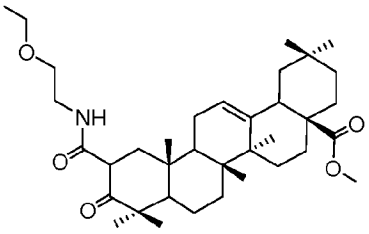
BS-OA-046



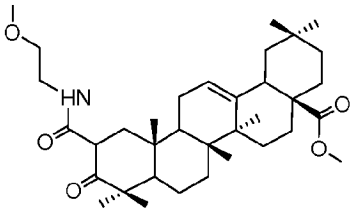
BS-OA-048



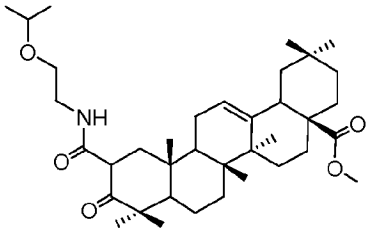
BS-OA-052



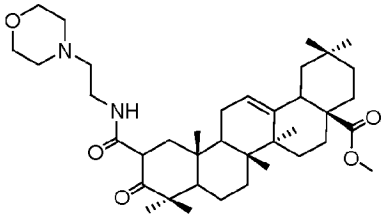
BS-OA-053



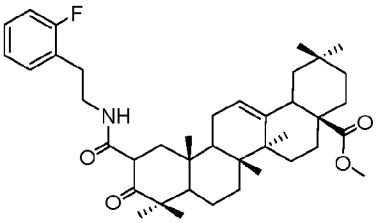
BS-OA-054



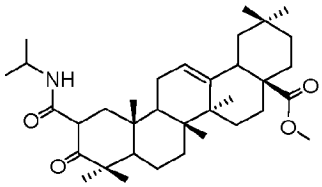
BS-OA-058



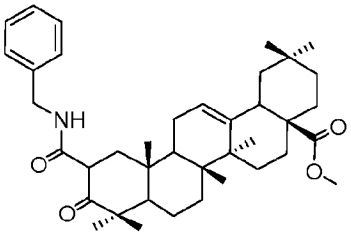
BS-OA-059



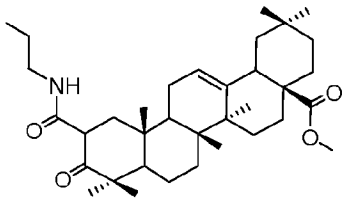
BS-OA-062



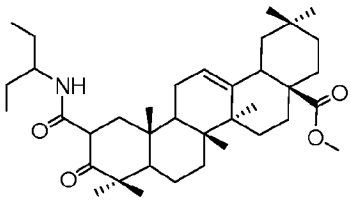
BS-OA-064



BS-OA-067

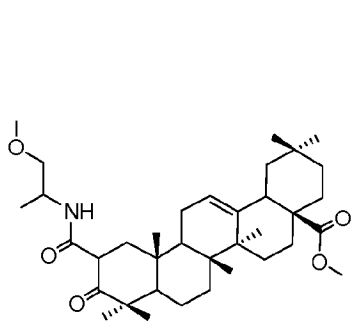


BS-OA-068

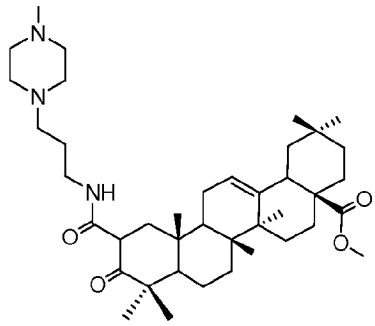


BS-OA-070

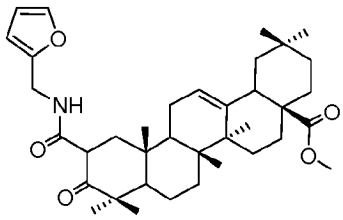
[0036]



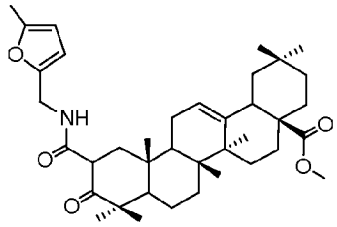
BS-OA-075



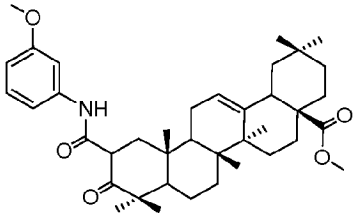
BS-OA-078



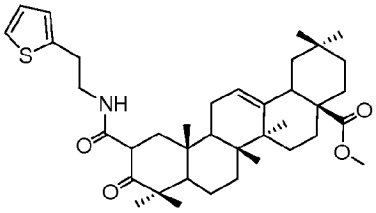
BS-OA-082



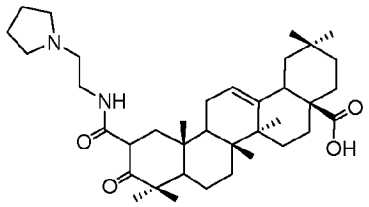
BS-OA-085



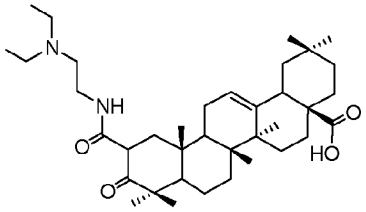
BS-OA-086



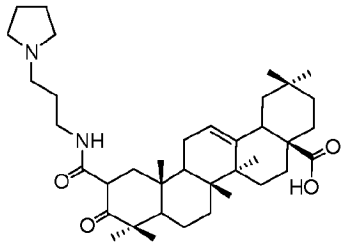
BS-OA-088



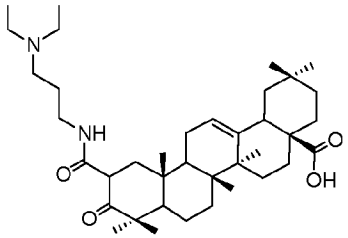
BS-OA-105



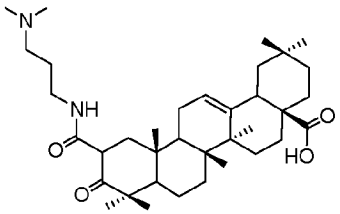
BS-OA-106



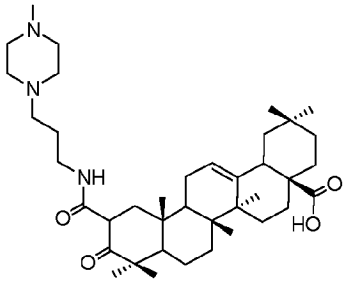
BS-OA-107



BS-OA-108



BS-OA-109



BS-OA-110

[0037] 上面所列化合物的部分数据如下表所示：

[0038]

化合物编号	分子式	分子量	外观	状态	反应总收率(%)
BS-OA-003	$C_{39}H_{53}F_2NO_4$	637.84	白色	固体	14.5

[0039]

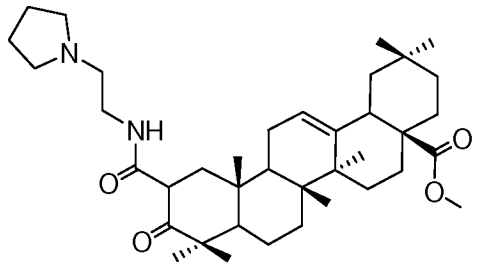
BS-OA-004	$C_{39}H_{62}N_2O_4$	622.92	白色	固体	14.1
BS-OA-005	$C_{38}H_{60}N_2O_4$	608.9	白色	固体	15.9
BS-OA-008	$C_{37}H_{59}NO_4$	581.87	白色	固体	14.6
BS-OA-011	$C_{36}H_{57}NO_4$	567.9	白色	固体	14.1
BS-OA-012	$C_{38}H_{62}N_2O_4$	610.9	白色	固体	16.9
BS-OA-016	$C_{39}H_{62}N_2O_4$	622.9	白色	固体	14.1
BS-OA-017	$C_{39}H_{54}FNO_4$	619.9	白色	固体	15.2
BS-OA-021	$C_{39}H_{54}FNO_4$	619.85	白色	固体	14.8
BS-OA-024	$C_{39}H_{53}F_2NO_4$	637.84	白色	固体	14.8
BS-OA-027	$C_{39}H_{53}F_2NO_4$	616.9	白色	油状	13.4
BS-OA-028	$C_{36}H_{55}NO_4$	565.8	白色	固体	15.2
BS-OA-031	$C_{37}H_{59}NO_4$	581.87	白色	固体	14.3
BS-OA-032	$C_{39}H_{56}N_2O_4$	616.87	黄色	固体	15.3
BS-OA-033	$C_{40}H_{56}FNO_4$	633.9	白色	固体	12.7
BS-OA-034	$C_{35}H_{53}NO_4$	551.8	白色	固体	16.3
BS-OA-035	$C_{39}H_{64}N_2O_4$	625	白色	固体	16.9
BS-OA-037	$C_{39}H_{62}N_2O_5$	638.9	白色	固体	12.5
BS-OA-038	$C_{37}H_{59}NO_5$	597.87	白色	固体	15.1
BS-OA-042	$C_{37}H_{60}N_2O_4$	596.9	白色	固体	20.7
BS-OA-044	$C_{40}H_{56}FNO_4$	633.88	白色	固体	14.7
BS-OA-046	$C_{40}H_{57}NO_5$	631.9	白色	固体	13.2
BS-OA-048	$C_{36}H_{55}NO_4$	565.8	白色	固体	14.8
BS-OA-052	$C_{36}H_{57}NO_5$	583.84	白色	固体	14
BS-OA-053	$C_{36}H_{57}NO_5$	583.9	白色	固体	14.3
BS-OA-054	$C_{35}H_{55}NO_5$	569.81	白色	固体	15.6
BS-OA-058	$C_{37}H_{59}NO_5$	597.87	白色	固体	15.1
BS-OA-059	$C_{38}H_{60}N_2O_5$	624.89	黄色	固体	12.9
BS-OA-062	$C_{40}H_{56}FNO_4$	633.9	白色	固体	12.9
BS-OA-064	$C_{35}H_{55}NO_4$	553.8	白色	固体	14.4
BS-OA-067	$C_{39}H_{55}NO_4$	601.9	白色	油状	13.8

[0040]

BS-OA-068	$C_{35}H_{55}NO_4$	553.8	白色	固体	15.6
BS-OA-070	$C_{37}H_{59}NO_4$	581.9	白色	固体	16
BS-OA-075	$C_{36}H_{57}NO_5$	583.84	白色	固体	14.9
BS-OA-078	$C_{40}H_{65}N_3O_4$	652	白色	固体	16.9
BS-OA-082	$C_{37}H_{53}NO_5$	591.82	黄色	固体	16.4
BS-OA-085	$C_{38}H_{55}NO_5$	605.9	白色	固体	13.5
BS-OA-086	$C_{39}H_{55}NO_5$	617.86	白色	固体	13.1
BS-OA-088	$C_{38}H_{55}NO_4S$	621.9	白色	油状	13.7
BS-OA-105	$C_{37}H_{58}N_2O_4$	594.87	白色	固体	3.63
BS-OA-106	$C_{37}H_{60}N_2O_4$	596.88	白色	固体	2.89
BS-OA-107	$C_{38}H_{60}N_2O_4$	608.89	白色	固体	2.23
BS-OA-108	$C_{38}H_{62}N_2O_4$	610.91	白色	固体	2.93
BS-OA-109	$C_{36}H_{58}N_2O_4$	582.86	白色	固体	2.24
BS-OA-110	$C_{39}H_{63}N_3O_4$	637.94	白色	固体	2.14

[0041] 在另一种实施方式中，本发明特别优选如下的通式(I)化合物：

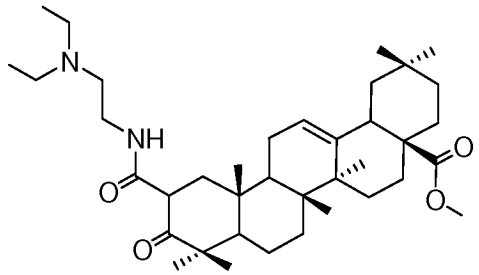
[0042]



BS-OA-005

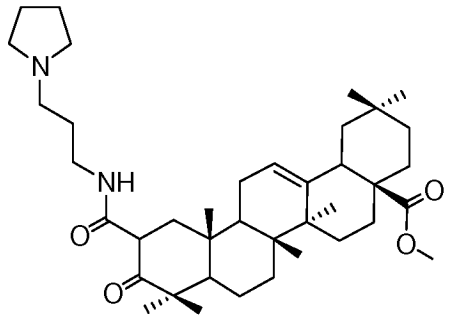
[0043] 1-氧代-2-(N-(吡咯烷基乙基))胺羰基齐墩果酸甲酯

[0044]



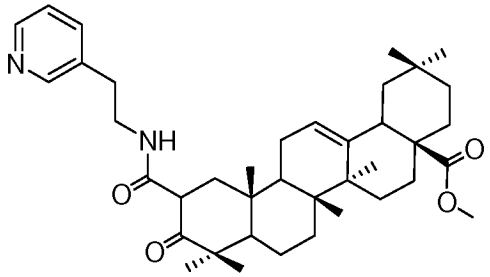
BS-OA-012

[0045] 1-氧代-2-(N-(二乙基胺乙基))胺羰基齐墩果酸甲酯

[0046] 

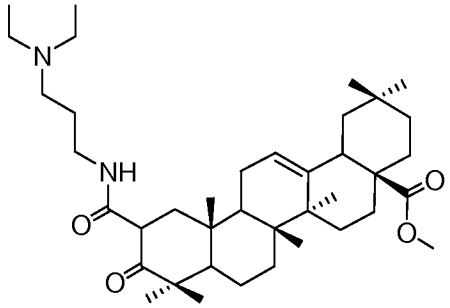
BS-OA-016

[0047] 1-氧代-2-(N-(吡咯烷基丙基))胺羰基齐墩果酸甲酯

[0048] 

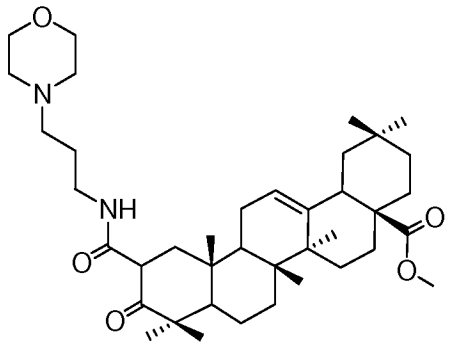
BS-OA-027

[0049] 1-氧代-2-(N-(3-吡啶基乙基))胺羰基齐墩果酸甲酯

[0050] 

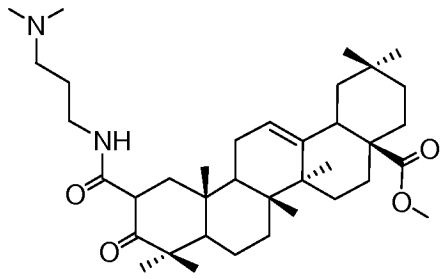
BS-OA-035

[0051] 1-氧代-2-(N-(二乙基胺丙基))胺羰基齐墩果酸甲酯

[0052] 

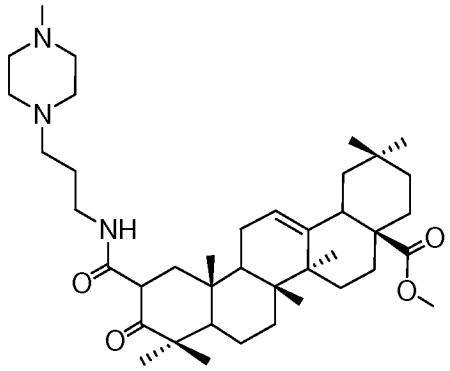
BS-OA-037

[0053] 1-氧代-2-(N-(吗啉基丙基))胺羰基齐墩果酸甲酯

[0054] 

BS-OA-042

[0055] 1-氧代-2-(N-(二甲基胺丙基))胺羰基齐墩果酸甲酯

[0056] 

BS-OA-078

[0057] 1-氧代-2-(N-(N-甲基哌嗪基丙基))胺羰基齐墩果酸甲酯

[0058] 本发明的2-位取代的齐墩果酸衍生物具有抗癌活性。与齐墩果酸本身比较，本发明的2-位取代的齐墩果酸衍生物的抗癌活性提高，例如提高数倍甚至数十倍。

[0059] 如本文所使用，术语“烷基”是指含有指定碳原子数的直链或支链的烷基。所述烷基可以包含1-18个碳原子，例如1-12个、1-10个、1-8个、1-6个、1-5个、1-4个或1-3个碳原子。烷基的例子包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、叔丁基、正戊基、正己基和正十八烷基。

[0060] 术语“烯基”是指含有指定碳原子数的直链或支链的烯基。所述烯基可以包含2-18个碳原子，例如2-12个、2-10个、2-8个、2-6个、2-5个、2-4个或2-3个碳原子。烯基的例子包括但不限于乙烯基、烯丙基、和十八烯基。

[0061] 术语“炔基”是指含有指定碳原子数的直链或支链的炔基。所述炔基可以包含2-18个碳原子，例如2-12个、2-10个、2-8个、2-6个、2-5个、2-4个或2-3个碳原子。炔基的例子包括但不限于乙炔基和丙炔基。

[0062] 术语“C_3-C_7环烷基或环烯基”是指具有饱和或不饱和环的3-7元单环系统的烃基。C_3-C_7环烷基或环烯基可以为环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环丙烯基和环己烯基。

[0063] 术语“芳基”是指含有6-14个(例如6-12个、6-20个)碳原子的单碳环芳香基或稠合或非稠合的多碳环芳香基，在多碳环的情况下，只要一个碳环是芳香的即可。芳基也包括与杂环基稠合的芳基。所述芳基的例子有苯基、联苯基、萘基、5,6,7,8-四氢萘基、2.3-二氢苯并呋喃基等。

[0064] 术语“杂芳基”是指在环中含有1-4个杂原子(例如1、2、3或4个杂原子)作为环成员的芳香环基团。杂原子是指氮、氧或硫。杂芳基可以是具有5-7个环原子的单环杂芳基,或者具有7-11个环原子的双环杂芳基。所述双环芳基中只要一个环是芳香杂环即可,另一个可以是芳香的或非芳香的、含杂原子的或不含杂原子的。杂芳基的例子有例如吡咯基、吡唑基、咪唑基、噁唑基、吡啶基、嘧啶基、呋喃基、噻吩基、异噁唑基、吲哚基等。

[0065] 术语“杂环基”是指含有1-4个杂原子(例如1、2、3或4个杂原子)作为环成员的非芳香环基团。杂原子是指氮、氧或硫。杂环基可以是具有4-8个环原子的单环杂环基(例如4-7元环、5-7元环、5-6元环),或者具有7-11个环原子的双环杂环基。杂环基可以是芳香或非芳香的。杂环基的例子有氮杂环丁基、吡咯烷基、吡咯啉基、四氢呋喃基、二氢呋喃基、哌嗪基、哌啶基、吗啉基、硫代吗啉基、四氢吡喃基、四氢噻吩基等。

[0066] 术语“卤素”是指氟、氯、溴或碘。

[0067] 术语“烷基氨基”是指被一个或两个如上所定义的烷基取代的氨基。

[0068] 术语“烷氧基”是指烷基-O-基团,其中所述烷基如上所定义。

[0069] 术语“烷硫基”是指烷基-S-基团,其中所述烷基如上所定义。

[0070] 如本文所使用,术语“式(I)化合物的药学上可以接受的盐”的例子是由形成药学上可以接受的阴离子的有机酸形成的有机酸盐;这些有机酸盐包括但不限于甲苯磺酸盐、甲磺酸盐、苹果酸盐、醋酸盐、柠檬酸盐、丙二酸盐、酒石酸盐、琥珀酸盐、苯甲酸盐、抗坏血酸盐、α-酮戊二酸盐、乳酸盐和α-甘油磷酸盐;也可形成合适的无机盐;这些无机酸盐包括但不限于盐酸盐、硫酸盐、硝酸盐、碳酸氢盐和碳酸盐、磷酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐等。

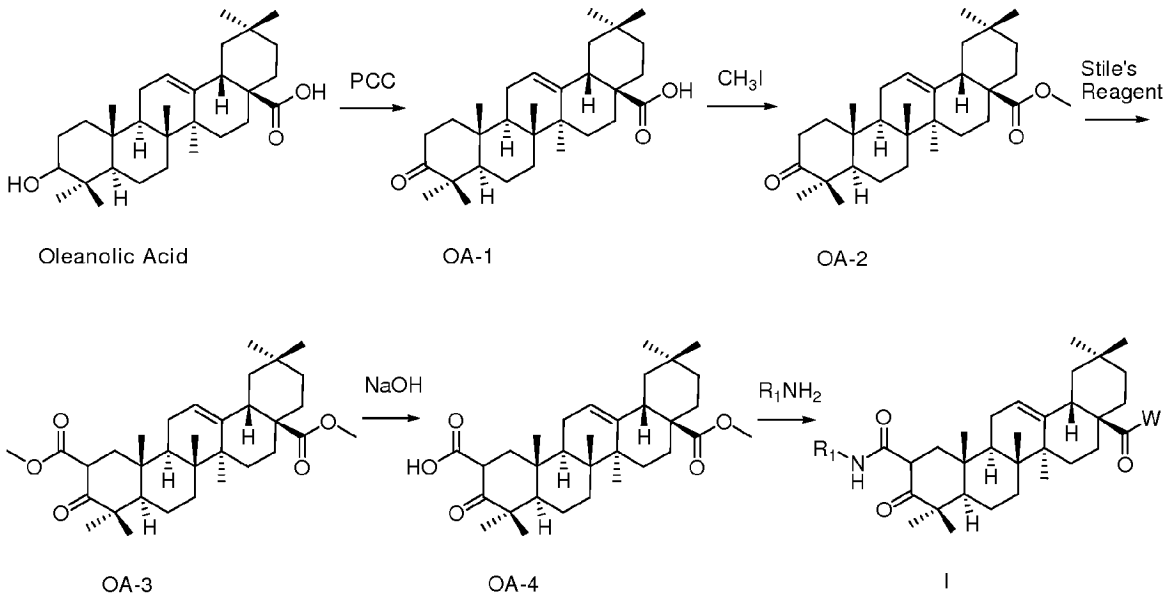
[0071] 药学上可以接受的盐可使用本领域熟知的标准程序获得。例如,通过将足量的碱性化合物和提供药学上可以接受的阴离子的合适的酸反应生成。

[0072] 本发明的2-位取代的齐墩果酸衍生物主结构中的八个手性中心具有式(I)结构式所显示的立体化学结构。本文使用的立体化学的定义和约定一般遵循MCGRAW-HILL DICTIONARY OF CHEMICAL TERMS(S.P.Parker,Ed.,McGraw-Hill Book Company,New York,1984);ELIEL,E.和WILEN,S.,STEREOCHEMISTRY OF ORGANIC COMPOUNDS(John Wiley&Sons,Inc.,New York,1994)。许多有机化合物以光学活性形式存在,即它们具有旋转平面偏光的平面的能力。

[0073] 本文使用的术语“治疗”一般是指获得需要的药理和/或生理效应。该效应根据完全或部分地预防疾病或其症状,可以是预防性的;和/或根据部分或完全稳定或治愈疾病和/或由于疾病产生的副作用,可以是治疗性的。本文使用的“治疗”涵盖了对患者疾病的任何治疗,包括:(a)预防易感染疾病或症状但还没诊断出患病的患者所发生的疾病或症状;(b)抑制疾病的症状,即阻止其发展;或(c)缓解疾病的症状,即,导致疾病或症状退化。

[0074] 本发明的化合物可以按照常规的有机化学合成方法制备。例如,本发明的式(I)化合物的制备方法如下:

[0075]



Oleanolic Acid OA-1 OA-2

OA-3 OA-4 I

[0076] 式(I)的2-位取代的齐墩果酸衍生物可由天然药材提取分离的齐墩果酸(OA)经氧化,生成齐墩果酸的酮中间体(OA-1)。氧化羟基至羰基有很多氧化剂可以使用,例如:氯铬酸吡啶盐(PCC),高锰酸钾等。

[0077] 齐墩果酸的酮中间体(OA-1)经甲酯化,生成齐墩果酸的(酮)甲酯中间体(OA-2);有很多甲基化反应可以用于甲酯的形成反应。例如:用碘甲烷在碱的存在下在极性溶剂中,即可形成齐墩果酸的(酮)甲酯中间体(OA-2)。

[0078] 齐墩果酸的(酮)甲酯中间体(OA-2)与斯迪勒试剂反应,在酮羰基的邻位引入甲氧羰基生成齐墩果酸的双酯中间体(OA-3)。有很多试剂可在酮羰基的邻位引入甲氧羰基。例如:在极性溶剂中使用甲氧基镁甲基碳酸酯,可在酮羰基的邻位,以较好的收率引入甲氧羰基,生成齐墩果酸的双酯中间体(OA-3)。

[0079] 用氢氧化钠与齐墩果酸的双酯中间体(OA-3),在极性溶剂中经水解,得到齐墩果酸的单羧基中间体(OA-4)。使用其他的有机碱或无机碱,也可得到齐墩果酸的单羧基中间体(OA-4)。

[0080] 引入甲氧羰基后的齐墩果酸双酯中间体(OA-3)可以不用分离,直接水解得到齐墩果酸的单羧基中间体(OA-4)。

[0081] 齐墩果酸的单羧基中间体(OA-4)与有机胺经酰胺键形成反应,生成2-位取代的齐墩果酸衍生物(I)。

[0082] 用于酰胺化反应的有机胺全部可以在市场上购买获得。

[0083] 酰胺化反应一般在有缩合剂存在下进行。这里缩合剂可以是但不限于有机缩合剂。例如:2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N′,N′-四甲基脲六氟磷酸酯(HATU),苯并三氮唑-N,N,N′,N′-四甲基脲六氟硼酸盐(HBTU),苯并三氮唑-1-基氧基三(二甲基氨基)磷鎓六氟磷酸盐(BOP),苯并三氮唑-N,N,N′,N′-四甲基脲六氟硼酸盐(TBTU),三丙基磷酸酐(T3P)。

[0084] 酰胺化反应一般在有碱存在下进行。这里碱可以是但不限于有机碱。例如:N,N-二异丙基乙基胺(DIPEA),三乙基胺(TEA),吡啶,4-二甲胺基吡啶(DMAP)。

[0085] 酰胺化反应一般在溶剂中进行,也可在无溶剂存在下进行。使用的溶剂包括但不

限于有机极性溶剂。例如:二氯甲烷(DCM),四氢呋喃(THF),N,N-二甲基甲酰胺(DMF),二甲亚砜(DMSO)等。

[0086] 常规的化学转换可用于实施本发明。本领域的技术人员可以决定用于这些化学转换的适当的化学试剂、溶剂、保护基和反应条件。相关信息描述于R.Larock,Comprehensive Organic Transformations,VCH Publishers(1989);T.W.Greene and P.G.M.Wuts,Protective Groups in Organic Synthesis,3rd Ed.,John Wiley and Sons(1999);L.Fieser and M.Fieser,Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis,John Wiley and Sons(1994);L.A.Paquetteeditor,Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis,John Wiley and Sons(1995)及其后来的版本。

[0087] 保护基指那些一旦连接活性部分(例如,羟基或氨基),防止这些部分被后来的反应干扰并可在反应后通过常规的方法去除的基团。羟基保护基的例子包括但不限于,烷基、苯甲基、烯丙基、三苯甲基(即,三苯基甲基)、酰基(例如,苯甲酰基、乙酰基或HOOC-X"-CO-,X"为亚烷基、亚链烯基、亚环烷基或亚芳基)、甲硅烷基(例如,三甲基硅烷基、三乙基硅烷基和叔丁基二甲基硅烷基)、烷氧基羰基、氨基羰基(例如,二甲基氨基羰基、甲基乙氨基羰基和苯基氨基羰基)、烷氧甲基、苯甲氧甲基和烷基巯甲基。氨基保护基的例子包括但不限于,烷氧基羰基、烷酰基、芳氧基羰基、芳基取代的烷基等。羟基和氨基保护基已在T.W.Greene and P.G.M.Wuts,Protective Groups in Organic Synthesis,2nd Edition,John Wiley and Sons(1991)中讨论。羟基和氨基保护基都可在反应后通过常规的方法去除。

[0088] 具体而言,优选的本发明式(I)化合物中,BS-OA-067、BS-OA-003、BS-OA-004、BS-OA-005、BS-OA-008、BS-OA-011、BS-OA-012、BS-OA-016、BS-OA-017、BS-OA-021、BS-OA-024、BS-OA-027、BS-OA-028、BS-OA-031、BS-OA-032、BS-OA-033、BS-OA-034、BS-OA-035、BS-OA-037、BS-OA-038、BS-OA-042、BS-OA-044、BS-OA-046、BS-OA-048、BS-OA-052、BS-OA-053、BS-OA-054、BS-OA-058、BS-OA-059、BS-OA-062、BS-OA-064、BS-OA-068、BS-OA-070、BS-OA-075、BS-OA-078、BS-OA-082、BS-OA-085、BS-OA-086和BS-OA-088直接按照以上反应流程来制备。

[0089] BS-OA-105、BS-OA-106、BS-OA-107、BS-OA-108、BS-OA-109和BS-OA-110则首先经Bn保护基保护28位上的羟基,然后在反应后通过常规的方法去除保护基来制备。

[0090] 本发明还提供了包含本发明式(I)化合物的药物组合物。

[0091] 本发明提供了这样的药物组合物,其中包含至少一种如上所述的本发明的式(I)化合物,和任选的药学上可以接受的赋形剂。

[0092] 制备各种含有一定量的活性成分的药物组合物的方法是已知的,或根据本发明的公开内容对于本领域技术人员是显而易见的。如REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES,Martin,E.W.,ed.,Mack Publishing Company,19th ed.(1995)所述。制备所述药物组合物的方法包括掺入适当的药学赋形剂、载体、稀释剂等。

[0093] 以已知的方法制造本发明的药物制剂,包括常规的混合、溶解或冻干方法。

[0094] 本发明的化合物可以制成药物组合物,并向患者以适于选定的施用方式的各种途径施用,例如:口服,肠胃灌注,静脉内注射或肌内与皮下注射。

[0095] 因此,本发明的化合物结合药学上可以接受的载体(如惰性稀释剂或可食用的载体)可以全身施用,例如,口服。它们可以封闭在硬或软壳的明胶胶囊中,可以压为片剂。对于口服治疗施用,活性化合物可以结合一种或多种赋形剂,并以可吞咽的片剂、颊含片剂、

含片、胶囊剂、酏剂、悬浮剂、糖浆、圆片等的形式使用。这种组合物和制剂应该包含至少0.1%的活性化合物。这种组合物和制剂的比例当然可以变化，可以占给定的单位剂型重量的大约1%至大约99%。在这种治疗有用的组合物中，活性化合物的量使得能够获得有效剂量水平。

[0096] 片剂、含片、丸剂、胶囊剂等也可以包含：粘合剂，如黄蓍胶、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶；赋形剂，如磷酸氢二钙；崩解剂，如玉米淀粉、马铃薯淀粉、藻酸等；润滑剂，如硬脂酸镁；和甜味剂，如蔗糖、果糖、乳糖或阿司帕坦；或调味剂，如薄荷、冬青油或樱桃香味。当单位剂型是胶囊时，除了上面类型的材料，它还可以包含液体载体，如植物油或聚乙二醇。各种其他材料可以存在，作为包衣，或以其他方式改变固体单位剂型的物理形式。例如，片剂、丸剂或胶囊剂可以用明胶、蜡、虫胶或糖等包衣。糖浆或酏剂可以包含活性化合物，蔗糖或果糖作为甜味剂，对羟苯甲酸甲酯或对羟苯甲酸丙酯作为防腐剂，染料和调味剂(如樱桃香料或桔子香料)。当然，用于制备任何单位剂型的任何材料应该是药学上可以接受的且以应用的量基本上无毒。此外，活性化合物可以掺入缓释制剂和缓释装置中。

[0097] 活性化合物也可以通过输注或注射到静脉内或腹膜内施用。可以制备活性化合物或其盐的水溶液，任选的可混和的无毒的表面活性剂。也可以制备在甘油、液体聚乙二醇、甘油三乙酸酯及其混合物以及油中的分散剂。在普通的储存和使用条件下，这些制剂包含防腐剂以防止微生物生长。

[0098] 适于注射或输注的药物剂型可以包括包含适于无菌的可注射或可输注的溶液或分散剂的即时制剂的活性成分(任选封装在脂质体中)的无菌水溶液或分散剂或无菌粉末。在所有情况下，最终的剂型在生产和储存条件下必须是无菌的、液体的和稳定的。液体载体可以是溶剂或液体分散介质，包括，例如水、乙醇、多元醇(例如，甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等)、植物油、无毒的甘油酯及其合适的混合物。可以维持合适的流动性，例如，通过脂质体的形成，通过在分散剂的情况下维持所需的粒子大小，或通过表面活性剂的使用。可以通过各种抗细菌剂和抗真菌剂(如对羟苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等)产生预防微生物的作用。在许多情况下，优选包括等渗剂，如糖、缓冲剂或氯化钠。通过使用延缓吸收剂的组合物(例如，单硬脂酸铝和明胶)可以产生可注射的组合物的延长吸收。

[0099] 通过将合适的溶剂中的需要量的活性化合物与需要的上面列举的各种其他成分结合，然后进行过滤灭菌，制备无菌可注射溶液。在用于制备无菌注射溶液的无菌粉末的情况下，优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术，这会产生活性成分加上任何另外需要的以前无菌过滤溶液中存在的成分的粉末。

[0100] 有用的固体载体包括粉碎的固体(如滑石、粘土、微晶纤维素、二氧化硅、氧化铝等)。有用的液体载体包括水、乙醇或乙二醇或水-乙醇/乙二醇混合物，本发明的化合物可以任选在无毒的表面活性剂的帮助下以有效含量溶解或分散在其中。可以加入佐剂(如香味)和另外的抗微生物剂来优化对于给定用途的性质。

[0101] 增稠剂(如合成的聚合物、脂肪酸、脂肪酸盐和酯、脂肪醇、改性纤维素或改性无机材料)也可和液体载体用于形成可涂覆的糊剂、凝胶、软膏、肥皂等，直接用于使用者的皮肤上。

[0102] 化合物或其活性盐或衍生物的治疗需要量，不仅取决于选择的特定的盐，而且取决于施药方式、待治疗的疾病的本质和患者的年龄和状态，最终取决于在场医师或临床医

生的决定。

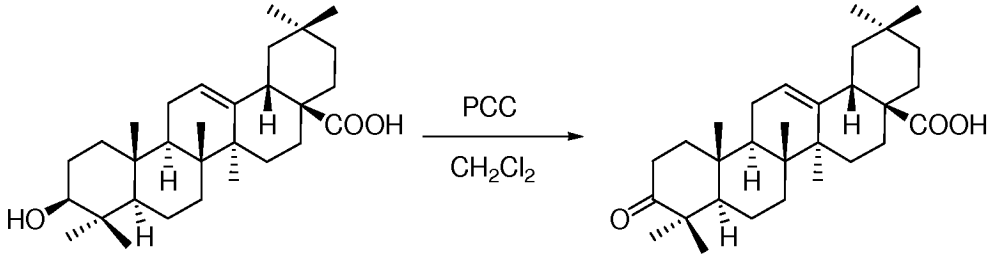
[0103] 上述制剂可以以单位剂型存在，该单位剂型是含有单位剂量的物理分散单元，适于向人体和其它哺乳动物体给药。单位剂型可以是胶囊或片剂，或是很多胶囊或片剂。根据所涉及的具体治疗，活性成分的单位剂量的量可以在大约0.1到大约1000毫克或更多之间进行变化或调整。

[0104] 本发明还提供本发明的化合物或包含该化合物的组合物在制备药物、特别是抗肿瘤药物中的用途。相应地，本发明提供一种治疗肿瘤患者的方法，包括给予需要治疗的患者治疗有效量的至少一种本发明的化合物。本发明的2-位取代的齐墩果酸衍生物或其药学上可接受的盐例如可用于治疗白血病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、肝癌、胃癌、乳腺癌、胆管细胞癌、胰腺癌、肺癌、大肠癌、骨肉瘤、黑色素瘤、人宫颈癌、神经胶质瘤、鼻咽癌、喉癌、食管癌、中耳肿瘤、前列腺癌等肿瘤。

[0105] 在下列实施例中，将更加具体地解释本发明。但应理解，下列实施例旨在说明本发明而不对本发明的范围构成任何限制。

[0106] 以下实施例中所用的化学原料均为商购获得或通过本领域熟知的合成方法制取。

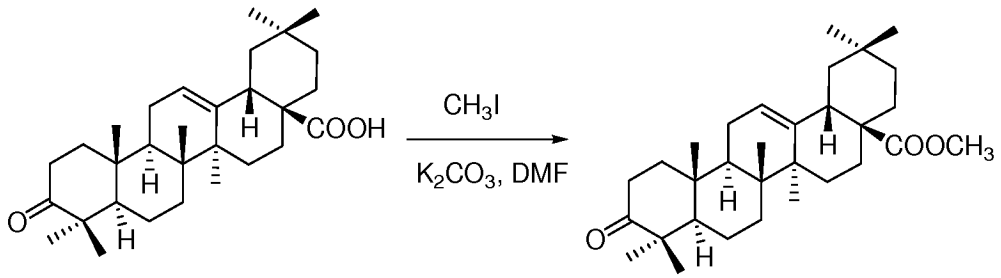
[0107] 实施例1：化合物(BS-OA-067)的合成

[0108] 

Oleanolic acid OA-1

[0109] 式中，PCC：氯铬酸吡啶盐

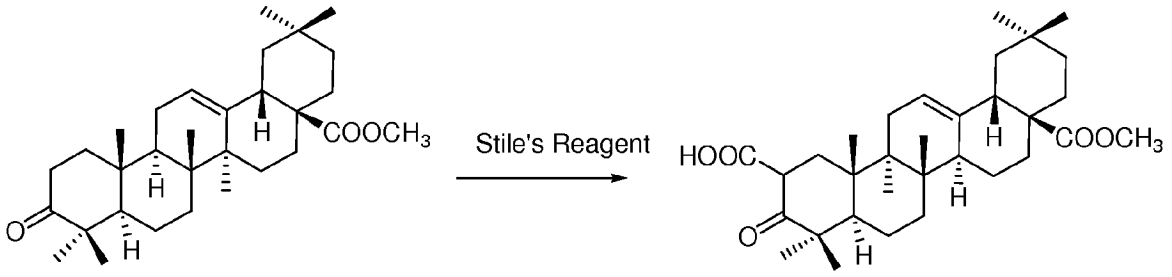
[0110] 向二氯甲烷(1500mL)中加入齐墩果酸(147g，0.32mol)，氯铬酸吡啶盐(81.9g，0.38mol)，反应液室温下搅拌过夜。反应结束后，将反应液过滤，滤液浓缩后得到的粗产品经硅胶柱分离纯化后得到白色固体化合物OA-1(123g，84.66％)。

[0111] 

OA-1 OA-2

[0112] 向N，N-二甲基甲酰胺(800mL)中加入化合物OA-1(63g，0.14mol)，碳酸钾(23.18g，0.168mol)，随后一次性加入碘甲烷(23.86g，0.168mol)，反应液室温下搅拌5小时。反应结束后，将反应液浓缩，向浓缩得到的粗产物中加入水，用二氯甲烷萃取，有机相用无水硫酸钠干燥，有机相浓缩得到的粗产物经硅胶柱分离纯化后得到白色固体化合物OA-2(41.5g，63.34％)。

[0113]

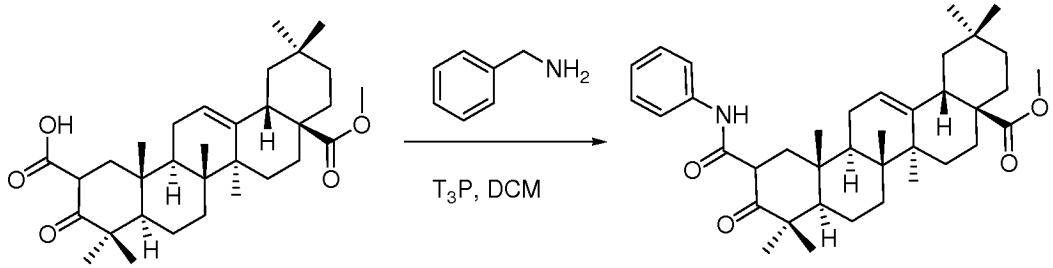


OA-2 OA-4

[0114] 式中,Stile's Reagent(斯迪勒试剂):甲氧基碳酸镁,2M溶于N,N-二甲基甲酰胺

[0115] 在氮气保护下,将化合物OA-2(7.15g,15.28mmol),斯迪勒试剂(73mL)的混合液加热升温至110℃,反应液搅拌1.5小时后,向反应液中注入5%的盐酸,反应液用乙酸乙酯(100mL*3)萃取,有机相经水洗(100mL*3),无水硫酸钠干燥,浓缩后得到白色固体化合物OA-4(4.68g,59.85%)。

[0116]



OA-4 BS-OA-067

[0117] 式中,T_3P:三丙基磷酸酐

[0118] 向二氯甲烷(2mL)中加入化合物OA-4(130mg,0.253mmol),苯甲胺(27mg,0.253mmol),随后加入三丙基磷酸酐(80.4mg,0.253mmol)。反应液在30℃条件下震荡16小时。反应结束后,反应液直接用制备薄层色谱分离纯化得到白色油状化合物BS-OA-067(21.1mg,13.8%)。

[0119] LC-MS:保留时间:2.402min(8.890%,isomer),2.826min(89.645%),m/z:602.4(M+H).

[0120] ^1H NMR($CDCl_3$,400MHz):δ7.375-7.253(m,5H),5.615-5.603(d,J=4.8Hz,1H),5.292(s,1H),4.576-4.525(m,1H),4.450-4.403(m,1H),3.624(s,3H),2.875-2.851(d,J=9.6Hz,1H),2.003-1.950(m,3H),1.874-1.733(m,2H),1.628-1.597(m,5H),1.536-1.450(m,4H),1.351-1.326(m,2H),1.197-1.104(m,13H),1.088-0.951(m,9H),0.915(s,3H).

[0121] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与3,4-二氟苯甲胺反应,制备了BS-OA-003:

[0122] LC-MS:保留时间:2.52min(8.16%,isomer),2.93min(82.50%),m/z:638.3(M+H).

[0123] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$):.δ7.147(m,2H),7.001(s,1H),5.292(t,1H),3.620(s,3H),2.842(m,1H),2.055-1.826(m,4H),1.785(d,1H),1.684-1.594(m,4H),1.536-1.415(m,4H),1.382-1.245(m,3H),1.175-1.097(m,13H),0.950-0.884(m,9H),0.769(s,3H).

[0124] 按照BS-OA-067的方法，使用上述同样的试剂，将化合物OA-4与1-哌啶乙胺反应，制备了BS-OA-004：

[0125] LC-MS：保留时间：1.81min(92.73％)，m/z：623.4(M+H).

[0126] ^{1}H NMR(400MHz，$CDCl_3$)：δ5.360(t，1H)，3.648(s，3H)，3.408(s，2H)，2.927(m，1H)，2.583(m，5H)，2.044-1.958(m，4H)，1.790-1.634(m，11H)，1.555-1.442(m，6H)，1.394-1.297(m，3H)，1.233-1.070(m，12H)，0.956-0.924(m，9H)，0.792(s，3H).

[0127] 按照BS-OA-067的方法，使用上述同样的试剂，将化合物OA-4与1-吡咯烷乙胺反应，制备了BS-OA-005：

[0128] LC-MS：保留时间：1.77min(93.89％)，m/z：609.4(M+H).

[0129] ^{1}H NMR(400MHz，$CDCl_3$)：δ6.106(s，1H)，5.350(t，1H)，3.629(s，3H)，3.517-3.290(m，2H)，2.912-2.869(m，1H)，2.681-2.574(m，6H)，2.074-1.912(m，4H)，1.891-1.611(m，10H)，1.547-1.453(m，3H)，1.428-1.289(m，3H)，1.232-1.050(m，13H)，0.989-0.898(m，9H)，0.776(s，3H).

[0130] 按照BS-OA-067的方法，使用上述同样的试剂，将化合物OA-4与2-甲基丁胺反应，制备了BS-OA-008：

[0131] LC-MS：保留时间：2.71min(50.06％，isomer)，2.98min(44.45％)，m/z：582.3(M+H)，604.3(M+Na).

[0132] ^{1}H NMR(400MHz，$CDCl_3$)：δ5.333(m，1H)，3.620(s，3H)，3.157(m，1H)，2.875(m，1H)，2.577(m，1H)，2.370(m，1H)，1.998-1.839(m，5H)，1.763-1.603(m，7H)，1.476-1.385(m，3H)，1.370-1.296(m，4H)，1.193-1.032(m，15H)，0.945-0.890(m，9H)，0.769(s，3H).

[0133] 按照BS-OA-067的方法，使用上述同样的试剂，将化合物OA-4与异丁胺反应，制备了BS-OA-011：

[0134] LC-MS：保留时间：2.72min(17.02％，isomer)，2.89min(79.56％)，m/z：568.3(M+H)，590.4(M+Na).

[0135] ^{1}H NMR：(400MHz，$CDCl_3$)：δ5.329(t，1H)，3.626(s，3H)，3.314(m，1H)，2.874(m，1H)，2.525-2.314(m，1H)，2.000-1.842(m，4H)，1.743-1.535(m，6H)，1.528-1.387(m，3H)，1.408-1.244(m，3H)，1.198-1.029(m，15H)，0.934-0.891(m，9H)，0.766(s，3H).

[0136] 按照BS-OA-067的方法，使用上述同样的试剂，将化合物OA-4与N，N-二乙基乙二胺反应，制备了BS-OA-012：

[0137] LC-MS：保留时间：1.82min(94.04％)，m/z：611.4(M+H).

[0138] 1H NMR：(400MHz，$CDCl_3$)(.δ6.265(s，1H)，5.382-5.297(m，1H)，3.629(s，3H)，3.326(m，2H)，2.913-2.869(m，1H)，2.560(m，6H)，2.062-1.866(m，4H)，1.745-1.617(m，6H)，1.548-1.424(m，4H)，1.390-1.303(m，3H)，1.215-1.106(m，9H)，1.099-1.021(m，9H)，0.989-0.886(m，9H)，0.786(s，3H).

[0139] 按照BS-OA-067的方法，使用上述同样的试剂，将化合物OA-4与1-吡咯烷丙胺反应，制备了BS-OA-016：

[0140] LC-MS：保留时间：1.79min(93.26％)，m/z：623.4(M+H).

[0141] ^{1}H NMR：(400MHz，$CDCl_3$).：δ7.143(s，1H)，5.320-5.303(m，1H)，3.623(s，3H)，3.567-3.513(m，1H)，3.492-3.302(m，1H)，2.892-2.653(m，7H)，2.140-1.925(m，4H)，

1.820-1.558(m,12H),1.543-1.422(m,3H),1.415-1.265(m,3H),1.223-1.034(m,13H),0.977-0.856(m,9H),0.783(s,3H).

[0142] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与对氟苯甲胺反应,制备了BS-OA-017:

[0143] LC-MS:保留时间:2.40min(7.08%,isomer),2.81min(86.17%),m/z:620.3(M+H),642.3(M+Na).

[0144] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ7.305(t,2H),7.072(t,2H),5.323(m,1H),3.644(s,3H),3.314(m,1H),2.864(m,1H),2.064-1.894(m,3H),1.651-1.637(m,5H),1.545-1.455(m,3H),1.404-1.316(m,3H),1.232-1.072(m,15H),0.970-0.906(m,9H),0.792(s,3H).

[0145] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与3-氟苯甲胺反应,制备了BS-OA-021:

[0146] LC-MS:保留时间:2.40min(7.28%,isomer),2.82min(90.96%),m/z:620.3(M+H),642.3(M+Na).

[0147] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ7.099(d,1H),7.032(m,2H),5.329(m,1H),3.646(s,3H),2.913(m,1H),2.066-1.932(m,3H),1.87(d,1H),1.204-1.125(m,12H),0.979-0.907(m,9H),0.793(s,3H).

[0148] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与2,4-二氟苯甲胺反应,制备了BS-OA-024:

[0149] LC-MS:保留时间:2.43min(5.26%,isomer),2.84min(87.75%),m/z:638.3(M+H).

[0150] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ7.394(m,1H),6.894(m,2H),5.346(m,1H),3.647(s,3H),2.910(m,1H),2.070-1.893(m,3H),1.789(d,1H),1.184-1.111(m,12H),0.963-0.914(m,9H),0.784(s,3H).

[0151] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与2-(3-吡啶基)乙胺反应,制备了BS-OA-027:

[0152] LC-MS:保留时间:1.66min(93.28%),m/z:617.4(M+H),639.2(M+Na).

[0153] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ8.507-8.468(m,2H),7.557(d,J=8Hz,1H),7.278(d,J=8.4Hz,1H),5.445(m,1H),3.627(s,3H),3.539(m,2H),2.873(m,2H),2.034-1.926(m,3H),1.861-1.776(m,2H),1.718-1.534(m,6H),1.500-1.293(m,5H),1.204-1.042(m,12H),0.930-0.899(m,9H),0.768(s,3H).

[0154] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与环丁胺反应,制备了BS-OA-028:

[0155] LC-MS:保留时间:2.72min(17.15%,isomer),2.88min(78.71%),m/z:566.3(M+H),588.3(M+Na).

[0156] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ5.335(m,1H),3.633(s,3H),2.912(m,1H),2.348(m,2H),2.087-1.821(m,5H),1.377-1.299(m,3H),1.154-1.038(m,12H),0.945-0.895(m,9H),0.795(s,3H).

[0157] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与异戊胺反应,制备了BS-OA-031:

[0158] LC-MS:保留时间:2.71min(48.11%,isomer),2.98min(48.67%),m/z:582.4(M+H),604.3(M+Na).

[0159] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ5.329(m,1H),3.626(s,3H),3.314(m,1H),2.874(m,1H),2.525-2.314(m,1H),2.000-1.842(m,4H),1.743-1.535(m,6H),1.528-1.387(m,3H),1.408-1.244(m,3H),1.198-1.029(m,15H),0.934-0.891(m,9H),0.766(s,3H).

[0160] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与2-(2-吡啶基)乙胺反应,制备了BS-OA-032:

[0161] LC-MS:保留时间:1.80min(91.55%),m/z:617.4(M+H),639.3(M+Na).

[0162] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ8.538(m,1H),7.697(m,1H),7.244(m,2H),6.967(m,1H),5.399(m,1H),3.748-3.656(m,5H),3.032(m,2H),2.926(m,1H),2.066-1.956(m,4H),1.783-1.636(m,3H),1.601-1.474(m,7H),1.434-1.323(m,3H),1.280-1.045(m,12H),0.969-0.936(m,9H),0.797(s,3H).

[0163] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与对氟苯乙胺反应,制备了BS-OA-033:

[0164] LC-MS:保留时间:2.85min(91.30%),m/z:634.3(M+H).

[0165] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ7.164(m,2H),7.026(m,2H),3.632(s,3H),2.910-2.799(m,3H),2.035(m,2H),1.502-1.446(m,2H),1.376-1.308(m,3H),1.163-1.089(m,12H),0.939-0.904(m,9H),0.772(s,3H).

[0166] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与环丙胺反应,制备了BS-OA-034:

[0167] LC-MS:保留时间:2.73min(94.54%),m/z:552.3(M+H),574.3(M+Na).

[0168] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ5.445(m,1H),3.626(s,3H),2.891(m,1H),2.699(m,1H),2.061-1.855(m,4H),1.715-1.680(m,2H),1.642-1.541(m,5H),1.504-1.443(m,3H),1.405-1.291(m,3H),1.247-1.047(m,12H),0.929-0.894(m,9H),0.811-0.721(m,5H),0.524(m,2H).

[0169] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与N,N-二乙基丙二胺反应,制备了BS-OA-035:

[0170] LC-MS:保留时间:1.79min(93.86%),m/z:625.4(M+H).

[0171] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ7.480(s,1H),5.333-5.314(m,1H),3.650(s,3H),3.453-3.404(m,2H),2.921-2.887(m,1H),2.635-2.561(m,6H),2.085-1.916(m,4H),1.744-1.633(m,8H),1.565-1.473(m,4H),1.402-1.367(m,3H),1.182-1.151(m,9H),1.103(m,9H),0.958-0.930(m,9H),0.794(s,3H).

[0172] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与4-吗啉丙胺反应,制备了BS-OA-037:

[0173] LC-MS:保留时间:1.66min(93.32%),m/z:639.4(M+H).

[0174] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$).:δ5.320(m,1H),3.724(s,4H),3.619(d,3H),3.312(m,2H),2.887(m,1H),2.450(m,6H),2.080-1.897(m,4H),1.765-1.603(m,8H),1.535-1.409(m,4H),1.355-1.291(m,3H),1.199-1.060(m,12H),0.940-0.893(m,9H),0.776(s,3H).

[0175] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与3-乙氧基丙胺反

应,制备了BS-OA-038:

[0176] LC-MS:保留时间:2.85min(95.85%),m/z:598.4(M+H).

[0177] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ5.321(m,1H),3.648(s,3H),2.907(m,1H),2.086-1.950(m,4H),1.868-1.807(m,2H),1.442-1.320(m,3H),1.182-1.105(m,12H),0.963-0.921(m,9H),0.798(s,3H).

[0178] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与N,N-二甲基丙二胺反应,制备了BS-OA-042:

[0179] LC-MS:保留时间:1.59min(93.40%),m/z:597.4(M+H).

[0180] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$).:δ7.697(s,1H),5.355-5.337(m,1H),3.651(s,3H),3.465-3.385(m,2H),2.928-2.884(m,1H),2.511-2.487(m,2H),2.306(s,6H),2.063-1.958(m,4H),1.720-1.636(m,8H),1.561-1.352(m,6H),1.183-1.104(m,13H),0.960-0.929(m,9H),0.799(s,3H).

[0181] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与3-氟苯乙胺反应,制备了BS-OA-044:

[0182] LC-MS:保留时间:2.86min(90.22%),m/z:634.3(M+H).

[0183] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ7.325(m,1H),6.994(m,2H),5.355(m,1H),3.673(s,3H),2.877(m,3H),1.440-1.315(m,3H),1.184-1.111(m,12H),0.955-0.922(m,9H),0.790(s,3H).

[0184] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与苯氧乙胺反应,制备了BS-OA-046:

[0185] LC-MS:保留时间:2.87min(92.87%),m/z 632.5(M+H).

[0186] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ7.326(m,2H),7.004-6.908(m,3H),5.336(m,1H),3.642(s,3H),2.906(m,1H),2.080-1.888(m,3H),1.766-1.605(m,6H),1.570-1.297(m,8H),1.165-1.092(m,11H),0.937-0.903(m,9H),0.777(s,3H).

[0187] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与环丙基甲胺反应,制备了BS-OA-048:

[0188] LC-MS:保留时间:2.83min(95.18%),m/z:566.4(M+H).

[0189] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ5.236(m,1H),3.445(s,3H),3.046(m,2H),2.682(m,1H),1.900-1.707(m,3H),1.603(d,1H),1.502-1.382(m,4H),1.330-1.225(m,3H),1.189-1.108(m,3H),1.978-1.902(m,12H),0.768-0.710(m,9H),0.599(s,3H).

[0190] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与甲氧基丙胺反应,制备了BS-OA-052:

[0191] LC-MS:保留时间:2.76min(96.04%),m/z:584.4(M+H),606.3(M+Na).

[0192] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$).:δ5.318(m,1H),3.627(s,3H),3.523(m,2H),3.418-3.361(m,5H),2.891(m,1H),2.075-2.001(m,1H),1.965-1.875(m,2H),1.807(m,2H),1.728-1.682(m,2H),1.644-1.542(m,4H),1.503-1.417(m,3H),1.341(m,2H),1.203-1.081(m,12H),0.941-0.898(m,9H),0.771(s,3H).

[0193] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与乙氧基乙胺反应,制备了BS-OA-053:

[0194] LC-MS:保留时间:2.77min(94.49%),m/z:584.4(M+H),606.2(M+Na).

[0195] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):.δ5.347(m,1H),3.633(s,3H),3.553-3.454(m,6H),2.068-1.863(m,4H),1.774-1.595(m,6H),1.549-1.270(m,7H),1.239-1.091(m,15H),0.946-0.905(m,9H),0.778(s,3H).

[0196] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与甲氧基乙胺反应,制备了BS-OA-054:

[0197] LC-MS:保留时间:2.78min(90.27%),m/z:570.3(M+H).

[0198] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ5.340(m,1H),3.628(s,3H),3.583-3.357(m,7H),2.899(m,1H),2.073-1.920(m,4H),1.544-1.467(m,3H),1.414-1.306(m,2H),1.200-1.085(m,12H),0.941-0.899(m,9H),0.777(s,3H).

[0199] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与2-异丙氧基乙胺反应,制备了BS-OA-058:

[0200] LC-MS:保留时间:2.86min(94.21%),m/z:598.4(M+H).

[0201] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ5.358(m,1H),3.649(s,3H),2.908(m,1H),2.083-1.878(m,4H),1.671-1.632(m,3H),1.417-1.320(m,3H),1.197-1.166(m,15H),1.109(s,3H),0.962-0.925(m,9H),0.793(s,3H).

[0202] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与4-吗啉乙胺反应,制备了BS-OA-059:

[0203] LC-MS:保留时间:3.49min(90.18%),m/z:625.4(M+H).

[0204] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ5.365(m,1H),3.751(m,4H),3.647(s,3H),3.422(m,2H),2.934(m,1H),2.529(m,6H),2.101-1.885(m,4H),1.785-1.599(m,7H),1.565-1.442(m,3H),1.408-1.324(m,3H),1.224-1.087(m,12H),0.960-0.927(m,9H),0.794(s,3H).

[0205] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与2-氟苯乙胺反应,制备了BS-OA-062:

[0206] LC-MS:保留时间:2.87min(92.70%),m/z:634.3(M+H).

[0207] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ7.241(m,2H),7.016(m,2H),5.335(m,1H),3.630(s,3H),2.891(m,3H),2.040-1.929(m,2H),1.858(d,2H),1.722-1.571(m,7H),1.501-1.442(m,3H),1.390-1.341(m,3H),1.154-1.080(m,12H),0.935-0.903(m,9H),0.770(s,3H).

[0208] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与异丙胺反应,制备了BS-OA-064:

[0209] LC-MS:保留时间:2.72min(11.31%,isomer),2.83min(82.65%),m/z:554.4(M+H),576.3(M+Na).

[0210] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ5.335(m,1H),3.624(s,3H),2.894(m,1H),2.009-1.900(m,4H),1.739-1.611(m,6H),1.540-1.462(m,4H),1.373-1.327(m,3H),1.175-1.035(m,18H),0.945-0.892(m,9H),0.778(s,3H).

[0211] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与丙胺反应,制备了BS-OA-068:

[0212] LC-MS:保留时间:2.82min(94.76%),m/z:554.4(M+H).

[0213] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ5.364(m,1H),3.635(s,3H),2.868(m,1H),2.082-1.886

(m,3H),1.768-1.656(m,6H),1.383-1.335(m,3H),1.168-1.091(m,11H),0.960-0.902(m,11H),0.785(s,3H).

[0214] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与3-戊胺反应,制备了BS-OA-070:

[0215] LC-MS:2.72min(25.86%,isomer),2.95min(70.07%),m/z:582.4(M+H),604.3(M+Na).

[0216] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ5.343(m,1H),3.625(s,3H),3.475(m,1H),2.879(m,1H),2.001-1.876(m,4H),1.238-1.031(m,14H),0.952-0.893(m,9H),0.766(s,3H).

[0217] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与1-甲氧基-2-丙胺反应,制备了BS-OA-075:

[0218] LC-MS:保留时间:4.14min(13.50%,isomer),4.62min(86.00%),m/z:584.4(M+H).

[0219] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ5.347(m,1H),3.630(s,3H),3.372(m,5H),2.870(m,1H),2.075-1.916(m,4H),1.547-1.451(m,3H),1.411-1.325(m,3H),1.204-1.083(m,12H),0.943-0.895(m,9H),0.779(s,3H).

[0220] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与1-(3-氨丙基)-4-甲基哌嗪反应,制备了BS-OA-078:

[0221] LC-MS:保留时间:2.30min(90.63%),m/z:652.5(M+H).

[0222] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$).:δ6.447-6.443(m,1H),5.328-5.295(m,1H),3.630(s,3H),3.565-3.517(m,1H),3.271-3.236(m,1H),2.907-2.863(m,1H),2.592-2.400(m,7H),2.271(s,4H),2.069-1.923(m,4H),1.767-1.589(m,8H),1.545-1.408(m,4H),1.365-1.297(m,3H),1.207-1.043(m,14H),0.946(s,3H),0.919(s,3H),0.878(s,3H),0.795(s,3H).

[0223] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与呋喃-2-甲胺反应,制备了BS-OA-082:

[0224] LC-MS:保留时间:2.72min(91.18%),m/z:592.3(M+H),614.3(M+Na).

[0225] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ7.401(m,1H),6.362-6.268(m,2H),5.350(m,1H),3.648(s,3H),2.921(m,1H),2.059-1.920(m,3H),1.541-1.471(m,3H),1.407-1.349(m,3H),1.185-1.112(m,12H),0.963-0.916(m,9H),0.795(s,3H).

[0226] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与5-甲基糠胺反应,制备了BS-OA-085:

[0227] LC-MS:保留时间:2.80min(90.36%),m/z:606.4(M+H).

[0228] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ6.122(s,1H),5.906(s,1H),5.322(s,1H),3.629(s,3H),2.891(m,1H),2.285(s,3H),2.064-1.873(m,4H),1.765(d,1H),1.502-1.448(m,3H),1.410-1.327(m,3H),1.161-1.054(m,14H),0.941-0.895(m,9H),0.773(s,3H).

[0229] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与3-甲氧基苯胺反应,制备了BS-OA-086:

[0230] LC-MS:保留时间:4.40min(28.43%,isomer),4.86min(66.82%),m/z:618.5(M+H).

[0231] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ7.219(m,1H),6.971(m,2H),6.708(m,1H),5.390(m,

1H),3.829(s,3H),3.658(s,3H),2.936(m,1H),2.183(d,1H),1.732-1.642(m,5H),1.595-1.500(m,4H),1.464-1.362(m,3H),1.219-1.131(m,12H),0.960-0.927(m,9H),0.823(s,3H).

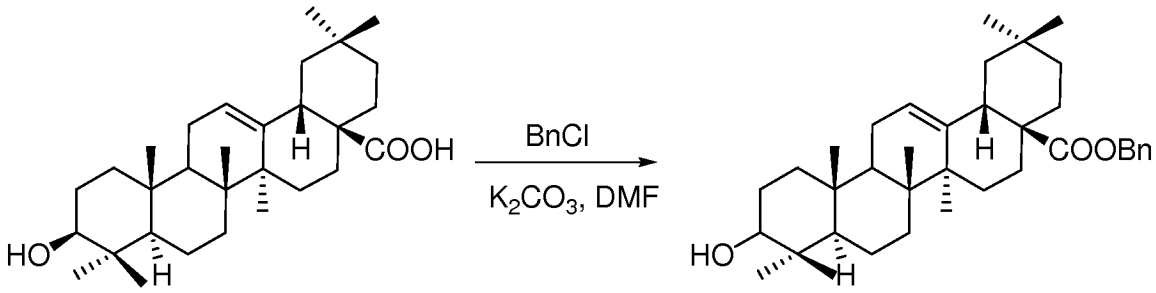
[0232] 按照BS-OA-067的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-4与2-噻吩乙胺反应,制备了BS-OA-088:

[0233] LC-MS:保留时间:2.85min(91.50%),m/z:622.4(M+H).

[0234] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ7.190(dd,J=5.2Hz,1H),6.974(dd,J=5.2Hz,1H),6.841(m,1H),5.311(m,1H),3.628(s,3H),2.862(m,1H),2.031-1.929(m,2H),1.849(d,1H),1.733-1.590(m,8H),1.500-1.445(m,3H),1.410-1.331(m,3H),1.163-1.088(m,12H),0.935-0.903(m,9H),0.769(s,3H).

[0235] 实施例2:化合物(BS-OA-105)的合成

[0236]

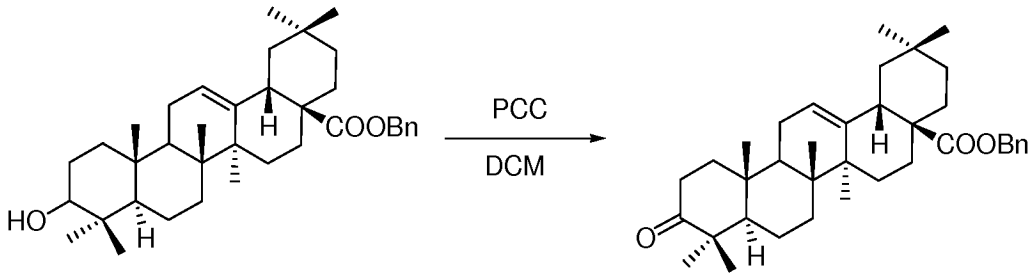


Oleanolic acid OA-6

[0237] 式中,BnCl:氯苄

[0238] 向N,N-二甲基甲酰胺(300mL)中加入齐墩果酸(20g,43.8mmol),碳酸钾(6.7g,48.2mmol),随后一次性加入氯苯(6.1g,48.2mmol),反应液加热升温至100℃,搅拌过夜。反应结束后,将溶剂旋干后加入水(100mL),用二氯甲烷(200mL*3)萃取,合并有机相,经无水硫酸钠干燥,旋干后得到固体粗产物OA-6(21.5g,90%)。

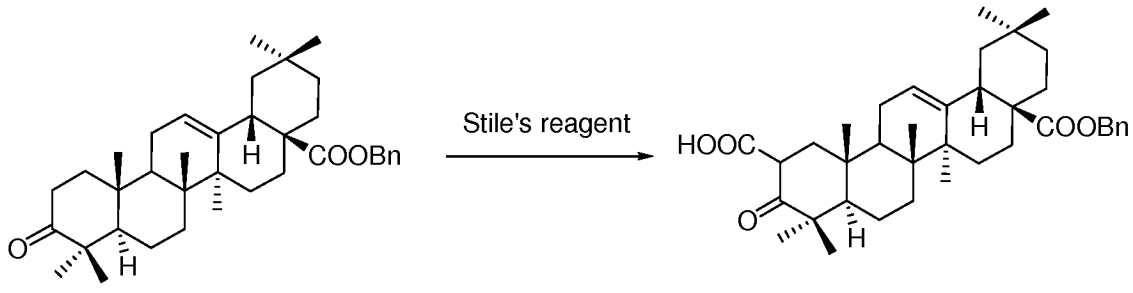
[0239]



OA-6 OA-7

[0240] 向二氯甲烷(500mL)中加入OA-6(21.5g,39.38mmol),氯铬酸吡啶盐(10.18g,47.25mol),反应室温搅拌过夜。反应接受,将反应液过滤,得到的滤液旋干得到的粗产品经硅胶柱石油醚:乙酸乙酯:二氯甲烷(100:1:1～20:1:1～10:1:1)分离纯化后得到白色固体化合物OA-7(17g,79.36%)。

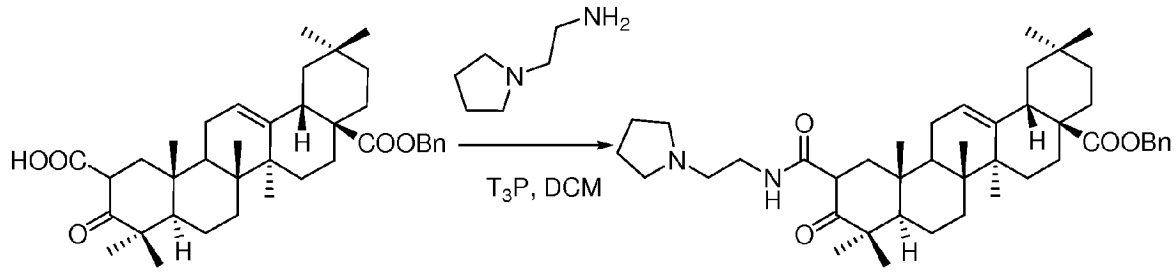
[0241]



OA-7 OA-8

[0242] 在氮气保护下，将化合物OA-7(15g,27.57mmol)，斯迪勒试剂(117.18mL)的混合液加热升温至110℃，反应液搅拌1.5小时后，向反应液中注入5%的盐酸，反应液用乙酸乙酯(500mL*3)萃取，有机相经无水硫酸钠干燥，浓缩后得到的粗产品经硅胶柱石油醚:乙酸乙酯(1:0～100:1～80:1)分离纯化后得到白色固体化合物OA-8(12g,74.02%)。

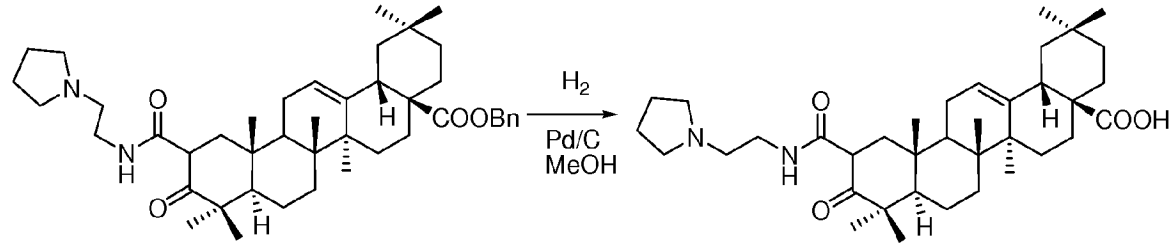
[0243]



OA-8 BS-OA-105-Bn

[0244] 向二氯甲烷(10mL)中加入化合物OA-8(1000mg,1.70mmol)，吡咯烷乙胺(194mg,1.70mmol)，随后加入三丙基磷酸酐(80.4mg,0.253mmol)。反应液在30℃条件下震荡16小时。反应结束后，将反应液浓缩，得到的油状化合物经硅胶柱石油醚:乙酸乙酯10:1～1:1分离纯化后得到黄色固体化合物BS-OA-105-Bn(400mg,34.42%)。

[0245]



BS-OA-105-Bn BS-OA-105

[0246] 将化合物BS-OA-105-Bn(400mg,0.58mmol)溶于甲醇(20mL)中，加入Pd/C(80mg,cat.)，在氢气(1atm)条件下，控制反应温度为30℃，搅拌反应2小时，反应结束后，将反应液过滤，得到的滤液旋转浓缩后得到的粗产品经制备薄层色谱分离纯化后得到白色固体化合物BS-OA-105(36.7mg,10.6%)。

[0247] LC-MS:保留时间:2.92min(99.23%)，m/z:595.4(M+H).

[0248] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ11.467-11.396(m,1H),7.094(m,1H),5.321-5.300(m,

1H),3.622-3.574(m,1H),3.456-3.409(m,1H),2.940-2.897(m,7H),2.121-2.014(m,3H),1.981-1.869(m,5H),1.819-1.705(m,3H),1.670-1.592(m,3H),1.532-1.458(m,3H),1.395-1.330(m,3H),1.163-1.073(m,13H),0.982(m,9H),0.917(s,3H).

[0249] 按照BS-OA-105的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-8与N,N-二乙基乙二胺反应,制备了BS-OA-106:

[0250] LC-MS:保留时间:2.96min(98.54%),m/z:597.4(M+H).

[0251] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):.δ6.647(m,1H),5.242(m,1H),3.428-3.347(m,2H),2.844-2.658(m,7H),2.000-1.939(m,3H),1.880-1.650(m,4H),1.617-1.551(m,3H),1.469-1.393(m,3H),1.333-1.264(m,4H),1.095-1.010(m,18H),0.907-0.854(m,9H),0.848(s,3H).

[0252] 按照BS-OA-105的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-8与1-吡咯烷丙胺反应,制备了BS-OA-107:

[0253] LC-MS:保留时间:2.97min(100.0%),m/z:609.4(M+H)..

[0254] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ7.614(m,1H),5.213(m,1H),3.249-3.202(m,1H),3.187-3.072(m,1H),2.785-2.751(m,1H),2.528-2.508(m,2H),2.434-2.400(m,4H),2.080-2.022(m,2H),1.917-1.874(m,2H),1.673-1.544(m,10H),1.494-1.420(m,4H),1.332-1.278(m,3H),1.099-0.977(m,13H),0.868-0.842(m,9H),0.786(s,3H).

[0255] 按照BS-OA-105的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-8与N,N-二乙基丙二胺反应,制备了BS-OA-108:

[0256] LC-MS:保留时间:2.98min(99.52%),m/z:611.4(M+H).

[0257] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ6.982(m,1H),5.297(m,1H),3.419-3.312(m,2H),2.895-2.730(m,7H),2.066-1.904(m,4H),1.871-1.737(m,6H),1.688-1.579(m,3H),1.520-1.462(m,3H),1.389-1.350(m,3H),1.160-1.075(m,19H),0.964-0.912(m,9H),0.820(s,3H).

[0258] 按照BS-OA-105的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-8与N,N-二甲基丙二胺反应,制备了BS-OA-109:

[0259] LC-MS:保留时间:2.87min(99.20%),m/z:583.4(M+H).

[0260] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ8.407-8.240(m,1H),6.867(m,1H),5.263-5.231(m,1H),3.318-3.233(m,3H),2.833-2.803(m,1H),2.594-2.513(m,2H),2.447-2.335(m,6H),1.958-1.870(m,4H),1.837-1.669(m,5H),1.624-1.561(m,3H),1.533-1.487(m,3H),1.456-1.295(m,3H),1.095-1.014(m,13H),0.894-0.862(m,9H),0.765(s,3H).

[0261] 按照BS-OA-105的方法,使用上述同样的试剂,将化合物OA-8与1-(3-氨丙基)-4-甲基哌嗪反应,制备了BS-OA-110:

[0262] LC-MS:保留时间:2.89min(98.04%),m/z:638.5(M+H).

[0263] ^{1}H NMR:(400MHz,$CDCl_3$):δ9.023-8.885(m,1H),6.242(m,1H),5.319(m,1H),3.469-3.434(m,1H),3.264-3.237(m,1H),2.883-2.858(m,1H),2.591-2.494(m,9H),2.011-1.898(m,4H),1.758-1.727(m,5H),1.661-1.532(m,4H),1.493-1.466(m,3H),1.365-1.306(m,3H),1.158-1.074(m,13H),0.927-0.887(m,9H),0.833(s,3H).

[0264] 实施例3:本发明的2-位取代的齐墩果酸衍生物抗白血病的活性测定

[0265] (1)实验材料

[0266] 白血病细胞株:白血病细胞株:K562/adr(耐药慢性髓系白血病,CML)、NB4(急性早幼粒细胞白血病,AML)、Kasumi-1(急性髓系白血病M2型,AML-M2)、Jurkat(急性淋巴细胞白血病,ALL),以上细胞系均受赠于浙江大学肿瘤研究所;H9(急性淋巴细胞白血病,ALL),购自中国典型培养物保藏中心。

[0267] 试剂:齐墩果酸(OA)标准品购自四川省什邡市华康药物原料厂,本发明的2-位取代的齐墩果酸衍生物。

[0268] 主要仪器:细胞培养箱(型号:Thermo Scientific 3111),酶标仪(型号:Bio-Rad iMark)。

[0269] (2)实验方法

[0270] 取生长良好的白血病细胞6000个,接种到96孔细胞培养板孔内。培养液为含10%胎牛血清的1640细胞培养液。加入不同浓度的2-位取代的齐墩果酸衍生物,混匀后,置于二氧化碳(5%CO_2)细胞培养箱37℃培养72小时。然后用MTT法测定活细胞相对数。在本实验中对照组(不加化合物处理)细胞增殖抑制率设为0%,根据活细胞相对数计算出72小时白血病细胞半数生长抑制浓度(72小时IC_{50}值,μg/mL)和16μg/mL化合物72小时作用的白血病细胞增殖抑制率(Inhibition Rate)IR。

[0271] (3)实验结果

[0272] 实验结果见表1。

[0273] 表1显示本发明的2-位取代的齐墩果酸衍生物能诱导人慢性髓系白血病、急性髓系白血病和急性淋巴细胞白血病细胞死亡和抑制这些白血病细胞生长,与齐墩果酸本身相比,其中本发明2-位取代的齐墩果酸衍生物BS-OA-005,BS-OA-012,BS-OA-016,BS-OA-035,BS-OA-042,BS-OA-078对K562/adr细胞株抑制率提高3倍以上,对Jurkat细胞株抑制率提高10倍以上;BS-OA-005,BS-OA-012,BS-OA-016,BS-OA-035对Kasumi-1细胞株抑制率提高5倍以上;BS-OA-004,BS-OA-005,BS-OA-012,BS-OA-016,BS-OA-035,BS-OA-042对NB4细胞株抑制率提高5倍以上;BS-OA-016,BS-OA-035对H9细胞株抑制率提高4倍以上。

[0274] 表1:2-位取代的齐墩果酸衍生物对白血病细胞生长抑制浓度测定(72小时,IC_{50}值和IR值,μg/mL)

[0275]

	K562/adr		Kasumi-1		NB4	
化合物	IC_{50}	IR	IC_{50}	IR	IC_{50}	IR

[0276]

OA	>16	26.5%	>16	17.2%	>16	17.2%
BS-OA-004	2.41	98.3%	6.5	99.6%	2.84	100.0%
BS-OA-005	1.16	100.0%	3.98	99.8%	2.73	100.0%
BS-OA-008	8	70.1%	>16	6.7%	>16	6.3%
BS-OA-012	1.09	99.0%	3.18	99.3%	2.79	99.2%
BS-OA-016	0.52	97.8%	3.76	99.1%	2.94	99.8%
BS-OA-027	3.7	82.6%	12.39	72.2%	4.57	93.8%
BS-OA-031	12.05	62.2%	>16	10.0%	>16	-0.9%
BS-OA-032	12.88	63.7%	16	48.6%	9.82	85.2%
BS-OA-034	>16	25.3%	>16	22.6%	>16	22.3%
BS-OA-035	0.68	99.6%	3.95	97.0%	2.96	99.8%
BS-OA-037	1.57	97.6%	13.47	63.7%	4.59	97.6%
BS-OA-042	0.64	98.4%	4.1	99.1%	2.63	100.0%
BS-OA-048	>16	21.4%	>16	0.2%	>16	11.0%
BS-OA-052	12.29	64.0%	>16	19.0%	16	46.7%
BS-OA-053	10.75	60.9%	>16	23.2%	10.69	71.3%
BS-OA-059	8.87	80.5%	16	48.7%	9.74	86.7%
BS-OA-078	0.89	99.1%	5.67	97.9%	4.59	100.0%
BS-OA-105	6.52	85.0%	>16	36.6%	10.59	74.7%
BS-OA-106	4.12	98.2%	>16	43.0%	7.32	86.6%
BS-OA-108	4.83	96.1%	10.16	74.5%	6.86	92.4%
BS-OA-109	6.8	86.2%	>16	36.2%	10.77	76.6%
BS-OA-110	8.79	81.9%	>16	41.7%	8.95	78.8%

[0277] 表1(续)

[0278]

	H9		Jurkat	
化合物	IC_{50}	IR	IC_{50}	IR
OA	>16	22.8%	>16	9.4%
BS-OA-004	5.67	98.2%	6.15	97.7%
BS-OA-005	3.16	96.2%	2.33	98.1%
BS-OA-008	>16	39.8%	>16	-33.8%
BS-OA-012	3.05	95.0%	2.26	97.0%
BS-OA-016	2.96	95.4%	2.38	95.1%
BS-OA-027	7.72	92.5%	9.85	83.4%
BS-OA-031	>16	31.9%	>16	-28.5%
BS-OA-032	13.6	62.3%	10.84	75.4%
BS-OA-034	>16	22.1%	>16	-19.6%

[0279]

BS-OA-035	2.67	97.5%	1.67	96.6%
BS-OA-037	8.73	95.8%	11.46	80.4%
BS-OA-042	3.12	95.9%	2.43	99.0%
BS-OA-048	>16	28.9%	>16	-21.2%
BS-OA-052	>16	38.0%	>16	-5.0%
BS-OA-053	15.53	54.6%	>16	13.0%
BS-OA-059	12.73	67.7%	>16	23.8%
BS-OA-078	4.33	97.5%	2.5	98.3%
BS-OA-105	>16	31.5%	>16	37.5%
BS-OA-106	>16	44.6%	>16	43.2%
BS-OA-108	15.3	57.7%	12.61	66.5%
BS-OA-109	>16	39.4%	>16	32.3%
BS-OA-110	>16	37.9%	18.36	45.5%

[0280] 实施例4:本发明的2-位取代的齐墩果酸衍生物抗人多发性骨髓瘤细胞活性测定

[0281] (1)实验材料

[0282] 骨髓瘤细胞株:RPMI8226(多发性骨髓瘤),购自上海复祥生物科技有限公司。

[0283] 试剂:同实施例3.

[0284] 主要仪器:细胞培养箱(型号:Thermo Scientific 3111),酶标仪(型号:Bio-Rad iMark)。

[0285] (2)实验方法

[0286] 取生长良好的上述肿瘤细胞6000个,接种到96孔细胞培养板孔内。培养液为含10%胎牛血清的1640细胞培养液。加入不同浓度的2-位取代的齐墩果酸衍生物,混匀后,置于二氧化碳(5%CO_2)细胞培养箱37℃培养72小时。然后用MTT法测定活细胞相对数。在本实

验中对照组(不加化合物处理)细胞增殖抑制率设为0%,根据活细胞相对数计算出72小时白血病细胞半数生长抑制浓度(72小时IC_{50}值,μg/mL)和16μg/mL化合物72小时作用的骨髓瘤细胞增殖抑制率(Inhibition Rate)IR。

[0287] (3)实验结果:见表2。

[0288] 表2显示本发明的2-位取代的齐墩果酸衍生物能诱导人骨髓瘤细胞死亡和抑制这些肿瘤细胞生长。与齐墩果酸本身相比,其中本发明2-位取代的齐墩果酸衍生物BS-OA-005,BS-OA-012,BS-OA-035,BS-OA-042,BS-OA-078对RPMI8226细胞株抑制率提高44倍以上。

[0289] 实施例5:本发明的2-位取代的齐墩果酸衍生物抗人实体瘤作用测定

[0290] (1)实验材料

[0291] 人实体瘤细胞株:

[0292] Hep-2(喉癌)、A549(人肺癌)、CaES-17(食道癌细胞)、PC-3(前列腺癌)、CNE(鼻咽癌细胞)、SK-OV-3(卵巢癌细胞),均购自中国典型培养物保藏中心;RKO(人结肠腺癌细胞)、MGC 803(人胃癌细胞)、MG63(骨肉瘤)、U87MG(恶性脑胶质瘤细胞),均购自上海复祥生物科技有限公司;PANC-1(胰腺癌)、Hep G2(人肝癌细胞)、Becap37(人乳腺癌细胞)、Hela(人宫颈癌细胞),均受赠于浙江大学肿瘤研究所。

[0293] 试剂:同实施例4.

[0294] 主要仪器:细胞培养箱(型号:Thermo Scientific 3111),酶标仪(型号:Bio-Rad iMark)。

[0295] (2)实验方法

[0296] 取生长良好的人实体瘤细胞4000个,接种到96孔细胞培养板孔内。培养液为含10%胎牛血清的DMEM高糖细胞培养液。置于二氧化碳(5%CO_2)细胞培养箱37℃培养24小时,然后,加入不同浓度的2-位取代的齐墩果酸衍生物,混匀后,继续置二氧化碳(5%CO_2)细胞培养箱37℃培养72小时。然后用MTT法测定活细胞相对数。在本实验中对照组(不加化合物处理)细胞增殖抑制率设为0%,根据活细胞相对数计算出72小时白血病细胞半数生长抑制浓度(72小时IC_{50}值,μg/mL)和16μg/mL化合物72小时作用的实体瘤细胞增殖抑制率(Inhibition Rate)IR。

[0297] (3)实验结果见表2。

[0298] 表2显示本发明的2-位取代的齐墩果酸衍生物能诱导人实体瘤细胞死亡和抑制这些肿瘤细胞生长。与齐墩果酸相比,本发明的2-位取代的齐墩果酸衍生物BS-OA-005,BS-OA-016,BS-OA-035和BS-OA-042对A549及RKO细胞株抑制率分别提高19倍,6倍以上;BS-OA-005,BS-OA-012,BS-OA-016和BS-OA-035对PANC-1细胞株抑制率提高11倍以上;BS-OA-012和BS-OA-042对Becap37细胞株抑制率提高4倍以上;BS-OA-005,BS-OA-012,BS-OA-035和BS-OA-042对MG-63及CNE细胞株抑制率分别提高3倍,2倍以上;BS-OA-016,BS-OA-035和BS-OA-042对Hela细胞株抑制率提高4倍以上;BS-OA-005,BS-OA-012,BS-OA-016,BS-OA-035和BS-OA-042对U87MG、PC-3、MGC 803及Hep-2细胞株抑制率分别提高4倍、3倍、5倍和9倍以上;BS-OA-012,BS-OA-035和BS-OA-042对CaES-17及SK-OV-3细胞株抑制率分别提高3倍,11倍以上;对于Hep G2细胞株,齐墩果酸本身未显示对此细胞株有明显的增殖抑制作用,而本发明的齐墩果酸衍生物均显示了较好的细胞增殖抑制作用,其中BS-OA-005,BS-OA-012,BS-

OA-016,BS-OA-035和BS-OA-042尤为明显,抑制率均达96%以上。

[0299] 表2:2-位取代的齐墩果酸衍生物对多发性骨髓瘤和人实体瘤细胞生长抑制浓度测定(72小时,IC_{50}值和IR值,μg/mL)。

[0300]

	RPMI8226		A549		PANC-1	
化合物	IC_{50}	IR	IC_{50}	IR	IC_{50}	IR
OA	>16	2.2%	>16	5.0%	>16	8.5%
BS-OA-004	2.08	98.3%	7.7	92.0%	8.77	94.1%
BS-OA-005	0.69	99.2%	2.19	96.8%	4.54	97.8%
BS-OA-008	>16	30.0%	>16	3.4%	>16	-4.6%
BS-OA-012	0.74	99.0%	2.83	97.4%	4.73	100.0%
BS-OA-016	1.15	99.0%	2.45	96.8%	4.38	98.5%
BS-OA-027	6.1	86.5%	>16	45.6%	>16	36.9%
BS-OA-031	>16	4.4%	>16	-6.3%	>16	-1.4%
BS-OA-032	>16	30.3%	>16	-6.6%	>16	14.5%
BS-OA-034	>16	15.5%	>16	5.3%	>16	-9.9%

[0301]

BS-OA-035	0.61	99.1%	2.02	97.3%	4.89	99.8%
BS-OA-037	2.43	99.1%	10.4	82.0%	>16	11.3%
BS-OA-042	0.68	98.9%	2.06	96.9%	5.02	99.4%
BS-OA-048	>16	4.9%	>16	-3.8%	>16	-17.8%
BS-OA-052	>16	25.2%	>16	3.1%	>16	8.4%
BS-OA-053	>16	29.5%	>16	2.0%	>16	-3.3%
BS-OA-059	7.18	96.6%	>16	11.8%	>16	10.4%
BS-OA-078	0.74	99.1%	3.58	97.6%	9.69	100.0%
BS-OA-105	10.54	81.8%	>16	24.0%	>16	16.9%
BS-OA-106	12.25	68.3%	>16	31.5%	>16	16.9%
BS-OA-108	6.4	97.3%	>16	27.5%	>16	21.6%
BS-OA-109	6.21	96.0%	>16	7.5%	>16	12.9%
BS-OA-110	8.58	96.7%	>16	4.0%	>16	13.1%

[0302] 表2(续)

[0303]

	Becap37		MG-63		Hep G2		RKO	
化合物	IC_{50}	IR	IC_{50}	IR	IC_{50}	IR	IC_{50}	IR
OA	>16	23.4%	>16	29.2%	>16	-18.5%	>16	14.3%
BS-OA-004	>16	43.9%	8.37	99.0%	4.89	100.0%	7.4	98.9%
BS-OA-005	5.68	98.6%	2.31	99.7%	2.53	99.7%	3.19	98.7%
BS-OA-008	>16	2.3%	>16	-12.1%	>16	8.1%	>16	-18.6%
BS-OA-012	4.42	98.4%	2.2	100.0%	2.36	99.9%	2	97.6%
BS-OA-016	5.12	99.5%	4.35	100.0%	2.58	96.9%	3.33	99.4%
BS-OA-027	>16	34.3%	>16	25.4%	15.59	51.4%	16	46.8%
BS-OA-031	>16	-5.8%	>16	-1.3%	>16	6.7%	>16	-12.1%
BS-OA-032	>16	4.1%	>16	4.7%	>16	23.7%	>16	-5.3%
BS-OA-034	>16	-6.7%	>16	-5.4%	>16	8.9%	>16	-41.0%
BS-OA-	5.2	98.6%	1.62	100.0%	1.94	97.9%	2.39	97.2%

[0304]

035								
BS-OA-037	>16	8.4%	12.46	64.6%	8.68	95.7%	14.38	62.6%
BS-OA-042	4.32	98.7%	2.72	98.2%	2.36	99.8%	3.29	100.0%
BS-OA-048	>16	-8.4%	>16	-20.3%	>16	7.4%	>16	-33.4%
BS-OA-052	>16	-12.0%	>16	-33.5%	>16	10.0%	>16	-48.6%
BS-OA-053	>16	-10.2%	>16	-32.5%	>16	6.8%	>16	-55.6%
BS-OA-059	>16	4.7%	>16	27.0%	>16	0.6%	>16	1.8%
BS-OA-078	6.23	98.1%	5.7	100.0%	4.77	99.7%	3.91	97.5%
BS-OA-105	>16	43.7%	12.57	54.6%	>16	29.5%	>16	8.6%
BS-OA-106	>16	27.5%	>16	4.9%	>16	33.6%	>16	5.3%
BS-OA-108	>16	38.4%	>16	47.4%	>16	42.3%	14.32	63.2%
BS-OA-109	>16	19.7%	>16	18.9%	>16	32.1%	>16	-4.9%
BS-OA-110	>16	22.2%	>16	29.5%	>16	29.5%	>16	-19.1%

[0305] 表2(续)

[0306]

	U87 MG		Hela		CaES-17		CNE	
化合物	IC_{50}	IR	IC_{50}	IR	IC_{50}	IR	IC_{50}	IR
OA	>16	21.8%	>16	22.9%	>16	27.4%	>16	33.9%
BS-OA-004	10.02	98.0%	9.28	99.4%	8.88	81.2%	8.46	97.3%
BS-OA-005	2.5	100.0%	4.05	98.6%	3.34	98.9%	3.65	98.6%
BS-OA-008	>16	30.1%	>16	0.5%	>16	-12.7%	>16	15.1%

[0307]

BS-OA -012	2.56	98.5%	4.19	96.9%	1.91	99.1%	3.74	98.8%
BS-OA -016	2.45	100.0%	3.78	98.0%	3.93	99.4%	4.07	99.4%
BS-OA -027	16	48.7%	10.75	62.0%	16.99	49.5%	15.6	51.3%
BS-OA -031	>16	5.3%	>16	2.5%	>16	-4.7%	>16	15.8%
BS-OA -032	>16	30.4%	15.85	57.0%	>16	22.0%	>16	23.6%
BS-OA -034	>16	18.2%	>16	0.6%	>16	-6.7%	>16	16.7%
BS-OA -035	2.7	97.1%	3.11	98.1%	2.74	98.0%	3.64	99.0%
BS-OA -037	11.13	92.6%	11.04	93.6%	11.58	82.3%	15.49	52.6%
BS-OA -042	2.54	98.6%	3.47	98.9%	2.97	98.1%	3.89	99.5%
BS-OA -048	>16	5.6%	>16	2.4%	>16	-18.6%	>16	21.9%
BS-OA -052	>16	10.9%	>16	25.6%	>16	-8.0%	>16	9.9%
BS-OA -053	>16	20.1%	>16	27.5%	>16	-13.1%	>16	9.9%
BS-OA -059	>16	30.6%	16	51.8%	>16	34.0%	>16	20.6%
BS-OA -078	3	98.6%	4.54	99.4%	3.61	99.4%	5.01	99.7%
BS-OA -105	2.31	61.7%	7.29	68.1%	18.86	45.0%	10.57	54.5%
BS-OA -106	>16	7.2%	>16	34.6%	>16	10.0%	>16	44.3%
BS-OA -108	>16	18.5%	>16	43.0%	>16	32.0%	>16	42.7%
BS-OA -109	>16	-3.8%	>16	23.6%	>16	4.1%	>16	36.5%
BS-OA -110	>16	-12.6%	>16	26.1%	>16	-1.0%	>16	30.1%

[0308] 表2(续)

[0309]

	Hep-2		MGC 803		PC-3		SK-OV-3	
化合物	IC_{50}	IR	IC_{50}	IR	IC_{50}	IR	IC_{50}	IR
OA	>16	9.8%	>16	19.7%	>16	29.1%	>16	8.3%
BS-OA-004	10.07	85.5%	7.32	98.1%	9.91	89.8%	9.14	94.9%
BS-OA-005	5.09	99.2%	2.7	99.3%	5.11	99.2%	4.23	98.3%
BS-OA-008	>16	3.5%	>16	-12.4%	>16	12.0%	>16	14.3%
BS-OA-012	5.5	99.9%	2.56	100.0%	5.08	99.7%	3.77	98.9%
BS-OA-016	5.85	97.2%	3	99.1%	5.06	99.8%	5.04	99.5%
BS-OA-027	>16	35.5%	9.96	80.1%	7.79	68.9%	6.63	91.6%
BS-OA-031	>16	10.5%	>16	0.8%	>16	9.8%	>16	18.0%
BS-OA-032	>16	5.2%	>16	14.1%	>16	32.5%	>16	26.3%
BS-OA-034	>16	5.4%	>16	-3.2%	>16	19.0%	>16	21.3%
BS-OA-035	5.34	98.5%	2.56	98.9%	5	98.5%	3.72	98.6%
BS-OA-037	>16	25.6%	10.78	80.5%	18.68	44.2%	10.19	90.9%
BS-OA-042	5.99	95.2%	2.84	99.2%	4.78	100.0%	3.63	97.9%
BS-OA-048	>16	-5.3%	>16	-5.9%	>16	17.7%	>16	22.0%
BS-OA-052	>16	-11.3%	>16	-12.7%	>16	25.4%	>16	29.5%
BS-OA-053	>16	-10.0%	>16	7.8%	>16	38.8%	>16	22.7%
BS-OA	>16	0.0%	>16	-7.4%	>16	34.1%	>16	35.2%

[0310]

-059								
BS-OA -078	8.25	97.3%	5.26	99.5%	6.82	98.4%	5.49	98.9%
BS-OA -105	>16	28.4%	>16	29.2%	>16	18.4%	>16	5.0%
BS-OA -106	>16	3.8%	>16	13.4%	>16	-6.4%	>16	-17.0%
BS-OA -108	>16	22.7%	>16	13.1%	>16	-8.2%	>16	-15.6%
BS-OA -109	>16	11.3%	>16	4.9%	>16	-5.5%	>16	-13.5%
BS-OA -110	>16	-6.3%	>16	2.9%	>16	-11.4%	>16	-20.1%