

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl.⁴



12) 发明专利申请公开说明书

C07D 493/14

A61K 31/335

//(C07D493/14,

303:00,315:00)

11) **CN 86 1 02020 A**

CN 86 1 02020 A

[43]公开日 1986年10月1日

[21]申请号 86 1 02020

[74]专利代理机构 中国专利代理有限公司

[22]申请日 86. 2. 28

代理人 刘元金

[30]优先权

(32)85. 2. 28 (33)日本(31)39399-85

[71]申请人 三共株式会社

地址 日本东京都中央区日本桥本町3丁目
1番地之6

[72]发明人 奥田重倍 岩崎成夫 浪越通夫

三共株式会社研究室企画部内 三共
株式会社生物研究所内

[54]发明名称 瑞藏芯衍生物的制备方法及其在医药
上的应用

[57]摘要

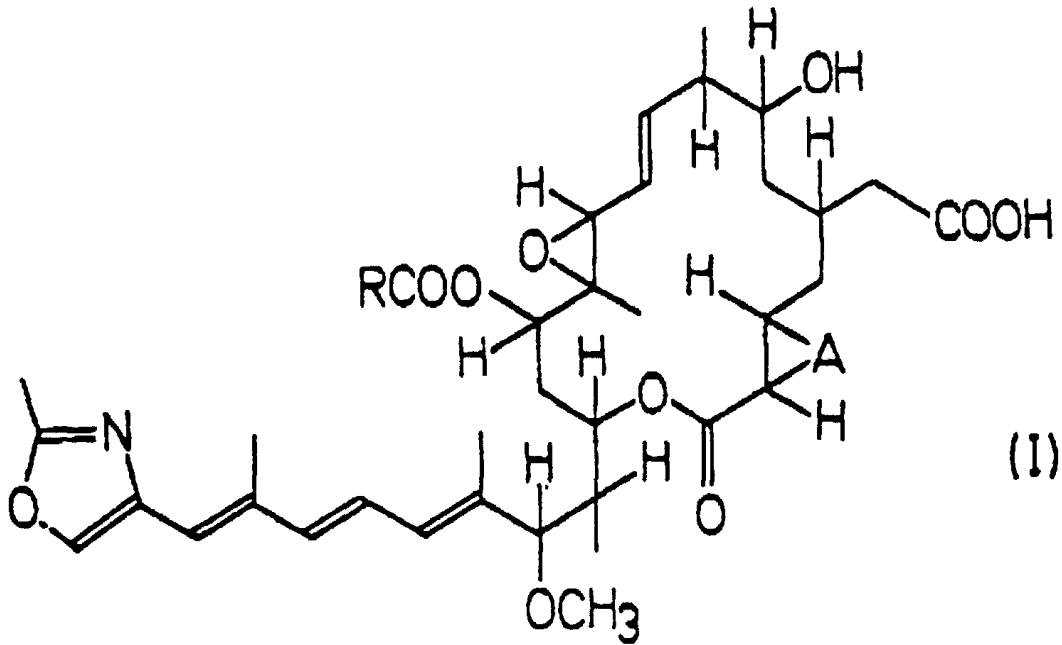
瑞藏芯的及瑞藏芯-2-烯的酰化衍生物可以由瑞藏芯或瑞藏芯-2-烯与酸或其活性衍生物反应而制备。它们具有优良的抗肿瘤活性。

242/8603462/12

北京市期刊登记证第1405号

权 利 要 求 书

1、一种制备式 (I) 化合物的过程:

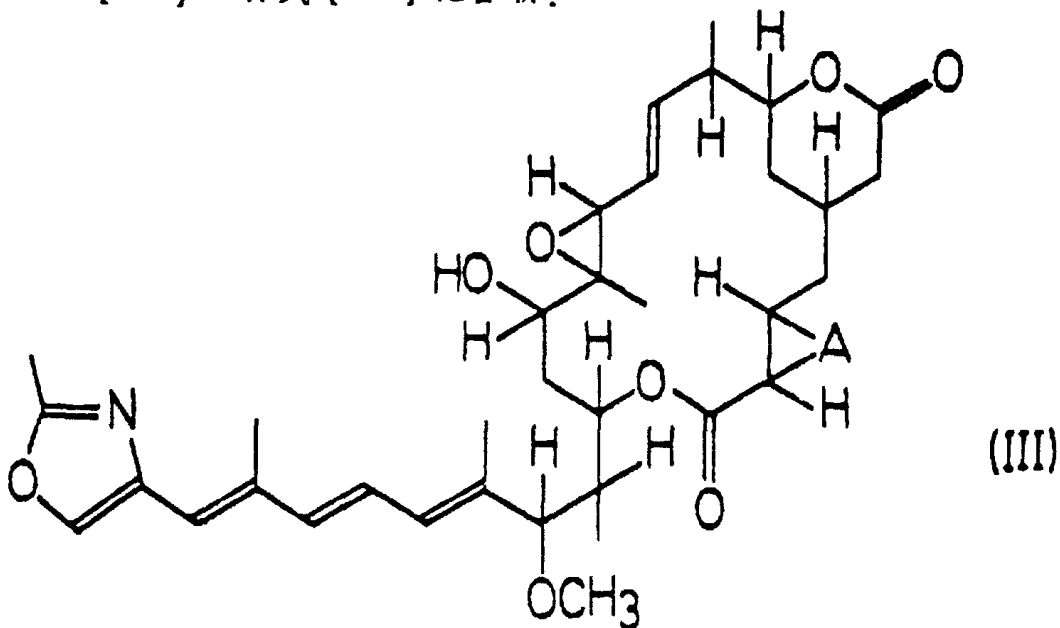


[其中:

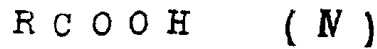
R 代表一个具有至少 2 个碳原子的烃基; 和

A 代表一个额外的碳—碳键或一个氧原子], 及其适合制药的盐类及其闭环内酯的工艺过程, 该工艺包括这些步骤:

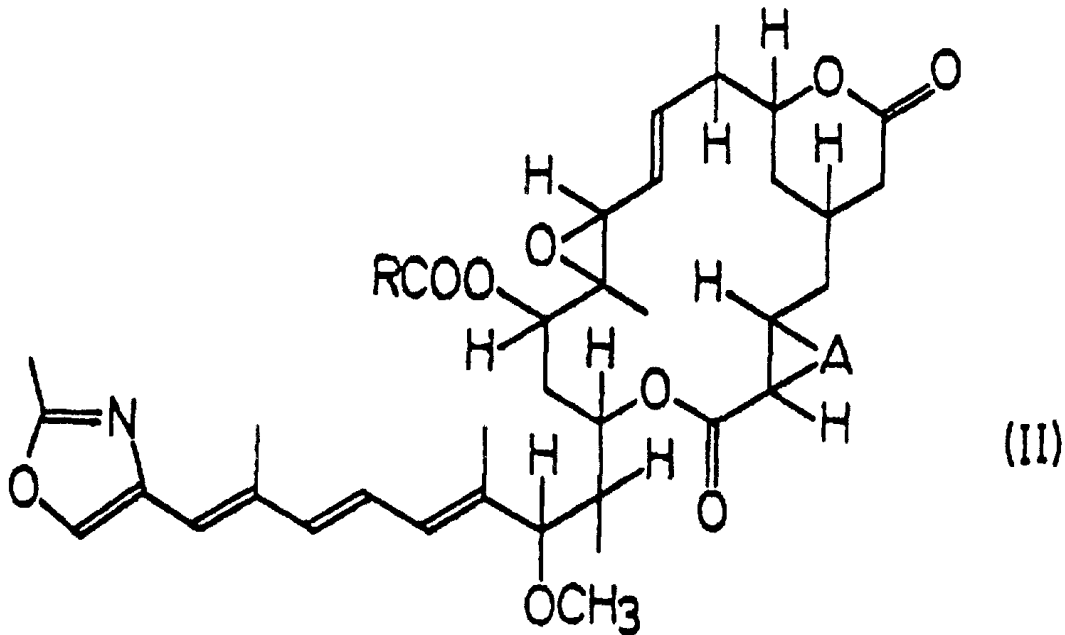
(a) 一种式 (III) 化合物:



(其中 A 如上述) 与一具式 (N) 的羧酸:



(其中 R 如上述) 或其活性衍生物反应, 得式 (II) 化合物:



(其中 R 及 A 如上述);

(b) 所述的式 (II) 化合物与一种碱任意反应, 得到一种所述的式 (I) 化合物的盐; 并且 (c) 所述的盐与一种酸任意反应, 得到所述的式 (I) 化合物。

2、根据权利要求 1 的一种工艺过程, 其中 R 在所述的式 (N) 羧酸中代表一个 $C_3 - C_{17}$ 烃基团。

3、根据权利要求 1 的一种工艺过程, 其中 R 在所述的式 (N) 羧酸中代表一个 $C_7 - C_{13}$ 烃基团。

4、根据权利要求 1 的一种工艺过程, 其中 R 在所述式 (N) 羧酸中代表一个庚基, 壬基, 十一基或十三基团。

5、根据上述诸权利要求中任何一种工艺过程, 其中所述的式

(III) 化合物为瑞藏芯本身。

6、根据权利要求 1 至 5 中任何一种工艺过程，其中仅用步骤 (a) 来制备所述的式 (II) 化合物。

7、根据权利要求 1 一种得到瑞藏芯-13-基辛酸酯的工艺，其中所述的式 (III) 化合物为瑞藏芯本身，所述的式 (IV) 羧酸为辛酸，且仅用步骤 (a)。

8、根据权利要求 1 一种得到 13-癸酰氧基-13-去羟瑞藏芯-5b-酸或其适合制药的盐的工艺，其中所述的式 (III) 化合物为瑞藏芯本身，所述式 (IV) 羧酸为癸酸，而且用步骤 (a) 和 (b) 以及任意的步骤 (c)。

9、根据权利要求 1 一种得到瑞藏芯-13-基癸酸酯的工艺，其中所述式 (III) 化合物为瑞藏芯本身，所述的式 (IV) 化合物为癸酸，而且仅用步骤 (a)。

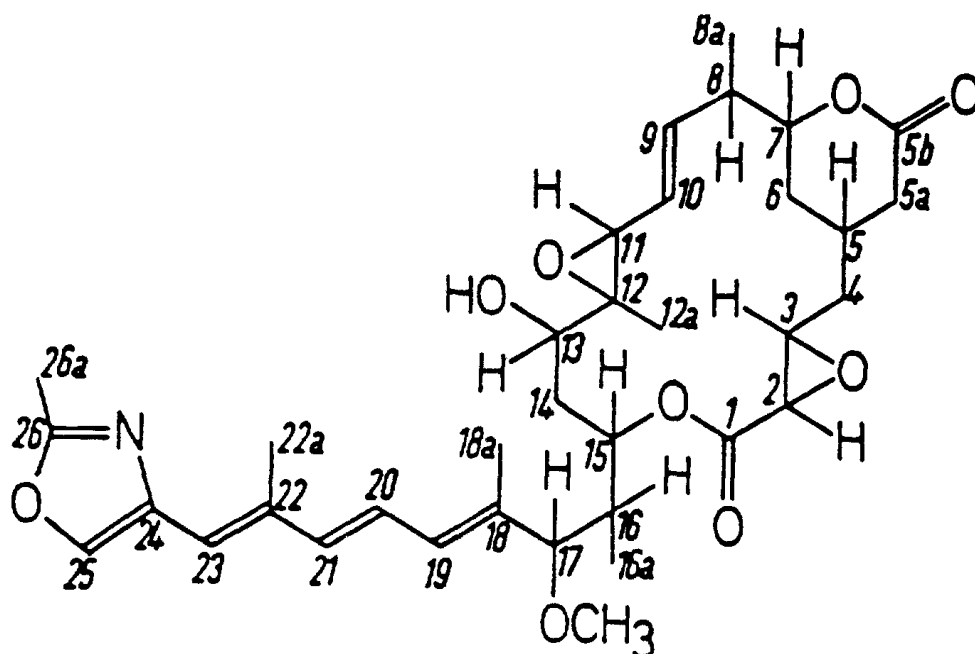
10、根据权利要求 1 一种得到瑞藏芯-13-基十二酸酯的工艺，其中所述式 (III) 化合物为瑞藏芯本身，所述式 (IV) 化合物为十二酸，而且仅用步骤 (a)。

11、根据权利要求 1 一种得到瑞藏芯-13-基十四酸酯的工艺，其中所述式 (III) 化合物为瑞藏芯本身，所述式 (IV) 羧酸为十四酸，而且仅用步骤 (a)。

瑞藏芯衍生物的制备方法及其在医药上的应用

本发明为关于化合物瑞藏芯的一系列的衍生物。本发明还提供了这类化合物的制备工艺以及为应用这类化合物而作的制剂及其使用方法。

瑞藏芯为一具有如下结构式的已知化合物：

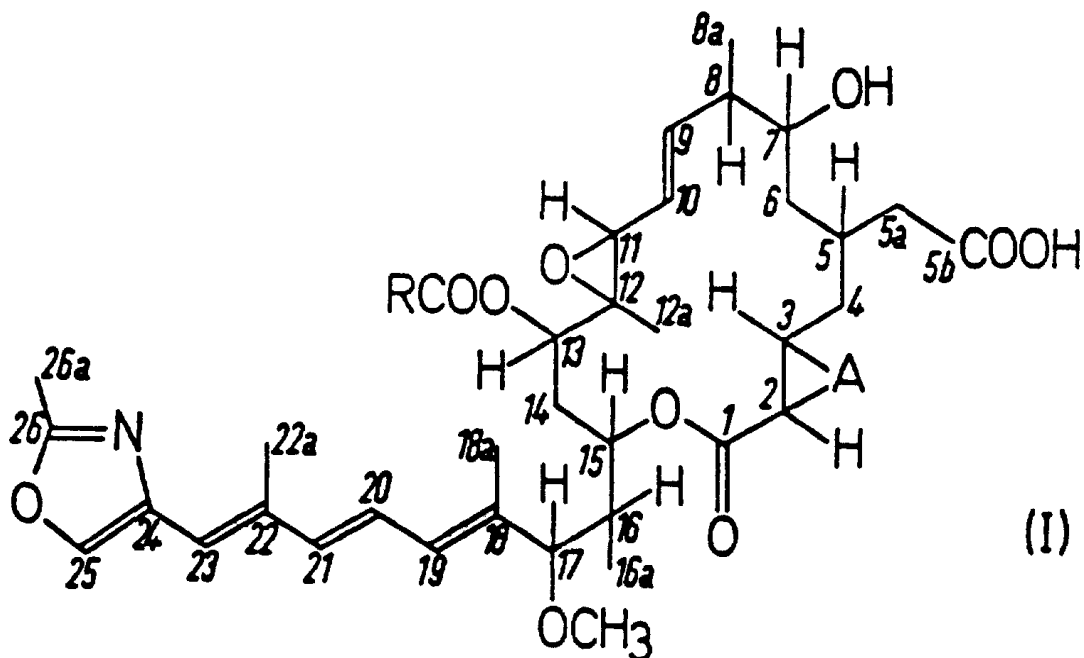


瑞藏芯及其醋酸酯曾在抗菌素杂志 (J. Antibiotics) 37卷 354 页 (1984) 上公布，其抗癌活性曾在日本肿瘤协会第 43 届全会文摘上公布 (Abstracts of the 43rd General Meeting of the Japanese Cancer Society)，第 243 页，标题号 1005 (1984)。

1984 年 12 月 18 日于夏威夷州檀香山召开的太平洋区域协会 1984 年国际化学会议上报告了瑞藏芯—2—烯。

我们现在已经发现了一系列的瑞藏芯的衍生物，它们具有远高于瑞藏芯及其醋酸酯的抗癌活性并具有较瑞藏芯本身为低的毒性。

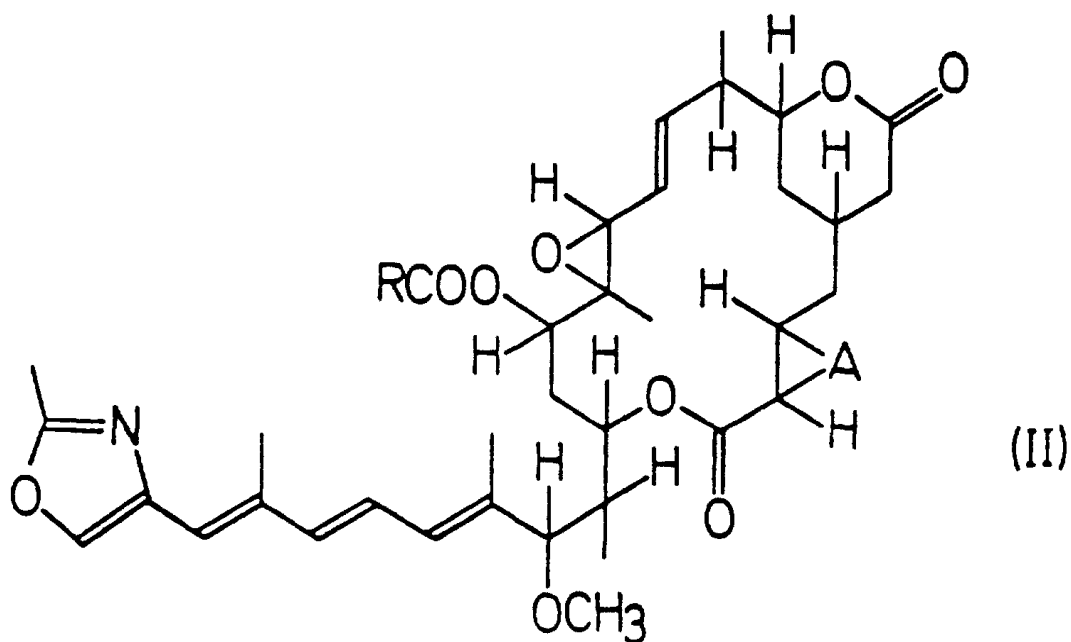
本发明的化合物为具有如结构 (I) 之物:



其中:

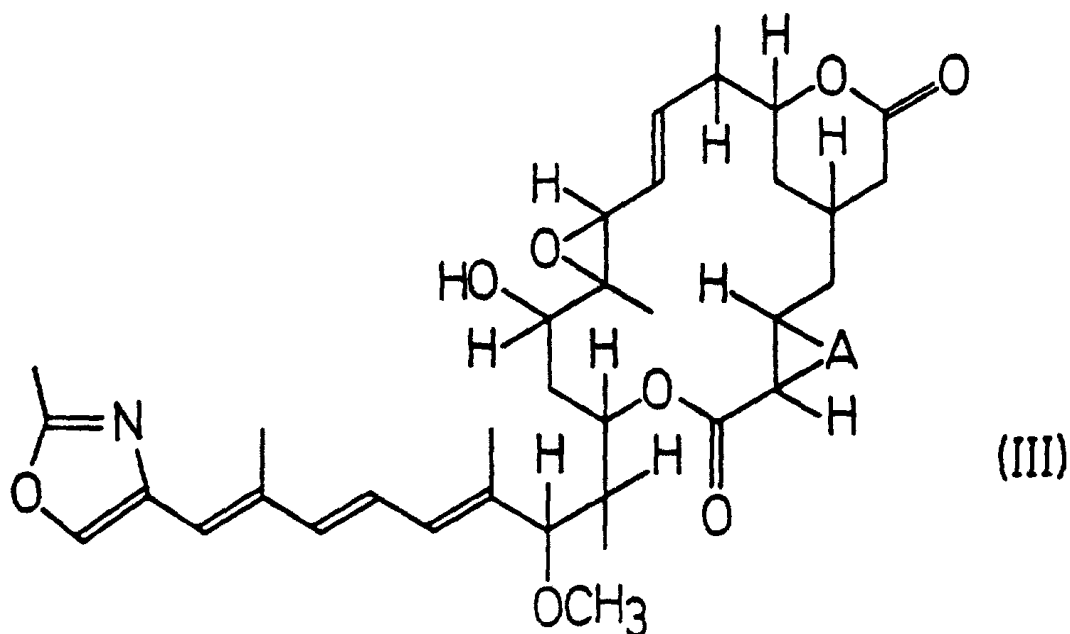
R 代表一个具有至少 2 个碳原子的烷烃, 而 A 代表一个额外的碳——碳键或一个氧原子, 以及合于制药的盐类及其闭环内酯。

相应的化合物 (I) 的闭环内酯可以用结构式 (II) 代表:



其中 R 及 A 如上所述。

式 (II) 化合物可以由一种结构式 (III) 化合物：



(其中 A 如上述) 与一种结构式 (N) 的羧酸 (其中 R 如上述) 或其活性衍生物反应而制备：



式 (I) 化合物的盐类可以由式 (II) 化合物与一种适当的碱反应而制备。式 (I) 的游离酸可以由其盐与一种酸反应而制得。

本发明也提供由一种抗肿瘤剂与一种适合制药的载体或稀释剂混合组成的药物组合物，其中抗肿瘤剂至少是一种化合物，它是从式 (I) 化合物，式 (II) 化合物以及该式 (I) 化合物的适合制药的盐类这组化合物中挑选出来的。

本发明还提供一种治疗方法，用一种有效剂量的抗肿瘤药对一种患肿瘤的动物给药，特别是哺乳类动物，包括人类。其中所说的抗肿瘤药至少为一种化合物，它选自式 (I) 化合物，式 (II) 化合物以及该式 (I) 化合物的盐类这组化合物。

本发明的化合物中，R代表一个最少有2个碳原子的烷基。这种烷基可以是直链的或支链的并且原则上其所包含的碳原子数可超过实用的某种可得到的有关的相应酸，而没有上限。大多数情况下，实用的上限或许约为40碳原子，更为可取的约为30碳原子。这样的基团的实例包括乙基，丙基，异丙基，丁基，仲丁基，异丁基，叔丁基，戊基，异戊基，新戊基，叔戊基，己基，1-甲基戊基，2-甲基戊基，3-甲基戊基，异己基，庚基，1-甲基己基，2-甲基己基，5-甲基己基，3-乙基戊基，辛基，2-甲基庚基，6-甲基庚基，2-乙基己基，2-乙基-3-甲基戊基，3-乙基-2-甲基戊基，壬基，2-甲基辛基，7-甲基辛基，4-乙基庚基，3-乙基-2-甲基己基，2-乙基-1-甲基己基，癸基，2-甲基壬基，8-甲基壬基，5-乙基辛基，3-乙基-2-甲基庚基，3，3-二乙基己基，十一烷基，2-甲基癸基，9-甲基癸基，4-乙基壬基，3，5-二甲基壬基，3-丙基辛基，5-乙基-4-甲基辛基，十二烷基，1-甲基十一烷基，10-甲基十一烷基，3-乙基癸基，5-丙基壬基，3，5-二乙基辛基，十三烷基，11-甲基十二烷基，7-乙基十一烷基，4-丙基癸基，5-乙基-3-甲基癸基，3-戊基辛基，十四烷基，12-甲基十三烷基，8-乙基十二烷基，6-丙基十一烷基，4-丁基癸基，2-戊基壬基，十五烷基，13-甲基十四烷基，10-乙基十三烷基，7-丙基十二烷基，5-乙基-3-甲基十二烷基，4-戊基癸基，十六烷基，14-甲基十五烷基，6-乙基十四烷基，4-丙基十三烷基，2-丁基十二烷基，十七烷基，15-甲基十六烷基，7-乙基十五烷基，3-丙基十四烷基，5-戊基十二烷基，十八烷基，16-甲基十七烷基，5-丙

基十五烷基，十九烷基，17-甲基十八烷基，4-乙基十七烷基，廿烷基18-甲基十九烷基，3-乙基十八烷基，廿一烷基，廿二烷基，廿三烷基，廿四烷基及廿五烷基。在这些基团中，我们认为较好的是C₃ - C₁₇，更好的是C₇ - C₁₃ 烷基基团，无论是直链的或是支链的。

式(I)化合物为游离酸，因此可以与碱生成盐，倘若生成的盐是适合制药的，这在工艺方面众所周知，它意味着这种盐要比原来的酸不能减少（或者不超过允许程度地减少）活性或者增加（或者不超过允许程度地增加）毒性，对于生成盐的正离子的性质也无干扰。适合的盐类的实例包括金属盐与氨基酸生成的盐及与氨和有机胺生成的盐。适合的金属盐包括与：碱金属，例如钠或钾；碱土金属，例如钙或镁；以及其它适于制药的金属，例如铝、铁、锌、铜、镍及钴生成的盐。但是较可取的是那些与碱金属，碱土金属及铝生成的盐，而最为可取的是钠、钾、钙及铝盐。可以与式(I)化合物成盐的氨基酸的实例包括碱性氨基酸如精氨酸，赖氨酸，组氨酸， α ， γ -二氨基丁酸及鸟氨酸。可以与式(I)化合物生成盐的胺类的实例包括叔——辛基胺，二苄胺，二环己基胺，吗啉，D-苯基甘氨酸的烷基酯类及D-葡萄糖胺。

在本发明化合物命名方面，是按照纯化学及应用化学国际联合会的建议采用半系统(Semi Systematical)命名法依“有机化学命名原则”(Nomenclature of Organic Chemistry)F节，用rhizoxin作为基本名称。

如此，式(II)化合物其中A代表一个氧原子时就是瑞藏苄与一种结构式为RCOOH的酸所形成的简单的酯，因而被命名为瑞藏苄—

13-基酰化物。瑞藏芯的开环类似物叫作瑞藏芯-5b-酸，因此式(I)化合物A代一个氧原子的叫作其13-酰氧基衍生物，例如：
13-酰氧基-13-去羟瑞藏芯-5b-酸。

A代表一个附加的碳—碳键的式(II)化合物可被认为是瑞藏芯-2-烯的衍生物，更正规的名称是2,3-去氧瑞藏芯-2-烯。因此，A代表这样一种键的式(I)及(II)化合物可分别叫13-酰氧基-13-去羟-2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-5b-酸，以及2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-13-基酰化物。

本发明化合物的实例在下表中给出，并且在下文中用表中的序号来代表这些化合物。

1. 13-丁酰氧基-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
2. 瑞藏芯-13-基丁酸酯
3. 13-戊酰氧基-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
4. 瑞藏芯-13-基戊酸酯
5. 13-异戊酰氧基-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
6. 瑞藏芯-13-基异戊酸酯
7. 13-己酰氧基-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
8. 瑞藏芯-13-基己酸酯
9. 13-(3,3-二甲丁酰氧基)-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
10. 瑞藏芯-13-基3,3-二甲丁酸酯
11. 13-庚酰氧基-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
12. 瑞藏芯-13-基庚酸酯
13. 13-(5-甲-己酰氧基)-13-去羟瑞藏芯-5b-酸

14. 瑞藏芯—13—基5—甲基己酸酯
15. 13—(4—甲基己酰氧基)—13—去羟瑞藏芯—5b—酸
16. 瑞藏芯—13—基4—甲基己酸酯
17. 13—辛酰氧基—13—去羟瑞藏芯—5b—酸
18. 瑞藏芯—13—基辛酸酯
19. 13—(6—甲基庚酰氧基)—13—去羟瑞藏芯—5b—酸
20. 瑞藏芯—13—基6—甲基庚酸酯
21. 13—(4—乙基己酰氧基)—13—去羟瑞藏芯—5b—酸
22. 瑞藏芯—13—基4—乙基己酸酯
23. 13—壬酰氧基—13—去羟瑞藏芯—5b—酸
24. 瑞藏芯—13—基壬酸酯
25. 13—(4—乙基—3—甲基己酰氧基)—13—去羟瑞藏芯—5b—酸
26. 瑞藏芯—13—基4—乙基—3—甲基己酸酯
27. 13—(7—甲基辛酰氧基)—13—去羟瑞藏芯—5b—酸
28. 瑞藏芯—13—基7—甲基辛酸酯
29. 13—癸酰氧基—13—去羟瑞藏芯—5b—酸
30. 瑞藏芯—13—基癸酸酯
31. 13—(8—甲基壬酰氧基)—13—去羟瑞藏芯—5b—酸
32. 瑞藏芯—13—基8—甲基壬酸酯
33. 13—(5—乙基辛酰氧基)—13—去羟瑞藏芯—5b—酸
34. 瑞藏芯—13—基5—乙基辛酸酯
35. 13—十一酰氧基—13—去羟瑞藏芯—5b—酸
36. 瑞藏芯—13—基十一酸酯

37. 13-(9-甲基癸酰氧基)-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
38. 瑞藏芯-13-基9-甲基癸酸酯
39. 13-(6-乙基壬酰氧基)-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
40. 瑞藏芯-13-基6-乙基壬酸酯
41. 13-十二酰氧基-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
42. 瑞藏芯-13-基十二酸酯
43. 13-(10-甲基十一酰氧基)-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
44. 瑞藏芯-13-基10-甲基十一酸酯
45. 13-(6-乙基-5-甲基壬酰氧基)-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
46. 瑞藏芯-13-基6-乙基-5-甲基壬酸酯
47. 13-十三酰氧基-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
48. 瑞藏芯-13-基十三酸酯
49. 13-(11-甲基十二酰氧基)-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
50. 瑞藏芯-13-基11-甲基十二酸酯
51. 13-(4,6-二乙基壬酰氧基)-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
52. 瑞藏芯-13-基4,6-二乙基壬酸酯
53. 13-十四酰氧基-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
54. 瑞藏芯-13-基十四酸酯
55. 13-(8-乙基十二酰氧基)-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
56. 瑞藏芯-13-基8-乙基十二酸酯
57. 13-十五酰氧基-13-去羟瑞藏芯-5b-酸
58. 瑞藏芯-13-基十五酸酯
59. 13-(9-乙基十三酰氧基)-13-去羟瑞藏芯-5b-酸

60. 瑞藏芯-1,3-基-9-乙基十三酸酯
61. 13-十六酰氧基-1,3-去羟瑞藏芯-5 b-酸
62. 瑞藏芯-1,3-基十六酸酯
63. 13-(8-丙基十三酰氧基)-1,3-去羟瑞藏芯-5 b-酸
64. 瑞藏芯-1,3-基-8-丙基十三酸酯
65. 13-十七酰氧基-1,3-去羟瑞藏芯-5 b-酸
66. 瑞藏芯-1,3-基十七酸酯
67. 13-(7-乙基十五酰氧基)-1,3-去羟瑞藏芯-5 b-酸
68. 瑞藏芯-1,3-基-7-乙基十五酸酯
69. 13-十八酰氧基-1,3-去羟瑞藏芯-5 b-酸
70. 瑞藏芯-1,3-基十八酸酯
71. 13-(8-乙基十六酰氧基)-1,3-去羟瑞藏芯-5 b-酸
72. 瑞藏芯-1,3-基-8-乙基十六酸酯
73. 13-十九酰氧基-1,3-去羟瑞藏芯-5 b-酸
74. 瑞藏芯-1,3-基十九酸酯
75. 13-廿酰氧基-1,3-去羟瑞藏芯-5 b-酸
76. 瑞藏芯-1,3-基廿酸酯
77. 13-庚酰氧基-1,3-去羟-2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-5 b-酸
78. 2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-1,3-基庚酸酯
79. 13-辛酰氧基-1,3-去羟-2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-5 b-酸
80. 2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-1,3-基辛酸酯

81. 13-壬酰氧基-1,3-去羟-2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-5b-酸
82. 2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-1,3-基壬酸酯
83. 13-(7-甲基辛酰氧基)-1,3-去羟-2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-5b-酸
84. 2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-1,3-基7-甲基辛酸酯
85. 13-癸酰氧基-1,3-去羟-2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-5b-酸
86. 2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-1,3-基癸酸酯
87. 13-(8-甲基壬酰氧基)-1,3-去羟-2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-5b-酸
88. 2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-1,3-基8-甲基壬酸酯
89. 13-十一酰氧基-1,3-去羟-2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-5b-酸
90. 2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-1,3-基十一酸酯
91. 13-(9-甲基癸酰氧基)-1,3-去羟-2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-5b-酸
92. 2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-1,3-基9-甲基癸酸酯
93. 13-十二酰氧基-1,3-去羟-2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-5b-酸
94. 2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-1,3-基十二酸酯
95. 13-十三酰氧基-1,3-去羟-2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-5b-酸
96. 2,3-去氧瑞藏芯-2-烯-1,3-基十三酸酯

在上表列出的化合物中第18号, 29号, 30号, 42号及54号化合物是特别好的。

本发明的化合物由于其各种取代基的构型可有各种形式的几何异构体, 并且也由于有许多不对称碳原子而有各种形式的光学异构体。这些异构体及其混合物可用一个通式所代表。但本发明既包括各单个的异构体又包括其混合物。通常, 我们宁愿要本发明的化合物具有与瑞藏芯相同的构型。

式(II)的闭环内酯衍生物可由上述式(III)化合物与一个式(IV)羧酸或其活性衍生物反应而得, 此式(III)物可以是瑞藏芯(A为一氧原子)或瑞藏芯-2-烯(A为一附加碳-碳键)。这种反应为一简单的和常规的酰化反应并可用众所周知酰化反应方法进行。

在使用式(IV)羧酸本身时, 反应最好是在有一种具脱水效能的缩合剂的情况下进行。这种缩合剂以二环己基碳化二亚胺(dicyclohexylcarbodiimide)及碳酰二咪唑(carbonyldiimidazole)为适宜。反应最好在有溶媒存在情况下进行, 倘若这溶媒对反应无不良影响则对其性质并不严求。适宜的溶媒实例包括: 芳香烃, 如苯、甲苯或二甲苯; 脂肪烃, 如己烷, 庚烷环己烷或石油醚; 卤代烃, 特别是卤代脂肪烃, 如氯仿, 四氯化碳或二氯甲烷; 以及醚类如四氢呋喃或二噁烷。反应将在很宽的温度范围中发生并且不严格要求选择准确的温度。我们通常发现进行反应的适宜温度在0~40°C范围内, 而最好是在室温左右。

适宜的式(IV)羧酸的活性衍生物包括酰基卤, 酸酐, 混合的酸酐, 活性酯及活性酰胺, 其中较佳的是酰基卤(如酰基氯或酰基溴)及酸酐(包括混合酸酐)。

使用酰基卤反应时，最好是在有一种惰性溶媒及一种酸结合剂存在的情况下进行。倘若这种溶媒无不利影响于反应，本发明对所使用的溶媒的性质不严格要求。溶媒最好是有机溶媒，例如：芳香烃，如苯、甲苯或二甲苯；卤代脂肪烃，如氯仿，二氯甲烷或1, 1, 2-三氯乙烷；醚类，如二乙醚，四氢呋喃或二噁烷；脂肪酸的二烷基酰胺类，如二甲基甲酰胺或二甲基乙酰胺；腈类，如乙腈；酮类，如丙酮；二甲基亚砷；以及吡啶。酸结合剂的作用是除去反应中产生的卤化氢，可以使用任何能与卤化氢反应并从反应中除去它们的化合物。适宜的酸结合剂的实例包括：碱金属氢氧化物，如氢氧化钠或氢氧化钾；碱金属碳酸盐类，如碳酸钠或碳酸钾；以及有机碱类，如三乙胺，吡啶，4-二甲氨基吡啶或1-甲基咪唑。反应可以在广泛的温度范围进行，但最好是在 $-10^{\circ}\text{C}\sim+130^{\circ}\text{C}$ 。

使用式(N)化合物酸酐时，反应最好在有附加溶媒存在的情况下进行。但是，若使用足够过剩的酸酐时，就无需附加溶媒。在使用溶媒的情况下，倘若它对反应无不利影响，对溶媒的性质不严格要求。适宜的溶媒实例包括：芳香烃，如苯，甲苯或二甲苯；醚类，如二噁烷，四氢呋喃及二甘醇-二甲醚。反应将在广泛的温度范围进行，但更佳的温度范围是室温至 160°C 之内。

本反应的产物为式(II)的内酯。适合制药的式(I)羧酸盐类可以由式(II)内酯与一种碱反应而制备。这是一种从内酯生成盐的常规反应并且可以使用工艺中众所周知的技术来进行。

例如，式(I)羧酸的金属盐可以由式(II)内酯与适当的金属的氢氧化物或碳酸盐反应而制备，最好在一种含水溶媒中反应。倘若溶媒对反应无不利影响，溶媒的性质不严格要求。适宜的溶媒包括水

本身及水与一种或更多有机溶媒的混合物，例如：一种醇，如甲醇或乙醇；一种醚，如乙二醇二甲醚或二噁烷；一种酮，如丙酮；或其它溶媒如象己烷，乙酸乙酯，二甲基甲酰胺，二甲基亚砷式吡啶。使用一种亲水性有机溶媒与水的混合物会是特别好的。反应温度无严格要求，我们通常喜欢在大约室温进行反应。但如果需要，可以在微热下进行。

为了避免在 1 5 位和 1 位的碳原子之间形成的内酯开裂，最好是在比较温和的条件下进行开环反应，例如使用一种比较稀的碱溶液以及/或在比较低的温度，例如在室温范围。

式 (I) 羧酸的胺盐可以由式 (II) 内酯与一种胺反应而制备。最好在一种含水溶媒中进行。倘若溶媒对反应无不良影响，则对它的选用并不严格。适宜的溶媒包括水本身及水与一种或多种有机溶媒的混合物，例如：一种醇，如甲醇或乙醇；一种醚，如四氢呋喃；一种腈，如乙腈；或一种酮，如丙酮。更好的溶媒是含水丙酮。反应最好在 PH 值 7 ~ 8.5 进行，而且，虽对反应温度无特殊严格要求，我们宁愿在相对低的温度反应以避免副反应。依此，温度低于室温更好些，最好是 5 ~ 10 °C。反应迅速完成。胺盐也可以由一种盐交换反应来产生，那就是说把一种所需要的胺的无机酸盐（例如盐酸）加到一种式 (I) 化合物金属盐的水溶液中。

式 (I) 羧酸的氨基酸盐可以由式 (II) 内酯与一种适当的氨基酸作用而制备，最好在含水溶媒中进行。倘若溶媒对反应无不利影响，对溶媒的选用并不严格，适宜的溶媒为含水溶媒，如水本身及水与一种或数种有机溶媒的混合物，例如：一种醇，如甲醇或乙醇；或一种醚，如四氢呋喃。反应温度可不严格，但在 50°C ~ 60°C 将反应物加

热则可得到最好的结果。

式 (I) 的游离酸可以由其盐与一种酸作用而制备。反应可以用常规的方法进行,这在制备工艺中是众所周知的。例如,反应最好在有溶媒存在时进行,倘若溶媒对反应无不利影响,对溶媒性质要求不严。适宜的溶媒包括,例如,甲醇,丙酮,二甲基甲酰胺及二甲基乙酰胺。将 (I) 羧酸盐溶于这类溶媒中,然后将化学计算量的或稍稍过剩的一种酸加入。倘若所用的酸对所需要的化合物无任何不利影响,对使用的酸的性质并无特殊规定且可使用任何有机或无机酸。适宜的酸类包括三氟乙酸,盐酸及硫酸。

另外,式 (I) 化合物可以由相当于式 (III) 化合物的开环内酯与式 (IV) 化合物或其活性衍生物反应而得。但是,这不是目前宁愿采用的方法。

用上述任何方法制备所得的本发明的化合物都可以从反应混合物中收得,如需要,可以用任何常规的技术或其联合技术来进一步纯化。例如,一种适宜的收集操作由包括:将反应混合物倾入水中;用一种与水不混溶的溶媒提取,溶媒如苯,乙醚或乙酸乙酯;如需要将提取液先干燥之后再蒸除溶媒,收得成品。

如需要,可以用吸附色谱技术精制,使用诸如活性炭或硅胶作为吸附剂,可用离子交换色谱法,可用凝胶过滤法,用一种适宜的吸附剂如 Sphadex (商标), 或者用从一种有机溶媒中再结晶的方法,有机溶媒如乙醚,乙酸乙酯或氯仿。自然,如果适当,可以使用这些技术的联合。

本发明各种工艺过程使用的起始原料为瑞藏芯,它可以由在一种培养基上培养一种产生瑞藏芯的霉菌,例如根霉菌 (Rhizopus)

属，然后从培养肉汤中分离瑞藏芯。选用的霉菌比较好的是 *Rhizopus chinensis* 种而最好的为 *Rhizopus chinensis* SANK21584。

Rhizopus chinensis SANK21584 在 20°C 至 47°C 温度范围生长。它可以在马铃薯—葡萄糖琼脂介质上在温度 26°C 生长极快。毛状的菌丝体生长很好。随着孢子囊孢子的形成，菌丝的颜色从米色转变成暗棕色。大多数的孢子囊孢子是不分枝的，而且一个到几个孢子囊孢子都垂直地长在单一形状的真菌生长的部位。

孢子囊柄的大小为 100—600×7—12 微米。孢子囊为球状至类球状，其大小为 50—120 微米；当它们成熟时变成棕色。小柱为类球状至椭圆形，其大小为 15—50 微米。孢子囊孢子为棕色类球状至椭圆形，其大小为 6—10×3—8 微米。生成的分枝孢子有各种不同形态。没有结合孢子形成。

SANK21584 菌株已参照下列文献进行鉴定，经过鉴定它是一种 *Rhizopus chinensis* Saito 菌株。

T. Inui 等，“关于 *Rhizopus* 属分类学的研究 (Taxonomical studies on Genus *Rhizopus*)”，*J. Gen. Appl. Microbiol.* 11 卷，1—108 页 (1965)；

D. H. Ellis, “*Rhizopus* 属的嗜热种及某些类似属的孢子囊孢子的修饰 (Sporangiospore Ornamentation of Thermophilic *Rhizopus* Species and Some Allied Genera)”，*Mycologia*，73 卷，511—523 页 (1981)。

已于1985年2月14日以登记号 ferm p-8093 将 *Rhizopus chinensis* SANK21584 委托日本东京发酵研究所保存并且按布达佩斯条约规定的条件于1986年2月15日以登记号 BP-989 再行保存。

本发明化合物对于被植入了 P 388 白血病细胞的小鼠显示优越的抗肿瘤活性，因此可用作治疗动物的特别是温血动物如人类的这类肿瘤的抗肿瘤剂。

如象下面将在实例 6 中生理活性数据所证明的，本发明化合物对于被植入了这类肿瘤的试验动物显示一种明显地延长寿命的能力用延长寿命指数 (ILS) 来测量。ILS 表示对动物或患者的在药物的疗效及其毒性之间的均衡的效果，因此，在剂量和 ILS 之间没有一个简单的关系。由于小值的 ILS 表示动物或患者的存活期较短（不管其死因是由于肿瘤或是药物毒性），而高值的 ILS 表示存活期较长，一个潜在的抗肿瘤药的关键性的特征是增加其 ILS 值到最大，不管在达到最大 ILS 时剂量是多少；在这方面，评价抗肿瘤药物的标准与用于大多数其它药，包括抗菌素、降压药等，的标准不同。本发明化合物显示出的 ILS 值说明它们具有潜在价值的抗肿瘤活性同时有比较低的毒性并且明显地较瑞藏苾及其已知衍生物更好。

这些化合物可以任何适宜途径给药，例如非肠胃的途径（例如静脉、皮下或肌肉注射）或者用栓剂，或者以口服途径（例如片剂，胶囊，粉剂或颗粒剂）。

当需要时，本发明化合物可以这样给药，但最好与一种常规的适于制药的载体或稀释剂结合在一起，以合于特定的给药途径。

例如，组合物可含有悬浮剂，稳定剂或分散剂，它可以粉剂形式

提供而在给药之前溶于适宜的溶剂中，例如无热原灭菌的水溶剂。例如，这样的粉剂可以将一种化合物的丙酮溶液滴注于玻璃小瓶，加入水然后将混合物冻干的方法来制造。口服的各种制剂可以作成片剂，胶囊，粉剂，颗粒或糖浆，其中含有适当量的本发明化合物。

注射制剂最好是作成含一个单位剂量的安瓿瓶或含几倍剂量的小瓶。

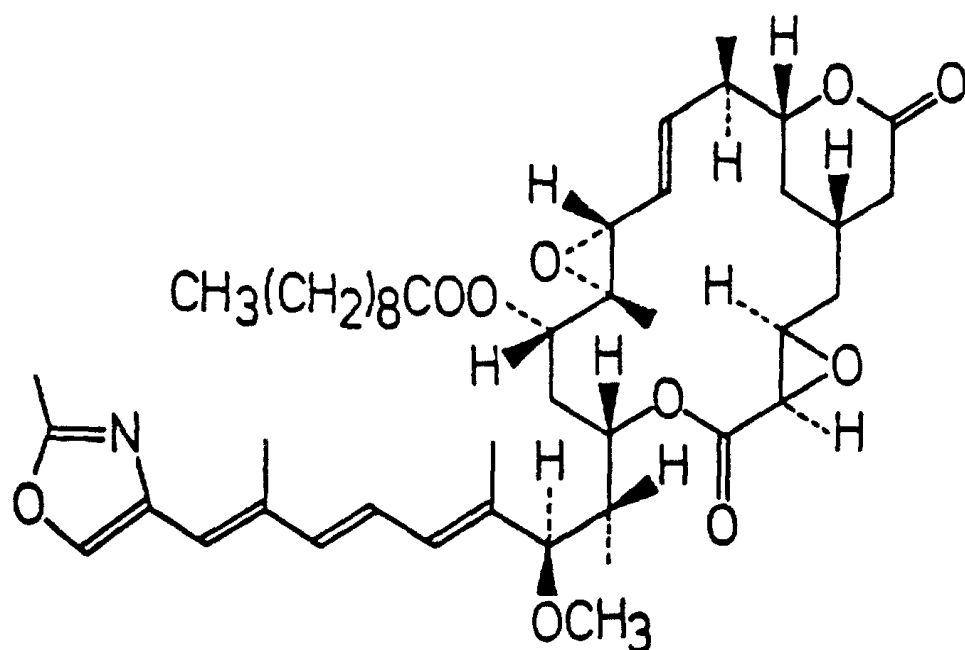
如果需要，本发明化合物可以与其它抗癌药合并使用，例如亚硝脲类药，如ACNu或BCNu，顺铂 (cisplastin)，5-氟脲嘧啶 (5-Fu)，柔毛霉素 (daunomycin)，亚德里亚霉素 (adrimycin)，丝裂霉素 C (mitomycin) 或足叶乙甙 (eloposide)。

本发明化合物的剂量将依据病的性质及严重程度，也依据给药途径，次数及周期而改变。但是，为成人适合的剂量可以在每天 1 至 100 毫克，此剂量可以一次或分几次给药。

本发明化合物类的制备及其生物活性在下列实例中进一步阐明。

实 例 1

瑞藏苾-13-基癸酸酯 (第30号化合物)



在有 625 毫克 (1 毫摩尔) 瑞藏芯及 285 毫克 (1.5 毫摩尔) 癸酰氯的 10 毫升苯的溶液中在冰冷条件下加入 250 毫克 (3.0 毫摩尔) 吡啶及催化剂量的 4-二甲氨基吡啶, 混合物在室温搅拌约 30 分钟。然后将反应混合物用稀盐酸及水依次洗涤。然后用无水硫酸钠干燥, 在减压下蒸去溶媒。残留物用硅胶柱色谱法来精制, 用 95:5 容量比的苯及丙酮混合物洗脱, 得到一结晶物, 用甲醇再结晶得到 500 毫克标题化合物, 白色结晶, 熔点: 168-169 °C。

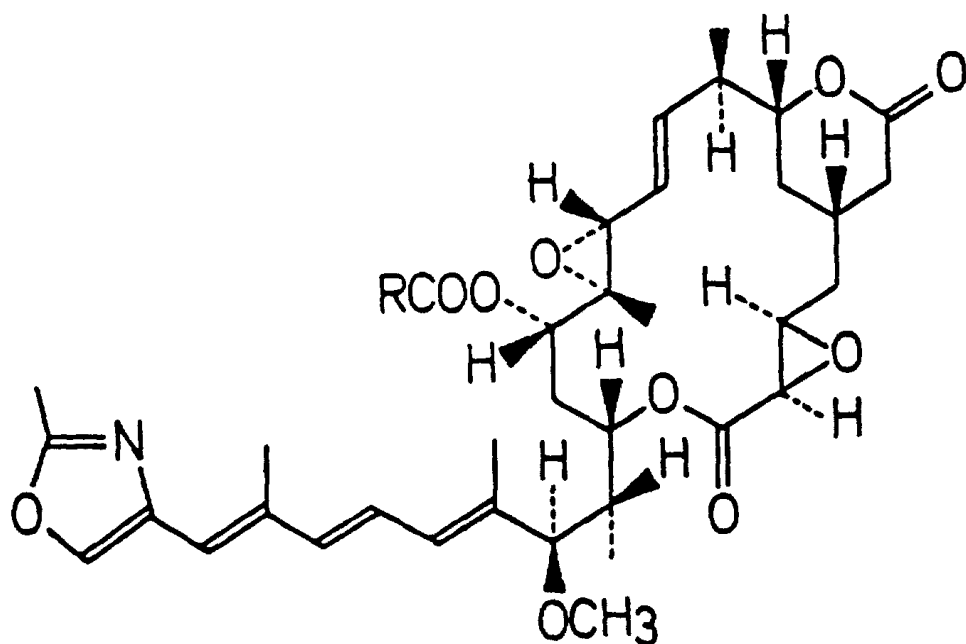
紫外吸收光谱 (CH₃OH) $\lambda_{\max}^{\text{nm}}(\epsilon)$: 297(43,700), 309(55,800), 323(41,100)。

红外吸收光谱 (CCl₄) $\nu_{\max}^{\text{cm}^{-1}}$: 2940, 2855, 1740, 1580, 1450, 1225, 1190, 1110, 1090。

电子碰撞质谱: 779 (M⁺), 232。

实 例 2

用实例 1 相同的操作但使用不同的酰氯制备下列各化合物:



(1) 瑞藏苾-13-基丁酸酯 (2号化合物)

$R = -CH_2CH_2CH_3$: 白色粉状物

紫外吸收光谱 (CH_3OH) $\lambda_{max}^{nm}(\epsilon)$:

297(44,400), 309(56,600), 323(41,700)。

红外吸收光谱 (CCl_4) $\nu_{max}^{cm^{-1}}$:

2970, 2940, 2870, 1740, 1580, 1450,

1380, 1225, 1190, 1175, 1110, 1090。

电子碰撞质谱: 625(M^+), 232 (C-17至C-26_a碎片)。

(2) 瑞藏苾-13-基异戊酸酯 (6号化合物)

$R = -CH_2CH(CH_2)_2$: 白色粉状物:

紫外吸收光谱 (CH_3OH) $\lambda_{max}^{nm}(\epsilon)$:

297(42,800), 309(55,200), 323(40,300)。

红外吸收光谱 (CCl_4) $\nu_{max}^{cm^{-1}}$:

2970, 2940, 2870, 1740, 1580, 1460,
1225, 1190, 1110, 1090。

电子碰撞质谱: 751 (M⁺), 232。

(3) 瑞藏苾-13-基辛酸酯 (18号化合物)

R = -(CH₂)₆CH₃: 白色粉状物:

紫外吸收光谱 (CH₃OH) λ_{max}^{nm}(ε):

297(43,400), 309(55,200), 323(40,700)。

红外吸收光谱 (CCl₄) ν_{max}^{cm⁻¹}:

2970, 2940, 2855, 1740, 1580, 1450,
1225, 1190, 1110, 1090。

电子碰撞质谱: 751 (M⁺), 232

(4) 瑞藏苾-13-基十二酸酯 (42号化合物)

R = -(CH₂)₁₀CH₃: 白色结晶, 熔点 141-142 °C。

紫外吸收光谱 (CH₃OH) λ_{max}^{nm}(ε):

296(42,800), 309(54,600), 323(40,300)。

红外吸收光谱 (CCl₄) ν_{max}^{cm⁻¹}:

2940, 2855, 1740, 1580, 1455, 1225,
1190, 1110, 1090。

电子碰撞质谱: 807 (M⁺), 232。

(5) 瑞藏苾-13-基十八酸酯 (70号化合物)

R = -(CH₂)₁₆CH₃: 白色结晶, 熔点 62-64 °C。

紫外吸收光谱 (CH₃OH) λ_{max}^{nm}(ε):

297(40,500), 309(51,500), 323(38,100)。

红外吸收光谱 (CCl₄) ν_{max}^{cm⁻¹}:

2940, 2855, 1740, 1580, 1455, 1225,
1190, 1110, 1090。

电子碰撞质谱: 891 (M^+), 232。

(6) 瑞藏苾-13-基十四酸酯 (54号化合物)

$R = -(CH_2)_{12}CH_3$: 白色结晶, 熔点 116.5-117.5 °C。

紫外吸收光谱 (乙醇) $\lambda_{max}^{nm}(\epsilon)$:

298(41800), 310(53400), 324(39800)。

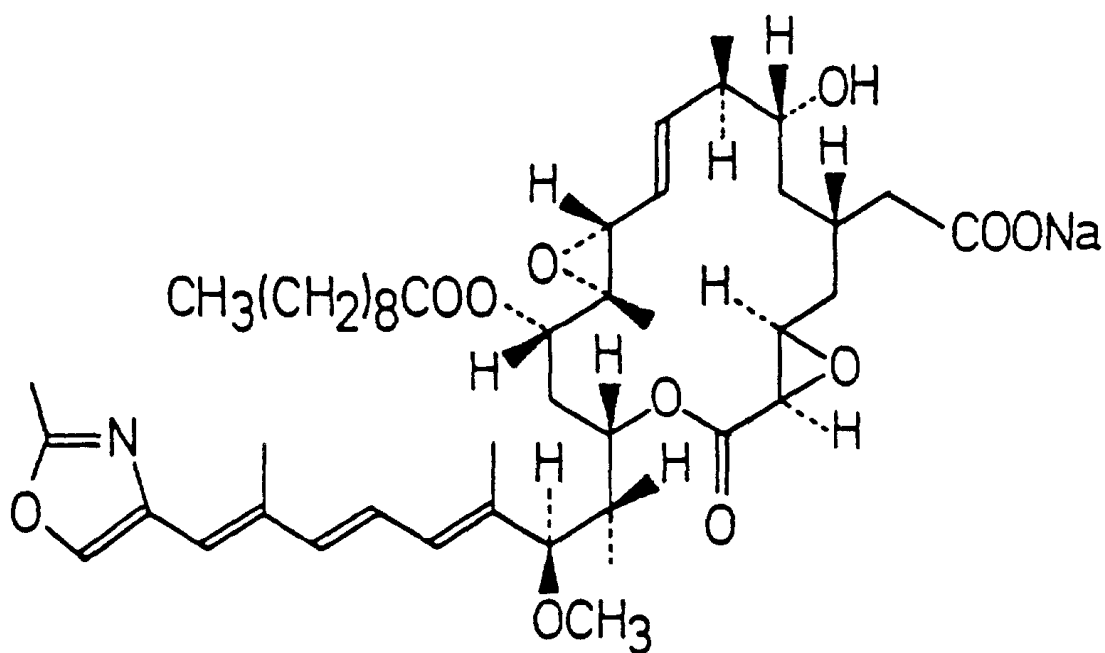
红外吸收光谱 (KBr) $\nu_{max}^{cm^{-1}}$:

2925, 2853, 1736, 1231, 1187, 1109, 1084,
983。

电子碰撞质谱: 835 (M^+), 232。

实 例 3

13-癸酰氧基-13-去羟瑞藏苾-56-酸钠 (化合物29
号钠盐)



将2毫升(0.2毫摩尔)0.1 N氢氧化钠水溶液滴加到一个搅拌着的156毫克(0.2毫摩尔)瑞藏苾-13-基癸酸酯(如上述实例1法制备)溶于8毫升乙二醇二甲醚的溶液中,此混合物在室温中搅拌10分钟。然后在室温减压蒸除有机溶媒,将残留的水溶液冻干,得到164毫克标题化合物,白色粉状,熔点:115-120 °C。

紫外吸收光谱(CH₃OH) $\lambda_{\max}^{\text{nm}}(\epsilon)$:

297(40,200), 309(51,500), 323(37,900)。

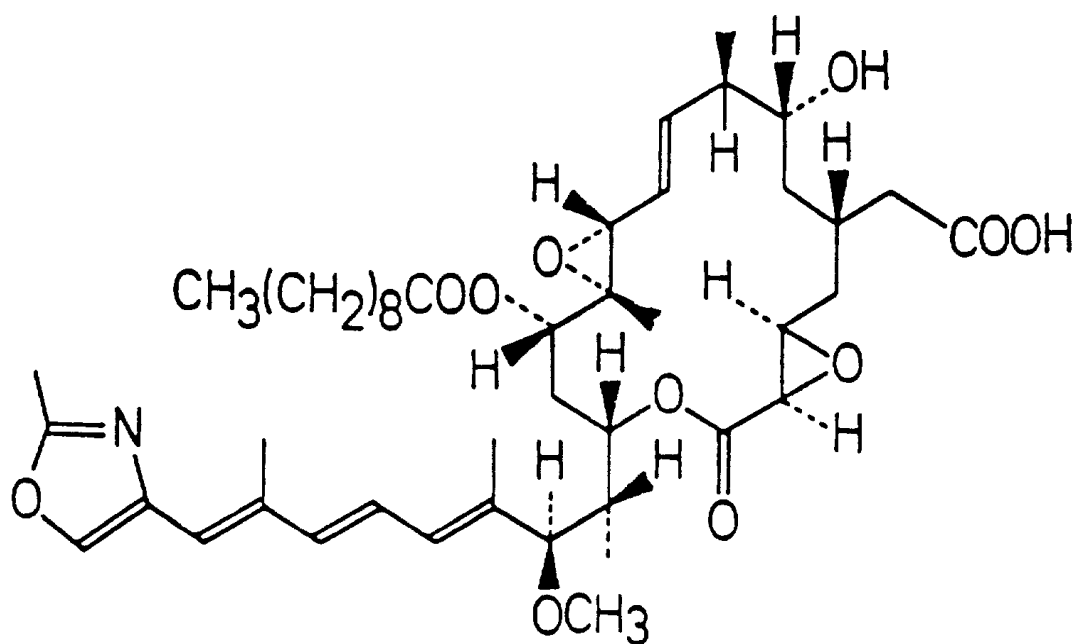
红外吸收光谱(CCl₄) $\nu_{\max}^{\text{cm}^{-1}}$:

3300(宽的), 2940, 2855, 1740, 1575, 1450, 1410, 1190, 1110, 1090。

电子碰撞质谱: 780 (M⁺ - ONa), 779 (M⁺ - HONa), 232 (基峰)。

实 例 4

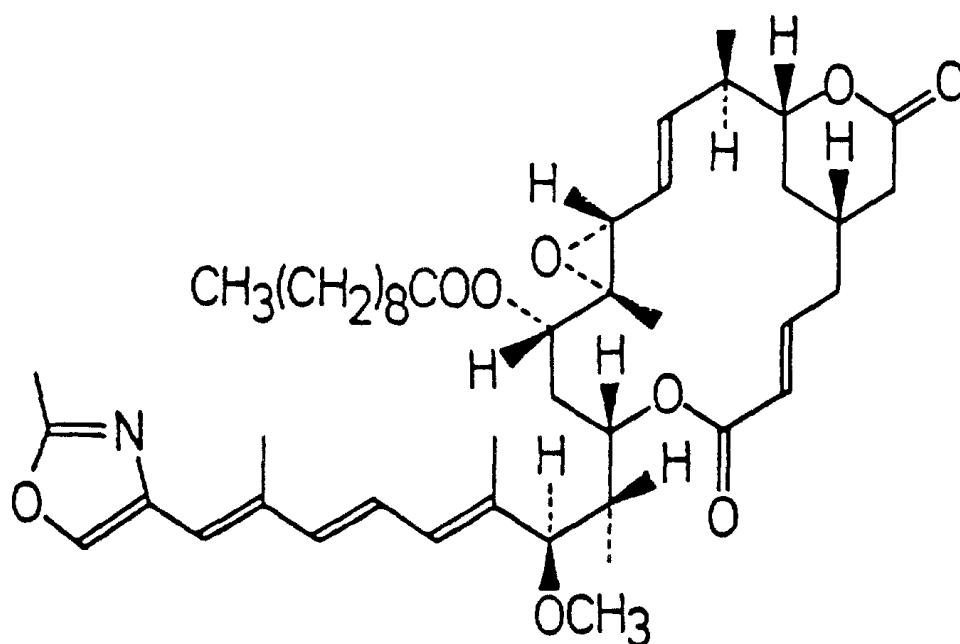
13-癸酰氧基-13-去羟瑞藏苾酸-5b(化合物29号)



将 13-癸酰氧基-13-去羟瑞藏苾-5b-酸钠 (如上述实例 3 制备的) 的样品溶于甲醇并向其中加入 1.1 当量的 0.1 N 盐酸水溶液。将混合物经薄层色谱法检查 (硅胶 60 F-254, Merck), 显示出标题化合物, 相应的游离酸的斑点。使用容量比为 4 : 1 的苯与异丙醇的混合物作展开剂, 其 R_f 值为 0.40; 使用容量比为 1:1 的苯与丙酮的混合物作展开剂, 其 R_f 值为 0.23。作为对照, 瑞藏苾在这些展开剂中的 R_f 值分别为 0.82 和 0.89。

实 例 5

2, 3-去氧瑞藏苾-2-烯-13-基癸酸酯 (化合物 86 号)。



将 183 毫克 (0.3 毫摩尔) 瑞藏苾-2-烯 (按后述制备而得), 100 毫克 (0.99 毫摩尔) 三乙胺及一个催化量的 4-二甲氨基吡啶溶于 10 毫升干燥苯中, 然后将 86 毫克 (0.45 毫摩尔) 癸酰氯滴加到搅拌并冰冷的上述溶液中。继续于室温再搅拌一个小时, 然后将反应混合物用水洗涤, 以无水硫酸镁干燥。减压蒸除有机溶媒。残留物经硅

胶柱色谱法分离，用容量比为 95:5 的苯与丙酮混合物洗脱，得到粗结晶，从甲醇重结晶，得 165 毫克标题化合物，白色结晶，熔点：145—146 °C。

紫外吸收光谱 (CH₃OH) $\lambda_{\max}^{\text{nm}}(\epsilon)$:

297(44,000), 309(56,900), 323(41,500)。

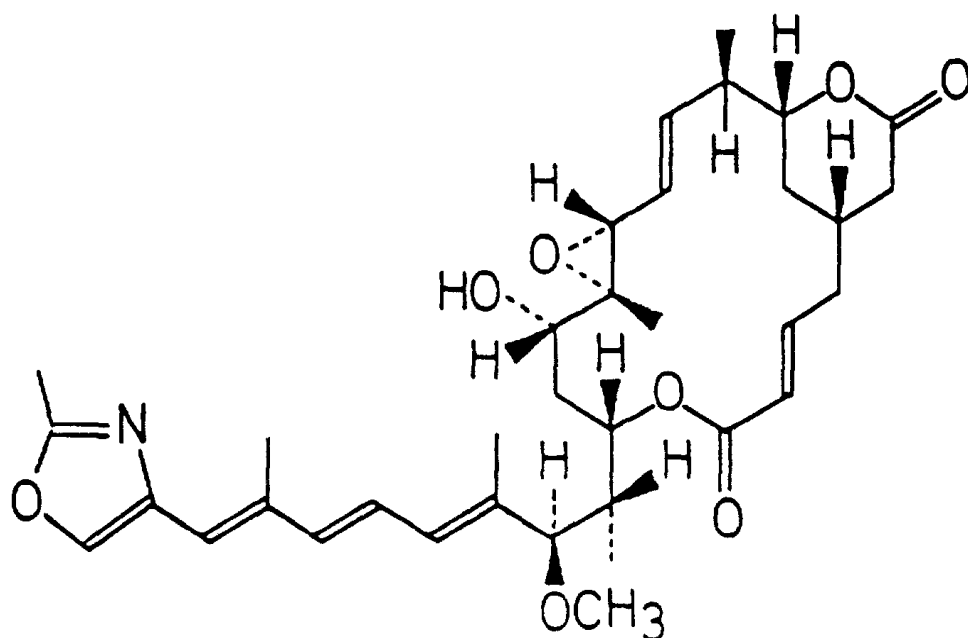
红外吸收光谱 (CCl₄) $\nu_{\max}^{\text{cm}^{-1}}$:

2940, 2855, 1735, 1650, 1580, 1450, 1380, 1320, 1210, 1195, 1170; 1110, 1080, 1040, 980, 965,

电子碰撞质谱: 763 (M⁺), 232 (基峰)。

制 备

瑞藏芯-2-烯



从 *Rhizopus chinensis* (FERM-8093) 培养物中取一滴斜面的菌丝接种到一支 500 毫升锥形烧瓶中，瓶中有 100 毫升含

有下列组分的培养基（重量百分数）：

葡萄糖	1%	K_2HPO_4	0.75%
乳糖	1%	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.25%
多蛋白冻	1%	$(NH_4)_2SO_4$	0.2%
KH_2PO_4	0.25%		

PH（灭菌前）6.8

（在此以前培养基已在120°C 45分钟灭菌过）。在28°C 震荡培养24小时。

然后将得到的这种预接种过的液体200毫升转移到一个500升罐中，内含300升与上述组分相的培养基，将此混合物在28°C 培养95小时，培养时以每分钟15公升的速度通气，保持内压1.0公斤/厘米²，搅拌200rpm。

反应终了时，将培养液加 Celite（商标）助滤剂过滤，滤液用等容量的乙酸乙酯提取。将溶媒蒸除，残留物经 LH20 柱色谱法分离，使用丙酮作洗脱剂，得到含有标题化合物的馏分。然后将此馏分经硅胶柱色谱法分离，使用一种容量比为85:15的苯与丙酮的混合物洗脱，得到标题化合物与瑞藏芯的混合物。将此混合物使用 LH20 柱色谱法分离柱及硅胶柱色谱法分离进一步精制，得到纯度约90%的标题化合物15毫克及约相同纯度的瑞藏芯670毫克，这是从300升培养液中得到的。标题化合物最后使用 ODS 柱经高压液相色谱法精制，得白色粉状物，熔点：125—128°C。

紫外吸收光谱（ CH_3OH ） $\lambda_{max}^{nm}(\epsilon)$ ：

297(48,600)，309(64,400)，323(46,300)。

红外吸收光谱（ CCl_4 ） $\nu_{max}^{cm^{-1}}$ ：

3580, 2970, 2940, 2880, 1740, 1720, 1650,
1580, 1450, 1385, 1320, 1310, 1220, 1195,
1170, 1110, 1080, 1050, 980, 965。

电子碰撞质谱: 609 (M⁺), 232 (基峰)。

实 例 6

生物活性

试验用的动物为 CDF₁ 种生长 8 周的雌性小鼠。将小鼠分成组, 每组 5 支, 同组内所有的小鼠作相同处理。每支小鼠腹腔内植入 1×10^6 小鼠白血病 P-388 (mouse leukemia P-388) 细胞。

将下表中列出的试验化合物悬浮在灭菌的生理盐水中, 将此悬浮液在植入白血病细胞后的第一, 第五和第九天腹腔给药。测定小鼠存活的期限, 对照组除不给活性药物外其它处理均相同。

抗肿瘤效果在下表中以延命率 (ILS %) 来表示, 按下列等式计算:

$$ILS (\%) = (Dt / Dc - 1) \times 100$$

式中

Dt = 试验组生存的平均天数;

Dc = 对照组生存的平均天数;

在本次试验中, Dc 为 10.6 天

本发明化合物在下表中用前表所定的标号标示。化合物 A, B 及 C 为瑞藏苾, 瑞藏苾-2-稀及瑞藏苾-13-基乙酸酯。

表

化合物 号	剂量 (毫克/天/日)									
	64	32	16	8	6	4	2	1		
A	—	—	—	—	—46	34	73	50		
B	—	—	-37	65	—	17	27	—		
C	—	—	—	—	—	38	34	—		
2	—	—	—	140	—	62	42	—		
6	—	—	—	98	—	38	15	—		
18	—	—	—	241	—	122	45	14		
29	140	72	67	22	—	37	—	—		
30	—	—	—	214	—	188	78	27		
42	—	—	—	145	—	143	76	33		
54	—	—	—	145	—	200	61	51		

上示的结果表明本发明化合物具有明显的抗肿瘤活性。所有本发明化合物至少在一种剂量水平具有从98到241范围的I L S值，这表明其抗肿瘤活性较瑞藏芯，瑞藏芯-2-烯及瑞藏芯-13-基乙酸酯都更高，而后三者的I L S的最高值分别为73（2毫克/公斤/日），65（8毫克/公斤/日）及38（4毫克/公斤/日）。负的I L S值表明试验组的平均生存期比对照组为低。这样，瑞藏芯显示了在2毫克/公斤/日剂量时其I L S值最高，但在剂量为6毫克/公斤/日时其毒性大于其抗肿瘤活性。另一方面，29号化合物直到一个剂量（那些试验过的）为64毫克/公斤/日时才达到其最大的I L S值并且大多数本发明化合物在8毫克/公斤/日剂量时显出它们的最大I L S值。

勘 误 表

CPC866093

文件名称	页	行	补 正 前	补 正 后
说明书	1	倒2	远离高	远高
	2	4	烷烃	烷基
	27	2	(毫克/天/日)	(毫克/公斤/日)
	(表)			