(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 103946217 B
(45)授权公告日 2017.04.19

(21)申请号 201280056911.5
(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 103946217 A
(43)申请公布日 2014.07.23
(66)本国优先权数据
PCT/CN2011/083261 2011.11.30 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/CN2012/085660 2012.11.30
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2013/079022 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 谢福文 赖洪喜
(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.
C07D 307/77(2006.01)
A61K 31/343(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
(56)对比文件
CN 1837200 A,2006.09.27,
CN 101012270 A,2007.08.08,
杨东等.丹参二萜醌的结构修饰.《中国药科大学学报》.1998,第29卷(第4期),第255-258.
审查员 徐建国

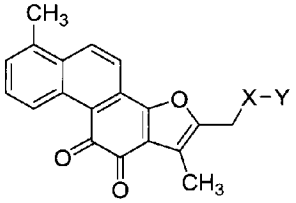
权利要求书4页 说明书33页

(54)发明名称

2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮衍生物、及其制备方法和应用

(57)摘要

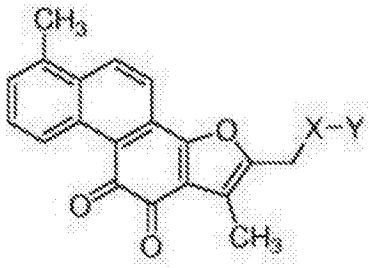
本发明属于天然药物及药物化学领域,具体涉及通式I的新型2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物或其药学上可接受的盐,制备这些化合物的方法、包含该化合物的药物组合物及其在制备抗肿瘤药物中的用途。式I中,当x为氮时,为2-位胺化亚甲基丹参酮I;当x为氧时,为2-位酯化亚甲基丹参酮I。



I

CN 103946217 B

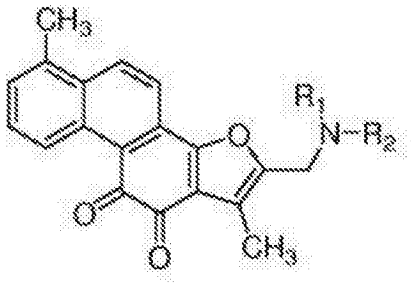
1.通式(I)的2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物或其药学上可接受的盐，



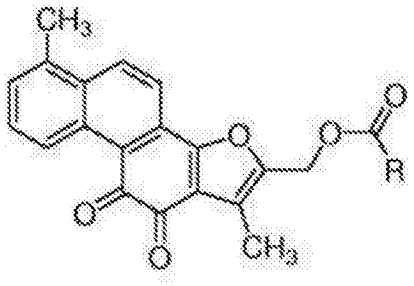
I

X为氮或氧；

当X为氮时，Y为(R_1R_2)，即式(I)化合物为式I-1的2-位胺化亚甲基丹参酮I；当X为氧时，Y为-(CO)R，即式(I)化合物为式I-2的2-位酯化亚甲基丹参酮I，



I-1



I-2

式中R_1为甲基或乙基；R_2为被选自如下的取代基取代的C_1-C_3烷基：羟基、C_1-C_6烷基羰氧基、C_3-C_7环烷基羰氧基、C_5-C_6杂环基羰氧基、其中氨基任选被C_1-C_6烷氧基羰基取代的氨基酸酯基、其中一个羧基任选被C_1-C_6烷基酯化的任选含有碳-碳双键的C_2-C_8二羧酸酯基；

R选自H、C_2-C_{18}烷基、C_2-C_{18}烯基或炔基，卤素取代的苯基，卤素取代的C_5-C_7杂芳基。

2.根据权利要求1的丹参酮I衍生物或其药学上可接受的盐，其中X为氮。

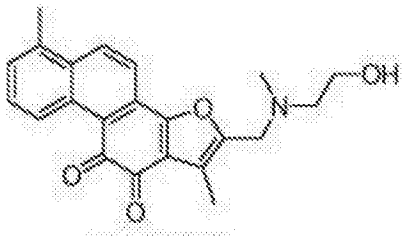
3.根据权利要求2的丹参酮I衍生物或其药学上可接受的盐，其中R_1为甲基；R_2为被所述取代基取代的乙基。

4.根据权利要求2或3的丹参酮I衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述取代基选自下组：羟基、乙酰氧基、丙酰氧基、丁酰氧基、异丁酰氧基、戊酰氧基、异戊酰氧基、叔戊酰氧基、哌啶基羰氧基、哌嗪基羰氧基、吗啉基羰氧基、吡咯烷基羰氧基、咪唑烷基羰氧基、甘氨酸酯基、N-叔丁氧羰基甘氨酸酯基、缬氨酸酯基、谷氨酸酯基、赖氨酸酯基、丙二酸单酯基、丁二酸单酯基、马来酸单酯基、甲基马来酸酯基、戊二酸单酯基、己二酸单酯基、庚二酸单酯基。

5.根据权利要求2的丹参酮I衍生物或其药学上可接受的盐，其被在苯环上任选由卤素取代的苄基季铵化。

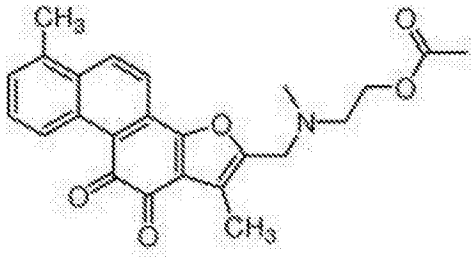
6.根据权利要求1的丹参酮I衍生物或其药学上可接受的盐，其中X为氧，R为C_2-C_6烷基或卤素取代的苯基或卤素取代的C_5-C_7杂芳基。

7.根据权利要求1的丹参酮I衍生物或其药学上可接受的盐，选自下述化合物：



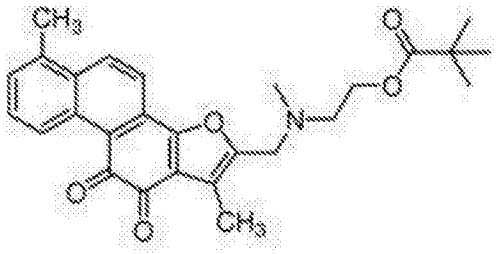
BS-TA-617

2-(N-甲基乙醇胺基)甲基-丹参酮I



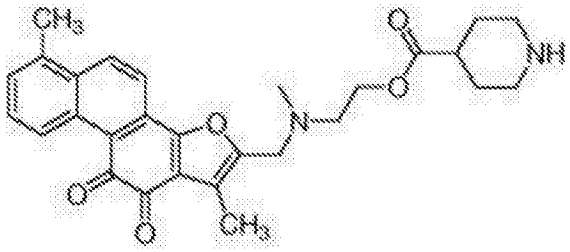
BS-TA-61

2-(N-甲基-乙酰氧乙基-胺基)甲基-丹参酮I



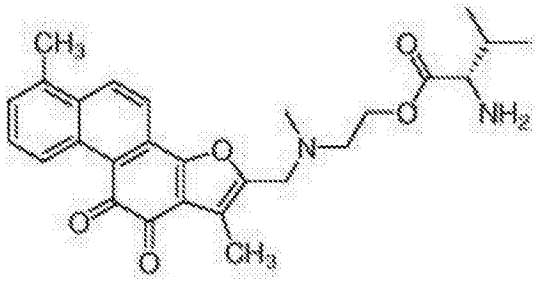
BS-TA-62

2-(N-甲基-叔丁酰氧乙基-胺基)甲基-丹参酮I



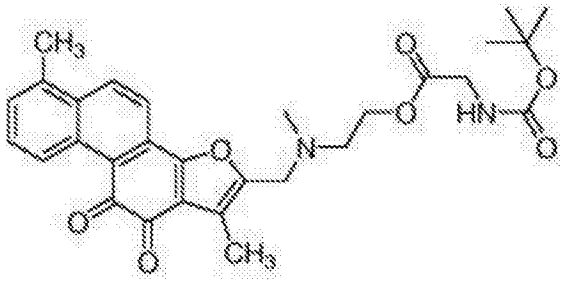
BS-TA-64

2-((N-甲基-(4-哌啶酰)氧乙基-胺基))甲基-丹参酮I



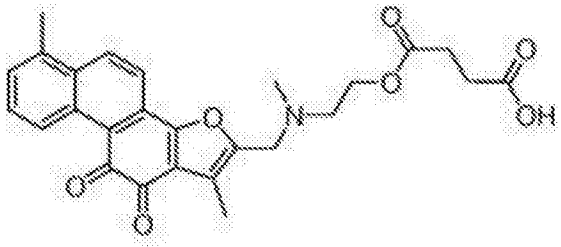
BS-TA-71

2-(N-甲基-L-缬氨酰氧乙基-胺基)甲基-丹参酮I



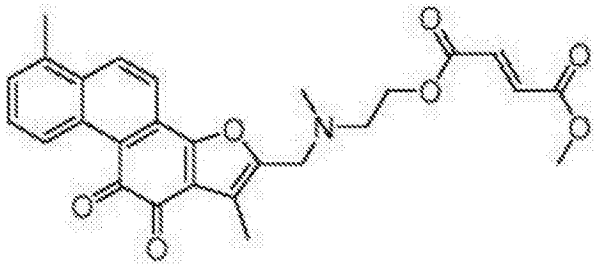
BS-TA-72

2-(N-甲基-Boc-甘氨酰氧乙基-胺基)甲基-丹参酮I



BS-TA-73

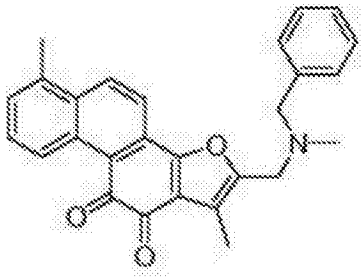
2-(N-甲基-琥珀单酰氧乙基-胺基)甲基-丹参酮I



BS-TA-74

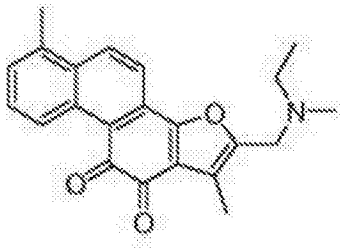
2-(N-甲基-反式富马甲酯单酰氧乙基-胺基)甲基-丹参酮I。

8.一种丹参酮I衍生物或其药学上可接受的盐,选自下述化合物:



BS-TA-B01

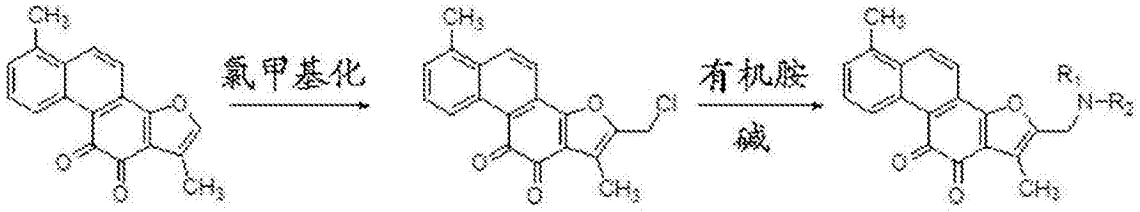
2-(N-甲基苄胺基)甲基-丹参酮I



BS-TA-803

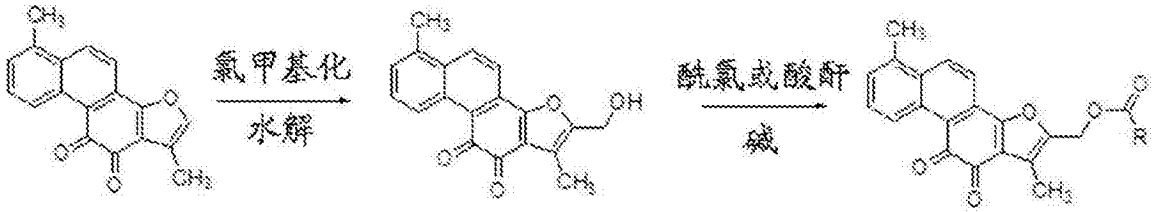
2-(N-甲基乙胺基)甲基-丹参酮I。

9.一种制备根据权利要求1所述的通式(I)化合物的方法



丹参酮I 2-氯甲基丹参酮I I-1

包括将丹参酮I先经氯甲基化反应,生成2-氯甲基丹参酮I中间体;生成的2-氯甲基丹参酮I再与相应的有机胺,在碱的存在下反应,生成2-位胺化亚甲基丹参酮I-1,式中R_1和R_2与权利要求1-8任一项中通式I-1中的定义相同;或者



丹参酮I 2-羟甲基丹参酮I I-2

包括将丹参酮I先经氯甲基化和水解反应,生成2-羟甲基丹参酮I中间体;生成的2-羟甲基丹参酮I再与相应的酰氯或酸酐,在碱的存在下反应生成2-位酯化亚甲基丹参酮I-2,式中R与权利要求1-8中任一项中通式I-2中的定义相同。

10.一种药物组合物,其中包含权利要求1-8中任一项的丹参酮I衍生物或其药学上可接受的盐和任选的药学上可接受的赋形剂。

2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮衍生物、及其制备方法和应用

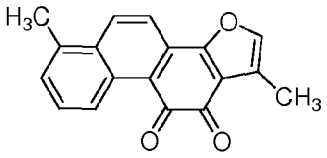
技术领域

[0001] 本发明属于天然药物及药物化学领域并涉及新型丹参酮衍生物，特别是2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I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。

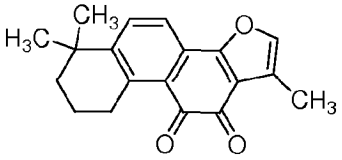
背景技术

[0002] 丹参酮I(Tanshinone I)，又叫丹参醌I，化学式(1,6-二甲基-菲并[1,2-b]呋喃-10,11-二酮)，提取于唇形科植物丹参(Salvia miltiorrhiza Bge)的根及茎。丹参酮I，其药理作用广泛，临床使用范围很大，可用于治疗冠心病，心绞痛，心肌梗塞，病毒性心肌炎，心律失常，脑血管病，脑供血不足，脑血栓形成，脑梗塞，肝炎，肿瘤，高血压等病症的治疗。因此，科学家们对以下的各种丹参酮衍生物进行了大量的研究。

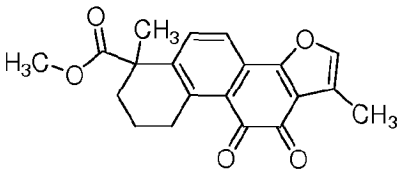
[0003]



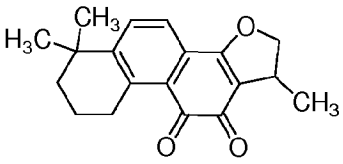
Tanshinone I
丹参酮I



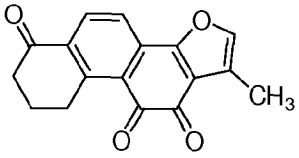
Tanshinone IIA
丹参酮IIA



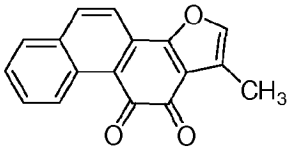
Methyl tanshinonate
丹参酸甲酯



Cryptotanshinone
隐丹参酮

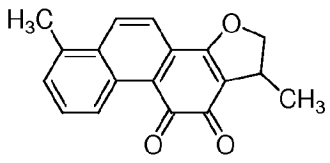


Nortanshinone
去甲丹参醌

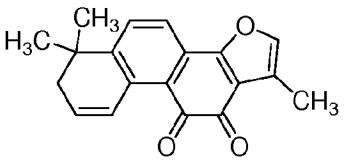


Demethyltanshinone
去甲丹参酮

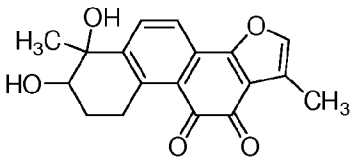
[0004]



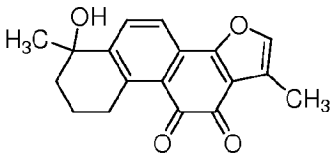
dihydrotanshinone I
二氢丹参酮 I



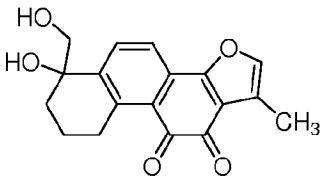
dihydrotanshinone IIA
去氢丹参酮 IIA



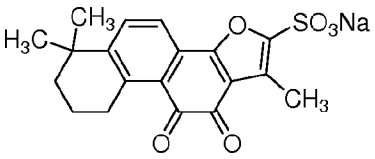
Tanshinondiol B
丹参酮二醇B



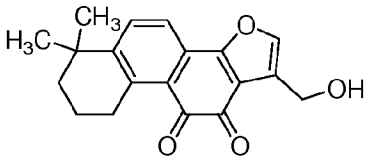
3-hydroxytanshinone IIA
3-羟基丹参酮IIA



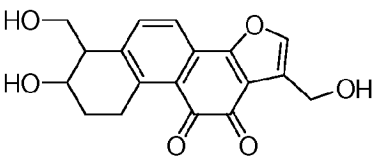
Tanshinondiol A
丹参酮二醇A



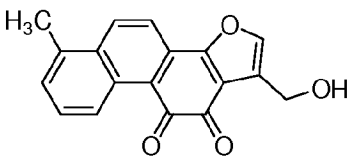
Tanshinone IIA sulfonate
丹参酮IIA 磺酸钠盐



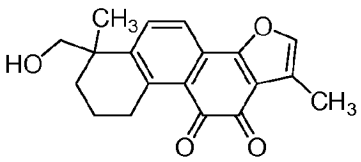
Przewaquinone
紫丹参甲素



Przewaquinone F
紫丹参己素



Przewaquinone B
紫丹参乙素



Tanshinone IIB
丹参酮IIB

[0005] 由于丹参酮I的水溶性很差，其在体内生物利用度很低，有科学家试图对丹参酮I进行结构修饰，以提高其水溶性和生物利用度，扩大丹参酮I的药用价值。(秦引林.丹参酮I衍生物及其在制药中的应用[P]CN 1837199A.2006;秦引林.丹参酮I衍生物及其在制药中的应用[P]CN 1837200A.2006;杜志云等.丹参酮衍生物及在制备醛糖还原酶抑制剂药物中的应用[P]CN 101012270A.2007)。

[0006] 丹参酮I具有一定的抗肿瘤作用。有报道通过观察丹参酮I对Hep G2细胞体外及体内的实验的多种指标的影响，综合判断其是否具有抗肿瘤活性。体外实验结果表明，丹参酮I能抑制Hep G2细胞的增殖。此外，荷瘤裸鼠肿瘤抑制实验结果表明丹参酮I能够抑制荷瘤裸鼠肿瘤的生长，即在活体上也具有抑制肿瘤作用。(郑国灿，李智英.丹参酮Hep G2细胞抑制作用的体外实验研究.现代医学，2004，32(15)：296-298;郑国灿，李智英.丹参酮I抗肿瘤作用及作用机制的实验研究.实用肿瘤杂志，2005，20(1)：33-35)。

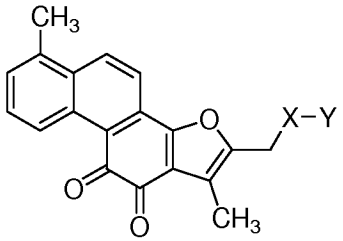
[0007] 另外，有研究报道了丹参酮I体外对SGC-7901胃腺癌细胞的增殖和凋亡的影响。实验发现，丹参酮I对体外培养的SGC-7901人胃腺癌细胞的生长有明显的抑制作用，且其抑制

细胞生长在一定范围内，随丹参酮I的浓度增加而抑制作用增强.(周晓丽等.丹参酮I对人胃腺癌细胞SGC-7901增殖、凋亡的影响.现代肿瘤医学,2011,19(3):423-427)。

[0008] 尽管对丹参酮的结构修饰与生物活性的研究很多，但是尚未见到水溶性好、毒性低和生物活性高的抗肿瘤丹参酮化合物的合成和应用的报道。

发明内容

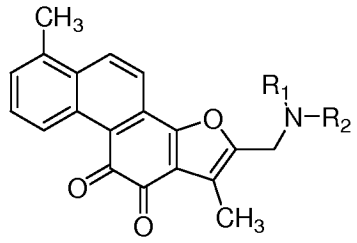
[0009] 本发明的目的之一是提供特征为通式(I)的新型丹参酮I衍生物或其药学上可接受的盐：

[0010] 

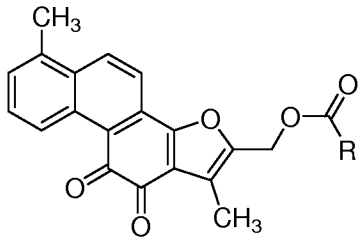
I

[0011] 其中，X为氧或氮；

[0012] 当X为氮时，Y为(R_1R_2)，即式(I)化合物为式I-1，2-位胺化亚甲基丹参酮I；当X为氧时，Y为-(CO)R，即式(I)化合物为式I-2，2-位酯化亚甲基丹参酮I，

[0013] 

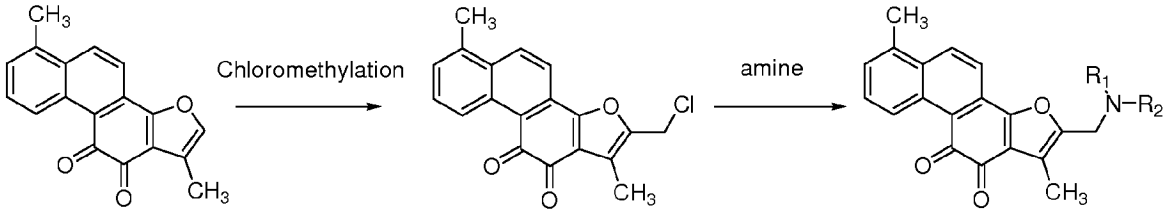
I-1



I-2

[0014] 式中R、R_1、R_2选自H、取代或无取代的C_1-C_{18}烷基、取代或无取代的C_2-C_{18}烯基或炔基、取代或无取代的C_3-C_7环烷基或环烯基、取代或无取代的芳基、取代或无取代的杂环基或杂芳基，或者R_1和R_2与其连接的碳原子一起形成非芳香含氮杂环基或含氮杂芳基；其中所述取代是被选自下组的一个或多个取代基取代：卤素、硝基、氰基、氨基、羟基、巯基、羧基、C_1-C_6取代氨基、C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷硫基。

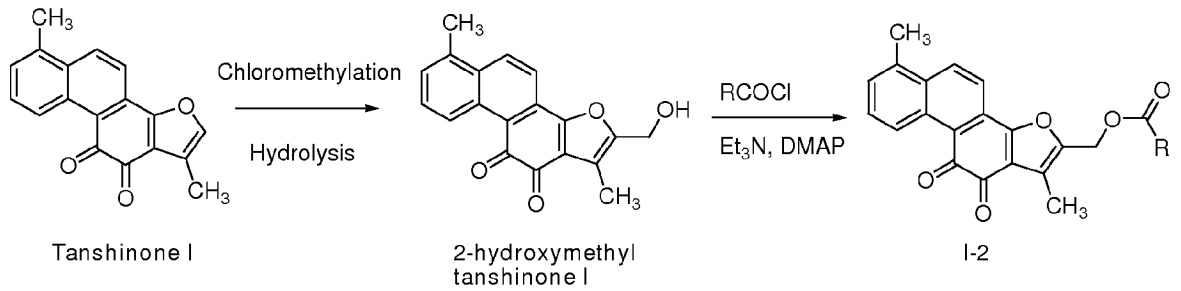
[0015] 本发明的目的之二是提供制备本发明通式(I)的2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物的方法：

[0016] 

[0017] 本发明的2-位胺化亚甲基丹参酮I衍生物(I-1)可按上式所示由两步反应制取。丹

参酮I(TA)先经氯甲基化反应,生成2-氯亚甲基丹参酮I中间体;生成的2-氯亚甲基丹参酮I再与相应的有机胺,在碱存在下反应生成2-位胺化亚甲基丹参酮I衍生物(I-1),式中R_1和R_2与上文在通式(I)中的定义相同,任选地进一步将所得化合物衍生化得到其他式(I)化合物。

[0018]



[0019] 本发明的2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物(I-2)可按上式所示由两步反应制取。丹参酮I(TA)先经羟甲基化反应,生成2-羟甲基丹参酮I中间体;生成的2-羟甲基丹参酮I再与相应的有机酰氯或酸酐,在碱存在下反应生成2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物(I-2),式中R与上文在通式(I)中的定义相同,任选地进一步将所得化合物衍生化得到其他式(I)化合物。

[0020] 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,和任选的药学上可接受的赋形剂。

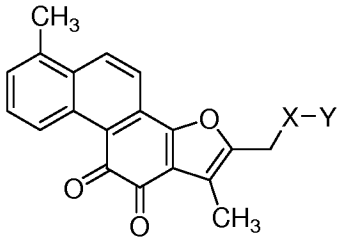
[0021] 本发明的目的之四是提供本发明化合物或包含该化合物的药物组合物在制备药物、特别是抗肿瘤药物中的用途。相应地,本发明提供一种治疗肿瘤患者的方法,包括给予需要治疗的患者治疗有效量的至少一种本发明的化合物。所述肿瘤特别选自白血病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、肝癌、胃癌、乳腺癌、胆管细胞癌、胰腺癌、肺癌、大肠癌、骨肉瘤、黑色素瘤、人宫颈癌、神经胶质瘤、鼻咽癌、喉癌、食管癌、中耳肿瘤、前列腺癌等。

[0022] 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

[0023] 本发明涉及通式(I)的新型2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物或其药学上可接受的盐,

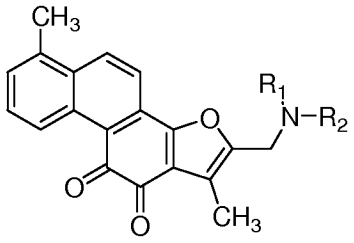
[0024]



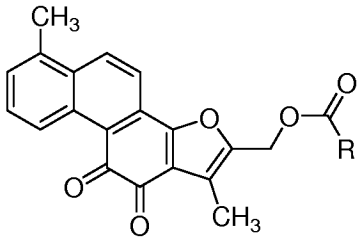
I

[0025] 其中,X为氧或氮;

[0026] 当X为氮时,Y为(R_1R_2),即式(I)化合物为式I-1,2-位胺化亚甲基丹参酮I;当X为氧时,Y为-(CO)R,即式(I)化合物为式I-2,2-位酯化亚甲基丹参酮I,

[0027] 

I-1



I-2

[0028] 式中R、R_1、R_2选自H、取代或无取代的C_1-C_{18}烷基、取代或无取代的C_2-C_{18}烯基或炔基、取代或无取代的C_3-C_7环烷基或环烯基、取代或无取代的芳基、取代或无取代的杂环基或杂芳基，或者R_1和R_2与其连接的碳原子一起形成非芳香含氮杂环基或含氮杂芳基；其中所述取代是被选自下组的一个或多个取代基取代：卤素、硝基、氰基、氨基、羟基、巯基、羧基、C_1-C_6取代氨基、C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷硫基。

[0029] 根据本发明一个优选的实施方式，所述X为氮。

[0030] 根据本发明另一个优选的实施方式，所述R_1为H、甲基或乙基；R_2为被选自如下的取代基取代的C_1-C_3烷基：羟基、C_1-C_6烷基羰氧基、环烷基羰氧基、杂环基羰氧基、其中氨基任选被C_1-C_6烷氧基羰基取代的氨基酸酯基、其中一个羧基任选被C_1-C_6烷基酯化的任选含有碳-碳双键的C_2-C_8二羧酸酯基。

[0031] 根据本发明一个优选的实施方式，所述R_1为氢或甲基；R_2为被所述取代基取代的乙基。

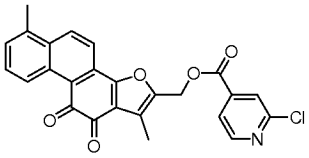
[0032] 根据本发明又一个优选的实施方式，所述其中所述取代基选自下组：羟基、乙酰氧基、丙酰氧基、丁酰氧基、异丁酰氧基、戊酰氧基、异戊酰氧基、叔戊酰氧基、哌啶基羰氧基、哌嗪基羰氧基、吗啉基羰氧基、吡咯烷基羰氧基、咪唑烷基羰氧基、甘氨酸酯基、N-叔丁氧羰基甘氨酸酯基、缬氨酸酯基、谷氨酸酯基、赖氨酸酯基、丙二酸单酯基、丁二酸单酯基、马来酸单酯基、甲基马来酸酯基、戊二酸单酯基、己二酸单酯基、庚二酸单酯基。

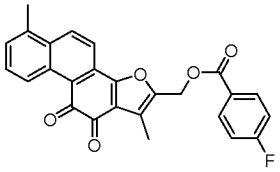
[0033] 根据本发明一个优选的实施方式，所述2-位胺化亚甲基丹参酮I被在苯环上任选由卤素取代的苄基季铵化。

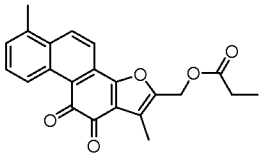
[0034] 根据本发明一个优选的实施方式，所述X为氧或硫，R为由羟基或卤素任选取代的C_1-C_6烷基或由羟基或卤素任选取代的芳基或杂芳基。

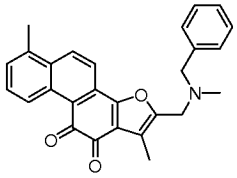
[0035] 本发明的部分优选的2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物如下所示。这些实施例举只对本发明做进一步说明，并不对本发明的范围构成任何限制。

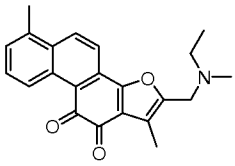
[0036]

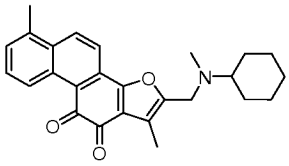

BS-TA-A01

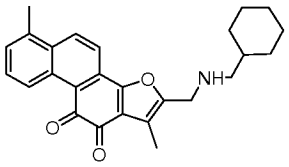

BS-TA-A02

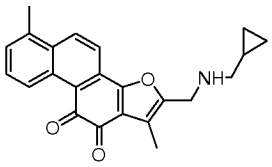

BS-TA-A03

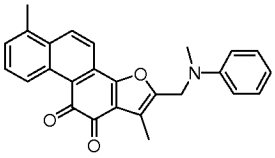

BS-TA-B01

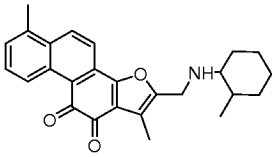

BS-TA-B03

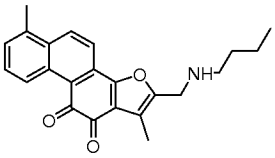

BS-TA-B05

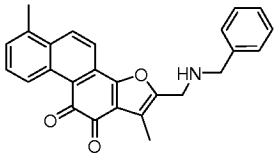

BS-TA-B06


BS-TA-B07

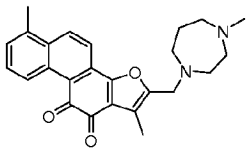

BS-TA-B08

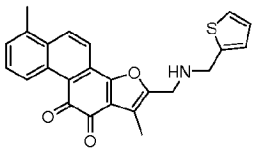

BS-TA-B09

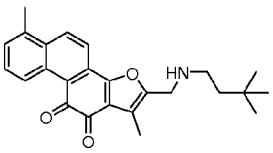

BS-TA-B10

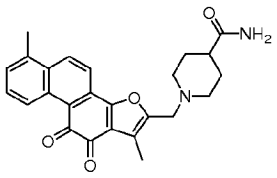

BS-TA-B11

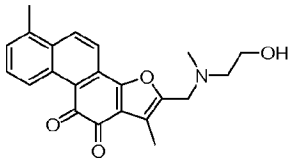
[0037]

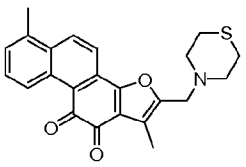

BS-TA-B12

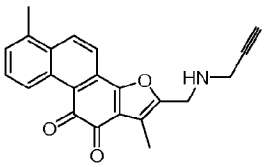

BS-TA-B13

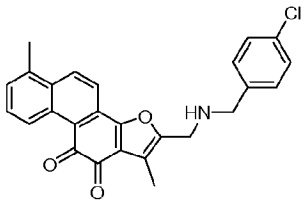

BS-TA-B14

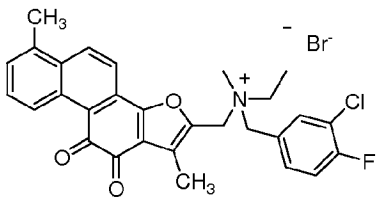

BS-TA-B16

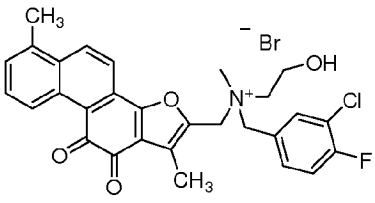

BS-TA-B17

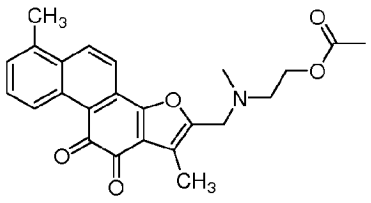

BS-TA-B18

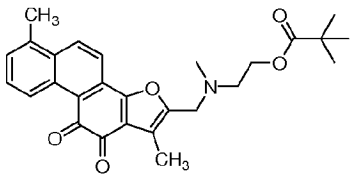

BS-TA-B21

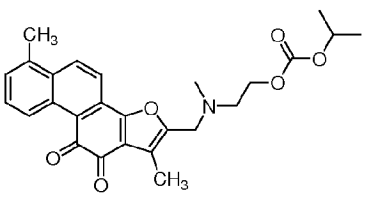

BS-TA-B22

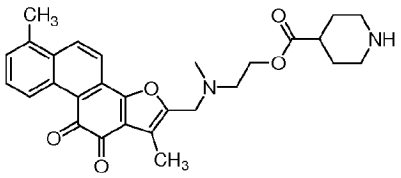

BS-TA-50

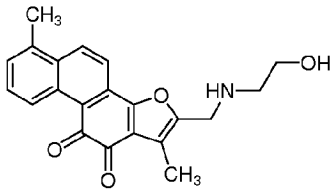

BS-TA-60

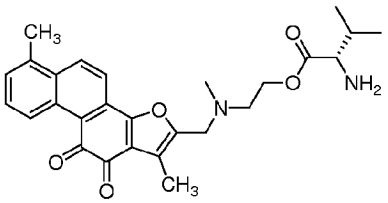

BS-TA-61

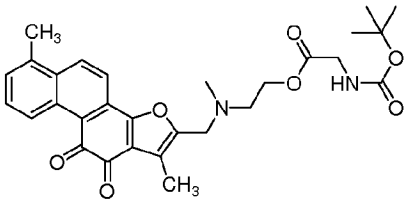

BS-TA-62

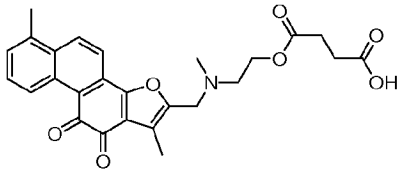

BS-TA-63

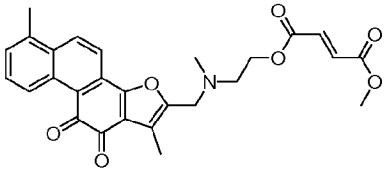

BS-TA-64

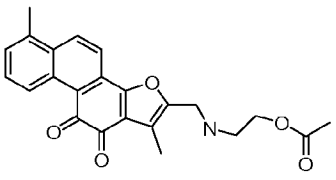

BS-TA-65


BS-TA-71

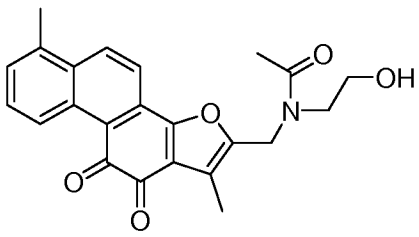

BS-TA-72


BS-TA-73

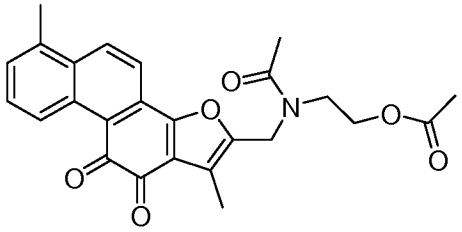

BS-TA-74


BS-TA-79

[0038]



BS-TA-80



BS-TA-81

[0039] 上面所列化合物部分数据如下表所示：

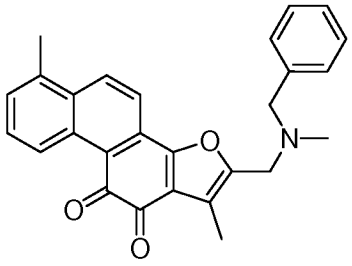
[0040]

化合物编号	分子式	分子量	外观	状态	反应总收率(%)
BS-TA-A01	$C_{25}H_{16}ClNO_5$	445.86	红色	固体	4.8
BS-TA-A02	$C_{26}H_{17}FO_5$	428.42	红色	固体	4.3
BS-TA-A03	$C_{22}H_{18}O_5$	362.39	红色	固体	1.2
BS-TA-B01	$C_{27}H_{23}NO_3$	409.49	深红色	固体	20.0
BS-TA-B03	$C_{22}H_{21}NO_3$	347.42	棕色	固体	26.4
BS-TA-B05	$C_{26}H_{27}NO_3$	401.51	深红色	固体	82.9
BS-TA-B06	$C_{26}H_{27}NO_3$	401.51	深红色	固体	57.6
BS-TA-B07	$C_{23}H_{21}NO_3$	359.43	深红色	固体	45.6
BS-TA-B08	$C_{26}H_{21}NO_3$	395.46	深红色	固体	98.5
BS-TA-B09	$C_{26}H_{27}NO_3$	401.51	红色	固体	58.1
BS-TA-B10	$C_{23}H_{23}NO_3$	361.44	深红色	固体	51.7
BS-TA-B11	$C_{26}H_{21}NO_3$	395.46	深红色	固体	31.2
BS-TA-B12	$C_{25}H_{26}N_2O_3$	402.50	深红色	固体	23.9
BS-TA-B13	$C_{24}H_{19}NO_3S$	401.49	深红色	固体	46.9
BS-TA-B14	$C_{25}H_{27}NO_3$	389.50	深红色	固体	55.0
BS-TA-B16	$C_{25}H_{24}N_2O_4$	416.48	红色	固体	80.1
BS-TA-B17	$C_{22}H_{21}NO_4$	363.42	深红色	固体	85.5
BS-TA-B18	$C_{23}H_{21}NO_3S$	391.49	深红色	固体	85.1
BS-TA-B21	$C_{22}H_{17}NO_3$	343.39	深红色	固体	25.1
BS-TA-B22	$C_{26}H_{20}ClNO_3$	429.91	深红色	固体	31.3
BS-TA-50	$C_{29}H_{26}BrClFNO_3$	570.88	绿色	固体	16.9

[0041]

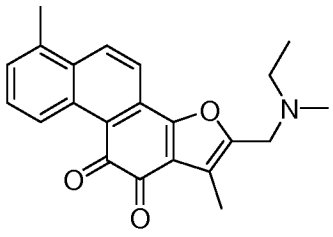
BS-TA-60	$C_{29}H_{26}BrClFNO_4$	586.88	红色	固体	13.6
BS-TA-61	$C_{24}H_{23}NO_5$	405.44	棕色	固体	31.5
BS-TA-62	$C_{27}H_{29}NO_5$	447.52	棕色	固体	16.9
BS-TA-63	$C_{26}H_{27}NO_6$	449.5	棕色	固体	22.6
BS-TA-64	$C_{28}H_{30}N_2O_5$	474.55	棕色	固体	8.6
BS-TA-65	$C_{21}H_{19}NO_4$	349.38	棕色	固体	32.2
BS-TA-71	$C_{27}H_{30}N_2O_5$	462.54	棕色	固体	12.4
BS-TA-72	$C_{29}H_{32}N_2O_7$	520.57	棕色	固体	22.2
BS-TA-73	$C_{26}H_{25}NO_7$	463.48	棕色	固体	9.8
BS-TA-74	$C_{27}H_{25}NO_7$	475.49	棕色	固体	57.7
BS-TA-79	$C_{23}H_{21}NO_5$	391.42	棕色	固体	11.1
BS-TA-80	$C_{23}H_{21}NO_5$	391.42	棕色	固体	2.8
BS-TA-81	$C_{25}H_{23}NO_6$	433.45	棕色	固体	0.1

[0042] 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：

[0043] 

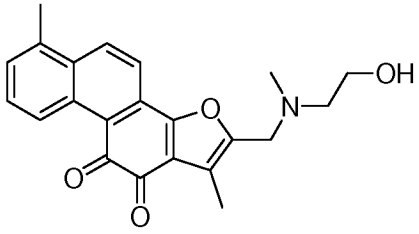
BS-TA-B01

[0044] 2-(N-甲基苄胺基)甲基-丹参酮I

[0045] 

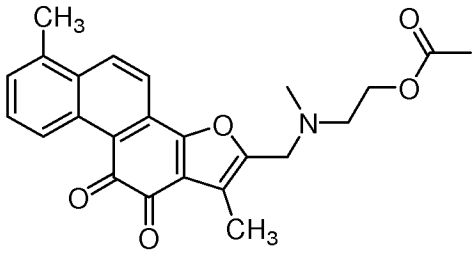
BS-TA-B03

[0046] 2-(N-甲基乙胺基)甲基-丹参酮I

[0047] 

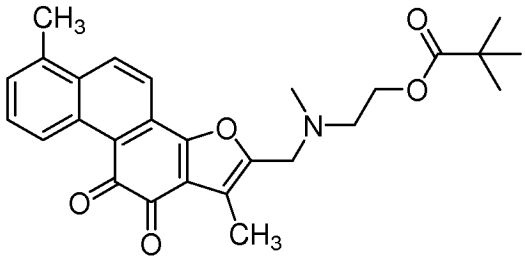
BS-TA-B17

[0048] 2-(N-甲基乙醇胺基)甲基-丹参酮I

[0049] 

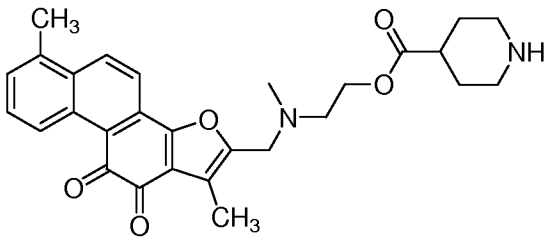
BS-TA-61

[0050] 2-(N-甲基-乙酰氧乙基-胺基)甲基-丹参酮I

[0051] 

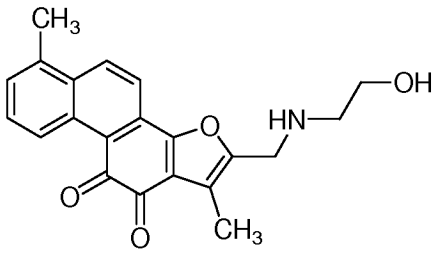
BS-TA-62

[0052] 2-(N-甲基-叔丁酰氧乙基-胺基)甲基-丹参酮I

[0053] 

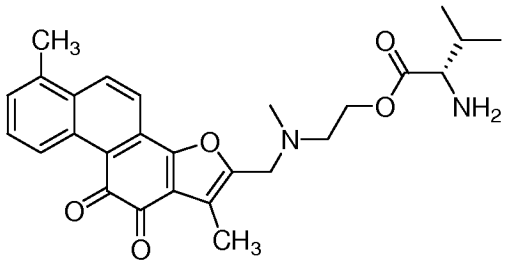
BS-TA-64

[0054] 2-((N-甲基-(4-哌啶酰)氧乙基-胺基))甲基-丹参酮I

[0055] 

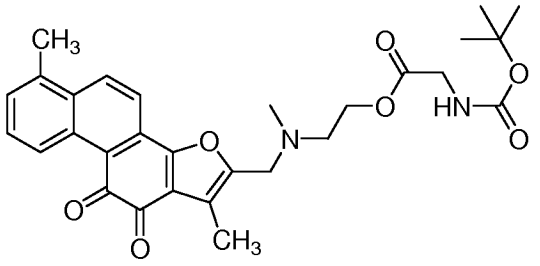
BS-TA-65

[0056] 2-(乙醇胺基)甲基-丹参酮I

[0057] 

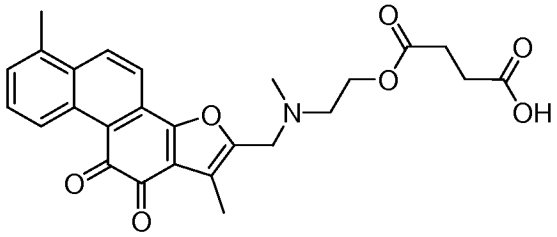
BS-TA-71

[0058] 2-(N-甲基-L-缬氨酰氧乙基-胺基)甲基-丹参酮I

[0059] 

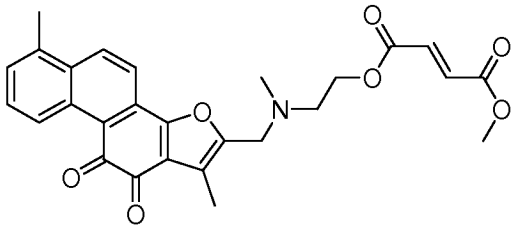
BS-TA-72

[0060] 2-(N-甲基-Boc-甘氨酰氧乙基-胺基)甲基-丹参酮I

[0061] 

BS-TA-73

[0062] 2-(N-甲基-琥珀单酰氧乙基-胺基)甲基-丹参酮I

[0063] 

BS-TA-74

[0064] 2-(N-甲基-反式富马甲酯单酰氧乙基-胺基)甲基-丹参酮I

[0065] 本发明的2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物具有抗癌活性。与丹参酮I本身相比，本发明优选的化合物具有更高的抗癌活性，甚至提高数倍或数十倍。

[0066] 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烷烃基。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。

[0067] 术语“烯基”是指含有指定碳原子数的直链或支链烯基。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。烯烃基的例子包

括但不限于乙烯基、烯丙基、和十八烯基。

[0068] 术语“C_1-C_{18}烷酰基”是指含有1-18个碳原子的直链或支链的烷酰基。C_1-C_{18}烷酰基的例子包括但不限于乙酰基、丁酰基。

[0069] 术语“C_1-C_{18}烷氧基羰基”是指含有1-18个碳原子的直链或支链烷氧酰基。C_1-C_{18}烷氧基羰基的例子包括但不限于甲氧基羰基，叔丁氧基羰基。

[0070] 术语“C_1-C_{18}烷硫基羰基”是指含有1-18个碳原子的直链或支链烷硫基羰基。C_1-C_{18}烷硫基羰基的例子包括但不限于甲硫基羰基，乙硫基羰基。

[0071] 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。

[0072] 术语“芳基”是指含有6-14个碳原子(例如6-12个、6-10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。

[0073] 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。

[0074] 术语“含氮杂芳基”是指至少含有一个氮原子作为环成员的如上所定义的“杂芳基”。

[0075] 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。

[0076] 术语“含氮杂环基”是指至少含有一个氮原子作为环成员的如上所定义的“杂环基”。

[0077] 术语“卤素”是指氟、氯、溴或碘。

[0078] 术语“烷基取代氨基”是指-N-烷基。

[0079] 术语“烷氧基”是指-O-烷基。

[0080] 术语“烷硫基”是指-S-烷基。

[0081] 术语“氨基酸酯基”是除去氨基酸羧基上氢原子后的基团。

[0082] 术语“氨基酸”是羧基的α碳原子上含有氨基的一类有机小分子化合物，优选天然的L-氨基酸或其相应的D型异构体。天然氨基酸的例子例如为丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、蛋氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、天冬氨酸和谷氨酸等。

[0083] 如本文所使用，术语“式(I)化合物的药学上可接受的盐”的例子是由形成药学上可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

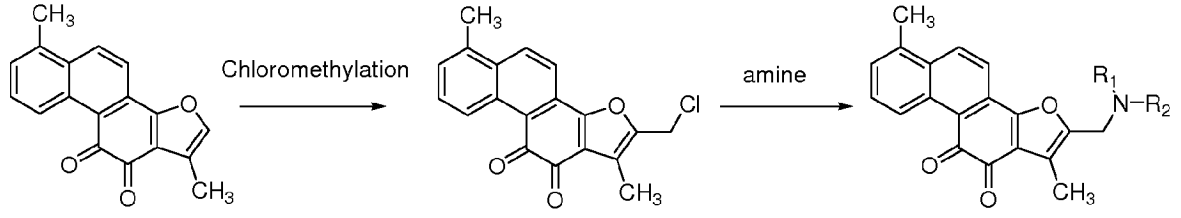
酸盐、苹果酸盐、醋酸盐、柠檬酸盐、丙二酸盐、酒石酸盐、琥珀酸盐、苯甲酸盐、抗坏血酸盐、乳酸盐、α-酮戊二酸盐和α-甘油磷酸盐；也可形成合适的无机盐；这些无机酸盐包括但不限于盐酸盐、硫酸盐、硝酸盐、碳酸氢盐和碳酸盐、磷酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐等。

[0084] 药学上可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接受的阴离子的合适的酸反应生成。

[0085] 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。

[0086] 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)化合物可按如下通用方法制备：

[0087]



Tanshinone I　2-chloromethyl tanshinone I　I-1

[0088] 本发明的2-位胺化亚甲基丹参酮I衍生物(I-1)可按上式所示由两步反应制取。丹参酮I(TA)先经氯甲基化反应，生成2-氯亚甲基丹参酮I中间体；生成的2-氯亚甲基丹参酮I再与相应的有机胺，在碱的存在下反应生成2-位胺化亚甲基丹参酮I衍生物(I-1)，式中R_1和R_2与上文在通式(I)中的定义相同，任选地进一步将所得化合物衍生化得到其他式(I)化合物。

[0089] 丹参酮I(TA)的氯甲基化反应称为布兰克(Blanc Reaction)氯甲基化反应，一般在低温或室温下进行。

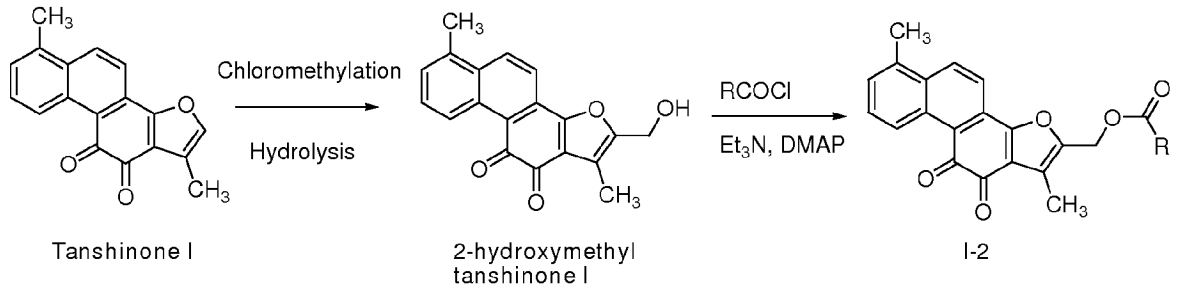
[0090] 上述的氯甲基化反应一般在有活性的氯甲基化试剂存在下进行。这里氯甲基化试剂可以是但不限于多聚甲醛和盐酸与氯化锌的混合物(即传统的布兰克反应)，或者是氯甲基甲基醚。

[0091] 2-氯亚甲基丹参酮I的胺化反应一般在有碱存在下。这里碱可以是但不限于碳酸钾，三乙胺。

[0092] 2-氯亚甲基丹参酮I的胺化反应一般在低温或室温下进行。反应的温度取决于有机胺的反应活性。

[0093] 2-氯亚甲基丹参酮I的胺化反应一般在溶剂中进行。反应溶剂可以是但不限于乙腈，四氢呋喃，N,N-二甲基甲酰胺，二甲亚砜(DMSO)等。

[0094]



[0095] 如上式所示，本发明的2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物(I-2)可按上式所示由两步反应制取。丹参酮I(TA)先经羟甲基化反应，生成2-羟甲基丹参酮I中间体；生成的2-羟甲基丹参酮I再与相应的有机酰氯或酸酐，在碱存在下反应生成2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物(I-2)，式中R与上文在通式(I)中的定义相同，任选地进一步将所得化合物衍生化得到其他式(I)化合物。

[0096] 丹参酮I与氯甲基甲基醚在乙酸溶剂中反应生成2-氯甲基丹参酮I和2-羟甲基丹参酮I的混合物。前者可以水解生成后者。

[0097] 2-羟甲基丹参酮I的酯化反应一般在碱存在下进行。这里碱可以是但不限于碳酸钾，二甲基胺吡啶，三乙胺。

[0098] 2-羟甲基丹参酮I的酯化反应的温度一般在0℃至80℃.反应温度取决于有机酰氯或酸酐的反应活性。

[0099] 制备2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物(I)一般按如下操作。

[0100] 将天然提取分离得到的丹参酮I与与甲醛在盐酸和二氯化锌存在下，由布兰克(Blanc Reaction)氯甲基化反应，生成2-氯甲基丹参酮I；布兰克(Blanc Reaction)氯甲基化反应一般在低温或室温下按经典成熟的条件操作(C.C.Price,Org.React.3,1(1946))进行。

[0101] 2-氯甲基丹参酮I经水解反应，生成相应的2-羟甲基丹参酮I。

[0102] 将丹参酮I与氯甲基甲基醚在醋酸溶液中于室温下反应，生成2-羟甲基丹参酮I和2-氯甲基丹参酮I的红色固体混合物。后者经水解可转化为前者。

[0103] 生成的2-羟甲基丹参酮I与相应的有机酰氯，在三乙胺和二甲基胺基吡啶存在下，生成2-位酯化亚甲基丹参酮I。2-氯甲基丹参酮I与相应的有机酸钠在碱存在下，在有机溶剂中加热，经亲核取代反应也可生成2-位酯化亚甲基丹参酮I。反应终止后，用有机溶剂萃取生成的产物，经水洗和饱和食盐水洗、干燥、浓缩，得到粗品。再用硅胶柱或高效液相色谱仪分离，得到产物纯品.

[0104] 生成的2-氯甲基丹参酮I与相应的有机胺，在碱的存在下，于室温下反应，即可生成2-位胺化亚甲基丹参酮I。反应终止后，用有机溶剂萃取生成的产物，经水洗和饱和食盐水洗、干燥、浓缩，得到粗品。再用硅胶柱或高效液相色谱仪分离，得到产物纯品。

[0105] 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.Paquette editor,Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis,John Wiley and Sons(1995)及其后来的版本。

[0106] 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。

[0107] 具体而言,优选的本发明式(I)化合物中,BS-TA-A01、BS-TA-A03、为由天然提取分离的丹参酮I(TA)为原料,经羟甲基化反应和酯化反应来制备。

[0108] BS-TA-B01、BS-TA-B03、BS-TA-B05、BS-TA-B06、BS-TA-B07、BS-TA-B08、BS-TA-B09、BS-TA-B10、BS-TA-B11、BS-TA-B12、BS-TA-B13、BS-TA-B14、BS-TA-B16、BS-TA-B17、BS-TA-B18、BS-TA-B21、BS-TA-B22、BS-TA-65为由天然提取分离的丹参酮I(TA)为原料,经氯甲基化反应和胺化反应来制备。

[0109] BS-TA-50、BS-TA-60以BS-TA-03为原料进行季铵化而获得。

[0110] BS-TA-61、BS-TA-62、BS-TA-63以BS-TA-17为原料经酯化而获得。

[0111] BS-TA-64、BS-TA-71、BS-TA-72、BS-TA-74、以BS-TA-17为原料进行酯化并去保护基而获得。

[0112] BS-TA-73以BS-TA-17为原料进行酯化而获得。

[0113] BS-TA-79以BS-TA-65为原料进行Cbz化、酯化并脱去Cbz而获得。

[0114] BS-TA-80以BS-TA-65为原料酰胺化而获得。

[0115] BS-TA-81以BS-TA-65为原料酰胺化并酯化而获得。

[0116] 本发明还提供了包含本发明式I化合物的药物组合物。

[0117] 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,和任选的药学上可接受的赋形剂。

[0118] 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。

[0119] 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。

[0120] 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,例如口服或肠胃外(通过静脉内、肌内、局部或皮下途径)。

[0121] 因此,本发明的化合物结合药学上可接受的载体(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。

[0122] 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。

[0123] 活性化合物也可以通过输注或注射到静脉内或腹腔内施用。可以制备活性化合物或其盐的水溶液，任选的可混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。

[0124] 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。

[0125] 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。

[0126] 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。

[0127] 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。

[0128] 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。

[0129] 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。

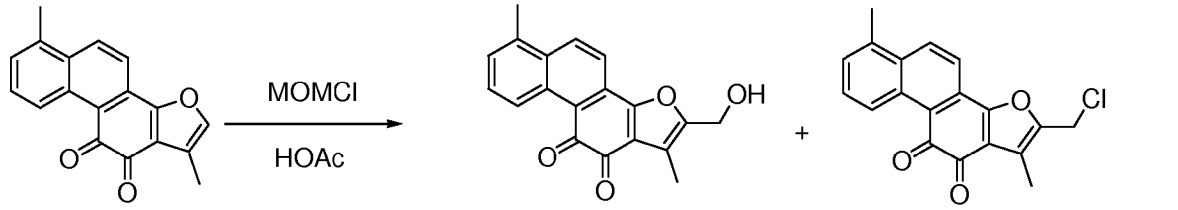
[0130] 本发明还提供本发明的化合物或包含该化合物的组合物在制备药物、特别是抗肿瘤药物中的用途。相应地，本发明提供一种治疗肿瘤患者的方法，包括给予需要治疗的患者治疗有效量的至少一种本发明的化合物。本发明的2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物(I)或其药学上可接受的盐，例如可用于治疗白血病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、肝癌、胃癌、乳腺癌、胆管细胞癌、胰腺癌、肺癌、大肠癌、骨肉瘤、黑色素瘤、人宫颈癌、神经胶质瘤、鼻咽癌、喉癌、食管癌、中耳肿瘤、前列腺癌等肿瘤。

[0131] 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。

[0132] 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获得。

[0133] 实施例1：化合物(BS-TA-A03)的合成

[0134]

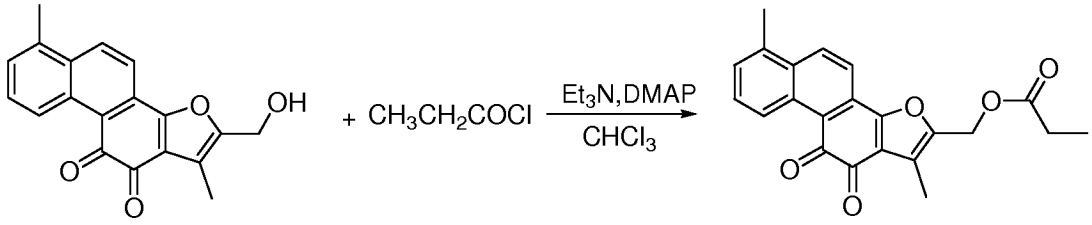


Tanshinone I　　2-Hydroxymethyl tanshinone I　　2-Chloromethyl tanshinone I

[0135] 式中，MOMCl：氯甲基甲基醚。

[0136] 在冰浴条件下，将氯甲基甲基醚(1.6g，20mmol)加入到溶有丹参酮I(0.276g，1mmol)的醋酸溶液(24mL)中，反应液室温下搅拌20小时后，将反应生成的沉淀过滤，滤渣经水洗，干燥后得到红色固体化合物，2-羟甲基丹参酮I和2-氯甲基丹参酮I的混合物(0.2g，收率62%)。后者经水解可转化为前者。

[0137]



2-Hydroxymethyl tanshinone I　　BS-TA-A03

[0138] 式中，Et_3N：三乙胺；DMAP：4-二甲氨基吡啶。

[0139] 在0℃条件下，向溶有2-羟甲基丹参酮I(50mg，0.18mmol)，三乙胺(41mg，0.45mmol)，4-二甲氨基吡啶(4mg，0.036mmol)的氯仿(3mL)中滴加丙酰氯(20mg，0.216mmol)，随后反应加热升温至65℃，过夜搅拌。反应结束后，加入水，再经萃取，硅胶柱或者制备色谱柱分离纯化，得到红色固体化合物BS-TA-A03(1.1mg，收率1.2%)。

[0140] LC-MS：保留时间：4.2min(83.13%)；m/z：363.3(M+H)。

[0141] ^1H NMR(300Hz，DMSO d-6) δ9.196(d，1H)，8.465(d，1H)，7.882(d，1H)，7.624(m，

1H),7.462(d,1H),5.206(s,2H),2.689(s,3H),2.392(m,2H),2.261(s,3H),1.074(m,3H).

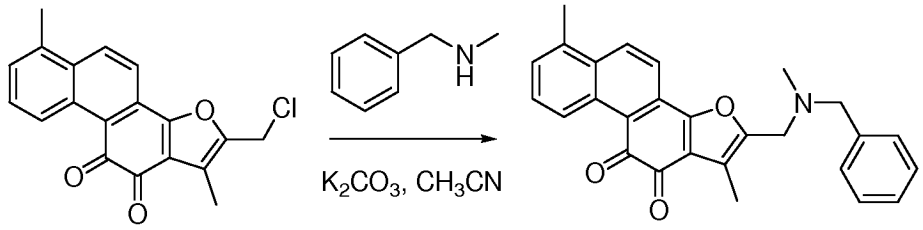
[0142] 按照BS-TA-A03的方法,使用上述同样的试剂,将化合物2-羟甲基丹参酮I与2-氯异烟酸反应,制备了BS-TA-A01:

[0143] LC-MS:保留时间:4.4min(21.77%);m/z:446.2(M+H).

[0144] 按照BS-TA-A03的方法,使用上述同样的试剂,将化合物2-羟甲基丹参酮I与对氟苯甲酸反应,制备了BS-TA-A02:

[0145] LC-MS:保留时间:4.6min(92.00%);m/z:429.3(M+H).

[0146] 实施例2:化合物(BS-TA-B01)的合成

[0147] 

2-Chloromethyl tanshinone I BS-TA-B01

[0148] 将2-氯甲基丹参酮I(50mg,0.18mmol)溶于二氯甲烷(1mL)中,加入溶有N-甲基(苯基)甲胺(47mg,0.54mmol)的乙腈溶液(3mL),碳酸钾(43mg,0.36mmol),反应液室温下搅拌3~5小时。反应结束后,经萃取和制备簿层色谱纯化分离得到深红色固体化合物BS-TA-B01(17.8mg,收率20.0%)。

[0149] LC-MS:保留时间:3.2min(92.29%);m/z:410.2(M+H).

[0150] ^{1}H NMR(300Hz,DMSO d-$_6$)δ9.181(d,1H),8.505(d,1H),7.916(d,1H),7.633(m,3H),7.479(m,4H),4.563(s,2H),4.416(s,2H),2.727(s,3H),2.694(s,3H),2.312(s,3H).

[0151] 按照BS-TA-B01的方法,使用上述同样的试剂,将化合物2-羟甲基丹参酮I与N-甲基乙胺反应,制备了BS-TA-B03:

[0152] LC-MS:保留时间:2.7min(96.38%);m/z:348.2(M+H).

[0153] 按照BS-TA-B01的方法,使用上述同样的试剂,将化合物2-羟甲基丹参酮I与N-甲基环己胺反应,制备了BS-TA-B05:

[0154] LC-MS:保留时间:3.2min(80.05%);m/z:402.3(M+H).

[0155] 按照BS-TA-B01的方法,使用上述同样的试剂,将化合物2-羟甲基丹参酮I与环己甲胺反应,制备了BS-TA-B06:

[0156] LC-MS:保留时间:3.3min(85.49%);m/z:402.4(M+H).

[0157] 按照BS-TA-B01的方法,使用上述同样的试剂,将化合物2-羟甲基丹参酮I与环丙甲胺反应,制备了BS-TA-B07:

[0158] LC-MS:保留时间:3.9min(95.97%);m/z:360.3(M+H).

[0159] 按照BS-TA-B01的方法,使用上述同样的试剂,将化合物2-羟甲基丹参酮I与N-甲基苯胺反应,制备了BS-TA-B08:

[0160] LC-MS:保留时间:4.7min(91.40%);m/z:396.3(M+H).

[0161] 按照BS-TA-B01的方法,使用上述同样的试剂,将化合物2-羟甲基丹参酮I与2-甲基环己胺反应,制备了BS-TA-B09:

[0162] LC-MS:保留时间:3.2min(69.55%);m/z:402.3(M+H).

[0163] 按照BS-TA-B01的方法，使用上述同样的试剂，将化合物2-羟甲基丹参酮I与丁胺反应，制备了BS-TA-B10：

[0164] LC-MS：保留时间：3.0min(87.98％)；m/z：362.3(M+H)。

[0165] 按照BS-TA-B01的方法，使用上述同样的试剂，将化合物2-羟甲基丹参酮I与苯甲胺反应，制备了BS-TA-B11：

[0166] LC-MS：保留时间：4.2min(82.78％)；m/z：396.3(M+H)。

[0167] 按照BS-TA-B01的方法，使用上述同样的试剂，将化合物2-羟甲基丹参酮I与N-甲基高哌嗪反应，制备了BS-TA-B12：

[0168] LC-MS：保留时间：3.4min(95.04％)；m/z：403.3(M+H)。

[0169] 按照BS-TA-B01的方法，使用上述同样的试剂，将化合物2-羟甲基丹参酮I与2-噻吩甲胺反应，制备了BS-TA-B13：

[0170] LC-MS：保留时间：4.2min(99.54％)；m/z：402.3(M+H)。

[0171] 按照BS-TA-B01的方法，使用上述同样的试剂，将化合物2-羟甲基丹参酮I与2-噻吩甲胺反应，制备了BS-TA-B14：

[0172] LC-MS：保留时间：3.3min(86.03％)；m/z：390.4(M+H)。

[0173] 按照BS-TA-B01的方法，使用上述同样的试剂，将化合物2-羟甲基丹参酮I与4-哌啶甲酰胺反应，制备了BS-TA-B16：

[0174] LC-MS：保留时间：2.6min(91.91％)；m/z：417.1(M+H)。

[0175] 按照BS-TA-B01的方法，使用上述同样的试剂，将化合物2-羟甲基丹参酮I与N-甲基-2-羟基乙胺反应，制备了BS-TA-B17：

[0176] LC-MS：保留时间：2.0min(94.23％)；m/z：364.2(M+H)。

[0177] 按照BS-TA-B01的方法，使用上述同样的试剂，将化合物2-羟甲基丹参酮I与硫代吗啉反应，制备了BS-TA-B18：

[0178] LC-MS：保留时间：4.1min(98.80％)；m/z：392.3(M+H)。

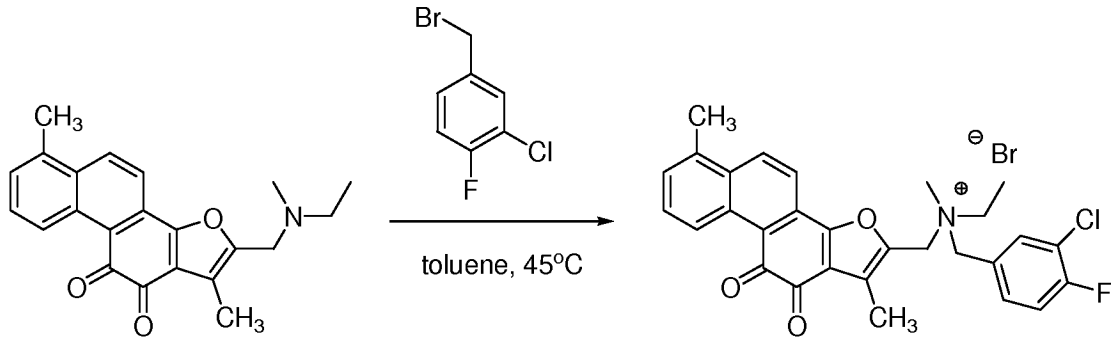
[0179] 按照BS-TA-B01的方法，使用上述同样的试剂，将化合物2-羟甲基丹参酮I与丙烯胺反应，制备了BS-TA-B21：

[0180] LC-MS：保留时间：3.6min(67.99％)；m/z：344.3(M+H)。

[0181] 按照BS-TA-B01的方法，使用上述同样的试剂，将化合物2-羟甲基丹参酮I与对氯苯甲胺反应，制备了BS-TA-B22：

[0182] LC-MS：保留时间：4.4min(76.49％)；m/z：430.3(M+H)。

[0183] 实施例3：化合物(BS-TA-50)的合成

[0184] 

BS-TA-B03 BS-TA-50

[0185] 向溶有BS-TA-B03(100mg,0.288mmol)的甲苯(8mL)溶液中加入4-(溴甲基)-2-氯-1-氟苯(193mg,0.864mmol),反应加热升温至45℃,搅拌反应16小时。反应结束后,将生成的固体过滤,滤渣经甲苯(5mL*2),二氯甲烷(10mL*2)洗涤后得到绿色固体化合物BS-TA-50(28.06mg,收率16.9%)。

[0186] LC-MS:保留时间:2.53min(100%);m/z:490(M-Br);

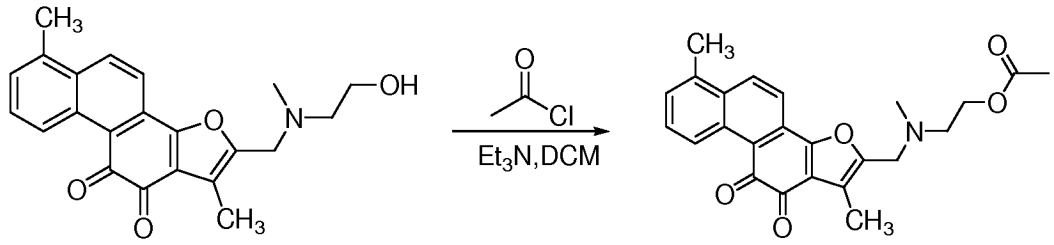
[0187] ^{1}H NMR(400Hz,DMSO d-$_6$)δ9.187(d,J=8.8Hz,1H),8.492(d,J=8.8Hz,1H),7.902(t,2H),7.677-7.592(m,3H),7.502(d,J=6.8Hz,1H),4.888(d,J=14.8Hz,1H),4.752(d,J=14.8Hz,1H),4.664(s,2H),3.435(m,1H),3.320(m,1H),3.040(s,3H),2.693(s,3H),2.372(s,3H),1.496(t,3H).

[0188] 按照BS-TA-50的方法,使用上述同样的试剂,将化合物BS-TA-B17与4-(溴甲基)-2-氯-1-氟苯反应,制备了BS-TA-60:

[0189] LC-MS:保留时间:2.48min(92.07%);m/z:506(M-Br).

[0190] ^{1}H NMR(400Hz,DMSO d-$_6$)δ9.190(d,J=8.4Hz,1H),8.497(d,J=8.4Hz,1H),7.985-7.932(m,2H),7.717-7.596(m,3H),7.504(d,J=6.8Hz,1H),5.510(s,1H),4.996(d,J=14.8Hz,1H),4.821(t,2H),4.686(d,J=14.8Hz,1H),4.071(s,2H),3.541(m,2H),3.101(s,3H),2.699(s,3H),2.374(s,3H).

[0191] 实施例4:化合物(BS-TA-61)的合成

[0192] 

BS-TA-B17 BS-TA-61

[0193] 向二氯甲烷(15mL)中加入BS-TA-B17(200mg,0.55mmol),三乙胺(111.4mg,1.1mmol),随后在0℃条件下加入乙酰氯(64.8mg,0.83mmol),反应液升至室温后常温搅拌1.5小时,反应结束后,加入一滴水,除去溶剂,得到的粗产物经制备薄层色谱(二氯甲烷/乙酸乙酯2:1)分离纯化后得到棕色固体化合物BS-TA-61(53.34mg,收率31.5%)。

[0194] LC-MS:保留时间:2.1min(98.00%);m/z:406.2(M+H).

[0195] ^{1}H NMR(400Hz,DMSO d-$_6$)δ9.164(d,J=8.8Hz,1H),8.448(d,J=8.4Hz,1H),7.853(d,J=8.8Hz,1H),7.607(t,1H),7.442(d,J=6.0Hz,1H),4.158(s,2H),3.698(s,2H),

2.681(s,5H),2.276(s,3H),2.212(s,3H),2.010(s,3H).

[0196] 按照BS-TA-6的方法,使用上述同样的试剂,将化合物BS-TA-B17与特戊酰氯反应,制备了BS-TA-62:

[0197] LC-MS:保留时间:2.4min(100.0%);m/z:448.3(M+H).

[0198] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ9.268(d,J=8.8Hz,1H),8.312(d,J=8.8Hz,1H),7.874(d,J=8.8Hz,1H),7.567(t,1H),7.367(d,J=7.2Hz,1H),4.277(s,2H),3.689(s,2H),2.790(s,2H),2.708(s,3H),2.398(s,3H),2.298(s,3H),1.212(s,9H).

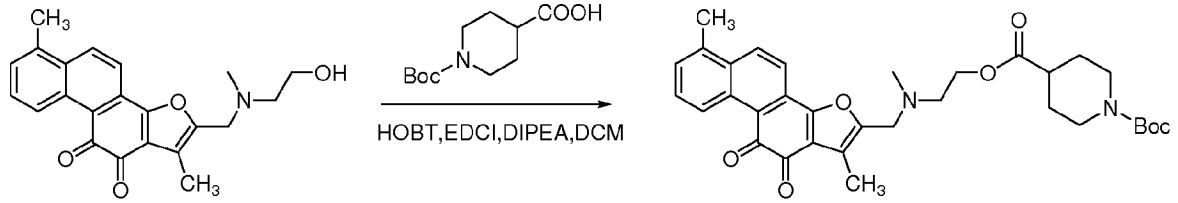
[0199] 按照BS-TA-6的方法,使用上述同样的试剂,将化合物BS-TA-B17与氯甲酸异丙酯反应,制备了BS-TA-63:

[0200] LC-MS:保留时间:2.3min(100.0%);m/z:450.3(M+H).

[0201] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ9.268(d,J=8.8Hz,1H),8.312(d,J=8.4Hz,1H),7.874(d,J=8.0Hz,1H),7.565(t,1H),7.367(d,J=6.8Hz,1H),4.882(m,1H),4.298(s,2H),3.707(s,2H),2.946(s,1H),2.818(s,1H),2.707(s,3H),2.401(s,3H),2.294(s,3H),1.295(d,6H).

[0202] 实施例5:化合物(BS-TA-64)的合成

[0203]

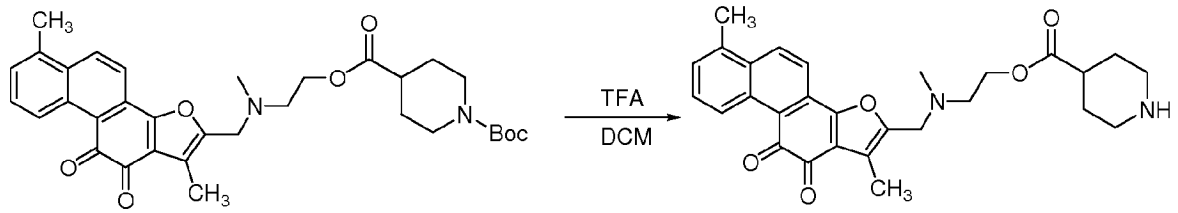


BS-TA-B17 BS-TA-64-1

[0204] 式中,HOBT:1-羟基苯并三唑;EDCI:1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐;DIPEA:N,N-二异丙基乙胺

[0205] 向二氯甲烷(15mL)中加入BS-TA-B17(200mg,0.55mmol),1-Boc-4-哌啶甲酸(151.4mg,0.66mmol),1-羟基苯并三唑(148.6mg,1.1mmol),1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(210.9mg,1.1mmol),N,N-二异丙基乙胺(177.1mg,1.375mmol)。反应液室温搅拌48小时。反应结束后,除去溶剂,得到的粗产物经制备薄层色谱(二氯甲烷/乙酸乙酯1:2)分离纯化后得到棕色固体化合物BS-TA-64-1(45mg,收率14.25%)。

[0206]



BS-TA-64-1 BS-TA-64

[0207] 式中,TFA:三氟乙酸

[0208] 向二氯甲烷(6mL)中加入BS-TA-64-1(45mg,0.078mmol),随后加入三氟乙酸(3mL),反应液室温搅拌2小时。反应结束后将反应液浓缩,用饱和碳酸氢钠溶液调节pH至9。反应液经萃取得到的有机相经制备薄层色谱分离纯化后得到棕色固体化合物BS-TA-64

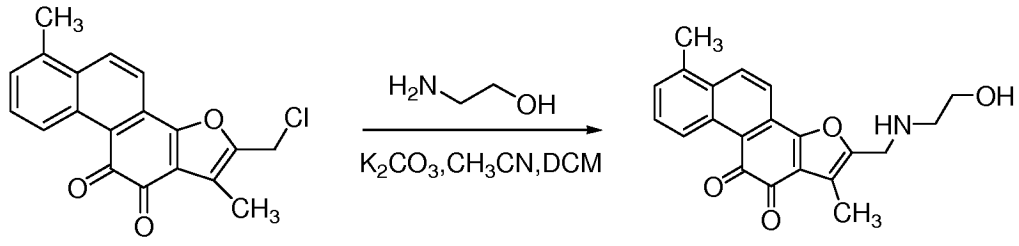
(22.41mg,收率60.6%)。

[0209] LC-MS:保留时间:2.0min(100.0%);m/z:475.3(M+H)。

[0210] ^{1}H NMR(400Hz,DMSO d-$_6$)δ9.140(d,J=9.2Hz,1H),8.405(d,J=6.4Hz,1H),7.808(d,J=7.6Hz,1H),7.587(t,1H),7.426(d,J=6.8Hz,1H),4.165(s,2H),3.664(s,2H),2.818(d,J=12.0Hz,2H),2.665(s,5H),2.415-2.278(m,3H),2.235(s,3H),2.196(s,3H),2.115(m,1H),1.677(d,J=12.0Hz,2H),1.427-1.341(m,2H)。

[0211] 实施例6:化合物(BS-TA-65)的合成

[0212]



2-Chloromethyl tanshinone I BS-TA-65

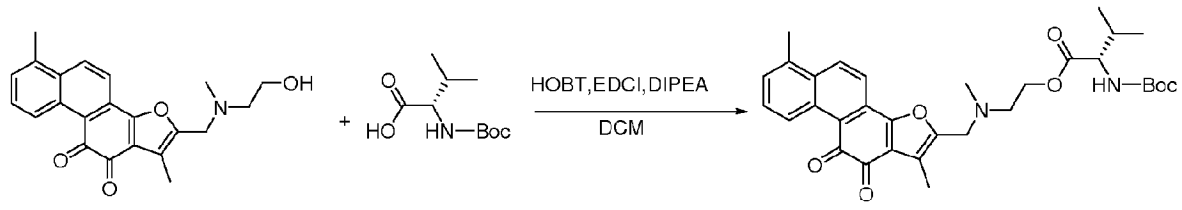
[0213] 向二氯甲烷(10mL)中加入2-氯甲基丹参酮I(100mg,0.309mmol),随后加入溶有乙醇胺(56.4mg,0.926mmol),碳酸钾(127.6mg,0.926mmol)的乙腈溶液(15mL),反应液室温搅拌2小时后,将生成的固体过滤,滤渣经水洗(10mL*2),二氯甲烷(5mL*2)洗涤后得到棕色固体化合物BS-TA-65(27.21mg,收率32.2%)。

[0214] LC-MS:保留时间:2.0min(97.46%);m/z:350.2(M+H)。

[0215] ^{1}H NMR(400Hz,DMSO d-$_6$)δ9.148(d,J=7.6Hz,1H),8.418(s,1H),7.863(d,J=8.4Hz,1H),7.579(m,1H),7.434(s,1H),4.525(s,1H),3.790(s,2H),3.482(s,2H),2.671-2.628(m,5H),2.194-2.156(m,4H)。

[0216] 实施例7:化合物(BS-TA-71)的合成

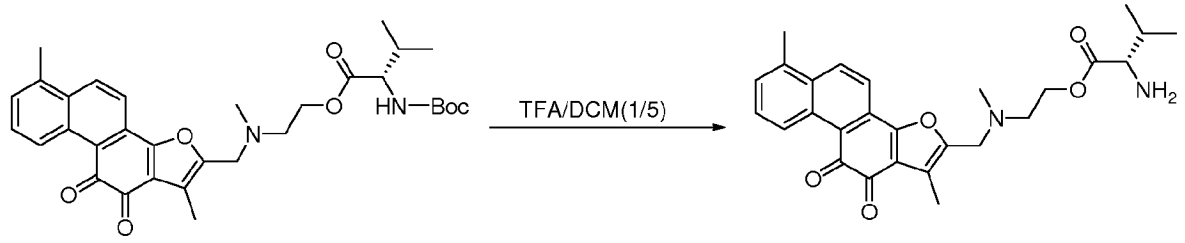
[0217]



BS-TA-B17 BS-TA-71-1

[0218] 向二氯甲烷(10mL)中加入BS-TA-B17(150mg,0.413mmol),1-羟基苯并三唑(111mg,0.826mmol),1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(157mg,0.826mmol),N,N-二异丙基乙胺(133mg,1.033mmol),随后加入Boc-L-缬氨酸(107mg,0.496mmol),反应液室温搅拌1小时。反应结束后,加入水(10mL),用二氯甲烷(50mL)萃取,有机相浓缩后得到的粗产物经制备薄层色谱(二氯甲烷/乙酸乙酯1:1)纯化分离后,得到棕色固体化合物BS-TA-71-1(70mg,收率30.2%)。

[0219]



BS-TA-71-1 BS-TA-71

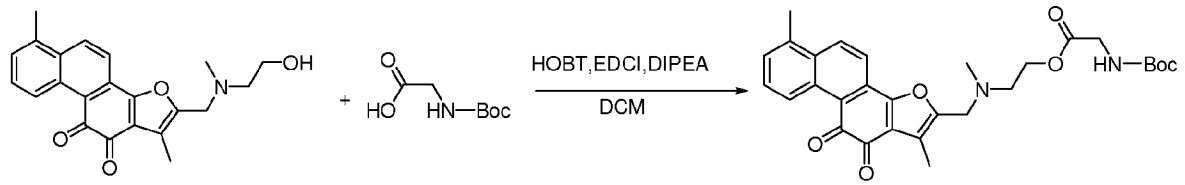
[0220] 将化合物BS-TA-71-1(70mg,0.125mmol)溶于三氟乙酸(2mL),二氯甲烷(10mL)的混合溶液中,反应液室温搅拌3小时。反应结束后,除去溶剂,得到的粗产物经制备色谱分离纯化后得到棕色固体化合物BS-TA-71(24mg,收率41.7%).

[0221] LC-MS:保留时间:2.8min(96.28%);m/z:463.2(M+H).

[0222] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ9.25(d,J=8.8Hz,1H),8.30(d,J=8.8Hz,1H),7.85(d,J=8.8Hz,1H),7.55(t,1H),7.36(d,J=6.8Hz,1H),4.33(t,2H),3.72(s,2H),3.37(d,J=4.8Hz,1H),2.82(t,2H),2.70(s,3H),2.41(s,3H),2.30(s,3H),2.19(s,1H),0.99(d,J=6.8Hz,3H),0.92(d,J=6.8Hz,3H).

[0223] 实施例8:化合物(BS-TA-72)的合成

[0224]



BS-TA-B17 BS-TA-72

[0225] 向二氯甲烷(10mL)中加入BS-TA-B17(200mg,0.550mmol),1-羟基苯并三唑(149mg,1.10mmol),1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(211mg,1.10mmol),N,N-二异丙基乙胺(178mg,1.38mmol),随后加入Boc-甘氨酸(145mg,0.66mmol),反应液室温搅拌30分钟。反应结束后,加入水(10mL),用二氯甲烷(50mL)萃取,有机相浓缩后得到的粗产物经制备薄层色谱(二氯甲烷/乙酸乙酯1:1)及制备色谱纯化分离后,得到棕色固体化合物BS-TA-72(25mg,收率22.2%)。

[0226] LC-MS:保留时间:2.0min(100%);m/z:521.2(M+H).

[0227] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ9.26(d,J=9.2Hz,1H),8.32(d,J=8.8Hz,1H),7.86(d,J=8.4Hz,1H),7.56(t,1H),7.36(d,J=6.8Hz,1H),5.01(s,1H),4.35(t,2H),3.95(d,J=5.2Hz,2H),3.70(s,2H),2.80(m,2H),2.70(s,3H),2.39(s,3H),2.29(s,3H),1.44(s,9H).

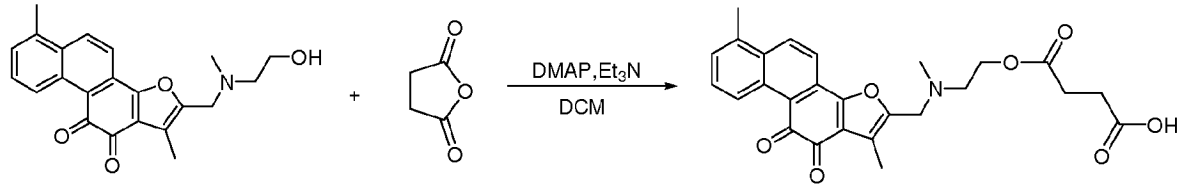
[0228] 按照BS-TA-721的方法,使用上述同样的试剂,将化合物BS-TA-B17与富马酸单甲酯反应,制备了BS-TA-74:

[0229] LC-MS:保留时间:2.3min(96.87%);m/z:476.3(M+H).

[0230] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ9.25(d,J=9.2Hz,1H),8.29(d,J=8.8Hz,1H),7.83(d,J=8.8Hz,1H),7.56(t,1H),7.35(d,J=6.8Hz,1H),6.86(s,2H),4.38(t,2H),3.74(s,3H),3.68(s,2H),2.82(t,2H),2.70(s,3H),2.41(s,3H),2.28(s,3H).

[0231] 实施例9:化合物(BS-TA-73)的合成

[0232]



BS-TA-B17 BS-TA-73

[0233] 式中,DMAP:4-二甲氨基吡啶

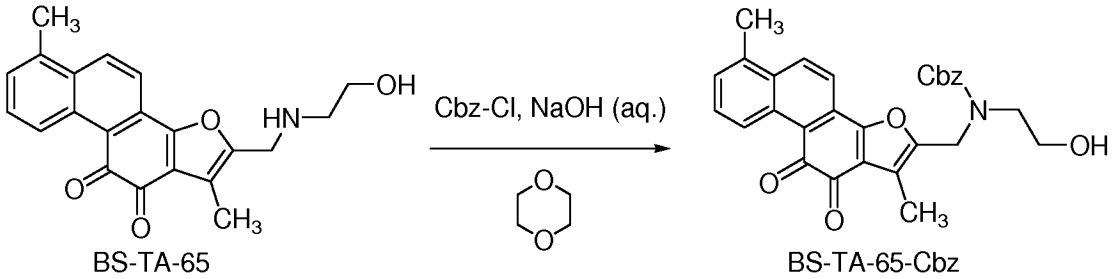
[0234] 向二氯甲烷(8mL)中加入BS-TA-B17(200mg,0.550mmol),4-二甲氨基吡啶(6.7mg,0.0550mmol),三乙胺(56mg,0.550mmol),随后加入丁二酸酐(66mg,0.660mmol)。反应液室温搅拌1小时。反应结束后,将生成的固体过滤,得到的粗产物经制备色谱分离纯化后得到棕色固体化合物BS-TA-73(25mg,收率9.8%)。

[0235] LC-MS:保留时间:1.5min(97.56%);m/z:464.0(M+H).

[0236] ^{1}H NMR(400Hz,DMSO d-$_6$)δ9.14(d,J=8.0Hz,1H),8.42(d,J=8.0Hz,1H),7.83(t,1H),7.59(t,1H),7.42(d,J=6.4Hz,1H),4.76(t,2H),3.67(d,J=7.2Hz,2H),2.70-2.64(m,5H),2.48-2.40(m,4H),2.27(s,3H),2.20(s,3H).

[0237] 实施例10:化合物(BS-TA-79)的合成

[0238]

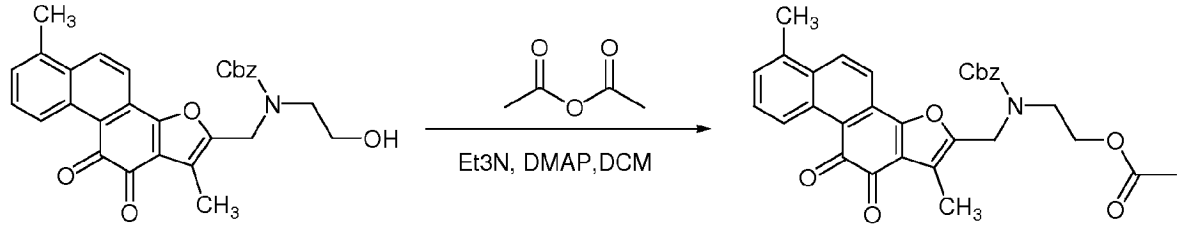


BS-TA-65 BS-TA-65-Cbz

[0239] 式中,Cbz-Cl:氯甲酸苯甲基酯

[0240] 在冰浴条件下,向加有BS-TA-65(6.0g,17.14mmol)的二氧六环(120mL)悬浮液中加入1M氢氧化钠溶液,随后,逐滴加入氯甲酸苄酯(8.5g,34.28mmol),0℃下搅拌反应3小时。反应结束后,向反应液中加入水,用乙酸乙酯(50mL*2)萃取,有机相经饱和碳酸氢钠溶液洗涤,干燥,浓缩后得到化合物BS-TA-65-Cbz(6.2g,74.7%)。

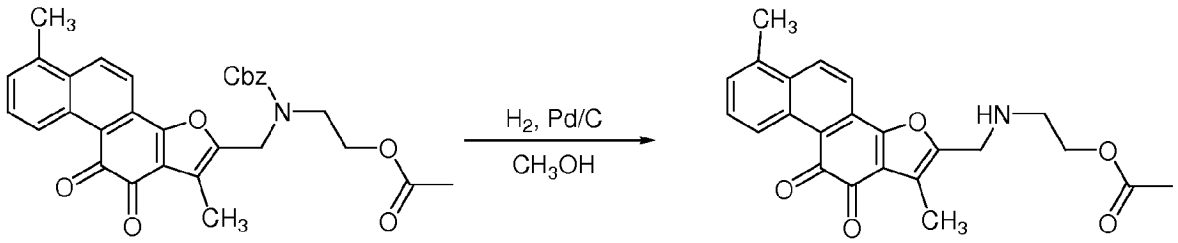
[0241]



BS-TA-65-Cbz BS-TA-79-Cbz

[0242] 向二氯甲烷(100mL)中加入BS-TA-65-Cbz(6.2g,12.84mmol),三乙胺(1.7g,14.12mmol),4-二甲氨基吡啶(129.5mg,0.1284mmol),随后在冰浴条件下加入乙酸酐(2.6g,25.68mmol)。反应液搅拌30分钟后,加入水,经二氯甲烷萃取(50mL*2),干燥,浓缩后得到粗产品BS-TA-79-Cbz(5.4g,80.1%),此化合物不经纯化直接用于下一步反应。

[0243]



BS-TA-79-Cbz BS-TA-79

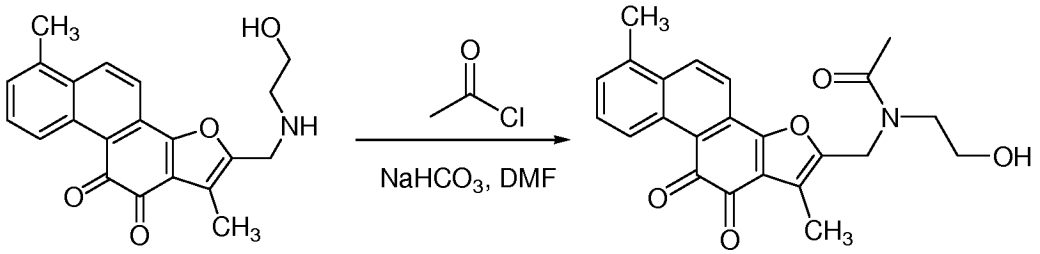
[0244] 向溶有BS-TA-79-Cbz(5.4g,10.29mmol)的甲醇溶液(160mL)中加入钯/碳(1.0g),用氢气置换3次后,反应液在氢气条件下常温搅拌4小时。反应结束后,将反应液过滤,将得到的滤液浓缩后的得到的粗产品经制备薄层色谱(二氯甲烷/乙酸乙酯1:1)纯化分离后得到棕色固体化合物BS-TA-79(1.3g,收率11.1%)。

[0245] LC-MS:保留时间:3.56min(85.62%),m/z:392.0(M+H).

[0246] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ9.26(d,J=8.8Hz,1H),8.31(d,J=8.8Hz,1H),7.86(d,J=8.8Hz,1H),7.57(t,1H),7.36(d,J=6.8Hz,1H),4.24(t,J=5.2Hz,2H),3.92(s,2H),2.97(t,J=5.6Hz,2H),2.71(s,3H),2.30(s,3H),2.09(s,3H).

[0247] 实施例11:化合物(BS-TA-80)的合成

[0248]



BS-TA-65 BS-TA-80

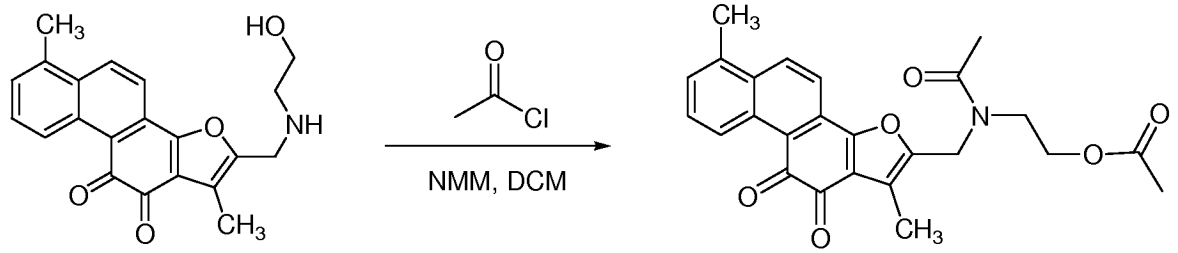
[0249] 向N'N-二甲基甲酰胺(3mL)中加入BS-TA-65(50mg,0.1429mmol),碳酸氢钠(6mg,0.07145mmol),随后,在0℃条件下加入乙酰氯(11mg,10.29mmol),搅拌反应30分钟。反应结束后,加入水,经二氯甲烷萃取(10mL*2),干燥,浓缩后得到的粗产物经制备薄层色谱(二氯甲烷/乙酸乙酯1:1)分离纯化后得到棕色固体化合物BS-TA-80(13.4mg,收率2.8%)。

[0250] LC-MS:保留时间:3.07min(88.75%);m/z:392.0(M+H).

[0251] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ9.17(m,1H),8.43(m,1H),7.84(m,1H),7.75(m,1H),7.45(d,J=1.2Hz,1H),4.64(m,2H),3.64(t,J=6.0Hz,2H),3.47(t,J=5.6Hz,2H),3.08(t,J=6.0Hz,1H),2.08(s,3H),2.25(s,3H),2.10-1.79(m,3H).

[0252] 实施例12:化合物(BS-TA-81)的合成

[0253]



BS-TA-65 BS-TA-81

[0254] 式中，NMM:N-甲基吗啉

[0255] 向二氯甲烷(5mL)中加入BS-TA-65(50mg，0.1429mmol)，N-甲基吗啉(7mg，0.1429mmol)，随后在0℃条件下，加入乙酰氯(11mg，0.1429mmol)，搅拌反应30分钟。反应结束后，加入水，用二氯甲烷(10mL*2)萃取，有机相干燥，浓缩后得到的粗产物经制备薄层色谱(二氯甲烷/乙酸乙酯1:1)纯化分离后得到棕色固体化合物BS-TA-81(11.6mg，18.7%)。

[0256] LC-MS:保留时间:3.49min(92.16%)，m/z:433.8(M+H)。

[0257] ^{1}H NMR(400Hz，$CDCl_3$)δ9.27(m，1H)，8.33(m，1H)，7.80(m，1H)，7.57(m，1H)，7.36(d，J＝8.0Hz，1H)，4.69(s，1H)，4.60(s，1H)，4.30(m，2H)，2.71(d，J＝4.4Hz，3H)，2.37-2.08(m，9H)。

[0258] 实施例13:本发明的2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物抗白血病的活性测定

[0259] (1)实验材料

[0260] 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。

[0261] 试剂:丹参酮I(TA)标准品购自成都曼斯特生物科技有限公司(四川)，本发明2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I。

[0262] 主要仪器:细胞培养箱(型号:Thermo Scientific 3111)，酶标仪(型号:Bio-Rad iMark)。

[0263] (2)实验方法

[0264] 丹参酮I(TA)标准品及本发明的2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物，用二甲基亚砜充分溶解，配成10mg/mL的母液，置4℃冰箱避光保存，实验前以细胞培养液稀释至所需浓度。

[0265] 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RPMI-1640细胞培养液。第二天加入不同浓度的2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I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法测定活细胞浓度。在本实验中对照组(不加化合物处理)细胞活力设为100%，并计算出化合物作用后细胞活力(%)和72小时白血病细胞半数生长抑制浓度(72小时IC_{50}值，μg/mL)。

[0266] (3)实验结果

[0267] 实验结果见表1。

[0268] 表1显示本发明的2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I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。化合物BS-TA-65尤为明显，对本实验所有的细胞株均表现出了广谱抗肿瘤活性，其中，抗H9(急性淋巴细胞白血病)，NB4(急性早幼粒细胞白血病)细胞株方面活性较丹参酮I本身相比，活性分别提高27倍和24倍;BS-TA-71在抗H9(急性淋巴细胞白血病)上活性提高28倍;此外，BS-TA-B17在抗Jurkat(急性淋巴细胞白血病)，NB4(急性早幼粒细胞白血病)细胞株方面活性较丹参酮I本身相比，活性分别提高27倍和24倍;BS-TA-71在抗H9(急性淋巴细胞

白血病)上活性提高28倍;此外,BS-TA-B17在抗Jurkat(急性淋巴细胞白血病)方面活性提高10倍以上。

[0269] 表1:2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物对白血病细胞生长抑制浓度测定(72小时,IC_{50}(μg/mL)值和IC_{90}(μg/mL)值)。

[0270]

	K562/ADR		Kasumi-1		NB4	
化合物	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}
TA	0.88	4.17	0.99	3.62	0.98	2.50
BS-TA-A01	2.33	6.24	1.75	3.91	0.99	3.97
BS-TA-A03	2.3	6.61	2.35	7.79	1.93	9.65
BS-TA-B01	1.13	2.95	0.66	1.91	0.26	0.96
BS-TA-B03	1.22	2.69	0.81	2	0.92	3.01
BS-TA-B06	0.81	1.8	0.57	1.73	2.13	7.29
BS-TA-B07	3.22	6.38	1.07	3.86	1.35	3.74
BS-TA-B10	0.76	1.8	0.4	0.92	5.79	15.42
BS-TA-B12	1.5	2.79	0.89	1.9	0.94	1.9
BS-TA-B14	0.77	1.82	0.6	1.99	3.59	13.71
BS-TA-B17	0.31	0.86	0.12	0.23	0.14	0.41
BS-TA-B21	1.3	2.73	0.83	1.8	1.53	5.46
BS-TA-50	11.22	>16	5.03	>16	0.99	7
BS-TA-60	1.36	5.12	1.61	3.86	0.9	2.98
BS-TA-61	0.61	1.61	0.31	1.28	0.73	1.9
BS-TA-62	0.78	3.48	0.42	0.97	1.42	3.85
BS-TA-63	1.26	4.6	1.48	3.89	3.73	10.37
BS-TA-64	0.84	2.82	0.33	0.7	0.25	0.87
BS-TA-65	0.16	1.08	0.074	0.12	0.04	0.08
BS-TA-71	0.47	0.76	0.13	0.39	0.15	0.41
BS-TA-72	1.5	2	0.28	0.47	0.35	0.71
BS-TA-73	1.38	2.74	0.27	0.73	0.21	0.68
BS-TA-74	0.8	1.8	0.26	1.57	0.19	0.49

[0271] 表1(续)

[0272]

	H9		Jurkat	
化合物	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}
TA	3.5	13.06	1.74	8.42
BS-TA-A01	3.09	10.36	3	9.27
BS-TA-A03	6.4	>16	5.54	17.05
BS-TA-B01	0.7	2.3	0.96	5.3
BS-TA-B03	3.3	6.8	2.36	6.15
BS-TA-B06	3.2	14.1	5.25	16
BS-TA-B07	2.9	7.5	3.11	9.52
BS-TA-B10	6	>16	>16	>16
BS-TA-B12	4.11	10.5	1.78	5.91
BS-TA-B14	2	11.9	6.66	>16
BS-TA-B17	0.45	0.96	0.16	0.36
BS-TA-B21	2.2	5.9	3.41	9.55
BS-TA-50	6.25	15.86	4.79	>16
BS-TA-60	1.4	4	1.28	3.99
BS-TA-61	0.57	0.9	0.56	0.99
BS-TA-62	0.6	1.8	0.89	3.47
BS-TA-63	3.75	15.33	3	7.56
BS-TA-64	0.59	1.63	0.54	1.92
BS-TA-65	0.13	0.41	0.17	0.47
BS-TA-71	0.125	0.49	0.37	0.94
BS-TA-72	0.45	1.6	0.31	0.99
BS-TA-73	0.19	0.97	0.98	3.4
BS-TA-74	0.25	1.49	0.96	1.86

[0273] 实施例14:本发明的2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物抗人多发性骨髓瘤细胞活性测定

[0274] (1)实验材料

[0275] 骨髓瘤细胞株:RPMI 8226(多发性骨髓瘤),购自上海复祥生物科技有限公司。

[0276] 试剂:同实施例13.

[0277] 主要仪器:细胞培养箱(型号:Thermo Scientific 3111),酶标仪基丹参酮I衍生物,用二甲基亚砜充分溶解,配成10mg/mL的母液,置4℃冰箱避光保存,实验前以细胞培养液稀释至所需浓度。

[0278] 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-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I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

活细胞浓度。在本实验中对照组(不加化合物处理)细胞活力设为100%,并计算出化合物作用后细胞活力(%)和72小时白血病细胞半数生长抑制浓度(72小时IC_{50}值,μg/mL)。

[0279] (3)实验结果:

[0280] 实验结果见表2。

[0281] 表2显示本发明的2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物能诱导人骨髓瘤细胞死亡和抑制肿瘤细胞生长。与丹参酮I本身相比,其中本发明2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物BS-TA-65,BS-TA-72对RPMI 8226细胞株抑制率提高7倍以上。

[0282] 实施例15:本发明2-位胺化亚甲基和2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物抗人实体瘤作用测定

[0283] (1)实验材料

[0284] 人实体瘤细胞株:

[0285] 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)、MG-63(骨肉瘤)、U87-MG(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)、Becap-37(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。

[0286] 试剂:同实施例13

[0287] 主要仪器:细胞培养箱(型号:Thermo Scientific 3111),酶标仪(型号:Bio-Rad iMark)。

[0288] (2)实验方法

[0289] 丹参酮I(TA)标准品及本发明的2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物,用二甲基亚砜充分溶解,配成10mg/mL的母液,置4℃冰箱避光保存,实验前以细胞培养液稀释至所需浓度。

[0290] 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-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I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法测定活细胞浓度。在本实验中对照组(不加化合物处理)细胞活力设为100%,并计算出化合物作用后细胞活力(%)和72小时白血病细胞半数生长抑制浓度(72小时IC_{50}值,μg/mL)。

[0291] (3)实验结果

[0292] 实验结果见表2。

[0293] 表2显示本发明的2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I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。与丹参酮I本身比较,本发明的2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I衍生物抗实体瘤细胞活性明显增强,其中本发明的BS-TA-65对本实验中所测的细胞株均表现出了良好的广谱抗肿瘤活性,尤其在抗U87-MG(恶性脑胶质瘤细胞)方面活性提高42倍以上;此外,化合物BS-TA-71,BA-TA-B03,BS-TA-B17抗A549(人肺癌)活性提高至4倍以上;化合物BS-TA-B17抗PANC-1(胰腺癌)和CaEs-17(食道癌细胞)方面活性分别提高10倍和7倍以上;BS-TA-71,BS-TA-72,BS-TA-B17抗Hep-G2(人肝癌细胞)方面提高3倍以上;BS-TA-71,BS-TA-B01抗Becap-37(人乳腺癌细胞)活性提高7倍以上;化合物

BS-TA-71抗Hep-2(喉癌)活性提高4倍以上;BS-TA-B01抗MG-63(骨肉瘤)活性提高近3倍;BS-TA-71抗Hela(人宫颈癌细胞)活性提高8倍以上,BS-TA-71,BA-TA-B12抗CNE(鼻咽癌细胞)活性提高11倍以上。

[0294] 颈癌细胞)活性提高8倍以上,BS-TA-71,BA-TA-B12抗CNE(鼻咽癌细胞)活性提高11倍以上。

[0295] 表2:2-位胺化亚甲基或2-位酯化亚甲基丹参酮I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IC_{90}值,μg/mL).

[0296]

	RPMI 8226		A549		PANC-1	
化合物	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}
TA	0.96	10.86	4.03	17.29	2.7	>16
BS-TA-A01	3.39	7.85	6.23	>16	3.31	12.03
BS-TA-A03	8.4	>16	10.56	24.23	3.08	13.34
BS-TA-B01	0.52	2.9	1.7	17	0.81	16
BS-TA-B03	2.83	5.87	0.8	4.43	3.14	16
BS-TA-B06	6.16	16	1.59	10	1.57	16.72
BS-TA-B07	3.46	10.16	5.98	21.95	1.33	8.21
BS-TA-B10	15.82	>16	1.28	6	0.88	5.82
BS-TA-B12	3.72	7.13	1.65	4.33	1.06	4.16
BS-TA-B14	8	>16	1.75	9	1.88	6.19
BS-TA-B17	0.39	0.8	0.83	3.13	0.27	2.6
BS-TA-B21	5.78	10.47	1.8	10	1.14	7.28
BS-TA-50	3.86	16	8.9	>16	4.24	>16
BS-TA-60	2	7.64	3.78	9.78	1.74	3.58
BS-TA-61	1.82	3.92	2.76	6.41	0.74	4.95
BS-TA-62	2.64	7.68	3.3	21.35	1.42	16
BS-TA-63	7.76	16	6.5	23.4	4.92	20.86
BS-TA-64	0.4	0.92	1.4	4.46	0.71	5.07
BS-TA-65	0.125	0.25	0.979	3.52	0.26	1.9
BS-TA-71	0.25	0.83	0.8	2.82	0.4	4.73
BS-TA-72	0.12	0.87	1.07	3.7	0.75	8.96
BS-TA-73	0.38	1.55	1.72	4.79	1.07	5
BS-TA-74	0.45	1.78	1.79	6.05	0.87	11.09

[0297] 表2(续)

[0298]

	Becap-37		MG-63		Hep G2		RKO	
化合物	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}
TA	3.03	>16	0.96	>16	2.19	22.13	1.83	>16
BS-TA-A01	4.74	10.76	2.87	13.99	4.82	16	1.46	13.44
BS-TA-A03	14.24	>16	4.86	>16	10.59	>16	2.77	>16
BS-TA-B01	0.43	3.73	0.38	14.93	1.25	9.41	0.17	16
BS-TA-B03	4	9.37	4.53	12.99	4.69	22.11	0.49	14.56
BS-TA-B06	5.9	>16	4.76	>16	13.51	>16	3.42	>16
BS-TA-B07	5.23	14.34	8.14	>16	8.46	>16	0.93	17.04
BS-TA-B10	>16	>16	>16	>16	>16	>16	5.47	>16
BS-TA-B12	3.34	7.38	3.37	5.49	3.8	7.96	0.7	5.26
BS-TA-B14	4.6	>16	4.86	>16	16	>16	3.36	>16
BS-TA-B17	0.76	1.77	0.78	1.76	0.56	1.82	0.125	1.3
BS-TA-B21	6.73	15.08	4.68	15.31	7.3	25.75	2.46	27.85
BS-TA-50	8.1	>16	1.67	>16	>16	>16	2.5	>16
BS-TA-60	1.88	3.67	1.24	5.23	2.5	5.97	0.52	1.88
BS-TA-61	2.54	4.92	2.34	6.79	2.95	9.75	0.46	6.98
BS-TA-62	5.04	11.64	4.88	>16	5.41	22.56	0.47	>16
BS-TA-63	16	>16	14.13	>16	15.65	>16	1.86	17.63
BS-TA-64	0.77	1.67	0.82	2.16	1.31	3.66	0.29	5.56
BS-TA-65	0.27	0.68	0.31	0.98	0.31	1.5	0.037	0.29
BS-TA-71	0.4	0.9	0.61	1.79	0.66	1.85	0.14	1.28
BS-TA-72	1.02	1.94	1.08	2.56	0.71	3.85	0.25	2.38
BS-TA-73	1.06	1.91	1.01	3.71	1.39	4.64	0.2	0.87
BS-TA-74	0.85	1.81	1.02	3.26	1.35	5.26	0.28	2.88

[0299] 表2(续)

[0300]

	U87-MG		Hela		CaEs-17		CNE	
化合物	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}
TA	6.36	14.63	4	>16	3.18	16.00	7.4	>16
BS-TA-A01	5.71	14.15	4.5	14.86	6.36	12.67	4.1	45
BS-TA-A03	>16	>16	5	>16	15.48	>16	8.5	>16
BS-TA-B01	0.74	8	1.31	16.22	0.97	3.81	0.817	39
BS-TA-B03	2.36	3.85	3.99	10.96	5.55	10.35	8.8	43.58
BS-TA-B06	6.5	>16	7.49	>16	19.26	>16	11.787	>16
BS-TA-B07	10.07	21.22	6.86	18.47	9.16	19.68	9	>16

[0301]

BS-TA-B10	>16	>16	15.55	>16	>16	>16	>16	>16
BS-TA-B12	1.16	3.4	1.46	3.58	0.73	1.97	0.45	0.62
BS-TA-B14	3.85	>16	5.28	84.2	>16	>16	>16	>16
BS-TA-B17	0.76	1.82	0.67	1.8	0.45	0.91	1.4	3
BS-TA-B21	6.79	21.32	3.3	7.9	8.71	14.24	5.99	79
BS-TA-50	4.67	>16	7.78	>16	8.45	>16	3.87	>16
BS-TA-60	0.36	18.8	3.32	7.35	3.58	7.74	3.2	7.2
BS-TA-61	2.59	3.87	1.49	4	3	5.07	2.8	7.2
BS-TA-62	3.2	7.65	9.26	>16	6.33	11.82	1.8	18
BS-TA-63	15.83	>16	8.77	>16	>16	>16	>16	>16
BS-TA-64	1.16	3.72	2.16	3.9	0.88	1.85	1.8	3.8
BS-TA-65	0.15	0.35	0.42	1	0.3	0.81	0.6	1.8
BS-TA-71	0.66	1.55	0.47	1.75	0.52	0.59	0.63	1.43
BS-TA-72	1.46	3.65	0.89	1.84	1.84	3.98	2.02	3.61
BS-TA-73	1.19	3.44	1	3.81	1.14	1.86	1.38	3.7
BS-TA-74	0.86	1.83	1.15	3.59	1.09	1.86	1.39	2.91

[0302] 表2(续)

[0303]

	Hep-2		MGC-803		PC-3		SK-OV-3	
化合物	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}
TA	3.15	>16	1.62	9.26	6.63	10.57	>16	>16
BS-TA-A01	3.96	19.12	5.38	16	5.32	12.57	>16	>16
BS-TA-A03	6.82	>16	9.22	23.25	14.43	>16	>16	>16
BS-TA-B01	0.88	29.59	0.79	7.25	1.83	16	5.41	22.83
BS-TA-B03	6.11	18.46	3.86	7.99	5.39	12.34	12.83	21.68
BS-TA-B06	9.23	>16	7.82	>16	10.34	24.47	>16	>16
BS-TA-B07	9.45	>16	6.9	17.14	7.05	16	>16	>16
BS-TA-B10	15.77	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
BS-TA-B12	4.01	9.08	2.48	5.05	9.3	11.18	2.53	3.84
BS-TA-B14	14.31	35.23	14.42	>16	14.66	>16	>16	>16
BS-TA-B17	0.87	2.79	0.37	2.94	0.63	2	1.44	1.97
BS-TA-B21	5.16	23.69	7.01	17.29	7.3	15.1	>16	>16
BS-TA-50	13.72	>16	8.91	>16	10.72	>16	>16	>16
BS-TA-60	1.79	7.41	2.9	5.4	5.03	10.77	9.78	22.66
BS-TA-61	0.84	2.52	2.47	8.33	2.65	6.49	5.83	9.47
BS-TA-62	6.81	>16	6.3	14.07	3.21	8.76	>16	>16

[0304]

BS-TA-71	0.62	1.76	0.41	2.24	0.92	3.74	1.66	3.39
BS-TA-72	1.59	3.77	1.5	9.94	1.68	9.92	5.91	10.94
BS-TA-73	0.81	3.21	0.84	4.9	1.73	7.04	3.54	7.27
BS-TA-74	1.28	3.67	0.8	3.87	1.71	8.19	3.96	7.99