

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710162595.0

[51] Int. Cl.

C07D 491/22 (2006.01)

A61K 31/4745 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2008年5月28日

[11] 公开号 CN 101186609A

[22] 申请日 1998.7.10

[21] 申请号 200710162595.0

分案原申请号 98807978.X

[30] 优先权

[32] 1997.8.5 [33] US [31] 08/906,434

[71] 申请人 斯特林癌症研究基金会

地址 美国得克萨斯州

[72] 发明人 曹志松

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 贾静环

权利要求书 3 页 说明书 15 页

[54] 发明名称

制备和提纯 9 - 硝基 - 20 - 喜树碱的方法以及
9 - 硝基 - 20 - 喜树碱及其组合物

[57] 摘要

本发明公开了制备 9 - 硝基喜树碱的方法, 包括 20 - 喜树碱与至少一种无机硝酸盐反应并用至少一种对催化生成硝鎓离子有效的酸, 其中反应在足以生成 9 - 硝基喜树碱的温度和时间内进行。本发明还公开了用柱色谱或再沉淀提纯 9 - 硝基喜树碱的方法。

1. 制备 9-硝基喜树碱的方法, 包括在足以生成所述 9-硝基喜树碱的温度和时间下, 将 20-喜树碱与至少一种无机硝酸盐和至少一种对催化生成硝鎓离子有效的酸反应。

2. 权利要求 1 的方法, 其中所述 20-喜树碱是外消旋的 20-喜树碱或 20(S)-喜树碱。

3. 权利要求 2 的方法, 其中所述 20-喜树碱是 20(S)-喜树碱, 且所述 9-硝基喜树碱是 9-硝基-20(S)-喜树碱。

4. 权利要求 1 的方法, 其中所述酸是硫酸、三氟乙酸或三氟乙酐。

5. 权利要求 1 的方法, 其中所述无机硝酸盐是 KNO_3 ; NH_4NO_3 ; LiNO_3 ; AgNO_3 ; TlNO_3 ; BiONO_3 ; $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$; $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$; $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$; $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 或其混合物。

6. 权利要求 1 的方法, 其中所述无机硝酸盐是至少两种无机硝酸盐的混合物。

7. 权利要求 6 的方法, 其中所述无机硝酸盐包括 KNO_3 和至少一种其他无机硝酸盐。

8. 权利要求 6 的方法, 其中所述无机硝酸盐包括:

KNO_3 和 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 和 TlNO_3 ;

KNO_3 和 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 和 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 和 $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$;

KNO_3 和 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 和 $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$;

KNO_3 和 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$;

KNO_3 和 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$;

LiNO_3 和 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$;

LiNO₃ 和 Cu(NO₃)₂ · 2.5H₂O;
LiNO₃ 和 Co(NO₃)₂ · 6H₂O;
AgNO₃ 和 Cr(NO₃)₃ · 9H₂O;
Cu(NO₃)₂ · 2.5H₂O 和 Fe(NO₃)₃ · 9H₂O;
Hg(NO₃)₂ · H₂O 和 Fe(NO₃)₃ · 9H₂O;
NH₄NO₃ 和 Cu(NO₃)₂ · 2.5H₂O;
KNO₃、TiNO₃ 和 Cu(NO₃)₂ · 2.5H₂O;
KNO₃、TiNO₃ 和 Zn(NO₃)₂ · 6H₂O;
KNO₃、TiNO₃ 和 Pb(NO₃)₂;
KNO₃、Cu(NO₃)₂ · 2.5H₂O 和 Fe(NO₃)₃ · 9H₂O;
KNO₃、LiNO₃、Cu(NO₃)₂ · 2.5H₂O、Hg(NO₃)₂ · H₂O 和 Zn(NO₃)₂ · 6H₂O;
KNO₃、LiNO₃、Cu(NO₃)₂ · 2.5H₂O、Hg(NO₃)₂ · H₂O 和 Fe(NO₃)₃ · 9H₂O;
KNO₃、LiNO₃、AgNO₃、Cu(NO₃)₂ · 2.5H₂O、Hg(NO₃)₂ · H₂O 和 Fe(NO₃)₃ · 9H₂O;
KNO₃、LiNO₃、Zn(NO₃)₂ · 6H₂O、Cu(NO₃)₂ · 2.5H₂O、Hg(NO₃)₂ · H₂O 和 Fe(NO₃)₃ · 9H₂O; 或
KNO₃、Zn(NO₃)₂ · 6H₂O、Cu(NO₃)₂ · 2.5H₂O、Hg(NO₃)₂ · H₂O 和 Fe(NO₃)₃ · 9H₂O。

9. 权利要求 1 的方法, 还包括用柱色谱提纯 9-硝基喜树碱的步骤。

10. 权利要求 9 的方法, 其中所述柱色谱用含有四氢呋喃和二氯甲烷的洗脱液进行。

11. 权利要求 1 的方法, 还包括用从乙醇中再沉淀提纯 9-硝基喜树碱。

12. 9-硝基喜树碱, 其熔点为 268°C, 其中该 9-硝基喜树碱具有如下特征:

1) ¹H NMR: 1.05 (3H, t, J=7.40Hz, C19-甲基质子), 1.92 (2H, m, C18-亚甲基质子), 3.82(1H, s, C20-OH), 5.40(2H, s, C5-亚甲基质子), 5.55(2H, dd, J=14.21Hz, 14.21Hz, C17-亚甲基质子), 7.70(1H, s, C14-H), 7.92(1H, t, J=8.40Hz, C11-H), 8.48(1H, d, J=8.35Hz, C10-H), 8.55(1H, d, J=8.35Hz, C12-H), 9.36(1H, s, C7-H);

2) 质谱 m/e (相对强度): 393(M⁺, 100%), 364(M-C₂H₅, 35%), 349(48%), 334(25%), 320(25%), 293(35%), 274(8%), 262(8%), 246(15%), 234(6%),

218(20%), 205(8%), 190(9%), 177(5%), 164(3%), 151(3%), 137(5%), 123(4%), 109(5%), 95(5%), 75(3%), 60(23%); 精密质谱:393.096(实验值), 393.096($C_{20}H_{15}N_3O_6$ 计算值)。

13. 含权利要求 12 的 9-硝基喜树碱的组合物。

14. 权利要求 13 的组合物, 其中所述 9-硝基喜树碱是由乙醇作为起始溶剂的纯化过程形成的。

15. 权利要求 13 的组合物, 该组合物是用于治疗癌症的组合物。

16. 权利要求 12 的 9-硝基喜树碱的纯化方法, 包括用乙醇作为起始溶剂使 9-硝基喜树碱进行纯化过程, 所形成的 9-硝基喜树碱的熔点为 $268^{\circ}C$ 。

制备和提纯 9-硝基-20-喜树碱的方法以及 9-硝基-20-喜树碱及其组合物

本分案申请是申请日为 1998 年 7 月 10 日的申请号为“98807978.X”、发明名称为“提纯和制备-9-硝基-20-喜树碱的方法”的对应于国际申请 PCT/US98/14532、国际公开号为 WO 99/07709 的发明专利申请的分案申请。

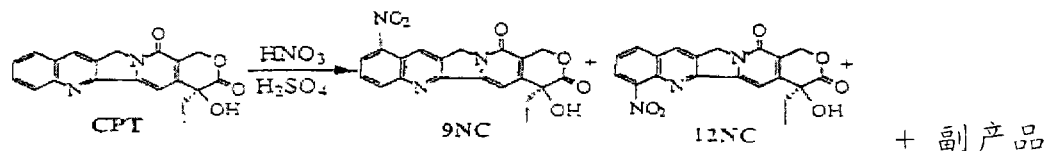
技术领域

本发明是关于制备和提纯 9-硝基-20-喜树碱(9NC)的方法以及 9-硝基-20-喜树碱及其组合物。

背景技术

9-硝基-20(S)-喜树碱在治疗某些类型的癌症中已显示出大有前景。对这种水不溶的 9-硝基-20(S)-喜树碱已进行了体内和体外研究并将 9-硝基-20(S)-喜树碱用于某些癌症的临床试验中。

日本公开的专利申请 59-51288 号提供一种用稍微过量的浓硝酸在浓硫酸中处理喜树碱来制备 9-硝基喜树碱的方法。但是，使用该方法时，得到可用于医药用途的 9NC 产物的收率仅约 3%-约 7%。另外，该方法产生不需要的副产物，例如无活性的异构体，12-硝基喜树碱(12NC)，其中 9NC 与 12NC 的比例约 1-3。下面的反应式表示使用硝酸和硫酸的反应。



但在此反应，不需要的 12NC 是主要产物，占收率的约 60%。因为 9NC 收率低且有许多副产物，分离和提纯 9NC 的方法耗费时间和费用大，还可能进一步降低 9NC 的收率。因此，需要有一种提高 9NC 收率的方法并最好没有以前制备 9NC 的方法所产生的许多副产物。

发明内容

本发明的一个目的是提供制备 9-硝基喜树碱的方法，该方法能得到高的 9-硝基喜树碱收率。

本发明的另一目的是提供一种纯化 9-硝基喜树碱的改进的提纯方法。

本发明的其他目的和优点有部分在下面说明书中说明，有部分可从说明书清楚地反映出来。本发明的这些目的和其他优点可通过说明书和所附的权利要求中特别指出的各个要点及其组合来实现和达到。

为了达到这些和其他优点并根据本发明的目的，正如在这里具体和概括说明的，本发明是关于制备 9-硝基喜树碱的方法。该方法的步骤包括 20-喜树碱与至少一种无机硝酸盐反应并用一种对催化生成硝鎓离子有效的酸。该反应在足以生成 9-硝基喜树碱的温度和时间下。

本发明也是关于用柱色谱提纯 9-硝基喜树碱的方法，优选使用含四氢呋喃和二氯甲烷的洗脱液。

具体地，本发明提供了如下的技术方案：

1. 制备 9-硝基喜树碱的方法，包括在足以生成所述 9-硝基喜树碱的温度和时间下，将 20-喜树碱与至少一种无机硝酸盐和至少一种对催化生成硝鎓离子有效的酸反应。

2. 项 1 的方法，其中所述 20-喜树碱是外消旋的 20-喜树碱或 20(S)-喜树碱。

3. 项 2 的方法，其中所述 20-喜树碱是 20(S)-喜树碱，且所述 9-硝基喜树碱是 9-硝基-20(S)-喜树碱。

4. 项 1 的方法，其中所述酸是浓硫酸、三氟乙酸或三氟乙酐。

5. 项 1 的方法，其中所述无机硝酸盐是 KNO_3 ; NH_4NO_3 ; LiNO_3 ; AgNO_3 ; TlNO_3 ; BiONO_3 ; $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$; $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$; $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$; $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 或其混合物。

6. 项 1 的方法，其中所述无机硝酸盐是至少两种无机硝酸盐的混合物。

7. 项 6 的方法，其中所述无机硝酸盐包括 KNO_3 和至少一种其他无机硝酸盐。

8. 项 6 的方法, 其中所述无机硝酸盐包括

KNO_3 和 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 和 TlNO_3 ;

KNO_3 和 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 和 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 和 $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$;

KNO_3 和 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 和 $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$;

KNO_3 和 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$;

KNO_3 和 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$;

LiNO_3 和 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$;

LiNO_3 和 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$;

LiNO_3 和 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$;

AgNO_3 和 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$;

$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$;

$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$;

NH_4NO_3 和 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 、 TlNO_3 和 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 、 TlNO_3 和 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 、 TlNO_3 和 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$;

KNO_3 、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 、 LiNO_3 、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 、 LiNO_3 、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 、 LiNO_3 、 AgNO_3 、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$;

KNO_3 、 LiNO_3 、 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; 或

KNO_3 、 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 。

9. 项 1 的方法, 还包括用柱色谱提纯 9-硝基喜树碱的步骤。

10. 项 9 的方法, 其中所述柱色谱用含有四氢呋喃和二氯甲烷的洗脱液进行。

11. 项 1 的方法, 还包括用从乙醇中再沉淀提纯 9-硝基喜树碱。

12. 9-硝基喜树碱, 其熔点为 268°C, 其中该 9-硝基喜树碱具有如下特征:

1) $^1\text{H NMR}$: 1.05 (3H, t, $J=7.40\text{Hz}$, C19-甲基质子), 1.92 (2H, m, C18-亚甲基质子), 3.82 (1H, s, C20-OH), 5.40 (2H, s, C5-亚甲基质子), 5.55 (2H, dd, $J=14.21\text{Hz}$, 14.21Hz, C17-亚甲基质子), 7.70 (1H, s, C14-H), 7.92 (1H, t, $J=8.40\text{Hz}$, C11-H), 8.48 (1H, d, $J=8.35\text{Hz}$, C10-H), 8.55 (1H, d, $J=8.35\text{Hz}$, C12-H), 9.36 (1H, s, C7-H);

2) 质谱 m/e (相对强度): 393(M^+ , 100%), 364($\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5$, 35%), 349(48%), 334(25%), 320(25%), 293(35%), 274(8%), 262(8%), 246(15%), 234(6%), 218(20%), 205(8%), 190(9%), 177(5%), 164(3%), 151(3%), 137(5%), 123(4%), 109(5%), 95(5%), 75(3%), 60(23%); 精密质谱: 393.096(实验值), 393.096($\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_6$ 计算值)。

13. 含项 12 的 9-硝基喜树碱的组合物。

14. 项 13 的组合物, 其中所述 9-硝基喜树碱是由乙醇作为起始溶剂的纯化过程形成的。

15. 项 13 的组合物, 该组合物是用于治疗癌症的组合物。

16. 项 12 的 9-硝基喜树碱的纯化方法, 包括用乙醇作为起始溶剂使 9-硝基喜树碱进行纯化过程, 所形成的 9-硝基喜树碱的熔点为 268°C。

当然, 上面一般说明和下面的详细说明仅是示例性的和说明性的, 旨在进一步解释要求保护的本发明。

具体实施方式

一般, 制备 9-硝基喜树碱的方法包括将 20-喜树碱与至少一种无机硝酸盐和对催化由硝酸盐形成硝鎓离子有效的酸反应。该反应在足以生成 9-硝基喜树碱的温度和时间下进行。

关于原料, 所述喜树碱可以是任何 20-喜树碱。优选的喜树碱是外消旋的 20-喜树碱(即 20(R, S)-喜树碱)或 20(S)-喜树碱。更优选的 20-喜树碱是 20(S)-喜树碱。所述喜树碱在市场上可以从中国北京京涛(Jintao)科技开发公

司买到。可使用任何纯度的喜树碱，但 20-喜树碱纯度优选约 85%-约 99%，更优选至少约 92%。与至少一种无机硝酸盐和一种催化生成硝鎓离子有效的酸反应的 20-喜树碱的量可以是任何量，只要存在足够量的剩余组分即可。

无机硝酸盐可以是能够生成硝鎓离子的任何盐，所述硝鎓离子最后生成连接在喜树碱 9-位上的硝基取代基。无机硝酸盐的例子包括但不限于 KNO_3 ; NH_4NO_3 ; LiNO_3 ; AgNO_3 ; TlNO_3 ; BiONO_3 ; $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$; $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$; $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$; $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 。

在本发明的方法中，至少一种无机硝酸盐用于反应中。也可以使用多种无机硝酸盐，例如，两种或三种或更多种不同的无机硝酸盐可以用于该反应中。某些无机硝酸盐的组合物改进了 9-硝基喜树碱收率的百分数并使 9-硝基喜树碱收率百分数与 12-硝基喜树碱收率百分数有更理想的比例，以及使硝化的总百分数更高和/或反应副产物的百分数更低。

无机硝酸盐组合物的具体例子包括但不限于 KNO_3 和 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$; KNO_3 和 TlNO_3 ; KNO_3 和 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; KNO_2 和 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; KNO_3 和 $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$; KNO_3 和 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; KNO_3 和 $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$; KNO_3 和 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; KNO_3 和 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; KNO_3 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; LiNO_3 和 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; LiNO_3 和 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$; LiNO_3 和 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; AgNO_3 和 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; NH_4NO_3 和 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$; KNO_3 , TlNO_3 , 和 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$; KNO_3 , TlNO_3 , 和 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; KNO_3 , TlNO_3 , 和 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; KNO_3 , $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; KNO_3 , LiNO_3 , $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; KNO_3 , LiNO_3 , AgNO_3 , $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; KNO_3 , LiNO_3 , $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; KNO_3 , LiNO_3 , $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$; 和 KNO_3 , $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 和 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 。

在反应中存在的无机硝酸盐的量(与反应中使用的喜树碱量比较)超过

使用的喜树碱量，更优选是大于喜树碱量约 2 倍-约 3 倍(摩尔)。无机硝酸盐可从市场上例如 Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI 买到。

本发明方法中使用的酸在催化生成硝鎓离子中是有效的。酸的例子包括但不限于浓硫酸、三氟乙酸或三氟乙酐。使用的术语“浓的”指的是硫酸的浓度至少约 95%，更优选约 96%-约 98%。在反应中使用的酸量应是 50ml-120ml/g20-CPD，更优选 100ml/g20-CPT。

在实施本发明的方法时，原料一般可以任何顺序加入反应容器中，混合在一起直到生成 9-硝基喜树碱。原料加入反应器中的顺序不是严格的，但优选首先将酸加入装有磁性搅拌器的反应容器中，然后加入喜树碱和无机硝酸盐。混合物在室温下搅拌优选至少约 72 小时，更优选约 72-约 96 小时。在混合物搅拌足够时间后，可将混合物分批倒入冰水中同时搅拌以避免过热。生成的悬浮液用溶剂例如二氯甲烷萃取，萃取液可以用例如硫酸钠干燥几小时。

如同表 1 所示，该反应式表示喜树碱 1 用无机硝酸盐硝化得到 9-硝基喜树碱 4、12-硝基喜树碱 5、和其他副产物。优选的硝化反应是得到合适比例的 9-硝基喜树碱和 12-硝基喜树碱以及较高的总硝化收率和低的副产物收率(百分数)。

表 2 概要地说明在浓硫酸中喜树碱与常用的无机盐的硝化反应。从结果可以看出，根据 9-硝基喜树碱的收率和/或得到的 9-硝基喜树碱与 12-硝基喜树碱的比例， TlNO_3 和 KNO_3 是优选的无机硝酸盐。表 3 提供的数据表示在反应中使用两个不同无机硝酸盐的几种组合物生成 9-硝基喜树碱。从表 3 可以看出得到此结果优选使用 $\text{KNO}_3/\text{TlNO}_3$ ； $\text{KNO}_3/\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ ；和 $\text{KNO}_3/\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ 。例如， $\text{KNO}_3/\text{TlNO}_3$ 的组合物，与单独用硝酸钾或硝酸铊作为硝化剂反应得到的结果比较，提供了改进的 9-硝基喜树碱和 12-硝基喜树碱的比例 1:1.4 以及较高的 9-硝基喜树碱收率 29%。 KNO_3 和 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ 的组合物也显示改进的 9-硝基喜树碱和 12-硝基喜树碱的比例 1:1.2。表 4 概述了使用三种或更多种无机硝酸盐作为硝化剂并表示这些组合物是可以使用的。

表 5 概述用不同比例的硝酸钾和硝酸铊在浓硫酸中的组合物硝化喜树碱的结果。从表 5 中可以看出在优选的无机硝酸盐组合物是 1.4/1.0-1.0/1.5 比例的 $\text{KNO}_3/\text{TlNO}_3$ 时，得到较高百分收率的 9-硝基喜树碱以及改进的 9-硝基喜树碱和 12-硝基喜树碱的比例。更优选使用 1.3/1.0-1.0/1.0 的

$\text{KNO}_3/\text{TINO}_3$ 。用上述比例可以得到纯的 9-硝基喜树碱的稳定的收率 $20 \pm 1\%$ ，而一般方法得到的收率最多 $5 \pm 2\%$ 。

下列实施例进一步说明本发明，但这些实施例只是举例性的。

实施例

在下列实施例中，所有玻璃仪器在使用以前都在 $70 \pm 10^\circ\text{C}$ 下烘干至少 2 小时。熔点用 MEL-TEMP 熔点仪得到，不校正。约 10%(w/v) CDCl_3 溶液的 ^1H NMR 用 JEOL GX-270 WB NMR 波谱仪在 270.05MHz 下得到。化学位移以每百万中的份数记录(δ 标度)，用四甲基硅烷作内标。在记录 NMR 数据时，我们使用下列缩写：以赫兹表示的偶合常数(J)，单峰(S)，二重峰(d)，三重峰(t)，宽峰(bs)，多重峰(m)，等等。质谱用分辨率 10000 的 VG ZAB-SEQ 质谱仪(英国 VG Analytical Co.)记录。常规使用的溶剂例如氯仿和二氯甲烷经干燥和新蒸馏的。柱色谱的硅胶(230-400 目，Aldrich)用于所有产物的分离。在薄层色谱(TLC)中使用 Eastman 色谱板(含有聚乙烯的荧光指示剂的硅胶)。在 NMR 数据中使用的数字在表 1 的结构 1 中表示。

20(S)-喜树碱从中华人民共和国北京京涛科技开发公司购买，买来就用。所有其他无机硝酸盐从 Aldrich Chemical Co.(Milwaukee, WI)购买，也是买来就用。

浓硫酸浓度 96%，由 Fisher 得到，得到就使用。

实施例 1

在乙酸中喜树碱与 KNO_3 的反应

将 0.50g(0.0014mol)20(S)-喜树碱和 0.50g KNO_3 (0.0050mol)加入在 100ml 装有磁性搅拌器的圆底烧瓶中的 30ml 乙酸中。混合物在室温下搅拌 24 小时，并在搅拌下分几份倒入 500ml 冰水中。悬浮液用每次 200ml 二氯甲烷(200ml \times 3)萃取 3 次。合并的萃取液用 20g 无水硫酸钠干燥 6 小时。在用旋转蒸发器分离二氯甲烷后，剩余物在石油醚中回流 4 小时。在过滤和在空气中干燥 4 小时后得到的产物是灰白色粉末。HPLC 分析表示在乙酸中无喜树碱与 KNO_3 硝化的指示。起始的喜树碱 100%回收(表 1)

实施例 2

在乙醚中喜树碱与 KNO_3 的反应

用与实施例 1 中的反应相同的方法将喜树碱硝化和处理。反应产物的

HPLC 分析表明起始的喜树碱 100%回收。

实施例 3

在三氟乙醚中喜树碱与 KNO_3 的反应

用与实施例 1 相同的方法将喜树碱硝化和处理。反应混合物的 HPLC 分析数据在表 1 中所示。

实施例 4

在浓硫酸中喜树碱用 KNO_3 的硝化

将 0.50g(0.0014mol)喜树碱和(0.50g, 0.0050mol) KNO_3 同时加入在 100ml 装有磁性搅拌器的圆底烧瓶中的 30ml 浓硫酸中。混合物在室温下搅拌 1 天, 并在搅拌下缓慢地倒入 500ml 冰水中。黄色的悬浮液用每次 200ml 二氯甲烷(200ml \times 3)萃取 3 次。合并的萃取液用无水硫酸钠干燥 1 天。用旋转蒸发器分离二氯甲烷, 剩余物在石油醚中回流 4 小时。在冷却至室温后混合物经过滤和得到的黄色粉末在空气中干燥 1 天。反应混合物(黄色粉末)的 HPLC 分析在表 1 中所示。

实施例 5

在硫酸中喜树碱用各种硝酸盐的硝化

将喜树碱(0.50g, 0.0014mol)和硝酸铵(0.56g, 0.0070mol)加入在 100ml 装有磁性搅拌器的圆底烧瓶中的 20ml 浓硫酸中。混合物在室温下搅拌 72 小时, 然后在搅拌下倒入 500ml 冰水中, 用每次 200ml 二氯甲烷(200ml \times 3)萃取 3 次。合并的萃取液用每次 100ml 水(100ml \times 2)洗涤 2 次。将 2 次的洗涤液合并, 用每次 100ml 二氯甲烷(200ml \times 2)萃取 2 次。将所有萃取液(~600ml+~200ml)合并, 干燥(Na_2SO_4 , 20g)4 小时, 然后蒸发得到白色粉末状粗反应产物, 含有 9NC(19%), 12NC(41%), 未反应的喜树碱(25%), 和其他副产物(15%)。

所有这些反应的 HPLC 分析结果在表 2 中所示。

实施例 6

在硫酸中喜树碱用两种不同硝酸盐组合物的硝化

将喜树碱(4.0g, 0.0115mol)加入在 250ml 三口烧瓶中的 100ml 浓硫酸中。悬浮液用磁性搅拌器搅拌直到大多数喜树碱进入溶液中(约 15-30 分钟)。将 KNO_3 (2.32g, 0.0230mol)和 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ (2.67g, 0.0115mol)同时加入该溶液中。混合物在室温下搅拌 72 小时, 在搅拌下倒入 1500ml 冰水中。在水

中的黄色悬浮液用每次 500ml 二氯甲烷(500ml × 4)萃取 4 次。合并的萃取液用无水硫酸钠干燥 8 小时。用过滤分离硫酸钠。在用旋转蒸发器分离二氯甲烷后, 得到黄色粉末状的粗反应产物, 含有 9NC(24%), 12NC(50%), 未反应的喜树碱(6%), 和其他副产物(20%)。所有这些硝化反应的 HPLC 分析结果在表 3 中所示。

实施例 7

在硫酸中喜树碱用三种或更多种无机硝酸盐组合物的硝化

将喜树碱(4.0g, 0.0115mol)悬浮于在 250ml 装有磁性搅拌器的圆底烧瓶中的 100ml 浓硫酸中。在搅拌约 30 分钟(直到喜树碱几乎溶解)后, 同时加入 KNO_3 (1.16g, 0.0115mol), TINO_3 (3.0g, 0.0116mol)和 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ (2.67g, 0.0115mol)的组合物。混合物在室温下搅拌 72 小时, 在搅拌下倒入 1500ml 冰水中。黄色悬浮液用每次 500ml 二氯甲烷(500ml × 4)萃取 4 次。合并的萃取液用无水硫酸钠干燥, 过滤, 和蒸发。得到黄色粉末状的粗反应产物, 含有 9NC(25%), 12NC(44%), 未反应的喜树碱(10%), 和其他副产物(21%)。所有这些硝化反应的 HPLC 分析结果在表 4 中所示。

实施例 8

在硫酸中喜树碱用不同比例的 KNO_3 和 TINO_3 组合物的硝化

将喜树碱(6.0g, 0.0172mol)加入在 250ml 装有磁性搅拌器的三口烧瓶中的 100ml 浓硫酸中。在室温下搅拌约 30 分钟后, 同时加入 KNO_3 (1.74g, 0.0172mol)和 TINO_3 (4.58g, 0.0172mol)的组合物。混合物在室温下搅拌 72 小时, 在搅拌下倒入 1500ml 冰水中。黄色悬浮液用每次 500ml 二氯甲烷(500ml × 4)萃取 4 次。合并的萃取液用无水 Na_2SO_4 干燥 8 小时。在用旋转蒸发器分离二氯甲烷后, 得到黄色粉末状的粗反应产物, 含有 9NC(26%), 12NC(49%), 未反应的喜树碱(11%), 和其他副产物(14%)。所有这些反应的 HPLC 分析结果在表 5 中所示。

实施例 9

在不同体积的硫酸中喜树碱用 KNO_3 和 TINO_3 (比例: 1.0/1.3)的组合物的硝化

按照实施例 8 的一般方法, 只是 KNO_3 和 TINO_3 与表 6 所示的不同体积硫酸一起使用。结果也在表 6 中所示。

实施例 10

制备 9-硝基喜树碱的方法

将喜树碱(4.0g, 0.0115mol)加入在 1000ml 三口烧瓶中的 300ml 浓硫酸中。在搅拌约 15 分钟后,同时加入 KNO_3 (2.0g, 0.0198mol)和 TlNO_3 (5.0g, 0.0188mol)。混合物在室温下搅拌 72 小时后在搅拌下倒入 3500ml 冰水中。黄色悬浮液用总量 3300ml 二氯甲烷(1500ml \times 1; 和 900ml \times 2)萃取 3 次。合并的萃取液用无水硫酸钠干燥 8 小时。在过滤后用旋转蒸发器分离溶剂。剩余物用色谱法分离。将粗的 9-硝基喜树碱在无水乙醇中回流 2-4 小时。用从乙醇中再沉淀得到的纯产物(9NC)是浅黄色粉末, (mp 268 $^\circ\text{C}$, 收率 20%) ^1H NMR:1.05(3H, t, $J=7.40\text{Hz}$, C19-甲基质子), 1.92(2H, m, C18-亚甲基质子), 3.82(1H, s, C20-OH), 5.40(2H, s, C5-亚甲基质子), 5.55(2H, dd, $J=14.21\text{Hz}$, 14.21Hz, C17-亚甲基质子), 7.70(1H, s, C14-H), 7.92(1H, t, $J=8.40\text{Hz}$, C11-H), 8.48(1H, d, $J=8.35\text{Hz}$, C10-H), 8.55(1H, d, $J=8.35\text{Hz}$, C12-H), 9.36(1H, s, C7-H); mass m/e(相对强度): 393(M^+ , 100%), 364($\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5$, 35%), 349(48%), 334(25%), 320(25%), 293(35%), 274(8%), 262(8%), 246(15%), 234(6%), 218(20%), 205(8%), 190(9%), 177(5%), 164(3%), 151(3%), 137(5%), 123(4%), 109(5%), 95(5%), 75(3%), 60(23%); 精密质谱:393.096(实验值), 393.096($\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_6$ 计算值)。

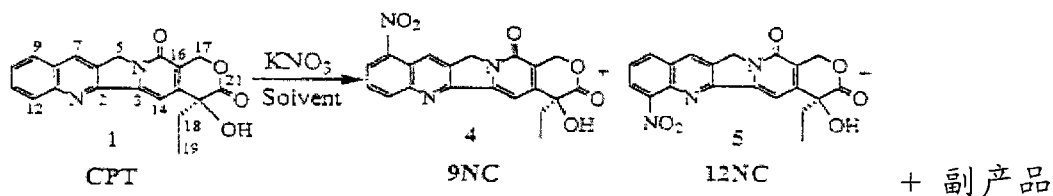
实施例 11

9-硝基喜树碱的 HPLC 的纯度分析

仪器:由贝克曼控制器组成的 HPLC 系统,所述控制器有两个 110A 泵和 2ml 定量注射管。UV 检测器是 SPD-110AV 型检测器(Shimadzu, Kyoto, 日本)。HPLC 检测器用于监测在 220nm 的 UV 吸收。分析用的集中软件是 EZC Chrome(Shimadzu, 日本)和 FLO-ONE/beta(Ra-dromatic Inserumenes, Meridian, CT)。C-8 Microsorb 来自 Rainin Inserument(Woburn, MA)。HPLC 分析:试样的反相 HPLC 分析用乙腈-乙酸乙酯-水流动相体系进行。分析在室温下以流速 1ml/min 进行。9NC 浓度约 0.1mg/ml 乙腈溶液用将其溶于所述溶剂中制备。取出一份上述溶液 300 μl , 加入 700 μl 0.1%乙酸水溶液中。在振动约 10 秒后,通过 2ml 管将 100 μl 上述溶液注入柱中,用 70%含有 0.1%乙酸的水和 30%乙腈作为流动相进行色谱分析第一个 5 分钟。然后流动相梯度在 4 分钟周期内按程序升至 100%乙腈。在 15 分钟内得到完全的 HPLC 谱图。9NC 纯度通过测定在 254nm 的 UV 峰面积和计算与 9NC 峰有关的百分数决定。9NC

纯度至少 96%。在这些条件下 9-硝基喜树碱的保留时间约 6.5 分钟。

表 1. 在不同溶剂中喜树碱用 KNO_3 的硝化^a



溶剂	%9NC	%12NC	%CPT ^c	%副产物	9NC ^d /12NC ^d	%总硝化
乙酸	0	0	100	0	0/0	0
乙酐	0	0	100	0	0/0	0
TFAA ^b	4	8	23	65	1/2	12
硫酸	21	47	26	6	1/2.2	68

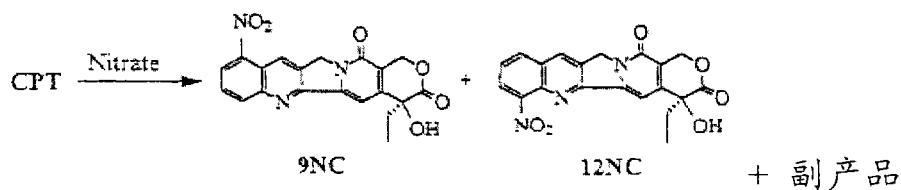
a. 喜树碱: 0.5g, 硝酸钾: 0.5g, 溶剂: 30ml, 反应时间: 24 小时, 反应温度: 室温。

b. TFAA 表示三氟乙酐。

c. %CPT 表示喜树碱%回收率和 CPT 表示喜树碱。

d. 9NC 表示 9-硝基喜树碱和 12NC 表示 12-硝基喜树碱。

表 2. 在硫酸中喜树碱用各种硝酸盐的硝化^a

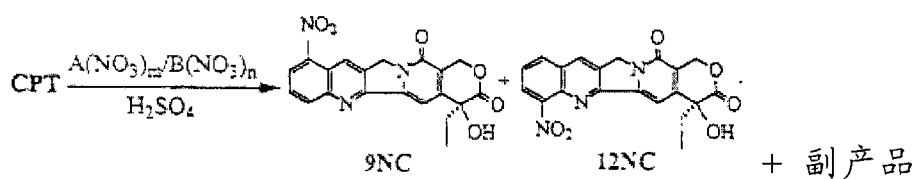


硝酸盐	%9NC	%12NC	%CPT	%副产物	9NC/12NC	%总硝化
NH_4NO_3	19	41	25	15	1/2.2	60
KNO_3	23	52	19	6	1/2.3	75
LiNO_3	22	38	0	40	1/1.7	60
AgNO_3	19	43	18	20	1/2.3	62
TlNO_3	24	49	15	12	1/2.0	73

BiONO ₃	11	17	48	24	1/1.5	28
Cu(NO ₃) ₂ ·2.5H ₂ O	22	53	1	24	1/2.4	75
Hg(NO ₃) ₂ ·H ₂ O	22	43	1	35	1/2.0	65
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	20	49	1	30	1/2.5	69
Ba(NO ₃) ₂	17	54	3	20	1/3.2	71
Zn(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	21	44	19	16	1/2.1	65
Mg(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	23	45	9	23	1/2.0	68
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	21	41	0	38	1/2.0	62
Sr(NO ₃) ₂	22	36	1	41	1/1.6	58
Pb(NO ₃) ₂	18	50	13	19	1/2.8	68
Al(NO ₃) ₃ ·9H ₂ O	17	46	1	36	1/2.7	63
Fe(NO ₃) ₃ ·9H ₂ O	23	51	0	26	1/2.2	74
Cr(NO ₃) ₃ ·9H ₂ O	13	28	46	13	1/2.2	41
La(NO ₃) ₃ ·6H ₂ O	11	34	2	54	1/3.1	45

a. 对每个反应：喜树碱：0.5g(0.0014mol)，H₂SO₄:20ml，硝酸盐：0.0070mol.，72小时，和室温。

表3. 在硫酸中喜树碱用两种不同硝酸盐组合物的硝化^a



A(NO ₃) _m /B(NO ₃) _n ^b	%9NC	%12NC	%CPT	%副产品	9NC/12NC	%总硝化
K/Cu ^c	24	50	6	20	1/2.1	74
K/Ti	29	41	8	22	1/1.4	70
K/Hg	21	25	12	42	1/1.2	46
K/Ca	18	42	3	37	1/2.3	60
K/Ba	20	39	0	41	1/2.0	59
K/Zn	26	50	10	14	1/1.9	56
K/Sr	29	45	3	23	1/1.6	74

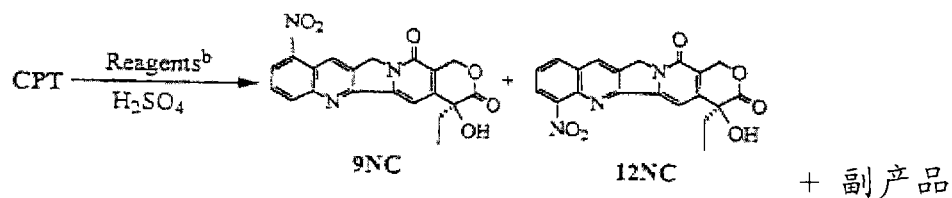
K/Pb	24	49	12	15	1/2.0	73
K/Al	25	50	2	23	1/2.0	75
K/Fe	18	41	0	41	1/2.3	59
Li/Hg	17	38	17	26	1/2.2	55
Li/Cu	22	47	10	21	1/2.1	69
Li/Co	11	30	2	57	1/2.7	41
Ag/Cr	18	37	1	44	1/2.1	55
Cu/Fe	17	33	1	49	1/1.9	50
Hg/Fe	23	45	2	30	1/2.0	68
NH ₄ /Cu	17	49	2	32	1/2.9	66

a. 对每个反应：喜树碱：4.0g(0.0115mol)，硫酸：100ml，72小时，和室温。

b. A(NO₃)_m与B(NO₃)_n的摩尔比：2.0:1.0。

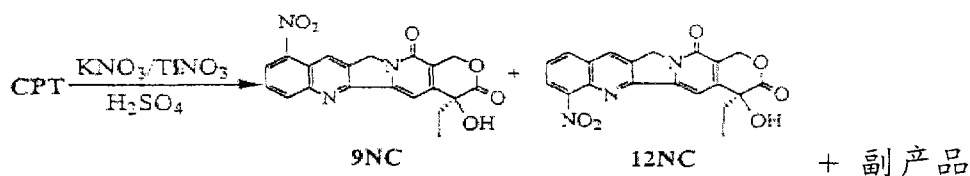
c. K/Cu表示相应的KNO₃/Cu(NO₃)₂·2.5H₂O，同样用于其他组合物。

表4 在硫酸中喜树碱用三个或更多个硝酸盐组合物的硝化^a



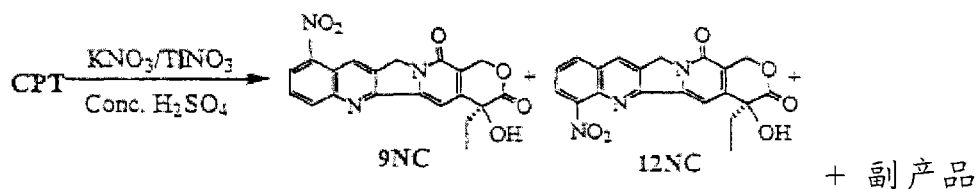
试剂	%9NC	%12NC	%CPT	%副产物	9NC/12NC	%总硝化
K/Tl/Cu ^c	25	44	10	21	1.0/1.8	69
K/Tl/Zn	25	46	0	29	1.0/1.8	71
K/Tl/Pb	25	46	5	24	1.0/1.8	71
K/Cu/Fe	22	48	6	24	1.0/2.2	70
K/Cu/Hg/Zn	24	57	2	17	1.0/2.4	81
K/Li/Cu/Hg/Fe	21	44	12	23	1.0/2.1	65
K/Li/Ag/Cu/Hg/Fe	24	50	4	22	1.0/2.1	74
K/Li/Zn/Cu/Hg/Fe	23	44	7	30	1.0/1.9	67
K/Zn/Cu/Hg/Fe	26	50	4	20	1.0/1.9	76

- a. 对每个反应：喜树碱：4.0g(0.0115mol)，硫酸：100ml，72小时，和室温。
 b. 在试剂的组合中所有硝酸盐的摩尔比是1:1:1。
 c. K/TI/Cu表示相应的 $\text{KNO}_3/\text{TlNO}_3/\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ ，同样用于其他试剂。

表5. 在硫酸中喜树碱用不同比例的 KNO_3 和 TlNO_3 组合物的硝化^a

$\text{KNO}_3/\text{TlNO}_3$	%9NC	%12NC	%CPT	%副产物	9NC/12NC	%总硝化
3.3/1.0	26	47	5	22	1.0/1.8	73
2.0/1.0	29	41	8	22	1.0/1.4	70
1.4/1.0	27	46	10	17	1.0/1.7	73
1.3/1.0	28	49	6	17	1.0/1.8	77
1.2/1.0	27	50	8	15	1.0/1.9	77
1.0/1.0	26	49	11	14	1.0/1.9	75
1.0/1.3	27	49	11	13	1.0/1.8	76
1.0/1.5	26	47	12	15	1.0/1.8	73
1.0/2.1	25	38	9	28	1.0/1.5	63

- a. 对每个反应：喜树碱：6.0g(0.0172mol)，硫酸：100ml，72小时，和室温。

表6. 浓硫酸体积对喜树碱用 KNO_3 和 TlNO_3 组合物硝化的影响^a

$\text{H}_2\text{SO}_4(\text{ml})$	%9NC	%12NC	%CPT	%副产物	9NC/12NC	%总硝化
100	29	41	08	22	1.0/1.4	70
200	25	49	15	11	1.0/2.0	74
300	28	53	09	10	1.0/1.9	81
400	29	45	10	16	1.0/1.6	74

a. 喜树碱: 4.0g, 硝酸钾: 2.0g, 硝酸铊: 4.0g, 反应时间: 72 小时, 反应温度: 室温。

当然, 前面的一般说明和后面的详细说明仅是示例性的和说明性的和用来提供要求保护的发明的进一步说明。