

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2013年7月25日 (25.07.2013)



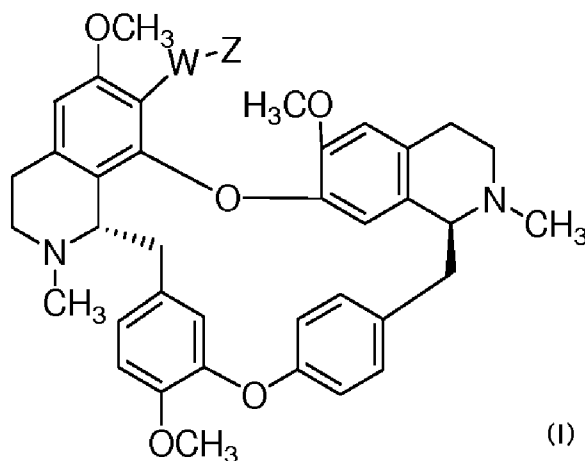
(10) 国际公布号
WO 2013/107428 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07D 491/18 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/4748 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2013/070800
- (22) 国际申请日: 2013年1月21日 (21.01.2013)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
PCT/CN2012/070698 2012年1月21日 (21.01.2012)
CN
- (71) 申请人: 杭州本生药业有限公司 (HANGZHOU BENSHEG PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市滨江区江陵路 88 号 6 幢 4 层, Zhejiang 310051 (CN)。
- (72) 发明人: 荣风光 (RONG, Frank); 中国浙江省杭州市西湖区天目山路 150 号世贸丽晶城初阳苑 3 单元 501 室, Zhejiang 310012 (CN)。徐荣臻 (XU, Rong-zhen); 中国浙江省杭州市黄姑山路 20 号 1 幢 3 单元 101 室, Zhejiang 310012 (CN)。赖洪喜 (LAI, Hongxi); 中国福建省龙岩市上杭县临江镇解放路 641 号, Fujian 364200 (CN)。谢福文 (XIE, Fuwen); 中国福建省龙岩市上杭县临江镇东方花园西区 3 号, Fujian 364200 (CN)。
- (74) 代理人: 北京市金杜律师事务所 (KING & WOOD MALLESONS); 中国北京市朝阳区东三环中路 1 号 环球金融中心办公楼东楼 20 层, Beijing 100020 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。
- 根据细则 4.17 的声明:
— 发明人资格(细则 4.17(iv))

[见续页]

(54) Title: 7-SUBSTITUTED HANFANGICHIN B DERIVATIVE, AND PREPARATION METHOD AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 7-位取代的汉防己乙素衍生物、及其制备方法和应用



(57) Abstract: The present invention belongs to the fields of natural medicine and medicinal chemistry, and in particular relates to a new-type 7-substituted Hanfangichin B derivative of general formula (I) or pharmaceutically acceptable adducts, composites and salts thereof, a method of preparing the compounds, a pharmaceutical composition containing same and the use thereof in preparing anti-tumour medicines.

(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 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的加成物, 复合物和盐, 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。



WO 2013/107428 A1

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

7-位取代的汉防己乙素衍生物、及其制备方法和应用

技术领域

本发明属于天然药物及药物化学领域，并涉及新型汉防己乙素衍生物，特别是7-位取代的汉防己乙素衍生物，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

汉防己乙素(Fangchinoline, FAN), 别名防己诺林碱, 是从中药材粉防己根中提取而来的双苄基异喹啉生物碱。天然存在于防己科植物粉防己(*Stephania tetrandra* S. Moore)的根, 盾状轮环藤(*Cyclea peltata* Diels)的根及唐松草人字果的根和根茎中。汉防己乙素是一种天然的钙拮抗剂, 对多种疾病有显著的治疗效果, 如具有广谱消炎抗菌作用, 抗高血压、糖尿病、肝纤维化, 对脑细胞具有保护作用。近年来的研究发现它还有明显的抗肿瘤作用, 如对W-256, 艾氏腹水癌, S-45均有显著的抑制作用, 对KB细胞和Hela细胞也有抑制作用, 对人体移植性肝癌7402和7405细胞株呈较强的抑制作用。

有报道了汉防己乙素对人类结肠癌细胞系LoVo的抑制作用。实验对荷瘤裸鼠连续给药60天, 结果显示, 用药组与对照组相比, 肿瘤明显缩小, 生长减慢, 微血管密度明显低于对照组。且用药期间, 小鼠未出现不良反应。说明汉防己乙素具有体内抑制肿瘤的作用, 而且副作用很小。(王振军等, 防己诺林碱在抑制血管生成药物中的应用[P]. CN 1511528A. 2004.)

Changdong Wang等人研究了汉防己乙素对人前列腺癌细胞PC3的抑制作用。研究结果显示, 汉防己乙素对PC3细胞的抑制作用呈剂量和时间依赖性。对细胞周期进程研究表明, 汉防己乙素对PC3细胞的抑制作用与G1/S期细胞的增加有关。此外, 汉防己乙素具有体内抗肿瘤的活性, 缩小肿瘤体积和促进凋亡, 以及对裸鼠移植瘤PC3的抑制作用。

(Changdong Wang, et al. Fangchinoline induced G1/S arrest by modulating

expression of p27, PCNA, and cyclin D in human prostate carcinoma cancer PC3 cells and tumor xenograft[J]. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2010, 74(3):488-493.)

唐亚林等人研究了将G-四链体DNA与汉防己乙素结合,增加G-四链体的稳定性,从而减弱细胞的增殖能力,促进细胞凋亡。体外抗癌细胞增殖实验结果表明,G-四链体DNA与汉防己乙素结合后,对于人白血病细胞系HL-60,人胃癌细胞系BGC-823,人肝癌细胞系Bel-7402以及人鼻咽癌细胞系KB均有比较好的抑制效果。(唐亚林等,双苄基异喹啉类生物碱的新用途[P]. CN 101371839A. 2009.)

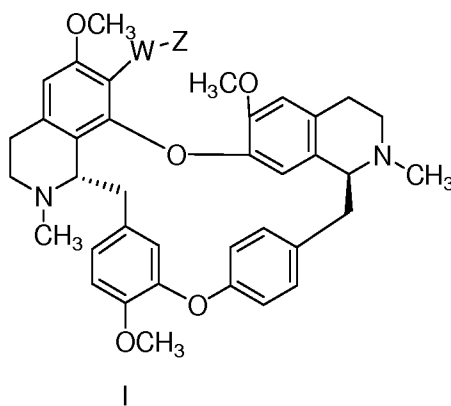
10 目前,汉防己乙素的结构修饰及活性报道甚少,近年来有王锋鹏等人对汉防己乙素进行了结构修饰研究,但尚未见有相关的药效活性数据报道(王锋鹏等,双苄基异喹啉类生物碱及其制备方法和药物组合物[P]. CN 1293196A. 2001.)。

15 本发明对汉防己乙素 7-位羟基进行结构修饰和抗肿瘤活性的测定,发现部分新化合物的抗肿瘤活性有明显的提高。

发明内容

本发明的目的之一是提供特别是通式(I)的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐,

20



其中, W 为 $-OCHR_1-$ 、 $-OSO_2-$ 、 $-OC(O)-$;

Z 选自氢、任选由取代基取代的 C_1-C_6 烷基、任选由取代基取代的 C_2-C_6

烯基、任选由取代基取代的 C₃-C₇ 环烷基或环烯基、任选由取代基取代的杂环基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基、R₂R₃NCH₂CH(OH)-、或者 Z 与 R₁ 以及它们连接的碳原子一起形成任选由取代基取代的 C₃-C₇ 环烷基；

5 R₁ 为氢或与 Z 以及它们连接的碳原子一起形成任选由取代基取代的 C₃-C₇ 环烷基；

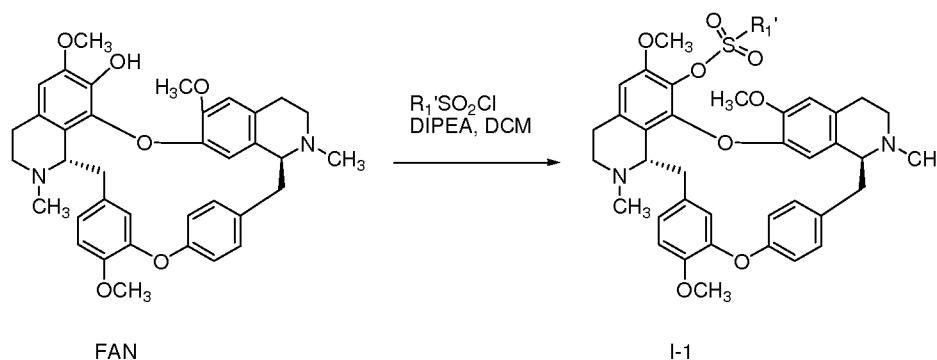
R₂ 和 R₃ 独立地为氢，任选地由羟基、C₁-C₆ 烷基氧基、卤素、C₃-C₇ 环烷基或环烯基、芳基或杂芳基取代的 C₁-C₆ 烷基，C₂-C₆ 烯基，或者 R₂ 和 R₃ 以及它们所连接的氮原子一起形成 3-7 元含氮杂环；所述含氮杂环

10 任选地含有选自氧、硫和氮的另外的杂原子，且任选地被取代基取代；其中，所述取代基选自卤素、氨基、C₁-C₆ 烷基氨基、二(C₁-C₆ 烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、巯基、C₁-C₆ 烷硫基；对于所述芳基、杂芳基、C₃-C₇ 环烷基或环烯基、杂环基和含氮杂环基而言所述取代基还选自 C₁-C₆ 烷基、羟基 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷基；

15 其中，当 W 为 -OCH₂- 时，Z 不为乙基、正丙基或异丙基；当 W 为 -OC(O)- 时，Z 不为乙基或丙基。

本发明的目的之二是提供制备本发明通式 (I) 7-位取代的汉防己乙素衍生物的方法：

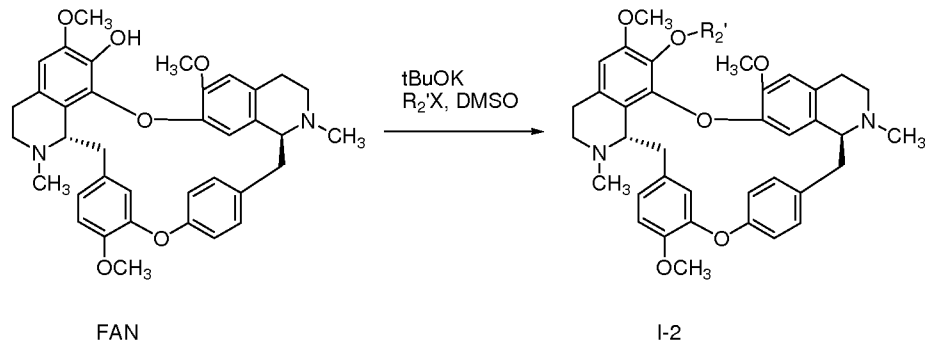
20



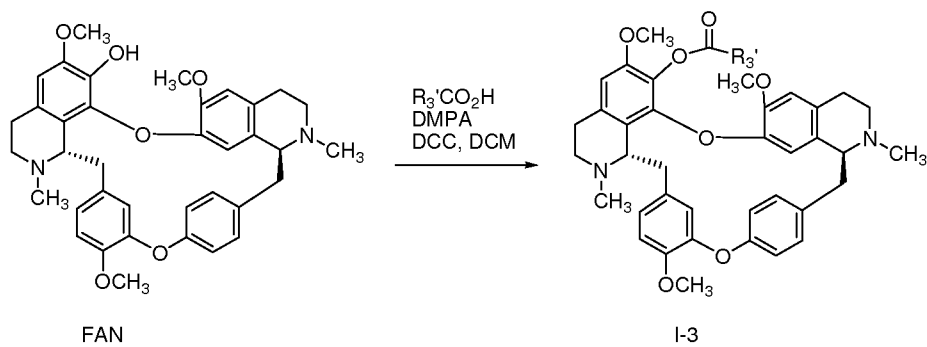
式 (I-1) 的 7-位取代汉防己乙素衍生物由汉防己乙素 (FAN) 与相应的烷基或芳香族磺酰氯 (R₁'SO₂Cl) 在有碱的存在下，于室温下反应生成，其中 R₁' 选自氢、任选由取代基取代的 C₁-C₆ 烷基、任选由取代基取代的 C₂-C₆ 烯基、任选由取代基取代的 C₃-C₇ 环烷基或环烯基、任选由取代基取代的杂环基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基，所述取代基如权利

25

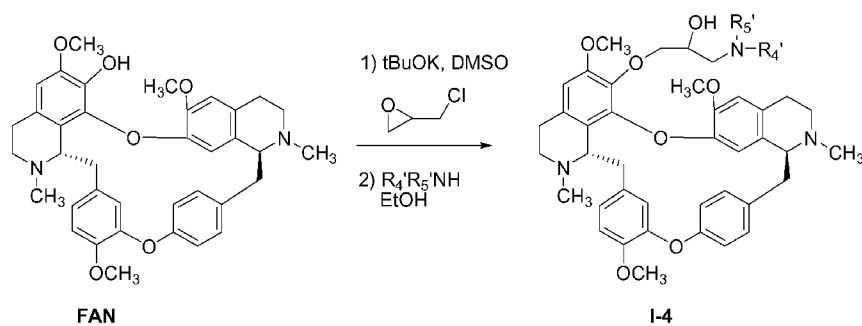
要求 1 所定义;



式 (I-2) 的 7-位取代汉防己乙素衍生物由汉防己乙素 (FAN) 先与强碱反应, 再与相应的卤代烃 ($R_2'X$) 在有碱的存在下, 于室温或加热条件下反应生成, 其中 R_2' 为 $-CHR_1Z$, R_1 和 Z 如权利要求 1 中所定义, 但 Z 不为 $R_2R_3NCH_2CH(OH)-$;



式 (I-3) 的 7-位取代汉防己乙素衍生物由汉防己乙素 (FAN) 与相应的有机酸 ($R_3'CO_2H$) 在有缩合剂和碱的存在下, 于室温下反应生成, 其中 R_3' 为任选由取代基取代的 C_1-C_6 烷基、任选由取代基取代的 C_2-C_6 烯基、任选由取代基取代的 C_3-C_7 环烷基或环烯基、任选由取代基取代的杂环基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基, 所述取代基如权利要求 1 所定义;



式(I-4)的7-位取代汉防己乙素衍生物可由两步反应制取:先由汉防己乙素与叔丁醇钾和氯甲基环氧丙烷反应生成中间体,再由此中间体与相应的有机胺反应即得产物,其中 R_4' 和 R_5' 如权利要求1中对 R_2 和 R_3 的定义。

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

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。

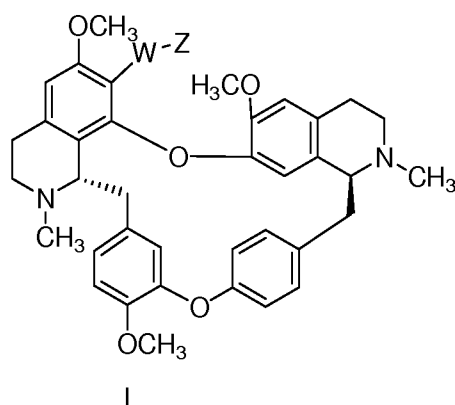
15 本发明还涉及用于治疗肿瘤的本发明的化合物。

附图简要说明

- 图1是BS-FC-308对裸鼠体重影响的动态曲线;
图2是BS-FC-308对裸鼠Hep G2移植瘤体积影响的动态曲线;
20 图3显示BS-FC-308对裸鼠Hep G2移植瘤大小的影响;
图4显示BS-FC-308对裸鼠Hep G2移植瘤重量的影响;
图5显示BS-FC-308对裸鼠HepG2移植瘤的抑制作用;
图6是BS-FC-308对裸鼠体重影响的动态曲线;
图7是BS-FC-308对裸鼠KCL-22M移植瘤体积影响的动态曲线;
25 图8显示BS-FC-308对裸鼠KCL-22M移植瘤大小的影响;
图9显示BS-FC-308对裸鼠KCL-22M移植瘤重量的影响;
图10显示BS-FC-308对裸鼠KCL-22M移植瘤的抑制作用。

具体实施方式

30 本发明涉及一类具有抗肿瘤活性的新型汉防己乙素衍生物,特别是通式(I)的7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐,

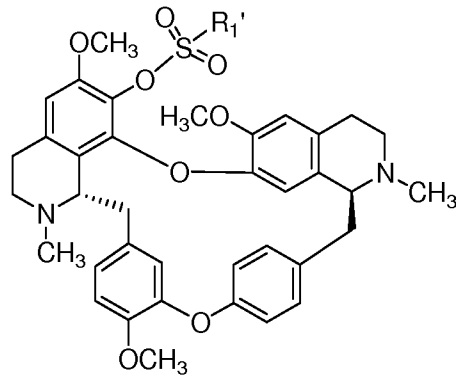


I

其中，W 为 $-OCHR_1-$ 、 $-OSO_2-$ 、 $-OC(O)-$ ；

- 5 Z 选自氢、任选由取代基取代的 C_1-C_6 烷基、任选由取代基取代的 C_2-C_6 烯基、任选由取代基取代的 C_3-C_7 环烷基或环烯基、任选由取代基取代的杂环基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基、 $R_2R_3NCH_2CH(OH)-$ 、或者 Z 与 R_1 以及它们连接的碳原子一起形成任选由取代基取代的 C_3-C_7 环烷基；
- 10 R_1 为氢或与 Z 以及它们连接的碳原子一起形成任选由取代基取代的 C_3-C_7 环烷基；
- R_2 和 R_3 独立地为氢，任选地由羟基、 C_1-C_6 烷基氧基、卤素、 C_3-C_7 环烷基或环烯基、芳基或杂芳基取代的 C_1-C_6 烷基， C_2-C_6 烯基，或者 R_2 和 R_3 以及它们所连接的氮原子一起形成 3-7 元含氮杂环；所述含氮杂环
- 15 任选地含有选自氧、硫和氮的另外的杂原子，且任选地被取代基取代；其中，所述取代基选自卤素、氨基、 C_1-C_6 烷基氨基、二 (C_1-C_6 烷基) 氨基、硝基、氰基、羟基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷氧基、巯基、 C_1-C_6 烷硫基；对于所述芳基、杂芳基、 C_3-C_7 环烷基或环烯基、杂环基和含氮杂环基而言所述取代基还选自 C_1-C_6 烷基、羟基 C_1-C_6 烷基和 C_1-C_6
- 20 卤代烷基；
- 其中，当 W 为 $-OCH_2-$ 时，Z 不为乙基、正丙基或异丙基；当 W 为 $-OC(O)-$ 时，Z 不为乙基或丙基。

当 W 为 $-OSO_2-$ 时，本发明式 (I) 化合物相当于式 (I-1)

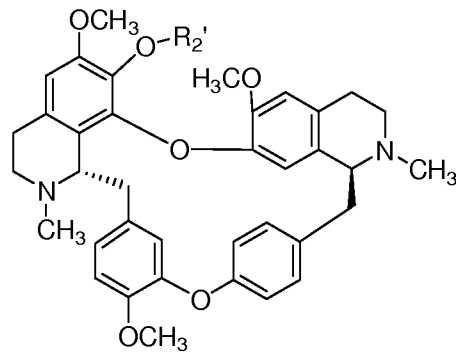


I-1

其中 $Z = R_1'$ ，选自氢、任选由取代基取代的 C_1 - C_6 烷基、任选由取代基取代的 C_2 - C_6 烯基、任选由取代基取代的 C_3 - C_7 环烷基或环烯基、任选由取代基取代的杂环基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基，所述取代基如上述式(I)中所定义。

当 W 为 W 为 $-OCHR_1-$ ， R_1 和 Z 如上述式 (I) 中所定义，但 Z 不为 $R_2R_3NCH_2CH(OH)-$ 时，本发明的式 (I) 化合物为式 (I-2)，

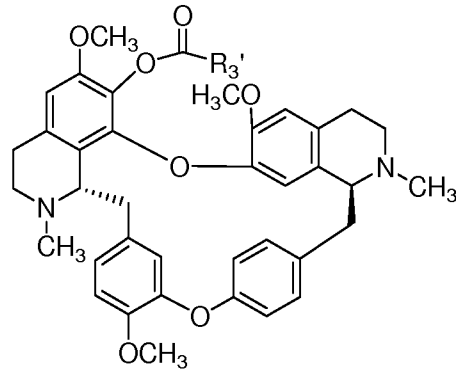
10



I-2

其中 R_2' 为 $-CHR_1Z$ 。

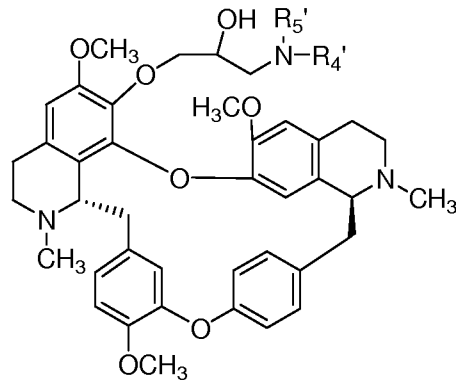
当 W 为 $-OC(O)-$ 时，本发明式 (I) 化合物相当于式 (I-3)，



I-3

其中 $R_3'=Z$ ，为任选由取代基取代的 C_1-C_6 烷基、任选由取代基取代的 C_2-C_6 烯基、任选由取代基取代的 C_3-C_7 环烷基或环烯基、任选由取代基取代的杂环基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基，所述取代基如上述式 (I) 中所定义

当 W 为 $-OCH_2-$ ， Z 为 $R_2R_3NCH_2CH(OH)-$ 时，本发明式 (I) 化合物为式 (I-4)，



I-4

其中 R_4' 和 R_5' 如上述式 (I) 中对 R_2 和 R_3 的定义。

根据第一种实施方案，本发明涉及式 (I) 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 W 为 $-OSO_2-$ ； Z 选自氢、任选由取代基取代的 C_1-C_6 烷基、任选由取代基取代的 C_2-C_6 烯基、任选由取代基取代的 C_3-C_7 环烷基或环烯基、任选由取代基取代的杂环基、任选

由取代基取代的芳基或杂芳基；其中所述取代基选自卤素、氨基、C₁-C₆烷基氨基、二(C₁-C₆烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆卤代烷氧基、巯基、C₁-C₆烷硫基；对于所述芳基、杂芳基、C₃-C₇环烷基或环烯基、杂环基而言所述取代基还选自C₁-C₆烷基、羟基C₁-C₆烷基和C₁-C₆卤代烷基。

上述实施方案中，优选其中Z选自任选由取代基取代的C₁-C₆烷基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基；其中所述取代基选自卤素、氨基、C₁-C₆烷基氨基、二(C₁-C₆烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆卤代烷氧基、巯基、C₁-C₆烷硫基；对于所述芳基、杂芳基而言所述取代基还选自C₁-C₆烷基、羟基C₁-C₆烷基和C₁-C₆卤代烷基。

上述实施方案中，更优选其中Z选自任选由取代基取代的C₁-C₆烷基、任选由取代基取代的苯基；其中所述取代基选自卤素、C₁-C₆烷氧基和C₁-C₆卤代烷氧基；所述苯基还可以被选自C₁-C₆烷基、羟基C₁-C₆烷基和C₁-C₆卤代烷基的取代基取代。

上述实施方案中，最优选其中Z为任选由C₁-C₆烷基取代的苯基。

在第二种实施方案中，本发明涉及式(I)的7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中W为-OCH₂-；Z选自任选由取代基取代的C₁-C₆烷基、任选由取代基取代的C₂-C₆烯基、任选由取代基取代的C₃-C₇环烷基或环烯基、任选由取代基取代的杂环基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基、R₂R₃NCH₂CH(OH)-；R₂和R₃独立地为氢，任选地由羟基、C₁-C₆烷基氧基、卤素、C₃-C₇环烷基或环烯基、芳基或杂芳基取代的C₁-C₆烷基，C₂-C₆烯基，或者R₂和R₃以及它们所连接的氮原子一起形成3-7元含氮杂环；所述含氮杂环任选地含有选自氧、硫和氮的另外的杂原子，且任选地被取代基取代；

其中，所述取代基选自卤素、氨基、C₁-C₆烷基氨基、二(C₁-C₆烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆卤代烷氧基、巯基、C₁-C₆烷硫基；对于所述芳基、杂芳基、C₃-C₇环烷基或环烯基、杂环基和含氮杂环基而言所述取代基还选自C₁-C₆烷基、羟基C₁-C₆烷基和C₁-C₆

卤代烷基。

上述实施方案中，优选其中 Z 选自任选由取代基取代的芳基或杂芳基；所述取代基选自卤素、氨基、C₁-C₆ 烷基氨基、二(C₁-C₆ 烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、巯基、C₁-C₆ 烷硫基、C₁-C₆ 烷基、羟基 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷基。

上述实施方案中，更优选其中 Z 选自任选由卤素、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 卤代烷基、C₁-C₆ 烷氧基、羟基 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷氧基的取代基取代的苯基。

在第二种实施方案中，优选其中 Z 为 R₂R₃NCH₂CH(OH)-；R₂ 和 R₃ 独立地为氢，任选地由羟基、C₁-C₆ 烷基氧基、卤素、C₃-C₇ 环烷基或环烯基、芳基或杂芳基取代的 C₁-C₆ 烷基，C₂-C₆ 烯基，或者 R₂ 和 R₃ 以及它们所连接的氮原子一起形成 3-7 元含氮杂环；所述含氮杂环任选地含有选自氧、硫和氮的另外的杂原子，且任选地被取代基取代；

其中，所述取代基选自卤素、氨基、C₁-C₆ 烷基氨基、二(C₁-C₆ 烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、巯基、C₁-C₆ 烷硫基、C₁-C₆ 烷基、羟基 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷基。

在上述优选实施方案中，优选其中所述含氮杂环为哌啶子基、哌嗪基、吗啉基、噻嗪基、吡咯烷基、噁唑烷基或噻唑烷基，任选地所述基团由选自卤素、氨基、C₁-C₆ 烷基氨基、二(C₁-C₆ 烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、巯基、C₁-C₆ 烷硫基、C₁-C₆ 烷基、羟基 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷基的基团取代；更优选其中所述含氮杂环为任选由 C₁-C₆ 烷基取代的哌啶子基、C₁-C₆ 烷基取代的噻嗪基、任选 N-氰基取代的哌嗪基。

在上述优选实施方案中，优选其中所述 R₂ 和 R₃ 独立地为氢、甲基、乙基、羟乙基、环丙基甲基、烯丙基、甲氧基丙基、呋喃甲基。

在上述第二实施方案中，优选其中 Z 为 C₂-C₆ 烯基或 C₃-C₇ 环烷基或环烯基，更优选 Z 为乙烯基、1-甲基乙烯基或环丙基。

在第三种实施方案中，本发明涉及式 (I) 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 W 为 -OCHR₁-，Z 与 R₁ 以及它

们连接的碳原子一起形成任选由取代基取代的 C₃-C₇ 环烷基，其中所述取代基选自卤素、氨基、C₁-C₆ 烷基氨基、二(C₁-C₆ 烷基)氨基、硝基、氰基、羧基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、巯基、C₁-C₆ 烷硫基、C₁-C₆ 烷基、羧基 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷基。优选，所述 Z 与 R₁ 以及它们连接的碳原子一起形成环戊基或环己基。

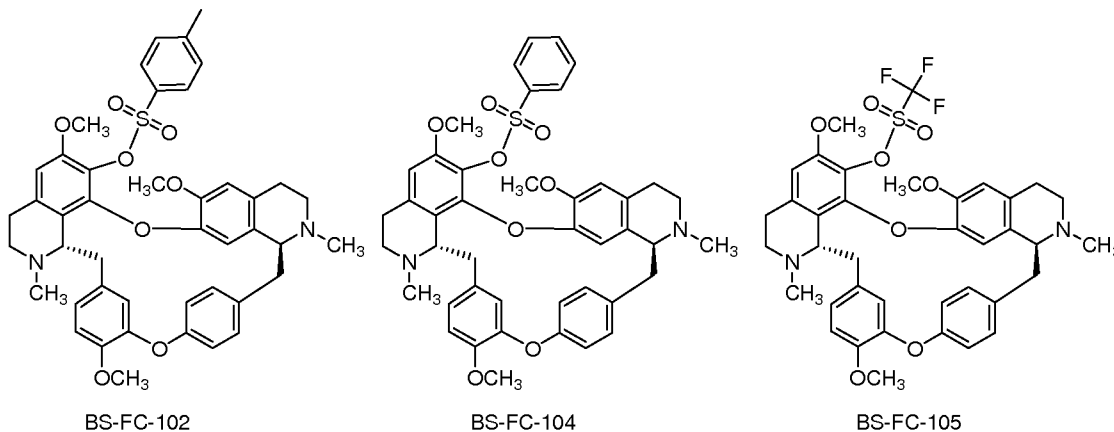
在第四种实施方案中，本发明涉及式 (I) 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中，W 为 -OC(O)-；

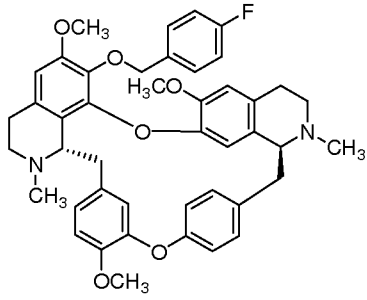
Z 选自任选由取代基取代的 C₁-C₆ 烷基、任选由取代基取代的 C₂-C₆ 烯基、任选由取代基取代的 C₃-C₇ 环烷基或环烯基、任选由取代基取代的杂环基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基；

其中所述取代基选自卤素、氨基、C₁-C₆ 烷基氨基、二(C₁-C₆ 烷基)氨基、硝基、氰基、羧基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、巯基、C₁-C₆ 烷硫基；对于所述芳基、杂芳基、C₃-C₇ 环烷基或环烯基和杂环基而言所述取代基还选自 C₁-C₆ 烷基、羧基 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷基

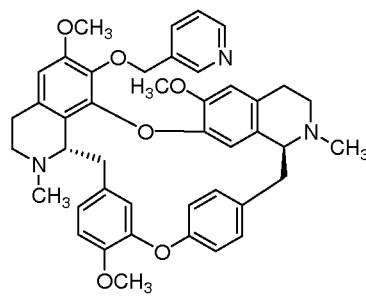
在上述第四种实施方案中，优选其中 Z 为苯基、吡啶基、哒嗪基，各自任选地被选自甲基、乙基、异丙基、氨基、甲基氨基、二甲氨基、二乙基氨基、甲氧基、三氟甲氧基、卤素的取代基所取代。

本发明的部分 7-位取代的汉防己乙素衍生物如下所示。经测定发现，它们具有优于或至少与汉防己乙素相当的抗肿瘤活性。这些实施例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。

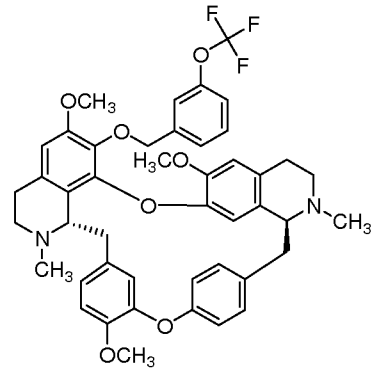




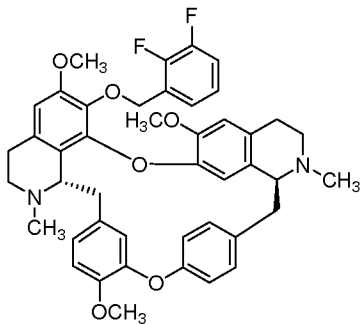
BS-FC-201



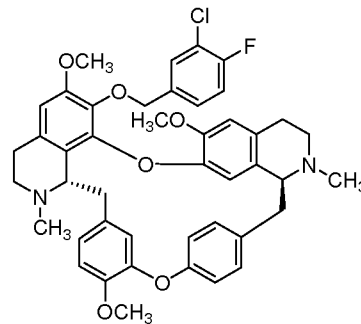
BS-FC-202



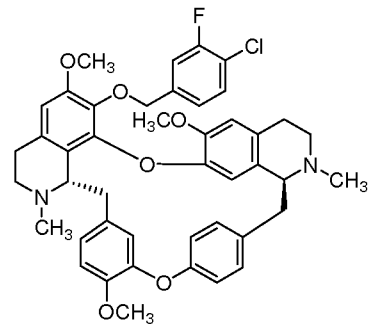
BS-FC-203



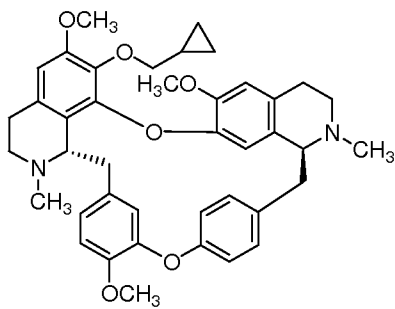
BS-FC-204



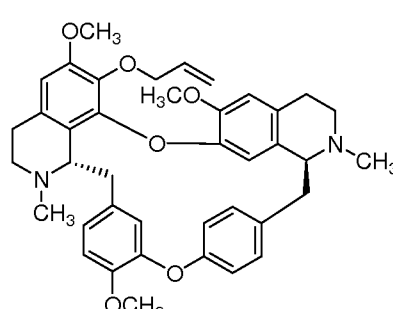
BS-FC-205



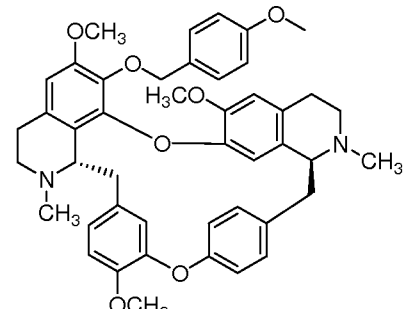
BS-FC-206



BS-FC-208

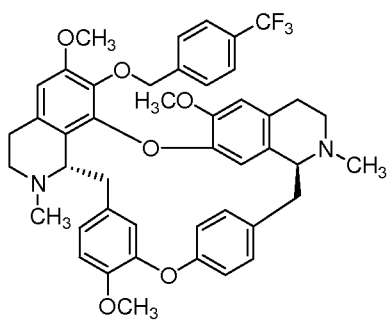


BS-FC-213

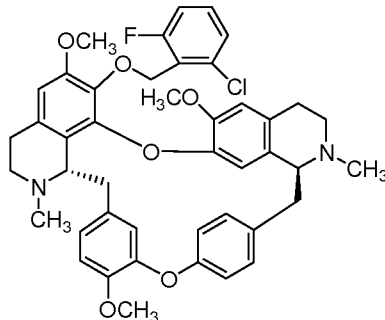


BS-FC-215

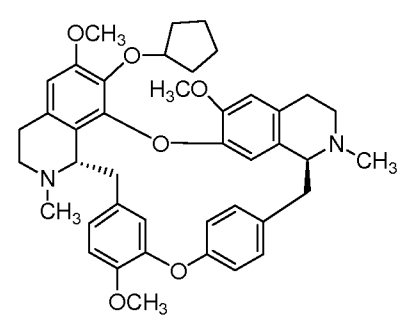
5



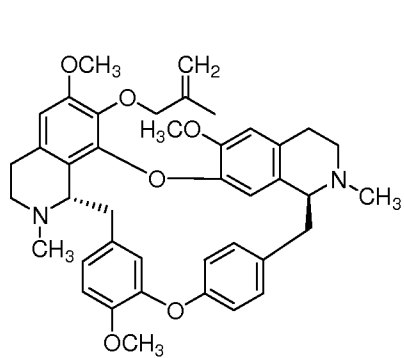
BS-FC-216



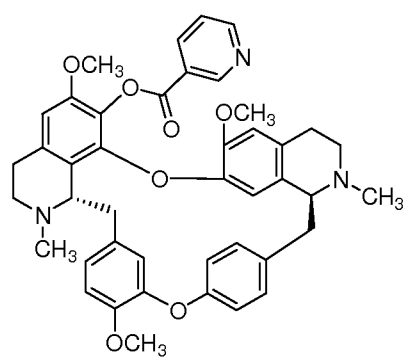
BS-FC-217



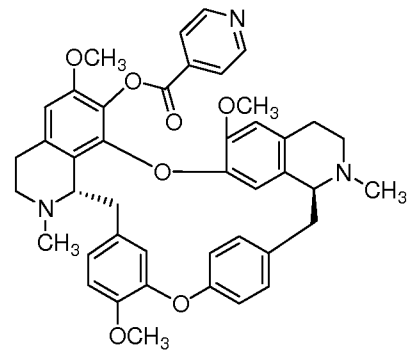
BS-FC-220



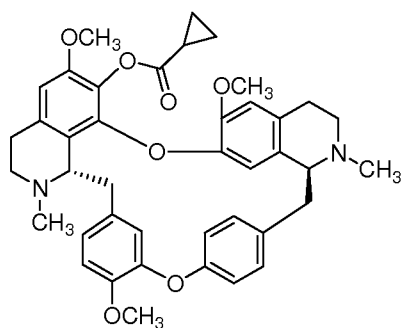
BS-FC-221



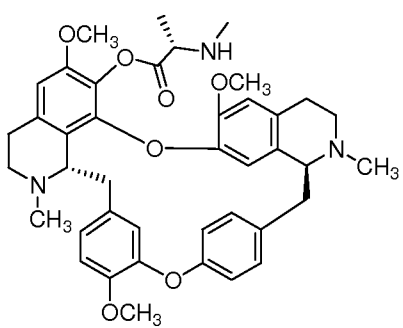
BS-FC-301



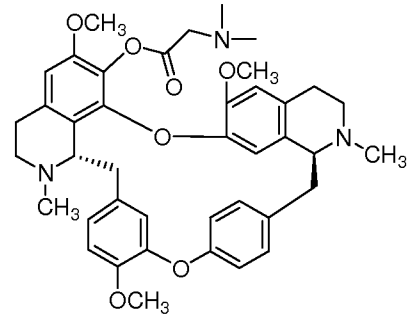
BS-FC-302



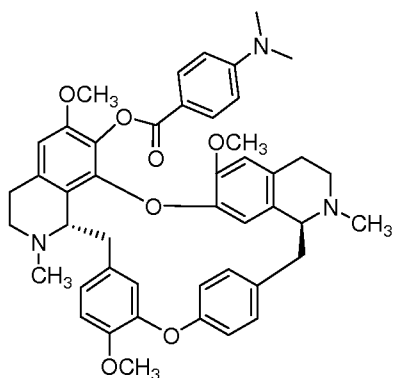
BS-FC-304



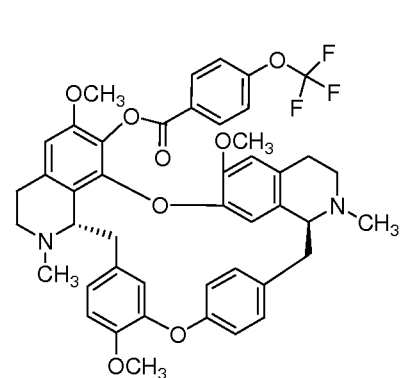
BS-FC-305



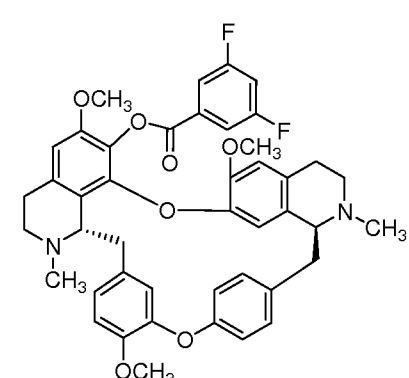
BS-FC-307



BS-FC-308

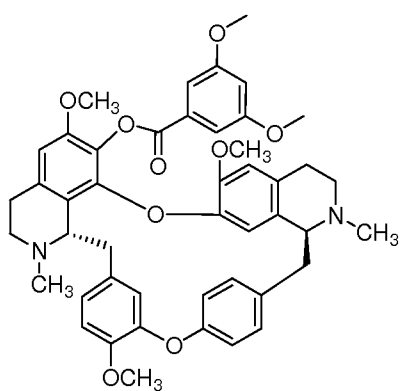


BS-FC-309

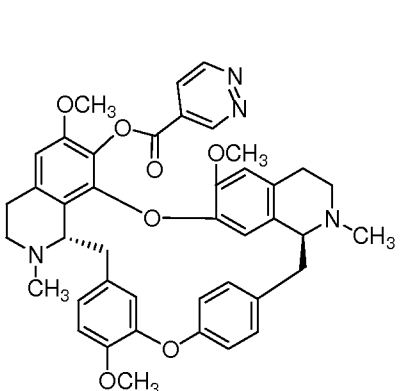


BS-FC-310

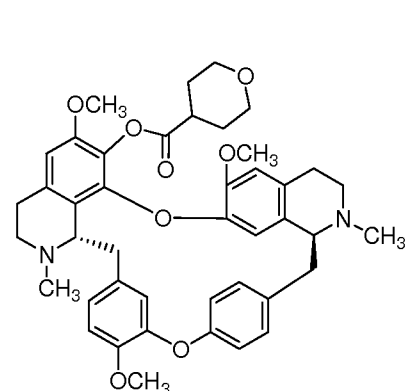
5



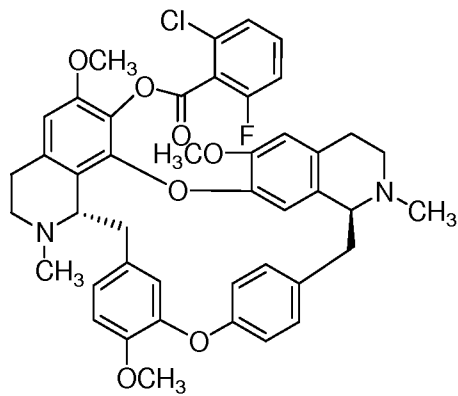
BS-FC-311



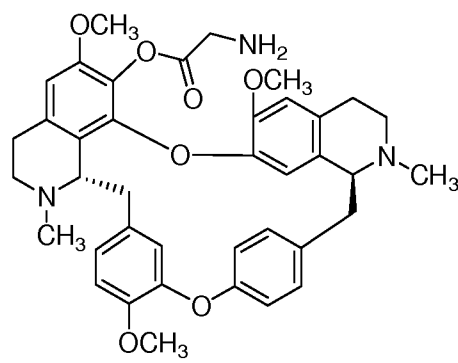
BS-FC-313



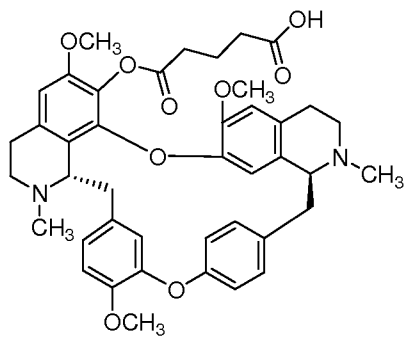
BS-FC-314



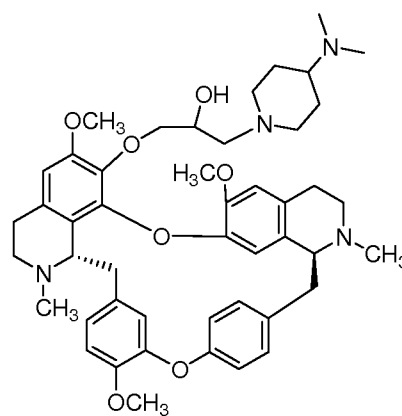
BS-FC-315



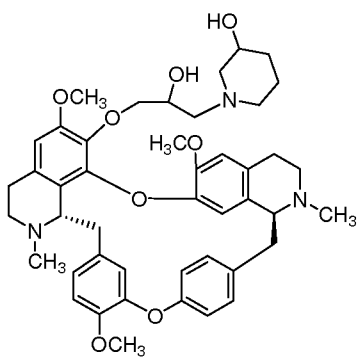
BS-FC-318



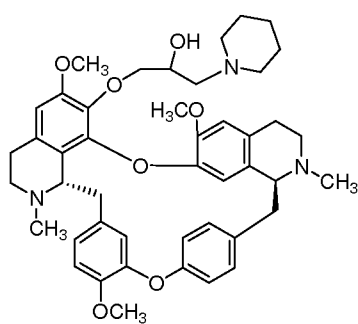
BS-FC-324



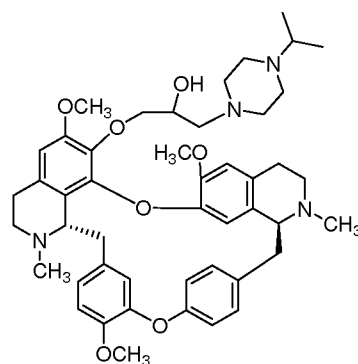
BS-FC-401



BS-FC-402

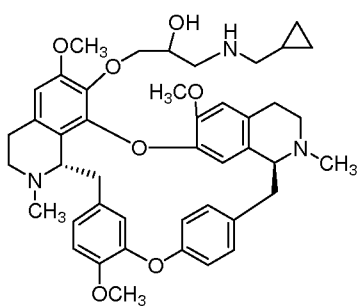


BS-FC-403

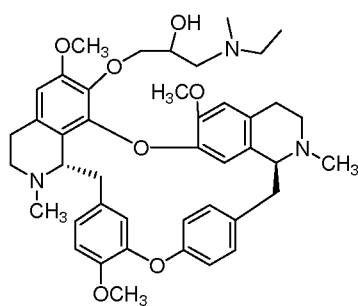


BS-FC-404

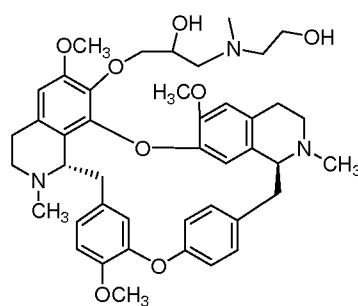
5



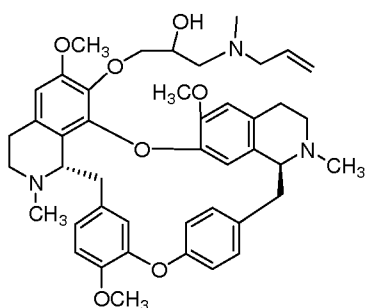
BS-FC-405



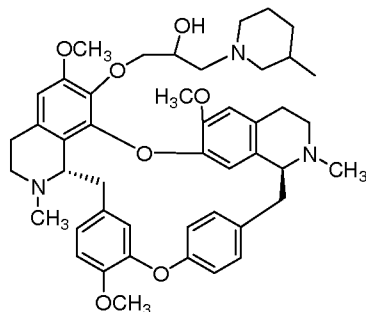
BS-FC-406



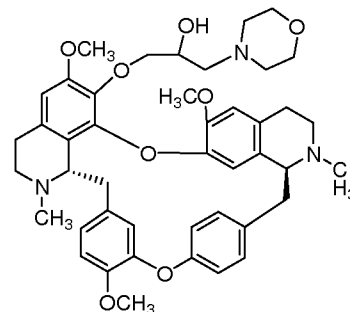
BS-FC-407



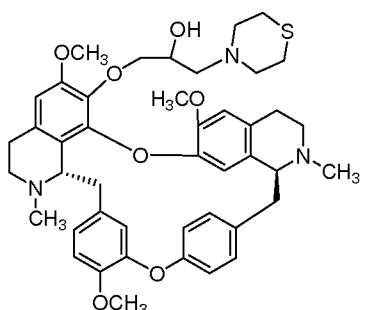
BS-FC-409



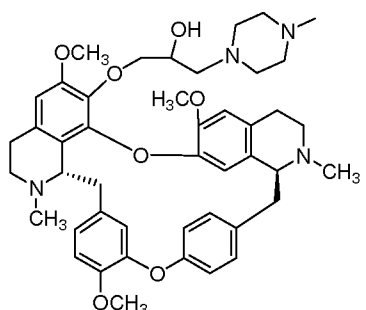
BS-FC-410



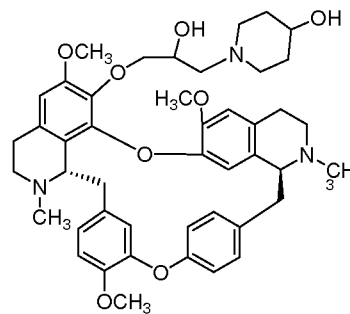
BS-FC-416



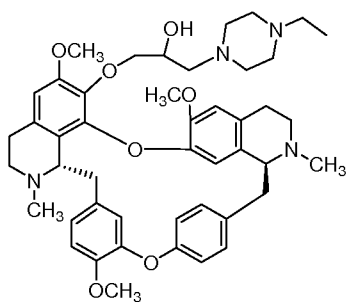
BS-FC-417



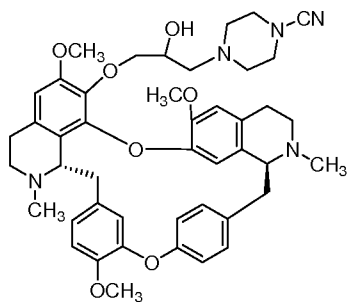
BS-FC-418



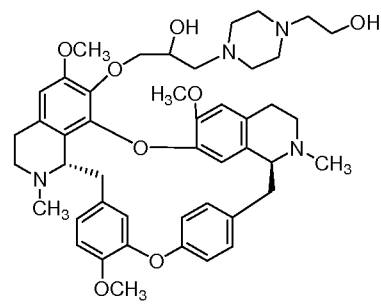
BS-FC-419



BS-FC-420

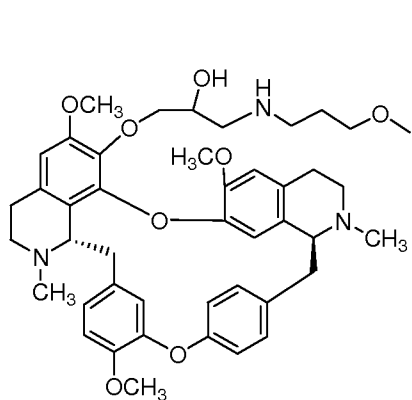


BS-FC-421

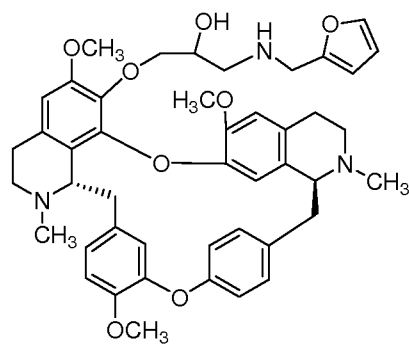


BS-FC-422

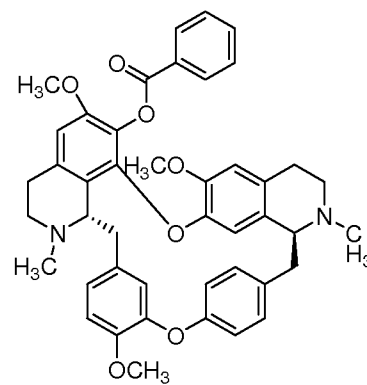
5



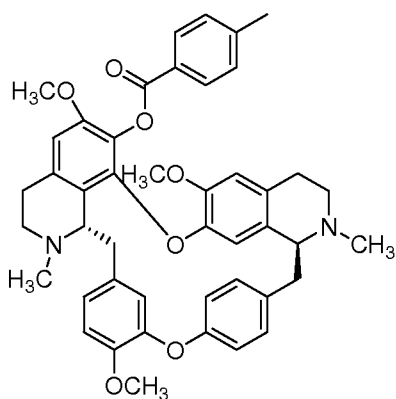
BS-FC-424



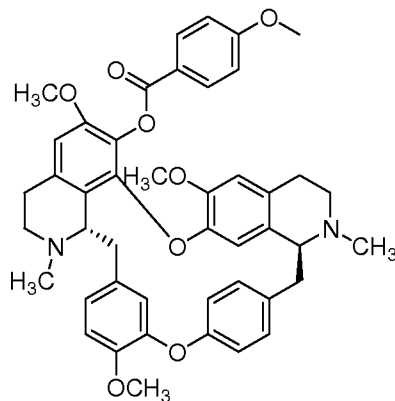
BS-FC-425



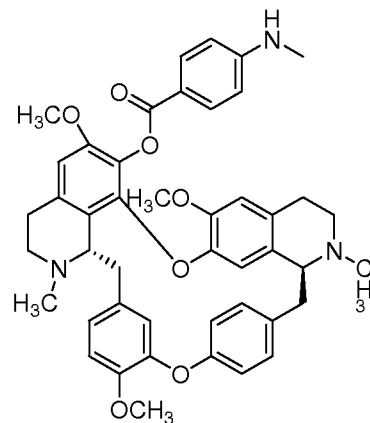
BS-FC-501



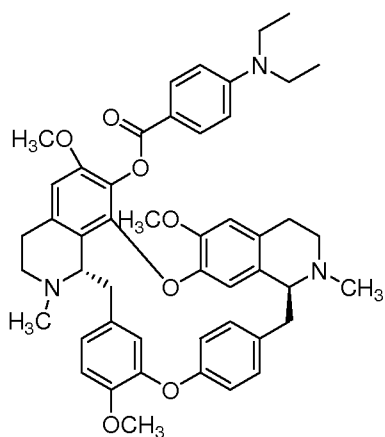
BS-FC-502



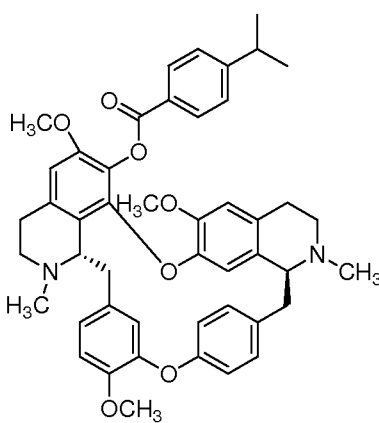
BS-FC-503



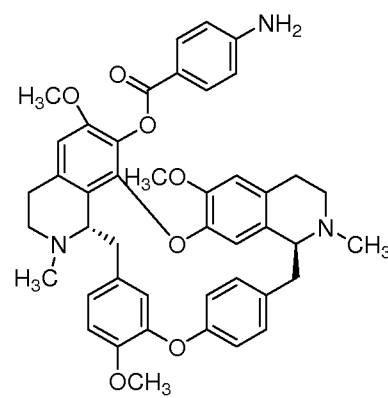
BS-FC-504



BS-FC-505



BS-FC-506



BS-FC-507

5 上面所列化合物的部分数据如下表所示:

化合物编号	分子式	分子量	外观	状态	反应收率 (%)
BS-FC-102	C ₄₄ H ₄₆ N ₂ O ₈ S	762.91	亮黄色	粉末状 固体	57
BS-FC-104	C ₄₃ H ₄₄ N ₂ O ₈ S	748.88	亮黄色	粉末状 固体	54
BS-FC-105	C ₃₈ H ₃₉ F ₃ N ₂ O ₈ S	740.79	白色	粉末状 固体	60
BS-FC-201	C ₄₄ H ₄₅ FN ₂ O ₆	716.84	亮黄色	粉末状 固体	45
BS-FC-202	C ₄₃ H ₄₅ N ₃ O ₆	699.83	亮黄色	粉末状 固体	21
BS-FC-203	C ₄₅ H ₄₅ F ₃ N ₂ O ₇	782.84	白色	粉末状 固体	19

BS-FC-204	$C_{44}H_{44}F_2N_2O_6$	734.83	亮黄色	粉末状 固体	13
BS-FC-205	$C_{44}H_{44}ClFN_2O_6$	751.28	亮黄色	粉末状 固体	31
BS-FC-206	$C_{44}H_{44}ClFN_2O_6$	751.28	亮黄色	固体	24
BS-FC-208	$C_{41}H_{46}N_2O_6$	662.81	亮黄色	粉末状 固体	34
BS-FC-213	$C_{40}H_{44}N_2O_6$	648.79	亮黄色	粉末状 固体	46
BS-FC-215	$C_{45}H_{48}N_2O_7$	728.87	亮黄色	粉末状 固体	46
BS-FC-216	$C_{45}H_{45}F_3N_2O_6$	766.84	亮黄色	粉末状 固体	42
BS-FC-217	$C_{44}H_{44}ClFN_2O_6$	751.28	亮黄色	粉末状 固体	23.9
BS-FC-220	$C_{42}H_{48}N_2O_6$	676.84	亮黄色	固体	44
BS-FC-221	$C_{41}H_{46}N_2O_6$	662.81	亮黄色	粉末状 固体	25
BS-FC-301	$C_{43}H_{43}N_3O_7$	713.82	亮黄色	固体	21
BS-FC-302	$C_{43}H_{43}N_3O_7$	713.82	亮黄色	粉末状 固体	66.9
BS-FC-304	$C_{41}H_{44}N_2O_7$	676.80	亮黄色	粉末状 固体	36
BS-FC-305	$C_{41}H_{47}N_3O_7$	693.83	亮黄色	粉末状 固体	40
BS-FC-307	$C_{41}H_{47}N_3O_7$	693.80	白色	粉末状 固体	10
BS-FC-308	$C_{46}H_{49}N_3O_7$	755.90	亮黄色	粉末状 固体	35
BS-FC-309	$C_{45}H_{43}F_3N_2O_8$	796.83	亮黄色	粉末状 固体	38
BS-FC-310	$C_{44}H_{42}F_2N_2O_7$	748.81	白色	粉末状 固体	47
BS-FC-311	$C_{46}H_{48}N_2O_9$	772.88	亮黄色	粉末状 固体	19

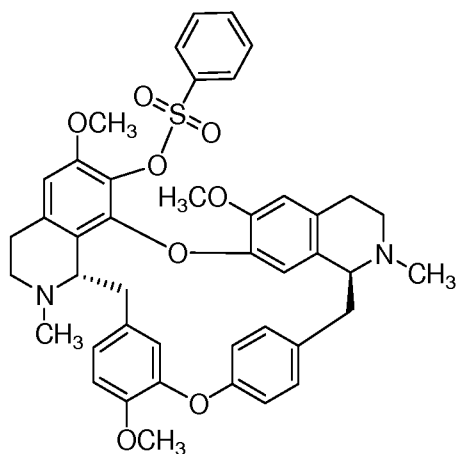
BS-FC-313	$C_{42}H_{42}N_4O_7$	714.81	亮黄色	粉末状 固体	28
BS-FC-314	$C_{43}H_{48}N_2O_8$	720.85	亮黄色	粉末状 固体	34
BS-FC-315	$C_{44}H_{42}ClFN_2O_7$	765.27	亮黄色	粉末状 固体	49
BS-FC-318	$C_{39}H_{43}N_3O_7$	665.77	亮黄色	粉末状 固体	29
BS-FC-324	$C_{42}H_{46}N_2O_9$	722.82	白色	粉末状 固体	29
BS-FC-401	$C_{47}H_{60}N_4O_7$	792.47	亮黄色	粉末状 固体	26
BS-FC-402	$C_{45}H_{55}N_3O_8$	765.4	亮黄色	粉末状 固体	21
BS-FC-403	$C_{45}H_{55}N_3O_7$	749.4	亮黄色	粉末状 固体	27
BS-FC-404	$C_{47}H_{60}N_4O_7$	792.45	亮黄色	粉末状 固体	18
BS-FC-405	$C_{44}H_{53}N_3O_7$	735.39	亮黄色	粉末状 固体	25
BS-FC-406	$C_{43}H_{53}N_3O_7$	723.39	亮黄色	粉末状 固体	23
BS-FC-407	$C_{43}H_{53}N_3O_8$	739.38	亮黄色	粉末状 固体	30
BS-FC-408	$C_{46}H_{58}N_4O_7$	778.98	亮黄色	粉末状 固体	25
BS-FC-409	$C_{44}H_{53}N_3O_7$	735.91	亮黄色	粉末状 固体	20
BS-FC-410	$C_{46}H_{57}N_3O_7$	763.96	亮黄色	粉末状 固体	28
BS-FC-413	$C_{42}H_{48}F_3N_3O_7$	763.84	亮黄色	粉末状 固体	21
BS-FC-414	$C_{42}H_{51}N_3O_8$	725.87	亮黄色	粉末状 固体	22
BS-FC-416	$C_{44}H_{53}N_3O_8$	751.37	亮黄色	粉末状	17

				固体	
BS-FC-417	$C_{44}H_{53}N_3O_7S$	767.36	亮黄色	粉末状 固体	23
BS-FC-418	$C_{45}H_{56}N_4O_7$	764.41	亮黄色	粉末状 固体	26
BS-FC-419	$C_{45}H_{55}N_3O_8$	765.4	亮黄色	粉末状 固体	28
BS-FC-420	$C_{46}H_{58}N_4O_7$	778.43	亮黄色	粉末状 固体	38
BS-FC-421	$C_{45}H_{53}N_5O_7$	774.4	亮黄色	粉末状 固体	24
BS-FC-422	$C_{46}H_{58}N_4O_8$	794.43	亮黄色	粉末状 固体	35
BS-FC-424	$C_{44}H_{55}N_3O_8$	753.92	亮黄色	粉末状 固体	27
BS-FC-425	$C_{45}H_{51}N_3O_8$	761.37	亮黄色	粉末状 固体	28
BS-FC-501	$C_{44}H_{44}N_2O_7$	712.84	白色	粉末状 固体	10
BS-FC-502	$C_{45}H_{46}N_2O_7$	726.87	白色	粉末状 固体	8
BS-FC-503	$C_{45}H_{46}N_2O_8$	742.87	白色	粉末状 固体	9
BS-FC-504	$C_{45}H_{47}N_3O_7$	741.88	白色	粉末状 固体	7
BS-FC-505	$C_{48}H_{53}N_3O_7$	783.97	白色	粉末状 固体	8
BS-FC-506	$C_{47}H_{50}N_2O_7$	754.92	亮黄色	粉末状 固体	9
BS-FC-507	$C_{44}H_{45}N_3O_7$	727.86	白色	粉末状 固体	10

本发明特别优选如下的化合物：BS-FC-102、BS-FC-104、BS-FC-204、BS-FC-207、BS-FC-208、BS-FC-213、BS-FC-216、BS-FC-220、BS-FC-221、BS-FC-304、BS-FC-308、BS-FC-311、BS-FC-315、BS-FC-403、BS-FC-405、

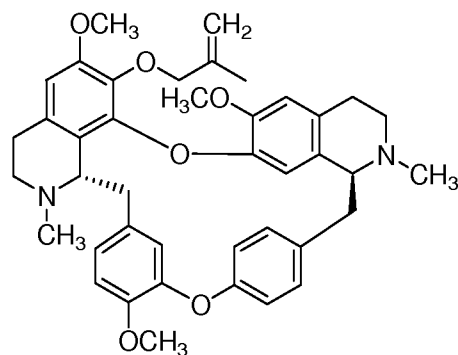
BS-FC-409、BS-FC-410、BS-FC-417、BS-FC-421。发现它们至少对于一种肿瘤的抗肿瘤活性显著优于未修饰的汉防己乙素。

5 本发明最优选以下化合物，它们具有优良的、全面超越汉防己乙素的抗肿瘤活性。



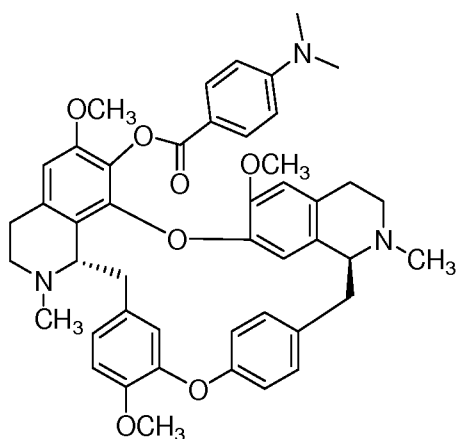
BS-FC-104

7-苯磺酸基-汉防己乙素



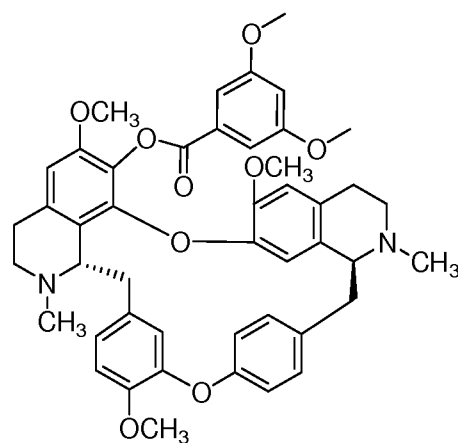
BS-FC-221

7-异丁烯氧基-汉防己乙素



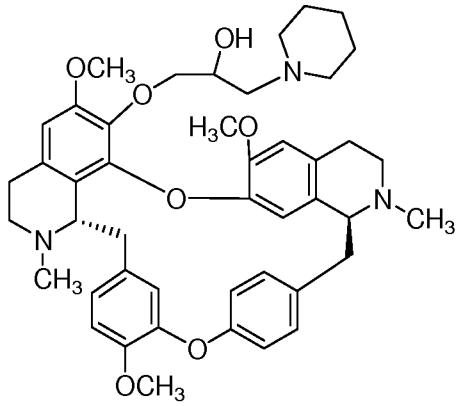
BS-FC-308

7-(N,N-二甲氨基-苯甲酰氧基)-汉防己乙素



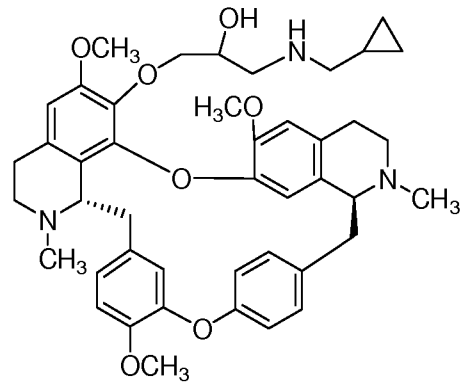
BS-FC-311

7-(3,5-二甲氧基-苯甲酰氧基)-汉防己乙素



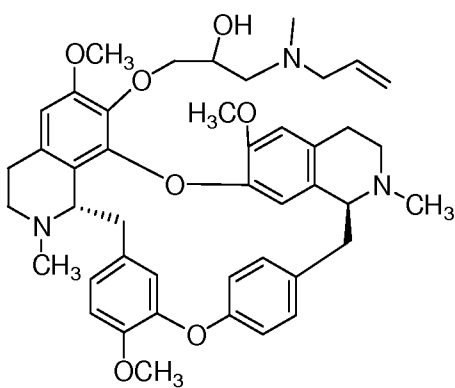
BS-FC-403

7-(1-哌啶基-2-羟基-丙氧基)-汉防己乙素



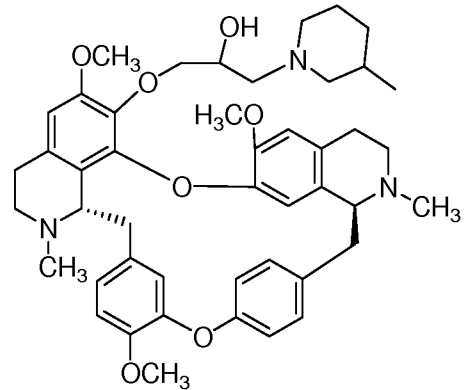
BS-FC-405

7-(1-环丙甲胺基-2-羟基-丙氧基)-汉防己乙素



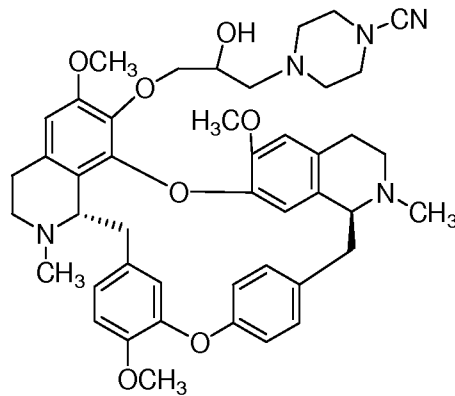
BS-FC-409

7-(1-N-烯丙基甲胺基-2-羟基-丙氧基)-汉防己乙素



BS-FC-410

7-(1-(3-甲基)哌啶基-2-羟基-丙氧基)-汉防己乙素



BS-FC-421

7-(1-N-氰基哌嗪基-2-羟基-丙氧基)-汉防己乙素

5

本发明涉及以下形式的本发明的式(I)化合物：它们的盐、溶剂化物、水合物、加成物、复合物、多晶型物或前药。

如本文所使用，术语“烷基”是指含有指定碳原子数的直链或支链

的烷基。所述烷基可以包含 1-6 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、正戊基和正己基。

5 术语“烯基”是指含有指定碳原子数的直链或支链的烯基。所述烯基可以包含 2-6 个、2-5 个、2-4 个或 2-3 个碳原子。烯基的例子包括但不限于乙烯基、烯丙基、丁烯基、异丁烯基。

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

10 术语“C₃-C₇ 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。C₃-C₇ 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。

15 术语“芳基”是指含有 6-14 个（例如 6-12 个、6-20 个）碳原子的单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。

20 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、异噻唑基、吲哚基等。

25 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。

术语“含氮杂环基”指至少一个环原子为氮原子的如上所定义的杂环基。

5 术语“卤素”是指氟、氯、溴或碘。

术语“烷基氨基”是指被一个或两个如上所定义的烷基取代的氨基。

术语“烷氧基”包括烷基-O-基团，其中所述烷基如上所定义。

术语“烷硫基”烷基-S-基团，其中所述烷基如上所定义。

10 术语“式(I)化合物的药学上可以接受的加合物和复合物”是指本发明的化合物进一步与其他小分子或生物大分子以非化学键或者非共价分子间力结合的产物。

如本文所使用，术语“式(I)化合物的药学上可以接受的盐”的例子是由形成药学上可以接受的阴离子的有机酸形成的有机酸盐；这些有机酸盐包括但不限于甲苯磺酸盐、甲磺酸盐、苹果酸盐、醋酸盐、柠檬酸盐、丙二酸盐、酒石酸盐、琥珀酸盐、苯甲酸盐、抗坏血酸盐、 α -酮戊二酸盐和 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。

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

如本文所使用，术语“多晶型物”是指本发明的化合物或其复合物的固体晶体形式。相同化合物的不同的多晶型物可以显示不同的物理、化学和/或光谱性质。不同的物理性质包括但不限于稳定性（例如，对热或光）、可压缩性和密度（对于配制制剂和产品生产是重要的）和溶解速率（其可以影响生物吸收度和利用度）。稳定性的不同会造成化学反应性（例如差异氧化，使得当由一种多晶型物构成时比由另一多晶型物构成时剂型更快地褪色）或机械性能（例如，储存时作为

动力学有利的多晶型物的片剂碎末转化成热力学更加稳定的多晶型物)或两者(例如,一种多晶型物的片剂在高潮湿度时更加容易破碎)中的变化。多晶型物的不同的物理性质可以影响它们的加工。例如,一种多晶型物可能比另一种更可能形成溶剂化物或可能比另一种更加难以过滤或洗去杂质,这是由于例如其颗粒的形状或大小分布不同的缘故。

如本文所使用,术语“水合物”是指本发明的化合物或其盐,其进一步包含通过非共价分子间力结合的化学计量的或非化学计量的水。

如本文所使用,除非另外说明,术语“前药”是指可以在生物学条件(体外或体内)下水解、氧化或进行其他反应以提供本发明的化合物的衍生物。前药仅在生物学条件下经过该反应成为活性化合物,或者它们在它们不反应的形式中具有活性。通常可以使用公知的方法制备前药,例如 1 Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery (1995) 172-178, 949-982 (Manfred E. Wolff editor, 5th Ed)和 J. Rautio's Prodrugs and Targeted Delivery (2011) 31-60 (Wiley-VCH, Methods and Principles in Medicinal Chemistry, Vol. 47)和 G. Thomas's Fundamentals of Medicinal Chemistry (2003) 195-200(Wiley)中描述的那些方法。

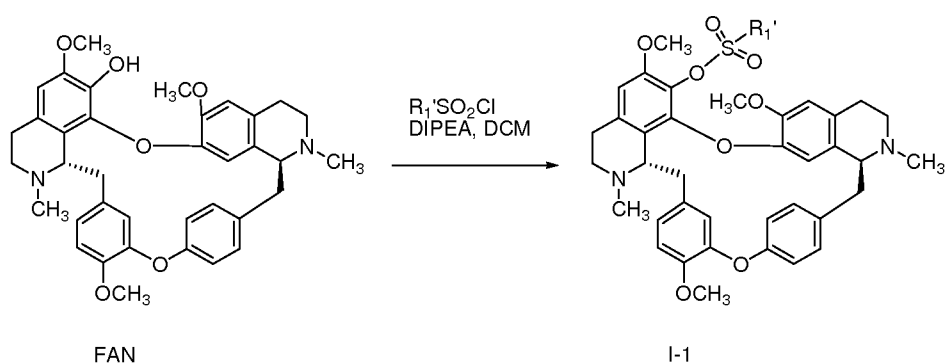
本发明化合物中 7-位取代的汉防己乙素衍生物的两个手性中心具有式(I)结构式所显示的立体化学结构。本文使用的立体化学的定义和约定一般遵循 MCGRAW-HILL DICTIONARY OF CHEMICAL TERMS (S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Book Company, New York, 1984); ELIEL, E. 和 WILEN, S., STEREOCHEMISTRY OF ORGANIC COMPOUNDS (John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994)。许多有机化合物以光学活性形式存在,即它们具有旋转平面偏光的平面的能力。

本文所述“抗肿瘤活性”是指对肿瘤细胞或组织的直接抑制或杀伤作用。本申请实施例部分测定了本发明化合物的抗肿瘤活性。

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,
 5 即,导致疾病或症状退化。

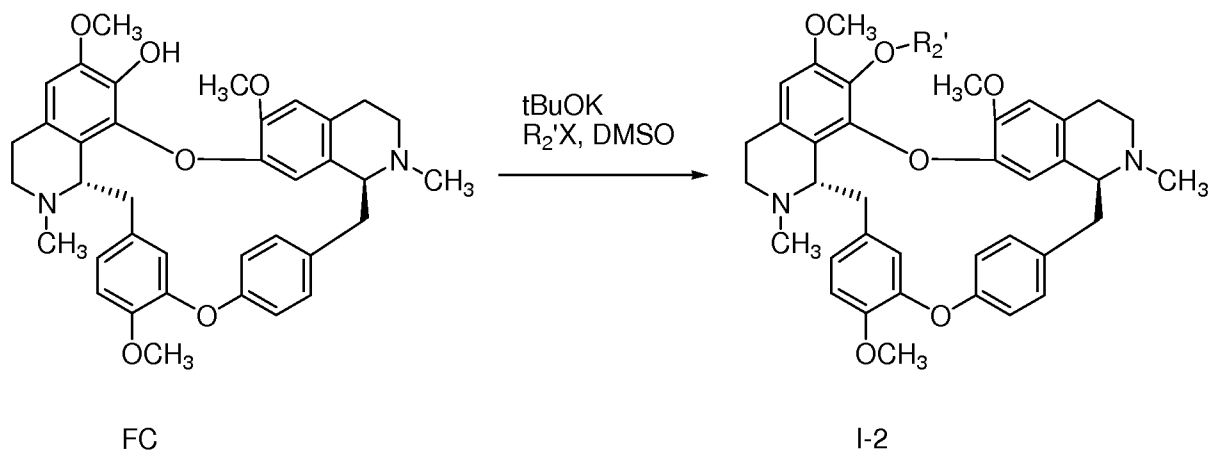
本发明的化合物可以按照常规的有机化学合成方法制备。例如,本发明的式(I) 7-位取代的汉防己乙素衍生物的制备方法如下:



10 式(I: I-1)的7-位取代汉防己乙素衍生物可由汉防己乙素(FAN)与相应的烷基或芳香族磺酰氯($R_1'SO_2Cl$)在有碱的存在下,于室温下反应生成。

上述反应使用的碱可以是有机碱或无机碱。例如:三乙胺,二异丙基乙胺,氢氧化钠等。有机磺酰氯可以是商购的反应原料,也可使用有机磺酸自己制备。
 15

上述反应一般在溶剂中进行。反应的溶剂包括但不限于二氯甲烷,乙腈, N,N -二甲基甲酰胺,四氢呋喃等。



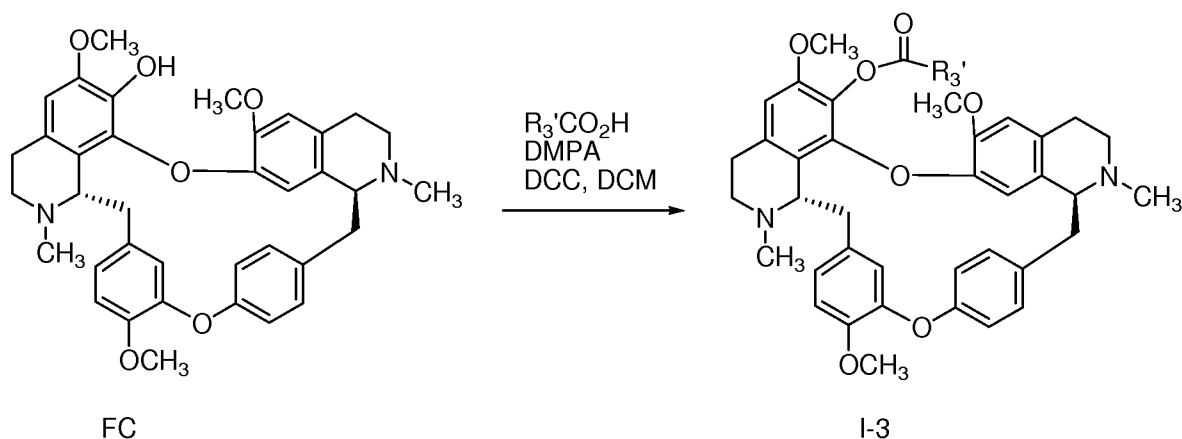
式 (I: I-2) 的 7-位取代汉防己乙素衍生物可由汉防己乙素 (FAN) 先与强碱反应, 再与相应的卤代烃 ($R_2'X$) 在有碱的存在下反应生成。

上述反应使用的碱包括但不限于有机碱。例如: 叔丁醇钾, 乙醇钠, 乙醇钾。氯代烃可以是商购的反应原料。

上述反应的温度取决于氯代烃的反应活性, 可以是室温或加热条件, 如 $30-80^{\circ}\text{C}$ 。

上述反应一般在溶剂中进行。反应的溶剂包括但不限于二甲亚砜, 乙腈, N,N -二甲基甲酰胺, 四氢呋喃。

10



式 (I: I-3) 的 7-位取代汉防己乙素衍生物可由汉防己乙素 (FAN) 再与相应的有机酸 ($R_3'CO_2H$) 在有缩合剂和碱的存在下, 于室温下反应生成。

15

上述反应使用的碱包括但不限于有机碱。例如: 三乙胺, 二异丙基乙基胺, 二甲基氨基吡啶。有机酸可以是商购的反应原料。有机酰氯也可用于此反应。

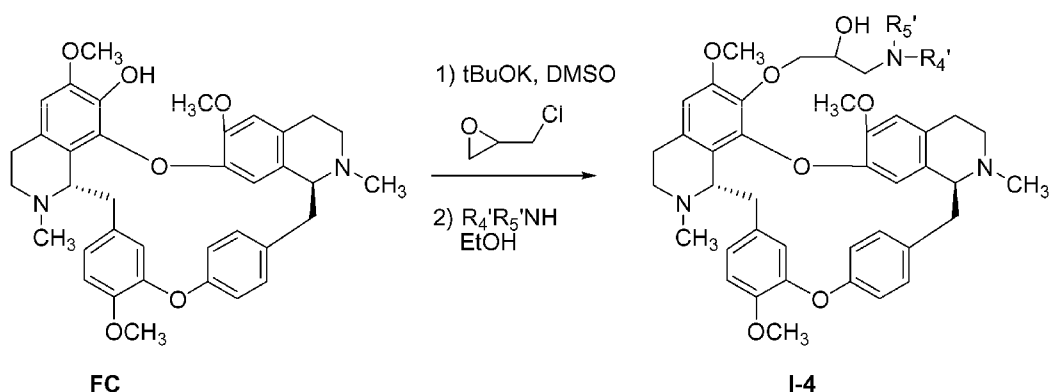
上述反应的温度取决于有机酸的反应活性, 可以是室温或加热条件, 如 $30-60^{\circ}\text{C}$ 。

20

上述反应一般在有缩合剂存在下进行。这里缩合剂可以是但不限于有机缩合剂。例如: 二异丙基碳二亚胺, 二环己基碳二亚胺等。

酯化反应一般在溶剂中进行, 也可在无溶剂存在下进行。使用的溶剂包括但不限于有机极性溶剂。例如: 二氯甲烷 (DCM), 四氢呋喃

(THF), N, N-二甲基甲酰胺 (DMF), 二甲亚砜 (DMSO) 等。



式 (I: I-4) 的 7-位取代汉防己乙素衍生物可由两步反应制取:

5 (1) 将汉防己乙素与叔丁醇钾在低温下反应, 而后将氯甲基环氧丙烷在冰浴温度下滴加, 反应 30 分钟至 2 小时。经萃取分离得到取代的的中间体。

(2) 此中间体与相应的有机胺反应即得产物。胺化反应的温度取决于有机胺的反应活性。一般需要加热, 如 80 - 120 °C。

10 胺化反应一般在极性溶剂中进行。使用的溶剂包括但不限于乙醇, 四氢呋喃 (THF), N,N-二甲基甲酰胺 (DMF), 二甲亚砜 (DMSO) 等。

式(I: I-1, I-2, I-3, I-4)中 R_1, R_2, R_3 和 R_4 与上文在通式(I)中的定义相同。

上述反应的原料: 有机酸、有机胺、有机磺酰氯、有机酰氯全部可以在市场上购买获得。汉防己乙素原料由天然产物提取分离得到, 也可从市场购买获得。

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。

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、苯甲氧甲基和烷基硫甲基。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。

本发明还提供了包含本发明式I化合物的药物组合物。

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

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。

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。

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)。

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

酞剂、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。

5 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
10 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。糖浆或酞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
15 料应该是药学上可以接受的且以应用的量基本上无毒。此外，活性化合物可以掺入缓释制剂和缓释装置中。

活性化合物也可以通过输注或注射到静脉内或腹膜内施用。可以制备活性化合物或其盐的水溶液，任选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
20 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。

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
25 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。可以通过各种抗菌剂和

抗真菌剂（如对羧苯甲酸酯、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。

5 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。

10 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。

15 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。

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，
20 最终取决于在场医师或临床医生的决定。

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
25 或调整。

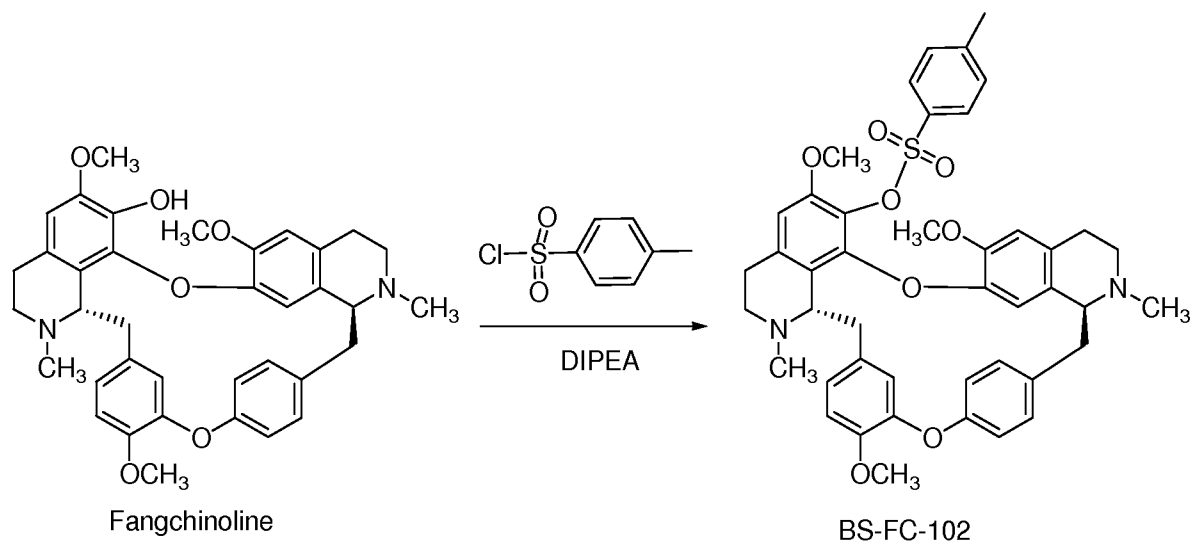
本发明还提供本发明的化合物或包含该化合物的组合物在制备药物、特别是抗肿瘤药物中的用途。相应地，本发明提供一种治疗肿瘤患者的方法，包括给予需要治疗的患者治疗有效量的至少一种本发明的化合物。本发明的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受

的盐，例如可用于治疗白血病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、肝癌、胃癌、乳腺癌、胆管细胞癌、胰腺癌、肺癌、大肠癌、骨肉瘤、黑色素瘤、人宫颈癌、神经胶质瘤、鼻咽癌、喉癌、食管癌、中耳肿瘤、前列腺癌等肿瘤。

- 5 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。

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。

10 实施例 1: 化合物(BS-FC-102)的合成



式中，DIPEA: N,N-二异丙基乙胺

- 15 向二氯甲烷 (2 mL) 中加入汉防己乙素 (120 mg, 0.2 mmol)，对甲苯磺酰氯 (56 mg, 0.29 mmol)，随后加入 N,N-二异丙基乙胺 (51 mg, 0.39 mmol)，反应液加热升温至 40°C，搅拌反应 2 小时，反应结束后，反应液经饱和食盐水洗，分离得到的有机相用无水硫酸钠干燥，旋干，得到的粗产物经制备薄层色谱 (二氯甲烷: 甲醇=8:1) 分离纯化后得到亮黄色粉末状化合物 BS-FC-102 (73 mg, 收率 49%)。

- 20 LC-MS: 保留时间: 1.11 min (95.24%); m/z 763 $[M+H]^+$, 382 $[1/2M+H]^+$.

^1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl_3) δ 1.23(s, 3H, CH_3), 2.41(s, 3H, N- CH_3), 2.90(s, 3H, N- CH_3), 3.15(s, 3H, OCH_3), 3.41(s,

3H, OCH₃), 3.92(s, 3H, 12-OCH₃), 5.84(s, 1H, 8'-H), 6.17(s, 1H, 5-H), 6.28(d, 1H, *J*=9Hz, 11'-H), 6.43(s, 1H, H-苯环), 6.59(s, 1H, H-苯环), 6.88(m, 3H, H-苯环), 7.11-7.17(m, 3H, H-苯环), 7.41-7.50(m, 3H, H-苯环).

5 按照 BS-FC-102 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与苯磺酰氯反应, 制备了 BS-FC-104:

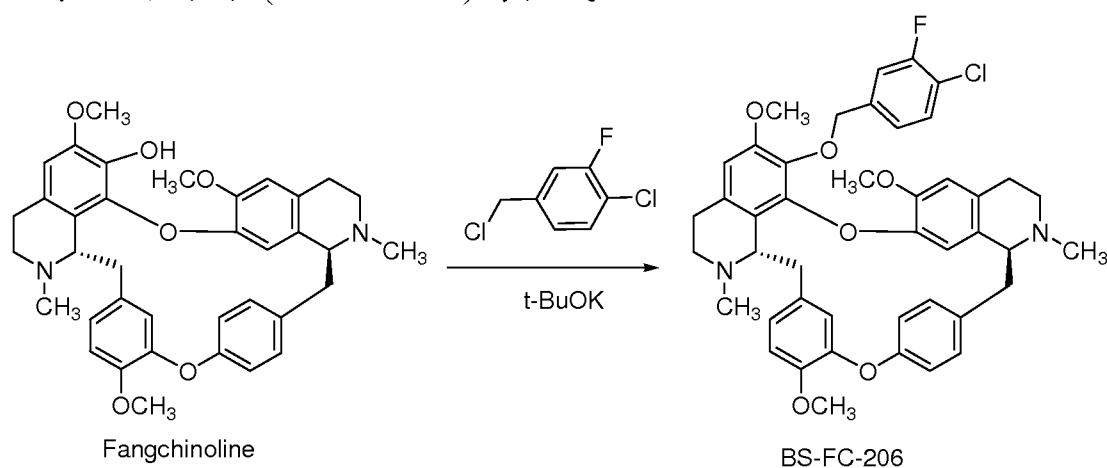
LC-MS: 保留时间: 0.99 min (100%); *m/z* 749.0 [M+H]⁺, 374.9 [1/2M+H]⁺

10 按照 BS-FC-102 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与三氟甲基磺酰氯反应, 制备了 BS-FC-105:

LC-MS: 保留时间: 1.03 min (90.45%); *m/z* 741.0 [M+H]⁺, 371.1 [1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.73(s, 3H, N-CH₃), 3.01(s, 3H, N'-CH₃), 3.53(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.83(s, 3H, 6-OCH₃), 3.96(s, 3H, 12-OCH₃), 6.05(s, 1H, 8'-H), 6.42(m, 2H, H-苯环), 6.55(s, 1H, H-苯环), 6.71(s, 1H, H-苯环), 6.96(m, 2H, 2H-苯环), 7.52(m, 1H, 14'-H).

实施例 2: 化合物(BS-FC-206)的合成



20 中, t-BuOK: 叔丁基醇钾.

向二甲基亚砜 (2 mL) 中加入汉防己乙素 (80 mg, 0.13 mmol), 随后在 0°C 条件下加入叔丁基醇钾 (22.5 mg, 0.1971 mmol), 升至室温后搅拌 0.5 小时。将溶有 3-氟-4-氯苄基 (26.5 mg, 0.12 mmol) 的二甲

基亚砷逐滴加入反应液中，反应液加热升温至 40℃，搅拌反应 2 小时。反应结束后，向反应液中加水(20 mL)，用二氯甲烷(5 mL × 3)萃取，合并有机相，经饱和食盐水洗，旋干后得到的粗产物经制备薄层色谱(二氯甲烷:甲醇=10:1)分离纯化后得到亮黄色粉末状化合物 BS-FC-206 (23.6 mg, 收率 24%)。

LC-MS: 保留时间: 1.10 min (99.12%); m/z 751 $[M+H]^+$, 376 $[1/2M+H]^+$.
 1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in $CDCl_3$) δ 2.55(s, 3H, N-CH₃), 3.48(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.76(s, 3H, 6-OCH₃), 3.94(s, 3H, 12-OCH₃), 5.81(s, 1H, 8'-H), 6.60(s, 1H, H-苯环), 6.74 (m, 1H, H-苯环).

10

按照 BS-FC-206 的方法，使用上述同样的试剂，将汉防己乙素与对氟氯苄反应，制备了 BS-FC-201:

LC-MS: 保留时间: 1.13 min (85.98%); m/z 717.0 $[M+H]^+$, 359.0 $[1/2M+H]^+$.

1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in $CDCl_3$) δ 2.53(s, 3H, N-CH₃), 2.59(s, 3H, N-CH₃), 3.41(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.61(s, 3H, 6-OCH₃), 3.92(s, 3H, 12-OCH₃), 5.77(s, 1H, 8'-H), 6.36(s, 1H, H-苯环), 6.46(s, 1H, H-苯环), 6.53(s, 1H, H-苯环), 6.78-6.89(m, 5H, H-苯环), 7.11-7.36(m, 3H, H-苯环).

20

按照 BS-FC-206 的方法，使用上述同样的试剂，将汉防己乙素与 3-溴甲基吡啶反应，制备了 BS-FC-202:

LC-MS: 保留时间: 0.79 min (92.16%); m/z 700.1 $[M+H]^+$, 350.5 $[1/2M+H]^+$.

25

按照 BS-FC-206 的方法，使用上述同样的试剂，将汉防己乙素与对三氟甲氧基溴苄反应，制备了 BS-FC-203:

LC-MS: 保留时间: 1.21 min (94.06%); m/z 782.9 $[M+H]^+$, 392.0 $[1/2M+H]^+$.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.43(s, 3H, N-CH₃), 2.52(s, 3H, N-CH₃), 3.49(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.75(s, 3H, 6-OCH₃), 3.94(s, 3H, 12-OCH₃), 4.34(d, 1H, *J*=8.1 Hz), 4.70(d, 1H, *J*=8.1 Hz), 5.89(s, 1H, 8'-H), 6.31(d, 1H, *J*=8.4, 11'-H), 6.40(s, 1H, H-苯环), 6.47(s, 1H, H-苯环), 6.60(s, 1H, H-苯环), 6.86(d, 2H, *J*=8.7 Hz, H-苯环), 6.93(m, 3H, H-苯环), 7.06(d, 1H, *J* = 8.4 Hz, 13'-H), 7.13(d, 1H, *J* = 8.1 Hz, 13'-H), 7.42(d, 1H, *J*=8.1 Hz, 14'-H).

按照 BS-FC-206 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与 2,3-二氟溴苄反应, 制备了 BS-FC-204:

LC-MS: 保留时间: 1.11 min (99.35%); *m/z* 735.0 [M+H]⁺, 368.0 [1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.36(s, 3H, N-CH₃), 2.55(s, 3H, N-CH₃), 3.37(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.74(s, 3H, 6-OCH₃), 3.92(s, 3H, 12-OCH₃), 4.46(d, 1H, *J*=8.1 Hz), 4.65(d, 1H, *J*=8.1 Hz), 5.75(s, 1H, 8'-H), 6.27(d, 1H, *J*=8.4, 11'-H), 6.35(s, 1H, H-苯环), 6.46(s, 1H, H-苯环), 6.51(s, 1H, H-苯环), 6.86(m, 2H, H-苯环), 6.95-7.13(m, 4H, H-苯环), 7.15(dd, 1H, *J*=2.1,8.1 Hz, 13'-H), 7.36(dd, 1H, *J*=2.1,8.1 Hz, 14'-H).

按照 BS-FC-206 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与 3-氯-4-氟溴苄反应, 制备了 BS-FC-205:

LC-MS: 保留时间: 1.09 min (96.28%); *m/z* 751.2 [M+H]⁺, 376.2 [1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.41(s, 3H, N-CH₃), 2.61(s, 3H, N'-CH₃), 3.41(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.75(s, 3H, 6-OCH₃), 3.94(s, 3H, 12-OCH₃), 5.79(s, 1H, 8'-H), 6.32(m, 1H, 11'-H), 6.36(s, 1H, 5-H), 6.49(s, 1H, H-苯环), 6.54(s, 1H, H-苯环), 6.82-6.99(m, 3H, H-苯环), 7.11(m, 2H, H-苯环), 7.34(m, 1H, 14'-H).

按照 BS-FC-206 的方法，使用上述同样的试剂，将汉防己乙素与溴甲基环丙烷反应，制备了 BS-FC-208:

LC-MS: 保留时间: 1.06 min (95.93%); m/z 663.0 $[M+H]^+$, 332.0 $[1/2M+H]^+$.

- 5 1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in $CDCl_3$) δ 2.71(s, 3H, $N'-CH_3$), 3.41(s, 3H, $6'-OCH_3$), 3.75(s, 3H, $6-OCH_3$), 3.94(s, 3H, $12-OCH_3$), 5.79(s, 1H, $8'-H$).

按照 BS-FC-206 的方法，使用上述同样的试剂，将汉防己乙素与
10 溴丙烯反应，制备了 BS-FC-213:

LC-MS: 保留时间: 1.04 min (97.48%); m/z 649.1 $[M+H]^+$, 324.9 $[1/2M+H]^+$.

- 15 1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in $CDCl_3$) δ 2.39(s, 3H, $N-CH_3$), 2.62(s, 3H, $N'-CH_3$), 3.39(s, 3H, $6'-OCH_3$), 3.75(s, 3H, $6-OCH_3$), 3.93(s, 3H, $12-OCH_3$), 5.97(s, 1H, $8'-H$), 6.30(m, 2H, H-苯环), 6.53(m, 2H, H-苯环), 6.87(m, 3H, H-苯环), 7.15(m, 1H, $13'-H$), 7.38(m, 1H, $14'-H$).

按照 BS-FC-206 的方法，使用上述同样的试剂，将汉防己乙素与对甲氧基溴苄反应，制备了 BS-FC-215:

- 20 LC-MS: 保留时间: 1.03 min (89.37%); m/z 729.2 $[M+H]^+$, 365.1 $[1/2M+H]^+$.

- 25 1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in $CDCl_3$) δ 2.56(s, 3H, $N-CH_3$), 3.38(s, 3H, $6'-OCH_3$), 3.75(s, 6H, OCH_3), 3.93(s, 3H, $12-OCH_3$), 5.79(s, 1H, $8'-H$), 6.39(m, 1H, H-苯环), 6.51(m, 2H, H-苯环), 6.79(m, 1H, H-苯环), 6.91(m, H-苯环).

按照 BS-FC-206 的方法，使用上述同样的试剂，将汉防己乙素与对三氟甲氧基溴苄反应，制备了 BS-FC-216:

LC-MS: 保留时间: 1.08 min (94.44%); m/z 767.1 [M+H]⁺, 384.0
[1/2M+H]⁺.

按照 BS-FC-206 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与
5 6-氯-2-氟溴苜反应, 制备了 BS-FC-217:

LC-MS: 保留时间: 1.06 min (95.06%); m/z 751.2 [M+H]⁺, 376.2
[1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.46(s, 3H,
N-CH₃), 2.76(s, 3H, N'-CH₃), 3.34(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.79(s, 3H, 6-OCH₃),
10 3.93(s, 3H, 12-OCH₃), 6.26(m, 1H, 11'-H), 6.34(s, 1H, 5-H), 6.44(s, 1H, H-
苯环), 6.50(s, 1H, H-苯环), 6.74(m, 1H, 10'-H), 6.80(m, 2H, H-苯环),
7.16(m, 3H, H-苯环), 7.40(m, 2H, H-苯环).

按照 BS-FC-206 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与
15 碘代环戊烷反应, 制备了 BS-FC-220:

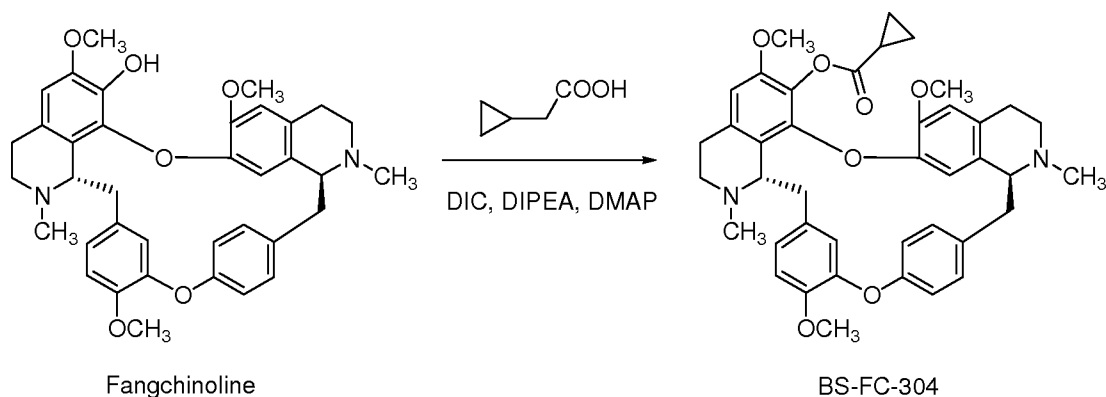
LC-MS: 保留时间: 1.00 min (99.74%); m/z 677.1 [M+H]⁺, 339.0
[1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.42(s, 3H,
N-CH₃), 2.72(s, 3H, N'-CH₃), 3.37(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.74(s, 3H, 6-OCH₃),
20 3.93(s, 3H, 12-OCH₃), 5.89(s, 1H, 8'-H), 6.35(m, 2H, H-苯环), 6.51(s, 1H,
H-苯环), 6.53(s, 1H, H-苯环), 6.83(m, 1H, H-苯环), 6.89(d, 1H, J=8.1 Hz,
H-苯环), 7.16(dd, 1H, J = 2.1, 8.1 Hz, 13'-H), 7.42(dd, 1H, J = 2.1, 8.1 Hz,
14'-H).

25 按照 BS-FC-206 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与
3-溴-2-甲基丙烯反应, 制备了 BS-FC-221:

LC-MS: 保留时间: 1.00 min (99.72%); m/z 663.2 [M+H]⁺, 332.0
[1/2M+H]⁺.

实施例 3: 化合物(BS-FC-304)的合成



式中, DIC: N,N'-二异丙基碳二亚胺; DMAP: 4-二甲氨基吡啶

5 向二氯甲烷 (2 mL) 中加入汉防己乙素 (80 mg, 0.13 mmol), 环丙甲酸 (17 mg, 0.2 mmol), 随后加入 N,N'-二异丙基碳二亚胺 (34 mg, 0.26 mmol), 4-二甲氨基吡啶 (16 mg, 0.26 mmol), N, N-二异丙基乙胺 (34 mg, 0.26 mmol)。反应液加热升温至 40℃, 搅拌反应 2 小时。反应结束后, 向反应液中加入二氯甲烷(20 mL), 饱和食盐水洗。分离得

10 到的有机相经无水硫酸钠干燥, 旋干, 得到的粗产物经制备薄层色谱分离纯化后得到灰白色粉末状化合物 BS-FC-304 (54.7 mg, 收率 52%)。LC-MS: 保留时间: 0.80 min (100.0%); m/z 677 [M+H]⁺, 338 [1/2M+H]⁺。

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.52(s, 3H, N-CH₃), 2.77(s, 3H, N-CH₃), 3.45(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.85(s, 3H, 6-OCH₃),

15 3.93(s, 3H, 12-OCH₃), 5.99(s, 1H, 8'-H), 6.29(m, 1H, 11'-H), 6.40(s, 1H, H-苯环), 6.48(s, 1H, H-苯环), 6.56(s, 1H, H-苯环), 6.87(m, 1H, H-苯环), 6.90(d, 1H, J=8.1Hz, H-苯环), 6.95-7.13(m, 4H, H-苯环), 7.13(d, 1H, J=8.7 Hz, 13'-H), 7.36(d, 1H, J=8.7 Hz, 14'-H)。

20 按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与 3-吡啶甲酸反应, 制备了 BS-FC-301:

LC-MS: 保留时间: 0.92 min (96.55%); m/z 714.2 [M+H]⁺, 357.6 [1/2M+H]⁺。

^1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl_3) δ 3.73(s, 3H, 6-OCH₃), 3.95(s, 3H, 12-OCH₃), 6.45(s, 2H, H-苯环), 6.90-7.12(m, 3H, H-苯环), 7.35(m, 1H, H-苯环).

5 按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与 4-吡啶甲酸反应, 制备了 BS-FC-302:

LC-MS: 保留时间: 0.96 min (98.29%); m/z 714.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 357.5 $[\text{1/2M}+\text{H}]^+$.

^1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl_3) δ 2.03(s, 3H, N-CH₃), 2.53(s, 3H, N'-CH₃), 3.48(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.71(s, 3H, 6-OCH₃), 3.93(s, 3H, 12-OCH₃), 6.46(s, 2H, H-苯环), 6.79(m, 1H, H-苯环), 6.90(m, 1H, H-苯环), 7.09-7.29(m, 2H, H-苯环), 8.69(m, 2H,).

15 按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与 N-甲基-D-丙氨酸反应, 制备了 BS-FC-305:

LC-MS: 保留时间: 0.75 min (99.65%); m/z 694.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 347.5 $[\text{1/2M}+\text{H}]^+$.

20 按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与 N,N-二甲基甘氨酸反应, 制备了 BS-FC-307:

LC-MS: 保留时间: 0.92 min (95.29.00%); m/z 694.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与 N,N-二甲氨基苯甲酸反应, 制备了 BS-FC-308:

25 LC-MS: 保留时间: 1.13 min (91.31%); m/z 756.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 378.5 $[\text{1/2M}+\text{H}]^+$.

按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与 对三氟甲氧基苯甲酸反应, 制备了 BS-FC-309:

LC-MS: 保留时间:1.15 min (91.13%); m/z 797.2 [M+H]⁺, 399.2
[1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.07(s, 3H, N-CH₃), 2.39(m, 3H, N-CH₃), 3.54(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.72(s, 3H, 6-OCH₃),
5 3.95(s, 3H, 12-OCH₃), 6.42(s, 2H, H-苯环), 6.87(m, 2H, H-苯环), 7.10(m, 1H, H-苯环), 7.17(m, 1H, H-苯环), 7.20(m, 1H, H-苯环), 7.66(m, 1H, H-苯环).

按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与
10 3,5-二氟苯甲酸反应, 制备了 BS-FC-310:

LC-MS: 保留时间: 1.11 min (98.02%); m/z 748.9 [M+H]⁺, 374.9
[1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.12(s, 3H, N-CH₃), 2.23(s, 3H, N-CH₃), 3.67(s, 3H, 6-OCH₃), 3.90(s, 3H, 12-OCH₃),
15 6.37(s, 1H, H-苯环), 6.86(m, 3H, H-苯环).

按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与
3,5-二甲氧基苯甲酸反应, 制备了 BS-FC-311:

LC-MS: 保留时间:1.11 min (99.22%); m/z 773.0 [M+H]⁺, 387.0
20 [1/2M+H]⁺.

按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与
4-吡嗪羧酸反应, 制备了 BS-FC-313:

LC-MS: 保留时间: 0.89 min (95.53%); m/z 715.1 [M+H]⁺, 358.1
25 [1/2M+H]⁺.

按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与
四氢吡喃-4-羧酸反应, 制备了 BS-FC-314:

LC-MS: 保留时间: 0.89 min (97.72%); m/z 721.1 [M+H]⁺, 361.0
[1/2M+H]⁺.

按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与
5 6-氯-2-氟苯甲酸反应, 制备了 BS-FC-315:

LC-MS: 保留时间: 1.04 min (99.51%); m/z 765.2 [M+H]⁺, 383.2
[1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.38(s, 3H,
N-CH₃), 3.47(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.69(s, 3H, 6-OCH₃), 3.94(s, 3H, 12-OCH₃),
10 6.03(s, 1H, 8'-H), 6.50(m, 3H, H-苯环).

按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与
氨基甲酸反应, 制备了 BS-FC-318:

LC-MS: 保留时间: 0.73 min (95.42%); m/z 666.1 [M+H]⁺, 333.5
15 [1/2M+H]⁺.

按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与
戊二酸酐反应, 制备了 BS-FC-324:

LC-MS: 保留时间: 0.97 min (98.81%); m/z 723.0 [M+H]⁺, 362.0
20 [1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.84(s, 3H,
N'-CH₃), 3.50(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.73(s, 3H, 6-OCH₃), 3.95(s, 3H, 12-OCH₃),
6.00(s, 1H, 8'-H), 6.30(m, 2H, H-苯环), 6.36(m, 1H, H-苯环), 6.40(m, 1H,
H-苯环), 6.56(m, 1H, H-苯环), 6.90(s, 2H, H-苯环), 7.25-7.37(m, 3H, H-苯
25 环).

按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与
苯甲酸反应, 制备了 BS-FC-501:

LC-MS: 保留时间: 2.30 min (96.19%); m/z 713.0 $[M+H]^+$, 357.1 $[1/2M+H]^+$.

1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in $CDCl_3$) δ 1.87 (s, 3H), 2.49 (s, 3H), 2.73-2.62 (m, 2H), 2.90 (s, 3H), 3.54 (d, 4H), 3.71 (dd, $J = 8.6$, 5 5.2 Hz, 10H), 3.76 (s, 1H), 3.93 (s, 3H), 6.84 (dd, 9H, H-苯环), 7.87-7.30 (m, 6H, H-苯环).

按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与对甲基苯甲酸反应, 制备了 BS-FC-502:

10 LC-MS: 保留时间: 2.44 min (97.24%); m/z 727.1 $[M+H]^+$, 364.2 $[1/2M+H]^+$.

1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in $CDCl_3$) δ 1.25 (s, 1H), 1.32 (s, 1H), 1.96-1.87 (m, 2H), 2.36 (s, 6H), 3.06-2.44 (m, 9H), 3.21 (s, 1H), 3.51 (t, 6H), 3.68 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 7.20-5.66 (m, 12H, H-苯环), 15 7.75-7.41 (m, 2H, H-苯环).

按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与对甲氧基苯甲酸反应, 制备了 BS-FC-503:

20 LC-MS: 保留时间: 2.36 min (95.46%); m/z 743.0 $[M+H]^+$, 372.1 $[1/2M+H]^+$.

1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in $CDCl_3$) δ 2.03 (s, 4H), 2.39 (s, 3H), 2.84-2.50 (m, 7H), 3.00 (s, 2H), 3.24 (s, 1H), 3.52 (t, 6H), 3.69 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 7.18-5.69 (m, 12H, H-苯环), 7.66 (d, 2H, H-苯环).

25

按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与对甲氨基苯甲酸反应, 制备了 BS-FC-504:

LC-MS: 保留时间: 2.32 min (100%); m/z 742.0 $[M+H]^+$, 372.0 $[1/2M+H]^+$.

^1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl_3) δ 2.05 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 3.27-2.38 (m, 15H), 3.48 (s, 1H), 3.63 (s, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.87-3.72 (m, 3H), 3.92 (s, 3H), 7.23-5.72 (m, 10H, H-苯环), 8.12-7.31 (m, 4H, H-苯环).

5

按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与 4-(二乙氨基)苯甲酸反应, 制备了 BS-FC-505:

LC-MS: 保留时间: 2.66 min (92.21%); m/z 784.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 392.6 $[\text{1/2M}+\text{H}]^+$.

10 ^1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl_3) δ 1.18 (t, $J = 7.0$ Hz, 6H), 7.60 (dddd, 4H), 1.39-1.27 (m, 4H), 1.67 (dd, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.65 (dd, 5H), 2.98 (dd, 2H), 3.45 (dd, 6H), 3.67 (s, 3H), 3.90 (d, $J = 16.6$ Hz, 3H), 4.31-4.11 (m, 1H), 7.25-5.53 (m, 10H, H-苯环).

15 按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与对异丙基苯甲酸反应, 制备了 BS-FC-506:

LC-MS: 保留时间: 2.72 min (99.20%); m/z 755.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 378.0 $[\text{1/2M}+\text{H}]^+$.

20 ^1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl_3) δ 1.26-1.17 (m, 9H), 2.02-1.52 (m, 4H), 3.08-2.40 (m, 13H), 3.48 (s, 1H), 3.63 (s, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 4.34-4.09 (m, 1H), 7.24 - 5.38 (m, 11H, H-苯环), 8.25-7.29 (m, 3H, H-苯环).

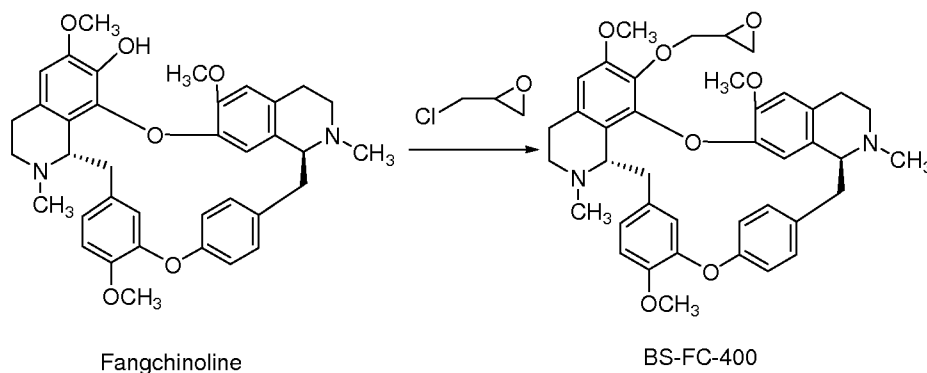
25 按照 BS-FC-304 的方法, 使用上述同样的试剂, 将汉防己乙素与对氨基苯甲酸反应, 制备了 BS-FC-507:

LC-MS: 保留时间: 2.16 min (100%); m/z 728.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 364.0 $[\text{1/2M}+\text{H}]^+$.

^1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl_3) δ 1.42-1.26 (m, 9H), 1.79-1.59 (m, 2H), 2.80- 2.48 (m, 4H), 3.04 (s, 3H), 3.56 (d, 3H), 3.77-3.67 (m, 3H), 3.95 (d, 3H), 4.25-4.18 (m, 3H), 6.60-5.69 (m, 4H, H-苯

环), 6.83 (dd, 2H, H-苯环), 7.13 (s, 1H, H-苯环), 7.34 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-苯环), 7.65-7.42 (m, 3H, H-苯环), 7.70 (dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, 1H, H-苯环), 8.23-8.02 (m, 1H, H-苯环).

5 实施例 4: 化合物(BS-FC-400)的合成

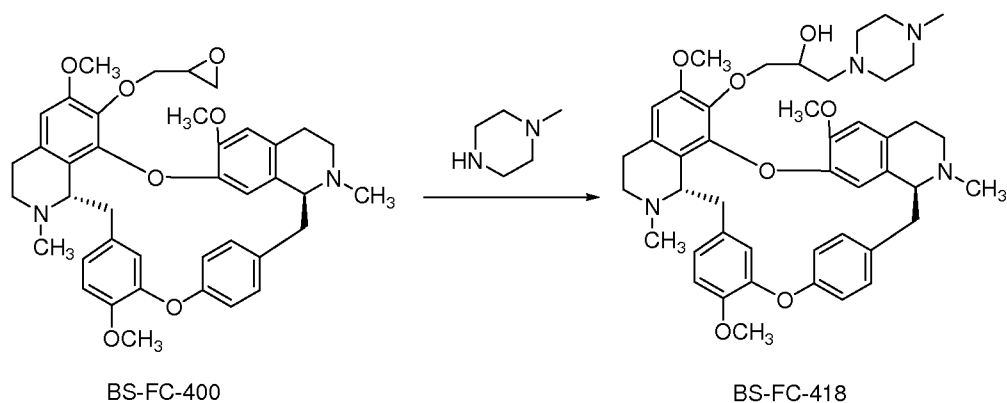


向二甲基亚砜 (5 mL) 中加入汉防己乙素 (1 g, 1.64 mmol), 随后在 0°C 条件下, 加入叔丁基醇钾 (560 mg, 4.91 mmol), 混合液室温下搅拌 0.5 小时后, 逐滴加入溶有环氯乙烷 (180 mg, 1.97 mmol) 的二甲基亚砜 (2 mL), 反应液加热升温至 40°C, 搅拌 3 小时。反应结束后, 在 0°C 条件下, 向反应液中加入水 (50 mL), 用二氯甲烷 (10 mL*4) 萃取, 合并有机相, 经饱和食盐水洗, 干燥, 旋干后得到的产物 BS-FC-400 不经纯化直接用于下一步反应。

15 LC-MS: 保留时间: 0.88 min (92.01%); m/z 665.0 $[M+H]^+$, 333.1 $[1/2M+H]^+$.

1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in $CDCl_3$) δ 2.38(s, 3H, N- CH_3), 2.70(s, 3H, N'- CH_3), 3.38(s, 3H, 6'- OCH_3), 3.70(s, 3H, 6- OCH_3), 3.90(s, 3H, 12- OCH_3), 6.00(m, 1H, 8'-H), 6.24(m, 2H, H-苯环), 6.46(m, 2H, H-苯环), 6.86-7.00(m, 3H, H-苯环), 7.11(m, 1H, 13'-H), 7.36(m, 1H, 14'-H)

实施例 5: 化合物(BS-FC-418)的合成



向乙醇（2 mL）中加入上一步得到的化合物 BS-FC-400（100 mg，0.15 mmol），随后加入 N-甲基-哌嗪（30 mg，0.3 mmol），密闭条件下，反应液加热升温至 120℃，反应 3 小时。反应结束后，将反应液浓缩得
5 到的粗产物经制备薄层色谱分离纯化（二氯甲烷:甲醇=8:1）后得到白色粉末状化合物 BS-FC-418（30 mg，收率 26%）。

LC-MS: 保留时间: 0.7 min (96%); m/z 764.9 $[M+H]^+$. 383.2 $[1/2M+H]^+$.

1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in $CDCl_3$) δ 2.34 – 2.15 (m, 10H), 2.59 – 2.40 (m, 10H), 2.65 (t, $J = 4.4$ Hz, 4H), 2.80 – 2.70 (m, 3H), 2.96 – 2.83 (m, 4H), 3.36 – 3.22 (m, 6H), 3.45 – 3.37 (m, 2H), 3.58 – 3.45 (m, 3H), 3.73 (t, $J = 3.2$ Hz, 5H), 3.91 (s, 5H), 5.98 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 6.32 – 6.27 (m, 2H), 6.52 – 6.47 (m, 2H), 6.88 – 6.77 (m, 3H), 7.13 (dd, $J = 8.2, 2.4$ Hz, 1H), 7.34 (dt, $J = 8.1, 2.5$ Hz, 1H).

15

按照 BS-FC-418 的方法，使用上述同样的试剂，将化合物 BS-FC-4 与 4-二甲氨基哌啶反应，制备了 BS-FC-401:

LC-MS: 保留时间: 0.71 min (95.72%); m/z 793.1 $[M+H]^+$, 397.4 $[1/2M+H]^+$.

1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in $CDCl_3$) δ 2.30(s, 3H, N- CH_3), 2.38(s, 6H, N-(CH_3)₂), 2.64(s, 3H, N'- CH_3), 3.35(s, 3H, 6'- OCH_3), 3.74(s, 3H, 6- OCH_3), 3.92(s, 3H, 12- OCH_3), 5.98(s, 1H, 8'-H), 6.30(m, 2H, H-苯环), 6.52(m, 2H, H-苯环), 6.84-6.86 (m, 3H, H-苯环), 7.14(m, 1H, 13'-H), 7.34(m, 1H, 14'-H).

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与 3-羟基哌啶反应, 制备了 BS-FC-402:

LC-MS: 保留时间: 0.74 min (93.36%); m/z 766.1 [M+H]⁺, 383.8

5 [1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.29(s, 3H, N-CH₃), 3.33(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.70(s, 3H, 6-OCH₃), 3.89(s, 3H, 12-OCH₃), 6.03(m, 1H, 8'-H), 6.27(m, 2H, 5,11'-H), 6.46(m, 1H, H-苯环), 6.52 (m, 1H, H-苯环), 6.80(m, 3H, H-苯环), 7.12(m, 1H, 13'-H), 7.34(m, 1H, 14'-H).

10

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与哌啶反应, 制备了 BS-FC-403:

LC-MS: 保留时间: 0.75 min (88.00%); m/z 750.0 [M+H]⁺, 375.7

[1/2M+H]⁺.

15 ¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.30(s, 3H, N-CH₃), 2.62(s, 3H, N'-CH₃), 3.34(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.71(s, 3H, 6-OCH₃), 3.92(s, 3H, 12-OCH₃), 5.97(s, 1H, 8'-H), 6.25(m, 2H, H-苯环), 6.48(m, 2H, H-苯环), 6.77(m, 3H, H-苯环), 7.09(m, 1H, 13'-H), 7.33(m, 1H, 14'-H).

20 按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与 N-异丙基哌啶反应, 制备了 BS-FC-404:

LC-MS: 保留时间: 0.73 min (95.62%); m/z 793.1 [M+H]⁺, 397.4

[1/2M+H]⁺.

25 ¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 1.16(m, 6H, CH₃), 2.29(s, 3H, N-CH₃), 2.67(s, 3H, N'-CH₃), 3.39(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.70(s, 3H, 6-OCH₃), 3.89(s, 3H, 12-OCH₃), 5.98(m, 1H, 8'-H), 6.24(m, 2H, H-苯环), 6.48(m, 2H, H-苯环), 6.86(m, 3H, H-苯环), 7.11(m, 1H, 13'-H), 7.33(m, 1H, 14'-H).

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与环丙甲胺反应, 制备了 BS-FC-405:

LC-MS: 保留时间: 0.78 min (96.5%); m/z 736.1 $[M+H]^+$, 368.8

5 $[1/2M+H]^+$.

1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in $CDCl_3$) δ 2.32(s, 3H, N- CH_3), 2.91(m, 3H, N'- CH_3), 3.38(s, 3H, 6'- OCH_3), 3.68(s, 3H, 6- OCH_3), 3.90(s, 3H, 12- OCH_3), 6.08(d, 1H, 8'-H), 6.29(m, 2H, H-苯环), 6.50(s, 2H, H-苯环), 6.76(m, 1H, 10'-H), 6.83(m, 2H, H-苯环), 7.14(m, 1H, 13'-H),
10 7.34(m, 1H, 14'-H).

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与 N-乙基甲基胺反应, 制备了 BS-FC-406:

LC-MS: 保留时间: 0.72 min (86.27%); m/z 723.9 $[M+H]^+$, 362.7

15 $[1/2M+H]^+$.

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与 N-甲基乙醇胺反应, 制备了 BS-FC-407:

LC-MS: 保留时间: 0.73 min (93.23%); m/z 740.1 $[M+H]^+$, 370.8

20 $[1/2M+H]^+$.

1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in $CDCl_3$) δ 2.28(s, 3H, N- CH_3), 2.38(s, 3H, N- CH_3), 2.68(m, 3H, N- CH_3), 3.35(s, 3H, 6'- OCH_3), 3.73(s, 3H, 6- OCH_3), 3.91(s, 3H, 12- OCH_3), 6.02(m, 1H, 8'-H), 6.28(m, 2H, H-苯环), 6.45(m, 1H, 10-H), 6.52(s, 1H, 5'-H), 6.84(m, 3H, H-苯环), 7.13(m,
25 1H, 13'-H), 7.34(m, 1H, 14'-H).

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与 N-甲基高哌嗪反应, 制备了 BS-FC-408:

LC-MS: 保留时间: 0.69 min (94.45%); m/z 779.0 $[M+H]^+$, 390.2

[1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.31(s, 3H, N-CH₃), 2.39(s, 3H, N-CH₃), 2.53(m, 3H, N-CH₃), 3.34(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.72(s, 3H, 6-OCH₃), 3.89(s, 3H, 12-OCH₃), 6.01(d, 1H, *J*=8.1 Hz, 8'-H),
5 6.29(m, 2H, H-苯环), 6.49(m, 2H, H-苯环), 6.76-6.83 (m, 3H, H-苯环),
7.13(m, 1H, 13'-H), 7.34(m, 1H, 14'-H).

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与 N-烯丙基甲胺反应, 制备了 BS-FC-409:

10 LC-MS: 保留时间: 0.76 min (91.38%); *m/z* 736.1 [M+H]⁺, 368.8
[1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.33(s, 6H, N-CH₃), 2.60(m, 3H, N-CH₃), 3.35(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.73(s, 3H, 6-OCH₃), 3.91(s, 3H, 12-OCH₃), 6.02(s, 1H, 8'-H), 6.30(m, 2H, H-苯环), 6.50(m, 2H,
15 H-苯环), 6.79-6.88 (m, 1H, H-苯环), 7.13(m, 1H, 13'-H), 7.34(m, 1H,
14'-H).

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与 3-甲基哌啶反应, 制备了 BS-FC-410:

20 LC-MS: 保留时间: 0.80 min (100.00%); *m/z* 764.1 [M+H]⁺, 382.9
[1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.28(s, 6H, N-CH₃), 2.61(m, 3H, N-CH₃), 3.25(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.64(s, 3H, 6-OCH₃), 3.90(s, 3H, 12-OCH₃), 5.99(s, 1H, 8'-H), 6.27(m, 2H, H-苯环), 6.50(m, 2H,
25 H-苯环), 6.75-6.83 (m, 3H, H-苯环), 7.12(m, 1H, 13'-H), 7.31(m,
1H, 14'-H).

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与三氟乙胺反应, 制备了 BS-FC-413:

LC-MS: 保留时间: 0.70 min (81.20%); m/z 763.8 [M+H]⁺, 382.7 [1/2M+H]⁺.

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4
5 与乙醇胺反应, 制备了 BS-FC-414:

LC-MS: 保留时间: 0.71 min (80.58%); m/z 725.9 [M+H]⁺, 363.7 [1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.32(s, 3H, N-CH₃), 2.69(m, 3H, N-CH₃), 3.35(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.72(s, 3H, 6-OCH₃),
10 3.91(s, 3H, 12-OCH₃), 6.02(d, 1H, J=8.7Hz, 8'-H), 6.28(m, 2H, H-苯环), 6.48(s, 1H, H-苯环), 6.52(d, 1H, J=1.8 Hz, H-苯环), 6.85(m, 3H, H-苯环), 7.11(m, 1H, 13'-H), 7.36(m, 1H, 14'-H).

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4
15 与吗啉反应, 制备了 BS-FC-416:

LC-MS: 保留时间: 0.75 min (90.99%); m/z 752.1 [M+H]⁺, 376.8 [1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.32(s, 3H, N-CH₃), 2.63(m, 3H, N'-CH₃), 3.36(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.66(s, 3H, 6-OCH₃),
20 3.93(s, 3H, 12-OCH₃), 5.98(m, 1H, 8'-H), 6.33(m, 2H, H-苯环), 6.51(m, 2H, H-苯环), 6.85(m, 3H, H-苯环), 7.13(m, 1H, 13'-H), 7.35(m, 1H, 14'-H).

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4
与硫代吗啉反应, 制备了 BS-FC-417:

25 LC-MS: 保留时间: 0.78 min (100%); m/z 768.0 [M+H]⁺, 384.8 [1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.31(s, 3H, N-CH₃), 2.64(m, 3H, N'-CH₃), 3.31(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.73(s, 3H, 6-OCH₃), 3.91(s, 3H, 12-OCH₃), 5.98(s, 1H, 8'-H), 6.28(m, 2H, H-苯环), 6.50(m, 2H, H-苯环), 6.83(m, 3H, H-苯环), 7.11(m, 1H, 13'-H), 7.35(m, 1H, 14'-H).

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与 4-羟基哌啶反应, 制备了 BS-FC-419:

LC-MS: 保留时间: 0.71 min (88.32%); m/z 765.9 [M+H]⁺, 383.7

5 [1/2M+H]⁺.

¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.27(s, 3H, N-CH₃), 2.62(m, 3H, N'-CH₃), 3.33(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.71(s, 3H, 6-OCH₃), 3.90(s, 3H, 12-OCH₃), 5.97(s, 1H, 8'-H), 6.28(m, 2H, H-苯环), 6.50(m, 2H, H-苯环), 6.83(m, 3H, H-苯环), 7.09(m, 1H, 13'-H), 7.34(m, 1H, 14'-H).

10

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与 N-乙基哌嗪反应, 制备了 BS-FC-420:

LC-MS: 保留时间: 0.72 min (94.99%); m/z 779.1 [M+H]⁺, 390.3

[1/2M+H]⁺.

15 ¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.29(s, 3H, N-CH₃), 2.50(m, 3H, N'-CH₃), 3.35(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.73(s, 3H, 6-OCH₃), 3.91(s, 3H, 12-OCH₃), 5.97(m, 1H, 8'-H), 6.29(m, 2H, H-苯环), 6.50(m, 2H, H-苯环), 6.84(m, 1H, 10'-H), 6.84(m, 2H, H-苯环), 7.14(m, 1H, 13'-H), 7.31(m, 1H, 14'-H).

20

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与 N-氰基哌嗪反应, 制备了 BS-FC-421:

LC-MS: 保留时间: 0.77 min (92.20%); m/z 775.1 [M+H]⁺, 388.3

[1/2M+H]⁺.

25 ¹H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in CDCl₃) δ 2.31(s, 3H, N-CH₃), 2.66(m, 3H, N'-CH₃), 3.34(s, 3H, 6'-OCH₃), 3.71(s, 3H, 6-OCH₃), 3.89(s, 3H, 12-OCH₃), 5.96(s, 1H, 8'-H), 6.29(s, 2H, H-苯环), 6.50(m, 2H, H-苯环), 6.90(m, 3H, H-苯环), 7.09(m, 1H, 13'-H), 7.32(m, 1H, 14'-H).

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与 N-羟乙基哌嗪反应, 制备了 BS-FC-422:

LC-MS: 保留时间: 0.67 min (92.80%); m/z 794.9 $[M+H]^+$, 398.2

5 $[1/2M+H]^+$.

1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in $CDCl_3$) δ 2.28(s, 3H, N- CH_3), 2.66(m, 3H, N'- CH_3), 3.34(s, 3H, 6'- OCH_3), 3.71(s, 3H, 6- OCH_3), 3.89(s, 3H, 12- OCH_3), 5.96(s, 1H, 8'-H), 6.28(s, 2H, H-苯环), 6.48(m, 2H, H-苯环), 6.82(m, 3H, H-苯环), 7.09(m, 1H, 13'-H), 7.32(m, 1H, 14'-H).

10

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与 3-甲氧基丙胺反应, 制备了 BS-FC-424:

LC-MS: 保留时间: 0.74 min (85.62%); m/z 753.9 $[M+H]^+$, 377.7

$[1/2M+H]^+$.

15 1H NMR (301 MHz, partial assignment of signals in $CDCl_3$) δ 2.30(s, 3H, N- CH_3), 2.67(m, 3H, N'- CH_3), 3.30(s, 3H, O- CH_3), 3.44(s, 3H, O- CH_3), 3.73(s, 3H, 6- OCH_3), 3.92(s, 3H, 12- OCH_3), 6.00(d, 1H, $J=9.6$ Hz, 8'-H), 6.29(m, 2H, H-苯环), 6.50(s, 1H, H-苯环), 6.53(s, 1H, H-苯环), 6.78(m, 1H, 10'-H), 6.86(s, 2H, 13,14-H), 7.19(dd, 1H, $J=2.1, 8.4$ Hz, 13'-H),
20 7.36(dd, 1H, $J=2.1, 8.4$ Hz, 14'-H).

按照 BS-FC-418 的方法, 使用上述同样的试剂, 将化合物 BS-FC-4 与糠胺反应, 制备了 BS-FC-425:

LC-MS: 保留时间: 0.77 min (87.94%); m/z 761.9 $[M+H]^+$, 381.7

25 $[1/2M+H]^+$.

实施例 6: 本发明的 7-位取代的汉防己乙素衍生物抗白血病的活性测定

(1) 实验材料

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), 以上细胞系均获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。

- 5 试剂: 汉防己乙素(FAN) 标准品购自陕西慈缘生物技术有限公司, 本发明的 7-位取代的汉防己乙素衍生物。

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

(2) 实验方法

- 10 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 7-位取代的汉防己乙素衍生物, 混匀后, 置于二氧化碳 (5%CO₂) 细胞培养箱 37°C 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 IC₅₀ 值, μg/mL)。

(3) 实验结果

实验结果见表 1。

- 20 表 1 显示本发明的 7-位取代的汉防己乙素衍生物能诱导人慢性髓系白血病、急性髓系白血病和急性淋巴细胞白血病细胞死亡和抑制这些白血病细胞生长, 与汉防己乙素本身比较, 本发明的 7-位取代的汉防己乙素衍生物抗白血病细胞活性明显增强, 其中本发明的 7-位取代的汉防己乙素衍生物 BS-FC-403, BS-FC-410 抗 K562/adr(耐药慢性髓系白血病, CML) 活性尤为明显, 活性较汉防己乙素提高 7 倍以上; BS-FC-308 抗
25 Jurkat (急性淋巴细胞白血病)和 H9 (急性淋巴细胞白血病)活性分别提高 4 倍及 3 倍以上; BS-FC-104, BS-FC-311 和 BS-FC-410 抗 NB4 (急性早幼粒细胞白血病)活性提高 2 倍以上; 此外, BS-FC-311 抗 Kasumi-1 (急性髓系白血病 M2 型)活性较汉防己乙素也提高将近 2 倍。

表 1: 汉防己乙素衍生物对白血病细胞, 人多发性骨髓瘤和淋巴瘤细胞生长抑制浓度测定 (72 小时, IC₅₀ (μg/mL) 值和 IC₉₀ (μg/mL) 值)。

化合物	K562/ADR		Kasumi-1		NB4		Jurkat		H9	
	IC50	IC90	IC50	IC90	IC50	IC90	IC50	IC90	IC50	IC90
FAN	0.36	4.13	1.11	4.11	0.58	2.59	1.73	5.25	2.40	6.60
BS-FC-102	0.40	3.03	1.93	4.32	0.38	0.94	0.72	1.97	2.40	6.40
BS-FC-104	0.42	2.65	0.95	3.68	0.28	0.92	0.45	3.03	1.00	4.99
BS-FC-204	0.38	1.92	1.29	3.16	0.39	2.57	2.23	3.86	2.20	3.70
BS-FC-208	0.28	2.35	0.97	4.01	0.48	2.48	0.75	1.88	2.01	4.28
BS-FC-213	0.38	1.72	0.93	3.66	0.66	2.32	0.64	3.29	2.20	4.00
BS-FC-216	0.60	2.15	3.22	7.22	0.99	2.93	1.42	2.91	1.80	3.30
BS-FC-220	0.43	4.00	1.15	3.72	0.66	3.16	0.93	3.09	3.23	6.64
BS-FC-221	0.33	1.31	1.00	3.39	0.57	1.88	0.52	1.89	1.96	4.00
BS-FC-304	0.44	3.00	1.54	3.94	1.24	3.99	0.81	2.94	3.60	7.05
BS-FC-308	0.08	0.47	0.81	1.90	0.37	0.98	0.36	1.62	0.70	1.80
BS-FC-311	0.48	2.83	0.57	1.85	0.22	0.96	0.51	0.98	1.20	2.00
BS-FC-315	0.26	2.14	0.85	3.04	0.33	1.32	0.59	1.24	2.00	3.77
BS-FC-403	0.05	0.83	0.88	2.00	0.30	0.78	0.58	0.96	0.88	1.90
BS-FC-405	0.60	1.73	0.76	1.75	0.47	0.95	0.56	0.99	1.45	2.90
BS-FC-409	0.16	1.38	1.46	4.82	0.59	1.76	1.02	3.33	0.90	2.00

BS-FC -410	0.05	0.63	0.84	1.86	0.28	0.91	0.64	1.61	1.13	2.00
BS-FC -417	0.19	2.15	1.45	3.63	0.99	2.86	1.24	5.47	1.30	3.60
BS-FC -421	0.21	1.43	0.95	2.55	0.61	1.61	0.97	3.79	1.00	2.80

实施例 7: 本发明的 7-位取代的汉防己乙素衍生物抗人多发性骨髓瘤细胞活性测定

(1) 实验材料

5 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。

试剂: 同实施例 6。

主要仪器: Thermo Scientific 3111 细胞培养箱, Bio-Rad iMark 酶标仪。

10 (2) 实验方法

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 RPMI-1640 细胞培养液。第二天加入不同浓度的 7-位取代的汉防己乙素衍生物, 混匀后, 置于二氧化碳 (5%CO₂) 细胞培养箱 37°C 培养 72 小时。然后用 MTT 法测定活细胞浓度。在本
15 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 IC₅₀ 值, μg/mL)。

(3) 实验结果

实验结果见表 2。

20 表 2 显示本发明的部分 7-位取代的汉防己乙素衍生物能诱导人骨髓瘤细胞死亡和抑制这些肿瘤细胞生长。其中 7-位取代的汉防己乙素衍生物 BS-FC-417 抗 RPMI 8226(多发性骨髓瘤)活性与汉防己乙素相比, 提高 2 倍

实施例 8: 本发明的 7-位取代的汉防己乙素衍生物抗人实体瘤作用测定

(1) 实验材料

人实体瘤细胞株:

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)、Becap-37(人乳腺癌细胞)、Hela(人宫颈癌细胞)、Hep G2(人肝癌细胞)均获赠于浙江大学肿瘤研究所。

10 试剂: 同实施例 6.

主要仪器: Thermo Scientific 3111 细胞培养箱, Bio-Rad iMark 酶标仪。

(2) 实验方法

取生长良好的人实体瘤细胞 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 DMEM 高糖细胞培养液。置于二氧化碳(5% CO₂) 细胞培养箱 37 °C 培养 24 小时, 然后, 加入不同浓度的 7-位取代的汉防己乙素衍生物, 混匀后, 继续置二氧化碳(5%CO₂) 细胞培养箱 37 °C 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 IC₅₀ 值)。

(3) 实验结果

实验结果见表 2。

表 2 显示本发明的 7-位取代的汉防己乙素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, 与汉防己乙素本身比较, 本发明 7-位取代的汉防己乙素衍生物抗实体瘤细胞活性明显增强, 其中本发明的 7-位取代的汉防己乙素衍生物 BS-FC-403, BS-FC-405 和 BS-FC-410 尤为显著, 抗 PANC-1(胰腺癌), Becap-37(人乳腺癌细胞)和 Hep G2(人肝癌细胞)活性较汉防己乙素本身提高近 3 倍或 3 倍以上; 抗 U87-MG(恶性脑胶质瘤细胞)活性提高 1.5 倍以上; BS-FC-403 抗 PC-3(前列腺癌),

SK-OV-3(卵巢癌细胞)和 RKO(人结肠腺癌细胞)活性较汉防己乙素本身提高近 3 倍或 3 倍以上;BS-FC-308 抗 A549(人肺癌)活性提高 3 倍以上;BS-FC-221 和 BS-FC-403 抗 MG-63(骨肉瘤)活性提高 2 倍以上;BS-FC-311 抗 Hela(人宫颈癌细胞),BS-FC-403 和 BS-FC-405 CaEs-17(食道癌细胞)活性均提高近 4 倍;BS-FC-403,BS-FC-405 和 BS-FC-421 抗 CNE(鼻咽癌细胞)活性提高近 3 倍;BS-FC-311,BS-FC-403,BS-FC-405 和 BS-FC-409 抗 Hep-2(喉癌)活性提高 2 倍以上;此外,BS-FC-403 和 BS-FC-410 抗 MGC-803(人胃癌细胞)活性较汉防己乙素本身也提高了 2 倍以上。

10

表 2 汉防己乙素衍生物对人实体瘤细胞半数生长抑制浓度测定(72 小时, IC₅₀ (μg/mL) 值和 IC₉₀ (μg/mL) 值)。

化合物	RPMI 8226		A549		PANC-1	
	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀
FAN	0.04	0.50	3.26	9.81	3.14	11.64
BS-FC-102	0.14	0.77	2.41	6.55	3.16	6.75
BS-FC-104	0.12	0.50	1.57	3.94	2.01	10.79
BS-FC-204	0.42	1.58	2.16	3.94	2.23	6.85
BS-FC-208	0.13	0.50	2.51	13.05	2.87	8.31
BS-FC-213	0.12	0.50	2.19	4.92	3.46	10.36
BS-FC-216	0.13	0.77	2.70	5.90	3.62	7.25
BS-FC-220	0.12	0.50	2.55	4.97	2.79	7.68
BS-FC-221	0.11	0.46	1.20	3.18	1.42	4.65
BS-FC-304	0.16	0.98	2.24	5.59	3.73	10.39
BS-FC-308	0.12	0.25	0.99	3.16	2.38	8.53
BS-FC-311	0.13	0.49	1.36	4.38	2.95	4.80
BS-FC-315	0.13	0.48	1.85	3.48	1.61	5.52
BS-FC-403	<0.125	0.13	1.84	6.34	1.03	3.17
BS-FC-405	0.05	0.44	1.94	5.89	1.14	3.34
BS-FC-409	0.04	0.50	2.98	8.43	3.17	7.14
BS-FC-410	<0.125	0.25	1.71	6.80	1.11	3.77
BS-FC-417	0.02	0.50	3.77	11.70	5.55	9.00
BS-FC-421	<0.125	0.25	3.78	10.16	2.96	7.01

表 2 (续)

化合物	Becap-37		MG-63		Hep G2		RKO	
	IC50	IC90	IC50	IC90	IC50	IC90	IC50	IC90
FAN	1.79	6.2	1.7	3.7	1.81	5.23	0.92	3.11
BS-FC-102	2.49	4	3.18	4.83	1.56	3.94	1.44	2.33
BS-FC-104	1.92	3.94	2.71	3.88	1.44	3.9	0.74	1.76
BS-FC-204	4.87	7.89	2.6	3.5	3.73	7.96	1.66	2.95
BS-FC-208	2.35	5.55	1.6	2.5	1.94	5.95	1.64	4.64
BS-FC-213	2.54	5.29	2.4	3.8	2.12	5.92	1.58	3.46
BS-FC-216	3.36	5.3	3.4	5.5	2.54	5.91	1.69	5.79
BS-FC-220	3.19	6.1	2.8	3.6	2.37	7.01	1.25	3.73
BS-FC-221	1.91	3.86	0.8	1.9	1.48	4.37	1.37	2.76
BS-FC-304	3.15	7.22	2.32	5.72	2.49	9.42	1.79	3.45
BS-FC-308	1.03	1.95	1.3	1.8	1.12	4.35	0.71	1.51
BS-FC-311	1.53	3.03	2	4.37	1.4	2.76	1.32	3.24
BS-FC-315	2.1	3.79	2.4	3.9	1.39	3.74	1.15	2.23
BS-FC-403	0.59	2.09	0.6	1.3	0.55	2.23	0.34	0.79
BS-FC-405	0.74	1.88	0.96	1.7	0.71	1.7	0.46	0.92
BS-FC-409	1.44	4.8	1.1	1.99	1.27	3.24	0.65	1.27
BS-FC-410	0.73	2.48	1.1	1.7	0.66	1.51	0.44	0.95
BS-FC-417	2.42	6.16	2	3.6	1.8	5.79	1.09	2.27
BS-FC-421	1.15	3.96	1.6	2.4	1.16	3.25	0.61	2.33

表 2 (续)

化合物	U87-MG		Hela		CaEs-17		CNE	
	IC50	IC90	IC50	IC90	IC50	IC90	IC50	IC90
FAN	1.12	3.79	1.96	6.12	1.94	8.98	2.40	5.70
BS-FC-102	1.79	5.39	1.44	3.39	2.47	7.91	3.50	6.90
BS-FC-104	1.63	4.50	1.00	3.42	2.00	7.42	2.50	4.90
BS-FC-204	2.38	9.10	0.50	1.00	4.60	14.52	2.70	5.20

BS-FC-208	1.99	7.48	1.74	4.00	1.79	6.87	2.70	6.00
BS-FC-213	1.85	9.23	1.68	3.89	1.68	9.16	2.70	5.60
BS-FC-216	2.11	7.74	1.58	3.84	3.10	7.59	3.38	7.34
BS-FC-220	2.28	7.03	1.43	3.71	2.60	9.32	3.20	7.60
BS-FC-221	1.13	4.50	0.71	1.90	1.53	5.60	1.80	3.80
BS-FC-304	1.68	4.97	1.87	4.65	2.35	10.72	3.80	7.20
BS-FC-308	1.27	3.75	0.89	1.90	0.93	3.92	1.90	3.60
BS-FC-311	1.25	3.80	0.50	2.89	1.95	7.37	1.83	5.04
BS-FC-315	1.34	3.24	1.50	3.35	1.84	3.86	3.30	6.60
BS-FC-403	0.71	1.73	0.90	2.96	0.43	1.99	0.87	2.20
BS-FC-405	0.70	1.41	1.25	2.00	0.49	1.95	0.80	1.70
BS-FC-409	1.07	2.68	1.05	3.52	0.91	4.90	0.95	3.94
BS-FC-410	0.67	1.19	1.33	2.41	0.76	4.30	1.10	2.40
BS-FC-417	1.49	4.25	1.73	4.47	1.82	7.67	1.66	5.24
BS-FC-421	1.05	2.75	0.88	2.78	0.88	9.43	0.87	3.87

表 2 (续)

化合物	Hep-2		MGC-803		PC-3		SK-OV-3	
	IC50	IC90	IC50	IC90	IC50	IC90	IC50	IC90
FAN	3.60	10.04	1.08	6.42	4.08	7.64	3.61	14.49
BS-FC-102	3.99	11.05	1.71	4.95	3.17	5.85	1.92	8.07
BS-FC-104	3.18	10.22	1.36	4.28	2.50	5.51	1.88	3.79
BS-FC-204	3.18	8.31	2.94	8.50	3.80	6.39	12.23	16.00
BS-FC-208	3.27	8.05	1.49	5.98	3.07	5.91	3.77	7.85
BS-FC-213	3.63	9.90	1.49	6.02	3.24	7.37	5.00	11.78
BS-FC-216	3.69	7.88	2.72	3.98	3.95	7.45	6.19	11.23
BS-FC-220	4.20	10.27	1.40	3.96	4.55	7.61	5.41	14.25
BS-FC-221	1.90	5.78	1.19	3.93	3.00	5.46	2.38	3.94
BS-FC-304	4.95	12.24	1.87	10.25	4.02	10.50	6.45	15.38
BS-FC-308	3.08	6.05	0.57	1.99	2.40	3.49	1.31	1.93
BS-FC-311	1.64	4.85	1.40	4.79	3.08	8.39	2.87	3.96
BS-FC-315	3.66	6.40	1.21	3.02	2.95	5.02	2.99	6.81
BS-FC-403	1.76	5.66	0.40	4.14	1.49	3.96	1.03	3.85
BS-FC-405	1.67	4.81	0.88	3.59	2.53	3.69	1.54	3.50
BS-FC-409	1.79	5.54	0.94	16.00	2.89	5.80	2.82	9.85
BS-FC-410	2.25	8.00	0.49	3.21	2.85	3.89	1.39	5.59

BS-FC-417	2.36	6.03	1.49	12.89	3.68	9.36	4.60	12.91
BS-FC-421	1.92	8.95	0.84	4.44	2.72	6.07	2.36	11.01

实施例 9: 本发明汉防己乙素 7-位取代的衍生物 BS-FC-308 抗体内肿瘤的活性测定和毒性的初步测试

5 实验 9-1: BS-FC-308 对裸鼠肝癌移植瘤的抑制作用

(1) 实验材料:

肝癌细胞株: Hep G2 (人肝癌细胞株);

动物: BALB/c-nu 裸鼠 (免疫缺陷鼠), 8 周, 雌性, 购自中国科学院上海实验动物中心。

10 (2) 试剂:

BS-FC-308 (实验合成);

盐酸厄洛替尼 (山东淄博凯美远医药技术有限公司)

(3) 主要仪器:

细胞培养箱 (Thermo Scientific, 3111);

15 层流架 (苏杭实验动物设备厂, DJ-2)。

(4) 实验方法

20 无菌条件下分别收集对数生长期 Hep G2 细胞, 以 $2.3 \times 10^7 / 0.2 \text{ mL}$ / 只裸鼠的细胞量 (活细胞率 > 90%), 经皮下注射于裸鼠左腋下, 建立肝癌的裸鼠移植瘤模型。接种后第二天开始用药, 实验组按实验设计量灌胃, 阴性对照组用无菌水灌胃, 阳性对照以盐酸厄洛替尼灌胃, 每只鼠每次灌胃 0.4 mL, 每天用药 3 次, 用药时间为 8 点, 14 点, 20 点, 间隔时间为 6 小时, 连续用药 10 天。以用药前一天为第 0 天, 每 5 天测体重及瘤径, 做出体重及肿瘤生长动态图 (实验结果以 mean \pm SD 表示)。第 28 天解剖取出瘤体称重, 以对照组抑瘤率为 0, 计算出药物作用后的
25 肿瘤抑制率 (%)。

各组实验数据采用 SPSS 19.0 统计软件中的 One-way ANOVA 法分析, 与对照组比较具有差异显著性。

表 3 BS-FC-308 对裸鼠体重的影响

组别	剂量 (mg/kg/ 次)	动物数 (只)		体重 (g)	
		始	末	始	末
无菌水	--	3	3	22.4±0.21	21.4±0.91
盐酸厄洛替尼	20	3	3	21.4±0.26	20.4±1.72
BS-FC-308	35	3	3	21.8±0.62	19.0±0.49

表 4 BS-FC-308 对裸鼠 Hep G2 移植瘤的影响

组别	剂量 (mg/kg/次)	瘤块质量 (mg)	抑瘤
			率 (%)
无菌水	--	1281±353.53	--
盐酸厄洛替尼	20	839±270.62	34.5
BS-FC-308	35	566±112.26*	55.82

注：与对照组比较，*为 P<0.05

5

图 1 显示了 BS-FC-308 对裸鼠体重影响的动态曲线。

图 2 显示了 BS-FC-308 对裸鼠 Hep G2 移植瘤体积影响的动态曲线。

图 3 显示了 BS-FC-308 显著减小了裸鼠 Hep G2 移植瘤的重量。

图 4 显示了 BS-FC-308 对裸鼠 Hep G2 移植瘤重量的影响。

10

图 5 显示了 BS-FC-308 对裸鼠 Hep G2 移植瘤的抑制作用。

如上述表和图所示，在动物体内试验中，BS-FC-308 在剂量 35mg/kg/次下，一天三次的给药能够有效抑制肝癌细胞 Hep G2 移植瘤的生长，对肝癌抑瘤率达到 55.82%；给药期间，动物体重有降低，显示该化合物对动物有一定的毒副作用，但是停用后，动物体重会有所回升。

15

实验 9-2: BS-FC-308 对裸鼠白血病移植瘤的影响

(1) 实验材料:

白血病细胞株: KCL-22M (人慢性粒细胞白血病突变株)

动物: BALB/c-nu 裸鼠 (免疫缺陷鼠), 8 周, 雌性, 购自中国科学院上海实验动物中心。

(2) 试剂:

BS-FC-308 (实验合成)。

5 (3) 主要仪器:

细胞培养箱 (Thermo Scientific, 3111);

层流架 (苏杭实验动物设备厂, DJ-2)。

(4) 实验方法

10 无菌条件下分别收集对数生长期 KCL-22M 细胞, 以 $1 \times 10^7/0.2\text{ml}$ 只裸鼠的细胞量 (活细胞率 >90%), 经皮下注射于裸鼠左腋下, 建立白血病的裸鼠移植瘤模型。接种后第二天开始用药, 实验组按实验设计量灌胃, 阴性对照组用无菌水灌胃, 每只鼠每次灌胃 0.4 mL, 每天用药 3 次, 用药时间为上午 8 点, 14 点, 20 点, 连续用药 10 天。以用药前一天为第 0 天, 每 5 天测体重及瘤径, 做出体重及肿瘤生长动态图 (实验
15 结果以 mean 士 SD 表示)。第 25 天解剖取出瘤体称重, 以对照组抑瘤率为 0, 计算出药物作用后的肿瘤抑制率 (%)。

各组实验数据采用 SPSS 19.0 统计软件中的 One-way ANOVA 法分析, 与对照组比较具有差异显著性。

20

表 5 BS-FC-308 对裸鼠体重的影响

组别瘤块	剂量 (mg/kg/ 次)	动物数 (只)		体重 (g)	
		始	末	始	末
无菌水	--	3	3	20.2±0.2	18.9±2.07
BS-FC-308	30	3	3	19.5±0.2	15.4±1.51

表 6 BS-FC-308 对裸鼠 KCL-22M 移植瘤的影响

组别	剂量 (mg/kg/ 次)	瘤块质量 (g)	抑瘤 率 (%)
Control	--	2037.7±964.58	--
BS-FC-308	30	520.7±248.54*	74.45

注: 与对照组比较, *为 P<0.05

图 6 显示了 BS-FC-308 对裸鼠体重影响的动态曲线

图 7 显示了 BS-FC-308 对裸鼠 KCL-22M 移植瘤体积影响的动态曲线。

图 8 显示了 BS-FC-308 对裸鼠 KCL-22M 移植瘤大小的影响。

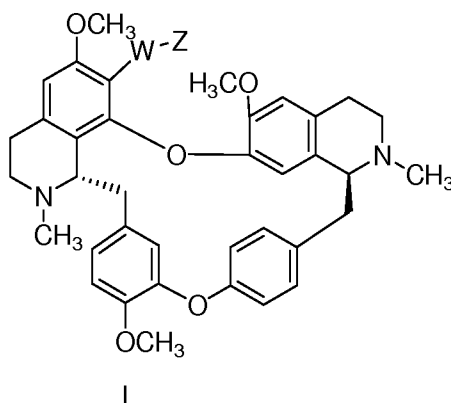
5 图 9 显示了 BS-FC-308 对裸鼠 KCL-22M 移植瘤重量的影响。

图 10 显示了 BS-FC-308 对裸鼠 KCL-22M 移植瘤的抑制作用。

如上表和图所示，在体内试验中，本实验检测了 BS-FC-308 所用剂量 30 mg/kg/次的剂量下，一天三次的给药能够有效抑制白血病细胞
10 KCL-22M 移植瘤的生长，抑瘤率达到 74.45%。给药期间，动物体重有降低，显示该化合物对动物有一定的毒副作用，但是停用后，动物体重会有所回升。

权 利 要 求 书

1. 通式(I)的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，



其中，W 为 $-OCHR_1-$ 、 $-OSO_2-$ 、 $-OC(O)-$ ；

Z 选自氢、任选由取代基取代的 C_1-C_6 烷基、任选由取代基取代的 C_2-C_6 烯基、任选由取代基取代的 C_3-C_7 环烷基或环烯基、任选由取代基取代的杂环基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基、 $R_2R_3NCH_2CH(OH)-$ 、或者 Z 与 R_1 以及它们连接的碳原子一起形成任选由取代基取代的 C_3-C_7 环烷基；

R_1 为氢或与 Z 以及它们连接的碳原子一起形成任选由取代基取代的 C_3-C_7 环烷基；

R_2 和 R_3 独立地为氢，任选地由羟基、 C_1-C_6 烷基氧基、卤素、 C_3-C_7 环烷基或环烯基、芳基或杂芳基取代的 C_1-C_6 烷基， C_2-C_6 烯基，或者 R_2 和 R_3 以及它们所连接的氮原子一起形成 3-7 元含氮杂环；所述含氮杂环任选地含有选自氧、硫和氮的另外的杂原子，且任选地被取代基取代；

其中所述取代基选自卤素、氨基、 C_1-C_6 烷基氨基、二 (C_1-C_6 烷基) 氨基、硝基、氰基、羟基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷氧基、巯基、 C_1-C_6 烷硫基；对于所述芳基、杂芳基、 C_3-C_7 环烷基或环烯基、杂环基和含氮杂环基而言所述取代基还选自 C_1-C_6 烷基、羟基 C_1-C_6 烷基和 C_1-C_6 卤代烷基；

其中当 W 为 $-OCH_2-$ 时，Z 不为乙基、正丙基或异丙基；当 W 为 $-OC(O)-$

时，Z 不为乙基或丙基。

2. 根据权利要求 1 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，

其中 W 为 $-\text{OSO}_2-$ ；Z 选自氢、任选由取代基取代的 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、任选由取代基取代的 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基、任选由取代基取代的 $\text{C}_3\text{-C}_7$ 环烷基或环烯基、任选由取代基取代的杂环基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基；

其中所述取代基选自卤素、氨基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基氨基、二 ($\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基) 氨基、硝基、氰基、羟基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷氧基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 卤代烷氧基、巯基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷硫基；对于所述芳基、杂芳基、 $\text{C}_3\text{-C}_7$ 环烷基或环烯基、杂环基而言所述取代基还选自 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、羟基 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基和 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 卤代烷基。

3. 根据权利要求 2 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 Z 选自任选由取代基取代的 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基；

其中所述取代基选自卤素、氨基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基氨基、二 ($\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基) 氨基、硝基、氰基、羟基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷氧基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 卤代烷氧基、巯基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷硫基；对于所述芳基、杂芳基而言所述取代基还选自 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、羟基 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基和 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 卤代烷基。

4. 根据权利要求 3 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 Z 选自任选由取代基取代的 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、任选由取代基取代的苯基；

其中所述取代基选自卤素、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷氧基和 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 卤代烷氧基；所述苯基还可以被选自 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、羟基 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基和 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 卤代烷基的取代基取代。

5. 根据权利要求 5 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 Z 为任选由 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基取代的苯基。

6. 根据权利要求 1 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中

W 为 $-\text{OCH}_2-$ ；

Z 选自任选由取代基取代的 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、任选由取代基取代的 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基、

任选由取代基取代的 C₃-C₇ 环烷基或环烯基、任选由取代基取代的杂环基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基、R₂R₃NCH₂CH(OH)-;

R₂ 和 R₃ 独立地为氢，任选地由羟基、C₁-C₆ 烷基氧基、卤素、C₃-C₇ 环烷基或环烯基、芳基或杂芳基取代的 C₁-C₆ 烷基，C₂-C₆ 烯基，或者 R₂ 和 R₃ 以及它们所连接的氮原子一起形成 3-7 元含氮杂环；所述含氮杂环任选地含有选自氧、硫和氮的另外的杂原子，且任选地被取代基取代；其中，所述取代基选自卤素、氨基、C₁-C₆ 烷基氨基、二(C₁-C₆ 烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、巯基、C₁-C₆ 烷硫基；对于所述芳基、杂芳基、C₃-C₇ 环烷基或环烯基、杂环基和含氮杂环基而言所述取代基还选自 C₁-C₆ 烷基、羟基 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷基。

7. 根据权利要求 6 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 Z 选自任选由取代基取代的芳基或杂芳基；所述取代基选自卤素、氨基、C₁-C₆ 烷基氨基、二(C₁-C₆ 烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、巯基、C₁-C₆ 烷硫基、C₁-C₆ 烷基、羟基 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷基。

8. 根据权利要求 7 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 Z 选自任选由卤素、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 卤代烷基、C₁-C₆ 烷氧基、羟基 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷氧基的取代基取代的苯基。

9. 根据权利要求 6 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 Z 为 R₂R₃NCH₂CH(OH)-;

R₂ 和 R₃ 独立地为氢，任选地由羟基、C₁-C₆ 烷基氧基、卤素、C₃-C₇ 环烷基或环烯基、芳基或杂芳基取代的 C₁-C₆ 烷基，C₂-C₆ 烯基，或者 R₂ 和 R₃ 以及它们所连接的氮原子一起形成 3-7 元含氮杂环；所述含氮杂环任选地含有选自氧、硫和氮的另外的杂原子，且任选地被取代基取代；其中，所述取代基选自卤素、氨基、C₁-C₆ 烷基氨基、二(C₁-C₆ 烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、巯基、C₁-C₆ 烷硫基、C₁-C₆ 烷基、羟基 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷基。

10. 根据权利要求 9 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可

接受的盐，其中所述含氮杂环为哌啶子基、哌嗪基、吗啉基、噻嗪基、吡咯烷基、噁唑烷基或噻唑烷基，任选地所述基团由选自卤素、氨基、 C_1-C_6 烷基氨基、二(C_1-C_6 烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷氧基、巯基、 C_1-C_6 烷硫基、 C_1-C_6 烷基、羟基 C_1-C_6 烷基和 C_1-C_6 卤代烷基的基团取代。

11. 根据权利要求 10 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述含氮杂环为任选由 C_1-C_6 烷基取代的哌啶子基、 C_1-C_6 烷基取代的噻嗪基、任选 N-氰基取代的哌嗪基。

12. 根据权利要求 9 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述 R_2 和 R_3 独立地为氢、甲基、乙基、羟乙基、环丙基甲基、烯丙基、甲氧基丙基、呋喃甲基。

13. 根据权利要求 6 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 Z 为 C_2-C_6 烯基或 C_3-C_7 环烷基或环烯基。

14. 根据权利要求 13 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 Z 为乙烯基、1-甲基乙烯基或环丙基。

15. 根据权利要求 1 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中

W 为 $-OCHR_1-$ ，Z 与 R_1 以及它们连接的碳原子一起形成任选由取代基取代的 C_3-C_7 环烷基，其中所述取代基选自卤素、氨基、 C_1-C_6 烷基氨基、二(C_1-C_6 烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷氧基、巯基、 C_1-C_6 烷硫基、 C_1-C_6 烷基、羟基 C_1-C_6 烷基和 C_1-C_6 卤代烷基。

16. 根据权利要求 13 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中所述 Z 与 R_1 以及它们连接的碳原子一起形成环戊基或环己基。

17. 根据权利要求 1 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，

其中，W 为 $-OC(O)-$ ；

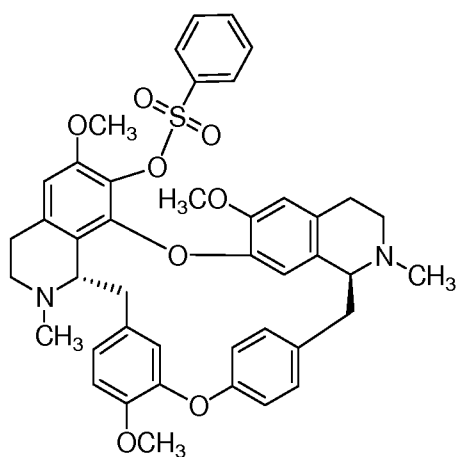
Z 选自任选由取代基取代的 C_1-C_6 烷基、任选由取代基取代的 C_2-C_6 烯基、

任选由取代基取代的 C₃-C₇ 环烷基或环烯基、任选由取代基取代的杂环基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基；

其中所述取代基选自卤素、氨基、C₁-C₆ 烷基氨基、二(C₁-C₆ 烷基)氨基、硝基、氰基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、巯基、C₁-C₆ 烷硫基；对于所述芳基、杂芳基、C₃-C₇ 环烷基或环烯基和杂环基而言所述取代基还选自 C₁-C₆ 烷基、羟基 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷基

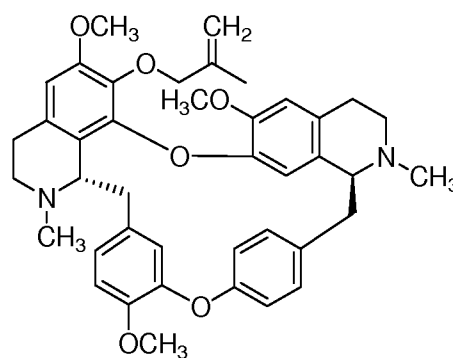
18. 根据权利要求 1 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，其中 Z 为苯基、吡啶基、吡嗪基，各自任选地被选自甲基、乙基、异丙基、氨基、甲基氨基、二甲氨基、二乙基氨基、甲氧基、三氟甲氧基、卤素的取代基所取代。

19. 根据权利要求 1 的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐，选自下述化合物：



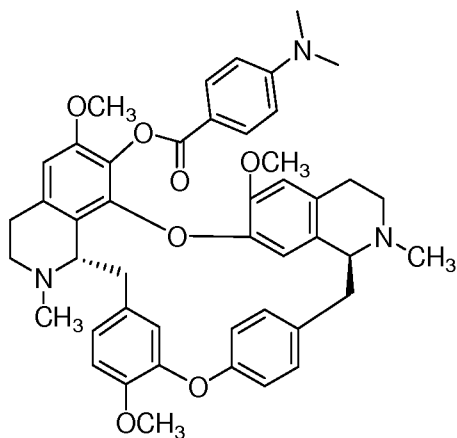
BS-FC-104

7-苯磺酸基-汉防己乙素



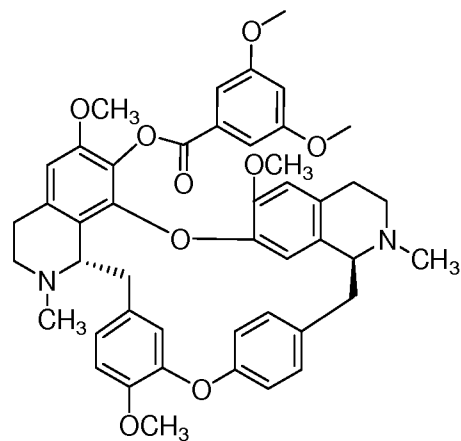
BS-FC-221

7-异丁烯氧基-汉防己乙素



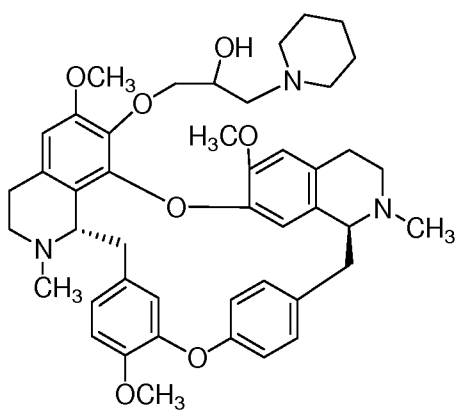
BS-FC-308

7-(N,N-二甲氨基-苯甲酰氧基)-汉防己乙素



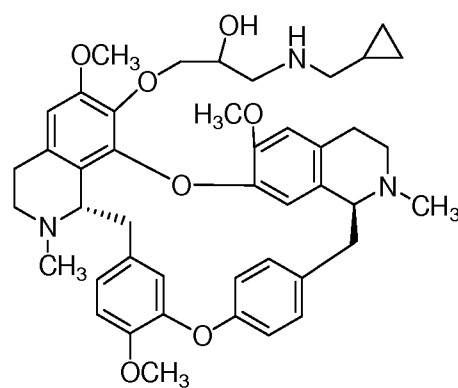
BS-FC-311

7-(3,5-二甲氧基-苯甲酰氧基)-汉防己乙素



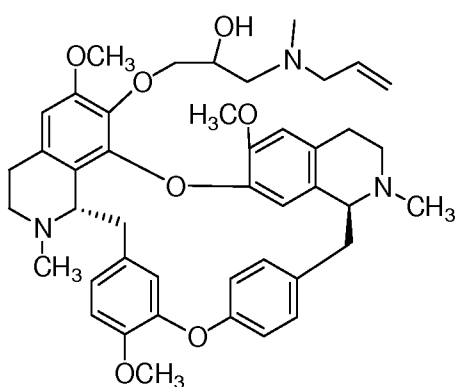
BS-FC-403

7-(1-哌啶基-2-羟基-丙氧基)-汉防己乙素



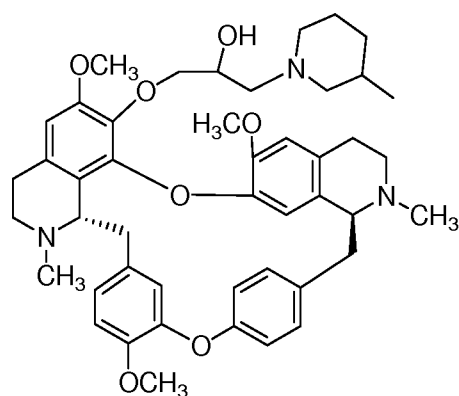
BS-FC-405

7-(1-环丙甲胺基-2-羟基-丙氧基)-汉防己乙素



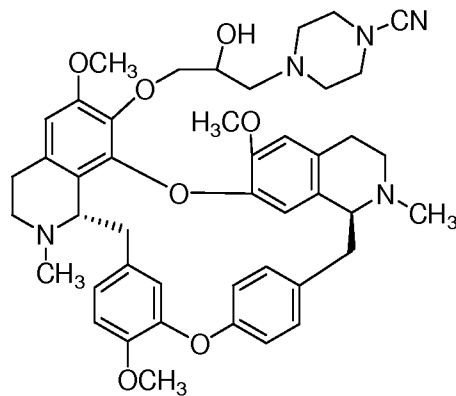
BS-FC-409

7-(1-N-烯丙基甲胺基-2-羟基-丙氧基)-汉防己乙素



BS-FC-410

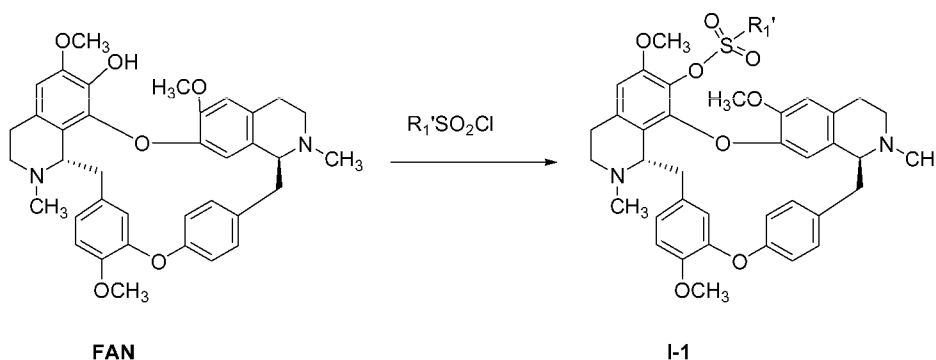
7-(1-(3-甲基)哌啶基-2-羟基-丙氧基)-汉防己乙素



BS-FC-421

7-(1-N-氰基哌嗪基-2-羟基-丙氧基)-汉防己乙素

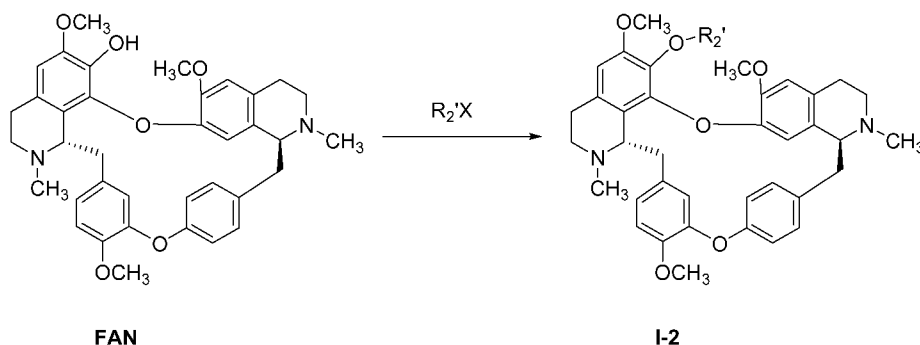
20. 制备式 (I) 7-位取代的汉防己乙素衍生物的方法,



FAN

I-1

式 (I-1) 的 7-位取代汉防己乙素衍生物由汉防己乙素 (FAN) 与相应的烷基或芳香族磺酰氯 ($R_1'SO_2Cl$) 在有碱的存在下, 于室温下反应生成, 其中 R_1' 选自氢、任选由取代基取代的 C_1-C_6 烷基、任选由取代基取代的 C_2-C_6 烯基、任选由取代基取代的 C_3-C_7 环烷基或环烯基、任选由取代基取代的杂环基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基, 所述取代基如权利要求 1 所定义;

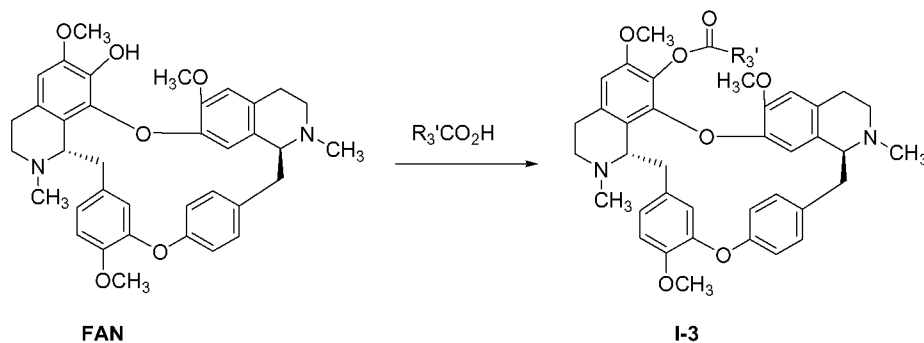


FAN

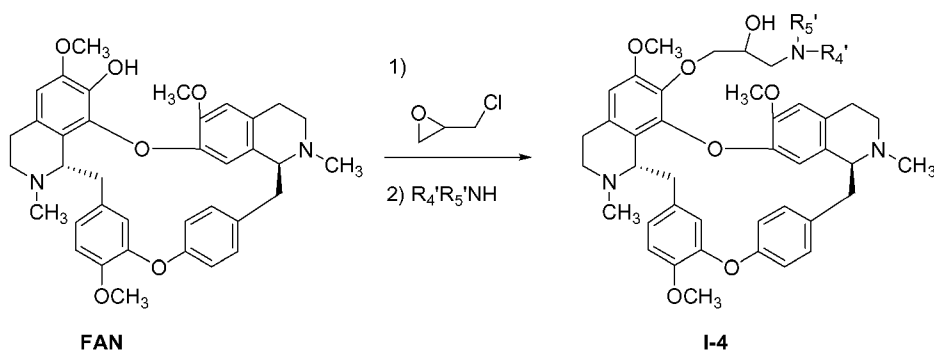
I-2

式 (I-2) 的 7-位取代汉防己乙素衍生物由汉防己乙素 (FAN) 先与强碱反应, 再与相应的卤代烃 ($R_2'X$) 在有碱的存在下, 于室温或加热

条件下反应生成，其中 R_2' 为 $-CHR_1Z$ ， R_1 和 Z 如权利要求 1 中所定义，但 Z 不为 $R_2R_3NCH_2CH(OH)-$ ；



式 (I-3) 的 7-位取代汉防己乙素衍生物由汉防己乙素 (FAN) 与相应的有机酸 ($R_3'CO_2H$) 在有缩合剂和碱的存在下，于室温下反应生成，其中 R_3' 为任选由取代基取代的 C_1-C_6 烷基、任选由取代基取代的 C_2-C_6 烯基、任选由取代基取代的 C_3-C_7 环烷基或环烯基、任选由取代基取代的杂环基、任选由取代基取代的芳基或杂芳基，所述取代基如权利要求 1 所定义；



式 (I-4) 的 7-位取代汉防己乙素衍生物可由两步反应制取：先由汉防己乙素与叔丁醇钾和氯甲基环氧丙烷反应生成中间体，再由此中间体与相应的有机胺反应即得产物，其中 R_4' 和 R_5' 如权利要求 1 中对 R_2 和 R_3 的定义。

21. 一种药物组合物，其中包含权利要求 1-19 中任一项的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐和任选的药学上可以接受的赋形剂。

22. 权利要求 1-19 中的任一项的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐在制备抗肿瘤药物中的用途。

23. 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根据权利要求 1-19 任一项的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐。

24. 作为抗肿瘤治疗剂的权利要求 1-9 任一项的 7-位取代的汉防己乙素衍生物或其药学上可接受的盐。

25. 根据权利要求 22、23 或 24 的用途、方法或 7-位取代的汉防己乙素衍生物，其中，所述肿瘤选自白血病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、肝癌、胃癌、乳腺癌、胆管细胞癌、胰腺癌、肺癌、大肠癌、骨肉瘤、人宫颈癌、神经胶质瘤、鼻咽癌、喉癌、食管癌、中耳肿瘤、黑色素瘤和前列腺癌。

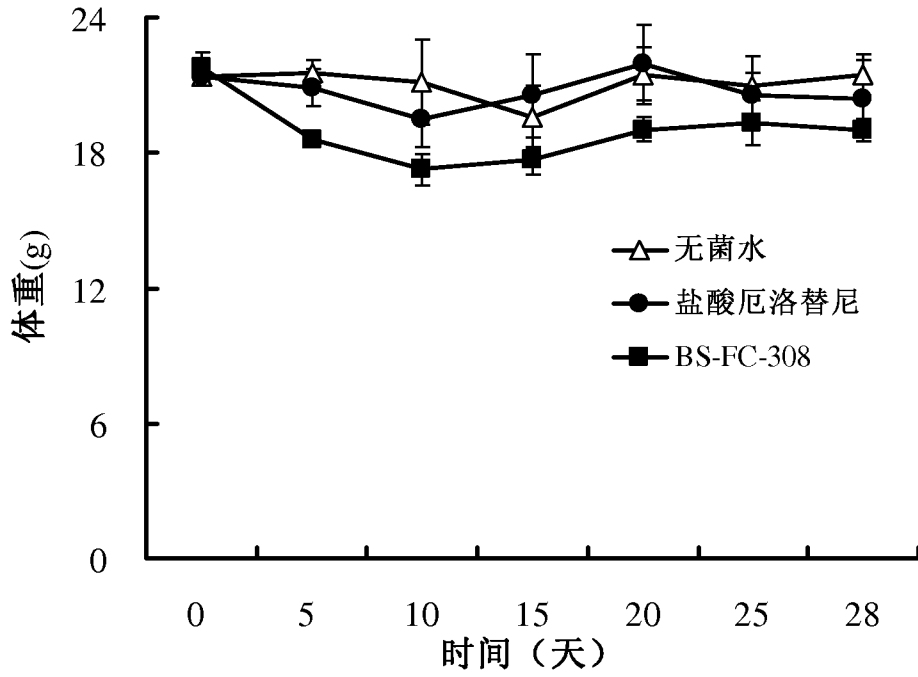


图 1

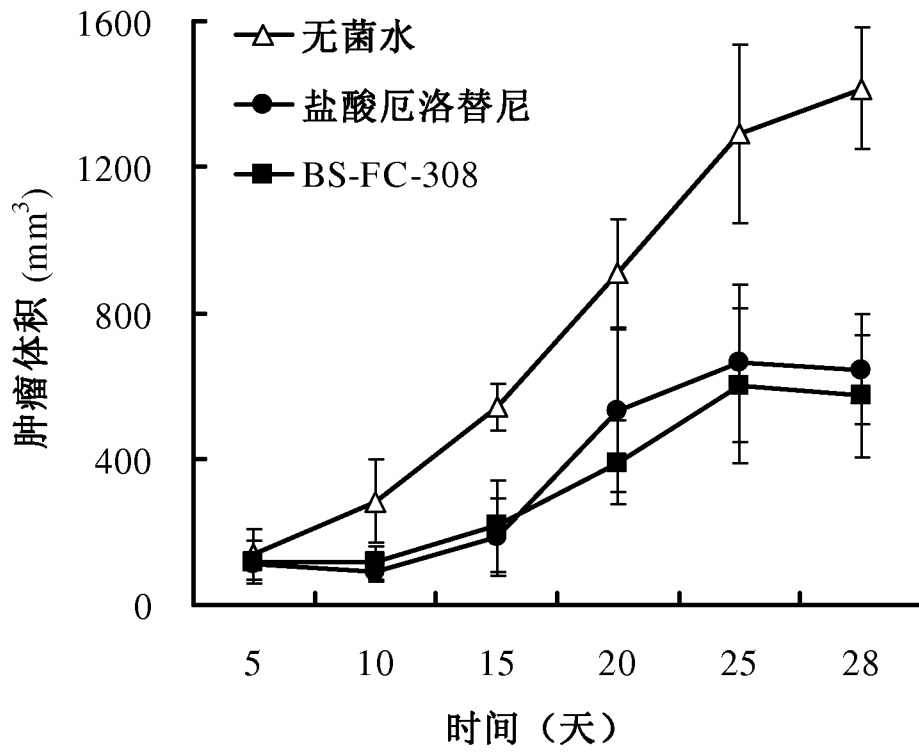


图 2

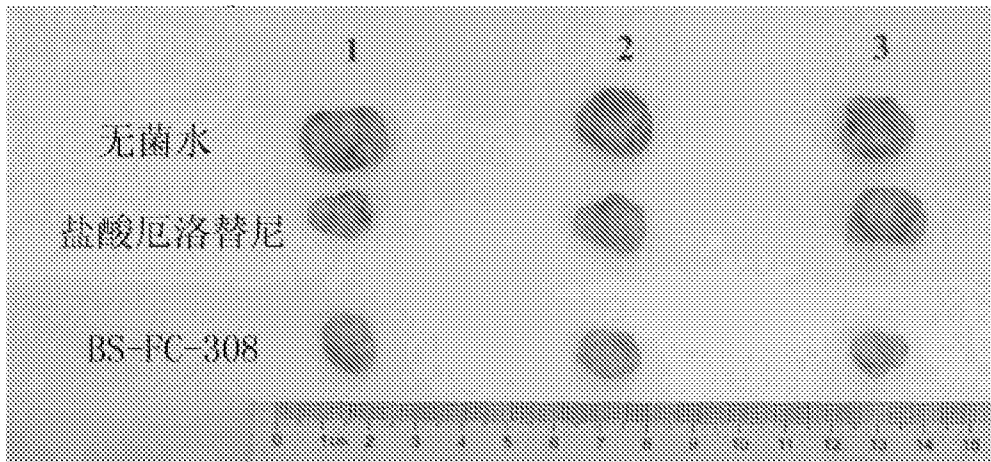
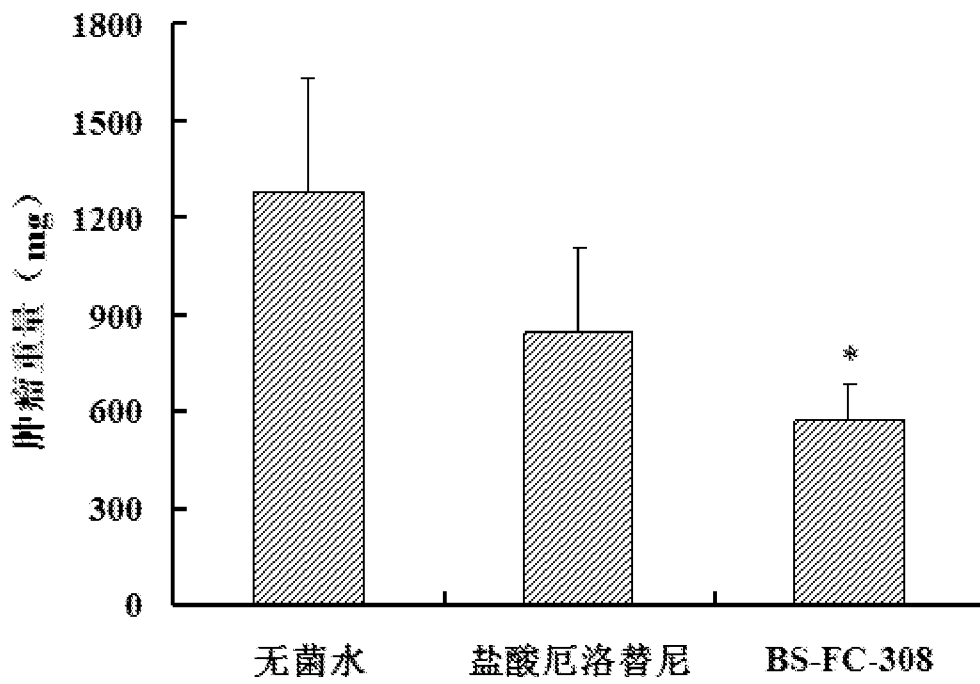


图 3



注：与对照组比较，*为 $P < 0.05$

图 4

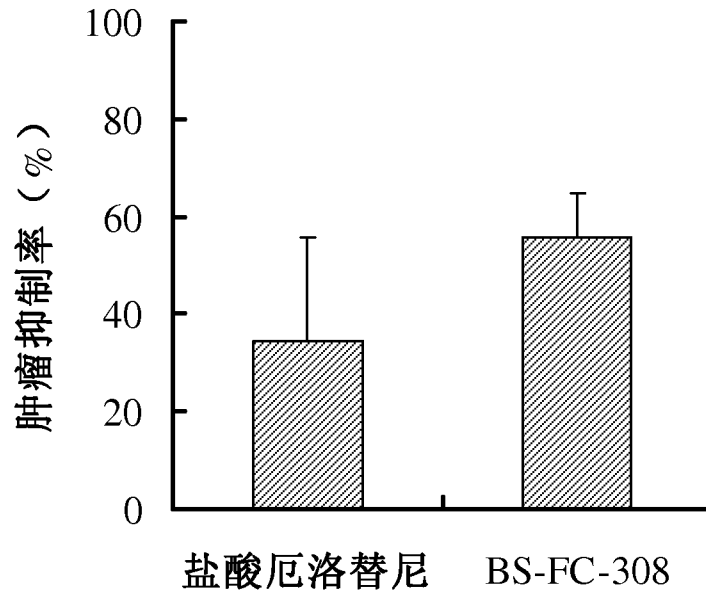


图 5

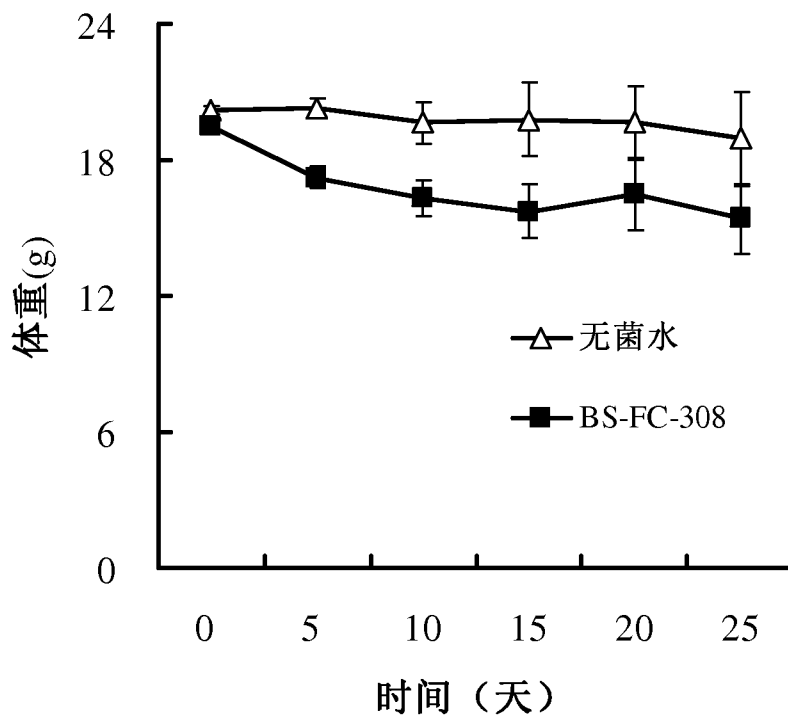


图 6

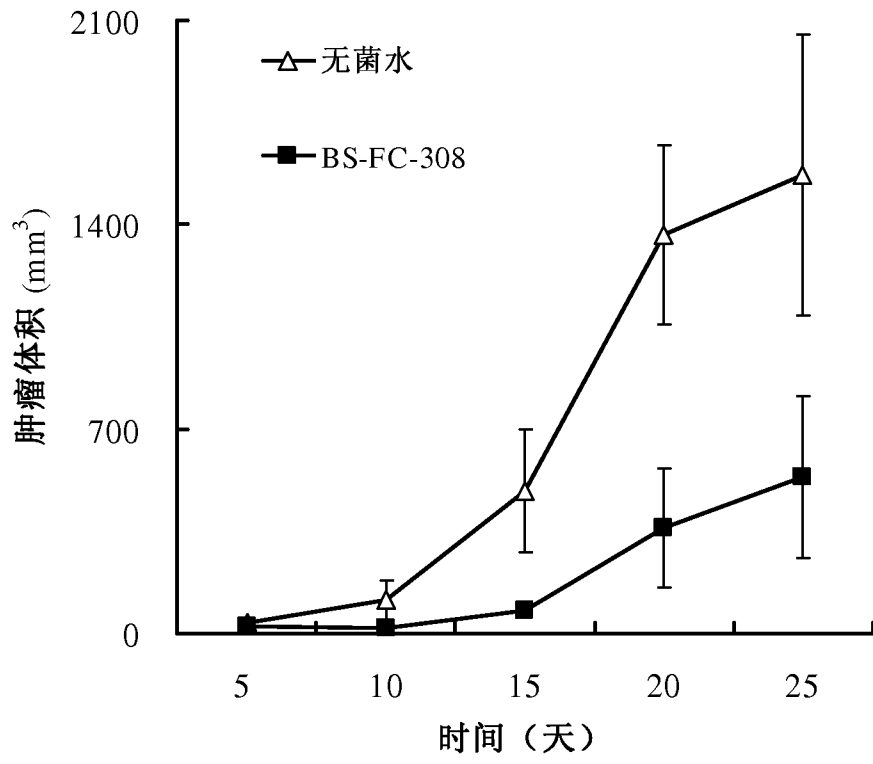


图 7

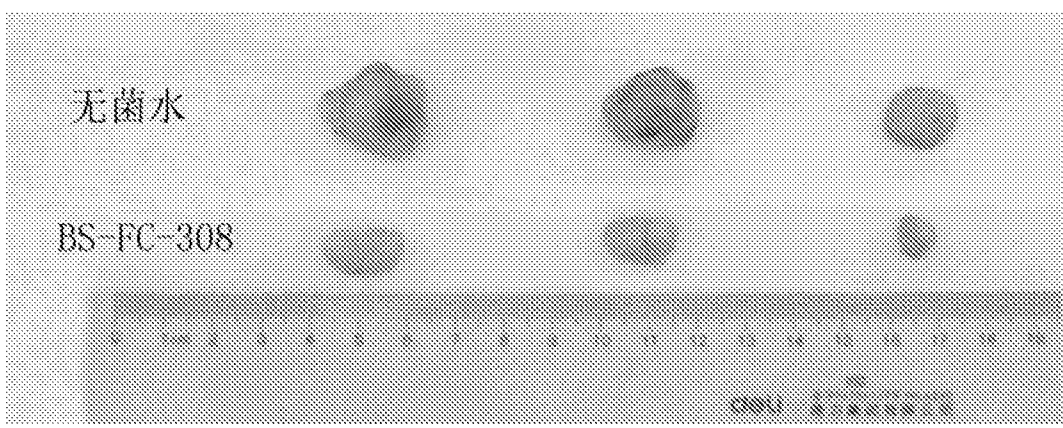


图 8

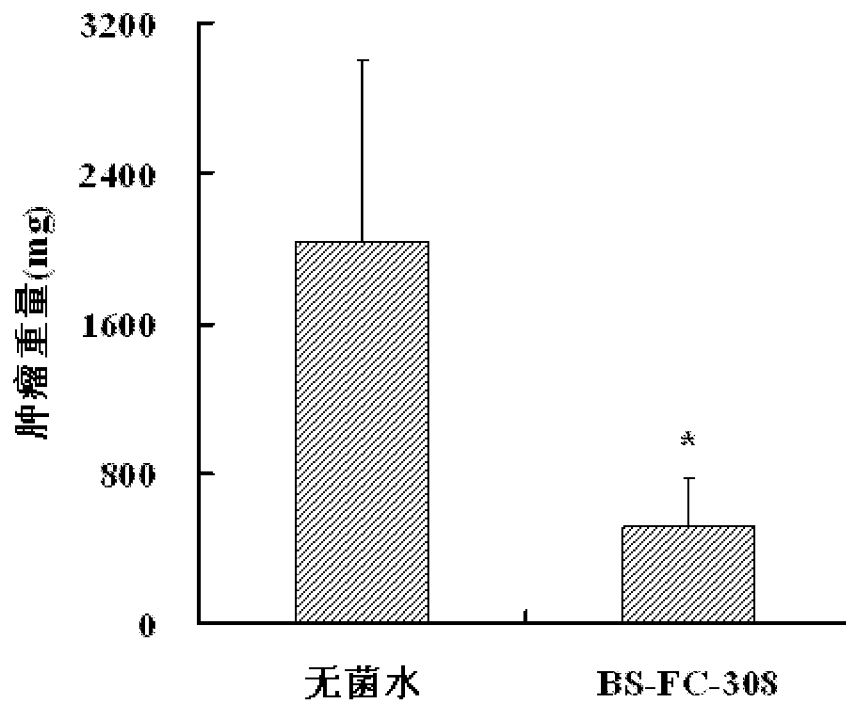


图 9

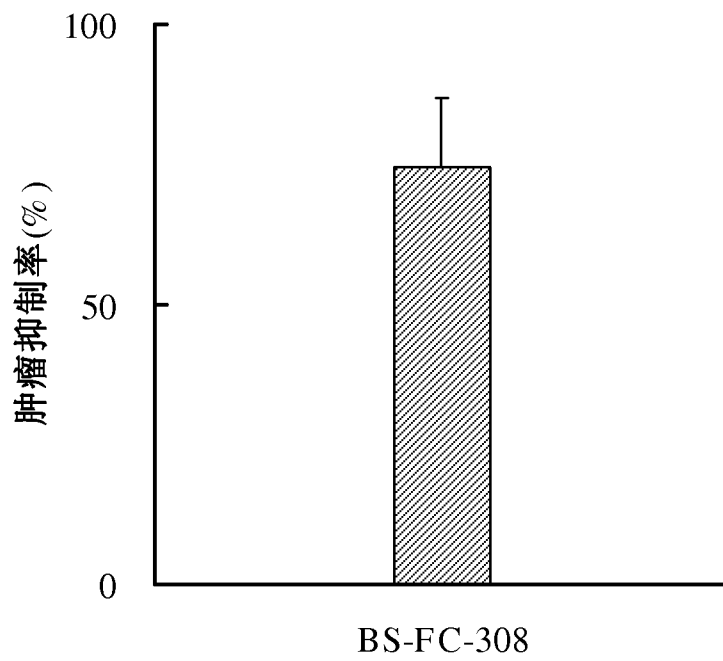


图 10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2013/070800

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See the extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07491/-, A61P 35/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNPAT, CNKI, WPI, EPODOC, REG, CAPLUS: bisbenzylisoquinoline, +isoquinoline, fangchinoline, fangchinokine, tetrandrine, structure search based on formula I

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2134382 A (KAKEN SHOYAKU KK), 23 May 1990 (23.05.1990), see general formula (I) compound, claims 1 and 2, preparation example 2, embodiments, and compounds 4 and 6	1, 6-8, 13-17, 19-25
A		9-12
X	CN 1511527 A (PEKING UNIVERSITY FIRST HOSPITAL), 14 July 2004 (14.07.2004), see abstract, claims, description, background art, and embodiments	1, 21-25
X	KAWASHIMA, K. et al., "Structure and hypotensive activity relationships of tetrandrine derivatives in stroke-prone spontaneously hypertensive rats", GENERAL PHARMACOLOGY, 1990, vol. 21, no. 3: pages 343-347, see figure 1, compound TD, compounds 8, 9, and 14	1, 17, 21, 24

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
01 April 2013 (01.04.2013)

Date of mailing of the international search report
25 April 2013 (25.04.2013)

Name and mailing address of the ISA/CN:
State Intellectual Property Office of the P. R. China
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao
Haidian District, Beijing 100088, China
Facsimile No.: (86-10) 62019451

Authorized officer
XU, Chi
Telephone No.: (86-10) **62086349**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2013/070800**C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 62207216 A (TSUMURA JUNTENDO KK), 11 September 1987 (11.09.1987), see particular embodiment 9, and table 1	1, 17, 20-21, 24
Y	CN 1293196 A (INSTITUTE OF MATERIA MEDICA, HUAXI MEDICAL UNIVERSITY), 02 May 2001 (02.05.2001), see claims, and embodiments	20
A		9-12
X	CN 101371839 A (INSTITUTE OF CHEMISTRY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES), 25 February 2009 (25.02.2009), see claims, and embodiments	1-5, 17-19, 21-25
Y		20
A		9-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2013/070800

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 23, 25 (partial)
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
claims 23 and 25 (partial) relate to a method of treatment of the human or animal body by therapy (PCT Rule 39.1(iv));
however, the search is still made on the basis of the technical subject matter of the usage of said compound or pharmaceutically acceptable salt thereof in preparing drugs for treating tumour.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2013/070800

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
JP 2134382 A	23.05.1990	None	
CN 1511527 A	14.07.2004	None	
JP 62207216 A	11.09.1987	JP 6078232 B	05.10.1994
CN 1293196 A	02.05.2001	CN 1111160 C	11.06.2003
CN 101371839 A	25.02.2009	CN 101371839 B	03.11.2010

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2013/070800

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

C07D 491/18 (2006.01) i

A61K 31/4748 (2006.01) i

A61P 35/00 (2006.01) i

A. 主题的分类		
参见附加页		
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类		
B. 检索领域		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
IPC: C07491/-, A61P35/-		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))		
CNPAT, CNKI, WPI, EPODOC, REG, CAPLUS, 汉防己甲素, 汉防己乙素, 粉防己碱, 防己诺啉碱, 双苄基异喹啉, 异喹啉, bisbenzylisoquinoline, +isoquinoline, fangchinoline, fangchinokine, tetrandrine, 根据式 I 进行了结构式检索		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	JP2134382 A (KAKEN SHOYAKU KK) 23.5 月 1990 (23.05.1990), 参见通式(I)化合物, 权利要求 1-2, 制备例 2, 实施例, 化合物 4 和 6	1, 6-8, 13-17, 19-25
A		9-12
X	CN1511527 A (北京大学第一医院) 14.7 月 2004 (14.07.2004), 参见摘要, 权利要求, 说明书背景技术, 实施例	1, 21-25
X	KAWASHIMA, Koichiro 等, "Structure and hypotensive activity relationships of tetrandrine derivatives in stroke-prone spontaneously hypertensive rats", General Pharmacology, 1990, 第 21 卷, 第 3 期: 343-347 页, 参见图 1, 化合物 TD, 化合物 8-9 和 14	1, 17, 21, 24
<input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在 C 栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型:		"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件
"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件		"X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性
"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利		"Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性
"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)		"&" 同族专利的文件
"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件		
"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件		
国际检索实际完成的日期 01.4 月 2013 (01.04.2013)	国际检索报告邮寄日期 25.4 月 2013 (25.04.2013)	
ISA/CN 的名称和邮寄地址: 中华人民共和国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088 传真号: (86-10)62019451	受权官员 徐赤 电话号码: (86-10) 62086349	

C(续). 相关文件		
类 型	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	JP62207216 A (TSUMURA JUNTENDO KK) 11.9 月 1987 (11.09.1987), 参见具体例 9, 表 1	1, 17, 20-21, 24
Y	CN1293196 A (华西医科大学药物研究所) 02.5 月 2001 (02.05.2001), 参见权利要求, 实施例	20
A		9-12
X	CN101371839 A (中国科学院化学研究所) 25.2 月 2009 (25.02.2009), 参见权利要求, 实施例	1-5, 17-19, 21-25
Y		20
A		9-12

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a), 对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下:

1. 权利要求: 23, 25 (部分)

因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题, 即:

权利要求 23 和 25 (部分)涉及对人体或动物体实施的治疗方法(细则 39.1(iv) PCT)。尽管如此, 仍基于所述化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗肿瘤药物中的用途的技术主题进行了检索。

2. 权利要求:

因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分, 以致不能进行任何有意义的国际检索, 具体地说:

3. 权利要求:

因为它们是从属权利要求, 并且没有按照细则 6.4(a)第 2 句和第 3 句的要求撰写。

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明, 即:

1. 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费, 本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。

2. 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索, 本单位未通知缴纳任何附加费。

3. 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费, 本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求。具体地说, 是权利要求:

4. 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此, 本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明; 包含该发明的权利要求是:

关于异议的说明: 申请人缴纳了附加检索费, 同时提交了异议书, 适用时, 缴纳了异议费。

申请人缴纳了附加检索费, 同时提交了异议书, 但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。

缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2013/070800

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
JP2134382 A	23.05.1990	无	
CN1511527 A	14.07.2004	无	
JP62207216 A	11.09.1987	JP6078232 B	05.10.1994
CN1293196 A	02.05.2001	CN1111160 C	11.06.2003
CN101371839 A	25.02.2009	CN101371839 B	03.11.2010

A. 主题的分类

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

C07D491/18 (2006.01) i

A61K31/4748 (2006.01) i

A61P35/00 (2006.01) i