

一种藤黄酸衍生物及其制备方法和在制药中的应用

申请号：[200610088253.4](#)

申请日：2006-07-06

申请(专利权)人 [中国药科大学](#)

地址 [210009江苏省南京市童家巷24号](#)

发明(设计)人 [王进欣](#) [尤启冬](#) [郭青龙](#)

主分类号 [C07D493/20\(2006.01\)I](#)

分类号 [C07D493/20\(2006.01\)I](#) [C07D493/18\(2006.01\)I](#)
[C07D498/22\(2006.01\)I](#) [A61K31/352\(2006.01\)I](#)
[A61K31/4245\(2006.01\)I](#) [A61P35/00\(2006.01\)I](#)

公开(公告)号 [1927862A](#)

公开(公告)日 [2007-03-14](#)

专利代理机构 [南京天华专利代理有限责任公司](#)

代理人 [徐冬涛](#) [刘成群](#)

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发 明 专 利 说 明 书

专利号 ZL 200610088253.4

[51] Int. Cl.

C07D 493/20 (2006.01)

C07D 493/18 (2006.01)

C07D 498/22 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)

A61K 31/4245 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2009 年 11 月 11 日

[11] 授权公告号 CN 100558730C

[22] 申请日 2006.7.6

[21] 申请号 200610088253.4

[73] 专利权人 中国药科大学

地址 210009 江苏省南京市童家巷 24 号

[72] 发明人 王进欣 尤启冬 郭青龙

[56] 参考文献

US20030078292A1 2003.4.24

CN1535972A 2004.10.13

CN1309125A 2001.8.22

CN1563014A 2005.1.12

CN1715283A 2006.1.4

Cytotoxic Caged Tetraprenylated Xanthonoids from *Garciniagaudichaudii* (Guttiferae). Shu. Geng Cao et. al. Tetrahedron Letters, Vol. 39. 1998

Cytotoxic Xanthonones From *Garcinia Hanburyi*. Jun Asano et. al. Phytochemistry, Vol. 41 No. 3. 1996

藤黄酸衍生物的研究. 冯锋等. 中国药科大学学报, 第 36 卷第 4 期. 2005

审查员 蒋世超

[74] 专利代理机构 南京天华专利代理有限责任公司

代理人 徐冬涛 刘成群

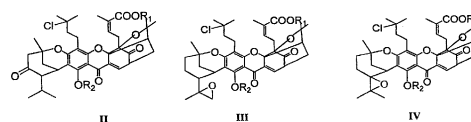
权利要求书 3 页 说明书 14 页

[54] 发明名称

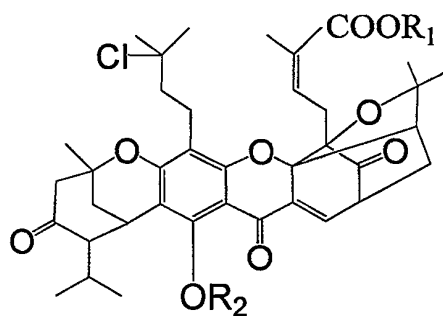
一种藤黄酸衍生物及其制备方法和在制药中的应用

[57] 摘要

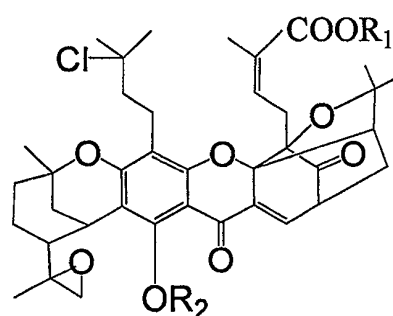
本发明公开了一种藤黄酸衍生物及其制备方法和在制药中的应用。该藤黄酸衍生物的结构式为通式(II)、(III)或(IV), 其中 R_1 、 R_2 相同或不同, 各自独立代表 H、烷基。该藤黄酸衍生物具有抗肿瘤作用, 可用于制备抗肿瘤药物。



1、一种藤黄酸衍生物，其结构式为通式(II)或(III)：



II



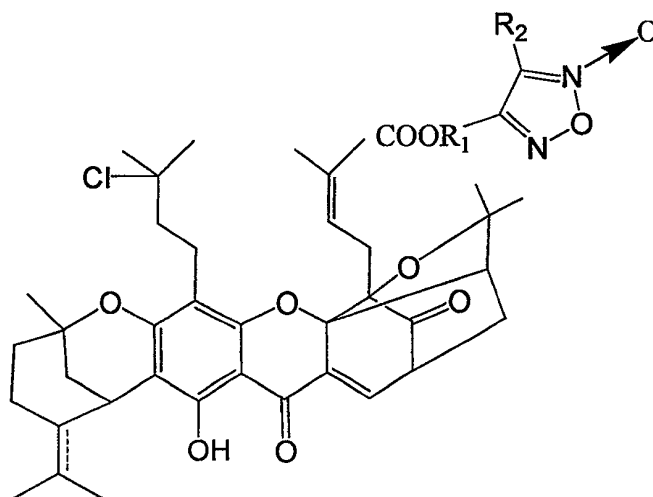
III

其中 R₁、R₂ 相同或不同，各自独立代表 H 或烃基，所述烃基为 C₁₋₅ 的饱和烷基或 C₂₋₅ 的不饱和烃基。

2、根据权利要求1所述的藤黄酸衍生物，其特征在于R₁、R₂各自独立代表的C₁₋₅饱和烷基是甲基，乙基，或者具有光学活性或无光学活性的直链丙基、异丙基、直链丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、直链戊基或新戊基；R₁、R₂各自独立代表的C₂₋₅不饱和烃基是烯丙基、丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、异戊烯基或2-戊烯基。

3、根据权利要求2所述的藤黄酸衍生物，其特征在于： R_1 、 R_2 各自独立代表甲基、乙基或烯丙基。

4、一种藤黄酸衍生物，其特征在于该衍生物是式(V)所示的化合物：



(V)

其中：

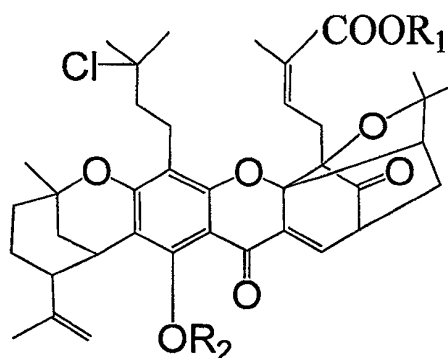
R_1 代表 $-(CH_2)_2O-$, R_2 代表苯磺酰基, (37, 38) 位虚划线部分代表烯键。

5、权利要求 1 所述藤黄酸衍生物的制备方法, 其特征在于其制备步骤如下:

i) 以通式 (D) 化合物为起始原料, 与二氧化硒和过氧叔丁醇在二氯甲烷或三氯甲烷中反应, 得到通式 (II) 化合物; 或者

ii) 以通式 (D) 化合物为起始原料, 与间氯过氧苯甲酸在二氯甲烷或三氯甲烷中反应, 得到通式 (III) 化合物;

其中, 通式 (D) 化合物是 6 位、30 位取代的氯化转位藤黄酸衍生物或氯化转位藤黄酸,



(D)

通式 (D) 中 R_1 和 R_2 相同或不同, 各自独立代表 H 或烃基, 所述烃基为 C_{1-5} 的饱和烷基或 C_{2-5} 的不饱和烃基。

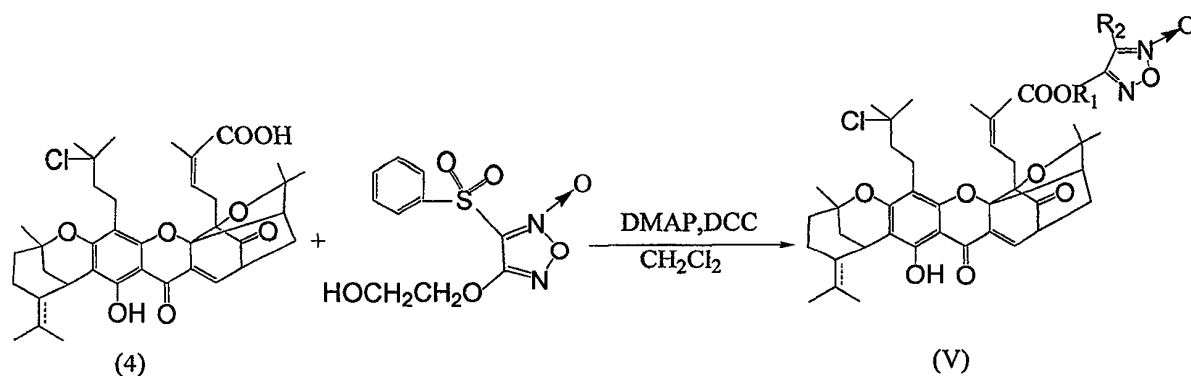
6、根据权利要求 5 所述的制备方法, 其特征在于 C_{1-5} 的饱和烷基是甲基, 乙基, 或者具有光学活性或无光学活性的直链丙基、异丙基、直链丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、直链戊基或新戊基; C_{2-5} 的不饱和烃基是烯丙基、丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、异戊烯基、2-戊烯基。

7、根据权利要求 5 所述的制备方法, 其特征在于通式 (II) 化合物的制备采用以下步骤: 将通式 (D) 化合物与二氧化硒和 $t\text{-BuOOH}$ 在二氯甲烷或三氯甲烷中反应, 反应温度在零下 10°C 至 75°C 之间, 制备得到 R_1 、 R_2 相同或不同, 各自独立代表 H 或烃基的通式 (II) 化合物; 所述烃基为 C_{1-5} 的饱和烷基或 C_{2-5} 的不饱和烃基, 其中 C_{1-5} 的饱和烷基是甲基, 乙基, 或者具有光学活性或无光学活性的直链丙基、异丙基、直链丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、直链戊基或新戊基; C_{2-5} 的不饱和烃基是烯丙基、丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、异戊烯基、2-戊烯基。

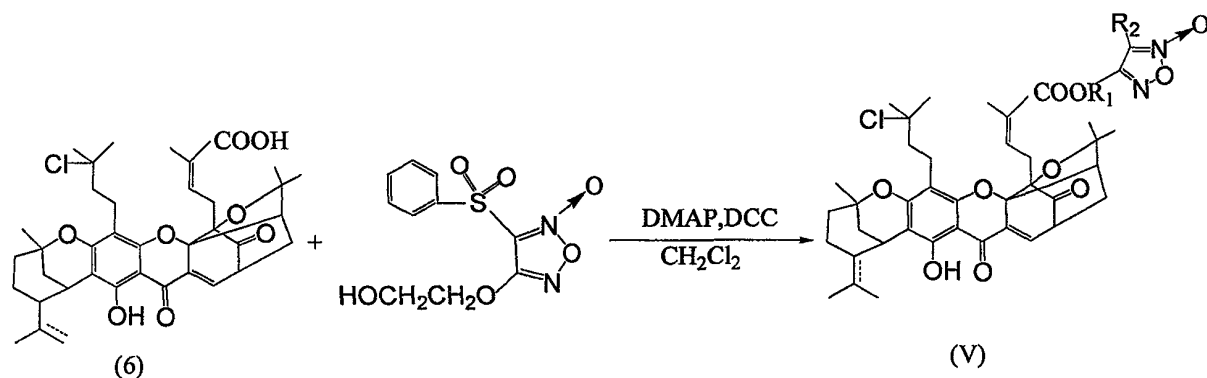
8、根据权利要求 5 所述的制备方法, 其特征在于通式 (III) 化合物的制备采用以

下步骤：将通式（D）化合物与间氯过氧苯甲酸在二氯甲烷或三氯甲烷中反应，反应温度在零下 10℃至 60℃之间，制备得到 R₁、R₂ 相同或不同，各自独立代表 H 或烃基的通式（III）化合物；所述烃基为甲基，乙基，或者具有光学活性或无光学活性的直链丙基、异丙基、直链丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、直链戊基或新戊基。

9、权利要求 4 所述的藤黄酸衍生物的制备方法，其特征在于：以藤黄酸经化学转化而来的氯化转位藤黄酸（4）或（6）为原料，其合成过程如下：



或者



其中 R₁ 代表-(CH₂)₂O-, R₂ 代表苯磺酰基; (37, 38) 位、(38, 40) 位虚划线部分代表烯键; DMAP 为 4-N, N-二甲基氨基吡啶, DCC 为二环己基碳二亚胺。

10、权利要求 1-4 任一项的藤黄酸衍生物在制备治疗肿瘤的药物中的应用。

一种藤黄酸衍生物及其制备方法和在制药中的应用

技术领域

本发明涉及一种新型藤黄酸衍生物及其制备方法和该藤黄酸衍生物在制备抗肿瘤药物中的应用。

背景技术

天然化合物藤黄酸首次从 *Garcinia* 属植物的藤黄树脂中分离发现，藤黄酸（Gambogic acid）是藤黄抗肿瘤的重要有效成分。藤黄酸能选择性的有效杀死肿瘤细胞，而对正常的造血系统和免疫功能没有影响，研究证明藤黄酸及其衍生物是半胱天冬蛋白酶的激动剂和细胞凋亡的诱导剂，可作为一种有效的针对多种肿瘤系的细胞凋亡诱导剂。天然产物藤黄酸能选择性的有效杀死肿瘤细胞，而对正常的造血系统和免疫功能没有影响。

由于藤黄酸及其衍生物具有较显著的细胞毒性，为了寻找到生物活性更优的化合物，学者们对藤黄酸衍生物的合成及其相关结构部位的化学修饰表现了浓厚的兴趣，美国圣地亚哥 Marxim 药物研究所 CAISUI XIONG 研究小组（US2003078292、WO0044216），在天然产物藤黄酸的结构改造修饰方面进行了研究，所涉及的藤黄酸结构改造修饰工作主要集中在 C-30、C-8、C-6、C-12、C-9，10 位。

在藤黄酸代谢产物研究中最新发现藤黄酸的体内代谢过程主要是氧化代谢，一般来说氧化代谢产物主要有羟基化、环氧化物以及胺基的 N-脱烷基化、N-氧化产物等的存在。有效代谢物极有可能成为新发现的先导物，成为新药发现与设计的重要途径。本发明绕开前述思路，以此为依据寻找高效低毒的藤黄酸衍生物作为新型抗肿瘤药物，从药物的代谢产物、水溶性角度进行藤黄酸衍生物的化学结构设计合成，并对其进行抗肿瘤生物活性研究，希望得到结构更优化，疗效更显著、特异的抗肿瘤化合物。

发明内容

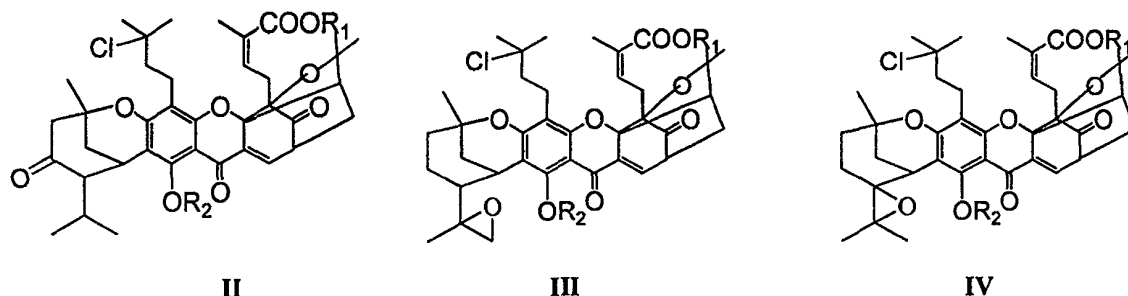
本发明的目的是针对上述技术问题提供一种基于药物的代谢产物、改善水溶性、提高抗肿瘤生物活性，应用药物设计的基本原理而设计的一系列新型的具有良好抗肿瘤活性的藤黄酸衍生物。

本发明的另一个目的是提供上述藤黄酸衍生物的制备方法。

本发明还有一个目的是提供上述藤黄酸衍生物在制备抗肿瘤药物中的应用。

本发明的目的是通过下列技术措施实现的：

一种藤黄酸衍生物，其结构式为通式（II）、（III）或（IV）：



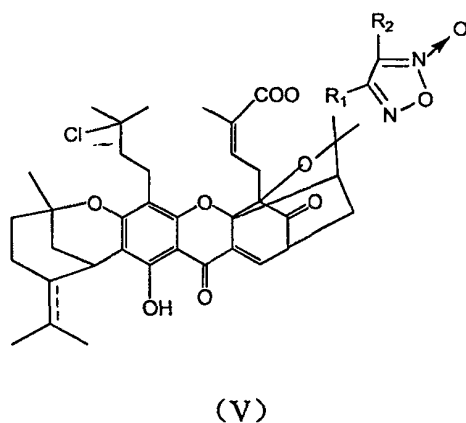
其中 R_1 、 R_2 相同或不同，各自独立代表 H、烃基。

所述的藤黄酸衍生物，其中 R_1 、 R_2 各自独立代表的烃基是 C_{1-5} 的饱和烷烃或 C_{2-5} 的不饱和烃基。

所述的藤黄酸衍生物，其中 R_1 、 R_2 各自独立代表的饱和烷烃基是甲基，乙基，或者具有光学活性或无光学活性的丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、戊基、新戊基或环戊基； R_1 、 R_2 各自独立代表的不饱和烃基是烯丙基、丙烯基、1-丁烯、2-丁烯、异戊烯或 2-戊烯。

所述的藤黄酸衍生物，其中 R_1 、 R_2 各自独立代表的烃基是甲基、乙基或烯丙基。

一种藤黄酸衍生物，该衍生物是通式（V）所示的化合物：

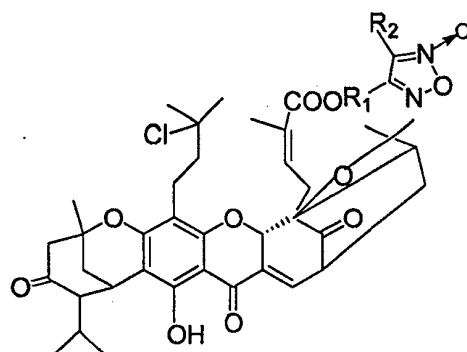


其中：

R_1 独立代表 $-(CH_2)_nO-$, $n=1\sim4$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $-(CH_2)_n$ 苯基 OCH_2- (间, 或对), $n=0\sim4$ 、 $-(CH_2)_n$ 苯基 $\text{O}-$ (间, 或对), $n=0\sim4$; R_2 代表苯基、苯磺酰基；

(37, 38) 位虚划线部分相同或不同，各自独立代表烯键、环氧基。

一种藤黄酸衍生物，该衍生物是通式 (VI) 所示的化合物：



(VI)

其中：

R_1 独立代表 $-(CH_2)_nO-$, $n=1\sim 4$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $-(CH_2)_n$ 苯基 OCH_2- (间, 或对), $n=0\sim 4$ 、 $-(CH_2)_n$ -苯基- $\text{O}-$ (间, 或对), $n=0\sim 4$; R_2 代表苯基、苯磺酰基。

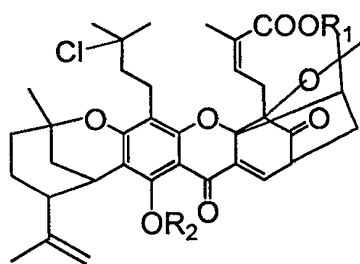
所述藤黄酸衍生物的制备方法，其制备步骤如下：

i) 以通式 (D) 化合物为起始原料，与二氧化硒、过氧叔丁醇在二氯甲烷或三氯甲烷中反应，得到通式 (II) 化合物；或者

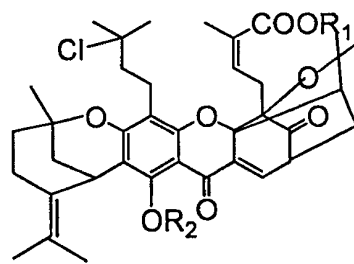
ii) 以通式 (D) 化合物为起始原料，与间氯过氧苯甲酸在二氯甲烷或三氯甲烷中反应，得到通式 (III) 化合物；或者

iii) 以通式 (E) 化合物为起始原料，与间氯过氧苯甲酸在二氯甲烷或三氯甲烷中反应，得到通式 (IV) 化合物；

其中，通式 (D)、(E) 化合物是 6 位、30 位取代的氯化转位藤黄酸衍生物或氯化转位藤黄酸，



(D)



(E)

通式 (D)、(E) 中， R_1 和 R_2 相同或不同，各自独立代表 H、烃基。

所述的制备方法，其中烃基为 C_{1-5} 的饱和烷烃或 C_{2-5} 的不饱和烃基；所述 C_{1-5} 的饱和烷烃是甲基，乙基，或者具有光学活性或无光学活性的丙基、异丙基、丁基、异丁基、

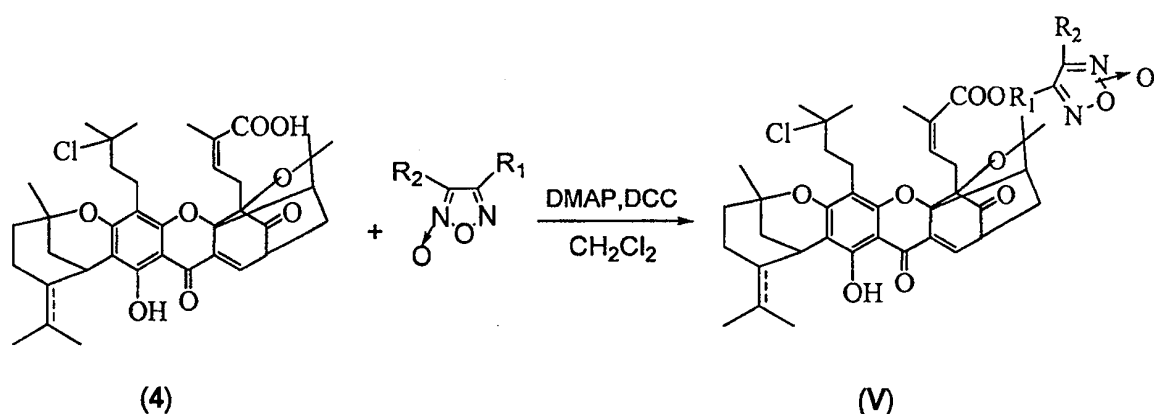
叔丁基、仲丁基、戊基、新戊基或环戊基； C_{2-5} 的不饱和烃基是烯丙基、丙烯基、1-丁烯、2-丁烯、异戊烯、2-戊烯。

所述的制备方法，其中通式 (II) 化合物的制备采用以下步骤：将通式 (D) 化合物与二氧化硒、 $t\text{-BuOOH}$ 在二氯甲烷或三氯甲烷中反应，反应温度在零下 10°C 至 75°C 之间，制备得到 R_1 、 R_2 相同或不同，各自独立代表 H 或烃基的通式 (II) 化合物；所述烃基为 C_{1-5} 的饱和烷烃或 C_{2-5} 的不饱和烃基，其中 C_{1-5} 的饱和烷烃是甲基，乙基，或者具有光学活性或无光学活性的丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、戊基、新戊基或环戊基； C_{2-5} 的不饱和烃基是烯丙基、丙烯基、1-丁烯、2-丁烯、异戊烯、2-戊烯。

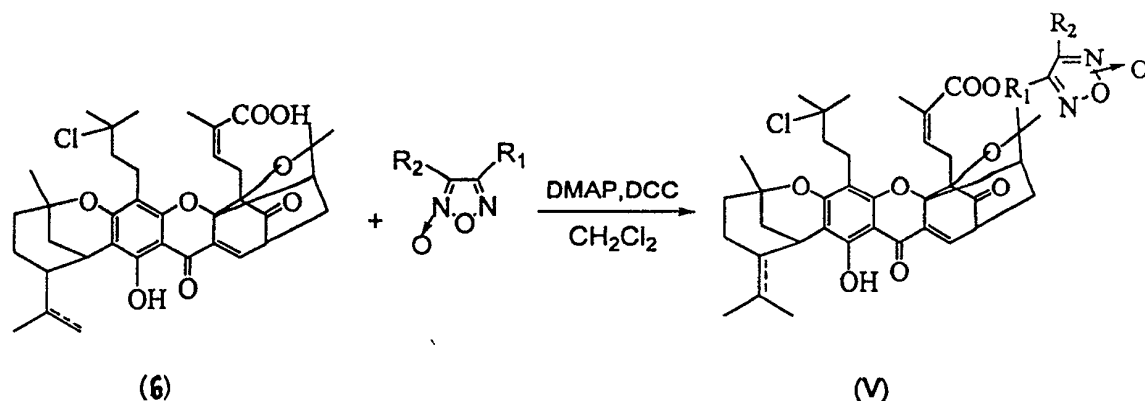
所述的制备方法，其中通式 (III) 化合物的制备采用以下步骤：将通式 (D) 化合物与间氯过氧苯甲酸在二氯甲烷或三氯甲烷中反应，反应温度在零下 10°C 至 60°C 之间，制备得到 R_1 、 R_2 相同或不同，各自独立代表 H 或烃基的通式 (III) 化合物；所述烃基为甲基，乙基，或者具有光学活性或无光学活性的丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、戊基、新戊基或环戊基。

所述的制备方法，其中通式 (IV) 化合物的制备采用以下步骤：将通式 (E) 化合物与间氯过氧苯甲酸在二氯甲烷或三氯甲烷中反应，反应温度在零下 10°C 至 60°C 之间，制备得到 R_1 、 R_2 相同或不同，各自独立代表 H 或烃基的通式 (IV) 化合物；所述烃基为甲基，乙基，或者具有光学活性或无光学活性的丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、戊基、新戊基或环戊基。

所述的藤黄酸衍生物的制备方法，该方法以藤黄酸经化学转化而来的氯化转位藤黄酸 (4) 或 (6) 为原料，其合成过程如下：

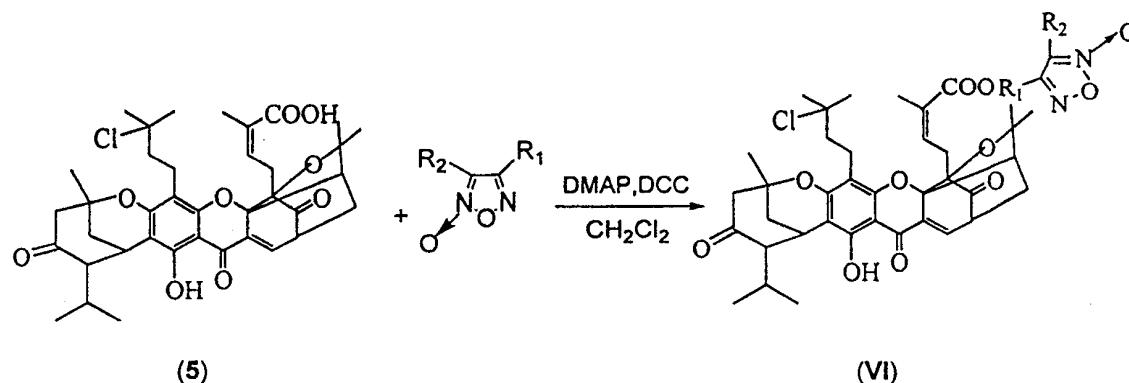


或者



其中 R_1 独立代表 $-(CH_2)_nO-$, $n=1\sim4$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2O-$ 、 $-(CH_2)_n$ 苯基 OCH_2- (间, 或对), $n=0\sim4$ 、 $-(CH_2)_n$ 苯基 $O-$ (间, 或对), $n=0\sim4$; R_2 代表苯基、苯磺酰基; (37, 38) 位、(38, 40) 位虚划线部分相同或不同, 各自独立代表烯键、环氧基。

所述的藤黄酸衍生物的制备方法, 该方法以藤黄酸经化学转化而来的氯化转位藤黄酸衍生物 (5) 为原料, 其合成过程如下:



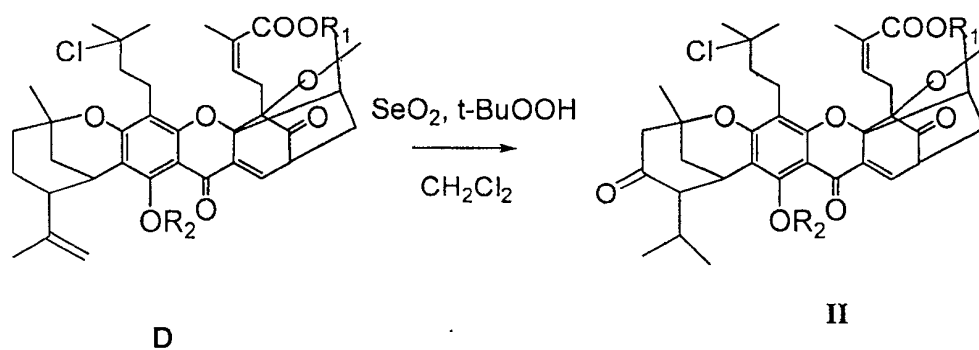
其中 R_1 独立代表 $-(CH_2)_nO-$, $n=1\sim4$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2O-$ 、 $-(CH_2)_n$ 苯基 OCH_2- (间, 或对), $n=0\sim4$ 、 $-(CH_2)_n$ 苯基 $O-$ (间, 或对), $n=0\sim4$; R_2 代表苯基、苯磺酰基。

上述藤黄酸衍生物在制备治疗肿瘤的药物中的应用。

以下对各藤黄酸衍生物的合成过程采用化学反应式进一步描述。

本发明涉及的通式 (II) 类型藤黄酸衍生物由通式 (D) 化合物与二氧化硒、过氧叔丁醇在二氯甲烷中反应得到, 合成过程如化学反应式 1 所示:

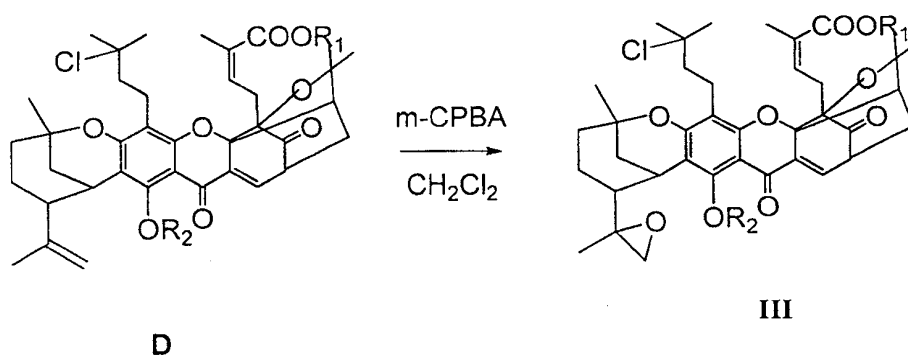
化学反应式 1



上述化学反应式 1 中，化合物（D）同前所述， R_1 、 R_2 相同或不同，各自独立代表 H 或烃基；所述烃基为 C_{1-5} 的饱和烷烃或 C_{2-5} 的不饱和烃基，其中 C_{1-5} 的饱和烷烃是甲基，乙基，或者具有光学活性或无光学活性的丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、戊基、新戊基或环戊基； C_{2-5} 的不饱和烃基是烯丙基、丙烯基、1-丁烯、2-丁烯、异戊烯、2-戊烯。

本发明涉及的通式（III）类型藤黄酸衍生物可由通式（D）化合物与间氯过氧苯甲酸在二氯甲烷或三氯甲烷中反应得到，合成过程如化学反应式 2 所示：

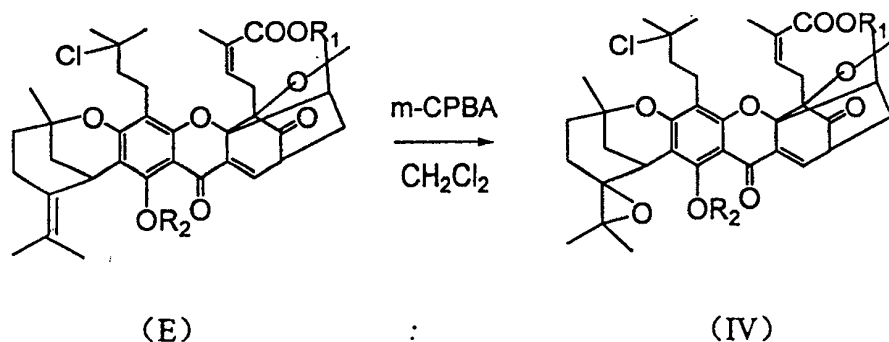
化学反应式 2



上述化学反应式 2 中，化合物（D）同前所述， R_1 、 R_2 相同或不同，各自独立代表 H 或烃基；所述烃基为甲基，乙基，或者具有光学活性或无光学活性的丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、戊基、新戊基或环戊基。

本发明涉及的通式（IV）类型藤黄酸衍生物由通式（E）化合物与间氯过氧苯甲酸在二氯甲烷或三氯甲烷中反应得到，合成过程如化学反应式 3 所示：

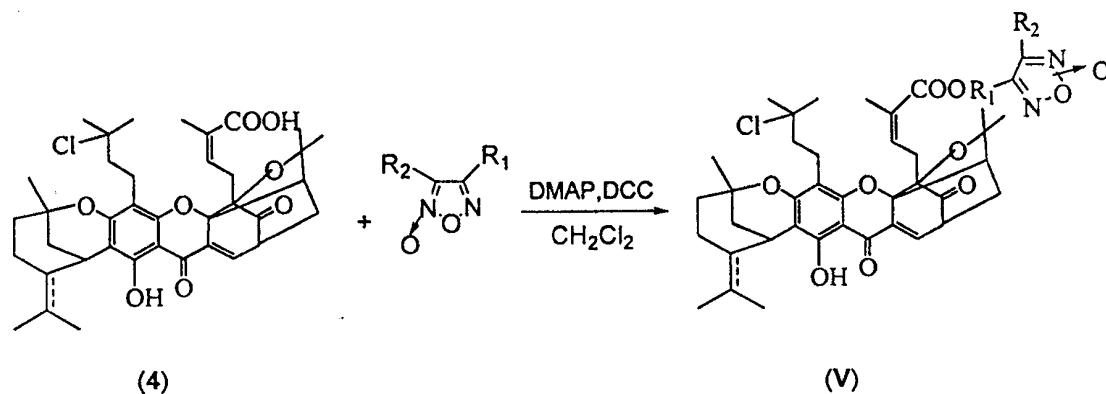
化学反应式 3



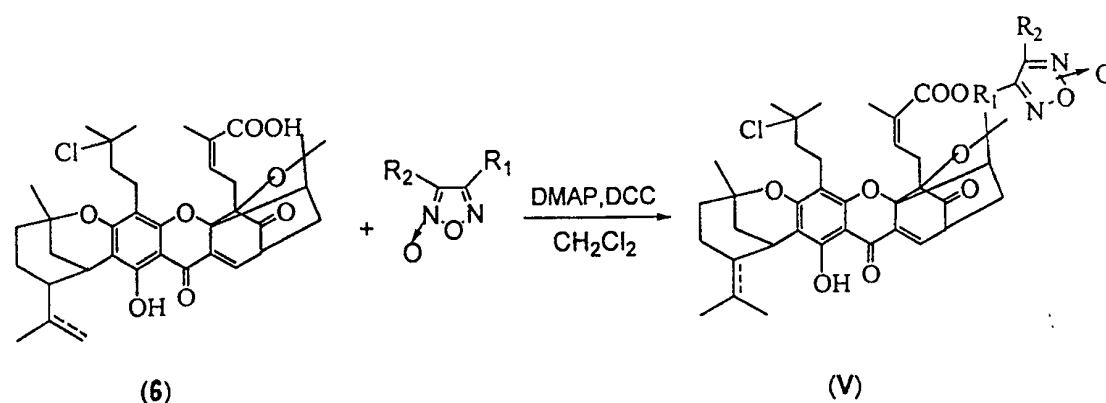
上述化学反应式 3 中, 化合物 (E) 同前所述, R_1 、 R_2 相同或不同, 各自独立代表 H 或烃基; 所述烃基为甲基, 乙基, 或者具有光学活性或无光学活性的丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、戊基、新戊基或环戊基。

本发明涉及的通式 (V) 类型藤黄酸衍生物的制备如下化学反应式 4 或 5 表示:

化学反应式 4:

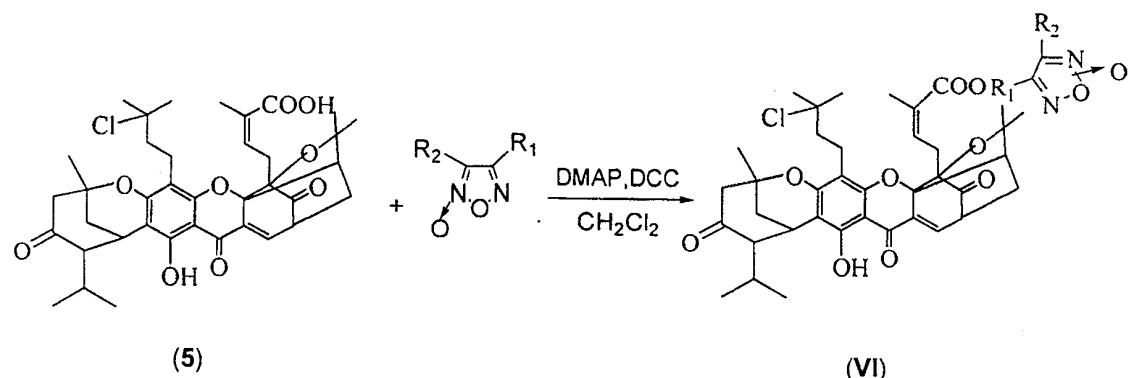


化学反应式 5:



其中 R_1 独立代表 $-(CH_2)_nO-$, $n=1\sim4$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2O-$, $-(CH_2)_n$ 苯基 OCH_2- (间, 或对), $-(CH_2)_n$ 苯基 $\text{O}-$ (间, 或对), $n=0\sim4$; R_2 代表苯基, 苯磺酰基; (37, 38) 位、(38, 40) 位虚划线部分相同或不同, 各自独立代表烯键、环氧基。

本发明涉及的通式(VI)类型藤黄酸衍生物的制备如下化学反应式6表示：
 化学反应式6：



其中 R_1 独立代表 $-(CH_2)_nO-$, $n=1\sim4$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, $-(CH_2)_n$ -苯基- OCH_2- (间, 或对), $-(CH_2)_n$ -苯基- $\text{O}-$ (间, 或对), $n=0\sim4$; R_2 代表苯基, 苯磺酰基。

本发明中涉及的英文缩写含义如下：

SeO_2 (二氧化硒), $t\text{-BuOOH}$ (过氧叔丁醇), $m\text{-CPBA}$ (间氯过氧苯甲酸),

DMAP (4-N, N-二甲基氨基吡啶), DCC (二环己基碳二亚胺)。

本发明的有益效果：

目前, 抗肿瘤化合物的活性筛选按常规是以化合物的细胞毒活性来体现的, 实验数据表明, 本发明化合物对体外人肺癌细胞 (A549)、结肠癌细胞 (HT-29)、人胃癌细胞 (BGC823)、人肝癌细胞 (Bel7402) 和人卵巢癌细胞 (SKOV3) 有较显著的细胞毒作用 (详见实施例实验数据)。

具体实施方式

以下通过实施例对本发明作进一步的阐述, 但不以任何方式限制本发明。

实施例中所用试剂均为市售。所涉及的柱层析步骤采用青岛海洋化工厂生产的 100-200 目硅胶装填的硅胶柱进行层析。

实施例 1: 36-羧基-(38, 40)-二氢-氯化转位藤黄酸 (II) 的制备。

将 SeO_2 17mg (0.15mmol) 和 75% $t\text{-BuOOH}$ 405mg (0.45 mmol) 混合于 10ml 二氯甲烷中, 室温搅拌 30min 后, 滴加浓度为 0.2M 的氯化转位藤黄酸二氯甲烷溶液 5 ml, 室温下反应 11 小时。停止反应, 蒸除二氯甲烷, 乙醚稀释剩余反应物, 有机相依次用水、饱和食盐水洗, 无水 Na_2SO_4 干燥, 蒸出溶剂, 石油醚/乙酸乙酯 (2: 1) 洗脱, 得黄色粘稠状固体 (II) 240mg, mp: 155-157°C. 产率 25%。

IR (KBr): $\nu=3474, 2973, 2929, 1735, 1688, 1634, 1589, 1452, 1432, 1379, 1328, 1257, 1230, 1157, 1049 \text{ cm}^{-1}$.

^1H NMR (300M, CDCl_3): δ 13.46 (1H, s, 6-OH), 7.54 (1H, d, $J=6.81\text{Hz}$, H-10), 6.01 (1H, t, H-27), 4.67 (1H, d, $J=11.7\text{Hz}$, H-37), 4.30 (1H, t, H-20), 3.78 (1H, d, $J=11.7\text{Hz}$, H-4), 3.48 (1H, t, H-11), 3.02 (1H, d, $J=7.3 \text{ Hz}$, H-26), 2.70 (2H, m, H-31), 2.45 (1H, m, H-38), 2.47 (2H, m, H-22), 2.30 (1H, m, H-21a), 2.13 (1H, m, H-3a), 1.87 (2H, m, H-32), 1.82 (3H, s, H-25), 1.84 (3H, s, H-34), 1.70 (3H, s, H-29), 1.64 (1H, m, H-36), 1.63 (3H, s, H-35), 1.45 (3H, m, H-39), 1.41 (1H, m, H-21b), 1.38 (3H, s, H-19), 1.42 (3H, s, H-24), 1.29 (3H, m, H-40).

ESI-MS $681[\text{M}+\text{H}]^+$, $703[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS ($\text{M}+\text{H}$) m/z 681.2815 (calcd for $\text{C}_{38}\text{H}_{46}\text{O}_9\text{Cl}$ 681.2830).

实施例 2: (38, 40)-环氧-氯化转位藤黄酸 (III) 的制备。

0°C 下, 在 50ml 的烧瓶中加入 CH_2Cl_2 10ml, 然后加入氯化转位藤黄酸 332mg (0.5mmol) 及间氯过氧苯甲酸 109mg (0.6mmol), 自然升温, 室温下搅拌 7.5 小时, 将反应液用二氯甲烷稀释, 少量水洗有机相, 有机相用无水硫酸钠干燥, 浓缩后得黄色胶状物, 柱层析, 石油醚/乙酸乙酯 (2: 1) 洗脱, 得化合物 (III) 40mg, $\text{Mp}: 146-150^\circ\text{C}$, 收率为 40%.

IR (KBr): $\nu=3452, 2969, 2927, 1737, 1691, 1633, 1534, 1460, 1226, 1159 \text{ cm}^{-1}$.
 ^1H NMR (300M, CDCl_3): δ 12.98 (1H, s, 6-OH), 7.52 (1H, d, $J=6.9\text{Hz}$, H-10), 5.99 (1H, t, $J=7.35\text{Hz}$, H-27), 3.48 (2H, m, H-11, H-4), 3.08 (1H, s, H-40), 2.99 (2H, m, H-26), 2.70 (2H, m, H-31), 2.44 (1H, brd, $J=9.3 \text{ Hz}$, H-22), 2.31 (1H, dd, $J=13.7\text{Hz}, 4.9\text{Hz}$, H-21a), 1.35 (1H, m, H-21b), 2.16 (1H, d, $J=12.3\text{Hz}$, H-37), 1.83 (1H, m, H-3a), 1.76 (1H, m, H-3b), 1.74 (3H, s, H-39), 1.87 (1H, m, H-20a), 1.58 (1H, m, H-20b), 1.36 (3H, s, H-19), 1.35 (3H, s, H-24), 1.75 (3H, s, H-25), 1.70 (3H, s, H-29), 1.85 (2H, m, H-32), 1.63 (3H, s, H-35), 1.84 (3H, s, H-34), 1.45 (2H, m, H-36).

ESI-MS $681[\text{M}+\text{H}]^+$, $703[\text{M}+\text{Na}]^+$, $719[\text{M}+\text{K}]^+$.

HRMS ($\text{M}+\text{Na}$) m/z 703.2674 (calcd for $\text{C}_{38}\text{H}_{45}\text{O}_9\text{Na}$ 703.2650).

实施例 3: 3-(4-苯基-1, 2, 5-恶二唑-2-氧化物-3-)甲氧基苯酚 (a) 的制备。

将 3-羟甲基-4-苯基-1, 2, 5-恶二唑-2-氧化物 3.46g (18.02mmol) 溶解于 15ml 二氯甲烷中, 0℃下依次加吡啶 3.34ml (41.4mmol)、二氯亚砷 3.4ml (46.8mmol), 反应液为淡黄色透明, 室温搅拌, 室温反应 16 小时结束。反应液用二氯甲烷稀释, 然后用水洗、饱和食盐水洗, 无水 MgSO₄ 干燥, 蒸出溶剂, 得橙黄色油状 3-氯甲基-4-苯基-1, 2, 5-恶二唑-2-氧化物 3.44g, 产率约 90%。

将 3-氯甲基-4-苯基-1, 2, 5-恶二唑-2-氧化物 820mg (3.9mmol) 溶解于乙腈 15ml 中, 室温下依次加入间苯二酚 451mg (4.1mmol)、无水碳酸钾 809mg (5.8mmol)、碘化钾 130mg (0.78mmol), 反应液为淡黄色混浊, 室温搅拌, 室温反应 12 小时停止, 反应液为咖啡色混浊。将反应液中乙腈蒸除, 用乙酸乙酯稀释残留物, 用水洗、饱和食盐水洗, 无水 MgSO₄ 干燥, 蒸出溶剂, 柱层析石油醚/乙酸乙酯 (2: 1) 洗脱, 得淡黄色粉末 (a) 580 mg, 收率约 53%。Mp: 110-112℃。

实施例 4: 2-(4-苯基-1, 2, 5-恶二唑-2-氧化物-3-)甲氧基苯酚(b)的制备。

参照化合物 (a) 的制备方法, 由化合物 2-氯甲基-4-苯基-1, 2, 5-恶二唑-2-氧化物 580mg (2.76mmol)、与邻苯二酚 320mg (2.9mmol)、无水碳酸钾 572mg (4.14mmol)、碘化钾 92 mg (0.55mmol) 反应, 柱层析, 石油醚/乙酸乙酯 (2: 1) 洗脱, 得黄色粉末 (b) 420 mg, 收率 54%。Mp: 113-115℃。

实施例 5: 2'-(3'-苯磺酰基-1', 2', 5'-恶二唑-2'-氧化物) 氧乙醇(c)的制备。

将硫酚 5.0g (51 mmol)、氢氧化钠 2.04 g (51 mmol) 溶解于乙醇 30ml 中, 搅拌, 反应液呈黄绿色, 室温下加入由氯乙酸 4.3g (45.9mmol)、碳酸钠 2.97g (0.55mmol) 配成的混合液, 搅拌, 反应液由黄绿色变为白色混浊, 室温反应 3 小时, 回流 1 小时, 冷却至室温, 减压蒸除乙醇, 用 6N 盐酸调 pH=2, 白色沉淀析出, 抽滤得苯磺基乙酸白色固体 6.87 g, Mp: 60-62℃, 收率 89%。

继续将苯磺基乙酸 3.0 g (17.8mmol) 与冰醋酸 50ml 混合, 搅拌, 室温下, 滴加含 4.03 g (35.7mmol) 的 30% 过氧化氢水溶液, 然后室温搅拌三小时, 溶液呈无色透明, 然后冰浴下缓缓滴加发烟硝酸 6.9ml (160.2mmol), 保持反应液温度低于 60℃, 约半小时滴加完毕, 伴随着大量红棕色气体冒出, 温度升至 100 度, 搅拌五小时停止反应, 冷却至室温, 反应液呈淡黄色透明溶液, 蒸除部分酸液后放置冰箱冷却, 白色固体 3, 4-二苯磺

酰基-1, 2, 5-恶二唑-2-氧化物析出 2.1 g, Mp: 123-125°C, 收率 70%。

将 3,4-二苯磺酰基-1,2,5-恶二唑-2-氧化物 570mg (1.56mmol)溶解于四氢呋喃 30ml 中, 搅拌, 室温下加入乙二醇 968.3 mg (0.87ml)、反应液呈无色透明, 室温下滴加 25% 氢氧化钠水溶液 68.6 mg (1.72 mmol), 搅拌, 反应液变为白色混浊, 室温反应 8 小时, 停止静置。上层为淡黄色澄清液, 下层为白色絮状物。然后将反应液倒入 20ml 水中, 用乙酸乙酯提取三次, 有机相水洗、饱和食盐水洗, 无水 MgSO₄ 干燥, 蒸出溶剂, 柱层析, 石油醚/乙酸乙酯 (2: 1) 洗脱, 得白色固体(c) 110mg, M.p. 160-162°C, 产率约 51%。

实施例 6: (37, 38)-烯键-30-{2'-(4''-苯基-1'', 2'', 5''-恶二唑-2''-甲氧基)} 氯化转位藤黄酸苯酚酯 (V-1) 的制备。

将 (37, 38)-烯键-30-氯化转位藤黄酸 100 mg (0.16mmol)与化合物 (b) 80 mg (0.28mmol)、4-N, N-二甲氨基吡啶 19 mg (0.16mmol)、二环己基碳二酰亚胺 40mg (0.19mmol)搅拌, 室温反应 3 小时, 反应液用二氯甲烷稀释, 水洗、饱和食盐水洗, 无水 MgSO₄ 干燥, 蒸出溶剂, 柱层析, 石油醚/乙酸乙酯 (4: 1) 洗脱, 得淡黄色固体 (V-1) 90mg, 产率约 63%。Mp: 106-108°C。

¹HNMR (300M, CDCl₃): δ 12.83(1H, s, 6-OH), 7.47 (1H, d, J=6.9Hz, H-10), 7.75(2H, dd, J=1.4Hz, 1.6Hz, Ar-H), 7.48(4H, dd, J=7.2Hz, 3.5Hz, Ar-H), 7.13 (2H, m, Ar-H), 7.03 (1H, m, Ar-H), 6.8(1H, m, H-36), 6.27(1H, m, H-27), 5.02 (2H, s, -O-CH₂-), 3.50(1H, m, H-4), 3.38(1H, m, H-11), 2.92(2H, d, J= 7.4 Hz, H-26), 2.73 (2H, m, H-31), 2.49(1H, m, H-22), 2.30(1H, dd, J= 13.6 Hz, 4.9Hz, H-21a), 1.36(1H, m, H-21b), 1.83(3H, s, H-34), 1.61(3H, s, H-35), 1.39(2H, m, H-36), 1.34(3H, s, H-19), 1.32 (3H, s, H-24), 1.75(3H, s, H-25), 0.84(3H, d, J=6.3Hz, H-39), 1.83(1H, m, H-3a), 1.77(1H, m, H-3b), 1.89(1H, m, H-20a), 1.47 (1H, m, H-20b), 1.80 (2H, m, H-32), 1.93 (1H, m, H-38), 0.88(3H, d, J=8.9Hz, H-40)。

ESI-MS 931[M+H]⁺, 953 [M+Na]⁺, 969[M+K]⁺。

元素分析: C₅₃H₅₇ClN₂O₁₁ Found C 68.05%, H 6.15%, Cl 3.78%, N 3.03%, O 18.82%; Calcd C 68.19%, H 6.15%, Cl 3.80%, N 3.00%, O 18.85%。

实施例 7: 36-羰基-(38, 40)-二氢-氯化转位藤黄酸-30-{3'-(4''-苯基-1'', 2'', 5''-

恶二唑-2'-甲氧基})氯化转位藤黄酸苯酚酯(VI)的制备。

将 36-羰基-(38, 40)-二氢-氯化转位藤黄酸 65 mg (0.1mmol)与化合物(a) 28 mg (0.1mmol)、4-N, N-二甲氨基吡啶 12.3mg (0.1mmol)、二环己基碳二酰亚胺 28.4mg (0.12mmol) 搅拌, 室温反应 3 小时, 反应液用二氯甲烷稀释, 水洗、饱和食盐水洗, 无水 MgSO_4 干燥, 蒸出溶剂, 柱层析石油醚/乙酸乙酯(2: 1) 洗脱, 得淡黄色固体(VI) 60mg, 产率 66%。Mp: 192-194°C。

IR (KBr): $\nu=3464, 3418, 3328, 2927, 2850, 1734, 1627, 1578, 1534, 1445, 1379, 1314, 1244, 1134, 1088, 1047\text{cm}^{-1}$ 。

^1H NMR (300M, CDCl_3): δ 7.83(2H, m, Ar-H), 7.54(5H, m, Ar-H), 7.51(1H, m, H-10), 6.60(2H, m, Ar-H), 6.28 (1H, m, H-27), 7.54(1H, d, $J=6.81\text{Hz}$, H-10), 5.07(3H, m, $-\text{OCH}_2$, H-37), 4.30(1H, t, H-20), 3.49(2H, m, H-4, H-11), 2.97(1H, d, $J=7.3\text{Hz}$, H-26), 2.49(2H, m, H-22), 2.33 (1H, m, H-21a), 1.41 (1H, m, H-21b), 1.38(3H, s, H-19), 1.61(3H, s, H-24), 2.70(2H, m, H-31), 2.45(1H, m, H-38), 1.70(3H, s, H-29), 1.82 (3H, s, H-25), 1.84(3H, s, H-34), 1.63 (3H, s, H-35), 1.59 (3H, m, H-39), 1.29(3H, m, H-40), 1.91 (2H, m, H-32), 2.13 (1H, m, H-3a), 1.62 (1H, m, H-36)。

ESI-MS 945 $[\text{M}-\text{H}]^+$ 。

元素分析: $\text{C}_{53}\text{H}_{57}\text{ClN}_2\text{O}_{12}$ Found C 67.05%, H 6.05%, Cl 3.75% N 2.93%, O 20.18%; Calcd C 67.04%, H 6.05%, Cl 3.73%, N 2.95%, O 20.22%。

实施例 8: (37, 38)-烯-氯化转位藤黄酸-30-{2'-(3'-苯磺酰基-1', 2', 5'-恶二唑-2'-氧化物)}氧乙酯(V-2)的制备。

将氯化转位藤黄酸 116 mg (0.18mmol) 溶解于二氯甲烷 10ml 中, 室温下依次加入化合物(c) 60mg (0.21mmol)、4-N, N-二甲氨基吡啶 21.4 mg (0.18mmol)、二环己基碳二酰亚胺 43.3mg (0.21mmol), 搅拌, 室温反应 6 小时, 反应液用二氯甲烷稀释, 水洗、饱和食盐水洗, 无水 MgSO_4 干燥, 蒸出溶剂, 柱层析石油醚/乙酸乙酯(2: 1) 洗脱, 得黄色稠状物(V-2) 50mg, 产率 31%。

IR (KBr): $\nu=3456, 3419, 2928, 2851, 1735, 1628, 1588, 1448, 1378, 1327, 1161, 1088, 1048, 595\text{cm}^{-1}$ 。

^1H NMR (300M, CDCl_3): δ 12.80 (1H, s, 6-OH), 8.02(2H, d, $J=1.2\text{Hz}$, Ar-H), 7.99(1H,

m, Ar-H), 7.57 (2H, m, Ar-H), 6.81 (1H, m, H-36), 6.25 (1H, m, H-27), 4.46 (2H, m, $-\text{COOCH}_2-$), 4.25 (2H, m, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$), 3.50 (1H, m, H-4), 3.40 (1H, m, H-11), 2.92 (2H, d, $J=7.4$ Hz, H-26), 2.73 (2H, m, H-31), 2.47 (1H, m, H-22), 2.31 (1H, dd, $J=13.6$ Hz, 4.9 Hz, H-21a), 1.93 (1H, m, H-38), 1.89 (1H, m, H-20a), 1.83 (1H, m, H-3a), 1.80 (2H, m, H-32), 1.77 (1H, m, H-3b), 1.83 (3H, s, H-34), 1.75 (3H, s, H-25), 1.36 (1H, m, H-21b), 1.61 (3H, s, H-35), 1.47 (1H, m, H-20b), 1.39 (2H, m, H-36), 1.34 (3H, s, H-19), 1.32 (3H, s, H-24), 0.88 (3H, d, $J=8.9$ Hz, H-40), 0.84 (3H, d, $J=6.3$ Hz, H-39).

ESI-MS : 933 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 955 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

元素分析: $\text{C}_{49}\text{H}_{59}\text{N}_2\text{O}_{13}\text{SCl}$, Found : C 61.81%, H 6.23%, N 2.92%, O 21.88%, Cl 3.72%, S 3.38%; Calcd: C 61.85%, H 6.25%, Cl 3.73%, N 2.94%, O 21.86%, S 3.37%.

实施例 9: 实施例中目标化合物的细胞毒活性数据。

本测定按常规采用溴化四氮唑蓝 (MTT) 法, 即用胰酶消化肿瘤细胞, 以含 10% 小牛血清的 RPMI1640 培养液配制细胞悬液, 浓度为 10000 细胞/ml, 取对数生长期细胞培养于 96 孔培养板内, 每孔 100 μl (含 1000~1200 个肿瘤细胞)。次日, 给药组加入含有不同浓度化合物, 每药设 4~5 个剂量组, 每组至少设 3 个平行孔。对照组加入与化合物等体积的溶剂。置 5% CO_2 温箱中于 37 $^\circ\text{C}$ 培养, 4 天后弃去培养液, 每孔加入 200 μl 0.2% MTT 溶液 (RPMI 1640 配制)。37 $^\circ\text{C}$ 保温 4 小时, 弃去上清, 每孔加入 DMSO 150 μl 溶解甲臢颗粒, 轻度振荡后, 用酶标仪, 在参考波长 450nm、检测波长 570nm 条件下测定光密度值 (OD)。以溶剂对照处理的肿瘤细胞为对照组, 用下面公式计算药物对肿瘤细胞的抑制率, 并计算 IC_{50} 。

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照组平均 OD 值} - \text{给药组平均 OD 值}}{\text{对照组平均 OD 值}} \times 100\%$$

试剂来源:

MTT: 溴化四氮唑蓝 (Thiazolyl Blue Tetrazolum Bromide), Sigma 公司进口;

RPMI 1640 培养基: GIBCO 公司产品;

胰酶 (Trypsin): GIBCO 公司产品

DMSO: 二甲基亚砷, 北京化工厂生产;

小牛血清：军区兽医防治中心

表1中的实验数据表明本发明化合物对人肺癌细胞(A549)、结肠癌细胞(HT-29)、人胃癌细胞(BGC823)、人肝癌细胞(Bel7402)和人卵巢癌细胞(SKOV3)有强的细胞毒作用。其中大部分化合物的细胞毒活性明显强于阳性对照药藤黄酸(GA)或与其细胞毒活性相当。因为按常规抗肿瘤化合物的筛选是以化合物的细胞毒活性来体现的,所以本发明化合物具有抗肿瘤活性,可以与药用载体混合,制备抗肿瘤药物。

表1、本发明藤黄酸衍生物MTT筛选结果

样 品	IC ₅₀ (M)				
	A549	BGC823	SKOV3	HT-29	Bel7402
GA	5.81E-06	4.51E-06	3.06E-06	5.61E-06	3.31E-06
II	2.76 E-06	2.93 E-06	2.26 E-06	5.6 E-06	4.12 E-06
III	2.84 E-06	0.19 E-06	0.61 E-06	1.11 E-06	0.30 E-06
IV	2.83 E-06	0.18 E-06	0.62 E-06	1.12 E-06	0.34 E-06
V-1	5.58E-05	6.58E-06	4.84E-06	9.63E-05	7.48E-05
V-2	3.46 E-06	3.83 E-06	4.04 E-06	4.31 E-06	2.24 E-06
VI	3.44E-06	3.13E-06	2.75E-06	4.16E-06	5.97E-06