



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111808117 B

(45) 授权公告日 2022.05.24

(21) 申请号 202010716766.5

(22) 申请日 2018.05.16

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 111808117 A

(43) 申请公布日 2020.10.23

(62) 分案原申请数据  
201810468703.5 2018.05.16

(73) 专利权人 中国科学院昆明植物研究所  
地址 650201 云南省昆明市蓝黑路132号

(72) 发明人 左之利 汪亮亮 张树群 刘辉  
李艳 张云琴

(74) 专利代理机构 昆明祥和知识产权代理有限公司 53114  
专利代理师 马晓青

(51) Int. Cl.

C07D 493/20 (2006.01)

A61K 31/517 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

审查员 孔繁如

权利要求书2页 说明书12页

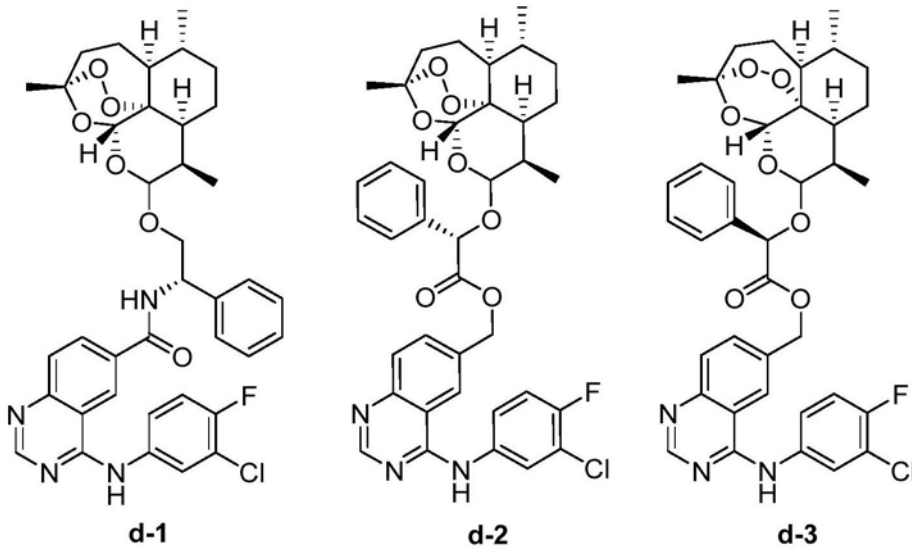
(54) 发明名称

青蒿素-苯胺基喹啉类D类衍生物及其药物组合物和应用

(57) 摘要

本发明提供一类青蒿素-苯胺基喹啉类衍生物d-1、d-2、d-3、其光学异构体、多晶型物,以其为活性成分的药物组合物,其制备方法,以及其在制备治疗肿瘤的药物中的应用。经体外抗肿瘤细胞活性实验评价,本发明化合物d-1、d-2、d-3对人结肠癌细胞(HCT116)和黑色素瘤细胞(WM-266-4)具有良好的抑制作用,能用于抗肿瘤药物的制备。

1. 下述结构式所示的青蒿素-苯胺基喹唑啉类衍生物d-1、d-2、d-3、其光学异构体，

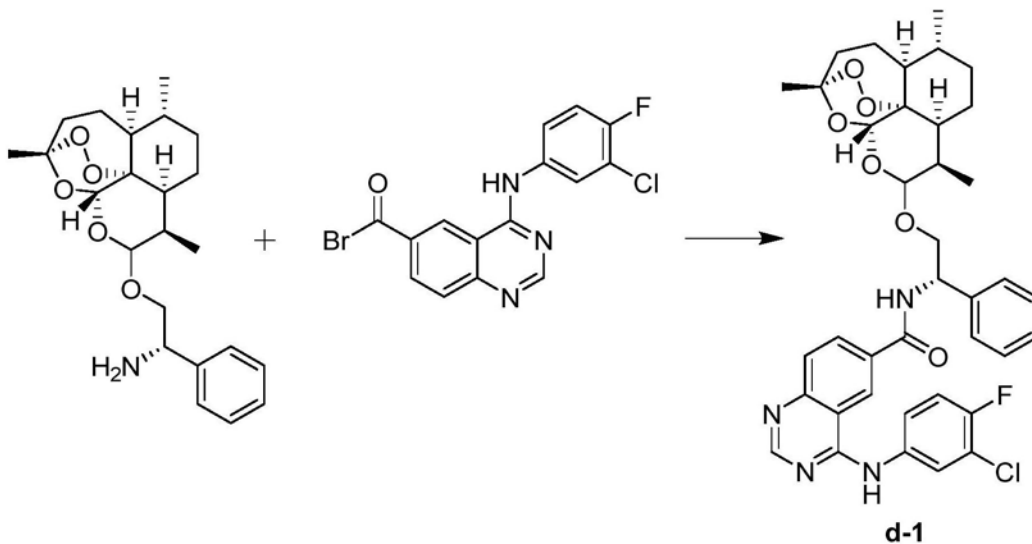


2. 药物组合物，其包含权利要求1所述的青蒿素-苯胺基喹唑啉类衍生物d-1、d-2、d-3、其光学异构体和至少一种药学上可接受的载体。

3. 权利要求1所述的青蒿素-苯胺基喹唑啉类衍生物d-1、d-2、d-3、其光学异构体在制备抗肿瘤药物中的应用。

4. 权利要求1所述的青蒿素-苯胺基喹唑啉类衍生物d-1、d-2、d-3、其光学异构体在制备抗结肠癌、抗黑色素瘤的药物中的应用。

5. 权利要求1中所述的青蒿素-苯胺基喹唑啉类衍生物d-1、d-2、d-3的制备方法，该方法为：

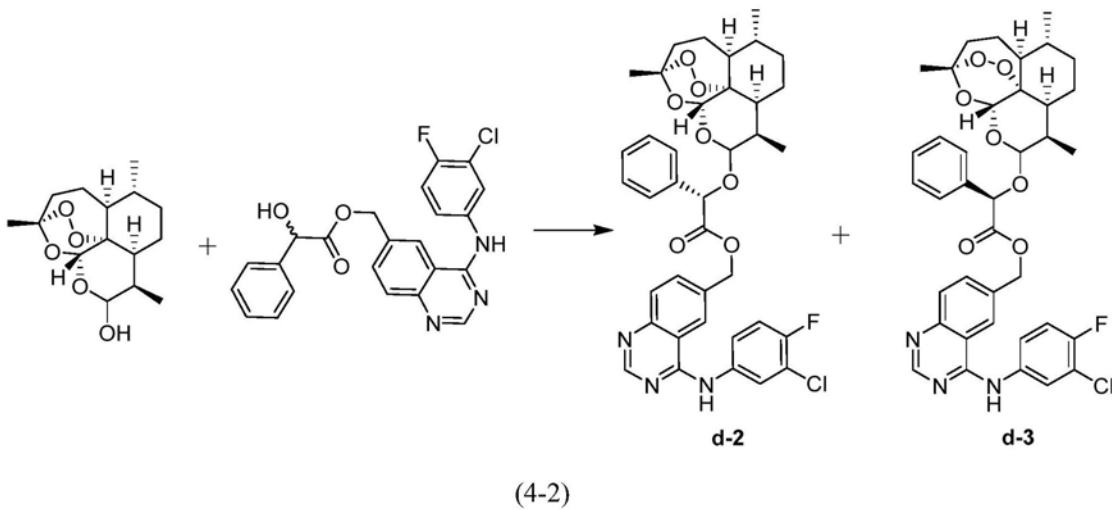


(4-1)

如式4-1所示，将青蒿素类化合物和苯胺基喹唑啉衍生物溶于无水N,N-二甲基甲酰胺中，氩气保护，室温加入二异丙基乙胺，1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐EDCI和4-二甲氨基吡啶DMAP，室温反应过夜，TLC监测反应过程，反应结束后，加入二氯甲烷稀释，饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩，硅胶柱层析纯化，石油醚/乙酸乙酯

=1:1,得到化合物d-1;

化合物d-2,d-3的制备:



如式4-2所示,将双氢青蒿素和苯胺基喹唑啉衍生物溶于无水二氯甲烷中,氩气保护,0 °C缓慢滴加 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ 于上述反应液,随后体系继续于0 °C反应过夜,TLC监测反应过程,反应结束后,加入二氯甲烷稀释,饱和碳酸氢钠水溶液洗涤,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,硅胶柱层析纯化,石油醚/乙酸乙酯=3:1,分别得到化合物d-2和d-3两个异构体。

## 青蒿素-苯胺基喹啉类D类衍生物及其药物组合物和应用

[0001] 本申请是中国专利申请“青蒿素-苯胺基喹啉类衍生物及其制备方法和应用”(申请号为:201810468703.5,申请日为:2018.05.16)的分案申请。

### 技术领域

[0002] 本发明属于医药技术领域,具体涉及一类青蒿素-苯胺基喹啉类衍生物、其光学异构体、多晶型物,其制备方法,以该类化合物、其光学异构体、多晶型物作为活性成分的药物组合物,及其在制备抗肿瘤药物中的应用。

### 背景技术

[0003] 癌症是造成人类死亡的主要原因,已经成为全球关注的主要公共健康问题。

[0004] 青蒿素于1971年首次由我国科学家屠呦呦及其团队从菊科植物黄花蒿叶中分离提取出的具有一种独特过氧桥结构的倍半萜内酯化合物。其主要衍生物有双氢青蒿素(dihydroartemisinin,DHA)、青蒿琥酯(artemunate,AS)、蒿甲醚(arthemether,ATM)、蒿乙醚(arteether,ATE)和青蒿酮(artemisone,ATS)等。由于青蒿素对耐氯喹的恶性疟疾有突出疗效且表现出低毒性,已被WHO列为推荐的抗疟药。近来研究表明,青蒿素及其衍生物除抗疟外还具有诸多其他药理活性,如抗菌、抗炎、抗病毒、抗肿瘤、抗心血管、抗纤维化、免疫调节和抗其他寄生虫等作用。其中,青蒿素的抗肿瘤活性受到了广泛关注。自1991年中国科学院上海药物所邓定安首先研究发现青蒿素及其衍生物对白血病P388细胞有明显抑制作用以来,引发了国内外学者对青蒿素类化合物抗肿瘤活性及机制研究的热潮。研究发现,青蒿素及其衍生物对多种癌细胞有选择性抑制作用,包括白血病,脑胶质瘤,肺癌,胃癌,乳腺癌,肝癌,结肠癌,宫颈癌,胆囊癌,鼻咽癌,胰腺癌,卵巢癌,黑色素瘤等。

[0005] 迄今为止,没有本发明的新型的青蒿素-苯胺基喹啉类衍生物及其活性的报道。

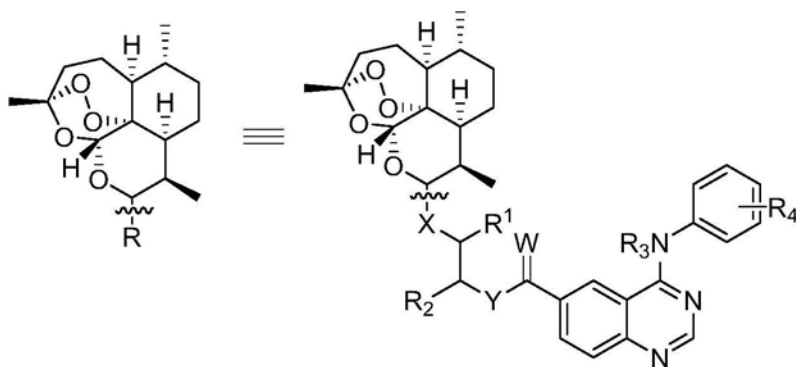
### 发明内容

[0006] 本发明基于药效团拼合原理,将具有生物活性的苯胺基喹啉相应结构引入双氢青蒿素10位,分别以醚链,酯链、酰胺链等为连接桥,得到新型的青蒿素-苯胺基喹啉类衍生物,提高了抗肿瘤活性。其目的是提供式(I)中青蒿素-苯胺基喹啉类化合物,及其制备方法,及其为活性成分的药物组合物,及其在制备抗肿瘤药物中的应用。

[0007] 为了实现本发明的上述目的,本发明提供了如下的技术方案:

[0008] 下述通式(I)所示青蒿素-苯胺基喹啉类衍生物、其光学异构体、多晶型物,

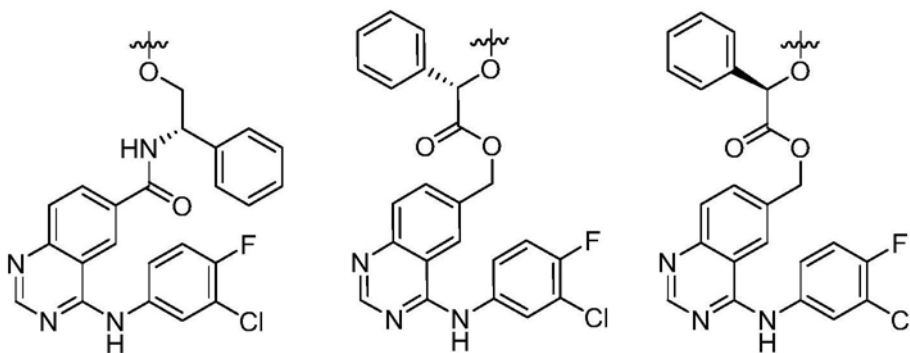
[0009]

X= CH<sub>2</sub>, O, N, S; Y= CH<sub>2</sub>, O, N,S; W=O, H<sub>2</sub>R<sub>1</sub>= H, C; R<sub>2</sub>=H, C, O; R<sub>3</sub>=H, C; R<sub>4</sub>= Cl, F, I,

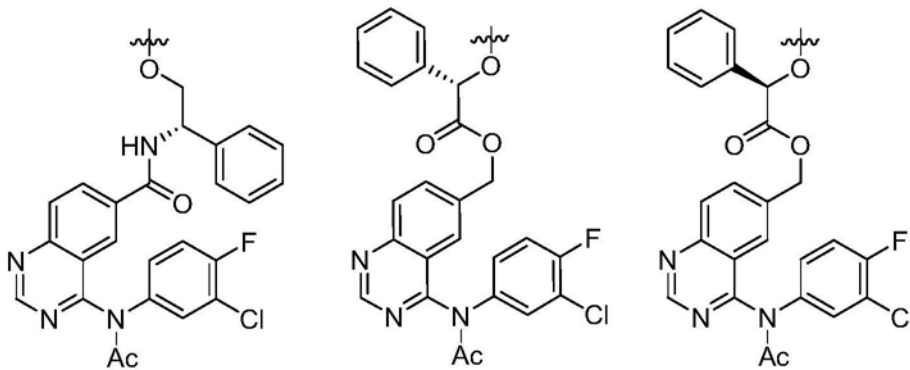
(I)

[0010] 式中,R为如下基团之一:

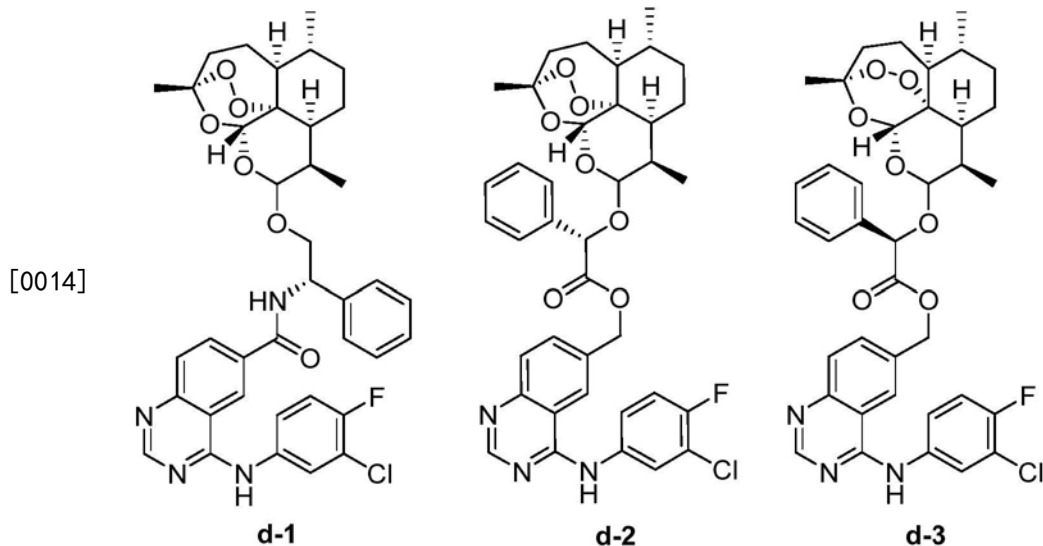
[0011]



[0012]



[0013] 根据所述的青蒿素-苯胺基喹唑啉类衍生物、其光学异构体、多晶型物,所述衍生物为:

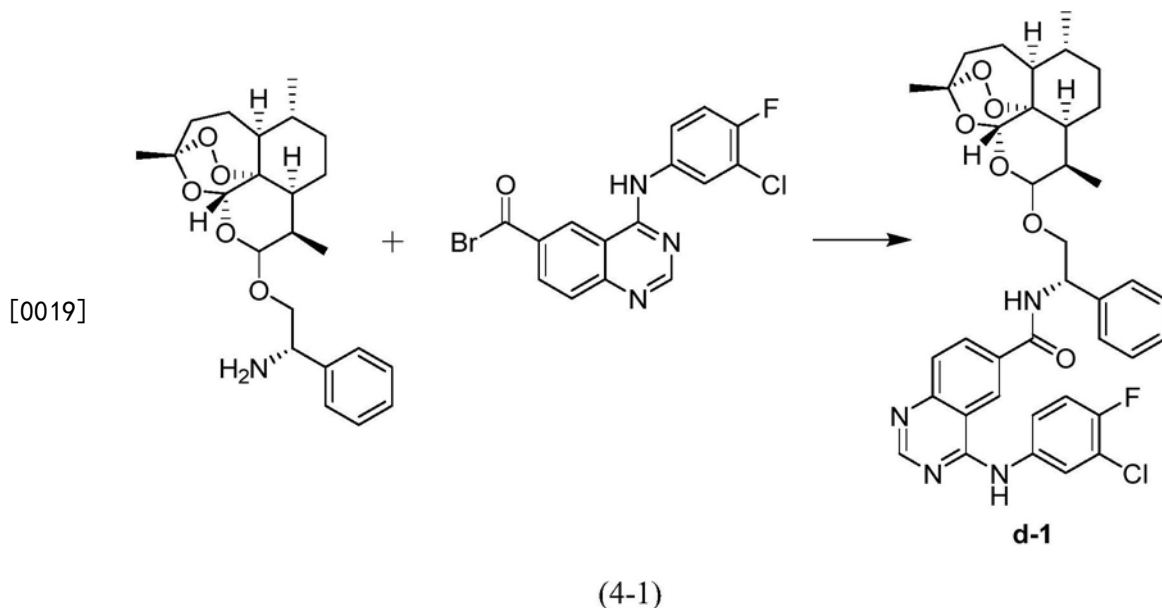


[0015] 药物组合物,其包含所述的青蒿素-苯胺基喹唑啉类衍生物、其光学异构体、多晶型物和至少一种药学上可接受的载体。

[0016] 所述的青蒿素-苯胺基喹唑啉类衍生物、其光学异构体、多晶型物在制备抗肿瘤药物中的应用。

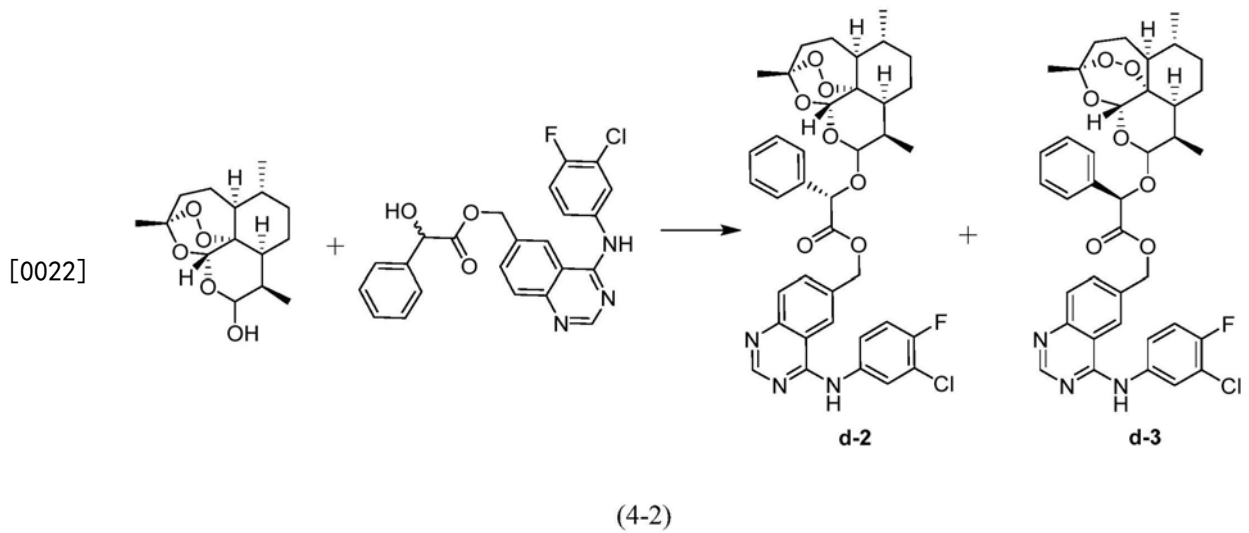
[0017] 所述的青蒿素-苯胺基喹唑啉类衍生物、其光学异构体、多晶型物在制备抗结肠癌、抗黑色素瘤的药物中的应用。

[0018] 所述的化合物d-1、d-2、d-3的制备方法,该方法为:



[0020] 如式4-1所示,将青蒿素类化合物和苯胺基喹唑啉衍生物溶于无水N,N-二甲基甲酰胺中,氩气保护,室温加入二异丙基乙胺,1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐EDCI和4-二甲氨基吡啶DMAP,室温反应过夜,TLC监测反应过程,反应结束后,加入二氯甲烷稀释,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,硅胶柱层析纯化,石油醚/乙酸乙酯=1:1,得到化合物d-1;

[0021] 化合物d-2,d-3的制备:



[0023] 如式4-2所示,将双氢青蒿素和苯胺基喹唑啉衍生物溶于无水二氯甲烷中,氩气保护,0℃缓慢滴加 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ 于上述反应液,随后体系继续于0℃反应过夜,TLC监测反应过程,反应结束后,加入二氯甲烷稀释,饱和碳酸氢钠水溶液洗涤,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,硅胶柱层析纯化,石油醚/乙酸乙酯=3:1,分别得到化合物d-2和d-3两个异构体。

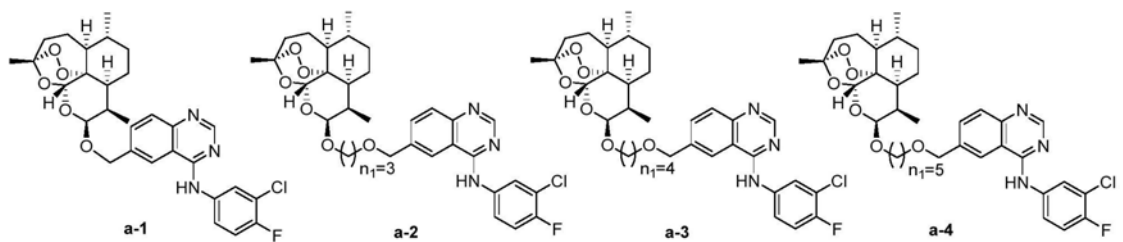
[0024] 本发明首次发现并通过人结肠癌细胞(HCT116)和黑色素瘤细胞(WM-266-4)抗肿瘤活性测试,验证了本发明通式(I)的青蒿素-苯胺基喹唑啉类化合物具有良好的抗肿瘤活性,提供了这类化合物的制备及其具有抗肿瘤作用的新用途。

### 具体实施方式

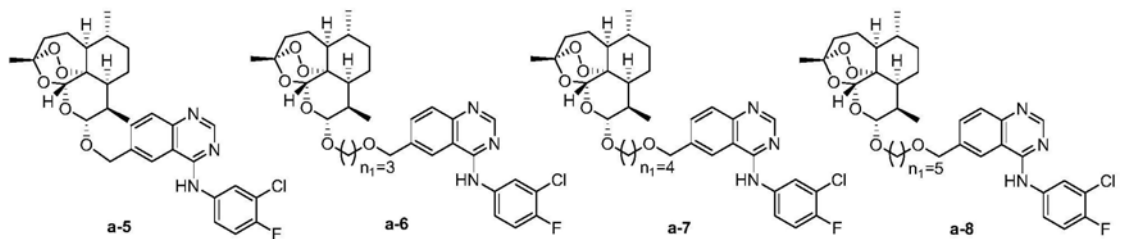
[0025] 下面将用本发明的实施例来进一步说明本发明的实质性内容,但并不以此来限定本发明。

[0026] 实施例1:

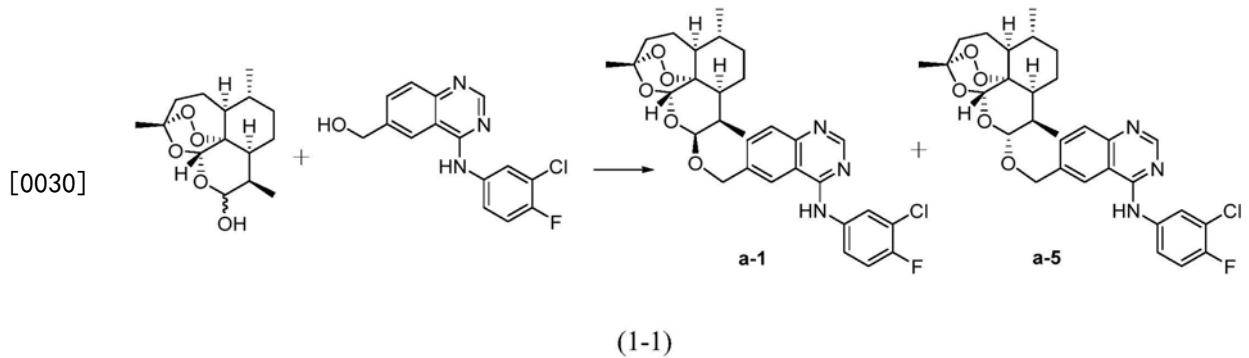
[0027] 化合物a-1,a-2,a-3,a-4,a-5,a-6,a-7,a-8结构分别如下所示:



[0028]

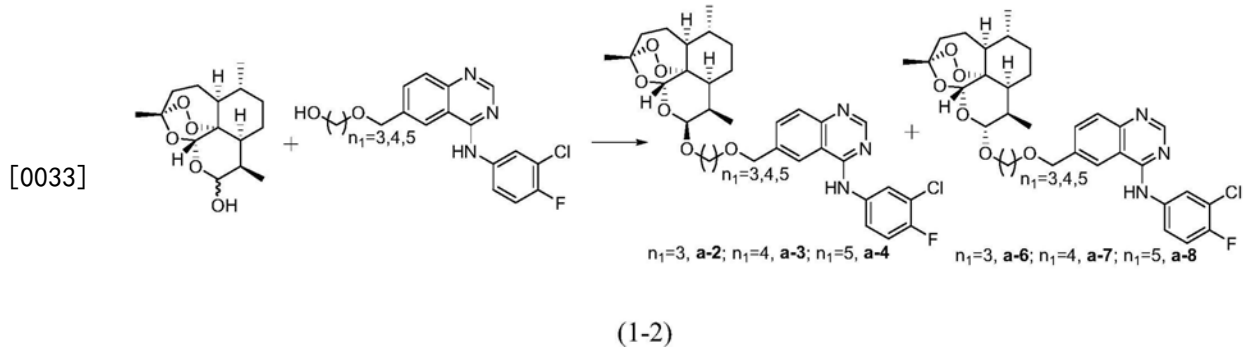


[0029] 化合物a-1/a-5的制备:



[0031] 如式1-1所示,将双氢青蒿素(1.2eq.)和苯胺基喹唑啉醇(1eq.)溶于无水二氯甲烷中,氩气保护,0℃缓慢滴加 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (2eq.)于上述反应液。随后体系继续于0℃反应过夜。TLC监测反应过程,反应结束后,加入二氯甲烷稀释,饱和碳酸氢钠水溶液洗涤,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯=3:1)分别得到化合物a-1( $\alpha$ )和a-5( $\beta$ )两个差向异构体,产率分别为25%,23%。

[0032] 化合物a-2/a-6,a-3/a-7,a-4/a-8的制备:

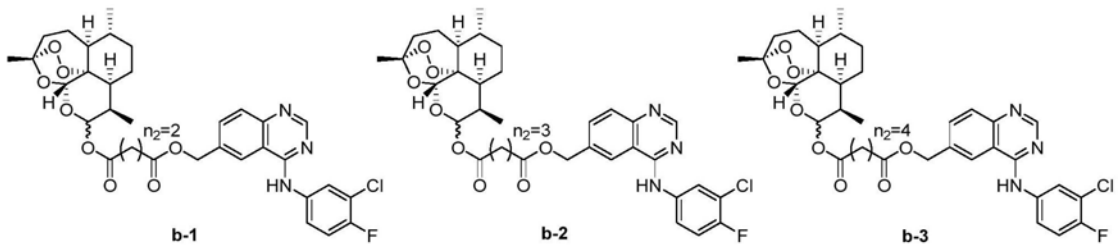


[0034] 如式1-2所示,分别将双氢青蒿素和 $n_1$ 值不同的苯胺基喹唑啉醇溶于无水二氯甲烷中,氩气保护,0℃缓慢滴加 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (2eq.)于上述反应液。随后体系继续于0℃反应过夜。TLC监测反应过程,反应结束后,加入二氯甲烷稀释,饱和碳酸氢钠水溶液洗涤,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯=3:1),可分别获得化合物a-2( $\alpha$ )和a-6( $\beta$ ),产率为31%,27%;化合物a-3( $\alpha$ )和a-7( $\beta$ ),产率为28%,33%;化合物a-4( $\alpha$ )和a-8( $\beta$ ),产率为21%,19%。

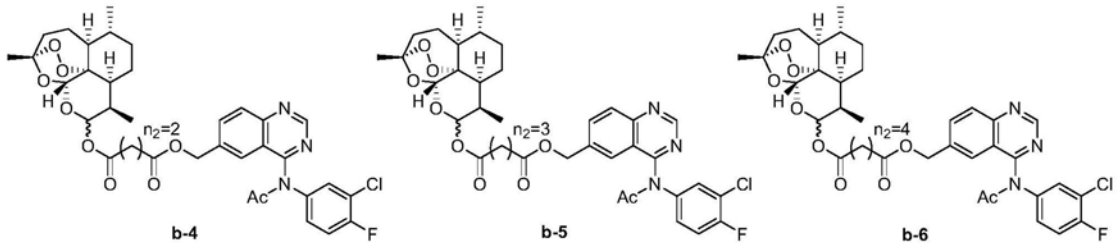
[0035] 实施例2:

[0036] 化合物b-1,b-2,b-3,b-4,b-5,b-6结构分别如下所示:

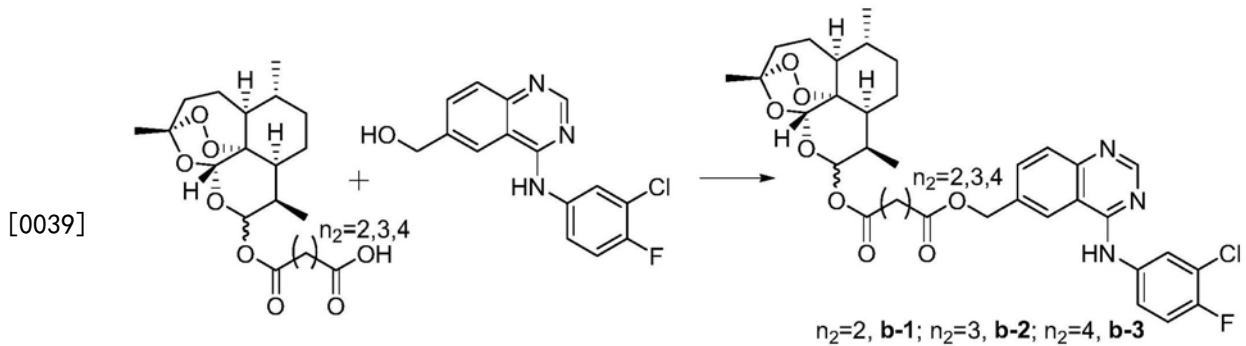




[0037]

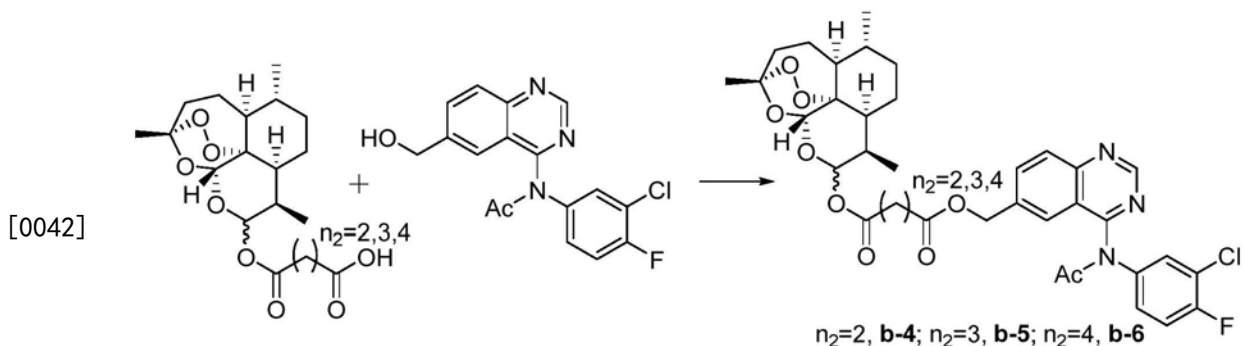


[0038] 化合物b-1, b-2, b-3的制备:



[0040] 如式2-1所示, 分别将 $n_2$ 值不同的青蒿素类化合物(1.2eq.)和苯胺基喹啉醇(1eq.)溶于无水二氯甲烷, 氩气保护, 随后依次加入1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(2eq.)和4-二甲氨基吡啶(0.5eq.), 室温搅拌6h. 反应完毕, 加入饱和碳酸氢钠水溶液洗涤, 乙酸乙酯萃取, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯=3:1), 分别得到化合物b-1, 产率77%; b-2, 产率69%; b-3, 产率63%。

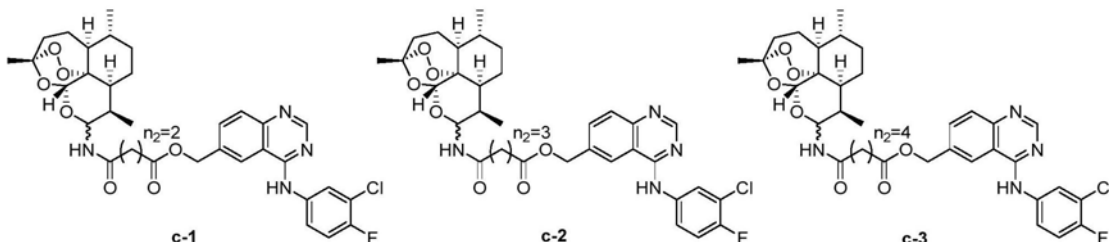
[0041] 化合物b-4, b-5, b-6的制备:

[0043] 如式2-2所示, 分别将 $n_2$ 值不同的青蒿素类化合物(1.2eq.)和乙酰基取代的苯胺

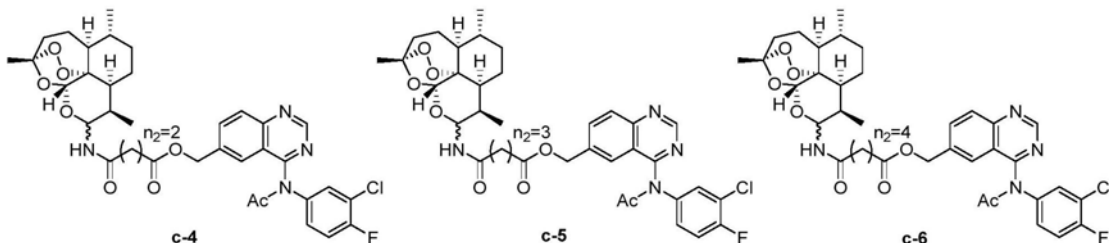
基喹唑啉醇 (1eq.) 溶于无水二氯甲烷, 氩气保护, 随后依次加入1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐 (2eq.) 和4-二甲氨基吡啶 (0.5eq.), 室温搅拌6h. 反应完毕, 加入饱和碳酸氢钠水溶液洗涤, 乙酸乙酯萃取, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯=3:1), 分别得到化合物b-4, 产率68%; 化合物b-5, 产率74%; 得化合物b-6, 产率71%。

[0044] 实施例3:

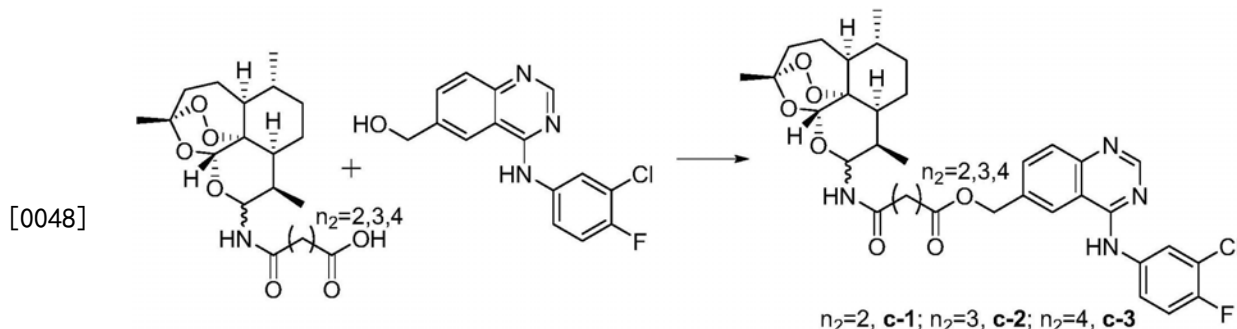
[0045] 化合物c-1, c-2, c-3, c-4, c-5, c-6结构分别如下所示:



[0046]

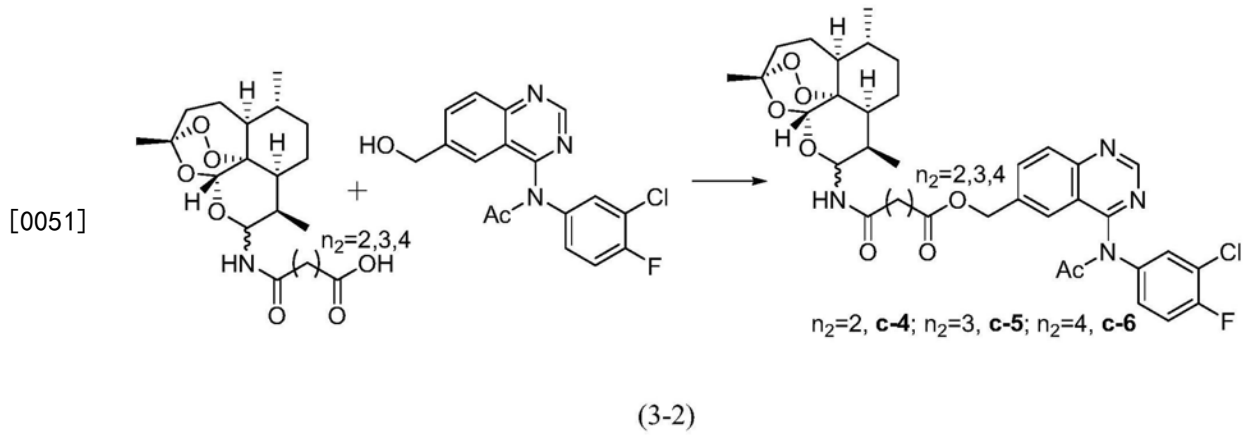


[0047] 化合物c-1, c-2, c-3的制备:



[0049] 如式3-1所示, 分别将 $n_2$ 值不同的青蒿素类化合物 (1.2eq.) 和苯胺基喹唑啉醇 (1eq.) 溶于无水二氯甲烷, 氩气保护, 随后依次加入1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐 (2eq.) 和4-二甲氨基吡啶 (0.5eq.), 室温搅拌6h. 反应完毕, 加入饱和碳酸氢钠水溶液洗涤, 乙酸乙酯萃取, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯=3:1), 分别得到化合物c-1, 产率64%; 化合物c-2, 产率67%; 化合物c-3, 产率58%。

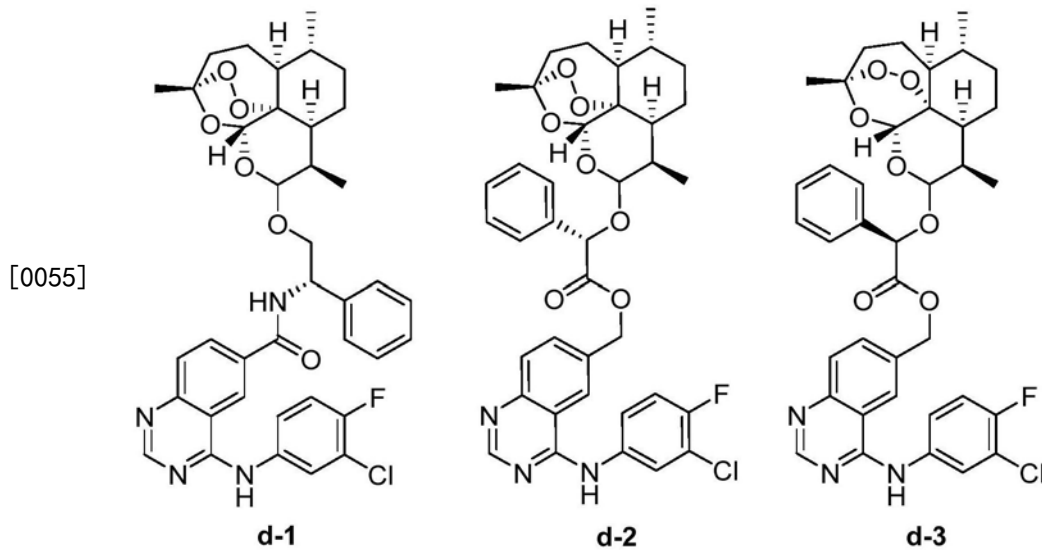
[0050] 化合物c-4, c-5, c-6的制备:



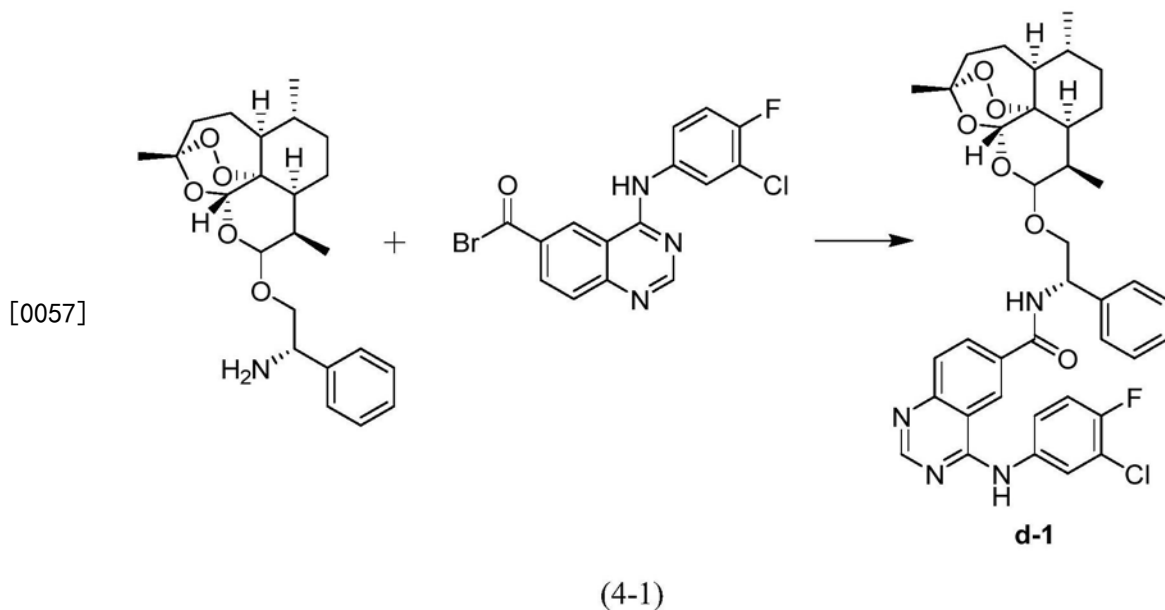
[0052] 如式3-2所示,分别将 $n_2$ 值不同的青蒿素类化合物(1.2eq.)和乙酰基取代的苯胺基喹啉醇(1eq.)溶于无水二氯甲烷,氩气保护,随后依次加入1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(2eq.)和4-二甲氨基吡啶(0.5eq.),室温搅拌6h.反应完毕,加入饱和碳酸氢钠水溶液洗涤,乙酸乙酯萃取,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩,硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯=3:1),分别得到化合物c-4,产率53%;化合物c-5,产率63%;化合物c-6,产率58%。

[0053] 实施例4:

[0054] 化合物d-1,d-2,d-3结构分别如下所示:

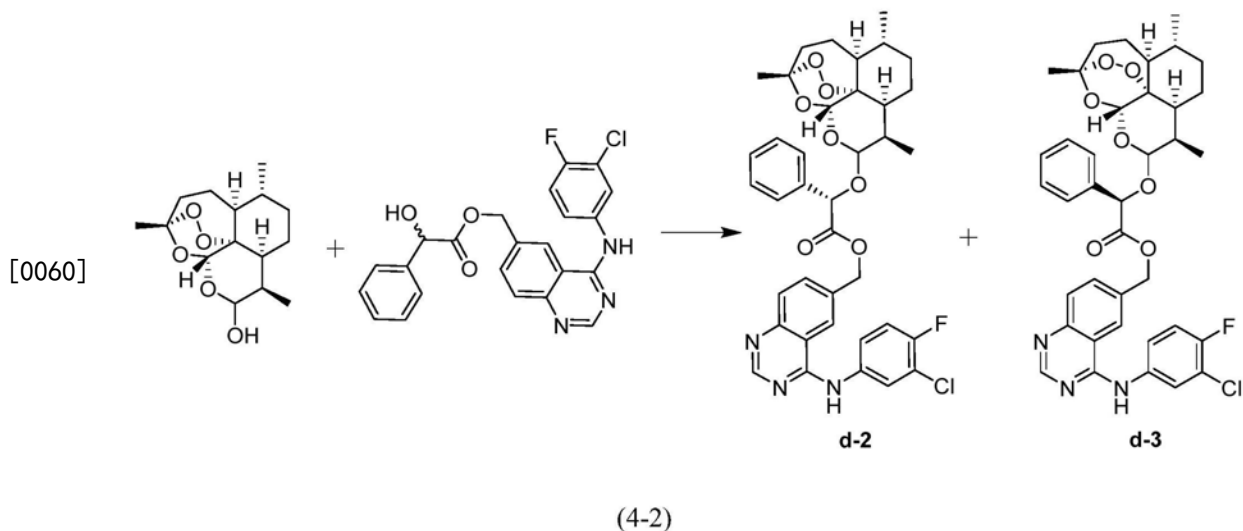


[0056] 化合物d-1的制备:



[0058] 如式4-1所示看,将青蒿素类化合物(1.2eq.)和苯胺基喹唑啉衍生物(1eq.)溶于无水N,N-二甲基甲酰胺中,氩气保护,室温加入二异丙基乙胺(2eq.),1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDCI)(1.5eq.)和4-二甲氨基吡啶(DMAP)(1eq.),室温反应过夜。TLC监测反应过程,反应结束后,加入二氯甲烷稀释,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯=1:1)得到化合物d-1,产率为8.36%。

[0059] 化合物d-2,d-3的制备:



[0061] 如式4-2所示,将双氢青蒿素(1.5eq.)和苯胺基喹唑啉衍生物(1eq.)溶于无水二氯甲烷中,氩气保护,0℃缓慢滴加 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (2eq.)于上述反应液。随后体系继续于0℃反应过夜。TLC监测反应过程,反应结束后,加入二氯甲烷稀释,饱和碳酸氢钠水溶液洗涤,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩,硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯=3:1)分别得到化合物d-2和d-3两个异构体,产率分别为37.65%,25.86%。

[0062] 实施例5:

[0063] 本发明化合物体外抗肿瘤活性的评价。

[0064] 为评价本发明化合物对人结肠癌细胞(HCT116)和黑色素瘤细胞(WM-266-4)的抑

制作用,本发明采用MTS法检测细胞增殖情况,以顺铂和紫杉醇为阳性对照。化合物的 $IC_{50}$ 值通过浓度效应生成曲线计算确定。

[0065] 1.MTS法检测细胞增殖原理

[0066] MTS法检测细胞增殖原理:CellTiter 96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay (a) 是一种用比色法来检测细胞增殖和细胞毒实验中的活细胞数量的检测试剂。此试剂含有一个新型的四唑化合物(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium,MTS) 和一个电子偶联剂(phenazine ethosulfate,PES)。PES具有增强的化学稳定性,这使它可与MTS混合形成稳定的溶液。MTS在代谢活跃细胞中的脱氢酶产生的NADPH或NADH的作用下被细胞生物还原成为一种有色的甲臞产物,可直接溶解于培养基中,在490nm处检测到的甲臞产物的量与培养基中的活细胞数成正比。

[0067] 2.实验方法

[0068] 1) 胰酶消化对数生长期的肿瘤细胞,用含10%胎牛血清的培养液将单个细胞悬浮浓度调整为 $5 \times 10^4$ 个/mL,将100 $\mu$ L细胞悬液用多道加样器加入96孔板,即每孔5000个细胞,空白对照只加入等体积的培养液;

[0069] 2) 待测化合物用DMSO配制成10mM的储备液,用培养液将待测化合物稀释。最高浓度为80 $\mu$ M、16 $\mu$ M、3.2 $\mu$ M、0.64 $\mu$ M及0.128 $\mu$ M;

[0070] 3) 加入100 $\mu$ L稀释后的待测化合物,每孔终体积200 $\mu$ L,设三个复孔。对照孔加入与待测化合物相同量的DMSO(浓度低于2%),空白对照孔加入等体积的新鲜培养液;

[0071] 4) 将培养板置于37 $^{\circ}$ C环境中(含 $CO_2$ ) 孵育48h后终止培养,去除所有培养孔的培养液,加入100 $\mu$ L新鲜培养液,其中含20 $\mu$ L MTS;

[0072] 5) 加入MTS的培养板置于37 $^{\circ}$ C孵育1~4h后在振荡器低速振荡5min,在酶联免疫检测仪490nm处测量各孔的吸收光值,然后根据检测结果计算待测化合物对各种肿瘤细胞系的增殖抑制率并计算其 $IC_{50}$ 。

[0073] 3、实验结果

[0074] 本发明的23个青蒿素-苯胺基喹啉类化合物对人结直肠癌细胞(HCT116)和黑色素瘤细胞(WM-266-4)两种细胞系的 $IC_{50}$ 活性如下表所示。

[0075] 表1. 本发明化合物对人结直肠癌细胞(HCT116)和黑色素瘤细胞(WM-266-4)的 $IC_{50}$ 值

化合物编号	$IC_{50}(\mu M)$	
	HCT116	WM-266-4
a-1	0.27	10.64
a-2	2.09	5.05
a-3	0.36	3.79
a-4	0.26	2.83

	<b>a-5</b>	0.34	4.84
	<b>a-6</b>	6.41	16.68
	<b>a-7</b>	2.38	13.50
	<b>a-8</b>	0.30	4.89
	<b>b-1</b>	0.17	10.85
	<b>b-2</b>	0.27	11.93
	<b>b-3</b>	0.28	3.61
	<b>b-4</b>	0.27	9.64
	<b>b-5</b>	0.85	15.17
	<b>b-6</b>	0.80	19.48
[0077]	<b>c-1</b>	2.83	9.50
	<b>c-2</b>	5.43	15.98
	<b>c-3</b>	5.93	25.54
	<b>c-4</b>	12.38	16.45
	<b>c-5</b>	5.23	5.04
	<b>c-6</b>	11.78	28.37
	<b>d-1</b>	0.91	—
	<b>d-2</b>	0.72	—
	<b>d-3</b>	0.97	—
	DHA (双氢青蒿素)	2.13	>40
	DDP (顺铂)	11.69	3.12
	Taxinol (紫杉醇)	<0.008	<0.008

[0078] 从表1的活性数据可以发现本发明青蒿素-苯胺基喹唑啉类衍生物对两种细胞显示出不同程度的抑制活性。多数化合物对人结直肠癌 (HCT116) 的抑制作用明显大于黑色素瘤细胞 (WM-266-4)。相比于双氢青蒿素 (DHA), 大部分化合物的活性均有所提高且均大于顺铂 (DDP) 阳性对照的活性。

[0079] 综上所述, 本发明所涉化合物总体表现出良好的体外抗肿瘤活性, 具有较好的潜在药用价值, 能用于各类抗肿瘤药物的制备。

[0080] 实施例6:

[0081] 片剂的制备:

[0082] 按实施例1-4的方法制得青蒿素-苯胺基喹唑啉类衍生物、其光学异构体、多晶型物, 按其 与赋形剂重量比为1:5-1:10的比例加入赋形剂, 制粒压片。

[0083] 实施例7:

[0084] 口服液制剂的制备:

[0085] 按实施例1-4的方法制得青蒿素-苯胺基喹唑啉类衍生物、其光学异构体、多晶型物, 按常规口服液制法制成口服液。

[0086] 实施例8:

[0087] 胶囊剂、颗粒剂、或冲剂的制备:

[0088] 按实施例1-4的方法制得青蒿素-苯胺基喹唑啉类衍生物、其光学异构体、多晶型

物,按其 与赋形剂重量比为5:1的比例加入赋形剂,制成胶囊或颗粒剂或冲剂。