



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107540569 B

(45) 授权公告日 2020.10.23

(21) 申请号 201710818523.0

C07C 229/26 (2006.01)

(22) 申请日 2017.09.12

A61P 35/00 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107540569 A

审查员 高文婷

(43) 申请公布日 2018.01.05

(73) 专利权人 青岛大学
地址 266000 山东省青岛市宁夏路308号

(72) 发明人 李子超 李晓雯 李群 高琪

(74) 专利代理机构 贵州派腾知识产权代理有限公司 52114

代理人 谷庆红

(51) Int. Cl.
C07C 233/56 (2006.01)
C07C 231/14 (2006.01)
C07C 227/18 (2006.01)

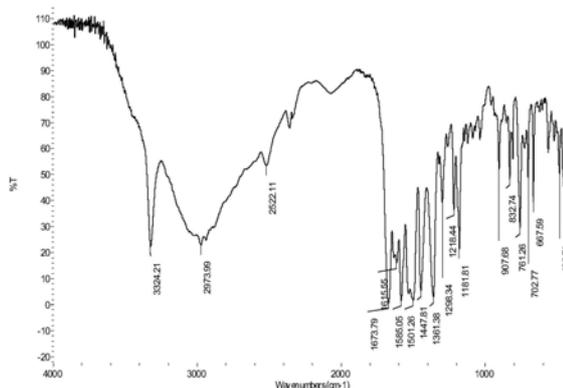
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

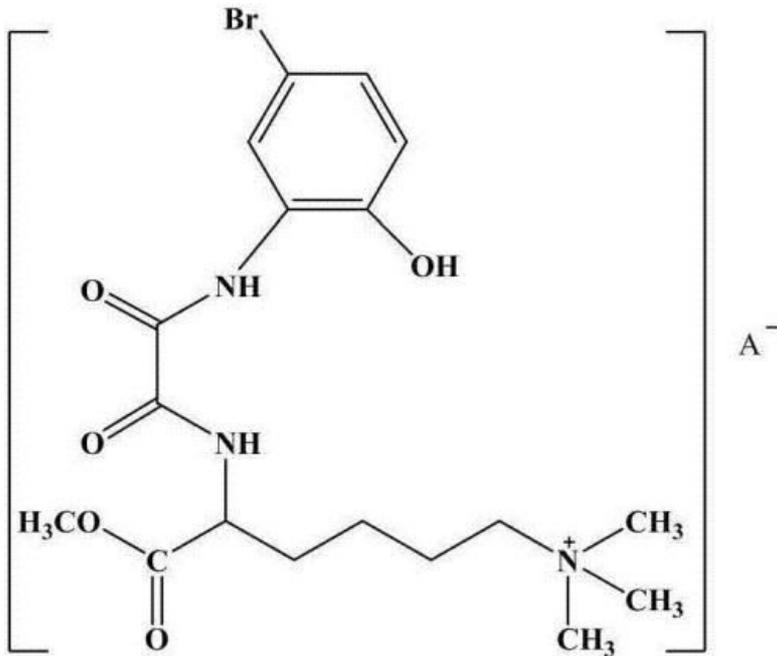
具抗癌活性的昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物及其组合物

(57) 摘要

本发明公开了一种具抗癌活性的昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物及其组合物,其制备方法包括:将昆布氨酸盐酸盐在氯化亚砷中回流,加入甲醇再回流,将多余的溶剂蒸去,调节至中性,至有白色沉淀析出,过滤,再用冰乙醇、乙醚洗涤,真空干燥,得到白色固体产物,再将N-(5-溴-2-羟基苯胺基)草酰乙酯溶于无水乙醇溶液中,缓慢的滴加到溶解有制得的6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酰甲胺盐酸盐的无水THF中,然后升温反应,溶液用稀盐酸或者稀氢溴酸溶液调节至中性,至有白色沉淀析出,过滤,取沉淀物用乙醇重结晶,真空干燥,得到目标产物。本发明制备的昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物及其组合物通过将溴代环状结构的引入可以增强昆布氨酸对肿瘤细胞株的体外细胞毒活性。



1. 一种具抗癌活性的昆布氨酸酯基溴代草酰胺化合物,其特征在于,昆布氨酸酯基溴代草酰胺化合物的结构式为:



所述昆布氨酸酯基溴代草酰胺化合物的结构式中负离子A⁻是Cl⁻或者Br⁻或者NO₃⁻。

2. 权利要求1所述的具抗癌活性的昆布氨酸酯基溴代草酰胺化合物的制备方法,包括以下步骤:

(1) 6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酸甲酯盐酸盐的合成:将昆布氨酸盐酸盐在氯化亚砷中回流2-3h,然后加入甲醇,继续回流3-8h,将多余的溶剂蒸去,用稀盐酸调节pH值至中性,至有白色沉淀析出,过滤,分别用冰乙醇、乙醚洗涤多次,真空干燥,得到白色固体产物;

(2) 昆布氨酸酯基溴代草酰胺化合物的合成:将N-(5-溴-2-羟基苯胺基)草酰乙酯溶于无水乙醇溶液中,在冰浴条件下,缓慢的滴加到溶解有步骤(1)制得的6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酸甲酯盐酸盐的无水THF中且维持反应60min,然后升温至35-85℃,加热反应4-10h,溶液用稀盐酸或者稀氢溴酸溶液调节pH值至中性,至有白色沉淀析出,将溶液过滤,取沉淀物用乙醇重结晶,真空干燥,得到目标产物。

3. 根据权利要求2所述的具抗癌活性的昆布氨酸酯基溴代草酰胺化合物的制备方法,其特征在于,所述步骤(1)中加入的甲醇与昆布氨酸盐酸盐的摩尔比为1-10:1。

4. 根据权利要求2所述的具抗癌活性的昆布氨酸酯基溴代草酰胺化合物的制备方法,其特征在于,所述步骤(2)中加入6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酸甲酯盐酸盐与N-(5-溴-2-羟基苯胺基)草酰乙酯摩尔比为0.8-1.1:1。

具抗癌活性的昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物及其组合物

技术领域

[0001] 本发明属于药物合成技术领域,具体涉及一种具抗癌活性的昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物及其组合物。

背景技术

[0002] 昆布氨酸是从褐藻、异索藻等植物中提取的一种非蛋白质氨基酸,是一种高活性、无毒副作用的海洋天然产物,其可以有效抑制癌细胞生长。海洋来源的生物活性物质,由于其结构独特,在获得较高活性的同时,也往往具有较大的毒性。例如,研究人员对山东沿海海藻抗肿瘤活性的筛选研究发现,绿藻门孔石莼的提取物虽然对人体腔瘤KB细胞和HT-29细胞具有较高的细胞毒活性,但是也对人体正常细胞NIK-3T3也具有较大的毒性。而昆布氨酸是少数的具有高活性、低毒性的海洋天然产物。研究发现,昆布氨酸对老鼠静脉注射的急性毒性为394mg/kg,为实际无毒级的非蛋白氨基酸。

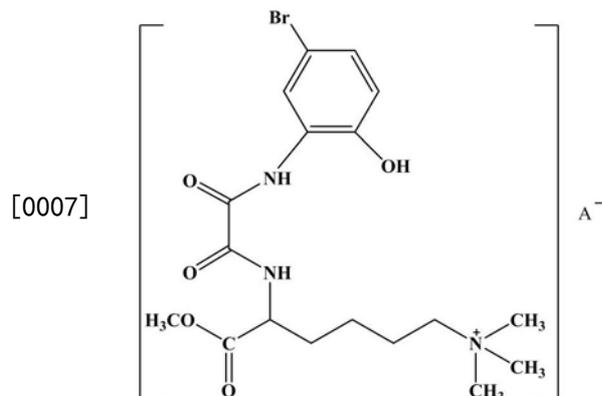
[0003] 因为药物呈现的生物活性主要依赖于药物的化学结构,化学结构的变化会引起物理化性质的变化,从而影响药物的吸收和分布、对酶和受体的结合以及药物的代谢。本发明通过生物等排置换、引入环状基团改变立体结构等方法合成昆布氨酸的衍生物,研究发现溴代环状结构的引入可以增强昆布氨酸对肿瘤细胞株的体外细胞毒活性,这也是本发明的核心目的。

发明内容

[0004] 本发明的目的就是为了解决上述抗癌药研究和应用现状中的不足,利用天然海洋非蛋白氨基酸——昆布氨酸,通过溴代环状结构的引入,提供一种具抗癌活性的昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物及其组合物。

[0005] 为了实现上述目的,本发明采用如下技术方案:

[0006] 一种具抗癌活性的昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物及其组合物,所述昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物的结构式为:



[0008] 进一步地,所述昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物的结构式中负离子 A^- 是 Cl^- 或者 Br^- 或者 NO_3^- 。

[0009] 进一步地,一种具抗癌活性的昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物及其组合物的制备方法包括以下步骤:

[0010] (1) 6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酸甲酯盐酸盐的合成:将昆布氨酸盐酸盐在氯化亚砷中回流2-3h,然后加入甲醇,继续回流3-8h,将多余的溶剂蒸去,用稀盐酸调节pH值至中性,至有白色沉淀析出,过滤,分别用冰乙醇、乙醚洗涤多次,真空干燥,得到白色固体产物,白色固体产物的产率为43.7-68.1%;

[0011] (2) 昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物的合成:将N-(5-溴-2-羟基苯胺基)草酰乙酯溶于无水乙醇溶液中,在冰浴条件下,缓慢的滴加到溶解有步骤(1)制得的6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酰甲胺盐酸盐的无水THF中且维持反应60min,然后升温至35-85℃,加热反应4-10h,溶液用稀盐酸或者稀氢溴酸溶液调节pH值至中性,至有白色沉淀析出,将溶液过滤,取沉淀物用乙醇重结晶,真空干燥,得到目标产物,所述目标产物的产率为33.7-61.5%;

[0012] (3) 将步骤(2)中制得的目标产物与一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂用常规的药剂混合、制备技术做成商品药物组合物。

[0013] 进一步地,所述步骤(1)中加入的甲醇与昆布氨酸盐酸盐的摩尔比为1-10:1。

[0014] 进一步地,所述步骤(2)中加入6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酰甲胺盐酸盐与N-(5-溴-2-羟基苯胺基)草酰乙酯摩尔比为0.8-1.1:1。

[0015] 本发明的具抗癌活性的昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物及其组合物的有益效果:

[0016] 1、本发明利用天然海洋生物非蛋白质——昆布氨酸合成一种新的具抗癌活性的昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物及其组合物,拓展了天然海洋资源的高附加值应用;

[0017] 2、昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物既保持了昆布氨酸盐的阳离子性质,有一定的亲水性,同时又因引入了溴代平面环状结构,调节了分子的立体结构和亲水亲油平衡值,更有利于嵌入蛋白质分子攻击癌细胞靶点;

[0018] 3、乙二酮双胺分子结构的植入更有利于同靶点蛋白质分子中生物酶的活性中心金属离子相作用,使酶失活,促进癌细胞的凋亡,使得精准治疗效果更好。

附图说明

[0019] 为了更清楚地说明本发明实施例的技术方案,下面将对实施例描述中所需要使用的附图作简单地介绍。

[0020] 图1为本发明实施例1中所合成的昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物的红外线光谱图(KBr压片法)。

具体实施方式

[0021] 下面将结合具体实施例对本发明的技术方案进行完整、清晰的描述:

[0022] 实施例1

[0023] (1) 6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酸甲酯盐酸盐的合成:将10mmol (2.24g) 昆布氨酸盐酸盐在氯化亚砷中回流2h,加入50mmol (1.60g) 甲醇,继续回流8h,将多余的溶剂蒸去,用稀盐酸调节pH值至中性,有白色沉淀析出,过滤,分别用冰乙醇、乙醚洗涤多次,真空干燥,得白色固体1.62g,产率68.1%。

[0024] (2) 昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物的合成:将29mmol (8.19g)的 N-(5-溴-2-羟基苯胺基)草酰乙酯溶于30mL无水乙醇溶液中,在冰浴条件下,缓慢的滴加到溶解有32mmol (7.58g)的6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酸甲酰胺盐酸盐的无水THF中维持反应60min,升温至85℃加热反应6h,溶液用稀盐酸调节pH值至中性,有白色沉淀析出,将溶液过滤,用乙醇重结晶,真空干燥,得到目标产物8.28g,产率59.6%。

[0025] 参见图1,图1是本发明实施例1中所合成的昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物的红外光谱图(KBr压片法)。如图1所示:目标产物的 ν (O-H)和 ν (N-H)的伸缩振动峰出现在 3324cm^{-1} 附近; ν (C-H)的伸缩振动峰出现在 2973cm^{-1} 附近; ν (C=O)的伸缩振动吸收出现在 1673cm^{-1} ,酰胺I带位于 1585cm^{-1} 附近,酰胺II带位于 1501cm^{-1} 附近;季铵盐正离子伸缩振动峰在 2532cm^{-1} 和 1361cm^{-1} ,均能与目标产物昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物的官能团一一对应。

[0026] 实施例2

[0027] (1) 6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酸甲酯盐酸盐的合成:同实施例1,仅将昆布氨酸盐酸盐在氯化亚砷中回流时间改为3h,加入甲醇后的回流反应时间改为3h。得到目标产物1.04g,产率43.7%。

[0028] (2) 昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物的合成:同实施例1,仅将N-(5-溴-2-羟基苯胺基)草酰乙酯跟6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酸甲酰胺盐酸盐的摩尔比改为1:0.8、反应温度定为 35°C 、反应时间定为10h,得到目标产物4.68g,产率33.7%。

[0029] 实施例3

[0030] (1) 6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酸甲酯盐酸盐的合成:同实施例1,仅将昆布氨酸盐酸盐在氯化亚砷中回流时间改为2.4h,加入甲醇后的回流反应时间改为8h。得到目标产物1.36g,产率为57.3%。

[0031] (2) 昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物的合成:同实施例1,仅将N-(5-溴-2-羟基苯胺基)草酰乙酯跟6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酸甲酰胺盐酸盐的摩尔比定为1:1、反应温度定为 85°C 、反应时间定为4h。得到目标产物7.17g,产率51.6%。

[0032] 实施例4

[0033] (1) 6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酸甲酯盐酸盐的合成:同实施例1,仅将昆布氨酸盐酸盐在氯化亚砷中回流时间改为2.5h,加入甲醇后的回流反应时间改为3h。得到目标产物1.15g,产率48.3%。

[0034] (2) 昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物的合成:同实施例1。

[0035] 实施例5

[0036] (1) 6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酸甲酯盐酸盐的合成:同实施例1,仅将甲醇添加量改为100mmol,得到目标产物1.07g,产率45.1%。

[0037] (2) 昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物的合成:同实施例1。

[0038] 实施例6

[0039] (1) 6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酸甲酯盐酸盐的合成:同实施例1。

[0040] (2) 昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物的合成:同实施例1,仅将中和用的稀盐酸溶液改为稀氢溴酸溶液,得到溴化物。得到目标产物9.34g,产率61.5%。

[0041] 实施例7

[0042] (1) 6-N,N,N-三甲基-2-氨基甲酸甲酯盐酸盐的合成:同实施例1。

[0043] (2) 昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物的合成:同实施例1,仅将中和用的稀盐酸溶液改为稀硝酸溶液,得到硝酸盐。得到目标产物7.82g,产率53.3%。

[0044] 为了验证昆布氨酸酯基溴代草酰胺衍生物的抗癌活性,以市售抗癌药物顺铂为对照,进行了公知的体外细胞毒活性试验。

[0045] 体外细胞毒试验使用SRB检测法,加入从上述实施例中得到的化合物后,培养基在515nm处的OD读数,由测得的OD值,通过如下公式计算待测样品对人肝癌细胞株(SMMC-7721)、肺腺癌细胞株(A549)细胞、人急性早幼粒白血病(HL-60)和正常小鼠角质细胞(Pam 212)的抑制率:

$$[0046] \quad \text{抑制率(\%)} = \left(1 - \frac{\text{加药组OD值} - \text{本底对照组OD值}}{\text{正常组OD值} - \text{本底对照组OD值}} \right) \times 100$$

[0047] 以被测样品浓度对抑制率做线性回归,求出其48h内的半数抑制浓度(IC₅₀)。以顺铂作为阳性对照。本发明所获得的代表化合物抗癌活性的IC₅₀结果列于表中。

化合物	IC ₅₀ (μg/mL)			
	SMMC-772 1	A549 .2	HL-60 .2	Pam 212 >300
实施例 1 产物	47.3±0.1	53.8±0.2	60.3±0.2	>300
[0048] 实施例 6 产物	64.7±0.1	77.7±0.2	88.2±0.2	>300
实施例 7 产物	53.6±0.1	67.4±0.2	72.6±0.2	>300
顺铂	4.0±0.1	7.2±0.1	3.5±0.1	114±3

[0049] 从表中可知,实施例1、6、7对于抑制癌细胞活性的效果均强于抗癌药物顺铂,其中,实施例6的产物对SMMC-7721、A549以及HL-60的抑制效果最强。

[0050] 实施例8

[0051] 片剂的制备:称取实施例1合成的目标产物50g,利用常规技术,混合以下组分,用85%乙醇制粒,干燥,压片,制成1000片,每日3次,每次2片。其配方如下:

成分	每 1000 片含量
实施例 1 产物	50 g
乳糖	100 g
[0052] 玉米淀粉	40 g
硬脂酸镁	10 g
总量	200 g

[0053] 实施例9

[0054] 缓释片剂的制备：称取实施例5合成的目标产物100g，利用常规技术，混合以下组分，用90%乙醇制粒，干燥，压片，制成1000片，每日2次，每次 1片。

[0055] 其配方如下：

成分	每 1000 片含量
实施例 5 产物	100 g
微晶纤维素	250 g
羧甲基淀粉钠	20 g
[0056] 交联聚乙烯吡咯烷酮	80 g
玉米淀粉	30 g
硬脂酸镁	20 g
总量	500 g

[0057] 实施例10

[0058] 胶囊剂的制备：称取实施例6合成的式目标产物50g，利用常规技术，混合以下组分，用85%乙醇制粒，干燥，装入硬胶囊，制成1000粒，每日3次，每次2粒。

[0059] 其配方如下：

成分	每 1000 粒含量
实施例 6 产物	50 g
乳糖	100 g
[0060] 玉米淀粉	40 g
硬脂酸镁	10 g
总量	200 g

[0061] 实施例11

[0062] 注射用冻干粉末的制备:称取实施例1产物50g,甘露醇150g,加注射用水2000mL,搅拌使溶解,用1mol/L NaOH溶液调pH至6.60~7.00,搅拌使溶解,滤过,滤液按1%溶液体积量加入活性炭,在70~80°C下加热30min,粗滤过,管道及容器用400mL注射用水洗涤,加水到2500mL,药液经0.22μm无菌过滤器过滤,灌装,冻干,压塞,轧盖,制成1000瓶,即得。

[0063] 通过上述具体实施例可知本发明制得的目标产物可以有效的抑制癌细胞的生长,且与一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂用常规的药剂混合、制备技术做成商品药物组合物。

[0064] 对所公开的实施例的上述说明,使本领域专业技术人员能够实现或使用本发明。对这些实施例的多种修改对本领域的专业技术人员来说将是显而易见的,本文中所定义的一般原理可以在不脱离本发明的精神或范围的情况下,在其它实施例中实现。因此,本发明将不会被限制于本文所示的这些实施例,而是要符合与本文所公开的原理和新颖特点相一致的最宽的范围。

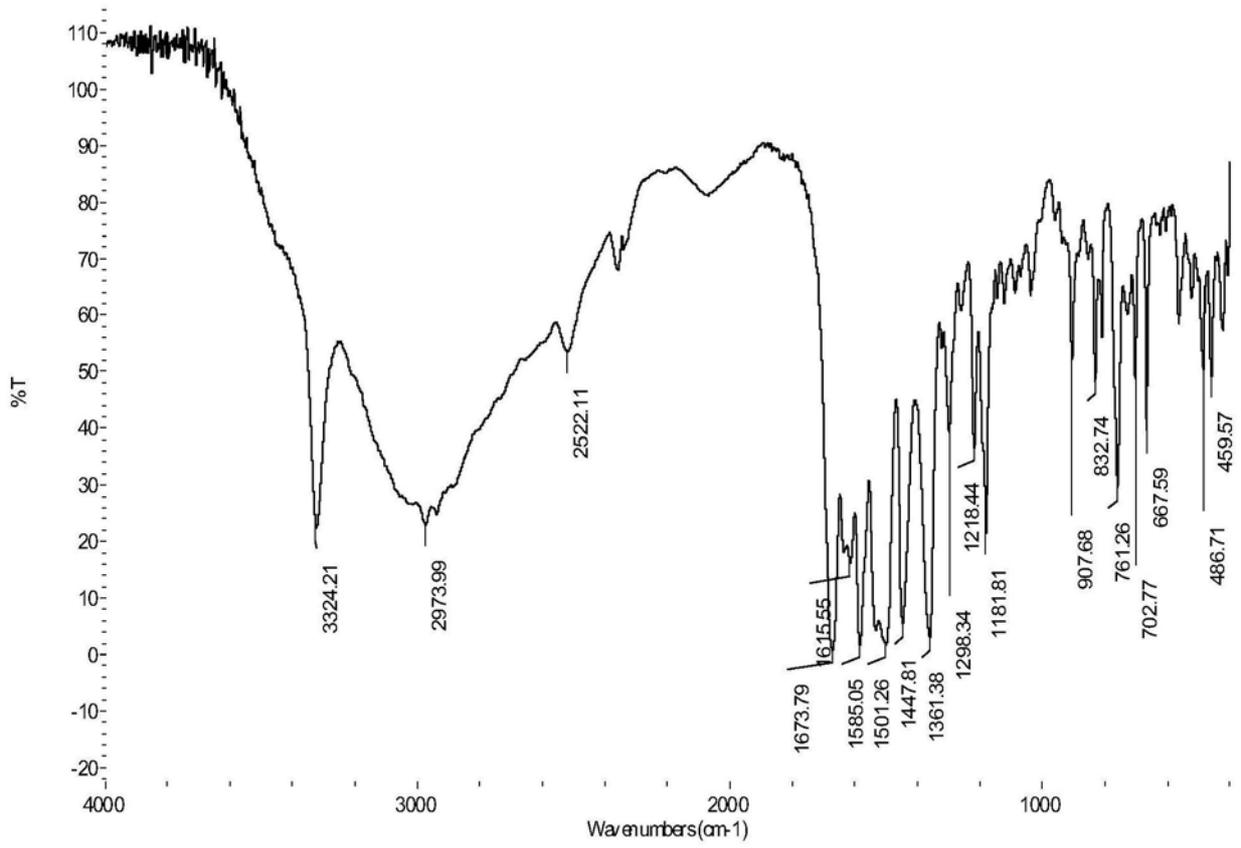


图1