



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103483354 B

(45) 授权公告日 2016. 01. 20

(21) 申请号 201310413815. 8

(22) 申请日 2013. 09. 11

(83) 生物保藏信息

CCTCC NO :M2012507 2012. 12. 06

(73) 专利权人 中国科学院南海海洋研究所

地址 510301 广东省广州市新港西路 164 号

(72) 发明人 漆淑华 鲍洁

(74) 专利代理机构 广州科粤专利商标代理有限公司

公司 44001

代理人 刘明星

(51) Int. Cl.

C07D 495/04(2006. 01)

A61K 31/381(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

A61P 35/02(2006. 01)

审查员 刘辰

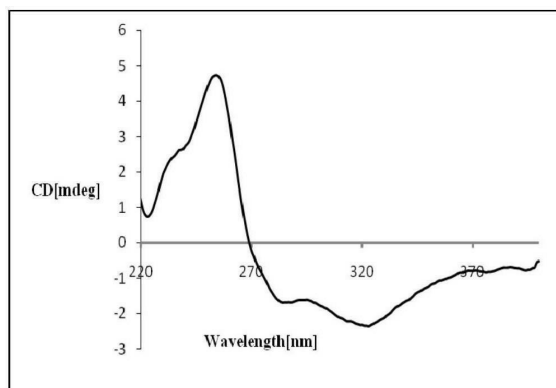
权利要求书3页 说明书12页 附图3页

(54) 发明名称

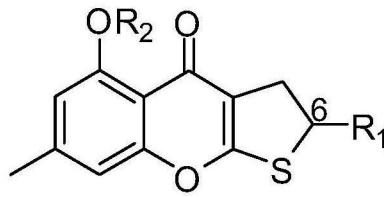
一类色酮类化合物及其制备方法和在制备抗肿瘤与酶抑制剂药物中的应用

(57) 摘要

本发明公开了一类色酮类化合物及其制备方法和在制备抗肿瘤与酶抑制剂药物中的应用。本发明的如式(I)所示的含硫色酮类化合物对肺腺癌细胞、组织细胞淋巴瘤细胞、白血病细胞、胃癌细胞、急性淋巴母细胞白血病细胞、急性粒细胞白血病细胞或肝癌细胞的生长有较强的抑制作用,对 JAK3, AuroraA 和 ABL 有抑制作用,在制备抗肿瘤以及酶抑制剂药物方面有良好的应用前景。



1. 含硫色酮类化合物,其结构如式(I)所示:



式(I)

其中化合物1:C-6为R构型, $R_1 =$
 $R_2 = H$;

化合物2:C-6为S构型, $R_1 =$
 $R_2 = H$;

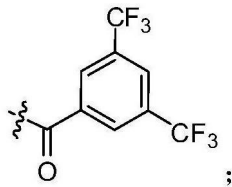
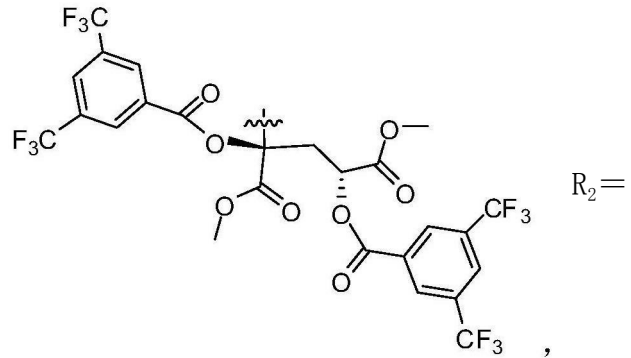
化合物3:C-6为S构型, $R_1 =$
 $R_2 = H$;

化合物4:C-6为S构型, $R_1 =$
 $R_2 = H$;

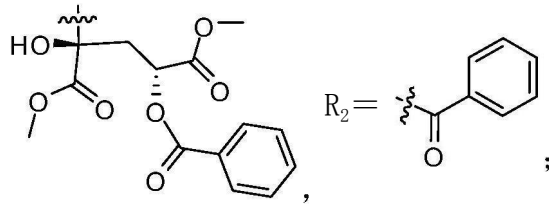
化合物5:C-6为S构型, $R_1 =$
 $R_2 =$

化合物6:C-6为S构型, $R_1 =$
 $R_2 = H$;

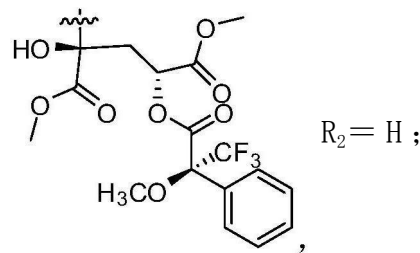
化合物 7 :C-6 为 S 构型, $R_1 =$



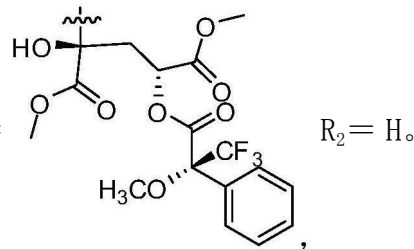
化合物 8 :C-6 为 S 构型, $R_1 =$



化合物 9 :C-6 为 R 构型, $R_1 =$



化合物 10 :C-6 为 R 构型, $R_1 =$



2. 一种权利要求 1 所述的如式 (I) 所示的含硫色酮类化合物的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 制备草酸青霉 (*Penicillium oxalicum*) SCSGAF 0023CCTCC NO:M2012507 的发酵液;

(2) 将步骤 (1) 得到的发酵液用乙酸乙酯、二氯甲烷或氯仿溶剂萃取,萃取液浓缩得到乙酸乙酯提取物、二氯甲烷提取物或氯仿提取物;

(3) 将步骤 (2) 所述的乙酸乙酯提取物、二氯甲烷提取物或氯仿提取物经过常压硅胶柱层析,以氯仿-甲醇、氯仿-丙酮、氯仿-乙酸乙酯、石油醚-丙酮或石油醚-乙酸乙酯溶剂系统为洗脱剂,从体积比 100:0 到 0:100 进行梯度洗脱,用薄层层析追踪合并组分,将在薄层层析上能用体积比 8:2 的氯仿-丙酮溶剂系统展开的组分,经进一步的分离纯化,得到化合物 oxalicumone A 以及式 (I) 中的化合物 1-3;

(4) 将 oxalicumone A 溶于无水吡啶中在室温用 4-二甲氨基吡啶作为催化剂,分别与 4-硝基苯甲酰氯、3,5-双(三氟甲基)苯甲酰氯、苯甲酰氯反应制备得到式(I)中的化合物 4-8;

(5) 将化合物 1 溶于无水吡啶中在室温分别与 (R)-2-甲氧基-2-三氟甲基苯乙酰氯((R)-MTPA) 和 (S)-2-甲氧基-2-三氟甲基苯乙酰氯((S)-MTPA) 反应制备得到化合物 9 和 10。

3. 权利要求 1 所述的如式(I)所示的含硫色酮类化合物 1、2、3、4、5、6、7、8 或 10 在制备抗肿瘤药物中的应用。

4. 根据权利要求 3 所述的应用,其特征在于,当为化合物 1 时,所述的抗肿瘤药物为抗淋巴瘤、胃癌或白血病药物;当为化合物 2 时,所述的抗肿瘤药物为抗胃癌或白血病药物;当为化合物 3 或 4 时,所述的抗肿瘤药物为抗肺癌、淋巴瘤、胃癌、白血病、乳腺癌或肝癌药物;当为化合物 5 时,所述的抗肿瘤药物为抗淋巴瘤、胃癌、白血病、乳腺癌或肝癌药物;当为化合物 6 时,所述的抗肿瘤药物为抗肺癌、淋巴瘤、胃癌、白血病或乳腺癌药物;当为化合物 7 时,所述的抗肿瘤药物为抗淋巴瘤药物;当为化合物 8 时,所述的抗肿瘤药物为抗白血病药物;当为化合物 10 时,所述的抗肿瘤药物为抗胃癌或白血病药物。

5. 一种抗肿瘤药物,其特征在于,包括有效量的作为活性成分的权利要求 1 所述的如式(I)所示的含硫色酮类化合物 1、2、3、4、5、6、7、8 或 10,和药学上可以接受的载体。

6. 根据权利要求 5 所述的抗肿瘤药物,其特征在于,当为化合物 1 时,所述的抗肿瘤药物为抗淋巴瘤、胃癌或白血病药物;当为化合物 2 时,所述的抗肿瘤药物为抗胃癌或白血病药物;当为化合物 3 或 4 时,所述的抗肿瘤药物为抗肺癌、淋巴瘤、胃癌、白血病、乳腺癌或肝癌药物;当为化合物 5 时,所述的抗肿瘤药物为抗淋巴瘤、胃癌、白血病、乳腺癌或肝癌药物;当为化合物 6 时,所述的抗肿瘤药物为抗肺癌、淋巴瘤、胃癌、白血病或乳腺癌药物;当为化合物 7 时,所述的抗肿瘤药物为抗淋巴瘤药物;当为化合物 8 时,所述的抗肿瘤药物为抗白血病药物;当为化合物 10 时,所述的抗肿瘤药物为抗胃癌或白血病药物。

7. 权利要求 1 所述的如式(I)所示的含硫色酮类化合物 1、4、5、6 或 9 在制备酶抑制剂药物中的应用,当为化合物 1、5、6 或 9 时,所述的酶抑制剂药物为蛋白酪氨酸激酶 3 的抑制剂;当为化合物 4 时,所述的酶抑制剂药物为酪氨酸激酶、蛋白酪氨酸激酶 3 或 Aurora-A 激酶的抑制剂。

8. 一种酶抑制剂药物,其特征在于,包括有效量的作为活性成分的权利要求 1 所述的如式(I)所示的含硫色酮类化合物 1、4、5、6 或 9,和药学上可以接受的载体。

9. 根据权利要求 8 所述的酶抑制剂药物,其特征在于,当为化合物 1、5、6 或 9 时,所述的酶抑制剂药物为蛋白酪氨酸激酶 3 的抑制剂;当为化合物 4 时,所述的酶抑制剂药物为酪氨酸激酶、蛋白酪氨酸激酶 3 或 Aurora-A 激酶的抑制剂。

一类色酮类化合物及其制备方法和在制备抗肿瘤与酶抑制剂药物中的应用

技术领域：

[0001] 本发明属于生物技术领域，具体涉及一类含硫色酮类化合物及其制备方法和在制备抗肿瘤与酶抑制剂药物中的应用。

背景技术：

[0002] 真菌能产生多种多样具有不同生理活性的代谢产物，如抗肿瘤、抗细菌、抗真菌、抗虫、酶抑制剂等生物活性。从真菌中寻找活性化合物已经成为天然药物研发的一个热点。色酮类化合物作为自然界中普遍存在的一类化合物，不仅结构形式多样，并且具有多种多样的生物活性，引起了化学家等的广泛关注。含硫色酮类化合物较少见，对其研究也较少。

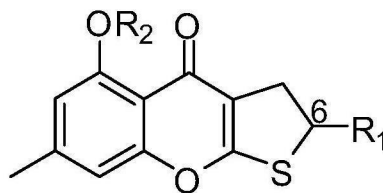
发明内容：

[0003] 本发明的第一个目的是提供一类具有抗肿瘤与酶抑制剂活性的含硫色酮类化合物。

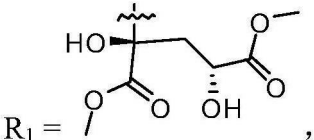
[0004] 本发明通过多种柱层析及一维、二维核磁共振波谱，从草酸青霉(*Penicillium oxalicum*) SCSGAF 0023CCTCC NO :M2012507 的发酵液中分离得到一类含硫色酮类化合物，这种含硫色酮类化合物具有抑制多种癌症细胞生长的细胞毒活性，可用于制备抗肿瘤药物，并且对多种激酶有较好抑制作用，可用于制备酶抑制剂药物，从而实现了本发明的目的。

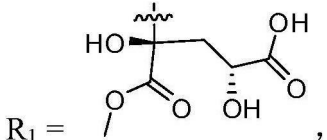
[0005] 本发明的含硫色酮类化合物，其结构如式(I)所示：

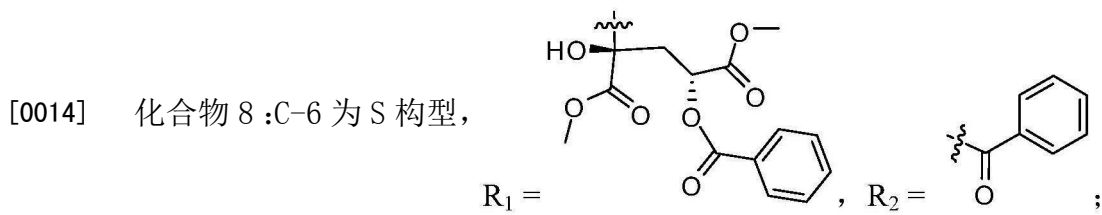
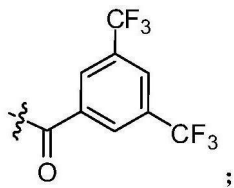
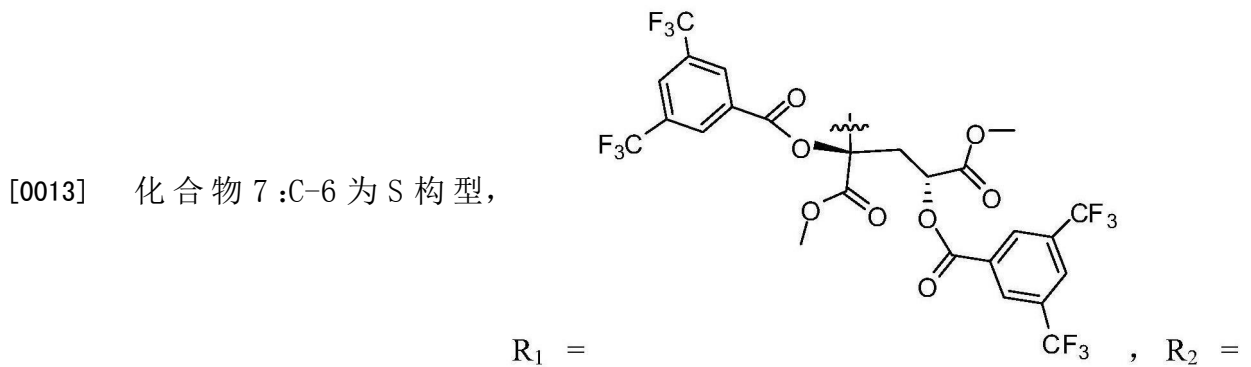
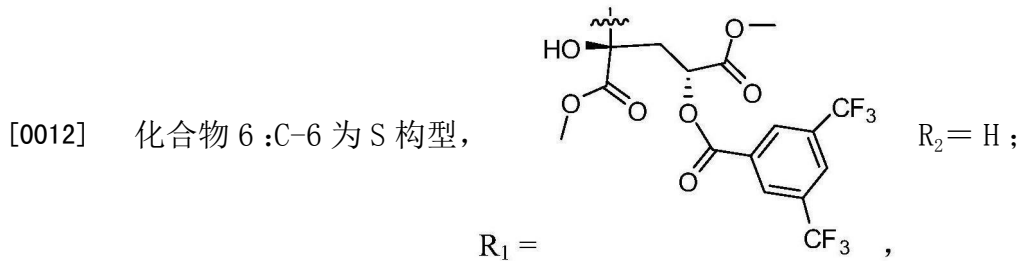
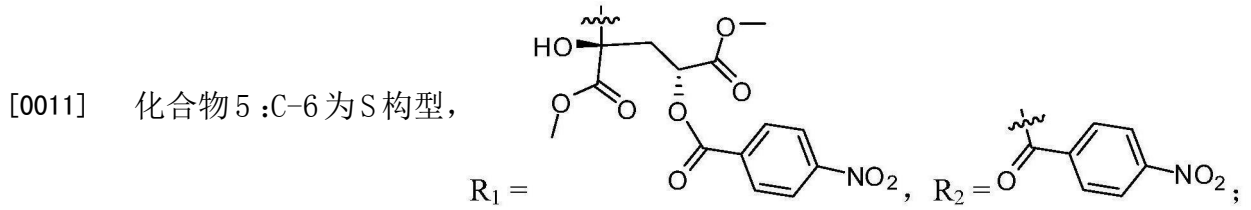
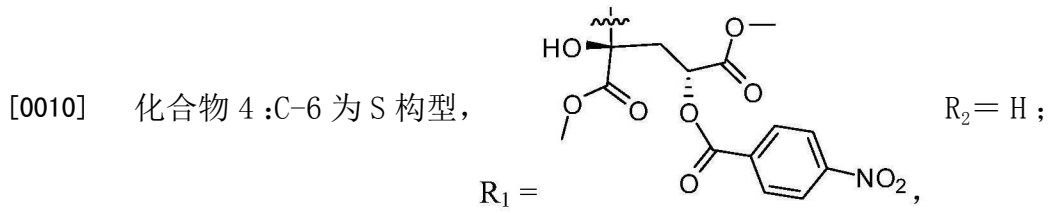
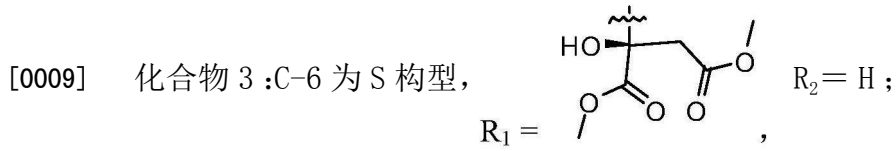
[0006]



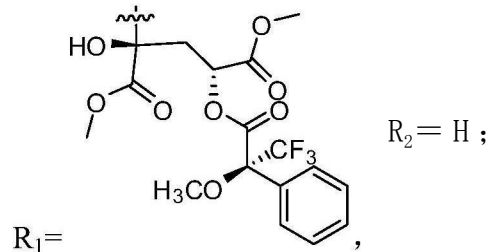
式(I)

[0007] 其中化合物 1 :C-6 为 R 构型, $R_1 =$  , $R_2 = H$;

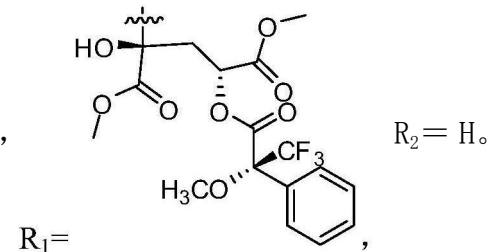
[0008] 化合物 2 :C-6 为 S 构型, $R_1 =$  , $R_2 = H$;



[0015] 化合物 9 :C-6 为 R 构型,



[0016] 化合物 10 :C-6 为 R 构型,



[0017] 本发明的第二个目的是提供如式(I)所示的含硫色酮类化合物的制备方法。

[0018] 本发明的如式(I)所示的含硫色酮类化合物的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

[0019] (1)制备草酸青霉(*Penicillium oxalicum*)SCSGAF0023CCTCC NO:M2012507 的发酵液;

[0020] (2)将步骤(1)得到的发酵液用乙酸乙酯、二氯甲烷或氯仿溶剂萃取,萃取液浓缩得到乙酸乙酯提取物、二氯甲烷提取物或氯仿提取物;

[0021] (3)将步骤(2)所述的乙酸乙酯提取物、二氯甲烷提取物或氯仿提取物经过常压硅胶柱层析,以氯仿-甲醇、氯仿-丙酮、氯仿-乙酸乙酯、石油醚-丙酮或石油醚-乙酸乙酯溶剂系统为洗脱剂,从体积比 100:0 到 0:100 进行梯度洗脱,用薄层层析追踪合并组分,将在薄层层析上能用体积比 8:2 的氯仿-丙酮溶剂系统展开的组分,经进一步的分离纯化,得到化合物 oxalicumone A 以及式(I)中的化合物 1-3;

[0022] (4)将 oxalicumone A 溶于无水吡啶中在室温用 4-二甲氨基吡啶作为催化剂,分别与 4-硝基苯甲酰氯、3,5-双(三氟甲基)苯甲酰氯、苯甲酰氯反应制备得到式(I)中的化合物 4-8;

[0023] (5)将化合物 1 溶于无水吡啶中在室温分别与 (R)-2-甲氧基-2-三氟甲基苯乙酰氯((R)-MTPA)和 (S)-2-甲氧基-2-三氟甲基苯乙酰氯((S)-MTPA)反应制备得到化合物 9 和 10。

[0024] 步骤(1)中所述的草酸青霉(*Penicillium oxalicum*)SCSGAF 0023CCTCC NO:M2012507 的发酵液可以将草酸青霉(*Penicillium oxalicum*)SCSGAF 0023 CCTCC NO:M2012507 接种到青霉属真菌适用的培养基中,在通常的发酵条件下制得。优选的制备方法是将草酸青霉(*Penicillium oxalicum*)SCSGAF0023CCTCC NO:M2012507 接种于 PDA 培养基中,28℃培养 3 天,得到培养有菌种的平板,然后将平板中菌种接种入 PDB 培养基中,于室温静置培养 30 天,得到草酸青霉(*Penicillium oxalicum*)SCSGAF 0023 CCTCC NO:M2012507 的发酵液,所述的 PDA 培养基每升含有土豆 200g,葡萄糖 20g,海盐 30g,琼脂 20g,余量为水,所述的 PDB 培养基每升含有土豆 200g,葡萄糖 20g,海盐 30g,余量为水。

[0025] 步骤(2)所述的萃取最好用乙酸乙酯,所述的浓缩可以采用常规的方法如减压浓缩。

[0026] 步骤(3)所述的纯化可以采用色谱柱分离或重结晶。

[0027] 通过体外抗肿瘤活性筛选实验,结果显示:本发明的如式(I)所示的含硫色酮类化合物能抑制肺腺癌细胞株 H1975、组织细胞淋巴瘤细胞株 U937、白血病细胞株 K562、胃癌细胞株 BGC-823,急性淋巴瘤母细胞白血病细胞株 MOLT-4、乳腺癌细胞株 MCF-7、急性粒细胞白血病细胞株 HL-60 和肝癌细胞株 Huh-7 的生长,它们的 IC_{50} 值如表 2 所示,由此证明本发明的如式(I)所示的含硫色酮类化合物可以用于制备抗肿瘤药物。

[0028] 通过酶抑制剂活性筛选实验,结果显示:本发明的式(I)所示的含硫色酮类化合物对 JAK3, AuroraA 和 ABL 有抑制作用,它们的 IC_{50} 值如表 3 所示,由此证明本发明的如式(I)所示的含硫色酮类化合物可用于制备 JAK3、AuroraA 和 ABL 酶抑制剂药物。

[0029] 因此,本发明的第三个目的是提供如式(I)所示的含硫色酮类化合物 1、2、3、4、5、6、7、8 或 10 在制备抗肿瘤药物中的应用。

[0030] 本发明的第四个目的是提供一种抗肿瘤药物,其特征在于,包括有效量的作为活性成分的如式(I)所示的含硫色酮类化合物 1、2、3、4、5、6、7、8 或 10,和药学上可以接受的载体。

[0031] 优选,当为化合物 1 时,所述的抗肿瘤药物为抗淋巴瘤、胃癌或白血病药物。

[0032] 优选,当为化合物 2 时,所述的抗肿瘤药物为抗胃癌或白血病药物。

[0033] 优选,当为化合物 3 或 4 时,所述的抗肿瘤药物为抗肺癌、淋巴瘤、胃癌、白血病、乳腺癌或肝癌药物。

[0034] 优选,当为化合物 5 时,所述的抗肿瘤药物为抗淋巴瘤、胃癌、白血病、乳腺癌或肝癌药物。

[0035] 优选,当为化合物 6 时,所述的抗肿瘤药物为抗肺癌、淋巴瘤、胃癌、白血病或乳腺癌药物。

[0036] 优选,当为化合物 7 时,所述的抗肿瘤药物为抗淋巴瘤药物。

[0037] 优选,当为化合物 8 时,所述的抗肿瘤药物为抗白血病药物。

[0038] 优选,当为化合物 10 时,所述的抗肿瘤药物为抗胃癌或白血病药物。

[0039] 本发明的第五个目的是提供如式(I)所示的含硫色酮类化合物 1、4、5、6 或 9 在制备酶抑制剂药物中的应用。

[0040] 本发明的第六个目的是提供一种酶抑制剂药物,其特征在于,包括有效量的作为活性成分的如式(I)所示的含硫色酮类化合物 1、4、5、6 或 9,和药学上可以接受的载体。

[0041] 优选,当为化合物 1、5、6 或 9 时,所述的酶抑制剂药物为蛋白酪氨酸激酶 3 的抑制剂。

[0042] 优选,当为化合物 4 时,所述的酶抑制剂药物为酪氨酸激酶、蛋白酪氨酸激酶 3、Aurora-A 激酶的抑制剂。

[0043] 本发明的如式(I)所示的含硫色酮类化合物对肺腺癌细胞、组织细胞淋巴瘤细胞、白血病细胞、胃癌细胞、急性淋巴瘤母细胞白血病细胞、急性粒细胞白血病细胞或肝癌细胞的生长有较强的抑制作用,对 JAK3, AuroraA 和 ABL 有抑制作用,在制备抗肿瘤以及酶抑制剂药物方面有良好的应用前景。

[0044] 本发明的草酸青霉(Penicillium oxalicum)SCSGAF 0023 CCTCC NO:M2012507 于 2012 年 12 月 6 日保藏于中国典型培养物保藏中心(CCTCC),地址:中国,武汉,武汉大学,保

藏号为 CCTCC NO :M2012507。

附图说明：

[0045] 图 1 是化合物 1-3 在 HPLC 中观察到了 UV 吸收谱图；

[0046] 图 2 中 A 是化合物 1 在二氯甲烷中所测 CD 图；B 是化合物 2 在甲醇中所测 CD 图；

[0047] 图 3 中 A 是化合物 3 在二氯甲烷中所测 CD 图；B 是化合物 3 在二氯甲烷中所测 $Rh_2(OCOCF_3)_4$ 络合物的 CD 差图。

具体实施方式：

[0048] 以下实施例是对本发明的进一步说明，而不是对本发明的限制。

[0049] 实施例 1：含硫色酮类化合物 oxalicumone A 和化合物 1-3 的制备

[0050] 每升 PDB 培养基配制方法：将 200 克土豆，20 克葡萄糖，30 克海盐混合，用水定容到 1L。将 PDB 培养基装入约 300 个 1000mL 的三角烧瓶中，每瓶约 300mL，在 121℃ 高压蒸汽灭菌 25 分钟，备用。

[0051] 每升 PDA 培养基配置方法：将 200 克土豆，20 克葡萄糖，30 克海盐，20 克琼脂混合，用水定容到 1L。121℃ 高压蒸汽灭菌 25 分钟，备用。

[0052] 用竹签挑取适量的草酸青霉(*Penicillium oxalicum*) SCSGAF 0023 CCTCC NO : M2012507 菌种接种入 PDA 培养基上，28℃ 培养 3 天，得到培养有菌种的平板，然后用竹签从平板中挑适量菌种接种入 1000mL 的装有 300mL PDB 培养基的三角烧瓶中，于室温(28℃)静置培养 30 天后，收取草酸青霉(*Penicillium oxalicum*) SCSGAF 0023 CCTCC NO : M2012507 的发酵液。

[0053] 将经 PDB 培养基培养得到草酸青霉(*Penicillium oxalicum*) SCSGAF 0023 CCTCC NO : M2012507 的发酵液 100L 用乙酸乙酯萃取，减压浓缩得到乙酸乙酯提取物 70g。乙酸乙酯提取物用正相硅胶(100-200 目)干法拌样后，装入玻璃层析柱，进行常温柱层析，以氯仿-甲醇作为洗脱剂，从体积比 100:0 到 0:100 进行梯度洗脱，根据薄层层析(GF₂₅₄ 硅胶板)情况合并各个流份，回收洗脱溶剂，获得氯仿-甲醇 98:2 洗脱的组分 A1(14g)，氯仿-甲醇 95:5 洗脱的组分 B1 (5g)，氯仿-甲醇 80:20 洗脱的组分 C1 (16g)。

[0054] 组分 A1 经再次的正相硅胶(200-300 目)分离。干法拌样后，装入玻璃层析柱，进行常温柱层析，以氯仿-丙酮作为洗脱剂，从体积比 100:0 到 0:100 进行梯度洗脱，根据薄层层析(GF₂₅₄ 硅胶板)情况合并各个流份，回收洗脱溶剂，获得氯仿-丙酮 80:20 洗脱的组分 A2(1.3g)。组分 A2 进一步通过 MPLC 进行分离(ODS 柱，流速 20ml/min)，以 MeOH/H₂O(v/v50:50) 作为洗脱剂进行洗脱，根据薄层层析(GF₂₅₄ 硅胶板)情况合并各个流份，回收洗脱溶剂，获得纯度约 90% 的化合物 A3(oxalicumone A、200mg)，以及 oxalicumone A 和化合物 1 的混合物 A4(100mg)。组分 A3 通过凝胶(直径 18mm，柱长 1600mm，凝胶为 sephedex LH-20，流动相为体积比 1:1 的氯仿-甲醇)的进一步纯化，得到纯度 99% 的化合物 oxalicumone A (180mg)；组分 A4 采用高效液相半制备(检测波长为 280nm，流速为 3mL/min，色谱柱为 phenomenex Gemini 10mm×250mm，流动相为体积比为 53:47 的甲醇-水)在出峰时间为 44.2min 时分离纯化得到化合物 1。

[0055] 组分 B1 通过 MPLC 进行分离(ODS 柱，流速 20ml/min)，分别用体积比为 20:80，

40:60, 60:40, 80:20, 100:0 的 MeOH/H₂O 为洗脱剂进行洗脱, 根据薄层层析(GF₂₅₄ 硅胶板)情况合并各个流份, 回收洗脱溶剂, 获得以 60:40MeOH/H₂O 洗脱的组分 B2 (0.5g)。组分 B2 经再次的正相硅胶(200-300 目)分离。干法拌样后, 装入玻璃层析柱, 进行常温柱层析, 以氯仿-丙酮作为洗脱剂, 从体积比 100:0 到 0:100 进行梯度洗脱, 根据薄层层析(GF₂₅₄ 硅胶板)情况合并各个流份, 回收洗脱溶剂, 获得氯仿-丙酮 9:1 洗脱的组分 B3 (70mg)。组分 B3 采用高效液相半制备(检测波长为 280nm, 流速为 3mL/min, 色谱柱为 phenomenex Gemini10mm×250mm, 流动相为体积比为 54:46 的甲醇-水)在出峰时间为 38.5min 时分离纯化得到化合物 3 (7mg)。

[0056] 组分 C1 通过再次的正相硅胶(200-300 目)分离。干法拌样后, 装入玻璃层析柱, 进行常温柱层析, 以氯仿-丙酮作为洗脱剂, 从体积比 100:0 到 0:100 进行梯度洗脱, 根据薄层层析(GF₂₅₄ 硅胶板)情况合并各个流份, 回收洗脱溶剂, 获得氯仿-丙酮 8:2 洗脱的组分 C2 (6g)。组分 C2 通过凝胶(直径 18mm, 柱长 1600mm, 凝胶为 sephedex LH-20, 流动相为体积比 1:1 的氯仿-甲醇)进一步纯化, 根据薄层层析(GF₂₅₄ 硅胶板)情况合并各个流份, 回收洗脱溶剂, 获得进一步纯化的组分 C3; 组分 C3 通过 MPLC 进行分离(ODS 柱, 流速 20ml/min), 用体积比为 50:50:10⁻⁴ 的 MeOH/H₂O/TFA 洗脱, 获得化合物 2 (50mg)。

[0057] 化合物 1-3 在紫外灯下可见有紫外吸收, 硫酸香草醛显色为橙色, 以及在 HPLC 中观察到的特征 UV 吸收(图 1), 可以作为目标化合物特征, 为分离提供一定指导。

[0058] 其中化合物 oxalicumone A 的 TLC、HPLC、MS 以及 ¹H NMR 数据与本实验室发表的文献 Sun, Y. L., He, F., Liu, K. S., Zhang, X. Y., Bao, J., Wang, Y. F., Nong, X. H., Xu, X. Y., Qi, S. H. *Planta Medica*, 2012, 78, 1957-1961. 公开的化合物 oxalicumone A 一致, 因此鉴定其为化合物 oxalicumone A。

[0059] 化合物 1 的结构解析如下:

[0060] 质谱显示化合物 1 的分子量(ESIMS)m/z447.1[M+Na]⁺与化合物 oxalicumone A 相同, 结合 NMR 波谱数据, 得知化合物 1 与 oxalicumone A 有相同的分子式 C₁₉H₂₀O₉S。进一步分析化合物 1 的 NMR 数据, 发现两个化合物非常相似, 仅仅是 C-11 的化学位移(δ_c86.2)与 oxalicumone A (δ_c79.6)相差较大, 因此推测化合物 1 是 oxalicumone A 的差向异构体。通过旋光、圆二色谱的测定以及 Mosher 酯化反应, 最终确定了该化合物 C-6、C-11、C-13 的绝对构型分别为 R、S、R。结构如式(I)所示。化合物 1 为黄色油状物, 易溶于氯仿、乙酸乙酯、甲醇、DMSO, 难溶于水, 比旋光度值 [α]_D²⁰+102(c0.204, CHCl₃)。

[0061] 化合物 2 的结构解析如下:

[0062] 通过高分辨质谱(ESIMS)m/z HRESIMS411.0743[M+H]⁺, 推测出该化合物的分子式为 C₁₈H₁₈O₉S。比较该化合物的 ¹H、¹³CNMR 以及 DEPT135, 可看出该化合物与 oxalicumone A 非常相似, 但是只有一个甲氧基信号, 并且分子量比 oxalicumone A 少 14, 推测结构上比 oxalicumone A 少了一个氧甲基。HMBC 谱中, H-16 与 C-11/C-15, H-13 与 C-14 的相关, 确定了 C-15 上甲氧基的连接, 结合分子式推测出该化合物的平面结构。为了进一步确定该化合物的绝对构型, 我们测试了该化合物的圆二色谱, 发现化合物 2 与 oxalicumone A 在 254nm, 284nm 以及 323nm 处有类似的 cotton 效应。同时我们发现化合物 2 在室温下, 溶于甲醇时, 会自发产生少量的化合物 oxalicumone A, 因此我们推测化合物 2 与 oxalicumone A 有相同的绝对构型 6S, 11S, 13R。结构如式(I)所示。化合物 2 为黄色油状物, 易溶于氯仿、乙酸乙

酯、甲醇、DMSO,难溶于水,比旋光度值 $[\alpha]_D^{20}+10$ (c0.5, MeOH)。

[0063] 化合物 3 的结构解析如下:

[0064] 通过高分辨质谱(ESIMS) m/z HRESIMS395.0786 $[M+H]^+$, 推测出该化合物的分子式为 $C_{18}H_{18}O_8S$ 。通过 NMR 数据分析,发现该化合物与 oxalicumone A 也比较相似,不同之处在于比 oxalicumone A 少了一个亚甲基信号 (δ_H/δ_C 4.45/71.2), 并且 H-12 的化学位移差别较大。HMBC 谱中, H-12 与 C-11/C-13, H-14 与 C-13 相关, 推测出片段 C-11 ~ C-14, 并且这也解释了化合物 3 在 H-12 处的化学位移会向低场偏移。由此确定了该化合物的平面结构。该化合物的 CD 谱图与 oxalicumone A 很相似, 有类似的 cotton 效应, 由此确定了 C-6 的绝对构型为 S。C-11 的构型是采用与 $Rh_2(OCOFCF_3)_4$ 络合后测试 CD 差谱, 运用 bulkiness 规则的方法得以确定。该化合物的 CD 差谱在 350nm 处显示正的 cotton 效应, 推断 C-11 的绝对构型是 S。结构如式(I)所示。化合物 3 为黄色粉末, 易溶于氯仿、乙酸乙酯、甲醇、DMSO, 难溶于水, 比旋光度值 $[\alpha]_D^{20}-18$ (c0.2, MeOH)。

[0065] 化合物 1-3 的氢谱和碳谱数据如表 1 所示:

[0066] 表 1: 化合物 1-3 的 1H (500MHz), 和 ^{13}C 数据 (125MHz) (DMSO- d_6 , δ ppm)

[0067]

pos.	化合物 1 ^[a]		化合物 2 ^[b]		化合物 3 ^[a]	
	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)
1	160.8, C		159.9, C		161.0, C	
2	113.0, CH	6.61, s	112.4, CH	6.68, s	113.1, CH	6.63, s
3	147.2, C		147.3, C		147.3, C	
4	107.9, CH	6.70, s	108.0, CH	6.94, s	107.9, CH	6.71, s
5						
5a	169.7, C		171.8, C		170.6, C	
6	52.3, CH	3.92, t (9.5)	51.0, CH	4.02, t (8.5)	50.1, CH	4.10, t (8.5)
7	37.3, CH ₂	3.34, dd (17.5, 9.5) 2.93, dd (17.5, 9.5)	37.4, CH ₂	3.48, dd (17.5, 8.5) 3.09, dd (17.5, 9.0)	37.6, CH ₂	3.40, dd (17.5, 7.5) 3.17, dd (17.5, 9.0)
7a	120.1, C		121.6, C		120.5, C	
8	179.5, C		178.2, C		178.9, C	
8a	109.1, C		108.2, C		109.2, C	
9						
9a	157.2, C		156.4, C		157.2, C	
10	22.3, CH ₃	2.38, s	21.7, CH ₃	2.37, s	22.3, CH ₃	2.40, s
11	86.3, C		79.3, C		79.7, C	
12	36.9, CH ₂	3.36, dd (14.0, 3.5) 3.01, dd (14.0, 5.5)	34.9, CH ₂	2.89, dd (14.0, 4.5) 2.78, dd (13.5, 7.0)	33.2, CH ₂	3.38, d (14.5) 3.30, d (15.5)
13	70.9, CH	4.53, t (5.0)	70.5, CH	4.14, dd (7.0, 4.5)	170.7, C	
14	173.3, C		173.9, C		52.6, CH ₃	3.75, s
15	172.2, C		172.3, C		173.4, C	
16	52.8, CH ₃	3.79, s	52.5, CH ₃	3.70, s	53.8, CH ₃	3.88, s
17	53.1, CH ₃	3.82, s				
1-OH		11.99, s		12.24, s		12.04, s
11-OH						4.16, s

[0068] ^[a]Recorded in CDCl₃. ^[b]Recorded in DMSO- d_6 .

[0069] 由此确定化合物 1、2、3 的结构分别如下述式 (I) 中的化合物 1、2、3 所示。

[0070] 实施例 2: 含硫色酮类化合物 4-8 的制备

[0071] 称取 2.0mg oxalicumone A 溶于装有 0.5mL 无水吡啶的 5mL 烧瓶中, 加入 3,5-双(三氟甲基)苯甲酰氯 (BTBC) 15 μ l, 然后加入少量的 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 作为催化

剂, 28℃震荡反应 10 小时, 将溶剂减压蒸干后, 将粗品采用高效液相半制备 (MeOH/H₂O, v/v87.5:22.5, 3ml/min) 冲洗 20min 后, 再用 MeOH/H₂O (v/v100:0, 3ml/min) 洗脱 8min, 收集该部分得到化合物 7。相同的方法, 当加入 BTBC 的量较少时 (7 μl), 可以反应生成化合物 6, 采用高效液相半制备 (MeOH/H₂O, v/v80:20, 3ml/min), 收集出峰时间为 17.5min 样品得到。采用相同方法, 将反应试剂 BTBC 分别用 4-硝基苯甲酰氯 (NC) 和苯甲酰氯 (BC) 代替, 分别得到化合物 4-5 (高效液相半制备, MeOH/H₂O, v/v75:25, 3ml/min, 出峰时间分别为 17.1min, 23.5min) 和化合物 8 (高效液相半制备, MeOH/H₂O, v/v46:54, 3ml/min, 出峰时间为 22.3min)。

[0072] 化合物 4-8 的核磁共振数据与化合物 oxalicumone A 的核磁共振数据相比较, 确定化合物 4-8 的结构如式 (I) 所示。

[0073] 化合物 4-8 的氢谱数据如下:

[0074] 化合物 4: ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 12.21 (1H, s, 1-OH), 6.97 (1H, s, H-4), 6.70 (1H, s, H-2), 6.13 (1H, s, 11-OH), 5.56 (1H, dd, J=8.0, 4.5Hz, H-13), 4.04 (1H, t, J=8.5Hz, H-6), 3.74 (3H, s, H-17), 3.67 (3H, s, H-16), 3.58 (1H, dd, J=17.0, 8.0Hz, H-7a), 3.29 (1H, dd, J=14.5, 4.0Hz, H-12a), 3.21 (1H, J=14.0, 7.5Hz, H-12b), 3.14 (1H, dd, J=17.0, 8.5Hz, H-7b), 2.39 (3H, s, H-10);

[0075] 化合物 5: ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 7.54 (1H, s, H-4), 7.25 (1H, s, H-2), 5.96 (1H, s, 11-OH), 5.54 (1H, dd, J=7.5, 4.0Hz, H-13), 3.99 (1H, t, J=8.5Hz, H-6), 3.73 (3H, s, H-17), 3.55 (3H, s, H-16), 3.56 (1H, dd, J=17.0, 8.0Hz, H-7a), 3.27 (1H, dd, J=14.5, 4.0Hz, H-12a), 3.19 (1H, J=14.0, 7.5Hz, H-12b), 3.13 (1H, dd, J=17.0, 8.5Hz, 7b), 2.49 (3H, s, H-10);

[0076] 化合物 6: ¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 12.01 (1H, s, 1-OH), 6.70 (1H, s, H-4), 6.63 (1H, s, H-2), 5.56 (1H, m, H-13), 4.07 (1H, t, J=8.5Hz, H-6), 3.87 (3H, s, H-17), 3.83 (3H, s, H-16), 3.38 (1H, dd, J=17.5, 8.0Hz, H-7a), 3.27-3.15 (3H, m, H-7b, 12a, 12b), 2.39 (3H, s, H-10);

[0077] 化合物 7: ¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.28 (1H, s, H-4), 7.01 (1H, s, H-2), 5.50 (1H, t, 7.0Hz, H-6), 4.50 (1H, dd, 7.5, 4.5Hz, H-13), 3.79 (3H, s, H-17), 3.75 (3H, s, H-16), 3.74 (1H, dd, 17.5, 7.5Hz, H-7a), 3.32 (1H, dd, J=17.5, 4.0Hz, H-7b), 3.18 (2H, m, H-12a, 12b), 2.52 (3H, s, H-10);

[0078] 化合物 8: ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 7.51 (1H, s, H-4), 7.18 (1H, s, H-2), 5.95 (1H, s, 11-OH), 5.46 (1H, dd, 7.5, 4.5Hz, H-13), 4.00 (1H, t, J=8.0Hz, H-6), 3.72 (3H, s, H-17), 3.54 (3H, s, H-16), 3.53 (1H, dd, J=17.0, 8.0Hz, H-7a), 3.24 (1H, dd, J=14.0, 4.0Hz, H-12a), 3.17 (1H, J=14.0, 7.0Hz, H-12b), 3.12 (1H, dd, J=17.0, 8.5Hz, H-7b), 2.48 (3H, s, H-10);

[0079] 实施例 3: 含硫色酮类化合物 9-10 的制备

[0080] 称取 2.0mg 化合物 1 溶于 0.5mL 无水吡啶, 往溶液中加入 Mosher 试剂 10 μL (R)-2-甲氧基-2-三氟甲基苯乙酰氯和 1.0mg DMAP (作为催化剂), 于室温反应 9 小时。将溶剂减压蒸干后, 将粗品采用高效液相半制备 (MeOH/H₂O, v/v80:20, 3ml/min), 收集出峰时间为 18.5min 样品得到化合物 9。

[0081] 制备化合物 10 的方法与化合物 9 的方法类似, 只是 Mosher 试剂换为 (S)-2-甲氧基-2-三氟甲基苯乙酰氯。

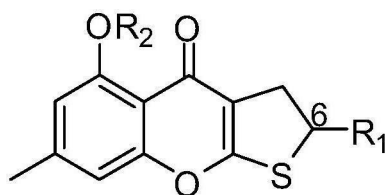
[0082] 化合物 9 和 10 是化合物 1 的 Mosher 酯化产物, 根据核磁共振数据、以及与化合物 1 的核磁共振数据相比较, 确定化合物 9 和 10 的结构如式(I) 所示。

[0083] 化合物 9-10 的氢谱表如下:

[0084] 化合物 9 :2.42(3H, s, H-18), 2.92(1H, dd, $J=9.0, 17.0\text{Hz}$, H-7a), 2.71(1H, dd, $J=10.0, 17.0\text{Hz}$, H-7b), 3.48(1H, dd, $J=3.0, 15.0\text{Hz}$, H-12a), 3.10(1H, dd, $J=7.0, 15.0\text{Hz}$, H-12b), 3.78(3H, s, H-16), 3.77(3H, s, H-17), 3.73(1H, t, $J=9.5\text{Hz}$, H-6), 5.57(1H, dd, $J=3.5, 6.5\text{Hz}$, H-13), 6.66(1H, s, H-2), 6.75(1H, s, H-4), 12.00(OH-1).

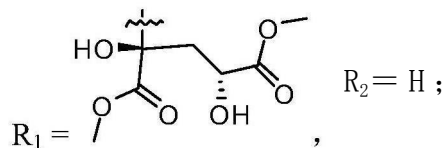
[0085] 化合物 10 :2.42(3H, s, H-18), 3.09(1H, dd, $J=9.0, 17.0\text{Hz}$, H-7a), 2.77(1H, dd, $J=10.0, 17.0\text{Hz}$, H-7b), 3.32(1H, dd, $J=3.5, 14.5\text{Hz}$, H-12a), 3.12(1H, dd, $J=6.0, 14.5\text{Hz}$, H-12b), 3.74(3H, s, H-16), 3.82(3H, s, H-17), 3.37(1H, t, $J=9.5\text{Hz}$, H-6), 5.64(1H, dd, $J=4.0, 6.0\text{Hz}$, H-13), 6.66(1H, s, H-2), 6.76(1H, s, H-4), 12.01(OH-1).

[0086]

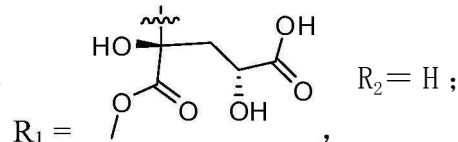


式(I)

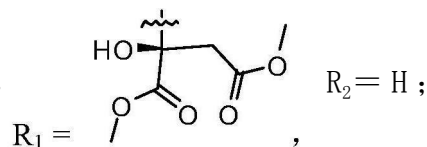
[0087] 其中化合物 1 :C-6 为 R 构型,



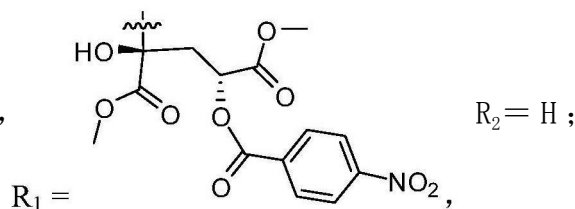
[0088] 化合物 2 :C-6 为 S 构型,



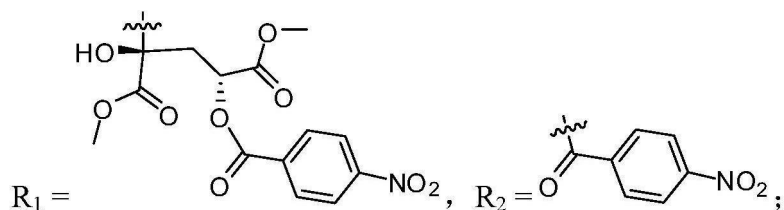
[0089] 化合物 3 :C-6 为 S 构型,



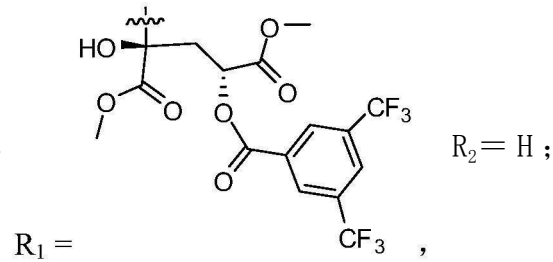
[0090] 化合物 4 :C-6 为 S 构型,



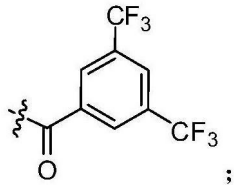
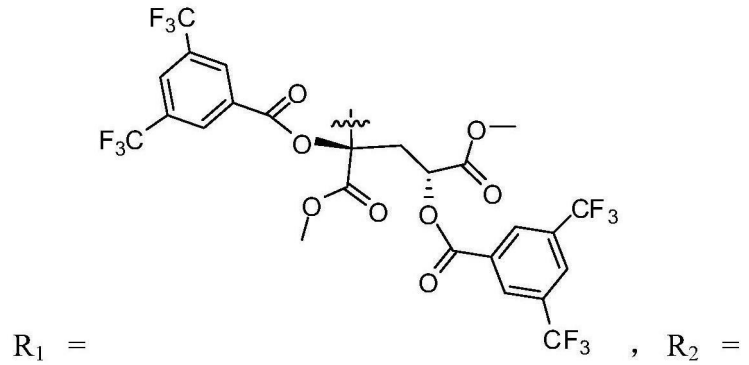
[0091] 化合物 5 :C-6 为 S 构型,



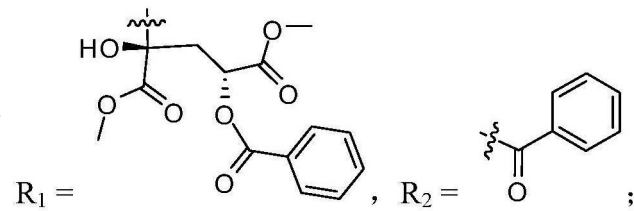
[0092] 化合物 6 :C-6 为 S 构型,



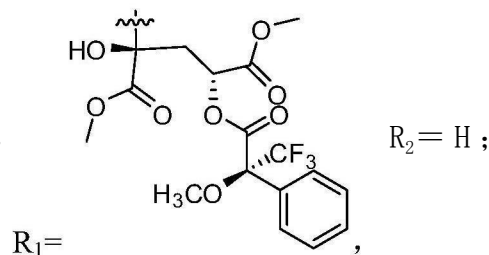
[0093] 化合物 7 :C-6 为 S 构型,



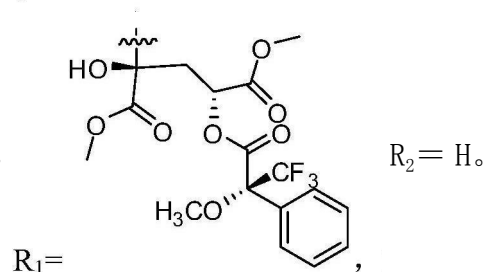
[0094] 化合物 8 :C-6 为 S 构型,



[0095] 化合物 9 :C-6 为 R 构型,



[0096] 化合物 10 :C-6 为 R 构型,



[0097] 实施例 4 :如式(I)所示的含硫色酮类化合物 1-10 的体外抗肿瘤活性筛选实验 :

[0098] 分别收集对数生长期的肺腺癌细胞株 H1975、组织细胞淋巴瘤细胞株 U937、白血病细胞株 K562、胃癌细胞株 BGC-823,急性淋巴母细胞白血病细胞株 MOLT-4、乳腺癌细胞株 MCF-7、急性粒细胞白血病细胞株 HL-60 和肝癌细胞株 Huh-7,用 10% 血清 1640 培养基使其

悬浮,再接种于 96 孔培养板,每孔细胞数为 5000 个 /80 μ L,置于 5%CO₂培养箱 37 $^{\circ}$ C 培养。用 10% 血清 1640 培养基将含硫色酮类化合物(化合物 1-10) 稀释成浓度为 3.125 μ g/mL, 6.25 μ g/mL, 12.5 μ g/mL, 25 μ g/mL, 50 μ g/mL, 100 μ g/mL, 200 μ g/mL 的实验溶液。次日于不同的实验组的培养板中分别加入浓度为 3.125 μ g/mL, 6.25 μ g/mL, 12.5 μ g/mL, 25 μ g/mL, 50 μ g/mL, 100 μ g/mL, 200 μ g/mL 的实验溶液 20 μ L,并使每孔中的终浓度达到测试(实验组浓度采用倍比稀释)。另外阴性对照组中加入等量的 10% 血清 1640 培养基。48h 后,吸弃实验组和对照组中的培养液,每孔加入 MTT20 μ L (2.5mg/mL),继续培养 4h,再每孔加入 DMSO100 μ L 终止反应,37 $^{\circ}$ C 放置 20min,用酶标仪检测各孔在 570nm 处的吸光度 A 值,计算细胞生长抑制率。细胞生长率=(实验组 OD \div 对照组 OD) \times 100%。

[0099] 实验结果显示,式(I)所示的含硫色酮类化合物 1-8 以及化合物 10 能抑制肺腺癌细胞株 H1975、组织细胞淋巴瘤细胞株 U937、白血病细胞株 K562、胃癌细胞株 BGC-823,急性淋巴母细胞白血病细胞株 MOLT-4、乳腺癌细胞株 MCF-7、急性粒细胞白血病细胞株 HL-60 或肝癌细胞株 Huh-7 的生长,它们的 IC₅₀值如表 2 所示。因此本发明的如式(I)所示的含硫色酮类化合物能用于制备抗肿瘤药物。

[0100] 表 2:化合物 1-10 对 8 种肿瘤细胞的细胞毒活性

[0101]

Compound	Cell lines (IC ₅₀ μ M)							
	H1975	U937	K562	BGC823	MOLT-4	MCF-7	HL60	Huh-7
1	-	9.85	-	8.82	5.89	-	-	-
2	-	-	-	10.10	5.74	-	-	-
3	5.45	4.16	8.80	1.96	1.36	4.32	2.96	6.33

[0102]

4	6.97	6.37	9.68	8.01	3.66	7.37	3.96	6.
5	-	6.34	1.04	4.49	2.96	6.05	3.09	8.77
6	2.33	4.06	6.90	3.95	3.02	6.94	3.79	-
7	-	7.20	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	3.99	-	4.46	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	8.81	6.03	-	9.14	-

[0103] 注:“-”表示 IC₅₀>10 μ M.

[0104] 实施例 5:如式(I)所示的含硫色酮类化合物 1-10 的酶抑制剂活性筛选实验:

[0105] 1)在 384 孔板上,按照布置每孔加入 10 μ l 反应液(其中 10 μ M ATP, 2 μ M 的相应底物肽, 0.01%BRIJ-35, 10mM MgCl₂, 1mM EGTA 以及相应激酶,其中当为酪氨酸激酶(AB1)时,其底物为 Tyr02;当为蛋白酪氨酸激酶 3 时(JAK3),其底物为 Ser/Thr01;当为 Aurora-A 激酶(Aurora-A)时,其底物为 Tyr06;2)按照布置加入系列稀释的待测化合物或相应激酶的阳性对照物;3)将检测板室温放置反应 2 小时;4)加入 5 μ l RT-PCR 扩增产物室温继续放置反应 2 小时后加入 5 μ l 终止液(10mmol / L 叠氮钠);5)读取 445nm/520nm 处的荧光吸

收值 6) Graphpad Prism5 分析原始数据。结果如表 3 所示。

[0106] 表 3 : 化合物 1-10 对 3 种酶的抑制活性 (IC_{50} , μM)

[0107]

化合物	Abl	JAK3	Aurora-A
1	-	1.24	-
4	3.68	0.39	0.98
5	-	1.34	-
6	-	1.55	-
9	-	0.69	-
10	-	-	-

[0108] 注：“-”表示 $IC_{50} > 10 \mu M$.

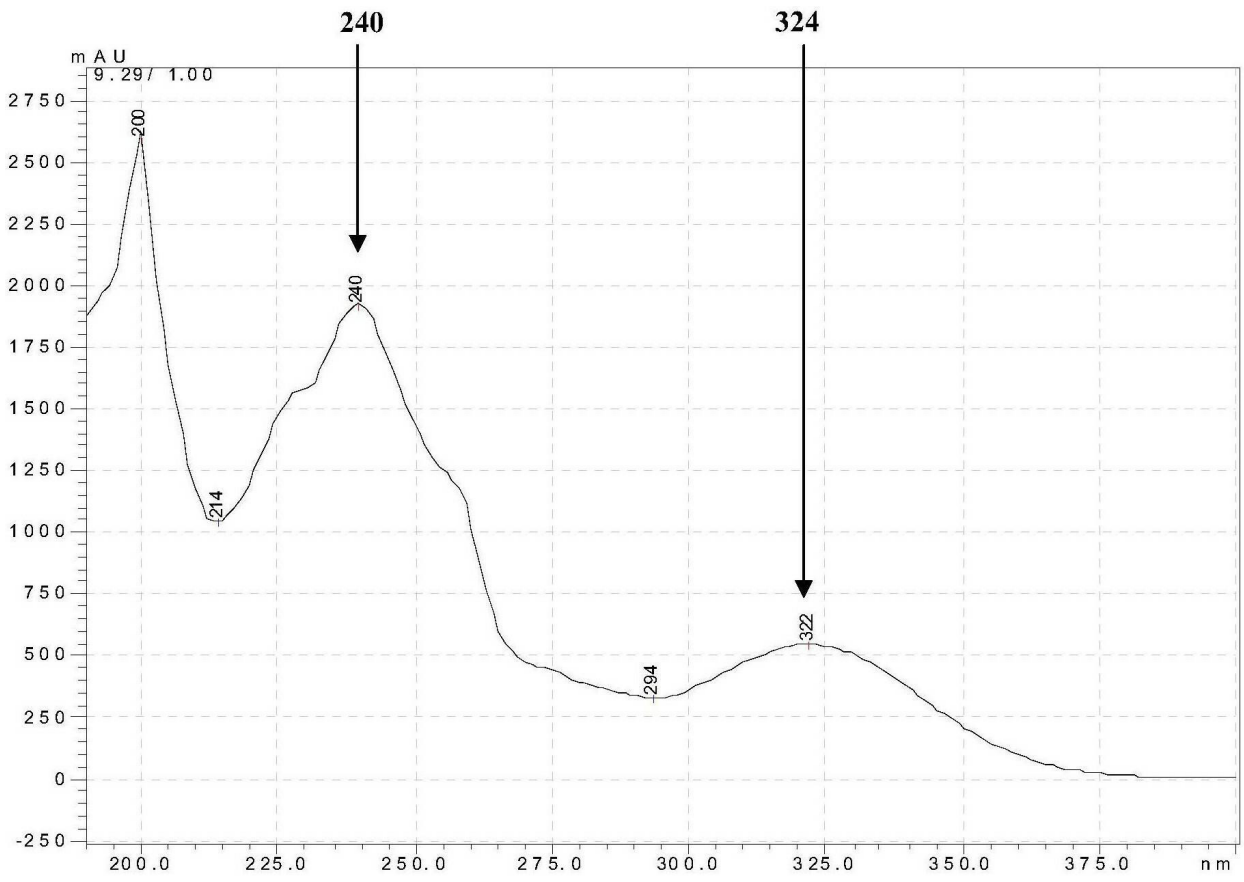
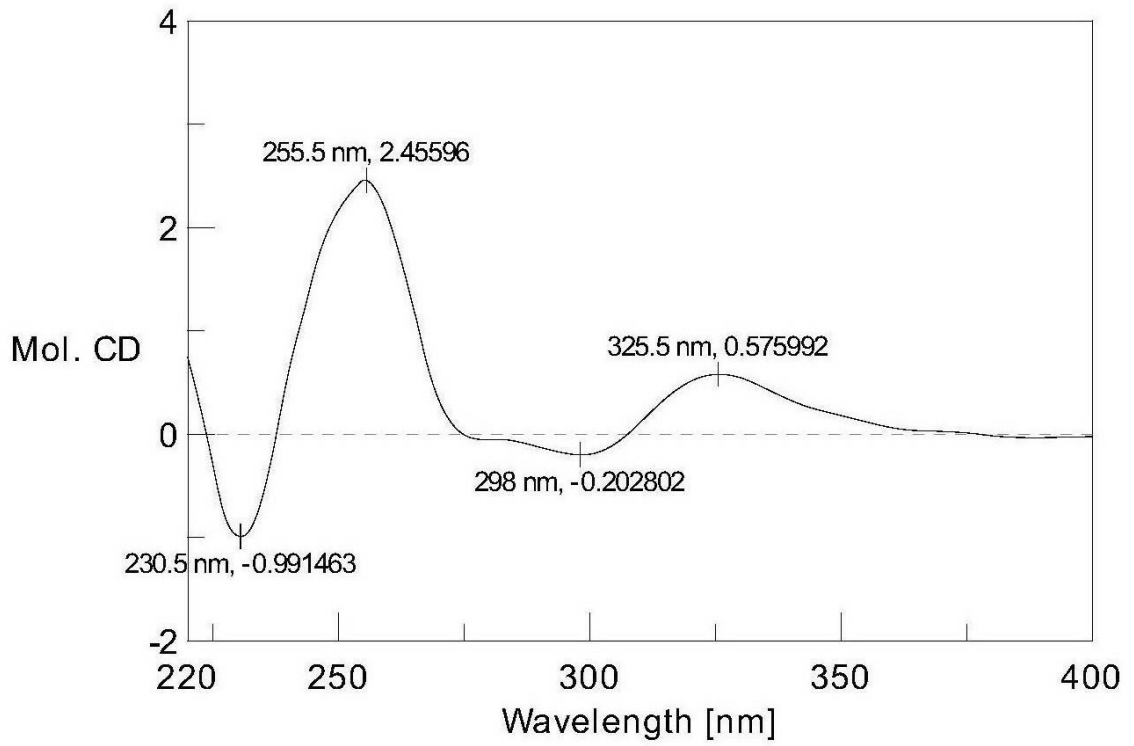
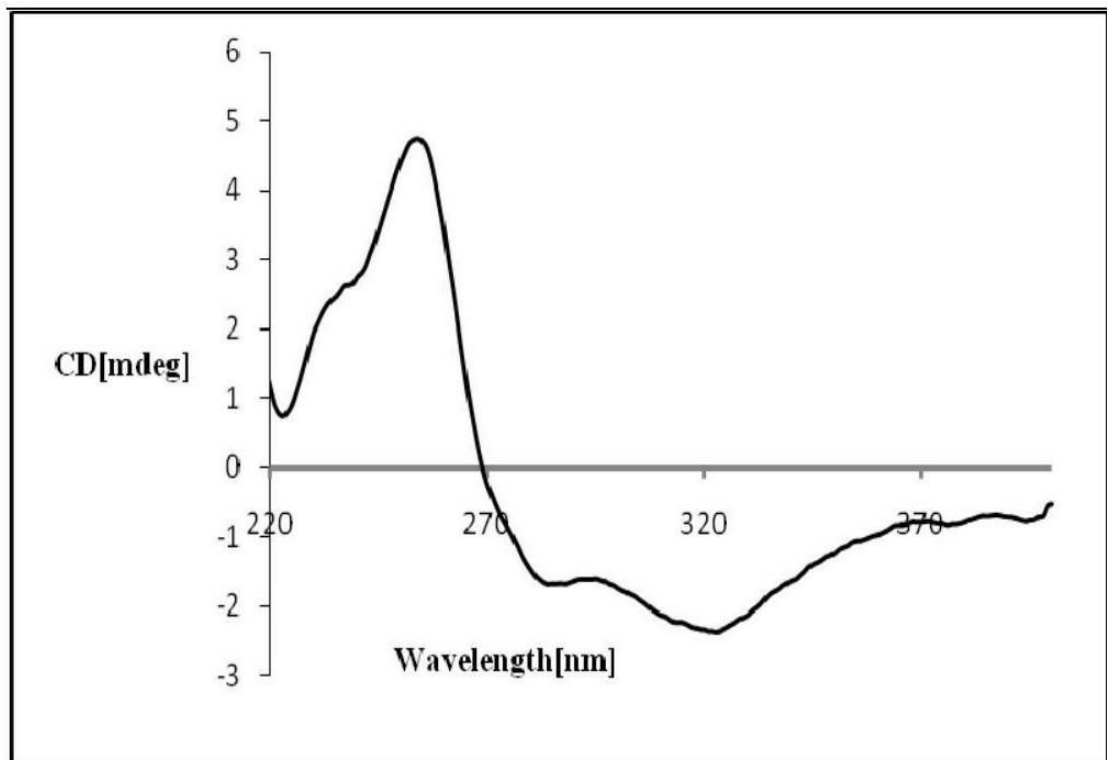


图 1

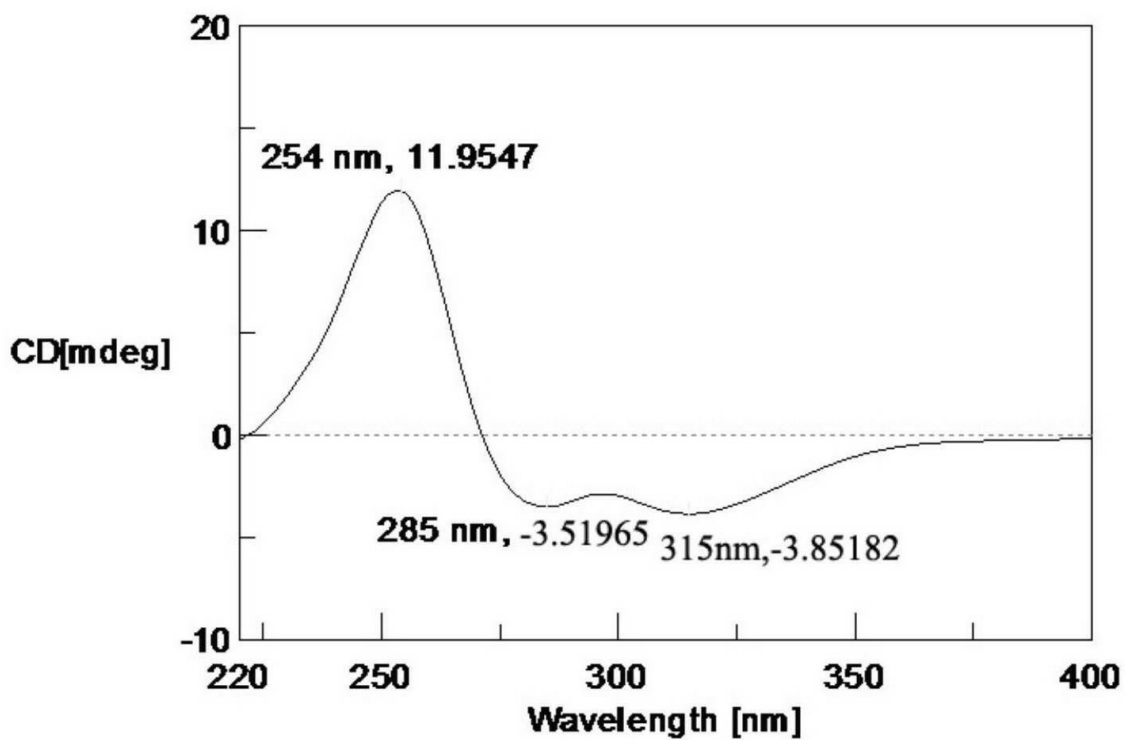


A:

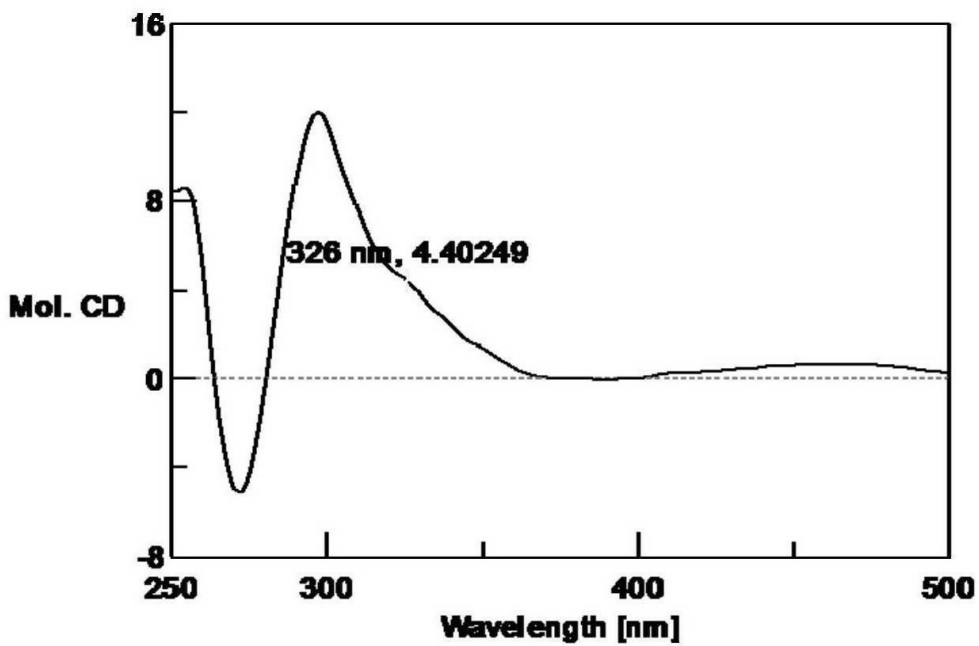


B:

图 2



A:



B:

图 3