



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103772277 A

(43) 申请公布日 2014. 05. 07

(21) 申请号 201310744461. 5

(22) 申请日 2013. 12. 31

(71) 申请人 四川省医学科学院(四川省人民医院)

地址 610072 四川省成都市青羊区一环路西二段 32 号

(72) 发明人 肖洪涛 童荣生 廖治 串俊兰
张丽娟 张远 边原

(51) Int. Cl.

C07D 215/46 (2006. 01)

A61K 31/4706 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书4页

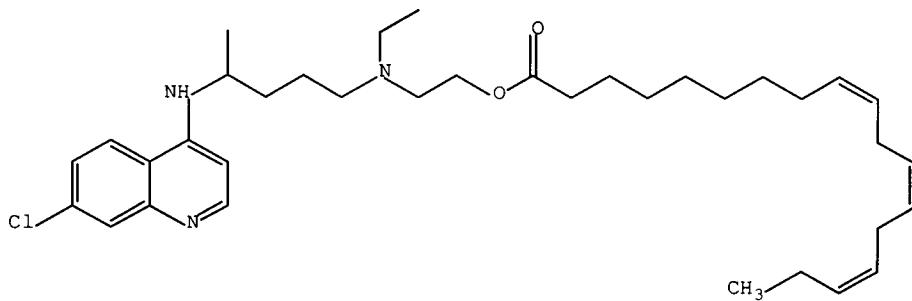
(54) 发明名称

羟氯喹亚麻酸酯及其合成方法

(57) 摘要

本发明公开了羟氯喹亚麻酸酯的结构式，并同时提供了制备羟氯喹亚麻酸酯的方法为：首先用硫酸羟氯喹和氢氧化钠溶液制得羟氯喹，再加入乙酸乙酯纯化；其次，亚麻酸中加入有机溶剂、催化剂和脱水剂混合，然后加入制备好的羟氯喹，常温反应12～24小时，其中亚麻酸和羟氯喹的摩尔当量比为1：1～1：1.5；最后经过柱层析分离后得到高纯度的羟氯喹亚麻酸酯。羟氯喹亚麻酸酯被肿瘤细胞大量吸收后，代谢成有效成分羟氯喹，能够增加病灶药物浓度，减少药物剂量。

1. 羟氯喹亚麻酸酯, 其结构式如式 I:



式 I

2. 羟氯喹亚麻酸酯的制备方法，包括以下步骤：

A、用硫酸羟氯喹和氢氧化钠溶液制得羟氯喹，再加入乙酸乙酯纯化；

B、亚麻酸中加入有机溶剂、催化剂和脱水剂混合，并在氮气保护、且低于10℃的条件下，搅拌30分钟至1小时后升温至常温；然后加入制备好的羟氯喹，常温反应12～24小时，其中亚麻酸和羟氯喹的摩尔当量比为1：1～1：1.5；

C、反应停止后，加入有机溶剂，溶液加热至 50℃，依次用盐酸溶液、饱和氯化钠溶液和水进行洗涤，洗涤分离后的有机相用无水硫酸钠干燥，浓缩得到棕黄色的油状物；

油状物用甲基叔丁基醚溶解,溶解液使用盐酸溶液洗涤,分离出油相后用甲醇溶解,加入活性炭脱色后浓缩得到黄色油状物;黄色油状物经柱层析分离,用洗脱剂进行洗脱分离后,再次浓缩并干燥后得到羟氯喹亚麻酸酯。

3. 如权利要求 2 所述的羟氯喹亚麻酸酯的制备方法, 其特征在于: 所述硫酸羟氯喹和氢氧化钠溶液的摩尔当量比为 1 : 3。

4. 如权利要求 2 所述的羟氯喹亚麻酸酯的制备方法, 其特征在于: 所述柱层析分离的固定相为 200 ~ 300 目的硅胶。

5. 如权利要求 2 所述的羟氯喹亚麻酸酯的制备方法, 其特征在于: 所述柱层析分离的固定相为 200 目的硅胶。

6. 如权利要求 2 所述的羟氯喹亚麻酸酯的制备方法, 其特征在于: 所述有机溶剂为氯仿、二氯甲烷或乙酸乙酯。

7. 如权利要求 2 所述的羟氯喹亚麻酸酯的制备方法, 其特征在于: 所述催化剂为 4-二甲氨基吡啶、4-甲基吗啉、三乙胺、吡啶或者 1-羟基苯并三唑。

8. 如权利要求 2 所述的羟氯喹亚麻酸酯的制备方法, 其特征在于: 所述脱水剂为二环己基碳二亚胺、N,N'-二异丙基碳二亚胺或 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐

9. 如权利要求 2 所述的羟氯喹亚麻酸酯的制备方法, 其特征在于: 所述柱层析的洗脱剂为氯仿 - 甲醇或者二氯甲烷 - 甲醇。

10 羟氯喹亚麻酸酯在制备抗肿瘤药物中的应用。

羟氯喹亚麻酸酯及其合成方法

技术领域

[0001] 本发明涉及羟氯喹亚麻酸酯及其制备方法。

背景技术

[0002] 羟氯喹是一种4-氨基喹啉类衍生物，临幊上常用其硫酸盐。羟氯喹是一种传统的抗疟药，用于控制疟疾临床症状和疟疾的抑制性预防，风幊性关节炎，少年慢性关节炎，盘状和系统性红斑狼疮以及由阳光引发或加剧的皮肤病变。最近几年的研究表明，羟氯喹对多种恶性肿瘤具有较好的抑制作用。羟氯喹能抑制人乳腺癌细胞MCF-7和MDA-MB-231的生长，调节肿瘤细胞MCF-7的蛋白乙酰化过程。羟氯喹还能抑制慢性淋巴细胞白血病细胞的活性，通过激活半胱氨酸天冬氨酸酶3(Caspase-3)和调节BCL-2蛋白与Bax蛋白的比例诱导癌细胞凋亡。羟氯喹还能使溶酶体和线粒体通透性增加，以此诱导细胞凋亡。作为一种自体吞噬抑制剂，羟氯喹通过抑制肿瘤细胞的自体吞噬作用，破坏肿瘤细胞的新陈代谢作用，抑制肿瘤细胞的生长。

[0003] 肿瘤细胞摄取多不饱和脂肪酸的量远高于正常细胞， α 亚麻酸作为一种不饱和脂肪酸，能被肿瘤组织高效摄取。综合应用肿瘤靶向前体药物设计原理和结构拼接原理的基础，设计合成前体药物是目前新药合成的一种方法，本发明通过对羟氯喹进行结构修饰，合成羟氯喹的前体药物（羟氯喹亚麻酸酯），利用亚麻酸能被肿瘤细胞高效摄取的性质，负载羟氯喹等抗肿瘤药物，以提高药物分子靶标部位的药物浓度，从而达到提高药物的抗肿瘤效率的目的。

[0004] 为了解决现有技术中的上述不足，本发明提出了一种新的解决方案。

发明内容

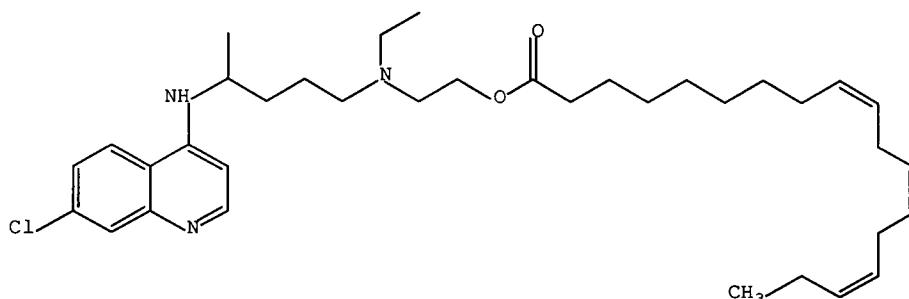
[0005] 本发明的目的是提供一种肿瘤靶向的前体药物：羟氯喹亚麻酸酯，经过体内代谢，能够成为减少药物用量、降低毒性，提高抗肿瘤活性的药物。

[0006] 同时，本发明还提供了羟氯喹亚麻酸酯的制备方法。

[0007] 为达上述目的，本发明所采用的技术方案是：

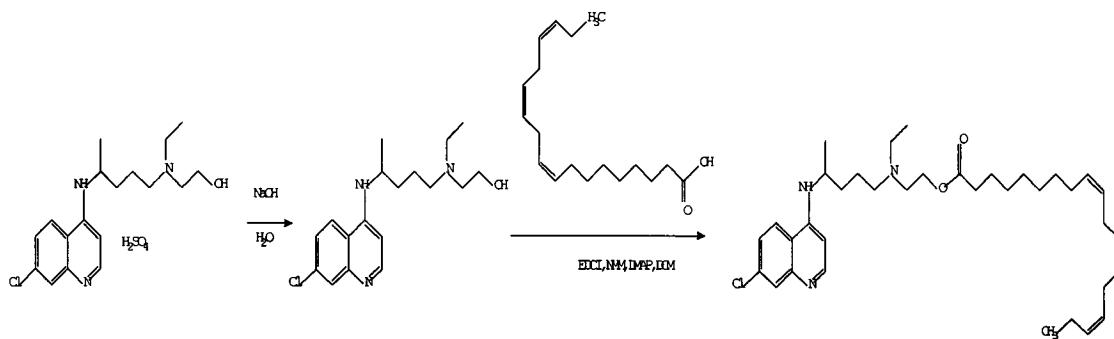
[0008] 本发明以硫酸羟氯喹和亚麻酸为原料，制备的羟氯喹亚麻酸酯，其结构式如下：

[0009]



[0010] 其合成路线为：

[0011]



[0012] 其制备过程包括：

[0013] 1、用硫酸羟氯喹和氢氧化钠溶液制得羟氯喹，其中硫酸羟氯喹和氢氧化钠溶液的摩尔当量比为 1 : 3，然后再加入乙酸乙酯纯化；

[0014] 2、亚麻酸中加入有机溶剂、催化剂和脱水剂混合，并在氮气保护、且低于 10℃ 的条件下，搅拌 30 分钟至 1 小时后升温至常温；然后加入制备好的羟氯喹，常温反应 12 ~ 24 小时，其中亚麻酸和羟氯喹的摩尔当量比为 1 : 1 ~ 1 : 1.5；

[0015] 3、反应停止后，加入有机溶剂，溶液加热至 50℃，依次用盐酸溶液、饱和氯化钠溶液和水进行洗涤，洗涤分离后的有机相用无水硫酸钠干燥，浓缩得到棕黄色的油状物；

[0016] 油状物用甲基叔丁基醚溶解，溶解液使用盐酸溶液洗涤，分离出油相后用甲醇溶解，加入活性炭脱色后浓缩得到黄色油状物；黄色油状物经柱层析分离，用洗脱剂进行洗脱分离后，再次浓缩并干燥后得到羟氯喹亚麻酸酯。

[0017] 亚麻酸在与羟氯喹反应前需要加入有机溶剂、催化剂和脱水剂。其中有机溶剂选自氯仿、二氯甲烷或乙酸乙酯；催化剂选自 4-二甲氨基吡啶、4-甲基吗啉、三乙胺、吡啶或者 1-羟基苯并三唑；脱水剂选自二环己基碳二亚胺、N,N' - 二异丙基碳二亚胺或 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐。

[0018] 在羟氯喹亚麻酸酯制备过程中，对混合液进行柱层析分离时，需要选择合适的固定相和洗脱剂。根据羟氯喹亚麻酸酯的理化性质和实验论证，本发明选取的固定相为硅胶，其中以 200 ~ 300 目的硅胶柱层析效果良好，更优化以 200 目的硅胶效果最佳。柱层析的洗脱剂为氯仿 - 甲醇或者二氯甲烷 - 甲醇，最优化选择二氯甲烷 - 甲醇。

[0019] 本发明制备的羟氯喹亚麻酸酯为一种新的化合物，根据前药原理，可以用来制备抗肿瘤药物。

[0020] 综上所述，本发明具有以下优点：

[0021] 羟氯喹亚麻酸酯是通过酯键将羟氯喹和亚麻酸连接起来，作为一种前体药物，在机体内羟氯喹亚麻酸酯在亚麻酸在载体作用下，能更有效的集中于肿瘤部位，提高羟氯喹在肿瘤部位的浓度，减少羟氯喹在非靶标组织的蓄积，减小药物的毒副作用；

[0022] 本发明采用的酯化反应合成方法操作简单，技术成熟，后处理简单易行，具有良好的应用前景，同时经柱层析纯化后可得到高纯度的羟氯喹亚麻酸酯。

具体实施方式

[0023] 本发明的提高的羟氯喹亚麻酸酯结构式如式 I，其化学式为 C₃₆H₅₄O₂N₃Cl。

[0024] 羟氯喹亚麻酸酯为一新化合物，文献未见报道，其结构通过了质谱 MS、核磁共振 HNMR 的确证，数据如下：

[0025] MS, m/z(%) :543(M+, 5. 56), 438(M+-C₆H₄N₀, 5. 05), 333(M+-2C₆H₄N₀, 2. 40), 106(C₆H₄N₀+, 100. 00), 78(C₅H₄N₊, 48. 64)

[0026] ¹HNMR(CDCl₃, 300MHz) : δ (ppm)

[0027] 0. 86 (t, J=7. 5Hz, 3H, CH₃), 0. 97 (t, J=7. 5Hz, 3H, CH₃), 1. 26–1. 44 (m, 19H), 2. 03–2. 12 (m, 5H), 2. 34 (t, J=7. 5Hz, 2H, COCH₂), 2. 80 (t, J=5. 4Hz, 3H), 3. 16 (bs, 3H), 3. 29 (bs, 2H), 3. 29 (s, 2H), 3. 93 (bs, 1H), 4. 50 (s, 2H), 5. 35–5. 37 (m, 6H, CH=CH), 6. 57 (bs, 1H, NH), 7. 44 (s, 1H), 8. 19 (s, 1H), 9. 19 (bs, 2H)。

[0028] 实施例 1

[0029] 称取硫酸羟氯喹 21. 7g50mmol 置于一个 500mL 的三口圆底烧瓶中, 冰浴条件下加入 150mL 水, 搅拌溶解。缓慢滴加 50mL12% 氢氧化钠水溶液 150mmol, 滴加过程中生成白色油状物, 此时加入 50mL 乙酸乙酯。缓慢升温至常温后, 加入 100mL 乙酸乙酯, 分离有机相; 水相再用乙酸乙酯萃取 2 次, 合并有机相。有机相分别用饱和氯化钠溶液、水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩干燥后得到羟氯喹 16. 5g48. 8mmol 无色透明油状物, 产率为 97. 6%。

[0030] 在氮气保护和冰浴的冷却下, 将纯度为 70% 的 32. 5mmol α- 亚麻酸 12. 9g 和 220mL 二氯甲烷加入一个 500mL 的三口圆底烧瓶中, 依次加入适量 4- 甲基吗啉、4- 二甲氨基吡啶和 1- 乙基 - (3- 二甲氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐, 搅拌反应 30min 后将反应体系升温至常温。其中二氯甲烷可以使用氯仿代替, 催化剂可以使用三乙胺、吡啶或者 1- 羟基苯并三唑代替; 脱水剂可以使用二环己基碳二亚胺、N, N' - 二异丙基碳二亚胺或 1-(3- 二甲氨基丙基) -3- 乙基碳二亚胺盐酸盐代替。

[0031] 在亚麻酸中加入 48. 8mmol 的羟氯喹 16. 5g, 搅拌反应 12 小时。向烧瓶中加入 100mL 二氯甲烷, 水浴加热到 50℃ 左右, 反应液分别用盐酸溶液、饱和氯化钠溶液、纯化水洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 浓缩得棕黄色油状物。在棕黄色的油状物内加入 300mL 甲基叔丁基醚溶解并转移至分液漏斗中, 溶液用 200mL 盐酸溶液洗涤, 分液漏斗中分为三相, 上层为甲基叔丁基醚相, 中层为油状物, 下层为水相。分离油状物, 并用 200mL 甲醇溶解, 加入活性炭脱色, 脱色后浓缩得黄色油状物。使用固定相为 200 目的硅胶进行柱层析分离, 洗脱剂为二氯甲烷 / 甲醇, 其中二氯甲烷和甲醇的体积比由 50 : 1 逐步增加到 15 : 1, 洗脱液浓缩干燥后得到 18. 9mmol 的羟氯喹亚麻酸酯 11. 3g, 产率为 52. 5%。

[0032] 实施例 2

[0033] 称取 8. 7g 硫酸羟氯喹 20mmol 置于 250mL 的单口圆底烧瓶中, 加入 60mL 水, 常温搅拌溶解。缓慢滴加 20mL12% 的氢氧化钠水溶液 60mmol, 析出大量白色油状物, 加入 40mL 乙酸乙酯溶解白色油状物, 分出有机相; 水相用乙酸乙酯萃取 2 次, 合并有机相。有机相用 50mL 饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 真空干燥得 19. 2mmol 羟氯喹 6. 5g, 为油状物, 产率为 96. 2%。

[0034] 在氮气保护和冰浴冷却下, 将纯度为 70% 的 19. 2mmol α- 亚麻酸 7. 6g 和 100mL 二氯甲烷加入一个 250mL 的三口圆底烧瓶中, 依次加入适量 4- 二甲氨基吡啶和二环己基碳二亚胺, 搅拌反应 60min 后将反应体系升温至常温。加入适量三乙醇胺和羟氯喹 6. 5g19. 2mmol, 搅拌反应 24 小时。向烧瓶中加入 50mL 二氯甲烷, 过滤反应液。将滤液置于冰盒中, 放置一段时间后, 过滤反应液, 以上过程 5 次。浓缩干燥滤液得到棕黄色油状物。将油状物用 80mL 乙酸乙酯溶解并转移至分液漏斗中, 溶液用盐酸溶液 80mL 洗涤, 分液漏斗中

分为三相，上层为甲基叔丁基醚相，中层为油状物，下层为水相；分离油状物，并用 100mL 甲醇溶解，加入活性炭脱色，脱色后使用固定相为 300 目的硅胶进行柱层析分离，洗脱剂为二氯甲烷 / 甲醇，其中二氯甲烷和甲醇的体积比由 50 : 1 逐步增加到 15 : 1，洗脱后浓缩得羟氯喹亚麻酸酯 5.8g^{9.7mmol}，产率为 50.5%。