



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101200448 B

(45) 授权公告日 2010.09.08

(21) 申请号 200710149900.2

(22) 申请日 2007.09.21

(66) 本国优先权数据

200610116542.0 2006.09.27 CN

(73) 专利权人 中国科学院上海应用物理研究所  
地址 201800 上海市嘉定区嘉罗公路 2019 号

(72) 发明人 沈玉梅 任云峰 成康民 孙艳红 刘贵锋

(74) 专利代理机构 上海智信专利代理有限公司  
31002  
代理人 薛琦

(56) 对比文件

CN 1736987 A, 2006.02.22, 说明书第 5 页第 3 段至第 25 页第 1 段.

成康民等.  $\beta$ -榄香烯衍生物的合成及其放射性同位素标记. 第一届全国核技术及应用研究学术研讨会摘要文集. 2006, 113-115.

成康民等.  $\beta$ -榄香烯三羰基铼衍生物的放射化学合成. 核技术 30 1. 2007, 30(1), 53-56.

审查员 刘红彦

(51) Int. Cl.

C07D 213/38(2006.01)

C07F 13/00(2006.01)

A61K 51/04(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61K 103/10(2006.01)

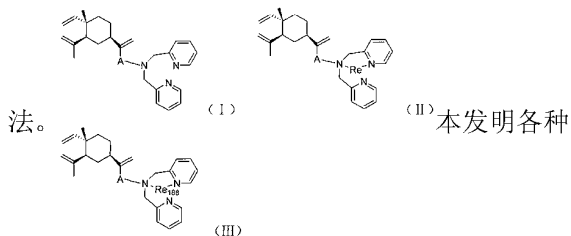
权利要求书 2 页 说明书 11 页 附图 3 页

(54) 发明名称

$\beta$ -榄香烯衍生物及其 Re 配合物和  $^{188}\text{Re}$  标记物

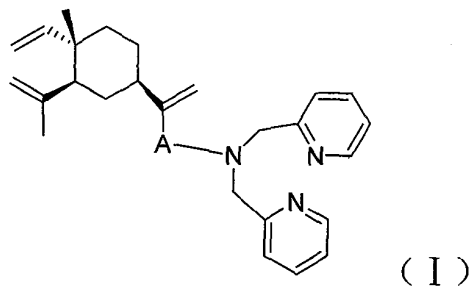
(57) 摘要

本发明公开了式 I 化合物  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺类衍生物及其 Re 配合物 - 式 II 化合物和  $^{188}\text{Re}$  标记物 - 式 III 化合物, 以及它们的合成方

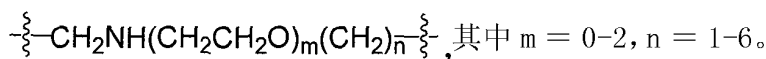


化合物具有抗癌活性及较低的毒副作用, 是一种潜在的抗癌药物。

1. 一种  $\beta$ -榄香烯衍生物,其结构式如下式 I 所示:

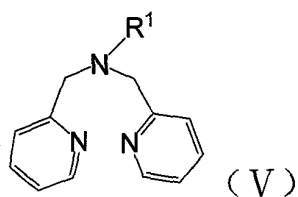


其中, A 表示



2. 如权利要求 1 所述的  $\beta$ -榄香烯衍生物,其特征在于所述的  $m = 0, n = 2$  或  $6$ ; 或者  $m = 2, n = 2$ 。

3. 一种如权利要求 1 或 2 所述的  $\beta$ -榄香烯衍生物的合成方法,其包括将氯代  $\beta$ -榄香烯与式 V 化合物在乙腈溶剂中进行反应,

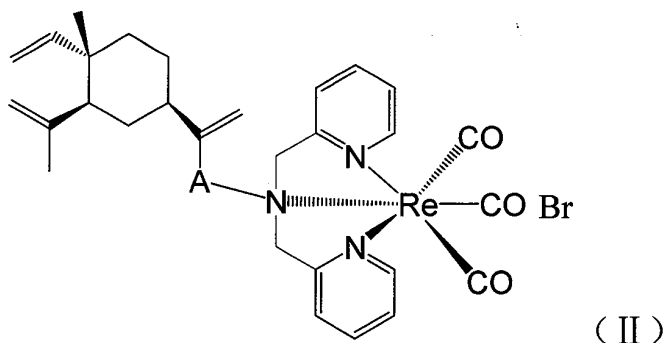


其中,  $R^1$  为



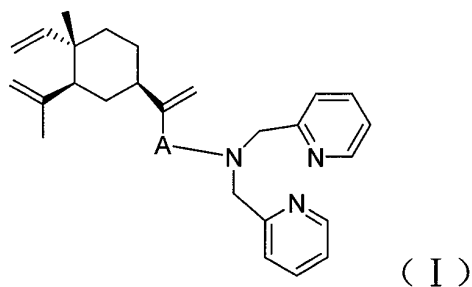
4. 如权利要求 3 所述的合成方法,其特征在于该氯代  $\beta$ -榄香烯与式 V 化合物的摩尔比为  $1-3 : 1$ , 还加入与式 V 化合物的摩尔比为  $1-12.5 : 1$  的碱性催化剂,反应温度为  $60-70^\circ\text{C}$ ,反应时间为  $8 \sim 21$  小时。

5. 一种  $\beta$ -榄香烯 Re 配合物,其结构式如下式 II 所示:



其中, A 如权利要求 1 中定义。

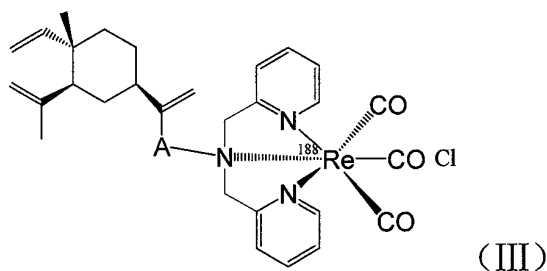
6. 一种如权利要求 5 所述的  $\beta$ -榄香烯 Re 配合物的合成方法,其包括将式 I 化合物与三羰基铼在甲醇溶液中,在室温至  $60^\circ\text{C}$  反应;



其中, A 如权利要求 1 中定义。

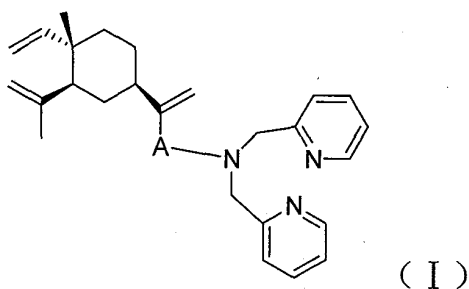
7. 如权利要求 5 所述的  $\beta$ -榄香烯 Re 配合物在制备抗肿瘤药物中的应用。

8. 一种  $^{188}\text{Re}$  标记的  $\beta$ -榄香烯衍生物, 其结构式如下式 III 所示:



其中, A 如权利要求 1 中定义。

9. 一种如权利要求 8 所述的  $^{188}\text{Re}$  标记的  $\beta$ -榄香烯衍生物的合成方法, 其包括采用  $\text{Fac-}[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  对式 I 化合物进行放射性标记;



其中, A 如权利要求 1 中定义。

10. 如权利要求 9 所述的合成方法, 其特征在于所述放射性标记包括将  $\text{Fac-}[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  溶液加入式 I 化合物的乙醇溶液中, 采用孵育器, 控温  $75^\circ\text{C}$ , 转速 1300 转 / 分, 反应时间 50 分钟, 然后采用 HPLC 分离。

## $\beta$ -榄香烯衍生物及其 Re 配合物和 $^{188}\text{Re}$ 标记物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种  $\beta$ -榄香烯的衍生物,特别是  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺类衍生物及它们的 Re 配合物和放射性核素  $^{188}\text{Re}$  标记物、以及这些化合物的合成方法。

### 背景技术

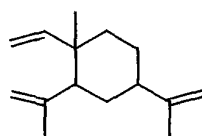
[0002] 核医学可以利用某些放射性药物中标记核素的特殊物理性质,在对多种肿瘤及其病灶进行显像的同时实施内照射治疗,这一独特的肿瘤诊治方法在临床中已日益受到人们的重视。目前,这类兼备治疗和显像双重作用的放射性核素主要有  $^{131}\text{I}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$  等。其中, $^{188}\text{Re}$  更是以其优良的理化性质而在肿瘤诊断和治疗领域倍受关注。

[0003]  $^{188}\text{Re}$  的半衰期为 16.9 小时,主要  $\beta$ -能量为 2.12MeV,其在组织内射程较短(95%以上在 4mm 的范围内被吸收),对周围组织的损伤小,并伴有分支比为 15%的 155keV  $\gamma$  射线,适于显像,便于临床上估算吸收剂量和进行药代动力学研究。而且可以随时方便地从  $^{188}\text{W}$ - $^{188}\text{Re}$  发生器得到  $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$  溶液。 $^{188}\text{Re}$ -高铼酸钠(游离的  $^{188}\text{Re}$  形式)的生物学行为也非常优异,研究表明实验动物静脉注射  $^{188}\text{Re}$ -高铼酸钠后, $^{188}\text{Re}$ -高铼酸钠只有很低的脏器吸收并很快地通过尿排泄,它在人体内的生物半衰期 < 10 小时,因此即使  $^{188}\text{Re}$  标记的放射性药物在体内发生核素脱落也不会对人体造成严重的辐射损伤<sup>[1]</sup>。 $^{188}\text{Re}$  的优良核性质以及  $^{188}\text{W}$ - $^{188}\text{Re}$  发生器的普遍应用已使  $^{188}\text{Re}$  放射性药物成为放射性药物领域中的研究热点。

[0004] 近年来,具有动力学惰性的低价氧化态铼(Ⅰ)化合物  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  的合成取得了巨大的突破<sup>[2]</sup>,从而为  $^{188}\text{Re}$  放射性药物的发展注入了新的活力。但  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  不能单独作为放射性药物,且用其直接标记生物分子时,标记率很低,标记化合物很不稳定。因此,标记生物分子时,中间需要双功能螯合剂(bifunctional chelating agents, BFCA)连接。BFCA 犹如一座桥梁,一端连接要标记的目标化合物,作为靶向性分子或用于辅助治疗,另一端络合放射性核素  $^{188}\text{Re}$ 。BFCA 分子中既具有很强螯合力的基团,又含有可以与靶向性分子、生物大分子、单克隆抗体蛋白等形成共价连接的基团,即生物分子通过双功能螯合剂与  $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  形成牢固的结合。

[0005]  $\beta$ -榄香烯( $\beta$ -Elemene)是近年来我国首先从姜科植物温郁金(温莪术)的根茎中提取的一种挥发油的天然化合物,具有抗癌作用,其分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$ ,结构式如下:

[0006]



[0007] 核素  $^{188}\text{Re}$  能够杀死肿瘤细胞, $^{188}\text{Re}$  标记物中的配体能够引导核素到达肿瘤细胞,放射性核素在杀死肿瘤细胞的同时会不可避免地对正常组织造成损伤,而  $\beta$ -榄香烯具有辐射增敏及提高人体免疫力等作用。所以希望合成的  $\beta$ -榄香烯  $^{188}\text{Re}$  配合物具有较低的毒副作用。但是到目前为止, $^{188}\text{Re}$  核素标记天然产物的报道却很少,这是因为天然产物结构复杂,要想对天然产物进行标记,必须对它的结构进行改造,引入容易与 Re 配位的双功能

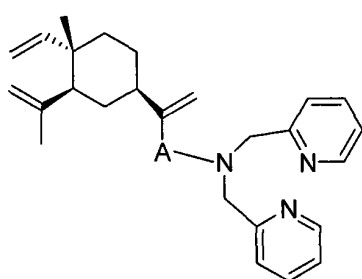
螯合剂,并且天然产物的分离、提纯及结构改造本身就有相当的难度。

### 发明内容

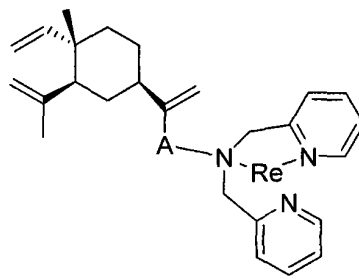
[0008] 本发明要解决的技术问题即是上述课题,提供一种作为金属  $^{188}\text{Re}$  配位的  $\beta$ -榄香烯衍生物—— $^{188}\text{Re}$   $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺类衍生物,作为结构参照的  $\beta$ -榄香烯金属铼( $\text{Re}$ )配合物和  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺类衍生物,以及它们的合成方法。

[0009] 为此,本发明筛选出既可与  $\text{Re}$  螯合,又能与  $\beta$ -榄香烯连接的双功能螯合剂——二吡啶甲基胺类衍生物,首先合成了能螯合  $\text{Re}$  的  $\beta$ -榄香烯衍生物,即  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺类衍生物,其结构式如下式 I 所示;接着合成了  $\beta$ -榄香烯金属铼配合物: $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺类衍生物的  $\text{Re}(\text{CO})_3$  有机配合物,其结构式如下式 II 所示,这是放射性合成的冷实验;最后合成了  $^{188}\text{Re}$  标记的  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺类衍生物,其结构式如下式 III 所示。

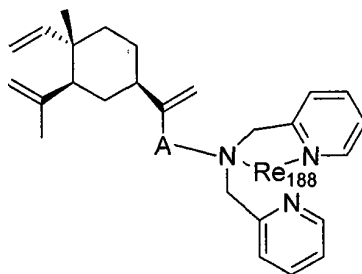
[0010]



(I)



(II)



(III)

[0011] 其中, A 表示  $-\text{CH}_2-$ , 或者

[0012]  $-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-(\text{CH}_2)_n$  其中  $m = 0-2$ ,  $n = 1-6$ 。

[0013] 优选地,所述的  $m = 0$ ,  $n = 2$  或  $6$ ; 或者  $m = 2$ ,  $n = 2$ 。

[0014] 本发明优选的式 I 化合物为  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺、 $\beta$ -榄香烯单取代 2-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-乙胺、 $\beta$ -榄香烯-6-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-己胺和 N-2-{2-[2-(双-2-吡啶-甲基胺)-乙氧]-乙氧}-乙基-N'- $\beta$ -榄香烯胺,式 II 化合物为  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺三羰基铼配位物、 $\beta$ -榄香烯单取代 2-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-乙胺三羰基铼配位物、 $\beta$ -榄香烯-6-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-己胺三羰基铼配位物和 N-2-{2-[2-(双-2-吡啶-甲基胺)-乙氧]-乙氧}-乙基-N'- $\beta$ -榄香烯胺三羰基铼配位物,式 III 化合物为  $^{188}\text{Re}$  标记的  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺、 $^{188}\text{Re}$  标记的  $\beta$ -榄香烯单取代 2-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-乙胺、 $^{188}\text{Re}$  标记的  $\beta$ -榄香烯-6-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-己胺和  $^{188}\text{Re}$  标记的 N-2-{2-[2-(双-2-吡啶-甲基胺)-乙氧]-乙氧}-乙基-N'- $\beta$ -榄香烯胺。



可采用现有技术合成 (Alberto R, Egli A, Abram U, et al, Synthesis and reactivity of  $[\text{Net}_4]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$  Formation and Structural Characterization of the Clusters  $[\text{Net}_4][\text{Re}(\mu_3\text{-OH})(\mu\text{-OH})_3(\text{CO})_3]$  and  $[\text{Net}_4][\text{Re}_2(\mu\text{-OH})_3(\text{CO})_6]$  by Alkaline Titration J Chem Soc Dalton Trans, 1994, 2815-2820.)。而  $[\text{N}(\text{Et})_4]_2[\text{Re}(\text{CO})_3\text{Br}_3]$  与式 I 化合物的合成方法也可参照现有技术 (如上述文献或 Schibli R, Schwarzbach R, Alberto R, et al. Steps Toward High Specific Activity Labeling of Biomolecules for Therapeutic Application: Preparation of Precursor  $[\text{Re}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$  and Synthesis of Tailor-Made Bifunctional Ligand Systems. Bioconjugate Chem, 2002, 13(4): 750-756.)。

[0027] 较佳地, 式 I 化合物与三羰基铼的摩尔比约为 1 : 1 左右, 反应温度为室温 (25°C 左右) ~ 60°C, 反应时间为 0.5 ~ 1 小时。

[0028] 本发明式 III 化合物的合成方法, 其包括采用  $\text{Fac}-[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  对式 I 化合物进行放射性标记。

[0029] 现有放射性标记技术都是在 NaCl 水溶液中进行, 本发明中的榄香烯水溶性不好, 所以在标记时调整了反应条件, 加入有机溶剂如乙醇助溶, 使标记率大大提高。因此, 较佳地, 所述放射性标记包括将  $\text{Fac}-[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  溶液加入式 I 化合物的乙醇溶液中, 采用孵育器, 控温 75°C, 转速 1300 转 / 分, 反应时间 50 分钟, 然后采用 HPLC 分离。

[0030] 本发明通过合成 Re 的配体——式 I 化合物; 成功合成了  $\beta$ -榄香烯金属铼 (Re) 配合物式 II 化合物, 即  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺及其衍生物的  $\text{Re}(\text{CO})_3$  有机配合物; 并最终得到了式 III 化合物  $^{188}\text{Re}$  标记的  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺及其衍生物, 这是第一次用放射性核素标记中草药有效成分  $\beta$ -榄香烯。这些化合物具有抗癌活性, 是一种潜在的抗癌药物。

#### 附图说明

[0031] 图 1 为本发明非放射性  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺  $\text{Re}(\text{CO})_3$  配合物 HPLC 谱图,  $t = 20.75\text{min}$ 。

[0032] 图 2 为放射性  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺  $\text{Re}(\text{CO})_3$  配合物 HPLC 谱图,  $t = 21.23\text{min}$ 。

[0033] 图 3 为本发明  $\beta$ -榄香烯-6-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-己胺三羰基铼配合物 HPLC 谱图,  $t = 21.175\text{min}$ 。

[0034] 图 4 为放射性  $\beta$ -榄香烯-6-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-己胺三羰基铼配合物 HPLC 谱图,  $t = 21.21\text{min}$ 。

[0035] 图 5 为 N-2-[2-[2-(双-2-吡啶-甲基胺)-乙氧]-乙氧]-乙基-N'- $\beta$ -榄香烯胺三羰基铼配合物 HPLC 谱图,  $t = 21.187\text{min}$ 。

[0036] 图 6 为放射性 N-2-[2-[2-(双-2-吡啶-甲基胺)-乙氧]-乙氧]-乙基-N'- $\beta$ -榄香烯胺三羰基铼配合物 HPLC 谱图,  $t = 21.190\text{min}$ 。

#### 具体实施方式

[0037] 下面用实施例来进一步说明本发明, 但本发明并不受其限制。

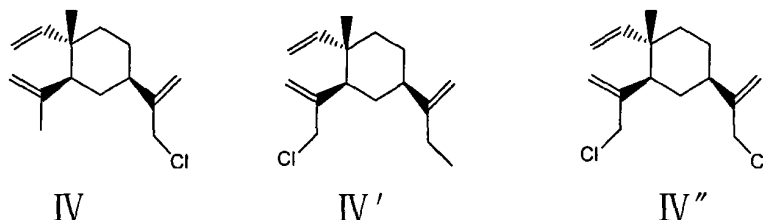
[0038] 下列实施例中所用的原料氯代  $\beta$ -榄香烯可根据现有技术合成, 如上述背景技术

内容中提及的各份文献自行合成；式 V 化合物二吡啶甲基胺类衍生物是瑞士 Fluka 公司产品。

[0039] ①式 IV 化合物氯代  $\beta$ -榄香烯的合成

[0040] 根据文献（贾卫民, 抗癌新药  $\beta$ -榄香烯及其衍生物的合成、结构和构效研究, 中国科学院大连化学物理研究所博士论文, 1991）合成  $\beta$ -榄香烯氯代物, 具体步骤如下: 将 0.01mol  $\beta$ -榄香烯溶于 10mL 二氯甲烷中, 加入 2mL 甲酸, 温度控制在 0~5℃, 于 2 小时内缓慢滴加 15mL 次氯酸钠溶液, 继续反应 3~5 小时。反应完毕, 加入饱和的碳酸氢钠水溶液调节 pH 至 7~8, 将反应混合液静止分层, 分出有机相, 水相用 3×10mL 的二氯甲烷萃取, 合并有机相, 并用无水硫酸钠干燥, 过滤, 除去溶剂二氯甲烷, 得淡黄色油状物, 经硅胶柱层析后可得到无色油状物, 经气相色谱分析为氯代  $\beta$ -榄香烯混合物, 即为  $\beta$ -榄香烯氯代物与  $\beta$ -榄香烯的混合物,  $\beta$ -榄香烯氯代物的含量约为 40~50%。其中的  $\beta$ -榄香烯氯代物含有下列三种化合物, 主要是单取代的, 即式 IV 和式 IV' 化合物, 其中又以式 IV 化合物为主, 式 IV' 化合物的含量很少。

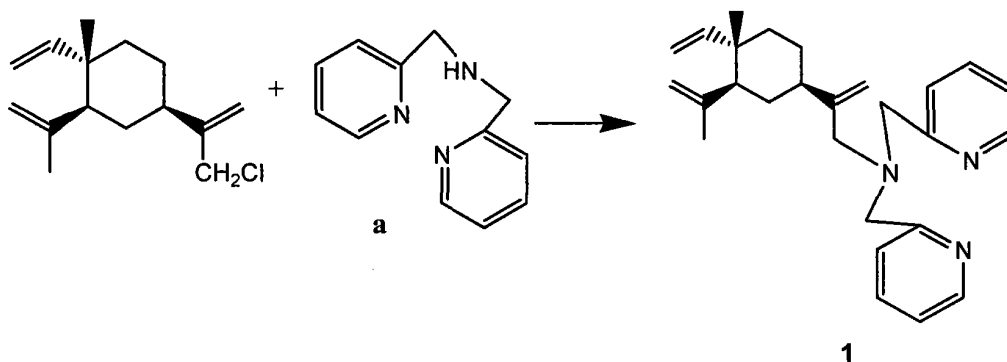
[0041]



[0042] 由于该氯代  $\beta$ -榄香烯混合物中的  $\beta$ -榄香烯不易分离, 而在反应结束后, 因为  $\beta$ -榄香烯的极性与本发明最终产物的极性相差很大, 极易分离。因此同现有技术, 该氯代  $\beta$ -榄香烯混合物可直接用于本发明的合成反应, 而参与反应的主要为式 IV 化合物。

[0043] 实施例 1  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺的合成:

[0044]



[0045] 0.8110g (4.0mmol) 二吡啶甲基胺 (化合物 a), 0.1646g (4.1mmol) NaOH, 1.8027g 氯代  $\beta$ -榄香烯混合物 (7.6mmol), 0.0512g (0.3mmol) KI, 8ml  $\text{CH}_3\text{CN}$ 。在 63℃ 的油浴下磁力搅拌, 加热 21 个小时, 溶液呈褐色, 反应完加入 NaCl 溶液, 然后用  $\text{CHCl}_3$  3×10ml 萃取, 得深褐色油状液体。

[0046] 当展开剂为乙酸乙酯/ $\text{CH}_3\text{OH}$  (体积比为 10 : 1) 时, 产物 Rf 值为 0.59, 通过硅胶柱 [硅胶: 200~300 目, 中国医药 (集团) 上海化学试剂公司产品, 洗脱液: 乙酸乙酯] 纯化, 得产物  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺 (化合物 1) 1.05g, 黄色液体, 产率 64%。



[0047] 其鉴定数据如下：

[0048] IR  $V_{\max}$ : 3080 (C = C-H), 1640 (C = C)。

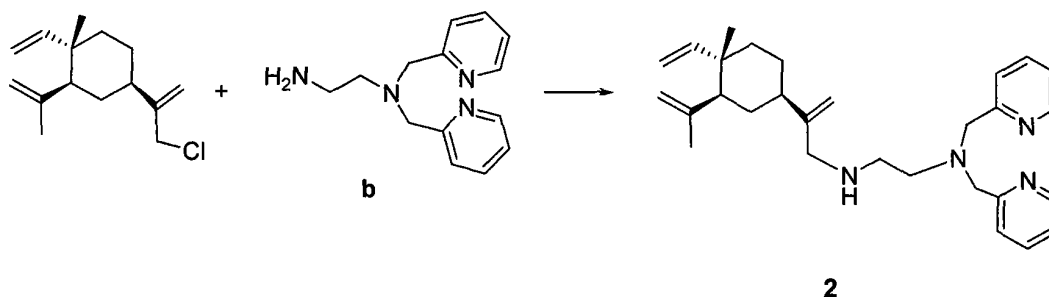
[0049]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , TMS, 500MHz),  $\delta$  0.90 (3H, s), 1.47-1.27 (6H, m), 1.61 (3H, s), 1.92-1.89 (1H, m), 2.07-2.04 (1H, m), 3.06 (2H, q,  $J = 14.0\text{Hz}$ ), 3.73 (4H, q,  $J = 14.1\text{Hz}$ ), 4.47 (1H, s), 4.73 (1H, s), 4.84 (1H, dd,  $J = 5.82\text{Hz}, 1.08\text{Hz}$ ), 4.85 (1H, d,  $J = 1.3\text{Hz}$ ), 4.89 (1H, s), 5.06 (1H, s), 5.77 (1H, dd,  $J = 10.48\text{Hz}, 7.38\text{Hz}$ ), 7.09-7.07 (2H, m), 7.50-7.47 (2H, m), 7.60 (2H, dt,  $J = 7.65\text{Hz}, 1.57\text{Hz}$ ), 8.45 (2H, d,  $J = 4.3\text{Hz}$ )。

[0050]  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , TMS, 125MHz),  $\delta$  17.39, 25.31, 27.68, 33.73, 40.57, 40.74, 42.56, 53.74, 59.71, 60.80, 110.53, 111.63, 112.71, 122.62, 123.41, 137.10, 148.14, 149.61, 150.94, 152.06, 160.46。

[0051] MS [ $\text{M}^+$ ] = 401, HRMS, 计算值 401.2831, 测定值 401.2842。

[0052] 实施例 2  $\beta$ -榄香烯-2-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-乙胺的合成

[0053]



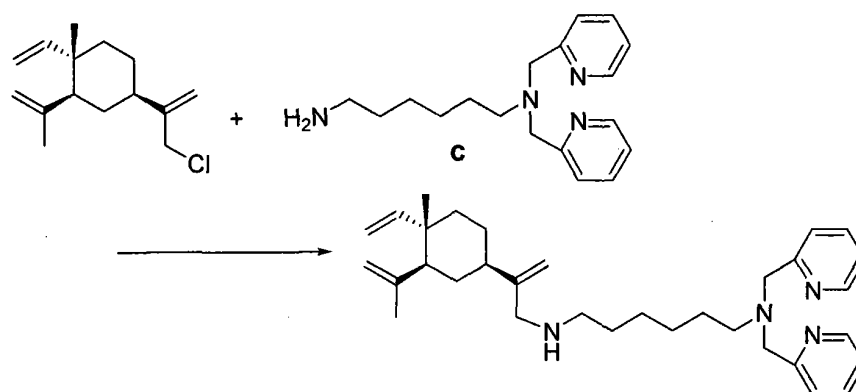
[0054] 将 3.3mmol 化合物 b, 4mmol NaOH, 1.8027g (7.6mmol) 氯代  $\beta$ -榄香烯混合物, 0.0512g (0.3mmol) KI 溶于 8ml  $\text{CH}_3\text{CN}$ , 63°C 的油浴下磁力搅拌, 加热 21 个小时, 溶液呈褐色, 反应完加入 NaCl 溶液, 然后用  $\text{CHCl}_3$  (3×10ml) 萃取, 得深褐色油状液体。

[0055] 当展开剂为乙酸乙酯/ $\text{CH}_3\text{OH}$  时, 产物 Rf 值为 0.59, 通过硅胶柱纯化, 得产物  $\beta$ -榄香烯单取代 2-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-乙胺 (化合物 2), 产率 74%, 鉴定结果如下：

[0056]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , TMS, 500MHz),  $\delta$  1.00 (s, 3H), 1.38-1.77 (m, 6H), 1.69 (s, 3H), 1.97-2.02 (m, 1H), 2.10-2.23 (m, 1H), 3.22 (s, 4H), 3.71 (s, 2H), 3.95 (s, 4H), 4.56 (s, 1H), 4.77 (s, 1H), 4.89 (d,  $J = 2.18, 1\text{H}$ ), 4.91 (d,  $J = 8.42, 1\text{H}$ ), 5.30 (s, 1H), 5.35 (s, 1H), 5.79 (dd,  $J = 17.72, 10.55, 1\text{H}$ ), 7.10 (d,  $J = 7.77, 1\text{H}$ ), 7.14 (dd,  $J = 6.58, 4.86, 1\text{H}$ ), 7.54 (dt,  $J = 7.65, 1.75, 1\text{H}$ ), 8.45 (d,  $J = 4.15, 1\text{H}$ )。

[0057] 实施例 3  $\beta$ -榄香烯-6-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-己胺的合成

[0058]



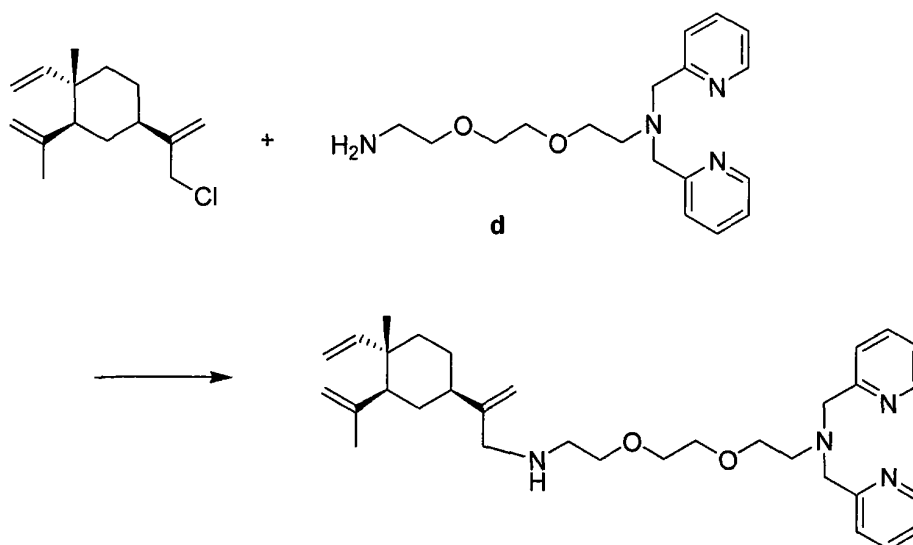
3

[0059] 0.9156g(3.8mmol) 氯代  $\beta$  榄香烯混合物溶于 15.0mL 乙腈中, 然后加入 1.1441g(3.8mmol) 化合物 c, 加 0.5g NaOH, 控温 63°C, 恒温回流反应 8h, 氯仿萃取, 用水和盐水洗涤两次, 干燥, 除溶剂, 用二氯甲烷: 甲醇 = 20 : 1(v/v) 的展开剂, flash 柱洗脱得 1.53g 褐色产品, 即  $\beta$ -榄香烯-6-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-己胺(化合物 3), 产率为 80%。

[0060] 鉴定结果如下:  $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3, \text{TMS}, 500\text{MHz})$ ,  $\delta$ : 0.97(s, 3H), 1.19-1.32(m, 4H), 1.35-1.60(m, 8H), 1.62-1.75(m, 2H), 1.69(s, 3H), 1.96-2.12(m, 2H), 2.55(t,  $J = 6.88\text{Hz}$ , 2H), 2.89(t,  $J = 7.78\text{Hz}$ , 2H), 3.61(s, 2H), 3.84(s, 4H), 4.55(s, 1H), 4.80(s, 1H), 4.87-4.94(m, 2H), 5.15(s, 1H), 5.17(s, 1H), 5.79(dd,  $^1J = 17.71\text{Hz}$ ,  $^2J = 10.54\text{Hz}$ , 1H), 7.17(t,  $J = 5.6\text{Hz}$ , 2H), 7.50(d,  $J = 7.79\text{Hz}$ , 2H), 7.67(dt,  $^1J = 7.67\text{Hz}$ ,  $^2J = 1.64\text{Hz}$ , 2H), 8.53(d,  $J = 4.19\text{Hz}$ , 2H); IR(KBr)  $\nu$ : 2928, 2362, 1388 $\text{cm}^{-1}$ ; ESI-HRMS calcd for  $\text{C}_{33}\text{H}_{49}\text{N}_4$  501.3957, found 501.3922。

[0061] 实施例 4 N-2-{2-[2-(双-2-吡啶-甲基胺)-乙氧]-乙氧}-乙基-N'- $\beta$ -榄香烯胺的合成

[0062]



4

[0063] 0.2501g(1.05mmol) 氯代  $\beta$  榄香烯混合物溶于 15.0mL 乙腈中, 然后加入 0.3310g(1.0mmol) 化合物 d, 加 0.5g NaOH, 控温 63°C, 恒温回流反应 8h, 氯仿萃取, 用水和

盐水洗涤两次,干燥,除溶剂,用二氯甲烷:甲醇=20:1(v/v)的展开剂,flash柱洗脱得0.4251g褐色产品,即化合物4-N-2-[2-[2-(双-2-吡啶-甲基胺)-乙氧]-乙氧]-乙基-N'-β-榄香烯胺,产率为80%。

[0064] 鉴定结果如下:<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, TMS, 500MHz), δ :0.97(s, 3H), 1.35-1.63(m, 6H), 1.67(s, 3H), 1.97-2.16(m, 2H), 2.89(s, 2H), 3.22(t, J = 4.32Hz, 2H), 3.46-3.51(m, 2H), 3.57-3.65(m, 4H), 3.69(s, 2H), 3.81-3.95(m, 6H), 4.54(s, 1H), 4.80(s, 1H), 4.86-4.94(m, 2H), 5.18(s, 1H), 5.32(s, 1H), 5.78(dd, <sup>1</sup>J = 17.85Hz, <sup>2</sup>J = 6.85Hz, 1H), 7.17(t, J = 6.65Hz, 2H), 7.38(d, J = 7.45Hz, 2H), 7.66(t, J = 7.64Hz, 2H), 8.55(d, J = 3.97Hz, 2H); IR(KBr) ν :765, 1591, 1639, 2928, 3371cm<sup>-1</sup>; ESI-HRMS calcd for C<sub>33</sub>H<sub>49</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> 533.3856, found 533.3845。

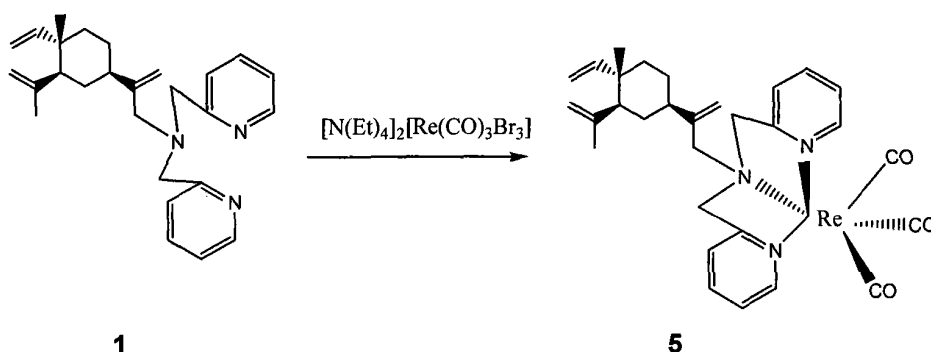
[0065] 实施例5 β-榄香烯二吡啶甲基胺 Re(CO)<sub>3</sub> 配合物的合成

[0066] 1. 三羰基铼([N(Et)<sub>4</sub>]<sub>2</sub>[Re(CO)<sub>3</sub>Br<sub>3</sub>], 四乙基溴化铼三羰基铼配合物)的合成(参见上述文献)

[0067] 在氮气保护的条件下,称取0.2527g(0.6mmol)溴化四乙基胺(瑞士Fluka公司产品)与0.2076g(0.5mmol)溴代五羰基铼(瑞士Fluka公司产品),加入溶剂二乙二醇二甲醚50.0mL,在磁力搅拌的条件下先慢慢加热到80℃,反应10分钟后固体完全溶解,再升温至120℃反应8小时,此时溶液中有淡黄色固体生成。趁热过滤,用冷的二乙二醇二甲醚和无水乙醚洗涤几次,置于干燥器中干燥。干燥后黄色粉末再用无水乙醇洗涤,过滤,真空干燥得产物,得0.3727g浅黄色固体产品,产率为95%。

[0068] 2. β-榄香烯二吡啶甲基胺与三羰基铼的配位

[0069]



[0070] 称取100mg(0.13mmol)的三羰基铼和54.1mg(0.13mmol)实施例1制得的β-榄香烯二吡啶甲基胺,加入5mL的甲醇,室温搅拌40min,有少量粉末未溶,在60℃的条件下加热一个小时,溶液透明呈深褐色,然后蒸除溶剂,快速在硅胶柱(硅胶:200~300目,中国医药(集团)上海化学试剂公司产品,洗脱液:二氯甲烷:甲醇=10:1)上洗脱下来,得到产物为深褐色固体73mg,即β-榄香烯二吡啶甲基胺 Re(CO)<sub>3</sub> 配合物(化合物5),产率82%。

[0071] 用紫外监测器测得非放射性的榄香烯二吡啶甲基胺 Re 配合物在 HPLC 的保留时间为 20.750min,如图 1 所示。

[0072] 鉴定数据如下:

[0073] IR V<sub>max</sub>:3080(C=C-H),2027(C=O),1910(C=O);

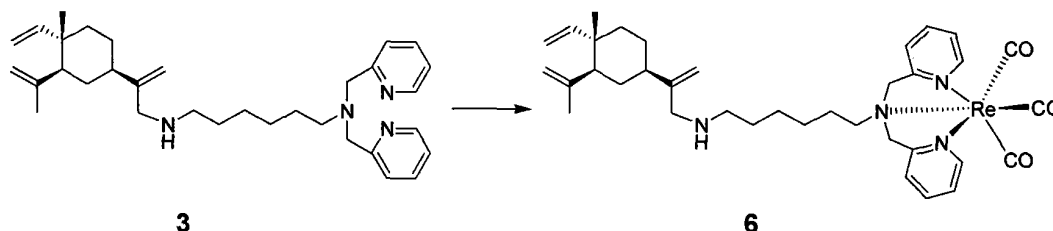
[0074]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , TMS, 500MHz),  $\delta$ : 1.03 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 1.51-1.58 (3H, m), 1.68 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 1.72-1.82 (2H, m), 1.97-2.02 (1H, m), 2.17-2.19 (1H, m), 2.30-2.39 (1H, m), 4.36-4.49 (4H, m), 4.61 (1H, s), 4.85 (1H, s), 4.91-4.99 (2H, m), 5.53 (1H, s), 5.62 (1H, s), 5.77-5.89 (1H, q), 6.05 (2H, q,  $J = 18.53\text{Hz}$ ), 7.18 (2H, t,  $J = 6.39\text{Hz}$ ), 7.80 (2H, t,  $J = 7.63\text{Hz}$ ), 8.0 (2H, d,  $J = 7.64\text{Hz}$ ), 8.63 (2H, d,  $J = 5.34\text{Hz}$ );

[0075]  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , TMS, 125MHz),  $\delta$ : 17.23, 25.64, 28.00, 34.65, 40.44, 40.82, 44.52, 52.92, 67.78, 67.92, 74.48, 110.86, 113.00, 121.66, 125.85, 126.36, 140.96, 147.12, 148.02, 150.49, 151.07, 161.84, 161.95, 196.22, 196.86;

[0076] 元素分析结果: 计算值 [ $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_3\text{ReBr}$ ], C47.93%; H4.69%; N5.58%; 测定值, C47.54%; H4.42%; N5.26%。

[0077] 实施例6  $\beta$ -榄香烯-6-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-己胺三羰基铼配合物的合成

[0078]



[0079] 三羰基铼的合成同实施例5, 称取 0.3852g (5.0mmol) 三羰基铼和 0.2513g (5.0mmol) 实施例3制得的化合物3, 加入 5.0mL 甲醇, 室温搅拌 40.0min, 溶液透明呈深褐色, 然后蒸除溶剂, 用二氯甲烷: 甲醇 = 10 : 1 (v/v) 的展开剂, 在硅胶柱上快速洗脱得粗产品, 再用二氯甲烷: 正己烷 = 1 : 2 (v/v) 混合溶液重结晶, 得 0.331g 白色固体, 即  $\beta$ -榄香烯-6-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-己胺三羰基铼配合物 (化合物6), 产率为 78%。

[0080] 用紫外监测器测得非放射性的化合物6在HPLC的保留时间为 21.175min, 如图3所示。

[0081] 鉴定数据如下: m. p. 161.7 ~ 162.1°C。

[0082]  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , TMS, 500MHz),  $\delta$ : 0.99 (s, 3H), 1.23-1.33 (m, 2H), 1.38-1.46 (m, 2H), 1.47-1.59 (m, 3H), 1.62-1.83 (m, 4H), 1.70 (s, 3H), 2.10-2.21 (m, 4H), 2.27-2.33 (m, 1H), 3.05 (t,  $J = 7.16\text{Hz}$ , 2H), 3.70 (q,  $J = 14.00\text{Hz}$ , 2H), 3.81 (t,  $J = 8.08\text{Hz}$ , 2H), 4.57 (s, 1H), 4.73 (d,  $J = 16.75\text{Hz}$ , 2H), 4.81 (s, 1H), 4.87-4.89 (m, 1H), 4.91 (s, 1H), 5.26 (s, 1H), 5.45 (s, 1H), 5.59 (d,  $J = 17.02\text{Hz}$ , 2H), 5.82 (dd,  $J = 17.49, 10.85\text{Hz}$ , 1H), 7.23 (t,  $J = 6.71\text{Hz}$ , 2H), 7.84 (dt,  $J = 7.74\text{Hz}$ , 0.38, 2H), 7.93 (d,  $J = 7.81\text{Hz}$ , 2H), 8.67 (d,  $J = 5.4\text{Hz}$ , 2H)。

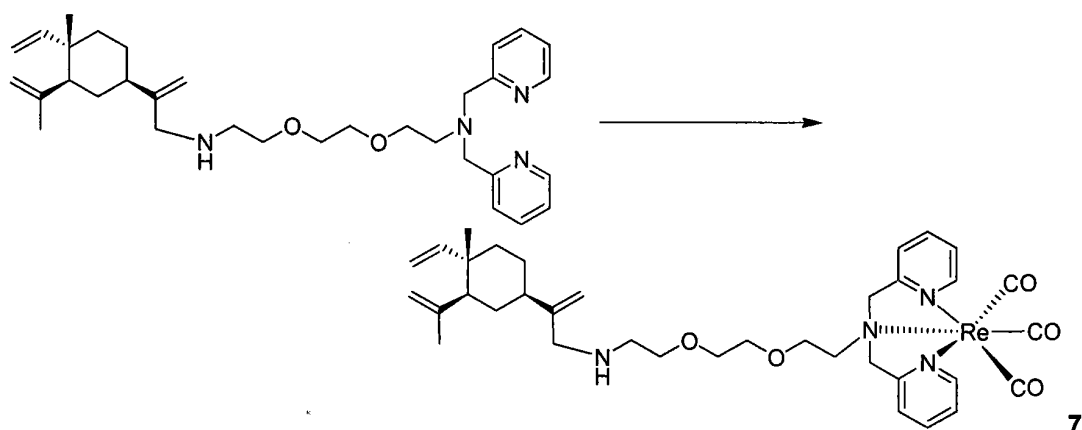
[0083] IR (KBr)  $\nu$ : 3472, 2926, 2027, 1912  $\text{cm}^{-1}$ 。

[0084] Anal. Calcd for [ $\text{C}_{36}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_3\text{Re}$ ]Br  $\cdot$   $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : C47.49, H5.39, N5.99; found C47.29, H5.64, N6.26。

[0085] 实施例7 N-2-{2-[2-(双-2-吡啶-甲基胺)-乙氧]-乙氧}-乙基-N'- $\beta$ -榄香烯

[0086] 胺三羰基铼配合物的合成

[0087]



[0088] 三羰基铼的合成同实施例5,称取0.1193g(5.0mmol)三羰基铼和0.2660g(5.0mmol)实施例4制得的N-2-[2-[2-(双-2-吡啶-甲基胺)-乙氧]-乙氧]-乙基-N'-3-榄香烯胺(化合物4),加入5.0mL甲醇,室温搅拌40.0min,溶液透明呈深褐色,然后蒸除溶剂,用二氯甲烷:甲醇=10:1的展开剂,在硅胶柱上快速洗脱得粗产品0.3627g,得N-2-[2-[2-(双-2-吡啶-甲基胺)-乙氧]-乙氧]-乙基-N'-3-榄香烯胺三羰基铼配合物(化合物7)。

[0089] 用紫外监测器测得非放射性的化合物7在HPLC的保留时间为21.187min,如图5所示。

[0090] 鉴定数据如下:<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, TMS, 500MHz), δ: 1.00(s, 3H), 1.38-1.47(m, 2H), 1.48-1.61(m, 2H), 1.74(s, 3H), 1.65-1.93(m, 10H), 2.08-2.31(m, 6H), 3.01-3.09(m, 2H), 3.62-3.74(m, 2H), 3.76-3.85(m, 2H), 4.58(s, 1H), 4.73(d, J = 16.80Hz, 2H), 4.81(s, 1H), 4.87(s, 1H), 4.91(d, J = 8.8Hz, 1H), 5.27(s, 1H), 5.48(s, 1H), 5.64(d, J = 16.80Hz, 2H), 5.82(dd, J = 17.49Hz, 10.85, 1H), 7.23(t, J = 6.80Hz, 2H), 7.84(t, J = 7.60Hz, 2H), 7.95(d, J = 7.60Hz, 2H), 8.68(d, J = 6.80Hz, 2H)。

[0091] IR(KBr)ν: 1914, 2028, 2928, 3437cm<sup>-1</sup>。

[0092] 实施例8 <sup>188</sup>Re 标记的β-榄香烯二吡啶甲基胺的合成

[0093] 1)Fac-[<sup>188</sup>Re(CO)<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>合成(Schibli R, Schwarzbach R, Alberto R, et al. Steps Toward High Specific Activity Labeling of Biomolecules for Therapeutic Application: Preparation of Precursor [<sup>188</sup>Re(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> and Synthesis of Tailor-Made Bifunctional Ligand Systems. Bioconjugate Chem, 2002, 13(4): 750-756.):

[0094] a. 取西林瓶A、B,称取5.6mg BH<sub>3</sub>·NH<sub>3</sub>于西林瓶中,加塞盖封,剩余BH<sub>3</sub>·NH<sub>3</sub>通入氩气进行保护;

[0095] b. 往装有BH<sub>3</sub>·NH<sub>3</sub>的西林瓶A、B中通入CO 20min,中等流速;

[0096] c. 取西林瓶C,加入15μL浓磷酸(质量浓度85%)于其中,然后用注射器取2.5mL <sup>188</sup>ReO<sub>4</sub><sup>-</sup>溶液(由上海应用物理研究所放药中心提供的<sup>188</sup>W-<sup>188</sup>Re医用核素发生器淋洗)加入瓶B,混合均匀;

[0097] d. 从瓶C中取出混合液各1mL于瓶A、B,此时有气体生成,插入针筒保持平衡,然后放在75℃的水浴上反应15min,取出后用冰水浴冷却,便得到fac-[<sup>188</sup>Re(CO)<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>;

[0098] e. 先用蒸馏水润湿一下 SEP-Pak 柱 (plus QMA WAT020545), 然后用该柱分离上述冷却产物, 除去  $^{188}\text{ReO}_4^-$ 。

[0099] 2) 采用  $\text{Fac}-[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  对  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺配体进行放射性标记的步骤:

[0100] 取  $\text{Fac}-[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  溶液 0.4mL, 加入  $10^{-3}\text{mol/L}$  式 1 化合物  $\beta$ -榄香烯二吡啶甲基胺的乙醇溶液 1.2mL, 用封口膜封好, 置于孵育器上, 控温  $75^\circ\text{C}$ , 转速 1300 转/分, 时间 50min, 然后采用高效液相色谱 (HPLC) [HPLC 系统: Merck-Hitachi L-7000 system (连接有 UV 检测器和 EG&GBerthold LB 508 放射性检测器), 色谱柱为 C-18ec 反相柱,  $\Phi 3\text{mm}\times 250\text{mm}$ ,  $5\mu\text{m}$ ; HPLC 洗脱梯度 (溶液 A: 无水甲醇; 溶液 B: 0.05M TEAP 三乙胺磷酸盐缓冲溶液,  $\text{pH} = 2.25$ ) 梯度: 0-3min: 100% B, 0% A; 3-6min, 75% B, 25% A; 6-9min: 66% B, 34% A; 9-20min: 0% B, 100% A; 20-22min: 0% B, 100% A; 22-28min: 66% B, 34% A; 28-34min: 75% B, 25% A; 34-40min: 100% B, 0% A; 流速: 1mL/min] 进行分析、分离, 分离后放射化学纯度达 95%。用放射性监测器测得放射性二吡啶甲基胺 Re 配合物在 HPLC 于同样条件下保留时间为 21.23min, 如图 2 所示。

[0101] 实施例 9  $^{188}\text{Re}$  标记的  $\beta$ -榄香烯-6-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-己胺的合成

[0102]  $\text{Fac}-[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  合成同实施例 8, 标记过程中只是将化合物 3 代替化合物 1, 余同实施例 8。

[0103] 用放射性监测器测得放射性  $\beta$ -榄香烯-6-[二(2-吡啶甲基)-胺基]-己胺 Re 配合物在 HPLC 于同样条件下保留时间为 21.21min, 分离后放射化学纯达 95%, 如图 4 所示。

[0104] 实施例 10  $^{188}\text{Re}$  标记的 N-2-{2-[2-(双-2-吡啶-甲基胺)-乙氧]-乙氧}-乙基-N'- $\beta$ -榄香烯胺的合成

[0105]  $\text{Fac}-[^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  合成同实施例 8, 标记过程中只是将化合物 4 代替化合物 1, 余同实施例 8。

[0106] 用放射性监测器测得放射性 N-2-{2-[2-(双-2-吡啶-甲基胺)-乙氧]-乙氧}-乙基-N'- $\beta$ -榄香烯胺 Re 配合物在 HPLC 于同样条件下保留时间为 21.190min, 分离后放射化学纯达 95%, 如图 6 所示。

[0107] 上述未特别说明的原料或试剂均为常规市售产品。

[0108] 试验实施例 抗癌活性试验

[0109] 对 HeLa、LLC 癌细胞株的抗癌活性研究

[0110] 通过初步体外抗癌活性观察, 与  $\beta$ -榄香烯比较, 新合成的  $\beta$ -榄香烯三羰基铈配合物对小鼠 LLC 和人 HeLa 细胞株的  $\text{IC}_{50}$  值显著降低 (经两组间 t 检验  $p < 0.01$ ), 即抗癌活性明显增强, 结果见表 1。

[0111] 表 1  $\beta$ -榄香烯三羰基铈配合物对 HeLa、LLC 癌细胞株的抑制作用

[0112]

化合物	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )					
HeLa	LLC					
$\beta$ -榄香烯	实施例 5	实施例 6	$236.2 \pm 3.2$	$11.2 \pm 1.4^{**}$	$346.1 \pm 41.5$	$7.8 \pm 1.5^{**}$
实施例 7			$10.9 \pm 1.2^{**}$	$10.3 \pm 1.0^{**}$	$5.0 \pm 1.9^{**}$	$4.8 \pm 1.2^{**}$

[0113] 注:  $^{**}p < 0.01$

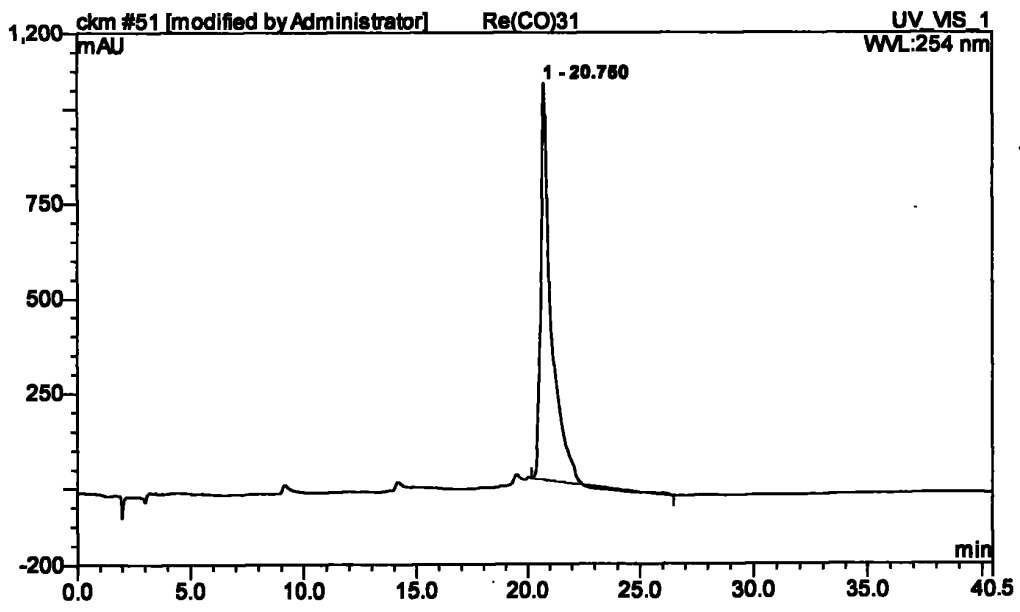


图 1

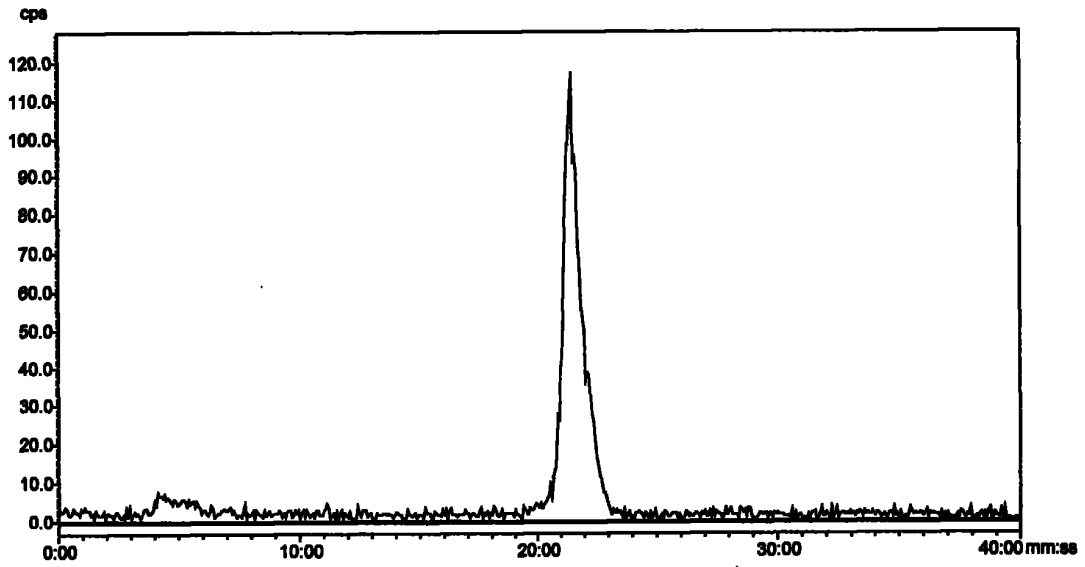


图 2

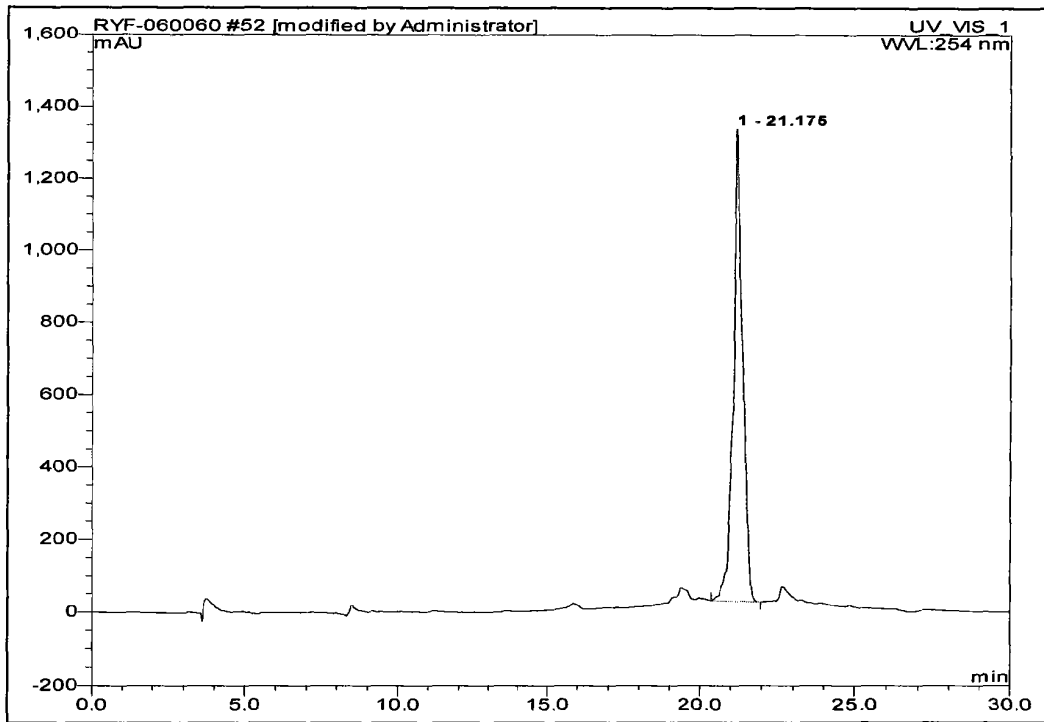


图 3

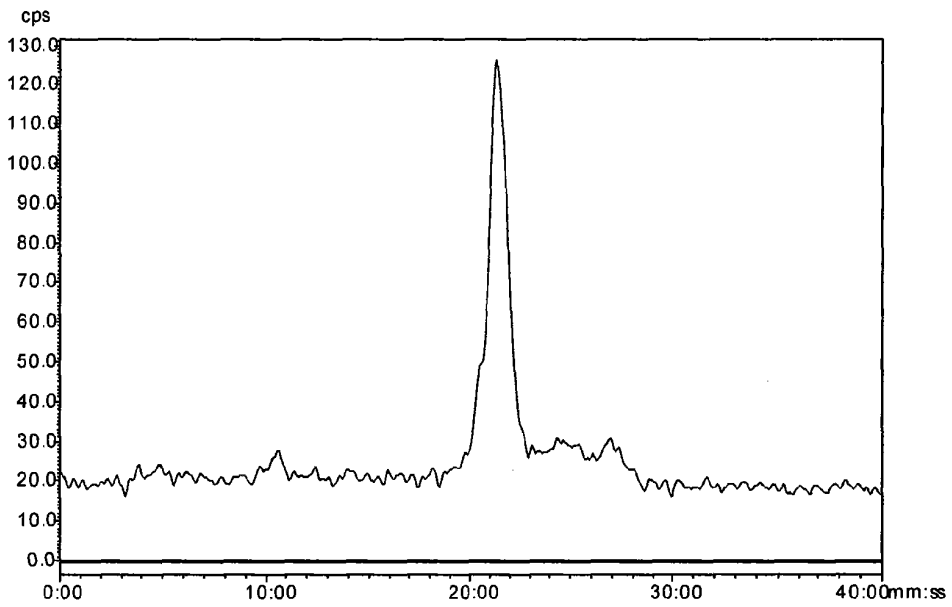


图 4



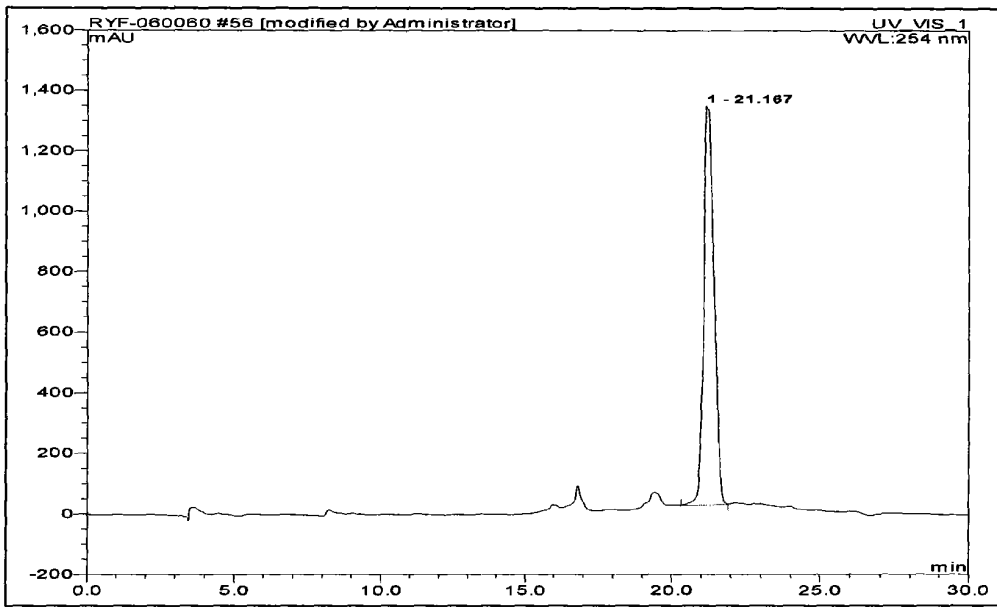


图 5

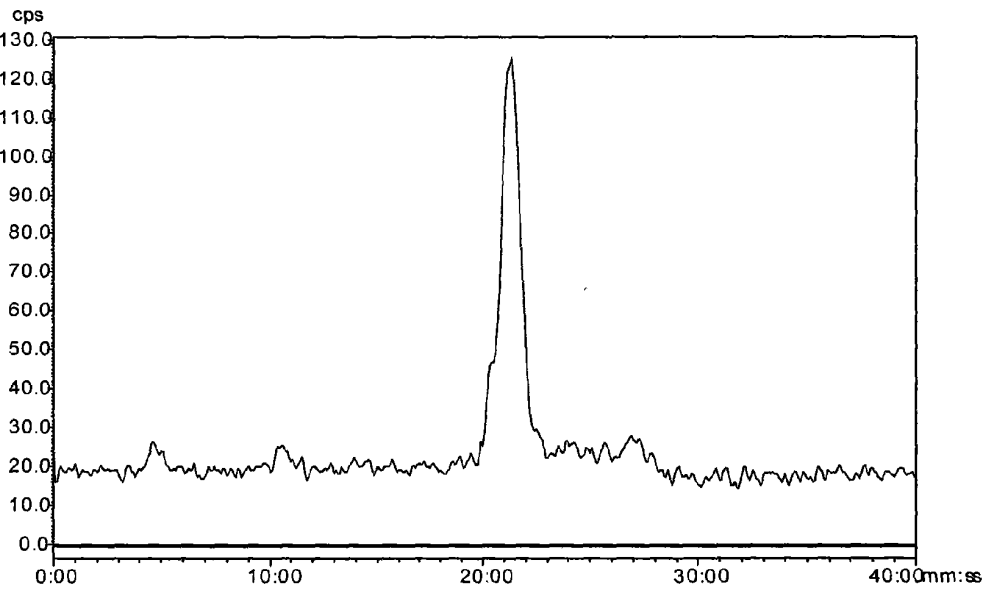


图 6