

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2012 年 10 月 18 日 (18.10.2012)



(10) 国际公布号
WO 2012/139507 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 31/05 (2006.01) A61K 31/4453 (2006.01)
A61K 31/131 (2006.01) A61K 31/121 (2006.01)
A61K 31/336 (2006.01) A61K 31/275 (2006.01)
A61K 31/085 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/136 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2012/073907

(22) 国际申请日: 2012 年 4 月 12 日 (12.04.2012)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201110093462.9 2011 年 4 月 14 日 (14.04.2011) CN

(71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 北京大学
(PEKING UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国北京市海淀区
颐和园路 5 号, Beijing 100871 (CN)。

(72) 发明人; 及

(75) 发明人/申请人 (仅对美国): 张照斌 (ZHANG,
Zhaobin) [CN/CN]; 中国北京市海淀区颐和园路 5 号

北京大学城市与环境学院, Beijing 100871 (CN)。
胡建英 (HU, Jianying) [CN/CN]; 中国北京市海淀区
颐和园路 5 号北京大学城市与环境学院, Beijing
100871 (CN)。 胡莹 (HU, Ying) [CN/CN]; 中国北京
市海淀区颐和园路 5 号北京大学城市与环境学院,
Beijing 100871 (CN)。

(74) 代理人: 北京君尚知识产权代理事务所 (普通合
伙) (BEIJING JOYSHINE INTELLECTUAL
PROPERTY OFFICE); 中国北京市海淀区北四环西
路 68 号左岸工社 1316-1317 室, Beijing 100080
(CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保
护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD,
GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU,
LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ,
NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO,
RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY,

[见续页]

(54) Title: APPLICATION OF BISPHENOL FLUORENE AND DERIVATIVE THEREOF IN PREPARING MEDICAMENT FOR PROPHYLAXIS AND TREATMENT OF CANCER

(54) 发明名称: 双酚茆及其衍生物在制备防治癌症药物中的应用

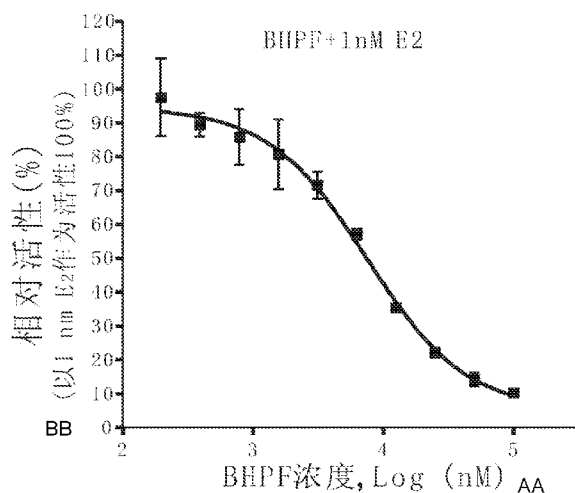


图 3 /Fig.3

AA BHPF concentration, log (nM)
BB Relative activity (%) (where 1 nM E2 is 100% activity)

(57) Abstract: An application of bisphenol fluorene and a derivative thereof in preparing a medicament for prophylaxis and treatment of cancer. The compound being an inverse agonist for an estrogen receptor and an estrogen receptor-related receptor, capable of inhibiting effectively estrogen-positive cancer cell growth, thus effectively treating cancers having estrogen-stimulated growth effect such as breast cancer, ovarian cancer, endometrial cancer, cervical cancer, prostate cancer, colon cancer, and lung cancer.

(57) 摘要:

本发明公开了双酚茆及其衍生物在制备防治癌症药物中的应用。所述化合物是雌激素受体及雌激素受体相关受体反向激动剂,能有效抑制雌激素阳性癌细胞的生长,从而有效治疗有雌激素促长效应的乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、宫颈癌、前列腺癌、结肠癌和肺癌等癌症。



TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,
VN, ZA, ZM, ZW。

CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN,
TD, TG)。

- (84) **指定国** (除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,
NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT,
BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR,
HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO,
PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ,

根据细则 4.17 的声明:

— 发明人资格(细则 4.17(iv))

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

双酚茆及其衍生物在制备防治癌症药物中的应用

技术领域

本发明涉及一种化合物及其衍生物在制备防治癌症药物中的应用，属于预防和治疗癌症的药物技术领域。

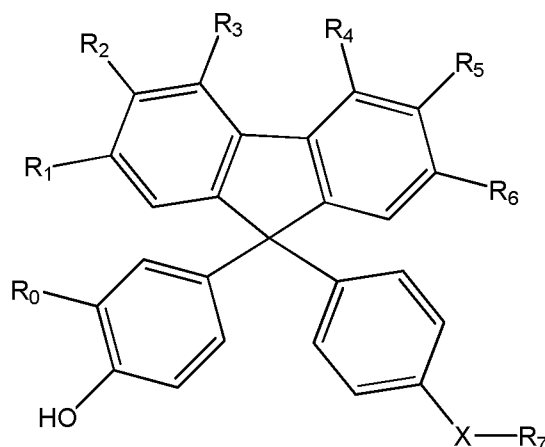
背景技术

大量研究表明雌激素（estrogen）及其受体通道与很多癌症相关。化学物质通过抗雌激素活性可以达到抗肿瘤效果。通过竞争性抑制雌激素介导的受体通道，抑制雌激素调节基因的表达，包括肿瘤细胞生长因子和血管生成因子的表达分泌，最终造成细胞处于分裂周期 G0 和 G1 期，使细胞的增殖减速（Abe O, Abe R, Enomoto K, et al. 2005. LANCET. 365: 1687-1717）。目前，最广泛应用于治疗乳腺癌、子宫内膜癌等雌激素受体阳性癌症的化学物质是他莫昔芬，或称三苯氧胺（美国专利 4536516）。他莫昔芬代谢产物 4 羟基他莫昔芬是一种较强的雌激素受体拮抗剂(antagonist)和雌激素受体相关受体拮抗剂，它的抗肿瘤效果主要基于这些受体拮抗剂的活性（Jordan VC. 2006. Br J Pharmacol. 147 (Suppl 1): S269–276.）。但他莫昔芬药物有多种毒副作用，如面部潮红、呕吐、恶心、头疼、疲劳、体重增加、多毛症、脱发、皮疹、血小板减少、白细胞减少、皮肤干燥、血栓以及肺栓塞，长期大量使用可出现视力障碍，并且目前市售他莫昔芬的价格较为昂贵，因此亟待开发他莫昔芬的替代药物。

发明内容

本发明的目的是提供一种他莫昔芬的替代药物，以用于对哺乳动物包括人类的癌症进行治疗和预防。

本发明提出下述式 I 表示的化合物（双酚茆及其衍生物）或其药用盐，将它们应用于制备预防和治疗癌症的药物：



式 I

式 I 中, R_0 表示氢, 甲基或氨基; R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 和 R_6 各自独立地表示氢, 卤素, 羟基, 氰基, C_{1-3} 烷酰基, 未取代的或被羟基或氰基取代的 C_{1-3} 烷基; R_7 表示氢, 氰基, 氨基, C_{1-9} 烷酰基, 未取代的或被氰基、羟基、羰基、氨基、 C_{3-9} 脂环烃基、 C_{3-9} 杂环基、 C_{6-10} 芳基、 C_{1-9} 烷胺基或 C_{2-7} 环氧烷基取代的 C_{1-9} 脂肪烃基; X 表示氧, 碳或氮。

术语“ C_{1-3} 烷酰基”是指具有 1~3 个碳原子的酰基。

术语“ C_{1-9} 烷酰基”是指具有 1~9 个碳原子的酰基, 所述 C_{1-9} 烷酰基优选为 C_{1-4} 烷酰基, 例如醛基 (formyl, 即甲酰基) 和乙酰基 (acetyl)。

术语“ C_{1-3} 烷基”是指具有 1~3 个碳原子的烷基。

术语“ C_{1-9} 脂肪烃基”是指具有 1~9 个碳原子的直链或支链的烷基、烯基或炔基, 所述 C_{1-9} 脂肪烃基优选为 C_{1-6} 脂肪烃基, 例如甲基 (methyl)、乙基 (ethyl)、丙基 (propyl)、异丙基 (isopropyl)、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、丙烯基、二丁烯基、异戊烯基、丙炔基等。所述被羰基取代的 C_{1-9} 脂肪烃基例如 2-羰基丙基 (2-oxopropyl) 等。所述被氰基取代的 C_{1-9} 脂肪烃基例如甲氰基 (cyanomethyl)、乙氰基 (cyanoethyl)、丙氰基 (cyanopropyl) 等。所述被羟基取代的 C_{1-9} 脂肪烃基例如羟甲基 (hydroxy methyl)、2-羟乙基 (2-hydroxyethyl) 等。

术语“ C_{3-9} 脂环烃基”是指具有 3~9 个碳原子的脂环烃基, 所述 C_{3-9} 脂环烃基优选为 C_{3-6} 脂环烃基, 例如环丙烷基、环丁烷基、环己烯基等。所述被 C_{3-9} 脂环烃基取代的 C_{1-9} 脂肪烃基例如环丙基乙基。

术语“ C_{3-9} 杂环基”是指具有 3~9 个碳原子的杂环基, 例如吡咯基、哌啶基等。所述被 C_{3-9} 杂环基取代的 C_{1-9} 脂肪烃基例如吡咯基乙基和哌啶基乙基等。

术语“ C_{6-10} 芳基”是指具有 6~10 个碳原子的芳基, 例如苯基。所述被 C_{6-10} 芳基取

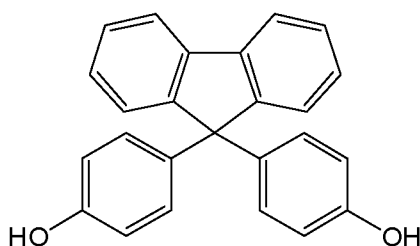
代的 C₁₋₉ 脂肪烃基例如苯乙基。

术语“C₁₋₉ 烷基”即指-NR'R", 其中 R'和 R"各自独立地表示氢或 C₁₋₉ 烷基, 且不同时为氢。所述 C₁₋₉ 烷基优选为 C₁₋₆ 烷基。所述被 C₁₋₉ 烷基取代的 C₁₋₉ 脂肪烃基例如 2-(二甲氨基)乙基 [2-(dimethylamino)ethyl]、2-(二乙氨基)乙基[2-(diethylamino)ethyl] 等。

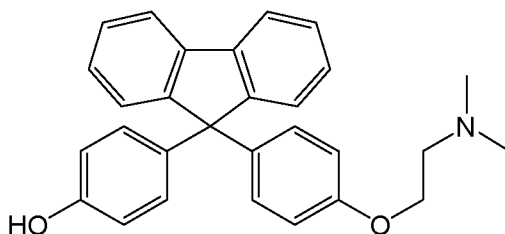
术语“C₂₋₇ 环氧烷基”是指 2~7 个碳原子和氧原子构成的环氧烷基, 被 C₂₋₇ 环氧烷基取代的 C₁₋₉ 脂肪烃基例如环氧乙基-2-甲基 (oxiran-2-ylmethyl) 等。

下面给出了本发明所述化合物的一些具体例子:

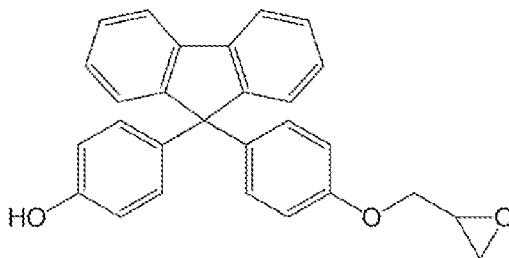
(1) 双酚茱, 英文名为 9,9-Bis(4-hydroxyphenyl)fluorene, 4,4'-(9-fluorenylidene)diphenol 或 fluorene-9-bisphenol, 简称 BHPF, 式 I 中 R₀ = R₁ = R₂ = R₃ = R₄ = R₅ = R₆ = R₇ = H, X 为氧, 其结构式如下:



(2) 4-(9-(4-(2-(二甲氨基)乙氧基)苯基)-9H-茱-9-基)苯酚, 英文名为 4-(9-(4-(2-(dimethylamino)ethoxy)phenyl)-9H-fluorene-9-yl)phenol, 简称 DEPF, 式 I 中 R₀ = R₁ = R₂ = R₃ = R₄ = R₅ = R₆ = H, X 为氧, R₇ 为 2-(二甲氨基)乙基, 其结构式如下:

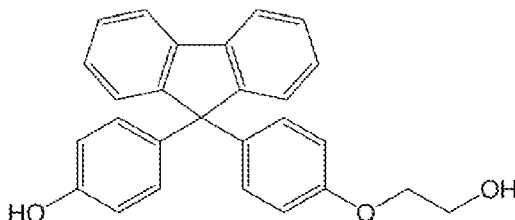


(3) 4-(9-(4-(环氧乙基-2-甲氧基)苯基)-9H-茱-9-基)苯酚, 英文名为 4-(9-(4-(oxiran-2-ylmethoxy)phenyl)-9H-fluorene-9-yl)phenol, 简称 OPFP, 式 I 中 R₀ = R₁ = R₂ = R₃ = R₄ = R₅ = R₆ = H, X 为氧, R₇ 为环氧乙基-2-甲基, 其结构式如下:

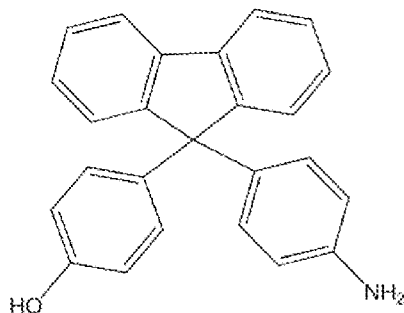


(4) 4-(9-(4-(2-羟乙氧基)苯基)-9H-茱-9-基)苯酚, 英文名为 4-(9-(4-(2-

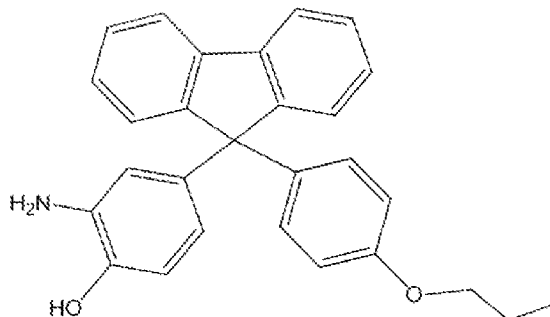
hydroxyethoxy)phenyl)- 9H - fluoren -9 - yl) phenol, 简称 HPFP, 式 I 中 $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, X 为氧, R_7 为 2-羟乙基, 其结构式如下:



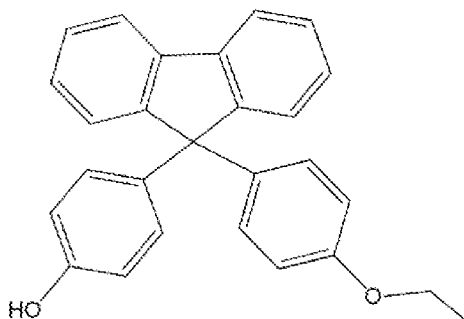
(5) 4-(9-(4-氨基苯基)-9H-芴-9-基)苯酚, 英文名为 4-(9-(4-aminophenyl)-9H-fluoren-9-yl)phenol, 简称 APFP, 式 I 中 $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = R_7 = H$, X 为氮, 其结构式如下:



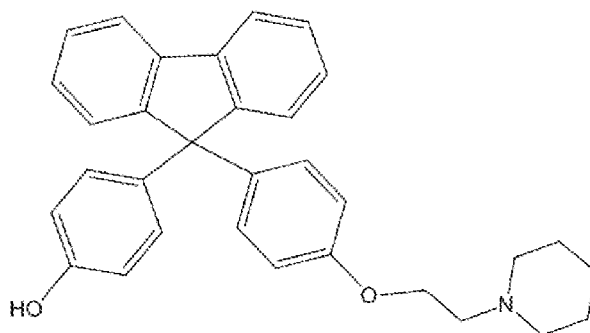
(6) 2-氨基-4-(9-(4-丙氧基苯)-9H-芴-9-基)苯酚, 英文名为 2-amino-4-(9-(4-propoxyphenyl)-9H-fluoren-9-yl)phenol, 简称 APPFP, 式 I 中 $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, R_0 为氨基, X 为氧, R_7 为丙基, 其结构式如下:



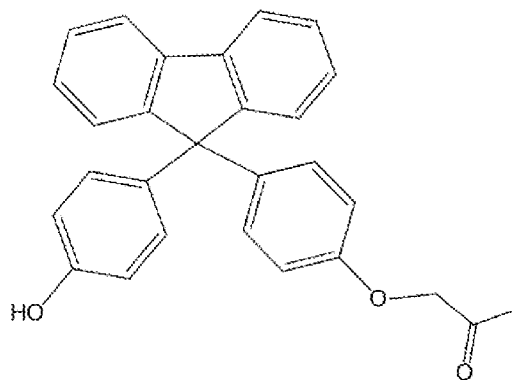
(7) 4-(9-(4-乙氧苯基)-9H-芴-9-基)苯酚, 英文名为 4-(9-(4-ethoxyphenyl)-9H-fluoren-9-yl)phenol, 简称 EPFP, 式 I 中 $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, X 为氧, R_7 为乙基, 其结构式如下:



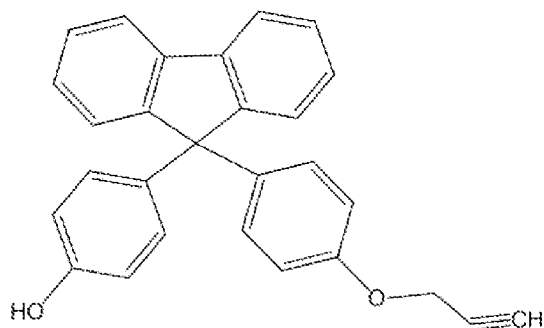
(8) 4-(9-(4-(2-(哌啶-1-基)乙氧基)苯基)-9-氢-芴-9-基)苯酚, 英文名为 4-(9-(4-(2-(piperidin-1-yl)ethoxy)phenyl)-9H-fluoren-9-yl)phenol, 简称 PEPFP, 式 I 中 $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, X 为氧, R_7 为哌啶基乙基, 其结构式如下:



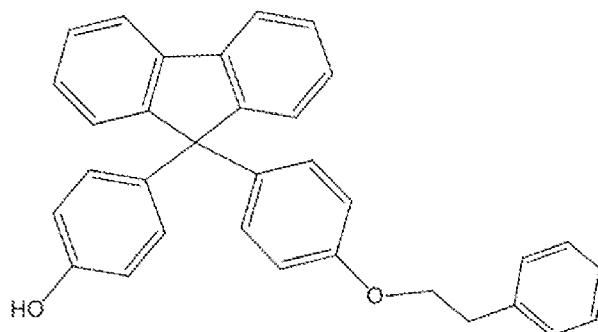
(9) 1-(4-(9-(4-羟基苯基)-9-氢-芴-9-基)苯氧基)丙酮, 英文名为 1-(4-(9-(4-hydroxyphenyl)-9H-fluoren-9-yl)phenoxy)propan-2-one, 简称 HFPP, 式 I 中 $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, X 为氧, R_7 为 2-羰基丙基 (丙酮基), 其结构式如下:



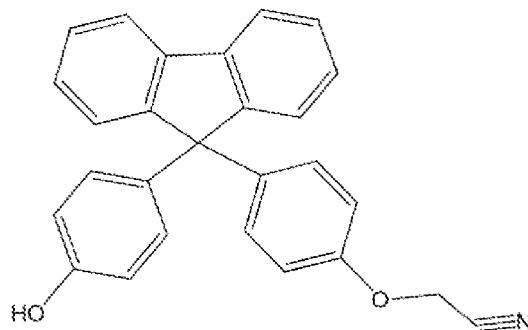
(10) 4-(9-(4-(2-丙炔氧基)苯基)-9-氢-芴-9-基)苯酚, 英文名为 4-(9-(4-(prop-2-yn-1-yloxy)phenyl)-9H-fluoren-9-yl)phenol, 简称 PYPFP, 式 I 中 $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, X 为氧, R_7 为 2-丙炔基, 其结构式如下:



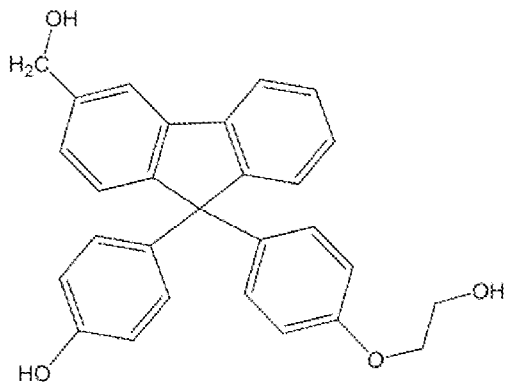
(11) 4-(9-(4- 苯 乙 氧 基 苯)-9 氢 - 芴 -9- 基) 苯 酚 , 英 文 名 为 4-(9-(4-phenethoxyphenyl)-9H-fluoren-9-yl)phenol, 简称 PPFP, 式 I 中 $R_0=R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=H$, X 为氧, R_7 为苯乙基, 其结构式如下:



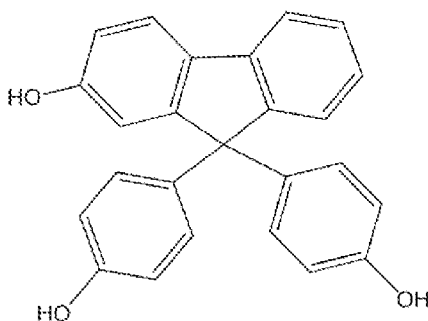
(12) 2-(4-(9-(4- 羟 基 苯 基)-9 氢 - 芴 -9- 基) 苯 氧 基) 乙 腈 , 英 文 名 为 2-(4-(9-(4-hydroxyphenyl)-9H-fluoren-9-yl)phenoxy)acetonitrile, 简称 HFPA, 式 I 中 $R_0=R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=H$, X 为氧, R_7 为乙腈基, 其结构式如下:



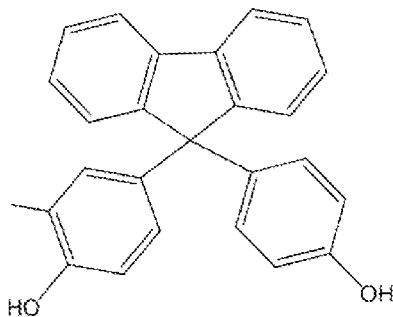
(13) 4-(9-(4-(2- 羟 乙 氧 基) 苯 基)-3-(羟 甲 基)-9 氢 - 芴 -9 - 基) 苯 酚 , 英 文 名 为 4-(9-(4-(2-hydroxyethoxy)phenyl)-3-(hydroxymethyl)-9H-fluoren-9-yl)phenol, 简称 HHFP, 式 I 中 $R_0=R_1=R_3=R_4=R_5=R_6=H$, R_2 为羟甲基, X 为氧, R_7 为 2-羟乙基, 其结构式如下:



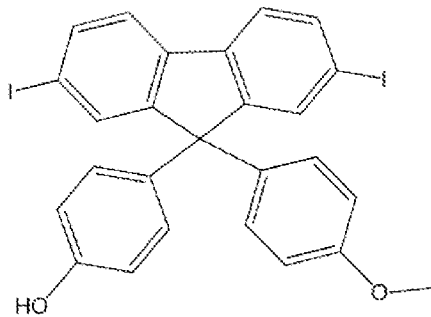
(14) 2-羟基芴双酚, 英文名为 4,4'-(2-hydroxy-9H-fluorene-9,9-diyl)diphenol, 简称 HFDP, 式 I 中 $R_0 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = R_7 = H$, R_1 为羟基, X 为氧, 其结构式如下:



(15) 4-(9-(4-羟基苯基)-9H-芴-9-基)-2-甲基苯酚, 英文名为 4-(9-(4-hydroxyphenyl)-9H-fluorene-9-yl)-2-methylphenol, 简称 HFMP, 式 I 中 $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = R_7 = H$, R_0 为甲基, X 为氧, 其结构式如下:



(16) 4-(2,7-二碘-9-(4-甲氧基苯基)-9H-芴-9-基)苯酚, 英文名为 4-(2,7-diiodo-9-(4-methoxyphenyl)-9H-fluorene-9-yl)phenol, 简称 DIMFP, 式 I 中 $R_0 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = H$, $R_1 = R_6 = I$, X 为氧, R_7 为甲基, 其结构式如下:



本发明所述的化合物的药用盐是指药学上可接受的盐，例如与盐酸、硫酸、磷酸、硝酸等无机酸形成的盐，或是与柠檬酸、琥珀酸、枸橼酸、醋酸、酒石酸、甲磺酸等有机酸形成的盐。

本发明提出的化合物或其药用盐可抑制雌激素受体（estrogen receptors）配体依赖性转录活性，亦可抑制雌激素受体相关受体（estrogen-related receptors）的非配体依赖性转录活性，是雌激素受体及雌激素受体相关受体的反向激动剂。研究表明本发明化合物与 4 羟基-他莫昔酚（他莫昔酚的活性代谢产物，简称 4OHT）的抗雌激素活性相似，具有显著的抗雌激素效应，能有效抑制雌激素受体阳性癌细胞（雌激素促长性癌细胞）的生长，杀死癌细胞，故能有效治疗例如乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、宫颈癌、前列腺癌、结肠癌和肺癌等有雌激素促长效应的癌症。本发明的化合物或其盐可单独与其他化疗药物或放疗联合使用来治疗癌症，还可作为预防恶性肿瘤的药物，尤其是对特定癌症的高危人群。试验结果显示，本发明提出的化合物毒性较低，在连续三天暴露小鼠 500 微克/千克体重/天剂量下，未发现死亡情况。因本发明化合物及其盐无需代谢就具有较强抗雌激素活性，因此不仅可以作为口服药物，亦可作为针剂使用。

附图说明

图 1 为实施例 1 中双酚苄（BHPF）对 MCF7 癌细胞生长和存活的影响。

图 2 为通过分子对接方法计算得到的 BHPF 在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

图 3 为不同浓度 BHPF 与 1nM 17β -雌二醇（ E_2 ）共存下对雌激素受体 E_2 配体依赖性转录活性的影响。

图 4 为通过分子对接方法计算得到的 DEPF 在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

图 5 为通过分子对接方法计算得到的 OPFP 在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

图6为通过分子对接方法计算得到的HPFP在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

图7为通过分子对接方法计算得到的APFP在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

图8为通过分子对接方法计算得到的APPFP在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

图9为通过分子对接方法计算得到的EPFP在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

图10为通过分子对接方法计算得到的HFDP在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

图11为通过分子对接方法计算得到的HFPA在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

图12为通过分子对接方法计算得到的HFPP在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

图13为通过分子对接方法计算得到的HHFP在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

图14为通过分子对接方法计算得到的HFMP在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

图15为通过分子对接方法计算得到的PEPFP在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

图16为通过分子对接方法计算得到的PPFP在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

图17为通过分子对接方法计算得到的PYFP在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

图18为通过分子对接方法计算得到的DIMFP在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态。

具体实施方式

以下实施例可更详细地说明本发明，但不以任何形式限制本发明的范围。

实施例 1：双酚苄(BHPF)对 MCF7 癌细胞生长和存活的影响

本实施例中所用的 MCF7 乳腺癌细胞株购于北京金紫晶生物医药技术有限公司。BHPF 购自 Sigma-Aldrich 公司（美国）。MCF7 细胞在 5% CO₂、37°C 及湿度饱和条件下，采用 24 孔板(Corning, NY, USA) DMEM 培养基+10%胎牛血清（Gibco）培养，每孔接种 2 万个细胞，细胞贴壁后对它们用化合物进行处理（BHPF 用 DMSO 溶解后设立 10⁻⁵-10⁻¹⁰ M 暴露组，单独 DMSO 作为阴性对照组）或者不予处理（空白组），经过 24 小时的暴露，采用 CASY®细胞计数法[CASY® Technology Cell Counter (Innovatis, Reutlingen, Germany)]检测每孔的细胞数。

MCF7 乳腺癌细胞在 BHPF 溶液中暴露 24 小时后，每组细胞数量如图 1 所示，从左至右依次是空白对照组、阴性对照组和不同浓度的 BHPF 实验组，BHPF 的浓度在 10 μ M (10⁻⁵ M)和 1 μ M (10⁻⁶ M) 时，MCF7 活细胞数分别降低到阴性对照组细胞数（单独 DMSO）的 19.64 %和 43.04%，这里更值得注意的是 10 μ M 暴露组细胞数量比接种的活细胞数下降超过一半，而 1 μ M 浓度组的细胞数没有明显升高。这表明 BHPF 可以显著抑制 MCF7 细胞的生长，甚至在短期内杀伤癌细胞，致癌细胞死亡。

实施例 2：双酚苄(BHPF)抑制雌激素受体配体依赖性转录活性

通过分子对接方法（参见 Nose T, *et al.* 2009. Toxicol. Lett. 191: 33–39）计算证实 BHPF 能很好地与人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋结合，图 2 显示所得的 BHPF 在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态，其结合能约为 61.3 千卡/摩尔。

通过受体-配体-转录共激活因子结合试验（参见 Kanayama *et al.* 2003. J Biochem 133: 791–797），发现人类雌激素受体 α 在 1 nM 雌激素存在时能很好的与转录共激活因子 SRC2 很好的结合，形成受体-配体-转录共激活因子复合物。但是在加入 BHPF 后，转录共激活因子 SRC2 与人类雌激素受体 α 的结合活性显著下降。如图 3 所示，不同浓度 BHPF 与 1nM 17 β -雌二醇 (E₂) 共存的情况下，雌激素受体 E₂ 配体依赖性转录活性受到影响。BHPF 的 IC₅₀ 值约为 7.5 微摩，仅略高于同样方法做出的 4 羟基-他莫昔酚（他莫昔酚的高活性代谢产物，简称 4OHT）的 IC₅₀ 值（6.8 微摩）。试验还发现在浓度较高时，BHPF 的抗雌激素活性强于 4OHT。

实施例 3：双酚苄(BHPF)对 OVCAR-3 卵巢癌细胞、Hela 宫颈癌细胞、PC3 前列腺癌细胞和子宫内膜癌细胞生长和存活的影响

本实施例中所用的 OVCAR-3 卵巢癌细胞、Hela 子宫颈癌细胞、PC3 前列腺癌细胞和子宫内膜癌细胞株购于北京金紫晶生物医药技术有限公司，在 5 % CO₂、37°C 及饱和湿度条件下，采用 24 孔板(Corning, NY, USA)，DMEM 培养基+10%胎牛血清 (Gibco) 培养，每孔接种 2 万个细胞，细胞贴壁后对它们用化合物进行处理 (BHPF 用 DMSO 溶解后设立 10⁻⁵ 和 10⁻⁶ M 处理组，DMSO 作为溶剂对照组)，经过 72 小时的暴露，采用 CASY®细胞计数法检测每孔的细胞数。结果如表 1 所示，表明 BHPF 可以显著抑制这些癌细胞的生长或杀死这些细胞。

表 1.

细胞系 分组	Hela	OVCAR-3	PC3	RL95-2
溶剂对照组	$(3.69 \pm 0.87) \times 10^5$	$(3.31 \pm 0.32) \times 10^5$	$(2.73 \pm 0.5) \times 10^5$	$(3.12 \pm 0.72) \times 10^5$
10 ⁻⁶ M 处理组	显著小于对照组	显著小于对照组	显著小于对照组	显著小于对照组
10 ⁻⁵ M 处理组	小于接种数	小于接种数	小于接种数	小于接种数

实施例 4：DEPF、OPFP、HPFP、HFPA、EPFP、PPFP、PEFP、HFPP、PYFP、APFP、HHFP、HFDP、APPFP、HFMP 和 DIMFP 的抗雌激素活性

通过分子对接方法计算证实 DEPF、OPFP、HPFP、HFPA、EPFP、PPFP、PEFP、HFPP、PYFP、APFP、HHFP、HFDP、APPFP、HFMP 和 DIMFP 能很好地与人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋结合。图 4 至图 18 显示了这些化合物在人类雌激素受体 α 配体反向激动剂口袋中的姿态，其结合能约为从 -51.32 到 -62.42 千卡/摩尔；具体结合能数据和附图情况参考表 2。因为本发明的所涉及化合物抗癌效果基于其抗雌激素活性，而且这些 BHPF 衍生物的抗雌激素活性与 BHPF 相似，而 BHPF 已被证明具有抗癌效果，因此可以认为 DEPF、OPFP、HPFP、HFPA、EPFP、PPFP、PEFP、HFPP、PYFP、APFP、HHFP、HFDP、APPFP，HFMP 和 DIMFP 也具有抗癌效果。

表 2.

化学名称	预测的结合能 (千卡/摩尔)	参考附图	式I中R ₀ 、R ₁ 、R ₂ 、R ₃ 、R ₄ 、R ₅ 、R ₆ 、R ₇ 和X代表的基团或元素
DEPF	-61.69	图4	R ₀ =R ₁ =R ₂ =R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =H，X为氧，R ₇ 为2-(二甲氨基)乙基

OPFP	-62.32	图5	$R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, R_7 为环氧乙基-2-甲基, X 为氧
HPFP	-61.87	图6	$R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, R_7 为 2-羟乙基, X为氧
APFP	-59.68	图7	$R_0=R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = R_7= H$, X为氮
APPFP	-60.97	图8	R_0 为氨基, $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, R_7 为丙基, X为氧
EPFP	-61.84	图9	$R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, R_7 为乙基, X 为氧
HFDP	-60.98	图10	$R_0 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = R_7 = H$, R_1 为羟基, X 为氧
HFA	-61.59	图11	$R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, R_7 为乙腈基, X为氧
HFPP	-62.42	图12	$R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, R_7 为丙酮基, X 为氧
HHFP	-55.64	图13	$R_0 = R_1 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, R_2 为羟甲基, R_7 为2-羟乙基, X为氧
HFMP	-62.03	图14	R_0 为甲基, $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = R_7 = H$, X为氧
PEFP	-60.93	图15	$R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, R_7 为哌啶基乙基, X为氧
PPFP	-61.33	图16	$R_0=R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, R_7 为苯乙基, X 为氧
PYPFP	-61.61	图17	$R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, R_7 为2-丙炔基, X为氧
DIMFP	-51.32	图18	$R_0 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = H$, $R_1 = R_6 = I$, R_7 为甲基, X为氧

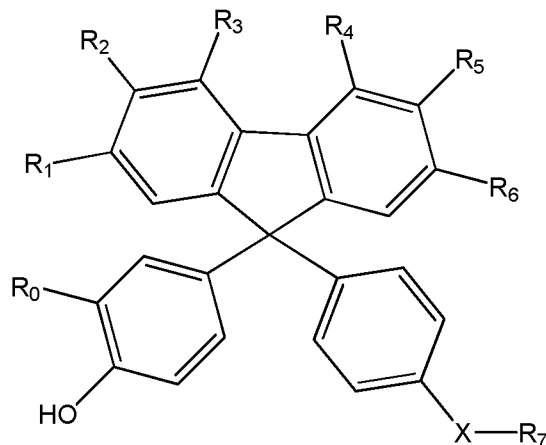
实施例 5：BHPF 的 CD1 小鼠暴露实验

实验一、实验动物：20 日龄雌性 CD1 健康小鼠，体重 10 g 左右，随机分组 10 只/组，共分 4 组：3 个药物处理组和 1 个对照组，药物为 BHPF 化合物；每次给药剂量分别为：0 mg / kg 体重（对照组）、125 mg / kg 体重、250 mg / kg 体重、500mg / kg 体重。方法：自由饮水，灌胃给药，每天一次连续三天。观察时间：连续 4 天，在最后一次给药的 24 小时后杀鼠称量子宫湿重。实验结果没有发现任何实验组中有小鼠死亡，各 BHPF 处理组的子宫重量与对照组的都没有显著差异 ($P>0.05$)。

实验二、实验动物：20 日龄雌性 CD1 健康小鼠，体重 10 g 左右，随机分组 10 只/组，共分 4 组：1 个雌激素组 (400 μg E_2 / kg 体重)，3 个联合用药组 (125 mg BHPF + 400 μg E_2 / kg 体重、250 mg BHPF + 400 μg E_2 / kg 体重、500mg BHPF + 400 μg E_2 / kg 体重)。方法：自由饮水，灌胃给药，每天一次连续三天。观察时间：连续 4 天，在最后一次给药的 24 小时后杀鼠称量子宫湿重。实验结果没有发现任何实验组中有小鼠死亡，各 BHPF 与 E_2 联合用药组的子宫重量显著低于雌激素组的子宫重量 ($P<0.01$)。

权 利 要 求 书

1. 式 I 所示化合物或其药用盐在制备预防和治疗癌症的药物中的应用：



式 I

- 式 I 中， R_0 表示氢，甲基或氨基； R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 和 R_6 各自独立地表示氢、卤素、羟基、氰基、 C_{1-3} 烷酰基、未取代的或被羟基或氰基取代的 C_{1-3} 烷基； R_7 表示氢，氰基，氨基， C_{1-9} 烷酰基，未取代的或被氰基、羟基、氨基、 C_{3-9} 脂环烃基、 C_{3-9} 杂环基、 C_{6-10} 芳基、 C_{1-9} 烷酰基、 C_{1-9} 羰基、 C_{1-9} 胺基或 C_{2-7} 环氧烷基取代的 C_{1-9} 脂肪烃基；X 表示 -O-、-CH₂-或-NH-。
2. 如权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述 C_{1-9} 烷胺基指-NR'R"，其中 R'和 R"各自独立地表示氢或 C_{1-9} 烷基，且不同时为氢。
3. 如权利要求 1 所述的应用，其特征在于， R_7 选自下述基团之一：氢、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、异戊烯基、醛基、乙酰基、氰基、甲氰基、乙氰基、丙氰基、羟甲基、2-羟乙基、2-(二甲胺基)乙基、环氧乙基-2-甲基、吡咯基乙基、哌啶基乙基、2-羰基丙基、2-丙炔基和苯乙基。
4. 如权利要求 1 所述的应用，其特征在于， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 和 R_6 各自独立选自下述基团之一：氢、卤素、甲基、乙基、丙基、异丙基、羟基、羟甲基、2-羟乙基、醛基、乙酰基、氰基、甲氰基、乙氰基或丙氰基。
5. 如权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述化合物为下述化合物 1) ~16) 之一：
- 1) $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = R_7 = H$ ，X=-O-；
 - 2) $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$ ，X=-O-， R_7 为 2-(二甲胺基)乙基；
 - 3) $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$ ，X=-O-， R_7 为环氧乙基-2-甲基；

- 4) $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, $X = -O-$, R_7 为 2-羟乙基;
 - 5) $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = R_7 = H$, $X = -NH-$;
 - 6) $R_0 = -NH_2$, $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, $X = -O-$, R_7 为丙基;
 - 7) $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, $X = -O-$, R_7 为乙基;
 - 8) $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, $X = -O-$, R_7 为哌啶基乙基;
 - 9) $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, $X = -O-$, R_7 为 2-羰基丙基;
 - 10) $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, $X = -O-$, R_7 为 2-丙炔基;
 - 11) $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, $X = -O-$, R_7 为苯乙基;
 - 12) $R_0 = R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, $X = -O-$, R_7 为乙腈基;
 - 13) $R_0 = R_1 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = H$, $R_2 = -CH_2OH$, $X = -O-$, R_7 为 2-羟乙基;
 - 14) $R_0 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = R_7 = H$, $R_1 = -OH$, $X = -O-$;
 - 15) $R_0 = -CH_3$, $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = R_7 = H$, $X = -O-$;
 - 16) $R_0 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = H$, $R_1 = R_6 = I$, $X = -O-$, R_7 为甲基。
6. 如权利要求 1 所述的应用, 其特征在于, 所述化合物的药用盐是指药学上可接受的该化合物与无机酸或有机酸形成的盐。
 7. 如权利要求 6 所述的应用, 其特征在于, 所述无机酸是盐酸、硫酸、磷酸或硝酸, 所述有机酸是柠檬酸、琥珀酸、枸橼酸、醋酸、酒石酸或甲磺酸。
 8. 如权利要求 1 所述的应用, 其特征在于, 所述癌症是雌激素受体阳性癌症。
 9. 如权利要求 8 所述的应用, 其特征在于, 所述癌症是乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、宫颈癌、前列腺癌、结肠癌或肺癌。

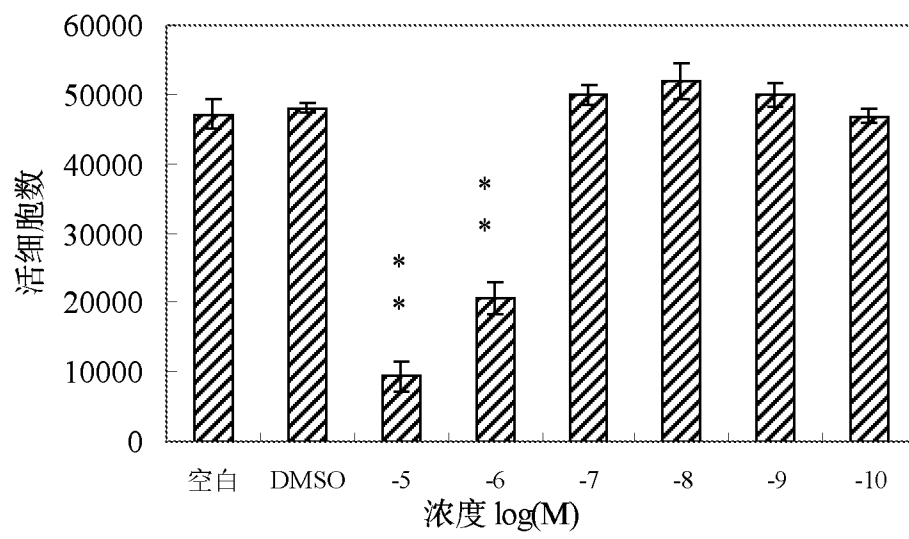


图 1

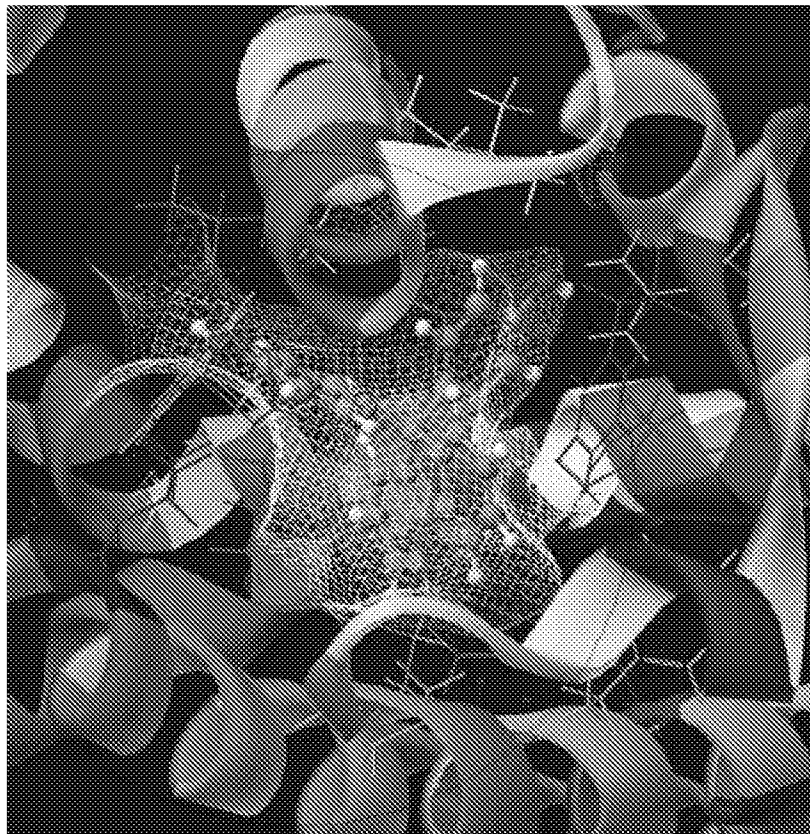


图 2

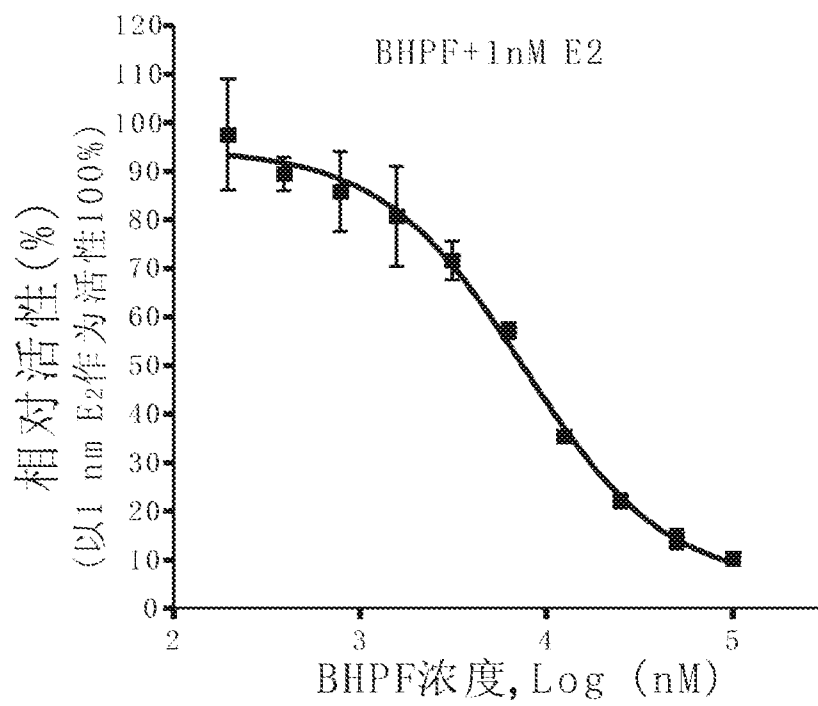


图 3

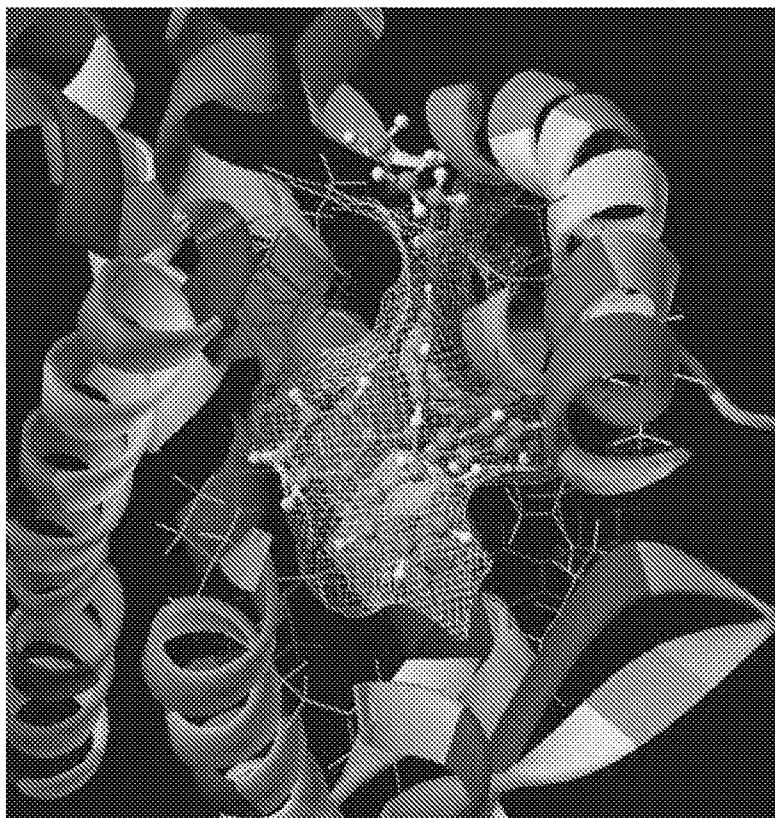


图 4

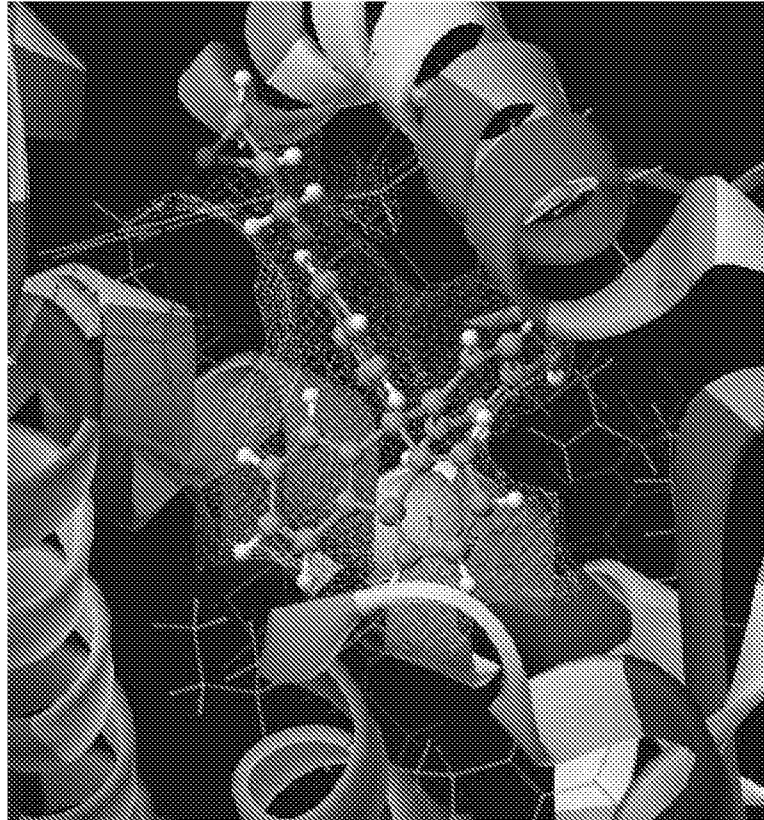


图 5

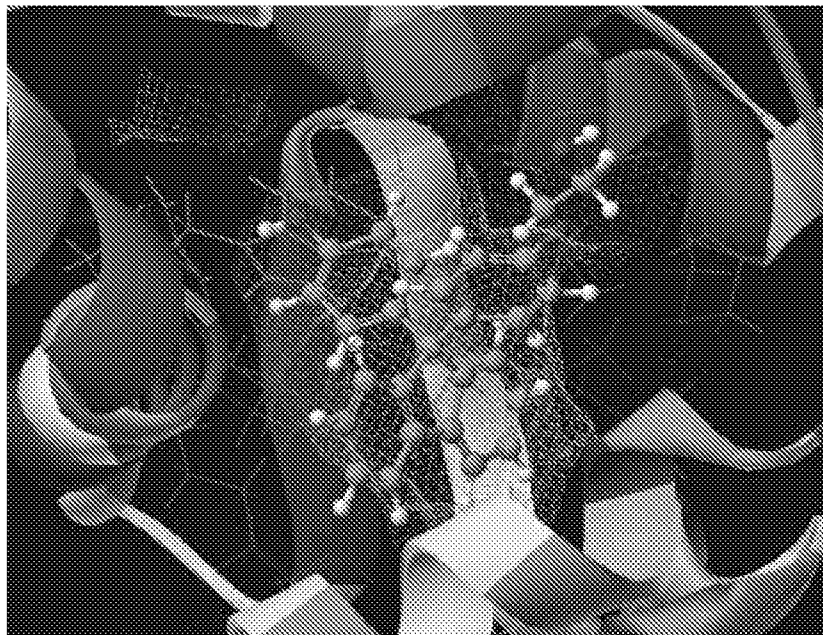


图 6

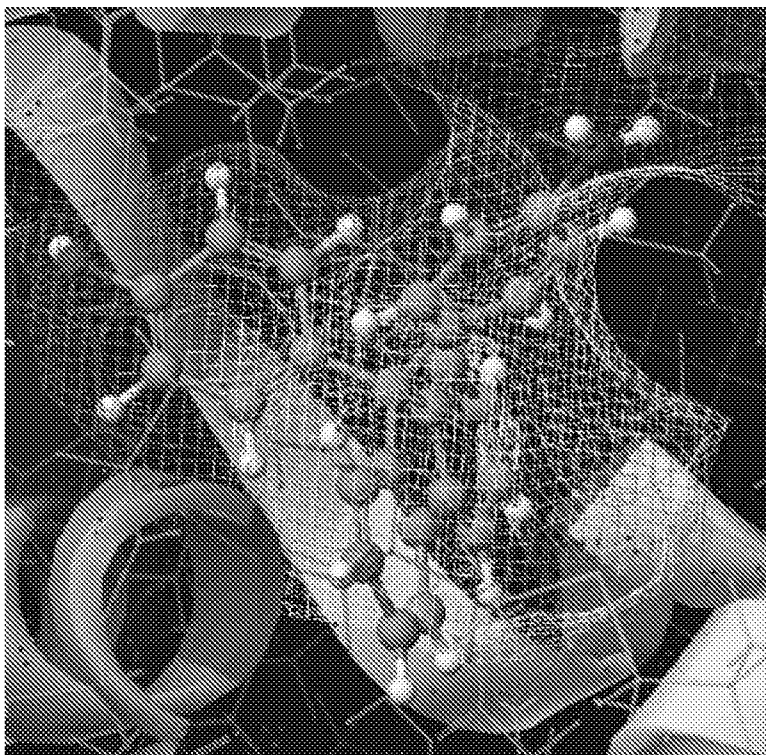


图 7

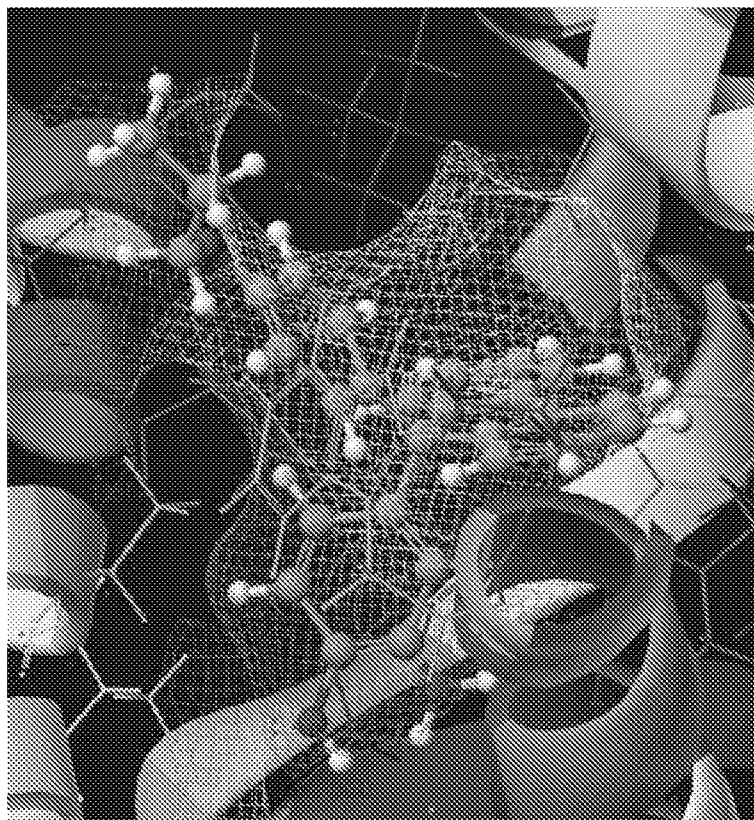


图 8

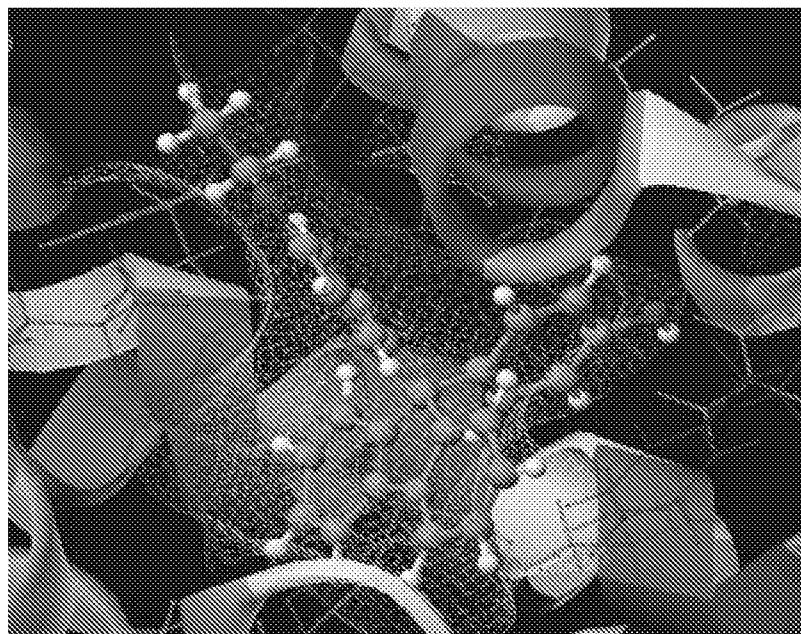


图 9

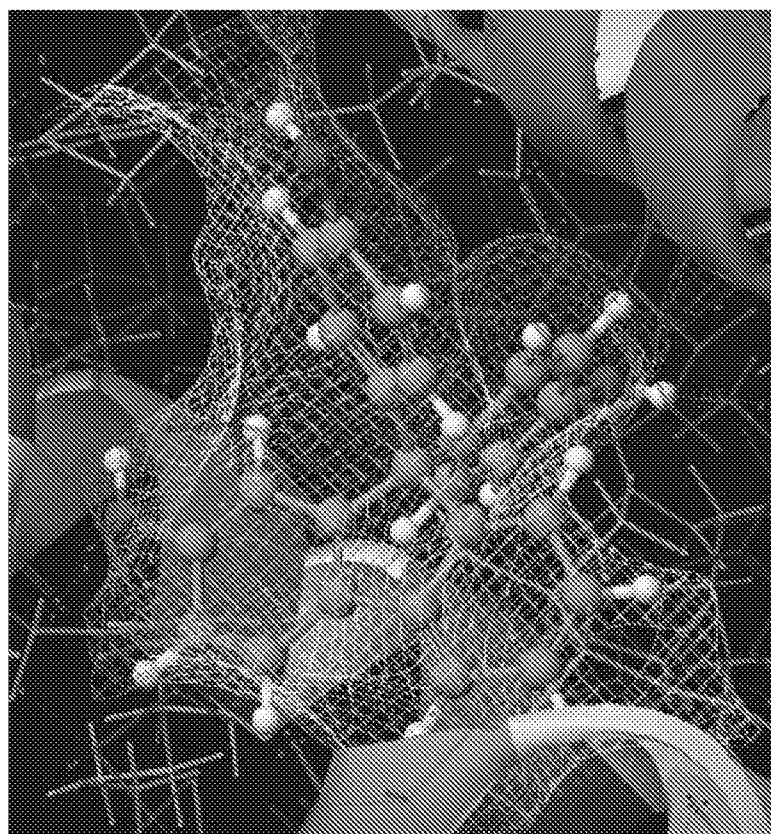


图 10

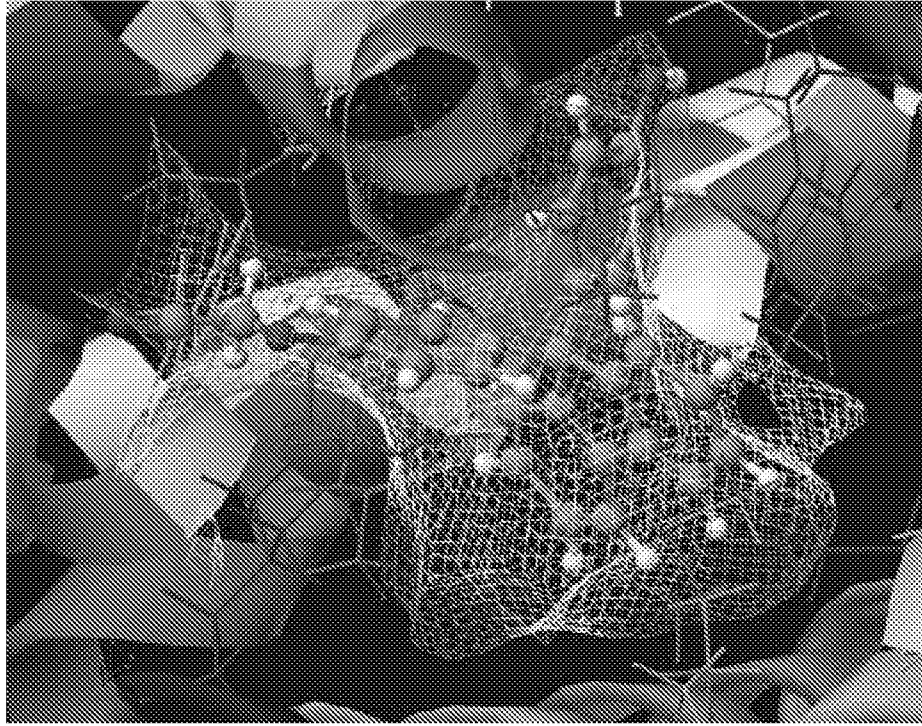


图 11

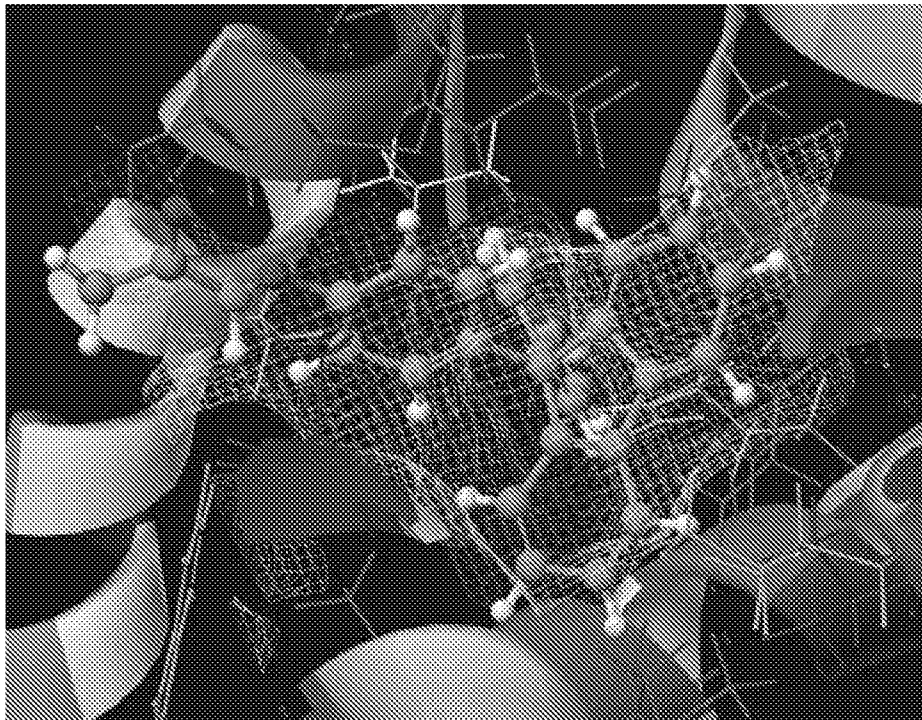


图 12

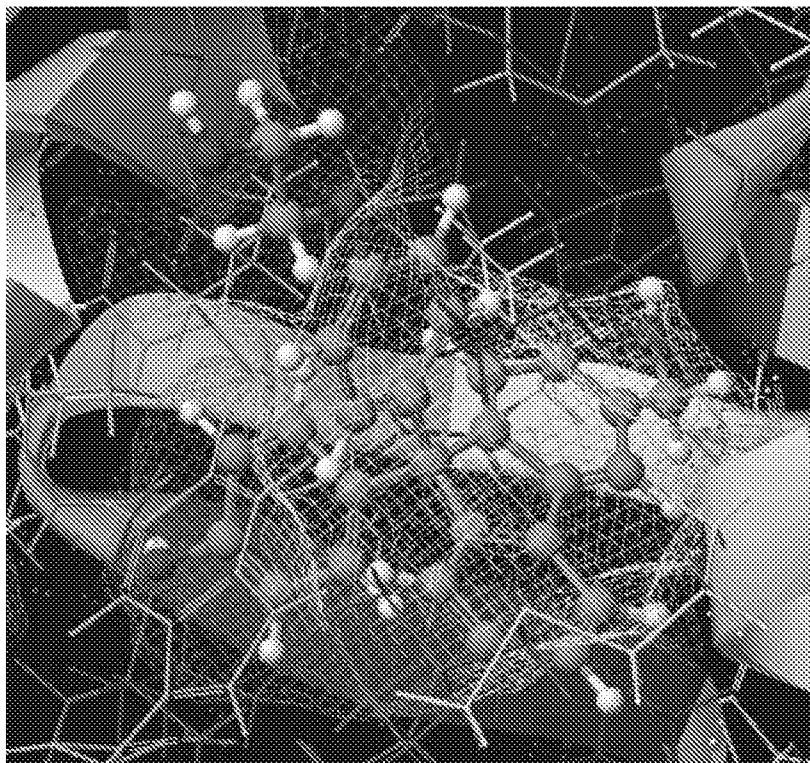


图 13

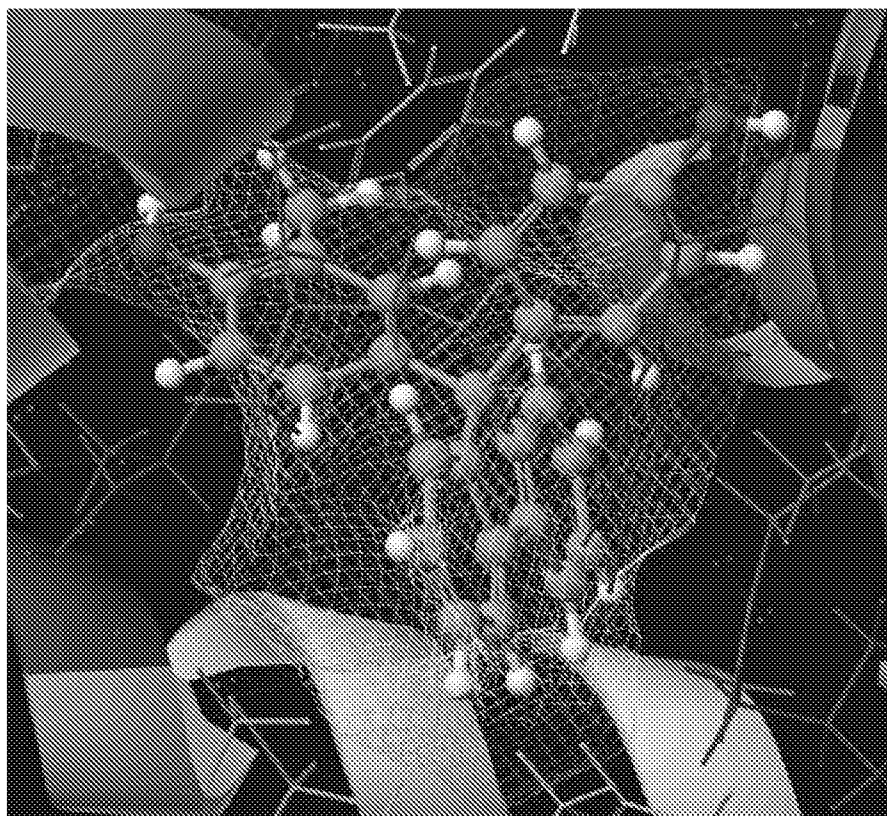


图 14

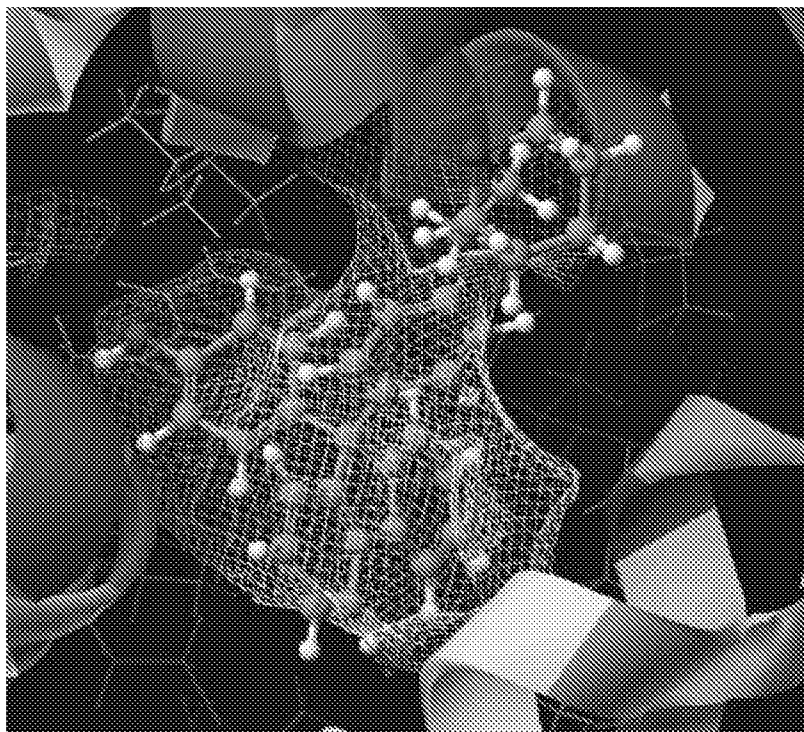


图 15

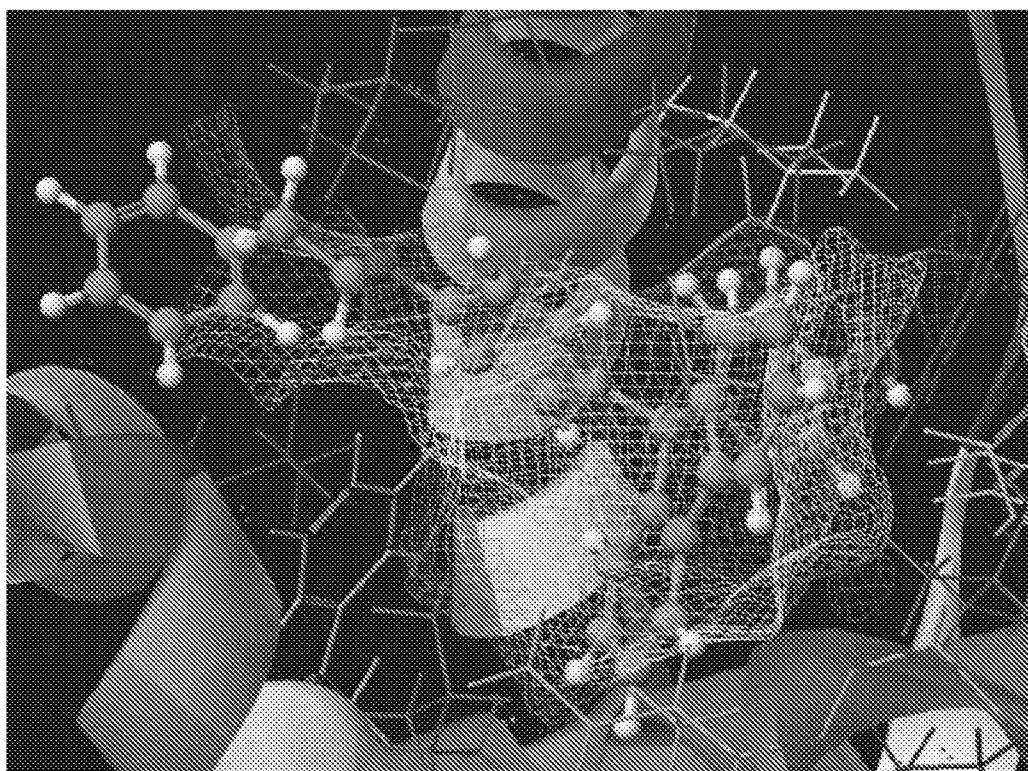


图 16

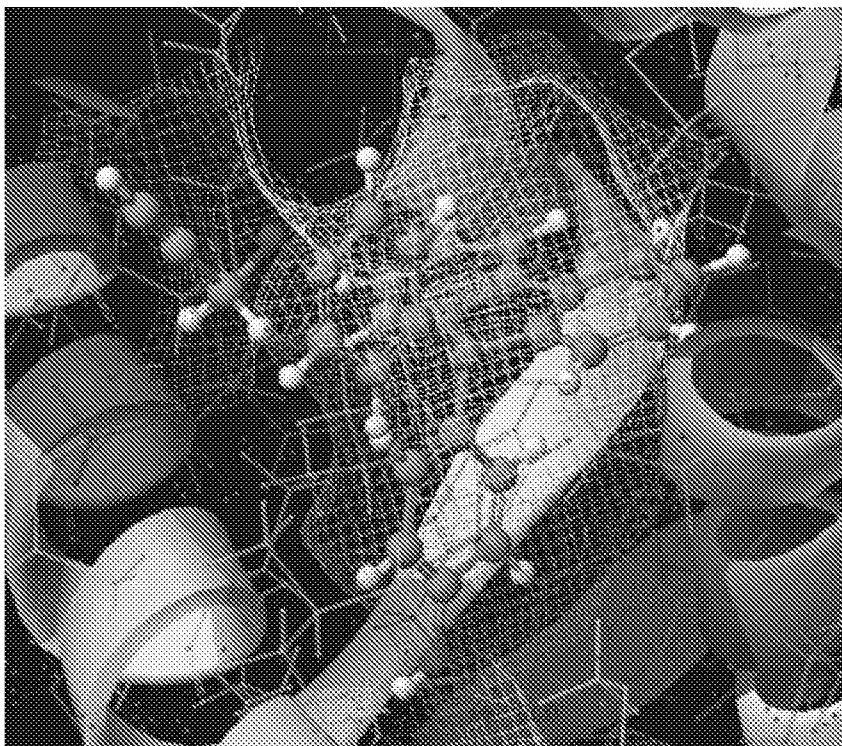


图 17

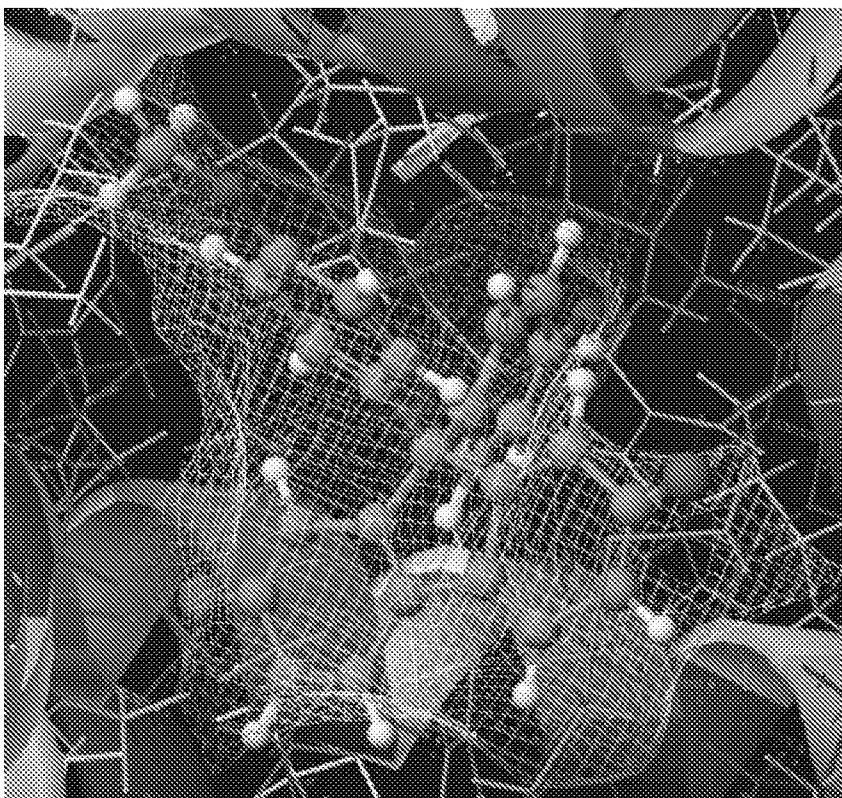


图 18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/073907

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See the extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNPAT; CNKI; WPI; EPODOC; CA; EMBASE; Chinese Pharmaceutical Abstracts: fluorene-9-bisphenol, bisphenol, diphenol, phenol, fluorine, fluorene, fluoren, 3236-71-3, tumor, cancer, oncoma, neoplas+, antitumor, anticancer, antineoplas+, estrogen, breast cancer, ovarian cancer, ovarian cancer, endometrial carcinoma, cervical cancer, prostate cancer, colon cancer, lung cancer

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02056880 A1 (CYTOKINETICS, INC. et al.), 25 July 2002 (25.07.2002), claims 1 and 10, and description, paragraph [0041]	14, 6-9
A	US 5447960 A (DOWELANCO, INDIANAPOLIS, IND.), 05 September 1995 (05.09.1995), claim 1, and description, column 9-12, table	1-9
A	KYM, P.R. et al., Bisphenolic compounds that enhance cell cation transport are found in commercial phenol red. J. MED. CHEM., 1996, 39:4897-4904, ISSN: 0022-2623 page 4897, left hand column, paragraph 2, abstract, and page 4900, flowchart 1	1-9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 05 July 2012 (05.07.2012)	Date of mailing of the international search report 26 July 2012 (26.07.2012)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer LIU, Peng Telephone No.: (86-10) 62411191

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/073907

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KOBAYASHI, S. et al., Stereo structure-controlled and electronic structure-controlled estrogen-like chemicals to design and develop non-estrogenic bisphenol A analogs based on chemical hardness concept. CHEM. PHARM. BULL., 2006, 54 (12): 1633-1638, ISSN: 0009-2363, page 1634, figure 1, page 1634, right hand column, paragraph 3 to page 1635, left hand column, paragraph 2	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2012/073907

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 02056880 A1	25.07.2002	EP 1351671 A1	15.10.2003
		AU 2002236806 A1	30.07.2002
		US 2004132830 A1	08.07.2004
US 5447960 A	05.09.1995	None	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/073907

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:

A61K 31/05 (2006.01) i

A61K 31/131 (2006.01) i

A61K 31/336 (2006.01) i

A61K 31/085 (2006.01) i

A61K 31/136 (2006.01) i

A61K 31/4453 (2006.01) i

A61K 31/121 (2006.01) i

A61K 31/275 (2006.01) i

A61P 35/00 (2006.01) i

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2012/073907

A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: A61K, A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNPAT; CNKI; WPI; EPODOC; CA; EMBASE; 中国药学文摘数据库: 双酚芴, 双酚, 酚, 芴, diphenol, phenol, fluorine, fluorene, fluoren, 3236-71-3, 癌, 肿瘤, tumor, cancer, oncoma, neoplas+, antitumor, anticancer, antineoplas+, 雌激素, 乳腺癌, 卵巢癌, 子宫内膜癌, 宫颈癌, 前列腺癌, 结肠癌, 肺癌, estrogen, breast cancer, ovarian cancer, ovarian cancer, endometrial carcinoma, cervical cancer, prostate cancer, colon cancer, lung cancer

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	WO02056880 A1 (CYTOKINETICS, INC. et al.) 25.7 月 2002 (25.07.2002) 权利要求 1、10, 说明书第[0041]段	1-4、6-9
A	US5447960 A (DowElanco, Indianapolis, Ind) 5.9 月 1995 (05.09.1995) 权利要求 1, 说明书第 9-12 栏表格	1-9
A	Philip R. Kym et al., Bisphenolic compounds that enhance cell cation transport are found in commercial phenol red. J. Med. Chem., 1996, 39: 4897-4904, ISSN: 0022-2623 第 4897 页左栏第 2 段, 摘要, 第 4900 页路线图 1	1-9

☒ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

5.7 月 2012 (05.07.2012)

国际检索报告邮寄日期

26.7 月 2012 (26.07.2012)

ISA/CN 的名称和邮寄地址:

中华人民共和国国家知识产权局

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088

传真号: (86-10)62019451

受权官员

刘鹏

电话号码: (86-10) **62411191**

C(续). 相关文件

类 型	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	Shigeki Kobayashi et al., Stereo structure-controlled and electronic structure-controlled estrogen-like chemicals to design and develop non-estrogenic bisphenol A analogs based on chemical hardness concept. Chem. Pharm. Bull., 2006, 54 (12): 1633-1638, ISSN: 0009-2363 第 1634 页图 1, 第 1634 页右栏第 3 段-第 1635 页左栏第 2 段	1-9

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2012/073907

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
WO02056880A1	25.07.2002	EP1351671A1	15.10.2003
		AU2002236806A1	30.07.2002
		US2004132830A1	08.07.2004
US5447960 A	05.09.1995	无	

A. 主题的分类:

A61K 31/05 (2006.01) i

A61K 31/131 (2006.01) i

A61K 31/336 (2006.01) i

A61K 31/085 (2006.01) i

A61K 31/136 (2006.01) i

A61K 31/4453 (2006.01) i

A61K 31/121 (2006.01) i

A61K 31/275 (2006.01) i

A61P 35/00 (2006.01) i