

(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
2013年8月29日 (29.08.2013)



(10) 国际公布号
WO 2013/123745 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07H 19/06 (2006.01) A61P 1/16 (2006.01)
C07H 1/00 (2006.01) A61P 35/04 (2006.01)
A61K 31/7072 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2012/077030
- (22) 国际申请日: 2012年6月15日 (15.06.2012)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201210043990.8 2012年2月24日 (24.02.2012) CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 华中科技大学 (HUA ZHONG UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) [CN/CN]; 中国湖北省武汉市洪山珞瑜路 1037 号, Hubei 430074 (CN)。
- (72) 发明人: 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): 周琦冰 (ZHOU, Qibing) [CN/CN]; 中国湖北省武汉市洪山珞瑜路 1037 号, Hubei 430074 (CN)。
- (74) 代理人: 华中科技大学专利中心 (PATENT AGENCY CENTER OF HUST); 中国湖北省武汉市洪山珞瑜路 1037 号东一楼 340, Hubei 430074 (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, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (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, 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, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: AZIDOTHYIMIDINE QUINOLINE CONJUGATED COMPOUND, PREPARATION METHOD THEREFOR AND APPLICATION THEREOF IN ANTI-HEPATOMA THERAPY

(54) 发明名称: 齐多夫定啉啉共轭化合物及其制备方法和抗肝癌之应用

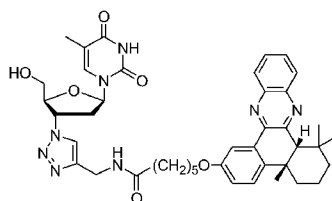


图 1 / Fig. 1

(57) Abstract: The present invention provides an azidothymidine quinoline conjugated compound N-((1-(2-(hydroxymethyl)-5-(5-methyl-2, 4-dioxo-3, 4-dihydro-pyrimidin-1(2H)-yl)-tetrahydrofuran-3-yl)-1H-1, 2, 3-triazol-4-yl) methyl)-6-(4b, 8, 8-trimethyl-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-hexahydrodibenzo [a, c] phenazin-2-yloxy) hexanamide. The compound can be used for preparing anti-hepatoma drugs.

(57) 摘要: 本发明提供了一种齐多夫定啉啉共轭化合物 N-((1-(2-(羟甲基)-5-(5-甲基-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)四氢呋喃-3-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)-6-(4b,8,8-三甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-六氢二苯并[a,c]吩嗪基-2-氧代)己酰胺。该化合物可用于制备抗肝癌药物。

WO 2013/123745 A1

齐多夫定喹啉共轭化合物及其制备方法和抗肝癌之应用

【技术领域】

本发明属于化学和医药领域，涉及新化合物及其制备方法和其医药之用途，具体涉及齐多夫定喹啉共轭化合物及其制备方法和抗肿瘤之应用。

【背景技术】

我国是肝癌大国，每年新发现的肝癌病例约有 35 万例，占全世界新增病例的 50%左右，每年因肝癌死亡的病例有 30 万例，其致死率在我国高居第二。肝癌高致死率的主要原因是大多数肝癌病人在确诊时，已处于癌症的中晚期，而现有的治疗手段包括手术切除、介入治疗、放射治疗均无法有效提高中晚期肝癌病人的生存率（5 年生存率约为 20%）。而在其它癌症治疗中较为有效的化疗药物，如氟尿嘧啶 (fluorouracil)、阿霉素 (doxorubicin)、顺铂 (cisplatin) 等，在肝癌中治疗效果不理想且毒副作用大。2008 年由德国拜耳公司研发生产的多吉美 (索拉非尼) 是迄今唯一被批准用于治疗晚期肝癌的口服药物，但也只能暂时延缓肝癌发展。

在临床上，我国中晚期肝癌病人 70%以上乙肝病毒呈阳性表达。近几年研究表明乙肝病毒 DNA 片段在乙肝肝癌病人的基因序列中有着不同位点和程度的插入，从而导致细胞中不同分子通路的调控发生改变，向癌细胞发展。基于这些研究发现，融合的乙肝病毒癌细胞中异常分子通路作为选择性杀死肝癌细胞的靶标是研发肝癌化疗药物新方向。比如胞浆内胸苷激酶 (TK1) 的表达与细胞生长分裂周期紧密相关，在正常细胞中只在 S 期有表达并在进入 G2 期时迅速降解，因此细胞内胸苷激酶的含量低而无法检测。但是在癌症病人中，胸苷激酶的高表达被发现有着一定的普遍性，并与癌细胞的快速生长紧密相关，所以近年来被认为是治疗肿瘤的重要靶标之一。现有的针对病毒的化疗药物如齐多夫定 (AZT) 和阿昔洛韦 (Acyclovir) 是利用被感染的细胞中胸苷激酶的高表达转换成其对应的 5'-位磷酸盐然后对病毒聚合酶抑制而阻止病毒核酸的合成。但是阿昔洛韦、齐多夫定在临床上对癌症治疗并无效果，其主要原因是它们只是选择性地抑制了病毒的聚合酶。目前，齐

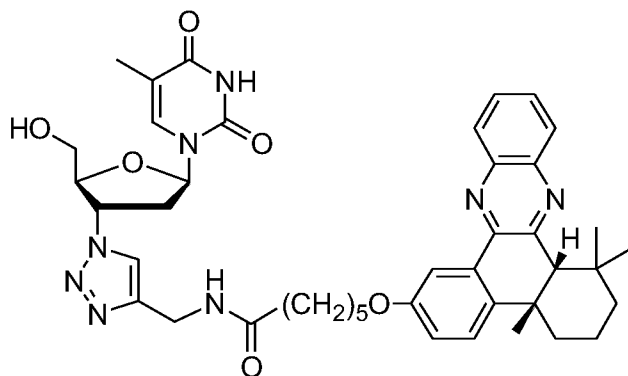
多夫定衍生物作为胸苷激酶的强抑制剂国外已有报道，但是它们在癌细胞的生物效应还没有相关发现。因此，如何设计化学分子针对胸苷激酶的高表达而选择性杀死融合的乙肝病毒癌细胞是一个关键科学问题。

【发明内容】

本发明的任务是提供一种新的化合物，使其具有抗肝癌作用，并提供该化合物的制备方法。

实现本发明的技术方案是：

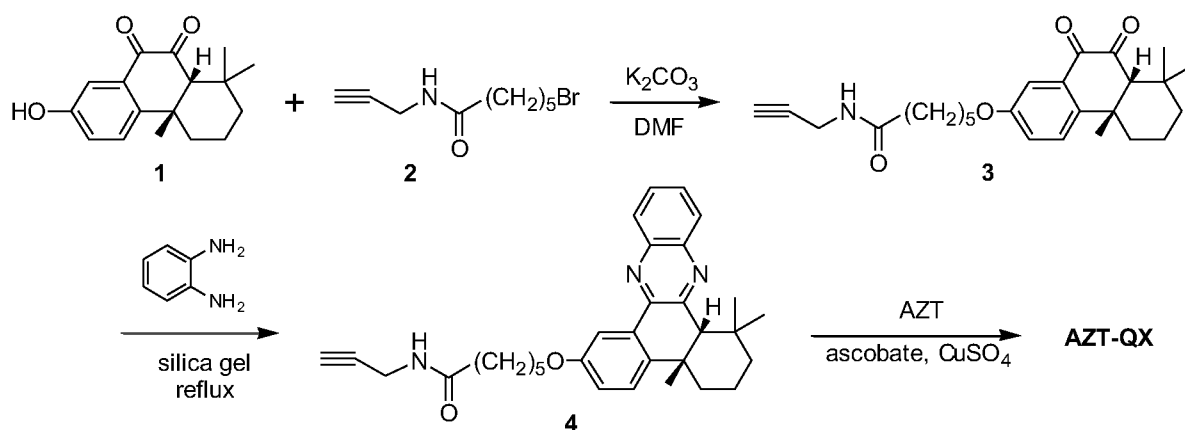
本发明提供的化合物具有以下式 (I) 所示的化学结构：



(I) 。

该化合物的名称是 N—((1-(2-(羟甲基)-5-(5-甲基-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)四氢呋喃-3-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)-6-(4b,8,8-三甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-六氢二苯并[a,c]吩嗪基-2-氧代)己酰胺。在本专利申请中，该化合物简称为 AZT-QX，或称为式 (I) 化合物，其英文名称：*(N-((1-(2-(Hydroxymethyl)-5-(5-methyl-2,4-dioxo-3,4-dihydro-pyrimidin-1(2H)-yl)-tetrahydrofuran-3-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-6-(4b,8,8-trimethyl-4b,5,6,7,8,8a-hexahydrodibenzo[a,c]phenazin-2-yloxy)hexanamide)*。

化合物 AZT-QX 的合成是通过点击化学完成的，其合成路线见以下合成路线图：



以上合成路线图中，化合物 1 是：4b,5,6,7,8,8a-顺式-六氢-2-羟基-4b,8,8a-三甲基菲-9,10-二酮；化合物 2 是：溴炔烃化合物 6-溴-N-(2-丙炔基)己酰胺；化合物 3 是：(N-(2-丙炔基)-6-(4b,8,8-三甲基-9,10-二氧基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲基-2-氧代)己酰胺)；化合物 4 是：(N-(2-丙炔基)-6-(4b,8,8-三甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代)己酰胺)；产物 AZT-QX 是：N-((1-(2-(羟甲基)-5-(5-甲基-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)四氢呋喃-3-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)-6-(4b,8,8-三甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代)己酰胺。

首先，4b,5,6,7,8,8a-顺式-六氢-2-羟基-4b,8,8a-三甲基菲-9,10-二酮与溴炔烃化合物 6-溴-N-(2-丙炔基)己酰胺在二甲基甲酰胺溶液中和碱性条件下，通过取代反应得到化合物 3 (见以上合成路线图中化合物 3)；所得到化合物 3 然后再与邻苯胺类化合物在回流的条件下脱水芳香化，进行聚合反应得到化合物 4 (见以上合成路线图中化合物 4)；所生成的化合物 4 与齐多夫定在有机溶剂中经一价铜离子催化进行点击反应得到化合物 AZT-QX (见以上合成路线图)。

化合物 AZT-QX，即式 (I) 化合物的制备方法，包括以下步骤：

步骤一：将 4b,5,6,7,8,8a-顺式-六氢-2-羟基-4b,8,8a-三甲基菲-9,10-二酮与

溴炔烃在二甲基甲酰胺溶液中和碱性条件下，通过取代反应得到化合物 N—(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-9, 10-二氧基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-八氢菲基-2-氧代)己酰胺；

步骤二：将化合物 N—(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-9, 10-二氧基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-八氢菲基-2-氧代)己酰胺与邻苯胺类化合物在回流的条件下脱水芳香化，进行聚合反应得到化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代)己酰胺；

步骤三：将化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代)己酰胺与齐多夫定在有机溶剂中经一价铜离子催化进行点击反应得到化合物 AZT-QX。

在上述制备方法中：

步骤一所述的将 4b, 5, 6, 7, 8, 8a-顺式-六氢-2-羟基-4b, 8, 8a-三甲基菲-9, 10-二酮与溴炔烃化合物 6-溴-N-(2-丙炔基)己酰胺在二甲基甲酰胺溶液中和碱性条件下，通过取代反应得到化合物 N—(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-9, 10-二氧基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-八氢菲基-2-氧代)己酰胺的具体方法是：将丙炔胺、三乙胺和 1-乙基-3(3-二甲基丙胺)碳二亚胺加入到 6-溴己酸的二氯甲烷溶液中进行酰胺化反应，反应在室温和通氮气的条件下进行 16 小时，然后用二氯甲烷萃取反应溶液，经浓缩和二氧化硅硅胶纯化，得到溴炔烃化合物 6-溴-N-(2-丙炔基)己酰胺；再将得到的溴炔烃化合物 6-溴-N-(2-丙炔基)己酰胺溶于二甲基甲酰胺中，在所形成的溶液中加入 4b, 5, 6, 7, 8, 8a-顺式-六氢-2-羟基-4b, 8, 8a-三甲基菲-9, 10-二酮【具体合成方法参见：Zhou, et al. Chem. Res. Toxicol. 2008, 21, 732-738】和碳酸钾进行取代反应，反应在室温和通氮气的条件下进行 16 小时，然后用二氯甲烷萃取反应溶液，经浓缩

和二氧化硅硅胶纯化,得到化合物 N—(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-9, 10-二氧基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-八氢菲基-2-氧代) 己酰胺。

步骤二所述的将化合物 N—(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-9, 10-二氧基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-八氢菲基-2-氧代) 己酰胺与邻苯胺类化合物在回流的条件下脱水芳香化,进行聚合反应得到化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代) 己酰胺的具体方法是:将步骤一中得到的化合物 N—(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-9, 10-二氧基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-八氢菲基-2-氧代) 己酰胺溶于甲苯中,在所形成的溶液中加入邻苯胺和二氧化硅,进行反应,反应在通氮气的条件下回流 18 小时,然后反应溶液经浓缩后,用二氧化硅硅胶纯化,得到化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代) 己酰胺。

步骤三所述的将化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代) 己酰胺与齐多夫定在有机溶剂中经一价铜离子催化进行点击反应得到化合物 AZT-QX 的具体方法是:将步骤二得到的化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代) 己酰胺溶于 5ml 二甲基酰胺和二氯甲烷溶液中,在所形成的溶液中加入加入齐多夫定和维生素 C 溶液,反应溶液通氮气 5 分钟除氧后,再加入硫酸铜进行点击反应,反应在室温和通氮气的条件下进行 16 小时后,然后用二氯甲烷萃取反应溶液,经浓缩和二氧化硅硅胶纯化,得到化合物 AZT-QX。

本发明提供的化合物 AZT-QX 结构表征:¹H NMR(氢谱) (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ =11.35 (s, 1H; OH), 8.34 (t, ³J(H,H)=5.5 Hz, 1H; CH), 8.14-8.11 (m, 2H;

2CH), 8.06-8.04 (m, 1H; CH), 7.96 (d, $^4J(\text{H,H})=2.8$ Hz, 1H; CH), 7.79 (m, 3H; 2CH, NH), 7.39 (d, $^3J(\text{H,H})=8.7$ Hz, 1H; CH), 7.11 (dd, $^3J(\text{H,H})=8.5$ Hz, $^4J(\text{H,H})=2.8$ Hz, 1H; CH), 6.40 (t, $^3J(\text{H,H})=6.6$ Hz, 1H; CH), 5.36-5.33 (m, 1H; CH), 5.28 (t, $^3J(\text{H,H})=5.2$ Hz, 1H; NH), 4.31 (d, $^3J(\text{H,H})=5.5$ Hz, 2H; CH₂), 4.18 (m, 1H; CH), 4.06 (t, $^3J(\text{H,H})=6.4$ Hz, 2H; CH₂), 3.67-3.60 (m, 2H; CH₂), 2.85 (s, 1H; CH), 2.67-2.57 (m, 2H; CH₂), 2.16 (t, $^3J(\text{H,H})=7.4$ Hz, 2H; CH₂), 1.79-1.62 (m, 5H; CH₃, CH₂), 1.56-1.43 (m, 10H; 5CH₂), 0.93 (s, 3H; CH₃), 0.91 (s, 3H; CH₃), 0.07 ppm (s, 3H; CH₃); ¹³C NMR (碳谱) (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): $\delta=172.0, 163.6, 157.4, 154.2, 150.4, 147.5, 145.2, 141.1, 140.9, 137.1, 136.1, 134.1, 129.5, 129.4, 128.9, 128.4, 125.3, 122.4, 117.7, 110.8, 109.5, 84.4, 83.8, 67.4, 60.6, 59.0, 58.5, 41.2, 37.0, 36.8, 35.5, 35.1, 34.9, 34.4, 34.0, 31.3, 28.5, 25.2, 24.9, 21.6, 18.5, 12.2$ ppm; (高分辨质谱) 计算值 C₄₂H₅₁N₈O₆ [M+H]⁺ 763.3932, 实测值 763.3959。

本发明提供的化合物 AZT-QX 能选择性杀死肝癌细胞尤其是带有乙肝病毒的肝癌细胞, 其机理是与胸苷激酶的高表达和核内 DNA 合成抑制相关的。化合物 AZT-QX 对肝癌细胞的选择性是通过分子结构中的齐多夫定实现的, 而结构中的喹啉是杀死癌细胞的化学官能团。同时, 本发明的工作表明化合物 AZT-QX 在小鼠中能有效地抑制皮下肝癌肿瘤模型的生长, 对正常肝细胞无明显毒性, 证明该化合物具有抗肝癌作用, 可用于制备抗肝癌药物。以本发明提供的化合物 AZT-QX 为活性成分和药学上可接受的载体、赋形剂或/和添加剂可制成用于治疗肝癌药物制剂。

【实验资料】

主要化学药品和试剂: 美国 sigma-Aldrich 公司, 百灵威科学公司, 阿拉丁试剂公司, 国药试剂公司等。主要仪器设备: Bruker Avance-400 兆核磁共振仪和 Thermo Fisher TSQ Quantum Max Triple Stage Quadrupole 质谱仪等。

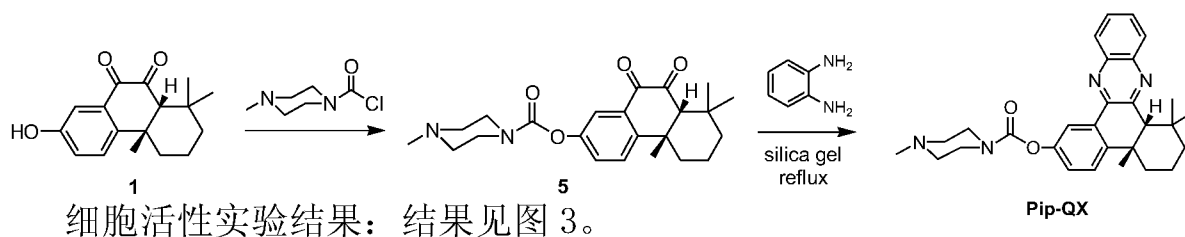
体外细胞活性实验:

细胞培养: 人肝癌细胞株 HepG2 和 Hep3B 从 ATCC (美国弗吉尼亚州)

购买,人肝 HL-7702 和小鼠肝癌 H22 细胞株从中国科学院上海生命科学细胞培养中心(中国上海)研究所购买。所有细胞培养在 37°C, 5%CO₂ 和高糖 DMEM 或 RPMI-1640 培养基中(Invitrogen 公司, 美国加利福尼亚州), 辅以 10%热灭活小牛血清(FBS), 25 毫摩尔/升 HEPE 缓冲溶液, 2 毫摩尔/升 L-谷氨酰胺, 0.1 毫摩尔/升非必需氨基酸, 1.0 毫摩尔/升丙酮酸钠, 50 U/mL 青霉素, 50 微克/毫升链霉素。

细胞活性实验步骤: 将肝细胞培养在 96 孔细胞培养板中, 分别加入 AZT-QX, 齐多夫定, 喹啉哌嗪衍生物, 阿霉素, 其浓度为 1 纳摩尔/升至 200 毫摩尔/升。培养 72 小时后, 用 MTT 法测定细胞的活性【方法参见: Zhou, et al. Chem. Res. Toxicol. 2008, 21, 732-738】。

化合物 AZT-QX 的合成是通过点击化学完成的(见前述合成路线图)。对照化合物喹啉哌嗪衍生物(结构见图 2)(以下简称为 pip-QX)的合成是按以下合成路线进行制备的:



小鼠肝肿瘤模型实验:

肿瘤造模: 在 9 只 BALB/c 小鼠皮下注射小鼠 H22 肝癌细胞建立【方法参见: Li, et al. Cancer Research 2011, 301, 212-220】。

动物分组及其给药: 当肿瘤长到平均 8.8×8.8 毫米大小时分成 3 组, A 组为空白对照; B 组为化合物 AZT-QX; C 组为齐多夫定。在实验的第 1 天和第 7 天分别在 3 组的肿瘤部位皮下注射 100 微升生理盐水, 100 微升 50 微摩尔/升的齐多夫定, 100 微升 50 微摩尔/升的 AZT-QX (AZT-QX 是按实施例 2 制备的制剂)。

动物实验数据结果见表 1:

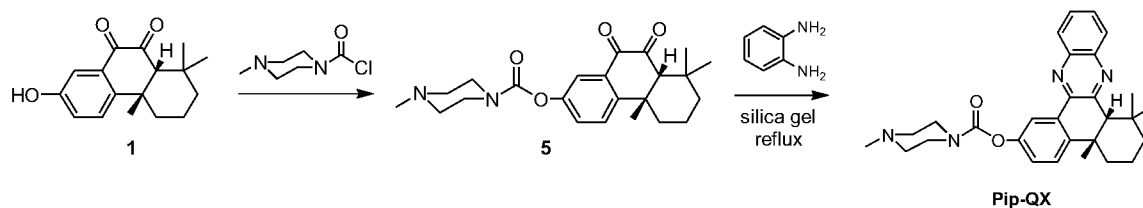
其中 A 组为空白对照；B 组为化合物 AZT-QX；C 组为齐多夫定。

表 1:

		A组			B组			B组		
		L-00-R-0	R-00	--	L-0	R-000	L0-R-00	L-00	1-00'	10-R-00
第一天	体重	28.1	28.2	32	30.7	35.4	26.9	29.9	31.9	26.9
	肿瘤大小 肿瘤体积	9x9 364.5	8x8 256	9x10 405	8x8 256	9x8 288	10x10 500	9x9 364.5	9x10 405	7x9 220.5
第二天	体重	28.3	30.6	33.6	31.7	36.3	27.7	31.5	32	26.8
	肿瘤大小 肿瘤体积	8x10 320	8x9 288	9x10 405	9x9 364.5	9x8 288	8x9 288	10x11 550	9x10 405	7x10 245
第三天	体重	28.7	31.7	33.4	32	36	27.6	31.5	31.8	26.8
	肿瘤大小 肿瘤体积	13x12 936	9x9 364.5	10x12 600	10x10 500	9x10 405	8x9 288	11x11 665.5	10x12 600	8x10 320
第四天	体重	29	32.2	33.7	32.5	37.1	28	31.4	33	27.2
	肿瘤大小 肿瘤体积	12x12 864	9x11 445.5	11x16 968	10x10 500	9x9 364.5	9x10 405	11x12 726	11x13 786.5	10x13 650
第五天	体重	29.4	31.6	34.2	32.4	36.9	28.2	31.3	32.7	27
	肿瘤大小 肿瘤体积	13x12 936	7x13 318.5	11x16 968	11x11 665.5	9x9 364.5	9x11 445.5	12x13 936	11x13 786.5	9x12 486
第六天	体重	29.3	30.8	34.1	32.2	37	28.1	31.3	33.8	27.4
	肿瘤大小 肿瘤体积	12x13 936	8x13 416	12x19 1368	12x13 936	9x10 405	10x11 550	13x14 1183	14x15 1470	11x17 1028.5
第七天	体重	29.5	31.3	33.4	32	36.3	27.9	31.5	33.5	26.9
	肿瘤大小 肿瘤体积	13x17 1436.5	8x15 480	12x19 1368	11x15 907.5	10x10 500	10x11 550	15x15 1687.5	14x16 1568	11x19 1149.5
第八天	体重	28.8	33	33.4	33.2	36.6	28.7	32.7	34.1	26.6
	肿瘤大小 肿瘤体积	14x17 1666	10x18 900	13x22 1859	12x15 1080	10x10 500	10x12 600	18x21 3402	16x20 2560	12x19 1368
第九天	体重	30.2	33.3	33.8	33.5	36.6	28.8	33.3	34.2	27
	肿瘤大小 肿瘤体积	14x20 1960	11x19 1149.5	14x22 2156	12x15 1080	11x11 665.5	11x11 666	19x20 3610	18x20 3240	12x19 1368
第十天	体重	29.5	33.6	34.1	34.1	36.7	28.7	34.5	34.4	27
	肿瘤大小 肿瘤体积	20x21 4200	18x18 3078	17x23 3323.5	12x15 1080	11x13 786.5	11x12 726	19x21 3790.5	21x22 4851	12x19 1368
第十一天	体重	30.5	34.3	35.2	34.5	36.8	29	36.6	35.1	27.7
	肿瘤大小 肿瘤体积	20x22 4400	20x20 4000	18x25 4050	13x15 1267.5	11x14 847	11x12 726	20x22 4400	21x23 5071.5	12x20 1440
第十二天	体重	31.1	35.2	35.2	35.8	37.9	29.5	37.4	35.9	28.8
	肿瘤大小 肿瘤体积	22x25 6050	21x23 4189.5	18x26 4212	13x15 1267.5	12x14 1008	11x12 726	21x22 5292	21x24 4851	14x20 1960

本发明提供的化合物 AZT-QX 能选择性杀死肝癌细胞尤其是带有乙肝病毒的肝癌细胞，其机理是与胸苷激酶的高表达和核内 DNA 合成抑制相关的。化合物 AZT-QX 对肝癌细胞的选择性是通过分子结构中的齐多夫定实现的，而结构中的喹啉是杀死癌细胞的化学官能团。同时，本发明研究表明化合物 AZT-QX 在小鼠中能有效地抑制皮下肝癌肿瘤模型的生长，而且注射剂量低（0.13 毫克/千克每次，共两次）。

化合物 AZT-QX 的合成是通过点击化学完成的（见前述合成路线图）。对照化合物喹啉派啉衍生物（结构见图 2）（以下简称为 pip-QX）的合成是按以下合成路线进行制备的：



化合物 AZT-QX 的选择性生物活性是通过细胞活力检测 MTT 法对人的乙型肝炎阳性肝癌细胞 Hep3B, 肝母细胞癌细胞株 HepG2 和人正常肝细胞 HL-7702 上测定的 (见图 3)。化合物 AZT-QX 在 20 微摩尔每升浓度时能有效地杀死 80% 的 Hep3B 细胞 (见图 3)。相比之下, AZT-QX 在浓度达到 200 微摩尔每升对人正常肝细胞 HL-7702 无明显毒性。对照化合物齐多夫定对所有筛选的细胞无明显毒性, 而另一对照化合物喹啉哌嗪衍生物却是无选择性地杀死所有肝细胞株 (见图 3)。在同等条件下, 齐多夫定和喹啉哌嗪衍生物的物理混合物也没有 AZT-QX 特有的选择性杀死乙肝阳性肝癌细胞 Hep3B 的特点。现有抗癌药物阿霉素与此相比, 对人正常肝细胞 HL-7702 的毒性大于对癌细胞的活性 (见图 3)。因此, AZT-QX 特有选择性杀死乙肝阳性肝癌细胞的生物活性是与它的特有的化学结构相关的。

化合物 AZT-QX 能选择性抑制乙肝阳性肝癌细胞内的核酸合成, 但对人正常肝细胞 HL-7702 内的核酸合成无影响。细胞内的核酸合成是用 BrdU 荧光抗体检测法来测定的 (见图 4)。新型化合物 AZT-QX 有效抑制了肝癌细胞核内的绿色荧光, 而正常肝细胞无此现象 (见图 4)。我们的进一步研究表明, 对照化合物齐多夫定对肝癌细胞核内核酸合成无抑制作用, 而另一对照化合物喹啉哌嗪衍生物和 AZT-QX 有相似的抑制作用。因此, AZT-QX 特有的选择性杀死乙肝阳性肝癌细胞的生物活性是基于喹啉的活性, 而其选择性是基于 AZT-QX 中共轭的齐多夫定的结构。

化合物 AZT-QX 的选择性活性机理是与肝癌细胞内的与胸苷激酶的高表达有关。首先, 我们发现加入细胞内磷酸胸苷合成通路的抑制剂甲氨蝶呤后, 对新型化合物 AZT-QX 选择性杀死 Hep3B 肝癌细胞的 IC₅₀ 浓度无影响, 而活性有加和作用 (见图 5)。其次, 我们的 western blotting 实验结果表明胸

昔激酶蛋白在肝癌细胞内的表达明显高于正常肝细胞（见图 5）。最后，我们通过用 siRNA 对乙肝阳性肝癌细胞内胸昔激酶选择性抑制后，再加入 AZT-QX 后，发现其活性有所降低（见图 5）。

化合物 AZT-QX 在小鼠中能有效地抑制皮下肝癌肿瘤模型的生长。小鼠肝肿瘤模型是在 BALB/c 小鼠皮下注射 H22 肝癌细胞建立。当肿瘤长到平均 8.8×8.8 毫米大小时，在实验的第 1 天和 7 天肿瘤部位皮下注射 $100 \mu\text{L}$ 生理盐水，齐多夫定 ($50 \mu\text{M}$) 或 AZT-QX ($50 \mu\text{M}$)。在实验 12 天内肿瘤的平均生长图表明（见图 6），AZT-QX 抑制肿瘤的生长而齐多夫定与生理盐水对照组类似。进一步统计分析证实（见图 6），AZT-QX 的有效性与其他两个对比 $P < 0.01$ ，而且注射剂量低（0.13 毫克/千克每次，共两次）。

以上实验证明，化合物 AZT-QX 能有效择性杀死肝癌细胞尤其是带有乙肝病毒的肝癌细胞，并能在小鼠中有效地抑制皮下肝癌肿瘤模型的生长，因此，化合物 AZT-QX 能用于制备抗肝癌的药物。

【附图说明】

图 1: AZT-QX 化学结构。

图 2: 参照对比物化学结构，其中：

(a) 为参照对比物齐多夫定 (AZT) 的化学结构；

(b) 为参照对比物喹啉哌嗪衍生物 (Pip-QX) 的化学结构。

图 3: AZT-QX、阿霉素 (doxorubicin)、喹啉哌嗪衍生物 (Pip-QX)、齐多夫定 (AZT) 对人的乙型肝炎阳性肝癌细胞 Hep3B，肝母细胞癌细胞株 HepG2 和人正常肝细胞 HL-7702 上测定的细胞活力图。AZT-QX 在 20 微摩尔每升浓度时能有效地杀死 80% 的 Hep3B 细胞。相比之下，AZT-QX 在浓度达到 200 微摩尔每升对人正常肝细胞 HL-7702 无明显毒性。对照化合物齐多夫定对所有筛选的细胞无明显毒性，而另一对照化合物 Pip-QX 却是无选择性地杀死所有肝细胞株。现有抗癌药物阿霉素与此相比，对人正常肝细胞 HL-7702 的毒性大于对癌细胞的活性。AZT-QX 具有选择性杀死乙肝阳性肝癌细胞的生物特性。

图 4: BrdU 荧光抗体检测法来测定的细胞内的核酸合成的荧光图片。如

图所示，绿色荧光为细胞内核酸合成显色，蓝色为细胞核染色。新型化合物 AZT-QX 有效抑制了肝癌 Hep3B 细胞核内的绿色荧光，而在正常肝细胞 HL-7702 无此现象。AZT-QX 能选择性抑制乙肝阳性肝癌细胞内的核酸合成，但对人正常肝细胞 HL-7702 内的核酸合成无影响。

图 5: 新型化合物 AZT-QX 与肝癌细胞内的胸苷激酶表达的相关机理研究图，其中 a 图为加入细胞内磷酸胸苷合成通路的抑制剂甲氨蝶呤后细胞活性图。抑制剂甲氨蝶呤对新型化合物 AZT-QX 选择性杀死 Hep3B 肝癌细胞的 IC50 浓度无影响，而活性有加和作用。b 图为 western blotting 实验结果图表明胸苷激酶蛋白在肝癌细胞内的表达明显高于正常肝细胞。图 c: 用 siRNA 对乙肝阳性肝癌细胞内胸苷激酶选择性抑制后，用 western blotting 检测的苷激酶蛋白在肝癌细胞内的表达实验结果图，确认 siRNA 有抑制。图 d: 胸苷激酶选择性抑制后细胞活性图。胸苷激酶选择性抑制后，再加入 AZT-QX 后，发现其活性有所降低。新型化合物 AZT-QX 的选择性活性机理与肝癌细胞内的胸苷激酶的表达的有有关联。

图 6: 给药后小鼠肿瘤的平均生长图和 12 天后的小鼠肿瘤图，其中 a) 为给药后小鼠肿瘤的平均生长图；b) 为 12 天后的不同药物治疗后小鼠肿瘤大小对比图，control 为空白对照，AZT 为齐多夫定，AZT-QX 为本发明申请的化合物。肝肿瘤模型是在 BALB/c 小鼠皮下注射 H22 肝癌细胞建立【方法参见：Li, et al. Cancer Research 2011, 301, 212-220】。当肿瘤长到平均 8.8×8.8 毫米大小时，在实验的第 1 天和 7 天肿瘤部位皮下注射 $100 \mu\text{L}$ 生理盐水，齐多夫定 ($50 \mu\text{M}$) 或 AZT-QX ($50 \mu\text{M}$)。在实验内的 12 天表明，AZT-QX 抑制肿瘤的生长而齐多夫定与生理盐水对照组类似，因此新型化合物 AZT-QX 在小鼠中能有效地抑制皮下肝癌肿瘤模型的生长。

图 7: AZT-QX 质谱图。

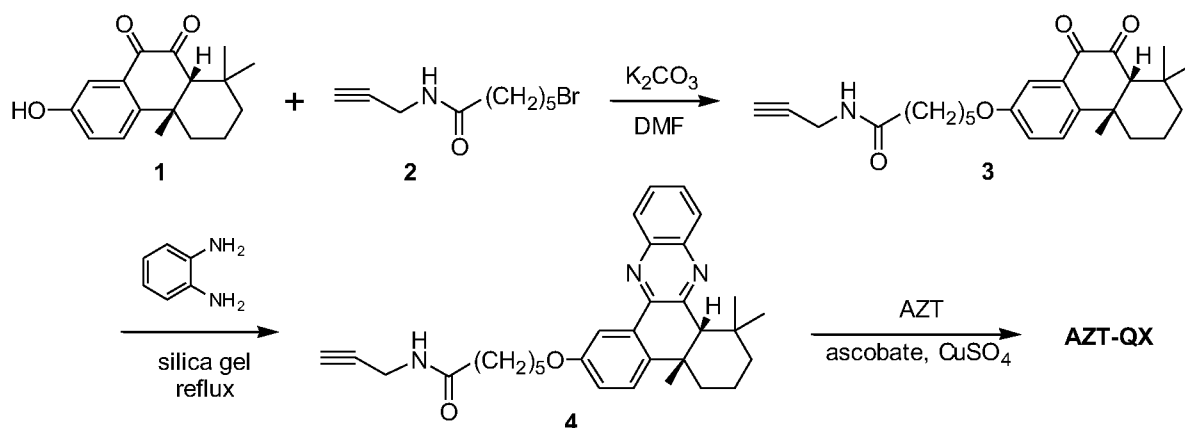
图 8: AZT-QX 氢谱图。

图 9: AZT-QX 碳谱图。

【具体实施方式】

实施例 1 化合物 AZT-QX，即式 (I) 化合物的制备

化合物 AZT-QX，即式 (I) 化合物的合成是通过点击化学完成的，其合成路线见以下合成路线图：



以上合成路线图中，化合物 1 是：4b,5,6,7,8,8a-顺式-六氢-2-羟基-4b,8,8a-三甲基菲-9,10-二酮；化合物 2 是：溴炔烃化合物 6-溴-N-(2-丙炔基)己酰胺；化合物 3 是：(N-(2-丙炔基)-6-(4b,8,8-三甲基-9,10-二氧基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲基-2-氧代)己酰胺)；化合物 4 是：(N-(2-丙炔基)-6-(4b,8,8-三甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代)己酰胺)；产物 AZT-QX 是：N-((1-(2-(羟甲基)-5-(5-甲基-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)四氢呋喃-3-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)-6-(4b,8,8-三甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代)己酰胺。

具体制备方法包括以下步骤：

步骤一：

(A) 合成溴炔烃化合物 6-溴-N-(2-丙炔基)己酰胺 (6-Bromo-N-(prop-2-ynyl)hexanamide)，即合成路线图中的化合物 2。

将丙炔胺 300mg、三乙胺 332mg 和 1-乙基-3(3-二甲基丙胺)碳二亚胺 630mg 加入到 6-溴己酸 694 mg 的二氯甲烷溶液 50ml 中进行酰胺化反应，反应在室温和通氮气的条件下进行 16 小时，然后用二氯甲烷萃取反应溶液，经浓缩和二氧化硅硅胶纯化，到化合物 2 为 390mg。

(B) 合成 N-(2-丙炔基)-6-(4b,8,8-三甲基-9,10-二氧基

-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-八氢菲基-2-氧代)己酰胺
(N-(Prop-2-ynyl)-6-(4b, 8, 8-trimethyl-9, 10-dioxo-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-octahydrophenanthren-2-yloxy)hexanamide), 即合成路线图中的化合物**3**。

将以上(A)步骤中得到的化合物 390mg 溶于二甲基酰胺 20ml 中, 在所形成的溶液中加入 4b,5,6,7,8,8a-顺式-六氢-2-羟基-4b,8,8a-三甲基菲-9,10-二酮 355mg 【具体合成方法参见: Zhou, et al. Chem. Res. Toxicol. 2008, 21, 732-738】和碳酸钾进行取代反应, 反应在室温和通氮气的条件下进行 16 小时, 然后用二氯甲烷萃取反应溶液, 经浓缩和二氧化硅硅胶纯化, 得到化合物**3** 为 320mg。

步骤二: 合成 N-(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代)己酰胺
(N-(Prop-2-ynyl)-6-(4b, 8, 8-trimethyl-4b, 5, 6, 7, 8, 8a-hexahydrodibenzo[a, c]phenazin-2-yloxy)-hexanamide) 的合成, 即合成路线图中的化合物**4**。

将步骤一得到的化合物**3** 320mg 溶于甲苯 20ml 中, 在所形成的溶液中加入邻苯胺 103mg 和二氧化硅 300mg, 进行反应。反应在通氮气的条件下回流 18 小时, 然后反应溶液经浓缩后, 用二氧化硅硅胶纯化, 得到化合物**4** 为 230mg。

步骤三: 合成 N-((1-(2-(羟甲基)-5-(5-甲基-2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)四氢呋喃-3-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代)己酰胺
N-((1-(2-(Hydroxymethyl)-5-(5-methyl-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)-tetrahydrofuran-3-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-6-(4b, 8, 8-trimethyl-4b, 5, 6, 7, 8, 8a-hexahydrodibenzo[a, c]phenazin-2-yloxy)hexanamide), 即本发明提供的化合物 AZT-QX。

将步骤二得到的化合物**4** 100mg 溶于 5ml 二甲基酰胺和 10ml 二氯甲烷溶液中, 在所形成的溶液中加入加入齐多夫定 54mg 和维生素 C 15ml 的 40

毫摩尔/升溶液。反应溶液通氮气 5 分钟除氧后，再加入硫酸铜 8mg 进行点击反应，反应在室温和通氮气的条件下进行 16 小时后，然后用二氯甲烷萃取反应溶液，经浓缩和二氧化硅硅胶纯化，得到 AZT-QX 为 114mg。

化合物结构表征：

化合物 **2**：¹H NMR（氢谱）（CDCl₃, 400 MHz, 1:1 syn/anti): δ=5.71 (br s, 1H; NH), 4.05 (dd, ³J(H,H)=5.2 Hz, ⁴J(H,H)=2.5 Hz, 2H; CH₂), 3.53 (t, ³J(H,H)=6.6 Hz, 1H; 0.5CH₂), 3.40 (t, ³J(H,H)=6.7 Hz, 1H; 0.5CH₂), 2.24-2.19 (m, 3H; CH, CH₂), 1.87(qui, ³J(H,H)=7.2 Hz, 1H; 0.5CH₂), 1.79 (qui, ³J(H,H)=7.0 Hz, 1H; 0.5CH₂), 1.67 (qui, ³J(H,H)=7.52 Hz, 2H; CH₂), 1.50-1.41 ppm (m, 2H; CH₂); ¹³C NMR（碳谱）（CDCl₃, 100.6 MHz, 1:1 syn/anti): δ=172.3, 172.2, 79.5, 71.6, 44.8, 36.1, 36.1, 33.5, 32.4, 32.2, 29.1, 27.7, 26.4, 24.7, 24.5 ppm;（高分辨质谱）理论值 C₉H₁₅BrNO [M+H]⁺ 232.0337 和 [M+2+H]⁺ 234.0316, 实测值 232.0324 and 234.0413。

化合物 **3**：¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ=7.53 (d, ⁴J(H,H)= 2.9 Hz, 1H; CH), 7.35 (d, ³J(H,H)=8.8 Hz, 1H; CH), 7.21 (dd, ³J(H,H)=8.7 Hz, ⁴J(H,H)=2.7 Hz, 1H; CH), 5.94 (br s, 1H; NH), 4.04 (dd, ³J(H,H)=5.3 Hz, ⁴J(H,H)=2.6 Hz, 2H; CH₂), 4.00 (t, ³J(H,H)=6.4 Hz, 2H; CH₂), 2.65 (s, 1H; CH), 2.53 (d, ³J(H,H)=14.3 Hz, 1H, CH), 2.24 (t, ³J(H,H)=7.6 Hz, 2H; CH₂), 2.21 (d, ⁴J(H,H)=2.5 Hz, 1H; CH), 1.82-1.70 (m, 4H; 2CH₂), 1.56-1.31(m, 7H; 3CH₂, CH), 1.18 (s, 3H; CH₃), 0.95 (s, 3H; CH₃), 0.38 ppm (s, 3H; CH₃); ¹³C NMR（碳谱）（CDCl₃, 100.6 MHz): δ=199.0, 181.3, 172.4, 158.1, 142.6, 134.6, 126.1, 124.2, 112.6, 71.7, 68.9, 68.1, 41.9, 39.2, 39.0, 36.3, 36.3, 35.5, 31.4, 29.7, 29.2, 28.9, 25.7, 25.2, 24.3, 18.8 ppm;（高分辨质谱）理论值 C₂₆H₃₄NO₄ [M+H]⁺ 424.2488, 实测值 424.2487。

化合物 **4**：¹H NMR（氢谱）（CDCl₃, 400 MHz): δ=8.09-8.07 (m, 3H; 3CH), 7.73-7.67 (m, 2H; 2CH), 7.30 (d, ³J(H,H)=8.8 Hz, 1H; CH), 7.02 (dd, ³J(H,H)=8.4 Hz, ⁴J(H,H)=2.8 Hz, 1H; CH), 5.71 (br s, 1H; NH), 4.14-4.06 (m, 4H; 2CH₂), 2.88 (s, 1H; CH), 2.56 (br d, ³J(H,H)=14 Hz, 1H, CH), 2.28-2.23 (m,

3H; CH₂, CH), 1.89-1.73 (m, 4H; 2CH₂), 1.59-1.47 (m, 7H; 3CH₂, CH), 1.02 (s, 3H; CH₃), 0.99 (s, 3H; CH₃), 0.16 ppm (s, 3H; CH₃); ¹³C NMR (碳谱) (CDCl₃, 100.6 MHz): δ=172.4, 158.0, 154.8, 148.4, 141.9, 141.3, 137.6, 134.8, 129.2, 129.1, 129.0, 128.6, 125.0, 118.1, 111.2, 79.6, 71.6, 67.7, 59.7, 42.0, 37.3, 36.3, 36.1, 36.0, 34.8, 31.5, 29.2, 29.1, 25.8, 25.3, 22.1, 19.0 ppm; HRMS (高分辨质谱) 理论值 C₃₂H₃₈N₃O₂ [M+H]⁺ 496.2964, 实测值 496.2964。

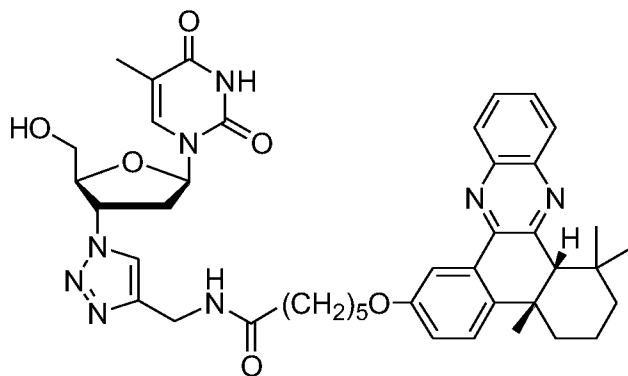
化合物 AZT-QX: ¹H NMR (氢谱) (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ=11.35 (s, 1H; OH), 8.34 (t, ³J(H,H)=5.5 Hz, 1H; CH), 8.14-8.11 (m, 2H; 2CH), 8.06-8.04 (m, 1H; CH), 7.96 (d, ⁴J(H,H)=2.8 Hz, 1H; CH), 7.79 (m, 3H; 2CH, NH), 7.39 (d, ³J(H,H)=8.7 Hz, 1H; CH), 7.11 (dd, ³J(H,H)=8.5 Hz, ⁴J(H,H)=2.8 Hz, 1H; CH), 6.40 (t, ³J(H,H)=6.6 Hz, 1H; CH), 5.36-5.33 (m, 1H; CH), 5.28 (t, ³J(H,H)=5.2 Hz, 1H; NH), 4.31 (d, ³J(H,H)=5.5 Hz, 2H; CH₂), 4.18 (m, 1H; CH), 4.06 (t, ³J(H,H)=6.4 Hz, 2H; CH₂), 3.67-3.60 (m, 2H; CH₂), 2.85 (s, 1H; CH), 2.67-2.57 (m, 2H; CH₂), 2.16 (t, ³J(H,H)=7.4 Hz, 2H; CH₂), 1.79-1.62 (m, 5H; CH₃, CH₂), 1.56-1.43 (m, 10H; 5CH₂), 0.93 (s, 3H; CH₃), 0.91 (s, 3H; CH₃), 0.07 ppm (s, 3H; CH₃); ¹³C NMR (碳谱) (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ=172.0, 163.6, 157.4, 154.2, 150.4, 147.5, 145.2, 141.1, 140.9, 137.1, 136.1, 134.1, 129.5, 129.4, 128.9, 128.4, 125.3, 122.4, 117.7, 110.8, 109.5, 84.4, 83.8, 67.4, 60.6, 59.0, 58.5, 41.2, 37.0, 36.8, 35.5, 35.1, 34.9, 34.4, 34.0, 31.3, 28.5, 25.2, 24.9, 21.6, 18.5, 12.2 ppm; (高分辨质谱) 理论值 C₄₂H₅₁N₈O₆ [M+H]⁺ 763.3932, 实测值 763.3959。

实施例 2 制备以化合物 AZT-QX 为活性成分的药物制剂

以化合物 AZT-QX 为活性成分的静脉注射剂: 将 AZT-QX 溶于 DMSO 溶剂中, 配成 50 毫摩尔每升的溶液。该溶液再以 1:1000 稀释于生理盐水中, 配成 50 微摩尔每升的溶液, 过滤消毒为静脉注射剂。建议的注射剂量为 0.13 毫克/千克。

权 利 要 求

1. 具有以下式 (I) 结构的化合物:



(I) 。

2. 权利要求 1 所述化合物的制备方法, 包括以下步骤:

步骤一: 将 4b,5,6,7,8,8a-顺式-六氢-2-羟基-4b,8,8a-三甲基菲-9,10-二酮与溴炔烃在二甲基甲酰胺溶液中和碱性条件下, 通过取代反应得到化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b,8,8-三甲基-9,10-二氧基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲基-2-氧代)己酰胺;

步骤二: 将化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b,8,8-三甲基-9,10-二氧基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲基-2-氧代)己酰胺与邻苯胺类化合物在回流的条件下脱水芳香化, 进行聚合反应得到化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b,8,8-三甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-六氢二苯并[a,c]吩嗪基-2-氧代)己酰胺;

步骤三: 将化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b,8,8-三甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-六氢二苯并[a,c]吩嗪基-2-氧代)己酰胺与齐多夫定在有机溶剂中经一价铜离子催化进行点击反应得到权利要求 1 所述的化合物。

3. 根据权利要求 2 所述的制备方法, 其特征在于, 步骤一所述的将 4b,5,6,7,8,8a-顺式-六氢-2-羟基-4b,8,8a-三甲基菲-9,10-二酮与溴炔烃在二甲基酰胺溶液中和碱性条件下, 通过取代反应得到化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-9, 10-二氧基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-八氢菲基-2-氧代) 己酰胺的具体方法是: 将丙炔胺、三乙胺和 1-乙基-3(3-二甲基丙胺) 碳二亚胺加入到 6-溴己酸的二氯甲烷溶液中进行酰胺化反应, 反应在室温和通氮气的条件下进行 16 小时, 然后用二氯甲烷萃取反应溶液, 经浓缩和二氧化硅硅胶纯化, 得到溴炔烃化合物 6-溴-N-(2-丙炔基) 己酰胺; 再将得到的化合物 6-溴-N-(2-丙炔基) 己酰胺溶于二甲基酰胺中, 在所形成的溶液中加入 4b,5,6,7,8,8a-顺式-六氢-2-羟基-4b,8,8a-三甲基菲-9,10-二酮和碳酸钾进行取代反应, 反应在室温和通氮气的条件下进行 16 小时, 然后用二氯甲烷萃取反应溶液, 经浓缩和二氧化硅硅胶纯化, 得到化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-9, 10-二氧基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-八氢菲基-2-氧代) 己酰胺。

4. 根据权利要求 2 所述的制备方法, 其特征在于, 步骤二所述的将化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b,8,8-三甲基-9,10-二氧基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲基-2-氧代) 己酰胺与邻苯胺类化合物在回流的条件下脱水芳香化, 进行聚合反应得到化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代) 己酰胺的具体方法是: 将步骤一中得到的化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-9, 10-二氧基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-八氢菲基-2-氧代) 己酰胺溶于甲苯中, 在所形成的溶液中加入邻苯胺和二氧化硅, 进行反应, 反应在通氮气的条件下回流 18 小时, 然后反应溶液经浓缩后, 用二氧化硅硅胶纯化, 得到化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代) 己酰胺。

5. 根据权利要求 2 所述的制备方法, 其特征在于, 步骤三所述的将化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代) 己酰胺与齐多夫定在有机溶剂中经一价铜离子催化进行点击反应得到化合物 AZT-QX 的具体方法是: 将步骤二得到的化合物 N-(2-丙炔基)-6-(4b, 8, 8-三甲基-4b, 5, 6, 7, 8, 8a, 9, 10-六氢二苯并[a, c]吩嗪基-2-氧代) 己酰胺溶于 5ml 二甲基酰胺和二氯甲烷溶液中, 在所形成的溶液中加入加入齐多夫定和维生素 C 溶液, 反应溶液通氮气 5 分钟除氧后, 再加入硫酸铜进行点击反应, 反应在室温和通氮气的条件下进行 16 小时后, 然后用二氯甲烷萃取反应溶液, 经浓缩和二氧化硅硅胶纯化, 得到权利要求 1 所述的化合物。

6. 权利要求 1 所述化合物在制备抗肝癌药物中的应用。

7. 一种抗肝癌药物, 其特征在于它以权利要求 1 所述化合物为活性成分。

8. 一种抗肝癌药物制剂, 由权利要求 1 所述化合物和药学上可接受的载体、赋形剂或/和添加剂组成。

9. 一种抗肝癌药物制剂, 是以权利要求 1 所述化合物为活性成分的注射剂。

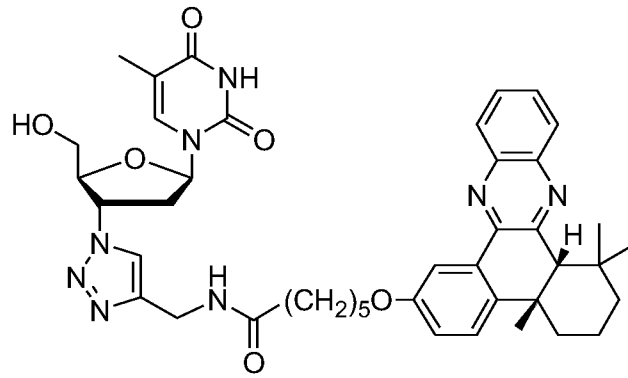


图 1

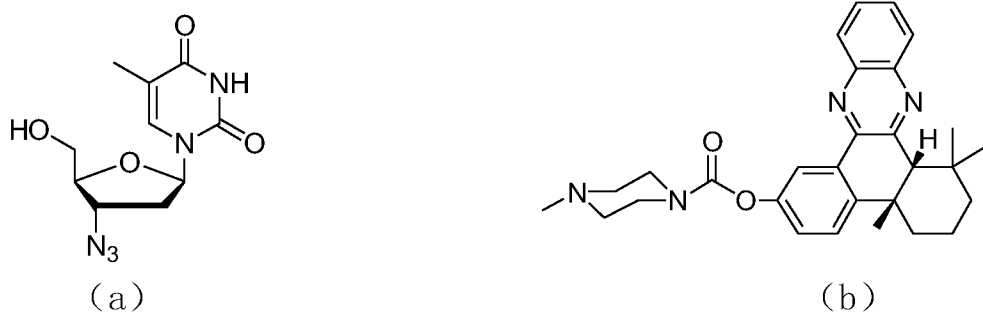


图 2

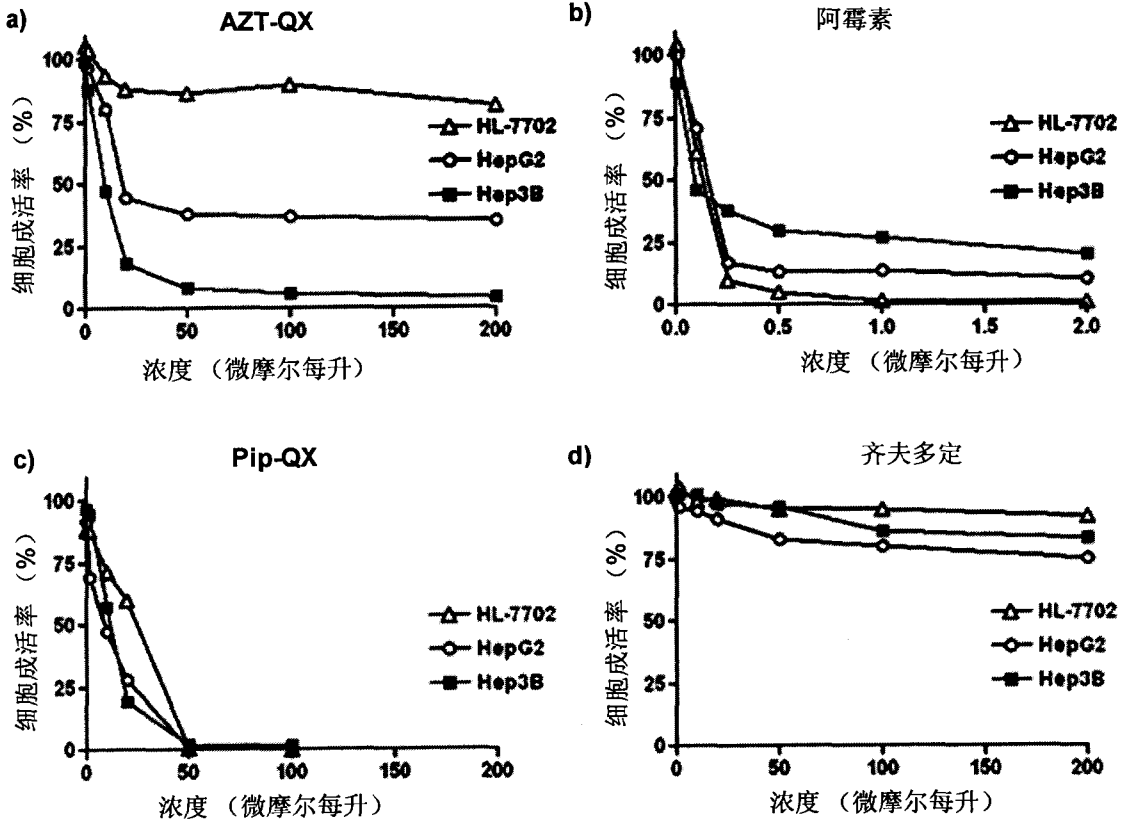


图 3

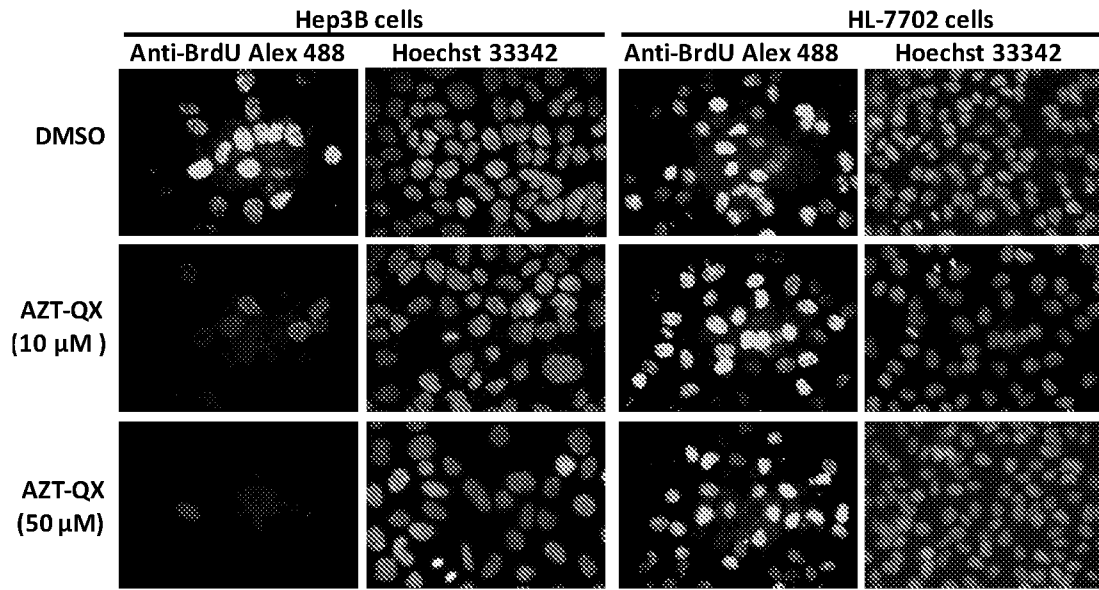


图 4

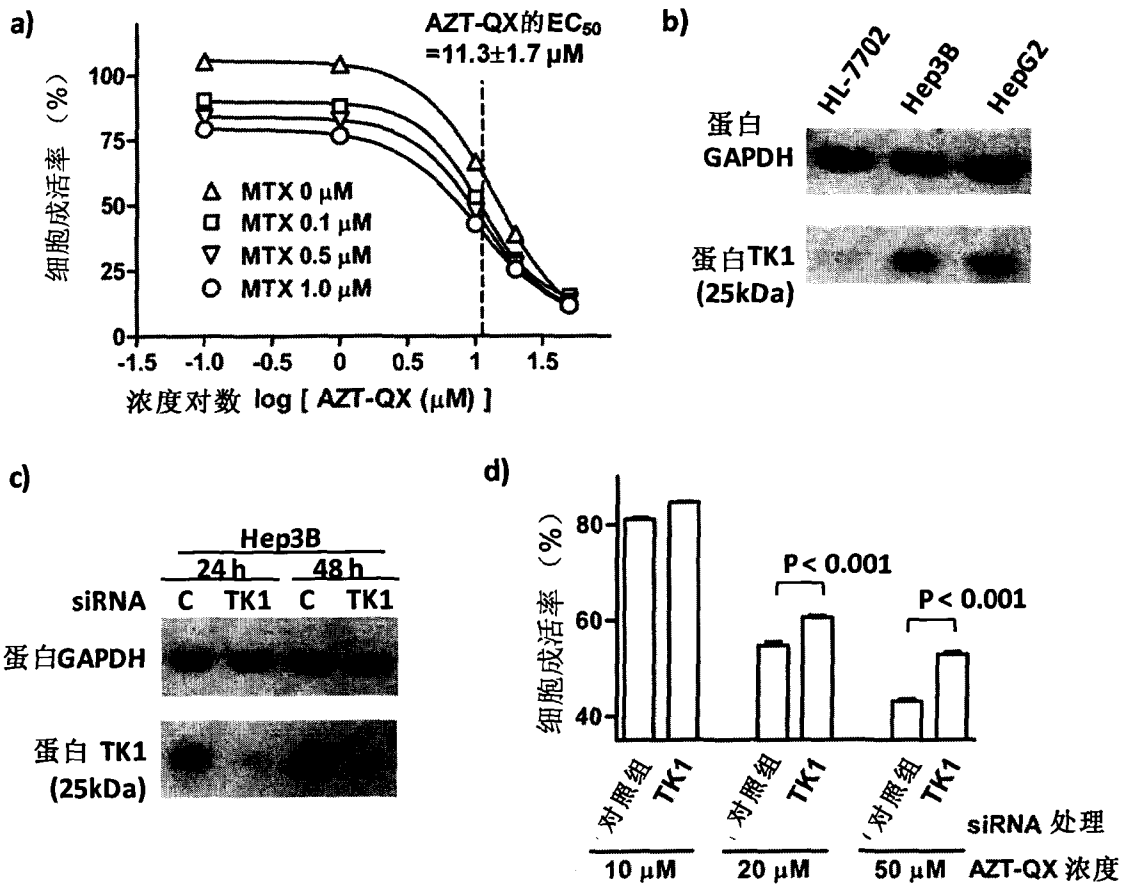


图5

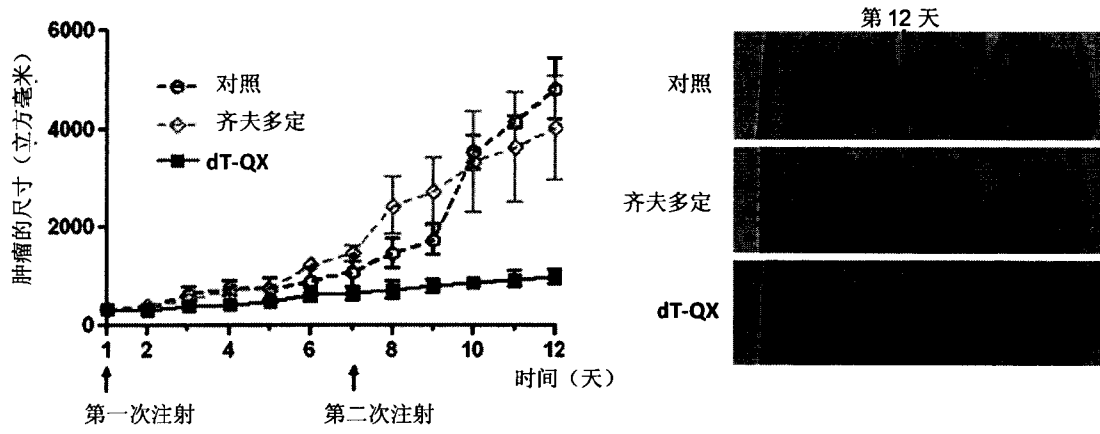


图 6

1_110708133434 #31 RT: 0.27 AV: 1 NL: 3.72E5
 T: + c ESI Q1MS [300.000-900.000]

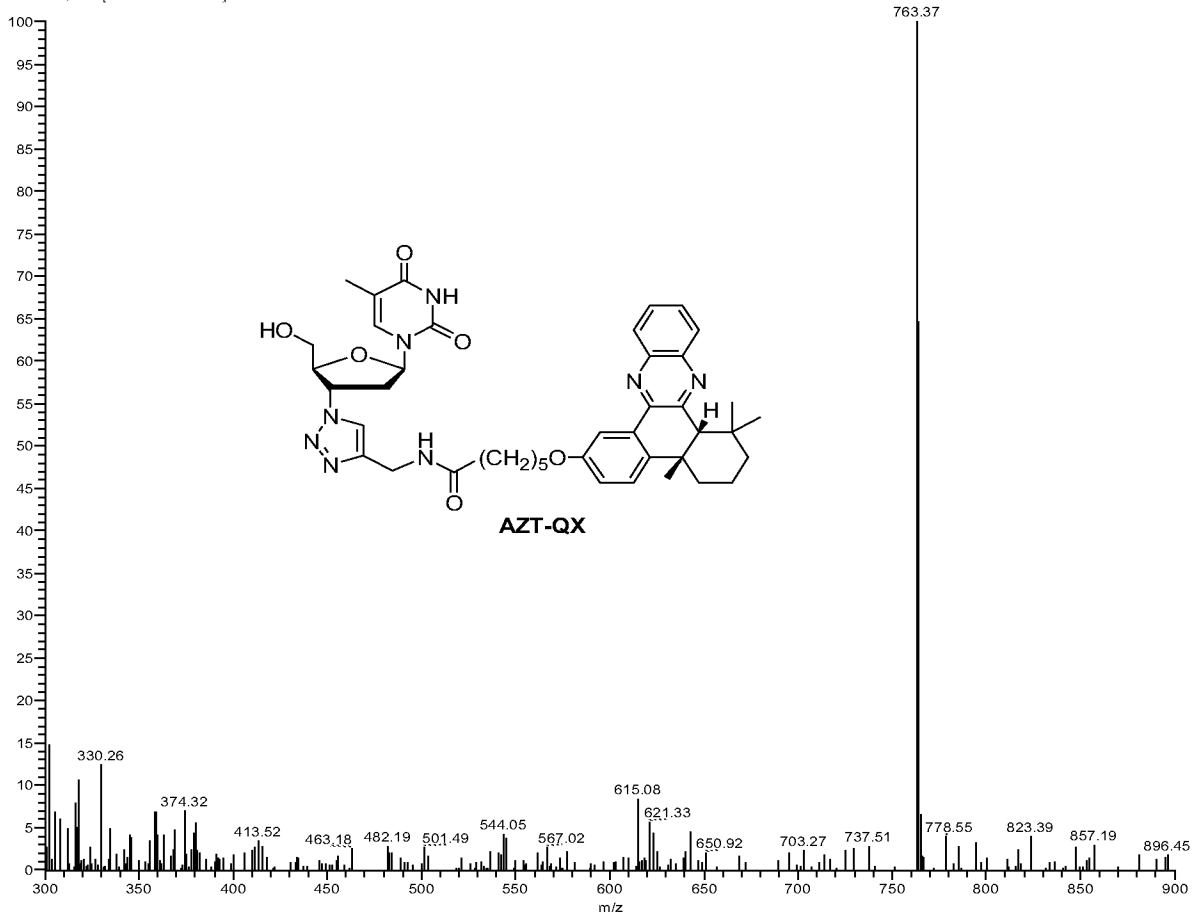


图 7

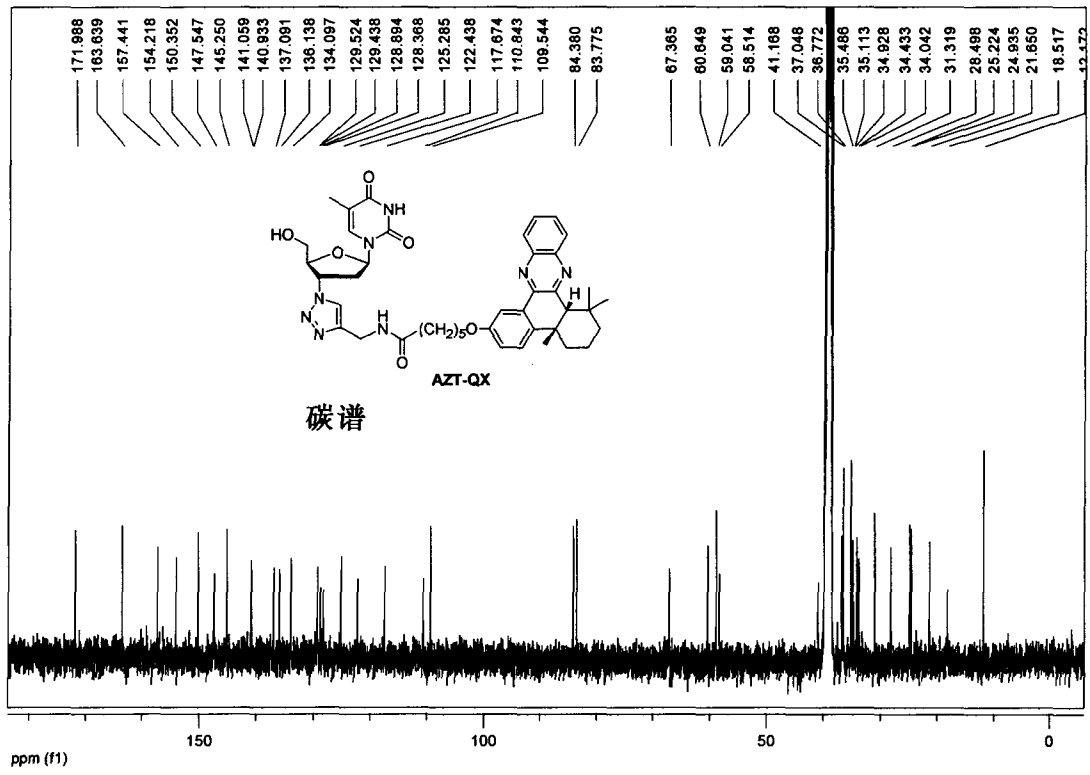


图 9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/077030

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: C07H, 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)

WPI, EPODOC, CNPAT (CN), CNKI (CN), CHINA PHARMACEUTICAL ABSTRACTS (CN), CHEMICAL ABSTRACTS (US), EMBASE, STN: azidodcoxythymidine, hepatoma, Zidovudine, chinoline, leucoline, quinoline, liver, cancer, tumour, tumor, neoplasms, structure search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 1343673 A (TSINGHUA UNIVERSITY), 10 April 2002 (10.04.2002), the whole document	1-9

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“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)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>
---	---

Date of the actual completion of the international search 16 November 2012 (16.11.2012)	Date of mailing of the international search report 29 November 2012 (29.11.2012)
--	--

<p>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</p>	<p>Authorized officer XIU, Wen Telephone No.: (86-10) 62411205</p>
---	--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2012/077030

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 1343673 A	10.04.2002	CN 1133641 C	07.01.2004

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/077030

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:

C07H 19/06 (2006.01) i

C07H 1/00 (2006.01) i

A61K 31/7072 (2006.01) i

A61P 1/16 (2006.01) i

A61P 35/04 (2006.01) i

<p>A. 主题的分类</p> <p style="text-align: center;">参见附加页</p> <p>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</p>								
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>IPC: C07H, A61K, A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>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))</p> <p>WPI,EPODOC,CNPAT(CN), CNKI(CN), 中国药学文摘库(CN), CHEMICAL ABSTRACTS(US),EMBASE,STN; 齐多夫定, 叠氮胸苷, 叠氮脱氧胸苷, 喹啉, 肝癌, 肿瘤, 癌, Zidovudine, chinoline, leucoline, quinoline, liver, cancer, tumour, tumor, neoplasms, 结构式检索</p>								
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>CN 1343673 A (清华大学) 10.4 月 2002(10.04.2002) 全文</td> <td>1-9</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	CN 1343673 A (清华大学) 10.4 月 2002(10.04.2002) 全文	1-9
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求						
A	CN 1343673 A (清华大学) 10.4 月 2002(10.04.2002) 全文	1-9						
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在 C 栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>								
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“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)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>								
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p style="text-align: center;">16.11 月 2012(16.11.2012)</p>	<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p style="text-align: center;">29.11 月 2012 (29.11.2012)</p>							
<p>ISA/CN 的名称和邮寄地址:</p> <p>中华人民共和国国家知识产权局</p> <p>中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088</p> <p>传真号: (86-10)62019451</p>	<p>授权官员</p> <p style="text-align: center;">修文</p> <p>电话号码: (86-10) 62411205</p>							

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2012/077030

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN 1343673 A	10.04.2002	CN 1133641 C	07.01.2004

主题的分类:

C07H19/06 (2006.01) i

C07H1/00 (2006.01) i

A61K31/7072 (2006.01) i

A61P1/16 (2006.01) i

A61P35/04 (2006.01) i