

# (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11月22日 (22.11.2012)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号  
WO 2012/155559 A1

- (51) 国际专利分类号:  
C07F 15/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)  
A61K 31/555 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2012/071263
- (22) 国际申请日: 2012年2月17日 (17.02.2012)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:  
201110127370.8 2011年5月17日 (17.05.2011) CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 中山大学 (SUN YAT-SEN UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国广东省广州市海珠区新港西路135号, Guangdong 510275 (CN)。
- (72) 发明人; 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): 毛宗万 (MAO, Zongwan) [CN/CN]; 中国广东省广州市海珠区新港西路135号, Guangdong 510275 (CN)。 郑小辉 (ZHENG, Xiaohui) [CN/CN]; 中国广东省广州市海珠区新港西路135号, Guangdong 510275 (CN)。 谭彩萍 (TAN, Caiping) [CN/CN]; 中国广东省广州市海珠区新港西

路135号, Guangdong 510275 (CN)。 黄华珍 (HUANG, Huazhen) [CN/CN]; 中国广东省广州市海珠区新港西路135号, Guangdong 510275 (CN)。 计亮年 (JI, Liangnian) [CN/CN]; 中国广东省广州市海珠区新港西路135号, Guangdong 510275 (CN)。

(74) 代理人: 广州粤高专利商标代理有限公司 (YOGO PATENT & TRADE MARK AGENCY LIMITED COMPANY); 中国广东省广州市天河区体育西路191号中石化大厦B塔3912室, Guangdong 510620 (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,

[见续页]

(54) Title: ORGANIC HYBRIDIZED TETRA-CORE PLATINUM COMPLEX AND PREPARATION METHOD THEREOF AS WELL AS THE USE THEREOF IN MANUFACTURING MEDICAMENT FOR ANTITUMOR

(54) 发明名称: 有机杂化四核铂配合物及其制备方法和在制备抗肿瘤药物中的应用

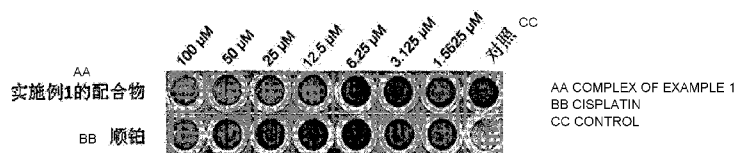
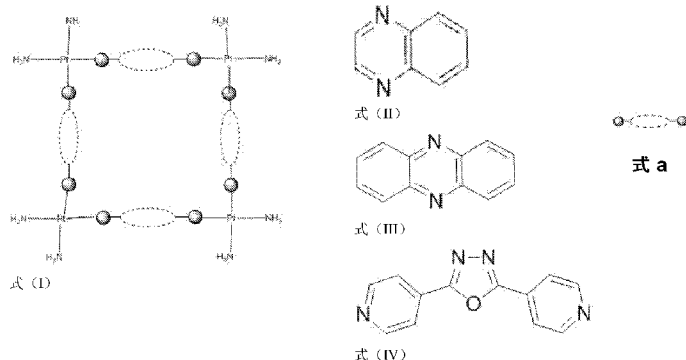


图1 / Fig. 1



(57) Abstract: Organic hybridized tetra-core platinum complex having an antitumor activity is provided. The structure formula of complex is shown in a formula (I), in which represents the same bridge ligand which is one of formulas (II), (III) and (IV). The compound has antitumor activity, especially anti-lung cancer activity.

(57) 摘要: 本发明提供具有抗癌活性的有机杂化四核铂配合物, 其结构通式如式 (I) 所示: 其中, 式 a 表示同一种桥联配体, 该桥联配体为式 (II)、式 (III)、式 (IV) 中的一种。该类化合物具有抗肿瘤活性, 特别是抗肺癌活性。

WO 2012/155559 A1



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

**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))。

# 有机杂化四核铂配合物及其制备方法和在制备抗肿瘤药物中的应用

## [0001] 技术领域

本发明涉及一类利用超分子自组装来合成有机杂化且具有优异抗肿瘤活性的四核铂配合物及其制备方法，具体涉及带氨基侧臂的四核铂配合物的制备方法及其抗肿瘤活性。

## 背景技术

[0002] 自从人们发现 G-四链体 DNA 是潜在的抗肿瘤靶标以来，人们在能稳定 G-四链体 DNA 的有机小分子方面做了大量的研究工作。但是到目前为止绝大部分稳定 G-四链体 DNA 的小分子为有机化合物，仅有一小部分是金属配合物。由于金属配合物具有很多有机小分子难以比拟的优点，如刚柔相济的几何结构变化和丰富的电化学性质，同时还具有光学、磁学以及催化等多种性能。在结合模式方面，金属配合物除了能与 G-四链体 DNA 通过  $\pi$ - $\pi$  堆积作用外，还能通过与碱基或者磷酸根骨架形成共价键的方式稳定 G-四链体结构，进而达到抗肿瘤的效果。这均使得人们不断在金属配合物里寻找合适的抗肿瘤药物。

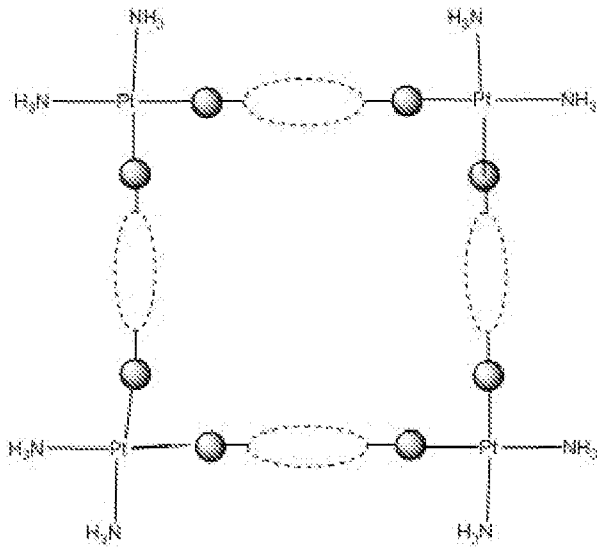
[0003] 铂类配合物作为抗肿瘤药物的研究开始于二十世纪六十年代，在顺铂基础上铂类似物的设计合成与抗肿瘤活性筛选一直是抗肿瘤药物研究领域的热点。结构不同的各种铂类配合物其抗肿瘤活性也有高低之分，造成这种活性的差异与配合物结构的亲脂性有重要关系。而动力学惰性的 Pt(II)配位构型为正方形，为我们下一步的自组装提供了一个模板。

[0004] 桥联配体是一系列含氮的杂环，可以通过改变桥联配体的尺寸进而达到对整个 Pt 配合物尺寸调控的目的。

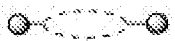
[0005] 本发明通过超分子自组装有机杂化四核铂配合物，使其具有高的抗癌活性以及靶向性。

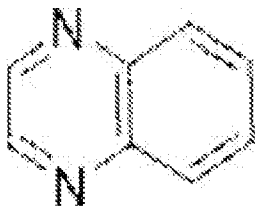
## 发明内容

[0006] 本发明的目的在于针对现有技术的不足，提供一种具有抗癌活性的有机杂化四核铂配合物，其结构通式如式 (I) 所示：

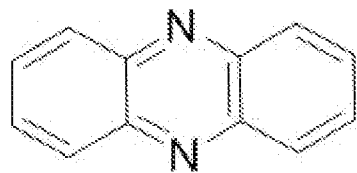


式 (I)

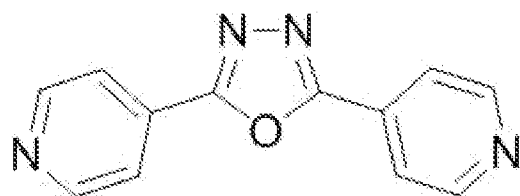
式 (I) 中,  表示同一种桥联配体, 该桥联配体为式 (II)、式 (III)、式 (IV) 中的一种;



式 (II)



式 (III)



式 (IV)

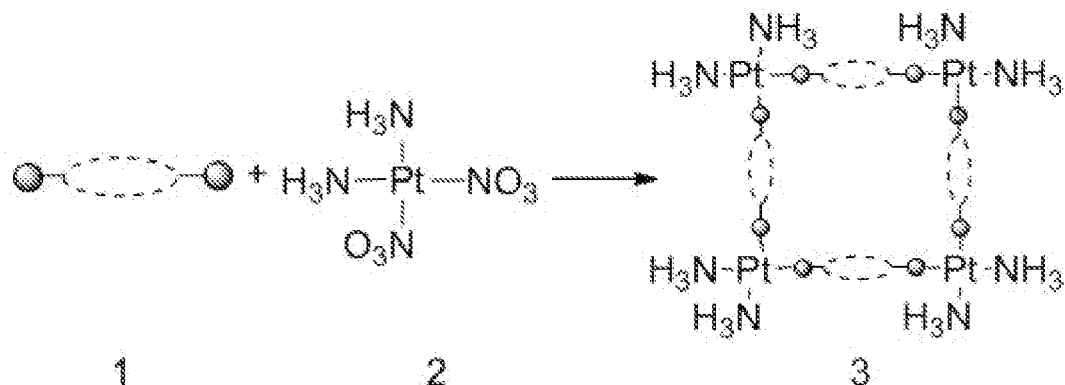
发明同时提供了该有机杂化四核铂配合物的制备方法, 是利用超分子自组装将辅基配体与桥联配体组装成四核结构, 得到所述的有机杂化四核铂配合物。所述的辅基配体是氯离子被硝酸根取代的顺铂; 所述的桥联配体是式 (II)、(III)、(IV) 中的一种。

[0007] 具体来说反应步骤为: 将顺铂进行脱氯, 加入所述桥联配体, 于 50-100 度避光反应 4-7 天获得所述有机杂化四核铂配合物。顺铂脱氯过程, 是将顺铂溶于适量的水中再加入相

当于顺铂两倍摩尔量的硝酸银，在氮气保护下避光反应 15 小时，用低温离心机离心，弃去沉淀，保留清液。接着在所述清液中加入所述桥联配体，顺铂与桥联配体的摩尔比为 1:1~1.1:1，反应结束后往反应器中加入无水乙醇得到沉淀，离心去上清，然后再用无水乙醇洗涤 2-3 次，离心得到浅色固体物质，即有机杂化四核铂配合物。

[0008] 这个反应过程可以由以下反应式表示：

反应式 I



本发明所提供的有机杂化四核铂配合物 可用于制备抗肿瘤药物。更具体的来说是用于制备治疗顺铂耐药性肿瘤药物。这些药物还可含有药学上可接受的辅助剂。

[0009] 与现有技术相比，本发明具有以下有益效果：

本发明以来源丰富易得的顺铂为辅基配体与相应的桥联配体，通过超分子自组装的方法合成和表征了一系列具有正方形构型的四核 Pt(II)配合物。通过对人宫颈癌细胞 (HeLa)、人肝癌细胞 (HepG2)、人乳腺癌细胞 (MCF-7)、人肺癌细胞 (A549)以及耐顺铂肺癌细胞 (A549/cisR) 的 MTT 筛选，得到的数据表明该类化合物均具有优异的抗肿瘤活性，特别是人肺癌细胞 A549/cisR 的 MTT 实验数据表明该类化合物的抗肿瘤活性为顺铂的 10 倍。

[0010]

附图说明

[0011] 图 1. 四核配合物 I 和顺铂在对耐顺铂肺癌细胞 (A549/cisR) 的 MTT 筛选。

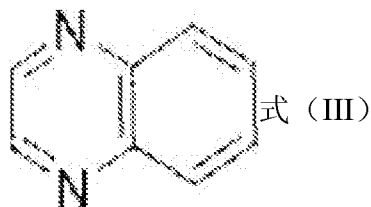
[0012]

具体实施方式

[0013] 以下通过具体的实施例进一步说明本发明的技术方案。

[0014] 实施例 1

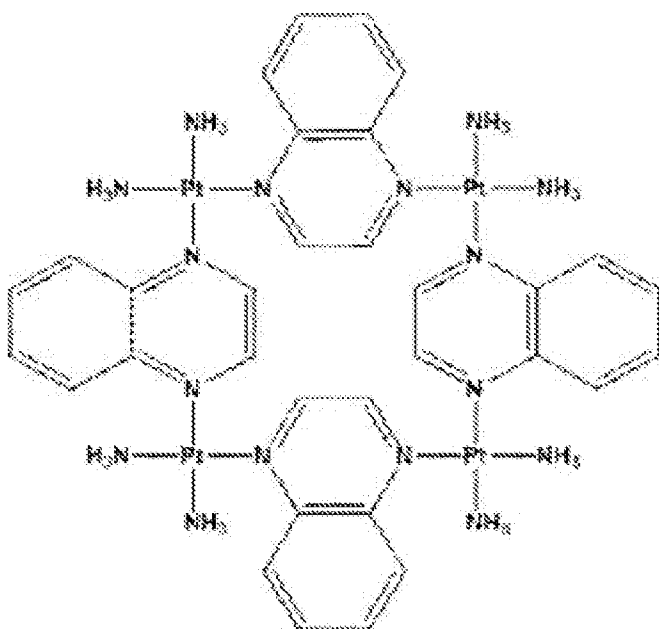
以顺铂为辅助配体且桥联配体为式 (III) 的有机杂化四核铂配合物的合成：



将 0.3 毫摩尔量的顺铂溶于 6 毫升水中，在氮气保护下于暗处加入 0.6 毫摩尔量的硝酸银，40℃ 搅拌 15 小时，反应完毕后，离心弃去沉淀，保留清液；往上述的清液中加入 0.3 毫摩尔的桥联配体(L<sup>1</sup>),整个反应在氮气保护下于 60 度避光反应 5 天，反应结束后，往反应液中加入大量无水乙醇，析出浅黄色固体，离心得浅黄色固体，产物真空干燥。产率:63%。元素分析(%),

理论值: C<sub>32</sub>H<sub>48</sub>N<sub>24</sub>O<sub>24</sub>Pt<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O (2021.24): C, 19.00; H, 2.89; N, 16.61. 实验值: C,19.36; H, 3.08; N, 16.53. <sup>195</sup>Pt NMR (D<sub>2</sub>O, δ /ppm): -878, and K<sub>2</sub>PtCl<sub>4</sub> 被用作内标物(δ =0).

所合成的有机杂化四核铂配合物结构式如下所示:



## 实施例 2

实施例 1 所制的化合物的抗肿瘤活性试验和结果。

[0015] 细胞系以及培养条件: HepG2 (人肝癌细胞株)、Hela (人宫颈癌细胞株)、MCF-7 (人乳腺癌细胞株)、A549 (人肺癌细胞)、A549/cisR (耐顺铂肺癌细胞)由中山大学实验与动物中心提供。细胞用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基培养，其中含有每毫升 100 单位青霉素和 100 微克链霉素，细胞接种于直径为 10 厘米 的培养皿后，37 度、5% CO<sub>2</sub> 环境中培养，细胞长满时用胰蛋白酶消化法进行传代。

[0016] 细胞毒性测试: 细胞毒性采用 MTT 法测定。将细胞用 0.25%胰蛋白酶消化成单细胞

悬液，采用血球计算版进行活细胞数，调整活细胞浓度为  $5 \times 10^4$  每毫升接种于 96 孔培养板，每孔 160 微升，培养 24 小时之后，再分别加入不同浓度的四核铂配合物（浓度分别如图 1 所示），置 37 度，在含 5%  $\text{CO}_2$  的培养箱中孵育 48 小时，于结束前 4 小时加入 MTT 20 微升每孔，4 小时后弃上清液，加入 DMSO 100 微升每孔，振荡 10 分钟左右，置酶标仪测定 OD 值，波长设置为 570 纳米和 607 纳米双波长。按下列公式计算存活率，同时作图并求得半数杀伤浓度 ( $IC_{50}$ )，评价药物的细胞毒性。

[0017] 存活率% = 加药孔平均 OD 值/对照孔平均 OD 值  $\times$  100%

MTT 法得到的  $IC_{50}$  值

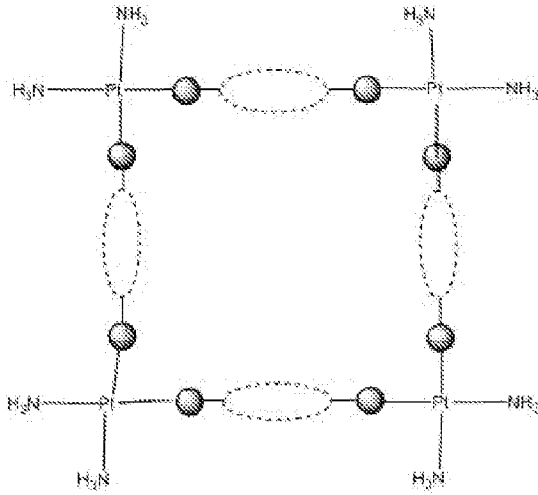
化合物	$IC_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )				
	HeLa	HepG2	MCF-7	A549	A549/cisR
实施例 1 的配合物	$5.9 \pm 1.4$	$7.1 \pm 0.9$	$6.3 \pm 0.5$	$9.1 \pm 1.2$	$6.5 \pm 0.7$
顺铂	$10.7 \pm 3.6$	$14.1 \pm 2.5$	$25.1 \pm 3.4$	$12.5 \pm 1.6$	$64.6 \pm 5.9$

<sup>a</sup> $IC_{50}$  值: 与空白样对照，当细胞的存活率只有 50% 时的配合物浓度。总共做了 3 次平行试验所取得的平均值。

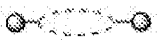
[0018] 由结果可知，所合成的有机杂化四核铂配合物 (I) 表现出很优异的抗肿瘤活性， $IC_{50}$  值比顺铂都要低。值得注意的是，该配合物对耐顺铂的人肺癌细胞的抗肿瘤活性比顺铂提高了 10 倍。

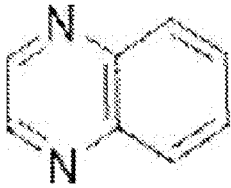
## 权 利 要 求 书

1. 一种具有抗癌活性的有机杂化四核铂配合物，其特征在于结构通式如式 (I) 所示：

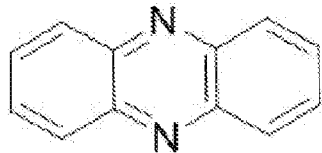


式 (I)

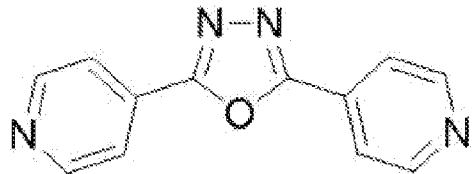
式 (I) 中， 表示同一种桥联配体，该桥联配体为式 (III)、式 (IV)、式 (V) 中的一种；



式 (II)



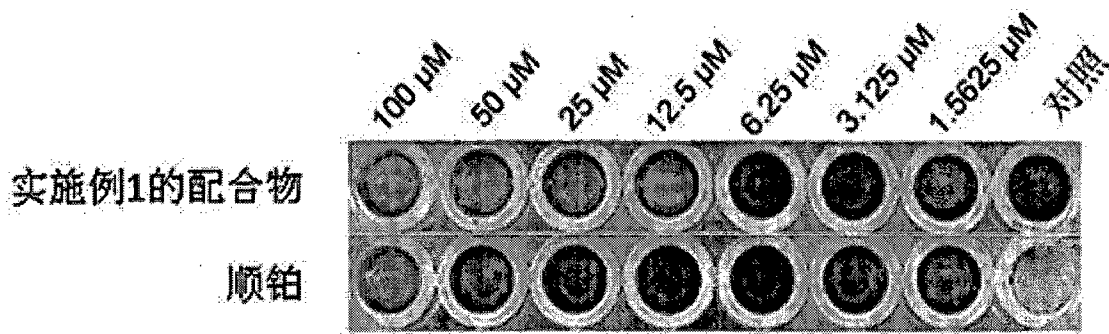
式 (III)



式 (IV)。

2. 如权利要求 1 所述的有机杂化四核铂配合物的制备方法，其特征在于利用超分子自组装将辅基配体与桥联配体组装成四核结构，得到所述的有机杂化四核铂配合物；所述的辅基配体是氯离子被硝酸根取代的顺铂；所述的桥联配体是式 (III)、(IV)、(V) 中的一种。

3. 如权利要求 2 所述的有机杂化四核铂配合物的制备方法，其特征在于反应步骤为：将顺铂进行脱氯，加入所述桥联配体，于 50-100 度避光反应 2-7 天获得所述有机杂化四核铂配合物。
4. 如权利要求 3 所述的有机杂化四核铂配合物的制备方法，其特征在于所述顺铂脱氯过程，是将顺铂溶于适量的水中再加入相当于顺铂两倍摩尔量的硝酸银，在氮气保护下避光反应 15 小时，用低温离心机离心，弃去沉淀，保留清液。
5. 如权利要求 4 所述的有机杂化四核铂配合物的制备方法，其特征在于在所述清液中加入所述桥联配体，顺铂与桥联配体的摩尔比为 1:1~ 1.1:1，反应结束后往反应器中加入无水乙醇得到沉淀，离心去上清，然后再用无水乙醇洗涤 2-3 次，离心得到浅色固体物质，即有机杂化四核铂配合物。
6. 如权利要求 1 所述的有机杂化四核铂配合物的应用，其特征在于用于制备抗肿瘤药物。
7. 如权利要求 6 所述的应用，其特征在于用于制备治疗顺铂耐药性肿瘤药物。
8. 如权利要求 6 或 7 所述的应用，其特征在于所述的药物含有药学上可接受的辅助剂。



【图号】 图 1

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/CN/2012071263

## 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, C07F

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)

CPRS, CTCMPD, CHINESE PHARMACEUTICAL ABSTRACT, CNKI, WPI, EPODOC, STN, platinum complex, cancer, tumor, carcinoma, neoplasm, antineoplastic

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN102250150A (UNIV SUN YAT SEN ), 23 Nov. 2011 (23.11.2011), see claims 1-8	1-8
A	CN101891769A (UNIV HEBEI), 24 Nov. 2010 (24.11.2010), see the whole document	1-8

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>“&amp;” document member of the same patent family</p>
---	---

Date of the actual completion of the international search  
09 Apr. 2012 (09.04.2012)

Date of mailing of the international search report  
26 Apr. 2012 (26.04.2012)

Name and mailing address of the ISA  
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  
CHEN, Yanyan  
Telephone No. (86-10) 62411200

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/CN/2012071263

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN102250150A	23.11.2011	none	
CN101891769A	24.11.2010	none	

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN/2012071263

Continuation of : CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07F15/00(2006.01)i

A61K31/555(2006.01)i

A61P35/00(2006.01)i

<b>A. 主题的分类</b>		
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>B. 检索领域</b>		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
IPC: A61K, A61P, C07F		
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))		
CPRS, 中国药物专利数据库(CTCMPD), CNKI, 中国药学文摘库, WPI, EPODOC, STN; 铂配合物, 肿瘤, 癌, platinum complex, cancer, tumor, carcinoma, neoplasm, antineoplastic		
<b>C. 相关文件</b>		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN102250150A(中山大学) 23. 11 月 2011(23. 11. 2011), 参见权利要求 1-8	1-8
A	CN101891769A(河北大学) 24. 11 月 2010(24. 11. 2010), 参见全文	1-8
<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。		
* 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 09. 4 月 2012(09. 04. 2012)		国际检索报告邮寄日期 <b>26.4 月 2012 (26.04.2012)</b>
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 <p style="text-align: center;"><b>陈晏晏</b></p> 电话号码: (86-10) <b>62411200</b>

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号  
**PCT/CN2012/071263**

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN102250150A	23. 11. 2011	无	
CN101891769A	24. 11. 2010	无	

主题的分类

C07F 15/00(2006.01)i

A61K 31/555(2006.01)i

A61P 35/00(2006.01)i