

# (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  
2009 年 9 月 3 日 (03.09.2009)

PCT

(10) 国际公布号  
WO 2009/105936 A1

## (51) 国际专利分类号:

A61K 31/7034 (2006.01) A61K 31/4412 (2006.01)  
A61K 31/704 (2006.01) A61K 31/13 (2006.01)  
A61K 31/475 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)  
A61K 31/337 (2006.01) A61P 35/02 (2006.01)  
A61K 31/282 (2006.01) A61P 35/04 (2006.01)  
A61K 31/203 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)  
A61K 31/4188 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2008/070373

(22) 国际申请日: 2008 年 2 月 28 日 (28.02.2008)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

## (71) 申请人及

(72) 发明人: 王弢 (WANG, Tao) [CN/CN]; 中国上海市  
景谷东路 99 弄 9 号 1401 室, Shanghai 200240  
(CN)。

## (72) 发明人: 及

(75) 发明人/申请人 (仅对美国): 陈菲 (CHEN, Fei) [CN/  
CN]; 中国上海市景谷东路 99 弄 9 号 1401 室,  
Shanghai 200240 (CN)。 吴一峰 (WU, Yifeng) [CN/  
CN]; 中国上海市景谷东路 99 弄 9 号 1401 室,  
Shanghai 200240 (CN)。

(74) 代理人: 上海专利商标事务所有限公司 (SHANG-  
HAI PATENT & TRADEMARK LAW OFFICE,

LLC); 中国上海市徐汇区桂平路 435 号, Shanghai  
200233 (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, 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, PG, PH, PL, PT,  
RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, 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, LS, MW, MZ, NA,  
SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY,  
KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AT, BE, BG, CH,  
CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE,  
IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE,  
SI, SK, 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: THE USE OF PHENOLIC GLYCOSIDES DERIVATIVES IN THE MANUFACTURE OF COMPOSITIONS FOR  
TREATING CELL PROLIFERATION DISEASES

(54) 发明名称: 苯酚苷衍生物在制备抗细胞增生疾病组合物中的应用

(57) Abstract: The present invention discloses the use of phenolic glycosides derivatives in the manufacture of compositions for  
preventing or treating abnormal cell proliferation diseases. The phenolic glycosides derivatives can be administrated alone or com-  
bined with eachother, and can be combined with alternative medicaments for inhibiting abnormal cell proliferation to enhance  
the therapeutic efficacy.

## (57) 摘要:

本发明公开了一类苯酚苷类衍生物的用途, 用于制备预防或治疗细胞异常  
增生性疾病的组合物。所述的苯酚苷衍生物既可作为抗细胞异常增生性药物  
单独或数种联合应用, 又可联合其它抗异常细胞增生性药物以增强药物药  
效。

WO 2009/105936 A1

## 苯酚苷衍生物在制备抗细胞增生疾病组合物中的应用

### 技术领域

本发明属于医药领域；涉及一类苯酚苷衍生物的用途，该类衍生物可单独或  
5 联合其它药物用于防治细胞异常增生性疾病。

### 技术背景

细胞异常增生性疾病是指在病理条件下细胞正常增殖、分化和死亡过程紊乱，  
导致细胞数目异常增加后引起的疾病，主要包括癌前病变 (precancerous  
10 lesions)、肿瘤 (恶性肿瘤或良性肿瘤)、骨髓增生性疾病 (myeloproliferative  
disorders, MDS)、先天性痣 (Congenital Nevi) 和神经纤维瘤病  
(neurofibromatosis) 等多种类型。其中，先天性痣、神经纤维瘤等属于良性肿瘤，  
但存在较大的恶性病变几率，治疗上也可被包括在癌前病变的范围。

癌症 (恶性肿瘤) 发生率近年来持续上升。尽管已有多种抗癌药物用于临床治  
15 疗，可大多数药物只能使病情缓解，多数肿瘤尤其是实体瘤的化疗效果十分有限。  
近年来，各国都在抗癌药物的研究与发展上投入了大量人力、物力，希望能有更多  
抗癌药物应用于临床。

从正常细胞发展成恶性肿瘤，大多经历“癌前病变”阶段。“癌前病变”是指  
体细胞由于致癌因素的持续作用，在遗传物质 DNA 不断损伤和修复过程中细胞核及  
20 染色体出现畸型，且反映到细胞形态的改变上，这也是病理医生在切片上常看到的  
细胞病变之一。“癌前病变”可发生于不同部位，包括管上皮重度增生、胃粘膜不  
典型增生、肠化生和萎缩性胃炎，慢性肝炎和肝硬化、慢性宫颈炎、纤维囊性乳  
腺病、结肠多发性息肉、支气管上皮增生和化生、粘膜白斑如口腔、宫颈和外阴等  
部位、子宫内膜的非典型增生等。“癌前病变”主要特征是细胞极性消失，异型，  
25 据增生程度可分为轻、中、重度，但无间质浸润。“癌前病变”经原位癌到发展成  
侵袭癌一般需要多年，如国外研究认为约 23% 子宫内膜不典型增生 10 年后发展为  
癌，而国内的研究发现子宫内膜不典型增生 10 年内有 82% 会发展为浸润癌。“癌前  
病变”通常是可逆的，如阻断病变进展成浸润癌，就可有效降低恶性肿瘤的发病率  
与死亡率。如临床用  $\beta$ -顺式维甲酸预防头颈部癌病人的第二种原发癌的发生，用  
30 维胺酸治疗口腔白斑、外阴白斑、子宫颈及胃粘膜不典型增生等癌前病变，都取得  
了肯定效果。

骨髓增生异常综合症是一种恶性血液疾病，起源于造血髓系定向干细胞或多

能干细胞的异质性克隆性疾患，主要特征是无效造血和高危演变为急性髓系白血病，临床表现为造血细胞在质和量上出现不同程度的异常变化。该疾病的治疗迫切需要治本的方法而不仅仅是控制症状，但用于治疗 MDS 的药物仅 5-氮杂胞嘧啶 (azacitidine)、来那度胺 (Revlimid) 等少数药物。

5 多数抗异常细胞增生药物都是通过活化线粒体信号通路抑制异常增生细胞增殖和诱导其死亡。线粒体膜通透性转运孔 (mitochondrial permeability transition pore, MPTP) 是线粒体凋亡信号通路的关键调控点。MPTP 包括腺苷酸转位子 (ANT)，己糖激酶 (Hexokinase)、肌酸激酶、电压依赖性离子通道 (VDAC) 和外周苯二氮卓类受体 (peripheral benzodiazepine receptor, mPBR)，当 mPBR  
10 与配体结合，细胞色素 c 释放，激活 caspase-9，再活化 caspase-3，达到诱导细胞凋亡的目的。多项研究还发现 mPBR 在多种肿瘤如肝癌、肺癌、前列腺癌、恶性胶质瘤和胃癌中异常高表达，调节 mPBR 活性可下调肿瘤细胞凋亡阈值。因此，mPBR 配体是一个新的抗肿瘤药物开发的分子靶标。

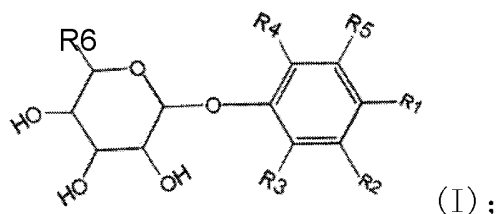
利用中国中草药资源，研究和开发新的治疗或预防细胞增生性疾病的药物是一种有效的新途径。近年来，中药各种有效成分的研究已取得长足进展，已经发现  
15 一些可抑制或杀伤细胞增生性疾病的活性成分。然而，由于中药种类繁多且成分复杂，对于中药中抗癌、预防癌前病变等活性成分仍了解甚少，还需要进一步对中药中有实际功效的成分进行分离和研究，以期找到毒性低、新靶点、多途径抑制或杀伤异常增生细胞的有效中药单体成分。

20

### 发明内容

本发明的目的在于提供一类具有优异的抗细胞异常增生性疾病的化合物，其用途以及组合物。

在本发明的第一方面，提供一种通式 (I) 的化合物或其异构体、外消旋体、前体或药学上可接受的盐的用途，用于制备预防或治疗细胞异常增生性疾病的  
25 组合物；



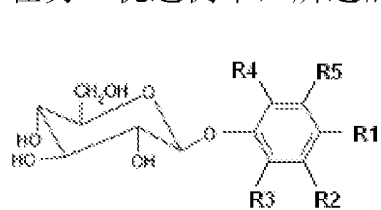
式中，

R1、R2、R3、R4 或 R5 独立地表示氢、羟基、羟甲基、醛基、硝基、丙酰  
30 基、卤素原子、氨基、丙烯酰基、羟亚胺基、C1-C8 烷基、C2-C8 链烯基、

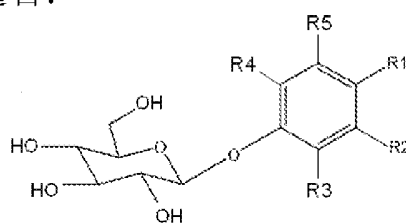
C2-C8 炔基、C3-C8 环烷基、C3-C8 环烯基、C1-C8 烷氧基或 C1-C4 羧基；

R6 表示  $(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ ，其中 n 表示选自 1-3 的正整数。

在另一优选例中，所述的化合物选自：

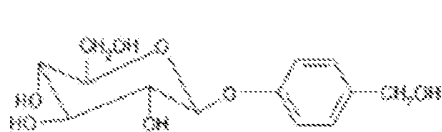


(II); 或

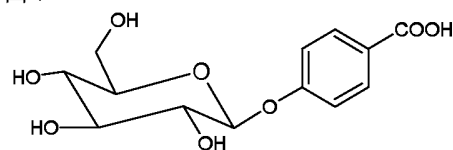


(III)。

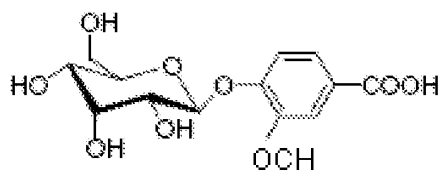
5 在另一优选例中，所述的化合物选自：



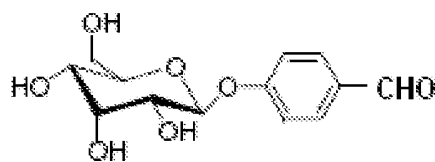
(S1),



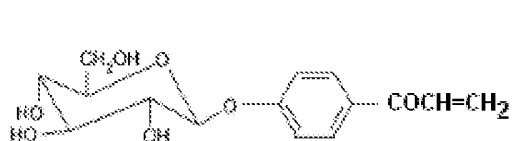
(S2),



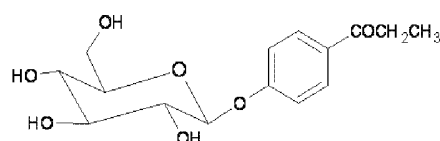
(S3),



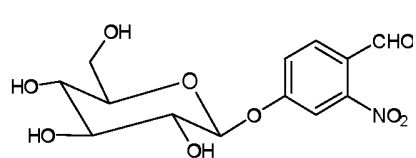
(S4),



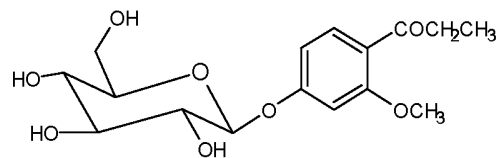
(S5),



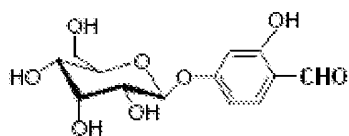
(S6),



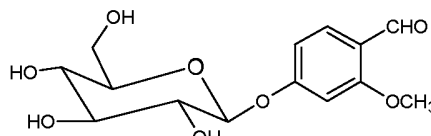
(S7),



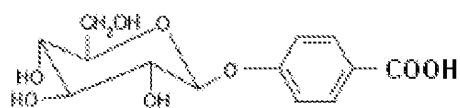
(S8),



(S9),



(S10),



(S11),



(S12), 或



(13)。

在另一优选例中，所述的化合物为 S1-S5。

在另一优选例中，细胞异常增生性疾病选自(但不限于)：肿瘤(恶性肿瘤或良性肿瘤)，骨髓增生性疾病(myeloproliferative disorders, MDS)或癌前病变(precancerous lesions)。

- 5 在另一优选例中，所述的肿瘤选自(但不限于)：非小细胞肺癌，肝癌，脑瘤，白血病，前列腺癌，大肠癌，胰腺癌，骨髓瘤，淋巴瘤，乳腺癌，卵巢癌，胃癌，小细胞肺癌，食管癌，头颈癌或肉瘤。

- 在另一优选例中，所述的癌前病变选自(但不限于)：管上皮重度增生，胃粘膜不典型增生，肠化生，萎缩性胃炎，慢性肝炎，肝硬化，结肠息肉，支气管上皮增生或化生，粘膜白斑(如发生于口腔、宫颈、外阴等部位)，子宫内膜非典型增生，先天性痣或神经纤维瘤。
- 10

- 在另一优选例中，所述的组合物还用于增加选自(但不限于)下组的抗肿瘤药物的药效：阿霉素；长春新碱；长春瑞滨；紫杉醇；顺铂；放线菌素；博来霉素；白消安；卡培他滨；卡铂；卡莫司汀；苯丁酸氮芥；环磷酰胺；阿糖胞苷；柔红霉素；表阿霉素；依托泊甙；足叶乙甙；鬼臼乙叉甙；氟阿糖腺苷酸；氟尿嘧啶；吉西他滨(Gemcitabine)；赫赛汀；羟基脲；伊达比星；异环磷酰胺；依立替康；洛莫司汀；环己亚硝脲；美法仑；左旋苯丙氨酸氮芥；巯基嘌呤；氨甲蝶呤；丝裂霉素；米托蒽醌；二羟基蒽酮；奥沙利铂；丙卡巴肼；甲(基)苄肼；美罗华(Rituxan)；类固醇；链佐星；链脲霉素；泰素帝(Taxotere, 20 多烯紫杉醇)；硫鸟嘌呤；噻替派；硫替派；三胺硫磷；雷替曲塞；拓扑替康；曲奥舒凡；5-氟尿嘧啶；希罗达(Xeloda)；长春碱；长春花碱；长春地辛；长春瑞滨；格列卫；羟基喜树碱；拉帕替尼(Tykerb, lapatinib)；Torisel (temsirolimus)；舒尼替尼(Sunitinib, Sutent)；易瑞沙(Iressa、吉非替尼片)；它赛瓦(Tarceva, 特罗凯)；赫赛汀(Herceptin, Trastuzumab)；阿瓦斯汀(avastin, Bevacizumab)；三氧化二砷；反式维甲酸；万珂(Velcade, 25 bortezomib)；替莫唑胺(Temodar)；爱必妥(Erbitux, cetuximab)；大沙替尼(dasatinib, Sprycel)；索拉非尼(sorafenib, Nexavar)；帕尼单抗(Vectibix, panitumumab)；替吉奥(TS-1)；Ixempra (ixabepilone)；或它们的衍生物或混合物；或

- 30 所述的组合物还用于增加选自(但不限于)下组的抗骨髓增生性疾病药物的药效：阿扎胞苷(5-氮杂胞啶, azacitidine)；地西他滨(Decitabine)；吗替麦考酚酯(Mycophenolate Mofetil)；环孢菌素 A(cyclosporine A)；洛那

法尼(Lonafarnib); 替比伐尼(Tipifarnib); 三氧化二砷; 来那度胺(Lenalidomide/Revlimid); 沙利度胺(thalidomide); 或它们的衍生物或混合物; 或

所述的组合物还用于增加选自(但不限于)下组的抗癌前病变药物的药效:

- 5  $\beta$ -顺式维甲酸; 维胺酸; 非甾醇类抗炎药; 或它们的衍生物或混合物。

在另一优选例中, 所述的抗肿瘤药物选自: 顺铂(CDDP), 多烯紫杉醇(DXT), 替莫唑胺, 索拉非尼, 环孢霉素 A(CsA), 阿霉素(ADR), 长春瑞滨(VNB), 反式维甲酸(ATRA)。

- 10 在本发明的第二方面, 提供一种预防或治疗细胞异常增生性疾病的组合物, 所述的组合物含有:

(a) 有效量的通式(I)所示的至少一种化合物或其异构体、外消旋体、前体或药学上可接受的盐;

(b) 有效量的抗细胞异常增生性疾病的药物; 和

- 15 (c) 药学上可接受的载体。

在另一优选例中, 所述的抗细胞异常增生性疾病的药物选自(但不限于): 阿霉素; 长春新碱; 长春瑞滨; 紫杉醇; 顺铂; 放线菌素; 博来霉素; 白消安; 卡培他滨; 卡铂; 卡莫司汀; 苯丁酸氮芥; 环磷酰胺; 阿糖胞苷; 柔红霉素; 表阿霉素; 依托泊甙; 足叶乙甙; 鬼臼乙叉甙; 氟阿糖腺苷酸; 氟尿嘧啶; 吉  
20 西他滨(Gemcitabine); 赫赛汀; 羟基脲; 伊达比星; 异环磷酰胺; 依立替康; 洛莫司汀; 环己亚硝脲; 美法仑; 左旋苯丙氨酸氮芥; 巯基嘌呤; 氨甲蝶呤; 丝裂霉素; 米托蒽醌; 二羟基蒽酮; 奥沙利铂; 丙卡巴肼; 甲(基)苄肼; 美罗华(Rituxan); 类固醇; 链佐星; 链脲霉素; 泰素帝(Taxotere, 多烯紫杉醇); 硫鸟嘌呤; 噻替哌; 硫替哌; 三胺硫磷; 雷替曲塞; 拓扑替康; 曲奥舒凡; 5-  
25 氟尿嘧啶; 希罗达(Xeloda); 长春碱; 长春花碱; 长春地辛; 长春瑞滨; 格列卫; 羟基喜树碱; 拉帕替尼(Tykerb, lapatinib); Torisel (temsirolimus); 舒尼替尼(Sunitinib, Sutent); 易瑞沙(Iressa、吉非替尼片); 它赛瓦(Tarceva, 特罗凯); 赫赛汀(Herceptin, Trastuzumab); 阿瓦斯汀(avastin, Bevacizumab); 三氧化二砷; 反式维甲酸; 万珂(Velcade, bortezomib); 替  
30 莫唑胺(Temodar); 爱必妥(Erbix, cetuximab); 大沙替尼(dasatinib, Sprycel); 索拉非尼(sorafenib, Nexavar); 帕尼单抗(Vectibix, panitumumab); 替吉奥(TS-1); Ixempra (ixabepilone); 阿扎胞苷(5-氮杂胞

啟, azacitidine); 地西他宾 (Decitabine); 吗替麦考酚酯 (Mycophenolate Mofetil); 环孢菌素 A (cyclosporine A); 洛那法尼 (Lonafarnib); 替比伐尼 (Tipifarnib); 三氧化二砷; 来那度胺 (Lenalidomide/Revlimid); 沙利度胺 (thalidomide);  $\beta$ -顺式维甲酸; 维胺酸; 非甾醇类抗炎药; 或它们的衍生物或混合物。

在本发明的第三方面, 提供一种抗异常细胞增生的方法, 所述方法包括: 给予需要抑制细胞增生的对象有效量的通式 (I) 所示的化合物或其异构体、外消旋体、前体或药学上可接受的盐。

在另一优选例中, 所述的方法在体外进行 (如非治疗性的)。

在另一优选例中, 所述方法还包括: 给予需要抑制细胞增生的对象有效量的选自 (但不限于) 下组的抗细胞异常增生性疾病的药物: 阿霉素; 长春新碱; 长春瑞滨; 紫杉醇; 顺铂; 放线菌素; 博来霉素; 白消安; 卡培他滨; 卡铂; 卡莫司汀; 苯丁酸氮芥; 环磷酰胺; 阿糖胞苷; 柔红霉素; 表阿霉素; 依托泊甙; 足叶乙甙; 鬼臼乙叉甙; 氟阿糖腺苷酸; 氟尿嘧啶; 吉西他滨 (Gemcitabine); 赫赛汀; 羟基脲; 伊达比星; 异环磷酰胺; 依立替康; 洛莫司汀; 环己亚硝脲; 美法仑; 左旋苯丙氨酸氮芥; 巯基嘌呤; 氮甲蝶呤; 丝裂霉素; 米托蒽醌; 二羟基蒽酮; 奥沙利铂; 丙卡巴肼; 甲 (基) 苄肼; 美罗华 (Rituxan); 类固醇; 链佐星; 链脲霉素; 泰素帝 (Taxotere, 多烯紫杉醇); 硫鸟嘌呤; 噻替派; 硫替派; 三胺硫磷; 雷替曲塞; 拓扑替康; 曲奥舒凡; 5-氟尿嘧啶; 希罗达 (Xeloda); 长春碱; 长春花碱; 长春地辛; 长春瑞滨; 格列卫; 羟基喜树碱; 拉帕替尼 (Tykerb, lapatinib); Torisel (temsirolimus); 舒尼替尼 (Sunitinib, Sutent); 易瑞沙 (Iressa、吉非替尼片); 它赛瓦 (Tarceva, 特罗凯); 赫赛汀 (Herceptin, Trastuzumab); 阿瓦斯汀 (avastin, Bevacizumab); 三氧化二砷; 反式维甲酸; 万珂 (Velcade, bortezomib); 替莫唑胺 (Temodar); 爱必妥 (Erbix, cetuximab); 大沙替尼 (dasatinib, Sprycel); 索拉非尼 (sorafenib, Nexavar); 帕尼单抗 (Vectibix, panitumumab); 替吉奥 (TS-1); Ixempra (ixabepilone); 阿扎胞苷 (5-氮杂胞啟, azacitidine); 地西他宾 (Decitabine); 吗替麦考酚酯 (Mycophenolate Mofetil); 环孢菌素 A (cyclosporine A); 洛那法尼 (Lonafarnib); 替比伐尼 (Tipifarnib); 三氧化二砷; 来那度胺 (Lenalidomide/Revlimid); 沙利度胺 (thalidomide);  $\beta$ -顺式维甲酸; 维胺酸; 非甾醇类抗炎药; 或它们的衍生物或混合物。

在另一优选例中, 当给予对象为哺乳动物时, 所述化合物的施用剂量为

0.1-500mg/kg体重(更优选的为1-200 mg/kg体重;进一步优选的为1-100 mg/kg体重)。

### 附图说明

5 图 1 显示了苯酚苷衍生物 S1-S5 对人恶性神经胶质瘤细胞 U87-MG 的增殖抑制作用。

图 2 显示了苯酚苷衍生物 S2-S5 与其它抗肿瘤药物联合使用诱导线粒体通路细胞死亡。其中图 2A 显示 S2 50 $\mu$ g/ml 浓度单药及与阿霉素(ADR)1 $\mu$ g/ml 浓度联合应用后诱导人肝癌 HuH-7 细胞线粒体膜电位下降及死亡。图 2B 显示 S3  
10 80 $\mu$ g/ml 浓度单药及与顺铂(CDDP)50 $\mu$ g/ml 联合应用后诱导人前列腺癌 Du-145 细胞线粒体膜电位下降及死亡。图 2C 显示 S4 50 $\mu$ g/ml 浓度单药及与长春瑞滨(VNB)联合应用使人非小细胞肺癌 H1299 细胞线粒体膜电位下降及死亡。图 2D 显示 S5 40 $\mu$ g/ml 浓度单药及与全反式维甲酸(ATRA)联合应用使人早幼粒白血病细胞 NB4 细胞线粒体膜电位下降及死亡。

15 图 3 显示了苯酚苷衍生物 S1 抑制  $^3\text{H}$ -PK11195 与 mPBR 的结合。

图 4 显示了苯酚苷衍生物 S1 单独具有一定程度抑制 Huh-7 人肝癌异种移植瘤生长作用,与顺铂(CDDP)联合使用时,抑瘤效果比单药作用显著。

图 5 显示了苯酚苷类衍生物 S2 单独以及与多烯紫杉醇(DXT)联合抑制 SPC-A-1 人非小细胞肺癌异种移植瘤生长。

20 图 6 显示了苯酚苷衍生物 S3 单独以及与替莫唑胺(TMZ)联合应用抑制 U87-MG 人恶性胶质瘤异种移植瘤生长。

图 7 显示了苯酚苷衍生物 S4 单独以及与顺铂(CDDP)联合应用抑制 SPC-A-1 人非小细胞肺癌异种移植瘤生长。

25 图 8 显示了苯酚苷衍生物 S5 单独以及与索拉非尼联合抑制 Be1-7402 人肝癌异种移植瘤生长。

图 9 显示了苯酚苷衍生物 S1-S5 单独以及与环孢菌素 A(CsA)联合应用诱导新鲜 MDS 细胞死亡。

### 具体实施方式

30 本发明人经过广泛而深入的研究,出乎意料地发现一类苯酚苷衍生物对于预防或治疗细胞增生性疾病具有良好的效果,并且,所述苯酚苷衍生物还可显



著提高许多其它细胞增生性疾病防治药物的药效。

本文所用的术语“烷基”指饱和的、直链或支链的脂族烃类基团(较佳地 1-8 个碳原子, 更佳的 1-4 个)。例如, 烷基包括但不限于甲基, 乙基, 正丙基, 5 异丙基, 正丁基, 异丁基, 叔丁基。

本文所用的术语“烯基”指含有至少一个碳碳双键和至少 2 个碳原子(较佳地 2-8 个碳原子, 更佳的 2-4 个)的直链或支链烃基。

本文所用的术语“炔基”指含有至少一个碳碳三键和至少 2 个碳原子(较佳地 2-8 个碳原子, 更佳的 2-4 个)的直链和支链烃基。

10 本文所用的术语“卤素”指 F、Cl、Br 或 I, 特别是 F、Cl 或 Br。

本文所用的术语“烷氧基”指的是含氧的上述烷基, 例如甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基等。

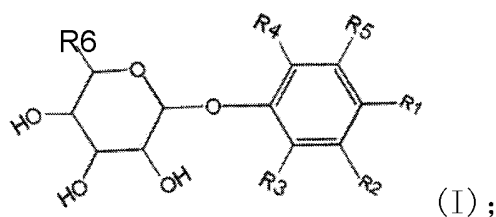
本文所用的术语“环烷基”指的是指具有 3 至 8 个碳原子的环烷基团, 如环丙基、环戊基、环己基和环庚基等。

15 本文所用的术语“环烯基”的定义如“环烷基”, 且含有至少一个不饱和的碳碳双键。

本文所用的术语“异构体”包括: 构象异构体, 光学异构体(如对映异构体和非对映异构体), 几何异构体(如顺反异构体)。

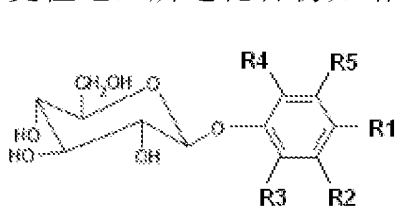
## 20 化合物

本发明首先提供了一种如结构式(I)所示的化合物:

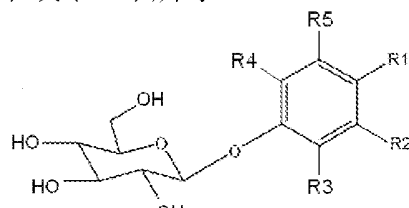


其中 R1、R2、R3、R4、R5 或 R6 的定义同权利要求 1。

更佳地, 所述化合物如结构式(II)或(III)所示:

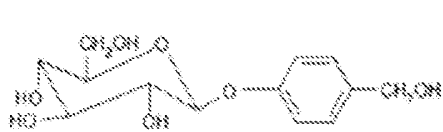


(II);

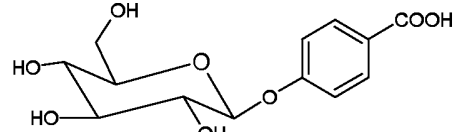


(III)。

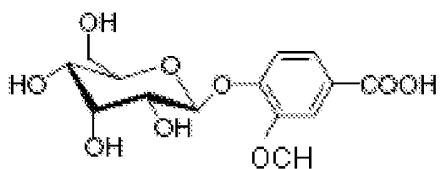
作为本发明的优选方式，所述的化合物选自：



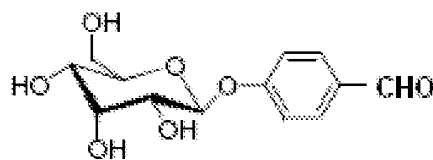
(S1),



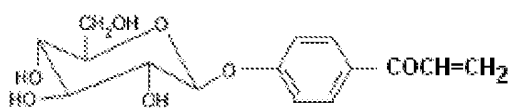
(S2),



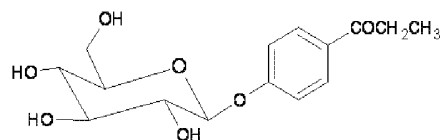
(S3),



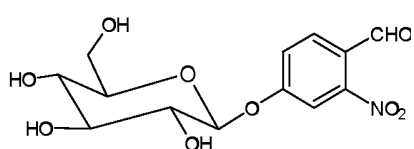
(S4),



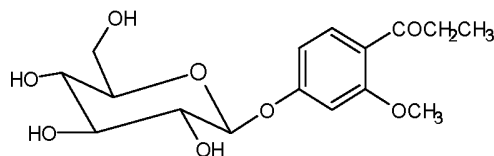
(S5),



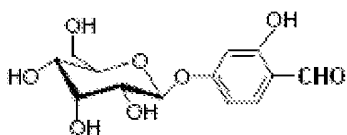
(S6),



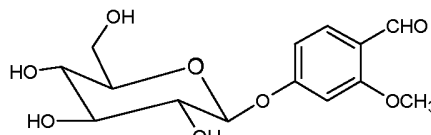
(S7),



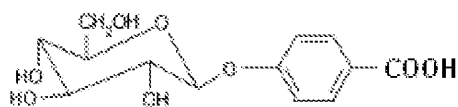
(S8),



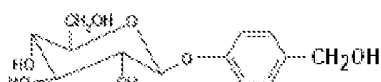
(S9),



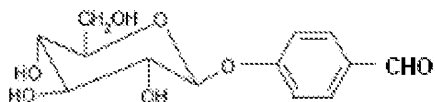
(S10),



(S11),



(S12), 或



(13)。

本发明还包括上述化合物的异构体、外消旋体、药学上可接受的盐、水合物或前体。

所述的“药学上可接受的盐”是指式(I)化合物与无机酸、有机酸、碱金属或碱土金属等反应生成的盐。这些盐包括(但不限于)：(1)与如下无机酸形

成的盐：如盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、硝酸、磷酸；(2)与如下有机酸形成的盐，如乙酸、乳酸、柠檬酸、琥珀酸、延胡索酸、葡萄糖酸、安息香酸、马来酸、或精氨酸。其它的盐包括与碱金属或碱土金属(如钠、钾、钙或镁)形成的盐，铵盐或水溶性的胺盐(如N-甲基葡萄糖胺盐)、低级的烷醇铵盐以及其它  
5 药学上可接受的胺盐(比如甲胺盐、乙胺盐、丙胺盐、二甲基胺盐)，或其它常规的“前体药物”的形式。化合物具有一个或多个不对称中心。所以，这些化合物可以作为外消旋的混合物、单独的对映异构体、单独的非对映异构体、非对映异构体混合物、顺式或反式异构体存在。

所述的“化合物的前体”指当用适当的方法服用后，该化合物的前体在病  
10 人体内进行代谢或化学反应而转变成结构式(I)的化合物，或化学结构式(I)的一个化合物所组成的盐或溶液。

含有本发明的化合物作为活性成分的药物提取物也被包含在本发明中。

在得知了本发明化合物的结构以后，可通过多种本领域熟知的方法、利用公知的原料，来获得本发明的化合物，比如化学合成或从植物中提取的方法，  
15 这些方法均包含在本发明中。除非另外说明或提供制备方法，制备本发明的化合物或其中间体所用的原料均是本领域已知或可通过商购获得的。

例如，苯酚苷衍生物 S1 可从中药天麻(*Gastrodia elata*)中通过化学提取方法获得。苯酚苷衍生物 S2 和 S3 可从中药土槿皮(*Pseudolarix kaempferi*)中通过化学提取法获得。苯酚苷衍生物 S4 可从山龙眼属植物(*Helicia Lour.*)  
20 中通过化学提取方法获得。苯酚苷衍生物 S5 可用化学合成结合微生物转化方法获得。

应理解，在得到了部分本发明的苯酚苷衍生物后，可通过常规的方法(如化学合成，基团取代)来制备其它一部分本发明的苯酚苷衍生物。

## 25 用途

基于本发明的新发现，本发明提供了式(I)所示的化合物或其异构体、外消旋体、前体或药学上可接受的盐的用途，用于制备预防或治疗细胞异常增生性疾病的组合物。

本发明所述的苯酚苷衍生物的作用机制是：通过作用于线粒体苯二氮卓类  
30 (mPBR)受体，降低线粒体膜电位，增加线粒体膜通透性，降低细胞死亡阈值。因此，其具有广谱的抗细胞异常增生性疾病的活性。

所述的细胞异常增生性疾病包括但不限于：肿瘤(恶性肿瘤或良性肿瘤)，骨髓增生性疾病或癌前病变。

所述的苯酚苷衍生物对于广谱的肿瘤均有作用，所述肿瘤的一些实例是(但不限于)：非小细胞肺癌，肝癌，脑瘤，白血病，前列腺癌，大肠癌，胰腺癌，骨髓瘤，淋巴瘤，乳腺癌，卵巢癌，胃癌，小细胞肺癌，食管癌，头颈癌或肉瘤。

所述的苯酚苷衍生物对于广谱的癌前病变均有作用，癌前病变的一些实例是(但不限于)：管上皮重度增生，胃粘膜不典型增生，肠化生，萎缩性胃炎，慢性肝炎，肝硬化，结肠息肉，支气管上皮增生或化生，粘膜白斑(如发生于口腔、宫颈、外阴等部位)，子宫内膜非典型增生，先天性痣或神经纤维瘤。

并且，本发明人还出乎意料地发现，所述的苯酚苷衍生物还可用于增加许多抗肿瘤药物、抗骨髓增生性疾病药物、抗癌前病变药物的药效，因而可作为增敏剂或增效剂。

因此，本发明的苯酚苷衍生物可以单独应用，也可以和其它肿瘤治疗药物，肿瘤治疗方法联合应用。所述的肿瘤治疗方法例如：手术、化疗、放疗、生物疗法。

### 组合物

本发明还包括一种药物组合物，它含有本发明的式(I)苯酚苷衍生物作为活性成分以及一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂(如溶剂、稀释剂)。可用于本发明的药学上可接受的载体包括各种常规的固态载体和液体载体。例如，固态载体包括：淀粉、乳糖、磷酸氢钙、微晶纤维素等，而液态载体包括：无菌水、聚乙二醇等，只要适合活性成分的特性和所需的特定给药方式。

本发明的药物组合物可以制成各种常规形式，例如：片剂、胶囊、可分散的粉末、颗粒或悬浮液、糖浆(含有如约 10-50%糖)、和酞剂(含有约 20-50%乙醇)，或者以无菌可注射溶液或悬浮液形式(在等渗介质中含有约 0.05-5%悬浮剂)进行非肠胃给药。例如，这些药物制剂可含有与载体混合的约 0.01-99.9wt%，较佳地 2.5-90wt%，更佳地 5-60wt%的苯酚苷衍生物。

另一优选的药物组合物还同时含有其它抗细胞异常增生性药物，所述的其它抗细胞异常增生性药物例如：

选自(但不限于)下组的抗肿瘤药物：阿霉素；长春新碱；长春瑞滨；紫杉

醇；顺铂；放线菌素；博来霉素；白消安；卡培他滨；卡铂；卡莫司汀；苯丁酸氮芥；环磷酰胺；阿糖胞苷；柔红霉素；表阿霉素；依托泊甙；足叶乙甙；鬼臼乙叉甙；氟阿糖腺苷酸；氟尿嘧啶；吉西他滨(Gemcitabine)；赫赛汀；羟基脲；伊达比星；异环磷酰胺；依立替康；洛莫司汀；环己亚硝脲；美法仑；  
5 左旋苯丙氨酸氮芥；巯基嘌呤；氨甲蝶呤；丝裂霉素；米托蒽醌；二羟基蒽酮；奥沙利铂；丙卡巴肼；甲(基)苄肼；美罗华(Rituxan)；类固醇；链佐星；链脲霉素；泰素帝(Taxotere, 多烯紫杉醇)；硫鸟嘌呤；噻替哌；硫替哌；三胺硫磷；雷替曲塞；拓扑替康；曲奥舒凡；5-氟尿嘧啶；希罗达(Xeloda)；长春碱；长春花碱；长春地辛；长春瑞宾；格列卫；羟基喜树碱；拉帕替尼(Tykerb,  
10 lapatinib)；Torisel (temsirolimus)；舒尼替尼(Sunitinib, Sutent)；易瑞沙(Iressa、吉非替尼片)；它赛瓦(Tarceva, 特罗凯)；赫赛汀(Herceptin, Trastuzumab)；阿瓦斯汀(avastin, Bevacizumab)；三氧化二砷；反式维甲酸；万珂(Velcade, bortezomib)；替莫唑胺(Temodar)；爱必妥(Erbitux, cetuximab)；大沙替尼(dasatinib、Sprycel)；索拉非尼(sorafenib, Nexavar)；  
15 帕尼单抗(Vectibix, panitumumab)；替吉奥(TS-1)；Ixempra (ixabepilone)；或它们的衍生物或混合物；

选自(但不限于)下组的抗骨髓增生性疾病药物：阿扎胞苷(5-氮杂胞嘧啶, azacitidine)；地西他滨(Decitabine)；吗替麦考酚酯(Mycophenolate Mofetil)；环孢菌素 A(cyclosporine A)；洛那法尼(Lonafarnib)；替比伐尼  
20 (Tipifarnib)；三氧化二砷；来那度胺(Lenalidomide/Revlimid)；沙利度胺(thalidomide)；或它们的衍生物或混合物；

选自(但不限于)下组的抗癌前病变药物的药效： $\beta$ -顺式维甲酸；维胺酸；非甾醇类抗炎药；或它们的衍生物或混合物。

所述的组合物可以含有(a)0.01-99wt%(较佳地 0.1-90wt%)的苯酚苷衍生物；  
25 物；(b)0.01-99wt%(较佳地 0.1-90wt%)的抗细胞异常增生性药物；和(c)药学上可接受的载体。通常，组分(a)与组分(b)的重量比为1:100~100:1，更佳地为10:1~1:10。药物组合物还可含有其它添加剂如抗色素、防腐剂和抗氧化剂等。

所用的活性成分的有效剂量可随给药方案和待治疗的疾病的严重程度而变化。然而，通常当苯酚苷类衍生物每天以约0.1-500mg/kg 体重(较佳地1-200  
30 mg/kg 体重；更佳地1-100mg/kg 体重)的剂量给予时，能得到令人满意的效果，

较佳地以 1-3 次分开的剂量给予，或以缓释形式给药。

### 治疗方法

本发明还提供了一种治疗方法，它包括步骤：给需要治疗的对象（如哺乳  
5 动物，或细胞）施用安全有效量的苯酚苷衍生物。较佳地，该方法还包括步骤：  
同时联用其它药物或其它治疗手段（如放疗）。

单用或联用苯酚苷衍生物可治疗各种不同的细胞异常增生性疾病，尤其是癌  
前病变或肿瘤，代表性的例子包括（但并不限于）：肺癌、肝癌、脑瘤、胰腺癌、白  
血病、前列腺癌、胃癌、食管癌、肠癌、骨髓瘤、淋巴瘤、乳腺癌、卵巢癌、结肠  
10 癌、肉瘤等及其癌前病变包括管上皮重度增生，胃粘膜不典型增生、肠化生和萎缩  
性胃炎，慢性肝炎和肝硬化，结肠息肉，支气管上皮增生和化生、粘膜白斑如口腔、  
宫颈和外阴等部位、子宫内膜的非典型增生等，MDS 和先天性痣。

苯酚苷衍生物的给药方式没有特别限制。可通过口服以及静脉内、肌内、  
局部、瘤内、瘤周或皮下等途径给药。优选方式是口服、静脉内、瘤内给药。  
15

**本发明的主要优点在于：**本发明所述的苯酚苷衍生物广谱抑制细胞异常增  
长，且具有靶向性，联合其它药物可显著增强抗细胞异常增生的药物药效。

下面结合具体实施例对本发明进行进一步描述：应理解，这些实施例仅用  
20 于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实  
验方法，通常按照常规条件，或按照制造厂商所建议的条件。

### 实施例 1. 部分苯酚苷衍生物及其制备

苯酚苷衍生物 1 (S1)：从中药天麻 (*Gastrodia elata*) 中通过化学提取方法获  
25 得，具体方法参照文献 *Journal of Separation Science*, 2007, 30(13), 2130-2137;  
中草药, 2006, 37(11), 1635-1637, 或通过化学方法合成，具体参照药学报，  
2006, 41(10), 963-966。

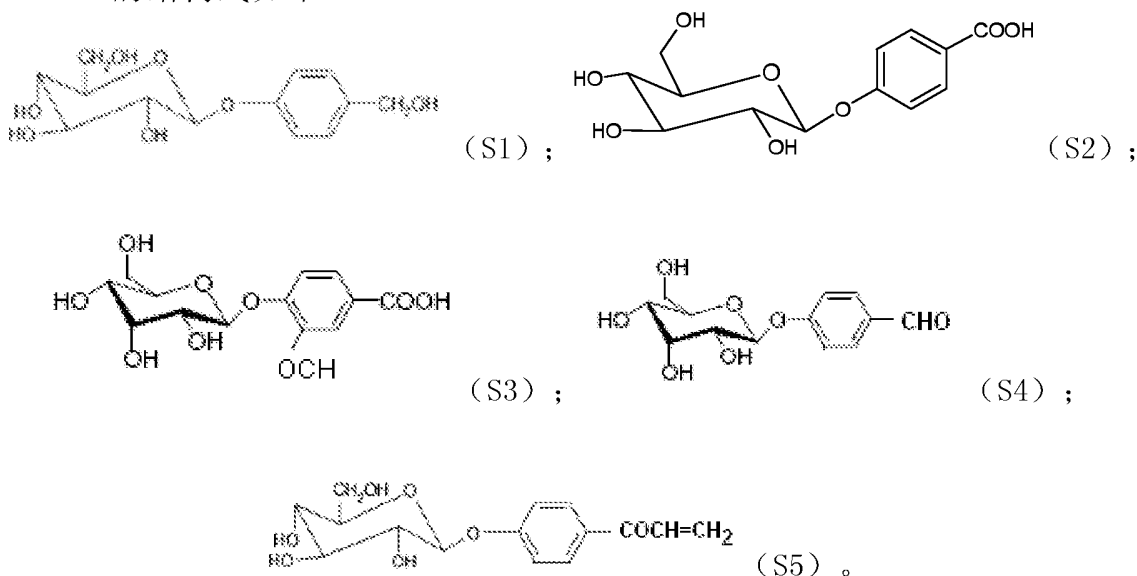
苯酚苷衍生物 2 (S2)：从南天竹 (*Nandina domestica* Thunb) 植物中按日  
本特许公报 P2006-176420 方法制得。

30 苯酚苷衍生物 3 (S3)：从中药土槿皮 (*Pseudolarix kaempferi*) 中通过化学  
提取法获得，具体方法参照文献 *Phytochemistry* 2006; 67:1395-1398。

苯酚苷衍生物 4(S4) 从山龙眼属植物(Helicia Lour.) 中通过化学提取方法获得, 具体方法参照文献《中草药》, 2004, 35(5): 593-595。

苯酚苷衍生物 5(S5) 的丙烯酰基结构如文献 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 16 (2006) 592-595 所述可以用实验室常规合成方法获得, 然后再经过常规的化学合成方法进行糖基化修饰, 或如文献 Journal of integrative Plant Biology 2007, 49(2):207-212 所述方法用微生物系统转化获得 S5。

S1-S5 的结构式如下:



以上述的苯酚苷衍生物作为实例, 用于后续的试验及说明。以下实施例中所述化合物仅为方便说明实验结果, 不限制该类其它化合物在预防和/或治疗异常细胞增生性疾病中的作用。

## 实施例 2. 苯酚苷衍生物抑制体外培养的肿瘤细胞增殖

胰酶消化对数生长期人神经胶质瘤细胞 U87-MG 细胞(购自 ATCC), 离心去除胰酶, 再用含 10%胎牛血清的 DMEM 或 RPMI1640 重悬, 经细胞计数调节其密度达到  $4 \times 10^4$  细胞/ml, 分别将此细胞悬液接种于 96 孔板中。贴壁细胞培养过夜, S1-S5 每种药剂(溶于二甲基亚砜)的每个浓度设 4 个平行复孔, 每孔终体积  $200 \mu\text{l}$ , 于  $37^\circ\text{C}$ 、饱和湿度、5%  $\text{CO}_2$  的细胞培养箱中培养 72 小时。每孔加  $20 \mu\text{l}$  浓度为  $5\text{mg/ml}$  的 MTT 溶液, 继续培养 4 小时, 弃去培养液, 每孔加  $100 \mu\text{l}$  二甲基亚砜(MTT), 放置 30 分钟使 MTT 结晶溶解, 然后在  $490\text{nm}$  波长的酶

标仪检测。

苯酚苷衍生物 S1-S5 对 U87-MG 细胞的增殖抑制作用如图 1 所示, S1-S5 均有良好的抑制效果, 其中 S5 抑制效果最优。

### 5 实施例 3. 苯酚苷衍生物与抗肿瘤药联合使用诱导线粒体通路细胞死亡

取对数生长期人早幼粒白血病细胞 NB4(购自 ATCC)、人非小细胞肺癌细胞 H1299(购自 ATCC), 人前列腺癌细胞 Du145(购自 ATCC) 和人肝癌 HuH-7 细胞(购自中科院上海生命科学院细胞库), 经细胞计数调节其密度达到  $2 \times 10^5$  细胞/ml, 分别将此细胞悬液接种于 6 孔板中, 分别加入不同浓度梯度的溶剂(PBS)、苯酚苷衍生物、抗肿瘤药及两者的联合用药, 每个药剂组的每个浓度设三个平行复孔, 每孔终体积 2ml, 不足部分加以培养基补足, 于 37℃、饱和湿度、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中培养 48 小时, H1299、Du-145 及 HuH-7 细胞用胰酶消化后用冰预冷的 PBS 洗细胞两次, NB4 细胞不用胰酶消化, 直接离心去培养液, 然后将细胞悬浮在 PBS 中, 加入终浓度为 25  $\mu$ g/ml PI 和 5  $\mu$ g/ml Rh123, 室温避光  
15 孵育 15 min, 流式细胞仪检测。

苯酚苷衍生物 S2-S5 与其它抗肿瘤药物联合应用于抑制细胞的流式细胞检测结果如图 2 所示。图 2A 显示 S2 50 $\mu$ g/ml 浓度单药及与阿霉素(ADR) 1 $\mu$ g/ml 浓度联合应用后诱导人肝癌 HuH-7 细胞线粒体膜电位下降及死亡。图 2B 显示 S3 80 $\mu$ g/ml 浓度单药及与顺铂(CDDP) 50 $\mu$ g/ml 联合应用后诱导人前列腺癌  
20 Du-145 细胞线粒体膜电位下降及死亡。图 2C 显示 S4 50 $\mu$ g/ml 浓度单药及与长春瑞滨(VNB)联合应用使人非小细胞肺癌 H1299 细胞线粒体膜电位下降及死亡。图 2D 显示 S5 40 $\mu$ g/ml 浓度单药及与全反式维甲酸(ATRA)联合应用使早幼粒白血病细胞 NB4 细胞线粒体膜电位下降及死亡。上述结果显示: 苯酚苷衍生物如 S2-S5 等化合物均可诱导线粒体膜电位下降, 说明线粒体膜蛋白复合体 MPTP 介  
25 导的线粒体膜通透性改变是细胞死亡或对其它药物更加敏感的主要原因。

### 实施例 4. 苯酚苷衍生物抑制 <sup>3</sup>H-PK11195 与 mPBR 的结合

PK11195 是线粒体 PBR(mPBR)的已知配体, 应用放射性配体结合试验评估苯酚苷类衍生物是否与 mPBR 结合。应用线粒体提取试剂盒(北京宝赛生物技术  
30 有限公司)按说明书从 Wistar 大鼠心脏组织提取线粒体, S1 化合物分别以 0, 0.01, 0.1, 0.5, 1, 5 和 10  $\mu$ M 浓度和 0.3 nM <sup>3</sup>H-PK11195 混合于 50 mM



Tris-HCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.5 溶液中, 30min 后检测放射强度。根据相对结合的方式强度作拟合曲线, 得 S1 的 IC<sub>50</sub> 为 152.77nM。

图 3 结果显示苯酚苷衍生物能竞争性抑制 <sup>3</sup>H-PK11195 与 mPBR 的结合, 说明苯酚苷衍生物是类似于 PK11195 的 mPBR 配体。因此, 苯酚苷衍生物通过直接作用于 mPBR 导致线粒体 MPTP 孔开放, 改变膜通透性引起细胞死亡或更易于死亡。

### 实施例 5. 苯酚苷衍生物单独以及与顺铂(CDDP)联合应用抑制 Huh-7 人肝癌裸鼠移植瘤生长

取对数生长期的 Huh-7 细胞, 计数后用适量无血清 DMEM 培养液制成单细胞悬液, 细胞浓度达到  $1.5 \times 10^7$ /ml。在每只裸鼠右侧腋部皮下接种 0.2 ml 细胞悬液, 即  $3 \times 10^6$  细胞/鼠, 待瘤体约 100-300 mm<sup>3</sup> 随机分组, 每组包括 6 只动物。S1 组分高、低剂量组, 每周 5 次分别口服 50mg/kg 或 100mg/kg 的 S1 溶液(溶剂为水), 并每周腹腔注射 1 次 CDDP 的溶剂; CDDP 组每周 1 次腹腔注射 CDDP 5mg/kg(溶剂为生理盐水), 对照组腹腔注射等量体积的 CDDP 溶剂以及口服等量 S1 的溶剂, 持续给药至对照组瘤体出现坏死时实验结束, 实验结果以每组肿瘤体积的平均数来表示。

结果如图 4 所示, 可见苯酚苷衍生物单独以及与顺铂联合应用可抑制 Huh-7 人肝癌裸鼠移植瘤生长, 联合应用的效果更优异。

### 实施例 6. 苯酚苷衍生物单独以及联合多烯紫杉醇(docetaxel, DXT)抑制 SPC-A-1 人非小细胞肺癌异种移植瘤

种植异种移植瘤 SPC-A-1(购自中科院上海生命科学院细胞库)方法与实施例 5 中的方法一致, S2 以口服方式 50mg/kg 每周 5 次(溶剂为水), DXT 组每周腹腔注射一次 20mg/kg DXT(溶剂为无水乙醇/tween-80/水), 对照组腹腔注射等量的生理盐水以及口服等量的 S2 溶剂。

结果如图 5 所示, 可见苯酚苷衍生物单独以及与多烯紫杉醇联合应用可抑制 SPC-A-1 人非小细胞肺癌异种移植瘤, 联合应用的效果更优异。

### 实施例 7. 苯酚苷衍生物单独以及联合替莫唑胺(TMZ)抑制 U87-MG 人恶性胶质瘤异种移植瘤

种植异种移植瘤 U87-MG 方法与实施例 5 中的方法一致, S3 组每周 5 次口服 S3 化合物 100mg/kg 溶液(溶剂为水), TMZ 组每周 5 次口服 TMZ 68mg/kg 悬浊液(溶剂为无水乙醇/tween-80/水), 两药合用组相隔 2 小时口服两种药物, 对照组口服等量的 TMZ 以及 S3 的溶剂。

- 5 结果如图 6 所示, 可见 S3 单药作用轻度抑制肿瘤生长, 但与 TMZ 联合应用时具有显著的协同抑瘤作用。

#### **实施例 8. 苯酚苷衍生物单独以及与顺铂(CDDP)联合应用抑制 SPC-A-1 人非小细胞肺癌异种移植瘤**

- 10 种植异种移植瘤 SPC-A-1 方法与实施例 5 中的方法一致, S4 组每周 5 次每次口服 50mg/kg 剂量的 S4 溶液(溶剂为水), 顺铂组每周一次腹腔注射 5mg/kg 顺铂(溶剂为生理盐水), 对照组口服采用生理盐水作为阴性对照。

结果如图 7 所示, 可见苯酚苷衍生物单独以及与顺铂联合应用可抑制 SPC-A-1 人非小细胞肺癌异种移植瘤, 且联合应用效果更优异。

15

#### **实施例 9. 苯酚苷衍生物单独以及与索拉非尼(sorafenib)联合使用抑制 Bel-7402 人肝癌异种移植瘤**

- 种植异种移植瘤 Bel-7402(购自中科院上海生命科学院细胞库)方法与实施例 5 中的方法一致, 化合物组每周 5 次每次口服 30mg/kg(溶剂为水); 索拉非尼组每周 5 次, 每次腹腔注射 20mg/kg 索拉非尼溶液(溶于五水乙醇/水), 对照组给予等量 S5 溶剂及索拉非尼溶剂。

结果如图 8 所示, 可见苯酚苷衍生物单独以及与索拉非尼联合应用可抑制 Bel-7402 人肝癌异种移植瘤, 且联合应用效果更优异。

#### **25 实施例 10. 苯酚苷衍生物诱导新鲜 MDS 骨髓瘤细胞死亡**

- 取 MDS 患者的骨髓样本, 用淋巴细胞分离液分离获得纯度大约为 90%的 MDS 细胞, 用含 15%胎牛血清的淋巴细胞培养液配成  $5 \times 10^6$ /ml 浓度, 每孔 200  $\mu$ l 接种于 96 孔板, 每种化合物每个浓度三个平行复孔, 其中环孢霉素 A(CsA) 浓度 2 $\mu$ M, S1-S5 的浓度为 40 $\mu$ g/ml, 加药后于 37 $^{\circ}$ C、饱和湿度、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中培养 72 小时, 计算每孔细胞数, 并用台盼蓝染液计算死亡细胞数, 并与对应的对照组进行比较获得各组得细胞活率(活细胞占总细胞数的百分率)

与抑制率(细胞密度/对照组细胞密度)，每种化合物取 100μg/ml 浓度组的结果作图。

结果如图 9 所示,可见化合物 S1-S5 具有不同程度的抗 MDS 作用并增强 CsA 的抗 MDS 作用。

5

**实施例 11. 苯酚苷衍生物的抗癌前病变(化学预防)作用**

癌前病变动物实验方法参照文献(卫生研究, 2003, 第 6 期, 581-588), 即取雄性金黄色地鼠随机分组, 每组 16 只, 每组动物隔天口腔涂抹 0.5%致癌剂二羟甲基丁酸(DMBA, 溶解于丙酮), 每次每只动物涂 50 μ l, 涂药后禁食 2 小时, 连续涂 DMBA 15 周。涂 DMBA 开始前 1 周, 各治疗组(包括 S1、S2、S3、S4 和 S5 组)分别于饮用水中加入 S1、S2、S3、S4 或 S5 100mg/kg 体重剂量, 期间阳性对照组饮用自来水, 阴性对照涂丙酮并饮用自来水。DMBA 处理 15 周后处死动物, 取口腔黏膜组织, 固定送病理检测。比较各组口腔黏膜恶性变发生率。

10

结果如表 1 所示, 可见化合物 S1-S5 具有不同程度的抗癌前病变(化学预防)作用。

15

表 1

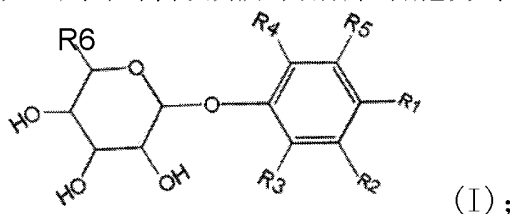
组别	轻度异常(只)	重度异常(只)	癌变(只)
DMBA (n=16)	0	0	16
DMBA + S1 (n=16)	3	3	10
DMBA + S2 (n=16)	2	3	11
DMBA + S3 (n=16)	3	3	8
DMBA + S4 (n=16)	2	4	10
DMBA + S5 (n=16)	4	5	7
DMBA + 维甲酸 (n=16)	2	5	9
丙酮 (n=16)	0	0	0

在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考, 就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解, 在阅读了本发明的上述讲授内容之后, 本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改, 这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

20

# 权 利 要 求

1. 一种通式(I)的化合物或其异构体、外消旋体、前体或药学上可接受的盐的用途, 其特征在于, 用于制备预防或治疗细胞异常增生性疾病的组合物;

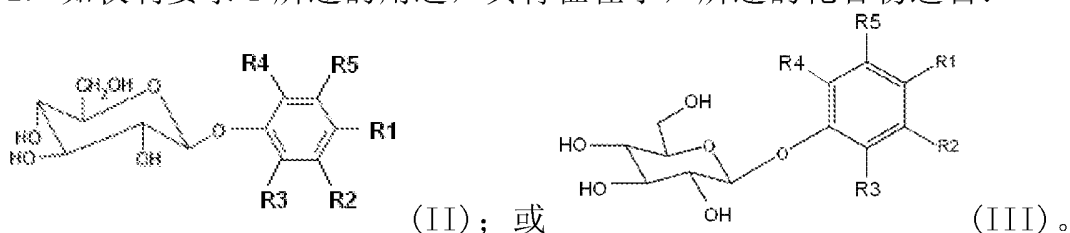


式中,

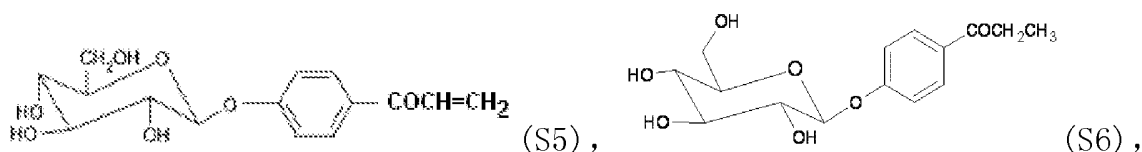
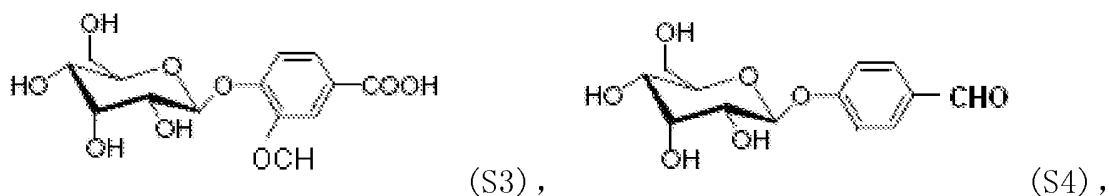
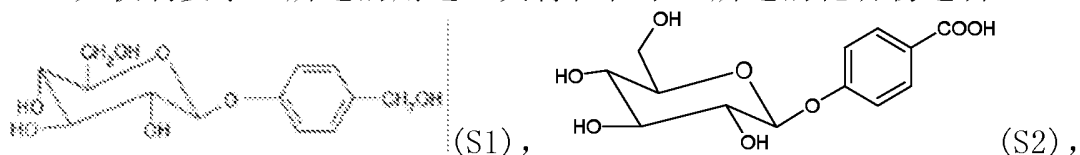
R1、R2、R3、R4 或 R5 独立地表示氢、羟基、羟甲基、醛基、硝基、丙酰基、卤素原子、氨基、丙烯酰基、羟亚胺基、C1-C8 烷基、C2-C8 链烯基、C2-C8 炔基、C3-C8 环烷基、C3-C8 环烯基、C1-C8 烷氧基或 C1-C4 羧基;

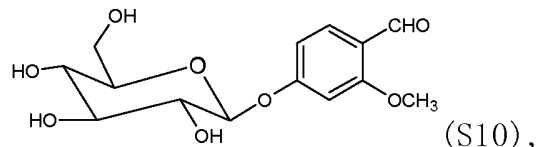
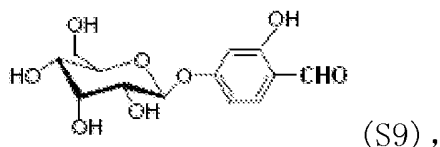
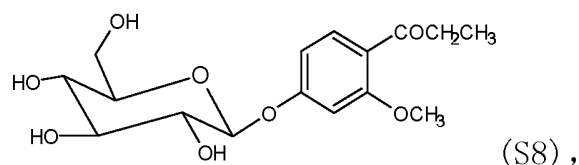
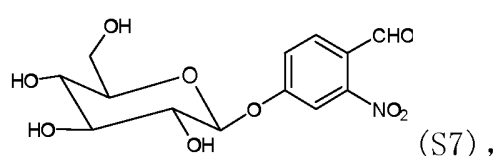
R6 表示或  $(CH_2)_nOH$ , 其中 n 表示选自 1-3 的正整数。

2. 如权利要求 1 所述的用途, 其特征在于, 所述的化合物选自:

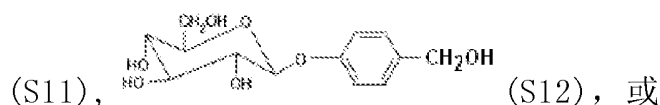
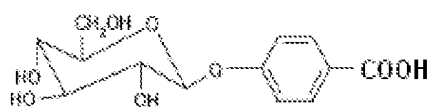


3. 如权利要求 2 所述的用途, 其特征在于, 所述的化合物选自:





5



4. 如权利要求 1-3 任一所述的用途, 其特征在于, 细胞异常增生性疾病选自: 肿瘤, 骨髓增生性疾病或癌前病变。

10

5. 如权利要求 4 所述的用途, 其特征在于, 所述的肿瘤选自: 非小细胞肺癌, 肝癌, 脑瘤, 白血病, 前列腺癌, 大肠癌, 胰腺癌, 骨髓瘤, 淋巴瘤, 乳腺癌, 卵巢癌, 胃癌, 小细胞肺癌, 食管癌, 头颈癌或肉瘤。

15

6. 如权利要求 1 或 2 所述的用途, 其特征在于, 所述的组合物还用于增加选自下组的抗肿瘤药物的药效: 阿霉素; 长春新碱; 长春瑞滨; 紫杉醇; 顺铂; 放线菌素; 博来霉素; 白消安; 卡培他滨; 卡铂; 卡莫司汀; 苯丁酸氮芥; 环磷酰胺; 阿糖胞苷; 柔红霉素; 表阿霉素; 依托泊甙; 足叶乙甙; 鬼臼乙叉甙; 氟阿糖腺苷酸; 氟尿嘧啶; 吉西他滨; 赫赛汀; 羟基脲; 伊达比星; 异环磷酰胺; 依立替康; 洛莫司汀; 环己亚硝脲; 美法仑; 左旋苯丙氨酸氮芥; 巯基嘌呤; 氨甲蝶呤; 丝裂霉素; 米托蒽醌; 二羟基蒽酮; 奥沙利铂; 丙卡巴肼;

20

甲(基)苄肼; 美罗华; 类固醇; 链佐星; 链脲霉素; 泰素帝; 硫鸟嘌呤; 噻替哌; 硫替哌; 三胺硫磷; 雷替曲塞; 拓扑替康; 曲奥舒凡; 5-氟尿嘧啶; 希罗达; 长春碱; 长春花碱; 长春地辛; 长春瑞滨; 格列卫; 羟基喜树碱; 拉帕替尼; Torisel; 舒尼替尼; 易瑞沙; 它赛瓦; 赫赛汀; 阿瓦斯汀; 三氧化二砷; 反式维甲酸; 万珂; 替莫唑胺; 爱必妥; 大沙替尼; 索拉非尼; 帕尼单抗; 替

25

吉奥; Ixempra; 或它们的衍生物或混合物; 或

所述的组合物还用于增加选自下组的抗骨髓增生性疾病药物的药效：阿扎胞苷；地西他滨；吗替麦考酚酯；环孢菌素 A；洛那法尼；替比伐尼；三氧化二砷；来那度胺；沙利度胺；或它们的衍生物或混合物；或

所述的组合物还用于增加选自下组的抗癌前病变药物的药效： $\beta$ -顺式维甲酸；维胺酸；非甾醇类抗炎药；或它们的衍生物或混合物。

7. 一种预防或治疗细胞异常增生性疾病的组合物，其特征在于，所述的组合物含有：

(a) 有效量的通式(I)所示的至少一种化合物或其异构体、外消旋体、前体或药学上可接受的盐；

10 (b) 有效量的抗细胞异常增生性疾病的药物；和

(c) 药学上可接受的载体。

8. 如权利要求 7 所述的组合物，其特征在于，所述的抗细胞异常增生性疾病的药物选自：阿霉素；长春新碱；长春瑞滨；紫杉醇；顺铂；放线菌素；博来霉素；白消安；卡培他滨；卡铂；卡莫司汀；苯丁酸氮芥；环磷酰胺；阿糖胞苷；柔红霉素；表阿霉素；依托泊甙；足叶乙甙；鬼臼乙叉甙；氟阿糖腺苷酸；氟尿嘧啶；吉西他滨；赫赛汀；羟基脲；伊达比星；异环磷酰胺；依立替康；洛莫司汀；环己亚硝脲；美法仑；左旋苯丙氨酸氮芥；巯基嘌呤；氨甲蝶呤；丝裂霉素；米托蒽醌；二羟基蒽酮；奥沙利铂；丙卡巴肼；甲(基)苄肼；美罗华；类固醇；链佐星；链脲霉素；泰素帝；硫鸟嘌呤；噻替哌；硫替哌；三胺硫磷；雷替曲塞；拓扑替康；曲奥舒凡；5-氟尿嘧啶；希罗达；长春碱；长春花碱；长春地辛；长春瑞滨；格列卫；羟基喜树碱；拉帕替尼；Torisel；舒尼替尼；易瑞沙；它赛瓦；赫赛汀；阿瓦斯汀；三氧化二砷；反式维甲酸；万珂；替莫唑胺；爱必妥；大沙替尼；索拉非尼；帕尼单抗；替吉奥；Ixempra；阿扎胞苷；地西他滨；吗替麦考酚酯；环孢菌素 A；洛那法尼；替比伐尼；三氧化二砷；来那度胺；沙利度胺； $\beta$ -顺式维甲酸；维胺酸；非甾醇类抗炎药；或它们的衍生物或混合物。

9. 一种抗异常细胞增生的方法，其特征在于，所述方法包括：给予需要抑制细胞增生的对象有效量的通式(I)所示的化合物或其异构体、外消旋体、前体或药学上可接受的盐。

10. 如权利要求 9 所述的方法，其特征在于，还包括：给予需要抑制细胞增生的对象有效量的选自下组的抗细胞异常增生性疾病的药物：阿霉素；长春

新碱；长春瑞滨；紫杉醇；顺铂；放线菌素；博来霉素；白消安；卡培他滨；卡铂；卡莫司汀；苯丁酸氮芥；环磷酰胺；阿糖胞苷；柔红霉素；表阿霉素；依托泊甙；足叶乙甙；鬼臼乙叉甙；氟阿糖腺苷酸；氟尿嘧啶；吉西他滨；赫赛汀；羟基脲；伊达比星；异环磷酰胺；依立替康；洛莫司汀；环己亚硝脲；

5 美法仑；左旋苯丙氨酸氮芥；巯基嘌呤；氮甲蝶呤；丝裂霉素；米托蒽醌；二羟基蒽酮；奥沙利铂；丙卡巴肼；甲(基)苄肼；美罗华；类固醇；链佐星；链脲霉素；泰素帝；硫鸟嘌呤；噻替哌；硫替哌；三胺硫磷；雷替曲塞；拓扑替康；曲奥舒凡；5-氟尿嘧啶；希罗达；长春碱；长春花碱；长春地辛；长春瑞滨；格列卫；羟基喜树碱；拉帕替尼；Torisel；舒尼替尼；易瑞沙；它赛瓦；

10 赫赛汀；阿瓦斯汀；三氧化二砷；反式维甲酸；万珂；替莫唑胺；爱必妥；大沙替尼；索拉非尼；帕尼单抗；替吉奥；Ixempra；阿扎胞苷；地西他滨；吗替麦考酚酯；环孢菌素 A；洛那法尼；替比伐尼；三氧化二砷；来那度胺；沙利度胺； $\beta$ -顺式维甲酸；维胺酸；非甾醇类抗炎药；或它们的衍生物或混合物。

15

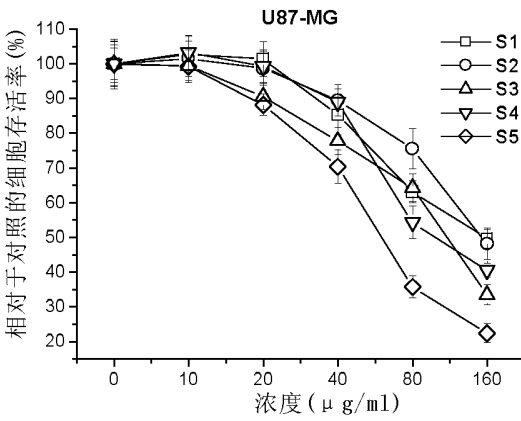


图 1

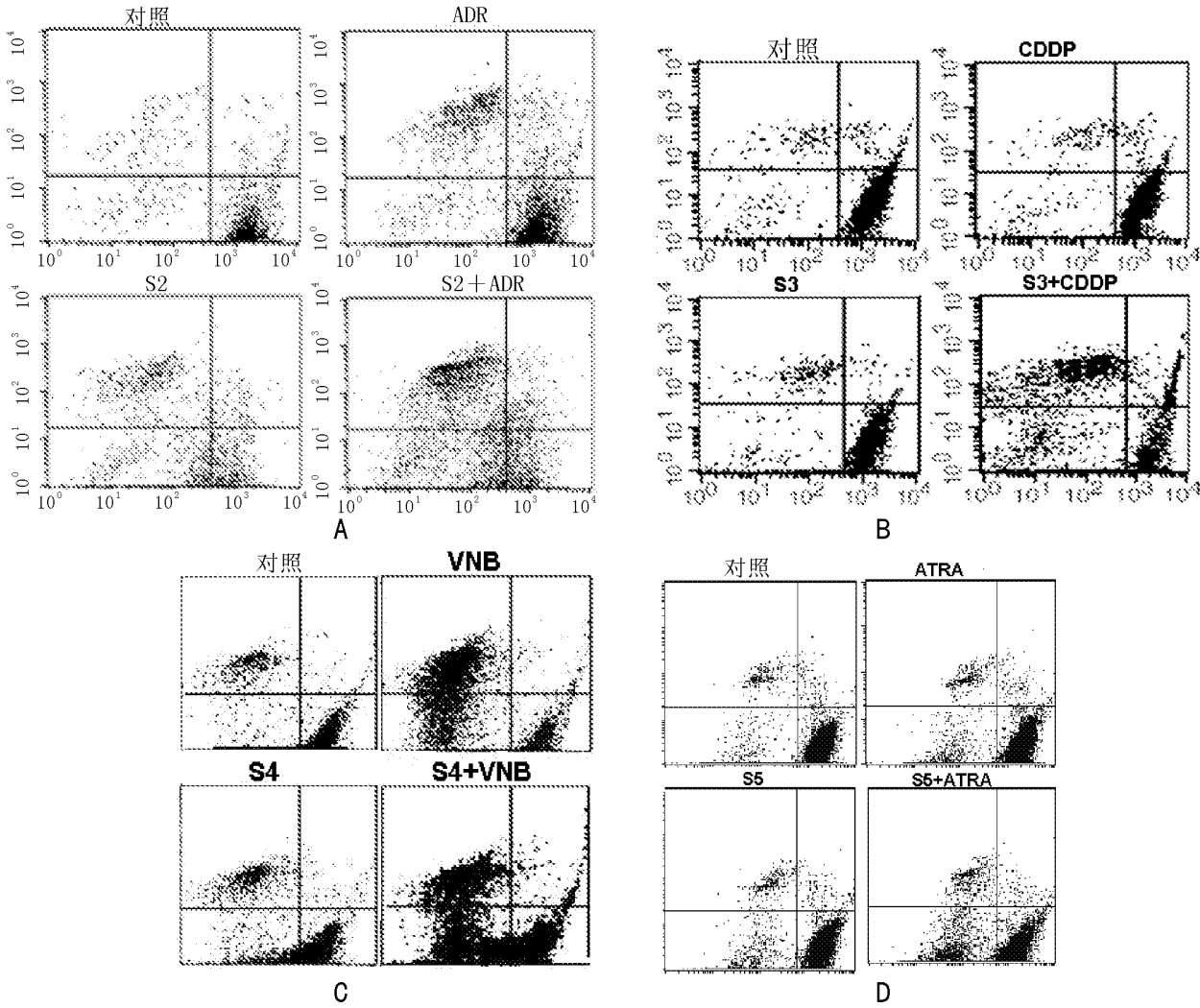


图 2

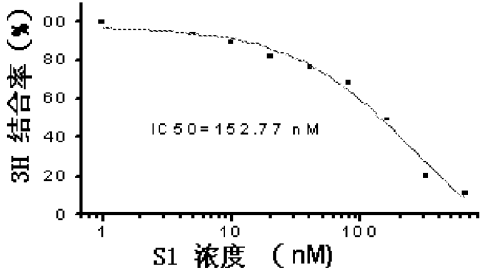


图 3



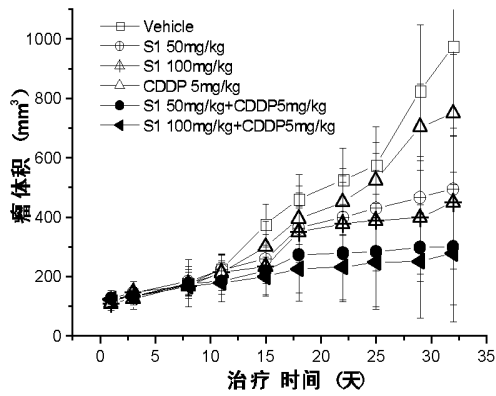


图 4

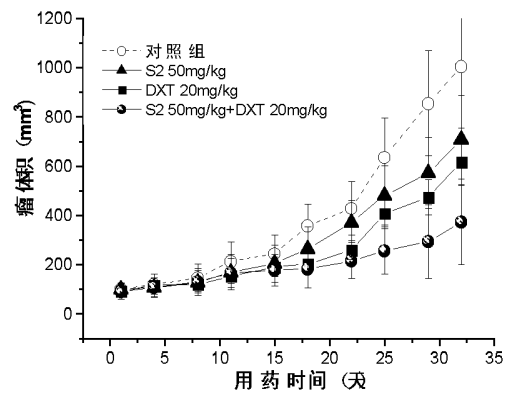


图 5

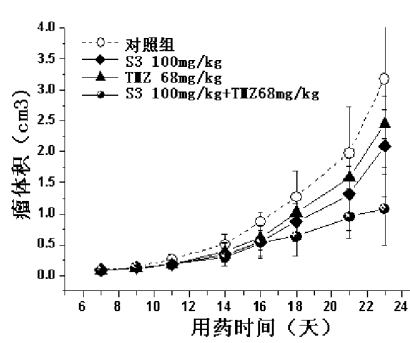


图 6

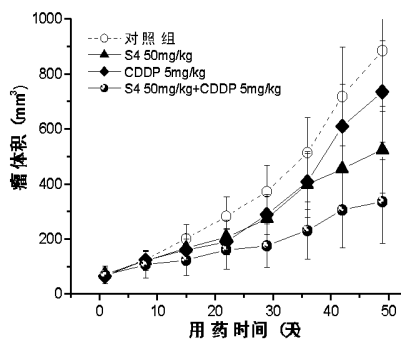


图 7

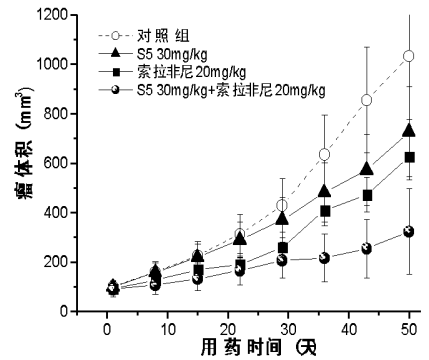


图 8

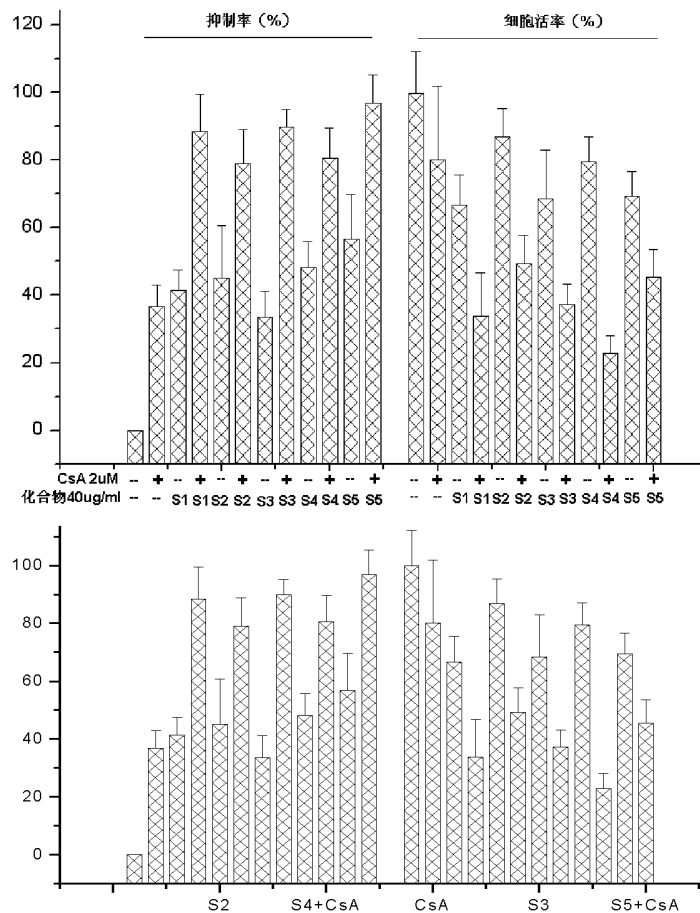


图 9

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2008/070373

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See 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)

WPI,EPODOC,PAJ,CNPAT(CN), CNKI(CN),Chinese Pharmaceutical Abstract (CN),CHEMICAL  
ABSTRACTS(US),EMBASE, STN

Gastrodine, helicidum, phenol, glycoside, cancer, tumor, abnormal cell proliferation, adriamycin, cisplatin, vinorelbine,  
docetaxel, vitamin A, temozolomide, sorafenib, Cyclosporine

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Li E et al. In Vitro Research on the Effects Against Drug-Resistant Tumor Cells of Nine Active Components of Traditional Chinese Drugs. Journal of Beijing University of TCM (Chinese). Mar. 2004. Vol. 27, No. 2, pages 24-26	1-10
X	Guo Zhengping et al. Study of the Mechanism of Gastrodin and Derivatives of Gastrodigenin. Journal of West China University of Medical Sciences (Chinese). 1991, 22(1), pages 79-82	1-10
A	JP 2006176420 A (UNIV TOKUSHIMA NAT UNIV CORP) 06 Jul. 2006 (06.07.2006) see the whole document	1-10

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

☒ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“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)

“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

“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

“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

“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

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 Nov. 2008 (17.11.2008)

Date of mailing of the international search report

04 Dec. 2008 (04.12.2008)

Name and mailing address of the ISA/CN

The State Intellectual Property Office, the P.R.China  
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China  
100088

Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer

HUANG, Yijie

Telephone No. (86-10)62411202

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2008/070373

### Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 9-10  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
These claims relate to methods for inhibiting abnormal cell proliferation by using compound represented by formula I (PCT R39.1(iv)), but the search has been carried out and based on the use of the compound in manufacture of medicaments for inhibiting abnormal cell proliferation.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

### Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

- Remark on protest**
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
  - ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
  - ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2008/070373

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Peng Liu et al, Benzoic acid allopyranosides from the bark of <i>Pseudolarix kaempferi</i> . Phytochemistry 2006, 67, pages 1395-1398.	1-10
A	Chun-Yanyan et al, Biotransformation of 4-Hydroxybenzen Derivatives by Hairy Root Cultures of <i>Polygonum multiflorum</i> Thunb. Journal of Integrative Plant Biology. 2007, 49(2), pages 207-212.	1-10
A	ZHAO Jinping et al, Study on the Chemical Constituents of <i>Helicia Clivicola</i> . Natural Product Research and Development (Chinese). Sep. 1991. Vol. 3, No. 3, pages 7-11	1-10

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

International application No.

PCT/CN2008/070373

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
JP 2006176420 A	06.07.2006	none	

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2008/070373

## CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/7034 (2006.01) i  
A61K 31/704 (2006.01) i  
A61K 31/475 (2006.01) i  
A61K 31/337 (2006.01) i  
A61K 31/282 (2006.01) i  
A61K 31/203 (2006.01) i  
A61K 31/4188 (2006.01) i  
A61K 31/4412 (2006.01) i  
A61K 38/13 (2006.01) i  
A61P 35/00 (2006.01) i  
A61P 35/02 (2006.01) i  
A61P 35/04 (2006.01) i  
A61P 43/00 (2006.01) i

## 国际检索报告

国际申请号  
PCT/CN2008/070373

## A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类表(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))

WPI, EPODOC, PAJ, CNPAT(CN), CNKI(CN), 中国药学文摘库(CN), CHEMICAL ABSTRACTS(US), EMBASE, STN 天麻素, 豆腐果苷, 酚苷, 酚性糖苷, 癌, 瘤, 细胞异常增生, 阿霉素, 顺铂, 环孢菌素, 长春瑞滨, 替莫唑胺, 索拉非尼, 维甲酸, 多烯紫杉醇, Gastrodine, helicidum, phenol, glycoside, cancer, tumor, abnormal cell proliferation, adriamycin, cisplatin, vinorelbine, docetaxel, vitamin A, temozolomide, sorafenib, Cyclosporine

## 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	李峨 等, 九种中药活性成分抗耐药肿瘤细胞体外研究. 北京中医药大学学报. 2004 年 3 月第 27 卷第 2 期, 第 24-26 页	1-10
X	郭正平 等, 天麻素及天麻甙元作用机理的研究. 华西医科大学学报. 1991, 22(1), 第 79-82 页	1-10
A	JP 2006176420 A (国立大学法人德岛大学) 06.7 月 2006 (06.07.2006) 全文	1-10
A	Peng Liu 等, Benzoic acid allopyranosides from the bark of Pseudolarix kaempferi. Phytochemistry 2006, 67, 第 1395-1398 页	1-10
A	Chun-Yanyan 等, Biotransformation of 4-Hydroxybenzen Derivatives by Hairy Root Cultures of Polygonum multiflorum Thunb. Journal of Integrative Plant Biology. 2007, 49(2), 第 207-212 页	1-10

☒ 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

“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

“&amp;” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

17.11 月 2008 (17.11.2008)

国际检索报告邮寄日期

04.12 月 2008 (04.12.2008)

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)

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

黄轶洁

电话号码: (86-10) 62411202

**第II栏 关于某些权利要求不能作为检索主题的意见(接第1页第2项)**

按条约 17(2)(a)对某些权利要求未作国际检索报告的理由如下:

1. ☒ 权利要求: 9-10

因为它们涉及到不要求本国际检索单位进行检索的主题, 即:

这些权利要求涉及抗异常细胞增生的方法, 其中使用了式 I 化合物, 这属于不要求检索的主题(PCT 细则 39.1(iv)), 但还是针对上述化合物在制备治疗抗异常细胞增生药物中的应用进行了检索。

2. ☐ 权利要求:

因为它们涉及到国际申请中不符合规定的要求的部分, 以致不能进行任何有意义的国际检索,  
具体地说:

3. ☐ 权利要求:

因为它们是从属权利要求, 并且没有按照细则 6.4(a)第 2 句和第 3 句的要求撰写。

**第III栏 关于缺乏发明单一性时的意见(接第1页第3项)**

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明, 即:

1. ☐ 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费, 本国际检索报告针对全部可作检索的权利要求。

2. ☐ 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索, 本国际检索单位未通知缴纳任何附加费。

3. ☐ 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费, 本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求。  
具体地说, 是权利要求:

4. ☐ 申请人未按时缴纳被要求的附加检索费。因此, 本国际检索报告仅涉及权利要求中首次提及的发明;  
包含该发明的权利要求是:

关于异议的说明: ☐ 申请人缴纳了附加检索费, 同时提交了异议书, 缴纳了异议费。

☐ 申请人缴纳了附加检索费, 同时提交了异议书, 但未缴纳异议费。

☐ 缴纳附加检索费时未提交异议书。



国际申请号  
**PCT/CN2008/070373**

类 型	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	赵劲萍 等, 保保栗果化学成份的研究. 天然产物研究与开发. 1991 年 9 月, 第 3 卷第 3 期, 第 7-11 页	1-10

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号  
PCT/CN2008/070373

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
JP 2006176420 A	06.07.2006	无	

## 主题的分类:

A61K 31/7034 (2006.01) i  
A61K 31/704 (2006.01) i  
A61K 31/475 (2006.01) i  
A61K 31/337 (2006.01) i  
A61K 31/282 (2006.01) i  
A61K 31/203 (2006.01) i  
A61K 31/4188 (2006.01) i  
A61K 31/4412 (2006.01) i  
A61K 38/13 (2006.01) i  
A61P 35/00 (2006.01) i  
A61P 35/02 (2006.01) i  
A61P 35/04 (2006.01) i  
A61P 43/00 (2006.01) i