



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112409441 B

(45) 授权公告日 2022.05.13

(21) 申请号 202011384628.8

A61P 35/02 (2006.01)

(22) 申请日 2020.12.01

A61P 35/00 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

(56) 对比文件

申请公布号 CN 112409441 A

CN 110804083 A, 2020.02.18

(43) 申请公布日 2021.02.26

WO 2010015875 A1, 2010.02.11

(73) 专利权人 中国科学院昆明植物研究所

凌雪等. 西印度醋栗化学成分及活性研究进展.《中国野生植物资源》.2015, (第06期),

地址 650201 云南省昆明市蓝黑路132号

李杰等. 西印度醋栗叶中1种新三萜的分离

(72) 发明人 朱宏涛 张颖君 耿慧春 王东

与鉴定.《中草药》.2020, (第03期),

杨为农 杨崇仁

审查员 孙艳彬

(74) 专利代理机构 昆明祥和知识产权代理有限公司

公司 53114

专利代理师 马晓青

(51) Int. Cl.

C07J 71/00 (2006.01)

A61K 31/58 (2006.01)

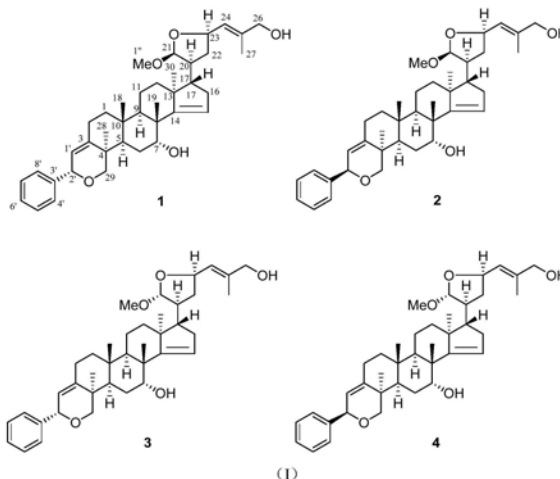
权利要求书1页 说明书10页 附图2页

(54) 发明名称

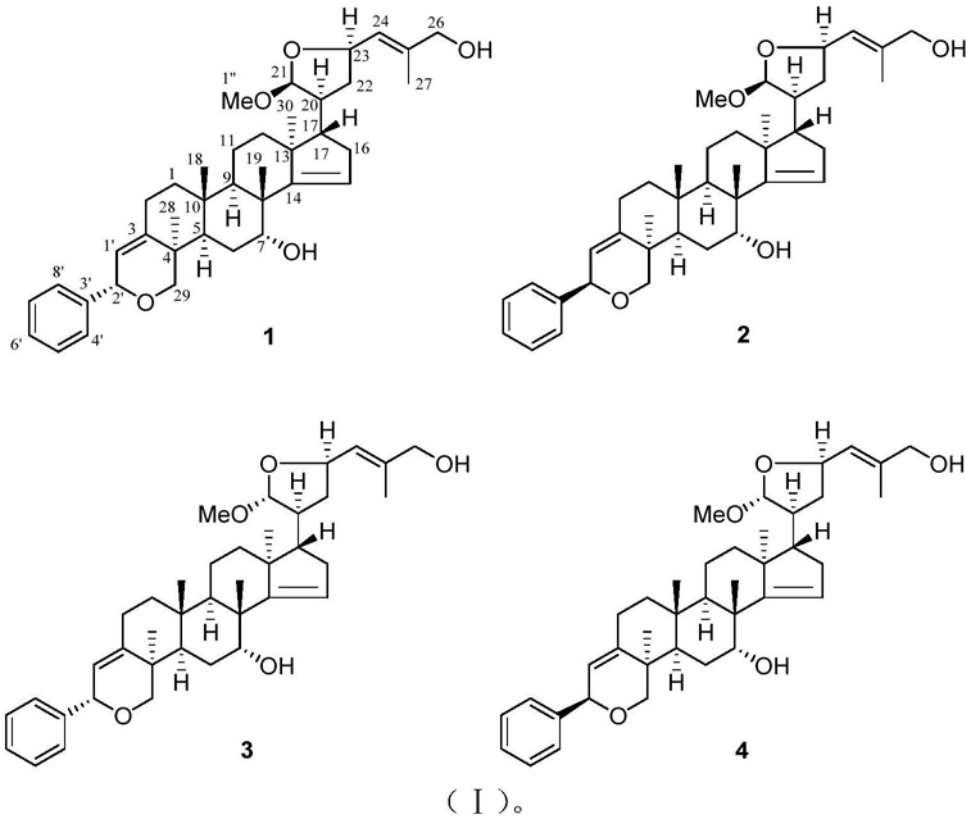
西印度醋栗叶中的三萜及其药物组合物和其应用

(57) 摘要

本发明提供西印度醋栗叶中的三萜及其药物组合物和其应用,提供结构式(I)所示4个新的dichapetalin型三萜类化合物1-4,英文名为pacidusin A-D,其药物组合物及其应用,属于药物技术领域。本发明的化合物1-4对人急性白血病细胞HL-60,肺癌细胞A-549,肝癌细胞SMMC-7721,乳腺癌细胞MCF-7和结肠癌细胞SW-480具有显著的细胞毒活性,能够与可药用载体或赋型剂组成药物组合物,用于制备相关抗癌药物。



1. 如下结构式 (I) 所示的三萜化合物 1-4,



2. 权利要求 1 所示的三萜化合物 1-4 的制备方法, 该方法包括下述步骤:

西印度醋栗风干叶子粉碎, 浸泡于 95% 乙醇水中, 在 60°C 条件下回流提取 3 次, 每次 2 小时, 过滤, 滤液减压浓缩除去有机溶剂, 得粗提物, 粗提物用水和乙酸乙酯萃取, 乙酸乙酯部分上硅胶柱层析, 采用石油醚: 乙酸乙酯为 20:1, 10:1, 8:1, 2:1, 1:1 和 0:1 的溶液进行梯度洗脱, 得 6 个主要部分 A-F, B 部分上 MCI 柱层析, 用 90% 的甲醇水洗脱得黄色胶状物, 该部分继续采用硅胶柱层析, 以石油醚: 丙酮为 9:1-1:2 的溶液进行梯度洗脱, 得 6 个部分; B₂ 部分采用制备液相, 85% 甲醇-水, 流速 15 mL/min 和半制备液相, 80% 乙腈-水, 流速 3 mL/min, 得化合物 1, 2, 3 和 4。

3. 权利要求 1 所述的式 (I) 三萜化合物 1-4 在制备抗人急性白血病药物中的应用。

4. 权利要求 1 所述的式 (I) 三萜化合物 1-4 在制备抗癌药物中的应用。

5. 权利要求 1 所述的式 (I) 三萜化合物 1-4 在制备抗肝癌、抗肺癌、抗乳腺癌、抗结肠癌药物中的应用。

6. 包含权利要求 1 所述的式 (I) 化合物 1-4 的至少一种和药学上可接受的载体或赋型剂的药物组合物。

7. 权利要求 6 所述的药物组合物在制备抗人急性白血病药物中的应用。

8. 权利要求 6 所述的药物组合物在制备抗癌药物中的应用。

9. 权利要求 6 所述的药物组合物在制备抗肝癌、抗肺癌、抗乳腺癌、抗结肠癌药物中的应用。

西印度醋栗叶中的三萜及其药物组合物和其应用

技术领域

[0001] 本发明属于药物技术领域。具体地,涉及三萜化合物pacidusin A-D,及其制备方法和应用、药物组合物及其应用。

背景技术

[0002] 目前,因癌症发病所造成的死亡人数仅次于心血管疾病,并有超过心脏病死亡率的趋势,这给社会和家庭带来了沉重的经济和精神负担。在我国,癌症的发病率尤于肺癌、胃癌、肝癌、结肠癌等类型居高。近年来,针对抗癌新药研发已取得巨大成就。顺铂、紫杉醇等为代表的抗癌药物的应用有效的增加了一定时间内癌症患者的存活率,延长癌症患者的存活时间。然而,化疗药物的应用仍存在引发患者药物过敏、肌体疼痛、呕吐、末端神经损坏及杀死正常细胞等毒副作用,且单一或长时间使用少数几种化疗药物易导致癌细胞的耐药性及抗药性,大大降低化疗效果。应用现代先进的研究手段,研发高效、低毒副作用的天然抗癌药物仍是癌症治疗的目标和方向。

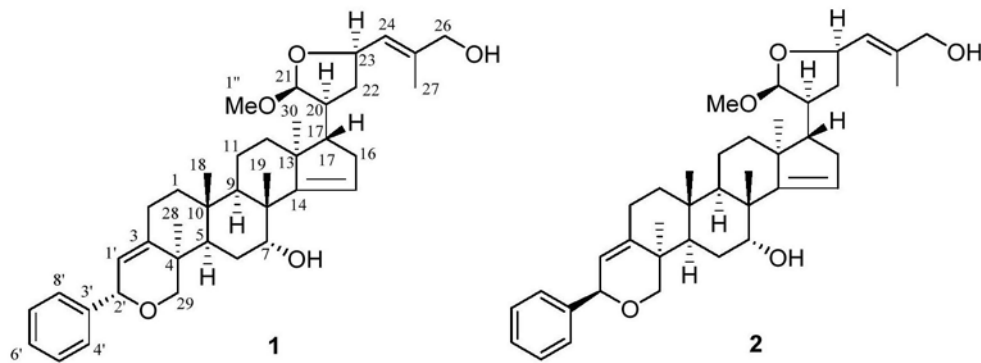
[0003] 西印度醋栗Phyllanthus acidus属大戟科叶下珠属植物,广泛分布于热带和亚热带地区的印度尼西亚、老挝、菲律宾、泰国、印度等地,云南南部地区也有引种栽培。该植物的果实可做水果食用,其根和叶常被民间用于治疗黄疸、肝炎、疼痛及膀胱纤维化等疾病。近年来的药理学研究显示该植物根、茎和叶的水提物和乙醇提取物具有抗氧化、抗肿瘤、抗菌及抗乙肝病毒等活性。然而,迄今为止,现有技术无来源于该植物的dichapetalin型三萜类化合物pacidusin A(1)、pacidusin B(2)、pacidusin C(3)和pacidusin D(4)的报道,也没有这4个化合物及其药物组合物作为抗急性白血病、肺癌、肝癌、乳腺癌和结肠癌等人类常见癌症药物的报道。

发明内容

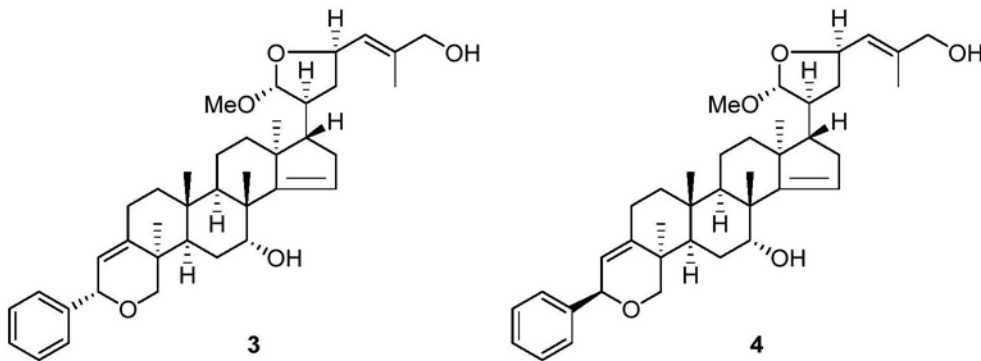
[0004] 本发明的目的在于提供新的具有抗癌药用价值的dichapetalin型三萜pacidusin A(1)、pacidusin B(2)、pacidusin C(3)和pacidusin D(4),及其制备方法和应用、药物组合物及其应用。

[0005] 为了实现本发明的上述目的,本发明提供了如下的技术方案:

[0006] 结构式(I)所示的pacidusin A(1)、pacidusin B(2)、pacidusin C(3)和pacidusin D(4):



[0007]



(I)。

[0008] 本发明提供了上述化合物1-4的制备方法：西印度醋栗风干叶子(30kg)粉碎，浸泡于95%乙醇水(100L)，在60℃条件下回流提取3次(2h/次)。过滤，滤液减压浓缩除去有机溶剂，得粗提物4.5kg。粗提物用水和乙酸乙酯萃取，乙酸乙酯部分(2.0kg)上硅胶柱层析，采用石油醚：乙酸乙酯为(20:1, 10:1, 8:1, 2:1, 1:1和0:1)溶液进行梯度洗脱，得6个主要部分(A-F)，B部分上MCI柱层析，用90%的甲醇水洗脱得72g黄色胶状物，该部分继续采用硅胶柱层析，以石油醚：丙酮(9:1-1:2)溶液进行梯度洗脱，得6个部分(B₁-B₆)。B₂部分采用制备液相(85%甲醇-水，流速15mL/min)和半制备液相(80%乙腈-水，流速3mL/min)，得化合物1(R_f=26.9min, 180mg)，2(R_f=19.6min, 125mg)，3(R_f=24.1min, 138mg)和4(R_f=18.2min, 124mg)。

[0009] 本发明提供了上述化合物1-4的细胞毒活性评价。将购买自美国弗吉尼亚州，马纳萨斯的人肿瘤细胞株HL-60, SMMC-7721, A-549, MCF-7和SW-480在DMEM培养液中(加10%牛胎儿血清)于37℃、5%CO₂的饱和水汽二氧化碳培养箱中增殖培养至对数生长期。之后，按照MTS评价方法，评价化合物1-4对上述5株人肿瘤细胞的细胞毒活性，以顺铂和紫杉醇为阳性对照。同时，用Reed法和Muench法计算各化合物的IC₅₀值。

[0010] 本发明提供了上述技术方案所述化合物1-4在制备抗人急性白血病药物中的应用。

[0011] 本发明提供了上述技术方案所述化合物1-4在制备抗癌药物中的应用。

[0012] 本发明提供了上述技术方案所述化合物1-4在制备抗肝癌药物中的应用。

[0013] 本发明提供了上述技术方案所述化合物1-4在制备抗肺癌药物中的应有。

[0014] 本发明提供了上述技术方案所述化合物1-4在制备抗乳腺癌药物中的应用。

[0015] 本发明提供了上述技术方案所述化合物1-4在制备抗结肠癌药物中的应用。

[0016] 本发明提供了一种药物组合物,所述药物组合物包括上述技术方案所述化合物中的至少一种和药学上可接受的载体或赋型剂。

[0017] 本发明提供了上述技术方案所述药物组合物在制备抗急性白血病、抗癌药物中的应用,以及在制备抗肝癌、肺癌、乳腺癌和结肠癌药物中的应用。

[0018] 本发明提供的4个三萜化合物pacidusin A(1)、pacidusin B(2)、pacidusin C(3)和pacidusin D(4),对人急性白血病细胞HL-60,肝癌细胞SMMC-7721,肺癌细胞A-549,乳腺癌细胞MCF-7和结肠癌细胞SW-480具有显著的细胞毒作用,能够用于制备相应的抗癌药物。

[0019] 本发明提供的化合物在制药中的应用的方法没有特殊的限定,选用本领域熟知的方法即可。

[0020] 在本发明中,当所述化合物1-4中的至少一种用于制备抗癌症疾病药物时,优选将所述化合物1-4直接使用,或以药物组合物的形式使用。

[0021] 本发明提供的药物组合物包括上述技术方案所述化合物中的至少一种和药学上可接受的载体或赋型剂。在本发明中,所述药学上可接受的载体或赋型剂优选为固体、半固体或液体稀释剂,填料以及药物制品辅剂。本发明对所述药学上可接受的载体或赋型剂没有特殊的限定,选用本领域熟知的、对人和动物无毒且惰性的药学上可接受的载体和/或赋型剂即可。

[0022] 在本发明中,当所述药物组合物用于制备抗癌症药物时,所述组合物在药物中的含量优选为0.1~99%;在所述药物组合物中,所述化合物1-4中的至少一种在药物组合物中的含量优选为0.5~90%。本发明的药物组合物优选以单位体重服用量的形式使用。在本发明中,所制备的药物优选可经注射(静注、肌注)和口服两种形式给药。

附图说明

[0023] 图1为本发明三萜化合物pacidusin A(1)、pacidusin B(2)、pacidusin C(3)和pacidusin D(4)的结构示意图;

[0024] 图2为本发明化合物1的单晶衍射图;

[0025] 图3为本发明化合物2的单晶衍射图。

具体实施方式

[0026] 为了更好地理解本发明的实质,下面结合附图,用本发明的实施例来进一步说明本发明三萜化合物,pacidusin A(1)、pacidusin B(2)、pacidusin C(3)和pacidusin D(4),及其制备方法、结构鉴定、药理作用,但不以此试验例和实施例来限定本发明。

[0027] 结合本发明中的实施例,对本发明中的技术方案进行清楚、完整地描述。显然,所描述的实施例仅是本发明的一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0028] 实施例1

[0029] 化合物pacidusin A(1)和pacidusin C(3)的制备及抗癌活性评价。

[0030] 化合物pacidusin A(1)和pacidusin C(3)的制备:西印度醋栗风干叶子(30kg)粉碎,浸泡于95%乙醇水(100L)中,在60℃条件下回流提取3次(2h/次)。过滤,滤液减压浓缩

除去有机溶剂,得粗提物4.5kg。粗提物用水和乙酸乙酯萃取,乙酸乙酯部分(2.0kg)上硅胶柱层析,采用石油醚:乙酸乙酯为(20:1,10:1,8:1,2:1,1:1和0:1)溶液进行梯度洗脱,得6个主要部分(A-F),B部分上MCI柱层析,用90%的甲醇水洗脱得72g黄色胶状物,该部分继续采用硅胶柱层析,以石油醚:丙酮(9:1-1:2)溶液进行梯度洗脱,得6个部分(B₁-B₆)。B₂部分采用制备液相(85%甲醇-水,流速15mL/min)和半制备液相(80%乙腈-水,流速3mL/min),得化合物1(R_f=26.9min,180mg),3(R_f=24.1min,138mg)。

[0031] 化合物acidusin A(1)和acidusin C(3)的结构鉴定:

[0032] 化合物1为无色晶体,通过高分辨质谱确定其分子式为C₃₉H₅₄O₅(m/z 625.3864[M+Na]⁺,计算值为625.3863),不饱和度为13。化合物1的氢谱中观察到一个甲氧基(δ_{H} 3.23)和五个单峰甲基的信号(δ_{H} 0.94,0.96,0.96,1.28和1.63),同时,在低场区发现一个单取代苯环的存在(δ_{H} 7.19和7.27之间存在5个芳香氢信号)。在化合物的¹³C NMR谱中共观察到39个碳信号,通过DEPT谱将其归属为6个甲基碳原子(其中一个为甲氧基碳原子),2个连氧亚甲基和7个饱和亚甲基碳原子,16个次甲基碳原子(包括4个连氧和8个sp²杂化次甲基碳原子),以及8个季碳原子(包括4个sp²杂化季碳原子)。这些碳信号中,1个苯环和6个sp²杂化碳原子占用了7个不饱和度,提示化合物是一个六环体系的化合物。与之前从同科同属植物(大戟科Phyllanthus属)植物中报道的化合物进行波谱数据对比,上述这些信号特征提示化合物1是一个具有额外苯乙基片段的达玛烷型三萜类化合物。进一步,该化合物的核磁共振数据与从Dichapetalumgelonioides中发现的已知的苯乙基达玛烷型三萜类化合物21-dehydrodichapetalin Q的数据非常相似,不同之处有两点:首先,已知化合物21-dehydrodichapetalin Q中的酯羰基在化合物1中变成了一个半缩酮羰基(δ_{C} 104.2)以及一个额外的甲氧基(δ_{C} 54.2),这一推测通过从该甲氧基H₃-1"到C-21以及H-21到C-20、C-21和C-22的HMBC相关得到证实。其次,通过苯乙基基团的H-1'到C-2、C-3、C-2'和C-3'的HMBC相关进一步证实在化合物1中C-1'和C-3双键代替了已知化合物21-dehydrodichapetalin Q中的C-2和C-3之间的双键。基于以上数据,化合物1的平面结构得到确定。化合物1的相对构型是通过其与21-dehydrodichapetalin Q类似的ROESY相关确定的。其中,H-5与H-9和Me-28、H-9与H-30、H-30与H-20和H-21,以及H-20与H-23的ROESY相关提示这些信号均为 α -构型,而Me-18与H-17和Me-19则为 β -构型。最终,化合物1的绝对构型通过单晶X衍射分析得到证实(CCDC 2030996),确定为4R,7R,17S,20S,21S,23R,2'S。基于此,化合物1的结构得以确定,命名为acidusin A(NMR数据见表1)。

[0033] 化合物3的结构鉴定:化合物3与化合物1具有相同的分子式(m/z 625.3863,计算值为625.3863),其核磁数据与化合物1也非常相似,不同之处主要为达玛烷三萜侧链C-1",C-20,C-21,C-23,C-24和C-25的¹³C NMR数据(1: δ_{C} 54.2,45.9,104.2,75.0,128.4,137.2;3: δ_{C} 55.6,47.3,109.2,73.5,119.5和139.6),提示化合物3是化合物1的C-21差向异构体。这个推测通过ROESY谱图中的H-20与Me-30,H-23和Me-1"以及H-21与H-27的ROESY相关得到了证实,基于此,化合物3的绝对构型确定为4R,7R,17S,20S,21R,23R,2'S,命名为acidusin C(NMR数据见表1)。

[0034] 化合物acidusin A(1)和acidusin C(3)的抗癌活性评价:

[0035] 化合物1和3的抗癌活性评价即对人白血病细胞HL-60、肺癌细胞A-549,肝癌细胞SMMC7721,乳腺癌细胞MCF-7和结肠癌细胞SW480等5株癌细胞的细胞毒活性评价。是指分别

将活化至对数生长期的人白血病细胞HL-60、肺癌细胞A-549,肝癌细胞SMMC7721,乳腺癌细胞MCF-7和结肠癌细胞SW480用含10%胎牛血清的培养液DMEM配成细胞悬浮液,接种于96孔板中,每孔接种100 μ L,包含1-1.5 $\times 10^5$ 个细胞,培养24小时。化合物1和3用DMSO分别溶解,制备出浓度为40,8,1.6,0.32和0.064 μ M的溶液,加入预先培养的96孔板内,使每孔的终体积为200 μ L进行细胞处理,每个处理设3个重复,实验采用顺铂DDP和紫杉醇Taxol两个化合物为阳性对照。37 $^{\circ}$ C培养48小时后,弃培养液,每孔加MTS溶液20 μ L和新鲜培养液100 μ L;实验同时设3个空白复孔:MTS溶液20 μ L和培养液100 μ L的混合液;继续孵育2~4小时。选用多功能酶标仪MULTISKAN FC,于492nm读取吸收值,以浓度为横坐标,细胞存活率为纵坐标绘制细胞生长曲线,应用两点法即Reed and Muench法计算化合物的IC₅₀值。结果显示化合物1对乳腺癌细胞MCF-7和结肠癌细胞SW480的IC₅₀ \pm SD值分别为10.60 \pm 0.47 μ M和18.92 \pm 0.41 μ M分别低于阳性对照DDP的IC₅₀ \pm SD值25.64 \pm 0.82 μ M和25.10 \pm 0.12 μ M。化合物3则对人白血病细胞HL-60、肺癌细胞A-549,肝癌细胞SMMC7721,乳腺癌细胞MCF-7和结肠癌细胞SW480的IC₅₀ \pm SD值分别为3.381 \pm 0.061 μ M,11.67 \pm 0.48 μ M,9.484 \pm 0.529 μ M,12.48 \pm 0.71 μ M,18.27 \pm 0.25 μ M显著低于阳性对照DDP的IC₅₀ \pm SD值4.168 \pm 0.185 μ M,13.28 \pm 0.90 μ M,11.33 \pm 1.04 μ M,25.64 \pm 0.82 μ M,25.10 \pm 0.12 μ M,表明该化合物的细胞毒活性显著高于阳性对照DDP(表3)。

[0036] 实施例2

[0037] 化合物pacidusinB(2)和pacidusin D(4)的制备及抗癌活性评价。

[0038] 化合物pacidusinB(2)和pacidusinD(4)的制备:西印度醋栗风干叶子(30kg)粉碎,浸泡于95%乙醇水(100L)中,在60 $^{\circ}$ C条件下回流提取3次(2h/次)。过滤,滤液减压浓缩除去有机溶剂,得粗提物4.5kg。粗提物用水和乙酸乙酯萃取,乙酸乙酯部分(2.0kg)上硅胶柱层析,采用石油醚:乙酸乙酯为(20:1,10:1,8:1,2:1,1:1和0:1)溶液进行梯度洗脱,得6个主要部分(A-F),B部分上MCI柱层析,用90%的甲醇水洗脱得72g黄色胶状物,该部分继续采用硅胶柱层析,以石油醚:丙酮(9:1-1:2)溶液进行梯度洗脱,得6个部分(B₁-B₆)。B₂部分采用制备液相(85%甲醇-水,流速15mL/min)和半制备液相(80%乙腈-水,流速3mL/min),得化合物2(R_f=19.6min,125mg),和4(R_f=18.2min,124mg)。

[0039] 化合物pacidusins B(2)和pacidusins D(4)的结构鉴定:

[0040] 化合物2为无色晶体,通过高分辨质谱确定其分子式为C₃₉H₅₄O₅(m/z 625.3858,计算值为625.3863),不饱和度为13。化合物2的氢谱中观察到一个甲氧基(δ_{H} 3.30)和5个单峰甲基的信号(δ_{H} 0.91,0.95,1.70,1.29,和1.02),在低场区发现一个单取代苯环的存在(δ_{H} 7.26,7.34和7.39间存在5个芳香氢信号)。化合物2的¹³C NMR谱显示有39个碳信号的存在,进一步通过DEPT谱可归属为6个甲基(其中一个为甲氧基),9个亚甲基(其中2个为连氧亚甲基),16个次甲基(包括4个连氧和8个sp²杂化次甲基),以及8个季碳原子(包括4个sp²杂化季碳原子)。其中,1个苯环和6个sp²杂化碳原子占了7个不饱和度,剩余6个不饱和度提示化合物2是一个六环体系的化合物。与之前从同科同属植物(大戟科Phyllanthus属)植物中报道的化合物进行波谱数据对比,上述这些C、H信号特征提示化合物2是一个具有苯乙基片段的达玛烷型三萜类化合物(C38骨架三萜)。进一步,该化合物的核磁波谱数据与从Dichapetalumgelonioides中报道的已知的苯乙基达玛烷型三萜类化合物21-dehyrodichapetalin Q的数据非常相似,不同之处有两点:首先,已知化合物21-

dehydrodichapetalin Q中的酯羰基在化合物2中变成了一个半缩酮羰基(δ_c 104.2)以及一个额外的甲氧基(δ_c 54.2),这一推测通过从该甲氧基H₃-1"到C-21以及H-21到C-20、C-21和C-22的HMBC相关证实。其次,通过苯乙基基团的H-1'到C-2、C-3、C-2'和C-3'的HMBC相关进一步证实化合物2中C-1'和C-3双键代替了已知化合物21-dehydrodichapetalin Q中的C-2和C-3之间的双键。基于以上数据,化合物2的平面结构得到确定。化合物2的相对构型是通过与21-dehydrodichapetalin Q类似的ROESY相关确定的。其中,H-5与H-9和Me-28、H-9与H-30、H-30与H-20和H-21,以及H-20与H-23的ROESY相关提示这些信号均为 α -构型,而Me-18与H-17和Me-19则为 β -构型。最终,化合物2的绝对构型通过单晶X衍射得到证实(CCDC 2030997),确定为4R,7R,17S,20S,21S,23R,2'R。基于此,化合物2的结构得以确定,命名为pacidusin B。

[0041] 化合物4的结构鉴定:化合物4与化合物2具有相同的分子式(m/z 625.3854,计算值为625.3863),其一维和二维核磁数据与化合物2的也非常相似,不同之处主要为化合物2的¹³C NMR谱中,达玛烷三萜侧链C-1",C-20,C-21,C-23,C-24和C-25(δ_c 54.2,45.9,104.2,75.0,128.4和137.2)在化合物4中分别向低场或高场位移(δ_c 55.6,47.3,109.2,73.5,119.5和139.6),提示化合物4是化合物2的C-21差向异构体。这个推测通过ROESY谱图中的H-20与Me-30,H-23和Me-1"以及H-21与H-27的ROESY相关得到证实,基于此,化合物4的绝对构型确定为4R,7R,17S,20S,21R,23R,2'R,并命名为pacidusin D。

[0042] 化合物pacidusin B(2)和pacidusin D(4)的抗癌活性评价:

[0043] 化合物2和4的抗癌活性评价即对人白血病细胞HL-60、肺癌细胞A-549,肝癌细胞SMMC7721,乳腺癌细胞MCF-7和结肠癌细胞SW480等5株癌细胞的细胞毒活性评价。是指分别将活化至对数生长期的人白血病细胞HL-60、肺癌细胞A-549,肝癌细胞SMMC7721,乳腺癌细胞MCF-7和结肠癌细胞SW480用含10%胎牛血清的培养液DMEM配成细胞悬浮液,接种于96孔板中,每孔接种100 μ L,包含 $1-1.5 \times 10^5$ 个细胞,培养24小时。化合物2和4用DMSO分别溶解,制备出浓度为40,8,1.6,0.32和0.064 μ M的溶液,加入预先培养的96孔板内,使每孔的终体积为200 μ L进行细胞处理,每个处理设3个重复,实验采用顺铂DDP和紫杉醇Taxol两个化合物为阳性对照。37 $^{\circ}$ C培养48小时后,弃培养液,每孔加MTS溶液20 μ L和新鲜培养液100 μ L;实验同时设3个空白复孔:MTS溶液20 μ L和培养液100 μ L的混合液;继续孵育2~4小时。选用多功能酶标仪MULTISKAN FC,于492nm读取吸收值,以浓度为横坐标,细胞存活率为纵坐标绘制细胞生长曲线,应用两点法即Reed and Muench法计算化合物的IC₅₀值。结果显示化合物2对乳腺癌细胞MCF-7和结肠癌细胞SW480的IC₅₀ \pm SD值分别为 $17.05 \pm 1.18 \mu$ M和 $16.36 \pm 0.19 \mu$ M分别约为阳性对照DDP的IC₅₀ \pm SD值的2/3。化合物4则对乳腺癌细胞MCF-7和结肠癌细胞SW480的IC₅₀ \pm SD值分别为 15.43 ± 1.19 和 16.53 ± 0.22 ,显著低于阳性对照DDP的IC₅₀ \pm SD值 $25.64 \pm 0.82 \mu$ M和 $25.10 \pm 0.12 \mu$ M(见表4)。

[0044] 表1. 化合物1和3的NMR数据(δ ppm)

[0045]

No.	1		3	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	38.7 t	a 1.38 m; b 1.50 m	38.5 t	a 1.45 m; b 1.59 m
2	26.4 t	a 2.00 m; b 2.36 m	26.6 t	a 2.20 dd (13.1, 10.3); b 2.49 m
3	142.3 s		144.1 s	
4	36.1 s		36.2 s	
5	44.2 d	1.99 m	43.5 d	2.04 m
6	23.6 t	a 1.59 m; b 1.75 dt (14.0, 3.2)	23.8 t	a 1.52 m; b 1.78 m
7	71.9 d	3.83 br s	71.9 d	3.83 br s
8	44.2 s		44.1 s	
9	41.3 d	1.91 m	41.2 d	1.97 dd (12.2, 7.1)
10	37.5 s		37.3 s	
11	16.2 t	a 1.47 m; b 1.57 m	16.1 t	a 1.54 m; b 1.64 m
12	38.7 t	a 1.48 m; b 1.94 m	38.8 t	a 1.27 m; b 2.05 m
13	46.7 s		46.9 s	
14	161.8 s		162.1 s	
15	119.9 d	5.38 br s	119.5 d	5.40 d(2.1)
16	35.2 t	2.05 m (2H)	34.8 t	2.08 m (2H)

[0046]

17	52.8 d	1.90 m	58.1 d	1.68 m
18	18.1 q	0.96 s (3H)	18.1 q	0.937 s (3H)
19	26.6 q	0.96 s (3H)	26.5 q	0.888 s (3H)
20	45.9 d	2.13 m	47.3 d	2.36 (7.5, 3.1)
21	104.2 d	4.69 d (4.2)	109.2 d	4.77 d (3.5)
22	32.8 t	a 1.43 m; b 1.55 m	32.9 t	a 1.43 m; b 1.80 m
23	75.0 d	4.71 m	73.5 d	4.71 m
24	128.4 d	5.35 dd (8.8, 1.2)	119.5 d	5.42 dd (8.3, 1.2)
25	137.2 s		139.6 s	
26	68.3 t	3.92 s (2H)	68.0 t	4.00 s (2H)
27	13.8 q	1.63 s (3H)	14.2 q	1.70 s (3H)
28	25.6 q	1.28 s (3H)	24.3 q	1.27 s (3H)
29	72.5 t	a 3.63 d (15.1); b 3.81 d (15.1)	66.6 t	a 3.35 d (9.7); b 3.58 d (10.7)
30	20.4 q	0.94 s (3H)	20.0 q	1.04 s (3H)
1'	120.8 d	5.21 br s	118.1 d	5.61 br s
2'	77.8 d	4.98 br s	73.4 d	5.17 t (3.0)
3'	142.1 s		142.3 s	
4'/8'	127.3 d	7.27 m (2H)	127.6 d	7.37 m (2H)
5'/7'	128.6 d	7.25 m (2H)	128.4 d	7.32 m (2H)
6'	127.8 d	7.19 m	127.4 d	7.24 m
1''	54.2 q	3.23 s (3H)	55.6 q	3.36 s (3H)

[0047] 表2. 化合物2和4的NMR数据 (δ_{ppm})

[0048]

No.	2		4	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	35.8 t	a 1.55 m; b 2.01 m	38.7 t	a 1.47 m; b 1.59 m
2	26.6 t	a 2.21 m; b 2.51 m	26.4 t	a 2.08 m; b 2.45 m
3	144.1 s		142.3 s	
4	36.2 s		36.1 s	
5	43.6 d	2.05 m	43.5 d	2.08 m
6	23.7 t	a 1.57 m; b 1.79 dt (13.9, 2.9)	23.6 t	a 1.67 m; b 1.84 m
7	71.9 d	3.83 br s	71.9 d	3.91 br s
8	44.1 s		44.2 s	
9	41.2 d	1.97 m	41.3 d	2.01 dd (12.3, 7.1)
10	37.4 s		37.5 s	
11	16.2 t	a 1.47 m; b 1.60 m	16.1 t	a 1.57 m; b 1.66 m
12	38.4 t	a 1.46 m; b 1.6 1m	38.8 t	a 1.30 m; b 2.09m
13	46.6 s		47.0 s	
14	161.8 s		162.1 s	
15	119.9 d	5.43 br s	119.5 d	5.46 br s
16	35.2 t	2.11 m (2H)	34.8 t	2.10 m (2H)
17	52.8 d	1.96 m	58.2 d	2.15 dd(7.4, 3.4)
18	18.1 q	0.906 s (3H)	18.4 q	1.05 s (3H)
19	26.5 q	0.954 s (3H)	26.6 q	1.05 s (3H)
20	45.9 d	2.20 m	47.3 d	2.39 m
21	104.2 d	4.76 d (4.1)	109.2 d	4.81 d (3.4)
22	32.8 t	a 1.49 m; b 1.62 m	32.9 t	a 1.48 m; b 1.83 m
23	75.0 d	4.79 m	73.5 d	4.74 ddd (10.5, 8.4, 4.7)
24	128.4 d	5.42 br s	119.5 d	5.45 br s
25	137.2 s		139.6 s	
26	68.3 t	4.00 s (2H)	68.0 t	4.02 s (2H)
27	13.8 q	1.70 s (3H)	14.3 q	1.73 s (3H)
28	24.3 q	1.29 s (3H)	25.6 q	1.36 s (3H)
29	66.7 t	a 3.37 d (10.7); b 3.60 d (10.7)	72.5 t	a 3.71 d (10.6); b 3.91 m
30	20.4 q	1.02 s (3H)	20.1 q	1.08 s (3H)
1'	118.1 d	5.62 br s	120.8 d	5.31 br s
2'	73.4 d	5.19 t (2.9)	77.8 d	5.07 s
3'	142.3 s		142.1 s	
4'/8'	127.6 d	7.39 m (2H)	127.3 d	7.36 m (2H)
5'/7'	128.4 d	7.34 m (2H)	128.6 d	7.33 m (2H)
6'	127.4 d	7.26 m (2H)	127.8 d	7.27 m (2H)
1''	54.2 q	3.30 s (3H)	55.6 q	3.38 s (3H)

[0049] 表3. 化合物1和3对5株人肿瘤细胞的细胞毒活性 (HL-60, A549, SMMC-7721, MCF-7, and SW480)

	Compd.	HL-60	A549	SMMC-7721	MCF-7	SW480
	1	12.54±1.37	17.0±0.08	18.49±0.05	10.60±0.47	18.92±0.41
[0050]	3	3.381±0.061	11.67±0.48	9.484±0.529	12.48±0.71	18.27±0.25
	DDP	4.168±0.185	13.28±0.90	11.33±1.04	25.64±0.82	25.10±0.12
	Taxol	<0.008	<0.008	0.219±0.021	<0.008	<0.008

[0051] 注:数据显示化合物的 $IC_{50} \pm SD$ 值,单位: μM 。

[0052] 表4. 化合物2和4对5株人肿瘤细胞的细胞毒活性(HL-60, A549, SMMC-7721, MCF-7, and SW480)

	Compd.	HL-60	A549	SMMC-7721	MCF-7	SW480
	2	16.12±0.21	22.38±0.63	13.19±0.21	17.05±1.18	16.36±0.19
[0053]	4	5.017±0.593	17.05±0.22	12.93±0.12	15.43±1.19	16.53±0.22
	DDP	4.168±0.185	13.28±0.90	11.33±1.04	25.64±0.82	25.10±0.12
	Taxol	<0.008	<0.008	0.219±0.021	<0.008	<0.008

[0054] 注:数据显示化合物的 $IC_{50} \pm SD$ 值,单位: μM 。

[0055] 制剂实施例1:

[0056] 按实施例1和2的方法,将西印度醋栗风干叶子(30kg)粉碎,浸泡于95%乙醇水(100L),在60℃条件下回流提取3次(2h/次)。过滤,滤液减压浓缩除去有机溶剂,得粗提物4.5kg。粗提物用水和乙酸乙酯萃取,乙酸乙酯部分(2.0kg)上硅胶柱层析,采用石油醚:乙酸乙酯为(20:1, 10:1, 8:1, 2:1, 1:1和0:1)溶液进行梯度洗脱,得6个主要部分(A-F),B部分上MCI柱层析,用90%的甲醇水洗脱得72g黄色胶状物,该部分继续采用硅胶柱层析,以石油醚:丙酮(9:1-1:2)溶液进行梯度洗脱,得6个部分(B₁-B₆)。B₂部分采用制备液相(85%甲醇-水,流速15mL/min)和半制备液相(80%乙腈-水,流速3mL/min),得化合物1-4。按常规加注射用水,精滤,灌装灭菌制成注射液。

[0057] 制剂实施例2:

[0058] 按实施例1和2的方法先制得化合物1-4,将其单独或任意混合溶于无菌注射用水中,搅拌使其溶解,用无菌抽滤漏斗过滤,再无菌精滤,分装于2安瓿中,低温冷冻干燥后无菌熔封得粉针剂。

[0059] 制剂实施例3:

[0060] 按实施例1和2的方法先制得化合物1-4,将其单独或任意混合,然后与赋形剂重量比为9:1的比例加入赋形剂,制成粉剂。

[0061] 制剂实施例4:

[0062] 按实施例1和2的方法先制得化合物1-4,将其单独或任意混合,然后与赋形剂重量比为1:5-1:10的比例加入赋形剂,制粒压片。

[0063] 制剂实施例5:

[0064] 按实施例1和2的方法先制得化合物1-4,将其单独或任意混合,然后按常规口服液制法制成口服液。

[0065] 制剂实施例6:

[0066] 按实施例1和2的方法先制得化合物1-4,将其单独或任意混合,然后按其与赋形剂

重量比为5:1的比例加入赋形剂,制成胶囊或颗粒剂或冲剂。

[0067] 制剂实施例7:

[0068] 按实施例1和2的方法先制得化合物1-4,将其单独或任意混合,然后按其与赋形剂重量比为3:1的比例加入赋形剂,制成胶囊或颗粒剂或冲剂。

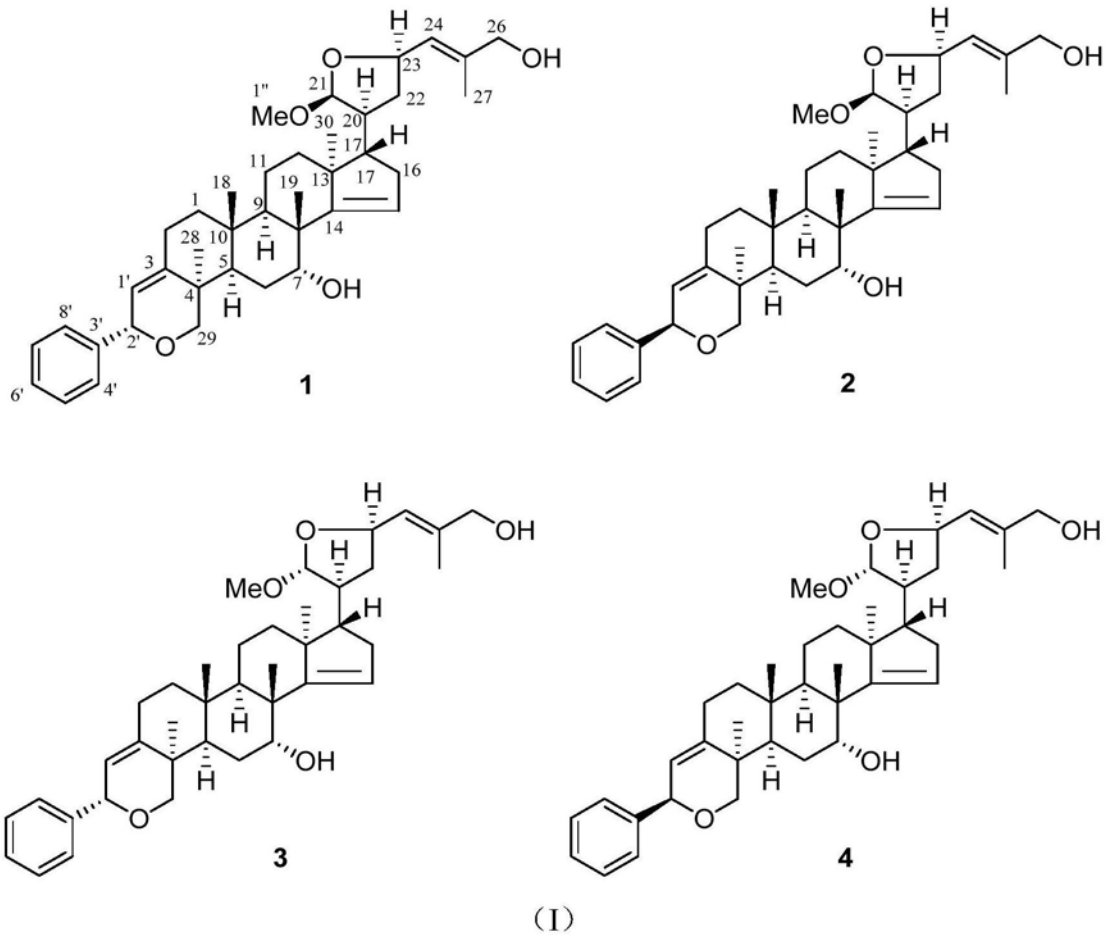


图1

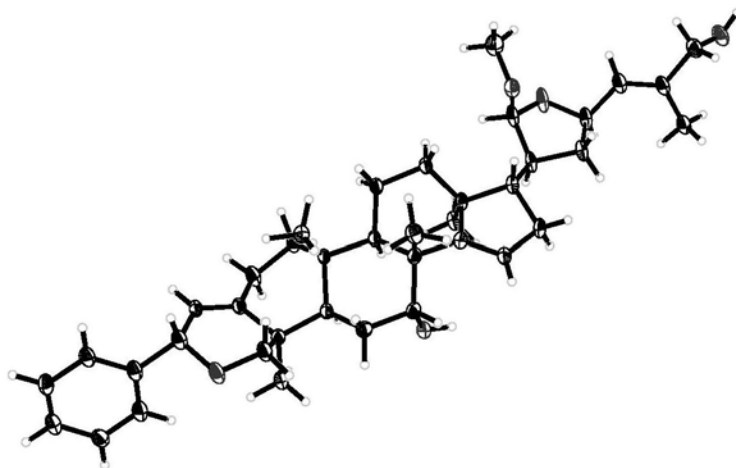


图2

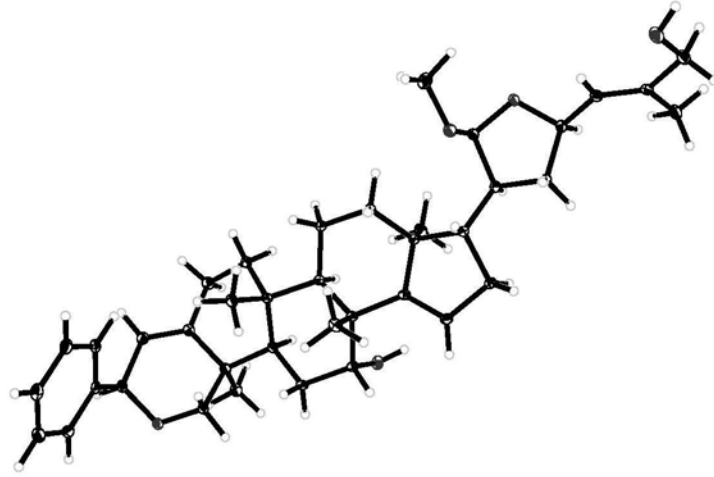


图3