



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107519179 A

(43)申请公布日 2017.12.29

(21)申请号 201710546101.2	A61P 25/16(2006.01)
(22)申请日 2011.07.15	A61P 19/02(2006.01)
(30)优先权数据	A61P 9/10(2006.01)
PCT/US2010/042240 2010.07.16 US	A61P 9/00(2006.01)
12/856,322 2010.08.13 US	A61P 25/06(2006.01)
(62)分案原申请数据	A61P 11/00(2006.01)
201180043561.4 2011.07.15	A61P 7/12(2006.01)
(71)申请人 太平洋艾瑞有限公司	A61P 7/10(2006.01)
地址 英属维尔京群岛托土拉罗德镇科穆	A61P 31/16(2006.01)
尔·钱伯斯邮政信箱71号	A61P 29/00(2006.01)
(72)发明人 陈沛光 麦美送	A61P 7/02(2006.01)
(74)专利代理机构 北京华科联合专利事务所	A61P 3/10(2006.01)
(普通合伙) 11130	A61P 25/08(2006.01)
代理人 王为	A61P 1/02(2006.01)
(51)Int.Cl.	A61P 1/04(2006.01)
A61K 31/56(2006.01)	A61P 9/14(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)	A61P 9/02(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)	A61P 25/00(2006.01)
A61P 35/04(2006.01)	A61P 31/10(2006.01)
A61P 25/28(2006.01)	A61P 33/00(2006.01)
A61P 39/06(2006.01)	A61P 11/02(2006.01)
	A61P 31/22(2006.01)
	A61P 43/00(2006.01)

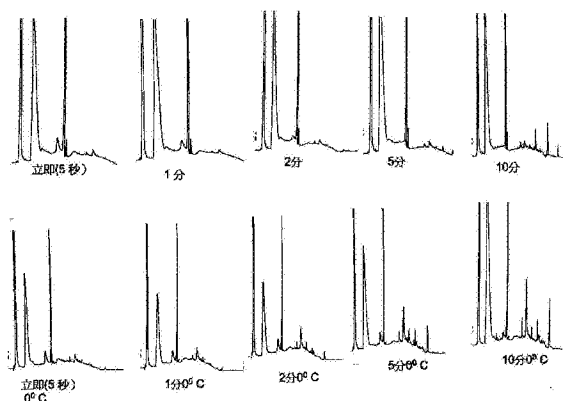
权利要求书7页 说明书59页 附图37页

(54)发明名称

可治疗癌症和其它疾病的新化合物

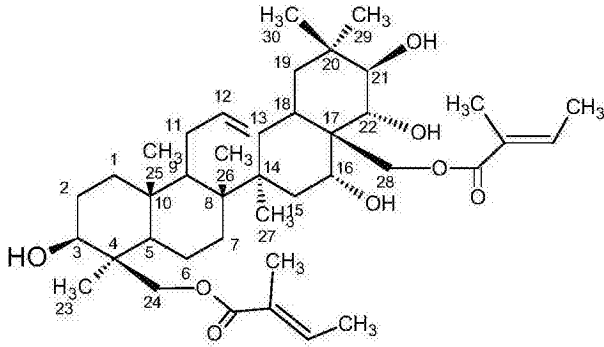
(57)摘要

本发明提供了合成药用新化合物的方法,该药用新化合物可治疗癌症,在这里,所述癌症包括乳腺癌、白细胞癌、肝癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、皮肤癌、骨癌、脑癌、白血病、肺癌、结肠癌、中枢神经癌(CNS)、黑素瘤、肾管,宫颈癌,食管癌,睾丸癌,脾癌,肾癌,淋巴瘤,胰腺癌,胃癌和甲状腺癌等。本发明提供了一种抗粘连疗法,即利用这些化合物作为粘连蛋白和血管形成素的调节药剂或抑制剂,抑制过度粘连和细胞附着,调节血管形成。这些化合物也可作为细胞粘连受体,细胞循环和移动,以及炎症疾病的调节药剂。

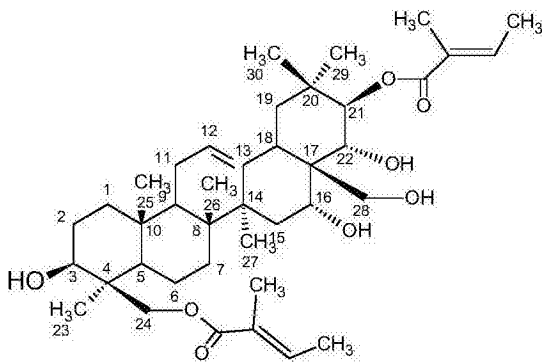


1. 一种无溶血作用活性化合物在制备药物中的应用,其特征是所述化合物的有效剂量无溶血作用活性,具有下列任一个结构:

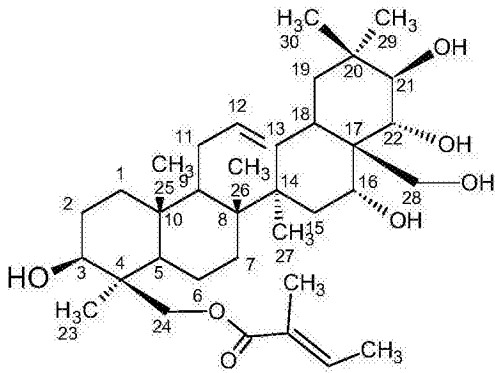
a)



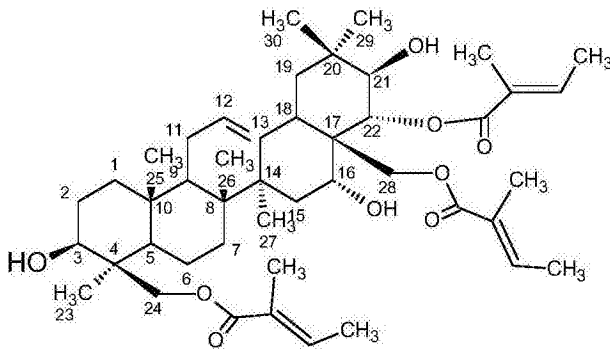
b)



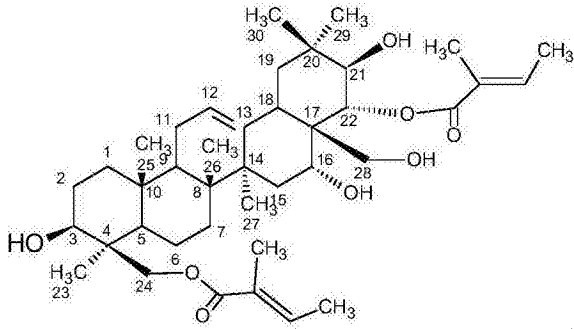
c)



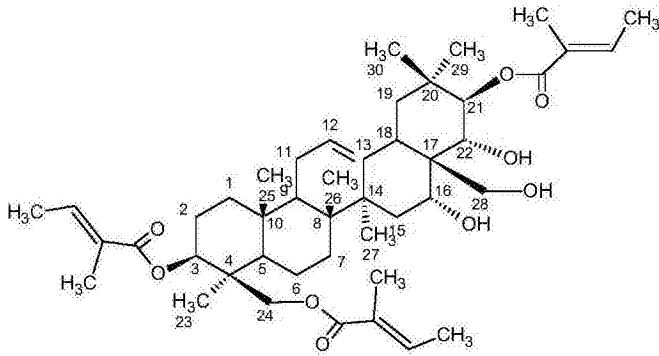
d)



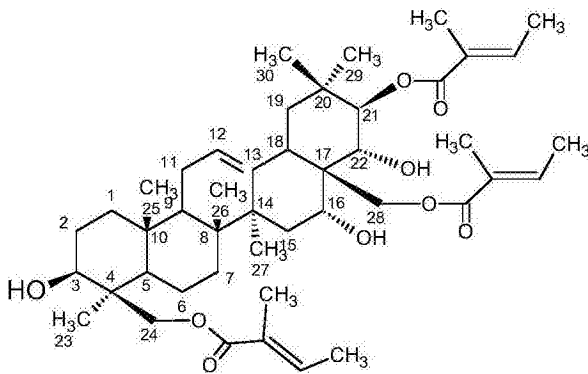
e)



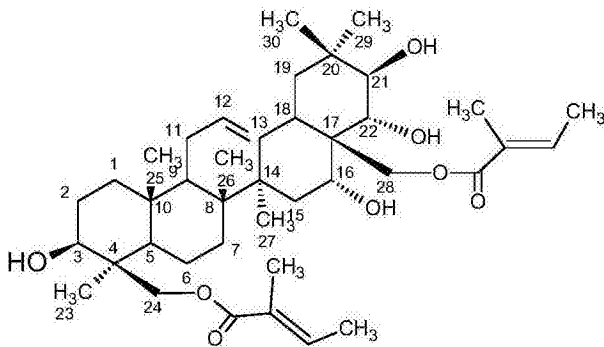
f)



g)

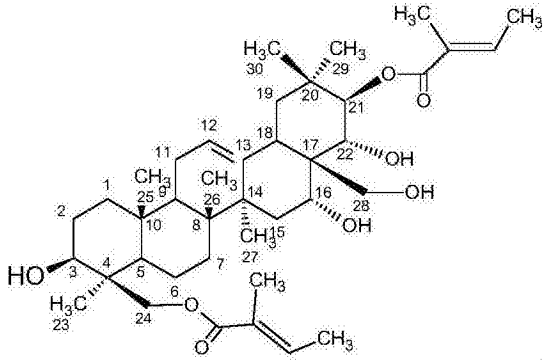


2. 按权利要求1所述的的应用,其特征是所述药物具有下列任一结构:



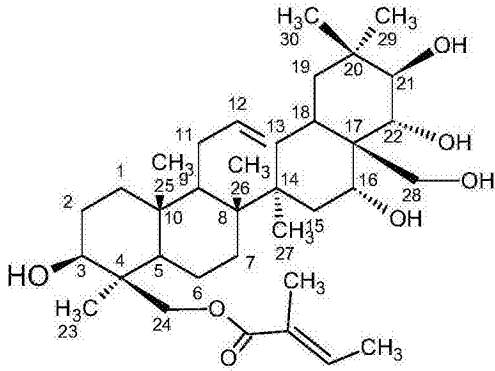
3. 按权利要求1所述的的应用,其特征是所述药物具有下列任一结构:

b)



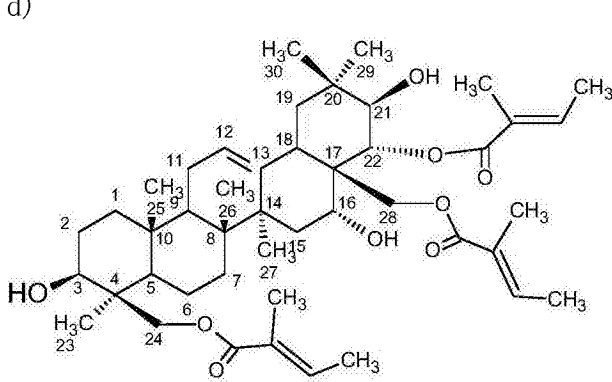
4. 按权利要求1所述的的应用,其特征是所述药物具有下列任一结构:

c)



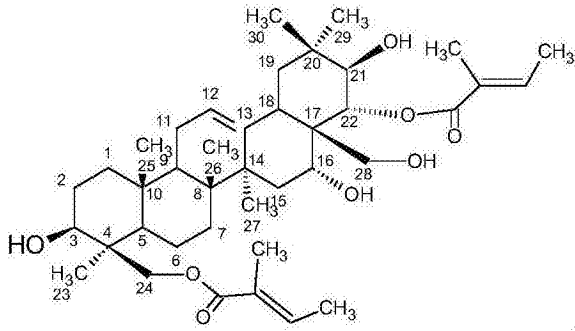
5. 按权利要求1所述的的应用,其特征是所述药物具有下列任一结构:

d)

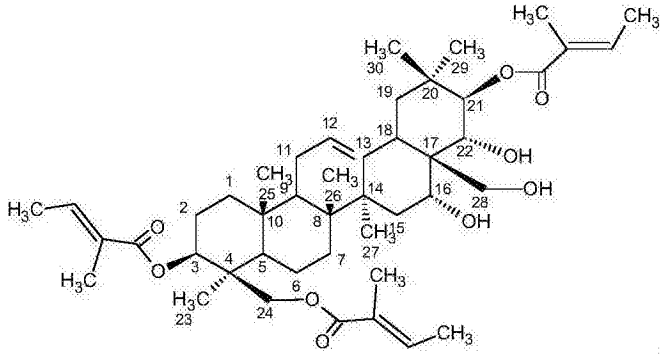


6. 按权利要求1所述的的应用,其特征是所述药物具有下列任一结构:

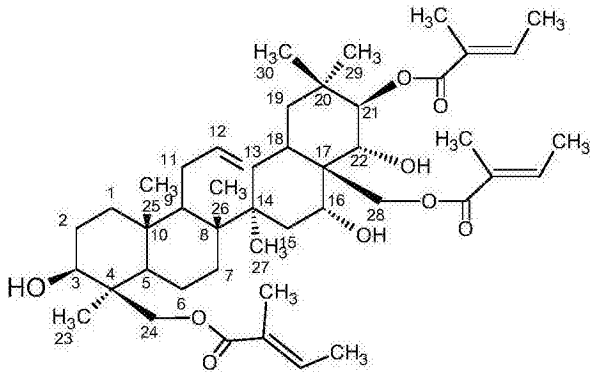
e)



7. 按权利要求1所述的的应用,其特征是所述药物具有下列任一结构:

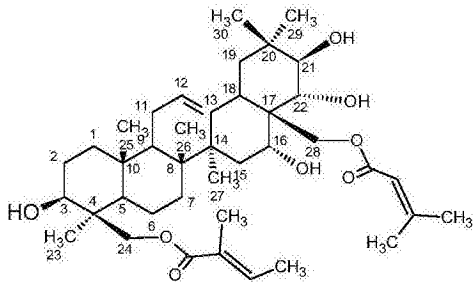


8. 按权利要求1所述的的应用,其特征是所述药物具有下列任一结构:

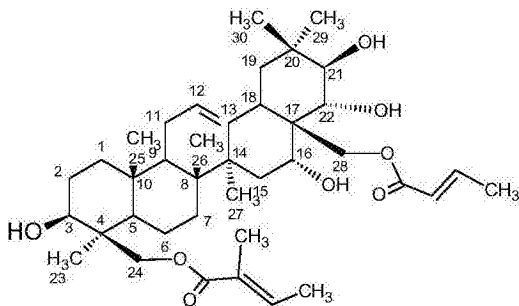


9. 一种无溶血作用活性化合物在制备药物中的应用,其特征是所述化合物的有效剂量无溶血作用活性,具有下列任一结构:

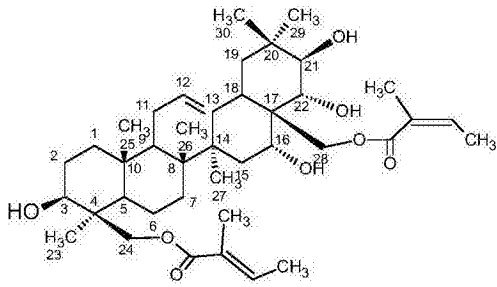
a)



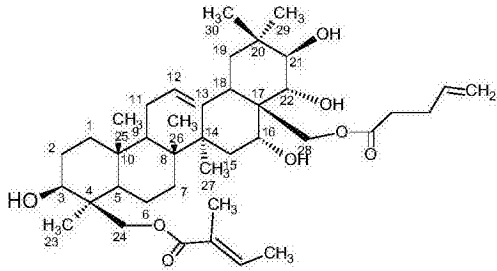
b)



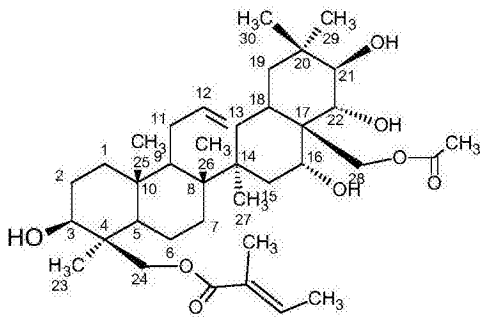
c)



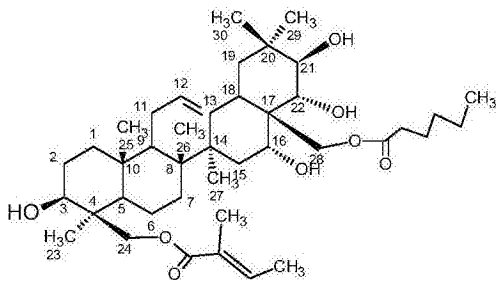
d)



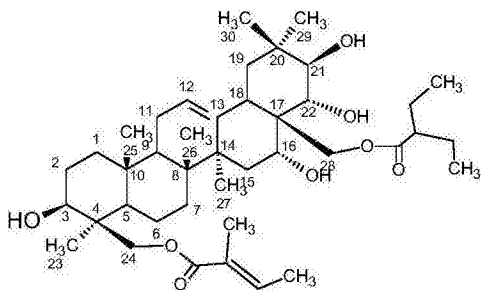
e)



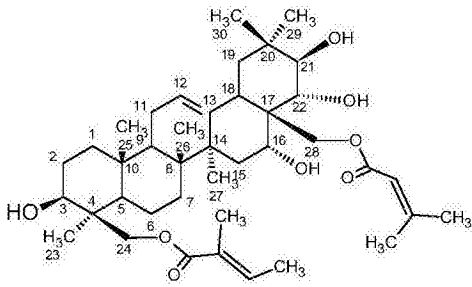
f)



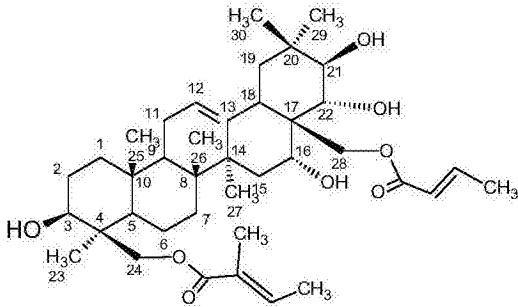
g)



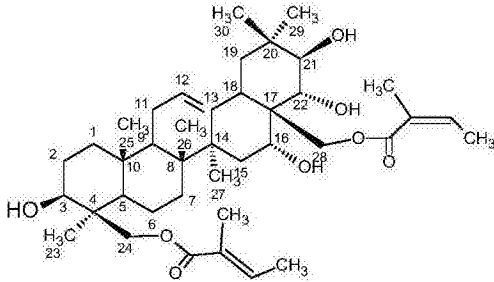
10. 按权利要求9所述的的应用,其特征是所述药物具有下列任一个结构:



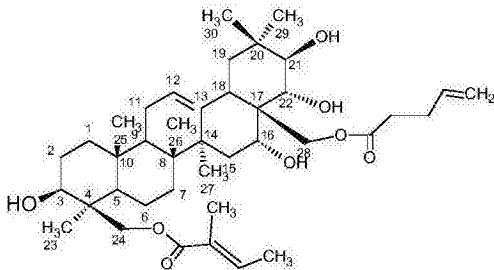
11. 按权利要求9所述的的应用,其特征是所述药物具有下列任一结构:



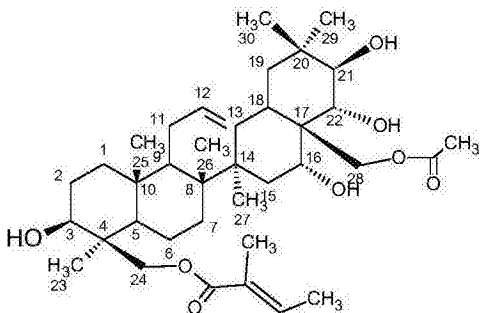
12. 按权利要求9所述的的应用,其特征是所述药物具有下列任一结构:



13. 按权利要求9所述的的应用,其特征是所述药物具有下列任一结构:



14. 按权利要求9所述的的应用,其特征是所述药物具有下列任一结构:



15. 按权利要求1-15所述的的应用,其特征是所述药物具有C24-O-顺芷酰基结构。

16. 按权利要求1-15所述的的应用,其特征是所述应於制药物用途,所述用途作为抑制剂可抑制癌细胞的生长,所述癌症是乳腺癌、白细胞癌、肝癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、皮

肤癌、骨癌、脑癌、肺癌、结肠癌、黑素瘤、肾管癌、宫颈癌、口腔癌、肾癌、或胰腺癌。

17. 按权利要求1-15所述的应用,其特征在于所述应用化合物於制药物用途,药物可医治癌症,抑制癌的生长,入侵,细胞入侵和癌细胞入侵和转移,调节细胞粘连和附着,细胞循环,抑制病毒,预防脑衰老,改善记忆力和脑功能,治疗遗尿,尿频和尿急,痴呆,帕金森病,或其它由脑功能不全引起的疾病,关节炎,风湿症,循环不良,动脉硬化,雷诺病症,头痛、眩晕和肾脏功能紊乱,心血管疾病,抑制NF-Kappa B活化,脑水肿,呼吸急迫症侯群,呼吸病毒疾病;慢性静脉功能不全;低血压;慢性静脉疾病;抗水肿;抗炎;治疗痔疮,末梢水肿;静脉曲张;流感;外伤后水肿;术后肿胀;抑制血栓形成,抑制乙醇吸收;降血糖;调整促皮质素和皮质酮的水平,抗动脉瘤抗动脉瘤,抗哮喘,舒张血管,抗毛细管出血,抗头痛,抗颈臂痛;治疗子痫,水肿,脑炎,渗出,流感,骨折,龈炎,血肿,疱疹,组胺休克,关节积水,脑膜炎,抗氧化作用,牙周炎,静脉炎,胸膜炎,声嘶,鼻炎,扁桃体炎,溃疡,静脉曲张,眩晕,癌症转移,致皮质酮发生;利尿,抗真菌,溶血作用,保护血管和静脉的作用;抑制利史曼病,抑制癌细胞粘连或血管促白细胞生成素,抗寄生虫;增强下述基因表达:ANGPT2,DDIT3,LIF和NFKB1Z;制造辅助组合物和用于静脉切除处理。



## 可治疗癌症和其它疾病的新化合物

[0001] 本专利要求获得国际专利申请书号.PCT/US20100042240,在2010年7月16日递交,美国专利申请书号.12/856322,在2010年8月13日递交,美国专利申请书号.12/541,713在2009年8月14日递交,美国专利申请书号.61/226,043,在2009年7月16日递交,和国际专利申请书号.PCT/US09/34115在2009年2月13日递交中所要求的权利或优先权。本专利还要求获得美国专利申请书号.61/038,277在2008年3月20日递交,美国专利申请书号.61/054,308在2008年5月19日递交,国际专利申请书号.PCT/US2008/002086在2008年2月15日递交,国际专利申请号.PCT/US2007/077273在2007年8月30日递交,美国专利申请书号.60/890,380在2007年2月16日递交,美国专利申请书No.60/947,705在2007年7月3日递交和美国专利申请书号.11/683,198,在2007年3月7日递交中所要求的权利或优先权,上述专利申请书又同时要求获得美国专利申请书号U.S.Serial Nos.60/795,417,在2006年4月27日递交;60/841,727,在2006年9月1日递交和60/890,380,在2007年2月16日递交) 和和国际专利申请书号.PCT/US2006/016158,2006年4月27日递交中所要求的权利或优先权,这三项美国专利申请书和一项国际专利申请书又要求获得下述专利申请书的权利或优先权:(1) 美国专利申请书号.11/289,142,在2005年11月28日递交和美国专利申请书号.11/267,523,在2005年11月4日递交,(2) 国际专利申请书.PCT/US2005/031900,在2005年9月7日递交,该申请书又要求获得美国专利申请书号.60/617.379,在2004年10月8日递交,美国专利申请书号.60/613,811,2004年9月27日递交和美国专利申请书号.60/607,858,在2004年9月7日递交中所要求的权利或优先权,(3) 美国专利申请书号.11/131,551,在2005年5月17日递交和(4) 美国专利申请书号.11/117,760,在2005年4月27日递交。美国专利申请书号.11/412,659,在2006年4月27日递交;美国专利申请书No.10/906,303,2005年2月14日递交和美国专利申请书号.12/344,682,在2008年12月29日递交中所要求的权利或优先权。因而,这些正在审定的专利申请书的内容因而应全面地纳入本专利申请书中。

### 发明领域

[0002] 本专利提供了可抑制癌入侵,细胞入侵或癌细胞入侵的化合物,组合物,提取物和方法。

### [0003] 发明背景

[0004] 本专利提供了合成药用的新化合物的方法,提供了可治疗癌症,抑制癌入侵,细胞入侵或癌细胞入侵的化合物,组合物,提取物和方法。在这里,癌症包括乳腺癌、白细胞癌、肝癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、皮肤癌、骨癌、脑癌、白血病、肺癌、结肠癌、中枢神经癌(CNS)、黑素瘤、肾管癌,宫颈癌,食管癌,睾丸癌,脾癌,肾癌,淋巴癌,胰腺癌,胃癌和甲状腺癌等。

### [0005] 摘要

[0006] 本专利提供了合成药用的新化合物的方法。提供了可治疗癌症,抑制癌入侵,细胞入侵或癌细胞入侵的化合物,组合物,提取物和方法。本专利提供了一种利用这些化合物,组合物,可制造抑制癌细胞入侵和转移的药物的方法。本专利提供的化合物可以用于调节

或抑制粘连蛋白或血管促白细胞生成素 (angiopoietin)。这里所说的化合物含有本专利中所提供的分子式中的化学结构,这些化合物是合成的或提取的,这些化学结构中有皂甙,三萜类,五环三萜类和其它化学功能基团。在这里,所述癌症包括乳腺癌、白细胞癌、肝癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、皮肤癌、骨癌、脑癌、白血病、肺癌、结肠癌、中枢神经癌 (CNS)、黑素瘤、肾管癌,宫颈癌,食管癌,睾丸癌,脾癌,肾癌,淋巴瘤,胰腺癌,胃癌和甲状腺癌等。本专利提供的化合物可以用于调节细胞循环,移动和治疗炎症。

[0007] 图的详细说明

[0008] 图1. 酯化反应的不同时段,带有顺芷酰 (Tigloyl) 氯 (A) 的E4A酯化产物的HPLC图谱,每5秒,1分,2分,5分和10分钟。图谱是根据洗脱时间和组份光密度制作的。酯化反应在室温 (上行) 和0℃ (下行) 进行的。

[0009] 图2. 酯化反应的不同时段,带有3,3-二甲基丙烯酰氯 (B) 的E4A酯化产物的HPLC图谱,每5秒,1分,2分,5分和10分钟。图谱是根据洗脱时间和组份光密度制作的。酯化反应在室温 (上行) 和0℃ (下行) 进行的。

[0010] 图3. 酯化反应的不同时段,带有4-戊烯酰氯 (C) 的E4A酯化产物的HPLC图谱,每5秒,1分,2分,5分和10分钟。图谱是根据洗脱时间和组份光密度制作的。酯化反应在室温进行的。

[0011] 图4. 酯化反应的不同时段,带有己烯酰氯 (D) 的E4A酯化产物的HPLC图谱,每5秒,1分,2分,5分和10分钟。图谱是根据洗脱时间和组份光密度制作的。酯化反应在0℃ (上行) 进行的。同时,酯化反应的不同时间带有2-乙基丁酰氯 (E) 的E4A酯化产物的HPLC图谱,每5秒,1分,2分,5分和10分钟。图谱是根据洗脱时间和组份光密度制作的。酯化反应在0℃ (下行) 进行的。

[0012] 图5. 酯化反应的不同时段,带有乙酰氯 (H) 的E4A酯化产物的HPLC图谱,每5秒,1分,2分,5分和10分钟。图谱是根据洗脱时间和组份光密度制作的。酯化反应在室温进行的。

[0013] 图6. 酯化反应的不同时段,带有巴豆酰 (Crotonoyl) 氯 (I) 的E4A酯化产物的HPLC图谱,每5秒,1分,2分,5分和10分钟。图谱是根据洗脱时间和组份光密度制作的。酯化反应在室温进行的。

[0014] 图7. 酯化反应的不同时段,带有桂皮酰 (Cinnamoyl) 氯 (J) 的E4A酯化产物的HPLC图谱,每1分,1小时,2小时,18小时和18小时 (加热)。图谱是根据洗脱时间和组份光密度制作的。酯化反应在75℃进行的。

[0015] 图8. 酯化反应的不同时段,带有苯甲酰氯 (K) 的E4A酯化产物的HPLC图谱,每5秒,1分,2分,5分和10分钟。图谱是根据洗脱时间和组份光密度制作的。酯化反应在0℃进行的。

[0016] 图9. 在室温下MTT毒性研究,A: E4A-顺芷酰基; B: E4A-3,3-二甲基丙烯酰基; C: E4A-4-戊烯酰基。

[0017] 图10. 在0℃MTT毒性研究,A: E4A-顺芷酰基; B: E4A-3,3-二甲基丙烯酰基; C: E4A-4-戊烯酰基。

[0018] 图11. 毒性研究,J: E4A-桂皮酰基; D: E4A-己烯酰基; E: E4A-2-乙基丁酰基。对照: Tig是顺芷酰氯; AC是乙酰基氯; H是酯化反应1分钟的E4A和乙酰基氯。

[0019] 图12. 毒性研究,H: E4A-乙酰基; I: E4A-巴豆酰基。

[0020] 图13. E4A-Tig毒性研究,酯化反应1分钟,15分钟,30分钟,1小时和2小时。

- [0021] 图14. 酯化反应的不同时段, E4A-Tig的酯化产物的HPLC图谱, 1分和2小时。
- [0022] 图15. E4A-Tig毒性研究结果: E4A-Tig酯化反应5秒到1分钟期间毒性最强, 1分钟后减弱。10分钟以后最小或无。
- [0023] 图16. 酯化反应的不同时段, E4A-Tig, E4A, E4A-ASAP (5秒), E4A (1分), E4A (2分), E4A (5分), E4A (10分) 和E4A (30分) 的酯化产物的HPLC图谱。
- [0024] 图17. 毒性大小的顺序: M, N, O, P, Q, R, S, T, E4A。M=E4A没有毒性。
- [0025] 图18. E4A-Tig-R对癌细胞MTT毒性研究结果: A, 骨癌细胞 (U20S)  $IC_{50}=4.5\mu\text{g/ml}$ ; B, 膀胱癌细胞 (TB9) :  $IC_{50}=2.5\mu\text{g/ml}$ ; C, 肺癌细胞 (H460) :  $IC_{50}=4.8\mu\text{g/ml}$ ; D, 卵巢癌细胞 (ES2) :  $IC_{50}=2.8\mu\text{g/ml}$ 。
- [0026] 图19. E4A-Tig-R对不同器官癌细胞MTT毒性研究结果: E, 直肠癌 (HCT116)  $IC_{50}=5.2\mu\text{g/ml}$ ; F, 胰腺癌 (Capan)  $IC_{50}=2.4\mu\text{g/ml}$ ; G, 卵巢癌 (OVCAR3)  $IC_{50}=5.8\mu\text{g/ml}$ ; H, 乳腺癌 (MCF-7)  $IC_{50}=4.5\mu\text{g/ml}$ 。
- [0027] 图20. E4A-Tig-R对不同器官癌细胞MTT毒性研究结果: I, 前列腺癌 (DU145)  $IC_{50}=3.6\mu\text{g/ml}$ ; J, 皮肤癌 (SK-Mel-5)  $IC_{50}=5.1\mu\text{g/ml}$ ; K, 口腔癌 (KB)  $IC_{50}=3\mu\text{g/ml}$ ; L, 肾癌 (A498)  $IC_{50}=3.5\mu\text{g/ml}$ 。
- [0028] 图21. E4A-Tig-R对不同器官癌细胞MTT毒性研究结果: M, 肝癌 (Hep62)  $IC_{50}=6\mu\text{g/ml}$ ; N, 脑癌 (T986)  $IC_{50}=5\mu\text{g/ml}$ ; P, 黑素瘤癌 (K562)  $IC_{50}=2\mu\text{g/ml}$ ; Q, 宫颈癌 (HeLa)  $IC_{50}=5\mu\text{g/ml}$ 。
- [0029] 图22. (A) Tig-N, -Q, -R, -T-S和-V在浓度高至 $20\mu\text{g/ml}$ 都没有溶血作用。原化学物ES裂解100%红细胞 (RBC) 到 $5\mu\text{g/ml}$ 。(B) 和化合物Y3相比, ACH-Y3溶血作用小, Tig-R无溶血作用。
- [0030] 图23. (A) 酯化产物的HPLC图谱, 获得多个组份, 收集每个组份做进一步研究。(B) E4A-Tig-R纯化的结果。
- [0031] 图24. E4A-Tig-R对骨癌细胞 (U20S) 的MTT测试结果。
- [0032] 图25. E4A-Tig-R的HNMR结果。
- [0033] 图26. E4A-Tig-R的CNMR结果。
- [0034] 图27. E4A-Tig-R的HMQC结果。
- [0035] 图28. E4A-Tig-R的HMBC结果。
- [0036] 图29. Tig-R (M+H) 的质量是671.4509, 和设想的该化合物的结构相吻合。
- [0037] 图30. E4A-Tig-R的化学结构, 24, 28-O-顺苊酰基- $3\beta$ ,  $16\alpha$ ,  $21\beta$ ,  $22\alpha$ ,  $24\beta$ , 28-六羟基齐墩果-12-烯五环三萜皂甙, 分子式:  $C_{40}H_{62}O_8$ , 分子重: 670.91548。
- [0038] 图31. (A) 酯化产物的HPLC图谱, 收集每个组份做进一步研究。(B) E4A-Tig-R纯化的结果。(C) E4A-Tig-S纯化的结果。(D) E4A-Tig-T纯化的结果。
- [0039] 图32. (A) E4A-Tig-N对骨癌细胞 (U20S) 的MTT测试结果; (B) E4A-Tig-S对骨癌细胞 (U20S) 的MTT测试结果。
- [0040] 图33. (A) E4A-Tig-T对骨癌细胞 (U20S) 的MTT测试结果; (B) E4A-Tig-V对卵巢癌 (ES2) 的MTT测试结果.  $IC_{50}=2\mu\text{g/ml}$ ; (C) E4A-Tig-V纯化的结果。
- [0041] 图34. E4A-Tig-V的HNMR结果。
- [0042] 图35. E4A-Tig-V的HMQC结果。

[0043] 图36.E4A-Tig-V的HMBC结果。

[0044] 图37.E4A-Tig-V的质谱,Tig-R (M+H) 质量是753.4924,它和和设想的该化合物的分子式相吻合(C<sub>45</sub>H<sub>68</sub>O<sub>9</sub>)。

[0045] 申请的详细说明

[0046] 本专利提供了合成药用的新化合物的方法。本专利提供的化合物可以用做粘连蛋白或血管促白细胞生成素(angiotensin)的调节剂或抑制剂,它可以抑制粘连细胞过度粘连和连接,可以调节血管促白细胞生成素(angiotensin),可作为细胞粘连受体的调节剂。

[0047] 本专利提供的化合物或含有该化合物的组合物,可治疗癌症,抑制癌生长,抑制病毒,预防脑衰老,改善记忆力和脑功能,治疗遗尿,尿频和尿急,痴呆,帕金森病,或其它由脑功能不全引起的疾病,关节炎,风湿症,循环不良,动脉硬化,雷诺病症,心绞痛,心脏功能紊乱,冠心病、头痛、眩晕和肾脏功能紊乱,心血管疾病,抑制NF-Kappa B活化,脑水肿,呼吸急迫症候群,呼吸病毒疾病;慢性静脉功能不全;低血压;慢性静脉疾病;水肿;抗炎;痔瘡,末梢水肿;静脉曲张;流感;外伤后水肿;术后肿胀;抑制血栓形成,抑制乙醇吸收;降血糖;调整促皮质素和皮质酮的水平.本专利提供的化合物,可抗MS,抗动脉瘤,抗哮喘,舒张血管,抗毛细血管出血,抗头痛,抗颈臂痛,子痫,水肿,脑炎,会厌炎,渗出,流感,骨折,龋炎,血肿,疱疹,组胺休克,关节积水,脑膜炎,抗氧化作用,牙周炎,静脉炎,胸膜炎,声嘶,鼻炎,扁桃体炎,溃疡,静脉曲张,眩晕,癌症转移,致皮质酮发生,利尿,抗真菌,溶血作用,玻璃酸酶抑制剂,利淋巴剂,利钠作用,杀虫剂,利粘液剂,溶胸腺的,保护血管和静脉的作用。抑制利史曼病,抑制癌细胞粘连或血管促白细胞生成素,抗寄生虫;增强下述基因表达:ANGPT2, DDIT3, LIF和NFKB1Z;制造辅助组合物和用于静脉切除处理。

[0048] 本专利提供了可医治癌症,抑制癌细胞生长,入侵和转移的化合物,组合物和方法。其特征在于所述化合物含有本专利中所提供的分子式中的化学结构,这些化学结构中有三萜类,五环三萜类和其它化学功能基团,可以人工合成或提取。在这里,所述癌症包括乳腺癌、白细胞癌、肝癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、皮肤癌、骨癌、脑癌、白血病、肺癌、结肠癌、中枢神经癌(CNS)、黑素瘤、肾管癌,宫颈癌,食管癌,睾丸癌,脾癌,肾癌,淋巴癌,胰腺癌,胃癌和甲状腺癌等。这里所述的细胞是乳腺细胞、白细胞、肝细胞、卵巢细胞、膀胱细胞、前列腺细胞、皮肤细胞、骨细胞、脑细胞、白血病细胞、肺细胞、结肠细胞、中枢神经细胞(CNS)、黑素瘤细胞、肾管细胞,宫颈细胞,食管细胞,睾丸细胞,脾细胞,肾细胞,淋巴细胞,胰腺细胞,胃细胞和甲状腺细胞。

[0049] 本专利提供了可医治癌症,抑制癌细胞生长,入侵和转移,细胞在体内循环,细胞粘附的化合物,这些化合物是三萜类,五环三萜类皂甙化合物,含有顺芷酰基(Tigloyl),当归酰基,巴豆酰基,千里光酰基,乙酰基,3,3-二甲基丙烯酰基,桂皮酰基,戊烯酰基,己烯酰基,苯甲基,乙丁酰基,双苯甲酰基,链烷酰基,链烯酰基,苯甲基烷基取代的链烷酰基,链烷酰基取代的苯基,链烯酰基取代的苯基,芳香基,酰基,杂环化合物,杂环芳香化合物,糖链或被双当归酰基取代的糖链。

[0050] 本发明揭示,可抑制癌生长和入侵,细胞入侵和癌细胞入侵的五环三萜,三萜,三萜皂甙化合物的碳21,22,24和/或28位含有顺芷酰基,当归酰基,巴豆酰基,千里光酰基,乙酰基,3,3-二甲基丙烯酰基,桂皮酰基,戊烯酰基,己烯酰基,双苯甲酰基,苯甲酰基,链烷酰基,链烯酰基,苯甲基烷基取代的链烷酰基,链烷酰基取代的苯基,链烯酰基取代的苯基,芳

香基, 酰基, 杂环化合物, 杂环芳香化合物, 或被双当归酰基取代的糖链。本发明揭示, 本专利提供的五环三萜, 三萜, 三萜皂甙化合物的碳3, 8, 15, 21, 22, 24和、或28位含有顺芷酰基, 当归酰基, 巴豆酰基, 千里光酰基, 乙酰基, 3, 3-二甲基丙烯酰基, 桂皮酰基, 戊烯酰基, 己烯酰基, 双苯甲酰基, 苯甲酰基, 链烷酰基, 链烯酰基, 苯甲基烷基取代的链烷酰基, 链烷酰基取代的苯基, 链烯酰基取代的苯基, 芳香基, 酰基, 杂环化合物, 杂环芳香化合物, 或被双当归酰基取代的糖链, 这些化合物有抑制癌入侵, 细胞入侵和癌细胞入侵, 细胞粘连的能力。在实施方案中, 皂甙化合物在碳24位有功能集团就会有生物活性。在实施方案中, 皂甙化合物在碳24和28位有功能集团就会有生物活性。在实施方案中, 皂甙化合物在碳24, 和21位有功能集团就会有生物活性。在实施方案中, 皂甙化合物在碳24, 28和21位有功能集团就会有生物活性。在实施方案, 皂甙化合物在碳24, 28和22位有功能集团就会有生物活性。在实施方案, 皂甙化合物在碳24, 28和3位有功能集团就会有生物活性。在这里, 皂甙化合物在碳24, 和3位有功能集团就会有生物活性。在实施方案, 皂甙化合物在碳28, 和3位有功能集团就会有生物活性。在实施方案, 皂甙化合物在碳3位有功能集团就会有生物活性。在实施方案, 皂甙化合物在碳21, 和22位有功能集团就会有生物活性。

[0051] 本专利提供人工合成有生物活性的化合物的方法, 这里所述方法的特征是在母核化合物上连接活性化学集团, 这里所说的活性化学集团有顺芷酰基, 当归酰基, 乙酰基, 巴豆酰基, 3, 3-二甲基丙烯酰基, 千里光酰基, 桂皮酰基, 戊烯酰基, 己烯酰基, 苯甲酰基, 乙丁酰基, 双苯甲酰基, 链烷酰基, 链烯酰基, 苯甲基烷基取代的链烷酰基, 链烷酰基取代的苯基, 链烯酰基取代的苯基, 芳香基, 酰基, 杂环化合物, 杂环芳香化合物, 这里实施方案所说的母核化合物是五环三萜。实施方案说的母核化合物还可能是四环萜。实施方案所说的母核化合物还可能是三环萜。实施方案所说的母核化合物还可能是二环萜。实施方案所说的母核化合物还可能是单环萜。本专利提供的人工合成有生物活性的化合物可治疗癌症, 抑制癌生长, 抑制病毒, 预防脑衰老, 改善记忆力和脑功能, 治疗遗尿, 尿频和尿急, 痴呆, 帕金森病, 或其它由脑功能不全引起的疾病, 关节炎, 风湿症, 循环不良, 动脉硬化, 雷诺病症, 心绞痛, 心脏功能紊乱, 冠心病、头痛、眩晕和肾脏功能紊乱, 心血管疾病, 抑制NF-Kappa B活化, 脑水肿, 呼吸急迫症侯群, 呼吸病毒疾病; 慢性静脉功能不全; 低血压; 慢性静脉疾病; 抗水肿; 抗炎; 痔瘡, 末梢水肿; 静脉曲张; 流感; 外伤后水肿; 术后肿胀; 抑制血栓形成, 抑制乙醇吸收; 降血糖; 调整促皮质素和皮质酮的水平。本专利提供的化合物, 可AntiMS, 抗动脉瘤, 抗哮喘, 舒张血管, 抗毛细管出血, 抗头痛, 抗颈臂痛, 子痫, 水肿, 脑炎, 会厌炎, 渗出, 流感, 骨折, 龈炎, 血肿, 疱疹, 组胺休克, 关节积水, 脑膜炎, 抗氧化作用, 牙周炎, 静脉炎, 胸膜炎, 声嘶, 鼻炎, 扁桃体炎, 溃疡, 静脉曲张, 眩晕, 癌症转移, 致皮质酮发生, 利尿, 抗真菌, 溶血作用, 玻璃酸酶抑制剂, 利淋巴剂, 利钠作用, 杀虫剂, 利粘液剂, 溶胸腺的, 保护血管和静脉的作用。抑制利史曼病, 抑制癌细胞粘连或血管促白细胞生成素, 抗寄生虫; 增强下述基因表达: ANGPT2, DDIT3, LIF和NFKB1Z; 制造辅助组合物和用于静脉切除处理。

[0052] 本专利试验证明, 化合物AKOH不具有治疗抑制癌生长, 癌症入侵, 细胞或癌细胞入侵的能力。将活性化合物Xanifolia Y (Y3) 碳21和22位的当归酰基去掉就获得化合物AKOH。本专利试验证明, 活性化合物Xanifolia Y (Y3) 碳21和22位的当归酰基去掉后, 就是去了治疗抑制癌生长, 癌症入侵, 细胞或癌细胞入侵的能力。

[0053] 本专利试验证明, 化合物的母核化合物E4A, E5A, Xanifolia Y-core并不具有治疗

抑制癌生长,癌症入侵,细胞或癌细胞入侵的能力。从化合物Xanifolia Y(Y3) 碳21和22位去掉当归酰基,碳3位去掉糖链就会得到母核化合物XanifoliaY-core。去掉活性化合物Escin在碳3,21,和22位的活性集团得到化合物E4A(EIV A)。去掉活性化合物EscinII在碳3,21,和22位的活性集团得到化合物E5A(EV A)。

[0054] 本专利试验证明,化合物的母核化合物E4A,E5A,Xanifolia Y-core和AKOH没有溶血作用,也没有抗癌活性。

[0055] 本专利试验证明,化合物Tig-N,Tig-Q,Tig-R,Tig-T Tig-S和Tig-V浓度低于20ug/ml没有溶血作用。原化合物ES在浓度5ug/ml时可以把所有红血球溶掉。和化合物Y3相比,ACH-Y3溶血作用较小。化合物Tig-R没有溶血作用。本专利试验证明,化合物Tig-N,Tig-Q,Tig-R,Tig-T Tig-S和Tig-V有抗癌作用。

[0056] 本专利试验证明,五环三萜,三萜,三萜皂甙化合物的碳3位的糖链去掉后,治疗抑制癌生长,癌症入侵,细胞或癌细胞入侵的能力仍然保留。本专利试验证明,化合物ACH-Y3有治疗抑制癌生长,癌症入侵,细胞或癌细胞入侵的能力。去掉活性化合物Xanifolia Y(Y3) 碳3位的糖链得到化合物XanifoliaY(Y3)。本专利试验证明,XanifoliaY(Y3) 碳3位的糖链去掉后,治疗抑制癌生长,癌症入侵,细胞或癌细胞入侵的能力仍然保留。

[0057] 一个化合物具有治疗抑制癌生长,癌症入侵,细胞或癌细胞入侵的活性,称之为活性化合物。

[0058] 本专利提供了化合物,组合物的用法和用于可治疗癌症,抑制癌入侵,细胞入侵或癌细胞入侵的药物的制造方法,这些化合物是合成的或提取的,这些化学结构中有五环三萜类。在这里,癌症包括乳腺癌、白细胞癌、肝癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、皮肤癌、骨癌、脑癌、白血病、肺癌、结肠癌、中枢神经癌(CNS)、黑素瘤、肾管癌,宫颈癌,食管癌,睾丸癌,脾癌,肾癌,淋巴癌,胰腺癌,胃癌和甲状腺癌等。用于治疗癌症,抑制癌入侵,细胞入侵或癌细胞入侵的药物的用药浓度不会产生细胞毒性,同时对细胞形态也不会产生影响。

[0059] 本专利提供的可抑制癌的入侵,细胞入侵和癌细胞入侵和转移的方法,其特征是所述方法是影响基因的表达,其中包括刺激基因的表达,或抑制基因的表达,或调整本专利所提供的这些化合物,这要取决于组合物或提取物的有效用量。具体方法是用下述化合物接触上述的细胞:A1-18,A20-32,B1-18,B20-32,C1-18,C20-32,D1-18,D20-32,D1-18,D20-32,D1-18,D20-32,D1-18,D20-32,D1-18,D20-32,E1-18,E20-32,G1-18,G20-32,H1-18,H20-32,I1-18,I20-32,J1-18,J20-32,K1-18,K20-32,Xanifolia Y0,Y1,Y2,Y(Y3),Y5,Y7,Y8,Y9,Y10,Xanifolia(x),M10,Escin(bES),Aescin,ACH-Y(Y3),ACH-Y10,ACH-Y2,ACH-Y8,ACH-Y7,ACH-Y0,ACH-X,ACH-Z4,ACH-Z1,ACH-Escin(bES),ACH-M10及其盐类,酯类,和代谢产物,以及具有选自分子式2A和K的化合物。

[0060] 本专利实验室研究结果表明,具有2A or K化学结构的化合物可以抑制细胞粘连在培养瓶壁上,具有阻止这些粘连分子附着在细胞上的作用。在这里所说的细胞是癌细胞,间皮(mesothelial)细胞。本专利提供抗粘连治疗方法,其特征是所述方法是用上述所说的化合物为粘连蛋白和血管促白细胞生成素的调节剂或抑制剂。即抑制过度粘连作用和细胞附着作用,作为调节剂这些化合物调节细胞循环,细胞移动和抗炎症疾病。在这里,所说化合物可结合(binds)粘连细胞(附着在粘连细胞膜上)以阻止粘连蛋白和它的受体发生作用。在这里,所说化合物作用在粘连细胞膜上影响了粘连蛋白膜的功能,直接或间接地使癌

细胞是去了粘连作用。

[0061] (我们分离提纯的方法和生物学检测,包括MTT检测的方法,请见国际专利申请书(NO.PCT/US2005/031900,2005年9月7日递交,美国专利申请书U.S.Serial NO.11/289142,2005年11月28日递交和美国专利申请书U.S.Serial NO.11/131551,2005年5月17日递交,和专利申请书PCT/US2008/002086,1188-ALA-PCT,2008年2月15日递交PCT/US2008/002086,1188-ALA-PCT。细胞入侵的试验方法请见国际专利申请书(PCT/US2010/0042240,2010年7月16日递交,因而,这些正在审定的专利申请书的内容因而应全面地纳入本专利申请书中)。

[0062] 本专利提供的可抑制癌的入侵,细胞入侵和癌细胞入侵和转移的化合物或方法,其特征是所述方法是用药(组合物)的过程和方法,这里所述用药的方法是静脉注射,静脉滴流,腹膜内注射或口服。其中静脉滴流时,将化合物溶于250ml的10%葡萄糖液或250ml的0.9%的NaCl盐水,剂量为0.003-0.03mg/kg;静脉注射0.003-0.03mg/kg/天,溶于10-20ml的10%葡萄糖液或0.9%的NaCl盐水;或0.01-0.03mg/kg,溶于10-20ml的10%葡萄糖液或0.9%的NaCl盐水;或静脉滴流剂量为0.01-0.03mg/kg/天,溶于250ml的10%葡萄糖液或250ml的0.9%的NaCl盐水;或0.01-0.05mg/kg,溶于250ml的10%葡萄糖液或250ml的0.9%的NaCl盐水;静脉注射0.01-0.05mg/kg/天,溶于10-20ml的10%葡萄糖液或0.9%的NaCl盐水;或0.05-0.2mg/kg,溶于250ml的10%葡萄糖液或250ml的0.9%的NaCl盐水;静脉注射0.05-0.2mg/kg/天,溶于10-20ml的10%葡萄糖液或0.9%的NaCl盐水;静脉滴流0.1-0.2mg/kg/天,溶于250ml的10%葡萄糖液或250ml的0.9%的NaCl盐水;静脉注射0.1-0.2mg/kg/天,溶于10-20ml的10%葡萄糖液或0.9%的NaCl盐水;腹膜注射(I.P.)剂量2.5mg/kg/天,溶于10%葡萄糖液或0.9%的NaCl盐水;或者口服,哺乳动物的剂量是1-10mg/Kg,10-30mg/Kg,30-60mg/Kg,or60-90mg/Kg;静脉注射或者静脉滴流,哺乳动物的剂量是0.01-0.1mg/Kg,0.1-0.2mg/Kg,0.2-0.4mg/Kg,or0.4-0.6mg/Kg;腹膜注射(I.P.)哺乳动物的剂量是1-3mg/Kg,3-5mg/Kg,4-6mg/Kg,or6-10mg/Kg。

[0063] 本专利提供的可抑制癌的入侵,细胞入侵和癌细胞入侵和转移的化合物或方法,其特征是所述组合物是一种含有本专利提供的化合物的药的组合物,或一种药剂学可接受的盐类,或一种药剂学可接受的载物或稀释剂。其中所述的化合物在上述组合物中的浓度为0.01ug/ml至65ug/ml,或0.01ug/ml至40ug/ml,或0.01ug/ml至30ug/ml,或0.01ug/ml至10ug/ml,或0.01ug/ml至5ug/ml,或5ug/ml至10ug/ml,或0.1ug/ml至5ug/ml,或0.1ug/ml至7.5ug/ml,或0.1ug/ml至10ug/ml,或0.1ug/ml至15ug/ml,或0.1ug/ml至20ug/ml,或0.1ug/ml至30ug/ml,或1ug/ml至5ug/ml,或1ug/ml至7.5ug/ml,或1ug/ml至10ug/ml,或1ug/ml至15ug/ml,或1ug/ml至20ug/ml,或1ug/ml至30ug/ml,或3ug/ml至5ug/ml,或3ug/ml至7.5ug/ml,或3ug/ml至10ug/ml,或3ug/ml至15ug/ml,或3ug/ml至20ug/ml,或3ug/ml至30ug/ml,或4ug/ml至5ug/ml,或4ug/ml至7.5ug/ml,或4ug/ml至10ug/ml,或4ug/ml至15ug/ml,或4ug/ml至20ug/ml,或4ug/ml至30ug/ml,或5ug/ml至8ug/ml,或5ug/ml至9ug/ml,或5ug/ml至10ug/ml,或5ug/ml至15ug/ml,或5ug/ml至20ug/ml,或5ug/ml至30ug/ml,或7ug/ml至8ug/ml,或7ug/ml至9ug/ml,或7ug/ml至10ug/ml,或7ug/ml至15ug/ml,或7ug/ml至20ug/ml,或7ug/ml至30ug/ml。

[0064] 本专利提供的可抑制癌的入侵,细胞入侵和癌细胞入侵和转移的化合物或方法,

其特征是所述组合物是一种含有本专利提供的化合物的药的组合物,或一种药剂学可接受的盐类,或一种药剂学可接受的载物或稀释剂。其中所述的化合物在上述组合物中的浓度为0.008uM至80uM,或0.01uM至60uM,或0.01uM至50uM,或0.01uM至40uM,或0.01uM至30uM,或0.01uM至20uM,或0.01uM至10uM,或5uM至10uM,或0.1uM至5uM,或0.1uM至7.5uM,或0.1uM至10uM,或0.1uM至15uM,或0.1uM至20uM,或0.1uM至30uM,或0.1uM至40uM,或0.1uM至50uM或0.1uM至60uM,或0.1uM至80uM,或1uM至5uM,或1uM至7.5uM,或1uM至10uM,或1uM至15uM,或1uM至20uM,或1uM至30uM,或1uM至40uM,或1uM至50uM或1uM至60uM,或1uM至80uM,或3uM至5uM,或3uM至7.5uM,或3uM至10uM,或3uM至15uM,或3uM至20uM,或3uM至30uM,或3uM至40uM,或3uM至50uM,或3uM至60uM,或3uM至80uM,或5uM至SuM,或5uM至10uM,或5uM至15uM,或5uM至20uM,或5uM至30uM,或5uM至40uM,或5uM至50uM,或5uM至60uM,或5uM至80uM,或7uM至8uM,或7uM至10uM,或7uM至15uM,或7uM至20uM,或7uM至30uM,或7uM至40uM,或7uM至50uM,或7uM至60uM,或7uM至80uM。

[0065] 通过下面的试验详述可更好地理解本专利揭示的信息,但是,这些专项试验所提供的细节是有限的,本专利提供的信息不限于这些试验提供的细节,而范围更为广泛,正如下面权利要求一节中所详细描述那样。

[0066] 本专利申请中引用了一些参考文献,这是为了更好的叙述本专利的各个细节。

[0067] 需要注意的是,“含有”一词和包括,包含或其特征为是同义的,所述说的内容是开放的,不排斥含有没有提到的内容。

[0068] 试验详述

[0069] 试验1 剂量表含10mg,20mg30mg的活性化合物

	活性化合物	1mg	5mg	10mg	20mg	30mg
[0070]	微晶纤维素	20mg	20mg	19.75mg	60mg	100mg
	玉米淀粉	29mg	24.5mg	19.75mg	19.25mg	18.5mg
[0071]	硬质酸镁	0mg	0.5mg	0.5mg	0.75mg	1.5mg

[0072] 把活性化合物,微晶纤维素和玉米淀粉混合,制成粒状10%玉米淀粉团。粒状10%玉米淀粉团过筛,干燥后再和剩余玉米淀粉和硬质酸镁混合,然后压成片,每片分别含1,5,10,20,30mg活性成分。

[0073] 试验2制备静脉注射液

[0074] 活性化合物1-10ug

[0075] 柠檬酸钠5-50mg

[0076] 柠檬酸1-15mg

[0077] 氯化钠1-8mg

[0078] 注射用水(USP)加到1mL

[0079] 在室温下,将活性化合物溶入上述制备好的柠檬酸钠,柠檬酸,氯化钠和注射用水(USP)溶液。

[0080] 试验3制备静脉滴溜液

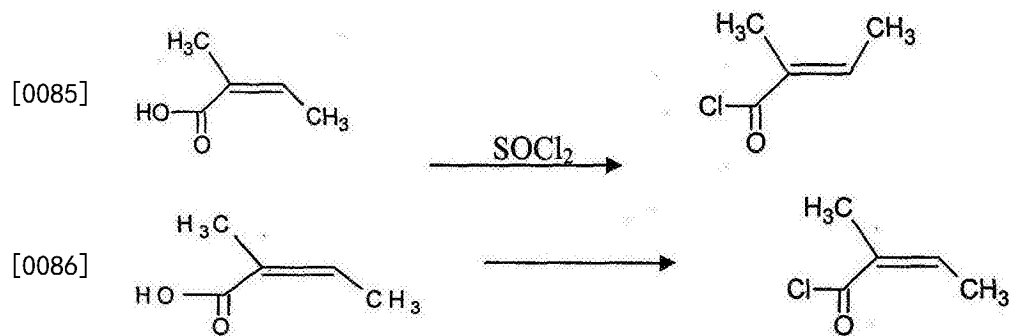


[0081] 把0.25-2.5mg活性化合物溶于250ml的10%葡萄糖液或250ml的0.9%的NaCl盐水。

[0082] 静脉滴溜液的制备:1-2.mg活性化合物溶于250ml的10%葡萄糖液或250ml的0.9%的NaCl盐水。

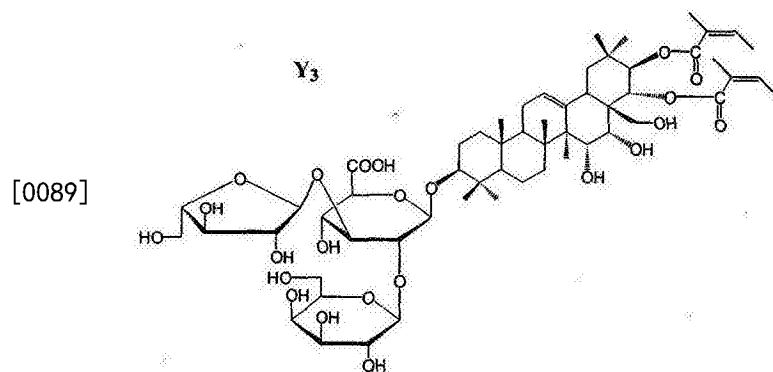
[0083] 当归酸和多种标准氯化物中的一种化合物发生反应时,会产生当归酰基氯,这里所说的氯化物是指三氯氧磷,三氯化磷和氯化亚硫酸。草酰氯生成当归氯化物和当归酰基氯(2:1的比率)。

[0084] 在乙醚中,钾盐和草酰氯及结晶DMF反应2小时(0℃)产生纯的当归氯化物。



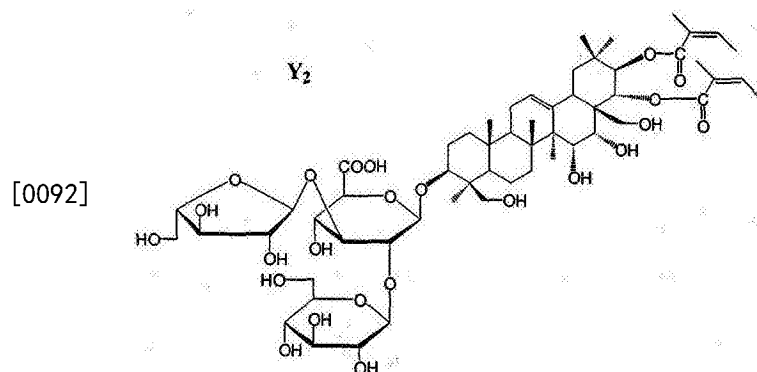
[0087] 下述化合物经酸水解

[0088] a) Xanifolia (Y),



[0090] 3-O-[β-D-半乳糖吡喃酰基(1→2)]-α-L-阿拉伯糖呋喃酰基(1→3)-β-D-葡萄糖醛酸吡喃酰基-21,22-O-双党归酰基-3β,15α,16α,21β,22α,28-六羟基齐墩果-12-烯五环三萜皂甙。

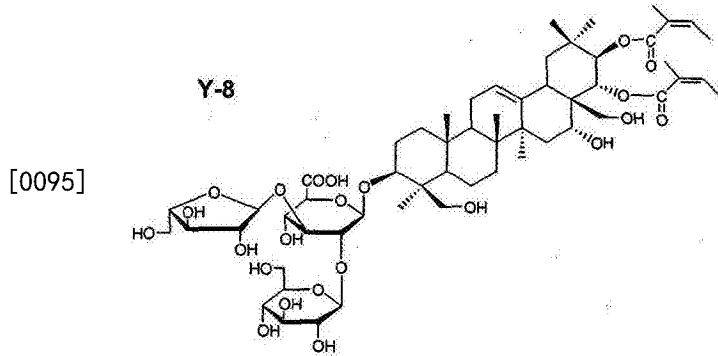
[0091] c) Xanifolia (Y2),



[0093] 3-O-[β-D-葡萄糖吡喃酰基(1→2)]-α-L-阿拉伯糖呋喃酰基(1→3)β-D-葡萄糖醛酸吡喃酰基-21,22-O-双党归酰基-3β,15α,16α,21β,22α,24β,28-七羟基齐墩果-12-烯五

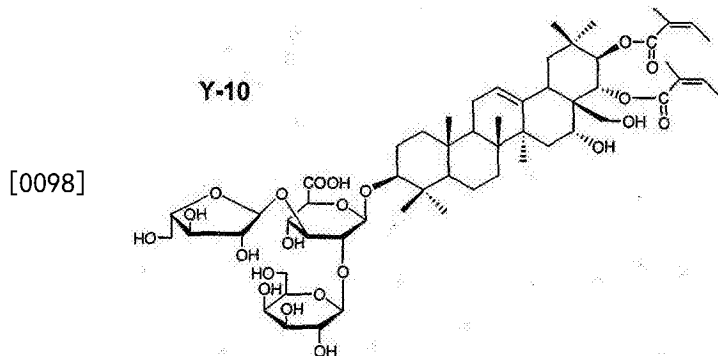
环三萜皂甙。

[0094] d) Xanifolia (Y8),



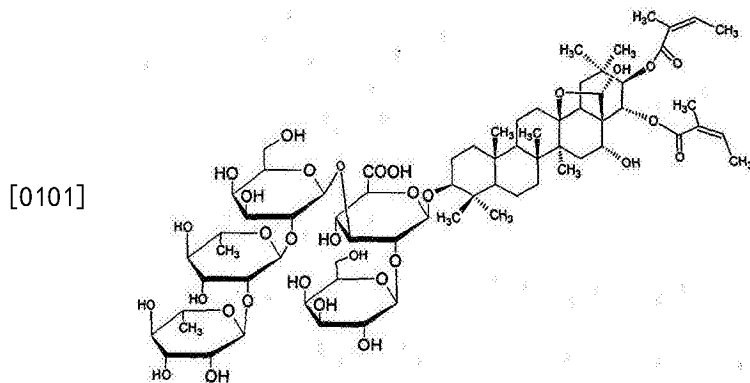
[0096] 3-O-[ $\beta$ -葡萄糖吡喃酰基(1 $\rightarrow$ 2)]- $\alpha$ -阿拉伯糖呋喃酰基(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -葡萄糖醛酸吡喃酰基-21,22-O-双党归酰基-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,21 $\beta$ ,22 $\alpha$ ,24 $\beta$ ,28-六羟基齐墩果-12-烯五环三萜皂甙。

[0097] f) Xanifolia (Y10),



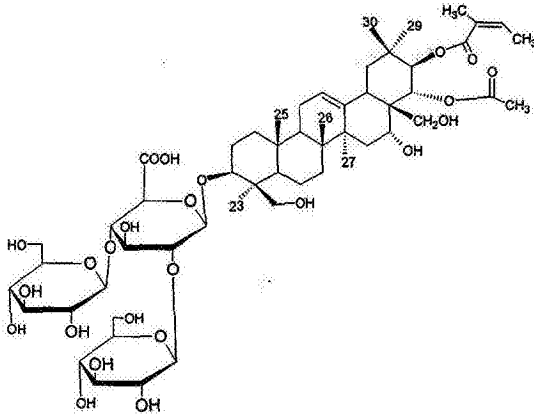
[0099] 3-O-[ $\beta$ -半乳糖吡喃酰基(1 $\rightarrow$ 2)]- $\alpha$ -阿拉伯糖呋喃酰基(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -葡萄糖醛酸吡喃酰基-21,22-O-双党归酰基-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,21 $\beta$ ,22 $\alpha$ ,28-五羟基齐墩果-12-烯五环三萜皂甙。

[0100] j) 化合物(M10)

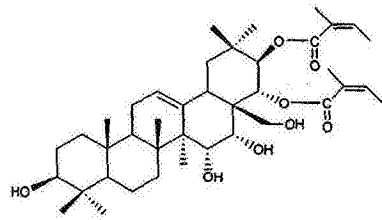


[0102] m) 化合物(bES):

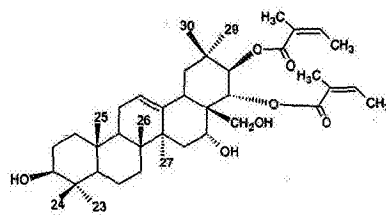
[0103]



[0104] 水解后的产物是含有(ACH)结构的下述化合物:

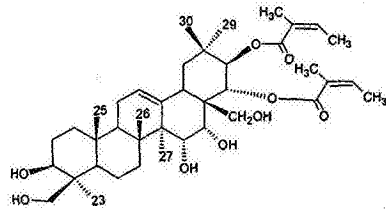


ACH-Y,

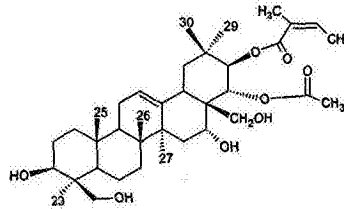


ACH-10,

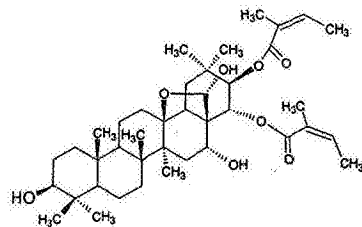
[0105]



ACH-Y2,



ACH-bES,



ACH-M10

[0106] 本专利提供的组合物包含有从天然植物提出的或人工合成的具有生物活性的化合物。化合物提纯和生物活性测定(包括MTT测定)请见国际专利申请书(PCT/US05/31900, 2005年9月7日递交, 美国专利申请书(U.S. Serial No.11/289142, 2005年11月28, U.S. Serial No.11/131551, 2005年5月17日递交和国际专利申请书(PCT/US2008/002086, 1188-ALA-PCT, 2008年2月15日递交), 和PCT/US2008/002086, 1188-ALA-PCT, 2008年2月15日递交), 12/344,682, 1020-B1-US, 2008年, 12月29日递交。因而, 这些正在审定的专利申请书的内容因而应全面地纳入本专利申请书中。ES2细胞在微阵列(Microarray)试验中经过Y处理后的基因表达的分析的细节, 数据分析方法和Western blot请见在国际专利申请书(PCT/US2010/0042240, 2010年7月16日递交), 因而, 这些正在审定的专利申请书的内容因而应全面地纳入本专利申请书中。

[0107] 溶血作用的测定

[0108] 红血球(RBC)随机地采自人体(EDTA全血)。50u1的10%RBC悬浮液, 溶于PBS, 制备成2ml的样品溶液, 浓度从0.1ug,/ml至400ug/ml。混合物稍加震荡, 在室温下放置60分钟,

然后震动 (3K) 10min, 一定量的溶解的血红蛋白在上清液中测量 (540nm)。本专利提供的合成的化合物用该方法测定溶血作用。

[0109] 皂甙的水解

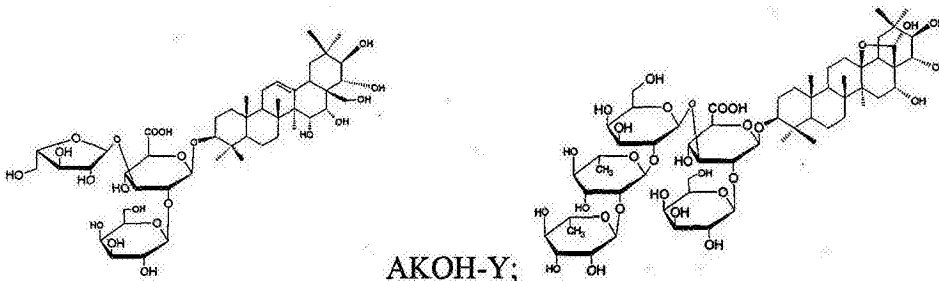
[0110] 15mg的Xanifolia-Y溶于1ml甲醇中, 加入1ml的2N HCl, 在80°C的水浴中回流5小时, 加入2ml的1N NaOH中和 (终止pH为4-6)。用3ml乙酸乙酯提取2次, 得皂甙配基, 混合两次得到的配基, 用HPLC (80-100%乙腈常液洗脱) 进一步分离出ACH-Y。对化合物Z4, Y10, Y2, Y8, Y7, Y0, X, M10和ESCIN (bES), 也用同样方法处理, 得到ACH-Z4, ACH-Y10, ACH-Y2, ACH-Y8, ACH-Y7, ACH-Y0, ACH-X, ACH-E, ACH-Z5, ACH-M10和ACH-bES。

[0111] 试验方法见2010年7月16日递交的国际专利申请PCT/US2010/0042240, 因而, 这些正在审定的专利申请的内容因而应全面地纳入本专利申请书中。

[0112] 碱水解去除酰基

[0113] 20mg的Xanifolia-Y溶于0.5ml 1MNaOH中, 在在80°C的水浴中培养4小时, 溶液达室温时, 加0.5ml 1N HCl中和 (pH调制3), 然后用2ml 1-丁醇提取3次, 收集丁醇提取液并真空冷冻干燥得皂甙, 在用HPLC (C-18柱25%乙腈洗脱) 分离提纯。

[0114]



[0115] AKOH-M10

[0116] 化合物AKOH-Y和AKOH-M10失去抑制癌的入侵, 细胞入侵和癌细胞入侵和转移的活性。

[0117] 母核化合物

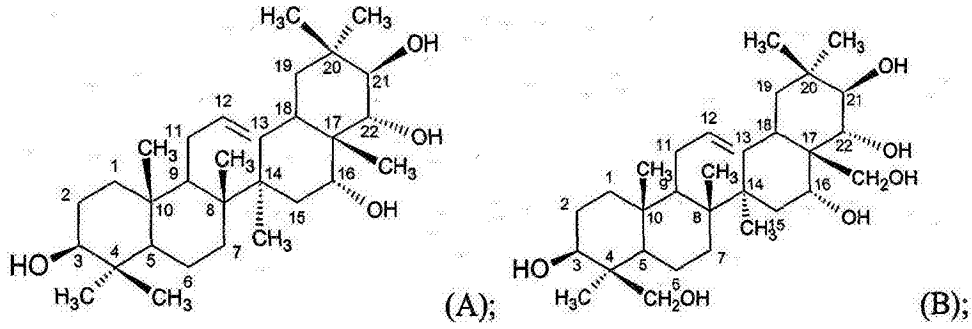
[0118] 从自然界分离提出的皂甙经酸和碱水解后可以获得母核化合物, 五环三萜和羟基五环三萜。五环三萜也可人工合成。合成的方法如下:

[0119] Beta-七叶素, 化合物Y, Y10, Y2, Y8, Y7, Y0, X, 或M10溶解在1M NaOH (20mg/ml) 中, 在70°C培养5小时。水解液用HCl和水中和后, 用冷冻干燥法蒸干水分。所得产物溶于50%甲醇和1NHCl中, 在70°C培养5小时。水解液用NaOH中和。水解产物用乙酸乙酯提取, 然后用冷冻干燥法蒸干水分。水解产物, 即母核化合物, 包括 (E4A), 用FPLC色谱法 (用C18柱, 70%乙腈/TFA, 1ml/min) 进一步纯化, 得到母核化合物。

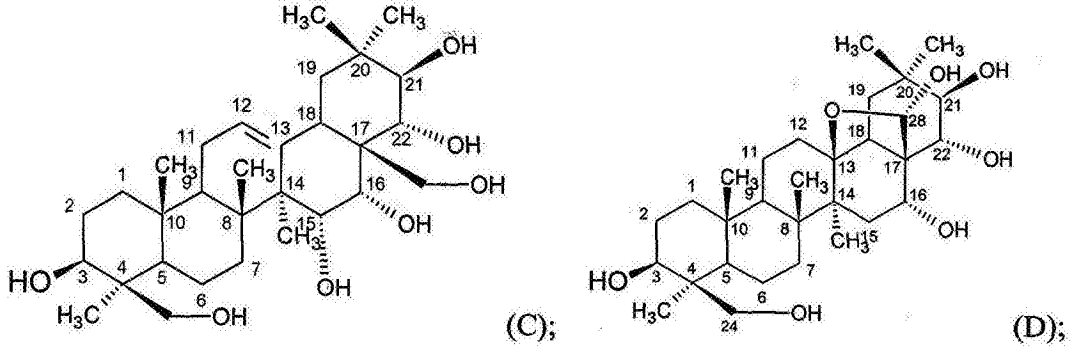
[0120] 母核化合物无抑制癌的入侵, 细胞入侵和癌细胞入侵和转移的活性。

[0121] 母核化合物的结构如下:

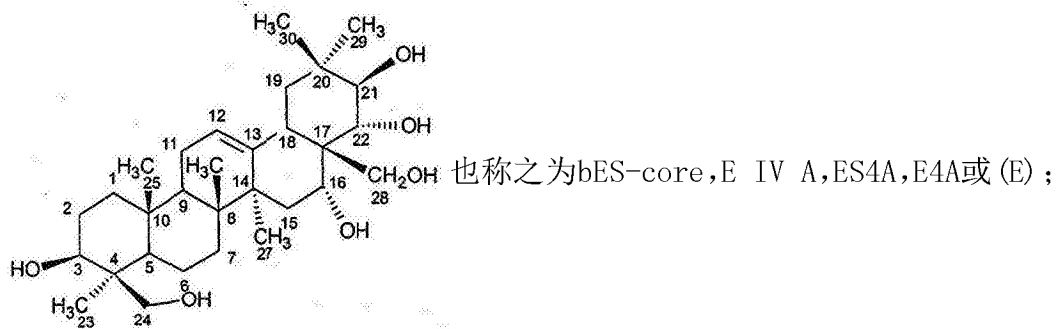
[0122]



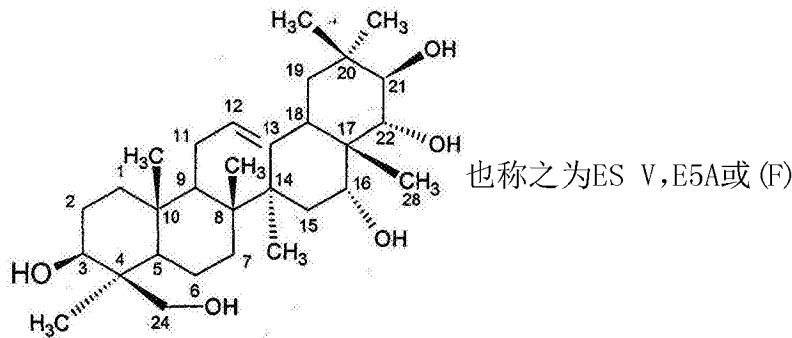
[0123]



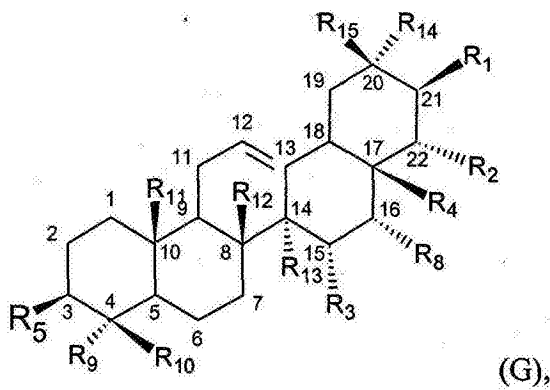
[0124]



[0125]



[0126]

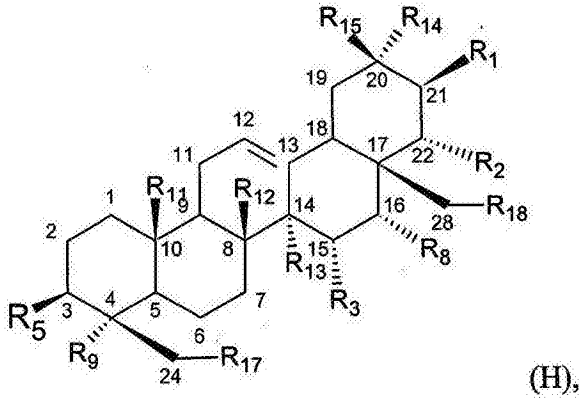


[0127]

其中R1, R2, R5, R8代表OH; R3代表OH或H; R4, R10代表CH3或CH2OH; R9, R11, R12,

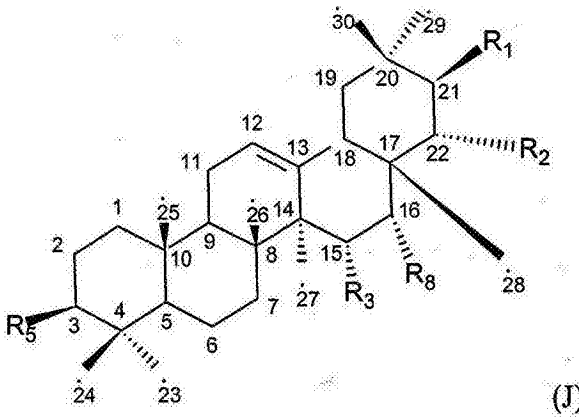
R13,R14,R15代表CH3;

[0128]



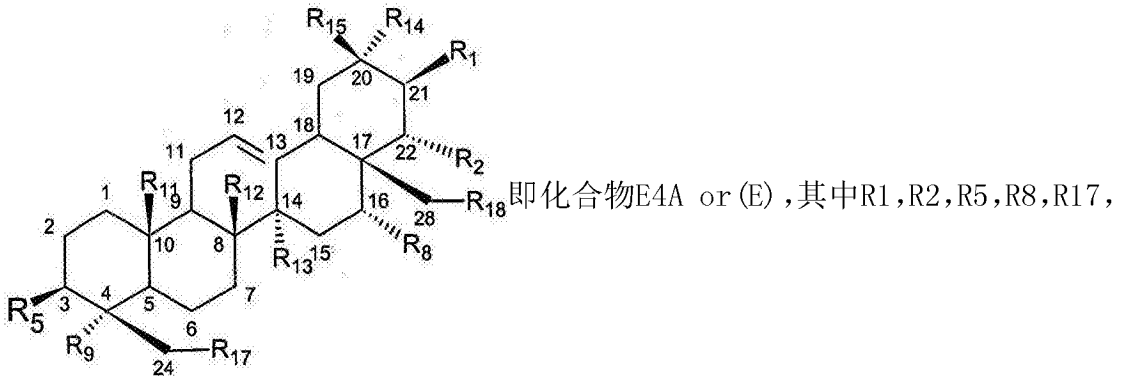
[0129] 其中R1,R2,R5,R8,R17,R18代表OH;R3代表OH或H;R9,R11,R12,R13,R14,R15代表CH3.

[0130]



[0131] 这是标准的一个五环三萜的碳1到30位的命名。

[0132]



R18分别代表氢,R9,R11,R12,R13,R14,R15代表羟基。

[0133] 本专利提供了人工合成新活性化合物的方法,其特征是所述方法将官能基团连接在母核化合物上,所述官能团包括又不限于(A),(B),(C),(D),(E),(F),(G),和(H)这些官能团。这一连接过程涉及母核化合物和酰氯,顺芷酰基氯,当归酰基氯,巴豆酰基氯,千里光酰基氯,乙酰基氯,3,3-二甲基丙烯酰基氯,桂皮酰基氯,戊烯酰基氯,己烯酰基氯,苯甲酰基氯或乙丁酰基氯(不限于这些官能团)的酯化反应过程,反应在0℃,25℃or75℃下5sec,1min,2min,5min,10min,30min,1hr,2hr,18hr,2天或3天。在反应结束时,加入5ml的2N HCl或1MNaHCO3,然后用10ml乙醚提取3次,再在45℃下真空干燥和冷冻干燥。所得产物溶于80%乙腈-0.005%三氟乙酸。酯化产物用HPLC纯化。对乙酰基氯,酯化反应后的溶液和各个

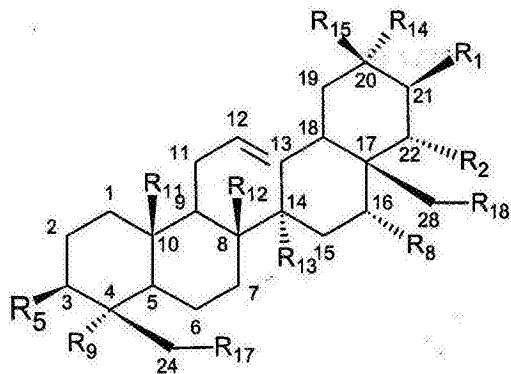
组分和各个化合物的MTT活性进行测定。这些母核化合物可人工合成,半人工合成或从自然植物中提取。这些母核化合物包括萜烯,异戊二烯,三萜类和羟基三萜类。

[0134] 这些母核化合物在at0℃,25℃或75℃下,不同的酰基化反应时间(5sec,1min,2min,5min,10min,30min,1hr,2hr,18hr,2天或3天)的MTT活性进行了研究。母核化合物E4A和酰氯,包括顺苈酰基氯,当归酰基氯,巴豆酰基氯,千里光酰基氯,乙酰基氯,3,3-二甲基丙烯酰基氯,桂皮酰基氯,戊烯酰基氯,己烯酰基氯,苯甲酰基氯或乙丁酰基氯(不限于这些官能团)的酯化反应的酯化产物的HPLC谱显示,当反应温度或时间变化时,化合物的组成也会变化(见图1-21)。

[0135] 根据不同反映时间的活性选择峰,组分和化合物。根据特定时间段反应产物的细胞毒性选择HPLC的组分供分离。具有从强到弱的活性的化合物被选择和分离。根据MTT研究化合物的抗癌活性,这里所说的癌症包括骨(U20S),肺(H460),膀胱(HTB-9),卵巢(E82),结肠(HCT116),胰腺(Capan),卵巢(OVCAR3),前列腺(DU145),皮肤(SK-Me1-5),口腔(KB),肾(A498),乳房(MCF-7),肝(Hep62),脑(T98G),黑素瘤(K562),宫颈(HeLa)。

[0136] 母核化合物E4A和顺苈酰基氯(Tigloyl chloride)酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物

[0137]



[0138]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A	OH	OH	OH	OH	OH	OH	无
A1	OH	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
A2	OH	OH	OH	OH	OH	O-Tig	中等
A3	OH	OH	OH	OH	O-Tig	O-Tig	强
A4	O-Tig	OH	OH	OH	O-Tig	O-Tig	中等
A5	OH	O-Tig	OH	OH	O-Tig	O-Tig	中等
A6	OH	OH	O-Tig	OH	O-Tig	O-Tig	中等
A7	OH	OH	OH	O-Tig	O-Tig	O-Tig	中等
A8	O-Tig	O-Tig	OH	OH	O-Tig	O-Tig	弱
A9	OH	O-Tig	O-Tig	OH	O-Tig	O-Tig	弱
A10	OH	OH	O-Tig	O-Tig	O-Tig	O-Tig	弱
A11	O-Tig	OH	O-Tig	OH	O-Tig	O-Tig	弱
A12	OH	O-Tig	OH	O-Tig	O-Tig	O-Tig	弱
A13	O-Tig	OH	OH	O-Tig	O-Tig	O-Tig	弱
A14	OH	O-Tig	O-Tig	OH	O-Tig	O-Tig	弱
A15	O-Tig	O-Tig	O-Tig	OH	O-Tig	O-Tig	弱
A16	O-Tig	O-Tig	OH	O-Tig	O-Tig	O-Tig	弱
A17	O-Tig	OH	O-Tig	O-Tig	O-Tig	O-Tig	弱

A18	OH	O-Tig	O-Tig	O-Tig	O-Tig	O-Tig	弱
A19	O-Tig	O-Tig	O-Tig	O-Tig	O-Tig	O-Tig	无
A20	O-Tig	O-Tig	OH	OH	OH	O-Tig	中等
A21	O-Tig	O-Tig	OH	OH	O-Tig	OH	中等
A22	O-Tig	O-Tig	OH	O-Tig	OH	OH	中等
A23	O-Tig	O-Tig	O-Tig	OH	OH	OH	中等
A24	O-Tig	O-Tig	OH	OH	OH	OH	中等
A25	O-Tig	OH	OH	OH	OH	O-Tig	中等
A26	OH	O-Tig	OH	OH	OH	O-Tig	中等
A27	OH	OH	O-Tig	OH	OH	O-Tig	中等
A28	OH	OH	OH	O-Tig	OH	O-Tig	中等
A29	O-Tig	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
A30	OH	O-Tig	OH	OH	O-Tig	OH	中等
A31	OH	OH	O-Tig	OH	O-Tig	OH	中等
A32	OH	OH	OH	O-Tig	O-Tig	OH	中等

[0139]

[0140] 母核化合物E4A和当归酰基氯(Angeloyl chloride)酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物。

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A	OH	OH	OH	OH	OH	OH	无
G1	OH	OH	OH	OH	O-Ang	OH	中等
G2	OH	OH	OH	OH	OH	O-Ang	中等
G3	OH	OH	OH	OH	O-Ang	O-Ang	强
G4	O-Ang	OH	OH	OH	O-Ang	O-Ang	中等
G5	OH	O-Ang	OH	OH	O-Ang	O-Ang	中等
G6	OH	OH	O-Ang	OH	O-Ang	O-Ang	中等
G7	OH	OH	OH	O-Ang	O-Ang	O-Ang	中等
G8	O-Ang	O-Ang	OH	OH	O-Ang	O-Ang	弱
G9	OH	O-Ang	O-Ang	OH	O-Ang	O-Ang	弱
G10	OH	OH	O-Ang	O-Ang	O-Ang	O-Ang	弱
G11	O-Ang	OH	O-Ang	OH	O-Ang	O-Ang	弱
G12	OH	O-Ang	OH	O-Ang	O-Ang	O-Ang	弱
G13	O-Ang	OH	OH	O-Ang	O-Ang	O-Ang	弱
G14	OH	O-Ang	O-Ang	OH	O-Ang	O-Ang	弱
G15	O-Ang	O-Ang	O-Ang	OH	O-Ang	O-Ang	弱
G16	O-Ang	O-Ang	OH	O-Ang	O-Ang	O-Ang	弱
G17	O-Ang	OH	O-Ang	O-Ang	O-Ang	O-Ang	弱
G18	OH	O-Ang	O-Ang	O-Ang	O-Ang	O-Ang	弱
G19	O-Ang	O-Ang	O-Ang	O-Ang	O-Ang	O-Ang	无
G20	O-Ang	O-Ang	OH	OH	OH	O-Ang	中等
G21	O-Ang	O-Ang	OH	OH	O-Ang	OH	中等
G22	O-Ang	O-Ang	OH	O-Ang	OH	OH	中等
G23	O-Ang	O-Ang	O-Ang	OH	OH	OH	中等
G24	O-Ang	O-Ang	OH	OH	OH	OH	中等
G25	O-Ang	OH	OH	OH	OH	O-Ang	中等
G26	OH	O-Ang	OH	OH	OH	O-Ang	中等
G27	OH	OH	O-Ang	OH	OH	O-Ang	中等
G28	OH	OH	OH	O-Ang	OH	O-Ang	中等
G29	O-Ang	OH	OH	OH	O-Ang	OH	中等
G30	OH	O-Ang	OH	OH	O-Ang	OH	中等

[0141]



G31	OH	OH	O-Ang	OH	O-Ang	OH	中等
G32	OH	OH	OH	O-Ang	O-Ang	OH	中等

[0142] 母核化合物E4A和千里光酰基氯,乙酰基氯,3,3-二甲基丙烯酰基氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物,Sen=千里光酰基。

[0143]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A	OH	OH	OH	OH	OH	OH	无
B1	OH	OH	OH	OH	O-Sen	OH	中等
B2	OH	OH	OH	OH	OH	O-Sen	中等
B3	OH	OH	OH	OH	O-Sen	O-Sen	强
B4	O-Sen	OH	OH	OH	O-Sen	O-Sen	中等
B5	OH	O-Sen	OH	OH	O-Sen	O-Sen	中等
B6	OH	OH	O-Sen	OH	O-Sen	O-Sen	中等
B7	OH	OH	OH	O-Sen	O-Sen	O-Sen	中等
B8	O-Sen	O-Sen	OH	OH	O-Sen	O-Sen	弱
B9	OH	O-Sen	O-Sen	OH	O-Sen	O-Sen	弱
B10	OH	OH	O-Sen	O-Sen	O-Sen	O-Sen	弱
B11	O-Sen	OH	O-Sen	OH	O-Sen	O-Sen	弱
B12	OH	O-Sen	OH	O-Sen	O-Sen	O-Sen	弱
B13	O-Sen	OH	OH	O-Sen	O-Sen	O-Sen	弱
B14	OH	O-Sen	O-Sen	OH	O-Sen	O-Sen	弱
B15	O-Sen	O-Sen	O-Sen	OH	O-Sen	O-Sen	弱
B16	O-Sen	O-Sen	OH	O-Sen	O-Sen	O-Sen	弱
B17	O-Sen	OH	O-Sen	O-Sen	O-Sen	O-Sen	弱
B18	OH	O-Sen	O-Sen	O-Sen	O-Sen	O-Sen	弱
B19	O-Sen	O-Sen	O-Sen	O-Sen	O-Sen	O-Sen	无
B20	O-Sen	O-Sen	OH	OH	OH	O-Sen	中等
B21	O-Sen	O-Sen	OH	OH	O-Sen	OH	中等
B22	O-Sen	O-Sen	OH	O-Sen	OH	OH	中等
B23	O-Sen	O-Sen	O-Sen	OH	OH	OH	中等
B24	O-Sen	O-Sen	OH	OH	OH	OH	中等
B25	O-Sen	OH	OH	OH	OH	O-Sen	中等
B26	OH	O-Sen	OH	OH	OH	O-Sen	中等
B27	OH	OH	O-Sen	OH	OH	O-Sen	中等
B28	OH	OH	OH	O-Sen	OH	O-Sen	中等
B29	O-Sen	OH	OH	OH	O-Sen	OH	中等
B30	OH	O-Sen	OH	OH	O-Sen	OH	中等
B31	OH	OH	O-Sen	OH	O-Sen	OH	中等
B32	OH	OH	OH	O-Sen	O-Sen	OH	中等

[0144] 母核化合物E4A和4-戊烯酰基氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物,Pen=戊烯酰基。

[0145]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A	OH	OH	OH	OH	OH	OH	无
C1	OH	OH	OH	OH	O-Pen	OH	中等
C2	OH	OH	OH	OH	OH	O-Pen	中等
C3	OH	OH	OH	OH	O-Pen	O-Pen	强
C4	O-Pen	OH	OH	OH	O-Pen	O-Pen	中等
C5	OH	O-Pen	OH	OH	O-Pen	O-Pen	中等
C6	OH	OH	O-Pen	OH	O-Pen	O-Pen	中等

C7	OH	OH	OH	O-Pen	O-Pen	O-Pen	中等
C8	O-Pen	O-Pen	OH	OH	O-Pen	O-Pen	弱
C9	OH	O-Pen	O-Pen	OH	O-Pen	O-Pen	弱
C10	OH	OH	O-Pen	O-Pen	O-Pen	O-Pen	弱
C11	O-Pen	OH	O-Pen	OH	O-Pen	O-Pen	弱
C12	OH	O-Pen	OH	O-Pen	O-Pen	O-Pen	弱
C13	O-Pen	OH	OH	O-Pen	O-Pen	O-Pen	弱
C14	OH	O-Pen	O-Pen	OH	O-Pen	O-Pen	弱
C15	O-Pen	O-Pen	O-Pen	OH	O-Pen	O-Pen	弱
C16	O-Pen	O-Pen	OH	O-Pen	O-Pen	O-Pen	弱
C17	O-Pen	OH	O-Pen	O-Pen	O-Pen	O-Pen	弱
C18	OH	O-Pen	O-Pen	O-Pen	O-Pen	O-Pen	弱
C19	O-Pen	O-Pen	O-Pen	O-Pen	O-Pen	O-Pen	无
C20	O-Pen	O-Pen	OH	OH	OH	O-Pen	中等
C21	O-Pen	O-Pen	OH	OH	O-Pen	OH	中等
C22	O-Pen	O-Pen	OH	O-Pen	OH	OH	中等
C23	O-Pen	O-Pen	O-Pen	OH	OH	OH	中等
C24	O-Pen	O-Pen	OH	OH	OH	OH	中等
C25	O-Pen	OH	OH	OH	OH	O-Pen	中等
C26	OH	O-Pen	OH	OH	OH	O-Pen	中等
C27	OH	OH	O-Pen	OH	OH	O-Pen	中等
C28	OH	OH	OH	O-Pen	OH	O-Pen	中等
C29	O-Pen	OH	OH	OH	O-Pen	OH	中等
C30	OH	O-Pen	OH	OH	O-Pen	OH	中等
C31	OH	OH	O-Pen	OH	O-Pen	OH	中等
C32	OH	OH	OH	O-Pen	O-Pen	OH	中等

[0146]

[0147] 母核化合物E4A和己烯酰基氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物,Hex=己烯酰基。

[0148]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4AF	OH	OH	OH	OH	OH	OH	无
D1	OH	OH	OH	OH	O-Hex	OH	中等
D2	OH	OH	OH	OH	OH	O-Hex	中等
D3	OH	OH	OH	OH	O-Hex	O-Hex	强
D4	O-Hex	OH	OH	OH	O-Hex	O-Hex	中等
D5	OH	O-Hex	OH	OH	O-Hex	O-Hex	中等
D6	OH	OH	O-Hex	OH	O-Hex	O-Hex	中等
D7	OH	OH	OH	O-Hex	O-Hex	O-Hex	中等
D8	O-Hex	O-Hex	OH	OH	O-Hex	O-Hex	弱
D9	OH	O-Hex	O-Hex	OH	O-Hex	O-Hex	弱
D10	OH	OH	O-Hex	O-Hex	O-Hex	O-Hex	弱
D11	O-Hex	OH	O-Hex	OH	O-Hex	O-Hex	弱
D12	OH	O-Hex	OH	O-Hex	O-Hex	O-Hex	弱
D13	O-Hex	OH	OH	O-Hex	O-Hex	O-Hex	弱
D14	OH	O-Hex	O-Hex	OH	O-Hex	O-Hex	弱
D15	O-Hex	O-Hex	O-Hex	OH	O-Hex	O-Hex	弱
D16	O-Hex	O-Hex	OH	O-Hex	O-Hex	O-Hex	弱
D17	O-Hex	OH	O-Hex	O-Hex	O-Hex	O-Hex	弱
D18	OH	O-Hex	O-Hex	O-Hex	O-Hex	O-Hex	弱
D19	O-Hex	O-Hex	O-Hex	O-Hex	O-Hex	O-Hex	无

D20	O-Hex	O-Hex	OH	OH	OH	O-Hex	中等
D21	O-Hex	O-Hex	OH	OH	O-Hex	OH	中等
D22	O-Hex	O-Hex	OH	O-Hex	OH	OH	中等
D23	O-Hex	O-Hex	O-Hex	OH	OH	OH	中等
D24	O-Hex	O-Hex	OH	OH	OH	OH	中等
D25	O-Hex	OH	OH	OH	OH	O-Hex	中等
D26	OH	O-Hex	OH	OH	OH	O-Hex	中等
D27	OH	OH	O-Hex	OH	OH	O-Hex	中等
D28	OH	OH	OH	O-Hex	OH	O-Hex	中等
D29	O-Hex	OH	OH	OH	O-Hex	OH	中等
D30	OH	O-Hex	OH	OH	O-Hex	OH	中等
D31	OH	OH	O-Hex	OH	O-Hex	OH	中等
D32	OH	OH	OH	O-Hex	O-Hex	OH	中等

[0149]

[0150] 母核化合物E4A和2-乙丁酰基氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物,Eth =2-乙丁酰基。

[0151]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4AF	OH	OH	OH	OH	OH	OH	无
E1	OH	OH	OH	OH	O-Eth	OH	中等
E2	OH	OH	OH	OH	OH	O-Eth	中等
E3	OH	OH	OH	OH	O-Eth	O-Eth	强
E4	O-Eth	OH	OH	OH	O-Eth	O-Eth	中等
E5	OH	O-Eth	OH	OH	O-Eth	O-Eth	中等
E6	OH	OH	O-Eth	OH	O-Eth	O-Eth	中等

E7	OH	OH	OH	O-Eth	O-Eth	O-Eth	中等
E8	O-Eth	O-Eth	OH	OH	O-Eth	O-Eth	弱
E9	OH	O-Eth	O-Eth	OH	O-Eth	O-Eth	弱
E10	OH	OH	O-Eth	O-Eth	O-Eth	O-Eth	弱
E11	O-Eth	OH	OEth	OH	O-Eth	O-Eth	弱
E12	OH	OEth	OH	O-Eth	O-Eth	O-Eth	弱
E13	O-Eth	OH	OH	O-Eth	O-Eth	O-Eth	弱
E14	OH	O-Eth	OEth	OH	O-Eth	O-Eth	弱
E15	O-Eth	O-Eth	O-Eth	OH	O-Eth	O-Eth	弱
E16	O-Eth	O-Eth	OH	O-Eth	O-Eth	O-Eth	弱
E17	O-Eth	OH	O-Eth	O-Eth	O-Eth	O-Eth	弱
E18	OH	O-Eth	O-Eth	O-Eth	O-Eth	O-Eth	弱
E19	O-Eth	O-Eth	O-Eth	O-Eth	O-Eth	O-Eth	无
E20	O-Eth	O-Eth	OH	OH	OH	O-Eth	中等
E21	O-Eth	O-Eth	OH	OH	O-Eth	OH	中等
E22	O-Eth	O-Eth	OH	O-Eth	OH	OH	中等
E23	O-Eth	O-Eth	O-Eth	OH	OH	OH	中等
E24	O-Eth	O-Eth	OH	OH	OH	OH	中等
E25	O-Eth	OH	OH	OH	OH	O-Eth	中等
E26	OH	O-Eth	OH	OH	OH	O-Eth	中等
E27	OH	OH	O-Eth	OH	OH	O-Eth	中等
E28	OH	OH	OH	O-Eth	OH	O-Eth	中等
E29	O-Eth	OH	OH	OH	O-Eth	OH	中等
E30	OH	O-Eth	OH	OH	O-Eth	OH	中等
E31	OH	OH	O-Eth	OH	O-Eth	OH	中等
E32	OH	OH	OH	O-Eth	O-Eth	OH	中等

[0152]

[0153] 母核化合物E4A和乙酰氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物,Acy=乙酰基。

[0154]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A	OH	OH	OH	OH	OH	OH	无
H1	OH	OH	OH	OH	O-Acy	OH	中等
H2	OH	OH	OH	OH	OH	O-Acy	中等
H3	OH	OH	OH	OH	O-Acy	O-Acy	强
H4	O-Acy	OH	OH	OH	O-Acy	O-Acy	中等
H5	OH	O-Acy	OH	OH	O-Acy	O-Acy	中等
H6	OH	OH	O-Acy	OH	O-Acy	O-Acy	中等
H7	OH	OH	OH	O-Acy	O-Acy	O-Acy	中等

H8	O-Acy	O-Acy	OH	OH	O-Acy	O-Acy	弱
H9	OH	O-Acy	O-Acy	OH	O-Acy	O-Acy	弱
H10	OH	OH	O-Acy	O-Acy	O-Acy	O-Acy	弱
H11	O-Acy	OH	O-Acy	OH	O-Acy	O-Acy	弱
H12	OH	O-Acy	OH	O-Acy	O-Acy	O-Acy	弱
H13	O-Acy	OH	OH	O-Acy	O-Acy	O-Acy	弱
H14	OH	O-Acy	O-Acy	OH	O-Acy	O-Acy	弱
H15	O-Acy	O-Acy	O-Acy	OH	O-Acy	O-Acy	弱
H16	O-Acy	O-Acy	OH	O-Acy	O-Acy	O-Acy	弱
H17	O-Acy	OH	O-Acy	O-Acy	O-Acy	O-Acy	弱
H18	OH	O-Acy	O-Acy	O-Acy	O-Acy	O-Acy	弱
H19	O-Acy	O-Acy	O-Acy	O-Acy	O-Acy	O-Acy	无
H20	O-Acy	O-Acy	OH	OH	OH	O-Acy	中等
H21	O-Acy	O-Acy	OH	OH	O-Acy	OH	中等
H22	O-Acy	O-Acy	OH	O-Acy	OH	OH	中等
H23	O-Acy	O-Acy	O-Acy	OH	OH	OH	中等
H24	O-Acy	O-Acy	OH	OH	OH	OH	中等
H25	O-Acy	OH	OH	OH	OH	O-Acy	中等
H26	OH	O-Acy	OH	OH	OH	O-Acy	中等
H27	OH	OH	O-Acy	OH	OH	O-Acy	中等
H28	OH	OH	OH	O-Acy	OH	O-Acy	中等
H29	O-Acy	OH	OH	OH	O-Acy	OH	中等
H30	OH	O-Acy	OH	OH	O-Acy	OH	中等
H31	OH	OH	O-Acy	OH	O-Acy	OH	中等
H32	OH	OH	OH	O-Acy	O-Acy	OH	中等

[0155]

[0156] 母核化合物E4A和巴豆酰氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物,Cro=巴豆酰基。

[0157]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A	OH	OH	OH	OH	OH	OH	无
I1	OH	OH	OH	OH	O-Cro	OH	中等
I2	OH	OH	OH	OH	OH	O-Cro	中等
I3	OH	OH	OH	OH	O-Cro	O-Cro	强
I4	O-Cro	OH	OH	OH	O-Cro	O-Cro	中等
I5	OH	O-Cro	OH	OH	O-Cro	O-Cro	中等
I6	OH	OH	O-Cro	OH	O-Cro	O-Cro	中等

I7	OH	OH	OH	O-Cro	O-Cro	O-Cro	中等
I8	O-Cro	O-Cro	OH	OH	O-Cro	O-Cro	弱
I9	OH	O-Cro	O-Cro	OH	O-Cro	O-Cro	弱
I10	OH	OH	O-Cro	O-Cro	O-Cro	O-Cro	弱
I11	O-Cro	OH	O-Cro	OH	O-Cro	O-Cro	弱
I12	OH	O-Cro	OH	O-Cro	O-Cro	O-Cro	弱
I13	O-Cro	OH	OH	O-Cro	O-Cro	O-Cro	弱
I14	OH	O-Cro	O-Cro	OH	O-Cro	O-Cro	弱
I15	O-Cro	O-Cro	O-Cro	OH	O-Cro	O-Cro	弱
I16	O-Cro	O-Cro	OH	O-Cro	O-Cro	O-Cro	弱
I17	O-Cro	OH	O-Cro	O-Cro	O-Cro	O-Cro	弱
I18	OH	O-Cro	O-Cro	O-Cro	O-Cro	O-Cro	弱
I19	O-Cro	O-Cro	O-Cro	O-Cro	O-Cro	O-Cro	无
I20	O-Cro	O-Cro	OH	OH	OH	O-Cro	中等
I21	O-Cro	O-Cro	OH	OH	O-Cro	OH	中等
I22	O-Cro	O-Cro	OH	O-Cro	OH	OH	中等
I23	O-Cro	O-Cro	O-Cro	OH	OH	OH	中等
I24	O-Cro	O-Cro	OH	OH	OH	OH	中等
I25	O-Cro	OH	OH	OH	OH	O-Cro	中等
I26	OH	O-Cro	OH	OH	OH	O-Cro	中等
I27	OH	OH	O-Cro	OH	OH	O-Cro	中等
I28	OH	OH	OH	O-Cro	OH	O-Cro	中等
I29	O-Cro	OH	OH	OH	O-Cro	OH	中等
I30	OH	O-Cro	OH	OH	O-Cro	OH	中等
I31	OH	OH	O-Cro	OH	O-Cro	OH	中等
I32	OH	OH	OH	O-Cro	O-Cro	OH	中等

[0158]

[0159] 母核化合物E4A和桂皮酰基氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物,Cin=桂皮酰基。

[0160]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A	OH	OH	OH	OH	OH	OH	无
J1	OH	OH	OH	OH	O-Cin	OH	中等
J2	OH	OH	OH	OH	OH	O-Cin	中等
J3	OH	OH	OH	OH	O-Cin	O-Cin	强
J4	O-Cin	OH	OH	OH	O-Cin	O-Cin	中等
J5	OH	O-Cin	OH	OH	O-Cin	O-Cin	中等
J6	OH	OH	O-Cin	OH	O-Cin	O-Cin	中等
J7	OH	OH	OH	O-Cin	O-Cin	O-Cin	中等
J8	O-Cin	O-Cin	OH	OH	O-Cin	O-Cin	弱
J9	OH	O-Cin	O-Cin	OH	O-Cin	O-Cin	弱
J10	OH	OH	O-Cin	O-Cin	O-Cin	O-Cin	弱
J11	O-Cin	OH	O-Cin	OH	O-Cin	O-Cin	弱
J12	OH	O-Cin	OH	O-Cin	O-Cin	O-Cin	弱
J13	O-Cin	OH	OH	O-Cin	O-Cin	O-Cin	弱
J14	OH	O-Cin	O-Cin	OH	O-Cin	O-Cin	弱
J15	O-Cin	O-Cin	O-Cin	OH	O-Cin	O-Cin	弱
J16	O-Cin	O-Cin	OH	O-Cin	O-Cin	O-Cin	弱
J17	O-Cin	OH	O-Cin	O-Cin	O-Cin	O-Cin	弱
J18	OH	O-Cin	O-Cin	O-Cin	O-Cin	O-Cin	弱
J19	O-Cin	O-Cin	O-Cin	O-Cin	O-Cin	O-Cin	none

J20	O-Cin	O-Cin	OH	OH	OH	O-Cin	中等
J21	O-Cin	O-Cin	OH	OH	O-Cin	OH	中等
J22	O-Cin	O-Cin	OH	O-Cin	OH	OH	中等
J23	O-Cin	O-Cin	O-Cin	OH	OH	OH	中等
J24	O-Cin	O-Cin	OH	OH	OH	OH	中等
J25	O-Cin	OH	OH	OH	OH	O-Cin	中等
J26	OH	O-Cin	OH	OH	OH	O-Cin	中等
J27	OH	OH	O-Cin	OH	OH	O-Cin	中等
J28	OH	OH	OH	O-Cin	OH	O-Cin	中等
J29	O-Cin	OH	OH	OH	O-Cin	OH	中等
J30	OH	O-Cin	OH	OH	O-Cin	OH	中等
J31	OH	OH	O-Cin	OH	O-Cin	OH	中等
J32	OH	OH	OH	O-Cin	O-Cin	OH	中等

[0161]

[0162] 母核化合物E4A和苯甲酰基氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物,Ben=苯甲酰基。

[0163]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A	OH	OH	OH	OH	OH	OH	无
K1	OH	OH	OH	OH	O-Ben	OH	中等
K2	OH	OH	OH	OH	OH	O-Ben	中等
K3	OH	OH	OH	OH	O-Ben	O-Ben	强
K4	O-Ben	OH	OH	OH	O-Ben	O-Ben	中等
K5	OH	O-Ben	OH	OH	O-Ben	O-Ben	中等
K6	OH	OH	O-Ben	OH	O-Ben	O-Ben	中等
K7	OH	OH	OH	O-Ben	O-Ben	O-Ben	中等
K8	O-Ben	O-Ben	OH	OH	O-Ben	O-Ben	弱
K9	OH	O-Ben	O-Ben	OH	O-Ben	O-Ben	弱
K10	OH	OH	O-Ben	O-Ben	O-Ben	O-Ben	弱
K11	O-Ben	OH	O-Ben	OH	O-Ben	O-Ben	弱
K12	OH	O-Ben	OH	O-Ben	O-Ben	O-Ben	弱
K13	O-Ben	OH	OH	O-Ben	O-Ben	O-Ben	弱
K14	OH	O-Ben	O-Ben	OH	O-Ben	O-Ben	弱
K15	O-Ben	O-Ben	O-Ben	OH	O-Ben	O-Ben	弱
K16	O-Ben	O-Ben	OH	O-Ben	O-Ben	O-Ben	弱
K17	O-Ben	OH	O-Ben	O-Ben	O-Ben	O-Ben	弱
K18	OH	O-Ben	O-Ben	O-Ben	O-Ben	O-Ben	弱
K19	O-Ben	O-Ben	O-Ben	O-Ben	O-Ben	O-Ben	无
K20	O-Ben	O-Ben	OH	OH	OH	O-Ben	中等
K21	O-Ben	O-Ben	OH	OH	O-Ben	OH	中等
K22	O-Ben	O-Ben	OH	O-Ben	OH	OH	中等
K23	O-Ben	O-Ben	O-Ben	OH	OH	OH	中等

K24	O-Ben	O-Ben	OH	OH	OH	OH	中等
K25	O-Ben	OH	OH	OH	OH	OBen	中等
K26	OH	O-Ben	OH	OH	OH	O-Ben	中等
K27	OH	OH	O-Ben	OH	OH	O-Ben	中等
K28	OH	OH	OH	O-Ben	OH	O-Ben	中等
K29	O-Ben	OH	OH	OH	O-Ben	OH	中等
K30	OH	O-Ben	OH	OH	O-Ben	OH	中等
K31	OH	OH	O-Ben	OH	O-Ben	OH	中等
K32	OH	OH	OH	O-Ben	O-Ben	OH	中等

[0164]

[0165] 母核化合物E4A-Tig-N和千里光酰基氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物。

[0166]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A-Tig-N	OH	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Sen-1	OH	OH	OH	OH	O-Tig	O-Sen	强
Tig-Sen-2	O-Sen	OH	OH	OH	O-Tig	O-Sen	中等
Tig-Sen-3	OH	O-Sen	OH	OH	O-Tig	O-Sen	中等
Tig-Sen-4	OH	OH	O-Sen	OH	O-Tig	O-Sen	中等
Tig-Sen-5	O-Sen	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Sen-6	OH	O-Sen	OH	OH	O-Tig	OH	中等

[0167] 母核化合物E4A-Tig-N和巴豆酰基氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物:

[0168]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A-Tig-N	OH	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Cro-1	OH	OH	OH	OH	O-Tig	O-Cro	强
Tig-Cro-2	O-Cro	OH	OH	OH	O-Tig	O-Cro	中等
Tig-Cro-3	OH	O-Cro	OH	OH	O-Tig	O-Cro	中等
Tig-Cro-4	OH	OH	O-Cro	OH	O-Tig	O-Cro	中等
Tig-Cro-5	O-Cro	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Cro-6	OH	O-Cro	OH	OH	O-Tig	OH	中等

[0169] 母核化合物E4A-Tig-N和乙酰基氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物:

[0170]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A-Tig-N	OH	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Acy-1	OH	OH	OH	OH	O-Tig	O-Acy	强
Tig-Acy-2	O-Acy	OH	OH	OH	O-Tig	O-Acy	中等
Tig-Acy-3	OH	O-Acy	OH	OH	O-Tig	O-Acy	中等
Tig-Acy-4	OH	OH	O-Acy	OH	O-Tig	O-Acy	中等



Tig-Acy-5	O-Acy	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Acy-6	OH	O-Acy	OH	OH	O-Tig	OH	中等

[0171]

[0172] 母核化合物E4A-Tig-N和戊烯酰基氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物:

[0173]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A-Tig-N	OH	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Pen-1	OH	OH	OH	OH	O-Tig	O-Pen	强
Tig-Pen-2	O-Pen	OH	OH	OH	O-Tig	O-Pen	中等
Tig-Pen-3	OH	O-Pen	OH	OH	O-Tig	O-Pen	中等
Tig-Pen-4	OH	OH	O-Pen	OH	O-Tig	O-Pen	中等
Tig-Pen-5	O-Pen	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Pen-6	OH	O-Pen	OH	OH	O-Tig	OH	中等

[0174] 母核化合物E4A-Tig-N和己烯酰基氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物:

[0175]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A-Tig-N	OH	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Hex-1	OH	OH	OH	OH	O-Tig	O-Hex	强
Tig-Hex-2	O-Hex	OH	OH	OH	O-Tig	O-Hex	中等
Tig-Hex-3	OH	O-Hex	OH	OH	O-Tig	O-Hex	中等
Tig-Hex-4	OH	OH	O-Hex	OH	O-Tig	O-Hex	中等
Tig-Hex-5	O-Hex	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Hex-6	OH	O-Hex	OH	OH	O-Tig	OH	中等

[0176] 母核化合物E4A-Tig-N和桂皮酰基氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物:

[0177]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A-Tig-N	OH	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Cin-1	OH	OH	OH	OH	O-Tig	O-Cin	强
Tig-Cin-2	O-Cin	OH	OH	OH	O-Tig	O-Cin	中等
Tig-Cin-3	OH	O-Cin	OH	OH	O-Tig	O-Cin	中等
Tig-Cin-4	OH	OH	O-Cin	OH	O-Tig	O-Cin	中等
Tig-Cin-5	O-Cin	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Cin-6	OH	O-Cin	OH	OH	O-Tig	OH	中等

[0178] 母核化合物E4A-Tig-N和当归酰基氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物:

[0179]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A-Tig-N	OH	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Ang-1	OH	OH	OH	OH	O-Tig	O-Ang	强
Tig-Ang-2	O-Ang	OH	OH	OH	O-Tig	O-Ang	中等

Tig-Ang-3	OH	O-Ang	OH	OH	O-Tig	O-Ang	中等
Tig-Ang-4	OH	OH	O-Ang	OH	O-Tig	O-Ang	中等
Tig-Ang-5	O-Ang	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Ang-6	OH	O-Ang	OH	OH	O-Tig	OH	中等

[0180] 母核化合物E4A-Tig-N和乙丁酰基氯酯化反应后,经HPLC分离得到下面的化合物:

[0181]

	R1	R2	R5	R8	R17	R18	细胞毒性
E4A-Tig-N	OH	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Eth-1	OH	OH	OH	OH	O-Tig	O-Eth	强
Tig-Eth-2	O-Eth	OH	OH	OH	O-Tig	O-Eth	中等
Tig-Eth-3	OH	O-Eth	OH	OH	O-Tig	O-Eth	中等
Tig-Eth-4	OH	OH	O-Eth	OH	O-Tig	O-Eth	中等
Tig-Eth-5	O-Eth	OH	OH	OH	O-Tig	OH	中等
Tig-Eth-6	OH	O-Eth	OH	OH	O-Tig	OH	中等

[0182] 化合物(A),(B),(C),(D),(E),(F),(G)和(H)与和酰氯,包括顺芷酰基氯,当归酰基氯,巴豆酰基氯,千里光酰基氯,乙酰基氯,3,3-二甲基丙烯酰基氯,桂皮酰基氯,戊烯酰基氯,己烯酰基氯,苯甲酰基氯或乙丁酰基氯(不限于这些官能团)的酯化反应所产生的化合物,当反应温度或时间变化时,化合物的组成也会变化。根据时间和峰的变化,选择组分和化合物。活性从弱到强的化合物被选择和分离。化合物的抗癌活性根据对下述癌细胞的MTT研究来测定的,这些癌细胞是骨(U20S),肺(H460),膀胱(HTB-9),卵巢(ES2),结肠(HCT116),胰腺(Capan),卵巢(OVCAR3),前列腺(DU145),皮肤(SK-Me1-5),口腔(KB),肾(A498),乳房(MCF-7),肝(HepG2),脑(T98G),黑素瘤(K562),宫颈(HeLa)。活性酯化产物用HPLC纯化。各个化合物的MTT细胞毒性的测试方法想详见本专利试验3。化合物第二次酯化可产生新的的活性化合物。部分酯化产物可选择和不同的酰氯化合物进行第三次酯化产生新的活性化合物。

[0183] 酯化方法之一:1)将母核化合物,如三萜类母核,羟基三萜类母核溶于吡啶中。2)加入酰氯化合物。3)在不同温度下,搅动5秒,1min,2min,5min,10min,30min,1hr,2hr,18hr,2天或3天。4)反应结束,加入酸性,碱性水溶液或水。5)用乙醚提取,冷冻干燥。6)将反应产物溶于有三氟乙酸或DMSO的乙腈。7)用MTT法测定反应产物和各个组份的细胞毒性。8)根据在特定时间得到的反应产物的细胞毒性,选择一定的组份,用HPLC将其分离提取出来。10)用HPLC纯化分离出的活性组份。11)收集产物。12)检测这些产物。这里所说的母核化合物是萜烯,异戊二烯,三萜类或羟基三萜类。在这里,将这些母核化合物溶于吡啶中。这里所说的酰氯化合物包括顺芷酰基氯,当归酰基氯,巴豆酰基氯,千里光酰基氯,乙酰基氯,3,3-二甲基丙烯酰基氯,桂皮酰基氯,戊烯酰基氯,己烯酰基氯,苯甲酰基氯或乙丁酰基氯。在这里,搅动5秒,1min,2min,5min,10min,30min,1hr,2hr,18hr,2天或3天。在这里,反应的温度为0°C,25°C,50或75°C。这里所说的酸是HCl,碱是NaHCO<sub>3</sub>。这里所说的用乙醚提取,冷冻干燥是三次。在这里是将反应产物溶于有0.005%三氟乙酸或DMSO的80%乙腈。在这里所说不同反应时间是5秒,1min,2min,5min,10min,30min,1hr,2hr,18hr,2天或3天,所说反应温度是0°C,或75°C。

[0184] 化合物Tig-R的抗癌活性,即IC50如下:骨(U2OS) 4.5ug/ml,肺(H460) 4.8ug/ml,膀胱(HTB-9) 2.5ug/ml,卵巢(ES2) 2.8ug/ml,结肠(HCT116) 5.2ug/ml,胰腺(Capan) 2.4ug/ml,卵巢(OVCAR3) 5.8ug/ml,前列腺(DU145) 3.6ug/ml,皮肤(SK-Me1-5) 5.1ug/ml,口腔(KB) 3ug/ml,肾(A498) 3.5ug/ml,乳房(MCF-7) 4.5ug/ml,肝(HepG2) 6ug/ml,脑(T98G) 8ug/ml,黑素瘤(K562) 2ug/ml,宫颈(HeLa) 5ug/ml。

[0185] 化合物Tig-V的抗癌活性,即IC50如下:骨(U2OS) 7ug/ml,肺(H460) 6.8ug/ml,膀胱(HTB-9) 4ug/ml,卵巢(ES2) 2.0ug/ml,结肠(HCT116) 8ug/ml,胰腺(Capan) 5ug/ml,卵巢(OVCAR3) 9ug/ml,前列腺(DU145) 4ug/ml,皮肤(SK-Me1-5) 5.1ug/ml,口腔(KB) 3ug/ml,肾(A498) 3.5ug/ml,乳房(MCF-7) 4.56ug/ml,肝(HepG2) 12ug/ml,脑(T98G) 14ug/ml,黑素瘤(K562) 4ug/ml,宫颈(HeLa) 7ug/ml。

[0186] 化合物Tig-N的抗癌活性,即IC50如下:骨(U2OS) 15ug/ml,肺(H460) 13ug/ml,膀胱(HTB-9) ug/ml,卵巢(ES2) 9ug/ml,结肠(HCT116) 15ug/ml,胰腺(Capan) 8ug/ml,卵巢(OVCAR3) 18ug/ml,前列腺(DU145) 4.8ug/ml,皮肤(SK-Me1-5) 15ug/ml,口腔(KB) 9ug/ml,肾(A498) 11ug/ml,乳房(MCF-7) 13ug/ml,肝(HepG2) 18ug/ml,脑(T98G) 19ug/ml,黑素瘤(K562) 6ug/ml,宫颈(HeLa) 15ug/ml。

[0187] 化合物Tig-Q的抗癌活性,即IC50如下:骨(U2OS) 20ug/ml,肺(H460) 18ug/ml,膀胱(HTB-9) 10ug/ml,卵巢(ES2) 12ug/ml,结肠(HCT116) 22ug/ml,胰腺(Capan) 9ug/ml,卵巢(OVCAR3) 23ug/ml,前列腺(DU145) 15ug/ml,皮肤(SK-Me1-5) 20ug/ml,口腔(KB) 12ug/ml,肾(A498) 13ug/ml,乳房(MCF-7) 18ug/ml,肝(HepG2) 24ug/ml,脑(T98G) 29ug/ml,黑素瘤(K562) 6ug/ml,宫颈(HeLa) 20ug/ml。

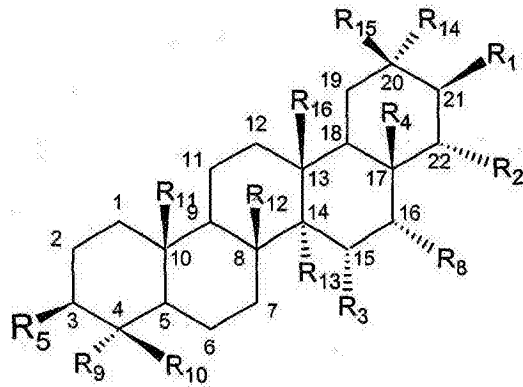
[0188] 化合物Tig-T的抗癌活性,即IC50如下:骨(U2OS) 20ug/ml,肺(H460) 21ug/ml,膀胱(HTB-9) 12ug/ml,卵巢(ES2) 14ug/ml,结肠(HCT116) 23ug/ml,胰腺(Capan) 11ug/ml,卵巢(OVCAR3) 25ug/ml,前列腺(DU145) 16ug/ml,皮肤(SK-Me1-5) 22ug/ml,口腔(KB) 13ug/ml,肾(A498) 15ug/ml,乳房(MCF-7) 20ug/ml,肝(HepG2) 26ug/ml,脑(T98G) 26ug/ml,黑素瘤(K562) 9ug/ml,宫颈(HeLa) 18ug/ml。

[0189] 化合物Tig-S的抗癌活性,即IC50如下:骨(U2OS) 5.2ug/ml,肺(H460) 5.6ug/ml,膀胱(HTB-9) 3.5ug/ml,卵巢(ES2) 4.2ug/ml,结肠(HCT116) 6.6ug/ml,胰腺(Capan) 2.9ug/ml,卵巢(OVCAR3) 6.5ug/ml,前列腺(DU145) 4.3ug/ml,皮肤(SK-Me1-5) 5.8ug/ml,口腔(KB) 4ug/ml,肾(A498) 4.8ug/ml,乳房(MCF-7) 6.3ug/ml,肝(HepG2) 8.5ug/ml,脑(T98G) 9ug/ml,黑素瘤(K562) 4.3ug/ml,宫颈(HeLa) 7ug/ml。

[0190] 化合物Tig-U的抗癌活性,即IC50如下:骨(U2OS) 23ug/ml,肺(H460) 19ug/ml,膀胱(HTB-9) 15ug/ml,卵巢(ES2) 17ug/ml,结肠(HCT116) 26ug/ml,胰腺(Capan) 9ug/ml,卵巢(OVCAR3) 27ug/ml,前列腺(DU145) 15ug/ml,皮肤(SK-Me1-5) 15ug/ml,口腔(KB) 16ug/ml,肾(A498) 18ug/ml,乳房(MCF-7) 25ug/ml,肝(HepG2) 23ug/ml,脑(T98G) 22ug/ml,黑素瘤(K562) 10ug/ml,宫颈(HeLa) 17ug/ml。

[0191] 本专利提供的可抑制癌的入侵,细胞入侵和癌细胞入侵和转移,调整细胞粘连和附着的化合物或方法,其特征是所述组合物具有分子式(2A):

[0192]



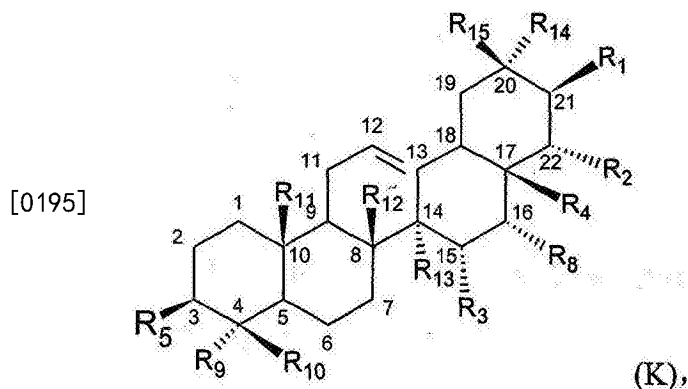
(2A)

[0193] R1, R2, R3, R4, R5, R8, R9, R10, R11, R12, R13, R14, R15 分别是氢, 羟基, 甲基, 0-当归酰基, 0-顺芷酰基, 0-千里光酰基, 0-乙酰基, 0-巴豆酰基, 0-3, 3-二甲基丙烯酰基, 0-桂皮酰基, 0-戊烯酰基, 0-己烯酰基, 0-苯甲酰基, 0-乙丁酰基, 0-烷基, 0-双苯甲酰基, 0-苯甲酰基, 0-链烷酰基, 0-链烯酰基, 0-苯甲基烷基取代的链烷酰基, 0-链烷酰基替代的苯基, 0-链烯酰基替代的苯基, 0-芳香基, 0-酰基, 0-杂环化合物, 杂环芳香化合物, 0-链烯羧酰, CH20-当归酰基, CH20-顺芷酰基, CH20-千里光酰基, CH20-乙酰基, CH20-巴豆酰基, CH20-3, 3-二甲基丙烯酰基, CH20-桂皮酰基, CH20-戊烯酰基, CH20-己烯酰基, CH20-苯甲酰基, CH20-乙丁酰基, 甲烷基, 羟甲基, 0-烷基, 0-双苯甲酰基, 0-苯甲酰基, 0-链烷酰基, 0-链烯酰基, 0-苯甲基烷基取代的链烷酰基, 0-链烷酰基替代的苯基, 0-链烯酰基替代的苯基, 0-芳香基, 0-酰基, 0-杂环化合物, 杂环芳香化合物, 0-链烯羧酰, 烷烃, 烯烃和糖链及其衍生物。在这里所述至少含有两个下述官能团: 0-当归酰基, 0-顺芷酰基, 0-千里光酰基, 0-乙酰基, 0-巴豆酰基, 0-3, 3-二甲基丙烯酰基, 0-桂皮酰基, 0-戊烯酰基, 0-己烯酰基, 0-苯甲酰基, 0-乙丁酰基, 0-烷基, 0-双苯甲酰基, 0-苯甲酰基, 0-链烷酰基, 0-链烯酰基, 0-苯甲基烷基取代的链烷酰基, 0-链烷酰基替代的苯基, 0-链烯酰基替代的苯基, 0-芳香基, 0-酰基, 0-杂环化合物, 杂环芳香化合物, 0-链烯羧酰; 或者在这里的R1和R2是0-当归酰基, 0-顺芷酰基, 0-千里光酰基, 0-乙酰基, 0-巴豆酰基, 0-3, 3-二甲基丙烯酰基, 0-桂皮酰基, 0-戊烯酰基, 0-己烯酰基, 0-苯甲酰基, 0-乙丁酰基, 0-烷基, 0-双苯甲酰基, 0-苯甲酰基, 0-链烷酰基, 0-链烯酰基, 0-苯甲基烷基取代的链烷酰基, 0-链烷酰基替代的苯基, 0-链烯酰基替代的苯基, 0-芳香基, 0-酰基, 0-杂环化合物, 杂环芳香化合物, 0-链烯羧酰; 在一个实施例中, R1和R2连接着OH; 在一个实施例中, R4, R10连接着CH20-当归酰基, CH20-顺芷酰基, CH20-千里光酰基, CH20-乙酰基, CH20-巴豆酰基, CH20-3, 3-二甲基丙烯酰基, CH20-桂皮酰基, CH20-戊烯酰基, CH20-己烯酰基, CH20-苯甲酰基, CH20-乙丁酰基; 在一个实施例中, R3和R8是氢或羟基; 在一个实施例中, R9, R11, R12, R13, R14, R15分别连接有一个甲基; 在一个实施例中, R4代表CH3, CHO, CH2R6或COR6, 在这里R6是下述官能团之一: 羟基, 0-当归酰基, 0-顺芷酰基, 0-千里光酰基, 0-乙酰基, 0-巴豆酰基, 0-3, 3-二甲基丙烯酰基, 0-桂皮酰基, 0-戊烯酰基, 0-己烯酰基, 0-苯甲酰基, 0-乙丁酰基, 0-烷基, 0-双苯甲酰基, 0-苯甲酰基, 0-链烷酰基, 0-链烯酰基, 0-苯甲基烷基取代的链烷酰基, 0-链烷酰基替代的苯基, 0-链烯酰基替代的苯基, 0-芳香基, 0-酰基, 0-杂环化合物, 杂环芳香化合物, 0-链烯羧酰, 及其衍生物; 在一个实施例中, R3是H或OH。在一个实施例中, R8是H或OH; 在一个实施例中, R16是H, CH3, OH

或R4,R16可能和是CH<sub>2</sub>-X-,CH(OH)-X-或C(=O)-X-,在这里-X-可以是O,NH或S,如果三萜三环上的碳C12-13是双键R16则不存在;在一个实施例中,R10代表CH<sub>3</sub>,CHO或CH<sub>2</sub>R<sub>6</sub>,这里R<sub>6</sub>是下述官能团之一:羟基,0-当归酰基,0-顺芷酰基,0-千里光酰基,0-乙酰基,0-巴豆酰基,0-3,3-二甲基丙烯酰基,0-桂皮酰基,0-戊烯酰基,0-己烯酰基,0-苯甲酰基,0-乙丁酰基,0-烷基,0-双苯甲酰基,0-苯甲酰基,0-链烷酰基,0-链烯酰基,0-苯甲基烷基取代的链烷酰基,0-链烷酰基替代的苯基,0-链烯酰基替代的苯基,0-芳香基,0-酰基,0-杂环化合物,0-杂环芳香化合物,0-链烯羧酰,及其衍生物。在一个实施例中,R<sub>5</sub>是氢,羟基,杂环或0-糖链,在这里糖链是下述糖组成:葡萄糖,半乳糖,鼠李糖,阿拉伯糖,木糖,岩藻糖,阿咯糖,阿卓糖,古洛糖,艾杜糖,来苏糖,甘露糖,核糖,山梨糖,塔格糖,塔洛糖,果糖,或糖醛酸,葡萄糖醛酸,半乳糖醛酸,或其衍生物;在这里,R<sub>9</sub>,R<sub>10</sub>,R<sub>11</sub>,R<sub>12</sub>,R<sub>13</sub>,R<sub>14</sub>,R<sub>15</sub>分别是CH<sub>3</sub>,CH<sub>2</sub>OH,CHO,COOH,COO-烷烃,COO-芳香基,COO-杂环化合物,COO-杂环芳香化合物,CH<sub>2</sub>O-芳香基,CH<sub>2</sub>O-杂环化合物,CH<sub>2</sub>O-杂环芳香化合物,烷基,羟基,乙酰基。在这里,R<sub>4</sub>和R<sub>16</sub>形成二价集团:CH<sub>2</sub>O,CH(OR<sub>7</sub>)O,或COOR<sub>7</sub>,在这里R<sub>7</sub>是氢,烷基,当归酰基,顺芷酰基,千里光酰基,双苯甲酰基,苯甲酰基,链烷酰基,链烯酰基,苯甲基烷基取代的链烷酰基,芳香基,酰基,杂环化合物,杂环芳香化合物,及其衍生物,在这里,至少R<sub>1</sub>,R<sub>2</sub>和R<sub>6</sub>中的两个连接有下述官能团:0-当归酰基,0-顺芷酰基,0-千里光酰基,0-乙酰基,0-巴豆酰基,0-3,3-二甲基丙烯酰基,0-桂皮酰基,0-戊烯酰基,0-己烯酰基,0-苯甲酰基,0-乙丁酰基,0-烷基,0-双苯甲酰基,0-苯甲酰基,0-链烷酰基,0-链烯酰基,0-苯甲基烷基取代的链烷酰基,0-链烷酰基替代的苯基,0-链烯酰基替代的苯基,0-芳香基,0-酰基,0-杂环化合物,杂环芳香化合物,0-链烯羧酰,及其衍生物。或者R<sub>1</sub>,R<sub>2</sub>和R<sub>4</sub>中至少有一个是糖链,该糖链至少连接有下述官能团中的两个官能团:当归酰基,乙酰基,顺芷酰基,千里光酰基,巴豆酰基,3,3-二甲基丙烯酰基,桂皮酰基,戊烯酰基,己烯酰基,苯甲酰基,乙丁酰基,双苯甲酰基,链烷酰基,链烯酰基,苯甲基烷基取代的链烷酰基,芳香基,酰基,杂环化合物,杂环芳香化合物,及其衍生物;或者在这里R<sub>4</sub>是CH<sub>2</sub>R<sub>6</sub>,其中R<sub>6</sub>是下述官能团:羟基,0-当归酰基,0-顺芷酰基,0-千里光酰基,0-乙酰基,0-巴豆酰基,0-3,3-二甲基丙烯酰基,0-桂皮酰基,0-戊烯酰基,0-己烯酰基,0-苯甲酰基,0-乙丁酰基,0-烷基,0-双苯甲酰基,0-苯甲酰基,0-链烷酰基,0-链烯酰基,0-苯甲基烷基取代的链烷酰基,0-链烷酰基替代的苯基,0-链烯酰基替代的苯基,0-芳香基,0-酰基,0-杂环化合物,杂环芳香化合物,0-链烯羧酰,及其衍生物。其中R<sub>5</sub>是糖链,该糖链由下述糖和糖醛酸组成:葡萄糖,半乳糖,鼠李糖,阿拉伯糖,木糖,岩藻糖,阿咯糖,阿卓糖,古洛糖,艾杜糖,来苏糖,甘露糖,核糖,山梨糖,塔格糖,塔洛糖,果糖,或糖醛酸,葡萄糖醛酸,半乳糖醛酸,或其衍生物;在一个实施例中,其中R<sub>5</sub>是羟基,0-当归酰基,0-顺芷酰基,0-千里光酰基,0-乙酰基,0-巴豆酰基,0-3,3-二甲基丙烯酰基,0-桂皮酰基,0-戊烯酰基,0-己烯酰基,0-苯甲酰基,0-乙丁酰基,0-烷基,0-双苯甲酰基,0-苯甲酰基,0-链烷酰基,0-链烯酰基,0-苯甲基烷基取代的链烷酰基,0-链烷酰基替代的苯基,0-链烯酰基替代的苯基,0-芳香基,0-酰基,0-杂环化合物,杂环芳香化合物,0-链烯羧酰,及其衍生物。在一个实施例中,R<sub>1</sub>,R<sub>2</sub>,R<sub>3</sub>,R<sub>4</sub>,R<sub>5</sub>,R<sub>8</sub>,R<sub>9</sub>,R<sub>10</sub>,R<sub>11</sub>,R<sub>12</sub>,R<sub>13</sub>,R<sub>14</sub>或R<sub>15</sub>由一个或多个糖链组成;在一个实施例中,R<sub>1</sub>,R<sub>2</sub>,R<sub>3</sub>,R<sub>4</sub>,R<sub>5</sub>,R<sub>8</sub>,R<sub>9</sub>,R<sub>10</sub>,R<sub>11</sub>,R<sub>12</sub>,R<sub>13</sub>,R<sub>14</sub>或R<sub>15</sub>由一个或多个酸组成;在一个实施例中,R<sub>1</sub>,R<sub>2</sub>,R<sub>3</sub>,R<sub>4</sub>,R<sub>5</sub>,R<sub>8</sub>,R<sub>9</sub>,R<sub>10</sub>,R<sub>11</sub>,R<sub>12</sub>,R<sub>13</sub>,R<sub>14</sub>和R<sub>15</sub>中的1,2,3或4至少一个是羟基;在一个实施例中,R<sub>1</sub>,R<sub>2</sub>,R<sub>3</sub>,R<sub>4</sub>,R<sub>5</sub>,R<sub>8</sub>,R<sub>9</sub>,R<sub>10</sub>,R<sub>11</sub>,R<sub>12</sub>,R<sub>13</sub>,R<sub>14</sub>和R<sub>15</sub>中的2,3,4,5,6,

或7至少一个连接有下述官能团中的一个:0-乙酰基,0-当归酰基,0-顺芷酰基,0-千里光酰基,0-乙酰基,0-巴豆酰基,0-3,3-二甲基丙烯酰基,0-桂皮酰基,0-戊烯酰基,0-己烯酰基,0-苯甲酰基,0-乙丁酰基,0-烷基,0-双苯甲酰基,0-苯甲酰基,0-链烷酰基,0-链烯酰基,0-苯甲基烷基取代的链烷酰基,0-链烷酰基替代的苯基,0-链烯酰基替代的苯基,0-芳香基,0-酰基,0-杂环化合物,杂环芳香化合物,0-链烯羰酰,及其衍生物;其中这些官能团直接连接在三萜上或糖链上;其中,R1,R2,R3,R4,R5,R8和R10中的1,2,3,4,5,6,或7至少一个连接有下述官能团中的一个:0-当归酰基,0-顺芷酰基,0-千里光酰基,0-乙酰基,0-巴豆酰基,0-3,3-二甲基丙烯酰基,0-桂皮酰基,0-戊烯酰基,0-己烯酰基,0-苯甲酰基,0-乙丁酰基,0-烷基,0-双苯甲酰基,0-苯甲酰基,0-链烷酰基,0-链烯酰基,0-苯甲基烷基取代的链烷酰基,0-链烷酰基替代的苯基,0-链烯酰基替代的苯基,0-芳香基,0-酰基,0-杂环化合物,杂环芳香化合物,0-链烯羰酰,CH<sub>2</sub>O-当归酰基,CH<sub>2</sub>O-顺芷酰基,CH<sub>2</sub>O-千里光酰基,CH<sub>2</sub>O-乙酰基,CH<sub>2</sub>O-巴豆酰基,CH<sub>2</sub>O-3,3-二甲基丙烯酰基,CH<sub>2</sub>O-桂皮酰基,CH<sub>2</sub>O-戊烯酰基,CH<sub>2</sub>O-己烯酰基,CH<sub>2</sub>O-苯甲酰基,CH<sub>2</sub>O-乙丁酰基,CH<sub>3</sub>,CH<sub>2</sub>OH,0-烷基,0-双苯甲酰基,0-苯甲酰基,0-链烷酰基,0-链烯酰基,0-苯甲基烷基取代的链烷酰基,0-链烷酰基替代的苯基,0-链烯酰基替代的苯基,0-芳香基,0-酰基,0-杂环化合物,杂环芳香化合物,0-链烯羰酰,及其衍生物。其中这些官能团直接连接在三萜上或糖链上;在一个实施例中,癌症包括所述癌症包括乳腺癌、白细胞癌、肝癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、皮肤癌、骨癌、脑癌、白血病、肺癌、结肠癌、中枢神经癌(CNS)、黑素瘤、肾管癌,宫颈癌,食管癌,睾丸癌,脾癌,肾癌,淋巴癌,胰腺癌,胃癌和甲状腺癌等。这里所述的细胞是乳腺细胞、白细胞、肝细胞、卵巢细胞、膀胱细胞、前列腺细胞、皮肤细胞、骨细胞、脑细胞、白血病细胞、肺细胞、结肠细胞、中枢神经细胞(CNS)、黑素瘤细胞、肾管细胞,子宫细胞,食管细胞,睾丸细胞,脾细胞,肾细胞,淋巴细胞,胰腺细胞,胃细胞和甲状腺细胞等。

[0194] 在一个实施例中,所述化合物具有下面结构:



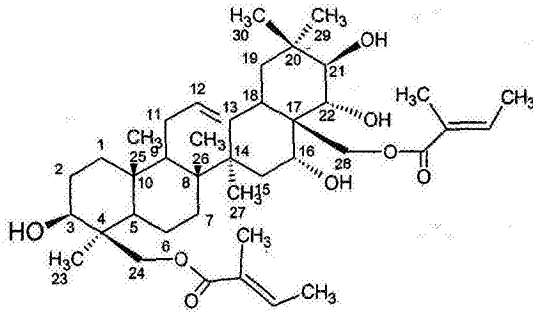
[0196] 其中,R1,R2,R3,R4,R5,R8,R9,R10,R11,R12,R13,R14,R15分别是CH<sub>3</sub>,CH<sub>2</sub>OH,氢,羟基,甲基,0-当归酰基,0-顺芷酰基,0-千里光酰基,0-乙酰基,0-巴豆酰基,0-3,3-二甲基丙烯酰基,0-桂皮酰基,0-戊烯酰基,0-己烯酰基,0-苯甲酰基,0-乙丁酰基,0-烷基,0-双苯甲酰基,0-苯甲酰基,0-链烷酰基,0-链烯酰基,0-苯甲基烷基取代的链烷酰基,0-链烷酰基替代的苯基,0-链烯酰基替代的苯基,0-芳香基,0-酰基,0-杂环化合物,杂环芳香化合物,0-链烯羰酰,CH<sub>2</sub>O-当归酰基,CH<sub>2</sub>O-顺芷酰基,CH<sub>2</sub>O-千里光酰基,CH<sub>2</sub>O-乙酰基,CH<sub>2</sub>O-巴豆酰基,CH<sub>2</sub>O-3,3-二甲基丙烯酰基,CH<sub>2</sub>O-桂皮酰基,CH<sub>2</sub>O-戊烯酰基,CH<sub>2</sub>O-己烯酰基,CH<sub>2</sub>O-苯甲酰基,CH<sub>2</sub>O-乙丁酰基,烷烃,烯烃和糖链,及其衍生物。其中,R1,R2,R3,R4,R5,R8和R10

中的1,2,3或4中的任一个连接有下述官能团中的一个:0-当归酰基,0-顺芷酰基,0-千里光酰基,0-乙酰基,0-巴豆酰基,0-3,3-二甲基丙烯酰基,0-桂皮酰基,0-戊烯酰基,0-己烯酰基,0-苯甲酰基,0-乙丁酰基,0-烷基,0-双苯甲酰基,0-苯甲酰基,0-链烷酰基,0-链烯酰基,0-苯甲基烷基取代的链烷酰基,0-链烷酰基替代的苯基,0-链烯酰基替代的苯基,0-芳香基,0-酰基,0-杂环化合物,杂环芳香化合物,0-链烯羰酰,CH20-当归酰基,CH20-顺芷酰基,CH20-千里光酰基,CH20-乙酰基,CH20-巴豆酰基,CH20-3,3-二甲基丙烯酰基,CH20-桂皮酰基,CH20-戊烯酰基,CH20-己烯酰基,CH20-苯甲酰基,CH20-乙丁酰基,CH3,CH20H,0-烷基,0-双苯甲酰基,0-苯甲酰基,0-链烷酰基,0-链烯酰基,0-苯甲基烷基取代的链烷酰基,0-链烷酰基替代的苯基,0-链烯酰基替代的苯基,0-芳香基,0-酰基,0-杂环化合物,0-杂环芳香化合物,0-链烯羰酰,及其衍生物。R9,R11,R12,R13,R14,R15分别连接一个CH3。或者其中R10连接0-当归酰基,0-顺芷酰基,0-千里光酰基,0-乙酰基,0-巴豆酰基,0-3,3-二甲基丙烯酰基,0-桂皮酰基,0-戊烯酰基,0-己烯酰基,0-苯甲酰基,0-乙丁酰基,0-烷基,0-双苯甲酰基,0-苯甲酰基,0-链烷酰基,0-链烯酰基,0-苯甲基烷基取代的链烷酰基,0-链烷酰基替代的苯基,0-链烯酰基替代的苯基,0-芳香基,0-酰基,0-杂环化合物,杂环芳香化合物,0-链烯羰酰,CH20-当归酰基,CH20-顺芷酰基,CH20-千里光酰基,CH20-乙酰基,CH20-巴豆酰基,CH20-3,3-二甲基丙烯酰基,CH20-桂皮酰基,CH20-戊烯酰基,CH20-己烯酰基,CH20-苯甲酰基,CH20-乙丁酰基,CH3,CH20H,0-烷基,0-双苯甲酰基,0-苯甲酰基,0-链烷酰基,0-链烯酰基,0-苯甲基烷基取代的链烷酰基,0-链烷酰基替代的苯基,0-链烯酰基替代的苯基,0-芳香基,0-酰基,0-杂环化合物,杂环芳香化合物,0-链烯羰酰,及其衍生物,CH20-烷基,CH20-双苯甲酰基,CH20-苯甲酰基,CH20-链烷酰基,CH20-链烯酰基,CH20-苯甲基烷基取代的链烷酰基,CH20-链烷酰基替代的苯基,CH20-链烯酰基替代的苯基,CH20-芳香基,CH20-酰基,CH20-杂环化合物,CH20-杂环芳香化合物,CH20-链烯羰酰。或者其中R4和R10是连接连接0-当归酰基,0-顺芷酰基,0-千里光酰基,0-乙酰基,0-巴豆酰基,0-3,3-二甲基丙烯酰基,0-桂皮酰基,0-戊烯酰基,0-己烯酰基,0-苯甲酰基,0-乙丁酰基,0-烷基,0-双苯甲酰基,0-苯甲酰基,0-链烷酰基,0-链烯酰基,0-苯甲基烷基取代的链烷酰基,0-链烷酰基替代的苯基,0-链烯酰基替代的苯基,0-芳香基,0-酰基,0-杂环化合物,0-杂环芳香化合物,0-链烯羰酰,CH20-当归酰基,CH20-顺芷酰基,CH20-千里光酰基,CH20-乙酰基,CH20-巴豆酰基,CH20-3,3-二甲基丙烯酰基,CH20-桂皮酰基,CH20-戊烯酰基,CH20-己烯酰基,CH20-苯甲酰基,CH20-乙丁酰基,CH3,CH20H,0-烷基,0-双苯甲酰基,0-苯甲酰基,0-链烷酰基,0-链烯酰基,0-苯甲基烷基取代的链烷酰基,0-链烷酰基替代的苯基,0-链烯酰基替代的苯基,0-芳香基,0-酰基,0-杂环化合物,0-杂环芳香化合物,0-链烯羰酰。其中,R3是OH或H,或缺如。其中R1,R2,R3,R5,R8OH或H,或缺如。其中,R9,R11,R12,R13,R14和R15是CH3。或者其中R1,R2,R5,R8是OH,R3是OH或H,或缺如。R4,R10是CH20-当归酰基,R9,R11,R12,R13,R14,R15是CH3。或其中R1,R2,R5,R8是OH或0-顺芷酰基,R3是OH或H,或缺如。R4,R10是CH20-顺芷酰基,R9,R11,R12,R13,R14,R15是CH3。其中,连接在母核化合物的官能团是如下官能团中的一个:乙酰基,当归酰基,顺芷酰基,千里光酰基,烷基,巴豆酰基,二甲基丙烯酰基,桂皮酰基,戊烯酰基,己烯酰基,苯甲酰基,乙丁酰基,烷基,双苯甲酰基,苯甲酰基,链烷酰基,链烯酰基,苯甲基烷基取代的链烷酰基,链烷酰基替代的苯基,链烯酰基替代的苯基,芳香基,酰基,杂环化合物,杂环芳香化合物,链烯羰酰。这些功能团可以是相同或不同的组合在一

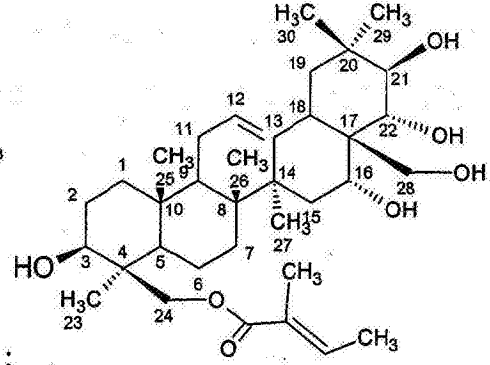
起。取代,除去,或添加任一官能团在上述化合物上,是本专利合成新活性化合物的手段之一。在进一步实施例中,取代,除去,或添加任一官能团在本专利提供的化合物上,不会显著影响该化合物的活性。

[0197] 在一个实施例中,所述化合物具有下面结构:

化合物 E4A-Ang-R

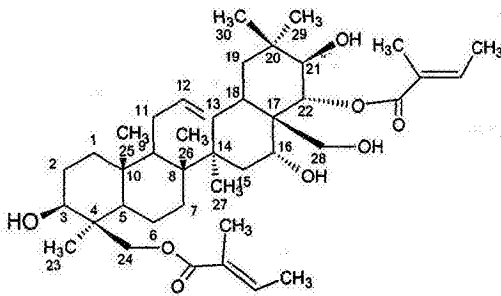


化合物 E4A-Ang-N

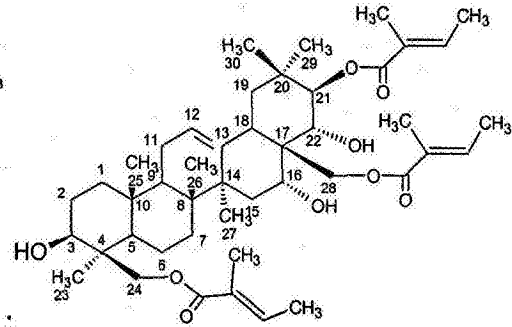


[0198]

化合物 E4A-Ang-Q



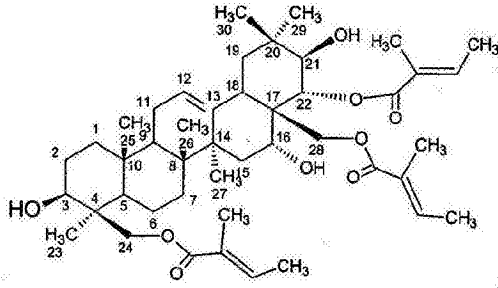
化合物 E4A-Ang-V



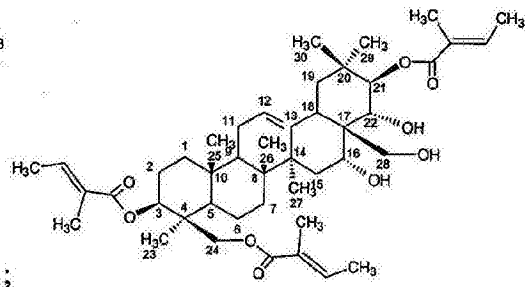
化合物 E4A-Ang-T

化合物 E4A-Ang-U

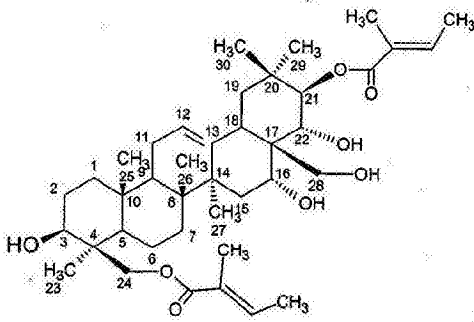




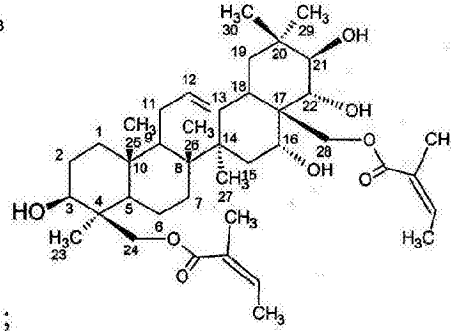
化合物 E4A-Ang-S



化合物 E4A-Ang-R

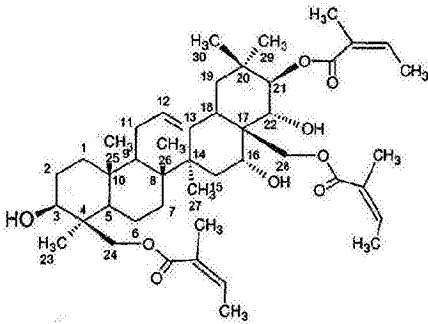


化合物 E4A-Ang-V

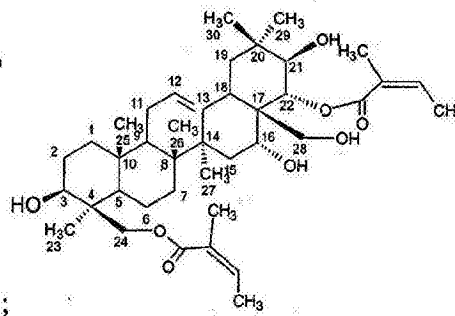


化合物 E4A-Ang-Q:

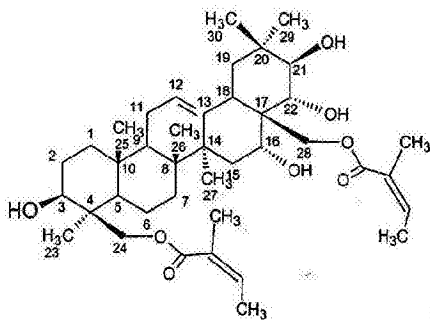
[0199]



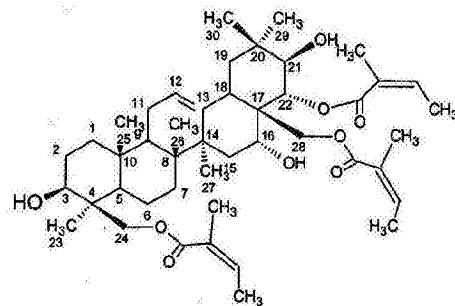
化合物 E4A-Ang-N:



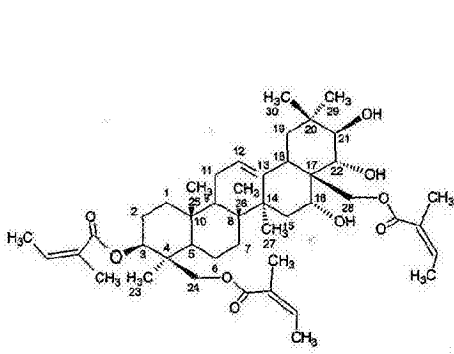
化合物 E4A-Ang-T:



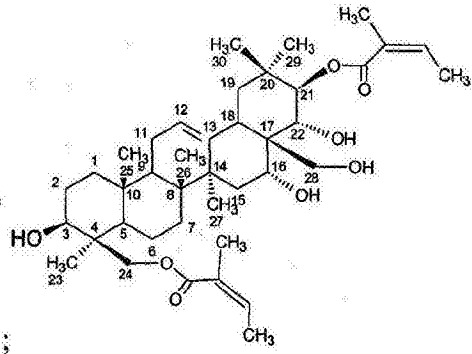
化合物 E4A-Ang-U:



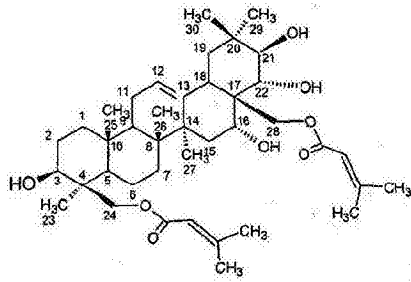
化合物 E4A-Ang-S:



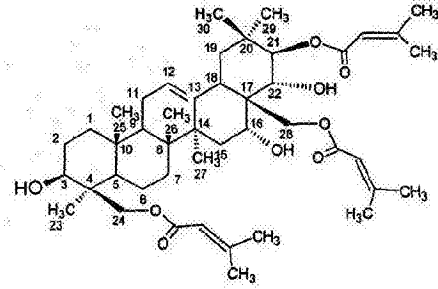
化合物 E4A-Sen-R



化合物 E4A-Sen-V:

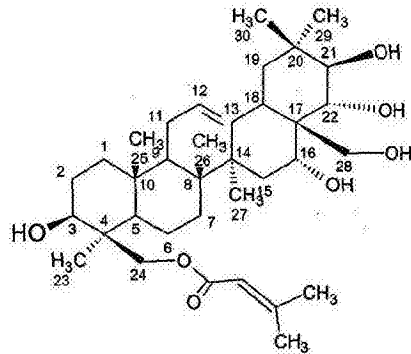


化合物 E4A-Sen-N:

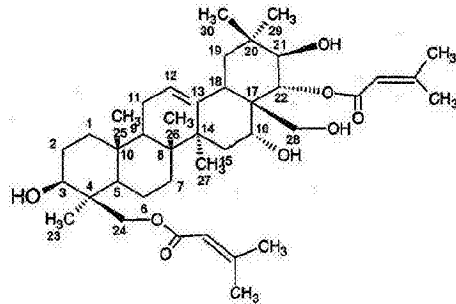


化合物 E4A-Sen-Q:

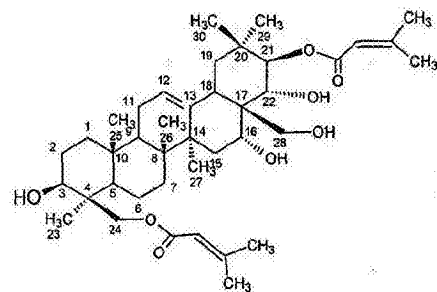
[0200]



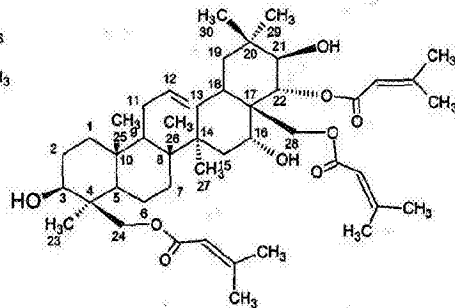
化合物 E4A-Sen-S



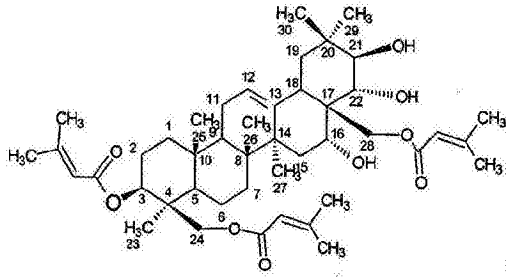
化合物 E4A-Sen-T:



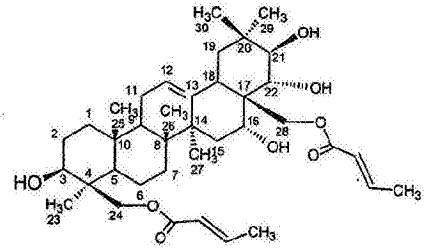
化合物 E4A-Sen-U:



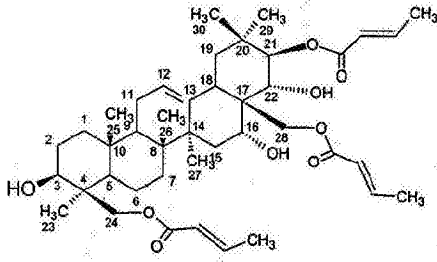
化合物 E4A-Cro-R:



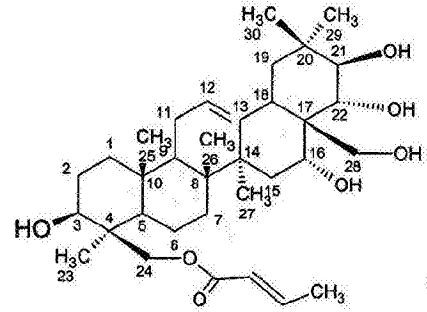
化合物 E4A-Cro-V



化合物 E4A-Cro-N:

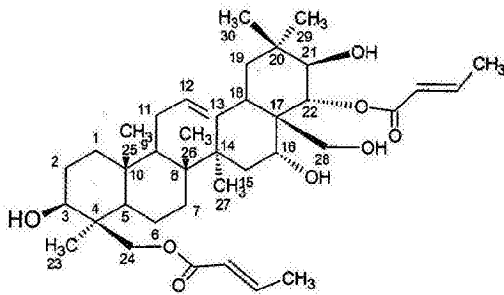


化合物 E4A-Cro-Q:

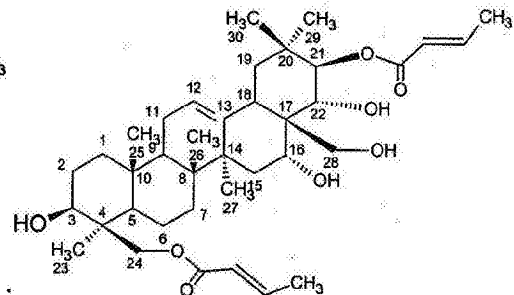


化合物 E4A-Cro-S:

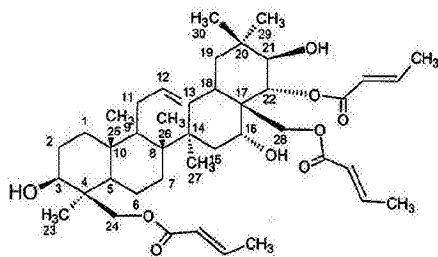
[0201]



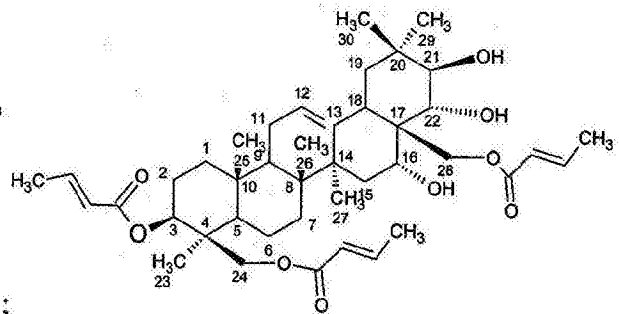
化合物 E4A-Cro-T



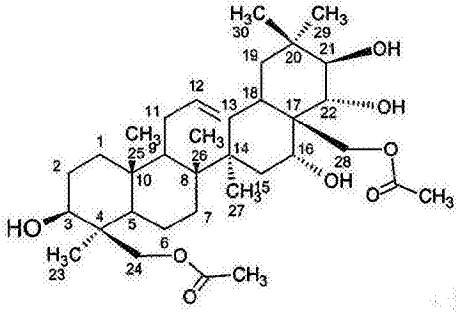
化合物 E4A-Cro-U:



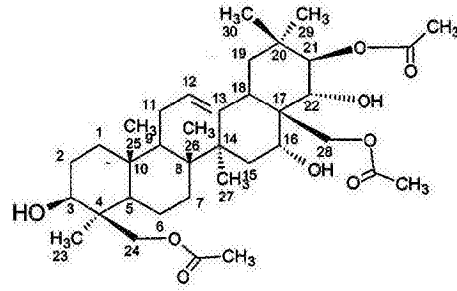
化合物 E4A-Acy-R:



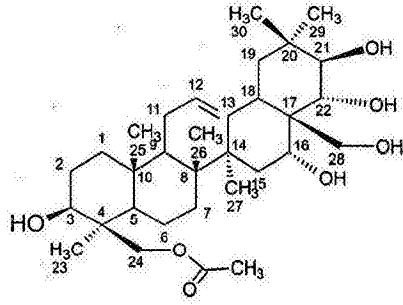
化合物 E4A-Acy-V:



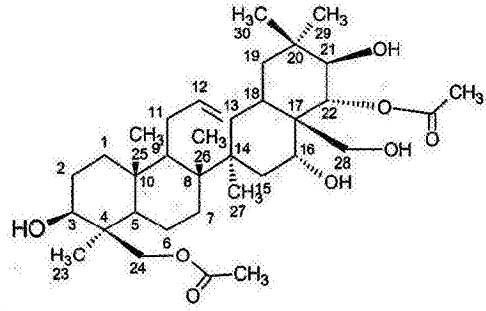
化合物 E4A- Acy-N:



化合物 E4A- Acy-Q:

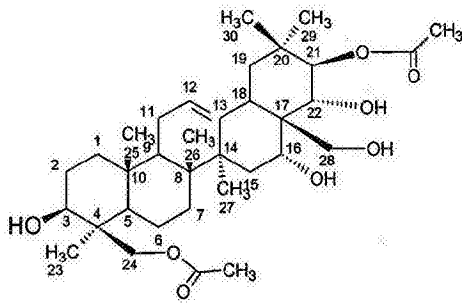


化合物 E4A- Acy-S:

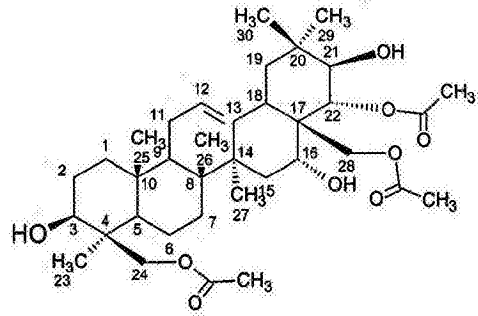


化合物 E4A- Acy-T:

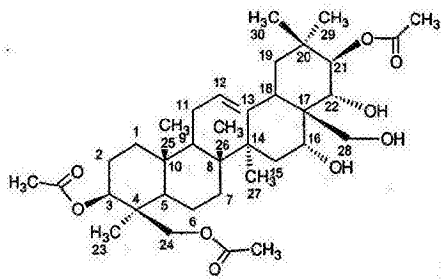
[0202]



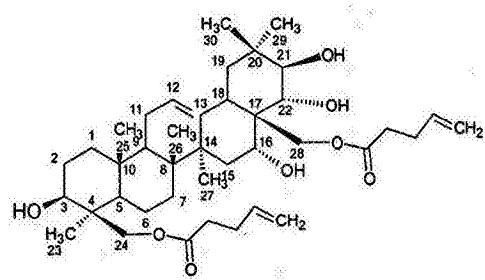
化合物 E4A- Acy-U:



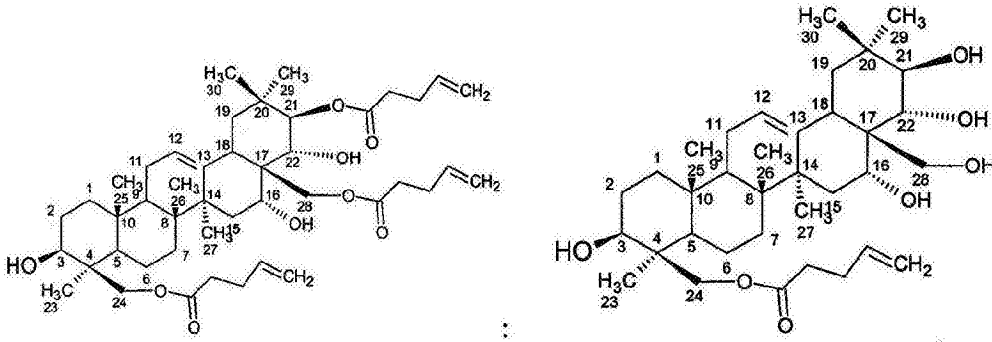
化合物 E4A-Pen-R:



化合物 E4A-Pen-V:

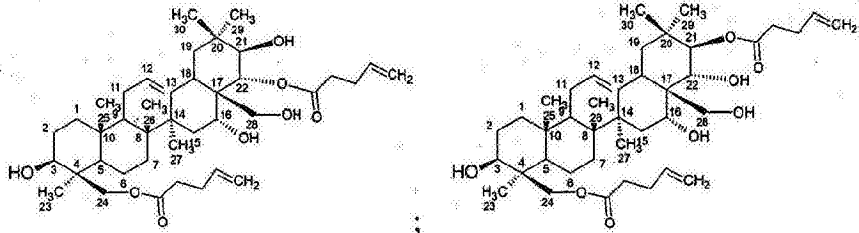


化合物 E4A-Pen-N:



化合物 E4A-Pen-Q:

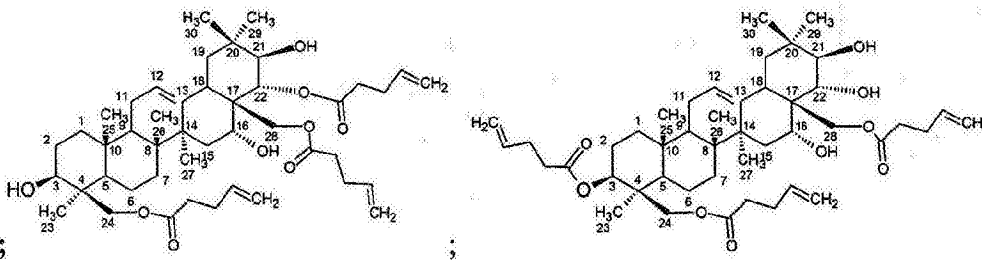
化合物 E4A-Pen-S:



化合物 E4A-Pen-T:

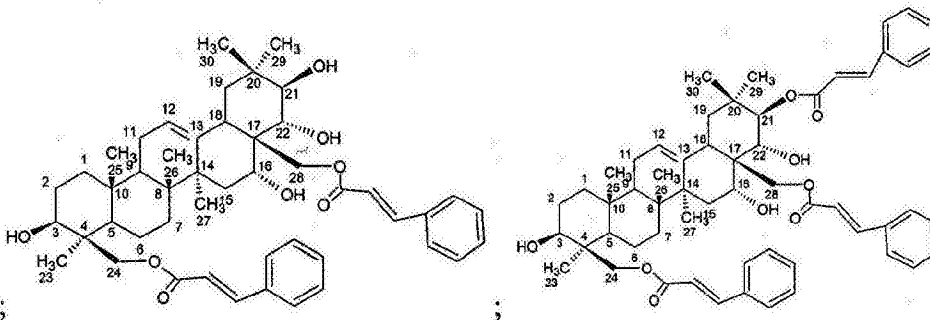
化合物 E4A-Pen-U:

[0203]



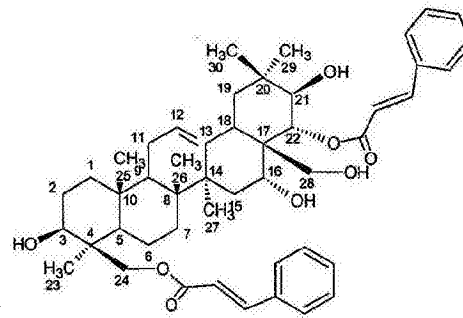
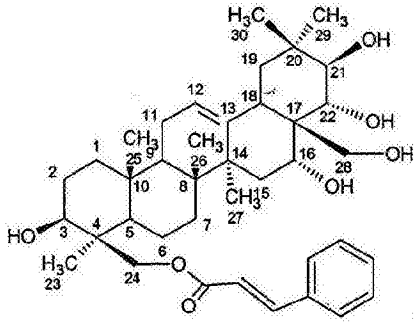
化合物 E4A-Pen-R:

化合物 E4A-Pen-V:



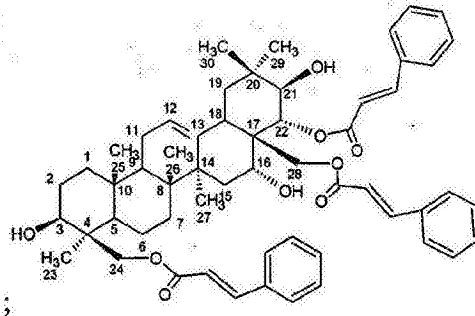
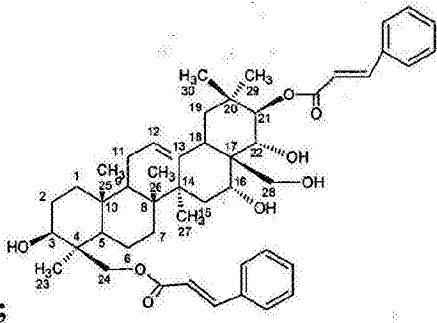
化合物 E4A-Pen-N:

化合物 E4A-Pen-Q:



化合物 E4A-Pen-S:

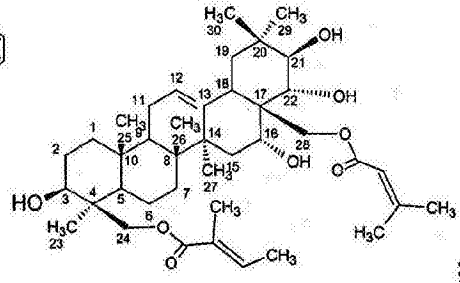
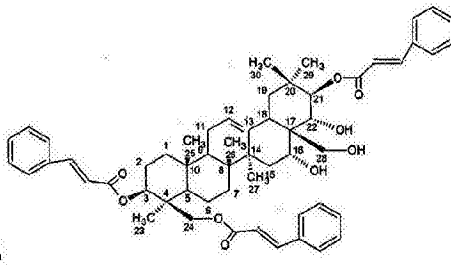
化合物 E4A-Pen-T:



[0204]

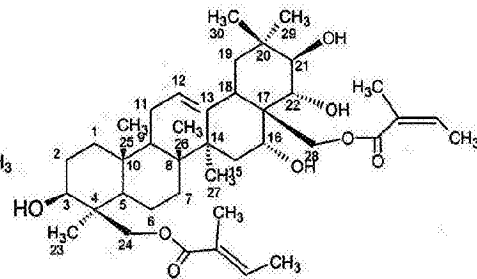
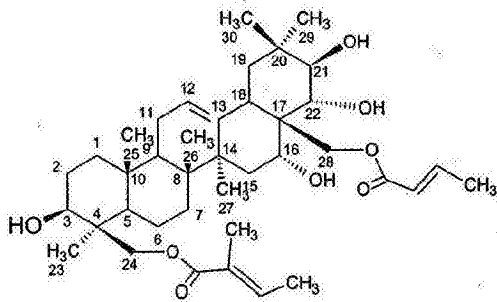
化合物 E4A-Cin-U:

化合物 Tig-Sen-1

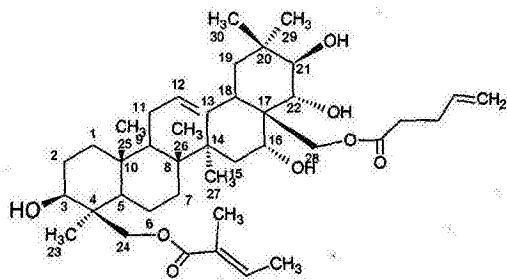


化合物 Tig-Cro-1

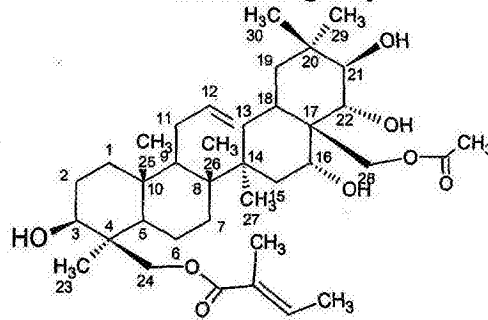
化合物 Tig-Ang-1



化合物 Tig-Pen-1

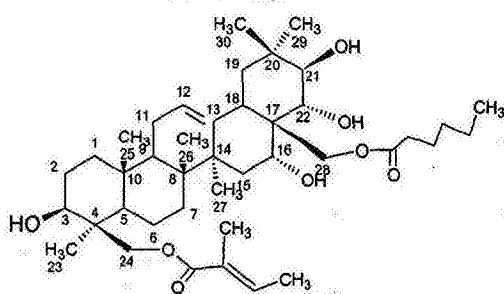


化合物 Tig-Acy-1

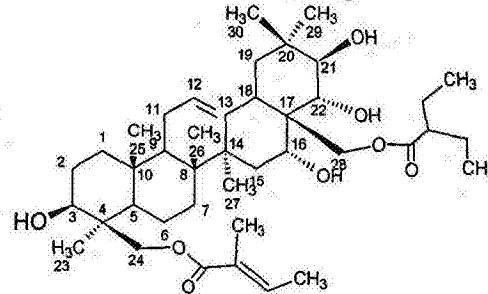


[0205]

化合物 Tig-Hex-1



化合物 Tig-Eth-1



[0206] 本专利提供一种组合物,该组合物含有一定数量的上述化合物,所述化合物具有上述结构,或其盐类,酯类,代谢物,或衍生物。该组合物可用于制备抑制癌的入侵,细胞入侵和癌细胞入侵和转移的抗癌药物。在这里所述癌症是乳腺癌、白细胞癌、肝癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、皮肤癌、骨癌、脑癌、白血病、肺癌、结肠癌、中枢神经癌(CNS)、黑素瘤、肾管癌,宫颈癌,食管癌,睾丸癌,脾癌,肾癌,淋巴瘤,胰腺癌,胃癌和甲状腺癌等。这里所述的细胞是乳腺细胞、白细胞、肝细胞、卵巢细胞、膀胱细胞、前列腺细胞、皮肤细胞、骨细胞、脑细胞、白血病细胞、肺细胞、结肠细胞、中枢神经细胞(CNS)、黑素瘤细胞、肾管细胞,宫颈细胞,食管细胞,睾丸细胞,脾细胞,肾细胞,淋巴细胞,胰腺细胞,胃细胞和甲状腺细胞等。

[0207] 本专利提供一种组合物,该组合物含有本专利提供的化合物,该组合物可治疗癌症,抑制病毒,预防脑衰老,改善记忆力和脑功能,治疗遗尿,尿频和尿急,痴呆,帕金森病,或其它由脑功能不全引起的疾病,关节炎,风湿症,循环不良,动脉硬化,雷诺病症,心绞痛,心脏功能紊乱,冠心病、头痛、眩晕和肾脏功能紊乱,心血管疾病,抑制NF-Kappa B活化,脑水肿,呼吸急迫症候群,呼吸病毒疾病;慢性静脉功能不全;低血压;慢性静脉疾病;抗水肿;抗炎;痔疮,末梢水肿;静脉曲张;流感;外伤后水肿;术后肿胀;抑制血栓形成,抑制乙醇吸收;降血糖;调整促皮质素和皮质酮的水平。本专利提供的化合物,可AntiMS,抗动脉瘤,抗哮喘,舒张血管,抗毛细管出血,抗头痛,抗颈臂痛,子痫,水肿,脑炎,会厌炎,渗出,流感,骨折,龈炎,血肿,疱疹,组胺休克,关节积水,脑膜炎,抗氧化作用,牙周炎,静脉炎,胸膜炎,声嘶,鼻炎,扁桃体炎,溃疡,静脉曲张,眩晕,癌症转移,致皮质酮发生,利尿,抗真菌,溶血作用,玻璃酸酶抑制剂,利淋巴剂,利钠作用,杀虫剂,利粘液剂,溶胸腺的,保护血管和静脉的作用。抑制利史曼病,抑制癌细胞粘连或血管促白细胞生成素,抗寄生虫;增强下述基因表达:ANGPT2,DDIT3,LIF和NFKB1Z;制造辅助组合物和用于静脉切除处理。

[0208] 鏈烯基是指不飽和的直鏈或支鏈的結構和它們的組合物,具有式 $R_2C=CR_2$ ,一個

或多个双键。链烯基的实例包括乙烯基,丙烯基,异丙烯基,丁烯基,S-和T-丁烯基,戊烯基,己烯基,丁二烯基,戊二烯基,和己二烯基。

[0209] 芳香基是一个功能基团,从芳香化合物如苯中衍生出来有机化合物,6-14碳组成的含有1-3苯环的芳香环状系统。如果两个以上的芳香环在一起,相邻的环就会共享共键而连在一起。这类化合物的例子如苯酚,奈酚。芳香基可被一到多个其它基团所替代,如卤素,烷基或烷氧基。

[0210] 酰基是一个功能基团,从有机酸脱去羧基得来,酰基化合物可写成-COR,其中碳和氧原子之间是双键。酰基化合物的名称后面以-yl为结尾,如甲酰基(formyl),乙酰基(acetyl),丙酰基(propionyl),丁酰基(butyryl)和本甲酰基(benzoyl)。苯甲酰基(benzoyl), $C_6H_5COR$ ,从苯甲酸脱去羧基得来。

[0211] 杂环化合物是含有杂环的化合物,所谓杂环是指非芳香环,即含有1-4杂原子的单独的环或和第二个环相连,这第二个环是3-7个碳的杂脂肪族环并含有0-4个杂原子,芳香基,或杂芳香基,这里所指的杂脂肪族有吡咯烷酰基,吡嗪基,吗啉基,四氢呋喃基,咪唑酰基和硫吗啉基等。

[0212] 杂脂肪族酰基是杂环芳烃脱去氢得到的。

[0213] 链烷基(Alkanoyl)是含有RCO-功能基团的有机化合物的总称,其中R是氢,或烷基。优选的链烷基有乙酰基,丙酰基,丁酰基,异丁酰基,戊酰基和己酰基。

[0214] 链烯基是链烯羟基(链烯碳酰基),如戊烯碳酰(顺芷酰基)和己烯碳酰基(当归酰基)

[0215] 烷基(Alkyl)仅含有氢和碳原子的基团,链状,分支状,环状,双环状,或它们的组合,含有1-18碳原子。如甲基,乙基,丙基,异丙基,丁基,s-和t-丁基,戊基,己基,庚基,辛基,壬基,十一烷基,十二烷基,十三烷基,十四烷基,十五烷基,环丙烷基,环丁烷基,环戊烷基,和环己烷基等。

[0216] 苯甲酰烷基替代链烷基是指直链或分支链烷基被至少一个苯甲酰基和一个烷基取代的基团,其中苯甲基是连接在直链或分支的链烷基上。苯甲酰甲基异丁酰基是本专利苯甲酰烷基替代链烷基的一个例子。

[0217] 糖链是皂甙化合物的一个分子片段,含有抑制多个糖或糖醛酸。

[0218] 异丁酰基是2-甲基丙酰基的异名。

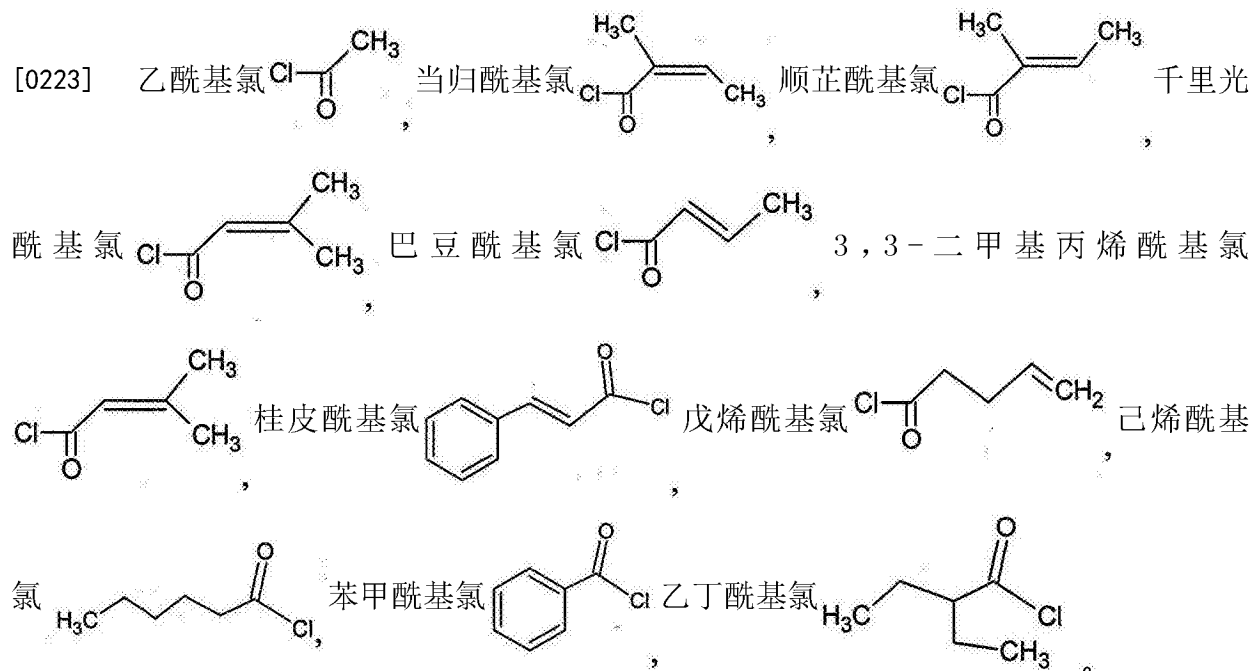
[0219] Y和Y3是同一化合物。

[0220] YM和(ACH-Y)是同一化合物。

[0221] 连接的糖链是一种亚结构或基团,它把活性基团连接到母核化合物上。如当归酰基通过糖链连接到三萜母核上。

[0222] 在本专利中用于构建活性化合物的化学构件包括三萜类化合物,羟基三萜类化合物,乙酰基,当归酰基,顺芷酰基,千里光酰基,烷基,巴豆酰基,0-3,3-二甲基丙烯酰基,桂皮酰基,戊烯酰基,己烯酰基,苯甲酰基,乙丁酰基,烷基,双苯甲酰基,苯甲酰基,链烷酰基,链烯酰基,苯甲基烷基取代的链烷酰基,链烷酰基替代的苯基,链烯酰基替代的苯基,芳香基,酰基,杂环化合物,杂环芳香化合物,链烯羧酰,乙酰基氯,顺芷酰基氯,当归酰基氯,巴豆酰基氯,千里光酰基氯,3,3-二甲基丙烯酰基氯,桂皮酰基氯,戊烯酰基氯,己烯酰基氯,苯甲酰基氯或乙丁酰基氯。





[0224] 在本专利提供的实验中,和不用药(DMSO)的对照(85%或更高)相比,可抑制15%或少于15%的细胞生长用药的浓度被视为无细胞毒害的浓度。在另一种体现本发明的情况下,和不用药的对照(90%或更高)相比,可抑制10%或少于10%的细胞生长用药的浓度被视为无细胞毒害的浓度。在另一种体现本发明的情况下,和不用药的对照(95%或更高)相比,可抑制5%或少于5%的细胞生长用药的浓度被视为无细胞毒害的浓度。在另一种体现本发明的情况下,和不用药的对照(80%或更高)相比,可抑制20%或少于20%的细胞生长用药的浓度被视为无细胞毒害的浓度。在另一种体现本发明的情况下,和不用药的对照(75%或更高)相比,可抑制25%或少于25%的细胞生长用药的浓度被视为无细胞毒害的浓度。在另一种体现本发明的情况下,和不用药的对照(DMSO)相比,可抑制45%或少于45%的细胞生长用药的浓度被视为无细胞毒害的浓度(DMSO)。

[0225] 本专利提供的三萜化合物,一些可用于医疗目的,其特征是所述医疗目的包括抑制癌症,或作为辅助处理抑制癌症的发生或杀死癌或肿瘤细胞,阻止癌细胞入侵。在另一种体现本发明的情况下,这些化合物可抑制细胞核因子- $\kappa$ B的活化。在这里所述抑制是指抑制定位,或抑制结合DNA。在另一种体现本发明的情况下,这些化合物可诱导癌细胞凋亡。

[0226] 表1-12化合物Y和YM对基因表达的影响(详见2008年2月15日递交的专利申请书PCT/US2008/002086,1188-ALA-PCT中的表1-12的内容)。表13-19化合物Y和YM对基因表达的影响Glypican在癌细胞ES2中表达的影响(详见2009年2月13日递交的专利申请书PCT/US2008/002086,1188-D-PCT中的表13-19的内容)。

[0227] 用Real-time PCR(Brilliant QPCR,Agilent Technologies)测定基因表达:

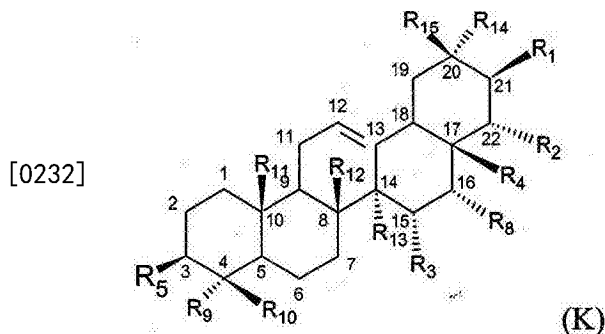
[0228] 用Real-time PCR方法进一步确认用微距阵分析得到的结果。Real-time PCR结果(见下述)确认化合物Y3和YM可增强下述基因的表达:ANGPT2,DDIT3,LIF和NFKB1Z,请详见2009年2月13日递交的专利申请书PCT/US09/34115中的表19-21的内容)。

[0229] 所述皂甙化合物部分水解的产物可用HPLC分离。所述皂甙化合物特殊的部分水解可用酶达到。葡萄糖苷酶可催化葡萄糖苷键的水解。半乳糖苷酶可催化半乳糖苷的水解。葡萄糖苷酶可把葡萄糖和皂甙断开。其它水解酶还有木糖酶,乳糖酶,淀粉酶几丁酶,果糖酶,

麦芽糖酶和神经氨酸酶。

[0230] 三萜类皂甙(如Xanifolia Y)的糖链可通过酸水解去掉。合成的化合物ACH-Y就是这样获得的。化合物ACH-Y是三萜连接上加酰基,但是没有糖链。三萜类皂甙(如Xanifolia Y)的加酰基也可通过碱水解去除。合成的化合物AKOH-Y就是这样获得的。化合物AKOH-Y是五环三萜连接上糖链。五环三萜可以通过酸和碱水解天然的皂甙而获得。五环三萜也可以通过合成的方法获得。(参考文献:Surendra et al., Rapid and Enantioselective Synthetic Approches to Germanicol and Other Pentacyclic Triterpenes, Journal of the American Chemical Society, 2008, 130 (27), 8865-8869). 带糖链的五环三萜可以通过合成的方法获得(参考文献:Ple et al., Synthesis of L-arabinopyranose containing hederagenin saponins, Tetrahedron 61 (2005) 4347-4362). 乙酰化是把乙酰基加在一个化合物上的过程。所谓Friedel-Crafts反应就是乙酰化的一个例子。活性化合物可以通过把物化三萜乙酰化而获得。在一种体现本发明的情况下,通过乙酰化物化三萜或羟基三萜类化合物而获得。在一个实施例中,酰化五环三萜类化合物的C24, C28, C21和C22, 或羟基化的三萜类化合物产生的抑制癌细胞生长, 癌细胞的侵袭, 细胞侵袭, 肿瘤细胞侵袭, 细胞附着粘合, 或细胞循环的化合物。在一个实施例中, 酰基可能是在C3碳位连接。在一个实施例中, 糖部分是C21, 22, 24或28, 其中, 所述糖部分附有两个酰基, 在另一种体现本发明的情况下, 化合物(A), (B), (C), (D), (F), (G), (H) 乙酰化可得能抑制癌入侵, 细胞核癌细胞入侵的化合物。本专利提供了构建活性皂甙的化学构件。

[0231] 乙酰化的化合物(G)有当归酰基, 巴豆酰基产生如下化合物:



[0233] 其中R1, R2, R5, R8代表OH或O-当归酰基; R3代表OH, H或O-当归酰基; R4, R10代表CH3, CH2OH或CH2O当归酰基; R9, R11, R12, R13, R14, R15代表CH3; 或R1, R2, R5, R8代表OH or O-当归酰基; R3代表OH, H或O-当归酰基; R4, R10代表CH3, CH2OH或CH2O当归酰基; R9, R11, R12, R13, R14, R15代表CH3; 这里的化合物能抑制癌入侵, 细胞核癌细胞入侵。

[0234] 化合物(G)同下述官能团酰化产生化合物(K), 这里所述官能团是指乙酰基, 当归酰基, 顺芷酰基, 千里光酰基, 烷基, 巴豆酰基, 0-3, 3-二甲基丙烯酰基, 桂皮酰基, 戊烯酰基, 己烯酰基, 苯甲酰基, 乙丁酰基, 烷基, 双苯甲酰基, 苯甲酰基, 链烷酰基, 链烯酰基, 苯甲基烷基取代的链烷酰基, 链烷酰基替代的苯基, 链烯酰基替代的苯基, 芳香基, 酰基, 杂环化合物, 杂环芳香化合物, CH2O-链烯羧酰, 烷烃, 烯烃。其中, R1, R2, R5, R8分别代表, 0-当归酰基, 0-顺芷酰基, 0-千里光酰基, 0-乙酰基, 0-巴豆酰基, 0-3, 3-二甲基丙烯酰基, 0-桂皮酰基, 0-戊烯酰基, 0-己烯酰基, 0-苯甲酰基, 0-乙丁酰基, 0-烷基, 0-双苯甲酰基, 0-苯甲酰基, 0-链烷酰基, 0-链烯酰基, 0-苯甲基烷基取代的链烷酰基, 0-链烷酰基替代的苯基, 0-链烯酰基替代的苯基, 0-芳香基, 0-酰基, 0-杂环化合物, 0-杂环芳香化合物, 0-链烯羧酰; R4,

R10分别代表CH<sub>3</sub>,CH<sub>2</sub>OH,CH<sub>2</sub>-当归酰基,CH<sub>2</sub>-顺芷酰基,CH<sub>2</sub>-千里光酰基,CH<sub>2</sub>-乙酰基,CH<sub>2</sub>-巴豆酰基,CH<sub>2</sub>-3,3-二甲基丙烯酰基,CH<sub>2</sub>-桂皮酰基,CH<sub>2</sub>-戊烯酰基,CH<sub>2</sub>-己烯酰基,CH<sub>2</sub>-苯甲酰基,CH<sub>2</sub>-乙丁酰基,CH<sub>2</sub>-烷基,CH<sub>2</sub>-双苯甲酰基,CH<sub>2</sub>-苯甲酰基,CH<sub>2</sub>-链烷酰基,CH<sub>2</sub>-链烯酰基,CH<sub>2</sub>-苯甲基烷基取代的链烷酰基,CH<sub>2</sub>-链烷酰基替代的苯基,CH<sub>2</sub>-链烯酰基替代的苯基,CH<sub>2</sub>-芳香基,CH<sub>2</sub>-酰基,CH<sub>2</sub>-杂环化合物,CH<sub>2</sub>-杂环芳香化合物,CH<sub>2</sub>-链烯羰酰,烷烃,烯烃。R3缺如或代表OH,H,0-当归酰基,0-顺芷酰基,0-千里光酰基,0-乙酰基,0-巴豆酰基,0-3,3-二甲基丙烯酰基,0-桂皮酰基,0-戊烯酰基,0-己烯酰基,0-苯甲酰基,0-乙丁酰基,0-烷基,0-双苯甲酰基,0-苯甲酰基,0-链烷酰基,0-链烯酰基,0-苯甲基烷基取代的链烷酰基,0-链烷酰基替代的苯基,0-链烯酰基替代的苯基,0-芳香基,0-酰基,0-杂环化合物,杂环芳香化合物,0-链烯羰酰。其中R9,R11,R12,R13,R14,R15是CH<sub>3</sub>。在这里这些化合物抑制癌生长,入侵,细胞入侵或癌细胞入侵。其中这些化合物可用作粘连蛋白或血管生成素的调节剂或抑制剂。其中这些化合物作为调节剂可调节粘连蛋白的分泌,表达或合成,减少纤维连接蛋白以抑制细胞粘连附着或细胞循环。其中所述粘连蛋白包括纤维连接蛋白,整合素,肌球蛋白,玻连蛋白,胶原蛋白,层粘连蛋白,多聚糖,钙粘蛋白,肝素,肌腱,CD<sub>54</sub>,和CAM。这些化合物可用作抗粘连的医疗法或针对粘连分子的医疗法。

[0235] 专利申请人进而声明,抗粘连的医疗法或针对粘连分子的医疗法是新型的医疗方向。在临床的抗粘连的药物中,Efalizumab,Odulimomab,Alicaforsen,Aselizumab等是很好的代表药物,它们针对不同的粘连蛋白。请详见教科书,Klaus Ley编著的“粘连分子-作用和抑制”(Adhesion Molecules:Function and Inhibition),page289-291,297(参考文献2),粘连分子在炎症性疾病(Adhesion molecules in inflammatory disease)(参考文献4),摘要第7-8行:“封锁CAM表达的作用已成为治疗炎症性疾病的新的治疗目标”。本专利提出的抗粘连疗法是对于这些活性化合物的新的应用,即用于做粘连蛋白或血管生成素的调节或抑制剂,它可以抑制过度的粘连和细胞附着。

[0236] 在本专利申请书中,专利申请人把具有结构(2A)的化合物作为调节或抑制剂,用于抗粘连疗法,抑制过度的粘连和细胞附着。。

[0237] 实验详述

[0238] 关于提取分离化合物,用HPLC分析所提化合物的组分,用MTT测试化合物Xanifolia Y影响各种人体器官细胞生长的活性,然后用FPLC分离纯化其中活性成分再用HPLC分离出化合物Ys,确定它们的化学结构,细胞和动物实验等详见下列专利申请书中:国际专利申请书(PCT/US05/31900,PCT/US05/31900,U.S.Serial No.11/289142,U.S.Serial10/906303,U.S.Serial No.11/131551和U.S.Serial Nos.11/683198,2007年3月7日,PCT/US2007/077273,2007年8月30日,U.S.Serial No.60/890380,2007年2月16日,U.S.Nos.60/947,705,2007年7月3日,PCT/US2008/002086,1188-ALA-PCT,2008年2月15日,App' 1 No.PCT/US09/34115,2009年2月13日,PCT/US2008/002086,1188-ALA-PCT,2008年2月15日。因而,这些正在审定的专利申请书的内容因而应全面地纳入本专利申请书中。

[0239] 实验1:皂甙酸水解去掉糖链

[0240] 15mg的Xanifolia-Y溶于1ml甲醇中,加入1ml的2N HCl,在80℃的水浴中回流5小时,加入2ml的1N NaOH中和(终止pH为4-6)。用3ml乙酸乙酯提取2次,得皂甙配基,混合两次得到的配基,用HPLC(80-100%乙腈常液洗脱)做进一步分离。

[0241] 实验2:碱水解去除酰基

[0242] 20mg的Xanifolia-Y溶于0.5ml 1M NaOH中,在在80℃的水浴中培养4小时,溶液达室温时,加0.5ml 1N HCl中和(pH调制3),然后用2ml 1-丁醇提取3次,收集丁醇提取液并真空冷冻干燥得皂甙,在用HPLC(C-18柱25%乙腈洗脱)分离提纯。

[0243] 实验3:通过酯化把酰基加载在三萜上

[0244] 方法:40mg的三萜母环(化合物IV的一部分)溶于在50ml试管中的1ml吡啶中,当加入0.2ml的氯化酰基(氯化巴豆酰基,氯化当归酰基,氯化顺芷酰基,氯化千里光酰基,氯化乙酰基,氯化巴豆酰基,氯化0-3,3-二甲基丙烯酰基,氯化桂皮酰基,氯化戊烯酰基,氯化己烯酰基,苯氯化甲酰基,或氯化乙丁酰基),在25℃或75℃搅动5秒,1min,2min,5min,10min,30min,1hr,2hr,18hr,2天或三天。反应结束时,3ml的NaHCO<sub>3</sub>缓缓加入该混合物。然后用10ml的乙酸乙酯提取3次,再在45度下回收乙酸乙酯,冷冻干燥。回收的提取物溶于80%的乙腈-0.005%的三氟乙酸或DMSO中,活化的酯化产物用HPLC分离。根据不同反映时间的活性选择峰,组分和化合物。根据特定时间段反应产物的细胞毒性选择HPLC的组分供分离。具有从强到弱的活性的化合物被选择和分离。活化的酯化产物用HPLC纯化。根据MTT研究各个组份和化合物的抗癌活性(详见图1-12)。

[0245] 实验4:制备E4A

[0246] 1. Beta-Escin溶于1M NaOH(20mg/ml)中,在75℃下培养5小时。

[0247] 2. 水解液用HCl中和后冷冻干燥出去水分。

[0248] 3. 所得产物溶于50%甲醇和1N HCl中,在75℃下培养5小时。

[0249] 4. 所得溶液用HCl中和。

[0250] 5. 水解产物用乙腈提取,然后冷冻干燥出去水分。

[0251] 6. 水解产物用(E4A)FPLC色谱法进一步纯化(C18柱子,70%乙腈洗脱,1ml/min)。

[0252] 实验5:用氯化顺芷酰基酯化E4A

[0253] 1. 50mg E4A溶解于1ml吡啶,在50ml试管中轻轻搅动。

[0254] 2. 加入200ul氯化顺芷酰基,在25℃下酯化。

[0255] 3. 搅动1分钟,立即加入5ml的2N HCl。

[0256] 4. 搅动1小时,室温下静置一夜。

[0257] 5. 用10ml乙腈提取酯化产物。

[0258] 6. 蒸发出去乙腈。

[0259] 7. 将样品溶解于1ml DMSO中。

[0260] 8. 用HPLC分离反应产物。

[0261] 9. 收集样品。

[0262] 实验6:用HPLC分离活性化合物E4A-Tig

[0263] 1. 柱子:ZORBAX ODS9.4x250mm,5um。

[0264] 2. 溶剂:A:45%AN/TFA;B:100%AN/TFA。

[0265] 3. 色谱条件:a)洗脱:在80min内溶剂A进入B;然后用溶剂B40min;b)流量:1ml/min.c)监测OD:在207nm。

[0266] 实验7:MTT检测

[0267] 癌细胞:HTB-9(膀胱),HeLa-S3(宫颈),DU145(前列腺),H460(肺),MCF-7(乳房),

K562 (黑素瘤), HCT116 (结肠), HepG2 (肝脏), U2OS (骨), T98G (脑), SK-MEL-5 (皮肤) and OVCAR3, ES2 (卵巢), 胰腺 (Capan), 口腔 (KB), 肾 (A498)。

[0268] MTT检测 MTT检测方法根据 Carmichael 等 (1987) 所述, 稍有修改。癌细胞接种在一个 96-穴的培养皿中, 培养 24 小时, 然后进行药物处理 48, 72, 或 96 小时。然后, 加入 MTT (0.5mg/mL), 培养 1 小时。甲臜 (被活细胞还原的四氮唑的产物) 形成, 溶于 DMSO, 然后用 ELISA 测量 O.D (在 490nm)。药物处理前癌细胞的 MTT 值也要测量 (T0)。癌细胞的生长 (%G) 计算如下:

[0269]  $\%G = (TD - T0 / TC - T0) \times 100$  (1), 其中 TC 或 TD 是对照或药物处理后的 O.D 值。

[0270] 当  $T0 > TD$ , 对照的细胞毒性 (LC) 计算如下:  $\%LC = (TD - T0 / T0) \times 100$  (2)。

[0271] 实验 8: E4A-Tig-R 的化学合成, 分离和鉴定

[0272] E4A-Tig-R 的化学合成: 1. 制备 E4A; 2. 用氯化巴豆酰基酯化 E4A; 3. 用 HPLC 分离 E4A-Tig-R。

[0273] 细胞毒性检测: MTT 法。

[0274] 化学结构鉴定: 1. NMR 分析; 2. 质谱分析。

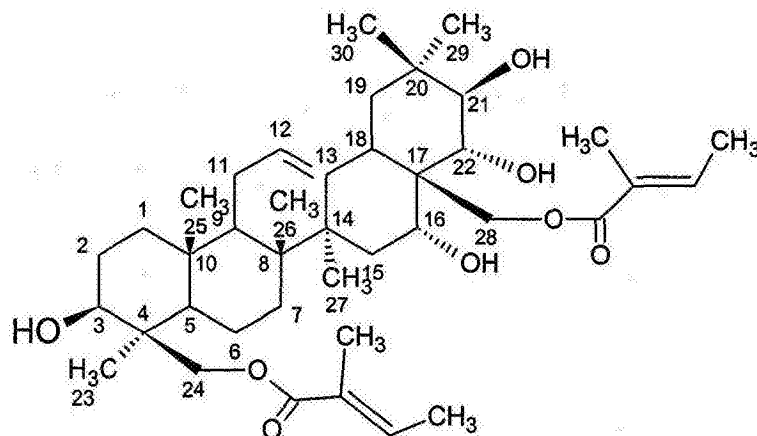
[0275] 见图 23-30

[0276] 见表 1

[0277] 化合物 E4A-Tig-R

[0278] 24, 28-O-顺芷酰基-3 $\beta$ , 16 $\alpha$ , 21 $\beta$ , 22 $\alpha$ , 24 $\beta$ , 28-六羟基齐墩果-12-烯

[0279]



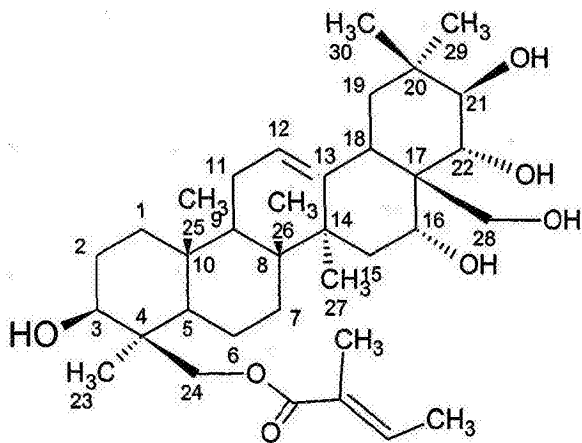
[0280] 试验 9: E4A-Tig-N 的化学合成, 分离和鉴定

[0281] E4A-Tig-N 的化学合成: 1. 制备 E4A; 2. 用氯化巴豆酰基酯化 E4A; 3. 用 HPLC 分离 E4A-Tig-N。

[0282] 细胞毒性检测: MTT 法。

[0283] 化学结构鉴定: 1. NMR 分析; 2. 质谱分析。

[0284]



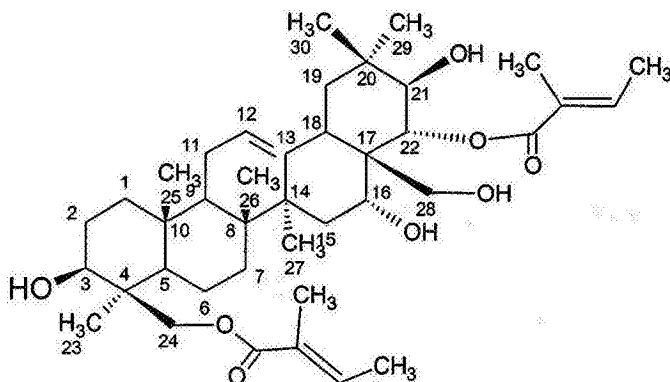
[0285] 试验10:E4A-Tig-Q的化学合成,分离和鉴定

[0286] E4A-Tig-Q的化学合成:1.制备E4A;2.用氯化巴豆酰基酯化E4A;3.用HPLC分离E4A-Tig-Q。

[0287] 细胞毒性检测:MTT法。

[0288] 化学结构鉴定:1.NMR分析;2.质谱分析。

[0289]



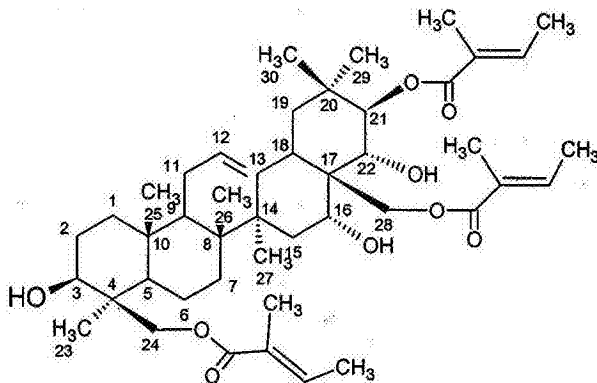
[0290] 试验11:E4A-Tig-V的化学合成,分离和鉴定

[0291] E4A-Tig-V的化学合成:1.制备E4A;2.用氯化巴豆酰基酯化E4A;3.用HPLC分离E4A-Tig-V。

[0292] 细胞毒性检测:MTT法。

[0293] 化学结构鉴定:1.NMR分析;2.质谱分析。

[0294]



[0295] 试验12:E4A-Tig-T的化学合成,分离和鉴定

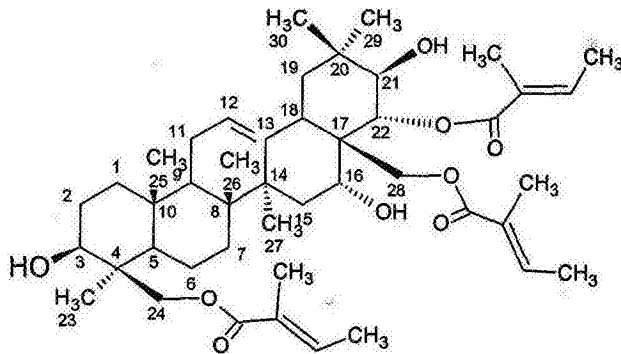
[0296] E4A-Tig-T的化学合成:1.制备E4A;2.用氯化巴豆酰基酯化E4A;3.用HPLC分离

E4A-Tig-T。

[0297] 细胞毒性检测:MTT法。

[0298] 化学结构鉴定:1.NMR分析;2.质谱分析。

[0299]



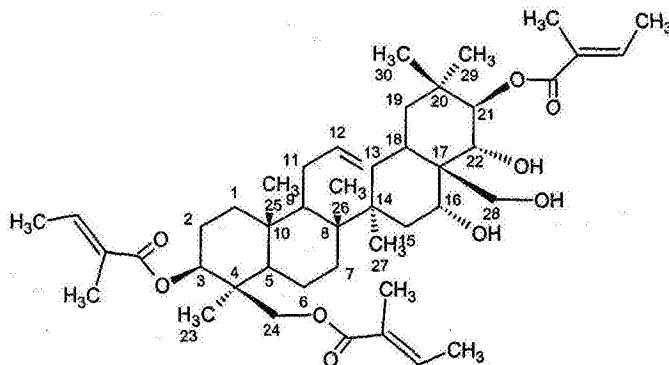
[0300] 试验13:E4A-Tig-U的化学合成,分离和鉴定

[0301] E4A-Tig-U的化学合成:1.制备E4A;2.用氯化巴豆酰基酯化E4A;3.用HPLC分离E4A-Tig-U。

[0302] 细胞毒性检测:MTT法。

[0303] 化学结构鉴定:1.NMR分析;2.质谱分析。

[0304]



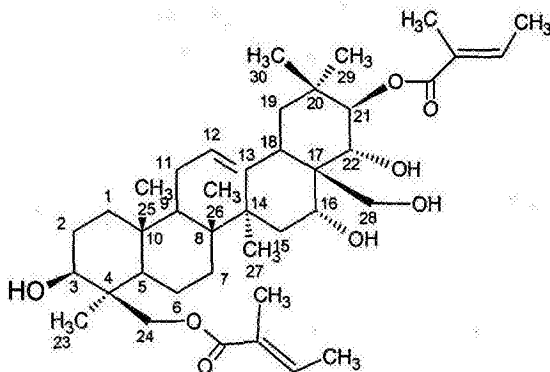
[0305] 试验14:E4A-Tig-S的化学合成,分离和鉴定

[0306] E4A-Tig-S的化学合成:1.制备E4A;2.用氯化巴豆酰基酯化E4A;3.用HPLC分离E4A-TigS。

[0307] 细胞毒性检测:MTT法。

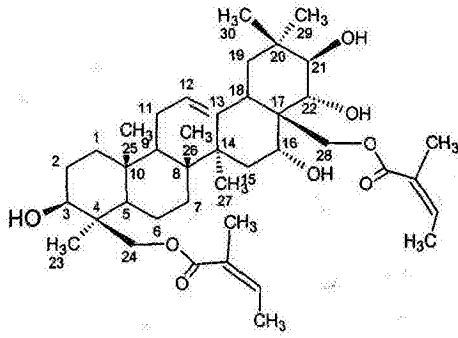
[0308] 化学结构鉴定:1.NMR分析;2.质谱分析。

[0309]

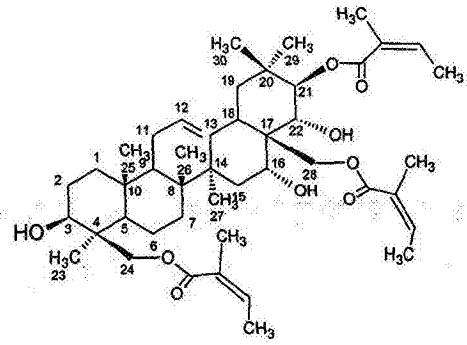


[0310] 试验15:和试验8的方法同,用乙酰基,巴豆酰基,当归酰基,顺芷酰基,千里光酰基,巴豆酰基,桂皮酰基,戊烯酰基,己烯酰基,乙丁酰基酯化E4A,得到下列化合物:

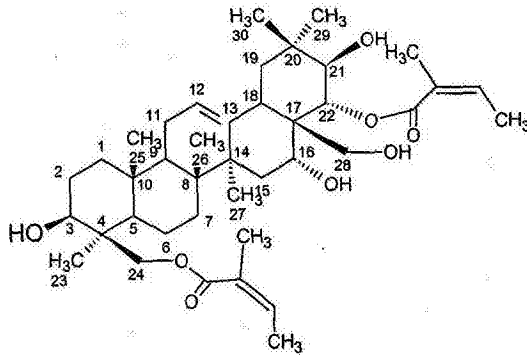
化合物 E4A-Ang-R



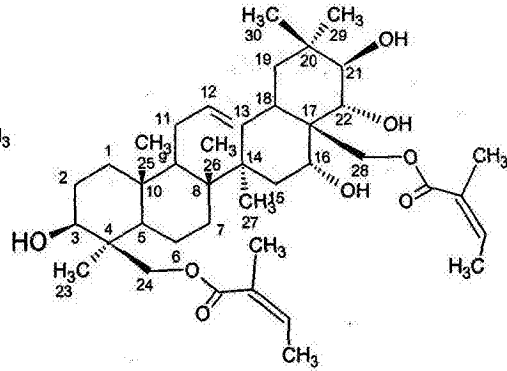
化合物 E4A-Ang-V



化合物 E4A-Ang-Q:

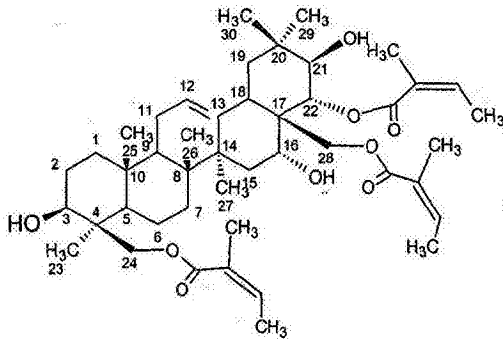


化合物 E4A-Ang-N:

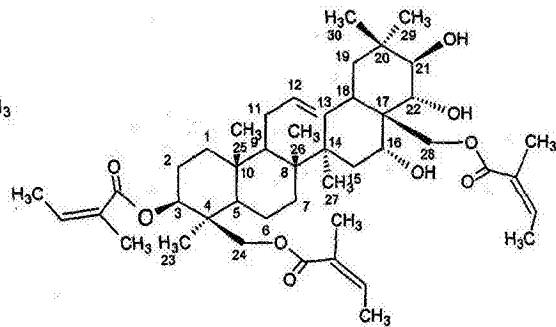


[0311]

化合物 E4A-Ang-T:



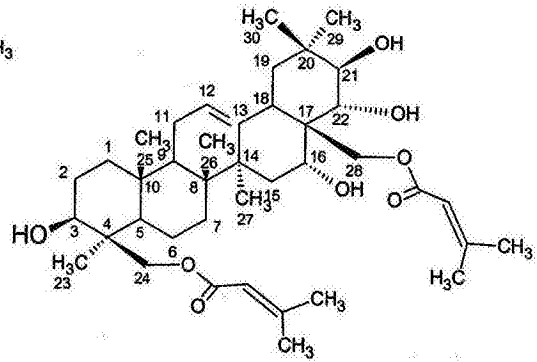
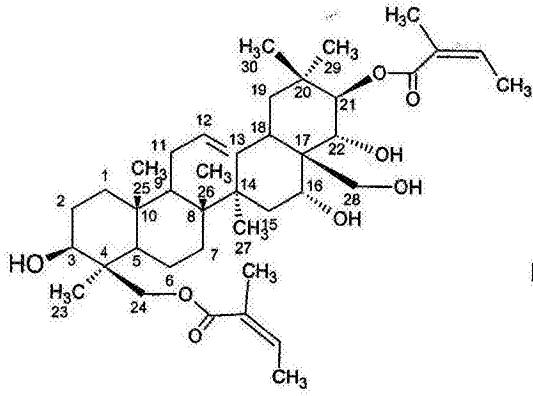
化合物 E4A-Ang-U:



化合物 E4A-Ang-S:

化合物 E4A-Sen-R

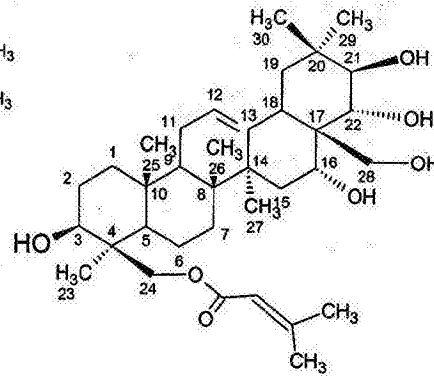
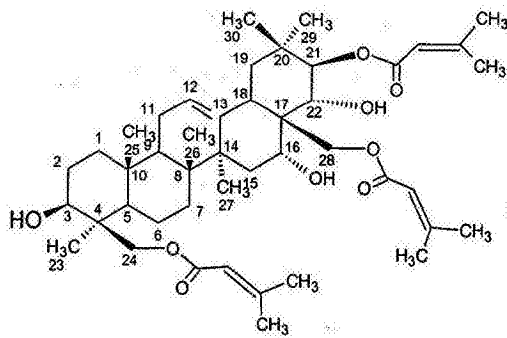




化合物 E4A-Sen-V:

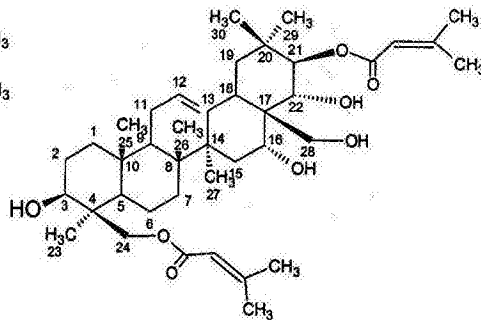
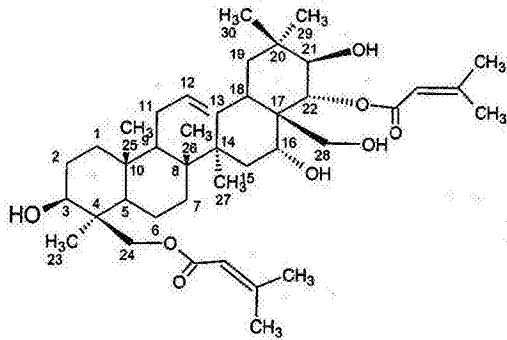
化合物 E4A-Sen-N:

[0312]



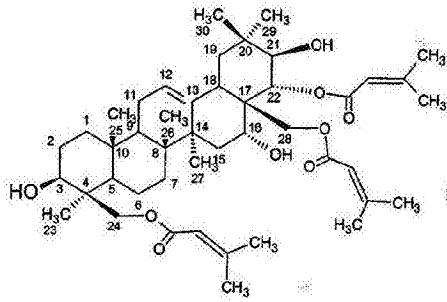
化合物 E4A-Sen-Q:

化合物 E4A-Sen-S:

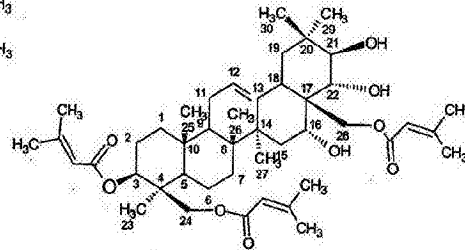


化合物 E4A-Sen-T:

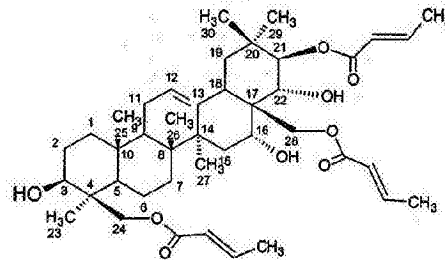
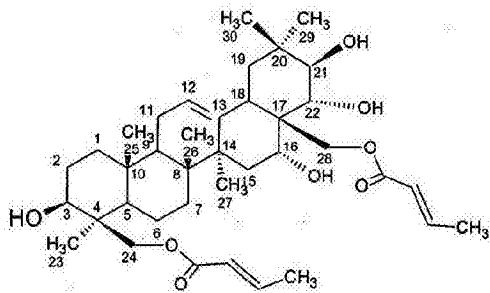
化合物 E4A-Sen-U:



化合物 E4A-Cro-R:



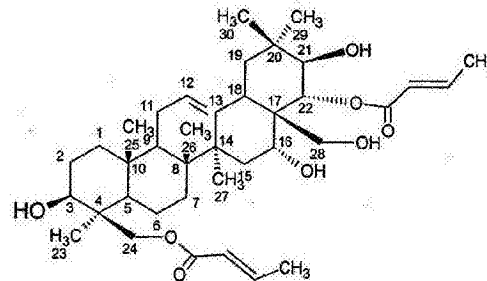
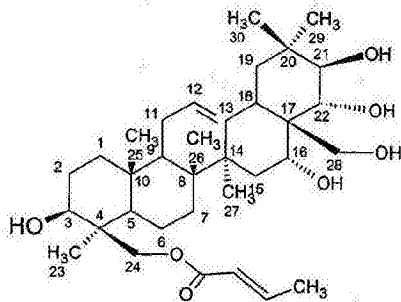
化合物 E4A-Cro-V



[0313]

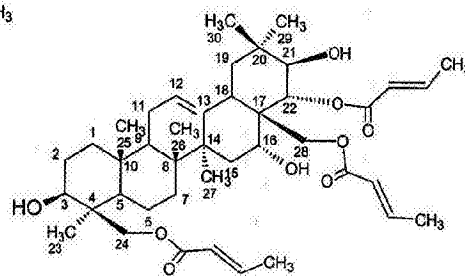
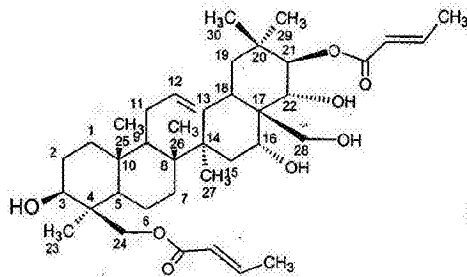
化合物 E4A-Cro-N:

化合物 E4A-Cro-O



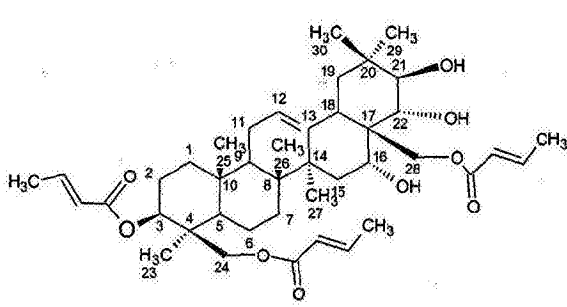
化合物 E4A-Cro-S:

化合物 E4A-Cro-T

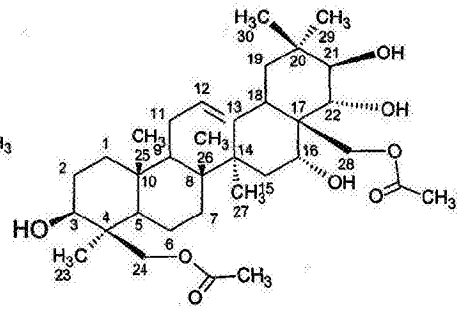


化合物 E4A-Cro-U:

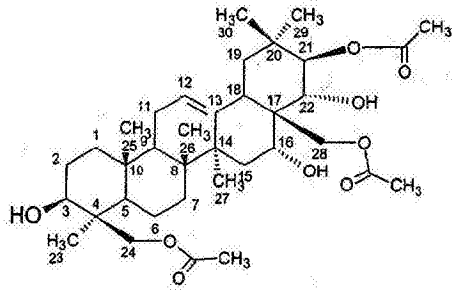
化合物 E4A-Acy-R:



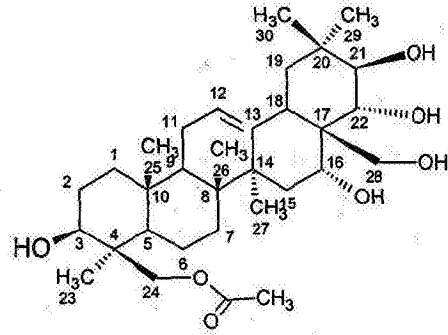
化合物 E4A- Acy-V:



化合物 E4A- Acy-N

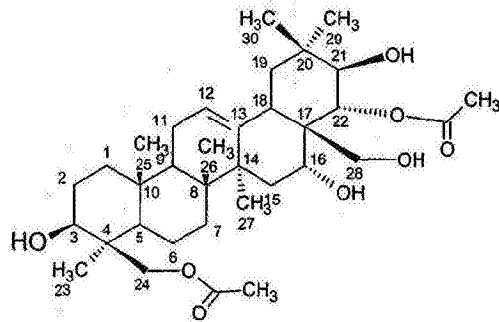


化合物 E4A- Acy-Q:

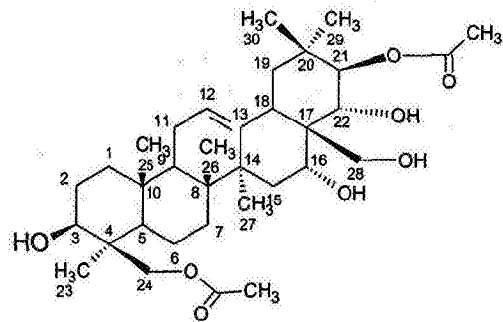


化合物 E4A- Acy-S:

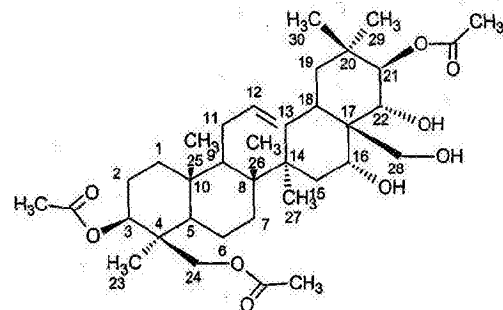
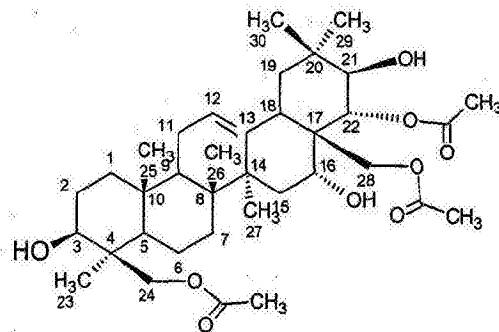
[0314]



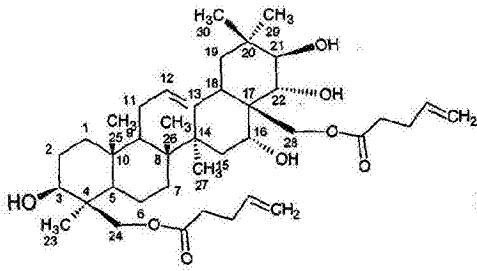
化合物 E4A- Acy-T:



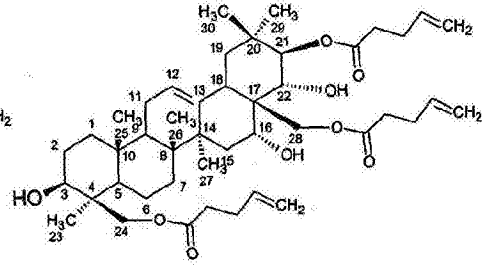
化合物 E4A- Acy-U



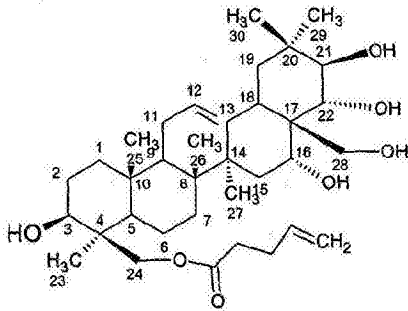
化合物 E4A-Pen-R:



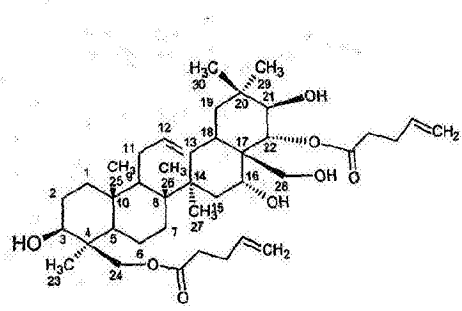
化合物 E4A-Pen-V



化合物 E4A-Pen-N:

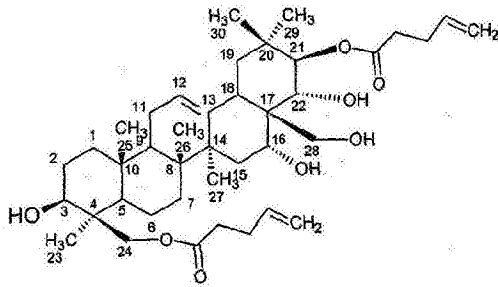


化合物 E4A-Pen-Q

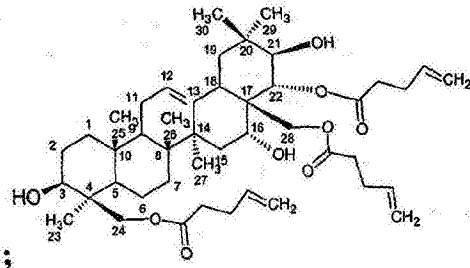


[0315]

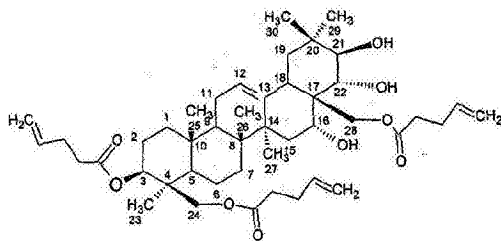
化合物 E4A-Pen-S:



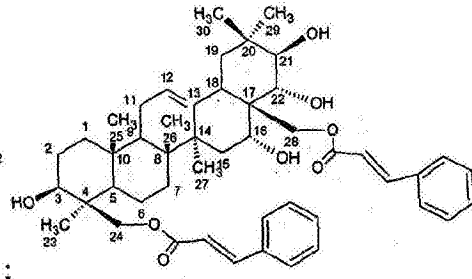
化合物 E4A-Pen-T:



化合物 E4A-Pen-U:

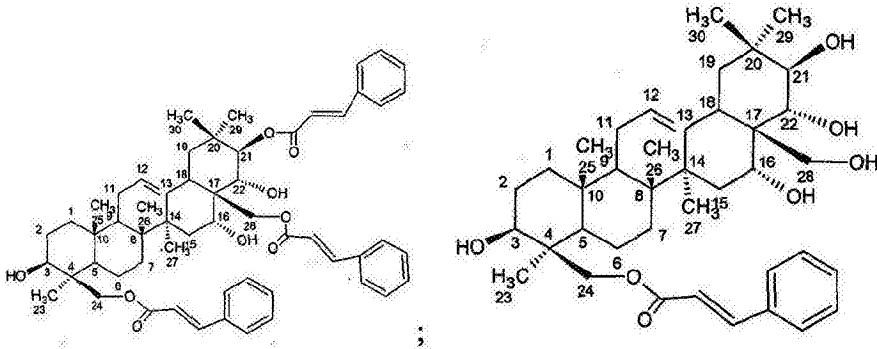


化合物 E4A-Pen-R:



化合物 E4A-Pen-V:

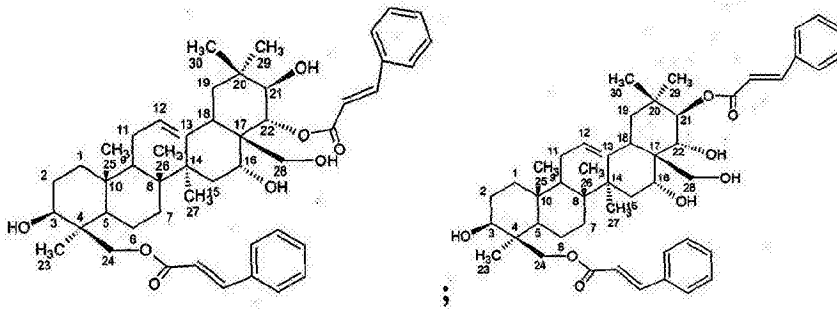
化合物 E4A-Pen-N:



化合物 E4A-Pen-Q:

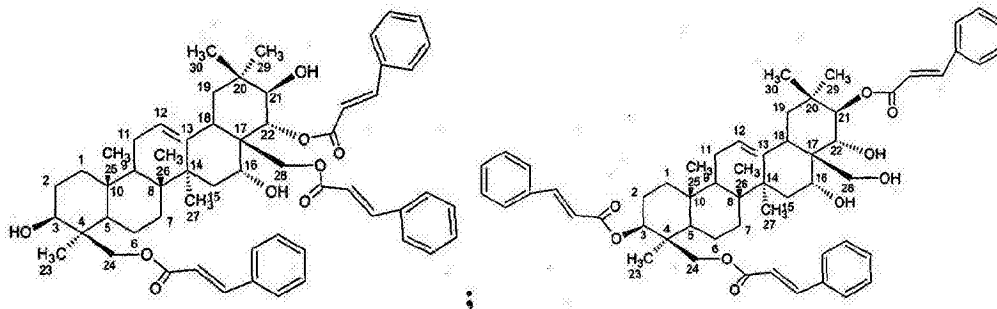
化合物 E4A-Pen-S:

[0316]



化合物 E4A-Pen-T:

化合物 E4A-Cin-U:



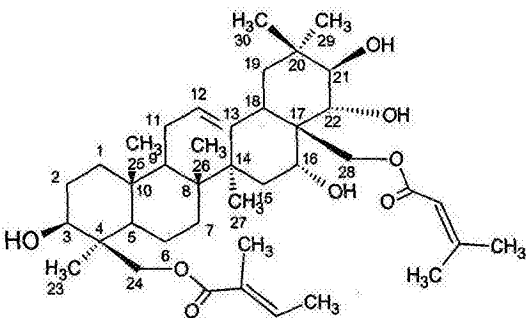
[0317] 试验16:用氯化千里光酰基酯化E4A-Tig-N

[0318] E4A-Tig-Sen-1的化学合成:1.制备E4A-Tig-N;2.用千里光酰基酯化E4A-Tig-N;  
3.用HPLC分离E4A-Tig-Sen。

[0319] 细胞毒性检测:MTT法。

[0320] 化学结构鉴定:1.NMR分析;2.质谱分析。

[0321]

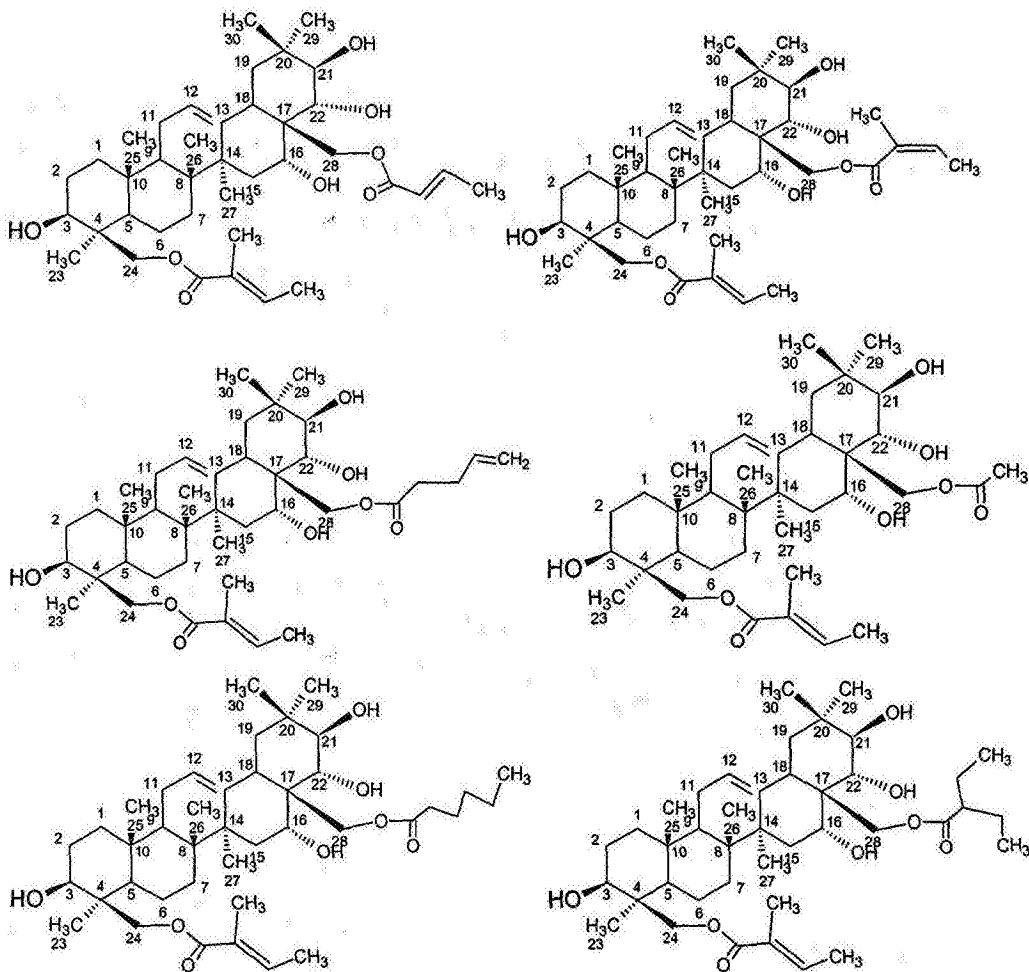


[0322] 试验17:用下述化合物酯化E4A-Tig-N:氯化乙酰基,氯化当归酰基,氯化顺芷酰

基,氯化千里光酰基,氯化0-3,3-二甲基丙烯酰基,氯化桂皮酰基,氯化戊烯酰基,氯化己烯酰基,苯氯化甲酰基,或氯化乙丁酰基。用HPLC分离E4A-Tig-N;细胞毒性检测:MTT法。

[0323] 化学结构鉴定:1.NMR分析;2.质谱分析。

[0324] 得到下述化合物:



[0326] 试验18:抑制细胞粘连

[0327] 方法和结果癌细胞ES2或Hey8A放在装有培养基的T25三角瓶中,该培养基含有5ug/ml的化合物,该化合物含有化学结构(2A),包括E4A-Tig-R,

[0328] E4A-Tig-V,E4A-Tig-S,E4A-Tig-N,E4A-Tig-Q和E4A-Tig-T,培养5小时。粘连的细胞用胰蛋白酶处理取走并称重。和对照相比,在此条件下,80±4%的ES2细胞和60±4%的Hey8A细胞粘连在三角瓶上。在浓度为5ug/ml上述化合物的处理中,超过90%的没有粘连的细胞存活(用台盼蓝排斥法和存活的细胞再放入没有化合物处理的培养基中粘连三角瓶的能力来测定)。但是,在浓度为10ug/ml时,少于40%的细胞粘连在三角瓶上,其中许多细胞已死亡。这样结果表明所试化合物有抑制粘连的作用。

[0329] 试验19:纤维连接蛋白分泌试验

[0330] 在本专利中蛋白质印迹法检测用活性化合物处理过或未处理过的细胞中的特殊蛋白,其中所述细胞是膀胱,宫颈,前列腺,肺,乳房,黑素瘤,结肠,肝,骨,脑,皮肤,卵巢,胰腺(Capan),口腔(KB),肾。

[0331] 细胞:待试细胞培养在RPMI培养基中,1.5百万细胞接种在一个T25三角瓶中,培养

24小时。

[0332] 药物处理:培养的细胞从新放在新鲜培养基RPMI中,该培养基含有2.5 $\mu$ l的DMSO (作为对照) [D];或10,20,30,40,80 $\mu$ g/ml的待试化合物。

[0333] 24小时候,取两等分培养物进行纤维连接蛋白分泌试验(蛋白质印迹法)。

[0334] 细胞存活(在24小时)用MTT检测。培养物放在含MTT的培养基RPMI (5ml) 中培养1小时。形成的甲臞溶于10ml的DMSO,测OD (在570nm) (MTT单位)。

[0335] 蛋白质印迹法:用过的培养基和SDS样品缓冲液混合,煮沸3分钟,然后载在6-10% SDS凝胶上,电泳2小时(100瓦)。蛋白电泳到硝化纤维素膜上硝化纤维素印迹和第一抗体和第二抗体(AP conjugated, Promega公司S3721) 培养。于是,免疫带在BCIP/NBT颜色显示系统显示出来。

[0336] 条带强度:蛋白质印迹法条带图像用数码相机捕捉,带的强度用“Image J”软件确定。

[0337] 结果显示,化合物E4A-Tig-R,E4A-Tig-V,E4A-Tig-S,E4A-Tig-N,E4A-Tig-Q,E4A-Tig-T抑制了下列癌细胞的纤维连接蛋白的分泌20-40%:膀胱,宫颈,前列腺,肺,乳房,黑色素瘤,结肠,肝,骨,脑,皮肤,卵巢,胰腺(Capan),口腔(KB),肾。

[0338] 表1.E4A-Tig-R的<sup>13</sup>C和<sup>1</sup>HNMR的数据(在DMSO-d<sub>6</sub>中)<sup>a</sup>

[0339]

位置	C	H	主要 HMBC 相关性
1	38.24	0.96, t, 1.56, t	C-25
2	26.77	1.52, br, m	-
3	76.69	3.15, 1H, dd	C23, C24
4	41.5	-	-
5	54.88	0.82, 1H	C23, C24, C25
6	19.51	1.47, 1.65,	C5
7	32.81	1.28, 1.43	C26
8	39	-	C27, C26
9	46.1	1.55 m	C25, C26
10	36.33	-	C9, C25, C26
11	22.97	1.79 m	C9
12	122.25	5.18, 1H, t	C9, C11, C14, C18
13	142.32	-	C18, C27
14	40.7	-	C26, C27
15	33.56	1.28, 1.64	C27
16	66.47	4.01, 1H, s	C22, C28
17	45.3	-	C22, C28
18	39.9	2.41, br, m,	C12, C28
19	46.59	0.98, 2.42 m	C29, C30
20	35.23	-	C29, C30
21	76.50	3.84, 1H, d, 9.6 Hz	C22, C29, C30
22	71.89	3.55, 1H, d, 9.6 Hz	C21, C28,
23	22.62	1.06, 3H, s	C3, C5, C24,
24	66.17	4.14, 1H, d, 12 Hz 4.17, 1H, d, 12 Hz	C3, C5, C-23 24-O-Tig-C1'



[0340]

25	14.89	0.88, 3H, s	C-1, C-5, C-9, C-10
26	16.13	0.81, 3H, s	C-7, C-8, C-9, C-14
27	26.65	1.36, 3H, s	C-8, C-18, C14, C-15
28	65.34	3.68, 1H, d, 10.4 Hz, 3.73, 1H, d, 10.4 Hz,	C17, C-18, C-22 28-O-Tig C1'
29	29.87	0.86, 3H, s	C-19, C20, C-21, C-30
30	18.49	0.85, 3H, s	C-19, C20, C-21, C-29
24-O-Tig			
1'	167.24	-	C24, Tig C-3',
2'	128.29	-	Tig C-3', Tig C-4', Tig C-5'
3'	136.8	6.77, 1H,	Tig C-4', Tig C-5'
4'	11.9	1.78, 3H,	Tig C-1', C-2', C-3'
5'	13.99	1.77, 3H,	Tig C-1', C-2', C-3'
28-O-Tig			
1'	166.68	-	C28, Tig C-3'
2'	128.1	-	Tig C-3', Tig C-4', Tig C-5'
3'	136.5	6.77, 1H,	Tig C-4', Tig C-5'
4'	11.9	1.78, 3H,	Tig C-1', C-2', C-3'
5'	14.08	1.77, 3H,	Tig C-1', C-2', C-3'

[0341] 表2.E4A-Tig-V的<sup>13</sup>C和<sup>1</sup>H NMR的数据(在DMSO-d<sub>6</sub>中)<sup>a</sup>

[0342]

位置	C	H	主要 HMBC 相关性
1	38.20	0.98, 1.57	C-25
2	26.75	1.54, br, m	-
3	76.65	3.15, 1H, dd	C23, C24
4	41.48	-	-
5	54.82	0.82, 1H	C23, C24, C25
6	19.49	1.47, 1.65,	C5
7	32.71	1.29, 1.46	C26
8	39	-	C27, C26
9	46.09	1.57 m	C25, C26
10	36.31	-	C5, C9, C25,
11	22.97	1.81 m	
12	122.65	5.22, 1H, t	C9, C11, C14, C18
13	141.83	-	C18, C19, C27
14	40.68	-	C12, C18, C26, C27

[0343]

15	33.59	1.29, 1.66	C27
16	66.14	4.03, 1H, s	C18, C22, C28
17	45.69	-	C18, C22, C28
18	39.5	2.5, br, m,	C12, C19, C28
19	46.17	1.07, 2.56 m	C18, C29, C30
20	35.33	-	C29, C30
21	79.74	5.57 1H, d, 9.6 Hz	C20, C22, C29, C30 21-O-Tig-C1,
22	69.39	3.79, 1H, d, 9.6 Hz	C21, C28,
23	22.60	1.06, 3H, s	C3, C4, C5, C24,
24	66.14	4.15 (dd 16.8, 12 Hz)	C3, C4, C5, C-23 24-O-Tig-C1'
25	14.87	0.88, 3H, s	C-1, C-5, C-9, C-10
26	16.09	0.81, 3H, s	C-7, C-8, C-9, C-14
27	26.7	1.38, 3H, s	C-8, C13, C14, C-15
28	65.09	3.72 (dd 28.4, 10.4)	C16, C17, C-18, C-22 28-O-Tig C1'
29	29.24	0.74, 3H, s	C-19, C20, C-21, C-30
30	19.35	0.98, 3H, s	C-19, C20, C-21, C-29
21-O-Tig			
1'	167.05	-	C21, Tig C-3',
2'	128.04	-	Tig C-3', Tig C-4', Tig C-5'
3'	135.61	6.77, 1H,	Tig C-4', Tig C-5'
4'	11.94	1.79, br, m, 3H,	Tig C-1', C-2', C-3'
5'	13.84	1.78, br, m, 3H,	Tig C-1', C-2', C-3'
24-O-Tig			
1'	167.26	-	C24, Tig C-3'
2'	128.26	-	Tig C-3', Tig C-4', Tig C-5'
3'	136.60	6.77, 1H,	Tig C-4', Tig C-5'
4'	11.94	1.79, br, m, 3H,	Tig C-1', C-2', C-3'
5'	13.96	1.78, br, m, 3H,	Tig C-1', C-2', C-3'
28-O-Tig			
1'	166.64	-	C28, Tig C-3'
2'	128.71	-	Tig C-3', Tig C-4', Tig C-5'
3'	136.96	6.77, 1H,	Tig C-4', Tig C-5'
4'	12.09	1.79, br, m, 3H,	Tig C-1', C-2', C-3'
5'	14.06	1.78, br, m, 3H,	Tig C-1', C-2', C-3'

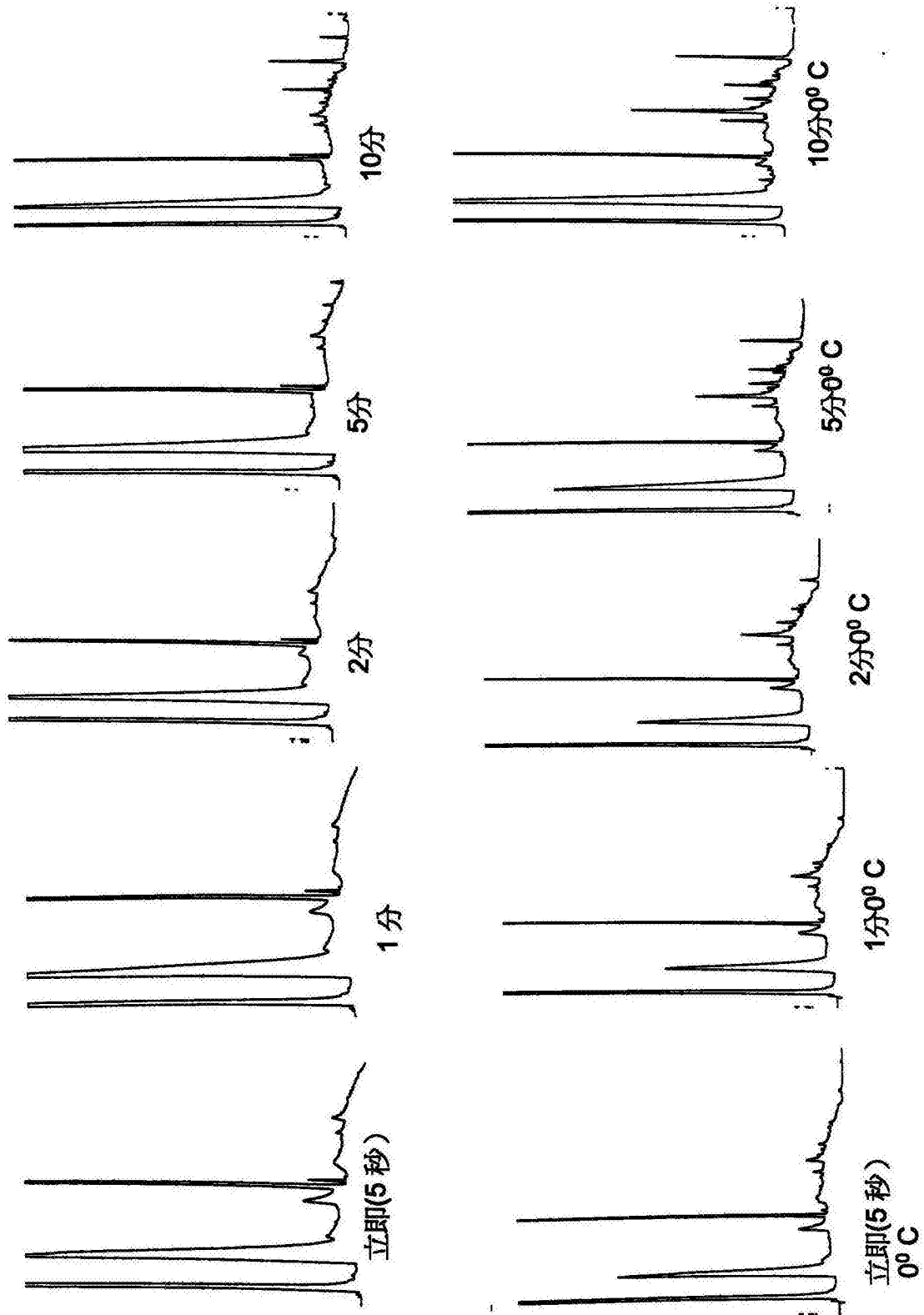


图1

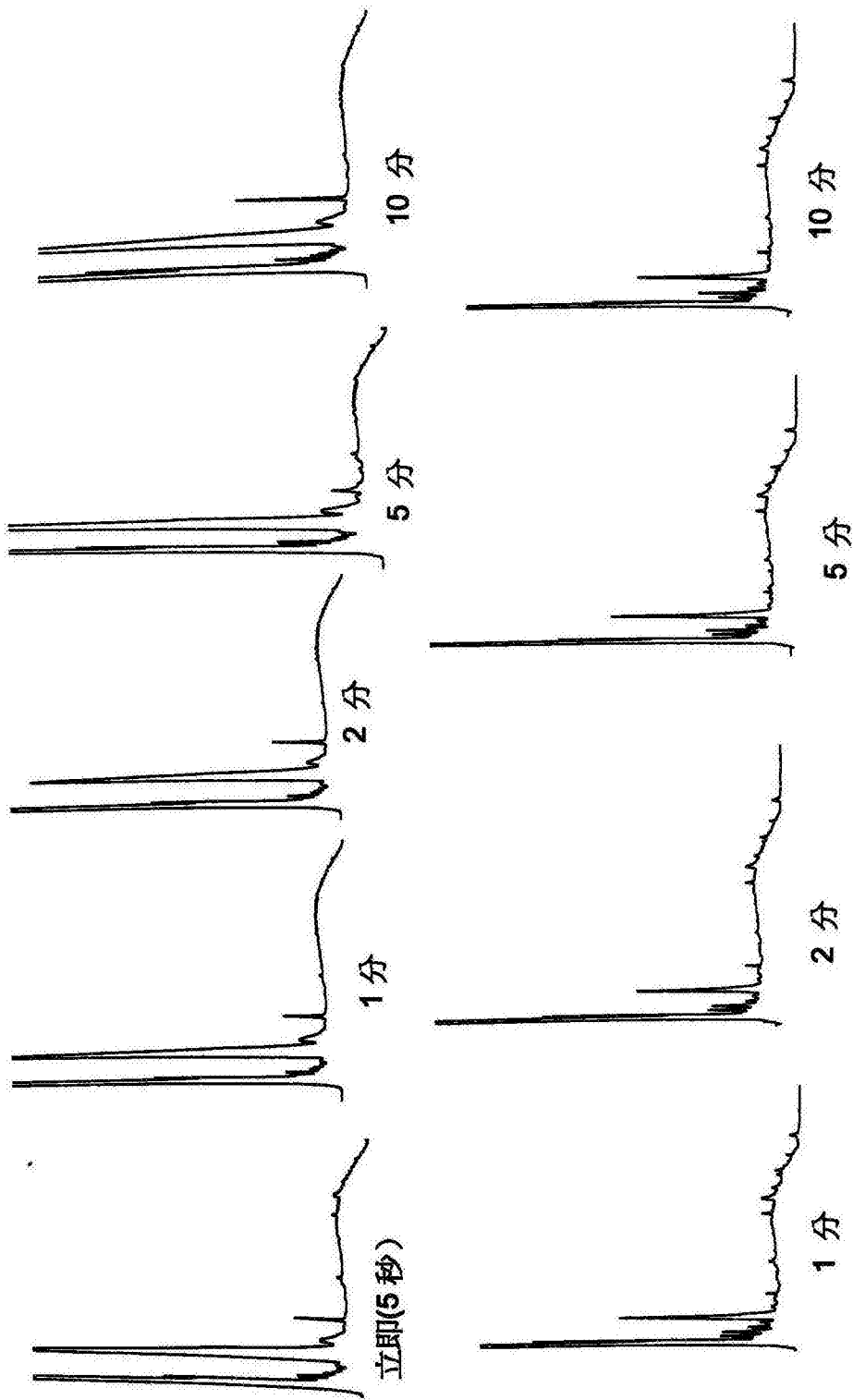


图2

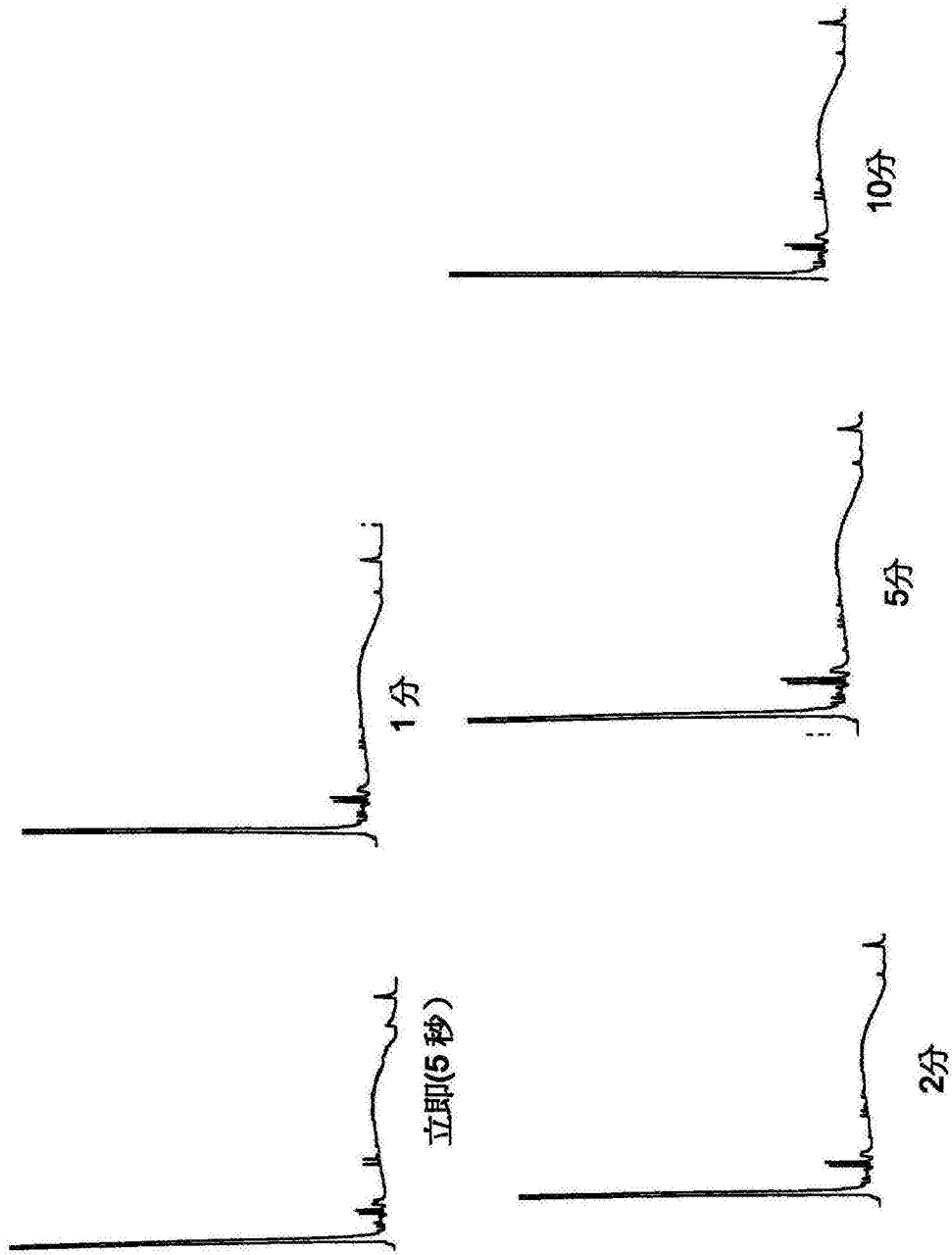


图3

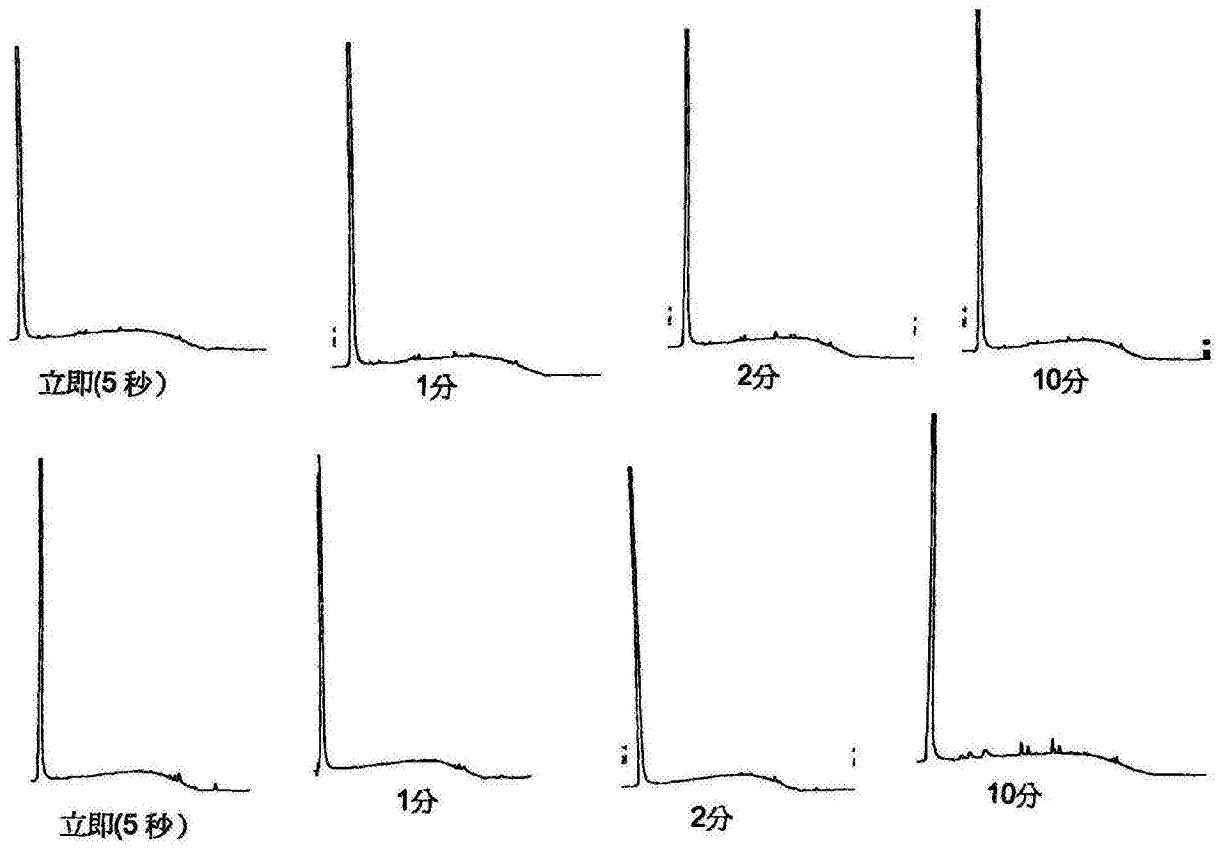


图4

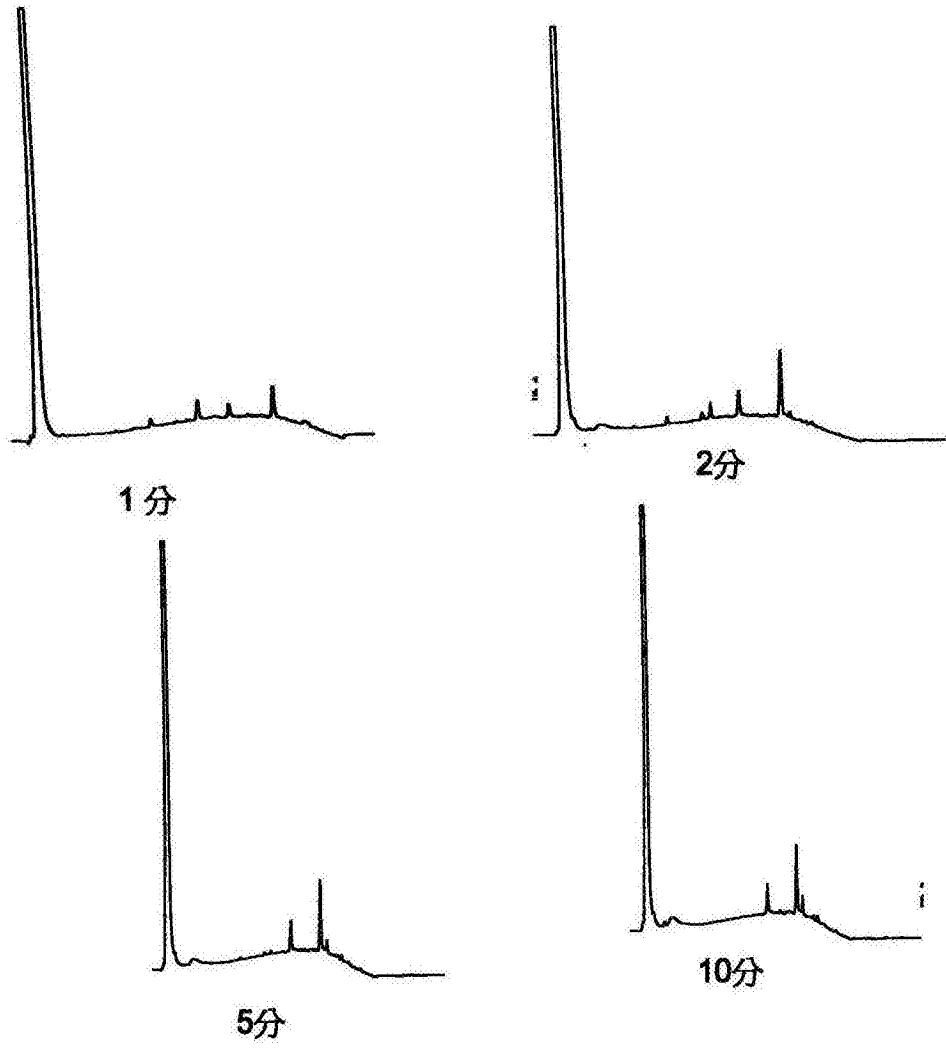


图5



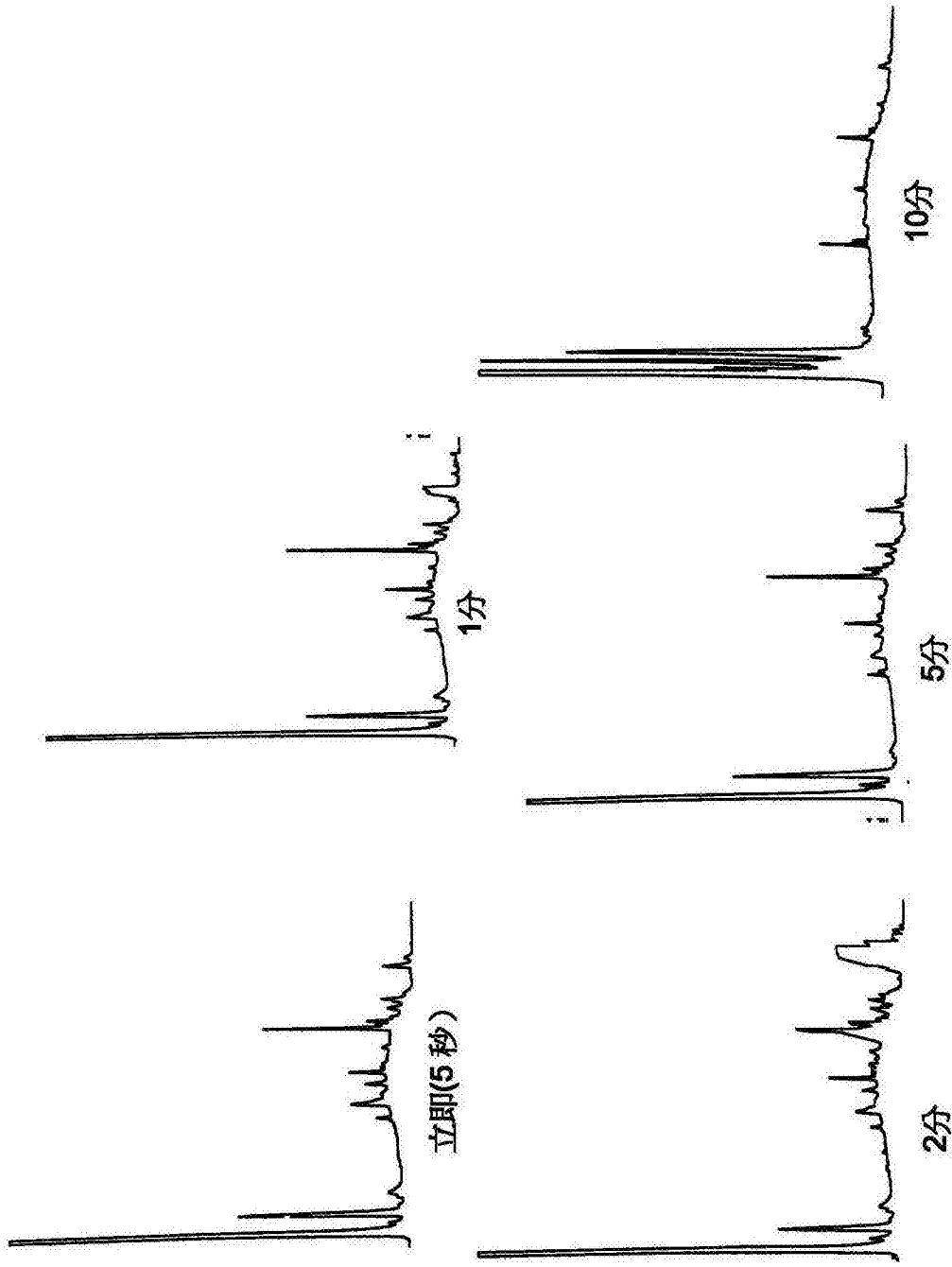


图6

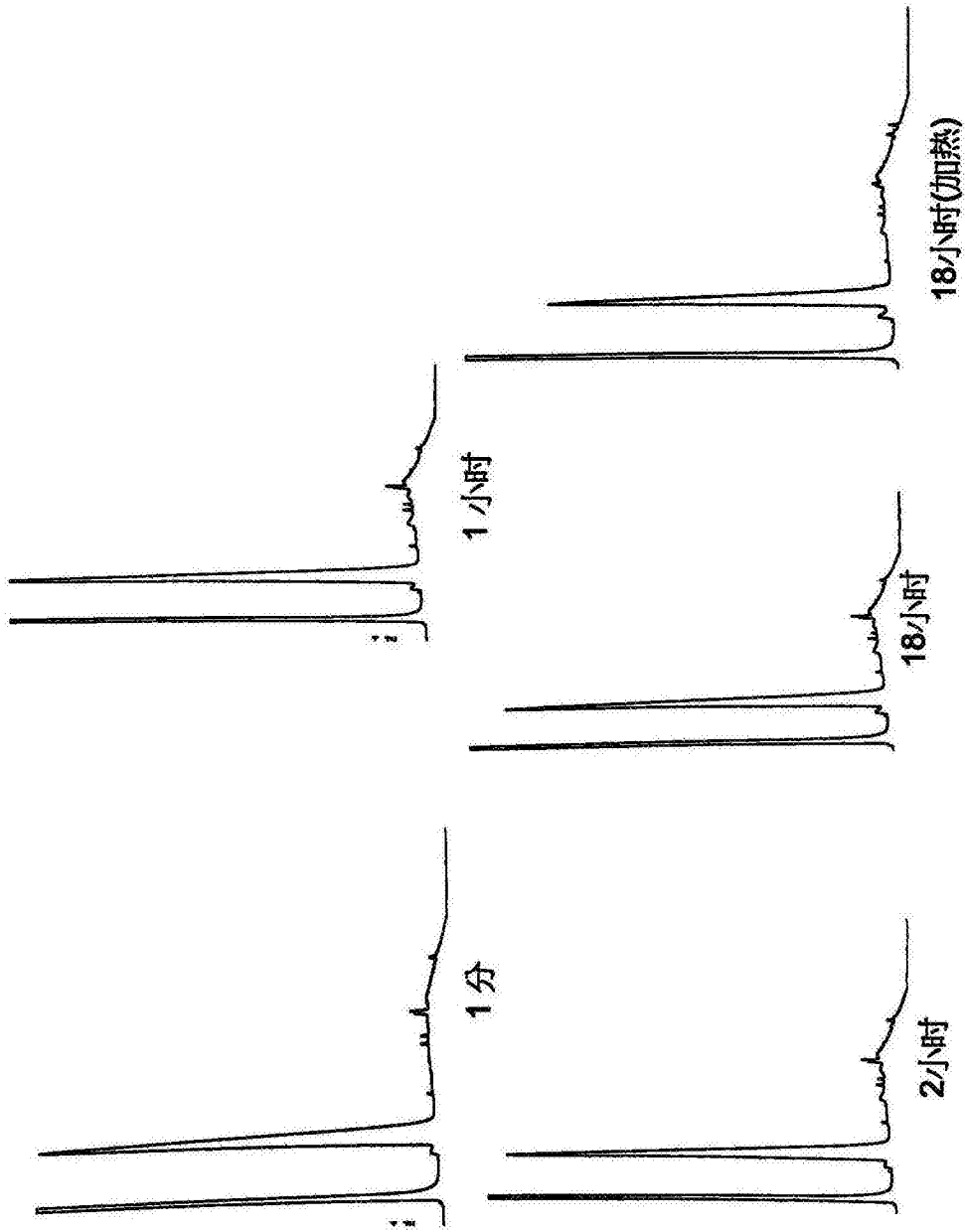


图7

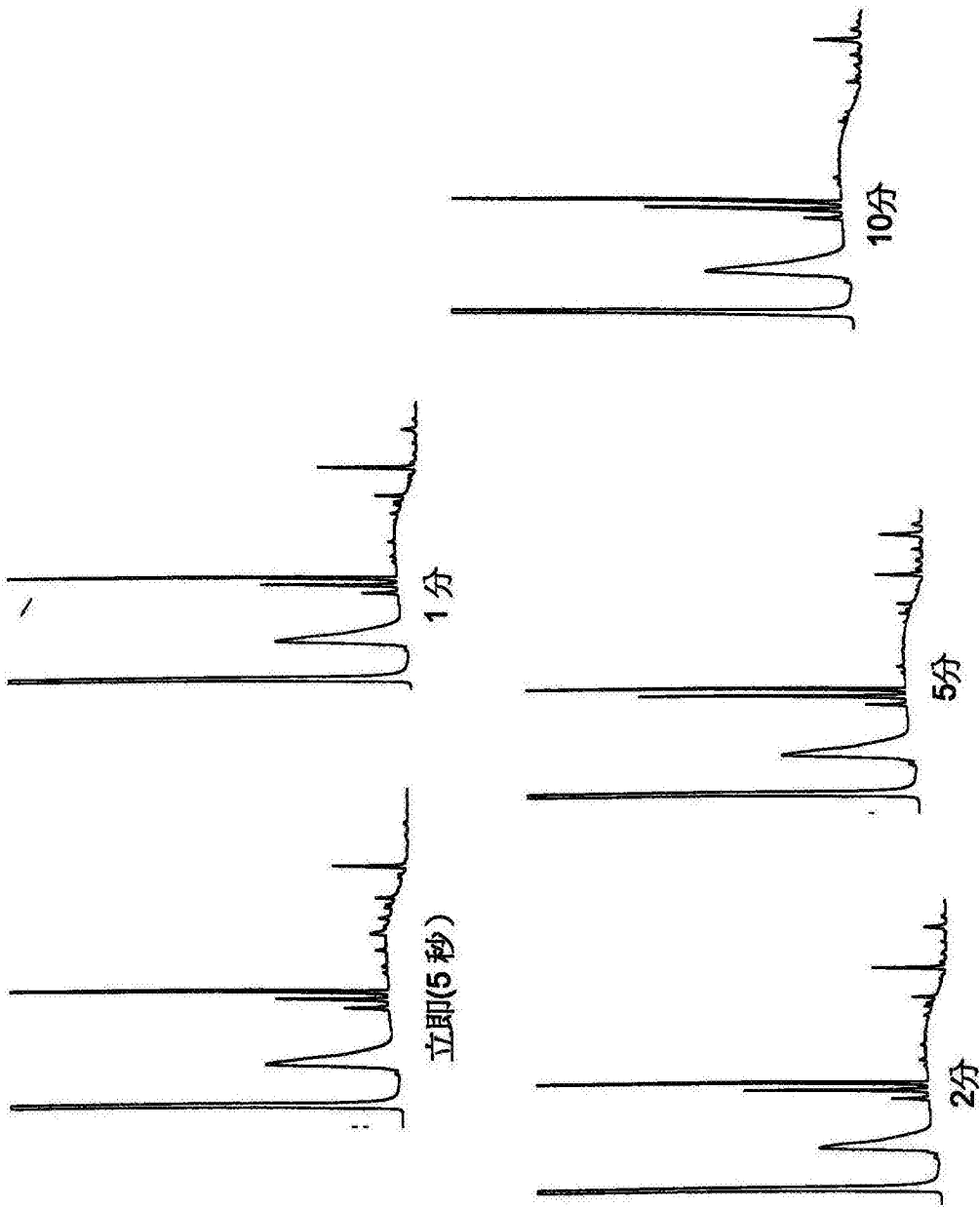


图8

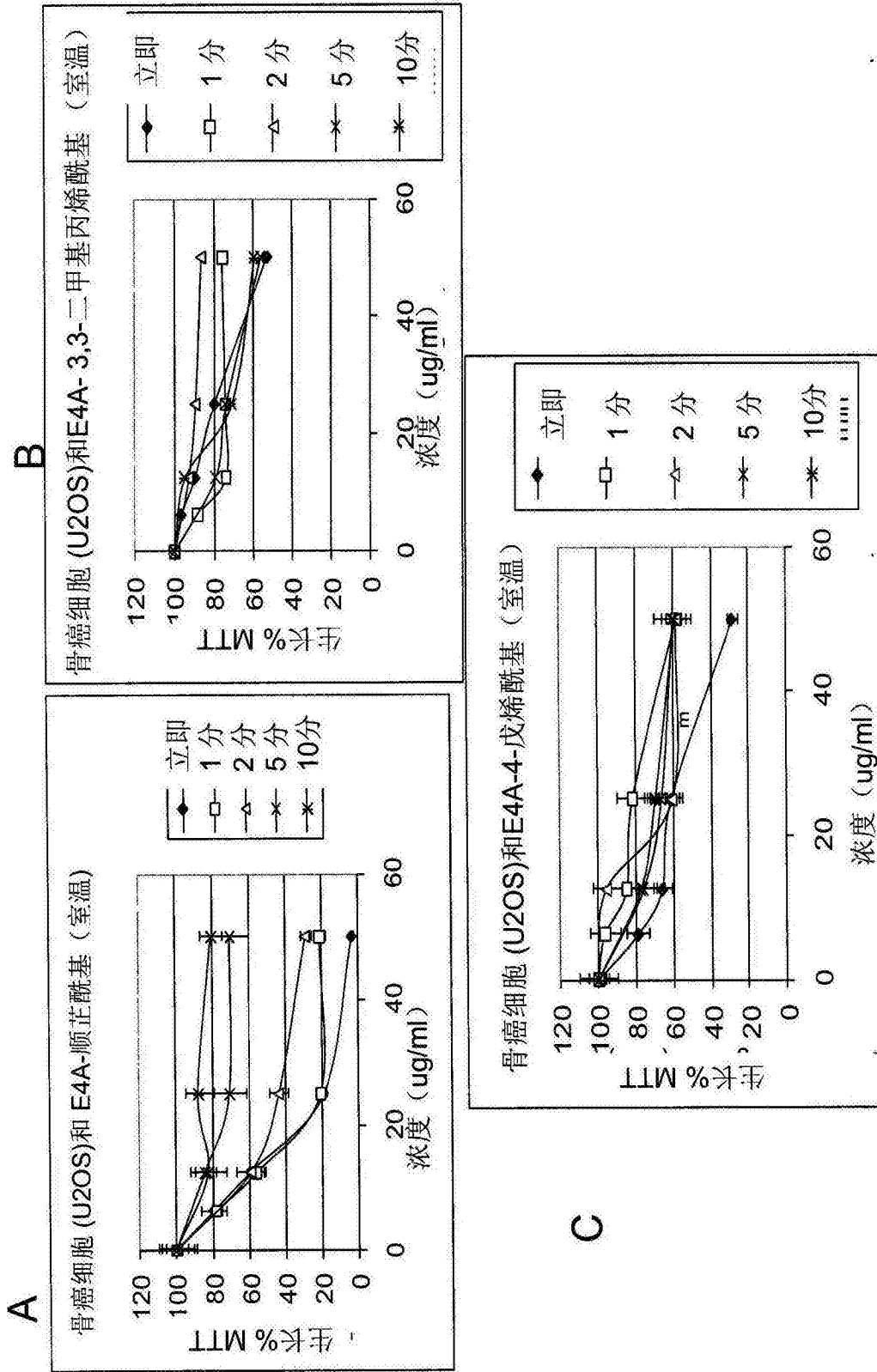


图9

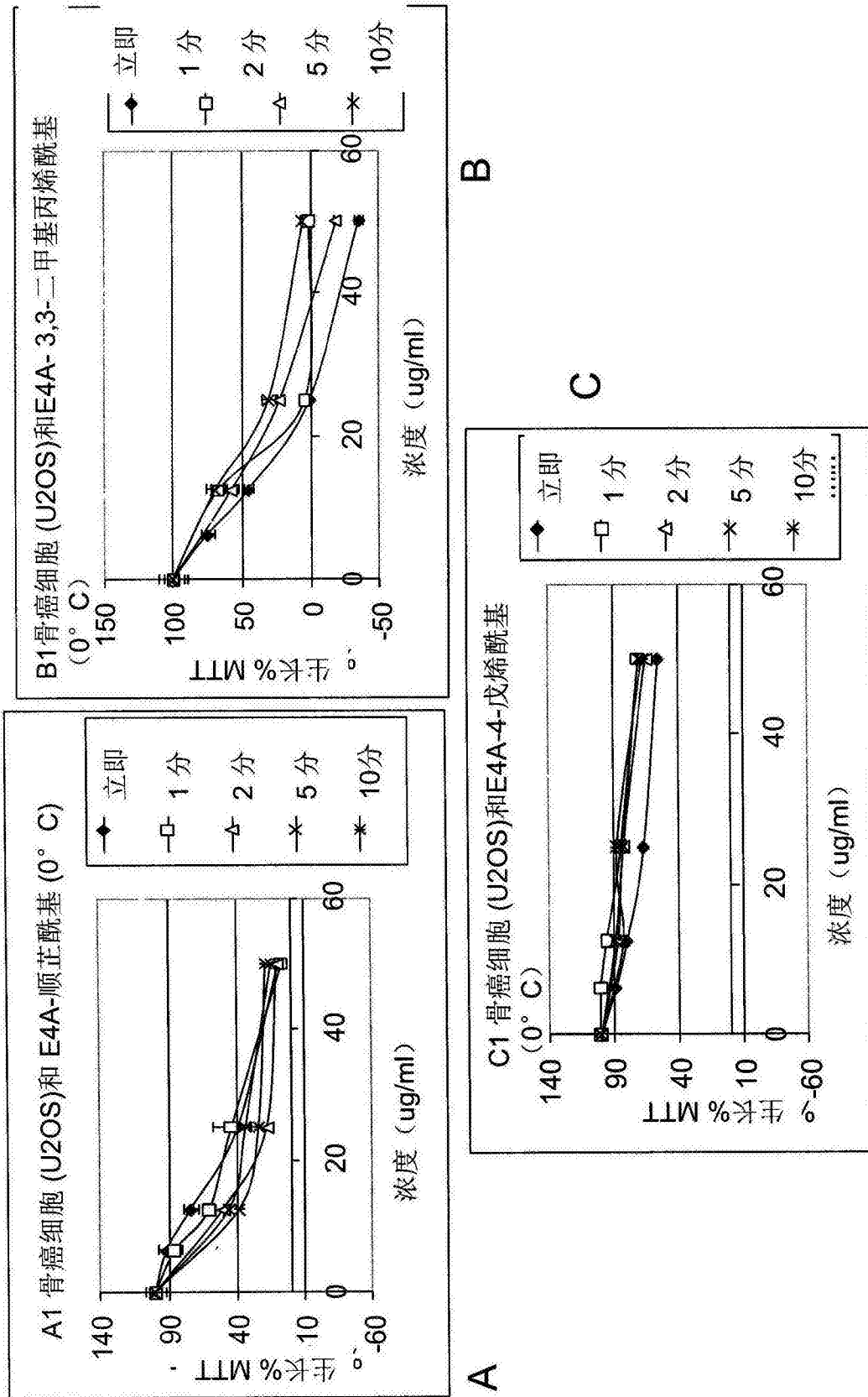


图10

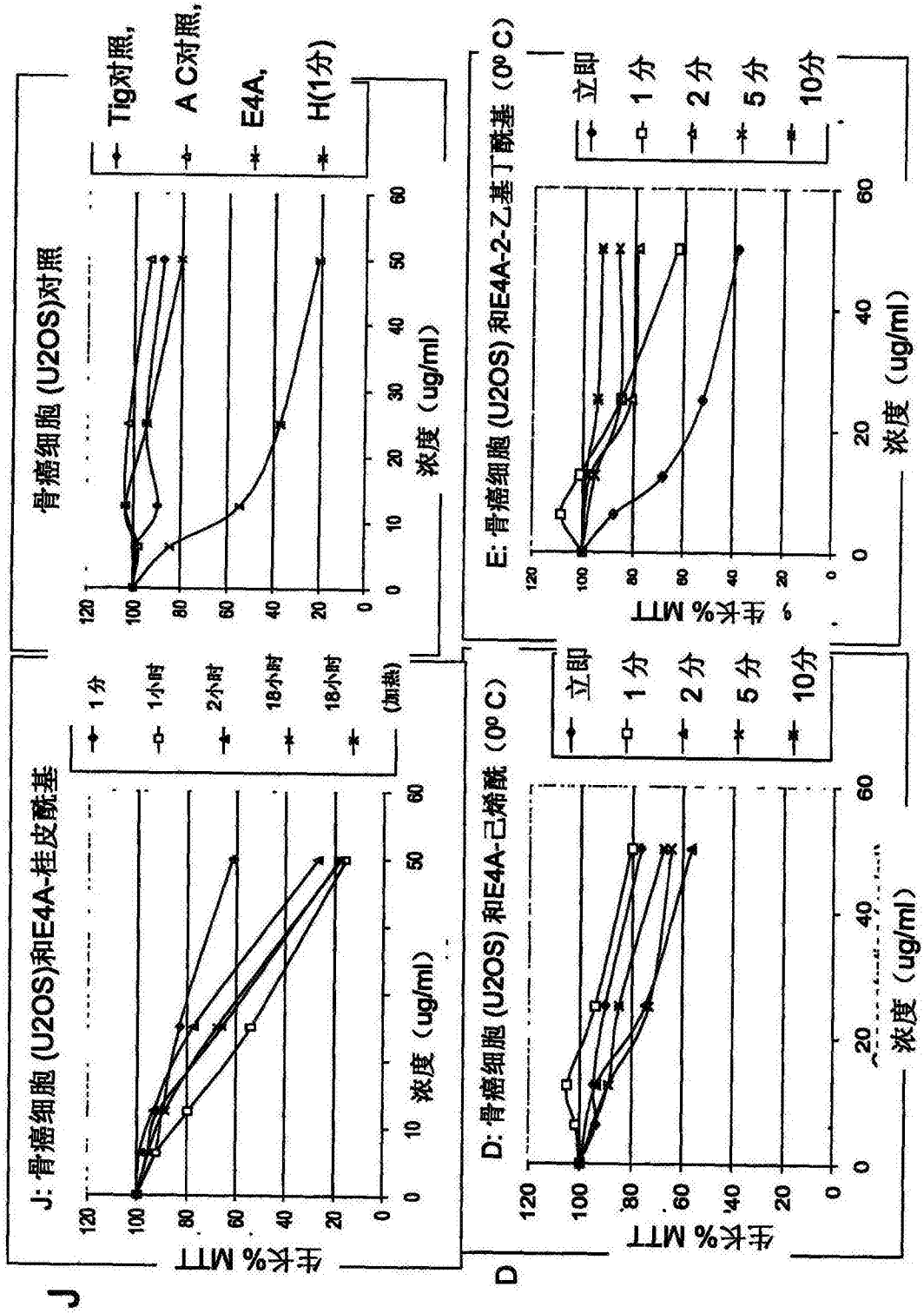


图11

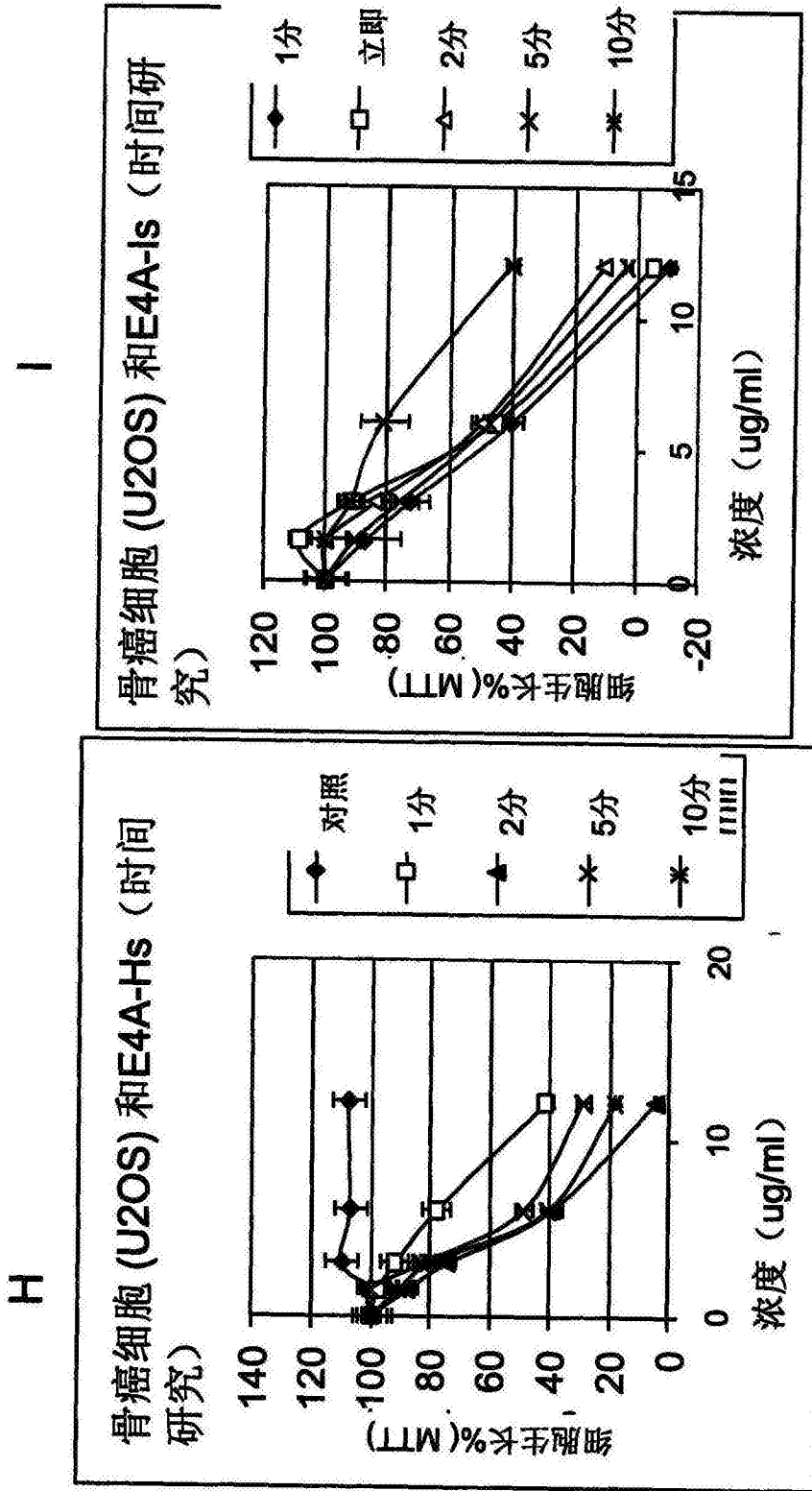


图12

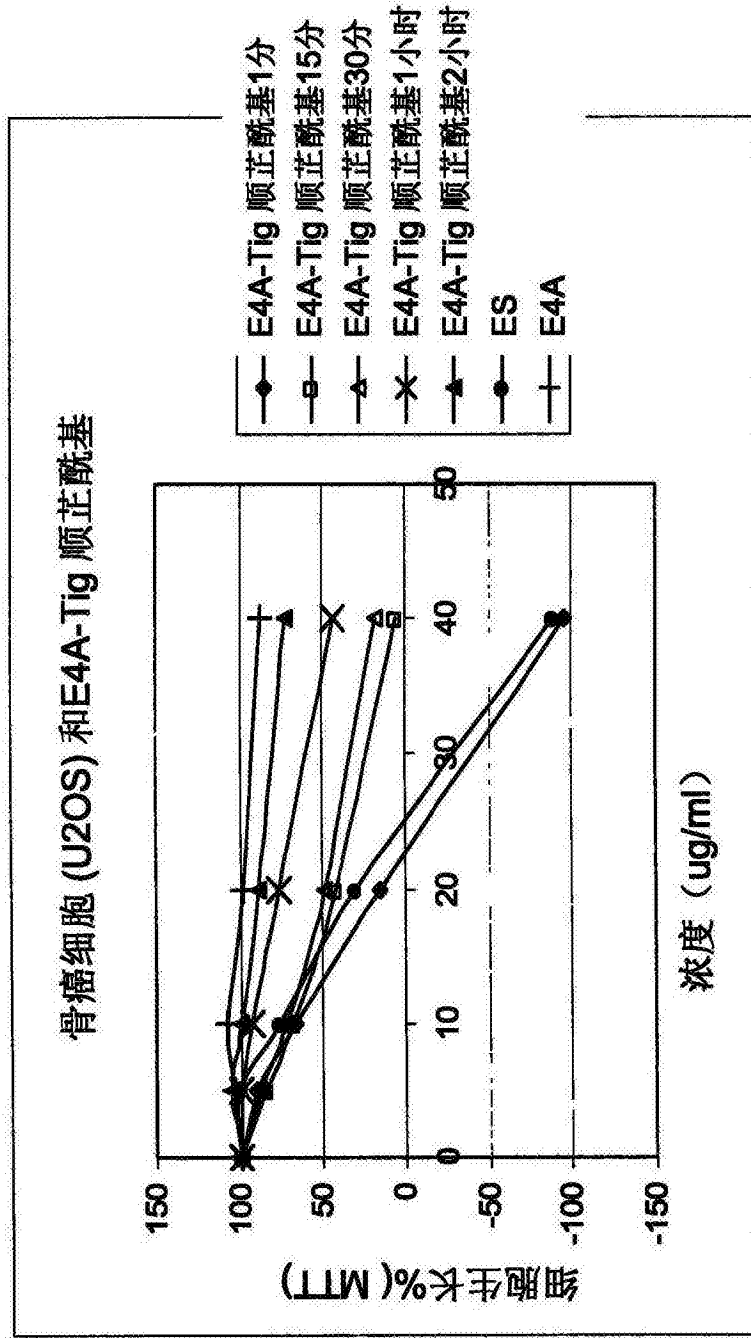


图13



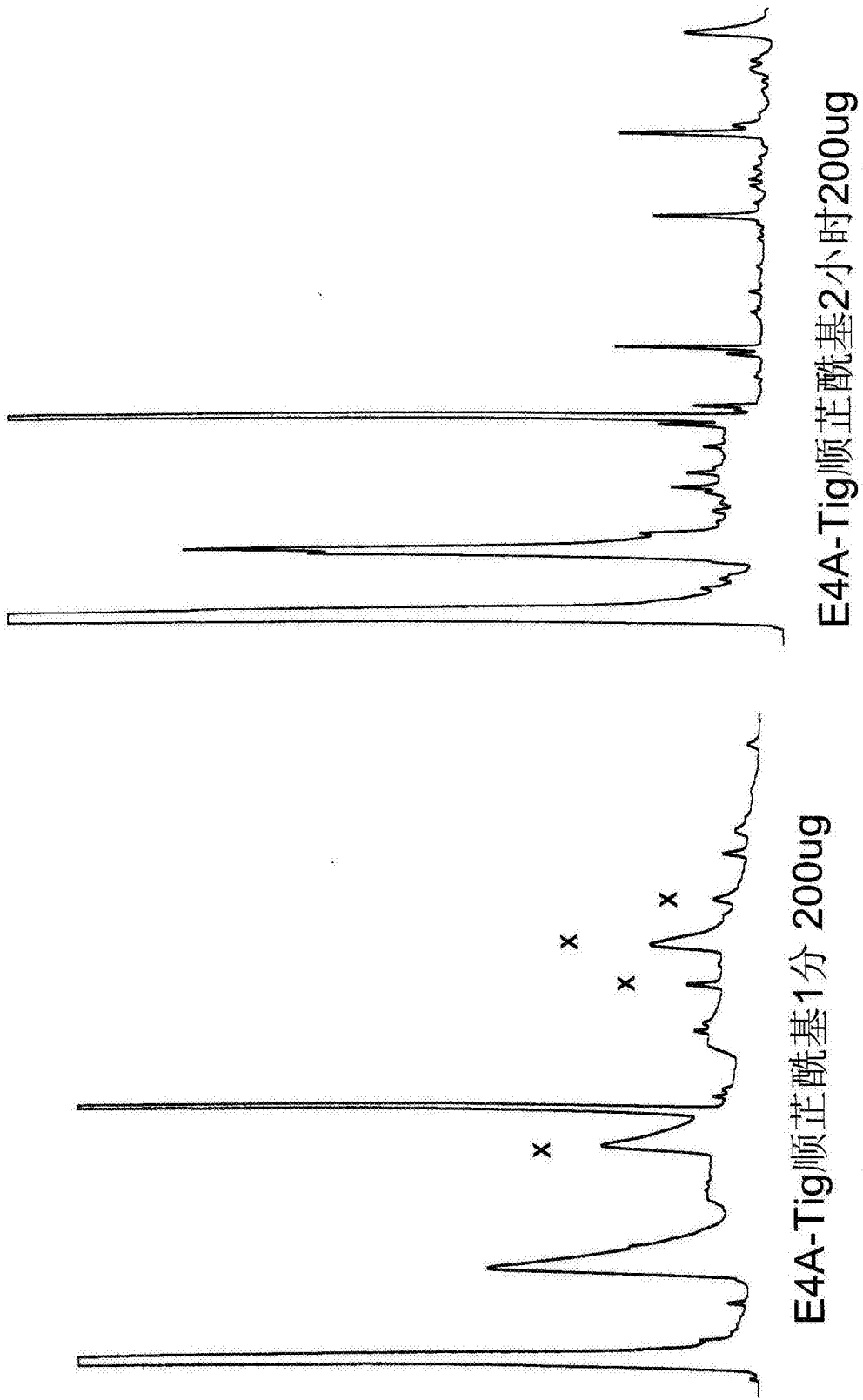


图14

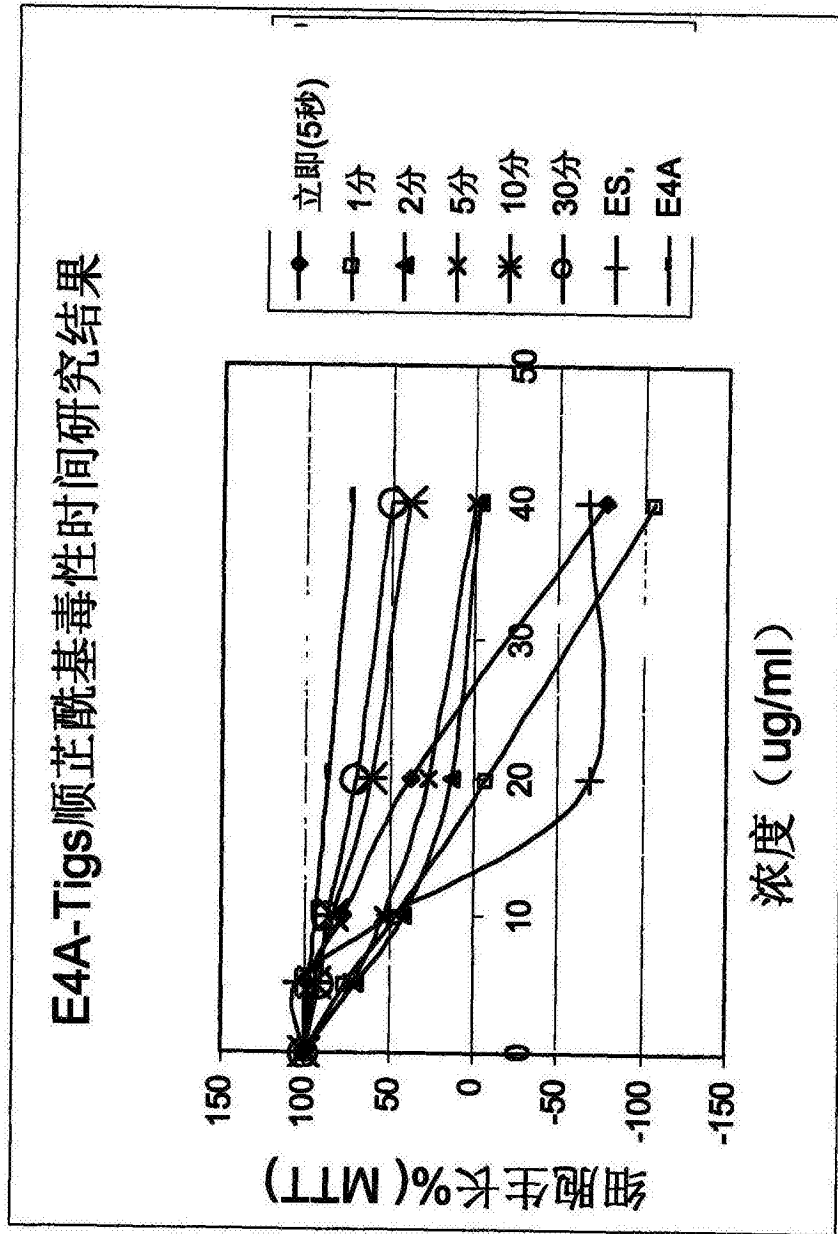


图15

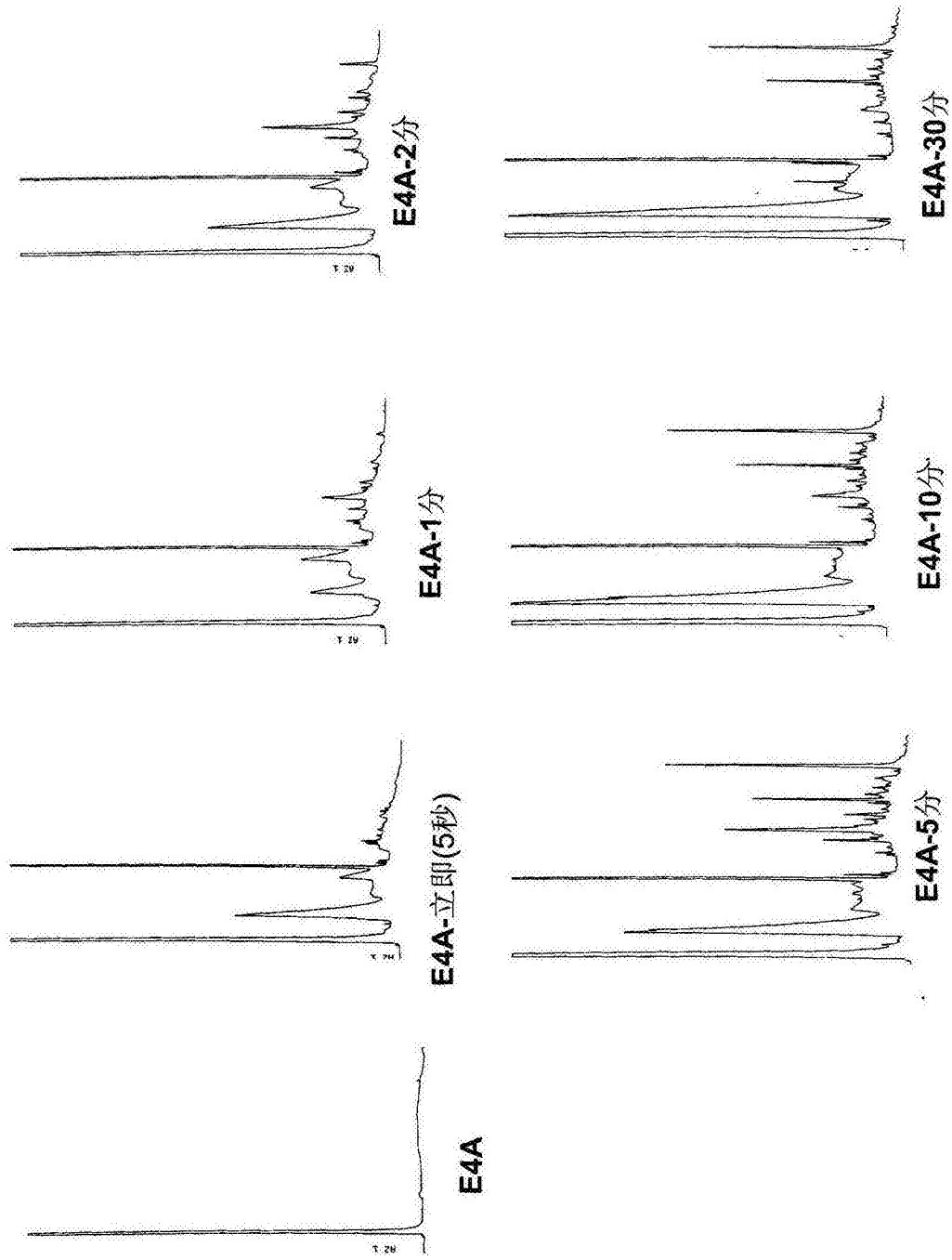


图16

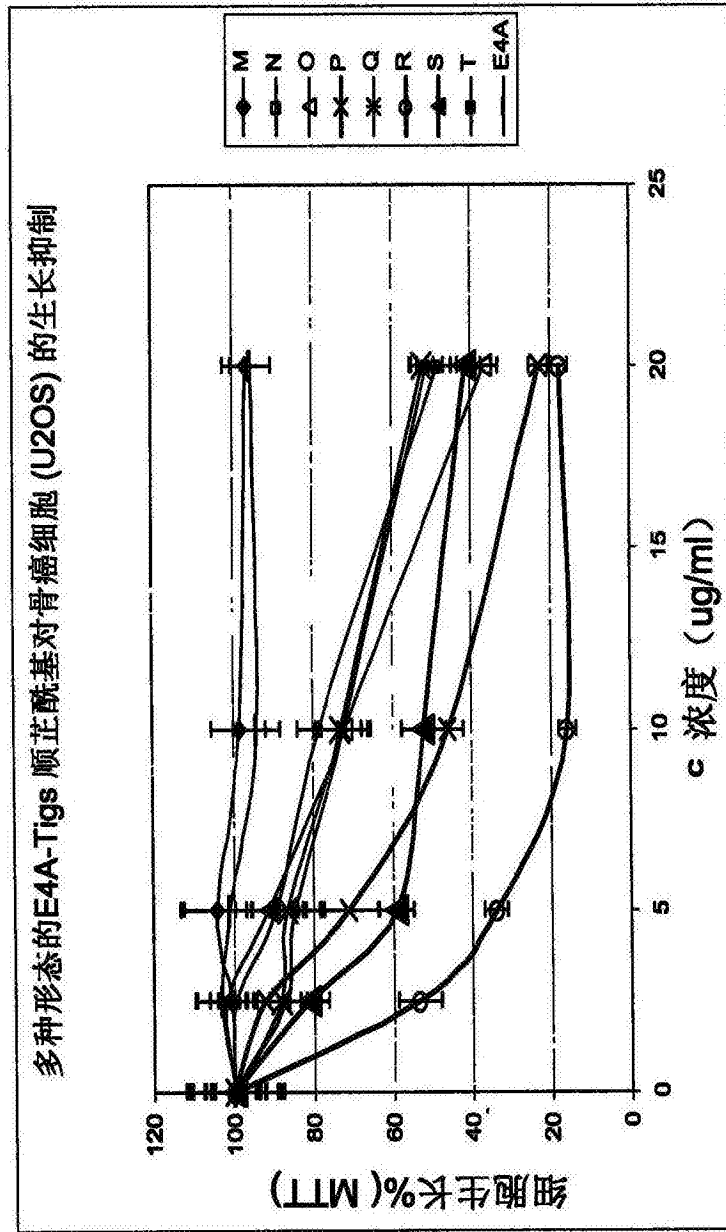


图17

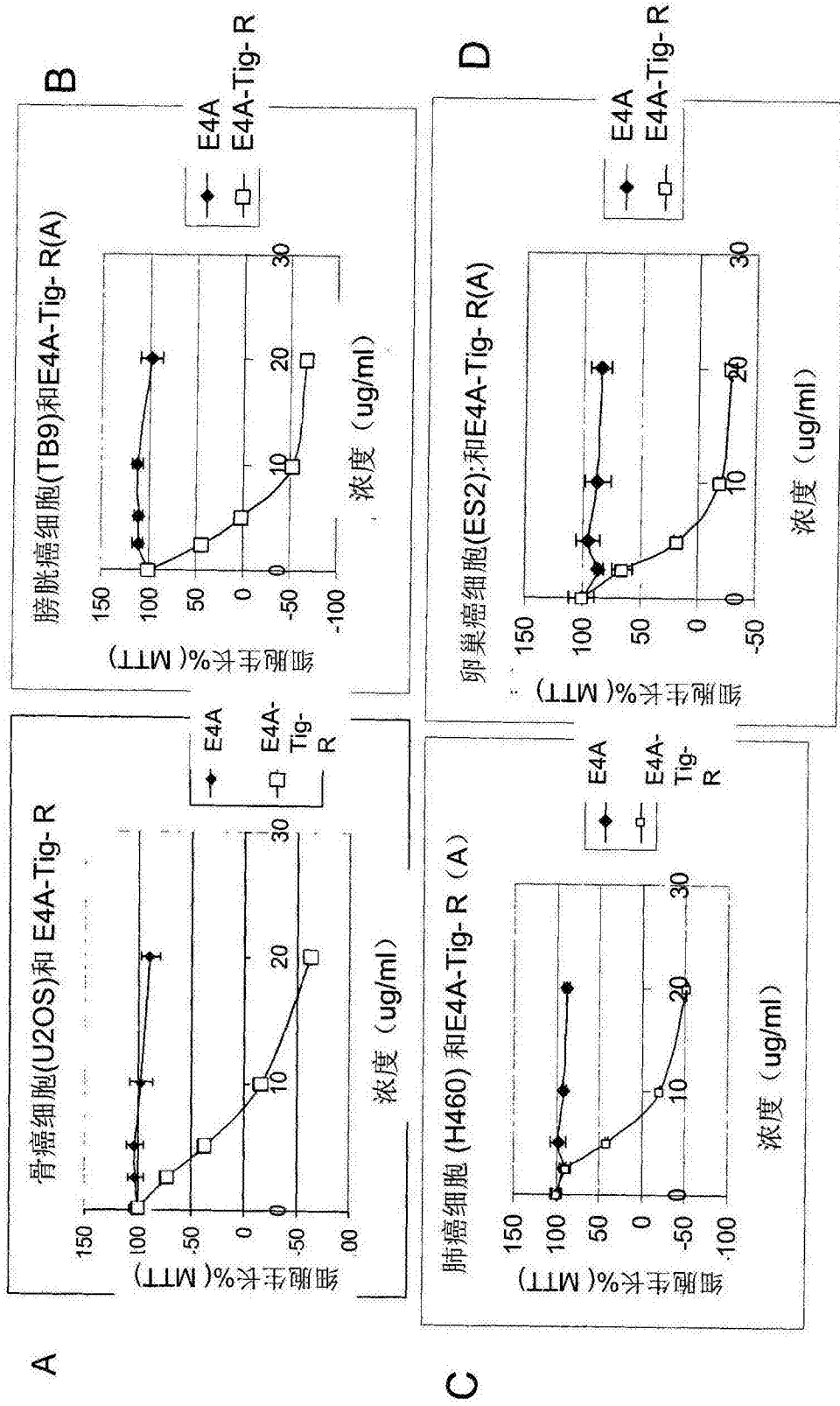


图18

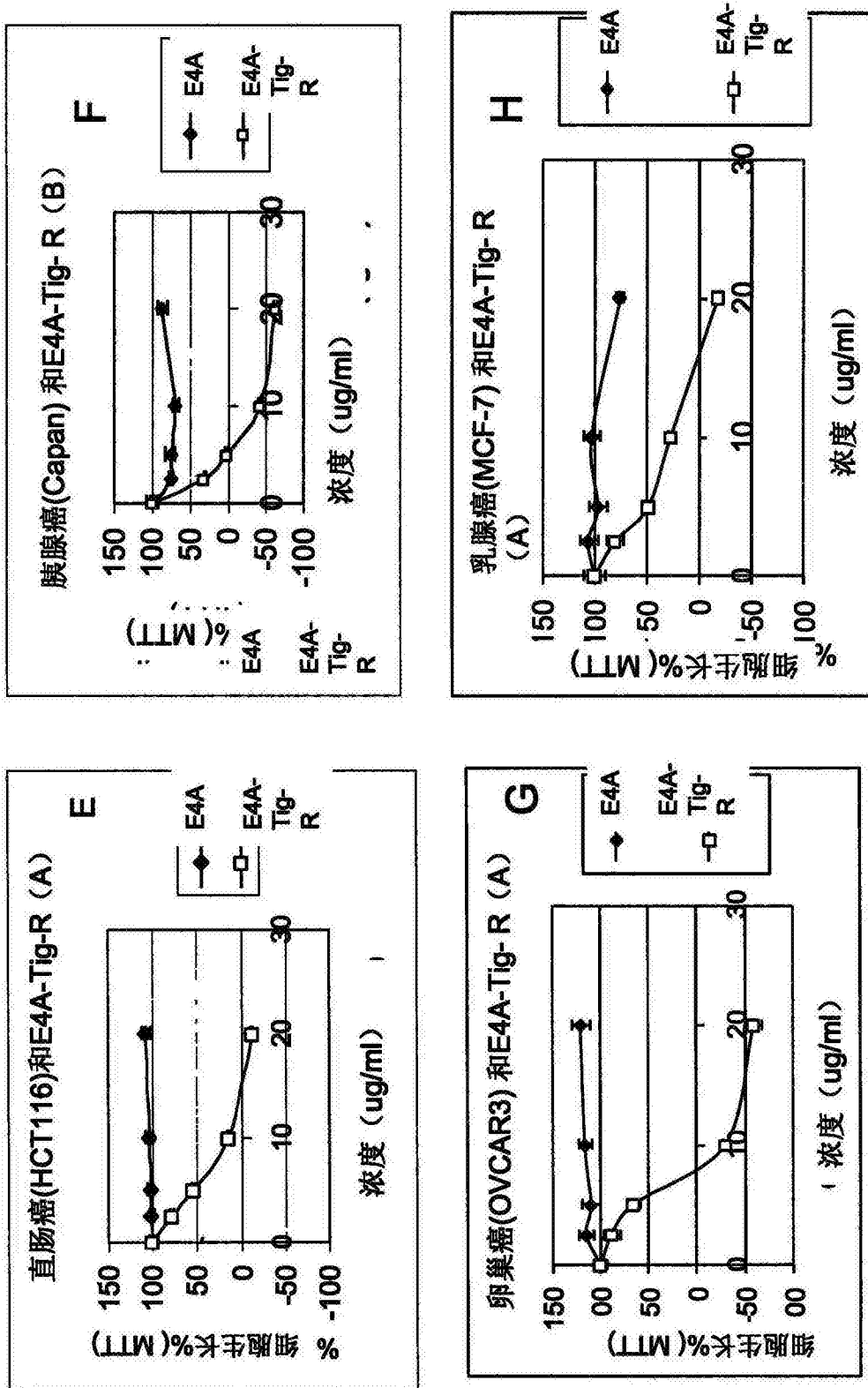


图19

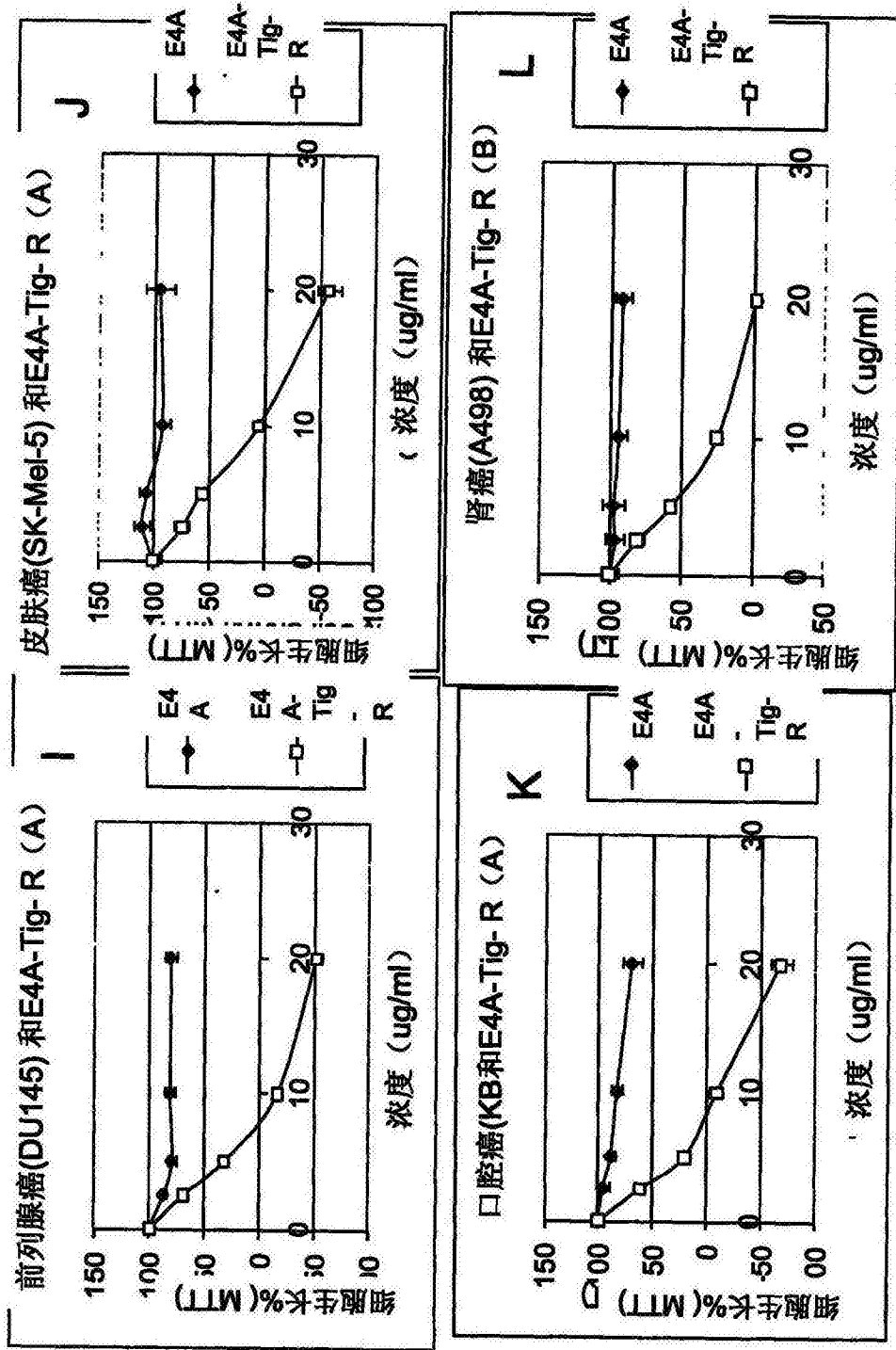


图20

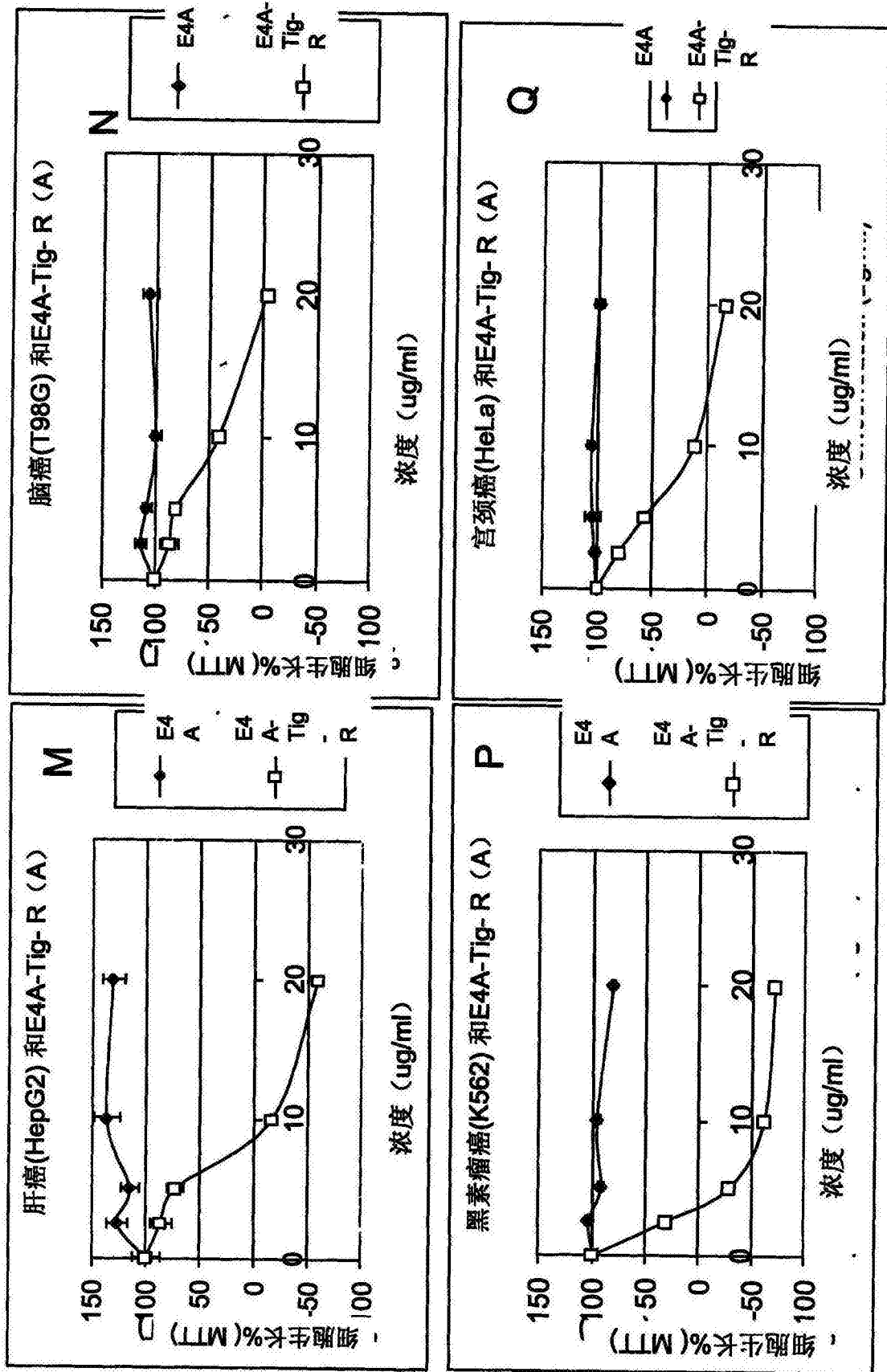


图21



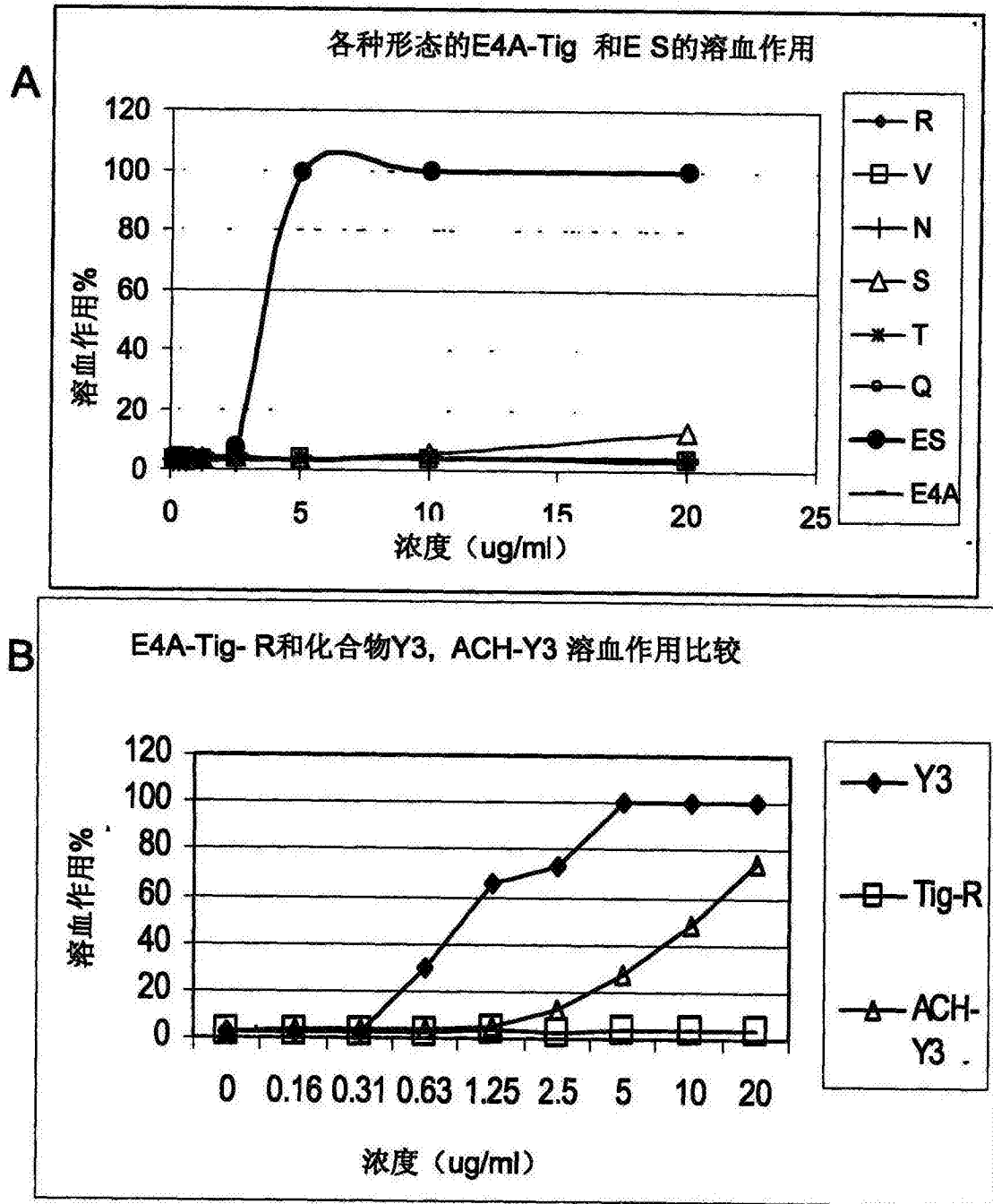


图22

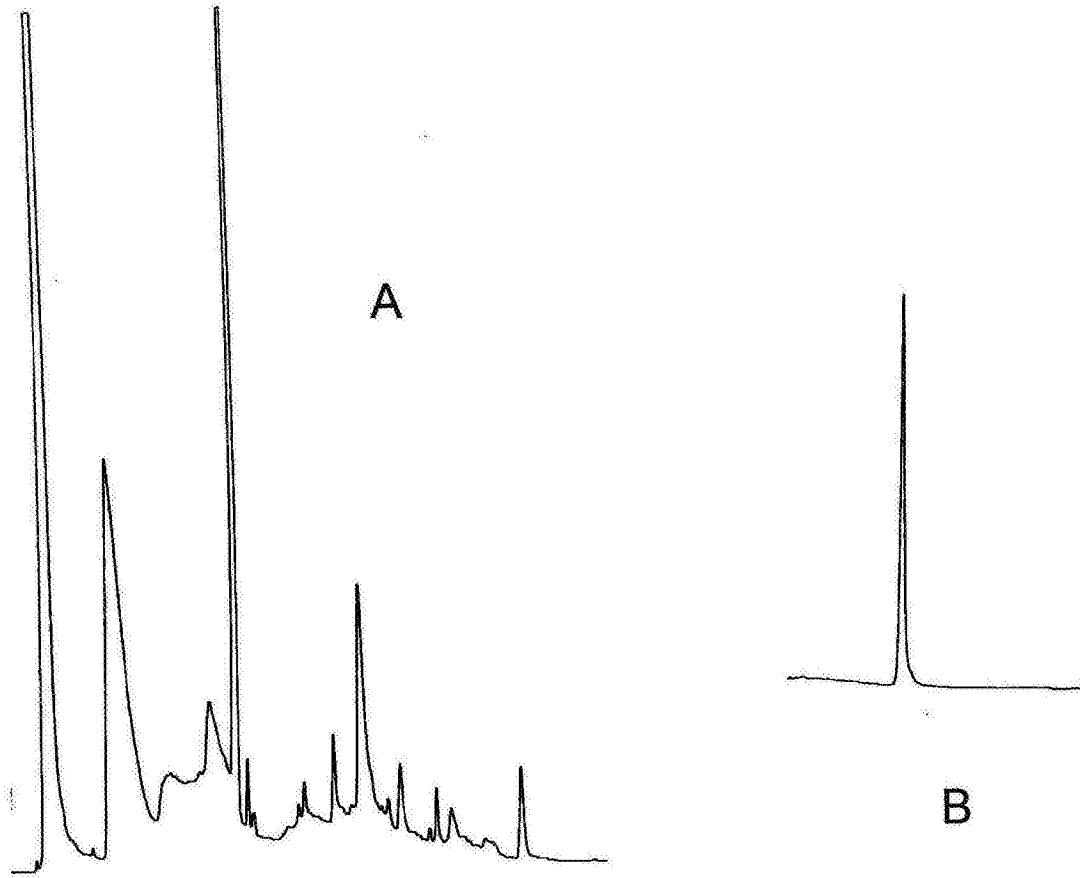


图23

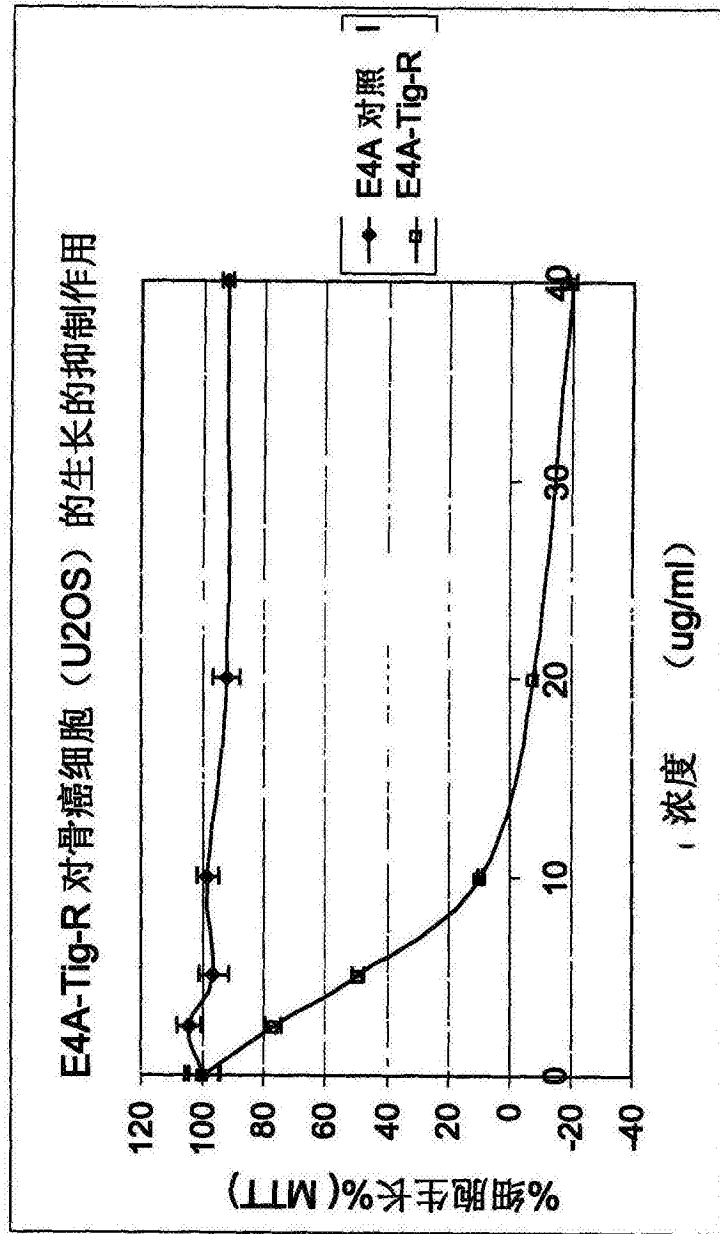


图24

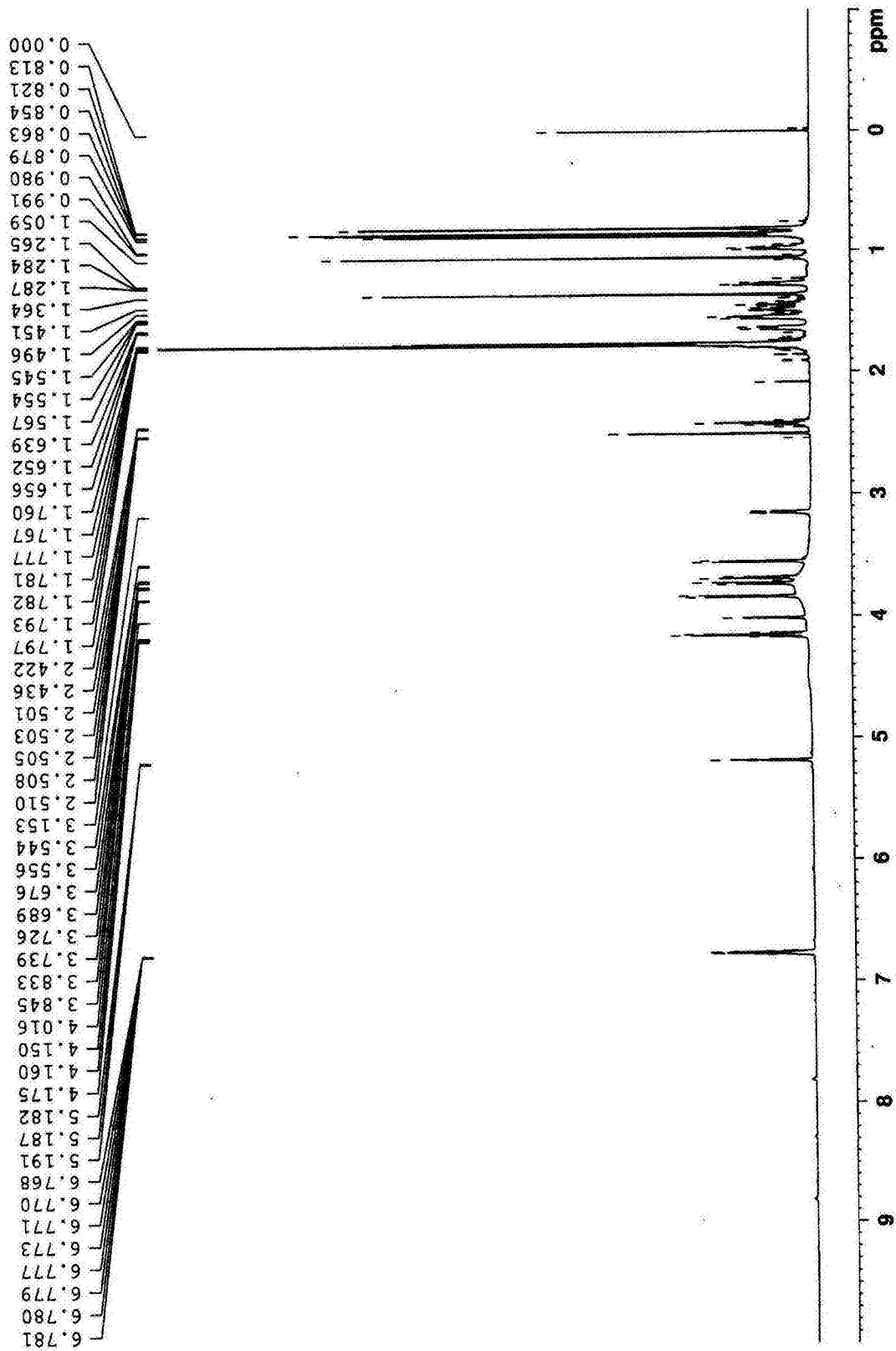


图25

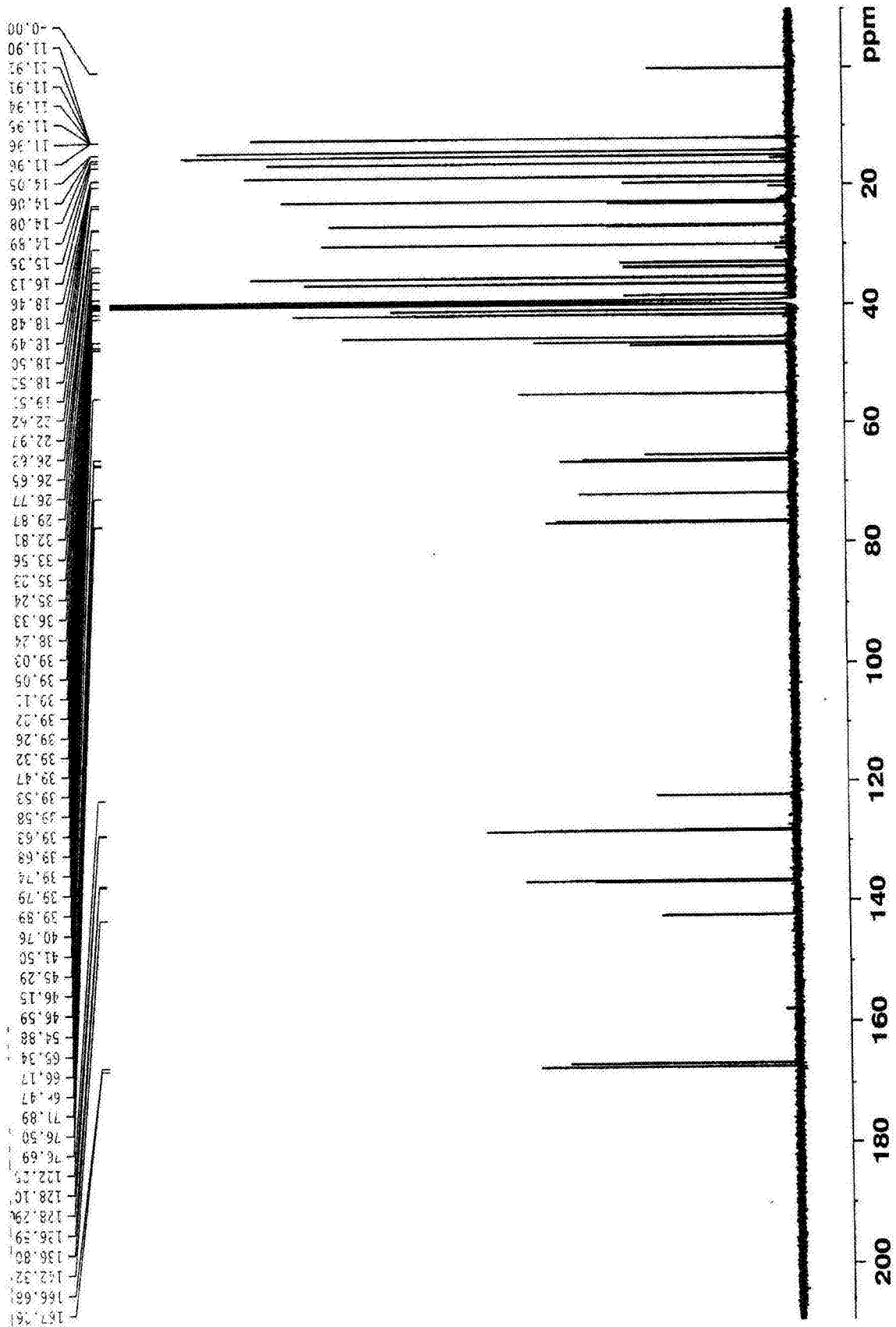


图26

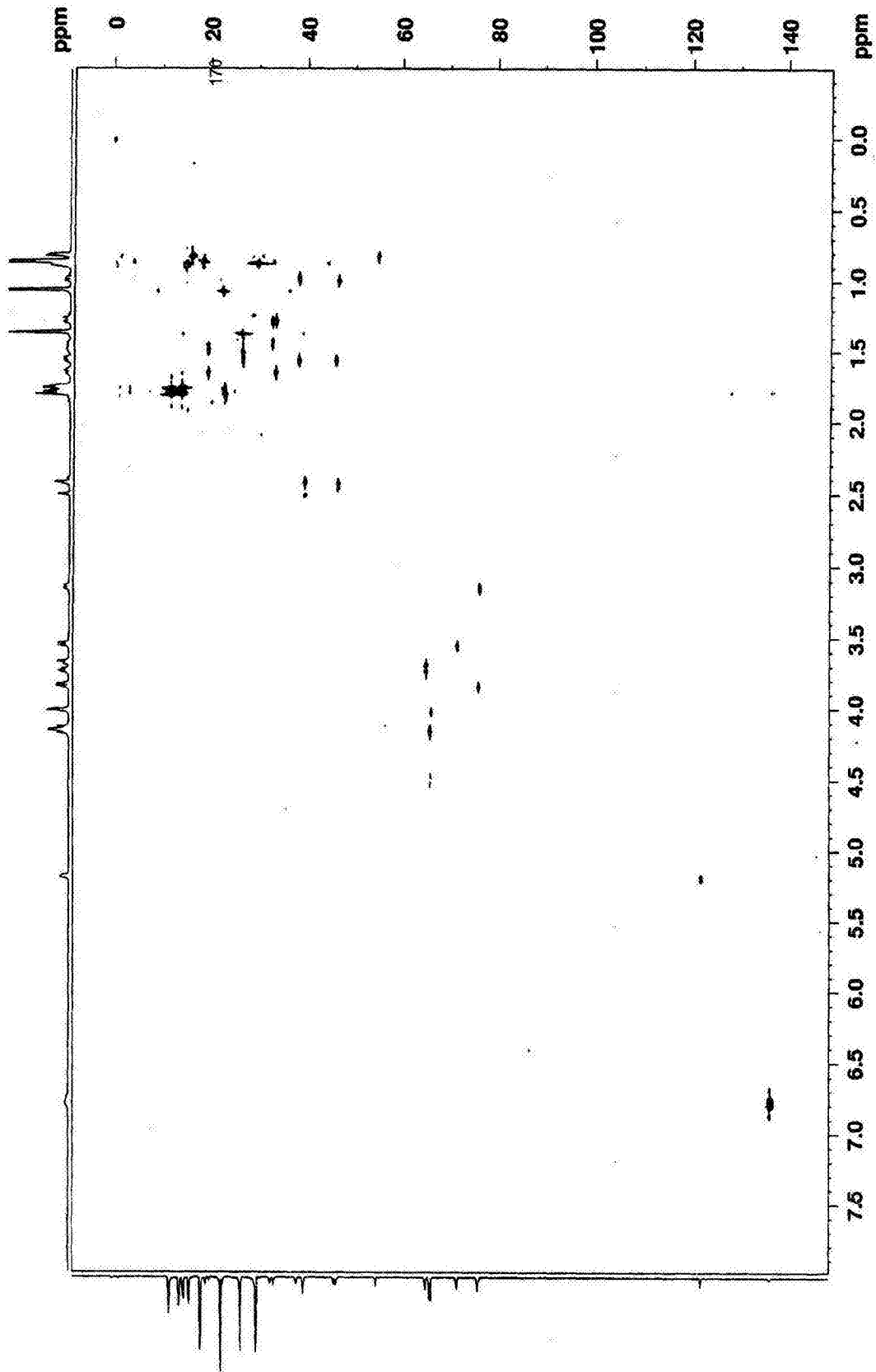


图27

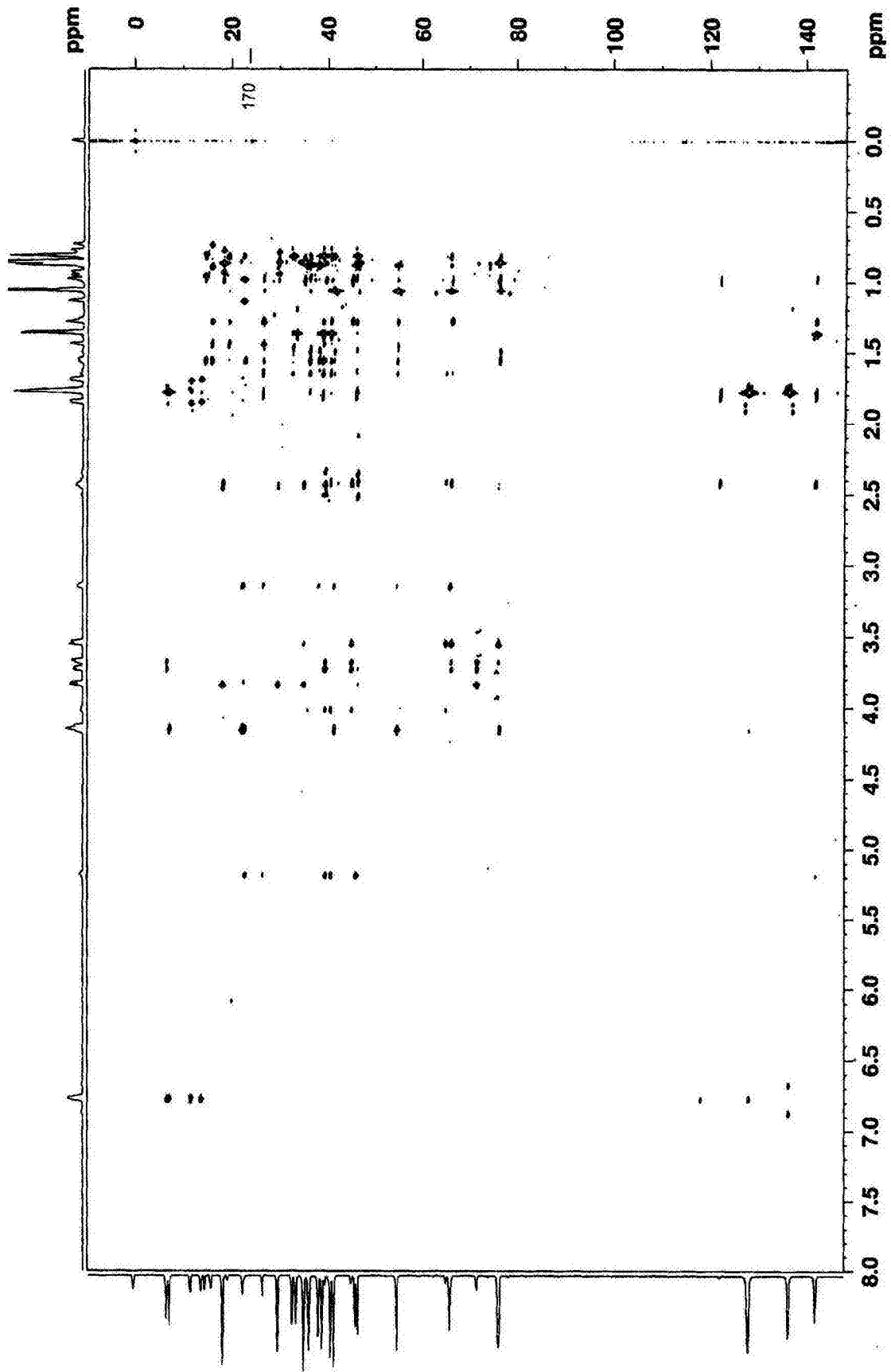


图28

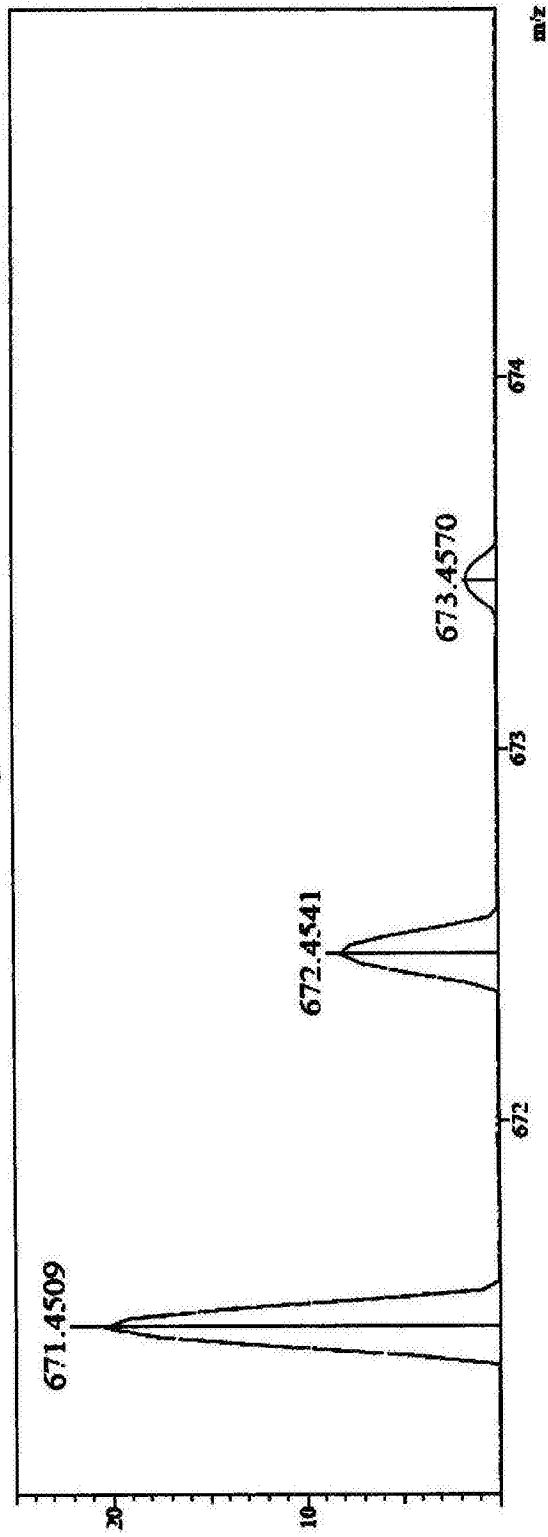


图29



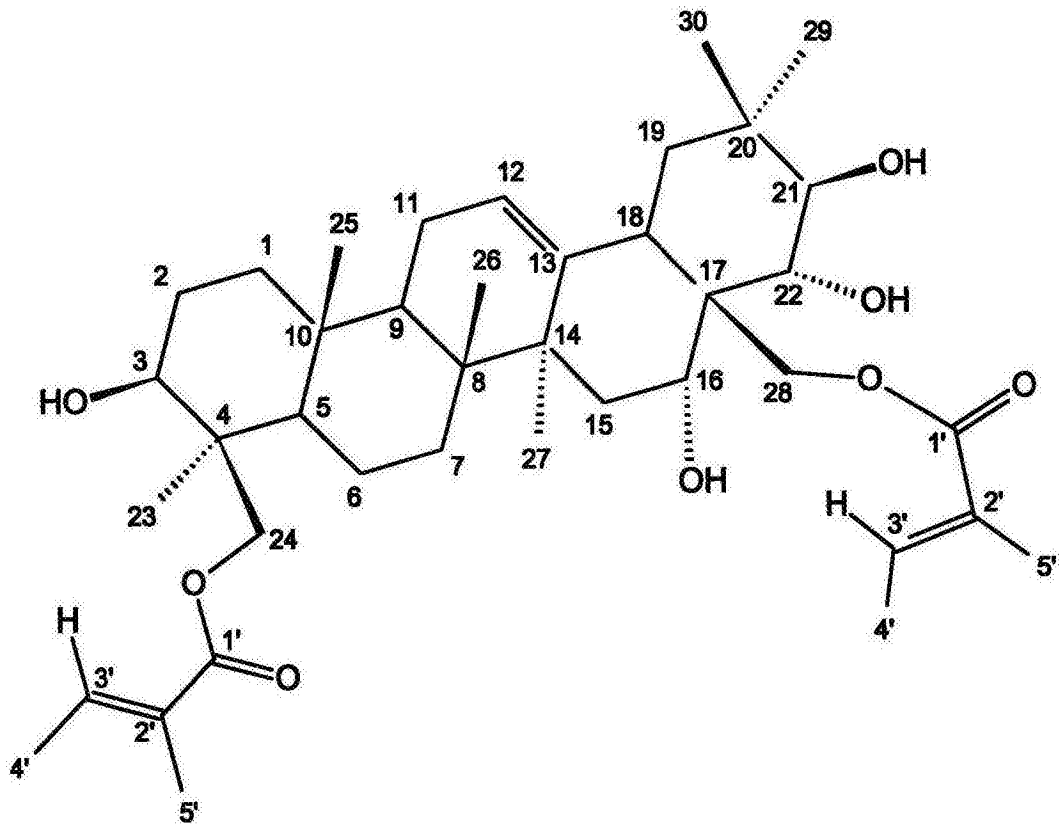


图30

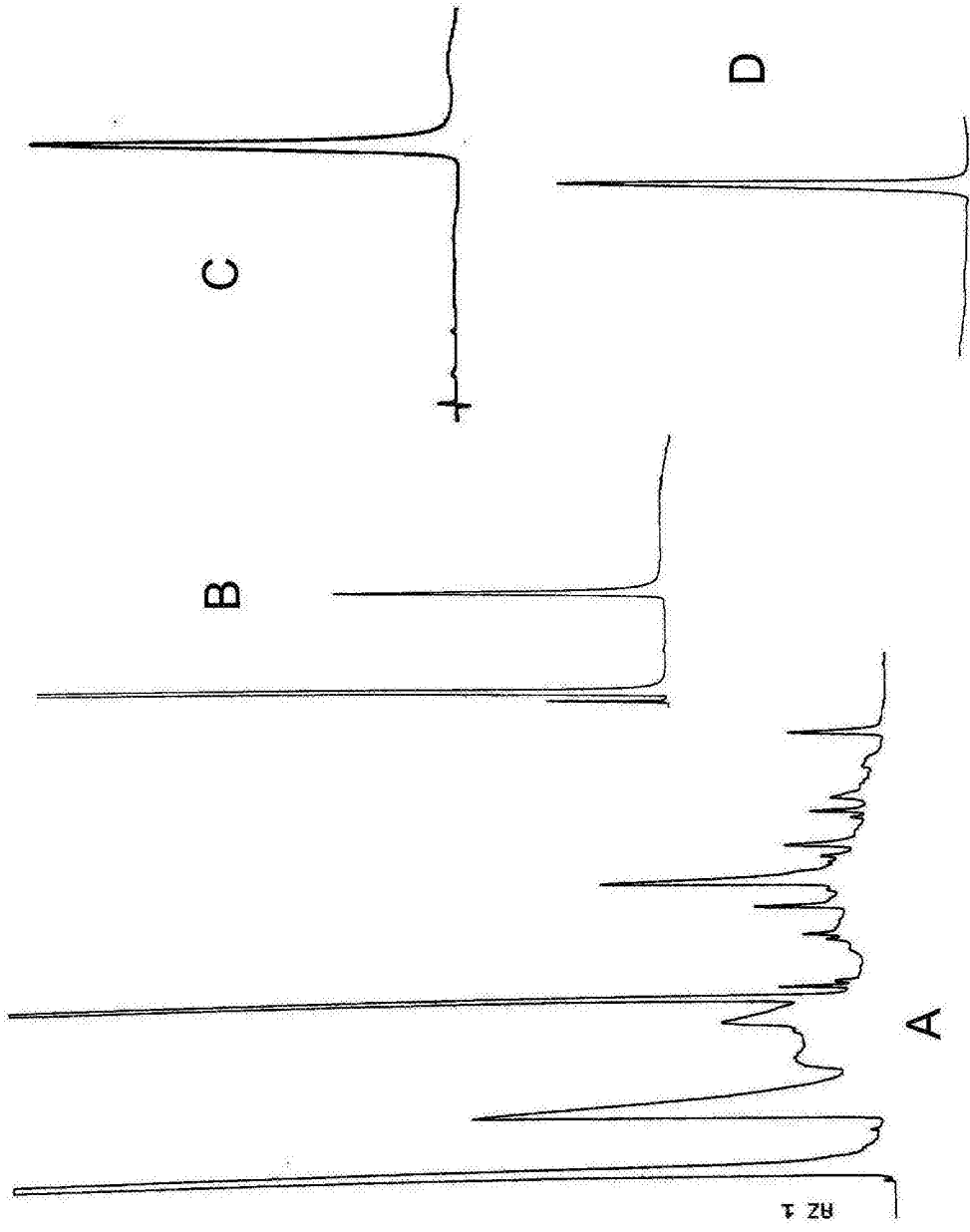


图31

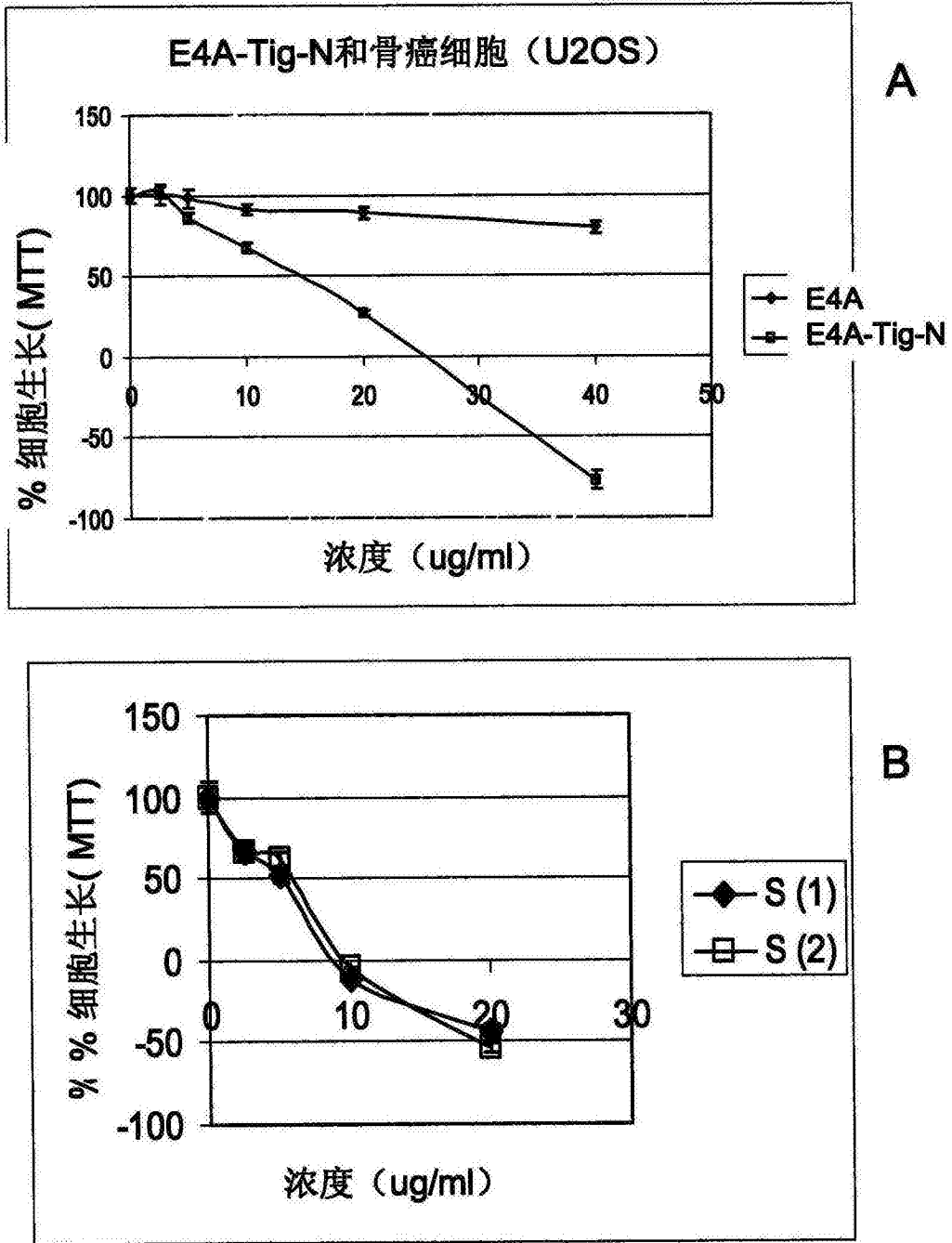


图32

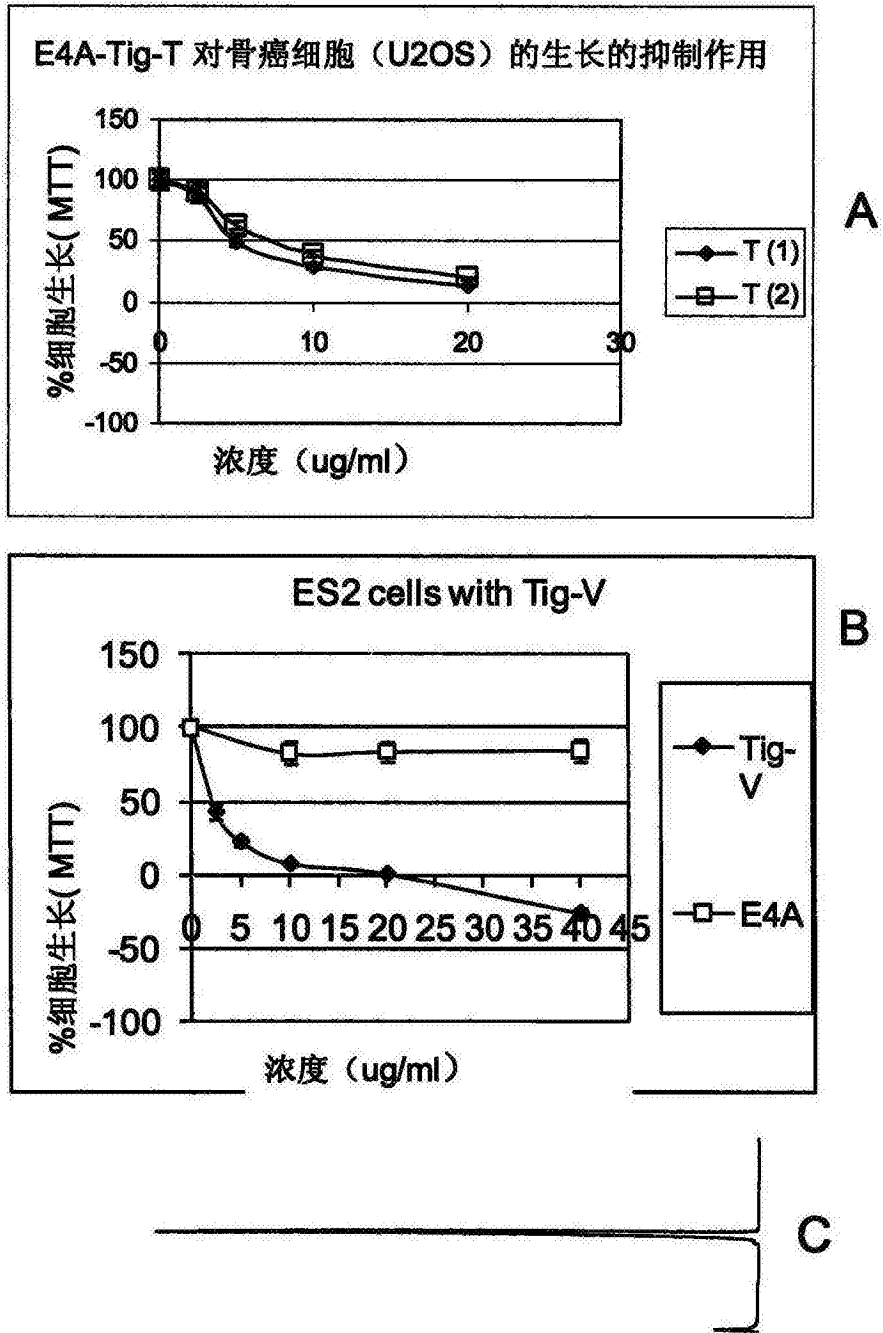


图33

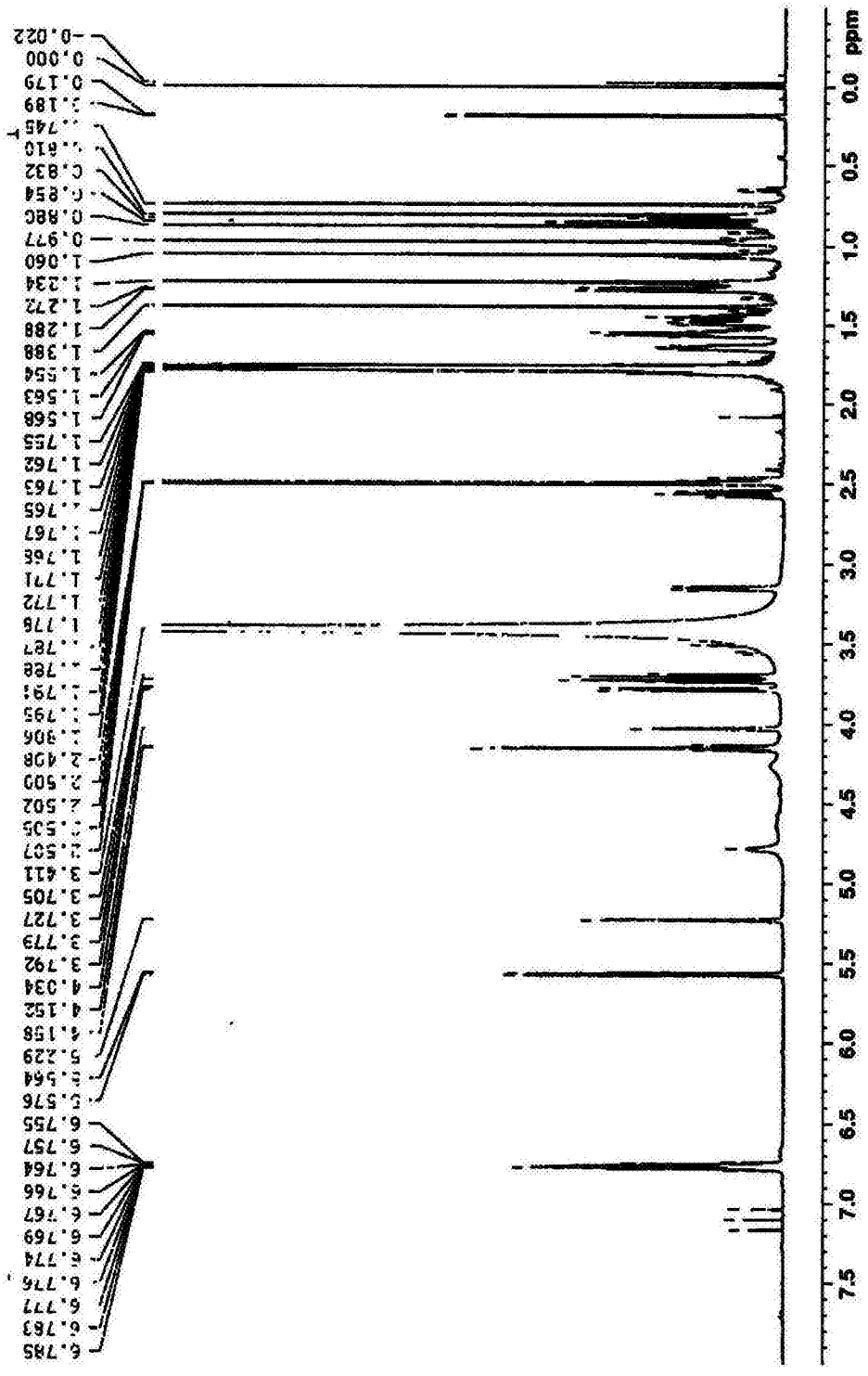


图34

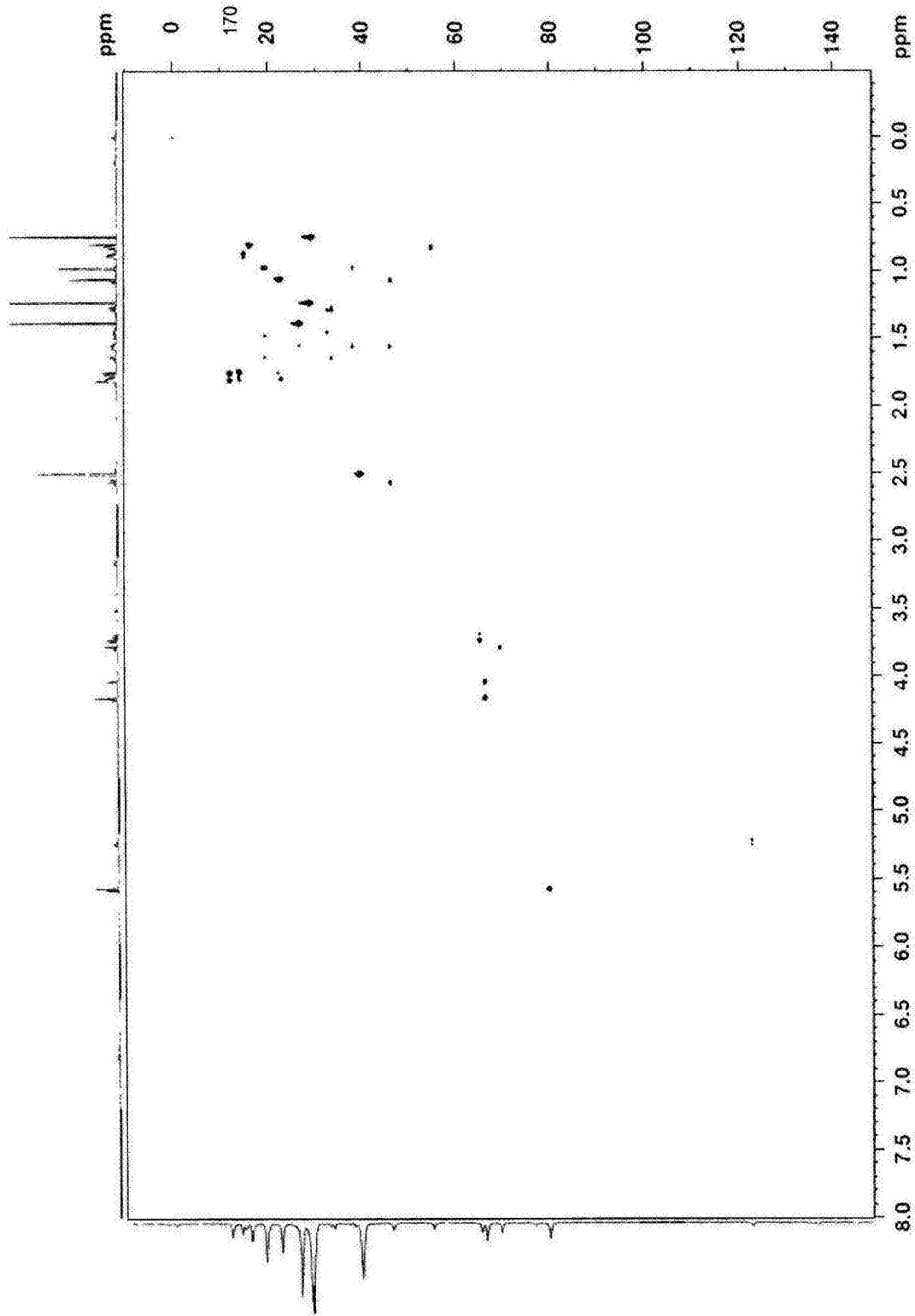


图35

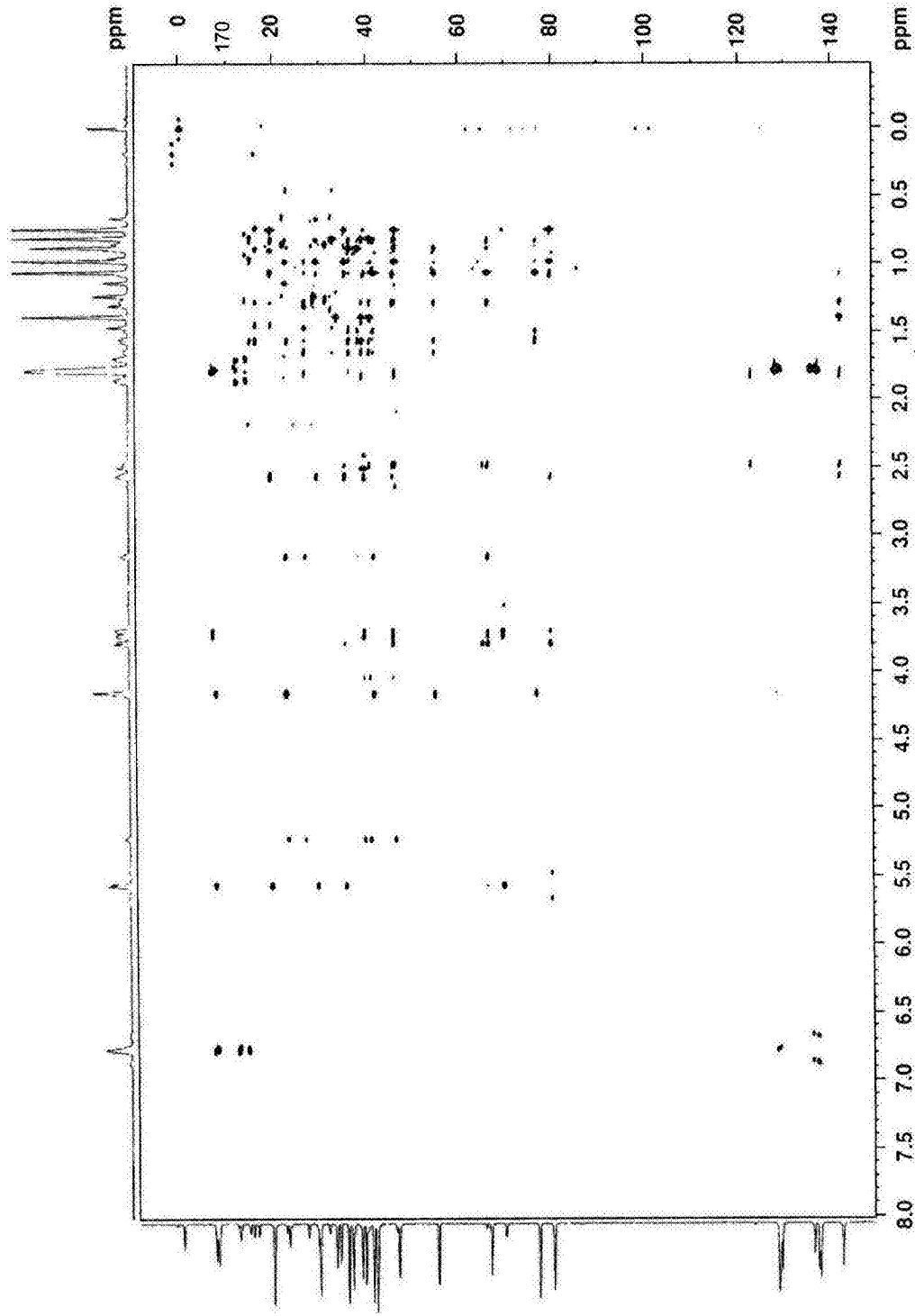


图36

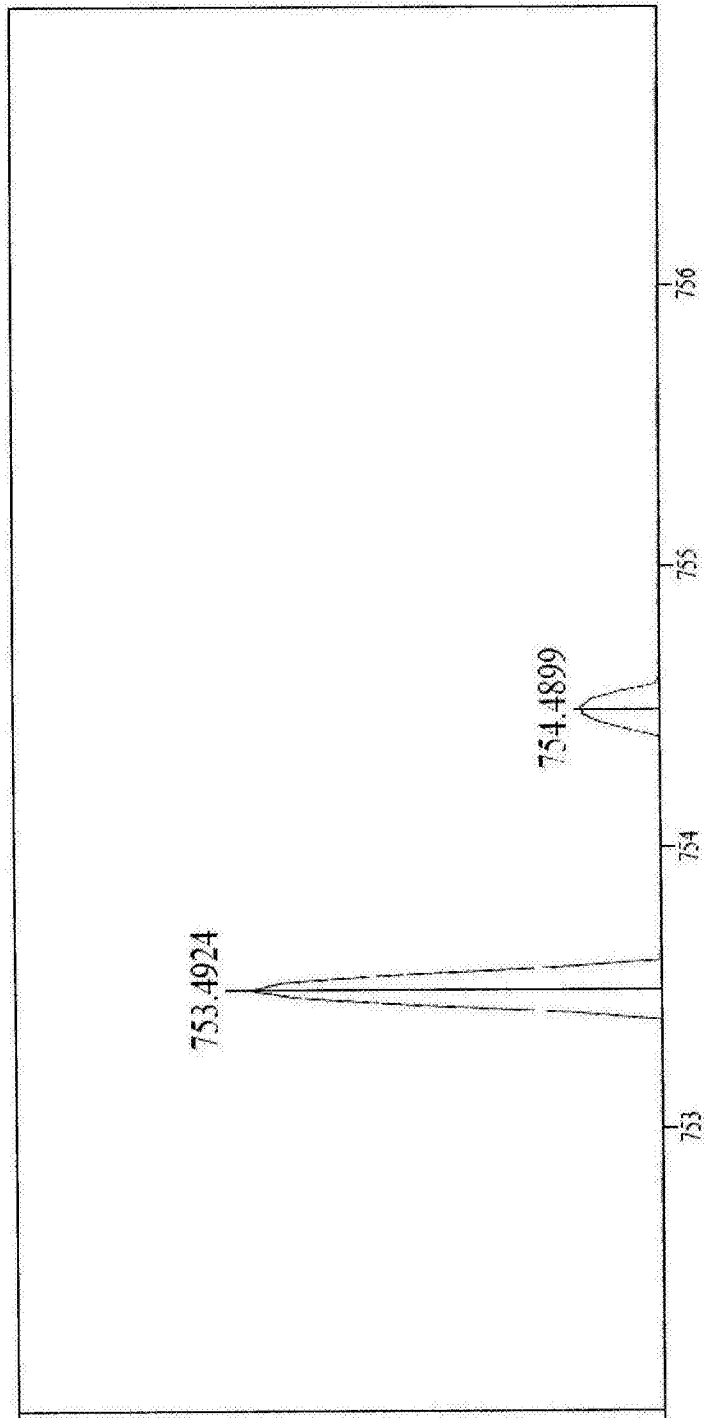


图37