



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101077873 B

(45) 授权公告日 2011.06.08

(21) 申请号 200710106626.0

(22) 申请日 2007.05.22

(66) 本国优先权数据

200610081482.3 2006.05.23 CN

(73) 专利权人 山东绿叶制药有限公司

地址 264003 山东省烟台市莱山区宝源路9号

(72) 发明人 戴胜军 王麒麟 李军 赵大洲

李振 刘珂 姜永涛

(51) Int. Cl.

C07D 493/10 (2006.01)

C07D 493/04 (2006.01)

C07D 307/33 (2006.01)

C07D 405/12 (2006.01)

A61K 31/365 (2006.01)

A61K 31/443 (2006.01)

A61K 31/4433 (2006.01)

A61K 31/35 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 9/19 (2006.01)

A61K 9/20 (2006.01)

A61K 9/48 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件

Sheng-Jun Dai, et al..neo-Clerodane diterpenoids from *Scutellaria barbata* with cytotoxic activities. 《Phytochemistry》. Elsevier Ltd., 2006, 第67卷(第13期), 1326 - 1330.

林敬明等. 半枝莲的化学成分及其抗肿瘤作用的研究现状. 《中药材》. 2006, 第29卷(第4期), 407-410.

Sheng-Jun Dai, et al..Four New neo-Clerodane Diterpenoid Alkaloids from *Scutellaria barbata* with Cytotoxic Activities. 《Chem. Pharm. Bull.》.Pharmaceutical Society of Japan, 2006, 第54卷(第6期), 869-872.

Ahmed A. Hussein, et al..Some Biogenetic-Type Transformations of Neoclerodane Diterpenoids from *Scutellaria* Species. 《Journal of Natural Products》. American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy, 1998, 第61卷(第8期), 1030-1032.

审查员 付伟

权利要求书 1 页 说明书 20 页

(54) 发明名称

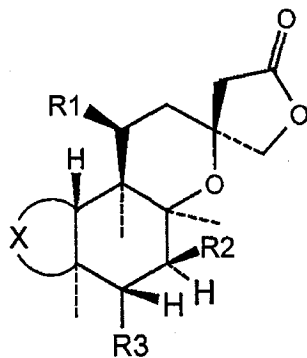
新的 NEO- 克罗烷型二萜化合物及其应用

(57) 摘要

本发明提供了一种新的 NEO- 克罗烷型二萜化合物,该化合物从半枝莲中提取分离得到。其制备方法为:称取半枝莲全草,用甲醇或乙醇回流提取,合并提取液,减压浓缩;浓缩后的浸膏用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇反复萃取,取氯仿萃取物上硅胶柱,以石油醚-丙酮进行梯度洗脱,然后用硅胶、反相 C18 柱、SephadexLH-20 色谱柱反复柱层析,即得。本发明还提供了以该化合物作为活性成分的药物组合物,以及该类化合物抑制肿瘤细胞活性的作用和制备抗肿瘤药物中的应用。

CN 101077873 B

1. 一种新的 NEO- 克罗烷型二萜化合物, 其结构式如下:



式 I

化合物 2: $R_1 = \text{AcO}-$, $R_2 = \text{AcO}-$, $R_3 = \text{pyridin-2-yl-CO}-$, $X = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\overset{|}{\text{C}}\text{CH}_3$;

化合物 3: $R_1 = \text{pyridin-2-yl-CO}-$, $R_2 = \text{pyridin-2-yl-CO}-$, $R_3 = \text{pyridin-2-yl-CO}-$,
 $X = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\overset{|}{\text{C}}\text{CH}_3$;

化 合 物 4 :

$R_1 = \text{pyridin-2-yl-CO}-$, $R_2 = \text{AcO}-$, $R_3 = \text{pyridin-2-yl-CO}-$, $X = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\overset{|}{\text{C}}\text{CH}_3$;

化合物 5: $R_1 = \text{pyridin-2-yl-CO}-$, $R_2 = -\text{OH}$, $R_3 = -\text{OH}$, $X = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\overset{|}{\text{C}}\text{CH}_3$;

化合物 6: $R_1 = -\text{OH}$, $R_2 = \text{phenyl-CO}-$, $R_3 = \text{phenyl-CO}-$, $X = -(\text{CH}_2)_3\overset{|}{\text{C}}=\text{CH}_2$;

2. 权利要求 1 所述化合物在制备抗肿瘤药物中的应用。

新的 NEO- 克罗烷型二萜化合物及其应用

技术领域

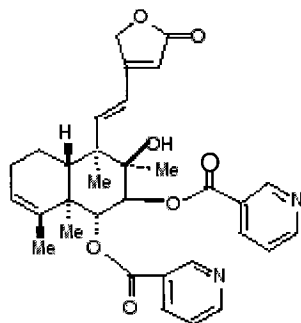
[0001] 本发明涉及新的 NEO- 克罗烷型二萜化合物, 具体的说涉及从半枝莲中提取的新的 NEO- 克罗烷型二萜化合物。本发明还涉及该化合物在抑制肿瘤细胞中的应用。

背景技术

[0002] 半枝莲 (*Scutellaria barbata* D. Don) 为唇形科黄芩属植物, 别名狭叶韩信草、并头草、牙刷草等, 以干燥全草入药。其名最早见于《外科正宗》, 味辛、苦, 性寒, 归肺、肝、肾经, 具有清热解毒、化痰、利尿的功效, 用于治疗疔疮肿毒、咽喉肿痛、毒蛇咬伤、跌扑肿痛及水肿、黄疸等疾病。在我国民间, 常把半枝莲与其他中草药相配伍, 以治疗肝炎和各种癌症, 如卵巢肿瘤、继发性胸膜炎肿瘤、鼻咽癌、肝癌、胃癌等。

[0003] 半枝莲中含有黄酮类、甾醇、萜类、生物碱、多糖和有机酸等多种化学成分, 到目前为止, 从半枝莲中发现了 13 个 NEO- 克罗烷型二萜【肖海涛、李铄, 半枝莲化学成分和药理活性研究进展, 中药研究与信息, 2005. 7 (4), 20-22, 25】。其中仅 Scutebarbatine A 的 C7 位为手性碳原子。通过对国内外专利及文献检索, 目前为止没有发现半枝莲中 NEO- 克罗烷型二萜具有药理活性的报道。

[0004]



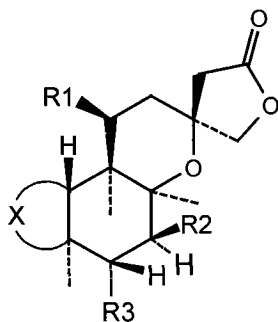
Scutebarbatine A

[0005] 鉴于以上原因, 本发明人经过深入研究, 从半枝莲中提取分离得到了一种新的 NEO- 克罗烷型二萜, 并证明其具有抑制肿瘤细胞生长的作用。

发明内容

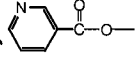
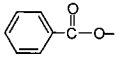
[0006] 本发明提供了一种新的 NEO- 克罗烷型二萜化合物或其盐, 其结构式如下:

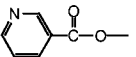
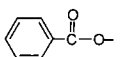
[0007]



式 I

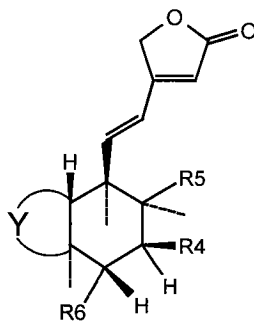
[0008] 其中：

[0009] R_1 和 R_2 独立的选自 $OH-$ 、 $AcO-$ 、 或 ；

[0010] R_3 选自 $OH-$ 、 或 ；

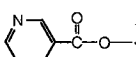
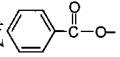
[0011] X 选自 $-CH_2CH_2CH=C(CH_3)-$ 或 $-(CH_2)_3C=CH_2-$ ；

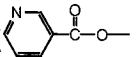
[0012]



式 II

[0013] 其中：

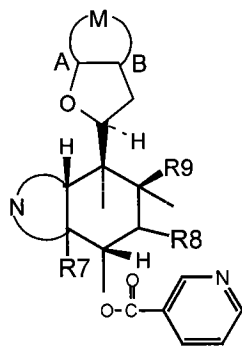
[0014] R_4 选自 $OH-$ 、 或 ；

[0015] R_5 、 R_6 独立的选自 $OH-$ 或 ；

[0016] Y 选自 $-CH_2CH_2CH=C(CH_3)-$ 、 $-CH_2CH=CHC(CH_3)(OH)-$ 、 $-CH_2CH_2CH(OH)C=CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2C(=O)C=CH_2-$ 或

$-CH_2C(=O)C=CH_2-$ ；

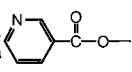
[0017]



式III

[0018] 其中：

[0019] R7 选自 $-\text{CH}_2\text{OAc}$ 或 CH_3- ；

[0020] R8 选自 $\text{H}-$ 、 $\text{OH}-$ 或 ；

[0021] R9 选自 $\text{H}-$ 、 $\text{OH}-$ 或 CH_3- ；

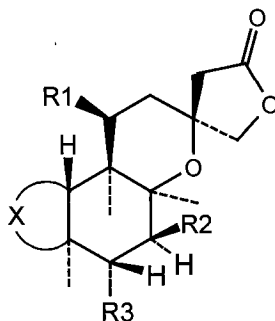
[0022] N 选自 $-(\text{CH}_2)_3\text{C}-$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\overset{|}{\text{C}}\text{CH}_3$ ；

[0023] M 选自 $-\overset{\text{R}_{10}}{\underset{\text{R}_{11}}{\text{C}}}-\text{O}-$ 或 $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{CH}_2-$ ，其中 R_{10} 、 R_{11} 独立地选自 $-\text{OEt}$ 或氢；

[0024] AB 为单键或双键。

[0025] 本发明所说的化合物，具体可以为：

[0026]



式 I

[0027] 化合物 1 (barbatin A)： $\text{R}_1 = \text{C}_6\text{H}_4-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-$ ， $\text{R}_2 = \text{OH}-$ ，

$\text{R}_3 = \text{C}_6\text{H}_4-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-$ ， $\text{X} = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\overset{|}{\text{C}}\text{CH}_3$ ；

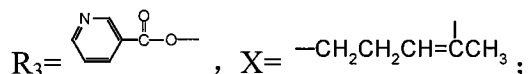
[0028] 化合物 2 (scutebarbatine F)： $\text{R}_1 = \text{AcO}-$ ， $\text{R}_2 = \text{AcO}-$ ，

$\text{R}_3 = \text{pyridine-2-yl}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-$ ， $\text{X} = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\overset{|}{\text{C}}\text{CH}_3$ ；

[0029] 化合物 3 (scutebarbatine I)：

$\text{R}_1 = \text{pyridine-2-yl}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-$ ， $\text{R}_2 = \text{pyridine-2-yl}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-$ ， $\text{R}_3 = \text{pyridine-2-yl}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-$ ， $\text{X} = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\overset{|}{\text{C}}\text{CH}_3$ ；

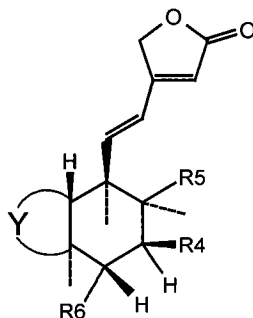
[0030] 化合物 4 (scutebarbatine J)： $\text{R}_1 = \text{pyridine-2-yl}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-$ ， $\text{R}_2 = \text{AcO}-$ ，



[0031] 化合物 5 (scutebarbatine K): $R_1 = \text{pyridin-2-yl-CO-O-}$, $R_2 = \text{OH-}$, $R_3 = \text{OH-}$,
 $X = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\overset{|}{\text{C}}\text{CH}_3;$

[0032] 化合物 6 (barbatin B): $R_1 = \text{OH-}$,
 $R_2 = \text{p-phenylene-CO-O-}$, $R_3 = \text{p-phenylene-CO-O-}$, $X = -(\text{CH}_2)_3\overset{|}{\text{C}}=\text{CH}_2;$

[0033]



式 II

[0034] 化合物 7 (barbatin C): $R_4 = \text{OH-}$, $R_5 = \text{OH-}$, $R_6 = \text{OH-}$, $Y = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\overset{|}{\text{C}}\text{CH}_3;$

[0035] 化合物 8 (scutebarbatine B): $R_4 = \text{p-phenylene-CO-O-}$, $R_5 = \text{OH-}$,
 $R_6 = \text{pyridin-2-yl-CO-O-}$, $Y = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\overset{|}{\text{C}}\text{CH}_3;$

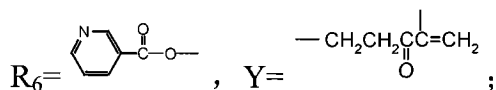
[0036] 化合物 9 (scutebarbatine N): $R_4 = \text{pyridin-2-yl-CO-O-}$, $R_5 = \text{OH-}$,
 $R_6 = \text{pyridin-2-yl-CO-O-}$, $Y = -\text{CH}_2\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{CH}=\overset{|}{\text{C}}\text{CH}_3;$

[0037] 化合物 10 (scutebarbatine O): $R_4 = \text{OH-}$, $R_5 = \text{pyridin-2-yl-CO-O-}$, $R_6 = \text{OH-}$,
 $Y = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\overset{|}{\text{C}}\text{CH}_3;$

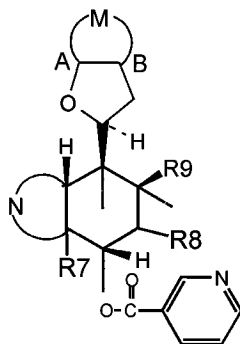
[0038] 化合物 11 (scutebarbatine C): $R_4 = \text{p-phenylene-CO-O-}$, $R_5 = \text{OH-}$,
 $R_6 = \text{pyridin-2-yl-CO-O-}$, $Y = -\text{CH}_2\text{CH}=\overset{|}{\text{C}}(\text{OH})\text{CH}_3;$

[0039] 化合物 12 (scutebarbatine D): $R_4 = \text{p-phenylene-CO-O-}$, $R_5 = \text{OH-}$,
 $R_6 = \text{pyridin-2-yl-CO-O-}$, $Y = -\text{CH}_2\text{CH}_2\overset{\text{OH}}{\underset{|}{\text{C}}}\text{CH}=\text{CH}_2;$

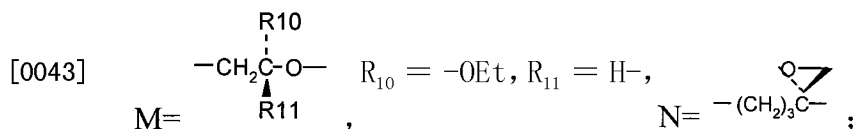
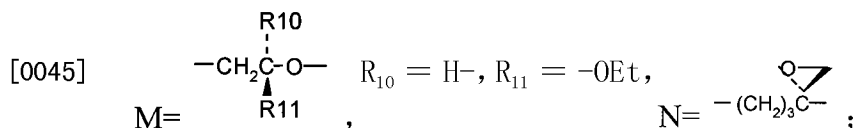
[0040] 化合物 13 (scutebarbatine E): $R_4 = \text{p-phenylene-CO-O-}$, $R_5 = \text{OH-}$,



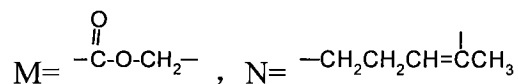
[0041]



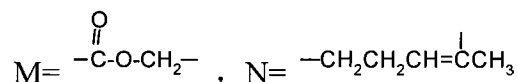
式III

[0042] 化合物 14 (scutebarbatine G) : AB 为单键, $R_7 = -\text{CH}_2\text{OAc}$, $R_8 = -\text{H}$, $R_9 = -\text{OH}$,[0044] 化合物 15 (scutebarbatine H) : AB 为单键, $R_7 = -\text{CH}_2\text{OAc}$, $R_8 = -\text{H}$, $R_9 = -\text{CH}_3$,[0046] 化合物 16 (scutebarbatine L) : AB 为双键, $R_7 = -\text{CH}_3$, $R_8 = \text{pyridine ring with } \text{C}(=\text{O})\text{O}- \text{ at position 2}$, $R_9 = -\text{OH}$,

[0047]

[0048] 化合物 17 (scutebarbatine M) : AB 为双键, $R_7 = -\text{CH}_3$, $R_8 = -\text{OH}$, $R_9 = -\text{OH}$,

[0049]



[0050] 本发明所说的盐是指药学上可接受的盐,例如与盐酸、硫酸、磷酸等无机酸形成的盐。

[0051] 本发明所提供化合物的制备方法为:称取一定量的半枝莲全草,用甲醇或乙醇回流提取 3-4 次,每次 1-2 小时,合并提取液,减压浓缩;浓缩后的浸膏用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇反复萃取,取氯仿萃取物上硅胶柱,以石油醚-丙酮进行梯度洗脱,然后用硅胶、反相 C18 柱、Sephadex LH-20 色谱柱反复柱层析,即得。

[0052] 其具体制备方法为:称取一定量的半枝莲全草,以 60-95% 的甲醇或乙醇回流提取 3-4 次,每次 1-2 小时,合并提取液,减压浓缩;浓缩后的浸膏用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇反复萃取,取氯仿萃取物上硅胶柱,以石油醚-丙酮 (97 : 3-50 : 50) 进行梯度洗脱,分为 7 个部分 (Fraction1-7)。

[0053] 取其中 Fraction2 过 Rp C-18 色谱柱,甲醇-水洗脱,然后通过 Sephadex LH-20

色谱柱纯化,得化合物 3 和化合物 4;

[0054] Fraction3 过硅胶色谱柱,环己烷-丙酮梯度洗脱,得化合物 9 和化合物 16;

[0055] Fraction4 上硅胶色谱柱,环己烷-丙酮梯度洗脱,得化合物 2 和一混合物;将混合物通过 Rp C-18 色谱柱,甲醇-水洗脱后,通过 Sephadex LH-20 色谱柱纯化,得化合物 14 和化合物 15;

[0056] Fraction5 过硅胶色谱柱,环己烷-丙酮梯度洗脱,得化合物 1、化合物 6 及两个混合物 M1、M2,将混合物 M1 过 Rp C-18 色谱柱,甲醇-水洗脱,然后通过 Sephadex LH-20 色谱柱纯化,得化合物 8 和化合物 13;将混合物 M2 过 Rp C-18 色谱柱,甲醇-水洗脱,然后通过 Sephadex LH-20 色谱柱纯化,得化合物 5、10 和 17;

[0057] Fraction6 过硅胶色谱柱,环己烷-丙酮梯度洗脱,得化合物 7 和一混合物;将混合物过 Rp C-18 色谱柱,甲醇-水洗脱后,通过 Sephadex LH-20 色谱柱纯化,得化合物 11 和化合物 12。

[0058] 为了增加本发明所提供化合物的水溶性,可以形成丁二酸酐、马来酸酐、琥珀酸酐等的钠盐或钾盐,优选其丁二酸衍生物单钾盐。所说的衍生物可以按照常规方法制得,也可以通过以下方法得到:

[0059] 取化合物溶于无水吡啶中,然后加入丁二酸酐,80°C 加热 50 分钟,加入碳酸氢钾,50°C 时搅拌 30 分钟,即得丁二酸衍生物单钾盐。

[0060] 本发明还提供了含有一种或多种 NEO- 克罗烷型二萜化合物或其盐的半枝莲提取物,其中 NEO- 克罗烷型二萜化合物为药用有效量。

[0061] 本发明还提供了化合物和半枝莲提取物对肿瘤细胞的抑制作用,以及在制备治疗抗肿瘤药物中的应用。

[0062] 本发明所提供的化合物或含有该化合物的半枝莲提取物可以口服或非口服形式给药,给药量因化合物不同而各有不同,有效剂量为 2mg/kg 至 100mg/kg。

[0063] 经口服给药时,可以与常规的药用辅料如填充剂、崩解剂、粘合剂、润滑剂、包衣剂等混合,将其制成颗粒剂、胶囊、软胶囊、片剂、滴丸或口服液等形式给药。非口服形式给药时,可以制备成注射液、冻干粉针剂、输液剂等。制备上述制剂时,可使用常规的制剂技术,但优选本发明所提供的方法。

[0064] 其中所说的填充剂,可以选自乳糖、甘露醇、淀粉、微晶纤维素、硫酸钙等中的一种或几种;其中所说的崩解剂,可以选自低取代羟丙纤维素、交联缩甲基纤维素钠、羧甲基淀粉钠、交联聚乙烯吡咯烷酮、微晶纤维素等中的一种或几种;其中所说的粘合剂选自羟丙甲纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、淀粉、甲基纤维素、糊精、糖粉等中的一种或几种;其中所说的润滑剂可以选自硬脂酸镁、硬脂酸钙、滑石粉、微粉硅胶等中的一种或几种。

[0065] 其中所说的片剂可以按照以下方法制得:将本发明提供的化合物或含有该化合物的半枝莲提取物及填充剂、崩解剂充分混合均匀,过筛后,加入一定浓度的粘合剂溶液适量制成软材,粗筛制粒,干燥整粒后,加入适量的润滑剂,混匀,压片即得。压片后也可选择包衣。

[0066] 其中所说的注射液可以按照以下方法制得:将一定量本发明提供的化合物或含有该化合物的半枝莲提取物,加入适量注射用水,搅拌溶解,调节溶液的 pH 值,用活性炭处理后过滤,测定中间体 pH 值及含量,合格后,在无菌条件下用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,灌封,熔

封;100℃流通蒸汽灭菌 30 分钟即得。

[0067] 其中所说的冻干粉针剂可以按照以下方法制得:将本发明提供的化合物或含有该化合物的半枝莲提取物,置入已灭菌的容器内,加入适量注射用水,搅拌溶解,再加入一定浓度的赋形剂(选自乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇、水解明胶、右旋糖苷等中的一种或几种)溶液,混匀后调节溶液的 pH 值,用活性炭处理后过滤,测定中间体 pH 值及含量,合格后,在无菌条件下用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,分装滤液,并加丁基胶塞,置冻干机内进行冷冻干燥即得。

具体实施方式

[0068] 以下实施例更详细地说明本发明,但不以任何形式限制本发明。

[0069] 实施例一:氯仿萃取物的制备

[0070] 取半枝莲全草 19.0 千克,95%的乙醇回流提取 3 次,每次 1 小时,合并提取液,减压浓缩得浸膏约 1.0 千克。浸膏用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇反复萃取,合并氯仿萃取液,减压浓缩得氯仿萃取物 156.0 克。

[0071] 实施例二:氯仿萃取物的制备

[0072] 取半枝莲全草 19.0 千克,60%的甲醇回流提取 4 次,每次 1 小时,合并提取液,减压浓缩得浸膏约 0.9 千克。浸膏用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇反复萃取,合并氯仿萃取液,减压浓缩得氯仿萃取物 148.0 克。

[0073] 实施例三:化合物的制备

[0074] 取实施例一中氯仿萃取物 147.8g 上硅胶柱,通过石油醚-丙酮 [V/V, 97 : 3-94 : 6-90 : 10-85 : 15-80 : 20-70 : 30-50 : 50] 梯度洗脱分为 7 个部分 (Fraction 1-7)。

[0075] 取 2.0 克 Fraction 2 过 Rp C-18 色谱柱,甲醇-水 (55 : 45) 洗脱,然后通过 Sephadex LH-20 色谱柱纯化,得化合物 3 (15mg) 和化合物 4 (23mg)。

[0076] 取 2.9 克 Fraction 3 过硅胶色谱柱,环己烷-丙酮梯度洗脱,得化合物 9 (18mg) 和化合物 16 (23mg)。

[0077] 取 1.6 克 Fraction 4 过硅胶色谱柱,环己烷-丙酮梯度洗脱,得化合物 2 (8mg) 和 93mg 另一混合物;将混合物通过 Rp C-18 色谱柱,甲醇-水 (45 : 55) 洗脱,最后通过 Sephadex LH-20 色谱柱纯化,得化合物 14 (11mg) 和化合物 15 (27mg)。

[0078] 取 10.0 克 Fraction 5 过硅胶色谱柱,环己烷-丙酮梯度洗脱,得化合物 1 (95mg)、化合物 6 (38mg) 及两个混合物 M1、M2,将混合物 M1 过 Rp C-18 色谱柱,甲醇-水 (55 : 45) 洗脱,然后通过 Sephadex LH-20 色谱柱纯化,得化合物 8 (1.2g) 和化合物 13 (118mg);将混合物 M2 过 Rp C-18 色谱柱,甲醇-水 (50 : 50) 洗脱,然后通过 Sephadex LH-20 色谱柱纯化,得化合物 5 (53mg)、化合物 10 (39mg) 和化合物 17 (40mg)。

[0079] 取 2.1 克 Fraction 6 过硅胶色谱柱,环己烷-丙酮梯度洗脱,得化合物 7 (14mg) 和 81mg 另一混合物;将混合物通过 Rp C-18 色谱柱,甲醇-水 (45 : 55) 洗脱,然后通过 Sephadex LH-20 色谱柱纯化,得化合物 11 (21mg) 和化合物 12 (13mg)。

[0080] 化合物 1:白色针状晶体,mp 150-151℃, $[\alpha]_D^{29} -63.6^\circ$ (c 0.12, MeOH)。UV (CDCl₃) λ_{max} : 219, 255nm; IR (KBr) ν_{max} : 3430, 1776, 1668, 1630, 1600, 1581, 1460, 1382, 1021, 760, 720cm⁻¹; FABMS m/z: 575.2 [M+H]⁺, HR-FABMS m/z: 575.2649 [M+H]⁺ (C₃₄H₃₉O₈, 575.2645)。

[0081] 化合物 2:白色针状晶体, mp 159-160°C, $[\alpha]_D^{29}$ -56.9° (c0.14, MeOH)。UV (CDCl₃) λ_{\max} :217, 222, 257; IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹:1788, 1731 (br), 1642, 1256, 1229, 1023, 890, 731; FABMS m/z :556.2 [M+H]⁺; HR-FABMS m/z :556.2506 [M+H]⁺ (C₃₀H₃₈NO₉, 556.2547)。

[0082] 化合物 3:白色针状晶体, mp 150-152°C, $[\alpha]_D^{29}$ -57.9° (c 0.13, MeOH)。IR (KBr) ν_{\max} :1782, 1731, 1638, 1589, 1506, 1474 cm⁻¹; FABMS m/z :682.2 [M+H]⁺; HR-FABMS m/z :682.2743 [M+H]⁺ (C₃₈H₃₉N₃O₉, 682.2765)。

[0083] 化合物 4:白色针状晶体, mp 149-151°C, $[\alpha]_D^{29}$ -60.3° (c0.12, MeOH)。IR (KBr) ν_{\max} :1781, 1733, 1642, 1592, 1500, 1467 cm⁻¹; FABMS m/z :619.3 [M+H]⁺; HR-FABMS m/z :619.2647 [M+H]⁺ (C₃₄H₃₈N₂O₉, 619.2656)。

[0084] 化合物 5:白色针状晶体, mp 156-158°C, $[\alpha]_D^{29}$ -55.7° (c 0.14, MeOH)。IR (KBr) ν_{\max} :3450 (br), 1771, 1635, 1609, 1583, 1467, 1361 cm⁻¹; FABMS m/z :472.4 [M+H]⁺; HR-FABMS m/z :472.2331 [M+H]⁺ (C₂₆H₃₃N₇O₇, 472.2335)。

[0085] 化合物 6:白色针状晶体, mp 148-150°C, $[\alpha]_D^{29}$ -60.4° (c 0.13, MeOH)。UV (CDCl₃) λ_{\max} :220, 256 nm; IR (KBr) ν_{\max} :3455, 1770, 1661, 1629, 1608, 1577, 1458, 1380, 1013, 770, 721 cm⁻¹; FABMS m/z :575.3 [M+H]⁺; HR-FABMS m/z :575.2653 [M+H]⁺ (C₃₄H₃₉O₈, 575.2645)。

[0086] 化合物 7:白色针状晶体, mp 156-158°C, $[\alpha]_D^{29}$ -103.8° (c0.14, MeOH)。UV (CDCl₃) λ_{\max} :220, 257 nm; IR (KBr) ν_{\max} :3438 (br), 1713, 1665, 1638, 1012 cm⁻¹; FABMS m/z :349.4 [M+H]⁺; HR-FABMS m/z :349.2011 [M+H]⁺ (C₂₀H₂₉O₅, 349.2015)。

[0087] 化合物 8:白色针状晶体, mp 151-153°C, $[\alpha]_D^{29}$ -109.6° (c0.13, MeOH)。UV (CDCl₃) λ_{\max} :17, 222, 257 nm; IR (KBr) ν_{\max} :3342, 1780, 1743, 1727, 1643, 1591, 1501, 1451, 740, 712 cm⁻¹; FABMS m/z :558.3 [M+H]⁺; HR-FABMS m/z :558.2487 [M+H]⁺ (C₃₃H₃₆NO₇, 558.2492)。

[0088] 化合物 9:白色针状晶体, mp 155-156°C, $[\alpha]_D^{29}$ -100.6° (c 0.12, MeOH)。IR (KBr) ν_{\max} :3442, 1783, 1731, 1647, 1593, 1505, 1450 cm⁻¹; FABMS m/z :573.4 [M+H]⁺; HR-FABMS m/z :573.2241 [M+H]⁺ (C₃₂H₃₂N₂O₈, 573.2237)。

[0089] 化合物 10:白色针状晶体, mp 154-156°C, $[\alpha]_D^{29}$ -98.3° (c 0.13, MeOH)。IR (KBr) ν_{\max} :3449, 1780, 1729, 1643, 1590, 1506, 1460 cm⁻¹; FABMS m/z :454.3 [M+H]⁺; HR-FABMS m/z :454.2227 [M+H]⁺ (C₃₃H₃₄N₈O₈, 454.2230)。

[0090] 化合物 11:白色针状晶体, mp 156-158°C, $[\alpha]_D^{29}$ -109.6° (c 0.13, MeOH)。UV (CDCl₃) λ_{\max} :220, 258; IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹:3347, 1781, 1750, 1643, 1586, 1485, 1389, 887, 740, 712; FABMS m/z :574.3 [M+H]⁺; HR-FABMS m/z :574.2396 [M+H]⁺ (C₃₃H₃₆NO₈, 574.2441)。

[0091] 化合物 12:白色针状晶体, mp 151-153°C, $[\alpha]_D^{29}$ -98.4° (c0.12, MeOH)。UV (CDCl₃) λ_{\max} :221, 260; IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹:3340, 1778, 1739, 1718, 1635, 1590, 1475, 390, 883, 747, 719; FABMS m/z :574.4 [M+H]⁺; HR-FABMS m/z :574.2398 [M+H]⁺ (C₃₃H₃₆NO₈: 574.2441)。

[0092] 化合物 13:白色针状晶体, mp 154-156°C, $[\alpha]_D^{29}$ -108.4° (c 0.13, MeOH)。UV (CDCl₃) λ_{\max} :220, 259; IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹:3444, 1780, 1742, 1705, 1640, 1586, 1470, 1400, 888, 733, 710; FABMS m/z :572.3 [M+H]⁺; HR-FABMS m/z :572.2239 [M+H]⁺ (C₃₃H₃₄NO₈, 572.2284)。

[0093] 化合物 14: 白色针状晶体, mp 151-153 °C, $[\alpha]_D^{29} -3.1^\circ$ (c 0.13, MeOH)。IR(KBr) ν_{\max} : 1725, 1710, 1591, 1477, 1439, 1248, 890, 729 cm^{-1} ; FABMS m/z: 544.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HR-FABMS m/z: 544.2923 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{NO}_8$, 544.2910)。

[0094] 化合物 15: 白色针状晶体, mp 151-153 °C, $[\alpha]_D^{29} -16.5^\circ$ (c 0.12, MeOH)。IR(KBr) ν_{\max} : 1726, 1710, 1590, 1478, 1440, 1251, 888, 730 cm^{-1} ; FABMS m/z: 544.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HR-FABMS m/z: 544.2919 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{NO}_8$, 544.2910)。

[0095] 化合物 16: 白色针状晶体, mp 153-154 °C, $[\alpha]_D^{29} -73.5^\circ$ (c 0.13, MeOH)。IR(KBr) ν_{\max} : 3341, 1770, 1736, 1639, 1601, 1513, 1448 cm^{-1} ; FABMS m/z: 575.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HR-FABMS m/z: 575.2387 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_8$, 575.2392)。

[0096] 化合物 17: 白色针状晶体, mp 157-159 °C, $[\alpha]_D^{29} -69.8^\circ$ (c 0.14, MeOH)。IR(KBr) ν_{\max} : 3450, 1783, 1740, 1641, 1588, 1512, 1459 cm^{-1} ; FABMS m/z: 470.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HR-FABMS m/z: 470.2173 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{NO}_7$, 470.2179)。

[0097] 化合物 1-17 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C NMR 数据见表 1 至表 6。

[0098] 表 1: 化合物 1-10 的 ^1H -NMR 数据 (400MHz, in CDCl_3)^{ab}

[0099]

H	1	2	3	4	5
1	1.67(m, H _a -1) 2.05(m, H _b -1)	1.61 (m, H _a -1) 2.03 (m, H _b -1)	1.71 (m, H _a -1) 2.09 (m, H _b -1)	1.72 (m, H _a -1) 2.08 (m, H _b -1)	1.63 (m, H _a -1) 1.92 (m, H _b -1)
2	2.17 (m, 2H)	2.19 (m, 2H)	2.80 (m, 2H)	2.77 (m, 2H)	2.73 (m, 2H)
3	5.31 (br s)	5.32 (br s)	5.31 (br s)	5.33 (br s)	5.31 (br s)
6	5.67 (d, 9.9)	5.42 (d, 10.4)	5.89 (d, 10.3)	5.71 (d, 10.4)	3.63 (d, 10.4)
7	3.74 (d, 9.9)	5.25 (d, 10.4)	5.68 (d, 10.3)	5.44 (d, 10.4)	3.43 (d, 10.4)
10	2.86(dd,2.8, 2.3)	2.71 (dd, 3.0, 12.4)	2.89(dd,2.6, 12.2)	2.83 (dd, 2.7, 12.3)	2.51 (dd, 2.8, 12.3)
11	5.80(dd,3.8, 1.7)	5.80 (dd, 3.9, 11.8)	5.85(dd,3.7, 12.0)	5.84 (dd, 3.8, 11.8)	5.78 (dd, 3.7, 11.7)
12	1.76(m, a-12) 2.09(m, b-12)	1.75 (m, H _a -12) 2.06 (m, H _b -12)	1.78 (m, H _a -12) 2.14 (m, H _b -12)	1.76 (m, H _a -12) 2.18 (m, H _b -12)	1.58 (m, H _a -12) 2.17 (m, H _b -12)
14	2.54(d,17.6,H _a -14) 3.19(d,17.6,H _b -14)	2.53 (d, 17.6, a-14) 3.14 (d, 17.6, b-14)	2.68(d,16.6, a-14) 3.13(d,16.6, b-14)	2.63 (d, 17.0, a-14) 3.17 (d, 17.0, b-14)	2.56 (d, 16.8, H _a -14) 2.78 (d, 16.8, H _b -14)
16	4.05(d, 8.5, H _a -16) 4.20(d, 8.5, H _b -16)	4.13 (d, 8.5, H _a -16) 4.28 (d, 8.5, H _b -16)	4.13(d,8.8, a-16) 4.20(d,8.8, b-16)	4.15 (d, 8.5, H _a -16) 4.22 (d, 8.5, H _b -16)	4.16 (d, 8.7, H _a -16) 4.20 (d, 8.7, H _b -16)
17	1.11 (s, 3H)	1.12 (s, 3H)	1.24 (s, 3H)	1.16 (s, 3H)	1.42 (s, 3H)
18	1.68 (s, 3H)	1.68 (s, 3H)	1.69 (s, 3H)	1.68 (s, 3H)	1.95 (s, 3H)
19	1.39 (s, 3H)	1.37 (s, 3H)	1.58 (s, 3H)	1.53 (s, 3H)	1.19 (s, 3H)
20	1.09 (s, 3H)	1.10 (s, 3H)	1.22 (s, 3H)	1.17 (s, 3H)	1.05 (s, 3H)
3'	7.80 (m)	9.17 (br s)	9.19 (br s)	9.22 (br s)	9.16 (br s)
4'	7.39 (m)				
5'	7.43(br t, 7.8)	8.83 (br d, 4.5)	8.83 (br d, 4.6)	8.82 (br d, 4.7)	8.83 (br d, 4.5)
6'	7.39 (m)	7.45 (dd, 4.5, 7.8)	7.47 (dd, 4.6, 7.8)	7.45 (dd, 4.7, 7.8)	7.45 (dd, 4.5, 7.6)
7'	7.80 (m)	8.26 (br d, 7.8)	8.27 (br d, 7.8)	8.28 (br d, 7.8)	8.27 (br d, 7.6)
3''	7.79 (m, 2H)		9.00 (br s)	9.18 (br s)	
4''	7.46 (m, 2H)				
5''	7.40(br t, 7.7)		8.70 (br d, 4.6)	8.79 (br d, 4.6)	
6''	7.46 (m, 2H)		7.30 (dd, 4.6, 7.7)	7.42 (dd, 4.6, 7.8)	
7''	7.79 (m, 2H)		8.12 (br d, 7.7)	8.25 (br d, 7.8)	
3'''			8.97 (br s)		
5'''			8.67 (br d, 4.5)		
6'''			7.23 (dd, 4.5, 7.8)		
7'''			8.01 (br d, 7.8)		
OAc				1.81	
OAc ^b		2.10 (s, 3H)			
OAc ^c		2.02 (s, 3H)			

[0100] a 化学位移用 ppm 表示, 偶合常数 J 用 Hz 表示, 且放在括号内

[0101] b 化学位移的确定利用 HMQC, HMBC, ¹H-¹H COSY 技术

[0102] 表 2 : 化合物 6-10 的 ¹H-NMR 数据 (400MHz, in CDCl₃)^{ab}

[0103]

H	6	7	8	9	10
1	1.82 (m, H _a -1) 2.46 (m, H _b -1)	1.28 (m, H _a -1) 1.55 (m, H _b -1)	1.35(m, _a -1) 1.66(m, _b -1)	2.21 (dd, 2.5, 17.3, H _a -1) 2.50 (dd,13.8,17.3, H _b -1)	1.29 (m, H _a -1) 1.52(m, H _b -1)
2	1.47 (m, H _a -2) 2.06 (m, H _b -2)	2.01 (m, 2H)	2.06(m,2H)		2.03 (m, 2H)
3	2.13 (m, H _a -3) 2.29 (m, H _b -3)	5.22 (br s)	5.25 (br s)	5.76 (br s)	5.23 (br s)
6	5.70 (d, 10.6)	3.75 (d, 9.2)	5.93(d, 10.8)	6.13 (d, 10.0)	3.87 (d, 9.8)
7	5.61 (d, 10.6)	3.62 (d, 9.2)	5.72 (d, 10.8)	5.81 (d, 10.0)	3.65 (d, 9.8)
10	2.38(dd,2.0, 2.4)	2.09(dd,1.6, 2.8)	2.36(br d, 11.6)	2.95 (dd, 2.5, 13.8)	2.26 (dd, 1.9, 12.1)
11	4.34(dd,3.8, 2.0)	6.39 (d, 16.8)	6.46 (d, 16.8)	6.35 (d, 16.8)	6.34 (d, 16.8)
12	1.57 (m, H _a -12) 2.14 (m, H _b -12)	6.30 (d, 16.8)	6.40 (d, 16.8)	6.49 (d, 16.8)	6.42 (d, 16.8)
14	2.84(d,17.2,H _a -14) 3.03(d,17.2, _a -14)	5.91 (br s)	5.94 (br s)	5.98 (br s)	5.94 (br s)
16	4.23(d, 9.2, _a -16) 4.39(d,9.2, _b -16)	4.99(dd,1.2, 6.4, 2H)	5.00 (2H, br s)	5.01 (br s, 2H)	5.02 (br s, 2H)
17	1.12 (s, 3H)	1.23 (s, 3H)	1.07 (3H, s)	1.13 (s, 3H)	1.18 (s, 3H)
18	4.60 (br s, 2H)	1.42 (s, 3H)	1.58 (3H, s)	1.92 (s, 3H)	1.57 (s, 3H)
19	1.43 (s, 3H)	1.03 (s, 3H)	1.45 (3H, s)	1.57 (s, 3H)	1.37 (s, 3H)
20	1.58 (s, 3H)	1.12 (s, 3H)	1.28 (3H, s)	1.39 (s, 3H)	1.16 (s, 3H)
3'	7.91 (m)		8.98 (br s)	9.07 (br s)	9.30 (br s)
4'	7.55 (m)				
5'	7.42 (br t, 7.7)		8.63 (br d, 4.6)	8.71 (br d, 4.6)	8.82 (br d,4.5)
6'	7.55 (m)		7.25(dd,4.6, 7.8)	7.31 (dd, 4.6, 7.7)	7.43 (dd, 4.5, 7.8)
7'	7.91 (m)		8.05 (br d, 7.8)	8.11 (br d, 7.7)	8.36 (br d, 7.8)
3''	7.94 (m, 2H)		7.83 (m, 2H)	9.03 (br s)	
4''	7.63 (m, 2H)		7.33 (m, 2H)		
5''	7.48 (br t, 7.7)		7.48 (br t, 7.6)	8.69 (br d, 4.7)	
6''	7.63 (m, 2H)		7.33 (m, 2H)	7.28 (dd, 4.7, 7.8)	
7''	7.94 (m, 2H)		7.83 (m, 2H)	8.08 (br d, 7.8)	

[0104] a 化学位移用 ppm 表示, 偶合常数 J 用 Hz 表示, 且放在括号内

[0105] b 化学位移的确定利用 HMQC, HMBC, ¹H-¹H COSY 技术

[0106] 表 3 : 化合物 11-14 的 ¹H-NMR 数据 (400MHz, in CDCl₃)^{ab}

[0107]

H	11	12	13	14
1	1.81 (m, H _a -1) 2.03 (m, H _b -1)	1.26 (m, H _a -1) 2.22 (m, H _b -1)	1.74(m, H _a -1) 2.02(m, H _b -1)	1.43 (m, H _a -1) 1.95 (m, H _b -1)
2	5.75 (m)	1.44 (m, H _a -2) 1.75 (m, H _b -2)	2.40 (m, H _a -2) 2.69(m, H _b -2)	2.23 (2H, m)
3	5.41 (br d, 9.6)	4.29(dd, 4.8, 11.4)		1.13 (m, H _a -3) 1.71 (m, H _b -3)
6	6.57 (d, 10.4)	6.28 (d, 10.0)	6.32 (d, 10.3)	4.74 (dd, 4.3, 11.2)
7	5.78 (d, 10.4)	5.79 (d, 10.0)	5.74 (10.3)	1.48 (m, H _a -7)

[0108]

				1.69 (m, H _b -7) 1.50 (m)
8	5.94 (br s)			
10	2.76(dd,3.6, 2.6)	2.18(dd, 3.0, 12.0)	2.65(dd,3.2, 12.4)	1.73 (dd, 3.0, 11.8)
11	6.48 (d, 16.8)	6.38 (d, 16.8)	6.44 (d, 16.8)	4.47 (dd, 5.6, 11.2)
12	6.42 (d, 16.8)	6.40 (d, 16.8)	6.49 (d, 16.8)	1.53 (m, H _a -12) 1.77 (m, H _b -12)
13				2.87 (m)
14	5.94(br s)	5.91 (br s)	5.99 (br s)	1.61 (m, H _a -14) 2.20 (m, H _b -14)
15				5.79 (d, 5.5)
16	5.00(br , 2H s)	5.08 (br s, 2H)	5.03 (br s, 2H)	5.08 (d, 5.6)
17	1.11 (s, 3H)	1.08 (s, 3H)	1.13 (s, 3H)	0.91 (d, 6.1)
18	1.14 (s, 3H)	4.95 (br s, H _a -18) 5.01 (br s, H _b -18)	5.19(br s, H _a -18) 5.40 (br s, H _b -18)	2.57 (d, 4.2, H _a -18) 2.81 (d, 4.2, H _b -18)
19	1.29 (s, 3H)	1.51 (s, 3H)	1.46 (s, 3H)	4.57 (d, 12.0, H _a -19) 5.29 (d, 12.0, H _b -19)
20	1.39 (s, 3H)	1.26 (s, 3H)	1.36 (s, 3H)	0.99 (3H, s)
3'	9.04 (br s)	8.99 (br s)	8.94 (br s)	9.40 (br s)
5'	8.66 (br d, 6)	8.66 (br d, 4.4)	8.66 (br d, 4.6)	8.86 (br d, 4.5)
6'	7.24(dd,4.6, .8)	7.29 (dd, 4.4, 7.8)	7.24 (dd, 4.6, 7.7)	7.43 (dd, 4.5, 7.7)
7'	8.08 (br d, 7.8)	8.05 (br d, 7.8)	8.02 (br d, 7.7)	8.51 (br d, 7.7)
3''	7.80 (m, 2H)	7.84 (m, 2H)	7.85 (m, 2H)	
4''	7.29 (m, 2H)	7.33 (m, 2H)	7.34 (m, 2H)	
5''	7.49 (br t, 7.6)	7.49 (br t, 7.7)	7.50 (br t, 7.8)	
6''	7.29 (m, 2H)	7.33 (m, 2H)	7.34 (m, 2H)	
7''	7.80 (m, 2H)	7.84 (m, 2H)	7.85 (m, 2H)	
OAc				1.64 (3H, s)
CH ₂				3.46 (1H, m) 3.78 (1H, m)
CH ₃				1.18 (3H, t, 7.1)

[0109] a 化学位移用 ppm 表示, 偶合常数 J 用 Hz 表示, 且放在括号内

[0110] b 化学位移的确定利用 HMQC, HMBC, ¹H-¹H COSY 技术[0111] 表 4: 化合物 15-17 的 ¹H-NMR 数据 (400MHz, in CDCl₃)^{ab}

	H	15	16	17
[0112]	1	1.41 (m, H _a -1) 1.90 (m, H _b -1)	1.83 (m, H _a -1) 2.11 (m, H _b -1)	1.76(m, H _a -1) 2.08(m, H _b -1)
	2	2.20 (2H, m)	2.19 (m, 2H)	2.11 (m, 2H)
	3	1.14 (m, H _a -3) 1.72 (m, H _b -3)	5.30 (br s)	5.28 (br s)
	6	4.75 (dd, 4.4, 11.3)	5.87 (d, 10.3)	5.36 (d, 10.4)
	7	1.48 (m, H _a -7) 1.67 (m, H _b -7)	5.71 (d, 10.3)	3.85 (d, 10.4)
	8	1.51 (m)		
	10	1.74 (dd, 3.2, 11.3) 4.03 (dd, 5.2, 12.0)	2.54 (dd, 1.9, 12.0)	2.34 (dd, 1.8, 12.5)
	11		5.59 (br d, 10.4)	5.57 (br d, 10.3)
	12	1.56 (m, H _a -12) 1.78 (m, H _b -12)	2.70(dd,10.4,14.2, H _a -12) 3.4 (brd, 14.2, H _b -12)	2.58 (dd, 10.3, 13.9, H _a -12) 3.34 (br d, 13.9, H _b -12)
	13	2.88 (m)		
14	1.63 (m, H _a -14) 2.24 (m, H _b -14)			
15	5.24 (d, 5.6)			
16	5.72 (d, 5.4)	4.56 (d, 16.4, H _a -16) 4.75 (d, 16.4, H _b -16)	4.56 (d, 16.4, H _a -16) 4.77 (d, 16.4, H _b -16)	
17	0.89 (d, 6.1)	1.34 (s, 3H)	1.40 (s, 3H)	
18	2.60(d, 4.2, H _a -18) 2.79(d, 4.2, H _b -18)	1.58 (s, 3H)	1.56 (s, 3H)	
[0113]	19	4.58(d,11.8, H _a -19) 5.27(d,11.8, H _b -19)	1.47 (s, 3H)	1.36 (s, 3H)
	20	1.02 (3H, s)	1.02 (s, 3H)	0.87 (s, 3H)
	3'	9.40 (br s)	9.09 (br s)	9.25 (br s)
	5'	8.87 (br d, 4.6)	8.69 (br d, 4.7)	8.79 (br d, 4.6)
	6'	7.43 (dd, 4.6, 7.8)	7.30 (dd, 4.7, 7.8)	7.46 (dd, 4.6, 7.8)
	7'	8.54 (br d, 7.8)	8.10 (br d, 7.8)	8.35 (br d, 7.8)
	3''		8.96 (br s)	
	5''		8.68 (br d, 4.6)	
	6''		7.28 (dd, 4.6, 7.7)	
	7''		8.07 (br d, 7.7)	
OAc	1.64 (3H, s)			
CH ₂	3.41 (1H, m)			
	3.72 (1H, m)			
CH ₃	1.16 (3H, t, 7.0)			

[0114] a 化学位移用 ppm 表示, 偶合常数 J 用 Hz 表示, 且放在括号内

[0115] b 化学位移的确定利用 HMQC, HMBC, ¹H-¹H COSY 技术

[0116] 表 5: 化合物 1-10 的 ¹³C NMR 数据 (100MHz, in CDCl₃)^a

H	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	28.8 t	28.8 t	28.8	28.7	28.7	22.5 t	19.5 t	19.2 t	35.5	19.6
	33.1 t	33.3 t	33.3	33.3	33.0	28.6 t	26.4 t	26.1 t	198.0	26.4
	121.1 d	120.2 d	120.5	120.2	118.7	32.9 t	122.6 d	123.3 d	127.5	123.6
	143.9 s	143.6 s	143.2	143.4	146.4	154.6 s	142.4 s	140.7 s	167.8	141.1
	44.8 s	44.6 s	45.4	44.9	44.3	46.1 s	43.3 s	43.4 s	44.9	43.2
[0117]	73.0 d	73.3 d	74.6	74.5	74.5	74.1 d	76.5 d	76.3 d	74.6	74.6
	69.8 d	74.2 d	75.4	74.1	76.4	67.7 d	74.9 d	75.8 d	76.2	76.6
	83.7 s	81.1 s	81.2	81.1	81.5	85.0 s	77.0 s	77.1 s	76.7	77.4
	39.1 s	38.9 s	39.0	39.0	38.7	43.8 s	47.9 s	48.3 s	48.3	48.1
	43.7 d	43.5 d	43.6	43.5	43.4	43.6 d	42.7 d	42.8 d	42.2	42.9
	72.5 d	72.1 d	71.8	71.8	72.9	74.5 d	147.8 d	146.6 d	144.2	147.5
	29.6 t	29.5 t	29.2	29.5	29.3	31.2 t	121.5 d	121.9 d	123.7	122.0
	76.8 s	76.7 s	76.9	76.8	76.3	77.9 s	162.3 s	162.0 s	161.5	162.3
	43.9 t	44.5 t	44.8	44.5	42.4	42.4 t	114.7 d	115.0 d	116.2	115.2
	174.2 s	173.7 s	173.6	173.6	174.7	174.3 s	174.1 s	173.9 s	173.9	174.2
	76.3 t	76.6 t	76.6	76.6	79.8	79.2 t	70.7 t	70.6 t	70.8	70.9
	19.8 q	19.8 q	21.4	20.8	20.9	16.5 q	22.5 q	22.5 q	22.5	22.9
	20.1 q	20.2 q	20.4	20.4	21.8	104.9 t	22.0 q	20.1 q	20.9	20.7
	16.7 q	16.8 q	16.9	17.0	15.3	17.7 q	16.1 q	17.3 q	15.9	17.6
	22.3 q	21.3 q	19.8	19.8	21.7	20.2 q	15.5 q	15.4 q	15.4	15.8
	166.7 s	164.4 s	165.1	164.6	164.6	166.5 s		164.5 s	167.8	162.3
	128.9 s	126.4 s	126.1	126.2	126.5	128.6 s		125.2	125.5	126.3
	130.0 d	150.7 d	151.2	151.2	151.1	129.9 d		150.3 d	151.1	150.8
	129.2 d					128.9 d				
	133.4 d	153.8 d	154.0	154.1	153.8	133.1 d		152.9 d	154.2	153.7
	129.2 d	123.9 d	123.8	123.8	123.8	128.9 d		123.2 d	123.7	123.8
[0118]	130.0 d	137.5 d	137.4	137.2	137.7	129.9 d		137.0 d	137.7	137.5
	168.3 s		164.5	164.4		167.8 s		165.5 s	164.7	
	129.4 s		125.8	126.1		129.6 s		128.6 s	124.8	
	129.8 d		150.8	150.9		129.7 d		129.6 d	150.8	
	128.6 d					128.4 d		128.3 d		
	133.7 d		153.9	154.0		133.6 d		133.4 d	154.0	
	128.6 d		123.5	123.7		128.4 d		128.3 d	123.4	
	129.8 d		137.2	137.1		129.7 d		129.6 d	137.1	
	1''		164.3							
	2''		125.0							
	3''		150.7							
	5''		153.7							
	6''		123.6							
	7''		137.0							
OAc				171.0						
				21.6						

[0119] a 化学位移的确定利用 HMQC, HMBC, ^1H - ^1H COSY 技术

[0120] 表 6 化合物 11-17 的 ^{13}C NMR 数据 (100MHz, in CDCl_3)^a

	H	11	12	13	14	15	16	17
	1	24.7 t	37.2 t	21.4 t	25.3 t	25.2 t	19.6	19.7
	2	128.3 d	21.9 t	40.1 t	22.4 t	22.3 t	26.0	26.1
	3	133.7 d	68.9 d	203.1 s	32.9 t	32.4 t	123.6	123.7
	4	73.8 s	156.3 s	153.8 s	65.3 s	65.2 s	141.1	141.4
	5	46.2 s	46.5 s	46.6 s	46.1 s	46.0 s	43.2	42.8
[0121]	6	74.1 d	75.5 d	74.5 d	72.2 d	72.1 d	76.3	79.5
	7	75.5 d	75.8 d	75.1 d	33.6 t	33.5 t	77.1	74.5
	8	77.4 s	77.6 s	77.3 s	36.3 d	36.6 d	78.3	79.1
	9	48.0 s	48.7 s	48.8 s	40.2 s	40.3 s	47.7	47.2
	10	37.3 d	46.0 d	43.8 d	48.7 d	48.5 d	40.6	40.6
	11	146.7 d	146.3 d	145.4 d	83.7 d	83.6 d	75.6	76.1
	12	122.1 d	120.5 d	122.8 d	33.1 t	33.0 t	28.9	28.8
[0122]	13	162.2 s	162.1 s	162.0 s	40.7 d	40.4 d	130.3	130.9
	14	115.5 d	115.4 d	116.0 d	39.8 t	38.4 t	139.0	138.8
	15	174.0 s	174.2 s	173.8 s	104.1 d	103.8 d	171.3	171.3
	16	70.9 t	70.9 t	70.8 t	109.3 d	107.4 d	69.9	70.2
	17	22.9 q	22.6 q	22.7 q	16.6 q	16.6 q	21.9	21.8
	18	25.6 q	101.2 t	114.0 t	48.4 t	48.3 t	20.5	20.9
	19	12.6 q	17.6 q	16.9 q	62.6 t	62.5 t	17.5	17.5
	20	16.0 q	15.4 q	15.8 q	14.4 q	14.3 q	16.4	16.5
	1'	165.7 s	164.5 s	164.8 s	165.2 s	165.3 s	164.6	166.3
	2'	126.2 s	126.5 s	125.7 s	126.7 s	127.1 s	126.2	127.0
	3'	150.9 d	150.5 d	150.8 d	151.6 d	151.6 d	150.5	150.5
	5'	153.6 d	153.0 d	153.6 d	153.5 d	153.7 d	153.2	153.0
	6'	137.5 d	137.9 d	123.5 d	137.9 d	138.2 d	123.7	124.0
	7'	123.7 d	123.9 d	137.2 d	123.6 d	123.5 d	138.0	138.8
	1''	166.1 s	166.1 s	165.9 s			164.5	
	2''	128.9 s	128.7 s	128.7 s			125.3	
	4''	129.8 d						
	3''	128.6 d	130.1 d	129.9 d			150.2	
	5''	133.4 d	133.7 d	133.8 d			153.1	
	6''	128.6 d	128.6 d	128.6 d			123.6	
	7''	129.8 d	130.1 d	129.9 d			137.4	
	OAc			170.1 s	170.8 s			
				21.3 q	21.5 q			
	OEt			63.3 t	63.1 t			
				15.3 q	15.4 q			

[0123] a 化学位移的确定利用 HMQC, HMBC, ^1H - ^1H COSY 技术

[0124] 试验例一: 体外抑制肿瘤细胞活性试验

[0125] 1、抑制肿瘤细胞活性实验方法:

[0126] 用含 5% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基培养人鼻咽癌 HONE-1 细胞、口腔上皮癌 KB 细胞、结肠癌 HT29 细胞。肿瘤细胞处于对数生长期后转入 24 孔培养板, 细胞浓度为 5000 个 /ml/ 孔。培养孔内加入不同浓度的待测药液, 培养 72 小时。用亚甲基兰测定法评价药物的抑瘤细胞活性。以对照组为参照, 用图解法计算出 IC_{50} 值。

[0127] 半枝莲乙醇提取物: 按【王刚、董玫等, 中药半枝莲提取物体外抗肿瘤活性研究, 中药研究与信息, 2006. 28(9), 701-702】所述方法制得。

[0128] 2、抑制肿瘤细胞活性实验结果:

[0129] 用亚甲基兰测定法, 以鬼臼乙叉和顺铂为阳性对照药, 评价了半枝莲乙醇提取物和 17 种化合物抑瘤细胞活性。如表 7 所示, 结果表明: 17 个化合物均具有明显的抑肿瘤细胞作用 ($P < 0.01$), 并且其抗瘤活性明显强于半枝莲提取物。

[0130] 表 7 化合物 1-17 的抑 HONE-1、KB 和 HT₂₉ 癌细胞实验结果

Compounds	Growth inhibition constant (IC_{50}) ^a [μ M]		
	HONE-1	KB	HT ₂₉
Etoposide ^b	0.6 [±] 0.2	0.9 [±] 0.3	2.3 [±] 0.5
Cisplatin ^b	3.7 [±] 0.4	4.2 [±] 0.9	5.6 [±] 1.8
1	4.7 [±] 2.0	7.7 [±] 2.2	5.9 [±] 1.3
2	4.4 [±] 1.9	6.1 [±] 2.7	4.6 [±] 1.9
3	3.7 [±] 2.0	7.1 [±] 2.2	6.9 [±] 1.3
4	5.0 [±] 3.2	8.1 [±] 1.7	6.6 [±] 2.4
5	4.5 [±] 1.5	6.1 [±] 2.6	5.3 [±] 2.0
6	5.0 [±] 2.1	8.1 [±] 1.8	6.6 [±] 1.5
7	4.1 [±] 1.5	7.1 [±] 2.6	4.3 [±] 2.0
8	4.4 [±] 1.9	6.1 [±] 2.7	3.5 [±] 2.1
9	5.0 [±] 2.8	7.8 [±] 1.3	4.6 [±] 1.8
10	4.6 [±] 1.5	5.9 [±] 2.2	6.3 [±] 2.0
11	4.7 [±] 2.0	7.1 [±] 2.6	3.9 [±] 2.1
12	5.0 [±] 2.1	7.8 [±] 1.8	4.6 [±] 1.5
13	4.1 [±] 1.5	7.6 [±] 2.2	5.3 [±] 2.0
14	3.8 [±] 2.1	7.8 [±] 1.8	4.6 [±] 1.5
15	3.6 [±] 1.5	7.6 [±] 2.2	5.3 [±] 2.0
16	4.4 [±] 2.7	6.1 [±] 2.2	3.5 [±] 3.4
17	3.7 [±] 2.0	6.7 [±] 2.6	3.4 [±] 2.1
半枝莲乙醇提取物	22.3 [±] 2.2	25.6 [±] 1.9	27.8 [±] 2.5

[0132] a、 IC_{50} 代表使肿瘤细胞数降低 50% 的药物浓度。结果以 3 次独立的重复试验的均值 \pm 标准差表示。

[0133] b、阳性对照药 (Etoposide 为鬼臼乙叉, Cisplatin 为顺铂)。

[0134] 试验例二: 静脉注射给药的半数致死量 (LD_{50}) 测定

[0135] 1、试验材料

[0136] 样品: 化合物 3(scutebarbatine I)、化合物 7(barbatin C)、化合物 8(scutebarbatine B)、化合物 16(scutebarbatine L) 的丁二酸衍生物单钾盐;

[0137] 动物: 清洁级昆明种小白鼠, 体重 18 ~ 22g, 由山东绿叶制药有限公司动物中心提

供,许可证号:SYXK(鲁)20030020。

[0138] 软件: DAS 医学统计软件

[0139] 2、试验方法

[0140] 预备实验取小鼠 20 只,按序贯法进行预备试验,测得小鼠静脉注射 100%致死率和无致死情况下给药最大剂量,连续观察 7d,结果如表 8。

[0141] 表 8 小鼠静脉注射预备试验结果

组别	100%致死最小剂量	0%致死最大剂量
	(mg/kg)	(mg/kg)
[0142] 化合物3	160.0	75.0
化合物7	220.0	90.0
化合物8	265.0	115.0
化合物16	185.0	60.0

[0143] 正式实验 按 Bliss 法确定高剂量对低剂量的组间剂量比,分为 6 组,每组 10 只。称取小鼠体重,按 0.2ml/10g 尾静脉注射给药,各组注射液浓度根据小鼠 20g 平均体重水平来计算确定,连续观察 7d,结果如表 9。。

[0144] 表 9 小鼠静脉注射 LD₅₀ 测定结果

[0145]

组别	化合物3			化合物7			化合物8			化合物16		
	剂量 (mg/kg)	动物数 (n)	死亡数 (只)	剂量 (mg/kg)	动物数 (n)	死亡数 (只)	剂量 (mg/kg)	动物数 (n)	死亡数 (只)	剂量 (mg/kg)	动物数 (n)	死亡数 (只)
1	160.0	10	10	220.0	10	10	265.0	10	10	185.0	10	10
2	137.5	10	8	184.0	10	9	224.3	10	9	147.7	10	8
3	118.2	10	7	153.9	10	6	189.8	10	6	117.9	10	5
4	101.6	10	4	128.7	10	3	160.6	10	4	94.1	10	3
5	87.3	10	2	107.6	10	1	135.9	10	2	75.2	10	1
6	75.0	10	0	90.0	10	0	115.0	10	0	60.0	10	0

[0146] 3、试验结果

[0147] 用 DAS 医学统计软件计算得到化合物 3 的 LD₅₀ 为 108.04mg/kg,95%可信限为 99.48mg/kg ~ 117.34mg/kg;化合物 7 的 LD₅₀ 为 143.04mg/kg,95%可信限为 131.22mg/kg ~ 155.92mg/kg;化合物 8 的 LD₅₀ 为 171.49mg/kg,95%可信限为 157.17mg/kg ~ 187.12mg/kg;化合物 16 的 LD₅₀ 为 112.48mg/kg,95%可信限为 100.12mg/kg ~ 126.37mg/kg。

[0148] 试验例三:口服给药半数致死量 (LD₅₀) 测定

[0149] 1、试验材料

[0150] 样品:化合物 3(scutebarbatine I)、化合物 7(barbatin C)、化合物 8(scutebarbatine B)、化合物 16(scutebarbatine L) 的丁二酸衍生物单钾盐;

[0151] 动物:清洁级昆明种小白鼠,体重 18 ~ 22g,由山东绿叶制药有限公司动物中心提供,许可证号:SYXK(鲁)20030020。

[0152] 软件: DAS 医学统计软件

[0153] 2、试验方法

[0154] 预备实验取小鼠 20 只,按序贯法进行预备试验,测得小鼠静脉注射 100%致死率和无致死情况下给药最大剂量,连续观察 7d,结果如表 1。

[0155] 正式实验按 Bliss 法确定高剂量对低剂量的组间剂量比,分为 6 组,每组 10 只。称取小鼠体重,按 0.2ml/10g 尾静脉注射给药,各组注射液浓度根据小鼠 20g 平均体重水平来计算确定。连续观察 7d。

[0156] 3、试验结果

[0157] 用 DAS 医学统计软件计算得到化合物 3 的 LD_{50} 为 406.23mg/kg,95%可信限为 374.02mg/kg ~ 438.44mg/kg;化合物 7 的 LD_{50} 为 378.52mg/kg,95%可信限为 352.96mg/kg ~ 404.08mg/kg;化合物 8 的 LD_{50} 为 298.67mg/kg,95%可信限为 283.52mg/kg ~ 313.82mg/kg;化合物 16 的 LD_{50} 为 305.42mg/kg,95%可信限为 293.30mg/kg ~ 317.54mg/kg。

[0158] 试验例四:注射给药对三种小鼠移植性肿瘤生长抑制作用的试验

[0159] 1、试验材料

[0160] 样品:化合物 3(scutebarbatine I)、化合物 7(barbatin C)、化合物 8(scutebarbatine B)、化合物 16(scutebarbatine L)的丁二酸衍生物单钾盐;以注射用生理盐水溶解后在无菌条件下用 0.22 μ m 微孔滤膜过滤,得到所需浓度的注射用药液。

[0161] 环磷酰胺:为上海华联制药有限公司(批号 040205),临用前以注射用生理盐水溶解并稀释至所需浓度。

[0162] 动物及瘤株:清洁级昆明种小白鼠,体重 18 ~ 22g,由山东绿叶制药有限公司动物中心提供,许可证号:SYXK(鲁)20030020。雌雄兼用,每次实验选用同一性别小鼠。

[0163] 小鼠 H22 肝癌、U14 宫颈癌和 S180 肉瘤均引自中国医学科学院北京药物研究所。

[0164] 2、试验方法

[0165] 肿瘤的传代保存:H22 肝癌、U14 宫颈癌和 S180 肉瘤于昆明种小鼠腹腔接种后取腹水传代保存。

[0166] 肿瘤接种:取腹水传代第 10 日的 H22 肝癌、U14 宫颈癌或 S180 肉瘤荷瘤小鼠,脱颈椎处死小鼠,消毒腹部皮肤,以无菌注射器吸取乳白色腹水,以注射用生理盐水调整肿瘤细胞浓度为 1×10^7 细胞/ml。以酒精棉球消毒昆明种小鼠右侧腋下皮肤,于皮下接种上述瘤细胞悬液 0.2ml,常规饲养。

[0167] 分组和给药:荷瘤小鼠 50 只,按体重随机分为 5 组,每组 10 只,分别为模型组、环磷酰胺组、化合物组高、中、低剂量组。各组小鼠按所示剂量给药,模型组每日尾静脉给予等容量注射用生理盐水,环磷酰胺为接种第二天一次腹腔注射给药,化合物组自第二日开始每日尾静脉注射给药 1 次,连续 10 天。末次给药后 24 小时,将各组动物脱颈椎处死,称体重,剥取瘤组织称重,计算抑瘤率。

[0168]

$$\text{抑瘤率(\%)} = \left(1 - \frac{\text{给药组平均瘤重}}{\text{对照组平均瘤重}} \right) \times 100$$

[0169] 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间采用 t 检验进行统计学比较,实验结果分别见表 10-13。

[0170] 2、试验结果

[0171] 结果表明化合物 3、化合物 7、化合物 8、化合物 16 的丁二酸衍生物单钾盐尾静脉注

射给药对小鼠移植性肿瘤 H22 肝癌、U14 宫颈癌和 S180 肉瘤均有明显的抑制作用,说明这些化合物在体内具有较强的抑瘤活性,尾静脉注射给药 10mg/kg 剂量时即可明显抑制上述各种肿瘤的生长 ($P < 0.01$),50mg/kg 剂量时对上述肿瘤的抑瘤率均大于 60%。

[0172] 表 10 化合物 3 的丁二酸衍生物单钾盐抑制三种瘤株生长的试验结果
[0173]

瘤株		H22 肝癌		U14 宫颈癌		S180 肉瘤	
组别	剂量 (mg/kg)	瘤重(g)	抑瘤率(%)	瘤重(g)	抑瘤率(%)	瘤重(g)	抑瘤率(%)
模型组	—	3.00±0.88		3.00±0.68		3.56±0.78	
环磷酰胺	100	0.88±0.44**	70.6	0.59±0.29**	80.4	0.84±0.35**	76.5
	2	2.39±0.73	20.2	2.29±1.07	23.6	2.66±0.98	25.2
化合物 3	10	1.72±0.64**	42.5	1.72±0.80**	42.7	2.09±0.64**	41.2
	50	1.12±0.52**	62.7	1.20±0.57**	60.1	1.40±0.29**	60.7

[0174] 表 11 化合物 7 的丁二酸衍生物单钾盐抑制三种瘤株生长的试验结果
[0175]

瘤株		H22 肝癌		U14 宫颈癌		S180 肉瘤	
组别	剂量 (mg/kg)	瘤重(g)	抑瘤率(%)	瘤重(g)	抑瘤率(%)	瘤重(g)	抑瘤率(%)
模型组	—	3.00±0.87		3.26±0.73		3.00±0.87	
环磷酰胺	100	0.81±0.30**	73.0	0.83±0.35**	74.4	0.79±0.29**	73.8
	2	2.34±0.81	22.0	2.59±1.07	20.5	2.31±0.65	22.8
化合物 7	10	1.72±0.82**	42.8	1.88±0.80**	42.3	1.73±0.49**	42.2
	50	1.12±0.52**	62.8	1.20±0.45**	63.3	1.17±0.55**	61.0

[0176] 表 12 化合物 8 的丁二酸衍生物单钾盐抑制三种瘤株生长的试验结果
[0177]

瘤株		H22 肝癌		U14 宫颈癌		S180 肉瘤	
组别	剂量 (mg/kg)	瘤重(g)	抑瘤率(%)	瘤重(g)	抑瘤率(%)	瘤重(g)	抑瘤率(%)
模型组	—	3.43±0.92		3.99±1.1		4.07±1.1	
环磷酰胺	100	0.85±0.21*	75.1	1.21±0.43**	69.7	1.23±0.44**	69.7
	2	2.74±1.12	20.3	3.18±1.3	20.3	3.25±1.33	20.3
化合物 8	10	2.11±0.63**	38.6	2.41±0.80**	39.6	2.54±0.70**	38.0
	50	1.24±0.35**	63.9	1.44±0.41**	63.9	1.23±0.44**	63.9

[0178] 表 13 化合物 16 的丁二酸衍生物单钾盐抑制三种瘤株生长的试验结果
[0179]

组别	瘤株	剂量 (mg/kg)	H22 肝癌		U14 宫颈癌		S180 肉瘤	
			瘤重(g)	抑瘤率(%)	瘤重(g)	抑瘤率(%)	瘤重(g)	抑瘤率(%)
模型组	—	—	3.11±0.79		3.22±0.84		3.24±0.77	
环磷酰胺		100	1.11±0.45**	65.0	1.20±0.51**	59.8	1.23±0.47**	59.4
		2	2.67±0.65	8.8	2.75±0.63	7.1	2.72±0.67	10.9
化合物 16		10	2.45±0.56*	16.9	2.55±0.52	13.7	2.59±0.54*	14.8
		50	1.84±0.65**	35.0	1.79±0.53**	39.0	1.85±0.47**	38.0

[0180] 试验例五：口服给药对三种小鼠移植性肿瘤生长抑制作用的试验

[0181] 1、试验材料

[0182] 同试验例四。

[0183] 2、试验方法

[0184] 同试验例四。

[0185] 3、试验结果

[0186] 结果显示化合物 3、化合物 7、化合物 8、化合物 16 的丁二酸衍生物单钾盐口服给药对小鼠移植性肿瘤 H22 肝癌、U14 宫颈癌和 S180 肉瘤均有明显的抑制作用，说明这些化合物在体内具有较强的抑瘤活性，口服给药 50mg/kg 剂量时即可明显抑制上述各种肿瘤的生长 ($P < 0.01$)，100mg/kg 剂量时对上述肿瘤的抑瘤率均大于 60%。