

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200510049382.8

[51] Int. Cl.

**A61K 31/075 (2006.01)**

**A61K 31/216 (2006.01)**

**A61K 31/36 (2006.01)**

**A61K 45/06 (2006.01)**

**A61K 9/08 (2006.01)**

**A61K 9/16 (2006.01)**

[43] 公开日 2006 年 9 月 20 日

[11] 公开号 CN 1833636A

[51] Int. Cl. (续)

**A61K 9/20 (2006.01)**

**A61K 9/48 (2006.01)**

**A61P 35/00 (2006.01)**

[22] 申请日 2005.3.16

[21] 申请号 200510049382.8

[71] 申请人 胡 汛

地址 310009 浙江省杭州市上城区直大方伯  
东河家园 1-2-503

共同申请人 宁波英诺药业科技有限公司

[72] 发明人 胡 汛

[74] 专利代理机构 杭州天正专利事务所有限公司

代理人 黄美娟

权利要求书 5 页 说明书 26 页 附图 3 页

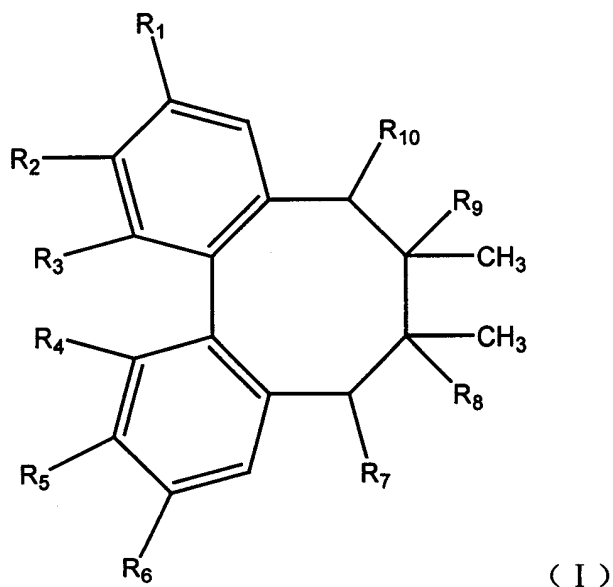
[54] 发明名称

联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的  
应用

[57] 摘要

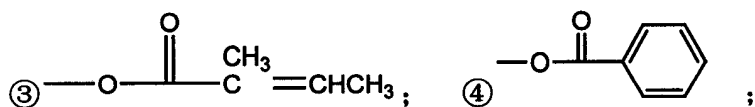
本发明提供了提供了联苯环辛二烯木脂素在制备抗肿瘤细胞多药耐药性逆转剂药物中的应用。本发明所述的联苯环辛二烯类化合物在制备治疗肿瘤药物中的应用的有益效果如下：(1) 具有临床应用前景，联苯环辛二烯木脂素可有效逆转肿瘤的多药耐药性，该化合物作用于 P-糖蛋白，可完全抑制 P-糖蛋白的功能；(2) 联苯环辛二烯木脂素具有较低的毒性，但对某些肿瘤细胞有毒性，因此，联苯环辛二烯木脂素具有很好的临床肿瘤化疗的应用前景。

1. 联苯环辛二烯木脂素应用于制备治疗肿瘤药物。
2. 如权利要求 1 所述的联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的应用, 其特征在于所述的联苯环辛二烯木脂素结构如式 I 所示:



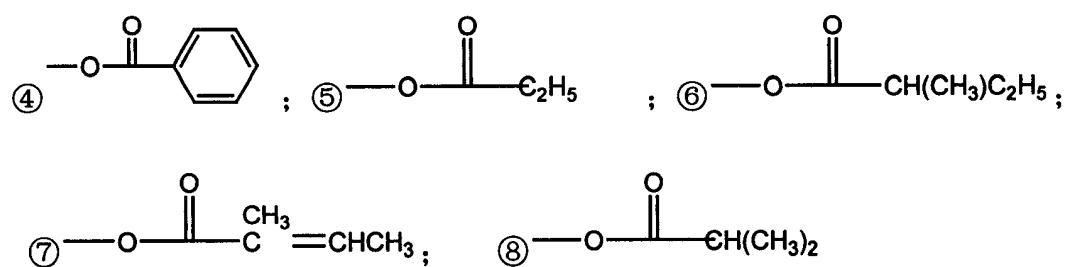
式中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_5$ 、 $R_6$  分别为羟基或甲氧基, 或者,  $R_1$  与  $R_2$ 、 $R_5$  与  $R_6$  各自不成环或者  $R_1$  与  $R_2$ 、 $R_5$  与  $R_6$  各自组成烷氧环;

$R_3$  为下列之一: ①  $-O-CH_3$  ; ②  $-OH$  ;

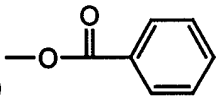


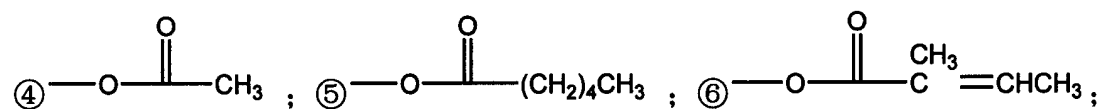
$R_4$  为下列之一: ①  $-O-CH_3$  ; ②  $-OH$  ; ③  $-O-C(=O)-CH_3=CHCH_3$  ;

$R_7$  为下列之一: ①  $-H$  ; ②  $-OH$  ; ③  $-O-C(=O)-CH_3$  ;



$R_8$ 、 $R_9$ 各自为下列之一：①—H ； ②—OH ；

$R_{10}$ 为下列之一：①—H ； ②—OH ； ③  ；

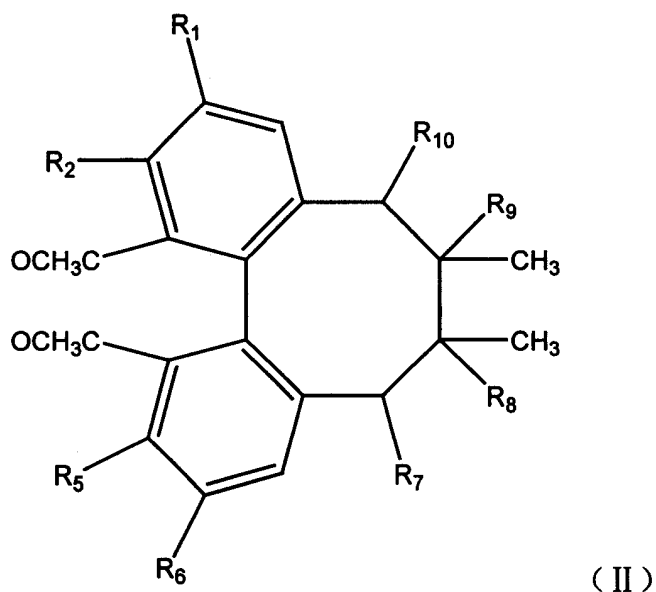


或者， $R_7$ 与 $R_{10}$ 连成氧桥， $R_1 \sim R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 定义如上所述；

或者， $R_3$ 与 $R_7$ 组成酰氧环， $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_4 \sim R_6$ 、 $R_8 \sim R_{10}$ 定义如上所述。

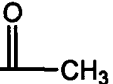
3. 如权利要求2所述的联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的应用，其特

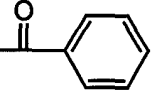
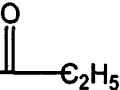
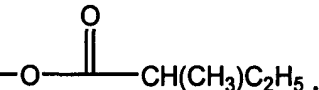
征在于所述的联苯环辛二烯木脂素结构式如下：

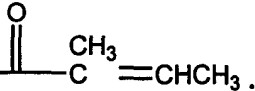
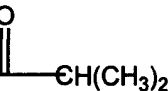


式中， $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 分别为羟基或甲氧基，或者， $R_1$ 与 $R_2$ 、 $R_5$ 与 $R_6$ 各自不成环或

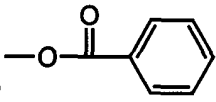
者  $R_1$  与  $R_2$ 、 $R_5$  与  $R_6$  各自组成烷氧环；

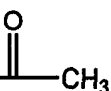
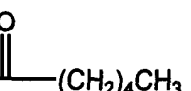
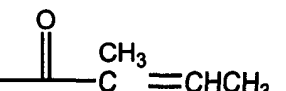
$R_7$  为下列之一：①—H；②—OH；③—O——CH<sub>3</sub>；

④—O—；⑤—O——C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>；⑥—O——CH(CH<sub>3</sub>)C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>；

⑦—O——C(CH<sub>3</sub>)=CHCH<sub>3</sub>；⑧—O——CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>；

$R_8$ 、 $R_9$  各自为下列之一：①—H；②—OH；

$R_{10}$  为下列之一：①—H；②—OH；③—O—；

④—O——CH<sub>3</sub>；⑤—O——(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>；⑥—O——C(CH<sub>3</sub>)=CHCH<sub>3</sub>。

4. 如权利要求 3 所述的联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的应用，其特征在于所述的联苯环辛二烯木脂素为下式之一：

①五味子素 A ②五味子素 B ③五味子素 C

④五味子酯 A ⑤五味子酯 B ⑥五味子酯 C

⑦五味子酯 D ⑧五味子酯 E ⑨五味子醇 A ⑩五味子醇 B。

5. 如权利要求 1~4 之一所述的联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的应用，其特征在于所述的联苯环辛二烯木脂素应用于制备肿瘤细胞多药耐药性逆转剂药物。

6. 如权利要求 5 所述的联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的应用，其特征在于所述的逆转剂药物还可含有对联苯环辛二烯木脂素作为肿瘤细胞多药耐药性逆转剂敏感的抗肿瘤药物，及药物赋形剂或载体。

7. 如权利要求 6 所述的联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的应用，其特

征在于所述的对肿瘤细胞多药耐药性逆转剂敏感的抗肿瘤药物为下列之一或其任意比例的混合：

①P-糖蛋白的底物 ②多药耐药相关蛋白的底物 ③乳腺癌抗药蛋白的底物。

8. 如权利要求 7 所述的联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的应用,其特征征在于所述的对肿瘤细胞多药耐药性逆转剂敏感的抗肿瘤药物为下列之一或其任意比例的混合：

Doxorubicin 阿霉素; Actinomycin 放线菌素; Altretamine; Bleomycin 博来霉素; Busulphan 白消安; Capecitabine 卡培他滨; Carboplatin 卡铂; Carmustine 卡莫司汀; Chlorambucil 苯丁酸氮芥; Cisplatin 顺铂; cyclophosphamide 环磷酰胺; cytarbine 阿糖胞苷; dacarabazine, daunorubicin 柔红霉素; epirubicin 表阿霉素; etoposide 依托泊甙; 足叶乙甙; 鬼臼乙叉甙; fludarbine 氟阿糖腺苷酸; fluorouracil 氟尿嘧啶; gemcitabine 吉西他滨; herceptin 赫赛汀; hydroxyurea 羟基脲; idarubicin 伊达比星; ifosfamide 异环磷酰胺; irinotecan 依立替康; lomustine 洛莫司汀; 环己亚硝脲; melphalan 美法仑; 左旋苯丙氨酸氮芥; mercaptopurine 巯基嘌呤; methotrexate 氨甲蝶呤; mitomycin 丝裂霉素; mitozantrone 米托蒽醌; 二羟基蒽酮; oxaliplatin 奥沙利铂; procarbazine 丙卡巴肼; 甲(基)苄肼; rituxan 美罗华; steroids 类固醇; streptozocin 链佐星; 链脲霉素; taxol 紫杉醇, taxotere 泰索帝; tamozolomide, thioguanine 硫鸟嘌呤; thiotepa 噻替哌; 硫替哌; 三胺硫磷; tomudex 雷替曲塞 (raltitrexed); topotecan 拓扑替康; treosulfan 曲奥舒凡; uracil-tegufur 尿嘧啶; vinblastine 长春碱; 长春花碱; vindesine 长春地辛; vinorelbine 长春瑞宾。

9. 如权利要求 5 所述的联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的应用,其特征

征在于所述的治疗肿瘤药物可制成下列之一的剂型：

①针剂 ②片剂 ③胶囊剂 ④颗粒剂 ⑤缓释剂。

10. 如权利要求 1~4 之一所述的联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的应用, 其特征在于所述的联苯环辛二烯木脂素应用于制备提高肿瘤对化疗药物的增敏剂药物。
11. 如权利要求 1~4 之一所述的联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的应用, 其特征在于所述的联苯环辛二烯木脂素应用于制备促进肿瘤细胞凋亡的药物。
12. 如权利要求 1~4 之一所述的联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的应用, 其特征在于所述的治疗肿瘤药物为所述的联苯环辛二烯木脂素的混合物。

## 联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的应用

### (一) 技术领域

本发明涉及联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的应用,尤其是联苯环辛二烯木脂素在制备抗肿瘤细胞多药耐药性逆转剂药物中的应用。

### (二) 背景技术

肿瘤是引起人类死亡的主要原因之一,肿瘤化疗是治疗肿瘤的一种主要手段。然而肿瘤化疗会因肿瘤细胞获得抗药性而失败。

肿瘤细胞产生多药耐药的原因有多种,其中最主要的是肿瘤细胞表达 ATP 结合的转运蛋白 [ ATP binding cassette (ABC) transporters ]。P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp),多药耐药相关蛋白 1 (multidrug resistant associated protein 1, MRP1) 和乳腺癌抗药蛋白 (breast cancer resistance protein BCRP, 也被称为 MXR 或 ABCG2), 是目前公认的几个导致肿瘤多药耐药的主要蛋白质。这些蛋白质均为跨膜蛋白质, 他们的作用相当于药泵, 可将进入肿瘤细胞内的药物排出细胞外, 使得细胞内的药物浓度很低, 肿瘤细胞因此可逃避抗肿瘤药的攻击。(Gottesman MM, Fojo T & Bates SE. Nature Review/cancer. 2:48-58, 2002)。

目前在临床上使用的抗癌药如阿霉素、丝裂霉素、表阿霉素、柔红霉素、长春新碱、高三尖杉酯、米脱蒽醌等药都逃脱不了肿瘤抗药性的命运, 因为这些药物均为 P-糖蛋白、或 MRP1 或 BCRP 的底物。因此, 当肿瘤细胞内 P-糖蛋白、或 MRP1 或 BCRP 高表达后, 肿瘤细胞获得的抗药性并不仅仅对某一种抗癌药, 而是对多种抗癌药。要使高表达 P-糖蛋白、或 MRP1 或 BCRP 的肿瘤细胞重新获得对抗癌药的敏感性, 最有效的方法就是抑制这些蛋白质的功能, 使其不能发挥‘药泵’的功能。因此, 研制抑制这些蛋白质功能的药物对肿瘤的化疗有重要的意义。目前, 临床上有很多种抗癌药, 但没有一种是针对 P-糖蛋白、或 MRP1 或 BCRP 的药物。因此, 研制出这样一种药物

刻不容缓。

苯烷胺类衍生物钙拮抗剂维拉帕米是最早发现并具有较强逆转 P-糖蛋白介导的 MDR 活性的苯烷胺类衍生物。其对血管、心肌的钙拮抗活性与其 MDR 逆转作用无关,而与心血管系统副作用有关,其副作用严重妨碍临床应用。

联苯环辛二烯木脂素为五味子:木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 或木兰科植物华中五味子 *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils. 的干燥成熟果实中的主要成分,五味子在《神农本草经》中被称为上品,具有收敛、固涩、益气生津、补肾宁心的作用,是中医常用的滋补强壮药,具有多种药理作用,但未见其有明确抗肿瘤的报道,尤其未见其有抗肿瘤多药耐药的报道。

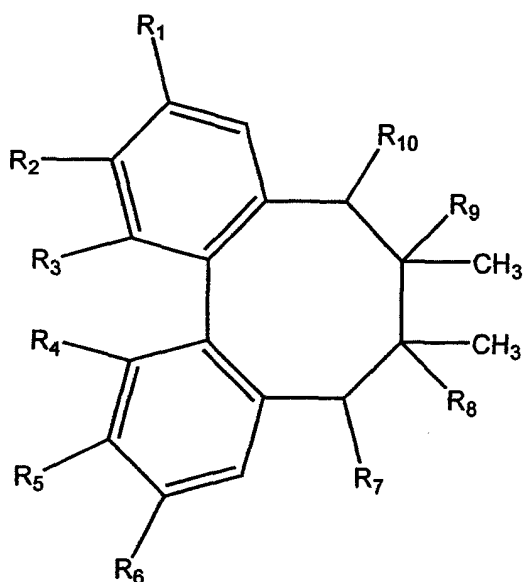
### (三) 发明内容

本发明既是为了提供联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的应用。

为达到发明目的本发明采用的技术方案是:

联苯环辛二烯木脂素应用于制备治疗肿瘤药物。

所述的联苯环辛二烯木脂素结构如式 I 所示:

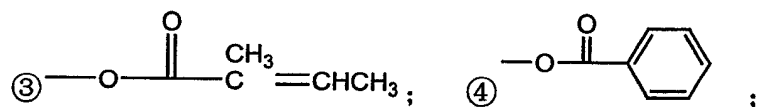


式中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_5$ 、 $R_6$  分别为羟基或甲氧基, 或者,  $R_1$  与  $R_2$ 、 $R_5$  与  $R_6$  各自不成环

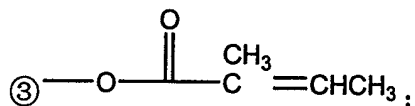


或者  $R_1$  与  $R_2$ 、 $R_5$  与  $R_6$  各自组成烷氧环；

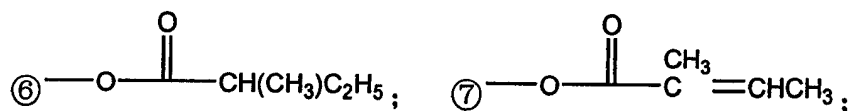
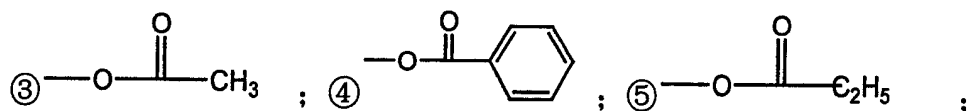
$R_3$  为下列之一：①  $-O-CH_3$ ；②  $-OH$ ；



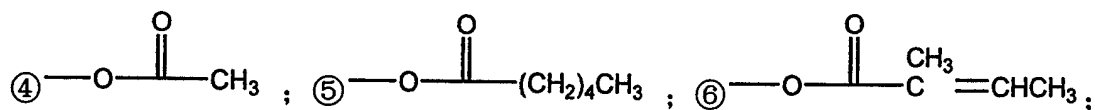
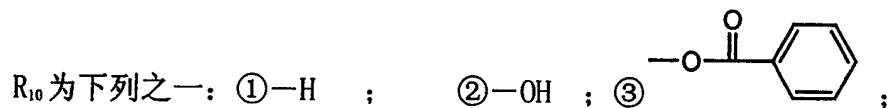
$R_4$  为下列之一：①  $-O-CH_3$ ；②  $-OH$ ；



$R_7$  为下列之一：①  $-H$ ；②  $-OH$ ；



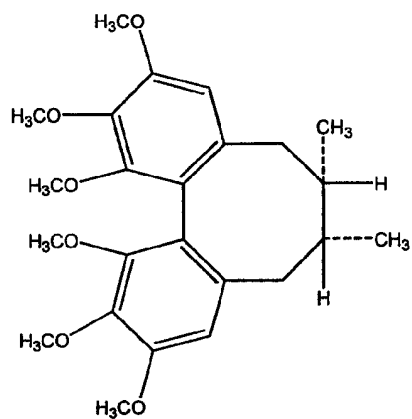
$R_8$ 、 $R_9$  各自为下列之一：①  $-H$ ；②  $-OH$ ；



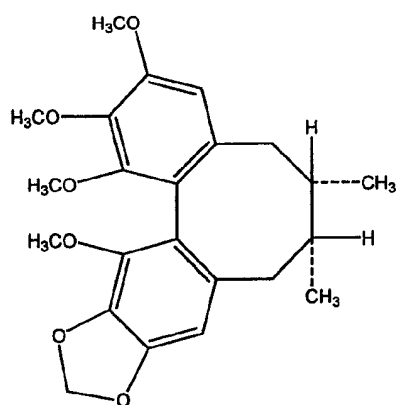
或者， $R_7$  与  $R_{10}$  连成氧桥， $R_1 \sim R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$  定义如上所述；

或者， $R_3$  与  $R_7$  组成酰氧环， $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_4 \sim R_6$ 、 $R_8 \sim R_{10}$  定义如上所述。

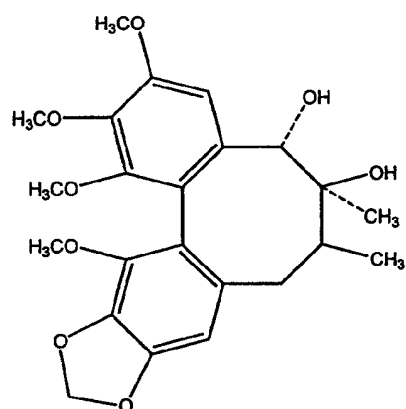
上述结构式根据各取代基定义，主要包括以下物质：



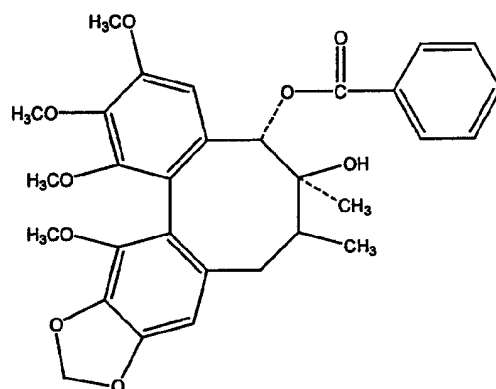
Schisandrin A



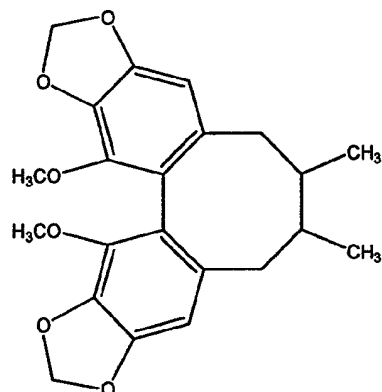
Schisandrin B



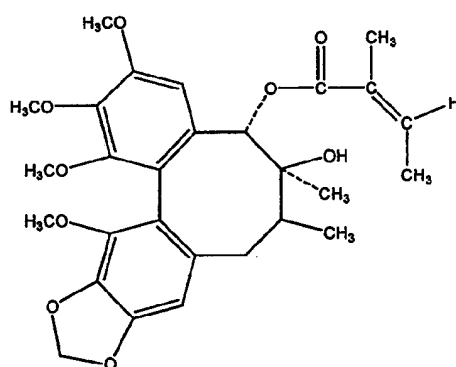
Schisandrol A



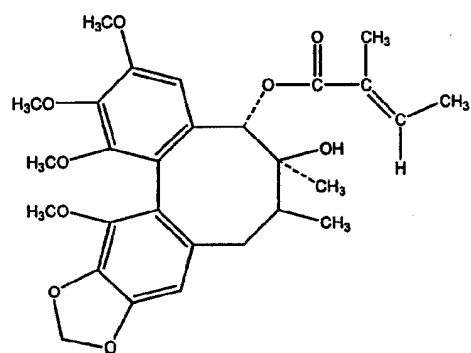
Schisantherin A



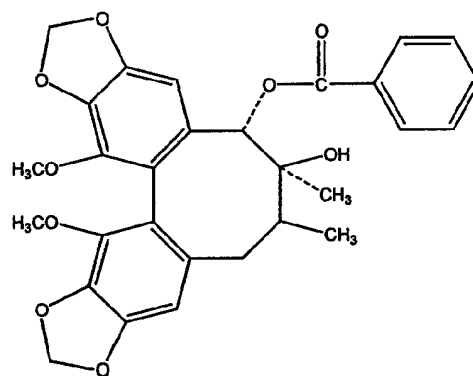
Schisandrin C



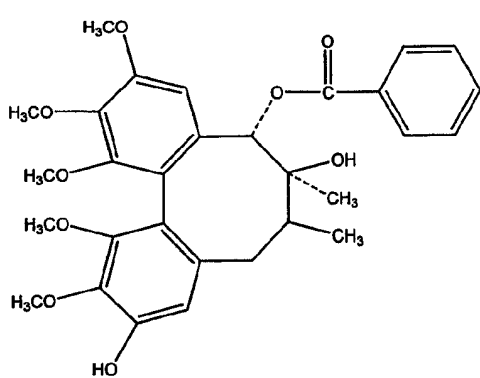
Schisantherin B



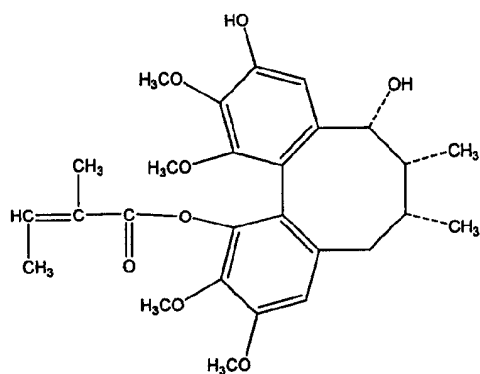
Schisantherin C



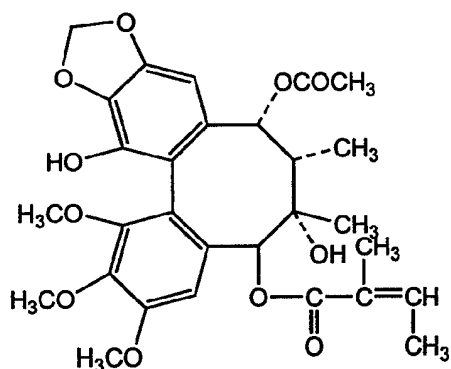
Schisantherin D



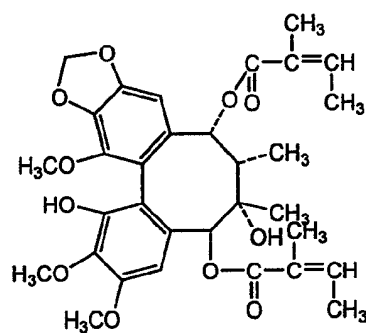
Schisantherin E



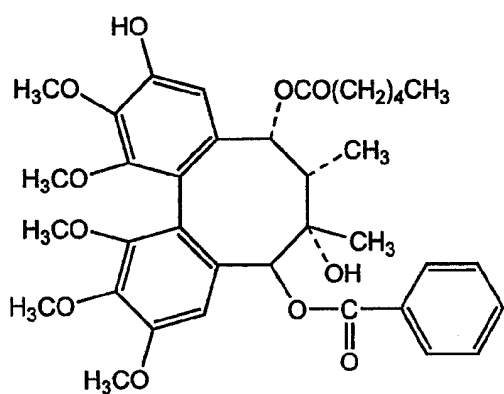
Schisantherin F



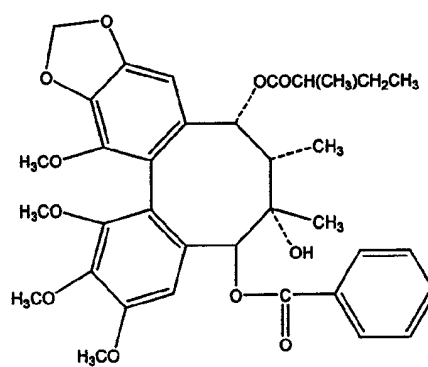
Schisantherin G



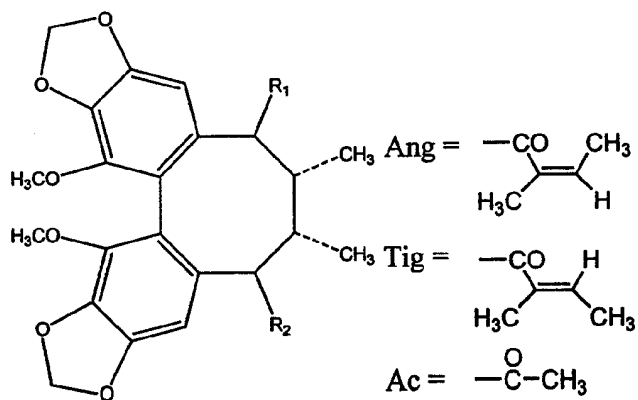
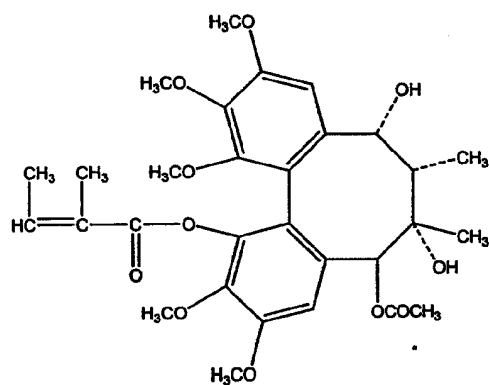
Schisantherin H



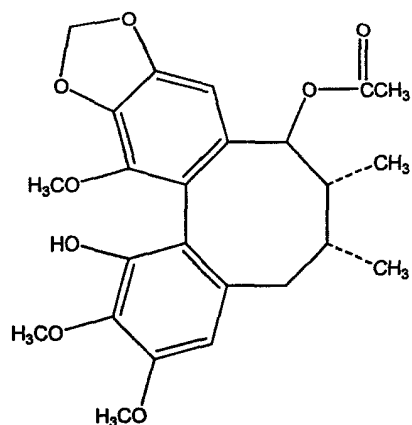
Schisantherin I



Schisantherin J



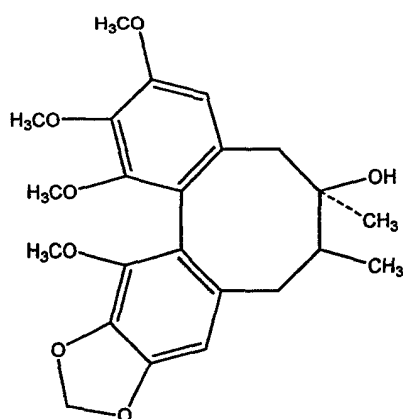
Schisantherin K



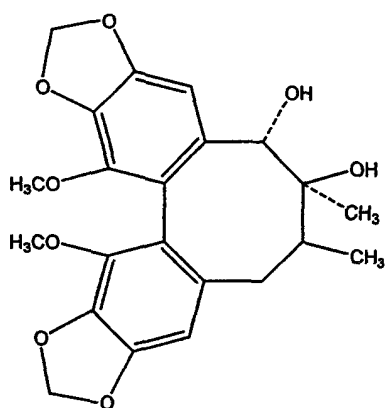
Schisantherin L: R1 = OH, R2 = OAng

Schisantherin M: R1 = OTig, R2 = Oang

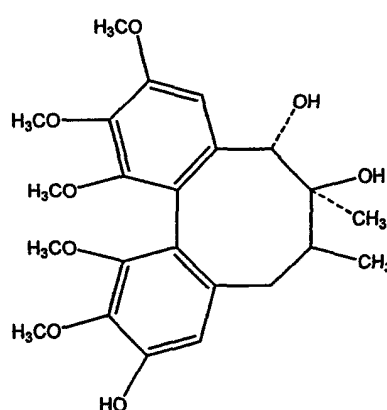
Schisantherin N: R1 = OAc, R2 = Oang



Schisantherin O

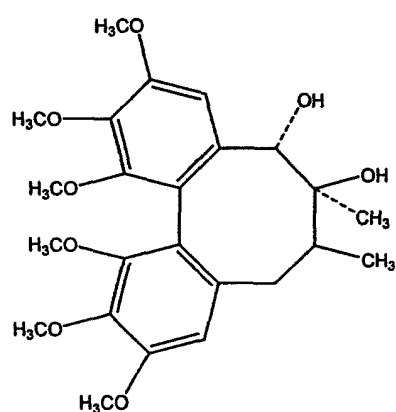


Schisandrol B, Schisantherinol B



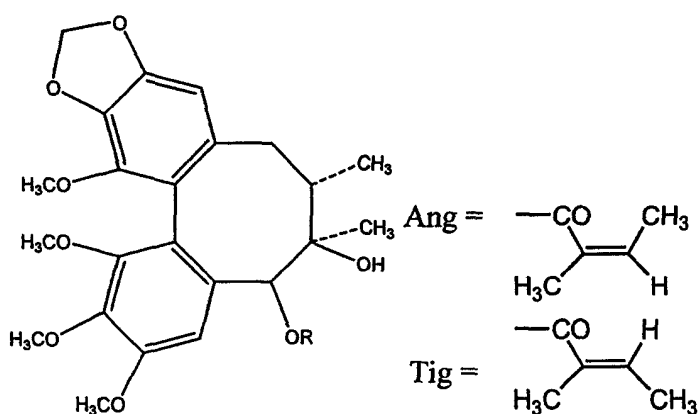
Schisandrol D, Schisantherinol D

Schisandrol E, Schisantherinol E



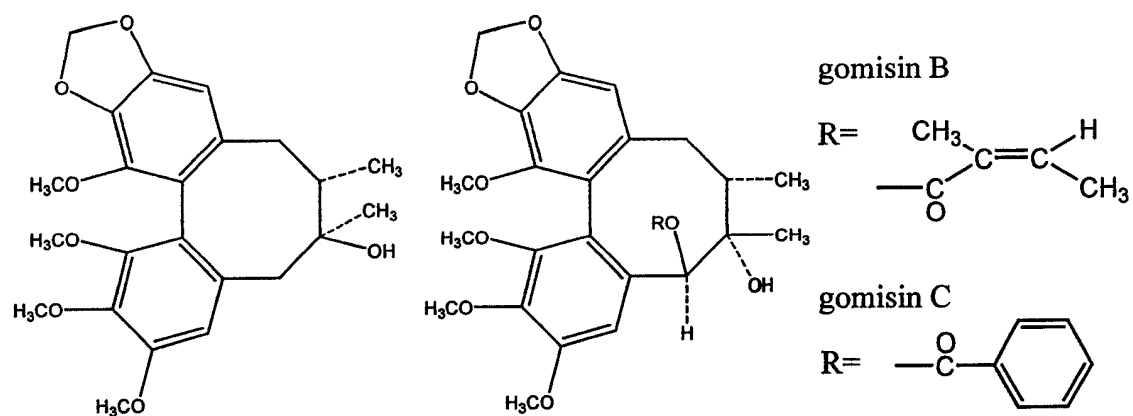
Methylschisandrol E

Methylschisantherinol E

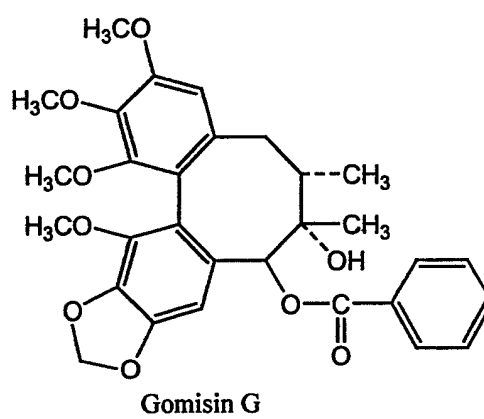
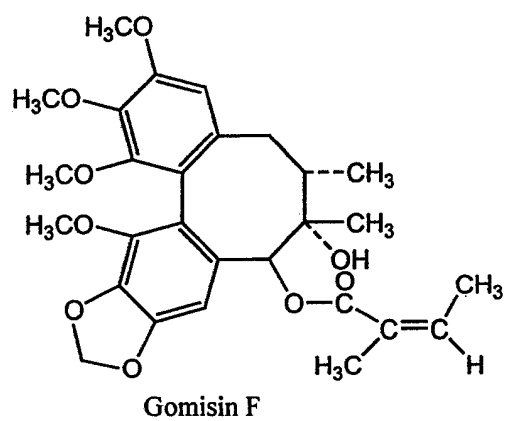
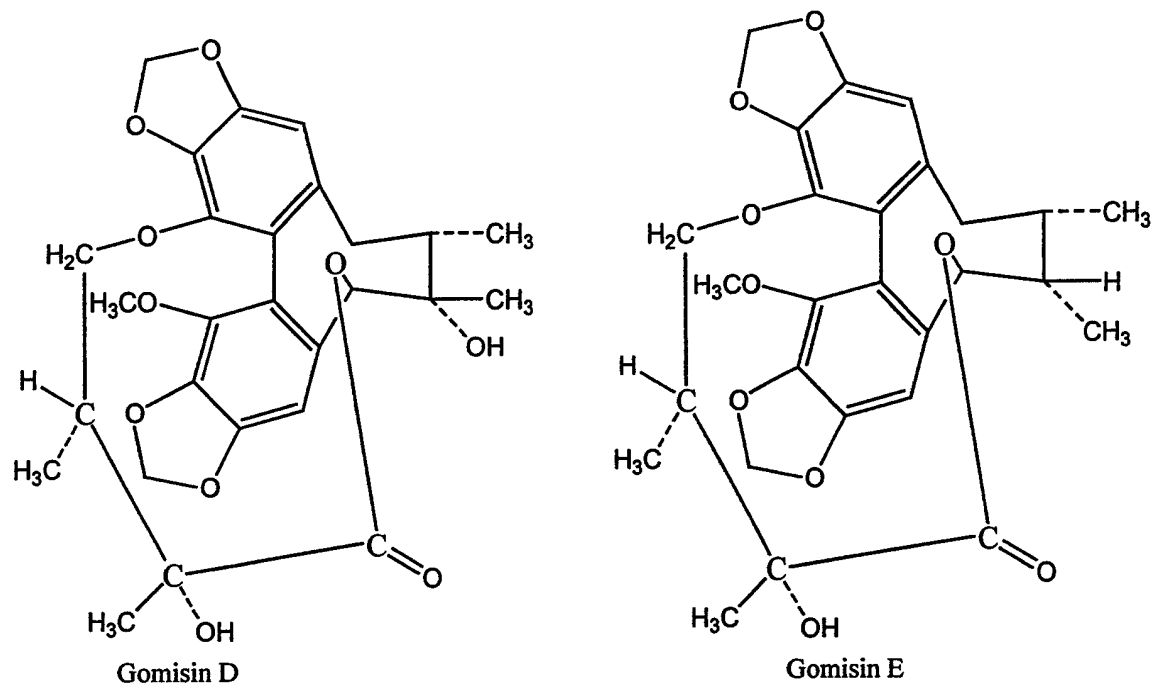


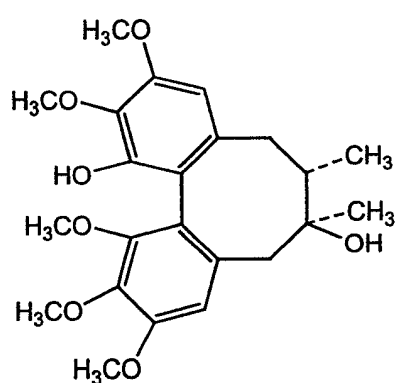
Angelogomisin P: R = Ang

Tiglogomisin P: R = Tig

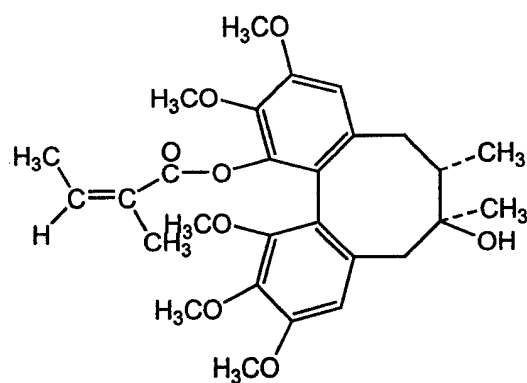


Gomisin A

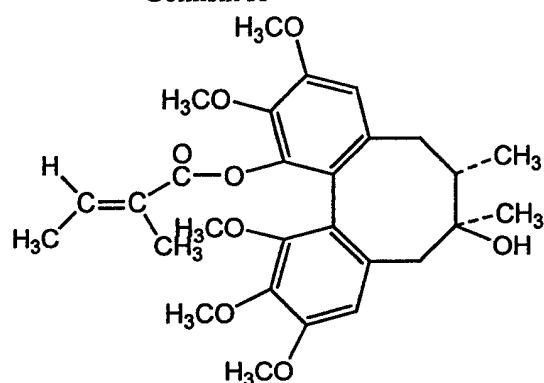




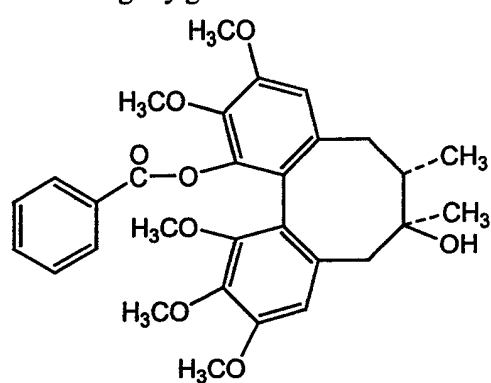
Gomisin H



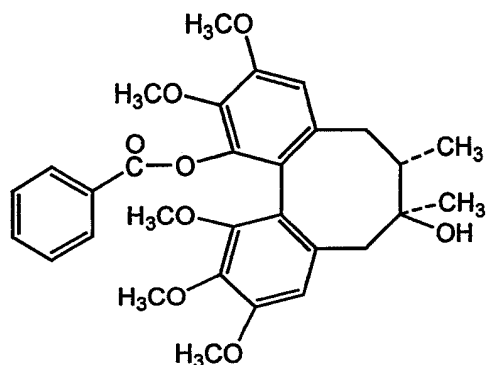
Angeloylgomisin H



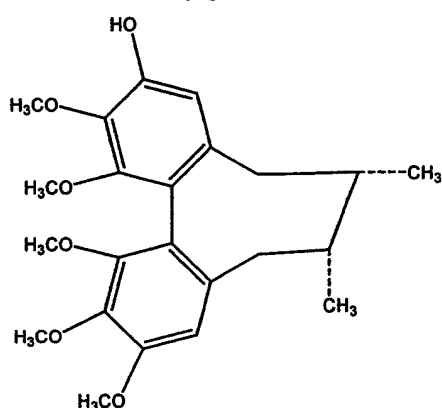
Tigloylgomisin H



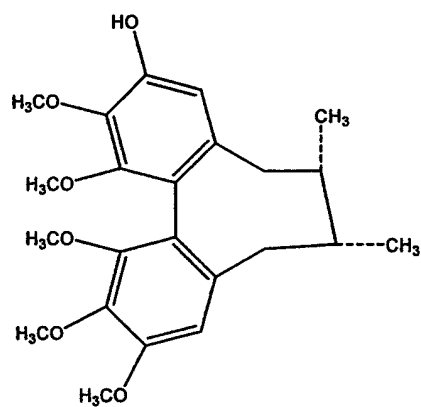
Benzoylgomisin H



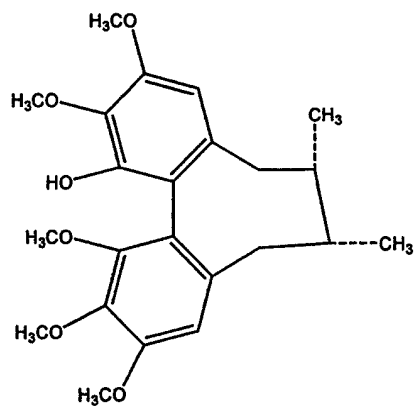
Gomisin J



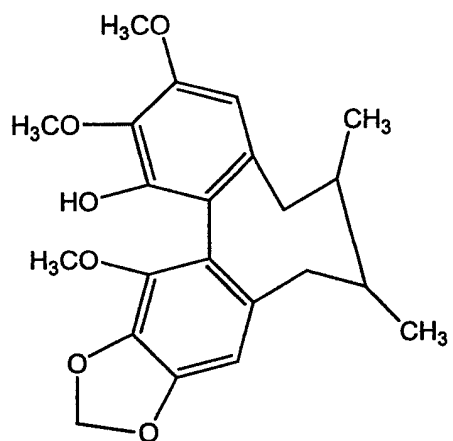
Gomisin K1



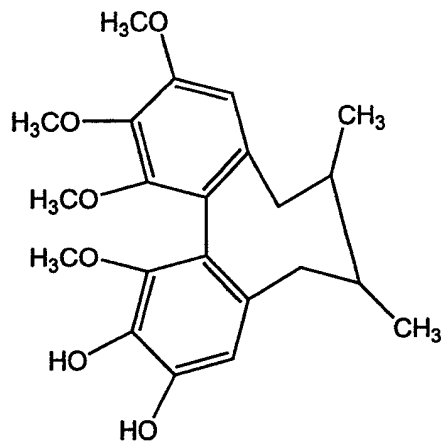
Gomisin K2



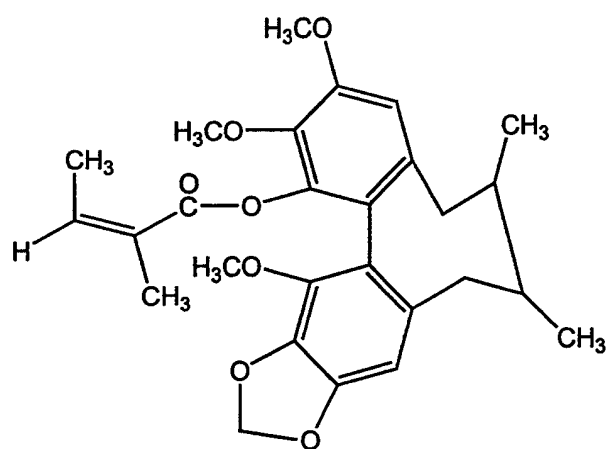
Gomisin K3



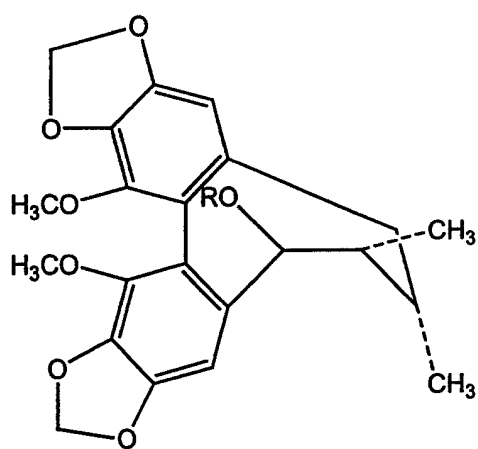
Gomisin M1



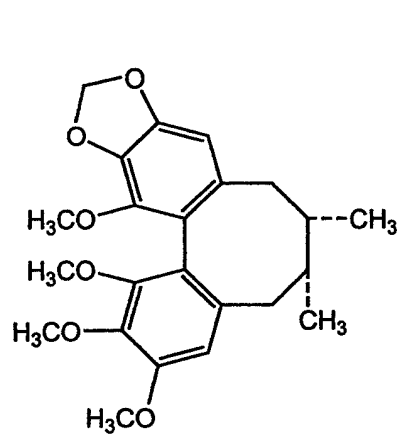
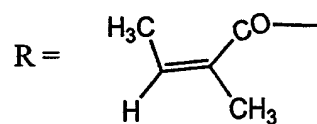
Gomisin M2



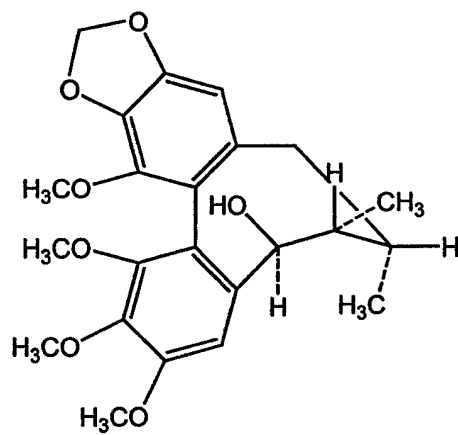
Angeloylgomisin M1



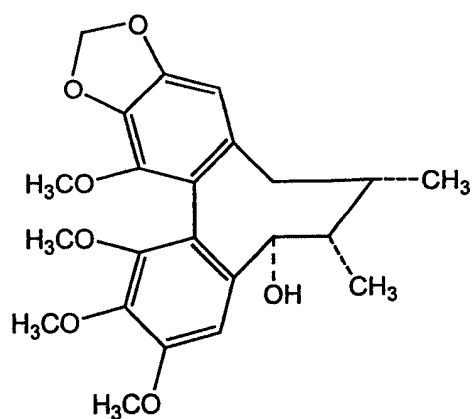
angeloylgomisin R



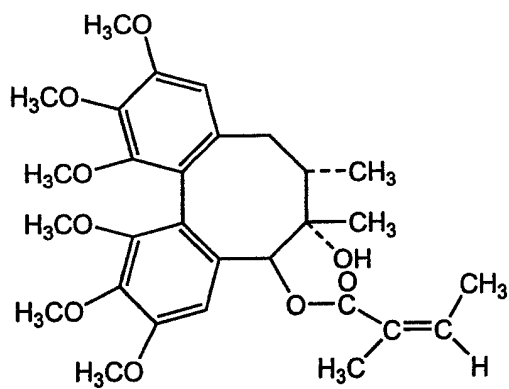
Gomisin N



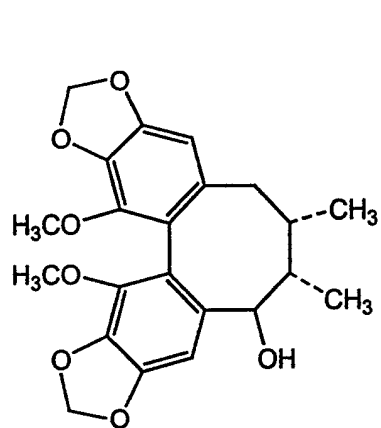
Gomisin O



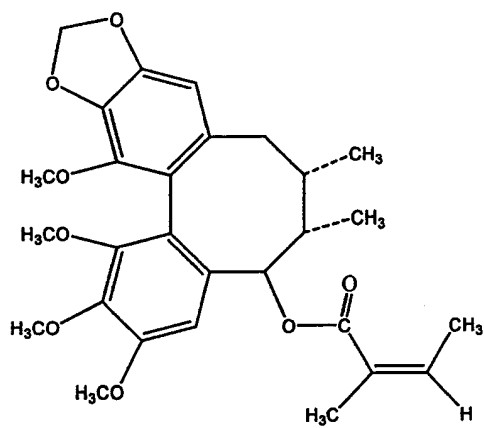
Epigomisin O



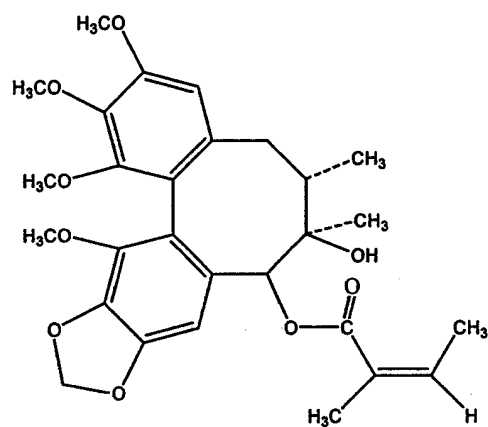
Gomisin Q



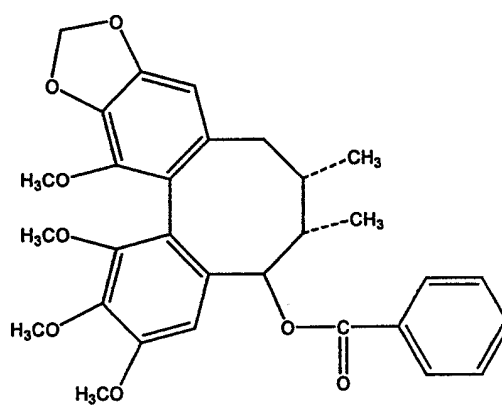
Gomisin R



Angelogomisin O

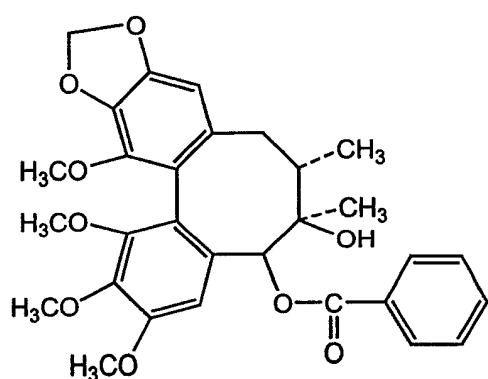


Angeloisogomisin O

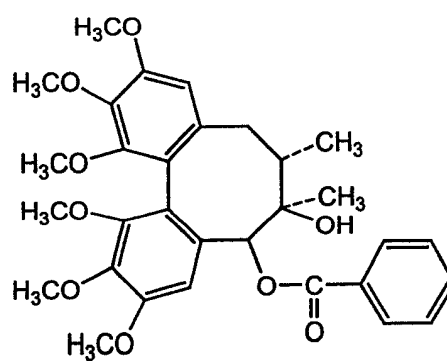


Benzoylgomisin O

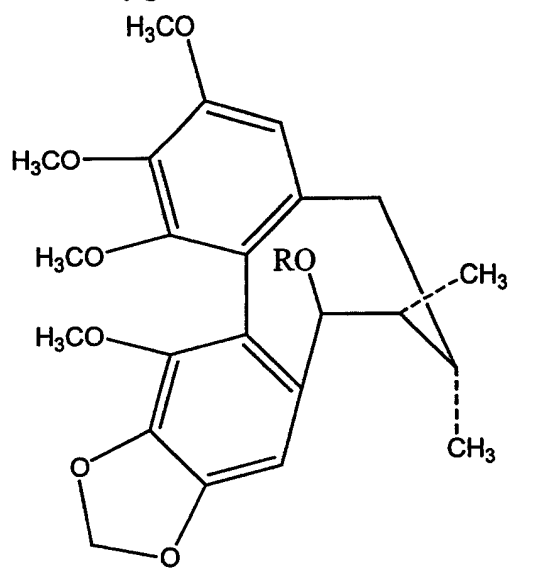




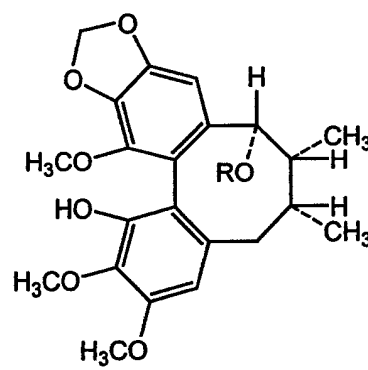
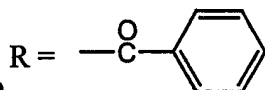
Benzoylgomisin P



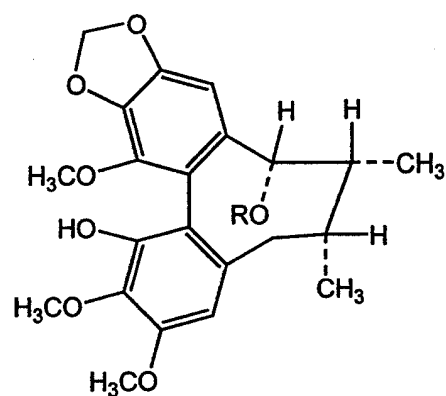
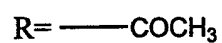
Benzoylgomisin Q



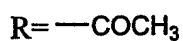
Benzoylisogomisin O



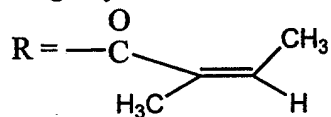
kadsurin



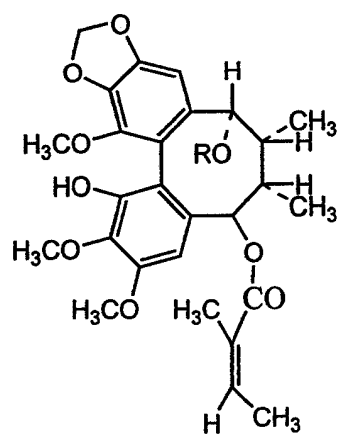
acetylbinankadsurin A:



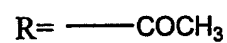
angeloylbinankadsurin A

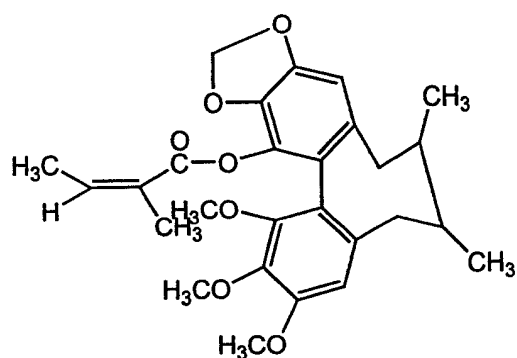


caproyl-binankadsurin A

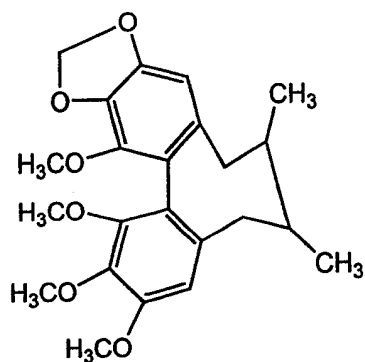


kadsurarin

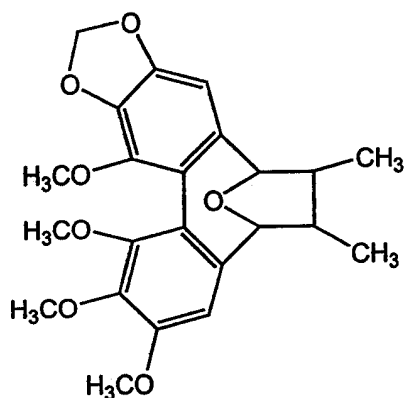




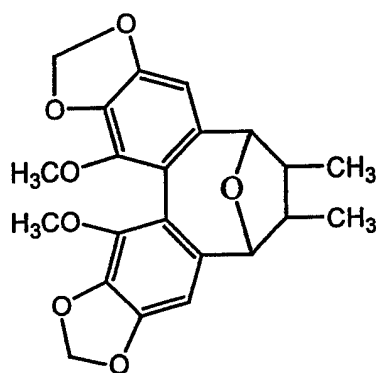
kadasutherin



isokadsuranin



neokadsuranin



5,8-epoxy-6,7-dimethyl  
2',3',2'',3''-dimethylenedioxy-4',1''-dimethoxy-1,2:3,4-dib  
enzo-1,3-cyclootadiene

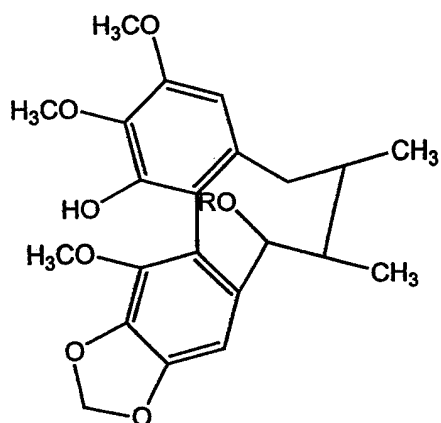
binankadsurin A: R = H

benzoylbinankadsurine A: R =

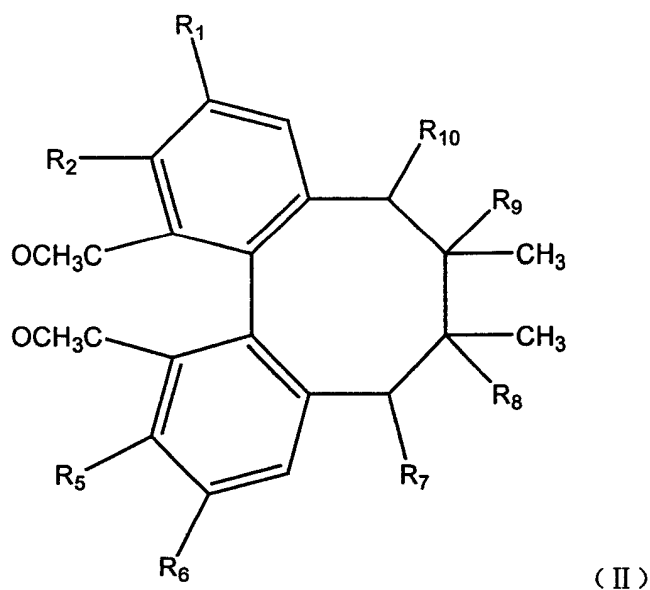
isovaleroylbinankadsurin A: R =

angeloylbinankadsurin A: R =

isobutyroylbinankadsurin A: R =

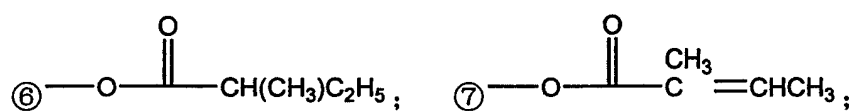
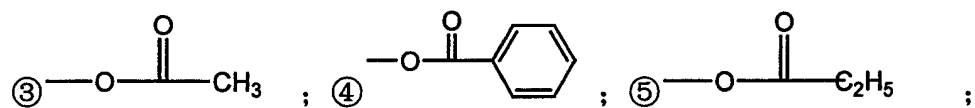


进一步,所述的联苯环辛二烯木脂素结构式如下:

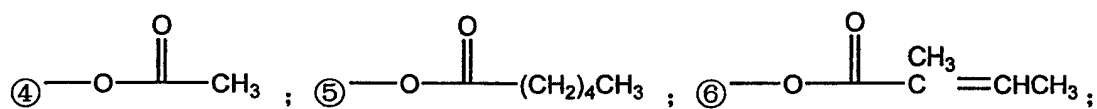
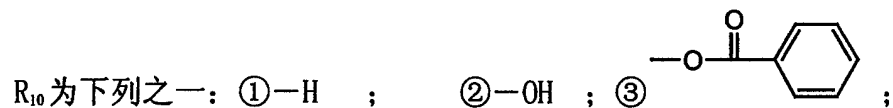


式中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_5$ 、 $R_6$  分别为羟基或甲氧基, 或者,  $R_1$  与  $R_2$  或  $R_5$  与  $R_6$  各自组成烷氧环;

$R_7$  为下列之一: ①—H ; ②—OH ;



$R_8$ 、 $R_9$  各自为下列之一: ①—H ; ②—OH ;



优选的, 所述的联苯环辛二烯木脂素为下式之一:

①五味子素 A ; ②五味子素 B ; ③五味子素 C ; ④五味子酯 A ; ⑤五味子酯 B ; ⑥五味子酯 C ; ⑦五味子酯 D ; ⑧五味子酯 E ; ⑨五味子醇 A ⑩五味子醇 B。

尤其的,所述的联苯环辛二烯木脂素可应用于制备肿瘤细胞多药耐药性逆转剂药物。

所述的逆转剂药物还可含有对联苯环辛二烯木脂素作为肿瘤细胞多药耐药性逆转剂敏感的抗肿瘤药物,及药物赋形剂或载体。

所述的对肿瘤细胞多药耐药性逆转剂敏感的抗肿瘤药物为下列之一或其任意比例的混合:

①P-糖蛋白的底物 ②多药耐药相关蛋白(multidrug resistant associated protein, MRP1)的底物 ③乳腺癌抗药蛋白(breast cancer resistant protein, BCRP)的底物。

具体的,所述的对肿瘤细胞多药耐药性逆转剂敏感的抗肿瘤药物为下列之一或其任意比例的混合:

Doxorubicin 阿霉素; Actinomycin 放线菌素; Altretamine; Bleomycin 博来霉素; Busulphan 白消安; Capecitabine 卡培他滨; Carboplatin 卡铂; Carmustine 卡莫司汀; Chlorambucil 苯丁酸氮芥; Cisplatin 顺铂; cyclophosphamide 环磷酰胺; cytarabine 阿糖胞苷; dacarabazine, daunorubicin 柔红霉素; epirubicin 表阿霉素; etoposide 依托泊甙; 足叶乙甙; 鬼臼乙叉甙; fludarabine 氟阿糖腺苷酸; fluorouracil 氟尿嘧啶; gemcitabine 吉西他滨; herceptin 赫赛汀; hydroxyurea 羟基脲; idarubicin 伊达比星; ifosfamide 异环磷酰胺; irinotecan 依立替康; lomustine 洛莫司汀; 环己亚硝脲; melphalan 美法仑; 左旋苯丙氨酸氮芥; mercaptopurine 巯基嘌呤; methotrexate 氨甲蝶呤; mitomycin 丝裂霉素; mitozantrone 米托蒽醌; 二羟基蒽酮; oxaliplatin 奥沙利铂; procarbazine 丙卡巴肼; 甲(基)苄肼; rituxan 美罗华; steroids 类固醇; streptozocin 链佐星; 链脲霉素; taxol 紫杉醇, taxotere 泰索帝; tamozolomide, thioguanine 硫鸟嘌呤; thiotepa 噻替哌; 硫替哌; 三胺硫磷; tomudex 雷替曲塞 (raltitrexed); topotecan 拓扑替康; treosulfan 曲奥舒凡; uracil-tegufur 尿嘧啶; vinblastine 长春碱; 长春花碱;

vindesine 长春地辛; vinorelbine 长春瑞宾。

所述的治疗肿瘤药物可制成下列之一的剂型:

①针剂 ②片剂 ③胶囊剂 ④颗粒剂 ⑤缓释剂。

所述的联苯环辛二烯木脂素也可应用于制备提高肿瘤对化疗药物的增敏剂药物。

所述的联苯环辛二烯木脂素还可应用于制备促进肿瘤细胞凋亡的药物。

所述的联苯环辛二烯木脂素应用于治疗肿瘤药物时也可采用两种或两种以上的混合物, 所述联苯环辛二烯木脂素以不同比例混合。

本发明所述的联苯环辛二烯木脂素在制备治疗肿瘤药物中的应用的有益效果如下: (1) 具有临床应用前景, 联苯环辛二烯木脂素可有效逆转肿瘤的多药耐药性, 该化合物作用于 P-糖蛋白, 可抑制 P-糖蛋白的功能; (2) 联苯环辛二烯木脂素具有较低的毒性, 因此, 联苯环辛二烯木脂素具有很好的临床肿瘤化疗的应用前景。

#### (四) 附图说明

图 1 为 P-糖蛋白在多药耐药细胞中的表达百分比。

图 2 为 P-糖蛋白在多药耐药细胞中的表达量。

图 3 为 MRP1 在多药耐药细胞中的表达百分比。

图 4 为 MRP1 在多药耐药细胞中的表达量。

图 5 为 10 种联苯环辛二烯木脂素增加柔红霉素在 P-糖蛋白高表达的 MDR 细胞 K562/Adr 细胞中的积聚。

图 6 为 10 种联苯环辛二烯木脂素可增加柔红霉素在 MRP1 高表达的 MDR 细胞 HL60/adr 细胞中的积聚。

#### (五) 具体实施方式

下面结合具体实施例对本发明进行进一步描述:

实施例 1: 多药耐药细胞的 P-糖蛋白 (P-gp) 和 MRP1 的检测。

##### (1) 实验材料:

细胞株：K562/adr、MCF7/adr 和 KBV200 多药耐药细胞株为 Pgp 蛋白高表达的细胞。

K562/adr 由浙江大学肿瘤研究所诱导建系，MCF-7/adr 和 KBV200 多药耐药细胞株购自中国医学科学院血液研究所。HL60/adr 为 MRP1 高表达的多药耐药肿瘤细胞株，购自中国医学科学院血液研究所。

试剂：P-gp 的单克隆荧光标记抗体为美国 BD 公司 R-PE-17F9。MRP1 单克隆荧光抗体购自美国 Santa Cruz 公司。

仪器：培养瓶，培养板，二氧化碳培养箱，流式细胞仪（FACS Calibur，美国 Becton-Dickinson 公司）。

## （2）实验方法：

细胞 P-gp 和 MRP1 表达测定：

取对数生长期各株细胞，收集细胞制成  $1 \times 10^6/\text{ml}$  的悬液，加入 P-gp 或 MRP1 单抗（1: 400），4℃避光反应 45min，PBS 洗三次，用 PBS 垂悬后，流式细胞仪检测细胞荧光强度。

## （3）实验结果：

图 1 为 K562/ADR, MCF7/adr, KBV200 的 P-gp(P-glycoprotein)的表达与其亲本药敏细胞 K562, MCF-7 和 KBV200 的比较。K562/adr 细胞中有 98%的细胞表达 P-gp，而 K562 细胞只有 1%的细胞有 P-gp 的表达；MCF7/adr 细胞中有 96%的细胞表达 P-gp，而 MCF-7 细胞只有 3%的细胞有 P-gp 的表达；KBV200 细胞中有 92%的细胞表达 P-gp，而 KB 细胞只有 1%的细胞有 P-gp 的表达。

图 2 为 K562/ADR, MCF7/adr, KBV200 的 P-gp(P-glycoprotein)的表达量与其亲本药敏细胞 K562, MCF-7 和 KBV200 的比较。K562/adr、MCF7/adr KBV200 细胞 P-gp 的表达量分别为其药敏亲本细胞 K562、MCF-7 和 KB 细胞的 24.4, 25.3 和 24.2 倍。

图 3 为 HL60/adr 的 MRP1 的表达与其亲本药敏细胞 HL60 的比较。HL60 细胞中有 97%的细胞表达 MRP1，而 HL60 细胞只有 1%的细胞有 MRP1 的表达；

图 4 为 HL60/adr 的 MRP1 的表达量与其亲本药敏细胞 HL60 的比较。HL60/adr 细胞 MRP1

的表达量为其药敏亲本细胞 HL60 细胞的 23.4 倍。

(4) 结论:

K562/ADR, MCF7/adr, KBV200 为 P-gp 高表达的多药耐药细胞株。即: P-gp 为这些细胞多药耐药的主要原因。HL60/adr 为 MRP1 高表达的多药耐药细胞株, 即: MRP1 为这些细胞多药耐药的主要原因。

实施例 2: 联苯环辛二烯木脂素的逆转 P-糖蛋白介导的肿瘤多药耐药性

为证明带有联苯环辛二烯的木脂素均有逆转 P-糖蛋白介导的肿瘤多药耐药性的作用, 我们用 10 种结构不同的联苯环辛二烯木脂素做了研究。这 10 种联苯环辛二烯木脂素分别为: 五味子素 A、五味子素 B、五味子素 C、五味子酯 A、五味子酯 B、五味子酯 C、五味子酯 D、五味子酯 E、五味子醇 A、和五味子醇 B。这些木脂素购自中国生物制品与药物鉴定所和成都思科华生生物技术有限公司。

细胞株: K562/adr、MCF7/adr、KBV200 多药耐药细胞株以 Pgp 蛋白高表达为主要耐药机制。

试剂: 将各种联苯环辛二烯木脂素分别溶于 DMSO, 配成 10 mg/ml 作为母液, 再以 RPMI-1640 配成工作液; RPMI-1640 培养基; 柔红霉素。

仪器: 培养瓶, 培养板, FCM。

(2) 实验方法:

FACS 法分析细胞内柔红霉素 DNR 积聚: K562/adr、MCF7/adr、KBV200 细胞培养于无药物的新鲜培养液中。实验分为 2 组, 对照组和逆转组。对照组加入新鲜培养液, 逆转组加入联苯环辛二烯木脂素至终浓度为 10 $\mu$ g/ml, 孵育 1h 后加入柔红霉素 DNR, 浓度分别为 2  $\mu$ g/ml, 37 $^{\circ}$ C 温育 90 分钟后用 FCM 分析药物在细胞内的积聚。

(3) 实验结果:

图 5 说明 10 种联苯环辛二烯木脂素均可增加柔红霉素在 MDR 细胞 K562/Adr 细胞中的积聚。图中: A: K562/adr 细胞+柔红霉素; B: K562/adr 细胞+柔红霉素 + 五味

子素 A; C: K562/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子素 B; D: K562/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子素 C; E: K562/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子酯 A; F: K562/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子酯 B; G: K562/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子酯 C; H: K562/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子酯 D; I: K562/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子酯 E; J: K562/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子醇 A; K: K562/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子醇 B。

结论: 联苯环辛二烯木脂素可抑制 P-糖蛋白的功能, 恢复 MDR 肿瘤细胞内的药物积聚。这 10 种联苯环辛二烯木脂素逆转 P-糖蛋白介导的 MDR 的活性并不相同。

### 实施例 3: 联苯环辛二烯木脂素抑制 MRP1 介导的肿瘤多药耐药性

#### (1) 实验材料:

细胞株: HL60/adr 多药耐药细胞株以 MRP1 蛋白高表达为主要耐药机制。

试剂: 将各种联苯环辛二烯木脂素分别溶于 DMSO, 配成 10 mg/ml 作为母液, 再以 RPMI 1640 配成工作液; 柔红霉素。

仪器: 培养瓶, 培养板, FCM。

#### (2) 实验方法:

FACS 法分析细胞内柔红霉素积聚: HL60/adr 细胞培养于无药物的新鲜培养液中。实验分为 2 组, 对照组和逆转组。对照组加入新鲜培养液, 逆转组加入联苯环辛二烯木脂素至终浓度为 10 $\mu$ g/ml, 孵育 1h 后加入柔红霉素 DNR, 浓度分别为 2  $\mu$ g/ml, 37 $^{\circ}$ C 温育 90 分钟后用 FCM 分析药物在细胞内的积聚。

#### (3) 实验结果:

图 6 说明 10 种联苯环辛二烯木脂素均可增加柔红霉素在 MDR 细胞 HL60/adr 细胞中的积聚。图中: A: HL60/adr 细胞+柔红霉素; B: HL60/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子素 A; C: HL60/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子素 B; D: HL60/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子素 C; E: HL60/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子酯 A; F: HL60/adr 细胞



+柔红霉素 + 五味子酯 B; G: HL60/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子酯 C; H: HL60/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子酯 D; I: HL60/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子酯 E; J: HL60/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子醇 A; K: HL60/adr 细胞+柔红霉素 + 五味子醇 B。

结论：联苯环辛二烯木脂素可抑制 MRP1 的功能，增加 MDR 肿瘤细胞内的药物积聚。

实施例 4：联苯环辛二烯木脂素逆转 P-gp 介导的肿瘤多药耐药性的量效关系

细胞：K562/adr 多药耐药细胞株以 Pgp 蛋白高表达为主要耐药机制。

试剂：五味子素 A 或五味子酯 A 溶于 DMSO，配成 10 mg/ml 作为母液，再以 RPMI-1640 配成工作液；RPMI-1640 培养基；柔红霉素。

实验方法：

细胞接种到 96 孔细胞培养板，每孔 8000 个细胞，培养过夜后，加入不同浓度的五味子素 A 或五味子酯 A 和不同浓度的柔红霉素（1、10、100、1000、10000ng/ml），继续培养 72 小时后，做 MTT 实验。细胞抑制率（IR）=[1-(实验孔 A 均值/对照孔 A 均值)]×100%。计算 IR 采用 Origin 7.0 数据处理软件用 Sigmodel 函数拟合求出半数抑制浓度（IC<sub>50</sub>），每实验重复三次。联苯环辛二烯木脂素对 MDR 细胞的抗药逆转倍数为 IC<sub>50</sub>（加一种联苯环辛二烯木脂素）除以 IC<sub>50</sub>（不加联苯环辛二烯木脂素）。

实验结果：

五味子素 A 和五味子酯 A 在浓度为 1μg/ml 至 20 μg/ml 范围内，对多药耐药的逆转呈剂量依赖性，试验结果见表 2：

表 2:联苯环辛二烯木脂素五味子素 A 和五味子酯 A 逆转 K562/adr 对柔红霉素抗药性的量效关系

联苯环辛二烯木脂素	IC <sub>50</sub> (ng/ml)	抗药性逆转倍数
对照	4780 ± 1327	
五味子素 A		

1 $\mu\text{g/ml}$	$568 \pm 89$	8
10 $\mu\text{g/ml}$	$67 \pm 23$	71
20 $\mu\text{g/ml}$	$48 \pm 18$	100
五味子酯 A		
1 $\mu\text{g/ml}$	$266 \pm 65$	18
10 $\mu\text{g/ml}$	$71 \pm 16$	67
20 $\mu\text{g/ml}$	$30 \pm 8$	159

#### 实施例 5：联苯环辛二烯木脂素对 P-gp 介导的肿瘤多药耐药性的逆转

细胞：K562/adr、MCF7/adr、KBV200 多药耐药细胞株以 Pgp 蛋白高表达为主要耐药机制。

试剂：五味子素 A、五味子素 B、五味子素 C、五味子酯 A、五味子酯 B、五味子酯 C、五味子酯 D、五味子酯 E、五味子醇 A、和五味子醇 B 分别溶于 DMSO，配成 10 mg/ml 作为母液，再以 RPMI-1640 配成工作液；RPMI-1640 培养基；阿霉素，长春新碱，紫杉醇。

仪器：培养瓶，培养板，FCM。

#### 实验方法：

细胞接种到 96 孔细胞培养板，每孔 8000 个细胞，培养过夜后，加入一种联苯环辛二烯木脂素和抗癌药（阿霉素、长春新碱或紫杉醇等），继续培养 72 小时后，做 MTT 实验。细胞抑制率（IR）=  $[1 - (\text{实验孔 A 均值} / \text{对照孔 A 均值})] \times 100\%$ 。计算 IR 采用 Origin 7.0 数据处理软件用 Sigmodel 函数拟合求出半数抑制浓度（ $IC_{50}$ ），每实验重复三次。联苯环辛二烯木脂素 MDR 细胞的抗药逆转倍数为  $IC_{50}$ （加一种联苯环辛二烯木脂素）除以  $IC_{50}$ （不加联苯环辛二烯木脂素）。

#### 实验结果：

联苯环辛二烯木脂素可逆转多药耐药肿瘤细胞的抗药性。结果见表 3、表 4、表 5。

表 3. 10 种联苯环辛二烯木脂素逆转多药耐药肿瘤细胞对阿霉素的耐药性

联苯环辛二烯木脂素 (10 µg/ml)	IC50 (ng/ml)		
	K562/adr	KBv200	MCF-7/adr
对照	4780 ± 1237	26 ± 6	2556 ± 638
五味子素 A	67 ± 23 (71)	2.5 ± 0.6 (10.4)	245 ± 35 (10.4)
五味子素 B	167 ± 28 (29)	5.3 ± 1.6 (4.9)	189 ± 29 (14)
五味子素 C	89 ± 21 (53)	3.6 ± 1.1 (7.2)	132 ± 23 (19)
五味子酯 A	71 ± 16 (67)	3.4 ± 0.7 (7.6)	59 ± 12 (43)
五味子酯 B	39 ± 8 (122)	1.8 ± 0.5 (14)	157 ± 28 (16)
五味子酯 C	83 ± 15 (58)	3.6 ± 0.7 (7)	98 ± 26 (26)
五味子酯 D	93 ± 21 (51)	2.9 ± 0.5 (9)	163 ± 35 (16)
五味子酯 E	67 ± 23 (90)	2.8 ± 0.7 (9.2)	67 ± 21 (38)
五味子醇 A	860 ± 195 (6)	11 ± 2 (2.4)	564 ± 162 (5)
五味子醇 B	923 ± 201 (5)	12 ± 3 (2.2)	642 ± 189 (4)

括号内的数值代表抗药性的逆转倍数。

表 4. 10 种联苯环辛二烯木脂素逆转多药耐药肿瘤细胞对长春新碱的耐药性

联苯环辛二烯木脂素 (10 µg/ml)	IC50 (ng/ml)		
	K562/adr	KBv200	MCF-7/adr
对照	612 ± 139	22 ± 3	501 ± 67
五味子素 A	7.3 ± 2.5 (84)	3.0 ± 0.6 (7)	8.4 ± 2.1 (60)
五味子素 B	11 ± 3 (56)	3.1 ± 0.5 (7)	7.2 ± 1.9 (70)
五味子素 C	14 ± 5 (44)	4.2 ± 0.8 (5)	9.8 ± 2.2 (51)
五味子酯 A	7.7 ± 2.1 (79)	3.7 ± 0.9 (6)	24 ± 5 (21)
五味子酯 B	12 ± 3 (51)	2.5 ± 0.6 (9)	26 ± 7 (19)
五味子酯 C	6 ± 2 (102)	3.1 ± 0.5 (7)	27 ± 8 (19)
五味子酯 D	7 ± 3 (87)	2.5 ± 0.6 (9)	31 ± 5 (16)
五味子酯 E	15 ± 3 (41)	3 ± 1 (7)	21 ± 3 (24)
五味子醇 A	89 ± 13 (7)	12 ± 4 (2)	126 ± 32 (4)

五味子醇 B	102 ± 27 (6)	9 ± 2 (2)	112 ± 23 (4)
--------	--------------	-----------	--------------

括号内的数值代表抗药性的逆转倍数。

表 5. 10 种联苯环辛二烯木脂素逆转多药耐药肿瘤细胞对紫杉醇的耐药性

联苯环辛二烯木脂素 ( 10 µg/ml)	IC50 (ng/ml)		
	K562/adr	KBv200	MCF-7/adr
对照	38 ± 5	20 ± 2	41 ± 5
五味子素 A	6.4 ± 1.3 (6)	1.9 ± 0.2(11)	6.1 ± 2.0(7)
五味子素 B	7.9 ± 2.1 (5)	2.5 ± 0.4(8)	7.9 ± 2.5(5)
五味子素 C	8.6 ± 2.3 (4)	3.6 ± 0.8(6)	5.5 ± 1.5(7)
五味子酯 A	1.1 ± 0.4 (35)	2.4 ± 0.3(8)	6.3 ± 1.5(7)
五味子酯 B	0.9 ± 0.2(42)	1.9 ± 0.4(11)	5.6 ± 1.9(7)
五味子酯 C	1.5 ± 0.4(25)	1.6 ± 0.3(13)	5.5 ± 2.1(8)
五味子酯 D	2.6 ± 0.5(15)	2.1 ± 0.5(10)	7.9 ± 2.8(5)
五味子酯 E	3.8 ± 1.0(10)	3.5 ± 0.9(6)	8.2 ± 3.1(5)
五味子醇 A	12 ± 3(3)	8 ± 3(3)	19 ± 5(2)
五味子醇 B	10 ± 2(4)	9 ± 2(2)	21 ± 3(2)

括号内的数值代表抗药性的逆转倍数。

结论：各种联苯环辛二烯木脂素均可抑制 P-gp 介导的肿瘤多药耐药性，虽然每种联苯环辛二烯木脂素逆转肿瘤多药耐药性的活性有强弱之分。

实施例 6： 联苯环辛二烯木脂素逆转 MRP1 介导的肿瘤多药耐药性

细胞：HL60/adr 多药耐药细胞株以 MRP1 蛋白高表达为主要耐药机制。

试剂：各种联苯环辛二烯木脂素分别溶于 DMSO，配成 10 mg/ml 作为母液，再以 RPMI —1640 配成工作液；RPMI —1640 培养基。

仪器：培养瓶，培养板， FCM。

实验方法：

细胞接种到 96 孔细胞培养板, 每孔 8000 个细胞, 培养过夜后, 加入各种联苯环辛二烯木脂素和抗癌药 (紫杉醇、阿霉素或长春新碱等), 继续培养 72 小时后, 做 MTT 实验。细胞抑制率 (IR) =  $[1 - (\text{实验孔 A 均值} / \text{对照孔 A 均值})] \times 100\%$ 。计算 IR 采用 Origin 7.0 数据处理软件用 Sigmodel 函数拟合求出半数抑制浓度 ( $IC_{50}$ ), 每实验重复三次。各种联苯环辛二烯木脂素对 MDR 细胞的抗药逆转倍数为  $IC_{50}$  (加一种联苯环辛二烯木脂素) 除以  $IC_{50}$  (不加联苯环辛二烯木脂素)。

实验结果:

各种联苯环辛二烯木脂素可逆转多药耐药肿瘤细胞 HL60/adr 的抗药性。结果见表 6。

表 6. 联苯环辛二烯木脂素逆转多药耐药肿瘤细胞的耐药性

联苯环辛二烯木脂素 (10 $\mu\text{g/ml}$ )	$IC_{50}$ (ng/ml)		
	阿霉素	长春新碱	紫杉醇
对照	160 $\pm$ 21	89 $\pm$ 12	32 $\pm$ 4
五味子素 A	52 $\pm$ 11 (3)	3.2 $\pm$ 0.7 (28)	4.2 $\pm$ 0.8 (8)
五味子素 B	48 $\pm$ 11 (3)	2.3 $\pm$ 0.5 (39)	4.1 $\pm$ 1.2 (8)
五味子素 C	42 $\pm$ 13 (4)	3.1 $\pm$ 0.8 (29)	4.2 $\pm$ 0.7 (8)
五味子酯 A	56 $\pm$ 11 (3)	3.9 $\pm$ 1.2 (23)	4.3 $\pm$ 1.4 (8)
五味子酯 B	43 $\pm$ 12 (4)	2.6 $\pm$ 0.8 (34)	3.2 $\pm$ 1.2 (10)
五味子酯 C	61 $\pm$ 20 (3)	3.9 $\pm$ 0.6 (30)	5.2 $\pm$ 2.1 (6)
五味子酯 D	73 $\pm$ 23 (2)	2.8 $\pm$ 1.3 (32)	3.8 $\pm$ 1.2 (8)
五味子酯 E	35 $\pm$ 11 (5)	5.1 $\pm$ 2.1 (17)	2.9 $\pm$ 0.6 (11)
五味子醇 A	73 $\pm$ 21 (2)	21 $\pm$ 3 (4)	5.2 $\pm$ 1.8 (6)
五味子醇 B	81 $\pm$ 20 (2)	19 $\pm$ 2 (5)	8.3 $\pm$ 2.1 (4)

括号内的数值代表抗药性的逆转倍数。

结论: 联苯环辛二烯木脂素可抑制 MRP1 功能, 逆转 MRP1 介导的肿瘤多药耐药性。

实施例 7: 联苯环辛二烯木脂素的促肿瘤细胞的凋亡作用。

### (1) 实验材料:

细胞株: HMMC7721 为肝癌细胞系, 由中科院上海细胞所提供。

试剂: 将各种联苯环辛二烯木脂素分别溶于 DMSO, 配成 10 mg/ml 作为母液, 再以 RPMI 1640 配成工作液; 阿霉素。

仪器: 培养瓶, 培养板, FCM。

### (2) 实验方法:

FACS 法分析联苯环辛二烯木脂素的促肿瘤细胞的凋亡作用: HMMC7721 细胞培养于无药物的新鲜培养液中。实验分为 4 组, 对照 1 为细胞无阿霉素和木脂素处理; 对照 2 为仅用木脂素 (10  $\mu\text{g/ml}$ ) 处理; 阿霉素组为用 0.5  $\mu\text{g/ml}$  的阿霉素处理; 阿霉素+木脂素组为先用木脂素 (10  $\mu\text{g/ml}$ ) 处理 24 小时后, 再加阿霉素 (0.5  $\mu\text{g/ml}$ ) 处理。以上细胞培养 24 小时后, 分别用碘化丙啶 (Propidium iodide, PI) 染色法和 AnnexinV-FITC 染色法用 FACS 测定细胞凋亡数。PI 和 AnnexinV-FITC 试剂盒均购自美国 Sigma 公司。

#### PI 法:

收集细胞, 用冷 PBS 洗细胞两次, 将细胞用 70%乙醇固定, 混匀, 固定, 按试剂盒说明书对细胞染色, 用 FACS 检测, 激发波长 488nm, 发射波长 630nm。凋亡细胞为亚二倍体。

#### AnnexinV-FITC 法

收集细胞, 用冷 PBS 洗细胞两次, 按试剂盒按试剂盒说明书对细胞染色, 用 FACS 检测, 激发波长 488nm, 发射波长 525nm(AnnexinV-FITC)。凋亡细胞为被 Annexin V-FITC 标记的细胞。

#### 实验结果:

表 7 说明, HMMC7721 肝癌细胞经过联苯环辛二烯木脂素 (10  $\mu\text{g/ml}$ ) 处理 24 小时后, 显著促进抗肿瘤药诱导的肿瘤细胞的凋亡。

表 7. 碘化丙啶 (Propidium iodide, PI) 染色法检测联苯环辛二烯木脂素促进阿霉

素诱导 HMMC7721 肝癌细胞的凋亡（亚二倍体细胞）。

	凋亡细胞（亚二倍体细胞）%			
	对照 1	对照 2	阿霉素组	阿霉素+木脂素组
五味子素 A	1.8 ± 1.7	2.4 ± 1.5	15 ± 7	38 ± 11 (2.5)
五味子素 B	1.8 ± 1.7	2.3 ± 1.7	15 ± 7	35 ± 9 (2.3)
五味子酯 A	1.8 ± 1.7	2.1 ± 1.4	15 ± 7	32 ± 7 (2.1)
五味子酯 B	1.8 ± 1.7	1.9 ± 1.5	15 ± 7	30 ± 6 (2.0)

表中：对照 1 为细胞无阿霉素和木脂素处理；对照 2 为仅用木脂素（10 μg/ml）处理；阿霉素组为用 0.5 μg/ml 的阿霉素处理；阿霉素+木脂素组为先用木脂素（10 μg/ml）处理 24 小时，再加阿霉素（0.5 μg/ml）处理。表中括号内的数据为增敏倍数，即阿霉素组+木脂素组的凋亡细胞除以阿霉素组的凋亡细胞。

用 AnnexinV-FITC 法检测联苯环辛二烯木脂素促进阿霉素诱导肿瘤细胞的凋亡，得到与表 7 相似的结果。

表 8: AnnexinV-FITC 法检测联苯环辛二烯木脂素促进阿霉素诱导 HMMC7721 肝癌细胞的凋亡。

	凋亡细胞（亚二倍体细胞）%			
	对照 1	对照 2	阿霉素组	阿霉素+木脂素组
五味子素 A	1.6 ± 1.3	2.1 ± 1.2	14 ± 8	31 ± 8 (2.2)
五味子素 B	1.6 ± 1.3	2.5 ± 0.9	14 ± 8	29 ± 7 (2.1)
五味子酯 A	1.6 ± 1.3	2.3 ± 1.1	14 ± 8	30 ± 5 (2.1)
五味子酯 B	1.6 ± 1.3	2.2 ± 1.6	14 ± 8	35 ± 8 (2.5)

表中：对照 1 为细胞无阿霉素和木脂素处理；对照 2 为仅用木脂素（10 μg/ml）处理；阿霉素组为用 0.5 μg/ml 的阿霉素处理；阿霉素+木脂素组为先用木脂素（10 μg/ml）处理 24 小时，再加阿霉素（0.5 μg/ml）处理。表中括号内的数据为增敏倍数，即阿霉素组+木脂素组的凋亡细胞除以阿霉素组的凋亡细胞。

HMMC7721 不是一个抗药细胞株，为一对抗癌药敏感的肝癌细胞系。以上结果表明，联苯环辛二烯木脂素能显著促进阿霉素诱导 HMMC 肝癌细胞的凋亡，因此，联苯环辛

二烯木脂素可应用于肿瘤化疗的增敏剂的制备。

实施例 1 至 6 说明联苯环辛二烯木脂素可有效抑制 P-gp 和 MRP1, 这两个‘药泵’可使肿瘤细胞产生对多种抗癌药的抗性(详见 Gottesman MM et al: Nature Medicine, 2:48-58, 2001; Krishna R et al: European Journal of Pharmaceutical Science 11:265-283, 2000)。在 MDR 逆转药物的研究中, 公认只要确定 MDR 逆转药物作用的靶点, 并能逆转 MDR 细胞对典型抗癌药的抗药性, 就可认为该药物可逆转 MDR 肿瘤对其他药物的抗药性 (Teodori E et al: Il Farmaco 57:385-415, 2002; Seelig A et al: European Journal of Pharmaceutical Sciences 12:31-40, 2000; United States Patent Serial No 003215; United States Patent Serial No 714506; United States Patent Serial No 354443)。在实施例中证实了联苯环辛二烯木脂素的作用靶点(P-gp, MRP1), 并明确联苯环辛二烯木脂素可有效逆转 MDR 肿瘤细胞对的典型药物的抗药性逆转, 因此推论联苯环辛二烯木脂素也可逆转 MDR 肿瘤对其他抗肿瘤药物的抗药性。

在实施例中用了 10 种带有联苯环辛二烯母核结构的木脂素, 这些化合物均有逆转 P-糖蛋白和 MRP1 介导的肿瘤多药耐药性的功能, 因此, 带有联苯环辛二烯母核结构是该类化合物逆转 P-糖蛋白和 MRP1 介导的肿瘤多药耐药性的关键结构。因此也可在带有联苯环辛二烯母核结构的化合物上做化学修饰而得到新的肿瘤多药耐药逆转剂。

综上所述: 联苯环辛二烯木脂素可有效逆转由 P-gp、MRP1、BCRP 等介导的肿瘤多药耐药性, 因此, 联苯环辛二烯木脂素可制成逆转肿瘤多药耐药性的药物。其安全性好, 因此具有较大的临床应用前景。



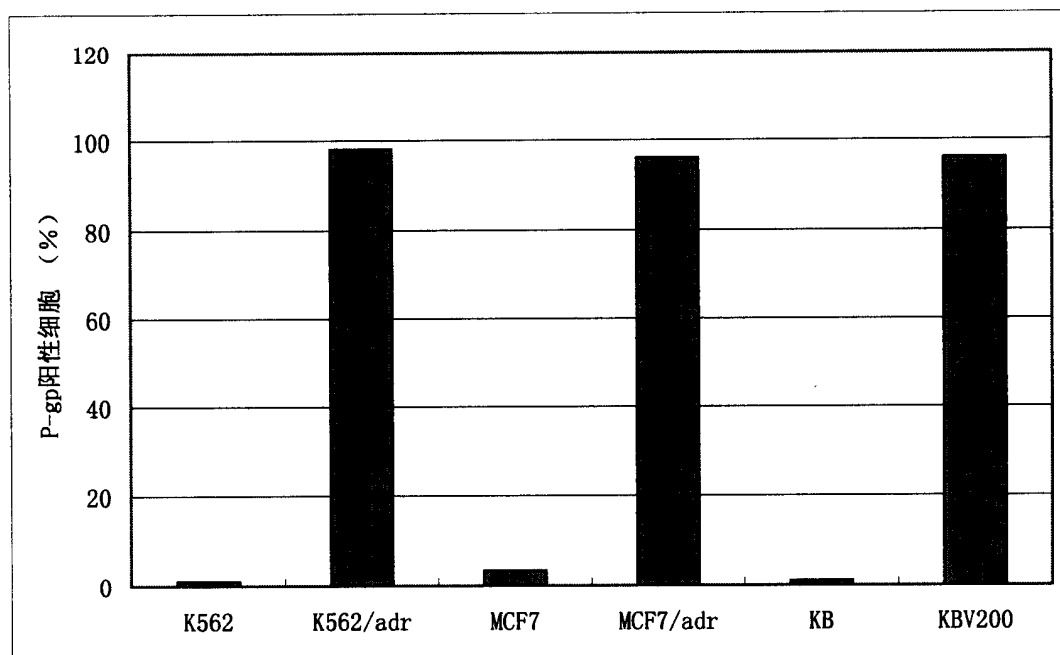


图 1

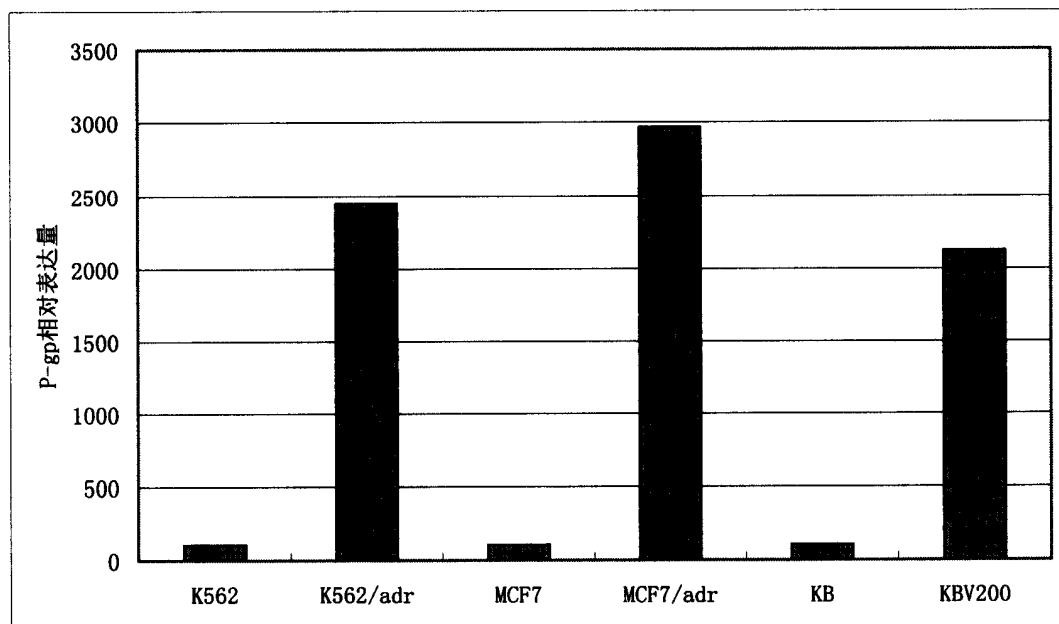


图 2

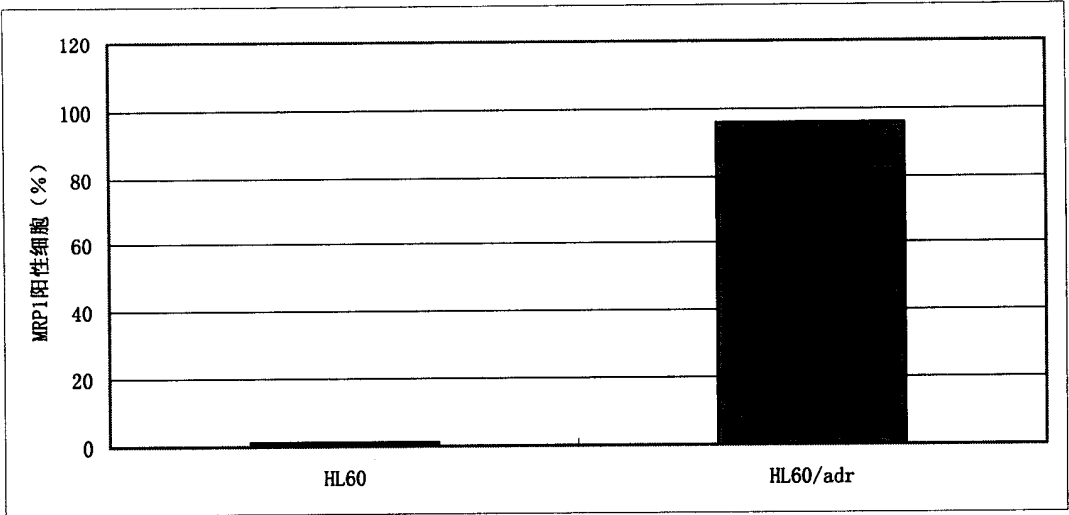


图 3

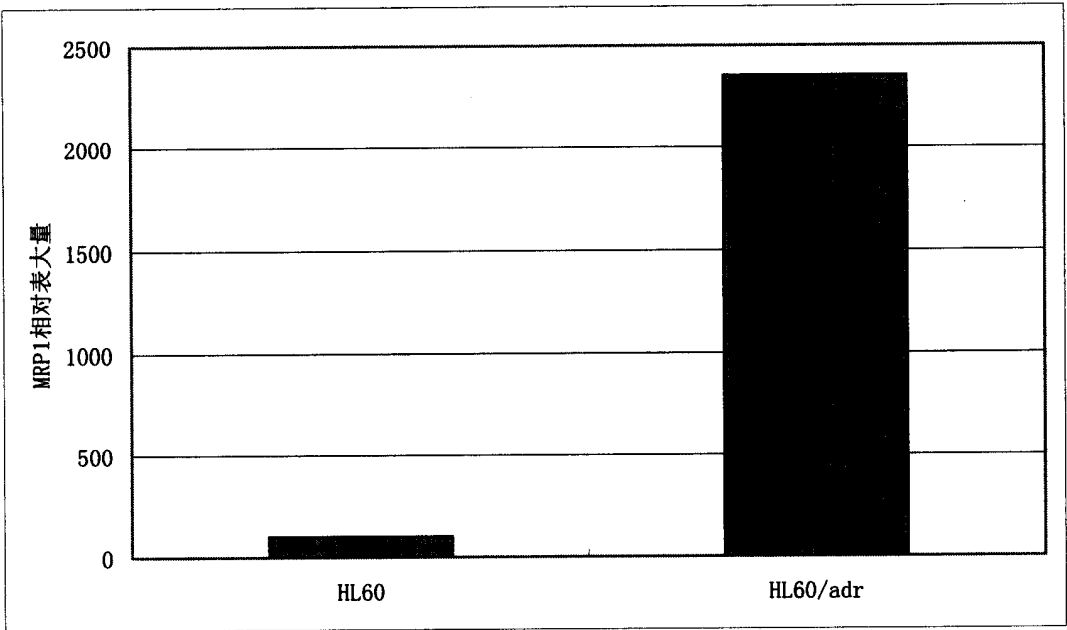


图 4

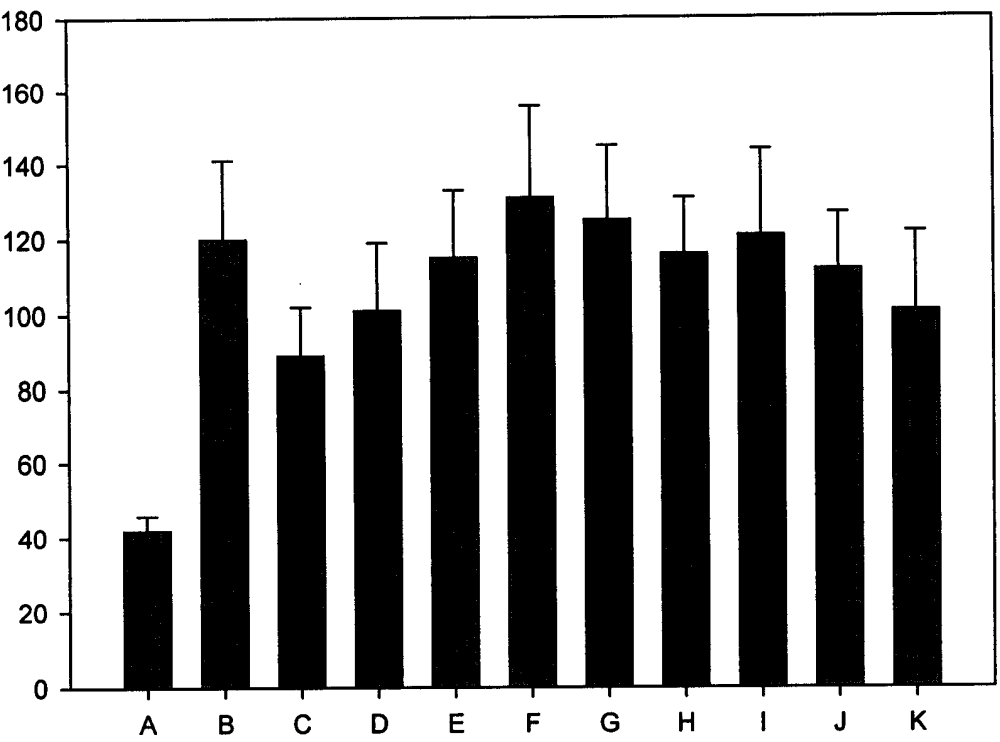


图 5

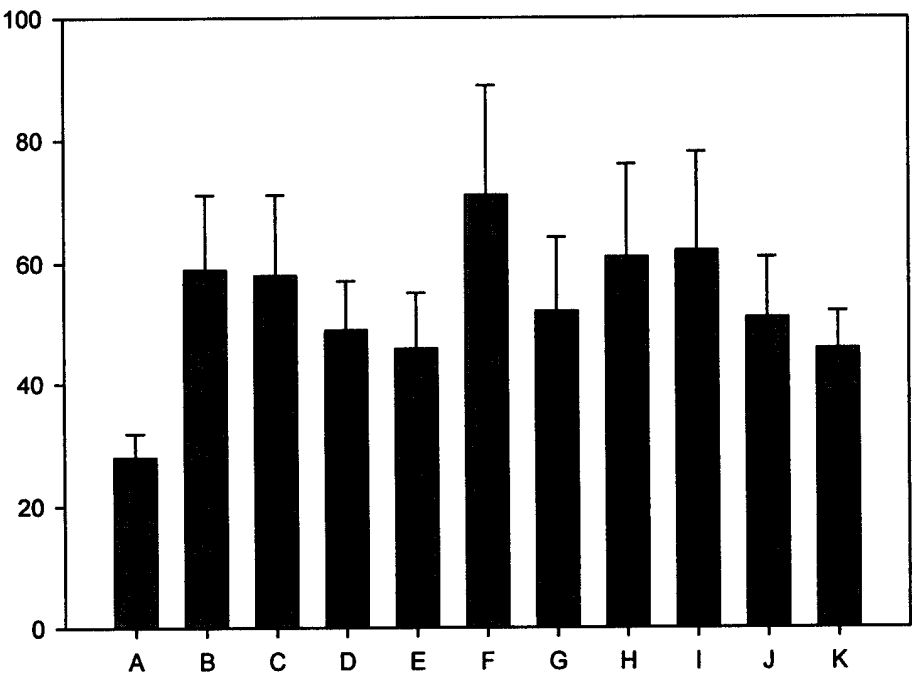


图 6