



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101875686 A

(43) 申请公布日 2010. 11. 03

(21) 申请号 200910082772. 3

A61P 35/00(2006. 01)

(22) 申请日 2009. 04. 29

(71) 申请人 清华大学深圳研究生院

地址 518055 广东省深圳市南山区西丽镇深圳大学城清华校区

(72) 发明人 蒋宇扬 王珏 祖旭宇 谭春燕
刘红霞

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

代理人 关畅

(51) Int. Cl.

C07J 71/00(2006. 01)

C07J 75/00(2006. 01)

A61K 31/7048(2006. 01)

权利要求书 2 页 说明书 9 页 附图 2 页

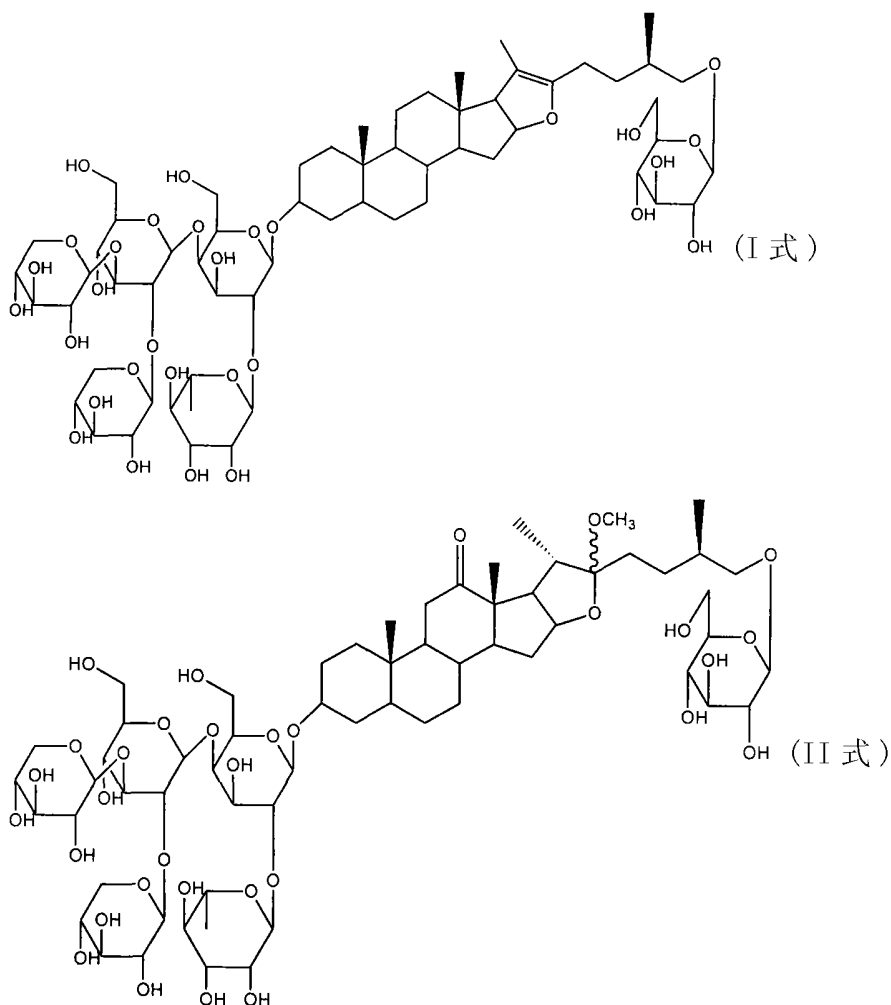
(54) 发明名称

甾体皂苷化合物及其制备方法与应用

(57) 摘要

本发明公开了甾体皂苷化合物及其制备方法与应用。本发明的制备方法包括如下步骤：用提取剂提取刺楸藜，得到提取液，再进行高效液相色谱分离，得到权利要求 1 中所述 I 式和 / 或 II 式所示的化合物；所述高效液相色谱分离包括如下步骤：用乙腈和水体积比为 35 : 65 的混合溶液作流动相，流动相的流速为 4ml/min；收集保留时间为 9. 798-10. 798min 的洗脱峰，得到 I 式所示化合物；收集保留时间为 13. 423-14. 423min 的洗脱峰，得到 II 式所示化合物。实验证明，本发明的两种甾体皂苷化合物抑制肿瘤的效果好，并且可抑制多种肿瘤。本发明的制备上述甾体皂苷化合物的方法，操作简单，成本低，产率高。因此，本发明化合物在肿瘤的预防和 / 或治疗中将有广阔的应用前景。

1. 一种甾体皂苷化合物,具有如下 I 式或 II 式所示的结构:



2. 制备权利要求 1 中所述甾体皂苷化合物的方法,包括如下步骤:用提取剂提取刺蒺藜,得到提取液,再进行高效液相色谱分离,得到权利要求 1 中所述 I 式和 / 或 II 式所示的化合物;所述高效液相色谱分离包括如下步骤:用乙腈和水体积比为 35 : 65 的混合溶液作流动相,流动相的流速为 4ml/min;收集保留时间为 9.798-10.798min 的洗脱峰,得到 I 式所示化合物;收集保留时间为 13.423-14.423min 的洗脱峰,得到 II 式所示化合物。

3. 根据权利要求 2 所述的方法,其特征在于:所述高效液相色谱分离中所用的固相介质为十八烷基硅烷键合硅胶;所述提取剂为 60% -80% (体积百分含量) 乙醇的水溶液。

4. 根据权利要求 2 或 3 所述的方法,其特征在于:所述方法中,在所述得到提取液后、所述进行高效液相色谱分离前,包括用大孔吸附树脂纯化的步骤,洗脱方式为依次用水与乙醇的体积比为 (100 : 0)、(80 : 20)、(70 : 30)、(50 : 50)、(90 : 10)、(95 : 5)、(0 : 100) 的混合溶液作为洗脱缓冲液进行梯度洗脱,收集水与乙醇的体积比 80 : 20 的洗脱缓冲液对应的洗脱液。

5. 根据权利要求 4 所述的方法,其特征在于:所述方法中,在所述大孔吸附树脂纯化后、所述进行高效液相色谱分离前,包括用葡聚糖凝胶纯化的步骤,所用的洗脱缓冲液为三氯甲烷与甲醇体积比为 1 : 1 的混合液。

6. 根据权利要求 5 所述的方法,其特征在于:所述方法中,在所述用葡聚糖凝胶纯化

后、所述进行高效液相色谱分离前,包括用十八烷基硅烷键合硅胶纯化的步骤,洗脱方式为依次用甲醇与水的体积比为(0 : 100)、(80 : 20)、(50 : 50)、(100 : 0)的混合溶液作为洗脱缓冲液进行梯度洗脱,收集体积比为50 : 50的洗脱缓冲液对应的洗脱液。

7. 根据权利要求2-6中任一所述的方法,其特征在于:在所述用提取剂提取刺蒺藜的方法中和/或所述用大孔吸附树脂纯化的方法中和/或所述用葡聚糖凝胶纯化方法中和/或所述用十八烷基硅烷键合硅胶纯化的方法中,包括减压蒸馏的步骤。

8. 一种抗肿瘤药物,其活性成份为权利要求1中所述甾体皂苷化合物中的至少一种。

9. 根据权利要求8所述的抗肿瘤药物,其特征在于:所述肿瘤为肝癌、肺癌或乳腺癌。

10. 权利要求1中所述I式和/或II式所示的化合物在制备抗肿瘤药物中的应用。

甾体皂苷化合物及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明涉及甾体皂苷化合物及其制备方法与应用。

背景技术

[0002] 据《全国中药汇编·上册》、《实用中草药彩色图鉴》第二册、《常用中药鉴定大全》中记载,蒺藜,别名刺蒺藜,为蒺藜科植物蒺藜 *Tribulus terrestris* Linn. 的干燥果实。目前关于蒺藜总皂苷的药理药效研究报道较多,但未见对其单一成分的药理研究。经文献调研,蒺藜总皂苷主要有下列药理活性(中国野生植物资源 Vol. 22No. 4Aug. 2003):

[0003] 1. 对心血管系统的作用

[0004] 蒺藜总皂苷对缺氧再给氧、缺血再灌注心肌有保护作用,认为与提高机体内源性抗氧化能力、降低脂质的氧化有关。临床及实验药理学都证明蒺藜皂苷改善心功能、缩小心肌梗塞面积、缓解心绞痛的症状、延长心绞痛的发作间期、减少心绞痛的发作次数,对陈旧性心肌梗塞伴左室功能异常者亦能减轻其胸闷、气促、和心悸等症状,增加左室收缩功能和排血量。

[0005] 2. 对脑血管系统的作用

[0006] 蒺藜皂苷对动脉硬化症和脑血栓形成的后遗症有较好的疗效,研究显示其能增加脑缺血部位的血供,起到改善脑循环、保护缺血脑组织的作用。环腺苷酸(cAMP)在各种生理过程中担任很重要的第二信使的任务。抑制钙依赖性的磷酸二酯酶(PDE)而使cAMP含量升高是脑血管、冠状动脉和外周血管扩张的一个重要机理。现国内外已将测定某化合物对PDE是否有抑制作用作为寻找治疗心血管疾病的初筛实验。国内外研究表明从植物中分离得到的许多甾体皂苷对PDE有抑制活性。国内有人用蒺藜皂苷灌喂兔,结果发现能升高血浆cGMP和cAMP的含量。但蒺藜皂苷是否通过抑制PDE活性而增加cAMP的含量,从而达到防治心脑血管疾病的作用目前还没有系统的阐述。

[0007] 3. 性强壮作用

[0008] 国内外学者研究发现,蒺藜总皂苷能促进精产生,增加性欲;促进雌性大鼠发情,提高生殖能力;临床研究发现可增加男人的精子数及活力,治疗男性性功能低下,增加女人卵巢的功能,并可预防更年期综合症。最近研究显示皂苷的上述作用可能与其能提高体内性激素的含量有关。国外学者经临床研究发现从蒺藜中提取的单一成份皂苷——原薯蓣皂甙(protodioscin)能增强性欲,提高性功能。原薯蓣皂苷可能是在体内通过代谢转化成脱氢表雄酮(dehydroepiandrosterone)而起上述作用的。进一步研究发现,生活在不同环境中的蒺藜,不一定都含有这一活性成分。

[0009] 4. 强心及强壮作用

[0010] 刺蒺藜中的皂苷具有显著的强心作用。前苏联用蒺藜茎叶总皂苷制成制剂“Tribusponin”,表明其具有较强的抗动脉硬化作用,其效果优于已知的抗动脉硬化药物。其强壮作用机强度与人参皂苷颇为相似。蒺藜茎叶总皂苷还具有显著的抗心肌缺血,抗心肌梗塞,抗血小板聚集,降低胆固醇,保肝,提高免疫功能等作用。

[0011] 5. 调节机体内某些微量元素的含量：有报道显示蒺藜皂苷可调节机体内某些微量元素的含量。

[0012] 6. 抗衰老作用

[0013] 蒺藜总皂苷对 d- 半乳糖所致的小鼠亚急性衰老模型动物的体重减轻、脾脏及胸腺萎缩有抑制作用，并降低其胆固醇及血糖水平，延长大鼠的游泳时间，增加幼年小鼠的肝及胸腺的重量，对老年小鼠皮内色素颗粒的沉着和聚集呈明显的改善趋势；在临床上也发现蒺藜皂苷增强肌体自然杀伤细胞活性，可用来防治老年人免疫功能降低。

[0014] 7. 调节血脂

[0015] 动物及临床实验均显示蒺藜皂苷有调节血脂的作用，可降低血清甘油三脂、胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇，提高 HDL/LDL 的比值，升高卵磷脂胆固醇的值，具有阻止动脉、心脏、肝脏的脂质的沉着作用。

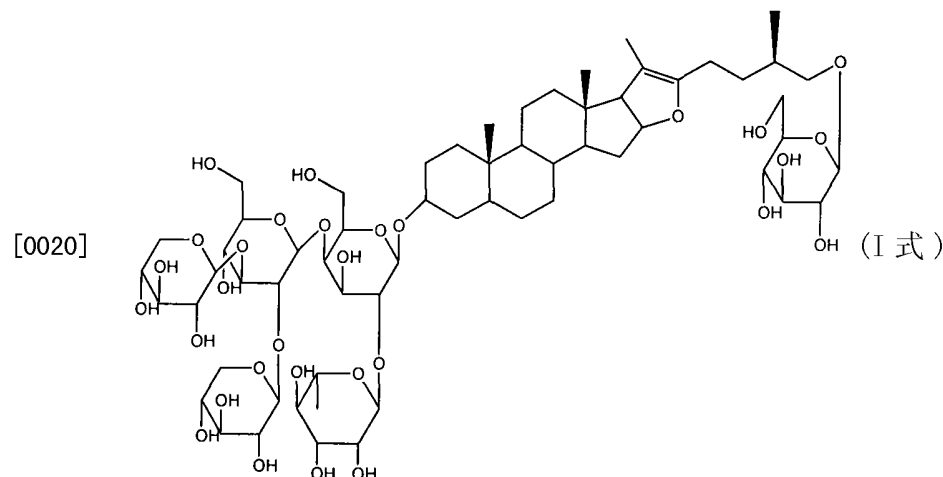
[0016] 8. 蒺藜皂苷的抗菌、抑癌作用

[0017] 在研究中还发现蒺藜醇提物中的蒺藜总皂苷可显著抑制人乳腺髓样细胞 (Bcap-37) 的增殖。最近国外学者从总皂苷中分离出 7 种单体皂苷，E·Be-dird 等研究了它们对 4 种人体肿瘤细胞（黑色素瘤细胞 SK-MEL、口腔上皮细胞 KB、乳腺癌细胞 BT549、卵巢癌细胞 SK-OV-3）的作用。研究发现 3 种螺甾醇皂苷 (spirostanolsaponin) 具有显著的抑制癌作用。

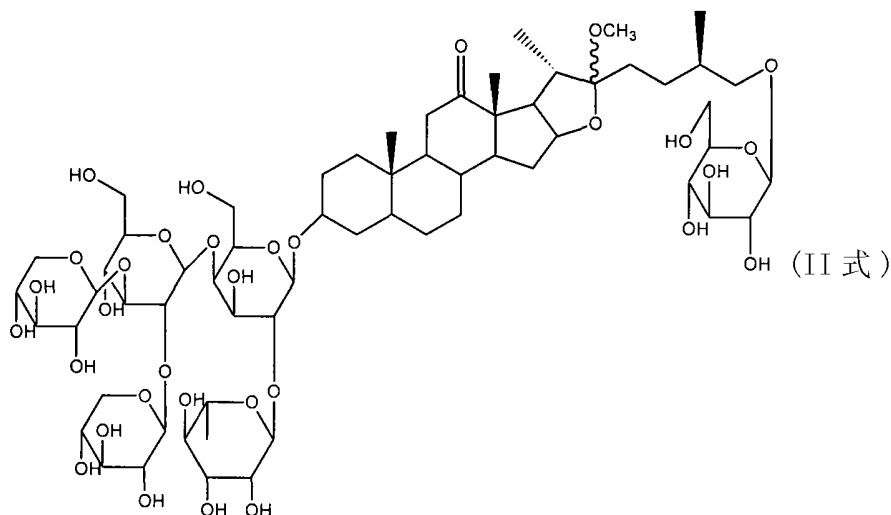
发明内容

[0018] 本发明的一个目的是提供一种具有抑制肿瘤作用的甾体皂苷化合物。

[0019] 本发明所提供的甾体皂苷化合物，具有如下 I 式或 II 式所示的结构：



[0021]



[0022] I 式所示的化合物的分子式为 $C_{61}H_{100}O_{30}$, 名称为 3-O- $\{\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- $[\beta$ -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 4)- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- β -D-galactopyranosyl}-26-O- β -D-glucopyranosyl-1-5a-furost-20(22)-en-(25R)-3 β ,26-diol(1)。

[0023] II 式所示的化合物 2 的分子式为 $C_{62}H_{102}O_{32}$, 名称为

[0024] 3-O- $\{\beta$ -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)- $[\beta$ -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 4)- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- β -D-galactopyranosyl}-26-O- β -D-glucopyranosyl-5a-furost-12-one-(25R)-22-methoxy-3 β ,26-diol。

[0025] 本发明的另一个目的是提供一种制备上述甾体皂苷化合物的方法。

[0026] 本发明所提供的制备上述甾体皂苷化合物的方法, 包括如下步骤: 用提取剂提取刺蒺藜, 得到提取液, 再进行高效液相色谱分离, 得到所述 I 式和 / 或 II 式所示的化合物; 所述高效液相色谱分离包括如下步骤: 用乙腈和水体积比为 35 : 65 的混合溶液作流动相, 流动相的流速为 4ml/min; 收集保留时间为 (9.798-10.798)min 的洗脱峰, 得到 I 式所示化合物; 收集保留时间为 (13.423-14.423)min 的洗脱峰, 得到 II 式所示化合物。

[0027] 所述高效液相色谱分离中所用的固相介质具体可为 ODS(十八烷基硅烷键合硅胶填料 Octadecyl silyl), 孔径 5 μ m。所述提取剂可为 60% -80% (体积百分含量) 乙醇的水溶液, 优选为 70% 乙醇溶液。

[0028] 所述方法中, 在所述得到提取液后、所述进行高效液相色谱分离前, 还可包括用大孔吸附树脂纯化的步骤, 洗脱方式为依次用水与乙醇的体积比为 (100 : 0)、(80 : 20)、(70 : 30)、(50 : 50)、(90 : 10)、(95 : 5)、(0 : 100) 的混合溶液作为洗脱缓冲液进行梯度洗脱, 收集水与乙醇的体积比 80 : 20 的洗脱缓冲液对应的洗脱液。

[0029] 所述方法中, 在所述大孔吸附树脂纯化后、所述进行高效液相色谱分离前, 还可包括用葡聚糖凝胶纯化的步骤, 所用的洗脱缓冲液为三氯甲烷与甲醇体积比为 1 : 1 的混合液。所述葡聚糖凝胶具体可为 Sephadex LH-20。

[0030] 所述方法中, 在所述用葡聚糖凝胶纯化后、所述进行高效液相色谱分离前, 包括用十八烷基硅烷键合硅胶纯化的步骤, 洗脱方式为依次用甲醇与水的体积比为 (0 : 100)、(80 : 20)、(50 : 50)、(100 : 0) 的混合溶液作为洗脱缓冲液进行梯度洗脱, 收集体积比为 50 : 50 的洗脱缓冲液对应的洗脱液。

[0031] 在所述用提取剂提取刺蒺藜的方法中,得到提取液后,还可包括将所述提取液减压蒸馏的步骤;在所述用大孔吸附树脂纯化的方法中和/或所述用葡聚糖凝胶纯化方法中和/或所述用十八烷基硅烷键合硅胶纯化的方法中,在洗脱后,还可包括对得到的洗脱液减压蒸馏的步骤。

[0032] 本发明的另一个目的是提供一种抗肿瘤药物。

[0033] 本发明所提供的抗肿瘤药物,其活性成份为上述甾体皂苷化合物中的至少一种。

[0034] 所述肿瘤可为肝癌、肺癌或乳腺癌,具体可为 NCI-H46 细胞(肺癌细胞)、SF-268 细胞、MCF-7 细胞、HepG2 细胞。

[0035] I 式和/或 II 式所示的化合物在制备抗肿瘤药物中的应用也属于本发明的保护范围。同样,其中所述肿瘤可为肝癌、肺癌、乳腺癌,具体可为 NCI-H46 细胞、SF-268 细胞、MCF-7 细胞、HepG2 细胞。

[0036] 实验证明,本发明的两种甾体皂苷化合物抑制肿瘤的效果好,并且可抑制多种肿瘤,I 式所示化合物对 NCI-H46 细胞、SF-268 细胞、MCF-7 细胞、HepG2 细胞的半数抑制浓度依次为 9.26、7.53、6.18、11.3,II 式所示化合物对 NCI-H46 细胞、SF-268 细胞、MCF-7 细胞、HepG2 细胞的半数抑制浓度依次为 4.31、3.47、3.98、6.66。本发明的制备上述甾体皂苷化合物的方法,操作简单,成本低,产率高,实验证明,2.5kg 刺蒺藜可产生 55.8mg I 式所示化合物和 18.4mg II 式所示化合物。因此,本发明化合物在肿瘤的预防和/或治疗中将有广阔的应用前景。

附图说明

[0037] 图 1 为化合物 1 的结构式图。

[0038] 图 2 为化合物 2 的结构式图。

[0039] 图 3 为高效液相色谱分离图谱。

具体实施方式

[0040] 下述实施例中所使用的实验方法如无特殊说明,均为常规方法。

[0041] 下述实施例中所用的材料、试剂等,如无特殊说明,均可从商业途径得到。

[0042] 实施例 1、甾体皂苷化合物的制备

[0043] 刺蒺藜购自广东省深圳中药研究中心,产品目录号为 TT2002061211。

[0044] 一、制备

[0045] 1、取 2.5kg 刺蒺藜并粉碎,用 55L 70%乙醇进行提取(乙醇:水=70:30,体积比)。提取步骤如下:25℃(室温)冷浸 12 小时,过滤,取上清为提取液 I,收集残渣,计作残渣 I;再将残渣 I 用 55L 70%乙醇进行提取,提取条件同上,得到提取液 II,残渣 II。将提取液 I 和提取液 II 合并,得到总提取液。

[0046] 将总提取液在 40℃水温的条件下减压蒸馏,得到 450.6g 初浸膏。

[0047] 2、将 450.1g 初浸膏用水溶解,用 D101 大孔吸附树脂柱(6.5×25cm)进行纯化,用水:乙醇=(100:0)、(80:20)、(70:30)、(50:50)、(90:10)、(95:5)、(0:100)(体积比)的洗脱缓冲液进行梯度洗脱;收集水与乙醇体积比为 80:20 的洗脱缓冲液对应的洗脱液,再从洗脱液中取样点在同一块薄层板上,根据薄层板结果将相似结果的馏分

减压蒸馏,得到馏分提取物 I,共得到 9.68g 馏分提取物 I。

[0048] 3、将 9.68g 馏分提取物 I 用 20%乙醇溶液(水:乙醇=80:20,体积比)溶解,得到的溶液用 Sephadex LH-20 柱(Pharmacia Biochem. 3×10cm)进行纯化,以三氯甲烷:甲醇=50:50(体积比)的混合溶液作为洗脱缓冲液进行洗脱,收集洗脱液,得到馏分提取物 II;将上述全部馏分提取物 II 在 40℃的水温下减压蒸馏浓缩,得到浓缩物 3.03g。

[0049] 4、将 3.03g 浓缩物再用十八烷基硅烷键合硅胶[ODS 柱(Pharmacia Biochem. 制、3×10cm)]进行纯化,以甲醇:水=(0:100)、(80:20)、(50:50)、(100:0)(体积比)的洗脱缓冲液进行梯度洗脱。收集体积比为 50:50 的洗脱缓冲液对应的洗脱液,将洗脱液在 40℃水温的条件下减压蒸馏浓缩。得到浓缩物 1.21g。

[0050] 5、将 1.21g 浓缩物用高效液相色谱分离。

[0051] 高压液相柱为 Fluofix(INW 125、NEOS 公司、10×250mm);其中填充的固相介质是 ODS(十八烷基硅烷键合硅胶填料 Octadecylsilyl),孔径 5μm;

[0052] 自动进样器进样,进样量 100μl;

[0053] 梯度洗脱缓冲液为:流动相的组成为乙腈与水的混合溶液(乙腈:水=35:65,体积比);流速 4ml/min(25℃);

[0054] 用示差 HPLC 监测。

[0055] 收集保持时间为 9.798-10.798min(最高峰的保持时间为 10.298min)(图 3 中 1)的单峰溶液馏分,在 40℃的温度下减压蒸馏,得到白色粉末状的化合物 1(55.8mg);

[0056] 收集保持时间为 13.423-14.423min(最高峰的保持时间为 13.923min)(图 3 中 2)的单峰溶液馏分,在 40℃的温度下减压蒸馏,得到无色针状结晶状的化合物 2(18.4mg)。

[0057] 二、检测

[0058] 将化合物 1 和化合物 2 依次分别进行如下检测:

[0059] 1、熔点检测:将样品结晶或者粉末放在展薄片上,然后将展薄片放到熔点仪上边加热边观察温度变化,至样品溶化。

[0060] 2、比旋度的检测:偏振光透过 1dm 且每 1ml 中含有旋光性物质 1g 的溶液。

[0061] 3、[HR-TOF-MS]:是 ESI 测试时产生高分辨离子峰数据。可以找到与化合物的碎片峰和与化合物结合的一些离子信号峰信息。

[0062] 4、质谱检测:质谱检测化合物分子量,采用了电喷雾电离(electrospray ionization, ESI)质谱检测。ESI 的实验条件相对简单且在大气压环境下工作,分离条件和分离化合物高效液相色谱(HPLC)条件一致。流动相的组成为乙腈与水的混合溶液(乙腈:水=35:65,体积比);流速 4ml/min。

[0063] 5、核磁共振检测:以氘代吡啶为溶剂、已 TMS 为零点、测定的共振频率为 400MHz。

[0064] 制备及检测的实验均设 3 次重复。结果如下:

[0065] 化合物 1:白色粉末,熔点:[mp]215-217℃;旋光:[α]_D²⁵-38.2°(H₂O, c 0.68);[HR-TOF-MS]1335.6185[M+Na+H]⁺;ESI-MS:1311.4[M-H]⁻,1335.3[M+Na]⁺;分子式:C₆₁H₁₀₀O₃₀;核磁数据见表 1 和 2。

[0066] 化合物 2:无色针状结晶,熔点:[mp]220-222℃;旋光:[α]_D²⁵-25.2°(H₂O, c 0.56);[HR-TOF-MS]1381.6250[M+Na]⁺;ESI-MS:1357.6[M-H]⁻,1381.6[M+Na]⁺;分子式:

$C_{62}H_{102}O_{32}$;核磁数据见表 1 和 2。

[0067] 表 1、化合物 1 和化合物 2 的碳谱测定结果

[0068]	位置	1	2	位置	1	2
	3-O-Glc 1''					
	1	37.2	36.6	2''	100.1	100.1
	2	29.9	29.9	3''	76.5	76.6
	3	76.9	76.5	4''	76.6	76.6
	4	34.4	34.1	5''	81.3	81.2
	5	44.6	44.3	6''	75.0	75.0
	6	28.9	28.6	Rha	60.4	60.3
	7	32.5	31.6	1'''		
	8	35.0	34.2	2'''	101.9	101.9
	9	54.4	55.5	3'''	72.4	72.4
	10	35.9	36.3	4'''	72.6	72.7
	11	21.4	37.9	5'''	73.9	73.9
	12	39.8	212.7	6'''	69.3	69.3
	13	43.7	55.6	Glc	18.4	18.4
	14	54.7	55.7	1''''		
	15	34.4	31.3	2''''	105.3	105.3
	16	84.5	79.8	3''''	81.4	81.4
[0069]	17	64.6	55.5	4''''	87.6	87.5
	18	14.3	15.9	5''''	70.4	70.3
	19	12.4	11.7	6''''	77.7	77.7
	20	103.6	41.0	Xyl	62.8	62.8
	21	11.7	14.9	1'''''		
	22	152.3	112.6	2'''''	105.0	104.9
	23	23.6	30.7	3'''''	75.0	75.0
	24	31.4	28.1	4'''''	78.7	78.7
	25	33.4	34.1	5'''''	70.7	70.6
	26	74.9	75.1	Xyl	67.3	67.3
	27	17.3	17.0	1''''''		
	26-O-Glc			2''''''	105.7	105.7
	1'	104.8	104.9	3''''''	75.7	75.8
	2'	75.1	75.1	4''''''	79.0	79.0
	3'	78.6	78.6	5''''''	70.8	70.8
	4'	71.7	71.7		67.6	67.6
	5'	78.4	78.5			
	6'	62.8	62.8			

[0070] 表 2、化合物 1 和化合物 2 的氢谱测定结果

[0071]

位置	1	2	位置
----	---	---	----

[0072]	1	0.77, 1.54	0.77, 1.33	26-O-Glc		
	2	1.72, 2.00	1.74, 2.00	1'	4.82	4.83
	3	3.90	4.11	2'	3.99	3.99
	4	1.63, 1.87	1.63, 1.89	3'	4.20	4.21
	5	0.89	0.84	4'	4.18	4.21
	6	1.15	1.14	5'	3.92	3.92
	7	0.79, 1.50	0.71, 1.52	6'	4.35, 4.52	4.35, 4.52
	8	1.36	1.74	3-O-Glc		
	9	0.49	0.86	1''	4.84	4.82
	10	/	/	2''	4.44	4.44
	11	1.22, 1.42	2.23, 2.37	3''	4.11	4.11
	12	1.04, 1.70	/	4''	4.46	4.46
	13	/	/	5''	3.92	3.92
	14	0.79	1.33	6''	4.16, 4.66	4.16, 4.66
	15	1.32, 1.94	1.53, 2.00	Rha		
	16	4.78	4.37	1'''	6.16	6.18
	17	2.42	2.88	2'''	4.71	4.72
	18	0.69	1.03	3'''	4.50	4.52
	19	0.84	0.85	4'''	4.18	4.20
	20	/	2.18	5'''	4.89	4.87
	21	1.62	1.41	6'''	1.69	1.69
	22	/	/	Glc		
	23	2.21	2.03	1''''	4.98	4.98
	24	1.80, 1.42	1.32, 1.77	2''''	4.23	4.23
	25	1.93	1.91	3''''	4.04	4.05
	26	3.60, 3.92	3.58, 3.91	4''''	3.77	3.81
	27	1.01	0.98	5''''	3.80	3.81
				6''''	3.99, 4.48	3.99, 4.48
				Xyl		
				1'''''	5.22	5.23
				2'''''	3.92	3.92
				3'''''	4.04	4.04
				4'''''	4.07	4.07
				5'''''	3.64, 4.19	3.64, 4.19
				Xyl		
				1''''''	5.41	5.42
				2''''''	3.39	3.39
				3''''''	4.03	4.03
				4''''''	4.45	4.45
				5''''''	3.46, 4.73	3.46, 4.73

[0073] 综上实验结果表明,化合物1具有图1所示结构式,化合物2具有图2所示结构式。
化合物1的名称为:

[0074] 3-O-{ β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- β -D-galactopyranosyl}-26-O- β -D-glucopyranosyl-1-5a-furost-20(22)-en-(25R)-3 β ,26-diol(1)。化合物 2 的名称为:3-O-{ β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)-[β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- β -D-galactopyranosyl}-26-O- β -D-glucopyranosyl-5a-furost-12-one-(25R)-22-methoxy-3 β ,26-diol。

[0075] 实施例 2、化合物 1 和化合物 2 的抗肿瘤活性检测

[0076] 肺癌细胞(NCI-H460 细胞)购自中国科学院细胞库,产品目录号为 TCHu 38,乳腺癌细胞(SF-268 细胞)购自中国科学院细胞库,产品目录号为 TCHu 49,乳腺癌细胞(MCF-7 细胞)购自中国科学院细胞库,产品目录号为 TCHu 74,人肝癌细胞(人 HepG2 细胞)购自中国科学院细胞库,产品目录号为 TCHu 72。

[0077] 化合物对肿瘤细胞的抑制实验,采用文献(Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. Journal of Immunological Methods, 65, 55-63)中所述的 MTT 法(Mosmann, 1983)检测。具体操作如下:在 96 孔平面板内注入 200 μ l 浓度为 1.0×10^4 个 cell/mL 的肿瘤细胞液,然后加入各种测试浓度化合物溶液,放入二氧化碳培养箱内培养 16 小时,再加入 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide(MTT)再培养 4 小时。除去上清液,添加 DMSO 避光保存 10 分钟,待生成的甲臞(formazan)溶解后,在吸光度为 570nm 酶标仪上测出吸光度。

[0078] 对照组:肿瘤细胞+DMSO。

[0079] 用于实验的肿瘤细胞分别为 NCI-H460 细胞、SF-268 细胞、MCF-7 细胞、人 HepG2 细胞。

[0080] 抑制率(%)=(对照组 OD 值-测试化合物组 OD 值)/对照组 OD 值 \times 100

[0081] 实验设 3 次重复,结果取平均数。结果如表 3 所示。

[0082] 表 3、2 个甾体皂苷化合物对 4 种肿瘤细胞的抑制实验结果

化合物	IC ₅₀ (μ M)			
	NCI-H460	SF-268	MCF-7	HepG2
化合物 1	9.26	7.53	6.18	11.3
化合物 2	4.31	3.47	3.98	6.66

[0084] 以上结果表明,本发明的化合物 1 和化合物 2 均对以上 4 种细胞具有很好的抑制作用。

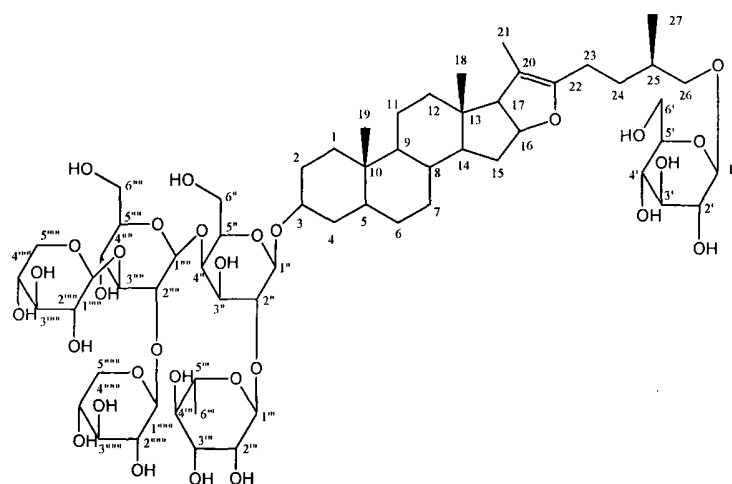


图 1

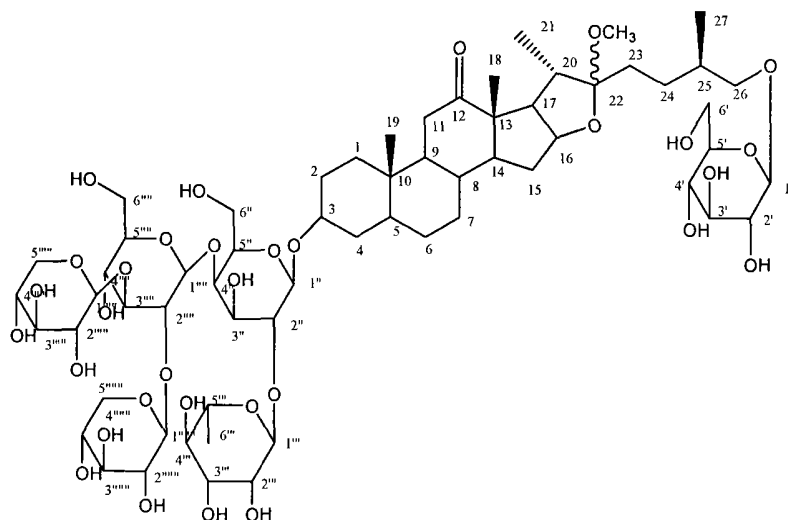


图 2

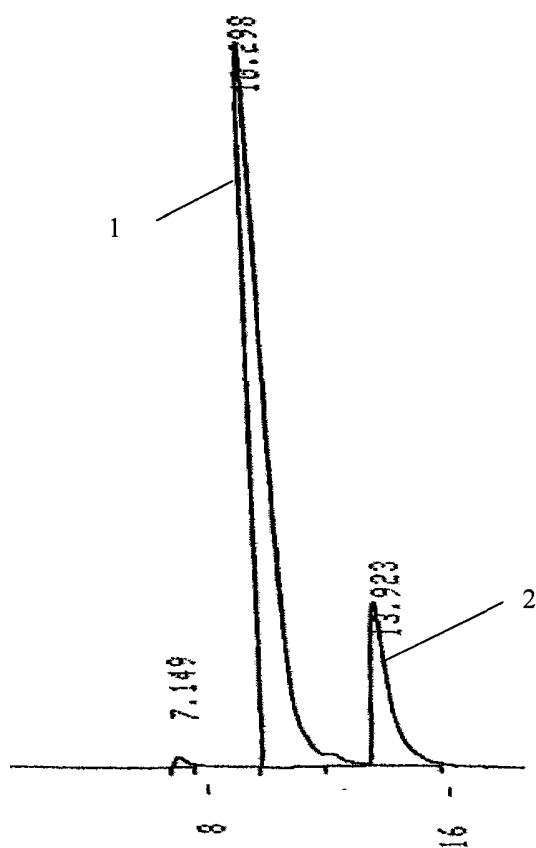


图 3