

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61K 31/365 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810157069.X

[43] 公开日 2009 年 4 月 8 日

[11] 公开号 CN 101401806A

[22] 申请日 2008.9.17

[21] 申请号 200810157069.X

[71] 申请人 南京中医药大学

地址 210029 江苏省南京市汉中路 282 号

[72] 发明人 章永红

[74] 专利代理机构 南京经纬专利商标代理有限公司

代理人 楼高潮

权利要求书 1 页 说明书 5 页

[54] 发明名称

番荔枝内酯单体化合物在制备治疗肺癌或乳腺癌或肝癌药物中的应用

[57] 摘要

本发明公开了一种番荔枝内酯化合物单体 bullatacin 的新用途, 该内酯化合物单体在制备治疗肺癌或乳腺癌或肝癌药物中的应用。经动物体内抗癌药理实验, 实验结果表明番荔枝内酯单体 bullatacin 对肺癌、乳腺癌、肝癌的生长有明显的抑制作用, 其体内抗癌活性数百倍高于目前临床一线化疗药 5-氟脲嘧啶, 可用于治疗肺癌或乳腺癌或肝癌药物的制备。

1、一种番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 在制备治疗肺癌或乳腺癌或肝癌药物中的应用。

2、根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 对肺癌或乳腺癌或肝癌的生长有明显的抑制作用，其体内抗癌活性高于化疗药 5-氟脲嘧啶。

番荔枝内酯单体化合物在制备治疗肺癌或乳腺癌或肝癌药物中的应用

一、技术领域

本发明涉及一种番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 的新用途，具体地说是该化合物在制备治疗肺癌或乳腺癌或肝癌药物中的应用。

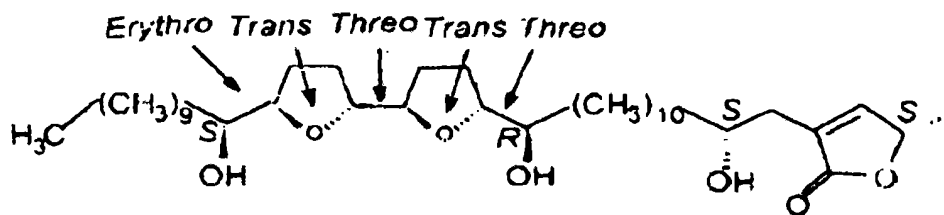
二、背景技术

癌症是危害人类健康的大敌。我国每年新发癌症病例约有 160 万人，每年死于癌症的约有 130 万人，全国因癌症而死亡的人数逐年上升，我国为肺癌、乳腺癌、肝癌等癌症的高发区域，癌症死亡率居高不下。

目前尚无有效的药物治愈大多数癌症患者。化疗药物对癌症虽有一定疗效，但毒副作用大，中成药对癌症的疗效普遍较低，疗效均不理想。

本发明人经过十几年艰苦研究了番荔枝 (*Annona squamosa* Linn) 种子的抗癌有效物质，从中提取出多种抗癌活性化合物，经抗癌实验研究表明，对人肝癌细胞、人胃癌细胞、人食管癌细胞和动物移植性肿瘤（如 S₁₈₀、H₂₂ 和 Heps）均有显著的体内外抗癌治疗效果，并已申请获得 3 项抗癌产品发明专利证书（专利号分别为：ZL02148474.0、ZL02148475.9、ZL03112707.X）。在上述研究的基础上，本发明人继续提取分离、筛选番荔枝种子的抗癌有效化学成分，从中又发明了一种番荔枝内酯单体化合物 bullatacin。

它是从番荔枝 (*Annona squamosa* Linn) 种子中提取得到的抗癌单体化合物。其制备方法是番荔枝种子风干后，粉碎成粗粉，用 10 倍量 95%乙醇冷浸提取 4 次，每次 2 天，提取液在低温（小于 60℃）下减压回收溶剂，得浸膏，用氯仿划分极性部位；再用多种分离纯化手段对氯仿部位进行分离纯化，经反复硅胶柱和离心薄层分离，得到一种番荔枝内酯单体化合物 (bullatacin)。其化学结构式如下：



三、发明内容

1、发明目的

本发明的目的在于提供一种番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 的新用途，具体地说是涉及该化合物在制备治疗肺癌或乳腺癌或肝癌药物中的应用。

2、技术方案

一种番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 在制备治疗肺癌或乳腺癌或肝癌药物中的应用。经动物体内抗癌药理实验证实，番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 对肺癌、乳腺癌、肝癌的生长有明显的抑制作用，其体内抗癌活性数百倍高于目前临床一线化疗药 5-氟脲嘧啶，可用于治疗肺癌或乳腺癌或肝癌药物的制备。

番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 对小鼠移植性肺癌的生长抑制作用：不同剂量 15 μ g/kg、30 μ g/kg 和 60 μ g/kg 的番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 均能显著抑制小鼠移植性肺癌的生长 ($P < 0.01$)，其抑瘤率分别为 64.19%、75.45%、84.14%。番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 体内抗肺癌活性是化疗药 5-氟脲嘧啶的数百倍以上。

番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 对小鼠移植性乳腺癌的生长抑制作用：不同剂量 15 μ g/kg、30 μ g/kg 和 60 μ g/kg 的番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 均能显著抑制小鼠移植性乳腺癌的生长 ($P < 0.01$)，其抑瘤率分别为 54.01%、72.26%、83.21%。番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 体内抗乳腺癌活性是化疗药 5-氟脲嘧啶的数百倍以上。

番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 对小鼠移植性肝癌的生长抑制作用：不同剂量 15 μ g/kg、30 μ g/kg 和 60 μ g/kg 的番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 均能显著抑制小鼠移植性肝癌的生长 ($P < 0.01$)，其抑瘤率分别为 52.63%、69.01%、82.46%。番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 体内抗肝癌活性是化疗药 5-氟脲嘧啶的数百倍以上。

3、有益效果

本发明一种番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 在制备治疗肺癌或乳腺癌或肝癌药物中的应用，经动物体内抗癌实验结果显示，番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 对肺癌、乳腺癌、肝癌的生长均有非常高的抗癌活性，其体内抗癌活性百倍高于目前临床一线化疗药 5-氟脲嘧啶 (5-Fu)。这为提高抗癌临床疗效提供了非常有前景的高效预选药物。

四、具体实施方式

实施例 1：番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 对小鼠移植性肺癌的抑制作用

1、实验动物和瘤株

雄性健康 C57BL/6 小鼠，体重 18—22g，鼠龄 6—8 周，购自本校动物实验中心；小鼠 Lewis 肺癌瘤株购自江苏省肿瘤研究所动物实验中心。

2、造模与实验方法

C57BL/6 小鼠 60 只，按比例随机留 10 只为阴性对照组，其余 50 只进行造模。制备 Lewis 肺癌荷瘤小鼠，剥离生长旺盛期的瘤组织，选取生长良好的肿块 1.5mm³ 左右，按肿瘤（g）：生理盐水（ml）为 1：3 比例匀浆，调细胞数为 2×10⁶/ml。选取健康小鼠，在无菌条件下每只小鼠右侧腋窝皮下接种 0.2ml。整个接种过程须在无菌罩内以无菌操作进行，1h 内完成接种。

接种后随机分为 5 组，每组 10 只，分别为肿瘤模型对照组、15μg/kg、30μg/kg 和 60μg/kg 试验组、5-fu 阳性对照组，另加阴性对照组，共 6 组。接种瘤细胞 24h 后，试验组腹腔注射番荔枝内酯单体化合物 bullatacin，剂量分别为 15μg/kg、30μg/kg 和 60μg/kg，阴性对照组和肿瘤模型对照组等体积注射药物溶媒，5-FU 对照组以生理盐水为溶剂，剂量为 20mg/kg，各组动物均按 0.2ml 在腹腔注射，连续给药 10d。末次给药后次日，进行如下观察：

完整剥离瘤块，并称重计算肿瘤抑制率，肿瘤抑制率＝（对照组肿瘤重量－治疗组肿瘤重量）/对照组肿瘤重量×100%。

3、实验结果：

不同剂量的番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 均能显著抑制小鼠移植性肺癌的生长(P<0.01)。番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 的有效剂量极小，其体内抗肺癌活性是目前临床一线化疗药 5-氟脲嘧啶（5-FU）的数百倍以上，见表 1。

表 1 番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 对小鼠移植性肺癌 Lewis 作用结果

剂量		动物数 (开始/结束)	瘤重 (x±s)	抑瘤率 (%)	P 值
NS		10/10	3.91±0.29		
5-FU	20mg/kg	10/10	1.38±0.30	64.71%	<0.01
bullatacin	15μg/kg	10/10	1.40±0.23	64.19%	<0.01
	30μg/kg	10/10	0.96±0.20	75.45%	<0.01
	60μg/kg	10/10	0.62±0.19	84.14%	<0.01

实施例 2：番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 对移植性乳腺癌的抑制作用

1、实验动物和瘤株

雌性健康 TA2 小鼠，体重 18—22g，鼠龄 6—8 周，购自本校动物实验中心；小鼠乳腺癌细胞株 MA-891 购自江苏省肿瘤研究所动物实验中心。

2、造模与实验方法

TA2 小鼠 60 只，按比例随机留 10 只为阴性对照组，其余 50 只进行造模。取体外培养的对数生长期 MA-891 小鼠乳腺癌细胞，细胞浓度调整为 $1 \times 10^7/\text{ml}$ 。无菌条件下，将 MA-891 小鼠乳腺癌细胞接种于 TA2 小鼠右腋部皮下，接种量为 0.2ml/只（细胞数为 $2 \times 10^6/\text{只}$ ）。整个接种过程须在无菌罩内以无菌操作进行，1h 内完成接种。

接种后随机分为 5 组，每组 10 只，分别为肿瘤模型对照组、15μg/kg、30μg/kg 和 60μg/kg 试验组、5-fu 阳性对照组，另加阴性对照组，共 6 组。接种瘤细胞 24h 后，试验组腹腔注射番荔枝内酯单体化合物 bullatacin，剂量分别为 15μg/kg、30μg/kg 和 60μg/kg，阴性对照组和肿瘤模型对照组等体积注射药物溶媒，5-FU 对照组以生理盐水为溶剂，剂量为 20mg/kg，各组动物均按 0.2ml 在腹腔注射，连续给药 10d。末次给药后次日，进行如下观察：

完整剥离瘤块，并称重计算肿瘤抑制率，肿瘤抑制率=（对照组肿瘤重量-治疗组肿瘤重量）/对照组肿瘤重量×100%。

3、实验结果：

不同剂量的番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 均能显著抑制小鼠移植性乳腺癌的生长($P<0.01$)。番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 的有效剂量极小，其体内抗乳腺癌活性是目前临床一线化疗药 5-氟脲嘧啶（5-FU）的数百倍以上，见表 2。

表 2 番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 对小鼠移植性乳腺癌作用结果

剂量		动物数 (开始/结束)	瘤重 ($\bar{x} \pm s$)	抑瘤率 (%)	P 值
NS		10/10	1.37±0.19		
5-FU	20mg/kg	10/10	0.60±0.18	56.20%	<0.01
bullatacin	15μg/kg	10/10	0.63±0.17	54.01%	<0.01
	30μg/kg	10/10	0.38±0.15	72.26%	<0.01
	60μg/kg	10/10	0.23±0.16	83.21%	<0.01

实施例 3：番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 对移植性肝癌的抑制作用

1、实验动物和瘤株

雄性健康昆明种小鼠，体重 18—22g，鼠龄 6—8 周，来自本校动物实验中心；昆明鼠传代腹水型鼠肝癌 HepS 瘤株均购自江苏省肿瘤研究所动物实验中心。小鼠在南京中医药大学动物实验中心的动物实验房饲养，温度 21~25℃，湿度为 45%~55%。

2、造模与实验方法

昆明种雄性小鼠 60 只，按比例随机留 10 只为阴性对照组，其余 50 只进行造模。无菌抽取接种 HepS 瘤种 8 天的小鼠的腹水，以生理盐水稀释 10 倍，0.02%伊红染色，滴加到细胞计数板上计数后，调细胞浓度至 $1 \times 10^7 / \text{ml}$ ，迅速地分别将 50 只小鼠右腋皮肤消毒，每鼠接种 0.2mlHepS 肿瘤细胞悬液于皮下。整个接种过程须在无菌罩内以无菌操作进行，1h 内完成接种。

接种后随机分为 5 组，每组 10 只，分别为肿瘤模型对照组、15μg/kg、30μg/kg 和 60μg/kg 试验组、5-fu 阳性对照组，另加阴性对照组，共 6 组。接种瘤细胞 24h 后，试验组腹腔注射番荔枝内酯单体化合物 bullatacin，剂量分别为 15μg/kg、30μg/kg 和 60μg/kg，阴性对照组和肿瘤模型对照组等体积注射药物溶媒，5-FU 对照组以生理盐水为溶剂，剂量为 20mg/kg，各组动物均按 0.2ml 在腹腔注射，连续给药 8d。末次给药后次日，进行如下观察：

完整剥离瘤块，并称重计算肿瘤抑制率， $\text{肿瘤抑制率} = (\text{对照组肿瘤重量} - \text{治疗组肿瘤重量}) / \text{对照组肿瘤重量} \times 100\%$ 。

3、实验结果：

不同剂量的番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 均能显著抑制小鼠移植性肝癌 HepS 的生长($P < 0.01$)。番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 的有效剂量极小，其体内抗肝癌活性是目前临床一线化疗药 5-氟脲嘧啶 (5-FU) 的数百倍以上，见表 3。

表 3 番荔枝内酯单体化合物 bullatacin 对小鼠移植性肝癌 HepS 作用结果

剂量		动物数 (开始/结束)	瘤重 ($\bar{x} \pm s$)	抑瘤率 (%)	P 值
NS		10/10	1.71±0.24		
5-FU	20mg/kg	10/10	0.85±0.27	50.29%	<0.01
bullatacin	15μg/kg	10/9	0.81±0.20	52.63%	<0.01
	30μg/kg	10/10	0.53±0.21	69.01%	<0.01
	60μg/kg	10/10	0.30±0.15	82.46%	<0.01