一种甾醇类衍生物、其制备方法及用途

技术领域

本发明属于医药化工领域，涉及一种甾醇类衍生物、其制备方法及用途。

背景技术

红曲(*Monascus*-fermented rice)是以大米为原料，经红曲霉(*Monascus*)发酵制成的一种紫红色米曲。红曲古代称丹曲，是将红曲霉为主的曲母或酒曲接种于米饭上发酵而成，其色赤红，故又名赤曲、红米、红大米、红糟，又因主产于福建等地，故又名福曲、福米等。

我国利用红曲菌的历史悠久，从汉代起就用它制曲。红曲是一味食疗兼备的传统中药。早在古代它已被广泛应用于食品着色、酿酒、发酵、中医中药方面。《饮膳正要》有红曲“味甘、平、无毒”、“健脾、益气、温中”；《本草纲目》有“甘、温、无毒”、“治女人血痛及产后恶血不净，擂酒饮之良”；《本草衍义补遗》有“活血、消食、健脾暖胃、治赤白下痢、跌打损伤”等记载。

上世纪 70 年代，日本 Endo 教授首次从红色红曲霉(*Monascus ruber*)中分离出生理活性物质莫纳克林 K (monacolin K)以来，众多国内外学者在红曲霉代谢产物中不断发现生理活性物质，包括 monacolin 类化合物，红曲色素，降压成分 GABA 及抗氧化成分 dimerumic acid 及最近分离的一些萜类化合物等等。随着现代生物化学与药理学的发展，红曲的降血脂、降压、降糖、抗肥胖、抗癌、防治老年痴呆及骨质疏松等功效不断被挖掘。从而为传统的红曲增添了新的内涵。

血脂康胶囊是北京北大维信生物科技有限公司自主研究的特制红曲霉发酵制成的高效、安全的国产现代调脂中药。适应症为高脂血症及动脉粥样硬化引起的心脑血管疾病的治疗。其主要作用机制为通过抑制 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A（HMG-CoA）还原酶的活性，可抑

制内源性胆固醇的合成，降低血清总胆固醇（TC）、血甘油三酯（TG）、低密度脂蛋白（LDL）、升高高密度脂蛋白（HDL）水平。血脂康胶囊是红曲的醇提取物，它富含洛伐他汀等一系列天然他汀类化合物。除了他汀类化合物以外，血脂康胶囊中还含有色素类化合物、异黄酮类化合物、甾醇类化合物、20种氨基酸、不饱和脂肪酸及多种微量元素。故尚需要发现新的具有降脂或抑制HMG-CoA还原酶活性的化合物。

此外，血脂康中还可能存在一些未知的抗癌成分。故尚需要发现新的具有抗癌作用的化合物。

肥胖症作为一种全身性内分泌代谢疾病，在世界范围内成普遍趋势。它不但影响体态和活动，而且与高脂血症、动脉粥样硬化、冠心病、糖尿病等疾病密切相关。肥胖发生的原因是多方面的，如遗传因素、环境因素、饮食习惯等，其中高脂饮食是导致肥胖的重要原因。近年来，药物治疗是治疗肥胖症的有效手段之一，通过减少脂肪吸收达到治疗目的。胰和胃脂肪酶是肠道中脂肪消化吸收所必需的。食物中的脂肪被水解为单酰甘油和游离脂肪酸后，在肠道被吸收，然后在体内重新合成脂肪，造成脂肪堆积，最终可导致肥胖。应用脂肪酶抑制剂可有效抑制肠道中脂肪酶对脂肪的分解催化作用，达到减少脂肪吸收、控制和治疗肥胖的目的（陈瑾等.肥胖的药物治疗研究进展.中华中医药学刊， 2007, 25(5):947-948; 吴静等. 肥胖的药物治疗进展. 医学综述，2006, 12(11):693-693。）

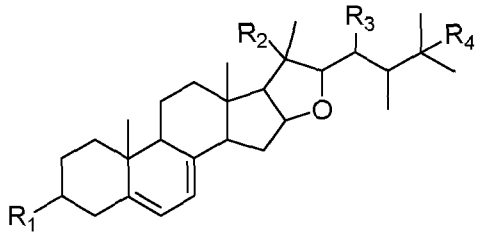
目前，美国 FDA 只批准了 2 种药物可以长期用于肥胖症治疗：sibutramin(西布曲明，中枢神经作用减肥药)和orlistat(奥利司他，胃肠道脂肪酶抑制剂)。但这两种药都有明显的不良反应：sibutramin的副作用主要有口渴、便秘、头晕和失眠，orlistat的不良反应主要是胃肠道症状，常见的有腹泻腹痛、油性斑点、胃肠胀气等，其长期效果也有待于进一步评价。

因此，目前亦尚需要发现新的具有抑制脂肪酶作用的药物。

发明内容

本发明人经过深入的研究和创造性的劳动，得到了一种甾醇类衍生物，并且本发明人惊奇地发现，本发明的化合物能够有效地抑制HMG-CoA还原酶，从而具有作为降低或调节血脂或者预防和/或治疗血脂异常、高血脂症、高胆固醇血症、或动脉粥样硬化的药物的潜力。此外，本发明人还惊奇地发现：1）本发明的化合物能够有效地抑制癌细胞（肿瘤细胞）的增殖，从而具有作为预防和/或治疗和/或辅助治疗癌症的药物的潜力；2）本发明的化合物能够有效地抑制脂肪酶的活性，从而具有作为预防和/或治疗和/或辅助治疗肥胖症或肥胖症相关疾病的药物的潜力。由此提供了下述发明：

本发明的一个方面涉及式 I 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯或醚，



式 I

其中，

R_1选自-OH、=O（羰基）、H、和C_1-C_3烷基；

R_2选自-OH、H、和C_1-C_3烷基；

R_3选自-OH、=O、H、和C_1-C_3烷基；

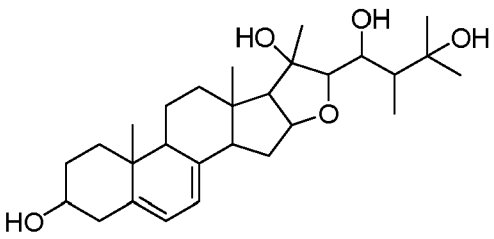
R_4选自-OH、H、和C_1-C_3烷基；

并且R_1、R_2、R_3、和R_4中任意的 0 个、1 个、2 个、3 个或 4 个为-OH。

对于式 I 化合物的酯或醚，成酯或成醚的位点为R_1、R_2、R_3、和R_4中任意的 0 个、1 个、2 个、3 个或 4 个。

在本发明的一个实施方案中，R_1为-OH 或=O（羰基），R_2、R_3和R_4均为 H。

根据本发明的任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、酯或醚，其为下面的式 II 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯或醚，



式 II。

式 II 化合物的化学名为：16,22-环氧麦角甾-5,7-二烯-3,20,23,25-四醇（16,22-epoxy-ergosta-5,7-dien-3,20,23,25-tetraol）。

根据本发明的任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、酯或醚，其中，所述酯选自甲酸酯、醋酸酯、丙酸酯和磺酸酯；所述醚为叔丁基二甲基硅醚；具体地，所述磺酸酯基为对甲苯磺酯或三氟甲磺酸酯。

本发明还涉及上述的式 I 或式 II 化合物的水合物或溶剂化物。

本发明的另一方面涉及式 I 或式 II 化合物的制备方法，包括下述步骤：

1）取红曲和/或红曲的醇提物（例如血脂康胶囊内容物，其为干粉），用 2－6 倍体积的选自二氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、甲醇、乙醇中的一种或多种有机溶剂作为溶剂超声提取一次或多次，每次 20－40 分钟，合并提取液，除去溶剂，得到精提物；

可选地，所述醇提物可以如下方法制得：用 2－6 倍体积的 50%－100%乙醇或 50%－100%甲醇作为溶剂超声提取一次或多次，每次 20－40 分钟，合并提取液，除去溶剂，得到醇提物。

不拘于理论的限制，由于血脂康本身是红曲的醇提物，因此可以直接用红曲为原料，提取步骤与血脂康胶囊内容物干粉基本相同，但红曲中的该化合物的含量相对低。所述红曲的具体菌株并不特别限

定，包括任一属于红曲的菌种或菌株。血脂康胶囊（例如北大维信生产）可以通过医院或药店购买得到。

2）将步骤 1）得到的精提物进行硅胶柱色谱分离，用石油醚和乙酸乙酯进行梯度洗脱；石油醚-乙酸乙酯的体积比依次为 75:25、50:50－25:75、0:100；

3)取步骤 2)中的石油醚-乙酸乙酯为 50:50－25:75 的洗脱部分，经 C18 反相柱色谱进行分离，用甲醇-水进行梯度洗脱，甲醇-水的体积比依次为 10:90、50:50－75:25、100:0；

4）取步骤 3）中的甲醇-水为 50:50－75:25 的洗脱部分用半制备高效液相色谱纯化，以乙腈-0.2%乙酸水溶液（45: 55）为流动相，C18 半制备柱为固定相，收集 9.2 min 的色谱峰部分；和

5）将步骤 4）的产物进行冷冻干燥，得到式 I 或式 II 化合物。

根据本发明的任一项所述的制备方法，其满足如下的（1）－（9）中的任一项或者多项：

（1）步骤 1）中，所述有机溶剂优选为二氯甲烷；

（2）步骤 1）中，所述超声提取进行 3 次；

（3）步骤 1）中，通过减压浓缩除去溶剂；

（4)步骤 2)中，石油醚-乙酸乙酯的体积比依次为 75:25、50:50、25:75、0:100；

（5）步骤 3）中，取步骤 2）中的石油醚-乙酸乙酯为 50:50 或 25:75 的洗脱部分；

本发明人通过试验发现，石油醚-乙酸乙酯为 50:50－25:75 的洗脱部分都含有本发明的化合物。

（6）步骤 3）中，甲醇-水的体积比依次为 10:90、50:50、75:25、100:0；

（7）步骤 4）中，取步骤 3）中的甲醇-水为 50:50 或 75:25 的洗脱部分；

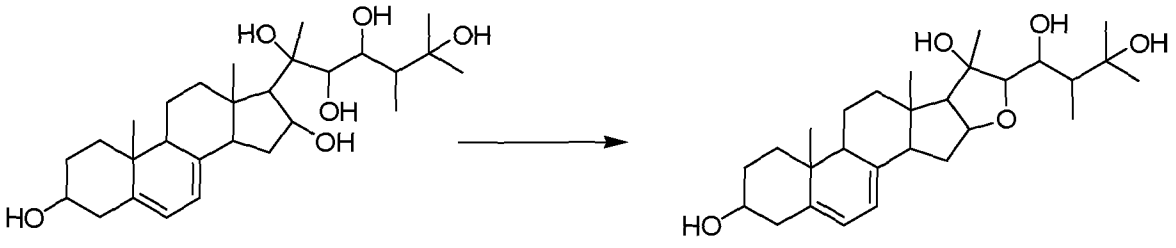
本发明人通过试验发现，甲醇-水为 50:50－75:25 的洗脱部分都含有本发明的化合物。

（8）步骤 4）中，将收集的 9.2 min 的色谱峰部分合并；和

（9）步骤 5）中，冷冻干燥的条件是：冷阱温度-40 至-85℃，真空度 0－100 Pa；优选为冷阱温度-50 至-82.7℃，真空度 2－13 Pa；更优选为冷阱温度-82.7℃，真空度 2 Pa，或冷阱温度-50℃，真空度 8.5 Pa。

本发明的再一方面涉及式 II 化合物的制备方法，包括下述步骤：

以六羟基麦角甾醇为底物，如（3，16,20,22,23,25-六羟基麦角甾醇，简称为化合物 A），在对甲苯磺酸一水合物或 2,4,6－三异丙基磺酰氯的存在下脱水生成式 II 化合物：



化合物A 式II

化合物 A 可参照中国专利公开 CN101469014A（申请号为 200710304346.0）的制备方法制得。

在本发明的一个实施方案中，化合物 A 与对甲苯磺酸一水合物的摩尔比为 5: 1－2: 1；具体地，化合物 A 与对甲苯磺酸一水合物在甲苯溶液中，经过回流反应 5－10 小时制得式 II 化合物。

在本发明的一个实施方案中，化合物 A 与 2,4,6－三异丙基磺酰氯的摩尔比为 5: 1－2: 1；具体地，化合物 A 与 2,4,6－三异丙基磺酰氯在吡啶溶液中，于 30℃－70℃的温度下反应 10－30 小时制得式 II 化合物。

式 II 化合物在一定条件下，可生成不同的衍生物，例如酯类衍生物，包括但不限于：醋酸酯、磺酸酯。

所述酯类衍生物可以通过使式 II 化合物与常用酸酐、酰氯、磺酰氯、磺酸反应制得。与酸酐反应的催化剂可选自吡啶、浓硫酸、$NaHCO_3$

等。例如:

式 II 化合物的四乙酸酯(相当于式 I 所示的化合物中,$R_1=R_2=R_3=R_4=-OC(=O)-CH_3$)的制备方法为:将式 II 化合物在催化量的浓硫酸下,以乙酸酐作为反应试剂和溶剂,于 40-80℃下反应 1-3 小时后制得。

式 II 化合物的四对甲苯磺酯(相当于式 I 所示的化合物中,$R_1=R_2=R_3=R_4=-OTs$)的制备方法为:将摩尔比为 1:4-1:8 的式 II 化合物与对甲苯磺酰氯,以三乙胺为除酸剂,在二氯甲烷中于 20℃-40℃反应制得。

式 II 化合物的四(三氟甲磺酸酯)(相当于式 I 所示的化合物中,$R_1=R_2=R_3=R_4=CF_3SO_3-$)的制备方法为:将摩尔比为 1:4-1:6 的式 II 化合物与三氟甲磺酸酐,在二氯甲烷中与吡啶在 20℃-30℃下反应 1-5 小时制得。

式 II 化合物在一定条件下,亦可生成硅醚类衍生物,例如式 II 化合物的叔丁基二甲基硅醚。例如:

式 II 化合物的四(叔丁基二甲基硅醚)(相当于式 I 所示的化合物中,$R_1=R_2=R_3=R_4=TBDMSO-$)的制备方法为:将摩尔比为 1:4 的式 II 化合物与氢化钠在四氢呋喃中反应后,与叔丁基二甲基氯硅烷在 20℃-40℃下反应 1-3 小时制得。

本发明的再一方面涉及一种提取物,其含有本发明的式 II 化合物。

根据本发明任一项所述的提取物,其为血脂康胶囊内容物干粉的提取物或者红曲的提取物。

根据本发明任一项所述的提取物,其中式 II 化合物的含量为 0.0001-5%(w/w)、0.001-2%(w/w)或 0.001-1%(w/w)。式 II 化合物的含量也可以通过将本发明的提取物通过适当浓缩进行调整。所述浓缩可以通过本领域人员知悉的方法进行。

根据本发明任一项所述的提取物,其为如下的(1)至(3)中的

任一项：

（1）上述的步骤 1）至 2）中制得的石油醚-乙酸乙酯为 50:50 - 25:75 的洗脱部分；优选石油醚-乙酸乙酯为 50:50 或 25:75 的洗脱部分；进一步优选石油醚-乙酸乙酯为 25:75 的洗脱部分。

（2）上述的步骤 1）至 3）中制得的甲醇-水为 50:50 - 75:25 的洗脱部分；优选甲醇-水为 75:25 的洗脱部分；和

（3）上述的步骤 1）至 4）中制得的 9.2 min 的色谱峰部分。

本发明的再一方面涉及一种组合物，其包含式 I 或式 II 的化合物、和/或本发明中任一项所述的提取物；可选地，还包括药学上可接受的载体或辅料。具体地，所述组合物为药物组合物。

通常本发明药物组合物含有 0.1 - 90 重量％的式 I 或式 II 化合物和/或其可药用盐。药物组合物可根据本领域已知的方法制备。用于此目的时，如果需要，可将式 I 或式 II 化合物和/或其可药用盐与一种或多种固体或液体药物赋形剂和/或辅剂结合，制成可作为人用的适当的施用形式或剂量形式。

本发明的式 I 或式 II 化合物或其可药用盐或含有它的药物组合物可以单位剂量形式给药，给药途径可为肠道或非肠道，如口服、肌肉、皮下、鼻腔、口腔粘膜、皮肤、腹膜或直肠等。给药剂型例如片剂、胶囊、滴丸、气雾剂、丸剂、粉剂、溶液剂、混悬剂、乳剂、颗粒剂、脂质体、透皮剂、口含片、栓剂、冻干粉针剂等。可以是普通制剂、缓释制剂、控释制剂及各种微粒给药系统。为了将单位给药剂型制成片剂，可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如稀释剂与吸收剂，如淀粉、糊精、硫酸钙、乳糖、甘露醇、蔗糖、氯化钠、葡萄糖、尿素、碳酸钙、白陶土、微晶纤维素、硅酸铝等；湿润剂与粘合剂，如水、甘油、聚乙二醇、乙醇、丙醇、淀粉浆、糊精、糖浆、蜂蜜、葡萄糖溶液、阿拉伯胶浆、明胶浆、羧甲基纤维素钠、紫胶、甲基纤维素、磷酸钾、聚乙烯吡咯烷酮等；崩解剂，例如干燥淀粉、海藻酸盐、琼脂粉、褐藻淀粉、碳酸氢钠与枸橼酸、

碳酸钙、聚氧乙烯、山梨糖醇脂肪酸酯、十二烷基磺酸钠、甲基纤维素、乙基纤维素等；崩解抑制剂，例如蔗糖、三硬脂酸甘油酯、可可脂、氢化油等；吸收促进剂，例如季铵盐、十二烷基硫酸钠等；润滑剂，例如滑石粉、二氧化硅、玉米淀粉、硬脂酸盐、硼酸、液体石蜡、聚乙二醇等。还可以将片剂进一步制成包衣片，例如糖包衣片、薄膜包衣片、肠溶包衣片，或双层片和多层片。为了将给药单元制成丸剂，可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如稀释剂与吸收剂，如葡萄糖、乳糖、淀粉、可可脂、氢化植物油、聚乙烯吡咯烷酮、Gelucire、高岭土、滑石粉等；粘合剂如阿拉伯胶、黄蓍胶、明胶、乙醇、蜂蜜、液糖、米糊或面糊等；崩解剂，如琼脂粉、干燥淀粉、海藻酸盐、十二烷基磺酸钠、甲基纤维素、乙基纤维素等。为了将给药单元制成栓剂，可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如聚乙二醇、卵磷脂、可可脂、高级醇、高级醇的酯、明胶、半合成甘油酯等。为了将给药单元制成胶囊，将有效成分式 I 或式 II 化合物或其可药用盐与上述的各种载体混合，并将由此得到的混合物置于硬的明明胶囊或软胶囊中。也可将有效成分式 I 或式 II 化合物或其可药用盐制成微囊剂，混悬于水性介质中形成混悬剂，亦可装入硬胶囊中或制成注射剂应用。为了将给药单元制成注射用制剂，如溶液剂、乳剂、冻干粉针剂和混悬剂，可以使用本领域常用的所有稀释剂，例如，水、乙醇、聚乙二醇、1,3-丙二醇、乙氧基化的异硬脂醇、多氧化的异硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇脂肪酸酯等。另外，为了制备等渗注射液，可以向注射用制剂中添加适量的氯化钠、葡萄糖或甘油，此外，还可以添加常规的助溶剂、缓冲剂、pH 调节剂等。

此外，如需要，也可以向药物制剂中添加着色剂、防腐剂、香料、矫味剂、甜味剂或其它材料。

本发明式 I 或式 II 化合物或其可药用盐的给药剂量取决于许多因素，例如所要预防或治疗疾病的性质和严重程度，患者或动物的性别、年龄、体重及个体反应，所用的具体化合物，给药途径及给药次

数等。上述剂量可以单一剂量形式或分成几个，例如二、三或四个剂量形式给药。

本文所用的术语“组合物”意指包括包含指定量的各指定成分的产品，以及直接或间接从指定量的各指定成分的组合产生的任何产品。

可改变本发明药物组合物中各活性成分的实际剂量水平，以便所得的活性化合物量能有效针对具体患者、组合物和给药方式得到所需的治疗反应。剂量水平须根据具体化合物的活性、给药途径、所治疗病况的严重程度以及待治疗患者的病况和既往病史来选定。但是，本领域的做法是，化合物的剂量从低于为得到所需治疗效果而要求的水平开始，逐渐增加剂量，直到得到所需的效果。

本发明的再一方面涉及本发明的化合物或本发明任一项所述的提取物或者本发明的组合物在制备降低或调节血脂或者预防和/或治疗血脂异常、高血脂症、高胆固醇血症、或动脉粥样硬化的药物中的用途。

本发明的再一方面涉及本发明的化合物或本发明任一项所述的提取物或者本发明的组合物在制备HMG-CoA还原酶抑制剂中的用途。

本发明的再一方面涉及一种在体内或体外抑制HMG-CoA还原酶的方法，包括使用有效量的本发明的化合物或本发明任一项所述的提取物或者本发明的组合物的步骤。

实验例 1 的实验结果证明，本发明的化合物具有抑制 HMG-CoA 还原酶的活性，并且所述活性具有剂量依赖性。

本发明的再一方面涉及一种降低或调节血脂或者预防和/或治疗和/或辅助治疗血脂异常、高血脂症、高胆固醇血症、或动脉粥样硬化的方法，包括给与有效量的本发明的化合物或本发明任一项所述的提取物或者本发明的组合物的步骤。

本发明的再一方面涉及本发明的化合物或本发明任一项所述的

提取物或者本发明的组合物在制备预防和/或治疗和/或辅助治疗癌症的药物中的用途；具体地，所述癌症为结肠癌、肝癌、淋巴癌、或黑色素瘤。

本发明的再一方面涉及本发明的化合物或本发明任一项所述的提取物或者本发明的组合物在制备抑制肿瘤细胞的药物或者试剂中的用途；具体地，所述肿瘤细胞为结肠癌细胞、肝癌细胞、淋巴癌细胞或黑色素瘤细胞。

本发明的再一方面涉及一种抑制肿瘤细胞的方法，包括使用有效量的本发明的化合物或其药学上可接受的盐或本发明任一项所述的提取物或者本发明的组合物的步骤；具体地，所述肿瘤细胞为结肠癌细胞、肝癌细胞、淋巴癌细胞或黑色素瘤细胞。具体地，所述抑制肿瘤细胞的方法为在体内或体外抑制肿瘤细胞的方法。

实验例 2 的实验结果证明，本发明的化合物能够有效地抑制肿瘤细胞。

本发明的再一方面涉及预防和/或治疗和/或辅助治疗癌症的方法，包括使用有效量的本发明的化合物或其药学上可接受的盐或本发明任一项所述的提取物或者本发明的组合物的步骤；具体地，所述癌症为结肠癌、肝癌、淋巴癌、或黑色素瘤。

本发明的再一方面涉及本发明的化合物或本发明任一项所述的提取物或者本发明的组合物在制备预防和/或治疗和/或辅助治疗肥胖症或肥胖症相关疾病的药物或者减肥药物中的用途；具体地，所述肥胖症相关疾病为高脂血症、动脉粥样硬化、冠心病、或糖尿病。

本发明的再一方面涉及本发明的化合物或本发明任一项所述的提取物或者本发明的组合物在制备抑制脂肪酶的药物或者试剂中的用途。

本发明的再一方面涉及一种抑制脂肪酶的方法，包括使用有效量的本发明的化合物或其药学上可接受的盐或本发明任一项所述的提取物或者本发明的组合物的步骤。具体地，所述抑制脂肪酶的方法为

在体内或体外抑制脂肪酶的方法。

实验例 3 的实验结果证明，本发明的化合物能够有效地抑制脂肪酶。

本发明的再一方面涉及一种预防和/或治疗和/或辅助治疗肥胖症或肥胖症相关疾病的方法或者一种减肥的方法，包括给与有效量的本发明的化合物或本发明任一项所述的提取物或者本发明的组合物的步骤；具体地，所述肥胖症相关疾病为高脂血症、动脉粥样硬化、冠心病、或糖尿病。

当用于上述治疗和/或预防和/或辅助治疗时，治疗和/或预防和/或辅助治疗的有效量的一种本发明化合物可以以纯形式应用，或者以药学可接受的酯或前药形式(在存在这些形式的情况下)应用。或者，所述化合物可以以含有该目的化合物与一种或多种药物可接受赋形剂的药物组合物给药。但应认识到，本发明化合物和组合物的总日用量须由主诊医师在可靠的医学判断范围内作出决定。对于任何具体的患者，具体的治疗有效剂量水平须根据多种因素而定，所述因素包括所治疗的障碍和该障碍的严重程度；所采用的具体化合物的活性；所采用的具体组合物；患者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食；所采用的具体化合物的给药时间、给药途径和排泄率；治疗持续时间；与所采用的具体化合物组合使用或同时使用的药物；及医疗领域公知的类似因素。例如，本领域的做法是，化合物的剂量从低于为得到所需治疗效果而要求的水平开始，逐渐增加剂量，直到得到所需的效果。一般说来，本发明式 I 化合物用于哺乳动物特别是人的剂量可以介于 0.001－1000 mg/kg 体重/天，例如介于 0.01－100 mg/kg 体重/天，例如介于 0.01－10 mg/kg 体重/天。

根据本发明的化合物可以有效地预防和/或治疗本发明所述的各种疾病或病症。

本发明中，术语“C_1-C_3烷基”包括甲基、乙基、丙基和异丙基。

术语“肥胖症”包括但不限于单纯性肥胖（无明显内分泌、代谢

的病因可寻，与遗传、饮食习惯等有关）、继发性肥胖（常是某些疾病如肾上腺皮质功能亢进的一种，可因疾病的治愈而消除）。所述肥胖症可以是哺乳动物的肥胖症，所述哺乳动物包括人或猪。

术语“肥胖症相关疾病”包括但不限于高脂血症、动脉粥样硬化、冠心病、或糖尿病等等。

术语“脂肪酶”（lipase，酶分类号 EC3.1.1.3）包括但不限于哺乳动物的脂肪酶，例如人的脂肪酶或猪的脂肪酶，所述人的脂肪酶可以是人胰脂肪酶，所述猪的脂肪酶可以是猪胰脂肪酶（porcine pancreatic lipase）。

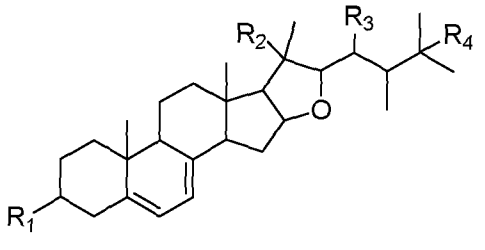
术语“有效量”是指可在受试者中实现治疗、预防、减轻和/或缓解本发明所述疾病或病症的剂量。

本发明中，对于某种成分的含量的百分比，如果没有特别说明，均指重量百分比（w/w）。

本发明还涉及如下方面 1－22:

1. 如下的（1）－（4）中的任一项在制备预防和/或治疗和/或辅助治疗癌症的药物中的用途；具体地，所述癌症为结肠癌、肝癌、淋巴癌、或黑色素瘤，

（1）式 I 所示的化合物或其药学上可接受的盐，



式 I

其中，

R_1选自-OH、=O、H、以及 C_1-C_3烷基；

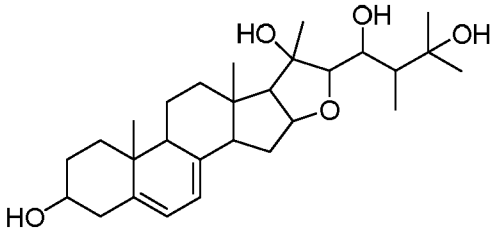
R_2选自-OH、H、以及 C_1-C_3烷基；

R_3选自-OH、=O、H、以及 C_1-C_3烷基；

R_4选自-OH、H、以及 C_1-C_3烷基；

并且 R_1 、R_2 、R_3 、和 R_4 中任意 2 个、3 个或 4 个同时为-OH;

（2）式 II 所示的化合物或其药学上可接受的盐，



式 II

;

（3）提取物，其含有式 II 化合物；和

（4）组合物，其含有上述的（1）-（3）中的任一项。

2. 第 1 方面中所述的（1）-（4）中的任一项在制备在体内或体外抑制肿瘤细胞的药物或者试剂中的用途；具体地，所述肿瘤细胞为结肠癌细胞、肝癌细胞、淋巴癌细胞或黑色素瘤细胞。

3. 根据第 1 或 2 方面所述的用途，其中，所述第（3）项中的提取物为红曲提取物和/或红曲醇提物（例如血脂康胶囊内容物）的提取物。

4. 根据第 3 方面所述的用途，其中，所述第（3）项中的提取物，其为如下的步骤 1）至 2）中制得的石油醚-乙酸乙酯为 50:50－25:75 的洗脱部分;或如下的步骤 1)至 3)中制得的甲醇-水为 50:50－75:25 的洗脱部分；或如下的步骤 1）至 4）中制得的 9.2 min 的色谱峰部分:

1）取红曲和/或红曲的醇提物（例如血脂康胶囊内容物干粉），用 2－6 倍体积的选自二氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、甲醇、乙醇中的一种或多种有机溶剂作为溶剂超声提取一次或多次，每次 20－40 分钟，合并提取液，除去溶剂，得到精提物;

2）将步骤 1）得到的精提物进行硅胶柱色谱分离，用石油醚和乙酸乙酯进行梯度洗脱;石油醚-乙酸乙酯的体积比依次为 75:25、50:50－25:75、0:100;

3） 取步骤 2）中的石油醚-乙酸乙酯为 50:50－25:75 的洗脱部

分，经 C18 反相柱色谱进行分离，用甲醇-水进行梯度洗脱，甲醇-水的体积比依次为 10:90、50:50－75:25、100:0；和

4）取步骤 3）中的甲醇-水为 50:50－75:25 的洗脱部分用半制备高效液相色谱纯化，以乙腈-0.2%乙酸水溶液（45: 55）为流动相，C18 半制备柱为固定相，收集 9.2 min 的色谱峰部分。

5. 根据第 4 方面所述的用途，其特征在于（1）－（8）中的任一项或者多项：

（1）步骤 1）中，所述有机溶剂为二氯甲烷；

（2）步骤 1）中，所述超声提取进行 3 次；

（3）步骤 1）中，通过减压浓缩除去溶剂；

（4）步骤 2）中，石油醚-乙酸乙酯的体积比依次为 75:25、50:50、25:75、0:100；

（5）步骤 3）中，取步骤 2）中的石油醚-乙酸乙酯为 50:50 或 25:75 的洗脱部分；

（6）步骤 3）中，甲醇-水的体积比依次为 10:90、50:50、75:25、100:0；

（7）步骤 4）中，取步骤 3）中的甲醇-水为 50:50 或 75:25 的洗脱部分；和

（8）步骤 4）中，将收集的 9.2 min 的色谱峰部分合并。

6. 根据第 1 或 2 方面所述的用途，其中，所述第（4）项中的组合物还包括药学上可接受的载体或辅料。

7. 一种在体内或体外抑制肿瘤细胞的方法，包括使用有效量的第 1 方面中所述的（1）－（4）中的任一项的步骤；具体地，所述肿瘤细胞为结肠癌细胞、肝癌细胞、淋巴癌细胞或黑色素瘤细胞。

8. 根据第 7 方面所述的方法，其中，所述第（3）项中的提取物为红曲提取物和/或红曲醇提物（例如血脂康胶囊内容物）的提取物。

9. 根据第 8 方面所述的方法，其中，所述第（3）项中的提取物，其为如下的步骤 1）至 2）中制得的石油醚-乙酸乙酯为 50:50－25:75 的洗脱部分；或如下的步骤 1）至 3）中制得的甲醇-水为 50:50－75:25

的洗脱部分；或如下的步骤 1）至 4）中制得的 9.2 min 的色谱峰部分：

1）取红曲和/或红曲的醇提物（例如血脂康胶囊内容物干粉），用 2－6 倍体积的选自二氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、甲醇、乙醇中的一种或多种有机溶剂作为溶剂超声提取一次或多次，每次 20－40 分钟，合并提取液，除去溶剂，得到精提物；

2）将步骤 1）得到的精提物进行硅胶柱色谱分离，用石油醚和乙酸乙酯进行梯度洗脱；石油醚-乙酸乙酯的体积比依次为 75:25、50:50－25:75、0:100；

3） 取步骤 2）中的石油醚-乙酸乙酯为 50:50－25:75 的洗脱部分，经 C18 反相柱色谱进行分离，用甲醇-水进行梯度洗脱，甲醇-水的体积比依次为 10:90、50:50－75:25、100:0；和

4）取步骤 3）中的甲醇-水为 50:50－75:25 的洗脱部分用半制备高效液相色谱纯化，以乙腈-0.2%乙酸水溶液（45： 55）为流动相，C18 半制备柱为固定相，收集 9.2 min 的色谱峰部分。

10. 根据第 9 方面所述的方法，其特征在于（1）－（8）中的任一项或者多项：

（1）步骤 1）中，所述有机溶剂为二氯甲烷；

（2）步骤 1）中，所述超声提取进行 3 次；

（3）步骤 1）中，通过减压浓缩除去溶剂；

（4）步骤 2）中，石油醚-乙酸乙酯的体积比依次为 75:25、50:50、25:75、0:100；

（5）步骤 3）中，取步骤 2）中的石油醚-乙酸乙酯为 50:50 或 25:75 的洗脱部分；

（6）步骤 3）中，甲醇-水的体积比依次为 10:90、50:50、75:25、100:0；

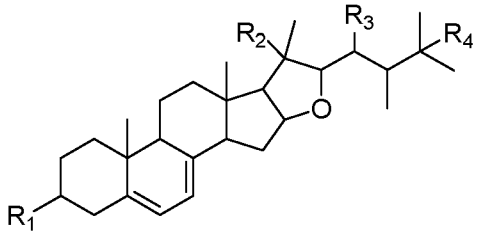
（7）步骤 4）中，取步骤 3）中的甲醇-水为 50:50 或 75:25 的洗脱部分；和

（8）步骤 4）中，将收集的 9.2 min 的色谱峰部分合并。

11. 根据第 7 方面所述的方法，其中，所述第（4）项中的组合物还包括药学上可接受的载体或辅料。

12. 如下的（1）-（4）中的任一项在制备预防和/或治疗和/或辅助治疗肥胖症或肥胖症相关疾病的药物或者减肥药物中的用途；具体地，所述肥胖症相关疾病为高脂血症、动脉粥样硬化、冠心病、或糖尿病，

（1）式 I 所示的化合物或其药学上可接受的盐，



式 I

其中，

R_1选自-OH、=O、H、以及 C_1-C_3烷基；

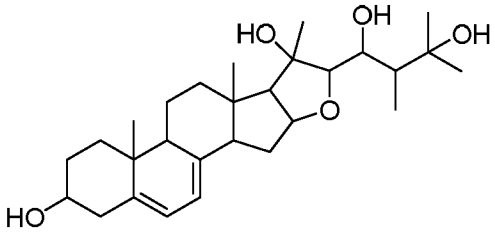
R_2选自-OH、H、以及 C_1-C_3烷基；

R_3选自-OH、=O、H、以及 C_1-C_3烷基；

R_4选自-OH、H、以及 C_1-C_3烷基；

并且 R_1 、R_2 、R_3 、和 R_4中任意 2 个、3 个或 4 个同时为-OH；

（2）式 II 所示的化合物或其药学上可接受的盐，



式 II；

（3）提取物，其含有式 II 化合物；和

（4）组合物，其含有上述的（1）-（3）中的任一项。

13. 第 12 方面中所述的（1）-（4）中的任一项在制备在体内或体外抑制脂肪酶的药物或试剂中的用途。

14. 根据第 12 或 13 方面所述的用途，其中，所述第（3）项中

的提取物为红曲提取物和/或红曲醇提物（例如血脂康胶囊内容物）的提取物。

15. 根据第 14 方面所述的用途，其中，所述第（3）项中的提取物，其为如下的步骤 1）至 2）中制得的石油醚-乙酸乙酯为 50:50－25:75 的洗脱部分；或如下的步骤 1）至 3）中制得的甲醇-水为 50:50－75:25 的洗脱部分；或如下的步骤 1）至 4）中制得的 9.2 min 的色谱峰部分：

1）取红曲和/或红曲的醇提物（例如血脂康胶囊内容物干粉），用 2－6 倍体积的选自二氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、甲醇、乙醇中的一种或多种有机溶剂作为溶剂超声提取一次或多次，每次 20－40 分钟，合并提取液，除去溶剂，得到精提物；

2）将步骤 1）得到的精提物进行硅胶柱色谱分离，用石油醚和乙酸乙酯进行梯度洗脱；石油醚-乙酸乙酯的体积比依次为 75:25、50:50－25:75、0:100；

3） 取步骤 2）中的石油醚-乙酸乙酯为 50:50－25:75 的洗脱部分，经 C18 反相柱色谱进行分离，用甲醇-水进行梯度洗脱，甲醇-水的体积比依次为 10:90、50:50－75:25、100:0；和

4）取步骤 3）中的甲醇-水为 50:50－75:25 的洗脱部分用半制备高效液相色谱纯化，以乙腈-0.2%乙酸水溶液（45: 55）为流动相，C18 半制备柱为固定相，收集 9.2 min 的色谱峰部分。

16. 根据第 15 方面所述的用途，其特征在于（1）－（8）中的任一项或者多项：

（1）步骤 1）中，所述有机溶剂为二氯甲烷；

（2）步骤 1）中，所述超声提取进行 3 次；

（3）步骤 1）中，通过减压浓缩除去溶剂；

（4）步骤 2）中，石油醚-乙酸乙酯的体积比依次为 75:25、50:50、25:75、0:100；

（5）步骤 3）中，取步骤 2）中的石油醚-乙酸乙酯为 50:50 或 25:75 的洗脱部分；

（6）步骤 3）中，甲醇-水的体积比依次为 10:90、50:50、75:25、100:0;

（7）步骤 4）中，取步骤 3）中的甲醇-水为 50:50 或 75:25 的洗脱部分；和

（8）步骤 4）中，将收集的 9.2 min 的色谱峰部分合并。

17. 根据第 12 或 13 方面所述的用途，其中，所述第（4）项中的组合物还包括药学上可接受的载体或辅料。

18. 一种在体内或体外抑制脂肪酶的方法，包括使用有效量的第 12 方面中所述的（1）-（4）中的任一项的步骤。

19. 根据第 18 方面所述的方法，其中，所述第（3）项中的提取物为红曲提取物和/或红曲醇提物（例如血脂康胶囊内容物）的提取物。

20. 根据第 19 方面所述的方法，其中，所述第（3）项中的提取物，其为如下的步骤 1）至 2）中制得的石油醚-乙酸乙酯为 50:50-25:75 的洗脱部分；或如下的步骤 1）至 3）中制得的甲醇-水为 50:50-75:25 的洗脱部分；或如下的步骤 1）至 4）中制得的 9.2 min 的色谱峰部分：

1）取红曲和/或红曲的醇提物（例如血脂康胶囊内容物干粉），用 2-6 倍体积的选自二氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、甲醇、乙醇中的一种或多种有机溶剂作为溶剂超声提取一次或多次，每次 20-40 分钟，合并提取液，除去溶剂，得到精提物；

2）将步骤 1）得到的精提物进行硅胶柱色谱分离，用石油醚和乙酸乙酯进行梯度洗脱；石油醚-乙酸乙酯的体积比依次为 75:25、50:50-25:75、0:100;

3） 取步骤 2）中的石油醚-乙酸乙酯为 50:50-25:75 的洗脱部分，经 C18 反相柱色谱进行分离，用甲醇-水进行梯度洗脱，甲醇-水的体积比依次为 10:90、50:50-75:25、100:0；和

4）取步骤 3）中的甲醇-水为 50:50-75:25 的洗脱部分用半制备高效液相色谱纯化，以乙腈-0.2%乙酸水溶液（45: 55）为流动相，

C18 半制备柱为固定相，收集 9.2 min 的色谱峰部分。

21. 根据第 20 方面所述的方法，其特征在于（1）-（8）中的任一项或者多项:

（1）步骤 1）中，所述有机溶剂为二氯甲烷;

（2）步骤 1）中，所述超声提取进行 3 次;

（3）步骤 1）中，通过减压浓缩除去溶剂;

（4)步骤 2)中，石油醚-乙酸乙酯的体积比依次为 75:25、50:50、25:75、0:100;

（5）步骤 3）中，取步骤 2）中的石油醚-乙酸乙酯为 50:50 或 25:75 的洗脱部分;

（6)步骤 3)中，甲醇-水的体积比依次为 10:90、50:50、75:25、100:0;

（7）步骤 4）中，取步骤 3）中的甲醇-水为 50:50 或 75:25 的洗脱部分; 和

（8）步骤 4）中，将收集的 9.2 min 的色谱峰部分合并。

22. 根据第 18 方面所述的方法，其中，所述第（4）项中的组合物还包括药学上可接受的载体或辅料。

发明的有益效果

1. 本发明的化合物能够有效地抑制 HMG-CoA 还原酶，具有剂量依赖性的抑制 HMG-CoA 还原酶活性; 具有作为降低或调节血脂或者预防和/或治疗血脂异常、高血脂症、高胆固醇血症、或动脉粥样硬化的药物的潜力。

2. 本发明的化合物能够有效地抑制癌细胞（肿瘤细胞）的增殖，且抑制作用且呈浓度-效应关系; 从而具有作为预防和/或治疗和/或辅助治疗癌症的药物的潜力。

3. 本发明的化合物能够有效地抑制脂肪酶的活性，且抑制作用且呈浓度-效应关系; 从而具有作为预防和/或治疗和/或辅助治疗肥胖症或肥胖症相关疾病的药物或者减肥药物的潜力。

附图说明

Fig. 1: 式 II 化合物对 HCT116 细胞生长的抑制作用曲线。

Fig. 2: 式 II 化合物对 H22 细胞生长的抑制作用曲线。

Fig. 3: 式 II 化合物对 HepG2 细胞生长的抑制作用曲线。

Fig. 4: 式 II 化合物对 S180 细胞生长的抑制作用曲线。

Fig. 5: 式 II 化合物对 YAC-1 细胞生长的抑制作用曲线。

Fig. 6: 式 II 化合物对 THP1 细胞生长的抑制作用曲线。

Fig. 7: 式 II 化合物对 U937 细胞生长的抑制作用曲线。

Fig. 8: 式 II 化合物对 B16-F10 细胞生长的抑制作用曲线。

Fig. 9: 油酸吸光度工作曲线。

具体实施方式

下面将结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述，但是本领域技术人员将会理解，下列实施例仅用于说明本发明，而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体条件者，按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市购获得的常规产品。

实施例 1: 式 II 化合物的制备（1）

操作步骤:

1）取血脂康胶囊（北大维信生产）内容物干粉约 1 kg，用 2－6 倍体积的二氯甲烷为溶剂超声提取 3 次，每次 20－40 分钟，合并提取液，减压浓缩并回收溶剂，得到二氯甲烷精提物 91 g。

2）取二氯甲烷精提物 50 g，上硅胶柱色谱分离，用石油醚和乙酸乙酯进行梯度洗脱。石油醚-乙酸乙酯的体积比依次为 75:25，50:50，25:75，0:100。

3）取石油醚-乙酸乙酯为 25:75 部分 5.0 g，经 C18 反相柱色谱进行分离，甲醇-水（10:90-100:0）梯度洗脱得到 4 个部分（甲醇-水 10：90、50：50、75：25、100：0），其中甲醇-水（75:25）洗脱

部分 1.3 g 用半制备高效液相色谱纯化，以乙腈-0.2%乙酸水溶液（45:55）为流动相，流速为 4 mL/min，C18 半制备色谱柱（10×250 mm，5μm）为固定相，DAD 检测器检测波长为 270 nm，收集 9.2 min 的色谱峰，多次累加后浓缩，冷冻干燥得该化合物约 40 mg。

实施例 2：式 II 化合物的制备（2）

操作步骤：

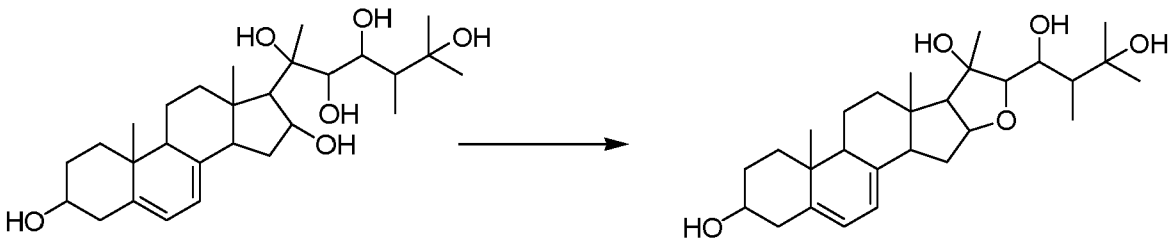
1）取红曲 5 kg，用 2－6 倍体积的二氯甲烷为溶剂超声提取 3 次，每次 20－40 分钟，合并提取液，减压浓缩并回收溶剂，得到二氯甲烷精提物 78 g。

2）取二氯甲烷精提物 30 g，上硅胶柱色谱分离，用石油醚和乙酸乙酯进行梯度洗脱。石油醚-乙酸乙酯的体积比依次为 75:25，50:50，25:75，0:100。

3）取石油醚-乙酸乙酯为 25:75 部分 3.0 g，经 C18 反相柱色谱进行分离，甲醇-水（10:90-100:0）梯度洗脱得到 4 个部分（甲醇-水 10：90、50：50、75：25、100：0），其中甲醇-水（75:25）洗脱部分 0.8 g 用半制备高效液相色谱纯化，以乙腈-0.2%乙酸水溶液（45:55）为流动相，流速为 4 mL/min，C18 半制备色谱柱（10×250 mm，5μm）为固定相，DAD 检测器检测波长为 270 nm，收集 9.2 min 的色谱峰，多次累加后浓缩，冷冻干燥得该化合物约 25 mg。

实施例 3：式 II 化合物的制备（3）

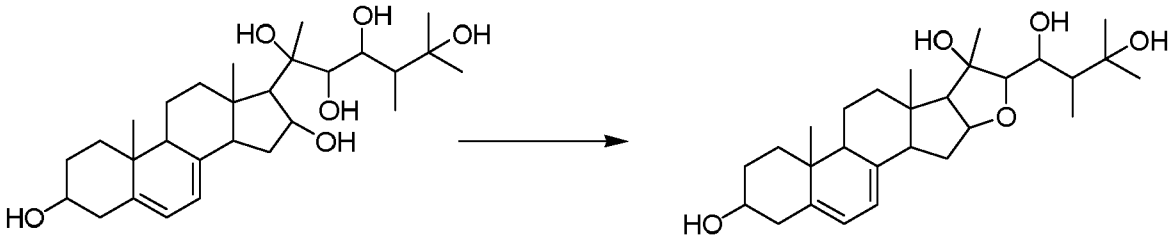
在反应瓶中加入甲苯（350 ml），再加入化合物 A（4.4 g，9.2 mmol）和对甲苯磺酸一水合物（0.59 g，3.1 mmol）加热至回流并共沸除水 7 h，反应后降至室温，减压脱除溶剂，然后硅胶柱层析纯化，得粘稠状的油状化合物，即式 II 化合物。



化合物A 式II

实施例 4：式 II 化合物的制备（4）

在反应瓶中加入吡啶(100 ml),再加入化合物 A(4.4 g, 9.2 mmol)和 2,4,6－三异丙基磺酰氯(0.93 g, 3.1 mmol)，在 50℃反应 20 h，减压脱除溶剂，然后硅胶柱层析纯化，得粘稠状的油状化合物，即式 II 化合物。



化合物A 式II

实施例 5：化合物的结构鉴定

所用样品为实施例 1、2、3、4 制备的化合物。结果证明实施例 1－4 制备的化合物相同，均为式 II 化合物。

1. 化合物的理化数据

白色粉末，旋光度：$[\alpha]_D^{25}$ -50.00 (*c* 0.118, CH_2Cl_2:MeOH = 1:1)；

UV 光谱中有三个最大吸收峰,分别为 λ_{max} (CH_2Cl_2:MeOH) = 271.6 nm, 282.2 nm, 293.8 nm。

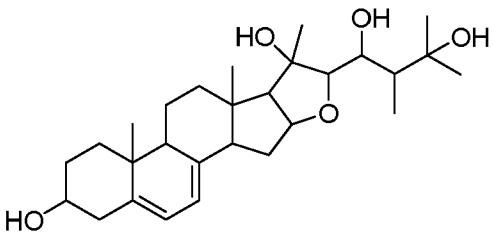
FT-IR（KBr, cm^{-1}）光谱：3392（-OH），2969，2933（饱和碳氢），1652，1647（C=C），1456，1378（偕二甲基）。

2. 分子式的确定

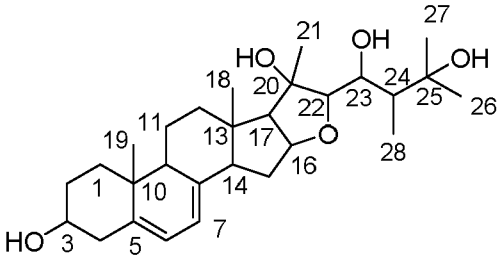
HR-ESI-MS给出的*m/z* 483.3104 $[M+Na]^+$ (calcd. 483.3081, err 2.3)，推断为该化合物的分子量为 460.32。在 ^{1}H-NMR 和 ^{13}C-NMR 显示，共有 40 个氢信号和 28 个碳信号。从 DEPT 显示，有 6 个季碳，10 个 CH，6 个 CH_2 及 6 个 CH_3。在 ^{13}C-NMR 中，117.2 ppm，119.6 ppm，139.1 ppm 及 140.6 ppm 处有 4 个烯碳信号。与 HSQC 图与 ^{13}C-NMR 图结合分析，70.5 ppm，72.4 ppm，74.5 ppm，80.4 ppm，83.8 ppm 及 84.4 ppm 处存在与氧原子相连的 6 个碳。结合分子量和 ^{1}H、^{13}C-NMR 及 DEPT 信号图，如果该化合物拥有 6 个氧原子的话分子量超过 460.32，由此推断该化合物具有 5 个氧原子和未体现氢谱信号的 4 个氢原子。从而可以判断上述 5 个氧原子中，4 个氧原子归属为 4 个羟基，另外第 5 个氧原子以醚的形式存在。根据上述分析，可以确定该分子中有 28 个碳原子，44 个氢原子及 5 个氧原子，分子式为 $C_{28}H_{44}O_5$。

3. 结构式的确定

分析该化合物的碳谱（^{13}C-NMR 及 DEPT），有 28 个碳原子，其中 6 个碳为甲基。基于紫外吸收光谱中 271.6 nm, 282.2 nm 及 293.8 nm 处的 3 个最大吸收与麦角甾醇类基本吻合，初步推断该化合物具有麦角甾醇的骨架。从分子式可以计算得其不饱和度为 7。从而可以推断：该化合物除了 2 个双键和甾醇骨架 4 个环的 6 个不饱和处外，还有一个不饱和处而且此处只能是一个环，由此可以判断该环是由第 5 个氧原子为中心形成的环氧环。HSQC 图与 HMBC 相关信号图相结合分析，与氧原子相连的 6 个碳，分别归属为 4 个羟基相连的 4 个碳（70.5, 72.4, 74.5, 80.4 ppm）及与剩下一个氧原子相连的 2 个碳(83.8, 84.4 ppm)。深入的 HMBC 图分析，可以推断第 5 个环体系是由 C-16 (83.8 ppm), C-17 (66.9 ppm), C-20 (80.4 ppm), C-22 (84.4 ppm)及氧原子组成的 5 元环。这不但满足不饱和度，而且还满足与氧原子相连的碳原子数。进一步分析质谱分析系统给出的分子量及分子式，证实了上述分析。综合上述分析可推测该新化合物为：16,22-环氧麦角甾-5,7-二烯-3,20,23,25-四醇即（16,22-epoxy-ergosta-5,7-dien-3,20,23,25-tetraol ）。结构式为下面的式 II 所示：



式 II



式 II′

。

4. 式 II 化合物的 NMR 数据

如下面的表 1 所示。

表 1: 式 II 化合物的 NMR 数据 (600MHz, $CDCl_3$, J in Hz)

No.	^{1}H-NMR, (ppm)	^{13}C-NMR, (ppm)	DEPT	HMBC (H→C)
1	1.28 (1H, m) 1.90 (1H, m)	38.4	CH_2	-
2	1.48 (1H, m) 1.89 (1H, m)	32.1	CH_2	-
3	3.62 (1H, m)	70.5	CH	-
4	2.39 (1H, m) 2.46 (1H, m)	40.9	CH_2	-
5	-	140.6	C	-
6	5.56 (1H, m)	119.6	CH	4, 7
7	5.38 (1H, m)	117.2	CH	-
8	-	139.1	C	-
9	1.95 (1H, m)	46.0	CH	-

10	–	37.3	C	–
11	1.60 (1H, m) 1.77 (1H, m)	20.8	CH_2	–
12	1.25 (1H, m) 2.08 (1H, m)	39.3	CH_2	–
13	–	43.0	C	
14	1.87 (1H, m)	54.0	CH	13
15	1.75 (1H, m) 2.23 (1H, m)	34.2	CH_2	14
16	4.66 (1H, m)	83.8	CH	13, 14, 15
17	1.90 (1H, m)	66.9	CH	20, 22
18	1.12 (3H, s)	14.6	CH_3	27, 12, 13, 14
19	0.96 (3H, s)	16.6	CH_3	9, 10, 1
20	–	80.4	C	–
21	1.43 (3H, s)	27.8	CH_3	20, 22, 24
22	4.19 (1H, brs)	84.4	CH	21, 24, 23, 20
23	3.66 (1H, brd, J = 9.0 Hz)	72.4	CH	28, 24, 25, 20
24	1.75 (1H, m)	46.4	CH	27, 28
25	–	74.5	C	–
26	1.20 (3H, s)	30.3	CH_3	25, 24
27	1.23 (3H, s)	24.0	CH_3	25, 24
28	0.82 (3H, d, J = 7.2 Hz)	14.0	CH_3	23, 25, 24

注：“–”表示不存在相关信号。

实施例 6: 式 II 化合物的四乙酸酯的制备

将 20 mL 的乙酸酐中，化合物 A（4.23 g，9.2 mmol）和 2 滴浓硫酸的混合液在水浴上加热至 50℃，反应 2h。冷却，加饱和 $NaHCO_3$ 水溶液，用甲苯提取 3 次，旋蒸有机层得成品，硅胶柱层析得式 II 化合物的四乙酸酯。为防止构型反转也可用吡啶催化。

实施例 7: 式 II 化合物的四对甲苯磺酯的制备

在干燥的 25 mL 烧瓶中，加入式 II 化合物（4.23 g，9.2 mmol）与 50ml 干燥二氯甲烷. 冷却至 0 ℃ ，投入对甲苯磺酰氯（10.56 g，55.3 mmol），在搅拌下滴加三乙胺（7.46 g，73.6 mmol）。滴加完毕，20℃搅拌 1 h，反应混合液水洗（50 mL × 3），无水硫酸钠干燥，过滤，蒸干溶剂得到粗品,快速柱层析得到式 II 化合物的四对甲苯磺酯。

实施例 8: 式 II 化合物的四(三氟甲磺酸酯)的制备

在搅拌下将式 II 化合物（4.23 g， 9.2 mmol）和吡啶（4.36 g，55.2 mmol）依次加入盛有 50 mL 干燥二氯甲烷的烧瓶中，然后于室温（25℃）缓慢滴加三氟甲磺酸酐（12.46 g，44.2 mmol），约 20 min 加完，反应 2 h，浓缩滤液，残余物经硅胶柱层析，分离得式 II 化合物的四(三氟甲磺酸酯)。

实施例 9: 式 II 化合物的四(叔丁基二甲基硅醚)的制备

100 mL 圆底烧瓶中加入 20 mL THF 及 1.26 g 矿物油包裹的 NaH（含量 70%，36.8 mmol），搅拌使 NaH 充分分散，滴加式 II 化合物（4.23 g，9.2 mmol）的 THF（10 mL），室温下剧烈搅拌反应 1 h。TBDMS－Cl(叔丁基二甲基氯硅烷)（5.53 g,36.8 mmol)溶于 10 mL THF 中，搅拌下滴加至上述反应液中，控制滴速，使反应温度不致太高，滴加完毕，室温下继续搅拌反应 1.5 h。反应液倒入水中，用二氯甲烷提取，有机相水洗到中性，饱和盐水洗涤，无水硫酸钠干燥。滤液

浓缩，柱层析分离，得式 II 化合物的四(叔丁基二甲基硅醚)。

实验例 1: HMG-CoA 还原酶抑制活性实验

1. 实验材料

1.1 药品

式 II 化合物 --- 实施例 1－4 中所制备。

洛伐他汀标准品 --- 购于 Sigma。

1.2 酶

大鼠肝脏微粒体 (HMG-CoA 还原酶) ---- ，可以商购，也可以参考如下的制备方法: 取出雄性大鼠的肝脏，用 KESD 缓冲液冲洗之后，1200g 离心 15 min，取上清液。再用 105,000g 离心 90 min 两次之后，收集离心沉淀。离心沉淀中加入 8.3%甘油，用 37℃温浴加热 1 h。大鼠肝脏微粒体粗体物用饱和硫酸铵纯化并收集 35-50%纯化部分。可以将得到的纯化部分存放在-80℃冰箱中。

1.3 试剂

氯化钾、磷酸二氢钾、乙二胺四乙酸、二硫苏糖醇 --- 购于北京化学试剂公司;

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NADPH) --- 购于 Merk;

3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) ---- 购于 Sigma。

2. 实验方法

将式 II 化合物用 75%乙醇溶液溶解，初浓度为 8.0 mg/mL 并逐级稀释，得 4.0 mg/mL，2.0 mg/mL，1.0 mg/mL; 洛伐他汀为阳性对照，用 75%乙醇溶液溶解，浓度为 2.0 mg/mL; 测定体系中总体积为 250 μL，各成分的浓度为: 氯化钾 200 mM，磷酸二氢钾 160 mM，乙二胺四乙酸 4 mM，二硫苏糖醇 10 mM，两个底物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸和 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 的浓度分别为 200 μM 和 50 μM，pH6.8，酶加 30 μL，4 个试验组各加 10 μL 不同浓度的新化合物溶液，阳性对照组加 10 μL 洛伐他汀溶液，空白对照组加 10 μL75%乙醇溶液，在 Versamax 酶标仪上 37 ℃条件下检测 OD_{340} 的动态变化。通过检测

OD_{340}在 5 分钟内下降的快慢（以斜率值表示），来评价 HMG-CoA 还原酶活性的强弱，进而评价酶抑制剂活性的强弱，结果见表 2。

3. 实验结果

如下面的表 2 所示。

表 2：酶抑制剂活性检测结果

样品名称	抑制剂浓度（mg/mL）	抑制剂体积（μL）	体系中的终浓度（μg/mL）	斜率	抑制率（%）
空白对照	-	-	-	16.0	-
洛伐他汀	2.0	10	80	7.3	54.4
式 II 化合物	8.0	10	320	7.5	53.1
	4.0	10	160	8.7	45.6
	2.0	10	80	11.3	29.4
	1.0	10	40	13.7	14.4

* 空白对照为溶剂。

洛伐他汀是阳性对照。

实验结果表明，本发明的化合物特别是式 II 化合物对 HMG-CoA 还原酶的活性有抑制作用，且呈浓度-效应关系。其 IC_{50}值约为 250 μg/mL，表明该化合物对 HMG-CoA 还原酶的活性有较好的抑制作用。

进一步的研究发现，式 II 化合物的酯类衍生物或者醚衍生物，例如实施例 6－9 制备的“式 II 化合物的四乙酸酯、式 II 化合物的四对甲苯磺酯、式 II 化合物的四(三氟甲磺酸酯)以及式 II 化合物的四(叔丁基二甲基硅醚)”也具有类似的抑制 HMG-CoA 还原酶的活性。

实验例 2：式 II 化合物的癌细胞抑制实验

1 实验材料

1.1 细胞株

HCT116 及 H22 购于 Korean cell line bank, Seoul, Korea;

S180, HepG-2, YAC-1, Thp1, U937 及 B16-F10 购于中国科学院

典型培养物保藏委员会细胞库。

1.2 药品

实施例 1－4 制备的新化合物（式 II 化合物）。

1.3 试剂

MTT 为购于 Amresco 公司；RPMI1640 和双抗购于 Sigma 公司；胎牛血清（FBS）购于美国 Gibco 公司；其它试剂均为国产分析纯。

2 实验方法

取对数生长期的癌细胞，以 2×10^4 个/孔，接种于 96 孔培养板，加入药物至药物终浓度为：500，250，125，62.5，31.25，15.625 及 7.8125 μg/mL，于 37℃，5%CO_2 细胞培养箱中培养 72h 后加入 MTT 10 μL/孔，于 37℃避光孵育 4 h，去除培养液，加入 150 μL DMSO 或酸化异丙醇，振荡 5 min 后，于 570 nm 波长测定 OD 值。重复 3 次，设空白对照。各种细胞株所用培养基都相同，均为含 10%胎牛血清和 1%双抗（青霉素和链霉素）的 RPMI1640 培养基。

计算公式:

细胞存活率 =（实验组 OD 值/对照组 OD 值）×100%。

实验步骤也可以参考杨秀伟等，《马钱子生物碱成分的体外抗肿瘤活性筛选》，中国现代中药，2006，8（9）：11-13。

3 实验结果

3.1 式 II 化合物的体外抗癌（结肠癌）活性

结果如 Fig.1 所示。结果显示，式 II 化合物对人结肠癌细胞株 HCT116 的生长有抑制作用，且呈浓度-效应关系。可见，该化合物具有防治结肠癌的潜力。

3.2 式 II 化合物的体外抗癌（肝癌）活性

3.2.1 如 Fig.2 所示，式 II 化合物对小鼠肝癌细胞株 H22 的生长有抑制作用，且呈浓度-效应关系。其 IC_{50} 值约为 50 μg/mL，表明对小鼠肝癌细胞增殖有良好的抑制作用。

3.2.2 如 Fig.3 所示，式 II 化合物对人肝癌细胞株 HepG2 的生长有抑制作用，且呈浓度-效应关系。其 IC_{50} 值约为 200 μg/mL，表明对

人肝癌细胞增殖有较好的抑制作用。

3.2.3 如 Fig.4 所示，式 II 化合物对小鼠肉瘤细胞株 S180 的生长有抑制作用，且呈浓度-效应关系。

可见，该化合物具有防治肝癌的潜力。

3.3 式 II 化合物的体外抗癌（淋巴瘤）活性

3.3.1 如 Fig.5 所示，式 II 化合物对小鼠淋巴瘤细胞 YAC-1 的生长有抑制作用，且呈浓度-效应关系。其 IC_{50} 值约为 62.5 μg/mL，表明对小鼠淋巴瘤细胞增殖有良好的抑制作用。

3.3.2 如 Fig.6 所示，式 II 化合物对人单核淋巴瘤细胞 THP1 的生长有抑制作用，且呈浓度-效应关系。其 IC_{50} 值约为 250 μg/mL，表明对人单核淋巴瘤细胞增殖有较好的抑制作用。图 6

3.3.3 如 Fig.7 所示，式 II 化合物对人组织淋巴瘤细胞 U937 的生长有抑制作用，且呈浓度-效应关系。其 IC_{50} 值约为 50 μg/mL，表明对人组织淋巴瘤细胞增殖有良好的抑制作用。

可见，该化合物具有防治淋巴癌（淋巴瘤）的潜力。

3.4 式 II 化合物的体外抗癌（黑色素瘤）活性

结果如 Fig.8 所示。结果显示，式 II 化合物对小鼠黑色素瘤细胞 B16-F10 的生长有抑制作用，且呈浓度-效应关系。其 IC_{50} 值约为 62.5 μg/mL，表明对小鼠黑色素瘤细胞增殖有良好的抑制作用。可见，该化合物具有防治黑色素瘤的潜力。

综上可见，本发明的化合物特别是式 II 化合物对多种肿瘤细胞具有有效的抑制作用，具有预防和/或治疗和/或辅助治疗癌症的药物的潜力。

进一步的研究发现，式 II 化合物的酯类衍生物或者醚衍生物，例如实施例 6－9 制备的“式 II 化合物的四乙酸酯、式 II 化合物的四对甲苯磺酯、式 II 化合物的四(三氟甲磺酸酯)以及式 II 化合物的四(叔丁基二甲基硅醚)”也具有类似的抑制肿瘤细胞的活性，具有预防和/或治疗和/或辅助治疗癌症的药物的潜力。

实验例 3: 脂肪酶抑制活性实验

1 实验材料

1.1 药品

式 II 化合物。

奥利司他（orlistat）--- 购自金象大药房。

1.2 酶

猪胰脂肪酶 --- 购自 Sigma 公司。

1.3 试剂

油酸 --- 购自 Sigma 公司。

甲苯、橄榄油、吡啶、醋酸铜、NaH_2PO_4、K_2HPO_4 均为国产分析纯。

2 实验方法

如下面的步骤所示，也可以参考江慧芳，王雅琴，刘春国．三种脂肪酶活力测定方法的比较及改进．化学与生物工程．2007, 24(8):72-75; 和朱晓青，吕敬慈，霍世欣等．荷叶生物碱对脂肪酶的抑制作用．上海大学学报（自然科学版）,2007, 13(1):85-87。

2.1 脂肪酸吸光度工作曲线的绘制:配制一系列不同浓度的油酸-甲苯溶液(0-3.5 mmol/L，分别为 0、0.225、0.45、0.675、0.9、1.125、1.35、1.8、2.25、2.7、和 3.5 mmol/L），分别取 4 mL 于锥形瓶中，加入 1 mL 显色剂，磁力搅拌 3 min，油酸分子与铜离子生成绿色的络合物，离心后取上层有机相在 714 nm 处测定吸光度。

2.2 酶溶液为 0.5 mg/mL 胰脂肪酶溶液；缓冲液为 0.07M NaH_2PO_4-K_2HPO_4 磷酸盐缓冲溶液（pH 7.0）；显色剂为 5%醋酸铜溶液，用吡啶调节 pH 6.1。

2.3 脂肪酶活力的测定:

取 3 mL 0.07 M 磷酸盐缓冲液和 1 mL 橄榄油，放入水浴恒温磁力搅拌器 37℃中预热 5 min，加入 1.3 mL 酶液（不加酶抑制剂为阴性对照；加 0.1 mg/mL 奥利司他溶液 100 μL 为阳性对照；0.6、0.9、1.1、1.3、1.8 mg/mL 式 II 化合物溶液各加 100 μL），磁力搅拌 10 min，立即加入 8 mL 甲苯，继续搅拌 2 min，终止反应，同时萃取生

成的油酸。将溶液转移至离心管中，在 4000 rpm 下离心 10 min，有机相和水相分层澄清。取上层有机相 4 mL 于小锥形瓶中，加入 1 mL 显色剂，在磁力搅拌器上搅拌 3 min，产生的油酸与铜离子生成绿色络合物。4000 rpm 离心 10 min，取上层含有油酸铜的甲苯溶液，用分光光度计在 714 nm 波长处测其吸光度。以相同方法制备不含脂肪酶的空白溶液为参比，对照油酸吸光度工作曲线，即可求得脂肪酸的浓度。

3 酶活定义和计算公式

脂肪酶酶活力单位定义为：在一定条件下，每分钟释放出 1 μmol 脂肪酸的酶量定义为 1 个脂肪酶活力单位（U）。

按下式计算酶活： $X = (cV)/(tV')$

式中：X 为脂肪酶活力，U/mL；c 为脂肪酸浓度，μmol/mL；V 为脂肪酸溶液的体积，mL；V'为酶液的用量，mL；t 为作用时间，min。

抑制率 =[（脂肪酶活力 – 抑制后脂肪酶活力）/ 脂肪酶活力] × 100%

4 实验结果

4.1 油酸吸光度工作曲线

如 Fig.9 所示。

4.2 酶抑制剂活性检测结果

如下面的表 3 所示。

表 3：酶抑制剂活性检测结果

样品名称	抑制剂浓度 (mg/mL)	抑制剂体系终浓度 (μg/mL)	吸光值	产生油酸浓度 (mM)	酶活 U/mL	抑制率 (%)
空白对照	–	–	0.6680	2.75	1.69	–
奥利司他	0.1	1.85	0.2042	0.81	0.50	69.84%
式 II	6	111	0.5665	2.32	1.43	15.38%

化合物	9	166	0.5035	2.06	1.27	24.85%
	11	203	0.3998	1.63	1.00	40.83%
	13	240	0.2743	1.10	0.68	59.76%
	18	333	0.2611	1.04	0.64	62.13%

其中酶活按照上面 3 中的计算公式计算得到，其中：

V = 8 mL; V' = 1.3 mL; t = 10 min。

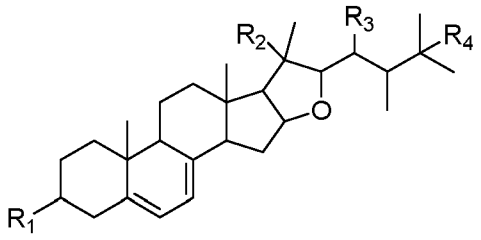
实验结果表明，本发明的化合物特别是式 II 化合物对脂肪酶的活性具有较好的抑制作用，其 IC_{50}值约为 220 μg/mL，并且抑制作用呈浓度-效应关系。可见，本发明的化合物具有预防和/或治疗和/或辅助治疗肥胖症或肥胖症相关疾病的药物的潜力。

进一步的研究发现，式 II 化合物的酯类衍生物或者醚衍生物，例如实施例 6－9 制备的“式 II 化合物的四乙酸酯、式 II 化合物的四对甲苯磺酯、式 II 化合物的四(三氟甲磺酸酯)以及式 II 化合物的四(叔丁基二甲基硅醚)”也具有类似的抑制脂肪酶的活性，具有预防和/或治疗和/或辅助治疗肥胖症或肥胖症相关疾病的药物的潜力。

尽管本发明的具体实施方式已经得到详细的描述，本领域技术人员将会理解。根据已经公开的所有教导，可以对那些细节进行各种修改和替换，这些改变均在本发明的保护范围之内。本发明的全部范围由所附权利要求及其任何等同物给出。

权 利 要 求

1. 式 I 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯或醚:



式 I

其中，

R_1选自-OH、=O、H、以及C_1-C_3烷基;

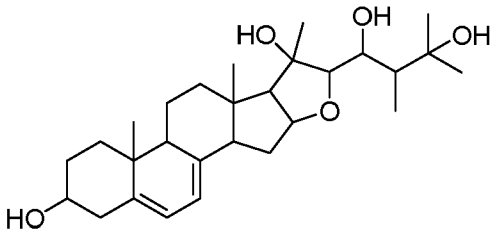
R_2选自-OH、H、以及C_1-C_3烷基;

R_3选自-OH、=O、H、以及C_1-C_3烷基;

R_4选自-OH、H、以及C_1-C_3烷基;

并且R_1、R_2、R_3、和R_4中任意的 0 个、1 个、2 个、3 个或 4 个为-OH。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐、酯或醚，其为下面的式 II 所示的化合物，或其药学上可接受的盐、酯或醚:



式 II;

具体地，所述酯选自甲酸酯、醋酸酯、丙酸酯、对甲苯磺酯和三氟甲磺酸酯；所述醚为叔丁基二甲基硅醚；更具体地，所述酯或醚为式 II 化合物的四乙酸酯、式 II 化合物的四对甲苯磺酯、式 II 化合物的四(三氟甲磺酸酯)或式 II 化合物的四(叔丁基二甲基硅醚)。

3. 权利要求 2 所述的化合物的制备方法，包括下述步骤:

1）取红曲和/或红曲的醇提物（例如血脂康胶囊内容物），用 2

－6 倍体积的选自二氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、甲醇、乙醇中的一种或多种有机溶剂作为溶剂超声提取一次或多次，每次 20－40 分钟，合并提取液，除去溶剂，得到精提物;

2）将步骤 1）得到的精提物进行硅胶柱色谱分离，用石油醚和乙酸乙酯进行梯度洗脱;石油醚-乙酸乙酯的体积比依次为 75:25、50:50－25:75、0:100;

3)取步骤 2)中的石油醚-乙酸乙酯为 50:50－25:75 的洗脱部分，经 C18 反相柱色谱进行分离，用甲醇-水进行梯度洗脱，甲醇-水的体积比依次为 10:90、50:50－75:25、100:0;

4）取步骤 3）中的甲醇-水为 50:50－75:25 的洗脱部分用半制备高效液相色谱纯化，以 45:55 的乙腈-0.2%乙酸水溶液为流动相，C18 半制备柱为固定相，收集 9.2 min 的色谱峰部分；和

5）将步骤 4）的产物进行冷冻干燥，得到式 II 化合物。

4. 根据权利要求 3 所述的制备方法，其满足如下的（1）－（9）中的任一项或者多项:

（1）步骤 1）中，所述有机溶剂为二氯甲烷;

（2）步骤 1）中，所述超声提取进行 3 次;

（3）步骤 1）中，通过减压浓缩除去溶剂;

（4)步骤 2)中，石油醚-乙酸乙酯的体积比依次为 75:25、50:50、25:75、0:100;

（5）步骤 3）中，取步骤 2）中的石油醚-乙酸乙酯为 50:50 或 25:75 的洗脱部分;

（6）步骤 3)中，甲醇-水的体积比依次为 10:90、50:50、75:25、100:0;

（7）步骤 4）中，取步骤 3）中的甲醇-水为 50:50 或 75:25 的洗脱部分;

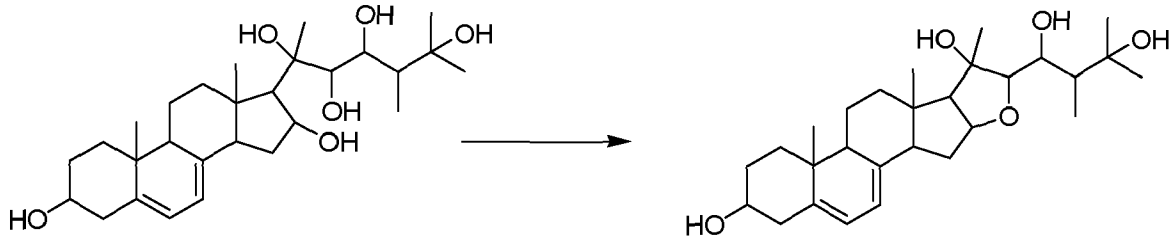
（8）步骤 4）中，将收集的 9.2 min 的色谱峰部分合并；和

（9）步骤 5）中，冷冻干燥的条件是：冷阱温度-40 至-85℃，真空度 0－100 Pa;优选为冷阱温度-50 至-82.7℃，真空度 2－13 Pa;更优选为冷阱温度-82.7℃，真空度 2 Pa，或冷阱温度-50℃,真空度

8.5 Pa。

5. 权利要求 2 所述的化合物的制备方法，包括下述步骤:

以六羟基麦角甾醇为底物，如（3，16,20,22,23,25-六羟基麦角甾醇，简称为化合物 A），在甲苯磺酸一水合物或 2,4,6－三异丙基磺酰氯的存在下脱水生成式 II 化合物:



化合物A 式II

6. 一种提取物，其含有权利要求 2 所述的式 II 化合物；具体地，其为血脂康胶囊内容物干粉的提取物或者红曲的提取物。

7. 根据权利要求 6 所述的提取物，其中式 II 化合物的含量为 0.0001－5%（w/w）、0.001－2%（w/w）或 0.001－1%（w/w）。

8. 根据权利要求 6 或 7 所述的提取物，其为如下的（1）至（3）中的任一项:

（1）权利要求 3 中的步骤 1）至 2）中制得的石油醚-乙酸乙酯为 50:50－25:75 的洗脱部分;

（2）权利要求 3 中的步骤 1）至 3）中制得的甲醇-水为 50:50－75:25 的洗脱部分；和

（3）权利要求 3 中的步骤 1）至 4）中制得的 9.2 min 的色谱峰部分。

9. 一种组合物，其包含权利要求 1 或 2 所述的化合物、和/或权利要求 6 至 8 中任一项所述的提取物；可选地，还包括药学上可接受的载体或辅料。

10. 权利要求 1 或 2 所述的化合物或者权利要求 6 至 8 中任一项所述的提取物或者权利要求 9 所述的组合物在制备降低血脂或调节血脂或者预防和/或治疗血脂异常、高血脂症、高胆固醇血症、或

动脉粥样硬化的药物中的用途。

11. 权利要求1或2所述的化合物或者权利要求6至8中任一项所述的提取物或者权利要求9所述的组合物在制备HMG-CoA还原酶抑制剂中的用途。

12. 一种在体内或体外抑制HMG-CoA还原酶的方法，包括使用有效量的权利要求1或2所述的化合物或者权利要求6至8中任一项所述的提取物或者权利要求9所述的组合物的步骤。

13. 一种降低血脂或调节血脂或者预防和/或治疗血脂异常、高血脂症、高胆固醇血症、或动脉粥样硬化的方法，包括使用有效量的权利要求1或2所述的化合物或者权利要求6至8中任一项所述的提取物或者权利要求9所述的组合物的步骤。

14. 权利要求 1 或 2 所述的化合物或者权利要求 6 至 8 中任一项所述的提取物或者权利要求 9 所述的组合物在制备预防和/或治疗和/或辅助治疗癌症的药物中的用途；具体地，所述癌症为结肠癌、肝癌、淋巴癌、或黑色素瘤。

15. 权利要求1或2所述的化合物或者权利要求6至8中任一项所述的提取物或者权利要求9所述的组合物在制备在体内或体外抑制肿瘤细胞的药物或者试剂中的用途；具体地，所述肿瘤细胞为结肠癌细胞、肝癌细胞、淋巴癌细胞或黑色素瘤细胞。

16. 一种在体内或体外抑制肿瘤细胞的方法，包括使用有效量的权利要求1或2所述的化合物或者权利要求6至8中任一项所述的提取物或者权利要求9所述的组合物的步骤；具体地，所述肿瘤细胞为结肠癌细胞、肝癌细胞、淋巴癌细胞或黑色素瘤细胞。

17. 一种预防和/或治疗和/或辅助治疗癌症的方法，包括使用有效量的权利要求1或2所述的化合物或者权利要求6至8中任一项所述的提取物或者权利要求9所述的组合物的步骤；具体地，所述癌症为结肠癌、肝癌、淋巴癌、或黑色素瘤。

18. 权利要求1或2所述的化合物或者权利要求6至8中任一项所述的提取物或者权利要求9所述的组合物在制备预防和/或治疗和/或辅助治疗肥胖症或肥胖症相关疾病的药物或者减肥药物中的用途；

具体地，所述肥胖症相关疾病为高脂血症、动脉粥样硬化、冠心病、或糖尿病。

19. 权利要求1或2所述的化合物或者权利要求6至8中任一项所述的提取物或者权利要求9所述的组合物在制备在体内或体外抑制脂肪酶的药物或试剂中的用途。

20. 一种在体内或体外抑制脂肪酶的方法，包括使用有效量的权利要求1或2所述的化合物或者权利要求6至8中任一项所述的提取物或者权利要求9所述的组合物的步骤。

21. 一种预防和/或治疗和/或辅助治疗肥胖症或肥胖症相关疾病或者减肥的方法，包括使用有效量的权利要求1或2所述的化合物或者权利要求6至8中任一项所述的提取物或者权利要求9所述的组合物的步骤；具体地，所述肥胖症相关疾病为高脂血症、动脉粥样硬化、冠心病、或糖尿病。