



(21) 申请号 202410127192.6

A61P 35/00 (2006.01)

(22) 申请日 2024.01.30

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号

US 2023285556 A1, 2023.09.14

申请公布号 CN 117942337 A

审查员 吴冲

(43) 申请公布日 2024.04.30

(73) 专利权人 兰州大学

地址 730000 甘肃省兰州市城关区天水南路222号

(72) 发明人 李攀 王志平

(74) 专利代理机构 兰州智和专利代理事务所

(普通合伙) 62201

专利代理师 张英荷

(51) Int. Cl.

A61K 31/42 (2006.01)

A61K 33/243 (2019.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图3页

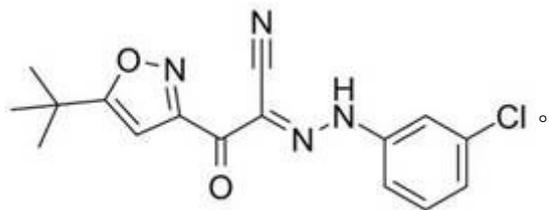
(54) 发明名称

ESI-09在制备治疗膀胱癌的药物中的应用

(57) 摘要

本发明公开了ESI-09在制备治疗膀胱癌的药物中的应用。本发明提供了ESI-09的新的药物活性——抑制人膀胱癌细胞的增殖,并增强顺铂药物敏感性,以用于制备治疗膀胱癌的药物,属于医药领域。本发明通过研究,发现ESI-09对膀胱癌细胞具有良好的体外抗肿瘤效应,能显著降低RAD51AP1的表达,进而抑制膀胱癌细胞的增殖并增强顺铂的药物敏感性。表明ESI-09为膀胱癌提供新的治疗方案,具有良好的应用前景。

1. ESI-09作为唯一活性成分在制备治疗膀胱癌的药物中的应用,ESI-09的结构式为



2. 根据权利要求1所述的ESI-09作为唯一活性成分在制备治疗膀胱癌的药物中的应用,其特征在于:ESI-09通过降低RAD51AP1蛋白的表达抑制膀胱癌细胞增殖。

3. 根据权利要求1所述的ESI-09作为唯一活性成分在制备治疗膀胱癌的药物中的应用,其特征在于:ESI-09通过降低RAD51AP1蛋白的表达增强膀胱癌细胞对顺铂的敏感性。

4. 根据权利要求1所述的ESI-09作为唯一活性成分在制备治疗膀胱癌的药物中的应用,其特征在于:所述膀胱癌为膀胱癌UMUC-3细胞。

5. 根据权利要求1所述的ESI-09作为唯一活性成分在制备治疗膀胱癌的药物中的应用,其特征在于:所述药物由ESI-09作为活性成分加入药学上可接受的载体和/或辅料,制成药学上可接受的剂型。

6. 根据权利要求5所述的ESI-09作为唯一活性成分在制备治疗膀胱癌药物中的应用,其特征在于:所述剂型为片剂、喷雾剂、颗粒剂、胶囊剂、口服液、针剂、混悬剂的任一种剂型。

ESI-09在制备治疗膀胱癌的药物中的应用

技术领域

[0001] 本发明提供了ESI-09新的药物活性——降低RAD51AP1蛋白的表达,进而抑制膀胱癌细胞增殖并增强癌细胞对顺铂的敏感性,以用于制备治疗膀胱癌的药物,属于医药领域。

背景技术

[0002] 膀胱癌在进展期的患者中,基于顺铂的化疗方案是患者的一线治疗选择,但这类药物在临床上会导致部分患者内在耐药、全身毒性等严重副作用,以及因为年龄及自身基础疾病因素,约有一半的患者依据现有剂量不适合用于顺铂的化疗。近年来,免疫治疗等改变肿瘤免疫状态的治疗方式的出现,为膀胱癌患者提供有效的新辅助治疗方式,但70%-80%的患者对这些治疗无效。因此基于新的分子机制,改善患者对药物的敏感性,推出新的治疗方案对膀胱癌的治疗至关重要。

[0003] RAD51相关蛋白1 (RAD51AP1) 是一种与同源重组关键蛋白RAD51相互作用,介导DNA双链断裂损伤修复的结构特异性DNA结合蛋白。定位于细胞核内,在染色体、端粒等区域都有分布,能结合RNA、单链和双链DNA。在乳腺癌、结肠癌、肝胆管细胞癌、食管鳞癌、卵巢癌等样本中均发现RAD51AP1表达显著上调。研究表明RAD51AP1的表达会增强肿瘤的增殖、侵袭性,而当其缺失时会显著抑制肿瘤的增殖能力,目前RAD51AP1在膀胱癌中的应用尚未见报道。

[0004] ESI-09是一种有效的,选择性EPAC抑制剂,被应用于促使线粒体解偶联,并造成线粒体呼吸的徒劳循环,导致ATP产生减少。但其在膀胱癌细胞中通过抑制同源重组修复蛋白RAD51AP1的表达,抑制癌细胞的增殖,提高癌细胞对顺铂的敏感性,而发挥协同抗癌作用尚未见应用。

发明内容

[0005] 本发明目的是提供ESI-09在制备用于治疗膀胱癌的药物中新的应用,用于制备治疗膀胱癌的药物,并以期解决临床部分患者对顺铂药物治疗不敏感问题。

[0006] 为实现所述目的,本发明采用如下技术方案:

[0007] 本发明提供了ESI-09在制备治疗膀胱癌的药物中的用途。

[0008] 该用途通过以下一种或多种实现:

[0009] (A) ESI-09通过抑制RAD51AP1来抑制膀胱癌细胞的增殖;

[0010] (B) ESI-09通过抑制RAD51AP1来增强膀胱癌细胞对顺铂药物的敏感性。

[0011] 所述膀胱癌为膀胱癌UMUC-3细胞。

[0012] 所述药物由ESI-09作为活性成分加入药学上可接受的载体和/或辅料,制成药学上可接受的剂型。所述剂型为片剂、喷雾剂、颗粒剂、胶囊剂、口服液、针剂、混悬剂的任一种剂型。

[0013] 本发明首先发现ESI-09能抑制人膀胱癌细胞的增殖。进一步发现ESI-09能降低RAD51AP1蛋白的表达,而RAD51AP1的降低对膀胱癌细胞增殖具有明显的抑制作用,并增强

对顺铂的药物敏感性。最后本发明发现ESI-09与顺铂联合使用能协同抑制膀胱癌细胞增殖,为治疗膀胱癌提供新的治疗方案。

[0014] 本发明的有益效果:

[0015] 本发明提供了ESI-09在制备治疗膀胱癌药物中的应用,本发明通过研究,明确了ESI-09对膀胱癌细胞UMUC-3具有良好的体外抗肿瘤效应,对膀胱癌细胞UMUC-3增殖具有明显的抑制作用,并随着药物浓度的增加而抑制作用增强。重要的是ESI-09降低了同源重组修复蛋白RAD51AP1的表达,增强对顺铂的药物敏感性,减弱肿瘤细胞对化疗的治疗抵抗。为制备新的治疗膀胱癌药物提供一种新的途径和手段,为医学应用中治疗膀胱癌提供新思路。

附图说明

[0016] 图1为ESI-09的结构式;

[0017] 图2为ESI-09、顺铂作用于人膀胱癌UMUC-3细胞后的形态;

[0018] 图3为ESI-09在体外抑制人膀胱癌UMUC-3细胞增殖;

[0019] 图4为ESI-09在降低了人膀胱癌UMUC-3细胞中RAD51AP1蛋白的表达;

[0020] 图5人膀胱癌UMUC-3细胞中RAD51AP1的降低能抑制肿瘤细胞的增殖、提高顺铂的药物敏感性;

[0021] 图6为ESI-09与顺铂联合应用抑制人膀胱癌UMUC-3细胞的增殖。

具体实施方式

[0022] 本发明对于ESI-09的具体来源没有特殊限定,可通过本领域常规化学合成方法合成,ESI-09具有较好的可制备性和稳定性,也可通过市售途径购买所得。

[0023] 本发明ESI-09的结构式如图1所示。在本发明中,膀胱癌细胞优选的UMUC-3细胞。在本发明中,采用ESI-09制备治疗膀胱癌的药物时,可以作为该药物的唯一活性成分,也可以与其他具有治疗膀胱癌作用的活性成分联合制药。

[0024] 本发明对于药学上可接受的辅料种类没有特殊限定,采用本领域常规药学上可接受的辅料均可。在本发明中,所述药物的剂型包括注射剂、片剂、胶囊剂或颗粒剂,所述注射剂包括静脉注射剂和皮下注射剂。本发明药物可以通过口服、静脉注射、皮下注射等多种给药途径应用于临床实践,具有较大的灵活性和便利性,而且以ESI-09作为药物活性成分,能够对膀胱癌细胞产生较低的耐药性,增强膀胱癌细胞的顺铂药物敏感性,从而减少治疗失败和复发现象的出现。

[0025] 下面结合实施例对本发明提供的技术方案进行详细的说明,但是不能把它们理解为对本发明保护范围的限定。

[0026] 下述实施例中,如无特殊说明,均为常规方法。

[0027] 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。

[0028] 实施例1、ESI-09在体外抑制人膀胱癌UMUC-3细胞增殖

[0029] (1) 种板:取对数生长期的膀胱癌细胞胰酶消化,完全培养基重悬,制成细胞悬液,计数,调整细胞密度分别至 $1 \times 10^5/\text{ml}$,向96孔板各孔加入100 μL 肿瘤细胞悬液,置于培养箱培养。

[0030] (2) 干预:培养8-12小时镜下观察细胞贴壁良好后,吸出各孔培养基,将不同浓度的ESI-09及对照组正常培养基分别加入对应的孔,继续培养48h。

[0031] (3) 测吸光度:每孔加入10 μ L的CCK-8溶液孵育2小时,酶标仪测定450nm处的吸光度值。

[0032] (4) Graphpadprism8计算每组细胞株中半抑制浓度(IC50值)。

[0033] 图2为ESI-09、顺铂作用于人膀胱癌UMUC-3细胞后的形态。可以发现当分别给与ESI-09、顺铂4 μ M浓度干预24小时,UMUC-3细胞的分裂相细胞显著减少,且细胞形态紊乱,逐渐瘦长。当ESI-09 3 μ M与顺铂1 μ M联合作用于UMUC-3细胞时,分裂相细胞更加显著减少,且部分细胞膜不完整,出现不同程度死亡。

[0034] 图3为ESI-09在体外抑制人膀胱癌细胞增殖的效果。CCK8实验证实ESI-09通过浓度依赖方式显著抑制人膀胱癌UMUC-3细胞的增殖,ESI-09对UMUC-3细胞作用24小时,细胞的半抑制浓度(IC50值)为27.98 μ M。

[0035] 实施例2、ESI-09降低人膀胱癌UMUC-3细胞RAD51AP1蛋白的表达

[0036] (1) 铺板:取对数生长期的膀胱癌细胞系胰酶消化,完全培养基重悬,制成细胞悬液,计数,六孔板每孔铺1 \times 10⁵个膀胱癌细胞。

[0037] (2) 干预:次日观察细胞均贴壁,弃原培养基,使用含不同浓度ESI-09的培养基孵育细胞24小时。

[0038] (3) 细胞蛋白提取:

[0039] ①清洗:待6孔板中贴壁细胞融合至90%左右时,弃去旧培养液,使用4 $^{\circ}$ C预冷的PBS清洗贴壁细胞2遍,尽可能吸尽PBS缓冲液;

[0040] ②裂解:每孔加入150 μ L预冷RIPA裂解混合液(含PMSF和磷酸酶抑制剂),将6孔板水平置于冰上裂解20min,用干净预冷的细胞刮将裂解液收集至1.5mLEP管中,以200w进行超声破碎细胞2次,每次5秒;

[0041] ③分离:4 $^{\circ}$ C,12000rpm离心15min,将上清转入新预冷EP管中进行蛋白浓度测定。

[0042] (4) BCA法测定目的蛋白浓度:

[0043] ①分别取即用型BSA标准品各20 μ L加到96孔板中;

[0044] ②在96孔板的样品孔中加1 μ L的待测蛋白样品,设2个复孔,然后补入19 μ L的PBS缓冲液,使得各孔体积为20 μ L;

[0045] ③根据计算出的所需显色工作液用量,将试剂A和试剂B按照50:1的体积比,配制显色工作液,充分混匀,各孔加入200 μ L显色工作液,盖上96孔板盖,37 $^{\circ}$ C孵育30min,冷却至室温;

[0046] ④用酶标仪测定每个样品及BSA标准品的A562,Excel绘制标准曲线,计算样品的蛋白浓度,用PBS缓冲液调整各样品蛋白浓度至相近水平;

[0047] ⑤向蛋白样品中加入1/5体积的5 \times 上样缓冲液,金属浴100 $^{\circ}$ C变性5分钟,分装,-80 $^{\circ}$ C保存。

[0048] (5) 蛋白凝胶电泳:

[0049] ①制胶:A.蒸馏水冲洗后用吹风机吹干玻璃板,将玻璃板垂直固定在专用的卡板上以备制胶;B.以一块1.0mm的胶为例,取一步法PAGE凝胶快速制备试剂盒中下层胶溶液和下层胶缓冲液,各2.5mL,混匀;取上层胶溶液和彩色上层胶缓冲液,各750 μ L,混匀;C.下层

胶混合溶液中加入60 μ L改良型促凝剂,轻轻混匀,将混匀后的溶液注入制胶玻璃板中,使液面和短玻璃板上沿之间的距离比梳齿长0.5cm即可;D.向上层胶混合溶液中加入15 μ L改良型促凝剂,轻轻混匀,无需等待下层胶凝固,即可将混匀后的溶液轻缓注入制胶玻璃板中,插入梳齿;待胶凝固后,拔去梳齿即可用于电泳;

[0050] ②上样电泳:每孔加入蛋白样本体积10 μ L、50 μ g,接通电源后选择电泳仪的电压为80V进行电泳,大约20分钟后可以看到蓝色样品在浓缩胶底部排成一条直线,此时调节电泳电压为120V。继续电泳1小时左右。

[0051] (6)转膜:

[0052] ①裁胶:根据目的蛋白分子量并参照Marker进行切胶,根据胶及目的蛋白的分子量裁剪相应大小的PVDF膜;

[0053] ②甲醇中浸泡15秒激活PVDF膜,再于超纯水中浸泡2分钟,最后电转液中平衡5分钟;

[0054] ③黑板在下面,按照顺序依次铺放滤纸、胶、PVDF膜和滤纸,排尽气泡后插入转膜槽中,目标蛋白分子量小于70KD恒流300mA电转20分钟。

[0055] (7)封闭:用镊子夹住PVDF膜放入装有5%脱脂奶粉的封闭孵育盒里进行封闭,室温下脱色摇床上缓慢摇动封闭1小时。

[0056] (8)孵育一抗:封闭完成后以TBST清洗PVDF膜3次,每次5分钟,然后将条带放入对应的一抗中,4 $^{\circ}$ C过夜孵育。

[0057] (9)孵育二抗:次日用TBST洗膜3次,洗涤时间分别为5min、10min和10min。然后用与一抗种属对应的二抗孵育,置于室温摇床孵育1h。

[0058] (10)曝光:二抗孵育完成后,TBST洗膜3次,洗涤时间分别为5min、10min和10min,打开OdysseyCLX近红外双色荧光成像系统曝光。

[0059] 图4为ESI-09降低人膀胱癌UMUC-3细胞中RAD51AP1蛋白的表达。图4A蛋白免疫印迹结果发现:ESI-09以浓度依赖的方式降低RAD51AP1蛋白水平的表达。图4B对蛋白免疫印迹结果量化发现,相比较于对照组,以100nM、1 μ M、10 μ M、100 μ M分别作用于UMUC-3细胞24小时,RAD51AP1的表达水平降低至对照组的77.47%、71.06%、12.69%、0.05%水平。这可以说明ESI-09能显著降低人膀胱癌UMUC-3细胞中RAD51AP1蛋白的表达水平。

[0060] 实施例3、人膀胱癌UMUC-3细胞中RAD51AP1的降低抑制肿瘤细胞的增殖,并增强顺铂的敏感性

[0061] (1)质粒准备:

[0062] ①pLV3质粒:载有敲减序列5'-GCTCTACCAGAGAGACTTAGA-3'(RAD51AP1敲减序列shRNA2)或无义序列(不靶向任意基因,对照序列),氨苄、嘌呤霉素双抗性;

[0063] ②psPAX2辅助质粒:载有病毒gag,pol,rev和tat基因,为能表达慢病毒外壳的质粒,其表达产物可通过粘附机制更易穿过细胞膜;

[0064] ③pMD2.G膜蛋白质粒:pMD2.G编码VSV-G,形成病毒颗粒的包膜。

[0065] (2)质粒转化:

[0066] ①转化:取出Stb13化学感受态,插入冰中,自然溶化(可分管),加入约10ng质粒,继续冰浴30min,42 $^{\circ}$ C热激90秒,快速插入冰中,加入1mLS0C液体培养基,37 $^{\circ}$ C,209r/min复苏30min;

[0067] ②涂布:抽取50 μ L菌液涂布抗性LB固体培养基;37 $^{\circ}$ C过夜培养约16h,根据单菌落数量评估转化效果(转化时设置对照组),挑取单克隆进行后续实验。

[0068] (3)质粒提取:将带有质粒的菌接种至5-100mL抗性LB液体培养基中(培养基体积根据具体需求而定),37 $^{\circ}$ C,209r/min过夜培养14-20h,按照质粒提取试剂盒提取质粒。

[0069] (4)293T细胞准备:T25细胞瓶中复苏293T细胞,高糖DMED完全培养基培养(10%胎牛血清),细胞融合度约为80%时,进行1/3传代,连续传代3次后,细胞融合度60%,状态尚好,可转染质粒包毒,转染前30min更换预温的高糖完全培养基2mL。

[0070] (5)质粒转染:测质粒浓度,于安全柜中进行转染。体系为:PEI转染试剂20 μ L, psPAX2.3 μ g, pMD2.G1.5 μ g,目的载体4 μ g。过程为:

[0071] ①试剂准备:根据慢病毒载体包装种类数计算质粒psPAX2、pMD2.G、PEI转染试剂和DMEM培养基总量,总PEI转染试剂和1/2总DMEM培养基混合,静置10min;

[0072] ②质粒准备:总psPAX2、pMD2.G和1/2总DMEM培养基混合,按种类数分装,分别补加目的基因载体,加入配置的PEIDMEM混合液,轻轻混匀,静置15min,缓慢滴加到293T细胞培养基中,轻摇混匀;

[0073] ③病毒收集:12h后更换高糖DMED完全培养基5mL,转染后48h收集培养基,0.45 μ m滤器过滤,即刻转导或分装-80 $^{\circ}$ C保存。继续向培养瓶添加高糖DMED完全培养基4mL,转染后72h收集第二波慢病毒载体。

[0074] (6)人膀胱癌UMUC-3细胞中RAD51AP1敲减稳转株的构建:

[0075] ①复苏:复苏膀胱癌UMUC3细胞,常规培养,确定细胞状态良好,消化,计数,以30000细胞/孔铺12孔板,摇匀;

[0076] ②感染:第二天细胞形态良好,融合度在10%左右,抽弃培养基,加入0.5mL慢病毒载体上清、0.3mL新鲜培养基和10 μ g/10 μ Lpolybrene,混匀,12-24h后更换新鲜培养基;

[0077] ③筛选:转导后72h进行抗性筛选:嘌呤霉素1 μ g/mL,筛选3-5天;G418400 μ g/mL筛选约1周;

[0078] ④扩增:去除筛选条件,常规培养3-5天细胞状态良好,将稳转细胞转移至培养瓶培养扩增,冻存。

[0079] (7)蛋白免疫印迹:实验检测稳转细胞中RAD51AP1目的蛋白敲减效果:步骤同实例2、(4)-(10)。

[0080] (8)细胞增殖测定:

[0081] ①种板:取对数生长期的膀胱癌细胞RAD51AP1敲减稳转株细胞及无义敲减稳转株细胞,胰酶消化,完全培养基重悬,制成细胞悬液,计数,调整细胞密度分别至 1×10^4 /ml,向96孔板各孔加入100 μ L肿瘤细胞悬液,置于培养箱培养。设置第0、2、4、6天组,每组3个复空;

[0082] ②测吸光度:于铺板后的第0、2、4、6天分别向分组中加入10 μ L的CCK-8溶液孵育2小时,酶标仪测定450nm处的吸光度值。

[0083] (9)IC50值测定

[0084] ①种板:取对数生长期的膀胱癌细胞RAD51AP1敲减稳转株细胞及无义敲减稳转株细胞,胰酶消化,完全培养基重悬,制成细胞悬液,计数,调整细胞密度分别至 1×10^5 /ml,向96孔板各孔加入100 μ L肿瘤细胞悬液,置于培养箱培养;

[0085] ②干预:培养8-12小时镜下观察细胞贴壁良好后,吸出各孔培养基,将不同浓度的

顺铂及对照组正常培养基分别加入对应的孔,继续培养48h;

[0086] ③测吸光度:每孔加入10 μ L的CCK-8溶液孵育2小时,酶标仪测定450nm处的吸光度值;

[0087] ④Graphpadprism8计算每组细胞株中IC50值。

[0088] 图5为人膀胱癌UMUC-3细胞中RAD51AP1的降低与肿瘤细胞的增殖、顺铂的药物敏感性的关系。图5A为人膀胱癌UMUC-3细胞中RAD51AP1敲减后蛋白免疫印迹图。可以看出:相较于对照组,RAD51AP1-shRNA2、shRNA3明显降低了RAD51AP1的表达。图5B为人膀胱癌UMUC-3细胞中RAD51AP1敲减后细胞增殖结果。CCK8实验证实:相比较于第0天,对照组细胞在生长的第2、4、6天增殖倍率分别为2.05、6.84、13.71,而RAD51AP1敲减细胞株在生长的第2、4、6天增殖倍率分别为1.22、2.97、9.91 ($p < 0.05$)。这可以说明RAD51AP1的敲减显著抑制UMUC-3细胞的增殖。图5C、D为人膀胱癌UMUC-3细胞中RAD51AP1敲减前、后细胞对顺铂的药物敏感性。CCK8实验证实RAD51AP1敲减后,细胞对顺铂的IC50值由5.662 μ M降低到3.327 μ M,降低至对照组细胞的58.76%水平。这可以说明RAD51AP1的敲减提高了UMUC-3细胞对顺铂的敏感性(IC50值降低)。

[0089] 实施例4、ESI-09与顺铂连用协同抑制人膀胱癌UMUC-3细胞的增殖

[0090] (1)种板:取对数生长期的膀胱癌细胞胰酶消化,完全培养基重悬,制成细胞悬液,计数,调整细胞密度分别至 1×10^5 /ml,向96孔板各孔加入100 μ L肿瘤细胞悬液,置于培养箱培养。

[0091] (2)干预:培养8-12小时镜下观察细胞贴壁良好后,吸出各孔培养基,将ESI-09与顺铂浓度依据摩尔比1:2配制,按照不同浓度梯度以及对照组正常培养基分别加入对应的孔,继续培养48h。

[0092] (3)测吸光度:每孔加入10 μ L的CCK-8溶液孵育2小时,酶标仪测定450nm处的吸光度值。

[0093] (4)Graphpadprism8计算每组细胞株中IC50值。按照以下公式计算协同作用指数(CI)。用 $CI < 1$ 表示协同效应, $CI = 1$ 表示加性效应, $CI > 1$ 表示拮抗效应。 D_1 是药物A在联合使用时产生50%细胞死亡所需的剂量; D_2 是药物B在联合使用时产生50%细胞死亡所需的剂量; $IC_{50,1}$ 是药物A在单独使用时产生50%细胞死亡所需的剂量; $IC_{50,2}$ 是药物B在单独使用时产生50%细胞死亡所需的剂量。

$$[0094] \quad CI = \frac{D_1}{IC_{50,1}} + \frac{D_2}{IC_{50,2}} = \frac{3.990}{5.662} + \frac{7.980}{27.98} = 0.9898 < 1$$

[0095] 图6为ESI-09与顺铂两药联合应用抑制人膀胱癌UMUC-3细胞的增殖。ESI-09与顺铂依据摩尔浓度比2:1作用于UMUC-3细胞24小时,顺铂的半抑制浓度为3.990 μ M,ESI-09半抑制浓度为7.980 μ M。相比较于与前述顺铂、ESI-09单药作用于UMUC-3细胞半抑制浓度为5.662 μ M、27.98 μ M,联合用药显著降低两药的IC50值, $CI < 1$ 表明两药具有协同作用。

[0096] 通过上述实验和图表显示,结果表明:相较于对照组,ESI-09能够降低RAD51AP1蛋白的表达水平,而RAD51AP1蛋白的表达降低能抑制膀胱癌细胞的增殖,并提高对顺铂药物敏感性。这可以说明ESI-09能通过降低RAD51AP1蛋白表达水平,抑制癌细胞的增殖、提高顺铂的药物敏感性,表明ESI-09对膀胱癌细胞UMUC-3具有良好的体外抗肿瘤效应。

[0097] 以上所述仅为本申请的优选实施例而已,其并非因此限制本申请的保护范围,对

于本领域的技术人员来说,本申请可以有各种更改和变化。凡在本申请的精神和原则之内,通过常规的替代或者能够实现相同的功能在不脱离本申请的原理和精神的情况下对这些实施例进行变化、修改、替换、整合和参数变更均落入本申请的保护范围内。

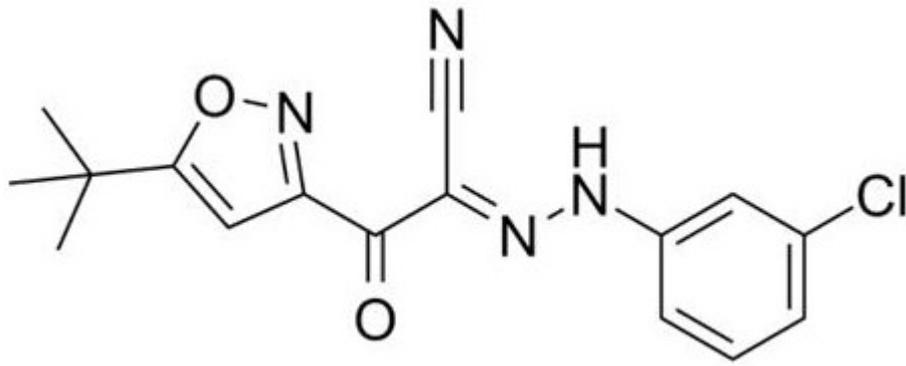


图1

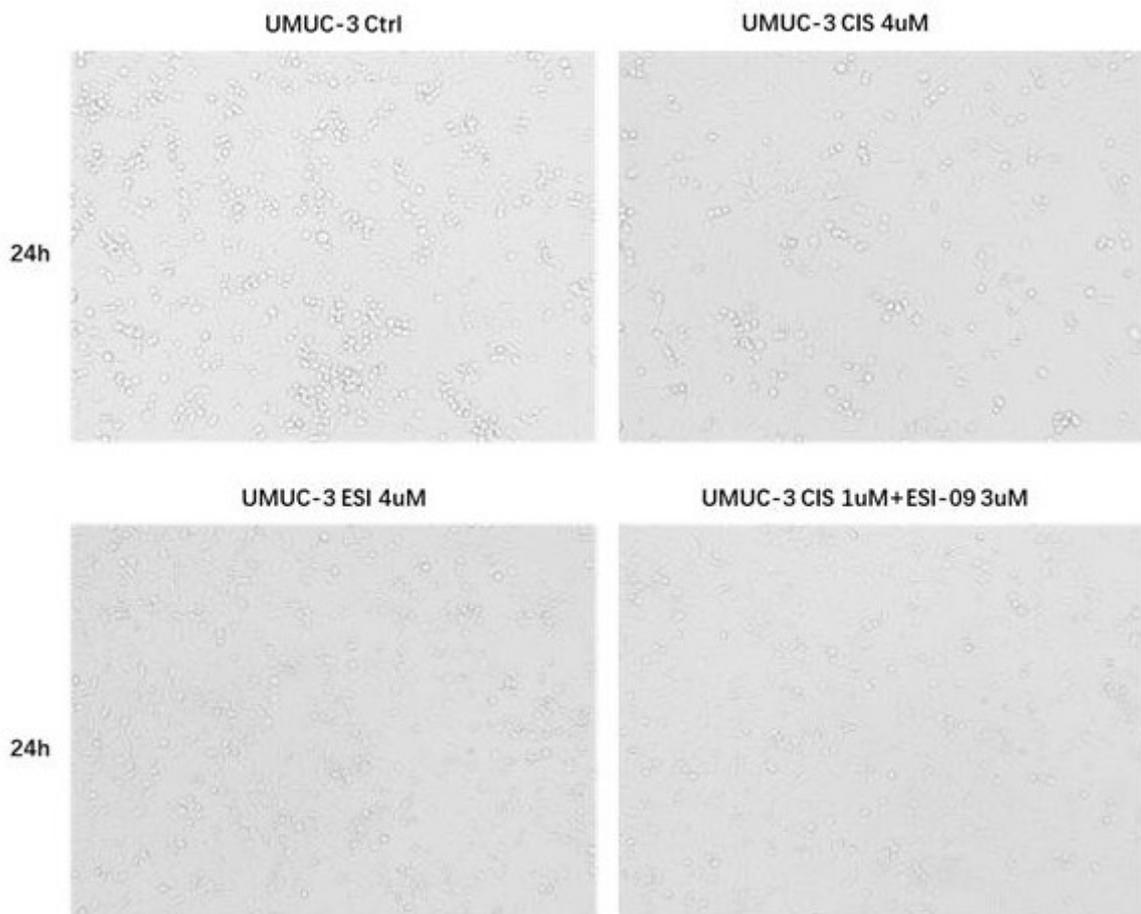


图2

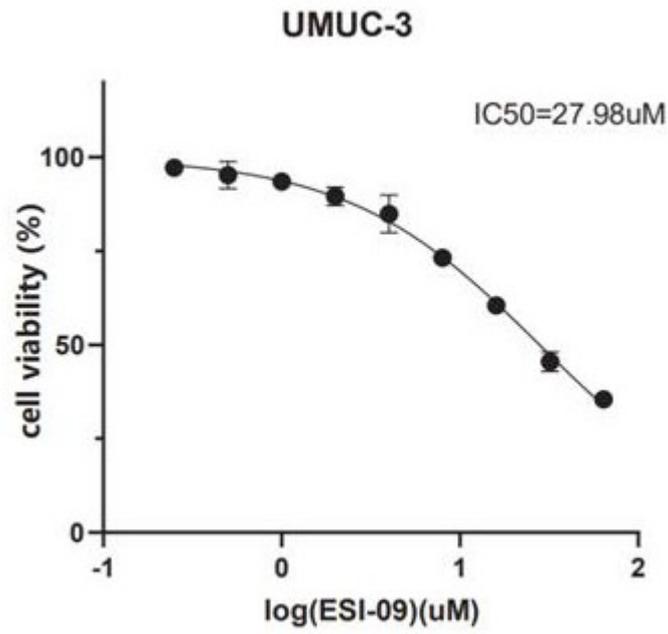


图3

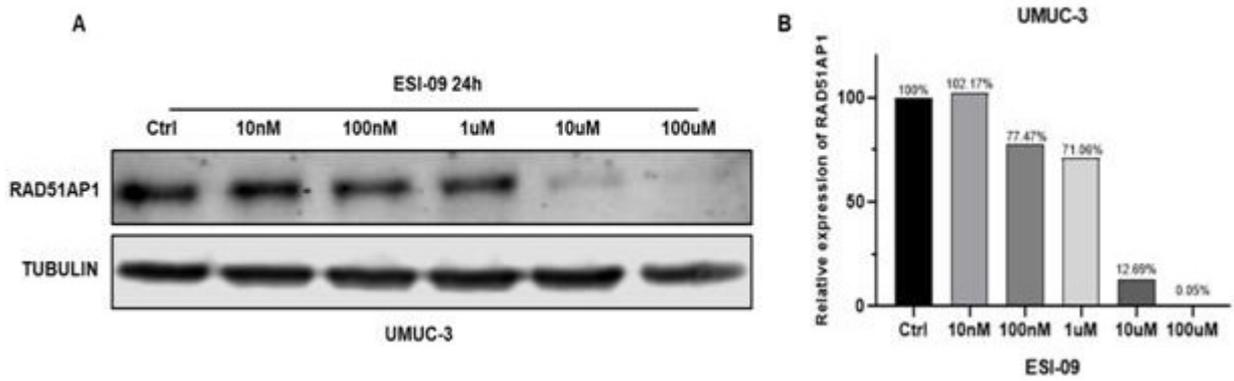


图4

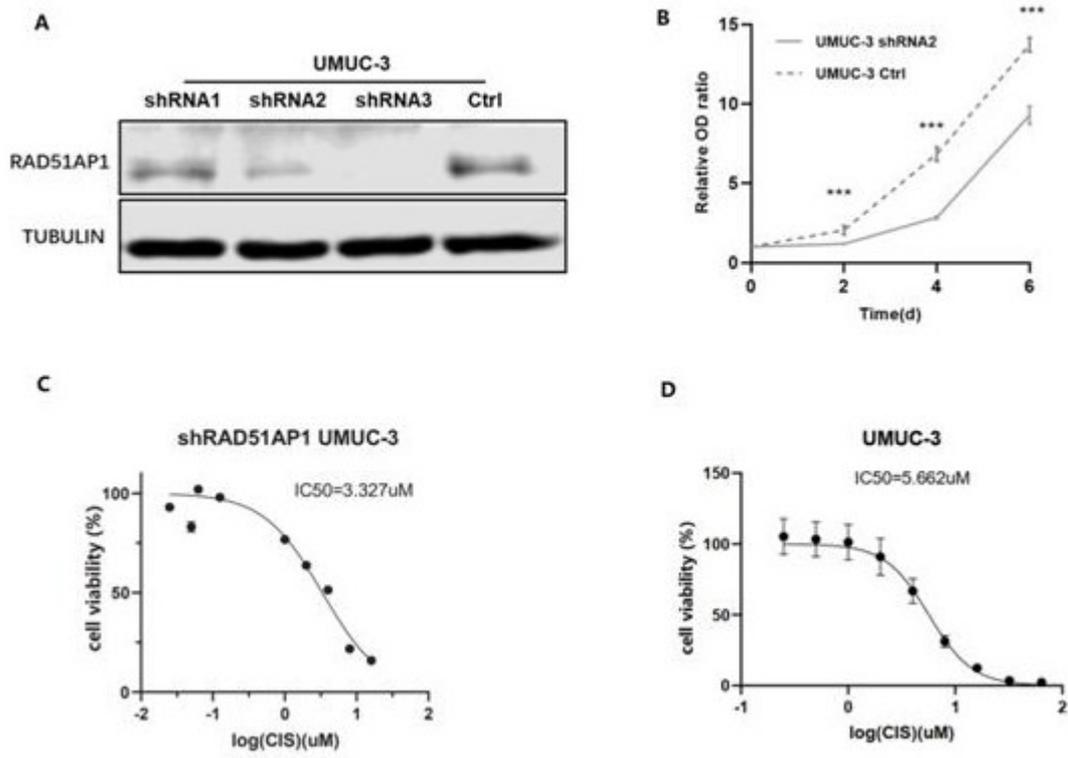


图5

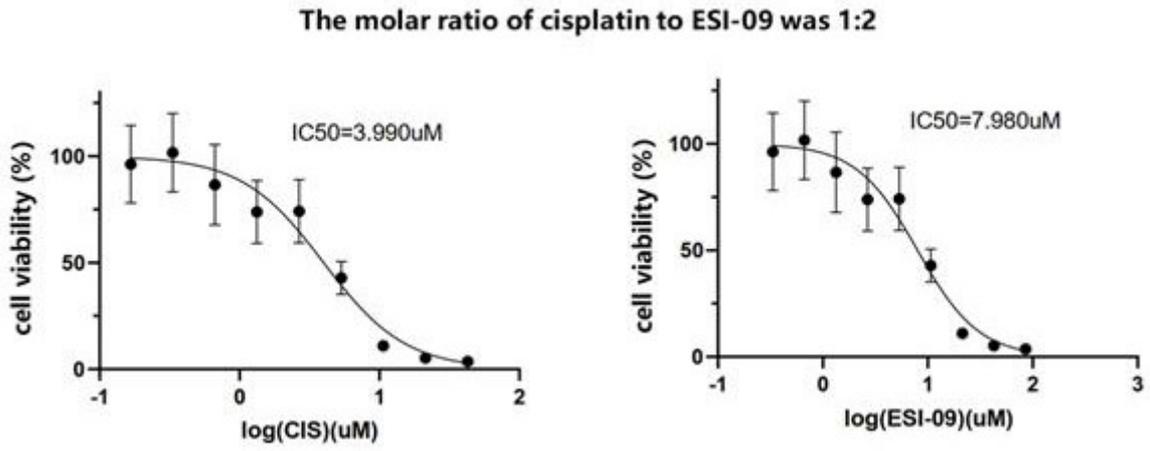


图6