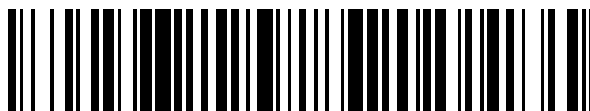


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 786 092**

51 Int. Cl.:

C07J 17/00 (2006.01)

A61K 31/704 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.12.2014 PCT/CN2014/094726**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.06.2016 WO16095249**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.12.2014 E 14908284 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.02.2020 EP 3235826**

54 Título: **Derivado multiacilado del 20(R)-ginsenósido Rg3, preparación y aplicación del mismo**

30 Prioridad:

17.12.2014 CN 201410785172

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

08.10.2020

73 Titular/es:

FU, LI (100.0%)

**No. 5 Tieshan Mid-road Economy&Technology
Development Zone
Dalian 116600, CN**

72 Inventor/es:

FAN, HONGYU

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 786 092 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

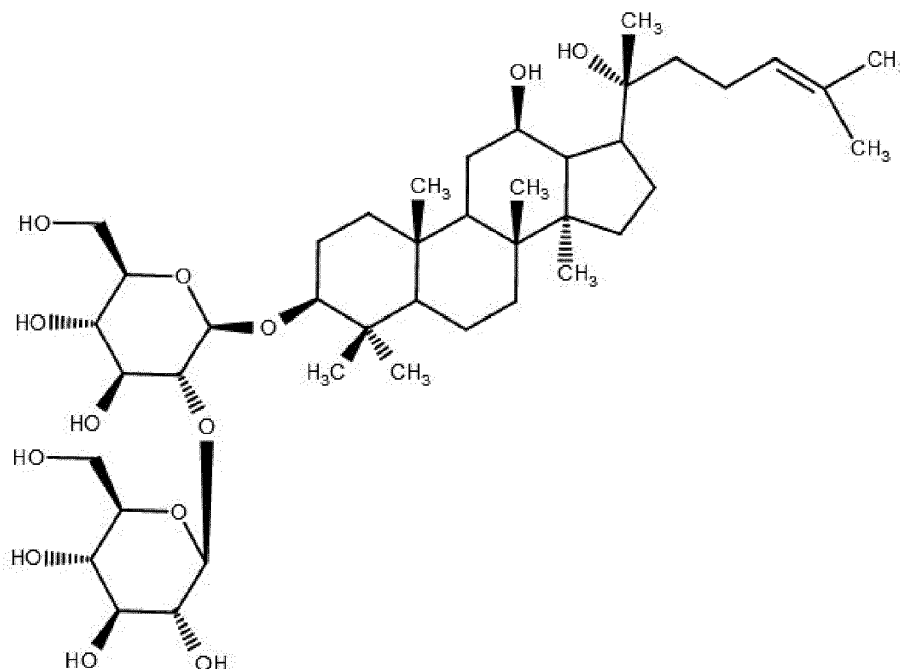
Derivado multiacilado del 20(R)-ginsenosido Rg3, preparación y aplicación del mismo

Campo técnico

5 La presente invención se refiere al campo de la química farmacéutica y, en particular, la presente invención se refiere a un derivado poliácilado de 20 (R)-ginsenosido Rg3 y al procedimiento de preparación del mismo, y los efectos farmacológicos antitumorales de los derivados.

Antecedentes de la técnica

10 El 20 (R) - Ginsenosido Rg3 es un monómero de saponina ginsenosido triterpenoide tetracíclico aislado del ginseng rojo (el ginseng rojo es un producto cocido del *Panax ginseng* C. A. Mey). Se aisló del ginseng coreano por el erudito japonés Kitagawa Hoon en 1980, y su fórmula molecular es $C_{42}H_{72}O_{13}$, el peso molecular relativo de 784,3. El 20(R)-ginsenosido Rg3 tiene la eficacia de la desintoxicación sinérgica, mejora los síntomas de la deficiencia de qi, mejora la inmunidad de los cuerpos humanos, etc. Además, los estudios han demostrado que el ginsenosido Rg3 todavía tiene el papel de inhibición de la proliferación, infiltración y metástasis de células tumorales, puede inducir la apoptosis de células de cáncer de hígado, células de cáncer de próstata, células de leucemia, células de cáncer cervical.



15 Debido a su estructura molecular grande, el 20 (R) – ginsenosido Rg3 no es soluble en agua y otros solventes de alta polaridad, pero tampoco es soluble en éter de petróleo, cloroforno y otro solvente de baja polaridad o no polar; el 20 (R) – ginsenosido Rg3 es fácilmente soluble en piridina, en una solución de etanol (50 % ~ 70 %), en soluciones acuosas ácidas fuertes (pH <2) y en soluciones alcalinas fuertes (pH > 10). Pertenece a los fármacos de Clase IV del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS), y debido a su baja solubilidad y permeabilidad transmembrana y baja biodisponibilidad, las acciones farmacológicas del 20(R)-ginsenosido Rg3 están restringidas.

20

En los últimos años, muchos académicos han realizado investigaciones en profundidad sobre la poliácilación de productos naturales, por ejemplo, Liu Jikai y otros han sintetizado el pentaacetilato de bergenina por catálisis de ácido sólido, como se muestra en la solicitud de patente cuyo número de solicitud de patente es CN200510010970.0 (Instituto de Botánica de Kunming, Academia de Ciencias de China). En comparación con la materia prima bergenina, los experimentos en animales demostraron que el pentaacetilato de bergenina tiene un efecto farmacológico sinérgico obvio y puede superar de manera efectiva las deficiencias de la bergenina, tales como un efecto antitensivo y antiasmático deficiente y una absorción oral deficiente.

25

Los compuestos de pentaacetilato de mangiferina, heptanoilo de mangiferina y hexaobutanoilo de mangiferina han sido sintetizados por el grupo de investigación Deng Jia Gang en la Universidad de Ciencias Médicas de Guangxi usando el catalizador ácido sulfúrico. (Experiment Traditional Medical Formulae Vo118, No24, page185–189); Los experimentos farmacológicos del pentaacetilato de mangiferina, el propionil heptaacetilato de mangiferina y el hexaacrilato de butiril mangiferina, desarrollados por síntesis catalítica con ácido sulfúrico (el grupo de investigación de Deng Jiagang y otros, Guangxi Medical University) mostraron que estos tres derivados de mangiferina pueden proporcionar una acción farmacológica similar a la mangiferina, con la dosificación de 1/4 de mangiferina, lo que indica

30

35

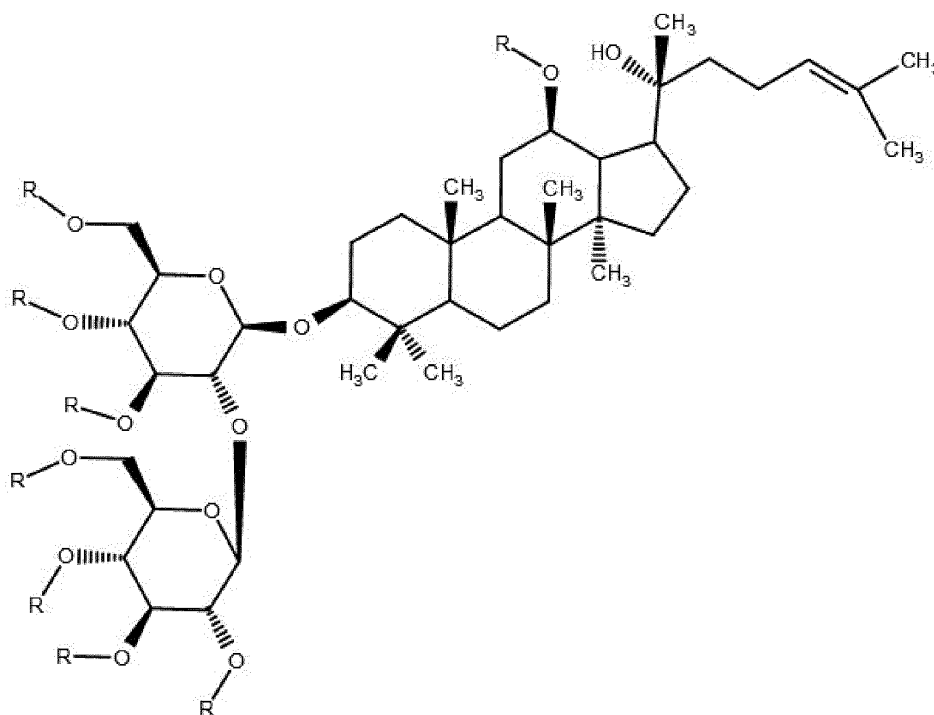
que la valencia de la acción antiinflamatoria de los derivados acilados es mejor que la de la mangiferina (Chinese Journal of Experiment Traditional Medical Formulae Vo118, No24, page185–189), Los experimentos farmacológicos del octaacetato de galato de epigalocatequina desarrollado por la modificación de acilación múltiple del galato de epigalocatequina (el grupo de investigación de Tak Hang Chan, Universidad Politécnica de Hong Kong) mostraron que el derivado ha mejorado la estabilidad y ha mejorado la efectividad contra el cáncer (Bioorg & Medicinal Chemistry 12 (2004) 5587–5593). En sumario, mediante la modificación de la esterificación, los derivados ésteres de los fármacos han mejorado la liposolubilidad y muestran un mayor coeficiente de distribución de aceite/agua y, por lo tanto, una mayor permeabilidad transmembrana, lo que ha mejorado la absorción transmembrana y la biodisponibilidad de los medicamentos y, en última instancia, una mayor eficacia del medicamento. Sin embargo, no existe tal investigación sobre el 20(R)-ginsenosido Rg3, por lo tanto, diseñamos y sintetizamos derivados poliacylados de 20(R)-ginsenosido Rg3 mediante catálisis alcalina y realizamos investigaciones mediante experimentos farmacológicos.

Sumario de la invención

El problema técnico a resolver por la presente invención es preparar derivados poliacylados de 20 (R)-ginsenosido Rg3 mediante síntesis química. La invención proporciona un derivado poliacylado sintético de 20(R)-ginsenosido Rg3 obtenido por acilación usando el 20(R)-ginsenosido Rg3 como compuesto de partida.

Los grupos hidroxilo del 20(R)-ginsenosido Rg3 están bloqueados para mejorar la lipofilidad y cambiar el coeficiente de separación aceite-agua y así mejorar la absorción intestinal, mejorando la eficacia. Además, la invención también proporciona un procedimiento para preparar los derivados poliacylados de 20(R)-ginsenosido Rg3, que tiene condiciones de reacción suaves y es adecuado para la producción industrial en masa.

En primer lugar, la invención proporciona derivados poliacylados de 20(R)-ginsenosido Rg3 (es decir, derivados multiacylados de 20(R)-ginsenosido Rg3) de la fórmula (I),



en el que, $R = \text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO}$, $n = 1 \sim 5$, preferentemente en el que, $R = \text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO}$, $n = 2 \sim 4$,

Además, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un derivado poliacylado de 20(R)-ginsenosido Rg3 de la invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

El excipiente farmacéuticamente aceptable divulgado en la presente memoria se refiere a rellenos líquidos, semisólidos o sólidos no tóxicos, diluyentes, portadores, ajustadores de pH, modificadores de la fuerza iónica, agentes de liberación sostenida y liberación controlada, agentes de envoltura y otros excipientes farmacéuticos. Los excipientes usados pueden adaptarse a la forma de administración apropiada y pueden formularse como un adyuvante conocido por los expertos en la técnica para inyección, polvo liofilizado para inyección, aerosol, solución oral, suspensión oral, tableta, cápsula, tabletas con recubrimiento entérico, píldoras, polvos, gránulos, de liberación sostenida o liberación retardada.

Los derivados poliacylados de 20(R)-ginsenosido Rg3 del primer aspecto de la invención pueden administrarse por inyección o por la vía digestiva, por lo tanto, la composición farmacéutica de la invención es preferentemente una

formulación inyectable o una formulación administrada a través de la vía digestiva, en otras palabras, se prefieren particularmente los excipientes adecuados para la administración por inyección y la vía digestiva.

5 En el que, el término "administrar al tracto digestivo" usado en la presente memoria se refiere a la forma de administración a través de la vía digestiva de los pacientes, incluyendo la administración oral, la administración por sonda y la administración por enema, preferentemente la administración oral, por ejemplo, usando los materiales auxiliares conocidos por una persona experta en la técnica, se proporcionan soluciones orales, suspensiones orales, tabletas, cápsulas, tabletas con recubrimiento entérico, píldoras, polvos, gránulos y formulaciones de liberación sostenida o de liberación retardada, en el que las formulaciones para administración a través de inyección comprenden inyecciones e inyecciones de polvo.

10 Además, otro aspecto de la invención proporciona un procedimiento de preparación de derivados poliacilados de 20(R)-ginsenósido Rg3, que comprende las siguientes etapas de:

- 1) disolver el 20(R)-ginsenósido Rg3 en un solvente orgánico para producir una solución de 20(R)-ginsenósido Rg3,
- 2) añadir un agente de acilación para la esterificación,
- 3) añadir agua para apagar la reacción y ajustar el pH de la solución mezclada a 7 con un álcali, y
- 15 4) después se filtra y recristaliza para obtener el producto final.

En el que, el solvente orgánico de la etapa 1) se selecciona de trietilamina o piridina anhidra, preferentemente piridina anhidra, y el agente de acilación de la etapa 2) es cloruro de acilo o anhídrido ácido.

20 Específicamente, el cloruro de acilo se selecciona de cloruro de propionilo, cloruro de butirilo, cloruro de valerilo o cloruro de hexanoilo; y el anhídrido ácido se selecciona de anhídrido propiónico, anhídrido butírico, anhídrido valérico o anhídrido caproico.

En el que, la temperatura de reacción de esterificación de la etapa 2) es 80–100 °C.

Específicamente, el tiempo de esterificación es de 2–5 h.

Específicamente, el agente de acilación se añade a la solución de 20(R)-ginsenósido Rg3 a temperatura ambiente.

En particular, la temperatura ambiente es de 15–35 °C.

25 En el que, el álcali de la etapa 3) se selecciona de los álcalis inorgánicos.

Específicamente, el álcali inorgánico se selecciona de carbonato de sodio, carbonato de potasio, bicarbonato de sodio o hidrogenocarbonato de potasio, preferentemente bicarbonato de sodio.

Específicamente, el agua añadida en la etapa 3) es agua helada, es decir, agua de 0 °C de temperatura, para apagar el procedimiento de esterificación.

30 En el que la recristalización del derivado poliacilado de 20 (R)-ginsenósido Rg3 se lleva a cabo mediante el uso de un sistema de agua / metanol en la etapa 4).

Todavía otro aspecto de la invención proporciona una aplicación de los derivados poliacilados de 20 (R) -ginsenósido Rg3 para la preparación de fármacos antitumorales y anticancerígenos.

35 La presente invención proporciona además una aplicación de los derivados poliacilados de la 20 (R) -gainida saponina Rg3 en la fabricación de medicamentos para el control de diversos tumores sólidos animales, y fármacos contra el cáncer de pulmón humano, contra el cáncer de mama, contra el cáncer antigástrico, contra el cáncer de colon y contra el hepatocarcinoma.

40 La invención tiene las ventajas de que: el procedimiento de preparación de los derivados poliacilados de 20(R)-ginsenósido Rg3 de la invención se controla fácilmente, aumenta el rendimiento global de los productos y es adecuado para la producción industrial en masa.

Descripción detallada de la invención

45 La presente invención se describirá adicionalmente mediante las siguientes realizaciones, y las realizaciones deben considerarse en todos los aspectos ilustrativas en lugar de limitar la divulgación descrita en la presente memoria. Además, los reactivos y materiales utilizados en las realizaciones están todos disponibles comercialmente y, si son insuficientes, consulte la Guía de síntesis orgánica, las directrices emitidas por los reguladores de fármacos y las instrucciones del fabricante sobre los instrumentos y reactivos relevantes.

Ejemplo Comparativo 1

1) Se añadió 20(R)-ginsenósido Rg3 (4 g, 5,09 mmol) a 180 ml de piridina anhidra seca y se agitó para disolver, para producir una solución de 20(R)-ginsenósido Rg3.

2) A temperatura ambiente (15–35 °C), se añadió cloruro de acetilo (0,71 ml, aproximadamente 10 mmol) a la solución de 20(R)-ginsenósido Rg3.

5 3) La mezcla resultante se calentó con agitación y se mantuvo a 80 °C para la esterificación.

4) Después la reacción se mantuvo a una temperatura de 80 °C durante 5 horas, la solución de reacción se vertió en agua con hielo y se añadió una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio para ajustar el pH a 7, lo que dio como resultado la precipitación de una gran cantidad de sólido blanco.

10 5) La filtración dio un sólido blanco, se lavó con una gran cantidad de agua y se recrystalizó en agua/metanol para proporcionar un polvo blanco.

El octaacetato de 20(R)-ginsenósido Rg3 (3 g) como un sólido blanco, soluble en agua, etanol. Después se desarrolló la placa de TLC (la solución cromatográfica fue cloroformo / metanol 50: 1, el Rf fue de 0,4) y se roció con reactivo de H₂SO₄ al 10 %-etanol, después apareció morado. En el espectro ESI-MS, m/z[M+Na] es 1143,6, y el peso molecular es 1121.

15 Los ¹H-NMR y ¹³C-NMR del octaacetato de 20(R)-ginsenósido Rg3 son los siguientes:

¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ(ppm): 5,301–5,255 (t, 1H, J = 9,2Hz), 5,192 – 5,146(t,1H,J=9,2Hz), 5,062(s,1H), 4,891–4,721(m,4H), 4,629(s,2H), 4,182–4,067(m,3H), 3,973–3,911(m,3H), 3,630–3,592(t,1H,J=1,2Hz), 3,512(s,1H), 3,054–3,053(d,1H,J=7,6Hz), 2,088(s,2H), 1,984–1,902(m,22H), 1,738(s,3H), 1,626–1,210(m,18H), 0,992–0,889(m,12H), 0,794(s,3H), 0,721(s,5H);

20 ¹³C-NMR(100MHz, Piridina-d₅) δ (ppm) : 171,88, 171,81, 171,72, 171,61, 171,51, 171,31, 171,19, 171,15 (C=O), 132,05 (C–25), 127,30 (C–24), 104,92 (C–1"), 102,35 (C–1'), 91,57 (C–3), 79,27 (C–2'), 76,78 (C–5"), 74,96 (C–5'), 74,71 (C–2"), 74,71 (C–20), 73,56 (C–3"), 73,25 (C–3'), 72,98 (C–12), 70,79 (C–4"), 70,39 (C–4'), 63,95 (C–6"&6'), 57,54 (C–5), 53,76 (C–14), 51,56 (C–17), 51,47 (C–9), 47,40 (C–13), 44,35 (C–22), 41,17 (C–4), 40,85 (C–8), 40,04 (C–1), 38,18 (C–10), 36,06 (C–7), 32,75 (C–11), 30,09 (C–15), 27,22 (C–28), 25,64 (C–16), 24,96 (C–2), 24,83 (C–26), 22,39 (C–21), 21,93 (C–23), 21,71–21,79 (CH₃CO) 18,29 (C–6), 17,65 (C–30), 17,26 (C–27), 16,17 (C–29), 16,13 (C–19), 16,90 (C–18)

25 En base a los datos de prueba de ESI-MS, ¹H-NMR and ¹³C-NMR, se puede determinar que la fórmula estructural del octaacetato de 20(R)-ginsenósido Rg3 es como se definió anteriormente, en el que R=Ac (no reivindicado).

Ejemplo 2

30 1) Se añadió 20(R)-ginsenósido Rg3 (4 g, 5,09 mmol) a 180 ml de piridina anhidra seca y se agitó para disolver, para producir una solución de 20(R)-ginsenósido Rg3.

2) A temperatura ambiente (20–25 °C), se añadió anhídrido N-butírico (3,07 ml, aproximadamente 10 mmol) a la condición de solución de 20(R)-ginsenósido Rg3.

3) La mezcla resultante se calentó con agitación y se mantuvo a 100 °C para la esterificación.

35 4) Después la reacción se mantuvo a una temperatura de 100 °C durante 5 h, la solución de reactivo se vertió en agua con hielo y se añadió una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio para ajustar el pH a 7, lo que dio como resultado la precipitación de una gran cantidad de sólido blanco.

5) La filtración dio un sólido blanco, se lavó con una gran cantidad de agua y se recrystalizó en agua/metanol para proporcionar un polvo blanco.

40 El octo-n-butirato de 20(R)-ginsenósido Rg3 (3g) es un sólido soluble en agua y etanol. Después que se desarrolló la placa de TLC (la solución cromatográfica fue éter de petróleo/acetato de etilo 3:, el Rf fue de 0,5) y se roció con reactivo de H₂SO₄ al 10 %-etanol, después apareció morado. En el espectro ESI-MS, m/z[M+Na] es 1368,27, y el peso molecular es 1345.

Los ¹H-NMR y ¹³C-NMR de octo-n-butirato de 20(R)-ginsenósido Rg3 son los siguientes:

45 ¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) : 5,301–5,255(t,1H,J=9,2Hz), 5,192 – 5,146(t,1H,J=9,2Hz), 5,062(s,1H), 4,891–4,721(m,4H), 4,629(s,2H), 4,182–4,067(m,3H), 3,973–3,911(m,3H), 3,630–3,592(t,1H,J=1,2Hz), 3,512(s,1H), 3,054–3,053(d,1H,J=7,6Hz), 2,35 (m,12H), 2,32(s,2H), 1,984–1,902(m,22H), 1,801–1,793(m,16H), 1,738(s,3H), 0,992–0,889(m,16H), 0,794(s,3H), 0,721(s,5H).

50 ¹³C-NMR(100MHz, Piridina-d₅) δ (ppm):172,96, 172,89, 172,62, 172,51, 172,47, 172,28, 172,26, 172,06 (C=O), 130,55 (C–25), 125,81 (C–24), 103,44 (C–1"), 100,82 (C–1'), 90,01 (C–3), 77,41 (C–2'), 77,11 (C–5"), 76,68 (C–5'),

75,47 (C-2"), 72,04 (C-20), 74,43 (C-3"), 73,91 (C-3'), 71,64 (C-12), 69,14 (C-4"), 68,74 (C-4'), 63,30 (C-6'), 63,35 (C-6"), 56,34 (C-5), 51,39 (C-14), 50,16 (C-17), 49,99 (C-9), 48,73 (C-13), 42,59 (C-22), 40,25 (C-4), 40,04 (C-8), 39,25 (C-1), 36,85 (C-10), 35,59-35,90 (CH₃CH₂CH₂CO), 35,01 (C-7), 31,59 (C-11), 31,16 (C-15), 27,22 (C-28), 25,64 (C-16), 24,96 (C-2), 24,83 (C-26), 22,39 (C-21), 21,93 (C-23), 18,42 (C-6), 18,17-18,34 (CH₃CH₂CH₂CO), 17,65 (C-30), 17,26 (C-27), 16,12 (C-29), 16,02 (C-19), 15,40 (C-18), 13,64 (CH₃CH₂CH₂CO).

En base a los datos de prueba de ESI-MS, ¹H-NMR y ¹³C-NMR, se puede determinar que la fórmula estructural del octo-n-butirato de 20(R)-ginsenósido Rg3 es como la anterior, en el que R=CH₃CH₂CH₂CO-.

Ejemplo 3

1) Se añadió 20(R)-ginsenósido Rg3 (4 g, 5,09 mmol) a 180 ml de piridina anhidra seca y se agitó para disolver, para producir una solución de 20(R)-ginsenósido Rg3.

2) A temperatura ambiente (15-25 °C), se añadió anhídrido N-propiónico (3,07 ml, aproximadamente 10 mmol) a la solución de 20(R)-ginsenósido Rg3.

3) La mezcla resultante se calentó con agitación y se mantuvo a 80 °C para la esterificación.

4) Después la reacción se mantuvo a una temperatura de 80 °C durante 5 h, la solución de reactivo se vertió en agua con hielo y se añadió una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio para ajustar el pH a 7, lo que dio como resultado la precipitación de una gran cantidad de sólido blanco.

5) La filtración dio un sólido blanco, se lavó con una gran cantidad de agua y se recristalizó en agua/metanol para proporcionar un polvo blanco.

El octo-n-propionato de 20(R)-ginsenósido Rg3 (3 g) es un sólido soluble en agua y etanol.

Después que se desarrolló la placa de TLC (la solución cromatográfica fue éter de petróleo/acetato de etilo 3:1, el R_f fue de 0,4) y se roció con reactivo de H₂SO₄ al 10 %-etanol, después apareció morado. En el espectro ESI-MS, m/z[M+Na] es 1255,71, y el peso molecular es 1233.

Los ¹H-NMR y ¹³C-NMR del octo-propionato de 20(R)-ginsenósido Rg3 son los siguientes:

¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) : 5,301-5,255 (t,1H,J=9,2Hz), 5,192-5,146 (t,1H,J=9,2Hz),5,062 (s,1H), 4,891-4,721 (m, 4H), 4,629(s, 2H), 4,182-4,067(m, 3H), 3,973 - 3,911(m,3H), 3,630-3,592 (t, 1H, J=1,2Hz), 3,512(s,1H), 3,054-3,053(d,1H,J=7,6Hz), 2,29- 2,27(m,16H), 2,088(s,2H), 1,14-1,12(m,24H), 1,738(s,3H),, 0,992-0,889(m,16H), 0,794(s,3H), 0,721(s,5H) ;

¹³C-NMR(100MHz, Piridina-d₅) δ (ppm) :175,27,175,20,175,04,174,97,174,87,174,70,174,68,174,52 (C=O), 132,06 (C-25), 127,31 (C-24), 104,96 (C-1"), 102,38 (C-1'), 91,53 (C-3), 79,14 (C-2'), 77,11 (C-5"), 76,68 (C-5'), 75,47 (C-2"), 72,46 (C-20), 74,43 (C-3"), 73,91 (C-3'), 70,18 (C-12), 70,86 (C-4"), 70,36 (C-4'), 63,81 (C-6"&6'), 57,57 (C-5), 53,86 (C-14), 51,53 (C-17), 51,49 (C-9), 7,40 (C-13), 44,29 (C-22), 41,20 (C-4), 40,87 (C-8), 40,07 (C-1), 38,20 (C-10), 36,09 (C-7), 32,87 (C-11), 30,13 (C-15), 29,54-29,98 (CH₃CH₂CO), 29,10 (CH₃CH₂CO), 28,82-28,98 (CH₃CH₂CO), 27,08 (C-28), 24,24 (C-16), 24,96 (C-2), 24,83 (C-26), 22,39 (C-21), 21,93 (C-23), 19,65 (C-6), 18,97 (C-30), 18,96 (C-27), 17,53 (C-29), 17,50 (C-19), 16,90 (C-18), 10,45-10,58 (CH₃CH₂CO).

En base a los datos de prueba de ESI-MS, ¹H-NMR y ¹³C-NMR, se puede determinar que la fórmula estructural del octo-n-propionato de 20(R)-ginsenósido Rg3 es como se indicó anteriormente, en el que R=CH₃CH₂CO-.

Ejemplo 4

1) Se añadió 20(R)-Ginsenósido Rg3 (4 g, 5,09 mmol) a 180 ml de piridina anhidra seca y se agitó para disolver, para producir una solución de 20(R)-ginsenósido Rg3.

2) A temperatura ambiente, se añadió cloruro de hexanoilo (1,387 ml, aproximadamente 10 mmol) a la solución de 20(R)-ginsenósido Rg3.

3) La mezcla resultante se calentó con agitación y se mantuvo a 80 °C para la esterificación.

4) Después que la reacción se mantuvo a una temperatura de 80 °C durante 5 horas, la solución reactiva se vertió en agua con hielo, y se añadió una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio para ajustar el pH a 7, lo que dio como resultado la precipitación de una gran cantidad de sólido blanco.

5) La filtración dio un sólido blanco, se lavó con una gran cantidad de agua y se recristalizó en agua/metanol para proporcionar un polvo blanco.

El octo-n-hexanoato de 20(R)-Ginsenósido Rg3 (3g) es un sólido soluble en agua y etanol. Después se desarrolló la placa de TLC (la solución cromatográfica fue cloroformo / metanol 5: 1, el R_f fue de 0,4) y se roció con reactivo de

H₂SO₄ al 10 %-etanol, después apareció morado. En el espectro ESI-MS, m/z[M+Na] es 1602,2, y el peso molecular es 1570.

Los ¹H-NMR y ¹³C-NMR de octo-hexanoato de 20(R)-ginsenósido Rg3 son los siguientes:

5 ¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) : 5,301-5,255(t,1H,J=9,2Hz), 5,192-5,146, (t,1H,J=9,2Hz),5,062(s,1H),4,891-4,721(m,4H),4,629(s,2H),4,182-4,067(m,3H),3,973-3,911(m,3H),3,630-3,592(t,1H,J=1,2Hz),3,512(s,1H),3,054-3,053(d,1H,J=7,6Hz),2,29-2,27(m,16H),2,088(s,2H),1,14-1,12(m,24H),1,738(s,3H),0,992-0,889(m,16H),0,794(s,3H),0,721 (s,5H)

10 ¹³C-NMR(100MHz, Piridina-d₅) δ (ppm) : 173,27; 173,20; 173,04; 172,98; 172,82; 172,70; 172,67; 172,52 (C=O), 132,06 (C-25), 127,31 (C-24), 104,96 (C-1"), 102,38 (C-1'), 91,53 (C-3), 79,14 (C-2'), 77,11 (C-5"), 76,68 (C-5'), 75,47 (C-2"), 72,46 (C-20), 74,43 (C-3"), 73,91 (C-3'), 70,18 (C-12), 70,86 (C-4"), 70,36 (C-4'), 63,81 (C-6"y 6'), 57,57 (C-5), 53,86 (C-14), 51,53 (C-17), 51,49 (C-9), 7,40 (C-13), 44,29 (C-22), 41,20 (C-4), 40,87 (C-8), 40,07 (C-1), 38,20 (C-10), 36,09 (C-7), 33,14-34,28 (CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂CO), 32,87 (C-11), 28,82-28,98 (CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂CO), 30,13 (C-15), 27,08 (C-28), 24,24 (C-16), 24,96 (C-2), 24,83 (C-26), 22,39 (C-21), 22,48-22,10 (CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂CO), 21,93 (C-23), 19,65 (C-6), 18,97 (C-30), 18,96 (C-27), 17,53 (C-29), 17,50 (C-19), 16,90 (C-18), 14,41-14,67 (CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂CO). En base a los datos de prueba de ESI-MS, ¹H-NMR y ¹³C-NMR, se puede determinar que la fórmula estructural del octo-n-hexanoato de 20(R)-ginsenósido Rg3 es como la anterior, en el que R=CH₃CH₂CH₂CO-.

Ejemplo de experimento Efecto de los derivados poliacilados de 20(R)-ginsenósido Rg3 sobre la inhibición del crecimiento tumoral

20 1. Fármaco evaluado

Derivados poliacilados de 20(R)-ginsenósido Rg3:

25 El octo-acetato de 20(R)-ginsenósido Rg3, octo-n-butilato de 20(R)-ginsenósido Rg3 y octo-n-propionato de 20(R)-ginsenósido Rg3, proporcionados por Dalian Fusheng natural drug development Co. Ltd., fueron detectados por el procedimiento de normalización de área mediante el uso del detector UV-HPLC y el detector de dispersión de luz por evaporación, lo que indica que la pureza fue de 99,6%, 99,2% y 99,1% respectivamente.

Procedimiento de preparación

Medir con precisión una cantidad de los derivados poliacilados de 20(R) - ginsenósido Rg3, añadir un CMC-Na al 5 % para obtener la concentración deseada de la suspensión. El volumen de administración es de 0,5 ml / ratón.

30 2. Materiales del experimento

30 Fármacos positivos:

ciclofosfamida (CTX) para inyección, proporcionada por Shanghai Hualian Pharmaceuticals Group, administrada una vez al día, durante siete días consecutivos;

solución de inyección de 5Fu, proporcionada por Shanghai Xudonghaipu Pharmaceuticals Co.,Ltd.;

mitomicina (MMC) para inyección, proporcionada por Kyowa Hakko Kogyo Co. Ltd.

35 Fuentes tumorales:

40 modelo Bcap-37 de cáncer de mama humano, modelo A549 de cáncer de pulmón humano, modelo LOVO de cáncer intestinal humano, modelo MGC de cáncer de estómago humano y modelo QGY de cáncer de hígado humano, con las líneas de células tumorales siendo de segunda generación o más, la línea celular de melanoma B16 de ratón, el modelo de cáncer de pulmón Lewis de ratón, el modelo de sarcoma de ratón s180, todos pasados y conservados en la División Farmacológica del Instituto de Industria Farmacéutica de Shanghai.

3. Animales del experimento

Orígenes:

ratones desnudos, de 6 semanas de edad, 18-22 g/ratón, proporcionados por el Centro de Animales de Laboratorio de la Academia de Ciencias de China, sucursal de Shanghai, con certificación No.2001A032.

45 Los ratones C57BL/6 y los ratones Kunming, 18-22 g/ratón, proporcionados por el Centro de Animales de Laboratorio de la Academia de Ciencias de China, sucursal de Shanghai, con certificación SYXK (Shangháí) 2004-0015.

Sexo: masculino o femenino, el mismo género para cada lote en el experimento

Números de animales: 10 ratones y 10 ratones desnudos para cada grupo control positivo y grupo de prueba en el experimento, y 20 para el grupo de control negativo.

4. Diseño del experimento

Configuración de dosis:

- 5 Las dosis para octo–acetato de 20(R)–ginsenósido Rg3, octo–n–butirato de 20(R)–ginsenósido Rg3 y octo–n–propionato de 20(R)–ginsenósido Rg3 se establecieron como grupo de dosis alta (0,3 mg/kg/d), grupo de dosis media (0,06 mg/kg/d) y grupo de dosis baja (0,012 mg/kg/d).

Régimen de dosificación: administración oral, dos veces al día.

modelo de tumor humano y modelo de ratón inoculado con células: po×14bid;

- 10 modelo inoculado con tumor de ratón: po×10bid.

Ensayo de control:

grupo de control negativo: administrado con el mismo volumen de CMC–Na al 5 % que el grupo de prueba y el mismo régimen de dosificación que el grupo de prueba.

- 15 grupo de control positivo: Ciclofosfamida CTX 30 mg/kg, MMC 2 mg/kg y 5Fu 30 mg/kg por administración intraperitoneal o intravenosa, una vez al día, durante siete días consecutivos.

5. Procedimiento experimental y etapas clave

5.1 Prueba antitumoral

5.1.1 Modelo de inoculación subcutánea

- 20 Las células tumorales de crecimiento vigoroso se tomaron en condiciones estériles y se convirtieron en suspensiones celulares de aproximadamente $1-2 \times 10^7$ /ml por homogeneización, las suspensiones se inocularon por vía subcutánea a 0,2 ml/ratón en ratones hospederos y se repitieron al día siguiente en base al diseño del experimento, los animales de cada grupo se sacrificaron después de aproximadamente tres semanas, los tumores se recogieron y se pesaron, y las tasas de inhibición tumoral se calcularon de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de tasa de inhibición del tumor} = \left[\frac{\text{promedio del peso del tumor del grupo control} - \text{promedio del peso del tumor del grupo de tratamiento}}{\text{promedio del peso del tumor del grupo control}} \right] \times 100\%$$

- 25 La misma operación se repitió en el modelo de xenoinjerto de tumor humano, excepto que los instrumentos de alimentación, empaque, jaula y contacto se esterilizaron a alta presión antes de su uso y los ratones desnudos se alimentaron en un estante de flujo laminar. Los tumores y las ganancias de peso de los animales que portaban tumores se midieron dinámicamente (el tamaño del tumor se midió usando un calibre: diámetro largo/a, diámetro corto/b, y volumen del tumor = $a \times b^2 / 2$).

- 30 5.1.2 Modelo de inoculación in situ estomacal

Se tomaron dos pases in vivo de cáncer de estómago MGC en etapa de crecimiento vigoroso en condiciones estériles y se convirtieron en suspensiones celulares de aproximadamente 2×10^7 /ml por homogeneización, las suspensiones celulares (0,05 ml) se inyectaron quirúrgicamente en una mayor curvatura del estómago en ratones desnudos y se repitieron al día siguiente en base al diseño del experimento, y las tasas de extensión de la vida del hospedero portador de tumor se calcularon de acuerdo con el siguiente ecuación:

- 35

$$\% \text{ de tasa de extensión de la vida} = \frac{\text{promedio de días de supervivencia del grupo de tratamiento}}{\text{promedio de días de supervivencia del grupo control}} \times 100\%$$

5.2 Prueba de metástasis antitumoral

5.2.1 Modelo de inoculación por vena de la cola

- 40 Las células de melanoma B16 de ratón en la etapa de crecimiento logarítmico se tomaron en condiciones estériles y se convirtieron en suspensiones celulares de aproximadamente $2,5 \times 10^5$ /ml, las suspensiones celulares se inyectaron a 0,2 ml/ratón por la vena de la cola en ratones C57BL/6 y se repitieron al día siguiente en base al diseño del experimento, los ratones se sacrificaron después de tres semanas, se colectaron los pulmones de los ratones en cada grupo, se calculó la colonia de células cancerosas metastásicas en pulmón por ratón y la colonia promedio de células tumorales en cada grupo, y las tasas de inhibición tumoral se calcularon de acuerdo con la siguiente ecuación:

% de tasa de inhibición del tumor = [(promedio de colonias del grupo control-promedio de colonias del grupo de tratamiento)/promedio de colonias del grupo control]x100%

5.2.2 Modelo de metástasis hepáticas–inoculación de bazo

5 Las células de cáncer intestinal LOVO (cultivadas in vitro) en la etapa de crecimiento logarítmico se tomaron en condiciones estériles y se prepararon en suspensiones celulares de aproximadamente $1,8 \times 10^7$ /ml mediante el uso del medio de cultivo RPMI1640 como diluyente. Los ratones desnudos se sometieron a anestesia general y se cortaron en el abdomen después de la desinfección de rutina en la piel del abdomen, se extrajeron los bazos y se inocularon con suspensiones de células de cáncer intestinal LOVO (0,05 ml/ratón) y después se restituyeron, se suturaron las incisiones y los ratones se colocaron en las jaulas y después se colocaron en el estante de flujo laminar. Los ratones se trataron al día siguiente de acuerdo con el diseño del experimento, se observó y registró la tasa de mortalidad de los ratones en cada grupo, y se calcularon las tasas de extensión de la vida y se compararon con el grupo de control negativo.

5.2.3 Modelo de inoculación in situ del hígado

15 Bajo condiciones estériles, el pasaje in vivo de la segunda generación de fuente de tumor QGY de etapa de crecimiento vigoroso se preparó en suspensiones celulares de aproximadamente $1-2 \times 10^7$ /ml por homogeneización (1:6), y los homogenizados se filtraron mediante el uso de una malla de acero inoxidable de malla 100, preparándose para su uso. Los ratones desnudos se desinfectaron rutinariamente y se anestesiaron y se cortaron en el xifoides en el medio de la cavidad abdominal para exponer el hígado, las suspensiones celulares (0,05 ml) se inyectaron en el parénquima hepático utilizando jeringas de 28ga 1/2 ml importadas, la cavidad abdominal se cerró y después suturado capa por capa. Los ratones desnudos se alimentaron en el estante de flujo laminar, con todos los instrumentos de alimentación, empaque, jaula y contacto esterilizados a alta presión antes de su uso. Los ratones se trataron al día siguiente de acuerdo con el diseño del experimento, observados y registrados para el tiempo de supervivencia dentro de 45 días en cada grupo, y el tiempo de supervivencia se comparó con el grupo de control negativo, y se calcularon las tasas de prolongación de la vida.

6. Resultados

25 6.1 Resultados de la prueba antitumoral de los derivados poliacilados de Rg3 en los modelos tumorales

Los resultados de la prueba antitumoral de octo–n–propionato de 20(R)–ginsenósido Rg3, octo–n–butirato de 20(R)–ginsenósido Rg3 y octo–acetato de 20(R)–ginsenósido Rg3 en modelos de tumor de ratón y humano se muestran en la Tabla 1 y la Tabla 2.

30 Tabla 1 Eficacia de los derivados poliacilados de 20(R)–ginsenósido Rg3 en el cáncer de pulmón Lewis de ratón (inoculación subcutánea del dedo del pie) (n=3)

Muestra	Dosis mg/kg/d	Régimen de administración	Números de animales (ratones) Inicio/fin	Peso corporal del animal (g) Inicio/fin	Peso del dedo del pie con tumor (g) X±DE	% de tasa de inhibición tumoral
Grupo de dosis alta de Rg3–octo–n–propionato	0,3	po×14bid	10/10	20,1/24,5	0,191±0,105***	78,50
Grupo de dosis media de Rg3–octo–n–propionato	0,06	po×14bid	10/10	20,6/25,1	0,548±0,09***	61,58
Grupo de dosis baja de Rg3–octo–n–propionato	0,012	po×14bid	10/10	20,6/24,2	0,508±0,07***	50,12
Grupo de dosis alta de Rg3–octo–n–butirato	0,3	po×14bid	10/10	20,6/23,9	0,208±0,05***	76,66
Grupo de dosis media de Rg3–octo–n–butirato	0,06	po×14bid	10/10	20,9/25,0	0,347±0,06***	61,00

ES 2 786 092 T3

Muestra	Dosis mg/kg/d	Régimen de administración	Números de animales (ratones) Inicio/fin	Peso corporal del animal (g) Inicio/fin	Peso del dedo del pie con tumor (g) X±DE	% de tasa de inhibición tumoral
Grupo de dosis baja de Rg3–octo–n–butirato	0,012	po×14bid	10/10	20,1/25,2	0,440±0,05***	50,55
Grupo de dosis alta de Rg3–octo–acetato	0,3	po×14bid	10/10	20,5/23,6	0,633±0,08***	71,09
Grupo de dosis media de Rg3–octo–acetato	0,06	po×14bid	10/10	20,5/24,4	0,366±0,09***	58,89
Grupo de dosis baja de Rg3–octo–acetato	0,012	po×14bid	10/10	20,1/24,5	0,444±0,09***	50,15
GRUPO CTX	100	ip×2qod	10/10	20,2/21,9	0,0541±0,02***	93,92
grupo de control negativo	CMC–Na al 0,5 %	po×14bid	20/20	20,3/28,8	0,89±0,11	

En comparación con el grupo de control negativo, ***valor de p <0,01

Tabla 2 Eficacia de los derivados poliacilados de 20(R)–ginsenósido Rg3 en células Bcap–37 de cáncer de mama humano (inoculación subcutánea) (n=3)

Muestra	Dosis mg/kg/d	Régimen de administración	Números de animales (ratones) Inicio/fin	Peso corporal del animal (g) Inicio/fin	Peso tumoral (g) – X±DE	% de tasa de inhibición tumoral
Grupo de dosis alta de Rg3–octo–n–propionato	0,3	po×14bid	10/10	20,9/24,2	0,360±0,10***	72,09
Grupo de dosis media de Rg3–octo–n–propionato	0,06	po×14bid	10/10	20,3/25,1	0,502±0,07***	61,11
Grupo de dosis baja de Rg3–octo–n–propionato	0,012	po×14bid	10/10	20,7/24,4	0,612±0,09***	52,58
Grupo de dosis alta de Rg3–octo–n–butirato	0,3	po×14bid	10/10	20,1/24,2	0,380±0,06***	70,52
Grupo de dosis media de Rg3–octo–n–butirato	0,06	po×14bid	10/10	20,8/25,1	0,610±0,08***	60,95
Grupo de dosis baja de Rg3–octo–n–butirato	0,012	po×14bid	10/10	20,1/24,0	0,627±0,07***	51,41
Grupo de dosis alta de Rg3–octo–acetato	0,3	po×14bid	10/10	20,3/23,6	0,400±0,09***	68,98
Grupo de dosis media de Rg3–octo–acetato	0,06	po×14bid	10/10	20,2/24,5	0,520±0,08***	59,69
Grupo de dosis baja de Rg3–octo–acetato	0,012	po×14bid	10/10	20,0/25,7	0,672±0,07***	47,93
GRUPO CTX	100	ip×2qod	10/10	20,4/22,0	0,130±0,06***	89,90

Muestra	Dosis mg/kg/d	Régimen de administración	Números de animales (ratones) Inicio/fin	Peso corporal del animal (g) Inicio/fin	Peso tumoral (g) – X±DE	% de tasa de inhibición tumoral
grupo de control negativo	CMC–Na al 0,5 %	po×14bid	20/20	20,2/25,5	1,29±0,09***	

En comparación con el grupo de control negativo, *** p <0,01

5 Se puede ver en la Tabla 1 y la Tabla 2 que el octo–n–propionato de 20(R)–ginsenosido Rg3, el octo–n–butirato de 20(R)–ginsenosido Rg3 y el octo–acetato de 20(R)–ginsenosido Rg3 tienen efecto inhibitor sobre el crecimiento tumoral en modelos de tumor sólido de ratón y humano, y la tasa óptima de inhibición tumoral del grupo de tratamiento supera el 70 %, con una diferencia significativa en comparación con el grupo de control negativo (p <0,01).

6.2 Resultados de la prueba de metástasis antitumoral de los derivados poliacilados de Rg3 (a saber, derivados multiacilados de Rg3) en modelos de metástasis tumoral

10 Los resultados de la prueba de metástasis antitumoral del octo–n–propionato de 20(R)–ginsenosido Rg3, el octo–n–butirato de 20(R)–ginsenosido Rg3 y el Rg3 octo–acetato de 20(R)–ginsenosido en el melanoma B16 de ratón, los modelos de metástasis de cáncer de pulmón S180 y Lewis y el modelo de metástasis de cáncer de pulmón humano se muestran en la Tabla 3–6.

Tabla 3 Eficacia de los derivados poliacilados de 20(R)–ginsenosido Rg3 en células de melanoma B16 de ratón (n=3)

Muestra	Dosis mg/kg/d	Régimen de administración	Números de animales (ratones) Inicio/fin	Peso corporal del animal (g) Inicio/fin	Números de clones pulmonares (ratones) X±DE	% de tasa de anti–metástasis
Grupo de dosis alta de Rg3–octo–n–propionato	0,3	po×14bid	10/10	20,1/24,8	7,21±7,3***	85,01
Grupo de dosis media de Rg3–octo–n–propionato	0,06	po×14bid	10/10	19,3/24,3	14,82±7,6***	69,19
Grupo de dosis baja de Rg3–octo–n–propionato	0,012	po×14bid	10/10	19,6/25,7	21,44±7,1***	55,42
Grupo de dosis alta de Rg3–octo–n–butirato	0,3	po×14bid	10/10	20,1/21,1	8,07±7,0***	83,22
Grupo de dosis media de Rg3–octo–n–butirato	0,06	po×14bid	10/10	19,3/25,3	16,29±7,8***	66,13
Grupo de dosis baja de Rg3–octo–n–butirato	0,012	po×14bid	10/10	19,1/25,2	23,15±7,9***	51,88
Grupo de dosis alta de Rg3–octo–acetato	0,3	po×14bid	10/10	20,0/24,0	9,63±7,9***	79,98
Grupo de dosis media de Rg3–octo–acetato	0,06	po×14bid	10/10	19,4/24,7	17,38±7,1***	63,87
Grupo de dosis baja de Rg3–octo–acetato	0,012	po×14bid	10/10	19,8/25,2	23,62±7,0***	50,90
GRUPO CTX	100	ip×2qod	10/10	20,1/21,4	2,26±2,8***	95,30

Muestra	Dosis mg/kg/d	Régimen de administración	Números de animales (ratones) Inicio/fin	Peso corporal del animal (g) Inicio/fin	Números de clones pulmonares (ratones) X±DE	% de tasa de anti-metástasis
grupo de control negativo	CMC-Na al 0,5 %	po×14bid	20/20	19,2/25,5	48,10±11,2	

En comparación con el grupo de control negativo, ***valor de p <0,01

Tabla 4 Eficacia de los derivados poliacilados de 20(R)-ginsenosido Rg3 en células S180 de sarcoma de ratón (n=3)

Muestra	Dosis mg/kg/d	Régimen de administración	Números de animales (ratones) Inicio/fin	Peso corporal del animal (g) Inicio/fin	Números de clones pulmonares (ratones) X±DE	% de tasa anti-metástasis
Rg3 -octo-n	0,3	po×14bid	10/10	20,8/24,1	0,47±7,4***	84,00
-propionato	0,06	po×14bid	10/10	19,8/24,3	0,88±7,4***	70,12
grupo de dosis alta	0,012	po×14bid	10/10	19,2/25,1	1,33±7,2***	54,86
Grupo Rg3-octo-n-butirato	0,3	po×14bid	10/10	20,1/21,2	0,55±7,3***	81,38
	0,06	po×14bid	10/10	19,1/25,5	0,96±7,8***	67,51
	0,012	po×14bid	10/10	19,91/25,4	1,40±7,7***	52,55
Grupo Rg3-octo-acetato	0,3	po×14bid	10/10	20,9/24,1	0,62±7,3***	78,94
	0,06	po×14bid	10/10	19,2/24,7	1,01±7,2***	65,80
	0,012	po×14bid	10/10	19,6/25,3	1,43±7,1***	51,50
GRUPO CTX	100	ip×2qod	10/10	20,2/21,0	0,18±2,1***	93,84
grupo de control negativo	CMC-Na al 0,5 %	po×14bid	20/20	19,1/25,0	2,95±10,5	

En comparación con el grupo de control negativo, ***valor de p <0,01

5 Tabla 5 Eficacia de los derivados poliacilados de 20(R)-ginsenosido Rg3 en el cáncer de pulmón Lewis de ratón (inoculación subcutánea) (n=3)

Muestra	Dosis mg/kg/d	Régimen de administración	Números de animales (ratones) Inicio/fin	Peso corporal del animal (g) Inicio/fin	Números de clones pulmonares (ratones) X±DE	% de tasa anti-metástasis
Grupo de dosis alta de Rg3-octo-n-propionato	0,3	po×14bid	10/10	20,1/24,3	0,77±0,11***	72,15
	0,06	po×14bid	10/10	19,2/24,4	1,09±0,15***	60,97
	0,012	po×14bid	10/10	19,6/25,1	1,35±0,12***	51,55
Grupo Rg3-octo-n-butirato	0,3	po×14bid	10/10	20,0/21,3	0,78±0,11***	71,85
	0,06	po×14bid	10/10	19,1/25,4	1,08±0,11***	61,23
	0,012	po×14bid	10/10	19,5/25,1	1,37±0,17***	50,87
Grupo Rg3-octo-acetato	0,3	po×14bid	10/10	19,3/24,3	0,84±0,15***	69,96
	0,06	po×14bid	10/10	19,2/24,7	1,14±0,12***	58,90
	0,012	po×14bid	10/10	19,1/25,0	1,38±0,13***	50,30
GRUPO CTX	100	ip×2qod	10/10	19,4/21,0	0,50±0,09***	82,12
grupo de control negativo	CMC-Na al 0,5 %	po×14bid	20/20	19,3/25,5	2,78±0,26	

En comparación con el grupo de control negativo, ***valor de p <0,01

Tabla 6 Eficacia de los derivados poliacilados de 20(R)-ginsenosido Rg3 en células A549 de cáncer de pulmón humano (inoculación subcutánea) (n=3)

Muestra	Dosis mg/kg/d	Régimen de administración	Números de animales (ratones) Inicio/fin	Peso corporal del animal (g) Inicio/fin	Números de clones pulmonares (ratones) X±DE	% de tasa anti-metástasis
Rg3	0,3	po×14bid	10/10	20,8/24,9	0,77±0,13***	70,72
octo-n-propionato	0,06	po×14bid	10/10	19,8/24,0	1,09±0,10***	61,09
e grupo de dosis alta	0,012	po×14bid	10/10	19,2/25,9	1,35±0,13***	50,58
Grupo Rg3-octo-n-butirato	0,3	po×14bid	10/10	20,1/21,7	0,78±0,13***	70,55
	0,06	po×14bid	10/10	19,3/25,3	1,08±0,14***	60,89
	0,012	po×14bid	10/10	19,91/25,0	1,37±0,11***	50,01
	0,3	po×14bid	10/10	19,9/24,0	0,84±0,13***	68,52
Grupo Rg3-octo-acetato	0,06	po×14bid	10/10	19,4/24,5	0,81±0,15***	57,90
	0,012	po×14bid	10/10	19,7/25,2	0,96±0,12***	49,91
GRUPO CTX	100	ip×2qod	10/10	19,6/21,3	0,29±0,12***	85,10
grupo de control negativo	CMC-Na al 0,5 %	po×14bid	20/20	19,2/25,5	1,92±0,15	

En comparación con el grupo de control negativo, ***valor de p <0,01

5 Se puede ver en la Tabla 3–6 que las tasas de inhibición de metástasis de cáncer de octo-n-propionato de 20(R)-ginsenosido Rg3, octo-n-butirato de 20(R)-ginsenosido Rg3 y octo-acetato de 20(R)-ginsenosido Rg3 en los modelos de melanoma B16, metástasis de cáncer de pulmón de Lewis y S180 de ratón y el modelo de metástasis de cáncer de pulmón humano alcanzan hasta un 70–80 %.

10 6.3 Resultados de la tasa de extensión de la vida de la prueba antitumoral de los derivados poliacilados Rg3 en modelos de metástasis tumoral Los resultados de la tasa de extensión de la vida de la prueba antitumoral del octo-n-propionato de ginsenosido Rg3, octo-n-butirato de ginsenosido Rg3 y octoacetato de ginsenosido Rg3 en los modelos de metástasis de cáncer de estómago humano, metástasis de cáncer de intestino humano, metástasis de cáncer de hígado humano se muestran en la Tabla 7–9.

Tabla 7 Eficacia de los derivados poliacilados de 20(R)-ginsenosido Rg3 en células MGC de cáncer de estómago humano (inoculación in situ) (n=3)

Muestra	Dosis mg/kg/d	Régimen de administración	Números de animales (ratones) Inicio/fin	Peso corporal del animal (g) Inicio/fin	Supervivencia media (d) X±DE	Tasa de extensión de vida T/C×%
Grupo de dosis alta Rg3 octo-n-propionato	0,3	po×14bid	10/10	20,1/24,5	48,30±0,15***	212,11
	0,06	po×14bid	10/10	19,6/24,3	43,15±0,15***	189,52
	0,012	po×14bid	10/10	19,4/25,8	39,23±0,18***	172,30
	0,3	po×14bid	10/10	20,3/21,2	47,86±0,15***	210,19
Grupo Rg3-octo-n-butirato	0,06	po×14bid	10/10	19,1/25,4	42,22±0,12***	185,44
	0,012	po×14bid	10/10	19,1/25,4	39,35±0,15***	172,83
	0,3	po×14bid	10/10	19,7/24,1	46,04±0,12***	202,19
Grupo Rg3-octo-acetato	0,06	po×14bid	10/10	19,6/24,6	41,21±0,11***	180,98
	0,012	po×14bid	10/10	19,8/25,4	38,84±0,14***	170,56
GRUPO CTX	100	ip×2qod	10/10	19,5/21,1	41,22±3,5***	181,01
grupo de control negativo	CMC-Na al 0,5 %	po×14bid	20/20	19,5/25,2	22,77±2,14	

Muestra	Dosis mg/kg/d	Régimen de administración	Números de animales (ratones) Inicio/fin	Peso corporal del animal (g) Inicio/fin	Supervivencia media (d) X±DE	Tasa de extensión de vida T/C×%
En comparación con el grupo de control negativo, ***valor de p <0,01						

Tabla 8 Eficacia de los derivados poliacilados de 20(R)-ginsenosido Rg3 en células LOVO de cáncer intestinal humano (inoculación de bazo)

Muestra	Dosis mg/kg/d	Régimen de administración	Números de animales (ratones) Inicio/fin	Peso corporal del animal (g) Inicio/fin	Supervivencia media (d) X±DE	Tasa de extensión de vida T/C×%
Grupo de dosis alta de Rg3-octo-n-propionato	0,3	po×14bid	10/10	20,1/24,5	33,21±5,5***	243,11
	0,06	po×14bid	10/10	19,6/24,3	26,08±4,2***	190,89
	0,012	po×14bid	10/10	19,4/25,8	24,63±3,9***	180,33
Grupo Rg3-octo-n-butirato	0,3	po×14bid	10/10	20,3/21,2	32,77±4,1***	239,88
	,06	po×14bid	10/10	19,1/25,4	25,67±3,9***	187,94
	0,012	po×14bid	10/10	19,1/25,4	24,60±5,8***	180,12
	0,3	po×14bid	10/10	19,7/24,1	31,50±5,1***	230,59
Grupo Rg3-octo-acetato	0,06	po×14bid	10/10	19,6/24,6	25,80±4,8***	188,90
	0,012	po×14bid	10/10	19,8/25,4	24,59±4,5***	179,99
GRUPO CTX	100	ip×2qod	10/10	19,5/21,1	29,36±3,3***	214,91
grupo de control negativo	CMC-Na al 0,5 %	po×14bid	20/20	19,5/25,2	13,66±2,31	
En comparación con el grupo de control negativo, ***valor de p <0,01						

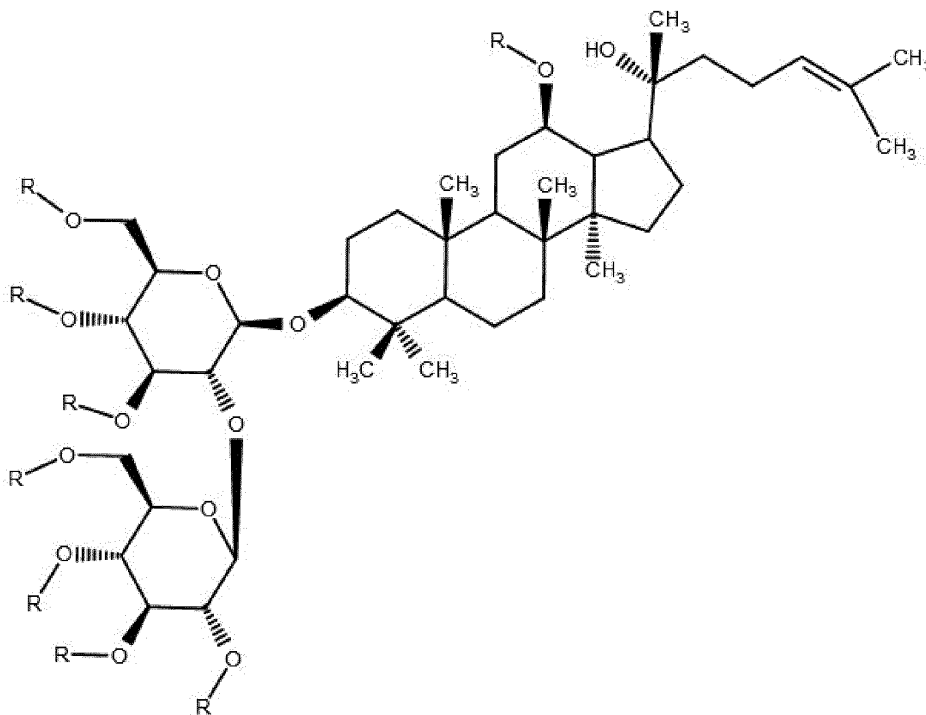
5 Tabla 9 Eficacia de los derivados poliacilados de 20(R)-ginsenosido Rg3 en células QGY de cáncer de hígado humano (inoculación in situ)

Muestra	Dosis mg/kg/d	Régimen de administración	Números de animales (ratones) Inicio/fin	Peso corporal del animal (g) Inicio/fin	Supervivencia media (d) - X±DE	Tasa de extensión de vida T/C×%
Rg3-octo-n-propionato	0,3	po×14bid	10/10	20,2/24,2	44,19±5,3***	189,23
	0,06	po×14bid	10/10	19,5/24,1	39,72±4,9***	170,10
grupo de dosis alta	0,012	po×14bid	10/10	19,8/25,3	37,49±3,5***	160,55
Grupo Rg3-octo-n-butirato	0,3	po×14bid	10/10	20,1/21,8	43,40±4,8***	185,85
	0,06	po×14bid	10/10	19,3/25,6	39,51±3,9***	169,22
	0,012	po×14bid	10/10	19,2/25,6	37,36±5,3***	160,01
	0,3	po×14bid	10/10	19,3/24,8	42,49±5,0***	181,98
Grupo Rg3-octo-acetato	0,06	po×14bid	10/10	19,1/24,3	38,90±4,1***	166,59
	0,012	po×14bid	10/10	19,1/25,2	37,26±4,5***	159,58
GRUPO CTX	100	ip×2qod	10/10	19,1/21,0	37,23±3,4***	159,44
grupo de control negativo	CMC-Na al 0,5 %	po×14bid	20/20	19,6/25,1	23,35±2,3	
En comparación con el grupo de control negativo, ***valor de p <0,01						

5 Se puede ver en la Tabla 7-9 que el octo-n-propionato de 20(R)-ginsenósido Rg3, octo-n-butirato de 20(R)-ginsenósido Rg3 y octo-acetato 20(R)-ginsenósido Rg3 pueden aumentar significativamente el tiempo de supervivencia en modelos de cáncer de estómago humano, cáncer intestinal humano y cáncer de hígado humano, con un efecto obvio de prolongación de la vida. Entre los grupos, los grupos de dosis altas de octo-n-propionato de 20(R)-ginsenósido Rg3, octo-n-butirato de 20(R)-ginsenósido Rg3 y octo-acetato 20(R)-ginsenósido Rg3 mostraron un efecto prolongador de la vida en el cáncer de estómago humano, el cáncer intestinal humano y el cáncer de hígado humano, siendo todos mejores que el grupo control positivo; y los grupos de dosis bajas mostraron un efecto similar de prolongación de la vida como el grupo control positivo.

REIVINDICACIONES

1. El derivado poliácilado de 20(R)-ginsenósido Rg3 de fórmula (I),



en la que, $R = \text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO}$, $n = 1 \sim 5$.

- 5 2. Un procedimiento de preparación del derivado poliácilado de 20(R)-ginsenósido Rg3 de fórmula (I) de la reivindicación 1, **caracterizado porque** comprende las siguientes etapas:
- 1) disolver el 20(R)-ginsenósido Rg3 en un solvente orgánico para producir una solución de 20(R)-ginsenósido Rg3,
 - 10 2) añadir un agente de acilación para esterificación, en el que la temperatura de reacción de la esterificación es 80 - 100 °C,
 - 3) añadir agua para apagar la reacción y ajustar el pH de la solución mezclada a 7 con un álcali, y
 - 4) filtrar y recristalizar para obtener el derivado poliácilado de 20(R)-ginsenósido Rg3.
3. El procedimiento de la reivindicación 2, **caracterizado porque** el solvente orgánico de la etapa 1) es piridina anhidra.
- 15 4. El procedimiento de la reivindicación 2, **caracterizado porque** el agente de acilación de la etapa 2) se selecciona del grupo que consiste en cloruro de acilo y anhídrido de ácido.
5. El procedimiento de la reivindicación 4, **caracterizado porque** el cloruro de acilo se selecciona del grupo que consiste en cloruro de propionilo, cloruro de butirilo, cloruro de valerilo y cloruro de hexanoilo; y el anhídrido de ácido se selecciona del grupo que consiste en anhídrido propiónico, anhídrido butírico, anhídrido valérico o anhídrido caproico.
- 20 6. El procedimiento de la reivindicación 2, **caracterizado porque** el álcali en la etapa 3) es álcali inorgánico.
7. El procedimiento de la reivindicación 7, **caracterizado porque** el álcali inorgánico se selecciona del grupo que consiste en carbonato de sodio, carbonato de potasio, bicarbonato de sodio e hidrogenocarbonato de potasio.
8. El derivado poliácilado de 20(R)-ginsenósido Rg3 de la reivindicación 1 para su uso como un fármaco antitumoral o anticancerígeno.
- 25 9. El derivado poliácilado de 20(R)-ginsenósido Rg3 de la reivindicación 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el tratamiento es contra varios tumores sólidos en animales o contra cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de estómago, cáncer intestinal o cáncer de hígado en seres humanos.