

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

①① N° de publication :  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

**2 911 133**

②① N° d'enregistrement national : **07 04175**

⑤① Int Cl<sup>8</sup> : **C 07 C 49/753** (2006.01), A 61 K 31/122, A 61 P 35/00

①②

**DEMANDE DE BREVET D'INVENTION**

**A1**

②② Date de dépôt : 12.06.07.

③① Priorité : 08.01.07 TW 096100680.

④③ Date de mise à la disposition du public de la  
demande : 11.07.08 Bulletin 08/28.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche préliminaire : *Ce dernier n'a pas été  
établi à la date de publication de la demande.*

⑥① Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : *GOLDEN BIOTECHNOLOGY COR-  
PORATION — TW.*

⑦② Inventeur(s) : LIU SHENG YUN, WEN WU CHE,  
TSOU WAN LING, KUO MAO TIEN, HUANG CHUN  
HUNG, FOK KA HANG, LI YA YING et CHANG CHUN  
CHOU.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : CABINET HAMMOND.

⑤④ NOUVEAUX COMPOSES DE CYCLOHEXENONE PROVENANT D'ANTRODIA CAMPHORATA ET  
APPLICATION DE CEUX-CI.

⑤⑦ La présente invention concerne un nouveau composé  
et ses utilisations, qui est un extrait isolé et purifié à partir  
d'Antrodia camphorata, en particulier la 4-hydroxy-2,3-di-  
méthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-trié-  
nyl)-cyclohex-2-énone, et son utilisation dans l'inhibition de  
la croissance tumorale. Le composé de l'invention, qui n'a  
jamais été découvert dans Antrodia camphorata, peut être  
appliqué pour inhiber la croissance de cellules cancéreu-  
ses, tel que le cancer du sein, le cancer du foie et le cancer  
de la prostate; et il peut être utilisé en tant que composition  
pharmaceutique pour inhiber la croissance tumorale; ou  
peut en outre être appliqué dans la prévention d'une ma-  
ladie cardiovasculaire ou en tant que compléments alimen-  
taires pour des besoins de santé de par son activité anti-  
oxydante.

**FR 2 911 133 - A1**



## NOUVEAUX COMPOSÉS DE CYCLOHEXÉNONE PROVENANT D'ANTRODIA CAMPHORATA ET APPLICATION DE CEUX-CI

La présente invention concerne un nouveau composé, en particulier un extrait isolé et purifié à partir d'*Antrodia camphorata*, ainsi que son utilisation dans l'inhibition de la croissance tumorale.

*Antrodia camphorata* (Niu Chang-Zhi), également appelé « Chang-Zhi », « Niu  
5 Chang-Ku », « Red-Chang », « Red Chang-Chih », « Chang-Ku », champignon du cam-  
bium du camphre, etc., est une espèce endémique de Taiwan qui pousse sur la paroi  
interne du duramen en putréfaction de *Cinnamomum kanehirae* Hay, entre 450 m et  
2000 m d'altitude dans les montagnes de Taiwan. Les fructifications d'*Antrodia*  
*camphorata* poussent à l'intérieur du tronc de l'arbre. *Cinnamomum kanehirai* Hay est  
10 principalement distribué dans les régions montagneuses de Tao-Yuan, Nan-Tou et a été  
répertorié sur la liste des espèces rares et précieuses en raison de sa rareté et de sa sur-  
coupe illicite. L'*Antrodia camphorata* dans la nature est par conséquent devenu tout  
aussi rare. Étant donné que le taux de croissance de l'*Antrodia camphorata* naturel est  
extrêmement lent, et que sa saison de croissance s'étend de juin à octobre, le coût  
15 d'*Antrodia camphorata* est par conséquent très onéreux.

Les fructifications d'*Antrodia camphorata* sont vivaces, sessiles, subéreuses ou  
ligneuses, et présentent différentes apparences telles que des formes d'assiette, de cloche,  
de sabot, ou de tour. Elles poussent à plat sur la surface du bois au début de la crois-  
sance. Ensuite, le bord de l'arête frontale s'élève pour s'enrouler en forme d'assiette ou  
20 de stalactites. Les surfaces supérieures d'*Antrodia camphorata* sont brillantes, de cou-  
leur marron à marron foncé, avec des plis non apparents, des bords plats et lisses. Les  
surfaces inférieures sont rouge orangées ou partiellement jaunes et totalement recouver-  
tes d'ostioles.

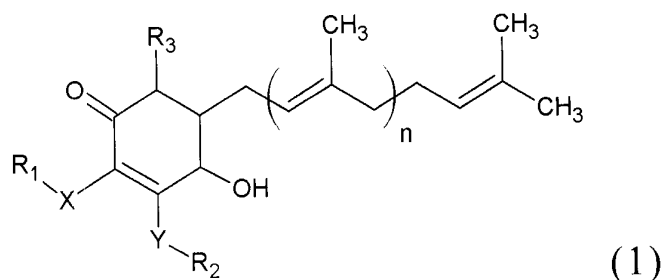
De plus, *Antrodia camphorata* exhale une forte odeur de sassafras (arôme cam-  
25 phré), prend une couleur marron jaunâtre pâle après avoir été séché au soleil et possède  
un fort goût amer. En médecine traditionnelle taiwanaise, *Antrodia camphorata* est  
communément utilisé pour une désintoxication, en tant que protecteur hépatique, et anti-  
cancéreux. *Antrodia camphorata*, tout comme les champignons comestibles et médi-  
cinaux généraux, est riche en de nombreux nutriments comprenant des polysaccharides  
30 (tels que le  $\beta$ -glucosane), des triterpénoïdes, la superoxyde dismutase (SOD),

l'adénosine, des protéines (immunoglobulines), des vitamines (comme la vitamine B, l'acide nicotinique), des éléments traces (tels que le calcium, le phosphore, et le germanium, etc.), des acides nucléiques, l'agglutinine, des acides aminés, des stéroïdes, des lignines et des stabilisateurs de la pression artérielle (tel que l'acide d'antodia) et analogues. On pense que ces ingrédients bioactifs exhibent des effets bénéfiques comme : des effets anti-tumoraux, de stimulation de l'immunité, anti-allergiques, d'inhibition de l'agglutination plaquettaire, antiviraux, antibactériens, antihypertenseurs, hypoglycémiants, hypocholestérolémiants, de protection hépatique et analogues.

Les triterpénoïdes sont le composant le plus étudié parmi les nombreuses compositions d'*Antrodia camphorata*. Triterpénoïdes est le terme sommaire de composés naturels qui contiennent 30 atomes de carbone avec des structures pentacycliques ou hexacycliques. Le goût amer d'*Antrodia camphorata* provient du composant des triterpénoïdes. Trois nouveaux triterpénoïdes de type ergostane (antcine A, antcine B, antcine C) ont été isolés par Cherng et al. à partir des fructifications d'*Antrodia camphorata* (Cherng, I. H., et Chiang, H. C. 1995. Three new triterpenoids from *Antrodia cinnamomea*. J. Nat. Prod. 58:365-371). Trois nouveaux composés appelés acide zhankuique A, acide zhankuique B et acide zhankuique C ont été extraits des fructifications d'*Antrodia camphorata* avec de l'éthanol par Chen et al. (Chen, C. H., et Yang, S. W. 1995. New steroid acids from *Antrodia cinnamomea*, - a fungus parasitic on *Cinnamomum micranthum*. J. Nat. Prod. 58:1655-1661). En outre, Cherng et al. ont également découvert trois autres nouveaux triterpénoïdes à partir des fructifications d'*Antrodia camphorata*, qui sont une lactone sesquiterpénique et des composés dérivés de 2 biphenyle, le 4,7-diméthoxy-5-méthyl-1,3-benzodioxole et le 2,2',5,5'-teraméthoxy-3,4,3',4'-bi-méthylènedioxy-6,6'-diméthylbiphényle (Chiang, H. C., Wu, D. P., Cherng, I. W., et Ueng, C. H. 1995. A sesquiterpene lactone, phenyl and biphenyl compounds from *Antrodia cinnamomea*. Phytochemistry. 39:613-616). En 1996, quatre nouveaux triterpénoïdes de type ergostane (antcines E et F et antcines de méthyle G and H) ont été isolés par Cherng et al. avec les mêmes procédés analytiques (Cherng, I. H., Wu, D. P., et Chiang, H. C. 1996. Triterpenoids from *Antrodia cinnamomea*. Phytochemistry. 41:263-267). Et deux stéroïdes associés à un ergostane, les acides zhankuiques D et E, avec trois triterpènes associés au lanostane, l'acide 15 alpha-acétyl-déshydrosulfuré-

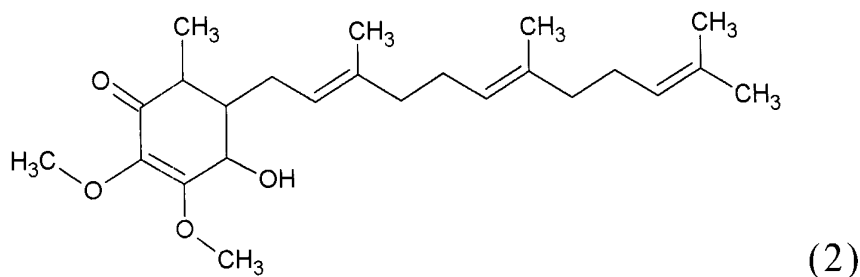
nique, l'acide déshydroéburicoïque, l'acide déshydrosulfurénique, ont été isolés par Yang et al. (Yang, S. W., Shen, Y. C., et Chen, C. H. 1996. Steroids and triterpenoids of *Antrodia cinnamomea* - a fungus parasitic on *Cinnamomum micranthum*. *Phytochemistry*. 41:1389-1392). Des études portant sur les ingrédients actifs exacts d'un effet  
 5 antitumoral sont toujours au stade expérimental et doivent encore être élucidées à ce jour, bien que des effets anti-tumoraux des extraits d'*Antrodia camphorata* aient été rapportés (comme dans les références susmentionnées). Découvrir la composition antitumorale exacte serait une grande contribution au traitement du cancer et permettrait d'obtenir d'importants effets bénéfiques.

10 Afin d'identifier les composés anti-tumoraux à partir des extraits d'*Antrodia camphorata*, le composé de formule (1) a été isolé et purifié dans cette invention,



où X et Y peuvent être un oxygène ou un soufre,  $R_1$ ,  $R_2$  et  $R_3$  sont chacun un atome d'hydrogène, un méthyle ou  $(CH_2)_m-CH_3$  et  $m=1-12$  ;  $n=1-12$ .

15 Un composé préféré de la formule générale (1) est la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone, tel que montré dans la formule (2), possédant la formule moléculaire  $C_{24}H_{38}O_4$ , une apparence de poudre jaune pâle et un poids moléculaire de 390.



Des composés ayant les structures de formule (1) et de formule (2) sont purifiés à partir d'une extraction aqueuse ou d'une extraction par un solvant organique d'*Antrodia camphorata*. Les solvants organiques utilisés comprennent, sans s'y limiter, des alcools tels que le méthanol, l'éthanol ou le propanol, des esters tels que l'acétate d'éthyle, des alcanes tels que l'hexane, ou des halogénures d'alkyles tels que le chlorométhane, le chloroéthane. Parmi ceux-ci, l'alcool est préféré, et l'éthanol est particulièrement préféré.

Avec les composés pouvant être utilisés selon cette invention, la croissance des cellules tumorales peut être inhibée, et ceci peut en outre être utilisé en tant que composition médicinale afin de traiter le cancer et d'améliorer les effets thérapeutiques. Les composés de l'invention peuvent être appliqués à une plage de cellules cancéreuses, comprenant le cancer du sein, le cancer du foie et le cancer de la prostate, ce qui donne lieu à un ralentissement de la croissance des cellules cancéreuses, en inhibant en outre la prolifération des cellules cancéreuses et en réduisant le risque de malignité. Par conséquent, on peut les utiliser dans le traitement d'un cancer tel que le cancer du sein, le cancer du foie, le cancer de la prostate et analogues.

D'un autre côté, les composés de formule (1) et/ou de formule (2) de l'invention peuvent être incorporés dans les compositions médicinales pour traiter le cancer du sein, le cancer du foie, et le cancer de la prostate, afin d'inhiber la croissance des cellules tumorales. Les compositions médicinales comprennent non seulement les composés de formule (1) et/ou de formule (2), mais également des véhicules pharmaceutiquement acceptables. Les véhicules comprennent, sans s'y limiter, des excipients tels que de l'eau, des charges comme le saccharose ou l'amidon, des liants tels que des dérivés de cellulose, des diluants, des délitants, des stimulateurs de l'absorption ou des édulcorants. La composition pharmaceutique de la présente invention peut être fabriquée en mélangeant les composés de formule (1) et/ou de formule (2) avec au moins un des véhicules au moyen de procédés conventionnels connus dans le domaine technique pharmaceutique, et elle peut être formulée, sans s'y limiter, en tant que poudre, comprimé, capsule, granulés, granules, ou une autre formulation liquide.

De plus, étant donné que les composés de la présente invention possèdent en même temps une activité anti-oxydante, ils peuvent être des compléments idéaux pour

des aliments naturels, en diététique et dans des boissons, pour des produits médicaux et des cosmétiques et sont bénéfiques à la santé humaine, grâce à leurs aptitudes à prévenir des maladies cardiovasculaires ou des mutations cellulaires.

La présente invention est davantage expliquée dans l'illustration de mode de réalisation suivante et les exemples. Ces exemples ci-dessous, en revanche, ne doivent pas être considérés comme limitant la portée de l'invention, et on envisage que des modifications viendront facilement à l'esprit de l'homme du métier et que ces modifications seront dans l'esprit de l'invention et dans la portée des revendications annexées.

Les mycéliums, fructifications, ou un mélange des deux, provenant d'*Antrodia camphorata* sont tout d'abord extraits avec de l'eau ou des solvants organiques afin d'obtenir l'extrait aqueux ou l'extrait au solvant organique d'*Antrodia camphorata* en utilisant des procédés bien connus dans l'art. Les solvants organiques comprennent, sans s'y limiter, des alcools tels que le méthanol ; l'éthanol ou le propanol ; des esters tels que l'acétate d'éthyle ; des alcanes tels que l'hexane ; ou des halogénures d'alkyles tels que le chlorométhane, et le chloroéthane. Parmi ceux-ci, l'alcool est préféré, et l'éthanol est particulièrement préféré.

Les extraits aqueux ou aux solvants organiques d'*Antrodia camphorata* ont été soumis à une chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) pour l'isolation et la purification. Chaque fraction a été récupérée et testée pour ses effets anti-cancéreux. Les fractions actives présentant des effets anti-cancéreux ont été analysées pour leur composition et elles ont ensuite été testées contre différentes cellules tumorales. L'approche ci-dessus a ensuite abouti à l'identification de nouveaux composés, de formule (1) et de formule (2), qui inhibaient la croissance de plusieurs cellules tumorales, n'avaient pas été observés dans *Antrodia camphorata*, et n'avaient été rapportés dans aucune publication antérieure.

Le composé 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone de formule (2) est expliqué ci-dessous en tant qu'exemple de la présente invention. Les effets anti-cancéreux de la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone ont été évalués par un essai au bromure de 3-(4, 5-diméthylthiazol-2-yl)-2, 5-diphényltétrazolum (MTT) selon le modèle de criblage de médicaments anti-tumoraux du National

Cancer Institute (NCI) sur les taux de survie cellulaire en utilisant des lignées cellulaires telles que le cancer du sein, le cancer du foie, le cancer de la prostate et analogues. Les essais ci-dessus ont prouvé que la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone réduisait les taux de survie des lignées cellulaires du cancer du sein (MCF-7 et MDA-MB-231), des lignées cellulaires du carcinome hépatocellulaire (Hep 3B et Hep G2) et des lignées cellulaires du cancer de la prostate (LNCaP et DU-145), et montraient également des valeurs de concentration de demi inhibition (IC50) relativement faibles. La croissance des cellules cancéreuses du cancer du sein, du cancer du foie, et du cancer de la prostate, a été inhibée par la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone et celle-ci peut être par conséquent utilisée dans le traitement du cancer tel que le cancer du sein, le cancer du foie, le cancer de la prostate et analogues. Les détails des exemples sont décrits de la manière suivante :

#### Exemple 1

##### 15 Isolation de la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone

100 g de mycéliums, de fructifications, ou de mélange des deux, provenant d'*Antrodia camphorata* ont été placés dans un flacon. Une quantité d'eau et d'alcool adéquate (solution d'alcool à 70-100 %) a été ajoutée au flacon qui a été agité à 20-25 °C pendant au moins 1 heure. La solution a été filtrée au travers d'un filtre et d'une membrane de 0,45 µm et le filtrat a été collecté en tant qu'extrait.

Le filtrat d'*Antrodia camphorata* a été soumis à une analyse de chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC). La séparation a été réalisée sur une colonne RP18, la phase mobile consistait en du méthanol (A) et de l'acide acétique à 0,1-0,5 % (B), avec des conditions de gradient de 0-10 minutes dans 95 % ~ 20 % de B, 10-20 minutes dans 20 % ~ 10 % de B, 20-35 minutes dans 10 % ~ 10 % de B, 35-40 minutes dans 10 % ~ 95 % de B, selon un débit de 1 ml/min. L'effluent de la colonne a été surveillé avec un détecteur UV-visible.

Les fractions collectées à 25-30 minutes ont été collectées et concentrées afin de produire la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-

triényl)-cyclohex-2-énone, un produit de poudre jaune pâle. L'analyse de la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone a montré la formule moléculaire de  $C_{24}H_{38}O_4$ , un poids moléculaire de 390, un point de fusion de  $48\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 52\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Une étude du spectre RMN a montré que  $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)\delta$  (ppm) = 1.51, 1.67, 1.71, 1.75, 1.94, 2.03, 2.07, 2.22, 2.25, 3.68, 4.05, 5.07, et 5.14;  $^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)\delta$ (ppm) = 12.31, 16.1, 16.12, 17.67, 25.67, 26.44, 26.74, 27.00, 39.71, 39.81, 4.027, 43.34, 59.22, 60.59, 120.97, 123.84, 124.30, 131.32, 135.35, 135.92, 138.05, 160.45, et 197.12.

La structure chimique de la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone a été comparée avec une base de données de composés chimiques et aucune structure similaire n'était disponible. Ces données ont confirmé que la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone était un nouveau composé qui n'avait jamais été antérieurement rapporté.

## 15 Exemple 2

### Essai de survie *in vitro* pour des effets anti-cancer du sein

Le modèle de criblage de médicaments anti-cancéreux du NCI a été adopté pour tester l'effet anti-cancéreux du composé de l'exemple 1 de l'invention. Le composé isolé de 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone de l'exemple 1 a été ajouté au milieu de culture de cellules du cancer du sein humain, MCF-7 ou MDA-MB-231, pour un essai de survie cellulaire. Cet essai peut être testé avec l'essai au bromure de 3-[4,5-diméthylthiazol-2-yl]2,5-diphenyl tétrazolium (MTT), qui est communément utilisé pour déterminer la prolifération cellulaire, le pourcentage de cellules viables, et la cytotoxicité. Le MTT est un colorant jaune, qui peut être absorbé par les cellules vivantes et être réduit en cristaux de formazan de couleur bleue violacée par la succinate tétrazolium réductase dans les mitochondries. Une formation de formazan peut par conséquent être utilisée pour évaluer et déterminer le taux de survie des cellules.



Les cellules du cancer du sein humain, MCF-7 et MDA-MB-231, ont été séparément cultivées dans un milieu contenant du sérum de veau foetal pendant 24 heures. Les cellules ayant proliféré ont été lavées une fois avec du PBS, puis ont été traitées avec de la trypsine-EDTA 1x et ont été centrifugées à 1200 tpm pendant 5 minutes. Le surnageant a été éliminé et le culot cellulaire a été remis en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais en agitant délicatement. Les cellules ont été placées dans une plaque à 96 puits. Les extraits à l'éthanol d'*Antrodia camphorata* (le groupe de contrôle, extraits totaux d'*Antrodia camphorata* sans purification) ont été ajoutés à chacun des 96 puits selon les concentrations suivantes : 30, 10, 3, 1, 0,3, 0,1 et 0,03 µg/ml, respectivement, alors que la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone (le groupe expérimental) a été ajoutée à chacun des 96 puits selon les concentrations suivantes : 30, 10, 3, 1, 0,3, 0,1 et 0,03 µg/ml, respectivement. Les cellules ont été incubées à 37 °C dans un incubateur à CO<sub>2</sub> à 5 % pendant 48 heures. Du MTT a été ajouté à chaque puits en une concentration de 2,5 mg/ml dans l'obscurité et a été incubé pendant 4 heures, suivi par un ajout de 100 µl de tampon de lyse afin d'arrêter la réaction. Les plaques ont été lues sur un lecteur ELISA à une longueur d'onde de 570 nm afin de déterminer les taux de survie. Les valeurs de la concentration de demi inhibition (IC<sub>50</sub>) ont également été calculées et listées dans le tableau 1.

Tableau 1 Résultats de l'essai de survie *in vitro* pour une inhibition des cellules du cancer du sein

Échantillons	IC <sub>50</sub> ( µg/ml )
Groupe de contrôle (extrait d' <i>Antrodia camphorata</i> )	
MCF-7	11,132
MDA-MB-231	25,812
Groupe expérimental (formule 2)	
MCF-7	0,852
MDA-MB-231	1,031

D'après le résultat du tableau 1, la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone est un puissant inhibiteur de la croissance des lignées cellulaires du cancer du sein humain. Les valeurs  $IC_{50}$  de la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone envers MCF-7 et MDA-MB-231 sont 0,852  $\mu\text{g/ml}$  et 1,031  $\mu\text{g/ml}$  respectivement, valeurs qui sont significativement plus faibles que celles des extraits totaux d'*Antrodia camphorata*. Par conséquent, la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone d'*Antrodia camphorata* peut être utilisée afin d'inhiber la croissance des cellules du cancer du sein.

### 10 Example 3

#### Étude complémentaire *in vitro* envers une thérapie adjuvante des cellules du cancer du sein

L'expérience a également été réalisée selon le modèle *in vitro* de criblage de médicaments anti-cancéreux du NCI. Les cellules du cancer du sein humain, MCF-7 et MDA-MB-231, ont été séparément cultivées dans un milieu contenant du sérum de veau foetal pendant 24 heures. Les cellules ayant proliféré ont été lavées une fois avec du PBS, puis ont été traitées avec de la trypsine-EDTA 1x et ont été centrifugées à 1200 tpm pendant 5 minutes. Le surnageant a été éliminé et le culot cellulaire a été remis en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais en agitant délicatement. Les cellules ont été placées dans une plaque à 96 puits après un ajout de 0,0017  $\mu\text{g/ml}$  de Taxol et elles ont été traitées pendant 72 heures. La 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone obtenue dans l'exemple 1 a été respectivement ajoutée à chacun des 96 puits selon les concentrations suivantes : 0  $\mu\text{g/ml}$  (le groupe de contrôle) ; 30, 10, 3, 1, 0,3, 0,1 et 0,03  $\mu\text{g/ml}$  (le groupe expérimental). Les cellules ont été incubées à 37 °C dans un incubateur à  $\text{CO}_2$  à 5 % pendant 48 heures. Du MTT a été ajouté à chaque puits en une concentration de 2,5 mg/ml dans l'obscurité et a réagi pendant 4 heures, suivi par un ajout de 100  $\mu\text{l}$  de tampon de lyse afin de terminer la réaction. Les plaques ont été lues sur un lecteur ELISA à une longueur d'onde de 570 nm afin de déterminer les taux de survie. Les valeurs de la concentration de demi inhibition ( $IC_{50}$ ) ont également été calculées et listées dans le tableau 2.

Tableau 2 Résultats du traitement complémentaire au Taxol *in vitro* sur les cellules du cancer du sein

Échantillons	Résultats
Groupe de contrôle	Taux de survie cellulaire
MCF-7 (0,0017 µg/ml de Taxol)	(%)
MDA-MB-231 (0,0017 µg/ml de Taxol)	65 ± 1
	76 ± 3
Groupe expérimental	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
MCF-7 (0,0017 µg/ml de Taxol + formule 2)	0,009
MDA-MB-231 (0,0017 µg/ml de Taxol + formule 2)	0,011

D'après le résultat du tableau 2, les valeurs IC<sub>50</sub> de la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone envers MCF-7 et MDA-MB-231 diminuaient à 0,009 µg/ml et 0,011 µg/ml respectivement après un ajout de Taxol. Par conséquent, ces résultats confirment que l'activité inhibitrice de la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone d'*Antrodia camphorata* peut être utilisée pour inhiber la croissance des cellules du cancer du sein, et elle a montré une meilleure activité synergistique antitumorale pour les tumeurs lorsqu'elle était combinée au Taxol.

#### Exemple 4

#### Essai de survie *in vitro* pour des effets anti-cancer du foie

Le modèle de criblage de médicaments anti-cancéreux du NCI a également été adopté pour tester l'effet anti-cancéreux du composé isolé dans l'exemple 1 de la présente invention. Le composé isolé de 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone de l'exemple 1 a été ajouté au milieu de culture de cellules du cancer du foie humain, Hep 3B ou Hep G2, pour un essai de survie de cellules tumorales.

Les cellules du cancer du foie humain, Hep 3B et Hep G2, ont été séparément cultivées dans un milieu contenant du sérum de veau foetal pendant 24 heures. Les cellules ayant proliféré ont été lavées une fois avec du PBS, puis ont été traitées avec de la trypsine-EDTA 1x et ont été centrifugées à 1200 tpm pendant 5 minutes. Le surnageant a été éliminé et le culot cellulaire a été remis en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais en agitant délicatement. Les cellules ont été placées dans une plaque à 96 puits. Les extraits à l'éthanol d'*Antrodia camphorata* (le groupe de contrôle, extraits totaux d'*Antrodia camphorata* sans purification) ont été ajoutés à chacun des 96 puits selon les concentrations suivantes : 30, 10, 3, 1, 0,3, 0,1 et 0,03 µg/ml, respectivement, alors que la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone (le groupe expérimental) a été ajoutée à chacun des 96 puits selon les concentrations suivantes : 30, 10, 3, 1, 0,3, 0,1 et 0,03 µg/ml, respectivement. Les cellules ont été incubées à 37 °C dans un incubateur à CO<sub>2</sub> à 5 % pendant 48 heures. Du MTT a été ajouté à chaque puits en une concentration de 2,5 mg/ml dans l'obscurité et a été incubé pendant 4 heures, suivi par un ajout de 100 µl de tampon de lyse afin d'arrêter la réaction. Les plaques ont été lues sur un lecteur ELISA à une longueur d'onde de 570 nm afin de déterminer les taux de survie. Les valeurs de la concentration de demi inhibition (IC<sub>50</sub>) ont également été calculées et listées dans le tableau 3.

Tableau 3 Résultats de l'essai de survie *in vitro* pour une inhibition des cellules du cancer du foie

Échantillons	IC <sub>50</sub> ( µg/ml )
Groupe de contrôle (extraits totaux d' <i>Antrodia camphorata</i> )	
Hep 3B	5,121
Hep G2	18,631
Groupe expérimental (formule 2)	
Hep 3B	0,005
Hep G2	1,679

D'après le résultat du tableau 3, la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone est un puissant inhibiteur de la croissance des lignées cellulaires du cancer du foie humain. Les valeurs  $IC_{50}$  de la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone envers Hep 3B et Hep G2 sont 0,005  $\mu\text{g/ml}$  et 1,679  $\mu\text{g/ml}$  respectivement, valeurs qui sont significativement plus faibles que celles des extraits totaux d'*Antrodia camphorata*. Par conséquent, la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone d'*Antrodia camphorata* peut être utilisée afin d'inhiber la croissance des cellules du cancer du foie.

#### Exemple 5

##### Étude complémentaire *in vitro* pour une thérapie adjuvante des cellules du cancer du foie

L'expérience a également été réalisée selon le modèle *in vitro* de criblage de médicaments anti-cancéreux du NCI. Les cellules du cancer du foie humain, Hep 3B et Hep G2, ont été séparément cultivées dans un milieu contenant du sérum de veau foetal pendant 24 heures. Les cellules ayant proliféré ont été lavées une fois avec du PBS, puis ont été traitées avec de la trypsine-EDTA 1x et ont été centrifugées à 1200 rpm pendant 5 minutes. Le surnageant a été éliminé et le culot cellulaire a été remis en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais en agitant délicatement. Les cellules Hep 3B ont été traitées avec 0,0043  $\mu\text{g/ml}$  de Lovastatine pendant 72 heures et les cellules Hep G2 ont été traitées avec 0,0017  $\mu\text{g/ml}$  de Taxol pendant 72 heures avant d'être placées dans une plaque à 96 puits. La 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone obtenue dans l'exemple 1 a été respectivement ajoutée à chacun des 96 puits selon les concentrations suivantes : 0  $\mu\text{g/ml}$  (le groupe de contrôle) ; 30, 10, 3, 1, 0,3, 0,1 et 0,03  $\mu\text{g/ml}$  (le groupe expérimental). Les cellules ont été incubées à 37 °C dans un incubateur à  $\text{CO}_2$  à 5 % pendant 48 heures. Du MTT a été ajouté à chaque puits en une concentration de 2,5 mg/ml dans l'obscurité et a réagi pendant 4 heures, suivi par un ajout de 100  $\mu\text{l}$  de tampon de lyse afin d'arrêter la réaction. Les plaques ont été lues sur un lecteur ELISA à une longueur d'onde de 570 nm afin de

déterminer les taux de survie. Les valeurs de la concentration de demi inhibition 50 % (IC<sub>50</sub>) ont également été calculées et listées dans le tableau 4.

Tableau 4 Résultats du traitement complémentaire *in vitro* sur les cellules du cancer du foie

Échantillons	Résultats
Groupe de contrôle	Taux de survie cellulaire
Hep 3B (0,0043 µg/ml de Lovastatine)	(%) 61 ± 3
Hep G2 (0,0017 µg/ml de Taxol)	81 ± 2
Groupe expérimental	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Hep 3B (0,0043 µg/ml de Lovastatine + formule 2)	0,002
Hep G2 (0,0017 µg/ml de Taxol + formule 2)	0,008

5

D'après le résultat du tableau 4, les valeurs IC<sub>50</sub> de la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone envers Hep 3B et Hep G2 diminuaient à 0,002 µg/ml et 0,008 µg/ml respectivement avec les activités synergistiques ajoutées de la Lovastatine et du Taxol. Par conséquent, ces résultats confirment que l'activité inhibitrice de la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone d'*Antrodia camphorata* peut être utilisée pour inhiber la croissance des cellules du cancer hépatique, et elle a montré une meilleure activité synergistique antitumorale pour les tumeurs lorsqu'elle était combinée au Taxol.

## 15 Exemple 6

### Essai de survie *in vitro* pour des effets anti-cancer de la prostate

Le modèle de criblage de médicaments anti-cancéreux du NCI a également été adopté pour tester l'effet anti-cancéreux du composé isolé dans l'exemple 1 de la

présente invention. Le composé isolé de 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone de l'exemple 1 a été ajouté au milieu de culture de cellules du cancer de la prostate humain, LNCaP ou DU-145, pour un essai de survie des cellules tumorales.

5 Les cellules du cancer de la prostate humain, LNCaP et DU-145, ont été séparément cultivées dans un milieu contenant du sérum de veau foetal pendant 24 heures. Les cellules ayant proliféré ont été lavées une fois avec du PBS, puis ont été traitées avec de la trypsine-EDTA 1x et ont été centrifugées à 1200 tpm pendant 5 minutes. Le surnageant a été éliminé et le culot cellulaire a été remis en suspension  
10 dans 10 ml de milieu de culture frais en agitant délicatement. Les cellules ont été placées dans une plaque à 96 puits. Les extraits à l'éthanol d'*Antrodia camphorata* (le groupe de contrôle, extraits totaux d'*Antrodia camphorata* sans purification) ou la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone (le groupe expérimental) ont été ajoutés à chacun des 96 puits selon les  
15 concentrations suivantes : 30, 10, 3, 1, 0,3, 0,1 et 0,03 µg/ml, respectivement. Les cellules ont été incubées à 37 °C dans un incubateur à CO<sub>2</sub> à 5 % pendant 48 heures. Du MTT a été ajouté à chaque puits en une concentration de 2,5 mg/ml dans l'obscurité et a été incubé pendant 4 heures, suivi par un ajout de 100 µl de tampon de lyse afin d'arrêter la réaction. Les plaques ont été lues sur un lecteur ELISA à une longueur  
20 d'onde de 570 nm afin de déterminer les taux de survie. Les valeurs de la concentration de demi inhibition (IC<sub>50</sub>) ont également été calculées et listées dans le tableau 5.

Tableau 5 Résultats de l'essai de survie *in vitro* pour une inhibition des cellules du cancer de la prostate

Échantillons	IC <sub>50</sub> ( µg/ml )
Groupe de contrôle (extraits totaux d' <i>Antrodia camphorata</i> )	11,491
LNCaP	41,392
DU-145	
Groupe expérimental (formule 2)	
LNCaP	2,378
DU-145	1,812

D'après le résultat du tableau 5, la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone est un puissant inhibiteur de la croissance des lignées cellulaires du cancer de la prostate humain. Les valeurs IC<sub>50</sub> de la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone envers LNCaP et DU-145 sont de 2,378 µg/ml et 1,812 µg/ml respectivement, valeurs qui sont significativement plus faibles que celles des extraits totaux d'*Antrodia camphorata*. Par conséquent, la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone d'*Antrodia camphorata* peut être utilisée afin d'inhiber la croissance des cellules du cancer de la prostate.

#### Exemple 7

#### Étude complémentaire *in vitro* pour une thérapie adjuvante des cellules du cancer de la prostate

L'expérience a également été réalisée selon le modèle *in vitro* de criblage de médicaments anti-cancéreux du NCI. Les cellules du cancer de la prostate humain, LNCaP et DU-145, ont été séparément cultivées dans un milieu contenant du sérum de veau foetal pendant 24 heures. Les cellules ayant proliféré ont été lavées une fois avec



du PBS, puis ont été traitées avec de la trypsine-EDTA 1x et ont été centrifugées à 1200 tpm pendant 5 minutes. Le surnageant a été éliminé et le culot cellulaire a été remis en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais en agitant délicatement. Les cellules LNCaP ont été traitées avec 0,0017 µg/ml de Taxol pendant 72 heures et les

5 cellules DU-145 ont été traitées avec 0,0043 µg/ml de Taxol pendant 72 heures avant d'être placées dans une plaque à 96 puits. La 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone obtenue dans l'exemple 1 a été respectivement ajoutée à chacun des 96 puits selon les concentrations suivantes : 0 µg/ml (le groupe de contrôle) ; 30, 10, 3, 1, 0,3, 0,1 et 0,03 µg/ml (le groupe

10 expérimental). Les cellules ont été incubées à 37 °C dans un incubateur à CO<sub>2</sub> à 5 % pendant 48 heures. Du MTT a été ajouté à chaque puits en une concentration de 2,5 mg/ml dans l'obscurité et a réagi pendant 4 heures, suivi par un ajout de 100 µl de tampon de lyse afin d'arrêter la réaction. Les plaques ont été lues sur un lecteur ELISA à une longueur d'onde de 570 nm afin de déterminer les taux de survie. Les valeurs de

15 la concentration de demi inhibition (IC<sub>50</sub>) ont également été calculées et listées dans le tableau 6.

Tableau 6 Résultats du traitement complémentaire au Taxol *in vitro* sur les cellules du cancer de la prostate

Échantillons	Résultats
Groupe de contrôle	Taux de survie cellulaire
LNCaP (0.0017 µg/ml de Taxol)	(%)
DU-145 (0.0043 µg/ml de Taxol)	56 ± 3
	70 ± 2
Experiment group	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
LNCaP (0.0017 µg/ml de Taxol + formule 2)	0,961
DU-145 (0.0043 µg/ml de Taxol + formule 2)	0,515

20 D'après le résultat du tableau 6, les valeurs IC<sub>50</sub> de la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone envers LNCaP et

DU-145 diminuaient à 0,961 µg/ml et 0,515 µg/ml respectivement après une combinaison avec le Taxol. Par conséquent, ces résultats confirment que l'activité inhibitrice de la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone d'*Antrodia camphorata* peut être utilisée pour inhiber la

5 croissance des cellules du cancer de la prostate, et elle a montré une meilleure activité synergistique antitumorale pour les tumeurs lorsqu'elle était combinée au Taxol.

### Exemple 8

#### Étude d'activité anti-oxydante *in vitro*

La lipoprotéine de basse densité (LDL) oxydée avec un ion cuivre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) est

10 largement utilisée afin d'évaluer les activités anti-oxydantes des échantillons devant être analysés. L'activité anti-oxydante d'un échantillon est déterminée par le contenu en diènes du LDL après une oxydation et est exprimée en équivalents Trolox en utilisant une courbe de concordance calculée à partir des standards du Trolox, un analogue de la vitamine E hydrosoluble (la valeur de la capacité anti-oxydante 1 est exprimée en

15 termes de 2 µM de Trolox).

Les solutions suivantes ont tout d'abord été préparées : de l'eau doublement distillée (le groupe de contrôle négatif), un tampon de phosphate de sodium 5 mM (SPB) une solution de Trolox 1 µM et 2 µM (le groupe de contrôle positif), et 40 µg/ml de 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-

20 énone isolée dans l'exemple 1. La concentration de cholestérol LDL (LDL-C) a été déterminée au moyen d'un procédé de réaction enzymatique, qui a été dilué à 0,1-0,25 mg/ml avec du SPB 5 mM. Cent µl de LDL a été ajouté à chaque puits d'une plaque en quartz à 96 puits, suivi par un ajout du Trolox mentionné ci-dessus et du composé isolé dans l'exemple 1. L'agent oxydant standardisé  $\text{CuSO}_4$  a été ajouté pour

25 induire une oxydation à une concentration finale de 5 µM dans chaque puits de 250 µl. La plaque a été lue sur un lecteur ELISA à une longueur d'onde de 232 nm à 37 °C pendant 12 heures. Le temps d'échantillonnage était de 15 minutes. Les résultats sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7 Résultats de l'étude d'activité anti-oxydante *in vitro*

Échantillons	Tlag(min)	$\Delta$ Tlag(min)	Valeurs de capacité
<u>contrôle négatif</u>			
H <sub>2</sub> O (Tlag <sub>0</sub> )	185		
<u>contrôle positif</u>			
Trolox 1 $\mu$ M	266	81	0,48
Trolox 2 $\mu$ M	344	159	1,00
<u>groupe expérimental</u>			
40 $\mu$ g/ml de formule 2	439	208	1,30

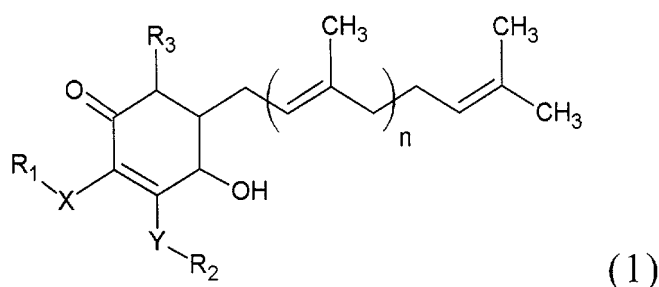
Remarque 1 : le temps de la phase de latence (Tlag, minutes), a été défini comme l'intersection de la phase de latence avec la phase de propagation de l'absorbance à 234 nm.  $\Delta$ Tlag(min) a été défini comme la différence de temps entre Tlag et Tlag<sub>0</sub> pour chaque échantillon.

Remarque 2 : un composé est défini comme possédant une aptitude anti-oxydante lorsque la valeur de la capacité anti-oxydante est supérieure à 0,5.

D'après le résultat du tableau 7, la valeur de la capacité anti-oxydante de la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone est de 1,3, ce qui bien plus élevé que la valeur standard de 0,5. Par conséquent, les composés de l'invention possèdent une activité anti-oxydante et peuvent être utilisés en tant que compléments pour des aliments naturels, en diététique et dans des boissons, dans des produits médicaux et des cosmétiques et contribuent à apporter d'importants effets bénéfiques à la santé humaine de par leurs aptitudes à prévenir des maladies cardiovasculaires ou des mutations cellulaires.

## REVENDICATIONS

1. Composé de formule (1) :



caractérisé par le fait que X et Y peut être un oxygène ou un soufre,  $R_1$ ,  $R_2$  et  $R_3$  sont chacun un atome d'hydrogène, un méthyle ou  $(CH_2)_m-CH_3$ , et  $m = 1-12$ ,  $n = 1-12$ .

2. Composé selon la revendication 1, caractérisé par le fait que le composé est isolé à partir d'*Antrodia camphorata*.
3. Composé selon la revendication 2, caractérisé par le fait que le composé est isolé à partir d'extraits au solvant organique d'*Antrodia camphorata*.
4. Composé selon la revendication 3, caractérisé par le fait que les solvants organiques sont sélectionnés dans le groupe consistant en alcools, esters, alcanes, et halogénures d'alkyle.
5. Composé selon la revendication 4, caractérisé par le fait que l'alcool est l'éthanol.
6. Composé selon la revendication 2, caractérisé par le fait que le composé est isolé à partir d'extraits aqueux d'*Antrodia camphorata*.
7. Composé selon la revendication 1, caractérisé par le fait que le composé est la 4-hydroxy-2,3-diméthoxy-6-méthyl-5(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényl)-cyclohex-2-énone.
8. Composition pharmaceutique qui peut être utilisée pour inhiber la croissance de cellules du cancer du sein, caractérisée par le fait qu'elle comprend un composé selon la revendication 1 ou la revendication 7 en combinaison avec au moins un véhicule pharmaceutiquement acceptable.
9. Composition selon la revendication 8, caractérisé par le fait que le composé est isolé à partir d'*Antrodia camphorata*.
10. Composition selon la revendication 9, caractérisé par le fait que le composé est isolé à partir d'extraits au solvant organique d'*Antrodia camphorata*.
11. Composition selon la revendication 10, caractérisé par le fait que les solvants

organiques sont sélectionnés dans le groupe consistant en alcools, esters, alcanes, et halogénures d'alkyle.

12. Composition selon la revendication 11, caractérisé par le fait que le solvant organique est l'éthanol.
- 5 13. Composition selon la revendication 9, caractérisé par le fait que le composé est isolé à partir d'extraits aqueux d'*Antrodia camphorata*.
14. Composition selon la revendication 8, caractérisé par le fait que les cellules du cancer du sein proviennent de la lignée cellulaire MCF-7 ou MDA-MB-231.
- 10 15. Composition pharmaceutique qui peut être utilisée pour inhiber la croissance de cellules du cancer du foie, caractérisée par le fait qu'elle comprend un composé selon la revendication 1 ou la revendication 7 en combinaison avec au moins un véhicule pharmaceutiquement acceptable.
16. Composition selon la revendication 15, caractérisé par le fait que le composé est isolé à partir d'*Antrodia camphorata*.
- 15 17. Composition selon la revendication 16, caractérisé par le fait que le composé est isolé à partir d'extraits au solvant organique d'*Antrodia camphorata*.
18. Composition selon la revendication 17, caractérisé par le fait que les solvants organiques sont sélectionnés dans le groupe consistant en alcools, esters, alcanes, et halogénures d'alkyle.
- 20 19. Composition selon la revendication 18, caractérisé par le fait que le solvant organique est l'éthanol.
20. Composition selon la revendication 16, caractérisé par le fait que le composé est isolé à partir des extraits aqueux d'*Antrodia camphorata*.
21. Composition selon la revendication 15, caractérisé par le fait que les cellules du cancer hépatique proviennent de la lignée cellulaire Hep 3B ou Hep G2.
- 25 22. Composition pharmaceutique qui peut être utilisée pour inhiber la croissance de cellules du cancer de la prostate, caractérisée par le fait qu'elle comprend un composé selon la revendication 1 ou la revendication 7 en combinaison avec au moins un véhicule pharmaceutiquement acceptable.
- 30 23. Composition selon la revendication 22, caractérisé par le fait que le composé est isolé à partir d'*Antrodia camphorata*.
24. Composition selon la revendication 23, caractérisé par le fait que le composé est isolé à partir d'extraits au solvant organique d'*Antrodia camphorata*.

25. Composition selon la revendication 24, caractérisé par le fait que les solvants organiques sont sélectionnés dans le groupe consistant en alcools, esters, alcanes, et halogénures d'alkyle.
26. Composition selon la revendication 25, caractérisé par le fait que le solvant  
5 organique est l'éthanol.
27. Composition selon la revendication 23, caractérisé par le fait que le composé est isolé à partir des extraits aqueux d'*Antrodia camphorata*.
28. Composition selon la revendication 22, caractérisé par le fait que les cellules du cancer de la prostate proviennent de la lignée cellulaire LNCaP ou DU145.
- 10 29. Composition pharmaceutique pour inhiber la croissance de cellules tumorales comprenant une dose active du composé selon la revendication 1 et un véhicule pharmaceutiquement acceptable, où les cellules tumorales sont sélectionnées dans le groupe consistant en cancer du sein, cancer du foie et cancer de la prostate.