



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110003230 B

(45) 授权公告日 2021.10.01

(21) 申请号 201910321049.X

A61K 31/365 (2006.01)

(22) 申请日 2019.04.21

A61P 3/10 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61P 3/06 (2006.01)

申请公布号 CN 110003230 A

A23L 33/105 (2016.01)

(43) 申请公布日 2019.07.12

(56) 对比文件

(73) 专利权人 中国科学院昆明植物研究所

Yiqiang Li,等.Isolation and Chemical Modification of Clerodane Diterpenoids from Salvia Species as Potential Agonists from Salvia Species as Potential Agonists at the κ -Opioid Receptor.《CHEMISTRY & BIODIVERSITY》.2007,第4卷(第7期),

地址 650201 云南省昆明市蓝黑路132号

专利权人 中国科学院上海药物研究所

Dean J. Tantillo.How an Enzyme Might Accelerate an Intramolecular Diels-Alder Reaction:Theozymes for the Formation of Salvileucalin B.《ORGANIC LETTERS》.2010,第12卷(第6期),1164-1167.

(72) 发明人 赵勤实 王贺瑶 范敏 王婷

吴兴德 黄俊上 彭丽艳

(74) 专利代理机构 昆明协立知识产权代理事务

所(普通合伙) 53108

代理人 马晓青

审查员 房长进

(51) Int.Cl.

C07D 493/10 (2006.01)

C07D 493/20 (2006.01)

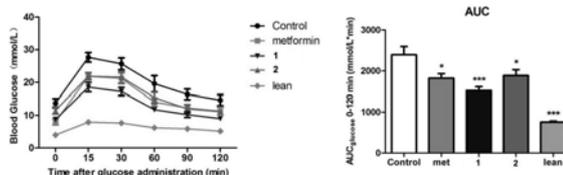
权利要求书1页 说明书6页 附图4页

(54) 发明名称

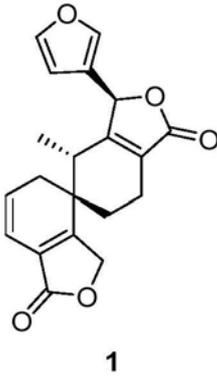
克罗烷型二萜化合物及其药物组合物和其应用

(57) 摘要

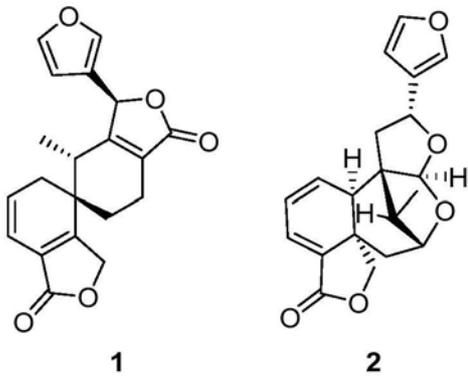
本发明公开了如结构式(1)和(2)所示的克罗烷型二萜化合物,以其为有效成分的药物组合物,其制备方法,以及其在制备治疗或预防II型糖尿病和高脂血症相关药物及保健食品中的应用。药理活性试验证明:本发明的化合物1和2能显著降低II型糖尿病C57BL/KsJdb/db小鼠血糖,改善db/db小鼠的糖耐量和胰岛素耐量,并显著降低血清甘油三酯含量。



1. 如下结构式 (1) 所示的克罗烷型二萜化合物1,



2. 如下结构式所示的克罗烷型二萜化合物1或2在制备治疗或预防II型糖尿病和高脂血症的药物中的应用,



3. 权利要求2中结构式所示的克罗烷型二萜化合物1或2在制备治疗或预防II型糖尿病和高脂血症的保健食品中的应用。

4. 权利要求2中结构式所示的克罗烷型二萜化合物1或2的制备方法,其特征在于该方法包括下述步骤:取芡欧鼠尾草的地上部分晒干并粉碎,用丙酮冷浸提取三次,合并三次提取液,减压浓缩,得到总浸膏,该浸膏经硅胶柱层析,石油醚/丙酮为9:1、8:2、7:3、6:4,经TLC检识,根据主斑点予以合并,得到5个组份,第5组份经反相中压液相色谱MPLC MCI进行分离,用乙醇水系统梯度70:30、75:25、80:20、85:15、90:10和95:5洗脱,经检测合并成5亚组份Fr.5.1~F.5.5;组份Fr.5.1经放置析出大量晶体得到化合物1,第4组份经硅胶柱层析,石油醚/氯仿/乙酸乙酯为4:4:1,得到化合物2。

5. 药物组合物,其中含有权利要求1中结构式所示的克罗烷型二萜化合物1和药学上可接受的载体。

克罗烷型二萜化合物及其药物组合物和其应用

技术领域：

[0001] 本发明属于药物技术领域，具体涉及克罗烷型二萜化合物1或2，以其为有效成分的药物组合物，其制备方法，以及其在制备治疗或预防II型糖尿病和高脂血症药物及保健食品中的应用。

背景技术：

[0002] 代谢综合征是以是血脂异常、血糖异常、肥胖、脂肪肝、高血压、高血凝、II型糖尿病、动脉粥样硬化、非酒精性脂肪肝等表现特征的糖代谢、脂代谢紊乱综合征。随着经济发展和人们生活方式改变，由代谢综合征导致的糖尿病和心血管疾病发病率急剧增加。糖尿病是一种慢性内分泌代谢疾病，其中II型糖尿病占90%，我国糖尿病患者有2000万以上，并且出现多发性、年轻化的特点，严重威胁国民健康。II型糖尿病患者的主要症状是高血糖、高血脂及胰岛素抵抗等，这也是导致白内障、感染、脂肪肝、心血管疾病、糖尿病足，甚至死亡等的主要原因。糖尿病已经严重影响了人们的生活质量，造成了大量的医疗费用。因此，除了通过运动和饮食的控制，寻找治疗糖尿病的药物依然是目前药学研究的热点。

[0003] 植物资源中分离和发现的活性天然产物，多年来广泛应用于各种疾病治疗。药用植物和天然产物单体在许多国家已经被成功应用于糖尿病控制，也已经成为安全有效的降糖药物的重要来源之一。

[0004] 鼠尾草属植物是一类重要的药用植物，尤其是丹参一直在我国各地广泛应用，具有活血化瘀、活络通痹、养心安神、解毒凉血、消肿止痛等功效。药理学实验证实丹参醌类化合物具有消炎、扩冠、抗血小板凝聚等作用，近年来又有一些新的药理活性如抗肿瘤、消除自由基等活性被相继发现(Wu, Y.B.; Ni, Z.Y.; Shi, Q.W.; Dong, M.; Kiyota, H.; Gu, Y.C.; Cong, B., Chem. Rev., 2012, 112 (11), 5967)。芡欧鼠尾草 (*Salvia hispanica*) 为唇形科鼠尾草属一年生草本植物，英文名为Chia (奇亚)，原产于墨西哥南部和危地马拉北部。芡欧鼠尾草的种子又称奇亚籽，具有悠久的食用和药用历史 (Joseph, C.P., Genet. Resour. Crop. Ev. 2004, 51 (7), 773)。除直接食用外，也被用于饼干、面包、酸奶等食品的生产。同时奇亚籽也可作为营养强化剂及食品添加剂。我国已于2014年批准奇亚籽为新食品原料。研究表明，奇亚籽中富含多种蛋白质、矿质元素、维生素、 ω -3系列多不饱和脂肪酸和抗氧化剂等成分，具有维持正常血脂水平、抗肿瘤、抗氧化、改善糖尿病和心血管疾病等作用，广泛应用于医药、食品、化妆品等方面 (Poudyal, H.; Panchal, S.K.; Waanders, J.; Ward, L.; Brown, L., J. Nutr. Biochem. 2012, 23 (2), 153) (Taga, M.S.; Miller, E.E.; Pratt, D.E., Am. Oil Chem. Soc. 1984, 61 (5), 928)。尽管奇亚籽具有多种生物活性且研究广泛，但其植物地上部分的化学成分罕见报道。化合物1和2为克罗烷型二萜化合物，其中，化合物1为新化合物，且2个化合物的活性作用均无报道。

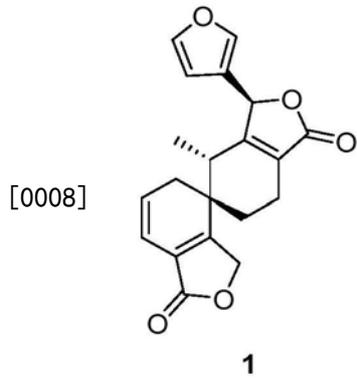
发明内容：

[0005] 本发明的目的在于：提供2个克罗烷型二萜化合物，以其为活性成分的药物组合

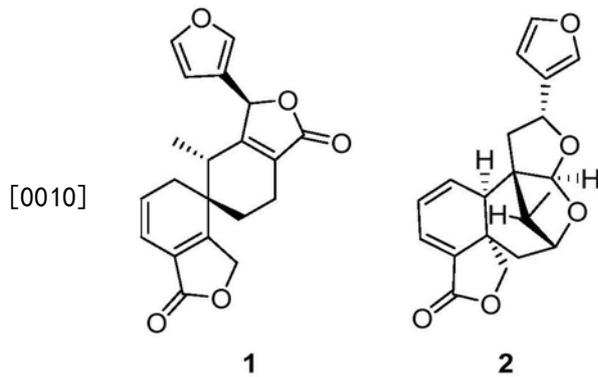
物,其制备方法,以及该类化合物及药物组合物在制备治疗或预防II型糖尿病和高血脂症的药物及保健食品中的应用。药理活性试验证明本发明的化合物1和2能显著降低II型糖尿病C57BL/KsJdb/db小鼠血糖,改善db/db小鼠的糖耐量和胰岛素耐量,并显著降低血清甘油三脂含量。

[0006] 为了实现本发明的上述目的,本发明提供了如下的技术方案:

[0007] 如下结构式(1)所示的克罗烷型二萜化合物1,



[0009] 如下结构式所示的克罗烷型二萜化合物1或2在制备治疗或预防II型糖尿病和高脂血症的药物中的应用,



[0011] 克罗烷型二萜化合物1或2在制备治疗或预防II型糖尿病和高脂血症的保健食品中的应用。

[0012] 药物组合物,其中含有克罗烷型二萜化合物1或2和药学上可接受的载体。

[0013] 克罗烷型二萜化合物1或2的制备方法,包括以下工艺步骤:取芡欧鼠尾草(*Salvia hispanica*)的地上部分晒干并粉碎,用丙酮冷浸提取三次,合并三次提取液,减压浓缩,得到总浸膏,该浸膏经硅胶柱层析(石油醚/丙酮,9:1、8:2、7:3、6:4),经TLC检识,根据主斑点予以合并,得到5个组份。第5组份经反相中压液相色谱(MPLC MCI)进行分离,用乙醇水系统梯度洗脱(70:30、75:25、80:20、85:15、90:10和95:5)经检测合并成5亚组份(Fr.5.1~Fr.5.5)。组份Fr.5.1经长期放置析出大量晶体得到化合物1。第4组份经硅胶柱层析(石油醚/氯仿/乙酸乙酯,4:4:1)得到化合物2。

[0014] 克罗烷型二萜化合物1和2通过显著降低给药小鼠的空腹血糖,改善db/db小鼠糖耐量和胰岛素耐量,降低血清甘油三脂含量实现其在制备治疗或预防II型糖尿病和高脂血症药物及保健食品中的应用。

[0015] 上面所述的药学上可接受的载体是指药学领域常规的药物载体,例如,水、葡萄

糖、乳糖、阿拉伯胶等和适合在制备固体、半固体、液体或气溶胶形式的制剂中使用的其他载体。组合物可以另外含有稳定剂,增稠剂,和/或着色剂和香料。

[0016] 本发明的克罗烷型二萜化合物及其药学上可接受的载体制备而成的组合物可经口或不经口给药,给药量因药物不同而各有不同,对成人来说,每天1-100mg较合适。

[0017] 经口服给药时,首先使化合物与常规的药用辅料如赋形剂、解剂、黏合剂、润滑剂、抗氧化剂、包衣剂、着色剂、芳香剂、表面活性剂等混合,将其制成颗粒剂、胶囊、片剂等形式给药;非经口给药时可以注射液、输液剂或栓剂等形式给药。制备上述制剂时,可使用常规的制剂技术。

附图说明:

[0018] 图1为本发明的克罗烷型二萜化合物的结构示意图;

[0019] 图2为本发明的化合物1的单晶X衍射结构示意图;

[0020] 图3各组小鼠体重变化曲线图;

[0021] 图4各组小鼠血糖测定结果示意图;

[0022] 图5 OGTT曲线及曲线下面积示意图;

[0023] 图6 ITT曲线及曲线下面积示意图;

[0024] 图7各组小鼠血清相关指标测定结果示意图。

具体实施方式:

[0025] 下面结合附图,用本发明的实施例来进一步说明本发明的实质性内容,但并不以此来限定本发明。根据本发明的实质对本发明进行的改进都属于本发明的范围。

[0026] 实施例1:

[0027] 克罗烷型二萜化合物1和2的制备方法及其结构鉴定:

[0028] 制备方法:取芫欧鼠尾草 (*Salvia hispanica*) 的地上部分晒干并粉碎,用丙酮冷浸提取三次,合并三次提取液,减压浓缩,得到总浸膏,该浸膏经硅胶柱层析(石油醚/丙酮,9:1、8:2、7:3、6:4),经TLC检识,根据主斑点予以合并,得到5个组份。第5组份经反相中压液相色谱(MPLC MCI)进行分离,用乙醇水系统梯度洗脱(70:30、75:25、80:20、85:15、90:10和95:5)经检测合并成5亚组份(Fr.5.1~F.5.5)。组份Fr.5.1经长期放置析出大量晶体得到化合物1。第4组份经硅胶柱层析(石油醚/氯仿/乙酸乙酯,4:4:1)得到化合物2。

[0029] 结构鉴定:本发明所述化合物分子结构式(1)和(2)分别对应化合物1和2:

[0030] 化合物1 (salvihin): 无色晶体; $[\alpha]_D^{25} - 128.1 (c 0.18, MeOH)$; UV (MeOH) $\lambda_{max} (\log \epsilon)$ 206 (4.36), 279 (3.50) nm; IR (KBr) ν_{max} 3432, 2927, 1754, 1309, 1045, 732 and 603 cm^{-1} ; 1H NMR and ^{13}C NMR data see Table 2.12; ESIMS (positive) m/z 375 $[M+Na]^+$; HRESIMS (positive) m/z 377.0791 $[M+K]^+$ (calcd for $C_{20}H_{18}O_5K$, 377.0786).

[0031] 化合物2 (salvifaricin): 白色粉末; $C_{20}H_{20}O_5$; 1H NMR (600MHz, acetone- d_6): δ 6.01 (1H, dd, $J=9.3, 2.0, H-1$), 6.31 (1H, m, H-2), 6.82 (1H, d, $J=5.5, H-3$), 2.04 (1H, m, H-6a), 1.33 (1H, d, $J=14.0, H-6b$), 4.27 (1H, d, $J=3.7, H-7$), 1.95 (1H, m, H-8), 2.80 (1H, d, $J=5.6, H-10$), 2.80 (1H, m, H-11a), 1.97 (1H, m, H-11b), 5.28 (1H, t, $J=7.8, H-12$), 6.37 (1H,

brs, H-14), 7.49 (1H, overlap, H-15), 7.49 (1H, overlap, H-16), 1.33 (3H, d, $J=7.0$, Me-17), 4.04 (1H, d, $J=8.0$, H-19a), 4.93 (1H, d, $J=8.0$, H-19b), 5.31 (1H, s, H-20); ^{13}C NMR (150MHz, acetone- d_6): δ_c 134.5 (d, C-1), 124.2 (d, C-2), 127.8 (d, C-3), 129.9 (s, C-4), 59.0 (s, C-5), 40.0 (t, C-6), 84.9 (d, C-7), 40.1 (d, C-8), 39.0 (s, C-9), 49.5 (d, C-10), 39.0 (t, C-11), 76.1 (d, C-12), 127.7 (s, C-13), 109.6 (d, C-14), 144.5 (d, C-15), 139.8 (d, C-16), 15.1 (q, C-17), 169.6 (s, C-18), 81.1 (t, C-19), 110.6 (d, C-20)。经与 salvifaricin (Savona, G.; Raffa, D.; Bruno, M.; Rodriguez, B. *Phytochemistry* 1983, 22, 784.) (Eguren, L.; Fayos, J.; Perales, A.; Savona, G.; Rodriguez, B. *Phytochemistry* 1984, 23, 466) 的 ^1H 和 ^{13}C 核磁数据比对, 鉴定为同一个化合物。

[0032] 表1化合物1的氢谱和碳谱数据

No.		1 (in CDCl_3)			
position	$\delta_{\text{H}}(J \text{ in Hz})^a$	δ_{C}^b	position	$\delta_{\text{H}}(J \text{ in Hz})^a$	δ_{C}^b
1a	2.30, m	33.3	9	2.87, q (7.1)	32.2
1b	2.30, m		10		38.3
2a	5.95, ddd (9.5, 5.4, 2.0)	128.7	11		161.9
2b			12	5.70, s	77.5
3a	6.33, d (9.5)	117.9	13		120.6
[0033] 3b			14	6.20, d (0.5)	108.0
4		125.3	15	7.40, t (1.4)	144.5
5		162.8	16	7.55, s	141.4
6a	2.05, m	25.7	17		172.1
6b	1.75, m		18		171.0
7a	2.52, dd (17.9, 6.3)	16.7	19a	4.88, d (18.4)	71.3
7b	2.40, dd (17.9, 5.8)		19b	4.82, d (18.4)	
8		125.3	20	0.70, d (7.2)	16.0

[0034] ^a Measured at ^a600MHz, ^b150MHz.

[0035] 实施例2:

[0036] 化合物1和2在糖尿病及代谢综合征相关疾病方面的活性:

[0037] 实验动物与分组:

[0038] C57BL/KsJdb/db小鼠 (db/db小鼠) 是受素 (Leptin) 受体基因缺陷导致的先天性II型糖尿病小鼠, 因其对饱感物质 (瘦素) 缺乏反应, 主要表现为过食, 肥胖, 伴有高血糖、高胰岛素血症、胰岛素抵抗、高脂血症等糖脂代谢异常特征, 与人类II型糖尿病临床症状极为相似。

[0039] 受试C57BL/KsJdb/db小鼠为6周龄雄性小鼠, SPF级, 体重为20-24g, 饲养购于中国科学院上海药物研究所。饲养条件按照SPF级动物标准饲养操作规程饲养, 除必要禁食时间外, 自由饮食饮水, 饲料为常规饲料。

[0040] 实验材料:

[0041] 化合物1和2米色晶体, 采用PEG400与水的混合液作为溶媒 (VPEG400:V水=3:7) 先用研钵研成细粉末状后分次加入PEG400研磨至均匀, 再分次加入适量水继续研磨至均一状。实验原则按标准操作规程。

[0042] 实验方法:

[0043] 1) 动物分组:组1为模型对照组,组2为二甲双胍给药组,组3为化合物1给药组,组4位化合物2给药组,组5为同窝正常鼠,实验动物分组及给药剂量如表2所示。

[0044] 表2实验动物分组

组别	实验动物	动物数量 (n)	受试药物	受试物剂量 (mg/kg)
1	db/db	10	5%oCMC-Na (溶剂)	0
2	db/db	10	二甲双胍	200
3	db/db	10	1	100
4	db/db	10	2	100
5	C57	10	5%oCMC-Na (溶剂)	0

[0046] 2) 给药与检测

[0047] 空腹血糖检测:db/db小鼠常规监测,适应性喂养一周后,给予药物前1天(P-1)再次进行血糖、体重检测;受试物按上述表格浓度溶解稀释,灌胃(PO)给药,给药当天记为P0;每天14:00p.m.-16:00p.m.之间给药,持续34天,期间跟踪记录体重;给药后每3天测量耗食量,每7天测量空腹6h血糖,定期记录耗食量;

[0048] 葡萄糖耐受(OGTT)检测:实验前1天,各组小鼠禁食12h检测血糖后,以0.25g/kg灌胃给予葡萄糖,在15min,30min,60min,90min,120min五个时间点分别尾静脉测量各组血糖,绘制OGTT曲线、计算曲线下面积;

[0049] 胰岛素耐受(ITT)检测:实验当天各组小鼠禁食,腹腔注射0.8IU/kg胰岛素,在30min,60min,90min,120min四个时间点分别尾静脉测量各组血糖,绘制ITT曲线、计算曲线下面积;

[0050] 血清甘油三脂、胆固醇水平等相关指标检测:实验结束后取血清测定相关指标。

[0051] 常规记录实验进行过程中动物表现、体重、摄食摄水量。

[0052] 3) 统计方法

[0053] 所有统计均利用PASW Statistics 18(SPSS18.0)进行。以血糖值或者体重为纵坐标,给药组分别为横坐标作统计图。以时间为横坐标,血糖浓度为纵坐标坐OGTT、ITT曲线。以血清指标为纵坐标,受试药物为横坐标作统计图。统计数据使用平均数±标准差表示,采用单因素方差分析(One Way ANOVA), $p < 0.05$ 认为有显著性差异。

[0054] 实验结果:

[0055] 1) 本发明化合物1和2对db/db糖尿病小鼠体重的影响:

[0056] db/db小鼠于给药前1天记录体重,每3天称重一次,比较各组小鼠体重。小鼠的体重变化曲线如图3所示。

[0057] 实验结果显示,与对照组相比给药组小鼠体重无明显下降。

[0058] 2) 本发明化合物1和2对db/db糖尿病小鼠空腹血糖的影响:

[0059] db/db小鼠于给药前1天检测空腹血糖,化合物1和2连续给药后,每7天检测空腹6h血糖,定期记录耗食量;小鼠的空腹血糖测定结果如图4所示。

[0060] 实验结果显示,化合物1和2与阳性对照药二甲双胍一样在给药后明显降低db/db小鼠空腹血糖含量,作用较二甲双胍更快,垫料改善明显;

[0061] 3) 本发明化合物1和2对db/db糖尿病小鼠口服糖耐量(OGTT)的影响:

[0062] 各组小鼠禁食12h检测血糖后,以0.25g/kg灌胃给予葡萄糖,在15min,30min,60min,90min,120min五个时间点分别尾静脉测量各组血糖,绘制OGTT曲线、计算曲线下面积(Area under curve,AUC)。小鼠的口服糖耐量曲线和曲线下面积统计结果如图5所示。

[0063] 4) 本发明化合物1和2对db/db糖尿病小鼠胰岛素耐量(ITT)的影响:

[0064] 各组小鼠禁食6h检测血糖后,腹腔注射0.8IU/kg胰岛素,在30min,60min,90min,120min四个时间点分别尾静脉测量各组血糖。各组小鼠的ITT曲线和曲线下面积统计数据如图6所示。

[0065] 实验结果显示,化合物1和2明显改善了db/db小鼠的胰岛素耐量(**p<0.01vs Control,***p<0.001vs Control),增加了胰岛素敏感性。

[0066] 5) 本发明化合物1和2对db/db糖尿病小鼠血清各项指标的影响:

[0067] 给药第34天,对各组小鼠血清进行了甘油三酯水平(TG)、葡萄糖含量(Glucose)、谷草转氨酶活性(AST)、谷丙转氨酶活性(ALT)的相关测定。各组小鼠血清相关指标测定结果如图7所示。

[0068] 实验结果显示,与对照组相比化合物1和2给药组小鼠血清葡萄糖含量显著降低(**p<0.001),同时降低血清甘油三酯水平降低(**p<0.001);对谷草转氨酶活性和谷丙转氨酶活性有一定的增加趋势,但与对照组统计学差异不明显,说明无肝脏毒性。

[0069] 实施例3

[0070] 片剂的制备:

[0071] 按实施例1的方法先制得化合物1和2,以及利用有机酸(酒石酸,柠檬酸,甲酸,乙二酸等)或无机酸(盐酸,硫酸,磷酸等)制成的盐,按其与赋形剂重量比为1:5-1:10的比例加入赋形剂,制粒压片。

[0072] 实施例4

[0073] 口服液制剂的制备:

[0074] 按实施例1的方法先制得化合物1和2,以及利用有机酸(酒石酸,柠檬酸,甲酸,乙二酸等)或无机酸(盐酸,硫酸,磷酸等)制成的盐,按常规口服液制法制成口服液。

[0075] 实施例5

[0076] 胶囊剂、颗粒剂或冲剂的制备:

[0077] 按实施例1的方法先制得化合物1和2,以及利用有机酸(酒石酸,柠檬酸,甲酸,乙二酸等)或无机酸(盐酸,硫酸,磷酸等)制成的盐,按其与赋形剂重量比为5:1的比例加入赋形剂,制成胶囊或颗粒剂或冲剂。

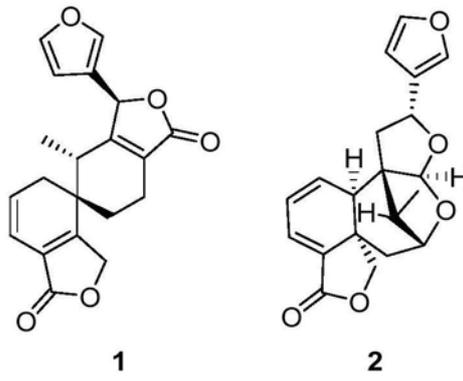


图1

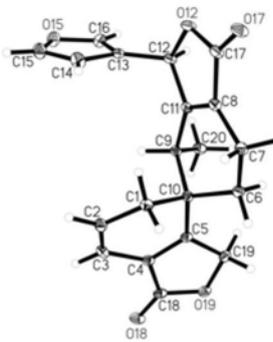


图2

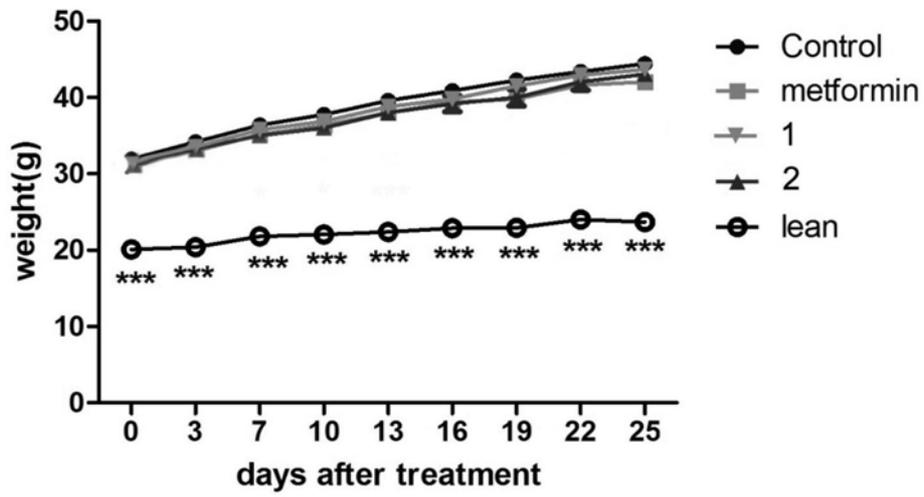


图3

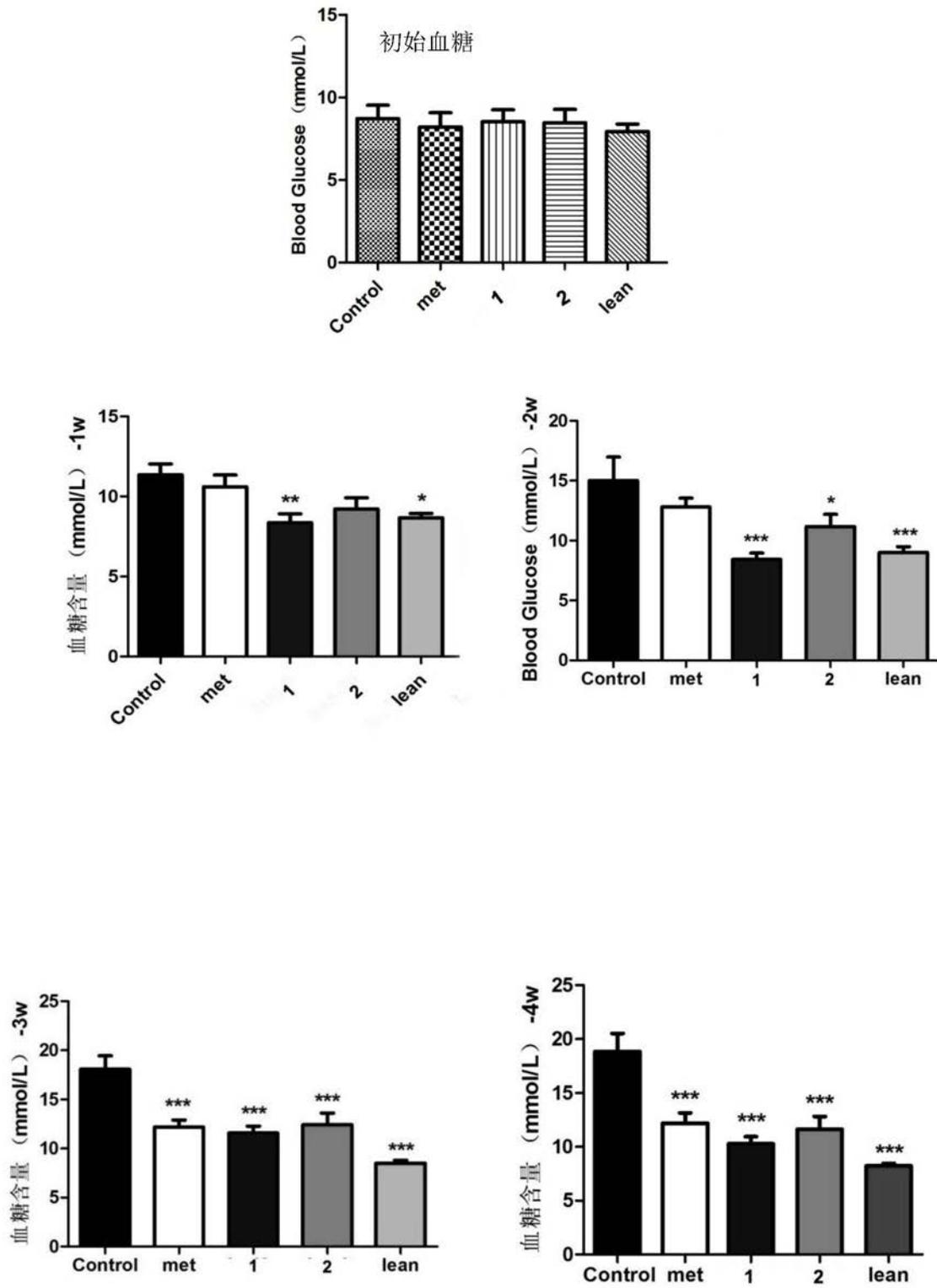


图4

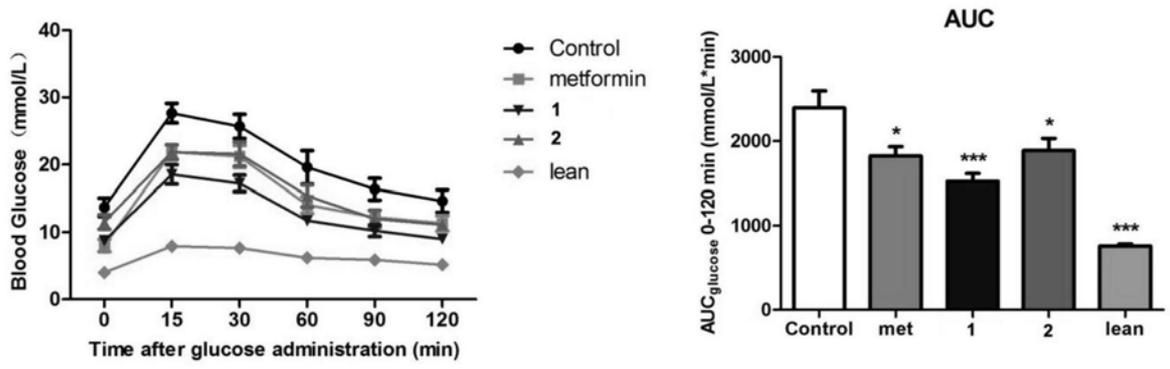


图5

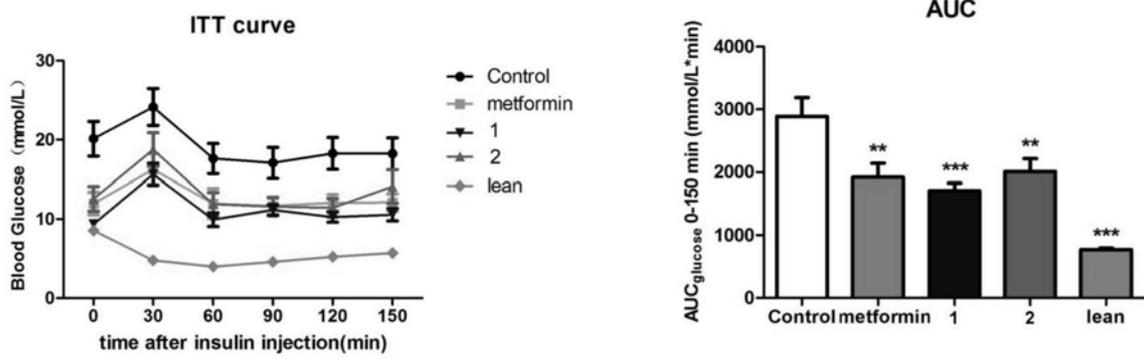


图6

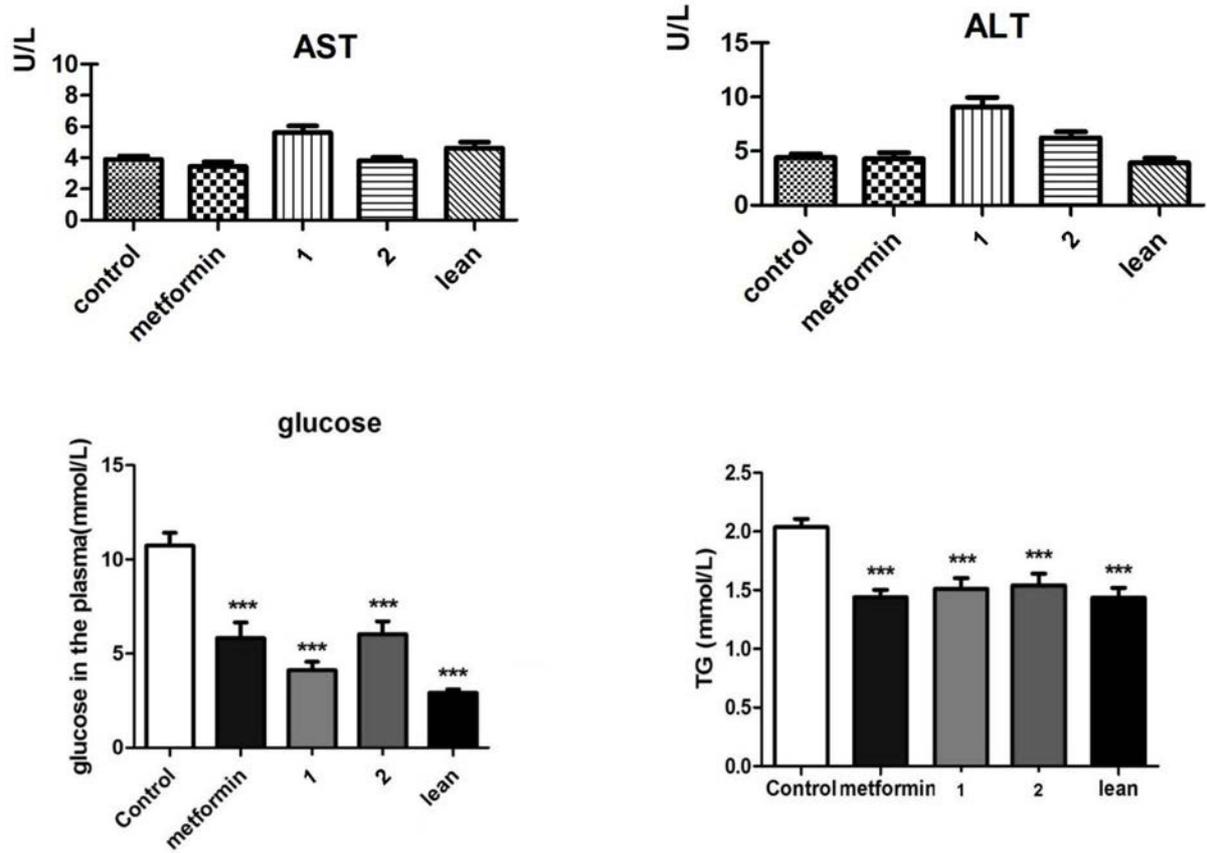


图7