



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103371997 A

(43) 申请公布日 2013. 10. 30

(21) 申请号 201310267317. 7

(22) 申请日 2013. 06. 27

(71) 申请人 丁圣雨

地址 210009 江苏省南京市鼓楼区古平岗 4
号

(72) 发明人 丁圣雨

(74) 专利代理机构 江苏银创律师事务所 32242

代理人 何震花

(51) Int. Cl.

A61K 31/365(2006. 01)

A61P 11/00(2006. 01)

权利要求书1页 说明书7页

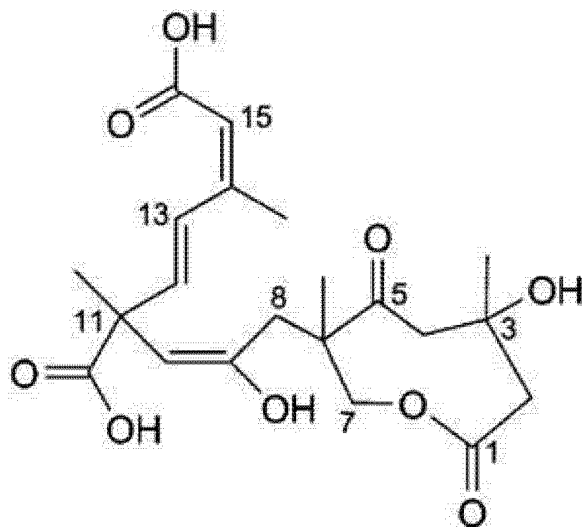
(54) 发明名称

Sarcaboside A 在制备治疗慢性阻塞性肺疾病的药物中的应用

(57) 摘要

本发明公开了 Sarcaboside A 在制备预防和治疗慢性阻塞性肺疾病的药物中的新的应用。本发明涉及的 Sarcaboside A 在制备抗慢性阻塞性肺疾病药物中的用途属于首次公开, 由于骨架类型属于全新的骨架类型, 而且其对于慢性阻塞性肺疾病抑制活性强得意想不到, 不存在由其他化合物给出任何启示的可能, 具备突出的实质性特点, 同时用于抗慢性阻塞性肺疾病显然具有显著的进步。

1. Sarcaboside A 在制备预防或治疗慢性阻塞性肺疾病的药物中的应用,所述化合物 Sarcaboside A 结构如式(I)所示:



式(I)。

Sarcaboside A 在制备治疗慢性阻塞性肺疾病的药物中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及 Sarcaboside A 的新医药用途。

背景技术

[0002] 慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种全球范围内常见的慢性病,目前在全球死亡原因中排名第四,据世界卫生组织预测,到 2020 年, COPD 将在全球疾病发病中排名第五,死亡原因中排名第三。

[0003] COPD 是一种不完全可逆的气流受限特征的疾病,与肺部对有害气体或有毒颗粒的异常炎症反应有关,其慢性炎症反应遍及气道、肺实质和肺血管。参与 COPD 的细胞有中性粒细胞、T 淋巴细胞和巨噬细胞等炎性细胞,当细胞被激活后释放多种炎性介质,如白三烯 B_4 (LTB_4)、白细胞介素 8 ($IL-8$)、RANTES、Eotaxin、肿瘤坏死因子 α ($TNF\alpha$)、基质金属蛋白酶 9 ($MMP-9$) 等,参与肺实质破坏、肺血管等炎症反应。病理变化特征表现为肺泡腔炎性细胞(如巨噬细胞)浸润、小支气管和细支气管周围灶性炎性细胞浸润,肺组织边缘肺泡腔扩张、破坏,肺泡壁变宽,其上皮细胞肿胀、变圆、部分脱落。COPD 与慢性支气管炎和肺气肿密切相关,但定义上有所不同,支气管哮喘与特异性变态反应有关,其气流受限具可逆性(与慢性气管炎合并时会出现气流受限不完全可逆)。现在尚无药物能遏制 COPD 病情的进行性发展,其药物治疗的研究进展相当缓慢,目前临床常常将治疗哮喘的药物用于治疗 COPD,由于 COPD 的发病机制不同于哮喘,难以取得满意的疗效。

[0004] 本发明涉及的化合物 Sarcaboside A 是一个 2012 年发表(Li, X. et al., 2012. Two New-Skeleton Compounds from *Sarcandra glabra*. Helvetica Chimica Acta 95 (6), 998-1002.) 的新骨架化合物,该化合物拥有全新的骨架类型,目前没有关于活性的报道,对于本发明涉及的 Sarcaboside A 在制备抗慢性阻塞性肺疾病药物中的用途属于首次公开,由于骨架类型属于全新的骨架类型,而且其对于慢性阻塞性肺疾病抑制活性强得意想不到,不存在由其他化合物给出任何启示的可能,具备突出的实质性特点,同时用于抗慢性阻塞性肺疾病显然具有显著的进步。

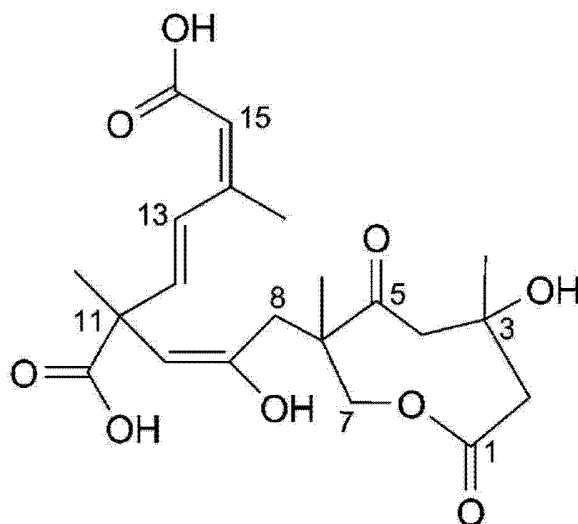
发明内容

[0005] 长期吸烟是最常见的人类 COPD 致病因素,我们实验室用香烟诱导模拟小鼠 COPD 模型,拟研究 Sarcaboside A 对香烟诱导的小鼠 COPD 的缓解作用。

[0006] 本发明目的在于提供化合物 Sarcaboside A 在制备抗 COPD 疾病药物中的应用。Sarcaboside A 在剂量 50、100、200mg/kg 下灌胃给药,对香烟诱导的 COPD 小鼠 BALF 中炎性细胞因子 $TNF\alpha$ 的生成有抑制作用;对趋化因子 RANTES 的分泌有抑制作用;对 BALF 中的炎性细胞(中性粒细胞和巨噬细胞)的募集有抑制作用;对小鼠肺部病理变化有逆转作用。

[0007] 所述化合物 Sarcaboside A 结构如式(I)所示:

[0008]



式(I)

[0009] 本发明涉及的Sarcaboside A在制备抗慢性阻塞性肺疾病药物中的用途属于首次公开,由于骨架类型属于全新的骨架类型,而且其对于慢性阻塞性肺疾病抑制活性强得意想不到,不存在由其他化合物给出任何启示的可能,具备突出的实质性特点,同时用于抗慢性阻塞性肺疾病显然具有显著的进步。

具体实施方式

[0010] 本发明所涉及化合物 Sarcaboside A 的制备方法参见文献(Li, X. et al., 2012. Two New-Skeleton Compounds from Sarcandra glabra. Helvetica Chimica Acta 95 (6), 998-1002.)。

[0011] 以下通过实施例对本发明作进一步详细的说明,但本发明的保护范围不受具体实施例的任何限制,而是由权利要求加以限定。

[0012] 实施例1:本发明所涉及化合物 Sarcaboside A 片剂的制备:

[0013] 取20克化合物 Sarcaboside A,加入制备片剂的常规辅料180克,混匀,常规压片机制成1000片。

[0014] 实施例2:本发明所涉及化合物 Sarcaboside A 胶囊剂的制备:

[0015] 取20克化合物 Sarcaboside A,加入制备胶囊剂的常规辅料如淀粉180克,混匀,装胶囊制成1000片。

[0016] 下面通过药效学实验来进一步说明其药物活性。

[0017] 方法:SPF级雌性BALB/c小鼠,18-20g,随机分为正常对照组、模型对照组、阳性对照组(特布他林,10mg/kg,灌胃给药)、药物处理组(Sarcaboside A 5、10、20 mg/kg,灌胃给药),每组10只。将小鼠置于4L容器内,每日烟熏(金健牌香烟,焦油含量小于16mg),一周五次,连续四周,每日烟熏前1小时灌胃给药。小鼠在末次烟熏后1小时,以苯巴比妥钠麻醉,用0.6mL预冷的PBS缓冲液(pH7.0)肺部灌流,冲洗3次,吸出支气管肺泡灌洗液(BALF),250×g离心10min,上清用于分析TNF α 、RANTES的含量。细胞用PBS缓冲液重悬,计数,细胞涂片后用瑞氏-吉姆萨染色,分析BALF中炎性细胞总数及中性粒细胞、巨噬细胞数量的变化。

[0018] 实验例 1 Sarcaboside A 对 COPD 小鼠支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中炎症介质生成抑制作用

[0019] (1) Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中 $\text{TNF-}\alpha$ 生成抑制作用

[0020] 前炎性细胞因子 $\text{TNF-}\alpha$ 是 COPD 的发病过程中的启动因子。COPD 患者的 $\text{TNF-}\alpha$ 水平高于正常人, 培养的支气管上皮细胞与香烟的烟雾接触可分泌 $\text{TNF-}\alpha$ 。 $\text{TNF-}\alpha$ 可促使中性粒细胞脱颗粒, 诱导起到粘膜细胞增生和高分泌, 增加上皮细胞 IL-8 生成, 增加巨噬细胞基质金属蛋白酶生成, 促进气道高反应性。本实验目的在于考察 Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中 $\text{TNF-}\alpha$ 生成的影响, 结果见表 1。

[0021] 表 1 Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中 $\text{TNF-}\alpha$ 生成的影响

[0022]

化合物	剂量 (mg/kg)	COPD 小鼠 BALF 中 $\text{TNF-}\alpha$ 的含量 (pg/ml)
Sarcaboside A		
	5	$19.2 \pm 4.5^*$
	10	$15.3 \pm 4.3^*$
	20	$13.4 \pm 5.2^{**}$
特布他林	10	$19.5 \pm 2.4^*$
模型对照		$38.2 \pm 3.3^{###}$
正常对照		8.4 ± 0.2

[0023] 注: $*P < 0.05$, 与模型对照组相比; $^{###}P < 0.01$, 与正常对照组相比。n=10。

[0024] 结果: Sarcaboside A 在剂量 5、10、20 mg/kg 下对 COPD 模型小鼠灌胃给药, 可降低小鼠 BALF 中 $\text{TNF-}\alpha$ 的生成。

[0025] (2) Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中 RANTES 分泌抑制作用

[0026] 炎症细胞的迁移受到趋化因子的调节, 各种结构细胞核炎性细胞均可分泌这些小分子蛋白, COPD 发病过程中 RANTES 分泌增加, 趋化单核 / 巨噬细胞, T 淋巴细胞, 嗜酸性细胞。本实验目的在于考察 Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中 RANTES 分泌的影响, 结果见表 2。

[0027] 表 2 Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中 RANTES 分泌的影响

[0028]

化合物	剂量 (mg/kg)	COPD 小鼠 BALF 中 RANTES 的含量 (pg/ml)
Sarcaboside A		
	5	30.2±18.2 *
	10	22.3±6.4 *
	20	15.4±6.3 **
特布他林	10	39.5±19.2
模型对照		82.2±8.5 ^{##}
正常对照		13.3±2.4

[0029] 注：*P<0.05,与模型对照组相比,**P<0.01,与模型对照组相比;^{##}P<0.01,与正常对照组相比。n=10。

[0030] 结果:Sarcaboside A 在剂量 5、10、20mg/kg 下对 COPD 模型小鼠灌胃给药,可降低小鼠 BALF 中 RANTES 的分泌。

[0031] 实验例 2Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中炎性细胞募集的抑制作用

[0032] (1) Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中总炎性细胞募集的抑制作用

[0033] COPD 以遍及气道、肺实质和肺血管的慢性炎症为特征,这种炎症表现为中性粒细胞、T 淋巴细胞和巨噬细胞在肺内增多。激活的炎症细胞释放一系列炎性介质,包括 LTB₄、IL-8、TNFα 和其他能破坏肺结构或维持中性粒细胞炎症的介质。本实验目的在于考察 Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中总炎性细胞募集的影响,结果见表 3。

[0034] 表 3 Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中总炎性细胞募集的影响

[0035]

化合物	剂量 (mg/kg)	COPD 小鼠 BALF 中炎性细胞总数 (10^5 cell/ml)
Sarcaboside A		
	5	$5.22 \pm 1.84^*$
	10	$4.24 \pm 1.76^*$
	20	$3.85 \pm 1.54^*$
特布他林	10	$4.93 \pm 1.95^*$
模型对照		$6.85 \pm 2.25^{##}$
正常对照		0.47 ± 0.24

[0036] 注：* $P < 0.05$, 与模型对照组相比； $^{##}P < 0.01$, 与正常对照组相比。n=10。

[0037] 结果：Sarcaboside A 在剂量 5、10、20 mg/kg 下对 COPD 模型小鼠灌胃给药, 可降低小鼠 BALF 中总炎性细胞的募集。

[0038] (2) Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中中性粒细胞募集的抑制作用

[0039] 中性粒细胞在 COPD 发病中具有重要作用, 它可以释放两种丝氨酸蛋白酶, 弹性蛋白酶和半胱氨酰蛋白酶-3, 诱导动物产生人类肺气肿样的病理变化。中性粒细胞生命短暂, 它循环招募到气道以及穿越间隙腔的过程十分迅速。病理研究证明有些 COPD 患者支气管组织内中性粒细胞数目增加与气流阻塞的程度有关。吸烟的 COPD 患者气道内中性粒细胞数目增加, 特别是那些伴有慢性支气管炎的患者。影响 COPD 患者肺内中性粒细胞募集的主要因素为 IL-8 趋化活性增强。本实验目的在于考察 Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中中性粒细胞募集的影响, 结果见表 4。

[0040] 表 4 Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中中性粒细胞募集的影响

[0041]

化合物	剂量 (mg/kg)	COPD 小鼠 BALF 中巨噬细胞计数 ($\times 10^5$ cell/ml)
Sarcaboside A		
	5	$0.61 \pm 0.23^*$
	10	$0.42 \pm 0.01^*$
	20	$0.23 \pm 0.04^*$
特布他林	10	$0.34 \pm 0.03^*$
模型对照		$1.31 \pm 0.32^{##}$
正常对照		0.03 ± 0.001

[0042] 注：* $P < 0.05$ ，与模型对照组相比，** $P < 0.01$ ，与模型对照组相比； $^{##}P < 0.01$ ，与正常对照组相比。n=10。

[0043] 结果：Sarcaboside A 在剂量 5、10、20mg/kg 下对 COPD 模型小鼠灌胃给药，可降低小鼠 BALF 中中性粒细胞的募集。

[0044] (3) Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中巨噬细胞募集的抑制作用

[0045] 吸烟者和 COPD 患者肺内巨噬细胞较正常人群水平增加，多聚集在肺泡、细支气管和小气道。肺泡壁巨噬细胞数目和轻中度肺气肿以及 COPD 患者的小气道疾病程度呈正相关。组织病变和损伤部位可见到 COPD 缓慢进展和慢性病变与巨噬细胞长期增加平行。巨噬细胞可能通过释放基质金属蛋白酶导致弹性组织降解能力异常增高，诱发肺气肿的发生。本实验目的在于考察 Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中巨噬细胞募集的影响，结果见表 5。

[0046] 表 5 Sarcaboside A 对 COPD 小鼠 BALF 中巨噬细胞募集的影响

[0047]

化合物	剂量 (mg/kg)	COPD 小鼠 BALF 中巨噬细胞计数 ($\times 10^5$ cell/ml)
Sarcaboside A		
	5	$4.41 \pm 1.36^*$
	10	$3.93 \pm 0.88^*$
	20	$3.43 \pm 1.09^*$
特布他林	10	4.26 ± 1.27
模型对照		$5.47 \pm 1.78^{##}$
正常对照		0.48 ± 0.06

[0048] 注：* $P < 0.05$ ，与模型对照组相比； $^{###}P < 0.01$ ，与正常对照组相比。n=10。

[0049] 结果：Sarcaboside A 在剂量 5、10、20mg/kg 下对 COPD 模型小鼠灌胃给药，可降低小鼠 BALF 中巨噬细胞的募集。

[0050] 实验例 3 Sarcaboside A 对 COPD 小鼠肺部病理变化的逆转作用

[0051] 对小鼠肺部病理观察可见，模型组肺泡壁变宽，肺泡壁上皮细胞肿胀，变圆，部分脱落，肺泡腔可见巨噬细胞，小支气管和细支气管周围灶性炎性细胞浸润，肺组织边缘肺泡腔扩张。Sarcaboside A 组肺泡壁上皮细胞肿胀，肺泡腔可见少量巨噬细胞和粒细胞浸润，未见淋巴细胞浸润，小鼠肺组织未见出血。

[0052] 结论：Sarcaboside A 在剂量 5、10、20mg/kg 下灌胃给药，对香烟诱导的小鼠慢性阻塞性肺淤血、炎性细胞浸润等有一定的治疗作用。