



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103494798 A

(43) 申请公布日 2014. 01. 08

(21) 申请号 201310449179. 4

(22) 申请日 2013. 09. 22

(71) 申请人 南京广康协生物医药技术有限公司
地址 210019 江苏省南京市建邺区奥体大街
69 号新城科技大厦 01 幢 5 层

(72) 发明人 江春平 黄蓉

(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 31/352(2006. 01)

A61P 31/16(2006. 01)

权利要求书1页 说明书3页

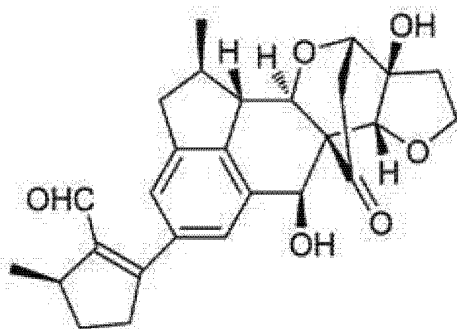
(54) 发明名称

Incarviation A 在抗甲型流感病毒药物中的应用

(57) 摘要

本发明公开了 Incarviation A 在制备抗甲型流感病毒药物中的应用。经实验证明, Incarviation A 对甲型流感病毒 fluA 有显著的抑制作用, 这提示 Incarviation A 在治疗甲型流感病毒感染性疾病领域存在潜在的应用价值。本发明涉及的 Incarviation A 在制备治疗流感病毒感染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, 而且其对于流感病毒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, 同时用于流感病毒感染的防治显然具有显著的进步。

1. Incarviate A 在抗甲型流感病毒的药物中的应用, 所述化合物 Incarviate A 结构如式 (I) 所示:



式 (I)。

Incarviate A 在抗甲型流感病毒药物中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及 Incarviate A 在制备抗甲型流感病毒 (Influenza A virus, Flu-A) 的药物中的应用。

背景技术

[0002] Flu A 属于正粘科病毒,在人类和其他生物每年都有小范围的流行,引起上呼吸系统感染。大流行时,可引起严重呼吸系统感染,甚者引起肺炎、脑炎甚至死亡。

[0003] 本发明涉及的化合物 Incarviate A 是一个 2012 年发表 (Shen, Y. H. et al., 2012. Incarviate A, a structurally unique natural product hybrid with a new carbon skeleton from Incarvillea delavayi, and its absolute configuration via calculated electronic circular dichroic spectra. RSC Advances 2, 4175 - 4180.) 的新骨架化合物,该化合物拥有全新的骨架类型,目前没有关于该化合物活性方面的报道,对于本发明涉及的 Incarviate A 在制备治疗流感病毒感染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,而且其对于流感病毒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,同时用于流感病毒感染的防治显然具有显著的进步。

发明内容

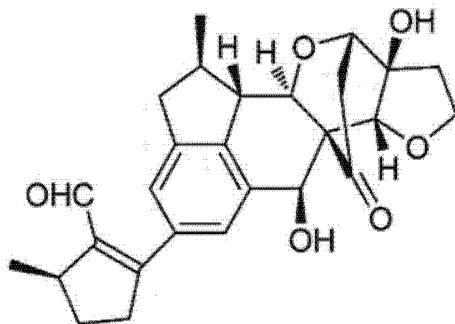
[0004] 针对上述现有技术,本发明提供了 Incarviate A 在制药中的新用途: Incarviate A 在制备抗 Flu A 的药物中的应用。

[0005] 经实验证明, Incarviate A 对 flu A 均有显著的抑制作用:抑制 Flu A 在 MDCK 发生 CPE, IC_{50} 为 $2^{-9.33}$, TI 为 202.3。

[0006] Incarviate A 对甲型流感病毒有显著的抑制作用,这提示 Incarviate A 临床用于治疗甲型流感病毒感染性疾病提供实验依据,具有重要的参考价值。

[0007] 所述化合物 Incarviate A 结构如式 (I) 所示:

[0008]



式 (I)

[0009] 本发明涉及的 Incarviation A 在制备治疗流感病毒感染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, 而且其对于流感病毒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, 同时用于流感病毒感染的防治显然具有显著的进步。

[0010] 为了更好地理解本发明的实质, 下面将结合实施例对本发明作进一步的说明。

具体实施方式

[0011] 本发明所涉及化合物 Incarviation A 的制备方法参见文献 (Shen, Y. H. et al., 2012. Incarviation A, a structurally unique natural product hybrid with a new carbon skeleton from Incarvillea delavayi, and its absolute configuration via calculated electronic circular dichroic spectra. RSC Advances 2, 4175 - 4180.)。

[0012] 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。

[0013] 实施例 1: 本发明所涉及化合物 Incarviation A 片剂的制备:

[0014] 取 20 克化合物 Incarviation 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。

[0015] 实施例 2: 本发明所涉及化合物 Incarviation A 胶囊剂的制备:

[0016] 取 20 克化合物 Incarviation 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。

[0017] 下面通过药效学实验来进一步说明其药物活性。

[0018] 实验例: Incarviation A 对甲型流感病毒的作用研究:

[0019] (1) 细胞株与病毒株: 狗肾细胞 (MDCK, 流感病毒敏感细胞) 引自中国 CDC 病毒病研究所; 流感病毒甲型 (Flu A) 1995. AII : 32094 地方株引自中国 CDC 病毒病研究所。

[0020] (2) 细胞毒性测定:

[0021] 参照文献 (汪受传, 王霖, 陈超等, 清肺口服液含药血清对病毒抑制作用的实验研究, 南京中医药大学学报, 2008 ; 24 (1) : 25 ~ 27) 的方法, 将各样品以 2 倍比做系列稀释 ($2^{-1} \sim 2^{-5}$), 然后按稀释顺序横向接种于 96 板孔中的 MDCK 上, 每孔 100uL, 每稀释度纵向重复 3 孔 (A、B、C 行), 平行设微孔板 D 的 1 ~ 6 孔为细胞对照, 7 ~ 12 孔不接种细胞为空白对照, 显微镜下每日观察 CPE, 连续观察 7d, 中性红染色, 在 540nm 波长测定 OD 值, 将实验组与细胞对照组 OD 值相比计算细胞存活率, 用 Reed-Muench 方法计算药物半数细胞中毒浓度 (TD_{50})。

[0022] (3) 抑毒试验:

[0023] 参照文献 (汪受传, 王霖, 陈超等, 清肺口服液含药血清对病毒抑制作用的实验研究, 南京中医药大学学报, 2008 ; 24 (1) : 25 ~ 27) 的方法, 将样品按稀释顺序横向接种于 96 板孔中的单层细胞上, 每孔 100uL, 每稀释度纵向重复 4 孔, 微孔板的 A、B、C 行加含 100 个 $TCID_{50}$ 的病毒 100uL 作为试验组, D 行补充等容量细胞维持液为不同浓度药物对照, 平行设 F 行作为病毒对照, E 行的 1 ~ 12 作为细胞对照。37℃、5%CO₂ 培养, 每日观察 CPE, 连续观察 4d。病毒对照出现 90% 以上 CPE 时, 加 1% 中性红染色, 用酶标仪在波长 540nm 波长读取 A 值, 各组 A 值去除病毒对照组 A 值, 将各试验组与细胞对照组 A 值相比, 获得细胞存活率,

用 Reed-Muench 方法计算半数抑毒浓度 (IC_{50}), 最终将 TD_{50} 和 IC_{50} 相比获得抑毒指数 (TI)。

[0024] (4) 结果:

[0025] ① 样品 TD_{50} 的测定: 对照组细胞显微镜下观察贴壁生长致密、形态良好。Incarviate A 的 TD_{50} 在 MDCK 为 $2^{-1.67}$ 。

[0026] ② 抑毒实验: 对照组细胞贴壁致密、形态良好。镜下观察发现, Flu A 在 MDCK CPE 以折光性增强、坏死、破碎为主要特征。

[0027] 而抑毒试验各组细胞, 按照样品稀释梯度, 梯度规律出现 CPE: FluA-MDCK 组细胞在第 8 稀释度之前细胞完全被保护, 之后出现 CPE, CPE 随样品浓度减少逐渐加重。

[0028] 将上述实验板用 1% 中性红染色、用酶标仪测 450nm 的 A 值, 各组 A 值减掉病毒对照组 A 值后, 各实验组 A 值与细胞对照组 A 值相比获得 IC_{50} , IC_{50} 与 TD_{50} 相比获得 TI: 抑制 Flu A 在 MDCK 细胞发生 CPE, IC_{50} 为 $2^{-9.33}$, TI 为 202.3。

[0029] 结论: Incarviate A 对甲型流感病毒具有很强的抑制作用, 而且安全, 因此 Incarviate A 在治疗甲型流感病毒感染疾病中具有广泛的应用背景。