

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2012 年 6 月 21 日 (21.06.2012)



(10) 国际公布号
WO 2012/079279 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07J 5/00 (2006.01) *A61P 19/02* (2006.01)
A61K 31/58 (2006.01) *A61P 1/16* (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01) *A61K 36/27* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2011/002023
- (22) 国际申请日: 2011 年 12 月 2 日 (02.12.2011)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201010589234.6 2010 年 12 月 15 日 (15.12.2010) CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 中国科学院上海药物研究所 (SHANGHAI INSTITUTE OF MATERIA MEDICA, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。
- (72) 发明人: 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): 赵维民 (ZHAO, Weimin) [CN/CN]; 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。左建平 (ZUO, Jianping) [CN/CN]; 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。杨以阜 (YANG, Yifu) [CN/CN]; 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。王罗医 (WANG, Luoyi) [CN/CN]; 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。杨扬 (YANG, Yang) [CN/CN]; 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。陈振华 (CHEN, Zhenhua) [CN/CN]; 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号,

Shanghai 201203 (CN)。唐炜 (TANG, Wei) [CN/CN]; 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。

- (74) 代理人: 北京金信立方知识产权代理有限公司 (KINGSOUND&PARTNERS); 中国北京市海淀区紫竹院路 116 号嘉豪国际中心 B 座 11 层, Beijing 100097 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: PREGNANE GLYCOSIDE COMPOUNDS CONTAINING ORTHOESTER GROUPS AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一类含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物及其用途

(57) Abstract: The present invention relates to pregnane glycoside compounds containing orthoester groups, pharmaceutical compositions containing the compounds, and use thereof in the preparation of an immunosuppressant. More particularly, disclosed are pregnane glycoside compounds containing orthoester groups extracted from *Periploca* plants, pharmaceutical compositions containing the compounds, and use thereof in the preparation of an immunosuppressant for prevention and/or treatment of immunological rejection reactions following cell/organ transplantation or autoimmune diseases, wherein the autoimmune diseases comprise rheumatoid arthritis, multiple sclerosis and autoimmune hepatitis and the like.

(57) 摘要: 本发明涉及一类含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物、包含该类化合物的药物组合物, 及其在制备免疫抑制剂中的用途, 更具体而言, 涉及一类从杠柳属 (*Periploca*) 植物中提取的含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物、包含该类化合物的药物组合物、及其在制备预防和/或治疗细胞/器官移植后免疫排斥反应或自身免疫性疾病的免疫抑制剂中的用途, 自身免疫性疾病包括: 类风湿关节炎、多发性硬化症和自身免疫性肝炎等。



WO 2012/079279 A1

一类含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物及其用途

技术领域

本发明涉及一类含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物、包含该类化合物的药物组合物、及其在制备免疫抑制剂中的用途，更具体而言，涉及一类从杠柳属(*Periploca*)植物中提取的含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物、包含该类化合物的药物组合物、及其在制备预防和/或治疗细胞/器官移植后免疫排斥反应或自身免疫性疾病的免疫抑制剂中的用途，自身免疫性疾病包括：类风湿关节炎、多发性硬化症和自身免疫性肝炎等。

背景技术

免疫抑制剂(immunosuppressor)是一类对免疫反应和免疫调节状态具有抑制作用的药物，不同的免疫抑制剂作用于免疫反应或免疫调节过程的不同环节。在临床上，免疫抑制剂主要用于治疗和/或预防自身免疫性疾病和细胞/器官移植后的排斥反应。免疫抑制剂主要分为以下几种：(1)化学制剂类，如烷化剂类的氮芥；(2)激素类，如糖皮质激素；(3)真菌代谢产物，如环孢菌素 A(cyclosporin A, CsA)；(4)中药及其有效成分。

免疫抑制药物大多具有明显的毒副作用，主要是骨髓抑制和肝、肾毒性等。由于免疫抑制药物的作用是非特异的，所以可导致整个机体免疫功能的下降，病原微生物感染增加，长期应用可能提高肿瘤发病率。因此，寻找新的高效低毒的免疫抑制剂具有重要意义。

杠柳属是萝藦科(Asclepiadaceae)的一个小属，全世界约有 12 种，我国产 4 种：杠柳(*Periploca sepium* Bunge)、西南杠柳(*P. forrestii* Schltr)、青蛇藤[*P. calophylla* (Wight) Falc.]和多花青蛇藤(*P. floribunda* Tsiang)。杠柳，又名狭叶萝藦、羊奶条等，其根皮为传统中药香加皮(北五加皮)，能祛风湿、壮筋骨、强腰膝，可用于治疗类风湿性关节炎、筋骨痛等病症；西南杠柳，又名滇杠柳，黑骨藤(黑骨头、黑龙骨)是植物西南杠柳的根或全株，可舒筋活络、祛

风湿，治疗类风湿性关节炎、跌打损伤、胃痛、消化不良、闭经、痢疾等。

发明内容

因此，本发明的一个目的为提供由通式 I 表示的含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物。

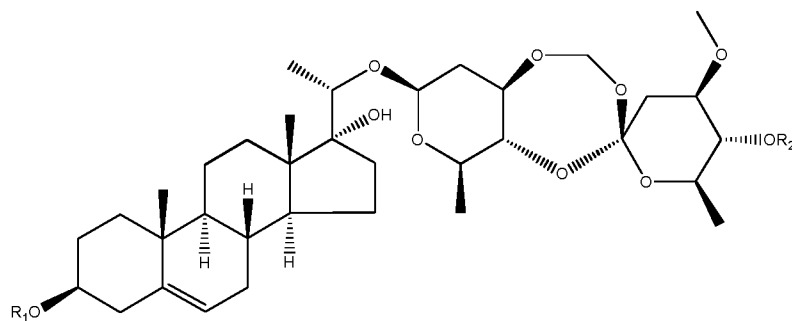
本发明的另一目的为提供包含治疗有效量的含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物的药物组合物。

本发明的又一目的为提供从杠柳属植物中提取含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物的方法。

本发明的又一目的为提供含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物在制备免疫抑制剂中的用途，

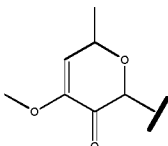
其中，所述免疫抑制剂用于治疗 and/或预防细胞/器官移植后排斥反应或自身免疫性疾病，所述自身免疫性疾病包括多发性硬化症、类风湿关节炎和自身免疫性肝炎等。

本发明通过生物活性跟踪分离，从杠柳、西南杠柳中分离出一系列含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物，该类化合物由如下通式 I 表示：

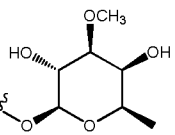
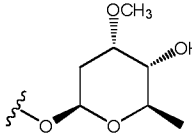


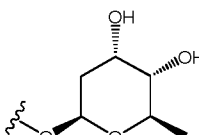
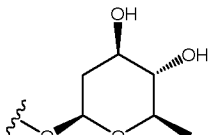
通式 I

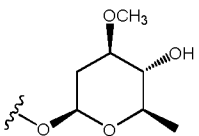
其中：

R_1 可为 H 或  4,6-二脱氧-3-O-甲基- Δ^3 -己酮糖基
(4,6-dideoxy-3-O-methyl- Δ^3 -hexosulosyl);

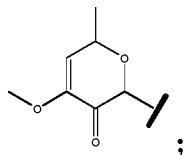
R_2 为由糖单元通过醚键连接构成的糖链片段, 所述糖单元可选自但不限

于  洋地黄糖(digitalose)、 加拿大麻糖(cymarose)、

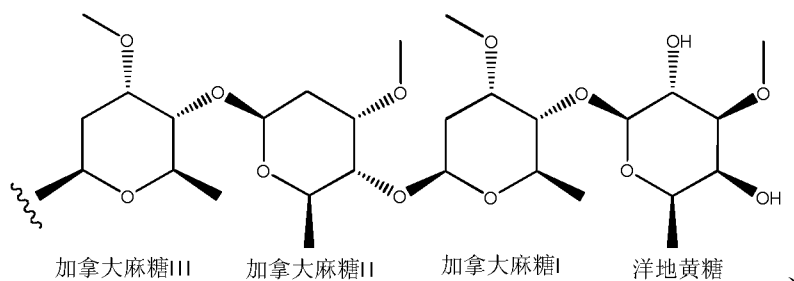
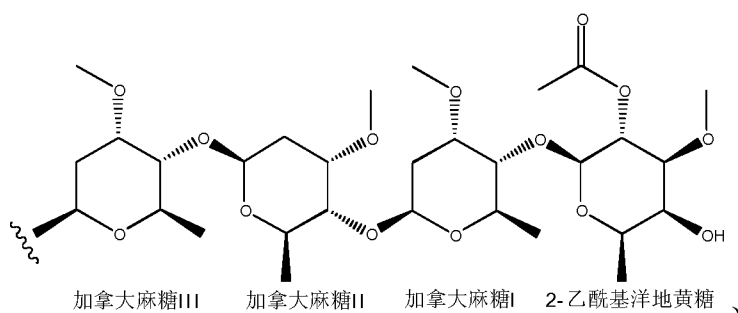
 洋地黄毒糖(digitoxose)、 卡那糖 (canarose)、

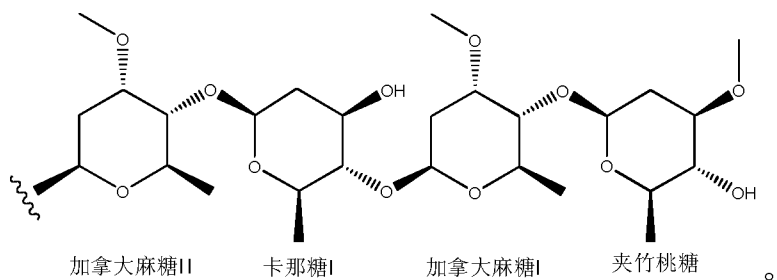
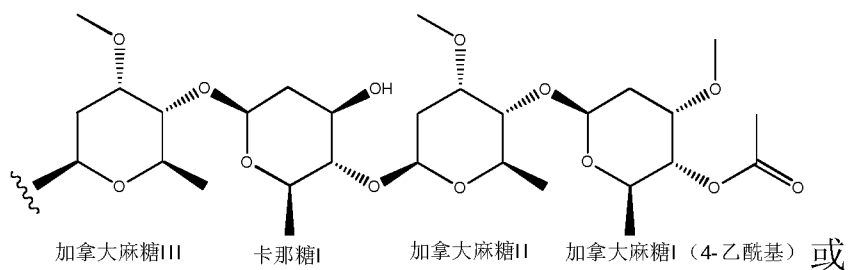
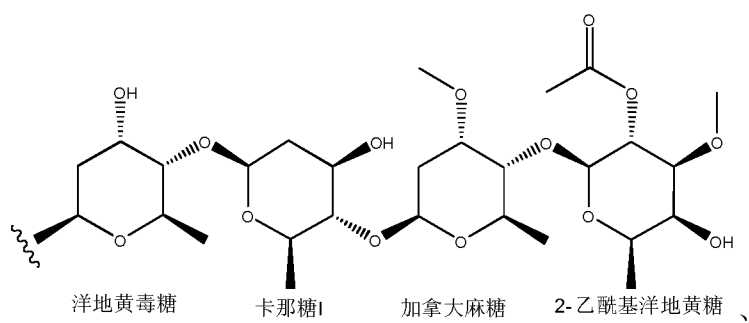
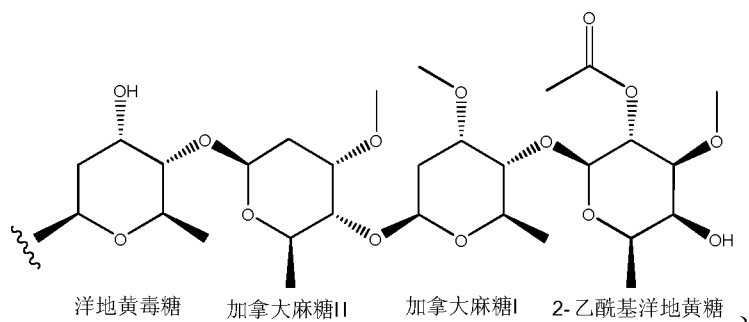
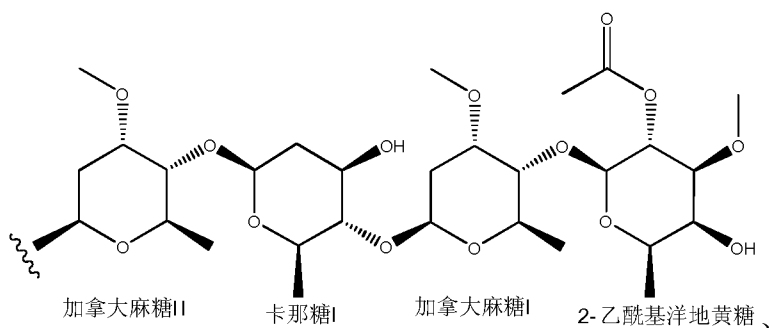
 夹竹桃糖(oleandrose), 或上述单糖的酰化产物中。

优选地, 通式 I 中: R_1 为 H 或

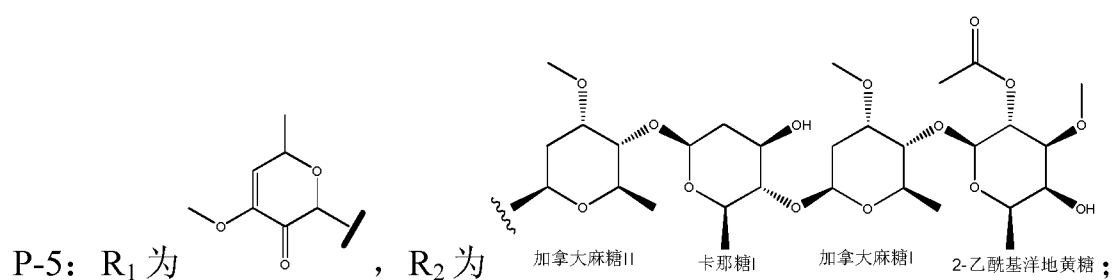
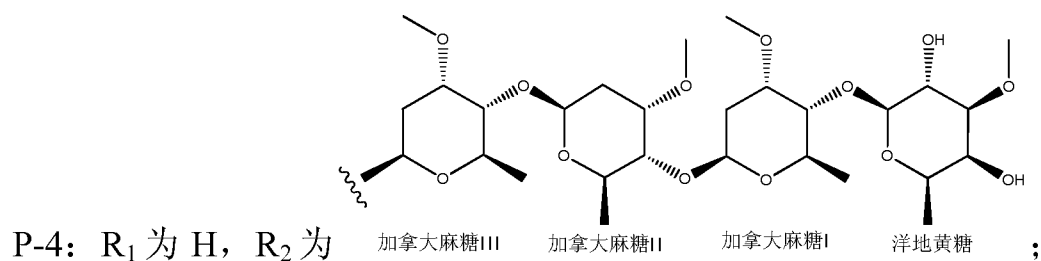
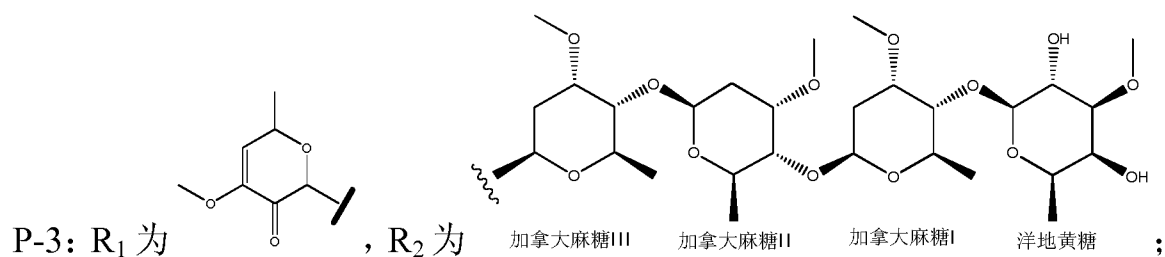
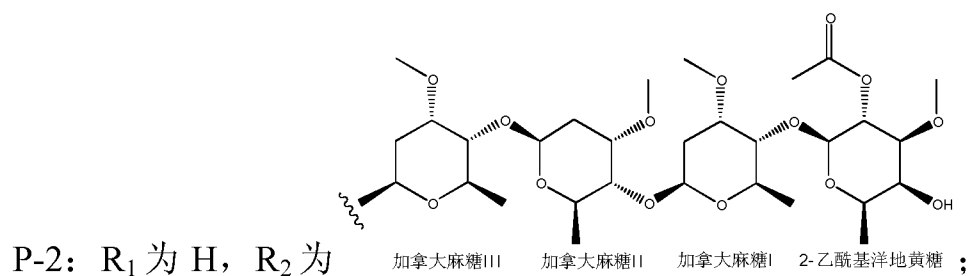
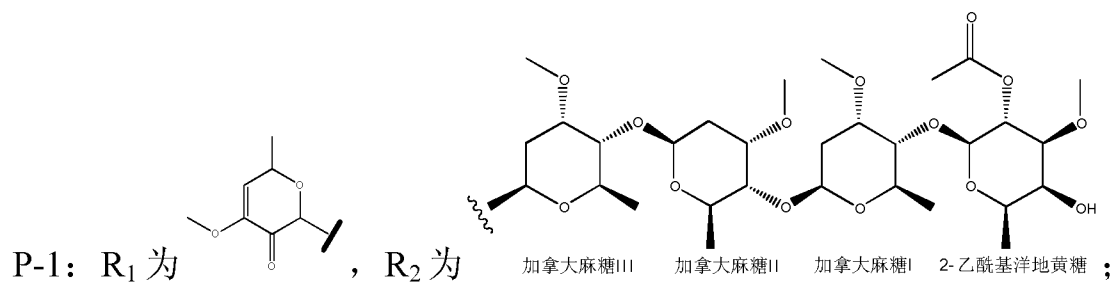


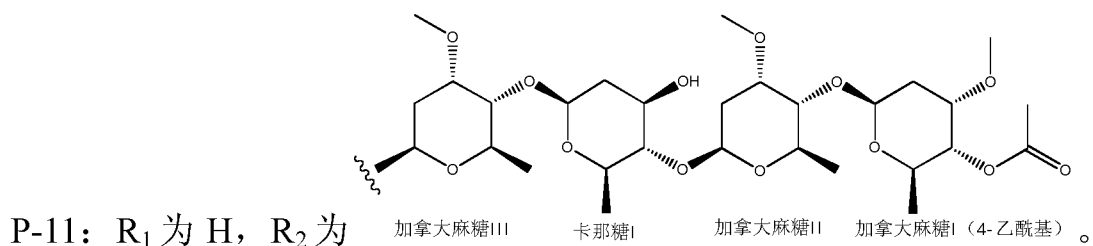
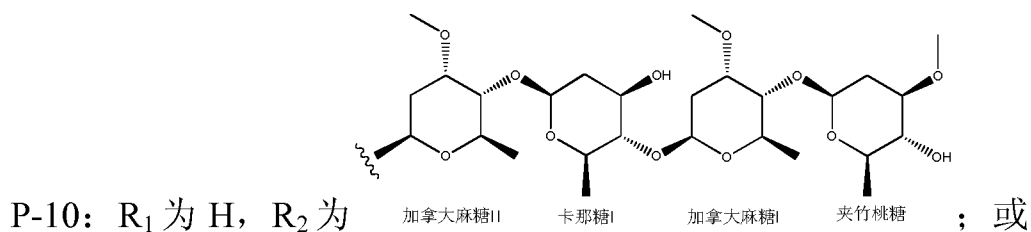
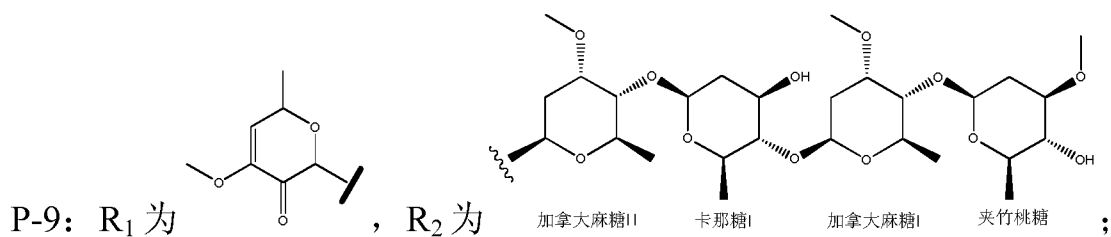
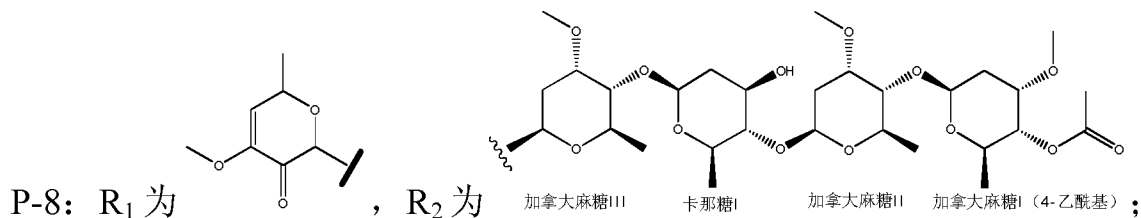
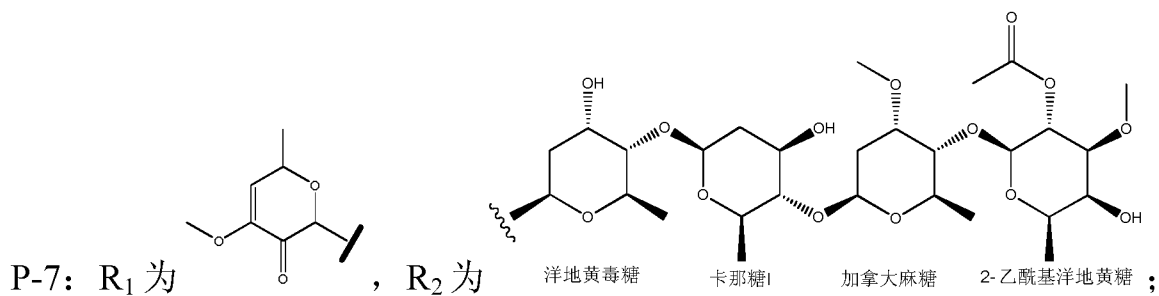
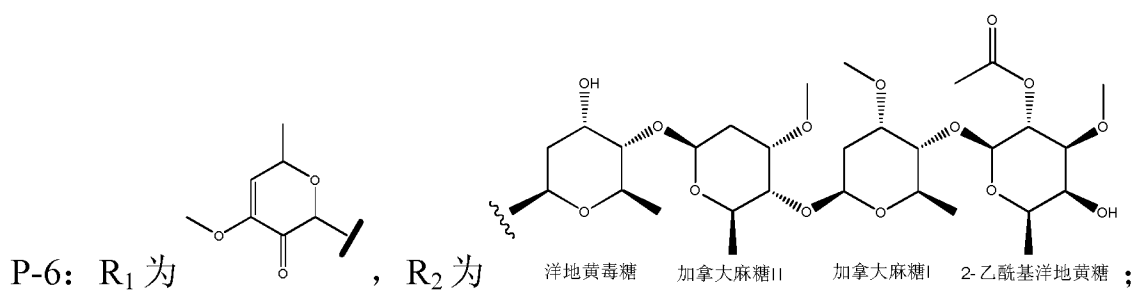
R_2 为





更优选地，本发明的含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物的具体化合物如下：





本发明的杠柳属植物中提取含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物的方

法包括下列步骤:

(一) 提取化合物 P-1、P-2、P-5、P-6、P-3、P-4 和 P-7

1、香加皮药材用 95%乙醇回流提取三次, 减压浓缩提取液得到乙醇浸膏, 加入水悬浮, 依次用氯仿和正丁醇萃取, 得到氯仿部位浸膏和正丁醇部位浸膏, 氯仿部位浸膏经硅胶(200 目)柱层析分离, 以石油醚-丙酮梯度洗脱(体积比为 5:1, 2:1, 1:1, 0:1)得流分 Fr1、Fr2、Fr3 和 Fr4;

2、流分 Fr3 经反相 C₁₈ 柱层析分离, 以甲醇-水梯度洗脱(体积比为 1:1 → 1:0)得次流分 Fr3.1、Fr3.2、Fr3.3、Fr3.4;

3、次流分 Fr3.4 经反相 C₁₈ 制备液相, 以甲醇-水梯度洗脱(体积比为 2:3 → 1:0)得 P-1、P-2、P-5、P-6; 流分 Fr4 经反相 C₁₈ 制备液相色谱分离, 以甲醇-水梯度洗脱(体积比为 3:7 → 4:1)得 P-3、P-4、P-7。

其中, 反相 C₁₈ 柱层析分离采用 Varian SD-1 型号, 配有 Merck NW25 C₁₈ 色谱柱(10 μm, 20 mm × 250 mm), 以及 ProStar 320 UV/Vis 检测器。

(二) 提取化合物 P-8、P-9、P-10 和 P-11

1、将黑骨藤根用 95%的乙醇室温浸提, 减压蒸馏浓缩成浸膏, 并用水分散悬浮, 之后依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取, 分别得到石油醚部位浸膏、乙酸乙酯部位浸膏和正丁醇部位浸膏;

2、将乙酸乙酯部位浸膏进行反相 C₁₈ 柱层析, 用甲醇-水梯度洗脱, 体积比依次为 1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 和 1:0, 每个梯度 1L, 得到 Fr1-Fr6 六个流分;

3、流分 Fr5 用 Sephadex LH-20 除杂(即背景干扰物), 然后以氯仿-丙酮(体积比为 8:1, 7:1, 6:1)为洗脱剂进行硅胶柱层析得到 P-8、P-9、P-10 和 P-11。其中, 同一比例溶剂洗脱流分经过薄层色谱检测, 可以含有多个纯化的化合物。

经多种体外、动物体内试验确定, 本发明的含有原酸酯基团的孕甾烷糖

昔类化合物具有显著的体外免疫抑制活性，并在多种自身免疫性疾病的动物模型上表现出显著疗效，例如，其能够明显抑制 T 细胞增殖；显著抑制二硝基氟苯(DNFB)诱导的小鼠迟发型超敏反应(DTH)；明显降低小鼠实验性自身免疫性脑脊髓膜炎(EAE)的发病率、减轻疾病的严重程度；显著减轻牛 II 型胶原诱导的小鼠关节炎病变的严重程度及病变关节组织各方面的病理改变；有效削弱伴刀豆蛋白(ConA)引起的肝脏损伤，降低血清中细胞因子水平。

此外，本发明提供了一种香加皮粗提物，其通过下述方法得到：

将香加皮药材用 95%乙醇回流提取三次，减压浓缩提取液得到乙醇浸膏，向乙醇浸膏加入水离心，沉淀以石油醚洗涤，再用乙醇溶解、静置，过滤，取上清液，配成 70%乙醇溶液，采用大孔树脂柱色谱分离，收集 90%乙醇的洗脱流分，浓缩，即得。

附图说明

图 1 显示了化合物 P-1 对小鼠实验性自身免疫性脑脊髓膜炎(EAE)的影响(A: 各组 EAE 发病率; B: 疾病评分; C: 体重变化, $*p<0.05$, $**p<0.01$)。

图 2 显示了化合物 P-2 对小鼠实验性自身免疫性脑脊髓膜炎(EAE)症状的影响(A: 各组 EAE 发病率; B: 疾病评分; C: 体重变化, $*p<0.05$)。

图 3 显示了化合物 P-1 对小鼠关节炎病变严重程度的影响($*p<0.05$, $**p<0.01$)。

图 4 显示了化合物 P-1 对小鼠关节炎病理改变的影响(A: 正常组小鼠踝关节组织切片(400×); B: 溶剂对照组小鼠踝关节组织切片(400×); C: P-1 治疗组小鼠踝关节组织切片(400×); D: 正常组小鼠踝关节 CT 断层扫描图; E: 溶剂对照组小鼠踝关节 CT 断层扫描图; F: P-1 治疗组小鼠踝关节 CT 断层扫描图)。

图 5 显示了化合物 P-1 对小鼠关节炎病理改变的影响 (A: 溶剂对照组小鼠踝关节显微 CT; B: P-1 治疗组小鼠踝关节踝关节显微 CT)。

图 6 显示了化合物 P-1 对 ConA 引起的肝炎的保护作用 (A: 血清 ALT 水平; B: 小鼠生存率; C: 肝脏组织病理学检查; D: 病理学评分, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)。

图 7 显示了化合物 P-1 对肝炎小鼠血清细胞因子水平的影响 (A: 血清中 IL-4 的水平; B: 血清中 IFN- γ 的水平, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)。

图 8 显示了香加皮粗提物 WJ-C 对小鼠关节炎病变严重程度的影响。

具体实施方式

以下通过具体实施例来进一步说明本发明。应理解, 以下实施例仅用于说明本发明而不用来限定本发明的范围。

实施例

实施例 1 含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物的制备

(一) 化合物 P-1、P-2、P-5、P-6、P-7、P-3 和 P-4 的制备

粉碎、干燥的香加皮药材(15 kg)用 95%乙醇回流提取三次(30 L $\times$ 3), 每次 2 小时, 减压浓缩提取液得到乙醇浸膏, 加入约 2 L 的水悬浮, 依次用氯仿和正丁醇萃取, 得到氯仿部位浸膏(762.5 g)和正丁醇部位浸膏(75.2 g)。氯仿部位经硅胶(200 目)柱层析分离, 以石油醚-丙酮梯度洗脱(体积比依次为 5:1, 2:1, 1:1, 0:1)得流分 Fr1 (601.3g)、Fr2 (15.8g)、Fr3 (48.2g) 和 Fr4 (3.6g)。Fr3 经反相 C₁₈ 柱层析, 以甲醇-水梯度洗脱(体积比为依次为 1:1, 2:1, 3:1, 4:1 和 1:0, 得次流分 Fr3.1、Fr3.2、Fr3.3、Fr3.4, 其中 Fr3.4 (7.8g) 经反相 C₁₈ 制备液相色谱, 以甲醇-水梯度洗脱 (体积比依次为 2:3, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1 和 1:0) 得 P-1 (2.0g)、P-2 (1.5g)、P-5 (18.7mg)、P-6 (14.6mg)。Fr4 经反相 C₁₈ 制备液相色谱, 以甲醇-水梯度洗脱 (体积比依次为 3:7, 2:3, 1:1, 2:1, 3:1 和 4:1) 得 P-7 (33.0mg)、P-3 (40.1mg)、P-4 (13.0mg)。

(其中, 取上述乙醇浸膏, 加入适量水搅匀放置, 离心分离沉淀, 沉淀以石油醚洗涤, 再用乙醇溶解、静置, 过滤, 取上清液, 配成 70%乙醇溶液, 采用大孔树脂柱色谱分离, 收集 90%乙醇的洗脱流分, 浓缩, 即为香加皮粗提物 WJ-C, 用于实施例 6)。

(二) 化合物 P-8、P-9、P-10、P-11 的制备

黑骨藤根 10 kg 粉碎后, 用 95%的工业乙醇室温浸提(30 L×3), 减压蒸馏浓缩成浸膏, 用 2 L 水分散悬浮后, 分别用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇依次萃取, 得到石油醚部位浸膏 250 g, 乙酸乙酯部位浸膏 32.0 g, 正丁醇部位浸膏约 200 g。将乙酸乙酯部位浸膏(32.0 g)进行反相 C₁₈ 柱层析, 用甲醇-水梯度洗脱(体积比依次为 1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 和 1:0, 每个梯度 1L), 得到六个流分(Fr1-Fr6)。Fr5 用 Sephadex LH-20 除去背景干扰物, 然后以氯仿-丙酮(体积比依次为 8:1, 7:1, 6:1)为洗脱剂进行硅胶柱层析得到化合物 P-8 (14.1 mg), P-9 (29.4 mg), P-10 (54.0 mg) 和 P-11 (35.1 mg)。其中, 同一比例溶剂洗脱流分经过薄层色谱检测, 可以含有多个纯化的化合物。

P-1: 分子式: C₇₂H₁₁₄O₂₇, 分子量: 1411, 白色粉末, $[\alpha]_D^{24} -1.2$ (*c* 1.4, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ : 0.72 (3H, s), 1.00 (3H, s), 1.37 (3H, d, *J* = 6.5 Hz), 1.51 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 3.41, 3.42, 3.43, 3.44, 3.45 (均为 3H, s), 3.57 (3H, s), 3.67(1H, m), 3.70 (1H, q, *J* = 6.5 Hz), 4.38 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 4.58 (1H, dd, *J* = 9.5, 1.5 Hz), 4.70 (1H, ddq, *J* = 6.8, 3.0, 0.5 Hz), 4.74 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 4.76 (1H, dd, *J* = 10.0, 1.5 Hz), 4.92 (1H, dd, *J* = 10.0, 1.5 Hz), 4.94 (1H, d, *J* = 0.5 Hz), 5.09 (1H, dd, *J* = 10.0, 8.0 Hz), 5.14 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 5.35 (1H, br s), 5.77 (1H, d, *J* = 3.0 Hz). ¹³C NMR 数据见表 1。

P-2: 分子式: C₆₅H₁₀₆O₂₄, 分子量: 1271, 白色粉末, $[\alpha]_D^{24} -7.5$ (*c* 0.08, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ : 0.73 (3H, s), 1.02 (3H, s), 1.31 (3H, d, *J* = 6.0 Hz), 1.37 (3H, d, *J* = 6.5 Hz), 2.07 (3H, s), 3.41, 3.42, 3.43, 3.44 (× 2) (均为 3H, s),

4.38 (1H, d, $J = 6.5$ Hz), 4.57 (1H, dd, $J = 9.5, 1.5$ Hz), 4.74 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 4.76 (2H, dd, $J = 10.0, 1.5$ Hz), 4.92 (1H, dd, $J = 10.0, 1.5$ Hz), 5.08 (1H, dd, $J = 8.0, 9.8$ Hz), 5.13 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 5.40 (1H, br s). ^{13}C NMR 数据见表 1。

P-3: 分子式: $\text{C}_{70}\text{H}_{112}\text{O}_{26}$, 分子量: 1369, 白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{24} -3.08$ (c 0.26, CHCl_3); ^1H NMR (CDCl_3) δ : 0.72 (3H, s), 0.99 (3H, s), 1.36 (3H, d, $J = 6.5$ Hz), 1.50 (3H, d, $J = 6.5$ Hz), 3.43 ($\times 2$), 3.44 ($\times 2$), 3.51 (均为 3H, s), 3.63 (3H, s), 4.27 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 4.57 (1H, dd, $J = 9.5, 1.5$ Hz), 4.70 (1H, ddq, $J = 6.8, 3.0$ Hz), 4.74 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 4.76 (2H, dd, $J = 10.0, 1.5$ Hz), 4.92 (1H, dd, $J = 10.0, 1.5$ Hz), 5.04 (1H, s), 5.13 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 5.36 (1H, br s), 5.77 (1H, d, $J = 3.0$ Hz). ^{13}C NMR 数据见表 1。

P-4: 分子式: $\text{C}_{63}\text{H}_{104}\text{O}_{23}$, 分子量: 1229, 白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{24} +8.1$ (c 0.07, MeOH); ^1H NMR (CDCl_3) δ : 0.72 (3H, s), 1.00 (3H, s), 1.31 (3H, d, $J = 6.0$ Hz), 1.35 (3H, d, $J = 6.5$ Hz), 3.43 ($\times 2$), 3.44 ($\times 2$), 3.52 (均为 3H, s), 4.28 (1H, d, $J = 7.7$ Hz), 4.57 (1H, dd, $J = 9.5, 1.4$ Hz), 4.74 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 4.76 ($\times 2$), 4.92 (均为 1H, dd, $J = 9.6, 1.5$ Hz), 5.10 (1H, dd, $J = 10.0, 8.0$ Hz), 5.13 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 5.30 (1H, dd, $J = 3.2, 1.2$ Hz), 5.38 (1H, m). ^{13}C NMR 数据见表 1。

P-5: 分子式: $\text{C}_{71}\text{H}_{112}\text{O}_{27}$, 分子量: 1397, 白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{18} -9.9$ (c 0.41, CHCl_3); IR (KBr) ν_{max} 3454, 2935, 1749, 1716, 1637, 1454, 1375, 1313, 1238, 1157, 1095, 1066, 1003 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3) δ : 0.72 (3H, s), 1.00 (3H, s), 1.33 (3H, d, $J = 6.5$ Hz), 1.46 (3H, d, $J = 6.9$ Hz), 2.02 (3H, s), 2.91 (t, 9.5 Hz), 3.36, 3.38 ($\times 2$), 3.40, 3.58 (均为 3H, s), 4.34 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 4.45 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 4.53 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 4.69 (1H, d, 9.5 Hz), 4.88 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 5.09 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 5.31 (1H, br s), 5.72 (1H, d, 3.0 Hz). ^{13}C NMR 数据见表 1。

P-6: 分子式: $\text{C}_{71}\text{H}_{112}\text{O}_{27}$, 分子量: 1397, 白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{18} -3.0$ (c 0.28,

CHCl₃); IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3448, 2935, 1751, 1718, 1637, 1456, 1375, 1313, 1238, 1157, 1095, 1059, 1003 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃) δ : 0.72 (3H, s), 1.00 (3H, s), 1.33 (3H, d, J = 5.8 Hz), 1.48 (3H, d, J = 6.6 Hz), 2.02 (3H, s), 3.38, 3.40 ($\times$ 2), 3.42, 3.58 (均为 3H, s), 4.19 (1H, br s), 4.35 (1H, d, J = 8.0 Hz), 4.55 (1H, d, J = 9.0 Hz), 4.70 (1H, d, J = 9.5 Hz), 4.76 (1H, d, 9.5 Hz), 4.95 (1H, d, J = 9.2 Hz), 5.10 (1H, d, J = 7.6 Hz), 5.31 (1H, br s), 5.72 (1H, d, 3.0 Hz). ¹³C NMR 数据见表 1。

P-7: 分子式: C₇₀H₁₁₀O₂₇, 分子量: 1383, 白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{24}$ -14.0 (c 0.2, CHCl₃); IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3489, 2935, 1745, 1716, 1637, 1454, 1375, 1317, 1240, 1157, 1093, 1058, 1004 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃) δ : 0.70 (3H, s), 0.95 (3H, s), 1.33 (3H, d, J = 6.4 Hz), 1.49 (3H, d, J = 6.9 Hz), 2.05 (3H, s), 3.38, 3.42, 3.58 (均为 3H, s), 4.18 (1H, br s), 4.35 (1H, d, J = 8.0 Hz), 4.50 (1H, d, J = 9.0 Hz), 4.55 (1H, d, J = 9.0 Hz), 4.95 (1H, d, J = 9.6 Hz), 5.10 (1H, d, J = 7.6 Hz), 5.31 (1H, br s), 5.72 (1H, d, J = 3.0 Hz). ¹³C NMR 数据见表 1。HRESIMS m/z 1405.7112 [M + Na]⁺ (计算值: C₇₀H₁₁₀O₂₇Na, 1405.7132)。

P-8: 分子式: C₇₁H₁₁₂O₂₆, 分子量: 1380, 白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{24}$ -6 (c 0.19, CHCl₃); IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3448, 2935, 1735, 1639, 1454, 1375, 1240, 1163, 1059, 1005 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃) δ : 0.70 (3H, s), 0.95 (3H, s), 1.29 (3H, d, J = 6.2 Hz), 1.48 (3H, d, J = 6.8 Hz), 2.05 (3H, s), 3.37, 3.40 ($\times$ 2), 3.42, 3.60 (均为 3H, s), 4.50 (1H, d, J = 9.2 Hz), 4.55 (1H, d, J = 9.1 Hz), 4.70 (1H, d, J = 9.6 Hz), 4.75 (1H, d, J = 9.6 Hz), 4.90 (1H, d, J = 9.5 Hz), 5.10 (1H, d, J = 7.7 Hz), 5.31 (1H, br s), 5.75 (1H, s). ¹³C NMR 数据见表 1。HRESIMS m/z 1403.7330 [M + Na]⁺ (计算值: C₇₁H₁₁₂O₂₆Na, 1403.7340)。

P-9: 分子式: C₆₉H₁₁₀O₂₅, 分子量: 1338, 白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{24}$ -17 (c 0.21, CHCl₃); IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3453, 2935, 1716, 1639, 1454, 1378, 1097, 1000, 1058,

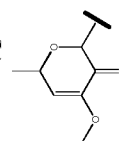
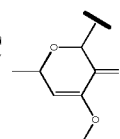
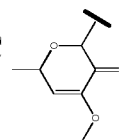
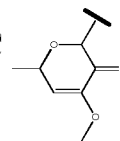
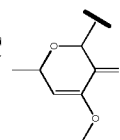
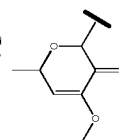
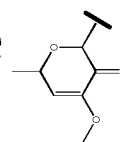
1002 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3) δ : 0.70 (3H, s), 0.95 (3H, s), 1.29 (3H, d, $J = 6.0$ Hz), 1.31 (3H, d, $J = 6.0$ Hz), 3.36, 3.40 ($\times 2$), 3.42, 3.60 (均为 3H, s), 4.50 (1H, d, $J = 9.4$ Hz), 4.50 (1H, d, $J = 9.2$ Hz), 4.55 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 4.70 (1H, d, $J = 9.4$ Hz), 4.90 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 5.10 (1H, d, $J = 7.7$ Hz), 5.31 (1H, br s), 5.75 (1H, s). ^{13}C NMR 数据见表 1。HRESIMS m/z 1361.7274 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (计算值: $\text{C}_{69}\text{H}_{110}\text{O}_{25}\text{Na}$, 1361.7234)。

P-10: 分子式: $\text{C}_{62}\text{H}_{102}\text{O}_{22}$, 分子量: 1198, 白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{24} -12$ (c 0.33, CHCl_3); IR (KBr) ν_{max} 3448, 2929, 1745, 1456, 1376, 1313, 1157, 1099, 1058, 1002 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3) δ : 0.70 (3H, s), 0.94 (3H, s), 1.29 (3H, d, $J = 6.0$ Hz), 1.31 (3H, d, $J = 6.0$ Hz), 3.36, 3.40 ($\times 2$), 3.42 (均为 3H, s), 4.50 (1H, d, $J = 9.4$ Hz), 4.50 (1H, d, $J = 9.2$ Hz), 4.55 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 4.70 (1H, d, $J = 9.4$ Hz), 4.90 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 5.10 (1H, d, $J = 7.7$ Hz), 5.32 (1H, br s). ^{13}C NMR 数据见表 1。HRESIMS m/z 1221.6725 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (计算值: $\text{C}_{62}\text{H}_{102}\text{O}_{22}\text{Na}$, 1221.6760)。

P-11: 分子式: $\text{C}_{64}\text{H}_{104}\text{O}_{23}$, 分子量: 1240, 白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{24} +5$ (c 0.12, CHCl_3); IR (KBr) ν_{max} 3446, 2933, 1735, 1452, 1375, 1238, 1161, 1095, 1058, 1004 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3) δ : 0.70 (3H, s), 0.94 (3H, s), 1.29 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 2.05 (3H, s), 3.37, 3.40 ($\times 2$), 3.42, 3.60 (均为 3H, s), 4.50 (1H, d, $J = 9.2$ Hz), 4.55 (1H, d, $J = 9.1$ Hz), 4.70 (1H, d, $J = 9.6$ Hz), 4.75 (1H, d, $J = 9.6$ Hz), 4.90 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 5.10 (1H, d, $J = 7.7$ Hz), 5.32 (1H, br s). ^{13}C NMR 数据见表 1。HRESIMS m/z 1263.6840 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (计算值: $\text{C}_{64}\text{H}_{104}\text{O}_{23}\text{Na}$, 1263.6866)。

表 1 化合物 P-1~P-11 的 ^{13}C NMR 数据 (100MHz, CDCl_3)

	P-1	P-2	P-3	P-4	P-5	P-6	P-7	P-8	P-9	P-10	P-11
1	37.4 (t)	37.2 (t)	37.4 (t)	37.3 (t)	37.2 (t)	37.2 (t)	37.2 (t)	37.2 (t)	37.2 (t)	37.1 (t)	37.1 (t)
2	29.3 (t)	31.9 (t)	29.4 (t)	31.9 (t)	29.2 (t)	29.2 (t)	29.3 (t)	29.3 (t)	29.3 (t)	31.5 (t)	31.5 (t)
3	78.6 (d)	71.7 (d)	78.6 (d)	71.8 (d)	78.4 (d)	78.4 (d)	78.5 (d)	78.5 (d)	78.5 (d)	71.5 (d)	71.5 (d)
4	38.6 (t)	42.2 (t)	38.6 (t)	42.3 (t)	38.3 (t)	38.3 (t)	38.4 (t)	38.4 (t)	38.4 (t)	42.2 (t)	42.2 (t)
5	140.4 (s)	140.7 (s)	140.3 (s)	140.8 (s)	140.1 (s)	140.1 (s)	140.2 (s)	140.2 (s)	140.2 (s)	140.6 (s)	140.6 (s)
6	122.0 (d)	121.6 (d)	122.0 (d)	121.6 (d)	121.9 (d)	121.9 (d)	121.9 (d)	121.9 (d)	121.9 (d)	121.5 (d)	121.5 (d)
7	31.9 (t)	31.9 (t)	31.9 (t)	32.0 (t)	31.7 (t)	31.7 (t)	31.8 (t)	31.8 (t)	31.8 (t)	31.8 (t)	31.8 (t)
8	31.9 (d)	31.6 (d)	31.9 (d)	31.7 (d)	31.7 (d)	31.7 (d)	31.8 (d)	31.8 (d)	31.8 (d)	31.8 (d)	31.8 (d)
9	49.8 (d)	49.7 (d)	49.7 (d)	49.7 (d)	49.5 (d)	49.5 (d)	49.6 (d)	49.6 (d)	49.6 (d)	49.5 (d)	49.5 (d)
10	36.8 (s)	36.8 (s)	36.7 (s)	36.8 (s)	36.6 (s)	36.6 (s)	36.6 (s)	36.6 (s)	36.6 (s)	36.5 (s)	36.5 (s)
11	20.6 (t)	20.6 (t)	20.6 (t)	20.6 (t)	20.4 (t)	20.4 (t)	20.5 (t)	20.5 (t)	20.5 (t)	20.5 (t)	20.5 (t)
12	36.9 (t)	36.9 (t)	36.9 (t)	36.9 (t)	30.8 (t)	30.8 (t)	30.9 (t)	30.9 (t)	30.9 (t)	30.8 (t)	30.8 (t)
13	45.4 (s)	45.4 (s)	45.4 (s)	45.4 (s)	45.2 (s)	45.2 (s)	45.2 (s)	45.2 (s)	45.2 (s)	45.2 (s)	45.2 (s)
14	51.1 (d)	51.1 (d)	51.1 (d)	51.1 (d)	50.9 (d)	50.9 (d)	51.0 (d)	51.0 (d)	51.0 (d)	51.0 (d)	51.0 (d)
15	23.5 (t)	23.5 (t)	23.5 (t)	23.5 (t)	23.3 (t)	23.3 (t)	23.4 (t)	23.4 (t)	23.4 (t)	23.4 (t)	23.4 (t)
16	31.0 (t)	31.0 (t)	31.0 (t)	31.0 (t)	38.2 (t)	38.2 (t)	38.3 (t)	38.3 (t)	38.3 (t)	38.3 (t)	38.3 (t)
17	85.5 (s)	85.5 (s)	85.5 (s)	85.5 (s)	85.3 (s)	85.3 (s)	85.4 (s)	85.4 (s)	85.4 (s)	85.3 (s)	85.3 (s)
18	14.1 (q)	14.1 (q)	14.1 (q)	14.2 (q)	14.0 (q)	14.0 (q)	14.0 (q)	14.0 (q)	14.0 (q)	14.0 (q)	14.0 (q)
19	19.3 (q)	19.4 (q)	19.4 (q)	19.4 (q)	19.2 (q)	19.2 (q)	19.3 (q)	19.3 (q)	19.3 (q)	19.3 (q)	19.3 (q)
20	83.0 (d)	82.9 (d)	83.1 (d)	85.5 (d)	83.0 (d)	83.0 (d)	83.0 (d)	83.0 (d)	83.0 (d)	83.0 (d)	83.0 (d)
21	18.0 (q)	18.0 (q)	18.0 (q)	18.0 (q)	16.9 (q)	17.0 (q)	17.0 (q)	17.0 (q)	17.0 (q)	17.0 (q)	17.0 (q)



1	97.3 (d)	97.3 (d)	97.1 (d)	97.1 (d)	97.2 (d)	97.3 (d)	97.3 (d)	97.3 (d)	夹竹桃糖	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖
2	185.8 (s)	185.9 (s)	185.9 (s)	185.9 (s)	185.8 (s)	185.8 (s)	185.8 (s)	185.8 (s)	洋地黄糖	加拿大麻糖 I	夹竹桃糖
3	147.9 (s)	147.6 (s)	147.6 (s)	147.6 (s)	147.7 (s)	147.8 (s)	147.8 (s)	147.8 (s)	洋地黄糖	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖
4	118.5 (d)	118.4 (d)	118.4 (d)	118.4 (d)	118.4 (d)	118.4 (d)	118.4 (d)	118.4 (d)	洋地黄糖	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖
5	68.9 (d)	68.7 (d)	68.7 (d)	68.7 (d)	68.8 (d)	68.8 (d)	68.8 (d)	68.8 (d)	洋地黄糖	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖
6	23.0 (q)	22.8 (q)	22.8 (q)	22.8 (q)	22.9 (q)	23.0 (q)	23.0 (q)	23.0 (q)	洋地黄糖	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖
3-OC H ₃	54.9 (q)	54.9 (q)	54.9 (q)	54.9 (q)	54.9 (q)	54.9 (q)	54.9 (q)	54.9 (q)	洋地黄糖	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖
1	102.6 (d)	102.6 (d)	104.6 (d)	102.4 (d)	102.4 (d)	102.4 (d)	99.7 (d)	101.4 (d)	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖	加拿大麻糖
2	71.0 (d)	70.9 (d)	70.8 (d)	70.6 (d)	70.7 (d)	70.7 (d)	35.1 (t)	35.3 (t)	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖	加拿大麻糖
3	81.6 (d)	81.6 (d)	83.1 (d)	81.3 (d)	81.4 (d)	81.4 (d)	75.1 (d)	75.4 (d)	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖	加拿大麻糖
4	68.1 (d)	68.1 (d)	68.1 (d)	67.7 (d)	67.8 (d)	67.8 (d)	75.0 (d)	80.5 (d)	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖	加拿大麻糖
5	70.4 (d)	70.4 (d)	70.8 (d)	70.3 (d)	70.2 (d)	70.6 (d)	67.6 (d)	71.6 (d)	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖	加拿大麻糖
6	16.5 (q)	16.5 (q)	16.5 (q)	16.4 (q)	16.4 (q)	16.4 (q)	18.0 (q)	18.0 (q)	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖	加拿大麻糖
-OAc	169.4/21.0	169.5/21.0	169.5/21.0	169.5/20.9	169.5/20.9	169.4/21.0	170.3/21.0	170.3/21.0	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖	加拿大麻糖
3-OC H ₃	57.4 (q)	57.4 (q)	57.7 (q)	57.3 (q)	57.3 (q)	57.4 (q)	58.2 (q)	56.3 (q)	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖	加拿大麻糖
1	99.8 (d)	99.8 (d)	99.8 (d)	99.1 (d)	99.6 (d)	99.3 (d)	99.3 (d)	99.3 (d)	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖	加拿大麻糖
2	35.4 (t)	35.5 (t)	35.3 (t)	35.5 (t)	35.1 (t)	35.6 (t)	35.4 (t)	35.5 (t)	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖	加拿大麻糖
3	77.4 (d)	77.3 (d)	77.3 (d)	76.2 (d)	76.4 (d)	76.2 (d)	77.1 (d)	77.0 (d)	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖	加拿大麻糖
4	83.7 (d)	82.9 (d)	83.1 (d)	82.8 (d)	82.8 (d)	82.9 (d)	82.2 (d)	82.2 (d)	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖	加拿大麻糖
5	68.1 (d)	68.2 (d)	68.5 (d)	68.7 (d)	68.7 (d)	68.8 (d)	69.1 (d)	69.0 (d)	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖	加拿大麻糖
6	18.2 (q)	18.3 (q)	18.2 (q)	17.4 (q)	17.9 (q)	17.5 (q)	17.8 (q)	17.8 (q)	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖	加拿大麻糖
3-OC H ₃	58.7 (q)	58.7 (q)	58.2 (q)	58.6 (q)	58.4 (q)	58.9 (q)	58.3 (q)	58.2 (q)	加拿大麻糖 I	加拿大麻糖	加拿大麻糖

	加拿大麻 糖 II	加拿大麻 糖 II	加拿大麻 糖 II	加拿大麻 糖 II	卡那糖 I	加拿大麻 糖 II	卡那糖 I	卡那糖 I	卡那糖 I	卡那糖 I
1	99.8 (d)	99.8 (d)	99.7 (d)	99.7 (d)	101.3 (d)	98.5 (d)	100.3 (d)	101.5 (d)	101.4 (d)	101.5 (d)
2	35.6 (t)	35.6 (t)	35.6 (t)	35.6 (t)	38.3 (t)	35.6 (t)	38.3 (t)	38.5 (t)	38.5 (t)	38.5 (t)
3	77.6 (d)	77.6 (d)	77.6 (d)	77.7 (d)	69.4 (d)	76.7 (d)	69.3 (d)	69.5 (d)	69.5 (d)	69.5 (d)
4	82.5 (d)	82.5 (d)	82.5 (d)	82.5 (d)	87.7 (d)	83.4 (d)	87.6 (d)	88.0 (d)	88.0 (d)	88.0 (d)
5	68.5 (d)	68.5 (d)	68.5 (d)	68.5 (d)	70.3 (d)	68.0 (d)	70.3 (d)	70.4 (d)	70.4 (d)	70.4 (d)
6	18.2 (q)	18.3 (q)	18.2 (q)	18.2 (q)	17.7 (q)	18.0 (q)	17.7 (q)	17.8 (q)	17.8 (q)	17.8 (q)
3-OC H ₃	58.1 (q)	58.0 (q)	58.0 (q)	58.1 (q)		57.9 (q)				
	加拿大麻 糖 III	加拿大麻 糖 III	加拿大麻 糖 III	加拿大麻 糖 III	加拿大麻 糖 II	洋地黄毒 糖	洋地黄毒 糖	加拿大麻 糖 III	加拿大麻 糖 II	加拿大麻 糖 III
1	98.6 (d)	98.5 (d)	98.5 (d)	98.5 (d)	98.4 (d)	98.3 (d)	98.4 (d)	98.5 (d)	98.4 (d)	98.5 (d)
2	36.7 (t)	36.7 (t)	36.7 (t)	36.8 (t)	35.6 (t)	36.5 (t)	37.0 (t)	35.8 (t)	35.8 (t)	35.8 (t)
3	77.6 (d)	77.6 (d)	77.7 (d)	77.7 (d)	76.7 (d)	66.3 (d)	66.7 (d)	76.7 (d)	76.7 (d)	76.7 (d)
4	82.5 (d)	82.5 (d)	82.5 (d)	82.5 (d)	82.4 (d)	82.1 (d)	82.5 (d)	82.6 (d)	82.5 (d)	82.6 (d)
5	68.9 (d)	68.7 (d)	68.9 (d)	68.9 (d)	68.6 (d)	68.2 (d)	68.2 (d)	68.8 (d)	68.7 (d)	68.8 (d)
6	18.2 (q)	18.3 (q)	18.2 (q)	18.2 (q)	18.1 (q)	18.1 (q)	18.1 (q)	18.1 (q)	18.1 (q)	18.1 (q)
3-OC H ₃	58.0 (q)	58.0 (q)	58.0 (q)	58.1 (q)	58.1 (q)			58.4 (q)	58.4 (q)	58.4 (q)
	夹竹桃糖	夹竹桃糖	夹竹桃糖	夹竹桃糖	夹竹桃糖	夹竹桃糖	夹竹桃糖	夹竹桃糖	夹竹桃糖	夹竹桃糖
1	113.7 (s)	113.7 (s)	113.7 (s)	113.7 (s)	113.5 (s)	113.5 (s)	113.6 (s)	113.7 (s)	113.6 (s)	113.7 (s)
2	36.7 (t)	36.7 (t)	36.7 (t)	36.8 (t)	36.7 (t)	36.7 (t)	36.5 (t)	36.7 (t)	36.7 (t)	36.7 (t)
3	78.3 (d)	77.0 (d)	77.0 (d)	78.3 (d)	78.1 (d)	77.5 (d)	77.6 (d)	77.6 (d)	77.6 (d)	77.6 (d)
4	82.6 (d)	82.6 (d)	82.6 (d)	82.6 (d)	82.4 (d)	82.2 (d)	82.7 (d)	82.6 (d)	82.5 (d)	82.6 (d)
5	69.8 (d)	69.9 (d)	69.8 (d)	69.8 (d)	69.8 (d)	69.8 (d)	69.8 (d)	69.9 (d)	69.9 (d)	69.9 (d)
6	18.0 (q)	18.0 (q)	18.0 (q)	18.0 (q)	18.0 (q)	18.1 (q)	18.1 (q)	18.2 (q)	18.2 (q)	18.2 (q)
3-OC H ₃	57.7 (q)	57.7 (q)	57.7 (q)	57.7 (q)	57.4 (q)	57.5 (q)	57.5 (q)	57.6 (q)	57.5 (q)	57.6 (q)

	卡那糖	卡那糖	卡那糖	卡那糖	卡那糖 II	卡那糖	卡那糖 II	卡那糖 II	卡那糖 II	卡那糖 II
1	100.8 (d)	100.8 (d)	100.8 (d)	100.8 (d)	100.7 (d)	100.8 (d)	100.8 (d)	100.8 (d)	100.8 (d)	100.8 (d)
2	38.4 (t)	38.4 (t)	38.4 (t)	38.4 (t)	36.8 (t)	36.8 (t)	36.9 (t)	36.9 (t)	36.9 (t)	36.9 (t)
3	77.0 (d)	78.3 (d)	78.3 (d)	77.0 (d)	78.1 (d)	78.2 (d)	78.3 (d)	78.2 (d)	78.2 (d)	78.3 (d)
4	79.2 (d)	79.2 (d)	79.2 (d)	79.2 (d)	79.0 (d)	79.1 (d)	79.2 (d)	79.1 (d)	79.1 (d)	79.2 (d)
5	70.0 (d)	70.0 (d)	70.0 (d)	70.0 (d)	69.6 (d)	69.7 (d)	69.8 (d)	69.7 (d)	69.7 (d)	69.8 (d)
6	17.0 (q)	17.0 (q)	17.1 (q)	17.1 (q)	17.9 (q)	17.9 (q)	18.0 (q)	18.0 (q)	18.0 (q)	18.0 (q)
3-OC	86.4 (t)	86.4 (t)	86.4 (t)	86.4 (t)	86.2 (t)	86.3 (t)	86.4 (t)	86.3 (t)	86.3 (t)	86.4 (t)
H ₂ O										

实施例 2 化合物 P-1 至 P-11 的体外免疫抑制活性测试

淋巴细胞毒性评价：脊椎法处死小鼠，无菌取其脾脏，磨碎制成单细胞悬液，用 MTT 溶解液(10%SDS, 50%DMF)去除红细胞后，用含 10%FBS 的 RPMI-1640 培养液将细胞浓度调成 5×10^5 个/ml。96 孔板中加入 5×10^5 细胞悬液、200 μ l RPMI-1640 培养液和适当浓度的待测试样品，放入 37°C、5% CO₂ 培养箱中培养 48 小时，在结束培养前 5 小时，每孔加入 5 mg/ml MTT 18 μ l。结束培养时，每孔加入 90 μ l MTT 溶解液，在培养箱中放置 6-7 小时后，用酶标仪于 570 nm 处测定 OD₅₇₀ 值。

淋巴细胞增殖实验： 5×10^5 个新鲜的脾脏细胞按照 37°C、5%CO₂ 条件培养 48 小时，培养液用 5 μ g/ml 的 ConA 或者 LPS 来诱导细胞的增殖，加入适当浓度的待测试样品以测试其对淋巴细胞增殖的抑制活性。以 ³H-TdR 渗法定量测定细胞的增殖。在培养结束前 8 个小时每孔加入 25 μ Ci 的 ³H-TdR，培养结束，用细胞收集仪收集细胞于玻璃纤维膜上，加入闪烁液，用液体闪烁计数器检测 DNA 中 ³H-TdR 渗入量来反映细胞增殖情况。

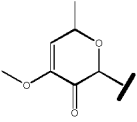
根据化合物对正常小鼠脾脏淋巴细胞的毒性数据 OD₅₇₀ 值计算 CC₅₀ (50%细胞毒性浓度)，根据化合物对正常小鼠脾脏淋巴细胞增殖的抑制作用计算 IC₅₀ (50%抑制浓度)。安全指数(safety index, SI)=CC₅₀/IC₅₀，是评价化合物安全性的主要参数，SI 值越大，化合物越安全。

测试结果如表 2 所示。

表 2 本发明中化合物的体外免疫抑制活性测试结果

化合物编号	CC ₅₀ (μM)	T 细胞增殖抑制	
		IC ₅₀ (μM)	SI (选择指数)
雷帕霉素		0.19	
环孢霉素		0.27	
P-1	18.7	0.51	36.7
P-2	10.1	0.64	15.8
P-3	15.7	0.82	19.1
P-4	4.0	1.13	3.5
P-5	7.78	2.71	2.9
P-6	3.51	0.46	7.6
P-7	9.4	1.01	9.3
P-8	48.2	1.32	36.5
P-9	6.9	0.52	13.3
P-10	15.7	0.82	19.1
P-11	12.3	1.97	6.2

结果表明, 本发明的化合物淋巴细胞毒性低, 对淋巴细胞的增殖具有显著抑制作用。并且, 从表 2 中可以看出, 在本发明的化合物中, 无论 R₁ 为 H

或为  基团, 对相应化合物的免疫抑制活性均无明显影响。

实施例 3 化合物 P-1 和 P-2 对自身免疫性脑脊髓膜炎动物模型的治疗作用

以 MOG₃₅₋₅₅ 肽段免疫 C57BL/6 雌鼠以建立急性诱导实验性自身免疫性脑脊髓膜炎 (EAE) 模型, 从免疫当天起给 C57BL/6 小鼠 (10 只/组) 口服

等体积的 P-1 (50mg/kg/天、25mg/kg/天) 或 P-2 (10mg/kg/天)、阳性对照药选择一种新型免疫抑制剂 FTY720 (化学名 2-amino-2[2-(4-octylphenyl)ethyl]-1,3-propanediol hydrochloride, 2-氨基-2-[2-(4-辛基苯基)乙基-1]-1,3-丙二醇盐酸盐) (0.5mg/kg/天) 或溶剂对照。每天每只小鼠按照所定标准评分(0分: 没有发病迹象; 1分: 尾巴无力或后肢无力; 2分: 尾巴无力和后肢无力; 3分: 后肢部分瘫痪; 4分: 后肢完全瘫痪; 5分: 处于濒死状态或死亡) 和称重。

结果如图 1、图 2 所示(A: 各组 EAE 发病率; B: 疾病评分; C: 体重变化, $*p<0.05$, $**p<0.01$), 研究结果显示, 模型组小鼠 100%发病, 疾病症状严重。相反, P-1 50mg/kg 和 25mg/kg 给药组, P-2 10 mg/kg 给药组小鼠发病率明显降低, 而且发病时间延迟(图 1A、1B; 图 2A、2B)。此外, EAE 发病的另外一个客观指标是体重减轻, P-1、P-2 口服给药能明显阻止小鼠体重下降(图 1C; 2C), 实验重复 3 次, 得到类似结果。这些结果提示, P-1 和 P-2 能够明显降低 EAE 的发病率, 减轻疾病的严重程度。

实施例 4 化合物 P-1 对实验性类风湿性关节炎动物模型的治疗作用

采用牛 II 型胶原(CII)诱导 DBA/1 小鼠关节炎模型。CII 溶于 0.1M 醋酸溶液, 于 4℃ 过夜。实验当天将等体积的含结核分枝杆菌菌株 (*Mycobacterium tuberculosis* strain) H37Rv 的 CFA 与 CII 胶原充分乳化混匀, 以 250μg 乳化剂于 DBA/1 小鼠尾基部进行致敏, 3 周后以同样剂量的乳化剂于尾部进行攻击。在攻击后一周确认模型小鼠发病, 开始每天口服灌胃给药 1 次, 连续 2 周, 给药剂量 20mg/kg。P-1 治疗组在以 CII 第二次免疫攻击小鼠后的第 7 天开始到第 21 天实验结束, 每天观察溶剂对照组和 P-1 治疗组中的每只小鼠关节炎病变严重程度。关节病变的严重程度通过评分标准(0分: 正常; 1分: 轻度红肿或足趾关节红肿; 2分: 中度红肿并延伸至整个足部;

3 分：较重红肿并延伸至踝关节；4 分：趾、足、踝均严重红肿，消退后关节强直）评定确定，每一肢体关节炎评分指数在 0-4 分之间，结果以四肢评分总和的平均值形式表示。在第二次免疫攻击后 21 天，P-1 给药 2 周后，取各组小鼠后肢，固定于中性福尔马林溶液中，石蜡包埋，切片，作苏木精-伊红 (Hematoxylin & eosin) 染色，光镜下观察病变关节组织的病理改变，根据病变组织的病变程度进行评分。图 3 为化合物 P-1 对小鼠关节炎病变严重程度的影响 (* $p<0.05$, ** $p<0.01$)。阳性对照药为氨甲喋呤 (MTX)。图 4、图 5 为 P-1 对小鼠关节炎病理改变的影响，其中 4A 为正常组小鼠踝关节组织切片 (400 $\times$)；4B 为溶剂对照组小鼠踝关节组织切片 (400 $\times$)；4C 为化合物 P-1 治疗组小鼠踝关节组织切片 (400 $\times$)；4D 为正常组小鼠踝关节 CT 断层扫描图；4E 为溶剂对照组小鼠踝关节 CT 断层扫描图；4F 为 P-1 治疗组小鼠踝关节 CT 断层扫描图。图 5A 为溶剂对照组小鼠踝关节显微 CT；图 5B 为 P-1 治疗组小鼠踝关节显微 CT。

实验结果表明，P-1 口服能够显著减轻关节炎病变的严重程度 (图 3)，显著减轻病变关节组织各方面的病理改变 (图 4、图 5)，溶剂对照组小鼠病变部位骨关节破坏，血管翳形成，滑膜增生，周围软组织中大量炎症细胞浸润 (图 4B)，出现明显骨溶解现象，后肢各部位骨骼骨密度下降，踝关节骨组织严重变形 (图 4E)。P-1 能够显著减轻骨溶解现象，无明显骨密度下降现象，关节部位无明显病理改变 (图 4C、4F)。

实施例 5 化合物 P-1 对 ConA 诱导的自身免疫性肝炎模型的预防和治疗作用

采用 ConA 诱导的肝炎模型。将 ConA 溶解于生理盐水，在小鼠肝损伤实验中，将 ConA 配制成 15 mg/kg 浓度；在小鼠生存率实验中，将 ConA 配制成 20 mg/kg 浓度。配制的 ConA 生理盐水溶液过 0.45 μ m 滤膜。

小鼠肝损伤实验：以生理盐水为对照，化合物 P-1 按 10 mg/kg 的剂量以腹腔注射的方式提前给药四次（即在 ConA 注射前倒数 3, 2, 1 天和 1 小时）。在小鼠尾静脉注射 0.2 ml 的 15 mg/kg 的 ConA 后的不同时间点收集小鼠血清，检测丙氨酸转氨酶(ALT)水平。结果如图 6A 所示，模型组小鼠的血清 ALT 水平在注射 ConA（15 mg/kg）后 3 小时开始升高，12 小时到达高峰，然后再下降；P-1 治疗组在各时间点均可以显著降低 ALT 水平，特别是在 6, 12 和 24 小时。

小鼠生存实验：在小鼠尾静脉注射 0.2 ml 的致死剂量（20 mg/kg）的 ConA，检测 P-1 是否能够提高小鼠的生存率。结果如图 6B 所示，在注射致死剂量的 ConA（20 mg/kg）后，模型组小鼠在 9 小时内全部死亡，而此时 P-1 治疗组小鼠生存率为 60%；在 48 小时后，P-1 治疗组小鼠生存率为 40%。

肝脏组织学检查结果显示 P-1 可以显著减缓 ConA 引起的肝脏损伤。如图 6C 所示，在溶剂治疗的肝炎小鼠中，肝脏出现大面积坏死和炎性细胞浸润；10 mg/kg P-1 预防给药明显缓解肝细胞坏死的症状。病理学评分结果也可以看出 P-1 对肝脏坏死和炎性细胞浸润具有显著保护作用（图 6D）。

根据报道，小鼠在对 ConA 的应答中，NKT 细胞释放了大量的细胞因子，包括 IL-4, IL-5, IFN- γ 以及 TNF- α ，各细胞因子出现和达到高峰的时间有所不同。IL-4 和 IFN- γ 被证明是在 ConA 诱导的小鼠肝损伤的发生发展过程中起着关键作用的细胞因子，因此我们着重检测了 P-1 是否能够影响这两种细胞因子的水平。如图 7 所示，在注射 ConA 后，P-1 预先给药治疗组在 2 小时和 6 小时均能降低血清中 70% 的 IL-4 水平；在 6 小时和 12 小时能分别降低血清中 60% 和 80% 的 IFN- γ 水平。

实施例 6 香加皮粗提物 WJ-C 对实验性类风湿性关节炎动物模型的治疗作用

实验动物来源：购自中国科学院上海实验动物中心，动物生产许可证号：

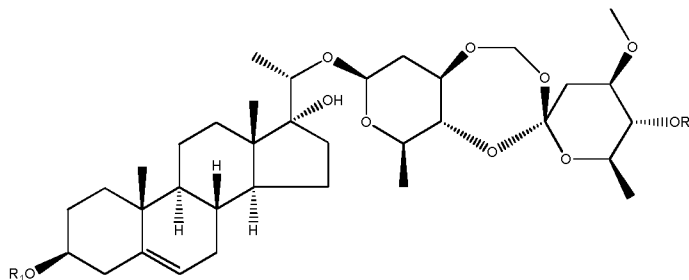
SCXK (沪) 2007-0005。

主要试剂: RPMI-1640 培养基购自 GibcoBRL 公司 (Life Technologies, Grand Island, NY, USA); 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 购自 Hyclone 公司 (Logan, Utah, USA); 牛 II 型胶原购自 Collagen Research Center (Tokyo, Japan); 弗氏完全佐剂含 Mycobacterium tuberculosis strain H37Rv, 购自 Wako Pure Chemical Industries Ltd (Osaka, Japan)。刀豆蛋白 A (concanavalin A, Con A) 购自 Sigma 公司。[甲基-3H]胸腺嘧啶核苷(TdR) 购自中国科学院上海应用物理研究所 (原上海原子核研究所) 放药中心。

采用牛 II 型胶原 (CII) 诱导 DBA/1 小鼠关节炎模型。CII 溶于 0.1M 醋酸溶液, 于 4℃ 过夜。实验当天将等体积的含结核分枝杆菌菌株 (Mycobacterium tuberculosis strain) H37Rv 的 CFA 与 CII 胶原充分乳化混匀, 以 250μg 乳化剂于 DBA/1 小鼠尾基部进行致敏, 3 周后以同样剂量的乳化剂于尾部进行攻击。在攻击后一周确认模型小鼠发病, 开始进行连续 2 周的口服给药治疗 [WJ-C: 12.5mg/kg、25mg/kg、52mg/kg; 氨甲喋呤 (MTX): 1mg/kg]。WJ-C 治疗组在以 CII 第二次免疫攻击小鼠后的第 7 天开始到第 21 天实验结束, 每天观察溶剂对照组和 WJ-C 治疗组中的每只小鼠关节炎病变严重程度。关节病变的严重程度通过评分标准 (0 分: 正常; 1 分: 轻度红肿或足趾关节红肿; 2 分: 中度红肿并延伸至整个足部; 3 分: 较重红肿并延伸至踝关节; 4 分: 趾、足、踝均严重红肿, 消退后关节强直) 评定确定, 每一肢体关节炎评分指数在 0-4 分之间, 结果以四肢评分的总和表示。图 8 为 WJ-C 对小鼠关节炎病变严重程度的影响, 结果显示, WJ-C 浓度依赖性抑制小鼠关节炎的发展。

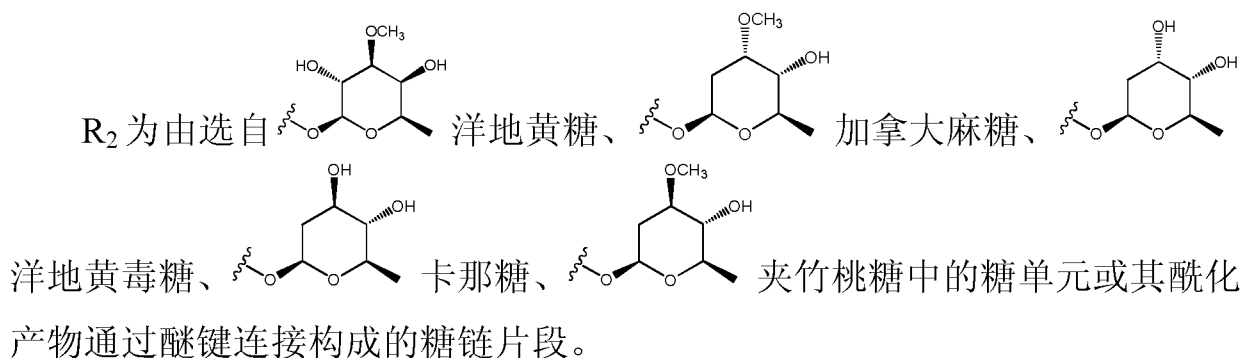
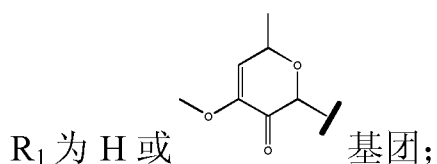
权利要求

1、一类含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物，其由如下通式I表示：

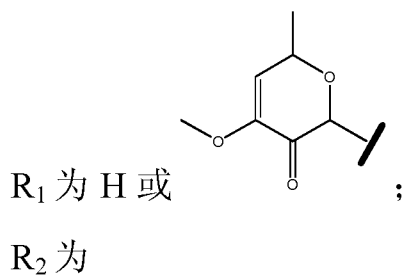


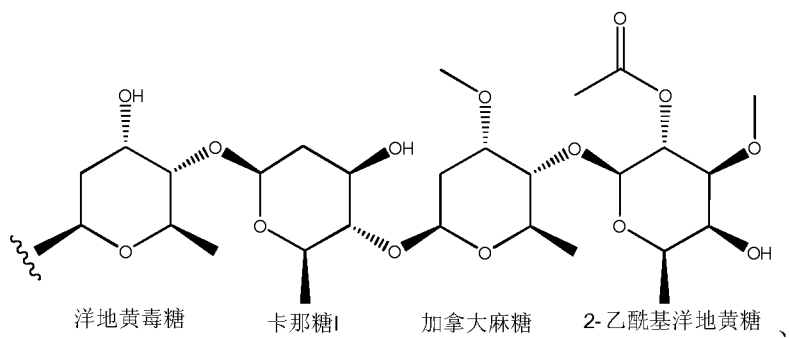
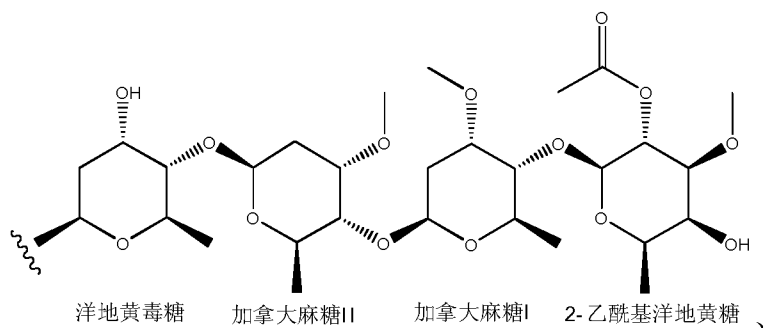
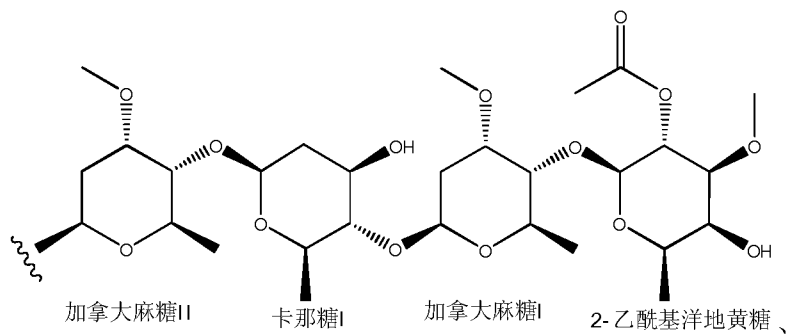
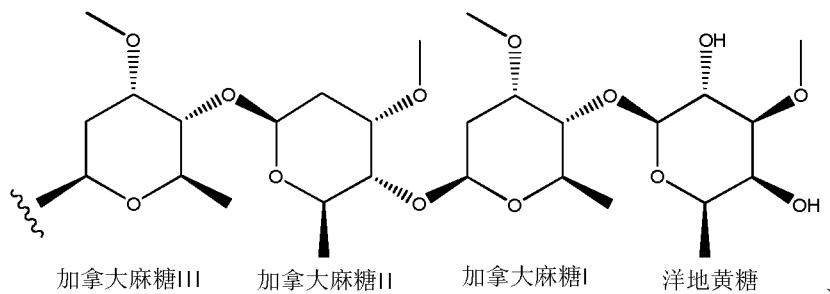
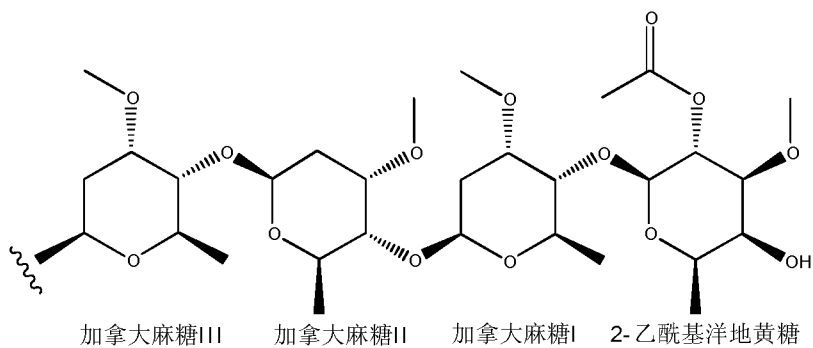
通式 I

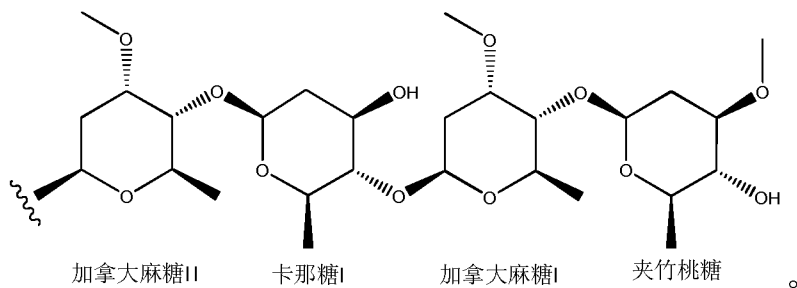
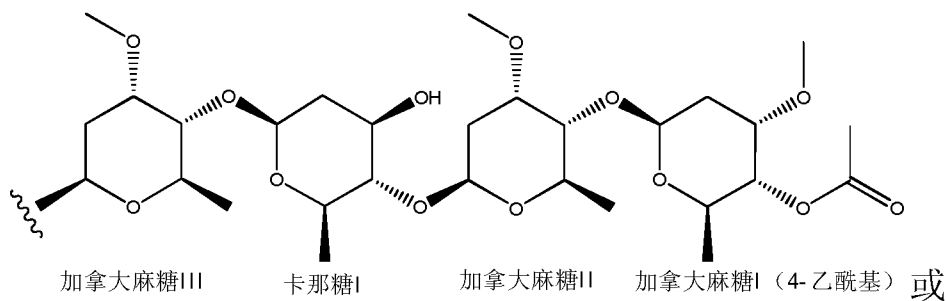
其中：



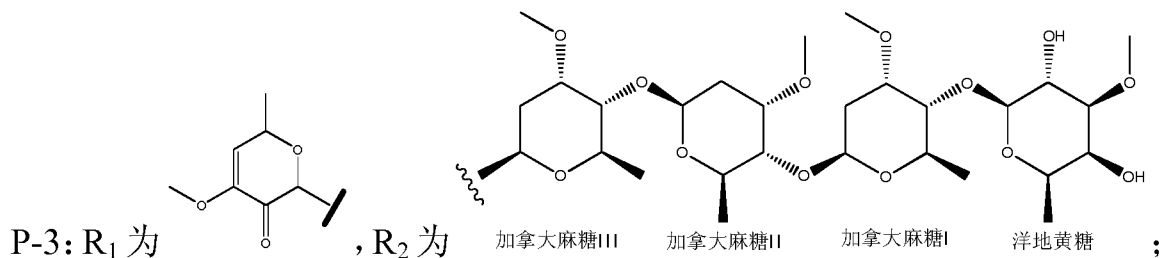
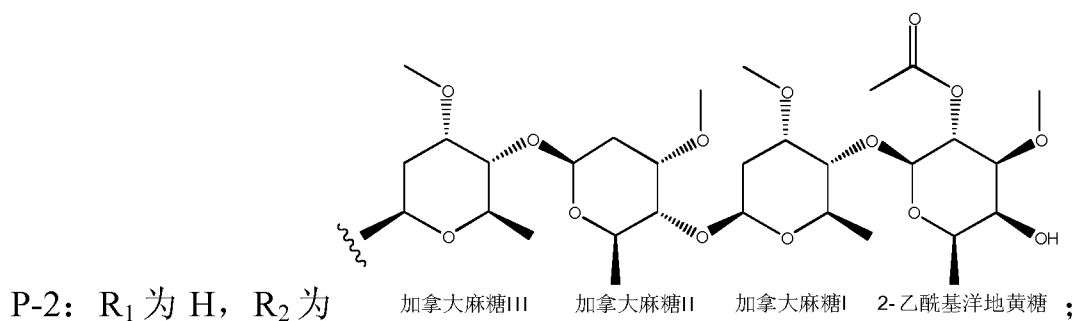
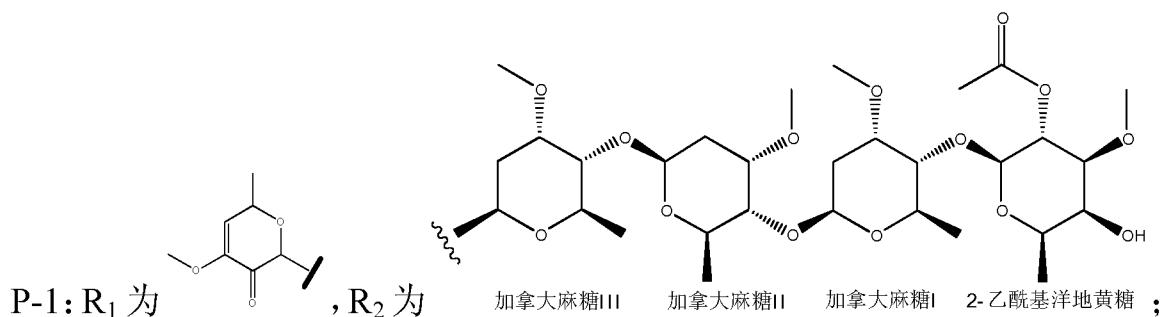
2、如权利要求 1 所述的含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物，其特征在于，通式 I 中：

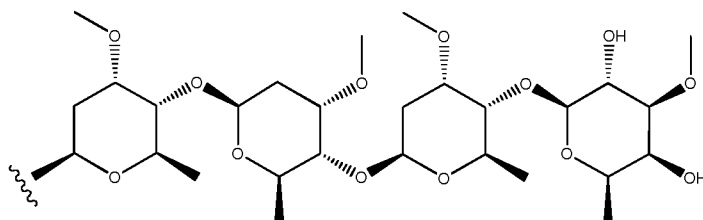




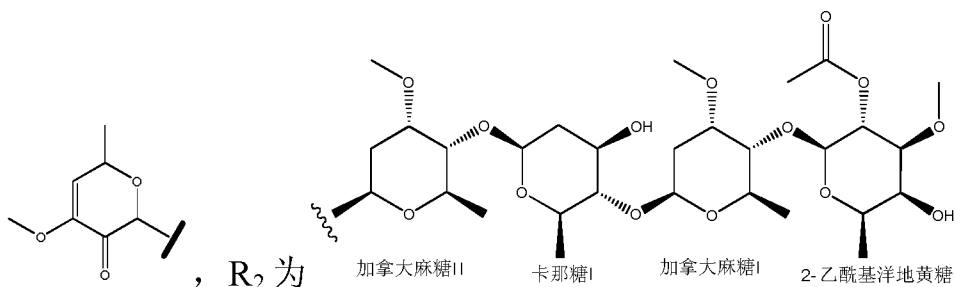


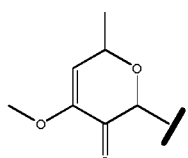
3、如权利要求 1 所述的含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物，其选自下列化合物中：

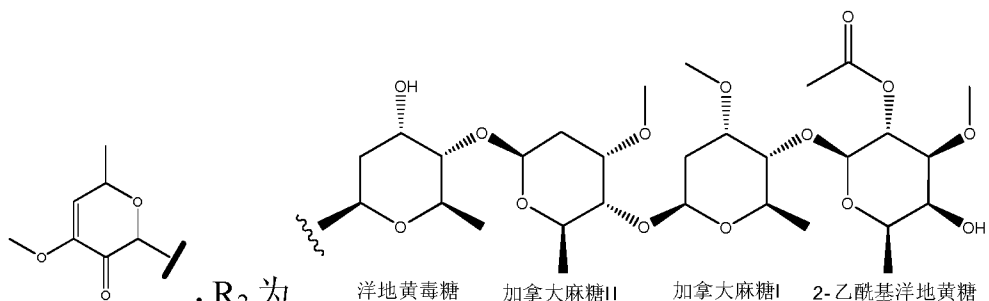


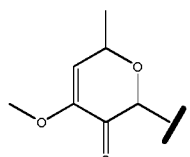


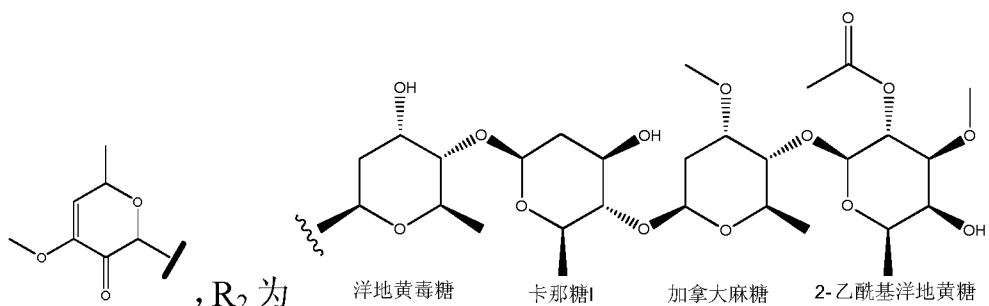
P-4: R_1 为 H, R_2 为 加拿大麻糖III 加拿大麻糖II 加拿大麻糖I 洋地黄糖 ;

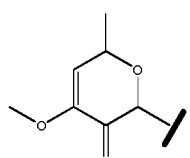


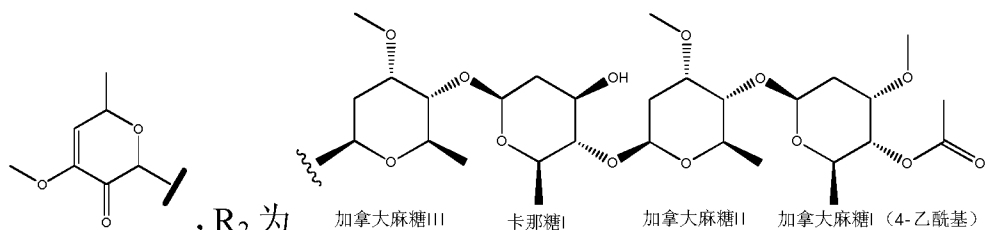
P-5: R_1 为 , R_2 为 加拿大麻糖II 卡那糖I 加拿大麻糖I 2-乙酰基洋地黄糖 ;

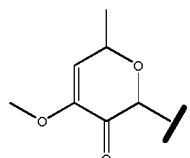


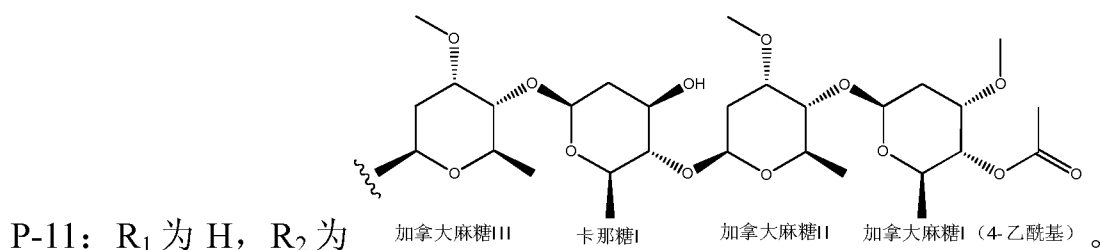
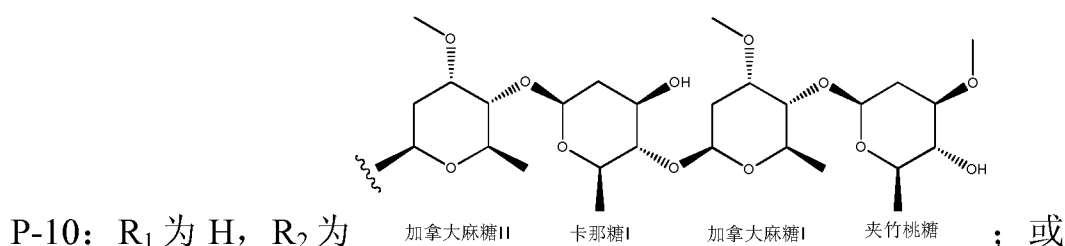
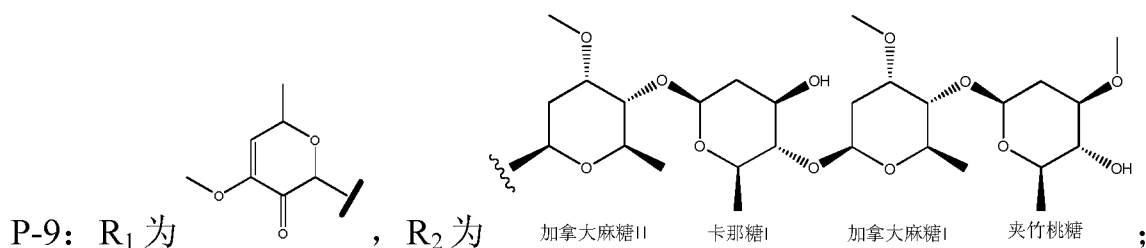
P-6: R_1 为 , R_2 为 洋地黄毒糖 加拿大麻糖II 加拿大麻糖I 2-乙酰基洋地黄糖 ;



P-7: R_1 为 , R_2 为 洋地黄毒糖 卡那糖I 加拿大麻糖 2-乙酰基洋地黄糖 ;



P-8: R_1 为 , R_2 为 加拿大麻糖III 卡那糖I 加拿大麻糖II 加拿大麻糖I (4-乙酰基) ;



4、一种药物组合物，其包含治疗有效量的如权利要求 1 至 3 中任一项所述的一种或多种含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物作为活性成分。

5、一种从杠柳属植物中提取如权利要求 3 所述的含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物的方法，其包括下列步骤：

(一) 提取化合物 P-1、P-2、P-5、P-6、P-7、P-3 和 P-4

(1) 将香加皮药材用 95%乙醇回流提取三次，减压浓缩提取液得到乙醇浸膏，加入水悬浮，依次用氯仿和正丁醇萃取，得到氯仿部位浸膏和正丁醇部位浸膏，氯仿部位浸膏经硅胶柱层析分离，以石油醚-丙酮体积比依次为 5:1、2:1、1:1、0:1 梯度洗脱得流分 Fr1、Fr2、Fr3 和 Fr4；

(2) 流分 Fr3 经反相 C_{18} 柱层析，以甲醇-水梯度洗脱，体积比依次为 1:1、2:1、3:1、4:1、1:0，得次流分 Fr3.1、Fr3.2、Fr3.3、Fr3.4；

(3) 次流分 Fr3.4 经反相 C_{18} 制备液相色谱，以甲醇-水梯度洗脱，体积比依次为 2:3、1:1、2:1、3:1、4:1 和 1:0，得 P-1、P-2、P-5、P-6；流分 Fr4 经

反相 C_{18} 制备液相色谱，以甲醇-水梯度洗脱，体积比依次为 3:7、2:3、1:1、2:1、3:1 和 4:1，得 P-3、P-4、P-7；

(二) 提取化合物 P-8、P-9、P-10 和 P-11

(1) 将黑骨藤根用 95% 的乙醇室温浸提，减压蒸馏浓缩成浸膏，并用水分散悬浮，之后依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取，分别得到石油醚部位浸膏、乙酸乙酯部位浸膏和正丁醇部位浸膏；

(2) 将乙酸乙酯部位浸膏进行反相 C_{18} 柱层析，用甲醇-水梯度洗脱，体积比依次为 1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 和 1:0，得到 Fr1-Fr6 六个流分；

(3) 流分 Fr5 用 Sephadex LH-20 除杂，然后以氯仿-丙酮体积比依次为 8:1、7:1、6:1 的洗脱剂进行硅胶柱层析得到 P-8、P-9、P-10 和 P-11。

6、如权利要求 1 至 3 中任一项所述的含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷类化合物在制备免疫抑制剂中的用途。

7、如权利要求 6 所述的用途，其中，所述免疫抑制剂用于治疗 and/或预防细胞/器官移植后排斥反应或自身免疫性疾病。

8、如权利要求 7 所述的用途，其中，所述自身免疫性疾病为多发性硬化症、类风湿关节炎和自身免疫性肝炎。

9、一种富含含有原酸酯基团的孕甾烷糖苷的香加皮粗提物，其通过下述方法得到：

将香加皮药材用 95% 乙醇回流提取三次，减压浓缩提取液得到乙醇浸膏，向乙醇浸膏加入水，放置沉淀，离心分离，沉淀以石油醚洗涤，再用乙醇溶解、静置，过滤，取上清液，配成 70% 乙醇溶液，进行大孔树脂柱色谱分离，收集 90% 乙醇的洗脱流分，浓缩，即得。

附图

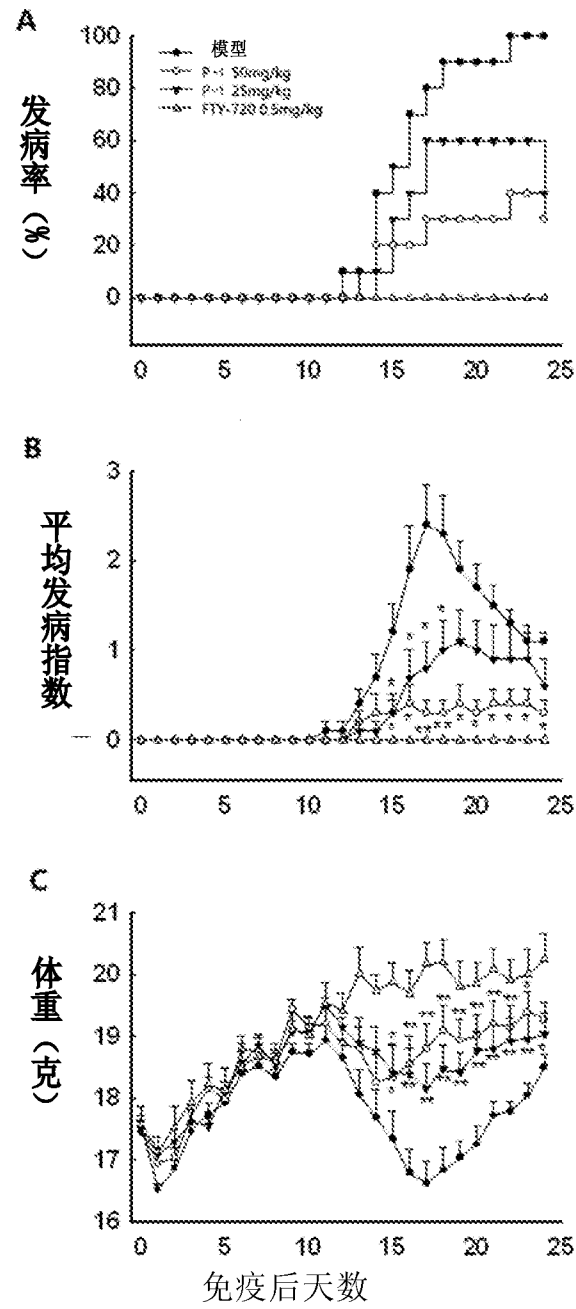


图 1

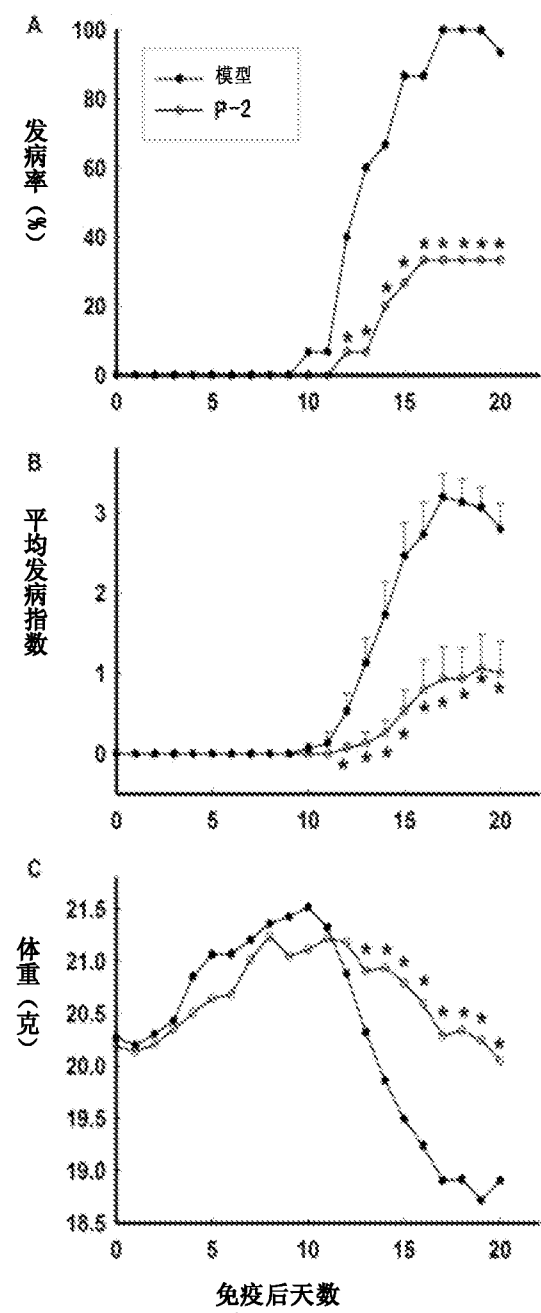


图 2

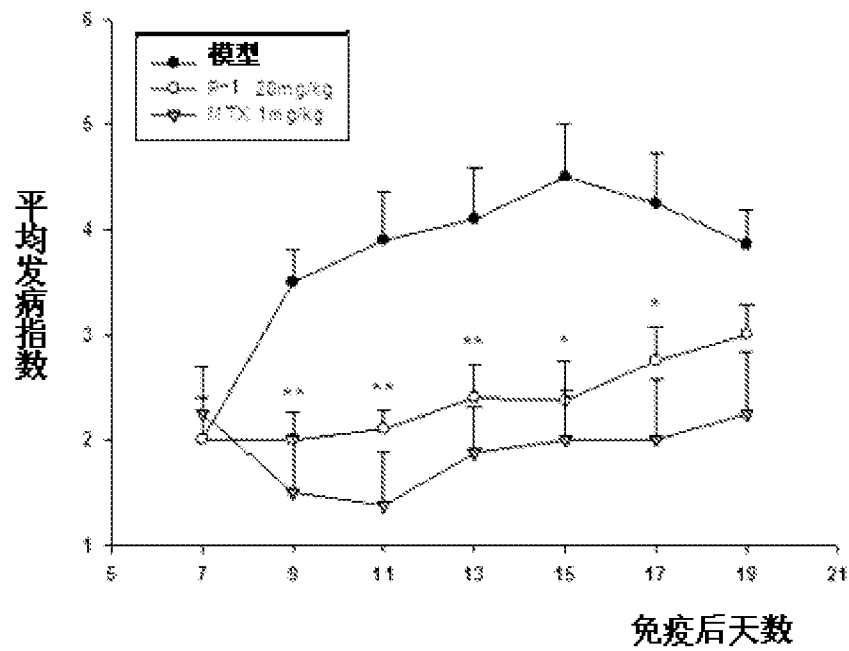


图 3

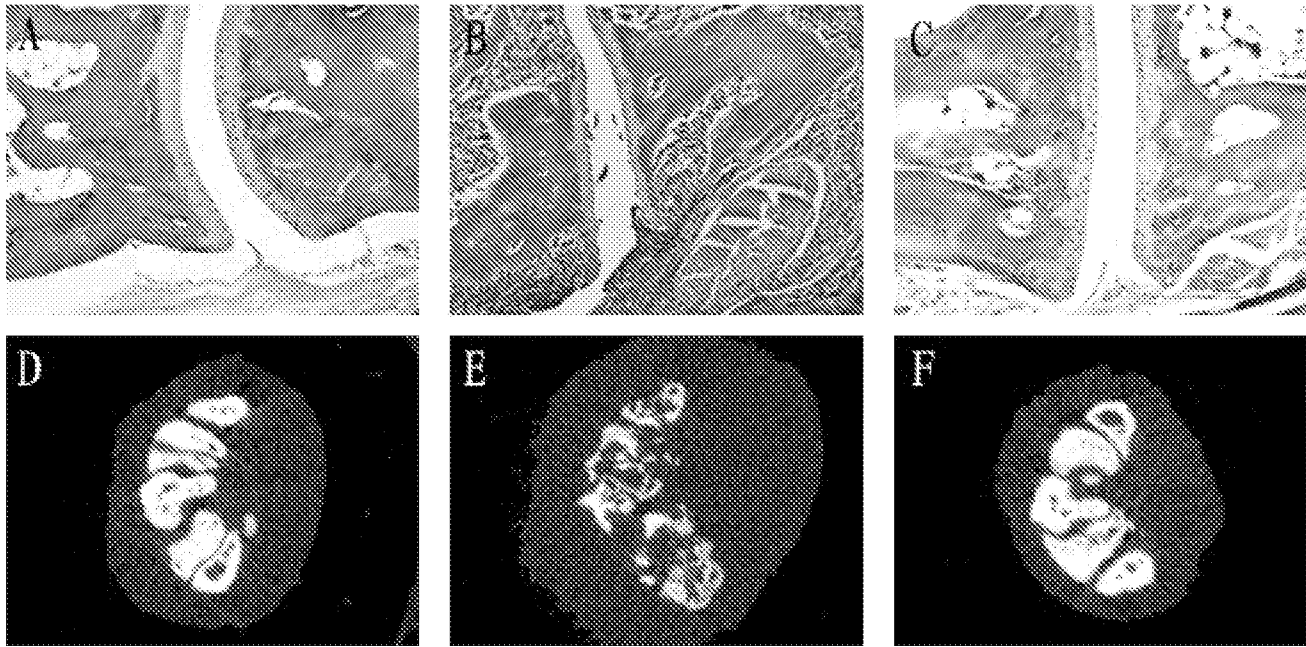


图 4

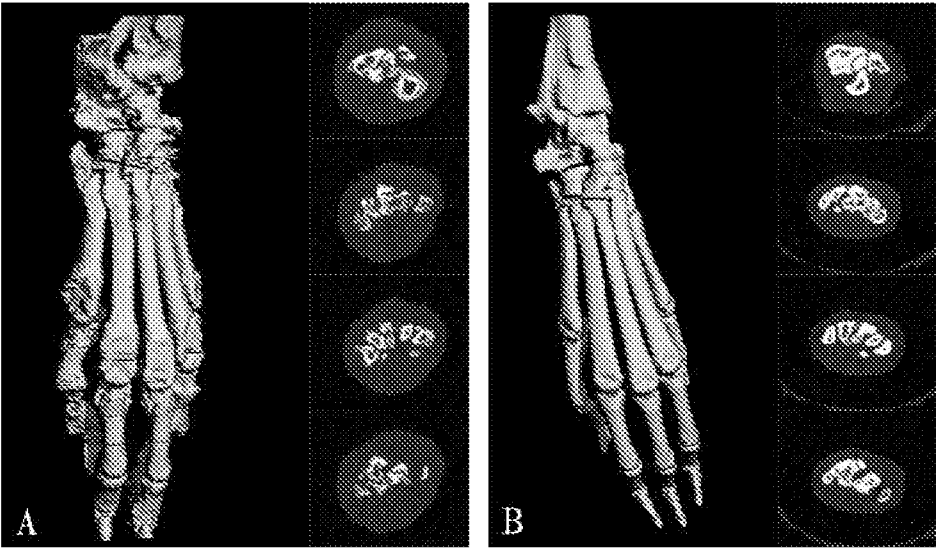


图 5

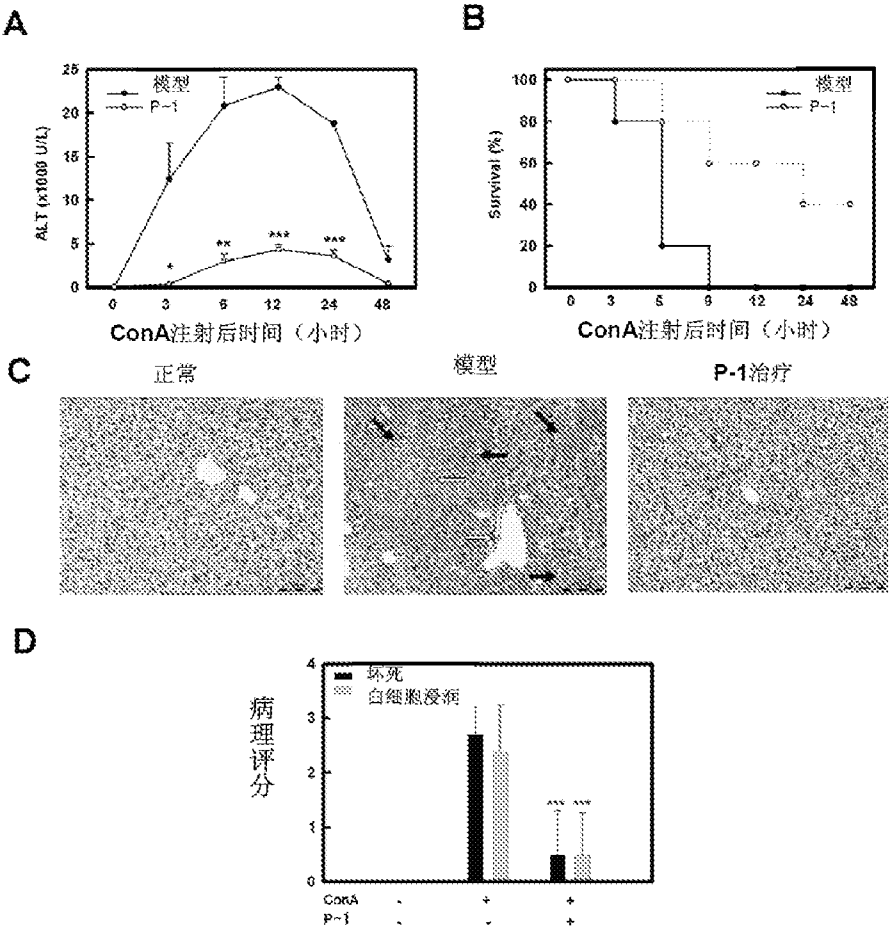


图 6

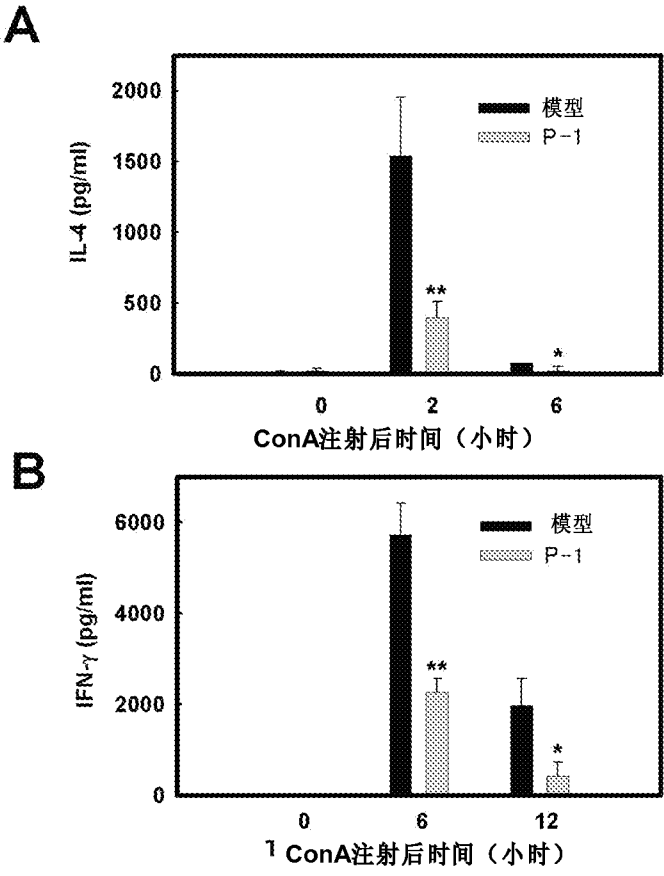


图 7

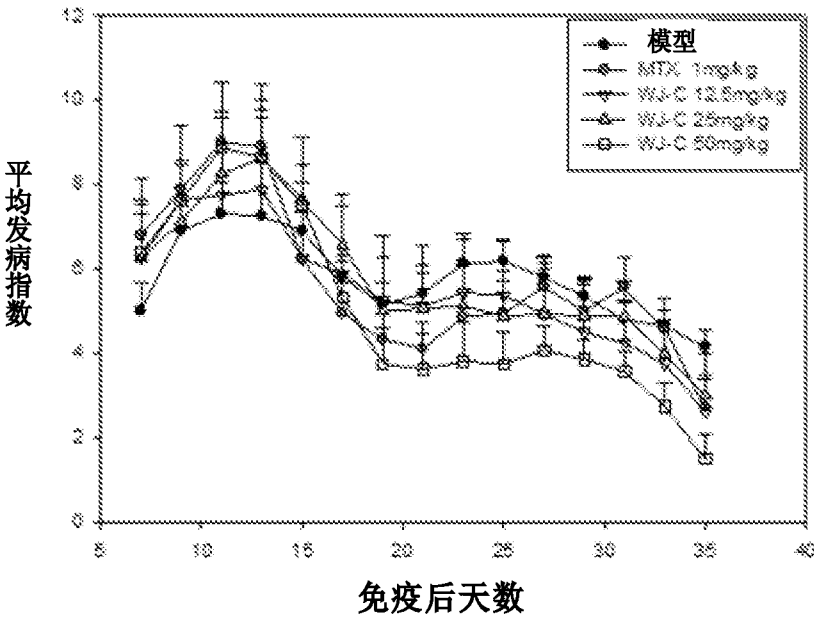


图 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2011/002023

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See the extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07J 5/-, A61K 31/58, A61K 36/27

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, CNKI, CNPAT, REG, CAPLUS: orthoester, Periploca sepium, Periploca forrestii Schltr, ethanol, +pregn+, glycoside?, pyrano s trioxepin+, periplocoside?, periperoxide?, Periploc+, sepium, macroporous resin, immuno+, the structure of formula (I)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	WANG, Luoyi et al., Structural revision of periplocosides and periperioxides, natural immunosuppressive agents from the genus Periploca, PHYTOCHEMISTRY (ELSEVIER), vol. 72, no. 17, pages 2230-2236, 16 August 2011 (16.08.2011), see the whole document	1-4, 6-8
X	FENG, Jiaquan et al., Immunosuppressive pregnane glycosides from Periploca sepium and Periploca forrestii, PHYTOCHEMISTRY (ELSEVIER) (2008), vol. 69, no. 15, pages 2716-2723, see figure 1, and tables 4 and 3.2-3.4	1-4, 6-8
A		5, 9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“&” document member of the same patent family
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 23 February 2012 (23.02.2012)	Date of mailing of the international search report 15 March 2012 (15.03.2012)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Fax No.: (86-10) 62019451	Authorized officer YANG, Yi Telephone No.: (86-10) 62086352

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2011/002023

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 1939324 A (SHANGHAI INSTITUTE OF MATERIA MEDICA, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES), 04 April 2007 (04.04.2007), see claims 1-9, and description, pages 2-5	1-4, 6-8
A	CN 1593503 A (TIANJIN UNIVERSITY OF TRADITIONAL CHINESE MEDICINE), 16 March 2005 (16.03.2005), see claims 1-8	9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2011/002023

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 1939324 A	04.04.2007	WO 2007036113 A1	05.04.2007
CN 1593503 A	16.03.2005	None	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2011/002023

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

C07J 5/00 (2006.01) i

A61K 31/58 (2006.01) i

A61P 37/06 (2006.01) i

A61P 19/02 (2006.01) i

A61P 1/16 (2006.01) i

A61K 36/27 (2006.01) i

A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: C07J5/-, A61K31/58, A61K36/27

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

WPI, EPODOC, CNKI, CNPAT, REG, CAPLUS, 孕甾, 原酸酯, 糖苷, 杠柳, 香加皮, 五加皮, 黑骨藤, 乙醇, 大孔树脂, 免疫, +pregn+, glycoside?, pyrano s trioxepin+, periplocoside?, periperoxide?, Periploc+, sepium, macroporous resin, immuno+, 式(I)的结构

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	Luo-Yi Wang等, Structural revision of periplocosides and periperoxides, natural immunosuppressive agents from the genus Periploca, Phytochemistry (Elsevier), 第72卷, 第17期, 第2230-2236页, 16. 8月 2011 (16.08.2011), 参见全文	1-4, 6-8
X	Jiaquan Feng等, Immunosuppressive pregnane glycosides from Periploca sepium and Periploca forrestii, Phytochemistry (Elsevier) (2008), 第69卷, 第15期, 第2716-2723页, 参见图1、表4和3.2-3.4	1-4, 6-8
A		5, 9

☒ 其余文件在 C 栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

23.2 月 2012 (23.02.2012)

国际检索报告邮寄日期

15.3 月 2012 (15.03.2012)

ISA/CN 的名称和邮寄地址:

中华人民共和国国家知识产权局

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号100088

传真号: (86-10)62019451

受权官员

杨轶

电话号码: (86-10) 62086352

C(续). 相关文件		
类 型	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN1939324A (中国科学院上海药物研究所), 04.4 月 2007 (04.04.2007), 参见权利要求 1-9 和说明书第 2-5 页	1-4, 6-8
A	CN1593503A (天津中医学院), 16.3 月 2005 (16.03.2005) 参见权利要求 1-8	9

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2011/002023

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN1939324A	04.04.2007	WO2007036113A1	05.04.2007
CN1593503A	16.03.2005	无	

A. 主题的分类

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

C07J 5/00(2006.01)i

A61K 31/58(2006.01)i

A61P 37/06(2006.01)i

A61P 19/02(2006.01)i

A61P 1/16(2006.01)i

A61K36/27(2006.01)i