



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105712983 A

(43)申请公布日 2016.06.29

(21)申请号 201610258201.0

(22)申请日 2016.04.23

(71)申请人 吴珺

地址 213001 江苏省常州市钟楼区清潭嘉苑4幢乙单元302室

(72)发明人 吴珺

(74)专利代理机构 长沙星耀专利事务所 43205

代理人 许伯严

(51)Int.Cl.

C07D 407/06(2006.01)

A61K 31/4412(2006.01)

A61K 31/366(2006.01)

A61P 3/10(2006.01)

A61P 13/12(2006.01)

权利要求书1页 说明书6页

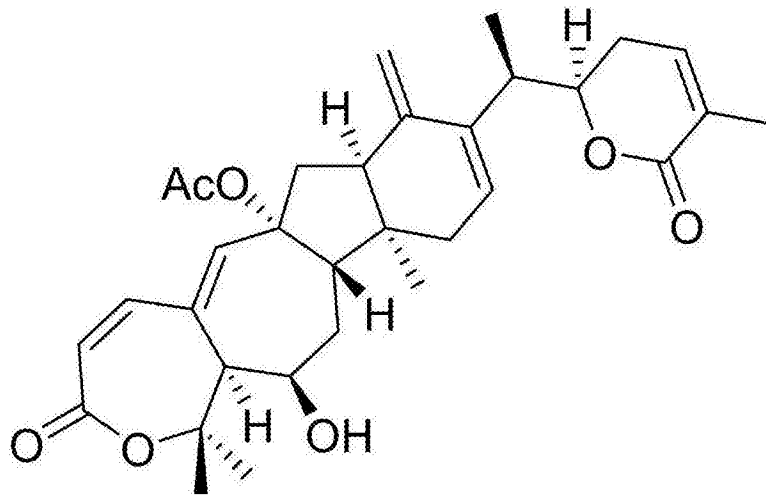
(54)发明名称

一种环吡酮胺的药物组合物及其医药用途

(57)摘要

本发明公开了一种环吡酮胺的药物组合物及其医药用途,本发明提供的环吡酮胺的药物组合物中含有环吡酮胺和一种结构新颖的天然产物化合物(I),环吡酮胺、化合物(I)可保护大鼠的抗氧化酶活性、清除自由基、抑制脂质过氧化反应,提示抗氧化是环吡酮胺、化合物(I)保护DM大鼠肾脏的机制之一。环吡酮胺和化合物(I)联合使用后,对2型糖尿病大鼠的血脂调节作用和肾脏保护作用进一步提高,早期应用可有效地延缓糖尿病肾脏病变的发生和发展,可以开发成治疗糖尿病肾脏病变的药物,与现有技术相比具有突出的实质性特点和显著的进步。

1. 一种具有下述结构式的化合物(I),



2. 一种环吡酮胺的药物组合物,其特征在於:包括环吡酮胺、如权利要求1所述的化合物(I)和药学上可以接受的载体,制备成需要的剂型。

3. 根据权利要求2所述的环吡酮胺的药物组合物,其特征在於:药学上可以接受的载体包括稀释剂、赋形剂、填充剂、粘合剂、湿润剂、崩解剂、吸收促进剂、表面活性剂、吸附载体或润滑剂。

4. 根据权利要求2所述的环吡酮胺的药物组合物,其特征在於:所述剂型包括片剂、胶囊剂、口服液、口含剂、颗粒剂、冲剂、丸剂、散剂、膏剂、丹剂、混悬剂、粉剂、溶液剂、注射剂、栓剂、喷雾剂、滴剂或贴剂。

5. 权利要求1所述的化合物(I)的制备方法,其特征在於,包含以下操作步骤:(a)将紫苑粉碎,用75~85%乙醇热回流提取,合并提取液,浓缩至无醇味,依次用石油醚、乙酸乙酯和水饱和的正丁醇萃取,分别得到石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物和正丁醇萃取物;(b)步骤(a)中正丁醇萃取物用大孔树脂除杂,先用10%乙醇洗脱8个柱体积,再用70%乙醇洗脱10个柱体积,收集70%洗脱液,减压浓缩得70%乙醇洗脱浓缩物;(c)步骤(b)中70%乙醇洗脱浓缩物用正相硅胶分离,依次用体积比为60:1、30:1、15:1和5:1的二氯甲烷-甲醇梯度洗脱得到4个组分;(d)步骤(c)中组分4用正相硅胶进一步分离,依次用体积比为8:1、4:1和2:1的二氯甲烷-甲醇梯度洗脱得到3个组分;(e)步骤(d)中组分2用十八烷基硅烷键合的反相硅胶分离,用体积百分浓度为75%的甲醇水溶液等度洗脱,收集10~15个柱体积洗脱液,洗脱液减压浓缩得到化合物(I)。

6. 根据权利要求5所述的化合物(I)的制备方法,其特征在於:步骤(a)用80%乙醇热回流提取,合并提取液。

7. 根据权利要求5所述的化合物(I)的制备方法,其特征在於:所述大孔树脂为D101型大孔吸附树脂。

8. 根据权利要求5所述的化合物(I)的制备方法,其特征在於:步骤(a)中用二氯甲烷代替乙酸乙酯进行萃取,得到二氯甲烷萃取物。

9. 权利要求1所述的化合物(I)在制备治疗糖尿病肾病的药物中的应用。

10. 权利要求2~4任一所述的环吡酮胺的药物组合物在制备治疗糖尿病肾病的药物中的应用。

一种环吡酮胺的药物组合物及其医药用途

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药领域,涉及环吡酮胺的新用途,具体涉及一种环吡酮胺的药物组合物及其医药用途。

背景技术

[0002] 环吡酮胺为广谱抗真菌药,主要通过改变真菌细胞膜的完整性,引起细胞内物质外流,并阻断蛋白质前体物质的摄取,导致真菌细胞死亡,对皮肤癣菌、酵母菌、霉菌等具有较强的抑菌和杀菌作用,渗透性强。对各种放线菌、革兰阳性和革兰阴性菌及支原体、衣原体、毛滴虫等也有一定抑制作用。

[0003] 迄今为止,尚未见环吡酮胺及其药物组合物与糖尿病心肌病的相关性报道。

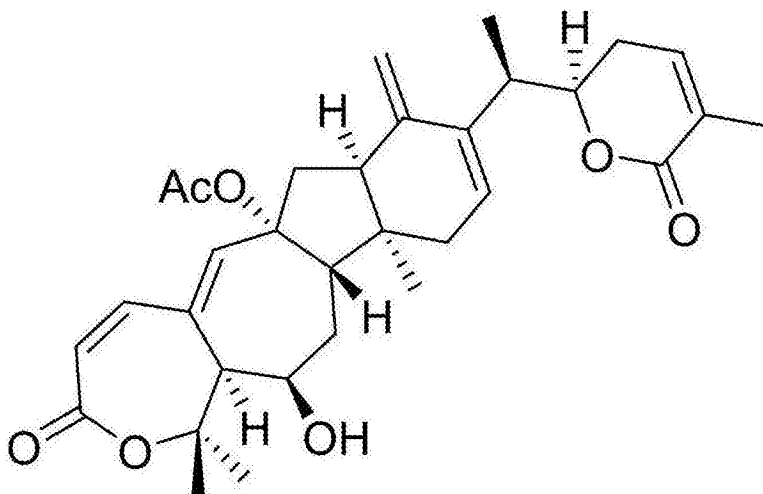
发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一种环吡酮胺的药物组合物,该药物组合物中含有环吡酮胺和一种天然产物,环吡酮胺和该天然产物可以协同治疗糖尿病肾病。

[0005] 本发明的上述目的是通过下面的技术方案得以实现的:

[0006] 一种具有下述结构式的化合物(I),

[0007]



[0008] 一种环吡酮胺的药物组合物,包括环吡酮胺、如权利要求1所述的化合物(I)和药学上可以接受的载体,制备成需要的剂型。

[0009] 进一步地,药学上可以接受的载体包括稀释剂、赋形剂、填充剂、粘合剂、湿润剂、崩解剂、吸收促进剂、表面活性剂、吸附载体或润滑剂。

[0010] 进一步地,所述剂型包括片剂、胶囊剂、口服液、口含剂、颗粒剂、冲剂、丸剂、散剂、膏剂、丹剂、混悬剂、粉剂、溶液剂、注射剂、栓剂、喷雾剂、滴剂或贴剂。

[0011] 上述化合物(I)的制备方法,包含以下操作步骤:(a)将紫苑粉碎,用75~85%乙醇热回流提取,合并提取液,浓缩至无醇味,依次用石油醚、乙酸乙酯和水饱和的正丁醇萃取,分别得到石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物和正丁醇萃取物;(b)步骤(a)中正丁醇萃取物用

大孔树脂除杂,先用10%乙醇洗脱8个柱体积,再用70%乙醇洗脱10个柱体积,收集70%洗脱液,减压浓缩得70%乙醇洗脱浓缩物;(c)步骤(b)中70%乙醇洗脱浓缩物用正相硅胶分离,依次用体积比为60:1、30:1、15:1和5:1的二氯甲烷-甲醇梯度洗脱得到4个组分;(d)步骤(c)中组分4用正相硅胶进一步分离,依次用体积比为8:1、4:1和2:1的二氯甲烷-甲醇梯度洗脱得到3个组分;(e)步骤(d)中组分2用十八烷基硅烷键合的反相硅胶分离,用体积百分浓度为75%的甲醇水溶液等度洗脱,收集10~15个柱体积洗脱液,洗脱液减压浓缩得到化合物(I)。

[0012] 进一步地,化合物(I)的制备方法中,步骤(a)用80%乙醇热回流提取,合并提取液。

[0013] 进一步地,化合物(I)的制备方法中,所述大孔树脂为D101型大孔吸附树脂。

[0014] 进一步地,化合物(I)的制备方法中,步骤(a)中用二氯甲烷代替乙酸乙酯进行萃取,得到二氯甲烷萃取物。

[0015] 上述化合物(I)在制备治疗糖尿病肾病的药物中的应用。

[0016] 上述环吡酮胺的药物组合物在制备治疗糖尿病肾病的药物中的应用。

[0017] 本发明的优点:

[0018] 本发明提供的环吡酮胺的药物组合物中含有环吡酮胺和一种结构新颖的天然产物,环吡酮胺和该天然产物单独作用时,具有治疗糖尿病肾病作用;二者联合作用时,治疗糖尿病肾病作用更强,可以开发成治疗糖尿病肾病的药物。本发明与现有技术相比具有突出的实质性特点和显著的进步。

具体实施方式

[0019] 下面结合实施例进一步说明本发明的实质性内容,但并不以此限定本发明保护范围。尽管参照较佳实施例对本发明作了详细说明,本领域的普通技术人员应当理解,可以对本发明的技术方案进行修改或者等同替换,而不脱离本发明技术方案的实质和范围。

[0020] 实施例1:化合物(I)分离制备及结构确证

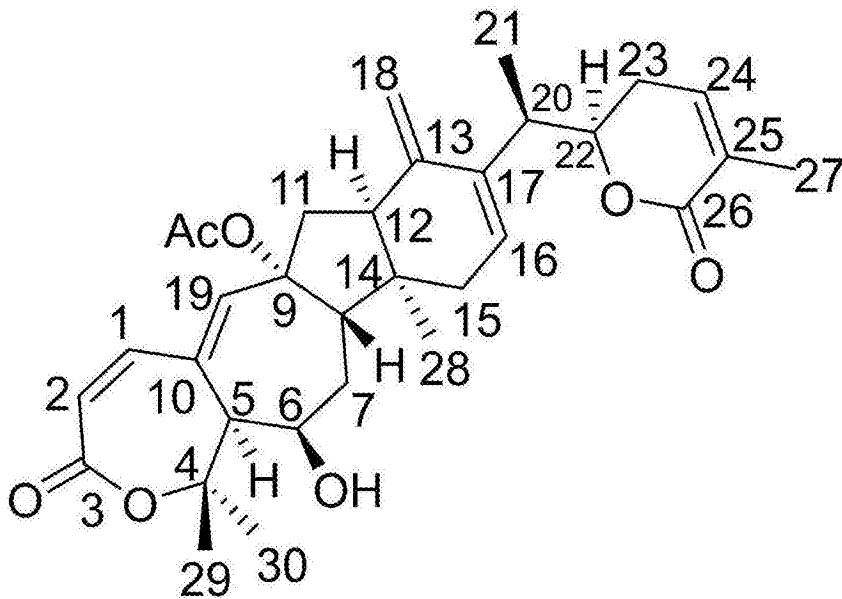
[0021] 试剂来源:乙醇、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、二氯甲烷为分析纯,购自上海凌峰化学试剂有限公司,甲醇,分析纯,购自江苏汉邦化学试剂有限公司。

[0022] 分离方法:(a)将紫苑(2kg)粉碎,用80%乙醇热回流提取(15L×3次),合并提取液,浓缩至无醇味(3L),依次用石油醚(3L×3次)、乙酸乙酯(3L×3次)和水饱和的正丁醇(3L×3次)萃取,分别得到石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物和正丁醇萃取物;(b)步骤(a)中正丁醇萃取物用D101型大孔树脂除杂,先用10%乙醇洗脱8个柱体积,再用70%乙醇洗脱10个柱体积,收集70%洗脱液,减压浓缩得70%乙醇洗脱浓缩物;(c)步骤(b)中70%乙醇洗脱浓缩物用正相硅胶分离,依次用体积比为60:1(10个柱体积)、30:1(8个柱体积)、15:1(10个柱体积)和5:1(8个柱体积)的二氯甲烷-甲醇梯度洗脱得到4个组分;(d)步骤(c)中组分4用正相硅胶进一步分离,依次用体积比为8:1(10个柱体积)、4:1(8个柱体积)和2:1(6个柱体积)的二氯甲烷-甲醇梯度洗脱得到3个组分;(e)步骤(d)中组分2用十八烷基硅烷键合的反相硅胶分离,用体积百分浓度为75%的甲醇水溶液等度洗脱,收集10~15个柱体积洗脱液,洗脱液减压浓缩得到化合物(I)(HPLC归一化纯度大于98%)。

[0023] 结构确证:HR-ESI-MS显示[M+H]⁺为m/z 537.2774,结合核磁特征可得分子式为

$C_{32}H_{40}O_7$, 不饱和度为13。核磁共振氢谱数据 δ_H (ppm, pyridine- d_5 , 500MHz): H-1(6.94, d, $J=12.3$ Hz), H-2(6.02, d, $J=12.3$ Hz), H-5(4.21, s), H-6(3.52, d, $J=6.0$ Hz), H-7a(2.53, dd, $J=2.0, 15.1$ Hz), H-7b(2.74, m), H-8(2.00, m), H-11a(1.93, dd, $J=8.2, 13.1$ Hz), H-11b(1.85, dd, $J=10.9, 13.1$ Hz), H-12(2.74, dd, $J=8.2, 10.9$ Hz), H-15a(1.62, dd, $J=3.0, 15.9$ Hz), H-15b(2.01, m), H-16(5.63, d, $J=3.0$ Hz), H-18a(5.15, s), H-18b(4.92, s), H-19(6.26, s), H-20(2.99, m), H-21(1.01, d, $J=7.2$ Hz), H-22(4.46, m), H-23a(2.03, m), H-23b(2.22, m), H-24(6.34, d, $J=6.0$ Hz), H-27(1.81, s), H-28(1.21, s), H-29(1.48, s), H-30(1.47, s), 9-OAc(1.97, s); 核磁共振碳谱数据 δ_C (ppm, pyridine- d_5 , 125MHz): 145.1(CH, 1-C), 118.2(CH, 2-C), 166.4(C, 3-C), 80.7(C, 4-C), 50.8(CH, 5-C), 67.8(CH, 6-C), 32.0(CH₂, 7-C), 50.2(CH, 8-C), 79.2(C, 9-C), 140.4(C, 10-C), 53.2(CH₂, 11-C), 53.6(CH, 12-C), 148.7(C, 13-C), 42.4(C, 14-C), 38.3(CH₂, 15-C), 124.8(CH, 16-C), 139.4(C, 17-C), 108.5(CH₂, 18-C), 144.1(CH, 19-C), 39.9(CH, 20-C), 15.3(CH₃, 21-C), 81.4(CH, 22-C), 25.8(CH₂, 23-C), 139.7(CH, 24-C), 128.5(C, 25-C), 166.2(C, 26-C), 16.8(CH₃, 27-C), 27.2(CH₃, 28-C), 29.7(CH₃, 29-C), 26.4(CH₃, 30-C), 21.9(CH₃, COCH₃-C), 171.8(C, COCH₃-C)。红外波谱中的 1695cm^{-1} 和 1700cm^{-1} 吸收带显示该化合物含有 α, β -不饱和内酯结构。UV谱中的225nm以及276nm吸收带表明该化合物具有几个共轭系统。¹³C-NMR、DEPT和HSQC谱中显示有32个碳信号, 包括十个季碳信号(四个烯碳信号, 两个连氧碳信号和三个羰基碳), 六个甲基(一个乙酰甲基), 五个亚甲基(一个烯属亚甲基), 十一个次甲基(两个连氧碳和五个烯烃碳)。以上官能团再结合不饱和数表明该化合物具有5个环状结构。¹H-NMR谱结合HSQC谱显示五个甲基质子信号 δ_H 1.01(1H, d, $J=7.2$ Hz), 1.81(1H, s), 1.21(1H, s), 1.48(1H, s), 1.47(1H, s), 一个乙酰基甲基质子信号 δ_H 1.97(3H, s), 一个环外烯属亚甲基质子信号 δ_H 5.15(1H, s)和4.92(1H, s), 五个烯烃质子信号 δ_H 6.94(1H, d, $J=12.3$ Hz), 6.02(1H, d, $J=12.3$ Hz), 5.63(1H, d, $J=3.0$ Hz), 6.26(1H, s), 6.34(1H, d, $J=6.0$ Hz), 两个含氧碳信号 δ_H 3.52(1H, d, $J=6.0$ Hz)和4.46(1H, m), 综合以上信息可以得出该化合物为一个三萜类化合物。HMBC谱中OH-6与C-6的相关性说明C-6位连接一个羟基, 而C-9位碳信号向高场位移说明乙酰基的位置在C-9位。综合氢谱、碳谱、HMBC谱和ROESY谱, 以及文献关于相关类型核磁数据, 可基本确定该化合物如下所示, 立体构型进一步通过ECD试验确定, 理论值与实验值基本一致。该化合物化学式及碳原子编号如下:

[0024]



[0025] 实施例2:药理作用

[0026] 1、材料与amp;方法

[0027] 1.1动物

[0028] 3~4月龄Wistar大鼠40只,雌雄各半,体重210g~250g,由佳木斯大学实验动物中心提供。动物饲养在温度(22±1)℃、相对湿度55%~65%、12h光照周期的通风干燥环境中,采用大小鼠维持料1022饲养。

[0029] 1.2试剂与样品

[0030] 环吡酮胺购自中国食品药品检定研究院。化合物(I)自制,制备方法见实施例1。链脲佐菌素(STZ)购自美国Sigma公司;SOD、考马斯亮兰蛋白测定等试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。甘油三酯试剂盒购自长春汇力工程技术开发中心。

[0031] 1.3仪器

[0032] 高速低温离心机(5810R,美国Eppendorf公司),高效液相色谱库仑电化学分析系统(HPLC-ECD CoulchemIII,ESA,美国)。

[0033] 1.4大鼠分组及模型制备

[0034] 其中50只用于模型组,10只用于正常对照组。禁食8h~16h(自由饮水)后,模型组大鼠经尾静脉注射STZ 25mg/kg(0.1mol/L枸橼酸-枸橼酸钠缓冲液,pH4.4)。注射2周后,进行葡萄糖耐量试验,挑选糖耐量减退(IGT)共40只,随机分为模型对照组、环吡酮胺组(60mg·kg⁻¹·d⁻¹)、化合物(I)组(60mg·kg⁻¹·d⁻¹)、环吡酮胺与化合物(I)组合物组【30mg·kg⁻¹·d⁻¹环吡酮胺+30mg·kg⁻¹·d⁻¹化合物(I)】,喂以高糖-高脂肪饲料,由基础饲料加蔗糖、炼猪油、鲜鸡蛋等混合而成,其总热量20.08J/g。正常对照组大鼠喂以基础饲料(含蛋白质20%、碳水化合物53%、脂肪9%、总热量为15,42J/g)。正常对照组及糖尿病组每日灌服等量生理盐水,持续喂养及灌胃8周。实验结束前一天做葡萄糖耐量试验。

[0035] 1.5血液样本的采集

[0036] 大鼠空腹在乙醚麻醉下,内眦静脉取血约6ml,2000rpm/min离心15min分离,取血清,测血脂。

[0037] 1.6肾脏组织匀浆的制备

[0038] 取肾皮质,去除表面粘膜,用预冷生理盐水反复荡洗3次,滤纸吸干,称重后置于玻璃匀浆器中,用冷冻处理的生理盐水将此标本制成1:10的组织匀浆,4000~6000rpm/min离心15min,取上清液备用。

[0039] 1.7统计学方法

[0040] 实验数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用SPSS18.0版统计软件进行单因素方差分析和t检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

[0041] 2、实验结果

[0042] 2.1对2型糖尿病模型大鼠血脂的影响

[0043] 用药第8周时,与正常对照组比较,模型对照组大鼠血清中甘油三酯、胆固醇含量及低密度脂蛋白含量增高($P < 0.05$),说明造模成功。与模型对照组比较,环吡酮胺组、化合物(I)组甘油三酯、胆固醇、低密度脂蛋白明显下降($P < 0.05$),与模型对照组比较,环吡酮胺与化合物(I)组合物组甘油三酯、胆固醇、低密度脂蛋白明显下降($P < 0.01$)。

[0044] 结果见表1。

[0045] 2.2对2型糖尿病模型大鼠肾脏组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

[0046] 与正常对照组比较,模型对照组大鼠肾脏组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性降低($P < 0.05$)。与模型对照组比较,环吡酮胺与化合物(I)组合物组SOD显著提高($P < 0.01$);与模型对照组比较,环吡酮胺组、化合物(I)组大鼠肾脏组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性提高($P < 0.05$)。结果见表2。

[0047] 表1甘油三酯、胆固醇、低密度脂蛋白含量(mmol/L , $\bar{x} \pm s$)

[0048]

组别	甘油三酯	总胆固醇	低密度脂蛋白
正常对照组	0.83±0.13	1.73±0.11	2.36±0.06
模型对照组	2.62±0.19	3.82±0.12	4.68±0.13
环吡酮胺组	1.29±0.08	2.13±0.42	3.11±0.11
化合物(I)组	1.24±0.28	2.14±0.18	3.25±0.27
环吡酮胺与化合物(I)组合物组	0.92±0.11	1.82±0.15	2.40±0.49

[0049] 表2肾组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性(nmol/mgprot)($\bar{x} \pm s$)

[0050]

组别	SOD活性
正常对照组	92.67±12.34
模型对照组	76.46±13.29
环吡酮胺组	87.16±11.55
化合物(I)组	88.69±10.33
环吡酮胺与化合物(I)组合物组	92.16±13.45

[0051] 超氧化物歧化酶(SOD)活性能反映机体的抗脂质过氧化能力,是体内清除氧自由基抗氧化酶系统的成员之一。SOD的主要作用是强过氧化能力,是体内清除氧自由基抗氧化酶系统的成员之一。SOD的主要作用是将超氧阴离子反应生成过氧化氢,后者在过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化酶(GSH-Px)的作用下转变成水,从而减少氧自由基在体内蓄积过多而导致的脂质过氧化加剧,维护组织细胞的正常结构与功能。糖尿病(DM)早期就存在着

较明显的脂代谢紊乱。

[0052] DM大鼠肾脏发生明显氧化应激,肾组织过氧化损伤显著。环吡酮胺、化合物(I)可保护大鼠的抗氧化酶活性、清除自由基、抑制脂质过氧化反应,提示抗氧化是环吡酮胺、化合物(I)保护DM大鼠肾脏的机制之一。环吡酮胺和化合物(I)联合使用后,对2型糖尿病大鼠的血脂调节作用和肾脏保护作用进一步提高,早期应用可有效地延缓糖尿病肾脏病变的发生和发展,可以开发成防治糖尿病肾脏病变的药物。

[0053] 上述实施例的作用在于说明本发明的实质性内容,但并不以此限定本发明的保护范围。本领域的普通技术人员应当理解,可以对本发明的技术方案进行修改或者等同替换,而不脱离本发明技术方案的实质和保护范围。