



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107383150 B

(45)授权公告日 2019.10.18

(21)申请号 201710590370.9

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2017.07.19

C07J 63/00(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

A61K 31/58(2006.01)

申请公布号 CN 107383150 A

A61P 1/16(2006.01)

(43)申请公布日 2017.11.24

审查员 解佳烨

(73)专利权人 佛山市第五人民医院

地址 528000 广东省佛山市南海区西樵镇

江浦东路63号

专利权人 佛山科学技术学院

佛山市康复医学会

(72)发明人 严文 黄文柱 刘连 王志军

刘腾 彭咏波

(74)专利代理机构 广东广信君达律师事务所

44329

代理人 张燕玲

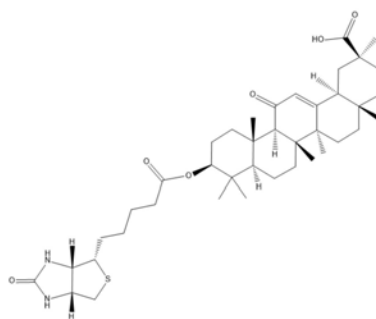
权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种具有抗肝损伤活性的化合物及其制备方法和用途

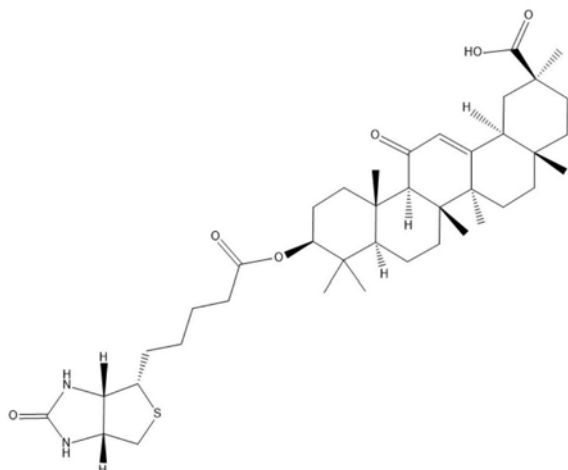
(57)摘要

本发明属于天然药物和药物治疗领域,公开了一种具有抗肝损伤活性的化合物及其制备方法和用途。该化合物是由甘草次酸与维生素生物素偶联而成,结构式如式(I)所示。制备包括步骤:将甘草次酸与生物素溶解在无水二氯甲烷中,在吡啶和4-二甲氨基吡啶的催化下,室温反应过夜,过滤,过硅胶色谱柱,旋蒸,干燥,即可获得目标化合物。通过小鼠实验,发现其对于肝损伤疾病具有很好的治疗效果。



式(I)

1. 一种具有抗肝损伤活性的化合物,其特征在于:该化合物是由甘草次酸与维生素生物素偶联而成,具有如下式(I)所示的结构式:



式(I)。

2. 根据权利要求1所述的一种具有抗肝损伤活性的化合物的制备方法,其特征在于:包括以下步骤:将甘草次酸与生物素溶解在无水二氯甲烷中,在吡啶和4-二甲氨基吡啶(DMAP)的催化下,室温反应过夜,过滤,过硅胶色谱柱,旋蒸,干燥,即可获得目标化合物。

3. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于:所述室温为25-30℃。

4. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于:所述吡啶和4-二甲氨基吡啶的摩尔比为(1~3):1。

5. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于:所述硅胶色谱柱所用的洗脱溶剂为乙酸乙酯和石油醚,溶剂体积比为(2~10):7。

6. 根据权利要求1所述的一种具有抗肝损伤活性的化合物及其药学上可接受的盐在制备抗肝损伤药物中的用途。

7. 一种药物组合物,其中含有治疗有效量的权利要求1所述的具有抗肝损伤活性的化合物或其药学上可接受的盐及载体。

8. 根据权利要求7所述的一种药物组合物在制备抗肝损伤药物中的用途。

一种具有抗肝损伤活性的化合物及其制备方法和用途

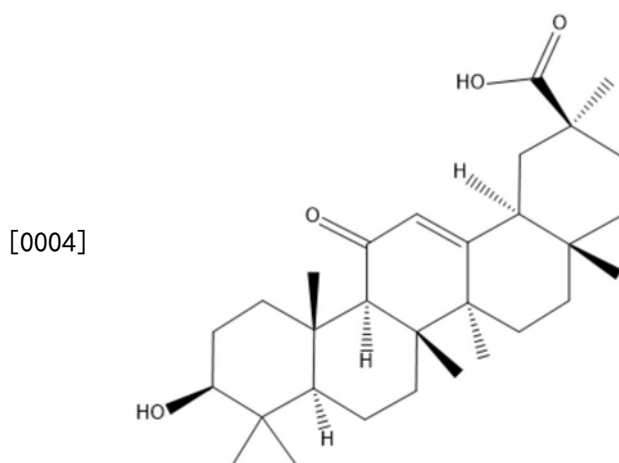
技术领域

[0001] 本发明属于天然药物和药物治疗领域,尤其涉及一种具有抗肝损伤活性的化合物及其制备方法和用途。

背景技术

[0002] 老龄化、神经疾病、病毒感染、药物或化学毒物、酗酒等因素均会引起肝损伤,进而诱发肝炎、肝硬化甚至肝癌,严重影响生活质量和健康水平。一些常用的保肝抗炎药物包括:细胞膜保护剂,例如多烯磷脂酰胆碱;解毒保肝药:例如水飞蓟素、谷胱甘肽等;抗炎保肝药,包括甘草酸制剂、己酮可可碱、双环醇等;利胆保肝药,例如S-腺苷蛋氨酸、熊去氧胆酸等。而通过合理的药物配伍,达到多途径、多靶点的综合作用在治疗肝脏疾病的临床实践中取得了很好的效果;以寻找安全、有效、低毒的抗肝损伤药物和研究其作用机理,具有重要意义。

[0003] 甘草属于豆科植物,主要分布在我国西部等地区,是我国常用的中草药之一。甘草酸及其苷元甘草次酸(glycyrrhetic acid,简称GAA)是甘草的主要药理活性物质。其结构式如下所示:



[0005] 现代研究表明,GAA具有抗炎、抗溃疡、抗病毒、抗心律失常、降血脂、促进胰岛素吸收、抗肝损伤等多种药理活性。GAA特别是在抗炎、保肝、抗病毒和抗肝损伤方面具有良好的作用,而且对人体正常细胞的毒性小。然而因为溶解性的影响,天然的GAA抗肝损伤活性相对弱,给药剂量大,为了进一步提高GAA的抗肝损伤活性,人们对其进行结构修饰与改造,获得了一些活性较高的GAA衍生物已经成为热点课题。目前,GAA在体内的活性偏低、吸收少、溶解性差和生物利用度低,这些特性极大地限制了它的应用。

发明内容

[0006] 为了克服现有技术中存在的缺点和不足,本发明的首要目的在于提供一种具有抗肝损伤活性的化合物;该偶联物是由甘草次酸与维生素生物素偶联的化合物。

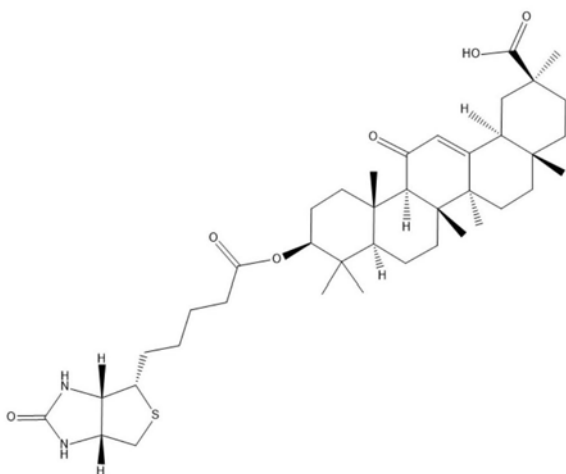
[0007] 本发明的另一目的在于提供一种上述具有抗肝损伤活性的化合物的制备方法。

[0008] 本发明的再一目的在于提供上述具有抗肝损伤活性的化合物的用途。

[0009] 本发明的目的通过下述技术方案实现：

[0010] 一种具有抗肝损伤活性的化合物，该化合物是由甘草次酸与维生素生物素偶联而成，具有如下式 (I) 所示的结构式：

[0011]



式 (I)。

[0012] 所述化合物由甘草次酸和生物素通过酯键偶联。

[0013] 上述的一种具有抗肝损伤活性的化合物的制备方法，包括以下步骤：将甘草次酸与生物素溶解在无水二氯甲烷中，在吡啶和4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 的催化下，室温反应过夜，过滤，过硅胶色谱柱，旋蒸，干燥，即可获得目标化合物。

[0014] 所述室温为25-30℃。

[0015] 所述吡啶和4-二甲氨基吡啶的摩尔比为(1~3):1。

[0016] 所述硅胶色谱柱所用的洗脱溶剂为乙酸乙酯和石油醚，溶剂体积比为(2~10):7。

[0017] 上述的一种具有抗肝损伤活性的化合物及其药学上可接受的盐在制备抗肝损伤药物中的用途。

[0018] 一种药物组合物，其中含有治疗有效量的上述的具有抗肝损伤活性的化合物或其药学上可接受的盐及载体。

[0019] 上述的一种药物组合物在制备抗肝损伤药物中的用途。

[0020] 本发明与现有技术相比具有如下突出的优点及有益效果：

[0021] 通过小鼠实验，发现本发明具有抗肝损伤活性的化合物对肝损伤具有很好的修复保护效果，ALT,AST,GSH-Px、SOD和MDA的修复显著改善，比甘草次酸更好，有助于更好地促进肝脏器官修复功能。

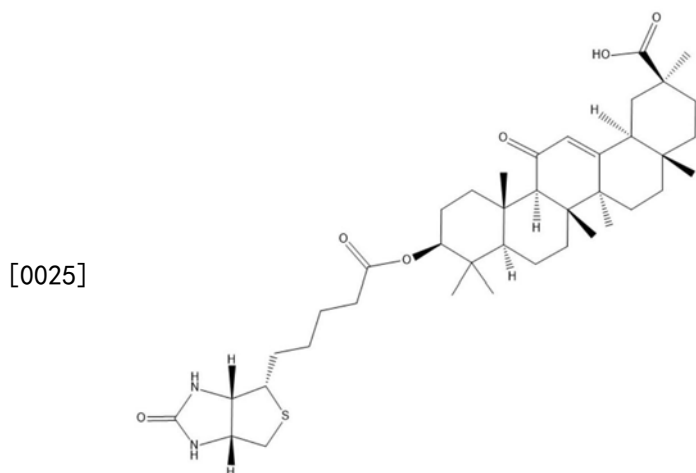
具体实施方式

[0022] 下面结合实施例对本发明作进一步详细的描述，但本发明的实施方式不限于此。

[0023] 实施例1目标化合物的合成

[0024] 将甘草次酸(1.1mmole)与生物素(1.3eq)溶解在无水二氯甲烷(30ml)中，在吡啶(0.5g)和4-二甲氨基吡啶(0.5g)的催化下，室温25-30℃下反应过夜，过滤，过硅胶色谱柱(所用的洗脱溶剂为体积比(3~9):7的乙酸乙酯和石油醚)，旋蒸，干燥，即可获得白色固体

目标化合物。经液相色谱质谱和核磁共振技术分析,所新制备的白色固体目标化合物为具有式(I)所示结构的化合物:



式(I)

[0026] 实施例2目标化合物抗肝损伤效应评价

[0027] 本实施例采用四氯化碳致小鼠肝损伤模型进行评价。

[0028] 实验动物:C57BL/6小鼠100只,体重18~23g,雌雄各半;购自于上海实验动物中心,饲养于湖南大学SPF动物研究中心。

[0029] 实验试剂:相关测试所用试剂盒,包括丙氨酸氨基转移酶ALT、天门冬氨酸氨基转移酶AST、超氧化物歧化酶SOD、谷胱甘肽过氧化物酶GSH-Px、丙二醛MDA均购自南京建成生物工程研究所;CCl₄油溶液及其它试剂均为国产分析纯。

[0030] 实验方法:50只C57BL/6小鼠,雌雄各半,随机分为5组,每组10只,包括空白对照组、模型对照组、生物素组、甘草次酸给药组、甘草次酸-生物素(即实施例1所得目标化合物)给药组,共4组。空白对照组和模型对照组每天给予空白溶剂,给药组小鼠每天灌胃给药(50mg/kg),共给药9天,末次给药2h后,除空白对照组腹腔注射空白油剂外,其余各组均腹腔注射0.1%CCl₄油溶液10mL/kg,24h后取血,离心8min,转速3500r/min,分离血清;同时剪取小鼠相同部位的肝脏组织,在生理盐水溶液中进行匀浆,制成10%匀浆液,离心15min,转速3500r/min,分离上清液,将分离的血清和肝匀浆液-20℃保存待测。血清和肝脏中各项指标采用全自动生化分析仪检测,按照试剂盒说明操作。检测结果如表1所示。

[0031] 表1干预对小鼠血清中ALT,AST的影响(n=10)

[0032]

实验组	剂量 (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)
空白组	0	52.1 ± 9.9	149.5 ± 21.4
模型组	0	149.8 ± 29.1**	299.2 ± 34.6 **
生物素组	50	141.7 ± 22.9	285.1 ± 31.8#
甘草次酸组	50	89.8 ± 12.8##	234.5 ± 28.9 ##
甘草次酸-生物素组	50	72.5 ± 10.3##★★	212.6 ± 20.7 ##★★

[0033] **P<0.01对空白对照组;#P<0.05;##P<0.01对模型组;★P<0.05;★★P<

0.01对原药组。

[0034] 表2干预对小鼠肝组织中GSH-Px、SOD和MDA的影响 (n=10)

[0035]

实验组	剂量 (mg/kg)	GSH-Px (U/g)	SOD (U/g)	MDA (nmol/g)
空白组	0	242.6 ± 39.9	139.1 ± 20.6	37.7 ± 7.8

[0036]

模型组	0	89.5 ± 25.7**	69.2 ± 14.1 **	97.1 ± 18.9**
生物素组	50	111.7 ± 28.9#	78.1 ± 21.5#	89.9 ± 21.6##
甘草次酸组	50	182.7 ± 24.8##	94.5 ± 18.8 ##	67.9 ± 17.7##
甘草次酸-生物素组	50	202.5 ± 20.3##★★	112.6 ± 20.2 ##★★	56.3 ± 20.8##★★

[0037] **P<0.01对空白对照组;#P<0.05;##P<0.01对模型组;★P<0.05;★★P<0.01对原药组。

[0038] 在肝细胞中,丙氨酸氨基转移酶ALT、天门冬氨酸氨基转移酶AST分布于细胞浆和线粒体中,如果肝实质细胞出现受损,会造成泄露,导致血清中ALT、AST水平明显升高,提示肝细胞破坏。由表1可以看出,模型对照组与空白组相比小鼠血清中ALT和AST有显著升高,表明肝实质细胞受损,预防性给予本发明的实施例的测试组小鼠血清ALT和AST显著降低,表明本发明的复方组合物能显著改善CCl₄导致的肝损伤小鼠血清中ALT,AST的活性升高,且效果优于甘草次酸、生物素给药处方。

[0039] 谷胱甘肽过氧化物酶GSH-Px是氧自由基灭活酶,超氧化物歧化酶SOD是氧自由基清除酶,测定肝匀浆中GSH-Px和SOD能够直观的反应肝脏的受损情况。由表2可以看出,模型对照组与空白组相比小鼠肝脏组织中GSH-Px和SOD明显降低,表明肝脏受损,预防性给予本发明的实施例药物的测试组小鼠肝脏组织中GSH-Px和SOD明显升高,其升高程度明显高于生物素、甘草次酸的给药处方。

[0040] 丙二醛MDA是氧自由基与细胞膜表面不饱和脂肪酸反应的产物,是导致细胞肿胀坏死的因素,测定MDA在肝脏组织中的含量能够反映细胞受自由基攻击时组织的过氧化损伤程度。由表2可以看出,模型对照组与空白组相比小鼠肝脏组织中MDA明显升高,提示肝脏受损,预防性给予本发明的实施例药物的测试小鼠肝脏组织中MDA明显降低,其降低程度高于生物素、甘草次酸给药处方。

[0041] 由上述表1和表2的测试结果可以看出,本发明的生物素偶联甘草次酸对CCl₄导致的小鼠肝损伤有很好的保护作用,其效果优于生物素、甘草次酸的给药处方。

[0042] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制,其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。