



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112876366 A

(43) 申请公布日 2021.06.01

(21) 申请号 202110085143.7

A61K 31/216 (2006.01)

(22) 申请日 2021.01.21

(71) 申请人 中国科学院昆明植物研究所
地址 650000 云南省昆明市北郊黑龙潭

(72) 发明人 普诺·白玛丹增 颜秉超 周敏
杜雪 孙汉董

(74) 专利代理机构 昆明盛鼎宏图知识产权代理
事务所(特殊普通合伙)
53203

代理人 许竞雄

(51) Int. Cl.

C07C 69/757 (2006.01)

C07C 67/48 (2006.01)

C07C 67/56 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)

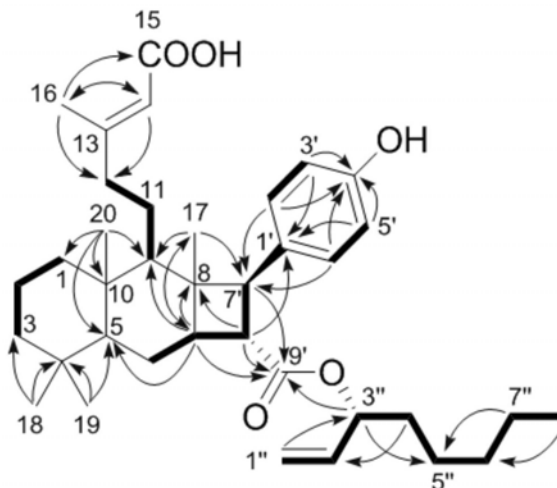
权利要求书1页 说明书8页 附图9页

(54) 发明名称

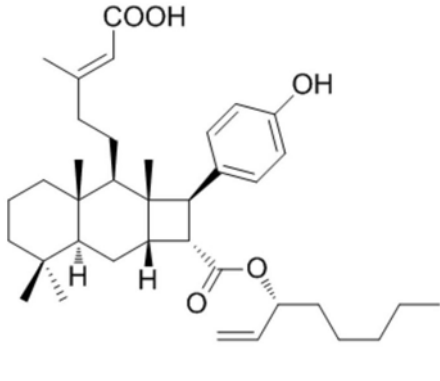
一种帚状异酯素、其制备方法和应用,以及
药物组合物

(57) 摘要

一种帚状异酯素,及其制备方法和应用,涉
及药物技术领域,该帚状异酯素的结构新颖,对
于T、B淋巴细胞增殖具有抑制作用,并且对T淋
巴细胞的抑制作用具有选择性,可广泛应用于制
备免疫抑制药物中。该帚状异酯素的制备方法操
作简单,可以快速高效地从帚状香茶菜中提取得
到上述帚状异酯素。一种药物组合物,其包括上
述帚状异酯素,以及药学上可接受的辅料。其具
有较好的免疫抑制活性,可作为免疫抑制剂使用。



1. 一种帚状异酯素,其特征在于,所述帚状异酯素的结构式为



2. 一种如权利要求1所述的帚状异酯素的制备方法,其特征在于,包括:

将帚状香茶菜的茎和/或叶粉碎,采用提取溶剂浸提后脱溶,得到帚状香茶菜提取物;对所述帚状香茶菜提取物依次采用硅胶柱层析、反相柱层析、以及半制备HPLC分离得到所述帚状异酯素。

3. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,所述提取溶剂包括乙醇、丙酮、甲醇、乙酸乙酯和水中的至少一种。

4. 根据权利要求3所述的制备方法,其特征在于,所述提取溶剂包括乙醇、丙酮、甲醇和乙酸乙酯中的至少一种与水混合形成的溶液。

5. 根据权利要求3所述的制备方法,其特征在于,包括:

将所述帚状香茶菜的茎和/或叶粉碎,采用提取溶剂浸提后脱溶,得到粗提取液;

将所述粗提取液分散在水中,再用有机溶剂萃取,取有机层浓缩脱溶后,得到所述帚状香茶菜提取物。

6. 根据权利要求5所述的制备方法,其特征在于,包括:

S1. 将所述帚状茶香菜提取物采用硅胶柱层析分离,根据薄层色谱法检测,分段收集得到A、B、C、D、E、F、G和H八个部分;

S2. 将S1步骤中收集到的B部分采用反相色谱柱分离,根据薄层色谱法检测,分段收集得到B1、B2、B3和B4四个部分;

S3. 将S2步骤中收集到的B2部分采用半制备HPLC分离,得到所述帚状异酯素。

7. 根据权利要求6所述的制备方法,其特征在于,所述S1步骤中采用由溶剂A和溶剂B组成的混合有机溶剂体系进行梯度系统,其中,所述溶剂A包括二氯甲烷、氯仿和石油醚中的任一种,所述溶剂B包括甲醇、乙酸乙酯和丙酮中的任一种。

8. 根据权利要求6所述的制备方法,其特征在于,所述S2步骤中采用甲醇水溶液进行梯度洗脱,所述S3步骤中采用甲醇水溶液或乙腈水溶液作为流动相。

9. 一种如权利要求1所述的帚状异酯素在制备免疫抑制药物中的应用。

10. 一种药物组合物,其特征在于,包括如权利要求1所述的帚状异酯素,以及药学上可接受的辅料。

一种帚状异酯素、其制备方法和应用,以及药物组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及天然化合物提取分离技术领域,具体而言,涉及一种帚状异酯素、其制备方法和应用,以及药物组合物。

背景技术

[0002] 香茶菜属植物是我国重要的药用植物资源之一,其中冬凌草已被中国药典收录,同时还有该属多种植物作为草药在我国民间广泛使用,用于清热解毒、抗炎抗菌、抗肿瘤等方面。该属植物富含二萜化合物,其结构多样,在抗肿瘤、抗菌和免疫抑制等方面具有活性,如冬凌草甲素、毛萼乙素和早生香茶菜乙素具有显著的抗肿瘤活性。帚状香茶菜[*Isodon scoparius* C.Y.Wu et H.W.Li (Dunn) Kudo]隶属于唇形科香茶菜属,主要分布于中国云南省,在民间用于治疗人和牲畜的消化系统炎症以及外部感染等。研究表明,该种植物含有结构新颖的二萜化合物,以二环二萜为主要结构类型,目前仅从中发现了三个含不对称四元环的杂二萜类化合物,分别为帚状香茶菜内酯A和B(scopariusicides A和B)、scopariusic acid。然而,现有技术中,对于上述杂二萜类化合物还没有一个较好的获取渠道,无论是从天然产物中进行提取的技术,还是采用人工合成的技术都还有待进一步的发展。

发明内容

[0003] 本发明的第一目的在于提供一种帚状异酯素,其结构新颖,来源广泛,具有较大的药用价值。

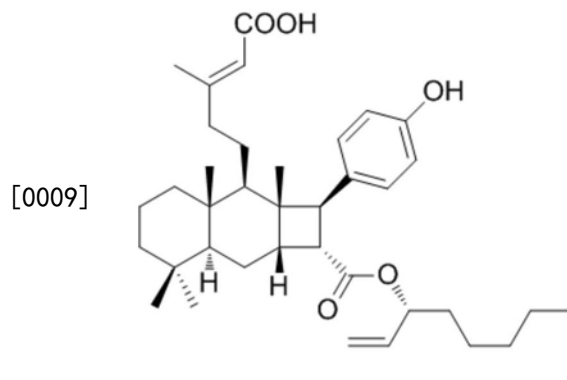
[0004] 本发明的第二目的在于提供一种上述帚状异酯素的制备方法,其操作简单方便,可以快速高效地从帚状香茶菜中提取得到上述帚状异酯素。

[0005] 本发明的第三目的在于提供一种上述帚状异酯素的应用,其具备一定的免疫抑制活性,可广泛应用于制备免疫抑制药物。

[0006] 本发明的第四目的在于提供一种药物组合物,其包含上述帚状异酯素,其具有较佳的免疫抑制活性。

[0007] 本发明的实施例是这样实现的:

[0008] 一种帚状异酯素,帚状异酯素的结构式为



[0010] 一种上述帚状异酯素的制备方法,其包括:

[0011] 将帚状香茶菜的茎和/或叶粉碎,采用提取溶剂浸提后脱溶,得到帚状香茶菜提取物;对帚状香茶菜提取物依次采用硅胶柱层析、反相相柱层析、以及半制备HPLC分离得到帚状异酯素。

[0012] 一种上述帚状异酯素在制备免疫抑制药物中的应用。

[0013] 一种药物组合物,其包括上述帚状异酯素,以及药学上可接受的辅料。

[0014] 本发明实施例的有益效果是:

[0015] 本发明实施例提供了一种帚状异酯素,及其制备方法和应用,该帚状异酯素的结构新颖,对于T淋巴细胞增殖具有抑制作用,可广泛应用于制备免疫抑制药物中。该帚状异酯素的制备方法不仅操作简单,可以高效、高纯度地从帚状香茶菜中提取得到上述帚状异酯素。

[0016] 本发明实施例还提供了一种药物组合物,其包括上述帚状异酯素,以及药学上可接受的辅料。其具有较好的免疫抑制活性,可作为免疫抑制剂使用。

附图说明

[0017] 为了更清楚地说明本发明实施例的技术方案,下面将对实施例中所需要使用的附图作简单地介绍,应当理解,以下附图仅示出了本发明的某些实施例,因此不应被看作是对范围的限定,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他相关的附图。

[0018] 图1为本发明实施例所提供的帚状异酯素的¹³C NMR谱图;

[0019] 图2为本发明实施例所提供的帚状异酯素的¹H NMR谱图;

[0020] 图3为本发明实施例所提供的帚状异酯素的HSQC谱图;

[0021] 图4为本发明实施例所提供的帚状异酯素的HMBC谱图;

[0022] 图5为本发明实施例所提供的帚状异酯素的HMBC谱图在横轴化学位移为0~2.1ppm处的放大图。

[0023] 图6为本发明实施例所提供的帚状异酯素的¹H-¹H COSY谱图;

[0024] 图7为本发明实施例所提供的帚状异酯素的¹H-¹H COSY谱图在横轴化学位移为0~2.7ppm处的放大图。

[0025] 图8为本发明实施例所提供的帚状异酯素的ROESY谱图;

[0026] 图9为本发明实施例所提供的帚状异酯素的ROESY谱图在横轴化学位移为0~2.2ppm处的放大图;

[0027] 图10为本发明实施例所提供的帚状异酯素的¹H-¹H COSY (以加粗键表示)和HMBC (以箭头表示)相关示意图。

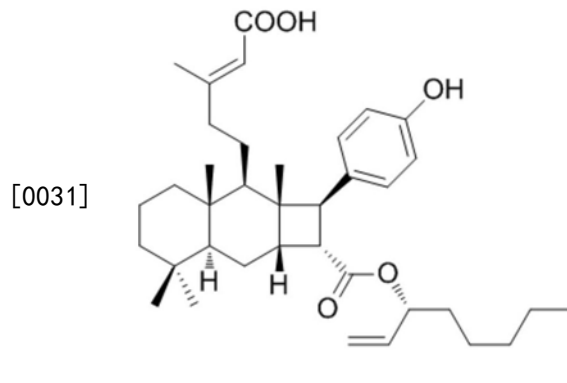
具体实施方式

[0028] 为使本发明实施例的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述。实施例中未注明具体条件者,按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市售购买获得的常规产品。

[0029] 下面对本发明实施例的一种帚状异酯素、其制备方法和应用,以及药物组合物进

行具体说明。

[0030] 本发明实施例提供了一种帚状异酯素,该帚状异酯素的结构式为



[0032] 该帚状异酯素由帚状香茶菜的茎和/或叶中提取得到,结构新颖,且具有生物活性,对T、B细胞株表现了抑制活性,对T细胞抑制作用具有选择性,作为免疫抑制剂的先导化合物,具有良好的应用潜力。

[0033] 本发明实施例还提供了一种上述帚状异酯素的制备方法,其包括:

[0034] 将帚状香茶菜的茎和/或叶粉碎,采用提取溶剂浸提后脱溶,得到帚状香茶菜提取物;对帚状香茶菜提取物依次采用硅胶柱层析、反相相柱层析、以及半制备HPLC分离得到帚状异酯素。

[0035] 其中,提取溶剂包括乙醇、丙酮、甲醇、乙酸乙酯和水中的至少一种。优选地,提取溶剂包括乙醇、丙酮、甲醇和乙酸乙酯中的至少一种与水混合形成的溶液。更为优选地,提取溶剂包括体积分数为70%~100%的乙醇,70%~100%的丙酮、70%~100%的甲醇或乙酸乙酯中的任一种。

[0036] 进一步地,上述制备方法包括:

[0037] 将帚状香茶菜的茎和/或叶粉碎,采用提取溶剂浸提后脱溶,得到粗提取液;将粗提取液分散在水中,再用有机溶剂萃取,取有机层浓缩脱溶后,得到帚状香茶菜提取物。在进行硅胶柱层析之前,先经过一次萃取,可以有效除去粗提取液中的杂质,使得后续的分纯化效率更高,得到的产品纯度更高。萃取所用的有机溶剂可以是乙酸乙酯。萃取过程中可以采用超声进行辅助,从而提高萃取的效率。

[0038] 进一步地,上述制备方法还包括:

[0039] S1. 将帚状茶香菜提取物采用硅胶柱层析分离,根据薄层色谱法检测,分段收集得到A、B、C、D、E、F、G和H八个部分;

[0040] S2. 将S1步骤中收集到的B部分采用反相色谱柱分离,根据薄层色谱法检测,分段收集得到B1、B2、B3和B4四个部分;

[0041] S3. 将S2步骤中收集到的B2部分采用半制备HPLC分离,得到帚状异酯素。

[0042] 优选地,S1步骤中采用由溶剂A和溶剂B组成的混合有机溶剂体系进行梯度系统,其中,溶剂A包括二氯甲烷、氯仿和石油醚中的任一种,溶剂B包括甲醇、乙酸乙酯和丙酮中的任一种。进行梯度洗脱时,溶剂A和溶剂B的体积比由19:1开始,逐渐减小溶剂A的比例,直至最后用纯的溶剂B洗脱。可选地,溶剂A和溶剂B的体积比可以设置19:1、9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、1:2和0:1八个梯度,来对应A、B、C、D、E、F、G和H八个部分,每收集完一个部分后改变溶剂A和溶剂B的体积比。在上述分离条件下,不仅分离效率较高,而且各部分之间分离效果

较好。

[0043] 进一步地, S2步骤中采用甲醇水溶液进行梯度洗脱。可选地, 反相色谱柱的反相材料为C-8、C-18或MCI中的任一种。进行梯度洗脱时, 先采用20vol%的甲醇水溶液, 再逐渐增加甲醇的含量, 直至最后用纯的甲醇进行洗脱。

[0044] 进一步地, S3步骤中采用甲醇水溶液或乙腈水溶液作为流动相。其中, 甲醇水溶液的体积分数为75%~95%, 乙腈水溶液的体积分数为60%~90%。为提高分离效果, 流动相同样可以采用梯度洗脱, 逐渐增加流动相的体积分数。此外, 在洗脱时, 流动相的流速为3mL/min, 可以选择 $9.4 \times 250\text{mm}$, $5\mu\text{m}$ 的Zorbax SB-C18反相半制备柱为固定相, 紫外检测器检测波长为212nm。

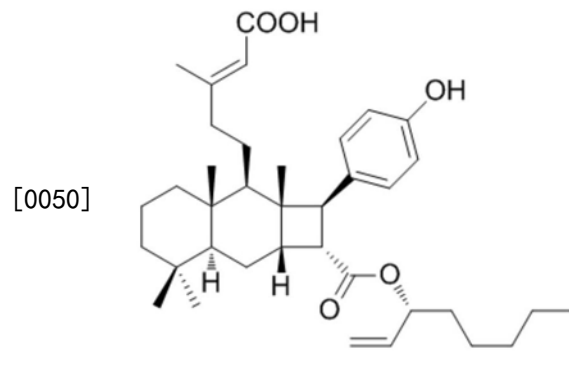
[0045] 进一步地, 本发明实施例还提供了一种上述帚状异酯素在制备免疫抑制药物中的应用。其对T、B淋巴细胞增殖具有抑制作用, 对T细胞抑制作用具有选择性, IC_{50} 值为 $0.68\mu\text{m}$ 。

[0046] 进一步地, 本发明实施例还提供了一种药物组合物, 其包括上述帚状异酯素, 以及药学上可接受的辅料。其具有较佳的免疫抑制活性。具有较佳的应用前景。

[0047] 以下结合实施例对本发明的特征和性能作进一步的详细描述。

[0048] 实施例1

[0049] 本实施例提供了一种帚状异酯素, 其结构式为



[0051] 其制备方法包括:

[0052] S1. 将4kg帚状香茶菜的茎叶粉碎成粉末, 加入提取罐中, 加入20L体积含量为70%的乙醇水溶液, 在 25°C 下浸泡3天, 共浸泡3次, 过滤合并滤液, 减压浓缩得到粗提取液。

[0053] S2. 将上述粗提取液分散在2L水中, 分别用2L乙酸乙酯萃取3次, 合并乙酸乙酯层, 减压浓缩得到250g帚状茶香菜提取物。

[0054] S3. 将上述帚状茶香菜提取物与600mL甲醇混合溶解, 用400g80~100目硅胶拌样, 用4kg的200~300目硅胶装柱, 用体积比分别为1:0、19:1、9:1、8:2、3:2、1:1、1:2、0:1的氯仿-甲醇混合有机溶剂梯度洗脱, 收集梯度洗脱液并减压浓缩, 经TLC监测, 合并组分相同的洗脱液, 得到A、B、C、D、E、F、G和H八个部分。

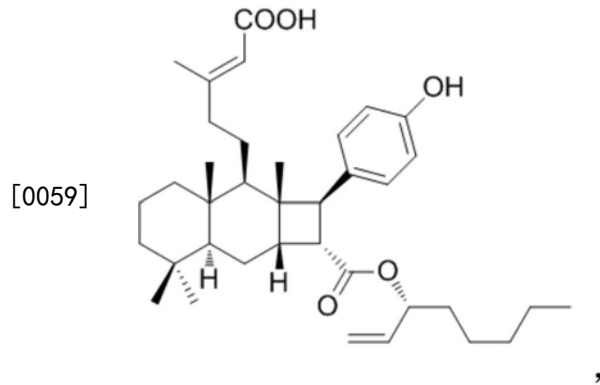
[0055] S4. 收集S3中的B部分(78g)进行反相C-18柱层析分离, 以体积含量为40~90%的甲醇水溶液进行梯度洗脱, 收集各部分洗脱液并浓缩, 经TLC监测, 得到B1、B2、B3和B4四个部分。

[0056] S5. 收集S4中的B2部分(600mg), 再以体积含量为90%的甲醇水溶液(0.5%甲酸)为流动相, 流速3mL/min, 以 $9.4 \times 250\text{mm}$, $5\mu\text{m}$ 的Zorbax SB-C18反相半制备柱为固定相, 紫外检测器检测波长为212nm, 分别收集18.0min的色谱峰, 多次累加后蒸干, 即得所需要的帚状

异酯素。

[0057] 实施例2

[0058] 本实施例提供了一种帚状异酯素,其结构式为



[0060] 其制备方法包括:

[0061] S1. 将4kg帚状香茶菜的茎叶粉碎成粉末,加入提取罐中,加入20L体积含量为70%的甲醇水溶液,在25℃下浸泡3天,共浸泡3次,过滤合并滤液,减压浓缩得到粗提取液。

[0062] S2. 将上述粗提取液分散在2.5L水中,分别用2.5L乙酸乙酯萃取3次,合并乙酸乙酯层,减压浓缩得到335g帚状茶香菜提取物。

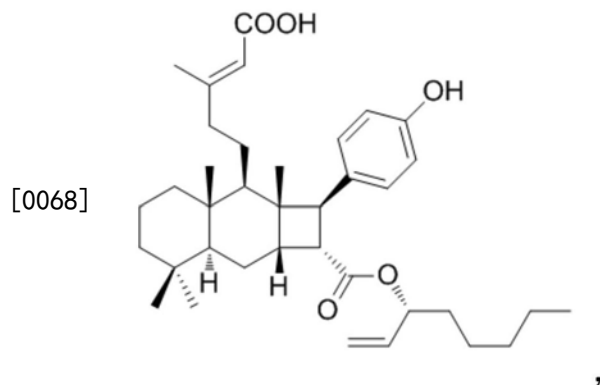
[0063] S3. 将上述帚状茶香菜提取物与750mL甲醇混合溶解,用500g80~100目硅胶拌样,用4.5kg的200~300目硅胶装柱,用体积比分别为1:0、19:1、9:1、8:2、3:2、1:1、1:2、0:1的石油醚-乙酸乙酯混合有机溶剂梯度洗脱,收集梯度洗脱液并减压浓缩,经TLC监测,合并组分相同的洗脱液,得到A、B、C、D、E、F、G和H八个部分。

[0064] S4. 收集S3中的B部分(64g)进行反相C-18柱层析分离,以体积含量为40~95%的甲醇水溶液进行梯度洗脱,收集各部分洗脱液并浓缩,经TLC监测,得到B1、B2、B3和B4四个部分。

[0065] S5. 收集S4中的B2部分(710mg),再以体积含量为90%的乙腈水溶液为流动相,流速3mL/min,以9.4×250mm,5μm的Zorbax SB-C18反相半制备柱为固定相,紫外检测器检测波长为212nm,分别收集18.0min的色谱峰,多次累加后蒸干,即得所需要的帚状异酯素。

[0066] 实施例3

[0067] 本实施例提供了一种帚状异酯素,其结构式为



[0069] 其制备方法包括:

[0070] S1. 将4kg帚状香茶菜的茎叶粉碎成粉末,加入提取罐中,加入20L体积含量为70%

的丙酮水溶液,在25℃下浸泡3天,共浸泡3次,过滤合并滤液,减压浓缩得到粗提取液。

[0071] S2.将上述粗提取液分散在2L水中,分别用2L乙酸乙酯萃取3次,合并乙酸乙酯层,减压浓缩得到220g帚状茶香菜提取物。

[0072] S3.将上述帚状茶香菜提取物与450mL甲醇混合溶解,用300g80~100目硅胶拌样,用4kg 200~300目硅胶装柱,用体积比分别为1:0、19:1、9:1、8:2、3:2、1:1、1:2、0:1的氯仿-丙酮混合有机溶剂梯度洗脱,收集梯度洗脱液并减压浓缩,经TLC监测,合并组分相同的洗脱液,得到A、B、C、D、E、F、G和H八个部分。

[0073] S4.收集S3中的B部分(75g)进行反相C-18柱层析分离,以体积含量为30~95%的甲醇水溶液进行梯度洗脱,收集各部分洗脱液并浓缩,经TLC监测,得到B1、B2、B3和B4四个部分。

[0074] S5.收集S4中的B2部分(600mg),再以体积含量为90%的乙腈水溶液为流动相,流速3mL/min,以9.4×250mm,5μm的Zorbax SB-C18反相半制备柱为固定相,紫外检测器检测波长为212nm,分别收集18.0min的色谱峰,多次累加后蒸干,即得所需要的帚状异酯素。

[0075] 实施例4

[0076] 本实施例提供一种药物组合物的片剂,其取实施例3所制备的帚状异酯素,按其与赋形剂重量比1:1的比例加入赋形剂,制粒压片。

[0077] 实施例5

[0078] 本实施例提供一种药物组合物的胶囊剂,取实施例3所制备的帚状异酯素,按常规胶囊制剂方法制成胶囊。

[0079] 实施例6

[0080] 本实施例提供一种药物组合物的片剂,取实施例3所制备的帚状异酯素与适量淀粉、玉米浆、硬脂酸镁混合,压制成片。

[0081] 实施例7

[0082] 本实施例提供一种药物组合物的胶囊剂,取实施例3所制备的帚状异酯素100mg,与适量淀粉、硬脂酸镁混合,过筛,在合适的容器中均匀混合,把得到的混合物装入硬明胶胶囊。

[0083] 实施例8

[0084] 本实施例提供一种药物组合物的鼻喷雾剂,取实施例3所制备的帚状异酯素80mg,氧化钠8mg,EDTA1 mg,磷酸铀缓冲液(pH6.5)1mg,多乙氧基醚10mg,重蒸馏水2mL。搅拌混合,直至完全溶解得到溶液。该溶液在无菌过滤器上过滤,装入瓶中并按照适当的剂量分隔。

[0085] 实施例9

[0086] 本实施例提供一种药物组合物的滴丸,取实施例9所制备的帚状异酯素1g,聚乙二醇6000 9g。微热溶解后,加入处方量的聚乙二醇熔融液中(60℃水浴保温),搅拌混合均匀,直至乙醇挥尽为止,静置于60℃水浴中保温30分钟,待气泡除尽,将除尽气泡的上述混匀熔融液转入贮液筒内,在80~85℃保温条件下,控制滴速,逐滴滴入冷凝液中,待冷凝完全,倾去冷凝液,收集滴丸,沥净和用滤纸除去丸上的冷凝液,放置硅胶干燥器中或自然干燥即可。

[0087] 试验例1

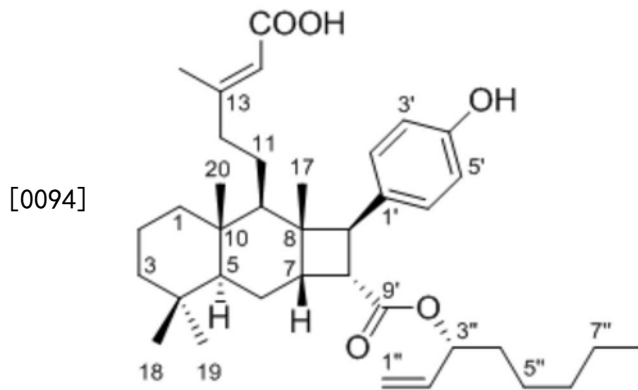
[0088] 实施例1~3制备的化合物帚状异酯素,为白色固体;所得产品分别用 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、 ^1H - ^1H COSY、ROESY、HSQC、IR、HRESIMS进行结构鉴定。

[0089] 化合物帚状异酯素的HREIMS显示该化合物准分子离子峰 m/z 578.3941 [M]⁺ (calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{54}\text{O}_5$, 578.3971),结合 ^1H 和 ^{13}C NMR谱及二维核磁共振谱(图1~图6),进行核磁共振数据归属,结果见表1,推出分子式为 $\text{C}_{37}\text{H}_{54}\text{O}_5$,确定其化学结构。

[0090] 表1帚状异酯素A的 ^1H 和 ^{13}C NMR数据归属(溶剂为pyridine- d_5)

No.	δ_{H} [ppm, mult, J (Hz)] (500 MHz)	δ_{C}	No.	δ_{H} [ppm, mult, J (Hz)] (126 MHz)	δ_{C}
1	1.71 (1H, m); 1.06 (1H, m)	40.5	20	0.78 (3H, s)	15.9
2	1.56 (1H, m); 1.47 (1H, m)	19.6	1'	—	132.3
[0091] 3	1.44 (1H, m); 1.29 (1H, m)	43.2	2'	7.39 (1H, d, 8.4)	131.3
4	—	34.1	3'	7.31 (1H, d, 8.4)	116.8
5	1.43 (1H, m)	50.8	4'	—	158.3
6	2.04 (1H, m); 1.64 (1H, m)	21.4	5'	7.31 (1H, d, 8.4)	116.8
7	3.00 (1H, dd, 11.8, 8.4)	43.1	6'	7.39 (1H, d, 8.4)	131.3
8	—	43.0	7'	3.93 (1H, d, 5.8)	53.9
9	2.03–2.00 (1H, m)	60.0	8'	3.64 (1H, dd, 11.8, 5.8)	45.9
10	—	38.3	9'	—	174.2
11	1.79 (1H, m); 1.45 (1H, m)	25.3	1''	5.44 (1H, d, 17.3); 5.29 (1H, d, 10.4)	118.2
12	2..40 (2H, m)	42.8	2''	5.98 (1H, ddd, 17.3, 10.4, 7.1)	138.1
[0092] 13	—	159.9	3''	5.49 (1H, m)	76.5
14	6.20 (1H, s)	117.6	4''	1.81 (1H, m); 1.71 (1H, m)	35.2
15	—	170.1	5''	1.37 (2H, m)	25.6
16	2.44 (3H, s)	19.8	6''	1.26 (2H, m)	32.5
17	0.96 (3H, s)	22.6	7''	1.27 (2H, m)	23.4
18	0.89 (3H, s)	22.3	8''	0.86 (3H, t, 6.8)	14.7
19	1.07 (3H, s)	34.5			

[0093] 结合所有波谱数据证实,所纯化得到的帚状异酯素的化学结构式如下:



[0095] 试验例2

[0096] 取实施例1~3所制备的帚状异酯素进行免疫抑制活性测试,具体方法为:

[0097] MTT法检测化合物对小鼠脾脏淋巴细胞的细胞毒性:取分离出的Balb/c小鼠脾脏,制备单细胞悬液,按小鼠脾脏淋巴细胞悬液 8×10^5 /孔接种于96孔板,同时加入不同浓度筛选药物后,采用免疫抑制剂环孢霉素A(cyclosporin A,CsA)作为阳性对照药物,另设相应的溶媒对照(细胞对照)及培养液本底对照(空白对照),总体积为200 μ L。37 $^{\circ}$ C,5%CO₂培养箱中培养48小时。结束培养前4小时加入浓度为5mg/mL的MTT溶液。至培养结束,吸弃上清,每孔加入200 μ L DMSO溶解紫色结晶,于酶标仪570nm处测定OD值。

[0098] ³H-TdR掺入法检测化合物对小鼠脾脏T、B淋巴细胞的增殖抑制活性:小鼠脾脏淋巴细胞悬液 5×10^5 /孔接种于96孔板,加入ConA(终浓度1 μ g/ml)或LPS(终浓度10 μ g/ml)及不同浓度化合物,采用免疫抑制剂环孢霉素A(cyclosporin A,CsA)作为阳性对照药物,并设置相应的无ConA、LPS细胞对照孔以及刺激无药物对照孔,总体积为200 μ L。37 $^{\circ}$ C,5%CO₂培养箱中培养48小时。培养结束前8小时,每孔加入25 μ L ³H-胸腺嘧啶核苷酸(10 μ Ci/ml)。继续培养至实验结束。将细胞用细胞收集仪收集至玻璃纤维膜上,加入闪烁液后于Beta计数器(MicroBetaTrilux,PerkinElmer)读取掺入细胞DNA的³H-TdR量,以cpm值代表细胞增殖的情况。

[0099] 实验结果发现,化合物帚状异酯素表现了一定的免疫抑制活性,在无细胞毒活性浓度下,对T淋巴细胞增殖具有抑制作用,IC₅₀为0.68 μ m(CsA为阳性对照),并且对B淋巴细胞增殖具有抑制作用,IC₅₀为13.81 μ m(CsA为阳性对照),对T淋巴细胞增殖抑制作用具有选择性。

[0100] 综上所述,本发明实施例提供了一种帚状异酯素,及其制备方法和应用,该帚状异酯素的结构新颖,对于T、B淋巴细胞增殖具有抑制作用,对T淋巴细胞增殖抑制作用具有选择性,可广泛应用于制备免疫抑制药物中。该帚状异酯素的制备方法不仅操作简单,可以高效、高纯度地从帚状香茶菜中提取得到上述帚状异酯素。

[0101] 本发明实施例还提供了一种药物组合物,其包括上述帚状异酯素,以及药学上可接受的辅料。其具有较好的免疫抑制活性,可作为免疫抑制剂使用。

[0102] 以上所述仅为本发明的优选实施例而已,并不用于限制本发明,对于本领域的技术人员来说,本发明可以有各种更改和变化。凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

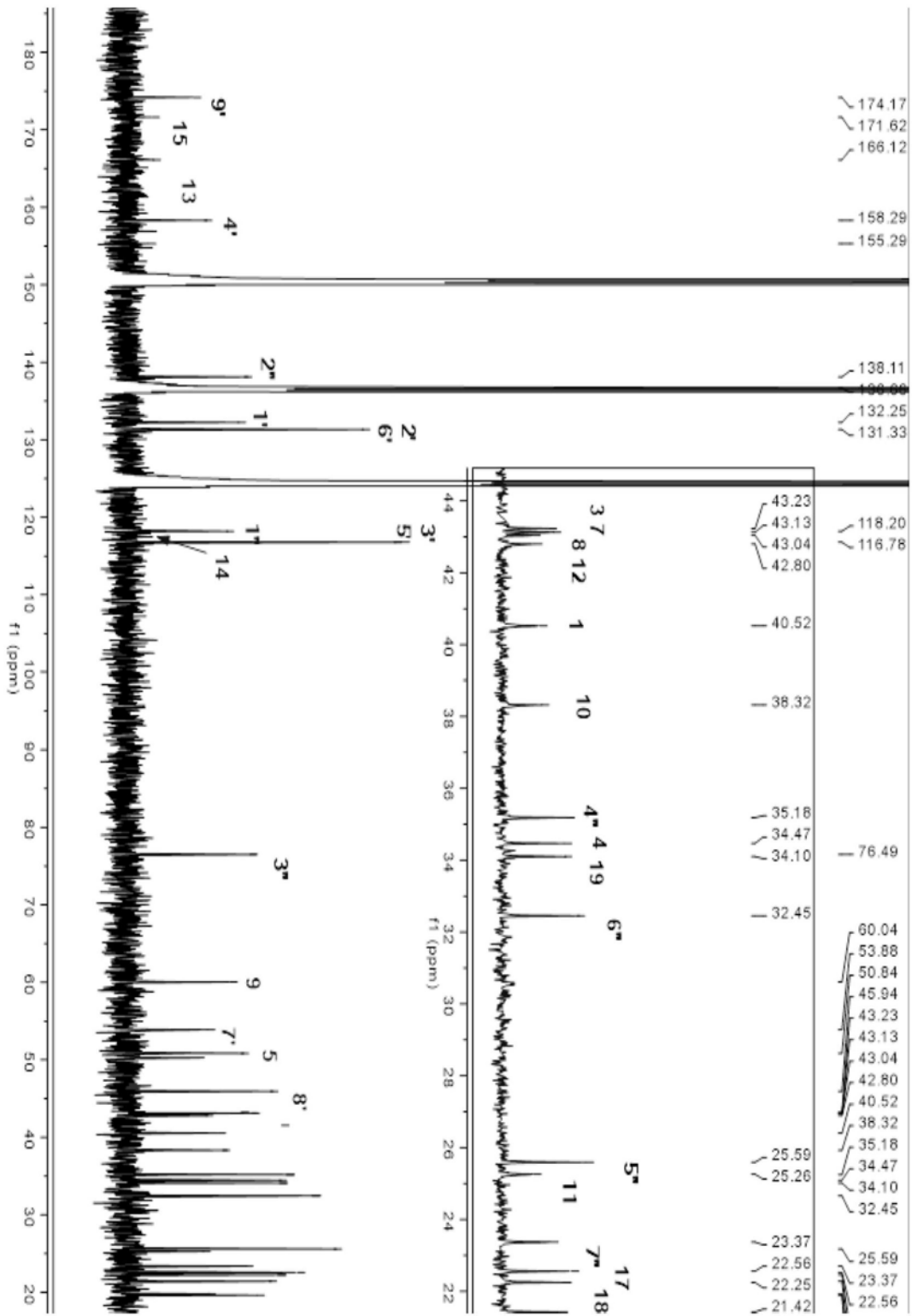


图1

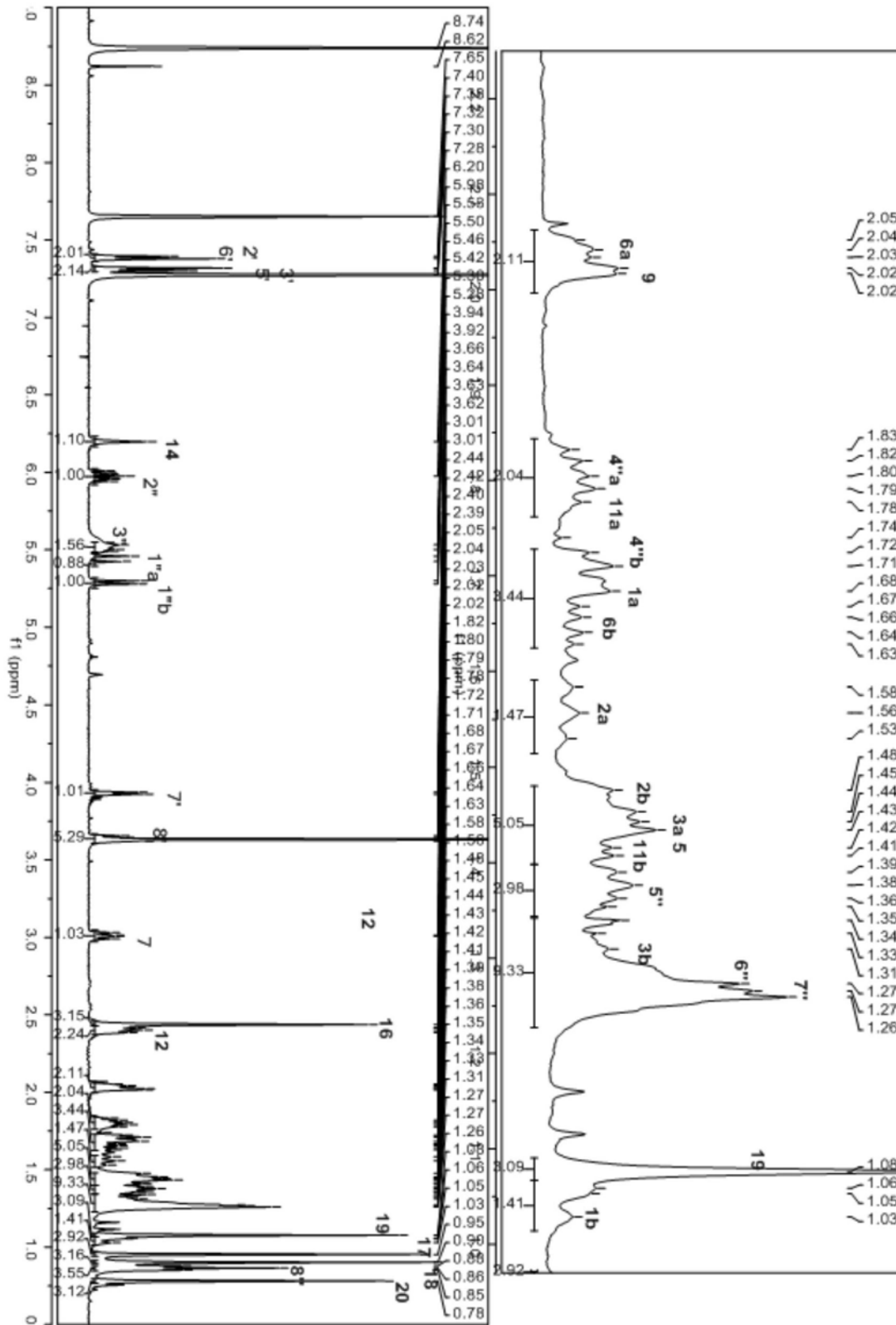


图2

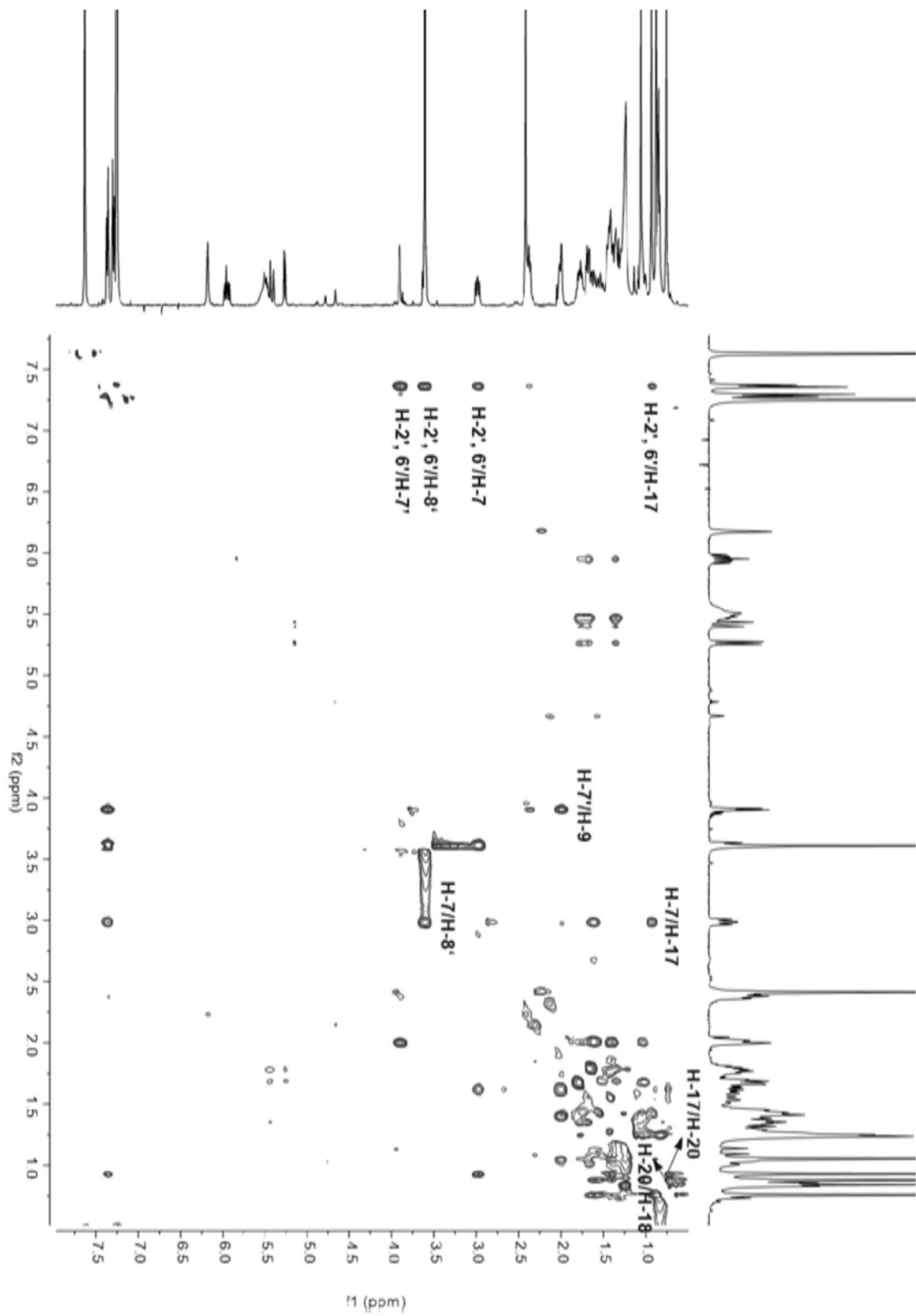


图3

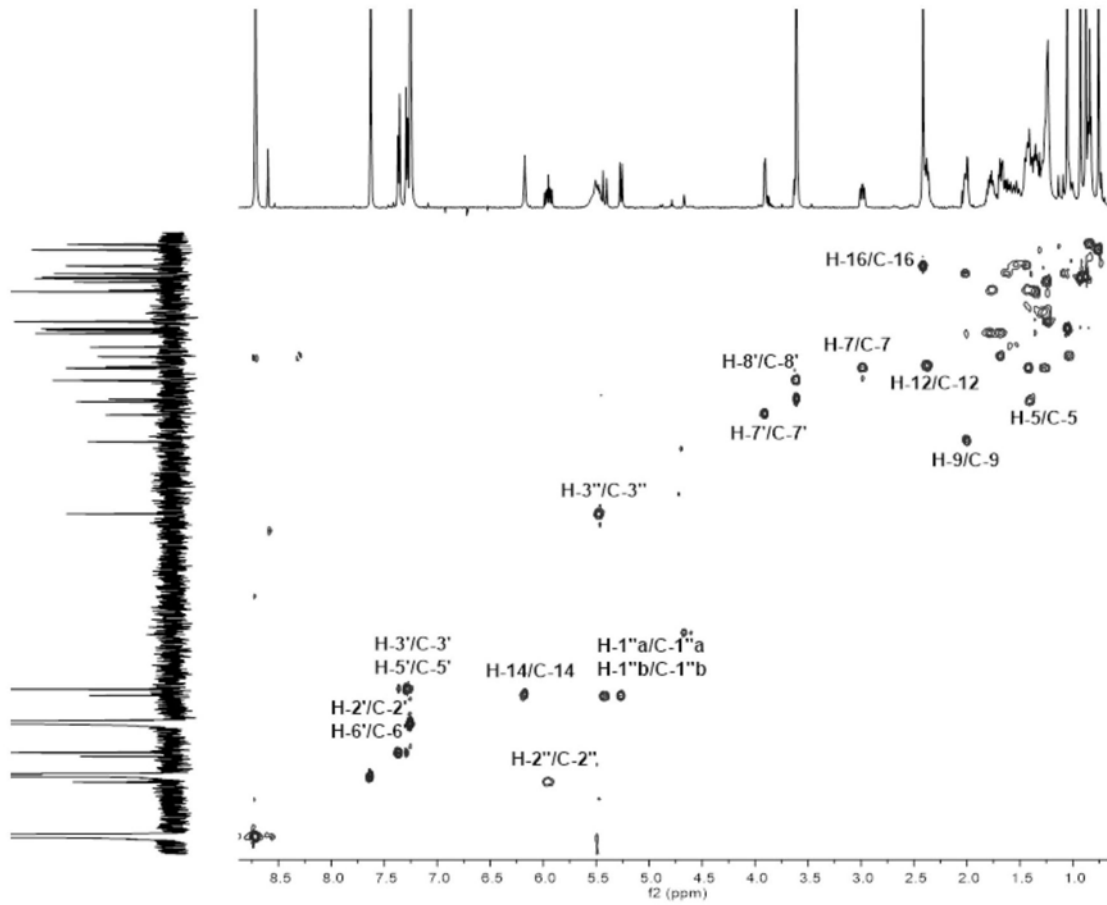


图4

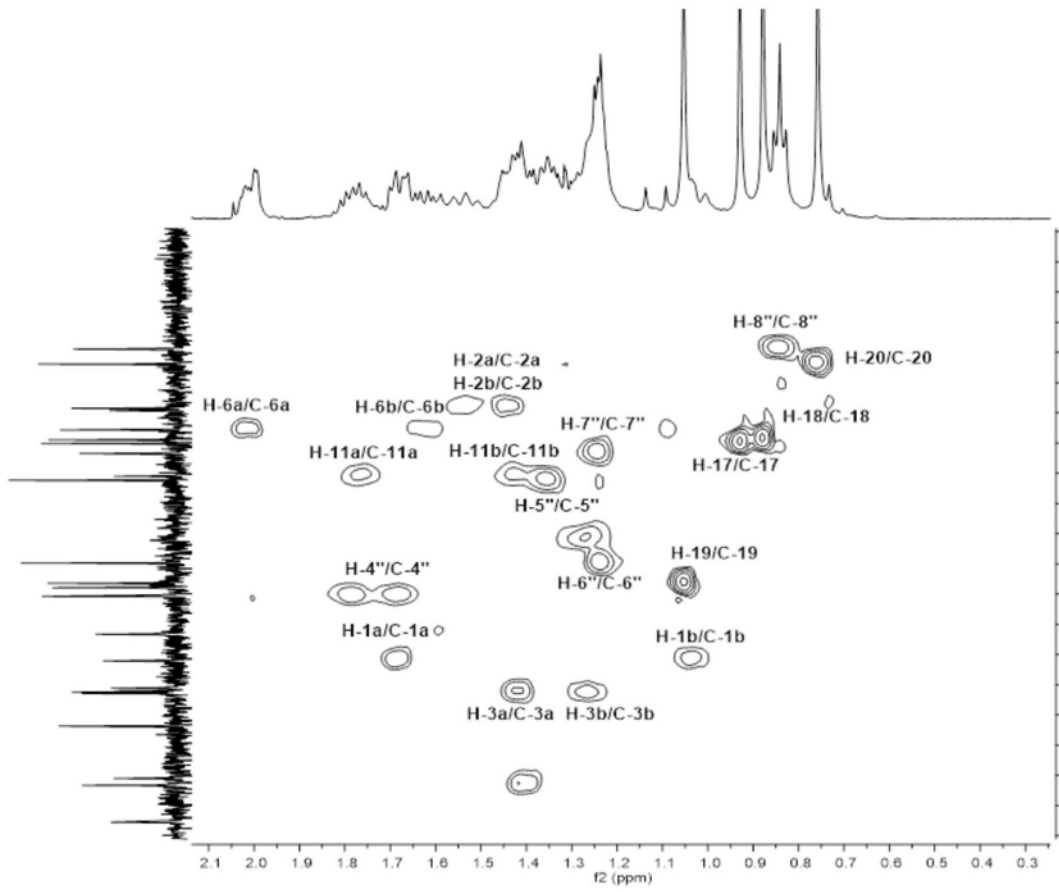


图5

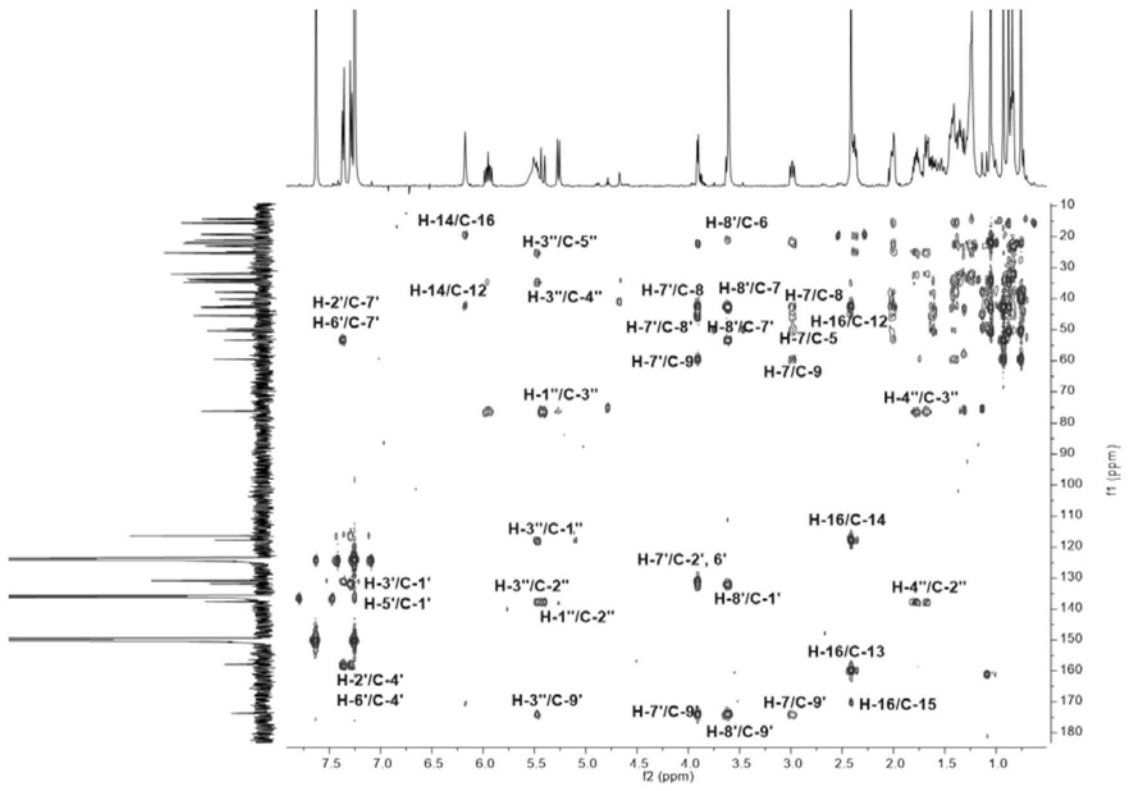


图6

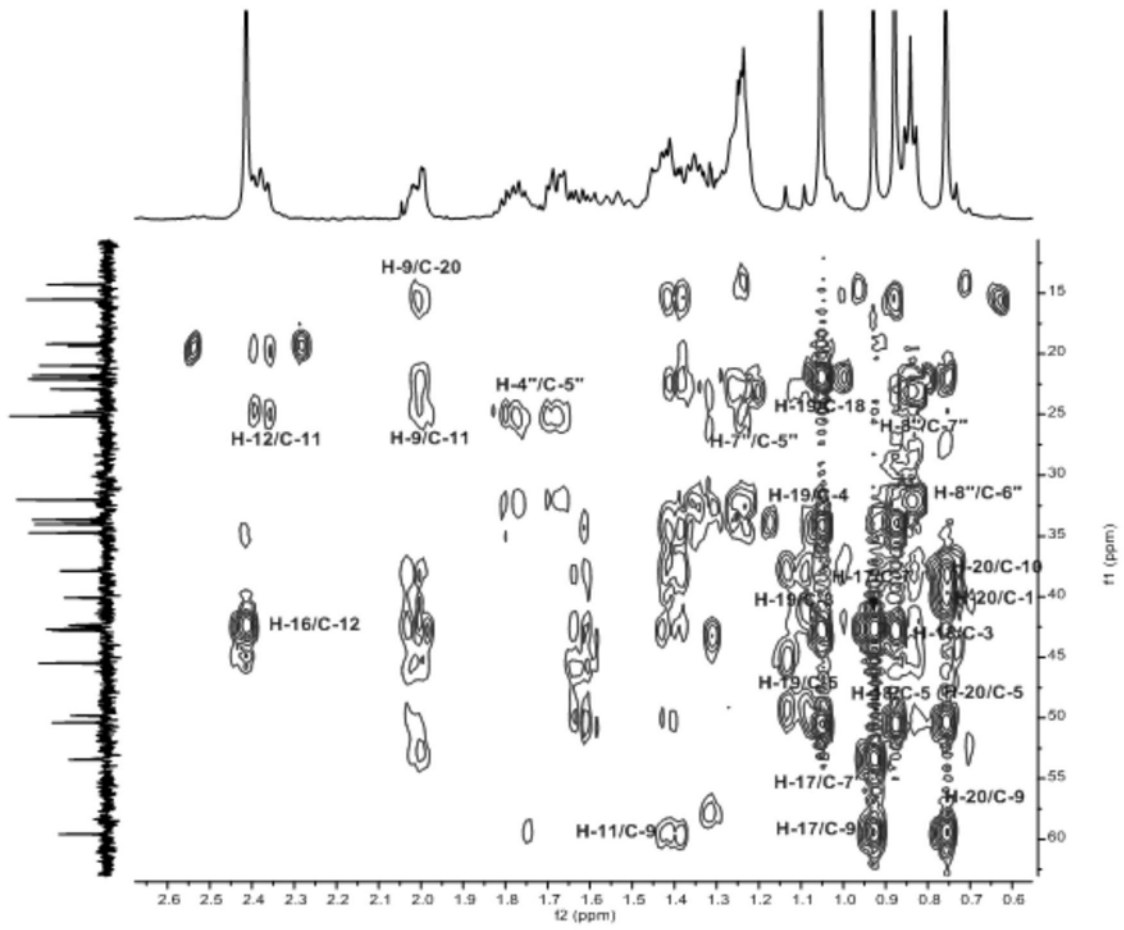


图7

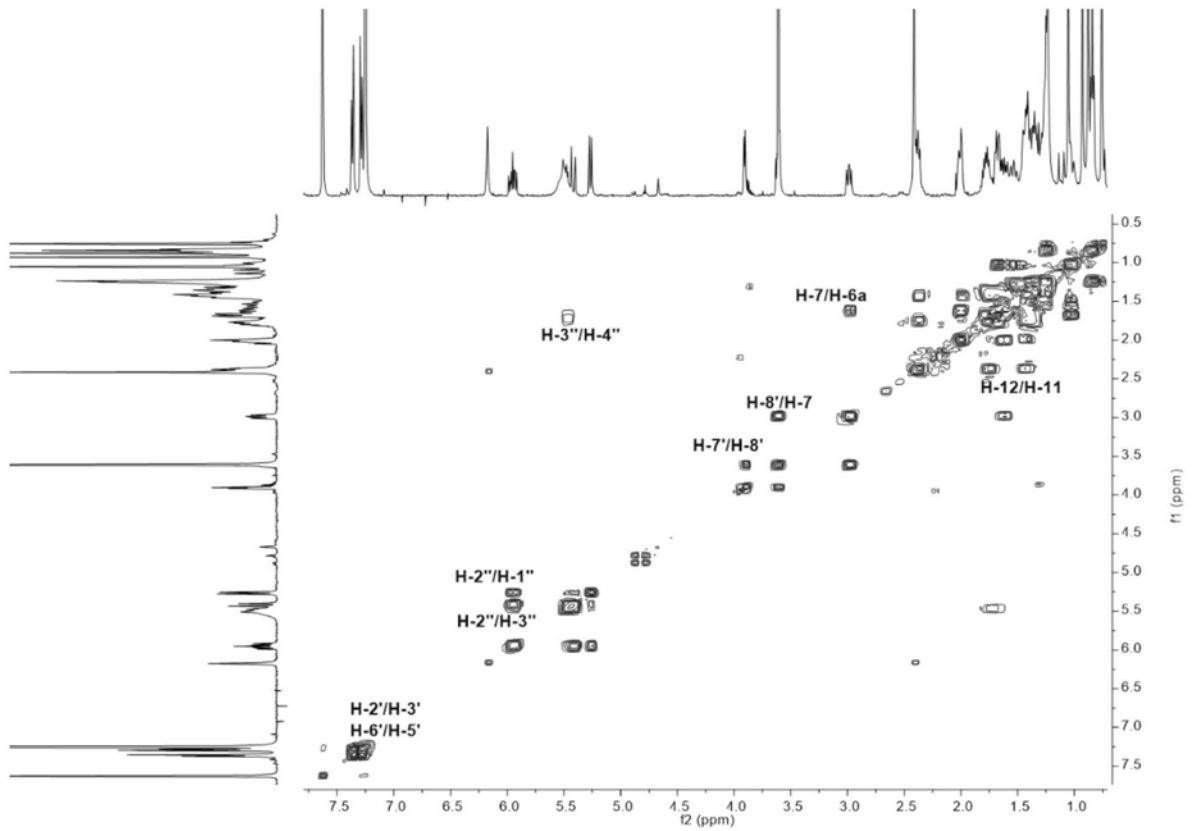


图8

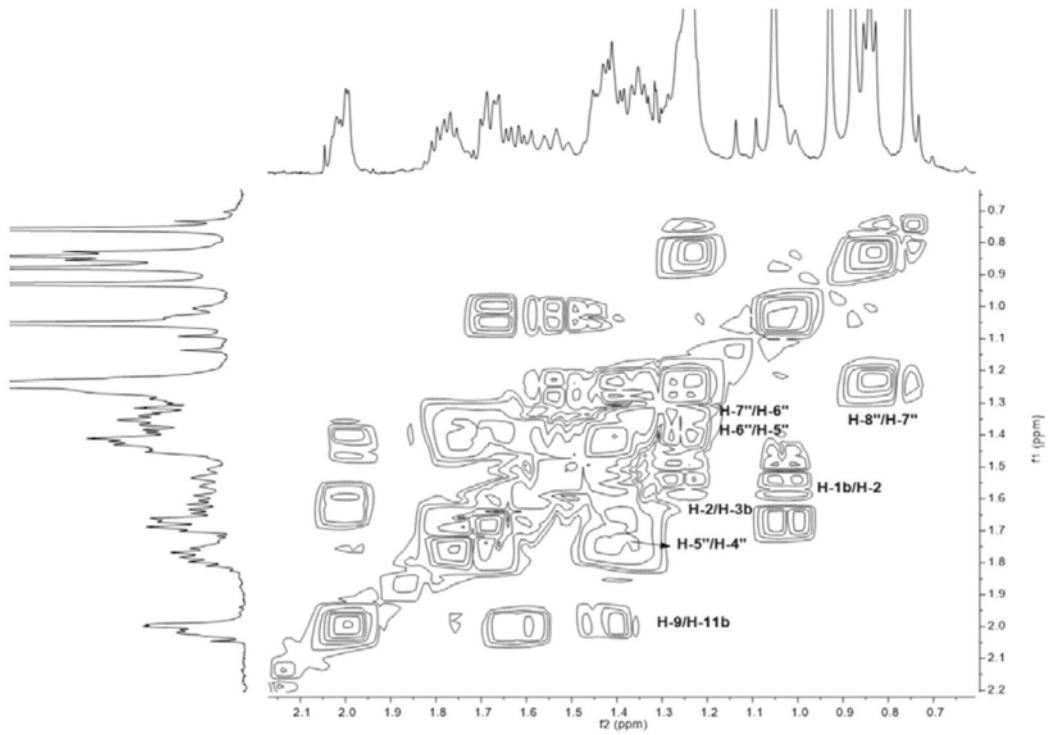


图9

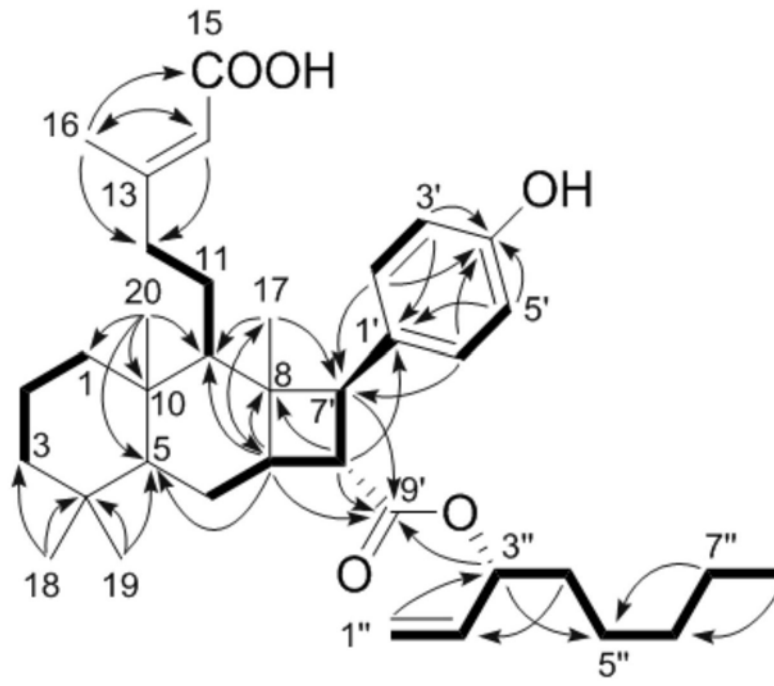


图10