

(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
2021 年 10 月 21 日 (21.10.2021)



(10) 国际公布号
WO 2021/208080 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 31/365 (2006.01) A61P 31/12 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01) A61P 11/00 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2020/085383

(22) 国际申请日: 2020 年 4 月 17 日 (17.04.2020)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(71) 申请人: 毓维生物科技股份有限公司(CNS BIOTEK CORP.) [CN/CN]; 中国台湾省台中市西区五权西五街 82 之 2 号 1 楼, Taiwan 40348 (CN)。甘肃安卓幸制药有限公司(GANSU EVERGREEN PHARMACEUTICALS, CO., LTD.) [CN/CN]; 中国甘肃省兰州市城关区雁南路 451 号 C 栋 421 室, Gansu 730010 (CN)。

(72) 发明人: 杨震(YANG, Zhen); 中国广东省深圳市南山区西丽镇丽水路大学城北大校区 F202, Guangdong 518055 (CN)。曾耀铭(TZENG, Yew-Min); 中国台湾省台东市大学路 2 段 369 号, Taiwan 95092 (CN)。张林琦(ZHANG, Linqi); 中国北京市海淀区清华大学医学科学楼 A208 室, Beijing 100084 (CN)。全军民(QUAN, Junmin); 中国广东省深圳市南山区西丽镇丽水路大学城北大校区 F201, Guangdong 518055 (CN)。常青(CHANG, Qing); 中国甘肃省兰州市高新技术开发区雁南路 451 号, Gansu 730010 (CN)。张绮(ZHANG, Qi); 中国北京市海淀区清华大学医学科学楼 A205 室, Beijing 100084 (CN)。李建明(LEE, Chien-Ming); 中国台湾省台东市大学路 2 段 369 号, Taiwan 95092 (CN)。

(54) Title: USE OF OVATODIOLIDE AGAINST NOVEL CORONAVIRUS

(54) 发明名称: 鱼针草内酯抗新型冠状病毒的用途

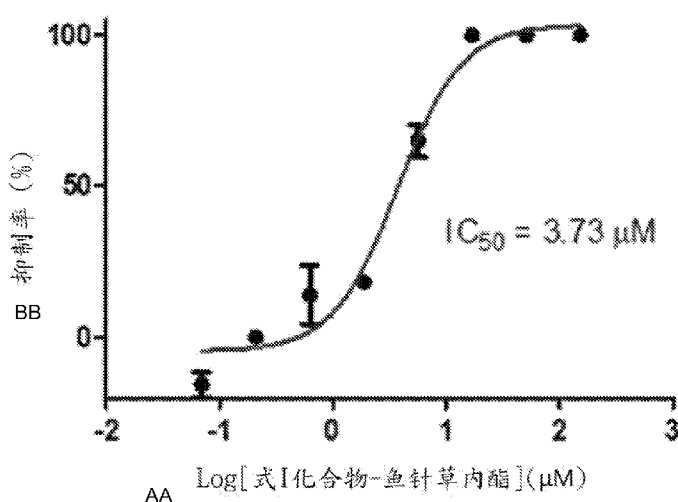
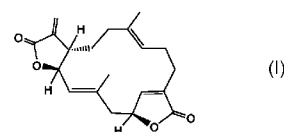


图 5 AA LOG[FORMULA I COMPOUND OVATODIOLIDE] (MM)
BB INHIBITION RATE (%)



(57) Abstract: The present invention relates to a safe and effective use of a compound of formula I, ovatodiolide, in a pharmaceutical composition for inhibiting novel coronavirus (SARS-CoV-2) infection. The foregoing pharmaceutical composition comprises a safe and effective amount of the formula I compound ovatodiolide or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and a pharmaceutically acceptable carrier. The foregoing pharmaceutical composition containing a safe and effective amount of the formula I compound ovatodiolide has a great potential for application in the prevention or treatment of novel coronavirus pneumonia (COVID-19) caused by the novel coronavirus (SARS-CoV-2).



(74) 代理人: 北京市万慧达律师事务所 (BEIJING WANHUIDA LAW FIRM); 中国北京市海淀区中关村南大街1号友谊宾馆颐园写字楼2楼, Beijing 100873 (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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

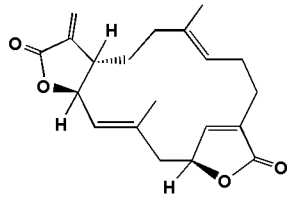
— 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。

(57) 摘要: 本发明是涉及式I化合物-鱼针草内酯(Ovatodioliide) 安全有效使用于抑制新型冠状病毒(SARS-CoV-2)感染的药物组合物的用途。前述的药物组合物, 包括安全有效量的式I化合物-鱼针草内酯或其医药上可接受盐, 与医药上可接受载体(carrier)。前述含安全有效量的式I化合物-鱼针草内酯的药物组合物, 其颇具潜力应用于预防或治疗新型冠状病毒(SARS-CoV-2)引发的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)。

鱼针草内酯抗新型冠状病毒的用途

技术领域

【0001】 本发明的重点是式I化合物-鱼针草内酯 (Ovatodiolide; Ova)



抗新型冠状病毒的用途；惟在研究开发过程中，将天然物式I化合物-鱼针草内酯的制备鉴定分析、基本毒理试验、式I化合物-鱼针草内酯抗新型冠状病毒作用机制的分子对接模拟、式I化合物-鱼针草内酯抗新型冠状病毒生化实验证实等，依次进行探讨并确认式I化合物-鱼针草内酯可适量生产，安全无虞，具备抗新型冠状病毒的作用机制与实际功效；式I化合物-鱼针草内酯确是具有潜力的抑制新型冠状病毒(SARS-CoV-2)感染的天然物，可用以开发为防治新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的药物。

发明背景

【0002】 目前，因为全世界尚未针对新型冠状病毒开发出有效预防疫苗或有效治疗药物；新型冠状病毒已散布各大洲，导致新型冠状病毒肺炎正全球大流行，许多国家与各跨国药企都在积极进行研究开发可有效防治的疫苗或药物。

【0003】 鱼针草 (*Anisomeles indica* O. Kuntze)，为台湾民间常用的草药，又名客人抹草(广东蕉岭、梅县)、金剑草、本藿香等。中国台湾卫生主管部门已将鱼针草列入可供食品使用原料汇整一览表，全株可食。鱼针草为唇形科 (Labiatae) 的一年或越年生草本植物。鱼针草主要分布于中国西南部、印度、菲律宾、印度尼西亚爪哇及苏门答腊，台湾全境平野至低海拔山区均可发现，台湾花莲玉里亦有零星药用栽培。一般民间药用为采集于夏、秋间，拔起全草或割取地上部位，洗净，鲜用或晒干用。全草有解热、祛风、除湿、健胃、解毒、止痛、抗菌之功效。民间常用于治疗感冒发热、腹痛呕吐、伤食霍乱、胃痛、胃肠炎、神经性皮炎、风湿骨痛、筋骨疼痛、湿疹、肿毒、疮疡、便毒、毒蛇咬伤。

【0004】 本研发团队长期进行鱼针草育种(GenBank: GU726292)，并持续进行农场种植的鱼针草全草萃取物的系列研究，尤其聚焦在式I化合物-鱼针草内酯结晶纯物质的制备(图2)，具体执行了萃取分离纯化、分析鉴定，以及抗发炎、抗病毒、抗幽门螺旋杆菌、抗癌、抗癌干细胞等药理作用等等研究。本团队近年完成式I化合物-鱼针草内酯对照治疗A型与B型流行性感冒药物「克流感」(罗氏药厂: Tamiflu)的测试实验，发现式I化合物-鱼针

草萃取物与鱼针草内酯抑制流感病毒(冠状病毒的一种)的良好效果。近期于2019年底获悉,治疗艾滋病药物对治疗新型冠状病毒感染病人有呈现正面反应;依据文献报导鱼针草内酯可抑制HIV艾滋病毒(*Fitoterapia*, 2000, 71(5): 574-576.)。此外,现有研究也发现鱼针草内酯能抑制胃壁中幽门螺旋杆菌引起的胃炎,还能抑制NF- κ B与STAT3介导的炎症反应,因此式I化合物-鱼针草内酯也可能缓解新型冠状病毒引起的肺炎症状。

发明内容

【0005】 本发明是基于发现式I化合物-鱼针草内酯或其医药上可接受盐,其可用于抑制新型冠状病毒感染,甚至治疗或预防新型冠状病毒肺炎。特定言之,本发明系提供一种用于抑制新型冠状病毒感染,甚至治疗或预防肺炎之药物组合物,包括安全有效量之式I化合物-鱼针草内酯或其医药上可接受盐,与医药上可接受载体。

【0006】 本发明是提供一种以式I化合物-鱼针草内酯为有效成分用于抑制新型冠状病毒感染之药物组合物为主。经模拟式I化合物-鱼针草内酯对新型冠状病毒表面刺突糖蛋白受体结合区(receptor-binding domain, RBD)分子对接结果显示:式I化合物-鱼针草内酯(Ova)结合到RBD几个疏水氨基酸(L455, F456, Y489, F490)构成的疏水口袋,并与Y489和Q493形成氢键作用(图3)。该结合位点处于新冠病毒刺突糖蛋白RBD与人体细胞膜受体血管收缩素转换酶-2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)结合的接口上,预测式I化合物-鱼针草内酯(Ova)可阻断或干扰病毒刺突糖蛋白受体结合区(RBD)与受体(ACE2)的直接结合。新型冠状病毒表面刺突糖蛋白与人体细胞膜受体血管收缩素转换酶-2(ACE2)结合是介导病毒入侵宿主的关键步骤,阻断或干扰病毒与受体的结合是潜在的预防及治疗策略。

【0007】 同时,了解到宿主内体半胱氨酸蛋白水解酶Cathepsin B和Cathepsin L对新型冠状病毒的融合过程有关键的作用。经仿真分子对接结果还显示式I化合物-鱼针草内酯(Ova)亦可能结合至内体半胱氨酸蛋白水解酶Cathepsin B和Cathepsin L的催化口袋。式I化合物-鱼针草内酯(Ova)以疏水脂环结合Cathepsin B由Y75, P76, A173, A200, 以及E245构成的疏水S2位点,并通过环外烯烃与催化半胱氨酸C29形成共价复合物从而抑制Cathepsin B的活性(图4A)。另一方面,式I化合物-鱼针草内酯(Ova)以疏水脂环结合Cathepsin L由L69, M70, Y72, A135, 以及M161构成的疏水S2位点,并通过环外烯烃与催化半胱氨酸C25形成共价复合物从而抑制Cathepsin L的活性(图4B)。由于内体半胱氨酸蛋白水解酶Cathepsin B和Cathepsin L对新型冠状病毒的融合过程有关键的作用,式I化合物-鱼针草内酯(Ova)潜在地阻断新型冠状病毒的侵入融合过程。

【0008】 本研究特别落实经由北京清华大学艾滋病综合研究中心主任张林琦教授

实验室开发的新型冠状病毒假病毒抑制活性检测体系，具体评估式I化合物-鱼针草内酯是否阻断新型冠状病毒感染宿主细胞过程。实验结果显示式I化合物-鱼针草内酯以具体有别于氯喹(chloroquine)或瑞德西伟(Remdesivir)抑制新型冠状病毒的分子作用机制，式I化合物-鱼针草内酯在微摩尔级别显著展现对新型冠状病毒感染的抑制效果(图5)。

【0009】 式I化合物-鱼针草内酯可拥有一或多个手性中心，因此具有各种立体异构体形式。本发明中提及之式I化合物-鱼针草内酯包括所有此等异构体；此外，亦包括含式I化合物-鱼针草内酯主结构的衍生化合物，且该等衍生化合物对于抑制新型冠状病毒的分子作用机制与本发明公开的结合新型冠状病毒表面刺突糖蛋白受体结合区分子对接机制，或结合宿主内体半胱氨酸蛋白水解酶Cathepsin B和Cathepsin L分子对接机制，具类同效果者。式I化合物-鱼针草内酯具有选择性抑制新型冠状病毒感染的功效；由于其分子量极小，因此，可使用较低剂量的式I化合物-鱼针草内酯或其医药上可接受盐，与医药上可接受载体，即可得到渴望的治疗效果。本发明为一抑制新型冠状病毒感染，甚至治疗或预防新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的药物组合物，是将一安全有效量之式I化合物或其医药上可接受盐，与医药上可接受载体，用于抑制新型冠状病毒，或投予具有新型冠状病毒肺炎(COVID-19)症状的患者，以治愈、恢复、减轻、缓和、改变、治疗、改善、改进或影响疾病、疾病的症状或倾向于疾病的体质为目的。此处使用的“有效量(an effective amount)”指有效量之式I化合物-鱼针草内酯或其医药上可接受盐，具有抑制或治疗功效的量。有效量的改变是根据给药的途径、辅药使用(excipient usage)以及与其他共同使用(co-usage)的活性药剂。

【0010】 此处之“新型冠状病毒肺炎(COVID-19)”意指新型冠状病毒(SARS-CoV-2)侵入人体引起的致命肺炎。新型冠状病毒利用冠状病毒表面的刺突糖蛋白(Spike glycoprotein) 识别细胞表面的血管收缩素转换酶-2 (ACE2)，进而侵染人体的正常细胞。一种可能的机制是当病毒侵入体内后，体内的免疫细胞激烈作用，引发体内免疫风暴，释放大量自由基(如过氧化自由)而让蛋白质变性，DNA损伤，细胞激素过度产生，导致大量细胞的坏死，在肺部就形成了严重的致命肺炎。式I化合物-鱼针草内酯可有效抑制新型冠状病毒感染，进而预防或治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)。

【0011】 式I化合物-鱼针草内酯是以有机溶剂萃取鱼针草全草、地上部分枝叶、或叶子，并经硅胶管柱分离纯化制备而得；或另以化学合成方法制备而得。例如：由“鱼针草萃取”指自较适成长程度之鱼针草所萃取出的鱼针草萃取物。为取得该鱼针草萃取物，可使用本技术领域中所所周知的萃取技术。例如可将经干燥与研磨的该鱼针草悬浮在一溶剂或者两种或多种溶剂之混合液于一足够长的时间。适合的溶剂的例子包括，但不限定为：水、

甲醇、乙醇、丙酮(acetone)、醚类(ether) (例如乙醚(diethyl ether)) 与乙酸乙酯酯类(ethyl acetate) 与己烷(hexane)。之后移除固体残余物(例如借由过滤)得到该鱼针草萃取物溶液, 其可经氧化铝、氧化硅、硅胶管柱纯化制备得式I化合物-鱼针草内酯。

【0012】 在本发明之治疗方法中, 式I化合物-鱼针草内酯或其医药上可接受盐类可同时给药或分开给药, 以口服、非口服、经由吸入喷雾(inhalation spray)或借由植入贮存器(implanted reservoir)的方式。此处所使用之“非口服”指皮下(subcutaneous)、皮内(intracutaneous)静脉内(intravenous)、肌肉内(intramuscular)、关节内(intraarticular)动脉(intraarterial)、滑囊(腔)内(intrasynovial)、胸骨内(intrasternal) 蜘蛛膜下腔(intrathecal)、疾病部位内(intraleaional)与头颅内(intracranial)注射以及灌注技术。本发明所使用式I化合物-鱼针草内酯及/或其医药上可接受盐类可与至少一种固体、液体或半液体状之赋形剂或辅助剂一同形成适当的药剂形式。其形式包括, 但不限于, 药锭、胶囊、乳剂(emulsions)、水性悬浮液(aqueous suspensions)、分散液(dispersions)与溶液。药锭一般所使用的载体(carrier)包括乳糖与玉米淀粉。一般也将润滑剂(lubricating agent), 例如硬脂酸镁(magnesium stearate)加至药锭中。用于胶囊形式的稀释剂(diluents)包括乳糖与经干燥的玉米淀粉。当口服给药为水性悬浮液或乳剂时, 可悬浮或溶解有效成分(active ingredient)于与乳化或悬浮剂结合的油相(oily phase)。如果需要, 可加入特定甜味、调味与着色剂。本发明所使用式I化合物-鱼针草内酯或其医药上可接受盐类亦可配制成无菌注射成分(例如, 水或油的悬浮液), 例如利用本技术领域已知的使用适合的分散或增湿剂(例如Tween 80)与悬浮剂。无菌注射调剂也可以将无菌注射溶液或悬浮液加入无毒性非口服之稀释剂或溶剂, 例如1,3-丁二醇(1,3-Butanediol)中。可使用的载具(vehicles)与溶剂包括甘露醇(mannitol)、水、林格氏液(Ringer's solution)与等渗透压氯化钠溶液。此外, 无菌、固定油常作为溶剂或悬浮媒介(例如合成的单-或双-甘油酯(glycerides))。脂肪酸, 例如油酸(oleic acid)与其甘油酯衍生物亦可用在注射剂的调制, 其为天然药学上可接受的油, 例如橄榄油、蓖麻油(castor oil), 特别是于其聚氧乙基化的(polyoxyethylated)变化形式。这些油溶液或悬浮液也可包含一长链醇类稀释剂或分散剂, 或者羧基甲基纤维素(carboxymethyl cellulose)或类似的分散剂。本发明所使用式I化合物-鱼针草内酯或其医药上可接受盐类亦可根据此技术领域中所熟知的技术来配制成吸入成分。例如可制成盐类溶液, 利用苯甲醇(benzyl alcohol)或其他适合的防腐剂、增强生物可利用性(bioavailability)的吸附促进剂、碳氟化合物(fluorocarbon)或其他本技术领域熟知的助溶或分散剂来配制。用于药物组合物的载体必须是“可接受的”, 其与配方的有效成分兼容(以及较佳为具有稳定有效成分之能力)以及不对病患有害。例如, 助溶剂(例如环状糊精(cyclodextrins))(其与一个或多个萃取物

的活性化合物形成特定更可溶解的复合物), 为了有效成分的传送而作为药理学上的辅药。其他载体的例子包括胶状二氧化硅(colloidal silicon dioxide)、硬脂酸镁、纤维素与烷基硫酸盐(sodium lauryl sulfate)。

【0013】 另外, 由于抗病毒剂如以高剂量投予病患易产生副作用。是以依据本发明公开的式I化合物-鱼针草内酯系列毒理实验结果, 含对大鼠的单一剂量口服急毒性试验、对大鼠28天喂食毒性试验、对沙门氏菌回复突变的Ames试验、对体外哺乳类细胞株染色体异常分析试验、对小鼠外围血液微核试验等, 均显示式I化合物-鱼针草内酯不具有基因毒性, 并提供了安全口服剂量范围。本发明医药组合物为含有安全有效量之式I化合物-鱼针草内酯, 用于抑制新型冠状病毒感染, 其中该安全有效量为一般成人(60公斤体重): 每日口服480毫克以内, 并以持续服用28天以内为限。较佳为一般成人(60公斤体重): 每日口服20毫克至40毫克, 并以持续服用7天至14天为适当。施予个别病人的特定剂量是依所有可能存在因素而定, 例如: 所使用之特定化合物的活性、年龄、体重、一般健康状况、性别、进食状况、施用时间与路径、排泄率、医药物质的组合、以及所欲治疗之疾病的严重程度等。

【0014】 本发明还提供一种组合物用于制备抑制冠状病毒的药物的用途, 其中该组合物包括一式I化合物-鱼针草内酯(Ovatodioliide)、或一式I化合物-鱼针草内酯的结构异构体。

附图说明

【0015】 图1.式I化合物-鱼针草内酯(Ovatodioliide)结构式。

【0016】 图2.式I化合物-鱼针草内酯结晶 X-ray ORTEP 图。

【0017】 图3.新型冠状病毒突刺糖蛋白受体结合区RBD与人体细胞膜受体ACE2复合物结构, 及式I化合物-鱼针草内酯(Ova)与RBD的对接结构, 式I化合物-鱼针草内酯(Ova)结合在RBD上, 干扰其与ACE2的结合。图中标记: ACE2: 血管收缩素转换酶2; nCov S-RBD: 新型冠状病毒突刺糖蛋白受体结合区; Ovatodioliide (Ova): 式I化合物-鱼针草内酯。

【0018】 图4.式I化合物-鱼针草内酯(Ova)与半胱氨酸蛋白水解酶 Cathepsin B (A) 和Cathepsin L (B) 的对接结构, 其中式I化合物-鱼针草内酯(Ova)以环外烯烃分别与Cathepsin B的催化半胱氨酸C29, 以及Cathepsin L的催化半胱氨酸C25形成共价键。图中标记: Ovatodioliide (Ova): 式I化合物-鱼针草内酯; Cathepsin B: 半胱氨酸蛋白水解酶B; Cathepsin L: 半胱氨酸蛋白水解酶L。

【0019】 图5.式I化合物-鱼针草内酯抑制新型冠状病毒感染的活性曲线, $IC_{50} = 3.73$

μM。

具体实施方式

【0020】 为了让本发明之上述和其他目的、特征、和优点能更明显易懂，下文特举较佳实施例，做详细说明如下：

【0021】 **实施例1.式I化合物-鱼针草内酯的制备与分析：**取鱼针草(一年生、台湾花莲玉里秋季采收)大致阴干叶子部分(800g)，放入烘箱(40°C)进行干燥(24小时)，可得干燥鱼针草叶子(500g)。将干燥的鱼针草叶子(500g)装入20公升桶子(PE材质)，并加入10公升95%酒精确保所有叶子均浸泡于溶剂中，之后将桶子密封保存于阴凉处7天。7天之后，将95%酒精层与叶子经由过滤分开并通过回转式蒸发浓缩机进行浓缩，获得黄绿色萃取物(10g)。以氧化铝管柱层析法进行纯化(中性氧化铝:300g)。用10mL丙酮将黄绿色萃取物(10g)溶解并加到充填好的氧化铝管柱。溶剂冲提比例Hexane: Ethyl acetate/100%: 0%，逐渐增加极性到Hexane: Ethyl acetate/70%: 30%。经由薄层色层分析试纸检测(TLC)的筛选比对，式I化合物-鱼针草内酯可于第三个区段流出管柱。利用回转式蒸发浓缩机将可挥发物质抽干后，加入15mL的丙酮回溶，利用溶剂扩散长晶方式，经过七天可得透明式I化合物-鱼针草内酯晶体1.56g，产率约0.3%。经由 X-ray, NMR, IR, Mass, HPLC等仪器鉴定。纯化所得晶体确定为式I化合物-鱼针草内酯。透过干燥、萃取、纯化和鉴定，我们成功地从鱼针草中单离出式I化合物-鱼针草内酯(ovatodioidide)，其对叶子的产率约为3000ppm，然而叶子只占鱼针草全株的7%以下，且收集不易。式I化合物-鱼针草内酯分析鉴定：X-ray Crystals of ovatodioidide are Orthorhombic, space group $P2_12_12_1$, with $a = 10.7714(3)$, $b = 12.8674(3)$, $c = 13.0829(3)$, $V = 1813.29(8) \text{ \AA}^3$, $D(\text{calculated}) = 1.203 \text{ Mg/m}^3$, $Z = 4$, Formula weight = 328.39, Goodness-of-fit on $F^2 = 1.056$, R indices (all data): $R1 = 0.0347$, $wR2 = 0.0942$. ORTEP diagram is depicted as Figure 2 (图2). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 1.59 (s, 3H), 1.62 (m, 1H), 1.64 (m, 1H), 1.72 (s, 3H), 2.04 (m, 1H), 2.12 (m, 1H), 2.19 (m, 1H), 2.26 (dd, 1H), 2.39 (m, 1H), 2.45 (m, 1H), 2.52 (m, 1H), 2.80 (m, 1H), 2.86 (dd, 1H), 4.81 (m, 1H), 4.85 (bd, 1H), 5.08 (m, 1H), 5.12 (bd, 1H), 5.57 (bs, 1H), 6.12 (bs, 1H), 6.98 (bs, 1H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): 15.1, 19.3, 23.7, 24.9, 33.3, 36.3, 40.3, 42.7, 77.9, 78.8, 122.9, 125.0, 129.1, 131.2, 134.3, 134.5, 139.6, 147.4, 170.4, 173.0. FTIR (KBr pellet): 3100, 2900, 1740, 1650, 1430, 1395, 1320, 1200, 1110, 1045, 1080, 980, 960, 930, 910, 880, 860, 820, 750, 625 cm^{-1} and HRMS (ESI) m/z calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_4$ (M^+) 328.1675, found 328.1672。

【0022】 **实施例2.式I化合物-鱼针草内酯对大鼠的单一剂量口服急性毒性试验：**本实施例为测试式I化合物-鱼针草内酯对大鼠的单一剂量口服急性毒性安全性试验，提供食

用安全评估的参考。试验依据中国台湾卫生主管部门健康食品安全性评估-单一剂量口服急性毒性试验、美国环保署(USEPA) (Health Effects Test Guidelines, OPPTS 870.1100, Acute oral toxicity, US EPA 712-C-98-190. In: OPPTS Harmonized Test Guidelines, Series 870.3050, EPA712-C-00-366) 及经济合作与发展组织(OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Section 4: Health Effects. No.420: Acute Oral Toxicity-Fixed Dose Procedure, No.423: Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method, No.425: Acute Oral Toxicity-Up and Down Method) 等试验规范进行单一剂量口服急性毒性试验。本实验进行式I化合物-鱼针草内酯对大鼠(Sprague-Dawley, SD品系)的单一剂量口服急性毒性试验。式I化合物-鱼针草内酯为微黄结晶状, 试验纯度为99.95%, 试验时以10%DMSO配制成溶液浓度 0.1g/mL, 每只大鼠喂食体积量为10mL/kg body weight, 当日依体重经口喂食大鼠, 最终授予剂量总计为1g/kg-body weight, 授予后连续观察14天。结果显示, 以式I化合物-鱼针草内酯口服授予大鼠后, 全部鼠只皆无中毒症状或死亡。每周体重变化(g)方面, 处理组雄鼠及雌鼠之每周体重及增重与对照组相比均无明显差异。试验结束后, 处理组雄鼠及雌鼠之血液值变化, 包括: 白血球总数(WBC count)、红血球总数(RBC count)、血球容积比(Hct)、平均红血球体积(MCV)、平均血红蛋白(MCH)、平均血红蛋白浓度(MCHC)、血小板(platelet)总数及白血球分类等均无明显异常。处理组雄鼠及雌鼠的血清肝肾酵素值, 包括: 天门冬胺酸胺基转移酶(AST)、丙胺酸胺基转移酶(ALT)、尿素氮(BUN)及肌酐酸(creatinine)等项目均无影响。体内脏器绝对重量(g)及脏器重量百分比方面, 于肾上腺、脑、心脏、肾脏、肝脏、脾脏、胸腺、睪丸或卵巢等脏器, 处理组与对照组比较并无显著差异。经检查体内脏器, 处理组之肾上腺、脑、心脏、肾脏、肝脏、脾脏、胸腺、睪丸或卵巢等重要脏器均无肉眼病变。经组织病理检查结果显示, 式I化合物-鱼针草内酯处理组的重要脏器亦均无与试验物质相关的组织病理变化。综合试验结果显示, 式I化合物-鱼针草内酯1g/kg-body weight(换算人类适用剂量约为50mg/kg-body weight)的单一剂量口服急性毒性试验对大鼠并未造成急性中毒或死亡, 且对体内重要脏器均未造成组织器官与毒性反应有关的病理变化。

【0023】 **实施例3.式I化合物-鱼针草内酯对大鼠28天喂食毒性试验:** 本实施例为测试式I化合物-鱼针草内酯对大鼠之重复剂量口服毒性安全性试验, 借以建立产品安全数据表(material safety data sheet), 提供人体重复服用临床安全性评估的参考。试验是依据中国台湾卫生主管部门健康食品安全性评估28天喂食毒性试验(1999)及药品非临床试验安全规范(2014), 并符合美国环保署(USEPA) (Health Effects Test Guidelines, OPPTS 870.1100, Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents. In: OPPTS Harmonized Test Guidelines, Series 870.3050, EPA712-C-00-366) 及经济合作与发展组织(OECD Guidelines for the Testing

of Chemicals. Section 4: Health Effects. No.407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents) 等试验规范。本实验探讨式I化合物-鱼针草内酯对人体是否可能造成潜在副作用毒性, 以供临床安全评估, 进行式I化合物-鱼针草内酯对大鼠28天重复剂量口服毒性之临床副作用观察试验。式I化合物-鱼针草内酯为微黄色结晶状, 试验纯度视为99.95%, 试验时将样品以5% DMSO配制。大鼠(Sprague-Dawley, SD品系)分为对照组(5% DMSO)、低剂量组(10mg/kg-body weight)、中剂量组(25mg/kg body weight)及高剂量组(50mg/kg-body weight)等4组, 每组20只大鼠, 雌雄鼠各半, 每只大鼠喂食体积量为10mL/kg-body weight, 当日依体重经口喂食大鼠连续28天。试验结果显示, 以式I化合物-鱼针草内酯口服连续投予大鼠28天后, 全部鼠只皆无因试验物质造成中毒症状或死亡。试验结束后, 式I化合物-鱼针草内酯各处理组雄鼠及雌鼠的体重变化、饲料消耗量、尿液、血液值、血清酵素值及脏器重量与对照组比较等数值, 虽因个体差异略有上升或下降现象, 但仍在正常值范围内, 或组间并不具剂量与反应相关性, 并不具临床病理意义, 与试验物质无关。检查各组大鼠全身脏器均无明显肉眼病理变化, 经组织病理检查结果显示, 高剂量组对体内各脏器并未造成器官毒性反应相关的病理变化。综合以上检查结果显示, 式I化合物-鱼针草内酯分别以低剂量组(10mg/kg-body weight)、中剂量组(25mg/kg-body weight)及高剂量组(50mg/kg-body weight)经口连续喂食大鼠28天后, 并不造成雌雄大鼠各脏器毒性反应, 对大鼠28天喂食毒性试验的「无不良影响剂量值」(No observed adverse effect level, NOAEL)为50mg/kg-body weight, 换算人类适用剂量约为 8mg/kg-body weight。

【0024】 **实施例4.式I化合物-鱼针草内酯对沙门氏菌回复突变的Ames试验:** 本实施例为测试鱼针草内酯对沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) TA98、TA100、TA102、TA1535及TA1537菌株回复突变的Ames试验, 借以建立产品安全数据(Material Safety Data Sheet), 提供使用安全评估的参考。试验依据中国台湾卫生主管部门「健康食品安全性评估方法」之基因毒性试验(genotoxicity study) (1999)、美国环保署(USEPA) (Health Effects Test Guidelines, Bacterial Reverse Mutation Test, US EPA 712-C-98-247. In: OPPTS Harmonized Test Guidelines, Series 870.5100, 1998) 及经济合作与发展组织(OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Section 4: Health Effects. No.471: Bacterial Reverse Mutation Test, 2002) 等试验规范进行致变性试验。本实验进行式I化合物-鱼针草内酯对沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) TA98、TA100、TA102、TA1535及TA1537菌株回复突变的Ames试验。试验先以式I化合物-鱼针草内酯之 1.25、2.5及5 mg/plate等浓度与菌株共同作用18-20小时, 进行细菌毒性试验。结果显示, 式I化合物-鱼针草内酯在5 mg/plate以下对TA102菌株无显著毒性, 但对TA98、TA100、TA1535及TA1537菌株具有毒性; 于是再以式I化合物-鱼针草内酯

的 0.63、1.25 及 2.5 mg/plate 等浓度与 TA98、TA100、TA1535 及 TA1537 菌株共同作用 18 小时，进行细菌毒性试验。结果显示，式 I 化合物-鱼针草内酯在 2.5 mg/plate 以下对 TA98、TA100、TA1535 及 TA1537 菌株皆无显著毒性。以式 I 化合物-鱼针草内酯对 TA102 菌株无显著毒性的最高浓度向下连续 2 倍稀释，选取 0.31、0.63、1.25、2.5 及 5 mg/plate 等 5 个浓度作为 Ames 正式试验；而 TA98、TA100、TA1535 及 TA1537 菌株无显著毒性的最高浓度向下连续 2 倍稀释，选取 0.16、0.31、0.63、1.25 及 2.5 mg/plate 等 5 个浓度作为 Ames 正式试验，分别进行式 I 化合物-鱼针草内酯直接以及经大鼠肝脏活化酵素抽出液(S9)混合后作用于沙门氏突变菌株，借以模拟式 I 化合物-鱼针草内酯经动物体内肝脏酵素(S9)代谢后的代谢产物对各菌株的基因致变性，经共同培养 48 小时后计数其菌量。结果显示，不论式 I 化合物-鱼针草内酯直接或经 S9 作用后，对细菌回复突变菌数均未大于阴性对照组回复突变菌数 2 倍以上。综合以上结果，式 I 化合物-鱼针草内酯对沙门氏菌回复突变的 Ames 试验并不具有致变性，对细菌基因突变测试结果为阴性反应(non genetic mutation in Ames test)。

【0025】 **实施例 5. 式 I 化合物-鱼针草内酯对体外哺乳类细胞株染色体异常分析：**本实施例为测试式 I 化合物-鱼针草内酯对体外哺乳类细胞株染色体异常分析，藉以建立产品安全数据(Material Safety Data Sheet)，提供使用安全评估之参考。试验依据中国台湾卫生主管部门健康食品之体外哺乳类细胞株染色体异常分析试验，并符合美国环保署(USEPA) (Health Effects Test Guidelines, OPPTS 870.1100, In vitro mammalian chromosome aberration test, US EPA 712-C-98-190. In: OPPTS Harmonized Test Guidelines, Series 870.3050, EPA712-C-00-366, 1998) 及经济合作与发展组织(OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Section 4: Health Effects. No.473: In vitro mammalian chromosome aberration test 1997) 等试验规范进行基因毒性试验。本实验进行式 I 化合物-鱼针草内酯的细胞染色体变异试验(Chromosomal aberration test with mammalian cell in culture)。式 I 化合物-鱼针草内酯为微黄色结晶状，试验时以 Dimethyl sulfoxide (DMSO) 配制。细胞毒性试验分为两部分，一部分以 CHO-K1 细胞直接与式 I 化合物-鱼针草内酯作用，另一部分以大鼠肝脏活化酵素抽出液(S9)模拟人体代谢，CHO-K1 细胞与大鼠肝脏活化酵素抽出液(S9)及式 I 化合物-鱼针草内酯混合后作用。于不含大鼠肝脏活化酵素抽出液(-S9)试验先以 5 种测试剂量 12.5、15、17.5、20 及 25 μM 进行 24 小时细胞毒性试验，结果显示，17.5 μM 的式 I 化合物-鱼针草内酯对 CHO-K1 细胞存活率约 65.6%。另于含大鼠肝脏活化酵素抽出液(+S9)试验先以 5 种测试剂量 60、70、75、80 及 90 μM 进行 24 小时细胞毒性试验，结果显示，75 μM 的式 I 化合物-鱼针草内酯对 CHO-K1 细胞存活率约 60.3%，显示式 I 化合物-鱼针草内酯对 CHO-K1 细胞具有细胞毒性，选此浓度作为正式试验最高剂量。细胞染色体变异试验取样品式 I 化合物-鱼针草

内酯以12.5、15与17.5 μM (-S9)，配制样品溶液于每个细胞培养皿中，共同培养24小时；另于55、65与75 μM 与S9共同培养3小时后，经24小时观察细胞染色体数量及结构是否正常。结果显示，式I化合物-鱼针草内酯经或未经S9混合液代谢活化系统的测试条件下，在12.5、15与17.5 μM (-S9) 及55、65与75 μM (+S9)，等3个剂量组所造成的CHO-K1细胞染色体异常频率，与阴性对照组并无明显增加，且对细胞染色体变异位置亦无明显变化。综合以上结果显示，无论是否含有S9混合物的式I化合物-鱼针草内酯对体外哺乳类细胞株CHO-K1的染色体均不具致变异作用。

【0026】 **实施例6.式I化合物-鱼针草内酯对小鼠外围血液微核试验：** 本实施例为测试式I化合物-鱼针草内酯的基因毒性试验，借以建立产品安全数据(Material Safety Data Sheet)，提供使用安全评估之参考。试验依据中国台湾卫生主管部门健康食品安全性评估-基因毒性试验之小鼠外围血液微核试验，并符合美国环保署(USEPA) (Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test, In: OPPTS Harmonized Test Guidelines, Series 870.5395, EPA 712-C-98-226) 及经济合作与发展组织(OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Section 4: Health Effects. No.474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test, 1997) 等试验规范进行基因毒性试验。本实验进行式I化合物-鱼针草内酯对小鼠(ICR品系)外围血液微核试验。本试验主要测试式I化合物-鱼针草内酯对啮齿类动物体内(in vivo) 外围血液微核发生的比例，借以评估直接或间接引发红血球染色体或有丝分裂之基因变异造成伤害程度。试验以ICR小鼠为试验对象，试验分为阴性对照组、阳性对照组(Cyclophosphamide, 60 mg/kg bw ip)、式I化合物-鱼针草内酯低剂量(0.25 g/kg bw)、中剂量(0.5 g/kg bw)及高剂量(1 g/kg bw)等5组，每组5只小鼠(雄)，并以胃管单次喂食鱼针草内酯，在投予试验物质48小时及72小时后，评估对小鼠外围血液之网状红血球及网状红血球中微核发生率(‰)。结果显示，投予式I化合物-鱼针草内酯48小时及72小时后，各处理组并无毒性症状及体重差异。小鼠外围血液之网状红血球以0.1% Acridine orange stain染色于荧光显微镜下呈橘红色，网状红血球内可见约1/20-1/5 红血球大小黄绿色荧光的微核。比较式I化合物-鱼针草内酯各处理组的48小时及72小时网状红血球数目及网状红血球中含微核数目均与阴性对照组间无明显差异。阳性对照组小鼠的网状红血球数目与阴性对照组比较则有显著性下降($p<0.05$)，网状红血球中微核数目亦有显著性增加($p<0.05$)。综合以上结果，式I化合物-鱼针草内酯各剂量组对小鼠外围血液的网状红血球和网状红血球中微核数目均与阴性对照组无显著性差异，试验结果为阴性。因此，式I化合物-鱼针草内酯对小鼠外围红血球不具染色体基因变异的毒性作用。

【0027】 **实施例7.式I化合物-鱼针草内酯结合新型冠状病毒表面刺突糖蛋白受体结合**
替换页 (细则第26条)

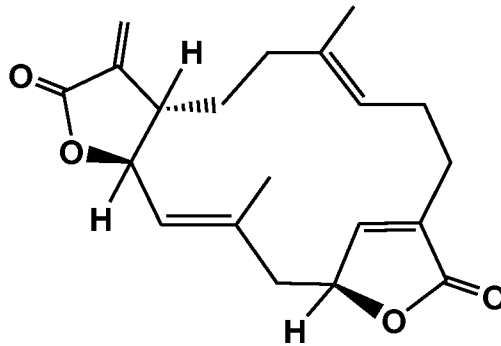
合区分子对接模拟研究：新型冠状病毒表面刺突糖蛋白与人体细胞膜受体血管收缩素转换酶2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2) 结合是介导病毒入侵宿主的关键步骤，阻断或干扰病毒与受体的结合是潜在的预防及治疗策略。本实施例为基于分子对接评估式I化合物-鱼针草内酯(Ova)是否结合新型冠状病毒表面刺突糖蛋白以及阻断或干扰其与受体分子血管收缩素转换酶2 (ACE2) 的结合，以阐明式I化合物-鱼针草内酯抗病毒的机制。具体实施方法如下：取新冠病毒表面刺突糖蛋白受体结合区 (receptor-binding domain, RBD) 的晶体结构(PDB code: 6M0J)作为分子对接受体，利用MOE软件给RBD结构添加氢原子并进行能量优化。配体式I化合物-鱼针草内酯(Ova)的结构亦由MOE软件构建，采用标准MMFF94分子力场以及0.0001 kcal/mol的能量梯度为收敛标准进行能量优化。基于MOE的分子对接模块进行分子对接，能量最优的对接结构进一步进行能量优化以及对接模式分析。分子对接结果显示式I化合物-鱼针草内酯(Ova)结合到RBD几个疏水氨基酸(L455, F456, Y489, F490)构成的疏水口袋，并与Y489和Q493形成氢键作用 (图3)。该结合位点处于新冠病毒刺突糖蛋白RBD与受体ACE2结合的接口上，预测式I化合物-鱼针草内酯(Ova)可阻断或干扰病毒刺突糖蛋白RBD与受体ACE2的直接结合。

【0028】 实施例8.式I化合物-鱼针草内酯结合宿主内体半胱氨酸蛋白水解酶Cathepsin B和Cathepsin L分子对接模拟研究：宿主内体半胱氨酸蛋白水解酶Cathepsin B和Cathepsin L对冠状病毒的融合过程有关键的作用。本实施例为基于分子对接评估式I化合物-鱼针草内酯是否结合并抑制Cathepsin B和Cathepsin L，以阐明式I化合物-鱼针草内酯抗病毒的作用机制。具体实施方法如下：取人内体半胱氨酸蛋白水解酶Cathepsin B和cathepsin L的晶体结构(PDB code: 3AI8 & 2XU1)分别作为分子对接受体，利用MOE软件给RBD结构添加氢原子并进行能量优化。配体式I化合物-鱼针草内酯(Ova)的结构亦由MOE软件构建，采用标准MMFF94分子力场以及0.0001 kcal/mol的能量梯度为收敛标准进行能量优化。基于MOE的分子对接模块进行分子对接，能量最优的对接结构进一步进行能量优化以及对接模式分析。分子对接结果还显示式I化合物-鱼针草内酯(Ova)亦可能结合至内体半胱氨酸蛋白水解酶Cathepsin B和Cathepsin L的催化口袋。式I化合物-鱼针草内酯(Ova)以疏水脂环结合Cathepsin B由Y75, P76, A173, A200, 以及E245构成的疏水S2位点，并通过环外烯烃与催化半胱氨酸C29形成共价复合物从而抑制Cathepsin B的活性 (图4A)。另一方面，式I化合物-鱼针草内酯(Ova)以疏水脂环结合Cathepsin L由L69, M70, Y72, A135, 以及M161构成的疏水S2位点，并通过环外烯烃与催化半胱氨酸C25形成共价复合物从而抑制Cathepsin L的活性 (图4B)。由于内体半胱氨酸蛋白水解酶Cathepsin B和Cathepsin L对冠状病毒的融合过程有关键的作用，式I化合物-鱼针草内酯(Ova)潜在地阻断新冠病毒的侵入融合过程。

【0029】 **实施例9.式I化合物-鱼针草内酯抑制新型冠状病毒感染的活性研究：** 实施例7所述式I化合物-鱼针草内酯与新型冠状病毒表面刺突糖蛋白受体结合区(receptor-binding domain, RBD)的分子对接模拟研究结果，以及实施例8所述式I化合物-鱼针草内酯与内体半胱氨酸蛋白水解酶Cathepsin B和Cathepsin L等的分子对接模拟研究结果，预测式I化合物-鱼针草内酯可抑制新型冠状病毒的感染过程。本实施例为基于北京清华大学艾滋病综合研究中心主任张林琦教授实验室开发的新型冠状病毒假病毒抑制活性检测体系，评估式I化合物-鱼针草内酯是否阻断新型冠状病毒感染宿主细胞过程。具体实施方法按新型冠状病毒假病毒构建和新型冠状病毒感染抑制检测两步骤进行：步骤1.利用膜糖蛋白缺失(Env-defective)与表达荧光素蛋白的HIV-1病毒基因组质粒pNL4-3R-E-luciferase，以及表达新型冠状病毒全长表面刺突糖蛋白质粒pcDNA3.1/SARS-CoV-2共转染293T细胞，在含10%胎牛血清的DMEM培养基培养60小时。取培养上清液，获得新型冠状病毒假病毒的病毒液(简称SARS-CoV-2病毒液)。步骤2.取96孔细胞培养板，每孔加入100微升式I化合物-鱼针草内酯稀释液和50微升SARS-CoV-2病毒液(50微升SARS-CoV-2病毒液中的病毒浓度为 1×10^4 TCID₅₀/mL)，使得混合体系中的式I化合物-鱼针草内酯溶液浓度为相应的稀释浓度，37°C静置孵育1小时。用等体积10%胎牛血清的DMEM培养基代替式I化合物-鱼针草内酯溶液稀释液，作为病毒对照。用等体积含10%胎牛血清的DMEM培养基代替SARS-CoV-2病毒液，作为细胞对照。取所述细胞培养板，每孔接种100微升Huh7细胞悬液(用于制备细胞悬液的溶剂为含10%胎牛血清的DMEM培养基，细胞悬液中的Huh7细胞浓度为 2×10^5 个细胞/mL)，37°C静置孵育64小时。吸弃上清液，每孔加入150微升裂解液(微格拉斯生物技术，货号T003，按说明书操作)，37°C静置孵育5分钟。取所述细胞培养板，检测荧光素酶活性。每个处理设置多个复孔。抑制活性(%)=[1-(试验组的荧光强度-细胞对照的荧光强度)/(病毒对照的荧光强度-细胞对照的荧光强度)]×100%。利用Prism 5软件计算抑制活性为50%时的式I化合物-鱼针草内酯浓度，即式I化合物-鱼针草内酯的IC₅₀值(图5)。研究结果显示式I化合物-鱼针草内酯以具体有别于氯喹(chloroquine)或瑞德西伟(Remdesivir)抑制新型冠状病毒之分子作用机制，在微摩尔级别显著展现对新型冠状病毒感染的抑制效果。

权 利 要 求 书

1.一种组合物用于制备抑制新型冠状病毒(SARS-CoV-2)的药物的用途，其中该组合物包括一式 I 化合物-鱼针草内酯(Ovatodiolid)、或一式 I 化合物-鱼针草内酯的结构异构体



式 I。

2.如权利要求 1 所述的用途，其中该组合物进一步包括一包含式 I 化合物-鱼针草内酯主结构的衍生化合物，且该包含式 I 化合物-鱼针草内酯主结构的衍生化合物是对于抑制新型冠状病毒(SARS-CoV-2)的作用机制与该式 I 化合物-鱼针草内酯公开的结合一新型冠状病毒表面刺突糖蛋白受体结合区分子对接机制或结合一宿主内体半胱氨酸蛋白水解酶 Cathepsin B 和 Cathepsin L 分子对接机制具类同效果者。

3.如权利要求 1 所述的用途，其中该组合物包括一安全有效量的该式 I 化合物-鱼针草内酯或一安全有效量的该式 I 化合物-鱼针草内酯与其医药上可接受之盐或载体(carrier)的组合。

4.如权利要求 3 所述的用途，其中该组合物可用于预防或治疗新型冠状病毒(SARS-CoV-2)引起的疾病。

5.如权利要求 3 所述的用途，其中该组合物可用于预防或治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)。

6.如权利要求 1 所述的用途，其中该式 I 化合物-鱼针草内酯是以有机溶剂萃取鱼针草，并经层析管柱分离纯化制备而得的天然化合物为组成成分，或是以化学合成方式制备同式 I 化

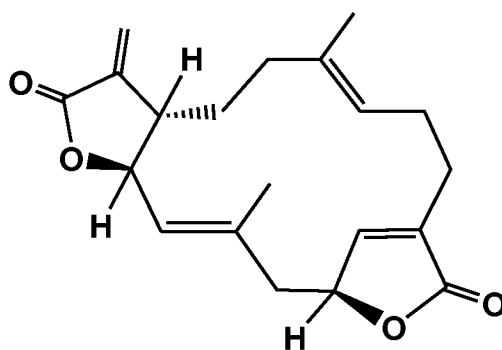
合物-鱼针草内酯天然物构形的人工合成化合物为组成分。

7.如权利要求 2 所述的用途，其中该包含式 I 化合物-鱼针草内酯主结构的衍生化合物是以化学合成方式制备的化合物为组成分。

8.如权利要求 3 所述的用途，其中该有效量为一般成人(60 公斤体重)：每日口服 480 毫克以内，并以持续服用 28 天以内为限。

9.如权利要求 3 所述的用途，其中该有效量为一般成人(60 公斤体重)：每日口服 20 毫克至 40 毫克，并以持续服用 7 天至 14 天为适当。

10.一种组合物用于制备抑制冠状病毒的药物的用途，其中该组合物包括一式 I 化合物-鱼针草内酯(Ovatodiolide)、或一式 I 化合物-鱼针草内酯的结构异构体



式 I。

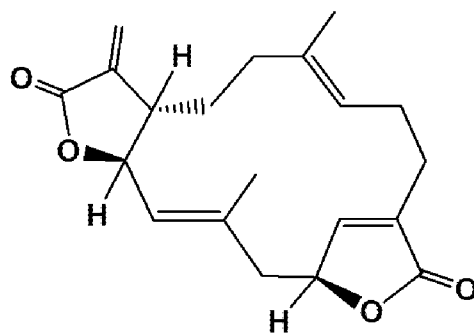


图 1

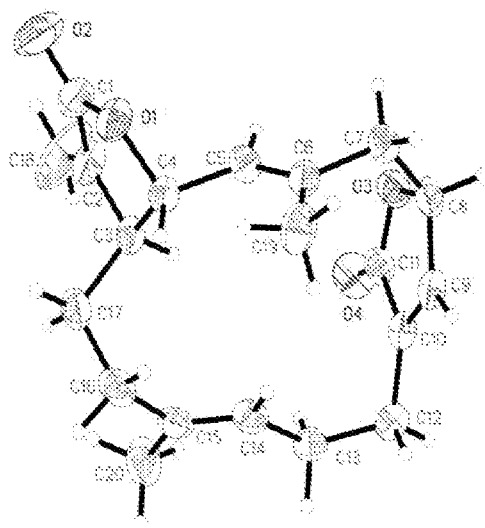


图 2

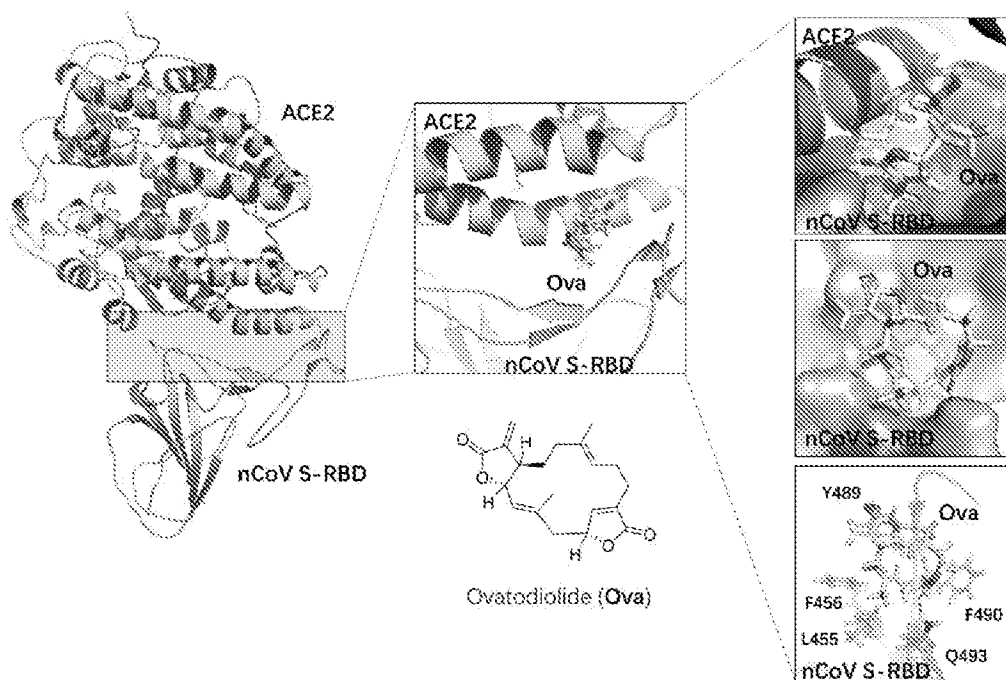


图 3

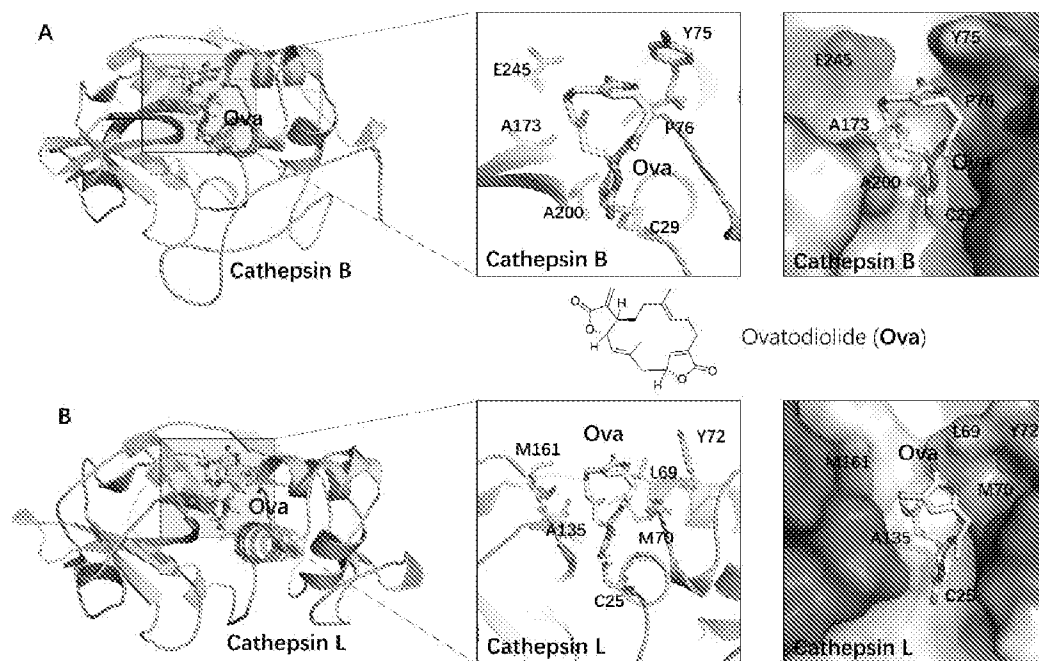


图 4

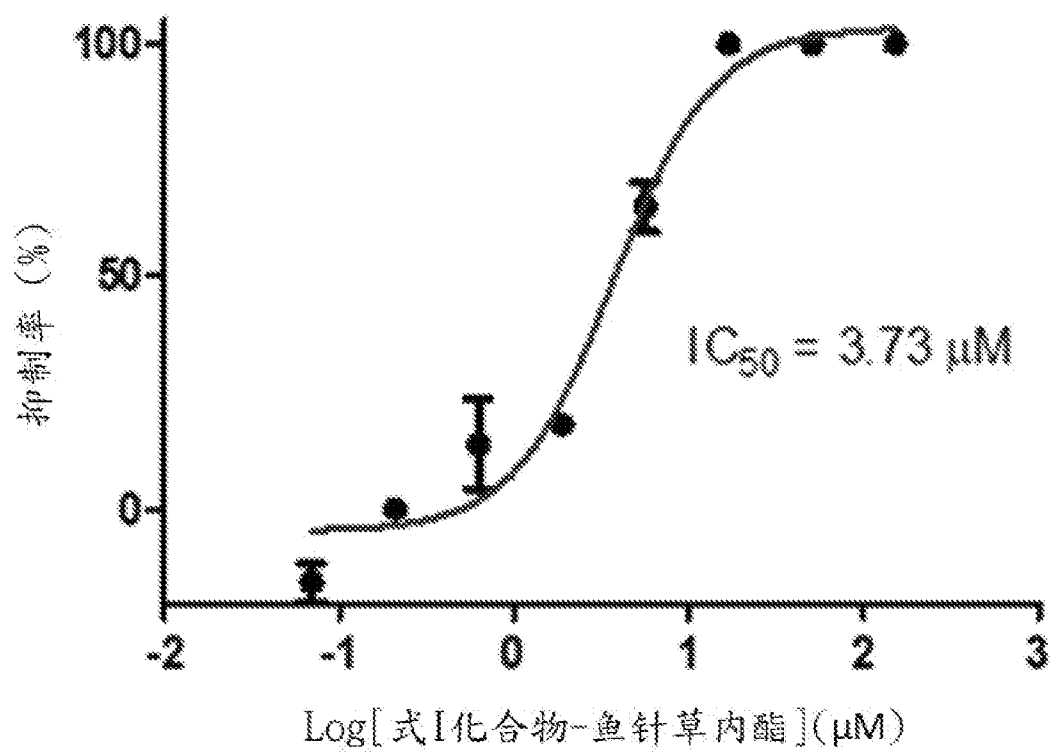


图 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/085383

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/365(2006.01)i; A61P 31/14(2006.01)i; A61P 31/12(2006.01)i; A61P 11/00(2006.01)i

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)

A61K; A61P

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)

CNABS; TWABS; VEN; DWPI; CNTXT; EPTXT; WOTXT; TWTXT; STN; ISI_Web of science; CNKI: 毓维生物科技股份有限公司, 甘肃安卓幸制药有限公司, 鱼针草内酯, 冠状病毒, 3484-37-5, ovatodiolide, Ova, coronavirus, influenza virus, COVID-19, SARS-CoV-2

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	TW 201442719 A (JENISA BIOTECHNOLOGY CORP. LTD.) 16 November 2014 (2014-11-16) description, paragraphs [0027]-[0034]	1-10
A	CN 110403012 A (SYI BIOTEK CO., LTD.) 05 November 2019 (2019-11-05) entire document	1-10
A	CN 104721177 A (INDUSTRIAL TECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE) 24 June 2015 (2015-06-24) entire document	1-10
A	TW 201313243 A1 (YUSHEN BIOTECHNOLOGY & MEDICAL CO., LTD.) 01 April 2013 (2013-04-01) entire document	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“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)

“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

“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

“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

“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

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 December 2020

Date of mailing of the international search report

12 January 2021

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/085383

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
TW	201442719	A	16 November 2014	TW	I453026	B	21 September 2014
CN	110403012	A	05 November 2019	None			
CN	104721177	A	24 June 2015	US	8969410	B1	03 March 2015
				CN	104721177	B	30 June 2017
				TW	I580423	B	01 May 2017
				TW	201524503	A	01 July 2015
TW	201313243	A1	01 April 2013	None			

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/085383

A. 主题的分类

A61K 31/365(2006.01)i; A61P 31/14(2006.01)i; A61P 31/12(2006.01)i; A61P 11/00(2006.01)i

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)

A61K; A61P

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))

CNABS; TWABS; VEN; DWPI; CNTXT; EPTXT; WOTXT; TWTXT; STN; ISI Web of science; CNKI: 毓维生物科技股份有限公司, 甘肃安卓制药有限公司, 鱼针草内酯, 冠状病毒, 3484-37-5, ovatodiolide, Ova, coronavirus, influenza virus, COVID-19, SARS-CoV-2

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
A	TW 201442719 A (易宏生物科技股份有限公司) 2014年 11月 16日 (2014 - 11 - 16) 说明书第[0027]-[0034]段	1-10
A	CN 110403012 A (鼎赫生物科技股份有限公司) 2019年 11月 5日 (2019 - 11 - 05) 全文	1-10
A	CN 104721177 A (财团法人工业技术研究院) 2015年 6月 24日 (2015 - 06 - 24) 全文	1-10
A	TW 201313243 A1 (优生生物科技股份有限公司) 2013年 4月 1日 (2013 - 04 - 01) 全文	1-10

☐ 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

2020年 12月 10日

国际检索报告邮寄日期

2021年 1月 12日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局(ISA/CN)

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

何华山

电话号码 (86-512)88996421

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/085383

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
TW	201442719	A	2014年 11月 16日	TW	I453026	B	2014年 9月 21日
CN	110403012	A	2019年 11月 5日	无			
CN	104721177	A	2015年 6月 24日	US	8969410	B1	2015年 3月 3日
				CN	104721177	B	2017年 6月 30日
				TW	I580423	B	2017年 5月 1日
				TW	201524503	A	2015年 7月 1日
TW	201313243	A1	2013年 4月 1日	无			