

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
A61K 31/704
A61P 7/00 A61P 31/00
A61P 35/00



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200310115665.9

[43] 公开日 2004 年 5 月 26 日

[11] 公开号 CN 1498623A

[22] 申请日 2003. 10. 27
[21] 申请号 200310115665.9
[30] 优先权
[32] 2002. 10. 29 [33] US [31] 60/422, 339
[71] 申请人 日本米诺发源制药株式会社
地址 日本东京
[72] 发明人 铃木富士夫 小林真纪子
宇都宫德一郎 松本广淳
武田美登里 岩田盛美

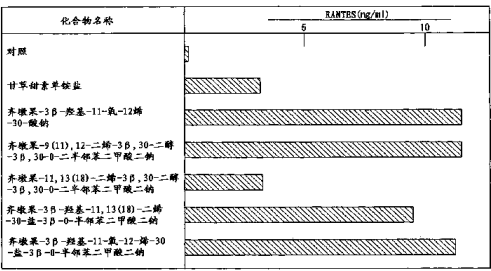
[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所
代理人 刘晓东

权利要求书 2 页 说明书 12 页 附图 5 页

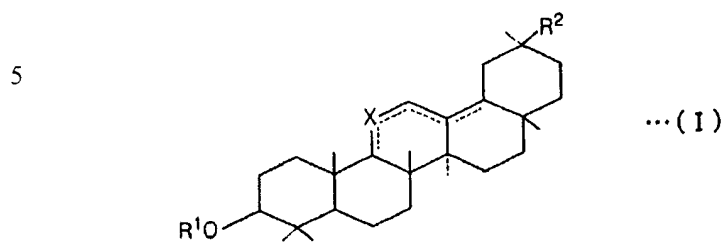
[54] 发明名称 甘草甜素及其衍生物作为 RANTES 诱导物的应用

[57] 摘要

本发明的目的是提供甘草甜素及其衍生物在 RANTES 诱导中的应用。 本发明公开了一种 RANTES 诱导的方法以及用于此目的的包含甘草甜素及其衍生物有效给药剂量的药物组合物, 用以治疗或预防烧伤患者、艾滋病患者、癌症患者、脑炎患者、遭受严重创伤或经历大手术的个体、或者经受压力的个体对机会性感染的抵抗力的降低。

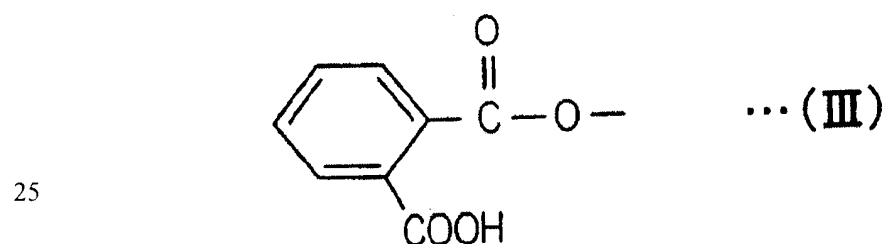
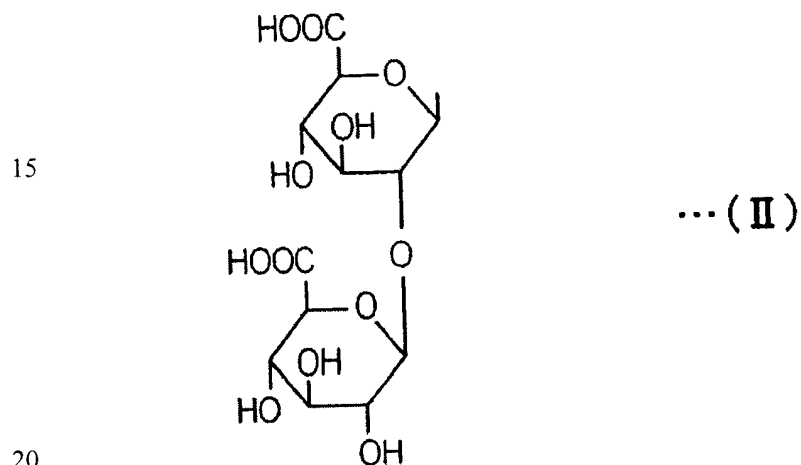


1. 以下通式 (I) 表示的化合物在 RANTES 诱导中的用途:



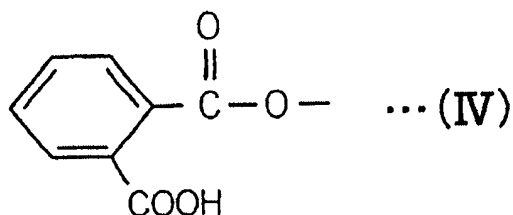
10 [其中,

R¹代表氢原子或如下通式 (II) 或 (III) 所表示的基团:



{其中, 通式 (II) 和 (III) 所表示的基团也可以是它们在药学上可接受的盐};

30 R²代表 COOH 或如下通式 (IV) 所表示的基团:



5

或它们在药学上可接受的盐;

X 代表 C=O 或 CH; 并且,

点线合理地代表双键]。

- 10 2. 如权利要求 1 所述的用途, 其中上述通式 (II), (III) 和 (IV) 在药学上可接受的盐是钠盐、钾盐、铵盐或其组合。

3. 如权利要求 1 所述的化合物的用途, 其中上述通式 (I) 的化合物为以下任何一个:

齐墩果-3 β -羟基-11-氧-12-烯-30-酸钠;

- 15 齐墩果-9 (11), 12-二烯-3 β , 30-二醇-3 β , 30-O-二半邻苯二甲酸二钠;

齐墩果-11, 13 (18)-二烯-3 β , 30-二醇-3 β , 30-O-二半邻苯二甲酸二钠;

齐墩果-3 β -羟基-11, 13 (18)-二烯-30-盐-3 β -O-半邻苯二甲酸二钠;

齐墩果-3 β -羟基-11-氧-12-烯-30-盐-3 β -O-半邻苯二甲酸二钠; 或

20 β -羧基-11-氧-30-正齐墩果-12-烯-3 β -基-2-O- β -D-吡喃葡萄糖醛酸基- β -D-

- 20 吡喃葡萄糖苷酸单铵

4. 如权利要求 1 至 3 任一中所述的化合物在制备 RANTES 诱导物中的用途。

5. 一种 RANTES 诱导方法, 包括: 如权利要求 1 至 3 任一中所述的化合物以有效引起 RANTES 诱导的剂量给药。

- 25 6. 一种药物组合物, 包含: 含有有效剂量的如权利要求 1 所述的化合物以及任意在药学上可接受的载体, 用以治疗或预防烧伤患者、艾滋病患者、癌症患者、脑炎患者、遭受严重创伤或经历大手术的个体、或者经受压力的个体对机会性感染的抵抗力的降低。

甘草甜素及其衍生物作为
RANTES 诱导物的应用

5

申请的交叉引用文献

本申请要求提交于 2002 年 10 月 29 日、申请号为 60/422, 339 的美国临时申请的优先权。

发明背景

10 发明领域

本发明涉及甘草甜素 (glycyrrhizin) 及其衍生物在 RANTES 诱导中的应用, 以及在制备 RANTES 诱导物中的应用, 本发明还涉及一种 RANTES 的诱导方法, 以及一种为此目的的药物组合物。

现有技术

15 细胞因子是由淋巴细胞和其它细胞产生的蛋白质, 作用于具有细胞因子受体的细胞, 以促进细胞生长、分化和表达。另外, 细胞因子还包括一组被称为趋化因子 (chemokine) 的蛋白质, 趋化因子能够促进趋化作用, 即细胞的移动。这些趋化因子具有一种由四个半胱氨酸残基构成的共同结构, 而且根据在 N 末端的两个半胱氨酸残基形成的基元 (motif), 它们被分成诸如 CXC、CC 等亚家
20 族。

属于 CXC 亚家族的趋化因子具有一种序列, 该序列中位于 N 末端的头两个半胱氨酸残基围绕着一个氨基酸, 并且, 该趋化因子可以在体外诱导趋化作尤其是嗜中性粒细胞的趋化作用。另一方面, 属于 CC 亚家族的趋化因子具有一种氨基酸序列, 该序列中位于 N 末端的头两个半胱氨酸残基直接排在一起, 它们之
25 间不存在氨基酸, 已经知道这种趋化因子可以在体外诱导单核细胞、巨噬细胞、T 细胞、NK 细胞、嗜酸性粒细胞等的趋化作用。

RANTES 是一类属于 CC 亚家族的趋化因子, 它主要参与 1 型 T 细胞的移动和细胞毒性 T 细胞的活化作用, 而且在个体的抗感染性和抗肿瘤抗性中发挥重要作用。因此, 如果能够诱导 RANTES 起作用的话, 相信可以获得抗病的治疗效果,
30 比如抗感染和抗肿瘤, 其中 I 型 T 细胞在抵御过程中起到主要的作用。

可是, 还未报道过有效的诱导 RANTES 的方法。所以, 本发明的目的是提供一种 RANTES 诱导方法和一种用于诱导 RANTES 的药物组合物。

发明概述

为实现上述目的而进行的认真研究的成果是: 本发明的发明人将焦点集中到
5 甘草甜素 (甘草酸 (glycyrrhizinic acid)) 及其衍生物。

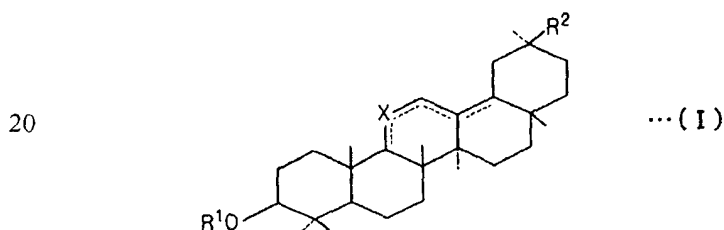
甘草甜素 (或甘草酸) 是由甘草次酸 (glycyrrhetic acid) 和两分子葡萄糖醛酸构成的化合物, 长期以来已知其具有抗炎症的作用。另外, 众所周知它也具有胃液分泌的抑制作用、消化器官溃疡的愈合作用、增强抗过敏活性的作用, 免疫抑制作用、肝功能强化作用、解毒作用和增加对病毒抵抗力的作用。

10 特别地, 该化合物作为肝病药剂和 (抗) 过敏药剂而广泛地应用于临床。

近年来据报道, 甘草甜素具有抑制 HIV 细胞内生长的作用, 而且, 对无症状的病毒携带患者 (AC), 以每天 150mg 至 225mg (6 至 9 片) 的剂量, 给药甘草甜素时, 会实现存活 10 年或更长而艾滋病不发病的效果。

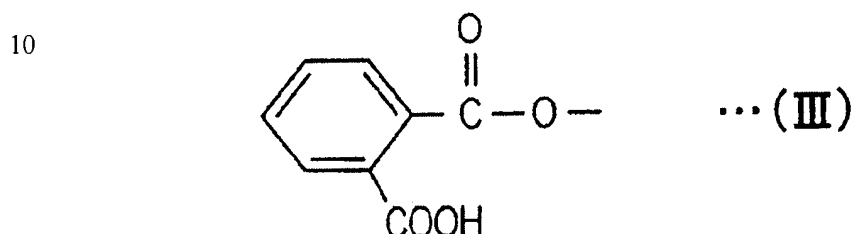
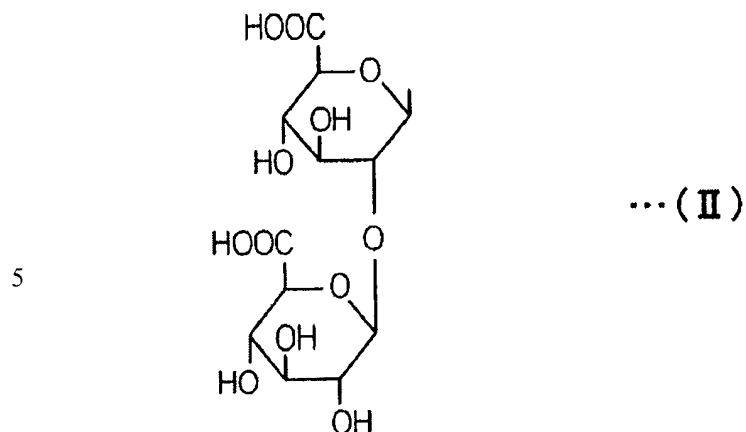
本本发明的发明人发现甘草甜素及其衍生物具有诱导 RANTES 的作用, 而且发
15 现它们对于预防败血症、MRSA 及其它感染均有效, 由此使得本发明得以完成。

也就是说, 本发明提供了甘草甜素及其衍生物用于 RANTES 诱导的用途。
应用于本发明的甘草甜素及其衍生物用以下通式 (I) 表示:



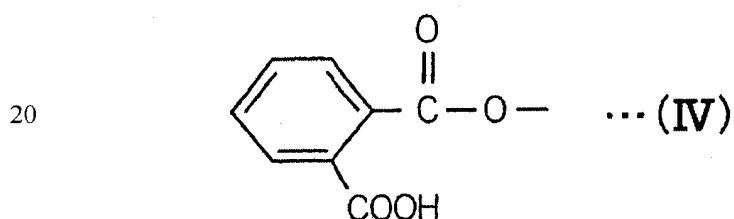
[其中,

25 R^1 代表氢原子或如下通式 (II) 或 (III) 所表示的基团:



15 {其中, 通式 (II) 或 (III) 所表示的基团也可以是它们在药学上可接受的盐};

R^2 代表 COOH 或如下通式 (IV) 所表示的基团:



或它们在药学上可接受的盐;

25 X 代表 C=O 或 CH; 并且,
点线合理地代表双键]。

以上化合物中, 通式 (II)、(III) 和 (IV) 药学上可接受的盐是钠盐、钾盐、钙盐、镁盐、铝盐、铵盐或者其他各种有机氨盐, 但优选钠盐、钾盐、铵盐或其组合。

30 上述通式 (I) 中包括如下化合物:

- * 齐墩果-3 β -羟基-11-氧-12-烯-30-酸钠 (sodium olean-3 β -hydroxy-11-oxo-12-ene-30-ate);
- * 齐墩果-9(11), 12-二烯-3 β , 30-二醇-3 β , 30-O-二半邻苯二甲酸二钠 (disodium olean-9(11), 12-diene-3 β , 30-diol-3 β , 30-O-dihemipthalate);
- 5 * 齐墩果-11, 13(18)-二烯-3 β , 30-二醇-3 β , 30-O-二半邻苯二甲酸二钠 (disodium olean-11, 13(18)-diene-3 β , 30-diol-3 β , 30-O-dihemipthalate);
- * 齐墩果-3 β -羟基-11, 13(18)-二烯-30-盐-3 β -O-半邻苯二甲酸二钠 (disodium olean-3 β -hydroxy-11, 13(18)-diene-30-ate-3 β -O-hemipthalate);
- * 齐墩果-3 β -羟基-11-氧-12-烯-30-盐-3 β -O-半邻苯二甲酸二钠 (disodium
- 10 olean-3 β -hydroxy-11-oxo-12-ene-30-ate-3 β -O-hemipthalate); 和
- * 20 β -羧基-11-氧-30-正齐墩果-12-烯-3 β -基-2-O- β -D-吡喃葡萄糖醛酸基- β -D-吡喃葡萄糖苷酸单铵 (monoammonium 20 β -carboxy-11-oxo-30-norolean-12-en-3 β -yl-2-O- β -D-glucopyranuronosyl- β -D-glucopyranosidouronate)。

本发明提供上述化合物在制备 RANTES 诱导物中的应用,

- 15 本发明 RANTES 诱导方法的特征在于: 上述化合物以能够引起 RANTES 诱导的有效剂量给药。

本发明药物组合物的特征在于: 含有有效量的上述化合物以及任意在药学上可接受的载体, 用于治疗或防止烧伤患者、艾滋病患者、癌症患者、脑炎患者、遭受严重创伤或经历大手术的个体、或者经受压力的个体对机会性感染的感染

20 抵抗力的降低。

优选方案详述

本发明中用于 RANTES 诱导的甘草甜素及其衍生物可以从, 诸如“Minophagen 药业”(Minophagen Pharmaceutical) 处获得。另外, 甘草甜素衍生物在例如“化学药物快报”(Chem. Pharm. Bull.) 34, 897 (1986) 和“日本药学杂志”

25 (Jpn. J. Pharmacol.) 71, 281 (1996) 中描述。

齐墩果-3 β -羟基-11-氧-12-烯-30-盐-3 β -O-半邻苯二甲酸二钠可以依照如下所述的方式合成。

齐墩果-3 β -羟基-11-氧-12-烯-30-盐-3 β -O-半邻苯二甲酸二钠的合成方法

300ml 甲醇和 30ml 1N 氢氧化钠水溶液加入到 10g 齐墩果-11, 13(18)-二

30 烯-3-羟基-30-盐-3-O-半邻苯二甲酸中, 搅拌溶解。边搅拌边加入氢氧化钠水

溶液使得反应溶液的 pH 值稳定在 10.0-10.4 的范围内。准备好反应溶液后，将该水溶液通过薄膜过滤器过滤。过滤后，将该反应溶液浓缩至其原始体积的一半，加入 200ml 丙酮，回收并干燥沉淀下来的白色晶体。获得 9.3g 上述化合物，它是本发明使用的化合物中的一种。熔点为 283-287℃，质量分析值 (m/z) 为 601 (M-1)。

齐墩果-11, 13 (18)-二烯-3-羟基-30-盐-3-O-半邻苯二甲酸的合成方法

30g 齐墩果-11, 13 (18)-二烯-3-羟基-30-酸, 60g 邻苯二甲酸酐和 2g 4-二甲氧嘧啶的混合物加入到 300ml 氯仿中, 80℃ 回流 24 小时。反应完成后, 蒸馏去除溶剂, 并向残留物中加入 240ml 乙醇。90℃ 加热溶解后, 加入 240ml 水, 接着加热搅拌 15 分钟。冷却后, 回收沉淀下来的白色晶体, 并向这些晶体加入 200ml 50%乙醇, 然后持续加热搅拌 30 分钟。冷却后, 过滤回收不溶解的白色晶体, 然后用 50%乙醇溶液洗涤, 干燥, 获得 37.6g 齐墩果-11, 13 (18)-二烯-3-羟基-30-盐-3-O-半邻苯二甲酸。

齐墩果-11, 13 (18)-二烯-3-羟基-30-酸的合成方法

47.1g 18 α -甘草次酸溶于 500ml 四氢呋喃 (THF), 然后在 80℃ 将其与 500ml 1N 氢氧化钠水溶液和 500 ml THF 混合, 然后向该混合物中滴入含有 75.6g 硼氢化钠 (sodium borohydride) 的溶液, 并于相同的温度下反应 24 小时。反应完成后, 反应液降至室温后加入 600ml 丙酮并搅拌, 而后使用 2N 盐酸中和该溶液。蒸馏去除反应溶液中的 THF, 过滤回收沉淀下来的白色晶体 (11 α -羟基-甘草次酸和 11 β -羟基-甘草次酸的混合物)。将这些晶体溶于 1000ml THF 中并干燥后, 蒸馏去除溶剂, 并向残留物中加入 400ml 氯仿, 然后过滤回收不溶解的晶体, 干燥以获得 40g 11 α -羟基-甘草次酸和 11 β -羟基-甘草次酸的混合物。将该混合物溶于 4000ml THF, 然后加入 1600ml 10%盐酸并于室温搅拌 3 小时。沉淀下来的白色晶体通过过滤回收、用水洗涤和干燥, 获得 35.8g 齐墩果-11, 13 (18)-二烯-3-羟基-30-酸。

另外, 本发明中使用的甘草甜素及其衍生物也可从自然界中存在的资源获得, 比如含有甘草甜素作为成分之一的甘草或者甘草粉、源自甘草的甘草提取物或甘草粗提取物。

尽管接下来的实施例中已进行详细的说明, 但甘草甜素及其衍生物已明确具有诱导 RANTES 的能力, 其通过作用于外周单核细胞、T 细胞、单核细胞等来诱

导 RANTES 产生的。因此，甘草甜素及其衍生物的应用是一种诱导 RANTES 的有效方法，而且甘草甜素及其衍生物可以用作 RANTES 诱导物的活性成分。

5 本发明的 RANTES 诱导方法利用甘草甜素及其衍生物的效能来诱导 RANTES，并且涉及以能够诱导 RANTES 的有效量给药甘草甜素及其衍生物。在这里，能够诱导 RANTES 的有效量是指甘草甜素及其衍生物的剂量，该剂量可产生足够量的 RANTES 以诱导 1 型 T 细胞的迁移和细胞毒性 T 细胞的活化等作用，同时该量也要避免问题（不利的副作用）和由于甘草甜素及其衍生物过量给药所造成的经济损失。

10 用这种方式，正确地测定能诱导 RANTES 的甘草甜素及其衍生物的有效量并以该量给药，能够高效地诱导 RANTES。

本发明的 RANTES 诱导方法中，甘草甜素及其衍生物优选以本发明的药物组合物的形式使用，即以含有甘草甜素及其衍生物和任意药学上可接受载体的形式，其中甘草甜素及其衍生物的含量可有效治疗和预防本申请所针对的目标疾病或目标状态（或者控制造成所述疾病或状态的作用机理，如促进 1 型 T 细胞的移动）。

正如以上所解释的，按照本发明的 RANTES 诱导方法，由于可以高效地诱导产生 RANTES，因此促进 1 型 T 细胞的移动和 1 型 T 细胞反应中效应细胞（比如细胞毒性 T 细胞、巨嗜细胞和自然杀伤细胞）的功能，并且增强个体对细菌感染的抵抗力。

20 以下提供对本发明的药物组合物的解释。

本发明的药物组合物包含有效量的甘草甜素及其衍生物用以诱导 RANTES，在所述的药物组合物中，可以单独含有甘草甜素及其衍生物，或与任意在药学上可接受的载体混合。另外，本发明的药物组合物可以按照常规方法制成各种形式，比如片剂、针剂、胶囊、喷雾剂、锭剂以及粉剂。此外，“在药学上可接受的载体”指那种基本不抑制在所述组合物中的活性成分功能的物质，更具体地，包括固体稀释剂或填充剂、无菌水性溶剂及各种无毒有机溶剂。

尽管依照本发明得到的 RANTES 诱导物或药物组合物能以口服、直肠、局部、皮肤、静脉或肌肉注射的方式进行给药，但是给药途径适宜根据要接受治疗或预防的患者的体重和健康状况以及需要治疗的疾病的状况，由临床医生来选择。

30 例如，剂量能以每天每 1kg 体重 0.1-100mg 的量以一剂药或分成几剂药进行给

药。

按照本发明的药物组合物，由于能高效地诱导 RANTES，它能够诱导 1 型 T 细胞的移动和 I 型 T 细胞反应中的效应细胞的活化，而且能够预见到它可以获得抗诸如感染和抗肿瘤的治疗效果，在这些病中 1 型 T 细胞反应及其抵抗力起着主要的作用。

本发明尤其优选用于治疗或预防烧伤患者、艾滋病患者、癌症患者、脑炎患者、遭受严重创伤或经历大手术的个体、或者经受压力的个体对机会性感染的感染抵抗力的降低。

实施例

10 〈甘草甜素及其衍生物的 RANTES 诱导能力〉

实施例 1

从健康个体中收集外周血并用菲可帕克 (Ficoll-Hypaque) 分离出外周单核细胞。用含有 10%FCS 和抗生素 (青霉素和链霉素) 的 RPMI1640 培养基培养细胞。用 100 μ g/ml 的齐墩果-3 β -羟基-11-氧-12-烯-30-酸钠、齐墩果-9 (11), 12-二烯-3 β , 30-二醇-3 β , 30-O-二半邻苯二甲酸二钠、齐墩果-11, 13 (18)-二烯-3 β , 30-二醇-3 β , 30-O-二半邻苯二甲酸二钠, 齐墩果-3 β -羟基-11, 13 (18)-二烯-30-盐-3 β -O-半邻苯二甲酸二钠、齐墩果-3 β -羟基-11-氧-12-烯-30-盐-3 β -O-半邻苯二甲酸二钠、或甘草甜素单铵盐 (monoammonium glycyrrhizinate), 刺激 1×10^6 细胞/ml 的外周单核细胞 24 小时, 用人 RANTES/CCL5 定量免疫测试试剂盒 (Human RANTES/CCL5 Quantikine Immunoassay Kit) (R&D 系统) 测定上清培养液中的 RANTES 的数量。此外, 图中的对照表示仅仅用培养基处理外周单核细胞时, 上清培养液中的 RANTES 的数量。其结果如图 1 所示。

图 1 清楚地显示, 与对照几乎检测不到任何 RANTES 相反, 用甘草甜素单铵盐刺激的上清培养液中有 3ng/ml 的 RANTES 被诱导生成, 齐墩果-11, 13 (18)-二烯-3 β , 30-二醇-3 β , 30-O-二半邻苯二甲酸二钠也诱导出几乎等量的 RANTES。

另外, 由于, 经以上所示的化合物之外的化合物刺激的上清培养液中有更大量的 RANTES 被诱导产生, 所以确定这些化合物有更大的能力来诱导外周单核细胞中的 RANTES。

30 实施例 2

从健康受试者中收集外周血并用菲可帕克分离出外周单核细胞。用 100 μ g/ml 的甘草甜素单铵盐(甘草甜素单铵盐在下文中将被称作甘草甜素)刺激 1 $\times 10^6$ 细胞/ml 的外周单核细胞。将甘草甜素加入的时刻定为 0 小时, 此后, 用人 RANTES/CCL5 定量免疫测试试剂盒(R&D 系统)测定 12、24、48、72 小时处, 上清培养液中 RANTES 的量。其结果如图 2 所示。此外, 图中的对照表示没有用甘草甜素处理过的外周单核细胞的上清培养液中的 RANTES 数量。

图 2 清楚地显示, 用甘草甜素刺激的单核细胞所产生的 RANTES 的量随着培养时间的延长而增加。

实施例 3

从健康受试者中收集外周血并用菲可帕克分离出外周单核细胞。1 $\times 10^6$ 细胞/ml 的外周单核细胞用 0.1-100 μ g/ml 的甘草甜素刺激 24 小时。用人 RANTES/CCL5 定量免疫测试试剂盒(R&D 系统)测定上清培养液中出现的 RANTES 的量。其结果如图 3 所示。

在 1-100 μ g/ml 的范围内, 甘草甜素以剂量依赖的方式诱导 RANTES。以上结果不仅在人类中能够被证实, 而且在使用源于小鼠脾脏的单核细胞的实验中也证实。

实施例 4

从 3 名艾滋病患者(CD4 计数: 215-418 个细胞/ μ l, 病毒负荷: 80,000-370,000 个拷贝/ml)中收集外周血并用菲可帕克分离出外周单核细胞。用 100 μ g/ml 的甘草甜素刺激 1 $\times 10^6$ 细胞/ml 的外周单核细胞 24 小时。用人 RANTES/CCL5 定量免疫测试试剂盒(R&D 系统)测定上清培养液中出现的 RANTES 的量。此外, 图中的对照表示没有用甘草甜素处理过的外周单核细胞的上清培养液中的 RANTES 的数量。其结果如图 4 所示。

与源自健康个体的外周单核细胞相似, 当用甘草甜素刺激来自艾滋病患者的外周单核细胞时, RANTES 也被诱导产生。

〈Th1 细胞诱导作用〉

实施例 5

从健康受试者中收集外周血并用菲可帕克分离出外周单核细胞。在 100 μ g/ml 甘草甜素, 或者甘草甜素与抗-RANTES 单克隆抗体(10 μ g/ml)的存在下, 在含有 IL-2(10U/ml)和抗-IFN- γ 单克隆抗体(10 μ g/ml)的培养基中培

养 1×10^6 细胞/ml 的外周单核细胞 7 天。培养后, 从细胞中提取 RNA, 用 RT-PCR 测定 IL-12R β 2 mRNA——一种 Th1 细胞标记——的表达。此外, 由于众所周知甘草甜素可诱导产生 IFN- γ , 所以为了证明 IFN- γ 没有参与进来, 实验在存在抗-IFN- γ 单克隆抗体的情况下进行。换句话说, 在本实验用到的反应中不涉及 IFN- γ 。

此外, 图中的对照表示在不添加甘草甜素培养的情况下, 单核细胞中的 IL-12R β 2 mRNA 的表达程度。其结果如图 5 所示。

尽管用甘草甜素刺激的细胞显示出 IL-12R β 2 mRNA 表达有所增强, 但是由于细胞与抗-RANTES 单克隆抗体一起培养证明其不再表达了, 因此甜素刺激的 Th1 诱导作用被证明是由 RANTES 的诱导来介导的。

〈感染防治效果〉

实施例 6

如上所述, 由于众所周知甘草甜素可诱导产生 IFN- γ , 所以实验使用 IFN- γ 剔除小鼠来进行以证明 IFN- γ 并没有参与进来。

以 20mg/kg 的剂量腹腔注射甘草甜素到 IFN- γ 剔除小鼠, 2 小时后, 通过盲肠结扎穿刺 (CLP) 诱使产生败血症。此外, 在给对照组注射生理盐水后的 2 小时, 也用相同的方式诱使产生败血症。败血症感染后 7 天的 IFN- γ 剔除小鼠的存活率 (%) 如图 6 所示。

实施例 7

以 20mg/kg 的剂量腹腔注射甘草甜素到 IFN- γ 剔除小鼠, 2 小时后, 通过 CLP 诱使产生败血症。在甘草甜素给药的 2 小时前、12 小时后以及 24 小时后, 皮下注射 $10 \mu\text{g/ml}$ 的抗-RANTES 单克隆抗体, 与此同时, 皮下注射等量的 Ig 给对照组。败血症感染后 7 天的 IFN- γ 剔除小鼠的存活率 (%) 如图 7 所示。

图 6 所示的结果清楚表明, IFN- γ 剔除小鼠的 80% 在败血症感染后不超过 4 天里死亡, 与此相反, 施用了甘草甜素的所有 IFN- γ 剔除小鼠的 80% 却没有死亡而存活了下来。可是, 根据图 7 的结果, 当抗-RANTES 的单克隆抗体与甘草甜素一起施用, 死亡率增加到与对照组相同的水平, 因此说明了甘草甜素抗败血症的效果看来是由 RANTES 的诱导来介导的。

实施例 8

将源自 IFN- γ 剔除小鼠的脾单核细胞 (5×10^6 个细胞/ml) 接种到 SCIDbgMN

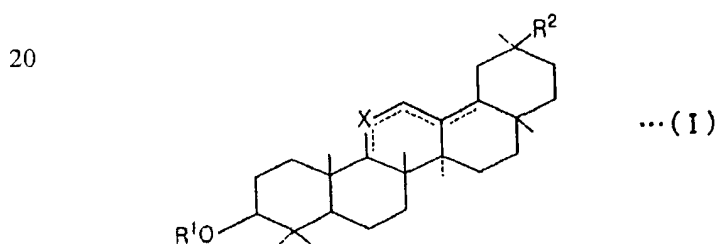
小鼠（巨噬细胞和嗜中性粒细胞功能缺陷的 SCID-beige 小鼠）中。接种后立即腹腔注射 20mg/kg 剂量的甘草甜素。2 小时后，通过尾部静脉使这些动物感染 5 LD₅₀ 水平的甲氧苯青霉素抗性的金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*, MRSA）。此外，对照组在注射生理盐水后感染等量的 MRSA。MRSA 感染后 10 天的 SCIDbgMN 鼠的存活率（%）如表 8 所示。

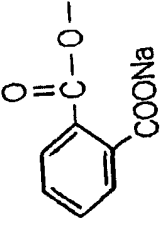
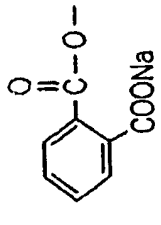
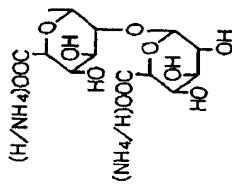
实施例 9

源自 IFN- γ 剔除小鼠的脾单核细胞（ 5×10^6 个细胞/ml）接种到 SCIDbgMN 鼠中。接种后立即腹腔注射 20mg/kg 剂量的甘草甜素。2 小时后，通过尾部静脉使这些动物感染 5LD₅₀ 水平的甲氧苯青霉素抗性的金黄色葡萄球菌（MRSA）。在甘草甜素给药的 2 小时前、12 小时后以及 24 小时后，皮下注射 10 μ g/ml 抗-RANTES 的单克隆抗体，与此同时，皮下注射等量的 Ig 给对照组。MRSA 感染后 10 天的 SCIDbgMN 鼠的存活率（%）如图 9 所示。

图 8 清楚地显示，生理盐水药剂组中 100% 都在 MRSA 感染后 3.5 天内死亡，与此相反，甘草甜素药剂组动物中的 75% 却没有死亡而存活了下来。可是，根据图 9 的结果，当抗-RANTES 的单克隆抗体与甘草甜素一起给药时，死亡率增加到与对照组相同的水平，因此说明了甘草甜素的抗 MRSA 感染的效果看来是由 RANTES 的诱导来介导的。

本发明中合成的化合物如下所示。



化合物编号	化合物名称	X	R ¹	R ²
MUN-011	齐墩果-3 β -羟基-11-氧-12-烯-30-酸钠	CO	H	COONa
MUN-013	齐墩果-9 (11), 12-二烯-3 β , 30-二烯-3 β , 30-0-二半邻苯二甲酸二钠	CH		
MUN-014	齐墩果-11, 13 (18) -二烯-3 β , 30-二烯-3 β , 30-0-二半邻苯二甲酸二钠	CH		
MUN-016	齐墩果-3 β -羟基-11, 13 (18) -二烯-30-盐-3 β -0-半邻苯二甲酸二钠	CH		COONa
MUN-018	齐墩果-3 β -羟基-11-氧-12-烯-30-盐-3 β -0-半邻苯二甲酸二钠	CO		
GR	甘草甜素单铵盐	CO		COOH

依照本发明, 可以使用甘草甜素及其衍生物诱导 RANTES。

依照本发明的 RANTES 诱导方法, 能够高效地诱导 RANTES。

由于本发明的药物组合物能够高效地诱导 RANTES, 所以通过增强 1 型 T 细胞的移动、1 型 T 细胞反应中效应细胞的活性, 以及局部 1 型 T 细胞对感染和肿瘤的反应, 该药物组合物优选应用于治疗感染和癌症。

附图说明

图 1 表示甘草甜素及其衍生物刺激外周单核细胞 24 小时后产生的 RANTES 的量。

图 2 表示甘草甜素刺激外周单核细胞后, 随时间的延长所产生的 RANTES 的量。

图 3 表示作用于外周单核细胞的甘草甜素的量与产生的 RANTES 的量之间的相互关系。

图 4 表示甘草甜素刺激来自艾滋病患者的外周单核细胞 24 小时后产生的 RANTES 的量。

图 5 表示由甘草甜素产生的 Th1 细胞的诱导作用 (IL-12R β 2 mRNA 的表达程度)。

图 6 表示败血症模型中甘草甜素抵抗感染的效果。

图 7 表示 RANTES 对败血症感染模型中甘草甜素抗感染效果的影响。

图 8 表示甘草甜素抗 MRSA 感染的抵抗感染的效果。

图 9 表示 RANTES 对甘草甜素抗 MRSA 感染的抗感染效果的影响。

图1

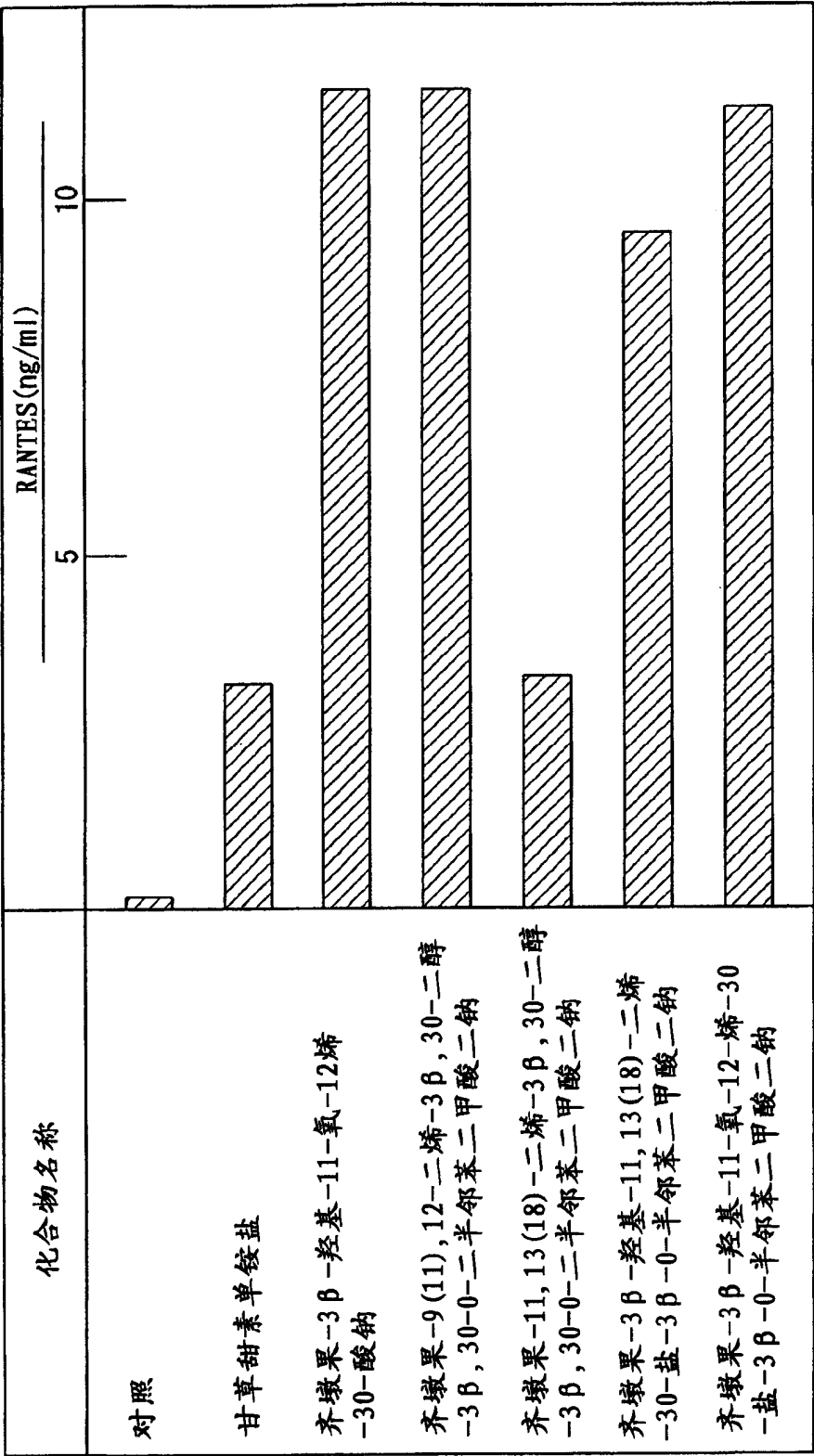


图2

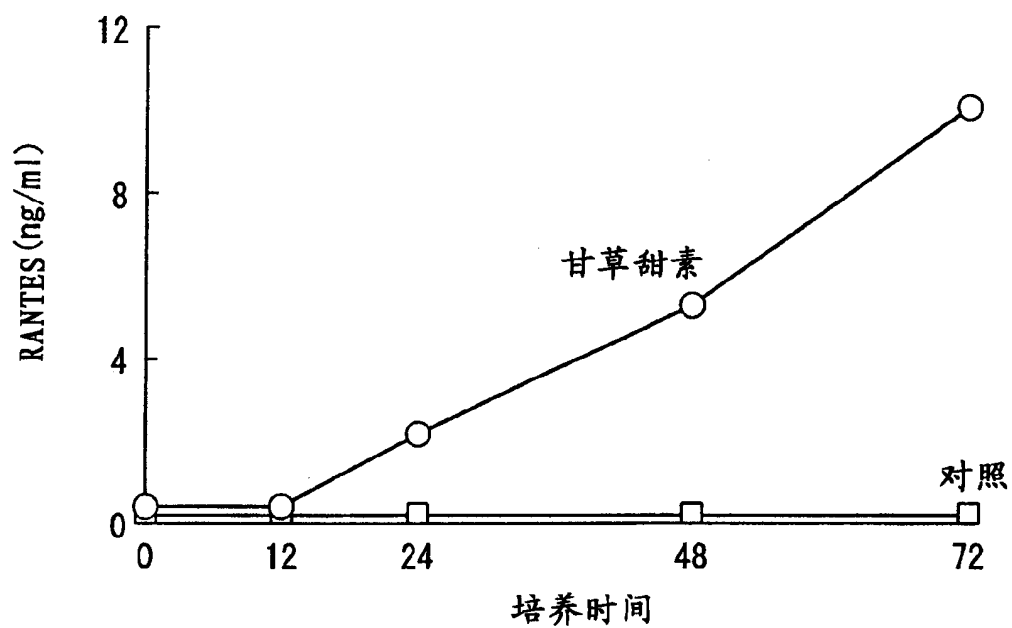


图3

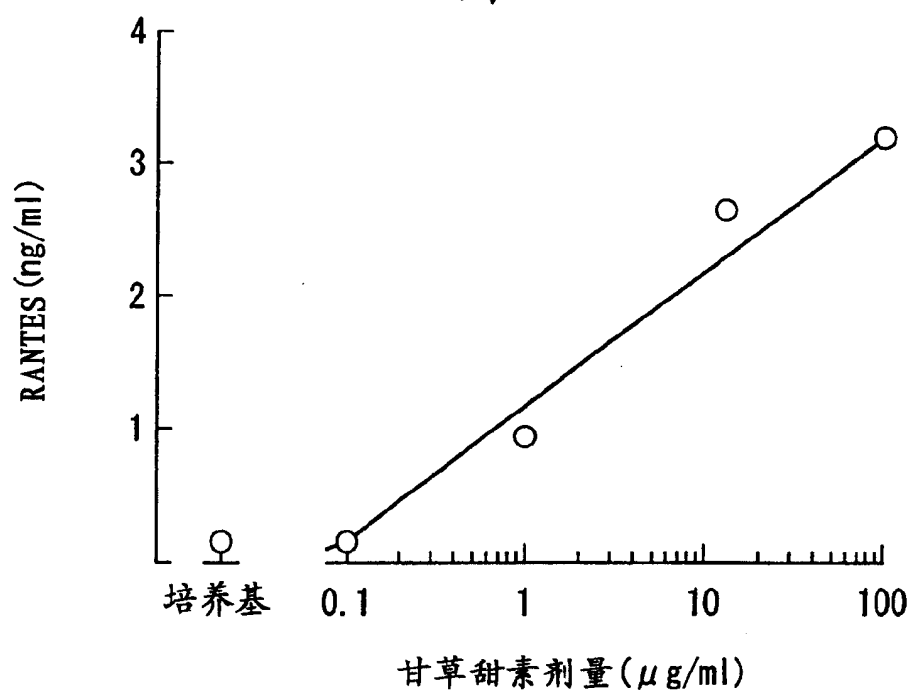


图4

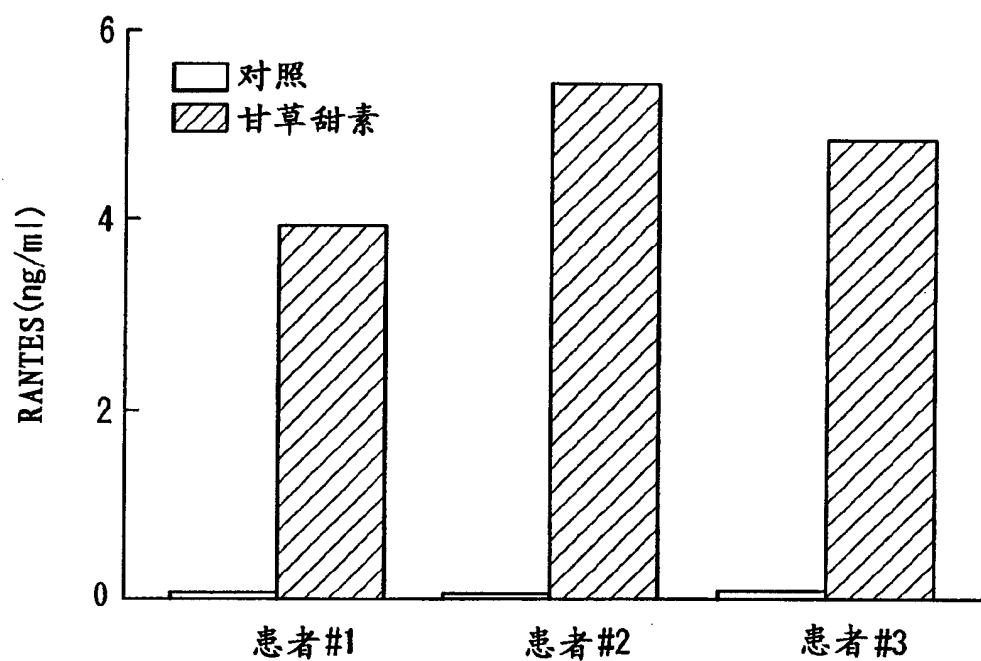


图5

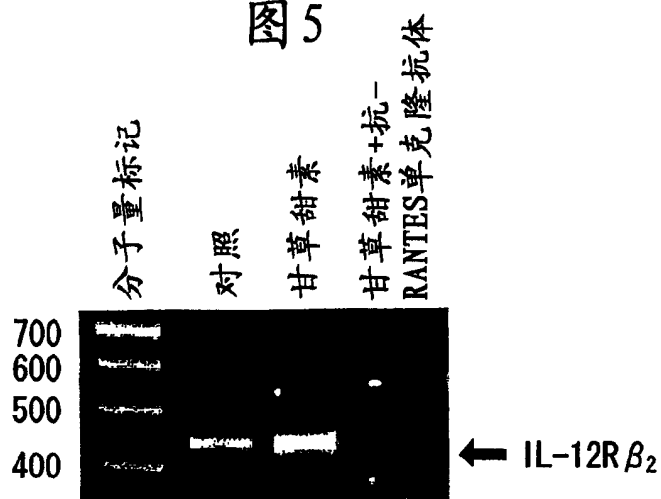


图6

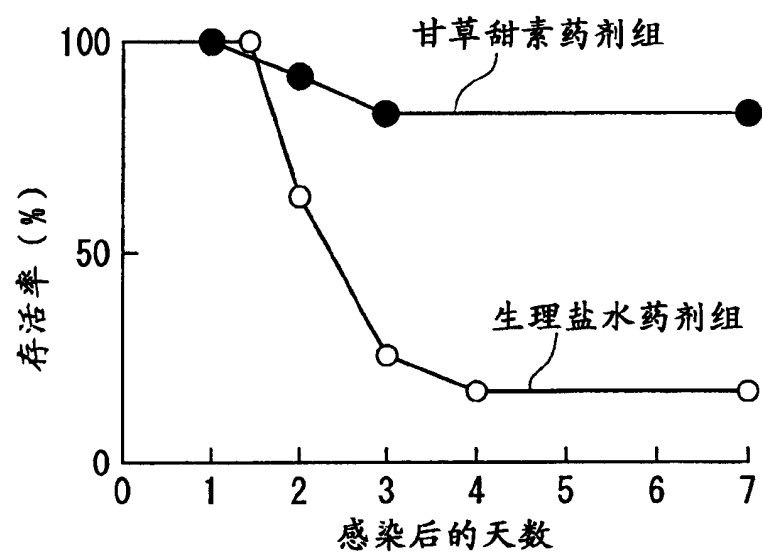


图7

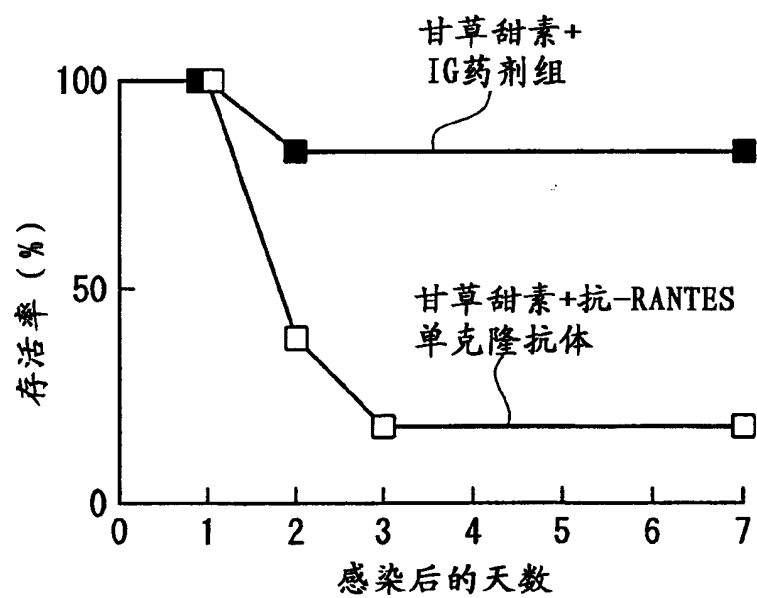


图8

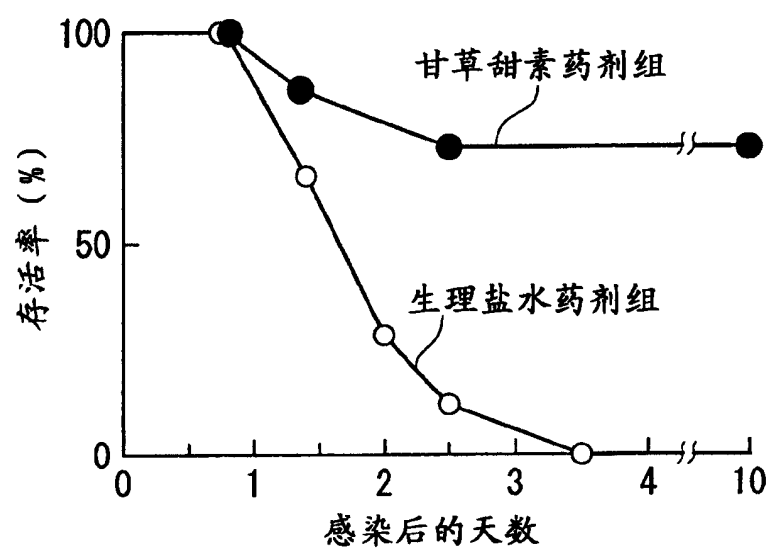


图9

