

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101102761 B
(45) 授权公告日 2010. 09. 29

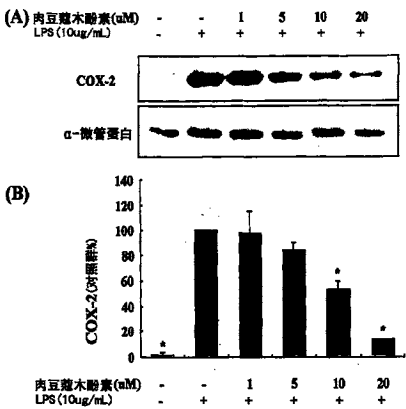
(21) 申请号 200680001988. 7
(22) 申请日 2006. 01. 06
(30) 优先权数据
10-2005-0001761 2005. 01. 07 KR
(85) PCT申请进入国家阶段日
2007. 07. 09
(86) PCT申请的申请数据
PCT/KR2006/000065 2006. 01. 06
(87) PCT申请的公布数据
W02006/073285 EN 2006. 07. 13
(73) 专利权人 黄在宽
地址 韩国京畿道
专利权人 新树工业股份有限公司
(72) 发明人 黄在宽 金道彦 郑栽润 郑熹彻
韩奎利
(74) 专利代理机构 隆天国际知识产权代理有限
公司 72003
代理人 高龙鑫

(51) Int. Cl.
A61K 31/357(2006. 01)
(56) 对比文件
Ozaki Y et al. Antiinflammatory Effect
of Mace, Aril of Myristica fragrans
Houtt., and Its Active Principles. Japan.
J. Pharmacol. 1989, 49(2), 摘要, 第 156-161 页中
结果栏.
贾天柱. 肉豆蔻的研究进展. 中草
药. 1996, 27(11), 第 691 页右栏第 3 段.
审查员 韩征

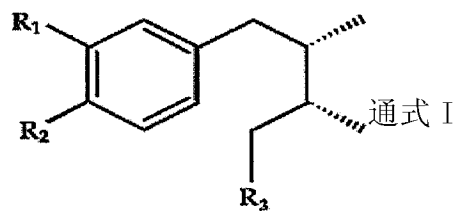
权利要求书 1 页 说明书 15 页 附图 12 页

(54) 发明名称
木酚素类化合物用于治疗或预防炎症性疾病的用途

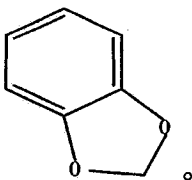
(57) 摘要
本发明涉及木酚素类化合物用于治疗或预防炎症性疾病的用途。更具体地说, 本发明涉及含有由通式 I 表示的木酚素类化合物的用于治疗或预防炎症性疾病的药物组合物、利用该组合物的炎症性疾病的治疗方法及其用途。本发明的木酚素类化合物, 具有通过阻碍炎症介质因子 NO、iNOS、PGE₂、COX-2 及 TNF- α 的生成或表达来抑制炎症反应的效果。因此, 本发明的木酚素类化合物或肉豆蔻提取物能够极其有用地用于炎症性疾病的治疗或预防中。



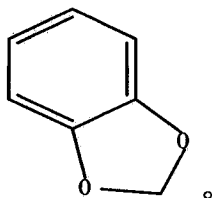
1. 通式 I 表示的木酚素类化合物在制造治疗或预防炎症性疾病的药物组合物中的用途：



其中, R_1 及 R_2 独立地是 C_{1-5} 烷氧基或羟基; R_3 是



2. 根据权利要求 1 所述的用途, 其特征在于, R_1 是甲氧基, R_2 是羟基, R_3 是



木酚素类化合物用于治疗或预防炎症性疾病的用途

技术领域

[0001] 本发明主张 2005 年 1 月 7 日申请的韩国专利申请号为 10-2005-0001761 的专利申请作为优先权。

[0002] 本发明涉及木酚素类化合物用于治疗或预防炎症性疾病的用途。更具体地说,本发明涉及用于治疗或预防炎症性疾病的药物组合物、利用该组合物治疗炎症性疾病的治疗方法以及用途,所述组合物含有通式 I 表示的木酚素类化合物。

背景技术

[0003] 炎症反应是指在组织(细胞)损伤或受外部感染源感染时发生的,在局部血管与体液内显现出的酶活化、炎症介质物质分泌、体液浸润、细胞移动、组织破坏等的一系列综合的生理反应以及红斑、浮肿、发热、疼痛等的外部症状,其中涉及各种炎症介质因子及免疫细胞。进一步地,其结果会导致急性炎症与肉芽肿、以及诸如类风湿性关节炎、骨关节炎等的慢性炎症(Goodwin J. S. et al., J. Clin. Immunol., 9:295-314, 1989)。

[0004] 在对血液凝固以及炎症产生重要影响的酶中,环氧化酶(以下称作“COX”)起到了重要的作用,COX 生成前列腺素以及血栓素两种主要产物。前列腺素是具有极其多样的生理活性的不饱和脂肪酸,作为人体内的局部的荷尔蒙或细胞功能调节因子而起作用,例如炎症及疼痛传达、血管扩张、体温调节、胃液分泌促进等(Marnett, L. J. et al., J. Biol. Chem., 274:22903-22906, 1999)。COX-1 通过维持诸如胃肠管保护、肾脏的血流调节及血小板凝集等正常生理反应,对细胞的正常维持起到重要的作用。另一方面,在受外部刺激而诱发的炎症的传导过程中,可诱导的同工酶 COX-2 暂时表达而在产生炎症的部位释放过量的前列腺素。前列腺素能引起作为炎症的主要症状的红斑、浮肿及疼痛,具有将作为内因性炎症介质物质的组胺等的作用增强的活性,因而抑制炎症部位中的前列腺素的生成在炎症治疗中有很大的作用。

[0005] 现在,商业上使用的作为非甾体类抗炎药(NSAIDs)的阿司匹林(aspirin)、吲哚美辛(indomethacin)、萘普生(naproxen)、布洛芬(ibuprofen)等,是通过抑制 COX-2 酶的活性来阻碍前列腺素的生成,从而显示出抗炎效果(Meade E. A. et al., J. Biol. Chem., 268:6610, 1993)。但是,这些 NSAID 药物不仅抑制由于炎症刺激而暂时表达的 COX-2,也抑制对胃肠管、肾脏血小板的正常功能的维持起重要作用的 COX-1,因而有导致胃肠管出血、肾脏功能不全等的严重副作用的问题(Surh Y. J. et al., Mutation Research 480-481:243-268, 2001)。因此,从天然物中发掘使副作用最小化、同时提供抗炎症作用的物质,在产业上及其重要。

[0006] 另一方面,木酚素(lignan)是 n-苯基丙烷在 n-丙基侧链的 β 位上结合而成的天然化合物的总称,广泛分布在自然界中。已针对木酚素的降血糖作用、抗癌作用、抗喘息作用、美白作用等的多种生理学活性进行了研究。例如,已报道了作为从芝麻分离出的木酚素的芝麻素(sesamin)、异芝麻素(episesamin)、芝麻素酚(sesaminol)、芝麻林素(sesamolin)及异芝麻素酚(episesaminol)具有抗炎症效果(韩国公开专利公报第

1997-7001043 号) ;此外,还公开了从辛夷(白木莲)(*Magnoliae flos*) 分离出的木酚素类化合物能够作为抗喘息剂使用(韩国注册专利第 0263439 号)。进一步地,已报道了肉豆蔻木酚素(macelignan),其是从肉豆蔻(*Myristica fragrans*) 中发现的代表性的木酚素类化合物(Tuchinda P.etal., *Phytochemistry*, 59 :169-173, 2002),其具有对诱导细胞凋亡的 caspase(天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶)-3 的增强作用(Park B. Y. et al., *Biol. Pharm. Bull.*, 27(8) :1305-1307, 2004) 及抗氧化作用(Sadhu, S. K. et al., *Chem. Pharm. Bull.*, 51(9) :595-598, 2003)。但是,对于包括上述肉豆蔻木酚素的木酚素类化合物的抗炎活性,至今还没有报道过。

发明内容

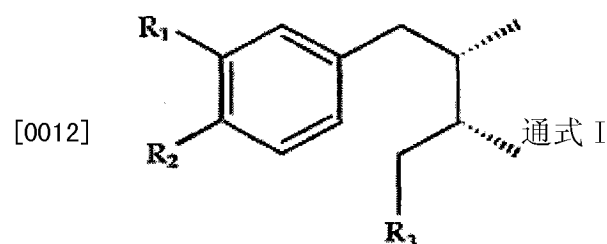
[0007] 发明要解决的课题

[0008] 本发明人为了寻找具有抗炎活性的来自天然物质的化合物,进行了长期的探索,其结果发现从肉豆蔻提取物中分离纯化的木酚素类化合物呈现出卓越的抗炎活性,从而完成了本发明。

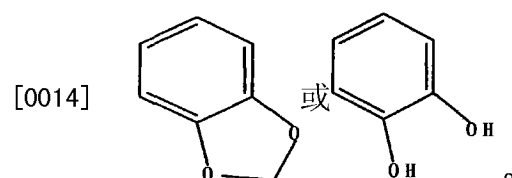
[0009] 本发明的目的是,提供木酚素类化合物治疗或预防炎症性疾病的用途。

[0010] 解决课题的方法

[0011] 为了达到上述目的,本发明提供一种治疗或预防炎症性疾病的药物组合物,该药物组合物包含由下述通式 I 表示的木酚素类化合物或其药学上可接受的盐的有效成分。



[0013] 式中, R_1 及 R_2 独立地是 C_{1-5} 烷氧基或羟基; R_3 是



[0015] 进一步地,本发明提供一种通过施用有效量的由上述通式 I 表示的木酚素类化合物或其药学上可接受的盐而预防或治疗炎症性疾病的方法。

[0016] 进一步地,本发明提供一种由上述通式 I 表示的木酚素类化合物用于制造预防或治疗炎症性疾病的药物组合物的用途。

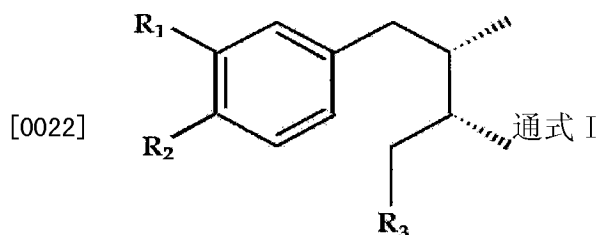
[0017] 本发明中,“有效量”是指本发明的木酚素类化合物能够有效地治疗作为使用对象的受试者体内的炎症性疾病的量。

[0018] 进一步地,本发明中,“受试者(subject)”是指哺乳动物,特别是包括人类在内的动物。上述受试者也可以是需要治疗的患者。

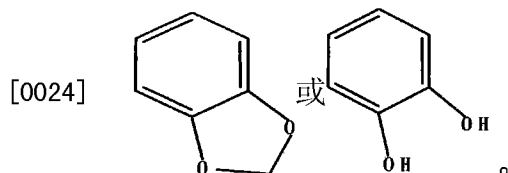
[0019] 下面,详细说明本发明。

[0020] 本发明的特征在于提供从肉豆蔻提取物中分离纯化的木酚素类化合物的新用途。

[0021] 本发明的木酚素类化合物由下述通式 I 表示:

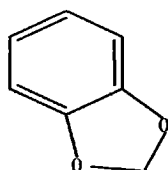


[0023] 其中, R_1 及 R_2 独立地是 C_{1-5} 烷氧基或羟基; R_3 是

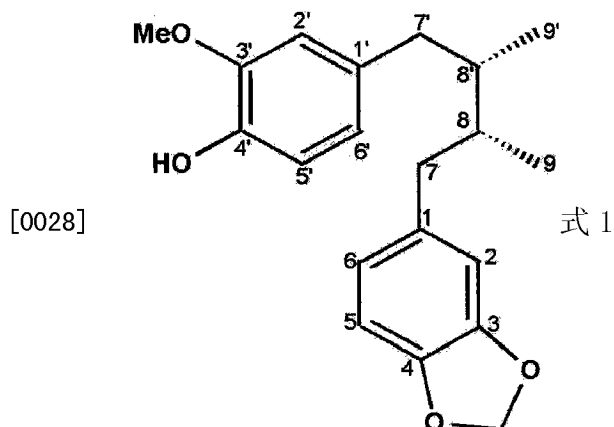


[0025] 优选本发明的木酚素类化合物可以为上述 R_1 是甲氧基、 R_2 是羟基、 R_3 是

[0026]



[0027] 的由下述式 1 表示的肉豆蔻木酚素 [(8R,8'S)-7-(3,4-亚甲基二氧苯基)-7'-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-8,8'-二甲基丁烷]]:



[0029] 本发明的木酚素类化合物,可以以盐的形式,优选为药学上可接受的盐的形式使用。上述盐优选为由药学上可接受的游离酸形成的酸加成盐。上述游离酸可使用有机酸及无机酸。所述有机酸包括柠檬酸、醋酸、乳酸、酒石酸、马来酸、富马酸、甲酸、丙酸、草酸、三氟醋酸、安息香酸、葡萄糖酸、甲磺酸、羟基乙酸、琥珀酸、对甲苯磺酸、谷氨酸及天门冬氨酸,但并不限制于此。另外,所述无机酸包括盐酸、溴酸、硫酸及磷酸,但并不限制于此。

[0030] 本发明的木酚素类化合物,可利用通常的提取和分离物质的方法从植物或植物的一部分获得。对茎、根或叶进行适宜的脱水、浸渍,或仅仅脱水以获得所需的提取物,然后利用本发明所属技术领域的技术人员公知的纯化方法进行纯化。进一步地,对应于上述通式 I 表示的木酚素类化合物的合成化合物或它们的衍生物,一般为可商购的物质,或可利用公知的合成方法制造而得到。

[0031] 上述由通式 I 表示的本发明的木酚素类化合物,可从肉豆蔻 (*Myristica fragrans* Houtt.) 中分离纯化而得到 (Jung Yun Lee et al., *Kor. J. Pharmacogn.* 21(4) : 270-273, 1990 ; Masao Hattori et al., *Chem. Pharm. Bull.*, 34(9) : 3885-3893, 1986 ; Masao

Hattori et al., Chem Pharm. Bull., 35(2) :668-674, 1987)。优选地,可从核仁 (nutmeg) 或假种皮 (aril) 中分离纯化而得到。上述核仁,是指肉豆蔻的成熟的果实或果实中的种子。进一步地,本发明的木酚素类化合物,可从压榨核仁而得到的油中分离纯化而得。进一步地,也可从肉豆蔻科的另一种植物长形肉豆蔻 (*Myristica argentea* Warb) 等中分离纯化而得 (Filleur, F. et al., Natural Product Letters, 16 :1-7, 2002)。或,也可以从红楠 (*Machilus thunbergii*) (Park B. Y. et al., Biol. Pharm. Bull., 27(8) :1305-1307, 2004)、蜂巢草 (*Leucas aspera*) 中分离纯化而得 (Sadhu, S. K. et al., Chem. Pharm. Bull., 51(9) : 595-598, 2003)。

[0032] 用于分离本发明的木酚素类化合物的提取溶剂可以是水或 C_1 - C_6 的有机溶剂。优选地,可单独使用或混合使用的提取溶剂包括纯化水、甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇、丁醇、丙酮、乙醚、苯、氯仿、乙酸乙酯、二氯甲烷、己烷、环己烷、石油醚等。更优选地,可使用甲醇或己烷。从肉豆蔻提取物中分离纯化本发明的木酚素类化合物时,可单独或组合使用填充有硅胶或活性氧化铝等各种合成树脂的柱色谱及高效液相色谱 (HPLC) 等。但是,有效成分的提取及分离纯化方法,并不限制于使用上述方法。

[0033] 如上所述,本发明的木酚素类化合物,可以以纯的分离纯化的化合物的形式使用,也可直接以含有该化合物的提取物的形式使用。例如,也可以以如上述记载的肉豆蔻的种子、果实或假种皮的提取物形式或压榨肉豆蔻的种子得到的油的形式使用。如上所述,上述提取物可用水或 C_1 - C_6 有机溶剂对肉豆蔻进行提取而得到。优选地,也可以是肉豆蔻的种子,即核仁的提取物。

[0034] 本发明的木酚素类化合物通过抑制作为炎症反应的介质的多种物质而具有抗炎活性。

[0035] NO 作为与神经传达、血管舒张及细胞介质性免疫反应有关的物质,通过 NOS(一氧化氮合成酶)从 L-精氨酸生成 (Nathan and Xie, 1994; Alderton et al., 2001)。特别地,当巨噬细胞被 IFN- γ 或 LPS(内毒素)刺激时, iNOS(诱导型一氧化氮合成酶)被表达,通过上述 iNOS 生成大量的 NO。本发明的木酚素类化合物,能够浓度依赖性地抑制巨噬细胞内 NO 的生成及参与 NO 生成的 iNOS 的表达(参照图 8 及图 9)。

[0036] 进一步地, COX-2 作为与体内的炎症反应有关的物质,产生致炎性 PG。COX-2 的表达通过细菌类分泌的内毒素 LPS 以及炎症性细胞活素类 IL-1、TNF- α 、IFN- γ 等诱导。本发明的木酚素类化合物不仅抑制 COX-2 的表达,而且也浓度依赖性地抑制 PG 类之一的 PGE₂(前列腺素 E₂) 的生成(参照图 10 及图 11)。

[0037] 肿瘤坏死因子 TNF- α 是革兰阴性菌与其它感染性微生物引发的急性炎症反应的主要的介质因子。被 LPS 刺激的巨噬细胞增强 TNF- α 的合成。TNF- α 的生物学作用是在低浓度时作用于白细胞与内皮细胞而引发急性炎症;中等浓度时,其介导全身炎症反应;高浓度时,其由于导致败血症休克的病理学异常而引起死亡。进一步地, TNF- α 增强 PG 的合成而产生热量,抑制凝血酶调节蛋白 (trombomodulin) 的表达,导致血管堵塞 (Abbas and Lichtman, "Cellular and Molecular Immunology" the fifth edition. pp. 247-253, 2003)。本发明的木酚素类化合物具有抑制巨噬细胞和人类单核细胞中 TNF- α 的生成的效果(参照图 12 及图 13)。

[0038] 进一步地,通过 TPA(佛波酯 (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate)) 处理

诱发浮肿的大鼠的耳朵局部涂布本发明的木酚素类化合物,其结果表明能够浓度依赖性地抑制浮肿生成率,比现在可商购获得的抗炎剂吲哚美辛呈现出更高的浮肿抑制率(参照表 2)。进一步地,制造含有木酚素类化合物的乳膏,并将其局部涂敷在大鼠的耳朵上,其结果表明能够抑制浮肿生成率(参照表 4)。

[0039] 另一方面,本发明人等,在通过对 TPA 处理诱发浮肿的大鼠的耳朵局部涂布肉豆蔻提取物(甲醇及己烷粗提物),其结果表明能够确认可浓度依赖性地抑制浮肿生成率(参照表 5)。

[0040] 如上所述的结果意味着本发明的木酚素类化合物不仅抑制 COX-2,也抑制作为炎症反应介质的多种因子,呈现出卓越的抗炎症作用。进一步地,结果表明肉豆蔻提取物本身也能够得到相同的抗炎症效果。如上述的由通式 I 表示的本发明的木酚素类化合物及肉豆蔻提取物的抗炎症活性,是本发明首先发现的。

[0041] 相对于现在产业上使用的非甾体类抗炎药大部分都是抑制了 COX-2 酶的活性而表现出抗炎症效果,能够确认本发明的木酚素类化合物可作为比以往的抗炎症剂具有更优异的效果的抗炎症剂来使用。

[0042] 因此,本发明提供一种治疗或预防炎症性疾病的药物组合物,该药物组合物含有作为活性成分的由上述通式 I 表示的木酚素类化合物、其药学上可接受的盐。进一步地,本发明提供一种治疗或预防炎症性疾病的药物组合物,该药物组合物含有作为有效成分的肉豆蔻提取物。上述肉豆蔻提取物的制造如上所述。

[0043] 进一步地,本发明提供一种治疗或预防炎症性疾病的方法,该方法将有效量的由通式 I 表示的木酚素类化合物或其药学上可接受的盐施用于所需受试者。

[0044] 进一步地,本发明提供由通式 I 表示的木酚素类化合物在制造治疗或预防炎症性疾病的药物组合物中的用途。

[0045] 本发明的木酚素类化合物或其药学上可接受的盐,在临床使用时,可以口服或胃肠外给药的形式使用,可以以一般的药物制剂的形式使用。以一般的药物制剂的形式进行制剂化时,可采用通常使用的填充剂、增稠剂、粘结剂、湿润剂、崩解剂、表面活性剂等稀释剂或赋形剂进行调制。用于口服的固体制剂包括片剂、丸剂、散剂、颗粒剂、胶囊等,如上所述的固体制剂,是在上述木酚素类化合物或肉豆蔻提取物中混合至少一种以上的赋形剂例如淀粉、碳酸钙、蔗糖或乳糖、凝胶等制成。进一步地,除单纯的赋形剂以外,也可以使用硬脂酸镁或滑石粉等润滑剂。用于口服的液体制剂,包括混悬剂、液体、乳剂、糖浆等。液体制剂除了广泛使用的单纯的稀释剂如水、液体石蜡以外还包括各种赋形剂,例如湿润剂、甜味剂、芳香剂、防腐剂等。用于胃肠外给药的药物制剂包括灭菌的水溶液、非水溶液、混悬剂、乳剂、冻干制剂、软膏、乳膏。非水溶液和混悬液可使用丙二醇、聚乙二醇、橄榄油等的植物油、油酸乙酯等的可注射酯等制备。

[0046] 进一步地,本发明的木酚素类化合物或其药学上可接受的盐,可采用胃肠外给药途径给药,如可采用皮下注射、静脉注射、肌肉注射或腹内注射方式。制备胃肠外给药制剂时,将上述通式 I 的木酚素类化合物或肉豆蔻提取物与稳定剂或缓冲剂一起在水中混合制成溶液或混悬液,然后将其制成存在于安瓿或小瓶中的单位剂型。剂量单位可含有,例如单独剂量的 1、2、3 或 4 倍,或 1/2、1/3 或 1/4 倍。单独剂量,优选含有有效药物的一次给药量,这相当于通常一天给药量的全部、1/2、1/3 或 1/4 倍。

[0047] 本发明的由通式 I 表示的木酚素类化合物或肉豆蔻提取物的有效剂量为 0.1-50mg/kg, 优选为 1-10mg/kg, 可一天服用 1~3 次。对特定患者的给药量基准, 也可根据患者的体重、年龄、性别、健康状态、饮食、给药时间、给药方法、排泄率、疾病的严重程度等变化。

[0048] 大鼠口服本发明的木酚素类化合物时的毒性实验的结果, 显示了口服毒性试验的 50% 致死量 (LD50) 为 2,000mg/kg 以上。

[0049] 特别是, 含有本发明的木酚素类化合物或肉豆蔻提取物的药物组合物, 能够制成皮肤涂布用剂型, 即软膏、乳膏的形式, 相对于制剂总重量, 可根据剂型在 0.001-10.0 重量%, 优选为 0.005-5.0 重量% 的范围内适宜配制。当添加量低于 0.005 重量% 时, 抗炎症活性降低, 当添加量超过 10.0 重量% 时, 只是添加量增多而抗炎症活性没有大的差别。

[0050] 本发明中的炎症性疾病, 是指因 NO、iNOS、COX-2、PGE₂、TNF- α 等引起一系列炎症反应的多种刺激因素而诱发的炎症疾病。上述炎症性疾病包括, 例如浮肿等一般性炎症症状、炎症性肠病、腹膜炎、骨髓炎、蜂巢炎、胰腺炎、创伤性休克、支气管哮喘、过敏性鼻炎、囊性纤维化、急性支气管炎、慢性支气管炎、急性细支气管炎、慢性细支气管炎、骨关节炎、痛风、脊柱关节病、强直性脊柱炎、赖特尔综合症、干癣性关节病变、与炎症性肠病相关的脊柱炎、幼年关节病、幼年强直性脊柱炎、反应性关节炎、感染性关节炎、感染后关节炎、淋菌性关节炎、结核性关节炎、病毒性关节炎、真菌性关节炎、梅毒性关节炎、莱姆病、与“血管炎综合症”相关的关节炎、结节性多动脉炎、过敏性血管炎、Luegenec's 肉芽肿症 (Luegenec's granulomatosis)、风湿性多肌痛、关节细胞动脉炎、钙结晶沉积性关节病、假痛风、非关节性风湿症、滑囊炎、腱鞘炎、上髌炎 (网球肘)、神经性关节病 (neuropathic joint disease)、关节血肿 (hemarthrosis)、过敏性紫癜 (Henoch-Schonlein Purpura)、肥大性骨关节病、多中心网状组织细胞瘤、脊柱侧凸、血色病、血红蛋白病、高脂蛋白血症、低丙种球蛋白血症、家族性地中海热、白塞氏病 (Behcet's disease)、系统性红斑狼疮、回归热、多发性硬化症、败血症、败血症性休克、急性呼吸窘迫综合症、多器官衰竭、慢性阻塞性肺疾病、类风湿性关节炎、急性肺损伤、支气管肺发育不良, 但并不限制于此。进一步地, 也包括急性和慢性湿疹、接触性皮炎、异位性皮炎、脂溢性皮炎、剥脱性皮炎、日光性皮炎、银屑病等炎症性皮肤病。

附图说明

[0051] 图 1 是从肉豆蔻 (*Myristica fragrans*) 分离木酚素类化合物的流程图。

[0052] 图 2 是本发明的木酚素类化合物的 ¹³C-NMR 谱图。

[0053] 图 3 是本发明的木酚素类化合物的 ¹H-NMR 谱图。

[0054] 图 4 是本发明的木酚素类化合物的 ¹H-¹H COSY 谱图。

[0055] 图 5 是本发明的木酚素类化合物的 ¹H-¹³C HMBC 谱图。

[0056] 图 6 是本发明的木酚素类化合物的 EI-Mass 谱图。

[0057] 图 7 显示了本发明的木酚素类化合物的细胞毒性效果。

[0058] 图 8 显示了本发明的木酚素类化合物抑制 NO 生成的效果。

[0059] 图 9 显示了本发明的木酚素类化合物抑制 iNOS 表达的效果。

[0060] A: 免疫印迹分析结果。

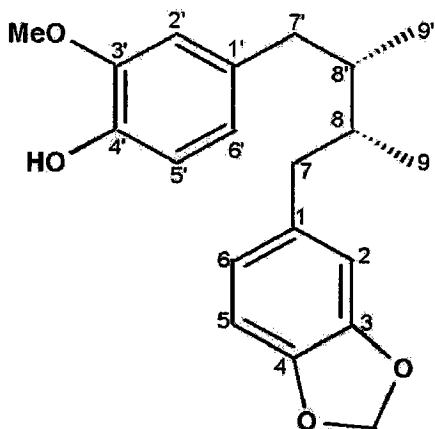
- [0061] B:相对于 LPS 刺激的对照群的 iNOS 蛋白水平图。
- [0062] 图 10 显示了本发明的木酚素类化合物 (A) 及姜黄素 (B) 抑制 PGE₂ 生成的效果。
- [0063] 图 11 显示了本发明的木酚素类化合物抑制 COX-2 表达的效果。
- [0064] A:免疫印迹分析结果。
- [0065] B:相对于 LPS 刺激的对照群的 COX-2 蛋白水平图。
- [0066] 图 12 显示了本发明的木酚素类化合物 (A) 及姜黄素 (B) 抑制用 LPS 刺激的巨噬细胞生成 TNF- α 的效果。
- [0067] 图 13 显示了本发明的木酚素类化合物 (A) 及吲哚美辛 (B) 抑制痤疮丙酸杆菌 (*P. acnes*) 刺激的人类单核细胞 U937 细胞生成 TNF- α 的效果。
- [0068] 本发明的最佳实施方式
- [0069] 以下,通过实施例详细地说明本发明。
- [0070] 其中,下述实施例仅用于示例本发明,本发明的内容并不限于下述实施例。而且,在下述实施例及实验例中,百分含量没有特别表明是体积%的时候,则表示重量%。进一步地,所有的活性分析,都重复进行 3 次以上,其结果用平均值 $\pm$ 标准偏差来表示。另外,统计分析是利用 Students' s t-test 来进行的, $p < 0.05$ 时判定为具有统计学上的显著性。
- [0071] 实施例 1
- [0072] 从肉豆蔻分离及纯化木酚素类化合物
- [0073] <1-1> 木酚素类化合物的分离及纯化
- [0074] 向干燥粉碎的核仁 100g(干燥重量)中添加 75 体积%、400ml 的甲醇,常温下放置 2 天。利用 Whatman2 号滤纸过滤上述溶液。重复 2 次上述过程。真空浓缩甲醇滤液,并冷冻干燥,制得核仁的甲醇粗提物 (7g)。依次用乙酸乙酯、丁醇、水对甲醇粗提取物进行分级分离,得到乙酸乙酯分级物 (4.2g)。利用硅胶柱色谱 (Merck Kieselgel66 ;70-230 目),用己烷与乙酸乙酯以 10:1(v/v) 的比例混合成的溶剂洗脱乙酸乙酯分级物,得到分级物 III(1.0g)。用真空旋转浓缩器,完全除去溶剂,制得核仁的粗提物。接下来,利用硅胶柱色谱 (Merck Kieselgel66 ;70-230 目),用己烷与乙酸乙酯以 20:1(v/v) 的比例混合的溶剂洗脱分级物 III,得到分级物 III-B(0.52g)。利用 Rp-18 柱色谱 (Merck LiChroprep ; 25-40 μ m),用 80% 甲醇洗脱分级物 III-B,得到单一物质分级物 III-B-2(0.5g)。将如上所述的分离工序示于图 1 中。
- [0075] <1-2> 结构分析
- [0076] 为了确定上述分离的单一物质 III-B-2 的结构,分别于 600MHz、150MHz(溶剂: DMSO) 下测定了 ¹H-NMR 谱与 ¹³C-NMR 谱。将其结果分别示于图 2 及图 3 中。为了确定基于 ¹³C-NMR 谱与 ¹H-NMR 谱结果的 ¹H-¹H 相互关系以及 ¹H-¹³C 相互关系,测定了 ¹H-¹H COSY 谱与 ¹H-¹³C HMBC 谱。将其结果分别示于图 4 及图 5 中。对 ¹H-NMR、¹³C-NMR、¹H-¹H COSY 及 ¹H-¹³C HMBC 结果综合分析,并示于表 1 中。
- [0077] 表 1
- [0078]

位置	¹³ C-NMR	¹ H-NMR	¹ H- ¹ H COSY	¹ H- ¹³ C HMBC
1	135.4			
2	109.2	6.72 brs		C-7, C-6, C-4, C-3
3	147.3			
4	145.1			
5	107.9	6.79 d(7.8)	6.61	C-6, C-4, C-3, C-1
6	121.7	6.61 dd(7.8)	6.79	C-7, C-5, C-4, C-2, C-1
7	38.2	2.23 dd(13.2, 9.3)	1.64, 2.66	C-8, C-6, C-2, C-1
		2.66 dd(13.2, 4.8)	1.64, 2.23	C-9, C-8, C-6, C-2, C-1
8	38.7	1.64 brs	0.75, 2.23, 2.66	C-7
9	16.0	0.75 d(6.3)	1.64	C-8, C-7
1'	132.4			
2'	112.9	6.66 brs		C-7', C-6', C-4', C-3'
3'	147.1			
4'	144.4			
5'	115.2	6.66 d(7.9)	6.53	C-6', C-4', C-3', C-1'
6'	121.0	6.53 d(7.9, 1.1)	6.66	C-7', C-5', C-4', C-2', C-1'
7'	38.0	2.17 dd(13.2, 9.3)	1.64, 2.66	C-8', C-6', C-2', C-1'
		2.66 dd(13.2, 4.8)	1.64, 2.17	C-9', C-8', C-6', C-2', C-1'
8'	38.7	1.64 brs	0.75, 2.17, 2.66	C-7'
9'	16.1	0.75 d(6.3)	1.64	C-8', C-7'
OMe	55.5	3.72(s)		
O-CH ₂ -O	100.6	5.95 d(4.8)		C-3, C-4

[0079] <1-3> 质量分析

[0080] 为了对上述分离的单一物质进行质量分析而测定的EI/MS的结果示于图6中。该化合物的EI/MS在m/z328时观察到[M]⁺,判断其分子量为328,分子式为C₂₀H₂₄O₄。

[0081] 将上述的¹H-NMR、¹³C-NMR、¹H-¹H COSY、¹H-¹³C HMBC及EI/MS的结果与已经发表的研究报告(Woo, W. S. et al., Phytochemistry, 26:1542-1543, 1987)进行比较分析所鉴定的结果,可确认分离出的单一物质为用下述式1表示的肉豆蔻木酚素(macelignan)。



[0082]

[0083] 实施例 2

[0084] 本发明的木酚素类化合物的细胞毒性效果的调查

[0085] <2-1>RAW264.7 细胞系的培养

[0086] 为了调查上述实施例 1 得到的肉豆蔻木酚素对炎症反应介质物质的生成产生的影响,使用了巨噬细胞 RAW264.7 细胞。巨噬细胞 RAW264.7 细胞是使用从 American Tissue Culture Collection(ATCC TIB TIB-71, Rockville, MD, USA) 购买的产品。在补充有热失活的 10 % FBS(胎牛血清, Gibco, USA)、100U/ml 盘尼西林 G 及 100 μ m/ml 链霉素的 DMEM(Dulbecco's ModifiedEagle's Medium, Gibco, USA) 培养基上,在含有 5% CO₂ 的 37℃ 的培养器中培养上述细胞系。

[0087] <2-2> 细胞毒性的测定

[0088] 为了调查本发明的肉豆蔻木酚素对 RAW264.7 细胞的存活率产生的影响,通过线粒体脱水素酶使 MTT 还原成紫色甲月替 (formazan) 生成物为基础进行分析 (Hayon T. et al., Leuk. Lymphoma. 44(11):1957-1962, 2003)。将 1×10^6 细胞/ml 的 RAW264.7 细胞接种到 RPMI1640 培养基,6 小时后,用本发明的肉豆蔻木酚素以 $1 \sim 80 \mu\text{M/ml}$ 的浓度处理所述细胞。24 小时后,利用 MTT 分析法,测定细胞存活率。

[0089] 其结果是,如图7所示,本发明的肉豆蔻木酚素,在1-20 μ M的浓度时,对RAW264.7细胞的存活率没有大的影响。基于上述结果,接下来的炎症实验中,使用了1-20 μ M浓度的肉豆蔻木酚素。

[0090] 实施例 3

[0091] 本发明的木酚素类化合物的 NO 抑制效果的调查

[0092] <3-1>NO 生成的抑制

[0093] 被 IFN- γ 或 LPS 刺激的巨噬细胞高表达 iNOS,生成大量的作为炎症反应介质的物质 NO(Miyasaka and Hirata., Immunol.Today.,16:128-130,1995;Guzik et al., J. Physiol. Pharmacol., 54(4):469-487,2003)。因而,调查了本发明的肉豆蔻木酚素对通过 LPS 活化的 RAW264.7 细胞内 NO 的生成所产生的影响。

[0094] 将 RAW264.7 细胞稀释至 1×10^6 细胞 /ml 的浓度后,接种至 RPMI1640 培养基。5 小时后,添加 $1 \sim 20 \mu\text{M}$ 的各浓度的本发明的肉豆蔻木酚素,然后培养 2 个小时。接下来,用 LPS($10 \mu\text{g/ml}$) 处理培养基,并培养 24 小时。对照群仅用 LPS 处理。NO 的生成量,是利用细胞培养液、通过测定 NO 的反应产物 NO_2^- 的方法进行定量 (Han et al., Life Sci., 75(6) :675-684, 2004)。在 96 孔组织培养板上混合 $100 \mu\text{l}$ 培养液与相同体积的 Greiss

试剂 (0.5% 磺胺、0.05% N-(1-萘基) 乙二胺二盐酸盐 / 2.5% H_3PO_4)，在常温阴暗处反应 10 分钟。接下来，利用 ELISA 酶标仪，测定试样在 550nm 处的吸光度。 NO_2^- 的浓度是利用 NaNO_3 制作标准曲线，与其进行比较测定 NO 的生成量。所有的试验重复进行 3 次以上，利用 student's t-test，对其分别定量。

[0095] 其结果是，如图 8 所示，仅通过 LPS 处理，NO 的生成被大幅地增强，并确认了通过本发明的肉豆蔻木酚素的处理，能够浓度依赖性地抑制该增强。特别是，在 $1\mu\text{M}$ 与 $5\mu\text{M}$ 的低浓度下，也确认了抑制 NO 生成的效果优异 ($P < 0.01$)。另外，用 $20\mu\text{M}$ 肉豆蔻木酚素处理时，其抑制 NO 生成的程度达到与未经任何处理群近乎相似的程度。

[0096] <3-2>iNOS 表达的抑制

[0097] 用 LPS 刺激巨噬细胞，iNOS 被过量表达的同时生成大量的 NO。因此，为了调查上述实施例 <3-1> 中确认的本发明的肉豆蔻木酚素对 NO 生成的抑制与 iNOS 的关系，测定了上述肉豆蔻木酚素对 iNOS 的表达产生的影响。

[0098] 溶解用本发明的肉豆蔻木酚素及 LPS 处理的 RAW264.7 细胞，用考马斯亮兰 (Bradford assay) 方法定量蛋白质。用 10% SDS-PAGE 分离蛋白质 $10\mu\text{g}$ ，然后利用转移溶液 (转移溶液; 20% 甲醇, 25mM Tris, 192mM 氨基乙酸, pH8.3) 将上述分离的蛋白质移至硝化纤维素膜上 (Hall, Methods Mol. Biol., 261:167-174, 2004)。使 SDS-聚丙烯酰胺凝胶与硝化纤维素膜紧密接触，并装入微型凝胶转移试剂盒中。接下来，将样品装载到试剂盒中，在 100V 下电泳移动 1 小时。接下来，用 TBST (Tris 缓冲生理盐水吐温 20, trisbuffered saline tween-20) 溶液洗涤膜 1 次，将上述膜移至干燥的滤纸上，在常温下进行干燥。为了除去非特异反应，用含有 5% 脱脂乳的 TBST 在 4°C 下充分振动 24 小时以上，然后放置。接下来，用 TBST 溶液洗涤膜 3 次，然后注入抗-iNOS 抗体 (1:2,000) (Calbiochem)，在室温下反应 1 小时。再次利用 TBST 溶液将膜洗涤 3 次，每次洗涤 10 分钟。注入结合有 HRP (辣根过氧化物酶) 的抗-兔 IgG-HRP (1:2,000) (Calbiochem)，在震荡器上反应 1 小时。接下来，再次用 TBST 溶液洗涤上述膜 3 次后，浸泡在 ECL (增强化学发光) 溶液中，在振动 1 分钟的同时，使其全部被浸渍。上述 ECL 溶液的制造，是通过相同量地混合溶液 A (含有发光氨与增强剂) 与溶液 B (含有过氧化氢)，振动 1 分钟而制造。从上述 ECL 溶液取出上述膜，除去水分，在暗室中用 X 射线胶片扫描。

[0099] 其结果是，如图 9 所示，确认本发明的肉豆蔻木酚素能够浓度依赖性地抑制巨噬细胞中的 iNOS 的表达，从 $5\mu\text{M}$ 开始抑制效果显著 ($P < 0.01$)。从上述结果能够确认本发明的肉豆蔻木酚素不仅抑制炎症诱发因子 NO 的生成，也抑制了生成该因子的 iNOS 的表达。

[0100] 实施例 4

[0101] 本发明的木酚素类化合物的 COX-2 抑制效果的调查

[0102] <4-1>PGE₂ 生成的抑制

[0103] 类似于 iNOS 同炎症反应密切相关，COX-2 是作为炎症反应介质的 PG 类生成中必须的酶，已知 iNOS 与 COX 的表达及活性相互关联 (Surh et al., Mutat. Res., 481:243-268, 2001)。因此，调查了本发明的肉豆蔻木酚素对 LPS 活化的巨噬细胞的 PGE₂ 的生成产生的影响。

[0104] 首先，将 1×10^6 细胞 / ml 的 RAW264.7 细胞接种至 96 孔组织培养板上，常温下放置 5 小时。接下来，分别添加 $1 \sim 20\mu\text{M}$ 浓度的本发明的肉豆蔻木酚素，培养 2 小时。在

阴性对照群中,不进行任何处理;阳性对照群中,进行已报道过的具有 PGE₂ 抑制活性的姜黄素 (curcumin) (是从姜黄 (Curcuma longa) 分离的物质, Sigma 社制造) 处理。接下来,用 1 μg/ml 的 LPS 处理细胞,并培养 18 小时。利用检测试剂盒 (R&D System Inc, Minneapolis, USA), 用 ELISA 法定量巨噬细胞中的 PGE₂ 的生成量 (Chen et al., Biochem. Pharmacol., 68:1089-1100, 2002)。

[0105] 其结果是,如图 10 所示,通过 LPS 单独处理时 PGE₂ 被大量生成,能够确认通过本发明的肉豆蔻木酚素的处理,可浓度依赖性地抑制该生成。其抑制效果即使在 5 μM 时也能表现出来。如上所述的本发明的肉豆蔻木酚素抑制 PGE₂ 生成的效果与用姜黄素处理的效果近乎相似,显示出与实施例 3 中确认的 NO 及 iNOS 的抑制效果的相同模式 (P<0.05)。

[0106] <4-2> COX-2 表达的抑制

[0107] 本发明人利用免疫印迹分析,调查了对 PGE₂ 生成产生直接影响的 COX-2 的表达。除了作为一次抗体使用抗-COX-2 抗体 (1:2,000) (Calbiochem 社制造)、作为二次抗体使用抗-山羊 IgG-HRP (1:2,000) (Calbiochem 社制造) 以外,与上述实施例 <3-2> 中记载的相同方法进行。

[0108] 其结果是,如图 11 所示,确认了本发明的肉豆蔻木酚素能够浓度依赖性地抑制 COX-2 蛋白的表达。特别是,10-20 μM 的浓度时表达量明显地减少。

[0109] 从上述结果能够确认本发明的肉豆蔻木酚素不仅抑制作为炎症诱发因子的 PGE₂ 的生成,也抑制生成它的 COX-2 的表达。

[0110] 实施例 5

[0111] 本发明的木酚素类化合物的 TNF-α 抑制效果的调查

[0112] TNF-α 是对炎症反应有重要作用的炎症细胞因子。因此,调查了本发明的肉豆蔻木酚素对 TNF-α 的生成的影响。

[0113] <5-1> 巨噬细胞株中的 TNF-α 生成的抑制

[0114] 首先,将 1×10⁶ 细胞/ml 的 RAW264.7 细胞接种至 96 孔组织培养板上,常温下放置 5 小时。接下来,分别添加 1~20 μM 浓度的本发明的肉豆蔻木酚素,培养 2 小时。对阴性对照群不施加任何处理,对阳性对照群用姜黄素 (Sigma) 处理 (Araujo and Leon, Mem. Inst. Oswaldo. Cruz., 96(5):723-728, 2001; Chainani-Wu, J. Altern. Complement., 9(1):161-168, 2003)。接下来,用 1 μg/ml 的 LPS 处理,培养 18 小时。利用检测试剂盒 (R&D System Inc, Minneapolis, USA), 用 ELISA 法定量巨噬细胞中的 TNF-α 的生成量 (Chen et al., J. Dermatol. Sci. 29:97-103, 2002)。其结果是,如图 12 所示,用本发明的肉豆蔻木酚素处理时,从 5 μM 开始显示出了 TNF-α 的生成有明显的减少 (P<0.05)。

[0115] <5-2> 人类单核细胞中的 TNF-α 生成的抑制

[0116] 本发明人用与上述实施例 <5-1> 相同的方法测定了用痤疮丙酸杆菌 (Propionibacterium acnes) 活化的人类单核细胞 (Human monocytic) U937 细胞中的 TNF-α 的生成量。其中,阳性对照群使用吲哚美辛 (Sigma) 进行处理 (Walch and Morris, Endocrinology. 143(9):3276-3283, 2002)。

[0117] 其结果是,如图 13 所示,能够确认本发明的肉豆蔻木酚素可浓度依赖性地减少人类单核细胞中的 TNF-α 的生成 (P<0.01)。

[0118] 从上述结果能够确认本发明的肉豆蔻木酚素抑制诱发和/或介导急性炎症及全

身炎症反应的介质 $\text{TNF-}\alpha$ 的生成。

[0119] 实施例 6

[0120] 利用动物实验对本发明的木酚素类化合物的抗炎症活性进行调查

[0121] 通过动物实验确认上述实施例 1 中分离纯化的木酚素类化合物的抗炎活性。通过对大鼠的浮肿抑制实验,测定上述抗炎活性。实验动物采用 5 周龄的 Wistar 大鼠 (DaeHan Biolink Co., Ltd, 韩国)。饲料供给标准鼠饲料 (Cheiljedang Corporation, Korea), 并自由供给饲料与水。大鼠是在 12 小时的荧光灯日照、 $25\pm 2^\circ\text{C}$ 及 $60\pm 10\%$ 湿度的条件下进行饲养。作为炎症引发剂的 TPA (佛波酯 (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate); Sigma), 在丙酮中溶解达到 $200\ \mu\text{g/mL}$ 。大鼠耳的浮肿, 是通过在耳廓的外面与内面局部分别涂敷 $10\ \mu\text{L}$ /耳 ($4\ \mu\text{g}$ /耳) 的 TPA 溶液而引发。将实施例 1 中生成的纯的肉豆蔻木酚素和作为对照物质的非甾体类抗炎药吲哚美辛溶解在丙酮中, 且其使用量为 20, 200 和 $2000\ \mu\text{g}$ /耳。将肉豆蔻木酚素与吲哚美辛分别局部涂布在用 TPA 处理 30 分钟后的大鼠耳上。对照群局部涂布丙酮。用各物质处理 8 小时后, 利用卡尺 (calliper) 测定大鼠耳的厚度。样品处理群的耳厚度的增加, 与未经样品处理群相比较, 通过计算浮肿抑制百分率, 测定炎症抑制效果。将其结果示于下述表 2 中。

[0122] 表 2

[0123]

施用药物	大鼠数量(只)	施用量 (μg /耳)	浮肿厚度 (μm)	浮肿抑制率 (%)
对照	20	0	248 ± 8	
本发明的肉豆蔻木酚素	20	20	$157\pm 9^*$	36.7
	20	200	$98\pm 6^*$	60.5
	20	2000	$52\pm 4^*$	79.0
吲哚美辛	20	20	$185\pm 5^*$	25.0
	20	200	$108\pm 8^*$	56.5
	20	2000	$64\pm 7^*$	74.2

[0124] $^*p<0.01$

[0125] 实施例 7

[0126] 含有肉豆蔻木酚素的乳膏的制造及其抗炎症活性调查

[0127] <7-1> 含有肉豆蔻木酚素的乳膏的制造

[0128] 利用本发明的肉豆蔻木酚素, 分别制造具有下述表 3 中记载的多种组成的膏霜剂。首先, 在 $75\text{--}80^\circ\text{C}$ 下溶解下述表 3 中用 B 表示的物质。进一步, 在相同温度下溶解下述表 3 中用 C 表示的物质中的十六醇与防腐剂。将上述 C 物质在上述 B 物质中乳化。接下来, 分别以 5.0、0.5、0.05、0.005% 的浓度投入下述表 3 中用 A 表示的本发明的肉豆蔻木酚素, 进行混合。最后, 加入香料和余量的纯化水, 制得乳膏。

[0129] 表 3

[0130]

1		2	3	4
主要构成成分	A	肉豆蔻木酚素 5.0%	肉豆蔻木酚素 0.5%	肉豆蔻木酚素 0.05%
	B	丙三醇 2.0%	丙三醇 2.0%	丙三醇 2.0%
		丙二醇 2.0%	丙二醇 2.0%	丙二醇 2.0%
		chloride lauryl sulfide 8.0%	chloride lauryl sulfide 8.0%	chloride lauryl sulfide 8.0%
		硬脂酸甘油酯 (stearin) 5.4%	硬脂酸甘油酯 5.4%	硬脂酸甘油酯 5.4%
		矿物油 4.5%	矿物油 4.5%	矿物油 4.5%
	C	香料 0.02%	香料 0.02%	香料 0.02%
		十六醇 6.5%	十六醇 6.5%	十六醇 6.5%
		余量的纯化水	余量的纯化水	余量的纯化水
		防腐剂 0.1%	防腐剂 0.1%	防腐剂 0.1%

[0131] <7-2> 抗炎症活性调查

[0132] 通过对大鼠的浮肿抑制实验,测定上述实施例<7-1>中制造的含有肉豆蔻木酚素的乳膏的抗炎症活性。浮肿抑制实验以与实施例6相同的方法进行实施。将其结果示于下述表4中。

[0133] 表4

[0134]

试样	1	2	3	4
肉豆蔻木酚素的含量	0.005%	0.05%	0.5%	5%
浮肿抑制率(%)	14.2	42.3	64.6	88.7

[0135] 从上述表4的结果可知,含有本发明的肉豆蔻木酚素的乳膏以乳膏内含有的肉豆蔻木酚素的浓度依赖性地抑制TPA诱发的大鼠的浮肿。

[0136] 实施例8

[0137] 肉豆蔻提取物的抗炎症活性调查

[0138] <8-1> 甲醇提取物的制备

[0139] 往100g干燥粉碎的核仁(干燥重量)中添加95体积%、400ml的甲醇,在常温下放置2天。利用Whatman2号滤纸过滤上述溶液。重复两次上述过程。真空浓缩并冷冻干燥甲醇滤液,制得甲醇粗提物(16.2g)。

[0140] <8-2> 己烷提取物的制备

[0141] 往100g干燥粉碎的核仁(干燥重量)中添加100体积%、400ml的己烷,在常温下放置2天。利用Whatman2号滤纸过滤上述溶液。重复两次上述过程。真空浓缩并冷冻干燥己烷滤液,制得己烷粗提物(37.0g)。

[0142] <8-3> 利用动物实验进行肉豆蔻提取物的抗炎症活性调查

[0143] 通过动物实验,确认了上述实施例<8-1>及<8-2>制造的肉豆蔻提取物的抗炎活性。通过与上述实施例6相同的方法,利用对大鼠的浮肿抑制实验,测定了上述抗炎活性。其结果如下述表5所示。

[0144] 表5

[0145]

施用的药物	大鼠数量 (只)	剂量(μ g/耳)	浮肿厚度(μ m)	浮肿抑制率(%)
对照群	20	0	248 $\pm$ 8	
甲醇粗提物	20	50	198 $\pm$ 3*	20.2
	20	500	119 $\pm$ 8*	52.0
	20	000	83 $\pm$ 10*	66.5
己烷粗提物	20	50	207 $\pm$ 4*	16.5
	20	500	146 $\pm$ 9*	41.1
	20	5000	106 $\pm$ 7*	57.3

[0146] *p<0.01

[0147] 如上述表 5 所示,能够确认本发明的肉豆蔻的甲醇粗提物与己烷粗提物,全都能够浓度依赖性地抑制 TPA 诱发的大鼠浮肿(统计学上的显著性 p<0.01)。

[0148] 制备例 1

[0149] 含有本发明的治疗或预防炎症性疾病的药物组合物的药剂的制备

[0150] <1-1> 片剂的制造

[0151] 将 25mg 本发明的木酚素类化合物或肉豆蔻提取物、26mg 作为直接压片用赋形剂的乳糖、3.5mg Avicel(微晶纤维素)、1.5mg 作为崩解辅助剂的葡萄糖酸淀粉钠、以及 8mg 作为粘结剂直接压片用的 L-HPC(低取代羟丙基纤维素)一起加入 U 型混合机中,混合 20 分钟。混合结束后,再添加 1mg 作为润滑剂的硬脂酸镁,混合 3 分钟。经过定量分析与湿度含量分析,压片、包膜,制成片剂。

[0152] <1-2> 糖浆的制备

[0153] 通过如下所述的方法,制备将本发明的肉豆蔻木酚素或其药学上可接受的盐作为 2%(w/v)的有效成分而含有的糖浆。将 2g 本发明的肉豆蔻木酚素的酸加成盐、0.8g 糖精及 25.4g 糖,溶解到 80g 温水中。冷却上述溶液后,往其中加入 8.0g 丙三醇、0.04g 香料、4.0g 乙醇、0.4g 山梨酸及适量的蒸馏水加以混合。往上述混合物中添加水至 100ml。

[0154] <1-3> 胶囊的制备

[0155] 混合 50mg 本发明的木酚素类化合物或肉豆蔻提取物、50mg 乳糖、50mg 淀粉、1mg 滑石粉、及适量的硬脂酸镁,将其填充至硬明胶胶囊中,制成胶囊剂。

[0156] <1-4> 注射液的制备

[0157] 按照如下所述的方法,制造含有 10mg 有效成分的注射液:将 1g 本发明的肉豆蔻木酚素的盐酸盐、0.6g 氯化钠及 0.1g 抗坏血酸溶解在蒸馏水中,制成 100ml 的溶液。将上述溶液装入瓶中,并在 20℃ 下加热 30 分钟灭菌。

[0158] 应用例 1

[0159] 胃炎消化性疾病

[0160] 已知胃炎与多种外部原因及不规则的饮食习惯有关,但主要由受肠道细菌 *Helicobacter pylori* 影响。肠道细菌 *Helicobacter pylori*,不仅能够引起胃溃疡、胃炎,甚至会引起胃癌。肠道细菌 *Helicobacter pylori* 增殖过程中,COX-2 酶(环氧化酶-2)也同时增加(Nam N. T. et al., Clin. Cancer Res. 10(23):8105-8113, 2004)。当被 *Helicobacter pylori* 感染时,胃的粘膜细胞会增殖成癌细胞,但确认了 COX-2 抑制剂能

够阻止胃粘膜细胞生长增殖成癌细胞,并且抑制从正常组织演变成癌组织。已发现,使用 COX-2 抑制剂群与未使用群相比,在通过凋亡方法使癌组织死亡的效果方面非常优异 (Nam N. T. et al., Clin. Cancer Res. 10 (23) :8105-8113, 2004)。因此,本发明的木酚素类化合物的 COX-2 抑制效果,能够在早期预防胃癌的胃炎治疗中起作用,从而具有充分的治疗效果。

[0161] 应用例 2

[0162] 关节炎

[0163] 关节炎由自身免疫异常引起,但在病情发展的同时,关节间的滑液腔上产生慢性炎症,诱使血管增生因而破坏软骨。关节炎包括感染性关节炎、退行性关节炎、类风湿性关节炎、股骨头缺血性坏死、强直性脊柱炎、先天性畸形引起的关节炎等多种。不管是何种原因,已知在病情发展的过程中,滑液腔上出现的慢性炎症诱使血管增生,并且具有新的毛细血管侵袭关节导致损伤软骨的特征 (Koch A. E. et al., Arth. Rheum., 29 :471-479, 1986 ;Stupack D. G. et al., J. Med. Biol. Res., 32 :578-281, 1999 ;Koch A. E., Arthritis Rheum., 41 :951-962, 1998)。已有报道,根据疾病种类,炎症反应发生在几个步骤而破坏软骨,在疾病的发展过程中起到了重要的作用,并且关节内的新毛细血管的形成作为重要的病理机理而起作用 (Colville-Nash, P. R. et al., Ann. Rheum. Dis., 51, 919-925, 1992 ; Eisenstein, R., Pharmacol. Ther., 49 :1-19, 1991)。关节炎的治疗,与根据原因来治疗相比,优选抑制疼痛和感染现象,最大限度地抑制关节或肌肉等的破坏速度、使功能消失最小化。因此,本发明的木酚素类化合物或肉豆蔻提取物,对防止与治疗关节炎的发展极为有效。

[0164] 工业实用性

[0165] 如上所述,本发明的木酚素类化合物,通过阻碍炎症介质因子 NO、iNOS、PGE₂、COX-2 及 TNF- α 的生成或表达,有抑制炎症反应的效果。因此,本发明的木酚素类化合物或肉豆蔻提取物能够极其有效地用于炎症性疾病的治疗或预防中。

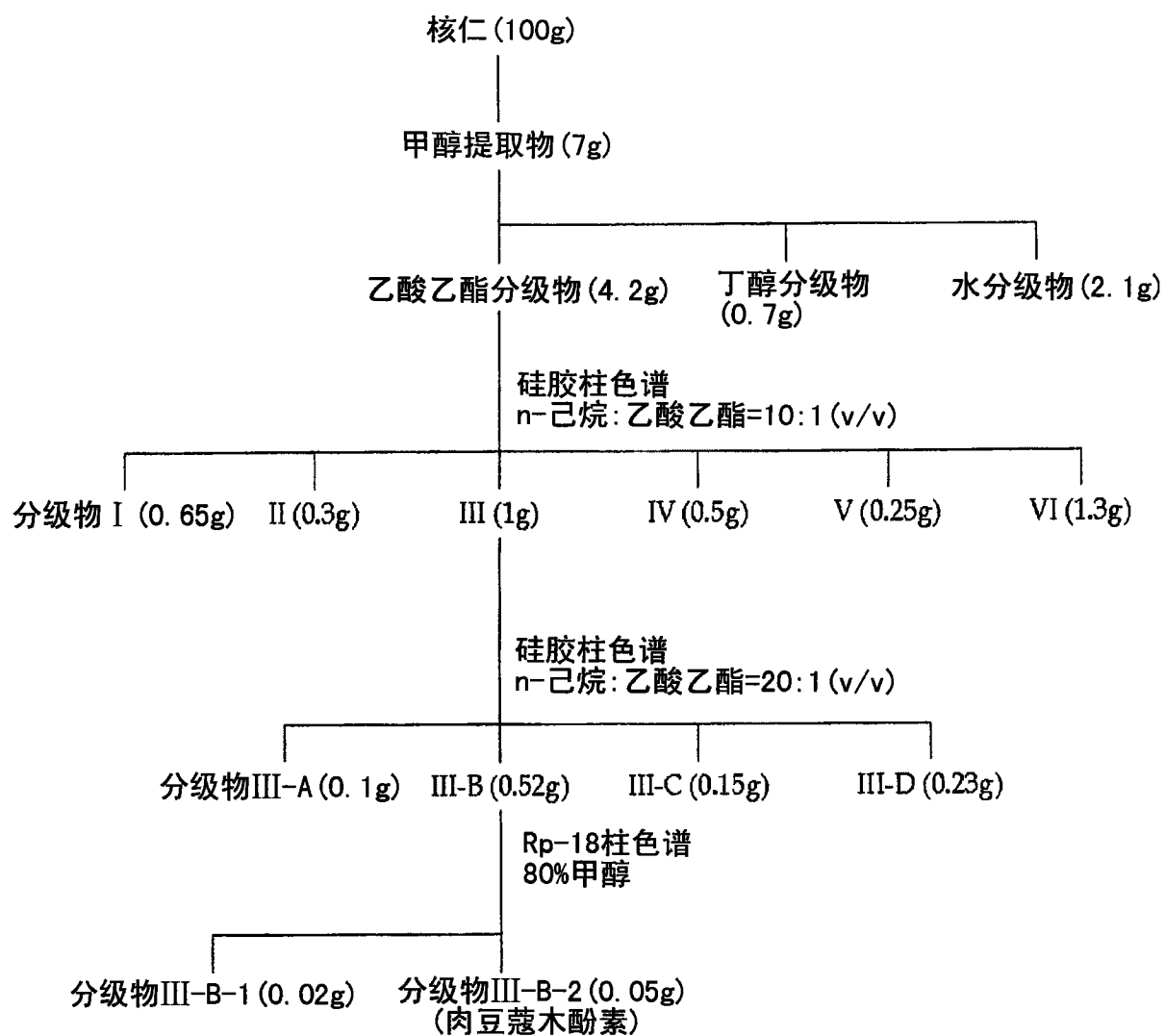


图 1

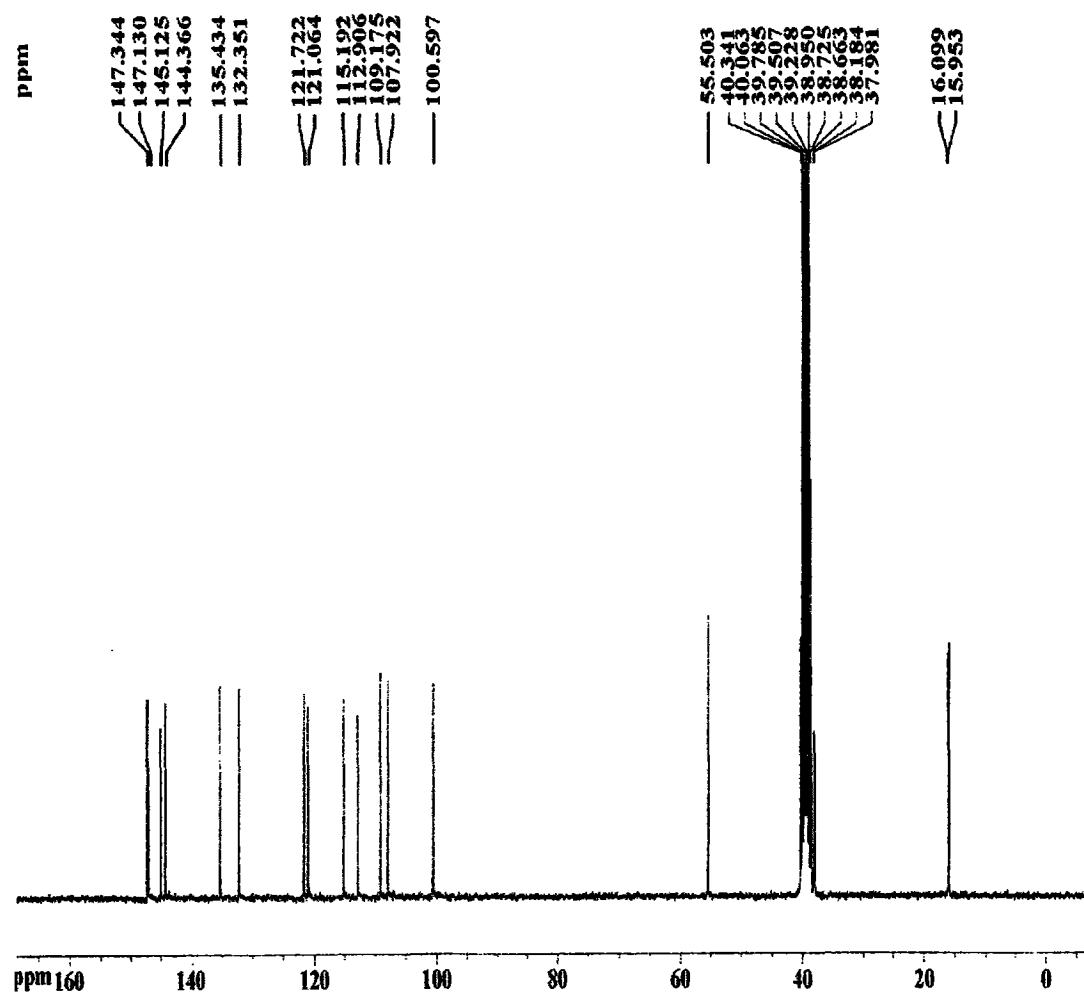


图2

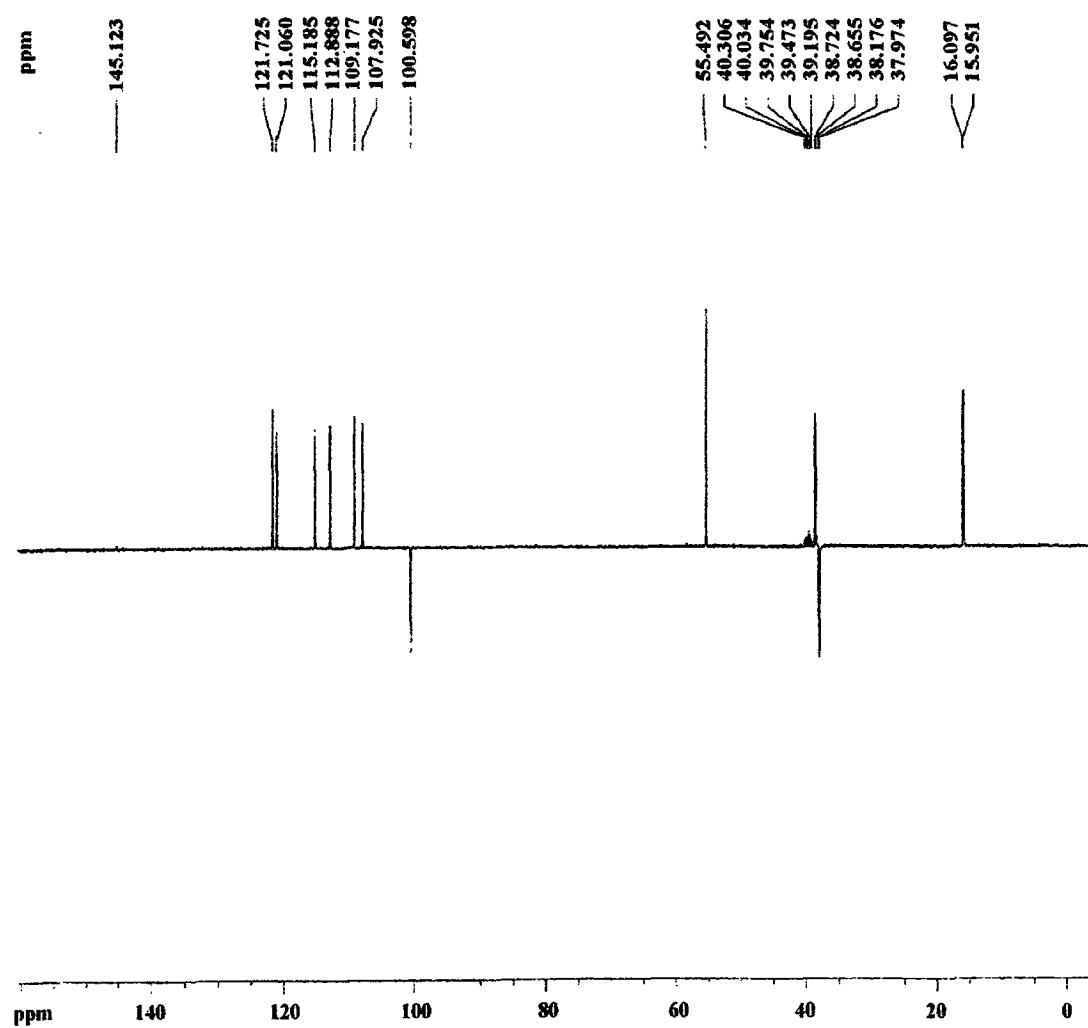


图3

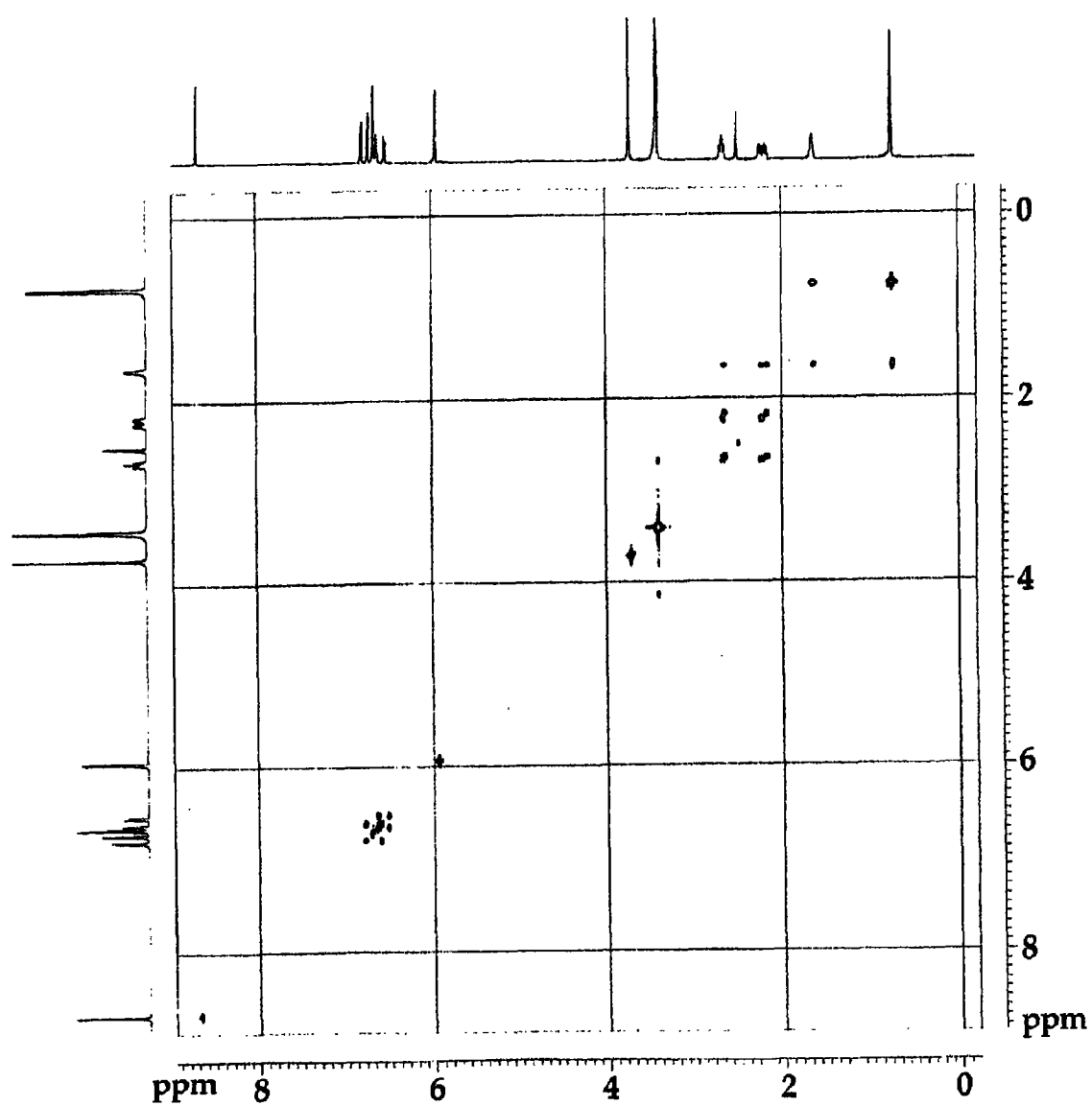


图 4

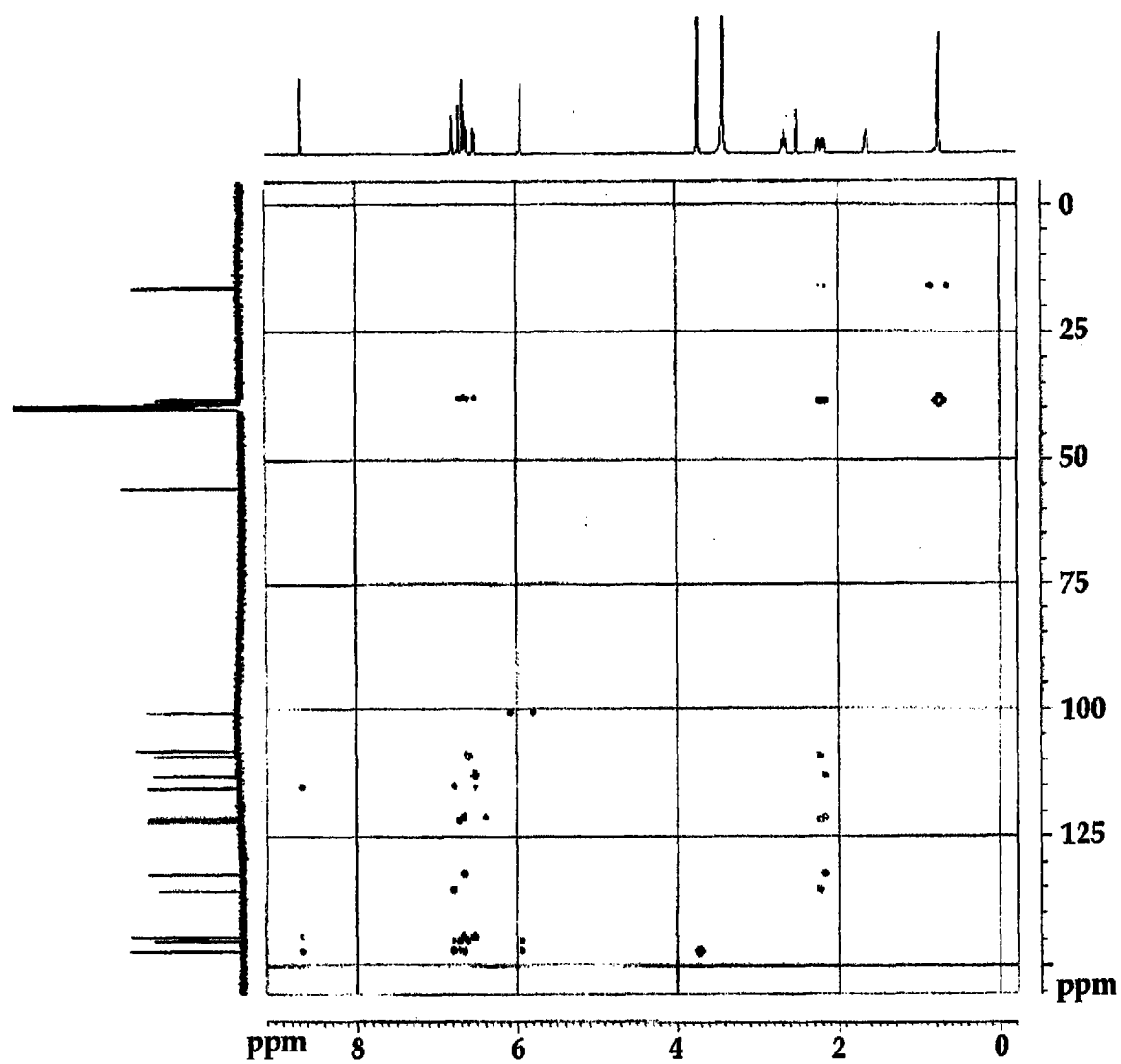


图 5

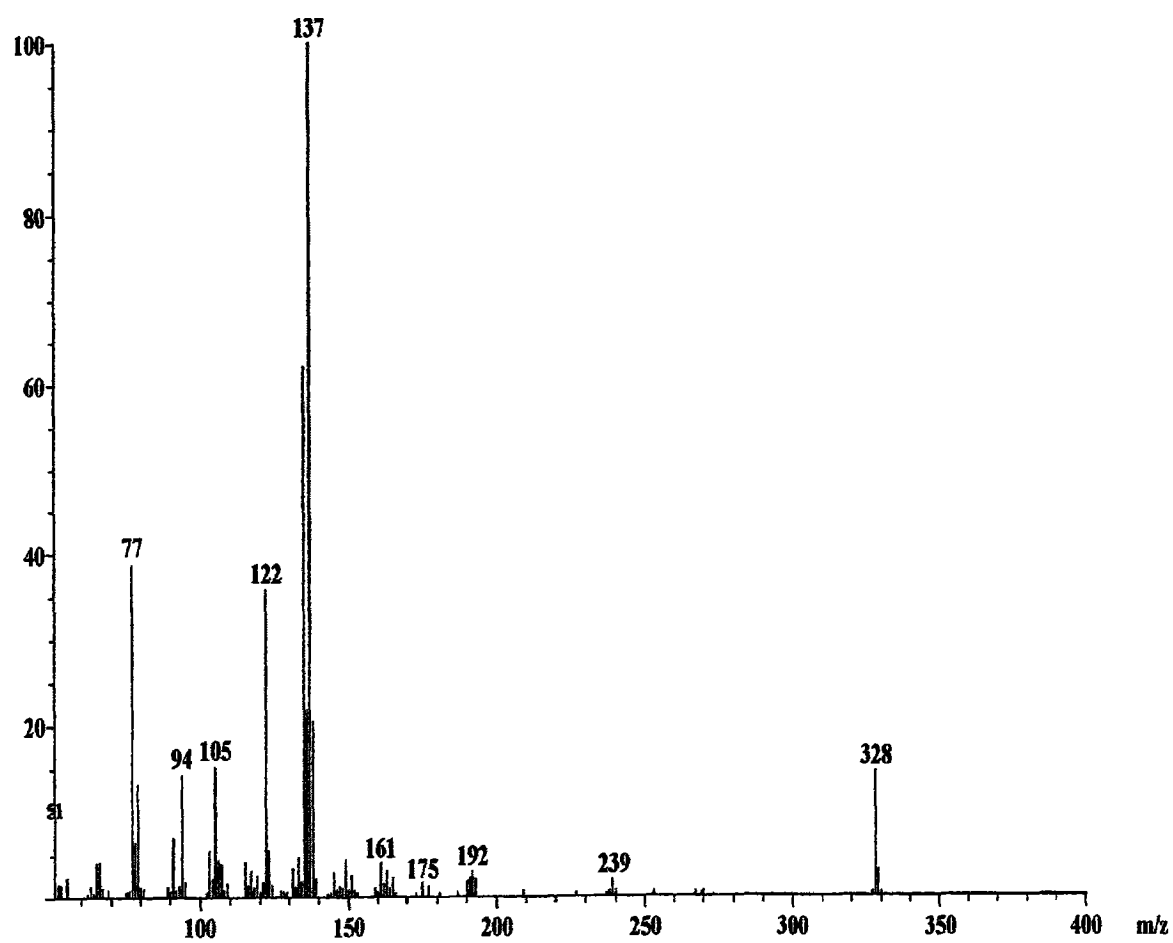


图6

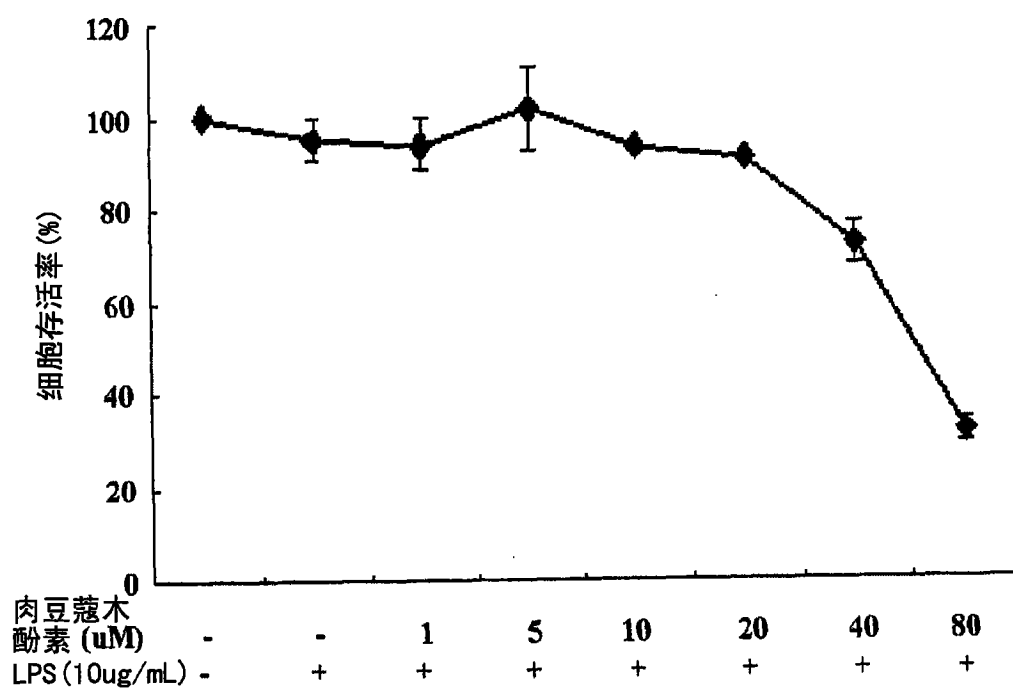


图 7

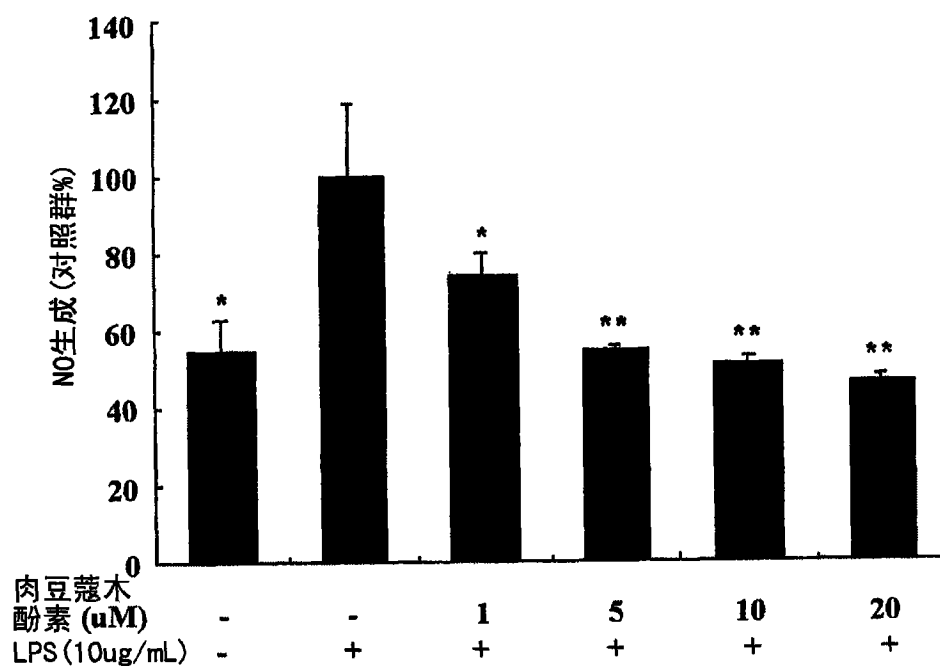


图 8

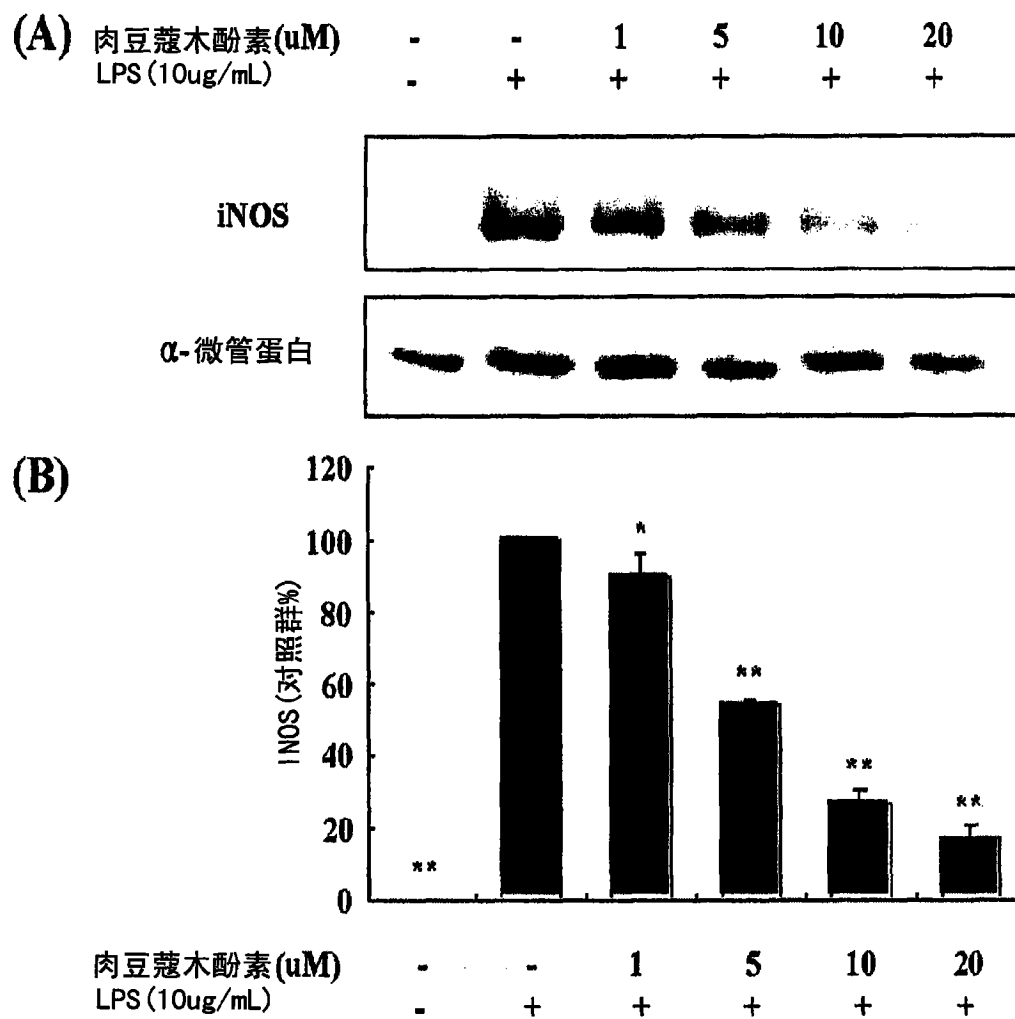


图 9

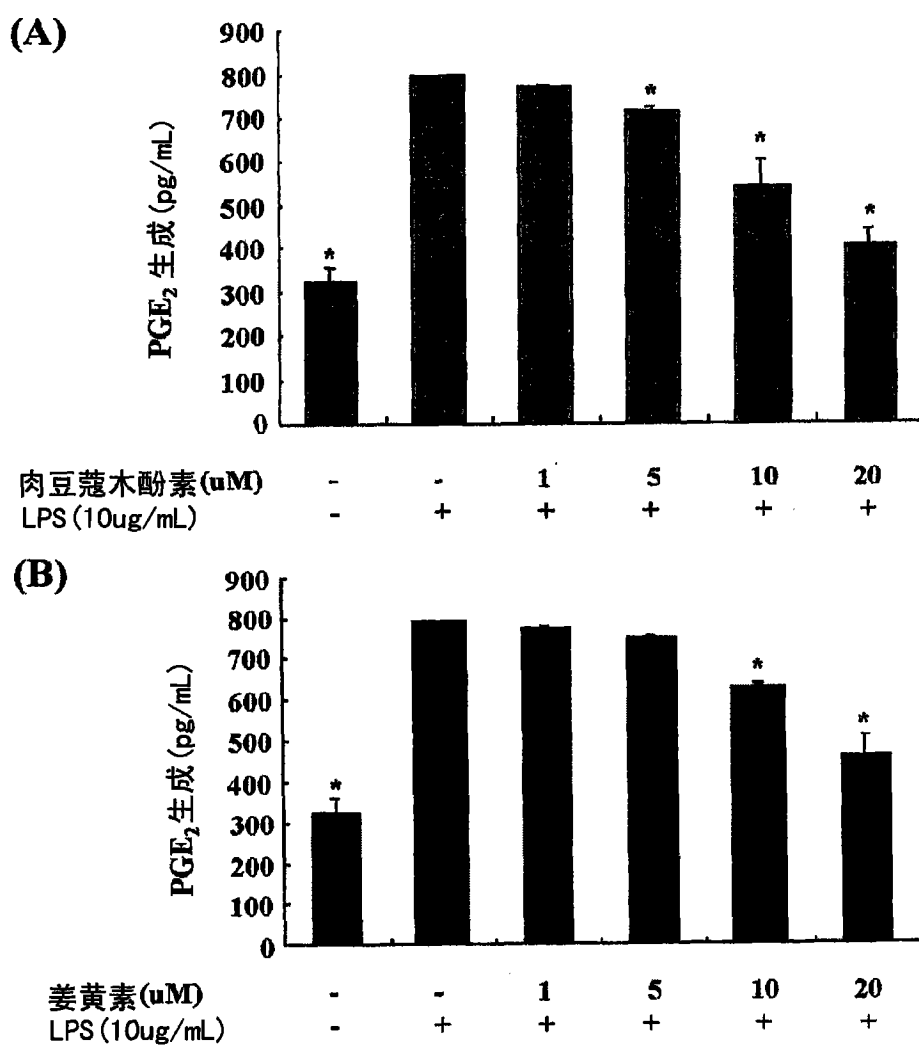


图 10

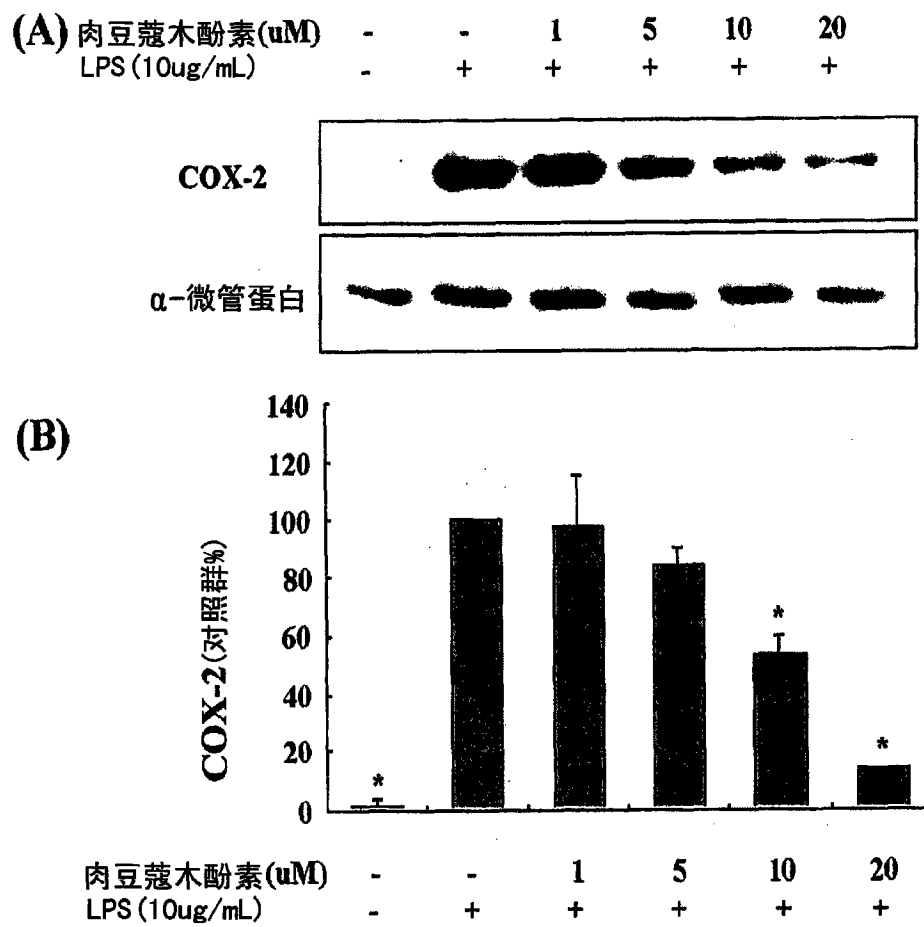


图 11

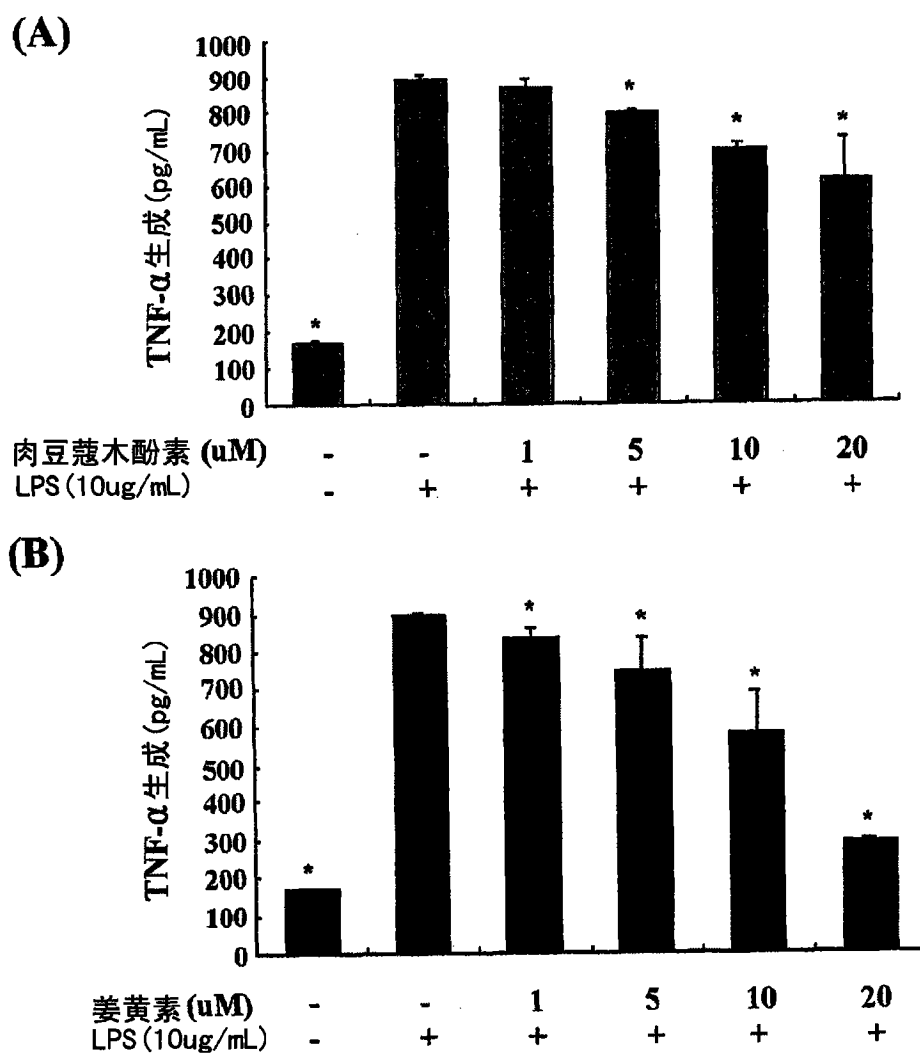


图 12

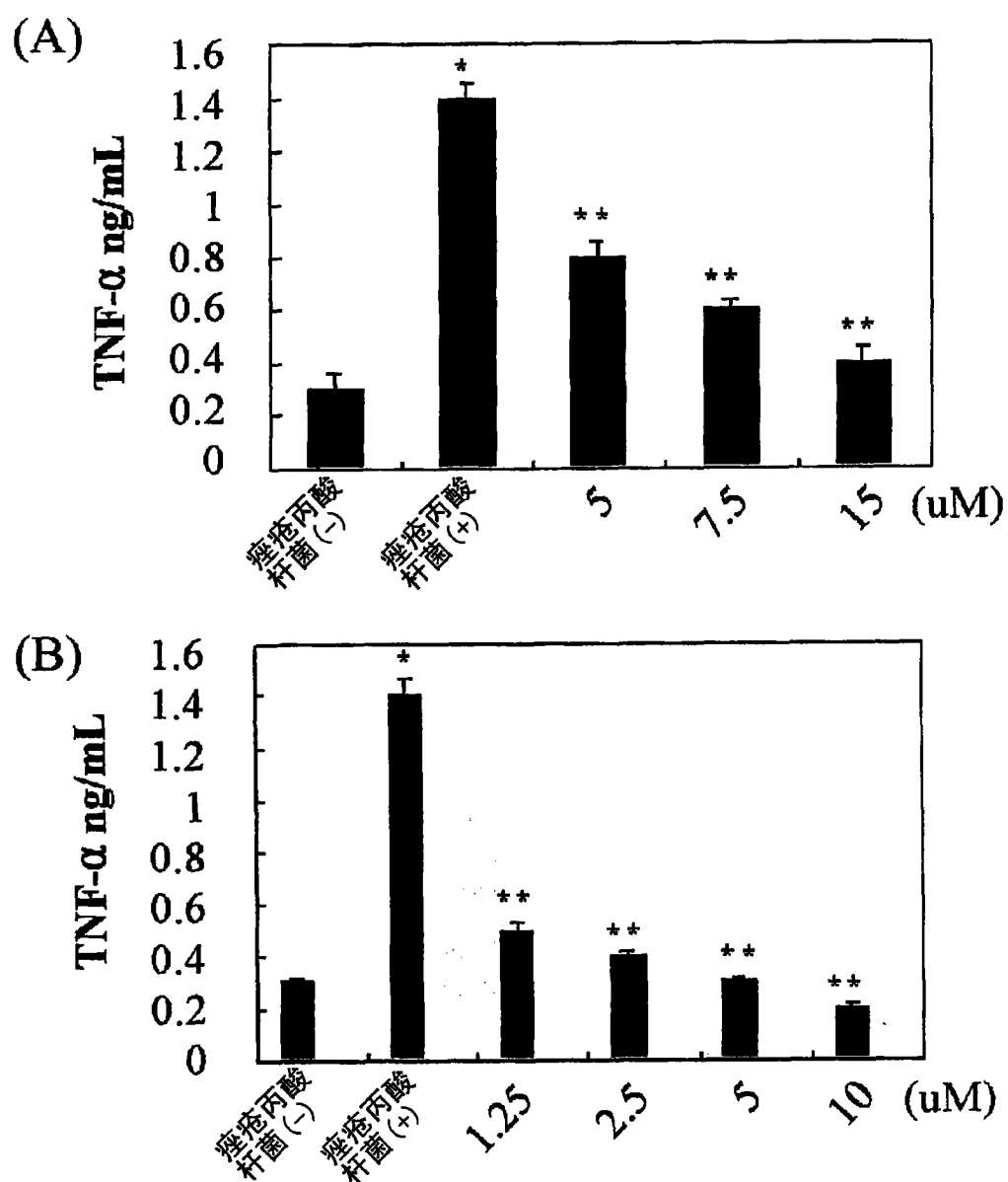


图 13