



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 118459472 B

(45) 授权公告日 2025. 02. 18

(21) 申请号 202410451205.5

A61P 9/00 (2006.01)

(22) 申请日 2024.04.16

A61P 9/10 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61K 31/4725 (2006.01)

申请公布号 CN 118459472 A

A61K 31/4741 (2006.01)

(43) 申请公布日 2024.08.09

(56) 对比文件

(73) 专利权人 中国科学院昆明植物研究所

CN 111732541 A, 2020.10.02

地址 650201 云南省昆明市蓝黑路132号

CN 112745257 A, 2021.05.04

(72) 发明人 张于 魏银铃 杨莲 郝小江

审查员 解佳烨

郭伶俐

(74) 专利代理机构 北京高沃律师事务所 11569

专利代理师 霍苗

(51) Int. Cl.

C07D 491/056 (2006.01)

C07D 217/20 (2006.01)

C07D 405/06 (2006.01)

权利要求书2页 说明书13页 附图2页

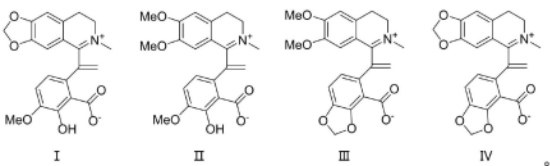
(54) 发明名称

一种异喹啉生物碱类化合物及其制备方法和应用

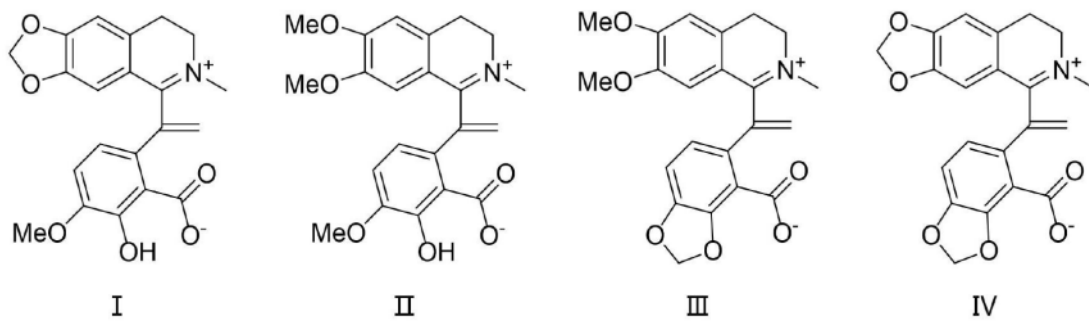
(57) 摘要

本发明属于生物医药技术领域,具体涉及一种异喹啉生物碱类化合物及其制备方法和应用。本发明提供的异喹啉生物碱类化合物,具有式I、式II、式III或式IV所示结构。本发明提供的所述异喹啉生物碱类化合物与PCSK9具有较好的亲和力,能抑制PCSK9与低密度脂蛋白受体的结合,对通过降低低密度脂蛋白治疗心血管疾病具有潜在的应用价值。本发明提供了上述技术方案所述的异喹啉生物碱类化合物的制备方法。本发明以角茴香为原料,从角茴香中获得所述异喹啉生物碱类化合物,原材料价格便宜,制备成本低,便于药物研发后大规模推广使用。

CN 118459472 B



1. 一种异喹啉生物碱类化合物,其特征在于,具有式I、式II、式III或式IV所示结构:



2. 权利要求1所述的异喹啉生物碱类化合物的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

用甲醇浸提角茴香,所得浸提液浓缩,得到浸膏;

将所述浸膏溶解于水中,调节pH至酸性,得到酸性溶液;所述酸性溶液用石油醚进行第一萃取,得到石油醚相和第一水相;所述第一水相用乙酸乙酯进行第二萃取,得到乙酸乙酯相和第二水相;将所述第二水相调节pH至碱性,得到碱性溶液,将所述碱性溶液用二氯甲烷进行第三萃取,得到二氯甲烷相;将所述二氯甲烷浓缩,得到角茴香生物碱总碱;

将所述角茴香生物碱总碱和硅胶混合,得到的混合料进行第一硅胶柱层析分离,所述第一硅胶柱层析分离包括进行第一梯度洗脱和第二梯度洗脱,所述第一梯度洗脱按照体积比由大到小,采用石油醚和丙酮的体积比为60:1~1:1的石油醚-丙酮体系进行梯度洗脱,所述第二梯度洗脱按照体积比由大到小,采用二氯甲烷和甲醇的体积比为10:1~0:1的二氯甲烷-甲醇体系进行梯度洗脱;合并相同馏分,得到五段馏分,分别命名为Fr. I、Fr. II、Fr. III、Fr. IV、Fr. V;

将Fr. IV进行第二硅胶柱层析分离,所述第二硅胶柱层析分离按照体积比由大到小,采用二氯甲烷和甲醇的体积比为40:1~0:1的二氯甲烷-甲醇体系进行梯度洗脱,合并相同馏分,得到五段亚馏分,分别命名为Fr. IVA、Fr. IVB、Fr. IVC、Fr. IVD、Fr. IVE;

将Fr. IVB进行第一凝胶柱分离和第一高效液相色谱分离,得到式I所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第一凝胶柱分离使用的流动相为二氯甲烷-甲醇体系,所述第一凝胶柱分离使用的流动相中二氯甲烷和甲醇的体积比为1:1,所述第一高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第一高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水体积比为10:90~100:0,且水不为0;

将Fr. IVD进行第二凝胶柱分离和第二高效液相色谱分离,得到式II所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第二凝胶柱分离使用的流动相为二氯甲烷-甲醇体系,所述第二凝胶柱分离使用的流动相中二氯甲烷和甲醇的体积比为1:1,所述第二高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第二高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水体积比为10:90~100:0,且水不为0;

将Fr. V进行第三硅胶柱层析分离,所述第三硅胶柱层析分离按照体积比由大到小,采用二氯甲烷和甲醇的体积比为40:1~0:1的二氯甲烷-甲醇体系进行梯度洗脱,合并相同馏分,得到五段亚馏分,分别命名为Fr. VA、Fr. VB、Fr. VC、Fr. VD、Fr. VE;

将Fr. VC进行第三凝胶柱分离和第三高效液相色谱分离,得到式III所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第三凝胶柱分离使用的流动相为甲醇,所述第三高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第三高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水的

体积比为10:90~100:0,且水不为0;

将Fr.IVE进行第四凝胶柱分离和第四高效液相色谱分离,得到式IV所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第四凝胶柱分离使用流动相为二氯甲烷-甲醇体系,所述第三凝胶柱分离使用的流动相中二氯甲烷和甲醇的体积比为1:1,所述第四高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第四高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水的体积比为10:90~100:0,且水不为0。

3.根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,所述角茴香为角茴香全草;所述角茴香全草含水量 $\leq 5\%$ 。

4.根据权利要求2或3所述的制备方法,其特征在于,所述浸提为多次浸提,所述浸提在热回流的条件下进行,所述热回流的温度为45~60°C,单次浸提的时间为7~8h,单次浸提时所述角茴香全草与所述有机溶剂的固液比为1kg:6~7L。

5.根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,所述酸性溶液的pH值为2~3;所述碱性溶液的pH值为9~10。

6.根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,所述第一萃取、所述第二萃取和所述第三萃取的萃取次数独立地为3~4次;单次进行所述第一萃取、单次进行所述第二萃取和单次进行所述第三萃取时的有机相和水相的体积比独立地为1:1.5~2。

7.根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,所述第一高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水体积比为30:70~60:40;

所述第二高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水体积比为25:75~60:40;

所述第三高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水的体积比为20:80~60:40;

所述第四高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水的体积比为20:80~60:40。

8.一种异喹啉生物碱药物组合物,其特征在于,包括活性组分和药学上可接受的辅料;所述活性组分包括权利要求1所述的异喹啉生物碱类化合物或权利要求1所述的异喹啉生物碱类化合物在药学上可接受的盐或权利要求2~7任一项所述制备方法得到的异喹啉生物碱类化合物。

9.权利要求1所述的异喹啉生物碱类化合物或权利要求1所述的异喹啉生物碱类化合物在药学上可接受的盐或权利要求2~7任一项所述制备方法得到的异喹啉生物碱类化合物或权利要求8所述一种异喹啉生物碱药物组合物在制备治疗心血管疾病药物或制备PCSK9蛋白抑制剂中的应用。

10.根据权利要求9所述的应用,其特征在于,所述心血管疾病为由PCSK9引起的低密度脂蛋白增高造成的心血管疾病。

一种异喹啉生物碱类化合物及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药技术领域,具体涉及一种异喹啉生物碱类化合物及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 根据《中国心血管健康与疾病报告2021》,心血管疾病(CVD)是居民“头号杀手”,每5例死亡中就有2例死于CVD。动脉粥样硬化性心血管疾病占有所有CVD病因的95%以上,当前认为其主要诱因就是LDL-C(Low Density Lipoprotein-Cholesterol低密度脂蛋白胆固醇)超标,目前治疗方式主要侧重于降低LDL-C的浓度,降低心血管疾病的风险。

[0003] 异喹啉生物碱类型中小檗碱是存在于多种植物中具有良好生物活性的生物碱,具有多种生物效应,如抗氧化、抗炎、降压、降血脂等活性。其降血脂的作用引起学者较大兴趣,且越来越多证据证明小檗碱可降低血浆总胆固醇、甘油三酯、LDL-C等血脂水平。小檗碱提升胆固醇的代谢存在多种机制;上调低密度脂蛋白受体(LDL-R)的表达方式中,小檗碱可以通过抑制前蛋白转化酶枯草溶菌素9(PCSK9)的表达增加LDL-R的水平,靶向降解低密度脂蛋白,降低血浆胆固醇水平。

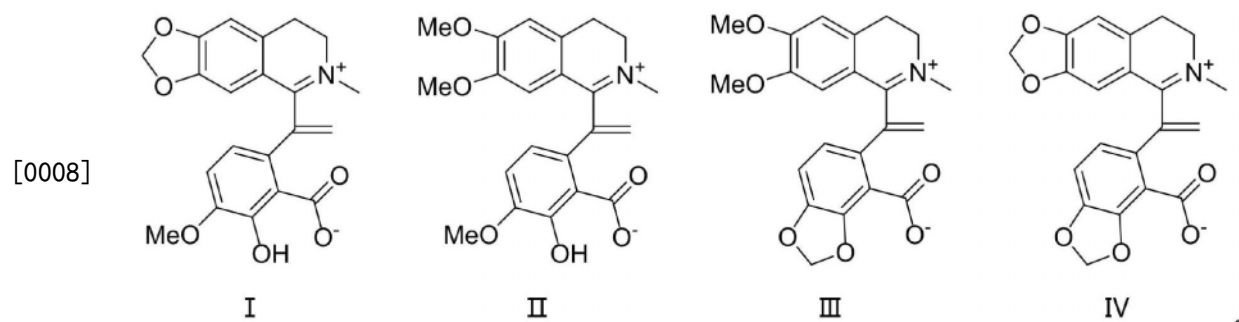
[0004] PCSK9,于2003年首次发现;可与LDL-R结合,干扰其再循环,降低肝脏清除血液种LDL-C的能力,导致LDL-C的堆积,增加心血管疾病的患病风险。2007年,美国安进公司团队第一次解析了PCSK9的晶体结构,并证实了其于LDL-R紧密结合发挥作用;因此,当前通过开发PCSK9的抗体,提升干细胞表面LDL-R水平,从而增加LDL-C的清除,达到降低LDL-C的水平目的。尽管目前已有三个PCSK9抑制剂的药物(包括两个单抗药物),但批准上市的小分子PCSK9抑制剂仍处于空白状态。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种异喹啉生物碱类化合物及其制备方法和应用,本发明提供的异喹啉生物碱类化合物与PCSK9具有较好的结合能力,对成为抑制PCSK9蛋白的先导化合物有一定潜力。

[0006] 为了实现上述目的,本发明提供如下技术方案:

[0007] 本发明提供了一种异喹啉生物碱类化合物,具有式I、式II、式III或式IV所示结构:



[0009] 本发明提供了上述技术方案所述的异喹啉生物碱类化合物的制备方法,包括以下

步骤:

[0010] 用有机溶剂浸提角茴香,所得浸提液浓缩,得到浸膏;

[0011] 将所述浸膏溶解于水中,调节pH至酸性,得到酸性溶液;所述酸性溶液用石油醚进行第一萃取,得到石油醚相和第一水相;所述第一水相用乙酸乙酯进行第二萃取,得到乙酸乙酯相和第二水相;将所述第二水相调节pH至碱性,得到碱性溶液,将所述碱性溶液用二氯甲烷进行第三萃取,得到二氯甲烷相;将所述二氯甲烷浓缩,得到角茴香生物碱总碱;

[0012] 将所述角茴香生物碱总碱和硅胶混合,得到的混合料进行第一硅胶柱层析分离,所述第一硅胶柱层析分离包括进行第一梯度洗脱和第二梯度洗脱,所述第一梯度洗脱按照体积比由大到小,采用石油醚和丙酮的体积比为60:1~1:1的石油醚-丙酮体系进行梯度洗脱,所述第二梯度洗脱按照体积比由大到小,采用二氯甲烷和甲醇的体积比为10:1~0:1的二氯甲烷-甲醇体系进行梯度洗脱;合并相同馏分,得到五段馏分,分别命名为Fr. I、Fr. II、Fr. III、Fr. IV、Fr. V;

[0013] 将Fr. IV进行第二硅胶柱层析分离,所述第二硅胶柱层析分离按照体积比由大到小,采用二氯甲烷和甲醇的体积比为40:1~0:1的二氯甲烷-甲醇体系进行梯度洗脱,合并相同馏分,得到五段亚馏分,分别命名为Fr. IVA、Fr. IVB、Fr. IVC、Fr. IVD、Fr. IVE;

[0014] 将Fr. IVB进行第一凝胶柱分离和第一高效液相色谱分离,得到式I所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第一凝胶柱分离使用的流动相为二氯甲烷-甲醇体系,所述第一凝胶柱分离使用的流动相中二氯甲烷和甲醇的体积比为1:1,所述第一高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第一高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水体积比为10:90~100:0,且水不为0;

[0015] 将Fr. IVD进行第二凝胶柱分离和第二高效液相色谱分离,得到式II所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第二凝胶柱分离使用的流动相为二氯甲烷-甲醇体系,所述第二凝胶柱分离使用的流动相中二氯甲烷和甲醇的体积比为1:1,所述第二高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第二高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水体积比为10:90~100:0,且水不为0;

[0016] 将Fr. V进行进行第三硅胶柱层析分离,所述第三硅胶柱层析分离按照体积比由大到小,采用二氯甲烷和甲醇的体积比为40:1~0:1的二氯甲烷-甲醇体系进行梯度洗脱,合并相同馏分,得到五段亚馏分,分别命名为Fr. VA、Fr. VB、Fr. VC、Fr. VD、Fr. VE;

[0017] 将Fr. VC进行第三凝胶柱分离和第三高效液相色谱分离,得到式III所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第三凝胶柱分离使用的流动相为甲醇,所述第三高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第三高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水的体积比为10:90~100:0,且水不为0;

[0018] 将Fr. IVE进行第四凝胶柱分离和第四高效液相色谱分离,得到式IV所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第四凝胶柱分离使用流动相为二氯甲烷-甲醇体系,所述第三凝胶柱分离使用的流动相中二氯甲烷和甲醇的体积比为1:1,所述第四高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第四高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水的体积比为10:90~100:0,且水不为0。

[0019] 优选的,所述角茴香为角茴香全草;所述角茴香全草含水量 $\leq 5\%$;所述有机溶剂为低碳醇溶剂。

[0020] 优选的,所述浸提为多次浸提,所述浸提在热回流的条件下进行,所述热回流的温度为45~60℃,单次浸提的时间为7~8h,单次浸提时所述角茴香全草与所述有机溶剂的固液比为1kg:6~7L。

[0021] 优选的,所述酸性溶液的pH值为2~3;所述碱性溶液的pH值为9~10。

[0022] 优选的,所述第一萃取、所述第二萃取和所述第三萃取的萃取次数独立地为3~4次;单次进行所述第一萃取、单次进行所述第二萃取和单次进行所述第三萃取时的有机相和水相的体积比独立地为1:1.5~2。

[0023] 优选的,所述第一高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水体积比为30:70~60:40;

[0024] 所述第二高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水体积比为25:75~60:40;

[0025] 所述第三高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水的体积比为20:80~60:40;

[0026] 所述第四高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水的体积比为20:80~60:40。

[0027] 本发明提供了一种异喹啉生物碱药物组合物,包括活性组分和药学上可接受的辅料;所述活性组分包括上述技术方案所述的异喹啉生物碱类化合物或上述技术方案所述的异喹啉生物碱类化合物在药学上可接受的盐、水合物或溶剂化合物或上述技术方案所述制备方法得到的异喹啉生物碱类化合物。

[0028] 本发明提供了上述技术方案所述的异喹啉生物碱类化合物或上述技术方案所述的异喹啉生物碱类化合物在药学上可接受的盐、水合物或溶剂化合物或上述技术方案所述制备方法得到的异喹啉生物碱类化合物或上述技术方案所述一种异喹啉生物碱药物组合物在制备治疗心血管疾病药物或制备PCSK9蛋白抑制剂中的应用。

[0029] 优选的,所述心血管疾病为由PCSK9引起的低密度脂蛋白增高造成的心血管疾病。

[0030] 本发明提供了一种异喹啉生物碱类化合物,具有式I、式II、式III或式IV所示结构。本发明提供的异喹啉生物碱类化合物及其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化合物与PCSK9具有较好的结合能力,能抑制PCSK9与低密度脂蛋白受体的结合,对成为抑制PCSK9蛋白的先导化合物有一定潜力。对通过降低低密度脂蛋白治疗心血管疾病具有潜在的应用价值。

[0031] 本发明提供了上述技术方案所述的异喹啉生物碱类化合物的制备方法。本发明以角茴香为原料,从角茴香中获得所述异喹啉生物碱类化合物,原材料价格便宜,制备成本低,便于药物研发后大规模推广使用。

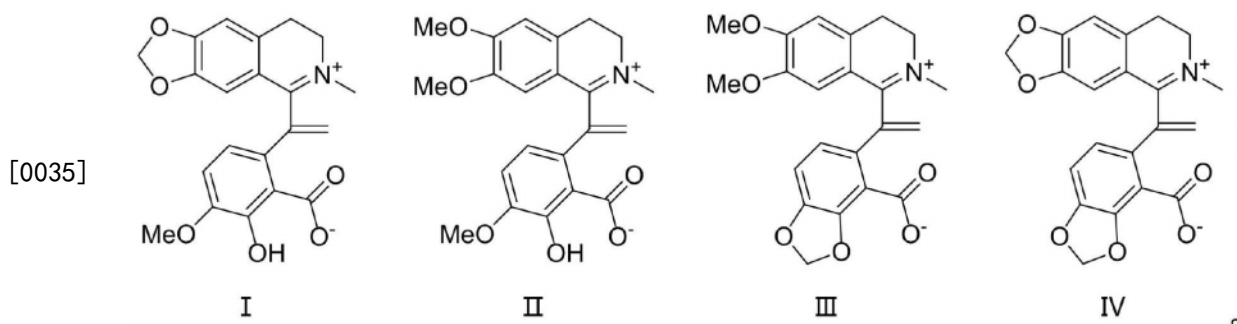
附图说明

[0032] 图1为式I-式IV化合物以及阳性对照PF-06446846与PCSK9的相互作用图;

[0033] 图2为式I化合物、式II化合物、式III化合物和式IV化合物与PCSK9蛋白的对接结果。

具体实施方式

[0034] 本发明提供了一种异喹啉生物碱类化合物,具有式I、式II、式III或式IV所示结构:



[0036] 本发明提供了上述技术方案所述的异喹啉生物碱类化合物的制备方法,包括以下步骤:

[0037] 用有机溶剂浸提角茴香,所得浸提液浓缩,得到浸膏;

[0038] 将所述浸膏溶解于水中,调节pH至酸性,得到酸性溶液;所述酸性溶液用石油醚进行第一萃取,得到石油醚相和第一水相;所述第一水相用乙酸乙酯进行第二萃取,得到乙酸乙酯相和第二水相;将所述第二水相调节pH至碱性,得到碱性溶液,将所述碱性溶液用二氯甲烷进行第三萃取,得到二氯甲烷相;将所述二氯甲烷浓缩,得到角茴香生物碱总碱;

[0039] 将所述角茴香生物碱总碱和硅胶混合,得到的混合料进行第一硅胶柱层析分离,所述第一硅胶柱层析分离包括进行第一梯度洗脱和第二梯度洗脱,所述第一梯度洗脱按照体积比由大到小,采用石油醚和丙酮的体积比为60:1~1:1的石油醚-丙酮体系进行梯度洗脱,所述第二梯度洗脱按照体积比由大到小,采用二氯甲烷和甲醇的体积比为10:1~0:1的二氯甲烷-甲醇体系进行梯度洗脱;合并相同馏分,得到五段馏分,分别命名为Fr. I、Fr. II、Fr. III、Fr. IV、Fr. V;

[0040] 将Fr. IV进行第二硅胶柱层析分离,所述第二硅胶柱层析分离按照体积比由大到小,采用二氯甲烷和甲醇的体积比为40:1~0:1的二氯甲烷-甲醇体系进行梯度洗脱,合并相同馏分,得到五段亚馏分,分别命名为Fr. IVA、Fr. IVB、Fr. IVC、Fr. IVD、Fr. IVE;

[0041] 将Fr. IVB进行第一凝胶柱分离和第一高效液相色谱分离,得到式I所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第一凝胶柱分离使用的流动相为二氯甲烷-甲醇体系,所述第一凝胶柱分离使用的流动相中二氯甲烷和甲醇的体积比为1:1,所述第一高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第一高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水体积比为10:90~100:0,且水不为0;

[0042] 将Fr. IVD进行第二凝胶柱分离和第二高效液相色谱分离,得到式II所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第二凝胶柱分离使用的流动相为二氯甲烷-甲醇体系,所述第二凝胶柱分离使用的流动相中二氯甲烷和甲醇的体积比为1:1,所述第二高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第二高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水体积比为10:90~100:0,且水不为0;

[0043] 将Fr. V进行第三硅胶柱层析分离,所述第三硅胶柱层析分离按照体积比由大到小,采用二氯甲烷和甲醇的体积比为40:1~0:1的二氯甲烷-甲醇体系进行梯度洗脱,合并相同馏分,得到五段亚馏分,分别命名为Fr. VA、Fr. VB、Fr. VC、Fr. VD、Fr. VE;

[0044] 将Fr. VC进行第三凝胶柱分离和第三高效液相色谱分离,得到式III所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第三凝胶柱分离使用的流动相为甲醇,所述第三高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第三高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和

水的体积比为10:90~100:0,且水不为0;

[0045] 将Fr.IVE进行第四凝胶柱分离和第四高效液相色谱分离,得到式IV所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第四凝胶柱分离使用流动相为二氯甲烷-甲醇体系,所述第三凝胶柱分离使用的流动相中二氯甲烷和甲醇的体积比为1:1,所述第四高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第四高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水的体积比为10:90~100:0,且水不为0。

[0046] 在本发明中,若无特殊说明,所有制备原料/组分均为本领域技术人员熟知的市售产品。

[0047] 本发明用有机溶剂浸提角茴香,所得浸提液浓缩,得到浸膏。在本发明中,所述有机溶剂优选为低碳醇溶剂,具体优选为甲醇。所述角茴香优选为角茴香全草;所述角茴香全草含水量优选 $\leq 5\%$ 。在本发明中,所述角茴香全草在使用前优选先进行粉碎,得到角茴香全草粉末,所述角茴香全草粉末的粒径优选 $\leq 100\mu\text{m}$,更优选为 $10 \sim 100\mu\text{m}$ 。所述浸提优选为多次浸提。所述浸提的次数优选为3~4次。所述浸提优选在热回流的条件下进行,所述热回流的温度优选为 $45 \sim 60^\circ\text{C}$,更优选为 $50 \sim 60^\circ\text{C}$ 。单次浸提的时间优选为7~8h,更优选为7~7.5h。单次浸提时所述角茴香全草与所述有机溶剂的固液比优选为1kg:6~7L,更优选为1kg:6.5~7L。所述浸提后,本发明还包括将浸提所得浸提液进行浓缩回收提取剂(有机溶剂),得到浸膏。本发明对于所述浓缩没有特殊限定,采用本领域技术人员熟知的浓缩方式浓缩至无溶剂流出即可,具体如减压蒸馏。在本发明中,所述回收的提取剂可以重复利用。

[0048] 得到浸膏后,本发明将所述浸膏溶解于水中,调节pH至酸性,得到酸性溶液;所述酸性溶液用石油醚进行第一萃取,得到石油醚相和第一水相;所述第一水相用乙酸乙酯进行第二萃取,得到乙酸乙酯相和第二水相;将所述第二水相调节pH至碱性,得到碱性溶液,将所述碱性溶液用二氯甲烷进行第三萃取,得到二氯甲烷相;将所述二氯甲烷浓缩,得到角茴香生物碱总碱。在本发明中,所述溶解使用的水的温度优选为 $35 \sim 40^\circ\text{C}$ 。本发明对于所述浸膏溶解的用水量没有特殊限定,能够将浸膏充分溶解即可。所述酸性溶液的pH值优选为2~3,更优选为2.5~3。本发明对于所述调节pH值至酸性采用的酸没有特殊限定,采用本领域技术人员熟知的酸即可,具体如盐酸;所述酸的质量浓度优选为3~5%,更优选为4~5%。

[0049] 在本发明中,所述碱性溶液的pH值优选为9~10,更优选为9.5~10。本发明对于所述调节pH值至碱性采用的碱没有特殊限定,采用本领域技术人员熟知的碱即可,具体如NaOH水溶液或氨水;所述碱的质量浓度优选为9~10%,更优选为9.5~10%。

[0050] 在本发明中,所述第一萃取、所述第二萃取、所述第三萃取的有机相和水相的体积比优选为1:1.5~2,具体优选为1:1.5或1:2。所述第一萃取、所述第二萃取、所述第三萃取的萃取次数优选为3~4次,更优选为3次或4次。本发明优选还包括将所述第一萃取、所述第二萃取、所述第三萃取的得到的有机相浓缩回收萃取剂,所述第三萃取有机相浓缩得到角茴香生物碱总碱。本发明对于所述浓缩没有特殊限定,采用本领域技术人员熟知的浓缩方式浓缩至无溶剂流出即可,具体如减压蒸馏。在本发明中,所述回收的萃取剂可以重复利用。本发明优选通过第一萃取和第二萃取达到去除叶绿素的目的。

[0051] 得到角茴香生物碱总碱后,本发明将所述角茴香生物碱总碱和硅胶混合,得到的混合料进行第一硅胶柱层析分离,所述第一硅胶柱层析分离包括进行第一梯度洗脱和第二

梯度洗脱,所述第一梯度洗脱按照体积比由大到小,采用石油醚和丙酮的体积比为60:1~1:1的石油醚-丙酮体系进行梯度洗脱,所述第二梯度洗脱按照体积比由大到小,采用二氯甲烷和甲醇的体积比为10:1~0:1的二氯甲烷-甲醇体系进行梯度洗脱;合并相同馏分,得到五段馏分,分别命名为Fr. I、Fr. II、Fr. III、Fr. IV、Fr. V。在本发明中,所述混合使用的硅胶(拌样硅胶)的目数优选为60~80目。所述第一硅胶柱层析分离优选包括依次进行第一梯度洗脱和第二梯度洗脱。所述第一梯度洗脱时,所述石油醚和丙酮的体积比依次优选为60:1、30:1、15:1、5:1、1:1。所述第二梯度洗脱时,所述二氯甲烷和甲醇的体积比依次优选为10:1、5:1、3:1、1:1、0:1。

[0052] 得到Fr. IV后,本发明将Fr. IV进行第二硅胶柱层析分离,所述第二硅胶柱层析分离按照体积比由大到小,采用二氯甲烷和甲醇的体积比为40:1~0:1的二氯甲烷-甲醇体系进行梯度洗脱,合并相同馏分,得到五段亚馏分,分别命名为Fr. IVA、Fr. IVB、Fr. IVC、Fr. IVD、Fr. IVE。在本发明中,所述第二硅胶柱层析分离的洗脱方式为梯度洗脱,所述二氯甲烷和甲醇的体积比依次优选为40:1、20:1、15:1、8:1、5:1、1:1、0:1。

[0053] 得到Fr. IVB后,本发明将Fr. IVB进行第一凝胶柱分离和第一高效液相色谱分离,得到式I所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第一凝胶柱分离使用的流动相为二氯甲烷-甲醇体系,所述第一凝胶柱分离使用的流动相中二氯甲烷和甲醇的体积比为1:1,所述第一高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第一高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水体积比为10:90~100:0,且水不为0。在本发明中,所述第一凝胶柱分离使用的凝胶为Sephadex LH-20。所述第一高效液相色谱分离使用的色谱柱为Waters X-bridge,规格为5 μ m,10mm $\times$ 150mm。所述第一高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水体积比优选为30:70~60:40,更优选为45:55。所述第一高效液相色谱分离的流速优选为3~4.5mL/min,优选为3.5mL/min;柱温优选为25~30 $^{\circ}$ C,更优选为30 $^{\circ}$ C。

[0054] 得到Fr. IVD后,本发明将Fr. IVD进行第二凝胶柱分离和第二高效液相色谱分离,得到式II所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第二凝胶柱分离使用的流动相为二氯甲烷-甲醇体系,所述第二凝胶柱分离使用的流动相中二氯甲烷和甲醇的体积比为1:1,所述第二高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第二高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水体积比为10:90~100:0,且水不为0。在本发明中,所述第二凝胶柱分离使用的凝胶为Sephadex LH-20。所述第二高效液相色谱分离使用的色谱柱为Waters X-bridge,规格为5 μ m,10mm $\times$ 150mm。所述第二高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水体积比优选为25:75~60:40,更优选为40:60。所述第二高效液相色谱分离的流速优选为3~4.5mL/min,更优选为3.5mL/min;柱温优选为25~30 $^{\circ}$ C,更优选为30 $^{\circ}$ C。

[0055] 得到Fr. V后,本发明将Fr. V进行进行第三硅胶柱层析分离,所述第三硅胶柱层析分离按照体积比由大到小,采用二氯甲烷和甲醇的体积比为40:1~0:1的二氯甲烷-甲醇体系进行梯度洗脱,合并相同馏分,得到五段亚馏分,分别命名为Fr. VA、Fr. VB、Fr. VC、Fr. VD、Fr. VE。在本发明中,所述第三硅胶柱层析分离的洗脱方式为梯度洗脱,所述第三硅胶柱层析分离使用的二氯甲烷和甲醇的体积比依次优选为40:1、20:1、12:1、5:1、1:1、0:1。

[0056] 得到Fr. VC后,本发明将Fr. VC进行第三凝胶柱分离和第三高效液相色谱分离,得到式III所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第三凝胶柱分离使用的流动相为甲醇,

所述第三高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第三高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水的体积比为10:90~100:0,且水不为0。在本发明中,所述第三凝胶柱分离使用的凝胶为Sephadex LH-20。所述第三高效液相色谱分离使用的色谱柱为Waters X-bridge,规格为5 μ m,10mm $\times$ 150mm。所述第三高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水的体积比优选为20:80~60:40,更优选为30:70。所述第三高效液相色谱分离的流速优选为3~4.5mL/min,更优选为3.5mL/min;柱温优选为25~30 $^{\circ}$ C,更优选为30 $^{\circ}$ C。

[0057] 得到Fr.IVE后,本发明将Fr.IVE进行第四凝胶柱分离和第四高效液相色谱分离,得到式IV所示结构的异喹啉生物碱类化合物;所述第四凝胶柱分离使用流动相为二氯甲烷-甲醇体系,所述第三凝胶柱分离使用的流动相中二氯甲烷和甲醇的体积比为1:1,所述第四高效液相色谱分离使用的流动相为乙腈-水体系,所述第四高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水的体积比为10:90~100:0,且水不为0。在本发明中,所述第四凝胶柱分离使用的凝胶为Sephadex LH-20。所述第四高效液相色谱分离使用的色谱柱为Waters X-bridge,规格为5 μ m,10mm $\times$ 150mm。所述第四高效液相色谱分离使用的流动相中乙腈和水的体积比优选为20:80~60:40,更优选为25:75。所述第四高效液相色谱分离的流速优选为3~4.5mL/min,更优选为3mL/min或3.5mL/min;柱温优选为25~30 $^{\circ}$ C,更优选为30 $^{\circ}$ C。

[0058] 本发明提供了一种异喹啉生物碱药物组合物,包括活性组分和药学上可接受的辅料;所述活性组分包括上述技术方案所述的异喹啉生物碱类化合物或上述技术方案所述的异喹啉生物碱类化合物在药学上可接受的盐、水合物或溶剂化合物或上述技术方案所述制备方法得到的异喹啉生物碱类化合物或上述技术方案所述的异喹啉生物碱化合物。

[0059] 在本发明中,所述异喹啉类生物碱药物组合物中活性组分的质量百分含量优选为0.1~99%,更优选为0.5~90%,进一步优选为1~50%。

[0060] 在本发明中,所述药学上可接受的辅料优选包括载体和/或赋形剂。本发明对于所述载体和/或赋形剂没有特殊限定,采用本领域技术人员熟知的载体和/或赋形剂即可,具体如固体稀释剂、半固体稀释剂、液体稀释剂,填料或药物制品辅料中的一种或多种。

[0061] 在本发明中,所述异喹啉类生物碱药物组合物的制剂种类优选包括液体制剂、固体制剂、喷剂或雾剂;所述液体制剂优选包括注射剂、混悬剂、乳剂、溶液剂或糖浆剂;所述固体制剂优选包括片剂、胶囊剂、颗粒剂或冲剂。本发明中对于所述异喹啉类生物碱药物组合物的制备方法没有特殊限定,采用本领域熟知的制备方法即可。

[0062] 在本发明中,所述异喹啉类生物碱药物组合物的给药方式优选为注射、口服、舌下给药或粘膜透析;所述注射优选包括静脉注射、静脉滴注、肌肉注射、腹腔注射或皮下注射。

[0063] 在本发明中,所述异喹啉类生物碱药物组合物优选以单位体重服用量的形式使用;所述单位体重服用量优选为0.5~20mg/kg,更优选为1~15mg/kg,进一步优选为5~10mg/kg。

[0064] 本发明提供了上述技术方案所述的异喹啉生物碱类化合物或上述技术方案所述的异喹啉生物碱类化合物在药学上可接受的盐、水合物或溶剂化合物或上述技术方案所述制备方法得到的异喹啉生物碱类化合物或上述技术方案所述的异喹啉生物碱化合物或上述技术方案所述一种异喹啉生物碱药物组合物在制备治疗心血管疾病药物或制备PCSK9蛋白抑制剂的应用。

[0065] 在本发明中,所述心血管疾病为由PCSK9引起的低密度脂蛋白增高造成的心血管

疾病,更优选包括PCSK9的水平升高、低密度脂蛋白受体水平降低导致的心血管疾病。本发明提供的所述异喹啉生物碱类化合物与PCSK9具有较好的亲和力,抑制PCSK9与低密度脂蛋白受体的结合,对通过降低低密度脂蛋白治疗心血管疾病具潜在的应用价值。

[0066] 为了进一步说明本发明,下面结合实施例对本发明提供的技术方案进行详细地描述,但不能将它们理解为对本发明保护范围的限定。

[0067] 实施例1

[0068] 将60kg粉碎(粒径 $\leq 100\mu\text{m}$)后的角茴香(*Hypecoum erectum* L.)全草(含水率 $\leq 5\%$)于甲醇试剂中浸泡提取,热回流,每次提取时间为8h,提取次数为4次,合并提取液进行浓缩后得到浸膏。将上述浸膏使用温水($35\sim 40^{\circ}\text{C}$)将充分溶解后,3wt% HCl水溶液调节pH至2~3后分别用石油醚萃取3次,乙酸乙酯萃取3次,达到去除叶绿素的目的;使用10wt%的NaOH水溶液调节水相pH至9~10,使用二氯甲烷萃取,萃取3次,合并二氯甲烷相浓缩后得到总碱1kg。其中浸膏与温水的体积比为1:2;萃取时有机相与水相体积比为1:1.5。

[0069] 总碱使用硅胶拌样,进行硅胶柱层析分离,梯度洗脱,石油醚/丙酮体积比为60:1、30:1、15:1、5:1、1:1,二氯甲烷/甲醇体积比为10:1、5:1、3:1、1:1、0:1,得到5个组分,记为Fr. I、Fr. II、Fr. III、Fr. IV、Fr. V;拌样硅胶为60-80目。

[0070] 对Fr. IV段进行硅胶柱分离,梯度洗脱,二氯甲烷-甲醇的体积比依次为40:1,20:1,15:1,8:1,5:1,1:1,0:1,得到5个亚组分,依次记为Fr. IVA、Fr. IVB、Fr. IVC、Fr. IVD、Fr. IVE;对Fr. IVB段(5.0g)进行Sephadex LH-20二氯甲烷-甲醇1:1(v/v)凝胶柱分离,使用高效液相色谱在分离(色谱柱为Waters X-bridge($5\mu\text{m}$, $10\text{mm}\times 150\text{mm}$),在乙腈-水45:55(v/v),流速3.5mL/min,柱温 30°C 的条件下得到化合物I(6.2mg, $t_{\text{R}}=32.6\text{min}$,收率0.124%,纯度98%,白色结晶)。

[0071] 对Fr. IVD段(3.2g)进行Sephadex LH-20二氯甲烷-甲醇1:1(v/v)凝胶柱分离,后进行高效液相色谱分离(色谱柱为Waters X-bridge($5\mu\text{m}$, $10\text{mm}\times 150\text{mm}$),在乙腈-水40:60(v/v),流速3.5mL/min,柱温 30°C 的条件下得到化合物II(17.0mg, $t_{\text{R}}=17.5\text{min}$,收率0.531%,纯度98%,白色结晶)。

[0072] 本发明对Fr V段进行第三硅胶柱分离,二氯甲烷-甲醇的体积比依次为40:1,20:1,12:1,5:1,1:1,0:1,得到5个亚组分,依次记为Fr. VA、Fr. VB、Fr. VC、Fr. VD、Fr. VE;对Fr. VC段(6.0g)进行Sephadex LH-20甲醇凝胶柱分离,后利用高效液相色谱分离(色谱柱为Waters X-bridge($5\mu\text{m}$, $10\text{mm}\times 150\text{mm}$),在乙腈-水30:67(v/v),流速3.5mL/min,柱温 30°C 的条件下得到化合物III(8.5mg, $t_{\text{R}}=23.0\text{min}$,收率0.141%,纯度98%,黄色油状)。

[0073] 对Fr. IVE段(4.0g)进行Sephadex LH-20二氯甲烷-甲醇1:1(v/v)凝胶柱分离,后使用高效液相色谱分离(色谱柱为Waters X-bridge($5\mu\text{m}$, $10\text{mm}\times 150\text{mm}$),在乙腈-水25:75(v/v),流速3mL/min,柱温 30°C 的条件下得到化合物IV(5.1mg, $t_{\text{R}}=42.0\text{min}$,收率0.127%,纯度98%,黄色油状)。

[0074] 化合物I:白色结晶; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -10$ (c 0.15, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 210.0 (5.38), 241.5 (5.12), 312.0 (4.78), 357.5 (4.75) nm; IR (KBr) ν_{max} 3432, 2912, 1630, 1558, 1504, 1485, 1440 cm^{-1} ; HRESIMS m/z 382.1283 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ (calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{NO}_6+\text{H}$, 382.1285)。

[0075] 化合物II:白色针状结晶; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -6$ (c 0.14, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 208.5 (5.23), 240.0 (4.95), 314.0 (4.69), 355.0 (4.59) nm; IR (KBr) ν_{max} 3432, 2937, 1626, 1606,

1564,1519,1461 cm^{-1} ;HRESIMS m/z 398.1594 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{NO}_6+\text{H}$,398.1598) .

[0076] 化合物Ⅲ:黄色油状; $[\alpha]$ 22.6D-20 (c 0.07, MeOH) ;UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 204.5 (5.06) ,242.5 (4.69) ,304.5 (4.43) ,372.0 (4.30) nm; IR (KBr) ν_{max} 3432,2932,1709,1604,1564,1519,1644 cm^{-1} ;HRESIMS m/z 396.1443 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{NO}_6+\text{H}$,396.1442) .

[0077] 化合物Ⅳ:黄色油状; $[\alpha]$ 22.4D-14 (c 0.08, MeOH) ;UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 206.0 (5.49) ,245.5 (5.12) ,300.5 (4.84) ,373.0 (4.66) nm; IR (KBr) ν_{max} 3434,2924,1726,1630,1607,1503,1465 cm^{-1} ;HRESIMS m/z 380.1134 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{NO}_6+\text{H}$,380.1129) .

[0078] 化合物 ^1H NMR、 ^{13}C NMR数据如表1、2所示。

[0079] 表1化合物Ⅰ和Ⅱ的NMR数据

position	Ⅰ		Ⅱ	
	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{c}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{d}}$
1	-	165.1	-	170.5
3	3.90 (m)	51.9	3.15 (m)	52.5
4	3.02 (m)	26.8	2.94 (m)	26.0
4a	-	134.3	-	133.2
5	6.64 (s)	107.2	6.66 (s)	109.6

[0081]

6	-	146.7	-	154.5
7	-	152.5	-	147.4
8	7.06 (s)	112.7	7.04 (s)	115.3
8a	-	123.7	-	120.6
9	-	143.4	-	143.8
10	5.42, 6.20 (s)	126.4	5.47, 6.22 (s)	126.3
1'	-	130.7	-	131.7
2'	-	115.1	-	116.2
3'	-	154.0	-	154.3
4'	-	150.2	-	150.3
5'	6.85 (d, $J=8.0$)	113.2	6.88 (d, $J=8.0$)	112.2
6'	6.91 (d, $J=8.0$)	118.1	6.85 (d, $J=8.0$)	118.8
7'	-	172.1	-	172.4
OCH ₂ O	5.98 (s)	102.2	-	-
6-OMe	-	-	3.90 (s)	56.3
7-OMe	-	-	3.56 (s)	55.9
4'-OMe	3.90 (s)	55.9	3.88 (s)	55.9
N-Me	3.35 (s)	45.0	3.62 (s)	46.0

[0082] ^a 400MHz, CDCl₃; ^b 125MHz, CDCl₃; ^c 400MHz, CD₃OD; ^d 125MHz, CD₃OD

[0083] 表2化合物III和IV的NMR数据

[0084]

position	III		IV	
	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$
1	-	166.7	-	165.6
3	3.48 (m)	51.3	2.73 (m)	52.5
4	3.12 (m)	26.1	3.42 (m)	27.1
4a	-	132.5	-	130.7
5	6.70 (s)	110.2	6.85 (s)	110.0
6	-	154.3	-	151.6
7	-	147.9	-	147.3

[0085]

8	6.91 (s)	114.0	6.68 (s)	110.2
8a	-	121.7	-	121.8
9	-	140.7	-	140.5
10	5.50, 6.28 (s)	124.0	5.50, 6.26 (s)	128.2
1'	-	129.3	-	128.9
2'	-	119.2	-	120.2
3'	-	149.3	-	149.3
4'	-	146.1	-	146.7
5'	6.84 (d, $J=8.0$)	109.0	6.86 (d, $J=8.0$)	107.9
6'	7.06 (d, $J=8.0$)	121.0	7.10 (d, $J=8.0$)	120.0
7'	-	174.2	-	173.2
OCH ₂ O	6.06 (s)	102.3	5.99 (s)	102.0
OCH ₂ O		-	6.09 (s)	101.9
6-OMe	3.91 (s)	56.3	-	-
7-OMe	3.63 (s)	56.0	-	-
N-Me	3.47 (s)	44.3	3.49 (s)	44.8

[0086] ^a 400MHz, CDCl₃; ^b 125MHz, CDCl₃.

[0087] 实施例2

[0088] 将实施例1制备的异喹啉类生物碱和注射用水混合均匀,依次进行精滤和灌封灭菌,得到异喹啉类生物碱注射液,其中,异喹啉类生物碱的浓度为2~5%,具体为2%、2.5%、3%、3.5%、4%、4.5%或5%。

[0089] 实施例3

[0090] 将实施例1制备的异喹啉类生物碱溶于无菌注射用水中,搅拌至异喹啉类生物碱溶解,经无菌抽滤漏斗过滤和无菌精滤后分装于安瓿中,然后低温冷冻干燥后无菌熔封,得到异喹啉类生物碱药物组合物粉针剂,其中,异喹啉类生物碱和无菌注射用水的固液比为1g:3~5mL,具体为1g:3mL、1g:3.5mL、1g:4mL、1g:4.5或1g:5mL。

[0091] 实施例4

[0092] 将实施例1制备的异喹啉类生物碱与赋形剂(淀粉)按照质量比为9:1混合均匀,进行低温冷冻干燥和灭菌,得到异喹啉类生物碱药物组合物粉剂。

[0093] 实施例5

[0094] 将实施例1制备的异喹啉类生物碱和赋形剂(淀粉)按照质量比为1:5~10(具体为1:5、1:5.5、1:6、1:6.5、1:7、1:7.5、1:8、1:8.5、1:9、1:9.5或1:10)混合均匀,制粒压片,得到异喹啉类生物碱药物组合物片剂。

[0095] 实施例6

[0096] 将实施例1制备的异喹啉类生物碱采用常规口服液的制备方法,制备得到异喹啉类生物碱药物组合物口服液。

[0097] 实施例7

[0098] 将实施例1制备的异喹啉类生物碱和赋形剂按照质量比为5:1混合均匀,分别采用常规的胶囊剂、颗粒剂和冲剂的制备方法,制备得到异喹啉类生物碱药物组合物胶囊、异喹啉类生物碱药物组合物颗粒剂和异喹啉类生物碱药物组合物冲剂。

[0099] 实施例8

[0100] 将实施例1制备的异喹啉类生物碱和赋形剂按照质量比为3:1混合均匀,分别采用常规的胶囊剂、颗粒剂和冲剂的制备方法,制备得到异喹啉类生物碱药物组合物胶囊、异喹啉类生物碱药物组合物颗粒剂和苯酐异喹啉类生物碱药物组合物冲剂。

[0101] 测试例1

[0102] 生物碱的生物活性评价

[0103] (1) 实验仪器

[0104] 仪器型号:Biacore T200;

[0105] 试剂:S系列CM5传感芯片;氨基偶联试剂盒;10mM醋酸钠溶液 (pH4.0、pH 4.5、pH 5.0、pH 5.5);PBS-Pbuffer(20mM phosphate buffer,2.7mM KCl,137mM NaCl and 0.05% (v/v)surfactant P20) supplemented with 5%DMSO (pH 7.4)。

[0106] (2) 实验方法

[0107] ①蛋白配制:Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (货号:SRP6285, Lot:7M06L72650),蛋白浓度为:40 μ g/mL。

[0108] ②配体预富集:采用手动进样方式进行配体预富集,测试PCSK9在浓度为40 μ g/mL时10mM醋酸钠溶液pH 4.5、pH 5.0条件下的预富集情况(选择pH 4.5进行偶联)。

[0109] ③氨基偶联:

[0110] 采用氨基偶联的方式分别将蛋白固定在CM5芯片的Fc-4通道。并将Fc-1通道经过活化和封闭后分别作为Fc-4通道的参比通道。

[0111] ④亲和力分析:

[0112] 化合物I、II、III、IV与蛋白PCSK9相互作用分析:用运行缓冲液4个化合物进行浓度梯度配制,配制系列浓度范围为500、250、125、62.5、31.25、15.625、7.8125 μ M;流经Fc1-Fc4,同时作溶剂校准曲线(Solvent correction),测4个化合物与固定在芯片表面的PCSK9之间的相互作用。运行参数设置:Flow path 4-1(contact time 80s,Flow rate 30 μ l/min,Dissociation time 80s),25 $^{\circ}$ C。

[0113] (3) 实验结果

[0114] 化合物I、II、III、IV、阳性对照与蛋白PCSK9相互作用如图1所示,化合物I、II、呈弱相互作用,III、IV呈中等强度相互作用,结果如表3所示:

[0115] 表3化合物与PCSK9相互作用结果

[0116]

化合物	K _d 值(M)
I	3.06E-04
II	2.48E-04

III	9.51E-05
IV	5.99E-05
PF-06446846	4.14E-05

[0117] 为了进一步研究此类生物碱与PCSK9蛋白的作用位置,使用分子对接软件Maestro 11.9进行小分子与PCSK9蛋白的晶体结构(PDB ID:6U3X)进行对接,并将对接结果利用Pymol进行处理。对接结果表明,4个小分子化合物与蛋白PCSK9均存在相互作用力,对接结果如图2所示。

[0118] 由以上实施例可知本发明提供的所述异喹啉生物碱类化合物与PCSK9具有较好的亲和力,抑制PCSK9与低密度脂蛋白受体的结合,对通过降低低密度脂蛋白治疗心血管疾病具潜在的应用价值。同时本发明提供的所述的异喹啉生物碱类化合物的制备方法原材料价格便宜,制备成本低,便于药物研发后大规模推广使用。

[0119] 尽管上述实施例对本发明做出了详尽的描述,但它仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部实施例,还可以根据本实施例在不经创造性前提下获得其他实施例,这些实施例都属于本发明保护范围。

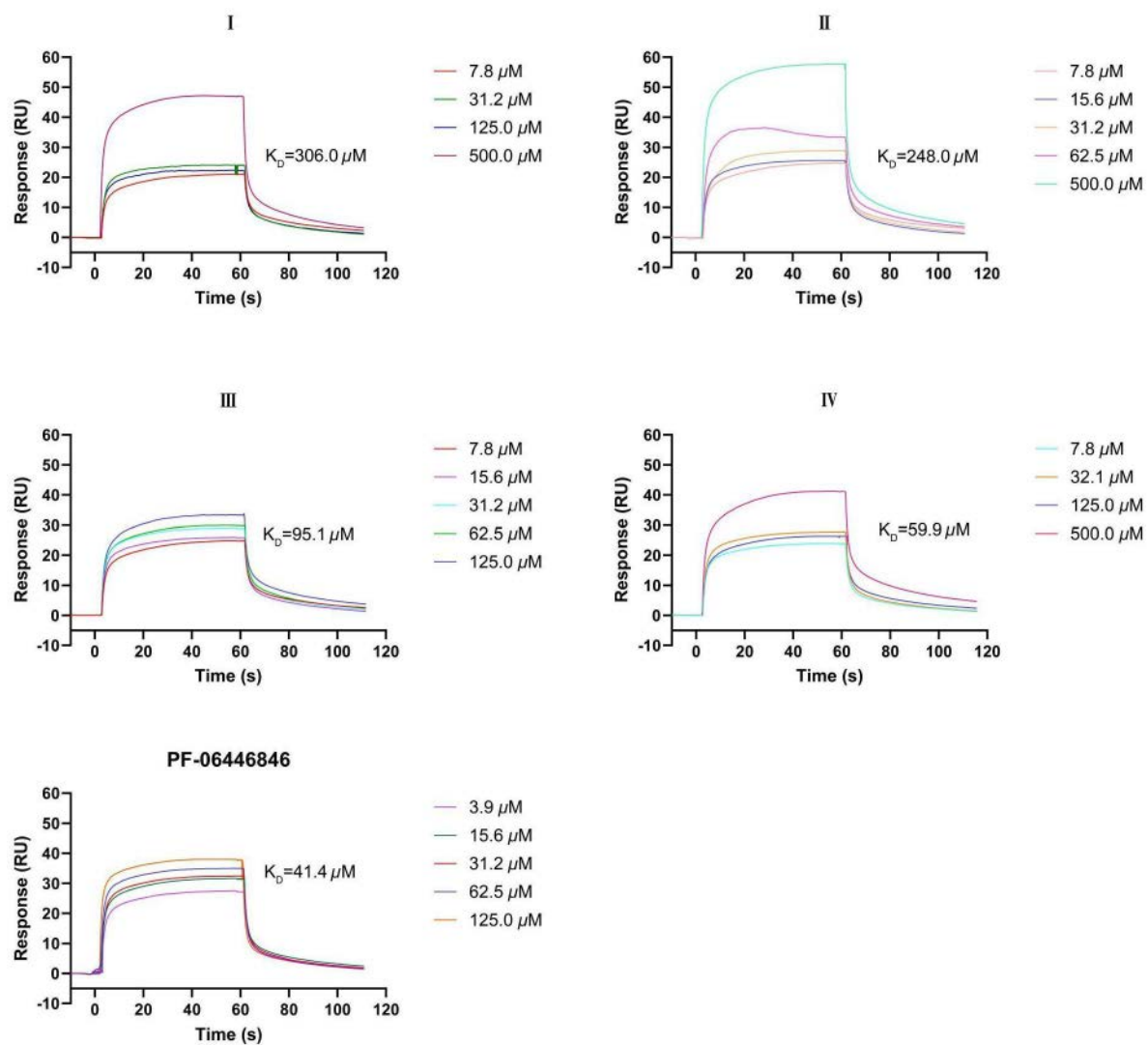


图1

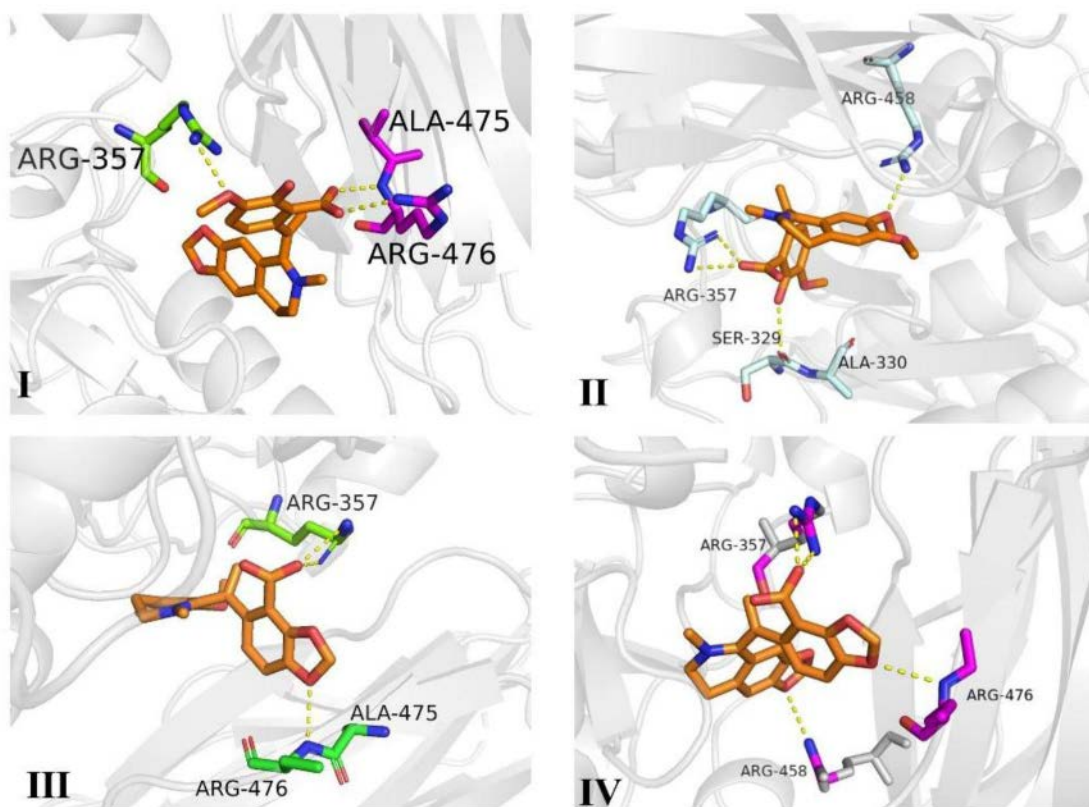


图2