



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105566088 A

(43) 申请公布日 2016. 05. 11

(21) 申请号 201610003454. 3

(22) 申请日 2016. 01. 04

(71) 申请人 中国科学院昆明植物研究所  
地址 650201 云南省昆明市蓝黑路 132 号

(72) 发明人 刘吉开 熊文勇 王芳 杨晓艳

(74) 专利代理机构 昆明协立知识产权代理事务  
所(普通合伙) 53108

代理人 谢嘉

(51) Int. Cl.

C07C 49/573(2006. 01)

C07C 45/81(2006. 01)

C12P 7/26(2006. 01)

A61K 31/122(2006. 01)

A61P 3/10(2006. 01)

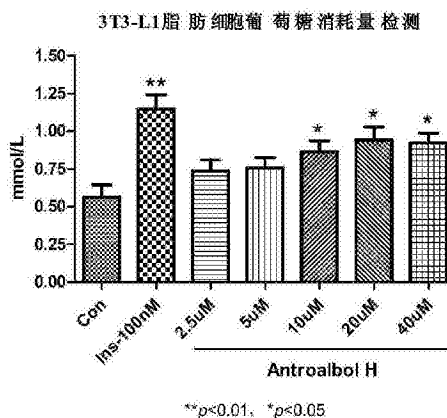
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

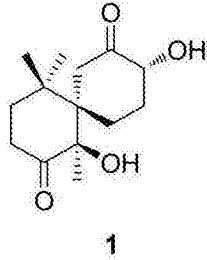
化合物 Antroalbol H 及其药物组合物和其制备方法与应用

(57) 摘要

本发明提供一种新的具有药用价值的化合物 Antroalbol H, 及从白黄小薄孔菌 (Antrodiella albocinnamomea) 发酵液中提取该化合物的方法, 同时提供一种以式 1 化合物为活性成分用于治疗糖尿病的药物组合物, 以及该化合物及其药物组合物在制备治疗和预防糖尿病药物方面的应用。



1. 下述结构式(1)所示的化合物1Antroalbol H或其药学上可接受的盐,



2. 如权利要求1所述的化合物1,其特征在于该化合物包括立体异构体和互变异构体。

3. 如权利要求1所述的化合物1或其药学上可接受的盐,其中所述的药学上可接受的盐为盐酸盐、氢溴酸盐、硝酸盐、硫酸盐、磷酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、甲酸盐、乙酸盐、乙二酸盐。

4. 权利要求1所述的化合物1的制备方法,该方法包括下述步骤:取高等真菌白黄小薄孔菌(*Antrodiella albocinnamomea*),通过液体发酵,用乙酸乙酯溶剂萃取,所得提取物反复用硅胶、RP-18和Sephadex LH-20柱层析分离,得化合物1Antroalbol H。

5. 如权利要求4所述的化合物1的制备方法,其特征在于该方法是对白黄小薄孔菌斜面菌种采用转摇瓶液体培养的方法进行发酵培养,培养规模300mL×60瓶;培养基为:葡萄糖5%,猪肉蛋白胨0.15%,酵母粉0.5%,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>和MgSO<sub>4</sub>各0.05%;培养条件为摇床培养,在恒温24℃、转速150rpm条件下摇床暗培养26天;过滤,除去菌丝,滤液用乙酸乙酯萃取3次,减压浓缩得到乙酸乙酯提取物,经硅胶柱层析用100:0-0:100的氯仿/甲醇系统梯度洗脱得4个组分A-D,组分B经过Sephadex LH-20 CHCl<sub>3</sub>-MeOH,1:1柱层析分离得到三个亚组分B1-B3,组分B3经RP-18水/甲醇,100:0-0:100分离得到9个组分B3a-B3j,其中B3c经过反复硅胶柱层析和Sephadex LH-20CHCl<sub>3</sub>-MeOH,1:1和CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>柱层析分离得到化合物1。

6. 用于治疗 and 预防糖尿病的药物组合物,其中含有治疗有效量的权利要求1所述的化合物1或其药学上可接受的盐和载体。

7. 权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗和预防糖尿病的药物中的应用。

8. 权利要求6所述的药物组合物在制备治疗和预防糖尿病的药物中的应用。

## 化合物Antroalbol H及其药物组合和其制备方法与应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于药物技术领域,具体地,涉及化合物Antroalbol H及其制备方法,以该化合物为活性成分的药物组合物,以及该化合物和药物组合物在制备治疗和预防糖尿病的药物中的应用。

### 背景技术

[0002] 现代社会,随着生活水平极大的提高,糖尿病已经成为继高血压、肿瘤之后又一个严重影响人类健康的重大疾病。糖尿病临床表现是胰岛素的相对或绝对缺乏导致高血糖症候,长期高血糖将导致一系列并发症,严重危害人体健康。因此,有效地控制血糖水平成为治疗糖尿病的当务之急。糖尿病主要分为1型和2型糖尿病,1型糖尿病需要通过注射胰岛素治疗,胰岛素存在低温保存及给药方式的弊端,给患者带来不便,而且治疗费用较高;2型糖尿病主要依赖于口服降糖药物,如二甲双胍、罗格列酮等,这些药物都不同程度上具有副作用和不良反应,在一定程度上限制了其使用。因此,寻找新型的高效低毒的抗糖尿病药物依然是目前药学研究的一个热点。脂肪组织主要功能是在能量过剩时将其以脂质形式储存,而在机体能量供应不足时将脂肪氧化供能,在人体能量代谢平衡中占据重要的地位。增强脂肪细胞的糖代谢,对治疗糖尿病具有重大现实意义。目前,现有技术中未见有化合物Antroalbol H及其药理活性的报道。

### 发明内容

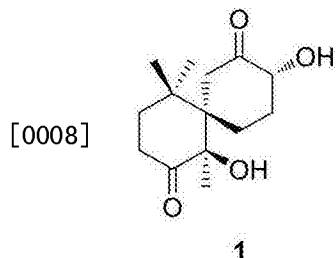
[0003] 本发明的目的在于提供一种新的具有治疗和预防糖尿病药用价值的Antroalbol H。

[0004] 本发明的另一目的是提供一种从白黄小薄孔菌(*Antrodiella albocinnamomea*)发酵液中提取本发明化合物的方法。

[0005] 本发明的进一步目的是提供一种以式(1)化合物为活性成分的用于治疗 and 预防糖尿病的药物组合物,以及该化合物和组合物在制备治疗和预防糖尿病的药物方面的应用。

[0006] 为了实现上述目的,本发明提供了如下技术方案:

[0007] 下述结构式(1)所示的化合物1Antroalbol H或其药学上可接受的盐,



[0009] 所述的化合物1包括立体异构体和互变异构体。

[0010] 如所述的化合物1或其药学上可接受的盐,其中所述的药学上可接受的盐为盐酸盐、氢溴酸盐、硝酸盐、硫酸盐、磷酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、甲酸盐、乙酸盐、乙二酸盐。

[0011] 所述的化合物1的制备方法,该方法包括以下步骤:取高等真菌白黄小薄孔菌

(*Antrodiella albocinnamomea*),通过液体发酵,用乙酸乙酯溶剂萃取,所得提取物反复用硅胶、RP-18和Sephadex LH-20柱层析分离,得化合物1Antroalbol H。

[0012] 如所述的化合物1的制备方法,该方法对白黄小薄孔菌斜面菌种采用转摇瓶液体培养的方法进行发酵培养,培养规模300mL×60瓶;培养基为:葡萄糖5%,猪肉蛋白胨0.15%,酵母粉0.5%, $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 和 $\text{MgSO}_4$ 各0.05%;培养条件为摇床培养,在恒温24℃、转速150rpm条件下摇床暗培养26天;过滤,除去菌丝,滤液用乙酸乙酯萃取3次,减压浓缩得到乙酸乙酯提取物,经硅胶柱层析用100:0-0:100的氯仿/甲醇系统梯度洗脱得4个组分A-D,组分B经过Sephadex LH-20  $\text{CHCl}_3$ -MeOH,1:1柱层析分离得到三个亚组分B1-B3,组分B3经RP-18水/甲醇,100:0-0:100分离得到9个组分B3a-B3j,其中B3c经过反复硅胶柱层析和Sephadex LH-20  $\text{CHCl}_3$ -MeOH,1:1和 $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ 柱层析分离得到化合物1。

[0013] 用于治疗 and 预防糖尿病的药物组合物,其中含有治疗有效量的化合物1或其药学上可接受的盐和载体。

[0014] 所述的的化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗和预防糖尿病的药物中的应用。

[0015] 所述的的药物组合物在制备治疗和预防糖尿病的药物中的应用。

[0016] 本发明化合物来自于高等真菌发酵液,天然安全,结构新颖,目前尚没有任何药理活性报道。本发明化合物Antroalbol H可以转化药学上可接受的盐或衍生物,如酯、醚和其他衍生物。具体方法可用药物常规制备方法所得。

[0017] 本发明化合物用作药物上时,可以直接使用或者以药物组合物的形式使用。该药物组合物含有0.1~99%,优选0.5~90%的本发明化合物,其余为药学上可以接受的盐,或对人和动物无毒的可药用载体和/或赋形剂。

[0018] 口服可用其固体或液体制剂,如粉剂、片剂、糖衣剂、胶囊、溶液、糖浆、滴丸等。

[0019] 注射可用其固体或液体制剂,如粉针剂、溶液形注射剂等。

#### 附图说明:

[0020] 图1为本发明化合物Antroalbol H的结构示意图;

[0021] 图2为3T3-L1脂肪细胞葡萄糖消耗检测中葡萄糖含量的测定图。

#### 具体实施方式:

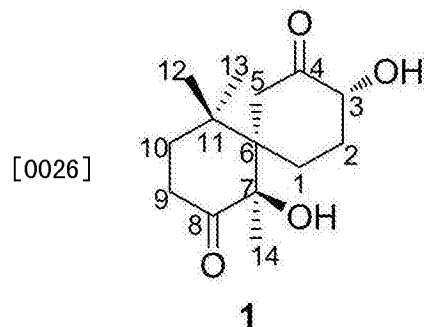
[0022] 为了更好的理解本发明的实质,下面将用本发明式(1)化合物与药用载体或赋形剂组成的药物的生物活性结果来说明它在医药领域的应用。

[0023] 实施例1:

[0024] 白黄小薄孔菌(*A.albocinnamomea*)于2009年9月30日采自吉林省安图县长白山自然保护区的杨树腐木上。样品由北京林业大学戴玉成教授鉴定。对该斜面菌种采用转摇瓶液体培养的方法进行发酵培养。培养规模300mL×60瓶;培养基:葡萄糖5%,猪肉蛋白胨0.15%,酵母粉0.5%, $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 和 $\text{MgSO}_4$ 各0.05%;培养条件:摇床培养,在恒温24℃、转速150rpm条件下摇床暗培养26天。过滤,除去菌丝,滤液用乙酸乙酯萃取3次,减压浓缩得到乙酸乙酯提取物7.9g,经硅胶柱层析用氯仿/甲醇(100:0-0:100)系统梯度洗脱得4个组分A-D。组分B经过Sephadex LH-20( $\text{CHCl}_3$ -MeOH,1:1)柱层析分离得到三个亚组分B1-B3。组分B3

经RP-18(水/甲醇,100:0-0:100)分离得到9个组分B3a-B3j,其中B3c经过反复硅胶柱层析和Sephadex LH-20(CHCl<sub>3</sub>-MeOH,1:1)和(CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>)柱层析分离得到化合物1(25.9mg)。

[0025] 该方法分离出的化合物Antroalbol H其化学结构式为:



[0027] Antroalbol H的化学结构式是基于其质谱和核磁共振等波谱数据而确定的。

[0028] 红外光谱数据:IR(KBr) $\nu_{\max}$  3443,2965,1722,1689,1631,1548,1529,1461,1424,1401,1381,1272,1163,1114,1082,1054 $\text{cm}^{-1}$ 。

[0029] 旋光数据: $[\alpha]^{24}_{\text{D}}+49.9$ (c 1.42,MeOH)。

[0030] 质谱数据:ESIMS(positive)m/z 255[M+H]<sup>+</sup>;HREIMS(positive)m/z 254.1522 (calcd for C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>,254.1518)。

[0031] 核磁数据见表1。

[0032] 表1.化合物1在氘代氯仿中<sup>1</sup>H谱(400兆赫兹)和<sup>13</sup>C核磁共振谱(100兆赫兹)数据:

No.	1	
	$\delta_H$	$\delta_C$
1	1.86 m	26.1 t
	1.55 m	
2	2.14 m	34.1 t
3	4.01 m	73.5 d
4		211.9 s
5	2.72 d (14.8)	40.1 t
	2.33 d (14.8)	
[0033] 6		55.6 s
7		82.1 s
8		214.1 s
9	2.66 m	33.4 t
	2.38 m	
10	1.78 m	36.1 t
	1.63 m	
11		38.2 s
12	1.01 s	28.0 q
13	1.12 s	25.1 q
14	1.37 s	26.4 q

[0034] 实施例2:

[0035] 3T3-L1脂肪细胞葡萄糖消耗检测:

[0036] 分化成熟的3T3-L1脂肪细胞接种至96孔板中,采用系列浓度本发明式(1)化合物及阳性对照胰岛素(100nmol/L)处理细胞,24小时后采用葡萄糖氧化酶法对各孔剩余培养液的葡萄糖含量进行测定(图2),葡萄糖消耗量=培养液原始葡萄糖含量-培养液剩余葡萄糖含量。结果显示:与正常组(0.56mmol/L)相比,Antroalbol H在2.5~40 $\mu$ mol/L浓度范围内呈现良好的增加脂肪细胞糖消耗的趋势,在20 $\mu$ mol/L浓度组达到最大值(0.94mmol/L),接近阳性对照胰岛素组(1.14mmol/L)。

[0037] 实施例3:

[0038] 本发明化合物Antroalbol H对3T3-L1脂肪细胞糖消耗影响实验:

[0039] 实验仪器:普通倒置光学显微镜(Leica,德国),超纯水系统,超净工作台(Thermo,美国),低温保存箱(海尔,中国),全自动高压灭菌锅(Hirayama,日本),细胞二氧化碳培养箱(Thermo,美国),移液枪(Eppendorf,德国),酶标仪(PerkinElmer,美国),电子天平(Denver Instrument,美国),超低温冰箱(海尔,中国),针头过滤器(Millex-HV,美国),通风橱窗(昆明天悦)。

[0040] 实验试剂:DMEM培养基(Hyclone,美国),小牛血清(Gibco,美国),胎牛血清(Biological Industries,以色列),IBMX(Sigma,美国),地塞米松(Adamas),罗格列酮(Sigma,美国),胰岛素(Roche,瑞士),链霉素/青霉素(Biological Industries,以色列),0.25%胰酶(Biological Industries,以色列),96孔板(NEST),DMSO(Sigma,美国),PBS,细胞冻存管(Thermo,美国),葡萄糖检测试剂盒(上海荣盛,中国)。

[0041] 实验方法:3T3-L1小鼠成纤维细胞购自美国模式培养物集存库(ATCC,CL-173™)。先将冻存的在液氮罐中的细胞取出,在37℃的水浴锅中融化,接种到含有DMEM+10%CS+1%P/S培养基的10cm培养皿中,在37℃10%CO2培养箱中培养,每隔两天换一次培养基,长到60%的汇合度时传代。准备分化培养的健康细胞弃培养液,加入PBS洗去血清,再加入0.25%的胰酶消化悬浮,接种到6cm培养皿中,两天换一次培养基,至细胞长到100%的汇合度,加入分化培养基(DMEM+10%FBS+1%P/S),其中每10ml培养基加入20μl IBMX,10μl胰岛素,10μl Dex,1μl罗格列酮;72小时后弃旧培养液,换成只含胰岛素的培养基。分化成熟的细胞胰酶消化悬浮后,接种至96孔板中,待细胞完全贴壁分别加入胰岛素或者Antroalbol H,对照组加入与样品等量DMSO的培养液,实验中Antroalbol H的浓度梯度是2.5、5、10、20和40μmol/L,胰岛素浓度为100nmol/L。24小时后,取各孔培养液进行葡萄糖含量的测定,测定方法依照试剂盒说明书,实验结果以葡萄糖消耗量表示,葡萄糖消耗量=培养液原始葡萄糖含量-培养液剩余葡萄糖含量。结果如前图所示:随着Antroalbol H浓度的逐渐升高,葡萄糖消耗量增加,即表示脂肪细胞的葡萄糖消耗能力也增加,在20umol/L时达到最佳效果。阳性对照药胰岛素也显著提高脂肪细胞葡萄糖消耗能力,证明实验体系准确性。

[0042] 实施例4:

[0043] 按实施例1制得化合物Antroalbol H,按化合物与赋形剂重量比1:1的比例加入赋形剂,制粒压片。

[0044] 实施例5:

[0045] 按实施例1制得化合物Antroalbol H,按常规胶囊制剂方法制成胶囊。

[0046] 实施例6:

[0047] 按实施例1制得化合物Antroalbol H,按化合物与赋形剂重量比1:2的比例加入赋形剂,制粒压片。

[0048] 实施例7:

[0049] 按实施例1制得化合物Antroalbol H,按化合物与赋形剂重量比1:3的比例加入赋形剂,制粒压片。

[0050] 实施例8

[0051] 片剂:Antroalbol H 100mg

[0052] 淀粉 100mg

[0053] 玉米浆17% 适量

[0054] 硬脂肪镁适量

[0055] 实施例9:

[0056] 胶囊剂:Antroalbol H 100mg

[0057] 淀粉 100mg

[0058] 硬脂肪镁适量

[0059] 制备方法：将Antroalbol H与助剂混合，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。



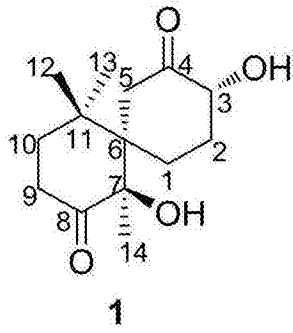
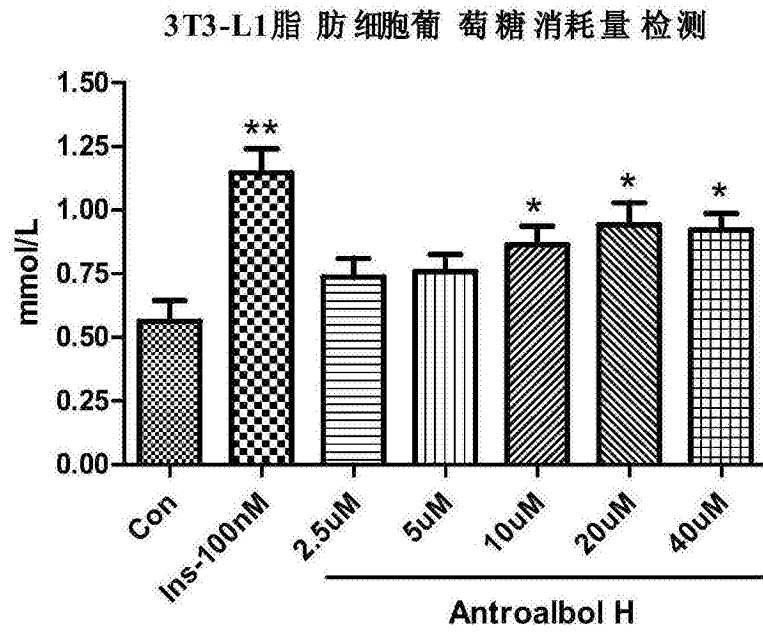


图1



\*\* $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$

图2