



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105503988 B

(45)授权公告日 2018.03.30

(21)申请号 201410487432.X

(22)申请日 2014.09.22

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105503988 A

(43)申请公布日 2016.04.20

(73)专利权人 中国科学院上海药物研究所
地址 201203 上海市浦东新区张江祖冲之
路555号
专利权人 杭州环特生物科技股份有限公司

(72)发明人 赵维民 周娟 李金龙 李春启
陈振华 张勇 高召兵 郭胜亚

(74)专利代理机构 上海一平知识产权代理有限
公司 31266
代理人 崔佳佳 马莉华

(51)Int.Cl.

C07J 17/00(2006.01)

A61K 31/704(2006.01)

A61P 25/08(2006.01)

G01N 33/15(2006.01)

(56)对比文件

CN 102924554 A,2013.02.13,说明书第
[0001],[0008]-[0042]段,实施例2.

CN 102946877 A,2013.03.27,说明书第
[0018],第[429-430]段,权利要求12,14.

审查员 冯媛

权利要求书8页 说明书28页 附图11页

(54)发明名称

天然抗癫痫活性化合物及其在药物制剂中
的用途

(57)摘要

本发明涉及天然抗癫痫活性化合物及其在
药物制剂中的用途。本发明公开了青阳参中的不
同单体化合物具有截然相反的促癫痫和抗癫痫
的作用。具体地,本发明人从夹竹桃科鹅绒藤属
(*Cynanchum*)植物牛皮消(*C.auriculatum* Royle
ex Wight)及隔山消(*C.wilfordii* Hemsl.)中提
取单一组分,并通过实验证实了各化合物的抗癫
痫活性。

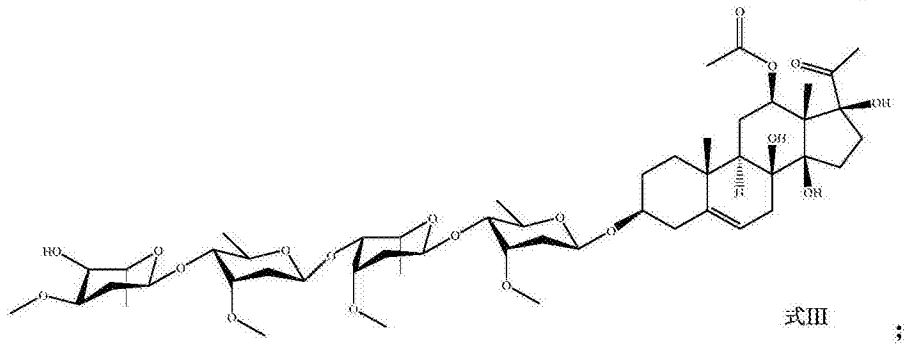
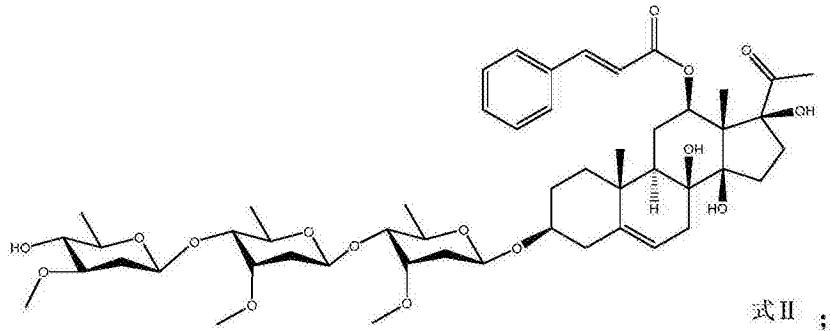
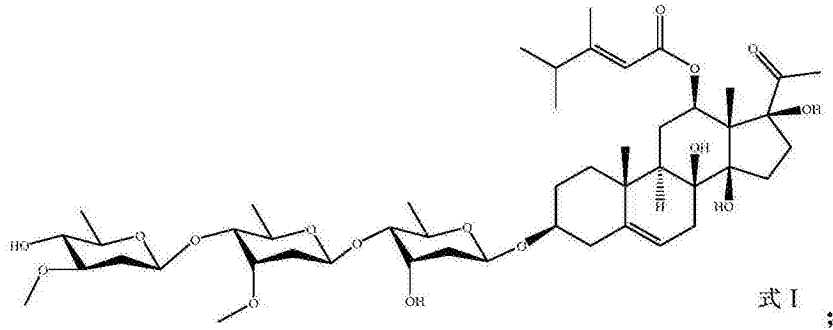
1. 一种植物总苷或含所述植物总苷的植物提取物,其特征在于,所述植物总苷或所述提取物中含有抗癫痫活性成分和促癫痫活性成分,并且所述提取物中所述抗癫痫活性成分的含量C1满足下式B:

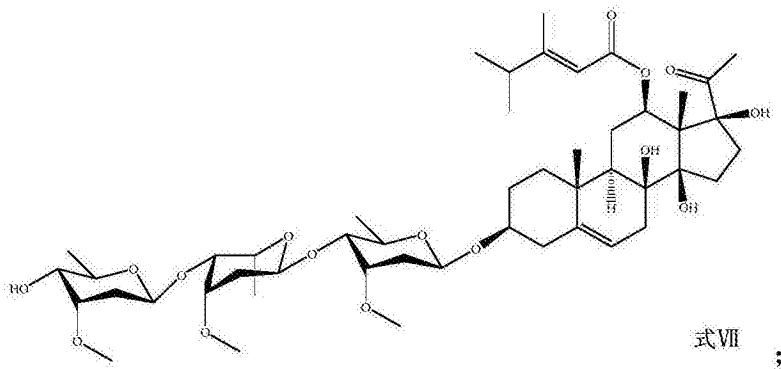
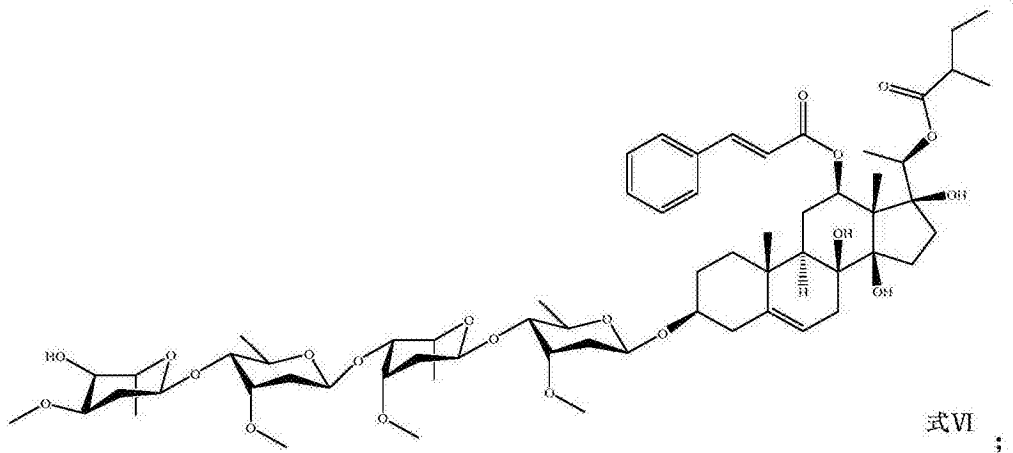
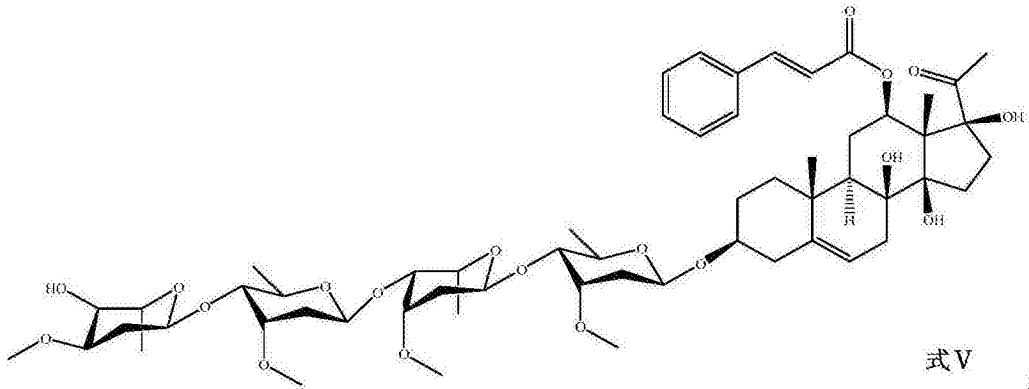
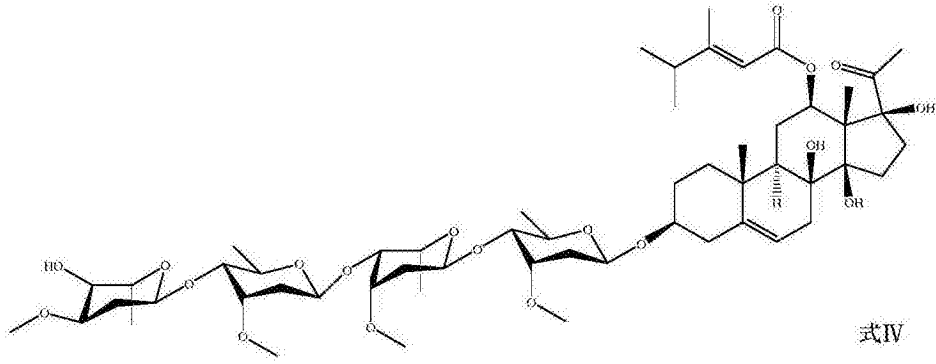
$$C1 / (C1+C2) \geq 50\% \quad \text{式B}$$

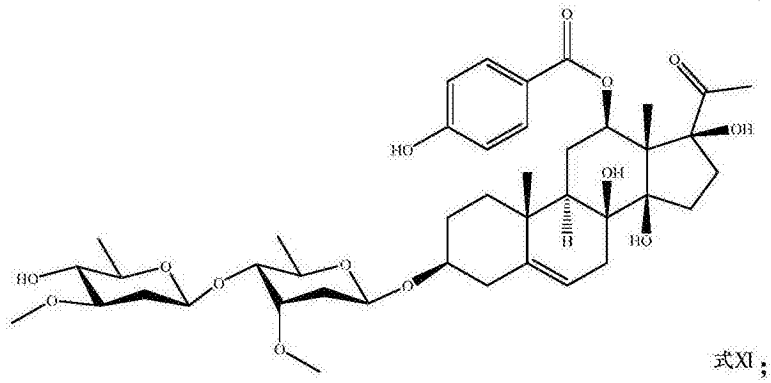
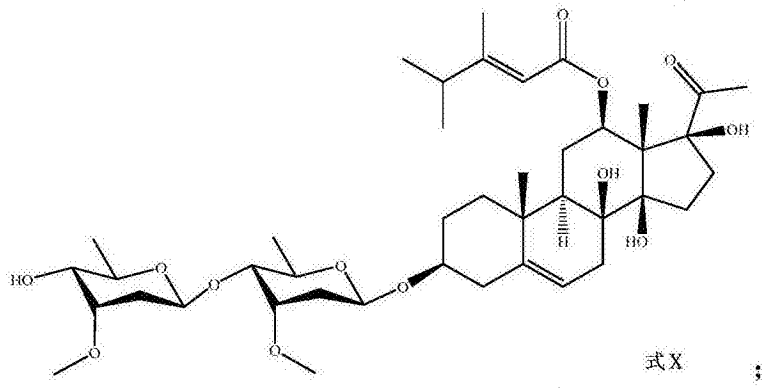
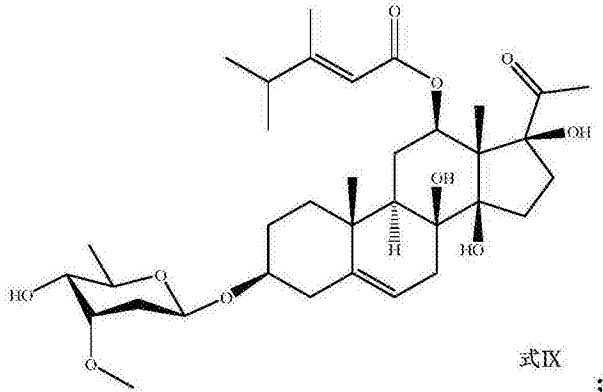
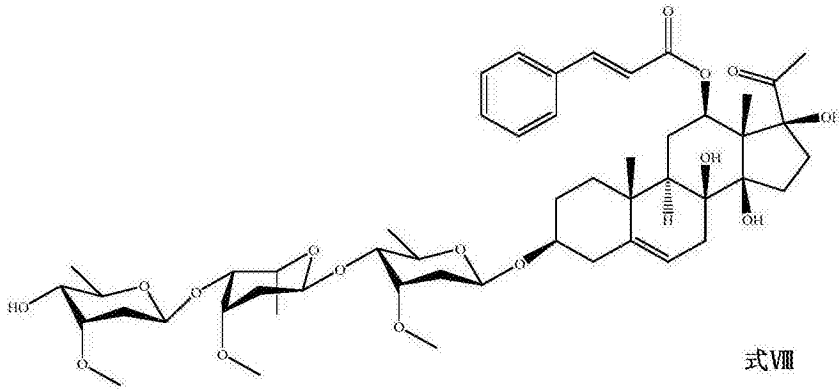
式B中,C1为抗癫痫活性成分的含量;C2为促癫痫活性成分的含量;

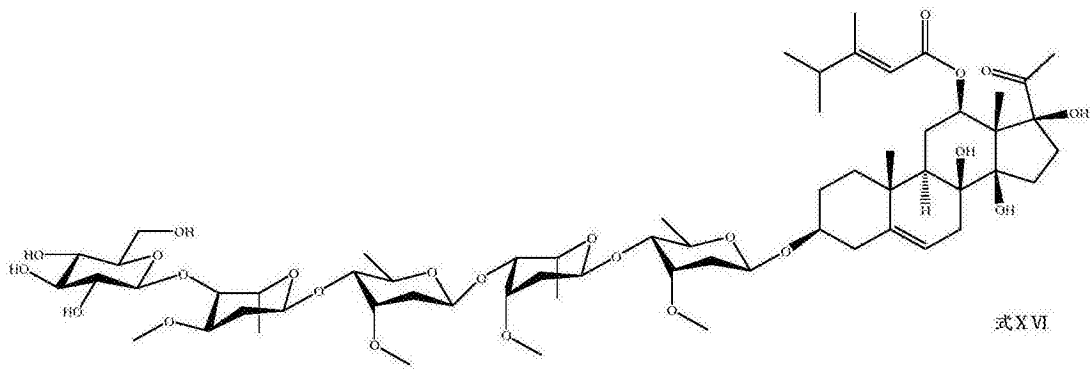
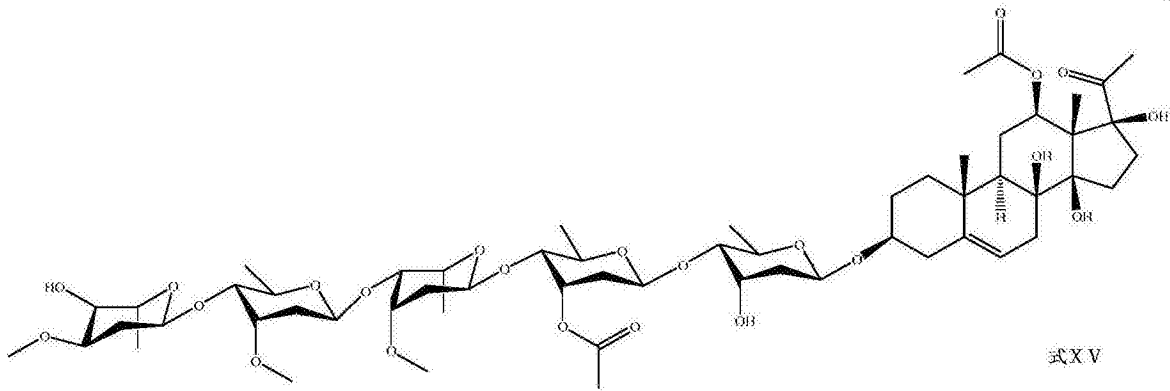
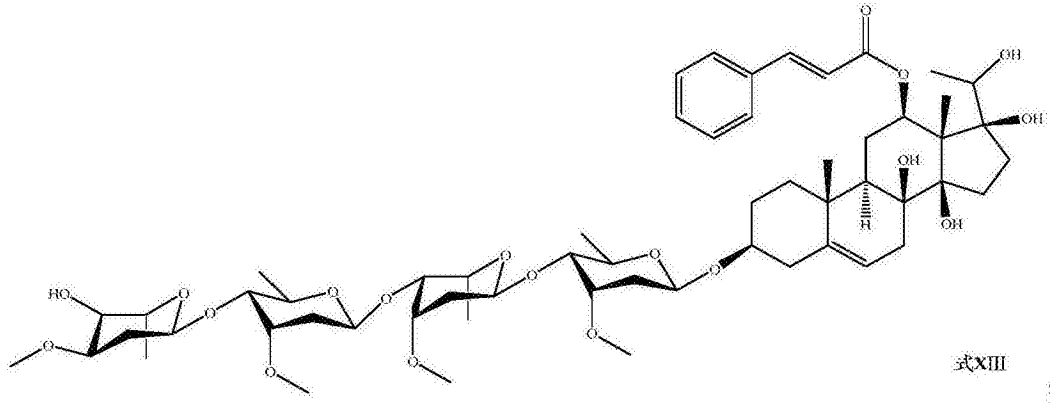
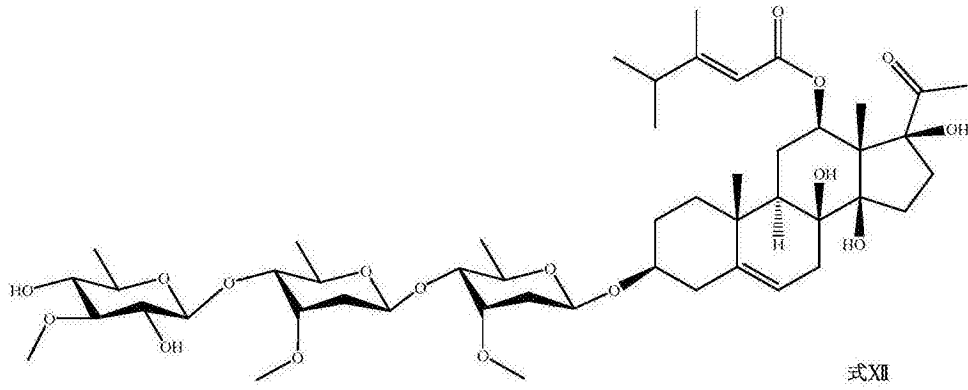
其中,所述的抗癫痫活性成分选自下组中的一种或多种:

式I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII、IX、X、XI、XII、XIII、XIV、XV、XVI所示的化合物

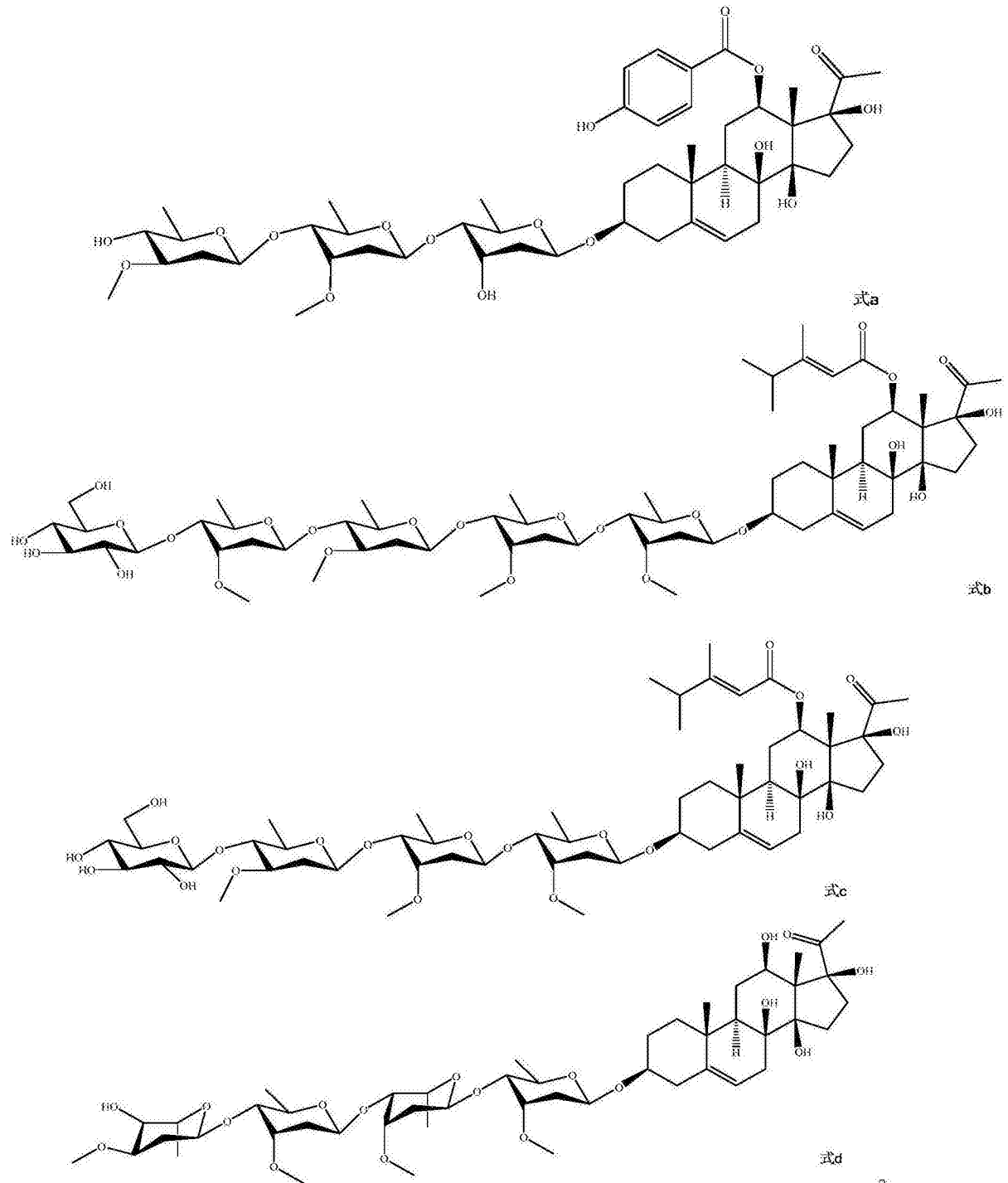








所述的促癫痫活性成分选自下组中的一种或多种：
式a、b、c和d所示的化合物



2. 如权利要求1所述的植物总苷或含所述植物总苷的植物提取物,其中, $C_1/(C_1+C_2) \geq 80\%$ 。

3. 如权利要求2所述的植物总苷或含所述植物总苷的植物提取物,其中, $C_1/(C_1+C_2) \geq 90\%$ 。

4. 如权利要求2所述的植物总苷或含所述植物总苷的植物提取物,其中, $C_1/(C_1+C_2) \geq 95\%$ 。

5. 如权利要求2所述的植物总苷或含所述植物总苷的植物提取物,其中, $C_1/(C_1+C_2)$ 为96%至99.5%。

6. 如权利要求2所述的植物总苷或含所述植物总苷的植物提取物,其中, $C_1/(C_1+C_2)$ 为

96%、97%、98%、99%、或99.5%。

7. 如权利要求1所述的植物总苷或含所述植物总苷的植物提取物,其中,所述植物为耳叶牛皮消(*C. auriculatum* Royle ex Wight)、或隔山消(*C. wilfordii* Hemsl.)。

8. 一种药物组合物,其特征在于,包含如权利要求1所述的植物总苷或含所述植物总苷的植物提取物,以及任选的药学上可接受的载体或赋形剂。

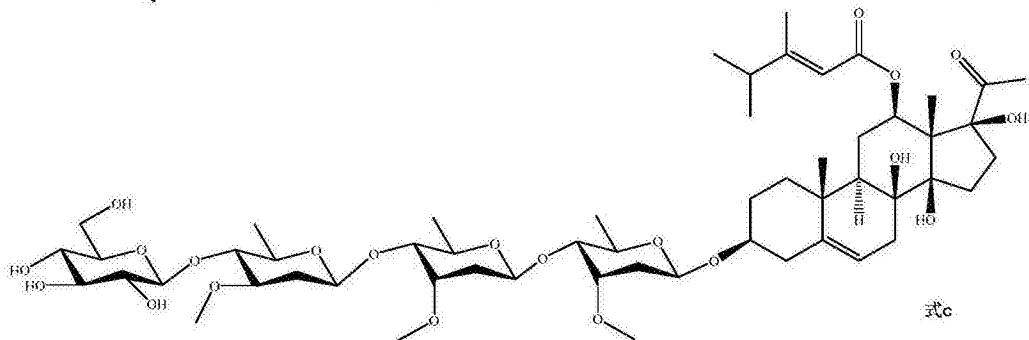
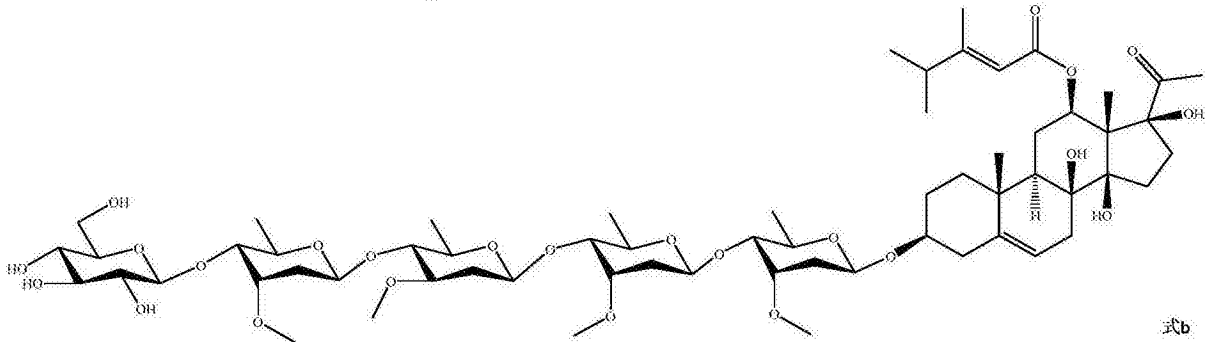
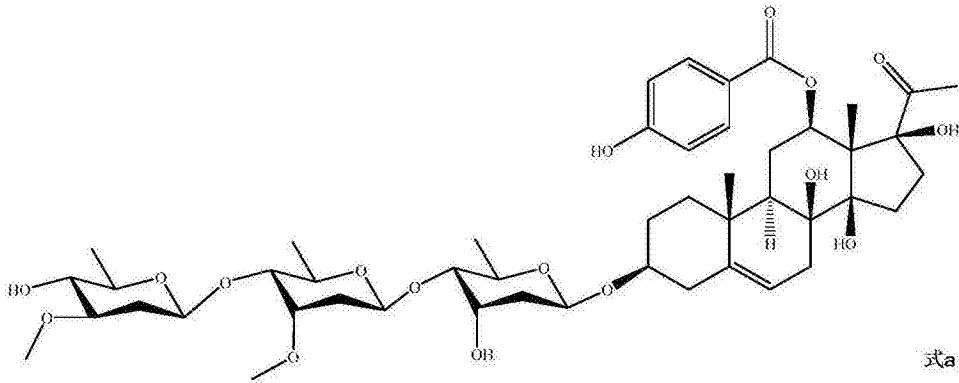
9. 一种对抗癫痫产品进行质量控制方法,其特征在于,包括步骤:

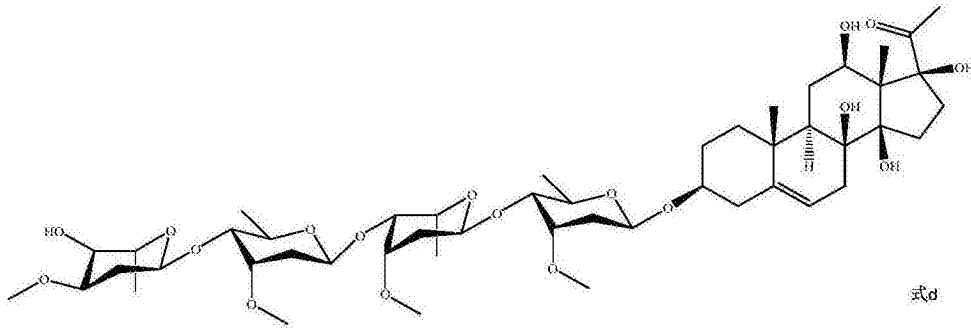
(a) 测定所述产品或其原料中促癫痫活性成分的含量C2,并与预定值C0进行比较;

(b) 当所述含量C2高于C0时,则判定所述产品的质量不合格;当所述含量C2低于或等于C0时,则判定所述产品的质量合格;

所述的促癫痫活性成分选自下组中的一种或多种:

式a、b、c和d所示的化合物





10. 如权利要求9所述的方法,其特征在于,所述抗癫痫产品包括含青阳参提取物的抗癫痫药品。

11. 如权利要求9所述的方法,其特征在于,所述C2为促癫痫活性成分在所述产品或原料中的重量百分比。

12. 如权利要求9所述的方法,其特征在于,所述C0 ≤ 10% (w/w)。

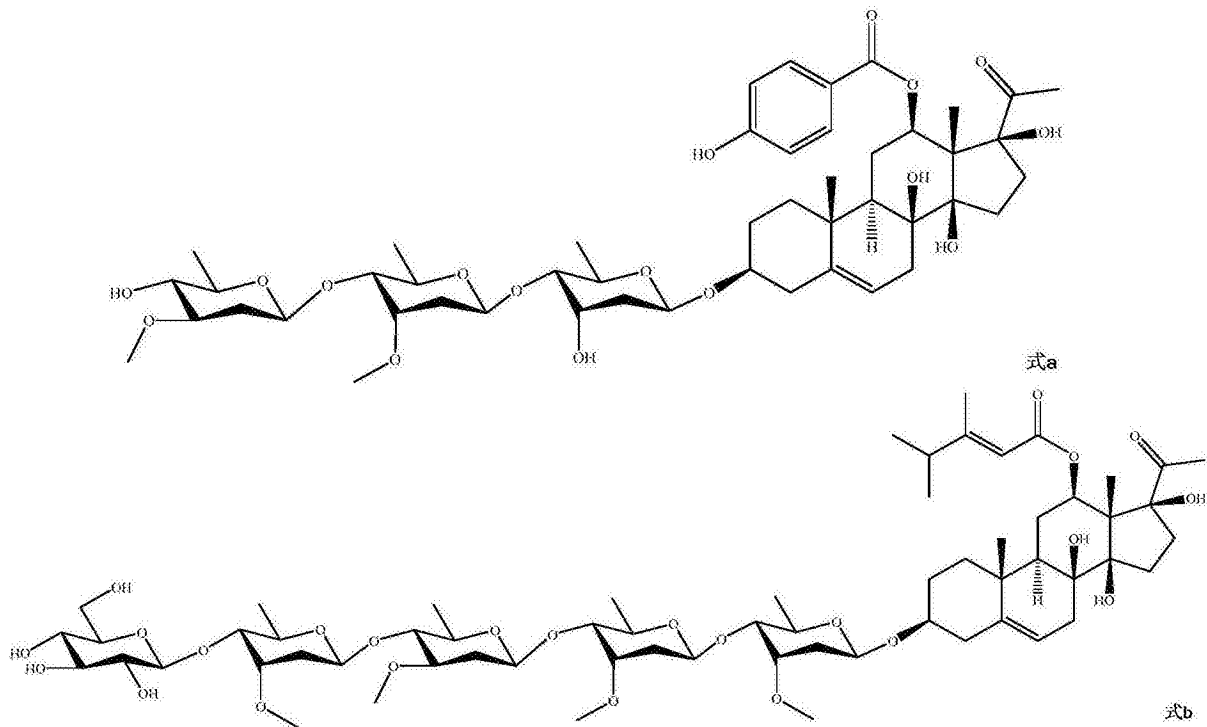
13. 如权利要求9所述的方法,其特征在于,所述C0 ≤ 5% (w/w)。

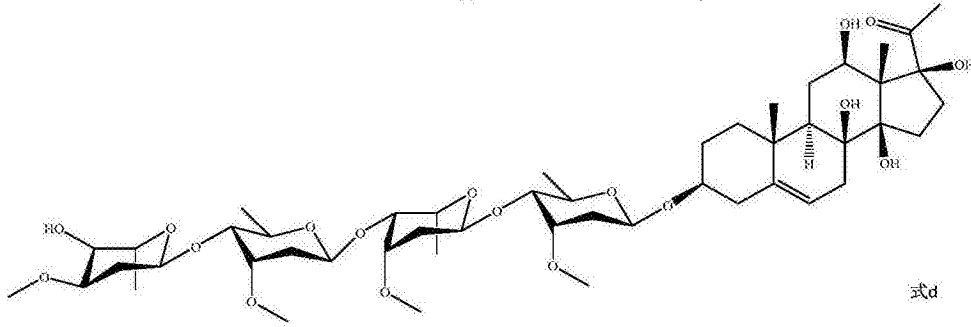
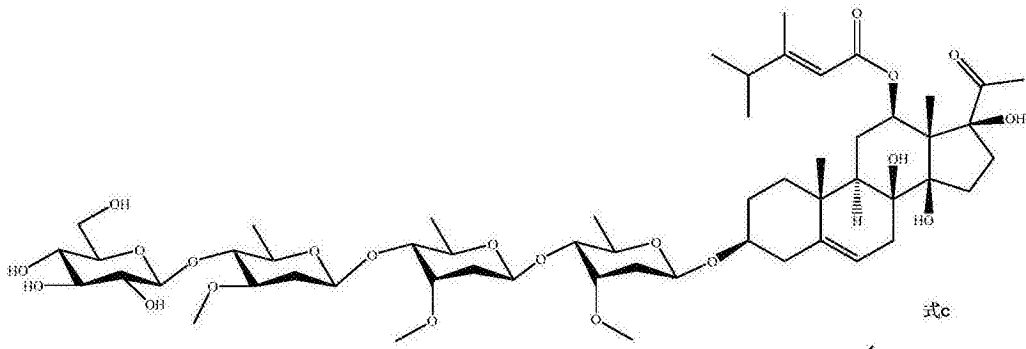
14. 如权利要求9所述的方法,其特征在于,所述C0 ≤ 1% (w/w)。

15. 如权利要求9所述的方法,其特征在于,所述C0为0.01%至10% (w/w)。

16. 如权利要求9所述的方法,其特征在于,所述C0为0.01%、0.05%、0.1%、0.2%、0.5%、1.0%、5%、或10%。

17. 选自下组的化合物在制备药剂或试剂中的用途,所述药剂或试剂用于构建动物癫痫模型:式a、b、c和d所示的化合物:





天然抗癫痫活性化合物及其在药物制剂中的用途

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药领域,具体地说,本发明涉及天然抗癫痫活性化合物及其在药物制剂中的用途。

背景技术

[0002] 癫痫(Epilepsy),或称脑痫、羊痫,是慢性反复发作性短暂脑功能失调综合征。据统计,我国癫痫的发病率约23/10万/年左右,患病率为3.5‰-4.8‰。癫痫发作会引发一系列症状,痉挛是典型的癫痫症状之一,包括肢体重复运动、不正常行为和伴有意识丧失的全身抽搐等,甚至造成机体损伤或死亡。癫痫的治疗包括药物治疗、手术治疗、物理治疗和心理治疗等多种方法,其中药物治疗是目前最常用、最重要的手段。目前临床上用于癫痫的治疗药物包括卡马西平(Carbamazepine)、丙戊酸钠(Depakene)、苯妥英钠(Dilantin)等,但这些药物通常具有着非常明显的副作用,长期服用对身体照成较大的影响,甚至在一小部分用药患者中可能引发自杀想法或行为。中药复方、中成药制剂产品也占有不少市场,但由于中药制方成分复杂,并且植物产地不同、气候多变、收获期不同等原因影响着药物主要成分的含量,因此给中药制方的质量控制照成相当大的难度,这也限制了中药制剂的推广。因此,寻找安全无毒有效并且质量可控的新型抗癫痫药物在癫痫症的预防和治疗中有着极其重要的意义。

[0003] 鹅绒藤属(Cynanchum)是夹竹桃科(Apocynum)的一属,约200种,分布于热带和温带地区,我国约53种,全国均产之。牛皮消(C.auriculatum),又称白首乌,是我国特有植物品种,约95%生长于江苏省滨海县,具有益肝肾、补精血、抗衰老等功效。隔山消(C.wilfordii)产于辽宁、河南、湖北等地,常用以健胃、消饱胀、治噎食等。青阳参(C.otophyllum)产于湖南、广西、贵州、云南、四川和西藏等省区,具有解毒,镇痉,祛风湿等功效,临床用于治风湿骨痛,癫痫及毒蛇咬伤。

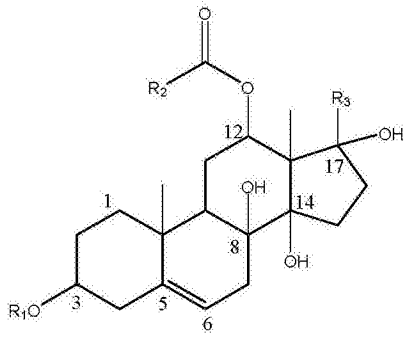
[0004] 青阳参提取物青阳参总苷是临床治疗癫痫的辅助用药。但是青阳参片成分复杂,对质量控制带来一定难度,作用靶标不明,临床主要与苯妥英钠或苯巴比妥等抗癫痫药合用治疗。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供天然抗癫痫活性化合物及其在药物制剂中的用途。

[0006] 本发明的第一方面,提供了一种结构如式A所示的化合物或其在药学上可接受的盐,其特征在于:

[0007]



式 A

[0008] 式A中, R₁为糖基, R₂为取代或未取代的C1~C6烷基或者取代或未取代的C1~C6烯基, R₃为取代或未取代的C1~C6烷基;

[0009] 所述取代是指一个或多个氢原子被选自下组的取代基取代: C1~C10烷基、C3~C10环烷基、C1~C10烷氧基、羟基、羧基、C1~C10羰基、C1~C10酰胺基、C2~C10酯基、C6~C30芳基和氧(=O)。

[0010] 在另一优选例中, 所述糖基由加拿大麻糖基(cymarosyl)、夹竹桃糖基(oleandrosyl)、迪吉糖基(diginosyl)、黄夹糖基(thevetosyl)、洋地黄毒糖基(digitoxosyl)、卡那糖基(canarosyl)、鼠李糖基(rhamnosyl)和葡萄糖基(glucosyl)中的一种或多种组成。

[0011] 在另一优选例中, 所述糖基包括1~6个相同或不同的单糖单元, 优选地, 包括2~4个相同或不同的单糖单元。

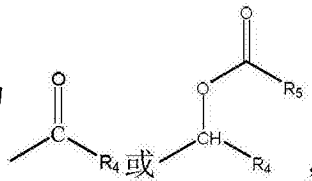
[0012] 在另一优选例中, R₁中不含有糖单元



[0013] 在另一优选例中, 当R₂为羟基苯基时, R₁中糖单元数量不为3。

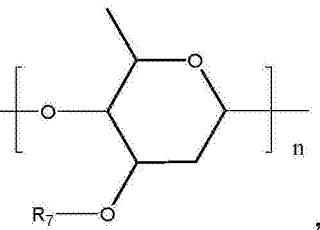
[0014] 在另一优选例中, 所述糖单元数量可以为0、1、2、3或4。

[0015] 在另一优选例中, 所述R₃为



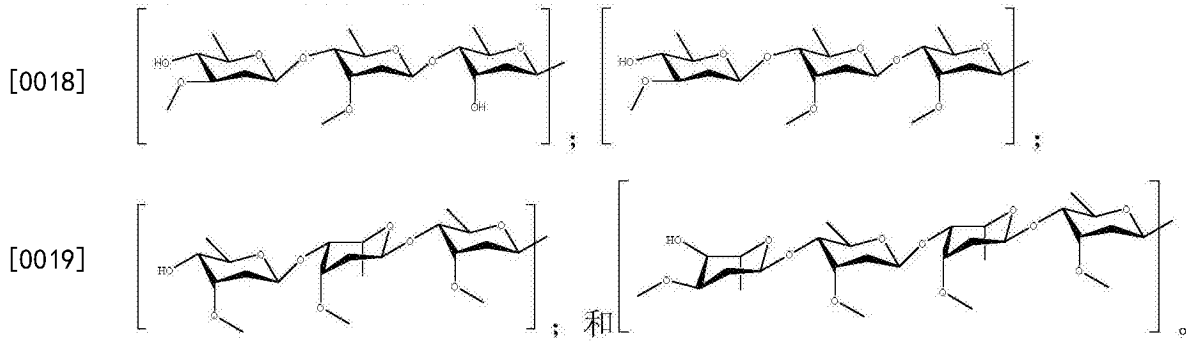
C6烷基; R₅为取代或未取代的C1~C6烷基。

[0016] 在另一优选例中, 所述R₁为 R₈ [糖单元] _n n为1~4的正整数, R₇为H或

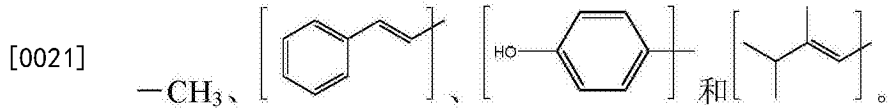


甲基或C1~C10酯基, R₈为H或C2~C10酯基。

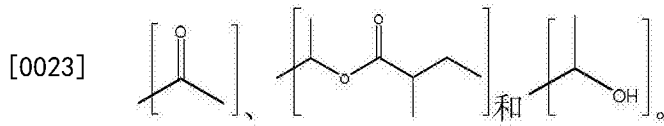
[0017] 在另一优选例中, 所述R₁选自下组:



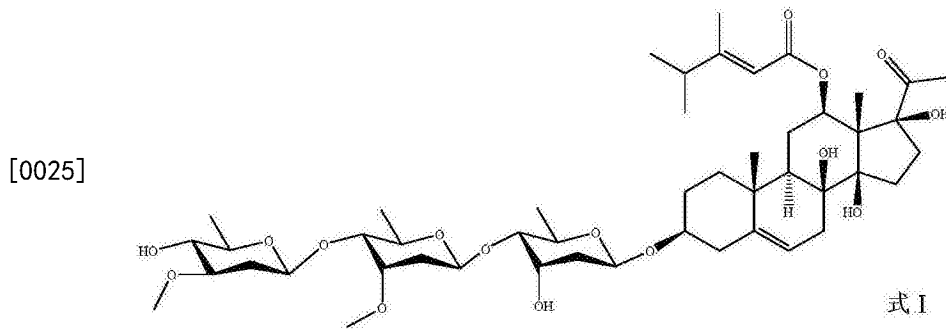
[0020] 在另一优选例中,所述R₂选自下组:



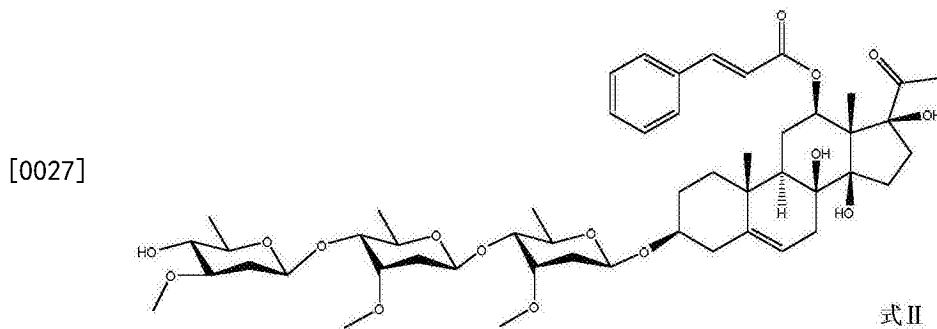
[0022] 在另一优选例中,所述R₃选自下组:



[0024] 在另一优选例中,所述化合物结构如式I所示:

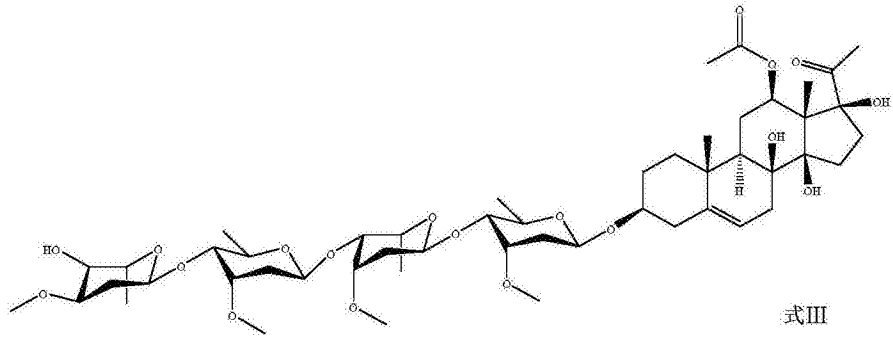


[0026] 在另一优选例中,所述化合物结构如式 II 所示:



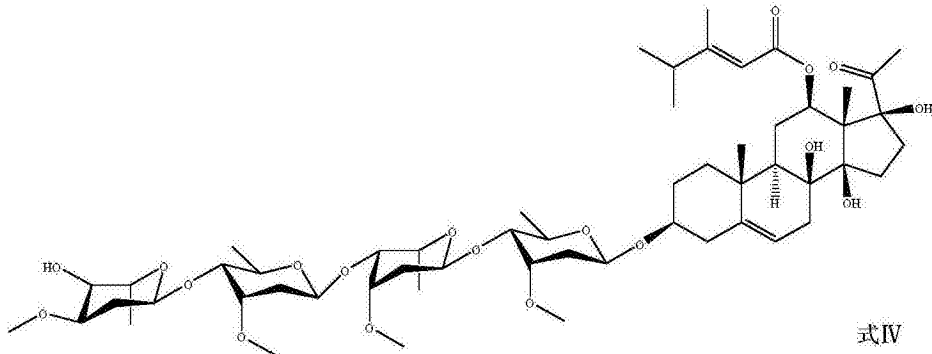
[0028] 在另一优选例中,所述化合物结构如式 III 所示:

[0029]



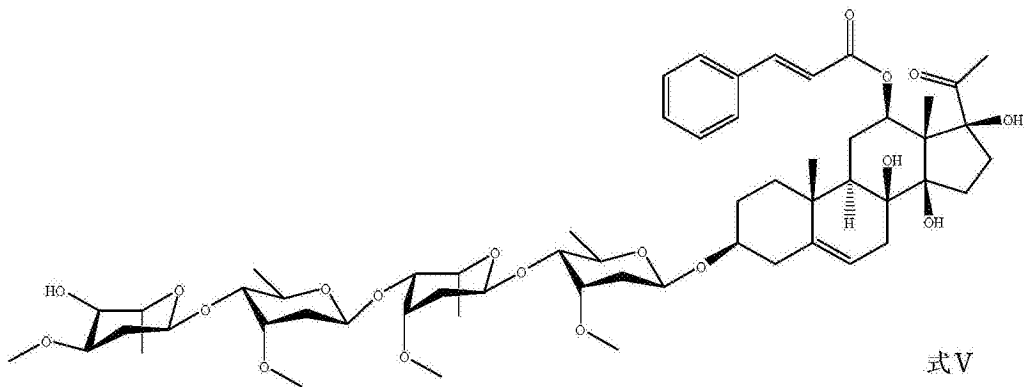
[0030] 在另一优选例中,所述化合物结构如式IV所示:

[0031]



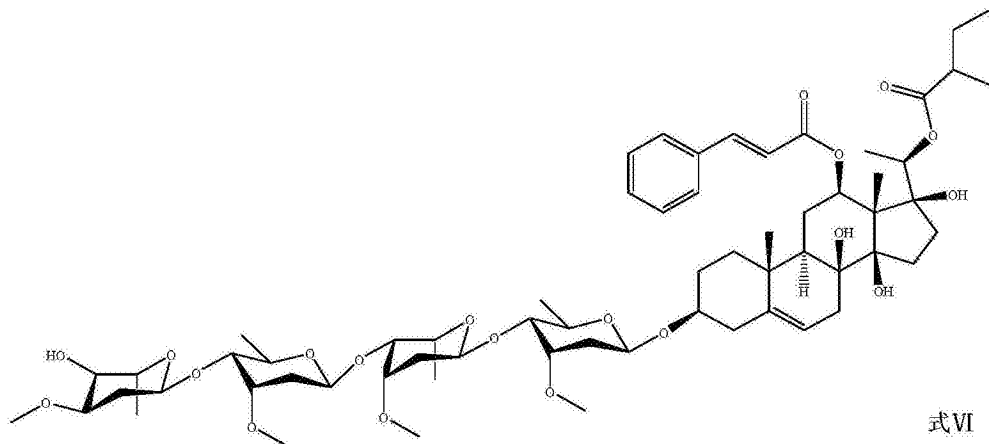
[0032] 在另一优选例中,所述化合物结构如式V所示:

[0033]



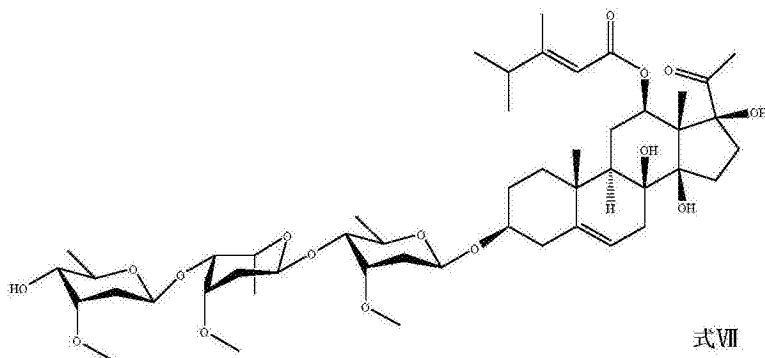
[0034] 在另一优选例中,所述化合物结构如式VI所示:

[0035]



[0036] 在另一优选例中,所述化合物结构如式VII所示:

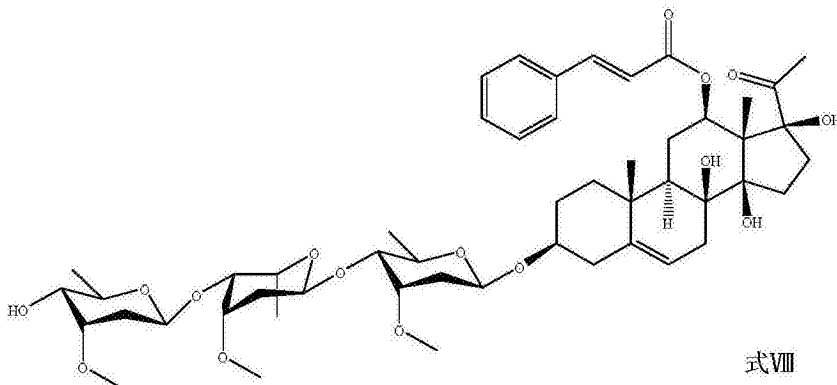
[0037]



式VII

[0038] 在另一优选例中,所述化合物结构如式VIII所示:

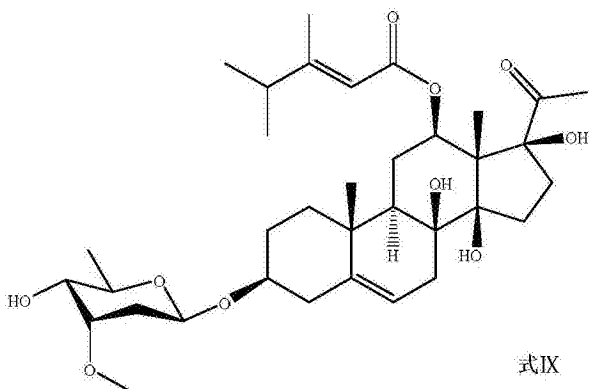
[0039]



式VIII

[0040] 在另一优选例中,所述化合物结构如式IX所示:

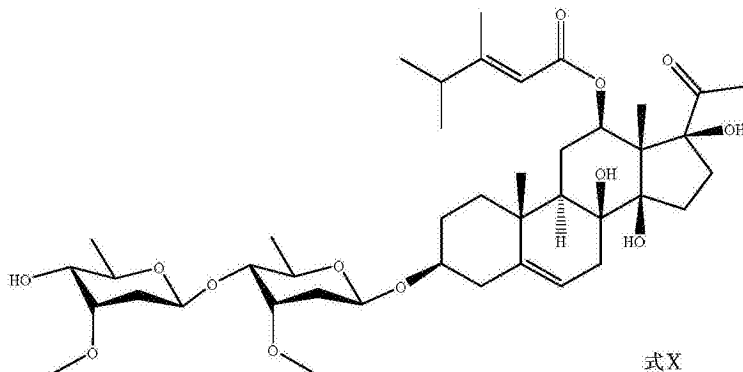
[0041]



式IX

[0042] 在另一优选例中,所述化合物结构如式X所示:

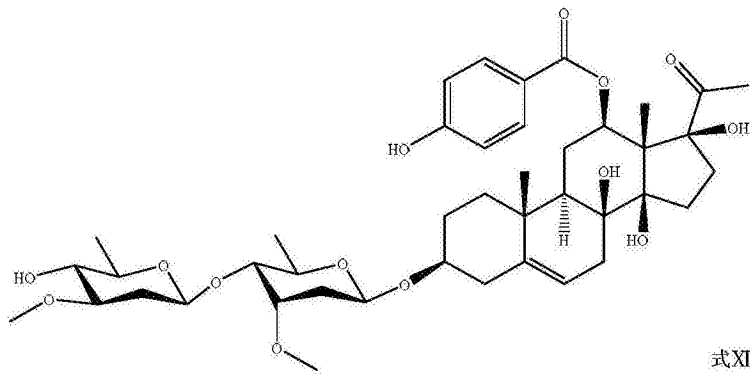
[0043]



式X

[0044] 在另一优选例中,所述化合物结构如式XI所示:

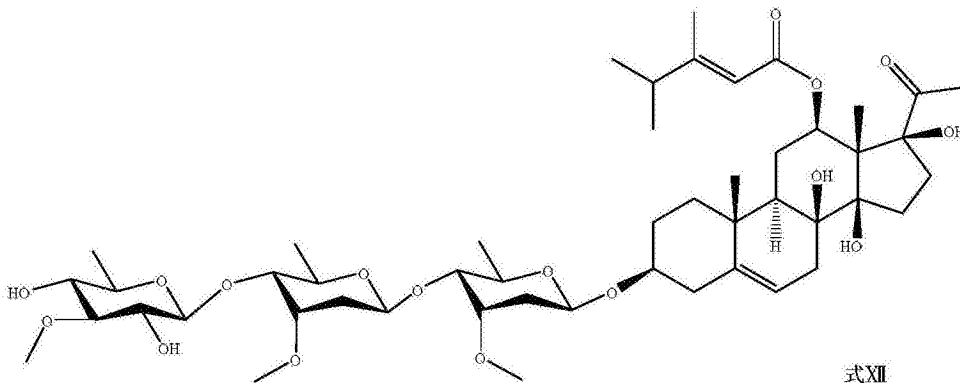
[0045]



式XI

[0046] 在另一优选例中,所述化合物结构如式XII所示:

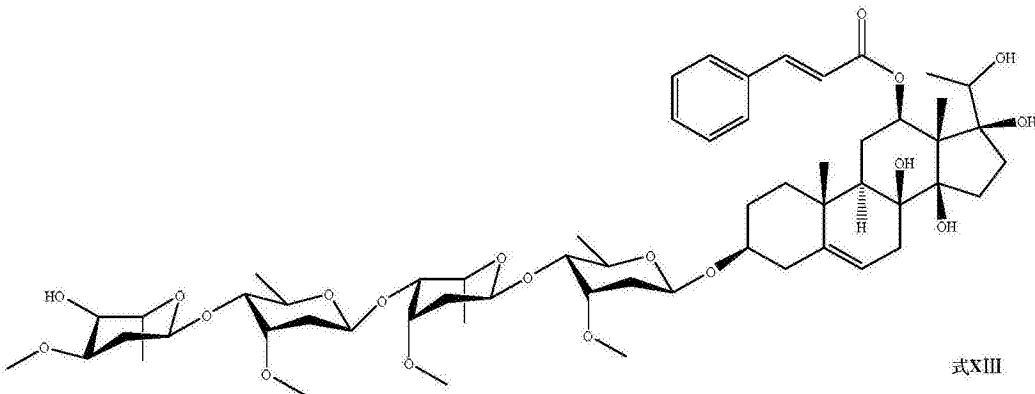
[0047]



式XII

[0048] 在另一优选例中,所述化合物结构如式XIII所示:

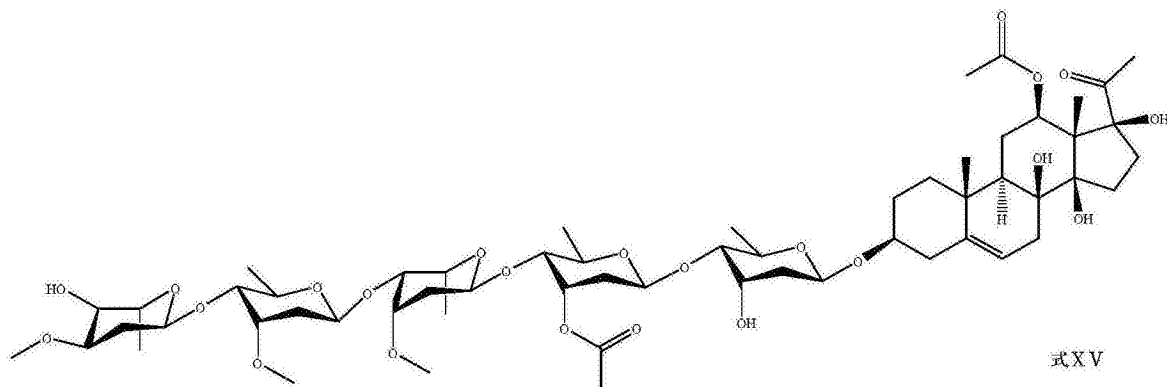
[0049]



式XIII

[0050] 在另一优选例中,所述化合物结构如式XV所示:

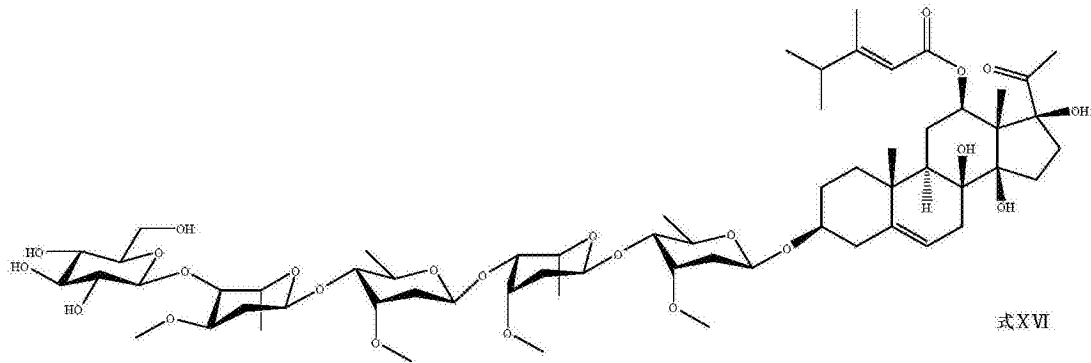
[0051]



式XV

[0052] 在另一优选例中,所述化合物结构如式XVI所示:

[0053]



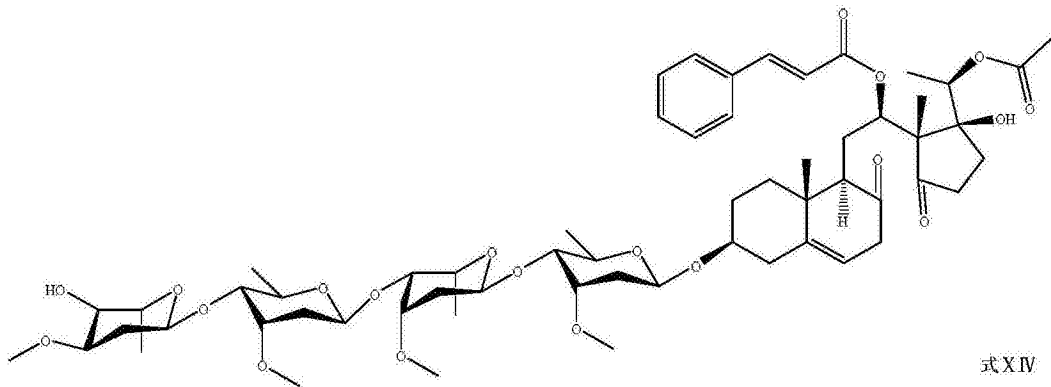
[0054] 本发明的第一方面,提供了一种药物组合物,其包含如本发明第一方面所述的化合物或其药学上可接受的盐,以及任选的药学上可接受的载体或赋形剂。

[0055] 在另一优选例中,所述药物组合物中还包括任选的选自下组的药物:卡马西平(Carbamazepine)、丙戊酸钠(Depakene)和苯妥英钠(Dilantin)。

[0056] 本发明的第三方面,提供了如本发明第一方面所述的化合物或其药学上可接受的盐、wilfoside G或其药学上可以接受的盐、或者如本发明第二方面所述的药物组合物在制备治疗或预防癫痫病药物中的应用

[0057] 在另一优选例中,所述wilfoside G结构如式XIV所示:

[0058]



[0059] 本发明的第四方面,提供了夹竹桃科鹅绒藤属(Cynanchum)植物耳叶牛皮消(C.auriculatum Royle ex Wight)或隔山消(C.wilfordii Hemsl.)或其提取物在制备治疗或预防癫痫病药物中的应用。

[0060] 本发明的第五方面,提供了一种植物总苷或含所述植物总苷的中药提取物,所述植物总苷或所述提取物中含有抗癫痫活性成分,并且所述提取物中所述抗癫痫活性成分的含量C1满足下式B:

[0061] $C1 / (C1 + C2) \geq 50\%$ 式B

[0062] 式B中,C1为抗癫痫活性成分的含量;C2为促进癫痫活性成分的含量。

[0063] 在另一优选例中, $C1 / (C1 + C2) \geq 80\%$;更佳地, $\geq 90\%$;最佳地, $\geq 95\%$,如96%、97%、98%、99%、99.5%。

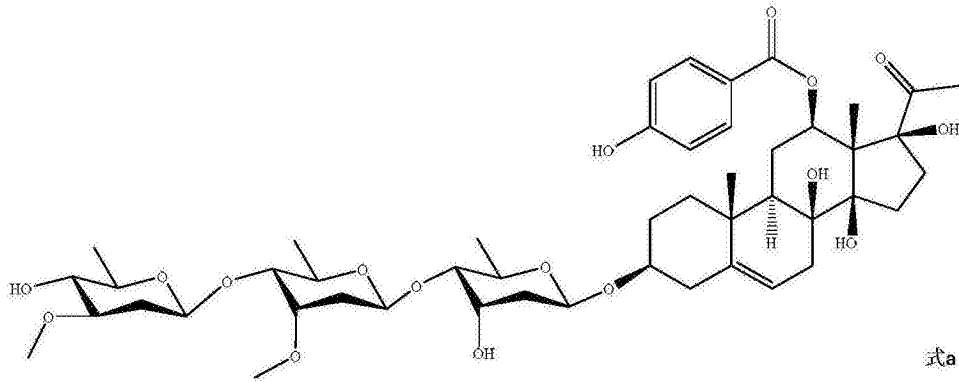
[0064] 在另一优选例中,所述的抗癫痫活性成分选自下组中的一种或多种:

[0065] 式I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII、IX、X、XI、XII、XIII、XIV、XV、XVI所示的化合物。

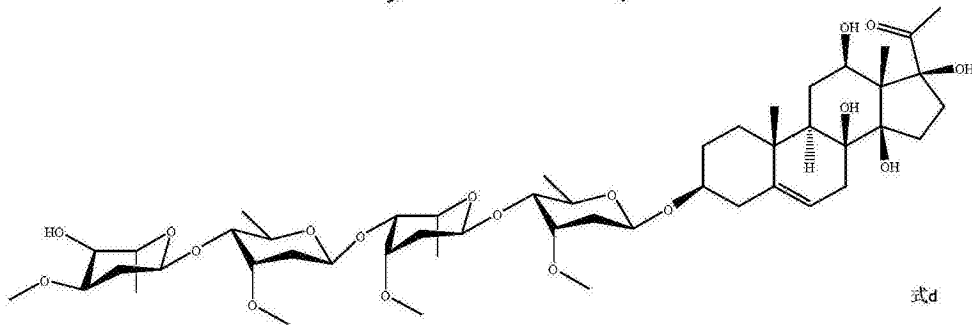
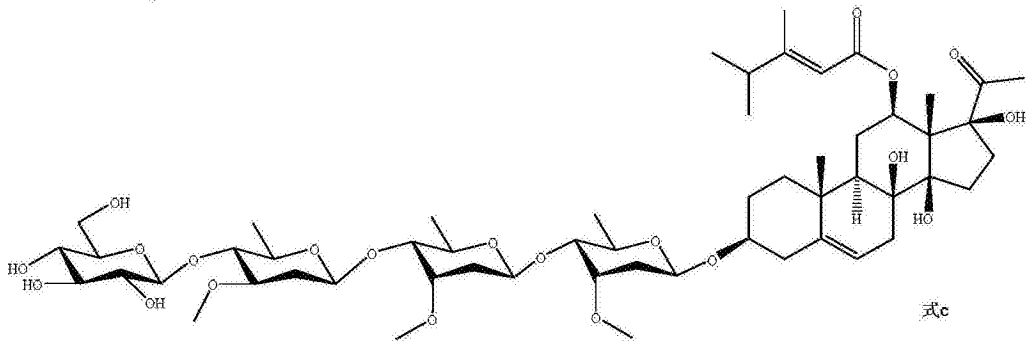
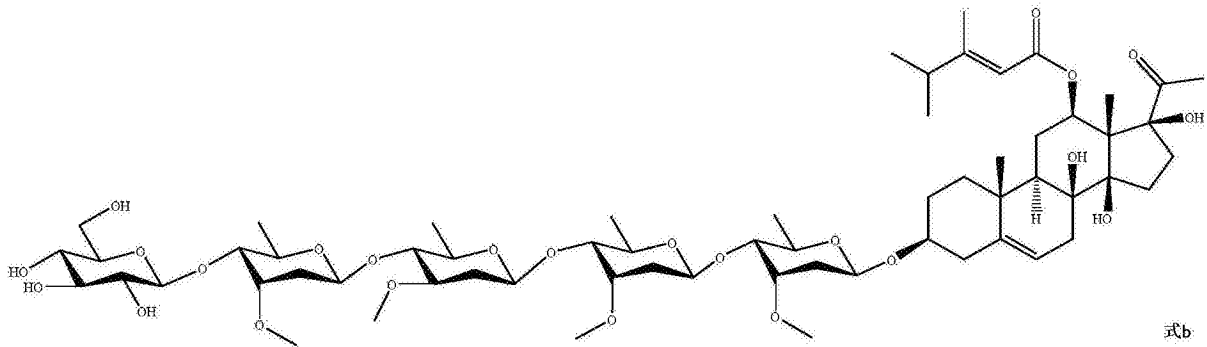
[0066] 在另一优选例中,所述的促进癫痫活性成分选自下组中的一种或多种:

[0067] 式a、b、c和d所示的化合物

[0068]



[0069]



[0070] 在另一优选例中,所述植物包括:耳叶牛皮消(*C. auriculatum* Royle ex Wight)、隔山消(*C. wilfordii* Hemsl.)。

[0071] 在另一优选例中,所述提取物的制备方法如下:

[0072] 将药材以95%乙醇浸渍提取三次,减压浓缩提取液得到乙醇浸膏,加水混悬,以乙酸乙酯萃取,回收乙酸乙酯,将乙酸乙酯浸膏溶于70%乙醇溶液中,过滤或离心去除不溶物后,进行大孔树脂柱色谱分离,收集75%乙醇洗脱流分,浓缩,即得。

[0073] 本发明的第六方面,提供了一种药物组合物,包含如本发明第五方面所述的中药提取物,以及任选的药学上可接受的载体或赋形剂。

- [0074] 本发明的第七方面,提供了一种对抗癫痫产品进行质量控制方法,包括步骤:
- [0075] (a) 测定所述产品或其原料中促癫痫活性成分的含量C2,并与预定值C0进行比较;
- [0076] (b) 当所述含量C2高于C0时,则判定所述产品的质量不合格;当所述含量C2低于或等于C0时,则判定所述产品的质量合格。
- [0077] 在另一优选例中,所述的促癫痫活性成分选自下组中的一种或多种:式a、b、c和d所示的化合物。
- [0078] 在另一优选例中,所述抗癫痫产品包括含青阳参提取物的抗癫痫药品。
- [0079] 在另一优选例中,所述C2为促癫痫活性成分在所述产品或原料中的重量百分比。
- [0080] 在另一优选例中,所述 $C0 \leq 10\%$ (w/w),优选地,所述 $C0 \leq 5\%$ (w/w),更优选地,所述 $C0 \leq 1\%$,所述C0可以为0.01%、0.05%、0.1%、0.2%、0.5%、1.0%、5%、10%。
- [0081] 本发明的第八方面,提供了选自下组的化合物在制备药剂或试剂中的用途,所述药剂或试剂用于构建动物癫痫模型:式a、b、c和d所示的化合物。
- [0082] 应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

附图说明

- [0083] 图1A显示了cynawilfoside A各浓度组与癫痫模型组的斑马鱼快速运动轨迹;图1B显示了根据斑马鱼快速运动距离平均值 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 绘制的柱形图。
- [0084] 图2A显示了wilfoside C1N各浓度组与癫痫模型组的斑马鱼快速运动轨迹;图2B显示了根据斑马鱼快速运动距离平均值 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 绘制的柱形图。
- [0085] 图3A显示了wilfoside K1N各浓度组与癫痫模型组的斑马鱼快速运动轨迹;图3B显示了根据斑马鱼快速运动距离平均值 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 绘制的柱形图。
- [0086] 图4A显示了taiwanoside C各浓度组与癫痫模型组的斑马鱼快速运动轨迹;图4B显示了根据斑马鱼快速运动距离平均值 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 绘制的柱形图。
- [0087] 图5A显示了青阳参昔己各浓度组与癫痫模型组的斑马鱼快速运动轨迹;图5B显示了根据斑马鱼快速运动距离平均值 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 绘制的柱形图。
- [0088] 图6A显示了罗素他命3-0- β -D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1 \rightarrow 4)- β -D-加拿大麻糖吡喃糖基-(1 \rightarrow 4)- β -D-加拿大麻糖[rostratamine 3-0- β -D-oleandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside]各浓度组与癫痫模型组的斑马鱼快速运动轨迹;图6B显示了根据斑马鱼快速运动距离平均值 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 绘制的柱形图。
- [0089] 图7A显示了wilfoside C3N各浓度组与癫痫模型组的斑马鱼快速运动轨迹;图7B显示了根据斑马鱼快速运动距离平均值 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 绘制的柱形图。
- [0090] 图8A显示了cynauricoside A各浓度组与癫痫模型组的斑马鱼快速运动轨迹;图8B显示了根据斑马鱼快速运动距离平均值 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 绘制的柱形图。
- [0091] 图9A显示了耳叶牛皮消活性部位各浓度组与癫痫模型组的斑马鱼快速运动轨迹;图9B显示了根据斑马鱼快速运动距离平均值 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 绘制的柱形图。
- [0092] 图10显示了青阳参昔元(qingyangshengenin)、告达庭(caudatin)、青阳参昔甲(otophylloside A)、青阳参昔丙(otophylloside C)、青阳参昔己(otophylloside F,式

I)、青阳参昔M (otophylloside M, 式b)、告达庭3-0-β-D-加拿大麻糖 [caudatin3-0-β-D-cymaropyranoside, 式IX]、青阳参昔元3-0-β-D-加拿大麻糖吡喃基-(1→4)-β-D-洋地黄毒糖 [qinyangshengenin 3-0-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-digitoxopyranoside, 式XVII]、告达庭3-0-β-D-加拿大麻糖吡喃基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖 [caudatin3-0-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside, 式X]、罗素他命3-0-β-D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖 [rostratamine3-0-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside, 式II]、罗素他命3-0-α-L-加拿大麻糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃基-(1→4)-α-L-迪吉糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖 [rostratamine3-0-α-L-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-α-L-diginopyranosyl-β-D-cymaropyranoside, 式XIII]、青阳参昔元3-0-β-D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃基-(1→4)-β-D-洋地黄毒糖 [qinyangshengenin3-0-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-digitoxopyranoside, 式a]、告达庭3-0-β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-夹竹桃糖吡喃基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖 [caudatin3-0-β-D-glucopyranoside-(1→4)-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside, 式c]、告达庭3-0-β-D-黄夹糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖 [caudatin 3-0-β-D-thevetopyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside, 式XII]、青阳参昔元3-0-β-D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖 [qinyangshengenin3-0-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside, 式XI]、taiwanoside C (式III)、wilfoside K1N (式V)、cynawilfoside A (式VI)、wilfoside M1N (式d)、cynauricoside E (式XV)、cynauricuoside A (式XVI)、wilfoside G (式XIV) 等化合物在最大无毒剂量下对PTZ诱导的斑马鱼影响。

具体实施方式

[0093] 本发明人通过广泛而深入的研究,意外地发现,青阳参中的不同单体化合物具有具有截然相反的促癫痫和抗癫痫的作用。具体地,本发明人从夹竹桃科鹅绒藤属 (Cynanchum) 植物牛皮消 (C.auriculatum Royle ex Wight) 及隔山消 (C.wilfordii Hemsl.) 中提取单一组分,并通过实验证实了其抗癫痫活性。

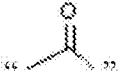
[0094] 术语

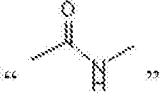
[0095] 如本文所用,术语“取代”指基团上的一个或多个氢原子被选自下组的取代基取代:C1~C10烷基、C3~C10环烷基、C1~C10烷氧基、羟基、羧基(-COOH)、C1~C10羰基、C1~C10酰胺基、C2~C20酯基、C6~C30芳基、氟基和硫醚基。

[0096] 术语“C1~C10烷基”指具有1~10个碳原子的直链或支链烷基,例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、或类似基团。

[0097] 术语“C3~C10环烷基”指具有3~10个碳原子的环烷基,例如环丙基、环丁基、环戊基、环庚基、或类似基团。

[0098] 术语“C1~C10烷氧基”指具有1-10个碳原子的直链或支链烷氧基,例如甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、或类似基团。

[0099] 术语“羰基”指具有  的基团；例如“C1~10羰基”是指具有1~10个碳原子的羰基。

[0100] 术语“酰胺基”指具有  的基团；例如“C1~10酰胺基”是指具有1~10个碳原子的酰胺基。

[0101] 术语“C2~C20酯基”指具有烷基-COO-结构或者具有-COO-烷基结构，其中烷基可以为直链或支链的。优选为具有C1~C10烷基-COO-结构的基团，例如CH₃COO-、C₂H₅COO-、C₃H₈COO-、(CH₃)₂CHC₂H₅COO-、n-C₄H₉COO-、t-C₄H₉COO-，或类似基团。或者具有-COO-C1~C19烷基结构，例如-COOCH₃、-COOC₂H₅、-COOC₃H₈或-COO-(CH₂)_n-CH₃，n为0~18的整数。

[0102] 术语“芳基”，优选为具有6~30个碳原子，是指在环内部分具有6~12个碳原子的单环或双环芳香性基团，例如：苯基、联苯基、萘基、或类似基团，其中的每个碳原子均可以被任意取代。优选具有1~3个取代基，所述取代基选自：卤素、C1~C10烷基、氰基、OH、硝基、C3~C10环烷基、C1~C10烷氧基、氨基。

[0103] 术语“硫醚基”，指具有-烷基-S-烷基结构的基团。

[0104] 术语“卤代化合物”，指有机化合物中的至少一个H原子被卤素取代后形成的化合物。

[0105] 术语“卤素”是指氟、氯、溴、碘。术语“卤代的”是指氟代的、氯代的、溴代的、碘代的。

[0106] 本发明的各个基团可以未取代的或取代的，所述取代的是指被选自下组的取代基所取代：羟基、卤素、C1~C6烷基、卤代的C1~C6烷基、C1~C6烷氧基、卤代的C1~C6烷氧基、氰基、叔丁氨甲酰基、-O-(CH₂)_n-O-；其中，n为1~3之间的整数。所述取代基可取代在各基团的各个位置上。

[0107] 本发明的实施方式中，涉及青阳参苷己(otophylloside F)、rostratamine 3-O-triglycoside(rostratamine 3-O-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside)、taiwanoside C、wilfoside C1N、wilfoside C3N、wilfoside K1N、cynauricoside A、cynawilfoside A等单体化合物在制备治疗或预防癫痫病药物中的应用以及夹竹桃科鹅绒藤属(Cynanchum)植物牛皮消(C.auriculatum Royle ex Wight)、隔山消(C.wilfordii Hemsl.)提取物在制备或预防癫痫病药物中的应用。并且这些单体化合物的抗癫痫效果均优于青阳参总苷片的中主成分青阳参苷甲(otophylloside A)、青阳参皂苷元(qingyangshengenin)以及告达庭(caudatin)。

[0108] 有关青阳参苷己(otophylloside F)、罗素他命3-O-β-D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖[rostratamine 3-O-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside]、taiwanoside C、wilfoside C1N、wilfoside C3N、wilfoside K1N、cynauricoside A、cynauricoside A以及牛皮消、隔山消提取物的抗癫痫作用在相关产品中的应用目前尚未见文献报道，并且cynawilfoside A为首次从天然产物中分离鉴定的化合物。

[0109] 本发明中对青阳参中单体化合物抗癫痫作用进行了深入研究，意外地发现青阳参

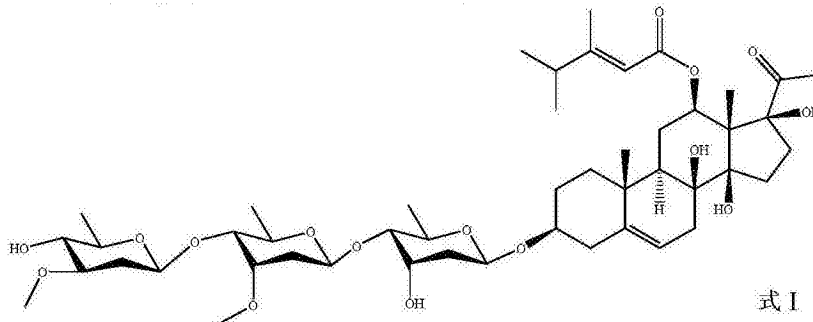
中的不同单体化合物具有具有截然相反的促癫痫和抗癫痫的作用。青阳参中主成分之一的青阳参昔己 (otophylloside F) 以及罗素他命3-0-β-D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖 [rostratamine3-0-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside] 在斑马鱼模型中具有显著的对抗戊四唑引起的阵挛性惊厥的作用;而作为青阳参的主成分之一的青阳参昔元3-0-β-D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-洋地黄毒糖 [qinyangshengenin3-0-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-digitoxopyranoside] 以及青阳参昔M (otophylloside M) 却有显著的促进惊厥作用。

[0110] 本发明提供了具有显著抑制癫痫作用的化合物,这些化合物的抗癫痫或抗惊厥的作用均没有相关报道,cynawilfoside A是首次分离并且鉴定的新天然产物,由于这些化合物在生药中含量较大,提取、制剂相对容易,且质量可控,因此在开发抗癫痫药物中具有较大的发展前景。

[0111] 本发明通过动物体内试验,发现源于夹竹桃科鹅绒藤属 (Cynanchum) 植物牛皮消 (C.auriculatum) 及隔山消 (C.wilfordii) 的提取物具有一定的抗癫痫活性,以及单体化合物青阳参昔己 (otophylloside F)、罗素他命3-0-β-D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖 [rostratamine3-0-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside]、taiwanoside C、wilfoside C1N、wilfoside C3N、wilfoside K1N、cynauricoside A、cynawilfoside A等具有显著的抗癫痫活性,其结构分别由如下式I~式XVI表示:

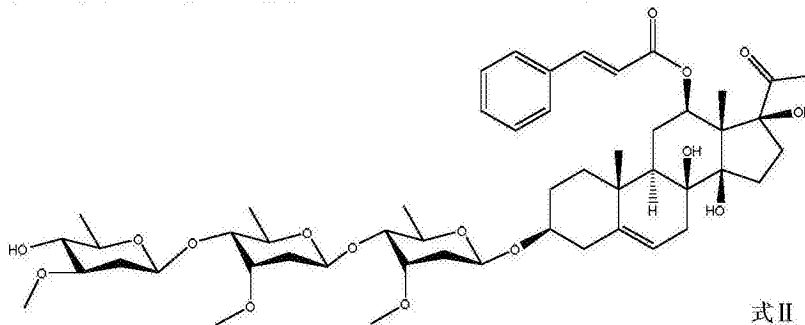
[0112] 化合物青阳参昔己 (otophylloside F,化合物I) 的结构如式I所示:

[0113]



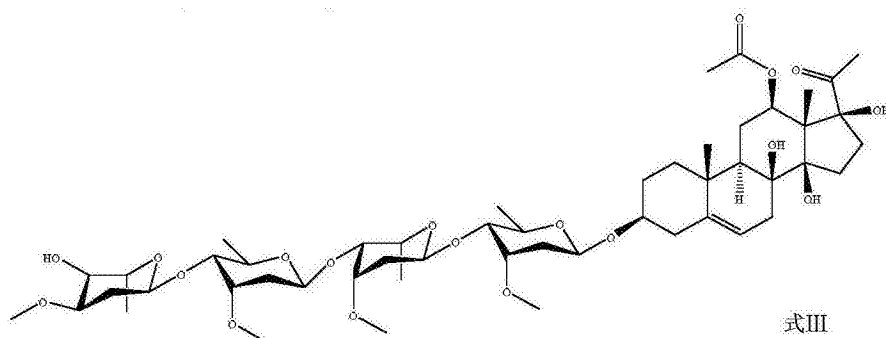
[0114] 化合物罗素他命3-0-β-D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖 [rostratamine 3-0-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside,化合物II] 的结构如式II所示:

[0115]



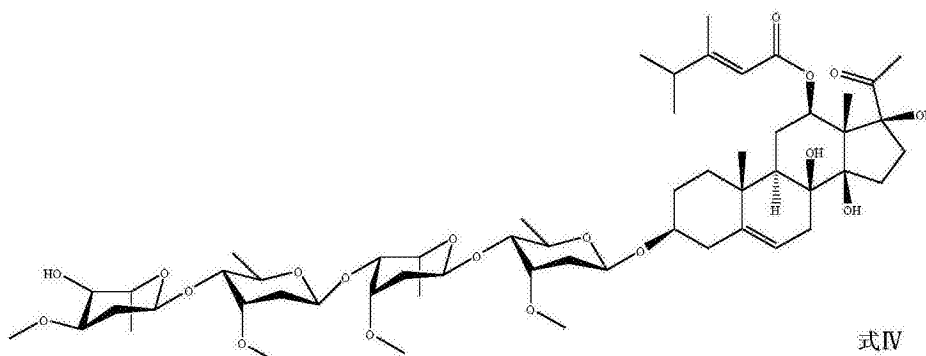
[0116] 化合物taiwanoside C (化合物III) 的结构如式III所示:

[0117]



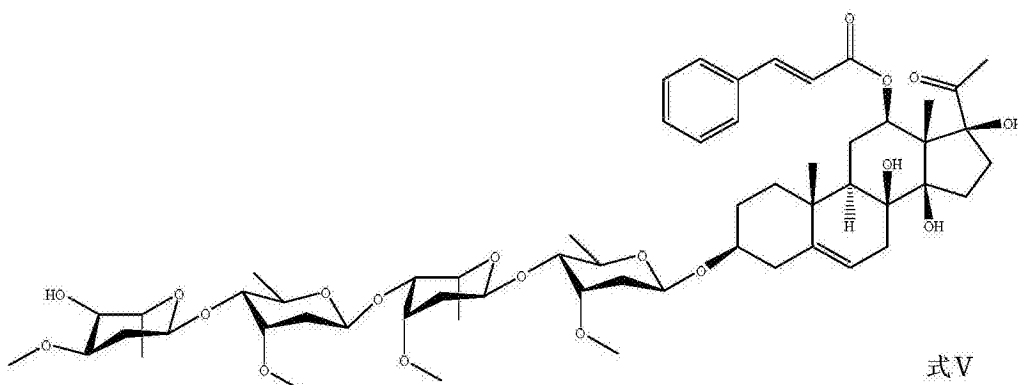
[0118] 化合物wilfoside C1N(化合物IV)的结构如式IV所示:

[0119]



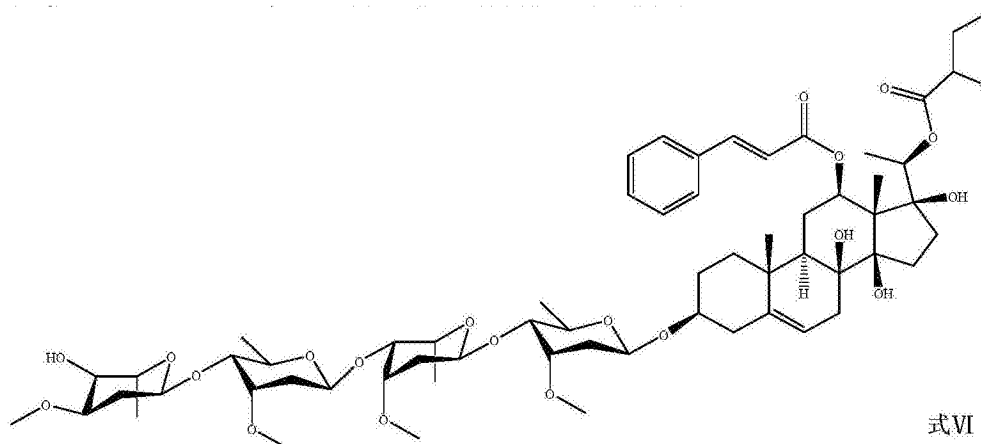
[0120] 化合物wilfoside K1N(化合物V)的结构如式V所示:

[0121]



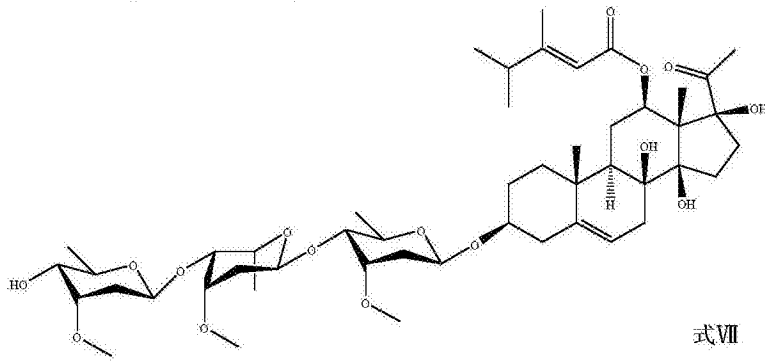
[0122] 化合物cynawilfoside A(化合物VI)的结构如式VI所示:

[0123]



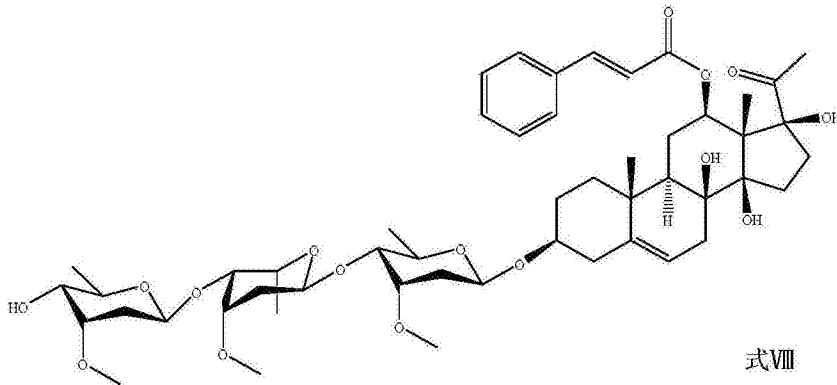
[0124] 化合物wilfoside C3N(化合物VII)的结构如式VII所示:

[0125]



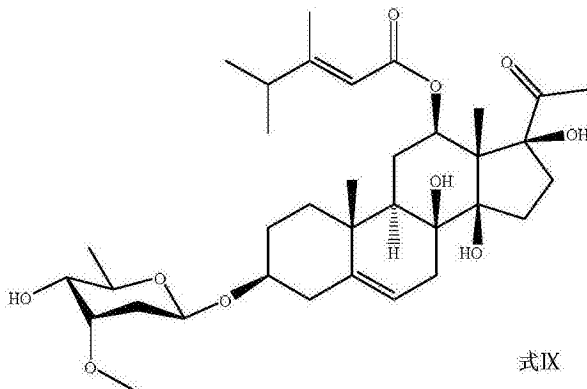
[0126] 化合物cynauricoside A(化合物VIII)的结构如式VIII所示:

[0127]



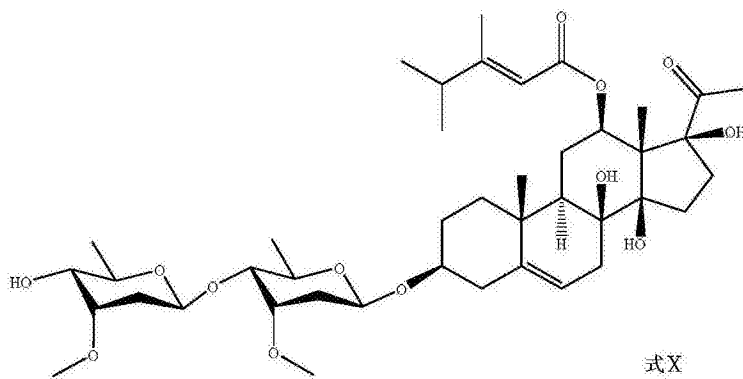
[0128] 化合物IX:

[0129]



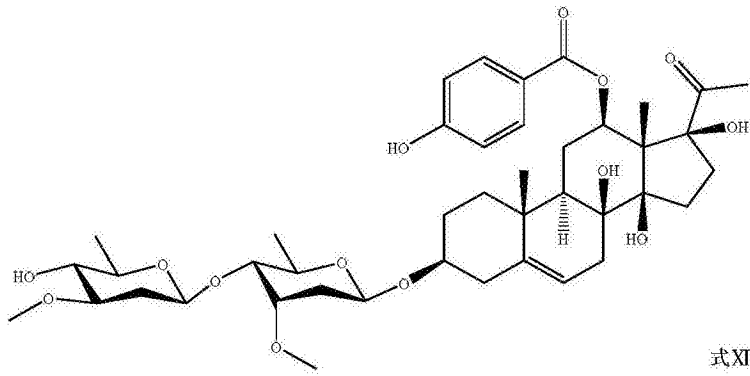
[0130] 化合物X:

[0131]



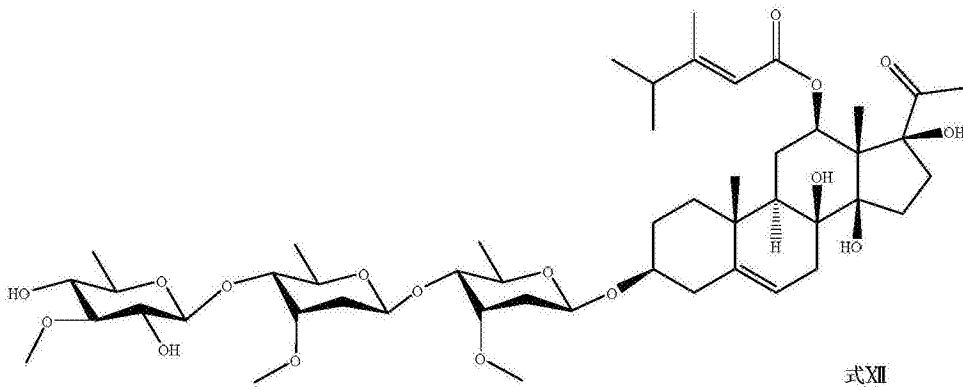
[0132] 化合物XI:

[0133]



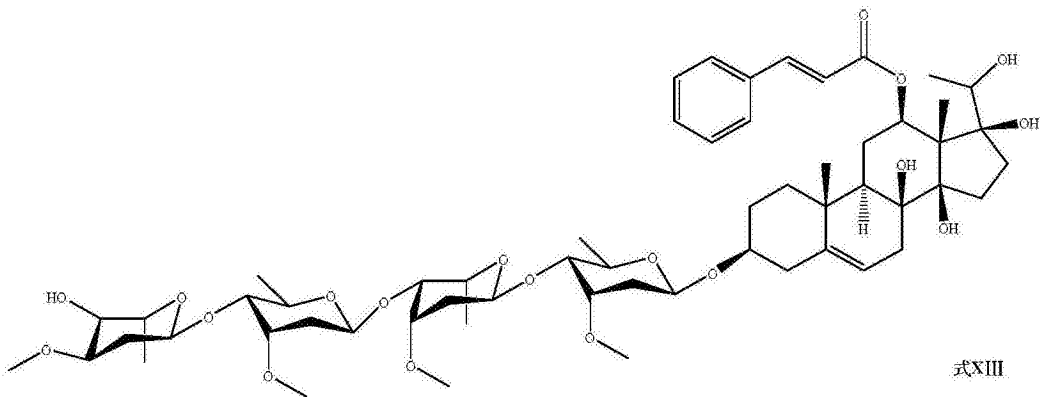
[0134] 化合物XII:

[0135]



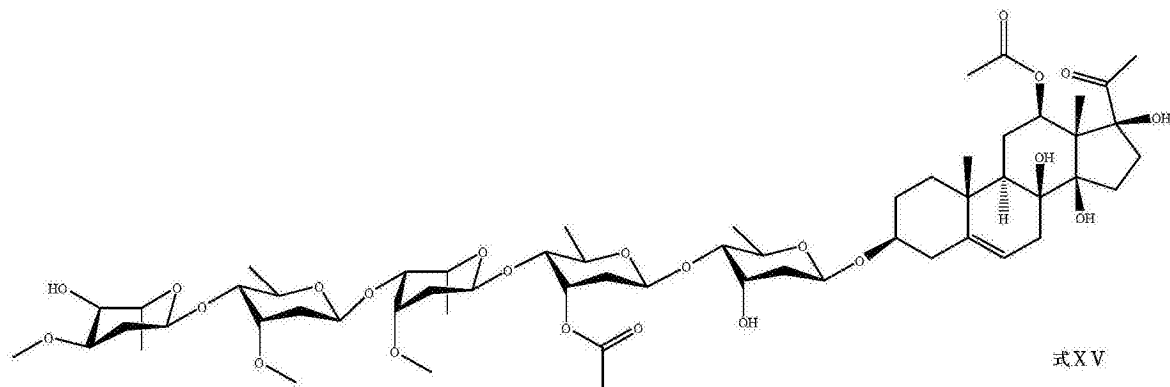
[0136] 化合物XIII:

[0137]



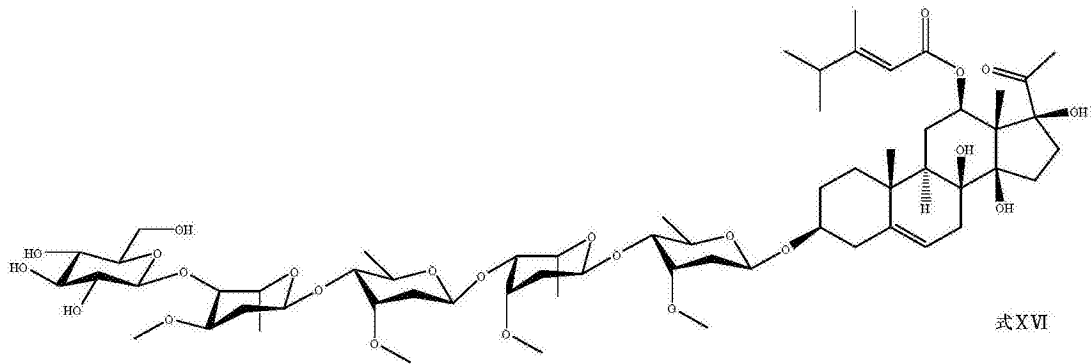
[0138] 化合物XV:

[0139]



[0140] 化合物XVI:

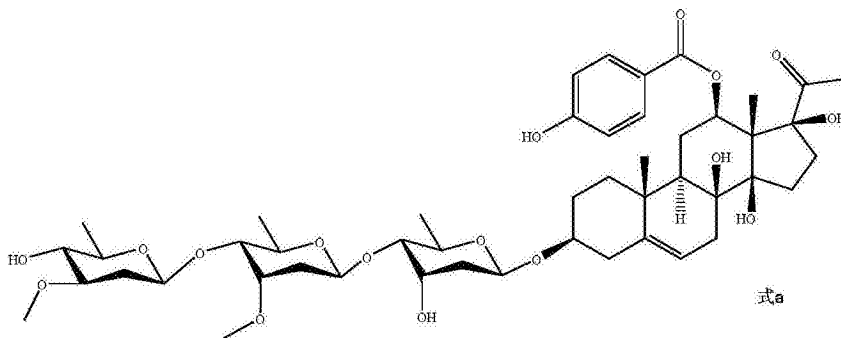
[0141]



[0142] 而源于夹竹桃科鹅绒藤属 (*Cynanchum*) 的部分单体化合物具有显著的促癫痫活性。

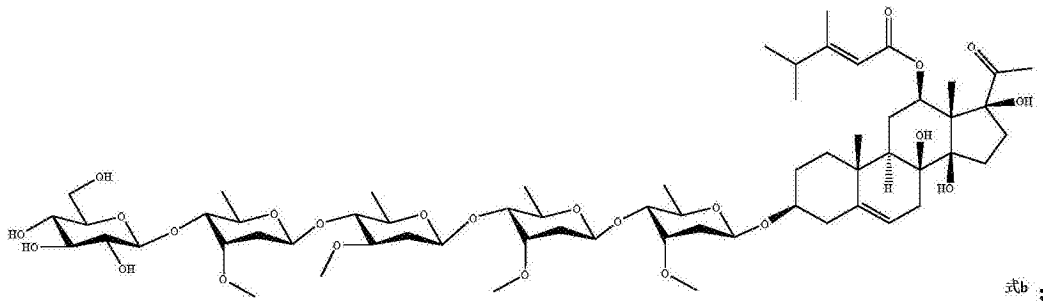
[0143] 青阳参苷元3-O-β-D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-洋地黄毒糖(化合物a)的结构式如式a所示:

[0144]



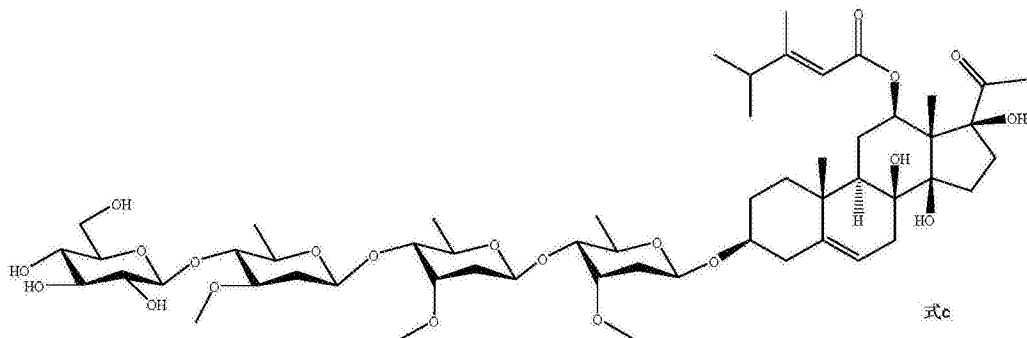
[0145] 青阳参苷M(化合物b)的结构式如式b所示:

[0146]



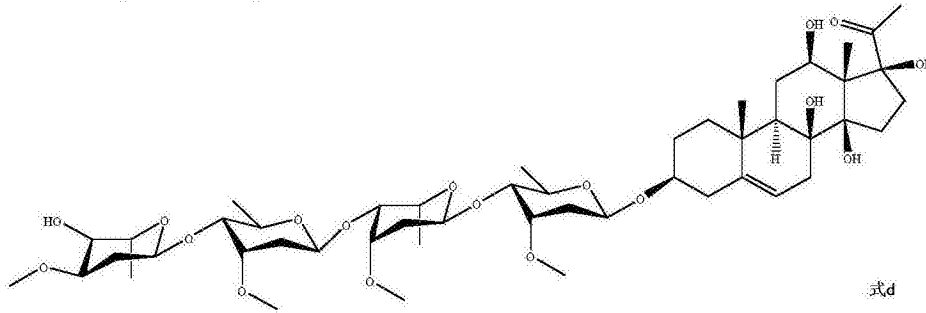
[0147] 告达庭3-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖(化合物c)的结构式如式c所示:

[0148]



[0149] wilfoside M1N(化合物d)的结构式如式d所示:

[0150]



[0151] 药物组合物和施用方法

[0152] 本发明化合物具有优良的抗癫痫效果。本发明化合物可施用于哺乳动物(如人),可以口服、直肠、肠胃外(静脉内、肌肉内或皮下)、局部等方式给药。所述化合物可以单独给药,或者与其他药学上可接受的化合物联合给药。需要指出,本发明的化合物可以混合给药。

[0153] 用于口服给药的固体剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在这些固体剂型中,活性化合物与至少一种常规惰性赋形剂(或载体)混合,如柠檬酸钠或磷酸二钙,或与下述成分混合:(a) 填料或增容剂,例如,淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅酸;(b) 粘合剂,例如,羟甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯基吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶;(c) 保湿剂,例如,甘油;(d) 崩解剂,例如,琼脂、碳酸钙、马铃薯淀粉或木薯淀粉、藻酸、某些复合硅酸盐、和碳酸钠;(e) 缓溶剂,例如石蜡;(f) 吸收加速剂,例如,季胺化合物;(g) 润湿剂,例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯;(h) 吸附剂,例如,高岭土;和(i) 润滑剂,例如,滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠,或其混合物。胶囊剂、片剂和丸剂中,剂型也可包含缓冲剂。

[0154] 固体剂型如片剂、糖丸、胶囊剂、丸剂和颗粒剂可采用包衣和壳材制备,如肠衣和其它本领域公知的材料。它们可包含不透明剂,并且,这种组合中活性化合物或化合物的释放可以延迟的方式在消化道内的某一部分中释放。可采用的包埋组分的实例是聚合物物质和蜡类物质。必要时,活性化合物也可与上述赋形剂中的一种或多种形成微胶囊形式。

[0155] 用于口服给药的液体剂型包括药学上可接受的乳液、溶液、悬浮液、糖浆或酞剂。除了活性化合物外,液体剂型可包含本领域中常规采用的惰性稀释剂,如水或其它溶剂,增溶剂和乳化剂,例知,乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺以及油,特别是棉籽油、花生油、玉米胚油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油或这些物质的混合物等。

[0156] 除了这些惰性稀释剂外,组合物也可包含助剂,如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂和香料。

[0157] 除了活性化合物外,悬浮液可包含悬浮剂,例如,乙氧基化异十八烷醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、甲醇铝和琼脂或这些物质的混合物等。

[0158] 用于肠胃外注射的组合物可包含生理上可接受的无菌含水或无水溶液、分散液、悬浮液或乳液,和用于重新溶解成无菌的可注射溶液或分散液的无菌粉末。适宜的含水和非水载体、稀释剂、溶剂或赋形剂包括水、乙醇、多元醇及其适宜的混合物。

[0159] 用于局部给药的本发明化合物的剂型包括软膏剂、散剂、贴剂、喷射剂和吸入剂。活性成分在无菌条件下与生理上可接受的载体及任何防腐剂、缓冲剂,或必要时可能需要

的推进剂一起混合。

[0160] 本发明化合物可以单独给药,或者与其他活性成分(如其它临床上的抗癫痫药物)联合给药。

[0161] 使用药物组合物时,是将安全有效量的本发明化合物适用于需要治疗的哺乳动物(如人),其中施用剂量为药理学上认为的有效给药剂量,对于60 kg体重的个体而言,日给药剂量通常为1~1000mg,优选20~500mg。当然,具体剂量还应考虑给药途径、个体健康状况等因素,这些都是熟练医师技能范围内的。

[0162] 本发明的主要优点在于:

[0163] (1)首次对夹竹桃科鹅绒藤属(*Cynanchum*)植物牛皮消(*C. auriculatum*)及隔山消(*C. wilfordii*)的单组份提取物的抗癫痫活性进行了评价,结果发现,部分提取物具有抗癫痫功能,而部分提取物具有促癫痫作用;

[0164] (2)所涉及的具有抗癫痫活性的单体化合物的抗癫痫活性均优于临床用药青阳参片的中主成分青阳参苷甲、青阳参苷元以及告达庭;

[0165] (3)所涉及的具有抗癫痫活性的化合物在植物中含量大,来源广,具有极大的研究价值及开发前景;

[0166] (4)化合物cynawilfoside A为首次分离并鉴定的新化合物,并且其抗癫痫活性优于阳性药苯妥英钠;

[0167] (5)从中药耳叶牛皮消中获得富含wilfoside C1N、wilfoside C3N、wilfoside K1N、cynauricoside A等活性化合物的有效部位的步骤简单,便于生产应用。

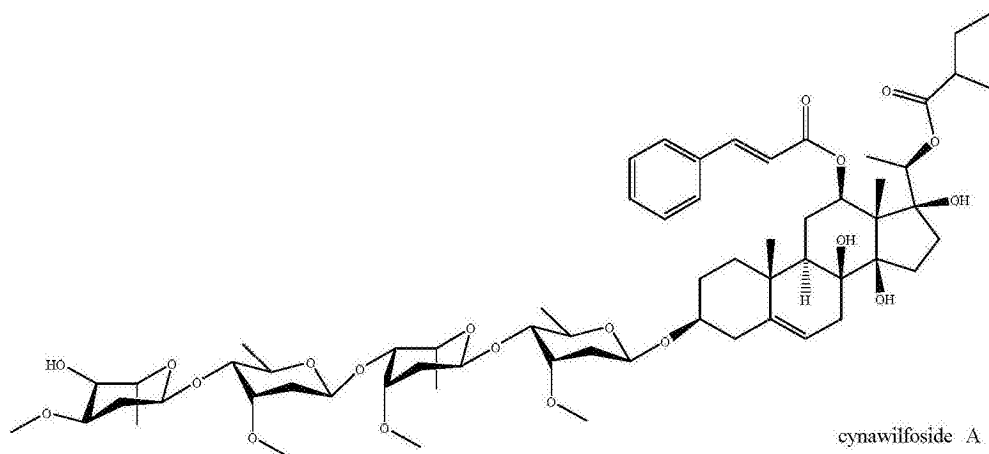
[0168] 下面结合具体实施例,进一步陈述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。除非另外说明,否则百分比和份数按重量计算。

[0169] 实施例1

[0170] 化合物cynawilfoside A(式VI)体内抗癫痫作用的评价:

[0171] 化合物cynawilfoside A的制备方法:新鲜的隔山消块根10kg,去皮切片干燥得2.7kg干品,粉碎用95%乙醇渗滤提取三次,每次2~3天,合并提取液,减压浓缩得到隔山消的醇浸膏,将提取物以水混悬,乙酸乙酯萃取,得乙酸乙酯萃取物,以100目硅胶拌样,用硅胶柱层析(200-300目硅胶)分离,以氯仿-甲醇(10:1→5:1)梯度洗脱,得到组分Fr1-Fr9。Fr6进一步用石油醚-丙酮和制备HPLC反复纯化得到纯化合物cynawilfoside A(1.4g)。

[0172]



[0173] 化合物cynawilfoside A的理化数据如下:白色无定形粉末,易溶于甲醇,乙醇,丙

酮,氯仿等有机溶剂,分子式为 $C_{63}H_{96}O_{20}$, 1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ_H 1.49 (s, 3H, H-18), 1.20, 1.24, 1.26, 1.26 (d, each 3H, $J=6.3$ Hz, H-6 of sugar moiety), 1.15 (s, 3H, 19-CH₃), 1.16 (d, 3H, $J=6.5$ Hz, H-21), 3.39, 3.40, 3.41, 3.45 (s, each 3H, 3-OCH₃ of sugar moieties), 4.76 (d, 1H, $J=9.8$, anomeric H), 4.77 (brs, 1H, anomeric H), 4.84 (1H, d, $J=9.6$ Hz, anomeric H), 4.98 (brs, anomeric H), 5.37 (brs, 1H, H-6), 6.31 (d, 1H, $J=16.0$ Hz, H_{Cin-2}), 7.37 (m, 3H, H_{Cin-6,7,8}), 7.51 (m, 2H, H_{Cin-5,9}), 7.63 (d, 1H, $J=16.0$ Hz, H_{Cin-3}), 2.33 (m, 1H, H_{2'-methyl-butyril-2}), 1.44 (m, 1H, H_{2'-methyl-butyril-3}), 0.95 (t, 1H, $J=6.5$ Hz, H_{2'-methyl-butyril-4}), 1.17 (d, 1H, $J=6.5$ Hz, H_{2'-methyl-butyril-5}); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125MHz): δ_C 38.9 (t, C-1), 29.1 (t, C-2), 78.0 (d, C-3), 38.8 (t, C-4), 139.3 (s, C-5), 118.6 (d, C-6), 34.6 (t, C-7), 74.2 (s, C-8), 43.5 (d, C-9), 37.1 (s, C-10), 25.2 (t, C-11), 73.9 (d, C-12), 56.3 (s, C-13), 87.8 (s, C-14), 34.4 (t, C-15), 34.6 (t, C-16), 88.1 (s, C-17), 10.4 (q, C-18), 18.4 (q, C-19), 73.6 (d, C-20), 15.1 (q, C-21), 166.9 (s, C_{Cin-1}), 119.1 (d, C_{Cin-2}), 144.7 (d, C_{Cin-3}), 134.7 (s, C_{Cin-4}), 128.2 (d, C_{Cin-5,9}), 130.3 (d, C_{Cin-6,8}), 128.9 (d, C_{Cin-7}), 174.5 (s, C_{2'-methyl-butyril-1}), 41.5 (d, C_{2'-methyl-butyril-2}), 26.4 (t, C_{2'-methyl-butyril-3}), 11.9 (q, C_{2'-methyl-butyril-4}), 16.7 (q, C_{2'-methyl-butyril-5}), 95.8 (d, C_{Cym1-1}), 34.2 (t, C_{Cym1-2}), 77.2 (d, C_{Cym1-3}), 81.9 (d, C_{Cym1-4}), 68.7 (d, C_{Cym1-5}), 18.3 (q, C_{Cym1-6}), 57.6 (q, C_{Cym1-OMe}), 101.0 (d, C_{digin-1}), 31.7 (t, C_{digin-2}), 73.9 (d, C_{digin-3}), 74.5 (d, C_{digin-4}), 66.9 (d, C_{digin-5}), 18.2 (q, C_{digin-6}), 55.7 (q, C_{digin-OMe}), 99.5 (d, C_{Cym2-1}), 34.4 (t, C_{Cym2-2}), 77.3 (d, C_{Cym2-3}), 81.9 (d, C_{Cym2-4}), 69.2 (d, C_{Cym2-5}), 18.4 (q, C_{Cym2-6}), 57.1 (q, C_{Cym2-OMe}), 98.8 (d, C_{Cym3-1}), 31.2 (t, C_{Cym3-2}), 74.9 (d, C_{Cym3-3}), 72.1 (d, C_{Cym3-4}), 65.7 (d, C_{Cym3-5}), 17.6 (q, C_{Cym3-6}), 56.5 (q, C_{Cym3-OMe})。

[0174] 化合物cynawilfoside A对戊四唑(Pentylentetrazole)诱导斑马鱼癫痫发作模型的保护作用:

[0175] 斑马鱼胚胎的繁殖以自然成对交配的方式进行,每次交配准备4~5对平均能产200~300个胚胎的成年斑马鱼,在受精后6小时和24小时移除已死亡胚胎,并根据胚胎的发育阶段挑选合适的胚胎,在28℃时用养鱼用水孵育胚胎(养鱼用水水质:每1L反渗透水中加入200mg速溶海盐,电导率为480~510 μ S/cm; pH为6.9~7.2; 硬度为53.7~71.6mg/L CaCO₃)。实验完成后,用三卡因甲磺酸对各个发育阶段的斑马鱼进行过度暴露处理,从而将斑马鱼麻醉处死,麻醉处死的操作步骤符合美国兽医协会(AVMA)对动物麻醉处死的规范要求。

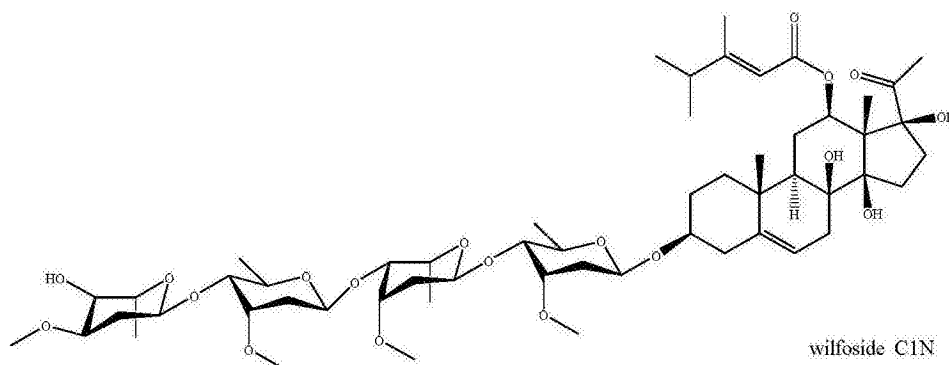
[0176] 癫痫模型组:戊四唑(Pentylentetrazole)处理的斑马鱼;阳性对照组:苯妥英钠(Phenytoin Sodium) 300 μ M;空白组:空白组(1%DMSO),其余处理同模型组。将待测化合物加入到微孔板后,利用运动/行为分析仪记录60min内斑马鱼的运动情况,对斑马鱼的快速运动($V>20$ mm/sec)距离(D)进行定量分析,计算药物的抗癫痫治疗效率,根据斑马鱼运动轨迹图,对药物的抗癫痫治疗效果进行定性评价。由图1A可知,cynawilfoside A各浓度组与癫痫模型组相比,斑马鱼快速运动轨迹明显减少。图1B为根据斑马鱼快速运动距离平均值 $mean \pm SE$ 绘制的柱形图,由图1B可知,化合物cynawilfoside A在30、100、300 μ M浓度下均有抗癫痫作用,治疗效率分别为34%、44.6%、61.6% ($P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.01$),量效关系明确。与此同时,阳性对照药苯妥英钠在300 μ M浓度下的抗癫痫作用仅为57.2% ($P<0.01$)。

[0177] 实施例2

[0178] 化合物wilfoside C1N(式IV)体内抗癫痫作用的评价:

[0179] Wilfoside C1N的制备方法:a.新鲜的叶耳牛皮消块根10kg,切片干燥得到3Kg干品,粉碎用95%乙醇热提三次,提取液合并,减压浓缩得到乙醇提取物,硅胶拌样,过200-300目硅胶,用石油醚-丙酮(3:1→2:1)梯度洗脱,然后用氯仿-甲醇(10:1→5:1)梯度洗脱,得到组分Fr1-Fr6。Fr3进一步用石油醚-丙酮硅胶柱层析反复纯化,得到纯化合物wilfoside C1N(1.5g);b.新鲜的隔山消块根10kg,去皮切片干燥得2.7kg干品,粉碎用95%乙醇渗滤提取三次,每次2~3天,合并提取液,减压浓缩得到隔山消的醇浸膏,将提取物以水混悬,乙酸乙酯萃取,得乙酸乙酯萃取物,以100目硅胶拌样,用硅胶柱层析(200-300目硅胶)分离,以氯仿-甲醇(10:1→5:1)梯度洗脱,得到组分Fr1-Fr9。Fr6进一步用石油醚-丙酮和制备HPLC反复纯化得到纯化合物wilfoside C1N(2.5g)。

[0180]



[0181] 化合物wilfoside C1N的理化数据如下:白色无定形粉末,易溶于甲醇,乙醇,丙酮,氯仿等有机溶剂,分子式为 $C_{56}H_{90}O_{19}$,ESIMS m/z 1089 $[M+Na]^+$; 1H NMR(pyridine- d_5 ,300 MHz): δ_H 0.95,0.97(d,each 3H, $J=6.5$ Hz, $H_{Iken-5,6}$),1.32(s,3H,H-19),1.36,1.37,1.40,1.48(d,each 3H, $J=6.0$ Hz,H-6 of sugar moieties),1.96(s,3H,H-18),2.29(s,3H, H_{Iken-7}),2.49(s,3H,H-21),3.45,3.48,3.52,3.53(s,each 3H,3-OCH $_3$ of sugar moieties),5.02(brd,1H, $J=3.0$ Hz,anomeric H),5.09(d,1H, $J=9.3$ Hz,anomeric H),5.15(brd,1H, $J=3.0$ Hz,anomeric H),5.22(d,1H, $J=9.0$ Hz,anomeric H),5.30(brs,1H,H-6),5.84(br s,1H, H_{Iken-2}); ^{13}C NMR(Pyridine- d_5 ,100 MHz): δ_C 39.2(t,C-1),29.9(t,C-2),77.6(d,C-3),38.9(t,C-4),139.3(s,C-5),119.2(d,C-6),33.8(t,C-7),74.2(s,C-8),44.5(d,C-9),37.4(s,C-10),25.0(t,C-11),72.5(d,C-12),57.9(s,C-13),89.4(s,C-14),34.8(t,C-15),32.9(t,C-16),92.4(s,C-17),10.7(q,C-18),18.4(q,C-19),209.4(s,C-20),27.5(q,C-21),166.0(s, C_{Iken-1}),114.1(d, C_{Iken-2}),165.5(s, C_{Iken-3}),38.1(s, C_{Iken-4}),20.8(q, C_{Iken-5}),20.9(q, C_{Iken-6}),16.4(q, C_{Iken-7}),96.1(d, C_{cym1-1}),35.3(t, C_{cym1-2}),77.6(d, C_{cym1-3}),82.4(d, C_{cym1-4}),69.2(d, C_{cym1-5}),18.7(q, C_{cym1-6}),57.3(q, $C_{cym1-OMe}$),100.9(d, $C_{digin-1}$),32.5(t, $C_{digin-2}$),73.8(d, $C_{digin-3}$),74.6(d, $C_{digin-4}$),67.4(d, $C_{digin-5}$),17.9(q, $C_{digin-6}$),55.3(q, $C_{digin-OMe}$),99.4(d, C_{cym2-1}),36.3(t, C_{cym2-2}),77.8(d, C_{cym2-3}),82.3(d, C_{cym2-4}),69.4(d, C_{cym2-5}),18.6(q, C_{cym2-6}),58.2(q, $C_{cym2-OMe}$),99.0(d, C_{cym3-1}),32.1(t, C_{cym3-2}),76.4(d, C_{cym3-3}),73.3(d, C_{cym3-4}),66.4(d, C_{cym3-5}),18.1(q, C_{cym3-6}),56.6(q, $C_{cym3-OMe}$)。

[0182] 化合物wilfoside C1N对戊四唑(Pentylentetrazole)诱导斑马鱼癫痫发作模型

的保护作用:

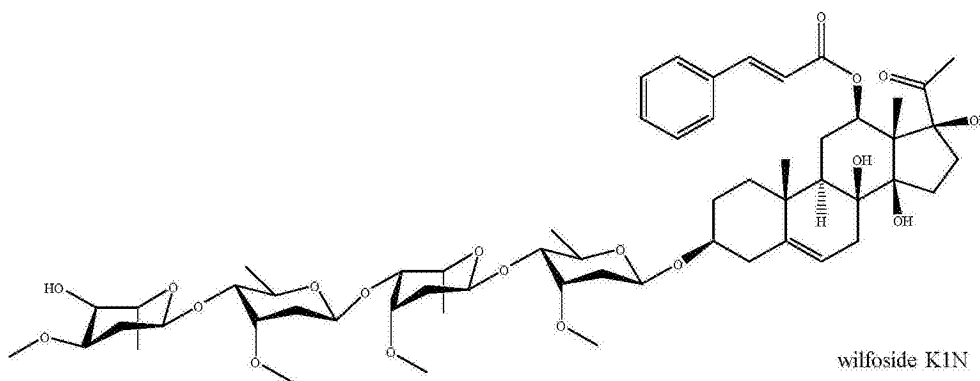
[0183] 按照实施例1中的方法对化合物的抗癫痫治疗效果进行定性评价。由图2A可知,在wilfoside C1N的给药剂量300 μ M时与癫痫模型组相比,斑马鱼快速运动轨迹明显减少。图2B为根据斑马鱼快速运动距离平均值 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 绘制的柱形图,由图2B可知,化合物wilfoside C1N在30、100 μ M浓度下,有癫痫治疗趋势,但无统计学差异;在300 μ M浓度下,癫痫治疗效率为46.4%, ($P < 0.01$),量效关系明确。

[0184] 实施例3

[0185] 化合物wilfoside K1N(式V)体内抗癫痫作用的评价:

[0186] Wilfoside K1N的制备方法:a.新鲜的牛皮消块根10kg,切片干燥得到3kg干品,粉碎用95%乙醇热提三次,提取液合并,减压浓缩得到乙醇提取物,硅胶拌样,过200-300目硅胶,用石油醚-丙酮(3:1 \rightarrow 2:1)梯度洗脱,然后用氯仿-甲醇(10:1 \rightarrow 5:1)梯度洗脱,得到组分Fr1-Fr6。Fr3进一步用石油醚-丙酮硅胶柱层析反复纯化,得到纯化合物wilfoside K1N(2.5g);b.新鲜的隔山消块根10kg,去皮切片干燥得2.7kg干品,粉碎用95%乙醇渗滤提取三次,每次2~3天,合并提取液,减压浓缩得到隔山消的醇浸膏,将提取物以水混悬,乙酸乙酯萃取,得乙酸乙酯萃取物,以100目硅胶拌样,用硅胶柱层析(200-300目硅胶)分离,以氯仿-甲醇(10:1 \rightarrow 5:1)梯度洗脱,得到组分Fr1-Fr9。Fr7进一步用石油醚-丙酮和制备HPLC反复纯化得到纯化合物wilfoside K1N(1.7g)。

[0187]



[0188] 化合物wilfoside K1N的理化数据如下:白色无定形粉末,易溶于甲醇,乙醇,丙酮,氯仿等有机溶剂,分子式为 $\text{C}_{58}\text{H}_{86}\text{O}_{19}$,ESIMS m/z 1109 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; ^1H NMR (pyridine- d_5 , 300 MHz): 1.36 (s, 3H, H-19), 1.37, 1.38, 1.42, 1.49 (d, each 3H, $J=6.0$ Hz, H-6 of sugar moieties), 2.02 (s, 3H, H-18), 2.54 (s, 3H, H-21), 3.42, 3.44, 3.53, 3.54 (s, each 3H, 3-OCH₃ of sugar moieties), 4.98 (brd, 1H, $J=3.0$ Hz, anomeric H), 5.09 (d, 1H, $J=8.0$ Hz, anomeric H), 5.15 (brd, 1H, $J=3.0$ Hz, anomeric H), 5.23 (d, 1H, $J=9.0$ Hz, anomeric H), 5.32 (brs, 1H, H-6), 6.81 (d, 1H, $J=16.0$ Hz, H_{Cin-2}), 7.38 (m, 3H, H_{Cin-6,7,8}), 7.65 (m, 2H, H_{Cin-5,9}), 7.99 (d, 1H, $J=16.0$ Hz, H_{Cin-3}); ^{13}C NMR (Pyridine- d_5 , 100 MHz): δ_c 39.2 (t, C-1), 29.9 (t, C-2), 77.6 (d, C-3), 38.9 (t, C-4), 139.3 (s, C-5), 119.2 (d, C-6), 33.8 (t, C-7), 74.5 (s, C-8), 44.5 (d, C-9), 37.4 (s, C-10), 25.0 (t, C-11), 73.6 (d, C-12), 58.1 (s, C-13), 89.5 (s, C-14), 34.7 (t, C-15), 33.0 (t, C-16), 92.4 (s, C-17), 10.7 (q, C-18), 18.6 (q, C-19), 209.9 (s, C-20), 27.5 (q, C-21), 165.8 (s, C_{Cin-1}), 119.2 (d, C_{Cin-2}), 145.0 (d, C_{Cin-3}), 135.0 (s, C_{Cin-4}), 128.6 (d, C_{Cin-5,9}), 129.3 (d, C_{Cin-6,8}), 130.6 (d, C_{Cin-7}), 96.1 (d, C_{Cym1-1}), 35.3 (t, C_{Cym1-2}), 77.5 (d, C_{Cym1-3}), 82.5 (d, C_{Cym1-4}), 69.2 (d, C_{Cym1-5}), 18.7 (q, C_{Cym1-6}), 57.3 (q,

$C_{cym1-0Me}$), 100.9 (d, $C_{digin-1}$), 32.5 (t, $C_{digin-2}$), 73.8 (d, $C_{digin-3}$), 74.6 (d, $C_{digin-4}$), 67.4 (d, $C_{digin-5}$), 17.9 (q, $C_{digin-6}$), 55.3 (q, $C_{digin-0Me}$), 99.4 (d, C_{cym2-1}), 36.3 (t, C_{cym2-2}), 77.8 (d, C_{cym2-3}), 82.3 (d, C_{cym2-4}), 69.4 (d, C_{cym2-5}), 18.7 (q, C_{cym2-6}), 58.3 (q, $C_{cym2-0Me}$), 99.0 (d, C_{cym3-1}), 32.1 (t, C_{cym3-2}), 76.4 (d, C_{cym3-3}), 73.2 (d, C_{cym3-4}), 66.4 (d, C_{cym3-5}), 18.2 (q, C_{cym3-6}), 56.6 (q, $C_{cym3-0Me}$)。

[0189] 化合物wilfoside K1N对戊四唑(Pentylentetrazole)诱导斑马鱼癫痫发作模型的保护作用:

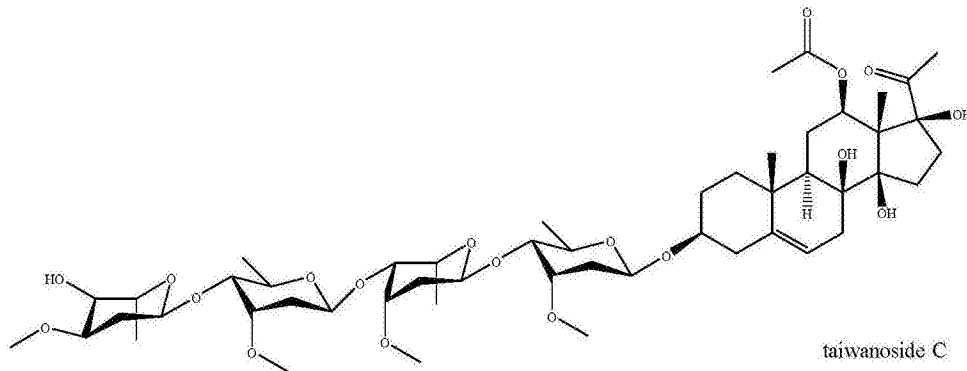
[0190] 按照实施例1中的方法对化合物的抗癫痫治疗效果进行定性评价。由图3A可知,在wilfoside K1N的给药剂量100 μ M时与癫痫模型组相比,斑马鱼快速运动轨迹明显减少。图3B为根据斑马鱼快速运动距离平均值 $mean \pm SE$ 绘制的柱形图,由图3B可知,化合物wilfoside K1N在10、30 μ M浓度下,有癫痫治疗趋势,但无统计学差异;在100 μ M浓度下有抗癫痫作用,癫痫治疗效率为49% ($P < 0.01$),量效关系明确。

[0191] 实施例4

[0192] 化合物taiwanoside C(式III)体内抗癫痫作用的评价:

[0193] Taiwanoside C的制备方法:a.新鲜的牛皮消块根10kg,切片干燥得到3kg干品,粉碎用95%乙醇热提三次,提取液合并,减压浓缩得到乙醇提取物,硅胶拌样,过200-300目硅胶,用石油醚-丙酮(3:1 \rightarrow 2:1)梯度洗脱,然后用氯仿-甲醇(10:1 \rightarrow 5:1)梯度洗脱,得到组分Fr1-Fr6。Fr4进一步用氯仿-甲醇硅胶柱层析反复纯化,得到纯化合物taiwanoside C(80.4mg);b.新鲜的隔山消块根10kg,去皮切片干燥得2.7kg干品,粉碎用95%乙醇渗滤提取三次,每次2~3天,合并提取液,减压浓缩得到隔山消的醇浸膏,将提取物以水混悬,乙酸乙酯萃取,得乙酸乙酯萃取物,以100目硅胶拌样,用硅胶柱层析(200-300目硅胶)分离,以氯仿-甲醇(10:1 \rightarrow 5:1)梯度洗脱,得到组分Fr1-Fr9。Fr6进一步用石油醚-丙酮和制备HPLC反复纯化得到纯化合物taiwanoside C(640mg)。

[0194]



[0195] 化合物taiwanoside C的理化数据如下:白色无定形粉末,易溶于甲醇,乙醇,丙酮,氯仿等有机溶剂,分子式为 $C_{49}H_{80}O_{18}$, ESIMS m/z 979 $[M+Na]^+$; 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ_H 1.14 (s, 3H, H-18), 1.20, 1.21, 1.22, 1.24 (d, each 3H, $J=6.3$ Hz, H-6 of sugar moieties), 1.27 (s, 3H, H-19), 2.34 (s, 3H, H-21), 3.25, 3.30 (dd, each 1H, $J=9.6, 2.7$ Hz, H_{cym-4}), 3.37, 3.40, 3.41, 3.45 (s, each 3H, 3-OCH₃ of sugar moieties), 3.70, 3.77 (q, each 1H, $J=3.0$ Hz, H_{cym-3}), 3.83, 3.86, 4.04 (dq, each 1H, $J=8.9, 6.4$ Hz, H_{cym-5}), 3.85 (brs, 1H, $H_{digin-4}$), 3.96 (brq, 1H, $J=6.3$ Hz, $H_{digin-5}$), 4.75 (d, 1H, $J=9.8$, anomeric H), 4.77 (brs, 1H, anomeric H), 4.81 (1H, d, $J=9.6$ Hz, anomeric H), 4.97 (brd, $J=3.0$ Hz,

anomeric H), 5.36 (brs, 1H, H-6)。¹³C NMR (Pyridine-d₅, 125 MHz): δ_c 39.4 (t, C-1), 30.3 (t, C-2), 78.3 (d, C-3), 39.4 (t, C-4), 139.7 (s, C-5), 119.7 (d, C-6), 34.2 (t, C-7), 74.7 (s, C-8), 44.9 (d, C-9), 37.8 (s, C-10), 25.3 (t, C-11), 74.0 (d, C-12), 58.7 (s, C-13), 89.9 (s, C-14), 35.2 (t, C-15), 33.3 (t, C-16), 92.8 (s, C-17), 10.9 (q, C-18), 18.6 (q, C-19), 210.7 (s, C-20), 28.0 (q, C-21), 170.4 (s, C_{Ac}-1), 21.2 (q, C_{Ac}-2), 96.6 (d, C_{cym1}-1), 35.7 (t, C_{cym1}-2), 78.0 (d, C_{cym1}-3), 82.8 (d, C_{cym1}-4), 69.7 (d, C_{cym1}-5), 19.2 (q, C_{cym1}-6), 57.7 (q, C_{cym1}-OMe), 101.4 (d, C_{digin}-1), 32.9 (t, C_{digin}-2), 74.3 (d, C_{digin}-3), 75.0 (d, C_{digin}-4), 67.9 (d, C_{digin}-5), 18.3 (q, C_{digin}-6), 55.8 (q, C_{digin}-OMe), 99.8 (d, C_{cym2}-1), 36.8 (t, C_{cym2}-2), 78.1 (d, C_{cym2}-3), 82.8 (d, C_{cym2}-4), 69.9 (d, C_{cym2}-5), 18.9 (q, C_{cym2}-6), 58.4 (q, C_{cym2}-OMe), 99.5 (d, C_{cym3}-1), 32.6 (t, C_{cym3}-2), 76.9 (d, C_{cym3}-3), 73.7 (d, C_{cym3}-4), 66.9 (d, C_{cym3}-5), 19.1 (q, C_{cym3}-6), 57.0 (q, C_{cym3}-OMe)。

[0196] 化合物taiwanoside C对戊四唑(Pentylentetrazole)诱导斑马鱼癫痫发作模型的保护作用:

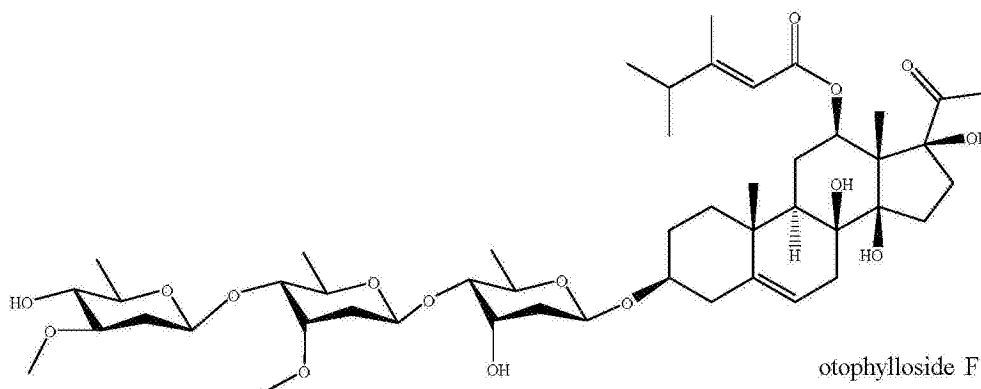
[0197] 按照实施例1中的方法对化合物的抗癫痫治疗效果进行定性评价。由图4A可知,在taiwanoside C各给药剂量下与癫痫模型组相比,斑马鱼快速运动轨迹明显减少。图4B为根据斑马鱼快速运动距离平均值mean±SE绘制的柱形图,由图4B可知,化合物taiwanoside C在100μM浓度下,癫痫治疗效率为28.1%,无统计学差异;在300、1000μM浓度下均有抗癫痫作用,治疗效率分别为48.5%、84.8%(P<0.01、P<0.01),量效关系明确。

[0198] 实施例5

[0199] 化合物青阳参昔己(otophylloside F)(式I)体内抗癫痫作用的评价:

[0200] 青阳参昔己(otophylloside F)的制备方法:干燥的青阳参块根5kg,粉碎用95%乙醇渗滤提取三次,每次2~3天,合并提取液,减压浓缩得到青阳参的醇浸膏,将提取物以水混悬,乙酸乙酯萃取,得乙酸乙酯萃取物,C-18反相柱色谱以甲醇的水溶液(10%~100%)梯度洗脱,得到组分Fr1-Fr5,Fr4进一步用制备HPLC反复纯化得到纯化合物青阳参昔己(otophylloside F, 1.1g)。

[0201]



[0202] 化合物青阳参昔己的理化数据如下:白色无定形粉末,易溶于甲醇,乙醇,丙酮,氯仿等有机溶剂,分子式为C₆₃H₉₆O₂₀,¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_H 1.04, 1.06 (d, each 3H, J=6.5Hz, H_{Ikem}-5,6), 1.11 (s, 3H, H-19), 1.24, 1.26, 1.33 (d, each 3H, J=6.0Hz, H-6 of sugar moieties), 1.40 (s, 3H, H-18), 2.11 (s, 3H, H_{Ikem}-7), 2.16 (s, 3H, H-21), 3.38, 3.45 (s, each 3H, 3-OCH₃ of sugar moieties), 4.49 (dd, 1H, J=2.0, 9.6 Hz, anomeric H), 4.81 (dd, 1H,

$J=2.2, 9.3$ Hz, anomeric H), 4.92 (dd, 1H, $J=2.2, 9.6$ Hz, anomeric H), 5.35 (brs, 1H, H-6), 5.51 (br s, 1H, H_{Ikem-2}); ^{13}C NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ_{C} 38.9 (t, C-1), 29.0 (t, C-2), 78.0 (d, C-3), 38.9 (t, C-4), 140.8 (s, C-5), 117.7 (d, C-6), 34.3 (t, C-7), 74.4 (s, C-8), 43.8 (d, C-9), 37.3 (s, C-10), 24.4 (t, C-11), 71.7 (d, C-12), 58.0 (s, C-13), 88.1 (s, C-14), 33.2 (t, C-15), 32.0 (t, C-16), 91.6 (s, C-17), 9.5 (q, C-18), 18.7 (q, C-19), 209.0 (s, C-20), 27.3 (q, C-21), 166.0 (s, C_{Ikem-1}), 113.1 (d, C_{Ikem-2}), 166.1 (s, C_{Ikem-3}), 38.3 (s, C_{Ikem-4}), 20.9 (q, C_{Ikem-5}), 21.0 (q, C_{Ikem-6}), 16.7 (q, C_{Ikem-7}), 95.9 (d, C_{digit-1}), 37.2 (t, C_{digit-2}), 75.5 (d, C_{digit-3}), 82.6 (d, C_{digit-4}), 68.2 (d, C_{digit-5}), 18.3 (q, C_{digit-6}), 98.5 (d, C_{cym-1}), 35.7 (t, C_{cym-2}), 77.0 (d, C_{cym-3}), 82.5 (d, C_{cym-4}), 68.8 (d, C_{cym-5}), 18.1 (q, C_{cym-6}), 58.5 (q, C_{cym-OMe}), 101.6 (d, C_{ole-1}), 35.4 (t, C_{ole-2}), 80.7 (d, C_{ole-3}), 75.5 (d, C_{ole-4}), 71.6 (d, C_{ole-5}), 18.1 (q, C_{ole-6}), 56.4 (q, C_{ole-OMe}).

[0203] 化合物青阳参昔己对戊四唑 (Pentylentetrazole) 诱导斑马鱼癫痫发作模型的保护作用:

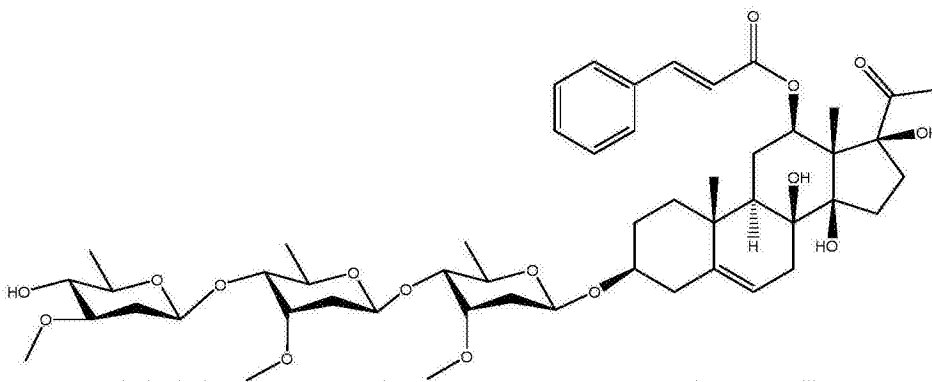
[0204] 按照实施例1中的方法对化合物的抗癫痫治疗效果进行定性评价。由图5A可知,在青阳参昔己各给药剂量下与癫痫模型组相比,斑马鱼快速运动轨迹明显减少。图5B为根据斑马鱼快速运动距离平均值 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 绘制的柱形图,由图5B可知,化合物青阳参昔己在30、100 μM 浓度下,有癫痫治疗趋势,但无统计学差异;在300 μM 浓度下有抗癫痫作用,癫痫治疗效率为55% ($P < 0.01$),量效关系明确。

[0205] 实施例6

[0206] 化合物罗素他命3-O- β -D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1 \rightarrow 4)- β -D-加拿大麻糖吡喃糖基-(1 \rightarrow 4)- β -D-加拿大麻糖[rostratamine 3-O- β -D-oleandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside] (式II) (以下简称“化合物II”)体内抗癫痫作用的评价:

[0207] 化合物II的制备方法:干燥的青阳参块根5kg,粉碎用95%乙醇渗滤提取三次,每次2~3天,合并提取液,减压浓缩得到青阳参的醇浸膏,将提取物以水混悬,乙酸乙酯萃取,得乙酸乙酯萃取物,C-18反相柱色谱以甲醇的水溶液(10%~100%)梯度洗脱,得到组分Fr1-Fr5,Fr4进一步用制备HPLC反复纯化得到纯化合物II 100mg。

[0208]



[0209] rostratamine 3-O- β -D-oleandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

[0210] 化合物II的理化数据如下:白色针状结晶,易溶于甲醇,乙醇,丙酮,氯仿等有机溶剂,分子式为C₆₃H₉₆O₂₀, ^1H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ_{H} 1.46 (s, 3H, H-18), 1.20, 1.22, 1.31 (d,

each 3H, $J=6.3$ Hz, H-6 of sugar moiety), 1.12 (s, 3H, 19-CH₃), 2.19 (s, 3H, H-21), 3.38, 3.44, 3.44 (s, each 3H, 3-OCH₃ of sugar moieties), 4.48 (dd, 1H, $J=1.9, 9.8$, anomeric H), 4.74 (dd, $J=1.9, 9.8$, 1H, anomeric H), 4.84 (dd, 1H, $J=1.8, 9.6$ Hz, anomeric H), 5.37 (brs, 1H, H-6), 6.30 (d, 1H, $J=16.0$ Hz, H_{Cin-2}), 7.38 (m, 3H, H_{Cin-6,7,8}), 7.51 (m, 2H, H_{Cin-5,9}), 7.62 (d, 1H, $J=16.0$ Hz, H_{Cin-3}); ¹³C NMR (Pyridine-d₅, 125 MHz): δ_C 39.9 (t, C-1), 29.8 (t, C-2), 77.6 (d, C-3), 38.8 (t, C-4), 139.3 (s, C-5), 119.2 (d, C-6), 34.6 (t, C-7), 74.2 (s, C-8), 44.5 (d, C-9), 37.1 (s, C-10), 25.2 (t, C-11), 73.9 (d, C-12), 58.3 (s, C-13), 89.5 (s, C-14), 34.7 (t, C-15), 33.6 (t, C-16), 92.1 (s, C-17), 10.7 (q, C-18), 18.1 (q, C-19), 209.9 (s, C-20), 27.7 (q, C-21), 165.9 (s, C_{Cin-1}), 119.1 (d, C_{Cin-2}), 144.7 (d, C_{Cin-3}), 135.0 (s, C_{Cin-4}), 128.6 (d, C_{Cin-5,9}), 129.3 (d, C_{Cin-6,8}), 130.6 (d, C_{Cin-7}), 96.3 (d, C_{Cym1-1}), 37.9 (t, C_{Cym1-2}), 77.8 (d, C_{Cym1-3}), 83.4 (d, C_{Cym1-4}), 68.7 (d, C_{Cym1-5}), 18.3 (q, C_{Cym1-6}), 58.6 (q, C), 100.5 (d, C_{Cym2-1}), 37.2 (t, C_{Cym2-2}), 78.0 (d, C_{Cym2-3}), 83.2 (d, C_{Cym2-4}), 68.9 (d, C_{Cym2-5}), 18.5 (q, C_{Cym2-6}), 58.8 (q, C_{Cym2-OMe}), 102.2 (d, C_{ole-1}), 37.2 (d, C_{ole-2}), 81.3 (d, C_{ole-3}), 76.2 (d, C_{ole-4}), 72.8 (d, C_{ole-5}), 18.6 (d, C_{ole-6}), 57.1 (d, C_{ole-OMe}),

[0211] 化合物II对戊四唑(Pentylentetrazole)诱导斑马鱼癫痫发作模型的保护作用:

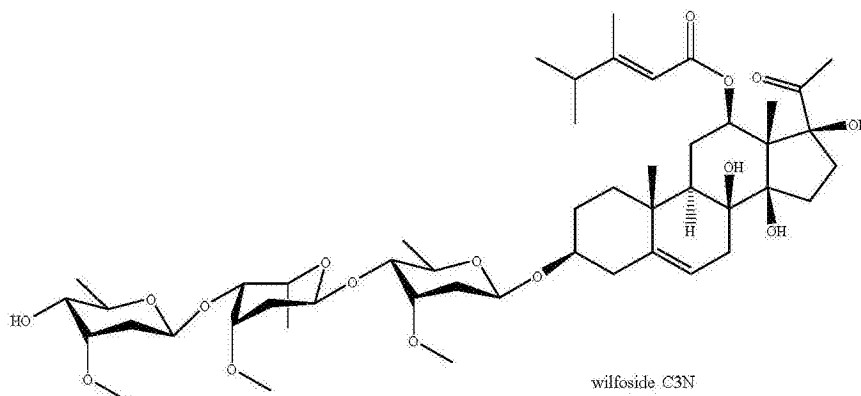
[0212] 按照实施例1中的方法对化合物的抗癫痫治疗效果进行定性评价。由图6A可知,在化合物II各给药剂量下与癫痫模型组相比,斑马鱼快速运动轨迹明显减少。图6B为根据斑马鱼快速运动距离平均值 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 绘制的柱形图,由图6B可知,化合物II在30 μM 浓度下,有癫痫治疗趋势,但无统计学差异;在100、200 μM 浓度下均有抗癫痫作用,治疗效率分别为65%、52% ($P < 0.01$, $P < 0.01$)。

[0213] 实施例7

[0214] 化合物wilfoside C3N(式VII)体内抗癫痫作用的评价:

[0215] Wilfoside C3N的制备方法:干燥的耳叶牛皮消块根10kg,粉碎用95%乙醇渗滤提取三次,每次2~3天,合并提取液,减压浓缩得到耳叶牛皮消的醇浸膏,将提取物以水混悬,乙酸乙酯萃取,得乙酸乙酯萃取物,将乙酸乙酯浸膏溶于70%乙醇溶液中,过滤或离心去除不溶物后,进行大孔树脂柱色谱分离,收集75%乙醇洗脱流分,浓缩后得活性部位,活性部位进一步用制备HPLC反复纯化得到纯Wilfoside C3N。

[0216]



[0217] Wilfoside C3N的理化数据如下:白色无定形粉末,易溶于甲醇,乙醇,丙酮,氯仿等有机溶剂,分子式为C₄₉H₇₈O₁₆, ¹H NMR (Pyridine-d₅, 400 MHz): δ_H 0.92, 0.94 (d, each 3H, $J=6.5$ Hz, H_{Iken-5,6}), 1.32 (s, 3H, H-19), 1.36, 1.34, 1.51 (d, each 3H, $J=6.0$ Hz, H-6 of

sugar moieties), 1.97 (s, 3H, H-18), 2.26 (s, 3H, H_{Ikem-7}), 2.50 (s, 3H, H-21), 3.42, 3.44, 3.51 (s, each 3H, 3-OCH₃ of sugar moieties), 5.24 (dd, 1H, J=1.9, 9.4, anomeric H), 5.15 (d, J=3.3, 1H, anomeric H), 5.10 (dd, 1H, J=1.8, 9.8 Hz, anomeric H), 5.86 (br s, 1H, H_{Ikem-2}); ¹³C NMR (Pyridine-d₅, 125 MHz): δ_c 39.0 (t, C-1), 29.9 (t, C-2), 77.5 (d, C-3), 39.3 (t, C-4), 139.3 (s, C-5), 119.2 (d, C-6), 34.8 (t, C-7), 74.3 (s, C-8), 44.6 (d, C-9), 37.4 (s, C-10), 25.1 (t, C-11), 72.6 (d, C-12), 58.0 (s, C-13), 89.5 (s, C-14), 33.9 (t, C-15), 33.0 (t, C-16), 92.4 (s, C-17), 10.8 (q, C-18), 18.2 (q, C-19), 209.5 (s, C-20), 27.6 (q, C-21), 166.0 (s, C_{Ikem-1}), 114.1 (d, C_{Ikem-2}), 165.5 (s, C_{Ikem-3}), 38.2 (s, C_{Ikem-4}), 20.9 (q, C_{Ikem-5}), 20.9 (q, C_{Ikem-6}), 16.5 (q, C_{Ikem-7}), 96.1 (d, C_{Cym1-1}), 35.3 (t, C_{Cym1-2}), 77.5 (d, C_{Cym1-3}), 82.5 (d, C_{Cym1-4}), 69.2 (d, C_{Cym1-5}), 18.8 (q, C_{Cym1-6}), 57.2 (q, C), 101.0 (d, C_{digin-1}), 32.5 (t, C_{digin-2}), 74.5 (d, C_{digin-3}), 73.8 (d, C_{digin-4}), 67.5 (d, C_{digin-5}), 17.9 (q, C_{digin-6}), 55.3 (q, C_{digin-OMe}), 99.5 (d, C_{Cym2-1}), 35.3 (d, C_{Cym2-2}), 79.9 (d, C_{Cym2-3}), 74.1 (d, C_{Cym2-4}), 71.0 (d, C_{Cym2-5}), 18.7 (d, C_{Cym2-6}), 58.0 (d, C_{Cym2-OMe}).

[0218] Wilfoside C3N对戊四唑(Pentylentetrazole)诱导斑马鱼癫痫发作模型的保护作用:

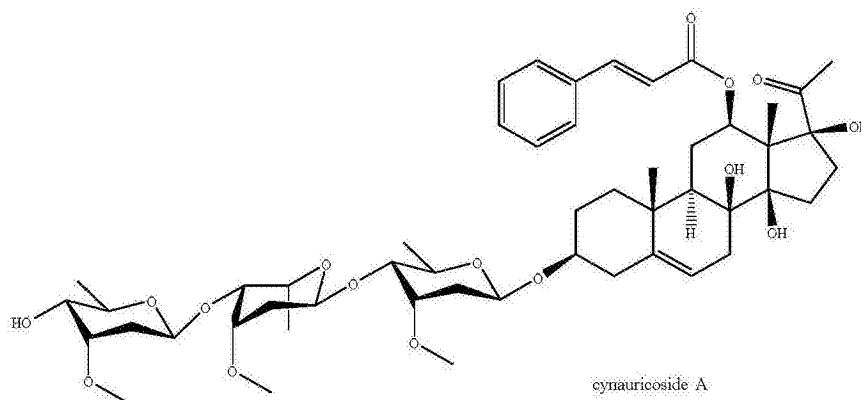
[0219] 按照实施例1中的方法对化合物的抗癫痫治疗效果进行定性评价。由图7A可知,在wilfoside C3N各给药剂量下与癫痫模型组相比,斑马鱼快速运动轨迹明显减少。图7B为根据斑马鱼快速运动距离平均值mean±SE绘制的柱形图,由图7B可知,wilfoside C3N在100μM浓度下,有癫痫治疗趋势,但无统计学差异;在200μM浓度下有抗癫痫作用,治疗效率为55.2% (P<0.001)。

[0220] 实施例8

[0221] 化合物cynaurosic acid A(式VIII)体内抗癫痫作用的评价:

[0222] Cynaurosic acid A的制备方法:干燥的耳叶牛皮消块根10kg,粉碎用95%乙醇渗滤提取三次,每次2~3天,合并提取液,减压浓缩得到青阳参的醇浸膏,将提取物以水混悬,乙酸乙酯萃取,得乙酸乙酯萃取物,将乙酸乙酯浸膏溶于70%乙醇溶液中,过滤或离心去除不溶物后,进行大孔树脂柱色谱分离,收集75%乙醇洗脱流分,浓缩后得活性部位,活性部位进一步用制备HPLC反复纯化得到纯cynaurosic acid A。

[0223]



[0224] Cynaurosic acid A的理化数据如下:白色无定形粉末,易溶于甲醇,乙醇,丙酮,氯仿等有机溶剂,分子式为C₅₁H₇₄O₁₆, ¹H NMR (Pyridine-d₅, 400 MHz): δ_H 2.03 (s, 3H, H-18), 1.37, 1.45, 1.52 (d, each 3H, J=6.3 Hz, H-6 of sugar moiety), 1.35 (s, 3H, 19-CH₃),

2.49 (s, 3H, H-21), 3.52, 3.42, 3.45 (s, each 3H, 3-OCH₃ of sugar moieties), 5.24 (dd, 1H, J=1.9, 9.4, anomeric H), 5.15 (d, J=3.3, 1H, anomeric H), 5.10 (dd, 1H, J=1.8, 9.8 Hz, anomeric H), 5.30 (brs, 1H, H-6), 6.81 (d, 1H, J=16.0 Hz, H_{Cin-2}), 7.34 (m, 3H, H_{Cin-6,7,8}), 7.63 (m, 2H, H_{Cin-5,9}), 8.00 (d, 1H, J=16.0 Hz, H_{Cin-3}); ¹³C NMR (Pyridine-d₅, 125 MHz): δ_C 38.9 (t, C-1), 29.8 (t, C-2), 77.6 (d, C-3), 39.2 (t, C-4), 139.2 (s, C-5), 119.1 (d, C-6), 34.7 (t, C-7), 74.2 (s, C-8), 44.5 (d, C-9), 37.4 (s, C-10), 25.0 (t, C-11), 73.6 (d, C-12), 58.1 (s, C-13), 89.5 (s, C-14), 33.8 (t, C-15), 33.0 (t, C-16), 92.4 (s, C-17), 10.7 (q, C-18), 18.1 (q, C-19), 209.9 (s, C-20), 27.7 (q, C-21), 165.8 (s, C_{Cin-1}), 119.2 (d, C_{Cin-2}), 144.9 (d, C_{Cin-3}), 135.0 (s, C_{Cin-4}), 128.6 (d, C_{Cin-5,9}), 129.3 (d, C_{Cin-6,8}), 130.6 (d, C_{Cin-7}), 96.1 (d, C_{Cym1-1}), 35.3 (t, C_{Cym1-2}), 77.5 (d, C_{Cym1-3}), 82.5 (d, C_{Cym1-4}), 69.2 (d, C_{Cym1-5}), 18.8 (q, C_{Cym1-6}), 57.2 (q, C), 101.0 (d, C_{digin-1}), 32.5 (t, C_{digin-2}), 74.5 (d, C_{digin-3}), 73.8 (d, C_{digin-4}), 67.5 (d, C_{digin-5}), 17.9 (q, C_{digin-6}), 55.3 (q, C_{digin-OMe}), 99.5 (d, C_{Cym2-1}), 35.3 (d, C_{Cym2-2}), 79.9 (d, C_{Cym2-3}), 74.1 (d, C_{Cym2-4}), 71.0 (d, C_{Cym2-5}), 18.7 (d, C_{Cym2-6}), 58.0 (d, C_{Cym2-OMe}).

[0225] Cynauricoside A对戊四唑(Pentylentetrazole)诱导斑马鱼癫痫发作模型的保护作用:

[0226] 按照实施例1中的方法对化合物的抗癫痫治疗效果进行定性评价。由图8A可知,在cynauricoside A各给药剂量下与癫痫模型组相比,斑马鱼快速运动轨迹明显减少。图8B为根据斑马鱼快速运动距离平均值mean±SE绘制的柱形图,由图8B可知,cynauricoside A在30、100μM浓度下,有癫痫治疗趋势,但无统计学差异;在200μM浓度下均有抗癫痫作用,治疗效率分别为57.5% (P<0.01)。

[0227] 对比例1

[0228] 来源于鹅绒藤属三种植物中分离提取到含量较大的化合物青阳参昔元(qinyangshengenin)、告达庭(caudatin)、青阳参昔甲(otophylloside A)、青阳参昔丙(otophylloside C)、青阳参昔己(otophylloside F,式I)、青阳参昔M(otophylloside M,式b)、告达庭3-0-β-D-加拿大麻糖[caudatin 3-0-β-D-cymaropyranoside,式IX]、青阳参昔元3-0-β-D-加拿大麻糖吡喃基-(1→4)-β-D-洋地黄毒糖[qinyangshengenin3-0-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-digitoxopyranoside,式XVII]、告达庭3-0-β-D-加拿大麻糖吡喃基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖[caudatin 3-0-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside,式X]、罗素他命3-0-β-D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖[rostratamine 3-0-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside,式II]、罗素他命3-0-α-L-加拿大麻糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃基-(1→4)-α-L-迪吉糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖[rostratamine3-0-α-L-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-α-L-diginopyranosyl-β-D-cymaropyranoside,式XIII]、青阳参昔元3-0-β-D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃基-(1→4)-β-D-洋地黄毒糖[qinyangshengenin3-0-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-digitoxopyranoside,式a]、告达庭3-0-β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→4)-β-D-夹竹桃糖吡喃基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖吡喃基-(1→4)-β-D-加拿大麻糖[caudatin3-0-β-D-glucopyranoside-(1→4)-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→

4)- β -D-cymaropyranoside, 式c]、告达庭3-O- β -D-黄夹糖吡喃糖基-(1 \rightarrow 4)- β -D-加拿大麻糖吡喃糖基-(1 \rightarrow 4)- β -D-加拿大麻糖[caudatin 3-O- β -D-thevetopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside, 式XII]、青阳参苷元3-O- β -D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1 \rightarrow 4)- β -D-加拿大麻糖[qinyangshengenin 3-O- β -D-oleandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside, 式XI]、taiwanoside C(式III)、wilfoside K1N(式V)、cynawilfoside A(式VI)、wilfoside M1N(式d)、cynauricoside E(式XV)、cynauricoside A(式XVI)、wilfoside G(式XIV)在最大无毒剂量下对PTZ诱导的斑马鱼影响:

[0229] 按照实施例1中的方法对化合物的抗癫痫治疗效果进行定性评价。由图10可知,式I、II、III、V、VI等单体化合物抗癫痫效果均优于青阳参中主成分青阳参苷元(qinyangshengenin)、告达庭(caudatin)、青阳参苷甲(otophylloside A)、青阳参苷丙(otophylloside C)、式b化合物、式c化合物、式IX化合物,并且青阳参主成分式a化合物、式b化合物、式c化合物以及隔山消中组分式d化合物具有显著的增强戊四唑诱导的癫痫发作的作用。

[0230] 实施例9耳叶牛皮消提取物提取物的制备

[0231] 将耳叶牛皮消药材10kg,加入95%乙醇5L,浸渍提取三次,减压浓缩提取液得到乙醇浸膏,加水混悬,以5倍体积乙酸乙酯萃取,回收乙酸乙酯,将乙酸乙酯浸膏溶于3L 70%乙醇溶液中,过滤去除不溶物后,进行大孔树脂柱(树脂型号ZH801)色谱分离,收集75%乙醇洗脱流分,浓缩,得提取物15g。

[0232] 经检测,提取物中,抗癫痫活性成分wilfoside C1N、wilfoside C3N、wilfoside K1N、cynauricoside A的含量分别为17.4%、42.1%、7.1%、14.2%,抗癫痫活性成分的总含量达到80%以上。促癫痫成分方面,青阳参苷M、青阳参苷元3-O- β -D-夹竹桃糖吡喃糖基-(1 \rightarrow 4)- β -D-加拿大麻糖吡喃糖基-(1 \rightarrow 4)- β -D-洋地黄毒糖未检测到。

[0233] 采用实施例1中的方法评价耳叶牛皮消提取物的抗癫痫活性,结果表明,在50 μ g/mL浓度下,有癫痫治疗趋势,但无统计学差异;在100 μ M浓度下有抗癫痫作用,癫痫治疗效率为61.4% ($p < 0.001$)。

[0234] 实施例10青阳参提取物的制备

[0235] 将青阳参药材以95%乙醇浸渍提取三次,减压浓缩提取液得到乙醇浸膏,加水混悬,以乙酸乙酯萃取,回收乙酸乙酯,将乙酸乙酯浸膏溶于70%乙醇溶液中,过滤或离心去除不溶物后,进行大孔树脂柱色谱分离,收集75%乙醇洗脱流分,浓缩,即得。

[0236] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

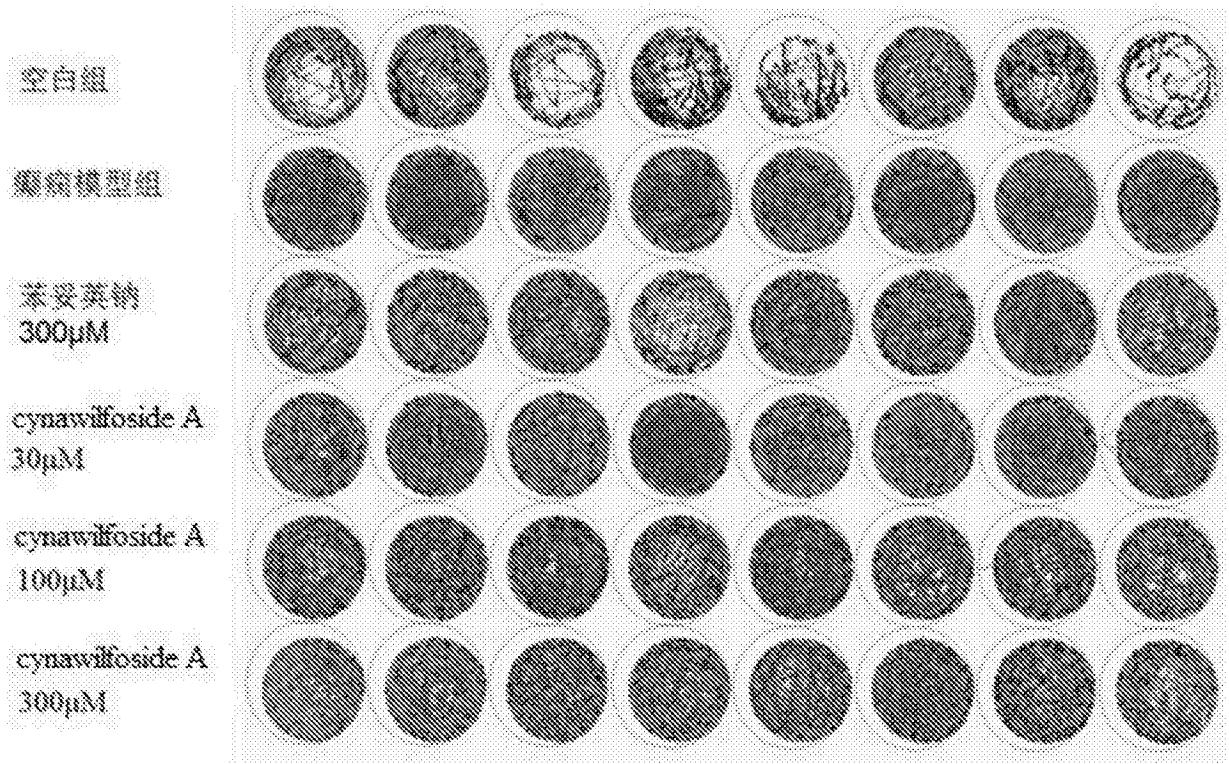


图1A

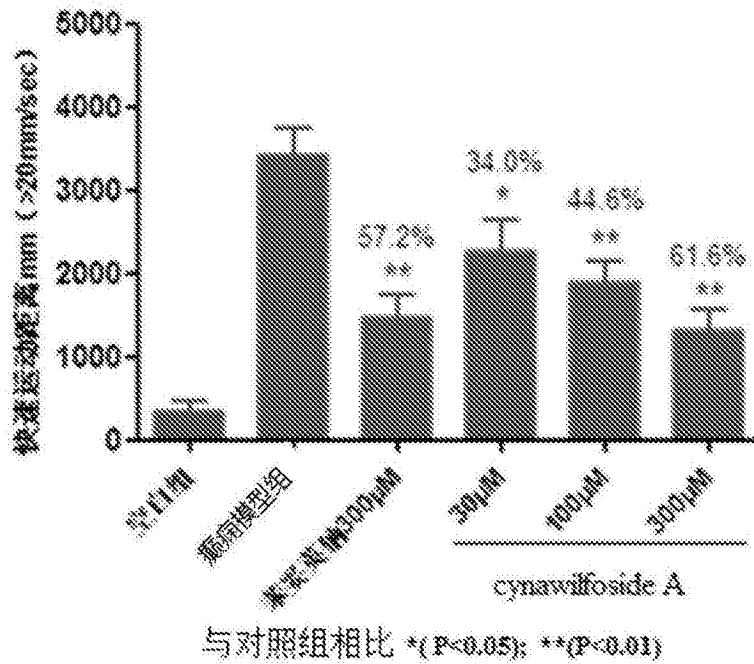


图1B

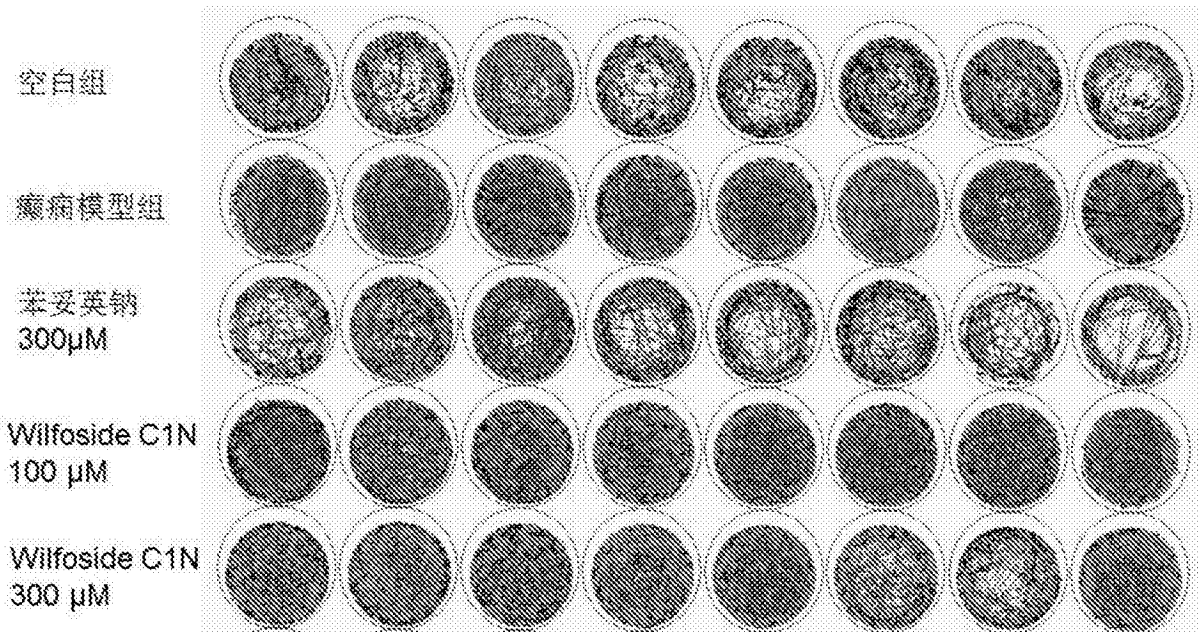


图2A

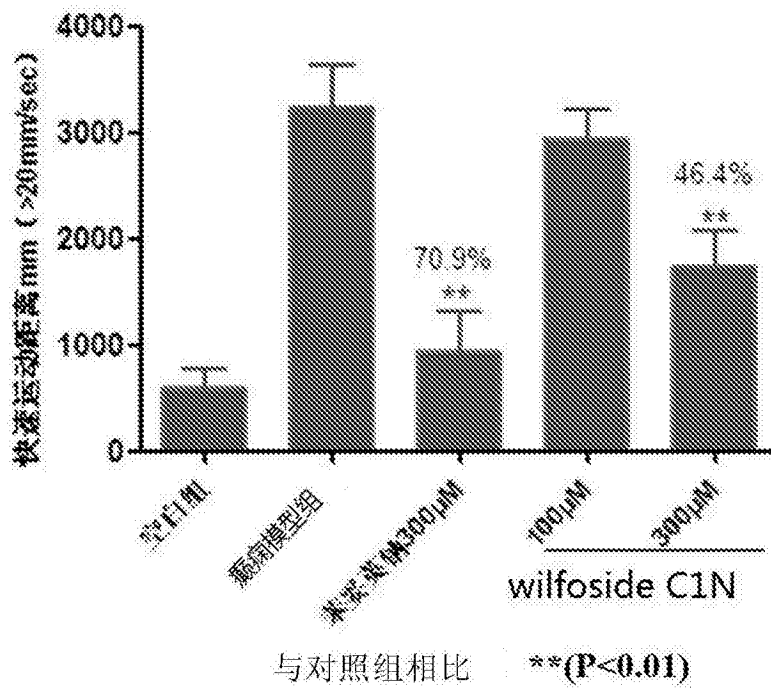


图2B

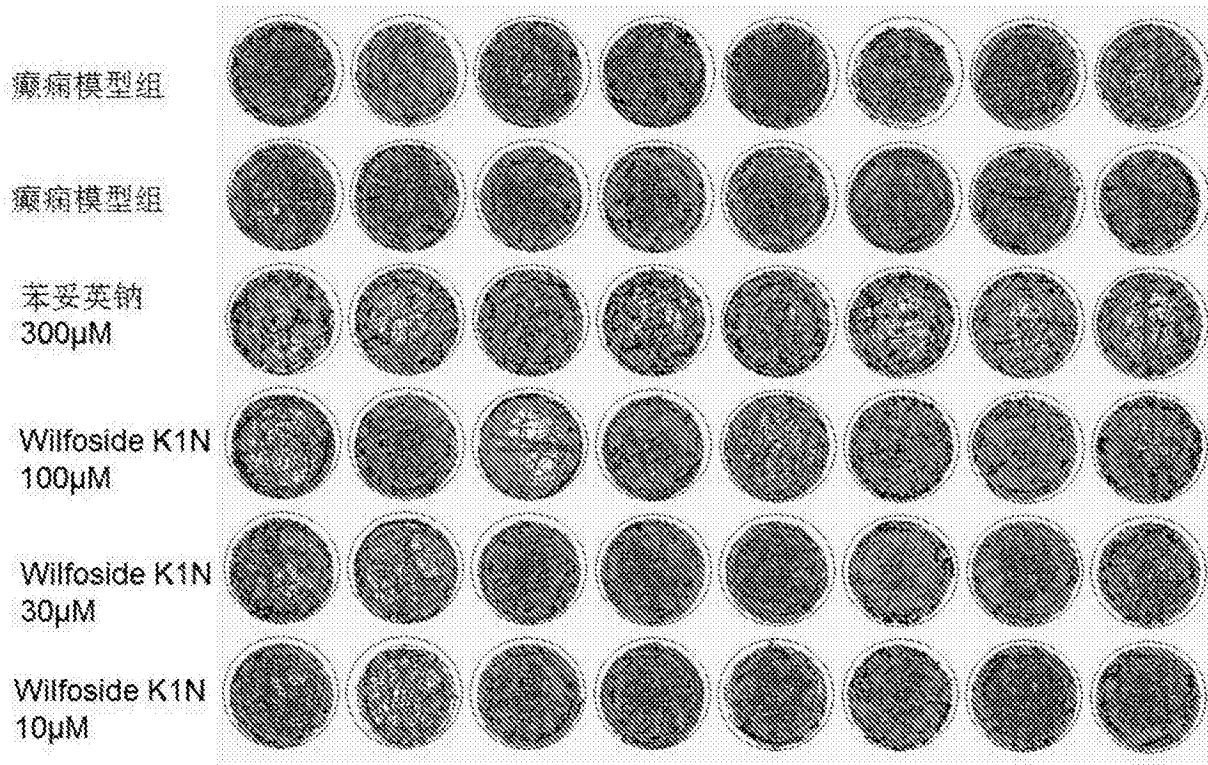


图3A

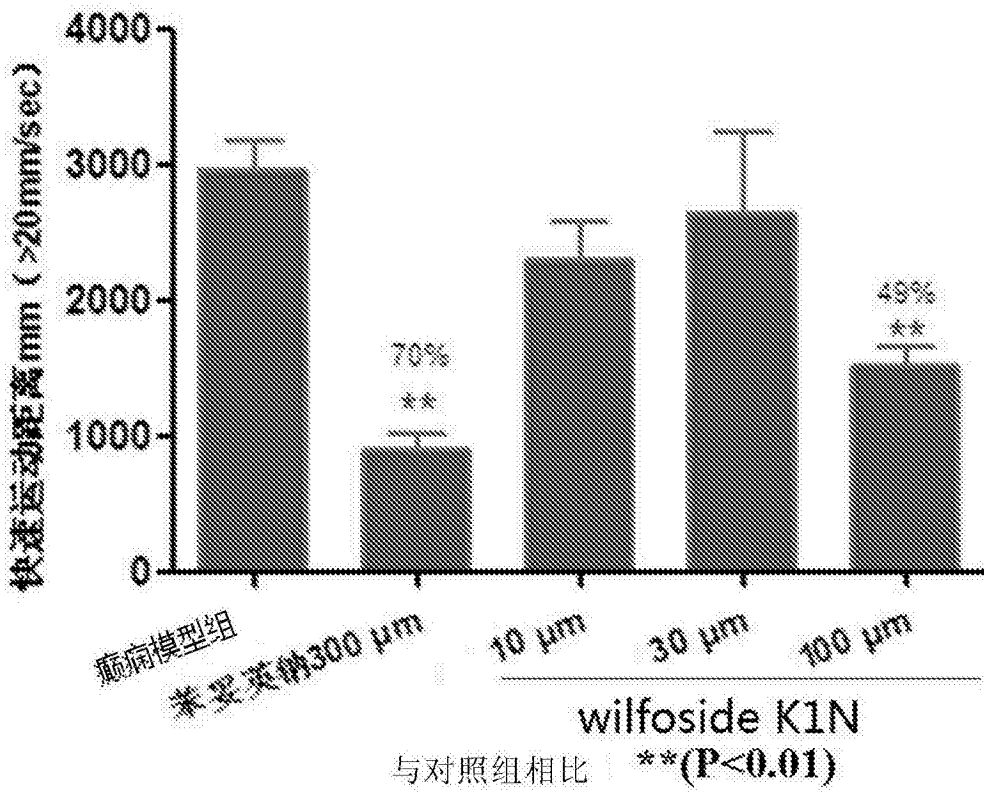


图3B

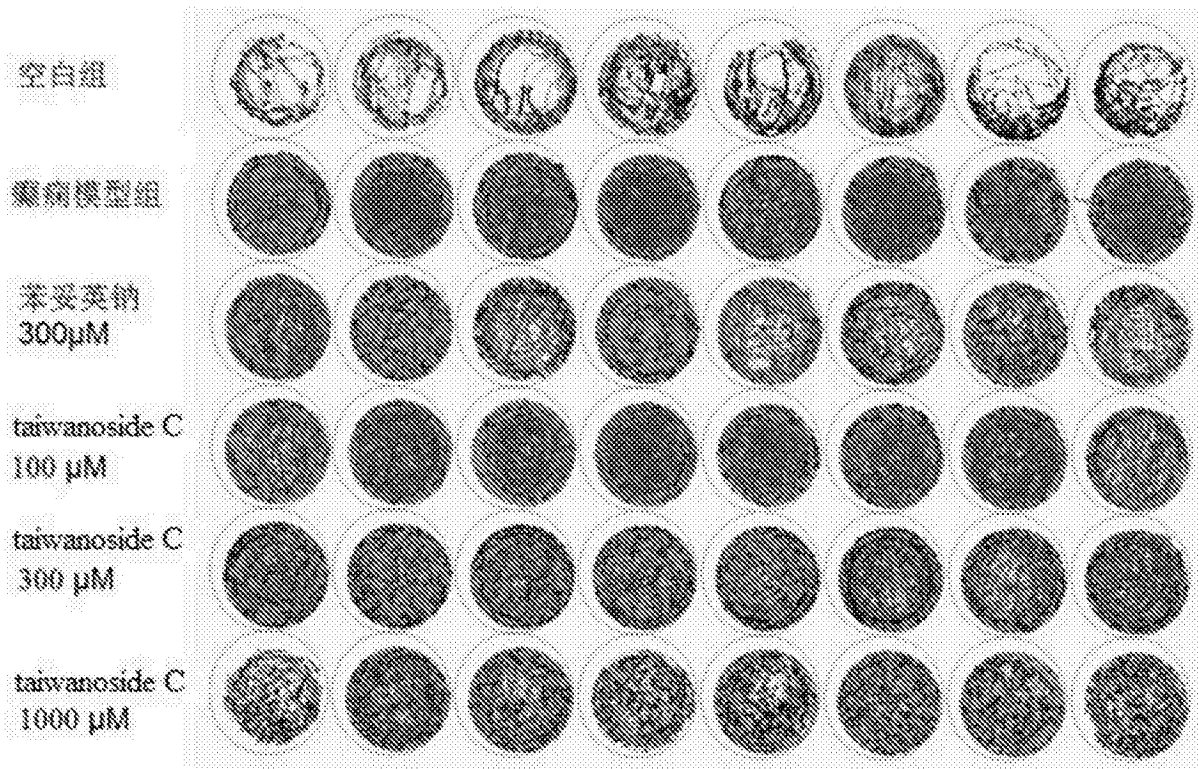


图4A

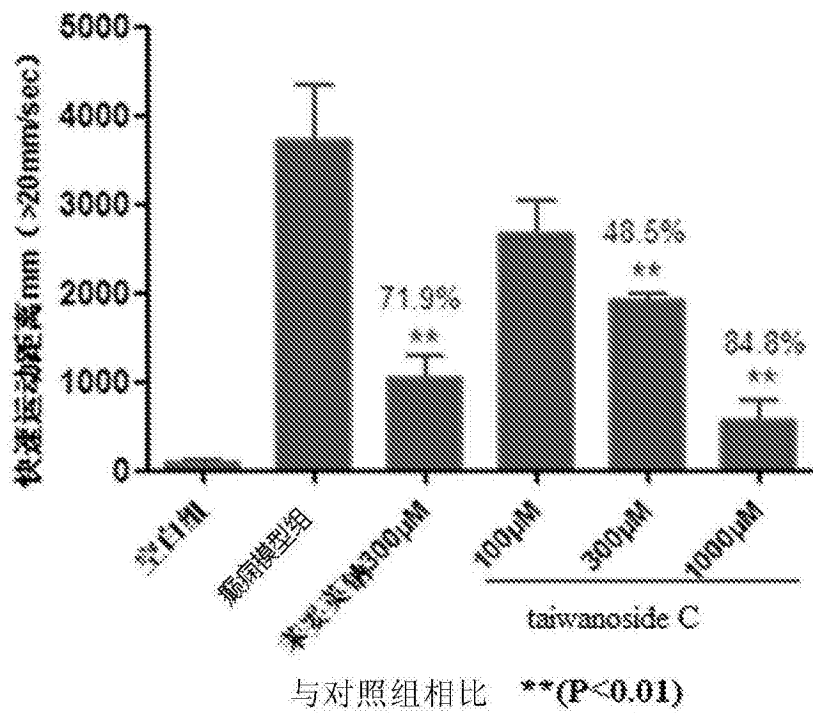


图4B

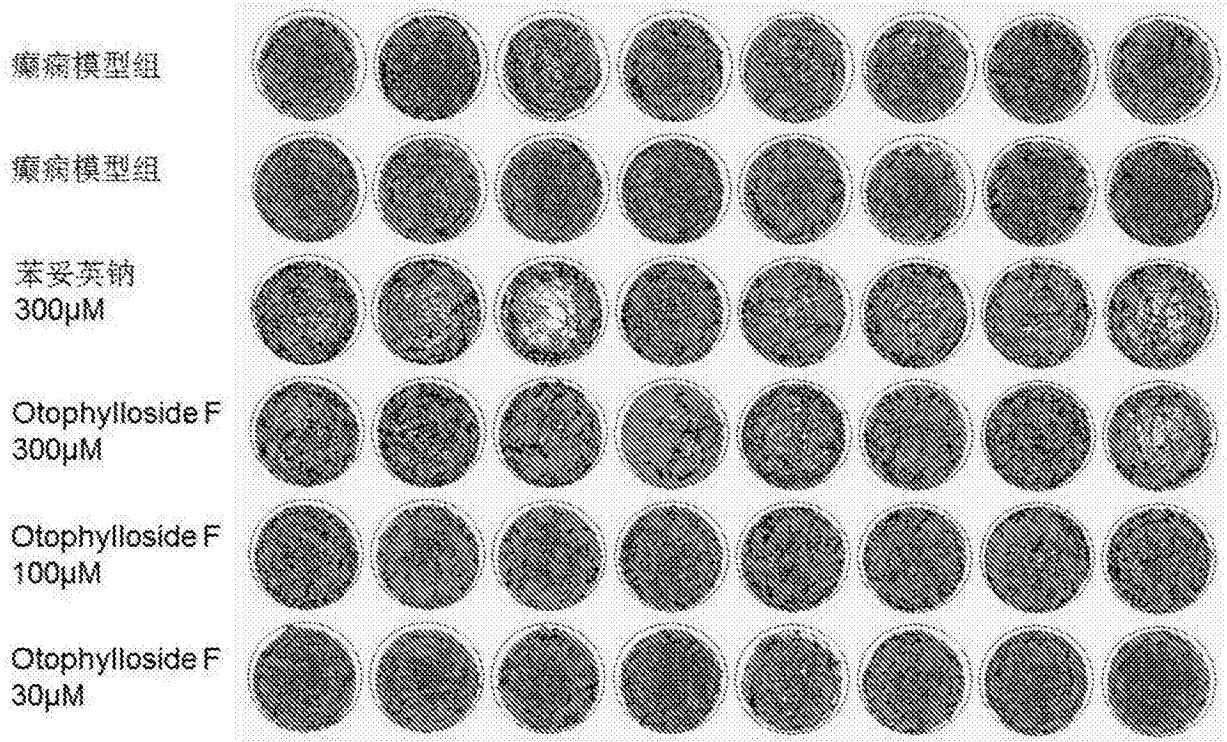


图5A

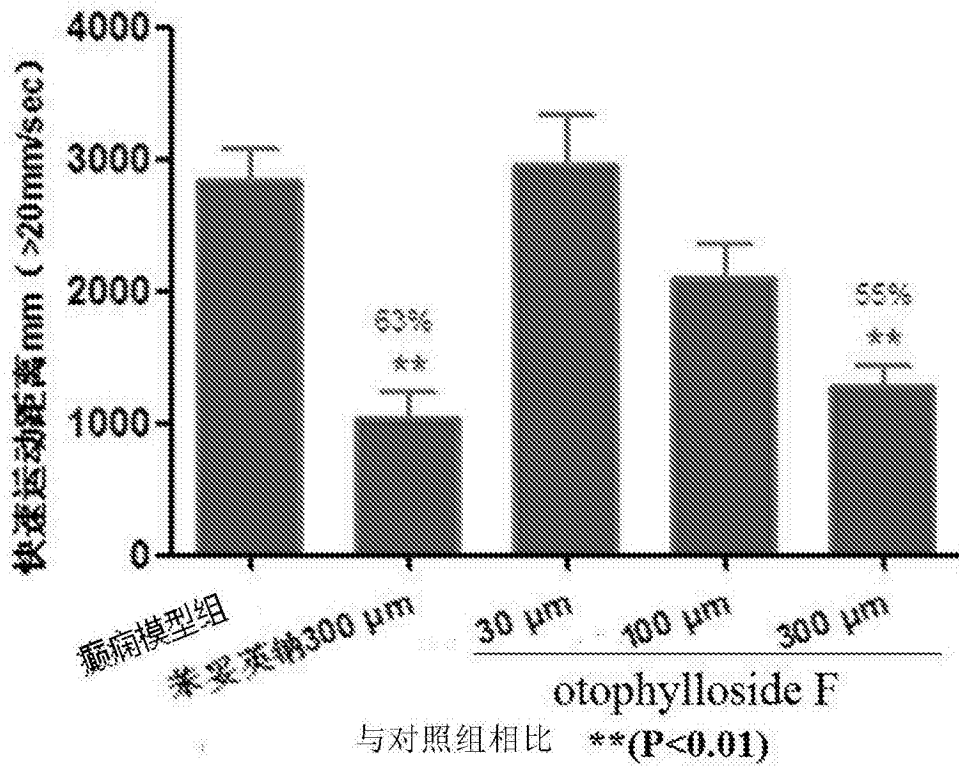
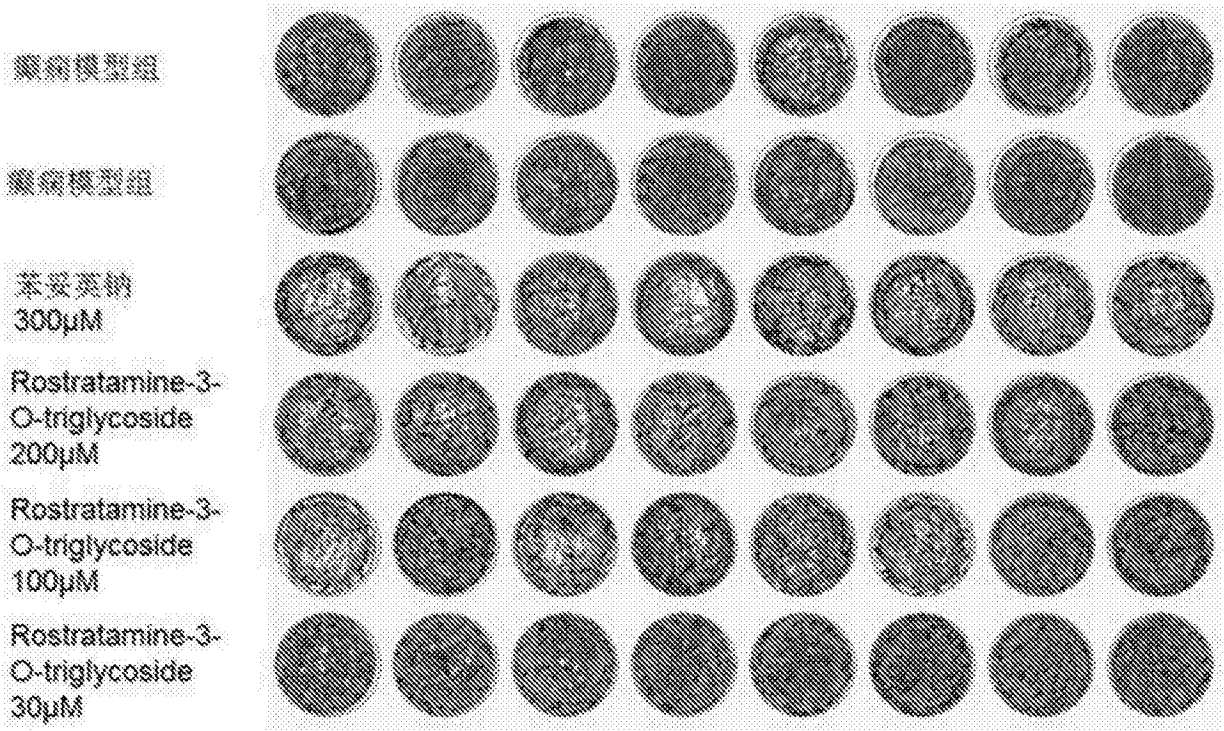


图5B



化合物 rostratamine 3-O-β-D-oleandropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranosyl-(1→4)-β-D-cymaropyranoside 简称为 rostratamine 3-O-triglycoside

图6A

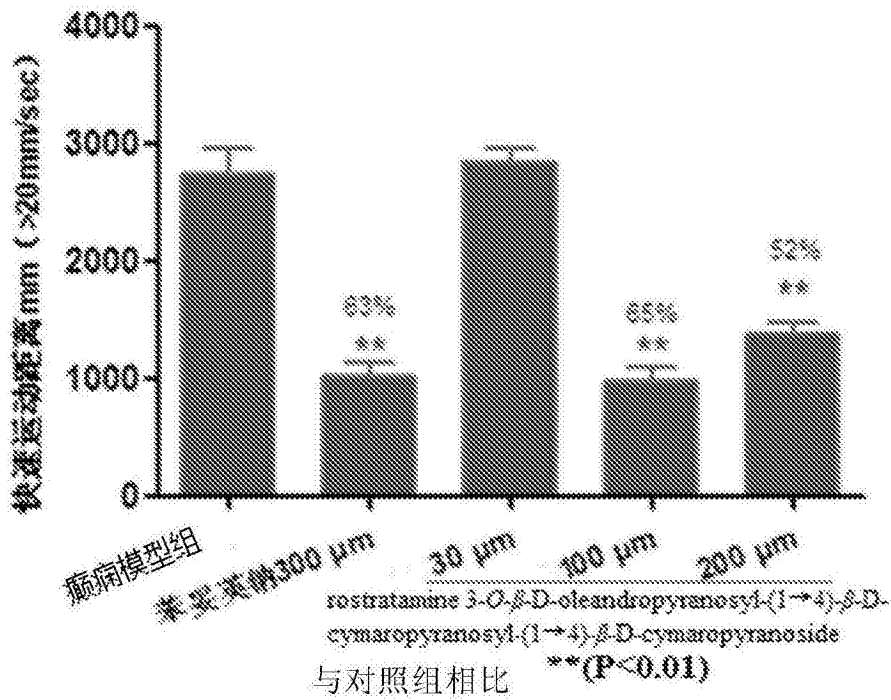


图6B

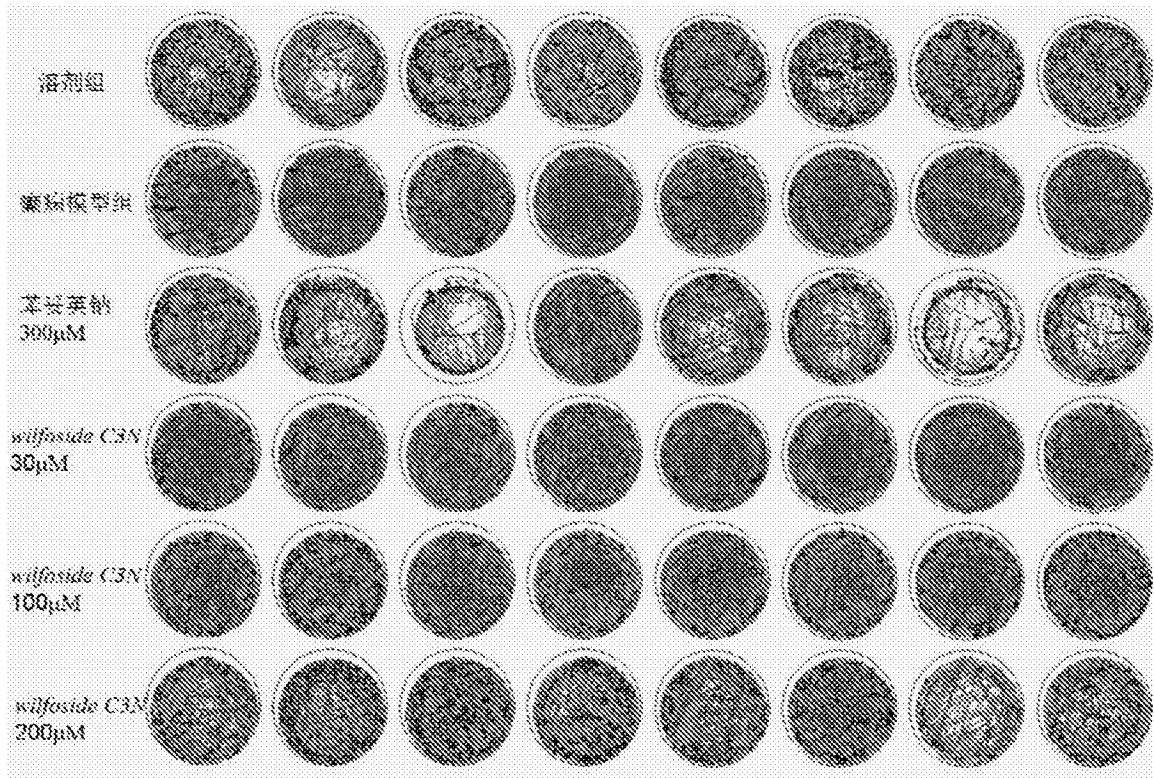


图7A

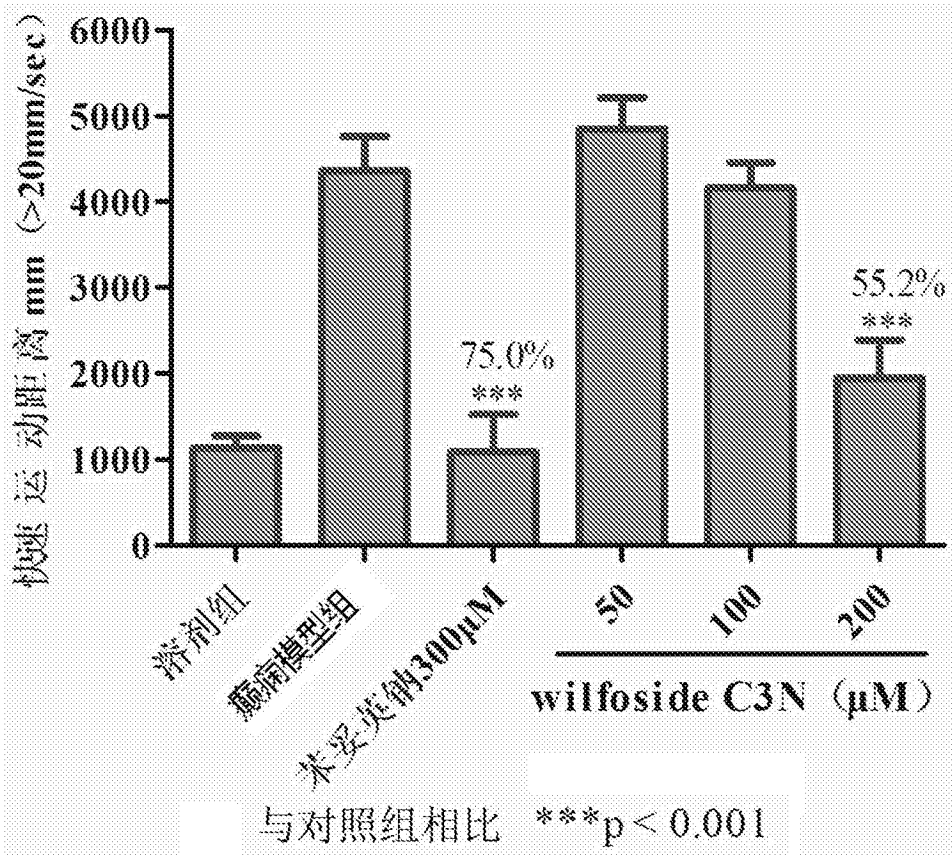


图7B

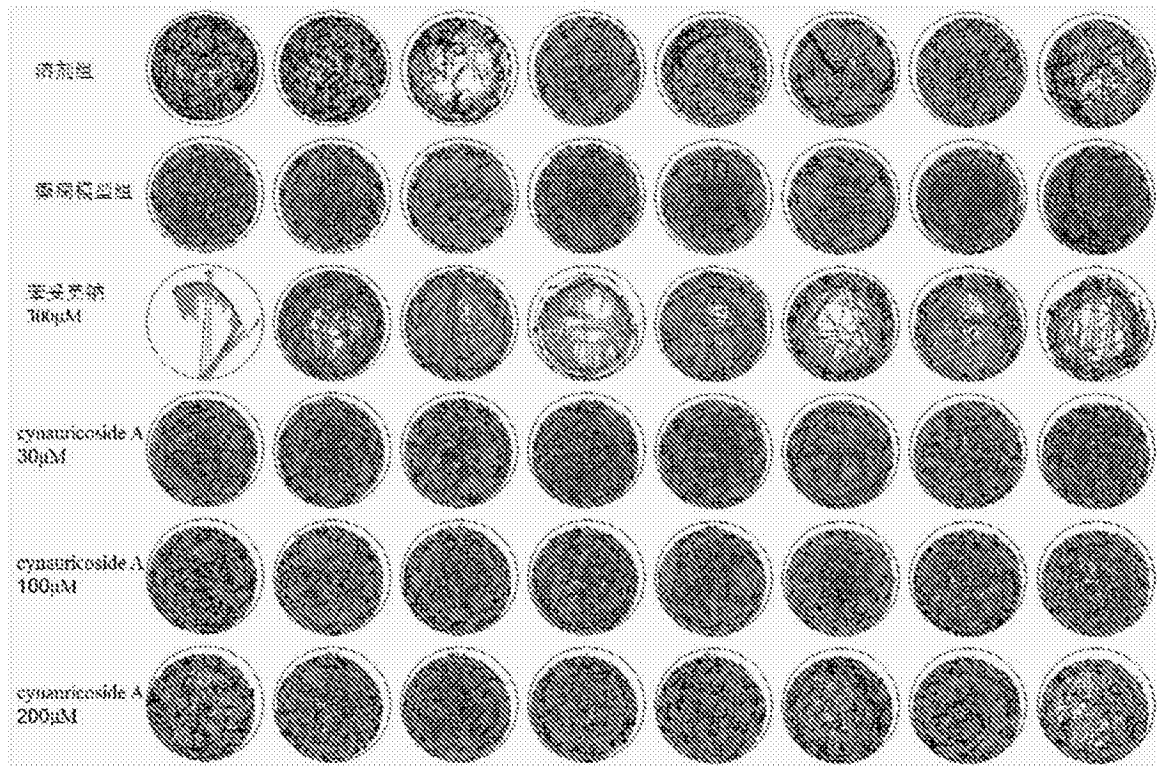


图8A

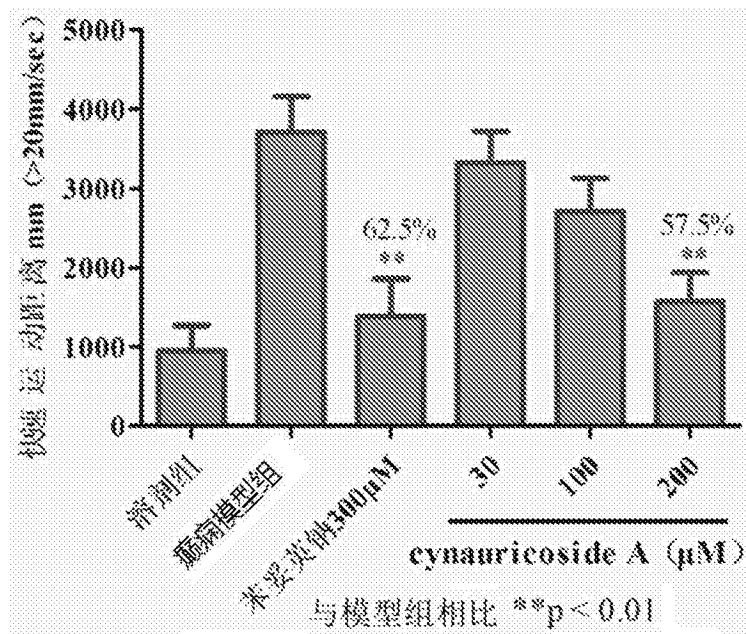


图8B

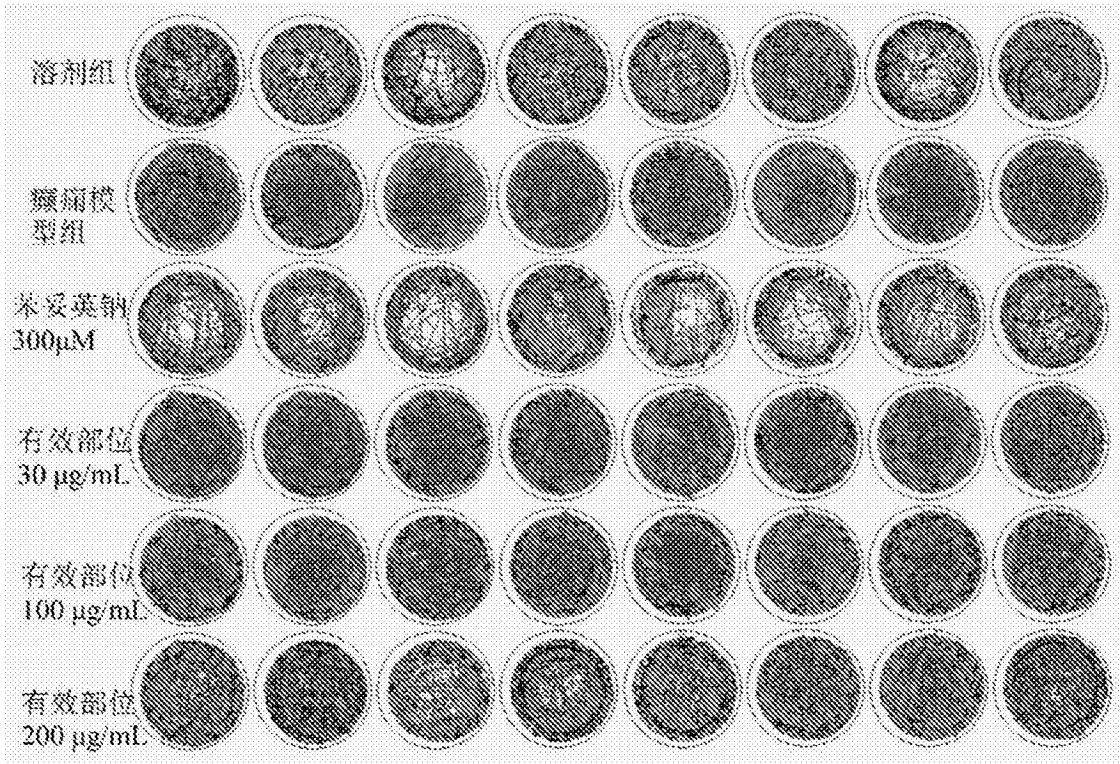


图9A

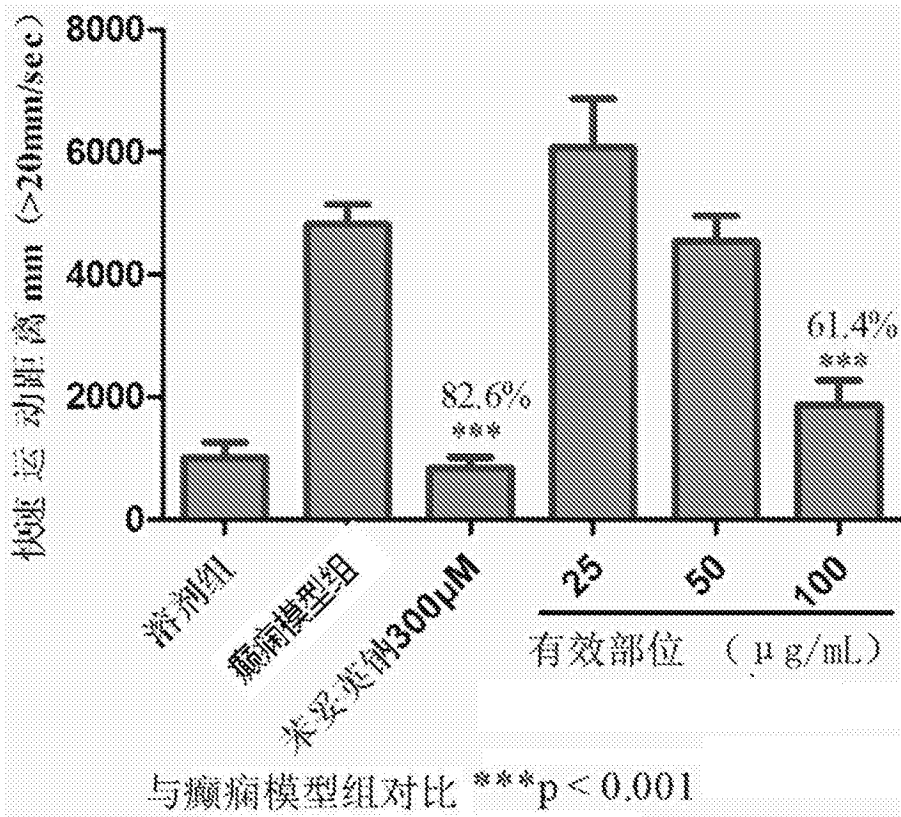


图9B

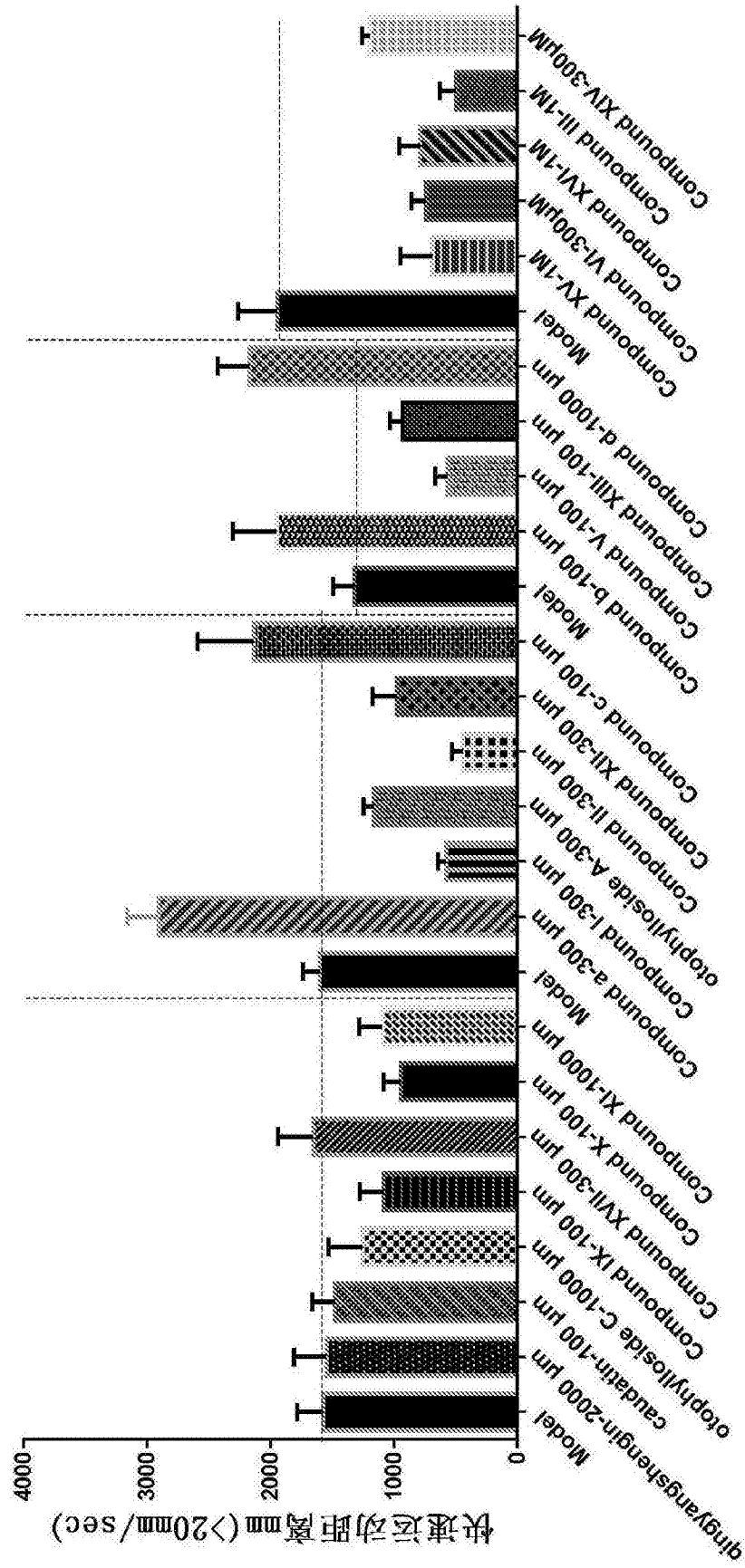


图10