

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2023 年 1 月 5 日 (05.01.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/274095 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 31/19 (2006.01) *A61P 1/00* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)

RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/101349

(22) 国际申请日: 2022 年 6 月 26 日 (26.06.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202110714464.9 2021年6月27日 (27.06.2021) CN

根据细则4.17的声明:

- 关于发明人身份(细则4.17(i))
- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))
- 关于申请人有权要求在先申请的优先权(细则4.17(iii))
- 发明人资格(细则4.17(iv))

(71) 申请人: 东莞市凯法生物医药有限公司(**KEY-PHARMA BIOMEDICAL INC.**) [CN/CN]; 中国广东省东莞市松山湖新竹路和堂12栋2单元201室胡军华, Guangdong 523808 (CN)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(72) 发明人: **王善平(WANG, Shanping)**; 中国广东省东莞市松山湖新竹路和堂12栋2单元201胡军华, Guangdong 523808 (CN)。 **谭文(TAN, Wen)**; 中国广东省东莞市松山湖新竹路和堂12栋2单元201胡军华, Guangdong 523808 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,

(54) **Title:** APPLICATION OF KAURANE COMPOUND IN PREPARATION OF DRUG FOR PREVENTING AND TREATING INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

(54) **发明名称:** 贝壳杉烷类化合物在制备预防和治疗炎症性肠病的药物中的应用

(57) **Abstract:** An application of a kaurane compound in the preparation of a drug for treating inflammatory bowel disease. The kaurane compound can mitigate the inflammatory reaction of dextran sodium sulfate (DSS)-induced inflammatory bowel disease model mice and improve the severity of the inflammatory bowel disease, and can be used for preparing a drug or health care product for treating the inflammatory bowel disease.

(57) **摘要:** 一种贝壳杉烷类化合物在制备治疗炎症性肠病药物中的应用。贝壳杉烷类化合物可以减轻葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的炎症性肠病模型小鼠的炎症反应, 改善炎症性肠病疾病严重程度, 可用于制备治疗炎症性肠病的药物或者保健品。



WO 2023/274095 A1

发明题目

贝壳杉烷类化合物在制备预防和治疗炎症性肠病的药物中的应用

发明领域

本发明公开了一种贝壳杉烷类化合物在炎症性肠病的缓解和治疗作用。本发明公开了该类贝壳杉烷类化合物明显减轻葡聚糖硫酸钠诱导（DSS）的肠炎模型小鼠的体重，改善结肠炎模型小鼠结肠长度缩短，减轻结肠炎模型结肠组织炎症细胞的浸润，降低结肠炎模型小鼠的白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞的升高，降低炎症因子的表达。本发明公开了该类贝壳杉烷类化合物对炎症性肠病发生时巨噬细胞和 T 细胞的调节作用。

背景技术

炎症性肠病是一种发病机制尚不明确的慢性肠道炎症性疾病，主要包括溃疡性结肠炎（Ulcerative Colitis, UC）和克罗恩病（Crohn's disease, CD）。UC 是一种慢性非特异性结肠炎症，病变主要累及结肠的黏膜，范围多自远端结肠开始，可向近端发展，甚至累及整个结肠；临床主要表现为腹泻、腹痛和粘液脓血便。CD 为一种慢性肉芽肿性炎症，病变可累及胃肠道各部位，但好发于末段回肠和右半结肠；临床主要表现为腹痛、腹泻、肠梗阻（Peixoto Armando, ACG Case Reports Journal, 2017,4(1):e46）。IBD 在西方国家常见，欧洲和北美国家患病率高达 120-200/100,000，是消化领域常见的疾病。据统计，IBD 发病率自 1990 开始在非洲、亚洲和南美洲呈快速增长的趋势。在巴西，UC 和 CD 发病率的年增长率分别高达 15%和 11%；在我国，IBD 发病率也呈现逐年上升的趋势，台湾 UC 和 CD 发病率的年增长率分别为 5%和 4%（Kamm Michael A, The Lancet,

2017, 390(10114):2741-2742), IBD 已经成为我国消化系统的常见疾病和慢性腹泻、便血的主要病因。其病因与发病机制不明, 普遍认为与遗传、肠黏膜免疫调节异常、持续性肠道感染、肠黏膜屏障缺损有关。炎症性肠病患者大多伴随自身免疫性疾病的肠外表现, 如结节性红斑、关节炎等。炎症性肠病病程迁延不愈, 有的甚至长达几十年。亦有发生癌变的可能性。目前研究发现, 炎症性肠病患者局部体液或细胞免疫呈激活状态, 肠黏膜固有层中有大量炎性细胞浸润。在部分病人血清中可检出抗结肠上皮细胞抗体等。肠黏膜组织内异常的免疫应答是引起肠黏膜组织损伤的重要原因, IBD 治疗的主要方法是恢复促炎因子与抗炎因子之间的平衡, 调节肠道黏膜免疫异常, 免疫应答包括肠黏膜适应性免疫应答(如 T 细胞)和固有性免疫应答(如巨噬细胞)(Khor B, Nature. 2011.474(7351): 307-17)。

T 细胞包括 Th1、Th2 和 Th17 细胞, 参与 DSS 诱导的肠炎的发病机制。以往认为导致肠黏膜炎症的主要效应细胞是 CD4+T 细胞, 其中 CD 被认为是以 Th1 型黏膜炎症反应占主导; UC 则是以 Th2 型为主导。但随着研究的深入, CD 和 UC 与 Th1、Th2 两类细胞的对应关系仍存在较大争议细胞因子。Th17 细胞亚群是近几年发现的一类 CD4+T 细胞亚群, 在近期研究中, 发现 IBD 患者有大量 Th17 细胞浸润, 这开辟了研究炎症性肠病新的领域。研究发现多种细胞因子与 Th17 细胞的分化调节有关。Th17 细胞的作用包括清除特定的细胞外病原体, 从而起到保护作用; 也包括导致炎症和自身免疫性疾病发生。Th17 细胞的主要作用是分泌细胞因子, 包括 IL-17A、IL-21 等, 在多种自身免疫性疾病发生过程中起到了重要作用, 并且在 IBD 免疫调节中诱发炎性应答。通过控制 Th7 细胞相关的细胞因子的分泌, 能够明显缓解 IBD 患者的临床症状 (Yu-Fang Wang, World journal of gastroenterol, 2013, 19(11):1827-33)。

巨噬细胞是一群高度异质的细胞，根据其活化状态的不同，主要分为经典激活的巨噬细胞(M1型)和替代激活的巨噬细胞(M2型)两种亚群 (Besedovsky H, *Clinical and experimental immunology*, 1977;27(1):1-12)。巨噬细胞的极化受到微环境中多种细胞因子的影响，具有相当大的可塑性。M1型巨噬细胞主要由IFN- γ 、TNF- α 、LPS等刺激激活，能够分泌大量的炎性细胞因子，如IL-1 β 、IL-13、TNF- α 等以及活性氧产物。这些细胞介质能够促进Th1和Th17细胞的活化，促进局部炎症反应，加速细胞内病原体的清除。如果M1型巨噬细胞活性不受控制，会导致过度的炎症反应，引起组织损伤 (Knobloch HS, *Frontiers in behavioral neuroscience*, 2014; 8: 31)。巨噬细胞在粒细胞或Th2细胞产生的IL-4、IL-13的作用下极化为M2型巨噬细胞，对LPS的刺激不敏感，分泌生长因子、IL-10、TGF- β 等，募集Th2和调节性T细胞(Treg)，下调局部炎症反应，促进组织修复和寄生虫的清除。当M2型巨噬细胞调节失衡，会增强过敏反应，促进局部纤维化和肿瘤的形成 (Kim YS, *Cells, tissues, organs*, 2012;195(5):428-42)。因此，调节M1和M2型两种巨噬细胞亚群之间的平衡，对维持内环境的免疫稳态有着十分重要的作用。巨噬细胞的极化受到细胞内多种信号途径的调节。越来越多的研究发现，IBD患者存在肠道巨噬细胞极化的异常，这可能在IBD发生和发展起着核心作用；恢复肠道巨噬细胞两种亚型之间的平衡，可能成为临床治疗IBD的重要手段。因此，从免疫调节的角度，尤其是Th细胞亚群和巨噬细胞极化，深入了解IBD多因素多靶点的发病机制，对进一步阐明IBD的免疫发生机制有重要意义。

目前没有能够完全治愈IBD的药物，临床上用于治疗的药物主要目的是缓解症状、改善患者的生活质量。治疗药物包括氨基水杨酸制剂、糖皮质激素、免疫抑制剂和各种生物制剂(如TNF- α 单抗等)。以上药物各存在不足，如氨基

水杨酸类药物容易使患者产生耐药性，糖皮质激素停药后会复发，TNF 抗体生产和治疗的成本较高，长期使用后容易失效，而且容易导致病人感染（Paolo Gionchetti, Dig Liver Dis, 2017,49(6):604-17）。因此，寻找更为安全有效的抗结肠炎药物是目前 IBD 研究的热点之一，是当前未被满足临床急切需求。

化合物 A 是从甜菊糖分离的一种贝壳杉烷类化合物。甜菊糖是广为熟知的南美洲的传统植物，并是全球广泛使用的甜味剂。甜菊对代谢和心血管系统的功效(Geuns JMC. Stevioside. Phytochemistry. 2003; 64(5):913-21)也有报道。

先前的研究表明，以化合物 A 为代表类贝壳杉烷型化合物，具有心脏和脑组织的保护作用，可以用于治疗心肌缺血和脑梗塞（专利 1：CN100508962 C）。此外，化合物 A 及相关的贝壳杉烷型化合物也可抑制组织损伤导致炎症反应，抑制心肌和肺组织的纤维化（专利 2：CN108348481 A）。化合物 A 对同时也可能用于代谢性疾病和糖尿病心肌炎等。研究还证明，化合物 A 对一些细胞因子如 TNF- α ，白介素 IL-6 等也有抑制作用。

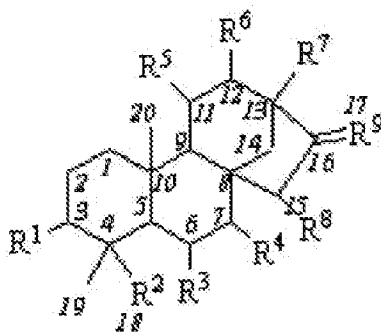
然而，化合物 A 及相关贝壳杉烷类化合物在治疗炎症性肠病并没有报道。现已知道，免疫功能失调是诱发炎症性肠病的主要原因，而巨噬细胞和 T 细胞的不平衡对上述细胞因子风暴启动和发展起着关键作用。然而，化合物 A 及相关贝壳杉烷类化合物对上述免疫功能失调和巨噬细胞、T 细胞的免疫调节作用，也没有报道。

在此发明中，我们首次提出化合物 A 及相关贝壳杉烷类化合物，可用于治疗炎症性肠病；可以改善炎症性肠病。化合物 A 及相关贝壳杉烷类化合物还可以通过抑制炎症性肠病导致巨噬细胞的极化和 T 细胞的分化，抑制多种细胞因子和化学毒性物质的表达，从而调节异常的免疫炎症反应，达到治疗炎症性肠病的效果。

发明内容

本发明的目的是提供一种贝壳杉烷类化合物在制备炎症性肠病的治疗、预防药物中的药物的应用。本发明公开了一种新型治疗和/或预防炎症性肠病的药物。

本发明公开了贝壳杉烷类化合物，如化合物 A（结构式 (I)），用于治疗脓毒症和多器官衰竭。结构式 (I) 代表一类天然的、合成的或半合成的化合物。其中许多化合物已被公众所知(Kinghorn AD, 2002, p86-137; Sinder BB et al., 1998; Chang FR et al., 1998; Hsu FL et al., 2002)。结构式 (I) 的化合物可能有一个或多个不对称中心，也有可能以不同的立体异构体存在。

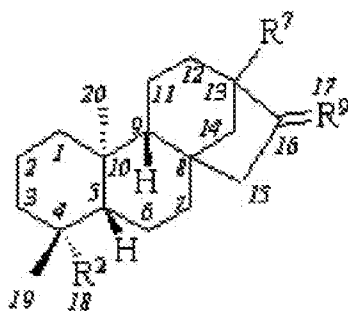


i. (I)

其中

- ii. R1: 氢、羟基或烷氧基。
- iii. R2: 羧基、羧酸盐、酰卤、醛基、羟甲基，和可以生成羧基的酯基、丙烯酰胺基、酰基或醚键基团。
- iv. R3、R4、R5、R6、R8: 氧、羟基、羟甲基和能水解生成羟甲基的酯基或烷氧甲基。
- v. R7: 甲基、羟基，和能水解生成羟甲基的酯基或烷氧甲基。
- vi. R9: 亚甲基或氧

一组优选化合物的结构如式(I')所示。所述化合物具有贝壳杉烷结构,在 C13 位置上被取代,在 C17, C18 上衍生化。所述化合物可能具有多个不对称中心,并存在不同的立体异构体或非对映异构体。位置 8 和 13 的绝对构型为(8R, 13S) 或 (8S, 13R)。



(I')

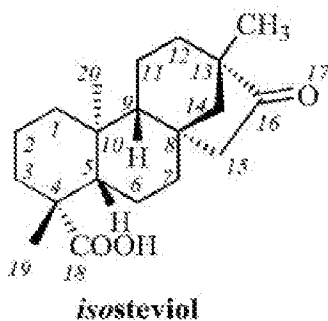
其中

vii. R₂: 羧基、羧酸盐、醛基、羟甲基、甲基酯、酰甲基、酰卤。

viii. R₇: 甲基, 羟甲基或甲基醚。

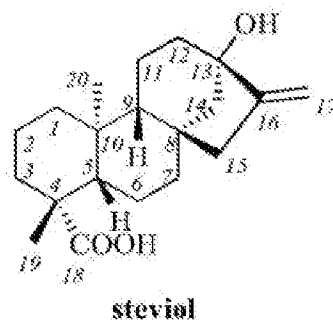
ix. R₉: 亚甲基或氧。

天然甜菊昔酸解后可以得到化合物 A。化合物 B 是甜菊糖的糖苷配基, 甜菊糖是化合物 B 的苷类。化合物 A 和 B 是同分异构体。化合物 B 可通过甜菊糖水解、氧化得到, 或通过动物肠道细菌催化反应得到。



isosteviol

Formula (II) - compound A



steviol

Formula (III) - compound B

化合物 A 的分子式为 $C_{20}H_{30}O_3$ ，化学名称为 (4 α , 8 β , 13 β) - 13-methyl-16-oxo-17-norkauran-18-oic acid。化合物 A 也被称为 ent-16-ketobeyran-18-oic acid。该化合物是含有贝壳杉烷结构的四环二萜类化合物，其中，不对称碳原子的绝对构型为：(4R, 5S, 8R, 9R, 10s, 13s)，碳 13 位上为甲基取代基，碳 16 上为羰基，碳 18 位上为羧基(Rodrigues et al., 1988)。

化合物 B 的分子式为 $C_{20}H_{30}O_3$ ，化学名称为 ent-13-hydroxykaur-16-en-18-oic acid，它也被称为甜菊醇。该化合物也是含有贝壳杉烷结构的四环二萜类化合物。其中，手性碳原子的绝对构型为(4R, 5S, 8R, 9R, 10S, 13S)，碳 13 上连接羟基，与碳 16 相邻的双键连接亚甲基，碳 18 连接羧基 (Rodrigues et al., 1993)。

化合物 A 或 B 在碳 18 位上也可以羧酸盐的形式存在，其中羧酸盐是钠和碱性金属或氯化物和卤素。化合物 A 和 B 都是含有贝壳杉烷结构的贝壳杉烷类化合物。化合物 A 是本发明的优选化合物。本发明公开了化合物 A 或 B 在治疗和预防心脏肥大和肺动脉高压方面具有相似的治疗效果。可以推断，结构式 (I) 的所有其它化合物也具有与化合物 A 相同的治疗效果。据报道，化合物 B 在体外一定条件下会致突变。因此，与化合物 B 相比，化合物 A 更适合作为治疗药物。本发明所使用的化合物 A 是溶解度较好的化合物 A 的钠盐。

本发明公开化合物 A 结构式 (I) 在治疗和预防炎症性肠病方面的应用。DSS 诱发小鼠炎症性肠病后，小鼠体重减轻，出现便血。如给与 DSS 后再腹腔给与化合物 A 则小鼠体重有所恢复，便血明显减少。在本发明的一个实验中，在自由饮水中加入 DSS，连续七天，小鼠体重明显减轻，出现便血，腹泻，组织病理学评分加重；如自由饮用 DSS 的同时，再给予化合物 A (10-15 mg/kg)，小鼠的体重有所恢复，便血和腹泻减轻，呈剂量依赖性。

本发明还公开了在 DSS 诱发的炎症性肠病小鼠，血液血常规检测结果显示小鼠的白细胞，中性粒细胞和单核细胞值较正常组有显著性升高，显示 DSS 模型组的小鼠出现炎症反应；给予化合物 A 后小鼠的白细胞，中性粒细胞和单核细胞，比 DSS 模型组有显著性下降，同时接近正常水平。效果优于或者相当市售药物 5-氨基水杨酸（5-ASA）、地塞米松（Dex）和英芙利息（IFX）。表明化合物 A 对炎症性肠病导致的免疫功能紊乱有明显的调节作用，并使其恢复正常。本发明公开的另一实施中，结构式（I）中的化合物 B 也具有和化合物 A 相似的效果。以上公开内容是以往未被报道的，也不是业内人士可以预测和推知的，应被视为具备新颖性和创造性。

另一方面，本研究还公开了，令人意外的发现：在上述 DSS 诱发的炎症性肠病小鼠，给予 Dex 后，中性粒细胞与炎症性肠病小鼠相比反而进一步增加。表明免疫功能紊乱不仅没有恢复正常，反而加重了免疫功能的失调。此外，脾脏是调节免疫抗体的重要器官，它生成的各类免疫球蛋白对于机体对抗病原至关重要，炎症性肠病小鼠脾脏/体重比例明显增加。然而使用激素治疗后，该比例明显减少。且低于正常对照水平。体重机体对抗病原的能力有所降低。本发明第一次公开了，使用化合物 A 治疗炎症性肠病可以避免临床使用皮质激素治疗炎症性肠病的毒副作用。本发明公开的另一实施中，结构式（I）中的化合物 B 也具有和化合物 A 相似的效果。以上公开内容是以往未被报道的，也不是业内人士可以预测和推知的，应被视为具备新颖性和创造性。

细胞因子在机体系统性的产生（细胞因子风暴）是炎症性肠病发生和发展的重要原因。本发明公开的实验中，DSS 诱导炎症性肠病小鼠第七天后，检测小鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 和 IFN- γ 含量较正常组显著性增加，给予不同剂量的化合物 A 后血清中的 TNF- α 、IL-1 β 和 IFN- γ 显著性减少。现有文献报道了

化合物 A 可以抑制缺血损伤时上述炎症因子的增加。本发明首次公开了化合物 A 对可以抑制炎症性肠病导致的细胞因子的增加。缺血和炎症性肠病病因和病理机制完全不同。本发明公开的另一实验中结构式 (I) 中的化合物 B 也具有和化合物 A 相似的功效。本发明公开的上述内容不是业内人士可以预测和推知的，应被视为具备新颖性和创造性。

本发明还公开了炎症性肠病时脾脏的巨噬细胞 M1 和 M2 明显增加。给予化合物 A 后上述 M1 和 M2 巨噬细胞的生物标记物以及巨噬细胞数量均显著下降。化合物 A 可以通过抑制 M1 和 M2 型巨噬细胞，调节巨噬细胞导致的炎症反应。

本发明还公开了炎症性肠病时对脾脏的 T 细胞的影响。DSS 模型组 Th17 细胞显著增加，而 Treg 细胞降低，给予化合物 A 后上述 Th17 细胞降低和 Treg 细胞增加。化合物 A 可以通过调节 T 细胞减缓炎症反应。

附图说明

图 1 是本发明实施例 1 中化合物 A 对炎症性肠病小鼠便血的影响。

图 2 是本发明实施例 1 中不同剂量的化合物 A 腹腔注射对 DSS 诱导的炎症性肠病小鼠体重的影响

图 3 是本发明实施例 1 中化合物 A 对炎症性肠病小鼠结肠长度的影响。

图 4 是本发明实施例 1 中化合物 A 对炎症性肠病小鼠脾脏重量的影响。

图 5 是本发明实施例 1 中化合物 A 对炎症性肠病小鼠组织 HE 染色。

图 6 是本发明实施例 1 中化合物 A 对炎症性肠病小鼠组织病理学评分的影响。

图 7 是本发明实施例 2 中化合物 A 对炎症性肠病小鼠肠道通透性的影响。

图 8 是本发明实施例 3 中化合物 A 对炎症性肠病小鼠血常规的影响。

图 9 是本发明实施例 4 中化合物 A 对炎症性肠病小鼠炎症因子的影响

图 10 是本发明实施例 5 中化合物 A 对炎症性肠病小鼠 Th7 细胞的影响

图 11 是本发明实施例 5 中化合物 A 对炎症性肠病小鼠 FoxP3 细胞的影响

图 12 是本发明实施例 5 中化合物 A 对炎症性肠病小鼠巨噬细胞 M1 的影响

图 13 是本发明实施例 5 中化合物 A 对炎症性肠病小鼠巨噬细胞 M2 的影响。

实施例

在以下实施例中详细提供了本发明的方法和实施方式。

具体实施方式

为了进一步说明用于实现本发明目的的技术，下文描述了关于确定和鉴定本发明中化合物的药物和治疗用途的详细方法，技术，流程和特点。案例提供了用于支持及验证本发明所使用的动物模型的实验方法和结果。涉及的案例均使用了适当的对照组实验及统计分析方法。以下的案例均用于描述而非限制本发明的应用。这些案例所涉及的方法及技术可用于筛选及确定此类化合物制剂的治疗效果。其他此类化合物制剂的治疗效果评价可使用相同的方法。

本发明中列举的案例用于支持本发明的实验方法和结果，并验证本发明中使用的动物模型。本发明的所有实验均采用了适当的对照和统计检验。提供以下实施例来说明而非限制本发明。这些例子说明了用于筛选和确定结构式 (I) 中某些具有特定药理活性的贝壳杉烷化合物的方法和技术。也可以用相同的方法测定结构式 (I) 的其他化合物的治疗用途。

实验材料

实验动物：成年雄性 Balb/c 小鼠，体重 $20g \pm 5g$ ，6-8 周龄。饲养环境包括恒定的温度、湿度以及严格的黑暗光照周期，自由采食。

化学试剂：化合物 A (ent-17-norkaurane-16-oxo-18-oic acid，分子式， $C_{20}H_{40}O_3$ ，分子量：318.5) 是由甜菊糖通过酸性水解、结晶纯化而得到。化合物 A 的钠盐

可以通过加入 NaOH 或其他含钠碱获得；用高效液相色谱法测得化合物 A 的钠盐的纯度大于 99%。受试化合物的给药方式：静脉注射或腹腔注射或口服。剂量：化合物 A（或其钠盐），10 mg/kg 至 15 mg/kg。

统计分析

依次通过方差分析（单因素方差分析），Fisher 检验比较多组间的差异。所有检验的 P 值均为双尾，以 $P < 0.05$ 被认为是具有统计学差异。

实施例 1

本案例主要观察不同剂量的化合物 A 腹腔注射对葡聚糖硫酸钠（DSS）诱导的小鼠溃疡性结肠炎的影响。

清洁级 Balb/c 鼠，6-8 周，雄性。随机分为八组，设正常组（给予生理盐水），模型组（自由饮用 3.5% DSS），化合物 A (5 mg/kg) 空白组，化合物 A (10 mg/kg)+DSS 组，化合物 A (15 mg/kg)+DSS 组，阳性对照组 5-ASA (50 mg/kg)+DSS 组，阳性对照组 Dex (10 mg/kg)+DSS 组，阳性对照组 IFX (1 mg/kg)+DSS 组，每组 15 只。分组后实验组小鼠分别腹腔注射的化合物 A、Dex 和 IFX，灌胃 5-ASA，对照组腹腔注射生理盐水。实验组连续 2 天进行给药。第 3 天起实验组和对照组均开始自由饮用 3.5% DSS 水溶液，每只小鼠每天的饮水量按 7mL 计算，每两天换一次新鲜的 DSS 溶液，DSS 共给予 7 天，每天观察小鼠的体重变化，便血情况和粪便粘稠度。并于第 10 天对小鼠进行采血，处死，取小鼠结直肠组织并测量长度，部分组织进行福尔马林固定和剩下组织的冻存在 -80°C 进行保存，用于后续的组织学分析和分子生物学实验。

由图 1 可以看出，DSS 组模型组的小鼠便血严重，而化合物 A 干预给药后，小鼠的便血情况有所缓解。

图 2 可以看出，第 0 天，所有 7 组动物的平均体重基本一致。在之后的 7

天中，正常组和 15mg/kg 对照组体重稳步上升。前三天所有组别的体重都有缓步增长，但从自由饮用 DSS 后的第四天开始除正常组和 15mg/kg 对照组外的其他所有组别体重都有一个陡降的趋势，其中模型组和 Dex 组的体重与其他组相比，体重减轻最多。化合物 A 治疗组的体重也都有所下降。两种阳性对照药，5-ASA 和 Infliximab 组动物体重的减轻比模型组要少，Infliximab 组体重的减少要高于组 5-ASA。可知化合物 A 对于体重的保持效果较好。

从图 3 可以看出，在给予动物 DSS 后，实验动物结肠由于肠壁变薄重量会减轻，长度也会缩短。在第 9 天处死动物后，对结肠组织进行长度的测量，我们发现经药物治疗后，化合物 A 组动物结肠组织的长度与模型组相比有显著增加，而其他给药组虽然也有所增加，但无显著性差异。

动物的脾脏重量的增加可能与炎症程度相关。从图 4 可以看出，在给予 DSS 后，小鼠的脾脏重量会有所增加，表现为脾肿大。在第 9 天处死后，对脾脏的重量进行称量记录，并继续采用各只动物处死前体重进行矫正。可以发现，模型组小鼠的脾脏大小和重量与正常对照组相比具有显著性差异。各给药组都可见不同程度的脾肿大缓解，与模型组相比，化合物 A、5-ASA、Dex 和 infliximab 各组否有所下降其中，与模型组相比均有显著性差异。

结肠组织病理学改变是评价药物作用疗效的最有力的证据之一。从图 5 和图 6 可以看出，DSS 第 9 天，模型组小鼠肠组织结构重度异常，主要表现为粘膜层正常结构基本全部消失，粘膜上皮细胞糜烂脱落，固有膜裸露，粘膜层大量炎症细胞，新生血管及纤维组织增生，并可见出血，粘膜下层水肿，并可见大量炎症细胞浸润。而各剂量化合物 A、5-ASA 和 infliximab 组病理损害均有部分类似模型组的表现，但程度较轻，而 Dex 组较模型组无显著性差异。

实施例 2

本案例主要观察各组实验小鼠结肠的通透性。

1) 原理: 动物肠道的通透性程度可以通过使用荧光示踪剂检测血清中的荧光强度进行半定量检测。

2) 标准曲线的制作:

取正常小鼠数只,收集无溶血血清,称取 FITC-dextran 粉末 200 μg ,溶于 5ml 血清中,倍比稀释,再使用酶标仪检测荧光强度,即可得到标准曲线。

3) 处死动物当天,提前 4 小时禁食。

4) 灌胃给予配制好的 FITC-dextran 示踪剂,剂量 60 mg/kg 重。

5) 动物处死前取血,收集无溶血血清。

6) 将血清加入 96 孔板中,每孔 100 μl 使用酶标仪检测荧光强度(激发光 488nm,发射光 520nm)。

7) 通过标准曲线公式可计算出动物血清中 FITC-dextran 的含量。

FITC-dextran(荧光素标记葡聚糖)是一种荧光染料,外源性的给予小鼠 FITC-dextran 后,通过检测血清中 FITC-dextran 的荧光强度可以反映肠道通透性的高低,是一种新型的评价肠道炎症的指标。因此在处死动物当天,对小鼠禁食 6h 以上,然后灌胃给予 FITC-dextran,6h 后,检测血清中 FITC-dextran 荧光含量。如图 7 所示,正常对照组小鼠血清中 FITC 含量很低,说明肠道通透性正常。而模型组的 FITC 含量明显升高,说明肠道通透性增加,肠壁有损伤。而化合物 A、5-ASA、Dex 和 Infliximab 组的 FITCF 含量均有显著降低,说明化合物 A 对保护肠道有一定的作用。

实施例 3

本案例主要说明了化合物 A 对炎症性肠病血常规的影响。

第 9 天后,对小鼠进行采血,轻轻滴入准备好的 EDTA 盐抗凝的 EP 管内,

将采取的 80-100 μL 血液标本混匀，使用全自动血液分析仪检测血常规，包括红细胞计数 (RBC)、单核细胞 (MONO)、中性粒细胞 (LYMPH)、血小板 (PLT)、血红蛋白 (HGB)、红细胞压积 (HCT) 及白细胞计数 (WBC) 等。

如图 8 所示，与正常组比较，模型组的 WBC、NEUT、LYMPH 和 MONO 都显著增加，化合物 A、5-ASA 和 Infliximab 干预后，WBC、NEUT、LYMPH 和 MONO 都有所下降，但 Dex 组和模型组相比较无显著性差异。

实施例 4

本案例主要说明了化合物 A 对炎症因子的影响。

血清 TNF- α 、IFN- γ 和 IL-1 β 含量按照 ELISA 试剂盒提供的说明书进行。

如图 9 所示，在正常对照组小鼠的血清中血清 TNF- α 、IFN- γ 和 IL-1 β 含量较低，而模型组小鼠血清中血清 TNF- α 、IFN- γ 和 IL-1 β 的含量则显著升高，具有显著性差异。给药化合物 A、5-ASA 组、Dex 组和 infliximab 组小鼠血清的血清 TNF- α 、IFN- γ 和 IL-1 β 含量均有所下降，其中化合物 A 与模型组相比较均有显著性差异，5-ASA 与模型组相比 IFN- γ 的含量有显著性差异；Infliximab 与模型组相比 TNF- α 的含量有显著性差异。结果表明，化合物 A 改善了炎症反应导致的血清抗炎因子的高水平表达。

实施例 5

这个例子说明化合物 A 对 T 细胞和巨噬细胞极化的影响。

1) 实验动物分组：70 只 6-8 周龄 Balb/c 雄性小鼠适应性喂养一周后，随机分成 8 组，各组 10 只，分别为正常组、化合物 A 正常对照组、DSS 模型组、化合物 A 组、5-ASA 组、Dex 组和 infliximab 组。连续自由饮用 DSS 七天。

2) 脾脏腹腔巨噬细胞和 T 细胞的提取：第八天引颈处死小鼠，提取脾脏 T 细胞和巨噬细胞。

3) 流式检测巨噬细胞: 用 MACS 对巨噬细胞冰上阻断 20 min 后, 1000 rpm, 4 °C 离心 5 min, 弃上清, 细胞悬液中加入各 0.2 μl 的 PE-抗小鼠的 F4/80 抗体和 BV421-抗 CD11c 抗体, 冰上避光孵育 30 min 后, PBS 洗一次, 用 50 μl 固定液冰上固定 10 min, 50 μl 的 1x 破膜液破膜, 1000 rpm, 4 °C 离心 5 min, 再加 100 μl 1 x 破膜液破膜, 离心, 加入 0.2 μl 的 FITC-抗小鼠 CD206 抗体冰上避光孵育 30 min 后, 加 100 μl 破膜液离心后, 最后加 1 ml PBS 洗一次, 离心, 收集沉淀, 200 μl PBS 重悬, FACSCelesta 流式细胞仪检测, FlowJo 7.6.1 软件分析 M1 型 (F4/80⁺CD11c⁺CD206⁻) 和 M2 型 (F4/80⁺CD11c⁻CD206⁺)。

4) 流式检测 T 细胞: 用 MACS 对巨噬细胞冰上阻断 20 min 后, 1000 rpm, 4 °C 离心 5 min, 弃上清, 细胞悬液中加入各 0.2 μl 的 CD4、CD3 和 CD25 抗体, 冰上避光孵育 30 min 后, PBS 洗一次, 用 50 μl 固定液冰上固定 10 min, 50 μl 的 1x 破膜液破膜, 1000 rpm, 4 °C 离心 5 min, 再加 100 μl 1 x 破膜液破膜, 离心, 加入 0.2 μl 的 IL-17 和 FoxP3 抗体冰上避光孵育 30 min 后, 加 100 μl 破膜液离心后, 最后加 1 ml PBS 洗一次, 离心, 收集沉淀, 200 μl PBS 重悬, FACSCelesta 流式细胞仪检测, FlowJo 7.6.1 软件分析 Th17 和 Treg 细胞。

如图 10 和图 11 所示, 和 DSS 模型组比较, 化合物 A、5-ASA 组、Dex 组和 infliximab 干预后 Th17 细胞显著减少, Treg 细胞显著增加, 说明化合物 A 在 T 细胞的调节中起重要作用。

如图 12 和图 13 所示, 和 DSS 模型组比较, 化合物 A、5-ASA 组、Dex 组和 infliximab 干预后 M1 型和 M2 型腹腔巨噬细胞都显著减少, 说明化合物 A 在 M1 和 M2 巨噬细胞的失衡起到调节作用, 维持体内巨噬细胞的平衡。

以上所述仅是本发明的优选实施方式, 并不用于限制本发明, 应当指出, 对于本技术领域的普通技术人员来说, 在不脱离本发明的技术原理的前提下,

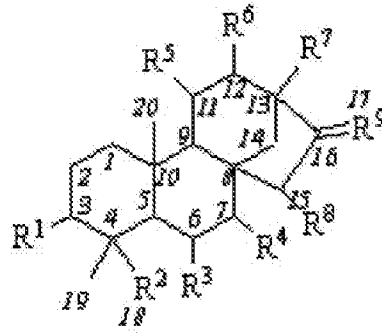
还可以作出若干改进和变型，这些改进和变型也应视为本发明的保护范围。

1. 一种使用贝壳杉烷化合物及其药学上可接受的盐或其与免疫抑制药物、抗体、抗生素或 S1P 受体调节剂联合在制备用于预防和治疗炎症性肠病和肠外表现的药物制剂中的应用。
2. 根据权利要求 1 中的方法所述的炎症性肠病包括溃疡性结肠炎和克罗恩病。
3. 权利要求 2 所述克罗恩病所包括肛周的病症有：肛周的红斑、脓肿、溃疡和肛周的裂纹或瘻管。
4. 权利要求 3 所述肛周的症状包括痔疮发炎症状。
5. 权利要求 2 所述克罗恩病包括纤维化和肠腔狭窄。
6. 根据权利要求 1 所述肠外表现，为口腔克罗恩病、淀粉样变病、巩膜外层炎、巩膜软化症、角膜溃疡、原发性硬性胆管炎、狼疮和肺部炎性疾病。
7. 根据权利要求 1 所述肠外表现，为关节炎、骨关节炎和强直性脊柱炎。
8. 根据权利要求 1 所述肠外表现，为炎症性皮肤病，包括非典型皮炎、牛皮癣、酒渣鼻、疖子、痤疮、脓皮病坏疽、甜综合征、肠相关皮肤病-关节炎综合征（BADAS）、增值型脓性皮炎-化脓性口炎（PPV）、超敏性血管炎。
9. 根据权利要求 1 所述肠外表现，为自身免疫性皮肤病，包括荨麻疹、白癜风和斑秃。
10. 根据权利要求 1 中所述的预防和治疗，其特征为其预防和治疗的作用机制涉及抑制细胞因子的产生或抑制细胞因子风暴。细胞因子包括 TNF- α 、IL-1 β 和 IFN- γ 等。
11. 根据权利要求 1 所述消炎药物，其特征在于包括柳氮磺吡啶、美沙拉嗪、巴柳氮奥沙拉秦的 5-氨基水杨酸盐和包括强的松、布地奈德、氟替卡松、氟尼缩松、环索奈德、莫米松、倍氯米松、地塞米松的皮质类固醇。
12. 根据权利要求 1 所述消炎药物，其特征在于包括柳氮磺吡啶、美沙拉嗪、巴

柳氮和奥沙拉秦的 5-氨基水杨酸盐。

13. 根据权利要求 1 所述抗生素，为氨基糖苷类抗生素、安沙霉素、碳头孢烯、碳青霉烯、头孢菌素、糖肽、林可胺、脂肽、大环内酯、单菌霉素、硝基咪喃、恶唑酮、青霉素、多肽、啊喹诺酮、磺胺类药、四环素、氯霉素、磷酸抗生素和一种分枝杆菌抗生素。
14. 根据权利要求 1 所述抗体，为英夫利昔单抗、阿达木单抗、戈利木单抗、维多珠单抗、赛妥珠单抗、那他珠单抗、优特克单抗和 Bm-ca。
15. 根据权利要求 1 中所述的预防和治疗，其特征为其作用机制涉及抑制和调节巨噬细胞的激活和增殖。
16. 根据权利要求 1 中所述的预防和治疗，其特征为其作用机制涉及抑制炎症细胞包括白细胞、中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞的激活和增殖。
17. 权利要求 1 所述治疗包括抑制肠道固有淋巴细胞和 CD4、CD8 T 淋巴细胞的活化。
18. 权利要求 1 所述治疗包括巨噬细胞、固有淋巴细胞和 CD4、CD8T 淋巴细胞的新陈代谢重编程。
19. 根据权利要求 1 中的方法所述的化合物是结构式 (I) 所代表的化合物。

结构式 (I) 的化合物可能有一个或多个不对称中心，也有可能以不同的立体异构体存在。



i. (I)

结构式 I

其中

ii. R1: 氢、羟基或烷氧基。

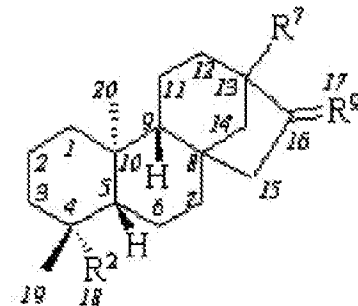
iii. R2: 羧基、羧酸盐、酰卤、醛基、羟甲基, 和可以生成羧基的酯基、丙烯酸胺基、酰基或醚键基团。

iv. R3、R4、R5、R6、R8: 氧、羟基、羟甲基和能水解生成羟甲基的酯基或烷氧甲基。

v. R7: 甲基、羟基, 和能水解生成羟甲基的酯基或烷氧甲基。

vi. R9: 亚甲基或氧。

20. 根据权利要求 12 中的方法所述的化合物, 其特征在于其中所述的结构式 (I) 化合物为结构式(II)所示的化合物。所述化合物可能具有多个不对称中心, 并存在不同的立体异构体或非对映异构体。位置 8 和 13 的绝对构型为 (8R, 13S) 或 (8S, 13R)。



结构式(II)

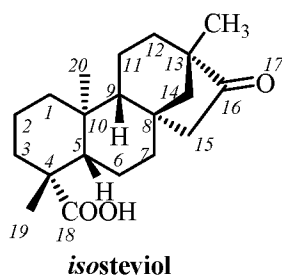
其中

vii. R2: 羧基、羧酸盐、醛基、羟甲基、甲基酯、酰甲基、酰卤。

viii. R7: 甲基, 羟甲基或甲基醚。

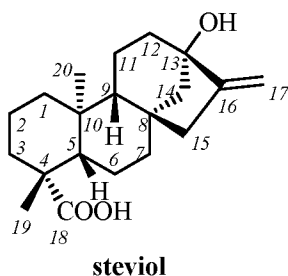
ix. R9: 亚甲基或氧。

21. 根据权利要求 12 中所述的化合物, 其特征在于其中所述的结构式 (I) 化合物为结构式 A 所示的化合物。



结构式 A

22. 根据权利要求 12 中所述的化合物, 其特征在于其中所述的结构式 (I) 化合物为结构式 B 所示的化合物。



结构式 B

23. 根据权利要求 1 中所述的药物制剂包括: 片剂、胶囊剂、颗粒剂、栓剂、软膏剂、贴剂、水针剂以及经口服、非肠道途径或植入的缓控释剂。
24. 根据权利要求 1 中所述的药物制剂, 其特征在于经肺或经鼻的吸入雾化剂、定量气雾剂或干粉吸入剂。
25. 根据权利要求 1 中的方法所述药物制剂, 其特征在于使用药用标准的液体注射剂或输液剂或其它合适剂型, 通过肌肉、静脉、腹腔、介入导管和呼吸机等方法递送到需要的病人。
26. 根据权利要求 1 所述的药物组合, 其特征为通过口服、吸入、鼻用喷雾、注

射、外用、滴眼、直肠或阴道给药并且以固体极性、溶液剂型、喷雾器气雾剂剂型、注射剂型、软膏剂型、皮肤贴剂型、薄膜剂型、软胶囊剂型、栓剂剂型给予所需的患者。

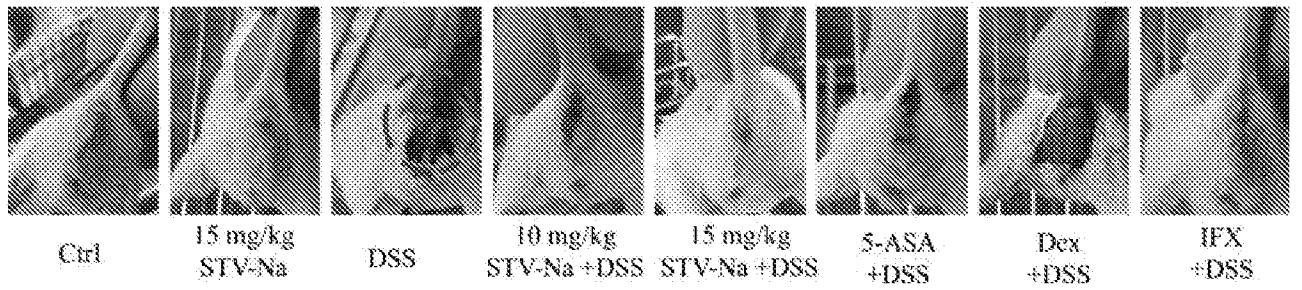


图 1

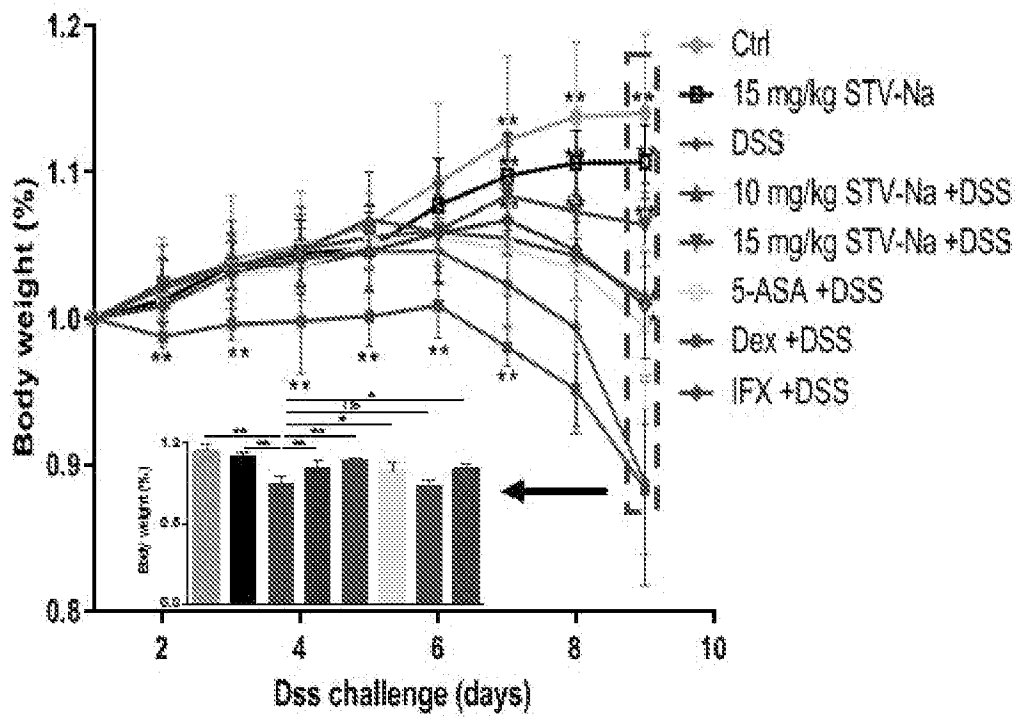


图 2

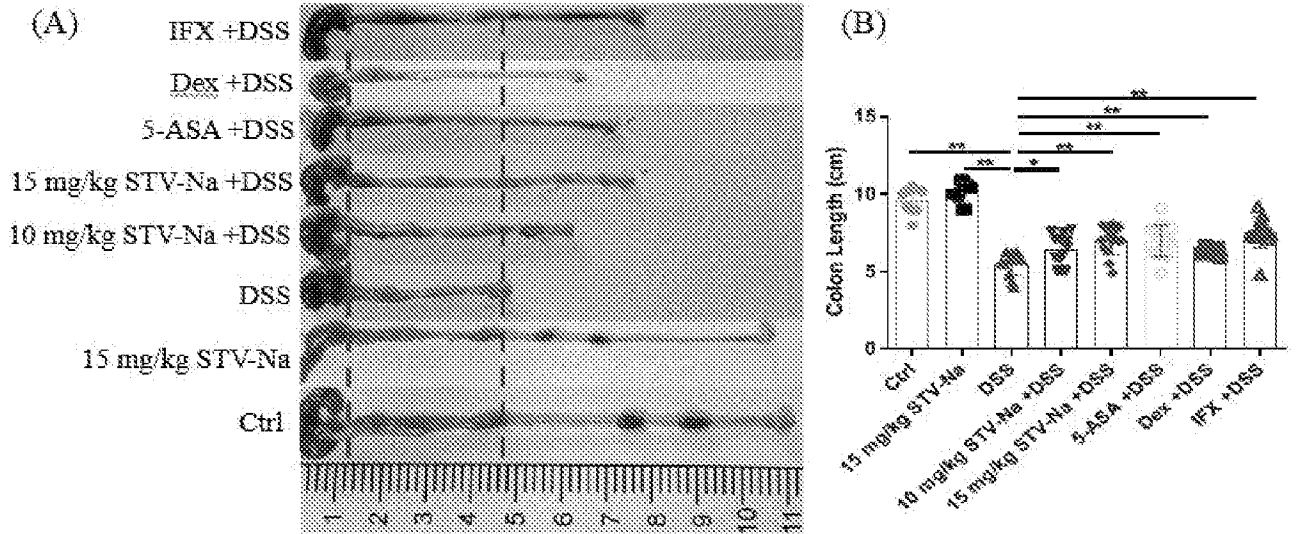


图 3

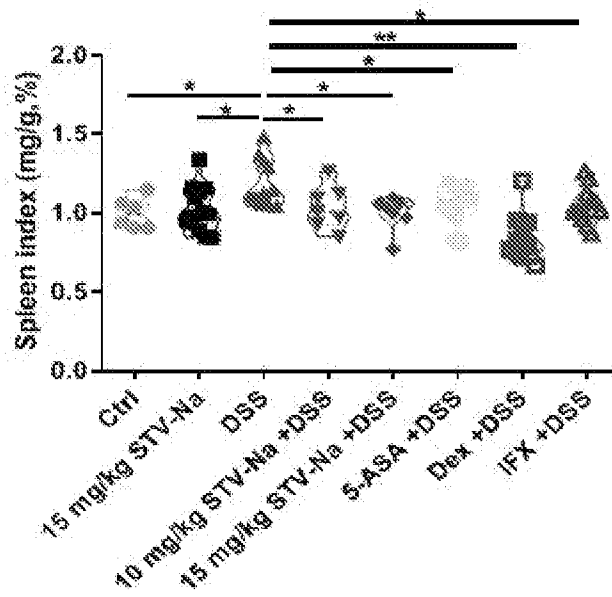


图 4

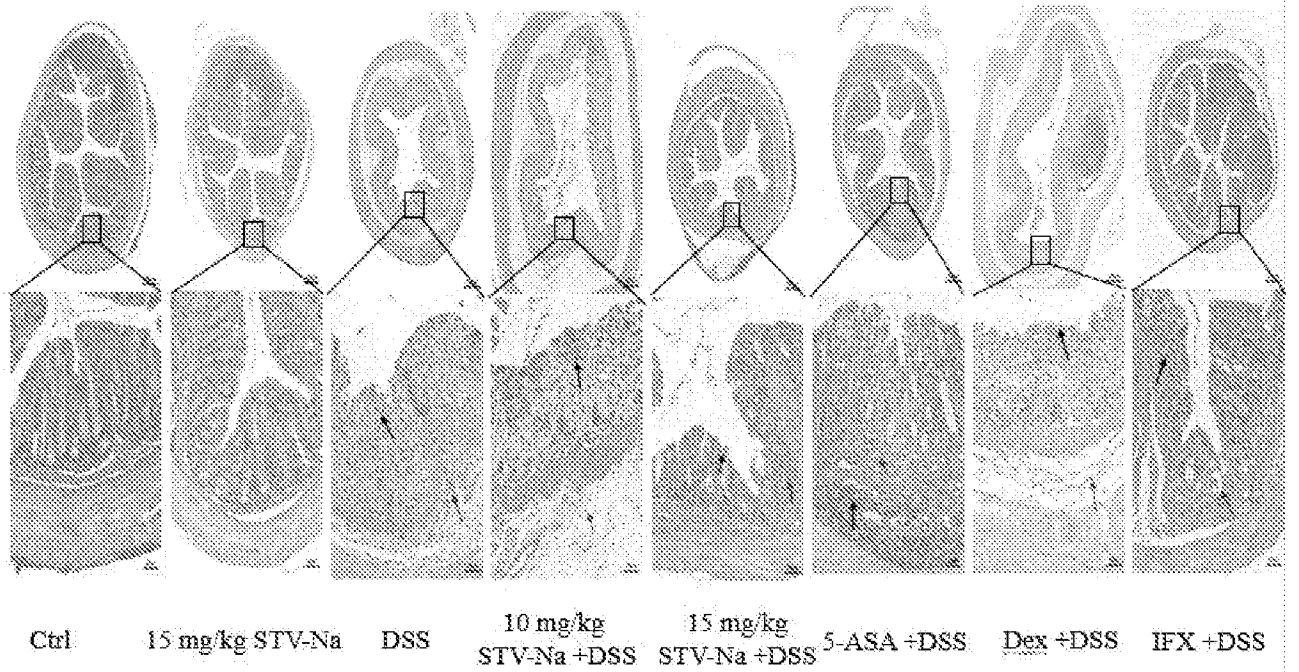


图 5

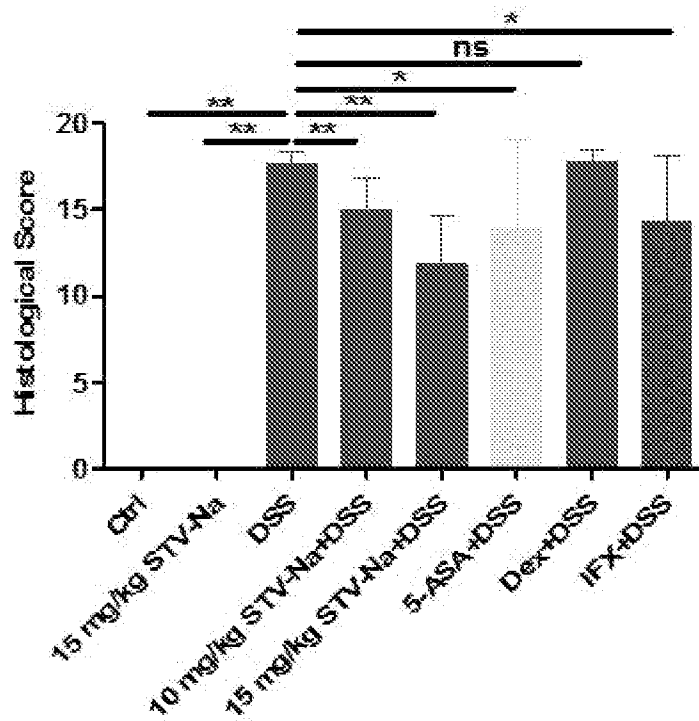


图 6

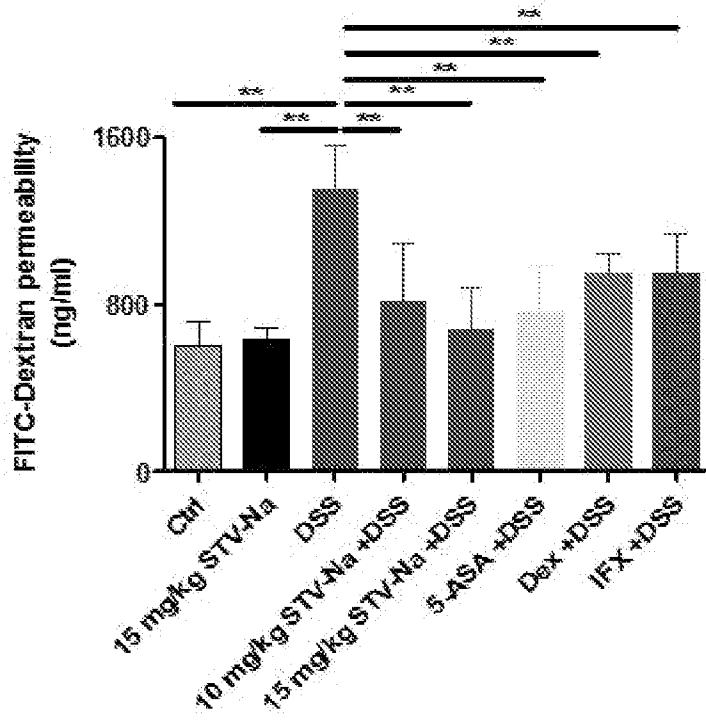


图 7

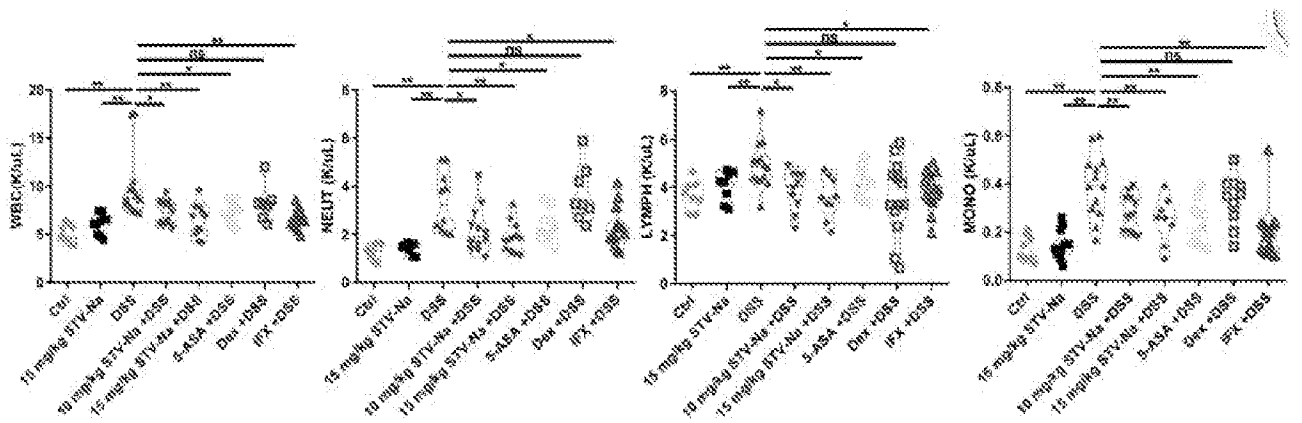


图 8

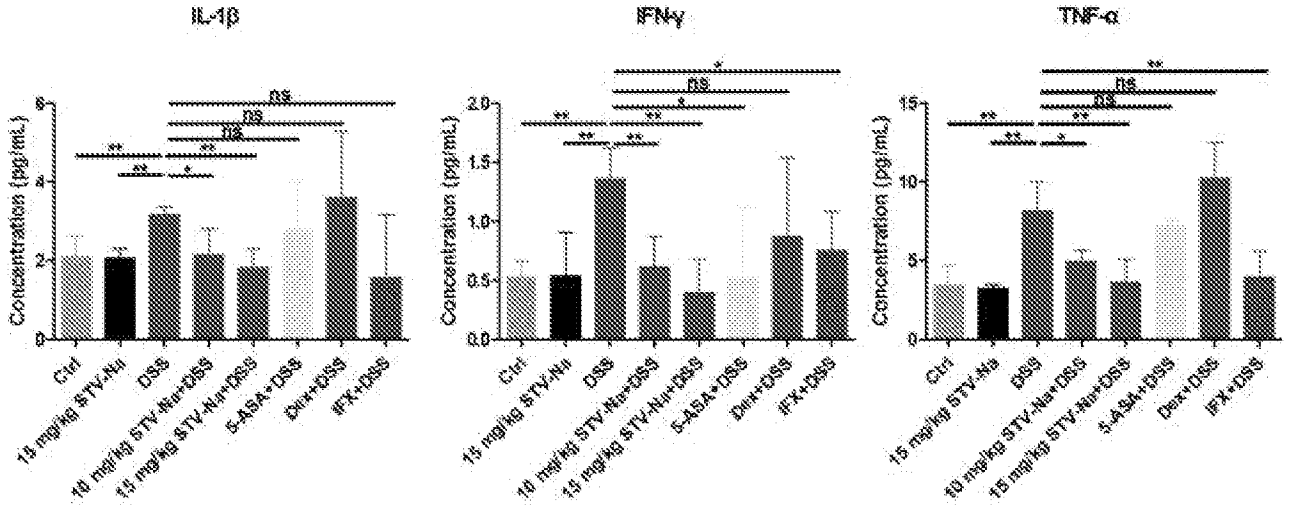


图 9

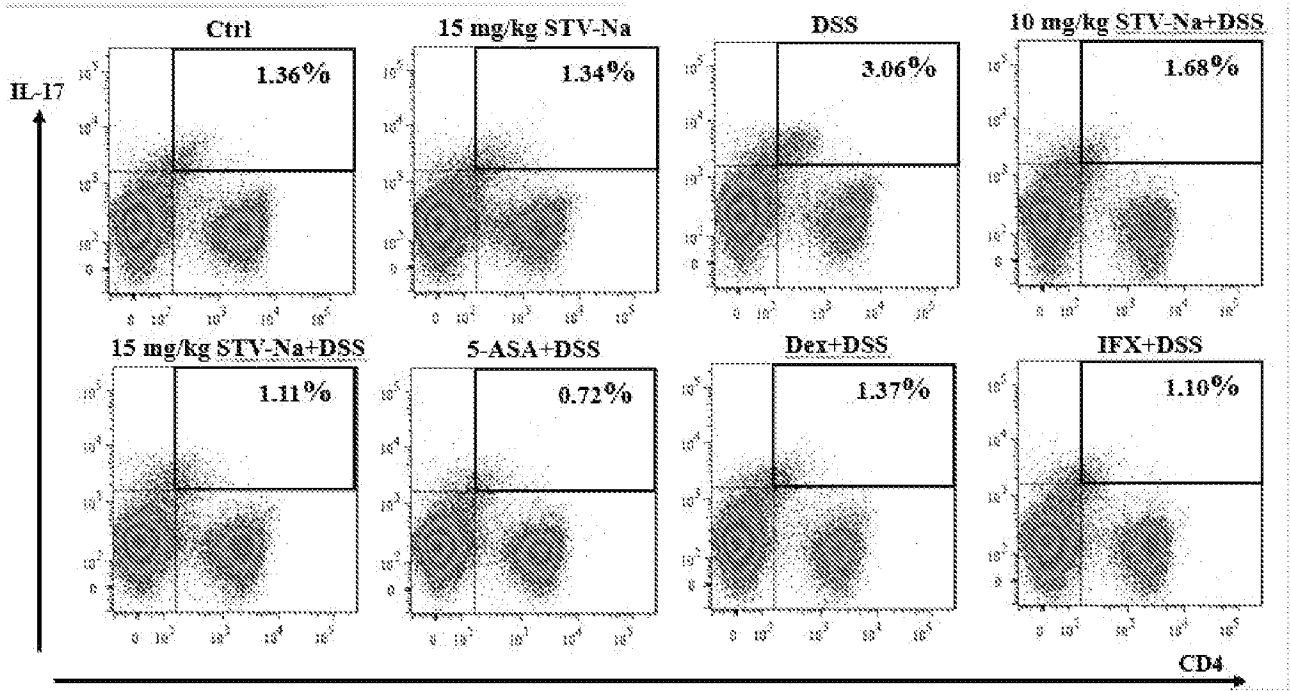


图 10

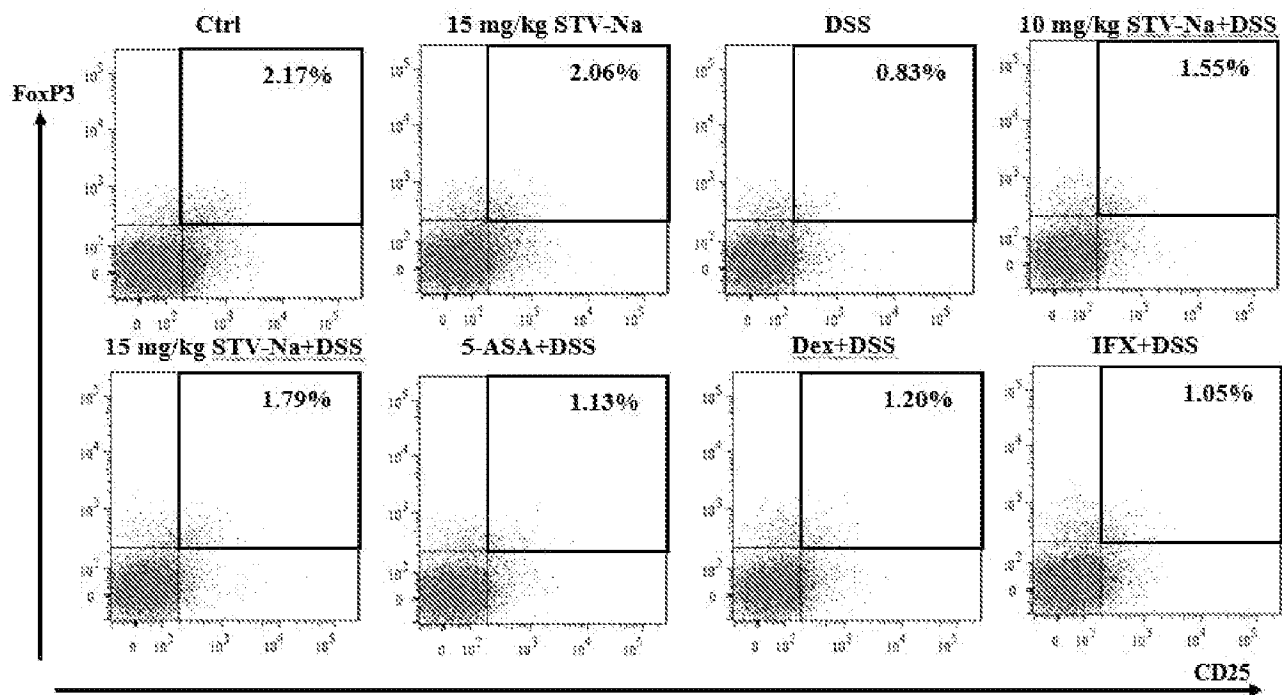


图 11

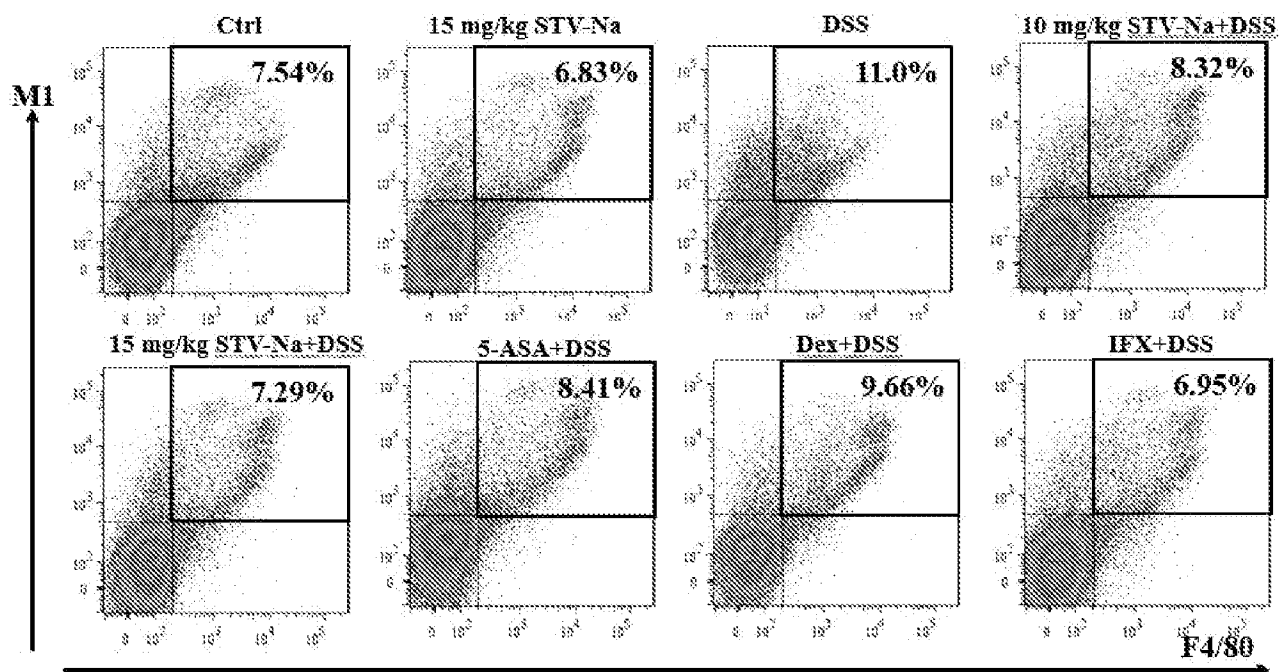


图 12

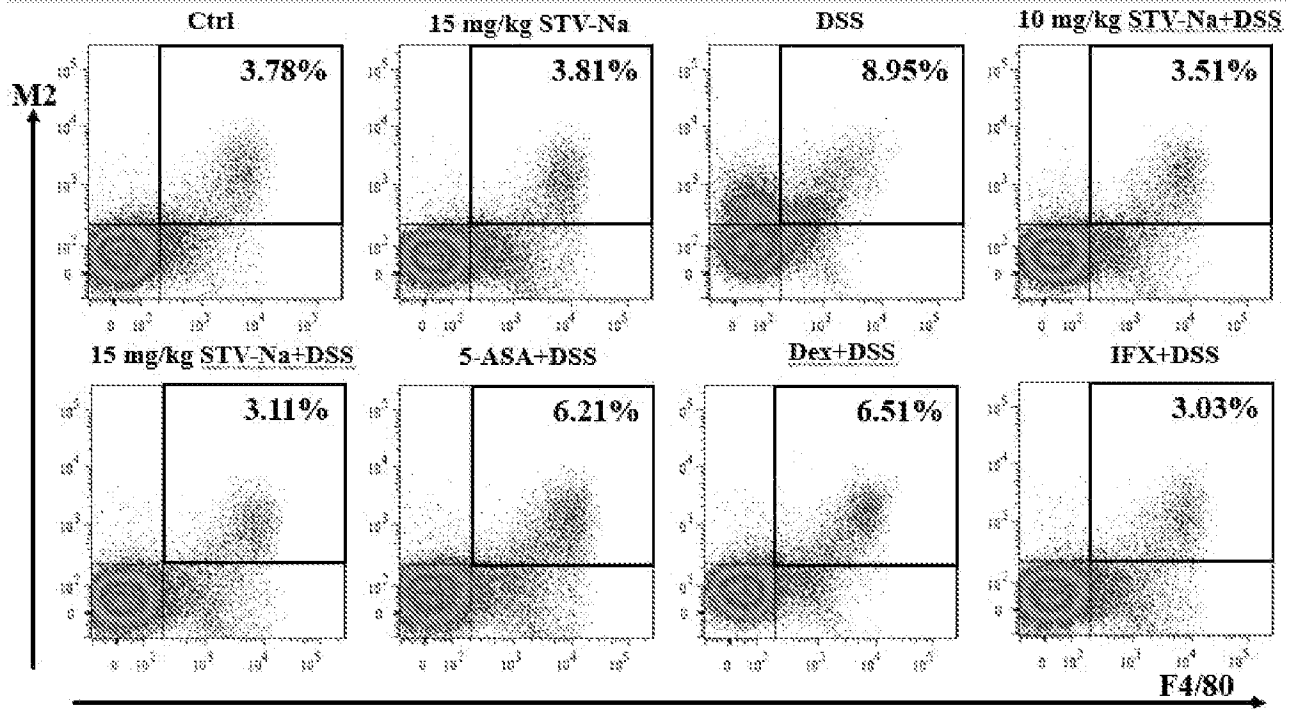


图 13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/101349

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A61K 31/19(2006.01)i; A61K 45/06(2006.01)i; A61P 1/00(2006.01)i; A61P 29/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K; A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS; WPABSC; DWPI; WPABS; VEN; CNTXT; EPTXT; USTXT; WOTXT; CNKI; 中国药物专利数据库, China Medicine Patent Database; 百度学术搜索, BAIDU SHCOLAR; ISI-WEB OF SCIENCE; Pubmed; STN; 甜菊醇, 异甜菊醇, 甜菊苷, 炎症性肠病, 溃疡性结肠炎, 克罗恩病, steviol, isosteviol, stevioside, 471-80-7, 27975-19-5, inflammatory bowel disease, ulcerative colitis, Crohn's disease, IBD		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 113304133 A (DONGGUAN KAIFA BIOLOGICAL MEDICINE CO., LTD.) 27 August 2021 (2021-08-27) claims 1-26	1-26
PX	WO 2021132698 A1 (SUNTORY HOLDINGS LIMITED) 01 July 2021 (2021-07-01) description, paragraph 20	1-26
X	US 2010099640 A1 (GEUNS, J. et al.) 22 April 2010 (2010-04-22) description, paragraphs 41, 323-353, and 361, and table 4	1-26
X	US 2018153841 A1 (KALMARNA LIMITED) 07 June 2018 (2018-06-07) claims 1-15	1-26
PX	WANG, Shanping et al. "Isosteviol Sodium Exerts Anti-Colitic Effects on BALB/c Mice with Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis Through Metabolic Reprogramming and Immune Response Modulation." <i>Journal of Inflammation Research</i> , Vol. 14, 20 December 2021 (2021-12-20), ISSN: 1178-7031, pages 7107-7130	1-26
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 14 September 2022		Date of mailing of the international search report 29 September 2022
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ALAVALA, S. et al. "Stevioside, a diterpenoid glycoside, shows anti-inflammatory property against Dextran Sulphate Sodium-induced ulcerative colitis in mice." <i>European Journal of Pharmacology</i> , Vol. 855, 08 May 2019 (2019-05-08), ISSN: 0014-2999, pages 192-201	1-26
Y	万会达 (WAN, Huida). "甜菊苷的酶促糖基化和水解反应研究 (Non-official translation: Studies on Enzymatic Glycosylation and Hydrolysis of Stevioside)" <i>中国优秀硕士学位论文全文数据库(博士) 工程技术I辑 (Chinese Doctoral Dissertations Full-text Database, Engineering Science I)</i> , No. 4, 15 April 2013 (2013-04-15), ISSN: 1674-022X, pages B024-4	1-26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/101349

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN	113304133	A	27 August 2021	None	
WO	2021132698	A1	01 July 2021	JP	WO2021132698 A1 01 July 2021
				TW	202137977 A 16 October 2021
				AU	2020412031 A1 28 July 2022
US	2010099640	A1	22 April 2010	EP	2155769 A2 24 February 2010
				WO	2008134828 A2 13 November 2008
US	2018153841	A1	07 June 2018	US	2020179322 A1 11 June 2020

<p>A. 主题的分类</p> <p>A61K 31/19(2006.01)i; A61K 45/06(2006.01)i; A61P 1/00(2006.01)i; A61P 29/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>A61K; A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS;WPABSC;DWPI;WPABS;VEN;CNTXT;EPTXT;USTXT;WOTXT;CNKI;中国药物专利数据库;百度学术搜索;ISI-WEB OF SCIENCE;Pubmed;STN: 甜菊醇, 异甜菊醇, 甜菊苷, 炎症性肠病, 溃疡性结肠炎, 克罗恩病, steviol, iso-steviol, stevioside, 471-80-7, 27975-19-5, inflammatory bowel disease, ulcerative colitis, Crohn's disease, IBD</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>CN 113304133 A (东莞市凯法生物医药有限公司) 2021年8月27日 (2021 - 08 - 27) 权利要求1-26</td> <td>1-26</td> </tr> <tr> <td>PX</td> <td>WO 2021132698 A1 (SUNTORY HOLDINGS LTD.) 2021年7月1日 (2021 - 07 - 01) 说明书第20段</td> <td>1-26</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>US 2010099640 A1 (GEUNS, Joannes等) 2010年4月22日 (2010 - 04 - 22) 说明书第41、323-353、361段, 表4</td> <td>1-26</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>US 2018153841 A1 (KALMARNA LTD.) 2018年6月7日 (2018 - 06 - 07) 权利要求1-15</td> <td>1-26</td> </tr> <tr> <td>PX</td> <td>WANG, Shanping等. "Isosteviol Sodium Exerts Anti-Colitic Effects on BALB/c Mice with Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis Through Metabolic Reprogramming and Immune Response Modulation." Journal of Inflammation Research., 第14卷, 2021年12月20日 (2021 - 12 - 20), ISSN: 1178-7031, 第7107-7130页</td> <td>1-26</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	CN 113304133 A (东莞市凯法生物医药有限公司) 2021年8月27日 (2021 - 08 - 27) 权利要求1-26	1-26	PX	WO 2021132698 A1 (SUNTORY HOLDINGS LTD.) 2021年7月1日 (2021 - 07 - 01) 说明书第20段	1-26	X	US 2010099640 A1 (GEUNS, Joannes等) 2010年4月22日 (2010 - 04 - 22) 说明书第41、323-353、361段, 表4	1-26	X	US 2018153841 A1 (KALMARNA LTD.) 2018年6月7日 (2018 - 06 - 07) 权利要求1-15	1-26	PX	WANG, Shanping等. "Isosteviol Sodium Exerts Anti-Colitic Effects on BALB/c Mice with Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis Through Metabolic Reprogramming and Immune Response Modulation." Journal of Inflammation Research., 第14卷, 2021年12月20日 (2021 - 12 - 20), ISSN: 1178-7031, 第7107-7130页	1-26
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
PX	CN 113304133 A (东莞市凯法生物医药有限公司) 2021年8月27日 (2021 - 08 - 27) 权利要求1-26	1-26																		
PX	WO 2021132698 A1 (SUNTORY HOLDINGS LTD.) 2021年7月1日 (2021 - 07 - 01) 说明书第20段	1-26																		
X	US 2010099640 A1 (GEUNS, Joannes等) 2010年4月22日 (2010 - 04 - 22) 说明书第41、323-353、361段, 表4	1-26																		
X	US 2018153841 A1 (KALMARNA LTD.) 2018年6月7日 (2018 - 06 - 07) 权利要求1-15	1-26																		
PX	WANG, Shanping等. "Isosteviol Sodium Exerts Anti-Colitic Effects on BALB/c Mice with Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis Through Metabolic Reprogramming and Immune Response Modulation." Journal of Inflammation Research., 第14卷, 2021年12月20日 (2021 - 12 - 20), ISSN: 1178-7031, 第7107-7130页	1-26																		
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件</p>																				
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2022年9月14日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2022年9月29日</p>																		
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>陈蕾</p> <p>电话号码 (86-10)62411158</p>																		

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	ALAVALA, S.等. "Stevioside, a diterpenoid glycoside, shows anti-inflammatory property against Dextran Sulphate Sodium-induced ulcerative colitis in mice." European Journal of Pharmacology., 第855卷, 2019年5月8日 (2019 - 05 - 08), ISSN: 0014-2999, 第192-201页	1-26
Y	万会达. "甜菊苷的酶促糖基化和水解反应研究" 中国优秀博硕士学位论文全文数据库 (博士) 工程科技 I 辑, 第4期, 2013年4月15日 (2013 - 04 - 15), ISSN: 1674-022X, 第B024-4页	1-26

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/101349

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	113304133	A	2021年8月27日	无			
WO	2021132698	A1	2021年7月1日	JP	W02021132698	A1	2021年7月1日
				TW	202137977	A	2021年10月16日
				AU	2020412031	A1	2022年7月28日
US	2010099640	A1	2010年4月22日	EP	2155769	A2	2010年2月24日
				WO	2008134828	A2	2008年11月13日
US	2018153841	A1	2018年6月7日	US	2020179322	A1	2020年6月11日