



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107137405 A

(43)申请公布日 2017.09.08

(21)申请号 201710244515.X

(22)申请日 2017.04.14

(71)申请人 黄德莲

地址 410004 湖南省长沙市友谊路218号

(72)发明人 黄德莲

(51)Int.Cl.

A61K 31/497(2006.01)

A61P 13/12(2006.01)

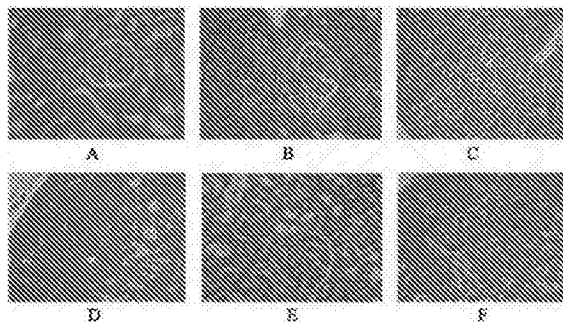
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

一种治疗肾炎的药物组合物

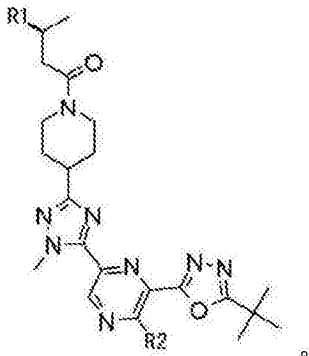
(57)摘要

本发明公开了一种治疗肾炎的药物组合物,具体来说,该药物组合物由10-50%的本发明所述化合物、20-70%的填充剂、2-20%的崩解剂、3-12%的矫味剂、2-8%的助流剂和1-5%的润滑剂组成。本发明药物能够抑制TGF- β_1 的产生,拮抗TGF- β_1 /Smads信号通路,减轻肾纤维化,用药安全,副作用小。



1. 一种治疗肾炎的药物组合物,其特征在于,该药物组合物由10-50%的本发明所述化合物、20-70%的填充剂、2-20%的崩解剂、3-12%的矫味剂、2-8%的助流剂和1-5%的润滑剂组成。

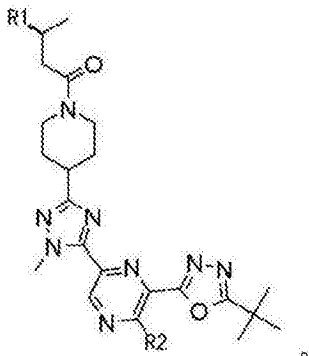
2. 根据权利要求1所述的治疗肾炎的药物组合物,其特征在于,所述化合物的结构式为:



3. 根据权利要求2所述的治疗肾炎的药物组合物,其特征在于,R1、R2可以选自但不限于:氢、羟基、卤素、硝基、氨基、烷基、烷氧基、苯基。

4. 根据权利要求3所述的治疗肾炎的药物组合物,其特征在于,R1独立地选自羟基,R2独立地选自氨基。

5. 化合物在制备治疗肾炎的药物中的用途,其特征在于,所述化合物的结构式为:



6. 根据权利要求5所述的用途,其特征在于,R1、R2可以选自但不限于:氢、羟基、卤素、硝基、氨基、烷基、烷氧基、苯基。

7. 根据权利要求6所述的用途,其特征在于,R1独立地选自羟基,R2独立地选自氨基。

8. 根据权利要求7所述的用途,其特征在于,10-50%的所述化合物可以与20-70%的填充剂、2-20%的崩解剂、3-12%的矫味剂、2-8%的助流剂和1-5%的润滑剂一起制成任何药学上常见的制剂。

一种治疗肾炎的药物组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及医药领域,具体的说,本发明涉及一种治疗肾炎的药物组合物。

背景技术

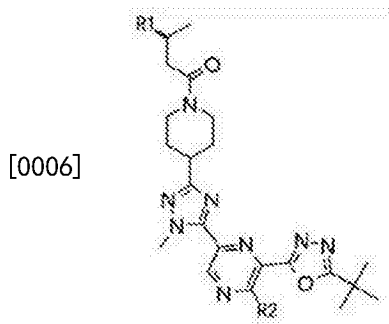
[0002] TGF- β_1 (肾组织转化生长因子) 是目前公认且已知作用最强的促纤维化因子,该通路的信号传导介质包括Smads蛋白;TGF- β_1 是导致肾炎患者细胞外基质沉积主要的细胞因子,TGF- β_1 活化后与其受体结合,通过Smads蛋白将细胞外信号转导入细胞内,诱导肾小球及肾小管细胞肥大,促进细胞外基质积聚,抑制细胞外基质降解,导致肾间质纤维化。Smad2/3为TGF- β_1 下游调节因子,在肾炎患者中表达较高,表明Smad2/3在肾间质纤维化过程中有着重要作用。因此,本发明药物的目的在于抑制TGF- β_1 的产生,拮抗TGF- β_1 /Smads信号通路,减轻肾纤维化,达到治疗目的。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种治疗肾炎的药物组合物。

[0004] 为了实现本发明的目的,本发明提供一种治疗肾炎的药物组合物,该药物组合物由10-50%的本发明所述化合物、20-70%的填充剂、2-20%的崩解剂、3-12%的矫味剂、2-8%的助流剂和1-5%的润滑剂组成。

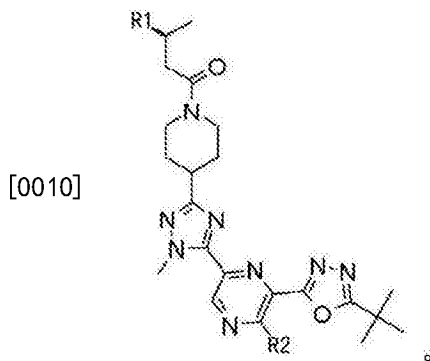
[0005] 优选地,所述化合物的结构式为:



[0007] 优选地,R1、R2可以选自但不限于:氢、羟基、卤素、硝基、氨基、烷基、烷氧基、苯基。

[0008] 更优选地,R1独立地选自羟基,R2独立地选自氨基。

[0009] 本发明还提供化合物在制备治疗肾炎的药物中的用途,所述化合物的结构式为:



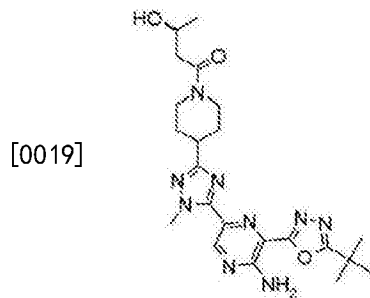
- [0011] 优选地,R1、R2可以选自但不限于:氢、羟基、卤素、硝基、氨基、烷基、烷氧基、苯基。
 [0012] 更优选地,R1独立地选自羟基,R2独立地选自氨基。
 [0013] 更优选地,10-50%的所述化合物可以与20-70%的填充剂、2-20%的崩解剂、3-12%的矫味剂、2-8%的助流剂和1-5%的润滑剂一起制成任何药学上常见的制剂。
 [0014] 本发明药物能够抑制TGF- β_1 的产生,拮抗TGF- β_1 /Smads信号通路,减轻肾纤维化,用药安全,副作用小。

附图说明

- [0015] 图1是大鼠肾组织病理形态学比较(HE, $\times 400$)。
 [0016] A. 正常组;B. 造模组;C. 本发明药物高剂量组;D. 本发明药物中剂量组;E. 本发明药物低剂量组;F. 厄贝沙坦组。

具体实施方式

- [0017] 下面借助实施例来具体说明本发明药物的疗效。
 [0018] 实验例1本发明药物的表征



- [0020] ^1H NMR光谱:(CDCl_3) 1.24 (3H, d), 1.52 (9H, s), 1.85 (2H, m), 2.10 (2H, m), 2.35 (1H, dd), 2.55 (1H, d), 2.90 (1H, m), 3.05 (1H, m), 3.20 (1H, m), 3.90 (1H, m), 4.25 (1H, m), 4.31 (3H, s), 4.6 (1H, m), 9.03 (1H, s);

- [0021] 质谱 $[\text{M}+\text{H}]^+ = 470$ 。

- [0022] 实验例2本发明药物治疗肾炎的效果

- [0023] 分组与造模

- [0024] SPF级雄性Wistar大鼠适应性饲养1周后,随机留取正常组10只。其余禁食不禁水12h后,一次性大剂量腹腔注射STZ 60mg/kg(溶于0.1mol/L柠檬酸缓冲液中,pH 4.5,浓度1%),72h后取尾静脉血,血糖仪测空腹血糖 $\geq 16.7\text{mmol/L}$,3周后检测24h尿蛋白定量 $> 30\text{mg}$,说明造模成功。将造模成功的大鼠采用随机数字表法按体体重分为模型组、厄贝沙坦组及本发明药物低、中、高剂量组,每组10只。

- [0025] 给药

- [0026] 本发明药物低、中、高剂量组每日分别灌胃实施例1药物5、10、20mg/kg;厄贝沙坦组给予厄贝沙坦10mg/kg;正常组及模型组给予生理盐水10mL/kg;连续给药8周。实验期间自由饮水、进食,不使用胰岛素及其他降糖药物。

- [0027] 标本采集及指标检测

- [0028] 血糖(FBG)测定:尾静脉采血。

- [0029] 24h尿蛋白定量:代谢笼留取,考马斯亮蓝法测定。

[0030] 血肌酐 (SCr), 尿素氮 (BUN) 测定: 股动脉取血, 离心分离血清, -20°C 保存, 全自动生化仪测定 SCr, BUN。

[0031] TGF- β_1 、Smad2、Smad3 含量测定: 各组大鼠于末次激发 24h 后腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 40mg/kg 麻醉, 固定, 股动脉取血, 接入干净的离心管内。室温静置 2h 之后 3000r/min 离心 20min, 吸上清至另一干净离心管内, 4°C 放置保存, ELISA 检测 TGF- β_1 、Smad2、Smad3 的含量, 具体步骤按试剂盒内附说明书操作。

[0032] 肾组织病理变化及 TGF- β_1 、Smad2/3 蛋白表达测定: 肾组织放入 4% 多聚甲醛中固定, 供病理和免疫组化检测使用。

[0033] Real-time PCR 检测 TGF- β_1 、Smad2/3 mRNA

[0034] 取大鼠肾皮质 0.08g, 按照 Trizol 试剂说明书提取 RNA, 紫外分光光度计测 RNA 的纯度 (测得所提取的 RNA A_{260}/A_{280} 在 1.8~2.0)。参照逆转录试剂盒操作规程合成 20 μL cDNA, PCR 扩增 TGF- β_1 、Smad2/3 基因片段, TGF- β_1 上游 5'-CATTCCTCTCCCCTCCACA-3', 下游 5'-ACCTAACCCACCAATTCTTCCTA-3', 片段长度 498bp; Smad2 上游 5'-TTACACATCCATCCAACCTCCACA-3', 下游 5'-CACTTACCCACTCCCCAAACAC-3', 片段长度 224bp; Smad3 上游 5'-AAATCACACCACCACCCACAC-3', 下游 5'-CACCTACCACCCACTACACC-3', 片段长度 232bp; β -actin 上游 5'-CCACATTA CTCCCCTCCCTCCTA-3', 下游 5'-CACTCATCTACTCCTTCCTC-3', 片段长度 337bp。

[0035] 统计学分析

[0036] 采用 SPSS 17.0 统计软件处理数据, 所有实验数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 根据方差齐性检验的结果, 多组间比较采用方差分析, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

[0037] 大鼠日常生活状态

[0038] 正常组大鼠反应较敏捷, 活动及进食、进水量均正常, 皮毛浓密, 柔顺有光泽, 尿量适中, 垫料较干燥, 粪便呈棕褐色颗粒状。模型组大鼠出现萎靡不振, 个别也会出现烦躁不安状, 活动度明显下降, 进食进水量均有明显增加, 毛发粘连无光泽, 尿量明显增多, 垫料湿等。有的较严重的出现眼球突出, 白内障等症状。本发明药物中剂量组及厄贝沙坦组大鼠症状较模型组减轻, 反应及活动度均有好转进食进水量有了相应的减少, 尿量也有了一定程度的降低。

[0039] 大鼠 FBG, BUN, SCr 及 24h 尿蛋白含量比较

[0040] 与正常组比较, 模型组大鼠 FBG、BUN、SCr 及 24h 尿蛋白含量升高 ($P<0.05$); 与模型组比较, 各治疗组大鼠 FBG、BUN、SCr 及 24h 尿蛋白含量均有所降低 ($P<0.05$)。

组别	FBG mmol/L	BUN mmol/L	SCr μ mol/L	24h 尿蛋白 mg
正常	5.06±0.63	6.34±0.52	31.23±3.45	10.34±3.87
模型	25.43±8.12	18.21±3.01	51.09±7.17	76.43±20.21
高剂量	20.05±7.34	14.87±2.04	42.36±7.82	50.02±21.03
中剂量	17.07±5.65	13.44±2.71	40.06±7.57	47.00±20.04
低剂量	22.30±7.01	15.02±2.46	44.07±5.04	62.30±20.05
厄贝沙坦	18.62±6.49	14.54±2.18	41.51±4.68	51.40±18.07

[0042] 大鼠血清TGF- β_1 、Smad2、Smad3表达比较

[0043] 与正常组比较,模型组大鼠血清中TGF- β_1 、Smad2、Smad3含量升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,各治疗组大鼠血清中TGF- β_1 、Smad2、Smad3的含量均有所降低 ($P < 0.05$)。

[0044]

组别	TGF- β_1	Smad2	Smad3
正常	0.22±0.08	1.21±0.14	1.80±0.20
模型	1.76±0.43	3.53±0.32	4.93±0.32
高剂量	0.78±0.02	2.67±0.05	3.08±0.10
中剂量	0.56±0.03	1.68±0.07	2.39±0.10
低剂量	1.06±0.06	2.89±0.04	3.26±0.24
厄贝沙坦	0.67±0.05	2.18±0.12	2.76±0.13

[0045] 大鼠肾组织病理形态学比较见图1

[0046] 正常组大鼠肾小球大小无异常,基底膜无增厚,未见系膜增生,肾小管、肾间质均无炎症细胞浸润和纤维组织增生。模型组肾小球体积增大,部分可见基底膜增厚,系膜增生,间质区炎性细胞浸润,肾小管上皮细胞出现空泡变性。本发明药物高剂量组基底膜无增厚,少量炎性细胞浸润,一些肾小球体积恢复正常大小,上皮细胞脱落,胞浆溶解。本发明药物中剂量组肾小球大小正常,基底膜无增厚,炎性细胞浸润和纤维组织增生基本消失,部分肾小管上皮细胞开始修复,肾小管扩张减少。本发明药物低剂量组与模型组无明显差异。厄贝沙坦组病理改变接近本发明药物中剂量组。

[0047] 大鼠肾组织中TGF- β_1 、Smad2/3蛋白表达

[0048] 与正常组比较,模型组TGF- β_1 、Smad2/3蛋白表达量显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),与模型组比较,各治疗组中TGF- β_1 、Smad2/3蛋白表达量均有所降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

[0049]

组别	TGF- β_1	Smad2/3
正常	1.12±0.57	10.45±2.04
模型	10.86±0.74	32.72±3.95
高剂量	7.23±2.34	24.16±6.37

中剂量	6.19±3.23	17.93±4.13
低剂量	9.07±2.28	28.97±7.26
厄贝沙坦	7.09±1.39	20.06±5.56

[0050] 大鼠肾组织TGF-β₁、Smad2/3mRNA表达

[0051] 与正常组比较,模型组大鼠肾组织TGF-β₁、Smad2/3mRNA表达显著增强 (P<0.05, P<0.01);与模型组比较,各治疗组均能降低大鼠肾组织表达的TGF-β₁、Smad2/3mRNA水平 (P<0.05, P<0.01)。

[0052]

组别	TGF-β ₁	Smad2/3
正常	3.34±0.12	0.43±0.38
模型	20.42±2.47	0.67±2.19
高剂量	15.85±3.10	0.57±1.64
中剂量	15.30±1.91	0.52±2.35
低剂量	18.03±1.14	0.65±2.45
厄贝沙坦	16.65±1.40	0.66±3.18

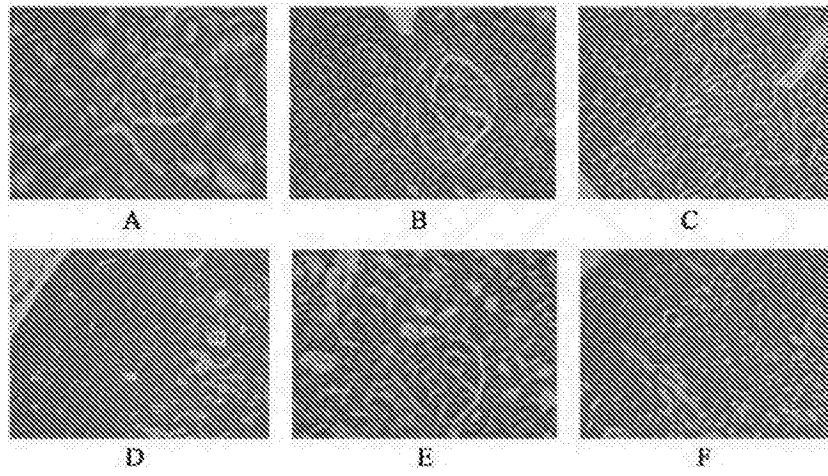


图1