

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl⁶

C07J 63/00

A61K 31/56



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 95193762.6

[43]公开日 1997年6月4日

[11] 公开号 CN 1151165A

[22]申请日 95.6.22

[30]优先权

[32]94.6.24 [33]JP[31]142708/94

[86]国际申请 PCT/JP95/01249 95.6.22

[87]国际公布 WO96/00236 日 96.1.4

[85]进入国家阶段日期 96.12.24

[71]申请人 日本新药株式会社

地址 日本京都

[72]发明人 大林忠明 吉房宽人 神鸟和久

[74]专利代理机构 上海专利商标事务所

代理人 吴惠中

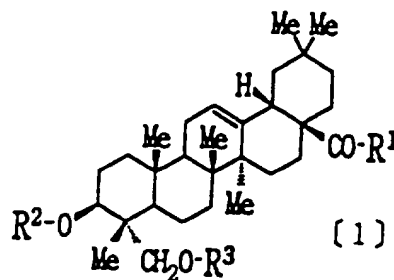
权利要求书 3 页 说明书 27 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 三萜衍生物及其药用组合物

[57]摘要

一种用于治疗肾炎的药物组合物，其特征在于，以下式〔I〕表示的常春配基衍生物或其药学上可接受的盐或它们的溶剂化物为有效成分，

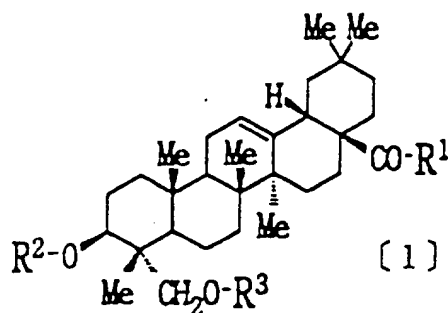
式中各取代基的定义详见说明书。



(BJ)第 1456 号

权 利 要 求 书

1. 用于治疗肾炎的药物组合物，其特征在于，以下式〔1〕表示的常春配基衍生物或其药学上可接受的盐或它们的溶剂化物为有效成分，



式中， R^1 表示 OR^{11} 或 $NR^{11}R^{12}$ ， R^{11} 、 R^{12} 可相同或不同，表示1)氢，2)可取代的烷基，3)可取代的环烷基，4)可取代的链烯基，5)可取代的炔基，6)可取代的芳基，或7)可取代的芳香族杂环基；

15 R^2 、 R^3 可相同或不同，表示1)氢，2)可取代的烷基，3)可取代的环烷基，4)可取代的链烯基，5)可取代的炔基，6)可取代的酰基，7)可取代的一烷基氨基甲酰基，8)可取代的二烷基氨基甲酰基，或9)可取代的烷氧羰基，或 R^2 和 R^3 可一起表示羰基。

2. 如权利要求1所述的药物组合物，其特征在于， R^{11} 、 R^{12} 、 R^2 、 R^3 中的取代基分别选自1)卤素，2) OR^{13} ，3) $OCOR^{13}$ ，4) $COOR^{13}$ ，5)氰基，6) $NR^{13}R^{14}$ ，7)环烷基，8)可被卤素、烷基、羟基或氨基取代的芳基或9)可被卤素、烷基、羟基或氨基取代的芳香族杂环基；

R^{13} 、 R^{14} 可相同或不同，表示1)氢，或2)可被羟基、烷氧基、氨基、一烷基氨基或二烷基氨基取代的烷基。

25 3. 如权利要求1所述的药物组合物，其特征在于， R^1 为羟基、酰氧基烷氧基、苯基烷氧基、烷氧基烷氧基、羟基烷氧基、卤代烷氧基、二(羟基烷基)氨基烷氧基、(烷氧基烷基)氨基、卤代苯基氨基、(二烷基氨基烷基)氨基、〔二(羟基烷基)氨基烷基〕氨基、(羧基烷基)氨基、(烷氧羰基烷基)氨基、(氰基烷基)氨基或二氨基取代的三嗪基烷基氨基， R^2 为氢， R^3 为氢。

30 4. 如权利要求1所述的药物组合物，其特征在于， R^1 为羟基、(烷氧基烷基)氨基、卤代苯基氨基、(二烷基氨基烷基)氨基、〔二(羟基烷基)氨基烷基〕氨基、(烷氧羰基烷基)氨基或(氰基烷基)氨基， R^2 为乙酰氧基， R^3 为乙酰氧基。

35 5. 如权利要求1所述的药物组合物，其特征在于， R^1 为苯基烷氧基， R^2 为羟基、(烷氧羰基烷基)氨基甲酰基或(烷氧烷基)氨基甲酰基， R^3 为苯烷基。

6. 如权利要求 1 所述的药物组合物, 其特征在于, R^1 为羟基, R^2 为(烷氧羰基烷基)氨基甲酰基或(烷氧烷基)氨基甲酰基, R^3 为氢。

7. 如权利要求 1 所述的药物组合物, 其特征在于, R^1 为羟基或酰氧烷基, R^2 和 R^3 一起表示羰基。

5 8 如权利要求 1 所述的药物组合物, 其特征在于, R^1 为羟基、2-甲氧基乙氨基或 2-乙酰氧基乙氧基, R^2 为氢, R^3 为氢。

9. 用于治疗慢性肾小球性肾炎的药物组合物, 其特征在于, 以权利要求 1 至 8 中任一项所述的常春配基衍生物或其药学上可接受的盐或它们的溶剂化物为有效成分。

10 10. 用于治疗增殖性肾小球性肾炎的药物组合物, 其特征在于, 以权利要求 1 至 8 中任一项所述的常春配基衍生物或其药学上可接受的盐或它们的溶剂化物为有效成分。

11. 权利要求 1 所述的常春配基衍生物或其药学上可接受的盐或它们的溶剂化物, 其特征在于, 它们不是下述(1)~(5)的化合物:

15 (1) R^1 为羟基或甲氧基, R^2 为氢, R^3 为氢、乙酰基或甲基的化合物

(2) R^1 为羟基, R^2 、 R^3 均为甲酰基、乙酰基或苯甲酰基的化合物

(3) R^1 为甲氧基, R^2 为乙酰基, R^3 为氢、乙酰基或甲基的化合物

(4) R^1 为甲氧基, R^2 为苯甲酰基, R^3 为氢或苯甲酰基的化合物

(5) R^1 为甲氧基, R^2 为甲基, R^3 为氢或甲基的化合物。

20 12. 如权利要求 11 所述的常春配基衍生物或其药学上可接受的盐或它们的溶剂化物, 其特征在于, R^{11} 、 R^{12} 、 R^2 、 R^3 中的取代基分别选自 1) 卤素, 2) OR^{13} , 3) $OCOR^{13}$, 4) $COOR^{13}$, 5) 氰基, 6) $NR^{13}R^{14}$, 7) 环烷基, 8) 可被卤素、烷基、羟基或氨基取代的芳基或 9) 可被卤素、烷基、羟基或氨基取代的芳香族杂环基;

25 R^{13} 、 R^{14} 可相同或不同, 表示 1) 氢, 或 2) 可被羟基、烷氧基、氨基、一烷基氨基或二烷基氨基取代的烷基。

30 13. 如权利要求 11 所述的常春配基衍生物或其药学上可接受的盐或它们的溶剂化物, 其特征在于, R^1 为羟基、酰氧烷基、苯基烷氧基、烷氧基烷氧基、羟基烷氧基、卤代烷氧基、二(羟基烷基)氨基烷氧基、(烷氧基烷基)氨基、卤代苯基氨基、(二烷基氨基烷基)氨基、〔二(羟基烷基)氨基烷基〕氨基、(羧基烷基)氨基、(烷氧羰基烷基)氨基、(氰基烷基)氨基或二氨基取代的三嗪基烷基氨基, R^2 为氢, R^3 为氢。

35 14. 如权利要求 11 所述的常春配基衍生物或其药学上可接受的盐或它们的溶剂化物, 其特征在于, R^1 为羟基、(烷氧基烷基)氨基、卤代苯基氨基、(二烷基氨基烷基)氨基、〔二(羟基烷基)氨基烷基〕氨基、(烷氧羰基烷基)氨基或(氰基烷基)氨基, R^2 为乙酰氧基, R^3 为乙酰氧基。

15. 如权利要求 11 所述的常春配基衍生物或其药学上可接受的盐或它们的溶剂化物，其特征在于， R^1 为苯基烷氧基， R^2 为羟基、（烷氧羰基烷基）氨基甲酰基或（烷氧烷基）氨基甲酰基， R^3 为苯烷基。

5 16. 如权利要求 11 所述的常春配基衍生物或其药学上可接受的盐或它们的溶剂化物，其特征在于， R^1 为羟基， R^2 为（烷氧羰基烷基）氨基甲酰基或（烷氧烷基）氨基甲酰基， R^3 为氢。

17. 如权利要求 11 所述的常春配基衍生物或其药学上可接受的盐或它们的溶剂化物，其特征在于， R^1 为羟基或酰氧基烷氧基， R^2 和 R^3 一起表示羰基。

10 18. 如权利要求 11 所述的常春配基衍生物或其药学上可接受的盐或它们的溶剂化物，其特征在于， R^1 为 2 - 甲氧基乙氨基或 2 - 乙酰氧基乙氧基， R^2 为氢， R^3 为氢。

19. 治疗肾炎的方法，其特征在于，将有效量的权利要求 1 所述的常春配基衍生物或其药学上可接受的盐或它们的溶剂化物对人和动物给药。

15 20. 权利要求 1 所述的常春配基衍生物或其药学上可接受的盐或它们的溶剂化物在制造肾炎治疗用药物中的应用。

说明书

三萜衍生物及其药用组合物

5 发明领域

本发明涉及可用作医药品的常春（藤苷）配基衍生物及其药学上可接受的盐以及它们的溶剂化物。

本发明的化合物具有抑制肾小球膜细胞增殖的作用，可用于治疗肾炎。

10 背景技术

根据主要病变部位，可将肾炎分为肾小球性肾炎、间质性肾炎和肾盂肾炎等。其中最为代表性的是以肾小球为病变部位的肾小球性肾炎。目前，肾炎与肾小球性肾炎已作为同义词使用（最新医学辞典，第1版，570，1987年）。

在人的肾小球性肾炎中最经常出现的且对预后很重要的病理组织学所见是肾小球膜细胞的增殖和肾小球膜细胞产生的基质（以下称肾小球膜基质）的增生。这些在IgA肾病、膜性增殖性肾小球性肾炎以及狼疮性肾炎（lupus nephritis）等几乎所有的增殖性肾小球性肾炎中均可发现（饭田，肾と透析，35，505 - 509,1993）。并且，随着肾小球膜细胞增殖和伴随而来的肾小球膜基质产生的进展，肾小球陷入末期即所谓的肾小球硬化。因此，可阻止肾小球膜细胞的增殖和肾小球膜基质的产生的化合物作为肾小球性肾炎治疗剂是极为有用的。

肾小球性肾炎中的肾小球膜细胞的增殖，已知有2条途径。第1条途径有补体、血小板和浸润细胞等参与。在该途径，首先出现由免疫学机理产生的免疫复合体在肾小球上的沉积，然后，出现补体和血小板的活化和巨噬细胞、中性白细胞等的浸润。这些细胞等释放出各种生长因子和细胞素等，将肾小球膜细胞活化，刺激其增殖。第2途径有肾小球膜细胞自身参与。在该途径，活化了的肾小球膜细胞自身释放各种生长因子和细胞素，释放细胞自身和邻近的肾小球膜细胞活化或增殖。如此，肾小球膜细胞通过交合在一起的多个途径而活化、增殖。

因此，在考虑肾小球性肾炎的治疗时，即使抑制了上述第1途径的某特定阶段，如补体或血小板参与的阶段，仍难以完全抑制肾小球膜细胞的增殖。事实上，已有报道，若单独给予抗血小板药，对人的活动期肾炎缺乏治疗效果（土肥等，総合臨床，38，865 - 870，1989）。

已知在植物来源的天然物中有具有治疗肾炎作用的化合物存在。例如，日本专利公开公报1986年第37749号（土当归烯衍生物）、第85344号（土当归烯衍生物）、1990年第73012号（bryonolic acid衍生物）、1992年第290846号（bryonolic acid衍生物）、1986年第43141号（羽扇烷衍生物）记载，五环三

萜衍生物对肾炎等的治疗有用。然而，显示这些化合物对肾炎等的治疗有用的试验例未公开过，也无对肾小球膜细胞增殖的抑制作用的记载。

本发明的常春配基（ 3β ， 23 - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸）是五环三萜衍生物，存在于无患子、日本常春藤、洋常春藤、八角金盘等植物中。已知常春配基具有降压、镇痉（*Ann. Pharm. Fr.*, 30, 555 (1972)）、促进毛发生长、抑制皮肤老化（法国专利公报第 2669225 号）、抗真菌（*Ann. Pharm. Fr.*, 38, 545 (1980)）、抗炎症（*Chem. Pharm. Bull.*, 28, 1183 (1980)）、抗吸虫（*Rastit. Resur.*, 28, 103 (1992)）、抗溃疡、抗过敏（*Proc. Asian. Symp. Med. Plants Spices*, 4th, Meeting Date 1980, Volume 1, 59）、防日晒（日本专利公开公报 1989 年 42411 号）、防体臭、抑制多汗症（法国专利公报第 2541895 号）等作用，但不知其对治疗肾炎有用。

此外，作为常春配基衍生物，已知有下述（1）~（15）的化合物，但不知它们可作为医药，用于肾炎等的治疗。

（1） 3β - 羟基 - 23 （ 4α ）- 乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸（*Chem. Pharm. Bull.*, (1976), 24(6), 1314）

（2） 3β - 羟基 - 23 （ 4α ）- 甲氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸（*Chem. Pharm. Bull.*, (1976), 24(5), 1021）

（3） 3β ， 23 （ 4α ）- 二乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸（*J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1983), (17), 939）

（4） 3β ， 23 （ 4α ）- 二苯甲酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸（*Bull. Soc. Roy. Sci. Liege*, (1973), 42(5 - 6), 245）

（5） 3β ， 23 （ 4α ）- 二甲酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸（*CAS*, Registry No.= 6055-17-0）

（6） 3β ， 23 （ 4α ）- 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸甲酯（*J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1981), (21), 1136）

（7） 3β - 羟基 - 23 （ 4α ）- 乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸甲酯（*Phytochemistry*, (1984), 23(3), 615）

（8） 3β - 羟基 - 23 （ 4α ）- 甲氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸甲酯（*Chem. Pharm. Bull.*, (1979), 27(10), 2388）

（9） 3β - 乙酰氧基 - 23 （ 4α ）- 羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸甲酯（*Tetrahedron*, (1993), 49(33), 7193）

（10） 3β - 苯甲酰氧基 - 23 （ 4α ）- 羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸甲酯（*Tetrahedron*, (1993), 49(33), 7193）

（11） 3β - 甲氧基 - 23 （ 4α ）- 羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸甲酯（*Chem. Pharm. Bull.*, (1982), 30(9), 3340）

（12） 3β ， 23 （ 4α ）- 二乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸甲酯（*Chem.*

Pharm. Bull., (1982), 30(9), 3340)

(13) 3 β - 乙酰氧基 - 23 (4 α) - 甲氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸甲酯 (Chem. Pharm. Bull., (1972), 20(9), 1935)

(14) 3 β , 23 (4 α) - 二苯甲酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸甲酯
5 (Bull. Soc. Roy. Sci. Liege, (1973), 42(5 - 6), 245)

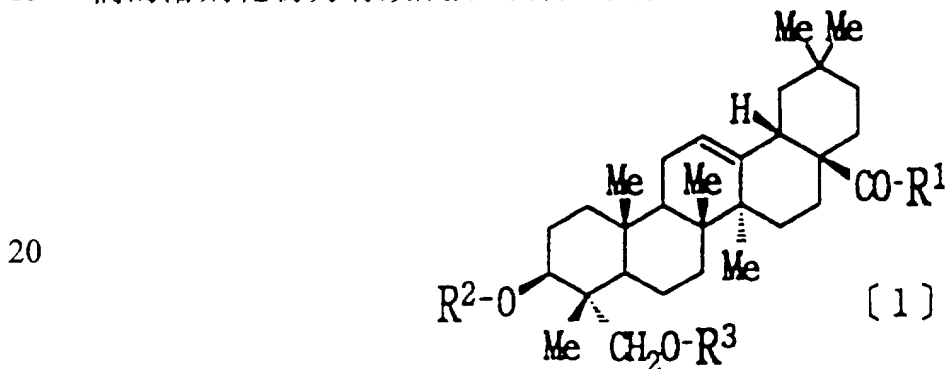
(15) 3 β , 23 (4 α) - 二甲氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸甲酯 (Indian J. Chem., Sect. B, (1990), 29B(5), 425)

发明的公开

10 由上述显而易见，具有抑制肾小球膜细胞增殖作用的化合物可成为优异的肾炎治疗剂。本发明者为寻求这些化合物进行了深入的研究。

其结果，发现特定的常春（藤苷）配基衍生物具有优异的抑制肾小球膜细胞增殖作用，由此完成了本发明。

15 本发明是以下式〔1〕表示的常春（藤苷）配基或其药学上可接受的盐或它们的溶剂化物为有效成分的肾炎治疗药用组合物及新颖化合物。



25 式中， R^1 表示 OR^{11} 或 $NR^{11}R^{12}$ ， R^{11} 、 R^{12} 可相同或不同，表示1)氢，2)可取代的烷基，3)可取代的环烷基，4)可取代的链烯基，5)可取代的炔基，6)可取代的芳基，或7)可取代的芳香族杂环基。

R^2 、 R^3 可相同或不同，表示1)氢，2)可取代的烷基，3)可取代的环烷基，4)可取代的链烯基，5)可取代的炔基，6)可取代的酰基，7)可取代的一烷基氨基甲酰基，8)可取代的二烷基氨基甲酰基，或9)可取代的烷氧羰基，或 R^2 和 R^3 可一起表示羰基。

30 R^{11} 、 R^{12} 、 R^2 、 R^3 中的取代基可相同或不同，分别选自1)卤素，2) OR^{13} ，3) $OCOR^{13}$ ，4) $COOR^{13}$ ，5)氰基，6) $NR^{13}R^{14}$ ，7)环烷基，8)可被卤素、烷基、羟基或氨基取代的芳基或9)可被卤素、烷基、羟基或氨基取代的芳香族杂环基。 R^{13} 、 R^{14} 可相同或不同，表示1)氢，或2)可被羟基、烷氧基、氨基、一烷基氨基或二烷基氨基取代的烷基。

35 在式〔1〕表示的常春配基衍生物中， R^1 表示羟基， R^2 表示氢， R^3 表示氢的化合物是被称为常春藤苷配基的公知天然物，与上述对治疗肾炎有用的五环三

萜衍生物在化学结构上明显不同。例如，日本专利公开公报 1986 年第 37749 号记载的土当归 - 12 - 烯 - 3 β , 22 β , 23 (4 β)- 三醇的 22 位被羟基取代, 23 位上的羟基是 β 取代, 28 位上是甲基, 而常春配基的 22 位上无取代基, 23 位的羟基是 α 取代, 28 位是羧酸, 在化学结构上不同。

5 对于常春配基, 迄今已知道上述多种生理作用, 但对治疗肾炎有用则未见报道。

此外, 在式〔1〕表示的常春配基衍生物中, 除下述(1)~(5)的化合物外, 其他化合物均是未见文献报道的新颖化合物。

(1) R^1 为羟基或甲氧基, R^2 为氢, R^3 为氢、乙酰基或甲基的化合物

10 (2) R^1 为羟基, R^2 、 R^3 均为甲酰基、乙酰基或苯甲酰基的化合物

(3) R^1 为甲氧基, R^2 为乙酰基, R^3 为氢、乙酰基或甲基的化合物

(4) R^1 为甲氧基, R^2 为苯甲酰基, R^3 为氢或苯甲酰基的化合物

(5) R^1 为甲氧基, R^2 为甲基, R^3 为氢或甲基的化合物

15 本发明的特征在于发现式〔1〕表示的化合物具有抑制肾小球膜细胞增殖的作用, 可用于治疗肾炎。

下面说明本发明中使用的术语。

“烷基”是指碳原子数为 1 - 7 个的直链或支链烷基, 具体例子包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、正己基、异己基、正庚基、异庚基等。其中优选碳原子数为 1 ~ 3 个的直链烷基, 20 例如, 甲基、乙基、正丙基。

“环烷基”是指碳原子数为 3 - 7 个的环烷基, 具体例子包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基。

“链烯基”是指碳原子数为 2 - 7 个的直链或支链链烯基, 具体例子包括乙烯基、1 - 丙烯基、异丙烯基、烯丙基、1 - 丁烯基、3 - 丁烯基、1 - 戊烯基、25 4 - 戊烯基、1 - 己烯基、5 - 己烯基、1 - 庚烯基、6 - 庚烯基等。

“炔基”是指碳原子数为 2 - 7 个的直链或支链炔基, 具体例子包括乙炔基、1 - 丙炔基、2 - 丙炔基、1 - 丁炔基、3 - 丁炔基、1 - 戊炔基、4 - 戊炔基、1 - 己炔基、5 - 己炔基、1 - 庚炔基、6 - 庚炔基等。

30 “芳基”是指碳原子数为 6 ~ 10 个的芳基, 具体例子包括苯基、1 - 萘基、2 - 萘基等。

“芳香族杂环基”是指含 1 ~ 4 个选自氮、氧和硫的杂原子的 5 ~ 6 员芳香环基, 具体例子包括 1 - 吡咯基、2 - 吡咯基、3 - 吡咯基、2 - 咪唑基、3 - 咪唑基、2 - 噁吩基、3 - 噁吩基、2 - 噁唑基、2 - 噁唑基、1H - 1, 2, 4 - 三唑 - 1 - 基、1H - 四唑 - 5 - 基、2 - 吡啶基、3 - 吡啶基、4 - 吡啶基、35 2 - 嘧啶基、4 - 嘧啶基、2 - 吡嗪基、1, 3, 5 - 三嗪 - 2 - 基等。

“卤素”是指氟、氯、溴和碘。

“酰基”是指“烷基羰基”和“芳基羰基”。“烷基羰基”的烷基部分是指上述烷基。“芳基羰基”的芳基部分是指上述芳基。“酰基”的具体例子有乙酰基、丙酰基、丁酰基、异丁酰基、苯甲酰基、1-萘酰基、2-萘酰基等。

“烷氧基”、“烷氧羰基”“一烷基氨基甲酰基”、“二烷基氨基甲酰基”的烷基部分可相同或不同，是指上述烷基。

在本发明的化合物〔1〕中，作为肾炎治疗剂而优选的化合物为如下(1)~(5)的化合物群：

(1) R^1 为羟基、酰氧基烷氧基、苯基烷氧基、烷氧基烷氧基、羟基烷氧基、卤代烷氧基、二(羟基烷基)氨基烷氧基、(烷氧基烷基)氨基、卤代苯基氨基、(二烷基氨基烷基)氨基、〔二(羟基烷基)氨基烷基〕氨基、(羧基烷基)氨基、(烷氧羰基烷基)氨基、(氰基烷基)氨基或二氨基取代的三嗪基烷基氨基， R^2 为氢， R^3 为氢的化合物

(2) R^1 为羟基、(烷氧基烷基)氨基、卤代苯基氨基、(二烷基氨基烷基)氨基、〔二(羟基烷基)氨基烷基〕氨基、(烷氧羰基烷基)氨基或(氰基烷基)氨基， R^2 为乙酰氧基， R^3 为乙酰氧基的化合物

(3) R^1 为苯基烷氧基， R^2 为羟基、(烷氧羰基烷基)氨基甲酰基或(烷氧烷基)氨基甲酰基， R^3 为苯基烷基的化合物

(4) R^1 为羟基， R^2 为(烷氧羰基烷基)氨基甲酰基或(烷氧烷基)氨基甲酰基， R^3 为氢的化合物

(5) R^1 为羟基或酰氧基烷氧基， R^2 和 R^3 一起表示羰基的化合物

在本发明的化合物〔1〕中，作为肾炎治疗剂而更优选的化合物是 R^1 为羟基、(烷氧烷基)氨基或酰氧基烷氧基， R^2 为氢， R^3 为氢的化合物。

在本发明的化合物〔1〕中，作为肾炎治疗剂而最优选的化合物是 R^1 为羟基、2-甲氧基乙氨基或2-乙酰氧基乙氧基， R^2 氢， R^3 为氢的化合物。

常春配基可按例如下面所示的方法制得。

直接使用无患子 (*Sapindus mukorossi* Gaertn.)，或将其干燥后，或干燥粉碎后，用水、醇类溶剂(如甲醇、乙醇、异丙醇等)或含水的醇类溶剂在 50 ~ 80 °C 加热提取 1 ~ 4 小时，然后将提取液在 60 °C 以下减压浓缩，得到提取物。

在所得提取物中加入 1 ~ 5 % 无机酸(如盐酸、硫酸、硝酸等)的醇(甲醇、乙醇、异丙醇等)溶液，加热回流 1 ~ 3 小时，进行水解。水解后，用碱(如氢氧化钾、氢氧化钠等)调至 pH6 ~ 7。往该醇溶液中加入活性炭并加热，由此进行纯化。减压浓缩醇溶液，即得到常春配基。可将所得常春配基通过用乙腈、乙醇等适当溶剂进行洗涤、重结晶、柱色谱、薄层色谱等手段进行纯化。

常春配基具有 3 个官能团，即，羧基和 2 个羟基。以常春配基为出发原料，可利用这些官能团的反应性差异，制造所需的常春配基衍生物〔1〕。

从常春配基(即 $R^1 = OH$ 、 $R^2 = H$ 、 $R^3 = H$ 的化合物)出发，通过下述“1.

羧基的反应”，可制造 28 位的衍生物（ $R^1 \neq OH$ 、 $R^2 = H$ 、 $R^3 = H$ ）。

从 28 位的衍生物出发，通过下述“2. 23 位羟基的反应”，可制造 23 位、28 位的衍生物（ $R^1 \neq OH$ 、 $R^2 = H$ 、 $R^3 \neq H$ ）。

从 23 位、28 位的衍生物出发，通过下述“3. 3 β 位羟基的反应”，可制造 3 β 位、23 位、28 位的衍生物（ $R^1 \neq OH$ 、 $R^2 \neq H$ 、 $R^3 \neq H$ ）。

从 28 位上导入了保护基的 28 位的衍生物出发，通过下述“2. 23 位羟基的反应”，在制造了 23 位、28 位的衍生物后，通过 28 位去保护，可制造 23 位的衍生物（ $R^1 = OH$ 、 $R^2 = H$ 、 $R^3 \neq H$ ）。

从 23 位、28 位上导入了保护基的 23 位、28 位的衍生物出发，通过下述“3. 3 β 位羟基的反应”，在制造了 3 β 位、23 位、28 位的衍生物后，通过 23 位、28 位去保护，可制造 3 β 位的衍生物（ $R^1 = OH$ 、 $R^2 \neq H$ 、 $R^3 = H$ ）。

从仅 28 位上导入了保护基的 23 位、28 位的衍生物出发，通过下述“3. 3 β 位羟基的反应”，在制造了 3 β 位、23 位、28 位的衍生物后，通过 28 位去保护，可制造 3 β 位、23 位的衍生物（ $R^1 = OH$ 、 $R^2 \neq H$ 、 $R^3 \neq H$ ）。

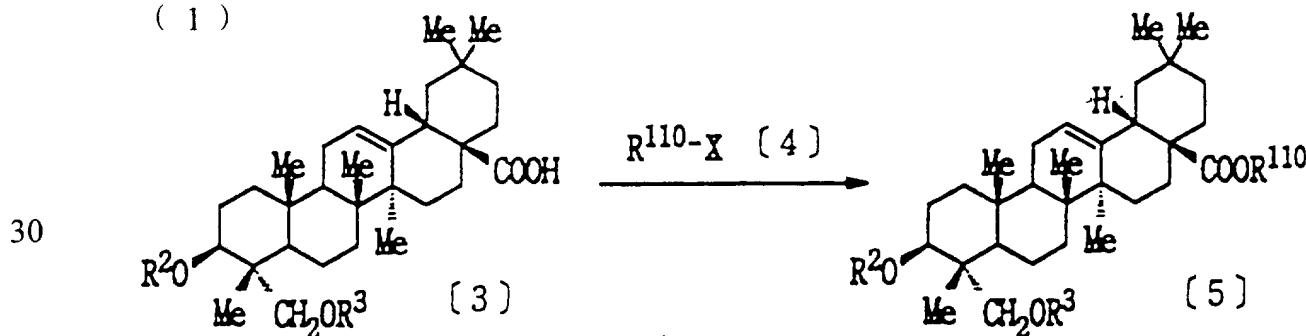
从仅 23 位上导入了保护基的 23 位、28 位的衍生物出发，通过下述“3. 3 β 位羟基的反应”，在制造了 3 β 位、23 位、28 位的衍生物后，通过 23 位去保护，可制造 3 β 位、28 位的衍生物（ $R^1 \neq OH$ 、 $R^2 \neq H$ 、 $R^3 = H$ ）。

从常春配基（即 $R^1 = OH$ 、 $R^2 = H$ 、 $R^3 = H$ 的化合物）出发，通过下述“4. 3 β 位、23 位二羟基的反应”，可制造 3 β 位、23 位的衍生物（ $R^1 = OH$ 、 $R^2 \neq H$ 、 $R^3 \neq H$ ）。

从 28 位的衍生物（ $R^1 \neq OH$ 、 $R^2 = H$ 、 $R^3 = H$ ）出发，通过下述“4. 3 β 位、23 位二羟基的反应”，可制造 3 β 位、23 位、28 位的衍生物（ $R^1 \neq OH$ 、 $R^2 \neq H$ 、 $R^3 \neq H$ ）。

25 1. 羧基的反应

(1)

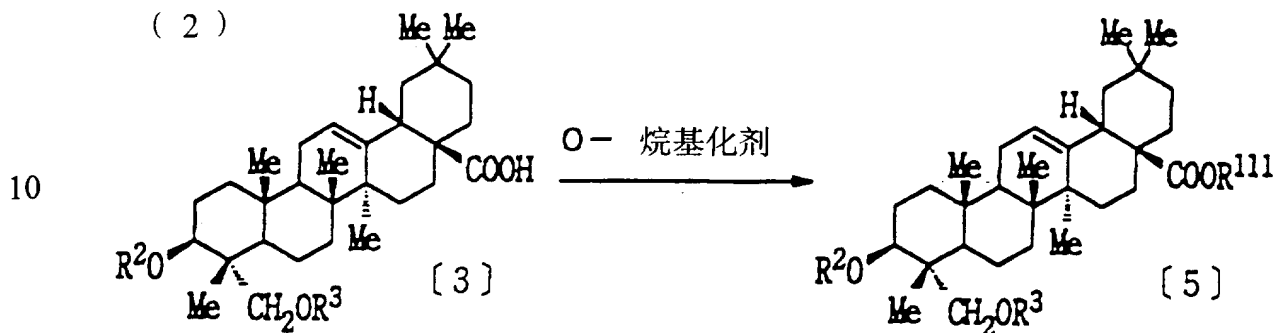


〔式中， R^2 、 R^3 的定义同上。 R^{110} 表示除氢以外的 R^{11} ，X表示离去基团如氯、溴、碘等卤素、甲磺酰基等烷磺酰基、甲苯磺酰基等芳基磺酰基。〕

35 通过使羧酸〔3〕与化合物〔4〕反应，可制造酯〔5〕。本反应通常可在无溶剂的条件下或在非质子传递溶剂（如乙腈、N，N-二甲基甲酰胺（DMF）

等极性溶剂、四氢呋喃 (THF)、乙醚等醚类溶剂、氯仿、二氯甲烷等卤代烃类溶剂、苯、甲苯、正己烷等烃类溶剂或它们的混合溶剂) 中, 于碱 (如碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、碳酸氢钾、吡啶、4 - 二甲基氨基吡啶、三乙胺、氢化钠等) 的存在下, 在 - 20 ~ 100 °C 进行。反应时间根据化合物 [3] 和化合物 [4] 的种类、反应温度而异, 通常以 30 分钟 ~ 24 小时为宜。化合物 [4] 的用量以相当于化合物 [3] 的 1 ~ 1.2 摩尔当量为宜。

(2)

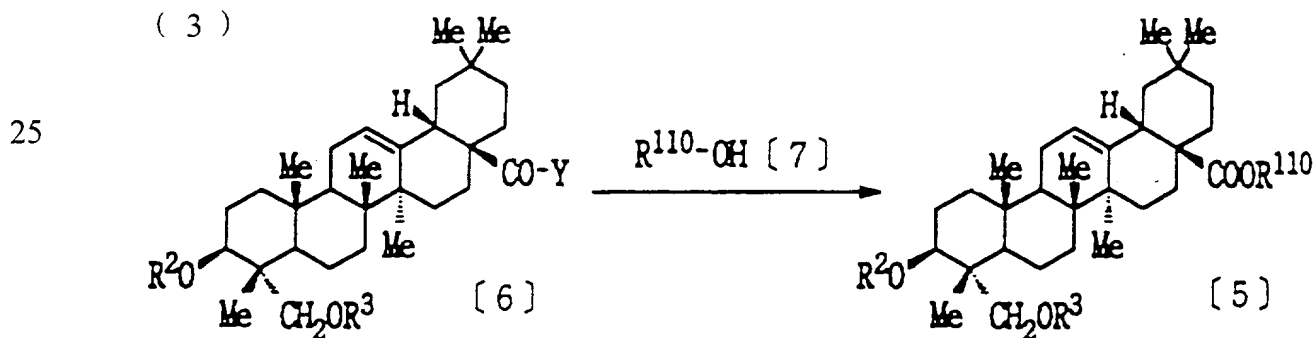


[式中, R^2 、 R^3 的定义同上。 R^{11} 表示无取代的烷基。]

15 通过使羧酸 [3] 与 O - 烷基化剂反应, 可制造酯 [5]。可使用重氮基烷烃 (如重氮甲烷、重氮乙烷等)、三甲基硅基重氮甲烷、原酸酯 (如原甲酸乙酯、原乙酸乙酯等) 等作为 O - 烷基化剂。本反应通常可在无溶剂的条件下或在与上述相同的非质子传递溶剂中进行。反应温度根据 O - 烷基化剂的种类而异, 当使用重氮基烷烃、三甲基硅基重氮甲烷作为烷基化剂时, 以 - 20 ~ 30 °C 为宜, 当使用原酸酯作为烷基化剂时, 以 100 ~ 200 °C 为宜。反应时间根据化合物 [3] 和 O - 烷基化剂的种类、反应温度而异, 通常以 1 分钟 ~ 24 小时为宜。O - 烷基化剂的用量以相当于化合物 [3] 的 1 ~ 1.2 摩尔当量为宜。

20

(3)



30 [式中, R^2 、 R^3 、 R^{110} 的定义同上。 Y 表示离去基团如羟基或氯、溴、碘等卤素、甲氧基等烷氧基、p - 硝基苯氧基等芳基氧基、甲磺酰基等烷磺酰基、甲苯磺酰基等芳基磺酰基、咪唑基、烷基羧基或芳基羧基等。]

通过使化合物 [6] 与醇 [7] 反应, 可制造酯 [5]。

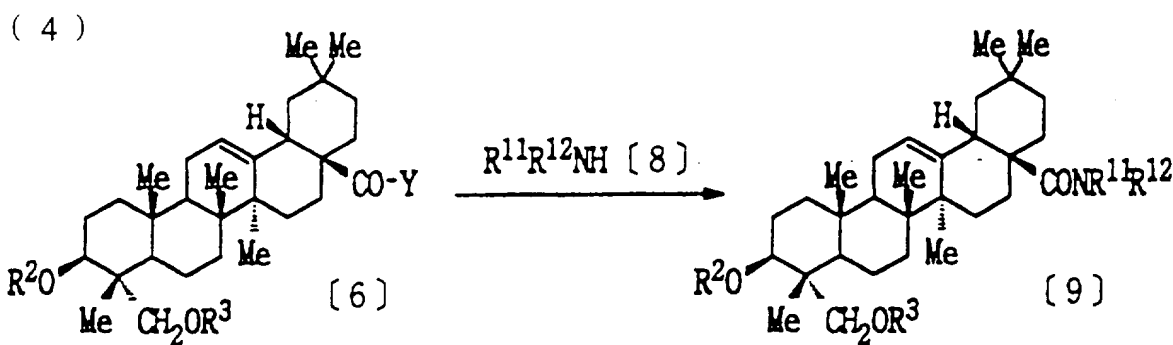
35 具体地说, 酯 [5] 可通过将化合物 [6] (式中 Y 表示羟基以外的上述离去基团) 如酰基卤 (如酰基氯、酰基溴等)、烷基酯 (如甲酯、乙酯等)、活性酯 (如 p - 硝基苯基酯、对氯苯基酯等)、酰咪唑啉或混合酸酐 (如与碳酸一烷

基酯的混合酸酐、与磷酸一烷基酯的混合酸酐) 等与醇〔7〕以适当方法加以制造, 或通过使用缩合剂(如 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺、二环己基碳二亚胺、碘化 2-氯-N-甲基吡啶鎓、二苯基磷酰叠氮、氰磷酸二乙酯、三苯基磷-四氯化碳等)将化合物〔6〕(式中 Y 表示羟基)与化合物〔7〕直接缩合的方法加以制造。

当使用酰基卤时, 酯〔5〕可通过在与上述相同的非质子传递溶剂中, 于与上述相同的碱的存在下, 在 -20 ~ 100 °C 反应而加以制造。反应时间根据酰基卤的种类、反应温度而异, 通常以 30 分钟 ~ 24 小时为宜。醇〔7〕的用量以相当于酰基卤的 1 ~ 1.2 摩尔当量为宜。

10 酰基卤可通过将化合物〔6〕(式中 Y 表示羟基)和亚硫酸卤(亚硫酸氯、亚硫酸溴等)于无溶剂的情况下或在与上述相同的非质子传递溶剂中, 在与上述相同的碱的存在下或无碱的存在下, 于 -20 ~ 100 °C 反应而加以制造。反应时间根据酰基卤的种类、反应温度而异, 通常以 30 分钟 ~ 24 小时为宜。亚硫酸卤的用量需相当于化合物〔6〕(式中 Y 表示羟基)的 1 摩尔当量以上, 可大量过

15 剩, 使用 10 摩尔当量以上。
当使用缩合剂时, 酯〔5〕可通过在与上述相同的非质子传递溶剂中, 于与上述相同的碱的存在下或无碱的存在下, 在 -20 ~ 100 °C 反应而加以制造。反应时间根据缩合剂的种类、反应温度而异, 通常以 30 分钟 ~ 24 小时为宜。醇〔7〕及缩合剂的用量以相当于化合物〔6〕(式中 Y 表示羟基)的 1 ~ 1.2 摩尔当量为宜。



[式中, R^2 、 R^3 、 R^{11} 、 R^{12} 、Y 的定义同上。]

通过使化合物〔6〕与胺〔8〕反应, 可制造酰胺〔9〕。

30 具体地说, 酰胺〔9〕可通过将化合物〔6〕(式中 Y 表示羟基以外的上述离去基团)如酰基卤(如酰基氯、酰基溴等)、烷基酯(如甲酯、乙酯等)、活性酯(如 p-硝基苯基酯、对氯苯基酯等)、酰咪唑啉或混合酸酐(如与碳酸一烷基酯的混合酸酐、与磷酸一烷基酯的混合酸酐)等与胺〔8〕经适当方法加以制造, 或通过使用缩合剂(如 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺、二环己基碳二亚胺、二异丙基碳二亚胺、1-苯并三唑氧基·三(二甲氨基)磷六氟磷酸盐、二苯基磷酰叠氮、丙磷酸酐等), 在有或无添加剂(如 N-羟基丁

二酰亚胺、1-羟基苯并三唑、3-羟基-4-氧代-3,4-二氢-1,2,3-三嗪等)的存在下,将化合物〔6〕(式中Y表示羟基)与化合物〔8〕直接缩合的方法加以制造。

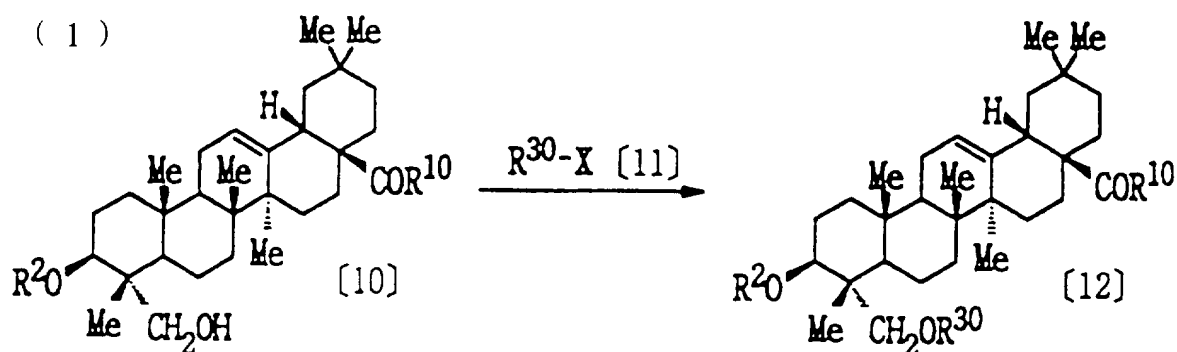
当使用酰基卤时,酰胺〔9〕可通过在与上述相同的非质子传递溶剂中,于
5 与上述相同的碱的存在下,在-20~100℃反应而加以制造。反应时间根据酰基卤的种类、反应温度而异,通常以30分钟~24小时为宜。胺〔8〕的用量以相当于酰基卤的1~1.2摩尔当量为宜。

当使用缩合剂时,酰胺〔9〕可通过在与上述相同的非质子传递溶剂中,于
10 与上述相同的碱的存在下或无碱的存在下,在-20~100℃反应而加以制造。反应时间根据缩合剂的种类、反应温度而异,通常以30分钟~24小时为宜。胺〔8〕及缩合剂的用量以相当于化合物〔6〕(式中Y表示羟基)的1~2摩尔当量为宜。可将胺〔8〕作为碱,以过量加以使用。

2.23 位羟基的反应

(1)

15



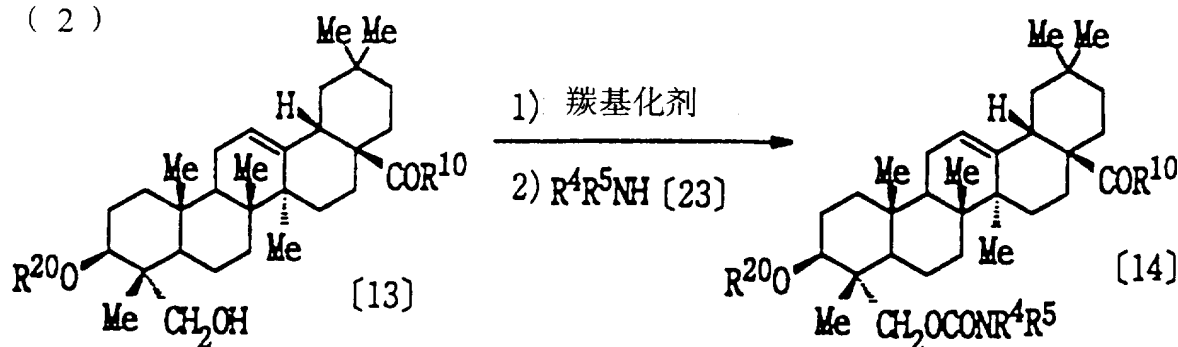
20

〔式中, R²、X的定义同上。R¹⁰表示除羟基以外的R¹。R³⁰表示除氢以外的R³。〕

通过使23-羟基化合物〔10〕与化合物〔11〕反应,可制造化合物〔12〕
25 (如醚、酯、碳酸酯、氨基甲酸酯)。本反应通常可在无溶剂的条件下或在与上述相同的非质子传递溶剂中,在有或无与上述相同的碱的存在下,在-20~100℃进行。反应时间根据化合物〔10〕和化合物〔11〕的种类、反应温度而异,通常以30分钟~24小时为宜。化合物〔11〕的用量以相当于化合物〔10〕的1~1.2摩尔当量为宜。

(2)

30



35

〔式中, R¹⁰的定义同上。R²⁰表示除氢以外的R²。R⁴、R⁵可相同或不同,

表示可被取代的烷基, 该取代基可分别选自①卤素、②OR⁶、③ OCOR⁶、④ COOR⁶、⑤氰基、⑥NR⁶R⁷、⑦环烷基、⑧可被卤素、烷基、羟基或氨基取代的芳基和⑨可被卤素、烷基、羟基或氨基取代的芳香族杂环基。R⁶、R⁷可相同或不同, 表示①氢或②可被羟基、烷氧基、氨基、一烷基氨基或二烷基氨基取代的烷基。]

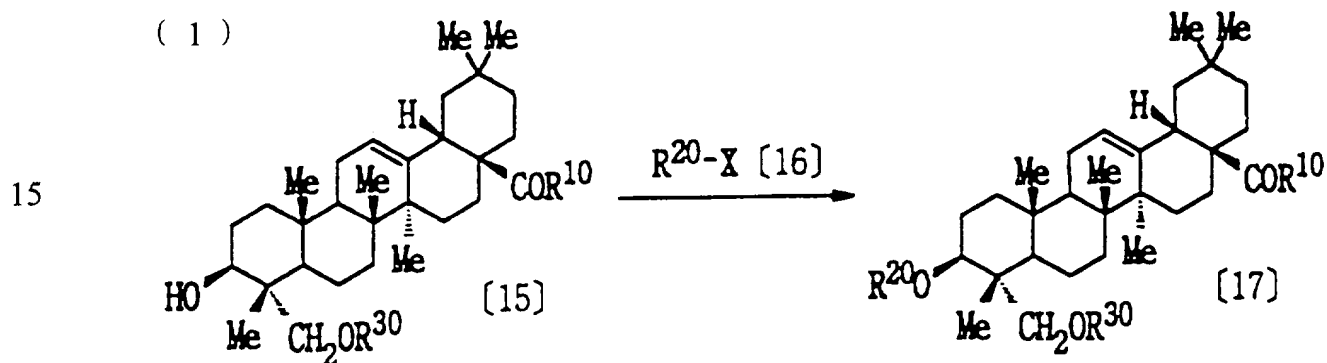
5 通过使 23 - 羟基化合物 [13] 与羰基化剂反应, 然后与胺 [23] 反应, 可制造氨基甲酸酯 [14]。

羰基化剂的例子包括羰基二咪唑、p - 氯甲酸硝基酯等。羰基化剂和胺 [23] 的用量以相当于化合物 [13] 的 1 ~ 1.2 摩尔当量为宜。

10 其他反应条件与从上述化合物 [10] 和化合物 [11] 出发, 制造化合物 [12] 的相同。也可将胺 [23] 作为碱, 以过量加以使用。

3.3 β - 位羟基的反应

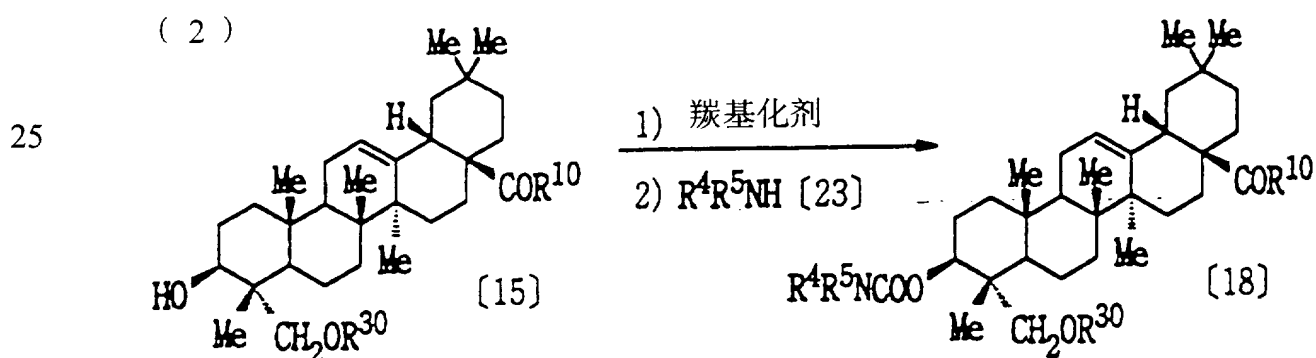
(1)



[式中, R¹⁰、R²⁰、R³⁰、X 的定义同上。]

20 通过使 3 β - 羟基化合物 [15] 与化合物 [16] 反应, 可制造化合物 [17] (如醚、酯、碳酸酯、氨基甲酸酯)。本反应可按与从上述化合物 [10] 和化合物 [11] 出发, 制造化合物 [12] 的相同方法进行。

(2)

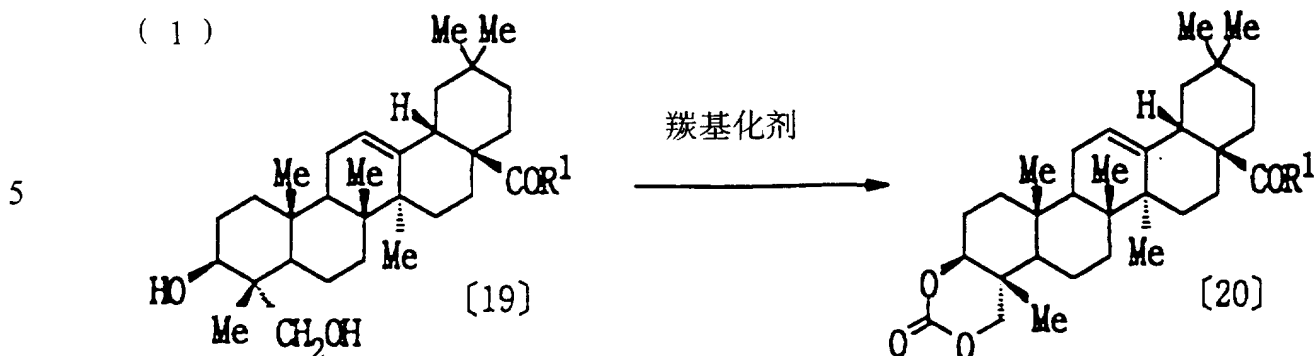


30 [式中, R⁴、R⁵、R¹⁰、R³⁰ 的定义同上。]

通过使 23 - 羟基化合物 [15] 与和上述相同的羰基化剂反应, 然后与胺 [23] 反应, 可制造氨基甲酸酯 [18]。本反应可按与从上述化合物 [13]、羰基化剂和胺 [23] 出发, 制造氨基甲酸酯 [14] 的相同方法进行。

4.3 β 位、23 位二羟基的反应

(1)

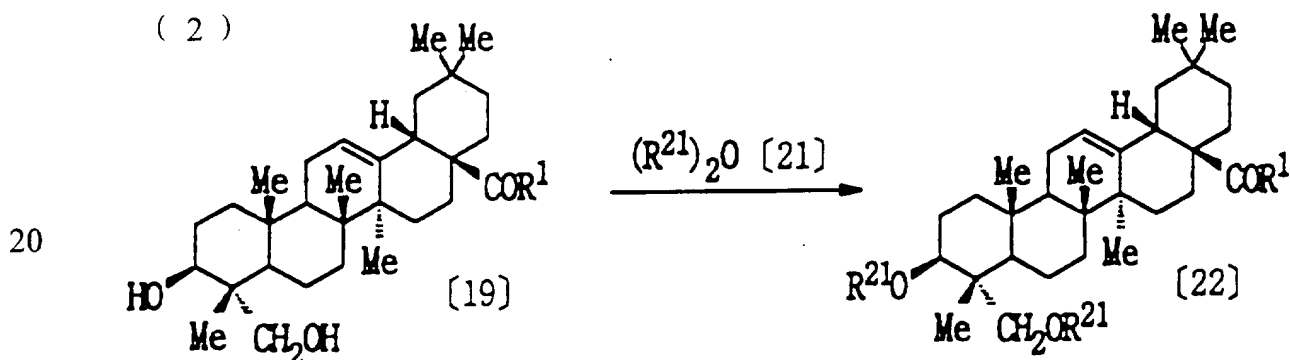


〔式中， R^1 的定义同上。〕

10 通过使 3 β 、23 - 二羟基化合物〔19〕与和上述相同的羰基化剂反应，可制造 3 β 、23 - 羰基二氧基化合物〔20〕。本反应通常可在无溶剂的条件下或在与上述相同的非质子传递溶剂中，在有或无与上述相同的碱的存在下，在 - 20 ~ 100 $^{\circ}\text{C}$ 进行。反应时间根据化合物〔19〕和羰基化剂的种类、反应温度而异，通常以 30 分钟 ~ 24 小时为宜。羰基化剂的用量以相当于化合物〔19〕的 1 ~ 1.2

15 摩尔当量为宜。

(2)



〔式中， R^1 的定义同上。 R^{21} 表示酰基。〕

25 通过使 3 β 、23 - 二羟基化合物〔19〕与羧酸酐〔21〕反应，可制造 3 β 、23 - 二酰氧基化合物〔22〕。本反应通常可在无溶剂的条件下或在与上述相同的非质子传递溶剂中，在有或无与上述相同的碱的存在下，在 - 20 ~ 100 $^{\circ}\text{C}$ 进行。反应时间根据化合物〔19〕和羧酸酐〔21〕的种类、反应温度而异，通常以 30 分钟 ~ 24 小时为宜。羧酸酐〔21〕的用量以相当于化合物〔19〕的 2 ~ 2.2 摩尔当量为宜。

30 在上述 (1) ~ (4) 的反应中，当原料具有不希望发生反应的取代基（如氨基、羟基、羧基等）时，也可按公知的方法，用苄基、乙酰基、叔丁氧羰基等保护后再用于反应。反应后，可通过接触还原、碱处理、酸处理等公知的方法去除保护基。

35 当由上述反应制得的化合物的 R^{11} 、 R^{12} 、 R^2 或 R^3 为被卤素取代的烷基、被卤素取代的链烯基、被卤素取代的炔基、被卤素取代的环烷基时，可通过公知的方法将卤素变换成 OR^{13} (R^{13} 的定义同上；*J. Org. Chem.*, 44, 2307(1979)等)、

OCOR¹³ (R¹³ 的定义同上; *Tetrahedron Lett.*, 1972, 1853 等)、NR¹³R¹⁴ (R¹³、R¹⁴ 的定义同上; *Org. Synth.*, V, 88(1973)等)、氰基 (*J. Org. Chem.*, 25, 877(1960) 等)。

5 当由上述反应制得的化合物具有氰基时, 可通过公知的方法变换成 COOR¹³ (R¹³ 的定义同上; *Org. Synth.*, III, 557(1955)、*Org. Synth.*, I, 27(1941)等) 或三嗪基等芳香族杂环基 (*Org. Synth.*, IV, 78(1963)等)。

当由上述反应制得的化合物具有烷氧羰基时, 可通过公知的方法变换成羧基 (*Org. Synth.*, IV, 169(1963) 、 *Org. Synth.*, IV, 608(1963)等)。

10 当由上述反应制得的化合物具有羧基时, 可通过公知的方法变换成烷氧羰基 (*Org. Synth.*, III, 381(1955) 等)。

当由上述反应制得的化合物具有羟基时, 可通过公知的方法变换成 OR¹³ (R¹³ 的定义同上, 但氢除外; *J. Org. Chem.*, 44, 2307(1979)等)、OCOR¹³ (R¹³ 的定义同上; *Org. Synth.*, IV, 263(1963)、*Org. Synth.*, VI, 560(1988))。

15 当由上述反应制得的化合物具有氨基时, 可通过公知的方法变换成 NR¹³R¹⁴ (R¹³、R¹⁴ 的定义同上; *Org. Synth.*, V, 88(1973)等)、吡咯基 (*Org. Synth.*, II, 219(1943)等) 等芳香族杂环基。

具有羧基的常春配基衍生物〔1〕可直接以游离羧酸的形式用于治疗, 但也可用公知的方法转换成药学上可接受的盐的形式后加以使用。盐的具体例子包括钠盐、钾盐等碱金属盐和钙盐等碱土金属盐。

20 例如, 常春配基衍生物〔1〕的碱金属盐可通过将 1 当量的氢氧化钠或氢氧化钾等加入最好溶解在醇类溶剂中的具有羧基的常春配基衍生物〔1〕中而制得。

常春配基衍生物〔1〕的碱土金属盐可通过将由上述方法制得的碱金属盐溶解在水、甲醇、乙醇或它们的混合溶剂中, 再加入 1 当量的氯化钙等而制得。

25 氨基未被取代的或被取代的常春配基衍生物〔1〕可直接以游离的胺的形式用于治疗, 但也可用公知的方法转换成药学上可接受的盐的形式后加以使用。盐的具体例子包括盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸等无机酸的盐、乙酸、柠檬酸、酒石酸、马来酸、琥珀酸、富马酸、p - 甲苯磺酸、苯磺酸、甲磺酸等有机酸的盐等。

例如, 常春配基衍生物〔1〕的盐酸盐可通过将氨基未被取代或被取代的常春配基衍生物〔1〕溶解在氯化氢的醇溶液中而制得。

30 本发明的化合物〔1〕可由上述反应混合物, 通过常规的分离纯化手段如提取、浓缩、中和、过滤、重结晶、柱色谱法、薄层色谱法等而加以分离纯化。

化合物〔1〕或其盐的溶剂化物 (包括水合物) 也包括在本发明的范围中。溶剂化物通常可使用相应的溶剂或含相应溶剂的适当的混合溶剂, 将被溶剂化物重结晶而制得。

35 例如, 本发明的化合物〔1〕的水合物可通过使用含水醇, 将本发明的化合物〔1〕重结晶而制得。

本发明的化合物〔1〕有时呈多晶型。多晶型化合物也包括在本发明的范围中。

将有效量的式〔1〕化合物对人及动物给药以治疗肾炎的方法也包括在本发明的范围中。

5 式〔1〕化合物在制造肾炎治疗药物中的使用也包括在本发明的范围中。

本发明的化合物如下述试验例所示，具有优异的抑制肾小球膜细胞增殖的作用。此外，其毒性低。由此，本发明的药物组合物作为优异的肾炎治疗剂是十分有用的，对肾炎中的慢性肾小球性肾炎，尤其是增殖性肾小球性肾炎的治疗有效。

10 将本发明的化合物作为医药给药时，本发明的化合物可直接或以由药学上可接受的无毒性的惰性载体和例如 0.1 ~ 99.5 %，最好为 0.5 ~ 90 % 的化合物组成的药物组合物的形式对包括人在内的动物给药。

作为载体，可使用一种或多种固体、半固体或液体的稀释剂、填充剂及其他制剂辅料。药物组合物宜以单位剂量形式投与。本发明的药物组合物可以静注、15 口服、组织内给药、局部给药（经皮给药等）或经直肠给药等形式给药。当然，应使用与这些给药方式相宜的剂型。尤以口服为佳。

肾炎治疗用药物组合物的用量宜在考虑年龄、体重等患者的状态、给药途径、疾病性质和程度等的基础上加以确定。通常，对成年人而言，本发明的活性化合物的有效量一般在每日 0.1 ~ 1000mg/人的范围，优选 1 ~ 500mg/人。

20 视情况，也可小于或大于上述用量。可每日分 2 ~ 3 次用药。

本发明的最佳实施方式

下面通过本发明化合物的实施例、试验例和本发明药物组合物的制剂例来对本发明作更详细的说明。

25

参考例 1

常春配基（3β，23 - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸，化合物 No.1）

30 将无患子（*Sapindus mukorossi* Gaertn.）的干燥粉碎果皮 6.0kg 用甲醇 60 升在 70℃ 加热提取 2 小时，共进行 2 次，将提取液在 50℃ 以下减压浓缩，得到甲醇提取物 3.88kg。

往该甲醇提取物 300g 中加入 2.5%（v/v）硫酸的甲醇溶液 1500ml，加热回流 2 小时，进行水解。水解后，用 5%（w/v）氢氧化钾的甲醇溶液调至 pH6 ~ 7，加入活性炭 90g，回流 0.5 小时。让该溶液通过硅藻土 2g 的均匀层进行过滤，将滤液减压浓缩至原体积的约 1/10。往残留物中加入蒸馏水 1 升，加热洗涤后，35 放冷，减压下蒸去残存甲醇，抽滤沉淀，得到常春配基粗品。

将该常春配基粗品用乙腈 1 升加热洗涤 2 次，用甲醇 80ml 加热洗涤 3 次，得

到为白色粉末状纯常春配基 11.05g。熔点： 317 - 320 °C。

元素分析值： $C_{30}H_{48}O_4 \cdot 1/4H_2O$

计算值 (%) C: 75.51 H: 10.24

实测值 (%) C: 75.49 H: 9.94

IR(KBr) cm^{-1} : 3455, 2946, 1698, 1464, 1389, 1038

参考例 2

5 常春配基的钠盐 (3 β , 23 - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸钠)

往由参考例 1 制得的常春配基 (1.0g) 中加入 1N 氢氧化钠的甲醇溶液 (2.1ml), 在 50 °C 搅拌 2 小时。反应物经滤纸滤去不溶物, 浓缩后得到目的物 (934mg)。熔点: 315 °C。

元素分析值: $C_{30}H_{47}O_4 \cdot Na \cdot 3H_2O$

计算值 (%) C: 65.67 H: 9.74

实测值 (%) C: 65.71 H: 9.51

10

实施例 1

3 β , 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸 2 - 乙酰氧基乙酯 (化合物 No.2)

15 往常春配基 (473mg) 在 DMF 中的溶液 (10ml) 加入乙酸 2 - 溴乙酯 (334mg), 再加入碳酸氢钾 (200mg), 于 50 °C 搅拌 8 小时。将反应溶液过滤后, 减压浓缩, 蒸去 DMF。再用乙酸乙酯提取所得的油状物, 然后用饱和食盐水洗涤, 并用无水硫酸镁干燥, 接着减压浓缩。用硅胶柱色谱法 (乙酸乙酯: 正己烷 = 1: 8) 进行纯化, 得到为无色结晶的目的物 (490mg)。熔点: 158 °C。

20

元素分析值: $C_{34}H_{54}O_6$

计算值 (%) C: 73.08 H: 9.74

实测值 (%) C: 72.90 H: 9.64

实施例 2

3 β , 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸苄酯 (化合物 No.3)

25 使用苄基溴, 按与实施例 1 同样的方法得到目的物。熔点: 159 °C。

元素分析值: $C_{37}H_{54}O_4 \cdot 1/5H_2O$

计算值 (%) C: 78.46 H: 9.68

实测值 (%) C: 78.50 H: 9.47

实施例 3

3 β, 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸 2 - 甲氧基乙酯 (化合物 No.4)

5 使用 2 - 溴乙基·甲基醚, 按与实施例 1 同样的方法得到目的物。熔点: 161 °C。

元素分析值: $C_{33}H_{54}O_5 \cdot 1/4H_2O$

计算值 (%) C: 74.05 H: 10.26

实测值 (%) C: 74.01 H: 9.92

实施例 4

10 3 β, 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸 2 - 羟基乙酯 (化合物 No.5)

15 将由实施例 1 制得的化合物 (1.0g) 溶解在甲醇 (100ml) 中, 加入氢氧化钠水溶液 (5ml), 于 80 °C 加热回流后, 蒸去甲醇。用乙酸乙酯提取残留物, 并用无水硫酸镁干燥提取液后, 过滤、浓缩, 得到为无色结晶的目的物 (880mg)。熔点: 237 - 238 °C。

元素分析值: $C_{32}H_{52}O_5$

计算值 (%) C: 74.38 H: 10.14

实测值 (%) C: 74.06 H: 9.90

实施例 5

3 β, 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸 3 - 溴丙酯 (化合物 No.6)

20 使用 1, 3 - 二溴丙烷, 按与实施例 1 同样的方法得到目的物。

实施例 6

3 β, 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸 3 - N, N - 二 (2 - 羟乙基) 氨基丙酯 (化合物 No.7)

25 将由实施例 5 制得的化合物 (622mg) 溶解在 DMF (60ml) 中, 加入二乙醇胺 (2ml), 室温下搅拌 24 小时。用乙酸乙酯提取, 并用无水硫酸镁干燥后, 浓缩提取液, 用硅胶柱色谱法 (乙酸乙酯: 正己烷 = 3: 1) 进行纯化。将得到的结晶 (580mg) 溶解在 20 % 氯化氢的甲醇溶液 (20ml), 室温下搅拌 30 分钟

30

后, 浓缩, 得到为无色结晶的目的物 (572mg)。熔点: 267 - 268 °C。



元素分析值:	$C_{37}H_{63}NO_6 \cdot HCl \cdot 1/2H_2O$		
计算值 (%)	C: 66.99	H: 9.88	N: 2.11
实测值 (%)	C: 67.22	H: 9.40	N: 2.33

实施例 7 - (1)

N - (2 - 甲氧基乙基) - 3 β , 23 (4 α) - 二乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.8)

步骤 1: 3 β , 23 (4 α) - 二乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸

将常春配基 (500mg) 溶解在吡啶 (20ml) 中, 加入乙酸酐 (2ml), 于 80 °C 搅拌 1 小时。往反应液中滴加 1N 盐酸 (5ml), 搅拌 10 分钟。用氯仿 (50ml) 提取反应液 3 次, 并用无水硫酸镁干燥提取液后, 蒸去溶剂。将残留物通过硅胶柱色谱法 (正己烷: 乙酸乙酯 = 4 : 1) 进行纯化, 得到为白色固体的目的物 (580mg)。

步骤 2: N - (2 - 甲氧基乙基) - 3 β , 23 (4 α) - 二乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺

往由步骤 1 制得的化合物 (570mg) 中加入亚硫酸氯 (20ml), 于 70 °C 搅拌 1.5 小时后, 减压蒸去未反应的亚硫酸氯, 得到黄色油状物。将其溶解在二氯甲烷 (50ml) 中, 加入 2 - 甲氧基乙胺 (2ml), 室温下搅拌 12 小时。用 1N 盐酸 (50ml) 洗涤反应液 2 次后, 用无水硫酸镁干燥有机层, 蒸去溶剂, 得到黄色固体。通过硅胶柱色谱法 (正己烷: 乙酸乙酯 = 4 : 1 \rightarrow 1 : 1) 将其纯化, 得到为白色固体的目的物 (565mg)。

实施例 7 - (2)

N - (2 - 甲氧基乙基) - 3 β , 23 (4 α) - 二乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.8)

步骤 1: 3 β , 23 (4 α) - 二乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸

将常春配基 (1.2g) 溶解在吡啶 (15ml) 中, 加入乙酸酐 (4ml), 于 70 °C 搅拌 1 小时。往反应液中滴加 1N 盐酸 (30ml), 搅拌 10 分钟。用乙醚 (20ml) 提取反应液 3 次, 并用无水硫酸镁干燥提取液后, 蒸去溶剂。将残留物通过硅胶柱色谱法 (正己烷: 乙酸乙酯 = 5 : 1) 进行纯化, 得到为白色固体的目的物 (1.35g)。

步骤 2: N - (2 - 甲氧基乙基) - 3 β , 23 (4 α) - 二乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺

往由步骤 1 制得的化合物 (1.2g) 中加入亚硫酸氯 (20ml), 于 80 °C 搅拌 1 小时后, 减压蒸去未反应的亚硫酸氯, 得到黄色油状物。往该油状物中加入 2 - 甲氧基乙胺 (330mg), 室温下搅拌 1 小时。用乙醚提取并用饱和食盐水洗涤,

然后用无水硫酸镁干燥，蒸去溶剂，得到为黄色固体的目的物（950mg）。

实施例 8 - (1)

N - (2 - 甲氧基乙基) - 3 β , 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28
- 酰胺 (化合物 No.9)

将由实施例 7 - (1) 制得的化合物 (155mg) 溶解在甲醇 (30ml) 中，加入 1N 氢氧化钠水溶液 (10ml)，加热回流 1 小时。减压下蒸去甲醇，用乙酸乙酯 (30ml) 提取残留物 3 次。用无水硫酸镁干燥提取液后，蒸去溶剂，将残留物用正己烷/乙酸乙酯重结晶，得到为白色粉末的目的物 (140mg)。熔点：127 - 129 $^{\circ}\text{C}$ 。

元素分析值： $\text{C}_{33}\text{H}_{55}\text{NO}_4 \cdot 3/5\text{H}_2\text{O}$

计算值 (%) C : 73.32 H : 10.48 N : 2.59

实测值 (%) C : 73.21 H : 10.24 N : 2.85

实施例 8 - (2)

N - (2 - 甲氧基乙基) - 3 β , 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28
- 酰胺 (化合物 No.9)

将由实施例 7 - (2) 制得的化合物 (950mg) 溶解在甲醇 (35ml) 中，加入 1N 氢氧化钠水溶液 (15ml)，室温下搅拌 1 小时。减压下蒸去甲醇，用氯仿提取残留物。用无水硫酸镁干燥提取液后，蒸去溶剂，将残留物用乙酸乙酯重结晶，得到为白色结晶的目的物 (830mg)。熔点：142 - 143 $^{\circ}\text{C}$ 。

元素分析值： $\text{C}_{33}\text{H}_{55}\text{NO}_4 \cdot 3/5\text{H}_2\text{O}$

计算值 (%) C : 73.32 H : 10.48 N : 2.59

实测值 (%) C : 73.14 H : 10.25 N : 2.91

实施例 9

N - (2 - 甲氧基乙基) - 3 β , 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28
- 酰胺 (化合物 No.9) 的另一制法

将常春配基 (100mg)、1 - 乙基 - 3 - (3 - 二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐 (84mg)、1 - 羟基 - 1H - 苯并三唑 (67mg)、2 - 甲氧基乙胺 (33mg) 悬浮在 DMF (2ml) 中，将混合物于 50 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌 2 小时。冷却至室温后，减压浓缩。用乙酸乙酯提取残留物，并用饱和食盐水、1N 盐酸洗涤，再用无水硫酸镁干燥，然后减压浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法 (乙酸乙酯：正己烷 = 1 : 10 \rightarrow 1 : 5 \rightarrow 1 : 1) 纯化，得到为无色结晶的目的物 (92mg)。理化数据与实施例 8 - (2) 中的一致。

实施例 10

N - (p - 氟苯基) - 3 β , 23 (4 α) - 二乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.10)

使用 p - 氟苯胺, 按与实施例 7 - (1) 同样的方法得到目的物。

5

实施例 11

N - (p - 氟苯基) - 3 β , 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.11)

使用由实施例 10 得到的化合物, 按与实施例 8 - (1) 同样的方法得到目的物。熔点: 216 - 217 °C。

10

实施例 12

N - [2 - (N , N - 二乙基氨基) 乙基] - 3 β , 23 (4 α) - 二乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.12)

使用 2 - (N , N - 二乙基氨基) 乙胺, 按与实施例 7 - (1) 同样的方法得到目的物。

15

实施例 13

N - [2 - (N , N - 二乙基氨基) 乙基] - 3 β , 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.13)

使用由实施例 12 得到的化合物, 按与实施例 8 - (1) 同样的方法得到目的物。熔点: 228 - 230 °C。

20

元素分析值: C₃₆H₆₂N₂O₃

计算值 (%) C: 75.74 H: 10.95 N: 4.91

实测值 (%) C: 75.74 H: 10.82 N: 5.03

25 实施例 14

N - [2 - (N , N - 二乙基氨基) 乙基] - 3 β , 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺盐酸盐 (化合物 No.14)

将由实施例 13 得到的化合物溶解在 20 % 氯化氢的甲醇溶液 (20ml) 中, 室温下搅拌 30 分钟后, 浓缩, 得到目的物。熔点: 263 - 265 °C。

30

元素分析值: C₃₆H₆₂N₂O₃·HCl·5/2H₂O

计算值 (%) C: 66.28 H: 10.51 N: 4.29

实测值 (%) C: 66.17 H: 10.30 N: 4.56

实施例 15

N - [3 - [N, N - 二 (2 - 羟乙基) 氨基] 丙基] - 3 β, 23 (4 α) - 二乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.15)

5 使用 3 - [N, N - 二 (2 - 羟乙基) 氨基] 丙胺, 按与实施例 7 - (1) 同样的方法得到目的物。

实施例 16

N - [3 - [N, N - 二 (羟乙基) 氨基] 丙基] - 3 β, 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.16)

10 使用由实施例 15 得到的化合物, 按与实施例 8 - (1) 同样的方法得到目的物。熔点: 136 - 139 °C。

元素分析值: $C_{37}H_{64}N_2O_5 \cdot 1/2H_2O$

计算值 (%) C: 71.00 H: 10.47 N: 4.48

实测值 (%) C: 70.90 H: 10.26 N: 4.54

实施例 17

15 N - [3 - [N, N - 二 (2 - 羟乙基) 氨基] 丙基] - 3 β, 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺盐酸盐 (化合物 No.17)

使用由实施例 16 得到的化合物, 按与实施例 14 同样的方法得到目的物。熔点: 195 °C。

元素分析值: $C_{37}H_{64}N_2O_5 \cdot HCl \cdot 5/3H_2O$

计算值 (%) C: 65.03 H: 10.08 N: 4.10

实测值 (%) C: 65.01 H: 9.96 N: 4.19

20

实施例 18

N - 乙氧羰基甲基 - 3 β, 23 (4 α) - 二乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.18)

使用盐酸甘氨酸乙酯, 按与实施例 7 - (1) 同样的方法得到目的物。

25

实施例 19

N - 羧甲基 - 3 β, 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.19)

30 使用由实施例 18 得到的化合物, 按与实施例 8 - (1) 同样的方法得到目的物。熔点: 187 - 190 °C。

元素分析值: $C_{32}H_{51}NO_5 \cdot 4/5H_2O$
 计算值 (%) C: 70.63 H: 9.74 N: 2.57
 实测值 (%) C: 70.51 H: 9.38 N: 2.60

实施例 20

N - 乙氧羰基甲基 - 3 β , 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.20)

- 5 将由实施例 19 得到的化合物 (1.1g) 溶解在 17 % 氯化氢-乙醇 (40ml) 中, 于 80 °C 加热 2 小时后, 减压蒸去乙醇。用氯仿提取残留物, 并用无水硫酸镁干燥后, 浓缩, 通过硅胶柱色谱法 (氯仿: 甲醇 = 9: 1) 进行纯化, 得到为无色结晶的目的物 1.1g。熔点: 129 - 132 °C。

元素分析值: $C_{34}H_{55}NO_5 \cdot 2/5H_2O$
 计算值 (%) C: 72.28 H: 9.95 N: 2.48
 实测值 (%) C: 72.29 H: 9.87 N: 2.61

10

实施例 21

N - (3 - 甲氧基羰基丙基) - 3 β , 23 (4 α) - 二乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.21)

- 15 使用 4 - 氨基正丁酸甲酯盐酸盐, 按与实施例 7 - (1) 同样的方法得到目的物。

实施例 22

N - (3 - 羧丙基) - 3 β , 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.22)

- 20 使用由实施例 21 得到的化合物, 按与实施例 8 - (1) 同样的方法得到目的物。熔点: 203 °C。

元素分析值: $C_{34}H_{55}NO_5 \cdot H_2O$
 计算值 (%) C: 70.92 H: 9.98 N: 2.43
 实测值 (%) C: 71.14 H: 10.01 N: 2.49

实施例 23

- 25 N - (3 - 乙氧羰基丙基) - 3 β , 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.23)

使用由实施例 22 得到的化合物, 按与实施例 20 同样的方法得到目的物。熔点: 108 - 110 °C。

元素分析值: $C_{36}H_{59}NO_5 \cdot 3/10H_2O$

计算值 (%) C: 73.13 H: 10.16 N: 2.37

实测值 (%) C: 72.91 H: 10.14 N: 2.35

实施例 24

5 N - (2 - 氰基乙基) - 3 β , 23 (4 α) - 二乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.24)

使用 3 - 氨基丙腈, 按与实施例 7 - (1) 同样的方法得到目的物。

TLC (Merck 公司, Kieselgel 60 F₂₅₄, 乙酸乙酯: 正己烷 = 1: 1) Rf = 0.13

10

实施例 25

N - (2 - 氰基乙基) - 3 β , 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.25)

15 使用由实施例 24 得到的化合物, 按与实施例 8 - (1) 同样的方法得到目的物。

实施例 26

N - [2 - (2, 4 - 二氨基 - 1, 3, 5 - 三嗪 - 6 - 基) 乙基] - 3 β , 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.26)

20 将由实施例 25 得到的化合物 (550mg) 与双氰胺 (210mg) 和氢氧化钾 (140mg) 在甲基溶纤剂 (50ml) 中的悬浮液于 125 $^{\circ}C$ 加热回流 2 小时, 减压蒸去溶剂后, 通过硅胶柱色谱法 (氯仿 \rightarrow 氯仿: 甲醇 = 9: 1) 纯化。将得到的结晶用热水洗涤, 然后用多孔板漏斗收集结晶, 得到为无色结晶的目的物。熔点: 25 214 $^{\circ}C$ 。

元素分析值: $C_{35}H_{56}N_6O_3 \cdot 3/2H_2O$

计算值 (%) C: 66.11 H: 9.35 N: 13.22

实测值 (%) C: 65.91 H: 9.16 N: 13.12

实施例 27

N - (3 - 甲氧基丙基) - 3 β , 23 (4 α) - 二乙酰氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.27)

30 使用 3 - 氨基丙基·甲基醚, 按与实施例 7 - (1) 同样的方法得到目的物。

实施例 28

N - (3 - 甲氧基丙基) - 3 β , 23 (4 α) - 二羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酰胺 (化合物 No.28)

5 使用由实施例 27 得到的化合物, 按与实施例 8 - (1) 同样的方法得到目的物。熔点: 83 °C。

元素分析值: $C_{34}H_{57}NO_4 \cdot 1/4H_2O$

计算值 (%) C: 74.48 H: 10.57 N: 2.55

实测值 (%) C: 74.49 H: 10.36 N: 2.90

实施例 29

3 β - 羟基 - 23 (4 α) - 苄基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸苄酯 (化合物 No.29)

10 将由实施例 2 得到的化合物 (3.0g) 溶解在 DMF (40ml) 中, 加入氢化钠 (60 % , 552mg) , 于 0 °C 搅拌 1 小时。往反应液中加入苄基氯 (1.7g) 。室温下搅拌 2 小时。往反应液中加水后, 用乙酸乙酯提取, 用无水硫酸镁干燥, 接着, 过滤、浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法 (乙酸乙酯: 正己烷 = 1 : 20) 纯化, 得到目的物 (3.4g) 。

15

实施例 30

3 β - 乙氧羰基甲基氨基甲酰氧基 - 23 (4 α) - 苄基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸苄酯 (化合物 No.30)

20 将由实施例 29 得到的化合物 (3.4g) 、 羰基二咪唑 (3.0g) 和吡啶 (50ml) 于 80 °C 搅拌 20 小时。加入甘氨酸乙酯盐酸盐 (4.3g) 、 4 - 二甲基氨基吡啶 (3.8g) , 于 80 °C 加热搅拌 20 小时, 提取, 浓缩, 得到目的物。

实施例 31

3 β - 乙氧羰基甲基氨基甲酰氧基 - 23 (4 α) - 羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸 (化合物 No.31)

25 将由实施例 30 得到的化合物 (3.4g) 溶解在甲醇 (200ml) 中, 加入 5 % 钨碳 (500mg) , 于氢气氛下搅拌 24 小时后, 过滤, 浓缩, 得到目的物。熔点: 196 - 197 °C。

元素分析值: $C_{35}H_{55}NO_7 \cdot 1/4H_2O$

计算值 (%) C: 69.33 H: 9.23 N: 2.31

实测值 (%) C: 69.16 H: 9.04 N: 2.33

30

实施例 32

3 β - (2 - 甲氧基乙基) 氨基甲酰氧基 - 23 (4 α) - 苜基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸苜酯 (化合物 No.32)

使用 2 - 甲氧乙胺, 按与实施例 30 同样的方法得到为无色结晶的目的物。

5

实施例 33

3 β - (2 - 甲氧基乙基) 氨基甲酰氧基 - 23 (4 α) - 羟基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸 (化合物 No.33)

10 使用由实施例 32 得到的化合物, 按与实施例 31 同样的方法得到为无色结晶的目的物。熔点: 183 - 184 °C (用乙酸乙酯重结晶) 。

元素分析值: C₃₄H₅₅NO₆

计算值 (%) C: 71.17 H: 9.66 N: 2.44

实测值 (%) C: 71.02 H: 9.61 N: 2.56

实施例 34

3 β, 23 (4 α) - 羰基二氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸 (化合物 No.34)

15 将常春配基 (473mg) 溶解在吡啶 (10ml) 中, 加入羰基二咪唑 (195mg), 于 50 °C 加热 1 小时。用乙酸乙酯提取, 将有机层用 1N 盐酸洗涤后, 用无水硫酸镁干燥, 浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法 (乙酸乙酯: 正己烷 = 1: 5) 纯化, 得到目的物 (423mg)。熔点: 214 - 215 °C。

元素分析值: C₃₁H₄₆O₅

计算值 (%) C: 74.61 H: 9.32

实测值 (%) C: 74.36 H: 9.05

20

实施例 35

3 β, 23 (4 α) - 羰基二氧基土当归 - 12 - 烯 - 28 - 酸 2 - 乙酰氧乙酯 (化合物 No.35)

25 使用由实施例 1 得到的化合物, 按与实施例 34 同样的方法得到目的物。熔点: 112 °C。

元素分析值: C₃₅H₅₂O₇

计算值 (%) C: 71.89 H: 8.96

实测值 (%) C: 71.68 H: 8.86

下面提供本发明的代表性化合物的药理试验结果, 这些结果表明本发明化合

物的有用性。

试验例 1

对大鼠的抗 Thy-1 抗体肾炎的作用

5 抗 Thy-1 抗体肾炎是一种利用作为肾小球膜细胞的膜蛋白存在的 Thy-1 抗原和与其对应的抗体反应而构成的肾小球性肾炎模型。在该模型中，可发现肾小球膜细胞损伤和肾小球膜细胞增殖性病变。人的慢性肾小球性肾炎多数是以肾小球膜细胞的增殖和膜基质的增加为主要病变的增殖性肾小球性肾炎，抗 Thy-1 抗体肾炎被作为人增殖性肾小球性肾炎、尤其是肾小球膜细胞增殖性肾炎的模型
10 (Ishizaki 等, *Acta. Pathol. Jpn.*, 36, 1191 (1986))。

(1) 实验动物

实验大鼠。

(2) 实验材料

□ 抗 Thy-1 抗体的制备

15 抗体的制备按上述 Ishizaki 等的方法进行。即，制备大鼠胸腺细胞的佐剂悬浮液，并将其注射至兔皮下以进行免疫。2 次追加免疫后，采血，使分离得到的血清失活并吸附，由此制得抗血清（抗 Thy-1 抗体）。

(3) 实验方法

20 将一定量的抗血清从尾静脉静注至大鼠体内，诱发肾炎。从注射的次日起，每日 1 次，连续 7 天给大鼠口服受试药的悬浮液。投药开始后第 8 天，进行解剖，取出肾脏。将肾脏用 10 % 磷酸盐缓冲的福尔马林固定后，按常规方法制备石蜡切片。用高碘酸-希夫氏染色液染色后，显微镜下检查。作为病理组织学评价方法，使用光学显微镜，对各组织标本中肾小球内的细胞（主要是肾小球膜细胞）数进行计数。统计学分析系采用非成对 t 检验的方法进行。结果见表 1。

25

表 1 肾小球的病理组织学检查

受试药	剂 量 (mg/kg)	n	肾小球内的细胞数 ^{a)}
对 照 组	蒸馏水	6	59.5 ± 3.5
化合物 No.1	100	5	48.2 ± 1.6**
对 照 组	蒸馏水	6	61.8 ± 2.2
化合物 No.2	100	5	50.9 ± 1.3**
对 照 组	蒸馏水	5	54.8 ± 2.1
化合物 No.3	100	5	45.8 ± 0.7**

a) 每个肾小球的细胞（肾小球膜细胞）数

平均值 ± 标准误差 (正常动物的平均细胞数为 43 个)

* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$

由上述结果可见, 本发明的化合物对患抗 Thy - 1 抗体肾炎的大鼠肾小球膜
5 细胞增殖具有抑制作用。

试验例 2

对 MRL/lpr 小鼠的肾炎的作用

MRL/lpr 小鼠是一种由于自身免疫异常而自发地、继发性地发生增殖性肾小
10 球性肾炎的小鼠狼疮性肾炎模型。使用该肾炎模型, 对受试药进行 10 周的长期
口服试验。

(1) 实验动物

使用从 Jackson 研究所购入的、日本新药株式会社继代培养的 MRL/lpr 小鼠。

(2) 实验方法

15 将受试药的悬浮液从小鼠的 8 周龄起即给其口服, 每日 1 次, 每周 6 日, 持续
10 周。给药期间, 进行尿蛋白的半定量检测 (试纸法)。给药期间结束后, 进行
解剖, 取出肾脏。将肾脏用 10 % 磷酸盐缓冲的福尔马林固定后, 按常规方法制
备石蜡切片。用高碘酸-希夫氏染色液染色后, 显微镜下检查。作为病理组织学评
20 价方法, 使用光学显微镜, 对各组织标本中肾小球损伤参照 Berden 的方法 (*J.*
Immunology, 130,1699-1750 (1983)), 按病变程度分级, 对各组的各等级的发生
率 (%) 进行计算。按 Mann Whitney 氏的秩和检验法进行统计学分析。结果见
表 2 和表 3。

25 表 2 蛋白尿的发生率 (给药 10 周时)

受试药	剂量 (mg/kg)	n	出现蛋白尿的动物数				
			-	1+	2+	3+	4+
对照组	0	12	0	0	4	1	7
化合物 No.1	10	13	0	7	2	1	3*
化合物 No.1	30	13	3	4	0	5	2*

- : 阴性, 1+ : 30 ~ 100mg/dl, 2+ : 100 ~ 300mg/dl,
3+ : 300 ~ 1000mg/dl, 4+ : > 1000mg/dl

* : $P < 0.05$

表 3 肾小球的病理组织学评价 (肾小球病变的发生率)

受 试 药	剂 量 (mg/kg)	肾小球病变 的 发生 率 (%)				
		-	1+	2+	3+	4+
对 照 组	0	1	14	52	25	8
化 合 物 No.1	10	3	29	57	9	2**
化 合 物 No.1	30	3	25	63	9	2**

- : 无显著变化, 1+ : 轻度, 2+ : 中度, 3+ : 重度,

4+ : 极重度

** : P < 0.01

上述结果表明, 本发明化合物对狼疮性肾炎模型的 MRL/lpr 小鼠的尿蛋白和肾组织病变的进展具有抑制作用。

试验例 3

对肾小球膜细胞体外增殖的抑制作用

(1) 实验材料和实验方法

用筛选法从大鼠肾脏分离出肾小球, 得到肾小球膜细胞, 并继代培养。将肾小球膜细胞接种在培养皿上, 24 小时后, 加入以 LPS (脂多糖类) 刺激的巨噬细胞培养上清液 (含生长因子的溶液) 和受试药, 培养 72 小时。培养结束后, 将肾小球膜细胞固定并用结晶紫染色, 测定吸光度。受试药对肾小球膜细胞增殖的抑制活性系通过对同条件下培养的对照肾小球膜细胞的吸光度的抑制率 (%) 来评价。结果见表 4。

表 4 对肾小球膜细胞体外增殖的抑制活性

受 试 药	用 量 (μ g/ml)	抑 制 率 (%)
化 合 物 No.2	10	57.9
化 合 物 No.9	10	43.3

上述结果表明, 本发明的化合物对肾小球膜细胞的体外增殖具有抑制活性。

试验例 4

急性毒性

将受试药的悬浮液以 2g/kg 的剂量给小鼠口服, 观察一般症状至 1 周后。受试药系使用化合物 No.1 和化合物 No.9。

其结果, 在各给药组中均未出现死亡例, 也无异常症状。

制剂例 1

片剂（口服用）

在每片 80mg 中，

化合物 No.1	5.0mg
玉米淀粉	46.6mg
结晶纤维素	24.0mg
甲基纤维素	4.0mg
硬脂酸镁	0.4mg

5

将上述混合粉末压片成型，即制得口服片剂。

制剂例 2

片剂（口服用）

在每片 80mg 中，

化合物 No.2	5.0mg
玉米淀粉	46.6mg
结晶纤维素	24.0mg
甲基纤维素	4.0mg
硬脂酸镁	0.4mg

10

将上述混合粉末压片成型，即制得口服片剂。

15 制剂例 3

片剂（口服用）

在每片 80mg 中，

化合物 No.9	5.0mg
玉米淀粉	46.6mg
结晶纤维素	24.0mg
甲基纤维素	4.0mg
硬脂酸镁	0.4mg

20

将上述混合粉末压片成型，即制得口服片剂。

工业上应用的可能性

如上所述，本发明的化合物具有优异的抑制肾小球膜细胞增殖的作用，对动物的肾炎模型有效，且毒性低，因此，可用于治疗肾炎。