(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 115427039 B
(45)授权公告日 2025.04.04

(21)申请号 202180028319.3
(22)申请日 2021.03.23
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 115427039 A
(43)申请公布日 2022.12.02
(30)优先权数据
10-2020-0044598 2020.04.13 KR
10-2021-0036863 2021.03.22 KR
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.10.13
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/KR2021/003537 2021.03.23
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/210799 KO 2021.10.21

(73)专利权人 阿普塔生物治疗公司
地址 韩国京畿道
(72)发明人 文圣焕 李秀珍 柳贤京 高裕京
(74)专利代理机构 北京鸿元知识产权代理有限公司 11327
专利代理师 张云志 陈英俊

(51)Int.Cl.
A61K 31/4439(2006.01)
A61P 11/00(2006.01)
A61P 43/00(2006.01)
A61P 31/00(2006.01)
(56)对比文件
CN 110248659 A,2019.09.17
审查员 苟静

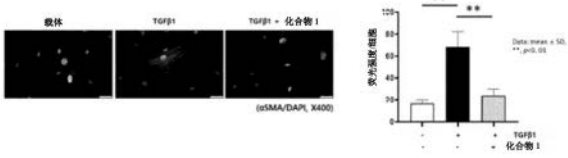
权利要求书2页 说明书14页 附图4页

(54)发明名称

包含吡唑衍生物的肺纤维化药物

(57)摘要

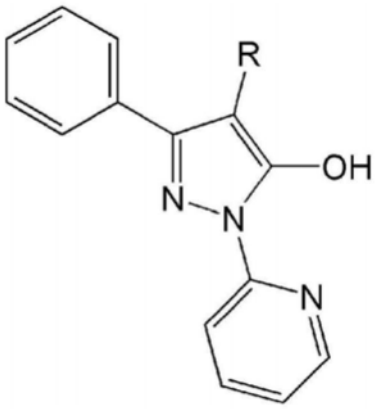
本发明提供一种用于治疗肺纤维化的药物组合物或抗病毒剂,其包含作为吡唑衍生物的式1的化合物或其药学上可接受的盐。



CN 115427039 B

1.下面式1表示的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于预防或治疗肺纤维化的药物组合物中的用途：

〈式1〉



其中,所述式1的化合物是3-苯基-4-正丙基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇。

2.根据权利要求1所述的用途,其中,所述肺纤维化由肺炎性纤维化、慢性阻塞性肺病合并肺纤维化、特发性肺纤维化或哮喘引起。

3.根据权利要求2所述的用途,其中,所述肺炎性纤维化由病毒性肺炎、细菌性肺炎、真菌性肺炎、支原体肺炎、过敏性肺炎、吸入性肺炎、间质性肺病和尘肺病中的任意一种或组合引起。

4.根据权利要求3所述的用途,其中,所述病毒性肺炎由选自腺病毒、牛痘病毒、单纯疱疹病毒、副流感病毒、鼻病毒、水痘带状疱疹病毒、麻疹病毒、呼吸道合胞病毒、登革热病毒、人类免疫缺陷病毒、流感病毒、冠状病毒中的病毒引起。

5.根据权利要求4所述的用途,其中,所述冠状病毒选自严重急性呼吸综合征相关冠状病毒2和中东呼吸综合征冠状病毒。

6.根据权利要求2所述的用途,其中,所述肺纤维化由特发性肺纤维化引起。

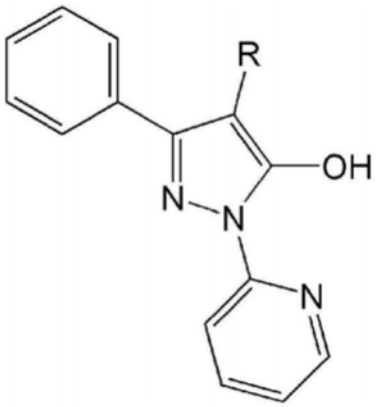
7.根据权利要求1所述的用途,其中,所述药物组合物还包含药学上可接受的载体或赋形剂。

8.根据权利要求1所述的用途,其中,将所述式1的化合物与第二治疗剂一起使用,其中,所述第二治疗剂是抗生素、抗真菌剂、抗病毒剂、抗炎剂或它们的任意组合。

9.下面式1表示的化合物或其药学上可接受的盐在制备抗病毒剂中的用途,

其中,所述抗病毒剂对严重急性呼吸综合征相关冠状病毒2具有抗病毒活性：

〈式1〉



其中,所述式1的化合物是3-苯基-4-正丙基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇。

包含吡唑衍生物的肺纤维化药物

技术领域

[0001] 本申请要求在韩国知识产权局于2020年4月13日提交的韩国专利申请No.10-2020-0044598和于2021年3月22日提交的韩国专利申请No.10-2021-0036863的权益,这两项专利申请的公开内容通过引用全部并入本说明书中。

[0002] 本发明涉及一种用于预防或治疗肺纤维化的吡唑衍生物、制备所述吡唑衍生物的方法和所述吡唑衍生物的药物组合物。

背景技术

[0003] 肺纤维化(PF)是一种慢性间质性肺疾病,其特征为诸如淋巴细胞和巨噬细胞的炎症细胞浸润到肺间质中,成纤维细胞增殖,并且纤维结缔组织沉积到肺间质中。肺纤维化是由肺的各种内外病因引起的,是慢性肺损伤或疾病进展到最后的结果,并且严重威胁人体健康。

[0004] 肺纤维化的病因包括诸如免疫功能障碍、病毒或细菌感染、药物和化学品、辐射以及空气污染(烟雾、香烟烟雾、灰尘等)的因素。

[0005] 如上所述,有些患者可以诊断出肺纤维化的明确病因,但也有一些无法明确病因的情况,将这种情况称为特发性肺纤维化(IPF)。特发性肺纤维化是一种肺实质的纤维化逐渐进行的间质性肺炎,并且由于在诊断后几年内呼吸衰竭而且预后极差而已知具有高的死亡风险。5年生存率为约20%,与肺癌相似。此外,随着人口老龄化,肺纤维化的发病率和患病率迅速增加。

[0006] 肺纤维化是一个复杂的病理生理过程,其中,在初期,大量的炎症细胞浸润到肺的炎症部位周围,导致肺泡壁变得慢性增厚,在中/后期,由于成纤维细胞使得诸如胶原蛋白的细胞外基质元素的过度沉积而引起肺组织的增生、肺泡变形、硬化和结疤,从而破坏正常的肺组织结构,导致功能丧失。

[0007] 成纤维细胞起到将免疫细胞聚集到炎症部位和组织损伤部位的作用。此外,成纤维细胞产生并响应于许多炎性细胞因子。因此,成纤维细胞会有助于慢性炎症,并且反过来,炎性细胞因子促进成纤维细胞向肌成纤维细胞的转化,从而促进纤维化。因此,肺组织的损伤或炎症会引起肺纤维化。

[0008] 肺移植是修复由于肺纤维化引起的进行性纤维化肺组织的唯一方法,并且确诊后的5年生存率仅为43%。

[0009] 尽管正在进行许多临床研究以开发一种用于肺纤维化的治疗剂,但是仍然没有用于肺纤维化的治疗剂,并且主要使用类固醇或细胞毒性药物的免疫抑制剂作为一线药物。在类固醇和细胞毒性药物中,首先使用类固醇,并且目前正在使用类固醇与咪唑硫嘌呤或环磷酰胺的联合治疗。

[0010] 另外,吡非尼酮和尼达尼布是唯一获批的用于治疗肺纤维化的药物。据报道,吡非尼酮的治疗效果温和,并且以约2.4g/天的非常高的剂量使用,但是生存率几乎没有改善或没有明显改善,而且由于诸如胃肠道疾病(恶心、腹泻、消化不良)、皮肤疾病(光敏性皮疹)、

代谢和营养失调(厌食、食欲不振)以及削弱肝功能的严重的副作用,其倾向于降低患者的生活质量,因此,连续给药困难。据报道,尼达尼布的使用剂量为200至400mg/天,并且降低轻度至重度特发性肺纤维化的急性加重的发生率,但是由于许多副作用和胃肠道副作用而难以连续给药。

[0011] 因此,迫切需要开发可以治疗根本原因而不是缓解疾病症状的进展的新药物。

[0012] 尽管对肺纤维化的病因正在进行许多研究,但是发病机制仍不清楚,使得难以开发治疗剂,但是研究结果已经报道,根据体内的氧化还原稳态的变化而产生过多的活性氧,由此引起的氧化应激在肺纤维化的进展和恶化中起重要作用。

[0013] 氧化应激是指由于活性氧(ROS)的产生与生物分子、细胞和组织的抗氧化防御机制之间的平衡被破坏,由相对过量地产生活性氧而引起的组织损伤。特别地,据报道,肺组织中产生的氧化应激诱发和恶化肺纤维化。据报道,在进行性肺纤维化患者的肺组织中,TGF-β刺激诱导了活性氧的产生的增加并且增加胶原蛋白和α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)的表达,这些对于纤维化是重要的。特别地,据报道,由于特发性肺纤维化患者的肺组织中的活性氧,肺纤维化恶化。

[0014] RNA病毒或DNA病毒感染也会通过肺炎和肺纤维化引起致命的肺损伤,导致死亡。据报道,当单链病毒(冠状病毒、流感病毒、呼吸道合胞病毒、鼻病毒、登革热病毒、HIV等)和DNA病毒(腺病毒、牛痘病毒、单纯疱疹病毒等)侵入细胞并形成核内体时,产生活性氧以促进病毒复制,并且快速扩增的病毒渗透到肺组织中以引起肺损伤,同时促进炎症和纤维化。

[0015] 目前,在病毒感染的情况下,在人体内的快速扩增引起快速的肺损伤,使治疗困难,因此,如果将抑制活性氧的产生的治疗剂和抗病毒剂组合使用以治疗和减轻由病毒感染和快速扩增引起的肺损伤,则将可能更有效地治疗病毒性肺炎和肺纤维化。在这种情况下,作为可以组合使用的抗病毒剂,代表性的药物包括瑞德西韦、利托那韦、洛匹那韦、法维拉韦等。

[0016] 据报道,在进行性肺纤维化患者的肺组织中,TGF-β刺激诱导了活性氧的产生的增加并且增加胶原蛋白和α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)的表达,这些对于纤维化是重要的,并且据报道,由于特发性肺纤维化患者的肺组织中的活性氧,引起肺纤维化恶化。

[0017] 另一方面,现有技术文献均未公开本发明的吡唑类化合物在预防和治疗肺纤维化方面是有效的。

[0018] [现有技术文献]

[0019] (专利文献1)韩国专利No.10-1280160

[0020] (专利文献2)韩国专利申请特许公开No.10-2019-0122806

[0021] (专利文献3)韩国专利申请特许公开No.10-2019-0136079

[0022] (非专利文献1)Gabriel Laghlali,et al.Respiratory 2019,13629.

[0023] (非专利文献2)Eunice E.To et al.Nature communications,8(69),1-17.

[0024] (非专利文献3)Alessandro G.Fois,Panagiotis Paligiannis et al.,Respir Res.2018,19:51.

发明内容

[0025] 技术问题

[0026] 本发明的一个目的是提供一种包含式1的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0027] 本发明的另一目的是提供一种有效地抑制活性氧的产生的药物组合物,其包含式1的化合物或其药学上可接受的盐。

[0028] 本发明的另一目的是提供一种用于治疗或预防肺纤维化的药物组合物,其包含式1的化合物或其药学上可接受的盐。

[0029] 本发明的另一目的是提供一种通过向个体给药式1的化合物或其药学上可接受的盐来预防或治疗肺纤维化的方法。

[0030] 本发明的另一目的是提供式1的化合物或其药学上可接受的盐用于预防或治疗肺纤维化的用途。

[0031] 本发明的另一目的是提供一种用于治疗和预防肺纤维化的药物组合物,还包含式1的化合物或其药学上可接受的盐,以及抗生素、抗真菌剂、抗病毒剂、抗炎剂或它们的任意组合。

[0032] 本发明的另一目的是提供一种预防或治疗肺纤维化的方法,该方法进一步向个体给药式1的化合物或其药学上可接受的盐,以及抗生素、抗真菌剂、抗病毒剂、抗炎剂或它们的任意组合。

[0033] 本发明的另一目的是提供式1的化合物或其药学上可接受的盐以及抗生素、抗真菌剂、抗病毒剂、抗炎剂或它们的任意组合用于预防或治疗肺纤维化的用途。

[0034] 本发明的另一目的是提供一种包含式1的化合物或其药学上可接受的盐的抗病毒剂。

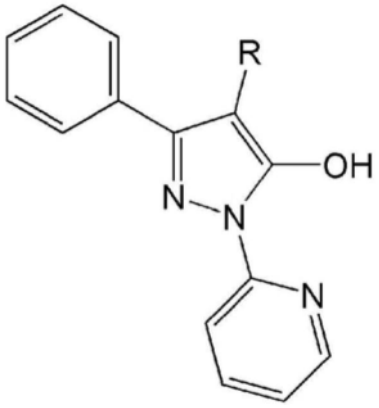
[0035] 本发明的另一目的是提供一种通过向个体给药式1的化合物或其药学上可接受的盐来预防或治疗病毒性疾病的方法。

[0036] 本发明的另一目的是提供式1的化合物或其药学上可接受的盐用于预防或治疗病毒性疾病的用途。

[0037] 技术方案

[0038] 为了实现上述目的,本发明提供一种用于预防和改善或治疗肺纤维化或病毒性疾病的药物组合物,其包含由下面式1表示的吡唑类化合物或其药学上可接受的盐:

[0039] <式1>

[0040] 

[0041] 其中,R是具有1至10个碳原子的直链或支链烷基。

[0042] 有益效果

[0043] 根据本发明的吡唑类化合物或其药学上可接受的盐可以有效地抑制在肺中产生的活性氧的产生,由此,可以有效地用于预防或治疗氧化应激诱导的肺纤维化,而没有任何特别的副作用。

[0044] 此外,根据本发明的吡唑类化合物或其药学上可接受的盐具有抗病毒活性,因此,可以有效地用于预防或治疗病毒性疾病。

附图说明

[0045] 图1示出了当用化合物1处理时,在正常人肺成纤维细胞(NHLF)中有效地抑制由PMA刺激诱导的活性氧的表达的结果。

[0046] 图2示出了在正常人肺成纤维细胞向肌成纤维细胞分化的过程中,由化合物1抑制通过TGF-β1的αSMA表达的结果。

[0047] 图3示出了在正常人肺成纤维细胞向肌成纤维细胞分化的过程中,由化合物1抑制通过TGF-β1的胶原I表达的结果。

[0048] 图4示出了当用化合物1处理时,在正常人肺成纤维细胞中有效地抑制LPS处理诱导的IL-1β表达的结果。

[0049] 图5是示出在博来霉素给药诱导的肺纤维化(BLM)动物模型中用尼达尼布或化合物1处理时,肺泡和细支气管的H&E染色的照片,并且示出了当用化合物1处理时,渗透进肺泡和细支气管中的免疫细胞的量减少的结果。

[0050] 图6是示出在博来霉素给药诱导的肺纤维化(BLM)动物模型中用尼达尼布或化合物1处理时,细支气管的胶原沉积染色的照片,并且示出了当用化合物1处理时,胶原沉积减少的结果。

[0051] 图7是示出在博来霉素给药诱导的肺纤维化(BLM)动物模型中用尼达尼布或化合物1处理时,αSMA的染色的照片,并且示出了当用化合物1处理时,αSMA的表达减少。

[0052] 图8是示出在博来霉素给药诱导的肺纤维化(BLM)动物模型中用尼达尼布或化合物1处理时,胶原I的染色的照片,并且示出了当用化合物1处理时,胶原I的表达减少。

[0053] 图9是在博来霉素给药诱导的肺纤维化(BLM)动物模型中用尼达尼布或化合物1处理时,用改良Ashcroft量表来量化肺纤维化程度的结果,并且示出了与尼达尼布相比,当用化合物1处理时肺纤维化得到有效改善。

[0054] 图10示出了当在人肺上皮细胞中用化合物1处理时,抗病毒功效优异且细胞毒性低。

具体实施方式

[0055] 下文中,将参照实施方案更详细地描述本发明。

[0056] 然而,本发明不限于通过实例表示的实施方案,并且本发明仅由所附权利要求书的范围限定。此外,即使是实施本发明所必需的组成,也将省略本领域技术人员可以容易实施的组成的具体说明。

[0057] 本说明书和权利要求书中使用的术语和词语不应理解为局限于常规的或字典的含义,而是应当基于发明人可以适当地定义术语的概念,以便以最佳方式描述自己的发明的原则,理解为与本发明的技术构思一致的含义和概念。

[0058] 本发明中使用的术语仅用于描述具体的实施方案的目的,并且不意在限制本发明。除非上下文另外明确说明,否则单数表达包括复数表达。在本发明中,诸如“包括”和“具有”的术语意在表示存在本说明书中描述的特征、数目、步骤、操作、组分、部件或它们的组合,并且应当理解的是,这些术语不预先排除存在或添加一个或多个其它特征、数目、步骤、操作、组分、部件或它们的组合的可能性。

[0059] 肺纤维化是肺实质的纤维化,其由于肺部炎症引起的炎症细胞渗透到肺间质中、成纤维细胞增殖和纤维结缔组织沉积到肺间质中而引起,并且正常的肺组织结构被破坏,以致肺功能丧失。即,肺纤维化是由肺的各种内外病因引起的,并且是慢性肺损伤或疾病进展到最后的结果,并且随着近年来的老龄化趋势,发病率和患病率迅速增加。近来,特别地,病因不明的特发性肺纤维化已经成为问题。

[0060] 肺移植是修复由于肺纤维化引起的进行性纤维化肺组织的唯一方法,并且吡非尼酮和尼达尼布是唯一获批的用于肺纤维化的药物,但是这两种药物均具有由于许多副作用和胃肠道疾病而难以连续给药的问题。

[0061] 因此,肺纤维化的治疗方法通常是使用类固醇或免疫抑制剂来缓解症状的对症治疗,但是需要一种根本的治疗方法。

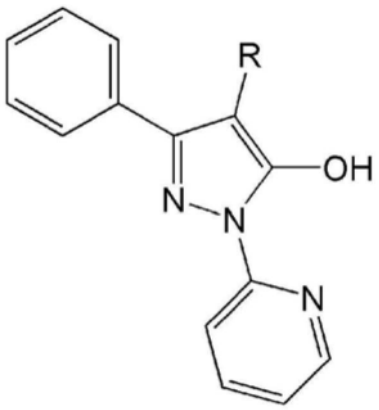
[0062] 作为着眼于如果有效地抑制肺组织中的氧化应激的产生则可以开发一种用于肺纤维化的治疗剂这一事实的研究结果,本发明人通过发现本发明的吡唑衍生物减少了博来霉素给药诱导的肺损伤并且抑制了αSMA和胶原I累积诱导的肺纤维化,从而减少肺纤维化,并且证实其可以用作用于肺纤维化的治疗剂,从而完成本发明。

[0063] 因此,本发明提供一种能够预防或治疗肺纤维化的药物组合物,其包含一种或多种选自由式1表示的吡唑类化合物或其药学上可接受的盐的化合物。

[0064] 另外,本发明提供一种能够预防或治疗特发性肺纤维化的药物组合物,其包含一种或多种选自由式1表示的吡唑类化合物或其药学上可接受的盐的化合物。

[0065] 本发明中使用的吡唑类化合物由下面式1表示:

[0066] <式1>

[0067] 

[0068] 其中,R是具有1至10个碳原子的直链或支链烷基。

[0069] 本发明的药物组合物中包含的吡唑类化合物的药学上可接受的盐是指,当以单剂量给药时保留母体化合物的生物学有效性和性能并且在生物学或其它方面无害的盐。此外,其是指制药工业中常用的盐。

[0070] 具体地,药学上可接受的加成盐可以由无机碱和有机碱制备。来自无机碱的盐可

以包括,但是不限于,钠盐、钾盐、锂盐、铵盐、钙盐和镁盐。来自有机碱的盐包括,但是不限于,伯胺、仲胺和叔胺的盐;取代的胺,包括天然发生取代的胺;以及异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、2-二甲氨基乙醇、氨丁三醇、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、海巴胺(hydrabamine)、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡萄糖胺、N-烷基葡糖胺、可可碱、嘌呤、哌嗪、哌啶和/或环胺,包括N-乙基哌啶。

[0071] 还应当理解的是,其它羧酸衍生物,具体地,羧酸酰胺,包括甲酰胺、低级烷基甲酰胺、二(低级烷基)甲酰胺等也可用于本发明的实践中。

[0072] 另外,药学上可接受的酸加成盐可以由无机酸和有机酸制备。来自无机酸的盐包括盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、高氯酸、碘酸、酒石酸等。来自有机酸的盐可以包括,但是不限于,乙酸、三氟乙酸、丙酸、乙醇酸、葡糖酸、半乳糖醛酸、谷氨酸、戊二酸、葡糖醛酸、天冬氨酸、抗坏血酸、碳酸、香草酸、氢碘酸、丙酮酸、草酸、苹果酸、丙二酸、乳酸、琥珀酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、萘磺酸和/或水杨酸等。

[0073] 药学上可接受的盐可以是盐酸盐。

[0074] 本发明的药物组合物中包含的由式1表示的吡唑类化合物或其药学上可接受的盐具体例示如下:

[0075] 3-苯基-4-甲基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇或其盐酸盐;

[0076] 3-苯基-4-乙基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇或其盐酸盐;

[0077] 3-苯基-4-正丙基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇或其盐酸盐;

[0078] 3-苯基-4-异丙基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇或其盐酸盐;

[0079] 3-苯基-4-正丁基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇或其盐酸盐;

[0080] 3-苯基-4-叔丁基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇或其盐酸盐;

[0081] 3-苯基-4-正戊基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇或其盐酸盐;

[0082] 3-苯基-4-正己基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇或其盐酸盐。

[0083] 具体地,本发明的药物组合物中包含的吡唑类化合物可以是3-苯基-4-正丙基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇或其盐酸盐。

[0084] 本发明的式1的化合物可以抑制活性氧的产生。

[0085] 在本发明中,氧化应激是指,当活性氧(ROS)的产生与生物分子、细胞和组织的抗氧化防御机制之间的平衡被破坏时,由于相对过量的产生活性氧而引起的组织损伤。在这种情况下,“活性氧”可以是指活化氧(activated oxygen)、活性氧(active oxygen)和活性氧类物质(activated oxygen species),它们指的是同一种物质。

[0086] 本发明的吡唑类化合物,特别是3-苯基-4-正丙基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇(化合物1)的盐酸盐有效地减少人肺上皮细胞中的活性氧,并且当肺成纤维细胞分化为肌成纤维细胞时,有效地抑制作为肌成纤维细胞分化标志物的αSMA和胶原I的表达。

[0087] 另外,正如在用博来霉素给药的肺纤维化动物模型实验中所证实的,与被批准为用于肺纤维化的常规治疗剂的尼达尼布相比,本发明的化合物减少炎症细胞向肺组织的浸润,减少肺上皮细胞的肥大,减少肺结构的变形,并且减少异常组织沉积的部位。

[0088] 与尼达尼布相比,本发明的化合物减少肺组织中胶原I和αSMA的表达和积累,并且还减少肺组织中活性氧的表达。基于这些结果,当用改良Ashcroft量表来量化纤维化的严

重程度时,与被批准为用于肺纤维化的常规治疗剂的尼达尼布相比,其在肺纤维化方面表现出显著改善的效果。

[0089] 因此,可以确认,本发明的化合物不仅通过抑制人肺细胞和肺纤维化模型中的肺组织中的活性氧来抑制炎症反应,而且通过减少胶原I和αSMA的表达和积累来预防或减轻肺纤维化。

[0090] 肺纤维化可能由肺炎性纤维化、慢性阻塞性肺病(COPD)合并肺纤维化、特发性肺纤维化(IPF)或哮喘引起。

[0091] 另外,据说是肺纤维化的主要原因的肺炎可能由病毒性肺炎、细菌性肺炎、真菌性肺炎、过敏性肺炎、吸入性肺炎、间质性肺病、尘肺病等引起。

[0092] 病毒性肺炎可能由选自腺病毒、牛痘病毒、单纯疱疹病毒、副流感病毒、鼻病毒、水痘带状疱疹病毒、麻疹病毒、呼吸道合胞病毒、登革热病毒、人类免疫缺陷病毒(HIV)、流感病毒、冠状病毒、严重急性呼吸综合征相关冠状病毒(SARS-CoV)、严重急性呼吸综合征相关冠状病毒2(SARS-CoV2)、中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)的病毒或这些病毒的变异病毒引起。

[0093] 除了式1的化合物或其盐之外,本发明的药物组合物还可以包含抗生素、抗真菌剂、抗病毒剂、抗炎剂或它们的任意组合作为第二治疗剂。

[0094] 具体地,所述第二治疗剂中包含的抗生素是:氨基糖苷类抗生素中的庆大霉素、卡那霉素、链霉素、丁胺卡那霉素、新霉素等;大环内酯类抗生素中的红霉素、阿奇霉素、克拉霉素等;β-内酰胺类抗生素中的青霉素、头孢菌素、碳青霉烯、单菌霉素等;作为林可霉素类抗生素的克林霉素等;作为恶唑烷酮类抗生素的利奈唑胺等;作为喹诺酮类抗生素的环丙沙星、左氧氟沙星、莫西沙星、氟喹诺酮等;作为四环素抗生素的四环素、多西环素、替加环素等;作为磺胺类抗生素的甲氧苄啶/磺胺甲恶唑(TMX/SMX);或它们的组合。

[0095] 所述第二治疗剂中包含的抗病毒剂是缩氨基硫脲、美替沙腙、阿昔洛韦、瑞德西韦、利托那韦、洛匹那韦、法维拉韦、碘苷、阿糖腺苷、利巴韦林、更昔洛韦、泛昔洛韦、伐昔洛韦、西多福韦、缬更昔洛韦、溴夫定、利巴韦林、金刚烷乙胺、曲金刚胺、膦甲酸、沙奎那韦、茚地那韦、奈非那韦、安普那韦、福沙那韦、阿扎那韦、替拉那韦、齐多夫定、地达诺新、扎西他滨、司他夫定、拉米夫定、阿巴卡韦、替诺福韦酯、阿德福韦酯、恩曲他滨、恩替卡韦、奈韦拉平、地拉韦定、依非韦伦、扎那米韦、奥司他韦、异丙肌苷、普来可那立、恩夫韦肽或它们的组合。

[0096] 所述第二治疗剂中包含的抗真菌剂是烯丙胺、特比萘芬、5-氟胞嘧啶、氟康唑、伊曲康唑、酮康唑、雷夫康唑、泊沙康唑、伏立康唑、卡泊芬净、米卡芬净、阿尼芬净、两性霉素B、两性霉素B脂质复合物(ABLC)、两性霉素B胶体分散体(ABCD)、脂质体-两性霉素B(L-AMB)、脂质体制霉菌素、灰黄霉素或它们的组合。

[0097] 本发明的式1的化合物对各种病毒具有抗病毒活性,因此,本发明的化合物本身可以用作抗病毒剂。因此,本发明的式1的化合物可以有效地预防或治疗病毒性疾病。病毒性疾病可能由选自腺病毒、牛痘病毒、单纯疱疹病毒、副流感病毒、鼻病毒、水痘带状疱疹病毒、麻疹病毒、呼吸道合胞病毒、登革热病毒、人体免疫缺陷病毒(HIV)、流感病毒、冠状病毒、严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)、严重急性呼吸综合征相关冠状病毒2(SARS-CoV2)、中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)的病毒或这些病毒的变异病毒引起,但不限于

此。特别地,本发明的化合物1可以有效地抑制严重急性呼吸综合征相关冠状病毒2(SARS-CoV2)的繁殖,因此,也可以抑制其相关病毒SARS-CoV、MERS-CoV或这些冠状病毒的变异病毒的繁殖。

[0098] 在不损害本发明的效果的范围内,本发明的药物组合物可以包含药学上可接受的载体。

[0099] “药学上可接受的载体”包括任意的和所有种类的如本领域技术人员已知的溶剂、分散介质、包衣、表面活性剂、抗氧化剂、防腐剂(抗菌剂或抗真菌剂)、等渗剂、稀释剂、吸收延迟剂、盐、防腐剂、稳定剂、粘合剂、赋形剂、崩解剂、润滑剂、甜味剂、调味剂、染料等,以及它们的组合。除了任意常规载体与活性成分不相容之外,考虑了其在治疗或药物组合物中的用途。

[0100] 所述稀释剂可以选自,但不限于,微晶纤维素、乳糖一水合物、乳糖酐、乳糖、淀粉、甘露糖醇、羧甲基纤维素、山梨糖醇和它们的组合。

[0101] 所述崩解剂可以选自,但不限于,低取代的羟丙基纤维素、交联聚维酮、交联羧甲基纤维素钠、羟基乙酸淀粉钠、F-melt和它们的组合。

[0102] 所述粘合剂可以选自,但不限于,羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟丙甲纤维素、聚乙烯乙酸、聚维酮、聚乙烯吡咯烷酮、共聚维酮(copovidone)、聚乙二醇、十二烷基硫酸钠、轻质无水硅酸、合成硅酸铝;硅酸盐衍生物,如硅酸钙或偏硅酸镁铝酸盐;磷酸盐,如磷酸氢钙;碳酸盐,如碳酸钙;预胶化淀粉;树胶,如阿拉伯胶;明胶;纤维素衍生物,如乙基纤维素,以及它们的混合物。

[0103] 所述润滑剂可以选自,但不限于,硬脂酸镁、二氧化硅、滑石、轻质无水硅酸、硬脂富马酸钠和它们的组合。

[0104] 作为pH调节剂,可以使用酸化剂如乙酸、己二酸、抗坏血酸、抗坏血酸钠、乙醚酸钠、苹果酸、琥珀酸、酒石酸、富马酸和柠檬酸,和碱化剂如氨水、碳酸钠、氧化镁、碳酸镁、柠檬酸钠和磷酸三钙。

[0105] 作为所述抗氧化剂,可以使用二丁基羟基甲苯、丁基化羟基苯甲醚、生育酚乙酸酯、生育酚、没食子酸丙酯、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠等。

[0106] 另外,可以通过选择性地使用选自着色剂和调味料的各种添加剂作为药学上可接受的添加剂来配制本发明的制剂。

[0107] 在本发明中,添加剂的范围不限于使用添加剂,并且可以配制为选择性地包含使用添加剂的正常范围内的剂量。

[0108] 根据本发明的药物组合物可以被配制并以如下剂型使用:口服剂型,如散剂、颗粒剂、片剂、胶囊剂、混悬剂、乳剂、糖浆剂和气雾剂;外用制剂、栓剂或无菌注射液。

[0109] 在本发明的一个方面,可以是用于预防、改善或治疗肺纤维化的药物组合物,基于药物组合物的总重量,其包含0.00001重量%至100重量%、0.0001重量%至95重量%或0.001重量%至90重量%的范围内的活性成分。

[0110] 在根据本发明的用于肺纤维化的预防或治疗剂中,由式1表示的吡唑类化合物或其药学上可接受的盐的剂量可以根据患者的年龄、体重、症状、给药途径等适当改变。

[0111] 本发明的由式1表示的吡唑类化合物或其药学上可接受的盐的剂量可以为0.00001mg/kg/天至2000mg/kg/天、0.0001mg/kg/天至1000mg/kg/天、0.001mg/kg/天至

800mg/kg/天、0.001mg/kg/天至500mg/kg/天、0.001mg/kg/天至100mg/kg/天、0.001mg/kg/天至80mg/kg/天或0.01mg/kg/天至70mg/kg/天。

[0112] 本发明的由式1表示的吡唑类化合物或其药学上可接受的盐的含量可以为每单位剂型0.00001重量％至100重量％、0.0001重量％至95重量％、0.0001重量％至90重量％、0.001重量％至70重量％或0.001重量％至50重量％。

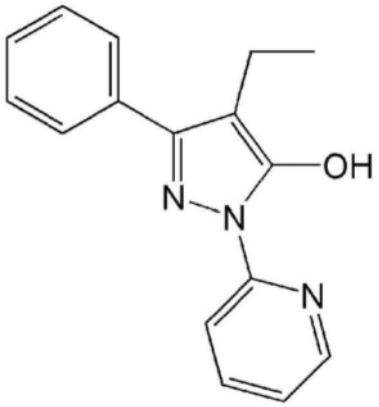
[0113] 本发明的由式1表示的吡唑类化合物或其药学上可接受的盐的给药浓度可以为0.0001μM至500μM、0.001μM至300μM、0.001μM至150μM、0.001μM至130μM、0.001μM至100μM、0.001μM至80μM或0.01μM至70μM。

[0114] 本发明的药物组合物可以通过常规途径给药,并且可以具体配制用于肌肉内、鞘内、消化内、心血管内、肾内或静脉内给药。配制方法采用本领域技术人员已知的常规方法。

[0115] 用于肌肉内或鞘内给药的常规组合物可以由如下物质组成,例如,活性成分和包含葡萄糖、氯化钠,或葡萄糖和氯化钠两者的无菌等渗水溶液,但不限于此。其它实例包括,但不限于,乳酸林格注射液、乳酸林格注射液+葡萄糖注射液、Normosol-M和葡萄糖、Isolyte E、酰化林格注射液等。任选地,本发明的制剂可以包含,但不限于,共溶剂,如聚乙二醇;螯合剂,如乙二胺四乙酸;和抗氧化剂,如焦亚硫酸钠。任选地,所述溶液可以被冻干,然后在给药前立即用合适的溶剂重构,而不限于此。

[0116] 提供优选的实施例以帮助理解本发明。提供下面的实施例不是为了限制本发明,而是为了便于理解本发明。

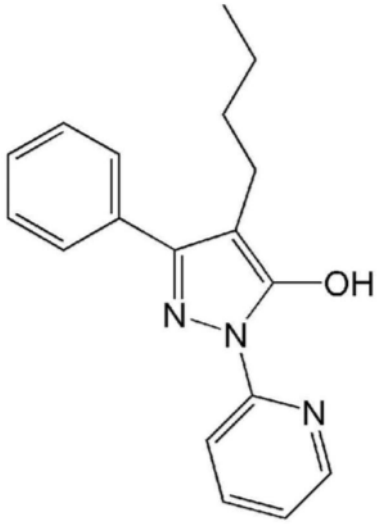
[0117] <合成例1>3-苯基-4-乙基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇的合成

[0118] 

[0119] 在圆底烧瓶中,在无溶剂的情况下在氮气条件下将2-乙基-3-氧代-3-苯基丙酸乙酯(10.7g,49mmol)和2-肼基吡啶(5.6g,51.4mmol)加热回流1天。用已烷和乙酸乙酯纯化得到的固体,然后真空干燥,以70％的收率得到标题化合物。

[0120] 1H NMR(300MHz,DMSO-d6)δ8.25-8.24(1H,d),8.00-7.97(1H,d),7.84-7.82(1H,t),7.73-7.71(2H,m),7.46-7.37(3H,m)7.12-7.11(1H,t),2.62-2.57(2H,m),1.23-1.17(3H,m);ESI(m/z)266.1$[M+H]^+$

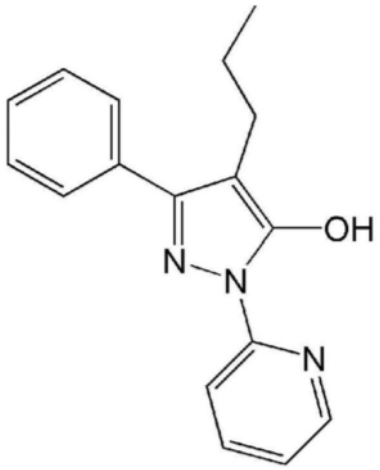
[0121] <合成例2>3-苯基-4-丁基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇的合成

[0122] 

[0123] 在圆底烧瓶中,在无溶剂的情况下在氮气条件下将2-丁基-3-氧代-3-苯基丙酸乙酯(12.1g,49mmol)和2-肼基吡啶(5.6g,51.4mmol)加热回流1天。用己烷和乙酸乙酯纯化得到的固体,然后真空干燥,以75%的收率得到标题化合物。

[0124] 1H NMR(300MHz,DMSO-d6)δ8.25-8.24(1H,d),8.03-8.02(1H,d),7.85-7.83(1H,t),7.70-7.69(2H,m),7.44-7.35(3H,m)7.12-7.11(1H,t),2.56-2.53(2H,t),1.58-1.52(2H,m),1.38-1.24(2H,m),0.89-0.86(3H,t);ESI(m/z)294.0$[M+H]^+$

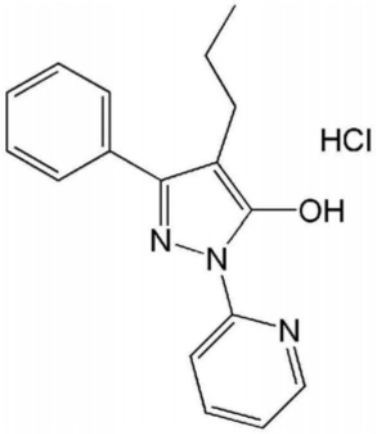
[0125] <合成例3>3-苯基-4-丙基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇的合成

[0126] 

[0127] 将2-丙基-3-氧代-3-苯基丙酸乙酯(2.52g,10.7mmol)和10ml的乙醇放入圆底烧瓶中,然后在0℃下向其中逐滴缓慢滴加将2-肼基吡啶(1.29g,1.18mmol)稀释在3ml的乙醇中的溶液。将其在100℃下加热回流3天。在减压下蒸馏以除去溶剂,并用己烷和乙酸乙酯洗涤得到的固体,然后真空干燥,以82%的收率得到标题化合物。

[0128] 1H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ12.50(1H,s),8.27-8.25(1H,m),8.01(1H,d,J=8.5Hz),7.81(1H,m),7.69(2H,m),7.48-7.34(3H,m),7.12-7.10(1H,m),2.54(2H,d,J=7.5Hz),1.64(2H,m),0.93(3H,t,J=7.3Hz);EIMS(70eV)m/z(rel intensity)279(M+,37),250(100)

[0129] <合成例4>3-苯基-4-丙基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇盐酸盐(化合物1)的合成

[0130] 

[0131] 在圆底烧瓶中将在上述合成例3中制备的3-苯基-4-丙基-1-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-醇(280mg,1.0mmol)溶解在4ml的乙醚中,然后在0℃下向其中逐滴缓慢滴加0.55ml的溶解在2M HCl中的乙醚。在减压下过滤由反应溶液产生的固体,除去溶剂,用己烷和乙酸乙酯洗涤,然后真空干燥,以得到标题化合物(270mg,0.85mmol)。

[0132] 1H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δ8.44(1H,d,J=4.2Hz),8.0-8.03(2H,m),7.66-7.64(2H,m),7.48-7.42(3H,m),7.34-7.30(1H,m),2.49(2H,brs),2.43(2H,t,J=7.5Hz),1.48(2H,m),0.48(3H,t,J=7.3Hz)

[0133] <实施例1>分析正常人肺成纤维细胞中活性氧产生的变化

[0134] 为了确认合成例的化合物对肺成纤维细胞的活性氧的产生的影响,通过PMA刺激在正常人肺成纤维细胞(NHLFs,Lonza)中诱导活性氧的产生,并且在这种条件下观察化合物1对活性氧的产生的抑制作用。

[0135] 将各个细胞悬浮在包含10%的FBS的培养基中,接种于96孔板中,在5%的CO_2和37℃的条件下培养24小时。将化合物1预处理30分钟至1小时后,将TGF-β1或佛波醇12-肉豆蔻酸酯13-乙酸酯(PMA)刺激施加于包括细胞和药物的各个孔。另外培养30分钟或48小时之后,使用8-氨基-5-氯-7-苯基-2,3-二氢-吡啶[3,4-d]哒嗪-1,4-二酮(L-012)或2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯(DCF-DA)来确认活性氧的产生程度。

[0136] 可以确认,当用化合物1处理时,PMA刺激诱导的活性氧的产生以浓度依赖性的方式被抑制(图1)。

[0137] <实施例2>正常人肺成纤维细胞中TGF-β1诱导的αSMA和I型胶原的表达模式

[0138] 为了分析化合物1对肺成纤维细胞向肌成纤维细胞的分化的影响,观察化合物1对正常人肺成纤维细胞(NHLFs,Lonza)中TGF-β1诱导的α-平滑肌肌动蛋白(αSMA)和I型胶原(胶原I)的表达的增加的抑制作用。将NHLF细胞悬浮在培养基(FGM-2Bulletkit media,Lonza)中,并以1×10^4细胞/孔的浓度接种在4孔室载玻片(Nunc)上。

[0139] 在CO_2培养箱中培养24小时之后,用无血清培养基更换培养基,并进一步培养12小时。之后,将载体和2mM的化合物1在相应的孔中预处理1小时,然后在除了阴性对照(载体组)之外的每个孔中处理10ng/ml的TGF-β1 72小时。

[0140] 如下通过免疫细胞化学法来确认制备的细胞中的αSMA和胶原I的表达。将细胞在4%的多聚甲醛中固定10分钟,并使用0.1%的Triton X-100浸润,并且顺序地进行第一抗体(抗体-αSMA Ab,1:200;I型胶原抗体Ab,1:500,在室温下反应3小时)和第二抗体(Alexa-594偶联Ab,1:1000,在室温下反应1小时)处理过程,然后使用荧光显微镜观察αSMA和胶原I

的表达。

[0141] 此时,为了定量地确认αSMA和胶原I的表达程度,分别计数每个视野的DAPI(细胞核染色标记)-阳性细胞以及αSMA-和胶原I-阳性细胞的数目,然后使用下面等式计算并比较αSMA-和胶原I-阳性细胞的数目的百分比:

[0142] %αSMA(或胶原I)-阳性细胞/视野=αSMA(或胶原I)-阳性细胞/DAPI-阳性细胞×100/视野

[0143] 如图2和图3中所示,可以观察到,当用10ng/ml的TGF-β1处理NHLFs时,与对照组相比,αSMA和胶原I的表达显著增加,并且当用化合物1处理时,两种标志物的表达的增加均被显著抑制。

[0144] 从这些结果可以证实,化合物1可以有效地抑制由TGF-β1处理诱导的肺成纤维细胞向肌成纤维细胞的分化(见图2和图3)。

[0145] <实施例3>分析LPS诱导的IL-1β的表达的变化

[0146] 为了确认本发明的合成例的化合物对正常人肺成纤维细胞(NHLFs,Lonza)的炎症反应的影响,观察化合物1是否抑制由LPS处理引起的IL-1β表达的增加。

[0147] 将2×10^5个细胞接种在6孔板中,培养24小时,并在无血清培养基中进一步培养16小时,然后根据各个条件对化合物1预处理30分钟并用LPS诱导炎症反应6小时。使用RT-PCR确认IL-1β表达。使用RNeasy mini试剂盒(Qiagen)从细胞中分离总RNA,并且使用PrimeScript™ II 1st strand cDNA synthesis试剂盒(TaKaRa)从2μg的分离的RNA中合成cDNA,然后用AccuPower®PCR PreMix(Bioneer)进行PCR来扩增基因。目标引物的碱基序列如下:IL-1β(正向:5'-CCACAGACCTTCCAGGAGAATG-3',反向:5'-GTGCAGTTCAGTGATCGTACAGG-3');GAPDH(正向:5'-GTGGCTGGCTCAGAAAAAGG-3',反向:5'-GGTGGTCCAGGGGTCTTACT-3');β-肌动蛋白(正向:5'-CACCATTGGCAATGAGCGGTTC-3',反向:5'-AGGTCTTTGCGGATGTCCACGT-3')。PCR产物通过对1.5%的琼脂糖凝胶进行电泳来确认。

[0148] 作为实验的结果,如图4中可以看出,观察到当用化合物1处理时,LPS诱导的IL-1β以浓度依赖性的方式被有效地抑制(见图4)。

[0149] <实施例4>在博来霉素诱导的肺纤维化的小鼠模型中确认对肺纤维化的治疗效果

[0150] 对于博来霉素诱导的肺纤维化的小鼠模型,使用5周龄且体重在20g前后的C57BL/6J雄性小鼠。通过腹腔内注射戊巴比妥(40mg/kg)来麻醉C57BL/6J小鼠,切开前颈或中线的皮肤,用自动牵开器暴露气管,然后从枕骨侧面向肺部插入微型注射器,以在检查呼吸状态的同时缓慢注射博来霉素(2mg/kg)。注射后立即缝合切开的前颈或中线的皮肤,然后在恒温(22℃至26℃)和恒湿(55%至60%)的无菌动物房中饲养。通过这种方法,通常在处理3周后,肺部中出现明显的纤维化。

[0151] 实验动物为每组7只,实验通过将它们分为以下几组进行:口服给药蒸馏水的对照组(Control);博来霉素诱导肺纤维化的组(BLM);在服用博来霉素3周后每天口服给药100mg/kg的尼达尼布的实验组,作为阳性对照组(BLM+尼达尼布);以及在服用博来霉素3周后每天口服给药60mg/kg的化合物1的实验组(BLM+化合物1)。

[0152] 尼达尼布和化合物1每天一次口服给药,持续28天。在最后一次给药尼达尼布或化合物1后的第二天,将每只动物麻醉,然后通过心脏穿刺放血并死亡。

[0153] 从所有动物中摘出肺组织用于组织病理学检查。将摘出的肺组织固定在10%的中

性缓冲福尔马林(NBF)中。将固定的肺组织包埋在石蜡中并切成厚度为4μm以制备组织载玻片。

[0154] 对组织载玻片进行苏木精&曙红(H&E)染色,即细胞染色,以及马森三色(MT)染色以确认纤维化。使用光学显微镜(Carl Zeiss,Oberkochen,Germany)确认制备的组织载玻片的组织病理学检查。使用作为半定量的组织病理学评分的改良Ashcroft量表来评估纤维化的严重程度。

[0155] 对于免疫组织化学染色,将上面制备的组织载玻片脱蜡,然后使用兔抗-α-平滑肌肌动蛋白(SMA)抗体或兔抗-I型胶原抗体作为第一抗体,使用Vectastatin ABC试剂盒(Vector Laboratories,Inc,Burlingame,CA)来确认与各个抗体反应的抗原的表达。

[0156] 使用3,3'-二氨基联苯胺(DAB)作为过氧化物酶的底物反应5分钟之后,用光学显微镜在400倍视野下观察。当读取染色结果时,如果细胞质全部或部分呈红褐色,则认为有免疫反应,由此判断为阳性。

[0157] 根据实验结果,使用SPSS ver.22.0统计程序(SPSS Inc.,Chicago,IL,USA)得到平均值和标准差,并且通过学生t检验在$p<0.05$水平验证了实验组之间的差异的显著性。

[0158] 作为通过H&E染色进行组织学分析的结果,在博来霉素诱导的肺纤维化的实验组(BLM)、给药尼达尼布的阳性对照组(BLM+尼达尼布)和给药化合物1的组(BLM+化合物1)中,可以确认,在给药化合物1的组(BLM+化合物1)中,炎症细胞向肺泡和细支气管的浸润程度显著低于实验组和阳性对照组。此外,可以确认,肥大上皮细胞减少,肺结构的变形减少,并且异常组织沉积的部位减少(见图5)。

[0159] 在图6中,通过针对肺纤维化的马森三色(MT)染色法,将给药化合物1的组(BLM+化合物1)的肺纤维化程度与博来霉素诱导的肺纤维化的实验组(BLM)和给药尼达尼布的阳性对照组(BLM+尼达尼布)的肺纤维化程度进行比较分析。结果可以确认,与实验组和阳性对照组相比,在给药化合物1的组(BLM+化合物1)中,纤维化区域的尺寸和由于纤维化引起的胶原沉积显著减少。

[0160] 在图7和图8中,可以确认,与博来霉素诱导的肺纤维化的实验组(BLM)和给药尼达尼布的阳性对照组(BLM+尼达尼布)相比,给药化合物1的组(BLM+化合物1)的α-SMA的表达减少(图7),并且可以确认,与实验组(BLM)和阳性对照组(BLM+尼达尼布)相比,给药化合物1的组(BLM+化合物1)中I型胶原(胶原I)的表达也显著减少(图8)。

[0161] 综合地,在用广泛用于肺纤维化组织学领域的改良Ashcroft量表对组织学和免疫学结果进行量化后,分别与阴性对照组(Control)、实验组(BLM)和阳性对照组(BLM+尼达尼布)相比,评估给药化合物1的组(BLM+化合物1)中的肺纤维化的严重程度。

[0162] 如图9中所示,阴性对照组(PBS)的评分为0,表示正常结果,并且博莱霉素诱导的肺纤维化实验组(BLM)的评分为5.5±0.8。给药尼达尼布的阳性对照组(BLM+尼达尼布)的改良Ashcroft评分降低至5.2±0.45,并且给药化合物1的实验组(BLM+化合物1)的改良Ashcroft评分为4.0±1.1,由此,可以确认,与用作用于特发性肺纤维化的常规治疗剂的尼达尼布相比,本发明的化合物有效地改善肺纤维化。

[0163] <实施例5>确认人肺上皮细胞中的病毒抑制作用

[0164] 为了分析合成例的化合物的抗病毒活性,使用严重急性呼吸综合征冠状病毒2(SARS-CoV2)和作为人肺上皮细胞的Calu-3细胞进行实时qRT-PCR(定量RT-PCR)。将人肺上

皮细胞(Calu-3)在37℃和5％的CO_2下在Dulbecco改良Eagle培养基(DMEM)中培养。化合物1的浓度为15μM、12.5μM、6.25μM、3.125μM、1.563μM、0.781μM、0.391μM、0.195μM、0.098μM、0.049μM、0.024μM、0.012μM。在根据浓度对细胞处理24小时和48小时后,测量根据药物浓度的抗病毒功效(IC_{50};50％抑制浓度)和对细胞的毒性(CC_{50};50％细胞毒性浓度),并示于表1和图10中。

[0165] [表1]

[0166]

时间(h)	CC_{50}	IC_{50}	SI

[0167]

24	435	31.53	13.80
48	164.5	1.67	98.50

[0168] 从表1和图10可以看出,抗病毒功效表现为在48小时时IC_{50}为1.67μM,并且细胞毒性表现出非常低的细胞毒性,即48小时时CC_{50}为164.5μM。因此,可以确认,化合物1可以抑制SARS-CoV-2的复制,是一种具有非常低的细胞毒性的药物。

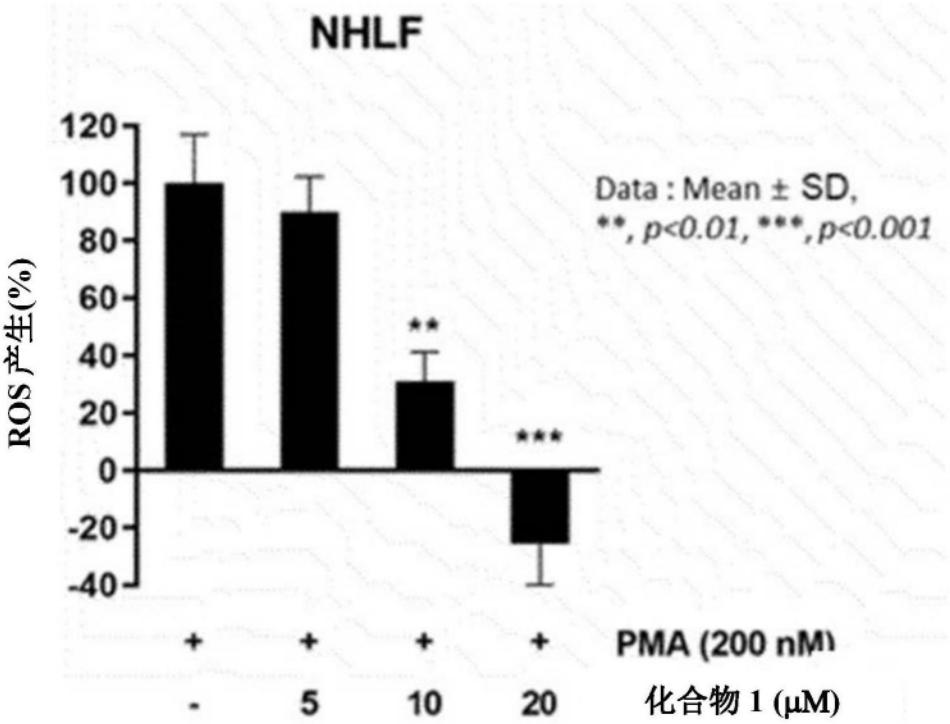

NHLF
ROS产生(%)
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
**
***
Data : Mean ± SD,
**, p<0.01, ***, p<0.001
+ + + +
PMA (200 nM)
- 5 10 20
化合物 1 (μM)

图1

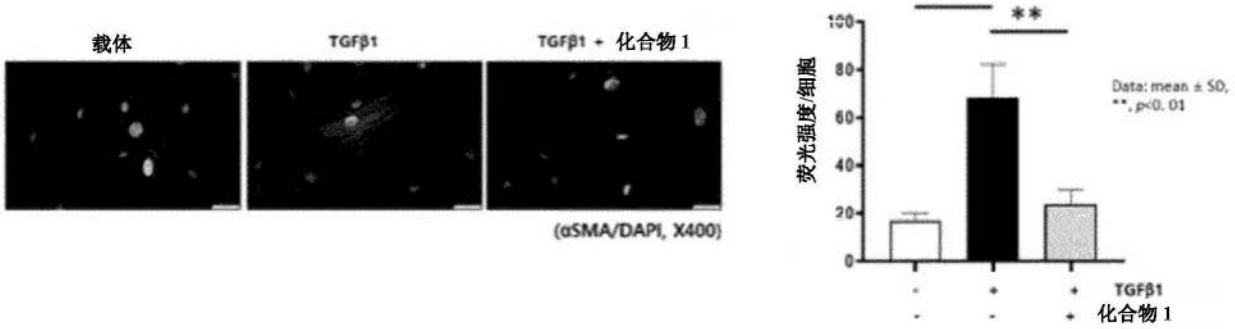

载体
TGFβ1
TGFβ1 + 化合物 1
(αSMA/DAPI, X400)
荧光强度/细胞
**
**
Data: mean ± SD,
**, p<0.01
TGFβ1
化合物 1

图2

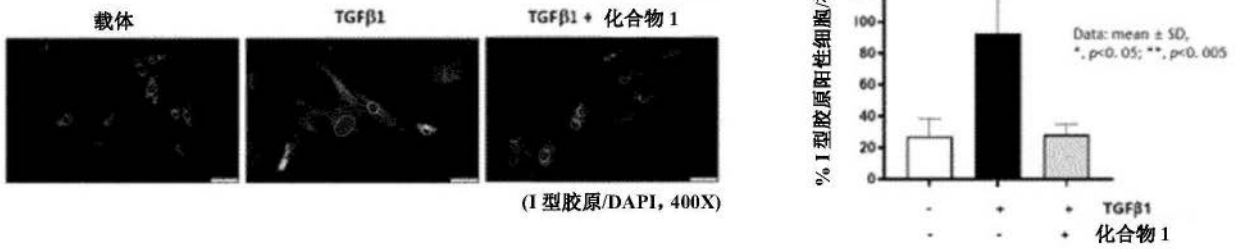

载体
TGFβ1
TGFβ1 + 化合物 1
(I 型胶原/DAPI, 400X)
% I 型胶原阳性细胞/视野
**
*
Data: mean ± SD,
*, p<0.05; **, p<0.005
TGFβ1
化合物 1

图3

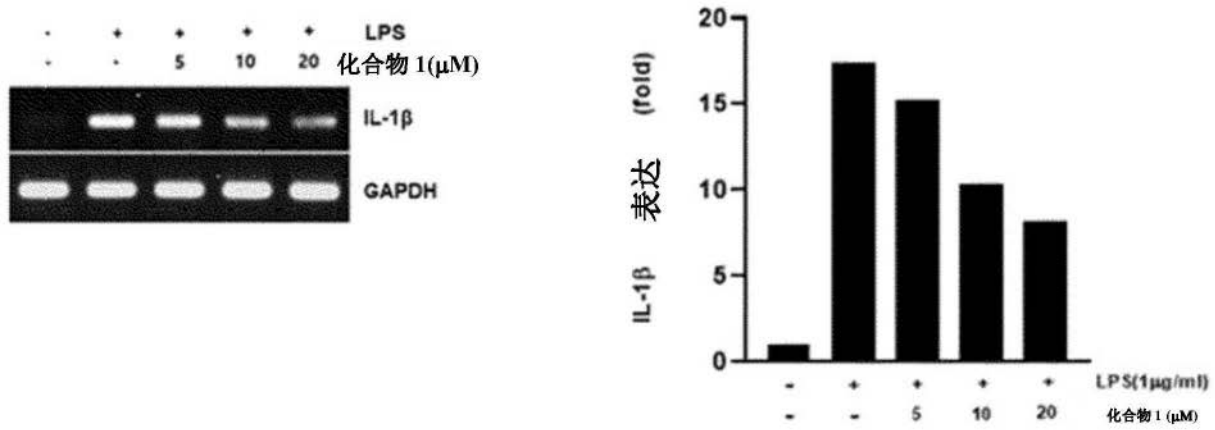

- + + + + LPS
- - 5 10 20 化合物 1(μM)
IL-1β
GAPDH
IL-1β 表达 (fold)
20
15
10
5
0
- + + + + LPS(1μg/ml)
- - 5 10 20 化合物 1 (μM)

图4

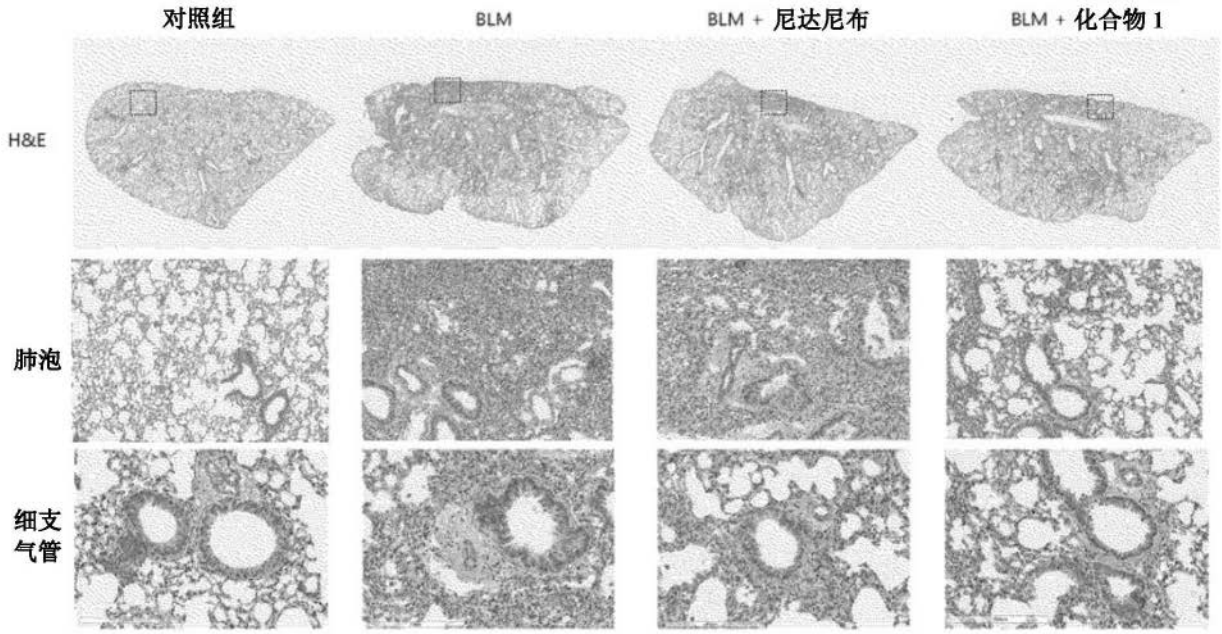

对照组
BLM
BLM + 尼达尼布
BLM + 化合物 1
H&E
肺泡
细支气管

图5

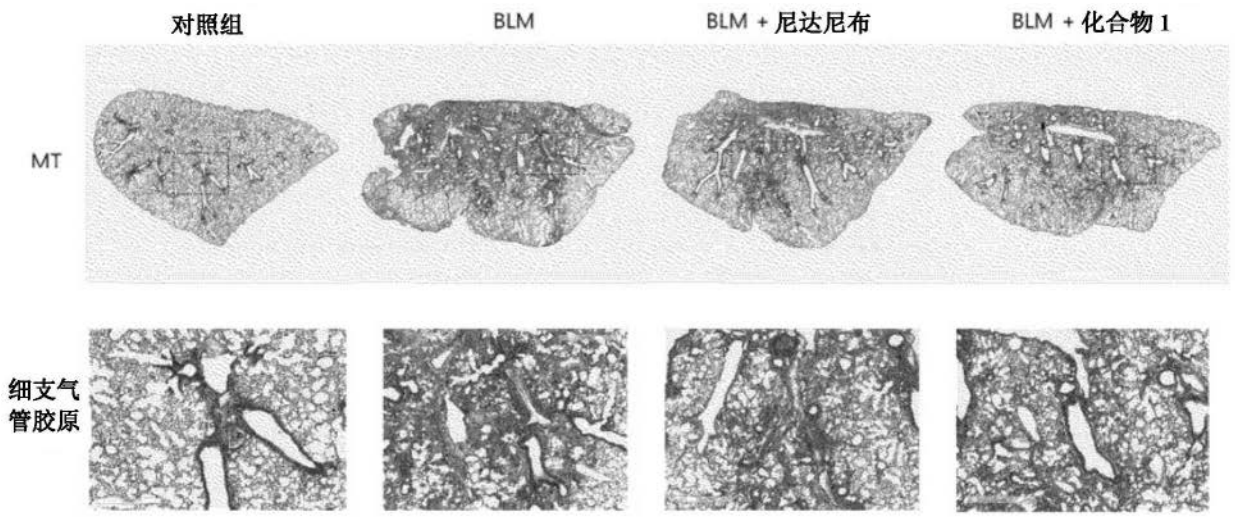

对照组
BLM
BLM + 尼达尼布
BLM + 化合物 1
MT
细支气管胶原

图6

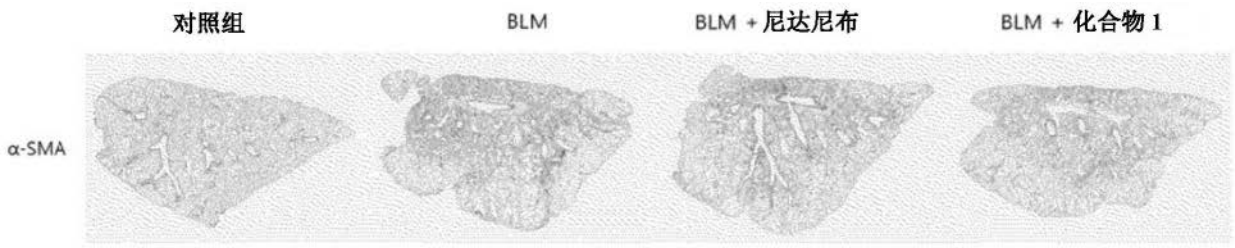

对照组
BLM
BLM + 尼达尼布
BLM + 化合物 1
α-SMA

图7

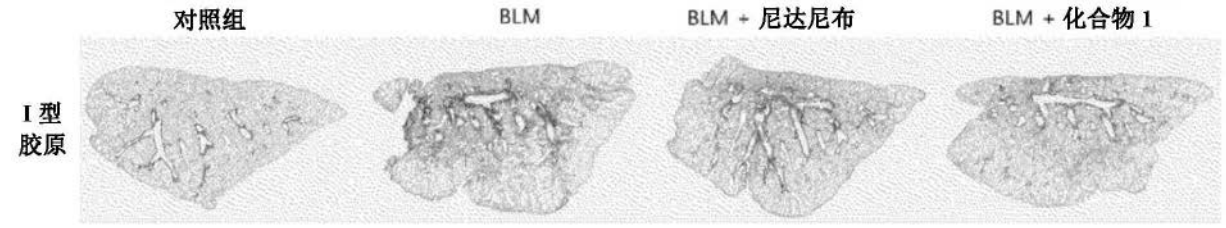

对照组
BLM
BLM + 尼达尼布
BLM + 化合物 1
I 型胶原

图8

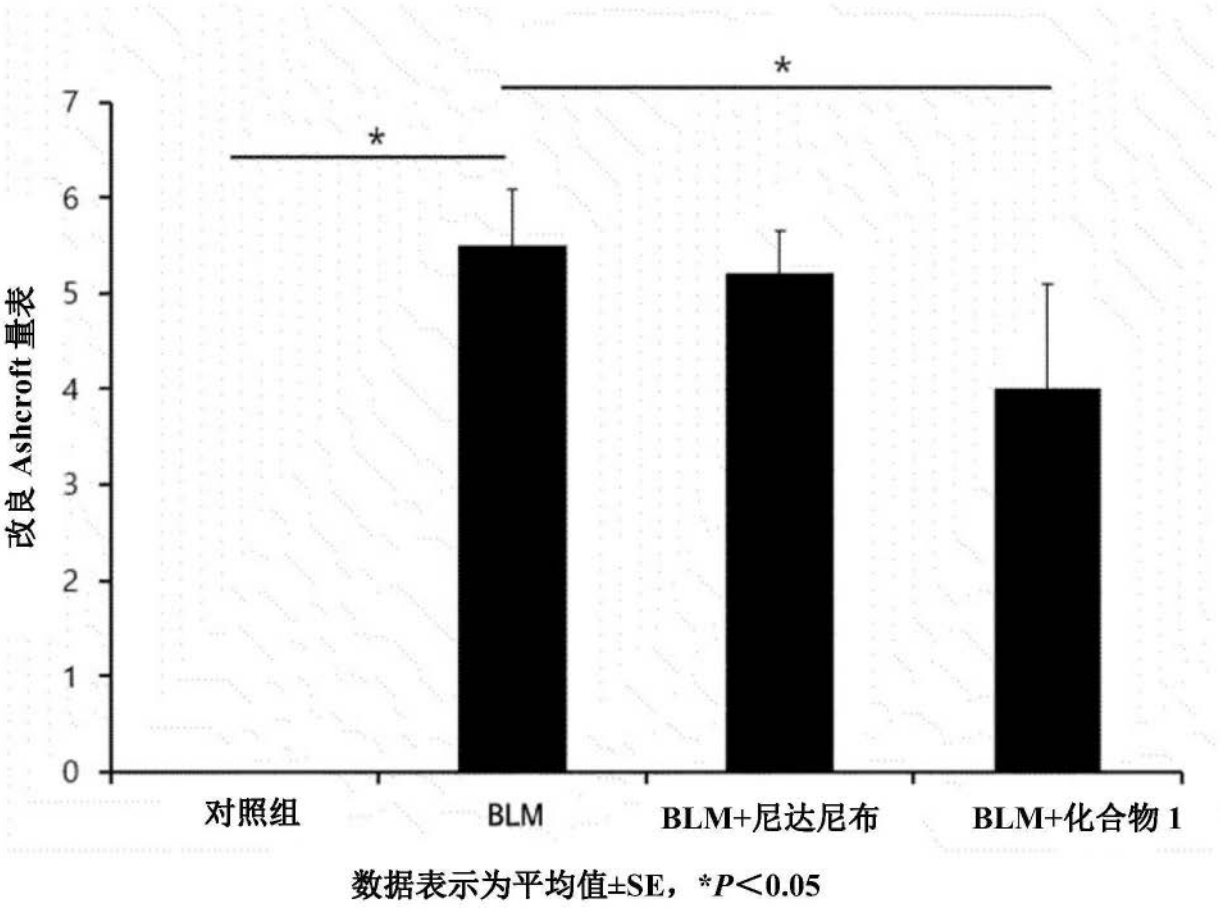

改良 Ashcroft 量表
0
1
2
3
4
5
6
7
*
*
对照组
BLM
BLM+尼达尼布
BLM+化合物 1
数据表示为平均值±SE，*P＜0.05

图9

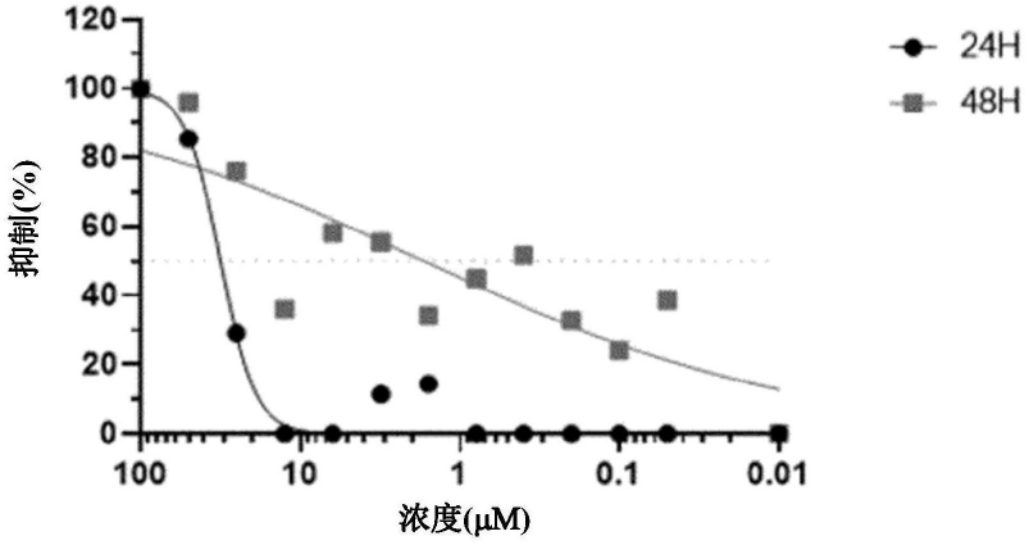

抑制(%)
120
100
80
60
40
20
0
100
10
1
0.1
0.01
浓度(μM)
24H
48H

图10