



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104321058 A

(43) 申请公布日 2015. 01. 28

(21) 申请号 201380015597. 0

代理人 沈端

(22) 申请日 2013. 03. 29

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

61/617, 889 2012. 03. 30 US

A61K 31/506 (2006. 01)

A61P 19/08 (2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 09. 22

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2013/056811 2013. 03. 29

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/144339 EN 2013. 10. 03

(71) 申请人 诺华股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 M·内塞尔 V·瓜格纳诺

D·格罗斯波塔 S·沃勒

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

司 31100

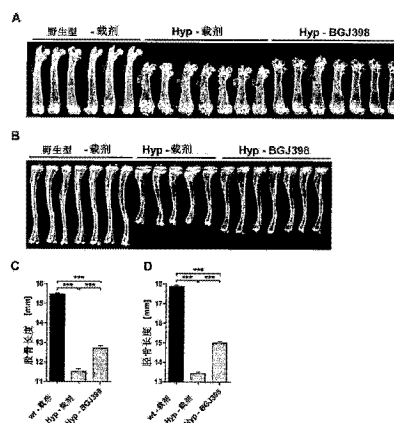
权利要求书2页 说明书11页 附图8页

(54) 发明名称

用于治疗低磷血性疾病的 FGFR 抑制剂

(57) 摘要

本发明一般涉及 3-(2, 6-二氯-3, 5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐或溶剂合物或者含 3-(2, 6-二氯-3, 5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐或溶剂合物的药物组合物, 用于治疗 X 连锁低磷血症性佝偻病 (XLH)、常染色体显性遗传性低磷血症性佝偻病 (ADHR)、常染色体隐性遗传性低磷血症性佝偻病 (ARHR)、肿瘤源性骨软化症、肾移植后低磷血症、表皮痣综合征、骨骼系统发育不良或多发性骨纤维营养不良。



1. 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物用于治疗X连锁低磷血症性佝偻病(XLH)、常染色体显性遗传性低磷血症性佝偻病(ADHR)、常染色体隐性遗传性低磷血症性佝偻病(ARHR)、肿瘤源性骨软化症、肾移植后低磷血症、表皮痣综合征、骨骼系统发育不良或多发性骨纤维营养不良的应用。

2. 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物用于治疗X连锁低磷血症性佝偻病(XLH)、常染色体显性遗传性低磷血症性佝偻病(ADHR)或常染色体隐性遗传性低磷血症性佝偻病(ARHR)的应用。

3. 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐或溶剂合物用于使皮质骨体积或厚度相较对照或者治疗开始前的皮质骨体积或厚度而增加的应用。

4. 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物用于抑制骨中的FGF23表达或抑制骨中的FGF23活性的应用。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素的应用,所述3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素处于单磷酸盐形式。

6. 如权利要求1-4中任一项所述的3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素的应用,所述3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素处于游离碱形式。

7. 如前述权利要求中任一项所述的3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素的应用,其特征在于,所述剂量是1-50mg。

8. 如权利要求7所述的3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素的应用,其特征在于,所述待治疗疾病是X连锁低磷血症性佝偻病(XLH)、常染色体显性遗传性低磷血症性佝偻病(ADHR)或常染色体隐性遗传性低磷血症性佝偻病(ARHR)。

9. 如权利要求1-8中任一项所述的3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物的应用,所述3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物与另一FGFR抑制剂、磷酸盐、钙、骨桥蛋白(OPN)、甲状旁腺素或其类似物(PTH)、和/或维生素D或维生素D类似物联合,优选与磷酸盐、钙和/或维生素D或维生素D类似物,特别是维生素D或维生素D类似物联合。

10. 一种药物组合物,所述组合物包括如权利要求1-8中任一项中定义应用的3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧

啖-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物。

用于治疗低磷血性疾病的 FGFR 抑制剂

技术领域

[0001] 本发明一般涉及 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐或溶剂合物或者含 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐或溶剂合物的药物组合物,其用于治疗成纤维细胞生长因子受体介导的疾病。

[0002] 发明背景

[0003] 成纤维细胞生长因子 (FGF) 家族和其信号转导受体与多种生物活性 (增殖、生存、凋亡、分化、运动) 相关,所述活性控制从蠕虫到人类的生物体生长和维持的关键过程 (发育、血管生成和代谢)。已鉴定 22 种不同 FGF,都共有保守的 120-氨基酸核心结构域,序列同一性为 15-65%。FGF23 是磷酸盐体内平衡的关键、骨来源调节物,其在肾中的功能是调节维生素 D 生物合成和磷酸盐的肾吸收。在肾近端小管上皮细胞中,FGF23 信号转导控制维生素 D 代谢酶 CYP27B1 和 CYP24A1 的表达,引起生物合成减少和活性维生素 D 代谢物 1,25-二羟维生素 D₃ (1,25[OH]₂D₃) 的周转提高。另外,FGF23 削弱肾近端小管细胞刷状缘膜中钠-磷酸盐共转运蛋白 NPT2A 和 NPT2C 的表达,其调节尿磷酸盐的再吸收。

[0004] FGF23 水平过高或功能增强导致血磷酸盐过少以及 1,25(OH)₂D₃ (维生素 D) 生物合成受损,并且与数种遗传性低磷酸盐血症相关,其中骨骼异常是骨矿化受损的结果,包括 X 连锁低磷血症性佝偻病 (XLH)、常染色体显性遗传性低磷血症性佝偻病 (ADHR) 和常染色体隐性遗传性低磷血症性佝偻病 (ARHR)。另外,很少情况下鉴定出肿瘤的 FGF23 分泌导致血磷酸盐过少,引起肿瘤源性骨软化症 (TIO)。还常在肾移植术后患者中观察到 FGF23 水平升高导致严重血磷酸盐过少。FGF23 在若干其它低磷酸盐血症性综合征如表皮痣综合征、骨骼系统发育不良 (osteoglophonic dysplasia) 和多发性骨纤维营养不良中起作用,所述综合征与 FGF23 水平增加相关。XLH 和其它 FGF23 介导的低磷酸盐血症如 ADHR 和 ARHR 通常在幼儿期有身材矮小和腿弯曲畸形的临床表现。

[0005] 这些疾病的现有治疗方法主要限于膳食维生素 D 和磷酸盐补充。尽管治疗改善患者的生长和佝偻病,矫正通常有限且导致青春期后高度受损。根据疾病严重程度,但由于 FGF23 信号转导的持续性-构成连续反作用力-给予高剂量磷酸盐和维生素 D 通常是 XLH 及其它 FGF23 相关低磷酸盐血症的药物疗法所需的,其需要密切监测和剂量调整以规避毒性风险如腹痛和腹泻或继发性甲状旁腺机能亢进、血钙过多和异位性钙化。

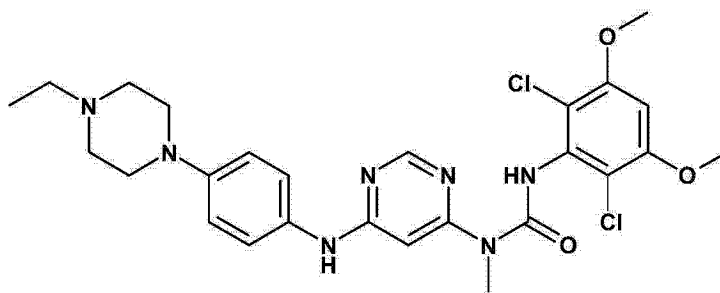
[0006] 因此,需要可靠和有效药物用于治疗上述毁容疾病,并且通过阻断 FGFR 信号转导来直接靶向病理 FGF23 信号转导可提供相较现有治疗标准的有利治疗方法。

发明内容

[0007] 目前意外发现式 I 所示化合物 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素 (如 WO2006/000420 的实施例 145 所述) 在临床上特别活跃且能用于治疗其它成纤维细胞生长

因子受体介导的疾病,所述化合物是高度选择性 FGFR 抑制剂,也称为 BGJ389。

[0008]



I

[0009] 第一方面,本发明因而提供 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物,用于治疗 X 连锁低磷血症性佝偻病 (XLH)、常染色体显性遗传性低磷血症性佝偻病 (ADHR)、常染色体隐性遗传性低磷血症性佝偻病 (ARHR)、肿瘤源性骨软化症、肾移植后低磷血症、表皮痣综合征、骨骼系统发育不良或多发性骨纤维营养不良。特别地,所述化合物、其药学上可接受盐或溶剂合物能用于治疗 X 连锁低磷血症性佝偻病 (XLH)、常染色体显性遗传性低磷血症性佝偻病 (ADHR)、常染色体隐性遗传性低磷血症性佝偻病 (ARHR) 或肿瘤源性骨软化症、肾移植后低磷血症。

[0010] 优选地,向患者给予一个剂量以上的 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐或溶剂合物。

[0011] 化合物 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物如上所定义使用时,治疗应优选持续至少 8 周,可选有中断。2 个连续化合物剂量之间的时间可以大于 24 小时,可选 48 小时。

[0012] 式 I 的化合物能与另一 FGFR 抑制剂、磷酸盐、钙、骨桥蛋白 (OPN)、甲状旁腺素或其类似物 (PTH)、和 / 或维生素 D 或维生素 D 类似物组合,优选与磷酸盐、钙和 / 或维生素 D 或维生素 D 类似物,特别是维生素 D 或维生素 D 类似物组合进一步用于治疗。

[0013] 第二方面,本发明提供含 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物的药物组合物,所述组合物如上所述使用。

[0014] 本发明的另一方面是 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物,用于使皮质骨体积或厚度相较于对照或者治疗开始前的皮质骨体积或厚度而增加。

[0015] 本发明的另一方面是 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物,用于增加患者体重,显示 FGF23 活性相较对照提高。

[0016] 本发明的另外一方面为 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙

基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物,用于抑制骨中的 FGF23 表达或抑制骨中的 FGF23 活性。

[0017] 附图简要说明

[0018] 图 1FGFR 抑制剂治疗诱导 Hyp 小鼠中的 1, 25(OH) 2D3 生物合成并缓解低血钙症和低磷酸盐血症。显示 FGFR 体内抑制 7 小时后,肾 FGF23 靶基因 Cyp27b1 (A) 和 Cyp24a1 (B) 的调节。数据显示为相比野生型载剂对照组的相对水平(相对表达为 100)。(C) 如 A 和 B 所述治疗的野生型和 Hyp 小鼠的血清 1, 25(OH) 2D3 水平通过放射受体分析法测定。用单一口服剂量 BGJ398 (50mg/kg) 或载剂治疗的野生型和 Hyp 小鼠中,给药后 24 小时的钙 (E) 和磷酸盐 (F) 水平。从血清测定磷酸盐和钙水平。数据表示为均值与 SEM ($n \geq 6$)。数据通过非配对学生 t 检验比较;* $p < 0.05$;** $p < 0.01$;*** $p < 0.001$;n. s. : 不显著。

[0019] 图 2FGFR 抑制剂治疗调节 Dmp1 缺失小鼠中的肾 FGF23 靶基因表达并缓解低血钙症和低磷酸盐血症。FGFR 体内抑制后,肾 FGF23 靶基因 Cyp27b1 (A) 和 Cyp24a1 (B) 的调节。数据显示为相比野生型载剂对照组的相对水平(相对表达为 100)并表示为均值与标准误差 (SEM) ($n \geq 6$)。野生型和 Dmp1 缺失小鼠中,药理学 FGFR 抑制对血清钙 (C) 和磷酸盐 (D) 水平的效果。数据表示为均值与 SEM ($n \geq 6$)。数据通过非配对学生 t 检验比较;* $p < 0.05$;** $p < 0.01$;*** $p < 0.001$;n. s. : 不显著。

[0020] 图 3 显示 FGFR 依赖性信号转导调节骨中的 FGF23 表达。用 BGJ398 治疗 7 小时的野生型和 Hyp 小鼠中,FGF23 骨 mRNA (A) 和血清 (B) 水平。

[0021] 图 4 显示 FGFR 抑制剂治疗引起钙和磷酸盐血清水平持续增加。给予式 I 化合物后 48 小时,从野生型和 Hyp 小鼠的血清中测定钙 (A) 和磷酸盐 (B) 水平。(C) 7 和 24 小时治疗后肾中的化合物浓度。

[0022] 图 5 长期 FGFR 抑制提高 Hyp 小鼠的体重和尾长发育并恢复矿物离子体内平衡。野生型或 Hyp 小鼠用 FGFR 抑制剂 BGJ398 (50mg/kg) 或载剂每周治疗 3 次 (3qw),持续 56 天,监测体重 (A) 和尾长 (C) 发育。治疗过程中的总体重 (B) 和尾长增加 (D)。最终给药后 24 小时从血清测定 8 周治疗结束时钙 (E) 和磷酸盐的水平。数据表示为均值与 SEM ($n \geq 6$)。数据通过非配对学生 t 检验比较;* $p < 0.05$;** $p < 0.01$;*** $p < 0.001$;n. s. : 不显著。

[0023] 图 6 用 BGJ398 长期 FGFR 抑制后的 FGF23、甲状旁腺素 (PTH) 和 1, 25(OH) 2D3 血清水平。野生型或 Hyp 小鼠用 FGFR 抑制剂 BGJ398 (50mg/kg) 或载剂每周治疗 3 次,持续 56 天,并在最终给药后 24 小时从血清测定 FGF23 (A)、PTH (B) 和 1, 25(OH) 2D3 (C) 水平。数据显示为均值与 SEM ($n \geq 4$)。数据通过非配对学生 t 检验比较;* $p < 0.05$;** $p < 0.01$;*** $p < 0.001$;n. s. : 不显著。

[0024] 图 7 长期 FGFR 抑制提高 Hyp 小鼠的长骨生长。用 FGFR 抑制剂 BGJ398 (50mg/kg) 或载剂每周治疗 3 次、持续 56 天的野生型或 Hyp 小鼠中股骨 (A) 和胫骨 (B) 的射线照片。定量股骨 (C) 和胫骨 (D) 长度。数据显示为均值与 SEM ($n \geq 6$)。数据通过非配对学生 t 检验比较;* $p < 0.05$;** $p < 0.01$;*** $p < 0.001$;n. s. : 不显著。

[0025] 图 8 长期 FGFR 抑制改善 Hyp 小鼠股骨的皮质完整性。(A) 用 FGFR 抑制剂 BGJ398 (50mg/kg) 或载剂每周治疗 3 次、持续 56 天的野生型或 Hyp 小鼠中股骨皮质(亚生长板区域)的微 CT 扫描。定量相对皮质骨体积 (B) 和平均皮质厚度 (C)。数据显示为均值与 SEM ($n \geq 6$)。数据通过非配对学生 t 检验比较;* $p < 0.05$;** $p < 0.01$;*** $p < 0.001$;n. s. :

不显著。

[0026] 图9显示用FGFR抑制剂BGJ398(50mg/kg)或载剂每周治疗3次、持续56天的野生型或Hyp小鼠中胫骨切片的戈德纳染色(A)。矿化组织用白色箭头指示,未矿化类骨质用黑色箭头指示,在用BGJ398(50mg/kg)或载剂每周治疗3次、持续56天的野生型或Hyp小鼠前胫距中通过组织形态测定术测定(B)类骨质表面/骨表面和类骨质宽度(C)。数据显示为均值与SEM($n \geq 6$)。数据通过非配对学生t检验比较;* $p < 0.05$;** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ 。

[0027] 发明详述

[0028] 已知成纤维细胞生长因子23(FGF23)。认为其是有广泛生物活性的成纤维细胞生长因子家族一员。所述蛋白序列和/或所述蛋白编码序列可获自本领域已知的公开可用数据库。人FGF23也在本领域称为ADHR;HYPF;HPDR2;PHPTC。FGF23是数种低磷酸盐血症的致病因子。意外观察到用FGFR抑制剂3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素(BGJ398)药理学抑制FGFR会抵消病理FGF23信号转导,从而指示治疗FGF23相关低磷酸盐血症的潜在新型治疗方法。发现3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物用于治疗X连锁低磷血症性佝偻病(XLH)、常染色体显性遗传性低磷血症性佝偻病(ADHR)、常染色体隐性遗传性低磷血症性佝偻病(ARHR)、肿瘤源性骨软化症、肾移植后低磷血症、表皮痣综合征、骨骼系统发育不良或多发性骨纤维营养不良时可以非常有效。所述化合物能特别有效用于治疗X连锁低磷血症性佝偻病(XLH)、常染色体显性遗传性低磷血症性佝偻病(ADHR)或常染色体隐性遗传性低磷血症性佝偻病(ARHR)、肾移植后低磷血症,尤其是X连锁低磷血症性佝偻病(XLH)和常染色体显性遗传性低磷血症性佝偻病(ADHR)或常染色体隐性遗传性低磷血症性佝偻病(ARHR)。

[0029] 在一个实施方式中,本文所用术语“治疗(“treat”、“treating”或“treatment”)”任何疾病或病症指缓解疾病或病症(即减慢或阻滞或减少疾病发展或其至少一种临床症状的发展)。在另一个实施方式中,“治疗(“treat”、“treating”或“treatment”)”指减轻或缓解至少一种身体参数,包括患者可能无法识别的那些。在另一个实施方式中,“治疗(“treat”、“treating”或“treatment”)”指调节疾病或病症,或是身体上(如可识别症状的稳定)或是生理上(如身体参数的稳定)或两者。在另一个实施方式中,“治疗(“treat”、“treating”或“treatment”)”指防止或延迟疾病或病症发生或发展或进展。

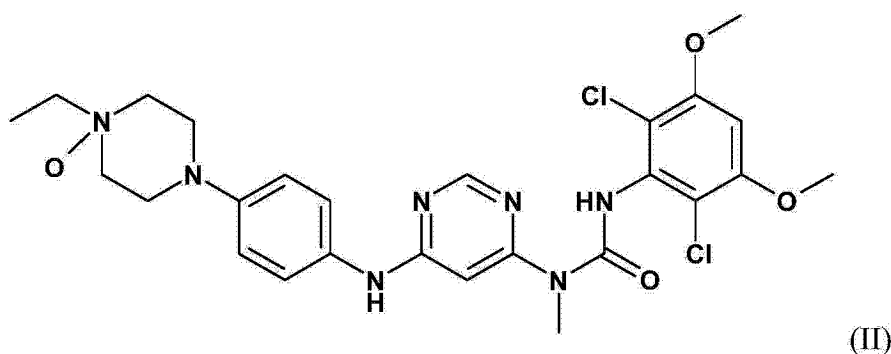
[0030] 术语“药学上可接受盐”指根据本发明使用时保留化合物的生物有效性和特性的盐,且其通常不是生物学或其他方面不合需要的。药学上可接受酸加成盐能用无机酸和有机酸形成,如乙酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、溴化物/氢溴化物、碳酸氢盐/碳酸盐、硫酸氢盐/硫酸盐、樟脑磺酸盐、氯化物/氢氯化物、氯茶碱盐(chlorotheophyllonate)、柠檬酸盐、乙二磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、磷酸盐/磷酸氢盐/磷酸二氢盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、磺基水杨酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐、三氟乙酸盐等。可由其获得盐的无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等。在一个实施方式中,所述药学上可接受盐是化合物3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素的单磷酸盐(或磷酸盐),其可任选采用无水晶形。在特定实

施方式中,所述化合物的盐是 W02011/071821 公开的任何盐或形式。在一个实施方式中,3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素采用游离碱形式。

[0031] 术语“溶剂合物”指化合物与一个或多个溶剂分子的分子复合物。这种溶剂分子是常用于药物领域的那些,其已知对化合物无害,如水、乙醇等。

[0032] 化合物 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素的 N-氧化物之一具有下列式 II

[0033]



[0034] BGJ398 给药后 7 小时,单一有效剂量的 BGJ398 已引起野生型和 Hyp 小鼠的 1, 25(OH) 2D3 血清水平强劲增加。另外,钙和磷酸盐水平也增加。这些结果表明药理学抑制 FGFR 足以抵消哺乳动物中的异常 FGF23 信号转导。发现单剂量 FGFR 抑制剂已在抵消 FGF23 活性和平衡体内钙及磷酸盐水平方面产生影响。此外,长期用 BGJ398 治疗使得 Hyp 小鼠中的钙和磷酸盐水平完全正常。因此,在一个优选实施方式中,向需要的患者给予多于一个治疗有效剂量的 BGJ398 或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物。术语“治疗有效剂量”的化合物指会引起对象生物学或医学响应的 BGJ398 量,例如降低或抑制激酶活性、或缓解症状、减轻病症、减慢或延缓疾病进展、或防止疾病等。所述对象可以是任何哺乳动物,包括人。就约 50-70kg 对象而言,治疗有效剂量可以是约 1-250mg BGJ398,或约 1-150mg 例如 125mg 剂量、或约 0.5-100mg、或约 1-50mg、或约 1-25mg、或约 1-10mg 的 BGJ398。所述化合物的治疗有效剂量取决于对象种类、体重、年龄和个体情况、病症或疾病或者所治疗病症或疾病的严重程度,所述化合物单独或采用药物组合物形式或联合其它活性成分,如下文所述。

[0035] 本发明的另一方面是 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物,用于使皮质骨体积或厚度相较对照或者治疗开始前的皮质骨体积或厚度而增加。所实施的实验清楚显示对象用 BGJ398 治疗时,皮质骨体积从病理值增加到与正常值无法区分。另外,皮质厚度显著增加。

[0036] 观察到给予 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素引起患者体重增加,所示患者显示 FGF23 活性相较对照提高。“对照”指没有各自疾病的个体、数个对象或群体中 FGF23 活性或表达值。

[0037] 广义上,本发明的一个实施方式是 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学

上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物,用于抑制骨中 FGF23 表达或抑制骨中 FGF23 活性。“表达”指基因转录和翻译时产生的核酸或氨基酸。例如,转录活性能通过任何合适方法评价,包括例如检测从 FGF23 基因转录的 mRNA 量或从转录自所述基因的 mRNA 逆转录生成的 cDNA 量或所述基因编码的多肽或蛋白量。或者,基因拷贝数、转录或翻译中的任意一种能用已知技术测定。例如,扩增方法如 PCR 可能有用。通过影响骨中 FGF23 表达或活性,可调节其结构和生长,这特别有效用于以不规则或无效生长呈现自身并导致异常的疾病,所述异常例如但不限于佝偻病。

[0038] 为减少全身 FGFR 抑制的可能副作用发生,可间歇性给予剂量以使不需要的副效应最小,所述副效应可能对对象有害。能连续给予剂量而无中断,或首先起始于数个剂量以在需要其的患者中达到稳态浓度,然后改变剂量间的时间。或者,所述给药可在第一剂量后立即调整。2 个连续化合物剂量之间的时间可大于 24 小时,可选 48 小时或甚至一周。在一个具体实施方式中,重复给予所述剂量,可选再次为 2 个连续剂量间 1、2 或 3 天,或仅在复发后。

[0039] 在一个优选实施方式中,化合物 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素能与另一 FGFR 抑制剂、磷酸盐、钙、骨桥蛋白(OPN)、甲状旁腺素或其类似物(PTH)、和/或维生素 D 或维生素 D 类似物联用于治疗,优选联合磷酸盐、钙和/或维生素 D 或维生素 D 类似物,特别是维生素 D 或维生素 D 类似物。BGJ389 可有利地组合使用以带来累加或甚至协同效果,并且还降低用更高剂量 BGJ389 的需求且连续限制副作用风险。

[0040] 磷酸盐能以任何形式使用,其口服或胃肠外服用时增加无机磷(P)的血液水平,这可例如通过紫外线法在血清中测量,使用诸如来自英国朗道实验诊断有限公司(RANDOX Laboratories LTD)的试剂盒、和临床化学分析仪如 HITACHI717 分析仪(罗氏诊断公司(Roche Diagnostics))。钙也能采用任何形式,其最终在服用时引起总钙的血液水平上升,这可例如通过紫外线法在血清中测量,使用诸如来自英国朗道实验诊断有限公司的试剂盒和临床化学分析仪如 HITACHI717 分析仪。骨桥蛋白(OPN)称为分泌型磷蛋白 1、骨唾液蛋白 I 或早期 T 淋巴细胞活化 1,其为已知的。认为其是参与骨重建的胞外结构蛋白。人骨桥蛋白在本领域称为 SPP1。已知甲状旁腺素(PTH)或甲状旁腺激素。认为其是参与调节血液中钙水平的激素。PTH 类似物是至少部分保留 PTH 活性且结构类似完整 PTH 的分子,其仅仅更短或经修饰或有连接 PTH 主体结构的额外取代基。维生素 D 是负责钙稳态且对健康骨表型重要的已知激素。其类似物是模拟维生素 D 化学结构并引起药理学作用的结构相似化合物。维生素 D 类似物的一个示例是钙泊三醇。

[0041] 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物在药物组合物中配制,所述组合物进而能用于上述任何治疗。所述药物组合物通常会包括 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-尿素或其药学上可接受盐、N-氧化物或溶剂合物以及一种或多种药学上可接受赋形剂。所述药物组合物中化合物的量优选为治疗有效量。可选地,向本发明所述药物组合物加入另一 FGFR 抑制剂、磷酸盐、钙、骨桥蛋白(OPN)、甲状旁腺素或其类似物(PTH)、和/或维生素 D 或维生素 D 类似物,优选联合磷酸盐、钙和/或维生素 D 或维生素 D

类似物,特别是维生素 D 或维生素 D 类似物。所述药物组合物可配制用于特定给药途径如口服给药、胃肠外给药、和局部给药等。另外,本发明的药物组合物可以固体形式(包括但不限于胶囊剂、片剂、丸剂、颗粒剂、粉剂或栓剂)、或液体形式(包括但不限于溶液、悬液或乳液)构成。所述药物组合物能接受常规制药操作如压缩、压片、过滤、冻干、灭菌等。赋形剂可以是任何常规惰性稀释剂、润滑剂、缓冲剂、粘合剂、崩解剂、甜味剂、芳香剂,以及佐剂如防腐剂、稳定剂、增湿剂、乳化剂、溶剂、分散介质、涂层剂、表面活性剂、抗氧化剂、防腐剂(如抗菌剂、杀真菌剂)、等渗剂、吸收延迟剂、盐、防腐剂、药物稳定剂、染料等及其组合。

[0042] 实施例 1

[0043] FGFR 抑制剂治疗诱导 Hyp 小鼠中的 1, 25(OH) 2D3 生物合成并缓解低血钙症和低磷酸盐血症。野生型 C57BL/6 和 Hyp (B6. Cg-PhexHyp/J) 小鼠获自杰克逊实验室 (Jackson Laboratory)。Dmp1 缺失小鼠由 Feng 等 (J. Dent. Res. 2003 ;82:776-780.) 生成。将所有小鼠关在标准实验室条件下的笼子中。对小鼠喂以标准啮齿动物饲料,可自由饮水。

[0044] 野生型或 Hyp 小鼠接受单口服剂量的游离碱形式 FGFR 抑制剂 BGJ398 (50mg/kg) 或载剂,并在给予所述化合物后 7 小时加以研究。BGJ398 或单独载剂 (PEG-300/ 葡萄糖 5%, 2:1 混合) 通过口头强喂给予。在单剂量给药情况中使用 5-7 周龄小鼠。通过吸入异氟醚来麻醉小鼠并从腔静脉采血。以放血法处死小鼠,获得肾和胫骨及股骨。还测定 7h 时肾中的 BGJ398 浓度。

[0045] 对肾进行取样,分离总 RNA。对于从小鼠胫骨及股骨分离 RNA,切下骨髓并通过 4°C 离心移出骨髓。用 Precellys24 珠均质器匀化组织且用 TRIzol 试剂提取 RNA。随后通过氯仿提取、异丙醇沉淀和 RNeasy 迷你试剂盒纯化 RNA。对于肾 RNA,用转子-定子式匀浆器在 1.5ml RTL 缓冲液 (凯杰公司 (Qiagen)) 中匀化约 60mg 组织,并用 RNeasy 迷你试剂盒纯化 RNA。通过 0.5-2 μ g RNA 和 MultiScribe MuLV 逆转录酶合成具有随机六聚体引物的 cDNA。

[0046] 基因表达通过定量实时 PCR (qPCR) 分析。基于 TaqMan 探针的基因表达测定用于小鼠 Cyp27b1 (Mm01165919)、Cyp24a1 (Mm00487244) 和 Gapdh (4352339E) 的表达分析。用于检测小鼠 Fgf23 的引物和 FAM/TAMRA 标记探针 (Microsynth) 序列是 5'-TTTGGATCGCTTCACTTCAG (正向), 5'-GTGATGCTTCTGCGACAAGT (反向) 和 5'-CGCCAGTGGACGCTGGAGAA (探针)。定量实时 PCR 在 iQ5 实时 PCR 检测系统中进行,使用 qPCR 核心试剂盒 (用于探针测定) 和 40 或 80ng RNA 当量的各样品。数据根据 Gapdh 表达进行标准化。

[0047] 股骨和胫骨的射线照片用高分辨率辐射成像系统 (Faxitron MX-20) 离体拍摄。用 Scanco vivaCT40 系统 (像素大小 6 μ m; 高分辨率) 离体进行 μ CT 测量。对于松质骨和皮质骨分析,采用固定 200 阈值测定 50 张切片的矿化骨部分。应用高斯滤波器以移除噪音 ($\sigma = 0.7$; 支持 = 1)。

[0048] 用含促凝剂的离心管从全血分离血清。通过 VetScan 诊断分析系统将 100 μ l 血清用于测定磷酸盐和钙水平。用放射受体分析试剂盒测定 1, 25(OH) 2D3 的血清浓度。通过检测完整 FGF23 的 ELISA (凯诺斯 (Kainos)) 分析 FGF23 血清水平。

[0049] FGF23 部分通过转录调节肾中的 1, 25(OH) 2D3 代谢酶 CYP27B1 和 CYP24A1 来发挥其低磷酸盐血症性功能。因此,在用单剂量 BGJ398 治疗 Hyp 小鼠和野生型同窝鼠后,监测

肾 Cyp27b1 和 Cyp24a1 表达。尽管 Hyp 小鼠中出现 FGF23 水平提高,但 Hyp 小鼠的 Cyp27b1 和 Cyp24a1 表达以及 1, 25(OH) 2D3 血清水平与野生型小鼠相比,没有显著差异(图 1A、B 和 C),这可能是由于适应过程且与先前报道相符。在野生型和 Hyp 小鼠中,用 BGJ398 治疗 7 小时使得 Cyp27b1 水平增加且几乎完全丧失 Cyp24a1 表达(图 1A 和 B)。因此,FGF23 靶基因的这种去调节使得 BGJ398 给药后 7 小时的野生型和 Hyp 小鼠中 1, 25(OH) 2D3 血清水平都有强劲增加(图 1C)。

[0050] 给药后 24 小时,单剂量 BGJ398 治疗在野生型和 Hyp 小鼠中都诱导血清钙和磷酸盐水平提高,因而缓解对照 Hyp 小鼠中观察到的严重低血钙症和低磷酸盐血症。关于钙,经 BGJ398 治疗的 Hyp 小鼠血清水平与载剂治疗的野生型小鼠无法区分(图 1D),而用 FGFR 抑制剂治疗的 Hyp 小鼠中血清磷酸盐浓度仍显著低于野生型小鼠血清水平(图 1E)。图 1A 和 B 中的数据显示为相比野生型对照组的相对水平(相对表达为 100)并表示为均值与标准误差(SEM) ($n \geq 6$)。

[0051] 如所述,图 1 中描述 FGFR 体内抑制后,肾 FGF23 靶基因 Cyp27b1 (A) 和 Cyp24a1 (B) 的调节。同样,如 A 和 B 所述治疗的野生型和 Hyp 小鼠的 (C) 血清 1, 25(OH) 2D3 水平通过放射受体分析法测定。另外,显示用单口服剂量 BGJ398 (50mg/kg) 或载剂治疗的野生型和 Hyp 小鼠中,给药后 24 小时的钙(图 1E) 和(图 1F) 磷酸盐水平。这共同显示 FGFR 抑制剂治疗诱导 Hyp 小鼠的 1, 25(OH) 2D3 生物合成并缓解低血钙症和低磷酸盐血症。所述结果进一步表明 FGFR 的药理学抑制足以抵消 Hyp 小鼠中的异常 FGF23 信号转导。

[0052] 实施例 2

[0053] FGFR 抑制剂治疗调节 Dmp1 缺失小鼠中的肾 FGF23 靶基因表达并缓解低血钙症和低磷酸盐血症。图 2 显示 FGFR 体内抑制后,肾 FGF23 靶基因 Cyp27b1 (图 2A) 和 Cyp24a1 (图 2B) 的调节。除了在 Phex 缺陷型 Hyp 模型中的发现以外,在 Dmp1 缺失小鼠中观察到肾 Cyp27b1 和 Cyp24a1 表达的类似调节,Dmp1 缺失小鼠是另一 FGF23 相关低磷酸盐血症模型(图 2A 和 B)。野生型或 Dmp1 缺失小鼠接受单口服剂量的 FGFR 抑制剂 BGJ398 (50mg/kg) 或载剂,并在给予所述化合物后 7 小时再次加以研究。如之前,对肾进行取样,分离总 RNA 且通过 qPCR 分析基因表达。表达值根据 Gapdh mRNA 拷贝进行标准化。A 和 B 中的数据显示为相比野生型载剂对照组的相对水平并表示为均值与标准误差(SEM) ($n \geq 6$)。

[0054] 对于钙和磷酸盐水平分析,小鼠接受单口服剂量的 FGFR 抑制剂 BGJ398 (50mg/kg) 或载剂并在给药后 24 小时研究。从血清测定磷酸盐和钙水平。对于 Hyp 小鼠,药理学 FGFR 抑制引起 Dmp1 缺失小鼠中血清钙和磷酸盐水平增加(分别为图 2C 和 D)。图 2 的数据显示为均值与标准误差(SEM) ($n \geq 6$)。数据通过非配对学生 t 检验比较;* $p < 0.05$;** $p < 0.01$;*** $p < 0.001$;n. s. : 不显著。

[0055] 实施例 3

[0056] 图 3 显示 FGFR 依赖性信号转导调节骨中的 FGF23 表达。除了减轻 2 种 FGF23 相关低磷血症性佝偻病小鼠模型中的矿物离子缺乏,还注意到 FGFR 抑制剂治疗对经 BGJ398 治疗的 Hyp 小鼠中 FGF23 水平的抑制效果。小鼠接受单口服剂量的 FGFR 抑制剂 BGJ398 (50mg/kg) 或载剂,并在给药后 7 小时加以研究。测定用 BGJ398 治疗的野生型和 Hyp 小鼠中,FGF23 骨 mRNA (图 3A) 和血清(图 3B) 水平。BGJ398 给药后 7 小时,Hyp 和野生型小鼠骨中的 FGF23 表达几乎消失(图 2A)。FGF23 转录抑制导致野生型小鼠的血清 FGF23 水平无法检

测,而 Hyp 小鼠的病理性高 FGF23 水平降低约 50% (图 3B)。图中 mRNA 表达显示为相比野生型载剂对照组的相对水平 (相对水平为 100) 并表示为均值与标准误差 (SEM) ($n \geq 7$)。FGF23mRNA 表达值根据 Gapdh mRNA 拷贝进行标准化。数据通过非配对学生 t 检验比较; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ 。

[0057] 实施例 4

[0058] 图 4 清楚显示 FGFR 抑制剂治疗引起钙和磷酸盐血清水平持续增加。与实施例 1 类似,野生型或 Hyp 小鼠接受单口服剂量的 FGFR 抑制剂 BGJ398 或载剂,并在给予所述化合物后 48 小时加以研究。从血清中测定钙 (图 4A) 和磷酸盐 (图 4B) 水平。数据显示为均值与标准误差 (SEM) ($n \geq 3$)。数据通过非配对学生 t 检验比较; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; n. s.: 不显著。(C) 给药后 7 小时和 24 小时的肾中 BGJ398 浓度。值表示为均值与标准误差 (SEM) ($n \geq 5$)。

[0059] 实施例 5

[0060] 长期 FGFR 抑制提高 Hyp 小鼠的体重和尾长发育并恢复矿物离子体内平衡。进行长期治疗研究以监测 Hyp 小鼠模型中佝偻病样骨表型的潜在改善。实施 8 周进程的治疗。由于钙和磷酸盐水平持续上升 - 延伸超过 BGJ398 从肾中清除 (图 4) - 小鼠用 BGJ398 (50mg/kg 体重) 或载剂每周治疗 3 次 (3qw),持续 56 天,与上述类似分析。图 5 显示所监测的体重 (图 5A) 和尾长 (图 5C) 发育。图 5 还显示治疗过程中的总体重 (图 5B) 和尾长增加 (图 5D)。最终给药后 24 小时从血清测定 8 周治疗结束时钙 (图 5E) 和磷酸盐 (图 5F) 的水平并示于图 5。数据表示为均值与 SEM ($n \geq 6$)。数据通过非配对学生 t 检验比较; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; n. s.: 不显著。

[0061] 相较野生型同窝鼠, Hyp 小鼠显示 5 周龄,即治疗开始时的体重下降。治疗过程中, Hyp 小鼠中的药理学 FGFR 抑制使得体重比载剂对照组增加更多 (图 5A)。总体上,经 BGJ398 治疗的 Hyp 小鼠的总体重增加与经载剂治疗的野生型小鼠类似 (图 5B)。尾部更短是 Hyp 小鼠低磷血症性佝偻病的显著特征,反映骨形成受损。因此,我们监测 8 周治疗中的尾长发育并发现经 BGJ398 治疗的 Hyp 小鼠显示尾长增加远高于对照 Hyp 小鼠 (图 5C)。此外,用 FGFR 抑制剂治疗的 Hyp 小鼠的尾长增加还显著高于经载剂治疗的野生型同窝鼠 (图 5D)。为检测连续 FGFR 抑制对 Hyp 小鼠中磷酸盐和钙体内平衡的效果,分析 8 周研究结束时的血清钙和磷酸盐浓度。发现与单剂量 FGFR 抑制剂给药相反 (图 1D 和 E),用 BGJ398 长期治疗引起 Hyp 小鼠中钙和磷酸盐水平完全正常化 (图 5E 和 F)。

[0062] 实施例 6

[0063] 图 6 显示用 BGJ398 长期抑制 FGFR 后 FGF23、甲状旁腺素 (PTH) 和 1, 25(OH) 2D3 的血清水平。野生型或 Hyp 小鼠再次用 FGFR 抑制剂 BGJ398 (50mg/kg) 或载剂每周治疗 3 次,持续 56 天,并在最终给药后 24 小时从血清测定 FGF23 (图 6A)、甲状旁腺素 (PTH) (图 6B) 和 1, 25(OH) 2D3 (图 6C) 水平。用含促凝剂的离心管 (Sarstedt) 从全血分离血清,从而测定 PTH 值。将 20 μ l 血清用于测定 PTH 水平,其使用小鼠 PTH ELISA (Immutopics)。数据通过非配对学生 t 检验比较; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; n. s.: 不显著。

[0064] 尽管 FGFR 抑制对 FGF23 表达有短暂抑制效果 (见图 3),但用 BGJ398 长期治疗引起 Hyp 小鼠中 FGF23 血清浓度进一步增加 (图 6A),这伴随着 PTH 水平正常化 (图 6B),而 1, 25(OH) 2D3 在治疗组间没有显著差异 (图 6C)。

[0065] 实施例 7

[0066] 如图 7 所示,长期 FGFR 抑制提高 Hyp 小鼠的长骨生长。总之,上面这些结果阐明药理学 FGFR 抑制在异常 FGF23 信号转导背景下的有益效果并指示 Hyp 小鼠的骨形成缺陷有潜在减轻。因此,通过放射线照相术分析长期(8 周)FGFR 抑制对股骨和胫骨纵向生长的影响,发现经 BGJ398 治疗的 Hyp 小鼠显示股骨(图 7A 和 C)和胫骨(图 7B 和 D)相较载剂治疗的对照组显著加长。FGFR 抑制确实部分减轻股骨和胫骨生长板区域加宽,这通常在佝偻病中观察到(图 7A 和 B)。图 7 中:用 FGFR 抑制剂 BGJ398(50mg/kg)或载剂每周治疗 3 次、持续 56 天的野生型或 Hyp 小鼠中股骨(图 7A)和胫骨(图 7B)的射线照片。定量股骨(图 7C)和胫骨(图 7D)长度。数据显示为均值与 SEM($n \geq 6$)。数据通过非配对学生 t 检验比较;* $p < 0.05$;** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$;n. s.: 不显著。

[0067] 实施例 8

[0068] 长期 FGFR 抑制改善 Hyp 小鼠股骨的皮质完整性。为更详细确定 FGFR 抑制剂治疗对骨结构的效果,对用 FGFR 抑制剂 BGJ398(50mg/kg)或载剂每周治疗 3 次、持续 56 天的野生型或 Hyp 小鼠中股骨皮质(亚生长板区域)进行微计算机 x 线断层成像术(μ CT)分析(图 8A)。定量更多相对皮质骨体积(图 8B)和测定平均皮质厚度(图 8C)。此分析显示 Hyp 小鼠皮质骨区域的矿化受损,通过 Hyp 股骨皮质结构内的缝隙和孔洞表现出来(图 8A,由箭头指示)。相较野生型小鼠,经载剂治疗的 Hyp 小鼠显示皮质骨区域的相对骨体积减少(图 8B)且平均皮质厚度降低(图 8C)。相反,经 BGJ398 治疗的 Hyp 小鼠的皮质呈现完整(图 8A),相对皮质骨体积与野生型小鼠无法区分(图 8B)且皮质厚度相较载剂治疗的 Hyp 小鼠显著增加(图 8C)。

[0069] 因此,分析揭示 FGFR 抑制对 Hyp 小鼠中骨的纵向生长和结构完整性产生有益效果。

[0070] 实施例 9

[0071] 用 BGJ398 长期治疗恢复 Hyp 小鼠的生长板组织。还发现在胫骨组织切片中, BGJ398 治疗对 Hyp 小鼠的生长板组织有缓解效果(图 9A)。图 9 显示用 FGFR 抑制剂 BGJ398(50mg/kg)或载剂每周治疗 3 次、持续 56 天的野生型或 Hyp 小鼠中胫骨切片的戈德纳染色(图 9A)。矿化组织用白色箭头指示,用深灰色呈现未矿化类骨质(用黑色箭头指示)。通过浅灰色染色在切片中央部分显示生长板结构(图 9B)。在用 BGJ398(50mg/kg)或载剂每周治疗 3 次、持续 56 天的野生型或 Hyp 小鼠前胫距中通过组织形态测定术测定类骨质表面/骨表面和类骨质宽度(图 9C)。数据显示为均值与 SEM($n \geq 6$)。数据通过非配对学生 t 检验比较;* $p < 0.05$;** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ 。在经载剂治疗的 Hyp 小鼠中,软骨细胞的柱状构造和定向生长被扰乱,与野生型小鼠的高度有序结构相反。另外,对照 Hyp 小鼠中的矿化受损,如未矿化类骨质丰度所示。然而,在经 BGJ398 治疗的 Hyp 小鼠中,观察到生长板区域的显著重建(图 9A,左图)和软骨细胞柱状堆叠的再形成以及增生带的高度增加(图 9B,右图)。另外,注意到毗邻生长板的骨骺骨区域矿化提高以及干骺端亚生长板区域形成初级松质,这在经载剂治疗的 Hyp 小鼠中几乎没有。同样,组织形态分析揭示 FGFR 抑制后 Hyp 小鼠的 OS/BS 比增加减弱(图 9B)且骨骺、干骺端和皮质骨隔室内类骨质宽度大幅下降(图 9C)。

[0072] 总之,数据表明 FGFR 的药理学抑制足以抑制异常 FGF23 信号转导并缓解 XLH 的低

磷血症性佝偻病表型和潜在其它 FGF23 相关低磷酸盐血症如 ARHR。特别地,连续给药 FGFR 抑制剂 BGJ398 后 Hyp 小鼠中磷酸盐和钙水平完全正常化以及佝偻病类似骨中生长板区域重建是前景广阔的,因为这构成低磷血症性佝偻病表型潜在逆转的前提。

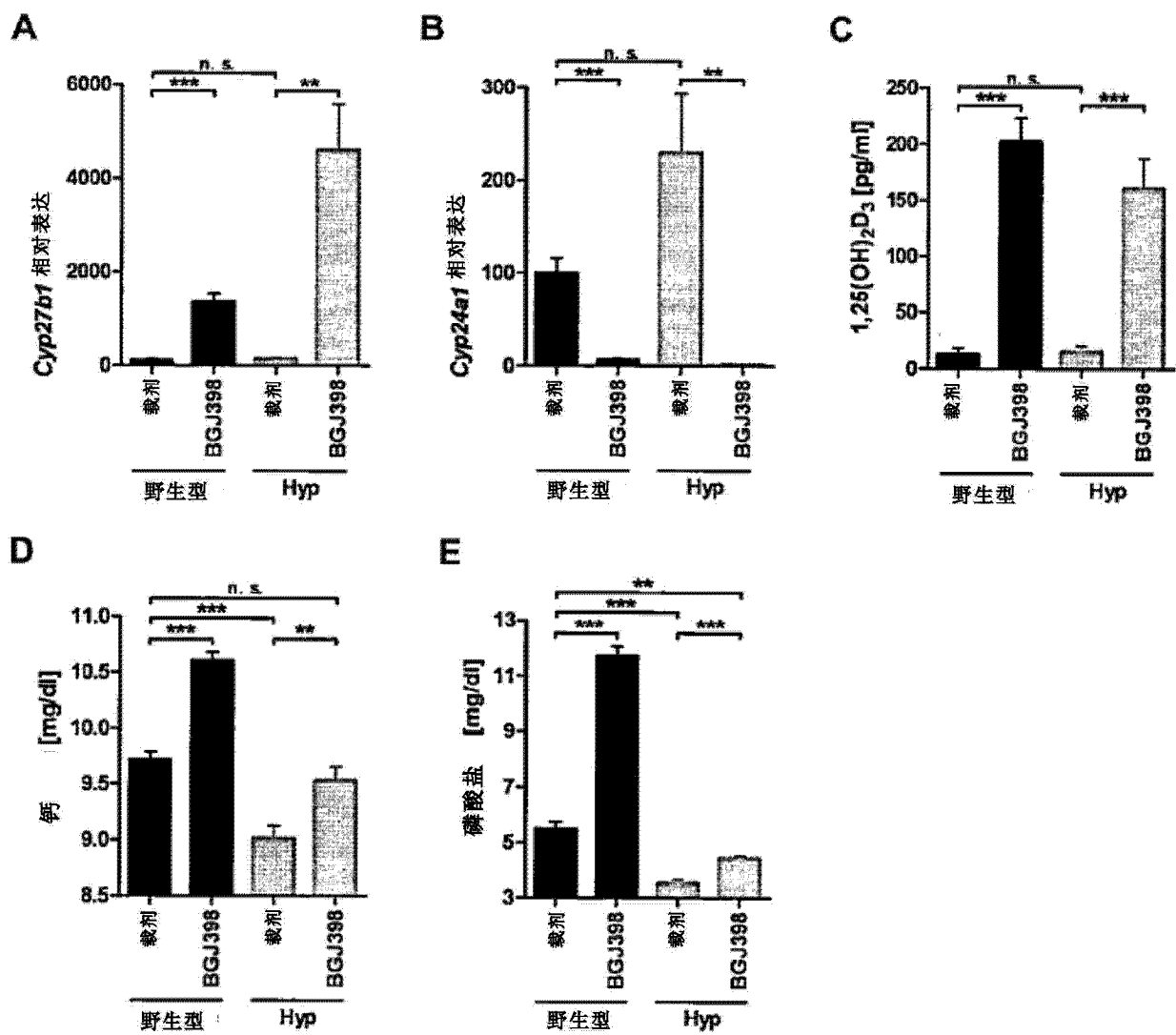


图 1

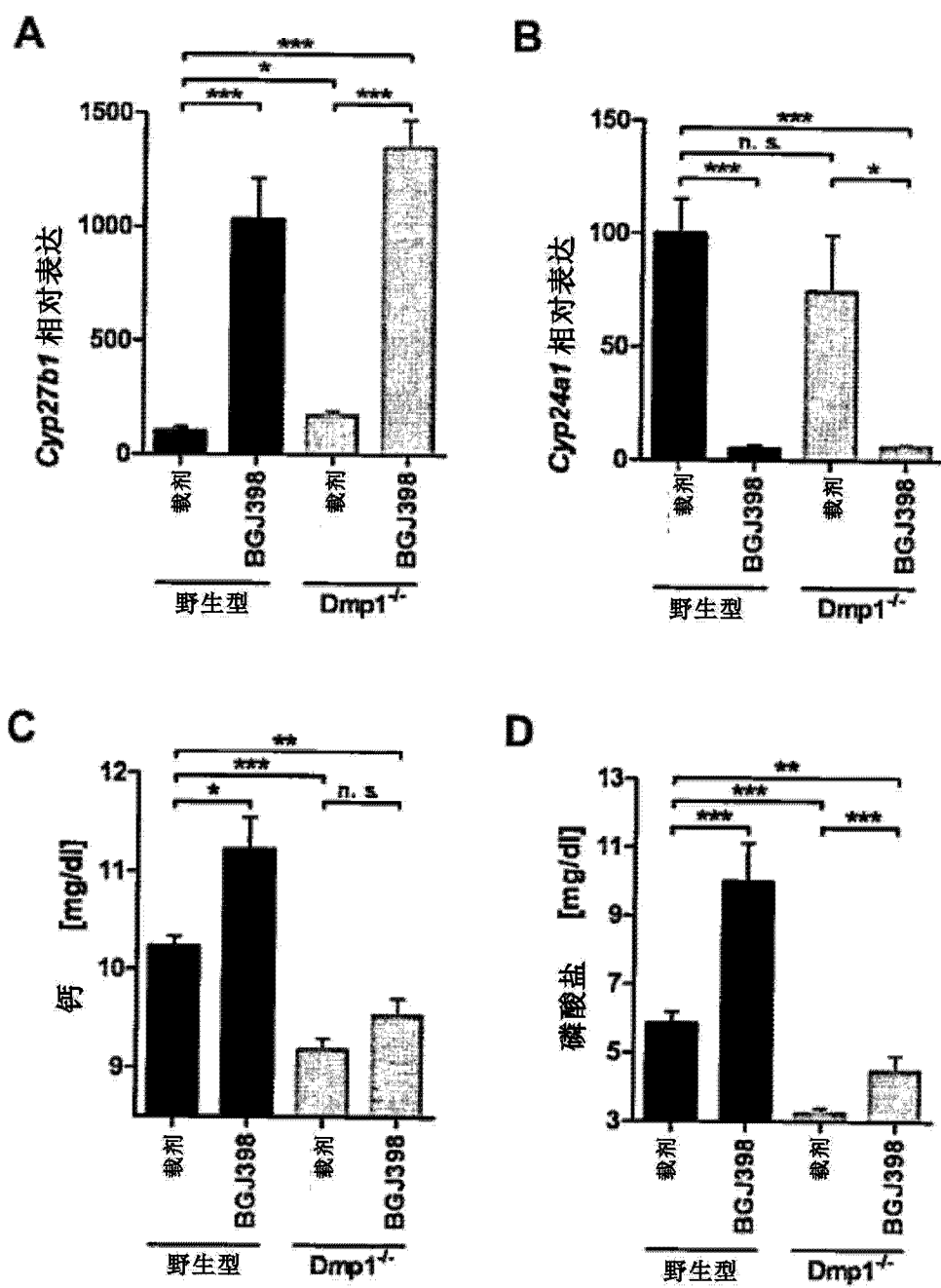


图 2

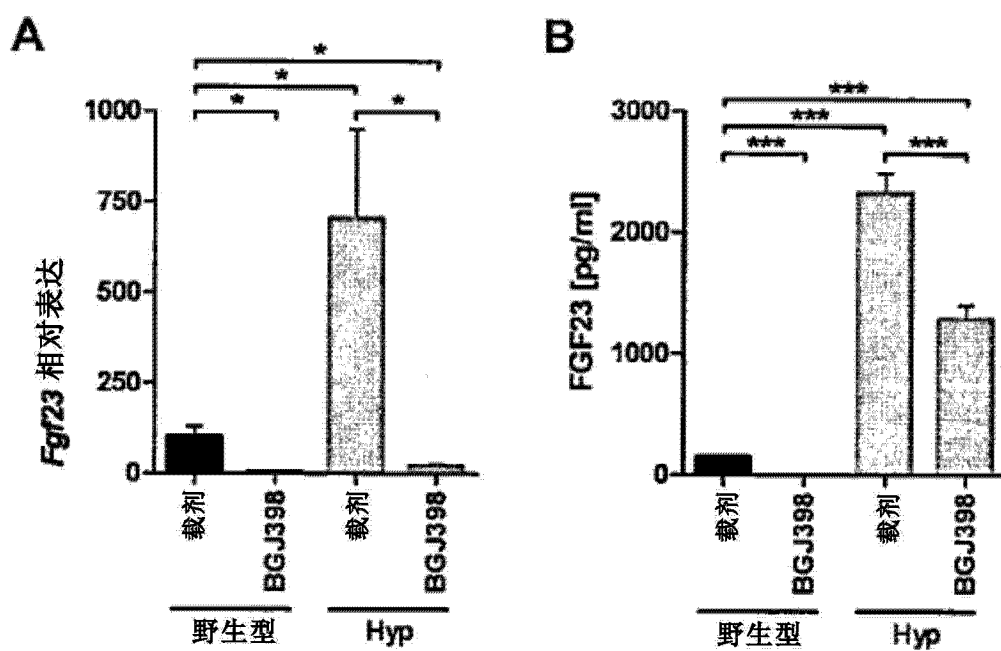


图 3

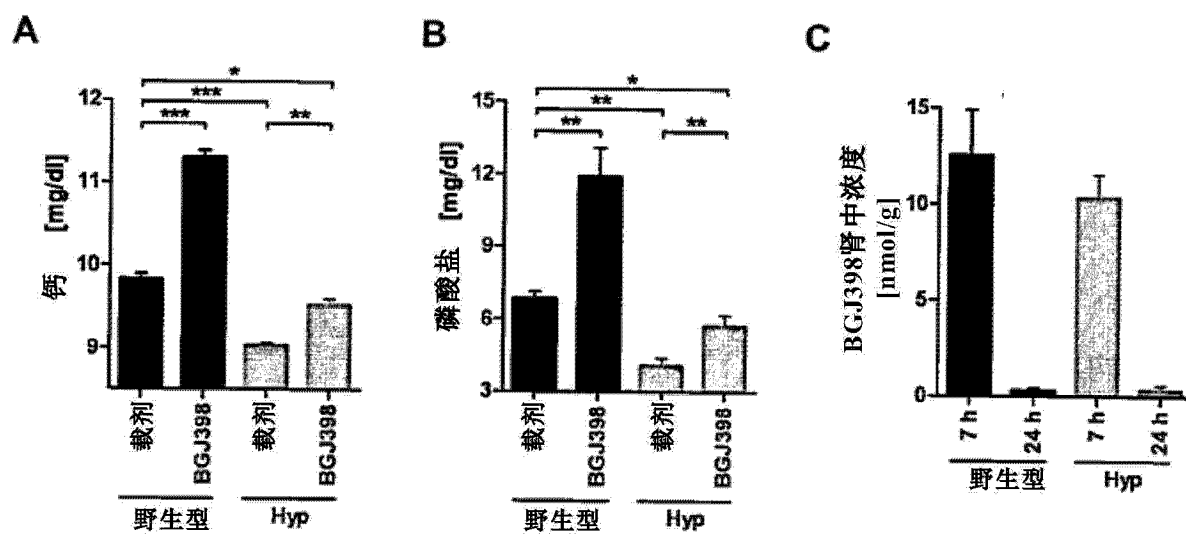


图 4

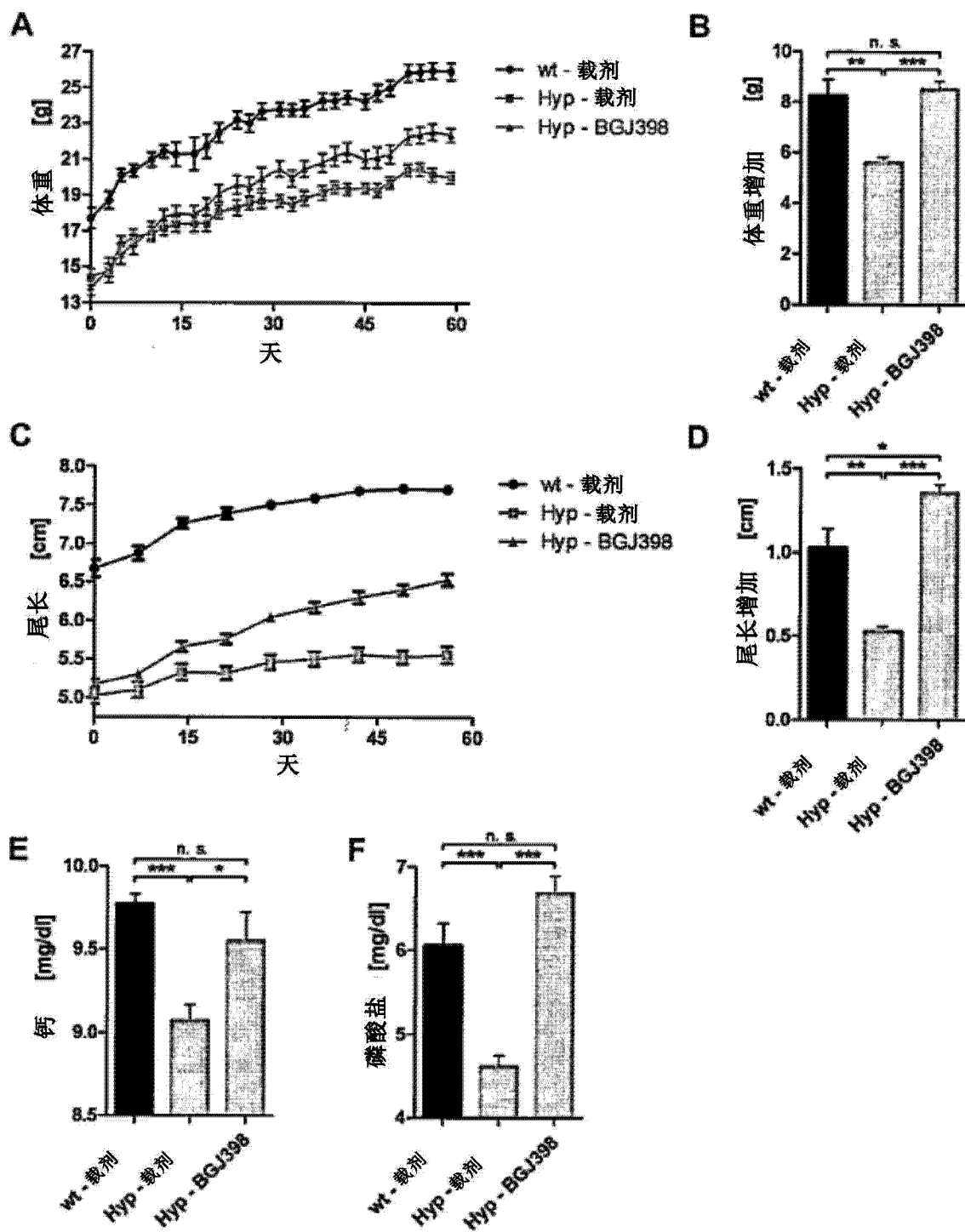


图 5

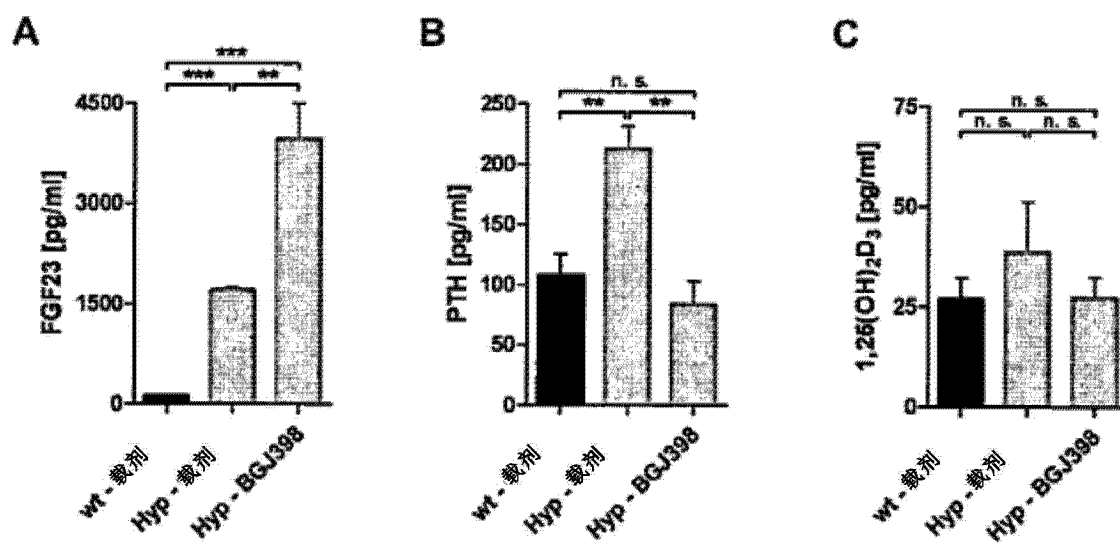


图 6

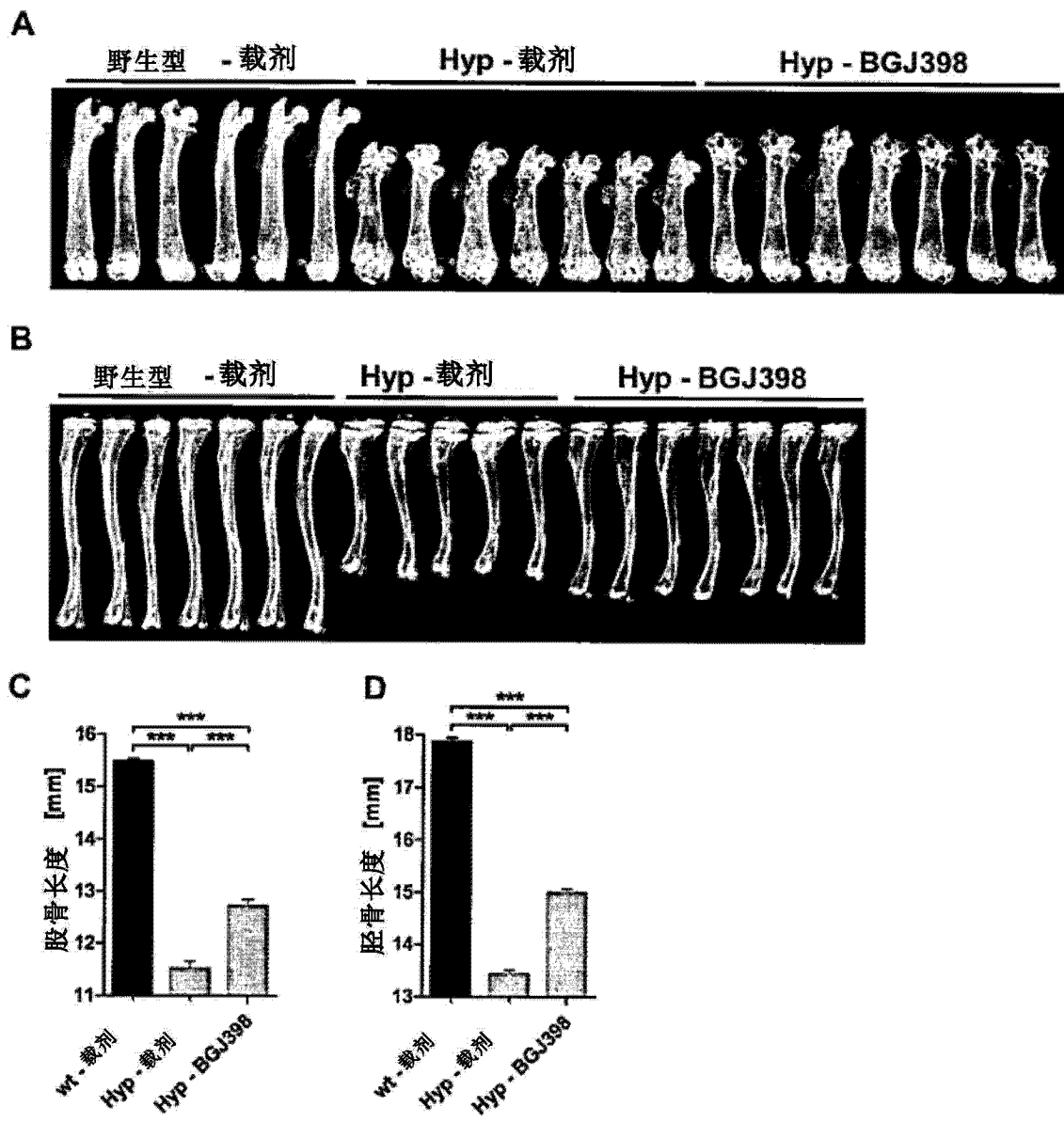


图 7

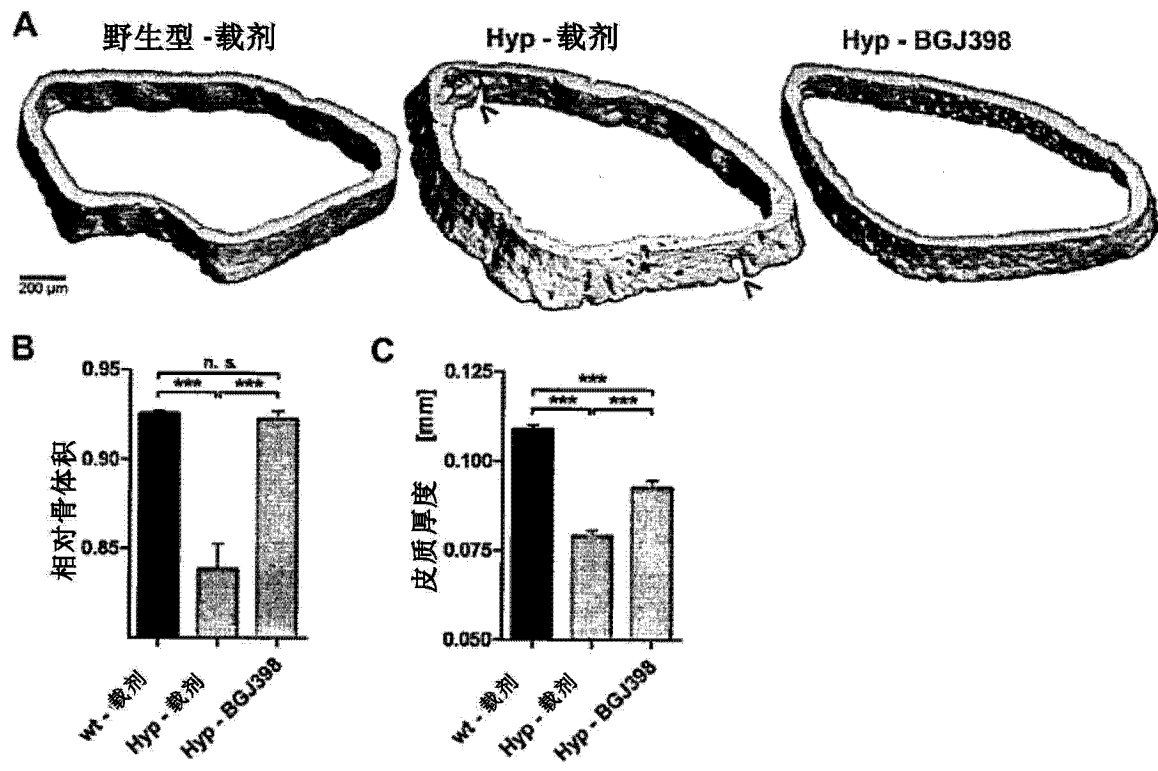


图 8

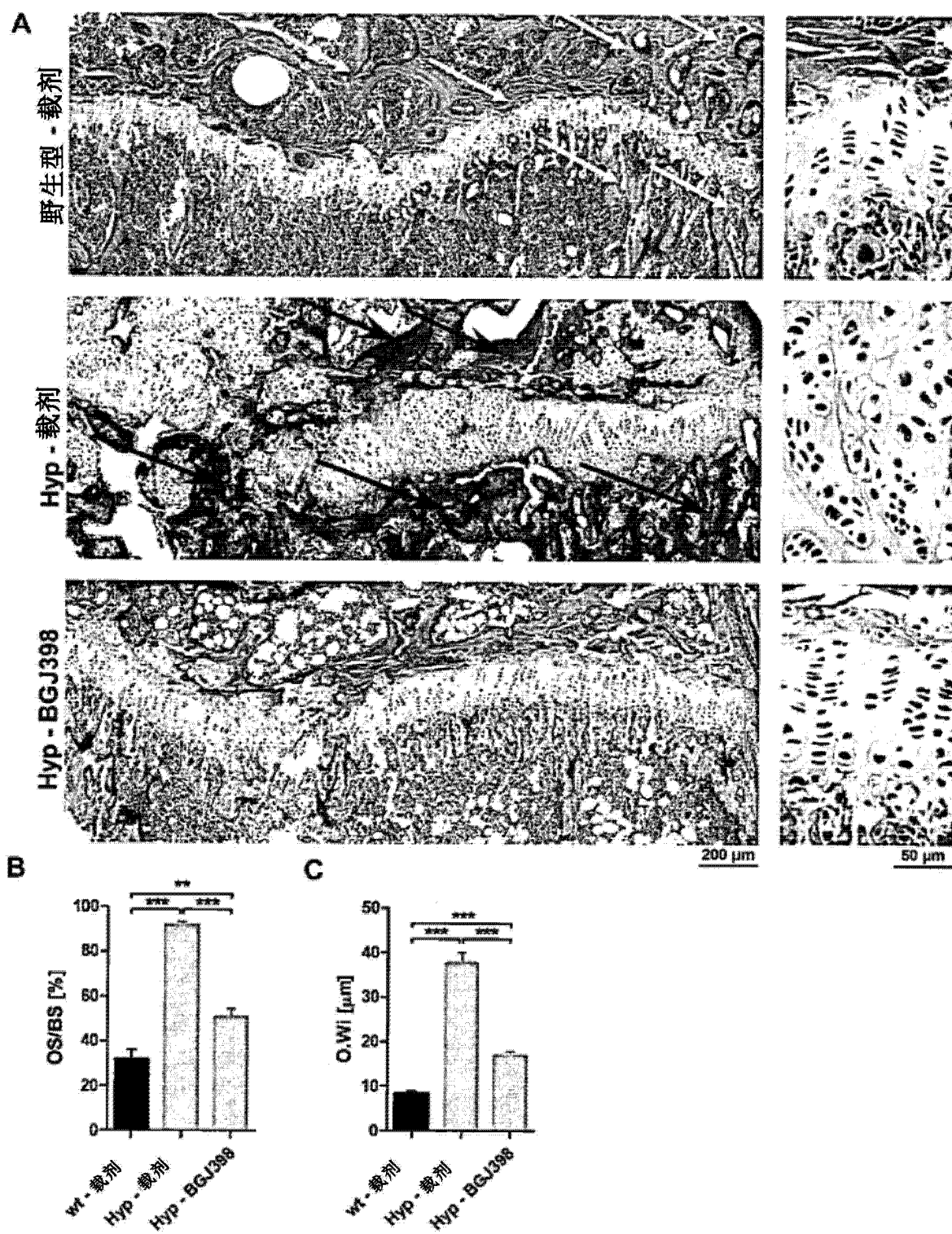


图 9