(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119487033 A
(43)申请公布日 2025.02.18

(21)申请号 202380050874.5
(22)申请日 2023.05.04
(30)优先权数据
63/338,264 2022.05.04 US
63/411,405 2022.09.29 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.12.30
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2023/020978 2023.05.04
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/215465 EN 2023.11.09
(71)申请人 耶鲁大学
地址 美国康涅狄格州
(72)发明人 M·菲尔德斯 D·霍耶
L·德尔普里奥勒 H·蔡
(74)专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245
专利代理师 张全信
(51)Int.Cl.
C07D 487/04(2006.01)
C07D 403/12(2006.01)
C07D 471/04(2006.01)
A61K 31/519(2006.01)

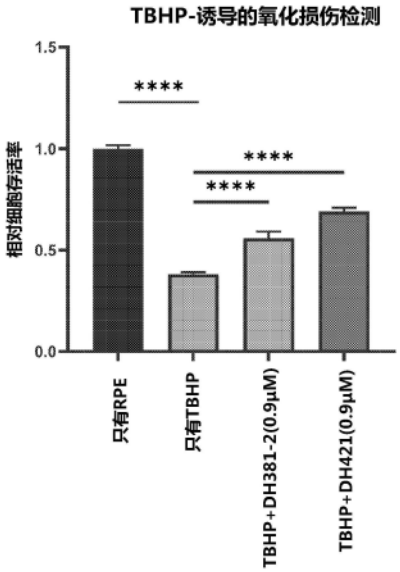
权利要求书9页 说明书36页 附图10页

(54)发明名称

取代的咪唑并吡啶和咪唑并嘧啶,以及它们治疗、改善和/或预防视网膜变性的用途

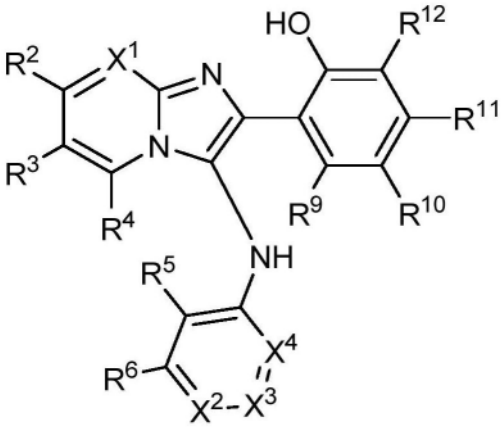
(57)摘要

本公开提供了一种治疗、改善和/或预防受试者视网膜变性的方法,诸如但不限于眼前段疾病和/或年龄相关性黄斑变性(AMD)。在某些实施方式中,该方法包括向受试者施用治疗有效量的本公开化合物。在某些实施方式中,本公开的化合物防止和/或最小化细胞攻击,如氧化应激相关的细胞攻击,和/或促进细胞存活。



CN 119487033 A

1.一种式(I)的化合物：



(I)

其中：

X^1为N或CR^1；

以下情况之一适用：

X^2是N,X^3是CR^7,以及X^4是CR^8,或

X^2是CR^7,X^3是N,以及X^4是CR^8,或

X^2是CR^7,X^3是CR^8,以及X^4是N；

R^1(如果存在)、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}和R^{12}独立地选自由H、CH_3、CH_2CH_3、$CH_2CH_2CH_3$、$CH(CH_3)_2$、F、Cl、Br和I组成的组；

或其盐、溶剂合物、互变异构体和/或立体异构体。

2.根据权利要求1所述的化合物,其中X^1是N。

3.根据权利要求1所述的化合物,其中X^1是CR^1。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中X^2是N,X^3是CR^7,以及X^4是CR^8。

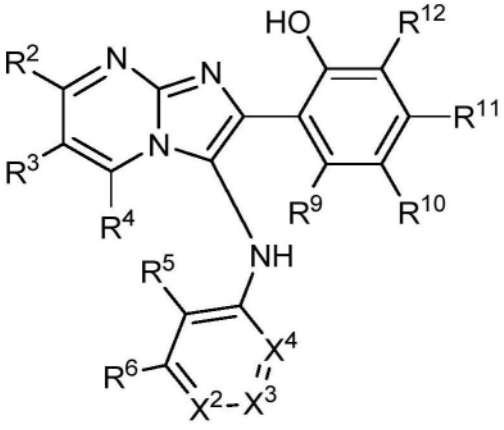
5.根据权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中X^2是CR^7,X^3是N,以及X^4是CR^8。

6.根据权利要求1至3中任一项所述的化合物,其中X^2是CR^7,X^3是CR^8,以及X^4是N。

7.根据权利要求1至6中任一项所述的化合物,其中R^{10}是Br。

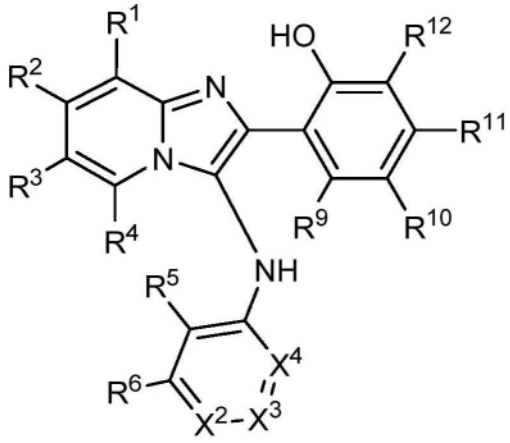
8.根据权利要求1至7中任一项所述的化合物,其中R^5、R^6、R^7和R^8是H。

9.根据权利要求1至8中任一项所述的化合物,其是式(Ia)的化合物：



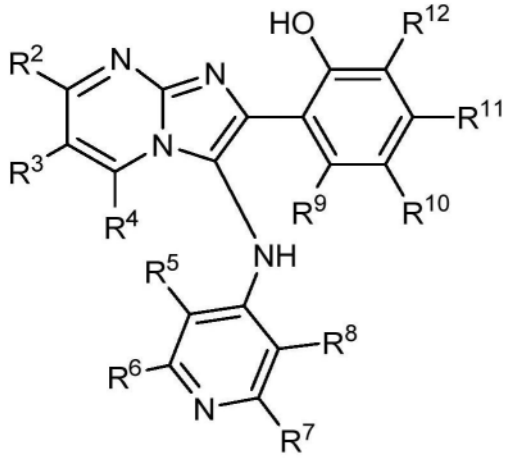
(Ia)。

10.根据权利要求1至8中任一项所述的化合物,其是式(Ib)的化合物：

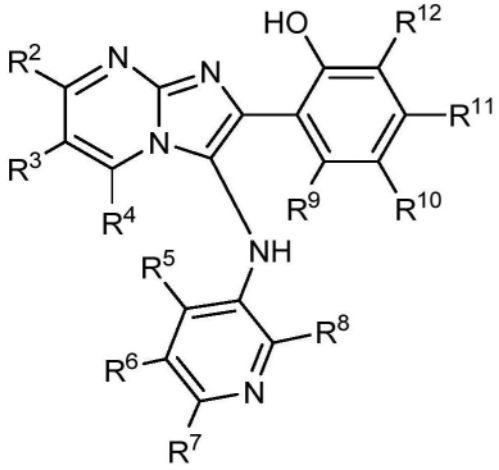


(Ib)。

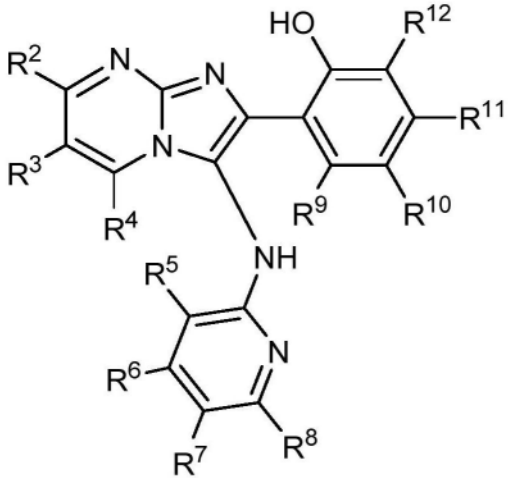
11.根据权利要求1至9中任一项所述的化合物,其选自由以下组成的组:



(Ia1),

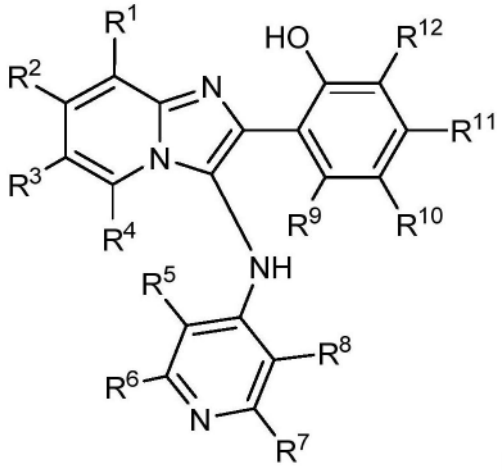


(Ia2)，和

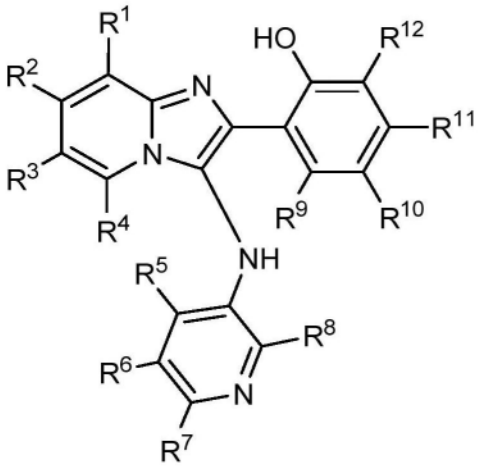


(Ia3)。

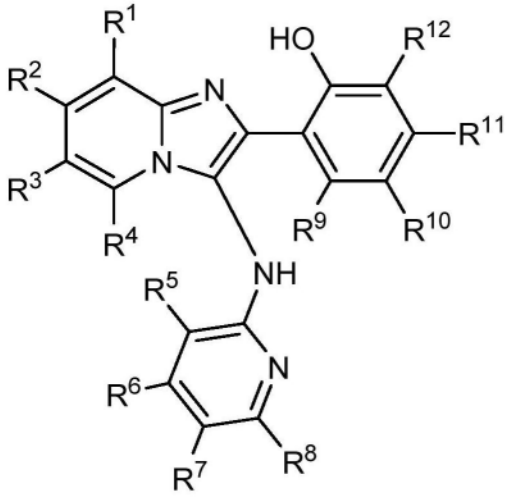
12.根据权利要求1至8和10中任一项所述的化合物,其选自由以下组成的组：



(Ib1)，

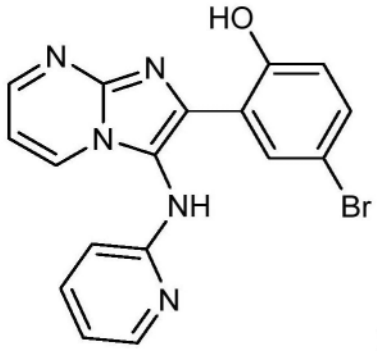


(Ib2)，和



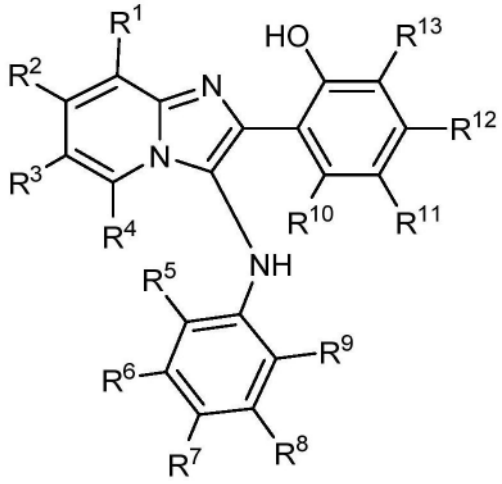
(Ib3)。

13.根据权利要求1至12中任一项所述的化合物,其是:



DH381-2。

14.一种式(II)的化合物:



(II),

其中:

R^1、R^2、R^3、R^4、R^6、R^7、R^8、R^{10}、R^{11}、R^{12}和R^{13}独立地选自由H、CH_3、CH_2CH_3、$CH_2CH_2CH_3$、$CH(CH_3)_2$、F、Cl、Br和I组成的组,

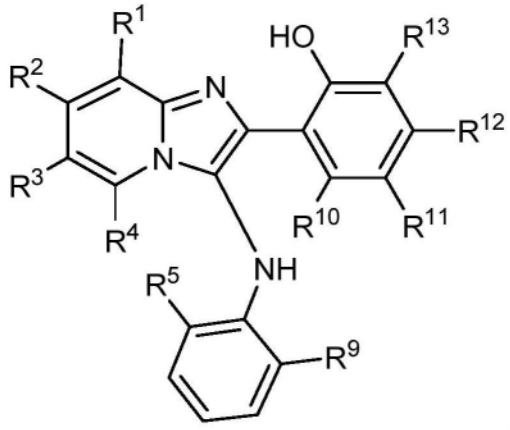
R^5和R^9独立地选自由CH_3、CH_2CH_3、$CH_2CH_2CH_3$、$CH(CH_3)_2$、F、Cl、Br和I组成的组;

或其盐、溶剂合物、互变异构体和/或立体异构体。

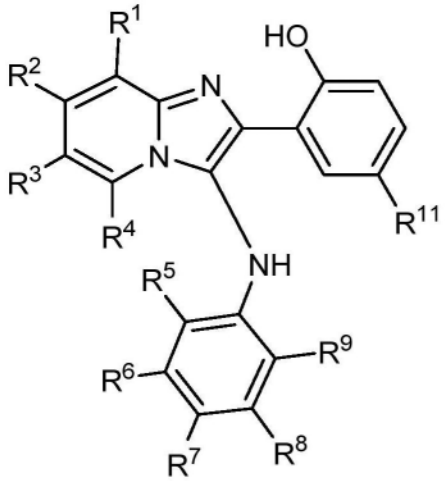
15.根据权利要求14所述的化合物,其中R^{11}是Br。

16.根据权利要求14至15中任一项所述的化合物,其中R^6、R^7和R^8是H。

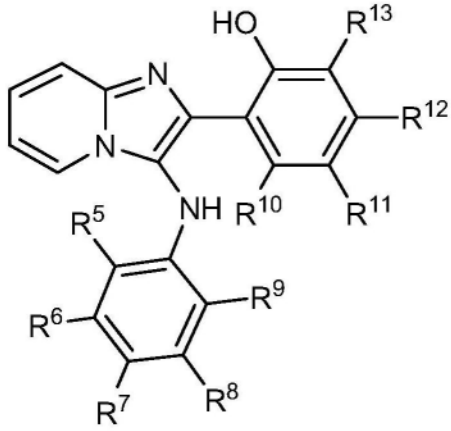
17.根据权利要求14至16中任一项所述的化合物,其选自由以下组成的组:



(IIa),

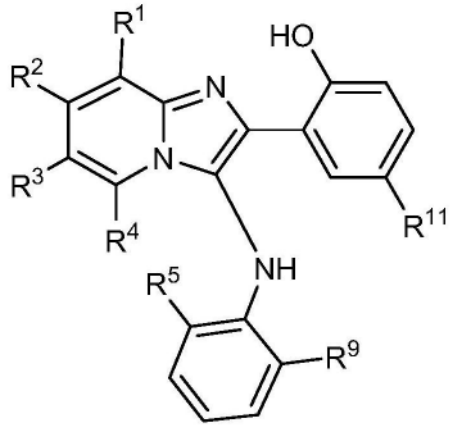


(IIb)，和

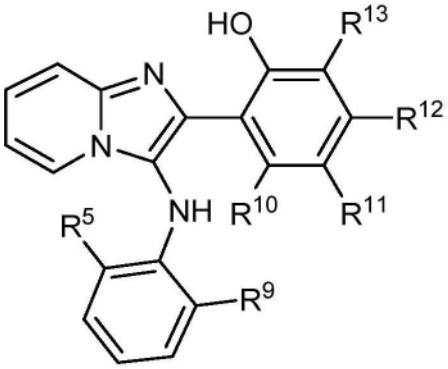


(IIc)。

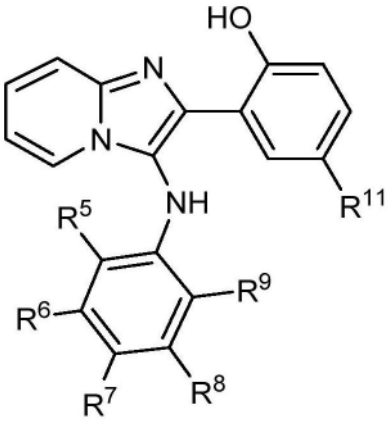
18.根据权利要求14至17中任一项所述的化合物,其选自由以下组成的组：



(IId)；

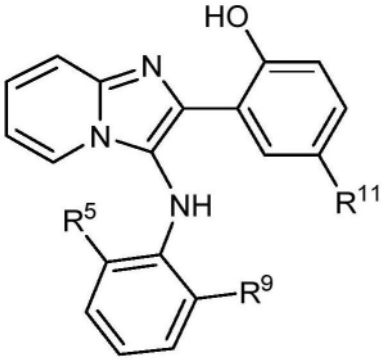


(IIe)；和



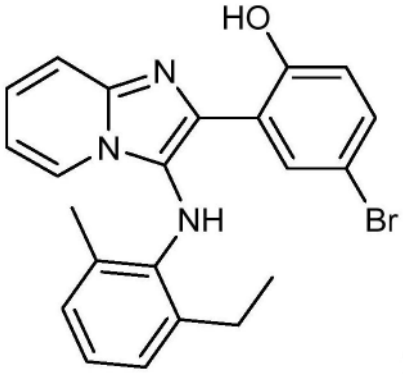
(IIf)。

19.根据权利要求14至18中任一项所述的化合物,其是：



(IIg)。

20.根据权利要求14至19中任一项所述的化合物,其是：



DH421。

21.一种治疗、改善和/或预防受试者视网膜变性的方法,所述方法包括向受试者施用治疗有效量的权利要求1-20中任一项所述的化合物。

22.根据权利要求21所述的方法,其中所述视网膜变性包括年龄相关性黄斑变性(AMD)。

23.根据权利要求21所述的方法,其中所述视网膜变性包括“干性”AMD。

24.一种治疗、改善和/或预防受试者眼前段障碍的方法,所述方法包括向受试者施用治疗有效量的权利要求1-20中任一项所述的化合物。

25.根据权利要求24所述的方法,其中所述障碍包括选自由福斯氏角膜内皮营养不良、白内障、青光眼和圆锥角膜组成的组中的至少一种。

26.一种在受试者中治疗、改善和/或预防细胞死亡和/或促进细胞存活的方法,所述方法包括向受试者施用治疗有效量的权利要求1-20中任一项所述的化合物。

27.根据权利要求26所述的方法,其中所述细胞死亡包括氧化应激诱导的细胞死亡。

28.根据权利要求26所述的方法,其中所述细胞包括晶状体上皮细胞。

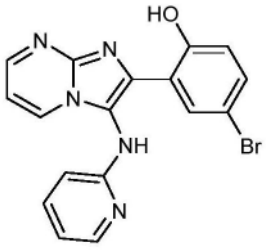
29.根据权利要求26所述的方法,其中所述细胞死亡与选自由心力衰竭和其他心血管疾病;肺纤维化、肾脏疾病、糖尿病性黄斑水肿和视网膜病变、神经退行性疾病、线粒体肌病、Barth综合征和肝病组成的组的至少一种疾病有关。

30.一种治疗、改善和/或预防受试者晶状体上皮细胞中蓝光损伤的方法,所述方法包括向受试者施用治疗有效量的权利要求1-20中任一项所述的化合物。

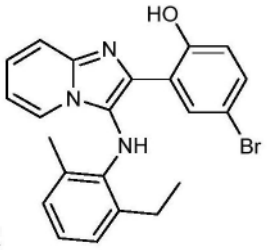
31.根据权利要求21-30中任一项所述的方法,其中所述化合物配制在药学上可接受的组合物中,所述组合物进一步包括至少一种药学上可接收的赋形剂。

32.根据权利要求21-28和30-31中任一项所述的方法,其中所述化合物通过眼部施用。

33.根据权利要求21-32中任一项所述的方法,其中所述化合物是以下之一:



DH381-2



DH421。

34.一种药物组合物,其包括权利要求1-20中任一项所述的化合物和至少一种药学上可接受的赋形剂。

35.根据权利要求34所述的药物组合物,其配制用于眼部施用。

36.根据权利要求34-35中任一项所述的药物组合物,其包括gamma-环糊精(γ-环糊精)。

37.根据权利要求34-36中任一项所述的药物组合物,其pH为约5-8。

38.根据权利要求34-37中任一项所述的药物组合物,其被冻干。

39.根据权利要求34-38中任一项所述的药物组合物,其进一步包括增稠剂。

取代的咪唑并吡啶和咪唑并嘧啶,以及它们治疗、改善和/或预防视网膜变性的用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 根据35U.S.C.§119(e),本申请要求2022年5月4日提交的美国临时专利申请第63/338,264号和2022年9月29日提交的第63/411,405号的优先权,所有这些申请的全部内容均通过引用并入本文。

背景技术

[0003] 视网膜变性是导致世界范围内无法治愈的失明的主要原因。这种疾病有多种形式,包括视网膜色素变性(RP),其已知由约200种不同的基因缺陷引起;无脉络膜症;青光眼中的视网膜神经节细胞萎缩;以及年龄相关性黄斑变性(AMD),它是导致老年患者失明的主要原因,仅在美国就有800多万人受到影响。鉴于视网膜变性患者人数众多,并且老龄化人口迅速增加,预计未来受这些障碍影响的患者人数还会增加。

[0004] 除了年龄相关性眼病研究(Age-Related Eye Disease Study)推荐的维生素和抗氧化剂外,目前还没有针对90%的“干性”或萎缩性AMD的AMD患者的有效疗法。上述其他视网膜变性也没有已知的治疗方法。需要减慢或延缓视网膜障碍的发展和进展的治疗方法。举个具体的例子,需要开发有效的策略来限制地理性萎缩(GA)的进展,并防止从干性进展为湿性AMD。仅美国、英国、德国、法国、西班牙、意大利和日本的AMD治疗市场价值就翻一番,从2015年的53亿美元增至2023年的101亿美元。

[0005] 视网膜色素上皮(RPE)细胞对正常功能的神经感觉视网膜至关重要。这些细胞组成RPE-布鲁赫(Bruch)膜-脉络膜复合体的一部分,并且执行维持视力的重要功能,包括光感受器外段的吞噬、类维生素A的加工以及如血管内皮生长因子(VEGF)和色素上皮衍生因子(PEDF)等因子的极化分泌。

[0006] RPE细胞中年龄相关性变化是早期AMD的标志,并导致与晚期AMD相关的病理和视觉发病率。氧化应激是导致这些变化的因素,也与其他以衰老为风险因素的疾病有关,包括阿尔茨海默病和帕金森病。此外,孟德尔障碍(如大多数形式的RP)也会因氧化应激的存在而加速,导致神经感觉视网膜(如光感受器)变性。体外和体内研究表明,氧化应激会加速RP动物模型中视锥光感受器的死亡。

[0007] 包括角膜、晶状体和小梁网等的眼前段疾病是全球失明的主要原因。氧化应激和线粒体功能与这些眼前段疾病有关,包括但不限于福斯氏角膜内皮营养不良(FECD)、白内障、青光眼和圆锥角膜。

[0008] 年龄相关性角膜内皮细胞变化是FECD的标志,并导致病理和视觉发病率。FECD是一种进行性双侧疾病,以角膜内皮细胞(CEC)的逐渐丧失为特征。CEC的丧失会损害角膜维持水合作用的能力,并导致角膜透明度逐渐降低,进而导致视力下降。据估计,约有4%的人口受到FECD的影响,其中大部分人在40岁和50岁之间。CEC是一种高代谢细胞类型,暴露在阳光下和缺乏CEC自然再生的显著能力使它们容易出现线粒体功能障碍和氧化损伤。FECD角膜中氧化应激的增加导致内皮氧化DNA损伤、形态改变和CEC细胞凋亡。

[0009] 年龄相关性白内障是导致老年人视力丧失的主要原因,影响了全球1.8亿视力残疾人中的约46%。晶状体上皮细胞中年龄相关性变化是白内障形成的标志,并导致病理和视觉发病率。如紫外线和过氧化氢等因素会造成氧化应激增加,两者都是白内障发展的风险因素。目前,唯一有效的治疗方法是摘除白内障晶状体,然后植入人工晶状体(IOL)。然而,这种手术本身存在一些术后并发症的内在风险,如刺激慢性炎症、囊性黄斑水肿、角膜水肿、眼内炎、视网膜脱离、玻璃体出血和其他障碍。此外,在发展中国家,手术设施不足和人工IOL价格昂贵也是治疗的主要限制因素。

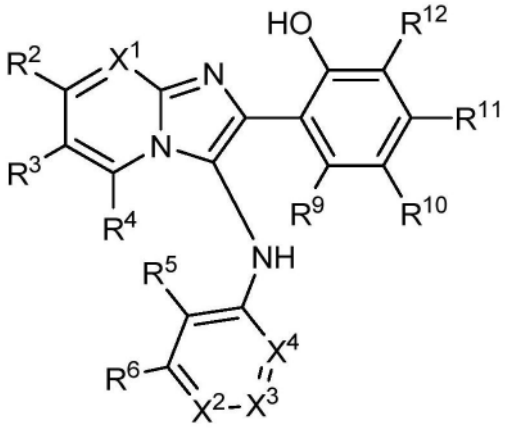
[0010] 圆锥角膜是年轻人中角膜移植的主要原因,约占所有移植的25%。慢性角膜细胞凋亡,尤其是前基质角膜细胞凋亡,可导致圆锥角膜中基质变薄。氧化应激是导致圆锥角膜发病的关键因素之一。

[0011] 氧化应激,包括小梁网细胞的氧化损伤,与青光眼的发病机制有关。已表明,氧化DNA损伤与每日平均、最低和最高眼内压(IOP)值之间存在统计学意义上显著相关性。

[0012] 因此,有必要采取早期干预措施来保护或挽救RPE,因为这种干预措施将有益于治疗、改善和/或预防疾病进展。此外,还需要用于治疗、改善和/或预防眼前段障碍(例如但不限于FECD、白内障、青光眼和/或圆锥角膜)的组合物和方法。本公开解决了这一需求。

发明内容

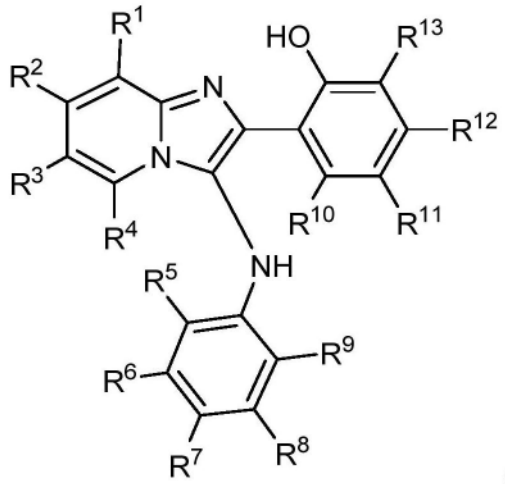
[0013] 在一个方面,本公开提供了式(I)的化合物,以及包括该化合物的组合物:

[0014] 

(I)

[0015] 其中变量R^2-R^6、R^9-R^{12}和X^1-X^4在本文其他地方定义。

[0016] 在另一个方面,本公开提供了式(II)的化合物,以及包括该化合物的组合物:

[0017] 

(II)

[0018] 其中变量R^1-R^{13}在本文的其他地方定义。

[0019] 在还另一个方面,本公开提供了一种治疗、改善和/或预防受试者视网膜变性的方法。在某些实施方式中,该方法包括向受试者施用治疗有效量的本公开的化合物和/或组合物。

[0020] 在还另一个方面,本公开提供了一种治疗、改善和/或预防受试者眼前段障碍的方法。在某些实施方式中,该方法包括向受试者施用治疗有效量的本公开的化合物和/或组合物。

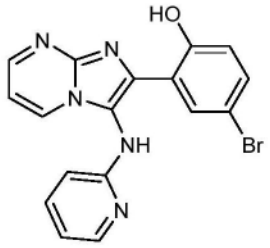
[0021] 在还另一个方面,本公开提供了一种治疗、改善和/或预防细胞死亡和/或促进细胞存活的方法。在某些实施方式中,该方法包括向受试者施用治疗有效量的本公开的化合物和/或组合物。

[0022] 在还另一个方面,本公开提供了一种治疗、改善和/或预防受试者晶状体上皮细胞蓝光损伤的方法。在某些实施方式中,该方法包括向受试者施用治疗有效量的本公开的化合物和/或组合物。

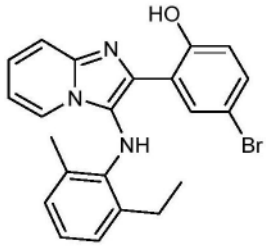
附图说明

[0023] 当结合附图阅读时,将更好地理解本公开的说明性实施方式的以下详细描述。为了示出本公开,附图中展示了具体的实施方式。然而,应当理解的是,本公开不限于附图中所示的实施方式的精确布置和工具。

[0024] 图1:DH381-2(4-溴-2-(3-(吡啶-2-基氨基)咪唑并[1,2-a]嘧啶-2-基)苯酚)和DH421(4-溴-2-(3-((2-乙基-6-甲基苯基)氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)苯酚)保护人视网膜色素上皮(RPE)细胞免受氧化应激诱导的细胞死亡。将人ARPE-19细胞(CRL-2302;美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection))与0.9μM的DH381-2和DH421预孵育24小时,然后暴露于300μM的叔丁基过氧化氢(TBHP)中24小时以诱导细胞死亡。DH381-2和DH421在暴露于TBHP后显著提高了人ARPE-19细胞的细胞存活率。****$p<0.0001$。

[0025] 

DH381-2



DH421

[0026] 图2:DH421保护人视网膜色素上皮(RPE)细胞免受氧化应激诱导的细胞死亡。将人ARPE-19细胞(CRL-2302;美国典型培养物保藏中心)与0.9μM的DH421预孵育24小时,然后暴露于250μM的叔丁基过氧化氢(TBHP)中24小时以诱导细胞死亡。DH421在暴露于TBHP后显著提高了人ARPE-19细胞的细胞存活率,并对细胞生长抑制没有影响。****p<0.0001。

[0027] 图3:DH421和DH381-2保护人视网膜色素上皮(RPE)细胞免受氧化应激诱导的细胞死亡。将人ARPE-19细胞(CRL-2302;美国典型培养物保藏中心)与0.6μM的DH421或DH381-2化合物预孵育24小时,然后暴露于300μM叔丁基过氧化氢(TBHP)中24小时以诱导细胞死亡。对用DH421和DH381-2处理的人ARPE-19细胞有保护作用。****p<0.0001。

[0028] 图4:DH421和DH381-2保护人视网膜色素上皮(RPE)细胞免受蓝光损伤。将人ARPE-19细胞(CRL-2302;美国典型培养物保藏中心)与0.6μM的DH421或DH381-2化合物预孵育24小时,然后暴露于蓝光(156.7LUX,36小时)。化合物DH421或DH381-2对暴露于蓝光(156.7LUX,36小时)的人ARPE-19细胞有保护作用。对照=未使用化合物。*p<0.05,***p<0.01。

[0029] 图5:用化合物DH421或DH381-2处理增强了亚硝酸盐修饰的细胞外基质(ECM)上的人视网膜色素上皮(RPE)细胞存活率。用1μM、3μM和10μM的化合物DH421或DH381-2处理人ARPE-19细胞(CRL-2302;美国典型培养物保藏中心),然后将其接种到亚硝酸盐修饰的ECM和未处理的(正常)ECM上24小时。化合物DH421或DH381-2对接种在亚硝酸盐修饰的ECM上的人ARPE-19细胞有保护作用。*p<0.05,**p<0.01。

[0030] 图6:DH421或DH381-2保护人视网膜色素上皮(RPE)细胞免受氧化应激诱导的细胞死亡。将人RPE细胞与0.6μM的化合物DH421或DH381-2预孵育24小时,然后暴露于300μM的叔丁基过氧化氢(TBHP)中24小时以诱导细胞死亡。对DH421和DH381-2处理的人RPE细胞有保护作用。****p<0.0001。

[0031] 图7:DH421和DH381-2保护人视网膜色素上皮(RPE)细胞免受蓝光损伤。将人RPE细胞与0.6μM的化合物DH421或DH381-2预孵育24小时,然后暴露于蓝光(156.7LUX,36小时)。化合物DH421或DH381-2对暴露于蓝光(156.7LUX,36小时)的人RPE细胞有保护作用。对照=无化合物。*p<0.05,***p<0.01。

[0032] 图8:用化合物DH421或DH381-2处理增强了亚硝酸盐修饰的细胞外基质(ECM)上的人视网膜色素上皮(RPE)细胞存活率。用1μM的化合物DH421或DH381-2处理人RPE细胞,然后将其接种到亚硝酸盐修饰的ECM和未处理的(正常)ECM上24小时。化合物DH421或DH381-2对接种在亚硝酸盐修饰的ECM上的RPE细胞有保护作用。*p<0.05。

[0033] 图9A-9B:DH381-2和DH421改善了人视网膜色素上皮(RPE)细胞中氧化应激诱导的细胞死亡后的线粒体功能。将人RPE细胞与1μM的化合物DH381-2和DH421预孵育18小时,然后用300μM的叔丁基过氧化氢(TBHP)处理24小时。通过Seahorse XF分析仪测定耗氧率

(OCR),以测量线粒体功能。与对照组相比,TBHP处理的细胞中ATP的产生显著降低,然而当与TBHP处理组相比,化合物DH381-2或DH421处理增加了ATP的产生。**p<0.001。

[0034] 图10:用化合物DH381-2和DH421处理后,人视网膜色素上皮(RPE)细胞的细胞毒性水平不受影响。将人RPE细胞与1μM的化合物DH381-2和DH421预孵育24小时。用TBHP和化合物DH381-2和DH421处理后,通过CellTox Green细胞毒性检测测量人RPE细胞中的细胞毒性。

具体实施方式

[0035] 定义

[0036] 现在将详细提及所公开主题的某些实施方式,其实例在附图中部分示出。虽然所公开的主题将结合所列举的权利要求进行描述,但可以理解的是,举例说明的主题无意将权利要求限制在所公开的主题上。

[0037] 在本文描述的方法中,除了明确叙述的时间或操作顺序外,行为可以以任何顺序进行。此外,特定的行为可以同时进行,除非明确的权利要求语言规定它们可以分别进行。例如,权利要求中的X操作和权利要求中的Y操作可以在单次操作中同时进行,由此产生的方法将属于权利要求流程的字面范围内。

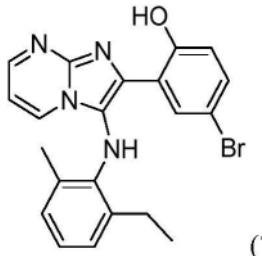
[0038] 在本文件中,以范围格式表示的数值应以灵活的方式解释,不仅包括明确叙述为范围界限的数值,还包括该范围所包含的所有单个数值或子范围,如同明确叙述了每个数值和子范围一样。例如,“约0.1%至约5%(about 0.1%to about 5%)”或“约0.1%至5%(about0.1%to 5%)”的范围不仅应解释为包括约0.1%至约5%,还应解释为包括单个数值(例如,1%、2%、3%和4%)和指定范围内的子范围(例如,0.1%至0.5%、1.1%至2.2%、3.3%至4.4%)。除非另有说明,表述“约X至Y(about X to Y)”与“约X至约Y(about X to about Y)”含义相同。同样,除非另有说明,表述“约X、Y或约Z(about X,Y,or about Z)”与“约X、约Y或约Z(about X,about Y,or about Z)”具有相同的含义。

[0039] 在本文件中,除非上下文另有明确规定,术语“一(a)”、“一(an)”或“所述(the)”用于包括一个或多个。除非另有说明,“或(or)”用于指非排他性的“或”。表述“A和B中至少一个(at least one of Aand B)”或“A或B中至少一个(at least one of Aor B)”与“A、B或A和B(A,B,or Aand B)”具有相同的含义。此外,应理解的是,本文所使用的短语或术语,如无其他限定,仅用于描述而非限制。任何章节标题的使用都是为了帮助阅读本文件,而不应被解释为限制;与章节标题相关的信息可能出现在该特定章节之内或之外。本文件中提及的所有出版物、专利和专利文件其全文均通过引用并入本文,如同通过引用单独并入一样。

[0040] 当提及可测量值(如量、持续时间等)时,本文使用的“约(about)”是指与指定值相差±20%或±10%,更优选地±5%,甚至更优选地±1%,还更优选地±0.1%的变化,因为这些变化适合执行所公开的方法。

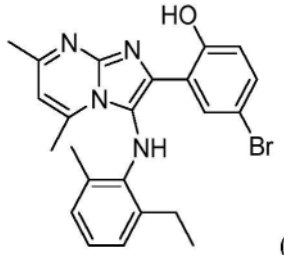
[0041] 如果疾病或障碍症状的严重程度、患者出现这种症状的频率或两者都降低,则疾病或障碍得到“缓解(alleviated)”。

[0042] 如本文所用,“化合物414”或“YU162779-01”是指ChemDiv库化合物编号C325-0414,或其盐和/或溶剂合物,其具有式:

[0043] 

(7)

[0044] 如本文所用,“化合物434”或“YU162787-01”是指ChemDiv库化合物编号C325-0434,或其盐和/或溶剂合物,其具有式:

[0045] 

(6)

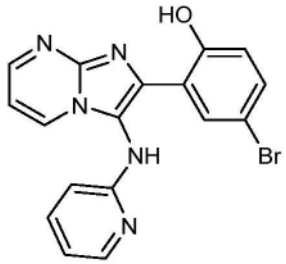
[0046] 如本文所用,术语“组合物(composition)”或“药物组合物(pharmaceutical composition)”是指本公开中使用的至少一种化合物与药学上可接受的载体的混合物。该药物组合物有助于向患者或受试者施用该化合物。本领域存在多种施用化合物的技术,包括但不限于静脉内、口服、气雾剂、肠胃外、眼睛(包括但不限于局部、结膜下、Tenon下、脉络膜上、玻璃体内或视网膜下)、肺部和局部施用。

[0047] “疾病(disease)”是指动物的一种健康状态,其中动物无法维持体内平衡,并且如果疾病没有得到改善,那么动物的健康状况就会继续恶化。

[0048] 相比之下,动物中的“障碍(disorder)”是一种健康状态,在这种状态下,动物能够保持体内平衡,但动物的健康状态不如没有障碍的情况下好。如果不治疗,障碍不一定会导致动物健康状况的进一步下降。

[0049] 如果疾病或障碍的症状严重程度、患者经历此类症状的频率或两者都降低,则疾病或障碍“缓解(alleviated)”。

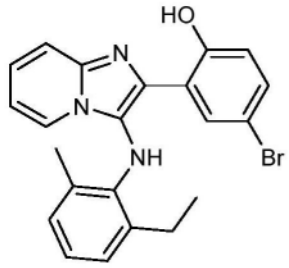
[0050] 如本文所用,术语“DH381-2”对应于4-溴-2-(3-(吡啶-2-基氨基)咪唑并[1,2-a]嘧啶-2-基)苯酚,或其盐和/或溶剂合物:

[0051] 

DH381-2

[0052] $C_{17}H_{12}BrN_5O$,分子量为382.21,以及单同位素质量为381.022。质谱分析:m/z=381。

[0053] 如本文所用,术语“DH421”对应于4-溴-2-(3-((2-乙基-6-甲基苯基)氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)苯酚,或其盐和/或溶剂合物:

[0054] 

DH421

[0055] $C_{22}H_{20}BrN_3$,分子量为422.318,以及单同位素质量为421.079。质谱分析:m/z[M+H]=422。

[0056] 如本文所用,术语“有效量(effective amount)”、“药学有效量(pharmaceutically effective amount)”和“治疗有效量(therapeutically effective amount)”是指无毒但足够量的试剂,以提供期望的生物结果。该结果可能是疾病的体征、症状或病因的减少和/或缓解,或生物系统的任何其他期望的改变。本领域普通技术人员可以使用常规实验来确定在任何个体情况下适当的治疗量。

[0057] 除非上下文另有明确指示,否则本文使用的术语“独立选自(independently selected from)”或“独立选自由……组成的组(independently selected from the group consisting of)”是指相同、不同或其混合的所指组。因此,在该定义下,短语“X^1、X^2和X^3独立地选自惰性气体(X^1,X^2,and X^3 are independently selected from noble gases)”将包括以下情况:例如,其中X^1、X^2、X^3都是相同的,其中X^1、X^2、X^3都不同,其中X^1和X^2相同但X^3不同,以及其他类似的排列。

[0058] 术语“患者(patient)”、“受试者(subject)”、“个体(individual)”等在本文中可互换使用,并指任何动物或其细胞,无论是体外还是原位,都适用于本文所述的方法。在某些非限制性实施方式中,患者、受试者或个体是人类。

[0059] 如本文所用,术语“药学上可接受的(pharmaceutically acceptable)”是指材料,如载体或稀释剂,其不会消除化合物的生物活性或性质,并且相对无毒,即该材料可以施用给个体而不会引起不期望的生物效应,也不会以有害的方式与其所含的组合物任何成分相互作用。

[0060] 如本文所用,术语“药学上可接受的载体(pharmaceutically acceptable carrier)”是指药学上可接受的材料、组合物或载体,如液体或固体填充剂、稳定剂、分散剂、底物、悬浮剂、稀释剂、赋形剂、增稠剂、溶剂或封装材料,它们参与携带或运输本公开中有用的化合物到患者体内或给患者,使其可以发挥预期功能。通常,此类构建物会从身体的一个器官或部分被携带或运输到身体的另一个器官或部分。每种载体都必须是“可接受的(acceptable)”,即与制剂中的其他成分(包括本公开中有用的化合物)相容,并且不会对患者造成伤害。可作为药学上可接受的载体的材料的一些实例包括:糖,如乳糖、葡萄糖和蔗糖;淀粉,如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素及其衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素;粉末状黄蓍胶;麦芽;明胶;滑石粉;赋形剂,如可可脂和栓剂蜡;油,如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;二醇,如丙二醇;多元醇,如甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇;酯类,如油酸乙酯和月桂酸乙酯;琼脂;缓冲剂,如氢氧化镁和氢氧化铝;表面活性剂;藻酸;无热原水;等渗盐水;林格氏溶液;乙醇;磷酸盐缓冲溶液;以及其他用于药物制剂的无毒相容物质。如本文所用,“药学上可接受的载体(pharmaceutically

acceptable carrier)”还包括任何及所有与本公开中有用的化合物的活性相容且患者生理上可接受的涂层、抗菌剂和抗真菌剂以及吸收延迟剂等。补充活性化合物也可掺入组合物中。“药学上可接受的载体”可进一步包括本公开中有用的化合物的药学上可接受的盐。在本公开的实践中使用的药物组合物中可包括的其他附加成分是本领域已知的,并且例如在雷明顿的《制药科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences)(Genaro,Ed.,Mack Publishing Co.,1985,Easton,PA)中进行了描述,该书通过引用并入本文。

[0061] 如本文所用,措辞“药学上可接受的盐(pharmaceutically acceptable salt)”是指由药学上可接收的无毒酸或碱制备的施用的化合物的盐,包括无机酸或碱、有机酸或碱,其溶剂合物、水合物或包合物。

[0062] 合适的药学上可接受的酸加成盐可以由无机酸或由有机酸制备。无机酸的实例包括盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硝酸、碳酸、硫酸(包括硫酸盐和硫酸氢盐)和磷酸(包括磷酸氢盐和磷酸二氢盐)。合适的有机酸可选自脂肪族、脂环族、芳香族、芳脂族(araliphatic)、杂环族、羧酸和磺酸类有机酸,其实例包括甲酸、乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、葡萄糖酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、葡糖醛酸、马来酸、丙二酸、糖精、富马酸、丙酮酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯甲酸、邻氨基苯甲酸、4-羟基苯甲酸、苯乙酸、扁桃酸、双羟萘酸(embonic)((帕莫酸)(pamoic))、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、泛酸、三氟甲磺酸、2-羟基乙磺酸、对甲苯磺酸、对氨基苯磺酸、环己基氨基磺酸、硬脂酸、藻酸、β-羟基丁酸、水杨酸、半乳糖二酸和半乳糖醛酸。

[0063] 本文所述化合物的合适的药学上可接受的碱加成盐包括例如,铵盐、金属盐(包括碱金属、碱土金属和过渡金属盐,如钙、镁、钾、钠和锌盐)。药学上可接受的碱加成盐还包括由碱性胺制成的有机盐如,例如N,N'-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、葡甲胺(N-甲基葡胺)和普鲁卡因。所有这些盐都可以由相应的化合物通过例如适当的酸或碱与化合物反应来制备。

[0064] 本文所用的术语“溶剂(solvent)”是指可以溶解固体、液体或气体的液体。溶剂的非限制性实例是硅氧烷、有机化合物、水、醇、离子液体和超临界流体。

[0065] 本文所用的术语“基本上(substantially)”是指大多数或大部分,如至少约50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.9%、99.99%或至少约99.999%或更多,或100%。如本文所使用的术语“基本上不含(substantially free of)”可以指不含或含有少量的,使得存在的材料量不影响包括该材料的组合物的材料性能,使得组合物为材料的约0wt%至约5wt%,或约0wt%至约1wt%,或约5wt%或更少,或者小于、等于或大于约4.5wt%、4、3.5、3、2.5、2、1.5、1、0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3、0.2、0.1、0.01或约0.001wt%或更少。术语“基本上不含(substantially free of)”可以指具有少量的,使得组合物占材料的约0wt%至约5wt%,或约0wt%至约1wt%,或约5wt%或更少,或小于、等于或大于约4.5wt%、4、3.5、3、2.5、2、1.5、1、0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3、0.2、0.1、0.01或约0.001wt%或更低,或约为0wt%。

[0066] “治疗性(therapeutic)”处理是指对出现病理体征的受试者施用的治疗,目的是减少或消除这些体征。

[0067] 范围:在本公开中,本公开的各个方面可以以范围格式呈现。应当理解的是,范围格式的描述仅仅是为了方便和简洁,而不应被解释为对本公开范围的不灵活限制。因此,对

范围的描述应被认为已经具体公开了所有可能的子范围以及该范围内的各个数值。例如，对诸如1到6的范围的描述应被认为已经具体公开了如1到3、1到4、1到5、2到4、2到6、3到6等的子范围，以及该范围内的各个数字，例如1、2、2.7、3、4、5、5.3和6。无论范围的广度如何，这都适用。

[0068] 说明

[0069] 在其各种方面和实施方式中，本公开提供了用于治疗、预防和/或改善视网膜变性(包括但不限于AMD)的化合物和方法。

[0070] 在其各种方面和实施方式中，本公开提供了用于治疗、预防和/或改善眼前段障碍的化合物和方法，例如但不限于福斯氏角膜内皮营养不良(FECD)、白内障、青光眼和/或圆锥角膜。

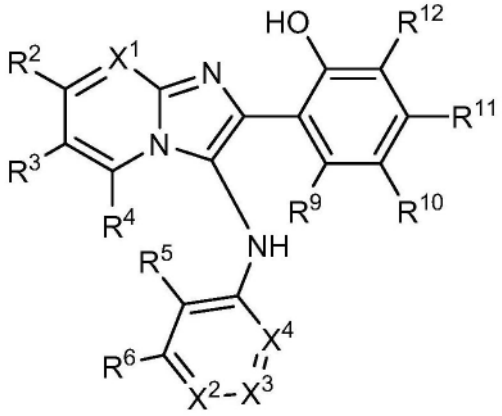
[0071] 不希望受理论限制，在某些实施方式中，这些化合物保护视网膜细胞(如RPE细胞)免受细胞死亡(在非限制性实例中为氧化应激诱导的细胞死亡)。在其他实施方式中，这些化合物保护视网膜细胞(如RPE细胞)免受受损细胞外基质上的细胞死亡。在还其他实施方式中，这些化合物提高了细胞存活率，其中所述细胞例如是晶状体上皮细胞。在其他实施方式中，这些化合物保护视网膜细胞(如RPE细胞)免受蓝光损伤。施用本公开的化合物可以诱导氧化应激和抗凋亡相关基因的表达，从而治疗、改善和/或预防视网膜变性，包括但不限于AMD，包括但不仅限于“干性”AMD。

[0072] 本文的公开不应被解释为限于AMD和/或氧化应激诱导的细胞死亡。氧化应激与多种视网膜变性有关，并且氧化应激已被证明会降低人类疾病的光感受器/神经元存活率，包括年龄相关性黄斑变性(AMD)、动脉粥样硬化、阿尔茨海默病等。氧化应激是细胞和组织在高氧环境中遭受损伤的一般机制。机制因疾病过程而异，但包括线粒体损伤和功能障碍、过氧化物产生、自由基形成以及其他机制。在不失一般性的情况下，预防或逆转氧化应激引起的组织损伤的药物可用于减慢或逆转人类疾病的进展。此类疾病的非限制性实例包括心力衰竭和其他心血管疾病，如动脉粥样硬化；视网膜变性，如年龄相关性黄斑变性；肺纤维化；肾(肾脏)疾病；糖尿病性黄斑水肿和视网膜病变；神经退行性疾病，如阿尔茨海默病；某些骨骼肌疾病，如线粒体肌病和Barth综合征；眼部障碍和疾病，如白内障和青光眼；以及肝病。

[0073] 如本文所述，本公开的示例性化合物被发现可以减轻疾病组织培养模型中氧化损伤的风险。例如，本公开的化合物被证明可以保护人视网膜色素上皮(RPE)细胞免受氧化应激诱导的细胞死亡，并且有利于治疗、改善和/或预防本文所考虑的疾病。在非限制性实施方式中，本公开的化合物增强RPE细胞中的代谢功能，如三磷酸腺苷(ATP)产生、基础呼吸、最大呼吸和备用呼吸。

[0074] 化合物

[0075] 在某些实施方式中，本发明提供了式(I)的化合物，或其盐、溶剂合物、互变异构体和/或立体异构体(诸如但不限于其几何异构体和/或对映体和/或非对映异构体)：

[0076] 

(I),

[0077] 其中：

[0078] X^1为N或CR^1；

[0079] 以下情况之一适用：

[0080] X^2是N，X^3是CR^7，以及X^4是CR^8，或

[0081] X^2是CR^7，X^3是N，以及X^4是CR^8，或

[0082] X^2是CR^7，X^3是CR^8，以及X^4是N；

[0083] R^1(如果存在)、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}和R^{12}独立地选自由H、CH_3、CH_2CH_3、$CH_2CH_2CH_3$、$CH(CH_3)_2$、F、Cl、Br和I组成的组。

[0084] 在某些实施方式中，X^1是N。

[0085] 在某些实施方式中，X^1是CR^1。

[0086] 在某些实施方式中，X^2是N，X^3是CR^7，以及X^4是CR^8。

[0087] 在某些实施方式中，X^2是CR^7，X^3是N，以及X^4是CR^8。

[0088] 在某些实施方式中，X^2是CR^7，X^3是CR^8，以及X^4是N。

[0089] 在某些实施方式中，R^1是H。在某些实施方式中，R^1为CH_3。在某些实施方式中，R^1是CH_2CH_3。在某些实施方式中，R^1是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中，R^1是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中，R^1是F。在某些实施方式中，R^1是Cl。在某些实施方式中，R^1是Br。在某些实施方式中，R^1是I。

[0090] 在某些实施方式中，R^2是H。在某些实施方式中，R^2为CH_3。在某些实施方式中，R^2是CH_2CH_3。在某些实施方式中，R^2是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中，R^2是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中，R^2是F。在某些实施方式中，R^2是Cl。在某些实施方式中，R^2是Br。在某些实施方式中，R^2是I。

[0091] 在某些实施方式中，R^3是H。在某些实施方式中，R^3为CH_3。在某些实施方式中，R^3是CH_2CH_3。在某些实施方式中，R^3是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中，R^3是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中，R^3是F。在某些实施方式中，R^3是Cl。在某些实施方式中，R^3是Br。在某些实施方式中，R^3是I。

[0092] 在某些实施方式中，R^4是H。在某些实施方式中，R^4为CH_3。在某些实施方式中，R^4是CH_2CH_3。在某些实施方式中，R^4是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中，R^4是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中，R^4是F。在某些实施方式中，R^4是Cl。在某些实施方式中，R^4是Br。在某些实施方式中，R^4是I。

[0093] 在某些实施方式中，R^5是H。在某些实施方式中，R^5为CH_3。在某些实施方式中，R^5是

CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^5是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^5是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^5是F。在某些实施方式中,R^5是Cl。在某些实施方式中,R^5是Br。在某些实施方式中,R^5是I。

[0094] 在某些实施方式中,R^6是H。在某些实施方式中,R^6为CH_3。在某些实施方式中,R^6是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^6是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^6是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^6是F。在某些实施方式中,R^6是Cl。在某些实施方式中,R^6是Br。在某些实施方式中,R^6是I。

[0095] 在某些实施方式中,R^7是H。在某些实施方式中,R^7为CH_3。在某些实施方式中,R^7是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^7是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^7是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^7是F。在某些实施方式中,R^7是Cl。在某些实施方式中,R^7是Br。在某些实施方式中,R^7是I。

[0096] 在某些实施方式中,R^8是H。在某些实施方式中,R^8为CH_3。在某些实施方式中,R^8是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^8是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^8是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^8是F。在某些实施方式中,R^8是Cl。在某些实施方式中,R^8是Br。在某些实施方式中,R^8是I。

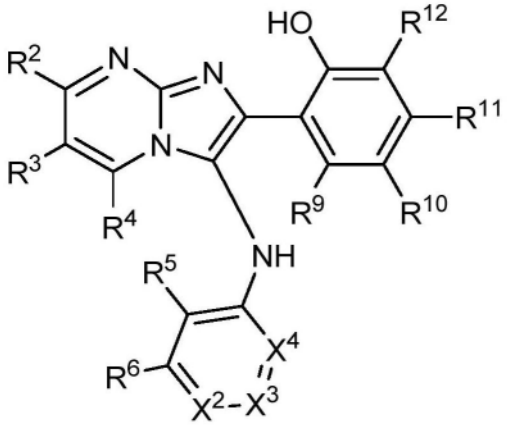
[0097] 在某些实施方式中,R^9是H。在某些实施方式中,R^9为CH_3。在某些实施方式中,R^9是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^9是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^9是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^9是F。在某些实施方式中,R^9是Cl。在某些实施方式中,R^9是Br。在某些实施方式中,R^9是I。

[0098] 在某些实施方式中,R^{10}是H。在某些实施方式中,R^{10}为CH_3。在某些实施方式中,R^{10}是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^{10}是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^{10}是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^{10}是F。在某些实施方式中,R^{10}是Cl。在某些实施方式中,R^{10}是Br。在某些实施方式中,R^{10}是I。

[0099] 在某些实施方式中,R^{11}是H。在某些实施方式中,R^{11}为CH_3。在某些实施方式中,R^{11}是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^{11}是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^{11}是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^{11}是F。在某些实施方式中,R^{11}是Cl。在某些实施方式中,R^{11}是Br。在某些实施方式中,R^{11}是I。

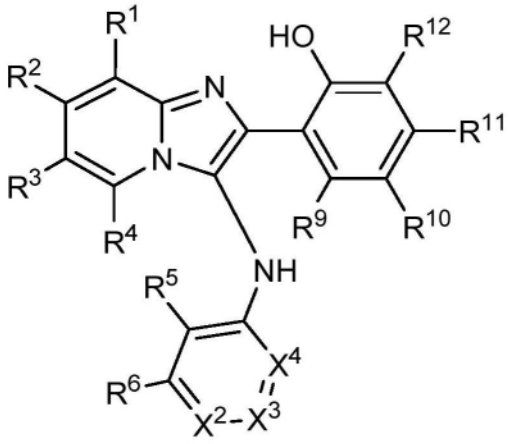
[0100] 在某些实施方式中,R^{12}是H。在某些实施方式中,R^{12}为CH_3。在某些实施方式中,R^{12}是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^{12}是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^{12}是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^{12}是F。在某些实施方式中,R^{12}是Cl。在某些实施方式中,R^{12}是Br。在某些实施方式中,R^{12}是I。

[0101] 在某些实施方式中,式(I)的化合物是式(Ia)的化合物:

[0102] 

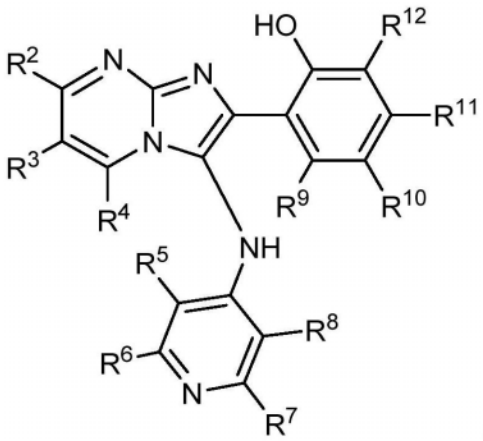
(Ia)。

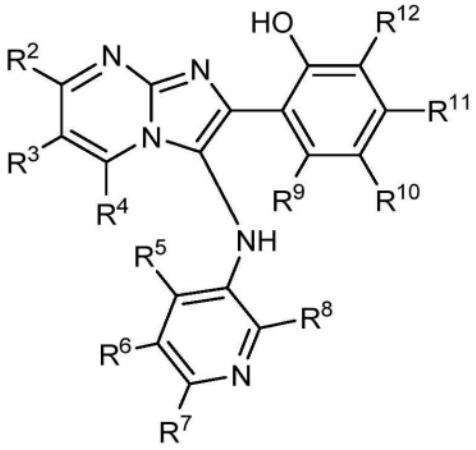
[0103] 在某些实施方式中,式(I)的化合物是式(Ib)的化合物:

[0104] 

(Ib)。

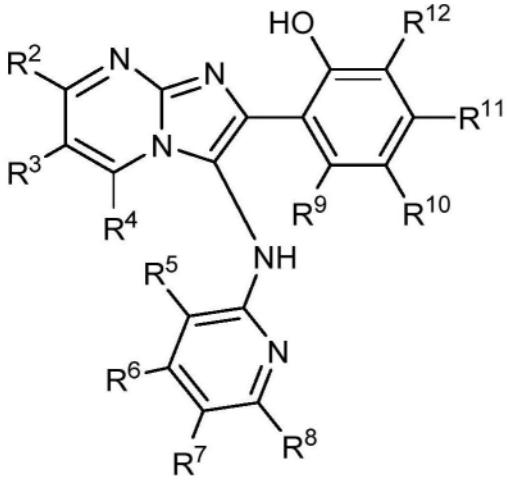
[0105] 在某些实施方式中,式(I)的化合物选自由以下组成的组:

[0106] 

(Ia1), 

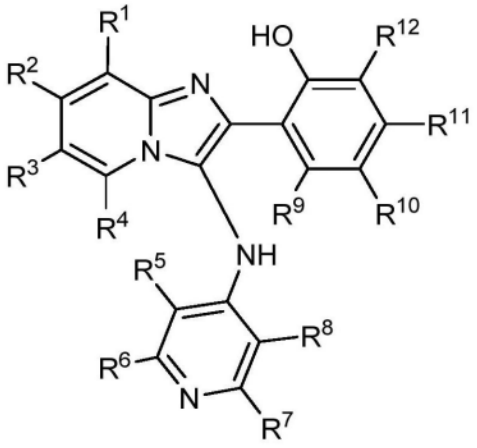
(Ia2),

和

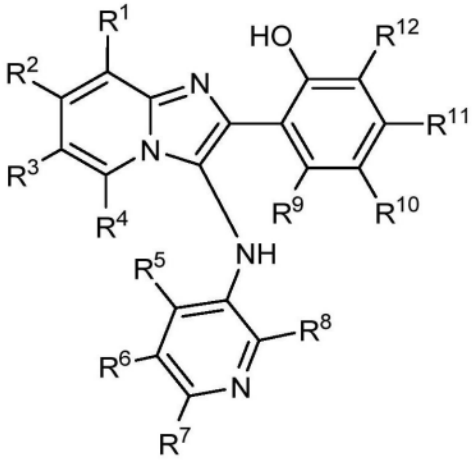
[0107] 

(Ia3)。

[0108] 在某些实施方式中,式(I)的化合物选自由以下组成的组:

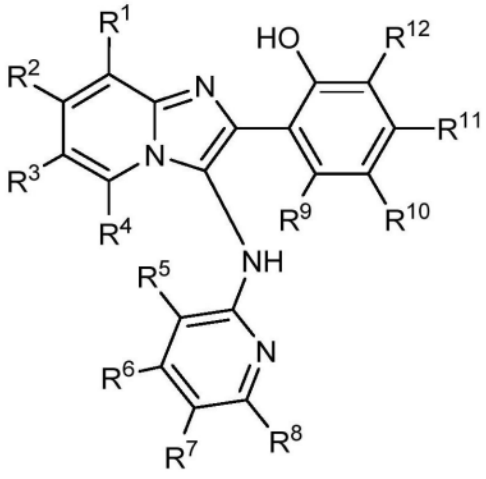


(Ib1),



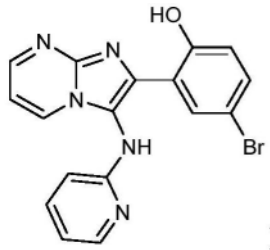
(Ib2),

[0109] 和



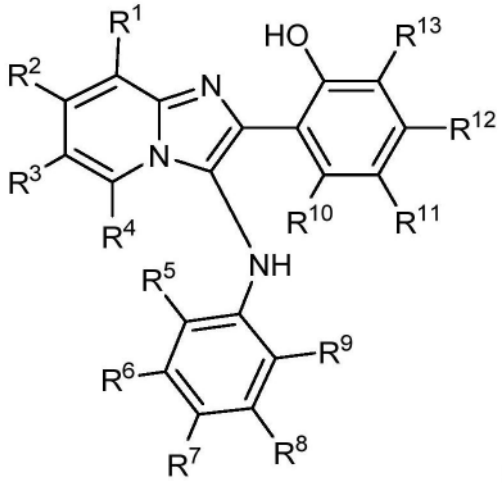
(Ib3)。

[0110] 在某些实施方式中,化合物是:

[0111] 

DH381-2。

[0112] 在某些实施方式中,本发明提供了式(II)的化合物,或其盐、溶剂合物、互变异构体和/或立体异构体(诸如但不限于其几何异构体和/或对映体和/或非对映异构体):

[0113] 

(II),

[0114] 其中:

[0115] R^1、R^2、R^3、R^4、R^6、R^7、R^8、R^{10}、R^{11}、R^{12}和R^{13}独立地选自由H、CH_3、CH_2CH_3、$CH_2CH_2CH_3$、$CH(CH_3)_2$、F、Cl、Br和I组成的组,

[0116] R^5和R^9独立地选自由CH_3、CH_2CH_3、$CH_2CH_2CH_3$、$CH(CH_3)_2$、F、Cl、Br和I组成的组。

[0117] 在某些实施方式中,R^1是H。在某些实施方式中,R^1为CH_3。在某些实施方式中,R^1是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^1是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^1是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^1是F。在某些实施方式中,R^1是Cl。在某些实施方式中,R^1是Br。在某些实施方式中,R^1是I。

[0118] 在某些实施方式中,R^2是H。在某些实施方式中,R^2为CH_3。在某些实施方式中,R^2是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^2是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^2是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^2是F。在某些实施方式中,R^2是Cl。在某些实施方式中,R^2是Br。在某些实施方式中,R^2是I。

[0119] 在某些实施方式中,R^3是H。在某些实施方式中,R^3为CH_3。在某些实施方式中,R^3是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^3是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^3是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^3是F。在某些实施方式中,R^3是Cl。在某些实施方式中,R^3是Br。在某些实施方式中,R^3是I。

[0120] 在某些实施方式中,R^4是H。在某些实施方式中,R^4为CH_3。在某些实施方式中,R^4是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^4是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^4是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^4是F。在某些实施方式中,R^4是Cl。在某些实施方式中,R^4是Br。在某些实施方式中,R^4是I。

[0121] 在某些实施方式中,R^5为CH_3。在某些实施方式中,R^5是CH_2CH_3。在某些实施方式中,

R^5是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^5是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^5是F。在某些实施方式中,R^5是Cl。在某些实施方式中,R^5是Br。在某些实施方式中,R^5是I。

[0122] 在某些实施方式中,R^6是H。在某些实施方式中,R^6为CH_3。在某些实施方式中,R^6是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^6是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^6是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^6是F。在某些实施方式中,R^6是Cl。在某些实施方式中,R^6是Br。在某些实施方式中,R^6是I。

[0123] 在某些实施方式中,R^7是H。在某些实施方式中,R^7为CH_3。在某些实施方式中,R^7是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^7是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^7是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^7是F。在某些实施方式中,R^7是Cl。在某些实施方式中,R^7是Br。在某些实施方式中,R^7是I。

[0124] 在某些实施方式中,R^8是H。在某些实施方式中,R^8为CH_3。在某些实施方式中,R^8是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^8是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^8是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^8是F。在某些实施方式中,R^8是Cl。在某些实施方式中,R^8是Br。在某些实施方式中,R^8是I。

[0125] 在某些实施方式中,R^9为CH_3。在某些实施方式中,R^9是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^9是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^9是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^9是F。在某些实施方式中,R^9是Cl。在某些实施方式中,R^9是Br。在某些实施方式中,R^9是I。

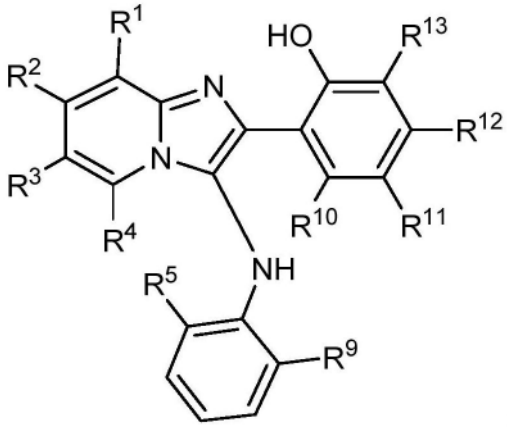
[0126] 在某些实施方式中,R^{10}是H。在某些实施方式中,R^{10}为CH_3。在某些实施方式中,R^{10}是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^{10}是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^{10}是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^{10}是F。在某些实施方式中,R^{10}是Cl。在某些实施方式中,R^{10}是Br。在某些实施方式中,R^{10}是I。

[0127] 在某些实施方式中,R^{11}是H。在某些实施方式中,R^{11}为CH_3。在某些实施方式中,R^{11}是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^{11}是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^{11}是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^{11}是F。在某些实施方式中,R^{11}是Cl。在某些实施方式中,R^{11}是Br。在某些实施方式中,R^{11}是I。

[0128] 在某些实施方式中,R^{12}是H。在某些实施方式中,R^{12}为CH_3。在某些实施方式中,R^{12}是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^{12}是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^{12}是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^{12}是F。在某些实施方式中,R^{12}是Cl。在某些实施方式中,R^{12}是Br。在某些实施方式中,R^{12}是I。

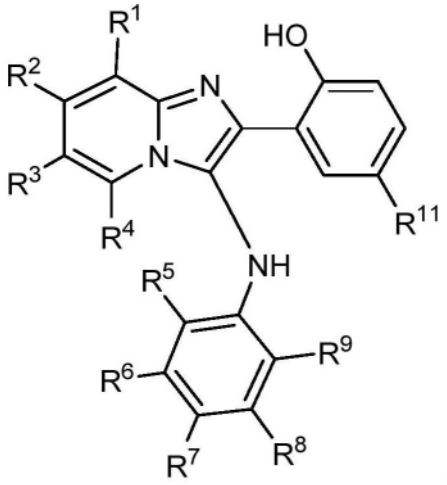
[0129] 在某些实施方式中,R^{13}是H。在某些实施方式中,R^{13}为CH_3。在某些实施方式中,R^{13}是CH_2CH_3。在某些实施方式中,R^{13}是$CH_2CH_2CH_3$。在某些实施方式中,R^{13}是$CH(CH_3)_2$。在某些实施方式中,R^{13}是F。在某些实施方式中,R^{13}是Cl。在某些实施方式中,R^{13}是Br。在某些实施方式中,R^{13}是I。

[0130] 在某些实施方式中,式(II)的化合物是式(IIa)的化合物:

[0131] 

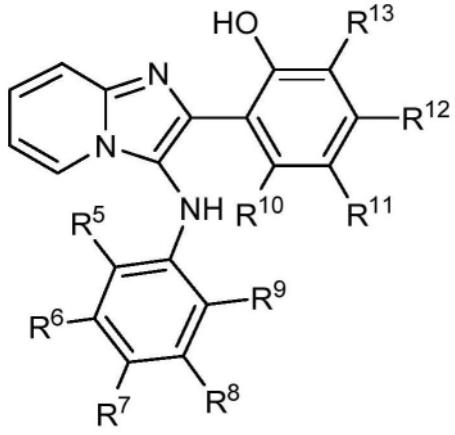
(IIa)。

[0132] 在某些实施方式中,式(II)的化合物是式(IIb)的化合物:

[0133] 

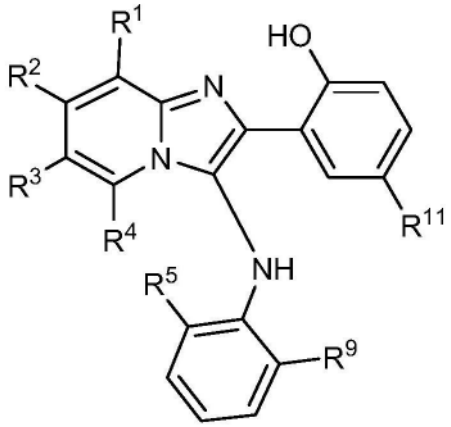
(IIb)。

[0134] 在某些实施方式中,式(II)的化合物是式(IIc)的化合物:

[0135] 

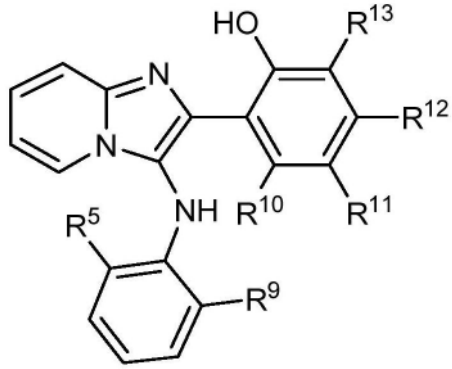
(IIc)。

[0136] 在某些实施方式中,式(II)的化合物是式(IId)的化合物:

[0137] 

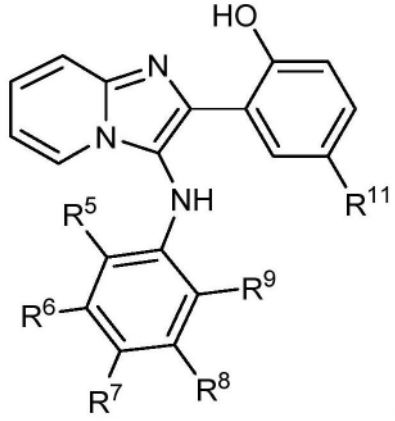
(IId)。

[0138] 在某些实施方式中,式(II)的化合物是式(IIe)的化合物:

[0139] 

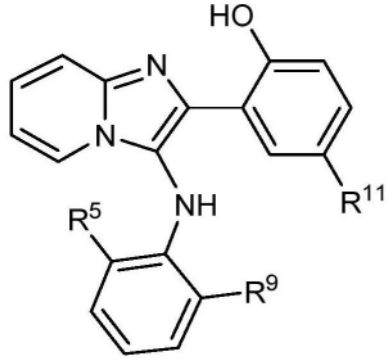
(IIe)。

[0140] 在某些实施方式中,式(II)的化合物是式(IIf)的化合物:

[0141] 

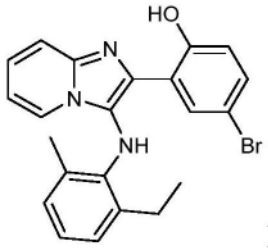
(IIf)。

[0142] 在某些实施方式中,式(II)的化合物是式(IIg)的化合物:

[0143] 

(IIg)。

[0144] 在某些实施方式中,式(II)的化合物是:

[0145] 

DH421。

[0146] 本文所述的化合物可以具有一个或多个立体中心,并且每个立体中心可以独立地以(R)或(S)构型存在。在某些实施方式中,本文所述的化合物以光学活性或消旋形式存在。应当理解的是,本文所述的化合物包括具有本文所述治疗有用性质的消旋、光学活性、区域异构体和立体异构体形式,或其组合。光学活性形式的制备可以以任何合适的方式实现,非限制性举例包括,通过用重结晶技术解析消旋形式、由光学活性起始材料合成、手性合成、或使用手性固相进行色谱分离。在某些实施方式中,一种或多种异构体的混合物用作本文所述的治疗化合物。在其他实施方式中,本文所述的化合物含有一个或多个手性中心。这些化合物可以通过任何方式制备,包括立体选择性合成、对映体选择性合成和/或对映体和/或非对映体混合物的分离。化合物及其异构体的解析可以通过任何方式实现,包括但不限于化学过程、酶过程、分级结晶、蒸馏和色谱法。

[0147] 本文所述的方法和制剂包括使用具有本文所述任何化合物结构的化合物的N-氧化物(如果合适)、晶形(也称为多晶型物)、溶剂合物、无定形相和/或药学上可接受的盐,以及具有相同活性类型的这些化合物的代谢物和活性代谢物。溶剂合物包括水、醚(例如四氢呋喃、甲基叔丁基醚)或醇(例如乙醇)溶剂合物、乙酸盐等。在某些实施方式中,本文所述的化合物以与药学上可接受的溶剂如水和乙醇的溶剂合物形式存在。在其他实施方式中,本文所述的化合物以未溶剂化形式存在。

[0148] 在某些实施方式中,本文所述的化合物可以作为互变异构体存在。所有互变异构体都包括在本文呈现的化合物的范围内。

[0149] 在某些实施方式中,本文所述的化合物制备为前药。“前药(prodrug)”是指在体内转化为原药的药剂。在某些实施方式中,在体内施用后,前药被化学转化为化合物的生物、药学或治疗活性形式。在其他实施方式中,前药通过一个或多个步骤或过程被酶代谢为化合物的生物、药学或治疗活性形式。

[0150] 在某些实施方式中,例如本文所述化合物的芳香环部分上的位点易受各种代谢反应的影响。在芳香环结构上引入适当的取代基可以减少、最小化或消除这种代谢途径。在某些实施方式中,仅作为实例,以降低或消除芳香环对代谢反应易感性的适当取代基是氘、卤素或烷基团。

[0151] 本文所述的化合物还包括同位素标记的化合物,其中一个或多个原子被具有相同原子序数但原子质量或质量数不同于自然界中通常发现的原子质量或质量数的原子所取代。适合于包含在本文所述化合物中的同位素的实例包括但不限于^{2}H、^{3}H、^{11}C、^{13}C、^{14}C、^{36}Cl、^{18}F、^{123}I、^{125}I、^{13}N、^{15}N、^{15}O、^{17}O、^{18}O、^{32}P和^{35}S。在某些实施方式中,同位素标记的化合物可用于药物和/或底物组织分布研究。在其他实施方式中,用如氘等较重同位素取代可提供更大的代谢稳定性(例如,增加体内半衰期或减少剂量需求)。在还其他实施方式中,用正电子发

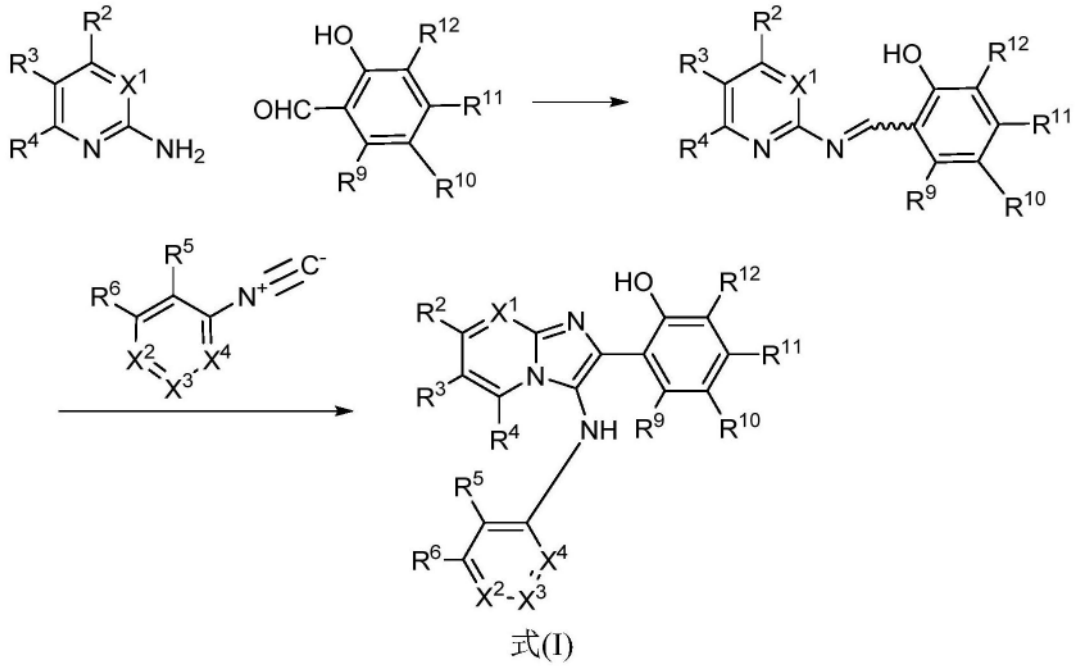
射同位素(如^{11}C、^{18}F、^{15}O和^{13}N)取代可用于正电子发射断层扫描(PET)研究,用于检验底物受体占有率。同位素标记的化合物通过任何合适的方法或通过使用适当的同位素标记试剂代替其他使用的未标记试剂的过程制备。

[0152] 在某些实施方式中,本文所述的化合物通过其他方式标记,包括但不限于使用发色团或荧光基团、生物发光标记或化学发光标记。

[0153] 本文所述的化合物和具有不同取代基的其他相关化合物是使用本文所述技术和材料合成的,并且例如在Fieser&Fieser的Reagents for Organic Synthesis,第1-17卷(John Wiley and Sons,1991);Rodd的Chemistry of Carbon Compounds,第1-5卷和增刊(Elsevier科学出版社,1989);Organic Reactions,第1-40卷(John Wileyand Sons,1991),Larock的Comprehensive Organic Transformations(VCH出版股份有限公司,1989),3月,Advanced Organic Chemistry第4版,(Wiley 1992);Carey&Sundberg,Advanced Organic Chemistry第4版,卷A和B(Plenum 2000,2001),以及Green&Wuts,Protective Groups in Organic Synthesis第3版,(Wiley 1999)(所有这些内容都通过引用并入以用于本公开)。制备本文所述化合物的一般方法通过使用适当的试剂和条件进行修改,以引入本文提供的式中发现的各种部分。

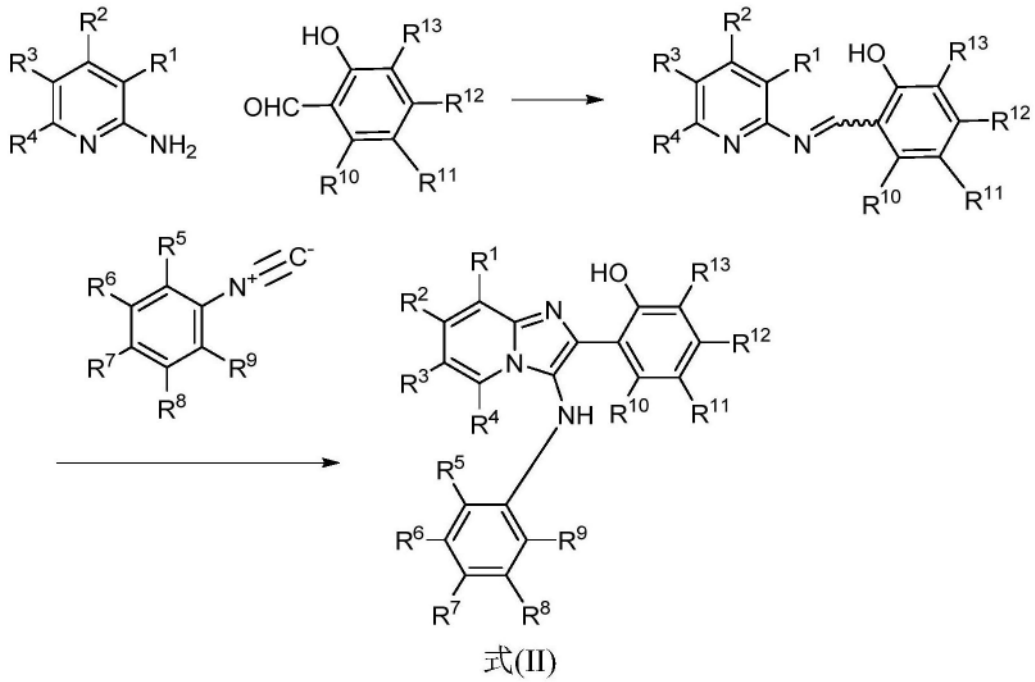
[0154] 本文所述的化合物是使用任何合适的程序从可从市场上买到的化合物或使用本文所述程序制备的化合物开始合成的。

[0155] 在非限制性实例中,本公开的化合物可以使用本文实施例1中例举的说明性程序制备。例如,胺(其可以是任选地取代的2-氨基吡啶或任选地取代的2-氨基嘧啶,其中每一种都可以在市场上买到或根据本领域已知的方法制备)可以与任选地取代的2-羟基苯甲醛(其可以在市场上买到或根据本领域已知的方法制备)在酸(诸如但不限于甲酸、乙酸、丙酸、盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、磷酸等)或碱(诸如但不限于氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化锂、三乙胺、Hunig's碱、吡啶等)的存在下,在合适的溶剂(诸如但不限于甲醇、乙醇、(异)丙醇、乙腈、四氢呋喃、二甲亚砜、氯仿、二氯甲烷等)中接触,生成相应的亚胺。亚胺可从反应混合物中纯化,或在下一个反应步骤中按原样使用。然后,可将亚胺与任选地取代的苯异腈、任选地取代的2-吡啶异腈、任选地取代的3-吡啶异腈或任选地取代的4-吡啶异腈(其中每一种都可以从市场上买到或根据本领域已知的方法制备)在合适的溶剂(诸如但不限于甲醇、乙醇、(异)丙醇、乙腈、四氢呋喃、二甲亚砜、氯仿、二氯甲烷等)中,在酸(诸如但不限于甲酸、乙酸、丙酸、盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、磷酸等)任选存在下或碱(诸如但不限于氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化锂、三乙胺、Hunig's碱、吡啶等)任选存在下接触。通过(部分)去除反应混合物中的溶剂、向反应混合物中加入水和/或任何其他合适的溶剂、接种或本领域已知的任何化学/色谱方法,可从反应混合物中分离出所需产物。



式(I)

[0156]



式(II)

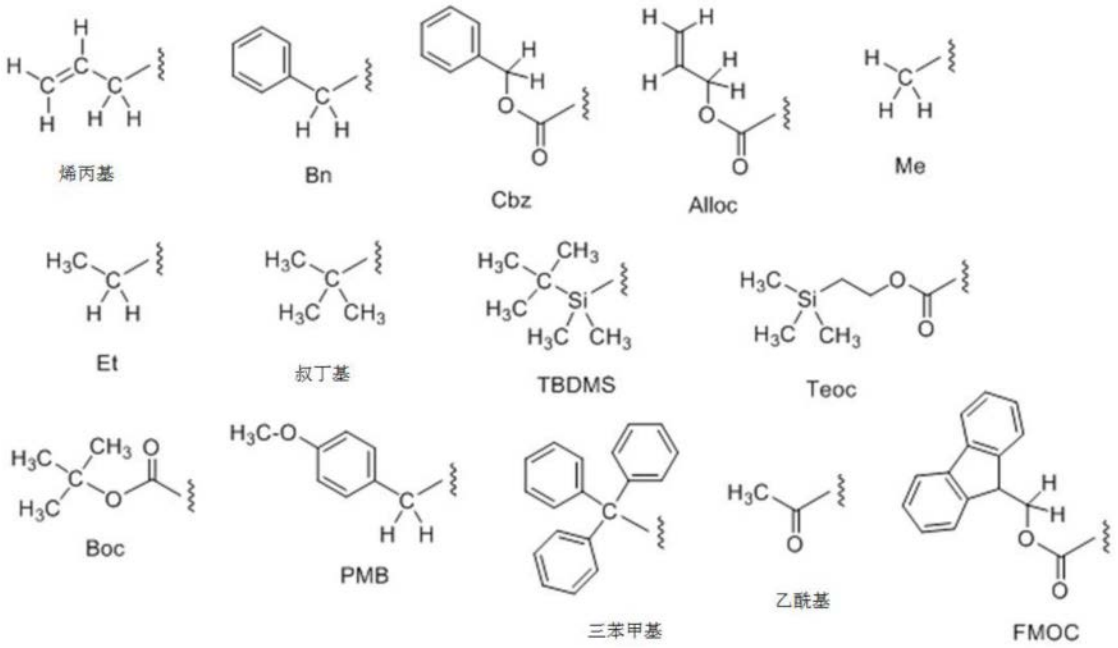
[0157] 在某些实施方式中,保护反应性官能团(如羟基、氨基、亚氨基、硫基或羧基),以避免它们不必要地参与反应。保护基团用于阻断部分或全部反应性部分,并防止这些基团参与化学反应,直到保护基团被去除。在其他实施方式中,每个保护基团都可以通过不同的方式移除。在完全不同的反应条件下裂解的保护基团满足了不同去除的要求。

[0158] 在某些实施方式中,保护基团通过酸、碱、还原条件(如,例如氢解)和/或氧化条件去除。如三苯甲基、二甲氧基三苯甲基、乙缩醛和叔丁基二甲基硅基等基团是酸不稳定的,并且用于在用Cbz基团(Cbz基团可通过氢解去除)保护的氨基和Fmoc基团(其是碱不稳定的)存在的情况下保护羧基和羟基反应性部分。在用酸不稳定基团(如叔丁基氨基甲酸酯)或用酸和碱稳定但水解可去除的氨基甲酸酯封闭的胺存在下,羧酸和羟基反应性部分被碱不稳定基团封闭,诸如但不限于甲基、乙基和乙酰基。

[0159] 在某些实施方式中,羧酸和羟基反应性部分被水解可去除的保护基团如苄基封闭,而能够与酸产生氢键的胺基团被碱不稳定基团(如Fmoc)封闭。如本文所示例,羧酸反应性部分通过转化为简单的酯化合物来进行保护,包括转化为烷基酯,或者用可氧化去除的保护基团(如2,4-二甲氧基苄基)封闭,而共存的氨基基团用氟化物不稳定的甲硅烷基氨基甲酸酯封闭。

[0160] 烯丙基封闭基团在酸和碱保护基团的存在下是有用的,因为前者是稳定的,随后被金属或π酸催化剂去除。例如,在酸不稳定的叔丁基氨基甲酸酯或碱不稳定的乙酸胺保护基团存在下,用钯催化反应对烯丙基封闭羧酸进行去保护。还另一种形式的保护基团是附着有化合物或中间体的树脂。只要残留物附着在树脂上,该官能团就会被封闭,不发生反应。一旦从树脂中释放出来,官能团就可以反应。

[0161] 通常,封闭/保护基团可选自:

[0162] 

[0163] 其他保护基团,以及适用于创建保护基团及其去除的技术,在Greene&Wuts,Protective Groups in Organic Synthesis,第3版,John Wiley&Sons,New York,NY,1999,以及Kocienski,Protective Groups,Thieme Verlag,New York,NY,1994中描述,这些文献通过引用并入本文,用于本公开。

[0164] 本领域技术人员将认识到,在各种实施方式中,将化合物作为盐掺入药物组合物中可能是有利的。当采用不同的制剂和施用方法时,将需要各种抗衡离子,并且所有药学上可接受的盐都被考虑用于本公开。在各种实施方式中,药物组合物配制用于眼部施用。

[0165] 方法

[0166] 在一个方面,本发明提供了一种治疗、改善和/或预防受试者AMD(诸如但不限于“干性”AMD)的方法。在某些实施方式中,该方法包括给受试者(如有需要的受试者)施用治疗有效量的本文所述化合物。

[0167] 在一个方面,本发明提供了一种治疗、改善和/或预防眼前段疾病(诸如但不限于福斯氏角膜内皮营养不良(FECD)、白内障、青光眼和圆锥角膜)的方法。在某些实施方式中,该方法包括给受试者(如有需要的受试者)施用治疗有效量的本文所述化合物。

[0168] 在一个方面,本发明提供了一种治疗、改善和/或预防受试者晶状体上皮细胞蓝光损伤的方法。在某些实施方式中,该方法包括给受试者(如有需要的受试者)施用治疗有效量的本文所述化合物。

[0169] 尽管对萎缩性AMD的病理生理学的理解取得了进展,但这种疾病的批准疗法仍然难以发现。萎缩性或“干性”形式AMD的特征是RPE细胞丧失,其中光感受器和脉络膜血管层丧失。虽然AMD的病因尚不完全清楚,但很明显的是,如高龄、吸烟、饮食和遗传差异(包括但不限于种族)等风险因素在疾病的发展中起着重要作用。RPE细胞易受氧化应激的影响,而眼睛受到如强烈照射或香烟中的毒素等因素会导致这一过程造成的累积损伤。此外,抗氧化能力下降,并且修复系统的效率受损。如吸烟等风险因素对布鲁赫膜(BM)造成的年龄相关性损伤也与RPE细胞行为异常有关。这些变化是AMD的标志,并且导致萎缩性AMD中的视网膜功能障碍和细胞丧失。RPE细胞中过氧化氢的存在会催化氧化反应并产生活性氧(ROS),其对细胞造成不可逆的损伤。随着人们的衰老,这些细胞抵御ROS的能力受到损害。鉴于RPE中线粒体DNA损伤和修复与衰老和AMD相关的观察结果,减少氧化应激是可行的治疗靶点。在某些实施方式中,本公开的化合物防止或最小化由任何细胞攻击引起的细胞死亡,其包括氧化应激相关的细胞攻击或任何其他形式的细胞攻击。

[0170] 叔丁基过氧化氢(TBHP)暴露已被证明会破坏RPE的连接完整性,并导致膜双层的脂质过氧化,以及谷胱甘肽的氧化,内质网Ca^{2+}释放,细胞内钙($[Ca^{2+}]$)增加和线粒体内膜通透性增加。UV-B光损伤已被证明可以靶向线粒体DNA损伤并产生活性氧。吸烟导致的慢性一氧化氮生成和随后的亚硝酸盐暴露是与AMD紧密相关的风险因素。这些变化导致BM的累积损伤,并导致年龄相关性胶原交联、胶原溶解度下降以及随后的膜损伤。在以下实例中,当用叔丁基过氧化氢引发氧化应激诱导的细胞功能障碍和死亡时,用本公开的一种或多种化合物治疗可促进细胞存活,如通过细胞存活率测定所测量的。在某些实施方式中,本公开的化合物可以通过增强线粒体呼吸来表现出保护作用。在某些实施方式中,增强代谢活性是AMD等退行性疾病的有效靶点。

[0171] 施用/剂量/制剂

[0172] 施用方案可以影响有效量的组成。治疗制剂可以在AMD发作之前或之后给受试者施用。此外,几个分开的剂量以及交错剂量可以每天或按顺序施用,或者剂量可以连续输注,也可以是快速注射。此外,治疗制剂的剂量可以根据治疗或预防情况的紧急情况按比例增加或减少。

[0173] 可以使用已知的程序,以有效治疗患者疾病的剂量和时间周期,将本公开的组合物施用给患者,优选哺乳动物,更优选人类。达到治疗效果所需的治疗化合物的有效量可以根据如患者的疾病或障碍状态;患者的年龄、性别和体重;以及治疗化合物治疗患者AMD的能力等因素而变化。可以调整剂量方案以提供最佳的治疗反应。例如,可以每天施用几个分开的剂量,或者根据治疗情况的紧急情况按比例减少剂量。本公开的治疗化合物的有效剂量范围的非限制性实例为从约1至5000mg/kg体重/每天。本领域普通技术人员将能够研究相关因素,并在不进行过度实验的情况下确定治疗化合物的有效量。

[0174] 本公开的药物组合物中活性成分的实际剂量水平可以变化,以获得有效实现用于特定患者、组合物和施用方式的期望治疗反应的活性成分量,而不会对患者有毒。

[0175] 特别地,所选剂量水平取决于各种因素,包括所用特定化合物的活性、施用时间、

化合物的排泄率、治疗持续时间、与化合物联合使用的其他药物、化合物或材料、被治疗患者的年龄、性别、体重、病情、一般健康状况和既往病史,以及医学领域熟知的类似因素。

[0176] 具有本领域普通技术的医生,例如内科医生或兽医,可以容易地确定并开出所需药物组合物的有效量。例如,内科医生或兽医可以以低于实现期望治疗效果所需的水平开始药物组合物中使用的本公开化合物的剂量,并逐渐增加剂量,直到达到期望效果。

[0177] 在特定的实施方式中,为了便于施用和剂量均匀性,以剂量单位形式配制化合物是特别有利的。本文使用的剂量单位形式是指适合作为待治疗患者单位剂量的物理离散单位;每个单位包含预定量的治疗化合物,计算该预定量以与所需的药物载体结合产生期望的治疗效果。本公开的剂量单位形式由以下决定并直接取决于以下:(a)治疗化合物的独特特性和要实现的特定治疗效果,以及(b)配伍/配制这种治疗化合物用于治疗患者AMD的领域内固有限制。

[0178] 载体可以是溶剂或分散介质,其包含例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等),其合适的混合物和植物油。

[0179] 在某些实施方式中,本公开的组合物以每天1至5次或更多的剂量施用于患者。在其他实施方式中,本公开的组合物以一定剂量范围施用于患者,该剂量范围包括但不限于每天一次、每两天一次、每三天一次至每周一次、每两周一次、每三周一次、每月一次、每两月一次、每三月一次和/或每1-12周一次。本领域技术人员容易看出,本公开的各种组合组合物的施用频率因个体而异,其取决于许多因素,包括但不限于年龄、待治疗的疾病或障碍、性别、整体健康和其他因素。因此,本公开不应被解释为限于任何特定的剂量方案,并且给任何患者施用的精确剂量和组合物是由主治医生在考虑患者的所有其他因素后确定的。

[0180] 用于施用的本公开化合物的范围可以是从约1μg至约10000mg、约20μg至大约9500mg、约40μg至大致9000mg、约75μg至约8500mg、大约150μg至7500mg、约200μg至7000mg、约350μg至6000mg、约500μg至5000mg、约750μg至4000mg、约1mg至3000mg、约10mg至2500mg、约20mg至2000mg、约25mg至1500mg、约30mg至1000mg、约40mg至900mg、约50mg至800mg,约60mg至约750mg,约70mg至约600mg,约80mg至约500mg,以及其间的任何和所有全部或部分增量。

[0181] 在一些实施方式中,本公开的化合物的剂量为从约1mg至约2500mg。在一些实施方式中,用于本文所述组合物中的本公开化合物的剂量小于约10000mg、或小于约8000mg、或小于约6000mg、或小于约5000mg、或小于约3000mg、或小于约2000mg、或小于约1000mg、或小于约500mg、或小于约200mg、或小于约50mg。同样,在一些实施方式中,本文所述第二种化合物的剂量小于约1000mg、或小于约800mg、或小于约600mg、或小于约500mg、或小于约400mg、或小于约300mg、或小于约200mg、或小于约100mg、或小于约50mg、或小于约40mg、或小于约30mg、或小于约25mg、或小于约20mg、或小于约15mg、或小于约10mg、或小于约5mg、或小于约2mg、或小于约1mg、或小于约0.5mg,及其任何和所有全部或部分增量。

[0182] 在某些实施方式中,本公开的化合物可以眼部施用,例如通过眼内或眼周注射。在其他实施方式中,化合物以凝胶或聚乙二醇化材料施用。在其他实施方式中,化合物本身被聚乙二醇化或与长效生物分子结合。在还其他实施方式中,化合物被配制成缓慢递送到眼睛,例如使用包括缓慢释放药物的聚合物的隐形眼镜、使用泪点塞,和/或使用本领域已知且与本化合物相容的任何递送方法。

[0183] 在某些实施方式中,本发明涉及包装药物组合物,其包括容器,该容器单独或与第二药物药剂组合容纳治疗有效量的化合物;以及使用该化合物治疗、预防或减轻患者AMD的一种或多种症状的说明书。

[0184] 制剂可与常规赋形剂混合使用,即适用于口服、肠胃外、鼻腔、静脉内、皮下、肠内或本领域已知的任何其他合适施用方式的药学上可接受的有机或无机载体物质。药物制备可以被消毒,以及如果需要,可以与辅助剂混合,例如润滑剂、防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂、影响渗透压的盐、缓冲剂、着色剂、调味剂和/或芳香物质等。在需要时,它们也可以与其他活性剂结合,例如其他镇痛剂。

[0185] 本公开的任何组合物的施用途径包括口服、鼻腔、直肠、阴道内、肠胃外、口腔、舌下、眼内或局部。本公开中使用的化合物可以配制成通过任何合适的途径施用,如口服或肠胃外施用,例如透皮、经粘膜(例如舌下、舌部、(经)口腔、(经)尿道、阴道(如经阴道和阴道周)、鼻(内)和(经)直肠)、膀胱内、肺内、十二指肠内、胃内、鞘内、皮下、肌肉内、皮内、动脉内、静脉内、支气管内、吸入、局部施用和眼部(包括但不限于局部、结膜下、Tenon下、脉络膜上、玻璃体内或视网膜下)。

[0186] 合适的组合物和剂型包括,例如片剂、胶囊、囊片、丸剂、凝胶帽、糖锭剂、分散剂、悬浮液、溶液、糖浆、颗粒、珠粒、透皮贴剂、凝胶、粉末、颗粒、乳浆剂、锭剂、乳霜、糊剂、膏药、乳液、盘剂、栓剂、鼻用或口腔用液体喷雾、吸入用干粉或雾化制剂、膀胱内施用的组合物和制剂等。应当理解的是,可用于本公开的制剂和组合物不限于本文所述的特定制剂和组合物。

[0187] 口服施用

[0188] 对于口服应用,特别适合的是片剂、糖衣丸、液体、滴剂、栓剂或胶囊、囊片和凝胶帽。用于口服的组合物可以根据本领域已知的任何方法制备,并且这种组合物可以含有一种或多种选自由惰性、无毒、药学上可接受的赋形剂组成的组的试剂,这些赋形剂适用于制造片剂。这种赋形剂包括,例如惰性稀释剂,如乳糖;造粒和崩解剂,如玉米淀粉;粘合剂,如淀粉;以及润滑剂,如硬脂酸镁。片剂可以是无包衣的,也可以通过已知的技术进行包衣,以美观或延迟活性成分的释放。口服制剂也可以硬明胶胶囊的形式呈现,其中活性成分与惰性稀释剂混合。

[0189] 本公开还包括多层片剂,其包括提供一种或多种本公开化合物延迟释放的层,以及提供治疗某些疾病或障碍的药物立即释放的进一步层。使用蜡/pH敏感聚合物混合物,可以获得胃不溶性组合物,其中包埋了活性成分,确保其延迟释放。

[0190] 肠胃外施用

[0191] 对于肠胃外施用,本公开的化合物可以配制用于注射或输注,例如静脉内、肌肉内或皮下注射或输注,或用于单次剂量和/或连续输注施用。可以使用油或水性载体中的悬浮液、溶液或乳液,任选地含有其他配方剂,如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。

[0192] 眼部施用

[0193] 本公开考虑向眼睛施用本发明中有用的化合物。任何眼部制剂在本公开中都是有用的,并且它们允许将本公开中有用的化合物应用于眼睛。

[0194] 在非限制性实例中,本公开的组合物包括gamma-环糊精(或γ-环糊精)。γ-环糊精溶液可以在水中制备,其浓度可达约23.2mg/mL的溶解度极限。然后,可以将这种环糊精

溶液的pH值调节到活性化合物最可溶的pH值。然后加入活性化合物,使γ-环糊精与活性化合物的摩尔比为从约1:1至约10:1。然后可以将所得悬浮液或溶液搅拌一段时间(例如1小时),之后将pH值调节至约5-8,优选约6.5-7.5。悬浮液或溶液可以搅拌长达约24小时,之后直接使用,用缓冲液稀释至期望浓度,和/或冻干以提供用于复溶的粉末。冻干粉末可以悬浮在一定量的水中,该水不会完全溶解粉末,但会提供精细的悬浮液。然后,可以用增稠剂进一步配制这种悬浮液,以提高对眼睛的粘附性。增稠剂包括但不限于羧甲基纤维素(例如,浓度约为0.05-5%)或其他获批的药剂。

[0195] 其他施用形式

[0196] 本公开的其他剂型包括美国专利6,340,475号;6,488,962号;6,451,808号;5,972,389号;5,582,837号以及5,007,790号中所述的剂型。本公开的额外剂型还包括美国专利申请20030147952号;20030104062号;20030104053号;20030044466号;20030039688号以及20020051820号中所述的剂型。本公开的额外剂型还包括PCT申请WO 03/35041号;WO 03/35040号;WO 03/35029号;WO 03/35177号;WO 03/35039号;WO 02/96404号;WO 02/32416号;WO 01/97783号;WO 01/56544号;WO 01/32217号;WO 98/55107号;WO 98/11879号;WO 97/47285号;WO 93/18755号和WO 90/11757号中所述的剂型。

[0197] 控释制剂和药物递送系统

[0198] 在某些实施方式中,本公开的制剂可以是但不限于短期、快速补充以及受控的制剂,例如持续释放、延迟释放和脉冲释放制剂。

[0199] 术语持续释放在其传统常规意义上用于指药物制剂在较长的一段时间内提供药物的逐渐释放,并且可能(尽管不一定)导致药物在较长的时间内基本恒定的血液水平。该时间段可能长达一个月或更长,并且应该是比以推注形式施用的相同量的试剂更长的释放。

[0200] 为了持续释放,化合物可以用合适的聚合物或疏水材料配制,其为化合物提供持续释放性能。因此,用于本公开方法的化合物可以微粒的形式施用,例如通过注射或通过植入以晶片或圆盘的形式施用。

[0201] 在某些实施方式中,使用缓释制剂将本公开的化合物单独或与另一种药剂组合施用于患者。

[0202] 本文中使用的术语延迟释放在其常规意义上用于指药物制剂在给药后的一段延迟后提供药物的初始释放,并且该制剂(虽然不一定)包括约10分钟至约12小时的延迟。

[0203] 本文中使用的术语脉冲释放在其常规意义上用于指药物制剂以在药物施用后产生药物脉冲血浆谱的方式提供药物释放。

[0204] 本文中使用的术语立即释放在其常规意义上用于指药物制剂在药物施用后立即释放药物。

[0205] 如本文所用,短期是指在药物施用后最长并包括约8小时、约7小时、约6小时、约5小时、约4小时、约3小时、约2小时、约1小时、约40分钟、约20分钟或约10分钟的任何时间段,及其任何或所有全部或部分增量。

[0206] 如本文所用,快速补充(rapid offset)是指在药物施用后最长并包括约8小时、约7小时、约6小时、约5小时、约4小时、约3小时、约2小时、约1小时、约40分钟、约20分钟或约10分钟的任何时间段,及其任何或所有全部或部分增量。

[0207] 剂量

[0208] 本公开化合物的治疗有效量或剂量取决于患者的年龄、性别和体重、患者的当前医疗状况以及所治疗患者AMD的进展。本领域技术人员能够根据这些和其他因素确定适当的剂量。

[0209] 本公开化合物的合适剂量可以在每天从约0.01mg至约5000mg的范围内,如每天从约0.1mg至约1000mg,例如每天从约1mg至约500mg,如每天约5mg至约250mg。该剂量可以单次剂量或以多次剂量施用,例如每天从1至4次或更多次。当使用多次剂量时,每个剂量的量可以相同或不同。例如,每天1mg的剂量可以分两次0.5mg施用,两次给药之间间隔约12小时。

[0210] 应当理解的是,在非限制性实例中,每天化合物剂量可以每天、每隔一天、每2天、每3天、每4天或每5天施用。例如,每隔一天施用的情况下,可以在周一开始每天5mg的剂量,周三施用后面第一次每天5mg,周五施用后面第二次每天5mg,以此类推。

[0211] 在患者的状态确实改善的情况下,根据医生的判断,可以选择连续给予本公开的抑制剂;可选地,暂时减少或暂停一定时间的药物剂量(即"药物假期")。药物假期的长度任选地在2天至1年之间变化,仅作为示例,包括2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、12天、15天、20天、28天、35天、50天、70天、100天、120天、150天、180天、200天、250天、280天、300天、320天、350天或365天。药物假期期间的剂量减少包括从10%至100%,仅作为示例,包括10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。

[0212] 一旦患者的病情有所改善,必要时会服用维持剂量。随后,根据病毒载量,将剂量或施用频率或两者降低到保留改善疾病的水平。在某些实施方式中,当症状和/或感染有任何复发时,患者需要长期间歇性治疗。

[0213] 用于本公开方法的化合物可以以单位剂型配制。术语"单位剂型(unit dosage form)"是指适合作为正在接受治疗的患者的单位剂量的物理上离散的单位,每个单位含有预定量的活性物质,可以计算以产生所需的治疗效果,任选地与合适的药物载体结合使用。单位剂型可以是单次每日剂量或多次每日剂量中的一次(例如,每天约1至4次或更多次)。当使用多次每日剂量时,每次剂量的单位剂型可能相同或不同。

[0214] 这种治疗方案的毒性和治疗效果任选地在细胞培养物或实验动物中测定,包括但不限于LD_{50}(对50%人群致死的剂量)和ED_{50}(在50%人群中治疗有效的剂量)的测定。毒性和治疗效果之间的剂量比是治疗指数,其表示为LD_{50}和ED_{50}之间的比值。从细胞培养试验和动物研究中获得的数据可选地用于制定人类使用的剂量范围。此类化合物的剂量优选在循环浓度范围内,其包括毒性最小的ED_{50}。剂量任选地在该范围内变化,这取决于所使用的剂型和所使用的施用途径。

[0215] 本领域技术人员将认识到或能够使用不超过常规实验来确定与本文所述的具体程序、实施方式、权利要求和实例的许多等效物。这些等效物被认为在本公开的范围内,并由所附的权利要求书涵盖。例如,应该理解的是,反应条件的改变,包括但不限于反应时间、反应大小/体积和实验试剂,如溶剂、催化剂、压力、大气条件,例如氮气气氛和还原剂/氧化剂,以及本领域公认的替代方案,并且只使用常规实验,都在本申请的范围内。

[0216] 应当理解的是,无论本文什么地方提供值和范围,这些值和范围所包含的所有值

和范围都意味着包含在本公开的范围内。此外,本申请还考虑了落在这些范围内的所有值,以及值范围的上限或下限。

[0217] 示例性实施例

[0218] 通过参考以下示例性实施例进一步详细描述本公开。除非另有说明,否则提供这些实施例仅用于说明目的,并不意图进行限制。因此,本公开决不应被解释为限于以下实施例,而是应被解释为包括由于本文提供的教导而变得明显的任何和所有变化。

[0219] 在没有进一步描述的情况下,相信本领域普通技术人员可以使用前面的描述和以下说明性实施例来制造和利用本公开的化合物,并实践所要求保护的方法。因此,以下工作实施例具体指出了本公开的优选实施方式,并且不应被解释为以任何方式限制本公开的其余部分。

[0220] 这里描述了实践以下实施例所采用的材料和方法:

[0221] 人视网膜色素上皮(RPE)细胞培养

[0222] 从美国典型培养物保藏中心(ATCC,Manassas,VA,USA)获得的永生化人RPE细胞(ARPE-19)在含有10%胎牛血清(FBS)、100IU/mL青霉素、100μg/mL链霉素、100μg/mL庆大霉素和2.5μg/mL两性霉素B(Thermo Fisher Scientific)的Dulbecco改良Eagle培养基(DMEM;Thermo Fisher Sciences,Waltham,MA)中培养。

[0223] 使用叔丁基过氧化氢诱导氧化应激

[0224] 将人ARPE-19细胞在添加FBS和抗生素的DMEM中在96孔板中放置24小时。将ARPE-19细胞与环吡酮胺(Sigma)、化合物414(Chemical Diversity,San Diego,CA)、化合物434(Chemical Diverity)或无化合物预孵育24小时,然后在第二天暴露于不同浓度的叔丁基过氧化氢(TBHP;Sigma-Aldrich,St.Louis,MO)24小时。第二天,使用BioTek FLx800™荧光读数器(BioTek,Winooski,VT)通过RealTime Glo™MT细胞存活率测定法(Promega,Madison,WI)测量细胞存活率。

[0225] 细胞外基质(ECM)的亚硝酸盐修饰

[0226] 从ATCC获得永生化人RPE(ARPE-19)细胞,在含有10%FBS、100IU/mL青霉素、100μg/mL链霉素和100μg/mL庆大霉素(Invitrogen Gibco,Life Technologies)的DMEM(Invitrogen Gibco,Life Technologies)中培养和维持。这些细胞在37℃的5% CO_2和95%空气的加湿气体中孵育。ARPE-19细胞在12孔板或平底24孔板中的24孔Transwell®可渗透载体(Corning,Inc.)上生长6-8周,以形成ECM。然后通过添加20mM氢氧化铵缓冲液20min去除ARPE-19电池,并用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤ECM。从RPE-ECM板中取出PBS并干燥。随后,向ECM中加入100mM亚硝酸钠,并在37℃下孵育7天。然后用PBS洗涤板子,并用PBS孵育4小时。最后,用PBS洗涤板子以完全去除亚硝酸盐。细胞与药物预孵育24小时,然后接种在亚硝酸盐修饰的ECM上24小时。使用RealTime Glo-MT测定法(Promega)和BioTek FLx800荧光读数器(Bio-Tek,Winooski,VT)测量细胞存活率。

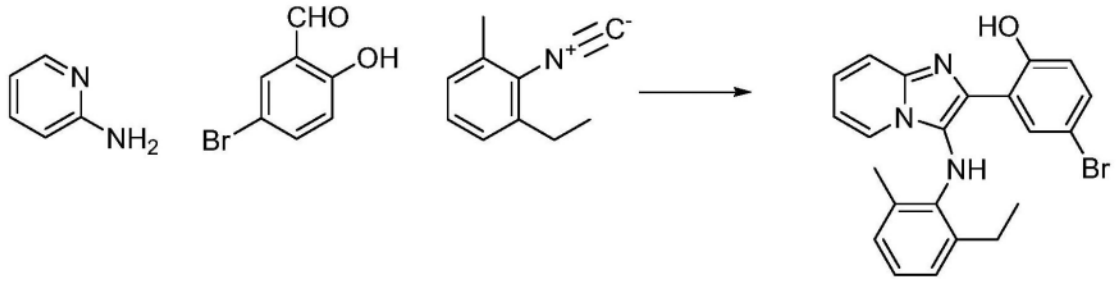
[0227] 使用蓝光损伤诱导氧化应激

[0228] 将人ARPE-19细胞在添加FBS和抗生素的DMEM中在96孔板中放置24小时。将细胞与药物预孵育24小时,然后暴露于蓝光(156.7LUX,36小时)。在蓝光照射36小时后,使用RealTime Glo-MT测定法(Promega)和BioTek FLx800荧光读数器(Bio-Tek,Winooski,VT)测量细胞存活率。

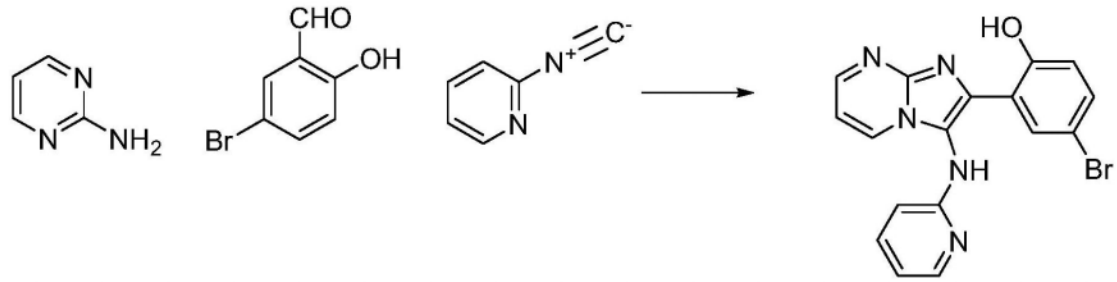
[0229] 统计分析

[0230] 所有实验至少进行三次,一式三份。使用Prism(GraphPad Software,Inc.,La Jolla,CA)进行独立的双尾t测试。采用α=0.05的标准。

[0231] 实施例1:化学合成



[0232]



[0233] 一般方法:

[0234] 根据标准程序纯化溶剂。所有其他起始材料均从市场来源购买。使用Polychrom SI F254板进行TLC分析。柱色谱法使用Kieselgel Merck 60(230-400目)作为固相进行。1H NMR光谱记录在Varian Gemini 2000光谱仪上。四甲基硅烷用作内标。质谱记录在Agilent1100LCMSD SL仪器[电喷雾电离(ESI)]上。

[0235] 一般程序:

[0236] 在20℃下将胺(2.0mmol)、醛(2.0mmol)和乙酸(4.0mmol)在20mL甲醇中的溶液搅拌20min。将反应混合物冷却,在0℃下一次性加入异腈(2.0mmol)。在20℃下继续搅拌5-6小时(TCL监测)。产物从反应混合物中结晶或加入几滴水后结晶。通过过滤收集产物,用水(3-10mL)洗涤,干燥,并再次用已烷(50mL)洗涤。将粗产物结晶(甲醇)或通过柱色谱法(CH_2Cl_2-CH_3OH,15:5)纯化,以得到结晶化合物。

[0237] 4-溴-2-(3-(2-乙基-6-甲基-苯胺)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)苯酚(DH421)。

[0238] 棕色粉末。产率73%。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ13.21(d,J=3.4Hz,1H),7.99(d,J=6.6Hz,1H),7.87(t,J=3.0Hz,1H),7.70(dd,J=9.1,3.3Hz,1H),7.39(t,J=7.9Hz,1H),7.32(d,J=3.5Hz,1H),7.24(dd,J=8.6,2.8Hz,1H),7.09-6.97(m,2H),6.90(d,J=7.4Hz,1H),6.86-6.75(m,2H),1.71(d,J=3.4Hz,3H),1.02(t,J=7.4Hz,3H)。

[0239] ESIMS.m/z:423(M+1)+。

[0240] 4-溴-2-(3-(吡啶-2-基氨基)咪唑并[1,2-a]嘧啶-2-基)苯酚(DH381-2)

[0241] 棕色粉末。产率15%。^1H NMR(500MHz,DMSO-d6)δ13.20(s,1H),9.04(s,1H),8.02(t,,J=5.0Hz,2H),7.96(d,J=5.0Hz,1H),7.74(dd,J=9.1,3.6Hz,1H),7.65-7.56(m,1H),7.44(dd,J=9.1,6.5Hz,1H),7.29(dd,J=8.6,2.6Hz,1H),7.04(q,J=6.8,5.2Hz,1H),6.87(dd,J=8.7,3.3Hz,1H),6.79-6.70(m,2H)。

[0242] ESIMS.m/z:383(M+1)+。

[0243] 实施例2:

[0244] 如图1所示,DH381-2(4-溴-2-(3-(吡啶-2-基氨基)咪唑并[1,2-a]嘧啶-2-基)苯酚)和DH421(4-溴-2-(3-((2-乙基-6-甲基苯基)氨基)咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)苯酚)都保护人视网膜色素上皮(RPE)细胞免受氧化应激诱导的细胞死亡。将人ARPE-19细胞(CRL-2302;美国典型培养物保藏中心)与0.9μM的DH381-2和DH421预孵育24小时,然后暴露于300μM的叔丁基过氧化氢(TBHP)中24小时以诱导细胞死亡。DH381-2和DH421在暴露于TBHP后显著提高了人ARPE-19细胞的细胞存活率。****p<0.0001。

[0245] 实施例3:

[0246] 如图2所示,DH421保护人视网膜色素上皮(RPE)细胞免受氧化应激诱导的细胞死亡。将人ARPE-19细胞(CRL-2302;美国典型培养物保藏中心)与0.9μM DH421预孵育24小时,然后暴露于250μM叔丁基过氧化氢(TBHP)中24小时以诱导细胞死亡。DH421在暴露于TBHP后显著提高了人ARPE-19细胞的细胞存活率,对细胞生长抑制没有影响。****p<0.0001。

[0247] 实施例4:

[0248] 如图3所示,DH421和DH381-2都保护人视网膜色素上皮(RPE)细胞免受氧化应激诱导的细胞死亡。人ARPE-19细胞(CRL-2302;美国典型培养物保藏中心)与0.6μM化合物DH421或DH381-2预孵育24小时,然后暴露于300μM叔丁基过氧化氢(TBHP)中24小时以诱导细胞死亡。对DH421和DH381-2处理的人ARPE-19细胞有保护作用。****p<0.0001。

[0249] 实施例5:

[0250] 如图4所示,DH421和DH381-2都保护人视网膜色素上皮(RPE)细胞免受蓝光损伤。将人ARPE-19细胞(CRL-2302;美国典型培养物保藏中心)与0.6μM化合物DH421或DH381-2预孵育24小时,然后暴露于蓝光(156.7LUX,36小时)。化合物DH421或DH381-2对暴露于蓝光(156.7LUX,36小时)的人ARPE-19细胞有保护作用。*p<0.05,***p<0.01。

[0251] 实施例6:

[0252] 如图5所示,用化合物DH421或DH381-2处理增强了亚硝酸盐修饰的细胞外基质(ECM)上的人视网膜色素上皮(RPE)细胞活力。用1μM、3μM和10μM的化合物DH421或DH381-2处理人ARPE-19细胞(CRL-2302;美国典型培养物保藏中心),然后将其接种到亚硝酸盐修饰的ECM和未处理的(正常)ECM上24小时。化合物DH421或DH381-2对接种在亚硝酸盐修饰的ECM上的人ARPE-19细胞有保护作用。*p<0.05,**p<0.01

[0253] 实施例7:

[0254] 如图6所示,DH421和DH381-2都保护人视网膜色素上皮(RPE)细胞免受氧化应激诱导的细胞死亡。将人RPE细胞与0.6μM化合物DH421或DH381-2预孵育24小时,然后暴露于300μM叔丁基过氧化氢(TBHP)中24小时以诱导细胞死亡。对DH421和DH381-2处理的人RPE细胞有保护作用。****p<0.0001。

[0255] 实施例8:

[0256] 如图7所示,DH421和DH381-2都保护人视网膜色素上皮(RPE)细胞免受蓝光损伤。将人RPE细胞与0.6μM的化合物DH421或DH381-2预孵育24小时,然后暴露于蓝光(156.7LUX,36小时)。化合物DH421或DH381-2对暴露于蓝光(156.7LUX,36小时)的人RPE细胞有保护作用。*p<0.05,***p<0.01。

[0257] 实施例9：

[0258] 如图8所示，用化合物DH421或DH381-2处理增强了亚硝酸盐修饰的细胞外基质(ECM)上的人视网膜色素上皮(RPE)细胞活力。用1μM的化合物DH421或DH381-2处理人RPE细胞，然后将其接种到亚硝酸盐修饰的ECM和未处理的(正常)ECM上24小时。化合物DH421或DH381-2对接种在亚硝酸盐修饰的ECM上的RPE细胞有保护作用。*p<0.05。

[0259] 实施例10：

[0260] 如图9A-9B所示，在氧化应激诱导的人视网膜色素上皮(RPE)细胞死亡后，DH381-2和DH421都改善了线粒体功能。将人RPE细胞与1μM化合物DH381-2和DH421预孵育18小时，然后用300μM叔丁基过氧化氢(TBHP)处理24小时。通过Seahorse XF分析仪测定耗氧率(OCR)，以测量线粒体功能。与对照组相比，TBHP处理的细胞中ATP的产生显著降低，而与TBHP处理组相比，化合物DH381-2或DH421处理增加了ATP的产生。**p<0.001。

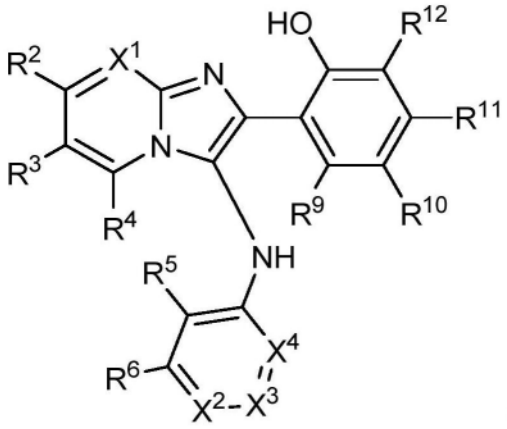
[0261] 实施例11：

[0262] 如图10所示，用化合物DH381-2和DH421处理后，人视网膜色素上皮(RPE)细胞的细胞毒性水平不受影响。将人RPE细胞与1μM化合物DH381-2和DH421预孵育24小时。用TBHP和化合物DH381-2和DH421处理后，通过CellTox Green细胞毒性检测测量人RPE细胞中的细胞毒性。

[0263] 列举的实施方式

[0264] 提供了以下示例性实施方式，其编号不应被解释为指定重要性级别：

[0265] 实施方式1：式(I)的化合物：

[0266] 

(I)，

[0267] 其中：

[0268] X^1为N或CR^1；

[0269] 以下情况之一适用：

[0270] X^2是N，X^3是CR^7，以及X^4是CR^8，或

[0271] X^2是CR^7，X^3是N，以及X^4是CR^8，或

[0272] X^2是CR^7，X^3是CR^8，以及X^4是N；

[0273] R^1(如果存在)、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}和R^{12}独立地选自由H、CH_3、CH_2CH_3、$CH_2CH_2CH_3$、$CH(CH_3)_2$、F、Cl、Br和I组成的组；

[0274] 或其盐、溶剂合物、互变异构体和/或立体异构体。

[0275] 实施方式2：根据权利要求1的化合物，其中X^1是N。

[0276] 实施方式3:根据权利要求1的化合物,其中X^1是CR^1。

[0277] 实施方式4:根据权利要求1至3中任一项的化合物,其中X^2是N,X^3是CR^7,以及X^4是CR^8。

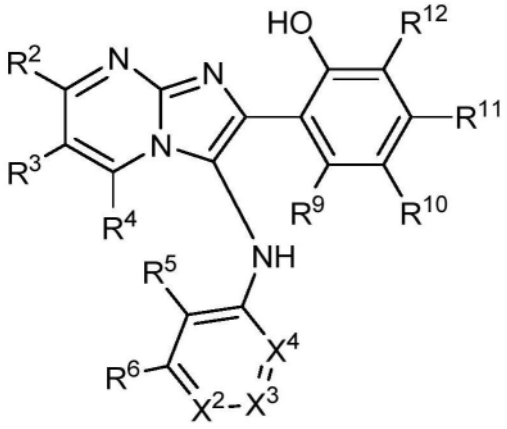
[0278] 实施方式5:根据权利要求1至3中任一项的化合物,其中X^2是CR^7,X^3是N,以及X^4是CR^8。

[0279] 实施方式6:根据权利要求1至3中任一项的化合物,其中X^2是CR^7,X^3是CR^8,以及X^4是N。

[0280] 实施方式7:根据权利要求1至6中任一项的化合物,其中R^{10}是Br。

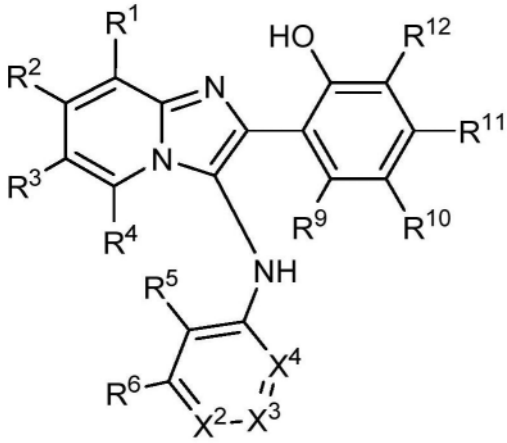
[0281] 实施方式8:根据权利要求1至7中任一项的化合物,其中R^5、R^6、R^7和R^8是H。

[0282] 实施方式9:根据权利要求1至8中任一项的化合物,其是式(Ia)的化合物:

[0283] 

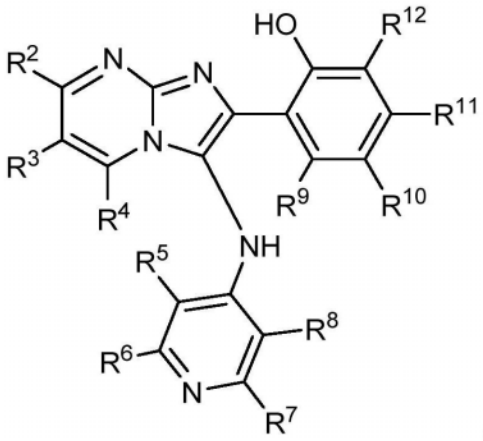
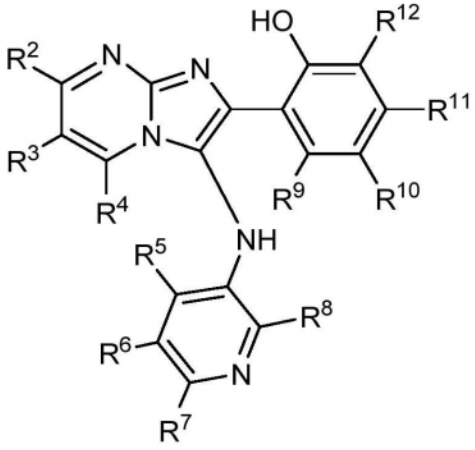
(Ia)。

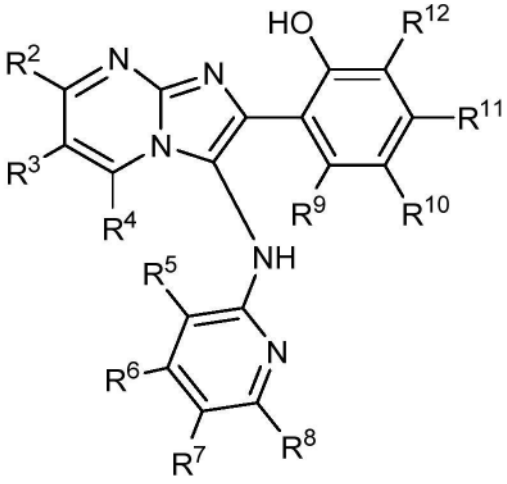
[0284] 实施方式10:根据权利要求1至8中任一项的化合物,其是式(Ib)的化合物:

[0285] 

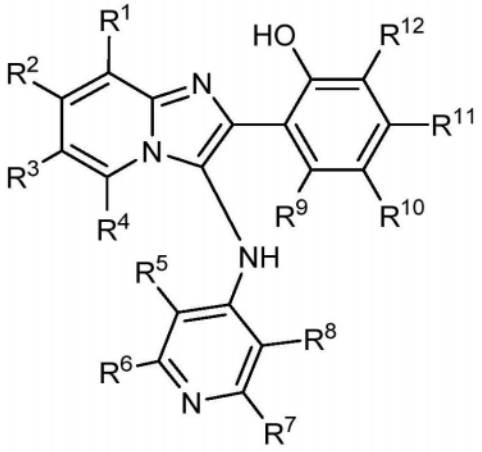
(Ib)。

[0286] 实施方式11:根据权利要求1至9中任一项的化合物,其选自由以下组成的组:

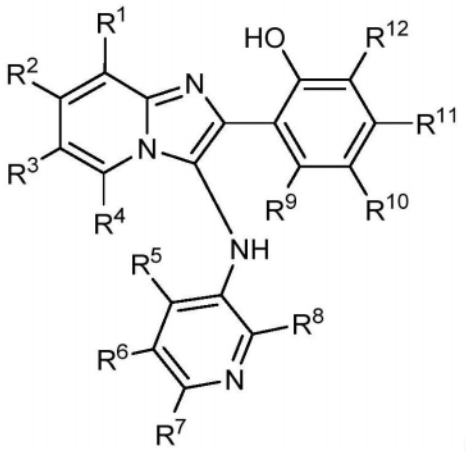
[0287]  (Ia1),  (Ia2),

[0288]  和 (Ia3)。

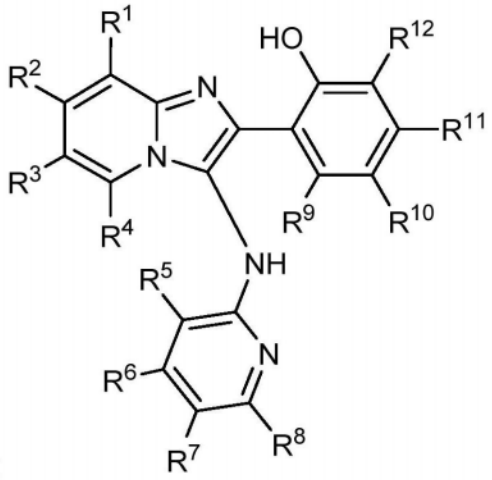
[0289] 实施方式12:根据权利要求1至8和10中任一项的化合物,其选自由以下组成的组:



(Ib1),

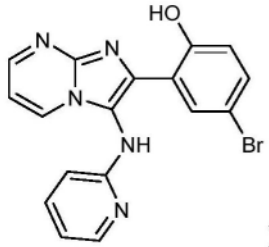


(Ib2),



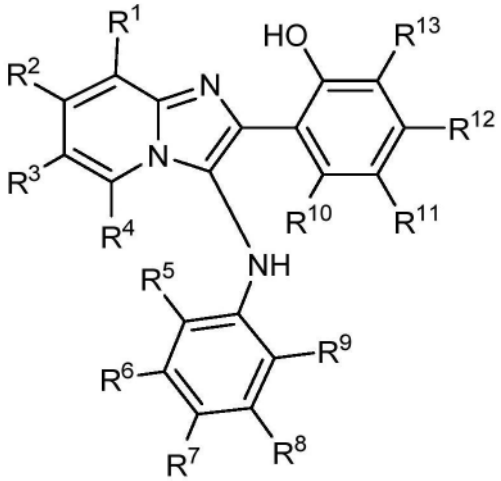
和 (Ib3)

[0290] 实施方式13:根据权利要求1至12中任一项的化合物,其是:

[0291] 

DH381-2。

[0292] 实施方式14:式(II)的化合物是:

[0293] 

(II),

[0294] 其中：

[0295] R^1、R^2、R^3、R^4、R^6、R^7、R^8、R^{10}、R^{11}、R^{12}和R^{13}独立地选自由H、CH_3、CH_2CH_3、$CH_2CH_2CH_3$、$CH(CH_3)_2$、F、Cl、Br和I组成的组，

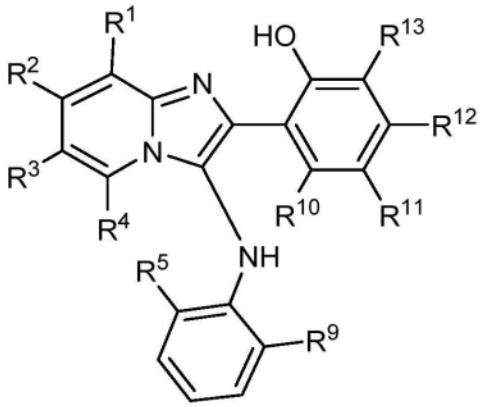
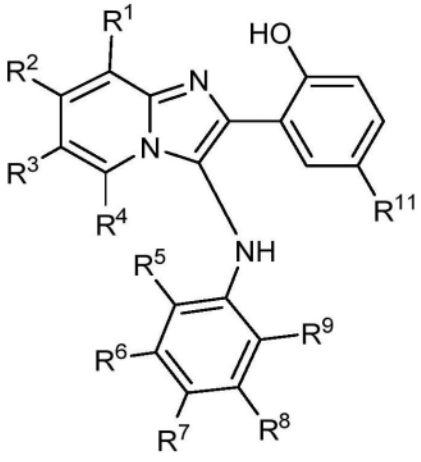
[0296] R^5和R^9独立地选自由CH_3、CH_2CH_3、$CH_2CH_2CH_3$、$CH(CH_3)_2$、F、Cl、Br和I组成的组；

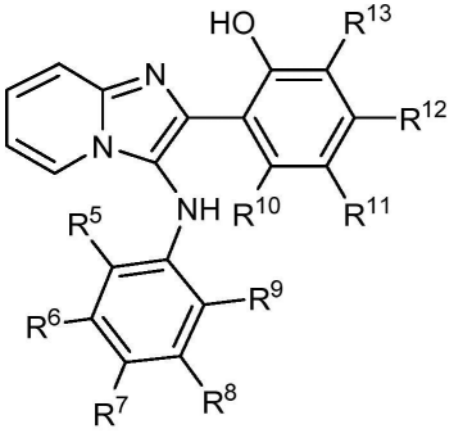
[0297] 或其盐、溶剂合物、互变异构体和/或立体异构体。

[0298] 实施方式15：根据权利要求14的化合物，其中R^{11}是Br。

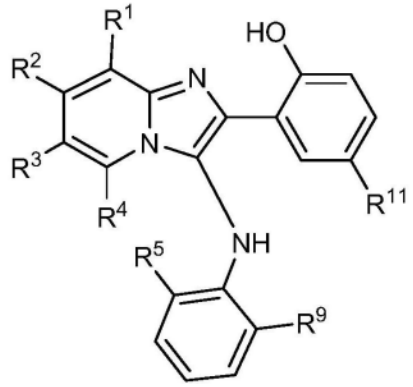
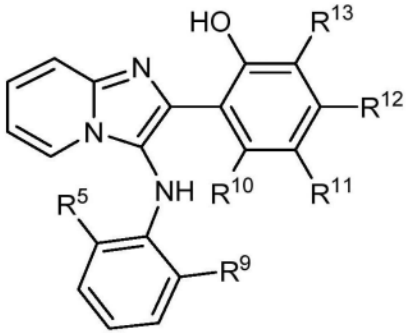
[0299] 实施方式16：根据权利要求14至15中任一项的化合物，其中R^6、R^7和R^8是H。

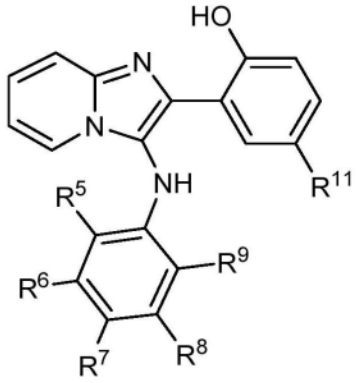
[0300] 实施方式17：根据权利要求14至16中任一项的化合物，其选自由以下组成的组：

[0301] 
(IIa)，

(IIb)，和

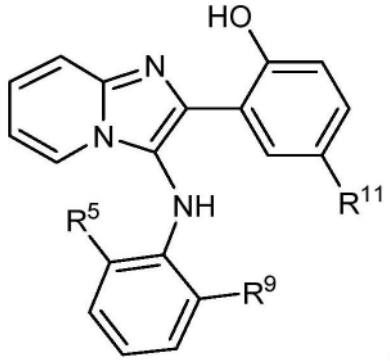
[0302] 
(IIc)。

[0303] 实施方式18：根据权利要求14至17中任一项的化合物，其选自由以下组成的组：

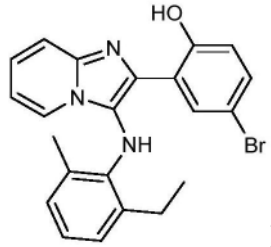
[0304]  (IId)；  (IIe)； 和

 (IIf)。

[0305] 实施方式19:根据权利要求14至18中任一项的化合物,其是:

[0306]  (IIg)。

[0307] 实施方式20:根据权利要求14至19中任一项的化合物,其是:

[0308]  DH421

[0309] 实施方式21:一种治疗、改善和/或预防受试者视网膜变性的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的权利要求1-20中任一项的化合物。

[0310] 实施方式22:根据权利要求21的方法,其中视网膜变性包括年龄相关性黄斑变性(AMD)。

[0311] 实施方式23:根据权利要求21的方法,其中视网膜变性包括“干性”AMD。

[0312] 实施方式24:一种治疗、改善和/或预防受试者眼前段障碍的方法,该方法包括向

受试者施用治疗有效量的权利要求1-20中任一项的化合物。

[0313] 实施方式25:根据权利要求24的方法,其中障碍包括选自由福斯氏角膜内皮营养不良、白内障、青光眼和圆锥角膜组成的组中的至少一种。

[0314] 实施方式26:一种在受试者中治疗、改善和/或预防细胞死亡和/或促进细胞存活的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的权利要求1-20中任一项的化合物。

[0315] 实施方式27:根据权利要求26的方法,其中细胞死亡包括氧化应激诱导的细胞死亡。

[0316] 实施方式28:根据权利要求26的方法,其中细胞包括晶状体上皮细胞。

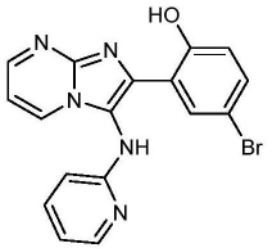
[0317] 实施方式29:根据权利要求26的方法,其中细胞死亡与选自由心力衰竭和其他心血管疾病;肺纤维化、肾脏疾病、糖尿病性黄斑水肿和视网膜病变、神经退行性疾病、线粒体肌病、Barth综合征和肝病组成的组的至少一种疾病有关。

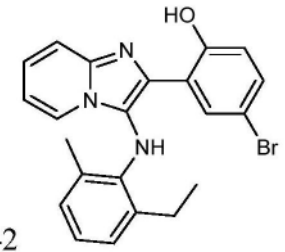
[0318] 实施方式30:一种治疗、改善和/或预防受试者晶状体上皮细胞中蓝光损伤的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的权利要求1-20中任一项的化合物。

[0319] 实施方式31:根据权利要求21-30中任一项的方法,其中化合物配制在药学上可接受的组合物中,组合物进一步包括至少一种药学上可接收的赋形剂。

[0320] 实施方式32:根据权利要求21-28和30-31中任一项的方法,其中化合物通过眼部施用。

[0321] 实施方式33:根据权利要求21-32中任一项的方法,其中化合物是以下之一

[0322] 

DH381-2


DH421。

[0323] 实施方式34:一种药物组合物,其包括权利要求1-20中任一项的化合物和至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0324] 实施方式35:根据权利要求34的药物组合物,其配制用于眼部施用。

[0325] 实施方式36:根据权利要求34-35中任一项的药物组合物,其包括gamma-环糊精(γ-环糊精)。

[0326] 实施方式37:根据权利要求34-36中任一项的药物组合物,其pH为约5-8。

[0327] 实施方式38:根据权利要求34-37中任一项的药物组合物,其被冻干。

[0328] 实施方式39:根据权利要求34-38中任一项的药物组合物,其进一步包括增稠剂。

[0329] 本文引用的每项专利、专利申请和出版物的公开均以引用的方式将其全部内容并入本文。

[0330] 虽然本公开是参照具体实施方式公开的,但很明显的是,本领域的其他技术人员可以在不脱离本公开的真实精神和范围的情况下设计本公开的其他实施方式和变型。所附权利要求旨在被解释为包括所有这些实施方式和等效变型。

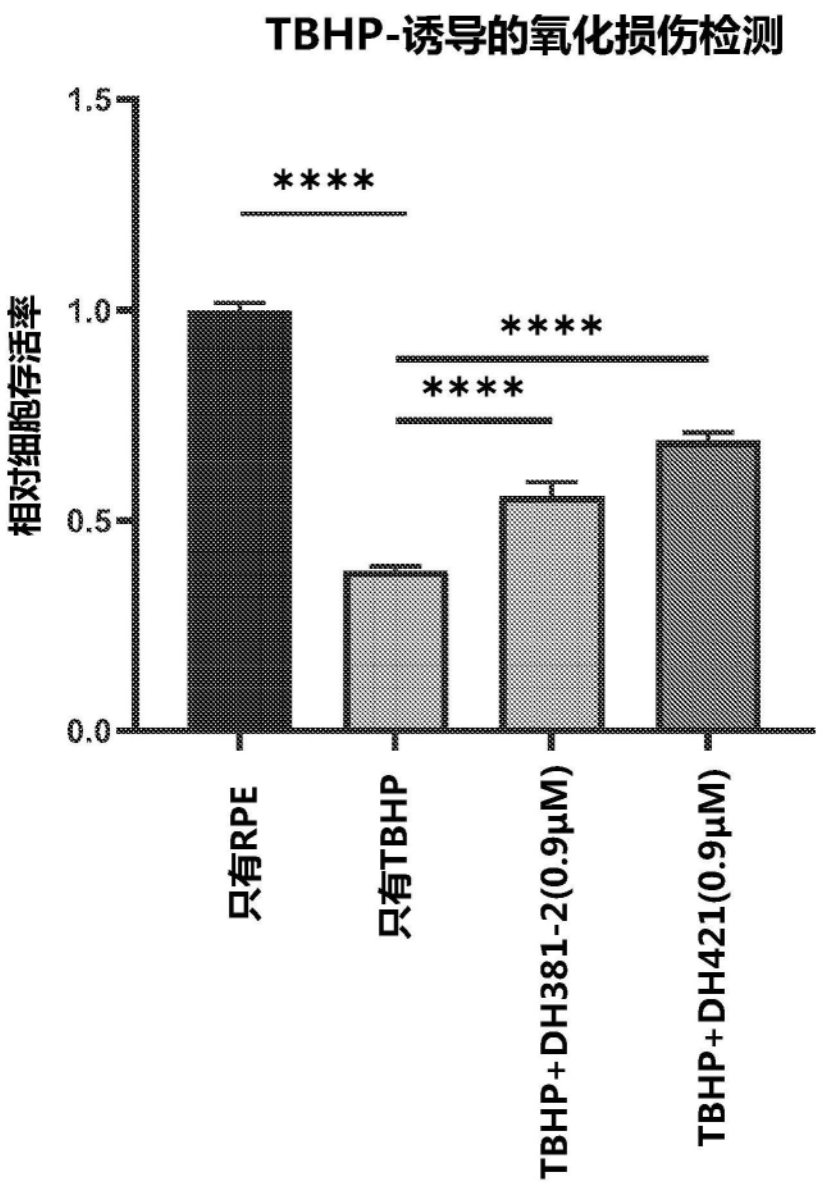

TBHP-诱导的氧化损伤检测
相对细胞存活率
1.5
1.0
0.5
0.0
****
****
****
只有RPE
只有TBHP
TBHP+DH381-2(0.9μM)
TBHP+DH421(0.9μM)

图1

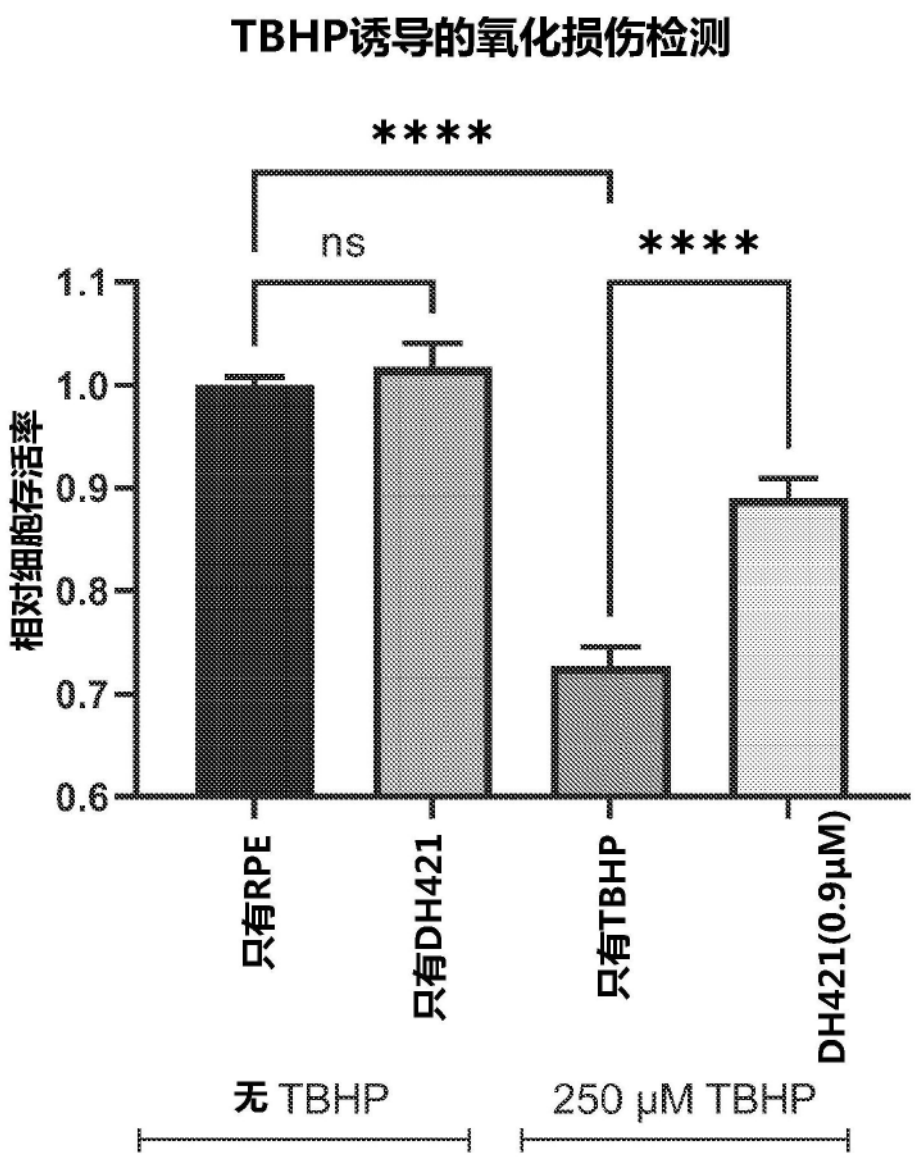

TBHP诱导的氧化损伤检测
****
ns
****
相对细胞存活率
1.1
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
只有RPE
只有DH421
只有TBHP
DH421(0.9μM)
无 TBHP
250 μM TBHP

图2

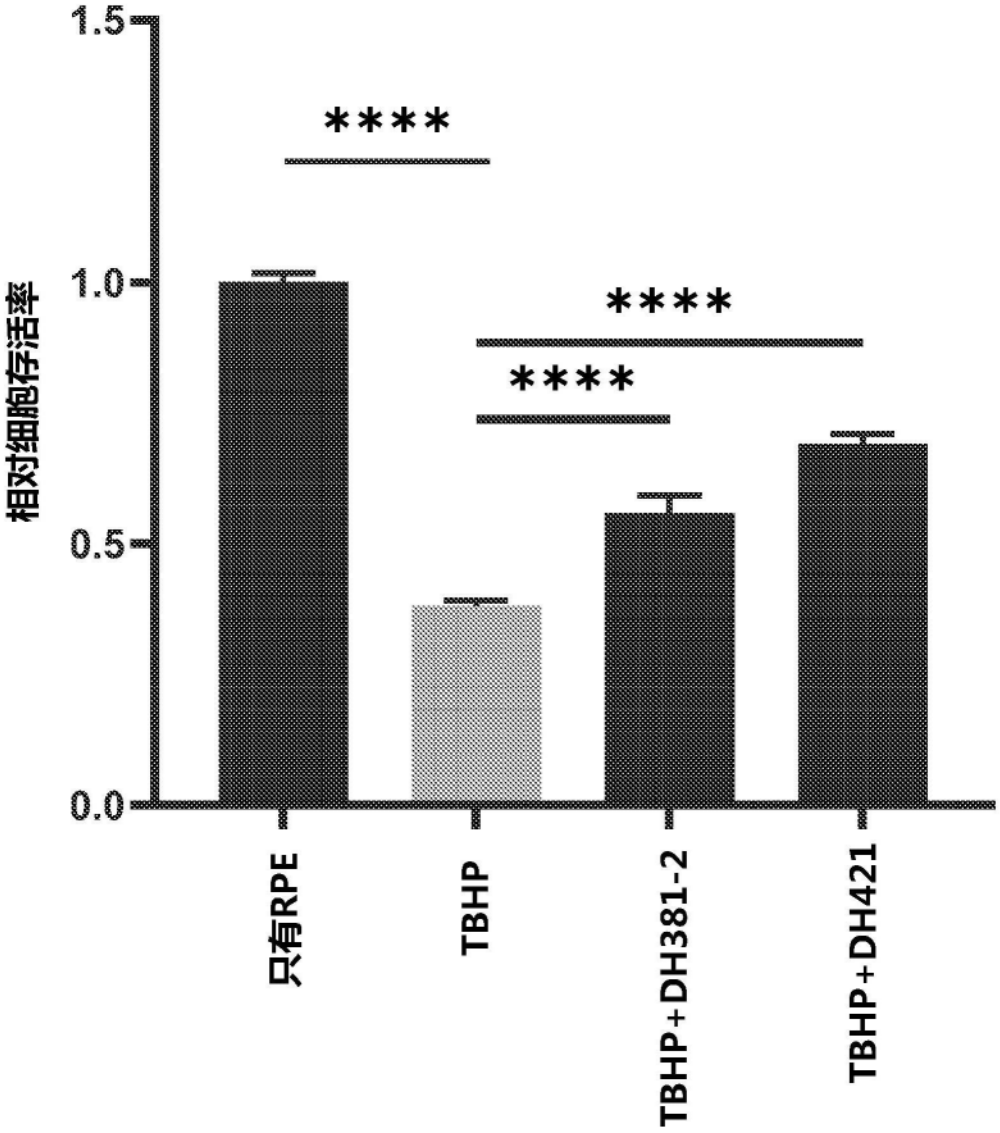


图3

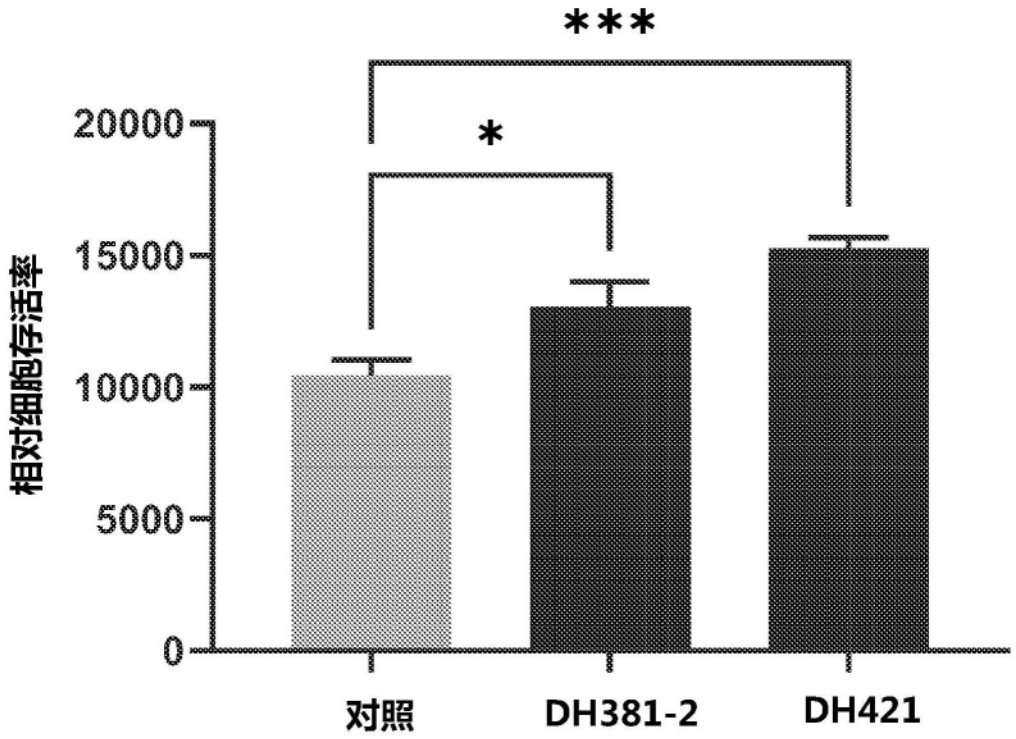


图4

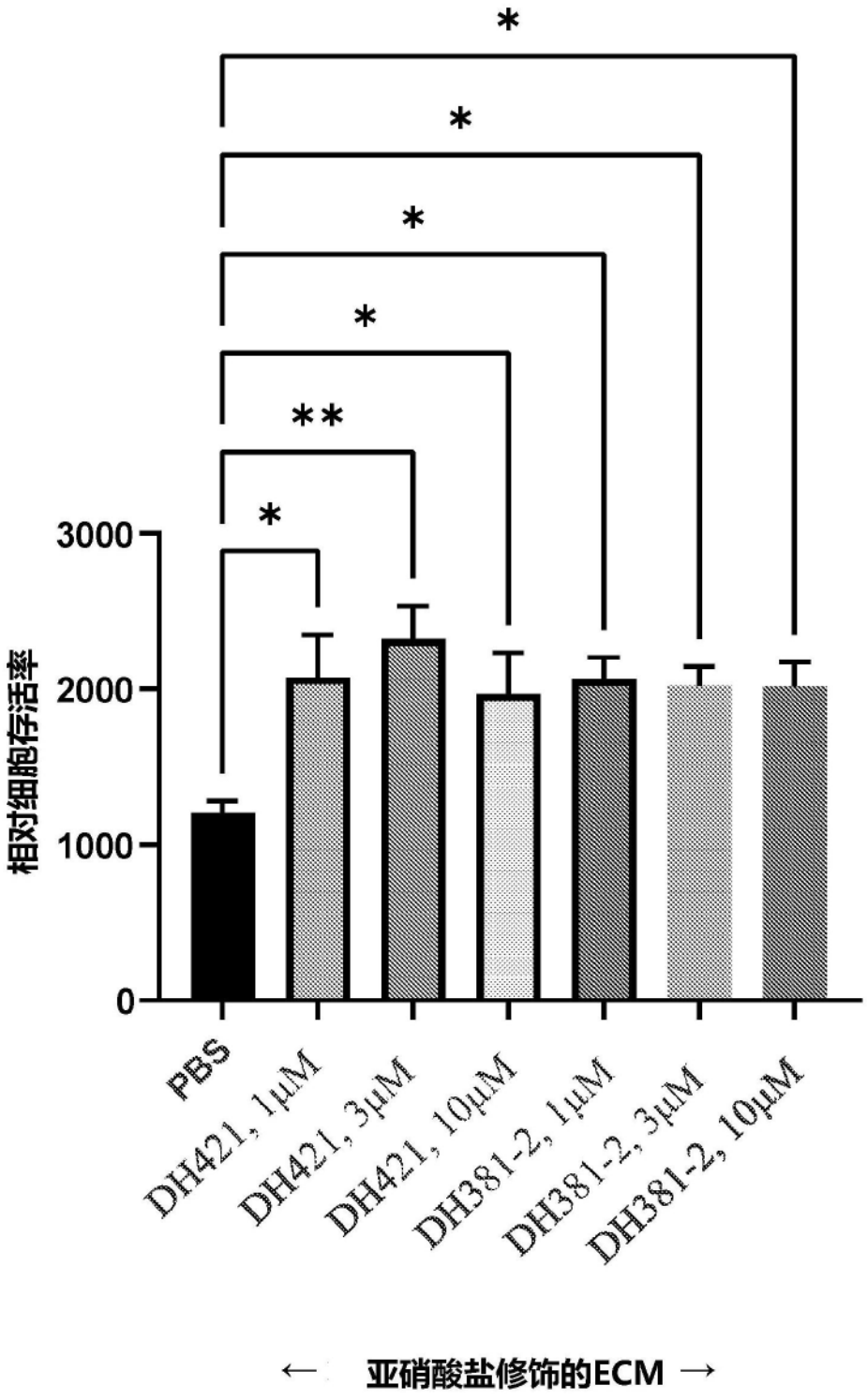

*
*
*
*
*
**
*
3000
2000
1000
0
相对细胞存活率
PBS
DH421, 1μM
DH421, 3μM
DH421, 10μM
DH381-2, 1μM
DH381-2, 3μM
DH381-2, 10μM
← 亚硝酸盐修饰的ECM →

图5

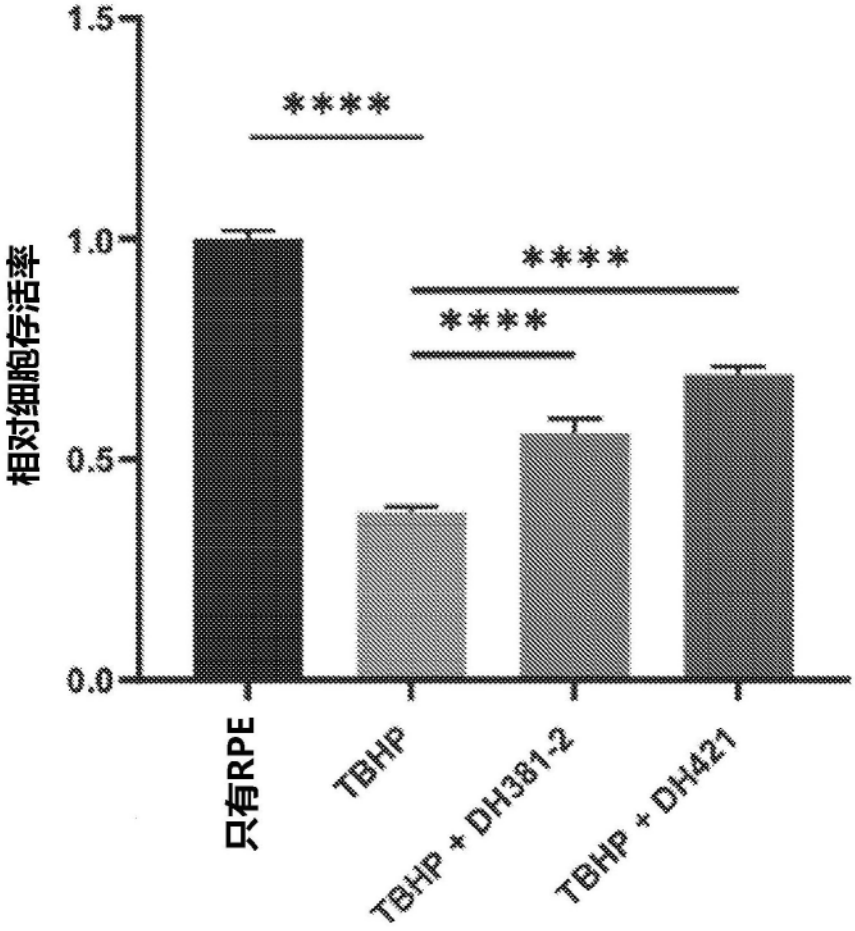

1.5
1.0
0.5
0.0
相对细胞存活率
****
****
****
只有RPE
TBHP
TBHP + DH381-2
TBHP + DH421

图6

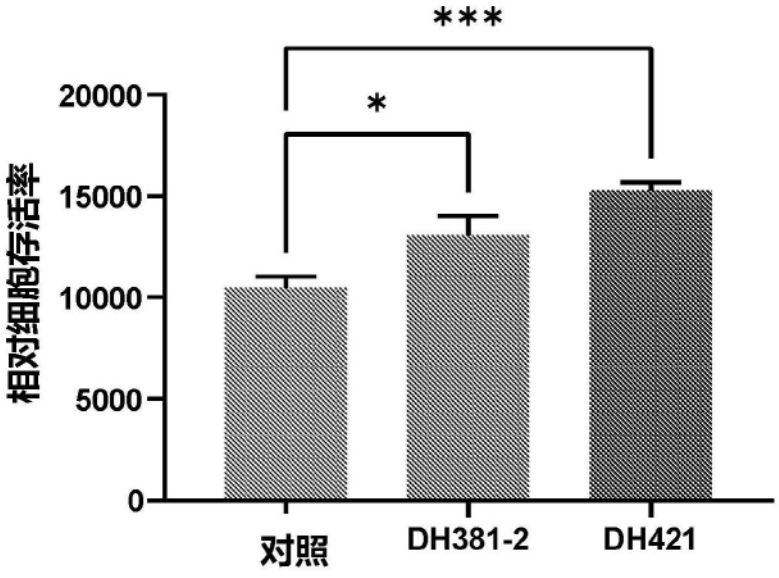

***
*
20000
15000
10000
5000
0
相对细胞存活率
对照
DH381-2
DH421

图7

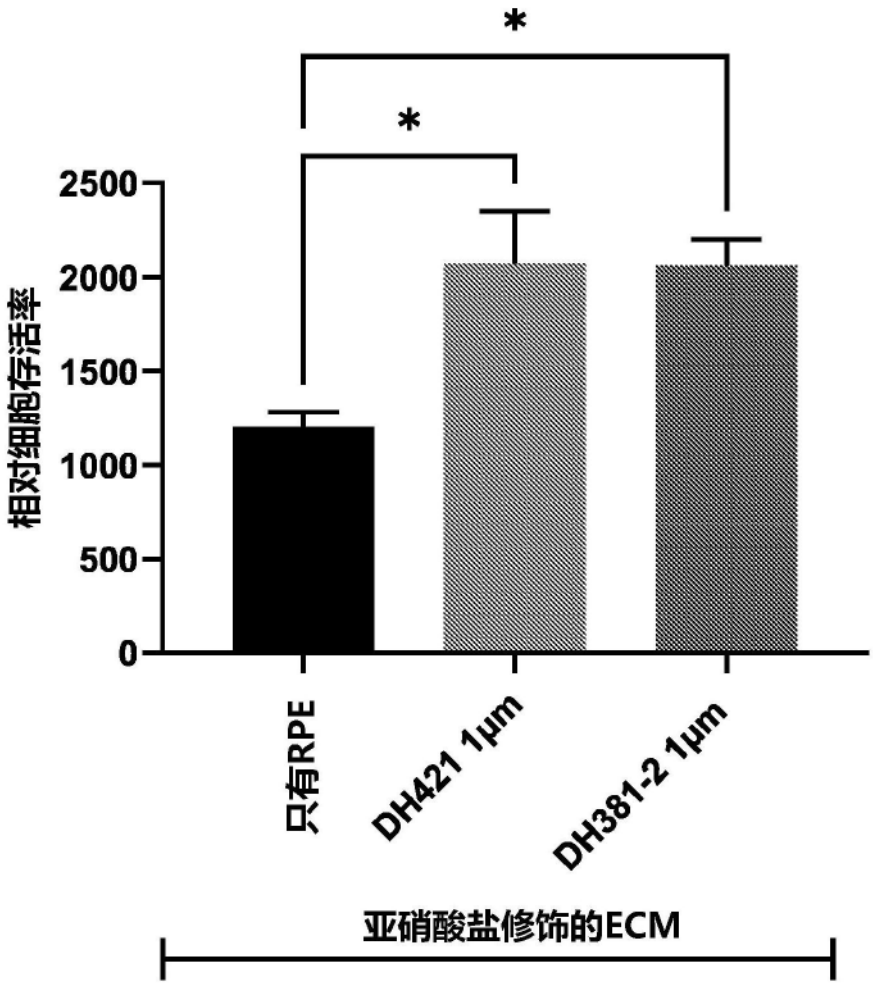

*
*
2500
2000
1500
1000
500
0
相对细胞存活率
只有RPE
DH421 1μm
DH381-2 1μm
亚硝酸盐修饰的ECM

图8

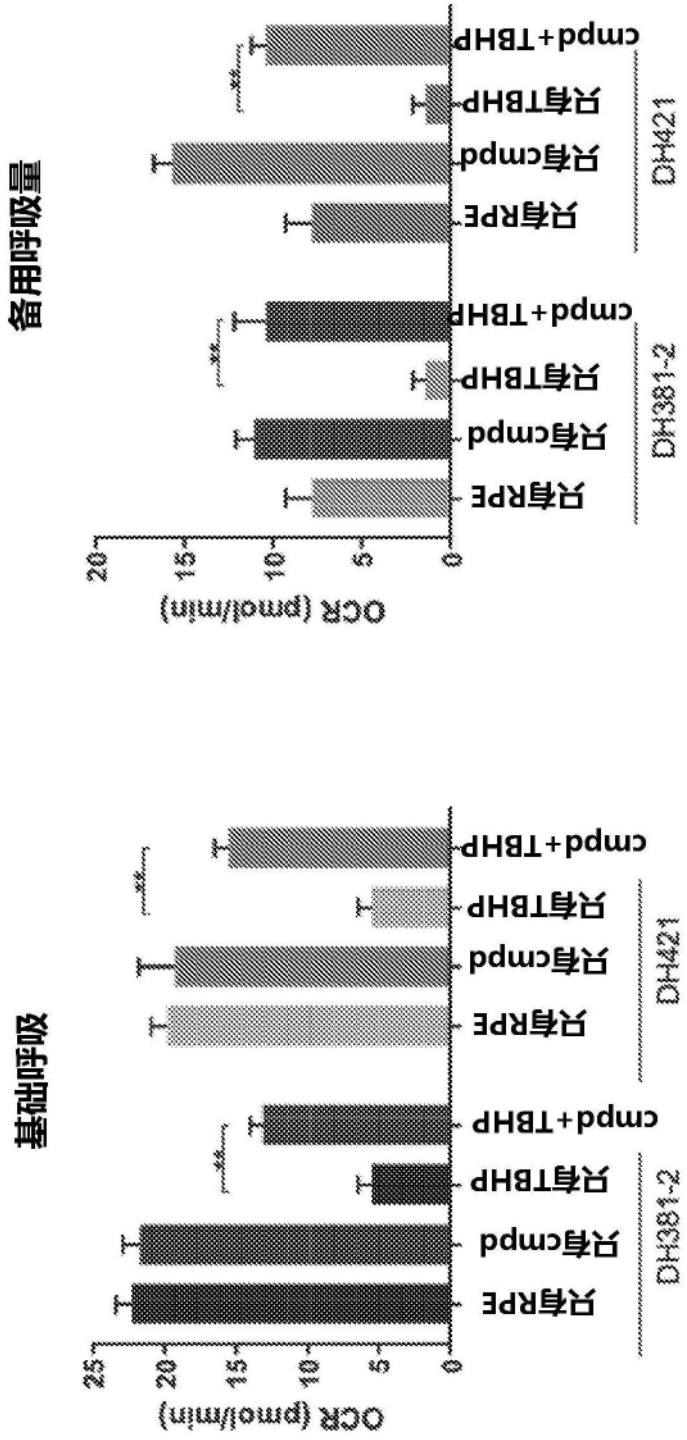
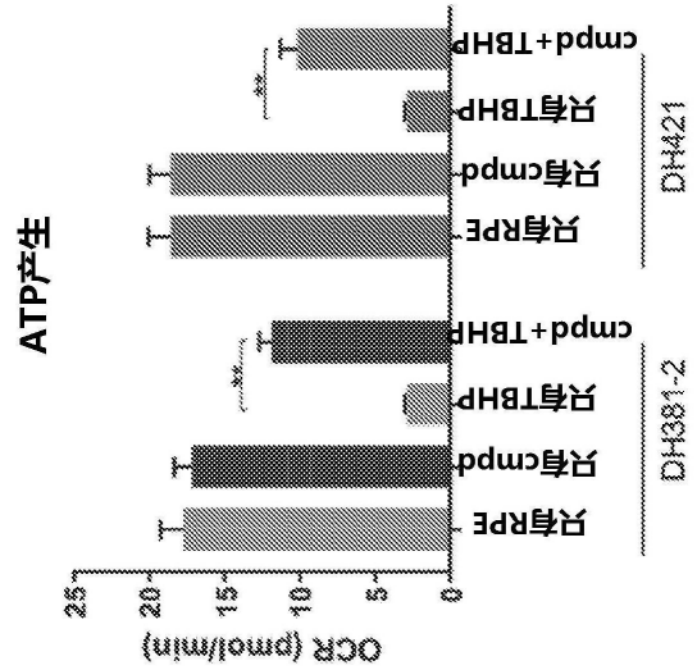

备用呼吸量
基础呼吸
OCR (pmol/min)
只有RPE
只有cmpd
只有TBHP
cmpd+TBHP
DH381-2
DH421
**

图9A


ATP产生
OCR (pmol/min)
25
20
15
10
5
0
只有RPE
只有cmpd
只有TBHP
cmpd+TBHP
DH381-2
DH421
**

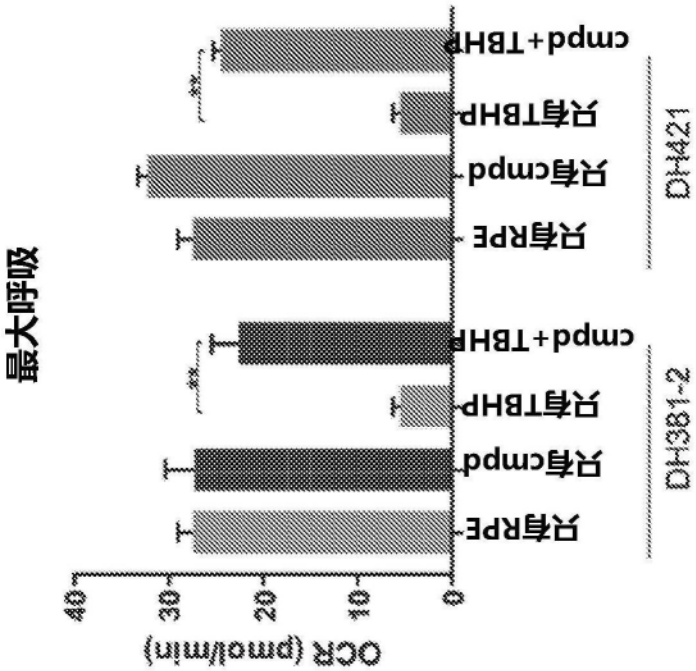

最大呼吸
OCR (pmol/min)
40
30
20
10
0
只有RPE
只有cmpd
只有TBHP
cmpd+TBHP
DH381-2
DH421
**

图9B

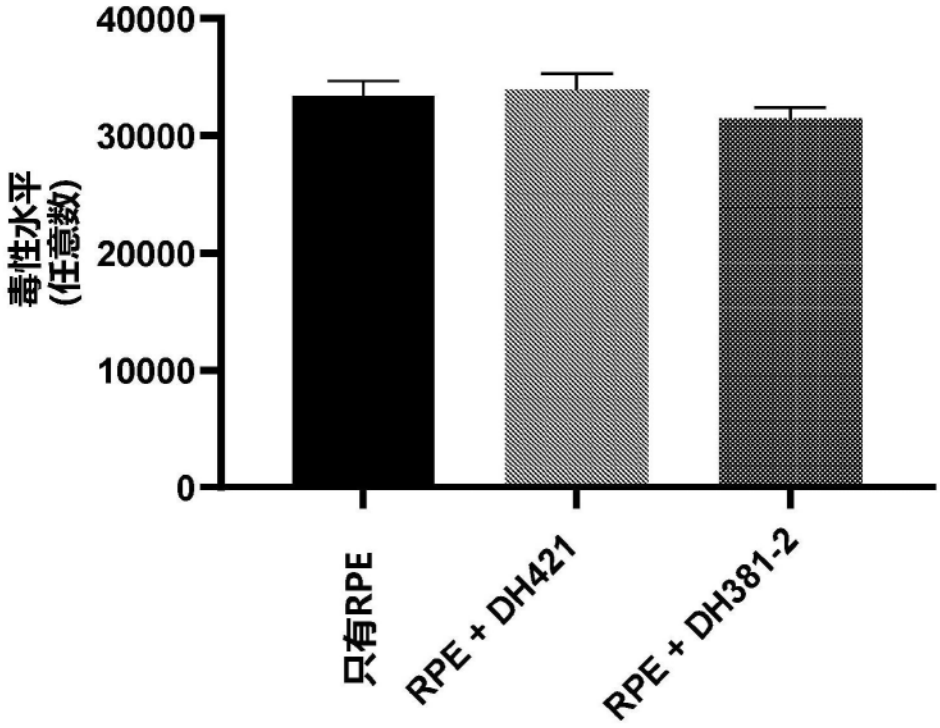

40000
30000
20000
10000
0
毒性水平
(任意数)
只有RPE
RPE + DH421
RPE + DH381-2

图10