



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106999506 A

(43)申请公布日 2017.08.01

(21)申请号 201580064390.1

(22)申请日 2015.11.26

(30)优先权数据

62/085,051 2014.11.26 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.05.26

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2015/059133 2015.11.26

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/084023 EN 2016.06.02

(71)申请人 脉管生物生长有限公司

地址 以色列奥尔耶胡达

(72)发明人 I·曼德尔 Y·萨勒姆

N·亚考夫 E·布雷特巴特

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所 11038

代理人 徐达

(51)Int.Cl.

A61K 31/661(2006.01)

权利要求书3页 说明书45页 附图25页

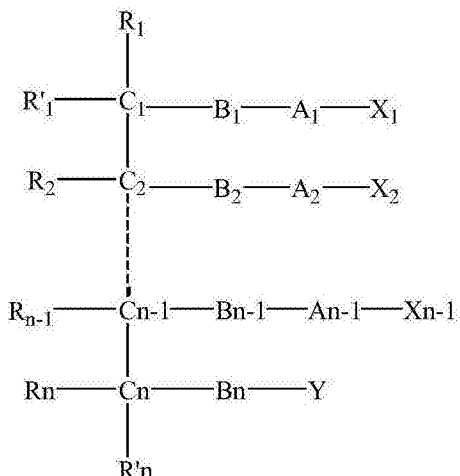
(54)发明名称

氧化脂质以及纤维化的治疗或预防

(57)摘要

本发明涉及治疗或预防纤维化的方法,包括氧化脂质或包含其的药物组合物。在一些实施方式中,本发明提供了治疗或预防纤维化(例如,肝纤维化、肾纤维化、局灶性和节段性肾小球硬化、或本文描述的任何其它纤维化)的方法,包括给予需要其的受试者治疗有效量的具有根据式1的结构化合物。

1. 一种治疗或预防纤维化的方法,包括给予需要其的受试者治疗有效量的具有根据式1的结构的化合物:



式1

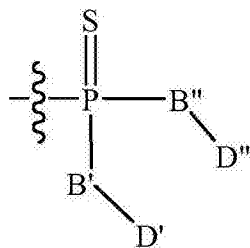
其中:

n是1至6的整数,其中当n是1时,C<sub>n</sub>、B<sub>n</sub>、R<sub>n</sub>、和Y是不存在的,以及C<sub>1</sub>连接于R'<sub>n</sub>;

B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、...B<sub>n-1</sub>和B<sub>n</sub>各自独立地选自由氧、硫、氮、磷和硅组成的组,其中所述氮、磷和硅中的每个由至少一个取代基取代,所述取代基选自由氢、孤对电子、烷基、卤素、环烷基、芳基、羟基、巯基、烷氧基、芳氧基、硫代芳氧基、硫代烷氧基和氧基组成的组;

A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、...A<sub>n-1</sub>和A<sub>n</sub>各自独立地选自由CR''R''、C=O和C=S组成的组,

Y选自由以下组成的组:氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油和具有以下通式的部分:

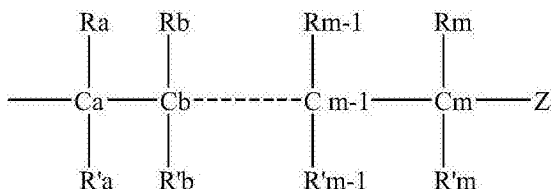


其中:

B'和B''各自独立地选自由硫和氧组成的组;以及

D'和D''各自独立地选自由氢、烷基、氨基取代的烷基、环烷基、磷酸酯基和硫代磷酸酯基组成的组;以及

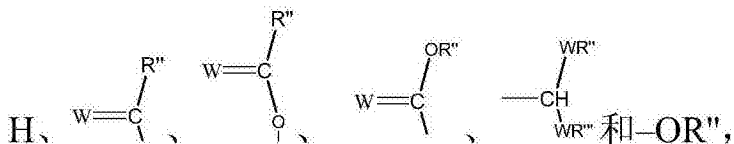
X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、...X<sub>n-1</sub>各自独立地是具有通式2的饱和或不饱和烃:



式2

其中,  $m$  是1至26的整数; 以及

$Z$  选自由以下组成的组:



其中  $W$  选自由氧和硫组成的组;

其中  $X_1, X_2, \dots, X_{n-1}$  的至少一种包含除氢以外的  $Z$ ,

以及其中:

$R_1, R'_1, R_2, \dots, R_{n-1}, R_n, R'_n$  中每个,  $R''$  和  $R'''$  中每个以及  $R_a, R'_a, R_b, R'_b, \dots, R_{m-1}, R'_{m-1}, R_m$  和  $R'_m$  中每个独立地选自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、卤素、三卤代甲基、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、磷酸酯基、磷酸酯基、氧磷基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、酰胺基、羰基、硫代羰基、 $C$ -羧基、 $O$ -羧基、 $C$ -氨基甲酸酯基、 $N$ -氨基甲酸酯基、 $C$ -硫代羧基、 $S$ -硫代羧基和氨基组成的组, 或者, 可替换地,  $R_1, R'_1, R_2, \dots, R_{n-1}, R_n$  和  $R'_n$  的至少两个和/或  $R_a, R'_a, R_b, R'_b, \dots, R_{m-1}, R'_{m-1}, R_m$  和  $R'_m$  的至少两个形成至少一个四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环;

其中所述纤维化是肺纤维化、皮肤纤维化、肾纤维化、囊性纤维化、进行性大块纤维化、肝硬化、脂肪肝、非酒精性脂肪性肝病、心内膜心肌纤维化、心房纤维化、纵隔纤维化、骨髓纤维化、腹膜后纤维化、肾源性系统性纤维化、瘢痕疙瘩、关节纤维化、佩罗尼病、迪皮特朗挛缩、粘连性囊炎、或局灶性和节段性肾小球硬化。

2. 根据权利要求1所述的方法, 其中, 所述化合物是1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-甘油基-3-磷酸胆碱。

3. 根据权利要求1或2所述的方法, 其中, 所述受试者是人。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法, 其中, 在所述受试者的细胞中, TLR2、TLR4、或CD14的活性被抑制。

5. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法, 其中, 在所述受试者的细胞中, TLR2和TLR4的活性, TLR4和CD14的活性, TLR2和CD14的活性, 或TLR2、TLR4和CD14的活性被抑制。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的方法, 其中, 在所述受试者中减少肝小叶形成。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的方法, 其中, 所述化合物是  $(R)$ -1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-sn-甘油基-3-磷酸胆碱。

8. 根据权利要求1-7中任一项所述的方法, 其中, 所述化合物是药用盐、水合物、或溶剂化物。

9. 一种治疗或预防肝纤维化的方法, 包括给予需要其的受试者治疗有效量的1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-甘油基-3-磷酸胆碱。

10. 根据权利要求9所述的方法,其中,所述1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-甘油基-3-磷酸胆碱是R-异构体。

11. 根据权利要求9或10所述的方法,其中,所述受试者是人。

12. 根据权利要求9-11中任一项所述的方法,其中,在所述受试者的细胞中,TLR2、TLR4、或CD14的活性被抑制。

13. 根据权利要求9-12中任一项所述的方法,其中,在所述受试者的细胞中,TLR2和TLR4的活性,TLR4和CD14的活性,TLR2和CD14的活性,或TLR2、TLR4、和CD14的活性被抑制。

14. 根据权利要求9-13中任一项所述的方法,其中,在所述受试者中,减少了肝小叶形成。

15. 根据权利要求9-14中任一项所述的方法,其中,所述1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-甘油基-3-磷酸胆碱是以药用盐、水合物、或溶剂化物的形式。

16. 一种治疗或预防肾纤维化的方法,包括给予需要其的受试者治疗有效量的1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-甘油基-3-磷酸胆碱。

17. 根据权利要求16所述的方法,其中,所述1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-甘油基-3-磷酸胆碱是R-异构体。

18. 根据权利要求16或17所述的方法,其中,所述受试者是人。

19. 根据权利要求16-18中任一项所述的方法,其中,所述肾纤维化是局灶性和节段性肾小球硬化。

20. 根据权利要求16-19中任一项所述的方法,其中,在所述受试者的细胞中,TLR2、TLR4、或CD14的活性被抑制。

21. 根据权利要求16-20中任一项所述的方法,其中,在所述受试者的细胞中,TLR2和TLR4的活性,TLR4和CD14的活性,TLR2和CD14的活性,或TLR2、TLR4、和CD14的活性被抑制。

22. 根据权利要求16-21中任一项所述的方法,其中,所述1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-甘油基-3-磷酸胆碱是以药用盐、水合物、或溶剂化物的形式。

## 氧化脂质以及纤维化的治疗或预防

[0001] 相关申请的引证

[0002] 本申请要求于2014年11月26日提交的美国临时申请号62/085,051的优先权权益,其全部内容通过引用结合于本文。

### 技术领域

[0003] 本发明涉及借助于氧化脂质化合物以及包含其的药物组合物治疗或预防纤维化的方法。

### 背景技术

[0004] 纤维化是在器官或组织中过量纤维结缔组织的形成。纤维化涵盖纤维组织过度沉积的病理状态,以及在愈合中结缔组织沉积的过程。纤维化类似于瘢痕形成过程,因为两者均涉及铺设(laying down)结缔组织的刺激细胞(例如,成纤维细胞),包括胶原蛋白和糖胺聚糖。

[0005] 纤维化可以被视为响应慢性疾病的瘢痕形成过程,其中过度的细胞外基质(ECM)沉积导致不可逆转的组织损伤和破坏或适当的器官功能的障碍。已在受影响的特定器官或组织情况下,包括肺、肾、肝、心脏和皮肤,大体地研究了纤维化的病理生理学。代谢体内稳态的丧失和慢性低度炎症可能在纤维化的发病机理中起到一定的作用。纤维发生是动态过程并且分四阶段发生:i) 引发,由于器官/组织的损伤;ii) 效应细胞的炎症和活化;iii) ECM的增强合成;以及iv) ECM的沉积,并进展到最终器官衰竭。

[0006] 纤维化可能发生在身体内的许多组织中。实例包括肺纤维化(肺)、特发性肺纤维化(肺)、囊性纤维化(肺)、进行性大块纤维化(肺)、肝纤维化、肝硬化(肝)、脂肪肝炎(脂肪肝病)、非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、心内膜心肌纤维化(心脏)、心肌梗死(心脏)、心房纤维化(心脏)、纵隔纤维化(纵隔软组织)、骨髓纤维化(骨髓)、腹膜后纤维化(腹膜后软组织)、肾源性系统性纤维化(皮肤)、瘢痕疙瘩(皮肤)、克罗恩病(肠)、硬皮病/全身性硬化(皮肤、肺)、关节纤维化(膝盖、肩膀、其他关节)、佩罗尼病(阴茎)、迪皮特朗挛缩(手、手指)、粘连性囊炎(肩)、肾纤维化、和局灶性和节段性肾小球硬化(肾)。

[0007] 抗胰岛素性和代谢综合征的主要并发症之一是非酒精性脂肪性肝病(NAFLD),其可以从脂肪肝进展到肝脏炎症(NASH)和肝纤维化。认为,由于肠屏障渗漏,伴随着肠道菌群的过度生长和肠道菌群的组成的变化,细菌成分穿过门静脉而进入肝,其中它们遭遇toll样受体(TLR)。

[0008] TLR是对于防止微生物入侵的先天免疫反应的必不可少的受体家族。基于它们的细胞定位,可以将TLR分为两个主要亚群。质膜表达的TLR包括TLR1、TLR2、TLR4、TLR5和TLR6,而细胞内TLR则包括TLR3、TLR7、TLR8和TLR9。在TLR与它们的同源激动剂之间的相互作用激起一系列的提示,其包括衔接分子MyD88/TRIF的募集以及MAPK激酶和NF- $\kappa$ B的下游磷酸化。这些事件在促炎细胞因子的分泌中达到顶峰,包括IL-12/23、IL-6和TNF- $\alpha$ 。TLR2与

TLR1形成异源二聚体,其识别细菌三酰化脂肽,以及与TLR6形成异源二聚体,其识别细菌二酰化脂肽。TLR4耦合到MD2,其复合于脂多糖结合蛋白(LBP)以及共受体CD14结合来自革兰氏阴性菌的脂多糖(LPS)。

[0009] 肝居留枯否细胞和肝星形细胞(HSC)表达TLR2,其识别来自革兰氏阴性菌和支原体的三酰化脂肽,和来自革兰氏阴性菌和支原体的二酰化脂肽,以及TLR4和它的共受体CD14,其识别来自革兰氏阴性菌的脂多糖(LPS)。TLR2和TLR4还均可以结合于释放自受伤组织的危险相关分子模式。通过枯否细胞和星状细胞,这些TLR2和TLR4复合物介导促炎细胞因子的生产和纤维发生反应。临床前研究显示,在TLR2和TLR4缺乏小鼠中,非酒精性脂肪肝炎和肝纤维化被抑制,这表明了其在疾病发病机理中的作用。在人类中,在NAFLD患者中LPS血浆水平升高以及TLR4和CD14基因的改变与发展非酒精性脂肪肝炎和纤维发生的风险有关。

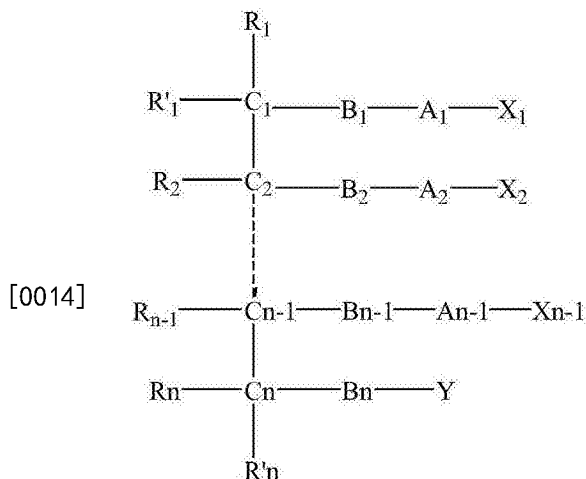
[0010] 单核细胞在免疫系统中是关键成员,其在先天性和适应性免疫力、免疫监视以及颗粒清除中具有关键作用。而单核细胞的子集是“静息的”并且独立于炎症刺激被招募到组织以协助稳态监视、伤口愈合和炎症的消退,绝对多数(80-90%)的人循环单核细胞被归类为“炎性的”。这些单核细胞可以感知炎性刺激并通过血管或淋巴内皮快速迁移到外周,在此处它们可以分化成巨噬细胞和树突状细胞(DC),其与另外的细胞子集(如Th1细胞)合作以促进炎症。在宿主防御中发挥必要作用的同时,然而单核细胞被认定为几种炎症性疾病的关键介质,包括动脉粥样硬化、类风湿性关节炎(RA)和多发性硬化(MS)。在慢性发炎组织中抑制不需要的单核细胞/巨噬细胞的积累具有治疗潜力,并且在动物模型和临床试验中迁移抑制剂已相应地表现出有希望的抗炎结果。

[0011] 肾纤维化(肾脏纤维化)是在以许多形式的慢性肾病(CKD)发生的肾损伤以后的伤口愈合/瘢痕形成反应。在肾损伤以后,静息成纤维细胞被各种促炎和促纤维化刺激所激活。激活成纤维细胞,还被称为肌成纤维细胞,产生过量的ECM蛋白,其积累在间质中,因此被认为是肾纤维化的介质。不管导致肾纤维化的初次损伤,慢性炎症似乎是预示肾纤维发生的过程。升高水平的炎症标志物与发展CKD的增加了的风险相关。各种促炎细胞因子白介素(IL)-6、IL-8、IL-10、趋化因子(C-C基序)配体2(CCL2)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和黏附分子(细胞间黏附分子-1和血管细胞黏附分子-1)的诱导将来自循环的巨噬细胞和T细胞的穿移吸引至间质,从而进一步增强炎症状态。证据表明,TLR和巨噬细胞与肾纤维化的发病机理相关。

[0012] 纤维化可引起严重的病态和对患者日常功能、日常生活活动能力(ADL)和生活质量的不利影响,以及可导致不良预后。例如,特发性肺纤维化(IPF)是与恶化和虚弱的呼吸急促相关的慢性难治性疾病。IPF患者变得依赖氧气,并且在诊断以后具有三年的平均中位生存时间以及20%至40%的五年生存率。因此需要开发用于纤维化的新疗法。

## 发明内容

[0013] 在一些实施方式中,本发明提供了治疗或预防纤维化(例如,肝纤维化、肾纤维化、局灶性和节段性肾小球硬化、或本文描述的任何其它纤维化)的方法,包括给予需要其的受试者治疗有效量的具有根据式1的结构化合物:



式 1

[0015] 或其药用盐、水合物或溶剂化物，

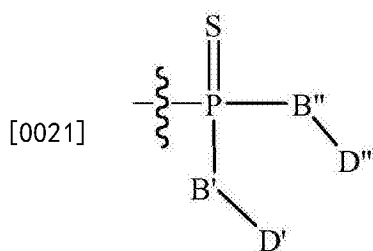
[0016] 其中：

[0017] n是1至6的整数，其中当n是1时，C<sub>n</sub>、B<sub>n</sub>、R<sub>n</sub>、和Y是不存在的，以及C<sub>1</sub>连接于R'<sub>n</sub>；

[0018] B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、…、B<sub>n-1</sub>和B<sub>n</sub>各自独立地选自由氧、硫、氮、磷和硅组成的组，其中所述氮、磷和硅中的每个可选地被一个或多个取代基所取代，取代基选自由烷基、卤素、环烷基、芳基、羟基、巯基、烷氧基、芳氧基、硫代芳氧基、硫代烷氧基、和氧基组成的组；

[0019] A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、…、A<sub>n-1</sub>和A<sub>n</sub>各自独立地选自由CR''R''、C=O和C=S组成的组，

[0020] Y选自由以下组成的组：氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油、和具有以下通式的部分：

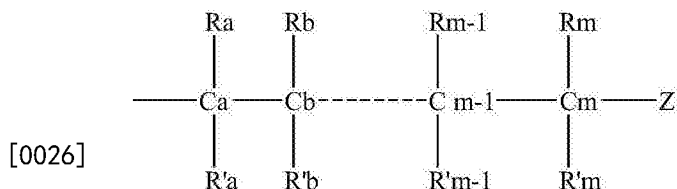


[0022] 其中：

[0023] B'和B''各自独立地选自由硫和氧组成的组；以及

[0024] D'和D''各自独立地选自由氢、烷基、氨基取代的烷基、环烷基、磷酸酯基、和硫代磷酸酯基组成的组；以及

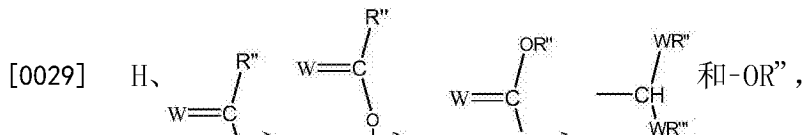
[0025] X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、…、X<sub>n-1</sub>各自独立地是具有通式2的饱和或不饱和烃：



式 2

[0027] 其中m是1至26的整数;以及

[0028] Z选自由以下组成的组:



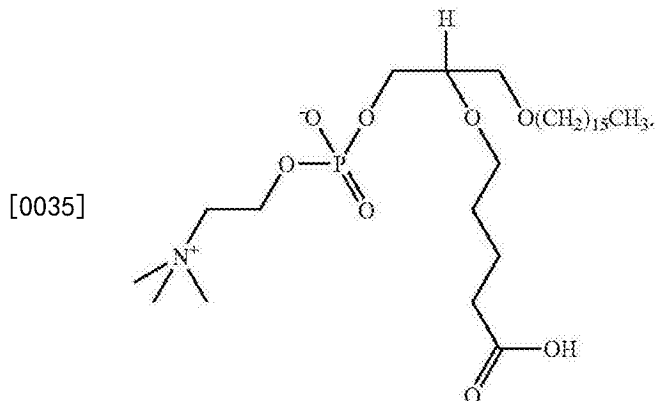
[0030] 其中W选自由氧和硫组成的组;

[0031] 其中X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、...X<sub>n-1</sub>中的至少一种包含除氢以外的Z,

[0032] 以及其中:

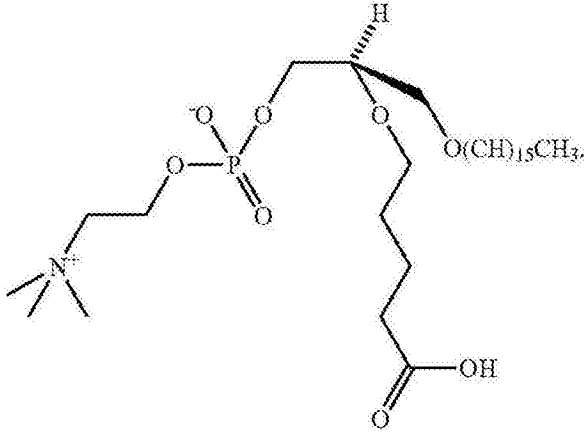
[0033] R<sub>1</sub>、R'<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、...R<sub>n-1</sub>、R<sub>n</sub>、R'<sub>n</sub>中的每个,R''和R'''中的每个以及Ra、R'a、Rb、R'b、...R<sub>m-1</sub>、R'm-1、R<sub>m</sub>和R'm中的每个独立地选自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、卤素、三卤代甲基、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、膦酸酯基、磷酸酯基、氧膦基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、酰胺基、羰基、硫代羰基、C-羧基、O-羧基、C-氨基甲酸酯基、N-氨基甲酸酯基、C-硫代羧基、S-硫代羧基和氨基组成的组,或者,可替换地,R<sub>1</sub>、R'<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、...R<sub>n-1</sub>、R<sub>n</sub>和R'<sub>n</sub>中的至少两个和/或Ra、R'a、Rb、R'b、...R<sub>m-1</sub>、R'm-1、R<sub>m</sub>和R'm中的至少两个形成至少一个四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环。

[0034] 在一些实施方式中,该化合物是1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-甘油基-3-磷酸胆碱(VB-201)。在一些实施方式中,该化合物是(R)-1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-sn-甘油基-3-磷酸胆碱。在其它实施方式中,该化合物具有以下结构:



[0036] 在其它实施方式中,该化合物具有以下结构:

[0037]



### 附图说明

[0038] 仅通过举例的方式,并参照附图,本文描述了本发明的一些实施方式。现在详细地具体参照附图,强调的是,显示的细节是通过示例的方式并且是为了说明性讨论本发明的实施方式的目的。

[0039] 图1A-1D示出了VB-201抑制在人单核细胞(初级CD14+)中的脂多糖(LPS)(TLR4)-诱导信号。

[0040] 图2A-2B示出了VB-201抑制在人单核细胞(THP-1细胞系)中的PGN(TLR2)-诱导信号。

[0041] 图3示出了VB-201抑制在人单核细胞(THP-1细胞系)中的MCP-1-诱导信号。

[0042] 图4示出了VB-201抑制人单核细胞(初级CD14+)的趋化因子诱导的迁移。

[0043] 图5示出了VB-201抑制人单核细胞(THP-1细胞系)的SDF1诱导细胞迁移。

[0044] 图6示出了VB-201抑制在人单核细胞(初级CD14+)中的RANTES诱导信号。

[0045] 图7A-7B示出了VB-201抑制在人单核细胞(初级CD14+)中的IL-12p40水平,其是LPS(TLR4)刺激的(图7A)和Pam3CSK4(TLR2)刺激的(图7B)。

[0046] 图8示出了通过人原代单核细胞,VB-201对LPS结合的影响。在指定浓度下,用VB-201温育样品20分钟,之后添加生物素-LPS(100ng/ml)持续另外15分钟。结果是重复三次的平均荧光强度(MFI)。

[0047] 图9示出了VB-201抑制在LPS(TLR4)刺激的人单核细胞衍生的树突状细胞(Mo衍生的DC)中的IL-6分泌。

[0048] 图10示出了VB-201抑制在LPS(TLR4)刺激的人Mo衍生的DC中的IL-12p40分泌。

[0049] 图11A-11B示出了VB-201对肝脏炎症的影响(图11A)。通过用200 $\mu$ g链脲佐菌素(STZ)注射出生后两天的小鼠并从四周龄开始通过喂养高脂肪饮食(HFD)来诱导NASH。在六周龄时,用载体(阴性对照)、VB-201(4mg/kg)、或替米沙坦(10mg/kg;阳性对照)来治疗小鼠三周,或不治疗(正常)。在九周龄时处死小鼠。图11A示出治疗后的平均肝脏炎症评分(平均值 $\pm$ S.E:正常-n=5,载体-n=8,VB-201-n=8,替米沙坦-n=6)。图11B示出治疗后的H&E染色肝脏样品(200X放大率)。

[0050] 图12A-12B示出了VB-201对肝纤维化的影响。如在图11A-11B解释的诱导NASH。用天狼星红对肝组织学样品的染色用来确定纤维化的程度。图12A示出了治疗后的平均纤维化面积(% ,来自分析的肝切片;平均值 $\pm$ S.E:正常-n=5,载体-n=8,VB-201-n=8,替米沙

坦-n=6)。图12B示出了治疗后的肝样品的天狼星红染色(200X放大率)。

[0051] 图13示出了条形图,该条形图示出在肾纤维化模型中VB-201对减少损伤的肾小球的数目(%)的影响。在8周时,评估在健康大鼠(n=3)(白条)、假手术大鼠(n=3)(带条纹的白条)、用溶剂对照治疗的肾切除大鼠(0.5%乙醇/PBS)(黑条)(n=7)、VB-201 4mg/kg治疗的肾切除大鼠(n=7)(浅灰色条)或替米沙坦10mg/kg治疗的肾切除大鼠(n=8)(深灰色条)中的损伤的肾小球(%)。统计数据与用溶剂对照(0.5%乙醇/PBS)治疗的肾切除大鼠提供如下:\*表示 $p=0.01$ ;\*\*表示 $p\leq 0.005$ ;以及\*\*\*表示 $p\leq 0.001$ 。缩写是:Nx:肾切除的;Eth:乙醇。

[0052] 图14示出了条形图,该条形图示出了VB-201对减少肾小球硬化(%)的影响。在8周时,评估了在健康大鼠(n=3)(白条)、假手术大鼠(n=3)(带条纹的白条)、用溶剂对照(0.5%乙醇/PBS)治疗的肾切除大鼠(黑条)(n=7)、VB-201 4mg/kg治疗的肾切除大鼠(n=8)(浅灰色条)或替米沙坦10mg/kg治疗的肾切除大鼠(n=8)(深灰色条)中的肾小球硬化(%)。统计数据与用溶剂对照(0.5%乙醇/PBS)治疗的肾切除大鼠提供如下:\*表示 $p< 0.05$ ;\*\*表示 $p\leq 0.005$ ;以及\*\*\*表示 $p\leq 0.001$ 。缩写是:Nx:肾切除的;Eth:乙醇。

[0053] 图15示出了PAS染色(x400)图像,其示出了VB-201对减少肾小球硬化的影响。在8周时,在第一次手术以后,通过光学显微镜,针对健康大鼠(健康的x400)、假手术大鼠(假手术的x400)、用溶剂对照(0.5%乙醇/PBS)(Nx PBS 0.5%Eth x400)治疗的肾切除大鼠、VB-201 4mg/kg治疗的(Nx VB-201 4mg/kg x400)肾切除大鼠或替米沙坦10mg/kg治疗的(Nx替米沙坦10mg/kg x400)的肾切除大鼠的PAS染色切片来估计肾脏形态。缩写是:Nx:肾切除的;Eth:乙醇,PAS:过碘酸-希夫。

[0054] 图16A-16C示出了在肾小球中(图16A)或在间质中(图16B)VB-201对单核细胞/巨噬细胞细胞渗透的影响。在8周时评估了在健康大鼠(n=3)(白条)、假手术大鼠(n=3)(带条纹的白条)、用溶剂对照(0.5%乙醇/PBS)(黑条)(n=7)治疗的肾切除大鼠、VB-201 4mg/kg治疗的肾切除大鼠(n=8)(浅灰色条)或替米沙坦10mg/kg治疗的肾切除大鼠(n=8)(深灰色条)中,在肾小球(细胞/肾小球)中和在间质(细胞/ $\text{mm}^2$ )中的CD68阳性细胞。统计数据与用溶剂对照(0.5%乙醇/PBS)治疗的肾切除大鼠提供如下:在图16A中,\*表示 $p=0.008$ ;以及\*\*表示 $p\leq 0.001$ ;以及在图16B中,\*表示 $p\leq 0.005$ 。图16C是代表性的CD68染色(x400)图像,其示出VB-201对减少CD68细胞的数目的影响。缩写是:Nx:肾切除的;Eth:乙醇。

[0055] 图17A-17B示出了条形图,该条形图示出了VB-201对促纤维化标志物的影响。在8周时,在健康大鼠(白条)、假手术大鼠(带条纹的白条)、用溶剂对照(0.5%乙醇/PBS)治疗的肾切除大鼠(黑条)、VB-201 4mg/kg治疗的肾切除大鼠(浅灰色条)或替米沙坦10mg/kg治疗的肾切除大鼠(深灰色条)中,评估了在肾中胶原蛋白IV(图17A)和TGF- $\beta$ (图17B)的相对表达。统计数据与用溶剂对照(0.5%乙醇/PBS)治疗的肾切除大鼠提供如下:在图17A中,\*表示 $p< 0.05$ ;以及在图17B中,\*表示 $p\leq 0.001$ 。缩写是:Nx:肾切除的;Eth:乙醇。

[0056] 图18示出了条形图,该条形图示出了VB-201抑制IL-12/23p40在NASH诱导小鼠的肝脏中的表达。从第六周至第9周,每天一次,以4mg/kg的剂量,口服给予针对NASH和VB-201加以诱导的小鼠。每天一次,以10mg/kg的剂量,给予替米沙坦。对RNA进行Q-PCR,其中上述RNA提取自用载体(溶剂,n=8)、VB-201(n=7)、替米沙坦(n=5)(如上所述的)治疗的NASH诱导小鼠的肝脏,或提取自正常小鼠的肝脏。Q-PCR用来检测IL-12/23p40。GAPDH用来归一

化RNA水平。在NASH诱导小鼠的肝脏中IL-12/23p40的分析表明,VB-201显着减弱IL-12/23p40的表达,其中 $p < 0.05$ 。

### 具体实施方式

[0057] 在详细解释本发明的实施方式之前,应该明白的是,本发明在其应用上不限于在以下描述中阐述或由实施例举例说明的细节。本发明能够具有其它实施方式或以各种方式加以实践或实施。此外,应该明白的是,这里使用的措辞和术语是为了描述的目的,而不应被视为限制性的。

[0058] 一般定义

[0059] 术语“包含”、“含有”、“包括”、“具有”、以及它们的结合词是指“包括但不限于”。

[0060] 单词“可选地”在本文中用来表示“在一些实施方式中提供以及在其它实施方式中不提供”。除非这些特征冲突,否则本发明的任何具体实施方式可以包括多个“可选的”特征。

[0061] 如在本文中所使用的,除非上下文另有明确规定,单数形式“一”、“一种”和“该”包括复数指称。例如,术语“化合物”或“至少一种化合物”可以包括多种化合物,包括它们的混合物。

[0062] 如在本文中所使用的,术语“约”,其修饰与本发明相关的量,是指可以发生的数量的变化,例如,通过常规测试和处理;通过在上述测试和处理中的无意的错误;通过在本发明中使用的成分的制造、来源、或纯度的差异等。无论是否由术语“约”修饰,权利要求包括所列数量的等同物。在一种实施方式中,术语“约”是指在报告数值的10%以内。

[0063] 如在本文中所使用的,术语“治疗有效量”是指给定治疗剂的量,其足以导致缓解疾病或病症的一种或多种症状,或防止疾病或病症的出现或发展,或引起疾病或病症的消退或治愈。在一些实施方式中,VB-201的治疗有效量是约5mg至约160mg VB-201/天。

[0064] 如在整个本文中所使用的,术语“烷基”是指饱和脂族烃,其包括直链和支链基团。在一些实施方式中,烷基具有1至20个碳原子。每当在本文中陈述数值范围:例如,“1-20”时,这意味着,基团,在这种情况下,烷基,可以含有1个碳原子、2个碳原子、3个碳原子等,多达并且包括20个碳原子。在一些实施方式中,烷基是具有1至10个碳原子的中等大小的烷基。在一些实施方式中,烷基是具有1至4个碳原子的低级烷基。烷基可以是取代的(例如,被1至5个取代基)或未取代的。在本文所述的任何实施方式中,烷基可以是未取代的。在本文所述的任何实施方式中,烷基还可以被一至五个取代基所取代,其中取代基可以是,例如,环烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、杂脂环基、卤素、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、亚磺酰基、磺酰基、氰基、硝基、叠氮基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、膦酰基、氧膦基、氧基、羰基、硫代羰基、脲基、硫脲基、O-氨基甲酰基、N-氨基甲酰基、O-硫代氨基甲酰基、N-硫代氨基甲酰基、C-酰氨基、N-酰氨基、C-羧基、O-羧基、磺酰氨基、和氨基,如这些术语在本文中所定义的。

[0065] “环烷基”是指全碳单环或稠环(即,共享碳原子的相邻对的环)基团,其中多个环之一不具有完全共轭 $\pi$ 电子体系。环烷基的非限制性实例是环丙烷、环丁烷、环戊烷、环戊烯、环己烷、环己二烯、环庚烷、环庚三烯、和金刚烷。环烷基可以是取代的(例如,被1至5取代基)或未取代的。在本文所述的任何实施方式中,环烷基可以是未取代的。在本文所述的

任何实施方式中,环烷基还可以被一至五个取代基所取代,其中取代基可以是,例如,烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、杂脂环基、卤素、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、亚磺酰基、磺酰基、氰基、硝基、叠氮基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、膦酰基、氧膦基、氧基、羰基、硫代羰基、脲、硫脲、O-氨基甲酰基、N-氨基甲酰基、O-硫代氨基甲酰基、N-硫代氨基甲酰基、C-酰氨基、N-酰氨基、C-羧基、O-羧基、磺酰氨基、和氨基,如这些术语在本文中定义的。

[0066] “烯基”基团是指脂族烃基,其含有至少两个碳原子和至少一个碳-碳双键,其可以是直链的或支链的。烯基基团可以是被取代或未取代的。

[0067] “炔基”基团是指脂族烃基,其含有至少两个碳原子和至少一个碳-碳三键。炔基基团可以是被取代或未取代的。

[0068] “芳基”基团是指全碳单环或稠环多环(即,共享碳原子的相邻对的环)基团,其具有完全共轭 $\pi$ 电子体系。在本文所述的任何实施方式中,芳基可以具有6至14个碳,例如,6至10个碳。芳基的非限制性实例是苯基、萘基和蒽基。芳基可以是被取代的(例如,被1至5个取代基)或未取代的。当被取代时,取代基可以是,例如,烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、杂脂环基、卤素、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、亚磺酰基、磺酰基、氰基、硝基、叠氮基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、膦酰基、氧膦基、氧基、羰基、硫代羰基、脲、硫脲、O-氨基甲酰基、N-氨基甲酰基、O-硫代氨基甲酰基、N-硫代氨基甲酰基、C-酰氨基、N-酰氨基、C-羧基、O-羧基、磺酰氨基、和氨基,如这些术语在本文中定义的。在本文所述的任何实施方式中,芳基可以是苯基,其是可取代的,例如,被一至五个取代基如卤素(例如,氟或氯),烷基(例如, $C_{1-4}$ 烷基),或卤素取代的烷基(例如,三氟甲基)。

[0069] “杂芳基”是指单环或稠环(即,共享原子的相邻对的环)基团,其在环中具有一个或多个原子,如,例如,氮、氧和硫以及,另外,具有完全共轭 $\pi$ 电子体系。在本文所述的任何实施方式中,杂芳基可以具有5至14个环原子,例如,5至10个环原子(例如,5或6个环原子)。杂芳基的非限制性实例包括吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、噁唑、噻唑、吡唑、吡啶、嘧啶、喹啉、异喹啉和嘌呤。杂芳基可以是被取代的(例如,被1至5个取代基)或未取代的。当被取代时,取代基可以是,例如,烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、杂脂环基、卤素、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、亚磺酰基、磺酰基、氰基、硝基、叠氮基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、膦酰基、氧膦基、氧基、羰基、硫代羰基、脲基、硫脲基、O-氨基甲酰基、N-氨基甲酰基、O-硫代氨基甲酰基、N-硫代氨基甲酰基、C-酰氨基、N-酰氨基、C-羧基、O-羧基、磺酰氨基、和氨基,如这些术语在本文中定义的。

[0070] “杂脂环基”基团是指单环或稠环基团,其在环中具有一个或多个杂原子如氮、氧和硫。环还可以具有一个或多个双键。然而,环不具有完全共轭 $\pi$ 电子体系。在本文所述的任何实施方式中,杂脂环基基团可以具有3至10个环原子,例如,5至10个环原子(例如,5或6个环原子)。杂脂环基基团可以是被取代的(例如,被1至5个取代基)或未取代的。当被取代时,取代基可以是,例如,烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、杂脂环基、卤素、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、亚磺酰基、磺酰基、氰基、硝基、叠氮基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、膦酰基、氧膦基、氧基、羰基、硫代羰基、脲基、硫脲基、O-氨基甲酰基、N-氨基甲酰基、O-硫代氨基甲酰基、N-硫代氨基甲酰基、C-酰氨基、N-酰氨基、C-羧基、O-羧基、磺酰氨基、和氨基,如这些术语在本文中定义的。代表性的实例是哌啶、哌嗪、四氢呋喃、四氢

吡喃、吗啉等。

[0071] “烷氧基”基团是指-O-烷基和-O-环烷基,其中烷基或环烷基可以是如本文中所定义的任何一种。

[0072] “芳氧基”基团是指-O-芳基和-O-杂芳基,其中芳基或杂芳基可以是如本文中所定义的任何一种。

[0073] “巯基”基团是指-SH基团。

[0074] “硫代烷氧基”基团是指-S-烷基和-S-环烷基,其中烷基或环烷基可以是如本文中所定义的任何一种。

[0075] “硫代芳氧基”基团是指-S-芳基和-S-杂芳基,其中芳基或杂芳基可以是如本文中所定义的任何一种。

[0076] “羰基”基团是指-C(=O)-R基团,其中R是氢、烷基、烯基、环烷基、芳基、杂芳基(通过环碳键合的)或杂脂环(通过环碳键合的)(如在本文中所定义的)。

[0077] “醛”基团是指羰基,其中R是氢。

[0078] “硫代羰基”基团是指-C(=S)-R基团,其中R是如在本文中所定义的。

[0079] “C-羧基”基团是指-C(=O)-O-R基团,其中R是如在本文中所定义的。

[0080] “O-羧基”基团是指RC(=O)-O-基团,其中R是如在本文中所定义的。

[0081] “氧基”基团是指=O基团。

[0082] “羧酸”基团是指C-羧基,其中R是氢。

[0083] “卤”基团或“卤素”基团是指氟、氯、溴或碘。

[0084] “三卤代甲基”是指-CX<sub>3</sub>基团,其中X是卤素基团,如在本文中所定义的,例如,CF<sub>3</sub>基团。

[0085] “亚磺酰基”基团是指-S(=O)-R基团,其中R是如在本文中所定义的。

[0086] “磺酰基”是指-S(=O)<sub>2</sub>-R基团,其中R是如在本文中所定义的。

[0087] “S-磺酰氨基”是指-S(=O)<sub>2</sub>-NR<sub>2</sub>基团,其中每个R是如在本文中所定义的。

[0088] “N-磺酰氨基”是指RS(=O)<sub>2</sub>-NR基团,其中每个R是如在本文中所定义的。

[0089] “O-氨基甲酰基”基团是指-OC(=O)-NR<sub>2</sub>基团,其中每个R是如在本文中所定义的。

[0090] “N-氨基甲酰基”基团是指ROC(=O)-NR-基团,其中每个R是如在本文中所定义的。

[0091] “O-硫代氨基甲酰基”基团是指-OC(=S)-NR<sub>2</sub>基团,其中每个R是如在本文中所定义的。

[0092] “N-硫代氨基甲酰基”基团是指ROC(=S)NR-基团,其中每个R是如在本文中所定义的。

[0093] “氨基”基团是指-NR<sub>2</sub>基团,其中每个R是如在本文中所定义的。

[0094] “C-酰氨基”是指-C(=O)-NR<sub>2</sub>基团,其中每个R是如在本文中所定义的。

[0095] “N-酰氨基”是指RC(=O)-NR-基团,其中每个R是如在本文中所定义的。

[0096] “脲基”基团是指-NRC(=O)-NR<sub>2</sub>基团,其中每个R是如在本文中所定义的。

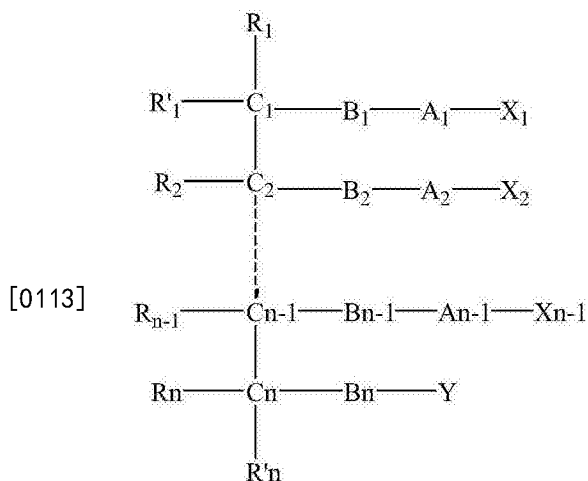
[0097] “胍基”基团是指-RNC(=N)-NR<sub>2</sub>基团,其中每个R是如在本文中所定义的。

[0098] “脒基”基团是指R<sub>2</sub>NC(=N)-基团,其中每个R是如在本文中所定义的。

[0099] 术语“膦酰基”或“膦酸酯基”是指-P(=O)(OR)<sub>2</sub>基团,其中R如在本文中所定义的。

[0100] 术语“磷酸酯基”是指-O-P(=O)(OR)<sub>2</sub>基团,其中每个R如在本文中所定义的。

- [0101] “磷酸”是磷酸酯基团,其中每个R是氢。
- [0102] 术语“氧膦基”是指-PR<sub>2</sub>基团,其中每个R如在本文中所定义的。
- [0103] 术语“硫脲基”是指-NR-C(=S)-NR-基团,其中每个R如在本文中所定义的。
- [0104] 术语“糖”是指一个或多个糖单元,开链糖单元或环状糖单元(例如,基于吡喃糖的单元或基于呋喃糖的单元),以及,除非另有说明,涵盖任何单糖、二糖和寡糖。
- [0105] 术语“立体异构体”包括几何异构体、如E或Z异构体、对映体、非对映体等。
- [0106] 术语“立体异构体混合物”包括以本文定义的立体异构体的任何比率的任何混合物。在一些实施方式中,立体异构体混合物包括外消旋混合物。在一些实施方式中,立体异构体混合物包括对映体富集的混合物。在一些实施方式中,立体异构体混合物包括任何比率的非对映体的混合物。
- [0107] 术语“对映体过量”或“ee”是指相比于其他对映体,存在多少一种对映体的量度。对于R和S对映体的混合物,%对映体过量被定义为 $|R-S|*100$ ,其中R和S是在混合物中对映体的相应的摩尔或重量分数,以致 $R+S=1$ 。借助于手性物质的旋光性的知识,%对映体过量被定义为 $([\alpha]_{\text{obs}}/[\alpha]_{\text{max}})*100$ ,其中 $[\alpha]_{\text{obs}}$ 是对映体的混合物的旋光性以及 $[\alpha]_{\text{max}}$ 是纯对映体的旋光性。
- [0108] 术语“盐”包括内盐或外盐。在一些实施方式中,盐是内盐,即,两性离子结构。在一些实施方式中,盐是外盐。在一些实施方式中,外盐是具有适宜抗衡离子的药用盐。药物用途的适宜抗衡离子在本领域中是公知的。
- [0109] 在整个本申请中、本发明的各种实施方式可以以范围形式呈现。应该理解的是,范围格式描述仅仅是为了方便和简洁而不应该被解释为对本发明的范围的硬性限制。因此,范围的描述应该被认为已经具体地公开了上述范围内的所有可能的子范围以及单独的数值。例如,范围的描述,如从1至6应被认为已经具体公开了子范围如从1至3、从1至4、从1至5、从2至4、从2至6、从3至6等,以及在上述范围内的单独的数值,例如,1、2、3、4、5和6。无论范围的广度如何,这都适用。
- [0110] 可以理解的是,本发明的某些特征(为了清楚起见,其描述在单独的实施方式的上下文中)还可以在单一实施方式中组合提供。反过来,本发明的各个特征(为了简洁其描述在单一实施方式的上下文中)还可以分别提供或以任何适宜的子组合加以提供或当适合时提供于本发明的任何其它描述的实施方式。在各种实施方式的上下文中描述的某些特征不被认为是这些实施方式的基本特征,除非在没有这些要素的情况下实施方式是不可操作的。
- [0111] 氧化脂质
- [0112] 本发明部分地涉及氧化脂质化合物。在一些实施方式中,本发明的氧化脂质是具有根据式1的结构化合物或其药用盐、水合物或溶剂化物:



式 1

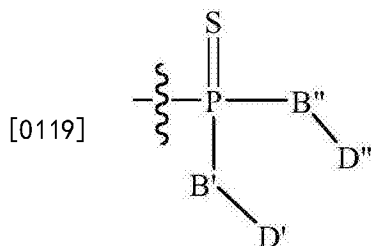
[0114] 其中：

[0115] n是1至6的整数，其中当n是1时，C<sub>n</sub>、B<sub>n</sub>、R<sub>n</sub>、和Y是不存在的，以及C<sub>1</sub>连接于R'<sub>n</sub>；

[0116] B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、…、B<sub>n-1</sub>和B<sub>n</sub>各自独立地选自由氧、硫、氮、磷和硅组成的组，其中所述氮、磷和硅中的每个可选地被一个或多个取代基所取代，上述取代基选自由烷基、卤素、环烷基、芳基、羟基、巯基、烷氧基、芳氧基、硫代芳氧基、硫代烷氧基和氧基组成的组；

[0117] A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、…、A<sub>n-1</sub>和A<sub>n</sub>各自独立地选自由CR''R''、C=O和C=S组成的组，

[0118] Y选自由以下组成的组：氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油和具有以下通式的部分：

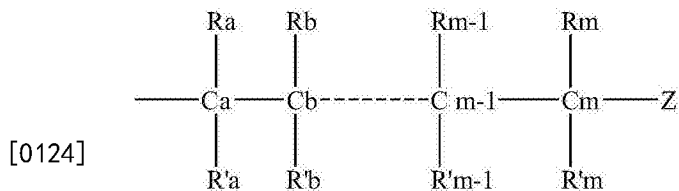


[0120] 其中：

[0121] B'和B''各自独立地选自由硫和氧组成的组；以及

[0122] D'和D''各自独立地选自由氢、烷基、氨基取代的烷基、环烷基、磷酸酯基和硫代磷酸酯基组成的组；以及

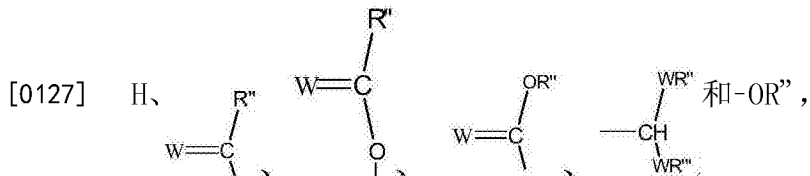
[0123] X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、…、X<sub>n-1</sub>各自独立地是具有通式2的饱和或不饱和烃：



## 式 2

[0125] 其中,  $m$  是 1 至 26 的整数; 以及

[0126]  $Z$  选自由以下组成的组:



[0128] 其中  $W$  选自由氧和硫组成的组;

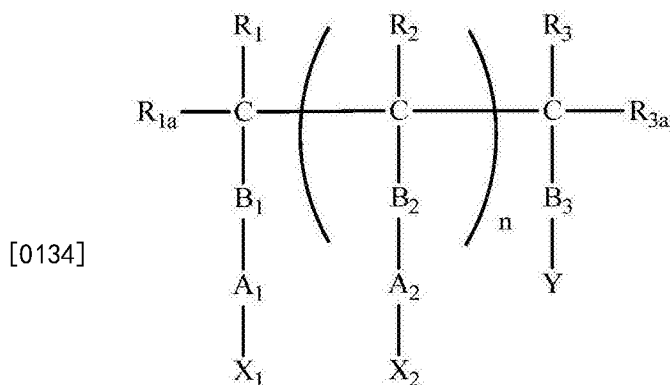
[0129] 其中  $X_1, X_2, \dots, X_{n-1}$  的至少一种包含除氢以外的  $Z$ ,

[0130] 以及其中:

[0131]  $R_1, R'_1, R_2, \dots, R_{n-1}, R_n, R'_n$  中的每个,  $R''$  和  $R'''$  中的每个以及  $R_a, R'_a, R_b, R'_b, \dots, R_{m-1}, R'_{m-1}, R_m$  和  $R'_m$  中的每个独立地选自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、卤素、三卤代甲基、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、磷酸酯基、磷酸酯基、氧磷基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、酰胺基、羰基、硫代羰基、 $C$ -羧基、 $O$ -羧基、 $C$ -氨基甲酸酯基、 $N$ -氨基甲酸酯基、 $C$ -硫代羧基、 $S$ -硫代羧基和氨基组成的组, 或者, 可替换地,  $R_1, R'_1, R_2, \dots, R_{n-1}, R_n$  和  $R'_n$  的至少两个和/或  $R_a, R'_a, R_b, R'_b, \dots, R_{m-1}, R'_{m-1}, R_m$  和  $R'_m$  的至少两个形成至少一个四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环,

[0132] 或其药用盐、水合物或溶剂化物。

[0133] 在其它实施方式中, 本发明的氧化脂质是具有根据式 3 的结构化合物或其药用盐、水合物或溶剂化物:



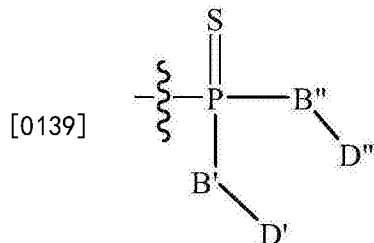
## 式 3

[0135] 在式 3 中,  $n$  是选自 1 至 4 的整数。

[0136] 在式 3 中,  $B_1, B_2,$  和  $B_3$  各自独立地选自由氧、硫、和  $\text{NR}_4$  组成的组, 其中  $R_4$  选自氢、烷基、环烷基、芳基、和酰基。

[0137] 在式3中, A<sub>1</sub>和A<sub>2</sub>各自独立地选自由CR<sub>e</sub>R<sub>ee</sub>、CR<sub>e</sub>=CR<sub>ee</sub>、C=O和C=S组成的组, 其中R<sub>e</sub>和R<sub>ee</sub>独立地选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、和杂芳基。

[0138] 在式3中, Y选自自由以下组成的组: 氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油、和具有以下通式的部分:

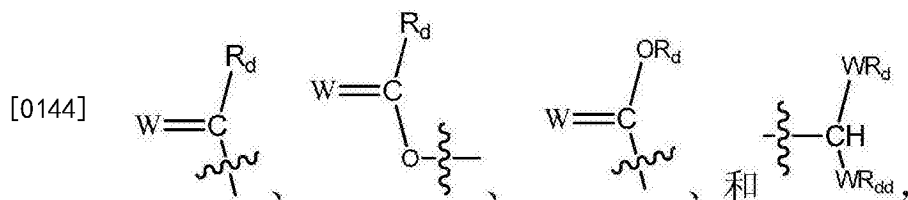


[0140] 其中:

[0141] B' and B''各自独立地选自由硫和氧组成的组; 以及

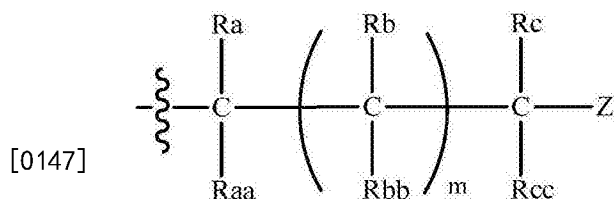
[0142] D'和D''独立地选自由氢、烷基、氨基烷基、环烷基、磷酸酯基和硫代磷酸酯基组成的组。

[0143] 在式3中, X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>各自独立地是饱和或不饱和的直链或支链烃, 其中X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>的至少之一被氧化部分Z取代, 其中氧化部分Z选自自由以下组成的组:



[0145] 其中W是氧或硫; 以及R<sub>d</sub>和R<sub>dd</sub>独立地选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、和杂芳基。

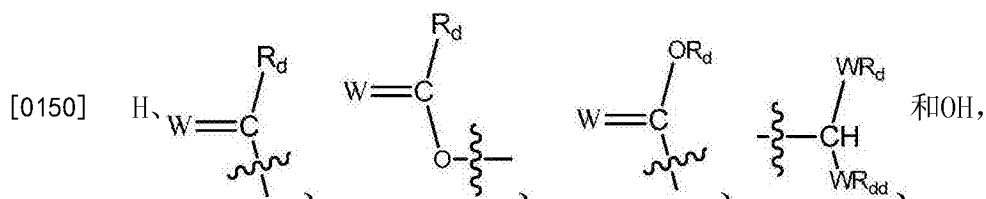
[0146] 在一种实施方式中, 在式3中, X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>各自独立地具有通式4:



式 4

[0148] 在式4中, m是选自1至26的整数。

[0149] 在式4中, Z选自自由以下组成的组:



[0151] 其中W是氧或硫;以及R<sub>d</sub>和R<sub>dd</sub>独立地选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、和杂芳基,

[0152] 其中X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>的至少一种包含除氢以外的Z。

[0153] 在式3和式4中,R<sub>1</sub>、R<sub>1a</sub>、每个R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>3a</sub>、R<sub>a</sub>、R<sub>aa</sub>、每个R<sub>b</sub>、R<sub>bb</sub>、R<sub>c</sub>和R<sub>cc</sub>独立地选自自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、卤素、三卤代甲基、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、膦酸酯基、磷酸酯基、氧膦基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、酰胺基、羰基、硫代羰基、C-羧基、O-羧基、C-氨基甲酸酯基、N-氨基甲酸酯基、C-硫代羧基、S-硫代羧基和氨基组成的组,其中R<sub>1</sub>、R<sub>1a</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>3a</sub>的至少两个可选地连接以形成四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环,以及其中R<sub>a</sub>、R<sub>aa</sub>、R<sub>b</sub>、R<sub>bb</sub>、R<sub>c</sub>、和R<sub>cc</sub>的至少两个可选地连接以形成四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环。


[0154] 在一种实施方式中,在式3中,n是1或2。在另一种实施方式中,在式3中,n是1。

[0155] 在一种实施方式中,在式3中,Y选自自由氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、和磷酸甘油组成的组。

[0156] 在另一种实施方式中,在式3中,Y选自自由氢、磷酸胆碱、和磷酸乙醇胺组成的组。

[0157] 在另一种实施方式中,在式3中,Y选自自由磷酸胆碱、和磷酸乙醇胺组成的组。

[0158] 在一种实施方式中,在式3中,Y是磷酸胆碱。

[0159] 在一种实施方式中,在式3中,Z是  $W=C \begin{matrix} \diagup OR_d \\ \diagdown \end{matrix}$  在另一种实施方式中,在式3中,Z是 。

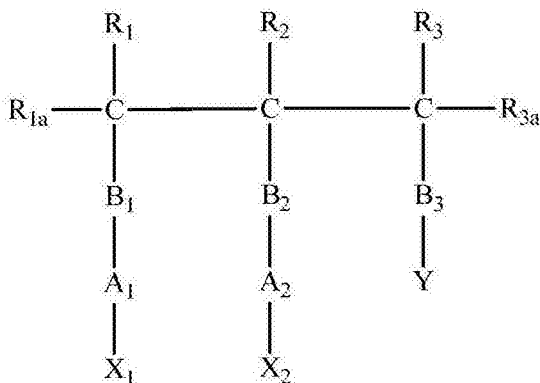
羧酸基团。

[0160] 在又一种实施方式中,在式3中,n是1以及Y是磷酸胆碱。

[0161] 在又一种实施方式中,在式3中,B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、和B<sub>3</sub>各自是氧。

[0162] 在又一种实施方式中,在式3中,n是1,Y是磷酸胆碱,以及B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、和B<sub>3</sub>各自是氧。

[0163] 在一种实施方式中,可用于本公开的任何方法的氧化磷脂具有根据式3a的结构或其药用盐、水合物或溶剂化物:



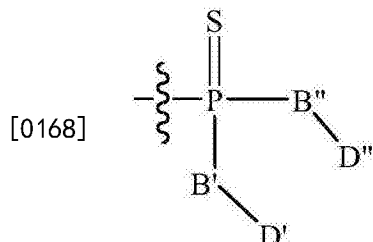
[0164]

式 3a

[0165] 在式3a中, B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、和B<sub>3</sub>独立地选自氧和硫。

[0166] 在式3a中, A<sub>1</sub>和A<sub>2</sub>独立地选自自由CH<sub>2</sub>、CH=CH、C=O和C=S组成的组。

[0167] 在式3a中, Y选自自由以下组成的组: 氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油、和具有以下通式的部分:



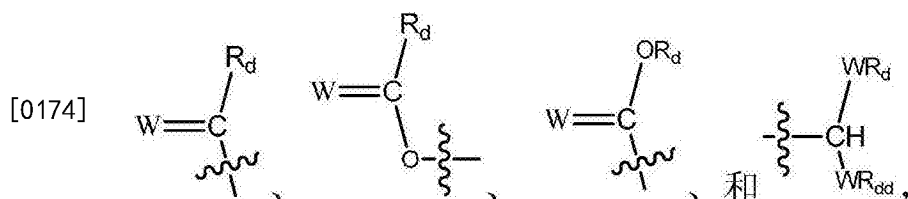
[0169] 其中:

[0170] B'和B''各自独立地选自自由硫和氧组成的组; 以及

[0171] D'和D''各自独立地选自自由氢、烷基、氨基取代的烷基、环烷基、磷酸酯基和硫代磷酸酯基组成的组。

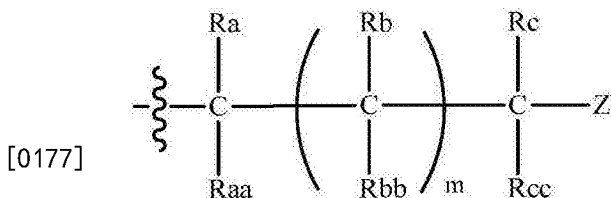
[0172] 在式3a中, R<sub>1</sub>、R<sub>1a</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、和R<sub>3a</sub>独立地选自自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、卤素、三卤代甲基、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、磷酸酯基、磷酸酯基、氧磷基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、酰胺基、羰基、硫代羰基、C-羧基、O-羧基、C-氨基甲酸酯基、N-氨基甲酸酯基、C-硫代羧基、S-硫代羧基和氨基组成的组, 其中R<sub>1</sub>、R<sub>1a</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>3a</sub>的至少两个可选地连接以形成四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环, 以及其中R<sub>a</sub>、R<sub>aa</sub>、R<sub>b</sub>、R<sub>bb</sub>、R<sub>c</sub>、和R<sub>cc</sub>的至少两个可选地连接以形成四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环。

[0173] 在式3a中, X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>独立地是饱和或不饱和的直链或支链烃, 其中X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>的至少之一被氧化部分Z所取代, 其中氧化部分Z具有选自以下的式:



[0175] 其中W是氧或硫; 以及R<sub>d</sub>和R<sub>dd</sub>独立地选自自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、和杂芳基。

[0176] 在一种实施方式中, 在式3a中, X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>独立地具有根据式4a的结构:

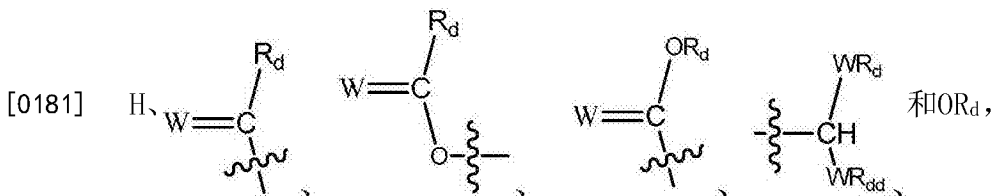


式 4a

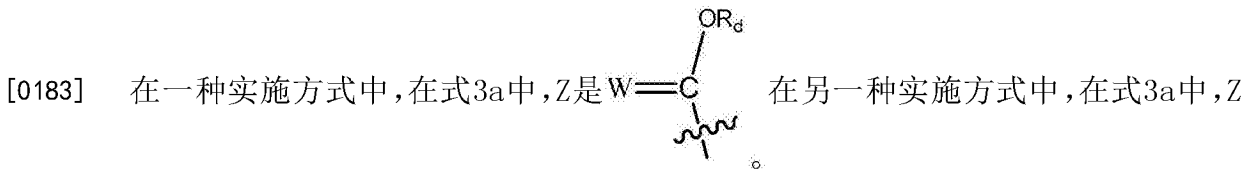
[0178] 在式4a中,m是选自1至26的整数。

[0179] 在式4a中,Ra、Raa、每个Rb、每个Rbb、Rc、和Rcc独立地选自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、卤素、三卤代甲基、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、膦酸酯基、磷酸酯基、氧膦基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、酰胺基、羰基、硫代羰基、C-羧基、O-羧基、C-氨基甲酸酯基、N-氨基甲酸酯基、C-硫代羧基、S-硫代羧基和氨基组成的组,其中Ra、Raa、Rb、Rbb、Rc、和Rcc的至少两个可选地连接以形成四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环。

[0180] 在式4a中,Z选自由以下组成的组:



[0182] 其中W是氧或硫;以及Rd和Rdd独立地选自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、和杂芳基,其中X1和X2的至少一种包含除氢以外的Z。



是羧基团。

[0184] 在一种实施方式中,在式3a中,Y选自由氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、和磷酸甘油组成的组。

[0185] 在一种实施方式中,在式3a中,Y选自由氢、磷酸胆碱、和磷酸乙醇胺组成的组。

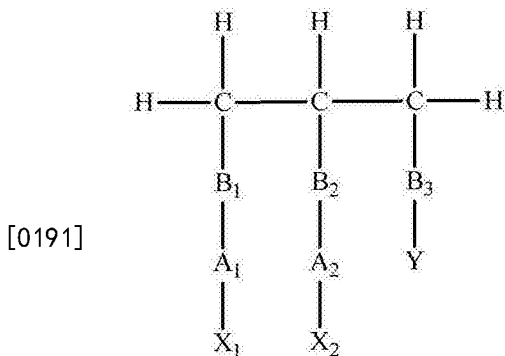
[0186] 在另一种实施方式中,在式3a中,Y选自由磷酸胆碱、和磷酸乙醇胺组成的组。

[0187] 在一种实施方式中,在式3a中,Y是磷酸胆碱。

[0188] 在又一种实施方式中,在式3a中,B1、B2、和B3各自是氧。

[0189] 在又一种实施方式中,在式3a中,Y是磷酸胆碱,以及B1、B2、和B3各自是氧。

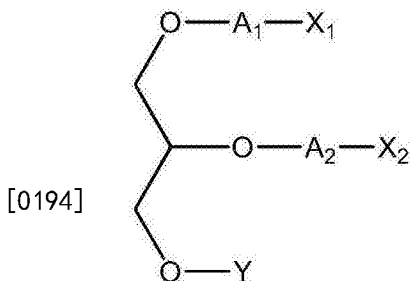
[0190] 在一种实施方式中,在式3a中,氧化磷脂具有根据式4b的结构:



式 4b

[0192] 其中B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>、A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、和Y是如针对式3a所定义。

[0193] 在一种实施方式中，在式4b中的B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>各自是氧以及氧化磷脂具有根据式4c的结构：



式 4c

[0195] 在式4c中，A<sub>1</sub>选自由CH<sub>2</sub>、CH=CH和C=O组成的组。在一个实例中，在式4c中的A<sub>1</sub>是CH<sub>2</sub>。

[0196] 在式4c中，A<sub>2</sub>是不存在或CH<sub>2</sub>。

[0197] 在式4c中，X<sub>1</sub>是具有1至30个碳原子的烷基。

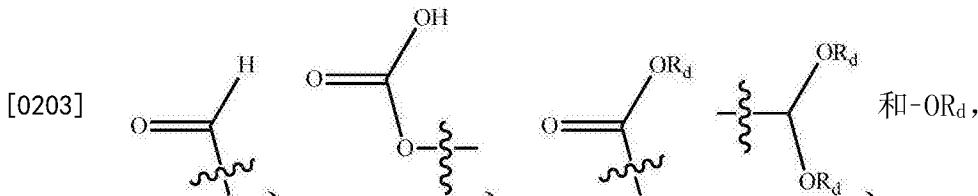


[0199] 其中

[0200] E是不存在或是具有1至24个碳原子的烷基链；

[0201] F选自由氢、羟基、烷基、烷氧基、卤基 (halide)、乙酰氧基和芳基组成的组；以及

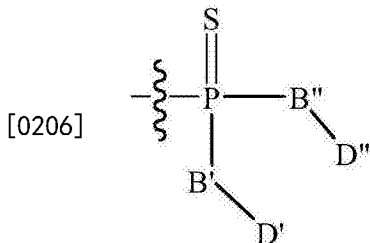
[0202] Z选自由以下组成的组：



[0204] 其中R<sub>d</sub>选自H、烷基和芳基。

[0205] 在式4c中，Y选自由以下组成的组：氢、烷基、芳基、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷

酸丝氨酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰心磷脂、磷脂酰肌醇、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油和具有以下通式的部分：



[0207] 其中：

[0208] B'和B''各自独立地选自由硫和氧组成的组；以及

[0209] D'和D''各自独立地选自由氢、烷基、氨基取代的烷基、环烷基、磷酸酯和硫代磷酸酯组成的组。

[0210] 在一种实施方式中，在式4c中，X<sub>1</sub>是具有10至30个碳原子、或8至30个碳原子的烷基。

[0211] 在一种实施方式中，在式4c中，E是具有1至10个碳原子、或1至4个碳原子的烷基。

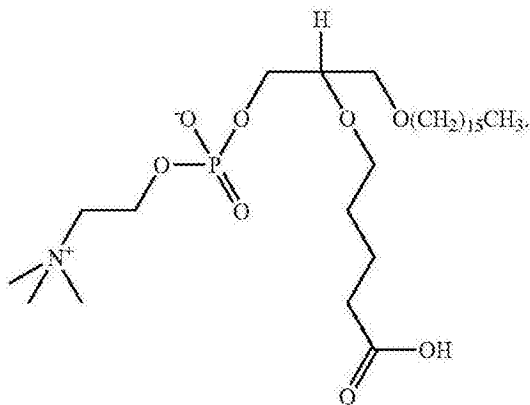
[0212] 在一种实施方式中，在式4c中，Y是磷酸胆碱。

[0213] 在式1、2、3、3a、4b和4c中的每个碳原子是手性或非手性碳原子，其中每个手性碳原子可以具有S-构型或R-构型。

[0214] 在一种实施方式中，氧化脂质是1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-甘油基-3-磷酸胆碱或1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-甘油基-3-磷酸胆碱。如在本文中所使用的，1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-甘油基-3-磷酸胆碱和1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-甘油基-3-磷酸胆碱是相同的并且均指相同的化合物，VB-201。根据本申请的实施方式的VB-201可以是1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-甘油基-3-磷酸胆碱的手性对映体，即，(R)-对映体((R)-1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-sn-甘油基-3-磷酸胆碱)或(S)-对映体((S)-1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-sn-甘油基-3-磷酸胆碱)，或它们的混合物(例如，外消旋体)。在一种实施方式中，氧化磷脂是(R)-1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱。在一些实施方式中，(R)-1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱具有约80% ee或更大的对映体纯度，例如，约85% ee、约90% ee、约91% ee、约92% ee、约93% ee、约94% ee、约95% ee、约96% ee、约97% ee、约98% ee、约99% ee、约99.5% ee或更大。在其它实施方式中，(R)-1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱具有约80% ee至约100% ee、约85% ee至约100% ee、约90% ee至约100% ee、约95% ee至约100% ee、约80% ee至约99.5% ee、约85% ee至约99.5% ee、约90% ee至约99.5% ee、约95% ee至约99.5% ee、或它们的任何范围的对映体纯度。

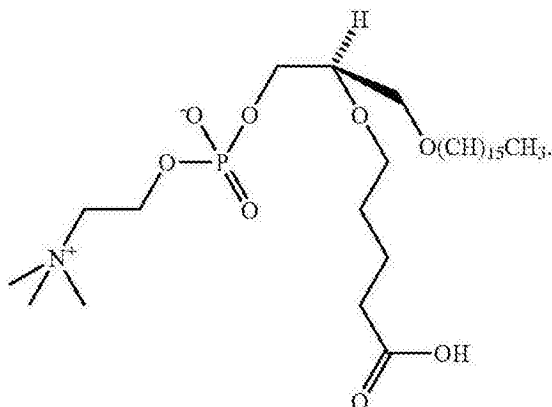
[0215] 在其它实施方式中，氧化脂质具有以下结构：

[0216]



[0217] 在其它实施方式中,氧化脂质具有以下结构:

[0218]



[0219] 在一些实施方式中,本发明的氧化脂质化合物治疗或预防纤维化(例如,肝纤维化、肾纤维化、局灶性和节段性肾小球硬化、或本文所述的任何其它纤维化)以及或好于替米沙坦。在其它实施方式中,本发明的氧化脂质化合物降低肝脏炎症以及或好于替米沙坦。在其它实施方式中,本发明的氧化脂质化合物降低肝纤维化以及或好于替米沙坦。在其它实施方式中,本发明的氧化脂质化合物治疗或预防肾纤维化以及或好于替米沙坦。在其它实施方式中,本发明的氧化脂质化合物治疗或预防局灶性和节段性肾小球硬化以及或好于替米沙坦。

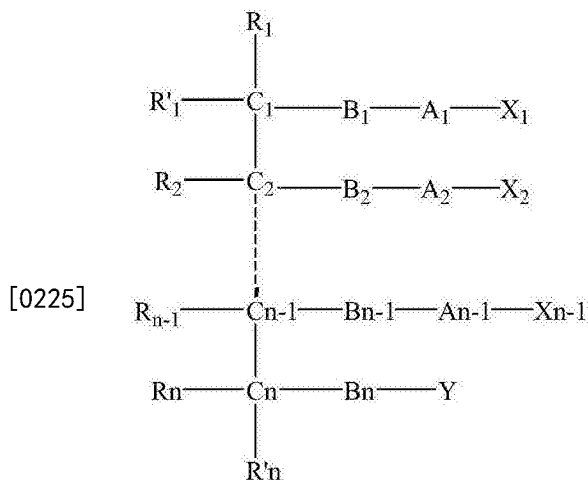
[0220] 在例如国际公开号W0 04/106486、W0 02/41827、和W0 2011/083469中已描述了用于合成本发明的氧化脂质的方法。

[0221] 药物组合物

[0222] 本发明的其它实施方式涉及包含本发明的氧化脂质的药物组合物。在一些实施方式中,药物组合物包含本发明的氧化脂质和药用载体。在其它实施方式中,药物组合物包含治疗有效量的氧化脂质。在一些实施方式中,药物组合物包含治疗有效量的氧化脂质和药用载体。如在本文中所使用的,治疗有效量的氧化脂质是有效地治疗或预防本发明的疾病或病症的量。

[0223] 在其它实施方式中,可以口服给予本发明的药物组合物。

[0224] 在其它实施方式中,药物组合物包含具有根据式1的结构化合物或其药用盐、水合物或溶剂化物:



式 1

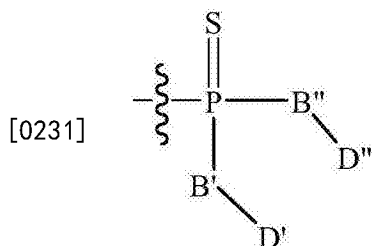
[0226] 其中：

[0227] n是1至6的整数，其中当n为1时，C<sub>n</sub>、B<sub>n</sub>、R<sub>n</sub>、和Y是不存在，以及C<sub>1</sub>连接于R'<sub>n</sub>；

[0228] B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、…B<sub>n-1</sub>和B<sub>n</sub>各自独立地选自由氧、硫、氮、磷和硅组成的组，其中每个所述氮、磷和硅可选地被一个或多个取代基所取代，上述取代基选自由烷基、卤素、环烷基、芳基、羟基、巯基、烷氧基、芳氧基、硫代芳氧基、硫代烷氧基和氧基组成的组；

[0229] A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、…A<sub>n-1</sub>和A<sub>n</sub>各自独立地选自由CR''R''、C=O和C=S组成的组，

[0230] Y选自由以下组成的组：氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油和具有以下通式的部分：

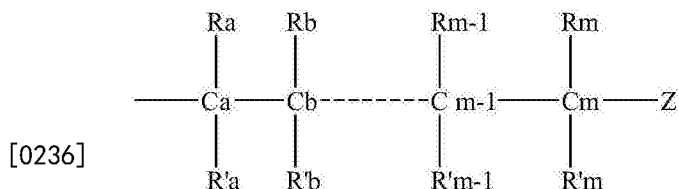


[0232] 其中：

[0233] B'和B''各自独立地选自由硫和氧组成的组；以及

[0234] D'和D''各自独立地选自由氢、烷基、氨基取代的烷基、环烷基、磷酸酯基和硫代磷酸酯基组成的组；以及

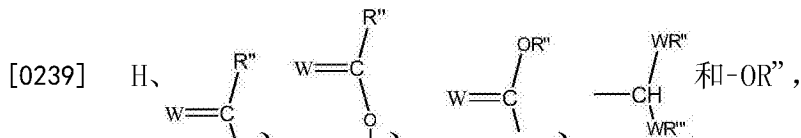
[0235] X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、…X<sub>n-1</sub>各自独立地是具有通式2的饱和或不饱和烃；



式 2

[0237] 其中, m是1至26的整数; 以及

[0238] Z选自由以下组成的组:



[0240] 其中W选自由氧和硫组成的组;

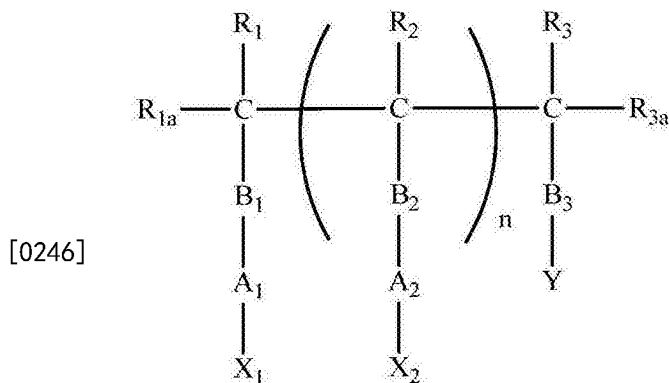
[0241] 其中X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、...X<sub>n-1</sub>的至少一种包含除氢以外的Z,

[0242] 以及其中:

[0243] R<sub>1</sub>、R'<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、...R<sub>n-1</sub>、R<sub>n</sub>、R'<sub>n</sub>中的每个, R''和R''中的每个以及Ra、R'a、Rb、R'b、...R<sub>m-1</sub>、R'm-1、R<sub>m</sub>和R'm中的每个独立地选自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、卤素、三卤代甲基、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、磷酸酯基、磷酸酯基、氧磷基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、酰胺基、羰基、硫代羰基、C-羧基、O-羧基、C-氨基甲酸酯基、N-氨基甲酸酯基、C-硫代羧基、S-硫代羧基和氨基组成的组, 或者, 可替换地, R<sub>1</sub>、R'<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、...R<sub>n-1</sub>、R<sub>n</sub>和R'<sub>n</sub>的至少两个和/或Ra、R'a、Rb、R'b、...R<sub>m-1</sub>、R'm-1、R<sub>m</sub>和R'm的至少两个形成至少一个四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环,

[0244] 或其药用盐、水合物或溶剂化物。

[0245] 在其它实施方式中, 药物组合物包含具有根据式3的结构化合物或其药用盐、水合物或溶剂化物:



式 3。

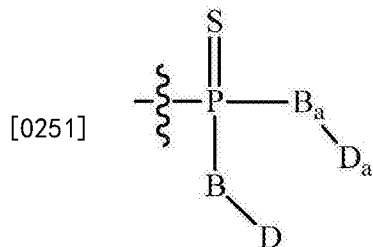
[0247] 在式3中, n是选自1至4的整数。

[0248] 在式3中, B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、和B<sub>3</sub>各自独立地选自由氧、硫、和NR<sub>4</sub>组成的组, 其中R<sub>4</sub>选自氢、烷基、环烷基、芳基、和酰基。

[0249] 在式3中, A<sub>1</sub>和A<sub>2</sub>各自独立地选自由CR<sub>e</sub>R<sub>ee</sub>、CR<sub>e</sub>=CR<sub>ee</sub>、C=O和C=S组成的组, 其中R<sub>e</sub>

和 $R_{ee}$ 独立地选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、和杂芳基。

[0250] 在式3中, Y选自自由以下组成的组: 氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油、和具有以下通式的部分:

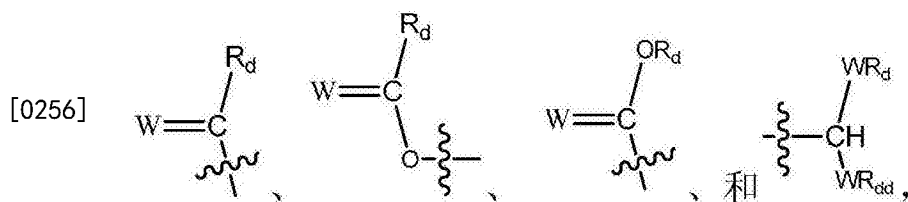


[0252] 其中:

[0253] B和 $B_a$ 各自独立地选自自由硫和氧组成的组; 以及

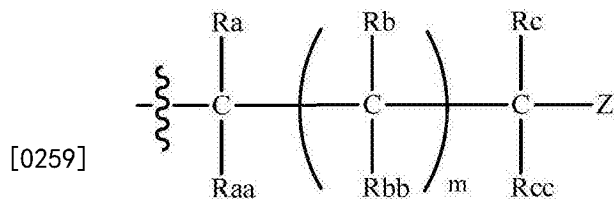
[0254] D和 $D_a$ 独立地选自自由氢、烷基、氨基烷基、环烷基、磷酸酯基和硫代磷酸酯基组成的组。

[0255] 在式3中,  $X_1$ 和 $X_2$ 各自独立地是饱和或不饱和的直链或支链烃, 其中 $X_1$ 和 $X_2$ 的至少之一被氧化部分Z所取代, 其中氧化部分Z选自自由以下组成的组:



[0257] 其中W是氧或硫; 以及 $R_d$ 和 $R_{dd}$ 独立地选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、和杂芳基。

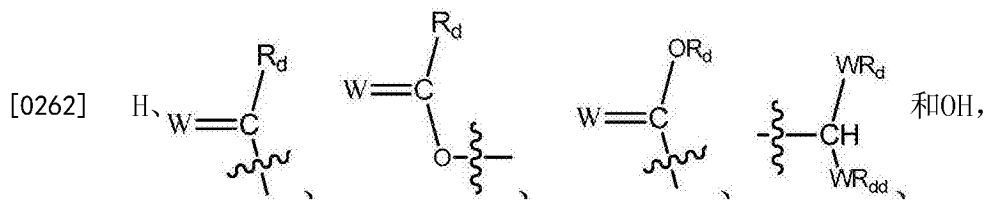
[0258] 在一种实施方式中, 在式3中,  $X_1$ 和 $X_2$ 各自独立地具有通式4:



式 4

[0260] 在式4中, m是选自1至26的整数。

[0261] 在式4中, Z选自自由以下组成的组:



[0263] 其中W是氧或硫; 以及 $R_d$ 和 $R_{dd}$ 独立地选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、和杂

芳基,

[0264] 其中X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>的至少一种包含除氢以外的Z。

[0265] 在式3和式4中, R<sub>1</sub>、R<sub>1a</sub>、每个R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>3a</sub>、R<sub>a</sub>、R<sub>aa</sub>、每个R<sub>b</sub>、每个R<sub>bb</sub>、R<sub>c</sub>和R<sub>cc</sub>独立地选自自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、卤素、三卤代甲基、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、膦酸酯基、磷酸酯基、氧膦基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、酰胺基、羰基、硫代羰基、C-羧基、O-羧基、C-氨基甲酸酯基、N-氨基甲酸酯基、C-硫代羧基、S-硫代羧基和氨基组成的组, 其中R<sub>1</sub>、R<sub>1a</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>3a</sub>的至少两个可选地连接以形成四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环, 以及其中R<sub>a</sub>、R<sub>aa</sub>、R<sub>b</sub>、R<sub>bb</sub>、R<sub>c</sub>、和R<sub>cc</sub>的至少两个可选地连接以形成四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环。


[0266] 在一种实施方式中, 在式3中, n是1或2。在另一种实施方式中, 在式3中, n是1。

[0267] 在一种实施方式中, 在式3中, Y选自自由氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4, 5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、和磷酸甘油组成的组。

[0268] 在另一种实施方式中, 在式3中, Y选自自由氢、磷酸胆碱、和磷酸乙醇胺组成的组。

[0269] 在另一种实施方式中, 在式3中, Y选自自由磷酸胆碱、和磷酸乙醇胺组成的组。

[0270] 在一种实施方式中, 在式3中, Y是磷酸胆碱。

[0271] 在一种实施方式中, 在式3中, Z是  $W=C \begin{matrix} \diagup OR_d \\ \diagdown \end{matrix}$  在另一种实施方式中, 在式3中, Z是 。

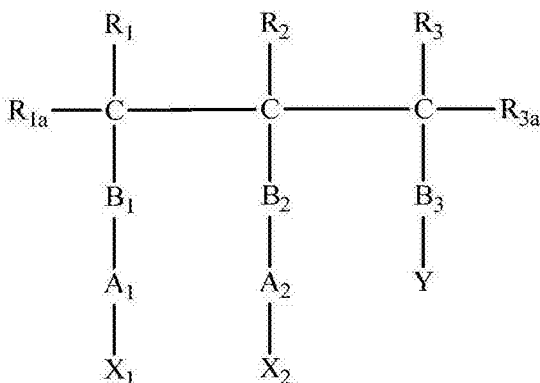
羧酸基团。

[0272] 在又一种实施方式中, 在式3中, n是1以及Y是磷酸胆碱。

[0273] 在又一种实施方式中, 在式3中, B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、和B<sub>3</sub>各自是氧。

[0274] 在又一种实施方式中, 在式3中, n是1, Y是磷酸胆碱, 以及B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、和B<sub>3</sub>各自是氧。

[0275] 在一种实施方式中, 药物组合物包含具有根据式3a的结构化合物或其药用盐、水合物或溶剂化物:



[0276]

式 3a。

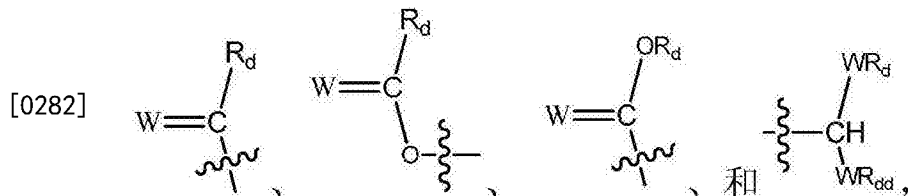
[0277] 在式3a中, B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、和B<sub>3</sub>独立地选自氧和硫。

[0278] 在式3a中, A<sub>1</sub>和A<sub>2</sub>独立地选自由CH<sub>2</sub>、CH=CH、C=O和C=S组成的组。

[0279] 在式3a中, Y选自由氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、和磷酸甘油组成的组。

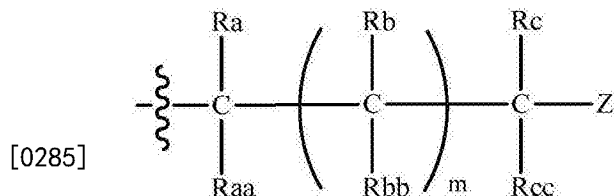
[0280] 在式3a中, R<sub>1</sub>、R<sub>1a</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、和R<sub>3a</sub>独立地选自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、卤素、三卤代甲基、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、磷酸酯基、磷酸酯基、氧磷基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、酰胺基、羰基、硫代羰基、C-羧基、O-羧基、C-氨基甲酸酯基、N-氨基甲酸酯基、C-硫代羧基、S-硫代羧基和氨基组成的组, 其中R<sub>1</sub>、R<sub>1a</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>3a</sub>的至少两个可选地连接以形成四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环, 以及其中R<sub>a</sub>、R<sub>aa</sub>、R<sub>b</sub>、R<sub>bb</sub>、R<sub>c</sub>、和R<sub>cc</sub>的至少两个可选地连接以形成四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环;

[0281] 在式3a中, X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>独立地是饱和或不饱和的直链或支链烃, 其中X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>的至少之一被氧化部分Z所取代, 其中氧化部分Z具有选自以下的式:



[0283] 其中W是氧或硫; 以及R<sub>d</sub>和R<sub>dd</sub>独立地选自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、和杂芳基。

[0284] 在一种实施方式中, 在式3a中, X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>独立地具有根据式4a的结构:

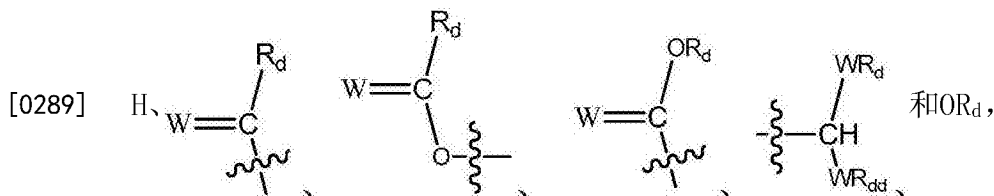


#### 式 4a

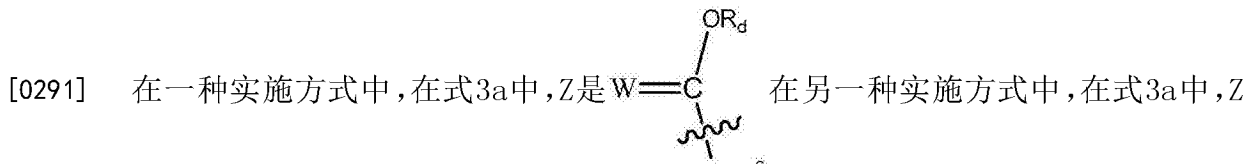
[0286] 在式4a中, m是选自1至26的整数。

[0287] 在式4a中, R<sub>a</sub>、R<sub>aa</sub>、每个R<sub>b</sub>、每个R<sub>bb</sub>、R<sub>c</sub>、和R<sub>cc</sub>独立地选自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、卤素、三卤代甲基、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、磷酸酯基、磷酸酯基、氧磷基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、酰胺基、羰基、硫代羰基、C-羧基、O-羧基、C-氨基甲酸酯基、N-氨基甲酸酯基、C-硫代羧基、S-硫代羧基和氨基组成的组, 其中R<sub>a</sub>、R<sub>aa</sub>、R<sub>b</sub>、R<sub>bb</sub>、R<sub>c</sub>、和R<sub>cc</sub>的至少两个可选地连接以形成四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环。

[0288] 在式4a中, Z选自由以下组成的组:



[0290] 其中W是氧或硫;以及R<sub>d</sub>和R<sub>dd</sub>独立地选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、和杂芳基,其中X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>的至少一种包含除氢以外的Z。



是羧酸基团。

[0292] 在一种实施方式中,在式3a中,Y选自由氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、和磷酸甘油组成的组。

[0293] 在一种实施方式中,在式3a中,Y选自由氢、磷酸胆碱、和磷酸乙醇胺组成的组。

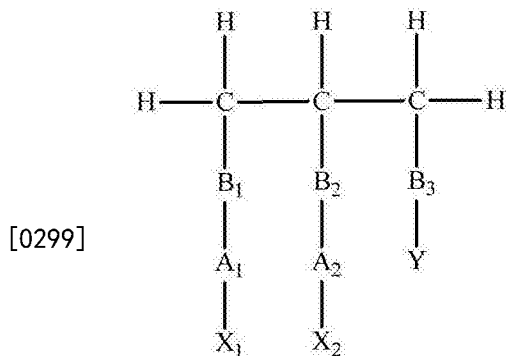
[0294] 在另一种实施方式中,在式3a中,Y选自由磷酸胆碱、和磷酸乙醇胺组成的组。

[0295] 在一种实施方式中,在式3a中,Y是磷酸胆碱。

[0296] 在又一种实施方式中,在式3a中,B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、和B<sub>3</sub>各自是氧。

[0297] 在又一种实施方式中,在式3a中,Y是磷酸胆碱,以及B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、和B<sub>3</sub>各自是氧。

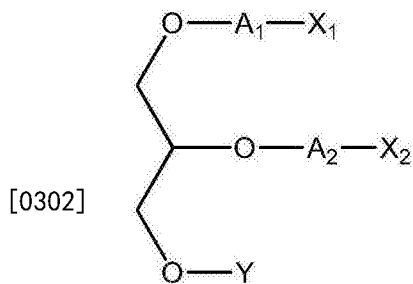
[0298] 在一种实施方式中,在式3a中,氧化磷脂具有根据式4b的结构:



式 4b

[0300] 其中B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>、A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、和Y是如针对式3a所定义。

[0301] 在一种实施方式中,在式4b中的B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>各自是氧以及氧化磷脂具有根据式4c的结构:



## 式 4c

[0303] 在式4c中, A<sub>1</sub>选自CH<sub>2</sub>、CH=CH和C=O组成的组。在一个实例中, 在式4c中的A<sub>1</sub>是CH<sub>2</sub>。

[0304] 在式4c中, A<sub>2</sub>是不存在或CH<sub>2</sub>。

[0305] 在式4c中, X<sub>1</sub>是具有1至30个碳原子的烷基。

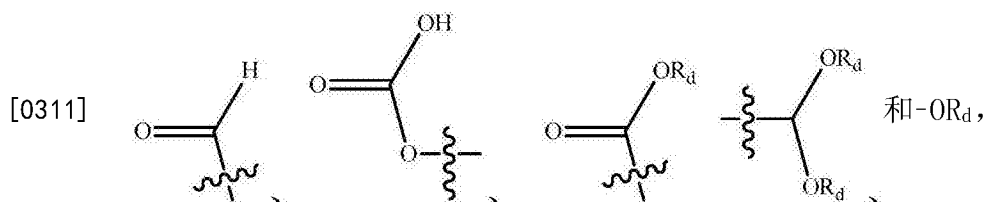


[0307] 其中

[0308] E是不存在或是具有1至24个碳原子的烷基链;

[0309] F选自氢、羟基、烷基、烷氧基、卤基、乙酰氧基和芳基组成的组; 以及

[0310] Z选自以下组成的组:



[0312] 其中R<sub>d</sub>选自H、烷基和芳基。

[0313] 在式4c中, Y选自氢、烷基、芳基、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰心磷脂、磷脂酰肌醇、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油组成的组。

[0314] 在一种实施方式中, 在式4c中, X<sub>1</sub>是具有10至30个碳原子、或8至30个碳原子的烷基。

[0315] 在一种实施方式中, 在式4c中, E是具有1至10个碳原子、或1至4个碳原子的烷基。

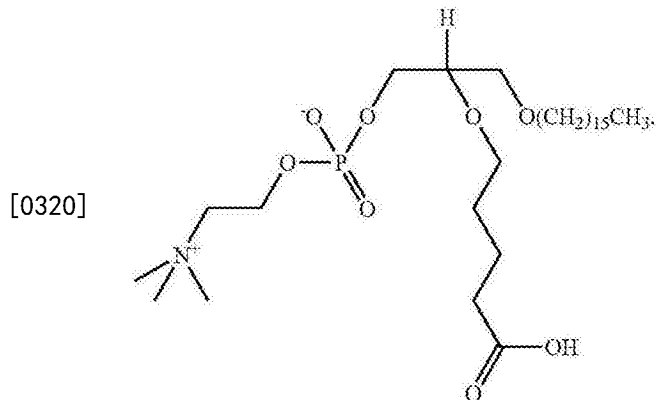
[0316] 在一种实施方式中, 在式4c中, Y是磷酸胆碱。

[0317] 在式1、2、3、3a、4b和4c中的每个碳原子是手性或非手性碳原子, 其中每个手性碳原子可以具有S-构型或R-构型。

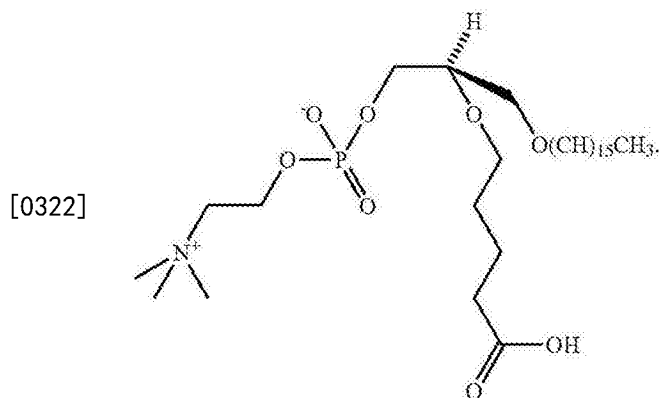
[0318] 在另一种实施方式中, 本发明的药物组合物包含1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-甘油基-3-磷酸胆碱或1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-甘油基-3-磷酸胆碱(VB-201)。在另一种实施方式中, 本发明的药物组合物包含(R)-1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-sn-甘油

基-3-磷酸胆碱。在一些实施方式中，(R)-1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱具有约80%ee或更大的对映体纯度，例如，约85%ee、约90%ee、约91%ee、约92%ee、约93%ee、约94%ee、约95%ee、约96%ee、约97%ee、约98%ee、约99%ee、约99.5%ee或更大。在其它实施方式中，(R)-1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱具有约80%ee至约100%ee、约85%ee至约100%ee、约90%ee至约100%ee、约95%ee至约100%、约80%ee至约99.5%ee、约85%ee至约99.5%ee、约90%ee至约99.5%ee、约95%ee至约99.5%、或它们的任何范围的对映体纯度。

[0319] 在其它实施方式中，本发明的药物组合物包含以下结构的化合物：



[0321] 在其它实施方式中，本发明的药物组合物包含以下结构的化合物：



[0323] 在其它实施方式中，药物组合物治疗或预防纤维化（例如，肝纤维化、肾纤维化、局灶性和节段性肾小球硬化、或本文所述的任何其它纤维化）以及或好于替米沙坦。在其它实施方式中，药物组合物降低肝脏炎症以及或好于替米沙坦。在其它实施方式中，药物组合物降低肝纤维化以及或好于替米沙坦。在其它实施方式中，药物组合物治疗或预防肾纤维化以及或好于替米沙坦。在其它实施方式中，药物组合物治疗或预防局灶性和节段性肾小球硬化以及或好于替米沙坦。

[0324] 治疗或预防纤维化的方法

[0325] 本发明的实施方式涉及用于治疗或预防纤维化或肝脏炎症的方法，包括给予本发明的氧化脂质。在其它实施方式中，该方法包括将治疗有效量的本发明的氧化脂质给予需要其的受试者。在其它实施方式中，该方法包括给予本发明的药物组合物。

[0326] 在本发明的方法的一些实施方式中，纤维化是肺纤维化、肝纤维化、皮肤纤维化、或肾纤维化。在本发明的方法的一些实施方式中，纤维化是心脏纤维化、骨髓纤维化、肠纤维化、关节纤维化（膝盖、肩、或其他关节）、手纤维化、指纤维化、骨骼肌纤维化、神经纤维

化、和阴茎纤维化。在其它实施方式中,纤维化是特发性肺纤维化(IPF)、囊性纤维化、进行性大块纤维化、肝硬化、脂肪肝炎(脂肪肝病)、非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、心内膜心肌纤维化、心肌梗死、心房纤维化、纵隔纤维化、骨髓纤维化、腹膜后纤维化、肾源性系统性纤维化、瘢痕疙瘩、克罗恩病、硬皮病/全身性硬化、关节纤维化、佩罗尼病、迪皮特朗挛缩、粘连性囊炎、或局灶性和节段性肾小球硬化。在一些实施方式中,纤维化与肝脏炎症相关。在一些实施方式中,纤维化是肝纤维化。在一些实施方式中,纤维化是肾纤维化。在一些实施方式中,需要肾纤维化的治疗或预防的受试者患有慢性肾病。在一些实施方式中,纤维化是局灶性和节段性肾小球硬化。在一些实施方式中,需要局灶性和节段性肾小球硬化的治疗或预防的受试者患有慢性肾病。

[0327] 在一些实施方式中,纤维化是并不包括特发性肺纤维化的纤维化。在其它实施方式中,纤维化是并不包括囊性纤维化的纤维化。在其它实施方式中,纤维化是并不包括进行性大块纤维化的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括肝硬化的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括脂肪肝炎(脂肪肝病)的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括非酒精性脂肪肝炎(NASH)的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括心内膜心肌纤维化的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括心肌梗死的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括心房纤维化的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括纵隔纤维化的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括骨髓纤维化的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括腹膜后纤维化的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括肾源性系统性纤维化的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括瘢痕疙瘩的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括克罗恩病的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括硬皮病/全身性硬化的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括关节纤维化的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括佩罗尼病的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括迪皮特朗挛缩的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括粘连性囊炎的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括局灶性和节段性肾小球硬化的纤维化。在一些实施方式中,纤维化是并不包括动脉中的纤维性病变或斑块的纤维化。

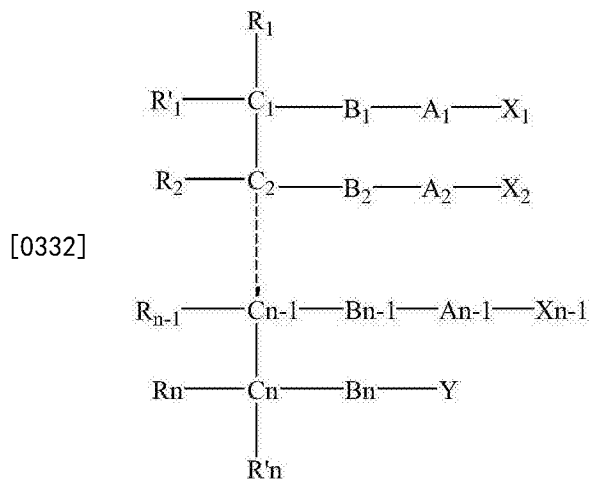
[0328] 在一些实施方式中,氧化脂质治疗或预防肝脏炎症,但不改变肝纤维化。在其它实施方式中,氧化脂质治疗或预防肝纤维化,但不改变肝脏炎症。

[0329] 在本发明的方法的一些实施方式中,在治疗细胞中,TLR2、TLR4和/或CD14的活性被抑制。在一些实施方式中,TLR2和TLR4的活性被抑制;TLR4和CD14的活性被抑制;TLR2和CD14的活性被抑制;或TLR2、TLR4和CD14的活性被抑制。

[0330] 在本发明的方法的一些实施方式中,相比于在未治疗的或安慰剂治疗的受试者中的脂肪变性,在用本发明的氧化脂质进行治疗的受试者中未减少脂肪变性。在其它实施方式中,相比于在未治疗的或安慰剂治疗的受试者中的肝小叶形成,在用本发明的氧化脂质加以治疗的受试者中,减少了肝小叶形成。在其它实施方式中,相比于在未治疗的或安慰剂治疗的受试者中的肝小叶形成,在用本发明的氧化脂质加以治疗的受试者中未减少肝小叶形成。在其它实施方式中,相比于未治疗的或安慰剂治疗的受试者,在用本发明的氧化脂质加以治疗的受试者中未减少脂肪变性以及在用本发明的氧化脂质加以治疗的受试者中减少了肝小叶形成。在其它实施方式中,分别相比于未治疗的或安慰剂治疗的受试者,在用本

发明的氧化脂质加以治疗的受试者中未减少脂肪变性以及在用本发明的氧化脂质加以治疗的受试者中未减少肝小叶形成。在其它实施方式中,相比于在未治疗的或安慰剂治疗的受试者中的泡沫细胞样巨噬细胞,在用本发明的氧化脂质加以治疗的受试者中减少了泡沫细胞样巨噬细胞。在一些实施方式中,相比于未治疗的或安慰剂治疗的受试者,在用本发明的氧化脂质加以治疗的受试者中分别减少了肝小叶形成和泡沫细胞样巨噬细胞。在一些实施方式中,相比于在未治疗的或安慰剂治疗的受试者中的肝小叶炎症,在用本发明的氧化脂质加以治疗的受试者中减弱了肝小叶炎症。在一些实施方式中,相比于未治疗的或安慰剂治疗的受试者,在用本发明的氧化脂质加以治疗的受试者中分别减少了肝小叶炎症和泡沫细胞样巨噬细胞。在一些实施方式中,相比于未治疗的或安慰剂治疗的受试者,在用本发明的氧化脂质加以治疗的受试者中分别减少了肝小叶形成、肝小叶炎症和泡沫细胞样巨噬细胞。在一些实施方式中,相比于在未治疗的或安慰剂治疗的受试者中的肝小叶形成,在用本发明的氧化脂质加以治疗的受试者中减少肝小叶形成约5%至约50% (例如,约5%、约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、或在指定值之间的任何范围)。在一些实施方式中,相比于在未治疗的或安慰剂治疗的受试者中泡沫细胞样巨噬细胞的形成,在用本发明的氧化脂质加以治疗的受试者中减少了泡沫细胞样巨噬细胞的形成约5%至约50% (例如,约5%、约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、或在指定值之间的任何范围)。在一些实施方式中,相比于在未治疗的或安慰剂治疗的受试者中的肝小叶炎症,在用本发明的氧化脂质加以治疗的受试者中减轻了肝小叶炎症约5%至约50% (例如,约5%、约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、或在指定值之间的任何范围)。

[0331] 在一些实施方式中,氧化脂质是具有根据式1的结构化合物或其药用盐、水合物或溶剂化物:



[0333] 式 1

[0334] 其中:

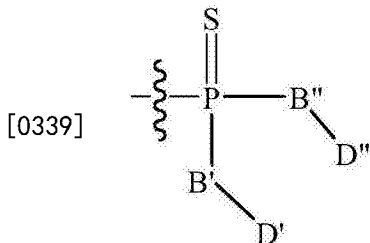
[0335] n是1至6的整数,其中当n为1时,C<sub>n</sub>、B<sub>n</sub>、R<sub>n</sub>、和Y是不存在,以及C<sub>1</sub>连接于R'<sub>n</sub>;

[0336] B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、...B<sub>n-1</sub>和B<sub>n</sub>各自独立地选自由氧、硫、氮、磷和硅组成的组,其中所述氮、磷和硅中的每个可选地被一个或多个取代基所取代,上述取代基选自由烷基、卤素、环烷基、芳基、羟基、巯基、烷氧基、芳氧基、硫代芳氧基、硫代烷氧基和氧基组成的组;

[0337] A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、...A<sub>n-1</sub>和A<sub>n</sub>各自独立地选自由CR''R''、C=O和C=S组成的组,

[0338] Y选自由以下组成的组:氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷

酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油和具有以下通式的部分：

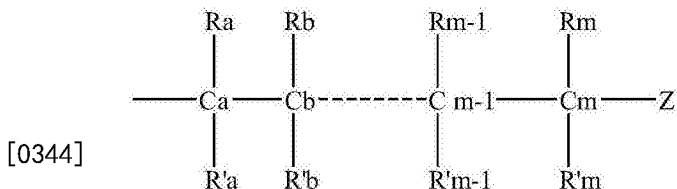


[0340] 其中：

[0341] B'和B''各自独立地选自由硫和氧组成的组；以及

[0342] D'和D''各自独立地选自由氢、烷基、氨基取代的烷基、环烷基、磷酸酯基和硫代磷酸酯基组成的组；以及

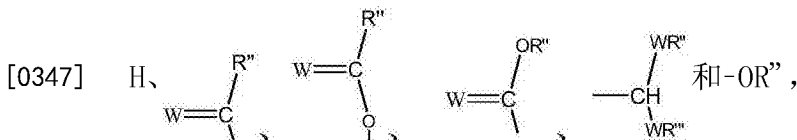
[0343] X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、…X<sub>n-1</sub>各自独立地是具有通式2的饱和或不饱和烃：



式 2

[0345] 其中,m是1至26的整数；以及

[0346] Z选自由以下组成的组：



[0348] 其中W选自由氧和硫组成的组；

[0349] 其中X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、…X<sub>n-1</sub>的至少一种包含除氢以外的Z，

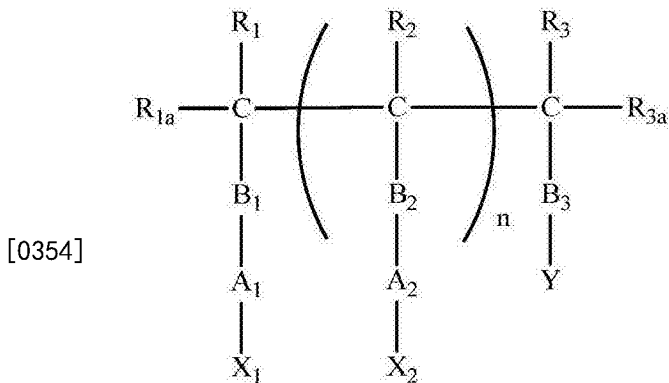
[0350] 以及其中：

[0351] R<sub>1</sub>、R'<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、…R<sub>n-1</sub>、R<sub>n</sub>、R'<sub>n</sub>中的每个、R''和R''中的每个以及Ra、R'a、Rb、R'b、…R<sub>m-1</sub>、R'm-1、R<sub>m</sub>和R'm中的每个独立地选自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、卤素、三卤代甲基、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、磷酸酯基、磷酸酯基、氧磷基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、酰胺基、羰基、硫代羰基、C-羧基、O-羧基、C-氨基甲酸酯基、N-氨基甲酸酯基、C-硫代羧基、S-硫代羧基和氨基组成的组，或者，可替换地，R<sub>1</sub>、R'<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、…R<sub>n-1</sub>、R<sub>n</sub>和R'<sub>n</sub>的至少两个和/或Ra、R'a、Rb、R'b、…R<sub>m-1</sub>、R'm-1、R<sub>m</sub>和R'm的至少两个形成至少一个四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环，

[0352] 或其药用盐、水合物或溶剂化物。

[0353] 在其它实施方式中，氧化脂质是具有根据式3的结构化合物或其药用盐、水合物

或溶剂化物:



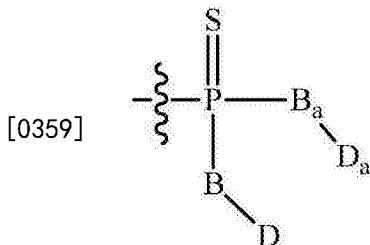
式 3

[0355] 在式3中,n是选自1至4的整数。

[0356] 在式3中,B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、和B<sub>3</sub>各自独立地选自由氧、硫、和NR<sub>4</sub>组成的组,其中R<sub>4</sub>选自氢、烷基、环烷基、芳基、和酰基。

[0357] 在式3中,A<sub>1</sub>和A<sub>2</sub>各自独立地选自由CR<sub>e</sub>R<sub>ee</sub>、CR<sub>e</sub>=CR<sub>ee</sub>、C=O和C=S组成的组,其中R<sub>e</sub>和R<sub>ee</sub>独立地选自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、和杂芳基。

[0358] 在式3中,Y选自由以下组成的组:氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油、和具有以下通式的部分:

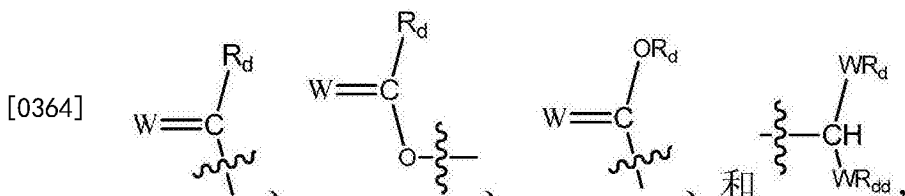


[0360] 其中:

[0361] B和B<sub>a</sub>各自独立地选自由硫和氧组成的组;以及

[0362] D和D<sub>a</sub>独立地选自由氢、烷基、氨基烷基、环烷基、磷酸酯基和硫代磷酸酯基组成的组。

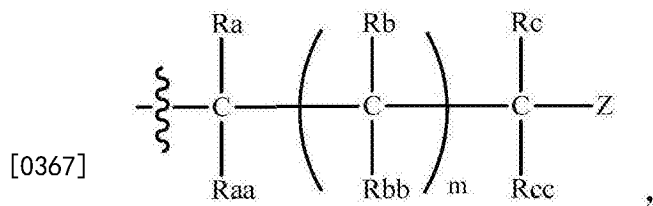
[0363] 在式3中,X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>各自独立地是饱和或不饱和的直链或支链烃,其中X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>的至少之一被氧化部分Z所取代,其中氧化部分Z选自由以下组成的组:



[0365] 其中W是氧或硫;以及R<sub>d</sub>和R<sub>dd</sub>独立地选自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、和杂

芳基。

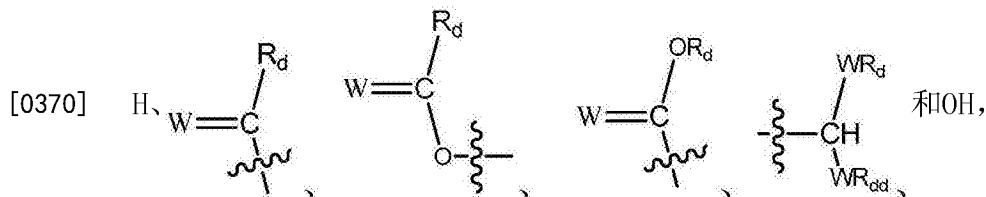
[0366] 在一种实施方式中,在式3中,X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>各自独立地具有通式4:



式 4

[0368] 在式4中,m是选自1至26的整数。

[0369] 在式4中,Z选自由以下组成的组:



[0371] 其中W是氧或硫;以及R<sub>d</sub>和R<sub>dd</sub>独立地选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、和杂芳基,

[0372] 其中X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>的至少一种包含除氢以外的Z。

[0373] 在式3和式4中,R<sub>1</sub>、R<sub>1a</sub>、每个R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>3a</sub>、R<sub>a</sub>、R<sub>aa</sub>、每个R<sub>b</sub>、每个R<sub>bb</sub>、R<sub>c</sub>和R<sub>cc</sub>独立地选自自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、卤素、三卤代甲基、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、磷酸酯基、磷酸酯基、氧磷基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、酰胺基、羰基、硫代羰基、C-羧基、O-羧基、C-氨基甲酸酯基、N-氨基甲酸酯基、C-硫代羧基、S-硫代羧基和氨基组成的组,其中R<sub>1</sub>、R<sub>1a</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>3a</sub>的至少两个可选地连接以形成四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环,以及其中R<sub>a</sub>、R<sub>aa</sub>、R<sub>b</sub>、R<sub>bb</sub>、R<sub>c</sub>、和R<sub>cc</sub>的至少两个可选地连接以形成四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环。

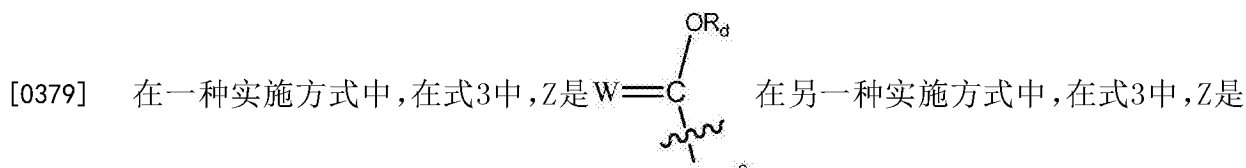
[0374] 在一种实施方式中,在式3中,n是1或2。在另一种实施方式中,在式3中,n是1。

[0375] 在一种实施方式中,在式3中,Y选自由氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、和磷酸甘油组成的组。

[0376] 在另一种实施方式中,在式3中,Y选自由氢、磷酸胆碱、和磷酸乙醇胺组成的组。

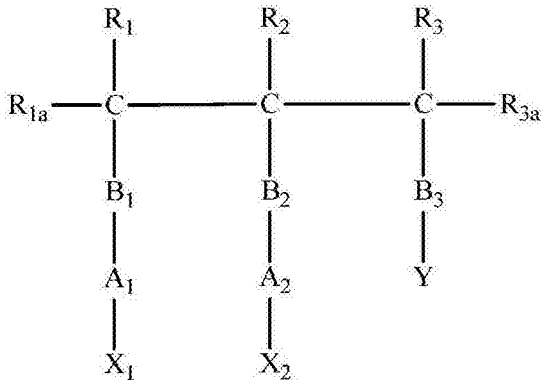
[0377] 在另一种实施方式中,在式3中,Y选自由磷酸胆碱、和磷酸乙醇胺组成的组。

[0378] 在一种实施方式中,在式3中,Y是磷酸胆碱。



羧酸基团。

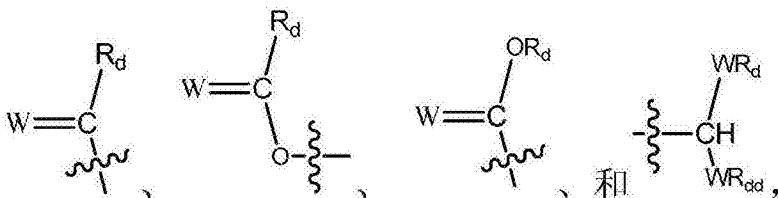
- [0380] 在又一种实施方式中,在式3中,n是1以及Y是磷酸胆碱。
- [0381] 在又一种实施方式中,在式3中,B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、和B<sub>3</sub>各自是氧。
- [0382] 在又一种实施方式中,在式3中,n是1,Y是磷酸胆碱,以及B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、和B<sub>3</sub>各自是氧。
- [0383] 在一种实施方式中,氧化脂质具有根据式3a的结构或其药用盐、水合物或溶剂化物:



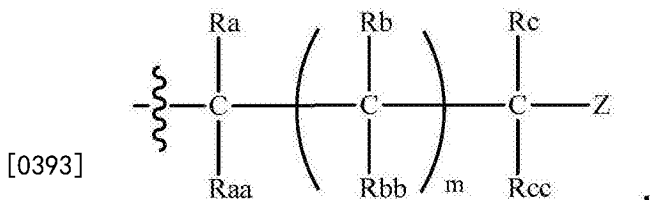
[0384]

式 3a

- [0385] 在式3a中,B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、和B<sub>3</sub>独立地选自氧和硫。
- [0386] 在式3a中,A<sub>1</sub>和A<sub>2</sub>独立地选自自由CH<sub>2</sub>、CH=CH、C=O和C=S组成的组。
- [0387] 在式3a中,Y选自自由氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、和磷酸甘油组成的组。
- [0388] 在式3a中,R<sub>1</sub>、R<sub>1a</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、和R<sub>3a</sub>独立地选自自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、卤素、三卤代甲基、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、磷酸酯基、磷酸酯基、氧磷基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、酰胺基、羰基、硫代羰基、C-羧基、O-羧基、C-氨基甲酸酯基、N-氨基甲酸酯基、C-硫代羧基、S-硫代羧基和氨基组成的组,其中R<sub>1</sub>、R<sub>1a</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>3a</sub>的至少两个可选地连接以形成四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环,以及其中R<sub>a</sub>、R<sub>aa</sub>、R<sub>b</sub>、R<sub>bb</sub>、R<sub>c</sub>、和R<sub>cc</sub>的至少两个可选地连接以形成四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环;
- [0389] 在式3a中,X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>独立地是饱和或不饱和的直链或支链烃,其中X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>的至少之一被氧化部分Z所取代,氧化部分Z具有选自以下的式:



- [0391] 其中W是氧或硫;以及R<sub>d</sub>和R<sub>dd</sub>独立地选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、和杂芳基。
- [0392] 在一种实施方式中,在式3a中,X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>独立地具有根据式4a的结构:

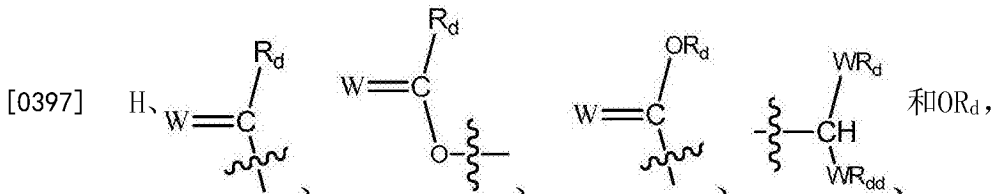


式 4a

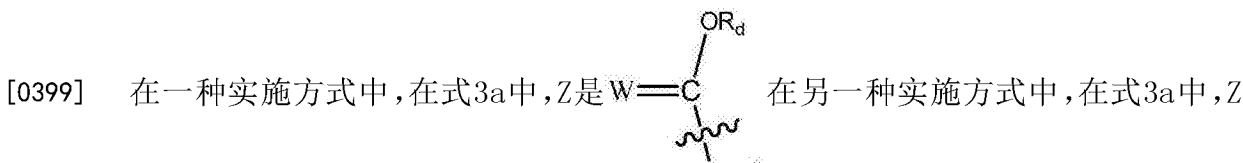
[0394] 在式4a中,m是选自1至26的整数。

[0395] 在式4a中,Ra、Raa、每个Rb、每个Rbb、Rc、和Rcc独立地选自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、卤素、三卤代甲基、羟基、烷氧基、芳氧基、巯基、硫代烷氧基、硫代芳氧基、膦酸酯基、磷酸酯基、氧膦基、磺酰基、亚磺酰基、磺酰胺基、酰胺基、羰基、硫代羰基、C-羧基、O-羧基、C-氨基甲酸酯基、N-氨基甲酸酯基、C-硫代羧基、S-硫代羧基和氨基组成的组,其中Ra、Raa、Rb、Rbb、Rc、和Rcc的至少两个可选地连接以形成四元、五元或六元芳族、杂芳族、脂环族或杂脂环族环。

[0396] 在式4a中,Z选自由以下组成的组:



[0398] 其中W是氧或硫;以及Rd和Rdd独立地选自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、和杂芳基,其中X1和X2的至少一种包含除氢以外的Z。



是羧基团。

[0400] 在一种实施方式中,在式3a中,Y选自由氢、酰基、烷基、芳基、环烷基、羧基、糖、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-戊二酸、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、和磷酸甘油组成的组。

[0401] 在一种实施方式中,在式3a中,Y选自由氢、磷酸胆碱、和磷酸乙醇胺组成的组。

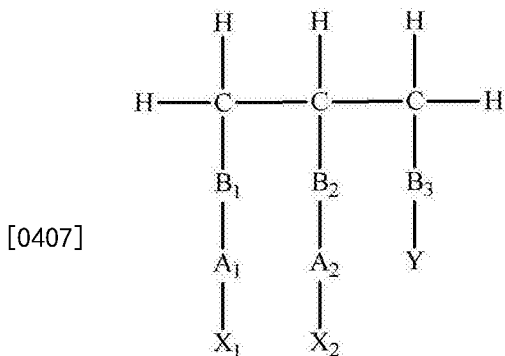
[0402] 在另一种实施方式中,在式3a中,Y选自由磷酸胆碱、和磷酸乙醇胺组成的组。

[0403] 在一种实施方式中,在式3a中,Y是磷酸胆碱。

[0404] 在又一种实施方式中,在式3a中,B1、B2、和B3各自是氧。

[0405] 在又一种实施方式中,在式3a中,Y是磷酸胆碱,以及B1、B2、和B3各自是氧。

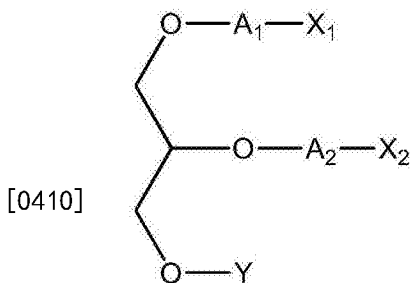
[0406] 在一种实施方式中,在式3a中,氧化磷脂具有根据式4b的结构:



式 4b

[0408] 其中B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>、A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、和Y是如针对式3a所定义。

[0409] 在一种实施方式中,在式4b中的B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>各自是氧以及氧化磷脂具有根据式4c的结构:



式 4c

[0411] 在式4c中,A<sub>1</sub>选自由CH<sub>2</sub>、CH=CH和C=O组成的组。在一个实例中,在式4c中的A<sub>1</sub>是CH<sub>2</sub>。

[0412] 在式4c中,A<sub>2</sub>是不存在或CH<sub>2</sub>。

[0413] 在式4c中,X<sub>1</sub>是具有1至30个碳原子的烷基。

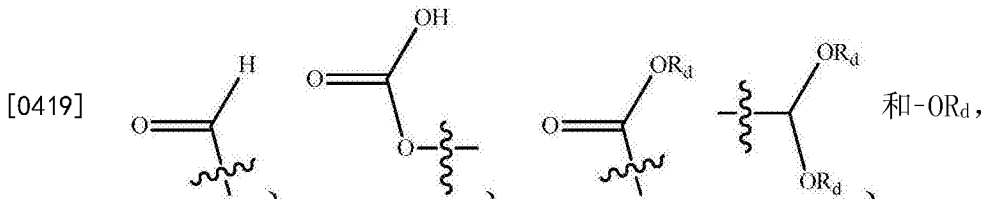


[0415] 其中

[0416] E是不存在或是具有1至24个碳原子的烷基链;

[0417] F选自由氢、羟基、烷基、烷氧基、卤基、乙酰氧基和芳基组成的组;以及

[0418] Z选自由以下组成的组:



[0420] 其中R<sub>d</sub>选自H、烷基和芳基。

[0421] 在式4c中,Y选自由氢、烷基、芳基、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷脂

酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰心磷脂、磷脂酰肌醇、磷酸心磷脂、磷酸肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸甲醇、磷酸乙醇、磷酸丙醇、磷酸丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-五乙酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、和磷酸甘油组成的组。

[0422] 在一种实施方式中,在式4c中, $X_1$ 是具有10至30个碳原子、或8至30个碳原子的烷基。

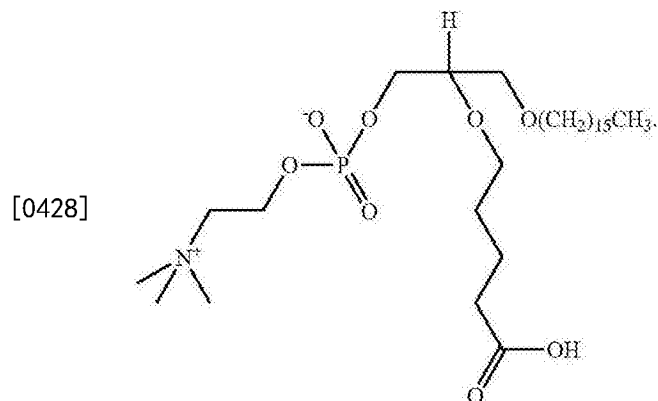
[0423] 在一种实施方式中,在式4c中,E是具有1至10个碳原子、或1至4个碳原子的烷基。

[0424] 在一种实施方式中,在式4c中,Y是磷酸胆碱。

[0425] 在式1、2、3、3a、4b、和4c中的每个碳原子是手性或非手性碳原子,其中每个手性碳原子可以具有S-构型或R-构型。

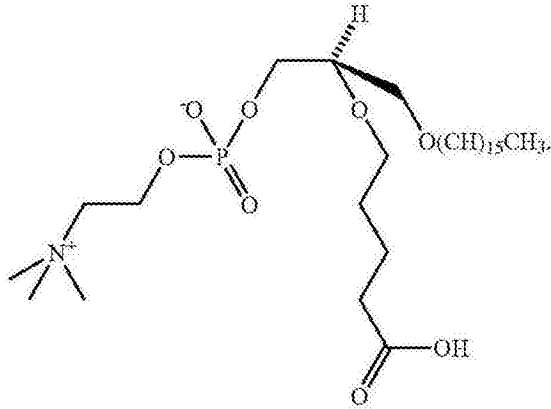
[0426] 在另一种实施方式中,氧化脂质是1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-甘油基-3-磷酸胆碱或1-十六烷基-2-(4'-羧基丁基)-甘油基-3-磷酸胆碱(VB-201)。在另一种实施方式中,氧化脂质是(R)-1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱。在一些实施方式中,(R)-1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱具有约80% ee或更大的对映体纯度,例如,约85% ee、约90% ee、约91% ee、约92% ee、约93% ee、约94% ee、约95% ee、约96% ee、约97% ee、约98% ee、约99% ee、约99.5% ee或更大。在其它实施方式中,(R)-1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱具有约80% ee至约100% ee、约85% ee至约100% ee、约90% ee至约100% ee、约95% ee至约100% ee、约80% ee至约99.5% ee、约85% ee至约99.5% ee、约90% ee至约99.5% ee、约95% ee至约99.5% ee、或它们的任何范围的对映体纯度。

[0427] 在其它实施方式中,氧化脂质具有以下结构:



[0429] 在其它实施方式中,氧化脂质具有以下结构:

[0430]



[0431] 在其它实施方式中,氧化脂质化合物治疗或预防纤维化(例如,肝纤维化、肾纤维化、局灶性和节段性肾小球硬化、或本文所述的任何其它纤维化)以及或好于替米沙坦。在其它实施方式中,氧化脂质化合物降低肝脏炎症以及或好于替米沙坦。在其它实施方式中,氧化脂质化合物降低肝纤维化以及或好于替米沙坦。在其它实施方式中,氧化脂质化合物治疗或预防肾纤维化以及或好于替米沙坦。在其它实施方式中,氧化脂质化合物治疗或预防局灶性和节段性肾小球硬化以及或好于替米沙坦。

[0432] 在一些实施方式中,受试者是哺乳动物或人。在其它实施方式中,人是女性。在其它实施方式中,人是男性。

[0433] 实施例

[0434] 现在参考以下实施例,并连同上面的描述一起以非限制性的方式来说明本发明的一些实施方式。

[0435] 实施例1

[0436] 在人单核细胞(初级CD14+)中VB-201抑制LPS(TLR4)诱导的信号

[0437] 方法和材料

[0438] 单核细胞的分离

[0439] 遵照以色列拉马特甘希巴医疗中心的机构审查委员会,从健康男性供体获得静脉血样品。用Ficoll-Paque PLUS(GE Healthcare,Uppsala,瑞典),并利用50ml Leucosep管(Greiner Bio-One,Frickenhausen,德国)来分离PBMC。在PBS(Kibbutz Beit Haemek,以色列)中洗涤细胞并在4°C下在缓冲液中温育15分钟,上述缓冲液含有PBS和0.5%具有人CD14微珠的牛血清白蛋白(BSA)(Miltenyi Biotec,Bergisch Gladbach,德国)。

[0440] 细胞的激活和蛋白质印迹

[0441] 用VB-201并以图1中所示的剂量、或用溶剂(Sol)来预处理细胞( $10^6$ /ml)20分钟,接着用100ng/ml脂多糖(LPS)来激活15分钟或细胞未被处理(Unt)。洗涤细胞并再悬浮在裂解缓冲液中,上述裂解缓冲液含有1:100二硫苏糖醇(DTT)、磷酸酶和蛋白酶抑制剂(Thermo Scientific)。将样品装载到预制Criterion TGX凝胶(Bio-Rad,Hemel Hempstead,UK)上并转移到硝酸纤维素膜上。用在Tris缓冲盐水和吐温20(TBST)中的5%牛奶或BSA来封闭印迹1小时,接着用一级抗体和二级抗体温育。利用ECL试剂盒(Thermo Scientific)来显影膜。以下抗体用于免疫印迹:

[0442] 一级抗体:p-p38(目录号4511;1:1000)和p-IKK(目录号2697;1:1000)是来自Cell Signaling Technology(Danvers,MA,USA)。p-ERK1/2(目录号M8159;1:10 000)购自Sigma

(以色列)。 $\alpha$ 微管蛋白(Tub)或热激蛋白90(HSP90)用作加载对照。

[0443] 二级抗体:HRP驴抗兔(1:5000)和HRP羊抗小鼠(1:3000)是来自Jackson ImmunoResearch(West Grove,PA,USA)。HRP驴抗羊(1:5000)是来自Santa Cruz Biotechnology。

[0444] 结果

[0445] 为了确定VB-201对TLR4介导的信号通路的影响,用VB-201来预温育分离的人原代单核细胞(CD14<sup>+</sup>),然后用LPS激活。图1A-1D显示,在人单核细胞中,以剂量依赖的方式,VB-201抑制由LPS诱导的p-IKK、p-ERK以及p-p38和p-AKT的形成。因此,VB-201抑制LPS(TLR4)诱导的信号。

[0446] 实施例2

[0447] 在人单核细胞(THP-1细胞系)中VB-201抑制PGN(TLR2)诱导的信号

[0448] 方法和材料

[0449] 细胞的激活和蛋白质印迹

[0450] 单核细胞THP-1细胞系购自American Type Tissue Culture Collection(ATCC目录号TIB-202)。用VB-201并以图2中所示的剂量,或用溶剂预处理细胞( $10^6$ /ml)20分钟,接着用20 $\mu$ g/ml肽聚糖(PGN)(InvivoGen, San Diego, CA)激活15分钟,或细胞是未被处理的(“Unt”)。洗涤细胞并再悬浮在裂解缓冲液中,该裂解缓冲液含有1:100二硫苏糖醇(DTT)、磷酸酶和蛋白酶抑制剂(Thermo Scientific)。将样品装载到预制Criterion TGX凝胶(Bio-Rad, Hemel Hempstead, UK)上并转移到硝酸纤维素膜上。用在Tris缓冲盐水和吐温20(TBST)中的5%牛奶或BSA来封闭印迹1小时,接着用一级抗体和二级抗体温育。利用ECL试剂盒(Thermo Scientific)来显影膜。以下抗体用于免疫印迹:

[0451] 一级抗体:p-p38(目录号4511;1:1000)和p-IKK(目录号2697;1:1000)来自Cell Signaling Technology(Danvers, MA, USA)。p-ERK1/2(目录号M8159;1:10000)购自Sigma(以色列)。 $\alpha$ 微管蛋白用作加载对照。

[0452] 二级抗体:HRP驴抗兔(1:5000)和HRP羊抗小鼠(1:3000)来自Jackson ImmunoResearch(West Grove, PA, USA)。HRP驴抗羊(1:5000)来自Santa Cruz Biotechnology。

[0453] 结果

[0454] 通过蛋白质印迹来处理和分析THP-1细胞。图2A-2B显示,在THP-1细胞中,VB-201抑制由PGN诱导的p-IKK、p-ERK和p-p38的形成。因此,VB-201抑制PGN(TLR2)诱导的信号。

[0455] 实施例3

[0456] 在人单核细胞(THP-1细胞系)中VB-201抑制MCP-1诱导的信号

[0457] 方法和材料

[0458] 细胞的激活和蛋白质印迹

[0459] 用VB-201并以图4中所示的剂量,或用溶剂预处理THP-1细胞( $10^6$ /ml)20分钟,接着用50ng/ml MCP1激活,或细胞是未被处理的(“Unt”)。洗涤细胞并再悬浮在裂解缓冲液中,该裂解缓冲液含有1:100二硫苏糖醇(DTT)、磷酸酶和蛋白酶抑制剂(Thermo Scientific)。将样品装载到预制Criterion TGX凝胶(Bio-Rad, Hemel Hempstead, UK)上并转移到硝酸纤维素膜上。用在Tris缓冲盐水和吐温20(TBST)中的5%牛奶或BSA来封闭印迹

1小时,接着用一级抗体和二级抗体温育。利用ECL试剂盒(Thermo Scientific)来显影膜。以下抗体用于免疫印迹:

[0460] 一级抗体:p-ERK1/2(目录号M8159;1:10000)购自Sigma(以色列)。p-AKT(目录号4060;1:1000)购自Cell Signaling Technology(Danvers,MA)。 $\alpha$ 微管蛋白用作加载对照且购自Sigma(以色列)。

[0461] 二级抗体:HRP驴抗兔(1:5000)和HRP羊抗小鼠(1:3000)来自Jackson ImmunoResearch(West Grove,PA,USA)。HRP驴抗羊(1:5000)来自Santa Cruz Biotechnology。

[0462] 结果

[0463] 图3显示,在THP-1细胞中,VB-201抑制由MCP-1诱导的p-AKT和p-ERK的形成。因此,VB-201抑制MCP-1诱导的信号。

[0464] 实施例4

[0465] VB-201抑制人单核细胞(初级CD14+)的趋化因子诱导的迁移

[0466] 方法和材料

[0467] 单核细胞的分离

[0468] 遵照以色列拉马特甘希巴医疗中心的机构审查委员会,从健康男性供体获得静脉血样品。利用50ml Leucosep管(Greiner Bio-One,Frickenhausen,德国)对Ficoll-Paque PLUS(GE Healthcare,Uppsala,瑞典)分离PBMC。在PBS(Kibbutz Beit Haemek,以色列)中洗涤细胞并在4°C下在缓冲液中温育15分钟,该缓冲液含有PBS和0.5%具有人CD14微珠的牛血清白蛋白(BSA)(Miltenyi Biotec,Bergisch Gladbach,德国)。

[0469] 细胞的激活和细胞迁移转板(trans-well)测定

[0470] 用VB-201以图5中所示的剂量,或用溶剂(So1)预处理细胞( $10^6$ /ml)20分钟。

[0471] 为了测试趋化因子诱导的细胞迁移,将RANTES(100ng/ml;目录号300-06, PeproTech,以色列)和MCP-1(50ng/ml;目录号300-04, PeproTech,以色列)溶解于补充有0.5%胎牛血清(FBS)的RPMI-1640培养基并置于QCM 24孔的5mm孔径的迁移测定板(Corning-Costar,Corning,NY)的下室。将细胞( $3 \times 10^5$ )接种在上室中并温育2-4小时。随后,通过荧光激活细胞分选(FACS)来确定迁移到下室的细胞的数目。

[0472] 结果

[0473] 处理人单核细胞并通过转板测定来分析细胞迁移。图4显示,VB-201抑制人单核细胞(初级CD14+)的趋化因子诱导的迁移。

[0474] 实施例5

[0475] 在人单核细胞(THP-1细胞系)中VB-201抑制SDF1诱导的迁移

[0476] 方法和材料

[0477] 用VB-201或用溶剂(So1)预处理THP-1细胞( $10^6$ /ml)20分钟。为了测试趋化因子诱导的细胞迁移,将RANTES(100ng/ml,目录号300-06)(PeproTech,以色列)和MCP-1(50ng/ml,目录号300-04)(PeproTech,以色列)溶解于补充有0.5%胎牛血清(FBS)的RPMI-1640培养基并置于QCM 24孔的5mm孔径的迁移测定板(Corning-Costa,Corning,NY)的下室。将细胞( $3 \times 10^5$ )接种于上室中并温育2-4小时。随后,通过荧光激活的细胞分选(FACS)来确定迁移到下室的细胞的数目。

[0478] 结果

[0479] 图5显示,VB-201抑制人单核细胞(THP-1细胞系)的SDF1诱导的迁移。

[0480] 实施例6

[0481] 在人单核细胞(初级CD14+)中VB-201抑制RANTES诱导的信号

[0482] 获得人单核细胞,处理,并通过蛋白质印迹分析,如在实施例1和图6中所描述的,不同之处在于,用RANTES(100ng/ml;目录号300-06,PeptoTech,以色列)诱导细胞15分钟。图6显示,在人单核细胞中,VB-201抑制由RANTES诱导的p-ERK的形成。因此,VB-201抑制RANTES诱导的信号。

[0483] 实施例7

[0484] 在由LPS(通过TLR4)或Pam3CSK4(通过TLR2)刺激的人单核细胞(初级CD14+)中VB-201抑制IL-12p40水平

[0485] 方法和材料

[0486] 接种人单核细胞( $10^6$ /ml)并用VB-201预处理1小时,接着用来自大肠杆菌菌株055:B5(Sigma,以色列)的100ng/ml LPS(图7A)或300ng/ml Pam3CSK4(InvivoGen, San Diego, CA, USA)(图7B)进行24小时激活,以诱导细胞因子产生。然后通过ELISA(R&D系统,目录号DY1240)测量上清液中IL-12/23p40浓度。用溶剂(0.5%处于PBS中的乙醇)激活的细胞用作对照。

[0487] 结果

[0488] 图7A-7B显示,VB-201抑制由LPS(TLR4)刺激的和Pam3CSK4(TLR2)刺激的人单核细胞(初级CD14+)的IL-12p40的分泌。

[0489] 实施例8

[0490] VB-201抑制通过人单核细胞(初级CD14+)的LPS结合

[0491] 方法和材料

[0492] 单核细胞的分离

[0493] 遵照以色列拉马特甘希巴医疗中心的机构审查委员会,从健康男性供体获得静脉血样品。利用50ml Leucosep管(Greiner Bio-One, Frickenhausen, 德国)对Ficoll-Paque PLUS(GE Healthcare, Uppsala, 瑞典)分离PBMC。在PBS(Kibbutz Beit Haemek, 以色列)中洗涤细胞并在4°C下在缓冲液中温育15分钟,该缓冲液含有PBS和0.5%具有人CD14微珠的牛血清白蛋白(BSA)(Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, 德国)。

[0494] LPS结合抑制测定

[0495] 为了评估脂多糖(LPS)结合的干扰,连同细胞( $10^6$ /ml)一起温育VB-201 20分钟,其后添加100ng/ml的生物素-LPS(InvivoGen)持续另外的15分钟,均在4°C下进行。洗涤细胞,再悬浮在FACS缓冲液中,然后用FACS-Calibur装置分析。

[0496] 图8显示,VB-201抑制LPS与人单核细胞(初级CD14+)的结合,其中IC<sub>50</sub>为~7μg/ml。

[0497] 实施例9

[0498] 在LPS(TLR4)刺激的单核细胞衍生的树突状细胞(M<sub>0</sub>衍生的DC)中VB-201抑制IL-6分泌

[0499] 方法和材料

[0500] 为了产生单核细胞衍生的DC (Mo衍生的DC), 计数、洗涤CD14+单核细胞并在培养基中接种 ( $10^6$ /ml), 该培养基含有RPMI-1640、L-谷氨酰胺、 $\beta$ -巯基乙醇、10%胎牛血清(FCS)、丙酮酸钠、非必需氨基酸、0.01M HEPES、抗生素(青霉素、链霉素)、50ng/ml人粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和20ng/ml人IL-4(两者均来自PeproTech Asia, 以色列)。每2-3天更换培养基。培养后5-6天收集Mo-DC, 计数并接种 ( $10^6$ /ml)。用VB-201预处理细胞1小时, 接着用来自大肠杆菌菌株055:B5 (Sigma, 以色列)的100ng/ml LPS激活24小时, 以诱导细胞因子产生。通过ELISA (R&D系统, 目录号DY206) 测量上清液中IL-6浓度(图9)。用溶剂(0.5%处于PBS中的乙醇)激活的细胞用作对照。

[0501] 结果

[0502] 图9显示, 在LPS (TLR4) 刺激的Mo衍生的DC中, VB-201抑制IL-6分泌。

[0503] 实施例10

[0504] 在LPS (TLR4) 刺激的Mo衍生的DC中VB-201抑制IL-12p40分泌

[0505] 获得Mo衍生的DC, 处理, 并通过ELISA分析, 如在实施例9和图10中所描述的, 不同之处在于, 通过ELISA (R&D系统, 目录号DY1240) 测量上清液中的IL-12p40浓度。图10显示, 在LPS (TLR4) 刺激的Mo衍生的DC中VB-201抑制IL-12p40分泌。

[0506] 实施例11

[0507] VB-201对肝脏炎症和纤维化的影响

[0508] 方法和材料

[0509] NASH和肝纤维化的诱导

[0510] 暴露于低剂量链脲佐菌素 (STZ) 的新生雄性小鼠发展为伴有糖尿病的肝脂肪变性。连续高脂肪饮食 (HFD) 会增加伴有泡沫细胞样巨噬细胞的小叶炎症, 显示出非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 病理学。通过出生后两天单次皮下注射200 $\mu$ g/小鼠的STZ并自四周龄开始喂养HFD [57千卡%脂肪], 在40只雄性小鼠中诱导NASH。作为阳性对照, 从六周龄开始, 每天一次给予载体、VB-201 (4mg/kg) 或替米沙坦 (10mg/kg) 持续三周。在九周龄时处死小鼠。

[0511] 脂肪肝炎和纤维化评估

[0512] 肝脏病理学用来确定VB-201对肝脏炎症和纤维化的影响。用苏木素/伊红 (H&E) 染色组织学切片以评估炎症。炎症评分如下确定:

[0513] 0- 没有炎性病灶

[0514] 1- <2个炎性病灶

[0515] 2- 2-4个炎性病灶

[0516] 3- >4个炎性病灶

[0517] 用天狼星红染色组织学切片, 以确定作为纤维化程度的标记的胶原蛋白含量。

[0518] 结果

[0519] 测试了在NASH小鼠模型中VB-201对肝脏炎症和纤维化的影响。图11A-11B显示, 疾病诱导导致在载体治疗的小鼠的肝脏中显著的炎症。用VB-201治疗明显减少炎症65%。给予阳性对照替米沙坦明显减少肝脏炎症77%。图12A-12B显示, 在实施例11中的疾病诱导还导致在载体治疗小鼠的肝脏中纤维化面积的显著增加。图12A-12B中的结果表明, 相比于载体治疗小鼠, VB-201明显减小纤维化的程度(减少约34%)。

[0520] 实施例12

[0521] VB-201对局灶性和节段性肾小球硬化的影响

[0522] 方法和材料

[0523] 动物和实验协议

[0524] 在专用HVAC(热、通风、空调)动物设施中,在IVC笼中,以2-3只/笼,安置初始体重为200g的雄性斯-道(SD)鼠(Harlan Laboratories,以色列)。上述设施没有暴露于外界光并且保持12小时的照明和12小时的黑暗的自动交替循环。向动物随意提供商业啮齿动物饮食(Harlan Teklad TRM Rat/Mouse Diet)并允许自由进入通过聚砜瓶并借助于不锈钢吸管提供给每个笼的高压灭菌水。所有的动物研究得到以色列动物管理委员会的批准(IL-13-03-027)。

[0525] 通过5/6肾切除术诱导慢性肾脏疾病

[0526] 大鼠分为三组:(1)在A组中的健康大鼠(n=3), (2)假手术组-在B组中经受手术过程但没有肾脏质量减少(n=3),以及(3)剩余的被诱导有慢性肾功能衰竭(n=24)。通过两个阶段(5/6)肾切除术(Nx):首先去除约2/3的左肾(通过左侧切口),以及一周后,完整切除右肾,来诱导慢性肾功能衰竭。全身麻醉由以下组成:腹腔注射氯胺酮100mg/kg和赛拉嗪20mg/kg(对于每ml制剂0.85ml氯胺酮+0.15ml赛拉嗪;腹腔注射1 $\mu$ l/g BW)。

[0527] 实验组

[0528] 第二次手术后一周,将大鼠随机分配到以下实验组:

[0529] 健康组,口服给予载体-PBS 0.5%乙醇(n=3);

[0530] 假手术组,口服给予载体-PBS 0.5%乙醇(n=3);

[0531] 肾切除组,口服给予载体-PBS 0.5%乙醇(n=8);

[0532] 肾切除组,口服给予VB-201 4mg/kg(n=8);以及

[0533] 肾切除组,口服给予替米沙坦10mg/kg,作为阳性对照(n=8)。

[0534] 在整个研究中监测体重(BW)并按照它们的体重通过口服灌胃法来治疗大鼠7周。自切除右肾(第二次手术)后的8周,通过CO<sub>2</sub>吸入处死大鼠。

[0535] 肾脏收集

[0536] 在第8周处死后,收集肾脏,称重并固定在4%甲醛中。

[0537] 肾脏形态和形态分析

[0538] 为了光学显微镜技术,用过碘酸-希夫(PAS)试剂染色4 $\mu$ m的石蜡包埋组织切片。

[0539] 肾小球硬化指数。通过PAS-染色切片并利用半定量评分系统评估肾小球硬化。通过在x400的放大率下检查基本上100个随机选择的肾小球并应用按照硬化肾小球面积的百分比的评分系统评估肾小球硬化的程度。得分分级为0到4(0=0%面积;1=1-25%;2=26-50%;3=51-75%;4=76%以上)。呈现所有得分肾小球的平均值。此外,在相同的肾小球中评估总体和节段性肾小球硬化的程度,其中<80%硬化被称为节段性以及>80%则被称为总体性。

[0540] 肾小球面积。通过使用网格来计数由肾小球面积覆盖的正方形在x100的放大率下量化基本上100个随机选择的肾小球的肾小球面积,并计算平均肾小球面积。

[0541] 免疫组织化学。将肾组织固定在4%甲醛中并包埋在石蜡中。然后切割石蜡包埋组织以形成4 $\mu$ m的组织切片。使用以下浓度的抗体分析石蜡包埋组织切片的免疫组织化学:单克隆小鼠抗大鼠CD-68(ED-1, Serotec MCA341) 1:25。为了间质CD68+染色的定量,在20个随

机选择的非重叠区域/动物中计数阳性细胞的数目,并呈现平均值。

[0542] 实时PCR。借助于RNeasy Fibrous Tissue Mini试剂盒(Qiagen)提取肾RNA以及在DNA酶I处理以后,利用qScript cDNA Synthesis试剂盒(Quanta Biosciences)由2 $\mu$ g总RNA合成单链cDNA,然后稀释用于实时PCR。利用7300实时PCR系统(Applied Biosystems)量化胶原蛋白4 $\alpha$ 、纤连蛋白和TGF $\beta$ 1的表达。根据制造商的说明利用在下表中示出的由Applied Biosystems提供的引物(Assay ID)进行该测定。数据归一化至参比基因TATA框结合蛋白(TBP)并表示为相比于假手术的PBS 0.5%Eth处理的相对mRNA水平(表1)。

[0543] 表1:基因表达参比

[0544]

测定ID	基因符号	基因名称
Rn01482927_m1	Col 1V $\alpha$ 1	胶原蛋白;IV型; $\alpha$ 1
Rn00572010_m1	TGF $\beta$ 1	转化生长因子; $\beta$ 1
Rn01455646_m1	TBP	TATA框结合蛋白

[0545] 统计数据

[0546] 数据表示为平均值 $\pm$ SEM。在适当情况下,通过单因素方差分析或学生t检验确定统计显著性。利用Sigma Stat软件进行统计分析。

[0547] 结果

[0548] VB-201对肾小球损伤的治疗效果

[0549] 通过评分和通过计算具有节段性硬化、总体硬化的肾小球的百分比以及总体和节段性硬化性肾小球的总和评估肾小球的纤维化程度。此外,计算肾小球的面积并计算肥大肾小球的百分比。损伤的肾小球包括肥大(相比于正常面积至少 $\times 1.5$ )和/或硬化肾小球。

[0550] VB-201和替米沙坦治疗分别明显减少损伤的肾小球29% ( $p=0.01$ )和31% ( $p\leq 0.005$ ) (图13)。该效果部分归因于肾小球肥大的减少。对于肾小球损伤的减少的主要贡献是由于硬化肾小球的减少。VB-201和替米沙坦治疗分别导致硬化肾小球的34% ( $p<0.05$ )和57% ( $p\leq 0.005$ )减少(图14,表2)。

[0551] 表2:VB-201对肾小球硬化的影响(平均值 $\pm$ S.E)\*

[0552]

治疗	健康的 <i>PBS</i>	假手术的 <i>PBS</i>	<i>Nx</i> <i>PBS</i>	<i>Nx</i> <i>VB-201</i>	<i>Nx</i> <i>替米沙坦</i>

[0553]

	<i>0.5% Eth</i>	<i>0.5% Eth</i>	<i>0.5% Eth</i>	<i>4 mg/kg</i>	<i>10 mg/kg</i>
<b>肾小球硬化</b>					
<b>节段性%</b>	1.0±0.58 (n=3) p≤0.001	1.3±0.88 (n=3) p≤0.001	41.0±4.81 (n=7)	26.5±4.39 (n=8) <b>P&lt;0.05</b>	19.1±4.30 (n=8) <b>P=0.005</b>
<b>总体%</b>	0.0±0.00 (n=3) n.s	0.0±0.00 (n=3) n.s	7.1±4.39 (n=7)	5.4±3.22 (n=8) n.s	1.9±1.60 (n=8) n.s
<b>总体 &amp; 节段性%</b>	1.0±0.58 (n=3) p≤0.001	1.3±0.88 (n=3) p≤0.001	48.3±5.38 (n=7)	31.8±4.92 (n=8) <b>P&lt;0.05</b>	21.0±5.45 (n=8) <b>P&lt;0.005</b>

[0554] \*提供了测试的动物的数目/组以及p值与Nx PBS 0.5%Eth组。

[0555] 图15示出了相比于健康的或假手术动物或经由VB-201治疗的动物或替米沙坦治疗的动物,载体治疗的肾切除的动物的肾小球(PAS染色)的典型硬化变化。

[0556] VB-201对肾小球和间质单核细胞/巨噬细胞渗透的治疗效应

[0557] 手术后8周评估渗入肾小球的单核细胞/巨噬细胞的数目。相比于健康的(0.320±0.040)或假手术动物(0.880±0.139),在载体治疗的肾切除大鼠(3.669±0.324)中,(ED-1/CD68+)分别显著(p≤0.001)高11倍或4倍。相比于针对Nx PBS 0.5%Eth治疗所观察到的,VB-201治疗显著(p=0.008)减少肾小球单核细胞/巨噬细胞的数目42%(2.113±0.374)。相比于针对Nx PBS 0.5%Eth治疗所观察到的,替米沙坦治疗的动物具有13%非显著减少(3.185±0.427)(图16A,16C和表3)。

[0558] 表3:VB-201对肾小球和间质单核细胞/巨噬细胞渗透的影响(平均值±S.E)\*

[0559]

治疗	<i>健康的 PBS 0.5% Eth</i>	<i>假手术的 PBS 0.5% Eth</i>	<i>Nx PBS 0.5% Eth</i>	<i>Nx VB-201 4 mg/kg</i>	<i>Nx 替米沙坦 10 mg/kg</i>
----	---------------------------------	----------------------------------	--------------------------------	----------------------------------	---------------------------------

[0560]

<b>ED-1/CD68+</b>					
<b>间质细胞/mm<sup>2</sup></b>	79.0±7.77 (n=3) P=0.005	86.7±16.18 (n=3) P=0.005	527.9±72.93 (n=7)	269.3±25.41 (n=8) <b>P&lt;0.005</b>	421.0±61.77 (n=8) n.s
<b>肾小球 细胞/肾小球</b>	0.320±0.040 (n=3) p≤0.001	0.880±0.139 (n=3) p≤0.001	3.669±0.324 (n=7)	2.113±0.374 (n=8) <b>P=0.008</b>	3.185±0.427 (n=8) n.s

[0561] \*提供了测试的动物的数目/组以及p值与Nx PBS 0.5%Eth组。

[0562] 相比于健康的(79.0±7.77)或假手术动物(86.67±16.18),在载体治疗的肾切除大鼠(527.9±72.93)中,手术后8周检查的间质单核细胞/巨噬细胞的数目(ED-1/CD68+)分别显著(p=0.005)高7或6倍。相比于针对Nx PBS 0.5%Eth治疗所观察到的,VB-201治疗显

著 ( $p < 0.005$ ) 减少间质单核细胞/巨噬细胞的数目 49% ( $269.25 \pm 25.41$ )。相比于针对 Nx PBS 0.5% Eth 治疗所观察到的, 替米沙坦治疗减少间质单核细胞/巨噬细胞的数目 20% ( $421.0 \pm 61.77$ ) (图 16B 和表 3)。

[0563] VB-201 对促纤维化标志物的治疗效果

[0564] 相比于健康的 ( $1.1 \pm 0.12$ ) 或假手术动物 ( $1.0 \pm 0.32$ ), 在载体治疗的肾切除大鼠 ( $7.5 \pm 1.51$ ) 中, 胶原蛋白 IV 的 mRNA 表达分别显著增加 7 或 8 倍。相比于针对 Nx PBS 0.5% Eth 治疗所观察到的, VB-201 治疗显著 ( $p < 0.05$ ) 减少胶原蛋白 IV 表达 42% ( $4.3 \pm 0.33$ )。相比于针对 Nx PBS 0.5% Eth 治疗所观察到的, 在替米沙坦治疗的肾切除大鼠 ( $4.4 \pm 0.23$ ) 中, 观察到胶原蛋白 IV 表达的 41% 减少, 并具有边际显著性 ( $p = 0.064$ ) (图 17A)。

[0565] 相比于健康的 ( $0.9 \pm 0.24$ ) 或假手术动物 ( $1.0 \pm 0.23$ ) ( $p \leq 0.001$ ), 在载体治疗的肾切除大鼠 ( $8.4 \pm 0.49$ ) 中, TGF- $\beta$  的 mRNA 表达分别显著增加 10 或 8 倍。相比于针对 Nx PBS 0.5% Eth 治疗所观察到的, VB-201 和替米沙坦治疗分别显著 ( $p \leq 0.001$ ) 减少 TGF- $\beta$  表达 37% ( $5.3 \pm 0.33$ ) 和 44% ( $4.7 \pm 0.52$ ) (图 17B)。

[0566] 实施例 13

[0567] 在 NASH 诱导小鼠的肝脏中 VB-201 抑制 IL-12/23p40 的表达

[0568] 从第六周至第 9 周, 每天一次, 对 NASH 诱导小鼠以 4mg/kg 的剂量口服给予 VB-201 或以 10mg/kg 的剂量口服给予替米沙坦。利用 RNeasy 微型试剂盒 (Qiagen) 从来自正常小鼠以及用载体、VB-201、或替米沙坦治疗的 NASH 诱导小鼠的肝脏制备 RNA。为了 cDNA 制备, 在 22°C 下使 2 $\mu$ g 的 RNA 与 qScript 反应混合物和 qScript 逆转录酶 (Quanta BioSciences) 结合 5 分钟, 然后在 42°C 下持续 30 分钟。通过在 85°C 下温育另外 5 分钟结束上述反应。利用 7300 实时 PCR 系统 (Applied Biosystems) 进行所有实时 PCR 反应。借助于用于小鼠 IL-12/23p40 (Applied Biosystems) 的探针组和引物组来进行 Q-PCR。GAPDH 用于归一化 RNA 水平。

[0569] 图 18 显示, 在 NASH 诱导小鼠的肝脏中, VB-201 抑制 IL-12/23p40 表达。在 NASH 诱导小鼠的肝脏中, IL-12/23p40 的分析显示, VB-201 显著减弱 IL-12/23p40 的表达。

[0570] 本申请中提及的所有出版物、专利和专利申请的全部内容以引用方式结合于本申请说明书中, 与特定和单独指定通过引用方式将每个单独出版物、专利或专利申请结合于本文的程度相同。另外, 本申请中的任何参考文献的引用或标识不应被解释为承认这样的参考文献可作为本发明的现有技术。在使用节标题的程度上, 它们不应被解释为必须是限制性的。

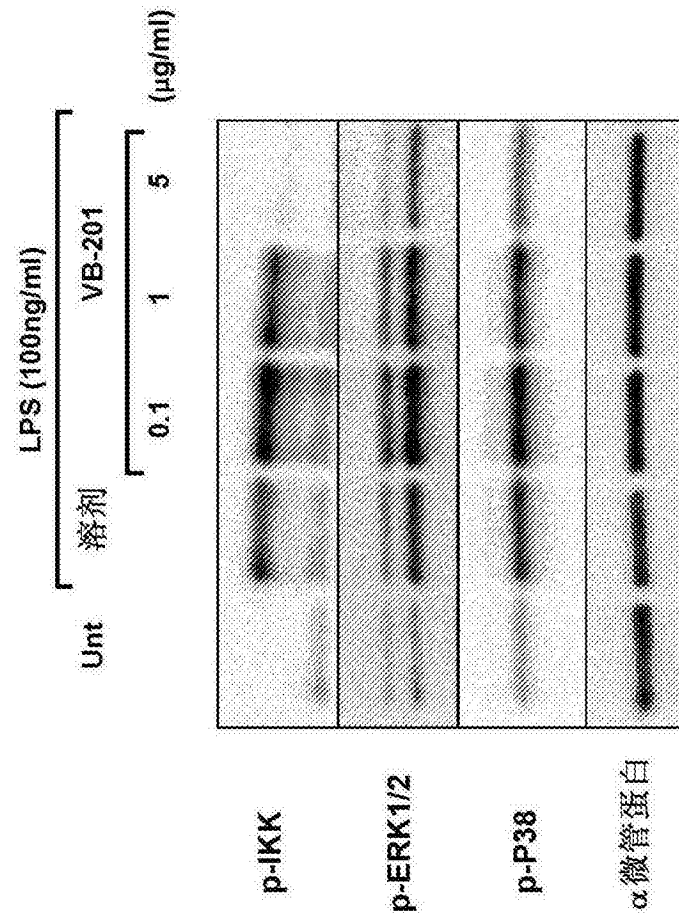


图1A

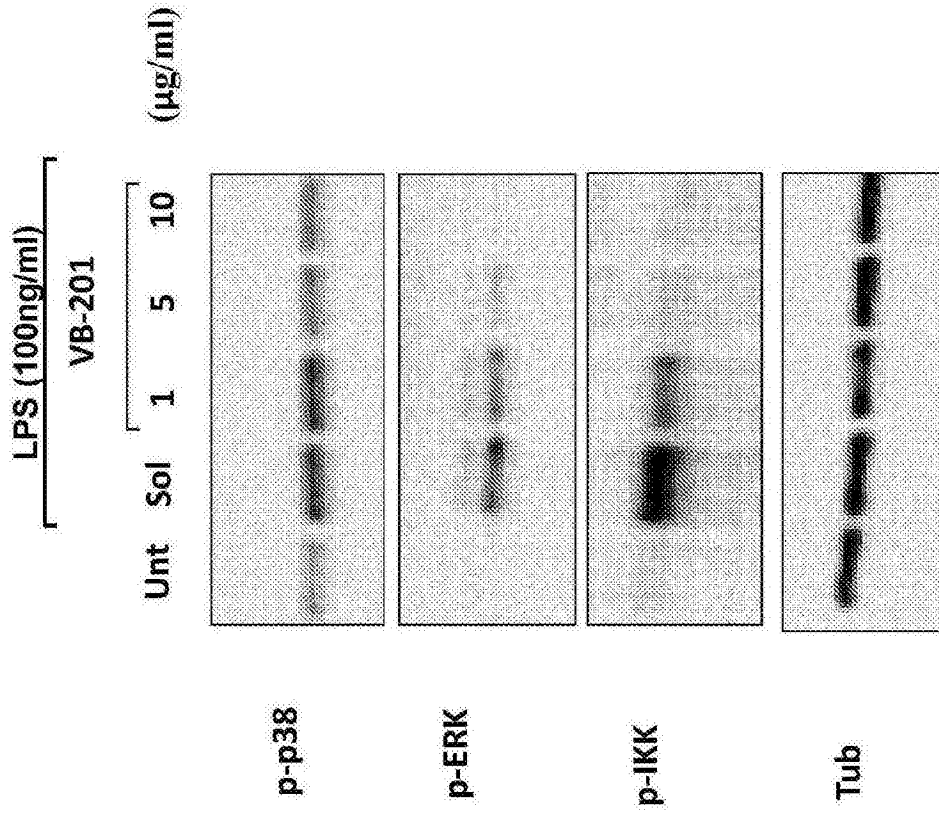


图1B

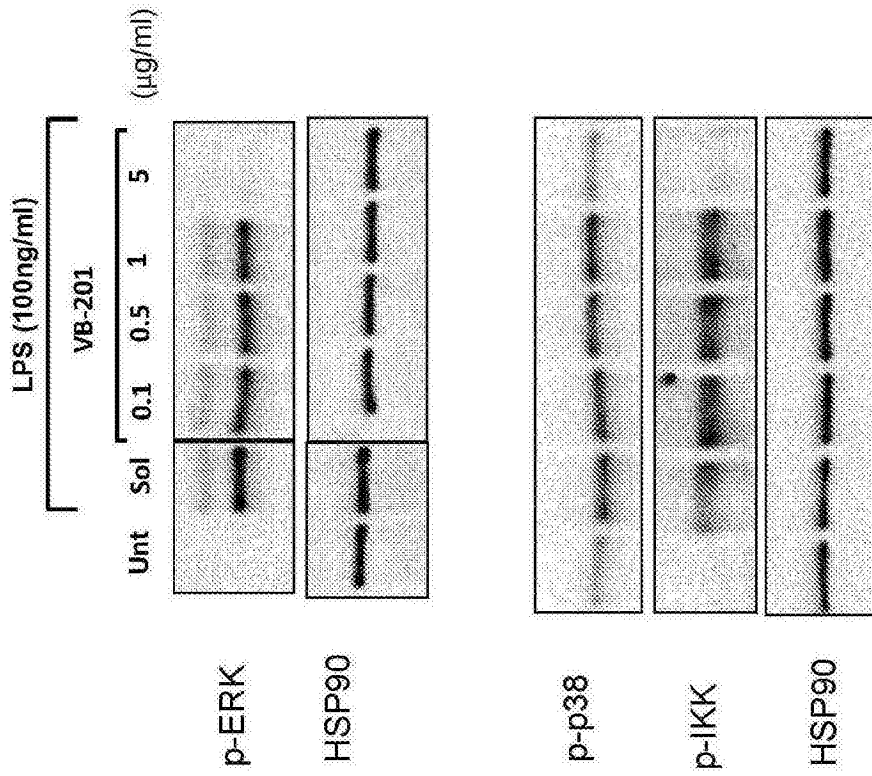


图1C

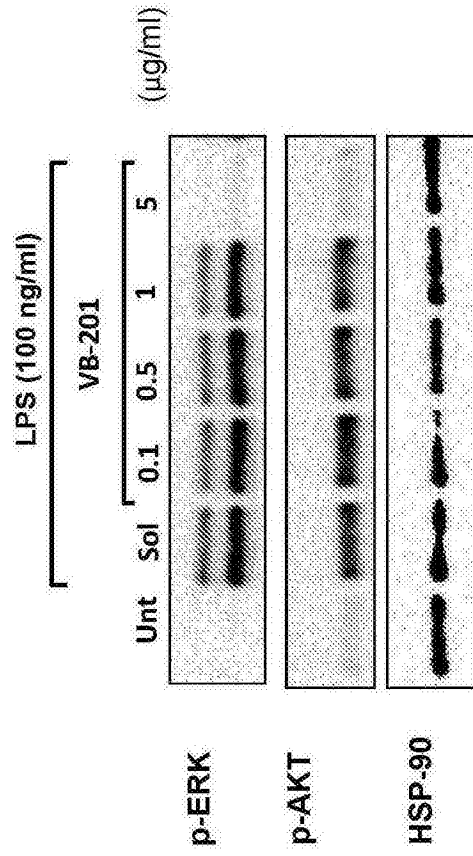


图1D

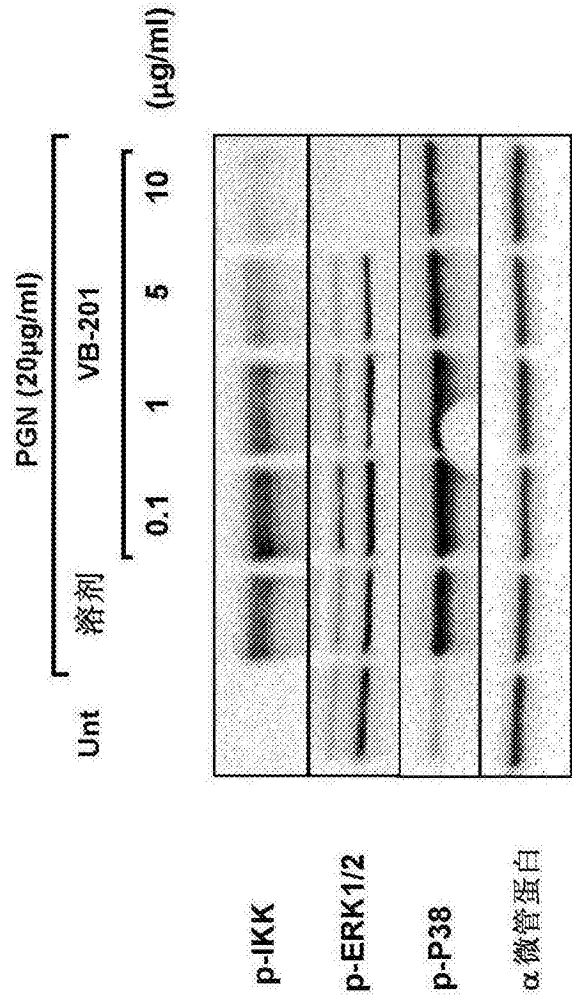


图2A

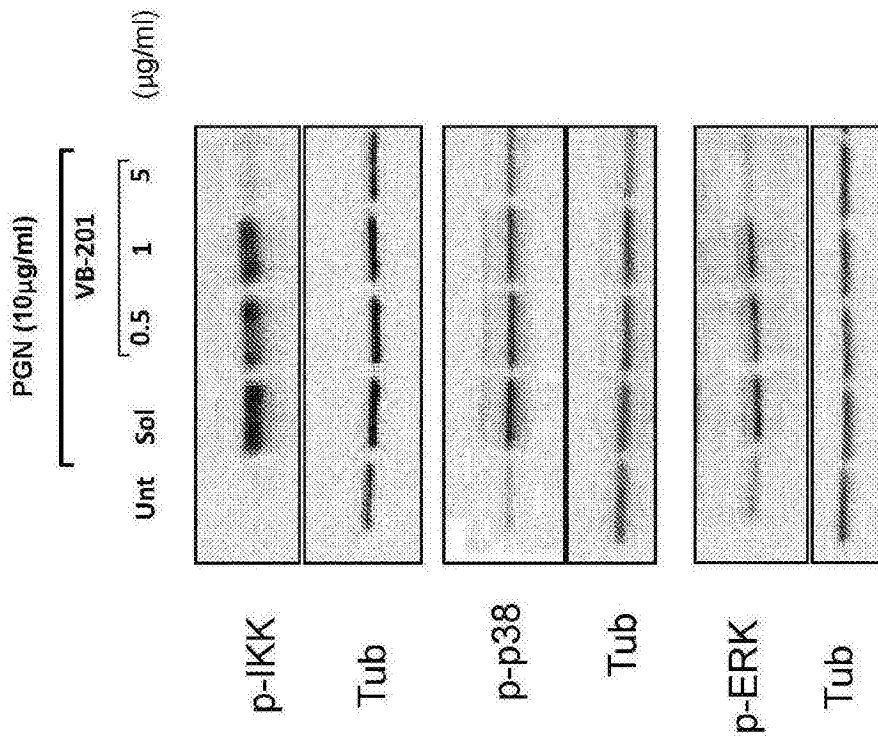


图2B

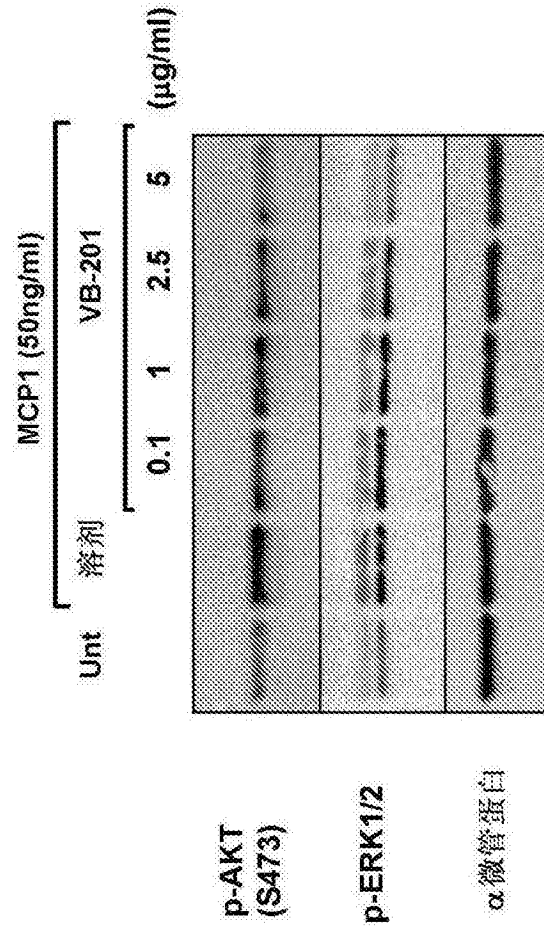


图3

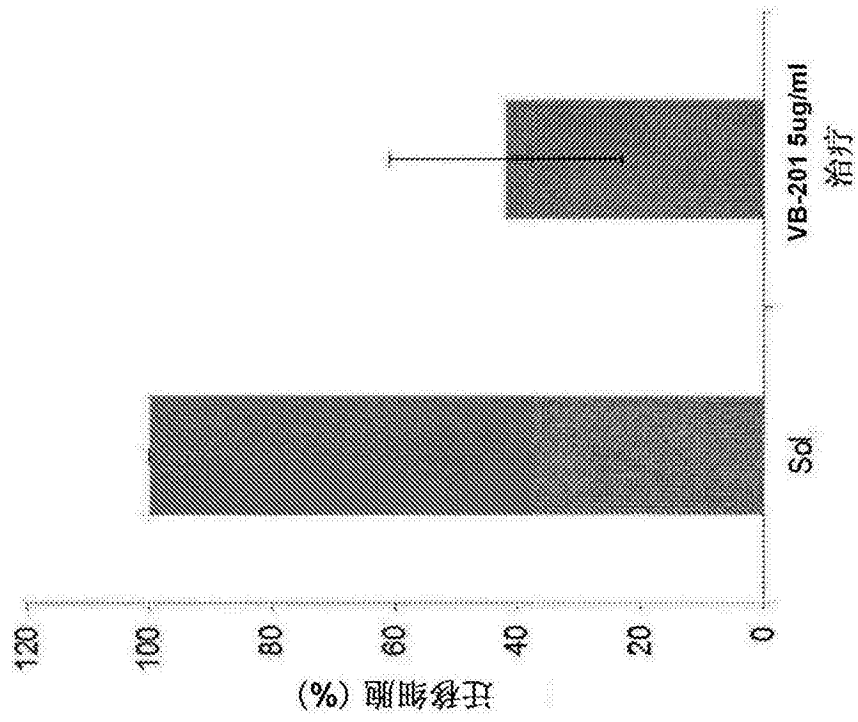


图4

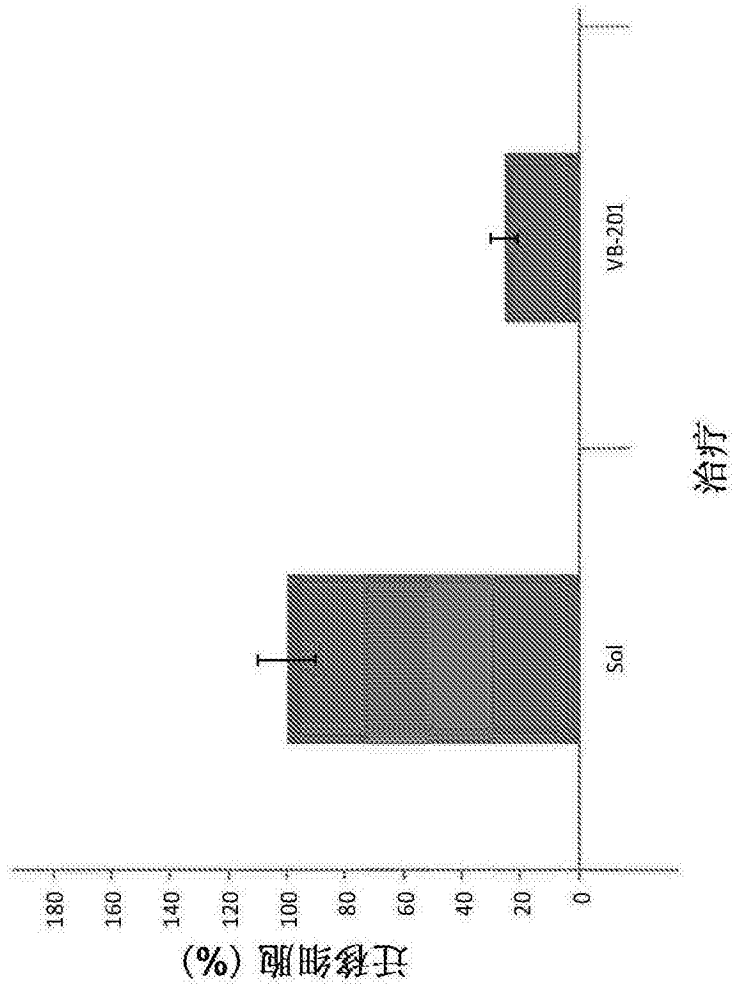


图5

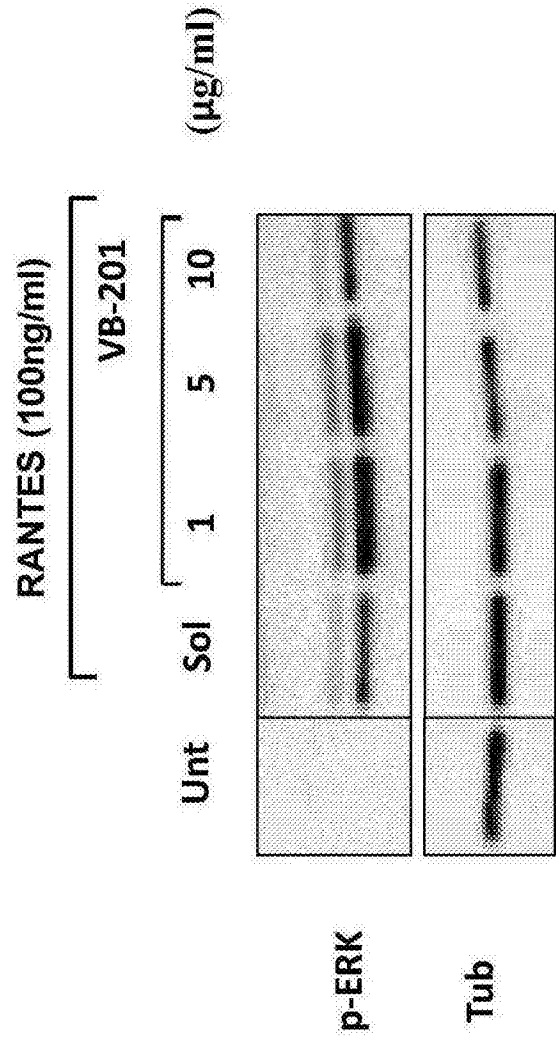


图6

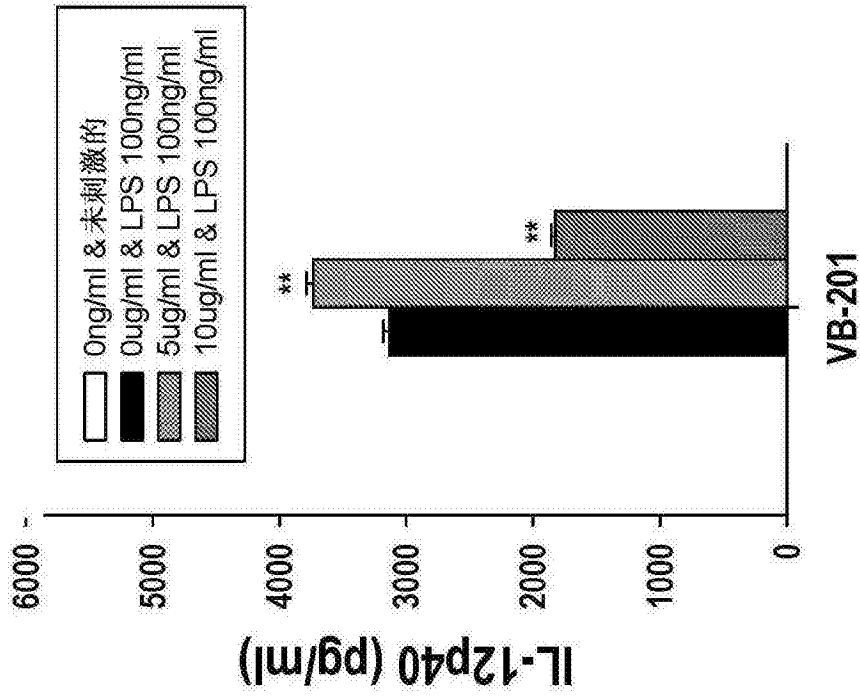


图7A

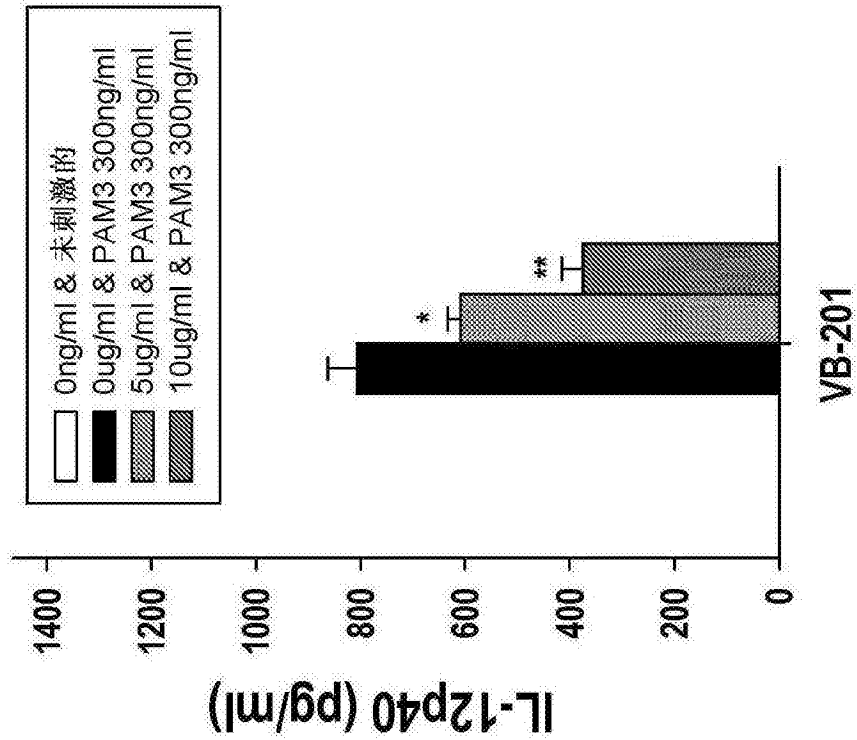


图7B

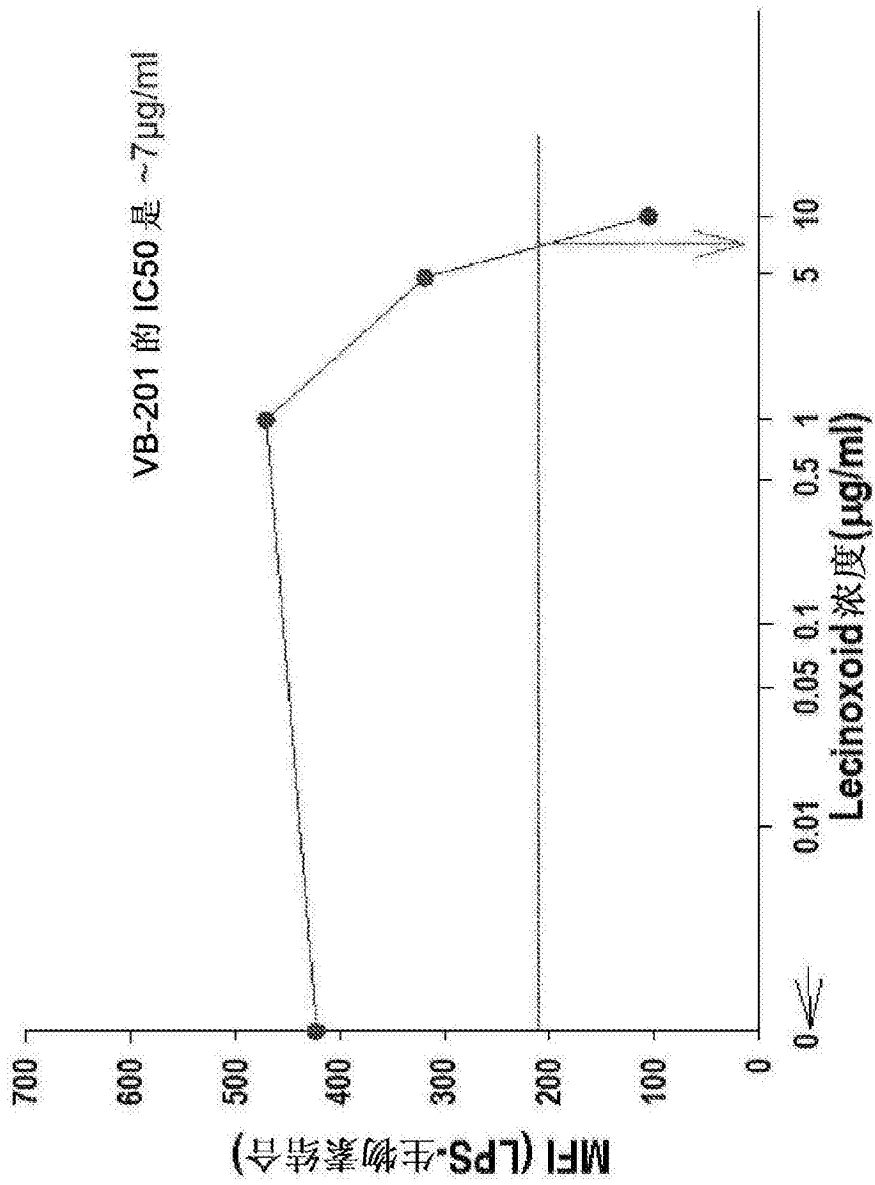


图8

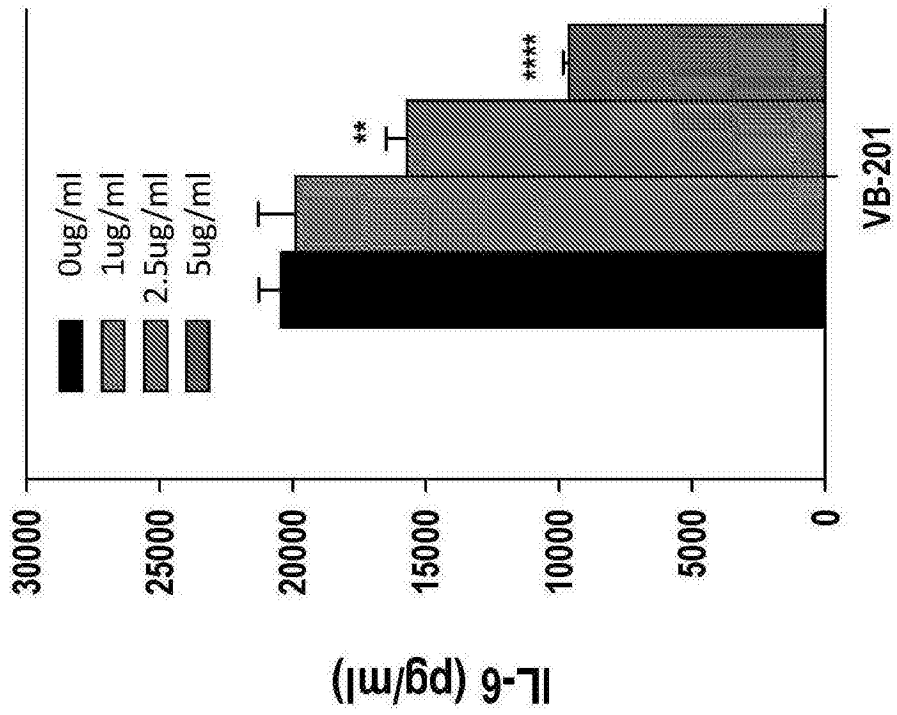


图9

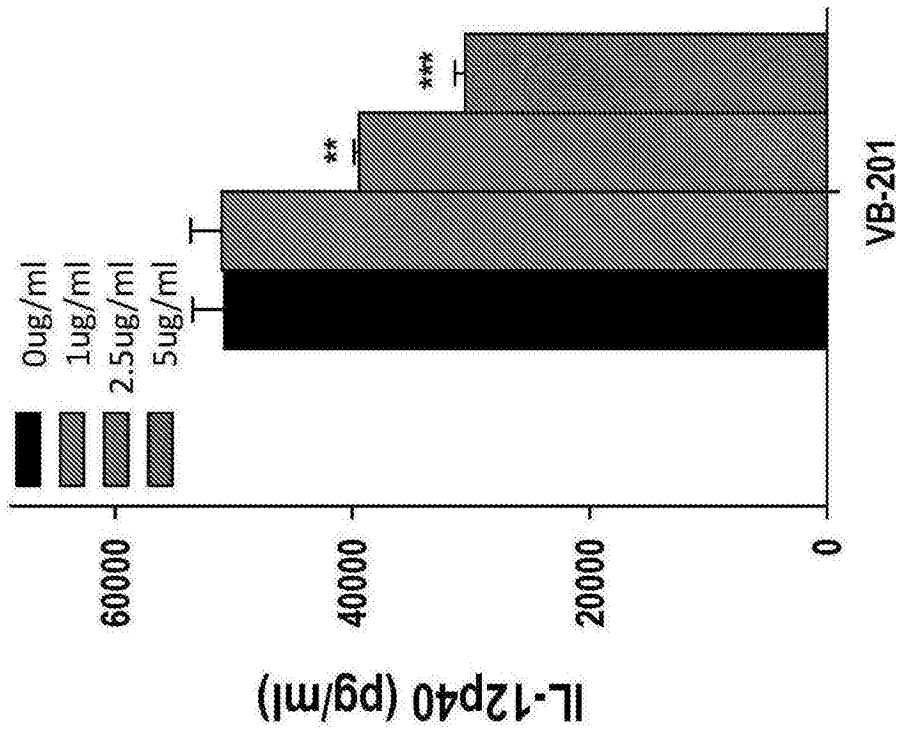


图10

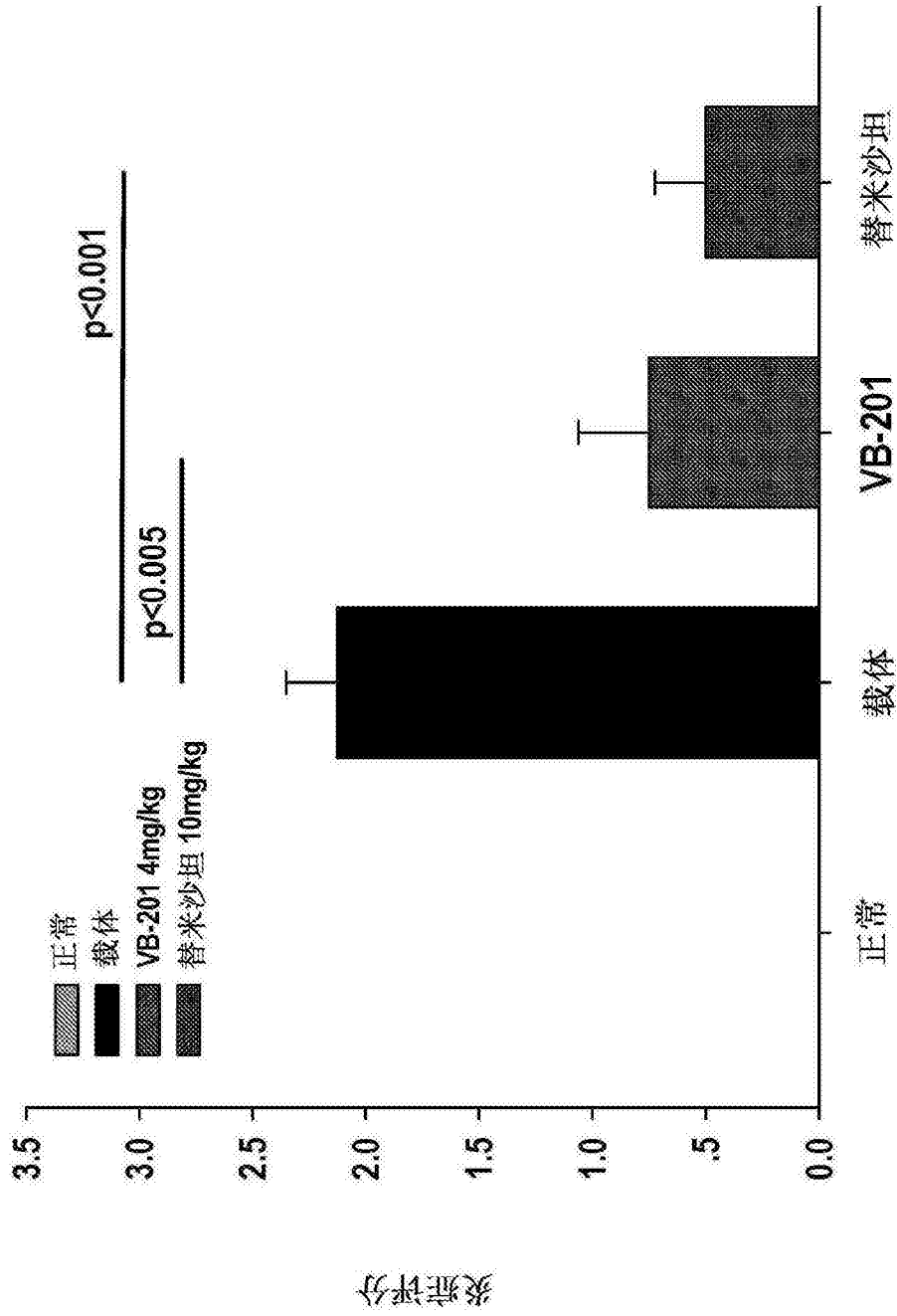


图11A

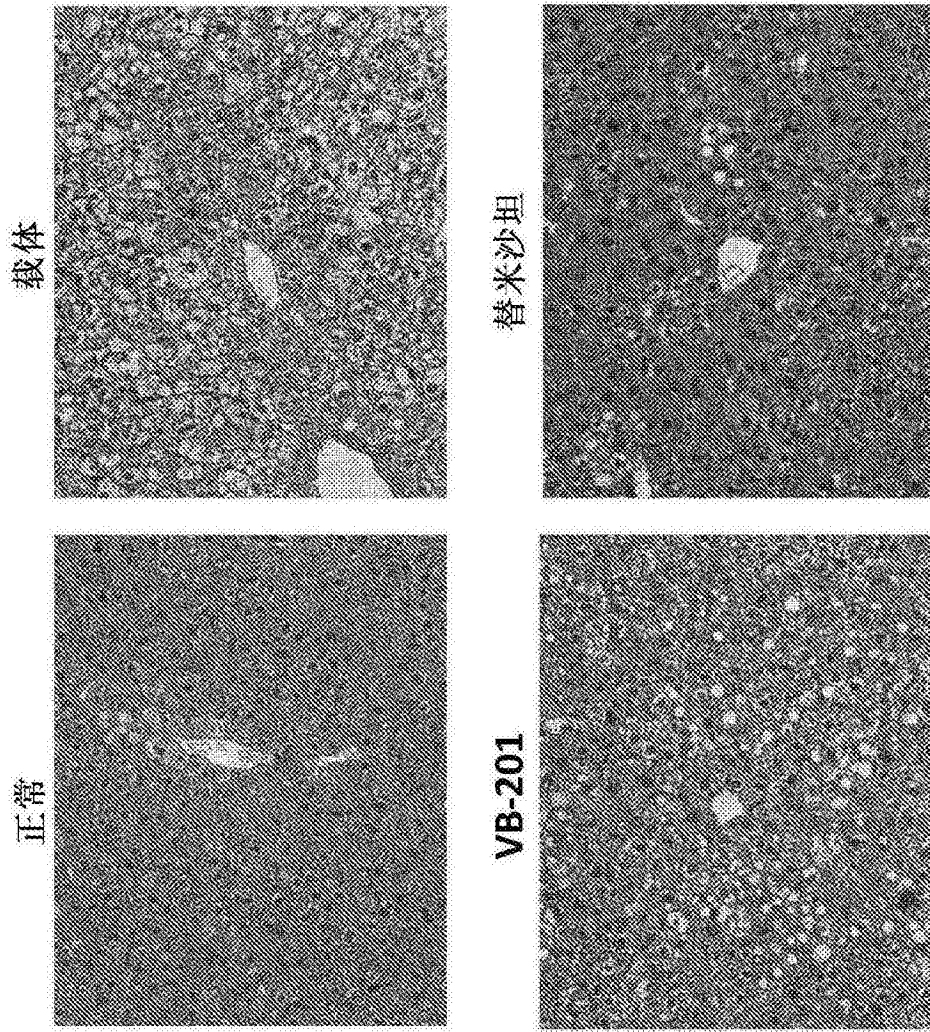


图11B

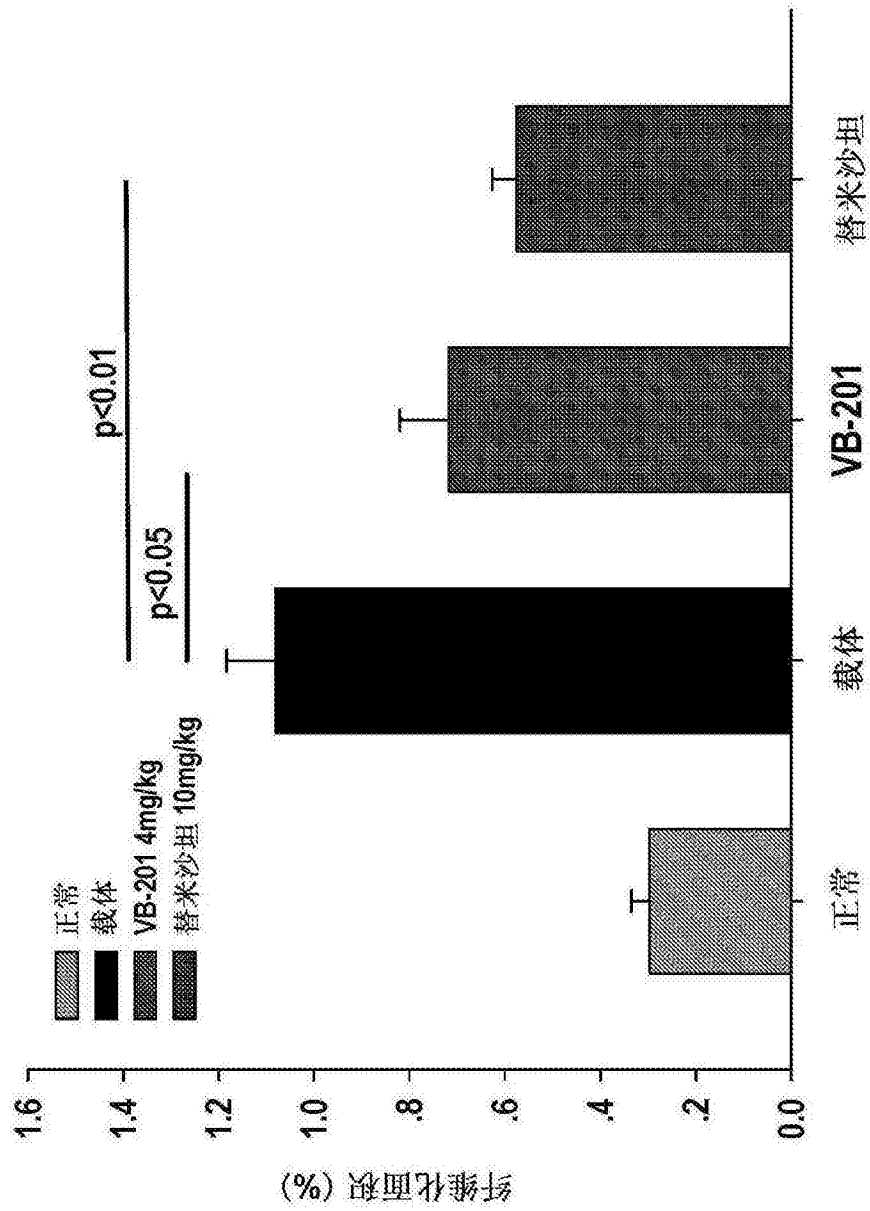


图12A

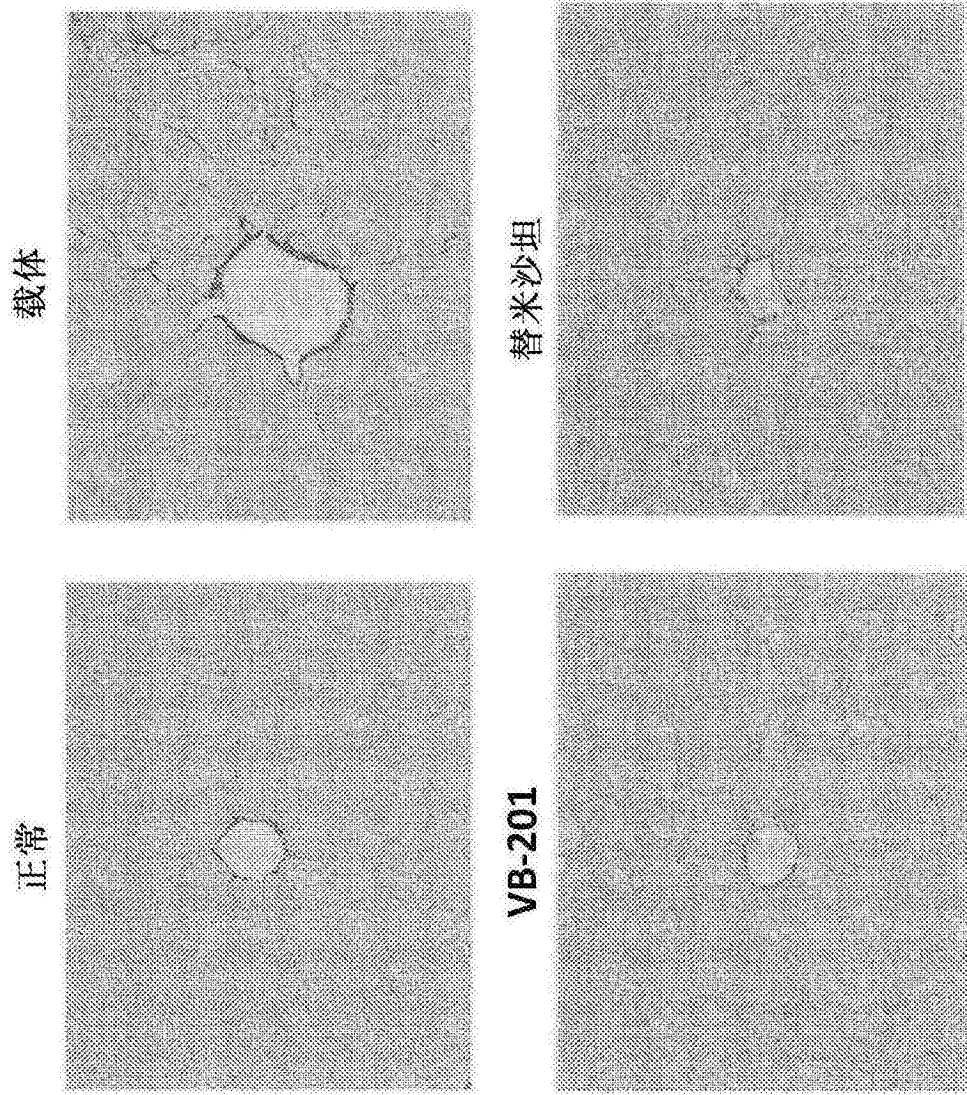


图12B

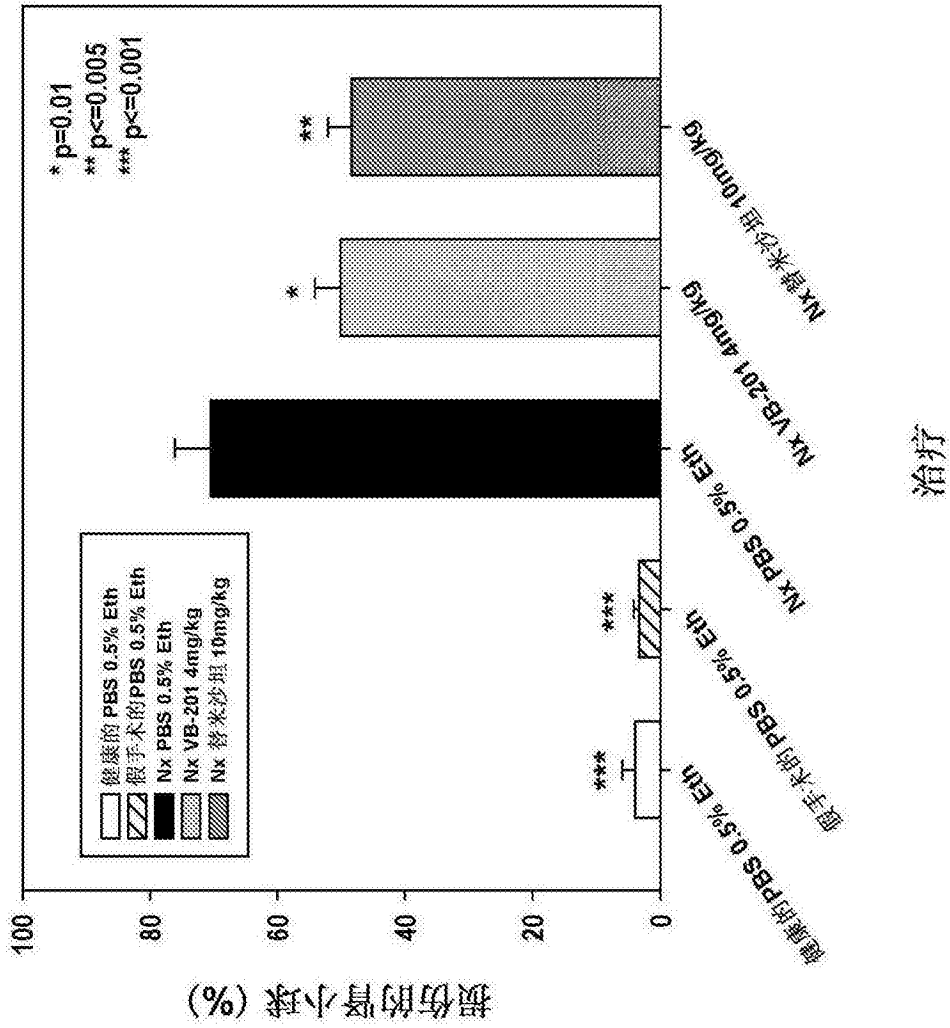


图13

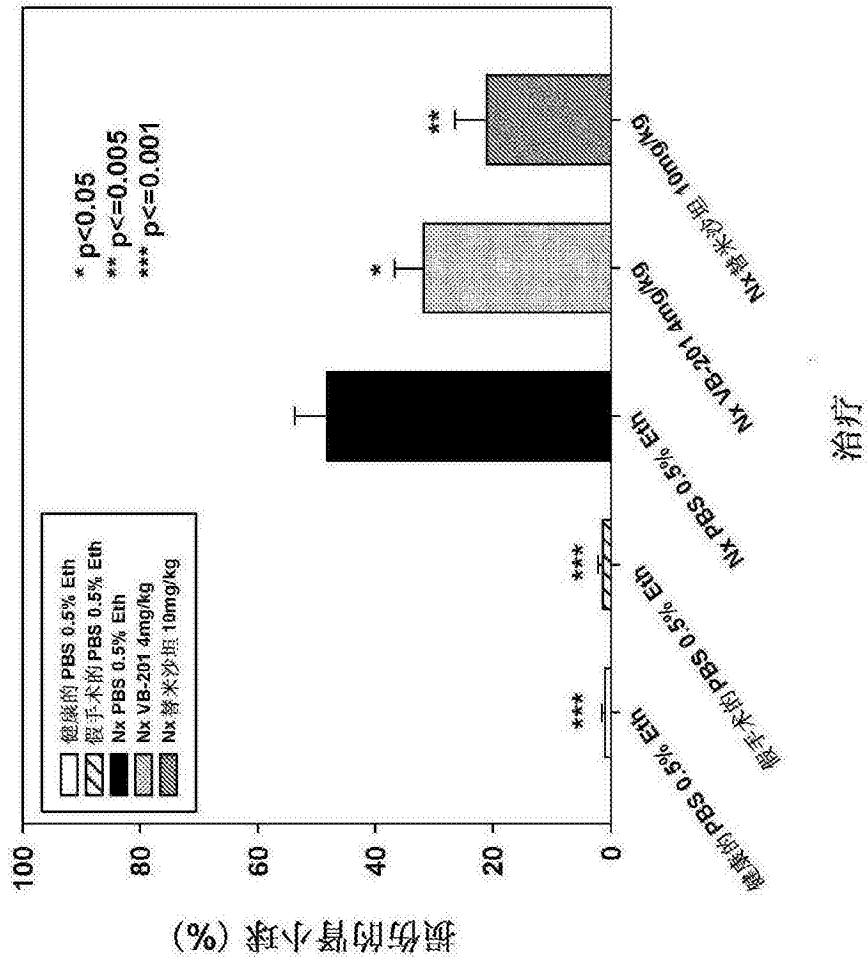


图14

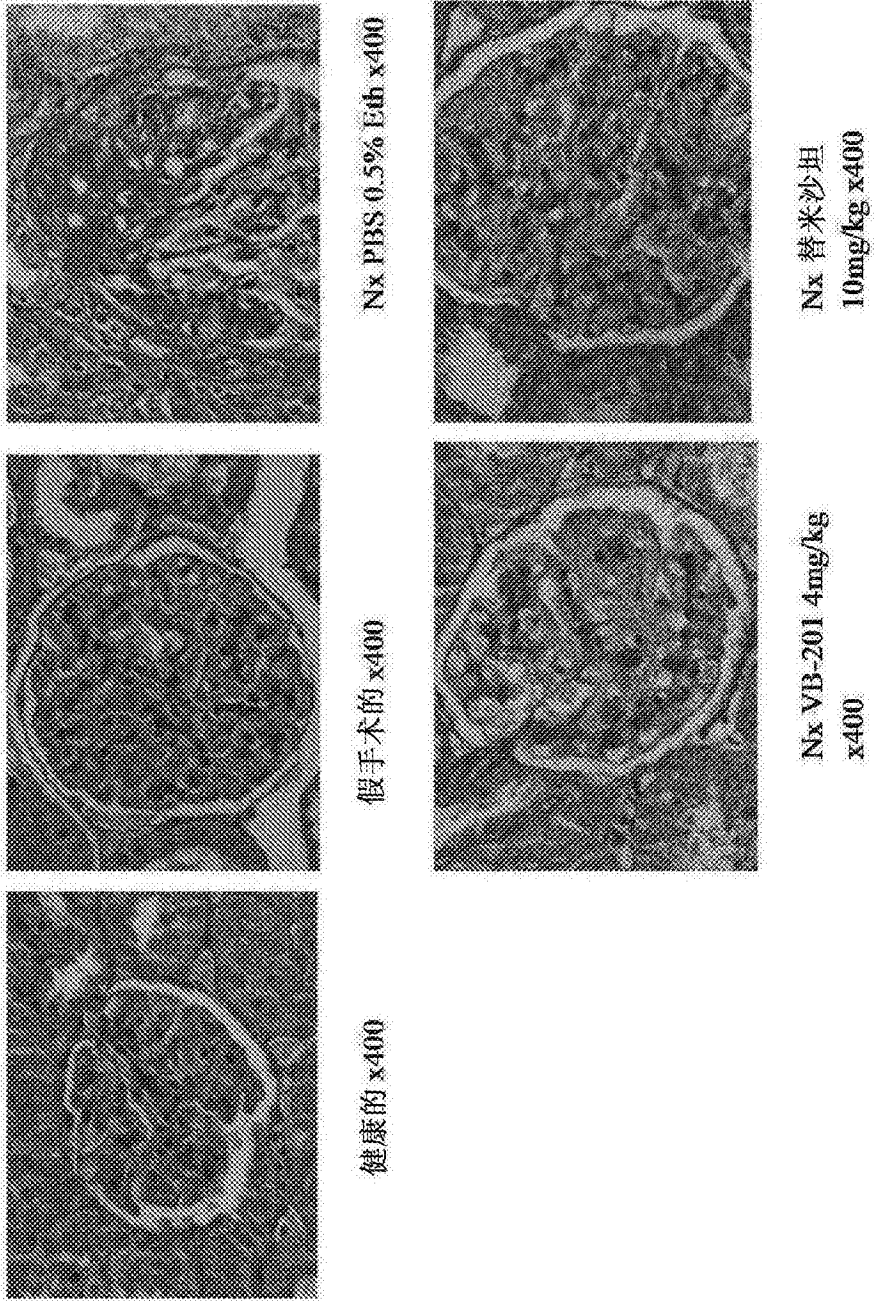


图15

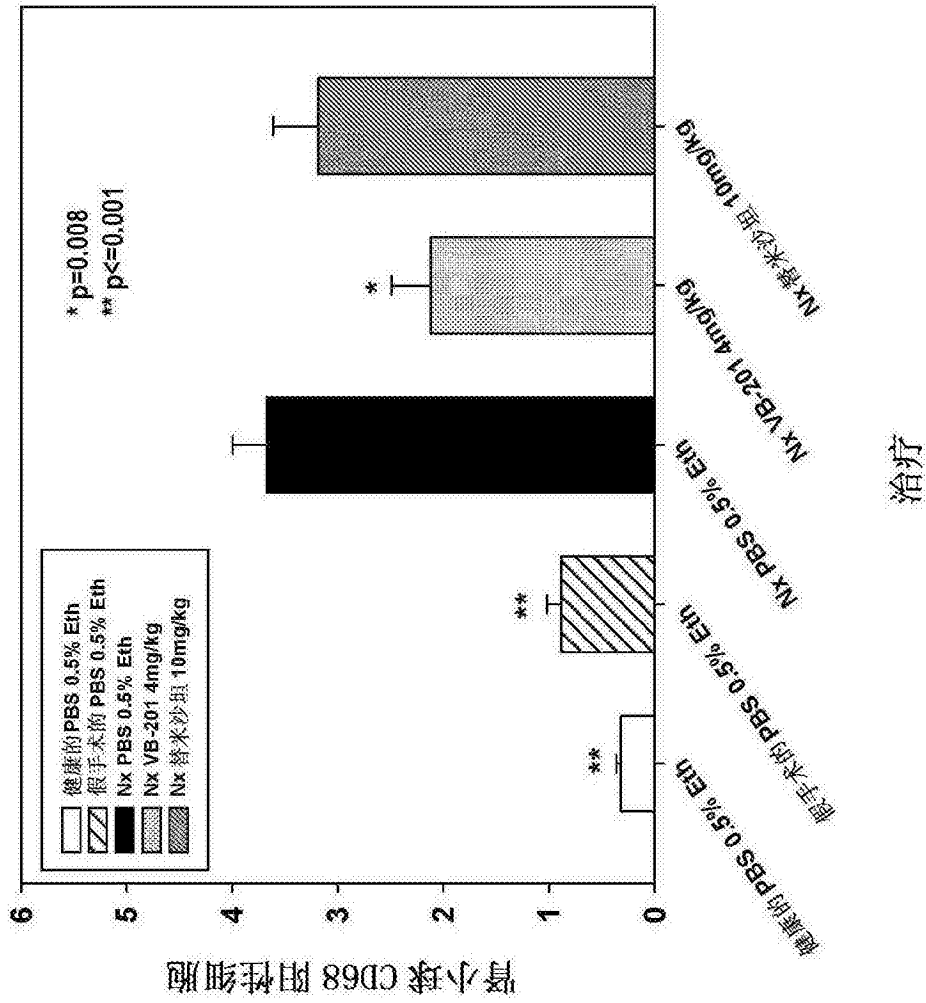


图16A

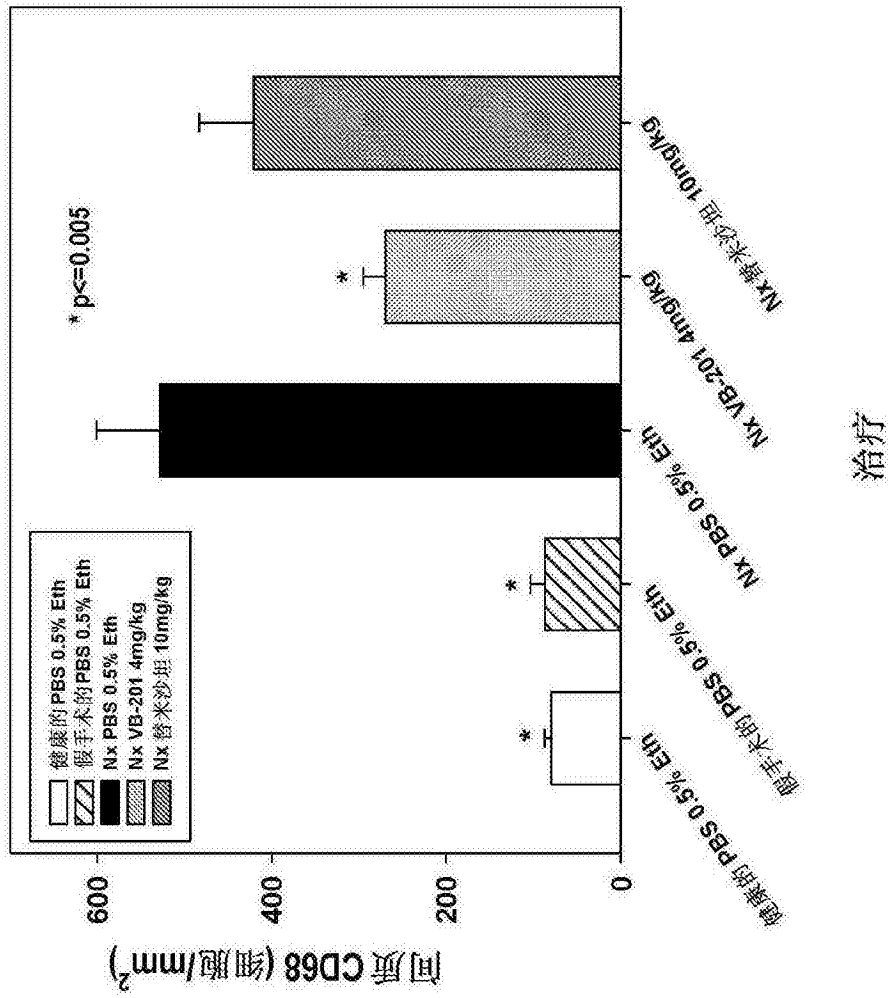


图16B

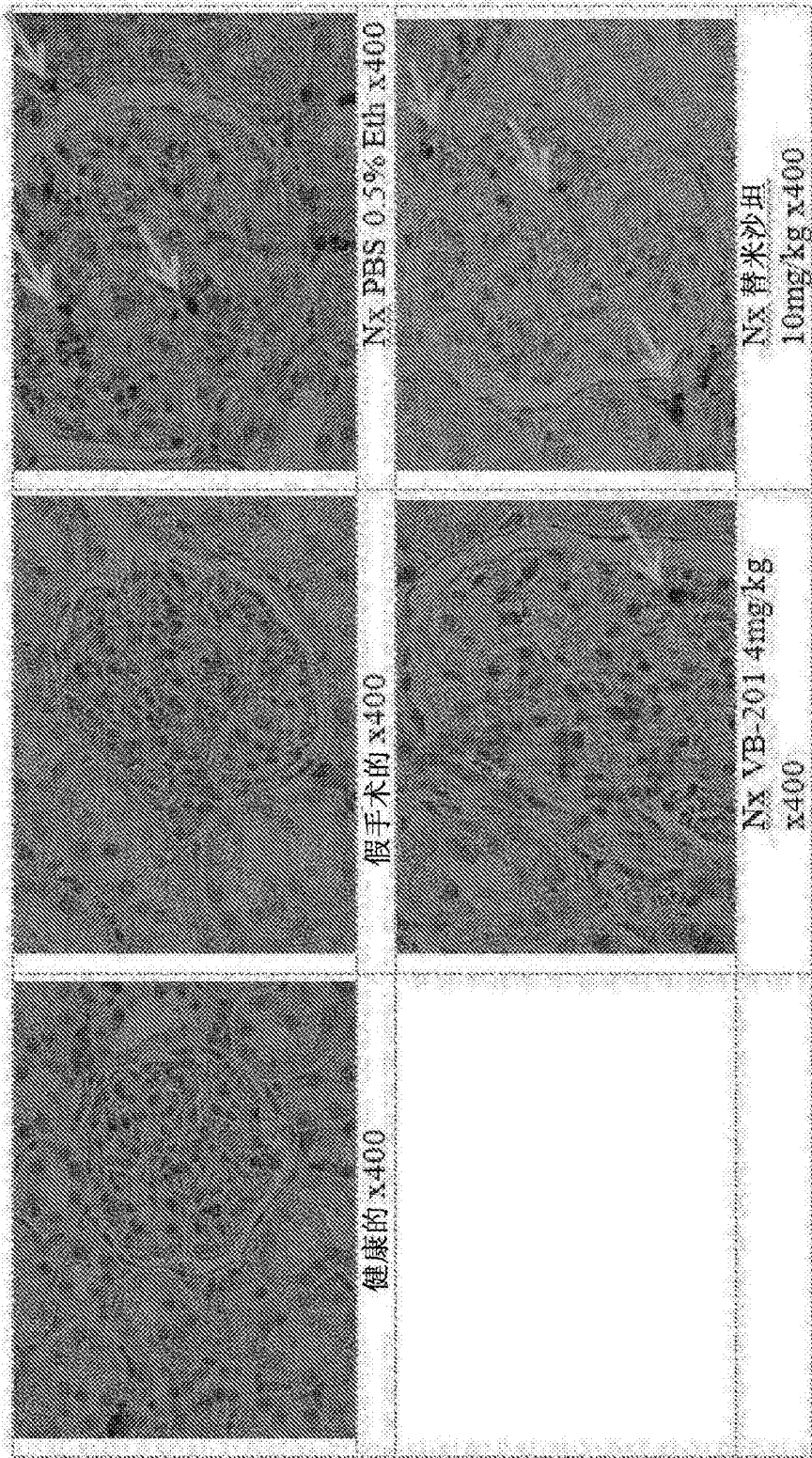


图16C

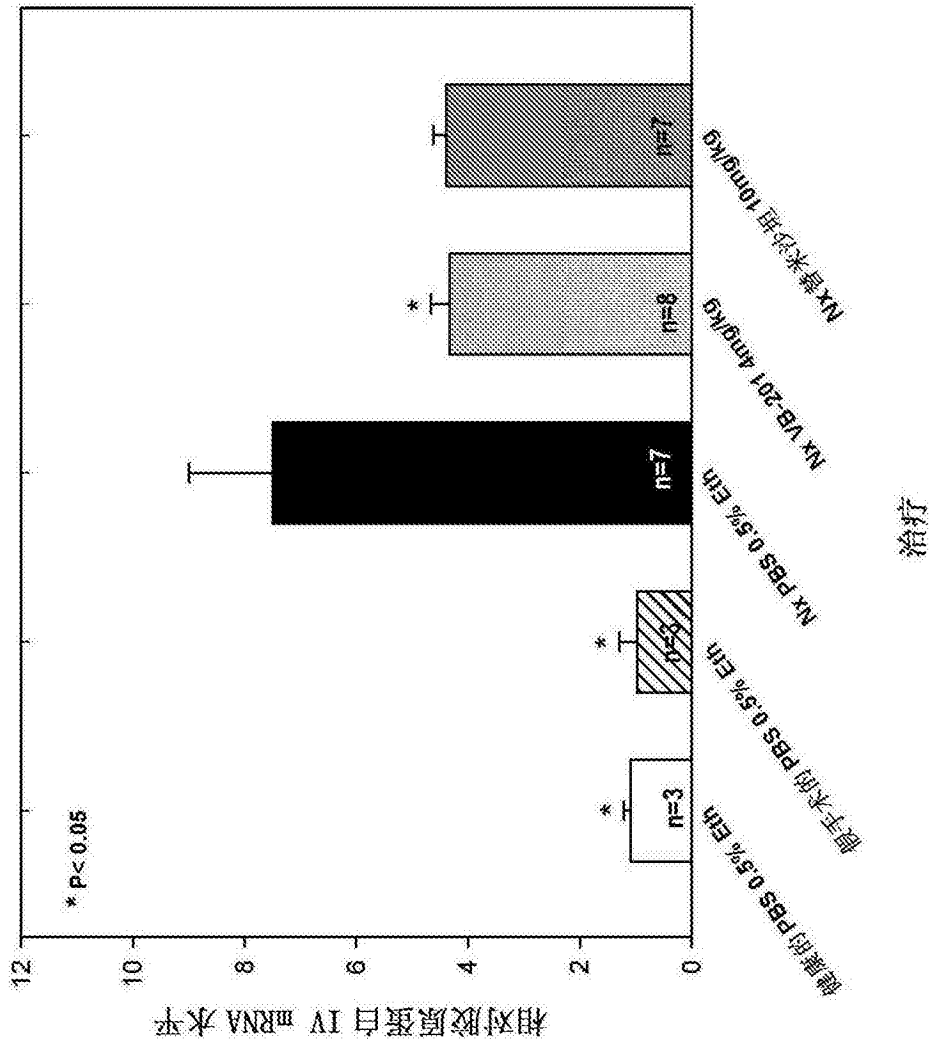


图17A

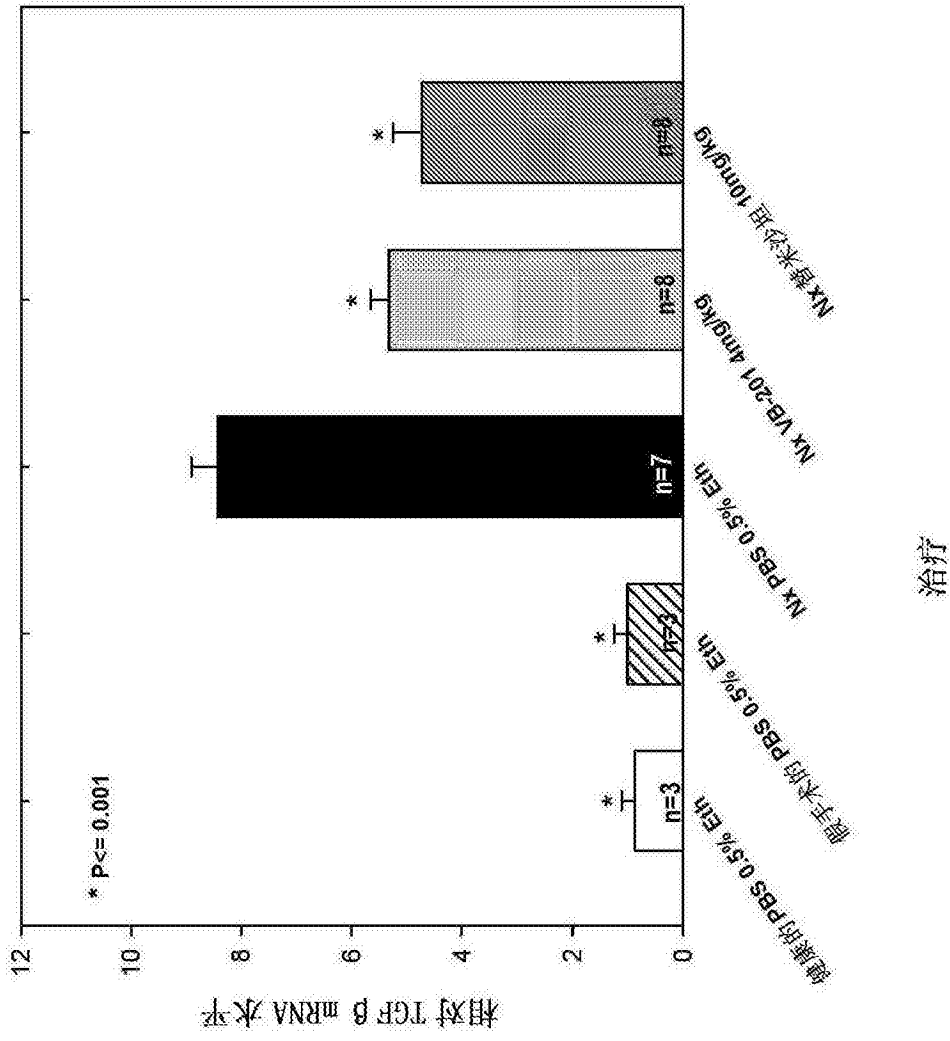


图17B

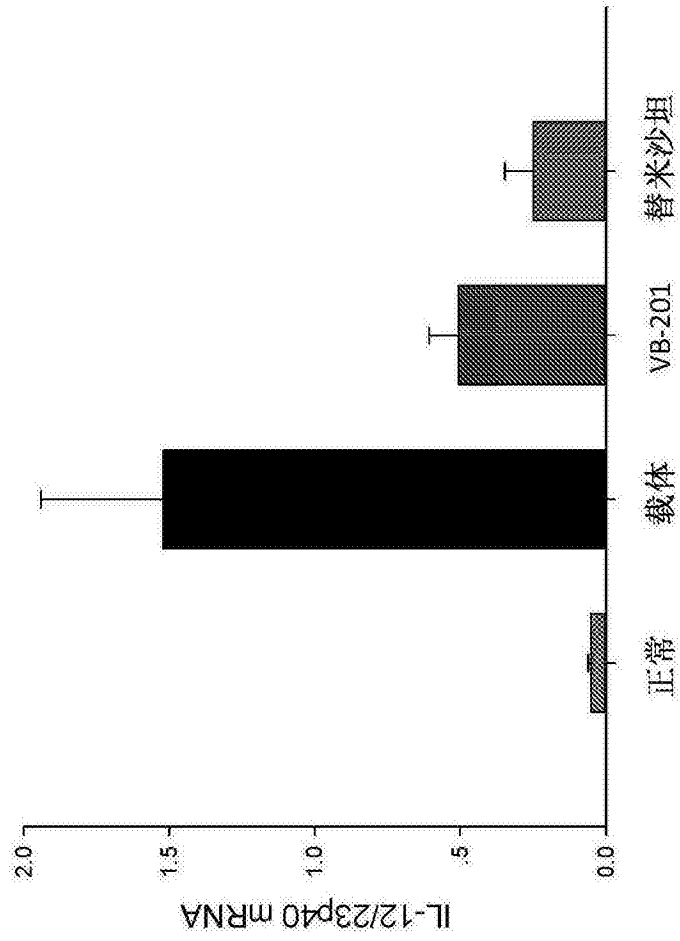


图18