

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480034269.6

[51] Int. Cl.

A61K 31/216 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

[43] 公开日 2006年12月20日

[11] 公开号 CN 1882326A

[22] 申请日 2004.11.17

[21] 申请号 200480034269.6

[30] 优先权

[32] 2003.11.20 [33] GB [31] 0327050.1

[86] 国际申请 PCT/EP2004/013067 2004.11.17

[87] 国际公布 WO2005/053670 英 2005.6.16

[85] 进入国家阶段日期 2006.5.19

[71] 申请人 P. 安杰莱蒂分子生物学研究所

地址 意大利波梅齐亚

[72] 发明人 R·科尔特斯 A·尼科西亚

A·维特利

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 温宏艳 刘 玥

权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 1 页

[54] 发明名称

用于治疗 HCV 感染的 PPAR 激动剂

[57] 摘要

本发明涉及 PPAR α 激动剂在治疗或预防哺乳动物、尤其人类的丙型肝炎病毒(HCV)感染的方法和组合物中的应用。

1. PPAR α 激动剂在制造治疗或预防哺乳动物的 HCV 感染的药物中的用途。

2. 治疗或预防哺乳动物受试者的 HCV 感染的方法,包括对该受试者给药治疗有效量的 PPAR α 激动剂。

3. 权利要求 2 的方法,其中所述 PPAR α 激动剂与一种或多种选自干扰素- α 、PEG 化干扰素- α 、利巴韦林、HCV NS3 蛋白酶抑制剂、HCV 聚合酶抑制剂、抗 HCV 抗体和 HCV 疫苗的治疗剂联合给药。

4. 权利要求 1 的用途或权利要求 2 或 3 的方法,其中所述哺乳动物是人类。

5. 抑制 HCV 进入细胞的方法,包括使所述细胞与 PPAR α 激动剂接触。

6. 权利要求 5 的方法,其中所述细胞是肝细胞。

7. 药物组合物,其包括与一种或多种选自干扰素- α 、PEG 化干扰素- α 、利巴韦林、HCV NS3 蛋白酶抑制剂、HCV 聚合酶抑制剂、抗 HCV 抗体和 HCV 疫苗的治疗剂联合的 PPAR α 激动剂和可药用载体。

8. 试剂盒,其包括 PPAR α 激动剂以及一种或多种选自干扰素- α 、PEG 化干扰素- α 、利巴韦林、HCV NS3 蛋白酶抑制剂、HCV 聚合酶抑制剂、抗 HCV 抗体和 HCV 疫苗的治疗剂用于同时或顺序给药。

9. 权利要求 1 或 4 的用途,权利要求 2 至 6 中任一项的方法,权利要求 7 的药物组合物,或权利要求 8 的试剂盒,其中所述 PPAR α 激动剂是选择性 PPAR α 激动剂。

10. 权利要求 1 或 4 的用途,权利要求 2 至 6 中任一项的方法,权利要求 7 的药物组合物,或权利要求 8 的试剂盒,其中所述 PPAR α 激动剂是 PPAR α/γ 双重激动剂。

11. 权利要求 1 或 4 的用途,权利要求 2 至 6 中任一项的方法,权利要求 7 的药物组合物,或权利要求 8 的试剂盒,其中所述 PPAR α 激动剂是非诺贝特、苯扎贝特、环丙贝特、吉非贝齐或 MK-0767。

用于治疗 HCV 感染的 PPAR 激动剂

本发明涉及可用于哺乳动物、尤其人类治疗法和组合物。本发明特别涉及用于治疗或预防丙型肝炎病毒 (HCV) 感染的方法和组合物。

HCV 是一主要的人类病原体，感染约百分之三的世界人口，并且是引起肝病的主要原因。HCV 感染的显著特性是趋向慢性状况，导致诸如慢性肝炎、肝硬化和肝细胞癌的肝病。HCV 感染还牵涉混合冷球蛋白血症，一种 B-淋巴细胞增殖障碍。

在理解 HCV 感染机理以及设计和测试适当疗法中的主要障碍，是缺乏对 HCV 细胞受体以及它们介导病毒附着和进入细胞的机理的认识。已经涉及至少三种不同的受体，也就是低密度脂蛋白 (LDL) 受体 (Agnello 等人, PNAS, 1999, 96, 12766-71); CD81 受体 (Pileri 等人, Science, 1998, 282, 938-41); 和清除剂受体 B 型 I 类 (SRB 1) (WO 03/040726, Scarselli 等人, EMBO, 2002, 12, 58017-25 和 Bartosch 等人, J. Biol. Chem., 2003, 278, 41624-30)。

过氧化物酶体增殖物受体 (PPAR) 形成核受体超家族的一部分，参与控制脂类代谢。它们以 α 、 β 、 γ 和 δ 亚型存在 (综述参见 Desvergne 和 Wahli, Endocrine Reviews, 1999, 20, 649-88)。已经将 PPAR 激活与诸如脂肪酸代谢、炎症响应、动脉粥样硬化和细胞周期控制等各种现象相关联。然而，至今还没有公开在 PPAR 活性和 HCV 感染之间的关联。

根据本发明，提供 PPAR α 激动剂在制造治疗或预防哺乳动物的 HCV 感染的药物中的应用。

进一步提供治疗或预防哺乳动物受试者的 HCV 感染的方法，包括对该受试者给药治疗有效量的 PPAR α 激动剂。典型地，所述哺乳动物受试者是人类。

图 1 显示，在存在和缺乏非诺贝酸的情况下将培养的人类肝细胞用 HCV 感染患者血清培养时检出的 HCV RNA 拷贝数。

据信 PPAR α 激动作用具有抑制 HCV 进入肝细胞的效果，可能是经减少 SRB 1 的表达和/或细胞表面展示产生该效果。这种效果可用于

早先预防 HCV 感染以及通过阻止进一步的细胞受感染而停止现有感染的进展。因而，根据本发明，可有成效地将 PPAR α 激动剂对处于受 HCV 感染危险之中（预防）的受试者给药，或对已经受 HCV 感染的受试者给药（积极治疗）。

根据本发明的另一方面，提供抑制 HCV 进入细胞的方法，包括使所述细胞与 PPAR α 激动剂接触。所述细胞优选是肝细胞。

原则上，任何已知或发现具有 PPAR α 激动剂活性的化合物均可用于本发明，但优选适于口服的化合物。具有 PPAR α 激动剂活性的化合物可利用已公开的试验方法诸如如下文献中描述的细胞基反式激活试验进行识别：Berger 等人，*J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 6718-25。适宜的化合物包括是选择性 PPAR α 激动剂的那些，以及将 α 受体上活性与一种或多种其它亚型上活性结合的那些，例如 PPAR α/γ 双重激动剂。已知的选择性 PPAR α 激动剂包括非诺贝特、苧氯贝特 (beclofibrate)、苯扎贝特、环丙贝特、氯贝丁酯、依托贝特、其他贝特类酸 (fibric acid) 衍生物、gemcarbene、吉非贝齐、GW 7647、BM 170744、LY 518674、AtromidTM、LopidTM 以及 TricotTM，以及如下文献中公开的化合物：Adams 等人，*Bioorg Med. Chem. Lett.*, 2003, 13, 3185-90。PPAR α/γ 双重激动剂的例子包括 KRP-297 (MK-0767)，muraglitazar (BMS-298585)，法格立他扎，ragaglitazar，tesaglitazar (AZ-242)，JT-501，GW-2570，GI-262579，CLX-0940，GW-1536，GW-1929，GW-2433，L-796449，LR-90，SB-219994，LY-578，LY-4655608，LSN-862，LY-510929 和 LY-929，以及如下文献中公开的化合物：Desai 等人，*Bioorg. Med Chem. Lett.*, 2003, 13, 3541-4；Desai 等人，*Bioorg Med. Chem. Lett.*, 2003, 13, 2795。选择性 PPAR α 激动剂或 PPAR α/γ 双重激动剂的进一步公开参见：WO 97/28115，WO 00/78312，WO 00/78313，WO 00/196321，WO 00/181327，WO 00/134148，WO 02/064094，WO 02/060434，WO 02/26729，WO 01/60807，EP1194147，EP1194146，WO 03/066581 和 WO 03/075911。

优选的用于本发明的化合物包括非诺贝特、苯扎贝特、环丙贝特、吉非贝齐和 MK-0767。

所述 PPAR α 激动剂可单独给药或与一种或多种已知可用于治疗或预防 HCV 感染或其症状的另外的治疗剂联合给药。上述的另外的治

疗剂的例子包括干扰素- α 、PEG化(pegylated)干扰素- α 、利巴韦林、HCV NS3蛋白酶抑制剂、HCV聚合酶抑制剂、抗HCV抗体和HCV疫苗。在本文中使用时,措词“与...联合”要求治疗有效量的所述PPAR α 激动剂和所述另外的治疗剂两者都对受试者给药,但是没有限制其实现方式。因而,所述两类物质可结合成单一剂型,用于对受试者的同时给药;或可以分开的剂型提供,用于对受试者的同时或顺序给药。顺序给药可为在时间上接近或在时间上远离的,例如一类物质在早上给药而另一类在晚上给药。分开的各类物质可按相同频率或按不同频率给药,例如一类物质一天一次给药而另一类一天两次或更多次给药。分开的各类物质可通过相同途径给药或通过不同途径给药,例如一类物质口服给药而另一类肠胃外给药,不过在可能的情况下优选两者都口服给药。当所述另外的治疗剂是疫苗或抗体时,其一般经肠胃外给药并且与所述PPAR α 激动剂分开给药。

在进一步的方面,本发明提供一种药物组合物或试剂盒,其包括在相同或分开的可药用载体中的PPAR α 激动剂以及一种或多种选自干扰素- α 、PEG化干扰素- α 、利巴韦林、HCV NS3蛋白酶抑制剂、HCV聚合酶抑制剂、抗HCV抗体和HCV疫苗的治疗剂。包括分别配制的治疗剂的试剂盒一般将包含关于所述治疗剂分开给药的说明书。

PPAR α 激动剂以及任选的另外的治疗剂一般以包含有关活性成分和可药用载体的药物组合物形式使用。当活性成分包含酸性或碱性基团时,所述成分可为游离酸或碱的形式或为可药用盐的形式。优选所述药物组合物为单位剂型诸如片剂、丸剂、胶囊剂、粉剂、颗粒剂、无菌的肠胃外溶液或悬浮液、计量的气雾剂或液体喷雾、滴剂、安瓿剂、透皮贴剂、自喷射装置或者栓剂;用于口服、肠胃外、鼻内、舌下或直肠给药,或用于经吸入或吹入给药。主要活性成分一般混以药用载体,例如常规的制片成分诸如玉米淀粉、乳糖、蔗糖、山梨糖醇、滑石、硬脂酸、硬脂酸镁和磷酸二钙,或者树脂,分散剂,悬浮剂或表面活性剂诸如脱水山梨糖醇单油酸酯和聚乙二醇,及其他药用稀释剂例如无菌水,以形成包含本发明化合物或其可药用盐的均匀预制剂组合物。关于均匀的预制剂组合物,意指活性成分均匀地分散在整个组合物中以便组合物可容易地再分成同等有效的单位剂型诸如片剂、丸剂和胶囊剂。此预制剂组合物然后被再分成上述类型的单位剂型,

其包含 0.1 至约 500 mg 本发明活性成分。典型的单位剂型包含 1 至 100 mg，例如 1、2、5、10、25、50 或 100 mg 的活性成分。组合物的片剂或丸剂可以是包衣的或者复合以提供具有延长作用优点的剂型。例如，片剂丸剂可以包含内剂量组分和外剂量组分，后者以前者外包壳的形式存在。所述两组分可以被肠溶层 (enteric layer) 隔开，该肠溶层用来抵抗胃中崩解，并容许内组分完整地通入十二指肠或延迟其释放。多种材料可以用于这种肠溶层或肠溶衣，这样的材料包括许多聚合物酸类以及聚合物酸类与诸如虫胶、鲸蜡醇和醋酸纤维素此类材料的混合物。

其中可并入可用于本发明的组合物的口服给药液体形式或注射液形式包括水溶液，液体-或凝胶-填充的胶囊剂，适当调味的糖浆剂，水或油悬浮液，以及用食用油类诸如棉子油、芝麻油或椰子油的调味乳剂，以及酞剂和类似药用介质。适宜用于水悬浮液的分散或悬浮剂包括合成以及天然的树胶诸如西黄蓍胶，阿拉伯胶，藻酸盐，葡聚糖，羧甲基纤维素钠，甲基纤维素，聚(乙二醇)，聚(乙烯基吡咯烷酮)或明胶。

为治疗或预防 HCV 感染，PPAR α 激动剂的适宜剂量水平类似于所涉及化合物在用于其他治疗学目的(例如控制脂质水平)时的已公开数值，或可通过本领域技术人员已知方法确定。一般水平为每天约 0.01 至 250 mg/kg 体重，优选每天约 0.01 至 100 mg/kg 体重，更优选每天约 0.05 至 50 mg/kg 体重的活性化合物。可使用任何适宜的用药方案，例如每天 1-4 次。

适宜的非诺贝特剂量是每成人每天 100-200 mg。

实施例

实施例 1. 非诺贝酸抑制培养人类肝细胞的 HCV 感染

由外科肝切除术获得的分离人类肝细胞以 3×10^5 细胞/孔的密度接种在 24 孔微量培养板中。使细胞附着并恢复 24 小时，然后培养基替换为新鲜的包含不同浓度非诺贝酸 (50 μ M 和 500 μ M) 的培养基。肝细胞用指定量的非诺贝酸培养 24 小时，然后培养基替换为新鲜的包含相同量非诺贝酸和固定量 (100 μ l) 来自 HCV 长期感染患者的感染性人类血清的培养基。细胞用病毒培养 18 小时以进行感染，然后洗涤并

培养四天。提取总 RNA，通过定量 RT-PCR 测量病毒复制。

典型地，在感染四天之后检出每孔 10^4 至 10^5 基因组拷贝。为确信测量的病毒 RNA 来源于活性复制，引入所述病毒复制酶的小分子抑制剂作为阳性对照。

通过定量 PCR 对总 RNA 测量病毒复制，表示为 HCV 拷贝数/350,000 细胞。实验在一式三份的孔中完成，以标准偏差显示数值。非诺贝酸溶于 DMSO，并于 $50 \mu\text{M}$ 和 $500 \mu\text{M}$ 测试。在试验中 DMSO 终浓度是 0.5%，因此所有对照感染（未抑制以及用 HCV 复制酶抑制剂）在存在 0.5% DMSO 的情况下进行。结果显示于图 1，显然非诺贝酸将传染性降低多达 90%。

实施例 2

含 100 mg 非诺贝特的硬明胶胶囊对需要其的 60 Kg 成人患者口服给药，用于治疗 HCV 感染。这种给药可一天进行两或三次。

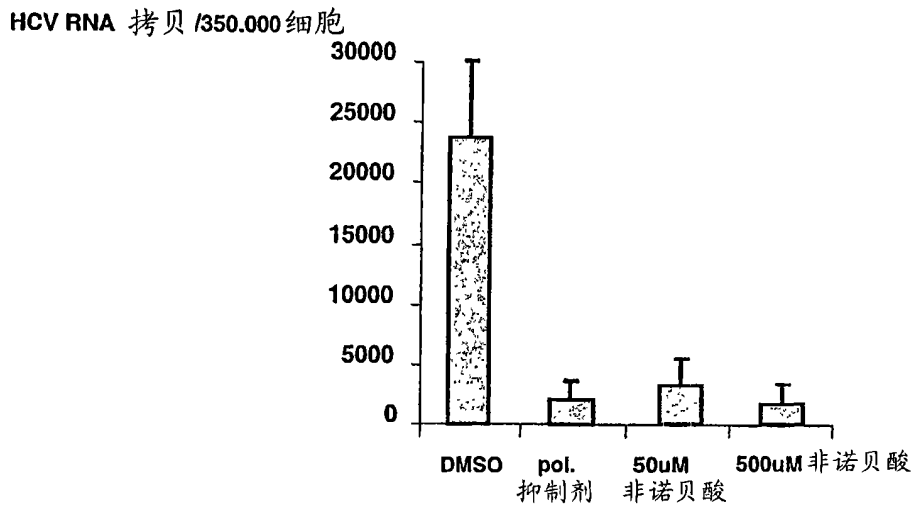


图 1