



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114765955 B

(45) 授权公告日 2025.06.24

(21) 申请号 202080074094.0

(22) 申请日 2020.10.22

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 114765955 A

(43) 申请公布日 2022.07.19

(30) 优先权数据  
19000483.8 2019.10.22 EP  
20163777.4 2020.03.17 EP  
20176336.4 2020.05.25 EP  
62/924,556 2019.10.22 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2022.04.21

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/EP2020/079802 2020.10.22

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02021/078889 EN 2021.04.29

(73) 专利权人 威佛(国际)股份公司  
地址 瑞士圣加伦

(72) 发明人 瓦尼亚·马诺洛娃

弗朗茨·杜伦伯格 娜娅·尼芬格

(74) 专利代理机构 北京知元同创知识产权代理  
事务所(普通合伙) 11535  
专利代理师 刘元霞

(51) Int.Cl.  
A61K 31/4439 (2006.01)  
A61K 45/06 (2006.01)  
A61P 7/06 (2006.01)

(56) 对比文件  
WO 2018192973 A1, 2018.10.25  
MANOLOVA Vania, et al. The oral  
ferroportin inhibitor VIT-2763 prevents  
hemolysis and vaso-occlusion in a sickle  
cell diseases model II. LIPPINCOTT  
WILLIAMS AND WILKINS NL. 2020, 第4卷no.  
Supplement 1.

审查员 薛皓月

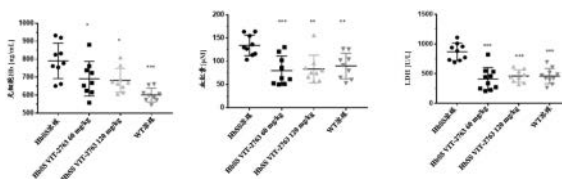
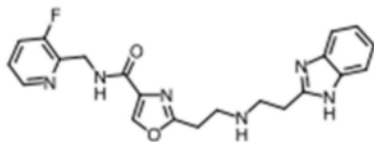
权利要求书1页 说明书32页 附图11页

(54) 发明名称

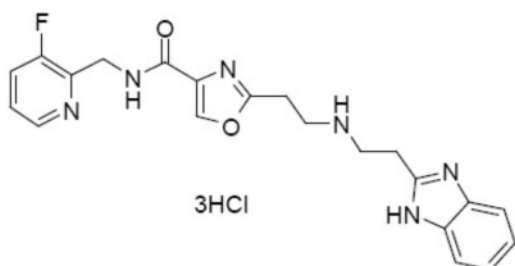
用铁转运蛋白抑制剂(VIT-2763)治疗镰状  
细胞病的方法和组合物

(57) 摘要

本发明涉及下式所述的化合物和其药学上  
可接受的盐,其用于治疗镰状细胞病并用于预防  
和治疗血管炎症和血管闭塞。



1. 根据下式所示的化合物3HCl盐用于制备用于预防或治疗患有镰状细胞病的患者中的血管炎症和血管闭塞的药物的用途,



2. 根据权利要求1所述的用途,其中所述镰状细胞病选自HbSS;HbSC;HbS $\beta$ 0地中海贫血;HbS $\beta$ +地中海贫血、HbSD、HbSE和HbS0。

3. 根据权利要求1或2所述的用途,其中所述化合物为口服施用形式。

4. 根据权利要求1或2中任一项所述的用途,其中所述化合物为用于口服施用的填充胶囊的形式。

5. 根据权利要求1所述的用途,其中所述药物是联合疗法组合物,其中如权利要求1中所定义的化合物和至少一种另外的药学活性化合物以固定剂量或自由剂量组合的形式存在,以供以依次使用的方式共同施用所述化合物。

6. 根据权利要求5所述的用途,其中所述至少一种另外的药学活性化合物选自镰状细胞病药物。

7. 根据权利要求5所述的用途,其中所述至少一种另外的药学活性化合物选自羟基脲和/或疼痛缓解药物。

## 用铁转运蛋白抑制剂(VIT-2763)治疗镰状细胞病的方法和组合物

### 背景技术

[0001] 镰状细胞病(SCD)是一种血红蛋白合成的遗传性疾病,其特征在于具有终生严重溶血性贫血、复发性疼痛性危象、慢性器官系统损伤和预期寿命显著降低的现象。SCD由血红蛋白(Hb) $\beta$ 基因中的突变产生,该突变会引起 $\beta$ 珠蛋白中的氨基酸置换并产生镰状血红蛋白(HbS)等位基因 $\beta$ S。在SCD小鼠模型(Townes小鼠)中,鼠Hb基因已被删除并被人镰状Hb基因替代。HbS纯合型小鼠仅表达人镰状Hb并在人类发病过程中非常类似于SCD,其含有坚韧的镰状红细胞(sRBC)并具有溶血性贫血、铁超负荷、脾红髓扩增、炎症、血细胞与内皮脉管系统增加粘附的现象,造成血管闭塞(VO)和器官损伤。脱氧HbS的聚合会缩短镰状红细胞的寿命并促进血管内溶血和血管外溶血。血管内溶血会使无细胞Hb从红细胞(RBC)中释放出来。胞外Hb易于从亚铁( $\text{Fe}^{2+}$ )Hb氧化为三价铁( $\text{Fe}^{3+}$ )Hb(metHb),血红素容易从其中解离到脉管系统中而造成氧化应激、炎症、VO、局部缺血和组织损伤(Umbreit J, Am. J. Hematol, 2007)。

[0002] 用于治疗与之相关的SCD症状的常规(已批准)药物是羟基脲(Droxia、Hydrea、Siklos)、L-谷氨酰胺口服粉剂(Endari)、立赞利珠单抗(Crizanlizumab(Adakveo))和沃塞洛托(Voxelotor(Oxbryta))。

[0003] 羟基脲的每日施用降低了疼痛性危象的频率并且可能会减少输血和住院的需要。它可能会增加感染风险。

[0004] L-谷氨酰胺口服粉剂(Endari)有助于降低疼痛性危象的频率。

[0005] 立赞利珠单抗(Adakveo)是一种静脉内施用的药物,其有助于降低疼痛性危象的频率。副作用可包括恶心、关节痛、背痛和发烧。

[0006] 沃塞洛托(Oxbryta)是一种口服施用的药物,其可改善镰状细胞病患者的贫血现象。副作用可包括头痛、恶心、腹泻、疲劳、皮疹和发烧。

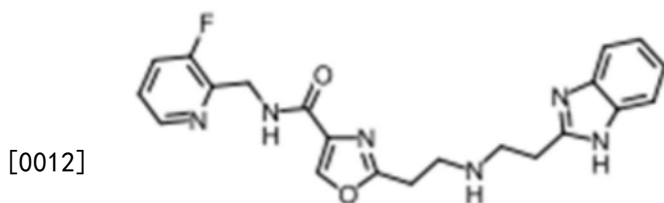
[0007] 此外,对SCD患者定期施用疼痛缓解药物,这虽然有助于缓解镰状细胞疼痛性危象期间的疼痛却不能治疗疼痛根源。

[0008] 发明目的

[0009] 本发明的目的是提供一种用于治疗镰状细胞病(SCD)的改进的新型药物或疗法。特别地,新型药物或SCD疗法应该将与SCD相关的并且如本文进一步定义的标志物、病症或事件中的一种或多种改善、缓解或改变至正常化水平。本发明的另一个目的是提供一种与常规羟基脲治疗相比安全性提高的SCD药物或疗法。本发明的另一个目的是提供一种SCD药物或疗法,与常规沃塞洛托治疗相比其安全性至少相当或甚至有所提高。本发明旨在提供一种改进后SCD疗法,该疗法的一个或多个方面将在本文如下内容中得到更详细的讨论。

[0010] 发明内容和具体实施方式

[0011] 本文描述了用于治疗镰状细胞病(SCD)的方法,该方法包括施用下式所示的化合物(化合物127)



### 化合物127

[0013] 或其药学上可接受的盐。其中,合适的盐为:苯甲酸盐、盐酸盐(HCl盐)、柠檬酸盐、富马酸盐、乳酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、磷酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐和甲苯磺酸盐。在各种实施方案中,化合物与盐的比例为1:1、2:1、1:2或1:3。如本文所用,除非指明特定比率,否则化合物的盐是指化合物与盐的任何比率。

[0014] 化合物127和用于合成化合物127的方法描述于W02017/068089和W02017068090A1中,其通过引用方式并入本文。化合物127的特定盐以及化合物127的各种多晶型物描述于W02018/192973中,其通过引用方式并入本文。其中公开的特定盐在治疗镰状细胞病中的潜在用途通常在各种其他适应症的列表中提及。实施例13描述了用H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>和化合物127的HCl单盐进行的单剂量静脉内和口服药物动力学研究。

[0015] Vania Manolova的“First-in-class oral Ferroportin Inhibitor:Mode of Action and Efficacy in a mouse model of Beta-Thalassemia Intermedia”(EHA摘要,2019年06月14日)公开了化合物127在治疗中间型地中海贫血中的用途,但对其任何特定盐形式仍未提及。此外,该公开内容中也没有提及其在镰状细胞病治疗中的潜在功效。

[0016] J.H.Baek等人的“Ferroportin inhibition attenuates plasma iron,oxidant stress,and renal injury following red blood cell transfusion in guinea pigs”(TRANSFUSION,第00期,第1-11页,2020年)报道称,通过在豚鼠模型中急性红细胞输注后立即静脉内施用Vifor(国际)公司提供的小分子膜铁转运蛋白抑制剂VIT-2653降低了血浆铁含量和NTBI水平并缓解了氧化应激和细胞损伤。

[0017] 膜铁转运蛋白-铁调素轴调节了血液铁水平。化合物127与铁调素竞争膜铁转运蛋白结合和内化。化合物127通过抑制膜铁转运蛋白来阻断铁转运至血液。

[0018] 在本发明新型用途的上下文中,术语“治疗”包括改善与SCD相关的至少一种症状或病理状况。在本发明的上下文中,术语“治疗”还包括防御。根据本发明化合物127的治疗特别地改善、缓解或改变了下列标志物、病症或事件中的一种或多种,例如将其调整为正常水平。

[0019] 本发明的治疗效果

[0020] 本发明的一个具体方面涉及如本文任何地方所述的化合物127,其用于治疗、预防或缓解上文或下文中所述的或尤其是实施例所述标志物、病症或事件中的一种或多种。

[0021] 在一些情况下,用化合物127治疗患有镰状细胞病(SCD)的受试者会减少发生溶血(例如,通过无细胞血红蛋白(Hb)的减少、无细胞血红素的减少、总血浆胆红素和间接血浆胆红素的减少或血清LDH(乳酸脱氢酶)的减少来评估)。

[0022] 在一些情况下,用化合物127治疗患有SCD的受试者会改善总血清铁水平、血清铁蛋白水平、血清转铁蛋白水平和经计算的TSAT(转铁蛋白饱和度)中的一种或多种。

[0023] 在一些情况下,用化合物127治疗患有SCD的受试者会缓解网织红细胞增多症并提高网织红细胞计数和/或网织红细胞百分比。

[0024] 在一些情况下,用化合物127治疗患有SCD的受试者会降低总Hb、RBC计数、血细胞比容、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白(MCH)和红细胞血红蛋白浓度均值(CHCM)中的一种或多种。

[0025] 在一些情况下,用化合物127治疗患有SCD的受试者会改善RBC分布宽度(RDW)并提高血小板计数和网织红细胞计数中的一种或多种。

[0026] 在一些情况下,用化合物127治疗患有SCD的受试者会改善小红细胞RBC(RBC体积-Hb散点图)。

[0027] 在一些情况下,用化合物127治疗患有SCD的受试者会改变异常RBC(镰状)和/或改善RBC镰状(外周血涂片)。

[0028] 在一些情况下,用化合物127治疗患有SCD的受试者会降低白细胞增多。

[0029] 在一些情况下,用化合物127治疗患有SCD的受试者会降低血液白细胞计数(例如,降低血液中性粒细胞计数和/或血液淋巴细胞计数)。

[0030] 在一些情况下,用化合物127治疗患有SCD的受试者会减少发生血管外溶血和/或血管内溶血。

[0031] 在一些情况下,用化合物127治疗患有SCD的受试者会改善一种或多种溶血标志物(例如间接胆红素/总胆红素)、血液炎症标志物,所述血液炎症标志物如通过hsCRP(高灵敏度C反应蛋白)、IL-1和IL-6(白细胞介素)、TNF- $\alpha$ 、sVCAM-1、内皮素-1、sP-选择素(sP-selectin)、sICAM-1和黄嘌呤氧化酶测量的。

[0032] 在一些情况下,用化合物127治疗患有SCD的受试者会改善一种或多种RBC指数,包括Hb浓度、RBC计数、血细胞比容(Hct)、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞Hb(MCH)、平均红细胞Hb浓度(MCHC)、红细胞Hb浓度均值(CHCM)、RBC分布宽度、血小板计数和网织红细胞计数、网织红细胞百分比、低色素百分比、小红细胞RBC(RBC体积-Hb散点图)、CHCM(红细胞血红蛋白浓度均值)、总血清铁、血清铁蛋白、血清转铁蛋白、计算的TSAT、铁调素、EPO(促红细胞生成素)、NTBI(非转铁蛋白结合铁)、可溶性转铁蛋白受体(sTFR)、sTFR-2和LDH。

[0033] 这意味着,可确定上文和下文提及的参数中的一种或多种来评价本发明化合物在治疗SCD中的功效。本发明化合物127适于改善这些参数中的至少一种。

[0034] 在本发明的意义上,术语“改善”可涵盖在治疗效果意义上对相应标志物或病症的调节或改变。

[0035] 更特别地,根据本发明的SCD治疗可引起如下情况:

[0036] 患者的NTBI水平降低至少1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至少100%,这是在施用后至多72小时、至多60小时、至多48小时、至多36小时、至多24小时或至多12小时、8小时、6小时、5小时、4小时、3小时、2小时、1小时和0.5小时的时间段内的任何时间点测定的,并且是与本发明治疗开始前0.5小时、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、8小时、12小时、24小时、36小时或48小时内或至多<1周的任何时间点测定的患者的NTBI水平相比。

[0037] 患者的LPI水平降低至少1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、

35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至少100%，这是在施用后至多72小时、至多60小时、至多48小时、至多36小时、至多24小时或至多12小时、8小时、6小时、5小时、4小时、3小时、2小时、1小时和0.5小时的时间段内的任何时间点测定的，并且是与本发明治疗开始前0.5小时、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、8小时、12小时、24小时、36小时或48小时内或至多<1周的任何时间点测定的患者的总LPI水平相比。

[0038] 患者的参数Hct、MCV、MCH、RDW和网织红细胞数中的至少一种增加至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至少100%，这是在首次施用后至多一周、至多2周、至多3周、至多4周、至多3个月的时间段内的任何时间点测定的，并且是与在本发明治疗开始前1周、2周、3周或4周内的任何时间点测定的受试者的相应参数相比。

[0039] 患者的血清铁蛋白水平降低至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至少100%，这是在首次施用后至多一周、至多2周、至多3周、至多4周、至多3个月的时间段内的任何时间点测定的，并且是与在本发明治疗开始前1周、2周、3周或4周内的任何时间点测定的患者的血清铁蛋白水平相比。

[0040] 在一些情况下，用化合物127治疗患有SCD的受试者会减少或预防肝、肾和/或脾中的进一步铁沉积。

[0041] 因此，在另一方面，新的治疗可导致SCD患者的肝铁浓度、肾铁浓度和/或脾铁浓度降低至少1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至少100%，这是在首次施用后至多一周、至多2周、至多3周、至多4周、至多3个月的时间段内的任何时间点测定的，并且是与在本发明治疗开始前1周、2周、3周或4周内的任何时间点测定的SCD患者的肝铁浓度、肾铁浓度和/或脾铁浓度的水平相比。

[0042] 在一些情况下，用化合物127进行治疗会减少发生肾部铁超负荷。

[0043] 在一些情况下，用化合物127治疗患有SCD的受试者会降低血管炎症标志物，例如sVCAM-1水平。

[0044] 在一些情况下，用化合物127治疗患有SCD的受试者会减少血管炎症。

[0045] 在一些情况下，用化合物127治疗患有SCD的受试者会减少发炎的小静脉或微血管中的血细胞粘附程度并改善微血管中的血液流动。

[0046] 在一些情况下，用化合物127治疗患有SCD的受试者会减少血细胞对微血管的粘附、血管闭塞 (VO) 和VO事件。

[0047] 在一些情况下，用化合物127治疗患有SCD的受试者会降低VOC (血管闭塞性危象) 或疼痛性VOC的频率和/或预防包括ACS (急性胸部综合征) 的复发性疼痛性VOC。

[0048] 在一些情况下，在本发明治疗开始前1周、2周、3周或4周、2个月、3个月、4个月、6个月、8个月、9个月、12个月、24个月内用化合物127治疗患有SCD的受试者会降低VOC或疼痛性VOC的频率和/或预防患者中包括ACS的复发性疼痛性VOC；或实现SCD患者在该治疗后至少2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周、16周、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、18个月、24个月或甚至更长时间内不遭受

VOC或疼痛性VOC。

[0049] 在一些情况下,用化合物127治疗患有SCD的受试者在48周内会实现疼痛性(VOC)危象平均发生次数的减少。

[0050] 在一些情况下,用化合物127治疗患有SCD的受试者在48周内会实现在OH尿毒症初治患者中疼痛性(VOC)危象平均发生次数的减少。

[0051] 优选的方面涉及如本文任何地方所述的化合物127,其用于治疗、预防或减少血管炎症或V0以及V0事件。

[0052] 在一些情况下,用化合物127治疗患有SCD的受试者会减少RBC输注需要,例如与本发明治疗开始前1周、2周、3周或4周、2个月、3个月、4个月、6个月、8个月、9个月、12个月、24个月内患者的输注负荷相比,患者的输注负荷会显著减少;或实现SCD患者在该治疗后至少2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周、16周、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、18个月、24个月或甚至更长时间内不需要红细胞输注,直至该患者完全不需要红细胞输注。

[0053] 在另一方面,与本发明治疗开始前1周、2周、3周或4周内测定的SCD患者的生活质量相比,新的治疗可改善SCD患者的生活质量。在治疗开始后3个月、6个月、9个月、12个月、15个月、18个月、21个月或24个月内测定生活质量的改善情况。生活质量可通过使用成年镰状细胞生活质量测量系统(ASCQ-ME)评估患者报告结果(PRO)的变化来确定。

[0054] 上述参数的测定可使用本领域的常规方法进行,特别是通过未公开的PCT申请PCT/EP2020/070391中描述的那些方法进行,其各自的内容通过引用方式并入本文。

[0055] 待治疗的患者组

[0056] 原则上,根据本发明的新的用途中待治疗的受试者可以是任何哺乳动物,例如啮齿类和灵长类,并且在优选的方面,新医学用途涉及人的治疗。患有镰状细胞病(SCD)并用本发明的新方法治疗的受试者也称为“患者”。

[0057] 待治疗的受试者可以是任何年龄。本发明的优选的方面涉及儿童和青少年的治疗。因此,在本发明的优选方面,待用本文所述的新方法治疗的受试者年龄为 $\leq 18$ 岁。更特别地,待用本文所述的新方法治疗的受试者年龄为 $\leq 16$ 岁、 $\leq 15$ 岁、 $\leq 14$ 岁、 $\leq 13$ 岁、 $\leq 12$ 岁、 $\leq 11$ 岁、 $\leq 10$ 岁、 $\leq 9$ 岁、 $\leq 8$ 岁、 $\leq 7$ 岁、 $\leq 6$ 岁或 $\leq 5$ 岁。在本发明的另一方面,待用本文所述的新方法治疗的受试者年龄为1岁至3岁、3岁至5岁、5岁至7岁、7岁至9岁、9岁至11岁、11岁至13岁、13岁至15岁、15岁至20岁、20岁至25岁、25岁至30岁或 $> 30$ 岁。优选待治疗的儿科患者年龄为 $\leq 16$ 岁或 $\leq 12$ 岁。在治疗儿童的情况下,优选用本文所述新方法治疗的患者年龄为 $\geq 2$ 岁,优选为 $\geq 2$ 岁且 $\leq 16$ 岁或 $\geq 2$ 岁且 $\leq 12$ 岁。

[0058] 在治疗成人和青少年的另一方面,患者年龄为 $\geq 12$ 岁或 $\geq 16$ 岁。

[0059] 在治疗成人的情况下,用本文所述的新方法治疗的受试者年龄优选为18岁至50岁,优选为18岁至25岁、20岁至25岁、25岁至30岁、30岁至35岁、35岁至40岁、40岁至45岁、45岁至50岁。还可以治疗年龄为50岁至55岁、55岁至60岁或年龄大于60岁的老年人。在治疗老年患者的情况下,用本文所述的新方法治疗的受试者年龄为60岁至80岁,例如60岁至65岁、65岁至70岁、70岁至75岁、75岁至80岁或大于80岁。

[0060] 由于用本发明化合物进行治疗所提供的显著优点,治疗儿童和青少年是特别优选地。可口服施用该化合物,这种施用方式优于肠胃外施用。此外,已证实本发明的口服生物

可利用的化合物在体内具有中等的生物利用度和半衰期,因此相对较快地被洗掉。这导致更少的副作用和更快的药物可逆性,这在儿童治疗中特别重要。

[0061] 化合物127可用于治疗患有各种形式SCD的患者,包括:HbSS、HbSC、HbS $\beta$ 0地中海贫血、HbS $\beta$ +地中海贫血、HbSD、HbSE和HbS0。特别地,化合物127可用于治疗患有HbSS或HbS $\beta$ 0地中海贫血的患者。

[0062] 化合物127可特别用于治疗患有本文任何地方定义的SCD患者,其中SCD在单一疗法(例如,用羟基脲的单一疗法)中不能得到充分控制。

[0063] 如本文所述,化合物127可用于治疗患有SCD的患者,这些患者每年会出现一次或多次VOC(血管闭塞性危象)。

[0064] 如本文所述,化合物127可用于治疗患有SCD的患者,这些患者每年会出现一次或多次且不超过6次的VOC。

[0065] 如本文所述,化合物127可用于治疗患有SCD的患者,这些患者的绝对网织红细胞计数和网织红细胞计数百分比 $>1.5 \times$ 正常上限(ULN)。

[0066] 化合物127可用于治疗具有部分脾或全部脾切除术病史、具有任何心脏或肺部病症病史或临床重要发现、和/或已经接受或经常或定期接受红细胞(RBC)输注疗法(包括慢性、防御性或预防性输注治疗SCD)的患者。

[0067] 施用形式

[0068] 本发明化合物优选以口服施用形式的药物或药物组合物提供,包括例如丸剂、片剂(例如肠溶衣片剂、膜片剂和层片剂)、口服施用的缓释制剂、贮库制剂、糖衣丸、颗粒剂、乳剂、分散剂、微囊剂、微制剂、纳米制剂、脂质体制剂、胶囊(例如肠溶胶囊)、粉剂、微晶制剂、撒布粉剂、滴剂、安瓿剂、口服施用的溶液和悬浮液。

[0069] 在本发明的优选实施方案中,本发明化合物以如上所定义的片剂或胶囊的形式施用。更优选的是填充有药物化合物127的胶囊。这些可以例如作为耐酸形式或与pH依赖型涂层一起存在。

[0070] 药物化合物可作为纯药物物质填充到胶囊中或者以包含其他药学上可接受的佐剂、助剂、溶剂、添加剂等的药物组合物的形式填充到胶囊中。

[0071] 通常,包含本发明化合物的施用形式可包含其他药学上可接受的佐剂、助剂、填充剂、溶剂、添加剂等。

[0072] 该药物组合物可包含例如高达99重量%或高达90重量%或高达80重量%或高达70重量%的本发明的药物化合物,其余的均由药学上可接受的载体和/或助剂和/或溶剂和/或任选的其他药物活性化合物形成。

[0073] 药学上可接受的载体、辅助物质或溶剂等是常见的药物载体、辅助物质或溶剂,包括各种有机或无机载体和/或辅助材料,因为它们通常用于药物目的,特别是用于固体药物制剂。示例包括:赋形剂,例如蔗糖、淀粉、甘露醇、山梨醇、乳糖、葡萄糖、纤维素、滑石、磷酸钙、碳酸钙;粘合剂,例如纤维素、甲基纤维素、羟丙基纤维素、聚丙烯吡咯烷酮、明胶、阿拉伯胶、聚乙二醇、蔗糖、淀粉;崩解剂,例如淀粉、水解淀粉、羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钙盐、羟丙基淀粉、乙二醇淀粉钠、碳酸氢钠、磷酸钙、柠檬酸钙;润滑剂,例如硬脂酸镁、滑石、月桂基硫酸钠;食用香料,例如柠檬酸、薄荷醇、甘氨酸、橙粉;防腐剂,例如苯甲酸钠、亚硫酸氢钠、对羟基苯甲酸酯(例如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、

对羟基苯甲酸丁酯)；稳定剂,例如柠檬酸、柠檬酸钠、乙酸和来自titriplex系列的多羧酸,例如二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)；悬浮剂,例如甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、硬脂酸铝；分散剂；稀释剂,例如水、有机溶剂；蜡、脂肪和油,例如蜂蜡、可可脂；聚乙二醇；白凡士林等。

[0074] 液体药物制剂,例如溶液、悬浮液和凝胶,通常含有液体载体,例如水和/或药学上可接受的有机溶剂。此外,此类液体制剂还可包含pH调节剂、乳化剂或分散剂、缓冲剂、防腐剂、润湿剂、胶凝剂(例如甲基纤维素)、染料和/或调味剂,例如上文所定义的。组合物可以是等渗的,即,它们可具有与血液相同的渗透压。组合物的等渗性可通过使用氯化钠和其他药学上可接受的试剂来调节,这些试剂例如葡萄糖、麦芽糖、硼酸、酒石酸钠、丙二醇和其他无机或有机可溶性物质。液体组合物的粘度可通过药学上可接受的增稠剂例如甲基纤维素来调节。其他合适的增稠剂包括例如黄原胶、羧甲基纤维素、羟丙基纤维素、卡波姆等。增稠剂的优选浓度将取决于所选择的试剂。

[0075] 可使用药学上可接受的防腐剂以增加液体组合物的储存寿命。苯甲醇可以是合适的,尽管也可以使用多种防腐剂,包括例如对羟基苯甲酸酯、硫柳汞、氯丁醇和苯扎氯铵。

[0076] 因此,本发明的另一方面涉及本发明的化合物,包括其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物和多晶型物,以及包含它们的药物、组合物和组合制剂,其以口服施用形式用于治疗如本文所定义的SCD。

[0077] 给药方案

[0078] 用于本发明用途的本发明化合物可通过下列给药方案之一给药:

[0079] 在一个方面,根据本发明的化合物可以0.001mg至500mg的剂量施用给对其有需要的患者,例如每日1次至4次,优选为每日一次或两次。然而,剂量可根据患者的年龄、体重、病症、疾病的严重程度或施用的类型而增加或减少。在本发明的另一方面,本发明的化合物可以0.1mg、0.2mg、0.3mg、0.4mg、0.5mg、0.6mg、0.7mg、0.8mg、0.9mg、1mg、1.5mg、2mg、2.5mg、3mg、3.5mg、4mg、4.5mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg、16mg、17mg、18mg、19mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg、80mg、85mg、90mg、95mg、100mg、105mg、110mg、115mg、120mg、125mg、130mg、135mg、140mg、145mg、150mg、155mg、160mg、165mg、170mg、175mg、180mg、185mg、190mg、195mg、200mg、205mg、210mg、215mg、220mg、225mg、230mg、235mg、240mg、245mg、250mg、255mg、260mg、265mg、270mg、275mg、280mg、285mg、290mg、295mg、300mg、325mg、350mg、375mg、400mg、425mg、450mg、475mg、500mg的剂量施用。

[0080] 优选的剂量介于0.5mg至500mg之间,更优选的介于1mg至300mg或3mg至300mg之间,更优选的介于1mg至250mg或5mg至250mg之间。

[0081] 最优选的剂量为5mg、15mg、30mg、60mg、120mg或240mg。特别优选的剂量为30mg、60mg、90mg、120mg或240mg,更特别优选的剂量为30mg、60mg、90mg或120mg。最优选的剂量为30mg、60mg和120mg。

[0082] 可以将上述剂量作为总日剂量以每日单剂量或分成每日两次或更多次施用的亚剂量来施用。

[0083] 在另一优选的方面,优选30mg、60mg、90mg或120mg的每日剂量,其作为单次剂量每日施用一次。在另一方面,60mg或120mg日剂量分别作为两个30mg的剂量或两个60mg的剂量每日施用两次。也可以每日三次30mg的剂量施用90mg的每日剂量。

[0084] 在另一方面,可施用0.001mg/kg至60mg/kg体重、0.01mg/kg至60mg/kg体重、0.1mg/kg至60mg/kg体重或介于0.5mg/kg、1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、7mg/kg、8mg/kg、9mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、35mg/kg至最多60mg/kg体重的剂量。对体重 $\geq 50$ kg的患者可施用120mg或至多240mg的剂量,对体重 $\geq 50$ kg的患者可施用60mg的剂量,两种情况每日各施用一次或两次。优选的是,对体重 $\geq 50$ kg的患者施用60mg的剂量,对体重 $\leq 50$ kg的患者施用30mg的剂量,两种情况每日各施用一次或两次。进一步优选的是,对体重 $\geq 50$ kg且 $\leq 100$ kg的患者施用上述定义的30mg和60mg剂量。

[0085] 通常,根据体重来调节的剂量是可能的,并且在另一方面是优选的。

[0086] 还优选地,以年龄适宜性制剂施用本发明的化合物。特别地,对于患者年龄 $\geq 2$ 岁的儿科给药形式需要特定的施用形式,示例包括糖浆、溶液、滴剂或用于溶解在液体饮料中的制剂。

[0087] 在另一方面,可选择如上所定义的剂量之一作为初始剂量,并且后续以1天至7天、1天至5天、优选1天至3天或每两天的重复间隔施用1次或更多次相同或不同的上述所定义的剂量。

[0088] 初始剂量和后续剂量可选自以上所定义的剂量,并且根据患者的需要在所提供的范围内进行调节/改变。

[0089] 特别是,后续剂量的量可根据个体患者、疾病的过程和治疗应答适当地选择。可施用1次、2次、3次、4次、5次、6次、7次和更多次后续剂量。

[0090] 可能的是,初始剂量等于或不同于该一个或多个后续剂量。进一步可能的是,后续剂量是相等的或不同的。

[0091] 重复间隔可以是相同长度,或者可根据个体患者、疾病的过程和治疗应答而变化。

[0092] 优选地,后续剂量的量随着后续给药次数的增加而减少。

[0093] 优选地,在至少3天、至少5天、至少7天、至多4周的治疗期内,每日一次施用3mg至300mg、更优选5mg至250mg、最优选5mg、15mg、30mg、60mg、90mg、120mg或240mg的剂量。在进一步优选的方面,每日一次施用30mg、60mg或120mg的剂量。在进一步优选的方面,30mg、60mg或120mg的总日剂量通过分别每日两次施用15mg、30mg或60mg的剂量来实现。

[0094] 在另一方面,240mg的总日剂量通过每日两次施用120mg的剂量来实现。

[0095] 在另一方面,从选自如上所定义的剂量的初始剂量开始1周、2周、3周、4周或更长时间内施用不同的剂量,然后在另外的1周、2周、3周、4周或更长时间内施用选自上述定义的剂量的增加剂量。根据治疗结果,也可在如上所定义的时间段内以较高的初始剂量开始施用,随后在后续的治疗间隔内以减少的剂量开始施用。优选地,以30mg或60mg的初始日剂量施用4周,随后以相同剂量再施用4周或随后以增加剂量再施用4周。这种治疗方案可包括每日施用30mg并持续4周,随后每日施用60mg并持续另外的4周。

[0096] 特别地,高达240mg总日剂量的剂量已被证明是安全且良好耐受的。优选的给药方案还显示了快速的口服吸收,其中早在给药后15分钟至30分钟就可检测到水平。即使在重复给药时,吸收水平也可维持稳定,并且没有观察到严重的沉积。

[0097] 进一步证明优选的给药方案有效降低了平均血清铁水平和计算的平均转铁蛋白饱和度,这表明了其治疗SCD的效率。

[0098] 联合疗法

[0099] 本发明的另一目的涉及包含本发明化合物和至少一种其他药学活性化合物(其优选为用于治疗镰状细胞病(SCD)的其他活性化合物)的药物或联合制剂(“联合疗法化合物”)。联合疗法化合物可选自用于预防和/或治疗铁超负荷和相关症状的活性化合物,包括铁螯合化合物,或用于预防和/或治疗伴随铁超负荷或由其引起的任何状态、病症或疾病的化合物。合适的联合疗法化合物可选自用于预防和/或治疗SCD、地中海贫血(thalassemia)、血色沉着病(haemochromatosis)、神经变性疾病(例如阿尔茨海默病或帕金森病)和相关症状的药学活性化合物。优选地,该至少一种另外的药学活性联合疗法化合物选自用于治疗SCD的药物,例如羟基脲(Hydroxyurea)、沃塞洛托(Voxelotor)、**ADAKVEO®**(立赞利珠单抗(crizanlizumab))、L-谷氨酰胺口服粉剂(Endari)、胎儿血红蛋白(HbF)诱导剂、PDE9抑制剂(例如IMR-687)和/或疼痛缓解药物。来自用于治疗SCD的药物组的最优选的联合疗法化合物是胎儿血红蛋白(HbF)诱导剂。

[0100] 该至少一种另外的药学活性联合疗法化合物还可选自用于降低铁超负荷的药物(例如Tmprss6-ASO)和铁螯合剂,特别是姜黄素、SSP-004184、Deferitritin、地拉罗司(deferasirox)、去铁胺(deferoxamine)和去铁酮(deferiprone)以及JAK2抑制剂。最优选的来自铁螯合化合物组的联合疗法化合物是地拉罗司。

[0101] 进一步优选的联合疗法化合物可选自用于治疗 $\beta$ -地中海贫血的药物,例如Luspatercept、LentiGlobin BB305(由Bluebird Bio公司开发的基因疗法)、合成铁调素(LJPC-401)、铁调素肽模拟物PTG-300和靶向Tmprss6的反义寡核苷酸(IONIS-TMPRSS6-LRX)。

[0102] 在另一方面,本发明涉及如本文所定义的新的用途和医学治疗,其中将如本文所定义的化合物与如上所定义的联合疗法化合物中的一种或多种以固定剂量或自由剂量联合的联合疗法施用给对其有需要的患者,以供顺序使用。此类联合疗法包括共同施用本发明所定义的化合物与该至少一种另外的药学活性化合物(药物/联合疗法化合物)。

[0103] 固定剂量联合疗法中的联合疗法包括将本文所定义的化合物与该至少一种另外的药学活性化合物以固定剂量制剂共同施用。

[0104] 自由剂量联合疗法中的联合疗法包括通过同时施用单个化合物或通过顺序使用在一段时间段内分布的单个化合物来以相应化合物的自由剂量共同施用如本文所定义的化合物和该至少一种另外的药学活性化合物。

[0105] 在一个特别优选的实施方案中,联合疗法包括同时口服施用化合物127和来自SCD药物(优选为羟基脲和/或疼痛缓解药物)的联合疗法化合物。

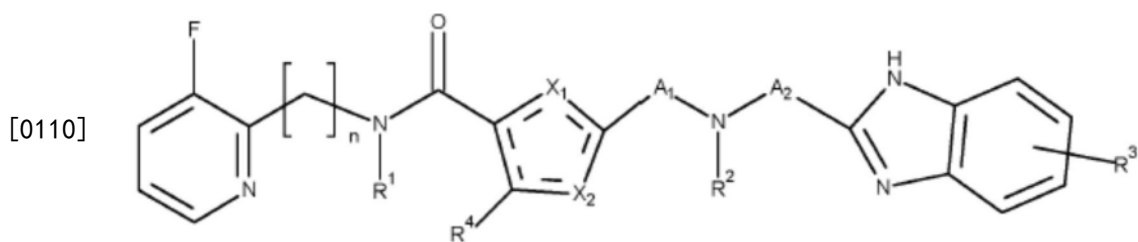
[0106] 本发明的另一个实施方案涉及本文所述的联合疗法,其中药物化合物选自W02020/123850A1中所述的那些化合物,特别是如下所述的其具体实施例化合物之一。

[0107] 另一方面涉及通过在与羟基脲、沃塞洛托、**ADAKVEO®**(立赞利珠单抗)、L-谷氨酰胺口服粉剂(Endari)、胎儿血红蛋白(HbF)诱导剂、PDE9抑制剂(例如IMR-687)和/或疼痛缓解药物的联合疗法中施用如本文所述的化合物127来提供一种用于治疗SCD的新型联合疗法。来自用于与化合物127联合治疗SCD的药物组的最优选的联合疗法化合物是胎儿血红蛋白(HbF)诱导剂。

[0108] 其他有用化合物

[0109] 用于治疗镰状细胞病(SCD)的其他有用化合物描述于W02017/068089、

WO2017068090A1和WO2018/192973中。因此,在一些实施方案中,通过施用式(I)化合物治疗患者



[0111] 其中,

[0112]  $X^1$ 是N或O;并且

[0113]  $X^2$ 是N、S或O;

[0114] 条件是 $X^1$ 和 $X^2$ 是不同的;

[0115]  $R^1$ 选自

[0116] -氢和

[0117] -任选取代的烷基;

[0118] n是1至3的整数;

[0119]  $A^1$ 和 $A^2$ 独立地选自烷二基;

[0120]  $R^2$ 是

[0121] -氢或

[0122] -任选取代的烷基;

[0123] 或

[0124]  $A^1$ 和 $R^2$ 与它们所键合的氮原子一起形成任选取代的4元至6元环;

[0125]  $R^3$ 表示1个、2个或3个任选的取代基,该取代基可独立地选自:

[0126] -卤素、

[0127] -氰基、

[0128] -任选取代的烷基、

[0129] -任选取代的烷氧基和

[0130] -羧基;

[0131]  $R^4$ 选自

[0132] -氢、

[0133] -卤素、

[0134] - $C_1$ - $C_3$ 烷基,和

[0135] -卤素取代的烷基。

[0136] 在一些实施方案中:

[0137] n=1;

[0138]  $R^2$ =氢;

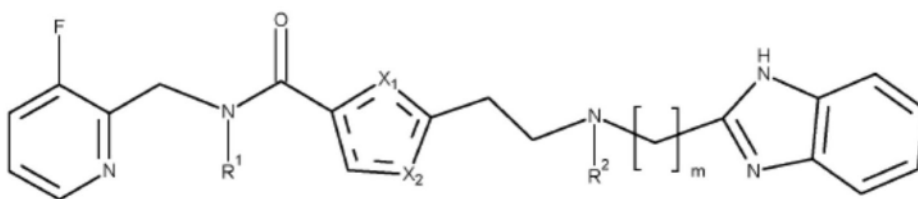
[0139]  $R^3$ =氢;

[0140]  $R^4$ =氢;

[0141]  $A^1$ =亚甲基或乙烷-1,2-二基;

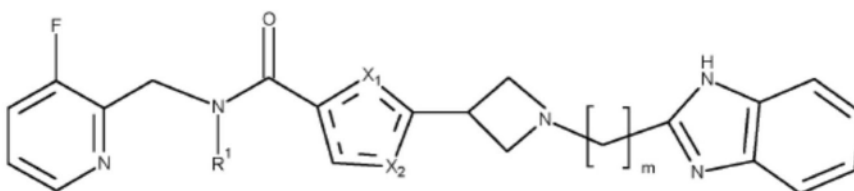
[0142]  $A^2$ =亚甲基、乙烷-1,2-二基或丙烷-1,3-二基;

[0143] 或 $A^1$ 和 $R^2$ 与它们所键合的氮原子一起形成任选取代的4元环,从而形成根据式(II)或(III)的化合物,



(II)

[0144]



(III).

[0145] 其中在式(II)和(III)中

[0146]  $m$ 是整数1、2或3,并且

[0147]  $X^1$ 、 $X^2$ 和 $R^1$ 具有根据式(I)的化合物所定义的含义。

[0148] 在一些实施方案中,用选自以下各项的化合物治疗患者:

实验编号	结构	实验编号	结构
1		40	
2		94	
4		118	

[0149]

[0150]

实验编号	结构	实验编号	结构
126		206	
127		208	
193		233	

[0151] 及其药学上可接受的盐。

[0152] 在进一步优选方面,本发明涉及如本文所定义的新的用途和治疗方法,其中式(I)、(II)或(III)的化合物选自:

实验编号	结构	实验编号	结构
1		127	
2		206	
4		208	
126		233	

[0153]

[0154] 及其药学上可接受的盐。

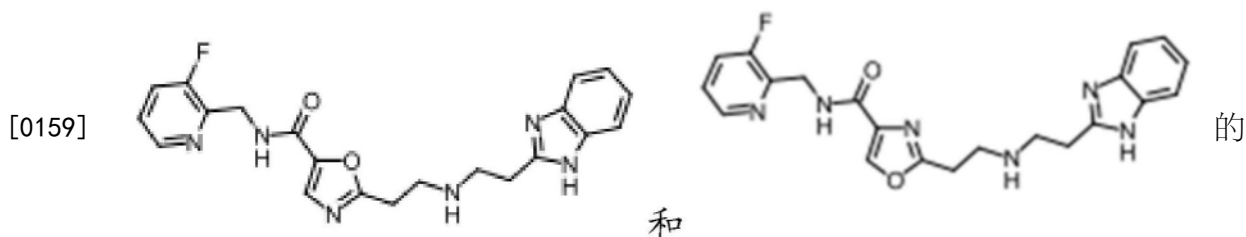
[0155] 在进一步优选方面,本发明涉及如本文所定义的新的用途和治疗方法,其中式(I)、(II)或(III)的化合物选自:

实验编号	结构	实验编号	结构
1		127	
208			

[0156]

[0157] 及其药学上可接受的盐。

[0158] 在一些实施方案中,该方法包括施用选自



化合物及其药学上可接受的盐。


[0160] 在式I、II和III中,取代基定义如下:

[0161] 任选取代的烷基优选地包括:优选地含有1个至8个,更优选地1个至6个,特别优选地1个至4个,甚至更优选地1个、2个或3个碳原子的直链或支链烷基,也表示为 $C_1$ - $C_4$ 烷基或 $C_1$ - $C_3$ 烷基。

[0162] 任选取代的烷基还包括优选地含有3个至8个、更优选地5个或6个碳原子的环烷基。

[0163] 含有1个至8个碳原子的烷基残基的示例包括:甲基基团、乙基基团、正丙基基团、异丙基基团、正丁基基团、异丁基基团、仲丁基基团、叔丁基基团、正戊基基团、异戊基基团、仲戊基基团、叔戊基基团、2-甲基丁基基团、正己基基团、1-甲基戊基基团、2-甲基戊基基团、3-甲基戊基基团、4-甲基戊基基团、1-乙基丁基基团、2-乙基丁基基团、3-乙基丁基基团、1,1-二甲基丁基基团、2,2-二甲基丁基基团、3,3-二甲基丁基基团、1-乙基-1-甲基丙基基团、正庚基基团、1-甲基己基基团、2-甲基己基基团、3-甲基己基基团、4-甲基己基基团、5-甲基己基基团、1-乙基戊基基团、2-乙基戊基基团、3-乙基戊基基团、4-乙基戊基基团、1,1-二甲基戊基基团、2,2-二甲基戊基基团、3,3-二甲基戊基基团、4,4-二甲基戊基基团、1-丙基丁基基团、正辛基基团、1-甲基庚基基团、2-甲基庚基基团、3-甲基庚基基团、4-甲基庚基基团、5-甲基庚基基团、6-甲基庚基基团、1-乙基己基基团、2-乙基己基基团、3-乙基己基基团、4-乙基己基基团、5-乙基己基基团、1,1-二甲基己基基团、2,2-二甲基己基基团、3,3-二甲基己基基团、4,4-二甲基己基基团、5,5-二甲基己基基团、1-丙基戊基基团、2-丙基戊基基团等。含有1个至4个碳原子的那些基团( $C_1$ - $C_4$ 烷基),例如特别是甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基是优选的。 $C_1$ - $C_3$ 烷基,特别是甲基、乙基、丙基和异丙基是更优选的。最优选的是 $C_1$ 和 $C_2$ 烷基,例如甲基和乙基。

[0164] 含有3个至8个碳原子的环烷基残基优选地包括:环丙基基团、环丁基基团、环戊基基团、环己基基团、环庚基基团和环辛基基团。环丙基基团、环丁基基团、环戊基基团和环己基基团是优选的。环丙基基团是特别优选的。

[0165] 如上所定义的任选取代的烷基的取代基优选地包括1个、2个或3个相同或不同的取代基,选自例如:如下所定义的卤素,例如优选的F,如上所定义环烷基,例如优选的环丙基,如下所定义的任选取代的杂芳基,例如优选的苯并咪唑基基团,如下所定义的任选取代的氨基,例如优选的氨基基团或苄氧羰基氨基、羧基基团,如下所定义的氨基羰基基团,以及亚烷基基团例如特别是亚甲基基团,形成例如亚甲基取代的乙基基团( $CH_3$ - $(C=CH_2)$ -或  其中\*表示结合位点)。

[0166] 卤素包括氟、氯、溴和碘,优选为氟或氯,最优选为氟。

[0167] 被卤素取代并含有1个至8个碳原子的直链或支链烷基残基的示例包括:氟甲基基

团、二氟甲基基团、三氟甲基基团、氯甲基基团、二氯甲基基团、三氯甲基基团、溴甲基基团、二溴甲基基团、三溴甲基基团、1-氟乙基基团、1-氯乙基基团、1-溴乙基基团、2-氟乙基基团、2-氯乙基基团、2-溴乙基基团、二氟乙基基团例如1,2-二氟乙基基团、1,2-二氯乙基基团、1,2-二溴乙基基团、2,2-二氟乙基基团、2,2-二氯乙基基团、2,2-二溴乙基基团、2,2,2-三氟乙基基团、七氟乙基基团、1-氟丙基基团、1-氯丙基基团、1-溴丙基基团、2-氟丙基基团、2-氯丙基基团、2-溴丙基基团、3-氟丙基基团、3-氯丙基基团、3-溴丙基基团、1,2-二氟丙基基团、1,2-二氯丙基基团、1,2-二溴丙基基团、2,3-二氟丙基基团、2,3-二氯丙基基团、2,3-二溴丙基基团、3,3,3-三氟丙基基团、2,2,3,3,3-五氟丙基基团、2-氟丁基基团、2-氯丁基基团、2-溴丁基基团、4-氟丁基基团、4-氯丁基基团、4-溴丁基基团、4,4,4-三氟丁基基团、2,2,3,3,4,4,4-七氟丁基基团、全氟丁基基团、2-氟戊基基团、2-氯戊基基团、2-溴戊基基团、5-氟戊基基团、5-氯戊基基团、5-溴戊基基团、全氟戊基基团、2-氟己基基团、2-氯己基基团、2-溴己基基团、6-氟己基基团、6-氯己基基团、6-溴己基基团、全氟己基基团、2-氟庚基基团、2-氯庚基基团、2-溴庚基基团、7-氟庚基基团、7-氯庚基基团、7-溴庚基基团、全氟庚基基团等。尤其提及氟烷基、二氟烷基和三氟烷基,并且三氟甲基以及单和二氟乙基是优选的。特别优选的是三氟甲基。

[0168] 环烷基取代的烷基基团的示例包括上述含有1个至3个、优选1个环烷基基团的烷基残基,例如:环丙基甲基、环丁基甲基、环戊基甲基、环己基甲基、2-环丙基乙基、2-环丁基乙基、2-环戊基乙基、2-环己基乙基、2-环丙基丙基或3-环丙基丙基、2-环丁基丙基或3-环丁基丙基、2-环戊基丙基或3-环戊基丙基、2-环己基丙基或3-环己基丙基等。优选的是环丙基甲基。

[0169] 杂芳基取代的烷基基团的示例包括上述含有1个至3个,优选1个(任选取代的)杂芳基基团的烷基残基,例如吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、吡唑基、咪唑基、苯并咪唑基、噻吩基或噁唑基,例如吡啶-2-基-甲基、吡啶-3-基-甲基、吡啶-4-基-甲基、2-吡啶-2-基-乙基、2-吡啶-1-基-乙基、2-吡啶-3-基-乙基、哒嗪-3-基-甲基、嘧啶-2-基-甲基、嘧啶-4-基-甲基、吡嗪-2-基-甲基、吡唑-3-基-甲基、吡唑-4-基-甲基、吡唑-5-基-甲基、咪唑-2-基-甲基、咪唑-5-基-甲基、苯并咪唑-2-基-甲基、噻吩-2-基-甲基、噻吩-3-基-甲基、3-噁唑-2-基-甲基。

[0170] 优选被苯并咪唑基取代的烷基基团,例如苯并咪唑-2-基-甲基和苯并咪唑-2-基-乙基。

[0171] 氨基取代的烷基残基的示例包括上述含有1个至3个、优选1个(任选取代的)如下所定义的氨基的烷基残基,例如氨基烷基( $\text{NH}_2$ -烷基)或单或二烷基氨基-烷基,例如氨基甲基、2-氨基乙基、2-氨基丙基或3-氨基丙基、甲基氨基甲基、甲基氨基乙基、甲基氨基丙基、2-乙基氨基甲基、3-乙基氨基甲基、2-乙基氨基乙基、3-乙基氨基乙基等,优选3-氨基丙基,或可被任选取代的烷氧基羰基氨基取代的烷基基团,例如根据下式的基团



[0173] 任选取代的氨基优选地包括:氨基( $-\text{NH}_2$ )、任选取代的单或二烷基氨基(烷基-

NH-、(烷基)<sub>2</sub>N-),其中关于“烷基”可参考上述任选取代的烷基的定义。优选的是单或二甲基氨基、单或二乙基氨基以及单丙基氨基。最优选的是氨基(-NH<sub>2</sub>)和单丙基氨基。

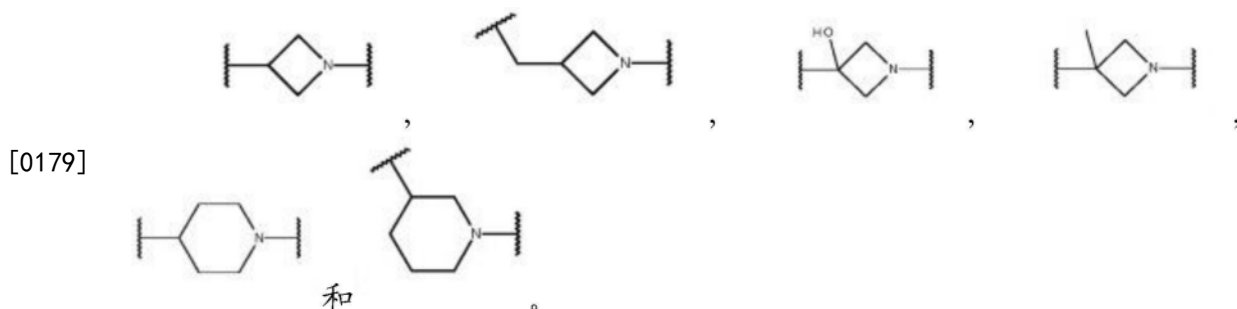
[0174] 此外,羧基基团表示基团[-(C=O)-OH]并且氨基羰基基团表示基团[NH<sub>2</sub>-(C=O)-]。


[0175] 任选取代的烷氧基包括任选取代的烷基-O-基团,其中可参考烷基基团的前述定义。优选的烷氧基基团是含有至多6个碳原子的直链或支链烷氧基基团,例如甲氧基基团、乙氧基基团、正丙氧基基团、异丙氧基基团、正丁氧基基团、异丁氧基基团、仲丁氧基基团、叔丁氧基基团、正戊氧基基团、异戊氧基基团、仲戊氧基基团、叔戊氧基基团、2-甲基丁氧基基团、正己氧基基团、异己氧基基团、叔己氧基基团、仲己氧基基团、2-甲基戊氧基基团、3-甲基戊氧基基团、1-乙基丁氧基基团、2-乙基丁氧基基团、1,1-二甲基丁氧基基团、2,2-二甲基丁氧基基团、3,3-二甲基丁氧基基团、1-乙基-1-甲基丙氧基基团,以及环烷氧基基团例如环戊氧基基团或环己氧基基团。甲氧基基团、乙氧基基团、正丙氧基基团和异丙氧基基团是优选的。甲氧基和乙氧基基团是更优选的。特别优选的是甲氧基基团。

[0176] 任选取代的烷二基优选地是具有1个至6个、优选1个至4个、更优选1个、2个或3个碳原子的二价直链或支链的烷二基,该烷二基可任选地带有1个至3个、优选1个或2个选自卤素、羟基(-OH)、氧代(=O;形成羰基或酰基基团[-(C=O)-])和如上定义的烷基基团例如优选甲基的取代基。以下可作为优选示例提及:亚甲基、乙烷-1,2-二基、乙烷-1,1-二基、丙烷-1,3-二基、丙烷-1,1-二基、丙烷-1,2-二基、丙烷-2,2-二基、丁烷-1,4-二基、丁烷-1,2-二基、丁烷-1,3-二基、丁烷-2,3-二基、丁烷-1,1-二基、丁烷-2,2-二基、丁烷-3,3-二基、戊烷-1,5-二基等。特别优选的是亚甲基、乙烷-1,2-二基、乙烷-1,1-二基、丙烷-1,3-二基、丙烷-2,2-二基和丁烷-2,2-二基。最优选的是亚甲基、乙烷-1,2-二基和丙烷-1,3-二基。

[0177] 优选取代的烷二基是羟基取代的烷二基例如羟基取代的乙烷二基,氧代取代的烷二基例如氧代取代的亚甲基或乙烷二基,从而形成羰基或酰基(乙酰基)基团、卤素取代的烷二基基团。

[0178] 在一些情况下,具有如上所定义的直链或支链烷二基基团含义的A<sup>1</sup>和具有如上所定义的任选取代的烷基基团含义的R<sup>2</sup>与它们所键合的氮原子一起形成任选取代的4元至6元环,该环可被1个至3个如上所定义的取代基取代。因此,A<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>可一起来自根据下式之一的基团



[0180] 其中优选(取代或未取代的)形成4元环,例如非常特别地为基团其中左侧结合位点表示与式(I)中位置X<sup>1</sup>和X<sup>2</sup>之间的杂环5元环的直接结合位点。右侧结合位点表示与具有本文所定义的烷二基含义的基团A<sup>2</sup>的结合位点。

[0181] 在本文所定义的式(I)中,n具有整数1至3的含义,包括1、2或3,因此表示亚甲基基团、乙烷-1,2-二基基团或丙烷-1,3-二基基团。更优选地n是1或2,并且甚至更优选地n是1,表示亚甲基基团。

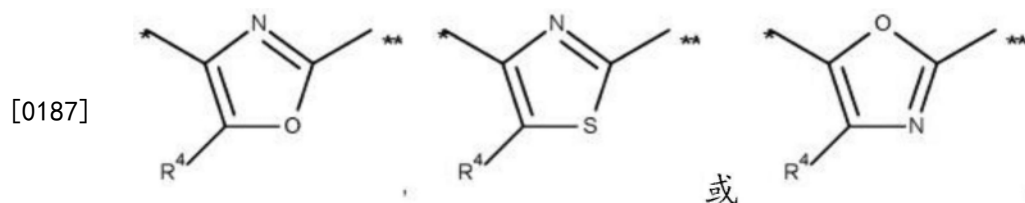
[0182] 在一些实施方案中:

[0183] A)  $X^1$ 是N或O;并且

[0184]  $X^2$ 是N、S或O;

[0185] 条件是 $X^1$ 和 $X^2$ 是不同的;

[0186] 从而形成根据下式的5元杂环,



[0188] 其中\*表示与氨基羰基基团的结合位点,\*\*表示与 $A^1$ 基团的结合位点。

[0189] B) n是整数1、2或3;优选地n是1或2,更优选地n是1。

[0190] C)  $R^1$ 选自

[0191] -氢和

[0192] -任选取代的烷基(如上所定义);

[0193] 优选地 $R^1$ 是氢或甲基,更优选地 $R^1$ 是氢。

[0194] D)  $R^2$ 选自

[0195] -氢和

[0196] -任选取代的烷基(如上所定义);

[0197] 优选地 $R^2$ 是氢或 $C_1-C_4$ 烷基,更优选地 $R^2$ 是氢或甲基,甚至更优选地 $R^2$ 是氢。

[0198] E)  $R^3$ 表示1个、2个或3个任选的取代基,这些取代基可以独立地选自

[0199] -卤素(如上所定义)、

[0200] -氰基、

[0201] -任选取代的烷基(如上所定义)、

[0202] -任选取代的烷氧基(如上所定义)和

[0203] -羧基(如上所定义);

[0204] 优选地 $R^3$ 表示1个或2个任选的取代基,这些取代基可以独立地选自

[0205] -卤素、

[0206] -氰基、

[0207] -烷基(如上所定义)(其可被1个、2个或3个卤素原子(如上所定义)取代)、任选取代的烷氧基(如上所定义)和

[0208] 羧基(如上所定义);

[0209] 更优选地 $R^3$ 表示1个或2个任选的取代基,这些取代基可以独立地选自

[0210] -F和Cl、

[0211] -氰基、

[0212] -三氟甲基、

- [0213] -甲氧基和
- [0214] -羧基;
- [0215] 甚至更优选地 $R^3$ 是氢,表示式(I)中未取代的末端苯并咪唑基环。
- [0216] F) $R^4$ 选自
- [0217] -氢、
- [0218] -卤素(如上所定义)、
- [0219] - $C_1$ - $C_3$ 烷基和
- [0220] -卤素取代的烷基(如上所定义);
- [0221] 优选地 $R^4$ 选自
- [0222] -氢、
- [0223] -Cl、
- [0224] -甲基、乙基、异丙基和
- [0225] -三氟甲基;
- [0226] 更优选地 $R^4$ 选自
- [0227] -氢、
- [0228] -Cl、
- [0229] -甲基和
- [0230] -三氟甲基;
- [0231] 更优选地 $R^4$ 选自
- [0232] -氢、
- [0233] -Cl和
- [0234] -甲基;
- [0235] 甚至更优选地 $R^4$ 是氢。
- [0236] G) $A^1$ 是烷二基;
- [0237] 优选地 $A^1$ 是亚甲基或乙烷-1,2-二基,更优选地 $A^1$ 是乙烷-1,2-二基。
- [0238] H) $A^2$ 是烷二基;
- [0239] 优选地 $A^2$ 是亚甲基、乙烷-1,2-二基或丙烷-1,3-二基;
- [0240] 更优选地 $A^2$ 是亚甲基或乙烷-1,2-二基,甚至更优选地 $A^2$ 是乙烷-1,2-二基。
- [0241] I) 或 $A^1$ 和 $R^2$ 与它们所键合的氮原子一起形成如上所定义的任选取代的4元至6元环;
- [0242] 其中 $A^1$ 和 $R^2$ 与它们所键合的氮原子一起优选地形成如上所定义的任选取代的4元环;
- [0243] 其中 $A^1$ 和 $R^2$ 与它们所键合的氮原子一起更优选地形成未取代的4元环(氮杂环丁基环)。
- [0244] 下列(I)的化合物的取代基可特别具有以下含义:
- [0245] n具有根据上述B)的含义中的任一者,并且其余取代基可具有A)和C)至I)中定义的含义中的任一者。
- [0246]  $R^1$ 具有根据上述C)的含义中的任一者,并且其余取代基可具有A)和B)和D)至I)中定义的含义中的任一者。

[0247]  $R^2$ 具有根据上述D)的含义中的任一者,并且其余取代基可具有A)至C)和E)至H)或I)中定义的含义中的任一者。

[0248]  $R^3$ 具有根据上述E)的含义中的任一者,并且其余取代基可具有A)至D)和F)至I)中定义的含义中的任一者。

[0249]  $R^4$ 具有根据上述F)的含义中的任一者,并且其余取代基可具有A)至E)和G)至I)中定义的含义中的任一者。

[0250]  $A^1$ 具有根据上述G)的含义中的任一者,并且其余取代基可具有A)至F)和H)或I)中定义的含义中的任一者。

[0251]  $A^2$ 具有根据上述H)的含义中的任一者,并且其余取代基可具有A)至G)和I)中定义的含义中的任一者。

[0252]  $R^2$ 和 $A^1$ 具有如I)中定义的含义中的任一者,并且其余取代基可具有如A)至C)、E)、F)和H)中定义的含义中的任一者。

[0253] 在一些情况下, $X^1$ 是N或O;并且 $X^2$ 是N、S或O;条件是 $X^1$ 和 $X^2$ 不同; $R^1$ 是氢; $n$ 是1、2或3; $A^1$ 是亚甲基或乙烷-1,2-二基; $A^2$ 是亚甲基、乙烷-1,2-二基或丙烷-1,3-二基; $R^2$ 是氢或 $C_1$ - $C_4$ 烷基;

[0254] 或

[0255]  $A^1$ 和 $R^2$ 与它们所键合的氮原子一起形成任选取代的4元环; $R^3$ 表示1个或2个任选的取代基,其可独立地选自

[0256] -卤素、

[0257] -氰基、

[0258] -烷基,其可被1个、2个或3个卤素原子取代、

[0259] -任选取代的烷氧基和

[0260] -羧基;

[0261]  $R^4$ 选自

[0262] -氢、

[0263] -Cl、

[0264] -甲基、乙基、异丙基和

[0265] -三氟甲基;或其盐

[0266] 在一些情况下,该盐选自式(I)化合物与选自苯甲酸、柠檬酸、富马酸、盐酸、乳酸、苹果酸、马来酸、甲磺酸、磷酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸和甲苯磺酸的酸的盐,其特征在于化合物(I)与酸的比率为1-2:1-3。

[0267] 在通式I化合物的一些情况下: $X^1$ 是N或O;并且 $X^2$ 是N、S或O;条件是 $X^1$ 和 $X^2$ 不同; $R^1$ 是氢; $n$ 是1或2; $A^1$ 是亚甲基或乙烷-1,2-二基; $A^2$ 是亚甲基、乙烷-1,2-二基或丙烷-1,3-二基; $R^2$ 是氢或甲基;

[0268] 或

[0269]  $A^1$ 和 $R^2$ 与它们所键合的氮原子一起形成未取代的4元环;

[0270]  $R^3$ 表示1个或2个任选的取代基,这些取代基能够独立地选自

[0271] -F和Cl、

[0272] -氰基、

[0273] -三氟甲基、

[0274] -甲氧基和

[0275] -羧基；

[0276]  $R^4$ 选自

[0277] -氢、

[0278] -Cl、

[0279] -甲基和

[0280] -三氟甲基；

[0281] 在一些情况下,该盐选自式(I)化合物与选自苯甲酸、柠檬酸、富马酸、盐酸、乳酸、苹果酸、马来酸、甲磺酸、磷酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸和甲苯磺酸的酸的盐,其特征在于化合物(I)与酸的比率为1-2:1-3。

[0282] 在式(I)化合物的一些实施方案中: $X^1$ 是N或O;并且 $X^2$ 是N、S或O;条件是 $X^1$ 和 $X^2$ 不同; $R^1$ 是氢; $n$ 是1; $A^1$ 是亚甲基或乙烷-1,2-二基; $A^2$ 是亚甲基、乙烷-1,2-二基或丙烷-1,3-二基; $R^2$ 是氢;

[0283] 或

[0284]  $A^1$ 和 $R^2$ 与它们所键合的氮原子一起形成未取代的4元环; $R^3$ 表示氢,从而形成未取代的末端苯并咪唑基环; $R^4$ 选自

[0285] -氢、

[0286] -Cl和

[0287] -甲基或其盐;

[0288] 其中该盐选自式(I)化合物与选自苯甲酸、柠檬酸、富马酸、盐酸、乳酸、苹果酸、马来酸、甲磺酸、磷酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸和甲苯磺酸的酸的盐,其特征在于化合物(I)与酸的比率为1-2:1-3。

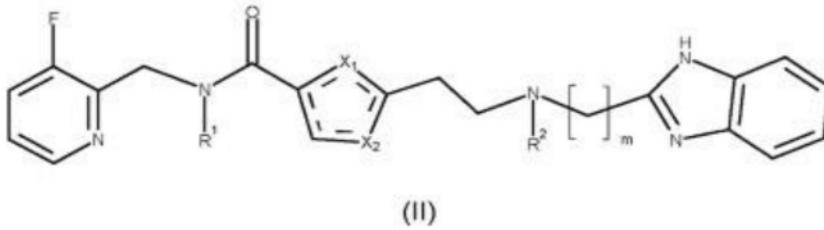
[0289] 在式(I)化合物的一些实施方案中: $X^1$ 是N或O;并且 $X^2$ 是N、S或O;条件是 $X^1$ 和 $X^2$ 不同; $R^1$ 是氢; $n$ 是1; $A^1$ 是亚甲基或乙烷-1,2-二基; $A^2$ 是亚甲基、乙烷-1,2-二基或丙烷-1,3-二基; $R^2$ 是氢;

[0290] 或

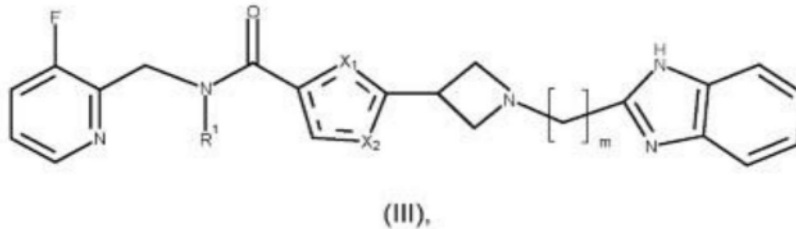
[0291]  $A^1$ 和 $R^2$ 与它们所键合的氮原子一起形成未取代的4元环; $R^3$ 表示氢,从而形成未取代的末端苯并咪唑基环;并且 $R^4$ 是氢;或其盐。

[0292] 在一些实施方案中,该盐选自式(I)、(II)、(III)的化合物或根据下文定义的W02020/123850A1的化合物与选自苯甲酸、柠檬酸、富马酸、盐酸、乳酸、苹果酸、马来酸、甲磺酸、磷酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸和甲苯磺酸的酸的盐,其特征在于化合物(I)与酸的比率为1-2:1-3;以及

[0293] 在式(I)化合物的一些实施方案中: $n=1$ ; $R^3=$ 氢; $R^4=$ 氢; $A^1=$ 乙烷-1,2-二基; $A^2=$ 亚甲基、乙烷-1,2-二基或丙烷-1,3-二基; $R^2=$ 氢;或 $A^1$ 和 $R^2$ 与它们所键合的氮原子一起形成任选取代的4元环,从而形成下式(II)或(III)的化合物:



[0294]



[0295] 其中在式 (II) 和 (III) 中

[0296] m是整数1、2或3,并且

[0297] X<sup>1</sup>、X<sup>2</sup>和R<sup>1</sup>具有上述在包括式 (I) 化合物的任何实施方案中定义的含义。[0298] 特别地,在式 (II) 和 (III) 中,X<sup>1</sup>和X<sup>2</sup>具有如A)中所定义的含义。[0299] 在式 (II) 中,R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>优选地是氢。[0300] 在式 (III) 中,R<sup>1</sup>优选地是氢并且m优选地是2。[0301] 在通式 (II) 化合物的另一优选实施方案中:X<sup>1</sup>和X<sup>2</sup>选自N和O且不同;R<sup>1</sup>=氢;R<sup>2</sup>=氢;并且m=2。

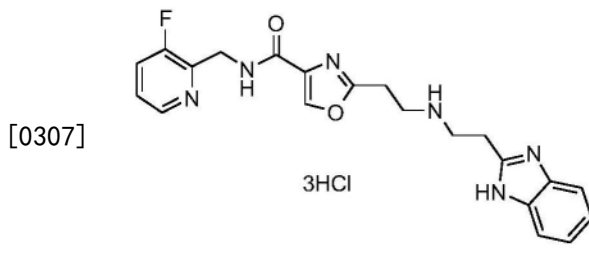
[0302] 形成盐的化合物 (I)、(II) 或 (III) 或根据下面定义的W02020/123850A1的化合物也称为“碱”或“游离碱”。游离碱形式的式 (I)、(II) 或 (III) 化合物或下面定义的W02020/123850A1的化合物具有至少一个碱性基团,例如氨基基团,酸性基团可与其结合。

[0303] 式 (I)、(II) 或 (III) 化合物或下面定义的W02020/123850A1的化合物的盐可选自具有碱(化合物 (I)、(II) 或 (III)) 与酸的比率为1-2:1-3的盐,其中关于成盐的酸参考上面定义的选择。

[0304] 这些化合物可以是碱(化合物 (I)、(II) 或 (III)) 与上述酸中的一种或多种的混合盐,其可具有相同或不同的比例(碱:酸)。这些酸为化合物 (I)、(II) 或 (III) 的阳离子形式提供了抗衡阴离子。

[0305] 特别优选的是上述化合物的3HCl盐。

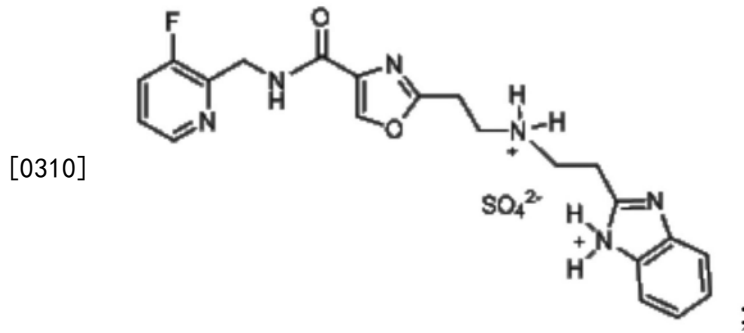
[0306] 在特别优选的实施方案中,该方法包括施用化合物127的3HCl盐,



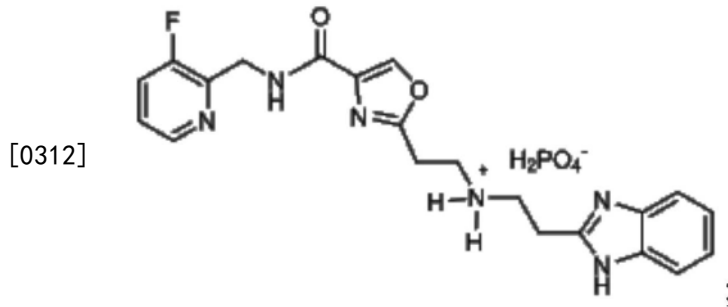
[0307]

[0308] 在本发明的另一方面,化合物127可以下列盐之一的形式施用:

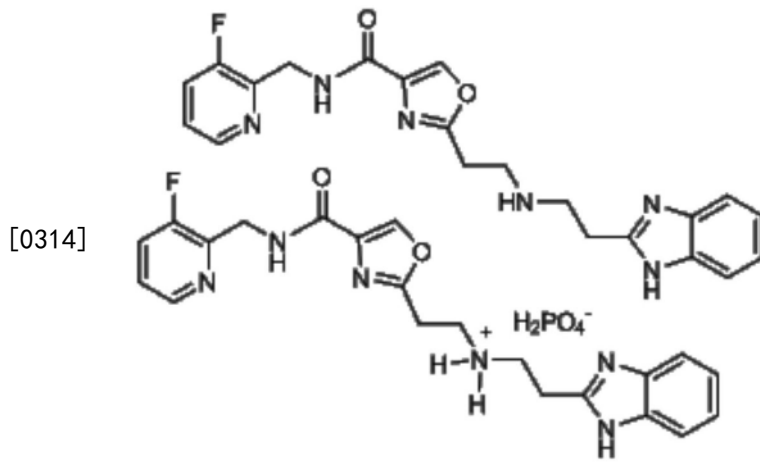
[0309] 具有下式的1:1硫酸盐



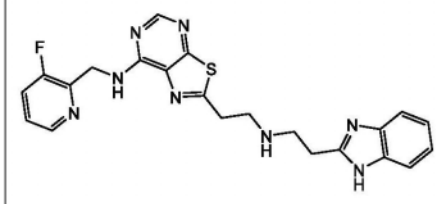
[0311] 具有下式的1:1磷酸盐

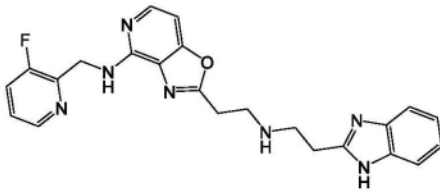
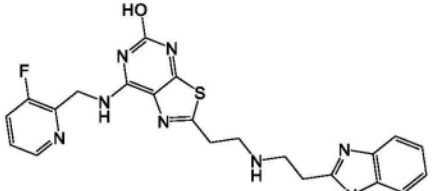
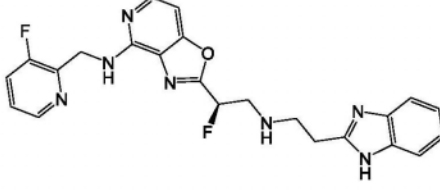
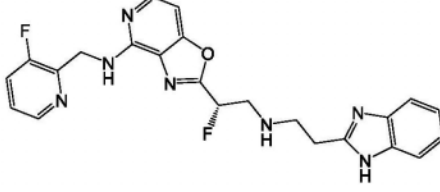
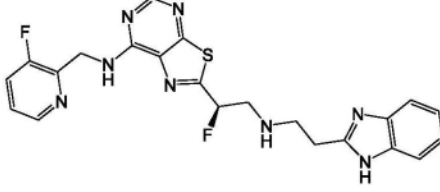


[0313] 2:1磷酸盐(半磷酸盐)



[0315] 如本文定义的充当膜铁转运蛋白抑制剂并且适用于治疗SCD的其他化合物是W02020/123850A1中描述的那些化合物,其以引用方式整体并入本文。W02020/123850A1中描述的适用于治疗本文定义的SCD的那些具体化合物可选自:

	结构	IUPAC名称	实测值(M+1)
[0316]		2-(2-([2-(1H-1,3-苯并二唑-2-基)乙基]氨基)乙基)-N-[(3-氟吡啶-2-基)甲基]-[1,3]噻唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺	449.2

		2-(2-{[2-(1H-1,3-苯并二唑-2-基)乙基]氨基}乙基)-N-[(3-氟吡啶-2-基)甲基]-[1,3]恶唑并[4,5-c]吡啶-4-胺	432.2
		2-(2-{[2-(1H-1,3-苯并二唑-2-基)乙基]氨基}乙基)-7-[[3-(3-氟吡啶-2-基)甲基]氨基]-[1,3]噻唑并[5,4-d]嘧啶-5-醇	465.1
[0317]		2-[(1R)-2-{[2-(1H-1,3-苯并二唑-2-基)乙基]氨基}-1-氟乙基]-N-[(3-氟吡啶-2-基)甲基]-[1,3]恶唑并[4,5-c]吡啶-4-胺	450.2
		2-[(1S)-2-{[2-(1H-1,3-苯并二唑-2-基)乙基]氨基}-1-氟乙基]-N-[(3-氟吡啶-2-基)甲基]-[1,3]恶唑并[4,5-c]吡啶-4-胺	450.2
		2-[(1R)-2-{[2-(1H-1,3-苯并二唑-2-基)乙基]氨基}-1-氟乙基]-N-[(3-氟吡啶-2-基)甲基]-[1,3]噻唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺	467

[0318] W02020/123850A1中描述的并且选自上述组的化合物可通过在与胎儿血红蛋白(HbF)诱导剂的联合疗法中施用这些化合物而作为一种用于治疗SCD的新型联合疗法提供。在优选实施方案中,化合物2-(2-{[2-(1H-1,3-苯并二唑-2-基)乙基]氨基}乙基)-N-[(3-氟吡啶-2-基)甲基]-[1,3]恶唑并[4,5-c]吡啶-4-胺是以与胎儿血红蛋白(HbF)诱导剂联合治疗的方式提供以治疗SCD。

#### 附图说明

[0319] 图1: 化合物127对Townes小鼠RBC溶血的影响。该图显示了无细胞Hb、血红素和乳

酸脱氢酶(LDH)的血浆水平。使用市售试剂盒(无细胞Hb试剂盒#CSB E09632h,Cusabio;血红蛋白测定试剂盒#MAK316,Sigma Aldrich)并按照制造商的说明书测量溶血标志物。使用日立自动临床化学分析仪测量血浆中的LDH。显示了个体值和平均值 $\pm$ SD,通过使用单因素方差分析(one-way ANOVA)与Dunnett多重比较试验(Dunnett's multiple comparison test)比较所有治疗组与HbSS溶媒组进行统计学分析,其中 $*p<0.05$ , $**p<0.01$ , $***p<0.001$ , $n=9-10$ 只小鼠/组。

[0320] 图2:用化合物127或溶媒处理6周的Townes小鼠中的RBC指数。显示了个体值和平均值 $\pm$ SD,通过使用单因素方差分析与Dunnett多重比较试验比较所有治疗组与HbSS溶媒组进行统计学分析,其中 $*p<0.05$ , $**p<0.01$ , $***p<0.001$ , $n=9-10$ 只小鼠/组。

[0321] 图3:化合物127校正了Townes小鼠中WBC计数的升高。显示了个体值和平均值 $\pm$ SD,通过使用单因素方差分析与Dunnett多重比较试验比较所有治疗组与HbSS溶媒组进行统计学分析,其中 $*p<0.05$ , $**p<0.01$ , $***p<0.001$ , $n=5-10$ 只小鼠/组。

[0322] 图4:化合物127减小了Townes小鼠中脾和肝的大小。显示了个体值和平均值 $\pm$ SD,通过使用单因素方差分析与Dunnett多重比较试验比较所有治疗组与HbSS溶媒组进行统计学分析,其中 $*p<0.05$ , $**p<0.01$ , $***p<0.001$ , $n=9-10$ 只小鼠/组。

[0323] 图5:用化合物127或溶媒处理6周的Townes小鼠器官中总铁水平和 $^{58}\text{Fe}$ 水平。显示了个体值和平均值 $\pm$ SD,通过使用单因素方差分析与Dunnett多重比较试验比较所有治疗组与HbSS溶媒组进行统计学分析,其中 $*p<0.05$ , $**p<0.01$ , $***p<0.001$ , $n=8-10$ 只小鼠/组。

[0324] 图6:化合物127降低了用化合物127处理6周的镰状小鼠中含有线粒体的成熟RBC的百分比。

[0325] 图7:化合物127降低了Townes小鼠中sVCAM-1的血浆水平。通过ELISA测定sVCAM-1。显示了个体值和平均值 $\pm$ SD,通过使用单因素方差分析与Dunnett多重比较试验比较所有治疗组与HbSS溶媒组进行统计学分析,其中 $*p<0.05$ , $**p<0.01$ , $***p<0.001$ , $n=6-9$ 只小鼠/组。

[0326] 图8:在第43/44天施用最后一剂化合物127后3小时测定血浆铁。显示了平均值 $\pm$ SD的各个值。显示与HbSS溶媒组相比的显著差异: $*P<0.05$ , $**p<0.01$ , $***p<0.001$ (单因素方差分析与Dunnett多重比较试验)。

[0327] 图9:在第43/44天使用西门子Advia 120自动血液分析仪测量HbSS和HbAA小鼠的MCHC(左图)和CHCM(右图)。显示了平均值 $\pm$ SD的各个值。显示与HbSS溶媒组相比的显著差异: $*P<0.05$ , $**p<0.01$ , $***p<0.001$ (单因素方差分析与Dunnett多重比较试验)。

[0328] 图10:在第43/44天使用西门子Advia 120自动血液分析仪测量雄性和雌性HbSS小鼠和HbAA小鼠中低色素性红细胞(左上图)、小红细胞(右上图)、高色素性红细胞(左下图)和大红细胞(右下图)的百分比。显示了平均值 $\pm$ SD的各个值。显示与HbSS溶媒组相比的显著差异: $*P<0.05$ , $**p<0.01$ , $***p<0.001$ (单因素方差分析与Dunnett多重比较试验)。

[0329] 图11:研究第43/44天HbSS和HbAA小鼠血浆中的总胆红素和间接胆红素。显示了平均值 $\pm$ SD的各个值。显示与HbSS溶媒组相比的显著差异: $*P<0.05$ , $**p<0.01$ , $***p<0.001$ (单因素方差分析与Dunnett多重比较试验)。

[0330] 图12:研究结束时HbSS和HbAA小鼠血浆中sP-选择素(左图)和RANTES(右图)的血

浆水平。显示了平均值±SD的各个值。显示与HbSS溶媒组相比的显著差异:\*P<0.05,\*\*p<0.01,\*\*\*p<0.001(单因素方差分析与Dunnett多重比较试验)。

[0331] 图13:HbSS和HbAA小鼠全血中的血浆黄嘌呤氧化酶(XO)活性和胞内活性氧(ROS)。XO的血浆活性和ROS阳性成熟RBC的百分比显示为平均值±SD的各个值。显示与HbSS溶媒组相比的显著差异:\*P<0.05,\*\*p<0.01,\*\*\*p<0.001(单因素方差分析与Dunnett多重比较试验)。

[0332] 图14:化合物127降低了Townes小鼠RBC中的细胞内铁(<sup>56</sup>Fe和<sup>58</sup>Fe)。通过ICP-MS测定Townes小鼠中洗涤后RBC中的细胞内<sup>56</sup>Fe和<sup>58</sup>Fe含量并将其归一化为RBC计数。显示了平均值±SD的各个值,通过使用单因素方差分析与Dunnett多重比较试验比较所有治疗组与HbSS溶媒组进行统计学分析,其中\*p<0.05,n=6-9小鼠/组。

[0333] 图15:化合物127减少了Townes小鼠肝脏门静脉周围炎症(periportal inflammation)和趋化因子CXCL1 mRNA表达。在H&E染色的石蜡切片上评估门静脉周围炎症的发生。通过RT-qPCR评估总肝RNA中CXCL1的mRNA表达。显示了个体评分或个体deltaCt值和平均值±SD,通过使用单因素方差分析与Dunnett多重比较试验比较所有治疗组与HbSS溶媒组进行统计学分析,其中\*p<0.05,\*\*p<0.01,\*\*\*p<0.001,n=7-11只小鼠/组。

[0334] 图16:化合物127减少了肝损伤的生物标志物。使用日立自动临床化学分析仪测量血浆中丙氨酸转氨酶(ALT)活性。显示了平均值±SD的各个值,通过未配对的双尾学生t检验进行统计学分析,其中\*p<0.05,\*\*p<0.01,\*\*\*p<0.001,n=9-10只小鼠/组。

[0335] 图17:化合物127减少了Townes小鼠肺中IL-1βmRNA表达。通过RT-qPCR评估总肺RNA中IL-1β的mRNA表达。显示了各个deltaCt值和平均值±SD,通过使用单因素方差分析与Dunnett多重比较试验比较所有治疗组与HbSS溶媒组进行统计学分析,其中\*p<0.05,n=8-12小鼠/组。

[0336] 在图1至图17中,“VIT-2763”表示化合物127(其以3HCl盐的形式存在)。

[0337] 详细说明

[0338] Townes小鼠已经被遗传工程化以专门表达人镰状血红蛋白(Ryan等人,1990年,《科学》,第247卷:第566页)。Townes小鼠具有贫血、网织红细胞计数高、脾肿大、血管炎症,并且由于缺氧、炎症和溶血而易于血管闭塞(VO)。

[0339] 以下描述的研究使用了人HbS(HbSS)纯合型雄性和雌性小鼠以及表达野生型(WT)人血红蛋白HbA的对照小鼠(HbAA)。

[0340] 第一项研究(图1至图7):

[0341] 小鼠购自美国杰克逊实验室(B6;129Hbbtm2(HBG1,HBB\*)TOW/Hbbtm3(HBG1,HBB)Tow Hbatm1(HBA)TOW/J,品种号:013071;“Townes小鼠”),年龄为10周至12周,喂食低铁含量的饮食(10-13ppm的铁,Granovit)并每日两次口服(bid)施用60mg/kg或120mg/kg体重剂量的化合物127或溶媒(0.5%甲基纤维素/水),持续6周,不包括周末。在化合物剂量之间,小鼠可饮用含有稳定铁同位素<sup>58</sup>Fe(1mM的<sup>58</sup>Fe(II)SO<sub>4</sub>,并补充有10mM的抗坏血酸作为还原剂)的饮用水以替代标准啮齿动物饮食中存在的铁(250ppm的铁)。标记<sup>58</sup>Fe来区分研究期间和研究之前吸收的铁。

[0342] 第二项研究(图8至图13):

[0343] 给HbS(HbSS)纯合型Townes小鼠(6周龄,美国杰克逊实验室,品种号#013071)喂食

低铁饮食 (LID, Granovit, 目录号2039, 0001906903批次, 铁含量为8.6mg/kg), 并以60mg/kg 剂量每日两次 (bid) 口服 (p.o.) 施用化合物127或溶媒0.5% 甲基纤维素 (MC)。在第一次给药后, 小鼠可饮用补充有1mM的<sup>58</sup>Fe (II) 硫酸盐和10mM的抗坏血酸的饮用水 (DW) 6小时。DW中提供的<sup>58</sup>Fe (II) 硫酸盐的浓度已经调整到将膳食铁补充至铁含量为250mg/kg的标准啮齿动物膳食水平。在剩余18小时期间提供不含铁和抗坏血酸的水。对表达正常人血红蛋白 (野生型, WT) 的非镰状Townes小鼠 (HbAA) 每日两次 (bid) 施用溶媒并将这些小鼠用作对照组。施用化合物127或溶媒并随后暴露于含<sup>58</sup>Fe的水中, 重复这一操作44天。周末 (WE) 暂停给药, 在此期间小鼠可随意享用LID并饮用不含<sup>58</sup>Fe的矿泉水。

[0344] 使用MULTIGENT铁测定 (Abbott Diagnostics) 测定血浆铁。

[0345] 在研究的最后一天 (第43/44天) 采集的全血样品中测定血液学参数并使用西门子 Advia 120系统进行测量。

[0346] 用指示剂氯甲基-2', 7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯 (CM-H2DCFDA, Invitrogen, 目录号C6827) 在用APC-eFluor780偶联的大鼠抗小鼠Ter119和PE偶联的大鼠抗小鼠CD71抗体 (eBioscience, 目录号47-5921-82和12-0711) 标记的成熟红细胞 (RBC) 中检测RBC中的活性氧 (ROS)。

[0347] 使用黄嘌呤氧化酶活性测定试剂盒 (Sigma-Aldrich, 目录号MAK078) 测量血浆中黄嘌呤氧化酶的活性。

[0348] 通过使用测定试剂盒 (Sigma-Aldrich, 目录号MAK126) 并根据制造商的说明书测量血浆胆红素。

[0349] 通过ELISA试剂盒 (R&D Systems, 目录号分别为MVC00和DY478-05) 并根据制造商的说明书测量血浆中的sP-选择素和RANTES。

[0350] 化合物127在预防VO来治疗镰状细胞性贫血 (镰状细胞病) 的活性可通过使用W02018/192973中描述的小鼠模型来测定, 例如Yulin Zhao等人在“MEK1/2 inhibitors reverse acute vascular occlusion in mouse models of sickle cell disease”中描述的小鼠模型; 以及FASEB Journal, 第30卷第3期, 第1171-1186页, 2016年中描述的小鼠模型。该小鼠模型可适当地适应于确定化合物127或本发明其他实施方案的化合物在治疗镰状细胞性贫血中VO的活性。可对优化后的测试条件进行适当的调整, 这些调整在本领域技术人员的常规工作范围内。

[0351] 在实施例1至17中描述的两项研究中, 都使用了化合物127的3HC1盐。

[0352] 实施例1: 化合物127减少了Townes小鼠中的溶血发生

[0353] 如用溶媒处理的HbSS对照组中无细胞Hb、血红素、LDH的水平升高所证明的, Townes小鼠中的红细胞 (RBC) 易于溶血 (图1)。值得注意的是, 化合物127显著降低了无细胞Hb、血红素和LDH的水平, 这表明化合物127的膜铁转运蛋白抑制作用减少了Townes小鼠中的溶血发生 (图1)。

[0354] 实施例2: 化合物127对RBC指数的影响

[0355] 第一项研究 (图1至图7):

[0356] 与HbAA小鼠相比, HbSS小鼠贫血并具有指示溶血性贫血的病理学上改变的血液学参数, 例如, RBC计数减少、Hb和补偿性网织红细胞增多症以及白细胞计数升高。在用化合物127处理6周后, 在自动血细胞分析仪上测量新鲜EDTA-血液中的血液学参数。对HbSS小鼠口

服施用化合物127六周,总Hb、RBC计数、血细胞比容、平均红细胞体积(MCV)和平均红细胞血红蛋白(MCH)水平有所降低。SCD患者的RBC中HbS浓度的降低与HbS聚集减少以及临床获益有关(Castro O. Am. J. Hematol., 1994年)。

[0357] 第二项研究(图8至图13):

[0358] 与HbAA对照组相似,Townes HbSS小鼠具有血浆铁水平。在第二项研究中,将化合物127以60mg/kg的剂量每日两次施用于HbSS小鼠44天,并在最后一次给药后3小时测量血浆铁,将其作为急性疗效的标志物。接受化合物127的HbSS小鼠中血浆铁水平显著降低,这证明了化合物127抑制铁转运至血液循环的功效(图8)。

[0359] 此外,用化合物127处理的Townes小鼠中平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)显著降低(图9,左图)。MCHC是通过将裂解血液中的平均Hb浓度除以血细胞比容来计算的。在溶血性疾病(例如SCD)中,由于溶血的血样中存在游离Hb,MCHC值可能会被错误地高估。为了避免出现由于Townes小鼠中过度溶血导致的潜在假象,基于红细胞Hb浓度均值(CHCM)参数评估RBC内HbS的浓度。CHCM是通过激光散射测定的并用于反算细胞Hb,其反映了完整RBC中的血红蛋白含量。CHCM不受溶血影响,并且该值在用化合物127处理的HbSS小鼠中显著降低,这进一步证明了化合物127对铁的限制降低了SCD模型中HbS的浓度(图9,右图)。此外,基于小鼠体积和Hb浓度的RBC分布的散点图分析显示,在用化合物127处理的HbSS小鼠中,低色素性红细胞和小红细胞的百分比显著增加,而大红细胞百分比有所减少(图10)。对Townes小鼠血样的血液学分析表明,通过阻断膜铁转运蛋白,化合物127诱导铁限制性红细胞生成,进而使得RBC中HbS浓度降低。SCD患者的RBC中HbS浓度的降低与HbS聚集减少和临床获益有关(Castro O. Am. J. Hematol., 1994年)。因此,化合物127降低HbS浓度可能是对SCD的一种新型治疗方法。

[0360] 如第一项研究所示和通过无细胞Hb、血红素和LDH的减少所证明的,化合物127减少了Townes小鼠中的溶血发生(图1)。此外,如第二项研究所示,化合物127减少了作为临床相关的溶血标志物总胆红素和间接胆红素,这进一步证明了该化合物减少溶血发生的功效(图11)。

[0361] sRBC、活化的白细胞和游离血红素与内皮的相互作用会引起血管炎症并促进血管闭塞和器官损伤。SCD中内皮功能障碍与可溶性粘附分子例如sVCAM-1和sP-选择素的水平升高有关。

[0362] 两个独立的研究表明,化合物127显著降低了sVCAM-1(图7,第一项研究)和sP-选择素(图12,左图,第二个独立研究),这表明化合物127具有在SCD的Townes模型中减少血管炎症发生从而防止血管闭塞的潜力。

[0363] 源自RBC的血红素可作为损伤相关的分子模式,激活先天免疫系统,引起氧化剂产生、炎症、血管闭塞、局部缺血和组织损伤(Belcher JD等人, J. Clin. Invest., 2006年)。Townes小鼠和SCD患者在血液循环中白细胞增多,产生促炎细胞因子和趋化因子,从而吸引另外的炎性细胞并活化内皮。例如,HbSS小鼠显示出升高的趋化因子RANTES(CCL5)的血浆水平,该趋化因子参与白细胞向炎症部位的募集。用化合物127处理显著降低了HbSS小鼠中的RANTES水平(图12,右图),这表明化合物127不仅减少了血液循环中的白细胞计数(图3)而且还抑制了它们的促炎活性。

[0364] 黄嘌呤氧化酶(XO)的血浆活性在SCD患者中呈上调趋势并被定义为血管超氧化物

和过氧化氢产生增加的来源。还报道了在Townes小鼠血浆中XO活性增加(Osarogiagbon UR等人,Blood,2000年;Aslan M等人,PNAS,2001年),这被认为是ROS产生和氧化性组织损伤的重要来源。事实上,与HbAA小鼠相比,HbSS小鼠中的XO活性显著更高。化合物127降低了HbSS小鼠血浆中的XO活性,这表明血管氧化损伤减少(图13,左图)。此外,使用荧光指示剂CM-H2DCFDA对血细胞中细胞内ROS进行的流式细胞术分析显示,HbSS小鼠的大多数RBC具有高水平的ROS,而用60mg/kg剂量的化合物127进行的每日两次(bid)施用处理显著降低了它们(图13,右图)。

[0365] 化合物127对HbS浓度的降低可能对sRBC具有积极作用。重要的是,化合物127显著降低了网织红细胞计数,其在SCD中由于对溶血的补偿性反应而大大增加(图2)。

[0366] 总之,这些数据清楚地证明了化合物127具有减少氧化应激和血管炎症的潜力,这可能造成血细胞与血管内皮的粘附减少并最终预防SCD的Townes模型中的血管闭塞(VO)事件发生。

[0367] 实施例3:化合物127对WBC指数的影响

[0368] SCD中的白细胞增多与疼痛危象、急性胸部综合征、中风和死亡的发生率增加有关(Platt,NEJM,1991年)。出乎意料的是,用化合物127处理的Townes小鼠中血白细胞计数显著降低,特别是中性粒细胞和淋巴细胞(图3)。该数据表明化合物127可能对SCD中的炎症具有有益作用。

[0369] 实施例4:化合物127减小了Townes小鼠中脾和肝的大小

[0370] 由于应激红细胞生成,Townes小鼠中的脾显著增大(与WT相比增大7倍)。值得注意的是,化合物127减小了Townes小鼠中脾的大小,这证明化合物127促进了髓外红细胞生成(图4,左图)。此外,化合物127将增加的Townes小鼠肝脏重量校正至接近WT的水平(图4,中图)。Townes小鼠中肾的重量在WT同窝出生小鼠的重量范围内并且在化合物127处理后没有发生变化(图4,右图)。

[0371] 实施例5:化合物127在Townes小鼠中预防器官铁负荷并降低总肾铁

[0372] 由于有缺陷的RBC中发生血管内溶血和血管外溶血,Townes小鼠在器官例如肝、肾和脾中沉积过量的铁。据估计,由于变形的和无弹性的sRBC的机械破坏,约1/3的SCD溶血是发生在血管内的,而另外的2/3是发生在血管外的,这是巨噬细胞去除异常sRBC的结果(Hebbel RP,Am.J.Hematol.,2011年)。此外,贫血导致肠中缺氧诱导因子(HIF)-2 $\alpha$ 的上调,这会引发铁过度吸收(Das N.等人,J Biol.Chem.,2015年)。

[0373] 啮齿动物PK研究中的口服给药显示化合物127是全身可施用的,这表明其能够阻断所有表达膜铁转运蛋白的组织中的铁输出,包括十二指肠(膳食铁吸收)、肝(肝细胞和巨噬细胞中的铁储存)和脾(巨噬细胞中的铁形成衰老红细胞)。为了区分化合物127对器官中预先存在的和新吸收的铁的影响,研究期间小鼠可饮用含有稳定铁同位素<sup>58</sup>Fe的饮用水。分别通过电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES)和电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)分析用溶媒或化合物127处理的HbSS小鼠的器官中总铁含量和<sup>58</sup>Fe含量。化合物127没有改变Townes小鼠中总肝铁浓度和脾铁含量,这与抑制膜铁转运蛋白介导的铁从这些组织中输出一致(图5,左上图和中图)。令人惊讶的是,化合物127显著降低了Townes小鼠中肾的总铁浓度(图5,右上图)。肾铁代谢异常和皮质铁沉积是SCD的特征并且与肾并发症有关(Vazquez-Meves G等人,Blood,2016年)。因此,化合物127降低肾铁含量可能对SCD中的肾功能具有有益作用。

益作用。

[0374] 重要的是,与用溶媒处理的小鼠相比,给药化合物127的Townes小鼠中肝、肾和脾的<sup>58</sup>Fe浓度显著降低,这表明化合物127防止了进一步的器官铁沉积(图5,第二排图)。

[0375] 实施例6:化合物127在Townes小鼠的成熟sRBC中减少了凋亡标志物并提高了线粒体清除率

[0376] HbS的聚合会引发sRBC中自由基的形成、脱水和膜损伤,这可能会导致细胞凋亡。凋亡的RBC将磷脂酰丝氨酸(PS)暴露于细胞外间隙,这是靶向RBC进行吞噬的信号。通过膜联蛋白V染色RBC和流式细胞术测量RBC上的PS暴露。化合物127以剂量依赖性的方式减少了PS在sRBC上的暴露,这表明铁限制改善了RBC的细胞膜组织并提高了潜在存活率(图6,左图)。

[0377] 健康个体的RBC前体在终末分化过程中通过线粒体自噬会消除其线粒体。已经报道了SCD患者和SCD小鼠的成熟RBC中线粒体的异常滞留(Jagadeeswarn等人,2017年)。使用Ter119和CD71抗体通过流式细胞术研究RBC中线粒体的滞留以区分RBC的成熟状态并使用MitoTracker检测线粒体。值得注意的是,接受两种剂量化合物127的Townes小鼠中的RBC具有较低比例的含有线粒体的成熟RBC(图6,右图)。线粒体自噬基因中具有特异性缺失的小鼠模型显示,由于线粒体滞留,RBC存活率降低(Sandoval等人,2008年;Mortensen等人,2010年)。这充分表明SCD中化合物127降低线粒体滞留的RBC的比例可能对RBC寿命具有积极作用。

[0378] 实施例7:化合物127在SCD的Townes模型中减少了血管炎症标志物

[0379] sRBC、活化的白细胞和游离血红素与内皮的相互作用会引起血管炎症并促进血管闭塞(VO)和器官损伤。SCD中内皮功能障碍与可溶性粘附分子例如血管粘附分子1(sVCAM-1)的水平升高有关。这与溶血发生减少(图1)和白细胞计数减少(图3)一致,用化合物127处理显著降低了Townes小鼠中sVCAM-1水平(图7)。该数据证明了化合物127具有在SCD的Townes模型中减少血管炎症发生的潜力,这可能会预防VO事件。

[0380] 实施例8:在小鼠模型中测定化合物127在治疗镰状细胞病中VO的活性

[0381] 在WO2018/192973中描述的方法可用于测定本发明的膜铁转运蛋白抑制剂化合物的活性。

[0382] 通过使用Yulin Zhao等人在“Yulin Zhao et al.in“MEK1/2inhibitors reverse acute vascular occlusion in mouse models of sickle cell disease”中描述的小鼠模型;以及FASEB Journal,第30卷第3期,第1171-1186页,2016年中描述的小鼠模型,化合物127在治疗镰状细胞性贫血中的活性可测定如下:

[0383] 血管闭塞(VO)危象是SCD患者发病和死亡的主要原因。缺氧、脱水、炎症或溶血都有助于增加镰状红细胞、中性粒细胞和血小板与小血管中活化内皮的粘附作用,从而促进凝血、血管阻塞、疼痛危象和多器官不可逆损伤。白细胞计数高,特别是活化的中性粒细胞计数高,与SCD患者的早期死亡、沉默性脑梗塞、出血性中风和急性胸部综合征相关(Platt OS,NEJM,1994年)。SCD中的溶血反应由受损的镰状RBC膜引起,导致慢性贫血和Hb释放到血液循环中,这会通过消耗一氧化氮、产生氧化应激和释放血红素来促进炎症发生。镰状RBC释放微泡,触发内皮细胞产生活性氧(ROS),促进白细胞粘附,并且以磷脂酰丝氨酸依赖的方式诱导内皮细胞凋亡,导致SCD中的急性VO(Camus M,Blood,2012年)。

[0384] 基于该数据,可假设本发明化合物可通过减少镰状RBC中的溶血发生和持续防止白细胞粘附到内皮来缓解SCD中的VO。

[0385] 为了检验这一假设,在SCD的Townes小鼠模型中以30mg/kg或100mg/kg剂量每日两次(BID)口服施用本发明的溶媒或化合物4周(Ryan T,《科学》,1990年)。这些小鼠经过基因工程改造,可专门表达人血红蛋白( $\alpha/\alpha::\beta S/\beta S$ ,杰克逊实验室)。Townes小鼠具有贫血、网织红细胞计数高、脾肿大、血管炎症的特点并且由于缺氧、炎症和溶血而易于血管闭塞(VO)。为了研究膜铁转运蛋白抑制剂对白细胞和镰状RBC粘附到发炎内皮的作用,如前所述,将用溶媒或膜铁转运蛋白抑制剂处理25天的Townes小鼠麻醉,并在无菌条件下将窗室通过手术植入到小鼠背侧皮肤褶中(Kalamur VS等人,Am J Hematol.,2004年;Zennadi,R等人,Blood,2007年)。手术后三天,给小鼠注射0.5 $\mu$ g的TNF $\alpha$ (R&D Systems)以诱导炎症引起VO的发生。TNF $\alpha$ 施用九十分钟后,通过静脉内注射罗丹明偶联的Ly6G(Sigma)和藻红蛋白偶联的抗TER119 mAb(BioLegend)分别在体内标记白细胞和红细胞。如前所述(Zhao等人,FASEB J,2016年),在随后的90分钟内通过荧光活体显微镜监测白细胞和红细胞在微血管内皮上的粘附情况。简言之,将具有窗室的麻醉动物维持在37 $^{\circ}$ C的温度,使用与荧光显微镜(Axoplan显微镜,Carl Zeiss)连接的数码摄像机C2400(Hamamatsu Photonics KK,滨松市,日本)记录血液流动和细胞粘附事件。每只小鼠检查二十至三十个微毛细管片段,并通过使用ImageJ软件测量粘附的荧光标记细胞的荧光强度在静止图像上定量细胞粘附。结果表示为每百万个细胞的荧光单位。

[0386] 结论:

[0387] 总之,通过口服膜铁转运蛋白抑制剂化合物127所带来的铁限制显著减少了溶血、氧化应激、血管炎症和全身性炎症的发生并改善了RBC的形态,从而在SCD的Townes模型中缓解了血管闭塞事件并改善了血液动力学。

[0388] 膜铁转运蛋白抑制剂可预防镰状细胞病小鼠模型中的急性血管闭塞和器官损伤。

[0389] 实施例9(图14):RBC铁含量

[0390] 镰状RBC含有几个离散的铁隔室,包括变性血红蛋白和游离血红素以及与膜磷脂相关的分子铁。镰状RBC膜上的异常铁沉积被认为促进了膜结构的氧化损伤而导致其出现功能障碍(Browne P,Shalev O,Hebbel RP.,The molecular pathobiology of cell membrane iron:the sickle red cell as a model.,Free Radic Biol Med.,1998年4月;第24卷第6期,第1040-8页)。此外,镰状RBC中高浓度的HbS(MCHC和CHCM)也与累积的膜异常有关,包括可能由于膜铁增加引起的氧化损伤。因此,镰状RBC中胞内总铁含量的降低可能对SCD有益。通过ICP-MS测定Townes小鼠中洗涤后RBC中的胞内 $^{56}$ Fe和 $^{58}$ Fe含量并将其归一化为RBC计数。与HbAA小鼠相比,溶媒处理的HbSS小鼠具有显著更高水平的胞内 $^{56}$ Fe和 $^{58}$ Fe,尽管其具有较低的血蛋白水平,这表明铁沉积异常。用化合物127处理使Townes小鼠的RBC中的细胞内铁含量正常化。RBC中细胞内铁含量的降低可能不仅与Hb含量的降低(观察到MCHC和CHCM降低)直接相关而且与膜铁沉积的降低相关。这一结果强调了化合物127具有使游离铁对SCD中RBC的有害毒性作用最小化的潜力。

[0391] 实施例10(图15):肝脏炎症

[0392] 已知sRBC、活化的白细胞和游离血红素与内皮相互作用引起的血管炎症会促进血管闭塞(VO)和器官损伤。化合物127显著减少了外周血中血管炎症和白细胞标志物,这表明

其具有减少炎症、VO和随后的器官损伤的潜力。为了评估器官损伤,将从用化合物127处理6周的Townes小鼠分离出的肝叶固定于福尔马林中并将石蜡切片用苏木精和曙红(H&E)染色用于组织学检查。主要的病理学发现包括门静脉周围区域单核细胞炎性浸润,随后由病理学家进行评分。采用以下组织学进行评分:无炎症(0)、偶见门管区显示轻度至中度炎症(1)、中等数量门管区显示轻度至中度炎症(2)、大量门管区显示明显炎症(3)。组织病理学评价显示,与溶媒处理的Townes小鼠相比,用化合物127处理的Townes小鼠中门静脉周围炎症发生显著减少,这进一步证明了该化合物在SCD中减少炎症状态的功效。

[0393] 趋化因子CXCL1是SCD小鼠中急性VO危象的关键炎性介质(Jang JE.,CXCL1 and its receptor,CXCR2,mediate murine sickle cell vaso-occlusion during hemolytic transfusion reactions.,J Clin Invest.,2011年;第121卷第4期,第1397-1401页)。CXCL1由活化的内皮细胞表达并参与中性粒细胞的肝募集(Hilscher MB.,“Mechanical Stretch Increases Expression of CXCL1 in Liver Sinusoidal Endothelial Cells to Recruit Neutrophils,Generate Sinusoidal Microthrombi,and Promote Portal Hypertension”,Gastroenterology,2019年;第157卷第1期:第193-209页),其在SCD危象中发挥重要的病理作用。与溶媒处理的HbAA小鼠相比,溶媒处理的Townes小鼠显示出CXCL1 mRNA表达在肝脏中的上调趋势,这表明了中性粒细胞在肝组织中的募集,其与上述组织病理学分析一致。化合物127显著降低了CXCL1在HbSS小鼠肝脏中的表达,这表明了其在Townes小鼠中对肝脏炎症的保护功能。

[0394] 实施例11(图16):ALT

[0395] 肝病是SCD患者发病和死亡的重要原因。已知SCD的Townes小鼠模型再现了肝细胞损伤,其反映为作为肝损伤的临床相关生物标志物的血浆丙氨酸转氨酶(ALT)水平升高(Aslan M.,“Oxygen radical inhibition of nitric oxide-dependent vascular function in sickle cell disease”,Proc Natl Acad Sci U S A,2001年;第98卷第26期,第15215-15220页)。重要的是,化合物127显著降低了Townes小鼠中的血浆ALT水平,这强调了化合物具有减少VO组织损伤的潜力。

[0396] 实施例12(图17):肺部炎症

[0397] 急性胸部综合征(ACS)是SCD患者的肺部并发症,与肺炎明显重叠。ACS是患者住院治疗的第二常见原因并且是SCD患者死亡的主要原因。VO危象(VOC)通常在发生ACS之前,其特征在于RBC镰状化、细胞过度粘附和发生溶血(Novelli EM.,Crises in Sickle Cell Disease.Chest.,2016年;第149卷第4期,第1082-1093页)。镰状细胞患者血清中的促炎细胞因子水平升高,并与疼痛危象和VO相关。特别地,IL-1 $\beta$ 是由活化单核细胞释放的促炎细胞因子,能够诱导内皮细胞活化并在SCD中肺微血管闭塞的病理生理学中起驱动作用(Pathare A.Cytokines in Sickle Cell Disease.,Hematology,2003年;第8卷第5期,第329-337页)。

[0398] 与溶媒处理的HbAA小鼠相比,溶媒处理的Townes小鼠在肺部中显示出IL-1 $\beta$ mRNA表达的上调趋势。化合物127的施用降低了HbSS小鼠肺中IL-1 $\beta$ 的表达。尽管用化合物处理的小鼠中IL-1 $\beta$ 表达的降低并不明显,主要是由于用溶媒处理的HbSS小鼠具有高度可变性,但是该趋势在独立实验中是一致的,这表明化合物127具有缓解肺部炎症的潜力并且可能在SCD中预防肺部VO和ACS发生。

[0399] 其他实施例

[0400] 应当理解, 尽管已经结合本发明的详细描述对本发明进行了描述, 但是前面的描述旨在说明而不是限制本发明的范围, 本发明的范围由所附权利要求的范围限定。其他方面、优点和修改在以下权利要求的范围内。

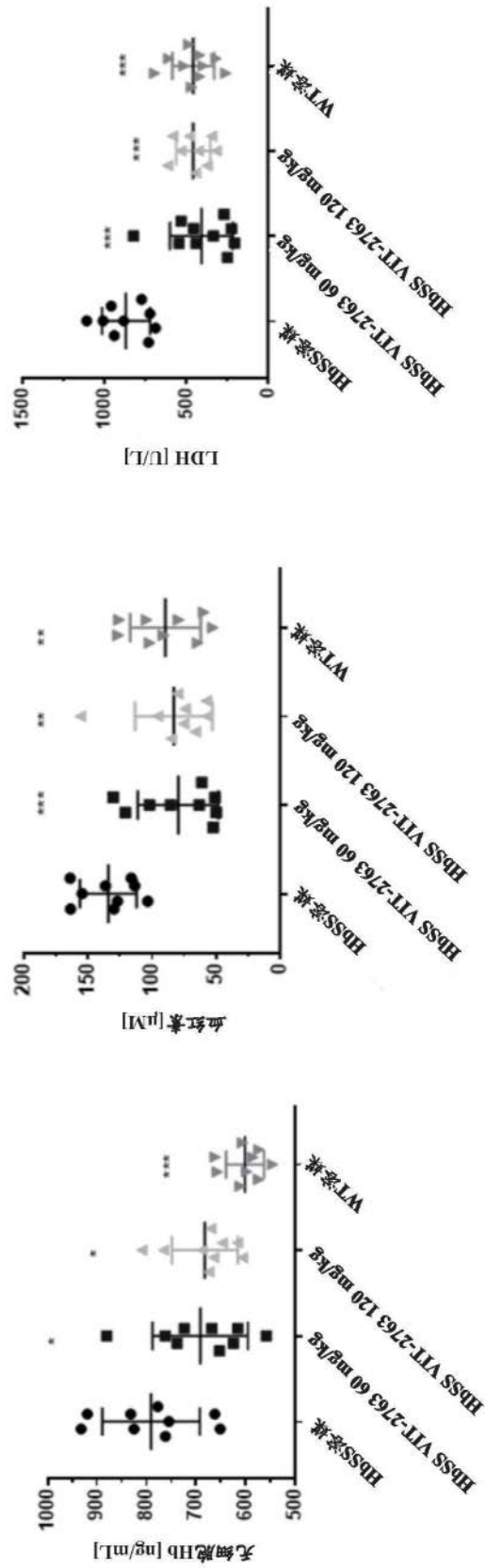


图1

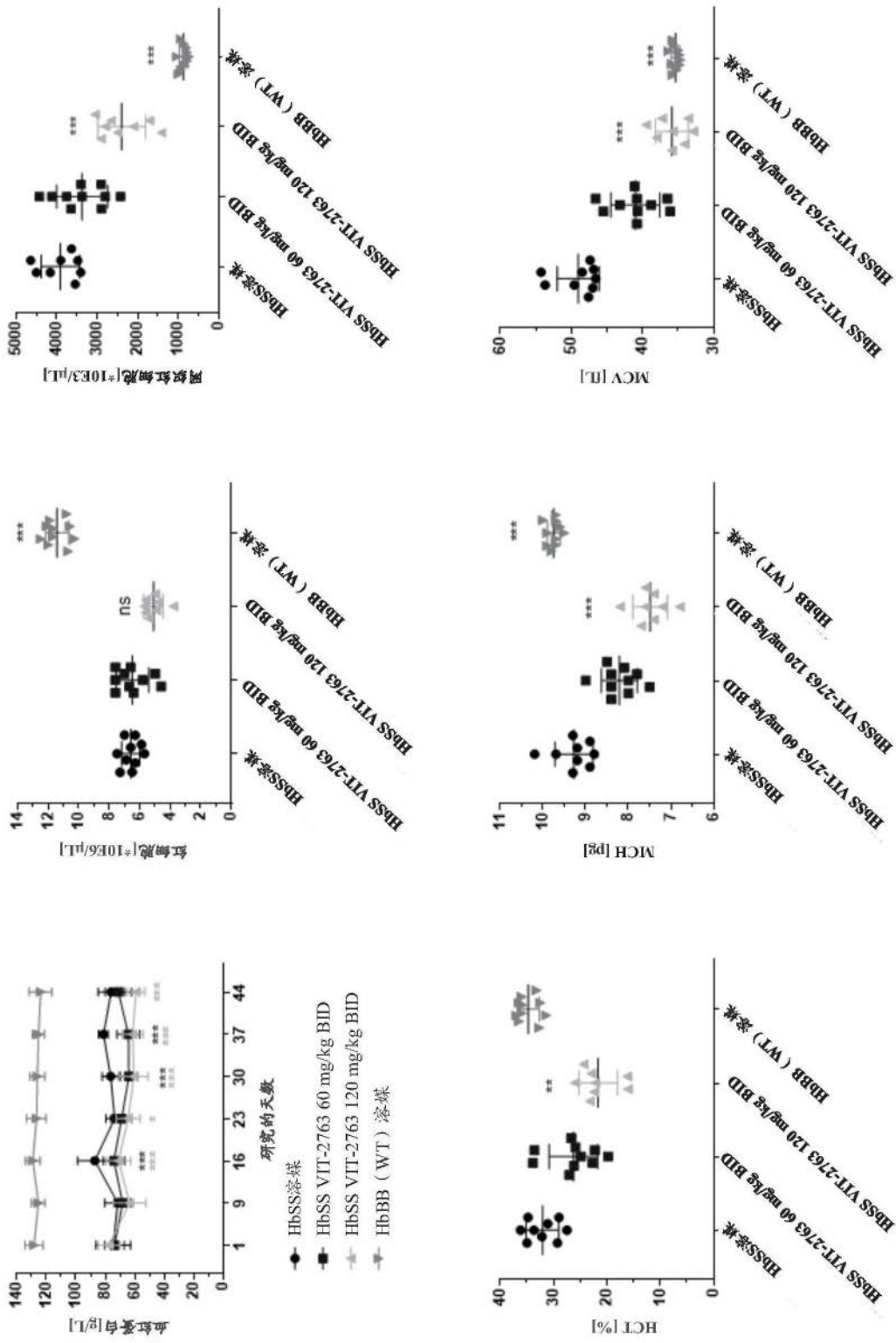


图2

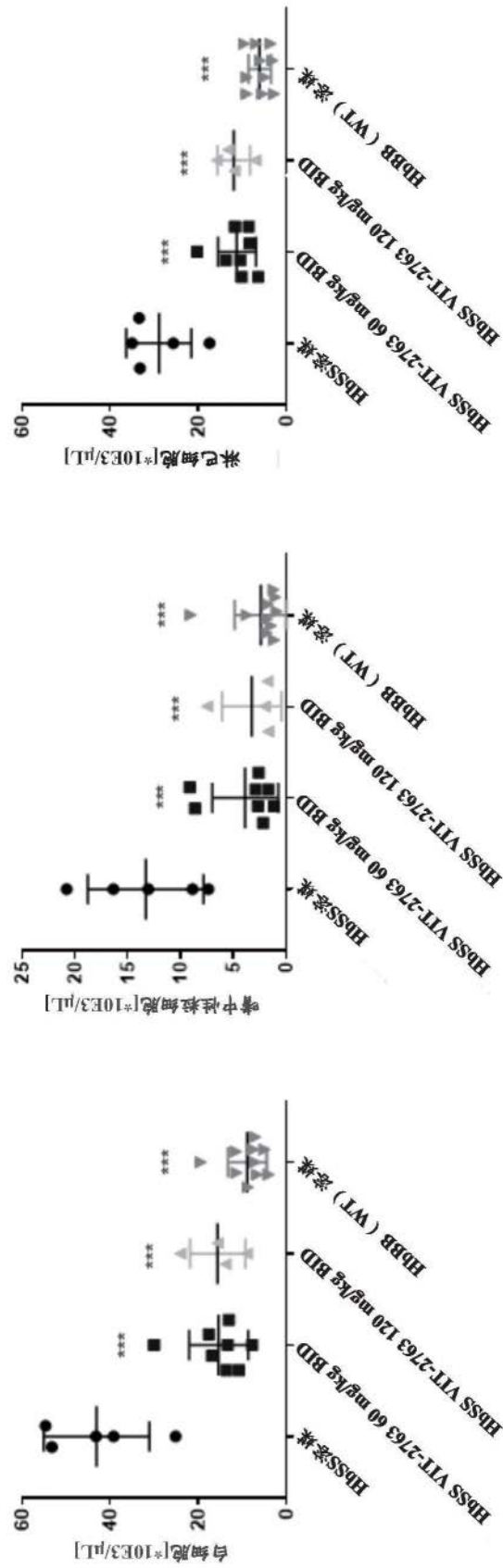


图3

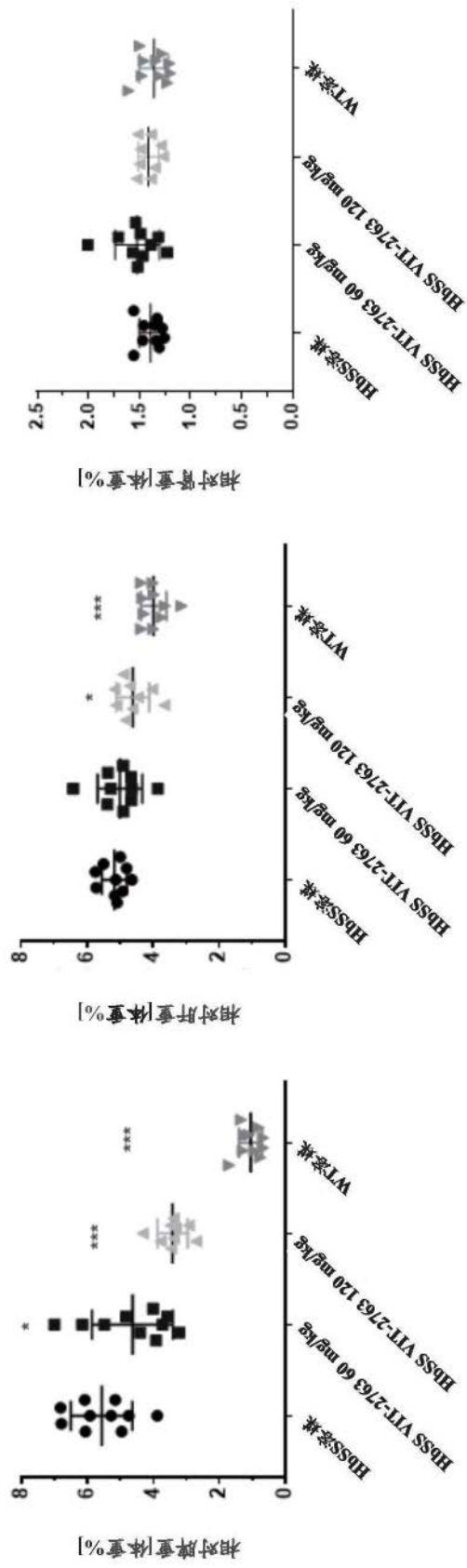


图4

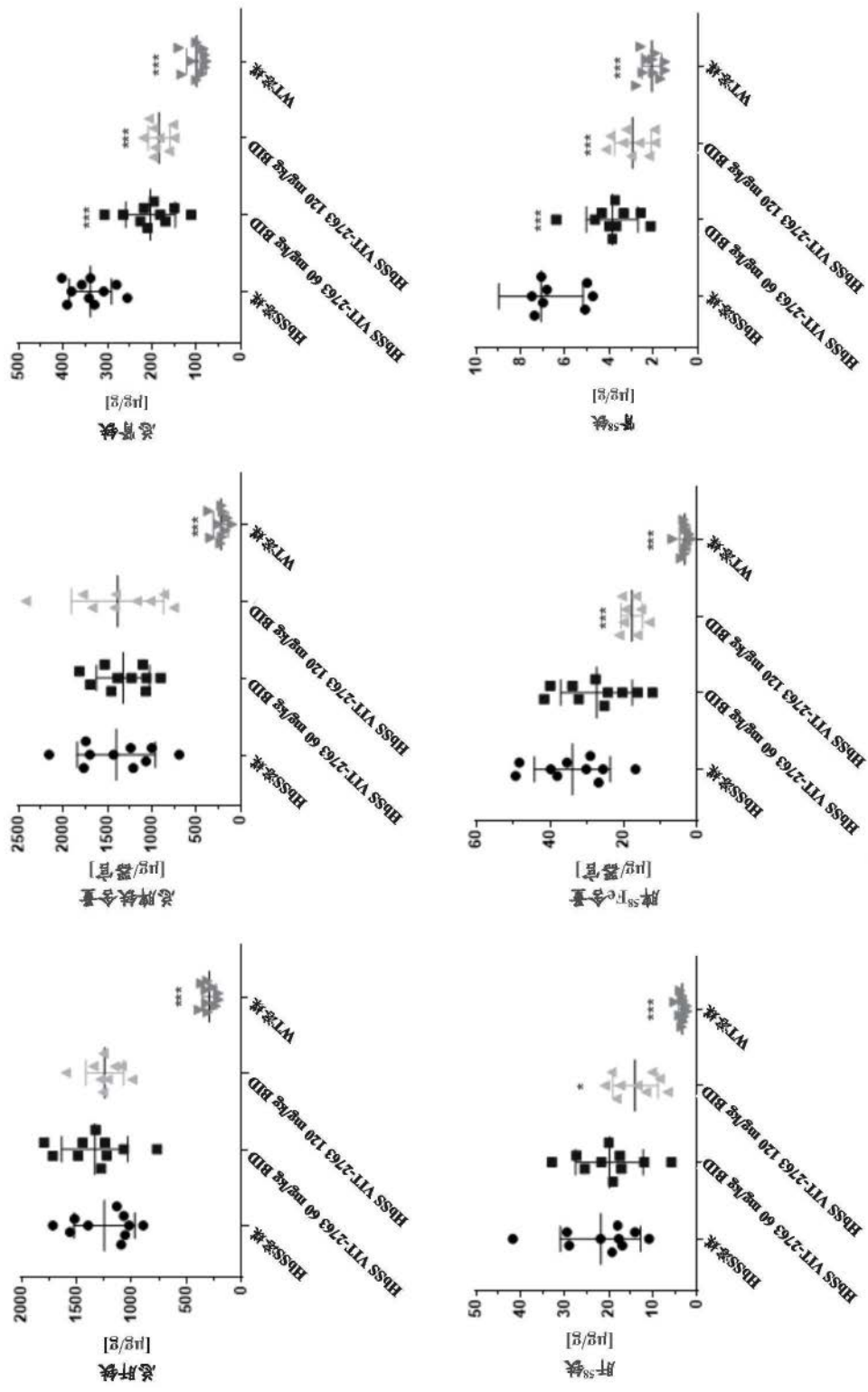


图5

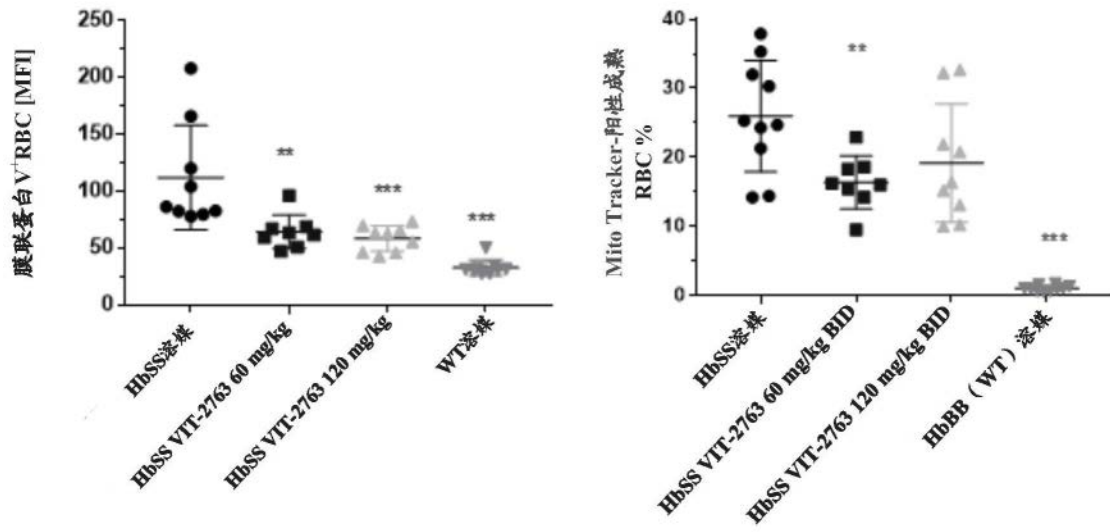


图6

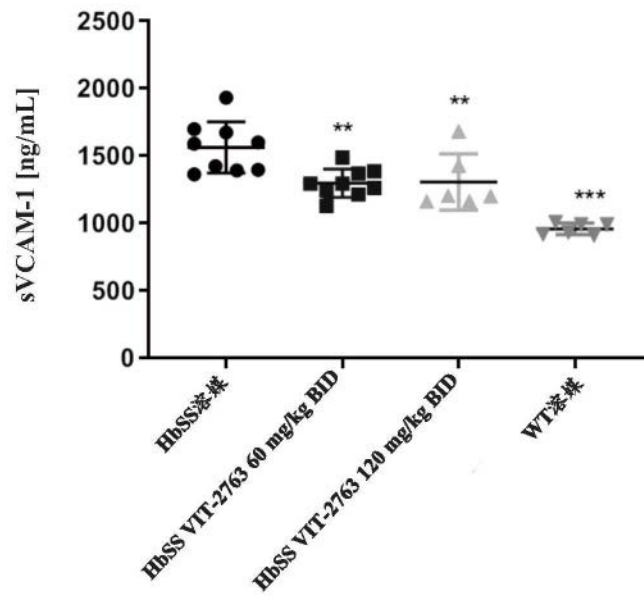


图7

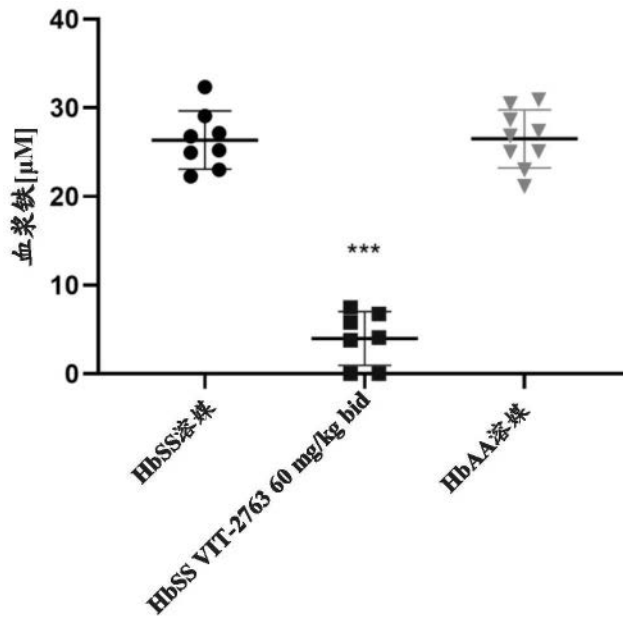


图8

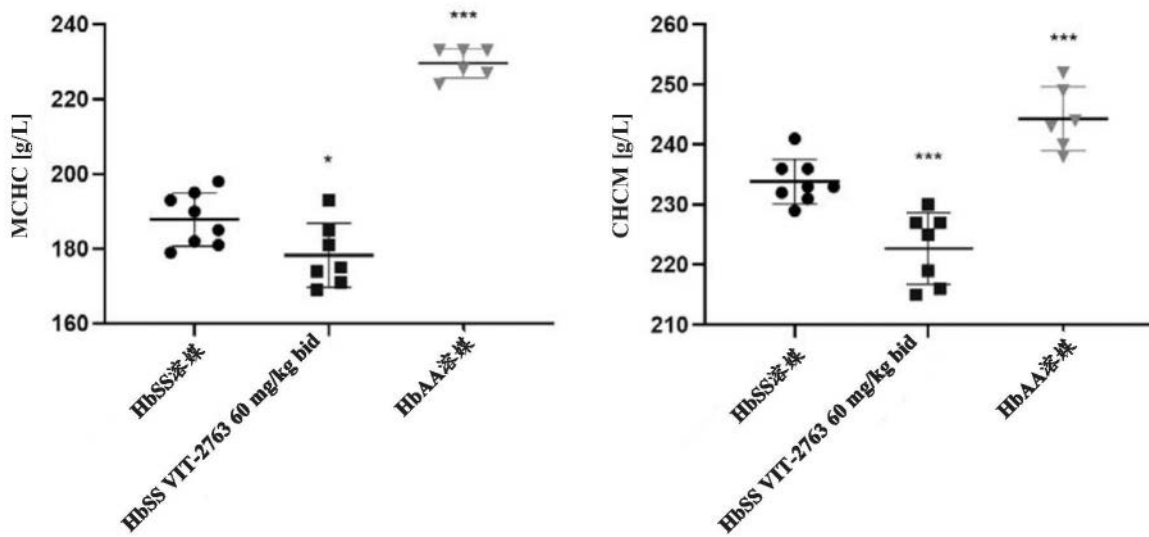


图9

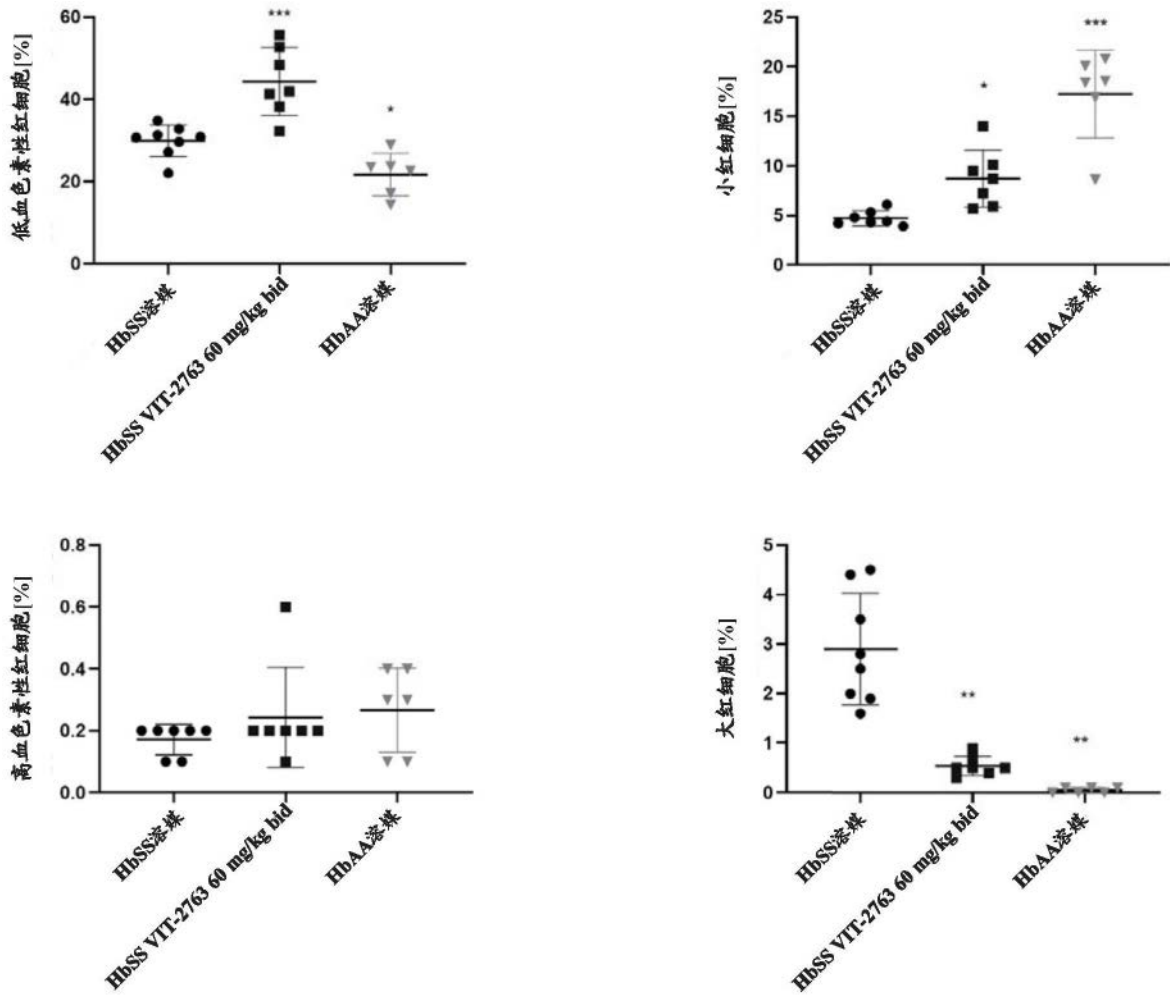


图10

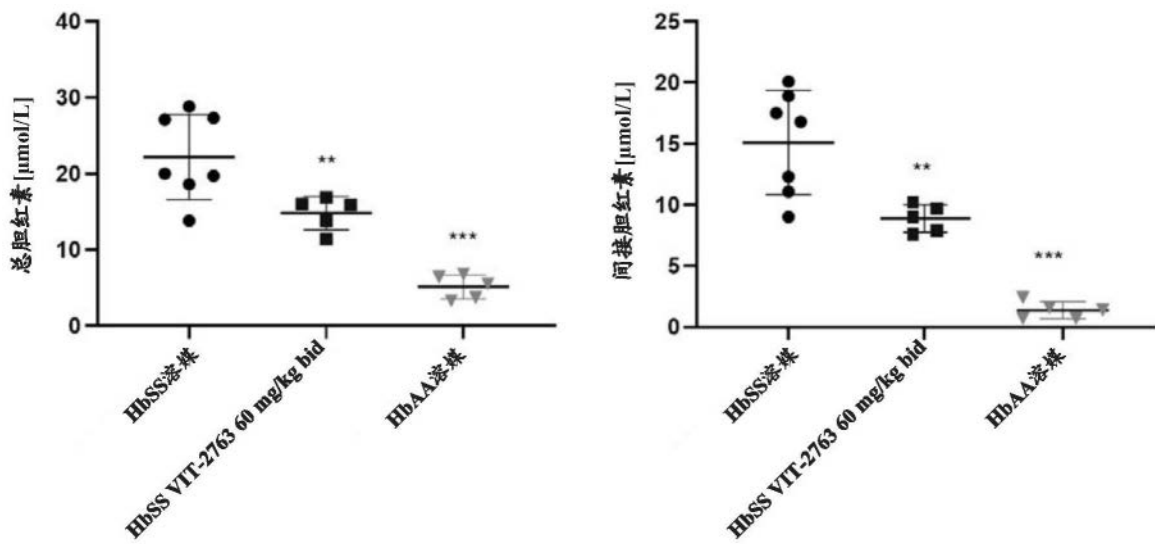


图11

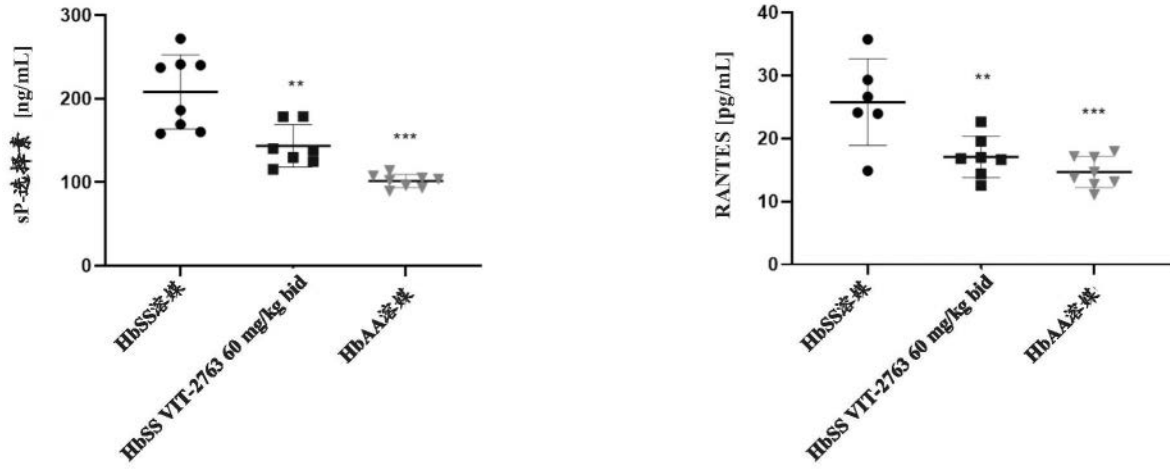


图12

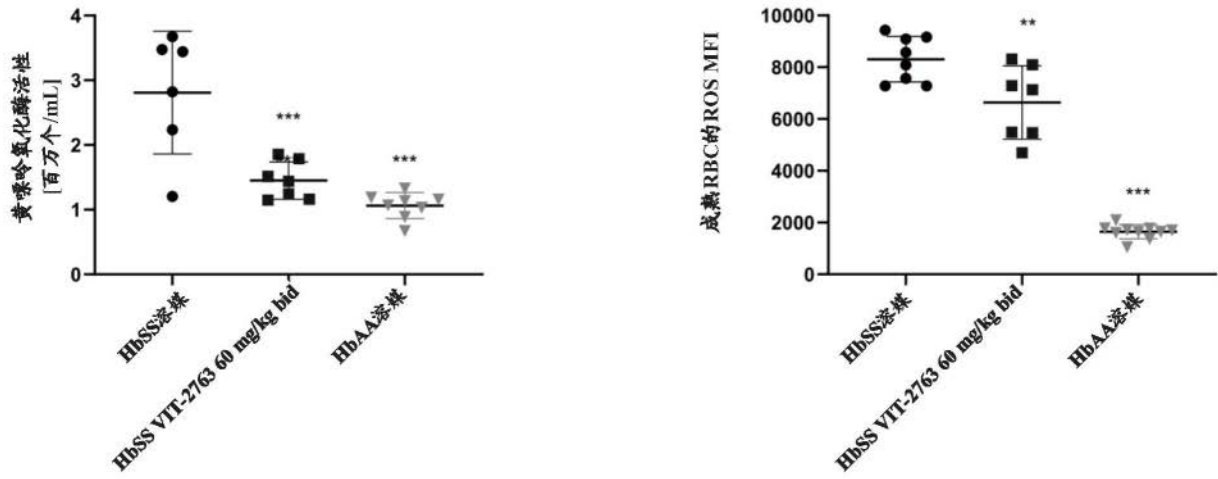


图13

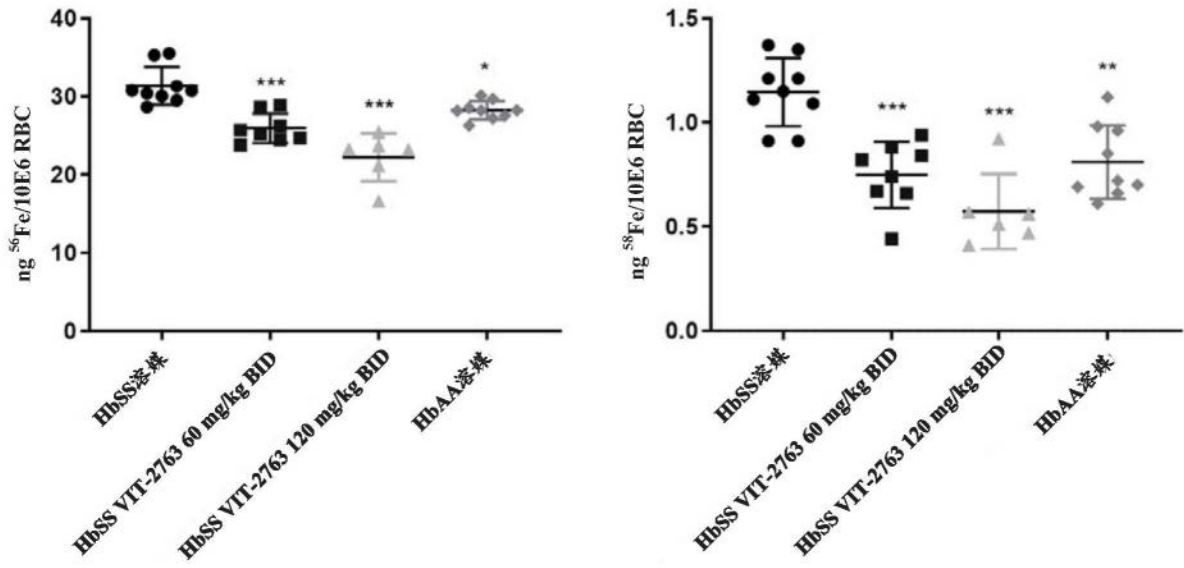


图14

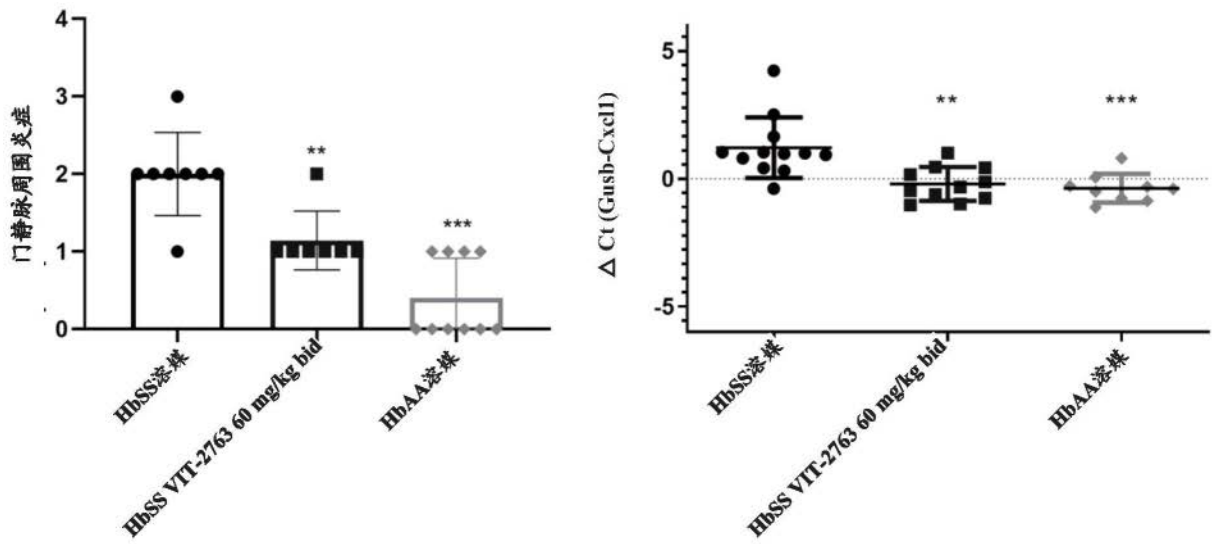


图15

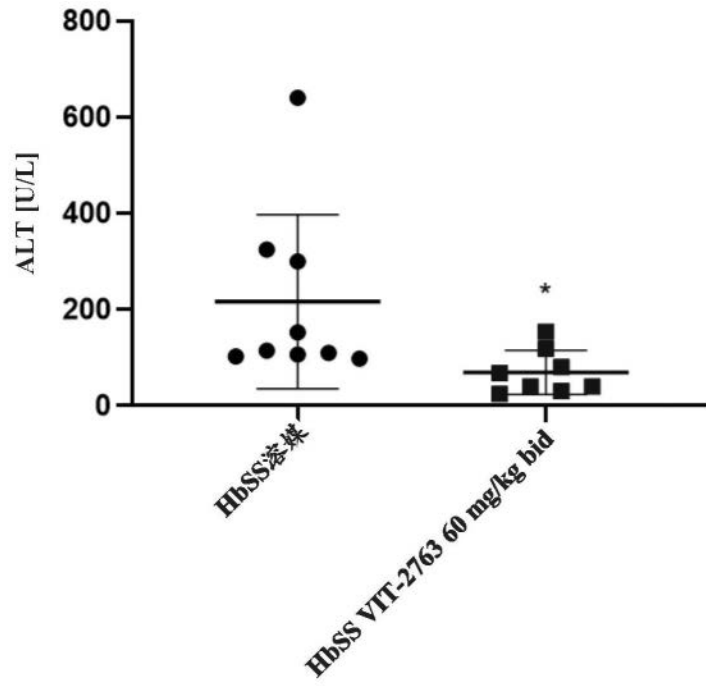


图16

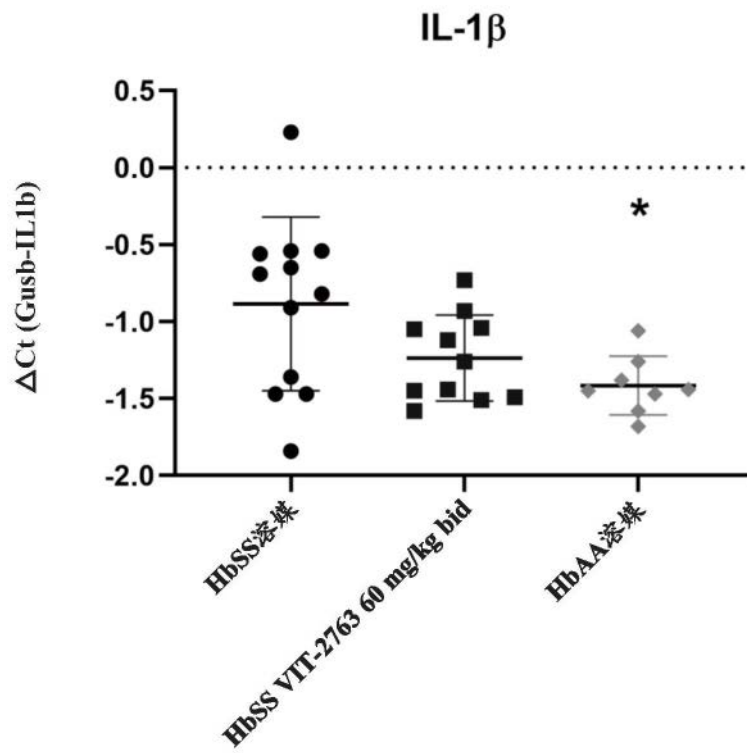


图17