



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117137917 A

(43) 申请公布日 2023. 12. 01

(21) 申请号 202311054107.X

A61P 1/16 (2006.01)

(22) 申请日 2017.04.20

(30) 优先权数据

62/326,435 2016.04.22 US

62/395,436 2016.09.16 US

(62) 分案原申请数据

201780024846.0 2017.04.20

(71) 申请人 景凯生物科技股份有限公司

地址 中国台湾新竹县

(72) 发明人 埃德温·SC·吴 彼得·J·S·邱

许嫩祺

(74) 专利代理机构 上海弼兴律师事务所 31283

专利代理师 陈柏如 高晓莉

(51) Int. Cl.

A61K 31/485 (2006.01)

权利要求书2页 说明书11页 附图7页

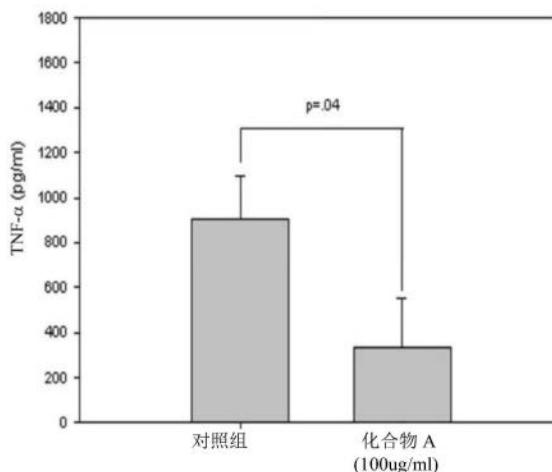
(54) 发明名称

纳美芬、纳曲酮或其衍生物在治疗(非)酒精性脂肪肝炎或非酒精性脂肪性肝病的应用

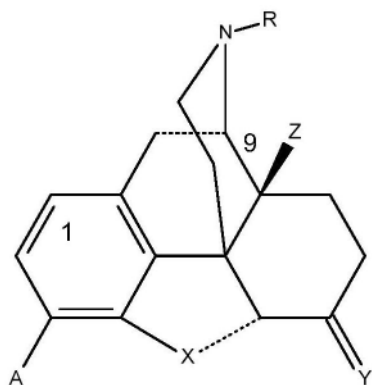
(57) 摘要

本发明涉及式(I)的吗啡喃(morphinans), 如纳美芬(nalmefene)和纳曲酮(naltrexone)及其相关衍生物,其药物制剂及其用于预防和治疗NASH,NAFLD和/或ASH的新用途。

暴露于 LPS(100ng/ml)2 小时后由库弗氏细胞分泌的 TNF- $\alpha$   
N=5



1. 一种式 (I) 化合物作为制备预防或治疗NAFLD,NASH或ASH药物的用途,其中:



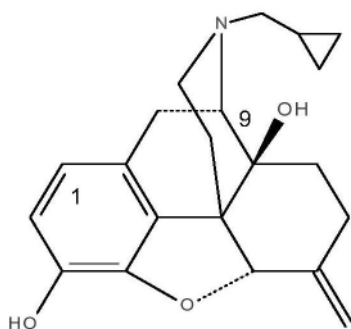
(I)

A是羟基(OH)或甲氧基( $\text{OCH}_3$ ),R为氢原子(H),甲基( $\text{CH}_3$ )或环丙基甲基(cyclopropylmethyl);

X是氧原子(O),Y是亚甲基( $\text{CH}_2$ )或氧(O),Z是氢(H)或羟基(OH),所述化合物以外消旋混合物或对映异构体,非对映异构体或药学上可接受的盐类的形式施用;

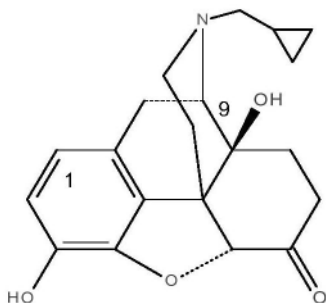
其中,所述式(I)化合物是以10mg至100mg的每日剂量给药,且所述式(I)化合物的施用降低NAFLD,NASH或ASH疾病症状中肝纤维化的面积,且同时降低NAFLD,NASH或ASH疾病症状中脂肪肝、肝小叶发炎及肝细胞膨胀的发生。

2. 如权利要求1所述的用途,其中所述式(I)化合物具有以下结构之一:



(化合物 A)。

3. 如权利要求1所述的用途,其中所述式(I)化合物具有以下结构之一:



(化合物 B)。

4. 如权利要求1所述的用途,其中所述式(I)化合物是化合物A(纳美芬)。

5. 如权利要求1所述的用途,其中所述式(I)化合物是化合物B(纳曲酮)。
6. 如权利要求1所述的用途,其中所述式(I)化合物作为制备预防或治疗NAFLD的药物。
7. 如权利要求1所述的用途,其中所述式(I)化合物作为制备预防或治疗NASH的药物。
8. 如权利要求1所述的用途,其中所述式(I)化合物作为制备预防或治疗ASH的药物。
9. 如权利要求1所述的用途,其中所述式(I)化合物是经由口服给予。
10. 如权利要求1所述的用途,其中所述式(I)化合物是经由肠胃外给药。

## 纳美芬、纳曲酮或其衍生物在治疗(非)酒精性脂肪肝炎或非酒精性脂肪性肝病的应用

[0001] 本申请是申请日为2017年4月20日、国际申请号为PCT/US2017/028529、国家申请号为201780024846.0、发明名称为“纳美芬(NALMEFENE)、纳曲酮(NALTREXONE)或其衍生物在治疗(非)酒精性脂肪肝炎(NASH)或非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的应用”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 参照申请案

[0003] 本案申请权利要求的依据为合并于2016年4月22日美国临时案号62/326,435及2016年9月16日美国临时案号62/395,436的申请案。

### 背景技术

[0004] 本发明涉及一种使用吗啡喃的新方法。本发明涉及纳曲酮(naltrexone)或17-环丙基甲基-4,5 $\alpha$ -环氧-6-氧代吗啡喃-3,14-二醇和纳美芬(nalmefene)及其类似物及其药物制剂及其用于预防和治疗NASH(非酒精性脂肪性肝炎),NAFLD(非酒精性脂肪性肝病)和ASH(酒精性脂肪性肝炎)的用途。

[0005] 在PCT公开申请文件W0 03/097608中,我们已经描述了阿片样物质和阿片样物质化合物的一些新的医学用途,包括纳曲酮(naltrexone)和纳美芬(nalmefene)。在PCT公开申请文件W0 W02006029167中,我们已经描述了17-环丙基甲基-4,5 $\alpha$ -环氧-6-亚甲基吗啡喃-3,14-二醇的许多新的医学用途。

[0006] 中枢神经系统神经退行性疾病研究的最新进展已经表明,阿片样物质可能在调节小胶质细胞中促炎细胞因子,花生四烯酸的促炎细胞因子,代谢产物和免疫调节因数等炎症因子的表达方面发挥作用,相关神经变性[Adv.Exp.Med.Biol.1996,402:29-33; Mov.Disord.1997;12:855-858]和神经性疼痛[Hutchinson MR,et al.Eur J Neurosci.2008;28:20-299]。中国专利申请(CN102048733)声称使用由通过注射纳美芬(nalmefene)来治疗高脂肪饮食引起的脂肪肝。

[0007] 在本申请中,我们公开了纳美芬(nalmefene)和纳曲酮(naltrexone)已经证明其在预防和治疗NAFLD,NASH和ASH方面的功效。

[0008] 本发明提供了一种预防NAFLD炎症性肝损伤及其进展为NASH的方法。

[0009] 新兴的肥胖和代谢综合征流行导致了NASH患病率的上升,现在被认为是西方世界慢性肝病的主要原因(Clark,J.M.,et al.,Nonalcoholic fatty liver disease.Gastroenterology,2002;122:1649-1657)。NASH影响2%至5%的美国人。另外10%至20%的美国人在肝脏中有脂肪,但没有炎症或肝脏损害,称为“脂肪肝”。虽然在肝脏中脂肪不正常,但其本身可能几乎不造成伤害或永久性损伤。由血液检测结果或肝脏扫描若怀疑肝脏发炎及脂肪堆积,便称这种情况为非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)。如果在这种情况下进行肝穿刺切片,则可准确诊断并分辨NASH,以及单纯的脂肪肝。NASH或NAFLD分别与ASH(酒精性肝炎)或ALD(酒精性肝病)相似,但不同的是NASH与NAFLD发生在少量饮酒或不饮酒的病人中[Ludwig,J.,et al.,Nonalcoholic steatohepatitis:Mayo Clinic

experiences with a hitherto unnamed disease. Mayo Clin Proc, 1980; 55: p. 434-438]。

[0010] 虽然NASH的潜在原因尚不清楚,但致病因子如胰岛素抗性,脂肪细胞所释放的毒性炎症蛋白(细胞激素),以及肝细胞中的氧化压力(肝细胞恶化或死亡)可能促进NASH的病灶(<http://digestive.niddk.nih.gov/ddiseases/pubs/nash>)。

[0011] 导致脂肪肝疾病发病和恶化的确切机制尚不完全清楚。多个研究显示,在肝脂肪症状会使动物对如内毒素血症等刺激反应更剧烈,并产生更大的组织损伤。目前的广泛认知,脂肪肝在受到诸如氧化压力或内毒素血症的“第二次刺激”(second hit)将容易变成脂肪性肝炎(NAFLD转变为NASH)(Wanless IR, Shiota K. The pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis and other fatty liver diseases: a four-step model including the role of lipid release and hepatic venular obstruction in the progression to cirrhosis. Semin Liver Dis. 2004; 24: 99-106; Duvnjak M, et al. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease. World J Gastroenterol. 2007; 14: 13: 4539-4550)。最为普遍接受的理论是,NAFLD经由“双击”(two hit)机制进展,其中的第一击(first hit)是肝细胞中的脂质积累(脂肪肝)(Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two “hits”? Gastroenterology 1998; 114: 842-845; Sanches SC et al. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Search for Factual Animal Models. Biomed Res Int. 2015; 2015: 574832)。第二击则被认为是氧化压力改变、内毒素血症或发炎反应。多次重复的炎症反应会导致肝损伤和纤维化的发生。虽然脂肪肝疾病的具体性治疗是通过体重减轻和胰岛素抗性恢复来反转脂肪肝,但在许多情况下,这种方法通常不全面甚至不实际。

[0012] 目前,FDA尚未核准任何药物来治疗脂肪肝疾病如NASH或ASH。于NASH患者进行的临床实验疗法评估包括抗氧化剂(例如维生素E),硒和甜菜碱,以及新型的抗糖尿病药物。现在医学,制药行业和法规机构都意识到此特定药物治疗的需要,同时患者也引颈期盼着此类药物的上市。因此此类药物开发方式,已从已上市糖尿病药物(如吡格列酮(pioglitazone)或二甲双胍(metformin)、保肝类药物(如配妥西菲林(pentoxifylline)、熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid)、或抗氧化剂)的学名药制造,演变为开发具有疾病专一性,配合多重途径阻断,来用于治疗NASH并改正这种疾病中肝损伤与纤维化。目前开发阶段最接近上市的两种分子,即奥贝胆酸(obeticholic acid)和艾拉发瑞纳(elafibranor)在改善肝组织学方面表现出令人鼓舞的结果。使用改善肝纤维化的奥贝胆酸和改良血糖与脂质分布的艾拉发瑞纳,两种化合物似乎都能清除NASH[Ratzliff V., Novel Pharmacotherapy Options for NASH. Dig Dis Sci. 2016 Mar 22. (Epub ahead of print)]。

[0013] 蛋氨酸和胆碱缺乏(MCD)饮食小鼠模型是一种被广泛接受的NASH动物模型,如上所述(参见Rivera CA, et al. 2007; Sanches SC et al. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Search for Factual Animal Models. Biomed Res Int. 2015; 2015: 574832)。因此,MCD饮食小鼠被广泛用于测试化合物对NAFLD/NASH的肝脏保护作用。

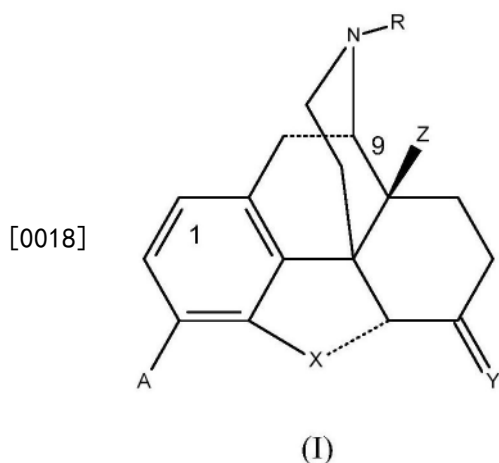
[0014] 在MCD合并LPS刺激实验中,纳美芬(Nalmefene)证实了在MCD大鼠模型中预防炎性肝损伤的效果。

[0015] 酒精性肝病 (ALD) 是全世界肝脏相关发病率和死亡率的主要原因 (Arsene et al. *Hepatol Int.* 2016;10:538-552)。ALD 的临床和病理光谱包含从酒精性脂肪肝病 (酒精性脂肪变性) 到肝硬化 (Saber et al. *J ClinTranslatHepatol.* 2016;4:113-122)。ALD 可分为酒精诱发的脂肪变性 (微囊泡, 大泡), 酒精性脂肪性肝炎 (ASH) 和酒精性肝硬化。ALD 的病理类似于 NAFLD/NASH。ALD 和 NAFLD 具有相似的病理状况, 并且已经被描述为在临床环境中共存 (Toshikuni et al. *World J Gastroenterol* 2014;20:8393-8406; Brunt and Tiniakos. *World J Gastroenterol* 2010;16:5286-5296)。酒精的急性和慢性摄入导致动物模型和人类门静脉和全身水平的内毒素的强烈升高 (Parlesak et al. *J Hepatol* 2000;32:742-747)。内毒素 (LPS, 细菌产物) 是酒精性肝病肝损伤的重要因子, 由使用抗生素消除革兰氏阴性细菌后改善的酒精性肝损伤, 以及长期酒精暴露后肝脏对于 LPS 诱导的肝损伤的敏感性增加可以证明。内毒素的升高似乎主要由两种机制引起。首先, 酒精消耗导致肠胃道上端的细菌群相及数量变化 (Hauge et al. *Digestion* 1997;58:591-595)。第二, 酒精摄入会破坏肠道屏障, 导致肠漏症, 进而允许增加 LPS 进入门静脉循环 (Bjarnason et al. *Lancet* 1984;1:179-182)。目前, 库弗氏细胞 (Kupffer cell) 已被证实为 LPS 在酒精诱发的肝损伤中的关键细胞 (Adachi et al. *Hepatology* 1994;20:453-460)。ALD 的实验模型显示, 通过肠道屏障的细菌产物转移到门静脉循环进入肝脏引发炎症反应, 并导致脂肪性肝炎。管理 ASH 的最有效措施是酒精饮酒者戒酒。类固醇在治疗严重的 ASH 方面有一些短期的好处, 但由于许多副作用, 长期的效果不清楚。因此, 迫切需要将发现工作重点放在 ASH 的有效治疗与预防措施上。

## 发明内容

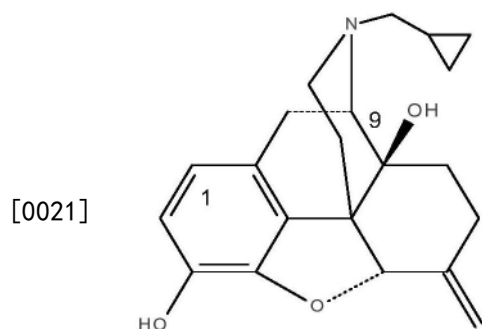
[0016] 本发明涉及吗啡喃 (morphinan) 化合物及其药物制剂及其用于预防和治疗 NASH (非酒精性脂肪性肝炎), NAFLD (非酒精性脂肪肝病) 和 ASH (酒精性脂肪性肝炎) 的用途。

[0017] 本发明涉及根据式 (I) 的吗啡喃 (morphinan) 化合物在治疗 NAFLD, NASH 和 ASH 或用于药物生产的条件下的用途, 用于治疗这些疾病, 其中:



[0019] A 可以是羟基 (OH) 或甲氧基 (OCH<sub>3</sub>); R 可以是氢原子 (H), 甲基 (CH<sub>3</sub>) 或环丙基甲基 (cyclopropylmethyl); X 是氧原子 (O), Y 是氧原子 (O) 或亚甲基 (CH<sub>2</sub>), Z 可以是氢原子 (H) 或羟基 (OH)。根据式 (I) 的化合物可以是其对映体, 非对映异构体及其药学上可接受的盐类。

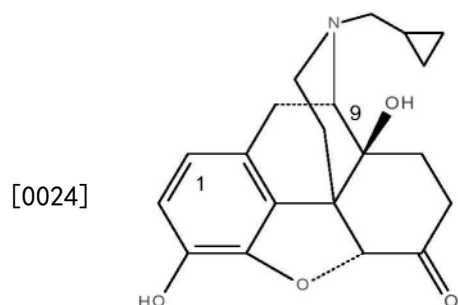
[0020] 根据式(I)可以是以下结构之一的结构:



(化合物 A)

[0022] 特别倾向选的是化合物A(纳美芬),其中A是氢氧基(OH),R是环丙基(cyclopropyl),甲基(CH<sub>3</sub>),X是氧原子(O),Y是亚甲基(CH<sub>2</sub>),Z是氢氧基(OH)的化合物(I)。

[0023] 根据式(I)可以是以下结构之一的结构:



(化合物 B)

[0025] 特别倾向选的是化合物B(纳曲酮),其中A是氢氧基(OH)的化合物(I),R是环丙基甲基(cyclopropylmethyl),X是氧原子(O),Y是氧原子(O),Z是氢氧基(OH)。

## 附图说明

[0026] 图1显示库弗氏细胞中TNF- $\alpha$ 释放的减少。

[0027] 图2显示库弗氏细胞中由LPS诱导的p38 MAP激酶磷酸化的减少。在第5和第20分钟监测p38 MAP激酶磷酸化;以100ng/mL给药的化合物A,n=3重复。

[0028] 图3展现来自NASH的STAM模型的肝脏苏木精-伊红染色(HE-stained)切片的代表性显微照片。从波恩氏溶液(Bouin's solution)中预先加入的肝组织的石蜡块切下切片,用Lillie-Mayer's苏木精和伊红溶液染色。NAFLD活动评分(NAS)是根据Kleiner(Kleiner等人,2005)的标准计算。

[0029] 图4A-4B显示NASH STAM模型中的天狼猩红阳性(Sirius red-positive)区域(%)。a)天狼猩红显微照片。为了让胶原蛋白沉积可以被观察到,经波恩氏溶液固定的左侧肝切片以天狼猩红(picro-Sirius red)溶液(Waldeck,Germany)染色。b)对于纤维化区域的定量分析,这里使用以200倍放大率的数码相机(DFC295;Leica,Germany)捕获天狼猩红染色切片的明视野图像,并且在5个视野/部分中的正面积使用ImageJ软件测量(美国国立卫生研究院)。每个治疗组的个体值和平均值 $\pm$ SD皆已标示。

[0030] 图5显示在脂肪肝大鼠肝损伤的预防效果具剂量相关性。如图6所示,以n=5/组,

重复20mg的实验,并产生与图5相同的结果。

[0031] 图6显示以20mg/Kg给予化合物A于脂肪肝大鼠肝脏损伤的预防性药效具剂量相关性(N=化合物A)。

[0032] 图7显示本实验的化合物A/LPS处理的大鼠的组织病理学检查评估的肝损伤。与对照相比,组织病理学显示出,化合物A可预防治疗大鼠的肝脂肪积累。图7显示出,化合物A改善了脂肪肝与经LPS处理(LPS-treated)的脂肪肝损伤的肝损伤。在图7中:a)左上方[对照(MCD处理的大鼠)]:表示有微囊脂肪肝,有一点微囊脂肪肝;b)左底[MCD和化合物A处理的大鼠]:轻微的门静脉慢性炎症(轻度非特异性慢性肝炎);c)右上:MCD+LPS处理的大鼠:黑点(箭头)正在死亡的肝细胞;光阴面积(矩形)表示坏死。有出血和门静脉(1区)坏死。没有明显的壅堵或构造损失;和d)右底[MCD+LPS+化合物A治疗的大鼠]:轻微的门静脉周围慢性炎症。

### 具体实施方式

[0033] 根据本发明产出的治疗或药物包括用于预防或治疗NASH(非酒精性脂肪性肝炎),NAFLD(非酒精性脂肪性肝病)和/或(ASH)酒精性脂肪性肝炎)的药物。

[0034] 根据本发明的其它实施方案,本发明涉及预防或治疗NASH,NAFLD和/或ASH的方法,包括向有需要的受试者施用药物组合物,其包含治疗有效量的一种或多种指定的化合物。现在将相对于本文所述的其它实施例更详细地描述本发明的前述和其它方面。应当理解,本发明可以以不同的形式实施,并且不应被解释为限于本文所阐述的实施例。而是提供这些实施例,使得本公开将是彻底和完整的,并且将向本领域技术人员充分地传达本发明的范围。

[0035] 用于本发明的描述中的术语仅用于描述特定实施例的目的,而不意在限制本发明。如在本发明和所附权利要求书的描述中所使用的,单数形式“一”,“一个”和“该”也旨在包括复数形式,除非上下文另有明确指出。

[0036] 除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。

[0037] 本文引用的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献通过引用整体并入本文,用于与提及该参考文献的句子和/或段落相关的教导。

[0038] 本文所用的术语“阿片样物质”是指显示鸦片或吗啡样性质的化合物,包括作用剂和拮抗剂活性,其中这些化合物可与脑和其它组织中的立体特异性和饱和结合位点相互作用。药理性质以前包括嗜睡,呼吸抑制,情绪和精神上的变化,而不会造成意识丧失。本文所用的术语“阿片样物质”是指在结构和/或药理学上与已知的阿片样物质相似的化合物。

[0039] 本文所用的“治疗(treat or treating)”是指对患有疾病的患者赋予益处的任何类型的治疗,包括改善患者状况(例如,在一种或多种症状中),延迟进展的病情,预防或延迟疾病的发病等。

[0040] 如本文所用,“药学上可接受的”组成(例如盐类,载体,赋形剂或稀释剂)是指化合物或组合物适合于施用于受试者以实现本文所述的治疗,而不会产生过度有害的副作用疾病的严重程度和治疗的必要性。

[0041] 如本文所用,术语“预防”是指在展示相关症状之前向受试者施用药物以降低其自



身表现的疾病的风险,或者如果其显示出自身,则降低其严重性。

[0042] 本文所用的“治疗有效量”是指预防,延迟或降低感兴趣病症的严重性所需的量,并且还包括增强正常生理功能所需的量。

[0043] 本发明的活性化合物可以是水溶性的,并且还可以包含已知的水溶性阿片样物质和阿片样物质衍生物。

[0044] 本发明的化合物可以具有不对称碳原子,因此能够作为对映体或非对映异构体存在。因此,本发明的化合物包括本发明化合物的对映体和非对映异构体以及药学上可接受的盐类。

[0045] 本发明的活性化合物可以单独施用或与其它治疗剂组合施用。例如,本发明的活性化合物可以与现在已知或稍后鉴定的化合物共同使用,以用于预防和/或治疗NASH, NAFLD和/或ASH。

[0046] 如上所述,纳美芬(nalmefene)和纳曲酮(naltrexone)是市面上已知且可购得的。本发明中使用的其它化合物可以通过常规化学方法或通过使用类似于PCT公开文件W0 03/097608中描述的技术的方法修饰纳美芬(nalmefene)来获得。

[0047] 本文所用的术语“活性剂”包括该化合物的药学上可接受的盐类。药学上可接受的盐类是保留母体化合物的所需生物活性并且不产生不期望的毒理作用的盐类。这些盐的实例是(a)与无机酸形成的酸加成盐类,例如盐酸(hydrochloric acid),氢溴酸(hydrobromic acid),硫酸(sulfuric acid),磷酸(phosphoric acid),硝酸(nitric acid)等;与有机酸形成的盐类,例如乙酸(acetic acid),草酸(oxalic acid),酒石酸(tartaric acid),琥珀酸(succinic acid),马来酸(maleic acid),富马酸(fumaric acid),葡萄糖酸(gluconic acid),柠檬酸(citric acid),苹果酸(malic acid),抗坏血酸(ascorbic acid),苯甲酸(benzoic acid),丹宁酸(tannic acid),棕榈酸(palmitic acid),藻酸(alginic acid),聚谷氨酸(polyglutamic acid),萘磺酸(naphthalenesulfonic acid),甲磺酸(methanesulfonic acid),对甲苯磺酸(p-toluenesulfonic acid),萘二磺酸(naphthalenedisulfonic acid),聚半乳糖醛酸(polygalacturonic acid)等;和(b)由元素阴离子如氯,溴和碘形成的盐类。在其它具体实施方案中,用苹果酸形成药学上可接受的盐类。在具体实施方案中,药学上可接受的盐类是用盐酸(hydrochloric acid)形成的。

[0048] 用于制备本发明组合物的活性剂也可以是药学上可接受的活性剂游离碱的形式。因为化合物的游离碱比其盐类的溶解度低,所以使用游离碱组合物来提供更持久的活性剂释放到作用区域。存在于尚未进入溶液的作用区域中的活性剂不能诱导生理反应,而是作为逐渐溶解的生物可利用药物的储存库。

[0049] 药物制剂

[0050] 本发明的阿片样物质和阿片样物质化合物可用作药物活性剂并且可以以散装形式使用。然而,这些化合物更适合配制成用于给药的药物制剂。可以使用许多合适的药物制剂中的任何一种作为使用本发明化合物的赋形剂。

[0051] 应当理解,上述式的某些化合物可以具有不对称碳原子,因此能够作为对映异构体存在。除非另有说明,本发明包括这样的对映异构体,包括外消旋体。单独的对映异构体可以由手性化合物(chiral)起始原料合成,或外消旋物可以通过化学领域众所周知的方

法进行分离,例如手性层析法(chiral chromatography),非对映盐类的分段结晶(fractional crystallization)等。

[0052] 本发明的化合物可以配制用于治疗各种病症。在制备根据本发明的药物制剂中,本发明的化合物及其生理学上可接受的盐类,或其任何一种的酸衍生物(以下称为“活性化合物”)与可接受的载体,载体必须在与制剂中任何其他成分相容的意义上是可接受的,并且不能对患者有害。载体可以是固体或液体,或两者,倾向选与作为单位剂量制剂的化合物配制,例如锭剂,其可以含有0.5重量%至95重量%的活性化合物。在一个具体实施方案中,药物组合物包含小于80重量%的活性化合物。在其它具体实施方案中,药物组合物包含小于50重量%的活性化合物。每种活性化合物中的一种或多种可以并入本发明的制剂中,其可以通过任何已知的药学技术制备,所述技术基本上由混合组分,任选地包括一种或多种辅助成分组成。

[0053] 本发明的制剂包括适合于口服,直肠,局部,口腔(例如,舌下),肠胃外(例如皮下,肌肉,皮内或静脉内)和经皮给药,尽管在任何给定情况下最合适的途径将取决于所治疗病症的性质和严重程度以及正在使用的特定活性化合物的性质。

[0054] 适合于口服给药的制剂可以以离散的单位呈现,例如胶囊,密封装锭剂,锭剂,糖衣锭或糖浆,每个含有预定量的活性化合物;作为粉末或颗粒;作为在水性或非水性液体中的溶液或悬浮液;或作为油包水或油包水乳液。这样的制剂可以通过任何合适的药学方法来制备,其包括使活性化合物和合适的载体(其可以含有如上所述的一种或多种辅助成分)结合的步骤。

[0055] 通常,本发明的制剂通过将活性化合物与液体或细碎固体载体或两者均匀且紧密地混合而制备,然后如果需要,将所得混合物成形。例如,可以通过压缩或模制含有活性化合物的粉末或颗粒,任选地与一种或多种辅助成分来制备锭剂。压缩锭剂可以通过在合适的机器中以自由流动形式压缩化合物来制备,所述化合物例如任选地与黏合剂,润滑剂,惰性稀释剂和/或表面活性/分散剂混合的粉末或颗粒。模制锭剂可以通过在合适的机器中模制用惰性液体黏合剂润湿的粉末化合物来制备。

[0056] 适用于颊部(舌下)使用的制剂,包括在调味基质中通常包含活性化合物的锭剂,通常为蔗糖和阿拉伯胶或黄原胶;以及在惰性基质如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶中包含该化合物的锭剂。

[0057] 本发明适用于肠胃外给药的制剂包括活性化合物的无菌水性制剂,该制剂的倾向与预期接受者的血液成等渗透压状态。这些制剂可以通过皮下,静脉内,肌肉或皮内注射来使用。制备方式可为将化合物与水或甘氨酸缓冲液混合并,得到与血液溶等渗的无菌液。

[0058] 适合于直肠给药的制剂倾向以单位剂量栓剂存在。这些可以通过将活性化合物与一种或多种常规固体载体(例如可可脂)混合,然后使所得混合物成形来制备。

[0059] 适于局部使用于皮肤的制剂倾向采用软膏、霜剂、洗剂、糊剂、凝胶剂、喷雾剂、气雾剂或油剂的形式。

[0060] 适于经皮给药的制剂可以作为离散贴片提供,其适于与受体的表皮长时间保持紧密接触。适用于经皮给药的制剂也可以通过离子电渗法递送(参见例如Pharmaceutical Research 3(6):318(1986)),并且通常采取任选缓冲的活性化合物水溶液的形式。合适的制剂包含柠檬酸盐或bis\tris缓冲液(pH 6)或乙醇/水,并含有0.01至0.2M活性成分。

[0061] 本发明也可以配制成缓释制剂。缓释组合物包括但不限于活性成分与任选地涂覆有扩散阻挡层以改变树脂的剥离性能的离子交换树脂结合的组合物。

[0062] 可以使用的载体和/或稀释剂包括凡士林,羊毛脂,甘油,植物油或脂肪乳剂,聚乙二醇,醇,透皮增强剂,天然或硬化油或蜡,以及它们的两种或更多种的组合。

[0063] 使用方法

[0064] 除了本文所述式的化合物之外,本发明还提供有用的治疗方法。例如,本发明提供了治疗NASH,NALFD和/或ASH的方法。

[0065] 根据本发明的说明性,鸟类包括鸡、鸭、火鸡、鹅、鹌鹑、雉鸡、羚羊(例如鸵鸟)和驯养的鸟类(例如鹦鹉和金丝雀),并且包括鸟类(in ovo)。鸡和火鸡是主要的类别。

[0066] 根据本发明,受试者为哺乳动物是合适的。人类受试者是主要的选择。根据本发明,受试者可以是任何性别和发育的任何阶段(即新生儿、婴幼儿、青少年、青少年、成人)的人类。

[0067] 如上所述,本发明提供药物制剂,其包含本文所述化学式的化合物或其药学上可接受的盐类,用于任何合适的施用途径的药学上可接受的载体,包括但不限于口服、直肠、局部、口腔、胃肠外、肌肉、皮内、静脉内和经皮给药。

[0068] 根据本发明,本发明的方法包括将有效量的本发明的组合物(如上所述)给予受试者。组合物的有效量(其用途在本发明范围内)将随着受试者的不同而变化,并且将取决于受试者的年龄和状况以及给药途径等因素。这样的剂量可以根据本领域技术人员已知的常规药理学程序确定。例如,本发明的化合物授予给受试者可以约从下限量0.01,0.02,0.03,0.04,0.05,0.06,0.07,0.08,0.09,0.10,0.20,0.40,0.50,0.60,0.70,0.80,0.90,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0,6.0,7.0,8.0,9.0或10%,至约上限10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64,65,66,67,68,69,70,71,72,73,74,75,76,77,78,79,80,81,82,83,84,85,86,87,88,89,90,91,92,93,94,95,96,97,98,99或100重量%的组合物。在一些实施方案中,化合物占组合物重量的约0.05至约95%。在其它实施方案中,化合物占组合物重量的约0.05%至约60%。在其它实施方案中,化合物占组合物重量的约0.05%至约10%。

[0069] 任何特定化合物的治疗有效剂量将在不同化合物与不同患者之间略有不同,并且将取决于患者的状况和给药途径。一般而言,约0.1至约50mg/kg的剂量将具有治疗功效,潜在地用于口服和/或喷雾剂使用的更高剂量。化合物的毒性问题可能将静脉注射给药的剂量限制在较低水平的浓度,例如高达约10mg/kg,所有重量均以化合物活性碱的重量计算,包括使用盐类的情况。通常,约0.5mg/kg至约5mg/kg的剂量将用于静脉内或肌肉给药。约1mg/kg至约50mg/kg的剂量可用于口服给药。

[0070] 在具体实施方案中,本发明的化合物可以每千克动物体重约0.1毫克至约20毫克的每日剂量使用,其可以每日一次到每日四次或以持续释放形式给予。在人体使用上,总日剂量可以在约1毫克至约1,400毫克的范围内,例如每天1毫克至50毫克,在其它具体实施方案中,总日剂量在约10毫克至约100毫克。在其它实施方案中,适合于口服给药的单位剂型可以包含约1毫克至约1,400毫克的化合物,任选与固体或液体药物载体或稀释剂混合。本发明的化合物,可以藉由参考相关文本和文献和/或藉由熟知本领域的技术人员以常规实

验确定的治疗病症进行治疗,以适于使用于受试者的任何量使用。(参见,例如Remington, The Science And Practice of Pharmacy(第9版,1995)。然而,通常,当本发明的化合物以每千克动物体重约0.1毫克至约20毫克的每日剂量使用时,倾向于以一次剂量分每天1至4次或以持续释放剂型形式给药。

[0071] 前述内容是对本发明的说明,而不应被解释为对本发明的限制。本发明由所附专利申请专利范围限定,其中包括申请专利范围的等同物。

[0072] 实施例1.本发明化合物的合成

[0073] 化合物A(纳美芬)和化合物B(纳曲酮)为可于市场上购得的商品化产品。

[0074] 实施例2.化合物A降低在库弗氏细胞中由LPS所诱发的TNF- $\alpha$ 和MAPK磷酸化

[0075] 肝脏炎症反应的主要源头是库弗氏细胞。已知TNF- $\alpha$ 在肝脏损伤中起重要作用,其血浆浓度与肝脏损伤的严重程度相关。p38磷酸化是导致库弗氏细胞产生促炎介质的主要途径之一的关键步骤。

[0076] 2.1实验设计

[0077] 通过酶消化分离及密度梯度离心原理得到正常大鼠中的库弗氏细胞,并培养过夜。然后用大肠杆菌LPS刺激它们,不用添加或添加化合物A在2、4和6小时测量上清液中的TNF- $\alpha$ 含量。

[0078] 2.2结果

[0079] 化合物A抑制在库弗氏细胞中由LPS所诱发的TNF- $\alpha$ 。[2小时后,细胞中TNF- $\alpha$ 的过度积累干扰了实验结果]。(图1)。化合物A还减少了库弗氏细胞中LPS诱导的p38 MAP激酶磷酸化(图2)。

[0080] 实施例3.非酒精性脂肪性肝炎(NASH)在STAM模型的体内药效研究

[0081] 实验程序NASH的诱导是在雄性C57BL/6小鼠出生2天后,通过单次皮下注射200微克的链脲佐菌素(streptozotocin)溶液,并在出生后4周后喂食高脂肪饮食(HFD,57kcal%脂肪,Cat#HFD32,CLEA Japan,Japan)。将动物分成每6只一组,分别以每千克口服给10毫升安慰剂(1%聚山梨醇酯80(Tween 80))或每千克给10毫克替米沙坦(Telmisartan),一天给药二次,给药期间为第6至第9周。相同的,化合物A/纳美芬(NMN)和化合物B/纳曲酮(NTX)以每千克5毫克皮下注射给药,每天给药两次。受试动物在第9周牺牲。替米沙坦组平均体重在治疗期间逐渐减少。在治疗期间达到第9周之前,在NMN组中发现六只受试小鼠中有一只死亡。与对照组相比,替米沙坦组在小鼠牺牲当天平均体重显示出减少。对照组与任一处理组之间的平均体重没有显著差异(数据未显示)。

[0082] 来自对照组(vehicle),替米沙坦(Telmisartan),NTX和NMN的肝脏的苏木精(hematoxylin)和伊红染色(eosin(HE)-stained)区域的代表性显微照片于图3显示。来自对照组的肝切片显示出微泡和大泡脂肪沉积、肝细胞膨胀和炎症细胞浸润的现象。与对照组相比,替米沙坦、NMN和NTX组的NAS显著降低(NAFLD病理评分)。

[0083] 表1a、NASH STAM模型组织病理学和NAFLD活性评分。

	对 照 组 (Vehicle)	替米沙坦	纳美芬	纳曲酮
[0084] 脂肪肝 (Steatosis)	1.17 ± 0.17	0.50 ± 0.22*	0.80 ± 0.49	0.50 ± 0.22*
发炎(Inflammation)	2.33 ± 0.33	1.17 ± 0.48	1.80 ± 0.20	1.67 ± 0.33
气泡(Ballooning)	1.50 ± 0.22	1.00 ± 0.26	0.40 ± 0.24*	0.00 ± 0.00*
<b>NAS</b>	<b>5.00 ± 0.37</b>	<b>2.67 ± 0.56*</b>	<b>3.00 ± 0.63*</b>	<b>2.17 ± 0.40*</b>

[0085] NAS:NAFLD活动评分(见表1b)

[0086] 所有值代表5(纳美芬)或6只动物的平均值±SEM。\*P<0.05对对照组控制;双尾非配对t检验。

[0087] 表1b、NAS评分测量方法。

测量	评分	区段
脂肪肝 (Steatosis)	0	<5%
	1	5-33%
	2	>33-66%
	3	>66%
肝小叶发炎 (Lobular inflammation)	0	无病灶(No foci)
	1	<2 个病灶/200X
	2	2-4 个病灶/200X
	3	>4 个病灶/200X
肝细胞膨胀 (Hepatocyte Ballooning)	0	无
	1	少许膨胀细胞
	2	许多细胞/显著膨胀

[0089] 来自对照组的肝切片在肝小叶的中心区域显示出增加的胶原沉积(表1a;图3)。替米沙坦和NTX组纤维化面积(天狼猩红阳性区域(Sirius red-positive area))明显降低。与对照组相比,NMN治疗组纤维化面积有减少的趋势。

[0090] 实施例4. 甲硫氨酸-胆碱缺乏(MCD)饮食大鼠模型(参见Szabo G.等人2005)

[0091] 4.1实验设计

[0092] 用0、5、10、20或30mg/kg(4只大鼠/组)的剂量给予化合物A,每日一次口服管喂给予20只Sprague Dawley大鼠,投与4周。在喂食期间,每周将所有动物喂食蛋氨酸/胆碱缺乏(MCD)饮食(来自Dyets, Inc)五次,以产生饮食诱导的脂肪肝。在四周结束时,大鼠以腹膜内给药(IP) 2mg/kg大肠杆菌内毒素(LPS),6小时后将大鼠安乐死并收集肝组织和血清。肝脏

与血液在大鼠死亡时被采取留存。同时也留取组织学样本。

[0093] 4.2结果

[0094] 如图5所示,化合物A在脂肪肝大鼠 ( $n=3/\text{组}$ ;  $\text{mpk}=\text{mg}/\text{kg}$ ) 中给予LPS后,证实了预防肝化合物A治疗的情况下,血清ALT水平为339U/L。LPS导致ALT病理增加。以5和10mg/kg的化合物A治疗,发现ALT水平升高近50%,但由于该试验剂量研究中的数量 ( $n=3$ 每组) 小,所以未达统计学显著差异。然而,在20和30mg/kg的情况下,ALT进一步减少,即使是低数量的测试量中,也是显著的 ( $p<0.05$ )。以30mg/kg给药的结果,ALT为 $94.9\pm5.5\text{U}/\text{L}$ 。这些结果证明了化合物A在非酒精性脂肪性肝病大鼠中,内毒素血症后的肝损伤具有预防性药效及药物剂量相关性。

暴露于 LPS(100ng/ml)2 小时后由库弗氏细胞分泌的 TNF- $\alpha$

N=5

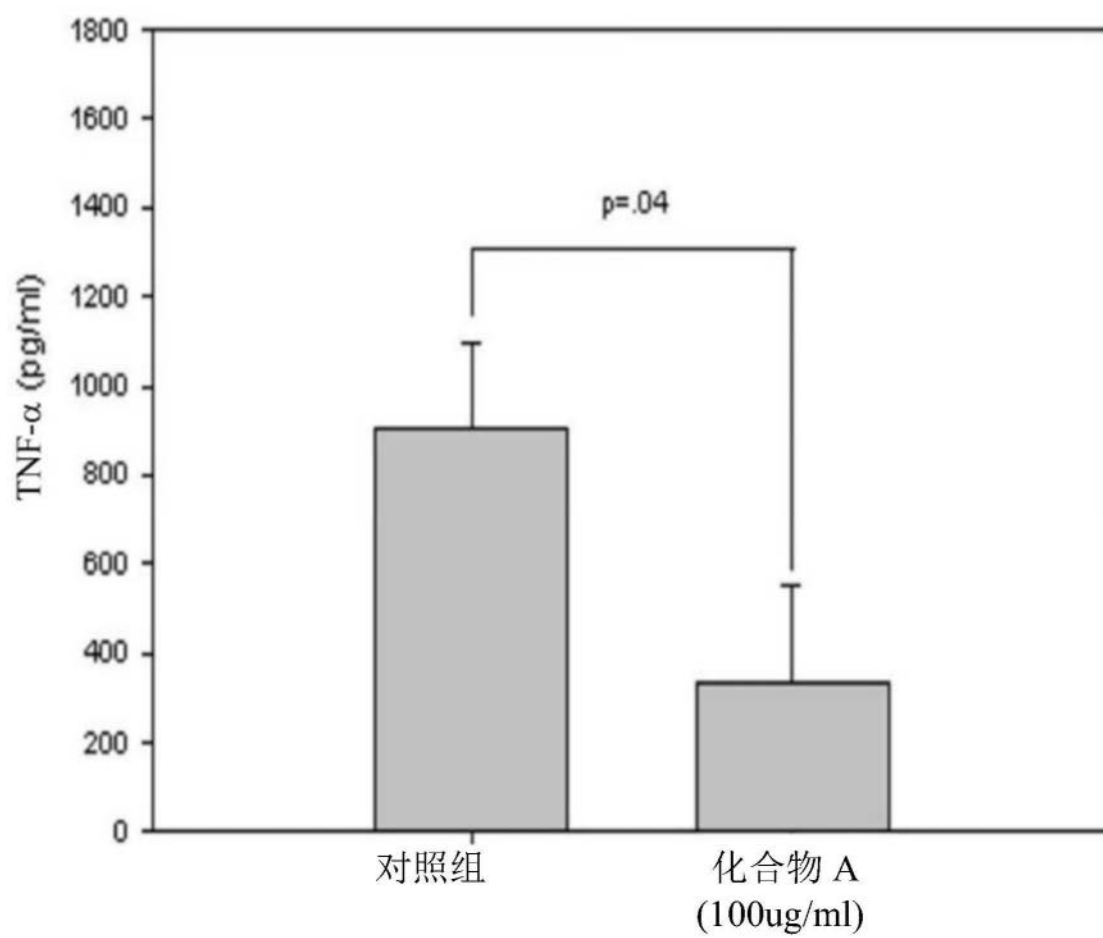


图1

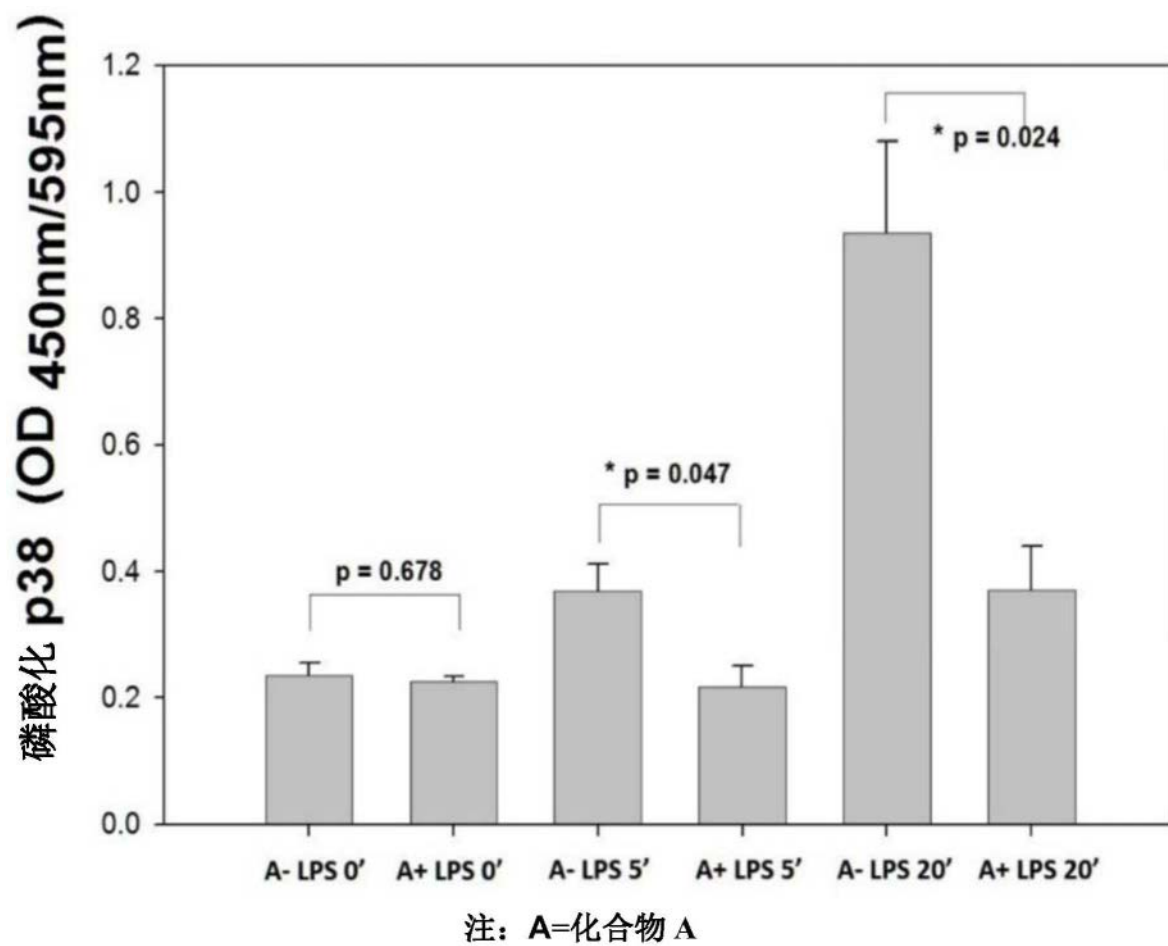


图2



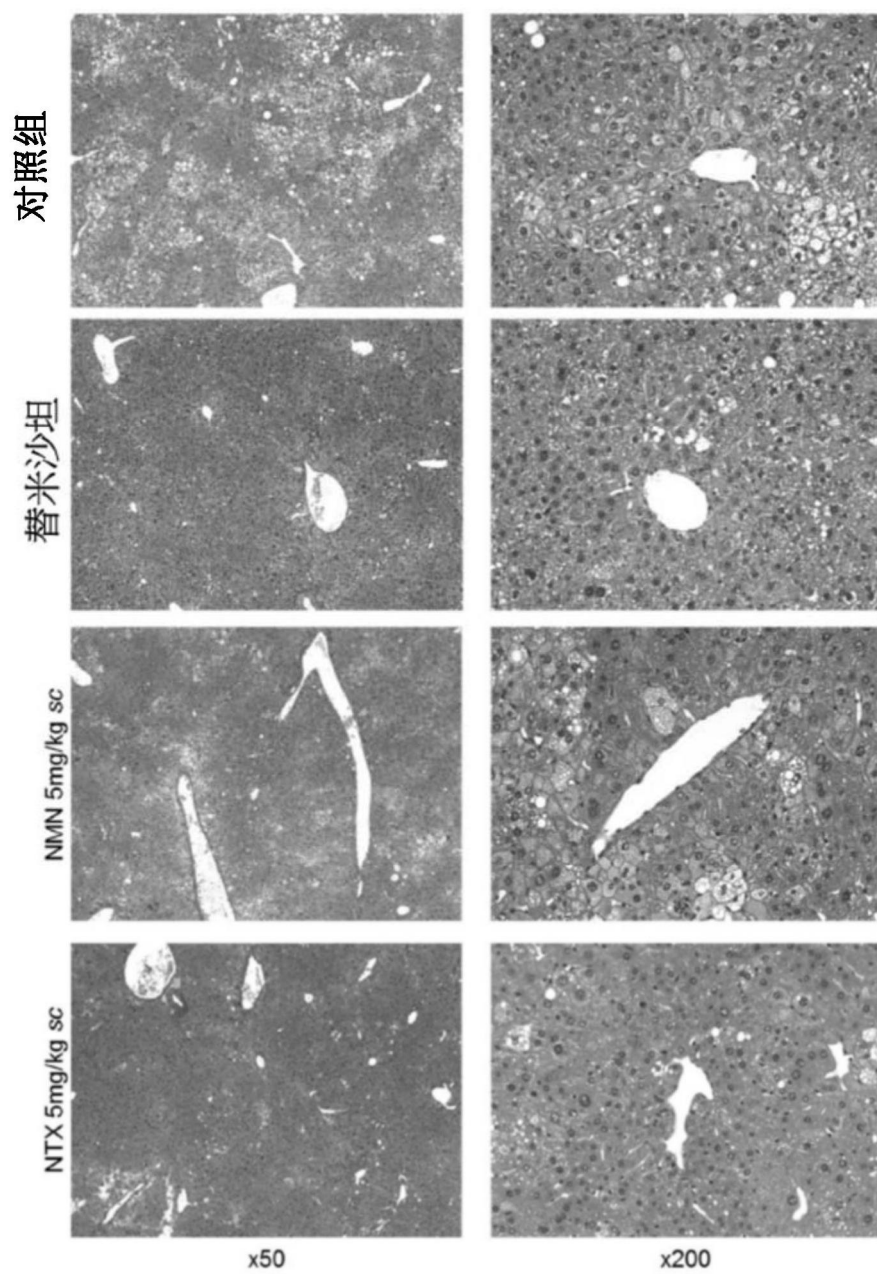


图3

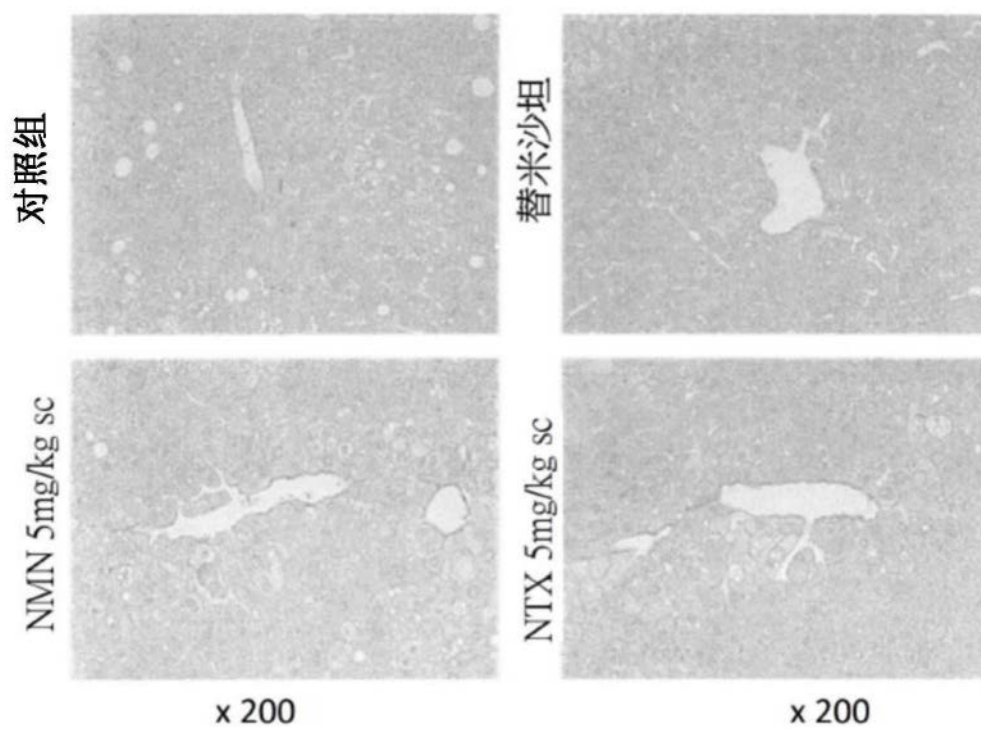


图4A

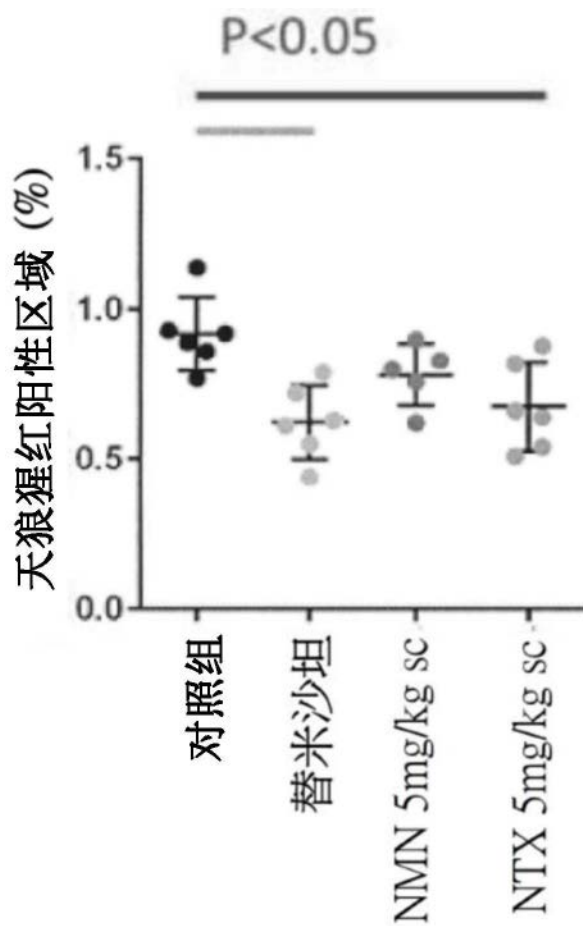
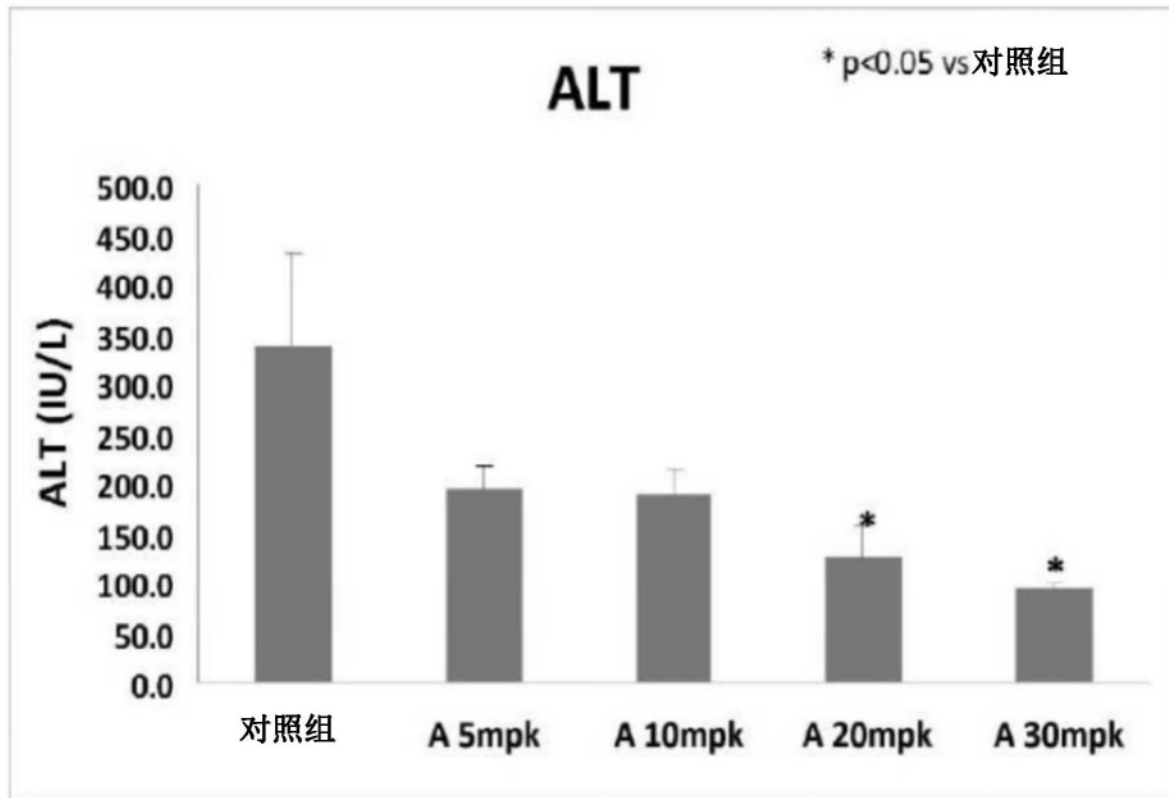


图4B



注：A=化合物 A

图5

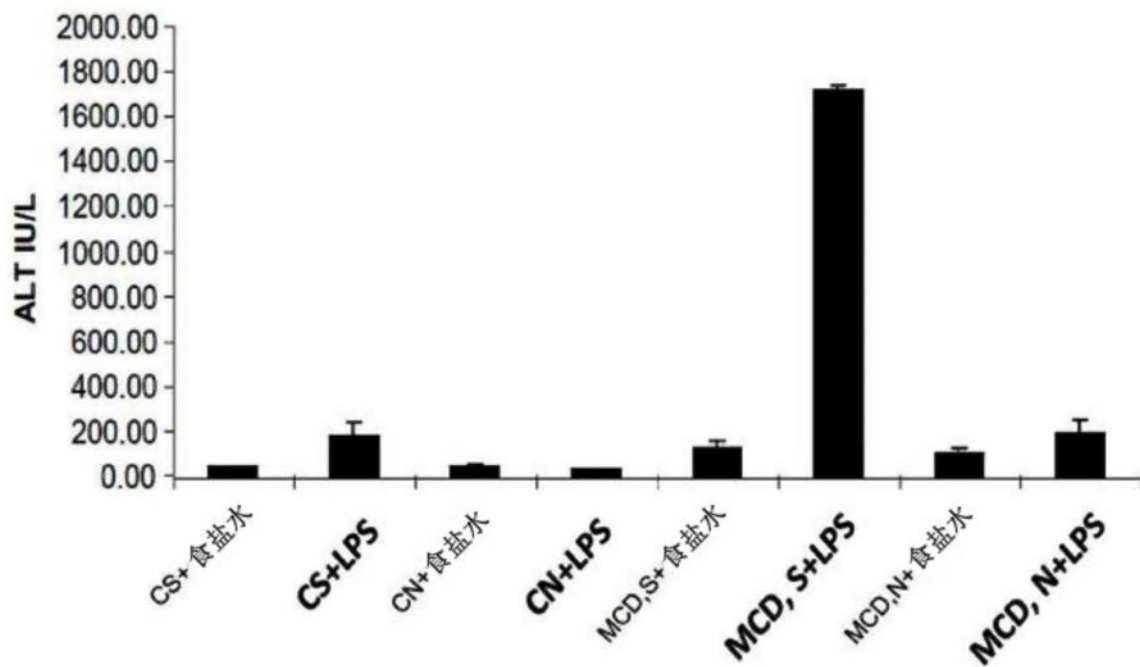


图6

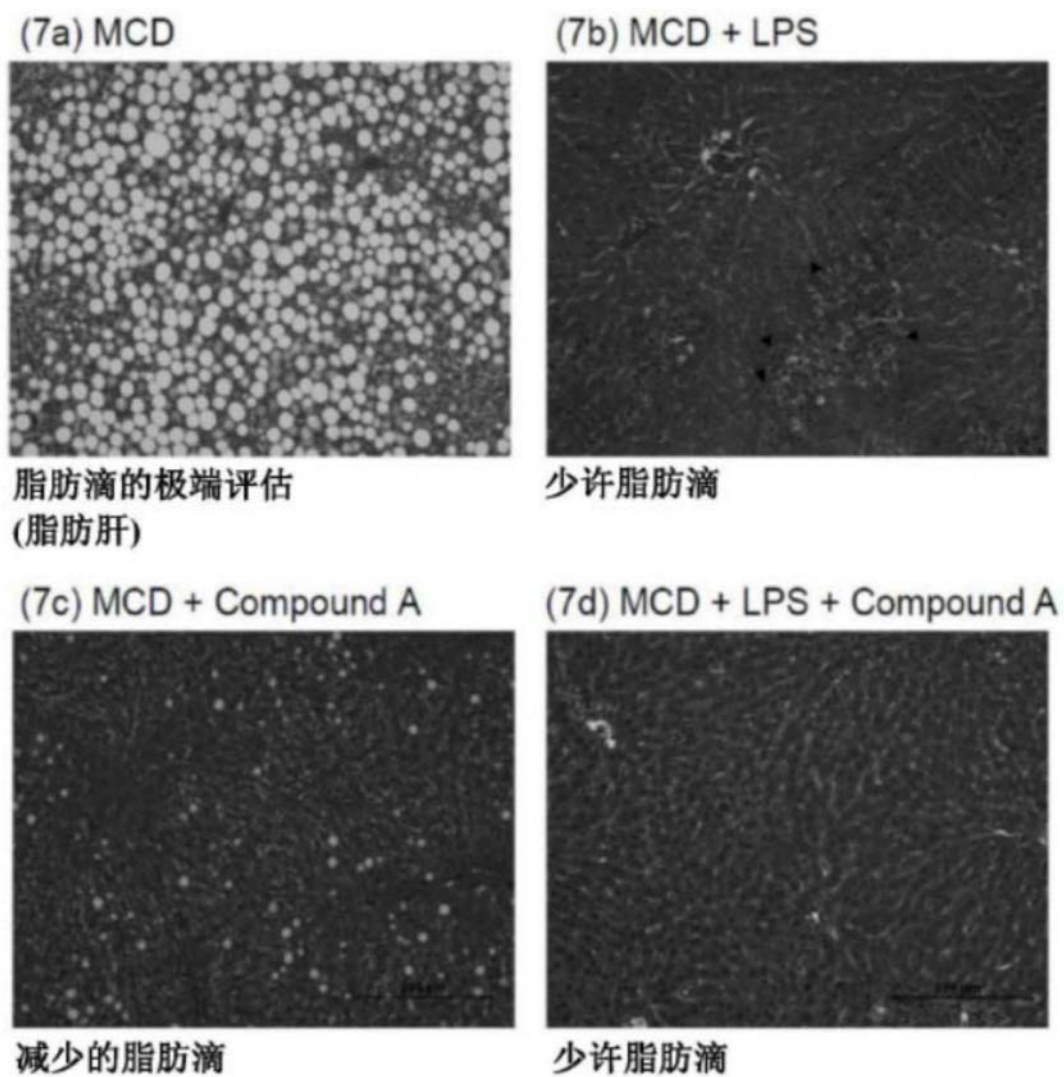


图7