(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 102781442 B
(45)授权公告日 2016.02.17

(21)申请号 201080057504.7
(22)申请日 2010.12.15
(30)优先权数据
61/286,633 2009.12.15 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2012.06.15
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CA2010/002014 2010.12.15
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2011/072394 EN 2011.06.23
(73)专利权人 儿童医院
地址 加拿大安大略
(72)发明人 B·A·阿尔曼 R·普恩 H·洪
(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 李华英
(51)Int.Cl.
A61K 31/395(2006.01)
A61P 17/02(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
(56)对比文件
CN 101002756 A,2007.07.25, 权利要求 1.
CN 101171004 A,2008.04.30, 摘要 .
WO 2009/053742 A2,2009.04.30, 权利要求 19.
审查员 刘军政

权利要求书1页 说明书11页 附图6页

(54)发明名称

使用奈福泮化合物治疗瘢痕和β-联蛋白介导的疾病的方法

(57)摘要

本发明提供了β-联蛋白介导的疾病的治疗方法,包括施用奈福泮化合物。具体而言,关注来自于β-联蛋白过量或者不希望表达的疾病的治疗。所述化合物包括奈福泮、其类似物、其前药以及奈福泮的盐和溶剂化物。β-联蛋白介导的疾病优选自纤维增生疾病(诸如瘢痕、侵袭型纤维瘤病和纤维症)以及癌症(诸如结肠癌、黑色素瘤、肝癌、卵巢癌、子宫内膜癌、髓母细胞瘤、毛母质瘤和前列腺癌)。

CN 102781442 B

1. 有效调节 β - 联蛋白的奈福泮、或其盐在制备药物中的应用，所述药物用于治疗瘢痕组织或者减轻瘢痕组织形成。

2. 权利要求 1 的应用，其中瘢痕组织与纤维瘤病或者肥大性疾病相关。

3. 权利要求 1 的应用，其中瘢痕组织的量减少和 / 或瘢痕组织外观改善。

4. 权利要求 1 的应用，其中瘢痕选自增生性瘢痕、肥大性瘢痕、外科手术瘢痕、由割伤或擦伤引起的瘢痕、由感染引起的瘢痕、由粉刺引起的瘢痕或者烧伤瘢痕。

5. 权利要求 1 的应用，其中所述药物用于局部施用。

6. 权利要求 5 的应用，其中所述药物包括应用于生物相容性基质的奈福泮化合物。

7. 权利要求 6 的应用，其中所述生物相容性基质选自敷料、绷带、植入物、装置、通过生物工程得到的表皮成纤维细胞或角质形成细胞和聚合物基质。

8. 权利要求 7 的应用，其中所述生物相容性基质为混合了亲水材料或疏水材料的经过修饰的薄膜包衣系统，其中亲水材料选自丙烯酸或者甲基丙烯酸聚合物或者共聚物、烷基乙烯基聚合物、多糖、或聚卡波非，疏水性材料选自疏水聚合物、蜡类、脂肪类、长链脂肪酸、长链脂肪酸的酯、长链脂肪酸的醚以及丙烯酸或者甲基丙烯酸聚合物或者共聚物、烷基乙烯基聚合物、多糖、聚卡波非、疏水聚合物、蜡类、脂肪类、长链脂肪酸、长链脂肪酸的酯和长链脂肪酸的醚的混合物。

9. 权利要求 8 的应用，其中所述多糖选自纤维素、海藻酸盐或酯、果胶类、淀粉、天然和人造树胶或壳聚糖。

10. 权利要求 9 的应用，其中所述纤维素选自羟基烷基纤维素、羧基烷基纤维素。

11. 权利要求 1 的应用，其中所述药物包括一种或者更多另外的治疗药物。

12. 权利要求 11 的应用，其中所述另外的治疗药物选自抗瘢痕形成药、伤口愈合药和化学治疗药物。

13. 权利要求 1 的应用，其中所述药物包括药学上可接受的辅料或载体。

14. 权利要求 1 的应用，其中所述药物被制备为在 0.0001 至 1500mg 的范围的剂量的剂型。

使用奈福泮化合物治疗瘢痕和 β-联蛋白介导的疾病的方法

技术领域

[0001] 本发明主要涉及瘢痕和 β-联蛋白介导的疾病的治疗。

背景技术

[0002] 纤维增生进程是一组特征在于间质成纤维细胞样梭形细胞过度增生的疾病。它们范围涵盖了从肥大性伤口到诸如侵袭型纤维瘤病 (AF) 的肿瘤进展。

[0003] 在伤口愈合的过程中,几种细胞类型和信号通道被活化从而重组皮肤的上皮和真皮层。在皮肤损伤之后,开始三个连续不同的但相重叠的进程:炎症、增生和重塑。在增生期,间质成纤维细胞样细胞聚积在皮肤的表皮组分中而上皮细胞屏障层被改造 (Singer 1999, Martin 1997, McClain 1996)。β-联蛋白已经显示出调节上皮和间充质细胞活性,因此它能促进表皮间充质细胞的增生和分化和减少上皮角蛋白细胞的转移 (Cheon 2002)。小鼠模型已经表明 β-联蛋白能够调节最终伤口的大小,而由锂处理所诱导的 β-联蛋白水平导致更大尺寸的伤口愈合 (Cheon 2006)。并且,在四环素调节的促进子控制之下的,在间充质细胞中表达稳定 β-联蛋白的转基因鼠已经被生产出来。将有增生性皮肤伤口的已经愈合的受伤小鼠与野生型对照小鼠相比较 (Cheon 2002)。这表明 β-联蛋白在间充质细胞中的重要性和它在伤口愈合中的决定性作用。

[0004] 另一种 β-联蛋白介导的纤维增生疾病为侵袭型纤维瘤病 (AF),也被称作硬纤维瘤。AF 是一种局部侵袭型软组织肿瘤,包括间质成纤维细胞样梭形细胞。AF 作为零星病灶或者诸如家族性多发性腺癌 (FAP) 的家族性综合征而发生。β-联蛋白稳定作用普遍出现在 AF 中,其通过提高的 β-联蛋白水平和增加的 β-联蛋白-介导的转录活性表现出来。此外,β-联蛋白稳定作用足以引起 AF,如在使用 β-联蛋白 稳定型过度表达的基因小鼠模型中所示的 (Cheon 2002)。这暗示了 β-联蛋白在纤维增生疾病中的关键作用和它在间充质细胞中的重要性。

[0005] 除了 β-联蛋白在纤维增生疾病中的作用之外,大量研究已经表明 β-联蛋白表达失调在诸如结肠癌、黑色素瘤、肝细胞癌、卵巢癌、子宫内膜癌、髓母细胞瘤、毛母质瘤和前列腺癌的大量恶性肿瘤的起源中是重要事件。β-联蛋白变异在这一组癌症的进展中表现为关键步骤,这表明它在细胞增生或者细胞死亡的控制中的重要作用(如Polakis P. The many ways of Wnt in cancer. Curr Opin Genet Dev. 2007 年 2 月;17(1):45-51 所描述的)。

[0006] 考虑到上述情况,有望研发出有效治疗可能与 β-联蛋白相关的病况和疾病的新方法。

[0007] 发明概述

[0008] 现在已经发现奈福泮及其类似物,对于治疗如纤维增生疾病的 β-联蛋白介导的疾病以及治疗瘢痕组织有益。

[0009] 相应地,在本发明的一个方面,提供一种在哺乳动物中治疗 β-联蛋白-介导的疾

病或者病况的方法，包括向哺乳动物施用奈福泮，或其功能上相当的类似物、前药、盐或者溶剂化物。

[0010] 在发明的另一个方面，一种治疗瘢痕组织或者减少瘢痕组织形成的方法包括向组织施用治疗有效量的奈福泮，或其药学上可接受的类似物、盐、溶剂化物或者前药。

[0011] 在可选择的一个方面，提供了一种产品，其包括包装和包括奈福泮或其功能上相当的类似物、盐、溶剂化物或者前药的组合物。

[0012] 在另一个方面，提供了奈福泮或其功能上相当的类似物、盐、溶剂化物或者前药的新用途，用于制备治疗 β-联蛋白-介导的疾病或者病况或者瘢痕组织的药物。

[0013] 附图简述

[0014] 本发明现在将参考下图被进一步描述：

[0015] 附图 1A 为柱形图，其表明在用 DMSO（对照）或者奈福泮处理 后使用 SRB 分析所测量得到的所培养的标准成纤维细胞和所培养的来自于两个增生性伤口的细胞的活性。以平均值和 95％置信区间给出细胞存活百分比。与 DMSO 对照的增生性伤口细胞培养物相比，用奈福泮处理的培养物中细胞存活百分比有显著的降低，然而，在正常成纤维细胞培养物中的细胞存活率仍相对无变化（星号表明相比于正常成纤维细胞培养物的显著性）。

[0016] 附图 1B 是在增生性伤口细胞培养物中 β-联蛋白水平的蛋白质印迹分析。相比于 DMSO 处理的对照组，奈福泮治疗组表现为大量减少 β-联蛋白的水平。

[0017] 附图 2 是比较用奈福泮未处理（左侧）的或者处理过的或者 DMSO 对照组的雄性 Apc+/Apc1638N 小鼠中侵袭型纤维瘤病 (AF) 肿瘤形成的数量的图表，其图示了在同样处理条件下胃肠道上段中来自上皮的息肉数量。1) 未处理 (n = 11)，2)0.1％ DMSO(n = 10)，和 3) 以 40mg/kg 体重的奈福泮 (n = 10)。

[0018] 附图 3A 为在用 0.1％ DMSO（对照）或奈福泮之一处理 5 天后来自于人类侵袭型纤维瘤病 (AF) 肿瘤的原代细胞培养物的提取物 (n = 5) 中的 β-联蛋白水平的蛋白质印迹 (92kDa)。也在利用 Wnt3a 同时有或者没有奈福泮进行培养的原代成纤维细胞培养物中测定 β-联蛋白水平。实验以三份量进行。肌动蛋白表达被表示为裂解物内参对照。

[0019] 附图 3B 是蛋白水平数据的光密度分析的图表，其表明利用 0.1％ DMSO（对照）或者奈福泮进行处理的来自于人类 AF 肿瘤的细胞培养物中的 β-联蛋白总水平减少近五倍。显示为平均值和 95％置信区间。相比于对照组在统计上的显著性差异 ($p < 0.05$)，利用星号进行表示。

[0020] 附图 4A 是表示利用 DMSO(n = 5) 或者奈福泮 (n = 5) 处理了 5 天的来自于人类 AF 肿瘤原代细胞的细胞活性的平均值和 95％置信区间的图表。通过利用锥虫蓝染料染色细胞并清点所有活着（透明）和死亡（蓝色）细胞数量来测量细胞活性。奈福泮显著减少活细胞数量而死亡细胞的数量并未改变。相比于对照组在统计上的显著性差异 ($p < 0.05$)，利用星号进行表示。

[0021] 附图 4B 为一个图表，其表示 BrdU- 阳性 /DAPI- 阳性细胞相比于总 DAPI- 阳性细胞的百分比，其作为利用 DMSO 或者奈福泮以三份量处理 5 天后的来自于人类侵袭型纤维瘤病肿瘤 (n = 2) 的原代细胞培养物中增生的度量。奈福泮显著减少 BrdU 进入细胞。显示为平均值和 95％置信区间。相比于对照组在统计上的显著性差异 ($p < 0.05$)，利用星号进行表示。

[0022] 附图 5A 表示提取自永生人类成纤维细胞裂解物的蛋白质印迹分析。观察到相比于利用 DMSO 处理的细胞在奈福泮处理过的细胞中 β-联蛋白水平显著减少。GAPDH 表达被表示为裂解物内参对照。

[0023] 附图 5B 为与附图 5A 的蛋白质印迹数据相一致的光密度法数据的图表。

[0024] 附图 6A 为 Tcf 小鼠受伤 14 天后伤口的细胞培养物中 β-联蛋白的蛋白水平的蛋白质印迹分析。GAPDH 表达被表示为裂解物内参对照。

[0025] 附图 6B 为用与载体一同配制的奈福泮（奈福泮）或者仅有载体（对照）处理后的有全层环形伤口的小鼠正常瘢痕大小的图表，其中通过每日 40mg/kg 系统性给药两周进行处理。该图表表示使用 4mm 活检穿孔器所产生的皮肤伤口表面积直径的平均值和 95％置信区间。相对于对照处理，奈福泮处理后伤口的直径明显更小（星号表示显著性差异）。

[0026] 附图 7 是线形图，其表示正常伤口愈合（正常）过程中一段时间后（以周记）和在增生性伤口（增生）中，相比于未受伤组织的相对的 β-联蛋白的蛋白水平。在正常伤口愈合过程中 β-联蛋白的蛋白水平的上升和下降正常模式在增生性伤口中是失调的，其展示出 β-联蛋白水平提高的时间显著延长。

[0027] 附图 8 为受伤四周后皮肤增生性瘢痕表面积直径的平均值和 95％置信区间的图表。使用活检穿孔器产生 4mm 直径的全层环形伤口。伤口直径以 mm 给出。星号表示相比于 TGF-β 处理时在所记录的瘢痕大小中的统计学显著性差异 ($p < 0.01$)，其中当受伤时注射 TGF-β 已知会引起增生性瘢痕尺寸增大。

[0028] 附图 9 为在三种不同载体中的不同浓度奈福泮局部制剂的图表：羧甲纤维素（CMC）、矿脂和羧丙甲纤维素。这三种载体在小鼠模型体内进行测试以确定最有效递送奈福泮通过皮肤的制剂。通过在皮肤和血清中奈福泮水平的测量，确定矿脂基质载体的制剂表现出增强的奈福泮释放性质。

[0029] 附图 10 为在任意单元测得的相对瘢痕表面积的图表（受伤之后瘢痕大小被认为 100 个任意单元）。利用载体对照的乳膏剂或者在矿脂载体中配制的 1% 奈福泮乳膏剂局部处理直径 4mm 的全层刺孔伤口，通过一天两次并持续 14 天进行处理。该数据表示每个处理的 10 个伤口的平均值以及标准差。

[0030] 优选实施方案详述

[0031] 提供一种在哺乳动物中治疗 β-联蛋白-介导的疾病的方法，其包括向哺乳动物施用奈福泮或者其功能上相当的类似物。

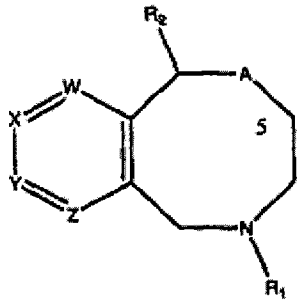
[0032] 如本文所使用的，术语“β-联蛋白-介导的疾病或者病况”是指特征在于纤维组织聚积的疾病或者病况（“纤维症”）包括但不限于，纤维增生疾病诸如表皮瘢痕包括肥大性瘢痕、增生性瘢痕和瘢痕疙瘩，它们在形成阶段或者已经形成，和侵袭型纤维瘤病例如零星病灶或者家族性综合征诸如家族性多发性腺癌（FAP）、肝纤维化、肺纤维化（例如，矽肺、石棉肺）、肾纤维化（包括糖尿病肾病）、肾小球硬化症、跖腱膜纤维瘤病 (Ledderhose disease) 和 Dupuytren 挛缩（Dupuytren′ scontracture）（DC），以及恶性肿瘤，诸如结肠癌、结直肠癌、黑色素瘤、肝细胞癌、卵巢癌、子宫内膜癌、髓母细胞瘤、毛母质瘤和前列腺癌。

[0033] 术语“奈福泮”是指 5-甲基-1-苯基-1,3,4,6-四氢-2,5-甲苯噁唑辛及其药学上可接受的功能相当的类似物、前药、盐和溶剂化物。术语“功能相当的”，如其对于奈福泮

的类似物、前药、盐和溶剂化物所使用的那样，是指所选化合物调节 β－联蛋白的能力。所选化合物可以调节 β－联蛋白的程度在化合物与化合物之间可以有所不同。

[0034] 如本文所使用的术语“类似物”是指具有下列通式 (1) 的化合物，

[0035]



(1B)

[0036] 其中 R_1为 H、C_1-C_6烷基，其被 F 或者 C_3-C_6环烷基或者 C_2-C_4烯基任选取代；A 为 O，CH_2或者 $S(O)_n$其中 n 为 0-2；W、X、Y 和 Z 中的一个为 N、CH 或者 CR_3并且其它为 CH；R_2为 C_5-C_6杂芳基、C_5-C_{10}环烷基或者环烯基，其任选含有一个或者更多的选自 O、N 和 $S(O)_n$的杂原子其中 n 为 0-2，并被 R_3任选取代；或者苯基在一个或者更多位置被一个或者更多独立地选自卤素、CN、CF_3、C_1-C_6烷基和 OR_1的取代基任选取代，或者苯基同五或者六元环稠合，所述环可以是碳环、杂环（含有 1-2 个选自 O、N 和 S 的杂原子）、芳香环或者杂芳香环（含有 1-2 个选自 O 和 N 的杂原子）；R_3选自卤素；CF_3；CN；OR_5；$SO_2N(R_5)_2$；COR_5；CO_2R_5；$CON(R_5)_2$；NR_1COR_4；$NR_1SO_2R_4$；$NR_1CO_2R_4$；$NR_1CON(R_5)_2$；用 R_3取代的 OC_1-C_6烷基；被未取代的 R_3任选取代的 C_1-C_6烷基；被未取代的 R_3任选取代的 C_3-C_6环烷基；被未取代的 R_3任选取代的 C_2-C_6烯基；被未取代的 R_3任选取代的 C_2-C_6炔基；被未取代的 R_3任选取代的芳基；和含有 1-4 个选自 N 和 O 的杂原子的五或者六元芳香杂环；R_4为 C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、芳基或者杂芳基；和 R_5为 H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、芳基或者杂芳基并且与另一个 R_5相同或者不同；或者其药学上可接受的盐；其中 R_1为 H、C_1-C_6烷基，其被 F 或者 C_3-C_6环烷基或者 C_2-C_6烯基任选取代；R_2和 R_3相同或者不同并为 H、卤素、CN、CF_3、C_1-C_6烷基或者 OR_1，或者 R_2和 R_3形成五或者六元环，所述环可以是碳环、杂环（含有 1-2 个选自 O、N 和 S 的杂原子）、芳香环或者杂芳香环（含有 1-2 个选自 O 和 N 的杂原子）；W、X、Y 和 Z 中的一个为 N 或者 CR_4并且其它各自为 CH；R_4为卤原子、CF_3、CN、OR_7、$SO_2N(R_6)_2$、COR_6、CO_2R_6、$CON(R_6)_2$、NR_1COR_5、$NR_1SO_2R_5$、$NR_1CO_2R_5$、$NR_1CON(R_6)_2$、被 R_4任选取代的 OC_1-C_6烷基、被 R_4任选取代的 C_1-C_6烷基、被 R_4任选取代的 C_3-C_6环烷基、被 R_4任选取代的 C_2-C_6烯基、被 R_4任选取代的 C_2-C_6炔基、被 R_4任选取代的芳基或者含有 1-4 个选自 N 和 O 的杂原子的五或者六元芳香杂环，通过碳或者氮连接；R_5为 C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、芳基或者杂芳基；每个 R_6（它们可以相同或者不同）为 H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、芳基或者杂芳基；并且 R_7为芳基或者杂芳基；或者其药学上可接受的盐；其中 R_1为 H、C_1-C_6烷基，被 F 或者 C_3-C_6环烷基或者 C_2-C_4烯基任选取代；A 为 O、CH_2或者 $S(O)_n$其中 n 为 0-2；W、X、Y 和 Z 中的一个为 N、CH 或者 CR_3并且其它为 CH；R_2为 C_5-C_6杂芳基、C_5-C_{10}环烷基或者环烯基，任选含有一个或者更多的选自 O、N 和 $S(O)_n$的杂原子其中 n 为 0-2，并被 R_3任选取代；或者苯基在一个或者更多位置被一个或者更多独立地选自卤素、CN、CF_3、C_1-C_6烷基和 OR_1的取代基任选取代，或者苯基同五或者六元环稠合，所述环可以是碳环、杂环（含有 1-2 个选自 O、N 和 S 的杂原子）、芳香环或者杂芳香环（含有 1-2

选自 O 和 N 的杂原子）；R_3选自卤素；CF_3；CN；OR_5；$SO_2N(R_5)_2$；COR_5；CO_2R_5；$CON(R_5)_2$；NR_1COR_4；$NR_1SO_2R_4$；$NR_1CO_2R_4$；$NR_1CON(R_5)_2$；用 R_3取代的 OC_1-C_6烷基；被未取代的 R_3任选取代的 C_1-C_6烷基；被未取代的 R_3任选取代的 C_3-C_6环烷基；被未取代的 R_3任选取代的 C_2-C_6烯基；被未取代的 R_3任选取代的 C_2-C_6炔基；被未取代的 R_3任选取代的芳基；和含有 1-4 个选自 N 和 O 的杂原子的五或者六元芳香杂环；R_4为 C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、芳基或者杂芳基；和 R_5为 H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、芳基或者杂芳基并且与另一个 R_5相同或者不同；或者其药学上可接受的盐；其中 R_1为 H、C_1-C_6烷基，被 F 或者 C_3-C_6环烷基或者 C_2-C_4烯基任选取代；A 为 O、CH_2或者 $S(O)_n$其中 n 为 0-2；W、X、Y 和 Z 中的一个为 N、CH 或者 CR_3并且其它为 CH；R_2为 C_5-C_6杂芳基、C_5-C_{10} 环烷基或者环烯基，任选含有一个或者更多的选自 O、N 和 $S(O)_n$的杂原子其中 n 为 0-2，并被 R_3任选取代；或者苯基在一个或者更多位置被一个或者更多独立地选自卤素、CN、CF_3、C_1-C_6烷基和 OR_1的取代基任选取代，或者苯基同五或者六元环稠合，所述环可以是碳环、杂环（含有 1-2 个选自 O、N 和 S 的杂原子）、芳香环或者杂芳香环（含有 1-2 选自 O 和 N 的杂原子）；R_3选自卤素；CF_3；CN；OR_5；$SO_2N(R_5)_2$；COR_5；CO_2R_5；$CON(R_5)_2$；NR_1COR_4；NR_1SO_2；$NR_1CO_2R_4$；$NR_1CON(R_5)_2$；用 R_3取代的 OC_1-C_6烷基；被未取代的 R_3任选取代的 C_1-C_6烷基；被未取代的 R_3任选取代的 C_3-C_6环烷基；被未取代的 R_3任选取代的 C_2-C_6烯基；被未取代的 R_3任选取代的 C_2-C_6炔基；被未取代的 R_3任选取代的芳基；和含有 1-4 个选自 N 和 O 的杂原子的五或者六元芳香杂环；R_4为 C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、芳基或者杂芳基；和 R_5为 H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、芳基或者杂芳基并且与另一个 R_5相同或者不同；或者其药学上可接受的盐；或者其中：R_1为 H、C_1-C_6烷基，被 F 或者 C_3-C_6环烷基或者 C_2-C_4烯基任选取代；R_2和 R_3相同或者不同并各自为 H、卤素、CN、CF_3、C_1-C_6烷基或者 OR_1，或者 R_2和 R_3形成五或者六元环，所述环可以是碳环、杂环（含有 1-2 个选自 O、N 和 S 的杂原子）、芳香环或者杂芳香环（含有 1-2 个选自 O 和 N 的杂原子）；和 W、X、Y 和 Z 中的一个为 N、CH 或者 CR_4并且其它为 CH；R_4为卤素；CF_3；CN；OR_7；$SO_2N(R_6)_2$（其中每个 R_6相同或者不同）、COR_6、CO_2R_6、$CON(R_6)_2$（其中 R_6相同或者不同）、NR_1COR_5、$NR_1SO_2R_5$、$NR_1CO_2R_5$、$NR_1CON(R_6)_2$（其中每个 R_6相同或者不同）、被未取代的 R_4任选取代的 OC_1-C_6烷基、被未取代的 R_4任选取代的 C_1-C_6烷基、被未取代的 R_4任选取代的 C_3-C_6环烷基、被未取代的 R_4任选取代的 C_2-C_6烯基、被未取代的 R_4任选取代的 C_2-C_6炔基、被未取代的 R_4任选取代的芳基，或者 R_4是含有 1-4 个选自 N 和 O 的杂原子的五或者六元芳香杂环；R_5为 C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、芳基或者杂芳基；R_6可以为 H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯 基、C_2-C_6炔基、C_3-C_6环烷基、芳基或者杂芳基；并且 R_7为芳基或者杂芳基；或者其药学上可接受的盐。奈福泮的其它类似物在 WO2004/056788、WO2005/103019 和 US2006/0019940 中被描述，它们的内容作为参考引入本文。奈福泮和其类似物可以使用本领域公知的化学合成方法制得。此外，奈福泮是商业上可得的。

[0037] 术语“前药”是指一种化合物（例如药物前体），其在体内转变以产生一种具有奈福泮或其药学上可接受类似物、盐、水合物或者溶剂化物结构的化合物。该转变可以通过各种机制来发生（例如，通过代谢或者化学过程），如，例如，通过在血液中的水解作用。术语“盐”，如本文所使用的，表示同无机和 / 或有机酸形成的酸盐，以及同无机和 / 或有机碱形成的碱盐。药学上可接受的（即，无毒、生理学上可接受的）盐是优选的，虽然其它盐也可

以用。“溶剂化物”是通过将奈福泮或其类似物在溶剂中混合形成，溶剂优选药学上可接受的。

[0038] 本方法包括在哺乳动物中 β-联蛋白-介导的疾病的治疗。术语“治疗(treat)”、“治疗(treating)”和“治疗(treatment)”在本文被广泛地用于表示有利地改变靶向疾病的方法，包括缓和疾病或者逆转疾病进程、减少疾病严重性、预防或者治愈疾病。术语“哺乳动物”在本文被用于包括人类和非人类哺乳动物。

[0039] 也提供了一种治疗表皮瘢痕的方法，包括由割伤、擦伤、感染、粉刺、烧伤、外科手术等等所引起的瘢痕、肥大性瘢痕、增生性瘢痕、瘢痕疙瘩、包括间质和来自于间质的细胞的瘢痕，它们的任一种可以是或不是 β-联蛋白-介导的。该方法包括向靶位点施用治疗有效量的奈福泮化合物。形成中或者已形成的瘢痕的治疗方法，包括减少瘢痕的大小（例如，至少约 5-10％，优选至少约 20％和更优选至少约 25％或者更多）或者瘢痕的流行程度（例如瘢痕的高度、发红，等等）并由此改善其外表。就这一点而言，本领域技术人员将理解瘢痕评估量表，例如 Manchester 量表，可以用于评价特定瘢痕的改善。Manchester 量表评价与周围皮肤相比较的颜色、无光泽或者光泽的外观、外形（周围皮肤到瘢痕/疙瘩的潮红）、质地（正常到坚硬）、边缘（清楚的或 者不清楚的）、大小和数量（单个或者多个）(Disability & Rehabilitation，2009，第 31 卷，第 25 期：2055-2063 页；International Journal of Lower Extremity Wounds 2007 年 12 月 6 日：249-253)。

[0040] 因此，奈福泮化合物可以在美容治疗中应用以减少瘢痕组织并改善瘢痕和周围区域的外观，并可以提供另外的美容特征，例如抗皱效果。

[0041] 在另一个实施方案中，提供了肿瘤的治疗方法。肿瘤治疗包括抑制肿瘤发生和肿瘤细胞增生。该方法对于来自于失调 β-联蛋白表达的肿瘤如侵袭型纤维瘤病，以及来自于各种癌症诸如结肠癌、黑色素瘤、肝细胞癌、卵巢癌、子宫内膜癌和前列腺癌的肿瘤有效。该方法包括向需要治疗的哺乳动物即有肿瘤的哺乳动物施用有效量的奈福泮、其类似物、或其药学上可接受盐、溶剂化物或者前药。

[0042] 然而并不希望受限于任何具体的理论，可以通过在核酸水平调整或调节 β-联蛋白表达，或者在蛋白水平调整或调节 β-联蛋白活性来实现根据本发明所述的治疗。

[0043] 根据本发明所述向哺乳动物施用治疗有效剂量的奈福泮。术语“治疗有效”如其在本文被用于剂量是指有效治疗 β-联蛋白-介导的疾病而不会引起不希望的不良副作用的剂量。术语“施用”是指提供奈福泮给哺乳动物的任意合适的方法，并将取决于将按所述使用的剂型。例如，该剂量可以口服、注射、粘膜和局部施用，将对它们进行更详细的描述。

[0044] 因此，根据该方法的治疗有效剂量是在约 0.0001 至约 1500mg 的范围，例如，在约 0.0001-100mg 的范围。然而，作为本领域技术人员将理解，奈福泮或其类似物的有效治疗量，将随着许多因素而变化，这些因素包括但不限于，将要被治疗的疾病类型，疾病的本质和严重性，将要被治疗的哺乳动物，被治疗的哺乳动物的症状，用于治疗的化合物，和给药途径。

[0045] 根据本发明的方法，奈福泮可以单独或者同药学上可接受的辅料或载体组合在组合物中施用。术语“药学上可接受的”表示在制药领域 的使用是可接受，即没有难以接受的毒性，或者在其它方面不适于向哺乳动物给药。药学上可接受辅料的例子，包括但不限于，稀释剂、赋形剂等等。可以参考“Remington′ s：The Science and Practice of

Pharmacy”,21版,Lippincott Williams & Wilkins,2005,它通常作为药物制剂的指南。辅料的选择取决于所期望的组合物给药方式。在本发明的一个实施方案中,将化合物配制为通过输注,或者皮下或静脉内注射给药,并相应地用作以消毒和无热原形式的水溶液并任选缓冲或者制成等渗。因此,该化合物可以在蒸馏水或者,更期望地,在盐水、磷酸盐缓冲盐水或者5%葡萄糖溶液中被施用。通过片剂、胶囊剂、锭剂、在水性或非水性液体中的溶液或混悬液、水包油或者油包水型液体乳剂、酏剂或者糖浆剂口服给药的组合物被制备得到,其使用的辅料包括糖,诸如乳糖、葡萄糖和蔗糖;淀粉诸如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素及其衍生物,包括羧甲纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素;粉状黄蓍胶;麦芽;明胶;滑石粉;硬脂酸;硬脂酸镁;硫酸钙;植物油,诸如花生油、棉籽油、芝麻油、橄榄油和玉米油;多元醇诸如丙二醇、甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇;琼脂;海藻酸;水;等渗盐水和磷酸盐缓冲液。湿润剂、润滑剂诸如十二烷基硫酸钠、稳定剂、压片剂、崩解剂、抗氧化剂、防腐剂、着色剂和矫味剂也可以存在。在另一个实施方案中,局部给药的组合物可以被配制为乳膏剂、洗剂或者软膏剂。对于所述局部给药,组合物可以包括适当的基质如甘油三酯基质。所述乳膏剂、洗剂或者软膏剂也可以含有表面活性剂和其他化妆品添加剂诸如皮肤软化剂等等以及芳香剂。气雾剂,例如用于经鼻给药,也可以被制备,其中合适的抛射剂辅料被使用。本发明组合物也可以作为大丸剂、药糖剂或浆糊来施用。也可以包含用于粘膜给药的组合物,包括经口、经鼻、直肠或者阴道给药来治疗影响这些区域的感染。所述组合物通常包括一个或者更多合适的非刺激性赋形剂或者载体包括,例如,可可脂、聚乙二醇、栓剂蜡、水杨酸或者其它合适的载体。其它辅料也可以被加入到组合物中而不考虑如何施用它,例如,可以有助于延长其贮藏期限。

[0046] 根据本发明方法,奈福泮化合物可以通过很多的途径以便利的方式给药,所述途径包括但不限于口服、皮下、静脉内、腹膜内、鼻内、肠内、局部、舌下、肌肉内、动脉内、髓内、鞘内、吸入、眼用、经皮、阴道或者直肠的方式。奈福泮化合物也可以以体外治疗方案被施用至细胞。根据给药途径,奈福泮化合物可以被包衣或者装入在保护材料中以避免被分解,该分解是通过例如被酶、酸或者其它可以影响其治疗活性的条件。

[0047] 在一个实施方案中,奈福泮或其类似物,可以局部应用于靶位点位置,例如形成中或已形成的瘢痕,其附着于生物相容性装置、聚合物或者其它基质,例如绷带、包扎(dressing)、聚合网孔、植入物、装置或者其它美容相关的产品。通过生物工程得到的表达奈福泮化合物的表皮成纤维细胞/角质形成细胞也可以被应用于靶位点。适合的基质或者聚合网孔,例如人造或者非人造皮肤移植物,可选择性地浸渍在用于靶位点的奈福泮化合物中从而实现在一段时间内化合物缓慢释放以用于靶位点的持续治疗。

[0048] 本发明奈福泮化合物可在使用已确定方法的控释制剂中施用,它包括,例如,通过溶出或者扩散控制的整体装置(monolithic device)、微珠包埋体系、渗透压控制系统和经过修饰的薄膜包衣系统,其混合了适合的聚合和非聚合的亲水和疏水材料。适合的控释制剂可以包括亲水材料,其包括但不限于,丙烯酸或者甲基丙烯酸聚合物或者共聚物、烷基乙烯基聚合物、纤维素、羟基烷基纤维素、羧基烷基纤维素、多糖、海藻酸盐(酯)、果胶类、淀粉和衍生物、天然和人造树胶、聚卡波非、壳聚糖。适合的疏水性材料包括但不限于,疏水聚合物、蜡类、脂肪类、长链脂肪酸、它们相应的酯、它们相应的醚和它们的混合物。

[0049] 在另一个实施方案中,奈福泮化合物可以与一个或者更多另外的治疗药物组合施

用，包括例如，抗瘢痕形成药；伤口愈合药如生长因子，例如表皮生长因子、bFCF、PDGF；血小板、表皮成纤维细胞和角质形成细胞；化学治疗药物诸如，但不限于，雷帕霉素、曲格列酮、罗格列酮、塞来昔布、维生素 A 酸类和易瑞沙。就这一点而言，奈福泮可以通过独立的制剂，或者与另外的治疗药一起在组合制剂中进行施用。

[0050] 此外，本发明方法可以同其它治疗组合使用，例如，在恶性肿瘤治疗中与放射疗法组合，或者与激光治疗组合来治疗瘢痕组织如正常瘢痕、增生性瘢痕组织等等。

[0051] 在发明的另一个方面，提供了包括包装和含有如其所述奈福泮的组合物的制品。该包装被贴上标签以表明该组合物适用于治疗 β - 联蛋白 - 介导的疾病，或者可以被贴上标签以表明该组合物适用于治疗形成中或已形成的瘢痕。

[0052] 通过提及附图和特殊的实施例来描述本发明，但其并不是进行限制解释。

实施例

[0053] 在如下讨论的实施例中使用下列材料和方法。

[0054] Apc^{+}/Apc^{1638N}AF 小鼠模型和治疗方法。Apc/Apc1638N 小鼠的世代和表型已经被很好地表征。作为外显子 15 的反义引物定位中新霉素插入的结果，这些小鼠在 Apc 基因的密码子 1638 中隐藏了靶向变异。雄性小鼠到 6 个月的年龄发展出平均 45 只 AF 损害和 6 只胃肠道息肉，而雌性小鼠发展出明显更少数量的 AF 损害。雄性 Apc/Apc1638N 小鼠被划分为三个研究组：未处理 (n = 11)、0.1% DMSO(n = 10) 和以 40mg/kg 体重剂量的奈福泮 (n = 10)。在 Apc/Apc1638N 小鼠断奶 2 个月后开始通过每日口服强饲法进行处理并持续 3 个月。在解剖时，通过目视对 AF 肿瘤和肠内息肉进行评分。收集 AF 肿瘤和正常组织用于蛋白提取并固化以用于组织学检查。

[0055] Tcf 报道基因小鼠和伤口试验。含有 c-Fos 最小启动子的 lacZ 基因下游区和三个共有区 Tcf- 结合基序的 Tcf- 报道基因被构建。在 β - 联蛋白 /Tcf 复合物与 Tcf 基序结合之后，lacZ 的表达被活化。如前所述使 Tcf 小鼠受伤：使用表皮活检穿孔器 (Miltex Instrument Company，York，PA，USA) 产生两个 4mm 直径的全层皮肤伤口。受伤的 Tcf 小鼠被分为两个研究组：对照组，它每天接受盐水的腹膜内注射；和奈福泮组，它每天接受 40mg/kg 体重的腹膜内注射。在受伤 14 天后，检查伤口大小，并收集伤口组织用于 RNA 和蛋白提取并固化用于组织学检查。

[0056] 人类 AF 肿瘤和正常筋膜组织样品。人类侵袭型纤维瘤病肿瘤的样品在 Hospital for Sick Children，Toronto 的外科手术时获得。外科手术切除后马上收集和处理来自相同患者的肿瘤组织和周围正常筋膜组织。冷藏保存组织并贮藏在液氮气体中。

[0057] 细胞培养研究。来自于人类 AF 肿瘤和正常筋膜组织样品的原代细胞培养被建立。在添加有 10％胎牛血清的 DMEM 中培养单层细胞培养物并于 37℃在 5％ CO_2中维持。当融合时分裂细胞并在第一代和第五代之间进行实验。在实验研究之前，细胞被接种过夜并在下列天 (0 天）开始处理，其中用在 DMEM 培养基中制备的有或者没有 250 μm 奈福泮的介质对照 0.1％ DMSO 处理细胞。

[0058] 进行细胞活性测定，增生测定和细胞凋亡测定。使用锥虫蓝染料排除方法测量细胞活性。用锥虫蓝染料以 1 ： 1 配比对细胞进行染色，并对所有活着（透明）和死亡（蓝色）细胞计数。使用 5- 溴 -2- 脱氧 - 尿苷 (BrdU) 掺入法测量增生。在 BrdU 温育 12 个小

时后，使用与碱性磷酸酶结合的兔子单克隆抗 BrdU 抗体和马抗小鼠抗体鉴定掺入 BrdU 的细胞。使用碱性磷酸酶底物检测 BrdU 的存在。在 10 高倍视野中分析总细胞核中被阳性染色的细胞核百分比。

[0059] 蛋白质提取和蛋白质印迹分析。用 PBS 清洗组织样品两次并用报告基因分析裂解缓冲液 (Roche) 裂解。在 16,000x g 下离心分离裂解物 5 分钟以除去细胞碎片并使用 2,2′ - 二辛可宁酸 (BCA) 蛋白分析 (Pierce) 定量化。通过 SDS- 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离相等量的总蛋白，将其转移至硝酸纤维素膜 (Amersham)，并在 4℃下用针对 phosphoGSK3β (Ser 9，兔多克隆，New England Biolabs)、β - 联蛋白 (小鼠单克隆，Upstate Biotechnology)、总 GSK3β (小鼠单克隆，Transduction Laboratories) 和 GAPDH (小鼠单克隆，Upstate Biotechnology) 的初级抗体免疫印迹过夜。辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的次级抗体和增强化学发光 (Amersham) 被用于检测杂交。使用 AlphaEaseFC 软件 (Alpha Innotech) 进行光密度测定。进行三次蛋白质印迹以确保再现性。

[0060] 统计分析。这一工作中的数据以平均值 ±95％置信区间形式表现。所有研究至少进行三次以确保再现性。

[0061] 实施例 1 :奈福泮处理减少增生性伤口细胞活性。

[0062] 筛选化合物以鉴定它们符合两个标准 :1) 抑制获得自增生性伤口的成纤维细胞的细胞活性，其表现出 β - 联蛋白活化 ;和 2) 对正常表皮成纤维细胞培养表现出少到无的作用。筛选的生物关联性是重要的，因为用于筛选的细胞来自于有增生性伤口和健康组织的患者。在 96 孔板中重复该实验三次，其中每个孔含有 4000 个细胞，用在 0.11.0 或者 10μM 之间的化合物或者作为对照的 DMSO 处理。磺酰罗丹明 B(sulforhodamine B) 分析 (SRB) 被用于测量细胞活性。在初始筛选中检测到的化合物进一步进行使用更大库的样品的测试，奈福泮从中被确定 (参见附图 1A)。

[0063] 使用蛋白质印迹分析来分析来自奈福泮或者对照处理过的增生性瘢痕的细胞培养物的 β - 联蛋白水平。观察到奈福泮大量减少来自增生性伤口的细胞培养物中的 β - 联蛋白的蛋白水平 (参见附图 1B)。包含 GAPDH 表达作为内参对照。

[0064] 实施例 2 :奈福泮减少 Apc/Apc1638N 小鼠中形成的 AF 肿瘤数量。

[0065] 研究奈福泮处理能否调节体内 AF 损害的表型。6 个月大时，在奈福泮处理过的雄性 Apc/Apc1638N 小鼠中相比于未处理过的小鼠或者用 0.1％ DMSO 处理过的小鼠形成的 AF 肿瘤数量显著减少 (8.18±1.77vs 13.2±2.30 或 12.09±1.31，$p < 0.03$，参见附图 2)。在胃肠道上段中来自于上皮的息肉数量方面没有显著差异 (参见附图 2)。这表明奈福泮抑制肿瘤发生并且还对间充质细胞有特异性。

[0066] 实施例 3 :奈福泮降低人类 AF 肿瘤细胞的 β - 联蛋白水平。

[0067] AF 肿瘤具有 β - 联蛋白水平升高的特点。为了检查奈福泮是否具有调节 β - 联蛋白水平的能力，研究来自于几种人类 AF 肿瘤的原代细胞培养物。使用针对总 β - 联蛋白的抗体的蛋白质印迹分析证明，作为奈福泮处理 5 天的结果，与总 β - 联蛋白相一致的大小为 92kDa 蛋白数量有显著减少，参见附图 3A。光密度法分析表明相比于那些用 0.1％ DMSO 处理过的人类 AF 肿瘤细胞培养物，奈福泮处理过的人类 AF 肿瘤细胞培养物中总 β - 联蛋白水平减少近 5 倍 (参见附图 3B)。测定肌动蛋白表达作为裂解物内参对照。

[0068] 实施例 4 :奈福泮减少人类 AF 肿瘤细胞中细胞活性和细胞增生。

[0069] 为了测定奈福泮可以如何改变 AF 细胞行为，研究来自于几种人类 AF 肿瘤的原代细胞培养物。首先，研究奈福泮对人类 AF 肿瘤中细胞活性的作用。观察到奈福泮处理后人类 AF 肿瘤细胞培养物相比于用 0.1％ DMSO 处理过的培养物活细胞数量显著变少 ($p < 0.05$)。作为奈福泮处理对肿瘤的结果计数得到的死亡细胞数量没有显著差异 ($p < 0.05$)（参见附图 4A）。

[0070] 在证明了 β－联蛋白水平涉及间充质细胞中增生比率的调节之后，研究奈福泮对原代细胞培养物增生的作用。使用 BrdU 掺入法，测量 BrdU+/DAPI+ 细胞相比于总 DAPI+ 细胞的百分比。观察到通过 BrdU 掺入测定奈福泮处理过的人类 AF 肿瘤含有明显更少的增生细胞 ($p < 0.05$，参见附图 4B)。

[0071] 总而言之，这些结果表明奈福泮通过减少增生比率优先抑制活性 AF 细胞的数量。

[0072] 实施例 5：奈福泮减少人类原代成纤维细胞培养物中的 β－联蛋白水平。

[0073] 增生性伤口特征在于增生期升高的 β－联蛋白水平。本文所描述的数据表明奈福泮能够调节 β－联蛋白水平特别是在来自间质的细胞中。为了证实奈福泮能够调节间充质细胞中的 β－联蛋白水平，永生人类成纤维细胞用奈福泮进行处理（参见附图 5A）。通过光密度测定法分析测定得到相比于 0.1％ DMSO 处理过的培养物，奈福泮处理导致人 类原代成纤维细胞培养物中的总 β－联蛋白水平大约减少 4 倍 ($p < 0.05$，参见附图 5B)。试验中包括的另外对照为 Wnt3a 处理的细胞（已知增加 β－联蛋白表达）和奈福泮对用 Wnt3a 处理过的细胞的作用。

[0074] 实施例 6：全身施用奈福泮降低 Tcf 小鼠中的 β－联蛋白水平和伤口大小。

[0075] 然后，检查伤口愈合过程中奈福泮对 β－联蛋白水平的作用，来自 Tcf 小鼠的受伤组织被研究。使用活检穿孔操作产生皮肤伤口导致 4mm 直径全层环形伤口。以 mm 为单位进行测量。使用针对总 β－联蛋白的抗体的蛋白质印迹（参见附图 6A）表明相比于对照组，受伤 14 天后用奈福泮处理过的培养自 Tcf 小鼠伤口的细胞中 β－联蛋白水平减少。

[0076] 此外，解剖后的伤口检查显示在受伤 14 天后相比于载体（盐水）处理过的对照，奈福泮处理过的小鼠有直径显著变小的瘢痕（星号表示显著差异，$p < 0.001$）（参见附图 6B)。

[0077] 实施例 7：全身施用奈福泮减小 TGF-β 诱导的增生性瘢痕大小。

[0078] 已知相对于未受伤组织，β－联蛋白水平在伤口愈合早期增加随后在整个晚期降低。在增生性伤口愈合期间 β－联蛋白水平的正常升高和降低是失调的，其中观察到 β－联蛋白水平显著延长提高（参见附图 7)。

[0079] 在药物筛选研究后，使用小鼠进行奈福泮效果的体内实验。口服和腹膜内给药途径被评价 (40mg/kg 体重，每日；0.1％ DMSO 作为对照)。在所有给药途径中，通过使用 HPLC 的检测在血清中鉴定奈福泮（数据未公开）。在皮肤上造成 4mm 全层穿孔伤口，并且在受伤后每日施用奈福泮或对照。为了测定奈福泮在治疗增生性瘢痕中是否有效，小鼠增生性瘢痕模型被使用，在该模型中在受伤产生增生性瘢痕之前注射 TGF- ®。重要的是，如上所描述的相同的奈福泮处理方法，相比于没有用 TGF- ®处理的对照瘢痕产生更小的瘢痕（参见附图 8)。因此，在所有增生性和正常伤口修复中奈福泮能够减少瘢痕大小。

[0080] 实施例 8：各种载体可以用于奈福泮的局部递送。

[0081] 对于皮肤伤口，理想的产品是奈福泮的局部给药剂型。使用以下 载体制备奈福泮

的局部制剂并进行评价：羧甲纤维素（CMC）、矿脂和羧丙甲纤维素。体内测试这三种载体以确定该制剂有效地递送奈福泮通过皮肤。在附图 9 中对结果进行图解。

[0082] 实施例 9：局部施用奈福泮减小小鼠中正常瘢痕的大小。

[0083] 使用如上所述的活检穿孔操作在 Tcf 小鼠中产生皮肤伤口。使用对照乳膏剂或者 1％奈福泮乳膏剂对 6mm 直径全层穿孔伤口进行每日两次的局部处理直至 21 天。观察到奈福泮治疗使瘢痕尺寸相比于对照组减少约三分之一。表 1 表示在第 0 天和每天局部施用配制在矿脂载体中的 1％奈福泮乳膏剂或者单独载体的对照乳膏剂 21 天后的小鼠模型中正常伤口的平均大小（以 mm 测量）。提供每组 4 个伤口的平均大小。

[0084] 表 1.

[0085]

		第 0 天	第 21 天
对照	伤口的平均大小（mm）	6	3.116666667
1％奈福泮	伤口的平均大小（mm）	6	2.02

[0086] 在 Tcf 小鼠中产生 4mm 打孔伤口，随后将小鼠用 1％奈福泮乳膏剂或者对照乳膏剂中的一种每日局部处理两次直到 14 天。使用任意单位（arbitrary units）测量在 14 天治疗后形成的瘢痕的表面面积，其中 100 个任意单位表示对照乳膏剂的处理。对每个处理测量十个伤口并且数据表示为平均值和标准差。观察到接受奈福泮处理的小鼠上的瘢痕显著小于那些接受对照治疗的小鼠（$p < 0.05$）其中对照处理为 0％奈福泮（参见附图 10）。

[0087] 虽然本发明引用作为例证的实施方案和实施例来进行描述，但是本说明书并不打算以限制性进行解释。因此，作为例证的实施方案的各种改动，以及本发明的其它实施方案，在参考这一说明书后对本领域技术人员是显而易见的。因此考虑到所附权利要求将覆盖任意所述的变动或者实施方案。进一步地，所有权利要求据此引入优选实施方案的描述中作为参考。

[0088] 在本文提及的任何出版物、专利和专利申请以它们全部的内容通过引用并入本文，并入的程度如同每个出版物、专利和专利申请被特别和独立地指出以它全部的内容引入作为参考。

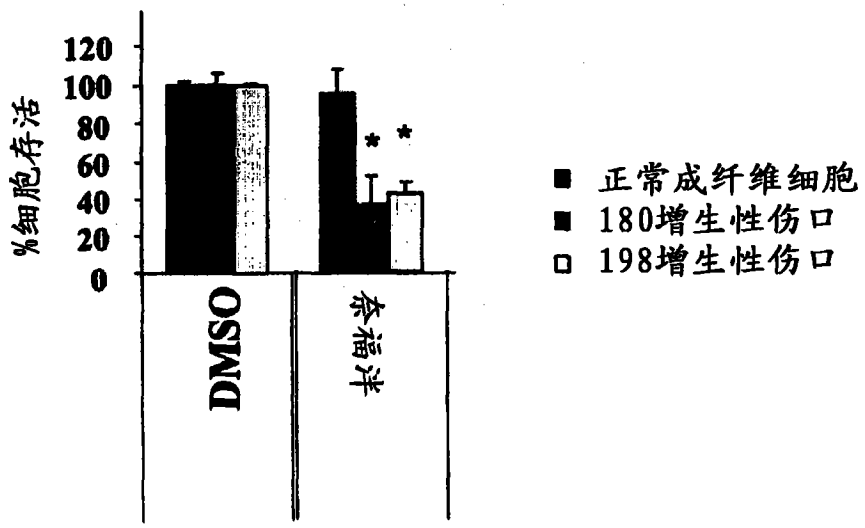

%细胞存活
120
100
80
60
40
20
0
DMSO
奈福泮
正常成纤维细胞
180增生性伤口
198增生性伤口

图 1A

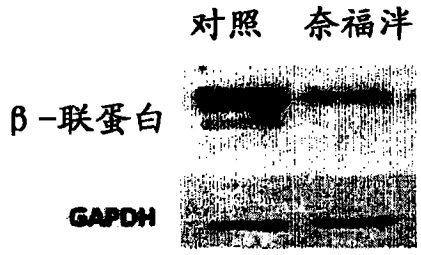

对照 奈福泮
β-联蛋白
GAPDH

图 1B

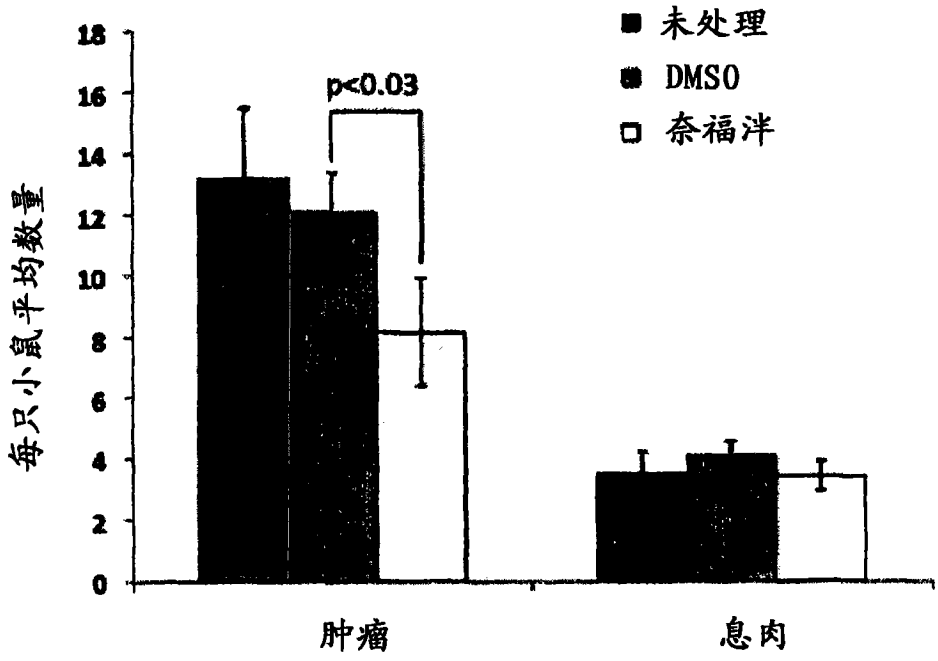

每只小鼠平均数量
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
p<0.03
未处理
DMSO
奈福泮
肿瘤
息肉

图 2

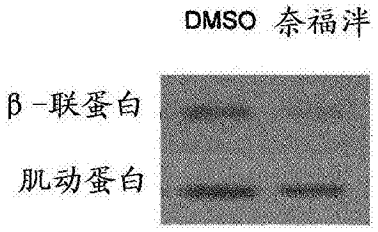

DMSO
奈福泮
β-联蛋白
肌动蛋白

图 3A

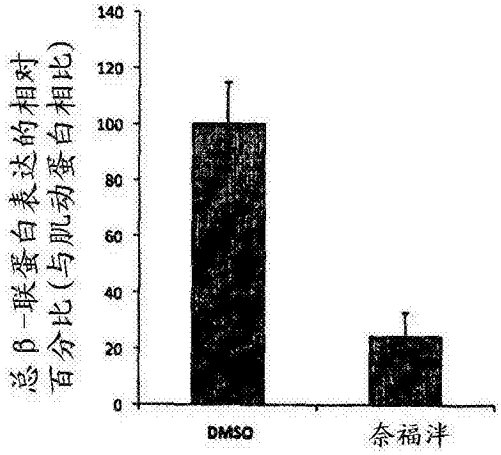

总β-联蛋白表达的相对百分比(与肌动蛋白相比)
140
120
100
80
60
40
20
0
DMSO
奈福泮

图 3B

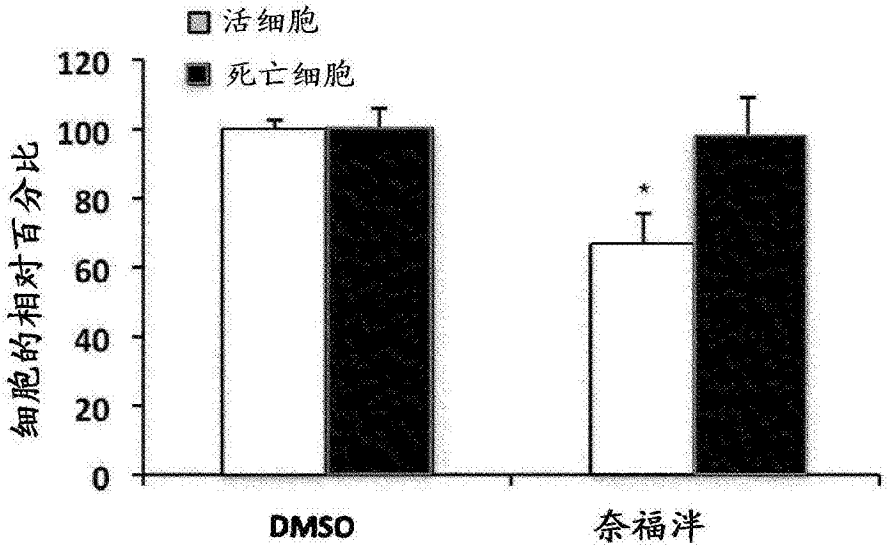

活细胞
死亡细胞
细胞的相对百分比
120
100
80
60
40
20
0
*
DMSO
奈福泮

图 4A

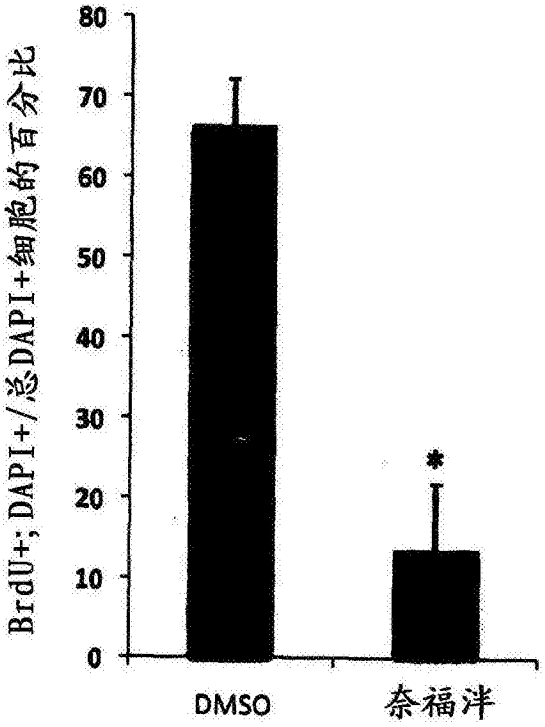


图 4B

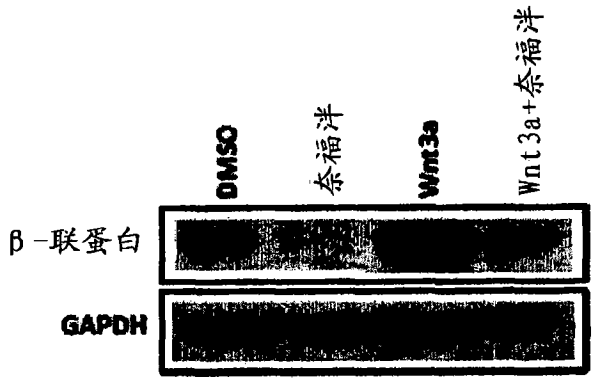


图 5A

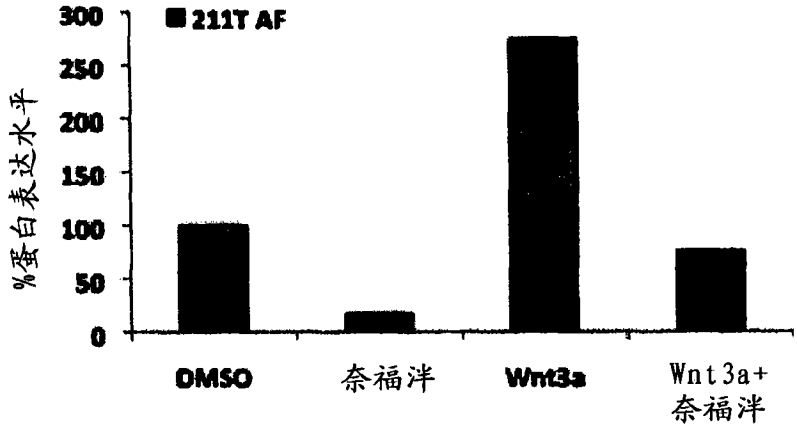


图 5B

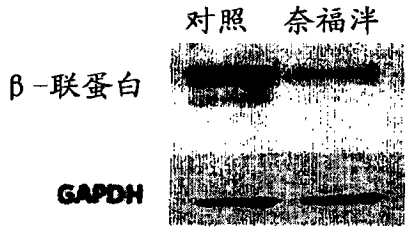


图 6A

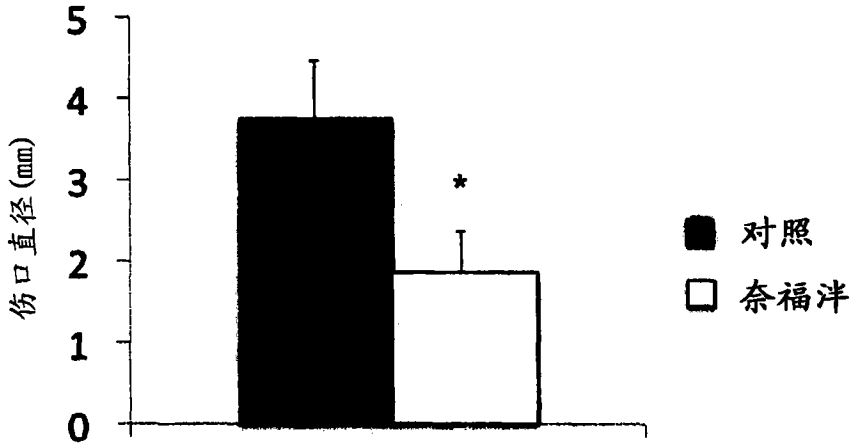

伤口直径(mm)
5
4
3
2
1
0
*
对照
奈福泮

图 6B

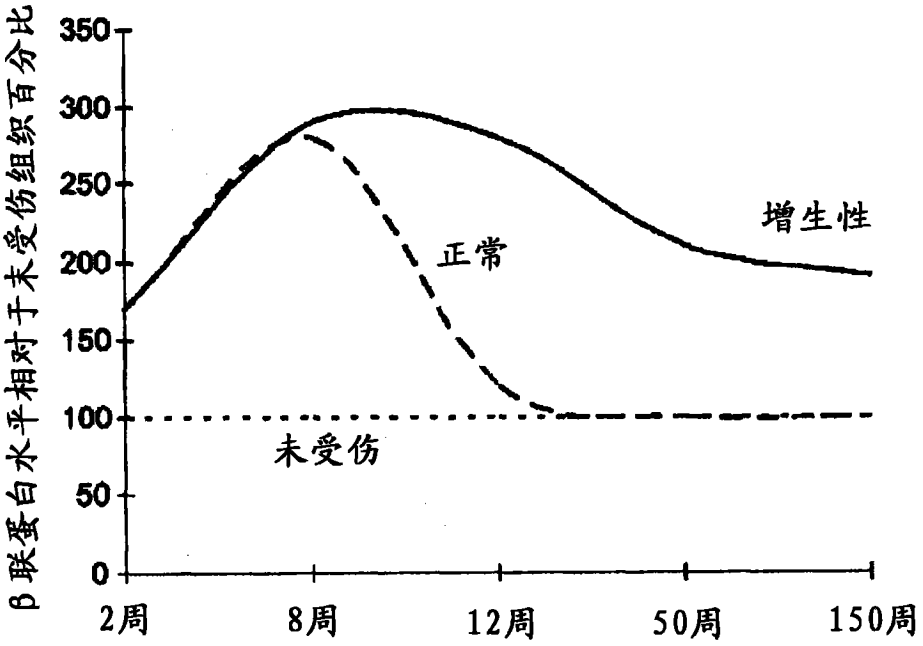

β联蛋白水平相对于未受伤组织百分比
350
300
250
200
150
100
50
0
增生性
正常
未受伤
2周
8周
12周
50周
150周

图 7

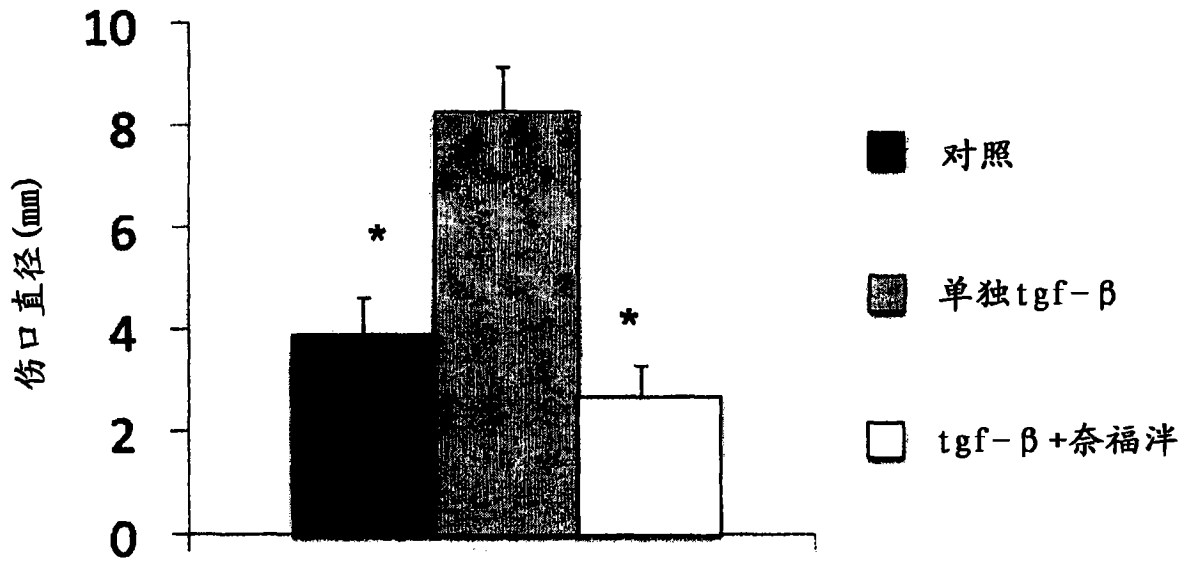

10
8
6
4
2
0
伤口直径(mm)
*
*
对照
单独tgf-β
tgf-β+奈福泮

图 8

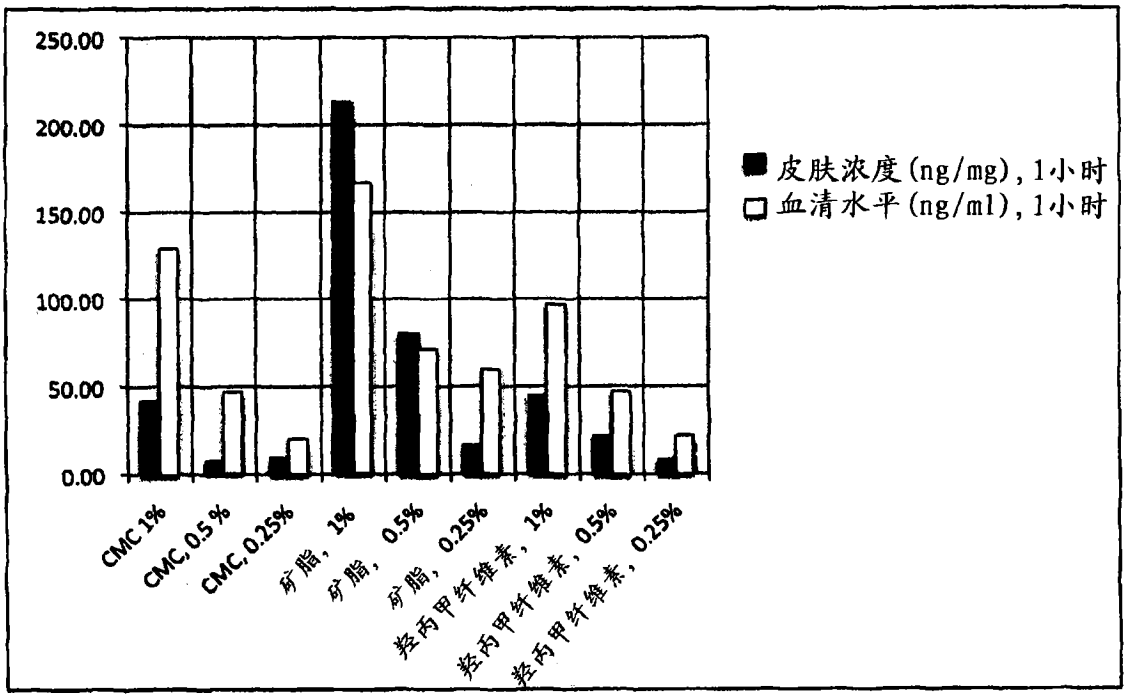

250.00
200.00
150.00
100.00
50.00
0.00
皮肤浓度(ng/mg),1小时
血清水平(ng/ml),1小时
CMC 1%
CMC,0.5%
CMC,0.25%
矿脂,1%
矿脂,0.5%
矿脂,0.25%
羟丙甲纤维素,1%
羟丙甲纤维素,0.5%
羟丙甲纤维素,0.25%

图 9

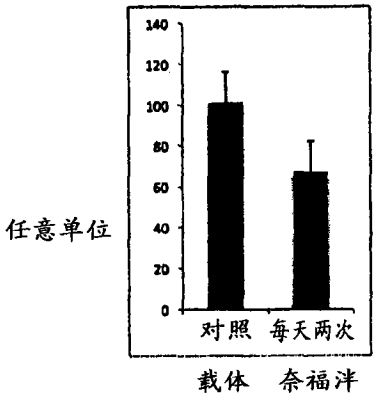


图 10