



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106456578 B

(45)授权公告日 2020.02.18

(21)申请号 201580018235.6

A61K 31/4453(2006.01)

(22)申请日 2015.02.09

A61K 31/4468(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

A61K 31/4515(2006.01)

申请公布号 CN 106456578 A

A61K 31/495(2006.01)

(43)申请公布日 2017.02.22

A61K 31/5375(2006.01)

(30)优先权数据

A61P 13/12(2006.01)

14462004.4 2014.02.07 EP

A61P 11/00(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

A61P 1/18(2006.01)

2016.09.30

A61P 1/00(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

A61P 1/16(2006.01)

PCT/HU2015/000014 2015.02.09

A61P 27/02(2006.01)

(87)PCT国际申请的公布数据

A61P 3/00(2006.01)

W02015/118365 EN 2015.08.13

A61P 37/02(2006.01)

(73)专利权人 匈牙利科学院大学及其他机构附属研究所

A61P 19/02(2006.01)

地址 匈牙利布达佩斯

A61P 19/04(2006.01)

专利权人 森梅威斯大学

A61P 37/06(2006.01)

(72)发明人 安德里亚·菲克特 亚当·凡耐

A61P 17/02(2006.01)

(74)专利代理机构 北京中博世达专利商标代理有限公司 11274

A61P 39/02(2006.01)

代理人 申健

(56)对比文件

(51)Int.Cl.

WO 2013/103317 A1, 2013.07.11,

A61K 31/135(2006.01)

Xue-qin LI et al.. Fluoxetine inhibited extracellular matrix of pulmonary artery and inflammation of lungs in monocrotaline-treated rats..《Acta Pharmacologica Sinica》.2011, 第32卷 217-222.

A61K 31/138(2006.01)

审查员 崔义文

A61K 31/15(2006.01)

权利要求书10页 说明书40页

A61K 31/215(2006.01)

序列表2页 附图16页

A61K 31/341(2006.01)

A61K 31/402(2006.01)

(54)发明名称

B SIGMA-1受体激动剂化合物的用途  
预防渐进性纤维化,渐进性纤维化的特征是ECM生成细胞如肌成纤维细胞的过度增生和ECM成分的过度沉积。优选的,公开了Sigma-1受体激动剂。

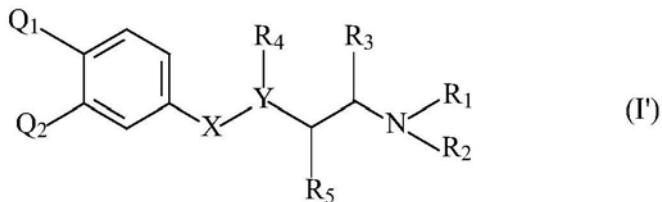
SIGMA-1受体激动剂化合物的用途

(57)摘要

本发明涉及用于预防、抑制和/或治疗各种纤维增生性紊乱中的渐进性纤维化的组合物和方法。特别是,本发明的实施例涉及Sigma-1受体激动剂的用途,用于在医学或疾病病症下治疗或

1. S1R激动剂化合物在制备通过逆转或抑制细胞外基质的纤维化重塑治疗受试者组织中的渐进性纤维化的药物组合物中的用途，其中

所述S1R激动剂化合物具有下式I'：

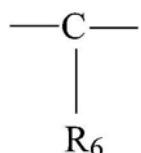


其中，

$\text{Q}_1$ 是H、卤素、拟卤素、可选的取代有1、2、3或4个卤素的C(1-4)烷基、C(1-3)烷氧基、可选的取代有1、2、3或4个卤素的C(6-10)芳基，

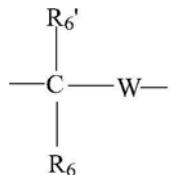
$\text{Q}_2$ 是H、卤素、拟卤素、或C(1-3)烷氧基，

X为CH<sub>2</sub>、乙撑、或羰基(CO)、酰胺或不存在，  
或X具有下式



其中R<sub>6</sub>选自由羟基、取代的或未取代的C(1-6)烷基及C(1-6)烷氧基、C(1-2)烷氧基C(1-6)烷基、C(5-10)芳基组成的组，

或X具有下式

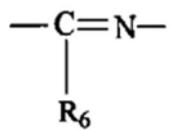


其中W为-CH-或羰基(-CO-)或W不存在，以及

R<sub>6</sub>和R'<sub>6</sub>独立地为取代的或未取代的C(1-6)烷基、C(1-6)烷氧基、C(1-6)二烷基醚、C(1-6)烷氧基羰基，或R<sub>6</sub>和R'<sub>6</sub>中的至少一个是C(6-10)芳基，

或R<sub>6</sub>和R'<sub>6</sub>一起形成C(4-7)环烷基，

或X具有下式



其中R<sub>6</sub>选自取代的或未取代的C(1-6)烷基、C(1-6)烷氧基、C(1-6)烷氧基C(1-6)烷基、C(5-10)芳基，

Y为CH、N或O、-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-或Y不存在，

其中，

如果Y是O，则R<sub>4</sub>不存在，

如果Y是N，则R<sub>4</sub>是H或C(1-3)烷基或C(1-3)烯烃基，或R<sub>4</sub>和R<sub>1</sub>与Y、N以及它们之间的碳原

子一起形成C(5-7)杂环，

如果Y是CH，则R<sub>4</sub>选自H、取代的或未取代的C(1-4)烷基、C(1-4)烷氧基和C(5-10)芳基，或R<sub>4</sub>与R<sub>1</sub>与Y、N以及它们之间的碳原子一起形成C(5-7)杂环，

R<sub>3</sub>选自H、取代的或未取代的C(1-6)烷基、C(1-6)烷氧基、C(1-6)二烷基醚、C(6-10)芳基，或

R<sub>3</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的-X-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成含有0至3个杂原子的饱和的或部分不饱和的6-8元环烷基或6-8元杂环烷基，或

R<sub>3</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的-X-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成取代的或未取代的C(7-14)多环芳基或C(7-14)多环杂芳基或C(7-14)环烷基芳基，或

R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>与它们所连接的-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成含有0至3个杂原子的饱和的或部分不饱和的6-8元环烷基或6-8元杂环烷基，或烷基芳基，

R<sub>5</sub>是H或C(1-3)甲基或C(1-3)烷氧基，或

R<sub>5</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的碳原子一起形成3、4、5或6元饱和的或不饱和的环，所述环可选地包含杂原子，

R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>是独立的H或C(1-6)烷基，

或R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>形成5元或6元的饱和的或不饱和的环，

所述环可选地包含杂原子，或

所述环可选的是取代的或未取代的哌啶环，

或R<sub>1</sub>是C(2-3)烷撑，连同Y、N以及Y和N之间的碳原子一起形成杂环，R<sub>2</sub>是C(1-6)烷基、C(6-10)芳基或C(7-10)芳烷基，

或R<sub>2</sub>是C(3-4)烷撑，连同N形成杂环；

或其药学上可接受的盐。

2. 根据权利要求1所述的用途，其中，所述渐进性纤维化的特征是：

肌成纤维细胞的积聚和过度增生；和/或

胶原I-III、纤连蛋白和α平滑肌肌动蛋白(alpha-SMA)的表达增加。

3. 根据权利要求1或2所述的用途，其中，所述组织是所述受试者器官中的渐进性纤维化组织，所述器官选自肾、肺、肝、胃肠道系统、分泌组织、胰腺组织、脉管、韧带、皮肤、眼睛和泌尿生殖系统。

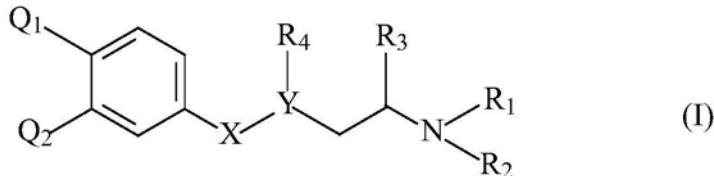
4. 根据权利要求3所述的用途，其中，所述受试者患有渐进性纤维化、或因渐进性纤维化而有生命危险，并患有纤维增生性紊乱，所述紊乱选自由以下组成的组：肾脏疾病，肺部疾病，胰腺疾病，肠道疾病，肝脏疾病，眼部疾病，泌尿生殖道疾病，皮肤疾病，代谢性疾病，自身免疫性疾病，关节和韧带疾病，与器官移植、辐射、化疗、术后状况和手术副作用、烧伤、各种毒素、化学或机械损伤相关的疾病。

5. 根据权利要求3所述的用途，其中，受渐进性纤维化影响的器官是肾或肺，其中，所述受试者患有渐进性纤维化且具有纤维增生性紊乱，且其中，所述纤维增生性紊乱是肾脏疾病或肺部疾病。

6. 根据权利要求5所述的用途，其中，受渐进性纤维化影响的器官是肾，并且纤维增生性紊乱是肾脏疾病。

7. 根据权利要求6所述的用途，其中，所述纤维增生性紊乱为慢性肾脏疾病。

8. 根据权利要求1-7任一项所述的用途, 其中, 所述S1R激动剂化合物具有下式I:



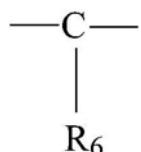
其中,

Q<sub>1</sub>是H、卤素、拟卤素、可选的取代有1、2、3或4个卤素的C(1-4)烷基、C(1-3)烷氧基、可选的取代有1、2、3或4个卤素的C(6-10)芳基,

Q<sub>2</sub>是H、卤素、拟卤素、或C(1-3)烷氧基,

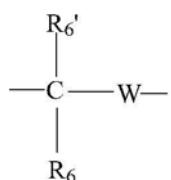
X为CH<sub>2</sub>、乙撑、或羰基(CO)、酰胺或不存在,

或X具有下式



其中R<sub>6</sub>选自由羟基、取代的或未取代的C(1-6)烷基及C(1-6)烷氧基、C(1-2)烷氧基C(1-6)烷基、C(5-10)芳基组成的组,

或X具有下式

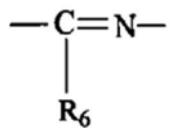


其中W为-CH-或羰基(-CO-)或W不存在, 以及

R<sub>6</sub>和R'<sub>6</sub>独立地为取代的或未取代的C(1-6)烷基、C(1-6)烷氧基、C(1-6)二烷基醚、C(1-6)烷氧基羰基, 或R<sub>6</sub>和R'<sub>6</sub>中的至少一个是C(6-10)芳基,

或R<sub>6</sub>和R'<sub>6</sub>一起形成C(4-7)环烷基,

或X具有下式



其中R<sub>6</sub>选自取代的或未取代的C(1-6)烷基、C(1-6)烷氧基、C(1-6)烷氧基C(1-6)烷基、C(5-10)芳基,

Y为CH、N或O、-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-或Y不存在,

其中,

如果Y是O, 则R<sub>4</sub>不存在,

如果Y是N, 则R<sub>4</sub>是H或C(1-3)烷基或C(1-3)烯烃基, 或R<sub>4</sub>和R<sub>1</sub>与Y、N以及它们之间的碳原子一起形成C(5-7)杂环,

如果Y是CH, 则R<sub>4</sub>选自H、取代的或未取代的C(1-4)烷基、C(1-4)烷氧基和C(5-10)芳基, 或R<sub>4</sub>与R<sub>1</sub>与Y、N以及它们之间的碳原子一起形成C(5-7)杂环,

R<sub>3</sub>选自H、取代的或未取代的C(1-6)烷基、C(1-6)烷氧基、C(1-6)二烷基醚、C(6-10)芳基,或

R<sub>3</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的-X-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成含有0至3个杂原子的饱和的或部分不饱和的6-8元环烷基或6-8元杂环烷基,或

R<sub>3</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的-X-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成取代的或未取代的C(7-14)多环芳基或C(7-14)多环杂芳基或C(7-14)环烷基芳基,或

R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>与它们所连接的-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成含有0至3个杂原子的饱和的或部分不饱和的6-8元环烷基或6-8元杂环烷基,或烷基芳基,

R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>是独立的H或C(1-6)烷基,

或R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>形成5元或6元的饱和的或不饱和的环,

所述环可选地包含杂原子,或

所述环可选的是取代的或未取代的哌啶环,

或R<sub>1</sub>是C(2-3)烷撑,连同Y、N以及Y和N之间的碳原子一起形成杂环,R<sub>2</sub>是C(1-6)烷基、C(6-10)芳基或C(7-10)芳烷基,

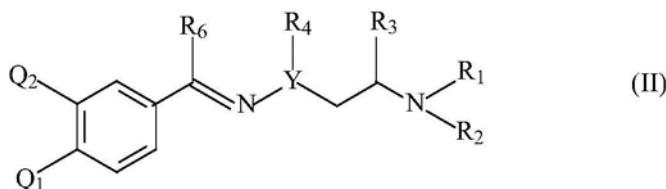
或R<sub>2</sub>是C(3-4)烷撑,连同N形成杂环;

或其药学上可接受的盐。

9.根据权利要求8所述的用途,

其中,式I中R<sub>3</sub>为H。

10.根据权利要求8所述的用途,其中,所述S1R激动剂化合物具有如下式II:



其中,

Q<sub>1</sub>为Cl或F,或选自CH<sub>2</sub>F、CHF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、CH<sub>2</sub>Cl、CHCl<sub>2</sub>、CCl<sub>3</sub>的甲基卤,或甲氧基,

Q<sub>2</sub>为H、Cl或F,

R<sub>6</sub>选自取代的或未取代的C(1-6)烷基、C(1-6)烷氧基、C(1-6)二烷基醚、C(6-10)芳基,或

Y是CH或O,其中,

如果Y是O,则R<sub>4</sub>不存在,

如果Y是CH,则R<sub>4</sub>是H、甲基或乙基,

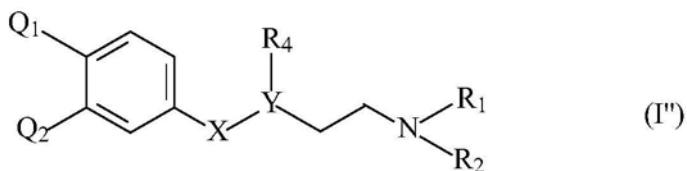
R<sub>3</sub>是H、甲基或乙基,或R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>与它们所连接的-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成含有0-2个杂原子的饱和的或部分不饱和的环状基团,或R<sub>4</sub>和R<sub>3</sub>一起形成C(2-4)烷基桥,

R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为H、甲基或乙基;

或其药学上可接受的盐。

11.根据权利要求10所述的用途,其中,所述S1R激动剂化合物是氟伏沙明。

12.根据权利要求8所述的用途,其中,所述S1R激动剂化合物具有如下式I”,

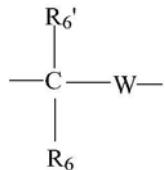


其中Q<sub>1</sub>和Q<sub>2</sub>彼此独立地选自由卤素以及C(1-3)烷氧基组成的组，

Y是-CH-或N，

X是乙撑或酰胺，

或X具有下式



其中W为-CH-或羰基(-CO-)，和

R<sub>6</sub>和R<sub>6</sub>'独立地为取代的或未取代的C(1-3)烷基、C(1-3)烷氧基，或R<sub>6</sub>或R<sub>6</sub>'是苯基，

R<sub>4</sub>是C(2-3)烷基，或R<sub>4</sub>是C(2-3)烷撑或C(2-4)烯烃基，

R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>形成5元或6元的饱和的或不饱和环，

所述环可选地包含杂原子，

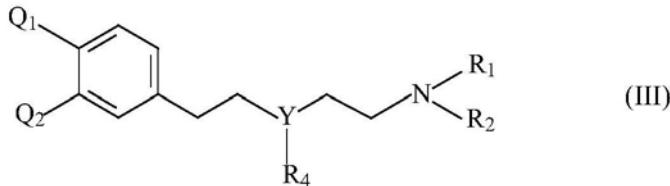
或R<sub>1</sub>是C(2-3)烷撑，与R<sub>4</sub>、Y和N以及Y和N之间的碳原子一起形成杂环；和

R<sub>2</sub>是C(1-6)烷基、C(6-10)芳基或C(7-10)芳烷基，

或R<sub>2</sub>是C(3-6)烷撑，与N一起形成杂环，

或R<sub>2</sub>与R<sub>1</sub>、R<sub>4</sub>、Y和N以及Y和N之间的碳原子一起形成双环杂环。

13. 根据权利要求12所述的用途，其中，所述S1R激动剂化合物具有如下式(III)



Q<sub>1</sub>和Q<sub>2</sub>彼此独立地是选自包括I、Cl和F、C(1-3)烷氧基组成的组，

Y是N，

R<sub>4</sub>是C(2-3)烷基或R<sub>4</sub>是C(2-3)烷撑或C(2-4)烯烃基

R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>形成5元或6元的饱和的或不饱和的环，

所述环可选地包含杂原子，

或R<sub>1</sub>是C(2-3)烷撑，与R<sub>4</sub>、Y和N以及Y和N之间的碳原子一起形成杂环；和

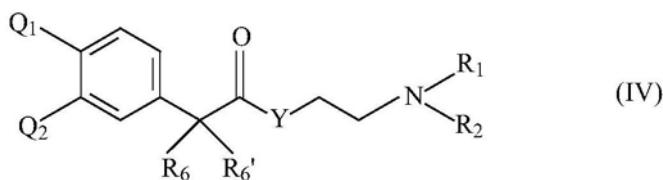
R<sub>2</sub>是C(1-6)烷基、C(6-10)芳基或C(7-10)芳烷基，

或R<sub>2</sub>是C(3-6)烷撑，与N一起形成杂环，

或R<sub>2</sub>与R<sub>1</sub>、R<sub>4</sub>、Y和N以及Y和N之间的碳原子一起形成双环杂环。

14. 根据权利要求13所述的用途，其中，所述化合物是库特麦辛(SA4503)。

15. 根据权利要求8所述的用途，其中，所述S1R激动剂化合物具有如下式(IV)



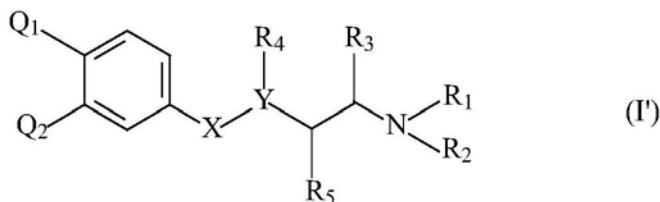
其中Q<sub>1</sub>和Q<sub>2</sub>彼此独立地为H或C(1-2)烷基，  
R<sub>6</sub>和R<sub>6'</sub>一起形成C(4-7)环烷基，  
Y是O或O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O或NH，  
和R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地是H或甲基或乙基，或  
R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>形成5元或6元的饱和的或不饱和的环，  
所述环可选地包含杂原子。

16. 根据权利要求15所述的用途，其中，所述化合物是PRE-084。

17. 根据权利要求8所述的用途，其中，所述S1R激动剂化合物是：

2-{{(E)-{5-甲氧基-1-[4-(三氟甲基)苯基]戊亚基}氨基}氨基}乙胺(氟伏沙明)；  
1-[2-(3,4-二甲氧基苯基)乙基]-4-(3-苯基丙基)哌嗪(库特麦辛)；  
(8aR)-2-[2-(3,4-二氯苯基)乙基]八氢吡咯并[1,2-a]吡嗪(BD1031)；  
N-[2-(3,4-二氯苯基)乙基]-N-(2-吡咯烷-1-基乙基)丙-2-烯-1-胺(BD1052)；  
N-(N-二苄基-4-基)-4-碘苯甲酰胺(4-IBP)；  
2-吗啉-4-基乙基-1-苯基环己烷-1-羧酸(PRE-084)；  
2-[2-(二乙基氨基)乙氧基]乙基-1-苯基环戊烷羧酸(咳必清)；  
(S\*,R\*)-2-[ (4-羟基-4-苯基-1-哌啶基) 甲基]-1-(4-甲基苯基)-环丙烷甲酸甲酯(ppcc)；  
4-[4-(4-氯苯基)-4-羟基-1-哌啶基]-1-(4-氟苯基)-丁-1-醇(氟哌啶醇)；  
四氢-N,N-二甲基-2,2-二苯基-3-呋喃基甲胺盐酸盐(Anavex 2-73)或  
1-[1-(4-联苯基)-1-甲基-丙基]哌啶(RC-33)；  
或其药学上可接受的盐。

18. S1R激动剂化合物在制备用于治疗受试者组织中的渐进性纤维化的药物组合物中的用途，其中，所述组织为所述受试者的肾脏，其中，所述S1R激动剂化合物具有下式I'：



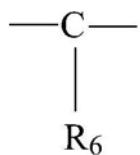
其中，

Q<sub>1</sub>是H、卤素、拟卤素、可选的取代有1、2、3或4个卤素的C(1-4)烷基、C(1-3)烷氧基、可选的取代有1、2、3或4个卤素的C(6-10)芳基，

Q<sub>2</sub>是H、卤素、拟卤素、或C(1-3)烷氧基，

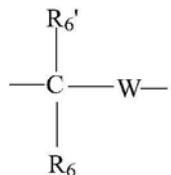
X为CH<sub>2</sub>、乙撑、或羰基(CO)、酰胺或不存在，

或X具有下式



其中R<sub>6</sub>选自由羟基、取代的或未取代的C(1-6)烷基及C(1-6)烷氧基、C(1-2)烷氧基C(1-6)烷基、C(5-10)芳基组成的组，

或X具有下式

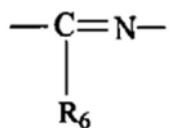


其中W为-CH-或羰基(-CO-)或W不存在,以及

R<sub>6</sub>和R'<sub>6</sub>独立地为取代的或未取代的C(1-6)烷基、C(1-6)烷氧基、C(1-6)二烷基醚、C(1-6)烷氧基羰基,或R<sub>6</sub>和R'<sub>6</sub>中的至少一个是C(6-10)芳基,

或R<sub>6</sub>和R'<sub>6</sub>一起形成C(4-7)环烷基,

或X具有下式



其中R<sub>6</sub>选自取代的或未取代的C(1-6)烷基、C(1-6)烷氧基、C(1-6)烷氧基C(1-6)烷基、C(5-10)芳基,

Y为CH、N或O、-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-或Y不存在,

其中,

如果Y是O,则R<sub>4</sub>不存在,

如果Y是N,则R<sub>4</sub>是H或C(1-3)烷基或C(1-3)烯烃基,或R<sub>4</sub>和R<sub>1</sub>与Y、N以及它们之间的碳原子一起形成C(5-7)杂环,

如果Y是CH,则R<sub>4</sub>选自H、取代的或未取代的C(1-4)烷基、C(1-4)烷氧基和C(5-10)芳基,或R<sub>4</sub>与R<sub>1</sub>与Y、N以及它们之间的碳原子一起形成C(5-7)杂环,

R<sub>3</sub>选自H、取代的或未取代的C(1-6)烷基、C(1-6)烷氧基、C(1-6)二烷基醚、C(6-10)芳基,或

R<sub>3</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的-X-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成含有0至3个杂原子的饱和的或部分不饱和的6-8元环烷基或6-8元杂环烷基,或

R<sub>3</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的-X-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成取代的或未取代的C(7-14)多环芳基或C(7-14)多环杂芳基或C(7-14)环烷基芳基,或

R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>与它们所连接的-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成含有0至3个杂原子的饱和的或部分不饱和的6-8元环烷基或6-8元杂环烷基,或烷基芳基,

R<sub>5</sub>是H或C(1-3)甲基或C(1-3)烷氧基,或

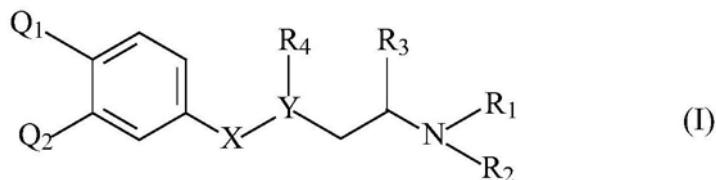
R<sub>5</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的碳原子一起形成3、4、5或6元饱和的或不饱和的环,所述环可选地包含杂原子,

R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>是独立的H或C(1-6)烷基，  
或R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>形成5元或6元的饱和的或不饱和的环，  
所述环可选地包含杂原子，或  
所述环可选的是取代的或未取代的哌啶环，  
或R<sub>1</sub>是C(2-3)烷撑，连同Y、N以及Y和N之间的碳原子一起形成杂环，R<sub>2</sub>是C(1-6)烷基、C(6-10)芳基或C(7-10)芳烷基，  
或R<sub>2</sub>是C(3-4)烷撑，连同N形成杂环；  
或其药学上可接受的盐。

19. 根据权利要求18所述的用途，所述化合物通过预防、逆转或抑制所述受试者肾脏的细胞外基质的纤维化重塑治疗渐进性纤维化。

20. 根据权利要求19所述的用途，其中，所述受试者患有渐进性纤维化或者具有纤维增生性紊乱，所述紊乱为肾脏疾病。

21. 根据权利要求20所述的用途，其中，所述S1R激动剂化合物具有下式I：



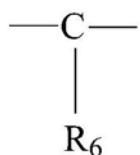
其中，

Q<sub>1</sub>是H、卤素、拟卤素、可选的取代有1、2、3或4个卤素的C(1-4)烷基、C(1-3)烷氧基、可选的取代有1、2、3或4个卤素的C(6-10)芳基，

Q<sub>2</sub>是H、卤素、拟卤素、或C(1-3)烷氧基，

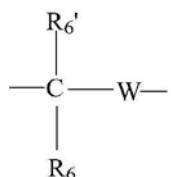
X为CH<sub>2</sub>、乙撑、或羰基(CO)、酰胺或不存在，

或X具有下式



其中R<sub>6</sub>选自由羟基、取代的或未取代的C(1-6)烷基及C(1-6)烷氧基、C(1-2)烷氧基C(1-6)烷基、C(5-10)芳基组成的组，

或X具有下式

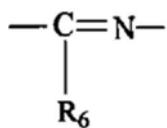


其中W为-CH-或羰基(-CO-)或W不存在，以及

R<sub>6</sub>和R<sub>6</sub>'独立地为取代的或未取代的C(1-6)烷基、C(1-6)烷氧基、C(1-6)二烷基醚、C(1-6)烷氧基羰基，或R<sub>6</sub>和R<sub>6</sub>'中的至少一个是C(6-10)芳基，

或R<sub>6</sub>和R<sub>6</sub>'一起形成C(4-7)环烷基，

或X具有下式



其中R<sub>6</sub>选自取代的或未取代的C(1-6)烷基、C(1-6)烷氧基、C(1-6)烷氧基C(1-6)烷基、C(5-10)芳基，

Y为CH、N或O、-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-或Y不存在，

其中，

如果Y是O，则R<sub>4</sub>不存在，

如果Y是N，则R<sub>4</sub>是H或C(1-3)烷基或C(1-3)烯烃基，或R<sub>4</sub>和R<sub>1</sub>与Y、N以及它们之间的碳原子一起形成C(5-7)杂环，

如果Y是CH，则R<sub>4</sub>选自H、取代的或未取代的C(1-4)烷基、C(1-4)烷氧基和C(5-10)芳基，或R<sub>4</sub>与R<sub>1</sub>与Y、N以及它们之间的碳原子一起形成C(5-7)杂环，

R<sub>3</sub>选自H、取代的或未取代的C(1-6)烷基、C(1-6)烷氧基、C(1-6)二烷基醚、C(6-10)芳基，或

R<sub>3</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的-X-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成含有0至3个杂原子的饱和的或部分不饱和的6-8元环烷基或6-8元杂环烷基，或

R<sub>3</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的-X-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成取代的或未取代的C(7-14)多环芳基或C(7-14)多环杂芳基或C(7-14)环烷基芳基，或

R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>与它们所连接的-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成含有0至3个杂原子的饱和的或部分不饱和的6-8元环烷基或6-8元杂环烷基，或烷基芳基，

R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>是独立的H或C(1-6)烷基，

或R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>形成5元或6元的饱和的或不饱和的环，

所述环可选地包含杂原子，或

所述环可选的是取代的或未取代的哌啶环，

或R<sub>1</sub>是C(2-3)烷撑，连同Y、N以及Y和N之间的碳原子一起形成杂环，R<sub>2</sub>是C(1-6)烷基、C(6-10)芳基或C(7-10)芳烷基，

或R<sub>2</sub>是C(3-4)烷撑，连同N形成杂环；

或其药学上可接受的盐。

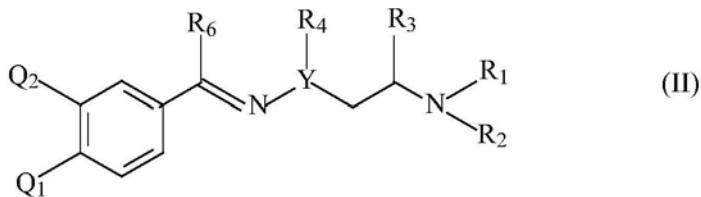
22. 根据权利要求21所述的用途，其中，式I中R<sub>3</sub>为H。

23. 根据权利要求21所述的用途，其中所述S1R激动剂化合物为根据权利要求8-17任一项所定义的化合物。

24. 根据权利要求18-23任一项所述的用途，用于预防或治疗伴有纤维化的病症中，其中，所述病症为慢性肾脏疾病(CKD)。

25. S1R激动剂化合物在制备通过预防、逆转或抑制细胞外基质的纤维化重塑治疗受试者器官中组织的渐进性纤维化的药物组合物中的用途，其中，所述器官不是心脏，

所述S1R激动剂化合物具有下述式II：



其中，

Q<sub>1</sub>为Cl或F,或选自CH<sub>2</sub>F、CHF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、CH<sub>2</sub>Cl、CHCl<sub>2</sub>、CCl<sub>3</sub>的甲基卤,或甲氧基,

Q<sub>2</sub>为H、Cl或F,

R<sub>6</sub>选自取代的或未取代的C(1-6)烷基、C(1-6)烷氧基、C(1-6)烷氧基C(1-6)烷基、C(5-7)芳基,

Y是CH或O,其中,

如果Y是O,则R<sub>4</sub>不存在,

如果Y是CH,则R<sub>4</sub>是H、甲基或乙基,

R<sub>3</sub>是H、甲基或乙基,或R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>与它们所连接的-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成含有0-2个杂原子的饱和的或部分不饱和的环状基团,或R<sub>4</sub>和R<sub>3</sub>一起形成C(2-4)烷基桥,

R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为H、甲基或乙基;

或其药学上可接受的盐。

26.根据权利要求25所述的用途,其中,式II中R<sub>3</sub>为H。

27.根据权利要求26所述的用途,其中,所述化合物为氟伏沙明。

28.根据权利要求26或27所述的用途,其中,受渐进性纤维化影响的器官为肾脏或肺,其中,所述受试者具有纤维增生性紊乱,所述紊乱为肾脏疾病或肺部疾病。

## SIGMA-1受体激动剂化合物的用途

### 技术领域

[0001] 本发明涉及用于预防和/或治疗各种器官的渐进性纤维化的组合物和方法。特别是，本发明的实施例涉及Sigma-1受体(S1R)激动剂的用途，用于在健康或疾病病症下预防和/或治疗细胞外基质(ECM)的过度沉积和/或ECM生成细胞的积聚。在一优选实施例中，S1R激动剂是氟伏沙明。

### 背景技术

[0002] 人体通过包括在所有的组织和器官中存在的非细胞成分ECM的重塑的生物过程响应于各种损伤。组织重塑以高度调节和精心编排的方式发生，这可能导致恢复其原始结构的受损组织的再生。然而，在众多其它胶原蛋白和纤连蛋白之中，由过度沉积的ECM成分所表征的异常组织重塑可能导致伴随着原始组织结构破坏和器官功能衰退的渐进性纤维化。因此，术语渐进性纤维化也用于医学科学以描述过度沉积的纤维组织的病理状态，即在由大量的胶原蛋白纤维束构成的组织之间发现有鳞次栉比的结缔组织细胞。多个路径、分子和系统之间的交互确定了纤维化是否是稳态的和再生的，或它是否是不受控制的和过度的[佩利科罗(Pellicoro)等，自然免疫学评论，14, 181-194 (2014)]。

[0003] 渐进性纤维化的特征在于细胞外基质(ECM)成分的过度生成和积聚，细胞外基质成分包括纤维状胶原(胶原I和胶原III)或胶原IV，其也是基底膜和糖蛋白(如纤连蛋白)和蛋白聚糖(如肝素硫酸盐)的主要成分之一。ECM是一种功能性组织，其成分不仅具有支架特点，还具有促进增长、促有丝分裂及其它生物活性。

[0004] 在组织修复中，ECM的重塑可使该组织再生，同时受损细胞被其它细胞代替以恢复该组织的原始功能，并且生成ECM的肌成纤维细胞处于细胞凋亡。逐渐地，重塑的ECM再次承载机械负荷，而肌成纤维细胞消失。因此，这种再生调节过程预防纤维化，从而使得纤维化得以限制，本文中称为再生重塑。在“渐进性纤维化”中ECM成分——尤其是胶原蛋白I型、III型和纤连蛋白——和ECM生成细胞不断积聚，该过程可能会不利于甚至有害于组织或器官。

[0005] 当组织重塑转向ECM的过度沉积，导致原始组织结构的破坏和组织和/或器官功能的逐渐衰退，发生渐进性纤维化。渐进性纤维化是一种病理过程，该过程导致永久瘢痕组织的形成；在若干情况下，它会导致器官衰竭并可能导致死亡[5]。渐进性纤维化在慢性疾病中可能诱发器官功能的渐进性和连续性丧失(如纤维增生性紊乱)。

[0006] 术语肌成纤维细胞表明其兼具成纤维细胞的形态特征如成熟内质网(ER)以及平滑肌的特征，类似于可收缩的肌动蛋白丝束。分化的肌成纤维细胞梭形或星形细胞在其可收缩丝束(应力纤维)中表达 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)，并显著地有助于ECM重塑/生成。先前，已有建议从其它几种细胞类型中衍生出肌成纤维细胞，包括成纤维细胞、星形细胞、周皮细胞、平滑肌细胞、上皮细胞、内皮细胞、干细胞或循环祖细胞。

[0007] 渐进性纤维化可能在慢性纤维增生性紊乱中诱发器官功能的渐进性和连续性丧失，该慢性纤维增生性紊乱包括心血管疾病(与急性心肌梗死(AMI)或高血压、纤维性颤动

相关联的心肌纤维化);肾脏有关疾病,如各种形式的慢性肾脏疾病(慢性肾脏病(CKD);如糖尿病性肾病、高血压性肾病、梗阻性尿路病等),胃肠道疾病(如在炎性肠疾病或食管闭锁中),肺纤维化疾病(如慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘或自发性肺纤维化),自身免疫性疾病(包括系统性红斑狼疮(SLE)、硬皮病、类肉瘤病),皮肤疾病(瘢痕疙瘩、伤痕、痤疮或水痘等),肝硬化或泌尿生殖系统疾病以及更多其它疾病。这些纤维增生性疾病的发病率正在迅速增加,它已成为重大的公共卫生问题。事实上,据估计,世界范围内所有死亡人数的大约45%是由于纤维增生性紊乱(FD)。

[0008] 这些纤维增生性疾病的治疗与渐进性纤维化本身特点的预防和/或治疗是不相同的;尽管或者即便相关可能致病疾病的治疗,纤维化甚至可以进一步发展。很多时候疾病的病理生理学可很好地或越来越被了解,然而伴随渐进性纤维化在很大程度上未被探索。在有关肠道纤维化方面,由于里德尔(Rieder)和菲奥基(Fiocchi)指明了“这种未知在很大程度上是由于我们目前没有能力早期准确地诊断肠道纤维化,正确地对待它并采取措施加以预防它。”[里德尔等,胃肠病学新观点(Curr Opin Gastroenterol.),7月;24(4),462-8(2008)]。

[0009] 炎性肠道疾病中的肠道纤维化:基础和临床科学中的进展。

[0010] 根据现有技术的纤维化病症的治疗

[0011] 很少的几类化合物被认为是对病理纤维化病症的特定治疗有用,这些化合物包括具有TGF $\beta$ 抑制活性的化合物。TGF $\beta$ 及相关因子调节各种细胞的增生和分化过程,并且在组织紊乱后对生物体的细胞修复和再生的调节是很重要的。已知的是TGF $\beta$ 在ECM蛋白的积聚中起作用,并且与器官或组织的纤维化有关。已测试了中和人源化抗体靶向TGF $\beta$ 或其下游效应分子以及协同调节因子CTGF[哈钦森(Hutchinson)等,BBA 1832,962-971(2013)]。但在针对靶向TGF $\beta$ 通路时必须加以注意。的确,TGF $\beta$ 具有公知的肿瘤抑制效果,因此该通路的抑制可能引发恶性肿瘤的亚型。在进展过程中,在TGF $\beta$ 基因敲除小鼠中观察到了TGF $\beta$ 缺乏所导致的严重的多病灶炎性疾病和胚胎杀伤力[115],引起了对其强抗炎效果和重要作用的关注。可能也有一些不太严重的如光敏性、肝功能障碍、头晕或体重减轻这种方式操纵的副作用。

[0012] 在EP 1548008[清水K.(SHIMIZU K.)等]中公开了具有TGF $\beta$ 抑制活性的喹啉和喹唑啉衍生物。

[0013] WO 03/087304A2[李文诚(LEE,Wen-Cherng)等]教导了据称是TGF $\beta$ 家族型受体的强拮抗剂的三取代杂芳基ALK5和/或ALK4。这些化合物被教导可有效用于预防纤维化。

[0014] 吡非尼酮(5-甲基-1-苯基吡啶-2-酮)降低了如TGF $\beta$ 的纤维化介质的生成,并且还抑制了TGF $\beta$ 刺激的胶原蛋白生成[谢弗CJ(Schaefer CJ)等,Eur Respir Rev 20(120),85-97(2011)]。它在各种体外系统和纤维化的动物模型中具有抗纤维化和抗炎性质。基于细胞的研究表明,吡非尼酮降低了成纤维细胞增生。

[0015] 吡非尼酮已被批准用于治疗特发性肺纤维化(IPF)。在阿祖玛(Azuma)A.的评论中讨论了吡非尼酮在IPF治疗中的有效性和局限性,以确定其用于管理IPF进展的潜力[Azuma A.,Expert Review of Respiratory Medicine 4(3),301-310(2010)]。还提议吡非尼酮作为用于渐进性肾疾病治疗的抗纤维化药物和细胞保护剂[M E Cho等,Expert Opin Investig Drugs 19(2),275-283(2010)]。在临床患有IPF的107名日本患者中进行了吡非

尼酮与安慰剂的多中心、随机、双盲安慰剂对照研究(1800mg/天)。两组的主要终点并没有显著不同[帕斯Z(Paz Z),过敏症免疫综述(Rev Allerg Immunol),38,276-286(2010)]。此外,吡非尼酮不能给药于患有更严重的肾脏疾病(少于30ml/min的肌酐清除率)的患者[阿门达里兹-波兰达J(Armendariz-Borunda J)等,Gut,55(11),1663-1665(2006)]。

[0016] 曲尼司特(2-{[(2E)-3-(3,4-二甲氧基苯基)丙-2-烯酰基]氨基}苯甲酸)这一抗过敏药物被认为可有效用于治疗过度胶原沉积所导致的瘢痕疙瘩和增生性瘢痕。最近的报告表明,曲尼司特通过抑制心肌TGF $\beta$ 1表达在AMI后降低了病理纤维化[见F.Heart Lung Circ,22(2),122-132(2013)]。然而,虽然曲尼司特的开始治疗延迟至AMI后7天阻碍左心室重塑,但AMI后24小时起干预加剧梗死扩展。

[0017] 在WO 2010/048716[马克苏莫娃(Maksumova)L和昂温(Unwin)D.H.]中马克苏莫娃等人教导了一种方法,在该方法中,将曲尼司特或吡非尼酮与N-乙酰基-半胱氨酸一起给药会产生抗增生效果,该效果比单独给药任一种药物更加明显。

[0018] 由李(Lee)WJ等人公开的另一种治疗理念可能有助于治疗瘢痕疙瘩或增生性瘢痕[李WJ等,英国皮肤病学杂志(Br J Dermatol),165(3),673-7(2011)]。作者认为减少主要ECM成分(例如I型和III型胶原、弹性蛋白和纤连蛋白)的表达显示了表达松弛素的腺病毒的抗纤维化效果,其可以在外科手术切除后通过逆转病理纤维化和预防瘢痕疙瘩复发对瘢痕疙瘩起到治疗效果。

[0019] 由于5-HT<sub>2B</sub>受体激活被认为在促有丝分裂信号传导中发挥作用,新的治疗靶点包括如5-HT拮抗剂。该活性支持了为何5-HT<sub>2B</sub>受体拮抗剂是与纤维化发展有关的病症的治疗方案的原因。WO 2009/016227涉及有助于纤维化病症治疗的5-HT<sub>2B</sub>拮抗剂化合物。

[0020] 当成纤维细胞转换为纤维化状态时,Alpha5beta1整合蛋白的高度表达被发现在激活的成纤维细胞中具有alpha5beta1整合蛋白的深厚积聚。WO 2013/103317教导了在纤维化和纤维化相关的疾病的治疗中使用抗血管生成的整合蛋白alpha5beta1抑制剂化合物,这表明在博莱霉素诱发的肺纤维化的小鼠模型中化合物的有效性。

[0021] CA2368366描述了在硬皮病的Tsk小鼠模型和博莱霉素诱发的肺纤维化的小鼠模型中糜蛋白酶抑制剂化合物的有益效果。

[0022] TNF $\alpha$ 配体是广泛研究的具有肌成纤维细胞的过度增生和/或纤维材料的过量生成这种疾病状态的潜在治疗剂。WO 2010/085959涉及一种有助于治疗辐射诱发的纤维化的TNF $\alpha$ 拮抗剂。

[0023] 治疗使用的间充质干细胞也被设想通过局部或全身给药以再生受渐进性纤维化影响的器官,然而,临床研究未能明确地证明这一理念。此外,它们甚至被认为具有使宿主环境转向纤维化而非再生细胞的潜在危险。帕斯Z和休恩菲尔德Y在2010年给出了用于渐进性纤维化治疗方案的详细审查,一个公认的“重大调查主题”[Paz Z等,Clin Rev Allergy Immunol,38(2-3),276-286(2010)]。作者适度乐观,但承认“没有证明抗纤维化疗法在改善纤维化疾病的临床过程中已显示出了功效,但是我们目前的认识使得不同的药物具有期待的结果,如:霉酚酸酯、干扰素、松弛素以及静脉注射免疫球蛋白”(重点标记)。

[0024] 同样的,在回顾肌成纤维细胞的作用机理和可行的治疗方案后,汉兹B(Hinz.B)和加比亚尼G(GbianiG)[Hinz.B等,F1000Biol Rep.,2:78(2010)]评估了最新发展,如“在未来几年内可能发展为治疗方案的新发现”(额外强调)。

[0025] 最近,凯瑞哈鲁A (Karihaloo A.) 得到了有关抗纤维化治疗的更为悲观的结论 [Karihaloo A., Curr Diab Rep, 12 (4), 414-22 (2012) ]: “研究指向多因素病因学和几个致病通路的复杂的相互作用点,其可促使降低糖尿病中的肾功能。糖尿病肾病患者(以及患有任何慢性肾脏疾病)最终会发展为肾纤维化。尽管在确定纤维化的基本机制上花费了财力并投入了劳动力,但至今为止我们还没有取得太多的有关治疗靶点的进展。

[0026] 所有这些文献数据进一步强调的是,目前在纤维增生性紊乱中尚无公认的用于渐进性纤维化的疗法。致病性或继发性疾病的治疗基础不足以提供一个解决方案以及治疗渐进性纤维化本身。总之,有控制渐进性纤维化本身的需求。

[0027] 本发明人已意外地发现,Sigma-1-受体 (S1R) 激动剂化合物可有助于预防、控制和治疗渐进性纤维化以及与其相关的病症,尤其是ECM的过度沉积,优选胶原蛋白、如I型、III型胶原蛋白和纤连蛋白的过度沉积;和/或生成ECM蛋白的细胞的积聚。

[0028] 本发明的简要说明

[0029] 本发明涉及一种用于抑制、控制、逆转或预防受试者、优选患者的组织和/或器官中的渐进性纤维化的S1R激动剂化合物。

[0030] 本发明涉及一种用于治疗或预防受试者、优选是患者的组织和/或器官的纤维化、优选渐进性纤维化的S1R激动剂化合物。

[0031] 在一优选实施例中,本发明涉及一种用于抑制、控制、逆转或预防组织和/或器官的纤维化、优选渐进性纤维化的S1R激动剂化合物,其中,在所述组织中过度沉积一种或多种ECM成分,优选的所述ECM成分选自

[0032] -结构蛋白,如胶原和弹性蛋白

[0033] -专一蛋白,如原纤蛋白、纤连蛋白和层粘连蛋白

[0034] -蛋白聚糖。

[0035] 在一优选实施例中,本发明涉及一种用于抑制、控制、逆转或预防组织和/或在器官的纤维化、优选渐进性纤维化的S1R激动剂化合物,其中在所述组织中,优选经ECM重塑,一种或多种ECM生成细胞积聚或过度积聚。具体的,积聚的ECM生成细胞包括肌成纤维细胞或者是肌成纤维细胞,优选其中肌成纤维细胞过度增生。

[0036] 在一实施例中,患者诊断患有纤维化、优选渐进性纤维化的医学病症,或因渐进性纤维化这一医学病症或伴有渐进性纤维化而有生命危险。这种病症的诊断可通过直接测量在受渐进性纤维化影响的组织中胶原I-III、纤连蛋白和 $\alpha$ 平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -SMA) 的表达增加进行限定。评估马松三色或天狼星红阳性的存在的增加也是一种选择。

[0037] 优选的,受试者或患者的组织为以下器官的组织,所述器官选自由肾、肺、肝、胃肠道系统、如胰腺组织的分泌组织、脉管、韧带、皮肤、眼睛和泌尿生殖系统组成的组,更优选肾、肺、肝、胃肠道系统、泌尿生殖系统、关节和韧带、皮肤和眼睛;甚至更优选肾、肺、胃肠道系统、泌尿生殖系统;高度优选肾和肺。

[0038] 优选的,受试者或患者的器官选自由肾、肺、肝、胃肠道系统、分泌腺体、脉管、韧带、皮肤、眼睛和泌尿生殖系统组成的组,更优选肾、肺、肝、胃肠道系统、泌尿生殖系统、韧带、皮肤和眼睛;甚至更优选肾、肺和胃肠道系统;高度优选肾和肺。

[0039] 在一优选实施例中,器官不是大脑。

[0040] 在一优选实施例中,器官不是心脏。

[0041] 在根据本发明的一优选实施例中，患者诊断患有渐进性纤维化的医学病症，或因伴随病症、优选纤维增生性病症的渐进性纤维化这一医学病症而有生命危险。优选的所述病症、优选的纤维增生性病症选自由肾脏疾病、肺部疾病、胰腺疾病、肠道疾病、肝脏疾病、眼部疾病、泌尿生殖道疾病、皮肤疾病、代谢性疾病、自身免疫性疾病、关节和韧带(肌肉骨骼系统)疾病、与使用其它治疗药物或过程(例如器官移植、辐射、化疗、术后状况和手术副作用)、烧伤、各种毒素、化学或机械损伤相关的疾病组成的组。更优选所述纤维增生性病症选自由肾脏疾病、肺部疾病、胰腺疾病、胃肠疾病、肝脏疾病、眼科疾病和皮肤疾病组成的组。在进一步实施例中，纤维增生性病症选自与使用其它治疗药物或过程(例如器官移植、辐射、化疗、术后状况和手术副作用)、烧伤、各种毒素、化学或机械损伤相关的疾病，甚至更优选肾脏疾病、肺部疾病、胃肠道疾病；高度优选肾脏疾病和肺部疾病。

[0042] 在一实施例中，渐进性纤维化发生的紊乱与解剖异常、代谢性疾病、遗传性疾病、自身免疫性疾病，暴露于过敏原(如花粉)、毒素(例如吸烟、饮酒、石棉等)、或药物(止痛剂、乙酰氨基酚等)和感染相关。

[0043] 在一高度优选实施例中，在纤维增生性疾病中，待治疗或预防，优选抑制、控制或逆转的渐进性纤维化是一种慢性肾疾病，具有肾功能丧失，例如肾小球滤过率(GFR)下降、血肌酐、尿素氮、蛋白尿和/或微量白蛋白尿的水平提高，钠排泄分数增加，并伴有高钾血症、低钠血症、贫血、高胆固醇、低血钙、血磷、高甲状旁腺等。

[0044] 在一优选实施例中，病症不同于癌症、肿瘤，优选不同于恶性肿瘤或恶性瘤。

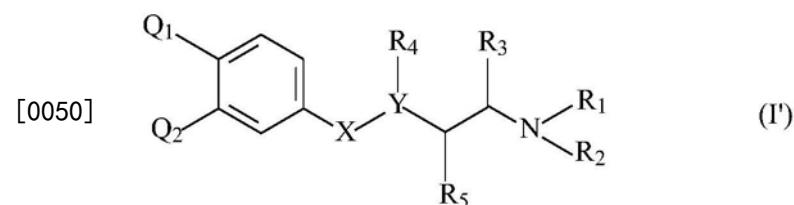
[0045] 在一优选实施例中，紊乱不是心血管障碍。

[0046] 在一优选实施例中，病症不是神经精神障碍。

[0047] 在一优选实施例中，本发明的化合物为S1R激动剂化合物，其中所述化合物是对S1R而非S2R(sigma2受体)有选择性的激动剂，即化合物是选择性S1R激动剂。如果S1R比S2R具有更高的亲和力，优选至少5倍高或至少20倍高或至少50倍高，或优选至少 $10^2$ 高或至少 $10^3$ 高或至少 $10^4$ 高的亲和力，化合物对S1R而非S2R有选择性。

[0048] 在一优选实施例中，化合物是S1R激动剂，其效果可以选择性地用特定S1R拮抗剂进行拮抗，例如NE-100。

[0049] 在本发明的一实施例中，S1R激动剂化合物是如本文所定义或如上述所定义使用的S1R激动剂化合物，所述S1R激动剂化合物具有如下式I'：



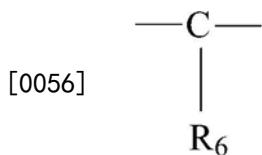
[0051] 其中，

[0052] Q<sub>1</sub>是H、卤素、拟卤素、可选的取代有1、2、3或4个卤素的C(1-4)烷基、C(1-3)烷氧基、可选的取代有1、2、3或4个卤素的C(6-10)芳基，

[0053] Q<sub>2</sub>是H、卤素、拟卤素或C(1-3)烷氧基，

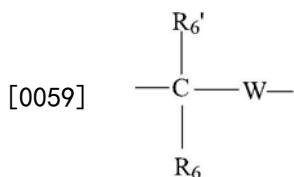
[0054] X为O、CH<sub>2</sub>、乙撑(ethylene)或羰基(CO)、酰胺或不存在，

[0055] 或X具有下式



[0057] 其中R<sub>6</sub>选自由羟基,取代的或未取代的C(1-6)烷基、优选C(1-3)烷基,和C(1-6)烷氧基、优选C(1-3)烷氧基,C(1-2)烷氧基C(1-6)烷基,或C(1-6)烷氧基烷基、优选C(1-4)烷氧基烷基,C(5-10)芳基、优选C(5-6)芳基组成的组,

[0058] 或X具有下式

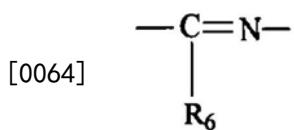


[0060] 其中W为-CH-或羰基(-CO-)或W不存在,和

[0061] R<sub>6</sub>和R<sub>6</sub>'独立地为取代的或未取代的C(1-6)烷基、优选C(1-3)烷基,C(1-6)烷氧基、优选C(1-3)烷氧基,C(1-6)烷氧基烷基、优选C(1-4)烷氧基烷基,C(1-6)烷氧基羰基、优选C(1-4)烷氧基羰基,或R<sub>6</sub>和R<sub>6</sub>'中的至少一个是C(5-10)芳基、优选为C(5-6)芳基,优选R<sub>6</sub>'是C(5-10)芳基、优选为C(5-6)芳基,

[0062] 或R<sub>6</sub>和R<sub>6</sub>'一起形成C(4-7)环烷基、优选环戊基或环己基,

[0063] 或X具有下式



[0065] 其中R<sub>6</sub>选自取代的或未取代的C(1-6)烷基、优选C(1-3)烷基,C(1-6)烷氧基、优选C(1-3)烷氧基,C(1-6)烷氧基C(1-6)烷基,或C(1-2)烷氧基C(1-6)烷基,或C(1-6)烷氧基烷基,或C(5-10)芳基、优选C(5-6)芳基,

[0066] Y为CH、N或O、-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-或不存在,

[0067] 其中,

[0068] 如果Y是O,则R<sub>4</sub>不存在,

[0069] 如果Y是N,则R<sub>4</sub>是H或C(1-3)烷基或C(1-3)烯烃基,优选乙烯基或丙烯基,或R<sub>4</sub>和R<sub>1</sub>与Y、N以及它们之间的碳原子一起形成C(5-7)杂环,

[0070] 如果Y是CH,则R<sub>4</sub>选自H,取代的或未取代的C(1-4)烷基、C(1-4)烷氧基和C(5-10)芳基,或R<sub>4</sub>与R<sub>1</sub>与Y、N以及它们之间的碳原子一起形成C(5-7)杂环,

[0071] R<sub>3</sub>选自H,取代的或未取代的C(1-6)烷基、优选C(1-4)烷基,C(1-6)烷氧基、优选C(1-4)烷氧基,C(1-2)烷氧基C(1-6)烷基或C(1-6)烷氧基烷基,C(5-10)芳基,或

[0072] R<sub>3</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的-X-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成含有0至3个杂原子的饱和的或部分不饱和的6-8元环烷基或6-8元杂环烷基,或

[0073] R<sub>3</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的-X-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成取代的或未取代的C(7-14)多环芳基或C(7-14)多环杂芳基或C(7-14)环烷基芳基,或

[0074] R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>与它们所连接的-X-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成含有0至3个杂原子的饱和的

或部分不饱和的6-8元环烷基或6-8元杂环烷基,或烷基芳基,其优选包括取代的或未取代的苯基,

[0075] R<sub>5</sub>是C(1-3)烷基或C(1-3)烷氧基,或

[0076] R<sub>5</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的碳原子一起形成3、4、5或6元饱和的或不饱和的环,优选饱和环,所述环可选地包含杂原子,优选为0,其中,所述环优选呋喃基,二氢呋喃基或四氢呋喃基,其中Y优选为不存在,

[0077] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>是独立的H或C(1-6)烷基,优选甲基或乙基,

[0078] 或R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>形成5元或6元的饱和的或不饱和的环,优选饱和环,

[0079] 所述环可选地包含杂原子,优选0、优选恶嗪或吗啉,或可替代地为N、优选二嗪或哌嗪环,或

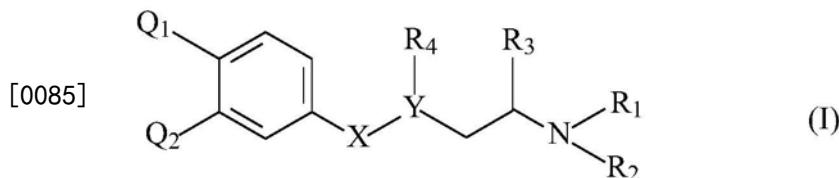
[0080] 所述环可选的是取代的或未取代的哌啶环,优选哌啶环被一个或两个OH、甲氧基和苯基所取代,优选在对位用卤素取代苯基,所述取代基优选在哌啶环的对位上,

[0081] 或R<sub>1</sub>是C(2-4)烷撑(alkylene)、优选C(2-3)烷撑或C(3-4)烷撑,连同Y、N以及Y和N之间的碳原子一起形成杂环,优选哌嗪,R<sub>2</sub>是C(1-6)烷基、优选C(1-4)烷基,C(5-10)芳基、优选C(5-6)芳基或C(7-10)芳烷基,

[0082] 或R<sub>2</sub>是C(2-4)烷撑、优选C(2-3)烷撑或C(3-4)烷撑,连同N形成杂环,优选四氢四唑;

[0083] 或其药学上可接受的盐。

[0084] 在一优选实施例中,所述S1R激动剂化合物具有如下式I,



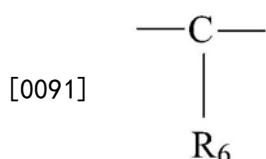
[0086] 和如上述定义的取代基,

[0087] 优选的,

[0088] Q<sub>1</sub>是卤素、拟卤素、甲基卤或乙基卤,

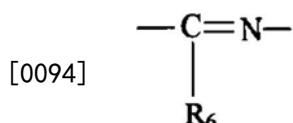
[0089] Q<sub>2</sub>是H、卤素或拟卤素,

[0090] X为O、CH<sub>2</sub>,或X具有下式



[0092] 其中R<sub>6</sub>选自包括取代的或未取代的C(1-6)烷基、优选C(1-4)烷基,C(1-6)烷氧基、优选C(1-4)烷氧基,C(1-6)烷氧基烷基,C(5-10)芳基、优选C(5-6)芳基组成的组,

[0093] 或X具有下式



[0095] 其中R<sub>6</sub>选自取代的或未取代的C(1-6)烷基、优选C(1-4)烷基,C(1-6)烷氧基、优选

C(1-4) 烷氧基,C(1-6) 烷氧基烷基,C(5-10) 芳基、优选C(5-6) 烷基,

[0096] Y是CH、N或O,其中,

[0097] 如果Y是O,则R<sub>4</sub>不存在,

[0098] 如果Y是N,则R<sub>4</sub>是H、甲基或乙基,

[0099] 如果Y是CH,则R<sub>4</sub>选自取代的或未取代的C(1-4) 烷基,C(1-4) 烷氧基,C(5-10) 芳基、优选C(5-6) 芳基,

[0100] R<sub>3</sub>选自H,取代的或未取代的C(1-6) 烷基、优选C(1-4) 烷基,C(1-6) 烷氧基、优选C(1-4) 烷氧基,C(1-6) 烷氧基烷基,C(5-10) 芳基、优选C(5-6) 芳基,或

[0101] R<sub>3</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的-X-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成含有0至3个杂原子的饱和的或部分不饱和的6-8元环烷基或6-8元杂环烷基,或

[0102] R<sub>3</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的-X-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成取代的或未取代的C(7-14) 多环芳环或多环杂芳基,或

[0103] R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>与它们所连接的-X-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成含有0至3个杂原子的饱和的或部分不饱和的6-8元环烷基或6-8元杂环烷基,或烷基芳基,其优选包括取代的或未取代的苯基,

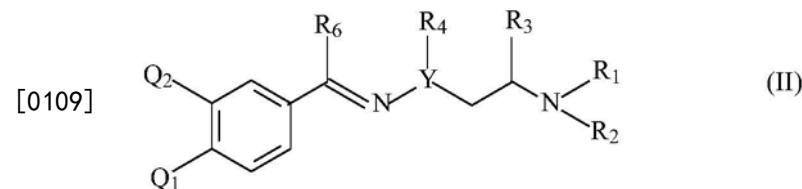
[0104] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为H、甲基或乙基;

[0105] 或其药学上可接受的盐。

[0106] 优选所述化合物是氟伏沙明。

[0107] 优选所述化合物是氟西汀。

[0108] 在进一步优选实施例中,所述S1R激动剂化合物具有如下式II:



[0110] 其中,

[0111] Q<sub>1</sub>为Cl或F,或选自CH<sub>2</sub>F、CHF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、CH<sub>2</sub>Cl、CHCl<sub>2</sub>、CCl<sub>3</sub>的甲基卤,或可选的甲氧基,

[0112] Q<sub>2</sub>为H、Cl或F,

[0113] R<sub>6</sub>选自取代的或未取代的C(1-6) 烷基、优选C(1-4) 烷基,C(1-6) 烷氧基、优选C(1-4) 烷氧基,C(1-6) 烷氧基烷基(或C(1-6) 二烷基醚),C(5-10) 芳基、优选C(5-6) 芳基,

[0114] Y是CH或O,其中,

[0115] 如果Y是O,则R<sub>4</sub>不存在,

[0116] 如果Y是CH,则R<sub>4</sub>是H、甲基或乙基,

[0117] R<sub>3</sub>是H、甲基或乙基,或R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>与它们所连接的-Y-C<sub>2</sub>烷基部分一起可形成含有0-2个杂原子的饱和的或部分不饱和的环状基团,或R<sub>4</sub>和R<sub>3</sub>一起形成C(2-4) 烷基桥,

[0118] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为H、甲基或乙基;

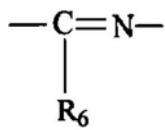
[0119] 或其药学上可接受的盐。

[0120] 在一优选实施例中,在式II中,

[0121] Q<sub>1</sub>是选自CHF<sub>2</sub>、CF<sub>3</sub>、CHCl<sub>2</sub>和CCl<sub>3</sub>的甲基卤,

[0122] Q<sub>2</sub>是H,

[0123] X具有下式



[0124] 其中，R<sub>6</sub>选自取代的或未取代的C(1-6)烷氧基烷基(或C(1-6)二烷基醚)或C(1-2)烷氧基C(2-5)烷基，

[0125] [0126] Y是CH或O，其中，

[0127] 如果Y是O，则R<sub>4</sub>不存在，

[0128] 如果Y是CH，则R<sub>4</sub>是H、甲基或乙基，

[0129] R<sub>3</sub>是H或甲基，

[0130] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为H、甲基或乙基；

[0131] 或其药学上可接受的盐。

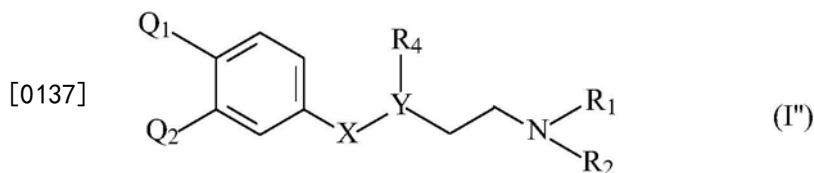
[0132] 在一高度优选实施例中，该化合物是氟伏沙明。

[0133] 优选的，根据式II的化合物是用于预防或治疗紊乱中的渐进性纤维化，所述紊乱选自由肾脏疾病、肺部疾病、胰腺疾病、肠道疾病、肝脏疾病、眼部疾病、泌尿生殖道疾病、皮肤疾病、代谢性疾病、自身免疫性疾病、关节和韧带(肌肉骨骼系统的)疾病、与使用其它治疗药物/过程(例如器官移植、放射、化疗、术后操作和手术副作用)、烧伤、各种毒素、化学或机械损伤相关疾病组成的组。

[0134] 更优选的，所述紊乱选自由肾脏疾病、肺部疾病、胰腺疾病、胃肠疾病、肝脏疾病、眼部疾病、皮肤疾病、泌尿生殖道疾病组成的组。

[0135] 甚至更优选的，所述紊乱选自由肾脏疾病、肺部疾病、胃肠道疾病和皮肤疾病组成的组；高度优选肾脏疾病和肺部疾病。非常优选的该疾病为肾脏疾病。非常优选的该疾病是肺部疾病。

[0136] 在进一步的优选实施例中，所述S1R激动剂化合物具有如下式I"

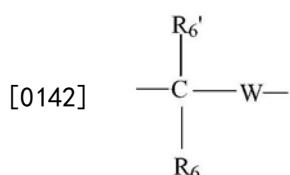


[0137] 其中Q<sub>1</sub>和Q<sub>2</sub>彼此独立地选自由卤素、优选I、Cl和F，和C(1-3)烷氧基、优选甲氧基组成的组，

[0138] [0139] Y是-CH-或N，

[0140] X是乙撑或酰胺，

[0141] 或X具有下式



[0142] 其中W为-CH-或羰基(-CO-)，和

[0143] R<sub>6</sub>和R<sub>6'</sub>独立地为取代的或未取代的C(1-3)烷基、C(1-3)烷氧基，或R<sub>6</sub>和R<sub>6'</sub>中的一

个是苯基，

[0145] R<sub>4</sub>是C(2-3)烷基,或R<sub>4</sub>是C(2-3)烷撑或C(2-4)烯烃基,

[0146] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>形成5元或6元的饱和的或不饱和环,优选饱和环,

[0147] 所述环可选地包含杂原子,优选的

[0148] -O,优选所述环为恶嗪或吗啉,或

[0149] -N,优选所述环为二嗪或哌嗪环

[0150] R<sub>1</sub>是C(2-3)烷撑,与R<sub>4</sub>、Y和N以及Y和N之间的碳原子一起形成杂环,优选为哌嗪或哌啶;和

[0151] R<sub>2</sub>是C(1-6)烷基、C(6-10)芳基或C(7-10)芳烷基,

[0152] 或R<sub>2</sub>是C(3-6)烷撑,与N一起形成杂环,优选四氢四唑,

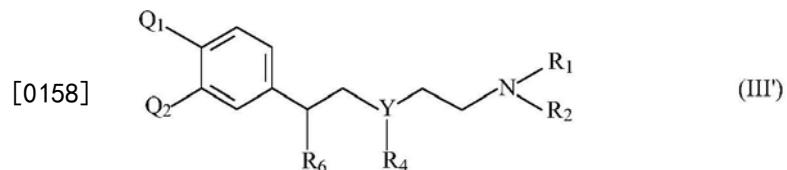
[0153] 或R<sub>2</sub>与R<sub>1</sub>、R<sub>4</sub>、Y和N以及Y和N之间的碳原子一起形成双环杂环,优选八氢吡咯并[1,2-a]吡嗪。

[0154] 优选的,根据式I”的化合物是用于预防或治疗紊乱中的渐进性纤维化,所述紊乱选自由肾脏疾病、肺部疾病、胰腺疾病、肠道疾病、肝脏疾病、眼部疾病、泌尿生殖道疾病、皮肤疾病、代谢性疾病、自身免疫性疾病、关节和韧带(肌肉骨骼系统的)疾病、与使用其它治疗药物/过程(例如器官移植、放射、化疗、术后操作和手术副作用)、烧伤、各种毒素、化学或机械损伤相关疾病组成的组。

[0155] 更优选的,所述紊乱选自由肾脏疾病、肺部疾病、胰腺疾病、胃肠疾病、肝脏疾病、眼部疾病、皮肤疾病、泌尿生殖道疾病组成的组。

[0156] 甚至更优选的,所述紊乱选自由肾脏疾病、肺部疾病、胃肠道疾病和皮肤疾病组成的组;高度优选肾脏疾病和肺部疾病。非常优选的该疾病为肾脏疾病。非常优选的该疾病是肺部疾病。

[0157] 在一优选实施例中,根据式I”的化合物是根据式III’的化合物:

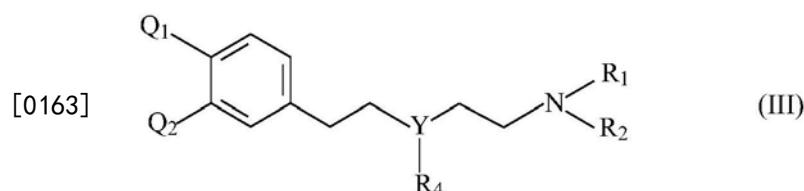


[0159] 和比照如式I”所定义的取代基,

[0160] 其中,

[0161] R<sub>6</sub>是C(1-3)烷基、C(1-3)烷氧基,或R<sub>6</sub>是苯基。

[0162] 在一优选实施例中,S1R激动剂化合物具有如下式(III)



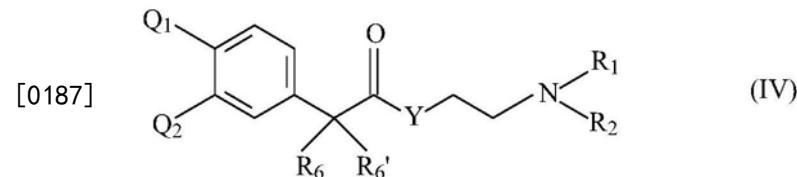
[0164] Q<sub>1</sub>和Q<sub>2</sub>彼此独立地是选自由I、Cl和F,C(1-3)烷氧基、优选甲氧基组成的组,

[0165] Y是N,

[0166] R<sub>4</sub>是C(2-3)烷基或R<sub>4</sub>是C(2-3)烷撑或C(2-4)烯烃基

[0167] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>形成5元或6元的饱和的或不饱和的环,优选饱和环,

- [0168] 所述环可选地包含杂原子, 优选的,
- [0169] -0, 优选的所述环为恶嗪或吗啉, 或
- [0170] -N, 优选的所述环为二嗪或哌嗪环,
- [0171] 或R<sub>1</sub>是C(2-3)烷撑, 与R<sub>4</sub>、Y和N以及Y和N之间的碳原子一起形成杂环, 优选哌嗪或哌啶; 和
- [0172] R<sub>2</sub>是C(1-6)烷基、C(6-10)芳基或C(7-10)芳烷基,
- [0173] 或R<sub>2</sub>是C(3-6)烷撑, 与N一起形成杂环, 优选四氢四唑,
- [0174] 或R<sub>2</sub>与R<sub>1</sub>、R<sub>4</sub>、Y和N以及Y和N之间的碳原子一起形成双环杂环, 优选八氢吡咯并[1, 2-a]哌嗪。
- [0175] 优选的在式III中,
- [0176] Q<sub>1</sub>和Q<sub>2</sub>彼此独立地选自由Cl、F和甲氧基组成的组,
- [0177] Y是N,
- [0178] R<sub>4</sub>是C(2-3)烷基, 或R<sub>4</sub>是C(2-3)烷撑或C(2-4)烯烃基,
- [0179] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>形成5元环, 所述环包含N,
- [0180] 或R<sub>1</sub>是C(2-3)烷撑, 与R<sub>4</sub>、Y和N以及Y和N之间的碳原子一起形成杂环, 优选哌嗪或哌啶; 和
- [0181] R<sub>2</sub>是C(1-6)烷基、C(6-10)芳基或C(7-10)芳烷基。
- [0182] 在一优选实施例中, 该化合物为SA 4503(库特麦辛(cutamesine))。
- [0183] 优选的, 根据式III的化合物是用于预防或治疗紊乱中的渐进性纤维化, 所述病症选自由肾脏疾病、肺部疾病、胰腺疾病、肠道疾病、肝脏疾病、眼部疾病、泌尿生殖道疾病、皮肤疾病、代谢性疾病、自身免疫性疾病、关节和韧带(肌肉骨骼系统的)疾病、与使用其它治疗药物/过程(例如器官移植、放射、化疗、术后操作和手术副作用)、烧伤、各种毒素、化学或机械损伤相关疾病组成的组。
- [0184] 更优选的, 所述紊乱选自由肾脏疾病、肺部疾病、胰腺疾病、胃肠疾病、肝脏疾病、眼部疾病、皮肤疾病、泌尿生殖道疾病组成的组。
- [0185] 甚至更优选的, 所述紊乱选自由肾脏疾病、肺部疾病、胃肠道疾病和皮肤疾病组成的组; 高度优选肾脏疾病和肺部疾病。非常优选的该疾病为肾脏疾病。非常优选的该疾病是肺部疾病。
- [0186] 在一优选实施例中, 所述S1R激动剂化合物具有如下式IV



- [0188] 其中Q<sub>1</sub>和Q<sub>2</sub>彼此独立地为H或C(1-2)烷基,
- [0189] R<sub>6</sub>和R<sub>6'</sub>一起形成C(4-7)环烷基, 优选环戊基或环己基,
- [0190] Y是O或O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O或NH,
- [0191] 以及R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地是H或甲基或乙基, 或
- [0192] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>形成5元或6元的饱和的或不饱和的环, 优选饱和环,
- [0193] 所述环可选地包含杂原子, 优选的

[0194] -0, 优选的所述环为恶嗪或吗啉, 或

[0195] -N, 优选的所述环二嗪或哌嗪环。

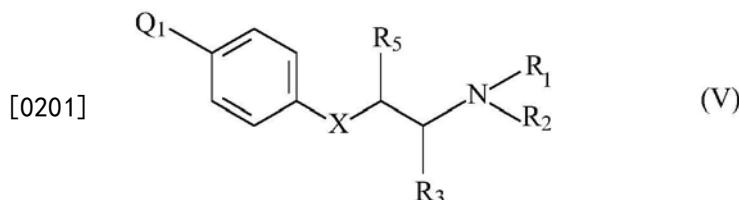
[0196] 在一优选实施例中, 该化合物选自PRE-084和喷托维林(咳必清)。

[0197] 优选的, 根据式IV的化合物是用于预防或治疗紊乱中的渐进性纤维化, 所述紊乱选自由肾脏疾病、肺部疾病、胰腺疾病、肠道疾病、肝脏疾病、眼部疾病、泌尿生殖道疾病、皮肤疾病、代谢性疾病、自身免疫性疾病、关节和韧带(肌肉骨骼系统的)疾病、与使用其它治疗药物/过程(例如器官移植、放射、化疗、术后操作和手术副作用)、烧伤、各种毒素、化学或机械损伤相关疾病组成的组。

[0198] 更优选的, 所述紊乱选自由肾脏疾病、肺部疾病、胰腺疾病、胃肠疾病、肝脏疾病、眼部疾病、皮肤疾病、泌尿生殖道疾病组成的组。

[0199] 甚至更优选的, 所述紊乱选自由肾脏疾病、肺部疾病、胃肠道疾病和皮肤疾病组成的组; 高度优选肾脏疾病和肺部疾病。非常优选的该疾病为肾脏疾病。非常优选的该疾病是肺部疾病。

[0200] 在一优选实施例中, 本发明涉及具有如下式V的S1R激动剂化合物,

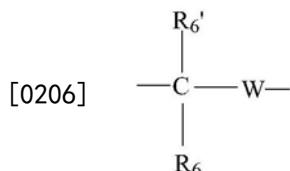


[0202] 其中, Q<sub>1</sub>是卤素、苯基或H,

[0203] R<sub>3</sub>是H或甲基,

[0204] R<sub>5</sub>为H、C(1-3)甲基或C(1-3)烷氧基,

[0205] X具有下式



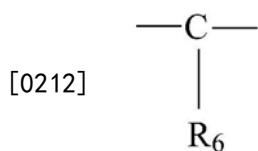
[0207] 其中W是甲撑或不存在, 和

[0208] R<sub>6</sub>是H或甲基,

[0209] R<sub>6'</sub>是C(1-6)烷基、C(1-6)烷氧基或C(6-10)芳基, 优选苯基,

[0210] 或R<sub>5</sub>和R<sub>6</sub>与它们所连接的碳原子一起形成3、4、5或6元环(饱和的或不饱和, 优选饱和的), 所述环可选地包含杂原子, 优选0, 其中所述环优选为呋喃基, 二氢呋喃基或四氢呋喃基, 更优选四氢呋喃基, 其中优选的该化合物为Anavex 2-73,

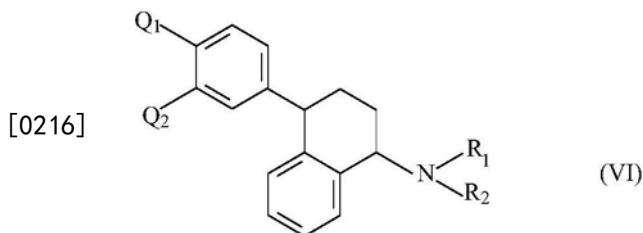
[0211] 或X具有下式



[0213] 其中R<sub>6</sub>选自取代的或未取代的C(1-2)烷基和C(1-2)烷氧基和C(6-10)芳基, 优选C(1-2)烷基, 优选甲基,

[0214] 其中优选的该化合物是RC-33。

[0215] 在进一步的优选实施例中,所述S1R激动剂化合物具有如下式(VI)



[0217] 其中Q<sub>1</sub>和Q<sub>2</sub>彼此独立地选自由卤素、优选Cl和F,和C(1-3)烷氧基、优选甲氧基组成的组,

[0218] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为H、甲基或乙基,

[0219] 优选的,在式II中,Q<sub>1</sub>和Q<sub>2</sub>是相同的,选自由Cl、F和甲氧基组成的组,

[0220] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为H、甲基或乙基。

[0221] 在一优选实施例中,所述化合物是舍曲林。

[0222] 优选的,根据式V或式VI的化合物是用于预防或治疗紊乱中的渐进纤维化,所述紊乱选自由肾脏疾病、肺部疾病、胰腺疾病、肠道疾病、肝脏疾病、眼部疾病、泌尿生殖道疾病、皮肤疾病、代谢性疾病、自身免疫性疾病、关节和韧带(肌肉骨骼系统的)疾病、与使用其它治疗药物/过程(例如器官移植、放射、化疗、术后操作和手术副作用)、烧伤、各种毒素、化学或机械损伤相关疾病组成的组。

[0223] 更优选的,所述紊乱选自由肾脏疾病、肺部疾病、胰腺疾病、胃肠疾病、肝脏疾病、眼部疾病、皮肤疾病、泌尿生殖道疾病组成的组。

[0224] 甚至更优选的,所述紊乱选自由肾脏疾病、肺部疾病、胃肠道疾病和皮肤疾病组成的组;高度优选肾脏疾病和肺部疾病。非常优选的该疾病为肾脏疾病。非常优选的该疾病是肺部疾病。

[0225] 在一优选实施例中,所述S1R激动剂化合物选自以下组成的组:

[0226] 2-{[(E)-{5-甲氧基-1-[4-(三氟甲基)苯基]戊亚基}氨基]氨基}乙胺(氟伏沙明);

[0227] N-甲基-3-苯基-3-[4-(三氟甲基)苯氧基]丙-1-胺(氟西汀);

[0228] (1S,4S)-4-(3,4-二氯苯基)-N-甲基-1,2,3,4-四氢萘-1-胺(舍曲林);

[0229] 1-[2-(3,4-二甲氧基苯基)乙基]-4-(3-苯基丙基)哌嗪(库特麦辛);

[0230] (8aR)-2-[2-(3,4-二氯苯基)乙基]八氢吡咯并[1,2-a]吡嗪(BD1031);

[0231] N-[2-(3,4-二氯苯基)乙基]-N-(2-吡咯烷-1-基乙基)丙-2-烯-1-胺(BD1052);

[0232] N-(N-二苄基-4-基)-4-碘苯甲酰胺(4-IBP);

[0233] 2-吗啉-4-基乙基-1-苯基环己烷-1-羧酸(PRE-084);

[0234] 2-[2-(二乙基氨基)乙氧基]乙基-1-苯基环戊烷羧酸(咳必清);

[0235] (S\*,R\*)-2-[ (4-羟基-4-苯基-1-哌啶基)甲基]-1-(4-甲基苯基)-环丙烷甲酸甲酯(ppcc);

[0236] 4-[4-(4-氯苯基)-4-羟基-1-哌啶基]-1-(4-氟苯基)-丁-1-醇(氟哌啶醇);

[0237] 四氢-N,N-二甲基-2,2-二苯基-3-呋喃基甲胺盐酸盐(anavex 2-73)或

[0238] 1-[1-(4-联苯基)-1-甲基-丙基]哌啶(RC-33);

- [0239] 或其药学上可接受的盐。
- [0240] 在一优选实施例中,本发明涉及一种用于预防、控制、抑制或逆转受试者组织中的渐进性纤维化的S1R激动剂化合物,其中所述组织是所述受试者肾脏中的渐进性纤维化组织,且所述受试者患有肾脏疾病或因肾脏疾病而有生命危险。优选的,所述S1R激动剂选自上述列出的化合物,高度优选该化合物是氟伏沙明。
- [0241] 在一优选实施例中,本发明的化合物是合成化合物。
- [0242] 在一优选实施例中,本发明的化合物不能通过生物有机体来合成。
- [0243] 在一优选实施例中,本发明的化合物不同于天然化合物和/或天然产物。
- [0244] 在一优选实施例中,本发明的化合物不同于含有三个或多个原子的互连环的化合物。因此,本发明的化合物不同于三环和四环化合物。
- [0245] 在一优选实施例中,本发明的化合物不同于类固醇,即具有雄甾烷骨架,优选甾烷的化合物。
- [0246] 在一优选实施例中,本发明的化合物仅包括单环和/或双环。优选的本发明的化合物仅包括单环。
- [0247] “本发明的化合物”应被理解为“根据本发明所使用的本发明的化合物”或根据本发明所使用的化合物。
- [0248] 在一个实施例中,该化合物可选是光学活性化合物,其以外消旋体的形式或以光学纯的形式存在。
- [0249] 根据进一步方面,本发明涉及一种预防或治疗纤维化、尤其是渐进性纤维化的方法,所述方法包括将有效量的如上述定义的S1R激动剂化合物给药于受试者或患者。优选足以预防、控制、逆转或抑制渐进性纤维化的量。优选的,受试者或患者患有渐进性纤维化病症。优选的,所述受试者或患者患有紊乱,优选与纤维增生性紊乱有关的或具有渐进性纤维化特征的紊乱。
- [0250] 优选的所述受试者或患者是哺乳动物或禽类受试者或患者。
- [0251] 优选的化合物是如上文或所附权利要求所定义的化合物。
- [0252] 优选的化合物是如上文或所附权利要求所定义的S1R选择性S1R激动剂。
- [0253] 优选的用于所述治疗使用的化合物是根据如上所定义的式I或式I'的化合物。
- [0254] 优选的用于所述治疗使用的化合物是根据如上所定义的式II或式II'的化合物。
- [0255] 优选的用于所述治疗使用的化合物是根据如上所定义的式I''或式III或式III'的化合物。
- [0256] 优选的用于所述治疗使用的化合物是根据如上所定义的式IV的化合物。
- [0257] 优选的用于所述治疗使用的化合物是根据如上所定义的式V或式VI的化合物。
- [0258] 高度优选的化合物是氟伏沙明或相关结构的化合物。
- [0259] 高度优选的化合物是库特麦辛或相关结构的化合物。
- [0260] 本发明还涉及包括将本文所公开的S1R激动剂给药于受试者或患者的步骤的方法,其中所述受试者或患者的组织受渐进性纤维化影响,从而抑制、控制或逆转所述组织中的渐进性纤维化,优选所述组织中的ECM的纤维化重塑,所述方法包括给药所述组织S1R激动剂化合物(S1R激动剂)。优选的所述受到渐进性纤维化影响的组织靶向和/或接触S1R激动剂。

[0261] 根据本发明的方法,其中S1R激动剂与受试者或患者的组织相接触,从而在患者的所述组织中,ECM的纤维化重塑得以预防或改善。

[0262] 根据本发明的方法,其中给药所述患者足够剂量的S1R激动剂以激动患者组织中的S1R。

[0263] 根据本发明的方法,其中给药足够剂量的所述S1R激动剂以预防、控制、抑制或逆转ECM生成细胞的积聚,其包含或者是组织中的肌成纤维细胞。优选地,肌成纤维细胞来源于现有的成纤维细胞或由现有的成纤维细胞分化;尽管每种组织之间的相对贡献有差异,然而已经提出其它来源,例如星状细胞、周皮细胞、平滑肌细胞、上皮细胞、内皮细胞、干细胞或循环祖细胞。根据本发明的方法,其中给药足够剂量的所述S1R激动剂以预防、控制、抑制或逆转所述组织中的ECM或ECM成分的过度沉积。优选的,在ECM重塑中积聚的或过度沉积的ECM成分包括如本文所定义的ECM成分(如在术语章节中),或优选的选自胶原I、III和纤连蛋白,或者其它形成ECM蛋白或蛋白聚糖。

[0264] 优选地,所述方法包括给药如本文所定义的表达组织的S1R;如本文所定义的S1R激动剂化合物;由此在所述组织中提供了有效水平的S1R激动剂,并且其中S1R激动剂与患者的组织相接触,由此患者所述组织中的渐进性纤维化得以预防或改善。

[0265] 在高度优选的实施例中,S1R激动剂化合物被给药于受试者,或优选在所述受试者或优选患者的组织中渐进性纤维化发病前或渐进性纤维化发生期间给药于患者。

[0266] 这种紊乱或病症伴有纤维化,优选渐进性纤维化,其中渐进性纤维化被视为如本文所定义的任何紊乱或病症。在高度优选的实施例中,医学病症是慢性肾脏疾病。

[0267] 本发明还涉及用于治疗患有纤维化、优选影响皮肤的渐进性纤维化受试者的美容方法,所述方法包括给药有效量的如上述所定义的化合物至受渐进性纤维化影响的皮肤区域的步骤;优选以适合于局部、经皮或透皮应用(例如霜剂、洗剂、软膏等)的形式。

[0268] 在一实施例中,根据本发明使用的化合物是以药物组合物的形式,或者是存在于药物组合物中。

[0269] 因此,本发明涉及包括根据本发明使用的本发明化合物的药物组合物或化妆品组合物,所述组合物还包含药学上可接受的载体或赋形剂。

[0270] 优选所述药物组合物用于或适合于口服、肠胃外(包括静脉内、肌肉内、滑膜内、鞘内、鼻内、气管内、骨内、心内、灌胃、颅内、阴道内、直肠内、经皮、皮下、舌下)、局部或经皮给药于患者组织。

[0271] 所述药物组合物可以配制成丸剂、片剂、片、包衣片、薄膜片剂、胶囊剂、粉剂、颗粒剂、缓释制剂、悬浮液、注射剂、滴剂、喷雾剂、气雾剂、栓剂、软膏剂、霜剂、糊剂、糖浆、洗剂或凝胶。

[0272] 最优选所述药物组合物是以片剂的形式口服、经皮(霜剂,凝胶),或局部(滴剂,气雾剂)给药。

[0273] 在根据本发明的方法中,其中S1R激动剂化合物被使用,组织是所述受试者/患者的器官中的渐进性纤维化组织或倾向于患有渐进性纤维化的组织,所述器官选自于肾、肺、肝、胃肠系统、如胰腺组织的分泌组织、脉管、韧带、皮肤、眼睛和泌尿生殖系统。

[0274] 下面更详细的列出了通常伴随有渐进性纤维化的病症。

[0275] 在一优选实施例中,患有渐进性纤维化或因渐进性纤维化而有生命危险的受试者

或患者具有选自由以下组成的组中的诊断的纤维增生性疾病的医学病症

[0276] 肾脏疾病的例子:糖尿病肾病,高血压肾病,包括增生性肾小球肾炎(系膜增生性、膜增生性、局灶增生性、弥漫性增生、新月性)的肾小球疾病;与狼疮性肾炎,细菌性心内膜炎,血管炎,慢性肝炎,感染(如汉坦病毒),非炎性肾小球疾病(微小病变性肾炎、局灶性肾小球硬化症、膜性肾炎、纤维肾小球病)有关的血管球性肾炎,与霍奇金病相关的肾小球疾病,抗生素相关,药物(阿司匹林、布洛芬、对乙酰氨基酚、他克莫司、环孢菌素、造影剂、化疗或海洛因毒性)HIV感染。遗传性肾炎(奥尔波特综合征),包括肾动脉狭窄,镰状细胞病,溶血性尿毒症综合征,不典型溶血性尿毒症综合征的血管疾病。包括肾盂肾炎,镇痛肾炎,过敏性间质性肾炎,肉芽肿性间质性肾炎,自身免疫性间质性肾炎,非炎症性疾病如反流性肾病,梗阻性尿路病(解剖异常例如后尿道瓣膜、或结石、或恶性肿瘤或前列腺疾病),肾骨髓瘤的肾小管间质疾病;移植类疾病比如慢性排斥反应,药物毒性,病情反复发作,肾移植;

[0277] 肺部疾病的例子:支气管炎,哮喘,特发性肺纤维化,普通型间质性肺炎,气体或电离辐射诱发的肺纤维化,呋喃妥因、烟草烟雾诱发的肺纤维化,肺气肿,慢性阻塞性肺病,肺结核,类风湿性关节炎引起的肺纤维化,全身性红斑狼疮导致的肺纤维化,结节病,韦格纳肉芽肿病,非特异性间质性肺炎,哈曼富综合症,弥漫性纤维化性肺泡炎,环境和职业污染物(烟尘二氧化硅、石棉、氮和硫的气体、烟雾、去污剂的蒸汽、清洁剂、盐酸、除草剂、发胶)的吸入;药物诱发的肺纤维化(博莱霉素、胺碘酮、白消安、甲氨蝶呤、阿朴吗啡、呋喃妥因、苯妥英)和放射处理。细环病毒;尘肺;

[0278] 胰腺疾病的例子:酒精慢性胰腺炎,遗传性胰腺炎,自身免疫性胰腺炎,慢性阻塞性胰腺炎,热带钙化性胰腺炎,纤维钙化性胰腺性糖尿病,慢性非酒精性胰腺炎,慢性萎缩性胰腺炎,沟槽状胰腺炎,

[0279] 肠道疾病的例子:溃疡性结肠炎,克罗恩病,胶原性结肠炎,显微镜性结肠炎,改道性结肠炎,坏死性小肠结肠炎,化学性结肠炎,缺血性结肠炎,幽门螺杆菌引起的胃炎,慢性胃炎,食管上皮下纤维化,巴雷特食管,胃食管返流病,口腔黏膜下纤维化,食管闭锁,

[0280] 肝脏疾病的例子是:非酒精性脂肪性肝炎,自身免疫性肝炎,病毒性肝炎(甲型肝炎、乙型肝炎、丙型肝炎、丁型肝炎),酒精性肝炎,中毒性和药物性肝炎,非酒精性脂肪肝疾病,肝硬化,片吸虫病,血吸虫病,肝吸虫引起的纤维化,原发性硬化性胆管炎,布加综合征,胆道闭锁,阿拉吉欧综合症,渐进性家族性肝内胆汁淤积,血清素激动药:减肥药(芬氟拉明、氯苯丁胺、阿米雷司),抗偏头痛的药物(麦角胺、麦角新碱),抗帕金森病药物(培高利特、卡麦角林),软性毒品(甲撑二氧苯丙胺(MDA)、二亚甲基双氧苯丙胺(MDMA)、DOI、氯苯哌嗪(mCPP)),

[0281] 眼部疾病的例子:糖尿病性视网膜病,角膜纤维化,新生血管性青光眼,早产儿视网膜病变,年龄相关性黄斑变性,黄斑纤维化,疱疹性角膜炎,翼状胬肉,囊纤维化视网膜病变,后晶状体囊纤维化,视网膜的纤维血管瘢痕形成,视网膜中的胶质增生,手术治疗视网膜脱离的并发症,角膜病毒感染,因缺氧或炎性变化的视网膜损伤,沙眼,先天性纤维化综合征,上睑提肌纤维变性,眼部肌肉的先天性纤维化,眼外的先天性纤维化肌肉,增生性视网膜病变,黄斑纤维化,滑石性视网膜病,视网膜下纤维化,综合征,结膜纤维化,

[0282] 代谢性疾病的例子:2型糖尿病并发症动脉粥样硬化,动脉硬化,糖尿病足;代谢综合征;高脂血症;血色病;威尔逊病; $\alpha$ -1抗胰蛋白酶缺乏症;半乳糖血症;糖原贮积病I-IV;

VI;IX;XI;尿酸性肾病;高脂蛋白血症I.-V.;高胆固醇血症;粘多糖贮积症I-VII;粘多糖症III-IV;法布里病(弥漫性躯体性血管角化瘤);弹性假黄瘤,

[0283] 自身免疫性疾病的例子:1型糖尿病并发症;类风湿关节炎;强直性脊柱炎(别赫捷列夫症);系统性红斑狼疮;系统性硬化症;干燥综合征;CREST综合征,多发性肌炎;皮肌炎;原发性胆汁性肝硬化;原发性硬化性胆管炎;血管炎:巨细胞动脉炎,大动脉炎,结节性多动脉炎,韦格内肉芽肿;血栓闭塞性脉管炎;结节病;肺出血肾炎综合征;混合性结缔组织病;丘斯综合征,

[0284] 皮肤病的例子:与创伤,手术,穿孔,痤疮,水痘,感染,(切割),血肿,自发性(spontaneously),肉芽肿,蜱肉芽肿;索拉里萎缩(solaris atrophy),烧伤,假囊肿(pseudocicatrix stellata)(蝙蝠侠(Batman)紫癜)相关的瘢痕伤疤,与炭疽,淋病,溃疡与炭疽,土拉菌病,褥疮,糖尿病足综合症,糖尿病皮肤,糖尿病脂质渐进性坏死,静脉曲张,血栓性静脉炎相关的溃疡,感染:筋膜炎坏死,脓疮单纯形,脓疮坏疽,费洛蒙脓肿,疖,痈,炭疽,肉芽肿,性病肉芽肿,土拉菌病,tbc(寻常狼疮,瘰疬性皮肤结核),麻风,莱姆疏螺旋体病,淋巴结肿大(蜱骨淋巴结),梅毒,放线菌病,霉菌病感染、继发感染疤痕组织,单纯疱疹病毒(HSV),水痘-带状疱疹病毒(VZV),多形性红斑,疱疹样皮炎;与痒疹(感染,过敏,刺激,副肿瘤(paraneopl.),子痫,糖尿病)相关的疤痕、痤疮:脓疮单纯形,反常性痤疮,粉刺,酒渣鼻,鼻整形,皮炎,皮脂溢,库辛综合征),手术,术后副作用(如感染,海绵,片化(splintering)),

[0285] 泌尿生殖道疾病的例子:月经紊乱:子宫内膜异位症,多囊卵巢综合征,肾上腺疾病(先天性肾上腺皮质增生症(CAH),柯兴氏病,男性化,痤疮,脂溢性皮炎),阿休曼症候群(-iatrogen),子宫内膜炎,宫内节育器(IUD)),感染:肾周围炎(perinephritis)、肾周炎(paranephritis),肾盂肾炎(pyelonephritis),肾盂炎(pyelitis)和慢性肾盂肾炎、肾盂肾炎(pyelonephrosis),慢性尿道炎(淋病,大肠杆菌,变形杆菌,HSV),腹膜后纤维瘤,慢性膀胱炎,放疗后膀胱炎,单纯性溃疡(洪纳(Hunner)),滴虫,结核(肾,膀胱,附睾炎,前列腺),放线菌病,盆腔腹膜炎,外阴阴道炎,生殖器疱疹,生殖器人乳头瘤病毒(HPV),慢性宫颈炎,子宫内膜炎,输卵管炎,脓肿。输卵管卵巢;道格拉斯,梅毒,淋病,衣原体,滴虫,HPV,软下疳,艾滋病,结核,

[0286] 与病理妊娠相关的纤维增生性疾病的例子:瘙痒剧吐,大疱性类天疱疮,疱疹样脓疱病,剖腹产(或其它操作)子宫体破裂,产后性溃疡,子宫内膜炎,产后子宫肌炎,产后附件炎,产后盆腔炎,产后子宫旁组织炎,血栓性静脉炎,产后乳腺炎。男性:阴茎,前列腺,睾丸:海绵体炎,阴茎海绵体硬结,前列腺炎,脓肿,慢性睾丸炎。附睾炎。与解剖异常后尿道瓣膜,胆囊下梗阻,膀胱输尿管返流肾结石有关的尿症障碍性尿路病,炎症:痛风性关节炎、甲状腺功能亢进、高钙血症、草酸过多症,胱氨酸尿症,丙酮尿症。

[0287] 术语

[0288] 如本文所使用的“受试者”是动物物种的个体,优选脊椎动物,更优选哺乳动物或鸟类物种,特别是哺乳动物物种,高度优选的个体是灵长类动物、人科动物或人。

[0289] “患者”是或者将是医学或兽医学观察、监督、诊断或处理的受试者。

[0290] “处理”指任何过程、行为、应用、疗法等,其中受试者或患者是处于救助,尤其是医学救助或兽医救助,达到直接或间接地改善受试者或患者状况的目的。改善受试者的状况

可以包括改善美学状况(美容处理)和/或可以包括,尤其是,恢复或维持器官或组织的正常功能,优选至少部分恢复或保持健康(医学或兽医处理)。处理通常是指给药有效量的如本文所述的化合物或组合物。处理可以涉及或包括医学或兽医处理和美容处理,特别是医学或兽医处理。

[0291] 本发明的“组合物”是物质的组合物,该物质包含至少一种有效量的如本文中所定义的适用于渐进性纤维化处理的生物活性物质。该组合物还可以进一步包含有助于例如联合疗法的生物活性物质。此外,该组合物可以包含生物学上可接受的载体、制剂成分、赋形剂等,这都是本领域公知的。

[0292] 术语“有效量”或“治疗有效量”意在量化将病症、疾病或紊乱中的一个或多个的症状减轻到某种程度所需的治疗剂的量,包括但不限于:1)减少肌成纤维细胞的数量;2)减少ECM成分的合成,和/或增加ECM成分的降解;3)减少纤维组织的大小;4)由于1)至3)中任何一种,至少一定程度的改善组织的生理功能;

[0293] 如本文所用,术语“烷基”单独或在组合中指直链或支链的烃基,优选含有1至6个,优选1至4或1至3个碳原子或1至2个碳原子[即分别为“C(1-6)”或“C(1-4)”或“C(1-3)”或“C(1-2)”烷基],如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基和叔丁基。

[0294] 如本文所用,术语“烷氧基”是指烷基-0-基团,其中烷基如前所述。合适的烷氧基的非限制性例子包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基和正丁氧基,优选甲氧基。通过氧键合到母体部分(如果键合到碳原子,则为醚氧)。

[0295] 术语“烷氧基烷基”是指被烷氧基取代的烷基,即如前所述的烷基-0-基团。通过氧键合到烷基部分,即它是醚氧。

[0296] 如本文所用,“烯烃基”单独或在组合中是指含有至少一个碳-碳双键的直链或支链不饱和烃基,所述烯烃基优选含有2-6个烃基,优选为2-4个或2-3个或2个碳原子[即“C(2-6)”或“C(2-4)”或“C(2-3)”或“C(2-2)”烷基]。

[0297] 如本文所用的术语“环烷基”是指由至少三个碳原子组成的非芳香族碳基的烷基环。

[0298] 如本文所使用的“杂环”是一环状部分,其除了碳原子外还具有至少一个非碳元素作为其环的元素。优选的,杂环部分的环是5或6元环。

[0299] 术语“杂环烷基”是指衍生自如上所定义的环烷基的“杂环的”环,其中,环的碳原子中至少一个被替换为杂原子,该杂原子例如但不限于氮或氧。

[0300] 如本文所用的术语“芳基”是指包含任意的碳基芳香族环的基团,优选是单环-或双环基团。术语芳基还包括可选地“杂芳基”,其被定义为包含芳香族基团的基团,该芳香族基团在其芳香族基团的环内并入有至少一个杂原子。杂原子的例子包括但不限于氮和氧。可选的,术语“芳基”限于包括在术语芳基中的非杂芳基,并定义了该基团包含不含有杂原子的芳香族基团。

[0301] 如本文所用的术语“芳烷基”是指通过烷基连接到母体分子的芳烷基基团,其可以进一步可选地被1个或多个,优选1-3个或1-2个取代基取代。

[0302] 术语“环烷基芳基”是指包含稠合环烷基和环芳环的基团。优选的“环烷基芳基”部分经由基团的环烷基部分连接到本发明的化合物。

[0303] 如本文所用,术语“稠环”是指该环与至少一个其它环稠合而形成的化合物基团,

其包含两个或更多个环,其中,同所述两个成员相连的环中的两个成员原子之间的单键通常是共同的,即由两个环共享。稠环的例子是多环芳基。多环芳基在此被理解为包含碳基基团的多环基团,其中至少一个环是芳环,并且可选地也可包括环烷基和/或杂环烷基。

[0304] “取代”部分包括如本文所定义的选自基团中的取代基和部分;然而,取代基要比取代部分更小,即更短,即由不超过、优选更少的原子构成。

[0305] 当式中所表示的部分是“不存在”时,这意味着式中所示的结构中由单(共价)键连接该不存在部分附近示出的原子。

[0306] “细胞外基质”或“ECM”是存在于所有的组织和器官中的非细胞成分。ECM在此被理解为受试者,优选哺乳动物物种,更优选人中的多细胞组织的细胞外部分,它可以提供结构、生物化学和生物支持与细胞粘附、细胞到ECM和细胞到细胞的与周围细胞的联系。ECM引发关键的生化和生物力学提示,是组织形态、分化、体内稳态或响应于损伤以再生或渐进性纤维化所需要的。它提供了用于细胞贴壁的基板,用作组织支架,指导胚胎发育、伤口修复、组织重塑和渐进性纤维化期间的细胞迁移。ECM还负责发送环境信号,如释放生长因子、细胞因子给细胞,最终影响细胞生殖、分化和死亡。

[0307] ECM是由三个主要类别的生物分子组成的复合结构实体:

[0308] 1. 结构蛋白:胶原和弹性蛋白

[0309] 2. 专一蛋白:原纤蛋白,纤连蛋白和层粘连蛋白

[0310] 3. 蛋白聚糖:具有吸引水和其它分子的净负电荷,有助于维持ECM。蛋白聚糖构成了蛋白质核心,由葡糖氨基葡聚糖定义的重复二糖单元的长链多糖(GAG)被连接到该蛋白质核心上形成了ECM的极其复杂的高分子量成分。

[0311] “胶原”是ECM中最丰富的和主要的结构蛋白,在ECM中以纤维状蛋白、三螺旋区不连续的纤维相关性胶原(FACIT)、三螺旋区不连续的膜相关性胶原(MACIT)、多股三股螺旋域和打乱体(interruption)(多丛状蛋白)、长链、短链、丝状和基底膜存在,并提供了常驻型细胞的结构支撑[扬娜K(Janna K)等.Nature Rev Mol Cell Biol,15,771-785(2014)].

[0312] 优选地,胶原以前体形式(前胶原)胞外分泌,然后由前胶原蛋白酶裂解以允许细胞外组装。

[0313] 胶原可以根据它们形成的结构类型被分成几类。

[0314] 纤维状:I、II、III、V、VII、XI、XXIV、XXVII型

[0315] FACIT:IX、XII、XIV、XVI、XIX、XX、XXI、XXII型

[0316] MACIT:XIII、XVII、XXIII型

[0317] 多丛状蛋白:XV、XVIII型

[0318] 长链:VII型

[0319] 短链:VIII、X型

[0320] 丝状:VI型

[0321] 基底膜:IV型

[0322] 优选地,胶原纤维由具有“甘氨酸脯氨酸X”和“甘氨酸-X-羟”胶原的氨基酸序列的共同基序的三螺旋构成,其中X为除甘氨酸,脯氨酸或羟脯氨酸之外的任何氨基酸。优选的,胶原含有每氨基酸总数至少20%或至少25%或至少30%或至少32%的甘氨酸,优选含有每氨基酸总数至多50%或至多40%或至多35%或34%的甘氨酸。

[0323] “ECM的重塑”是发育过程中响应于维持组织稳态的损伤和再生过程的一系列ECM的量变和质变。ECM的成分是可降解的并可进行修饰。沉积的ECM及其组合物的最终量取决于ECM各成分的合成与降解之间的平衡。

[0324] “ECM的沉积”在本文中被理解为在ECM重塑期间在组织的细胞之间(即周边)的空间中导致ECM成分的量增加的过程。

[0325] 当ECM成分的沉积导致损害,即破坏其组织结构和/或组织功能时会发生ECM的“过度”沉积。一旦损伤,ECM成分的过度或未调节的沉积是不同组织中的渐进性纤维化和异常修复过程的特定标志。优选地,当没有迹象表明处于对抗沉积中的组织的调控过程能够逆转,或至少制止这种沉积时,ECM成分的沉积被认为是“过度的”。

[0326] “肌成纤维细胞”是具有不同来源的细胞,能够表达ECM成分,并且与其前体细胞相比,具有增加紧缩和收缩张力的能力。

[0327] 优选的,肌成纤维细胞具有通过 $\alpha$ SMA表达并将 $\alpha$ SMA并入到应力纤维的特征。优选的,如本文所理解的肌成纤维细胞生成不同的ECM成分,并有助于ECM的重塑。优选地,肌成纤维细胞由源于成纤维细胞、周细胞、上皮细胞、内皮细胞、平滑肌细胞和肝星状细胞的纤维母细胞和骨髓中分化而来。

[0328] 本文中,组织中细胞的“积聚”包括或包含以下的一个或多个:

[0329] -所述细胞的增生和/或

[0330] -所述细胞从前体细胞中的分化,和/或

[0331] -所述细胞通过从其它组织中迁移而增加数量,包括所述细胞的补充,和/或

[0332] -所述细胞从非活性变体或前体中的激活。

[0333] 简言之,“渐进性纤维化”或“纤维化”的特征是当ECM重塑转向ECM生成细胞如肌成纤维细胞的积聚,和/或转向ECM成分的过度沉积,导致组织结构的损伤或破坏和/或器官功能的逐渐衰退的过程。

[0334] 渐进性纤维化可能转变为导致永久瘢痕组织形成的病理过程,可能会导致组织或器官衰竭,并可能导致死亡。在“渐进性纤维化”中ECM成分和ECM生成细胞,特别是如I型和III型胶原和纤连蛋白的纤维状ECM成分,以及生成它们的细胞不断积聚,甚至超出ECM重塑的稳态/再生阶段。

[0335] 过度量的ECM取代正常软组织细胞的过程或者典型的是受到渐进性纤维化影响的组织的ECM也可以被认为是“渐进性纤维化”。这个过程的特点是,一旦损伤,在不同组织中的ECM生成细胞如肌成纤维细胞的过度增生,ECM成分的过度或无调节的沉积和/或异常修复过程。

[0336] “纤维增生性紊乱”是一种具有尤其存在渐进性纤维化特征的紊乱,特别是其中至少部分ECM重塑转向ECM生成细胞如肌成纤维细胞的积聚,和/或转向ECM成分的过度沉积,导致组织结构的损伤或破坏和/或器官功能的逐渐衰退。

[0337] 术语“包括(comprise,comprising)”或“包含(including)”在这里都解释为具有非穷举的含义,并允许在包括所列特征或方法步骤或组分的任何事项中加入或引入其它特征或方法步骤或组分。如果给定语言的惯例需要这样的变型,“包括”可以用“包含”替换,或者,如果其它部件或组分不是必需的以简化本发明的实施,“包括”可被限制为“基本上由.....组成”。

[0338] 附图的简要说明

[0339] 图1. 各种模型中的Sigma-1受体(S1R)表达: 糖尿病大鼠的体外肌成纤维细胞(1A); 体内近端小管(1B)以及全肾样本(1C)和诊断为梗阻性肾病患者的肾活检(1D)。S1R还与 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ SMA)共定位(1D)。S1R被染成红色(1A-D上的Alexa Fluor543染料), 而 $\alpha$ SMA被染成绿色(1A-D上的Alexa Fluor488染料)。细胞核用Hoechst染料染成蓝色。(图片使用蔡司(Zeiss Axiovert)、共聚焦激光-扫描显微镜分别放大40倍, 63倍, 100倍进行评价)。

[0340] 图2. Sigma-1受体(S1R)化合物[氟伏沙明(2/A)、NE-100(2/A)、SA-4503(2/B)、PRE-084(2/C)]在肌成纤维细胞中无细胞毒性。用不同浓度(1、3、5、10、20 $\mu$ M/L)的S1R化合物处理24小时之后, 在96孔板(4x10<sup>3</sup>细胞/孔)上经(3-(4,5-二甲基-2-噻唑)-2,5-二苯基溴化四氮唑)MTT试验测定细胞活力(短线表示平均值±SEM)

[0341] 图3. Sigma-1受体(S1R)激动剂化合物[氟伏沙明(3/A)、氟伏沙明+NE-100(3/A)、SA-4503(2/B)、PRE-084(2/C)]降低PDGF $\beta$ 诱发的细胞增生。在6孔板(6x10<sup>6</sup>细胞/孔)上, 使用10ng/mL的PDGF $\beta$ 诱发肌成纤维细胞增生。为了探讨S1R激动剂和PDGF诱发的效果, 用不同浓度(1、3、5、10、20 $\mu$ M/L)的化合物处理细胞组。随后将细胞在37°C培养24小时, 然后进行细胞增生试验(MTT)。溶剂处理的细胞作为对照。(短线表示平均值±SEM)

[0342] 图4. Sigma-1受体(S1R)激动剂化合物氟伏沙明以时间依赖性的方式最小化TGF $\beta$ 诱发的肌成纤维细胞的胶原-1(4/A)和胶原-3(4/B)的生成。在6孔板(6x10<sup>6</sup>细胞/孔)上使用0.5nM的TGF- $\beta$ 诱发胶原-1和胶原-3的生成。为了探讨S1R激动剂氟伏沙明的效果, 用20 $\mu$ M/L的氟伏沙明和TGF $\beta$ 诱发平行处理细胞组。接着在37°C下培养细胞48个小时, 然后进行RT-PCR定量。溶剂处理的细胞作为对照。(短线表示平均值±SEM)

[0343] 图5. Sigma-1受体(S1R)激动剂化合物[氟伏沙明(5/A)、SA-4503(5/B)、PRE-084(5/C)]抑制了TGF $\beta$ 诱发细胞外基质(ECM)生成。将NRK49F肌成纤维细胞接种于6孔板(6x10<sup>6</sup>细胞/孔)上, 通过天狼星红染色测定TGF- $\beta$ (1nM)诱发的细胞外基质的纤维状成分。为了探讨S1R激动剂化合物的效果, 使用不同的S1R激动剂处理细胞组48小时。溶剂处理的细胞作为对照。(短线表示平均值±SEM)

[0344] 图6. Sigma-1受体(S1R)激动剂氟伏沙明降低糖尿病大鼠的肾脏中糖尿病诱发的间质纤维化

[0345] 图6显示了链脲佐菌素-(65mg/bwkg iv.)诱发的1型糖尿病大鼠的肾切片中的间质纤维化的发展, 其中, 1型糖尿病大鼠通过每次口服(D):载体(等渗盐水); (D+7FLU):氟伏沙明(20mg/bwkg/天)连续7周; 或(D+FLU):氟伏沙明(20mg/bwkg/天)从糖尿病患病第5周起连续2周; 或(D+FLU2):氟伏沙明(2mg/bwkg/天)从糖尿病患病第5周起连续2周处理。其它组通过口服S1R特异性拮抗剂NE-100; (D)+(FLU+NE-100):氟伏沙明+NE-100(20mg/bwkg/天+1mg/bwkg/天)连续2周; 或(D+FLU2+NE-100):氟伏沙明+NE-100(2mg/bwkg/天+1mg/bwkg/天)从糖尿病患病第5周起连续2周处理。对肾切片进行了马松染色, 并计算了每总面积的纤维化面积。在动物组(6/A1-7)中给定的相对于总面积的系膜基质扩张平均值(短线表示平均值±SEM, n=8-10/组, 放大20倍; 比例尺-100 $\mu$ m)

[0346] 6A/1用等渗盐水处理的对照非糖尿病大鼠, 等渗盐水仅作为载体

[0347] 6A/2用等渗盐水处理的糖尿病大鼠, 等渗盐水仅作为载体

- [0348] 6A/3用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 连续处理糖尿病大鼠7周
- [0349] 6A/4用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续处理糖尿病大鼠2周
- [0350] 6A/5用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) +NE-100 (1mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续处理糖尿病大鼠2周
- [0351] 6A/6用氟伏沙明 (2mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续处理糖尿病大鼠2周
- [0352] 6A/7用氟伏沙明 (2mg/bwkg/天) +NE-100 (1mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续处理糖尿病大鼠2周
- [0353] 6B动物组中给定的相对于每总面积的肾小管间质纤维化平均值
- [0354] 图7.Sigma-1受体 (S1R) 激动剂化合物氟伏沙明降低糖尿病大鼠的肾脏中糖尿病诱发的系膜基质扩张
- [0355] 图7显示了链脲佐菌素- (65mg/bwkg iv.) 诱发的1型糖尿病的大鼠的肾切片中的系膜基质扩张的发展,其中,1型糖尿病大鼠通过每次口服(D) :载体(等渗盐水);(D+7FLU) :氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 连续7周;或(D+FLU) :氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续2周;或(D+FLU2) :氟伏沙明 (2mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续2周处理。其它组通过口服S1R的特异性拮抗剂NE-100;(D)+(FLU+NE-100) :氟伏沙明+NE-100 (20mg/bwkg/天+1mg/bwkg/天) 连续两周或(D+FLU2+NE-100) :氟伏沙明+NE-100 (2mg/bwkg/天+1mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续2周处理。使用PAS试剂对肾切片进行了染色,通过系膜面积/肾小球簇面积的比率定义了系膜分数体积值( $V_v$ )。通过PAS阳性和肾小球膜的无核区评估确定了系膜区(短线表示平均值±SEM,n=8-10/组,20倍放大;比例尺-50μm)。
- [0356] 7A/1用等渗盐水处理的对照非糖尿病大鼠,等渗盐水仅作为载体
- [0357] 7A/2用等渗盐水处理的糖尿病大鼠,等渗盐水仅作为载体
- [0358] 7A/3用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 连续处理糖尿病大鼠7周
- [0359] 7A/4用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续处理糖尿病大鼠2周
- [0360] 7A/5用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) +NE-100 (1mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续处理糖尿病大鼠2周
- [0361] 7A/6用氟伏沙明 (2mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续处理糖尿病大鼠2周
- [0362] 7A/7用氟伏沙明 (2mg/bwkg/天) +NE-100 (1mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续处理糖尿病大鼠2周
- [0363] 7B动物组7A/1-6中给定的每个肾小球(glom)的系膜基质扩张平均值
- [0364] 图8.Sigma-1受体 (S1R) 激动剂化合物氟伏沙明处理降低了糖尿病大鼠的肾脏中糖尿病诱发的纤连蛋白积聚
- [0365] 图8显示了链脲佐菌素- (65mg/bwkg iv.) 诱发的1型糖尿病的大鼠肾切片中的纤连蛋白积聚,其中,1型糖尿病大鼠通过每次口服(D) :载体(等渗盐水);(D+FLU) :氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续2周,或(D)+(FLU+NE-100) :氟伏沙明+S1R特异拮抗剂NE-100 (20mg/bwkg/天+1mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续2周处理。对肾切片中的纤连蛋白进行了染色,并计算各部分的阳性面积/肾小球面积(短线表示平均值±SEM,n=8-10/组,20倍放大;比例尺-50μm)。
- [0366] 8A/1用等渗盐水处理的对照非糖尿病大鼠,等渗盐水仅作为载体
- [0367] 8A/2用等渗盐水处理的糖尿病大鼠,等渗盐水仅作为载体

- [0368] 8A/3用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续处理糖尿病大鼠2周
- [0369] 8A/4用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) +NE-100 (1mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续处理糖尿病大鼠2周
- [0370] 8B动物组8/A-D (给定每总面积) 的纤连蛋白阳性面积的平均值
- [0371] 图9.SIGMA-1受体 (S1R) 激动剂化合物氟伏沙明处理降低了糖尿病大鼠的肾脏中糖尿病诱发的细胞外基质 (ECM) 生成
- [0372] 图9显示了链脲佐菌素- (65mg/bwkg iv.) 诱发的1型糖尿病的大鼠肾切片中的纤维状ECM成分的积聚,其中,1型糖尿病大鼠通过每次口服(D) :载体(等渗盐水);(D+7FLU) :氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 连续7周或(D+FLU) :氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续2周处理。肾切片用0.1%天狼星红染色,由每总面积上的天狼星红阳性的比率来定义分数体积值(V<sub>v</sub>)。(短线表示平均值±SEM,N=8-10/组,20倍放大倍率;比例尺-50μm)。
- [0373] 9A/1用等渗盐水处理的对照非糖尿病大鼠,等渗盐水仅作为载体
- [0374] 9A/2用等渗盐水处理的糖尿病大鼠,等渗盐水仅作为载体
- [0375] 9A/3用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 连续处理糖尿病大鼠7周
- [0376] 9A/4用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续处理糖尿病大鼠2周
- [0377] 9B动物组9A/1-4中给定的每总面积的天狼星红阳性面积的平均值
- [0378] 图10.Sigma-1受体 (S1R) 激动剂化合物氟伏沙明处理降低了糖尿病大鼠的肾脏中糖尿病诱发的α-平滑肌肌动蛋白 (αSMA) 水平
- [0379] 图10显示了链脲佐菌素- (65mg/bwkg iv.) 诱发的1型糖尿病的大鼠肾组织匀浆中的αSMA蛋白水平,其中,1型糖尿病大鼠通过每次口服(D) :载体(等渗盐水);(D+7FLU) :氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 连续7周或(D+FLU) :氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续2周或(D+FLU2) :氟伏沙明 (2mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续2周处理。其它组处理通过口服S1R的特异性拮抗剂NE-100;(D)+(FLU+NE-100) :氟伏沙明+NE-100 (20mg/bwkg/天+1mg/bwkg/天) 连续两周或(D+FLU2+NE-100) :氟伏沙明+NE-100 (2mg/bwkg/天+1mg/bwkg/天) 从糖尿病患病第5周起连续2周处理(短线表示平均值±SEM,n=8-10/组)。上图表示αSMA的免疫印迹的代表性图片。
- [0380] 图11.Sigma-1受体 (S1R) 激动剂化合物氟伏沙明处理减少了单侧输尿管梗阻 (UUO) 后肾脏中的间质纤维化
- [0381] 图11示出了6周龄小鼠在UUO处理7天后的肾脏中的间质纤维化的进展。连续一周通过每日一次灌胃载体处理小鼠 (UUO),或用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 或氟伏沙明+S1R拮抗剂NE-100 (1mg/bwkg/天) 处理。肾切片进行马松染色,并计算马松阳性面积/总面积的比值(短线表示平均值±SEM,n=6/组,20倍放大;比例尺-100μm)
- [0382] 11A/1拟手术,仅用载体处理对照小鼠
- [0383] 11A/2仅用载体处理的UUO小鼠
- [0384] 11A/3仅用载体、仅用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 处理一周的UUO小鼠
- [0385] 11A/4仅用载体、仅氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) +NE-100 (1mg/bwkg/天) 处理一周的UUO小鼠
- [0386] 11B动物组11A/1-4中给定的每总面积的马松染色区中的间质纤维化的平均值。
- [0387] 图12.Sigma-1受体 (S1R) 激动剂化合物氟伏沙明处理减少了单侧输尿管梗阻

(UUO) 后肾脏中的 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ SMA) 生成

[0388] 图12示出了6周龄小鼠在UUO处理7天后的肾组织匀浆中的 $\alpha$ SMA蛋白水平。连续一周通过每日一次灌胃载体处理小鼠 (UUO) , 或用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 处理。(短线表示平均值±SEM,n=6/组)。上图表示 $\alpha$ SMA的免疫印迹的代表性图片。

[0389] 图13.S1R激动剂化合物伏沙明处理改善了由博莱霉素诱发的肺纤维化大鼠模型中的肺间质纤维化

[0390] 图13显示了气管内注射博莱霉素两周后的大鼠肺纤维化的发展,其中,大鼠使用载体(含或不含拟手术)或用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 或用氟伏沙明+S1R拮抗剂NE-100 (1mg/bwkg/天) 连续三个星期处理。使用马松染色对组织切片进行了染色。(短线表示平均值±SEM,n=6/组)。

[0391] 13A/1仅用载体处理的未注射博莱霉素、拟手术的对照大鼠13A/2仅用载体处理的注射博莱霉素的大鼠

[0392] 13A/3用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 处理两周的注射博莱霉素的大鼠

[0393] 13A/4用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) +NE-100 (1mg/bwkg/天) 处理三周的注射博莱霉素的大鼠

[0394] 13B动物组13/A到D的相对于所有像素的平均马松染色纤维化像素

[0395] 图14.Sigma-1受体 (S1R) 激动剂化合物氟伏沙明处理减少了由博莱霉素诱发的肺纤维化大鼠模型中的 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ SMA) 的生成

[0396] 图14显示了气管内注射博莱霉素的大鼠肺匀浆物中的 $\alpha$ SMA蛋白质水平,其中,大鼠用载体(含或不含拟手术),或用氟伏沙明 (20mg/bwkg/天) 或氟伏沙明+S1R拮抗剂NE-100 (1mg/bwkg/天) 连续三周处理。(短线表示平均值±SEM,n=6/组)。上图表示 $\alpha$ SMA的免疫印迹的代表性图片。

[0397] 应当指出的是,图例中术语“成纤维细胞”用来表示“肌成纤维细胞”。

[0398] 本发明的详细说明

[0399] 渐进性纤维化是许多医学病症中的共同病理反应。根据某些估计,在西方世界几乎一半的所有死亡人数是由于渐进性器官纤维化。例如,慢性肾疾病 (CKD) 影响全世界人口的8-16%,并且他们的数量会由于糖尿病患者的日益增加,大体上也会不断增加。

[0400] 渐进性纤维化由生长因子、蛋白水解酶、血管生成因子和/或纤维化因子的持续生成所引发,导致ECM成分的渐进性和过度生成。在渐进性纤维化的情况下,当该过程不受调节以停止或逆转,ECM的积聚(和收缩)导致围绕薄壁组织单元的间隙组织的扩张和硬化,并破坏其生理功能[克林伯格F (Klingberg F) 等,病理学杂志 (J Pathol),229 (2),298-309 (2013)]。

[0401] 因此,在通常伴有炎症的组织或器官稳态损伤或失调的情况下,常驻型免疫细胞和浸润型免疫细胞分泌细胞因子和生长因子,如血小板衍生的生长因子 (PDGF) 、转化生长因子- $\beta$  (TGF $\beta$ ) 、表皮生长因子 (EGF) 、成纤维细胞生长因子 (FGF) 、胰岛素样生长因子 (IGF) 、结缔组织生长因子 (CTGF) 、葡萄糖、血管紧张素II或醛固酮和各种白介素 (IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-4、IL-8、IL-13) 。这些介质促进表达 $\alpha$ SMA并生成ECM的肌成纤维细胞的形成及积聚。

[0402] 在肌成纤维细胞和ECM中驻留的是渐进性纤维化过程的重要成分。该ECM实际上是一功能性组织,其成分不仅具有支架特性,还具有生长因子、促有丝分裂和其它生物活性特

性。渐进性纤维化常常导致器官功能障碍并增加发病率或死亡率，并且也与一种在失调的组织稳态中的组织调节障碍过程有关 [Lekkerkerker S等,最新药物设计 (Curr Pharm Des),18 (27),4093–102 (2012)]。因此,渐进性纤维化不被认为是体内平衡的病症和/或不再充当再生过程;它可能与疾病相关联,或可以构成需要医学治疗的病症。

[0403] 本发明人意外地认识到氟伏沙明、强效Sigma-1受体 (S1R) 激动剂有助于预防和/或抑制ECM的纤维化重塑,进而有助于预防和/或抑制渐进性纤维化病症。具体地,发明人发现,氟伏沙明成功改善了与肾脏纤维化有关的肾功能受损(通过常规的金标准,临床参数如肾小球滤过率 (GFR)、肌酸酐、血清尿素氮等的改善得以证实)。此外,他们证明了S1R激动剂还在各种组织中具有抗纤维增生的潜力。

[0404] 如下面所说明的,本文可以理解为肌成纤维细胞的积聚和/或ECM成分的过度生成和沉积可以指示与病理状况有关的渐进性纤维化和/或与病理状况有关的渐进性纤维化相关联,其可发生在若干疾病中。然而,渐进性纤维化的治疗不同于伴随所述渐进性纤维化的疾病的治疗,甚至可以从中独立出来。

[0405] 因此,根据本发明在给定条件下或在给定的受试者/患者中,治疗可针对预防、控制、逆转或抑制ECM的纤维化重塑,优选包括肌成纤维细胞的积聚和/或ECM成分的过度生成和沉积,例如:其纤维状成分,包括胶原蛋白,优选I型和III型胶原蛋白或纤连蛋白。因此,本发明可使患者就潜在的或致病性疾病而言的病症得到改善,如本文中所列出的。

[0406] 本发明提供了用于预防或治疗渐进性纤维化,特别是预防、控制、逆转或抑制渐进性纤维化的化合物和组合物。一旦纤维化进程被抑制或阻止,可以允许生物体的再生机制发生。由此纤维化病症甚至可以逆转。

[0407] 西格玛 (Sigma) 受体

[0408] Sigma受体是内质网中的配体调节的分子伴侣。Sigma受体由两个亚型构成:Sigma-1受体和Sigma-2受体 (S1R和S2R) (替代名称:Sigma非阿片类细胞内受体、AAG8,ALS16、衰老相关基因8蛋白、OPRS1、SIG-1R)。S1R克隆于1996年,然后对其分子构象进行了探讨。S1R和S2R受体与任何其它哺乳动物蛋白无同源性。人223-氨基酸蛋白S1R存在于各种组织中,包括脑、肠、肝、脾、肺、肾、骨骼肌、肾上腺、生殖道、皮肤和眼 [汉纳M (Hanner M) 等,美国国家科学院院刊,93 (15),8072–8077 (1996)]。S1R可在内质网中被大量发现,特别在与线粒体相关的ER膜中,在该膜中他们提出用作“受体分子伴侣”,不过S1R的外中枢神经系统功能和调节几乎是未知的。

[0409] S1R已被提出参与许多中枢神经系统疾病。激动剂的主要治疗靶标包括精神分裂症、重度抑郁、强迫症 (OCD) 和阿尔茨海默氏病和重度抑郁症 [石川M (Ishikawa M) 等,受体、配体和通道研究期刊 (Journal of Receptor, Ligand and Channel Research),3,25–3 (2010)]。S1R激动剂外中枢神经系统的潜在作用和应用的信息是稀缺的。此外,S1R激动剂的临床潜力的研究刚刚开始。

[0410] 可以设想,原则上任何S1R受体激动剂在本发明中可能是适用的。相对S2R,优选选择S1R激动剂。还优选对S1R受体具有强亲和性并具有较少副作用的S1R激动剂。

[0411] 如果S1R比S2R具有更高的亲和力,优选5倍高或20倍高或50倍高,或至少 $10^2$ 高,至少 $10^3$ 高,或至少 $10^4$ 高,该化合物选用S1R而非S2R。

[0412] S1R激动剂属于化合物的各种结构基团。在本发明中,优选本发明简要说明中所限

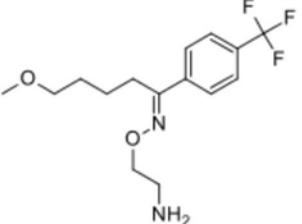
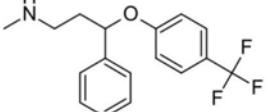
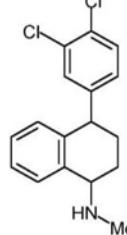
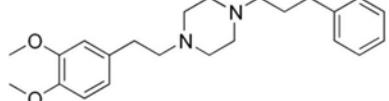
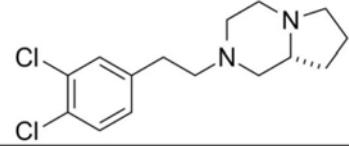
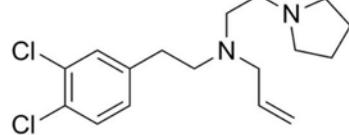
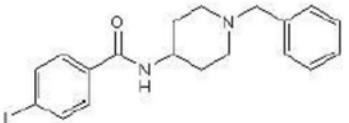
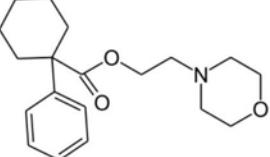
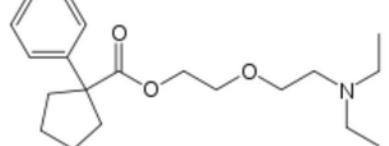
定的化合物。

[0413] 在实验部分的说明性实验中示出了三个S1R激动剂化合物:氟伏沙明,SA-4503(库特麦辛)和PRE-84。每种化合物具有不同的结构,它们中的每一个已令人惊奇地发现在控制渐进性纤维化中具有活性。氟伏沙明被发现是有效的,甚至能预防、抑制和逆转肾脏和肺中的渐进性纤维化。最有可能的是,其它S1R激动剂,如SA-4503(库特麦辛)和PRE-84在体内具有相同的效果。氟伏沙明是特别优选的。

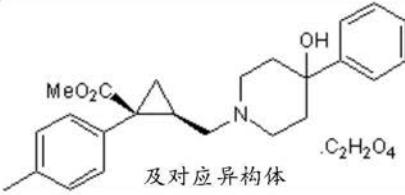
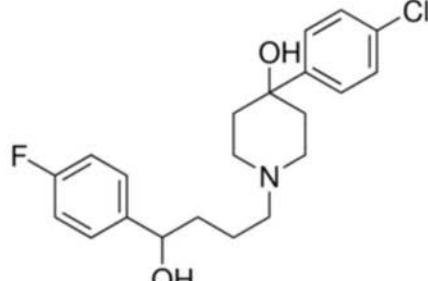
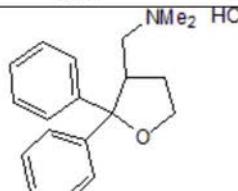
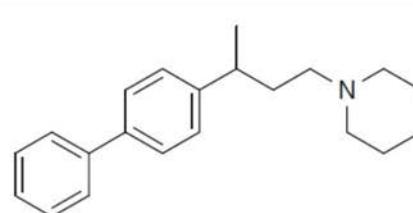
[0414] 在下面的表A中列出了一些S1R受体激动剂,它们被考虑用于本发明。

[0415] 表A

[0416]

名称	结构式	IUPAC 名称
氟伏沙明		2-{{(E)-{5-甲氨基-1-[4-(三氟甲基)苯基]戊亚基}氨基}氨基}乙胺
氟西汀		N-甲基-3-苯基-3-[4-(三氟甲基)苯氧基]丙-1-胺
舍曲林		(1S, 4S)-4-(3,4-二氯苯基)-N-甲基-1,2,3,4-四氢萘-1-胺
SA4503(库特麦辛)		1-[2-(3,4-二甲氧基苯基)乙基]-4-(3-苯基丙基)哌嗪
BD1031		(8aR)-2-[2-(3,4-二氯苯基)乙基]八氢吡咯并[1,2-a]吡嗪
BD1052		N-[2-(3,4-二氯苯基)乙基]-N-(2-吡咯烷-1-基乙基)丙-2-烯-1-胺
4-IBP		N-(N-二苄基-4-基)-4-碘苯甲酰胺
PRE-084		2-吗啉-4-基乙基-1-苯基环己烷-1-羧酸
咳必清(rINN) 或 喷托维林		2-[2-(二乙基氨基)乙氧基]乙基-1-苯基环戊烷羧酸

[0417]

(±)-PPCC 草酸盐		(S*, R*)-2-[4-羟基-4-苯基-1-哌啶基]甲基]-1-(4-甲基苯基)-环丙烷甲酸甲酯 及对应异构体
氟哌啶醇代谢物II(简化为氟哌啶醇)		4-[4-(4-氯苯基)-4-羟基-1-哌啶基]-1-(4-氟苯基)-丁-1-醇
ANAVEX2-73 四氢-N,N-二甲基-2,2-二苯基-3-呋喃基甲胺盐酸盐		四氢-N,N-二甲基-2,2-二苯基-3-呋喃基甲胺盐酸盐
RC-33		1-[1-(4-联苯基)-1-甲基-丙基]哌啶

[0418] 本发明中使用的S1R激动剂可根据本领域技术人员已知的方法来制备或为市售的如氟伏沙明、SA-4503、PRE-084、4-IBP、ANAVEX2-73等。

[0419] 例如，马来酸氟伏沙明可以如US4,085,225和US6433225B1所述进行制备。

[0420] EP2353598A1披露了包括库特麦辛和相关化合物的sigma-受体配体的合成。

[0421] PRE-084是一种高亲和性、sigma-受体激动剂，选择性S1R亚型( $\sigma_1$ 和 $\sigma_2$ 受体的Kis分别2.2和13,091nM)。它是S1R的强效配体( $IC_{50}=44nM$ )，而对PCP受体没有明显的亲和性( $IC_{50}>100,000nM$ )并且在例如[Griesmaier E等, Experimental Neurology, 237 (2), 388-395 (2012)]中描述了其是可得的。罗西·丹妮拉(Rossi Daniela)等描述了基于芳基烯烃基胺支架的sigma-受体配体的合成，尤其是RC-33，见表A[Rossi D等,生物有机&药物化学(Bioorganic&Medicinal Chemistry), 19 (21), 6210-6224 (2011)]。

[0422] 已知大量的S1R激动剂化合物。可以通过蛋白和生物有机化学中常用的方法测试结合亲和力以及测量解离常数。

[0423] 例如许荣(Xu, Rong)等披露了乙醚修饰SA-4503在结合亲和力和选择性sigma受体和单胺转运蛋白中的效果以及测量这些参数的方法[许荣等, Bioorganic&Medicinal Chemistry, 23 (1), 222-230 (2015)]。

[0424] 此外，罗西·丹妮拉等(见上文)在一些化合物中选择并确定了有效和选择性S1R激动剂，并描述了相关方法。此外，作者仅使用活性化合物已开发了三维S1R药效团模型以

推导该模型。该模型包括两个疏水基和正氮作为相关特征，并且它能够在有和没有亲和性的分子中区分对σ1受体亚型。因此，本领域技术人员能够根据本发明熟练的制备和选择化合物。

[0425] 如下面实施例所示出的，本领域技术人员能够熟练检测潜在的S1R激动剂是否确实是激动剂。

[0426] 测试S1R激动剂是否对S1R起作用的常规方法是使用特定拮抗剂作为对照。这样的可接受的特异性拮抗剂是NE-100，是有效的和选择性S1R拮抗剂 ( $K_i = 0.86\text{nM}$ )，示出了比S2R>55倍的选择性和比D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>、5-HT<sub>1A</sub>、5-HT<sub>2</sub>和PCP受体 (4-甲氧基-3-(2-苯基乙氧基)-N,N-二丙苯基乙胺盐酸盐)>6000倍的选择性。NE-100表现出了可逆结合 ( $K_d = 1.2\text{nM}$ ) [奥山 S (Okuyama S) 等，中枢神经系统药物综述 (CNS Drug Rev), 2 (2), 226-237 (1999)，贝拉尔迪 F (Berardi F) 等，生物有机医学化学 (Bioorg. Med. Chem.), 9 (5), 1325-1335 (2001)]。

[0427] 下面列举了往往或者甚至必然与渐进性纤维化相关的几种疾病作为实施例，并提及了治疗渐进性纤维化的几个方案。然而，应当理解的是，这些实施例尽管可能是优选的，但仅仅是说明性的。如渐进性纤维化可以出现在一些病症中，本发明的其它实施例可以在不脱离本发明的构思和范围的前提下被应用到实践中。典型地，这些疾病状况都伴随有肌成纤维细胞的异常增生和/或ECM成分的过度生成。这类疾病中，致病性渐进性纤维化可显而易见或这即将可能是急性或慢性的。优选渐进性纤维化在慢性疾病或慢性纤维增生性疾病中得以预防或治疗。

#### [0428] 肾脏中的渐进性纤维化

[0429] 许多疾病如代谢、解剖、机械异常、感染和毒剂或自身免疫疾病可导致肾功能丧失。在有关这些疾病的最常见的肾脏实施例中渐进纤维化是以下综合征的一部分：糖尿病性肾病、高血压性肾病、不同类型的肾小球肾炎和某些肾小管间质紊乱。患有糖尿病和高血压的患者危险最大，相比于正常人群具有较高的肾脏问题率。糖尿病肾病占全世界患病肾脏替代治疗的新患者的25-30%。抗生素、镇痛药 (阿司匹林、布洛芬、对乙酰氨基酚等)、化疗剂、不同的药物和各种感染已全部被标识为渐进性纤维化诱发剂。

[0430] 不同形式的肾脏疾病模仿了持续损伤，该持续损伤导致了可能发生在几乎所有类型的慢性肾功能衰竭中的ECM的过度积聚。在糖尿病性肾病渐进性纤维化中通过肾肌成纤维细胞的活化分泌结缔组织的某些蛋白，最常见的是胶原I型、III型和IV型和纤连蛋白，由此重塑ECM。在糖尿病性肾病中使用的化合物包括肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAAS) 阻断剂，主要是ACE抑制剂和ARB，其中没有直接针对ECM的过度增生。朱伯 K (Zuber K) 提供了患有慢性肾脏疾病的药物剂量评论，其原则以及其中所引用的文献可被用作设定S1R激动剂剂量的指导 [Zuber K 等，美国医师助理学院期刊 (JAAPA), 26 (10), 19-25 (2013)]。

[0431] 早期诊断在肾脏的渐进性纤维化的治疗中是优选的。本治疗方法集中于预防和改善疾病本身的症状和进展。在这种情况下，口服给药是优选的。肠胃外静脉注射、肌肉注射，眼内或皮下给药也将是一个选择，或直接注入到目标肾脏也是可能的。

#### [0432] 肺中的渐进性纤维化

[0433] 感染、长期暴露于污染物或毒素 (最普遍的吸烟)、过敏、某些药物 (例如化疗)、胃食管反流、自身免疫疾病 (如系统性红斑狼疮 (SLE)) 都是肺部疾病的危险因素或潜在原因，其具有炎症和产生异常组织修复的特点。瘢痕形成和肺壁增厚导致氧气短缺以及通用术语

肺纤维化项下所定义的疾病。

[0434] 据目前所知,在渐进性肺纤维化中出现的疤痕是无法逆转的,并且,目前没有治疗已被证明是有效阻止病情进展的。有些治疗包括糖皮质激素或免疫抑制治疗可以暂时改善症状,但它们对纤维化病症的疗效具有比较可疑的严重副作用。

[0435] 本发明的组合物的给药优选在疾病发作的早期阶段。如果可以的话,吸入体现了通过全身给药的优选方案。用于这种类型的给药方式例如干粉吸入器、喷雾器、雾化器、如氧气罩、鼻导管和计量剂量吸入器等装置是本领域中公知的。

#### [0436] 胃肠道系统中的渐进性纤维化

[0437] 在慢性肠炎病症中,炎症伴随渐进性纤维化是一种必然的或者很常见的成分的响应。在克罗恩病中,炎症通常是透壁的,所以随后产生纤维狭窄响应,然而在溃疡性结肠炎中,炎症和渐进性纤维化响应实际上被限制在粘膜层。透壁炎症和渐进性纤维化通常导致症状性狭窄。星状细胞不只在肝中被发现,还在胰腺和人肠黏膜中被发现。湿润性免疫细胞和肠星状细胞释放不同的细胞因子和生长因子,如TGF $\beta$ ,有助于ECM的重塑。非间充质来源的一些细胞也进行转分化为间充质细胞的过程以成为有效的ECM生成细胞。

[0438] 虽然肠纤维化逐渐被认为是一个问题,但是在本领域中没有公认的药物来治疗或阻止胃肠系统的器官纤维化。

[0439] 优选给药是通过消化道进行的。口服制剂的例子包括如丸剂、片剂、胶囊、锭剂等固体形式。液体形式包括糖浆、乳液、悬浮液、水凝胶、胶囊装形式,优选缓释形式。

#### [0440] 肝脏中的渐进性纤维化

[0441] 肝脏纤维增生性疾病(如脂肪肝肝硬化、传染性肝炎、胆道疾病、存储疾病如血色病或威尔逊氏病)的常见症状可能是伴随肝细胞损伤的肝脏中过多结缔组织的积聚。ECM的异常降解也可能有助于肝脏的渐进性纤维化。在纤维化渐进期间,激活的星状细胞(或肝特异性周皮细胞)示出了平滑肌样细胞的特征,具有若干包括 $\alpha$ -SMA和肌球蛋白的收缩丝表达的特点。随着纤维化的进展,激活的星状细胞逐渐阻碍着通过允许与ECM相互作用的通道介导的门静脉血流量。晚期阶段的慢性肝病在没有肝移植的情况下通常导致死亡。

[0442] 早期诊断在肝脏的渐进性纤维化的治疗中是优选的。在这种情况下,口服给药本发明的化合物是优选的。肠胃外静脉注射、肌肉注射,眼内或皮下给药也将是一个选择。

#### [0443] 泌尿生殖系统的器官中的渐进性纤维化

[0444] 泌尿生殖系统在暴露于各种感染(例如衣原体、念珠菌或疱疹)时,也会受到与渐进性纤维化相关的疾病的影响。妇女在妊娠、分娩或流产期间也会处于损伤生殖系统器官的危险。阴道或前列腺的辐射相关性纤维化可能是抗肿瘤治疗泌尿生殖器官的结果(例如卵巢癌或前列腺癌)。子宫内膜异位是一种严重的导致持续性疼痛和不育的渐进性纤维化病症。阴茎纤维化是男性阳痿的可能原因。

[0445] 在这种情况下,口服给药本发明的化合物是优选的,并且肠胃外给药如注射或输注也是可能的。如果可以提供药物的更好定位外用例如经粘膜给药也是可以的。在这一疾病组中,外用制剂可以包括软膏、阴道或直肠栓剂、环等宫内节育器。

#### [0446] 皮肤中的渐进性纤维化

[0447] 有缺陷的伤口愈合分为两大类:在慢性伤口(例如溃疡性损伤)中,愈合过程被延迟或阻断,而在多数伤口愈合(例如肥厚性瘢痕、瘢痕瘤)中,修复过程是超激活的。当ECM合

成保持很高时,发生过度伤口愈合,从而导致胶原和其它ECM成分的过度生成。该情况可以由肌成纤维细胞的故障发生所引发进而进行细胞凋亡并导致增生性疤痕,在皮肤上留下永久的且不希望的痕迹。在真皮瘢痕瘤中,胶原I型或III型的过度生成延伸超出了原始损伤的界限。

[0448] 最多的与皮肤疾病或病症相关的渐进性纤维化是:各种根源性的瘢痕疙瘩(例如粉刺、穿孔、水痘),溃疡(例如糖尿病所衍生的)和各种传染病例如寻常痤疮、反常性痤疮)。治疗重点是改善症状和预防纤维化的进展。在治疗皮肤相关的症状时,局部给药本发明的化合物是优选的。当患者处于有缺陷的伤口愈合的风险时,预防性治疗是预期的。

[0449] 在真皮应用中,局部制剂的药物是优选的,尤其是软膏、外用霜剂和凝胶、皮肤和经皮贴剂和膜、水凝胶、霜剂、洗剂和喷雾剂。

#### [0450] 诊断的概念

[0451] 当已知许多疾病都与渐进性纤维化相关时,本发明有助于预防或抑制不同组织和器官中形成过量的ECM。虽然目前渐进性纤维化的诊断是有困难的,但这种病症的诊断是有可能的和可取的。

[0452] 不可避免地,组织活检的显微镜检查是诊断纤维化组织的最可靠的方法之一。肾小球系膜细胞(系膜基质扩张,(见例如实施例8)和/或肌成纤维细胞(例如实施例11、13、15)的增生检测显然是可能的。测量组织中的渐进纤维化标记物如马松三色的增加(如实施例7、12、14中)或天狼星红如实施例10阳性、 $\alpha$ -SMA表达的增加(例如实施例11、13、15)或确定纤连蛋白的量(例如实施例9)是又一选择(实施例5)。

[0453] 几种形态学技术被用来评估渐进性间质纤维化,包括在偏振光和免疫组化方法下用对胶原蛋白I型和III型具有特异性的马松三色或天狼星红染色的载玻片的形态测定法[法里斯A B(Farris A B),美国和加拿大病理学年会期刊(2012)]。然而,该方法对患者是侵入性和不方便的,经常需要麻醉。本领域的病理学家需要进行评估,并且作为常规临床应用使用的整个评价过程相当慢。此外,侵入性方法,尽管在需要的情况下是适用的,但也具有风险[迪茨J(Díez J),循环期刊(Circ J.)72,A:A8-12(2008)]。

[0454] 因此,首选从病人的健康和符合非侵入性的物理方法方面。也有一些在器官功能的评估中用作金标准值的某些功能性的非侵入性标记物(包括肾:肾小球滤过率(GFR)和血肌酐和尿素氮,蛋白尿[KDIGO,2013];肺:呼吸法等;肝脏:纤维化。可以根据由美国胸科协会提供的指引诊断肺纤维化[拉古(Raghu)等,美国呼吸与重症监护医学杂志(Am J Respir Crit Care Med),183,788-824(2011)]。渐进性肝纤维化可通过血清标志物诊断(肝肌成纤维细胞特异性单链抗体C1-3[Hill S J,Thesis(2012)]。

[0455] 这些标记可以预测器官功能的恶化,但它们不是总是能够明确渐进性纤维化过程。此外,目前所有的这些标记物都是昂贵的并且进行缓慢,因此期望在未来改进该技术,同时也很可能发现新标记物。

[0456] 本发明下面通过具体实施例和示例性实施方式进行说明,然而,并不限制本发明的范围。

#### 实施例

##### [0457] 方法

[0458] 化合物

[0459] 氟伏沙明(马来酸氟伏沙明,西格玛奥德里奇(SigmaAldrich)公司,圣路易斯,密苏里州,美国),PRE-084(2-(4-吗啉代)甲基-1-苯基环己烷-1-羧酸盐西格玛奥德里奇公司,圣路易斯,密苏里州,美国),SA4503(1-[2-(3,4-二甲氧基苯基)乙基]-4-(3-苯基丙基)哌嗪;Tocris生物科学公司,布里斯托尔,英国);NE100(N-二丙基-2-[4-甲氧基-3-(2-苯基乙氧基)-苯基]-乙胺盐酸盐,Tocris生物科学公司,布里斯托尔,英国)

[0460] 细胞系

[0461] NRK49F大鼠肾间质成纤维细胞系(美国模式菌种收集中心(American Type Culture Collection),马纳萨斯,弗吉尼亚州,美国)于37℃和5%二氧化碳条件下培养于补充有10%胎牛血清(FBS)(Gibco,生命技术公司(LifeTechnologies),卡尔斯巴德,加利福尼亚州,美国)和1%抗生素-抗真菌溶液(奥德里奇公司,圣路易斯,密苏里州,美国)的达尔伯克(Dulbecco)改良伊戈尔(Eagle)培养基(Gibco,生命技术公司,卡尔斯巴德,加利福尼亚州,美国)中。

[0462] 细胞活力和增生试验

[0463] 为了测试所述化合物的可能的细胞毒性作用,在96孔板上用所述S1R化合物(罗氏诊断,曼海姆,德国)处理24小时后,用(3-(4,5-二甲基吡啶-2-基)-2,5-二苯基溴化)MTT测定细胞活力。也通过台盼蓝排除法评估了细胞活力。细胞用胰蛋白酶-EDTA分离,然后再悬浮于用台盼蓝溶液(西格玛奥德里奇公司,布达佩斯,匈牙利)1:1稀释的培养基中。在Burker室中对三个孔中的活细胞进行计数。

[0464] 为了探讨S1R激动剂(氟伏沙明、PRE084、SA4503)对PDGF $\beta$ 诱发的增生影响,将肾成纤维细胞于0.01%FBS中饥饿24小时,然后用胰蛋白酶处理,并在6孔板上以 $5 \times 10^5$ 细胞/孔的密度接种。铺板后,将细胞用人重组rPDGFBB(10ng/mL,R&D系统,明尼阿波利斯,明尼苏达州,美国)处理。细胞组用rPDGFBB和氟伏沙明(1、5和10 $\mu$ M/L;细胞信号技术(Cell Signaling Technology)公司,丹弗斯,马萨诸塞州,美国)处理。对照细胞用溶液(4mM的盐酸,奥德里奇公司,圣路易斯,密苏里州,美国)单独处理。随后将细胞在37℃培养24小时,然后进行细胞增生测定(MTT)。

[0465] 天狼星红染色测定胶原生成

[0466] 通过天狼星红染色测定来研究纤维状胶原的沉积。用TGF- $\beta$ 和所述化合物处理48小时后,NRK-49F细胞用卡勒(Kahle)固定液培养10分钟。将0.1%天狼星红(直接红80,西格玛奥德里奇公司)溶解于1.2%苦味酸中加入到每个孔中,并将板在室温培养30分钟。游离的染料分子用蒸馏水洗涤。结合的天狼星红染料用0.1M NaOH溶液洗脱,用MikroWin程序在540nm下在Hidex公司变色龙(Chameleon)酶标仪(Triathler,Chameleon酶标板判读仪(Plate Chameleion),300SL实验逻辑系统(Lablogic Systems)公司,布兰登,佛罗里达州,美国)上测定吸光度。载体处理的细胞作为对照。

[0467] 胶原I-III PCR

[0468] 总RNA通过RNeasy微型RNA提取试剂盒(凯杰有限公司(Qiagen GmbH),希尔登,德国)从NRK49F细胞中分离得到。使用SuperScript III RNase H-(Gibco,生命技术公司,卡尔斯巴德,加利福尼亚州,美国)将100ng RNA进行反转录,以产生第一链cDNA。胶原I、胶原III和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)的mRNA表达使用Light Cycler 480SYBR Green

1Master在光循环仪上(罗氏诊断(Roche Diagnostics),曼海姆,德国)进行实时RT-PCR测定。反应混合物含有10pmol/μl的各PCR引物(表1;英杰公司(Invitrogen),生命技术公司,卡尔斯巴德,加利福尼亚州,美国),10μl的Light Cycler 480SYBR Green 1Master酶混合物(罗氏诊断,曼海姆,德国)和1μl的cDNA样本。PCR条件如下:在95°C下5分钟为1个周期,随后通过适当的PCR条件扩增60个周期。用二阶导数方法通过监测可以将荧光标志从背景中区别开来的循环数进行定量。结果用版本为1.5.0.39(罗氏诊断,曼海姆,德国)的Light Cycler 480软件进行分析。同一样品中的每个基因的mRNA表达通过与作为内部对照的GAPDH进行比较来确定。

[0469]

基因	引物序列	PCR 条件
<b>大鼠胶原 I</b>	F:5'-AGCTCAGGGCGAACAGTC-3'	95°C-5 秒
	R:5'-CAGGCAGGGAGGTCTTGGT-3'	59°C-7 秒
		72°C-7 秒
<b>大鼠胶原 III</b>	F:5'-AGGCAGGTGCGGGTGCTGAT-3'	95°C-5 秒
	R:5'-GGGCCAGGGGACCAATAGGA-3'	59°C-7 秒
		72°C-7 秒
<b>大鼠 GAPDH</b>	F:5'-GTCACGGCATGGACTGTG-3'	95°C-5 秒
	R:5'-CACCACCATGGAGAAGGCTG-3'	60°C-5 秒
		72°C-10 秒

[0470] 表1.用于实时检测检验基因的特定引物对的核苷酸序列和PCR反应条件。

[0471] 纤维化的体内模型

[0472] 动物

[0473] 所有实验经动物福利机构委员会得以批准。实验使用雄性维斯塔大鼠,体重205±15克(Toxi-Coop毒理学研究中心,多瑙凯西(Dunakeszi),匈牙利)或7-8周龄雄性C57BL/6小鼠(WT;查尔斯河(Charles River)实验室,苏尔茨费尔德,德国)。动物饲养在具有明暗交替周期的温度控制(22±1°C)的房间内,允许标准大鼠自由进食和饮水。

[0474] 在手术过程中或动物捕获时,通过腹腔内注射氯胺酮(75mg/bwkg)和甲苯噻嗪片(10mg/bwkg)(里克特公司(Richter),布达佩斯,匈牙利)进行全身麻醉。

[0475] 链脲佐菌素(STZ)诱发的糖尿病肾病的大鼠模型

[0476] 所有的物质都购买自西格玛奥德里奇公司(布达佩斯,匈牙利)。雄性维斯塔大鼠经静脉给药65mg/bwkg链脲佐菌素(STZ)(溶解于0.1M柠檬酸缓冲液;pH4.5)诱发糖尿病。如果血糖浓度在注射STZ后72小时内增加至15mmol/L并持续升高,则动物被认为是糖尿病患者。动物被随机分组(n=10-12/组),并口服(i)氟伏沙明(20mg/bwkg/天)连续7天;(ii)氟伏沙明(20mg/bwkg/天)从糖尿病患病第5周起连续2周,(iii)氟伏沙明(2mg/bwkg/天)从糖尿病患病第5周起连续2周;或(iv)载体(等渗盐水)。其它组经口服特异性S1R抑制剂(拮抗剂)NE100处理,(v)氟伏沙明+NE100(20mg/bwkg/天+为1mg/bwkg/天)连续两周,(vi)氟伏沙明+NE100(2mg/bwkg/天+为1mg/bwkg/天)连续两周。非糖尿病年龄匹配的对照动物注射柠檬酸盐缓冲液,并在7周后处死(n=8-10/组)。

[0477] 在处理之前、处理期间和处理后期,将大鼠置于代谢笼收集24小时尿样。处理2周

后,将所有大鼠麻醉,收集血液和尿样,取出肾脏,称重并将切片固定在福尔马林(4%,pH值=7.4)中用于组织学研究,其它部分立刻快速冷冻以用于进一步研究。

[0478] 单侧输尿管梗阻(UUO)诱发的肾间质纤维化的小鼠模型

[0479] 全身麻醉后,将动物放置在热控制台上,以保持 $37\pm1^{\circ}\text{C}$ 的直肠温度。标准中线剖腹手术后,将肠道轻轻从腹部移走,用无菌生理盐水浸湿无菌纱布覆盖。左侧输尿管被钝性分离并用缝合细材料(6/0Safil,B.布劳恩蛇牌(Braun Aesculap),巴拿马,美国)完全连接。然后将肠道恢复原位,肌肉和皮肤用4-0尼龙线缝合。小鼠用氟伏沙明(20mg/bwkg/天,腹腔注射)或氟伏沙明+NE100(1mg/bwkg/天,腹腔注射)处理。在UUO发病后第7天(n=6),手术切除小鼠的左肾。作为手术对照,动物(n=6)接受相同的手术过程,但无左输尿管梗阻。肾脏切片立即用于分子生物学测量,或冷冻在液氮中并固定在福尔马林(4%,pH=7.4)中。

[0480] 博莱霉素诱发的肺纤维化的大鼠模型

[0481] 将雄性维斯泰尔大鼠麻醉以诱发肺纤维化。用30G针将博莱霉素(5mg/bwkg溶解于300μL等渗盐水溶液)或300μL等渗盐水注射到气管中。

[0482] 动物随机分为4组,每组6只,如下(i)-对照组拟手术,每日口服等渗盐水连续3周,(ii)载体处理组:肺纤维化诱发后,每日口服等渗盐水连续3周,(iii)氟伏沙明处理组:肺纤维化诱发后,每日口服氟伏沙明(20mg/bwkg/天)连续3周,(iv)氟伏沙明+NE100处理组:肺纤维化诱发后,每日口服氟伏沙明(20mg/bwkg/天)和腹腔注射NE100(1mg/bwkg/天)连续3周。

[0483] 将大鼠麻醉以诱发肺纤维化,并用30G针将博莱霉素(5mg/bwkg溶解于300μL等渗盐水溶液)或300μL等渗盐水注射到气管中。在肺纤维化诱发后21天将动物处死。

[0484] 代谢和肾脏参数测量

[0485] 使用市售试剂盒在日立912光度化学分析仪上测定大鼠血清中的血清代谢(葡萄糖、果糖胺、总胆固醇和高密度脂蛋白胆固醇、甘油三酯)和肾功能参数(钠、钾、肌酸酐、尿素氮(BUN)、GFR、蛋白尿)。随机对尿和24小时尿样进行了检测。并计算尿蛋白与肌酸酐的比值。

[0486] 组织学分析

[0487] PAS染色

[0488] 肾脏被固定在10%福尔马林中,石蜡包埋,取样5μm宽部分,并用高碘酸-希夫(PAS)染色,用于确定肾小球基质扩张,血管透明变性和肾小管间质病变。简言之,通过测量沿样品边缘的50肾小球横截面(不包括不全肾小球)的肾小球簇面积确定肾小球肥大。透明变性由PAS阳性和动脉无核区评估确定。动脉透明变性由动脉的四分之一平均透明状区域来定义。对阿曼尼-埃布斯坦(Armani-Ebstein)病变进行了评价。使用Axio Vision 4.8软件在Zeiss AxioImager(蔡司Axio成像)A1光学显微镜上利用计算机辅助形态设计进行了双盲分析。

[0489] 纤连蛋白染色

[0490] 通过在柠檬酸盐缓冲液中煮沸石蜡包埋的组织切片(pH值为6,显微解剖(HISTOLS),柠檬酸盐缓冲液,组织病理学(Histopathology)公司)进行热诱发抗原活化。切片经过氧化物酶阻断(HISTOLS过氧化物酶阻断(Peroxidase Blocking),Histopathology公司),非特异性的附件用蛋白溶液(HISTOLS生物与物理科学局(BBPS),Histopathology公

司)抑制。切片用抗纤连蛋白多克隆抗体(1:500, Abcam, USA)和过氧化物酶标记的抗兔抗体(HISTOLS-R, 检测系统, Histopathology公司)进行培养。纤连蛋白通过HISTOLS-抵制自动曝光控制色原体/基物(AEC Chromogen/Substrate)系统,Histopathology公司)可视化, 使用苏木精和伊红复染, 并用永久性封片剂封片。

[0491] 马松染色

[0492] 为了研究胶原纤维的量, 将福尔马林固定的和石蜡包埋的组织样品脱蜡并切成4-10 $\mu\text{m}$ 的切片。将切片浸入魏格特(Weigert) 苏木精溶液(西格玛奥德里奇公司, 圣路易斯, 密苏里州, 美国)中, 然后用酸性品红、磷钼酸和甲基蓝连续染色。颜色用1%乙酸固定。然后将切片用浓度增高的酒精脱水, 固定在甲苯中, 用Permount封片剂(飞世尔科技(Fisher Scientific)公司, 沃尔瑟姆, 马萨诸塞州, 美国)封片, 风干过夜, 然后进行观察和拍摄。细胞的细胞核显示为蓝黑色, 胶原纤维染成蓝色, 细胞质是红色的。

[0493] 染色的切片通过Pannoramic 250Flash and Pannoramic Viewer1.15.2 (3D HISTECH公司, 布达佩斯, 匈牙利), Adobe Photoshop13.0和用于Windows系统的Scion Image软件进行拍照和分析。纤维组织的蓝染色使用Adobe Photoshop软件的颜色识别选项标记。蓝染色的像素数(即纤维组织的面积)与整个部分的像素数分开, 从而得到了纤维组织相对于所有组织的比率。最后, 对所有处理组的比率进行统计分析。

[0494] 蛋白分离和蛋白印迹

[0495] 组织样品在缓冲液(含亮肽素, 抑肽酶, 曲拉通X-100, Tris-盐酸, 乙二醇双(2-氨基乙基醚)-N,N,N',N'-四乙酸, 氟化钠, 苯甲基磺酰氟和原钒酸钠(每种物质均购自西格玛奥德里奇公司, 圣路易斯, 密苏里州, 美国))中裂解, 并离心以沉淀细胞核和大的细胞碎片。上清液的蛋白质浓度通过Bradford测定法(Bio-Rad实验室, 赫拉克里斯(Hercules), 加州, 美国)测定。10微克样品经10% SDS-PAGE在120伏( $\sim$ 40毫安, 90分钟)(Penguin<sup>TM</sup>双凝胶水冷系统, 0wl, 新罕布什尔州, 美国)下分离。预染的蛋白混合物(BenchMark<sup>TM</sup>, Gibco/BRL, 艾根施泰因(Eggenstein), 德国)作为分子量标志物。将分离的蛋白质在70V( $\sim$ 220毫安, 90分钟)(MiniTank<sup>TM</sup>转渍器, 0wl, NH, USA)转入硝酸纤维素膜(GE医疗集团(Haelthcare), 小查尔芬特(Little Chalfont), 英国)。非结合位点封闭在含有印迹溶液的5%无脂干牛奶中。细胞膜与稀释至1:1000的小鼠 $\alpha$ -SMA(奥德里奇公司, 圣路易斯, 密苏里州, 美国)特异性单克隆抗体一起进行培养。将印迹洗涤, 并与稀释到1:10000的过氧化物酶缀合的山羊抗兔IgG二级抗体(西格玛奥德里奇公司)一起进行培养(30分钟, 室温)。将装载到凝胶的等蛋白通过用 $\beta$ -肌动蛋白(Santa Cruz生物技术公司)的羧基(C-11)末端产生的山羊多克隆IgG抗体染色证实。免疫反应带用增强化学发光免疫印迹检测协议(AP生物技术(AP Biotech), 白金汉郡, 英国)可视化。用4.6.9.版本的Quantity One软件(Bio-Rad公司)进行分析条带。丽春红染色用作上样对照, 还使用内部对照。

[0496] 荧光免疫组化

[0497] 将冰冻肾切片嵌入到珊顿冷冻包埋剂(赛默飞世尔科技公司(Thermo Fisher Scientific))中, 并在低温恒温器中切成5-7 $\mu\text{m}$ 的切片。样品用特异性小鼠 $\alpha$ -SMA(1:2000, 奥德里奇公司, 圣路易斯, 密苏里州, 美国)或S1R(1:100, 奥德里奇公司, 圣路易斯, 密苏里州, 美国)抗体培养一小时。反复洗涤后, 切片与山羊抗小鼠的Alexa Fluor 488缀合物培养, 用Hoechst 33342(西格玛奥德里奇公司)复染以使核可视化。进行忽略初级抗体的适当

控制,以确保特异性和避免自体荧光。切片通过蔡司LSM 510多彩激光共聚焦显微镜以20倍和63倍放大率进行分析。

[0498] 统计分析

[0499] 使用GraphPad Prism软件(GraphPad软件公司,La Jolla,加利福尼亚州,美国)分析数据。经柯尔莫诺夫-斯米尔诺夫检验(Kolmogorov-Smirnov test)测试正常后,采用曼-惠特尼(Mann-Whitney)U检验对所有实验的数据集进行了两组比较,当有3组或更多组时,采用秩和检验(Kruskal-Wallis test)进行分析。P值小于0.05被认为统计学显著差异。所有测量值分别表示为平均值+-SEM。

[0500] 实施例1——S1R在各种体外、体内和人源样品中的表达

[0501] 荧光免疫组化证实S1R存在于各种模型中(参见“荧光免疫组化”一章)。在肌成纤维细胞中体外(1A),S1R被定位于整个细胞质,并主要富集在内质网中。体内样本S1R显示近端小管的核周染色模式,但它在细胞质(1B)中也可见。糖尿病大鼠的总肾的免疫组化(1C)显示S1R未在肾小球中表达。诊断患有尿路梗阻患者的肾活组织中(1D),S1R染色与 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ SMA)片状共定位表明S1R也在人类的肌成纤维细胞中表达。

[0502] 实施例2——S1R激动剂化合物(氟伏沙明、SA-4503、PRE-084)在肌成纤维细胞中无细胞毒性。

[0503] 选择性S1R激动剂(氟伏沙明(图2A),SA-4503(图2B)或PRE-084(图2C))没有抑制NRK49F细胞的细胞活力,这证实了所述S1R化合物通常使用的剂量(1-10 $\mu$ M)的应用浓度对肌成纤维细胞是没有细胞毒性的,因此它们可以在体外研究进行给药(参见“肌成纤维细胞的体外实验-MTT法”)。

[0504] 实施例3——S1R激动剂化合物(氟伏沙明、SA-4503、PRE-084)减小了PDGF诱发的细胞增生

[0505] PDGF处理肌成纤维细胞24小时的结果是相比对照可显著增加细胞增生(图3;参见“肌成纤维细胞的实验体外-MTT法”)。用不同浓度的所述S1R激动剂(氟伏沙明(图3A)、SA-4503(图3B)或PRE-084(图3C))预处理可显著降低PDGF诱发的肌成纤维细胞增生。与S1R拮抗剂NE-100(3 $\mu$ M)共培养暂缓了氟伏沙明(10 $\mu$ M)的效果表明抗增生效果是S1R介导的。

[0506] 实施例4——S1R激动剂化合物氟伏沙明以时间依赖性的方式最小化TGF $\beta$ 诱发的肌成纤维细胞的胶原-1和胶原-3的生成

[0507] 用50nM TGF $\beta$ 处理NRK49F肌成纤维细胞以诱发胶原蛋白的生成。(图4;所用的模型见“-肌成纤维细胞体外实验-RT-PCR”一章中所描述的)。处理48小时后,ECM成分胶原-1(图4A)和胶原-3(图4B)的生成显著。早在24小时前,相比TGF $\beta$ 处理的细胞,氟伏沙明处理已经明显减少了所述胶原的mRNA表达。到48小时,氟伏沙明处理的细胞的胶原生成恢复到正常控制水平。

[0508] 实施例5——Sigma-1受体(S1R)激动剂化合物(氟伏沙明、SA-4503、PRE-084)抑制了TGF $\beta$ 诱发的细胞外基质(ECM)的生成

[0509] 相比对照,TGF $\beta$ 诱发24小时导致NRK49F肌成纤维细胞的ECM生成显著(图5,所用的模型在“肌成纤维细胞体外实验-天狼星红染色”一章中描述)。所述S1R激动剂化合物(氟伏沙明(图5A)、SA-4503(图5B)或PRE-084(图5C))的所有的应用浓度(即使是最小1M)均显著抑制TGF $\beta$ 诱发ECM生成。

[0510] 实施例6——S1R激动剂氟伏沙明改善糖尿病诱发的肾功能损害

[0511] 测量对照、糖尿病和处理的糖尿病组大鼠的肾功能参数(表2-3)。所使用的模型在“链脲佐菌素糖尿病肾病大鼠模型”一章中描述。糖尿病诱发了伴有血肌酐和尿素氮值升高的严重肾功能损害。分数钠排泄(FENA)增加,蛋白尿显著存在,以及肾小球滤过率(GFR)降低,这都指示糖尿病肾病的进展。氟伏沙明处理,特别是长期(7周)处理显著改善肾功能,防止GFR下降。这些有利的影响由于特异性S1R拮抗剂NE-100的联合给药而减少(表3),这证实了对于除S1R以外的其它受体的任何非特异性效应可能被排除。这些数据证明,S1R激动剂是肾脏保护,并且这些处理改善了肾功能的那些金标准标记物,这些金标准标记物可用于人类临床常规肾衰竭的评估。

[0512] 表2.对照、糖尿病和S1R激动剂氟伏沙明处理的糖尿病大鼠肾参数

[0513]

	<b>对照</b>	<b>糖尿病(D)</b>	<b>D7FLU</b>	<b>D+FLU</b>	<b>D+FLU2</b>
<b>血糖(mmol/L)</b>	17.3±0.95	46.6±2.85*	50.31±3.7	36.6±2.62§	26.45±3.11§
<b>果糖胺(μmol/L)</b>	152±11.0	254±8.52*	276±11.2§	252±18.5	242±12.8
<b>血尿素氮(mmol/L)</b>	7.06±0.19	26.6±2.42*	17.3±1.49§	17.3±2.30§	18.8±1.68§
<b>血肌酐(μmol/L)</b>	22.0±0.93	42.0±2.39*	27.0±2.24§	34.5±2.74§	31.8±2.94§
<b>肾小球滤过率 GFR(mL/min/100g)</b>	12.8±0.57	3.15±0.20*	6.77±1.15§	3.73±0.49	4.73±0.69
<b>滤过钠排泄分数 FeNa(%)</b>	0.22±0.02	3.12±0.75*	0.40±0.03§	0.90±0.23§	0.62±0.12§
<b>尿白蛋白排泄(mg/mL)</b>	3.25±2.39	42.5±6.38*	20.8±9.51§	21.5±4.99§	24.3±5.77

[0514] 表2显示了链脲霉素(65mg/bwkg iv)诱发的1型糖尿病大鼠的肾功能参数,1型糖尿病大鼠通过每次口服(D):载体(等渗盐水);(D7FLU):氟伏沙明(20mg/bwkg/天)连续7周或(D+FLU):氟伏沙明(20mg/bwkg/天)从糖尿病患病第5周起连续2周,(D+FLU2):氟伏沙明(2mg/bwkg/天)从糖尿病患病第5周起连续2周处理。GFR-肾小球滤过率,FENA:分数钠排泄.\*P≤0.05vs.对照;§P≤0.05vs.糖尿病(n=8-10组,平均值±SEM)。

[0515] 表3.仅用S1R激动剂氟伏沙明处理的糖尿病大鼠或者用S1R激动剂氟伏沙明+拮抗剂NE-100处理的糖尿病大鼠的肾参数

[0516]

	<b>糖尿病(D)</b>	<b>D+FLU</b>	<b>D+FLU</b>	<b>D+FLU2</b>	<b>D+FLU2</b>
			+NE-100	+NE-100	+NE-100
<b>血糖(mmol/L)</b>	46.6±2.85	36.6±2.62§	48.5±2.40§	26.45±3.11§	40.8±3.00#
<b>果糖胺(μmol/L)</b>	254±8.52	252±18.5	267±7.66	242±12.8	264±11.1
<b>血尿素氮(mmol/L)</b>	26.6±2.42	17.3±2.30§	24.3±2.27§	18.8±1.68§	22.3±1.43
<b>血肌酐(μmol/L)</b>	42.0±2.39	34.5±2.74§	37.0±4.39	31.8±2.94§	40.0±3.72
<b>肾小球滤过率 GFR(mL/min/100g)</b>	3.15±0.20	3.73±0.49	3.25±0.25	4.73±0.69	4.06±0.58
<b>滤过钠排泄分数 FeNa(%)</b>	3.12±0.75	0.90±0.23§	1.33±0.39	0.62±0.12§	0.96±0.12
<b>尿白蛋白排泄(mg/mL)</b>	42.5±6.38	21.5±4.99§	73.3±15.8§	24.3±5.77	42.8±7.92#

[0517] 表3显示了链脲霉素(65mg/bwkg iv)诱发的1型糖尿病大鼠的肾功能参数,1型糖尿病大鼠通过每次口服(D):载体(等渗盐水);(D+FLU):氟伏沙明(20mg/bwkg/天)从糖尿病

患病第5周起连续2周或(D+FLU2)：氟伏沙明(2mg/bwkg/天)从糖尿病患病第5周起连续2周处理。其它组处理通过每次口服S1R的特异性拮抗剂NE-100；(D)+(FLU+NE-100)：氟伏沙明+NE-100(20mg/bwkg/天+1mg/bwkg/天)连续两周或(D+FLU2+NE-100)：氟伏沙明+NE-100(2mg/bwkg/天+1mg/bwkg/天)从糖尿病患病第5周起连续2周处理。GFR-肾小球滤过率，FENA：分数钠排泄。 $\$P \leq 0.05$  vs. 糖尿病； $\#P \leq 0.05$  vs. D+FLU； $\#P \leq 0.05$  vs. D+FLU2；(N=8-10组，平均值±SEM)。

[0518] 实施例7——Sigma-1受体(S1R)激动剂化合物氟伏沙明减少了糖尿病诱发的肾间质纤维化

[0519] 所用的大鼠模型与实施例6相同。为了评价糖尿病肾病的纤维化病变，使用马松试剂对石蜡包埋的大鼠肾脏组织切片进行染色。糖尿病诱发的间质纤维化的进展(图6A/2)由浅蓝色或浅灰色区域进行标示。氟伏沙明处理改善了糖尿病诱发的间质纤维化(图6A/3, 4和6A/6)。特别是长期(7周)处理几乎恢复了正常的肾结构(图6A/3)。S1R特异性拮抗剂NE-100的联用抑制了用20mg氟伏沙明处理的大鼠中的氟伏沙明的保护作用(图6A/5)。结果总结于图6B的直方图中。

[0520] 实施例8——Sigma-1受体(S1R)激动剂化合物氟伏沙明化合物处理降低了糖尿病大鼠肾脏中的糖尿病诱发的系膜基质扩张

[0521] 所用的大鼠模型与实施例6相同。使用PAS对石蜡包埋的大鼠肾脏组织切片进行染色。PAS阳性(暗紫色或暗灰色)区域的增加表明相比于对照，糖尿病动物有显著更明显的系膜基质扩张(图7A/2)。同样地，对于间质纤维化，系膜基质扩张的程度被所有剂量的氟伏沙明显著减少(图7A/3, 4和图7A/6)。长期(7周)处理可以最有效地预防肾组织的损伤(图7A/3)。S1R特异性拮抗剂NE-100的联用抑制了氟伏沙明的肾脏保护(图7A/5和图7A/7)，表明该效果是由S1R直接介导的。结果总结于图7B的直方图中。

[0522] 实施例9——Sigma-1受体(S1R)激动剂化合物氟伏沙明降低了糖尿病大鼠肾脏中糖尿病诱发的纤连蛋白的积聚

[0523] 糖尿病大鼠中的肝纤维化的进展(参见“菌素大鼠模型(STZ)诱发的糖尿病肾病”一章)由纤连蛋白染色证实(图8)。氟伏沙明处理的大鼠的纤维化病变(棕色区或暗-中等灰色区域)(图8A/3)小于糖尿病大鼠中的(图8A/2)，再次证明了S1R拮抗剂NE-100暂缓此有益效果(图8A/4)。结果总结于图8B的直方图中。

[0524] 实例10——Sigma-1受体(S1R)激动剂化合物氟伏沙明降低了糖尿病大鼠肾脏中糖尿病诱发的细胞外基质(ECM)的生成

[0525] 所用的大鼠模型同实施例6相同。用天狼星红染色测定了肾脏组织切片中的ECM成分(图9)。糖尿病诱发的ECM过度积聚(如图9A/2所示)在经过7周氟伏沙明的长期处理后显著降低(图9A/3)。

[0526] 实例11——Sigma-1受体(S1R)激动剂化合物氟伏沙明处理降低了糖尿病大鼠肾脏中的糖尿病诱发的α平滑肌肌动蛋白(αSMA)水平

[0527] 糖尿病诱发的增生和肾脏肌成纤维细胞的ECM生成可以通过测定肌成纤维细胞的典型标志物——αSMA的蛋白质水平定进行研究。如图10所见，与对照相比，糖尿病大鼠的αSMA增加300%。氟伏沙明处理(显著剂量为20毫克)减少了一半的αSMA蛋白水平。通过S1R特异性拮抗剂NE-100的联用暂缓氟伏沙明的有益效果。

[0528] 实例12——Sigma-1受体(S1R)激动剂化合物氟伏沙明处理减少了单侧输尿管梗阻(UUO)肾脏的间质纤维化

[0529] 为了确认其它类型的渐进纤维化模型中的抗纤维增生作用,氟伏沙明被给药于患有单侧输尿管梗阻(UUO)小鼠,其是纤维化动物模型的金标准的(图11)。所使用的模型在“单侧输尿管梗阻(UUO)致肾间质纤维化小鼠模型”一章中有介绍。输尿管梗阻可诱发严重的间质纤维化,而氟伏沙明处理可以将间质纤维化程度降低(图11A/2-3)。与糖尿病大鼠相类似,用特异S1R拮抗剂NE-100处理的小鼠,氟伏沙明的有益效果被暂缓(图11A/4)。结果总结于图11B直方图上。

[0530] 实例13——Sigma-1受体(S1R)激动剂化合物氟伏沙明处理减少了单侧输尿管梗阻(UUO)后肾脏中的 $\alpha$ 平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ SMA)生成

[0531] 所使用的小鼠模型与实施例12相同。UUO诱发后一周,UUO小鼠中的 $\alpha$ SMA的蛋白数量比对照组高六倍(图12)。氟伏沙明处理一周后,小鼠中的UUO诱发的 $\alpha$ SMA生成成功地减少了,这表明氟伏沙明处理即使在长期也有显著的抗纤维增生效果。

[0532] 实施例14——Sigma-1受体(S1R)激动剂化合物氟伏沙明处理改善了由博莱霉素诱发的肺纤维化的大鼠模型中的肺间质纤维化

[0533] 为了证明氟伏沙明在其它器官中的有益抗纤维增殖作用,在“博莱霉素诱发的肺纤维化的大鼠模型”一章中描述的博莱霉素诱发的肺纤维化的大鼠模型中的渐进性纤维化中对氟伏沙明进行了检测(图13)。与对照相比,肺的纤维化病变(图13A/2中由淡蓝色或连续介质灰色区域标示的)在博莱霉素处理后显著上升;氟伏沙明几乎完全阻止博莱霉素的纤维化作用(图13A/3)。S1R拮抗剂NE-100暂缓氟伏沙明的效果(图13A/4)。结果总结于图13B直方图上。

[0534] 实施例15——Sigma-1受体(S1R)激动剂化合物氟伏沙明处理减少了由博莱霉素诱发的肺纤维化的大鼠模型中的 $\alpha$ SMA生成

[0535] 所用的大鼠模型与实施例14相同。鞘内注射博莱霉素三个星期后,与对照相比,肺中的 $\alpha$ SMA蛋白水平显著增加(图14)。氟伏沙明处理成功地将博莱霉素诱发的 $\alpha$ SMA生成降低到接近对照水平。与先前的结果:S1R拮抗剂NE-100暂缓氟伏沙明的有益效果相类似,强调了氟伏沙明在其它器官如肺中的S1R介导的抗增生作用。

[0536] 参考文献

- [0537] Armendariz-Borunda J et al.Gut 55 (11),1663-1665 (2006)
- [0538] Azuma A.Expert Review of Respiratory Medicine 4 (3),301-310 (2010)
- [0539] Berardi F et al.Bioorg.Med.Chem.9 (5),1325-35 (2001)
- [0540] Díez J,Circ J.72,A:A8-12 (2008)
- [0541] Farris AB,United States and Canadian Academy of Pathology Annual Meeting (2012) Griesmaier E et al.Experimental Neurology 237 (2),388-395 (2012)
- [0542] Hanner M et al.Proc Natl Acad Sci U S A.93 (15).8072-8077 (1996)
- [0543] Hill S J,Thesis (2012)
- [0544] Hinz B.Curr,Reumatol Reports (2009)
- [0545] Hinz B et al.F1000Biol Rep.,2:78 (2010)
- [0546] Hutchinson et al.BBA1832,962-971 (2013)

- [0547] Ishikawa M et al. Journal of Receptor, Ligand and Channel Research 3, 25-3 (2010)
- [0548] Janna K et al. Nature Rev Mol Cell Biol 15, 771-785 (2014)
- [0549] Karihaloo A. Curr Diab Rep. 12 (4), 414-22 (2012)
- [0550] Klingberg F et al. J Pathol. 229 (2), 298-309 (2013)
- [0551] Lee WJ et al. Br J Dermatol. 165 (3), 673-7 (2011)
- [0552] Lee, Wen-Cherng et al. WO 03/087304A2
- [0553] Lekkerkerker S et al. Curr Pharm Des. 18 (27), 4093-102 (2012)
- [0554] M E Cho et al. Expert Opin Investig Drugs. 19 (2), 275-283 (2010)
- [0555] Maksumova L. and Unwin D.H WO 2010/048716
- [0556] Okuyama S et al. CNS Drug Rev. 2 (2), 226-237 (1999)
- [0557] Paz Z et al. Clin Rev Allergy Immunol. 38 (2-3), 276-286 (2010)
- [0558] Paz Z et al. Rev Allerg Immunol 38, 276-286 (2010)
- [0559] Pellicoro et al. Nature Reviews Immunology 14, 181-194 (2014)
- [0560] Raghu et al. Am J Respir Crit Care Med 183, 788-824 (2011)
- [0561] Rieder et al. Curr Opin Gastroenterol. Jul; 24 (4), 462-8 (2008)
- [0562] Rong Xu et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry 23 (1), 222-230 (2015)
- [0563] Rossi D et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry 19 (21), 6210-6224 (2011)
- [0564] Schaefer CJ et al. Eur Respir Rev 20 (120), 85-97 (2011)
- [0565] See F. Heart Lung Circ. 22 (2), 122-132 (2013)
- [0566] Shimizu K. et al. EP 1548008
- [0567] Zuber K et al. JAAPA. 26 (10), 19-25 (2013)

## 序列表

<110> 匈牙利科学院大学及其他机构附属研究所

森梅威斯大学

<120> sigma-1 受体激动剂化合物的新用途

<130> P115835

<150> EP14462004

<151> 2014-02-07

<160> 6

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

[0001] <223> Rat collagen I forward primer

<400> 1

agtcagggg cgaaggcaac agtc

24

<210> 2

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Rat collagen I reverse primer

<400> 2

caggcgggag gtcttggt

18

<210> 3

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Rat collagen III forward primer

&lt;400&gt; 3

aggcggtgcg ggtgctgat

19

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Rat collagen III reverse primer

&lt;400&gt; 4

gggccagggg gaccaatagg a

21

[0002] &lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Rat GAPDH forward primer

&lt;400&gt; 5

gtcacggcat ggactgtg

18

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Rat GAPDH reverse primer

&lt;400&gt; 6

caccaccatg gagaaggctg

20

各种模型中的Sigma-1受体(S1R)表达: 体外肌成纤维细胞(1A); 体内近端小管(1B)以及糖尿病大鼠的全肾样本(1C)和诊断为梗阻性肾病患者的肾活检(1D)。S1R还与 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$  SMA)共定位(1D)

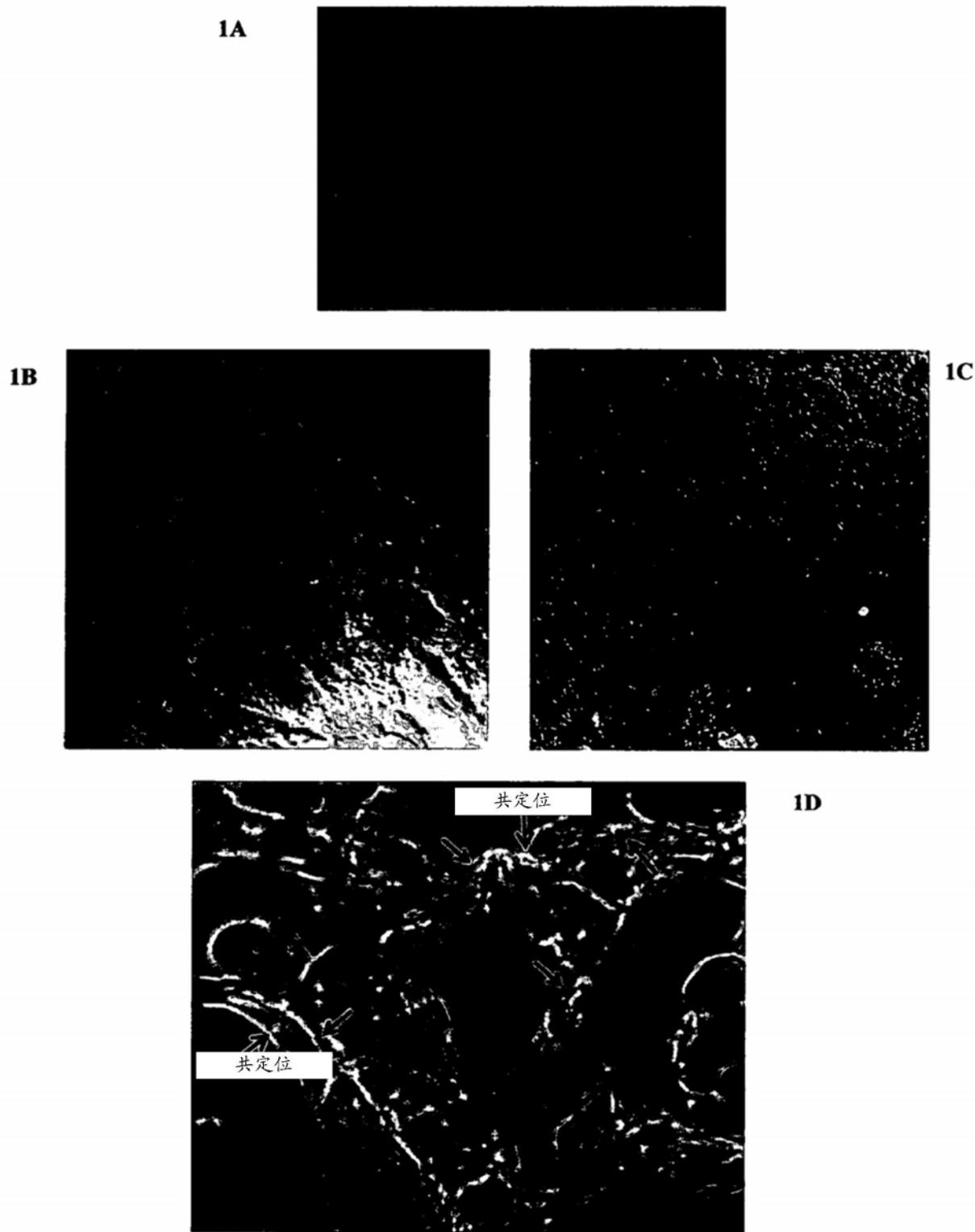
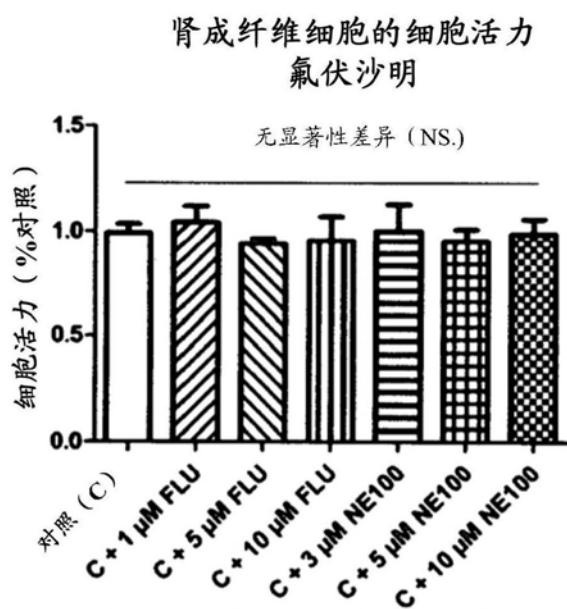
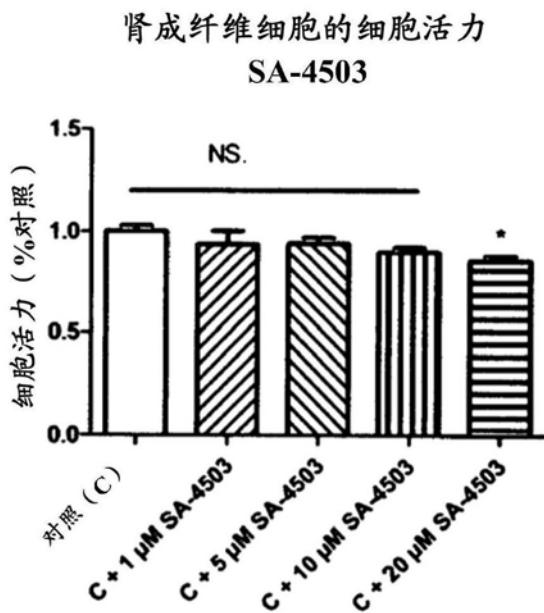


图1

**Sigma-1受体(S1R)化合物[氟伏沙明(2A)、NE-100(2A)、SA-4503(2B)、PRE-084(2C)]在肌成纤维细胞中无细胞毒性**

**2A****2B**

\*p&lt;0.05 vs. 对照

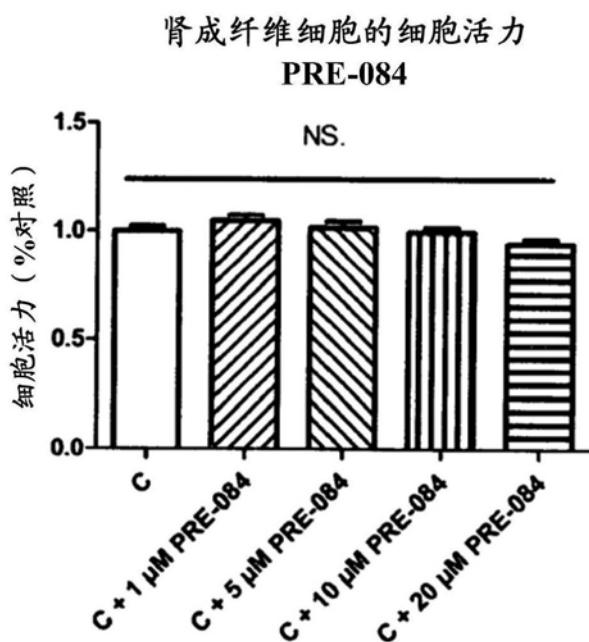
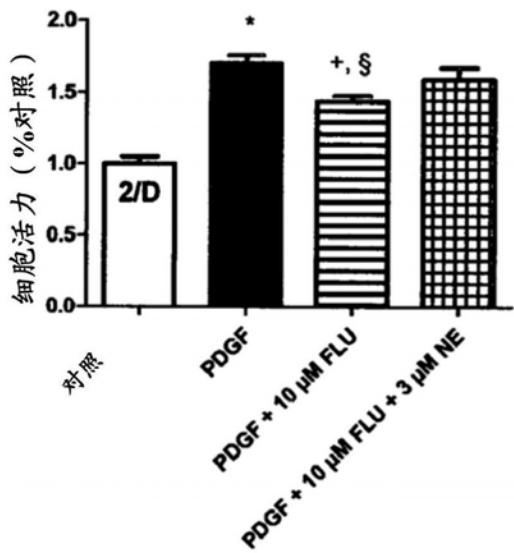
**2C**

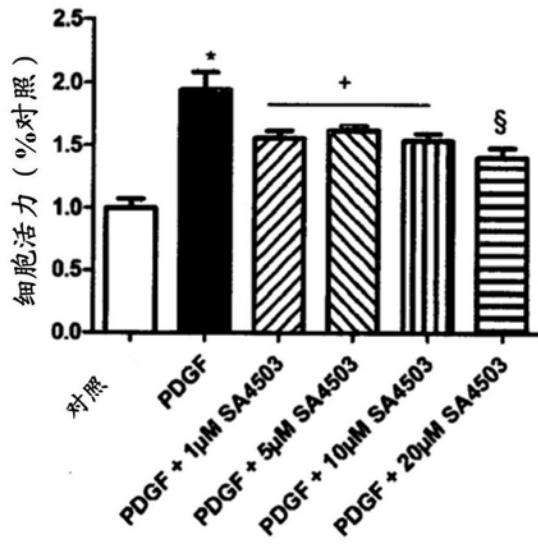
图2

S1R激动剂化合物[氟伏沙明(3/A)、SA-4503(3/B)、PRE-084(3C)]降低PDGF $\beta$ 诱发的肌成纤维细胞增生

**3A PDGF $\beta$ -诱发的成纤维细胞增生  
氟伏沙明**



**3B PDGF $\beta$ -诱发的成纤维细胞增生  
SA-4503**



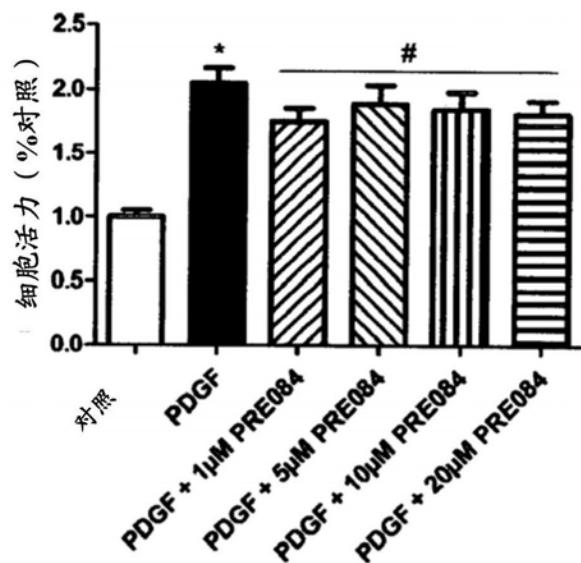
\*p<0.0001 vs. 对照; †p<0.05 vs. PDGF;

§p<0.0001 vs. PDGF

\*p<0.0001 vs. 对照; †p<0.0001 vs. C + PDGF;

§p<0.01 vs. PDGF + 10 μM FLU + NE100

**3C PDGF $\beta$ -诱发的成纤维细胞增生  
PRE-084**



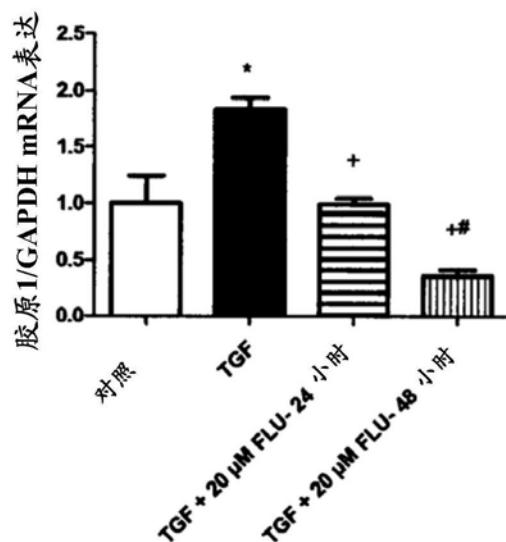
\*p<0.0001 vs. 对照; #p<0.005 vs. PDGF

图3

S1R激动剂化合物氟伏沙明最小化TGF $\beta$ -诱发的肌成纤维细胞的  
胶原1(4A)和胶原3(4B)的生成

**4A**

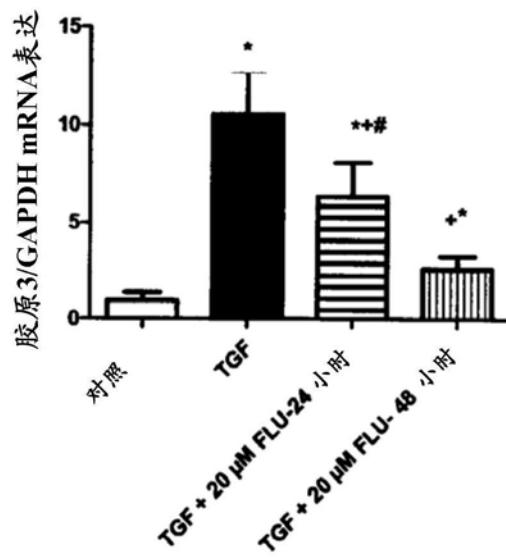
TGF $\beta$ 诱发的成纤维细胞的胶原-1 mRNA表达  
氟伏沙明



\*p<0.001 vs. 对照; +p<0.001 vs. TGF; #p<0.001 vs. 24 小时

**4B**

TGF $\beta$ 诱发的成纤维细胞的胶原-3 mRNA表达  
氟伏沙明



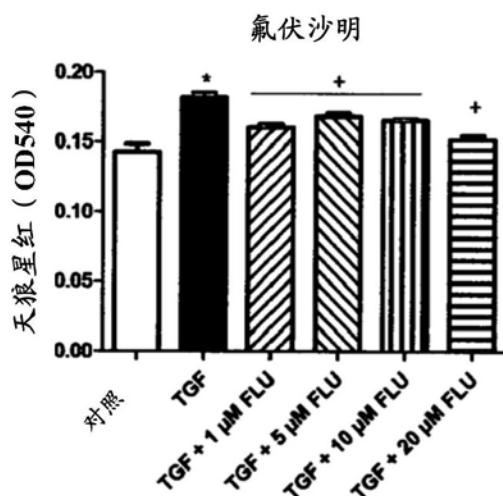
\*p<0.001 vs. 对照; +p<0.001 vs. TGF; #p<0.001 vs. 24 小时

图4

S1R激动剂化合物[氟伏沙明(5A)、SA-4503(5B)、PRE-084(5C)]抑制了  
TGF $\beta$ 诱发ECM生成

5A

TGF $\beta$ 诱发的成纤维细胞的ECM生成

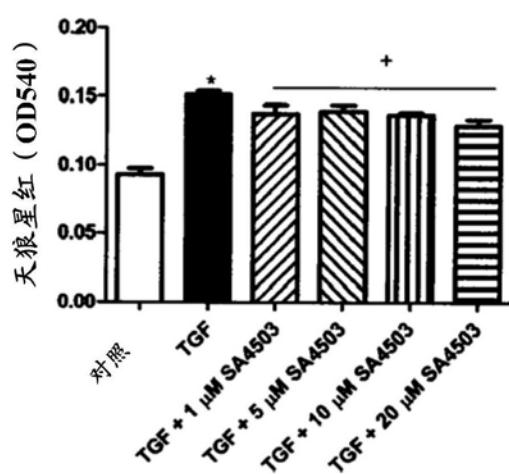


\*p<0.0001 vs. 对照; # p<0.05 vs. TGF; \*p<0.001 vs. TGF

5B

TGF $\beta$ 诱发的成纤维细胞的ECM生成

SA-4503

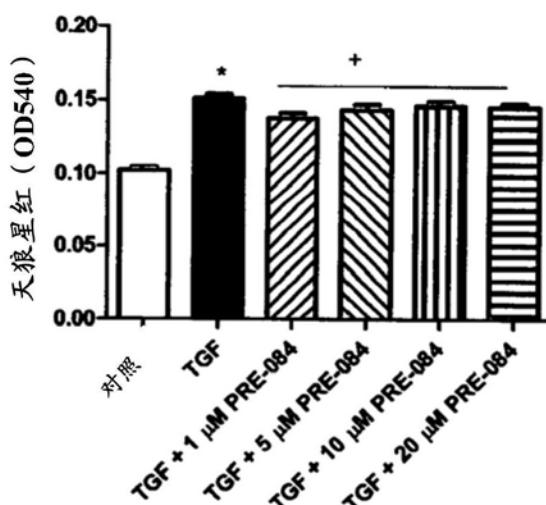


\*p<0.0001 vs. 对照; \*p<0.05 vs. TGF

5C

TGF $\beta$ 诱发的成纤维细胞的ECM生成

PRE-084



\*p<0.0001 vs. 对照; \*p<0.05 vs. TGF;

图5

S1R激动剂氟伏沙明处理降低了糖尿病大鼠的肾脏中糖尿病诱发的间质纤维化

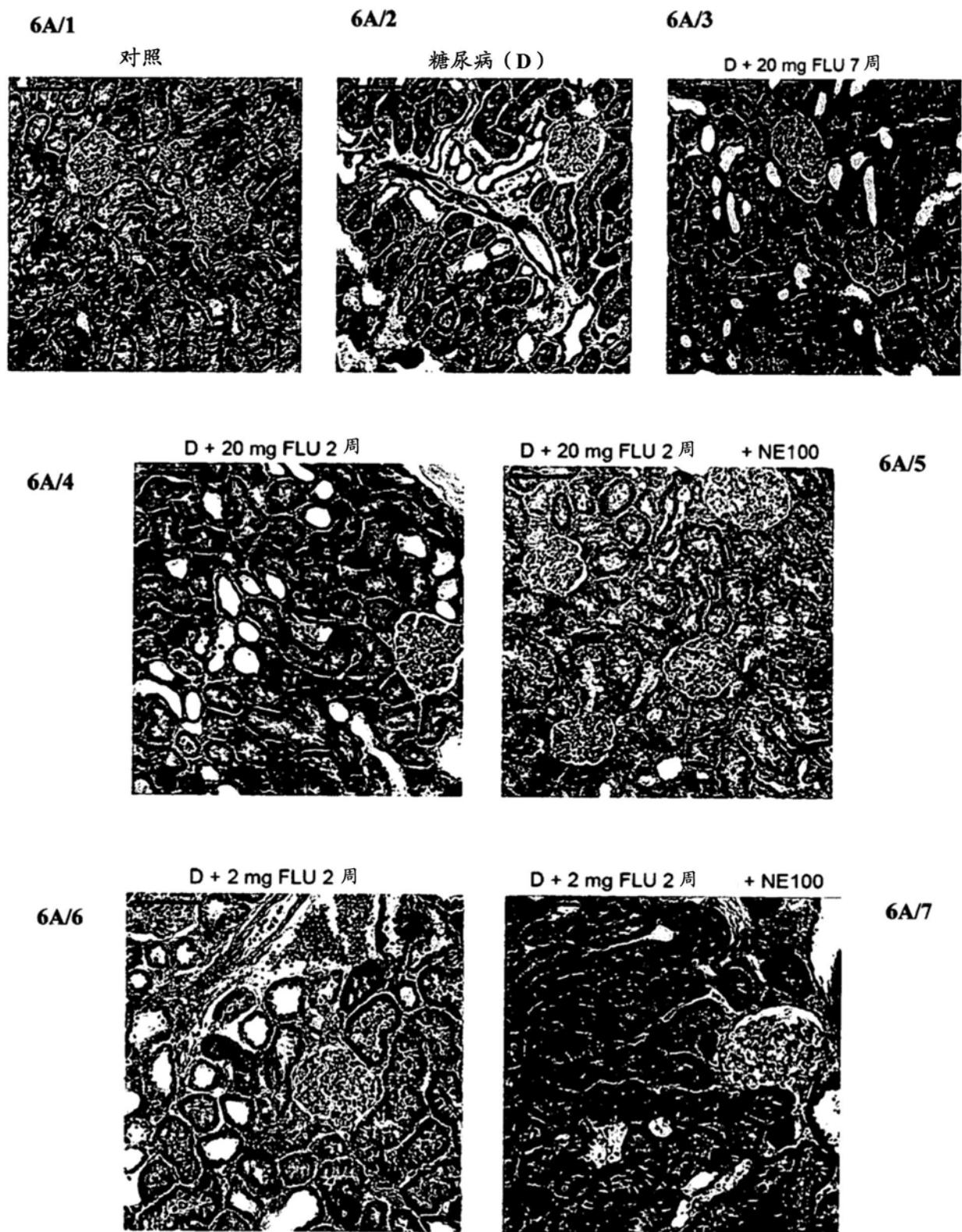
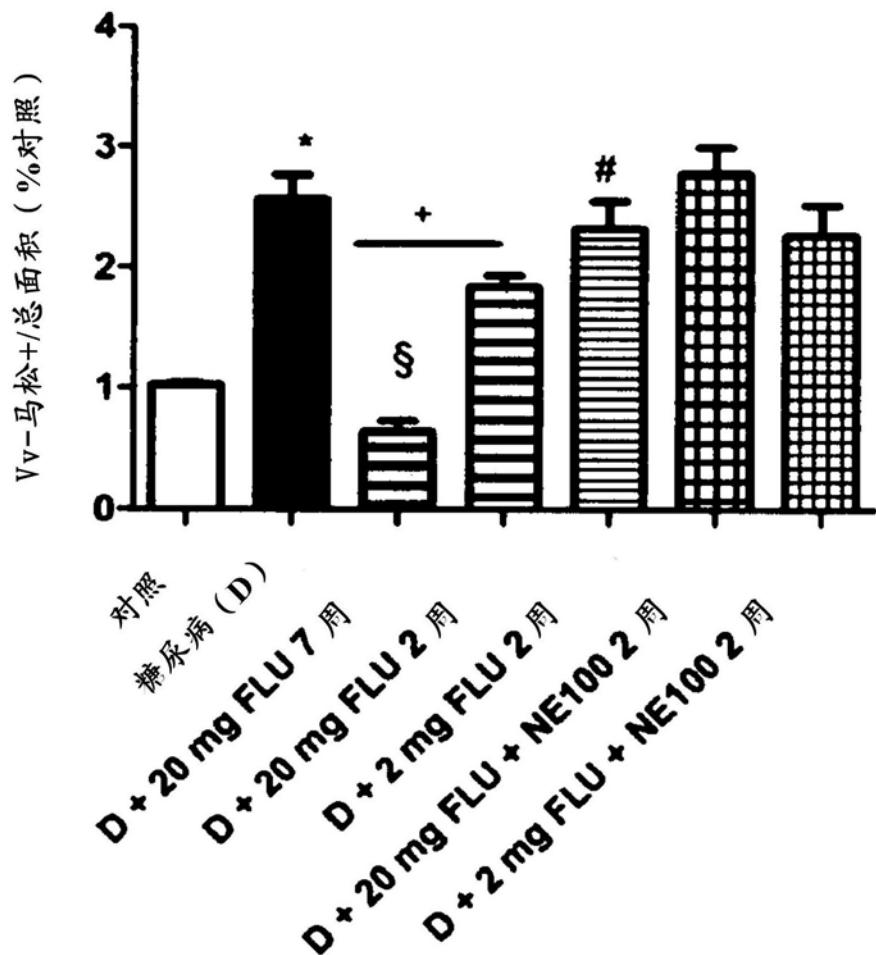


图6

## 糖尿病诱发的肾小管间质纤维化



\* $p<0.0001$  vs. 对照;      \* $p<0.001$  vs. 糖尿病;  
 \$ $p<0.0001$  vs. D + 20 mg FLU 2周;      D+2 mg FLU resp;  
 # $p<0.0001$  vs. D + 20 mg FLU 2周;

图6B

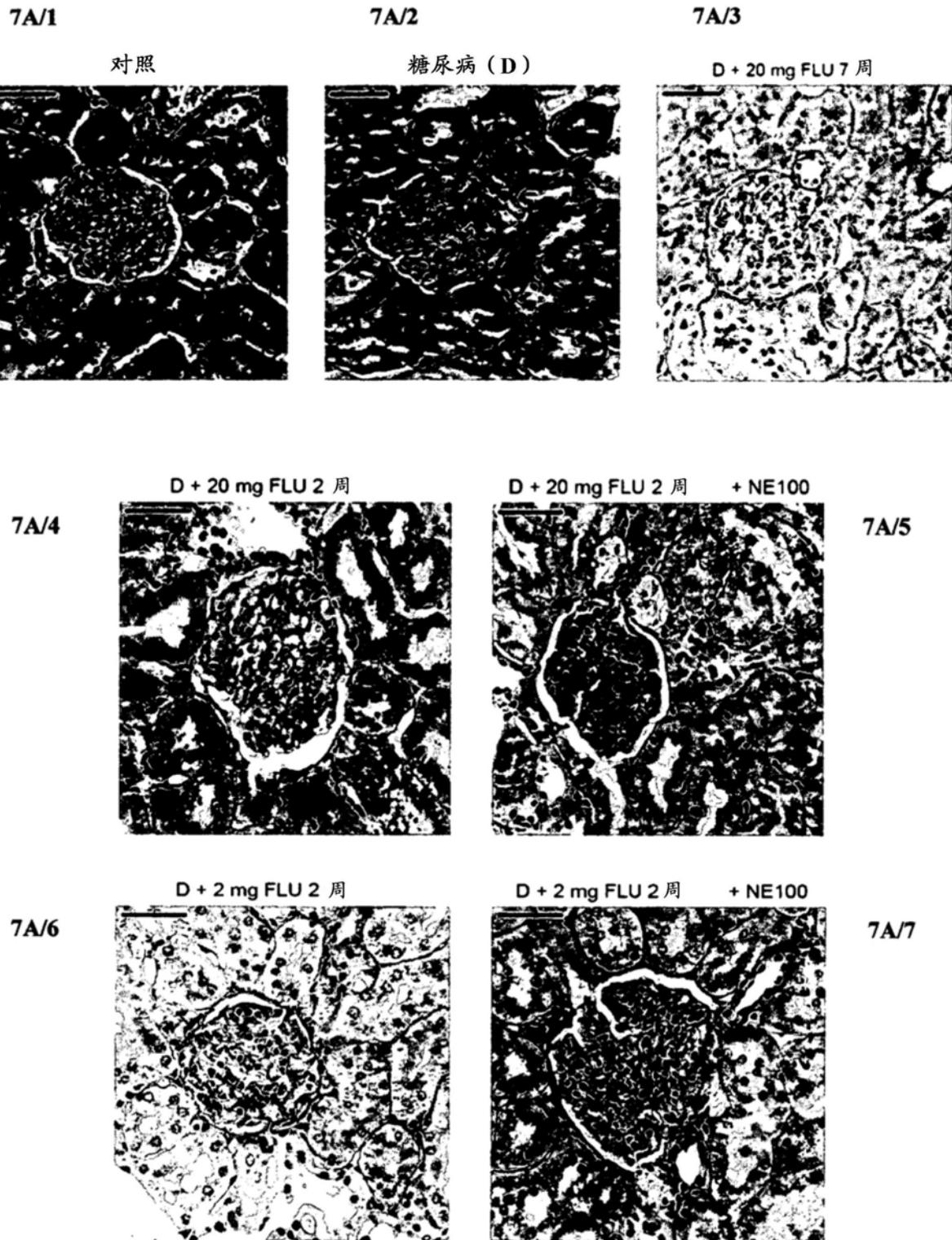
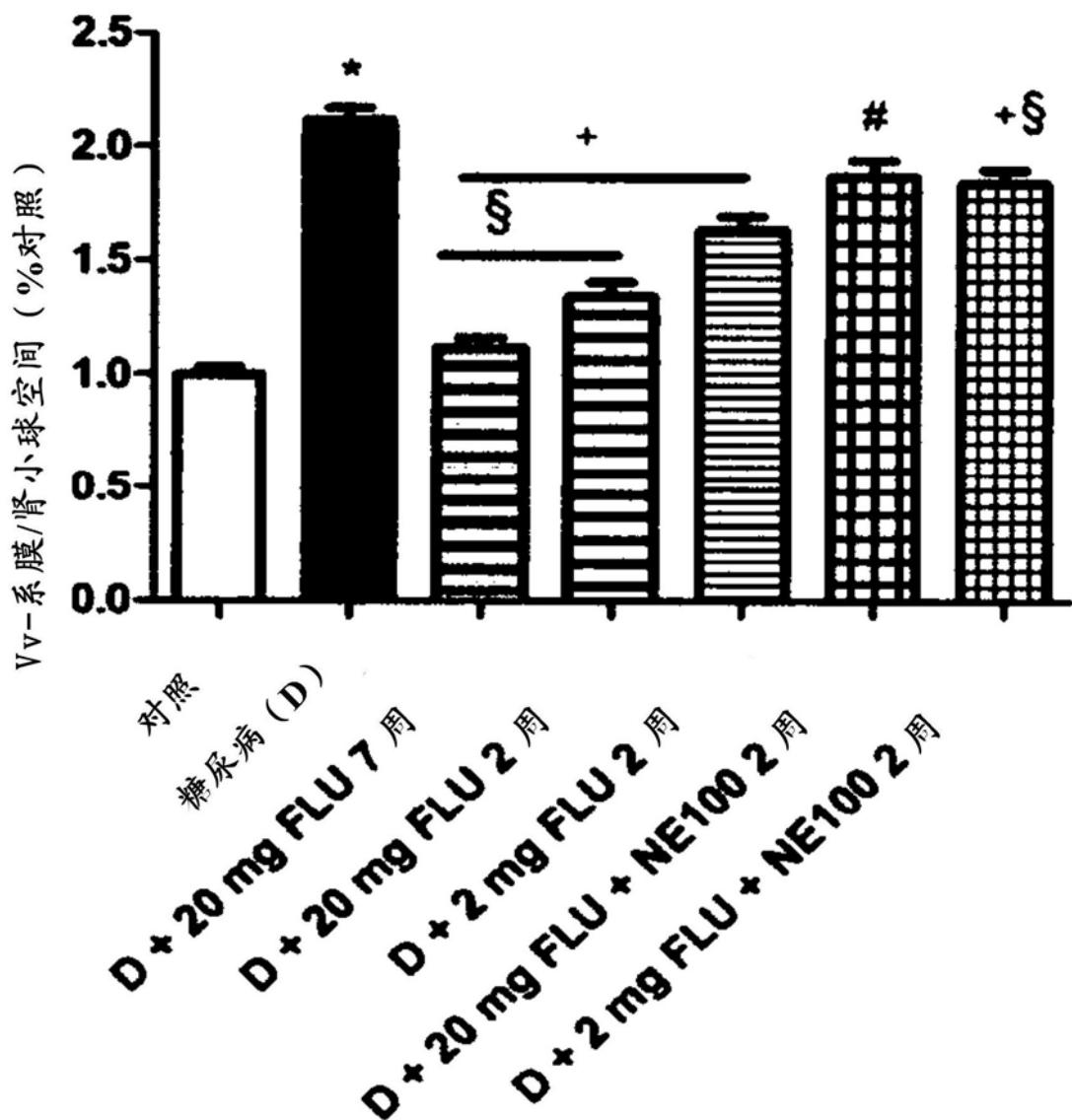
**S1R激动剂化合物氟伏沙明降低了糖尿病大鼠的肾脏中糖尿病诱发的系膜基质扩张**

图7

## 糖尿病诱发的系膜基质扩张



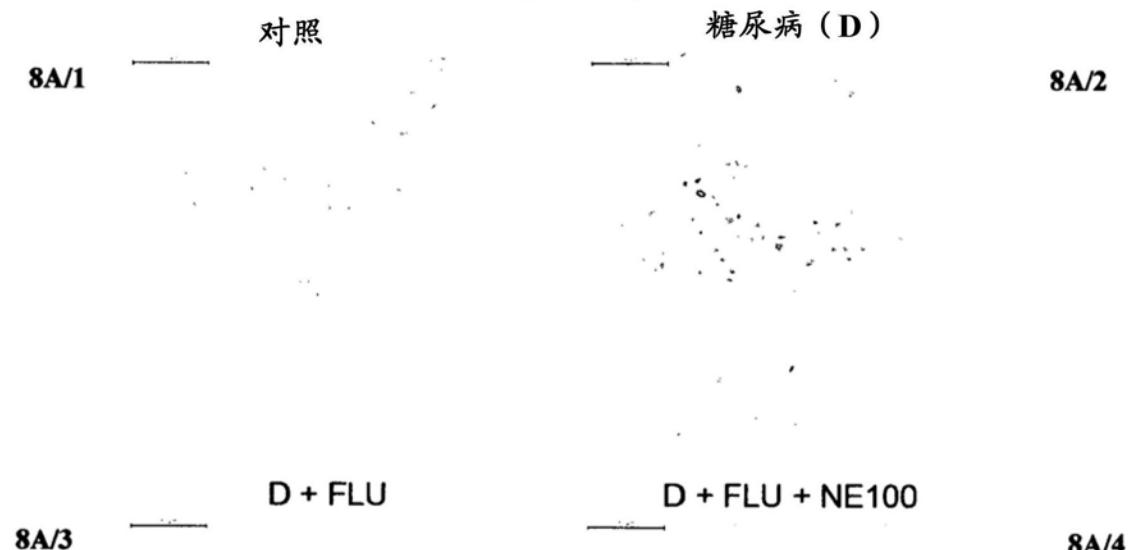
\*p<0.0001 vs. 对照;      +p<0.0001 vs. 糖尿病;

<sup>\\$</sup>p<0.0001 vs. D + 2 mg FLU 2 周;

<sup>#</sup>p<0.0001 vs. D + 20 mg FLU 2 周;

图7B

S1R激动剂化合物氟伏沙明处理降低了糖尿病大鼠的肾脏中糖尿病诱发的纤连蛋白积聚



D + FLU

D + FLU + NE100

8A/3

8A/4

糖尿病诱发的纤连蛋白积聚

8B

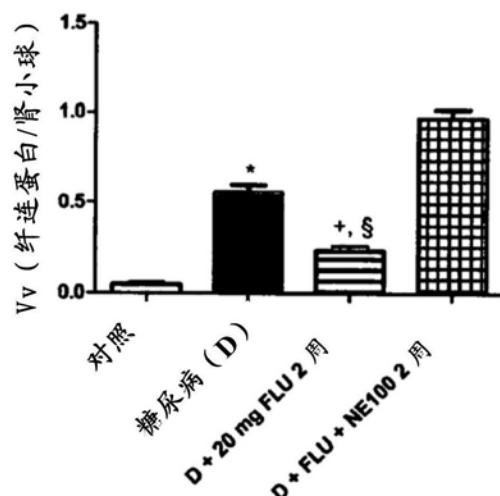
<sup>\*</sup>p<0.0001 vs. 对照;<sup>†</sup>p<0.0001 vs. D;<sup>‡</sup>p<0.0001 vs. D + FLU + NE100

图8

S1R激动剂化合物氟伏沙明处理降低了糖尿病大鼠的肾脏中糖尿病诱发的ECM生成

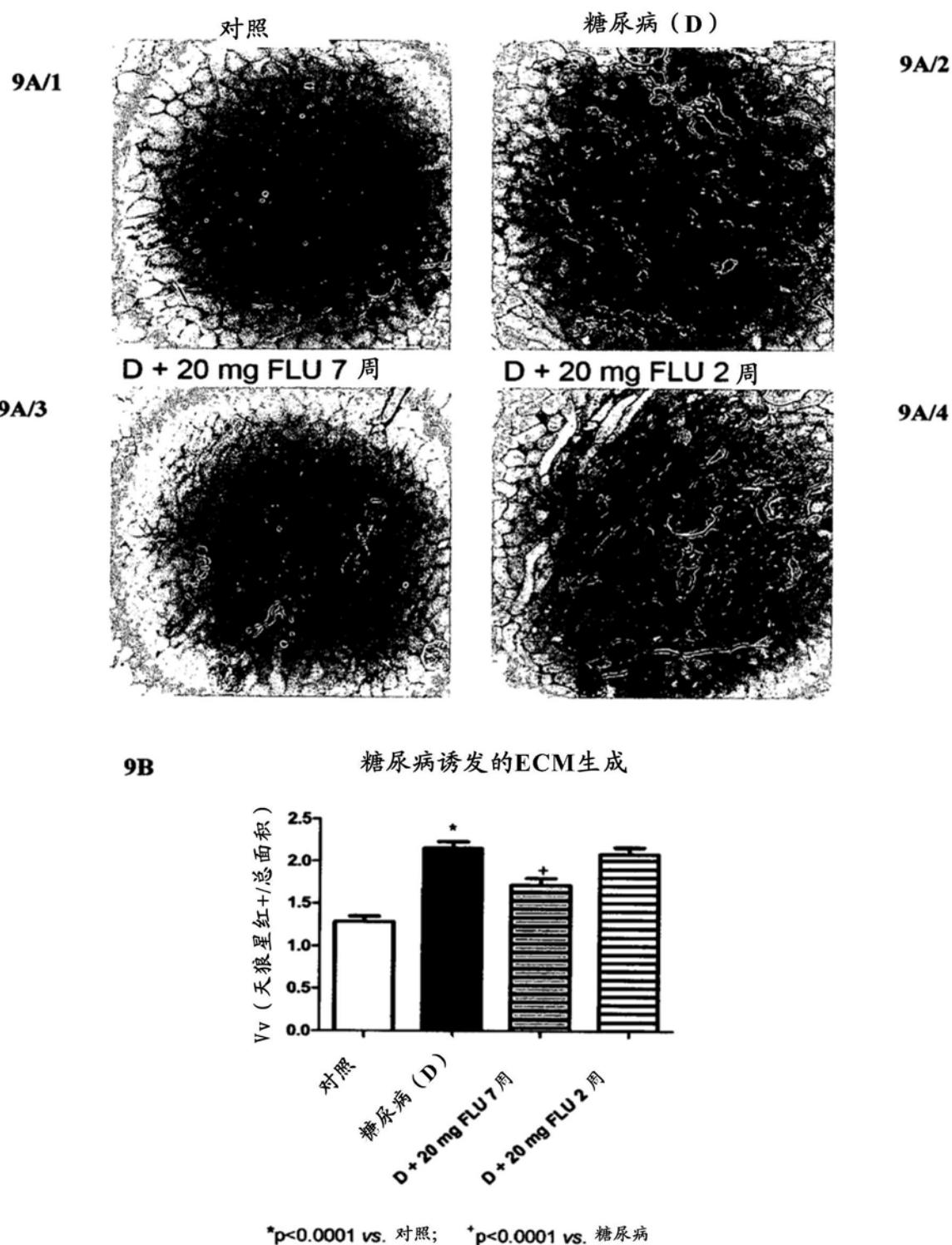


图9

**S1R激动剂化合物氟伏沙明处理降低了糖尿病大鼠的肾脏中糖尿病诱发的 $\alpha$  SMA蛋白水平**

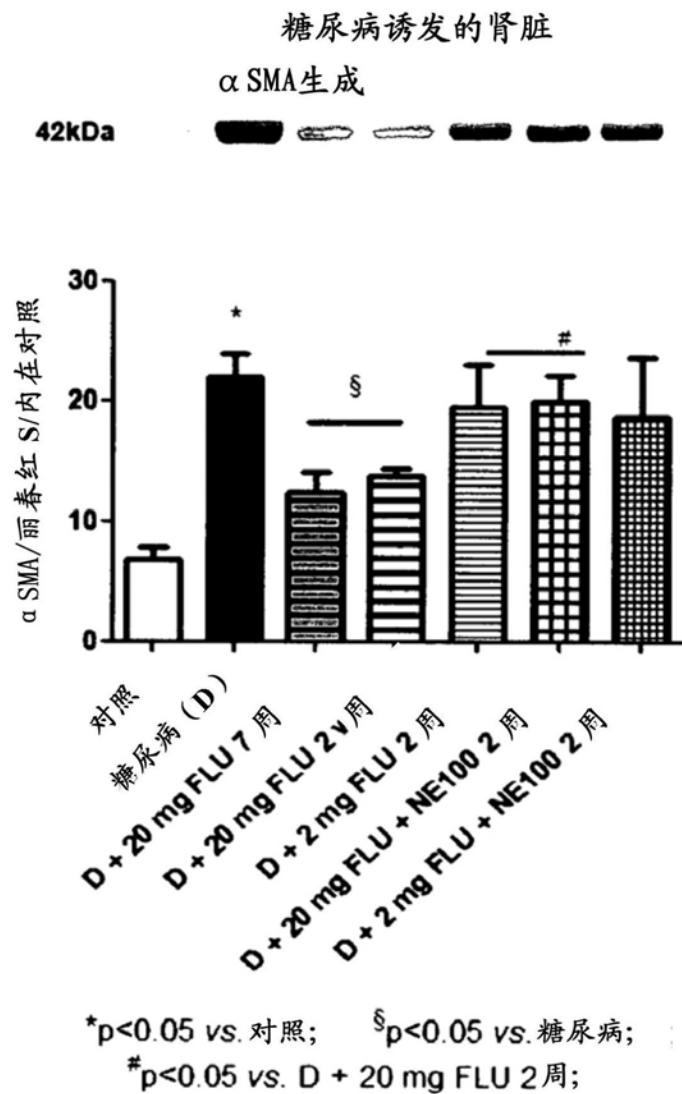
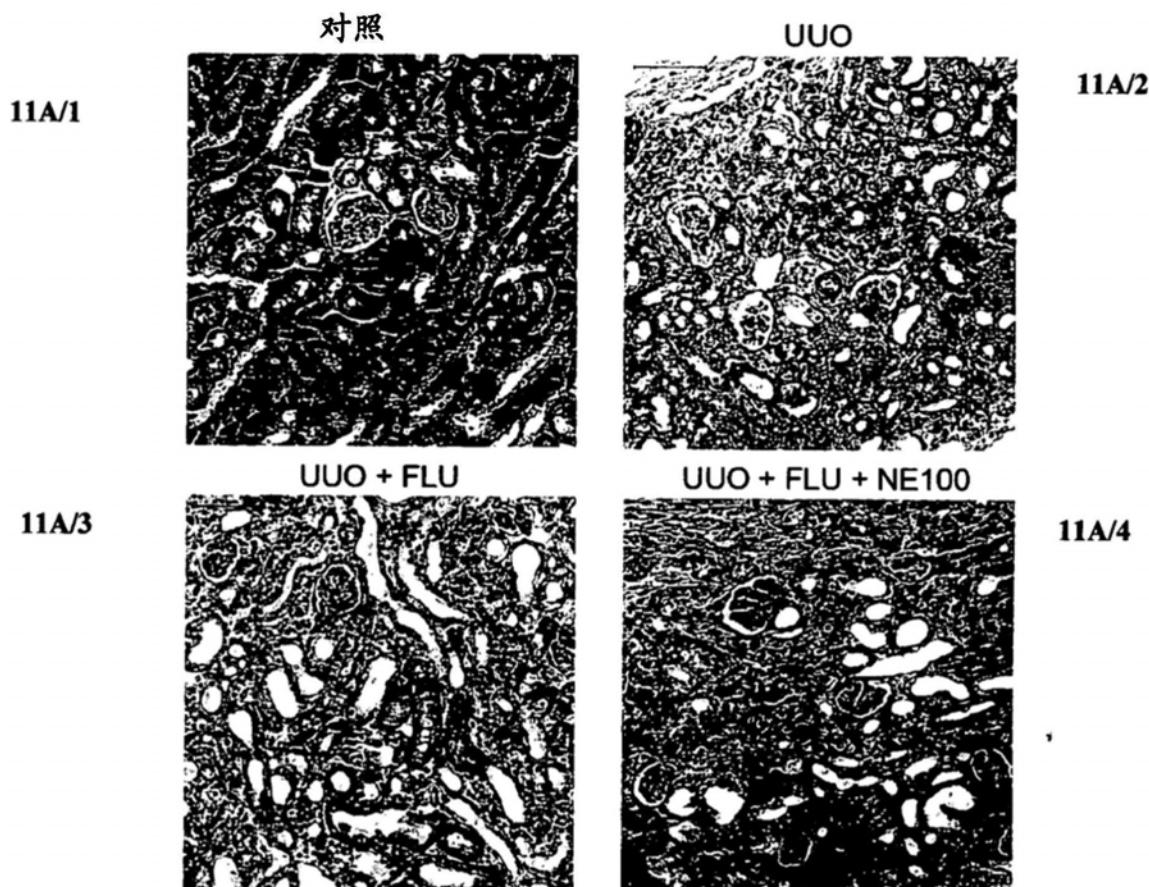
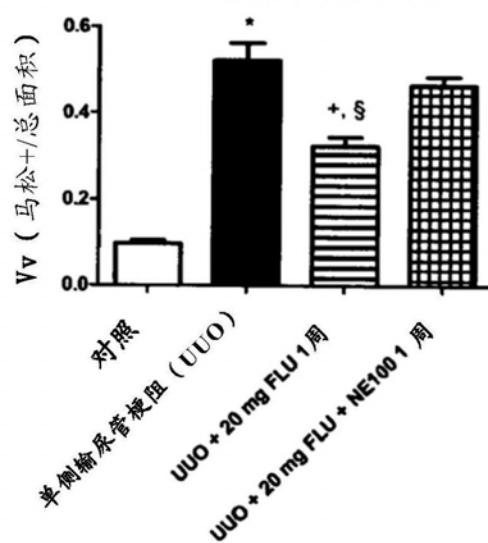


图10

**S1R激动剂化合物氟伏沙明处理减少了单侧输尿管梗阻(UUO)  
后肾脏中的间质纤维化**



11B                    UUO诱发的间质纤维化



\*p<0,0001 vs. 对照;   \*p<0,05 vs. B;   <sup>\$</sup>p<0,05 vs. B + FLU + NE100

图11

S1R激动剂化合物氟伏沙明处理减少了单侧输尿管梗阻(UUO)  
后肾脏中的 $\alpha$  SMA蛋白生成

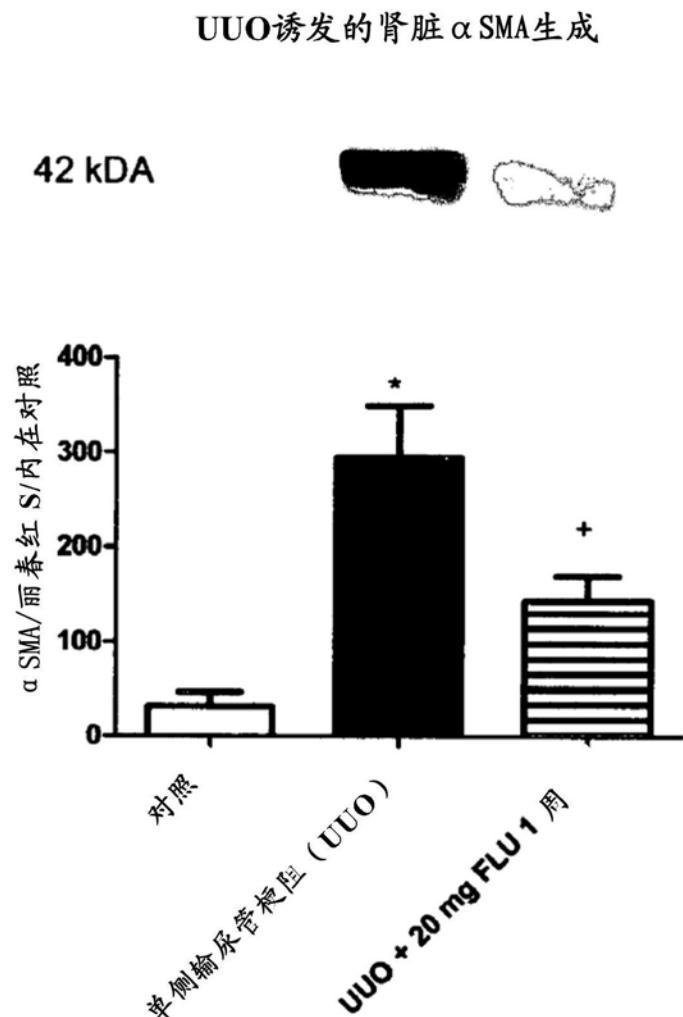


图12

S1R激动剂化合物伏沙明处理改善了由博莱霉素诱发的肺纤维化大鼠模型中的肺间质纤维化

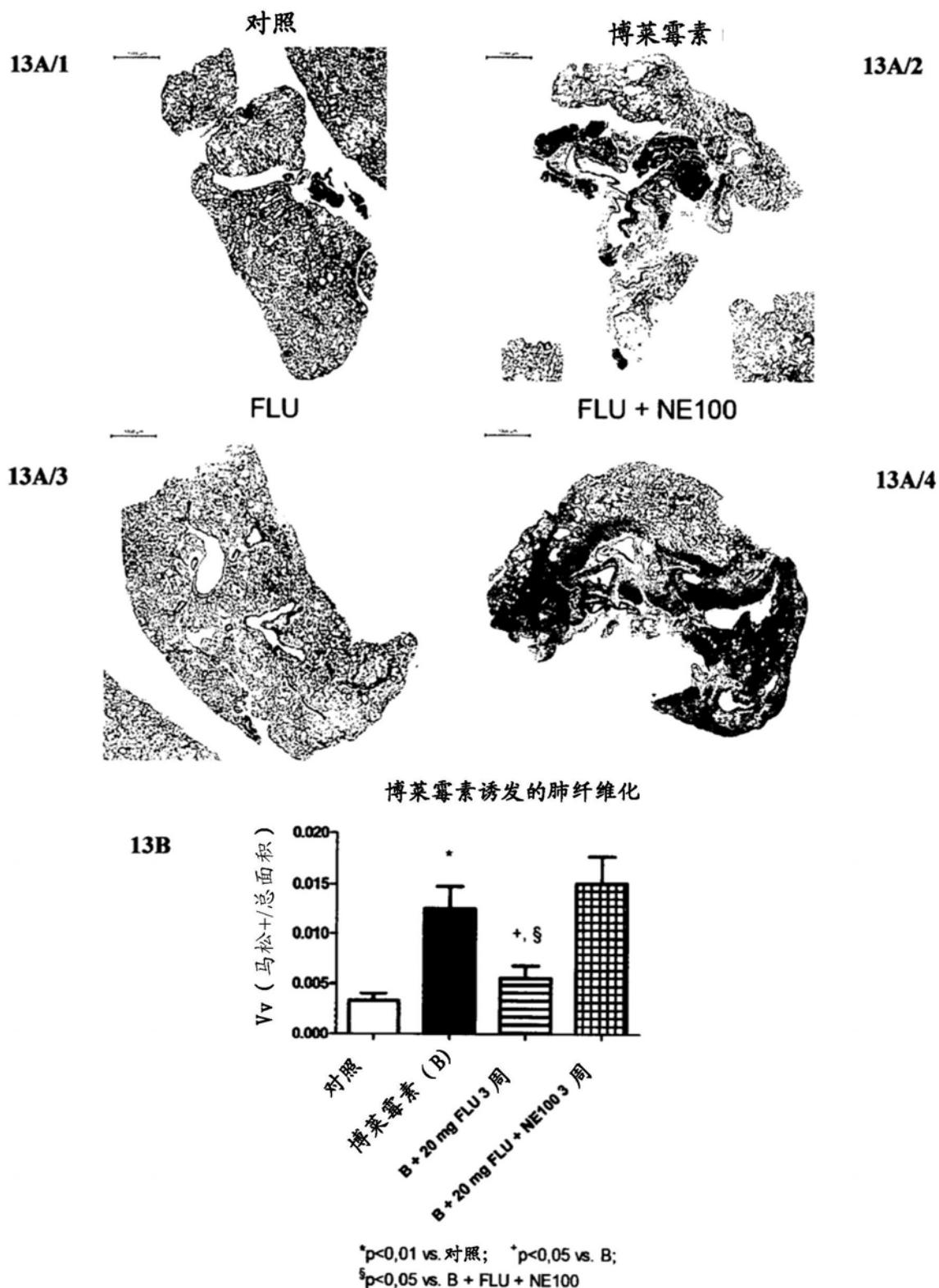


图13

**S1R激动剂化合物氟伏沙明处理减少了由博莱霉素诱发的肺纤维化大鼠模型中的 $\alpha$  SMA蛋白生成**

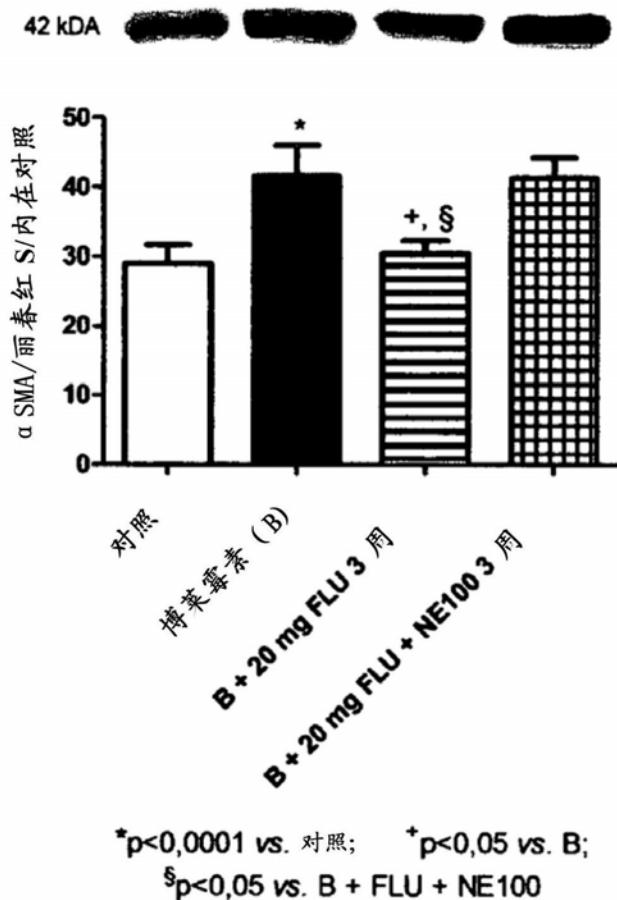


图14