



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113350352 B

(45) 授权公告日 2024.09.10

(21) 申请号 202110636730.0

(51) Int.CI.

(22) 申请日 2016.03.23

A61K 31/506 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61K 9/72 (2006.01)

申请公布号 CN 113350352 A

A61P 11/06 (2006.01)

(43) 申请公布日 2021.09.07

A61P 11/00 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61P 31/16 (2006.01)

2015901032 2015.03.23 AU

A61P 31/14 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

A61P 37/08 (2006.01)

201680026219.6 2016.03.23

A61K 31/58 (2006.01)

(73) 专利权人 天蓝生物科技私人有限公司

A61K 31/573 (2006.01)

地址 澳大利亚维多利亚

(56) 对比文件

US 2011166153 A1, 2011.07.07

(72) 发明人 阿拉斯泰尔·斯图尔特

US 2013115309 A1, 2013.05.09

克里斯汀·基南 特鲁迪·哈里斯

WO 2008071605 A2, 2008.06.19

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理

审查员 李鹏云

有限责任公司 11204

权利要求书2页 说明书38页 附图34页

专利代理人 王达佐 洪欣

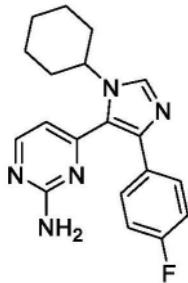
(54) 发明名称

呼吸性疾病的治疗

(57) 摘要

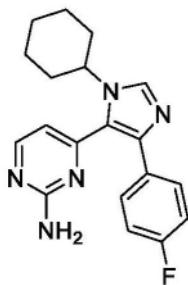
本发明涉及用于治疗呼吸性疾病的组合物、方法和试剂盒。特别地，所述组合物、方法和试剂盒具体用于，但不限于，治疗或预防哮喘和慢性阻塞性肺病的恶化。本发明提供了治疗或预防有需要的对象的呼吸性疾病的方法，所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂，从而治疗或预防所述对象的呼吸性疾病。本发明另外提供了治疗或预防有需要的对象的呼吸性疾病的方法，所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的ALK5的抑制剂，从而治疗或预防所述对象的呼吸性疾病，其中将所述抑制剂直接施用至气道和/或肺。本发明还提供了治疗或预防有需要的对象的涉及纤维化的气道或肺的病况的方法，所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂或ALK5的抑制剂，从而治疗或预防所述对象的涉及纤维化的气道或肺的病况。

1. 治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂在制备用于治疗或预防有需要的对象中的选自哮喘或慢性阻塞性肺病的呼吸性疾病的药物中的用途,其中所述酪蛋白激酶1的抑制剂为



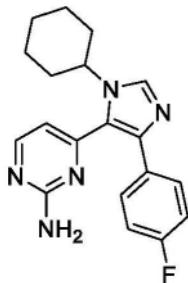
或其药物可接受的盐。

2. 治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂在制备用于缓解或减轻有需要的对象中的选自哮喘或慢性阻塞性肺病的呼吸性疾病的症状的药物中的用途,其中所述酪蛋白激酶1的抑制剂为



或其药物可接受的盐。

3. 治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂在制备用于治疗或预防有需要的对象中的选自哮喘或慢性阻塞性肺病的呼吸性疾病的恶化的药物中的用途,其中所述酪蛋白激酶1的抑制剂为



或其药物可接受的盐。

4. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述对象对涉及糖皮质激素的治疗具有抗性。

5. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述对象患有病毒性呼吸道感染。

6. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述对象患有病毒性呼吸道感染并且所述病毒感染是鼻病毒(RV)、呼吸道合胞体病毒(RSV)或流感病毒(InfV)的感染。

7. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述药物还包含一种或多种糖皮质激素。

8. 如权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述药物还包含一种或多种糖皮质激

素，并且其中所述一种或多种糖皮质激素是可吸入糖皮质激素。

9. 如权利要求1至3中任一项所述的用途，其中所述药物还包含一种或多种糖皮质激素并且其中所述糖皮质激素是布地奈德、环索奈德或莫米松。

10. 如权利要求1至3中任一项所述的用途，其中所述药物还包含布地奈德。

11. 如权利要求1至3中任一项所述的用途，其中所述呼吸性疾病是哮喘。

12. 如权利要求1至3中任一项所述的用途，其中所述呼吸性疾病是选自枯草热、过敏原诱导的哮喘、运动诱导的哮喘、污染诱导的哮喘、低温诱导的哮喘、应激诱导的哮喘和病毒诱导的哮喘以及它们的组合的哮喘病况。

13. 如权利要求1至3中任一项所述的用途，其中所述呼吸性疾病是慢性阻塞性肺病。

14. 如权利要求1至3中任一项所述的用途，其中所述呼吸性疾病是选自伴有正常气流的慢性支气管炎、伴有气道阻塞的慢性支气管炎(慢性阻塞性支气管炎)、肺气肿、哮喘性支气管炎和大疱性疾病以及它们的组合的慢性阻塞性肺病。

15. 如权利要求1至3中任一项所述的用途，其中所述药物被配制成用于直接施用至所述对象的气道和/或肺。

呼吸性疾病的治疗

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求第2015901032号澳大利亚临时申请的优先权,其通过引用将其全部内容并入本文。

发明领域

[0003] 本发明涉及用于治疗呼吸性疾病的组合物、方法和试剂盒。特别地,所述组合物、方法和试剂盒具体用于但不限于,治疗或预防诸如哮喘和慢性阻塞性肺病的呼吸性疾病的恶化。

发明背景

[0004] 呼吸性疾病涵盖使高等生物中可以进行气交换的器官和组织受到影响的病理状况。一种此类呼吸性疾病是哮喘。哮喘是一种常见疾病,其导致失去生产力和生活质量,并且花费大量的医疗费用。通常使用吸入糖皮质激素(ICS)与长效 β 2-肾上腺素能受体激动剂(LABA)的组合(所谓的联合疗法)来良好控制轻度至中度的哮喘。然而,在患有严重疾病的患者中,发生对哮喘失去控制的情况。大部分哮喘(和COPD)的恶化是由于下呼吸道的病毒感染,最常检测到鼻病毒(RV)、呼吸道合胞体病毒(RSV)和流感病毒(InfV)。在采取联合疗法的患者中恶化的发生将恶化限定为对使用糖皮质激素的治疗具有抗性。可以将这种抗性视为病毒炎症对ICS/LABA治疗的不敏感性,或者更具体地,急性病毒感染阻断(turn off)了糖皮质激素(GC)的一些有益效果。这种急性GC-抗性恶化可以被视为气道的结构细胞和炎性细胞的另外的潜在状态。在患有严重阻塞性疾病的患者中,其肺功能不正常,甚至是在不存在呼吸道感染以及当使用ICS/LABA治疗时具有依从性的情况下。因此,在这些不一定与病毒感染有关的慢性呼吸性疾病中,也存在GC抗性。

[0005] 估计严重类固醇抗性哮喘的患病率占所有哮喘患者的5%。在哮喘患病率高(~10%)的情况下,则存在约125,000名澳大利亚人不能实现正常肺功能(当完全符合最佳疗法时)或者需要口服类固醇以维持控制。这些患者对于来自哮喘的更严重恶化/死亡的风险增加,生活质量较低,住院频率较高,并且对医疗资源带来了影响。一些患有中度和重度哮喘的患者,特别是吸烟的患者,对ICS具有出乎意料的有限反应。

[0006] 对呼吸性疾病,特别是在已经经历过或正在经历对使用糖皮质激素的治疗具有抗性的患者中需要新的和/或改善的治疗或预防。

[0007] 在本说明书中对任何现有技术的引用并非承认或暗示该现有技术在任何司法辖区内形成了公知常识的一部分,或者承认或暗示该现有技术可以合理地预期被本领域技术人员所理解、认为相关、和/或与其他的现有技术结合。

发明概述

[0008] 本发明提供了治疗或预防在有需要的对象的呼吸性疾病的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂,从而治疗或预防对象的呼吸性疾病。

[0009] 本发明还提供了缓解或减轻有需要的对象的呼吸性疾病的症状的方法,所述方法包括向有需要的对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂,从而缓解或减轻对象中的呼吸性疾病的症状。

[0010] 本发明还提供了酪蛋白激酶1的抑制剂在制造用于治疗或预防有需要的对象的呼吸性疾病的药物中的用途。

[0011] 本发明提供了治疗或预防对象中的呼吸性疾病的方法,其包括以下步骤:

[0012] 向有需要的对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂,

[0013] 从而治疗或预防对象中的呼吸性疾病,其中所述对象患有与过敏原相关或由过敏原引起的病毒性呼吸道感染或气道炎症。通常,病毒感染是鼻病毒(RV)、呼吸道合胞体病毒(RSV)或流感病毒(InfV)的感染。过敏原可以是室内尘螨过敏原。在一个实施方案中,对象至少部分地对涉及糖皮质激素的治疗具有抗性。

[0014] 本发明提供了治疗或预防对象中的呼吸性疾病恶化的的方法,其包括以下步骤:

[0015] 向有需要的对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂,

[0016] 从而治疗或预防对象中的呼吸性疾病的恶化。本发明具体应用于患有与过敏原相关或由过敏原引起的病毒性呼吸道感染或气道炎症的对象。通常,病毒感染是鼻病毒(RV)、呼吸道合胞体病毒(RSV)或流感病毒(InfV)的感染。呼吸性疾病可以是与过敏原例如室内尘螨过敏原有关的疾病。在一个实施方案中,对象至少部分地对涉及糖皮质激素的治疗具有抗性。

[0017] 本发明提供了治疗或预防对象中的呼吸性疾病恶化的的方法,其包括以下步骤:

[0018] 鉴别患有呼吸性疾病的对象,其中所述对象至少部分地对涉及糖皮质激素的治疗具有抗性;以及

[0019] 向有需要的对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂,

[0020] 从而治疗或预防对象中的呼吸性疾病的恶化。本发明具体应用于患有病毒性呼吸道感染的对象。通常,病毒感染是鼻病毒(RV)、呼吸道合胞体病毒(RSV)或流感病毒(InfV)的感染。呼吸性疾病可以是与过敏原例如室内尘螨过敏原有关的疾病。

[0021] 本发明提供了治疗重度阻塞性疾病的方法,其包括以下步骤:

[0022] 鉴别患有重度阻塞性疾病的对象;以及

[0023] 向有需要的对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂,

[0024] 从而治疗重度阻塞性疾病。

[0025] 本发明提供了治疗或预防哮喘或慢性阻塞性肺病恶化的的方法,其包括以下步骤:

[0026] 鉴别患有哮喘或慢性阻塞性肺病的对象;以及

[0027] 向有需要的对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂,

[0028] 从而治疗或预防哮喘或慢性阻塞性肺病的恶化。优选地,所述对象对涉及糖皮质激素的治疗具有抗性。优选地,糖皮质激素是糖皮质激素受体的激动剂、部分激动剂或别构调节剂。优选地,糖皮质激素是吸入糖皮质激素。甚至更优选地,糖皮质激素是布地奈德、环索奈德(ciclesonide)、莫米松或本文描述的任何其他糖皮质激素。本发明具体应用于患有病毒性呼吸道感染的对象。

[0029] 本发明提供了治疗重度阻塞性疾病的方法,其包括以下步骤:

[0030] 鉴别患有重度阻塞性疾病的对象;以及

[0031] 向有需要的对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂，

[0032] 从而治疗重度阻塞性疾病。

[0033] 本发明提供了治疗或预防呼吸性疾病的方法，所述方法包括将组合物应用至治疗或预防的部位的步骤，其中所述组合物包含以下、基本上由以下组成或由以下组成：酪蛋白激酶1的抑制剂和药物可接受的稀释剂、赋形剂或载体。

[0034] 在本文描述的任何本发明的方法或用途中，可以将酪蛋白激酶1的抑制剂直接施用至呼吸性疾病的部位。酪蛋白激酶1的抑制剂可以配制适用于口服施用。优选地，配制适用于通过吸入施用。通常，将酪蛋白激酶1的抑制剂配制成适用于干粉吸入器装置的干燥粉末。

[0035] 在本文描述的任何本发明的方法或用途中，还包括施用一种或多种糖皮质激素的步骤。优选地，糖皮质激素是糖皮质激素受体的激动剂、部分激动剂或别构调节剂。优选地，糖皮质激素是可吸入糖皮质激素。甚至更优选地，糖皮质激素是布地奈德、环索奈德、莫米松或本文描述的任何其他糖皮质激素。

[0036] 在本文描述的任何本发明的方法或用途中，酪蛋白激酶1的抑制剂可以与一种或多种糖皮质激素同时或相继地施用。酪蛋白激酶1的抑制剂可以在一种或多种糖皮质激素之前施用，或者所述抑制剂可以在一种或多种糖皮质激素之后施用。

[0037] 本发明提供了治疗或预防呼吸性疾病的药物组合物，其包含酪蛋白激酶1的抑制剂和药物可接受的稀释剂、赋形剂或载体。在一个实施方案中，组合物中存在的唯一的活性成分是酪蛋白激酶1的抑制剂。

[0038] 本发明提供了治疗或预防呼吸性疾病的药物组合物，其包含作为活性成分的酪蛋白激酶1的抑制剂、以及药物可接受的稀释剂、赋形剂或载体。在一个实施方案中，组合物中存在的唯一的活性成分是酪蛋白激酶1的抑制剂。

[0039] 本发明提供了治疗或预防呼吸性疾病的药物组合物，其包含作为主要成分的酪蛋白激酶1的抑制剂、以及药物可接受的稀释剂、赋形剂或载体。在一个实施方案中，组合物中存在的唯一的活性成分是酪蛋白激酶1的抑制剂。

[0040] 本发明还提供了本文描述的任何药物组合物，其还包含一种或多种糖皮质激素。优选地，糖皮质激素是糖皮质激素受体的激动剂、部分激动剂或别构调节剂。优选地，糖皮质激素是可吸入糖皮质激素。甚至更优选地，糖皮质激素是布地奈德、环索奈德、莫米松或本文描述的任何其他糖皮质激素。

[0041] 本发明还提供了本文描述的任何药物组合物，其还包含一种或多种支气管扩张剂。

[0042] 本发明还提供了本文描述的任何药物组合物，其还包含：(a)甾体或非甾体的糖皮质激素受体激动剂或部分激动剂，和/或(b)任何长效或超长效的选择性 β_2 -肾上腺素能受体激动剂。

[0043] 本发明还提供了本文描述的任何药物组合物，其还包含：(a) β_2 -肾上腺素能受体的短效 β_2 -肾上腺素能受体激动剂、部分激动剂或正性别构调节剂，和/或(b)另外的支气管扩张剂，例如毒蕈碱受体拮抗剂、长效毒蕈碱受体拮抗剂、和超长效毒蕈碱受体拮抗剂、或者毒蕈碱受体的反向激动剂、反向部分激动剂或负性别构调节剂。示例性的 β_2 -肾上腺素能受体激动剂包括茚达特罗、维兰特罗和奥达特罗。

[0044] 本发明还提供了本文描述的任何药物组合物,其还包含SRC(原癌基因酪氨酸蛋白激酶Src)激酶的抑制剂和/或磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸3-激酶(PI3k)δ的抑制剂。

[0045] 本发明还提供了本文描述的任何药物组合物,其还包含组胺H1、H3和/或H4拮抗剂。

[0046] 任何本发明的药物组合物可以配制成为口服施用。优选地,配制成为通过吸入施用。通常,组合物可以配制为适用于干粉吸入器装置的干燥粉末。

[0047] 包含酪蛋白激酶1的抑制剂和另外的活性成分的任何药物组合物可以在单一吸入器中进行施用。例如,另外的活性成分可以是上文描述的支气管扩张剂、激动剂和/或拮抗剂。

[0048] 本发明还提供了用于治疗呼吸性疾病的酪蛋白激酶1的抑制剂。

[0049] 本发明还提供了药物组合物,其包含酪蛋白激酶1的抑制剂以及药物可接受的稀释剂、赋形剂或载体,用于治疗呼吸性疾病。

[0050] 在本发明的任何方面,酪蛋白激酶1的抑制剂抑制酪蛋白激酶ε同种型或酪蛋白激酶δ同种型的活性,更优选地,所述化合物抑制两种酪蛋白激酶同种型ε和δ的活性。PF670462是酪蛋白激酶1δ(delta)和酪蛋白激酶ε(epsilon)的抑制剂的实例。

[0051] 在本发明的任何方面,酪蛋白激酶1的抑制剂选自PF-670462、PF-4800567、PF-5006739和D4476,或它们的药物可接受的盐、多晶型物或前药。

[0052] 本发明提供了治疗或预防有需要的对象中的呼吸性疾病的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的ALK5的抑制剂,从而治疗或预防对象中的呼吸性疾病,其中将所述抑制剂直接施用至气道和/或肺。

[0053] 本发明还提供了ALK5的抑制剂在制造用于治疗或预防有需要的对象中的呼吸性疾病的药物中的用途,其中将所述抑制剂直接施用至气道和/或肺。

[0054] 本发明提供了治疗或预防对象中的呼吸性疾病恶化的方法,其包括以下步骤:

[0055] 鉴别患有呼吸性疾病的对象,其中所述对象至少部分地对涉及糖皮质激素的治疗具有抗性;以及

[0056] 向有需要的对象施用治疗有效量的ALK5的抑制剂,

[0057] 从而治疗或预防对象中的呼吸性疾病的恶化,其中将所述抑制剂直接施用至气道和/或肺。本发明具体应用于患有病毒性呼吸道感染的对象。通常,病毒感染是鼻病毒(RV)、呼吸道合胞体病毒(RSV)或流感病毒(InfV)的感染。

[0058] 本发明提供了治疗重度阻塞性疾病的方法,其包括以下步骤:

[0059] 鉴别患有重度阻塞性疾病的对象;以及

[0060] 向有需要的对象施用治疗有效量的ALK5的抑制剂,

[0061] 从而治疗重度阻塞性疾病,其中将所述抑制剂直接施用至气道和/或肺。

[0062] 本发明提供了治疗或预防哮喘或慢性阻塞性肺病恶化的方法,其包括以下步骤:

[0063] 鉴别患有哮喘或慢性阻塞性肺病的对象;以及

[0064] 向有需要的对象施用治疗有效量的ALK5的抑制剂,

[0065] 从而治疗或预防哮喘或慢性阻塞性肺病的恶化,其中将所述抑制剂直接施用至气道和/或肺。优选地,糖皮质激素是糖皮质激素受体的激动剂、部分激动剂或别构调节剂。优选地,糖皮质激素是吸入糖皮质激素。甚至更优选地,糖皮质激素是布地奈德或本文描述的

任何其他糖皮质激素。本发明具体应用于患有病毒性呼吸道感染的对象。

[0066] 在本发明的任何方面,ALK5的抑制剂选自SB431542、D4476和GW788388、或它们的药物可接受的盐、多晶型物或前药。

[0067] 本发明提供了治疗或预防有需要的对象的涉及纤维化的气道或肺的病况的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂,从而治疗或预防对象中的涉及纤维化的气道或肺的病况。

[0068] 本发明还提供了缓解或减轻有需要的对象中的涉及纤维化的气道或肺的病况症状的方法,所述方法包括向有需要的对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂,从而缓解或减轻对象中的涉及纤维化的气道或肺的病况症状。

[0069] 本发明还提供了酪蛋白激酶1的抑制剂在制造用于治疗或预防有需要的对象中的涉及纤维化的气道或肺的病况的药物中的用途。

[0070] 本发明提供了治疗或预防对象中的涉及纤维化的气道或肺的病况的方法,其包括以下步骤:

[0071] 鉴别患有涉及纤维化的气道或肺的病况的对象;以及

[0072] 向有需要的对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂,

[0073] 从而治疗或预防对象中的涉及纤维化的气道或肺的病况。

[0074] 本发明提供了治疗或预防有需要的对象中的涉及纤维化的气道或肺的病况的方法,所述方法包括向对象施用治疗有效量的ALK5的抑制剂,从而治疗或预防对象中的涉及纤维化的气道或肺的病况,其中将所述抑制剂直接施用至气道和/或肺。

[0075] 本发明还提供了缓解或减轻有需要的对象中的涉及纤维化的气道或肺的病况症状的方法,所述方法包括向有需要的对象施用治疗有效量的ALK5的抑制剂,从而缓解或减轻对象中的涉及纤维化的气道或肺的病况症状,其中将所述抑制剂直接施用至气道和/或肺。

[0076] 本发明还提供了ALK5的抑制剂在制造用于治疗或预防有需要的对象中的涉及纤维化的气道或肺的病况的药物中的用途,其中将所述抑制剂直接施用至气道和/或肺。

[0077] 本发明提供了治疗或预防对象中的涉及纤维化的气道或肺的病况的方法,其包含以下步骤:

[0078] 鉴别患有涉及纤维化的气道或肺的病况的对象;以及

[0079] 向有需要的对象施用治疗有效量的ALK5的抑制剂,

[0080] 从而治疗或预防对象中的涉及纤维化的气道或肺的病况,其中将所述抑制剂直接施用至气道和/或肺。

[0081] 对于本发明的任何方面,对气道和肺的施用是经由允许酪蛋白激酶1的抑制剂或ALK5的抑制剂接触气道、肺或它们的一部分的任何途径。例如,酪蛋白激酶1的抑制剂或ALK5的抑制剂可以经由使得待治疗或预防的疾病或病况的症状得以改善的任何途径来施用。优先地,施用途径允许暴露于呼吸道或肺实质,例如具有呼吸性细支气管、肺泡管和末端细支气管的肺泡组织。优选地,将酪蛋白激酶1的抑制剂或ALK5的抑制剂配制成用于吸入施用或口服施用。

[0082] 在本文的任何用于治疗或预防涉及纤维化的气道或肺的病况的方法或用途中,所述方法或用途还可以包括施用一种或多种糖皮质激素。优选地糖皮质激素是糖皮质激素受

体的激动剂、部分激动剂或别构调节剂。优选地，糖皮质激素是吸入糖皮质激素。甚至更优选地，糖皮质激素是布地奈德、环索奈德、莫米松或本文描述的任何其他糖皮质激素。酪蛋白激酶1的抑制剂可以与一种或多种糖皮质激素同时或相继地施用。酪蛋白激酶1的抑制剂可以在一种或多种糖皮质激素之前施用，或者所述抑制剂可以在一种或多种糖皮质激素之后施用。

[0083] 在本文的任何用于治疗或预防涉及纤维化的气道或肺的病况的方法或用途中，所述方法或用途还可以包括施用抗纤维化化合物，例如尼达尼布、曲尼司特和吡非尼酮。

[0084] 本文描述的治疗或预防涉及纤维化的气道或肺病况的任何药物组合物还可以包含施用抗纤维化化合物，例如尼达尼布、曲尼司特和吡非尼酮。

[0085] 本发明提供了试剂盒或制成品，其包含任何酪蛋白激酶1的抑制剂或ALK5的抑制剂，和/或本文描述的药物组合物。

[0086] 如本文使用的，除了上下文另外要求时，术语“包含/包括(comprise)”以及该术语的变形例如“包含/包括(comprising、comprises和comprised)”，并非旨在排除另外的添加剂、组分、整数或步骤。

[0087] 由以下通过实施例以及参考附图给出的描述，本发明另外的方面以及前述段落所描述方面的另外的实施方案将会是显而易见的。

附图简述

[0088] 图1将在皮质醇缺乏的培养基中生长24小时的BEAS-2B细胞使用1 μ M或10 μ M的PF670462预处理30min，然后暴露于TGF β 1持续24小时，然后通过地塞米松(30nM)刺激，该浓度是预先确立的以最佳地激活糖皮质激素反应元件(GRE)活性。PF670462浓度依赖性地减弱了显著的由Dex(30nM)刺激的GRE活性的TGF β 1诱导的抑制。数据表示为3组独立实验的平均值和SEM.*P<0.05, cf对应于Dex30nM反应。

[0089] 图2将在皮质醇缺乏的培养基中生长24小时的BEAS-2B细胞用1 μ M或10 μ M的PF670462预处理30min，然后暴露于TGF β 1持续24小时，然后通过地塞米松(30nM)刺激，该浓度是预先确立的以最佳地激活糖皮质激素反应元件(GRE)依赖性基因表达。PF670462处理减弱了对Dex(30nM)的糖皮质激素诱导的GRE反应的抑制，所述抑制通过TNF α 、IL-13和IL-4(各自以1ng/ml或10ng/ml)的组合诱导。数据表示为3组独立实验的平均值和SEM.*P<0.05, cf对应于Dex30nM反应。

[0090] 图3将在皮质醇缺乏的培养基中生长24小时的BEAS-2B细胞用1 μ M或10 μ M的PF670462、ALK5抑制剂SB431542(1 μ M)预处理30min，然后暴露于TGF β 1(40pM)持续24小时，然后通过地塞米松(30nM)刺激，该浓度是预先确立的以最佳地激活糖皮质激素反应元件(GRE)依赖性基因表达。PF670462浓度依赖性地减弱了显著的对Dex(30nM)的所选基因表达反应(例如SCNN1a表达)的TGF β 1诱导的抑制。另外，PF670462处理部分地减弱通过TNF α 、IL-13和IL-4(各自以0.1)的组合或IL-13/IL-4(以10ng/ml)诱导的抑制。数据表示为4组独立实验的平均值和SEM.*P<0.05, cf对应于Dex 30nM反应。

[0091] 图4在本实验中，BEAS-2B细胞以与图1中所述相同的设置使用，但是对GRE活性损害的刺激是使用0.1或1.0MOI(感染多重性)的呼吸道合胞病毒(RSV)的感染或模拟条件培养基。在接种培养物之前使用PF670462预处理防止地塞米松ZBTB16基因表达反应的损

害。数据表示为4组独立实验的平均值和SEM。 $*P<0.05$, cf对应于Dex30nM反应。

[0092] 图5在本实验中, BEAS-2B细胞以与图1中描述的相同的设置使用,但是对GRE活性的损害的刺激是使用0.1或1.0MOI (感染多重性) 的鼻病毒 (RV16) 的感染。在接种培养物之前使用PF670462预处理防止了地塞米松30nM GRE反应的损害, 使用ALK5抑制剂SB431542(1 μ M) 的预处理同样如此。数据表示为4组独立实验的平均值和SEM。 $*P<0.05$, cf对应于Dex 30nM反应。

[0093] 图6在本实验中, BEAS-2B细胞以与图1中描述的相同的设置使用,但是对GRE活性损害的刺激是使用1.0MOI (感染多重性) 的鼻病毒 (RV16) 的感染。在接种培养物之前使用PF670462预处理防止了地塞米松30nM GILZ基因表达反应的损害, 使用ALK5抑制剂SB431542的预处理同样如此。数据表示为4组独立实验的平均值和SEM。 $*P<0.05$, cf对应于Dex 30nM反应。(A) SB431542和PF670462的浓度分别为1 μ M和10 μ M。(B) SB431542和PF670462的浓度均为3 μ M。 $*P<0.05$, Bonferroni的成对事后 (post hoc) 配对t测试。

[0094] 图7证明了PF670462在治疗急性病毒性呼吸性疾病中的潜在效用。其在雌性Balb/C小鼠中进行体内实验, 所述雌性Balb/C小鼠接种RSV, 从第1天起用糖皮质激素处理, 并且在第3、4和5天用PF670462 30mg/kg (尸体解剖前的最后48小时) 处理。通过这种方式, 单独的PF670462对支气管肺泡灌洗液 (BALF) 蛋白或细胞含量没有作用, 单独的地塞米松 (Dex) 1mgk/kg (腹膜内注射) /天对蛋白质或细胞数作用不大, 但其组合显著地降低了BALF细胞和蛋白质含量。

[0095] 图8对来自图7所示实验的小鼠肺组织中基因表达的RT-qPCR测量显示出, 在暴露于相同体积的用于施用病毒感染 (“模拟物”) 的条件培养基之后, 与用PF670462和Dex中任一种试剂单独处理的小鼠相比, 在用PF670462和Dex处理的小鼠中糖皮质激素可诱导基因GILZ、ZBTB16和MKP1的表达更多。图8B示出了在RSV感染期间, 由dex控制达到不同程度的基因的表达。图8C示出了支气管肺泡灌洗细胞和肺组织中的干扰素表达。使用Dex各种干扰素下降, 并且通过使用PF670462的组合处理各干扰素的表达恢复。

[0096] 图9在尸体解剖前4小时接受媒介物 (Veh) 或Dex (1mg/kg, 腹膜内注射) 的雌性Balb/c naïve小鼠中, 两个剂量的局部PF670462 (0.6 μ g, 鼻内) 在尸体解剖前4小时和24小时的作用。使肺组织在支气管肺泡灌洗之后经受RNA提取, 并且使用RT-qPCR来确定GILZ、MKP-1、ZBTB16和干扰素 β 的表达水平。 $*P<0.05$. cf Veh/Veh组。

[0097] 图10人肺成纤维细胞中TGF β 与bFGF之间的相互作用。在加入TGF β (其与bFGF同时添加) 前30min加入SB431542或PF4800567, 并且继续孵育48h, 此时确定活细胞数。

[0098] 图11图11A-D示出了使用针对CK1 δ (delta) 或CK1 ϵ (epsilon) 或其组合作用的siRNA的一系列实验的数据。

[0099] 图12RSV感染的5天模型, 与图7和图8的研究区别在于从第1天起施用Dex、TGF β 受体激酶抑制剂GW788388和PF670462。

[0100] 图13来自图12中示出的RSV实验的BAL细胞中的TNF α mRNA水平的基因表达。

[0101] 图14图12的5天模型中IFN β 、 λ 2、 λ 3和TNF α 的水平。

[0102] 图15RSV感染的工业标准的博来霉素5天模型中进行的抗纤维化作用的进一步评估。(A) 示出了胶原1A在基线 (对照) 和在对40pM TGF β 孵育24小时的反应中的表达。示出的数据是来自具有肺纤维化疾病 (特发性肺纤维化 (IPF)) 的患者以及来源于非IPF供体的

样品的肺实质成纤维细胞。(B)示出了与(A)类似的实验结果,但是在该情况下成纤维细胞以悬浮球体进行培养,而不是以2D单层培养进行培养。(C)示出了与(A)所报导的相同实验中TGF β 诱导的CTGF的表达的测量结果。

[0103] 图16示出了3天balb/c博来霉素实验。将雌性小鼠在第0天用博来霉素(105 milli Units)处理,并且通过腹膜内每天注射一次30mg/kg的单一剂量进行PF670462处理。研究以下方面:BAL细胞和BAL蛋白水平。

[0104] 图17示出了来自图16所述实验的小鼠肺组织中的基因表达变化,示出了Col1 mRNA、PAL-1mRNA、TIMP1 mRNA和IL-28AmRNA。

[0105] 图18示出了与图16的实验类似的实验,但是使用了雄性小鼠,并且研究了以下方面:肺重量、BAL细胞、胸腺重量和脾脏重量。

[0106] 图19示出了来自图18所述实验的小鼠的肺组织中的基因表达变化,示出了Col1a mRNA、Col13 mRNA、TIMP1 mRNA和IL-6mRNA。

[0107] 图20示出了来自较长持续时间(14天)的博来霉素实验的数据,其中将使用PF670462的处理延迟至第3天,博来霉素已在第0天施用。对肺重量、BAL细胞、Hyp总干重和总BAL蛋白进行了测量。

[0108] 图21示出了在雌性小鼠的21天博来霉素实验中,从第8天至第21天施用的PF670462对肺重量、BAL细胞 $\times 10^6$ 和BAL蛋白的作用。

[0109] 图22示出了PF670462对来自图21所述实验的小鼠的肺中基因表达的作用,示出了肺组织中纤维蛋白原CTGF、白细胞介素-6(IL-6)和纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)的表达。

[0110] 图23示出了浓度升高的PF670462对于由布地奈德和地塞米松(1-100nM)介导的在BEAS 2B细胞中瞬时表达的GRE报告基因构建体活化的作用。

[0111] 图24(A)和(B)示出了PF670462(1-10 μ M)对于对100nM最佳浓度的Dex的基因表达反应的TGF β 抑制的浓度依赖性作用。使用BEAS-2B细胞得到数据。

[0112] 图25示出了3 μ M和10 μ M的PF670462对于TGF β 对(Dex 30nM)诱导的ZBTB16、GILZ、SCNN1A和PAI-1的表达的抑制作用的影响。这些研究在原代人气道上皮细胞的ALI-分化培养物中进行。

[0113] 图26示出了在暴露于PF670462的气溶胶(0.03-10mg/ml, 7min)的小鼠中,肺ZBTB16和GILZ表达的剂量相关性增加。

[0114] 图27(A)示出了在通过每日鼻内吹入HDM过敏原(25 μ g/35 μ L)攻击的小鼠中,通过3mg/ml PF670462、布地奈德0.5mg/ml的气溶胶或者通过这些处理的组合来调节的BAL蛋白水平有所升高。(B)示出了实施例22和图27(A)所描述的实验的BAL中的淋巴细胞数。通过Bud、PF670462或其组合,降低了BAL中的淋巴细胞数。

[0115] 图28示出了已被HDM过敏原攻击并且在尸体解剖前3天被200万个RSV病毒粒子感染的小鼠中的BAL细胞数。通过PF670462或Bud,并未显著减少BAL细胞数,但是通过这些处理的组合减少了BAL细胞数。

[0116] 图29示出了对被HDM攻击然后被RSV感染的小鼠中的BAL细胞数的分类细胞计数。Bud和PF670462的组合显著减少了BAL淋巴细胞数,但是没有一种处理对另外的白细胞子集具有显著作用。

[0117] 图30示出了单独的Bud显著增加了RSV滴定度,但是PF670462或Bud与PF670462的组合并未显著增加RSV滴定度。

[0118] 除非另外说明,图中示出的以及本文提及的任何统计显著性是* $P<0.05$ 。

[0119] 实施方案的详细描述

[0120] 应理解,本说明书中公开并限定的本发明延伸至正文或附图中提及或显而易见的各个特征中的两个或更多个的所有可选组合。所有这些不同的组合构成了本发明的各种可选的方面。

[0121] 现在将详细参照本发明的某些实施方案。将结合实施方案描述本发明,但应理解,并非意在将本发明限于这些实施方案。相反,本发明意在涵盖可以包括在如由权利要求所限定的本发明范围内的所有替代物、修改和等同物。

[0122] 本领域技术人员将认识到可以用于本发明实践的与本文所述类似或等同的多种方法和材料。本发明决不会限于所描述的方法和材料。应理解,本说明书中公开并限定的本发明延伸至正文或附图中提及或显而易见的各个特征中的两个或更多个的所有可选组合。所有这些不同的组合构成了本发明的各种可选的方面。

[0123] 本文提及的所有专利和出版物通过引用以其整体并入。

[0124] 为了解释本说明书的目的,以单数使用的术语也包括复数,反之亦然。

[0125] 本发明具有意想不到的优点,包括本文描述的方法和组合物增强了糖皮质激素(包括目前用于控制包括哮喘和COPD的各种呼吸性疾病的糖皮质激素)的活性。这在期望限制类固醇使用的患者群体中特别有用,例如在儿童中。在气道疾病恶化的治疗中的另一个优点是感染中的干扰素基因表达的调节,这表明促进先天性宿主防御反应的间接作用。

[0126] 另外,本发明还具有以下意想不到的优点,即,本文描述的方法和组合物抑制或对抗了糖皮质激素在某些情况下的负面作用。一个此类的非限制性实例是糖皮质激素对干扰素表达的抑制作用的抑制。

[0127] 不受到任何理论或作用方式的约束,认为本发明使用的化合物通过选择性抑制TGF β 受体/活化素样激酶5(ALK5)下游途径,从而具有有益的TGF β 调节作用。这降低了通过TGF β 的全面抑制引起已知的不良反应的风险。

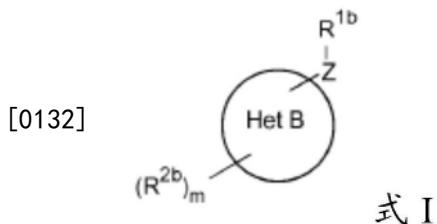
[0128] 如本文使用的,“酪蛋白激酶1抑制剂”或“酪蛋白激酶1的抑制剂”是抑制酪蛋白激酶1活性的任何化合物。在优选的形式中,所述化合物是例如通过与酶底物或磷酸基团竞争来抑制酪蛋白激酶1的丝氨酸/苏氨酸激酶活性的分子。在优选的形式中,所述化合物是通过破坏酪蛋白激酶1的丝氨酸/苏氨酸激酶活性所需的信号小体(signalsome)或任何其他的蛋白-蛋白相互作用来抑制酪蛋白激酶1的丝氨酸/苏氨酸激酶活性的分子。优选地,所述化合物抑制了酪蛋白激酶 ϵ 同种型的活性,更优选地所述化合物抑制了两种酪蛋白激酶同种型 ϵ 和 δ 的活性。所述抑制剂还可以对其他酪蛋白激酶(例如,酪蛋白激酶2)具有一些抑制活性。优选地,酪蛋白激酶1的抑制剂是与对照相比将酪蛋白激酶1的活性限制在10%或更小的物质。对照是在其中测试抑制剂的溶剂,其以相同的量使用,然而不含抑制剂。对酪蛋白激酶1的抑制活性可以例如使用根据Bain等人Biochem. J. (2007) 408, 297-315的体外激酶测定或本文描述的其他方法来确定。在优选的形式中,抑制剂可以是小分子化合物或干扰RNA(例如,siRNA)。

[0129] 如本文使用的,提及的酪蛋白激酶1抑制剂或酪蛋白激酶1的抑制剂还包括其药物

可接受的盐、多晶型物或前药。

[0130] 酪蛋白激酶1的抑制剂是本领域已知的。例如,在Bain,J等人Biochem J (2007) ,408,291-315、Long,A.M,等人J.Med.Chem. (2012) 55,10307-10311、Walton,K.M,等人J Pharmacol Exp Ther (2009) 330430-439、Rena,等人EMBO Reports, (2004) ,60-65、Huang, H.,等人ACS Med Chem Lett (2012) 3,1059-1064、Mente,S.,等人J.Med.Chem. (2013) ,56, 6819-6828、Peifer,C.,等人J.Med.Chem. (2009) 52,7618-7630、Chen,Z.,等人Cell Mol Life Sci (2013) ,70,2985-2998、Wager,T.T.等人ACS Chemical Neuroscience (2014) 5, 1253-1265、W02011/127202、W02014/023271、W02012/080727、W02011051858以及W02014/100533中描述的酪蛋白激酶1抑制剂在本发明中可以是有用的。

[0131] 如W02012/080727所提供之,用于本发明中的化合物可以例如包括式I的化合物或其药物可接受的盐、多晶型物、前药或溶剂化物:



[0133] 其中

[0134] “Het B”表示含有1至3个选自O、N或S的杂原子的5元杂环状环系统,其中所述环系统与一个或多个(例如1-3个)另外的环稠合以形成包含至多4个环的多环状环系统;

[0135] Z表示键、-C(R^{7b})(R^{8b})-(CH₂)₂、-O-、-S-、-CH₂O-、-(CH₂)₂O-、NR^{6b}、-N(R^{6b})-C(R^{7b})(R^{8b})-(CH₂)₂、-N(R^{6b})-(CH₂)₃、-CH-N(R^{6b})-(CH₂)₂、-N(R^{6b})-CO-、-CH₂-NHCO-(CH₂)₂、-N(R^{6b})-CO-CH₂、=N-、-N(R^{7b})-CH=、-C(H)(CN)-、-C(=N-NH-COC₁₋₆烷基)-、CH=C(R^{6b})-CO-、=CH-、-N=CH-、-N=C(Me)-、-C(R^{6b})=CH-、-NH-CO-C(=CH-杂芳基)-、-C(=C(R^{7b})(R^{8b}))、-CH=CH-CO-N(R^{6b})-、-CH=C(R^{6b})-CO-NH-CH₂、-CH=C(R^{6b})-NH-CO-、CH=C(R^{6b})-CO-O-CH₂、-CS-S-CH₂、-NH-CS-NH-、-NH-CS-NH-CH₂、-NH-CS-NH-(CH₂)₂、-CH₂-N(CSNH₂)-CH₂、-S-C(R^{5b})(R^{6b})-、-S-(CH₂)₂O-、-SO₂、-NH-SO₂、-CH-NH-SO₂、CO、-CH-CO-、-(CH₂)₂-CO-、-O-CH₂-CO-、-(CH₂)₂-CO、-COO-C(R^{7b})CO-、-CH=C(R^{5b})CONH-CH₂、-CO-CH₂-N(R^{6b})-CO-、-CO-CH₂-C(R^{6b})-CH₂-CO-、-CO-CH₂-N(R^{6b})-CH-、CO-NH-N=C(R^{7b})-、-S-CH-CO-、-S-CH-CO-N(R^{6b})-CH₂、-SO₂-N(R^{6b})-C(R^{7b})(R^{8b})-CONH-、-SO₂-N(R^{6b})-CH(-CH₂-芳基)-CONH-CH₂、-CH(-S-C₁₋₆烷基)-C(Me)(OH)、-CH₂-C(R^{6b})(OH)、-C(OH)(CH(Me))(C₃₋₈环烷基)-CH₂、-C(OH)(R^{6b})-CH₂、-CH(Me)-NH-CO-CH₂、-CO-N(R^{6b})-CH₂、-C(H)(R^{6b})-CO-N(R^{5b})-CH₂、-CO-N(R^{6b})-CH₂-CH₂、-CO-N(R^{6b})-CH₂-CH₂-CO-NH-CH₂、-CO-NH-C(-CONH₂)=CH-、-CO-NH-CH(CONH₂)-CH₂、-CH₂-C(H)(Me)-CH₂-S-、-O-CH₂-CO-NH-、-CH₂-N(R^{6b})-CO-CH₂-O-、N(R^{6b})-CO-CH₂-O-、-C(H)(-CH₂-芳基)、-C(H)(-CH₂-杂芳基)、-C(NH-芳基)=N-N=CH-、-C(NH-芳基)=N-N=CH-、-NH-CO-CH₂-N(R^{6b})-、-NH-N=C(-芳基)、-NH-N=C(-芳基)-CO-、-NH-C(=N-CO-C₁₋₆烷基)-NH-(CH₂)₂、-C(-NH-芳基)=N-N=CH-、-NH-C(-NH-芳基)=N-CONH-、C(=CH-芳基)-CONH-CH₂、-CH=C(R^{6b})-CONH-、-CH(-CH₂-芳基)-NH-CO-或-CH(OH)-,

[0136] 其中所述Z的芳基或杂芳基可以任选地被卤素、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、NO₂或羟基中

的一种或多种取代；

[0137] R^{5b} 表示氢、 C_{1-6} 烷基或氰基；

[0138] R^{6b} 表示氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、氰基、 $COOH$ 、 $-COOC_{1-6}$ 烷基、 C_{3-8} 环烷基、 $-CH_2-C_{3-8}$ 环烷基、芳基、杂芳基、 $-C_{1-6}$ 亚烷基-芳基、 $-CO-$ 芳基、 $-O-CO-$ 杂芳基、 $-CO-$ 杂芳基或 $-C(R^{7b})-$ 杂芳基，其中所述 R^{6b} 的芳基可以任选地被卤素或 C_{1-6} 烷氧基中的一种或多种取代；

[0139] R^{7b} 和 R^{8b} 独立地表示氢或 C_{1-6} 烷基；

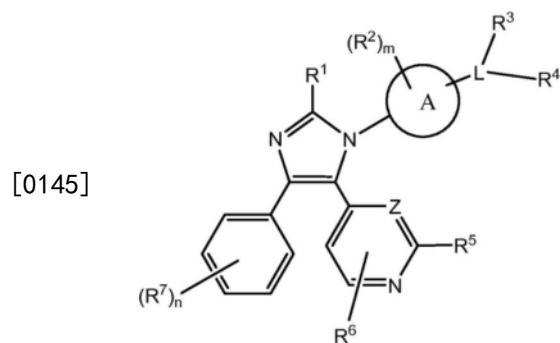
[0140] R^{1b} 表示芳基、 C_{3-8} 环烷基、单环或二环状杂环基或者单环或二环状杂芳基环系统，其中 R^{1b} 可以被一个或多个(例如1、2或3个) R^{4b} 基团取代；

[0141] R^{4b} 表示卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烯基、 C_{1-6} 炔基、 C_{3-5} 环烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-O-C_{1-6}$ 烯基、卤代 C_{1-6} 烷氧基、 $-COOH$ 、 $-CO-C_{1-6}$ 烷基、 $-COO-C_{1-6}$ 烷基、 $-CONH_2$ 、 $-CH_2-CONH_2$ 、 $-NH-C_{1-6}$ 烷基、 $-NH-C_{2-6}$ 烯基、 $-NH-CO-C_{1-6}$ 烷基、 $-CONH-C_{1-6}$ 烷基、 $-O-CH_2-CO-NH-C_{1-6}$ 烷基、 $-CH_2-CH_2-CO-NH-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-SO-C_{1-6}$ 烷基、 $-SO_2-NH_2$ 、 $-SO_2-NH-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-CH_2-CO-C_{2-6}$ 烯基、 $-SO_2-OH$ 、氨基、氰基、 NO_2 、 $=O$ 、 $-CO-NH-(CH_2)_2$ 、 $-OMe$ 、 $-NH-C_{3-5}$ 环烷基、 $-CH_2-CO-NH-C_{3-5}$ 环烷基、 $-CO-$ 杂环基、 $-CO-$ 杂芳基、 $-COO-(CH_2)_2$ 、 $-CO-$ 杂环基、 $-CH_2$ 芳基、 $-OCH_2$ 芳基、 $-OCH_2$ 杂芳基、 $-CH_2-O-CO-$ 芳基、 $-O-$ 芳基、 $-NH-CO-$ 芳基、 $-NH-CO-$ 杂芳基、 $-NH-CO-CH_2$ 芳基、 $-NH$ 芳基、芳基或杂芳基，其中所述 R^{4b} 的芳基、杂环基或杂芳基可以任选地被卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $=S$ 或羟基中的一种或多种取代，并且其中所述 R^{4b} 的 C_{1-6} 烷基或 C_{2-6} 烯基可以任选地被羟基、氨基、氰基、 C_{1-6} 烷氧基、 $CONH_2$ 或 $-COO-C_{1-6}$ 烷基中的一种或多种取代；

[0142] m 表示0至3的整数；

[0143] R^{2b} 表示卤素、卤代 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-SC_{1-6}$ 烷基、 $-CH_2-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{2-6}$ 炔基、氨基、氰基、 NO_2 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-SO_2-C_{1-6}$ 烷基、 $CONH_2$ 、 $-CO-C_{1-6}$ 烷基、 $-COO-C_{1-6}$ 烷基、 $-NH-C_{1-6}$ 烷基、 $-NH-CO-C_{1-6}$ 烷基、 $-NH-CO-CH=CH-CH_2N(Me)_2$ 、 C_{1-6} 烷基、 $-CO-NH-C_{1-6}$ 烷基、 $-CO-NH-CH(Me)-COOH$ 、 $-S-CH_2-CON(Et)_2$ 、 $-NH-(CH_2)_2-OH$ 、 $-NH-(CH_2)_3-OH$ 、 $-NH-CH(Et)-CH_2-OH$ 、 $-CO-NH-(CH_2)_3-OH$ 、 $-CH(CH_2OH)_2$ 或 $-S-CH_2-CO-NH-CO-NH-C_{1-6}$ 烷基，其中所述 R^{2b} 的 C_{1-6} 烷基可以任选地被氰基或羟基中的一种或多种取代。

[0144] 如W02011/051858所提供之，用于本发明中的另一化合物可以例如包括具有式II的结构的化合物或其药物可接受的盐、多晶型物、前药或溶剂化物：



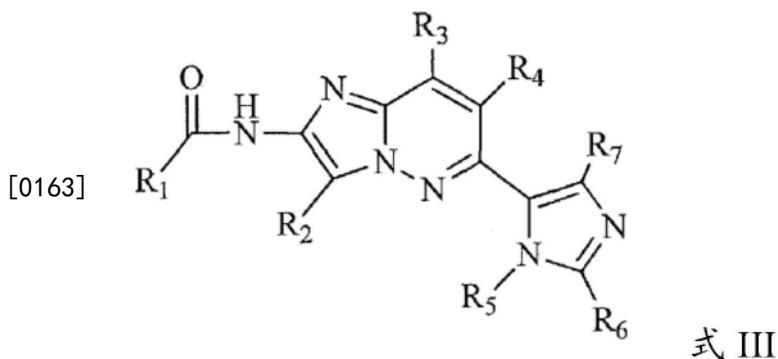
式 II

[0146] 其中A为含氮的4元至7元杂环烷基，或者A可以与其通过 R^1 连接的环直接稠合；

[0147] L为 C_{1-3} 烷基；

[0148] R^1 为氢、 C_{1-3} 烷基或 C_{3-4} 环烷基；

- [0149] 各个R²独立地为C₁₋₃烷基、氟、羟基、C₁₋₃烷氧基或氰基；
 [0150] R³为氢、C₁₋₃烷基或C₃₋₄环烷基；
 [0151] R⁴为具有1至3个杂原子的5元至10元杂芳基且任选地被1至3个R⁷取代基取代；
 [0152] R⁵为氢或-N(R⁸)₂；
 [0153] R⁶为氢、卤素或C₁₋₃烷基；
 [0154] 各个R⁷独立地为卤素、-(CH₂)_t-F_q、C₁₋₃烷基、-CF₃、-(CH₂)_t-C₃₋₄环烷基、-(CH₂)_t-O-C₁₋₃烷基、-(CH₂)_t-氰基或-(CH₂)_t-羟基；
 [0155] Z为N或CR⁹；
 [0156] 各个R⁸独立地为氢或C₁₋₃烷基；
 [0157] R⁹为氢、C₁₋₃烷基或卤素；
 [0158] m为0、1或2；
 [0159] n为0、1或2；
 [0160] q为1、2或3；
 [0161] t为0、1或2。
 [0162] 如W02014/100533所提供之，用于本发明中的另一化合物可以例如包括式III的化合物，包括其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、药物可接受的盐、前药、水合物或溶剂化物



- [0164] 其中：
 [0165] R₁选自NR_aR_a；任选地被OH、CN和芳基取代的C₁₋₄烷基；任选地被OH、CN和芳基取代的C₂₋₄烯基；被0至5个R₁₁取代的-(CR_dR_d)_r-碳环基；以及包含碳原子和1至3个选自N、NR₁₂、O、S的杂原子并且被0至5个R₁₁取代的-(CR_dR_d)_r-杂环基；
 [0166] R₂选自H、C₁₋₄烷基、F、Cl、Br和CN；
 [0167] R₃选自H和C₁₋₄烷基；
 [0168] R₄选自H、C₁₋₄烷基、F、Cl、Br和CN；
 [0169] R₅选自H；被0至4个R_e取代的C₁₋₄烷基；被0至4个R_e取代的-(CH₂)_r-C₃₋₆碳环基；以及包含碳原子和1至3个选自N、NR₈、O、S的杂原子并且被0至4个R_e取代的-(CH₂)_r-杂环基；
 [0170] R₆选自H；被0至3个R_e取代的C₁₋₆烷基；以及被0至3个R_e取代的C₃₋₆碳环基；或者
 [0171] R₅和R₆连同它们分别连接的氮原子和相邻碳原子形成被0至5个R₉取代的杂环状环；
 [0172] R₇为被0至3个R_e取代的芳基；
 [0173] R₈选自H、被0至3个R_e取代的C₁₋₄烷基、-(CH₂)_rOR_b、(CH₂)_rS(O)_pR_c、-(CH₂)_rC(=O)

R_b 、 $-(CH_2)_rNR_aR_a$ 、 $-(CH_2)_rC(=O)NR_aR_a$ 、 $-(CH_2)_rC(=O)(CH_2)_rNR_aR_a$ 、 $-(CH_2)_rNR_aC(=O)R_b$ 、 $-(CH_2)_rNR_aC(=O)OR_b$ 、 $-(CH_2)_rOC(=O)NR_aR_a$ 、 $-(CH_2)_rNR_aC(=O)NR_aR_a$ 、 $-(CH_2)_rC(=O)OR_b$ 、 $-(CH_2)_rS(O)_2NR_aR_a$ 、 $-(CH_2)_rNR_aS(O)_2NR_aR_a$ 、 $-(CH_2)_rNR_aS(O)_2R_c$ 、被0至3个 R_e 取代的 $(CH_2)_r-C_{3-6}$ 碳环基、以及被0至3个 R_e 取代的 $-(CH_2)_r$ -杂环基；

[0174] R_9 选自被0至3个 R_e 取代的 C_{1-4} 烷基、 $-(CH_2)_rNR_aR_a$ 、 $-(CH_2)_rC(=O)R_b$ 、 $-(CH_2)_rC(=O)OR_b$ 、 $-(CH_2)_rC(=O)NR_aR_a$ 、 $S(O)_pR_c$ 、被0至3个 R_e 取代的 $(CH_2)_r-C_{3-6}$ 碳环基、以及被0至3个 R_e 取代的 $-(CH_2)_r$ -杂环基；

[0175] R_{11} ，在每次出现时，独立地选自H、F、Cl、Br、=O、CN、NO₂、-OR_b、-S(O)_pR_c、-C(=O)R_b、 $-(CR_dR_d)rNR_aR_a$ 、 $-(CR_dR_d)rC(=O)NR_aR_a$ 、 $-NR_aC(=O)R_b$ 、 $-NR_aC(=O)OR_b$ 、 $-OC(=O)NR_aR_a$ 、 $-NR_aC(=O)NR_aR_a$ 、 $-(CR_dR_d)rC(=O)OR_b$ 、 $-S(O)_2NR_aR_a$ 、 $-NR_aS(O)_2NR_aR_a$ 、 $-NR_aS(O)_2R_c$ 、被0至5个 R_e 取代的 C_{1-6} 烷基、被0至5个 R_e 取代的 $-(CR_dR_d)r-C_{3-6}$ 碳环基、以及被0至5个 R_e 取代的 $-(CR_dR_d)r$ -杂环基；

[0176] R_{12} 选自H、-C(=O)R_b、被0至5个 R_e 取代的 C_{1-6} 烷基、被0至5个 R_e 取代的 $-(CH_2)_r-C_{3-6}$ 碳环基、以及被0至5个 R_e 取代的 $-(CH_2)_r$ -杂环基；

[0177] R_a ，在每次出现时，独立地选自H、CN、被0至5个 R_e 取代的 C_{1-6} 烷基、被0至5个 R_e 取代的 C_{2-6} 烯基、被0至5个 R_e 取代的 C_{2-6} 炔基、被0至5个 R_e 取代的 $-(CH_2)_r-C_{3-10}$ 碳环基、以及被0至5个 R_e 取代的 $-(CH_2)_r$ -杂环基；或者 R_a 和 R_a 连同它们共同连接的氮原子形成被0至5个 R_e 取代的杂环状环；

[0178] R_b ，在每次出现时，独立地选自H、被0至5个 R_e 取代的 C_{1-6} 烷基、被0至5个 R_e 取代的 C_{2-6} 烯基、被0至5个 R_e 取代的 C_{2-6} 炔基、被0至5个 R_e 取代的 $-(CH_2)_r-C_{3-10}$ 碳环基、以及被0至5个 R_e 取代的 $-(CH_2)_r$ -杂环基；

[0179] R_c ，在每次出现时，独立地选自被0至5个 R_e 取代的 C_{1-6} 烷基、被0至5个 R_e 取代的 C_{2-6} 烯基、被0至5个 R_e 取代的 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 碳环基和杂环基；

[0180] R_d ，在每次出现时，独立地选自H和被0至5个 R_e 取代的 C_{1-4} 烷基；

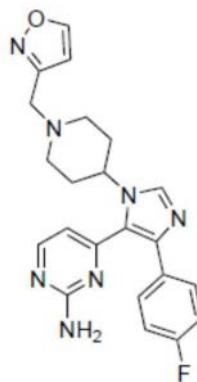
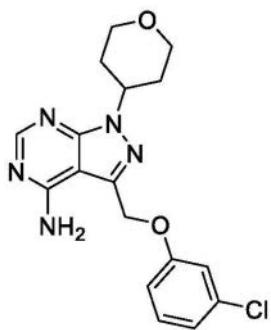
[0181] R_e ，在每次出现时，独立地选自被0至5个 R_f 取代的 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 $-(CH_2)_r-C_{3-6}$ 环烷基、F、Cl、Br、CN、NO₂、=O、CO₂H、 $-(CH_2)_rOC_{1-5}$ 烷基、 $-(CH_2)_rOR_f$ 、 $S(O)_pR_f$ 、 $S(O)_pNR_fR_f$ 和 $-(CH_2)_rNR_fR_f$ ；

[0182] R_f ，在每次出现时，独立地选自H、 C_{1-5} 烷基、 C_{3-6} 环烷基和苯基，或者 R_f 和 R_f 连同它们共同连接的氮原子形成被 C_{1-4} 烷基任选取代的杂环状环；

[0183] p，在每次出现时，独立地选自0、1和2；以及

[0184] r，在每次出现时，独立地选自0、1、2、3和4。

[0185] 优选地，所述化合物选自：



[0186]

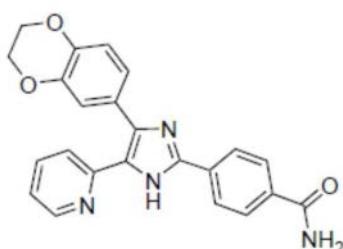
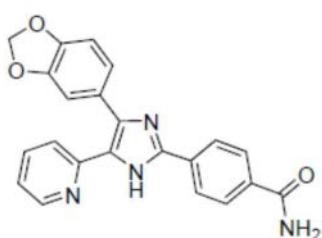
PF-4800567

,

PF-670462

,

PF-5006739



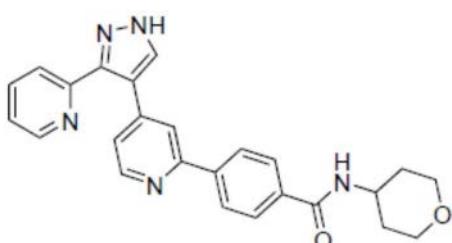
SB-431542

,

D4476

和

[0187]



或其药物可接受的盐、多晶型物或前药。

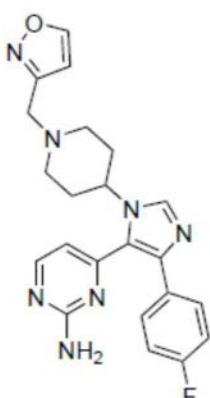
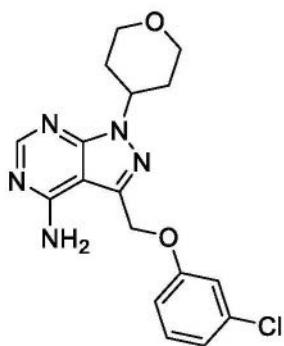
GW788388

,

[0188]

在一个特别优选的实施方案中,所述化合物为选自以下的酪蛋白激酶1抑制剂:

[0189]



或其药物可接

PF-4800567

,

PF-5006739

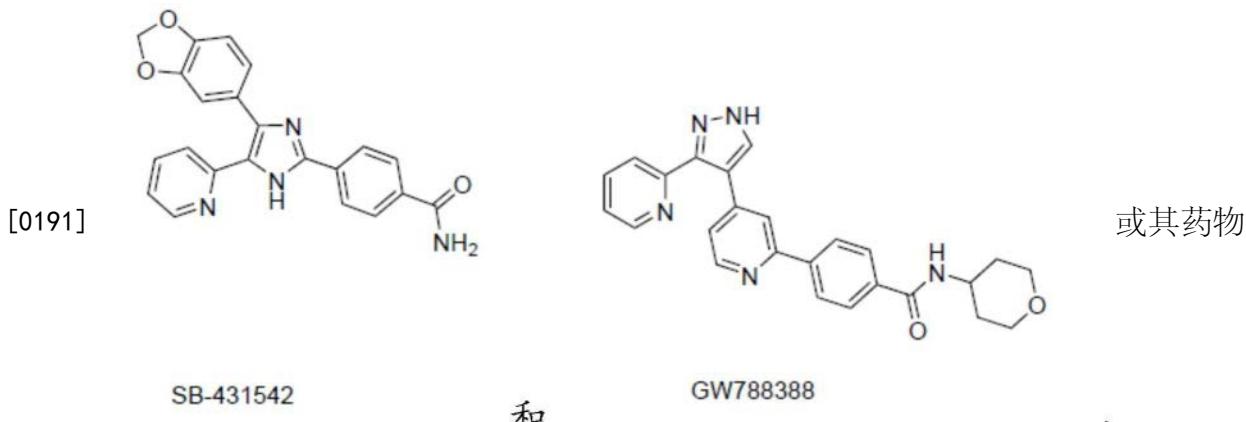
和

PF-670462

,

受的盐、多晶型物或前药。

[0190] 在另一个优选实施方案中,所述化合物为选自以下的ALK5抑制剂:



可接受的盐、多晶型物或前药。

[0192] 术语“药物可接受的盐”是指那些在合理医学判断的范围内适用于与人和动物的组织接触而无过度的毒性、刺激、过敏反应等并且与合理的利益/风险比相当的盐。药物可接受的盐是本领域所熟知的。S.M.Berge等人在J.Pharmaceutical Sciences, 1977, 66:1-19中详细描述了药物可接受的盐。视情况,所述盐包括任何小分子抑制剂的相对无毒的无机酸盐和有机酸盐。例如,PF-670462、PF-4800567、PF-5006739、SB-431542、D4476、GW788388或LH846的盐。此类无机酸的实例是盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硝酸、碳酸、硫酸和磷酸。适当的有机酸可以选自脂肪族、脂环族、芳香族、杂环羧酸类和磺酸类的有机酸,其实例为甲酸、乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、葡萄糖酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、葡萄醛酸、富马酸、马来酸、丙酮酸、烷基磺酸、芳基磺酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯甲酸、氨基甲酸、甲磺酸、水杨酸、对羟基苯甲酸、苯乙酸、扁桃酸、阿波酮酸、双羟萘酸、泛酸、磺胺酸、环己基氨基磺酸、硬脂酸、海藻酸(algenic acid)、 β -羟基丁酸、半乳糖二酸和半乳糖醛酸。适合的本发明化合物的药物可接受的碱加成盐包括由锂、钠、钾、镁、钙、铝和锌制成的金属盐,以及由诸如胆碱、二乙醇胺、吗啉的有机碱制成的有机盐。或者,由N,N'-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、葡甲胺(N甲基葡萄糖胺)、普鲁卡因制成的有机盐,铵盐,诸如四甲基铵盐的季铵盐,诸如甘氨酸和精氨酸的盐的氨基酸加成盐。

[0193] 例如,如果认为适于结构,可以使用碱金属盐(K、Na)和碱土金属盐(Ca、Mg),但是当适合时又可以使用任何药物可接受的无毒的盐。Na-盐和Ca-盐是优选的。

[0194] “前药”意指通过代谢方式(例如通过水解、还原或氧化)在体内可转变为本发明化合物的化合物。例如,含有羟基的本发明化合物的酯前药可以通过体内水解转变为母体分子。当可以形成酯时,适合的酯为,例如,乙酸酯、柠檬酸酯、乳酸酯、酒石酸酯、丙二酸酯、草酸酯、水杨酸酯、丙酸酯、琥珀酸酯、富马酸酯、马来酸酯、亚甲基-双- β -羟基萘甲酸酯、龙胆酸酯(gestisates)、羟乙基磺酸酯、二对甲苯甲酰基酒石酸酯、甲磺酸酯、乙磺酸酯、苯磺酸酯、对甲苯磺酸酯、环己基氨基磺酸酯和奎尼酸酯。

[0195] 在相当长的时间已知的是,已经设计出代谢不稳定性或化学不稳定性药物的研发可以改善肺/气道/鼻选择性。具体地,这种“软性药物”的概念可以通过在从气道壁和肺空间吸收进入支气管或肺循环时迅速降解或代谢的化合物来实现。此类化合物的实例在Belvisi M.&Hele, D.J. Pulmonary Pharmacology&Therapeutics (2003) 16, 321和Druzgala, P等人J.Steroid Biochera. Molec. Biol. (1991) 38(2), 149-154中提供。可以预

期本发明的化合物可以用作软性药物。

[0196] 此类化合物和此类盐的药物可接受的溶剂化物,包括水合物,也意在包含于本发明的范围内。

[0197] 在小分子抑制剂为固体的情况下,本领域技术人员应理解,化合物、试剂和盐可以以不同的结晶形式或多晶型形式存在,所有的这些均意在在本发明和规定式的范围内。

[0198] 术语“多晶型物”包括本文描述的任何化合物的任何结晶形式的化合物,例如无水形式、含水形式、溶剂化物形式以及混合的溶剂化物形式。

[0199] 表1.通过有效预防在TGF β -处理的BEAS-2B中GC活性损失的几种激酶抑制剂实现的CK1 ϵ 和ALK5抑制。CK1 δ 的¹数据来自Badura JPET 322:730-38; Walton JPET 330:430-39; Vogt Cell Signal. 23:1831-42。NA=未获得

激酶抑制剂	IC₅₀ CK1δ (nM) ¹	IC₅₀ CK1ϵ (nM)	IC₅₀ ALK5 (nM)
PF670462	14	56	1160
PF4800567	711	11	4130
D4776	7610	607	540
SB431542	920	646	93
GW788388	NA	18,630	14

[0200] [0201] SB431542是被称为ALK5的TGF β 受体激酶的抑制剂。认为该化合物阻断了来自激活的TGF β 受体的所有信号转导。GW788388也是ALK5抑制剂。

[0202] 词语“治疗有效量”通常是指本发明的一种或多种抑制剂的这样的量,或者如果是小分子抑制剂、其药物可接受的盐、多晶型物或前药的这样的量,即:(i)治疗特定的疾病、病况或病症,(ii)减弱、减轻或消除特定疾病、病况或病症的一种或多种症状,或者(iii)延迟本文描述的特定疾病、病况或病症的一种或多种症状的发作。

[0203] 对涉及糖皮质激素的治疗具有抗性的对象是经历过至少一次其中潜在的呼吸性疾病恶化的对象不受包含糖皮质激素的治疗所控制的情况的对象。或者,对象对于包含糖皮质激素的治疗表现出的应答不足以使得肺功能或病理的其他方面正常化。通常,所述治疗是吸入糖皮质激素(ICS)、或者是与长效 β 2-肾上腺素能受体激动剂(LABA)组合的ICS。采取ICS/LABA的联合疗法的患者中的恶化将所述恶化限定为对用糖皮质激素治疗的抗性。

[0204] 患有严重阻塞性疾病的对象通常是当使用ICS或ICS/LABA治疗时不能经历肺功能正常化(甚至在不存在呼吸道感染的情况下)的对象。

[0205] 可以从本文描述的治疗中受益的对象是由于年龄或其他医疗状况而被禁止或者必须避免使用糖皮质激素的对象。

[0206] ALK5也被称为TGFB受体(TGFR1; AAT5; ACVRLK4; ALK-5; ALK5; ESS1; LDS1; LDS1A; LDS2A; MSSE; SKR4; TGFR-1)。如本文使用的,术语“ALK5”用于表示具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性的TGF- β 受体I型(在本文也被称为TGF β R-1)。术语“TGF- β 受体”或“TGF β R”在本文用于涵盖TGF β R家族的全部三种亚型(即,TGF β R-1, TGF β R-2, TGF β R-3)。TGF β 受体的特征在

于丝氨酸/苏氨酸激酶活性并且以几种不同的同种型(可以是同源二聚体或异源二聚体)存在。

[0207] 如本文使用的,“ALK5的抑制剂”是抑制ALK5活性的任何化合物。所述化合物可以降低TGF β 与ALK5的结合,降低受体寡聚化或者降低ALK5的丝氨酸/苏氨酸激酶活性。

[0208] 如本文使用的,“预防(preventing或prevention)”意指至少降低患上疾病或病症的风险可能性,或者至少降低对患上疾病或病症的敏感性(即,在可能暴露于疾病或者有倾向患上疾病但尚未经历或表现出该疾病症状的患者中,使所述疾病的至少一种临床症状不发展)。在本文中提供了用于鉴别此类患者的生物参数和生理学参数,并且也是医师所熟知的。

[0209] 术语对象的“治疗(treatment或treating)”包括向对象应用或施用本发明的化合物(或者向对象的细胞或组织应用或施用本发明的化合物),其目的在于延迟、减慢、稳定、治愈、愈合、缓解、减缓、改变、医治、较少地恶化、减轻、改善或影响疾病或病况、疾病或病况的症状、或者疾病或病况的风险(或者对疾病或病况的敏感性)。术语“治疗”是指在治疗或减轻损伤、病理或病况中取得成功的任何指示,包括任何客观参数或主观参数,例如降低;减免;恶化速度的降低;疾病严重程度的降低;症状的稳定、衰减,或者使对于对象而言损伤、病理或病况更能忍受;退化或衰退速度的减慢;使退化的终点不那么衰弱;或者改善对象生理或精神上的幸福感。

[0210] 本文使用的术语“拮抗”意指“降低”或“减少”。足够的时间段可以为1周,或1周至1个月,或1至2个月,或2个月以上。对于慢性病况,本发明的化合物可以在生存期有利地施用。

[0211] 术语“呼吸性”是指通过包括鼻、咽喉、喉、气管、支气管和肺的身体系统将氧气摄入身体并将二氧化碳排出的过程。

[0212] 术语“呼吸性疾病”或“呼吸性病况”是指多种涉及炎症并且影响呼吸系统组分的疾病中的任一种,所述呼吸系统包括上呼吸道(包括鼻腔、咽和喉)和下呼吸道(包括气管、支气管和肺)。此类疾病包括肺纤维化(间质性肺疾病)、鼻窦炎、流感、结节病、支气管癌、硅肺病、尘肺病、机械通气所致肺损伤、先天性肺气肿、支气管扩张、鼻息肉、石棉肺、间皮瘤、肺嗜酸性粒细胞增多症、弥漫性肺出血综合症、闭塞性支气管炎、肺泡蛋白沉积症、影响肺的胶原和血管病症、咳嗽。优选地,呼吸性疾病是阻塞性气道疾病,此类疾病包括:哮喘病况,其包括枯草热、过敏原诱导的哮喘、运动诱导的哮喘、污染诱导的哮喘、低温诱导的哮喘、应激诱导的哮喘和病毒诱导的哮喘;慢性阻塞性肺病,其包括伴有正常气流的慢性支气管炎、伴有气道阻塞的慢性支气管炎(慢性阻塞性支气管炎)、肺气肿、哮喘性支气管炎;以及大疱性疾病;以及其他涉及炎症的肺疾病,其包括囊性纤维化、鸽子爱好者疾病(pigeon fancier's disease)、农民肺、急性呼吸窘迫综合症、肺炎、吸气性或吸入性损伤、肺脂肪栓塞、肺的酸中毒炎症、急性肺水肿、急性高山病、心脏手术后急性肺动脉高血压、新生儿持续性肺动脉高血压、围产期吸入综合症、肺透明膜病、急性肺血栓栓塞、肝素-鱼精蛋白反应、败血症、哮喘持续状态和缺氧。上呼吸道和下呼吸道中的炎症可以与病毒感染或过敏原相关,或者由病毒感染或过敏原引起。预计所述化合物在单独或在与糖皮质激素共同施用时的抗炎活性会使它们特别适于治疗这些疾病或病况。

[0213] 呼吸性疾病或病况可以与过敏原相关或者由过敏原引起,所述过敏原例如室内尘

螨。本发明特别适用于对于气道或肺的过敏性疾病以及该疾病的恶化的特定应用，所述恶化例如由病毒感染(例如，RSV感染)引起的恶化。

[0214] 呼吸性疾病的症状可以包括咳嗽、痰产生过多、伴有可听到的喘鸣的呼吸急促或者胸闷的感觉。运动能力会受到极大限制。在哮喘中，FEV1.0(第一秒用力呼气容积)占基于体重、身高和年龄的统计学预期值的百分比，会随着用力呼气时的峰值呼气流速而降低。在COPD中，FEV1.0占FVC的比值通常降低至小于0.7。在IPF中，FVC逐步下降。这些病况中的每一种的影响也可以通过缺席工作/学业的天数、睡眠障碍、对支气管扩张剂药物的需求、对糖皮质激素(包括口服糖皮质激素)的需求来测量。

[0215] 呼吸性疾病的存在、改善、治疗或预防可以通过对象的任何临床或生物化学相关的方法或者通过对对象的活组织检查来实现。例如，测量的参数可以是肺功能的存在或程度、阻塞的体征和症状；运动耐受力；夜间觉醒；缺席学业或工作的天数；支气管扩张剂的使用；ICS剂量；口服GC的使用；对其他药物的需求；对医疗的需求；住院。

[0216] 如本文使用的，术语“哮喘”是指特征在于由以下三个主要因素中的任一个或组合引起的阵发性呼吸困难的呼吸系统病症，所述因素包括：1) 支气管痉挛(即，由于气道肌肉收缩而引起的可变和可逆的气道阻塞)，2) 气道粘膜的炎症，以及3) 支气管高反应性引起气道中过多的粘液，其可以通过暴露于过敏原或过敏原的组合(即，尘螨和霉菌)、病毒感染或细菌感染(即，常见的感冒病毒)、环境污染物(即，化学烟气或烟雾)、身体过劳(即，在运动期间)、压力、或者冷空气的吸入来引发。如本文使用的术语“哮喘病况”是指个体在暴露于任一种或多种对于该个体而言的哮喘引发物时经受哮喘发作的特性。个体的特征可以是经受，例如，过敏原诱导的哮喘、运动诱导的哮喘、污染物诱导的哮喘、病毒诱导的哮喘或低温诱导的哮喘。

[0217] 可以通过本领域熟知的方法测量哮喘治疗的功效，例如，肺功能的增强(肺活量测定法)、哮喘恶化的减少、清晨峰值呼气流速的增大、急救药物使用的减少、日间和夜间哮喘症状的减少、无哮喘天数的增加、达到哮喘恶化的时间增长、以及第一秒用力呼气容积(FEV1.0)提高。

[0218] 如本文互换使用的术语“慢性阻塞性肺病”和“COPD”是指这样的慢性病症或病症的组合，即其特征为最大呼气流量降低和肺用力排空缓慢，其在数月内不发生明显改变并且使用传统的支气管扩张剂不可逆转或仅可最低限度逆转。最常见地，COPD是慢性支气管炎的组合，即，存在咳嗽和痰超过三个月持续约连续两年，以及存在肺气肿，即肺泡损伤。然而，COPD可以包括具有正常气流的慢性支气管炎、伴有气道阻塞的慢性支气管炎(慢性阻塞性支气管炎)、肺气肿、哮喘性支气管炎、和大疱性疾病，以及它们的组合。慢性阻塞性肺病是通常但非唯一地由通过暴露于烟草烟雾诱导的慢性肺损伤而导致的病况。其他有害的空气中污染物，例如室内烹饪排气和汽车尾气，在长时期内可以引起COPD或提高COPD的风险。

[0219] 短语“涉及纤维化的气道或肺的病况”或“具有纤维化组分的气道或肺的病况”包括其中在气道或肺中存在过多纤维状结缔组织的形成或发展(纤维化)从而导致瘢痕(纤维化)组织的发展的任何疾病或病况。其包括肺纤维化(pulmonary fibrosis)、肺纤维化(lung fibrosis)或特发性肺纤维化(IPF)。更确切地，肺纤维化是引起肺的肺泡和间质组织肿胀和瘢痕化的慢性疾病。瘢痕组织取代了健康组织，并且引起炎症。对肺组织的这种损伤导致肺的僵硬，随后使得呼吸越来越困难。

[0220] “特发性肺纤维化(IPF)”是特发性间质性肺炎(IIP)(一种间质性肺疾病)的具体表现。间质性肺疾病,也称为弥漫性实质性肺疾病(DPLD),是指一类影响间质组织的肺疾病。显微镜下,来自IPF患者的肺组织显示出了被称为普通型间质性肺炎(UIP)的组织学特征的一组特性。因此UIP是IPF的病理学表现。

[0221] 涉及纤维化的气道或肺的病况,特别是肺纤维化(pulmonary fibrosis/lung fibrosis)或特发性肺纤维化的存在、改善、治疗或预防可以通过对象的任何临床或生物化学相关的方法或者通过对象的活组织检查来实现。例如,测量的参数可以是纤维化的存在或程度,胶原、纤连蛋白或另一细胞外基质蛋白的含量,细胞或者细胞中的任何细胞外基质组分的增殖速度,或者细胞向肌成纤维细胞的转分化。

[0222] 制剂的有效量取决于具体的呼吸性疾病指征(例如严重慢性哮喘)的严重程度、患者的临床病史和反应、以及主治医师的判断。可以以一次或经历一系列的治疗将制剂施用至患者。可以向患者施用初始的候选剂量,并且通过使用本领域普通技术人员已熟知的常规技术监控该患者的进展来建立适当的剂量和治疗方案。优选地,活性化合物的治疗有效浓度将为 0.1nM 至 $100\mu\text{M}$ 。更优选地,该范围将为 $0.1\mu\text{M}$ - $10\mu\text{M}$ 。然而,应理解,通过吸入的递送可以导致气道内的细胞在短时间内暴露于超出上述范围的浓度,持续一段时间,同时药物在气道表面流体中稀释,并且从气道和肺表面吸收。

[0223] 可与载体材料组合以产生单个剂型的活性成分的量将根据治疗的对象和具体的施用方式而改变。然而,应理解,对于任何特定患者的具体剂量水平将取决于多种因素,包括所使用的具体制剂的活性、年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、施用时间、施用途径、排泄速率、药物组合以及进行治疗的特定疾病的严重程度,并且可以由本领域技术人员确定。

[0224] 能够预防或减慢哺乳动物的疾病发展的药物制剂的量被称为“预防有效剂量”。预防性治疗所需的具体剂量将取决于哺乳动物的身体状况和病史、预防的具体疾病、以及诸如年龄、体重、性别、施用途径、效率等其他因素。可以在例如之前患过疾病的哺乳动物中使用此类预防性治疗以预防该疾病复发,或者在被怀疑具有很大可能发展疾病的哺乳动物中使用此类预防性治疗。

[0225] 一方面,本发明的治疗方法还包括施用对于目标疾病适应症的联用药物。例如,在本发明方法中可以使用的联用哮喘药物(用于慢性和急性哮喘)包括但不限于:吸入和口服的类固醇(例如,倍氯米松、布地奈德、氟尼缩松、氟替卡松、去炎松、莫米松);系统性皮质类固醇(例如,甲基泼尼松龙、泼尼松龙、泼尼松、地塞米松和地夫可特);吸入或口服的 β_2 激动剂(例如,沙美特罗、福莫特罗、比托特罗、毗布特罗、特布他林、班布特罗和沙丁胺醇);色甘酸和奈多罗米;抗过敏性眼药(例如地塞米松);甲基黄嘌呤(例如,茶碱和美吡拉敏-茶碱乙酸酯);白三烯改性剂(例如,扎鲁司特、齐留通、孟鲁司特和普鲁司特);抗胆碱能类(例如,异丙托溴铵);其他任何形式的治疗性抗体(例如,直接针对细胞内粘附分子的抗体或IgE,那些单克隆形式的抗体,Fab,scFV等);抗体模拟物(例如,anticalin)或肽;凝血噁烷A2合成酶抑制剂;凝血噁烷前列腺素类受体拮抗剂;其他类花生酸改性剂(例如,前列地尔对应于PGE1,地诺前列酮对应于PGE2,依前列醇对应于前列环素);以及PGI2类似物(例如PG12贝前列素);塞曲司特;磷酸二酯酶4同工酶抑制剂;凝血噁烷A2合成酶抑制剂(例如,ozmagrel、达美格雷或奥扎格雷);ditec(低剂量色甘酸二钠和非诺特罗);血小板激活因子

受体拮抗剂；抗组胺剂或组胺拮抗剂：异丙嗪、氯苯那敏、氯雷他定、西替利嗪、氮卓斯汀；抗凝血噁烷A2；抗缓激肽（例如，艾替班特）；抑制激活嗜酸性粒细胞和T细胞募集的试剂（例如，酮替芬）；IL-13阻断剂（例如，可溶性IL-13受体片段）；IL-4阻断剂（例如，可溶性IL-4受体片段）；结合并阻断IL-13或IL-4的活性的配体；以及黄嘌呤衍生物（例如，己酮可可碱）。

[0226] 本发明还包括施用酪蛋白激酶1的抑制剂和用于上文所述的目标疾病适应症的药物，其中所述酪蛋白激酶1的抑制剂和用于上文所述的目标疾病适应症的药物之一或两者通过吸入施用，或者配制成口服施用。

[0227] 虽然本发明适用于人，但本发明也适用于治疗性兽医学的目的。本发明适用于诸如牛、羊、马和家禽的家畜或农场动物；诸如猫和狗的伴侣动物；以及动物园动物。

[0228] 药物组合物可以配制用于任何适合的施用途径，包括，例如，局部施用（例如，经皮或眼部）、口服施用、经颊施用、鼻施用、阴道施用、直肠施用或肠胃外施用。本文使用的术语肠胃外包括皮下、皮内、血管内（例如，静脉内）、肌肉内、脊椎、颅内、鞘内、眼内、眼周、眼眶内、滑膜内和腹膜内注射，以及任何类似的注射或输注技术。在某些实施方案中，以适于口服使用或肠胃外使用的形式的组合物是优选的。适合的口服形式包括，例如，片剂、锭剂、糖锭剂、水性悬浮液或油性悬浮液、可分散粉末或颗粒、乳液、硬胶囊或软胶囊、糖浆或酏剂。在其他实施方案中，本文提供的组合物可以配制为冻干物。

[0229] 各种剂量单位各自优选地以离散剂量的片剂、胶囊、糖锭剂、糖衣丸、胶或其他类型的固体制剂来提供。胶囊可以包封粉末、液体或凝胶。固体制剂可以被吞咽，或者可以是可吸吮或可咀嚼的类型（易碎的或胶状的）。本发明涵盖除了泡罩包装之外的剂量单位保持装置；例如，诸如瓶、管、罐、包的包装。剂量单位还可以包括药物制剂实践中熟知的常规赋形剂，诸如粘合剂、胶凝剂、填充剂、压片润滑剂、崩解剂、表面活性剂和着色剂；以及用于可吸吮或可咀嚼制剂的赋形剂。

[0230] 用于口服使用的组合物还可以包含一种或多种诸如甜味剂、调味剂、着色剂和/或防腐剂的组分，以便提供具有吸引力且可口的制剂。片剂含有与适于制造片剂的生理可接受的赋形剂掺混的活性成分。此类赋形剂包括，例如，诸如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠的惰性稀释剂；诸如玉米淀粉或海藻酸的造粒剂和崩解剂；诸如淀粉、明胶或阿拉伯胶的粘合剂；以及诸如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石的润滑剂。片剂可以是未包被的，或者其可以通过已知技术进行包被以便延迟在胃肠道中的崩解和吸收，从而提供在较长时间内的缓释作用。例如，可以使用诸如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯的时间延迟材料。

[0231] 口服使用的制剂还可以以硬明胶胶囊提供，其中活性成分与诸如碳酸钙、磷酸钙或高岭土的惰性固体稀释剂混合，或者以软明胶胶囊提供，其中活性成分与水或诸如花生油、液体石蜡或橄榄油的油介质混合。

[0232] 水性悬浮液含有与适于制造水性悬浮液的赋形剂掺混的活性成分。此类赋形剂包括：助悬剂，例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、海藻酸钠、聚乙烯基吡咯烷酮、黄蓍胶和阿拉伯胶；以及分散剂或润湿剂，例如天然产生的磷脂（例如，卵磷脂）、亚烷基氧化物与脂肪酸的缩合产物（例如聚乙二醇硬脂酸酯）、环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物（例如十七亚乙基氧基鲸蜡醇）、环氧乙烷与来源于脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物（例如聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯）、或者环氧乙烷与来源于脂肪酸和己糖醇酐的偏酯的缩合产物（例如聚乙烯山梨糖醇酐单油酸酯）。水性悬浮液还可以包含：一种或多种防腐剂，例

如对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸正丙酯；一种或多种着色剂；一种或多种调味剂；以及一种或多种甜味剂，例如蔗糖或糖精。

[0233] 可以通过将活性成分悬浮于诸如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油的植物油中，或悬浮于诸如液体石蜡的矿物油中来配制油性悬浮液。油性悬浮液可以含有增稠剂，例如蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。可以添加如上文所述的甜味剂和/或调味剂，以提供可口的口服制剂。此类悬浮液可以通过添加诸如抗坏血酸的抗氧化剂来保藏。

[0234] 适于通过添加水制备水性悬浮液的可分散的粉末和颗粒提供了掺混有分散剂或润湿剂、助悬剂以及一种或多种防腐剂的活性成分。适合的分散剂或润湿剂以及助悬剂由上文已提及的内容所例示。还可以存在另外的赋形剂，例如甜味剂、调味剂和着色剂。

[0235] 药物组合物还可以是水包油乳液的形式。油相可以是诸如橄榄油或花生油的植物油、诸如液体石蜡的矿物油、或其混合物。适合的乳化剂包括诸如阿拉伯胶或黄蓍胶的天然产生的胶；诸如大豆卵磷脂的天然产生的磷脂；以及来源于脂肪酸和己糖醇、酸酐的酯或偏酯（例如山梨糖醇酐单油酸酯）；以及来源于脂肪酸和己糖醇的偏酯与环氧乙烷的缩合产物（例如聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯）。乳液还可以包含一种或多种甜味剂和/或调味剂。

[0236] 糖浆剂和酏剂可以用甜味剂例如甘油、丙二醇、山梨糖醇或蔗糖配制。此类制剂还可以包含一种或多种缓和剂、防腐剂、调味剂和/或着色剂。

[0237] 化合物可以配制用于局部 (local 或 topical) 施用，例如局部应用至皮肤。在含有或不含有另外的任选组分的情况下，用于局部施用的制剂通常包含与活性试剂组合的局部媒介物。

[0238] 适合的局部媒介物和另外的组分是本领域所熟知的，并且明显地，媒介物的选择将取决于具体的物理形式和递送方式。局部媒介物包括：有机溶剂，例如醇（例如，乙醇、异丙醇或丙三醇），二醇（例如丁二醇、异戊二醇或丙二醇），脂肪醇（例如羊毛脂）；水和有机溶剂的混合物以及有机溶剂的混合物（例如乙醇和丙三醇）；基于脂质的材料，例如脂肪酸、包括油（例如矿物油）和天然来源或合成来源的脂肪的酰基甘油、甘油磷脂、鞘脂和蜡；基于蛋白质的材料，例如胶原和明胶；基于硅酮的材料（非挥发性的和挥发性的）；以及基于烃类的材料，例如微海绵和聚合物基质。

[0239] 组合物还可以包含一种或多种适于改善所应用制剂的稳定性或有效性的组分，例如稳定剂、助悬剂、乳化剂、粘度调节剂、胶凝剂、防腐剂、抗氧化剂、皮肤渗透增强剂、保湿剂和缓释材料。此类组分的实例在 Martindale - The Extra Pharmacopoeia (Pharmaceutical Press, London 1993) 和 Martin (编著), Remington's Pharmaceutical Sciences 中进行了描述。制剂可以包含微囊剂，例如羟甲基纤维素或明胶微囊剂、脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒或纳米胶囊。

[0240] 局部制剂可以以多种物理形式进行制备，包括，例如，固体、糊剂、乳膏剂、泡沫剂、洗剂、凝胶剂、粉剂、水性液体、乳液、喷雾和皮肤贴剂。此类形式的物理外观和粘度可以通过制剂中存在的乳化剂和粘度调节剂的存在和量来控制。固体通常是坚硬且不可灌注的，并且通常配制为条或棒，或者以颗粒形式配制。固体可以是不透明的或透明的，并且任选地可以含有溶剂、乳化剂、保湿剂、软化剂、芳香剂、染料/着色剂、防腐剂以及其他提高或增强最终产品的功效的活性成分。乳膏剂和洗剂通常彼此相似，区别主要在于它们的粘度。洗剂和乳膏剂可以是不透明的、半透明的或透明的，并且通常含有乳化剂、溶剂和粘度调节剂、

以及保湿剂、软化剂、芳香剂、染料/着色剂、防腐剂和其他提高或增强最终产品的功效的活性成分。凝胶剂可以以从粘稠或高粘度至稀薄或低粘度的一系列粘度制备。这些制剂，如同洗剂和乳膏剂，也可以含有溶剂、乳化剂、保湿剂、软化剂、芳香剂、染料/着色剂、防腐剂和其他提高或增强最终产品的功效的活性成分。液体比乳膏剂、洗剂或凝胶剂更加稀薄，并且通常不含有乳化剂。液体局部产品通常含有溶剂、乳化剂、保湿剂、软化剂、芳香剂、染料/着色剂、防腐剂和其他提高或增强最终产品的功效的活性成分。

[0241] 用于局部制剂的乳化剂包括但不限于，离子乳化剂、鲸蜡硬脂醇、非离子乳化剂例如聚氧乙烯油烯基醚、PEG-40硬脂酸酯、鲸蜡硬脂醇聚醚-12、鲸蜡硬脂醇聚醚-20、鲸蜡硬脂醇聚醚-30、鲸蜡硬脂醇(ceteareth alcohol)、PEG-100硬脂酸酯和甘油硬脂酸酯。适合的粘度调节剂包括但不限于，保护胶体或非离子胶，例如羟乙基纤维素、黄原胶、硅酸镁铝、二氧化硅、微晶蜡、蜂蜡、石蜡和鲸蜡醇棕榈酸酯。凝胶组合物可以通过添加胶凝剂来形成，所述胶凝剂例如壳聚糖、甲基纤维素、乙基纤维素、聚乙烯醇、聚季铵盐、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、卡波姆或氯化甘草酸盐。适合的表面活性剂包括但不限于，非离子表面活性剂、两性离子表面活性剂、离子表面活性剂和阴离子表面活性剂。例如，局部制剂中可以使用聚二甲基硅氧烷共聚多元醇、聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯40、聚山梨醇酯60、聚山梨醇酯80、月桂酰胺DEA、椰油酰胺DEA、以及椰油酰胺MEA、油基甜菜碱、椰油酰胺丙基磷脂酰基PG-二甲基氯化铵以及月桂基聚氧乙烯醚硫酸铵中的一种或多种。

[0242] 防腐剂包括但不限于：抗微生物剂，例如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、山梨酸、苯甲酸和甲醛；以及物理稳定剂和抗氧化剂，例如维生素E、抗坏血酸钠/抗坏血酸和没食子酸丙酯。适合的保湿剂包括但不限于，乳酸以及其他羟基酸及其盐、甘油、丙二醇和丁二醇。适合的软化剂包括羊毛脂醇、羊毛脂、羊毛脂衍生物、胆甾醇、凡士林、新戊酸异硬脂基酯和矿物油。适合的芳香剂和着色剂包括但不限于，FD&C红色40号和FD&C黄色5号。局部制剂中可以包含的其他适合的另外的成分包括但不限于，研磨剂、吸收剂、防结块剂、消泡剂、抗静电剂、收敛剂(例如金缕梅)、醇和诸如洋甘菊提取物的草药提取物、粘合剂/赋形剂、缓冲剂、螯合剂、成膜剂、调节剂、推进剂、乳浊剂、pH调节剂和保护剂。

[0243] 局部组合物的典型递送方式包括使用手指应用；使用物理涂药器例如布、薄纱、拭子、棒或刷应用；喷雾，包括薄雾喷雾、气溶胶喷雾或泡沫喷雾；滴管应用；喷洒；浸泡和冲洗。还可以使用控释媒介物，并且组合物可以配制用于经皮施用(例如，作为经皮贴剂)。

[0244] 药物组合物可以配制成吸入制剂，包括喷雾、薄雾或气溶胶。这对治疗本文描述的呼吸性疾病、涉及纤维化的气道或肺的病况可以是特别优选的。吸入制剂可以应用至上呼吸道(包括鼻腔、咽和喉)和下呼吸道(包括气管、支气管和肺)。对于吸入制剂，本文提供的组合物或组合可以经由本领域技术人员已知的任何吸入方法递送。此类吸入方法和装置包括但不限于，具有推进剂的定量吸入器，所述推进剂例如HFA或生理和环境可接受的推进剂。其他适合的装置是呼吸操纵吸入器、多剂量干粉吸入器和气溶胶喷雾器。用于本方法的气溶胶制剂通常包含推进剂、表面活性剂和共溶剂，并且可以填入由适合的计量阀封闭的常规的气溶胶容器中。根据应用是对于上呼吸道(包括鼻腔、咽和喉)还是下呼吸道(包括气管、支气管和肺)，可以使用不同的装置和赋形剂，并且可以通过本领域的技术人员确定。此外，制备用于吸入器(例如干粉吸入器)的本文所述化合物的微粉化和纳米颗粒形成的方法也是本领域技术人员已知的。

[0245] 吸入剂组合物可以包括液体或粉末状组合物或者气溶胶组合物,所述液体或粉末状组合物含有适于雾化和支气管内使用的活性成分,所述气溶胶组合物经由分配计量剂量的气溶胶单元施用。适合的液体组合物包含在水性、药物可接受的吸入剂溶剂中的活性成分,所述吸入剂溶剂例如等渗盐水或抑菌水。通过泵或挤压致动雾化式喷雾分配器,或者通过任何其他常规方式使得或能够使得必需剂量的液体组合物吸入患者肺部,从而施用溶剂。用于施用的适合的制剂(其中载体是液体),例如作为鼻喷雾剂或作为滴鼻剂,包括活性成分的水性溶液或油性溶液。在Ibrahim等人Medical Devices: Evidence and Research 2015:8 131-139中描述了吸入药物递送装置的实例,预期适用于本发明。

[0246] 药物组合物还可以制备成例如用于直肠施用的栓剂的形式。此类组合物可以通过将药物与适合的无刺激性赋形剂混合来制备,所述赋形剂在常温下为固体但在直肠温度下为液体并因此在直肠中熔化以释放药物。适合的赋形剂包括,例如,可可油和聚乙二醇。

[0247] 药物组合物可以配制为缓释或延长释放的制剂,例如在施用后产生调节剂的缓慢释放的胶囊。此类制剂通常可以使用熟知的技术制备,并且通过例如口服、直肠或皮下植入来施用,或者通过在期望的靶部位植入来施用。此类制剂中使用的载体是生物相容的,并且还可以是可生物降解的。优选地,制剂提供了相对恒定水平的调节剂释放。缓释制剂中含有的调节剂的量取决于,例如,植入的部位、释放速度和预期的释放持续时间、以及待治疗或预防的病况的性质。

[0248] 在另一个实施方案中,提供了试剂盒或制成品,其包含上述酪蛋白激酶1的抑制剂和/或ALK5的抑制剂或其药物可接受的盐、多晶型物或前药和/或药物组合物中的任一种或多种。

[0249] 在其他实施方案中,提供了用于上文提及的治疗性或预防性应用的试剂盒,所述试剂盒包括;

[0250] -容器,其容纳以酪蛋白激酶1的抑制剂和/或ALK5的抑制剂或其药物可接受的盐、多晶型物或前药或者药物组合物中的任一种或多种形式的治疗组合物;

[0251] -具有使用说明的标签或包装说明书。

[0252] 在某些实施方案中,试剂盒可以包含一种或多种另外的用于治疗本文描述的病况或疾病的活性要素或成分。

[0253] 试剂盒或“制成品”可以包括容器以及在容器上或与容器相关联的标签或包装说明书。适合的容器包括,例如,瓶、小瓶、注射器、泡罩包装等。容器可以由各种材料形成,例如玻璃或塑料。容器容纳对于治疗病况有效的治疗组合物,并且可以具有无菌入口(例如,容器可以是具有皮下注射针可刺穿的塞的静脉内溶液袋或小瓶)。标签或包装说明书说明了治疗组合物用于治疗选择的病况。在一个实施方案中,标签或治疗说明书包括使用说明,并且说明了治疗或预防性组合物可以用于治疗本文描述的纤维化疾病。

[0254] 试剂盒可以包含(a)治疗或预防性组合物;以及(b)其中具有包含于其中的第二活性要素或活性成分的第二容器。本发明的该实施方案中的试剂盒还可以包含包装说明书,该包装说明书说明了组合物和其他活性要素可以用于治疗病症或预防由本文描述的纤维化疾病引起的并发症。可选地,或另外地,试剂盒还可以包含第二(或第三)容器,其包含药物可接受的缓冲剂,例如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、Ringer溶液和葡萄糖溶液。还可以包括从商业和使用者的角度考虑所期望的其他材料,包括其他缓冲液、稀释剂、

过滤器、针头和注射器。

[0255] 在某些实施方案中,治疗组合物可以以一次性或可重复使用的装置的形式提供,包括用于容纳治疗组合物、预防组合物或药物组合物的容器。在一个实施方案中,装置是注射器。装置可以容纳1mL-2mL的治疗组合物。治疗组合物或预防组合物可以在以准备使用的状态、或者以需要混合或添加其他组分的状态的装置中提供。

[0256] 应理解,对于任何特定患者的具体剂量水平将取决于多种因素,包括使用的具体化合物的活性、年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、施用时间、施用途径、以及排泄速率、药物组合(即,用于治疗患者的其他药物)、以及进行治疗的特定病症的严重程度。

[0257] 应理解,本说明书中公开和限定的本发明延伸至从上下文或附图提及或明显看出的个体特征中的两个或更多个的所有替代组合。所有这些不同的组合构成了本发明的各种替代方面。

[0258] 在正文中提及了大量的缩写词和基因产物。提供了对这些术语的含义和意义的简要解释。

[0259] ALI-气液相界面,其通过从经培养的上皮细胞去除流体,以诱导基底上皮细胞分化成为极类似于人类气道的上皮层的器官型培养物而产生。

[0260] Bud-布地奈德,其是吸入皮质类固醇(ICS),用于治疗哮喘和COPD。

[0261] CDKN1C-其编码了细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂,p57^{kip2},其可以介导一些糖皮质激素的生长抑制作用。

[0262] CK1-酪蛋白激酶1家族,其包含7种不同成员,其中 δ 和 ϵ 同种型(CK1 δ 和CK1 ϵ)是与PF670462的作用最相关的。

[0263] Col1A-胶原1a,其是在纤维化病变中的细胞外基质中过度沉积的纤维型胶原的亚单位。

[0264] Col3-胶原3,其是在纤维化病变中的细胞外基质中过度沉积的纤维型胶原的亚单位。

[0265] CTGF-结缔组织生长因子,其是刺激胶原沉积的纤维蛋白原,并且被认为是TGF β 影响的主要介质。

[0266] Dex-地塞米松,其是通常通过口服途径施用的糖皮质激素激动剂。其通常作为参考化合物用于糖皮质激素的体外研究中。

[0267] FKBP5-FK结合蛋白,其用作糖皮质激素受体的分子伴侣,并且其水平的降低与重度哮喘有关。

[0268] 糖皮质激素(GC)-对糖皮质激素受体具有皮质醇样激动剂作用,导致一系列内分泌物和抗炎效应的试剂。

[0269] GILZ-糖皮质激素诱导的亮氨酸拉链蛋白,认为其通过抑制促炎转录因子NF κ B的活化介导糖皮质激素的大量抗炎作用。

[0270] GRE-糖皮质激素反应元件,其是基因(具有被糖皮质激素激动剂改变的表达)的启动子区中的核苷酸序列。

[0271] HDM-室内尘螨(HDM),其是生活在人皮屑(皮肤鳞屑)上的微观动物。HDM排泄物含有在过敏性肺/气道炎症的鼠模型中用于诱导气道炎症的强过敏原(Bossios等人,(2008) Clin Exp Allergy,38(10):16-15-1626)。

[0272] IL-28A-IL-28A是抗病毒细胞因子,也被称为干扰素λ(IFNλ)。

[0273] PAI-1-纤溶酶原激活剂抑制剂-1,其是对于尿激酶(也被称为尿激酶纤溶酶原激活剂或uPA)和组织型纤溶酶原激活物(tPA)有选择性的丝氨酸蛋白酶抑制剂。PAI-1可以通过促进纤维蛋白在含气空间中的积累从而为侵入性纤维增生提供临时ECM来加大纤维化病变的程度。

[0274] RV-鼻病毒,其是导致普通感冒的病毒。在哮喘和COPD患者的感染中,这种病毒可以传播至下呼吸道,使症状恶化,称为加重。

[0275] RSV-呼吸道合胞体病毒,其是能够引起重度急性呼吸性疾病(尤其在婴幼儿和老年人中)的病毒。儿童中的重度RSV感染是长期哮喘(如果不是终身哮喘)的风险因素。

[0276] SCNN1a编码了上皮细胞钠离子通道α亚单位(ENaCa)。ENaCa通道具有限制流体在气道表面积累的作用。

[0277] TGFβ-转化生长因子β,其是具有纤维发生活性的多效性细胞因子,所述纤维发生活性包括胶原产生的刺激、成纤维细胞成为肌成纤维细胞表型的激活、EMT(上皮间质转化)的诱导和溶胶原酶表达的调节。

[0278] TIMP1-金属蛋白酶-1的组织抑制剂,其是一类特征为具有对活性酶的结构/功能有贡献的锌离子的蛋白酶的解蛋白活性的调节剂。

[0279] TNFα-肿瘤坏死因子α,其是促炎性细胞因子。

[0280] ZBTB16也称为PLZF-早幼粒细胞锌指蛋白(pro-myelocytic zinc finger protein),其是涉及糖皮质激素的抗炎和生长调节作用的转录抑制子。

[0281] 应理解,这些实施例旨在说明本发明的这些和其他方面,并且尽管实施例描述了本发明的某些实施方案,但是应理解所述实施例并非将这些实施方案限于这些内容。在不背离上文所述的本发明的方面和/或原理的情况下,可以进行各种改变,取代等同物和进行修饰。所有的此类改变、等同物和修饰意在在本文阐述的权利要求的范围内。

[0282] 实施例1

[0283] 图1说明了PF674062阻止了TGFβ对糖皮质激素反式激活的显著的抑制作用。将在皮质醇缺乏的培养基中生长24小时的BEAS-2B细胞(人的肺/支气管上皮细胞)使用1μM或10μM的PF670462预处理30min,然后暴露于TGFβ1持续24小时,然后通过地塞米松(30nM)刺激,该浓度是预先确立的以最佳地激活糖皮质激素反应元件(GRE)活性。PF670462浓度依赖性地减弱了显著的由Dex(30nM)刺激的GRE活性的TGFβ1诱导的抑制。将数据表示为3组独立实验的平均值和SEM.*P<0.05,cf对应于Dex 30nM反应。

[0284] 实施例1至5(以及10、19、20)中使用的方法与Salem等人在2012年(Br J Pharmacol.166:2036-2048)和Keenan等人在2014年(Respiratory Research,e15:55)所报导的那些方法类似,在上述文献中充分描述了用于细胞培养、GRE测定和基因表达测量的方法。Collins等人在2007年(Respir Physiol Neurobiol.2007年6月15日;156(3):345-52.)以及Xatzipsalti和papdopoulos,2007(Contrib Microbiol.2007;14:33-41)描述了呼吸道合胞体病毒(RSV)和鼻病毒(RV)的另外的生长方法。

[0285] 实施例2

[0286] 将在皮质醇缺乏的培养基中生长24小时的BEAS-2B细胞用1μM或10μM的PF670462预处理30min,然后暴露于TGFβ1持续24小时,然后通过地塞米松(30nM)刺激,该浓度是预先

确立的以最佳地激活糖皮质激素反应元件 (GRE) 依赖性基因表达。PF670462处理减弱了对 Dex (30nM) 的糖皮质激素诱导的GRE反应的抑制,所述抑制被TNF α 、IL-13和IL-4(各自为1ng/ml或10ng/ml)的组合诱导。将数据表示为3组独立实验的平均值和SEM.*P<0.05,cf对应于Dex 30nM反应。图2示出了PF670462对各种浓度的细胞因子TNF α 、IL-13和IL-4的组合的更有限但显著的作用。这些细胞因子在哮喘中的炎症中具有记录的作用并且在COPD中具有较小程度的作用。此外,目前努力使用系统性施用的生物制剂(例如人源化单克隆抗体)来靶向这些细胞因子,在一个亚组的患者中获得有限成果。

[0287] 实施例3

[0288] 将在皮质醇缺乏的培养基中生长24小时的BEAS-2B细胞用1 μ M或10 μ M的PF670462、或ALK5抑制剂SB431542 (1 μ M) 预处理30min,然后暴露于TGF β 1 (40pM) 持续24小时,然后通过地塞米松 (30nM) 刺激,该浓度是预先确立的以最佳地激活糖皮质激素反应元件 (GRE) 依赖性基因表达。PF670462浓度依赖性地减弱了显著的对Dex (30nM) 的所选基因表达反应(例如SCNN1a表达)的TGF β 1诱导的抑制。另外,PF670462处理部分地减弱了通过TNF α 、IL-13和IL-4(各自以0.1ng/ml)的组合或IL-13/IL-4(以10ng/ml)诱导的抑制。将数据表示为4组独立实验的平均值和SEM.*P<0.05,cf对应于Dex 30nM反应。图3示出了PF670462能够减弱由细胞因子混合物诱导的抗性,但所述ALK5抑制剂SB431542似乎不太有效,对TNF α /IL-4和IL-13的混合物不具有可检测的作用,但在当仅使用IL-4/IL-13组合来诱导抗性状态时具有一些影响。因此,TNF α 对糖皮质激素抗性的贡献可以独立于TGF β 。组装成Na通道的上皮钠通道 α 亚基SCNN1a例示了抗性,认为所述Na通道有助于在急性肺损伤期间从浸没的含气空间再吸收水。

[0289] 实施例4

[0290] 在该实验中,BEAS-2B细胞以与图1中描述的相同的设置进行使用,但是对GRE活性损害的刺激是使用0.1或1.0MOI(感染多重性)的呼吸道合胞体病毒(RSV)的感染。在接种培养物之前使用PF670462的预处理阻止地塞米松ZBTB16基因表达反应的损害。将数据表示为4组独立实验的平均值和SEM.*P<0.05,cf对应于Dex 30nM反应。图4说明了在暴露于TGF β 、细胞因子混合物时观察到的GRE活性损害在RSV(呼吸道合胞体病毒)感染中也是明显的,PF670462阻止了RSV诱导的在糖皮质激素非常强力诱导的基因ZBTB16的表达中的损害。ZBTB16也被称为PLZF,其是一种在上皮细胞中的功能未知的骨髓转录因子,然而其用作GRE活性的敏感标记物。

[0291] 实施例5

[0292] 在本实验中,BEAS-2B细胞以与实施例1/图1中描述的相同的设置进行使用,但是对GRE活性损害的刺激是使用0.1或1.0MOI(感染多重性)的鼻病毒(RV16)的感染。在接种培养物之前使用PF670462的预处理阻止了地塞米松30nM GRE反应的损害,使用ALK5抑制剂SB431542 (1 μ M) 的预处理同样如此(图5)。将数据表示为4组独立实验的平均值和SEM.*P<0.05,cf对应于Dex 30nM反应。

[0293] 在接种培养物之前使用PF670462的预处理极大降低了地塞米松30nM GILZ基因表达反应的损害,使用ALK5抑制剂SB431542的预处理同样如此(图6)。将数据表示为4组独立实验的平均值和SEM.*P<0.05,cf对应于Dex 30nM反应。具体地,在图6A中,数据说明了在RV感染的细胞中,GILZ的水平通过与SB431542 (1 μ M) 或与PF670462 (10 μ M) 共孵育而提高,但在

未感染的细胞中GILZ的水平未提高。在图6B示出的3组独立实验的系列中, RV感染显著降低了Dex诱导的GILZ表达, 并且SB431542(3 μ M)或PF670462(3 μ M)阻止了该作用。这些发现表明在RV感染对糖皮质激素活性的抑制作用中通过酪蛋白激酶18和/或酪蛋白激酶 ϵ 的TGF β 信号转导。

[0294] 这些研究检查了PF670462在已被鼻病毒(RV16)感染的BEAS-2B细胞中的活性, 并且证实了该化合物的作用不是病毒类型特异性的, 因此TGF β 可能广泛地涉及糖皮质激素抗性的病毒机制和非病毒机制。发明人在该研究中使用糖皮质激素可诱导的亮氨酸拉链蛋白基因(GILZ)表达, 例示了化合物对于抗性的作用, 因为已知该基因受到GILZ启动子中的GRE调节, 因此用于确定人气道中的GC活性, 并且在GC的抗炎作用中发挥重要作用。

[0295] 实施例6

[0296] 这些研究证明了PF670462在治疗急性病毒性呼吸性疾病中的效用。

[0297] 在当前实施例、实施例7以及实施例11至13中的实验通过以下来进行: 将在35微升的培养基中施用的病毒(200万个病毒粒子)鼻内吹入至轻度麻醉的小鼠, 然后将所述小鼠用所述药物处理, 并且在第5天杀死以便收获组织和细胞。

[0298] 在雌性Balb/C小鼠中进行体内实验, 所述雌性Balb/C小鼠用RSV接种, 从第1天起用糖皮质激素处理并且在第3、4和5天用PF670462 30mg/kg处理(尸体解剖(post mortem)前的最后48小时)。通过这种方式, 单独的PF670462对支气管肺泡灌洗液(BALF)蛋白或细胞含量没有作用, 单独的地塞米松(Dex) 1mg/kg(腹膜内注射)/天对蛋白质水平和细胞数(肺损伤指标)作用不大, 但其组合显著地降低了BALF细胞和蛋白质含量(图7)。

[0299] 可以通过测量BAL液的蛋白质含量来评估进入含气空间中的蛋白质的变化。蛋白质的渗漏通常反映出来自发炎血管的血浆渗漏, 其在小间隙中积累然后通过受损的上皮屏障。因此, 增多的BAL蛋白是损伤的标志, 而其降低暗示着保护。

[0300] BAL也含有细胞, 包括在生理环境下存在的细胞(主要是巨噬细胞)以及在损伤感染或过敏性炎症后募集的细胞。随着炎症在诱导至消退的时间过程中变化, 这些不同类型的炎症中的BAL细胞渗透物的组成发生变化。

[0301] BAL细胞和蛋白质之一或两者的降低被认为是多种肺病中保护作用的证据。

[0302] 实施例7

[0303] 来自实施例6/图7所示实验中的小鼠肺组织中的基因表达的RT-qPCR测量显示出, 在暴露于相同体积的用于施用病毒感染(“模拟物”)的条件培养基后, 与用PF670462或Dex试剂单独处理的小鼠相比, 在用PF670462和Dex处理的小鼠中糖皮质激素可诱导基因GILZ、ZBTB16和MKP1的表达更多。图8B示出了在RSV感染期间由Dex控制达到不同程度的基因的表达。图8C示出了在支气管肺泡灌洗细胞和肺组织中的干扰素表达。使用Dex各种干扰素的表达下降, 并且通过使用与PF670462的组合处理各干扰素的表达恢复。

[0304] 该实施例示出了来自实施例6中所述实验的小鼠的肺组织中的相关基因表达测量。已知图8a中示出的基因在启动子促炎症中含有GRE调节元件, 并且它们响应于Dex处理而增多。在这些小鼠中的反应可能受到其暴露于Hep2细胞培养物上清液的影响, 所述上清液包含用于RSV施用的模拟媒介物并因此用作模拟物对照。此类上清液是促炎的。然而, 发明人示出通过腹膜内注射施用的PF670462直接刺激了ZBTB16、GILZ和MKP1的表达, Dex也是如此, 并且其组合与单独的Dex相比具有更好的效果, 该协同作用对于MKP1的调节是明显

的,其中单独的Dex或PF670462均不会使表达增加,但Dex和PF670462的组合在模拟物处理的小鼠中具有显著作用。RSV感染钝化了所选测量时间点的表达和相互作用。在8B中,观察到单独的PF670462对于TNF α 、CXCL5或KC没有作用,所述TNF α 、CXCL5或KC是炎性和趋化性细胞因子,其将中性粒细胞募集(recruit)至肺并激活它们,如果此类激活延长,则将导致肺损伤。Dex和PF670462的组合降低了TNF α ,然而任一种单独的化合物均没有作用。在Dex加PF670462处理的小鼠中,维持由单独的Dex实现的CXCL5和KC表达的显著降低。在8C中,我们示出了所选择的重要抗病毒基因IFN α 、IFN β 和IFN γ 的表达模式。在RSV处理的小鼠中,PF670462阻止了通过Dex诱导的IFN表达的降低。

[0305] 实施例8

[0306] 在尸体解剖前4小时接受Dex(1mg/kg,腹膜内注射)的雌性Balb/c naïve小鼠中,在尸体解剖前4小时和24小时施用两剂量的局部PF670462(0.6 μ g,鼻内)的作用。使肺组织在支气管肺泡灌洗之后经受RNA提取,并且使用RT-qPCR来确定GILZ、MKP-1、ZBTB16和干扰素 β 的表达水平。

[0307] 在该实验中,在naïve Balb/C雌性小鼠(每组n=3)中,发明人检验了PF670462(30 μ M)的作用:通过局部途径将50微升(即0.6 μ g)的化合物应用至经服镇静剂的小鼠的鼻部,通过鼻反射将剂量吹入,以实现分布至气道和肺表面。在系统性给药最大有效剂量的Dex(1mg/kg,腹膜内注射)后4小时测量了多种GC应答基因,干扰素 β 也是如此。对GC应答基因的直接刺激作用可以反映皮质酮、内源性鼠糖皮质激素的调节作用的增强。

[0308] 实施例9

[0309] 在当前实施例和实施例14中描述的实验涉及人实质成纤维细胞的培养、人实质成纤维细胞的增殖和基因表达反应的测量,其方法由Schuliga等人在2009年(Am J Respir Cell Mol Biol. 2009; 41(6):731-41)详细描述。

[0310] 人肺成纤维细胞中TGF β 与bFGF之间的相互作用。在加入TGF β (其与bFGF同时添加)前30min加入SB431542或PF4800567,并且继续孵育48h,此时确定活细胞数。

[0311] 在来自不患有IPF的供体的肺成纤维细胞中进行实验,将ALK5抑制剂SB431542的作用与CK1 ϵ (epsilon)选择性抑制剂PF4800567的作用进行比较。之前以气道平滑肌培养为特征的相互作用是TGF β 降低了bFGF的增殖作用。在人肺成纤维细胞中观察到了类似发现,通过TGF β 降低了bFGF促有丝分裂作用。使用SB431542的处理能够阻断TGF β 的作用,并且恢复bFGF的有丝分裂发生(图10)。然而,1.0 μ M的PF4800567直接降低了bFGF诱导的有丝分裂发生,并且其保持在TGF β 存在下的抑制作用。

[0312] 实施例10

[0313] 图11A-D示出了使用针对CK1 δ (delta)或CK1 ϵ (epsilon)或其组合作用的siRNA的一系列实验的数据。显然,CK1 ϵ 的敲低(knockdown)比CK1 δ 的敲低更加有效。因此,数据可能并未揭示在TGF β 对GC反应的作用中这两种CK1同种型的整个作用范围。在TGF β 为40pM时,ZBTB16和SCNN1a表达恢复,而GILZ并未恢复。具有抗氧化作用的血红素加氧酶-1通过Dex下调,Dex和糖皮质激素的作用可能更普遍地被认为对肺健康有害。恢复了针对CK1 δ / ϵ 的siRNA并增强了HO-1表达。MAPK磷酸酶-1(MKP-1)酶的表达不受到TGF β 1或siRNA组合的影响。MKP-1通过禁止导致细胞因子表达的MAPK依赖性路径可以限制肺损伤,但也有可能损害肺宿主防御。

[0314] 实施例11

[0315] 图12示出,在RSV感染的5天模型中,通过从第1天起施用Dex、TGF β 受体激酶抑制剂GW788388和PF670462,与实施例6中描述的研究以及图7和8所示的结果区别比较。Dex或PF670462处理中的任一种降低了炎性细胞在BAL液中的积累。Dex与PF670462的组合同样有效。所述处理均不改变BAL细胞蛋白质水平。GW788388不具有活性。

[0316] 这些数据说明PF670462在调节RSV感染诱导的炎症中具有与Dex类似的上限有效性,并且优于通过ALK5抑制剂GW788388引起的TGF β 信号转导的全面阻断。

[0317] 实施例12

[0318] 图13示出了来自实施例11和图12中描述的RSV实验的BAL细胞中的基因表达,其说明Dex或PF670462直接抑制TNF α 表达水平,但GW788388未直接抑制TNF α 表达水平。PF670462,而不是GW788388,在添加至Dex处理时对TNF α 表达具有进一步作用。

[0319] 这些观察结果提供了PF670462与Dex之间的相互作用实现对炎性介质IL-6和TNF α 的更好控制的证据。

[0320] 实施例13

[0321] 在上文描述的RSV感染的5天模型中,IFN β 、 λ 2和 λ 3的水平通过PF670462提高,但并未通过Dex或GW788388提高(图14)。可以预期通过PF670462增强了干扰素产生,以便通过增强气道中的抗病毒活性来限制RSV感染持续时间。

[0322] 实施例14

[0323] 纤维发生的研究可以在通常使用啮齿动物的体内模型中进行。然而,细胞类型行为的差异以及蛋白质结构和信号转导系统的物种差异产生了对此类模型的预测值的一些限制。使用从实质(parenchyma)分离并保持在细胞培养物中的人成纤维细胞可以获得对纤维发生影响的另外有价值的证据(Schuliga等人(2009)Am J Respir Cell Mol Biol 41(6):731-741;Westergren-Thorsson等人(2004)Int J Biochem Cell Biol 36(8):1573-1584)。

[0324] 图15A示出了胶原1A在基线(对照)和在对40pM TGF β 孵育24小时的反应中的表达。示出的数据是来自患有肺纤维化疾病(特发性肺纤维化(IPF))的患者以及非IPF供体的衍生化样品的实质性肺成纤维细胞。PF67462(3 μ M)显著抑制了成纤维细胞培养物中Col1a的诱导,不论其来源如何。Col1a是纤维型胶原的亚单位,其过度沉积在纤维化病变中的细胞外基质中。

[0325] 图15B以与图15A相同的方式进行,但是在本实验中成纤维细胞以悬浮球体进行培养,而不是以2D单层培养进行培养。在IPF中PF670462化合物也会抑制TGF β ,但在非IPF衍生化培养物中较少的增加不会受到PF670462(3 μ M)的显著影响。

[0326] 图15C示出了与图15A中报导的相同实验中TGF β 诱导的CTGF的表达的测量结果。

[0327] 图15A-15C中的观察共同说明,在人实质成纤维细胞中,PF670462抑制TGF β 的纤维发生作用,无论这些细胞是来自IPF供体还是非IPF供体,以及无论它们是以2D还是3D培养。

[0328] 实施例15

[0329] 博来霉素通常用于小鼠以模拟肺纤维化。已知这种抗癌试剂在一个亚组患者中诱导肺纤维化。小鼠模型显示初始肺损伤,然后修复,引起了广泛的纤维化病变(Langenbach等人(2007)Can J Pharmacol 85(7):727-738)。最终,纤维化的强度下降,但从未完全解

决。模型中的早期处理(在前3天期间)可以通过抗炎作用影响结果(Lim junyawong等人(2014)Physiol Rep. 2(2):e00249)。延迟处理用于具体检测对纤维发生过程的影响。

[0330] 在当前实施例以及实施例16至18中进行的博来霉素实验按照Langenbach等人在2007年(Canadian Journal of Pharmacology and Physiology, 85(7):727-38.)所详细描述的方法,使用实施例和附图说明中描述的药物处理方案。

[0331] 图16示出了3天博来霉素实验。将雌性小鼠在第0天用博来霉素(105milli Units)处理,并且通过腹膜内每天注射一次30mg/kg的单一剂量来进行PF670462处理。在早期时间点,支气管肺泡灌洗(BAL)蛋白质增多,但支气管肺泡灌洗(BAL)细胞未增多。PF670462显著降低了BAL蛋白质水平。在3天处理期间,在媒介物处理的小鼠中存在体重下降,但在用PF670462处理的小鼠中不存在体重下降。博来霉素媒介物处理的小鼠的体重与博来霉素PF670462处理的小鼠的体重不存在统计学差异,表明与媒介物相比,PF670462处理的小鼠在BAL蛋白的差异不是因为体重的损失。

[0332] 图17示出了来自上文描述的并且在图16示出的实验中的小鼠肺组织中的基因表达变化。PF670462显著降低了Col1a、CTGF、PAI-1和TIMP1的博来霉素诱导。如上文所述,胶原1a(Col1a)是纤维型胶原的亚单位,其过度沉积在纤维化病变的细胞外基质中,结缔组织生长因子是刺激胶原沉积的纤维蛋白原,并且PAI-1通过促进纤维蛋白在含气空间中的积累从而为侵入性纤维增生提供临时ECM来增加纤维化病变。

[0333] 这些发现表明PF670462改善了通过博来霉素诱导的肺损伤,并且显著抑制了与纤维发生相关的基因表达变化。

[0334] 实施例16

[0335] 图18和19示出了与上述实施例15类似的实验,但是使用了雄性小鼠。

[0336] 在图18中,在媒介物处理的小鼠中,通过博来霉素BAL细胞增加,但在PF670462或Dex处理的小鼠中,BAL细胞未增加。用Dex与PF的组合处理的小鼠中的BAL细胞数显著小于媒介物处理的小鼠中的BAL细胞数。此外,响应于博来霉素的肺重量和BAL蛋白质增加通过Dex/PF670462的组合而降低,胸腺重量也是如此。

[0337] 图19示出了上文描述并在图18中示出的雄性小鼠实验的基因表达。Col1A、Col3和TIMP1通过博来霉素增加并且通过PF670462降低,但并未通过Dex降低,然而,响应于博来霉素的IL-6增加通过Dex、PF670462及其组合降低。

[0338] 纤维发生基因表达的抑制模式在雄性小鼠模型和雌性小鼠模型中是类似的。

[0339] 实施例17

[0340] 图20示出了与上文实施例15和16中所述相比更长持续时间(14天)的博来霉素实验的数据,其中将PF670462的处理延迟至第3天,博来霉素已在第0天施用。通过在尸体解剖前24小时(第13天)结束的PF670462延迟处理(30mg/kg/天),在BAL液上的细胞积累、肺湿重以及羟脯氨酸含量(组织胶原含量的指标)均显著降低。

[0341] 实施例18

[0342] 图21示出了在雌性小鼠的21天博来霉素实验中从第8天至第21天施用的PF670462的作用。通过每日使用PF670462的处理,BAL中细胞和蛋白质的积累显著降低,同样显著降低了肺湿重的增加。

[0343] 图22示出了PF670462对于来自上述图21实验中小鼠的肺中的基因表达的作用。在

所述肺组织中,纤维蛋白原CTGF和白细胞介素-6(IL-6)以及纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)的表达显著降低。糖皮质激素调节的基因GILZ在盐水和博来霉素处理的小鼠中同样被PF670462诱导。

[0344] 在实施例16至18中,以4组独立研究确立,持续时间3天至21天并且在使用PF670462(30mg/kg/天,腹膜内注射)处理的雄性和雌性小鼠中得到的数据能够降低纤维发生,并且通过抑制关键的纤维发生基因表达也能够降低纤维发生。在本模型中功效的证据与糖皮质激素、地塞米松功效的缺乏形成对比。在14天和21天实验中获得的证据提供了一组一致的发现,其表明与3天研究中使用的预处理方案相反的处理方案对于降低肺纤维化和相关的纤维发生信号是有效的,并且进一步表明其是纤维发生信号的抑制,而不是支持最终的肺纤维化抑制的抗炎作用。

[0345] 实施例19

[0346] 在BEAS-2B细胞系中研究了PF670462对糖皮质激素活性的影响的浓度反应关系。

[0347] 图23示出了浓度升高的PF670462对于由布地奈德和地塞米松(1-100nM)介导的在BEAS-2B细胞中瞬时表达的GRE报告基因构建体的活化的作用。在该测定系统中,最大作用而不是糖皮质激素的效能通过PF670462(0.3μM-10μM)浓度依赖性地增大。

[0348] 图24A示出了PF670462对于对100nM最佳浓度的Dex的基因表达反应的TGFβ抑制的浓度依赖性作用。TGFβ抑制在选择用于分析的基因中在量级上进行分类。因此,Dex诱导的GILZ、FKBP5、ZBTB16(PLZF)和SCNN1A(ENaCa)的表达的TGFβ抑制通过预先使用PF670462(1μM-10μM)孵育来进行阻止,然而CDKN1C(p57^{kip2})的抑制不受影响。TGFβ与Dex在增加PAI-1的表达中有协同作用(图24B)。这种表达的增加通过PF670462(1μM-10μM)浓度依赖性地降低。

[0349] 这些实验组表明PF670462对于糖皮质激素活性的作用是浓度依赖的,并且表明所述作用不仅仅是由于TGFβ信号转导路径的广泛拮抗(如TGFβ的一些作用),例如糖皮质激素诱导的CDKN1c(p57^{kip2})表达的抑制不受影响,而通过ALK5抑制剂SB431542完全阻断了这些作用(未示出)。

[0350] 实施例20

[0351] 图25示出了3μM和10μM的PF670462对于TGFβ对(Dex 30nM)诱导的ZBTB16、GILZ、SCNN1A和PAI-1的表达的抑制作用的影响。这些研究在人原代气道上皮细胞的ALI分化培养物中进行。ZBTB16和SCNN1A的显著抑制被3μM和10μM的PF670462阻止。

[0352] 如同在BEAS2B细胞中有效,通过相同浓度范围的PF670462的TGFβ作用以及其阻止在ALI分化人支气管上皮细胞中的重现,表明该试剂的有益作用在与预期临床用途的靶向组织类似的组织类型中是明显的。

[0353] 实施例21

[0354] PF670462在增强糖皮质激素活性和拮抗所选TGFβ作用中的活性表明在其中受糖皮质激素部分控制并且其中TGFβ具有作用的过敏疾病中可能有效。

[0355] 图26示出了在暴露于PF670462的气溶胶(0.03mg/ml-10mg/ml,7min)的小鼠中,肺ZBTB16和GILZ表达的剂量相关性增加。将未麻醉的Balb/C雌性小鼠置于暴露室中,并且在将肺收获之前24小时和4小时接受7分钟暴露于PF670462气溶胶,提取并且通过RT-qPCR测量mRNA水平。

[0356] 已知ZBTB16和GILZ通过抑制主要促炎转录因子NFκB来发挥抗炎作用。这些发现说

明增加的GRE调节基因的表达(可能是内源性糖皮质激素的作用增强的结果)可以由PF670462引起,所述PF670462的制备是以适于临床施用的方式使用标准喷雾器(Hudson,以5L/min流速操作)以达到在外周气道中沉积的粒径范围。

[0357] 实施例22

[0358] 按照本文的描述并且使用Fuchs和Braun在2008年(Curr Drug Targets. 2008年6月;9 (6):495-502)所描述的方法来进行具有RSV并发症的室内尘螨过敏模型的实验。

[0359] 图27A示出了在通过每日鼻内吹入HDM过敏原(25 μ g/35 μ L)攻击的小鼠中,通过3mg/ml PF670462、0.5mg/ml布地奈德的气溶胶或通过这些处理的组合来调节的BAL蛋白水平有所升高。图27B示出了在上述实验和图27A结果的BAL中的淋巴细胞数。BAL中的淋巴细胞数通过Bud、PF670462或其组合减少。

[0360] 图28示出了在已被HDM过敏原攻击并且在尸体解剖前3天被200万个RSV病毒粒子感染的小鼠中的BAL细胞数。通过PF670462或通过Bud并未显著减少BAL细胞数,但通过这些处理的组合减少了BAL细胞数。

[0361] 图29示出了在被HDM攻击然后被RSV感染的小鼠中的BAL细胞数的分类细胞计数。Bud与PF670462的组合显著减少了BAL淋巴细胞数,但是没有一种处理对其他的白细胞子集具有显著作用。

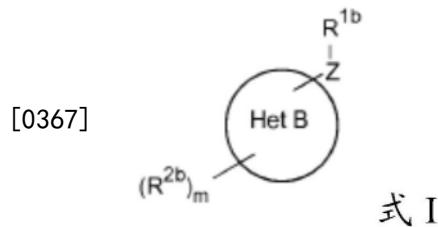
[0362] 图30示出了单独的Bud显著增加了RSV滴定度,但是PF670462或Bud与PF670462的组合并未显著增加RSV滴定度。

[0363] 在HDM模型中以及当其通过RSV感染恶化时的发现的意义在于,临床可用形式的酪蛋白激酶抑制剂(例如PF670462和布地奈德气溶胶)发挥了一些可被直接检测的抗过敏作用,并且还降低了与恶化相关的炎症,如通过炎性细胞流入减少所表明的。这些发现表明不仅在呼吸道的过敏性疾病中有益,还在病毒感染期间的周期性恶化中有益。由布地奈德处理诱导的病毒滴定度的增大与显示出糖皮质激素增强呼吸道中病毒载量的其他研究一致,并且表明PF670462可以保护免除这种增强,与其提高BAL细胞干扰素水平的显著作用一致。

[0364] 本发明包括以下段落的主题:

[0365] 1.治疗或预防有需要的对象的呼吸性疾病的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂,从而治疗或预防对象的呼吸性疾病。

[0366] 2.如段落1所述的方法,其中所述抑制剂是式I的化合物或其药物可接受的盐、多晶型物、前药或溶剂化物:



[0368] 其中

[0369] “Het B”表示含有1至3个选自O、N或S的杂原子的5元杂环状环系统,其中所述环系统与一个或多个(例如1至3个)另外的环稠合以形成包含至多4个环的多环状环系统;

[0370] Z表示键、-C(R^{7b})(R^{8b})-、(CH₂)₂-、-O-、-S-、-CH₂O-、-(CH₂)₂-O-、NR^{6b}、-N(R^{6b})-C(R^{7b})(R^{8b})-、-N(R^{6b})-(CH₂)₂-、-N(R^{6b})-(CH₂)₃-、-CH-N(R^{6b})-(CH₂)₂-、-N(R^{6b})-CO-、-CH₂-NHCO-

$(\text{CH}_2)_2$ -、-N(R^{6b})-CO-CH₂-、=N-、-N(R^{7b})-CH=、-C(H)(CN)-、-C(=N-NH-COC₁₋₆烷基)-、CH=C(R^{6b})-CO-、=CH-、-N=CH-、-N=C(Me)-、-C(R^{6b})=CH-、-NH-CO-C(=CH-杂芳基)-、-C(=C(R^{7b})(R^{8b}))-、-CH=CH-CO-N(R^{6b})-、-CH=C(R^{6b})-CO-NH-CH₂-、-CH=C(R^{6b})-NH-CO-、CH=C(R^{6b})-CO-O-CH₂-、-CS-S-CH₂-、-NH-CS-NH-、-NH-CS-NH-CH₂-、-NH-CS-NH-(CH₂)₂-、-CH₂-N(CSNH₂)-CH₂-、-S-C(R^{5b})(R^{6b})-、-S-(CH₂)₂-O-、-SO₂-、-NH-SO₂-、-CH-NH-SO₂-、CO、-CH-CO-、-(CH₂)₂-CO-、-O-CH₂-CO-、-(CH₂)₂-CO、-COO-C(R^{7b})CO-、-CH=C(R^{5b})CONH-CH₂-、-CO-CH₂-N(R^{6b})-CO-、-CO-CH₂-C(R^{6b})-CH₂-CO-、-CO-CH₂-N(R^{6b})-CH-、CO-NH-N=C(R^{7b})-、-S-CH-CO-、-S-CH-CO-N(R^{6b})-、-S-CH-CO-N(R^{6b})-CH₂-、-SO₂-N(R^{6b})-C(R^{7b})(R^{8b})-CONH-、-SO₂-N(R^{6b})-CH(-CH₂-芳基)-CONH-CH₂-、-CH(-S-C₁₋₆烷基)-C(Me)(OH)-、-CH₂-C(R^{6b})(OH)-、-C(OH)(CH(Me)(C₃₋₈环烷基))-CH₂-、-C(OH)(R^{6b})-CH₂-、-CH(Me)-NH-CO-CH₂-、-CO-N(R^{6b})-CH₂-、-C(H)(R^{6b})-CO-N(R^{5b})-CH₂-、-CO-N(R^{6b})-CH₂-CH₂-、-CO-N(R^{6b})-CH₂-CH₂-CO-NH-CH₂-、-CO-NH-C(-CONH₂)=CH-、-CO-NH-CH(CONH₂)-CH₂-、-CH₂-C(H)(Me)-CH₂-S-、-O-CH₂-CO-NH-、-CH₂-N(R^{6b})-CO-CH₂-O-,N(R^{6b})-CO-CH₂-O-、-C(H)(-CH₂-芳基)-、-C(H)(-CH₂-杂芳基)-、-C(NH-芳基)=N-N=CH-、-C(NH-芳基)=N-N=CH-、-NH-CO-CH₂-N(R^{6b})-、-NH-N=C(-芳基)-、-NH-N=C(-芳基)-CO-、-NH-C(=N-CO-C₁₋₆烷基)-NH-(CH₂)₂-、-C(-NH-芳基)=N-N=CH-、-NH-C(-NH-芳基)=N-CONH-,C(=CH-芳基)-CONH-CH₂-、-CH=C(R^{6b})-CONH-、-CH(-CH₂-芳基)-NH-CO-或-CH(OH)-,

[0371] 其中所述Z的芳基或杂芳基可以任选地被卤素、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、NO₂或羟基中的一种或多种取代；

[0372] R^{5b}表示氢、C₁₋₆烷基或氰基；

[0373] R^{6b}表示氢、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、氰基、COOH、-COOC₁₋₆烷基、C₃₋₈环烷基、-CH₂-C₃₋₈环烷基、芳基、杂芳基、-C₁₋₆亚烷基-芳基、-CO-芳基、-O-CO-杂芳基、-CO-杂芳基或-C(R^{7b})(R^{8b})-杂芳基，其中所述R^{6b}的芳基可以任选地被卤素或C₁₋₆烷氧基中的一种或多种取代；

[0374] R^{7b}和R^{8b}独立地表示氢或C₁₋₆烷基；

[0375] R^{1b}表示芳基、C₃₋₈环烷基、单环或二环状杂环基或者单环或二环状杂芳基环系统，其中R^{1b}可以被一个或多个(例如1、2或3个)R^{4b}基团取代；

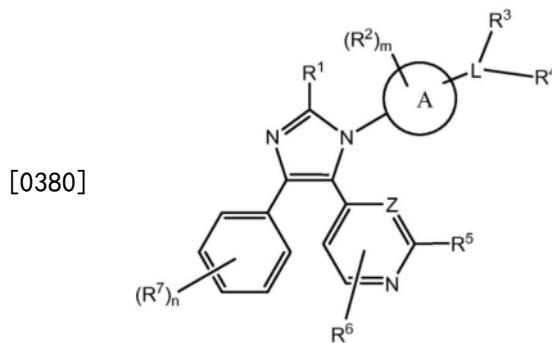
[0376] R^{4b}表示卤素、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烯基、C₁₋₆炔基、C₃₋₅环烷基、卤代C₁₋₆烷基、羟基、C₁₋₆烷氧基、-O-C₁₋₆烯基、卤代C₁₋₆烷氧基、-COOH、-CO-C₁₋₆烷基、-COO-C₁₋₆烷基、-CONH₂、-CH₂-CONH₂、-NH-C₁₋₆烷基、-NH-C₂₋₆烯基、-NH-CO-C₁₋₆烷基、-CONH-C₁₋₆烷基、-O-CH₂-CO-NH-C₁₋₆烷基、-CH₂-CH₂-CO-NH-C₁₋₆烷基、-S-C₁₋₆烷基、-SO-C₁₋₆烷基、-SO₂-C₁₋₆烷基、-SO₂-NH₂、-SO₂-NH-C₁₋₆烷基、-S-CH₂-CO-C₂₋₆烯基、-SO₂-OH、氨基、氰基、NO₂、=O、-CO-NH-(CH₂)₂-OMe、-NH-C₃₋₅环烷基、-CH₂-CO-NH-C₃₋₅环烷基、-CO-杂环基、-CO-杂芳基、-COO-(CH₂)₂-杂环基、-CH₂-芳基、-OCH₂-芳基、-OCH₂-杂芳基、-CH₂-O-CO-芳基、-O-芳基、-NH-CO-芳基、-NH-CO-杂芳基、-NH-CO-CH₂-芳基、-NH-芳基、芳基或杂芳基，其中所述R^{4b}的芳基、杂环基或杂芳基可以任选地被卤素、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、=S或羟基中的一种或多种取代，并且其中所述R^{4b}的C₁₋₆烷基或C₂₋₆烯基可以任选地被羟基、氨基、氰基、C₁₋₆烷氧基、CONH₂或-COO-C₁₋₆烷基中的一种或多种取代；

[0377] m表示0至3的整数；

[0378] R^{2b}表示卤素、卤代C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷基、C₃₋₈环烷基、羟基、C₁₋₆烷氧基、-SC₁₋₆烷基、-

$\text{CH}_2\text{-S-C}_{1-6}\text{烷基}$ 、 $-\text{S-C}_{2-6}\text{炔基}$ 、 氨基 、 氰基 、 NO_2 、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、 $-\text{SO}_2\text{-C}_{1-6}\text{烷基}$ 、 CONH_2 、 $-\text{CO-C}_{1-6}\text{烷基}$ 、 $-\text{COO-C}_{1-6}\text{烷基}$ 、 $-\text{NH-C}_{1-6}\text{烷基}$ 、 $-\text{NH-CO-C}_{1-6}\text{烷基}$ 、 $-\text{NH-CO-CH=CH-CH}_2\text{N(Me)}_2$ 、 $\text{C}_{1-6}\text{烷基}$ 、 $-\text{CO-NH-C}_{1-6}\text{烷基}$ 、 $-\text{CO-NH-CH(Me)-COOH}$ 、 $-\text{S-CH}_2\text{-CON(Et)}_2$ 、 $-\text{NH-(CH}_2)_2\text{-OH}$ 、 $-\text{NH-(CH}_2)_3\text{-OH}$ 、 $-\text{NH-CH(Et)-CH}_2\text{-OH}$ 、 $-\text{CO-NH-(CH}_2)_3\text{-OH}$ 、 $-\text{CH(CH}_2\text{OH)}_2$ 或 $-\text{S-CH}_2\text{-CO-NH-CO-NH-C}_{1-6}\text{烷基}$,其中所述R^{2b}的C₁₋₆烷基可以任选地被氰基或羟基中的一种或多种取代。

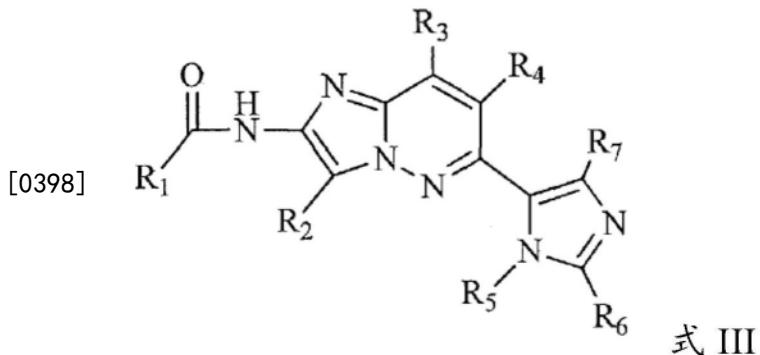
[0379] 3. 如段落1所述的方法,其中所述抑制剂是式II的化合物或其药物可接受的盐、多晶型物、前药或溶剂化物,



[0381] 其中A为含氮的4元至7元杂环烷基,或者可选地A可以与其通过R¹连接的环直接稠合;

- [0382] L为C₁₋₃烷基;
- [0383] R¹为氢、C₁₋₃烷基或C₃₋₄环烷基;
- [0384] 各个R²独立地为C₁₋₃烷基、氟、羟基、C₁₋₃烷氧基或氰基;
- [0385] R³为氢、C₁₋₃烷基或C₃₋₄环烷基;
- [0386] R⁴为具有1至3个杂原子的5元至10元杂芳基且任选地被1至3个R⁷取代基取代;
- [0387] R⁵为氢或-N(R⁸)₂;
- [0388] R⁶为氢、卤素或C₁₋₃烷基;
- [0389] 各个R⁷独立地为卤素、-(CH₂)_t-F_q、C₁₋₃烷基、-CF₃、-(CH₂)_t-C₃₋₄环烷基、-(CH₂)_t-O-C₁₋₃烷基、-(CH₂)_t-氰基或-(CH₂)_t-羟基;
- [0390] Z为N或CR⁹;
- [0391] 各个R⁸独立地为氢或C₁₋₃烷基;
- [0392] R⁹为氢、C₁₋₃烷基或卤素;
- [0393] m为0、1或2;
- [0394] n为0、1或2;
- [0395] q为1、2或3;
- [0396] t为0、1或2。

[0397] 4. 如段落1所述的方法,其中所述抑制剂是式III的化合物或其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、药物可接受的盐、前药、水合物或溶剂化物:



[0399] 其中：

[0400] R₁选自：NR_aR_a；任选地被OH、CN和芳基取代的C₁₋₄烷基；任选地被OH、CN和芳基取代的C₂₋₄烯基；被0至5个R₁₁取代的-(CR_dR_d)_r-碳环基；以及包含碳原子和1至3个选自N、NR₁₂、O、S的杂原子并且被0至5个R₁₁取代的-(CR_dR_d)₂-杂环基；

[0401] R₂选自H、C₁₋₄烷基、F、Cl、Br和CN；

[0402] R₃选自H和C₁₋₄烷基；

[0403] R₄选自H、C₁₋₄烷基、F、Cl、Br和CN；

[0404] R₅选自：H；被0至4个R_e取代的C₁₋₄烷基；被0至4个R_e取代的-(CH₂)_r-C₃₋₆碳环基；以及包含碳原子和1至3个选自N、NR₈、O、S的杂原子并且被0至4个R_e取代的-(CH₂)_r-杂环基；

[0405] R₆选自：H；被0至3个R_e取代的C₁₋₆烷基；以及被0至3个R_e取代的C₃₋₆碳环基；或者

[0406] R₅和R₆连同它们分别连接的氮原子和相邻的碳原子形成被0至5个R₉取代的杂环状环；

[0407] R₇为被0至3个R_e取代的芳基；

[0408] R₈选自H、被0至3个R_e取代的C₁₋₄烷基、-(CH₂)_rOR_b、(CH₂)_rS(O)_pR_c、-(CH₂)_rC(=O)R_b、-(CH₂)_rNR_aR_a、-(CH₂)_rC(=O)NR_aR_a、-(CH₂)_rNR_aR_a、-(CH₂)_rNR_aC(=O)R_b、-(CH₂)_rNR_aC(=O)OR_b、-(CH₂)_rOC(=O)NR_aR_a、-(CH₂)_rNR_aC(=O)NR_aR_a、-(CH₂)_rNR_aC(=O)OR_b、-(CH₂)_rS(O)₂NR_aR_a、-(CH₂)_rNR_aS(O)₂NR_aR_a、-(CH₂)_rNR_aS(O)₂R_c、被0至3个R_e取代的(CH₂)_r-C₃₋₆碳环基、以及被0至3个R_e取代的-(CH₂)_r-杂环基；

[0409] R₉选自被0至3个R_e取代的C₁₋₄烷基、-(CH₂)_rNR_aR_a、-(CH₂)_rC(=O)R_b、-(CH₂)_rC(=O)OR_b、-(CH₂)_rC(=O)NR_aR_a、S(O)_pR_c、被0至3个R_e取代的(CH₂)_r-C₃₋₆碳环基、以及被0至3个R_e取代的-(CH₂)_r-杂环基；

[0410] R₁₁，在每次出现时，独立地选自H、F、Cl、Br、=O、CN、NO₂、-OR_b、-S(O)_pR_c、-C(=O)R_b、-(CR_dR_d)_rNR_aR_a、-(CR_dR_d)_rC(=O)NR_aR_a、-NR_aC(=O)R_b、-NR_aC(=O)OR_b、-OC(=O)NR_aR_a、-NR_aC(=O)NR_aR_a、-(CR_dR_d)_rC(=O)OR_b、-S(O)₂NR_aR_a、-NR_aS(O)₂NR_aR_a、-NR_aS(O)₂R_c、被0至5个R_e取代的C₁₋₆烷基、被0至5个R_e取代的-(CR_dR_d)_r-C₃₋₆碳环基、以及被0至5个R_e取代的-(CR_dR_d)_r-杂环基；

[0411] R₁₂选自H、-C(=O)R_b、被0至5个R_e取代的C₁₋₆烷基、被0至5个R_e取代的-(CH₂)_r-C₃₋₆碳环基、以及被0至5个R_e取代的-(CH₂)_r-杂环基；

[0412] R_a，在每次出现时，独立地选自H、CN、被0至5个R_e取代的C₁₋₆烷基、被0至5个R_e取代的C₂₋₆烯基、被0至5个R_e取代的C₂₋₆炔基、被0至5个R_e取代的-(CH₂)_r-C₃₋₁₀碳环基、以及被0至5个R_e取代的-(CH₂)_r-杂环基；或者R_a和R_a连同它们共同连接的氮原子形成被0至5个R_e取代的

杂环状环；

[0413] R_b , 在每次出现时, 独立地选自H、被0至5个 R_e 取代的 C_{1-6} 烷基、被0至5个 R_e 取代的 C_{2-6} 烯基、被0至5个 R_e 取代的 C_{2-6} 炔基、被0至5个 R_e 取代的 $-(CH_2)_r-C_{3-10}$ 碳环基、以及被0至5个 R_e 取代的 $-(CH_2)_r$ -杂环基；

[0414] R_c , 在每次出现时, 独立地选自被0至5个 R_e 取代的 C_{1-6} 烷基、被0至5个 R_e 取代的 C_{2-6} 烯基、被0至5个 R_e 取代的 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 碳环基以及杂环基；

[0415] R_d , 在每次出现时, 独立地选自H和被0至5个 R_e 取代的 C_{1-4} 烷基；

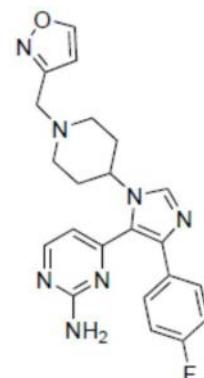
[0416] R_e , 在每次出现时, 独立地选自被0至5个 R_f 取代的 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 $-(CH_2)_r-C_{3-6}$ 环烷基、F、Cl、Br、CN、NO₂、=O、CO₂H、 $-(CH_2)_rOC_{1-5}$ 烷基、 $-(CH_2)_rOR_f$ 、S(0)_pR_f、S(0)_pNR_fR_f、以及 $-(CH_2)_rNR_fR_f$ ；

[0417] R_f , 在每次出现时, 独立地选自H、C₁₋₅烷基、C₃₋₆环烷基和苯基, 或者R_f和R_f连同它们共同连接的氮原子形成被C₁₋₄烷基任选取代的杂环状环；

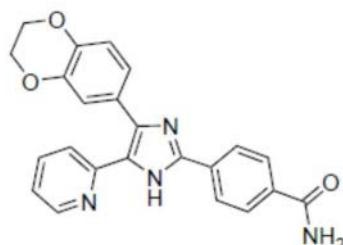
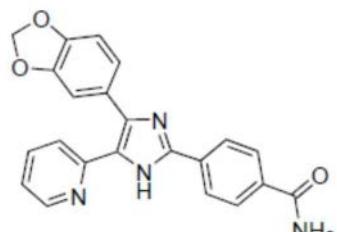
[0418] p, 在每次出现时, 独立地选自0、1和2; 以及

[0419] r, 在每次出现时, 独立地选自0、1、2、3和4。

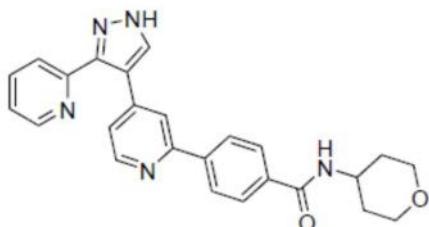
[0420] 5. 如段落1所述的方法, 其中所述抑制剂选自以下化合物中的任一种:



[0421]

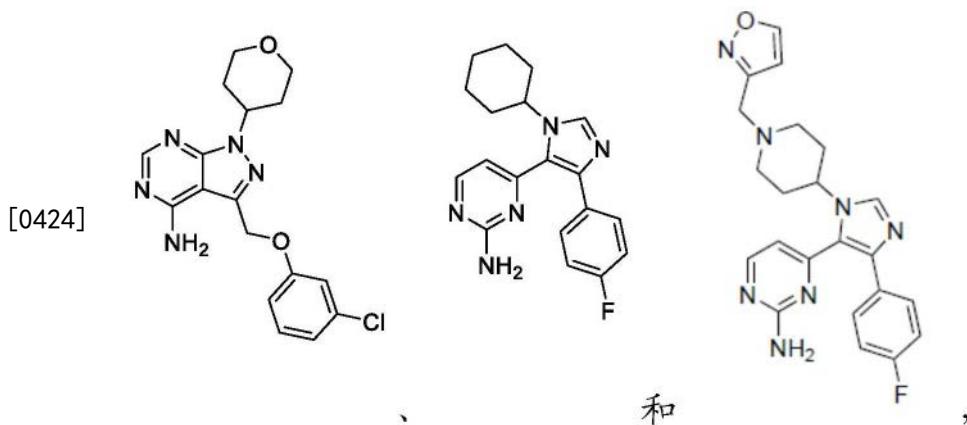


和



[0422] 或其药物可接受的盐、多晶型物或前药。

[0423] 6. 如段落5所述的化合物, 其中所述抑制剂选自以下化合物中的任一种:



[0425] 或其药物可接受的盐、多晶型物或前药。

[0426] 7. 缓解或减轻有需要的对象的呼吸性疾病的症状的方法,所述方法包括向所述有需要的对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂,从而缓解或减轻所述对象的呼吸性疾病的症状。

[0427] 8. 酪蛋白激酶1的抑制剂在制造用于治疗或预防有需要的对象的呼吸性疾病的药物中的用途。

[0428] 9. 如段落1至8中任一项所述的方法或用途,其还包括施用一种或多种糖皮质激素的步骤。

[0429] 10. 如段落1至9中任一项所述的方法或用途,其中所述呼吸性疾病是哮喘或慢性阻塞性肺病。

[0430] 11. 治疗或预防对象的呼吸性疾病恶化的方法,其包括以下步骤:

[0431] 向有需要的所述对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂,从而治疗或预防所述对象的呼吸性疾病的恶化。

[0432] 12. 如段落11所述的方法,其还包括以下步骤:

[0433] 鉴别患有呼吸性疾病的对象,其中所述对象对涉及糖皮质激素的治疗具有抗性。

[0434] 13. 如段落11或12所述的治疗或预防的方法,其中所述对象患有病毒性呼吸道感染。

[0435] 14. 如段落13所述的方法,其中所述病毒感染是鼻病毒(RV)、呼吸道合胞体病毒(RSV)或流感病毒(InfV)的感染。

[0436] 15. 如段落11至14中任一项所述的方法,其还包括施用一种或多种糖皮质激素的步骤。

[0437] 16. 如段落15所述的方法,其中所述一种或多种糖皮质激素是可吸入糖皮质激素。

[0438] 17. 如段落16所述的方法,其中所述糖皮质激素是布地奈德、环索奈德或莫米松。

[0439] 18. 如段落17所述的方法,其中所述糖皮质激素是布地奈德。

[0440] 19. 如段落1至18中任一项所述的方法,其中所述呼吸性疾病或病况可以与过敏原相关或由过敏原引起。

[0441] 20. 如段落19所述的方法,其中所述过敏原来自室内尘螨。

[0442] 21. 治疗或预防哮喘或慢性阻塞性肺病的恶化的方法,其包括以下步骤:

[0443] 鉴别患有哮喘或慢性阻塞性肺病的对象;以及

[0444] 向有需要的所述对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂,从而治疗或预防

哮喘或慢性阻塞性肺病的恶化。

- [0445] 22. 如段落21所述的方法,其中所述对象对涉及糖皮质激素的治疗具有抗性。
- [0446] 23. 如段落22所述的方法,其中所述糖皮质激素是吸入的糖皮质激素。
- [0447] 24. 如段落23所述的方法,其中所述糖皮质激素是布地奈德或eflormeterol。
- [0448] 25. 如段落21至24中任一项所述的方法,其还包括施用一种或多种糖皮质激素的步骤。
- [0449] 26. 治疗或预防呼吸性疾病的药物组合物,其包含酪蛋白激酶1的抑制剂和药物可接受的稀释剂、赋形剂或载体。
- [0450] 27. 如段落26所述的药物组合物,其中所述组合物中存在的唯一的活性成分是酪蛋白激酶1的抑制剂。
- [0451] 28. 如段落26或27所述的药物组合物,其中所述酪蛋白激酶1的抑制剂是段落2至6中描述的任一种化合物。
- [0452] 29. 如段落26或28所述的药物组合物,其还包含一种或多种糖皮质激素。
- [0453] 30. 治疗或预防有需要的对象的涉及纤维化的气道或肺的病况的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的酪蛋白激酶1的抑制剂,从而治疗或预防所述对象的涉及纤维化的气道或肺的病况。
- [0454] 31. 如段落30所述的方法,其中所述酪蛋白激酶1的抑制剂是段落2至6中描述的任一种化合物。
- [0455] 32. 治疗或预防有需要的对象的呼吸性疾病的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的ALK5的抑制剂,从而治疗或预防所述对象的呼吸性疾病,其中将所述抑制剂直接施用至所述气道和/或肺。
- [0456] 33. 治疗或预防有需要的对象的涉及纤维化的气道或肺的病况的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的ALK5的抑制剂,从而治疗或预防所述对象的涉及纤维化的气道或肺的病况,其中将所述抑制剂直接施用至所述气道和/或肺。
- [0457] 34. 如段落30、31或33所述的方法,其中所述纤维化是特发性肺纤维化。
- [0458] 35. 如段落30至34中任一项所述的方法,其还包括施用一种或多种糖皮质激素的步骤。
- [0459] 36. 如段落35所述的方法,其中所述一种或多种糖皮质激素是可吸入糖皮质激素。
- [0460] 37. 如段落36所述的方法,其中所述糖皮质激素是布地奈德、环索奈德或莫米松。
- [0461] 38. 如段落37所述的方法,其中所述糖皮质激素是布地奈德。

GRE活性 (% 30nM Dex)

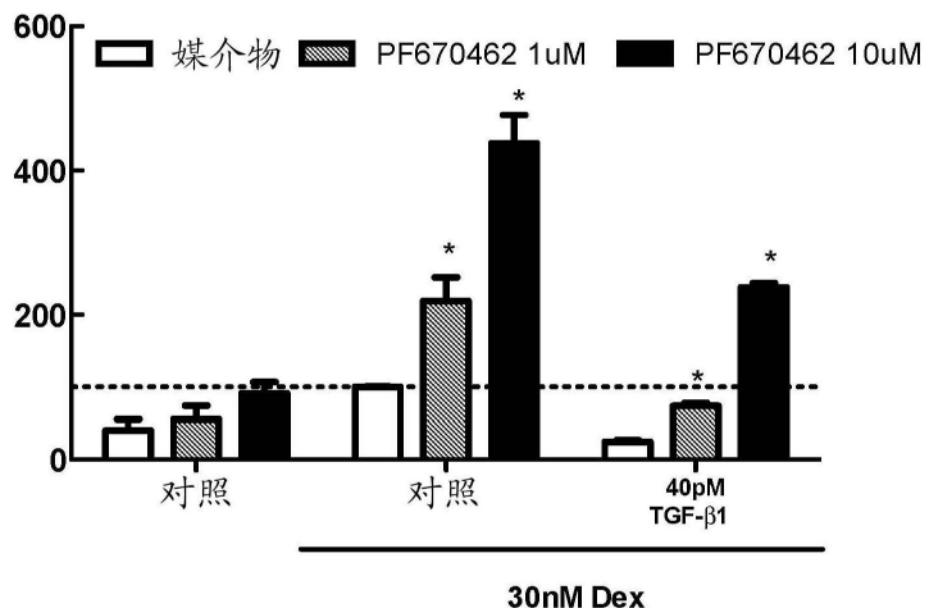


图1

GRE活性 (%30nM Dex)

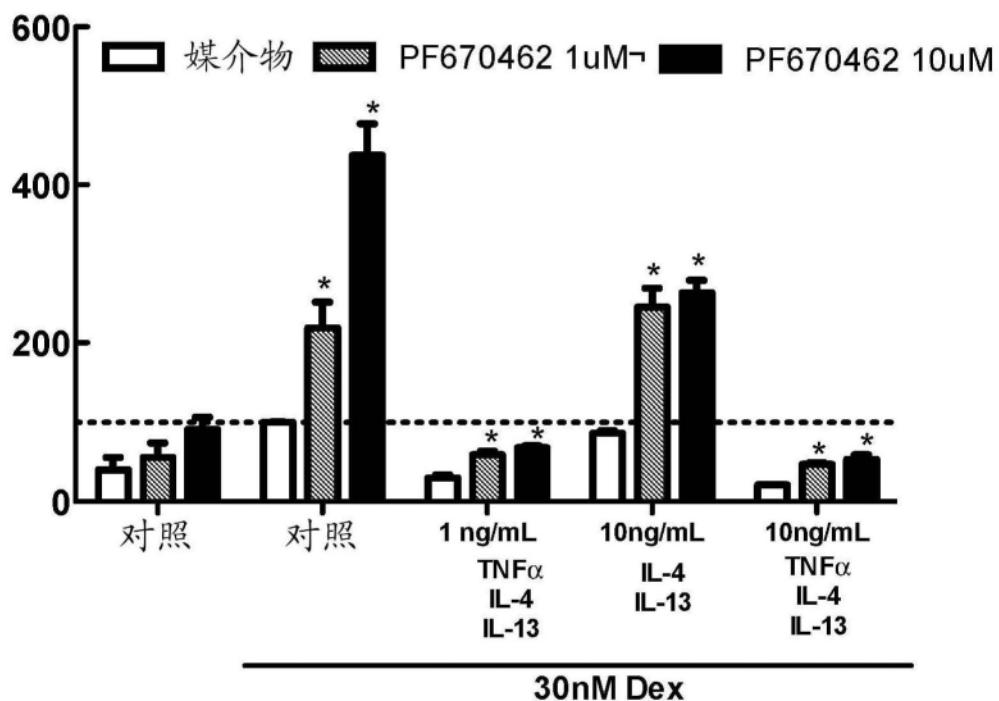


图2

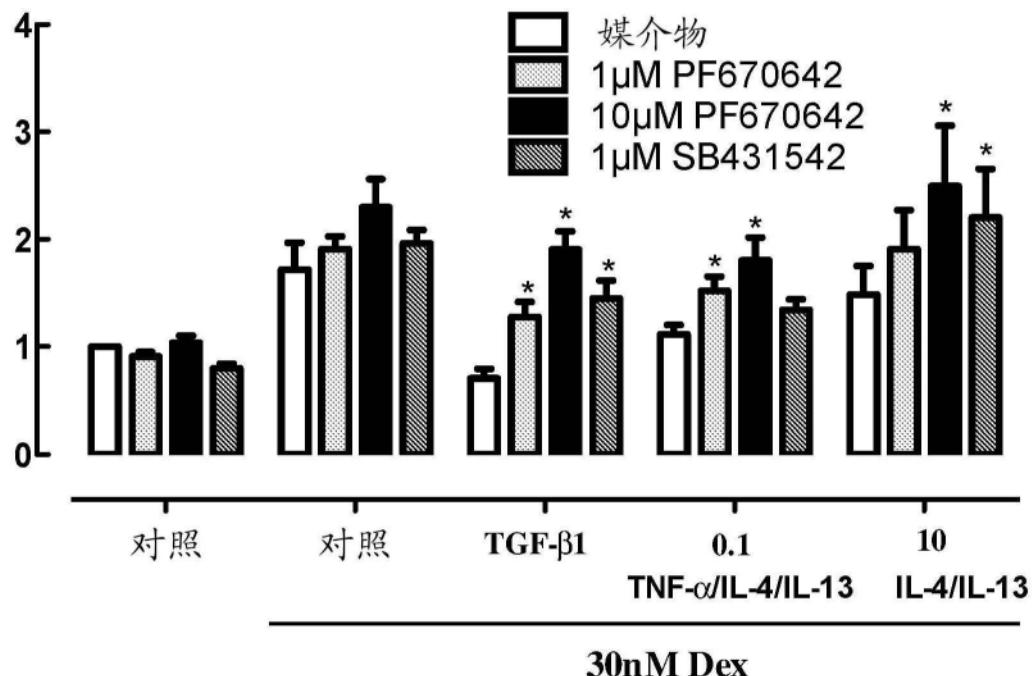
SCNN1A mRNA (媒介物倍数)

图3

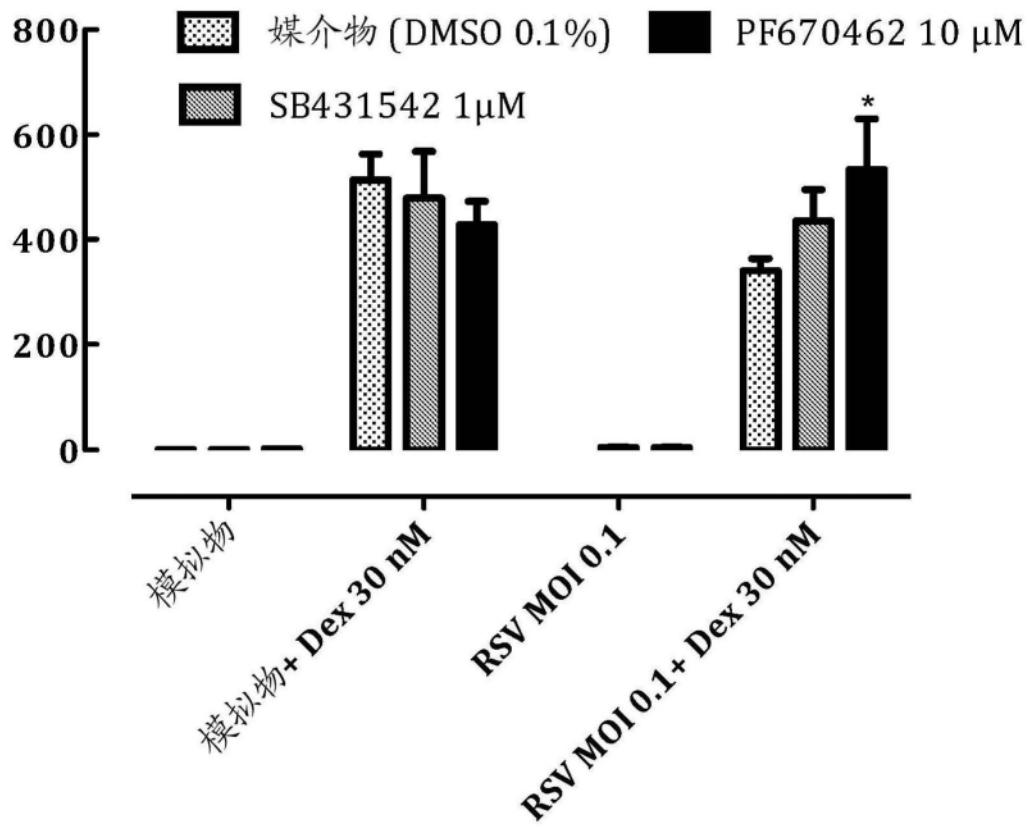
ZBTB16 mRNA (媒介物倍数)

图4

GRE活性 (%30 nM Dex)

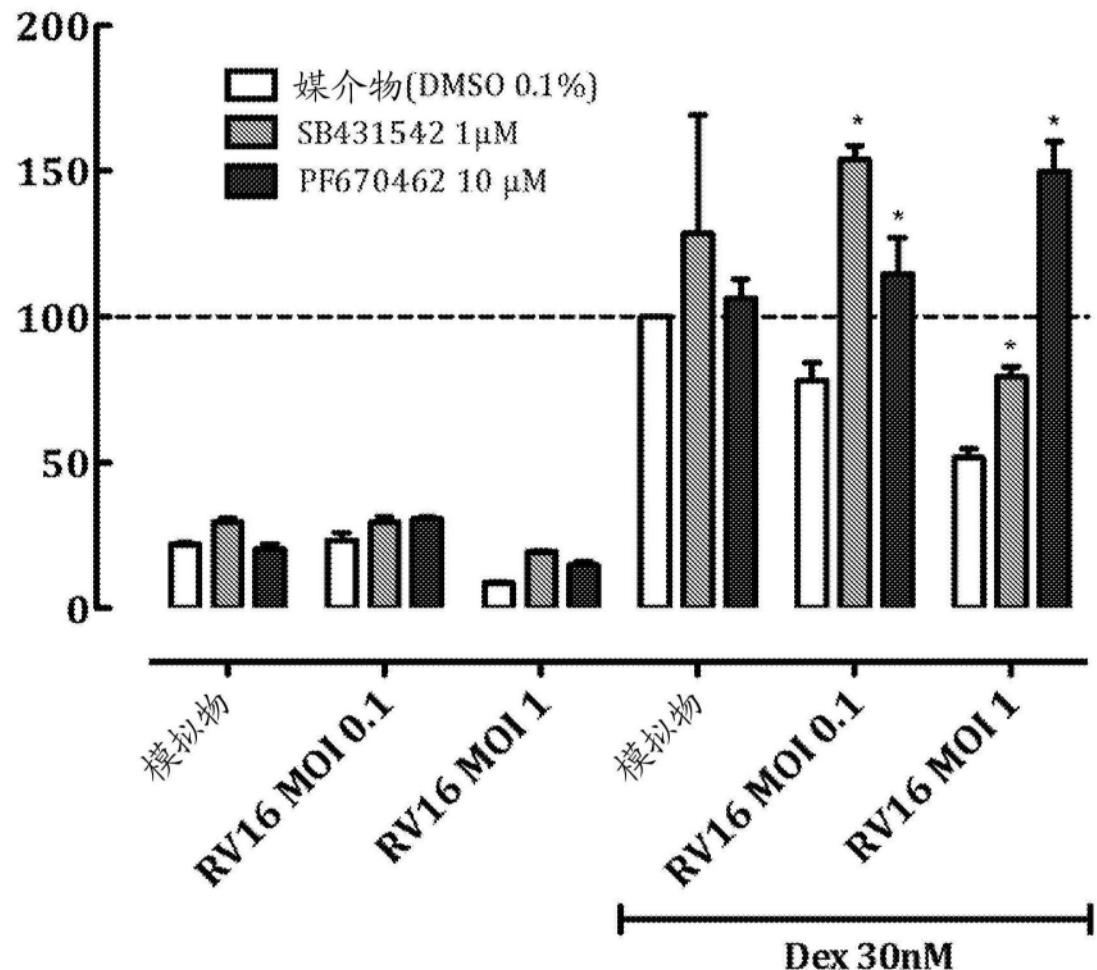


图5

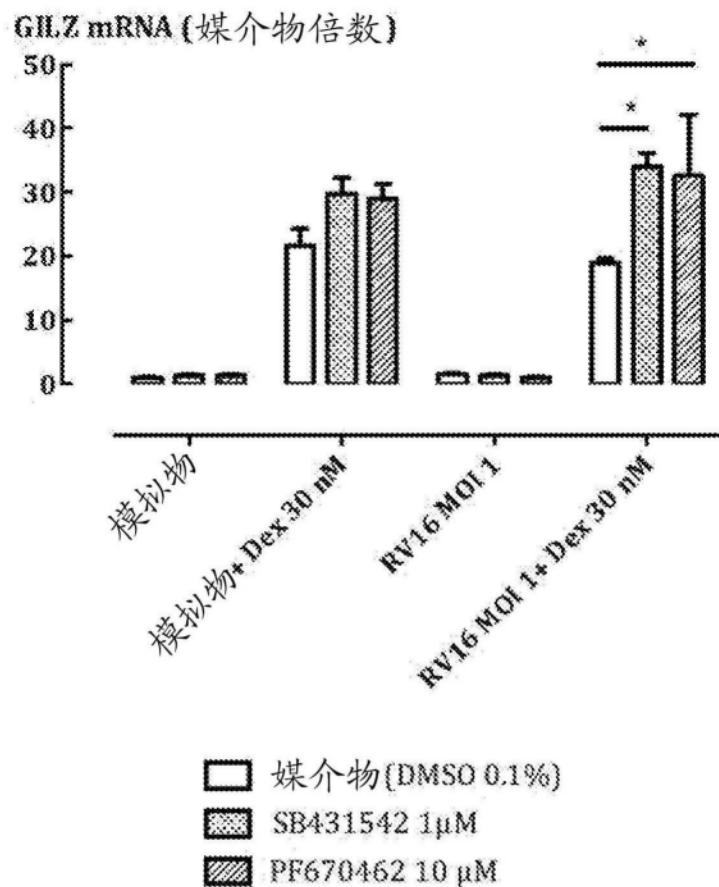


图6A

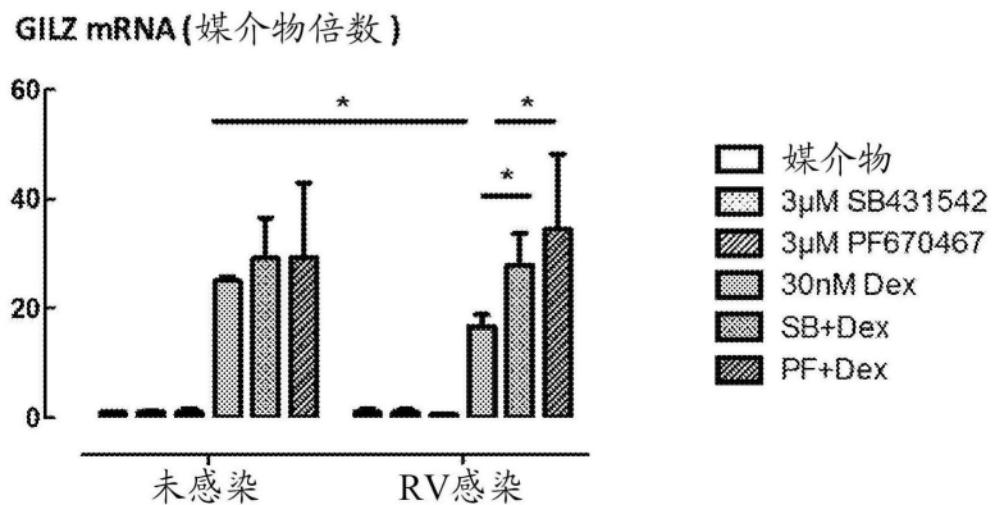


图6B

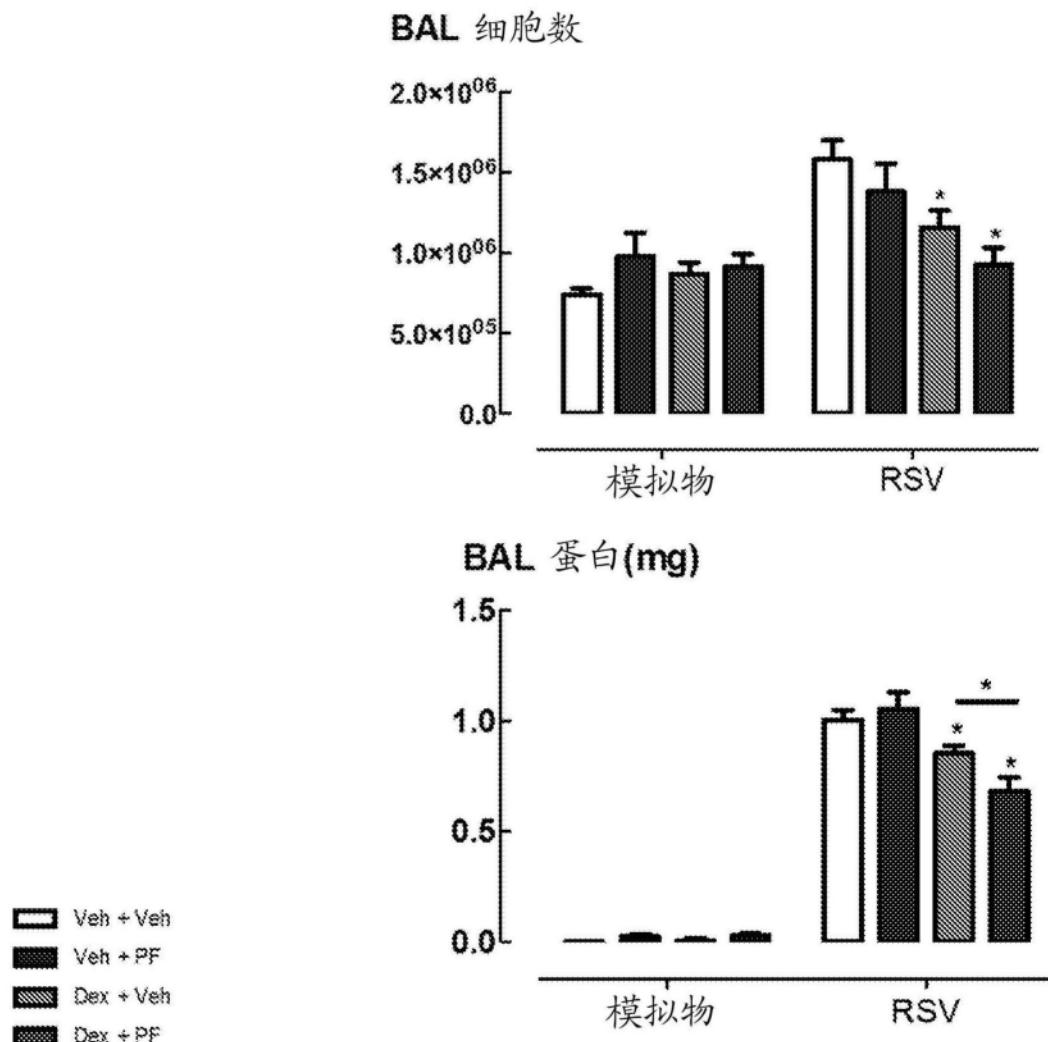


图7

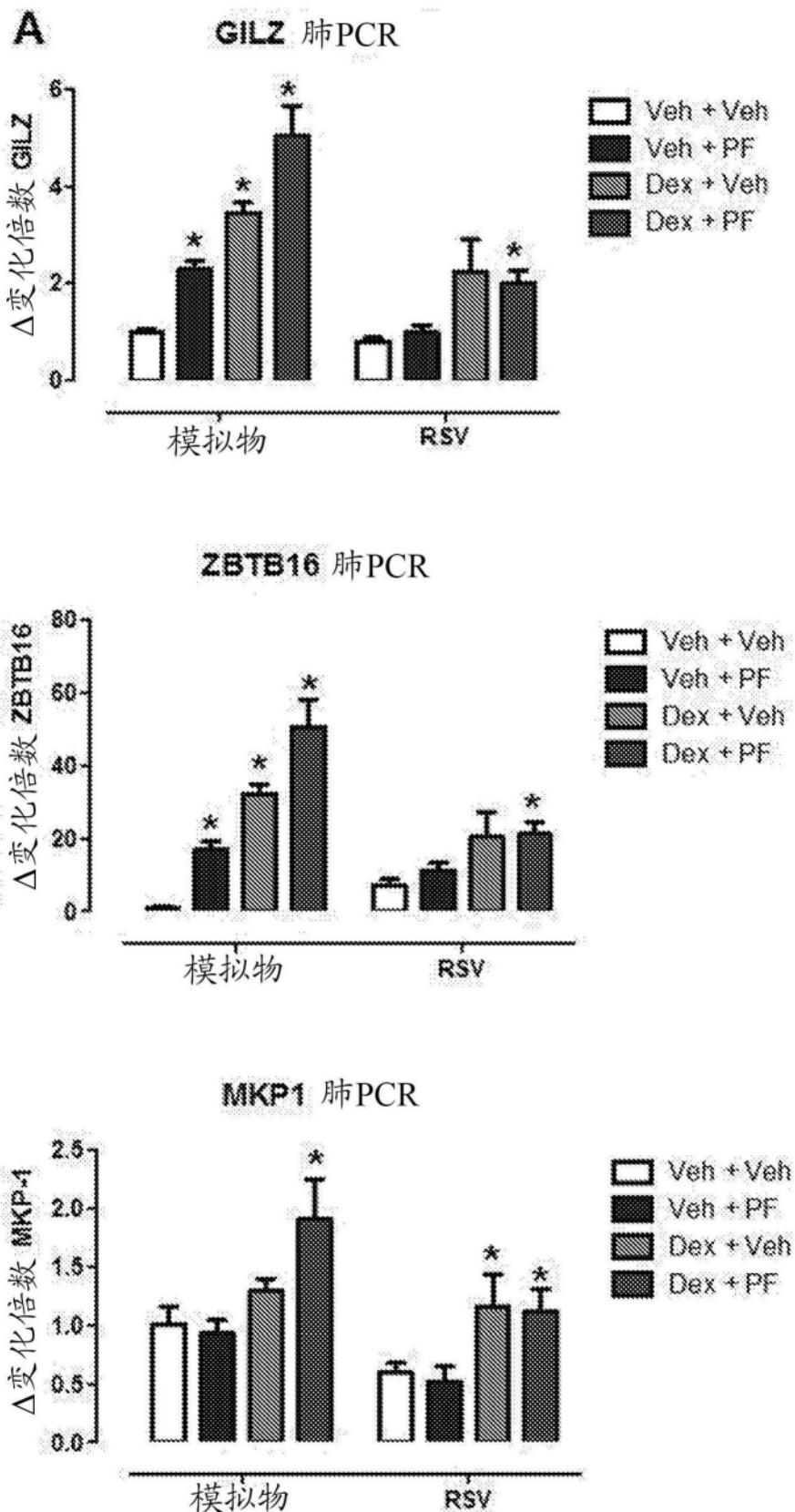
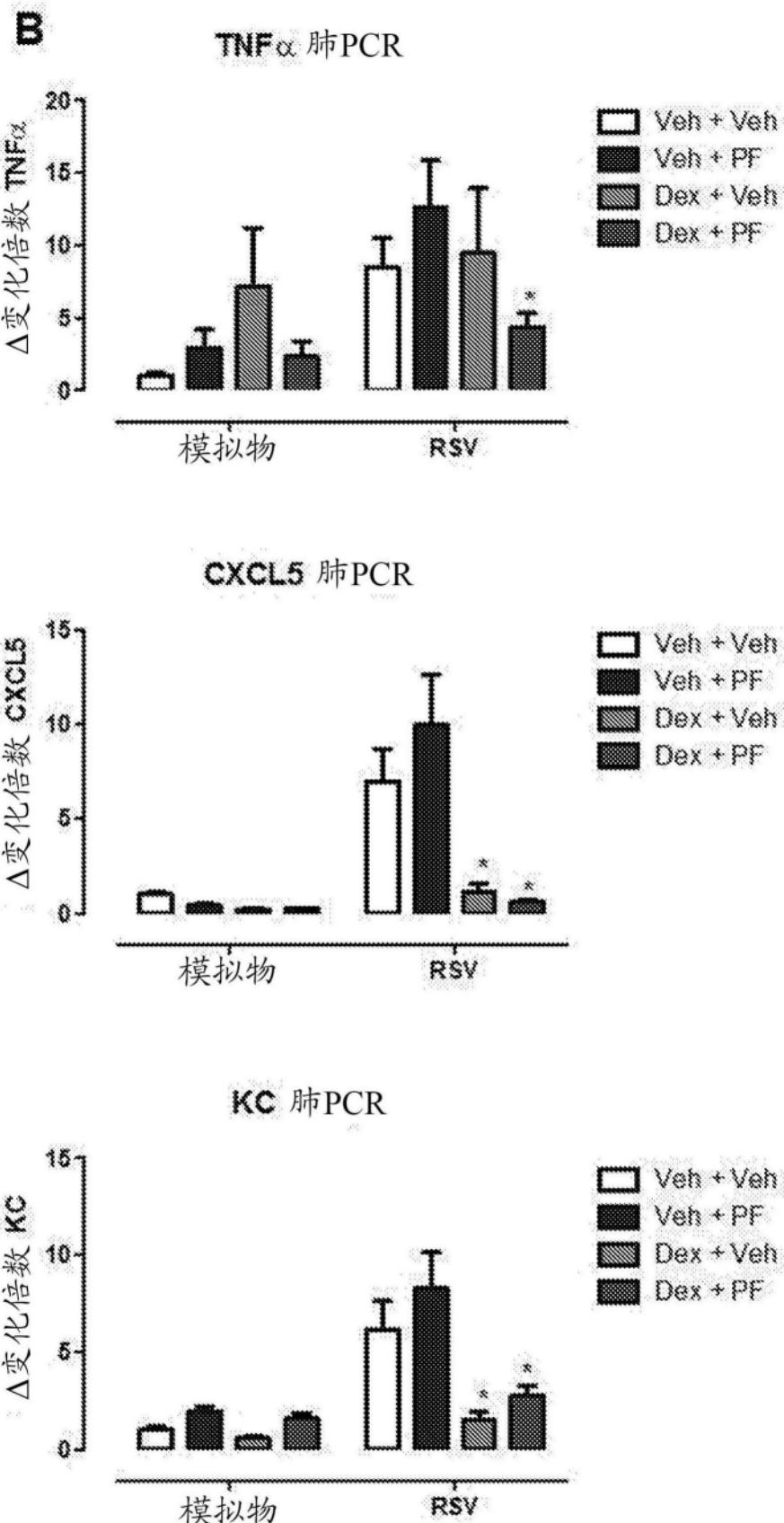


图8A



图|8B

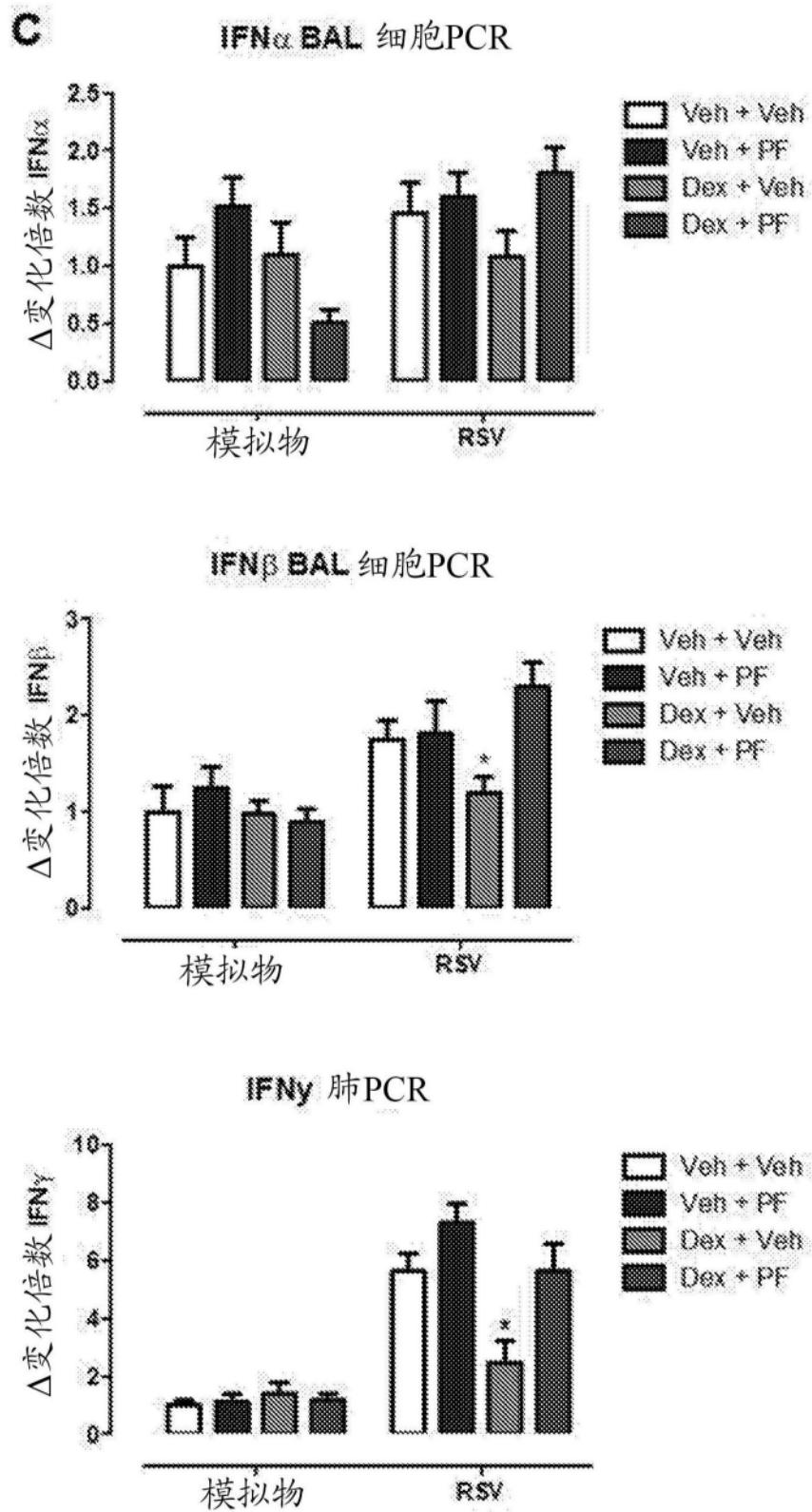


图8C

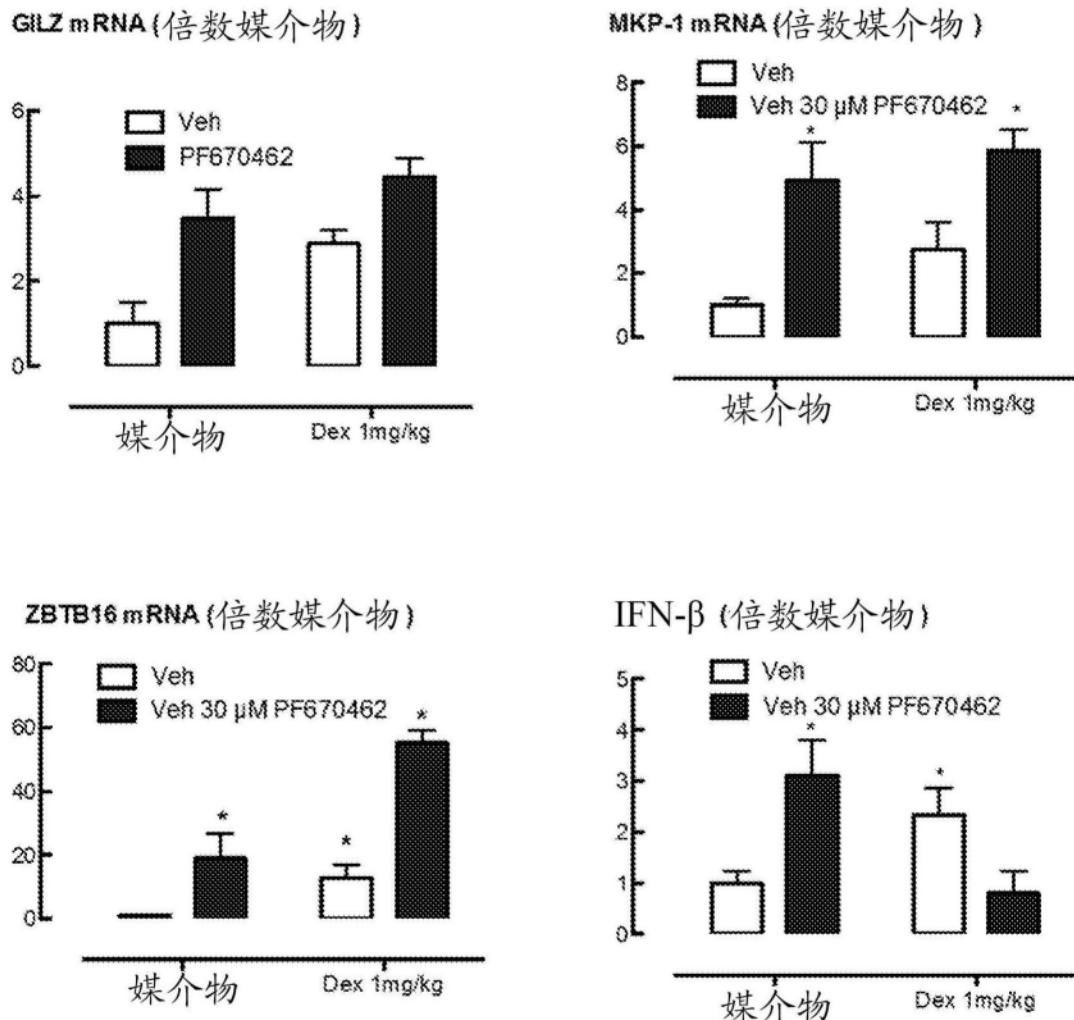
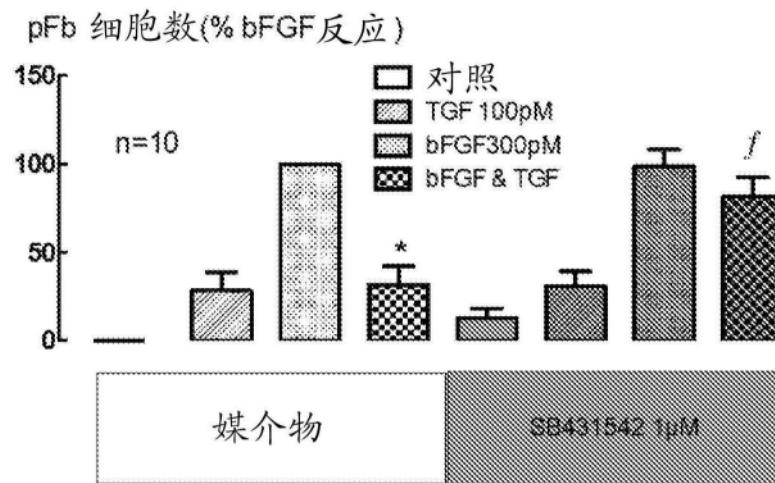
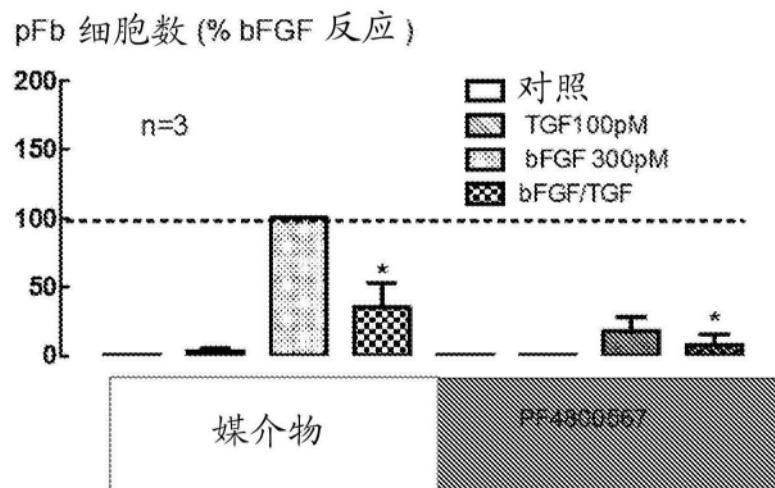


图9



* 对于bFGF ANOVA, $p<0.05$
^f 对于bFGF/TGF ANOVA, $p<0.05$



* $P<0.05$, cf bFGF

图10

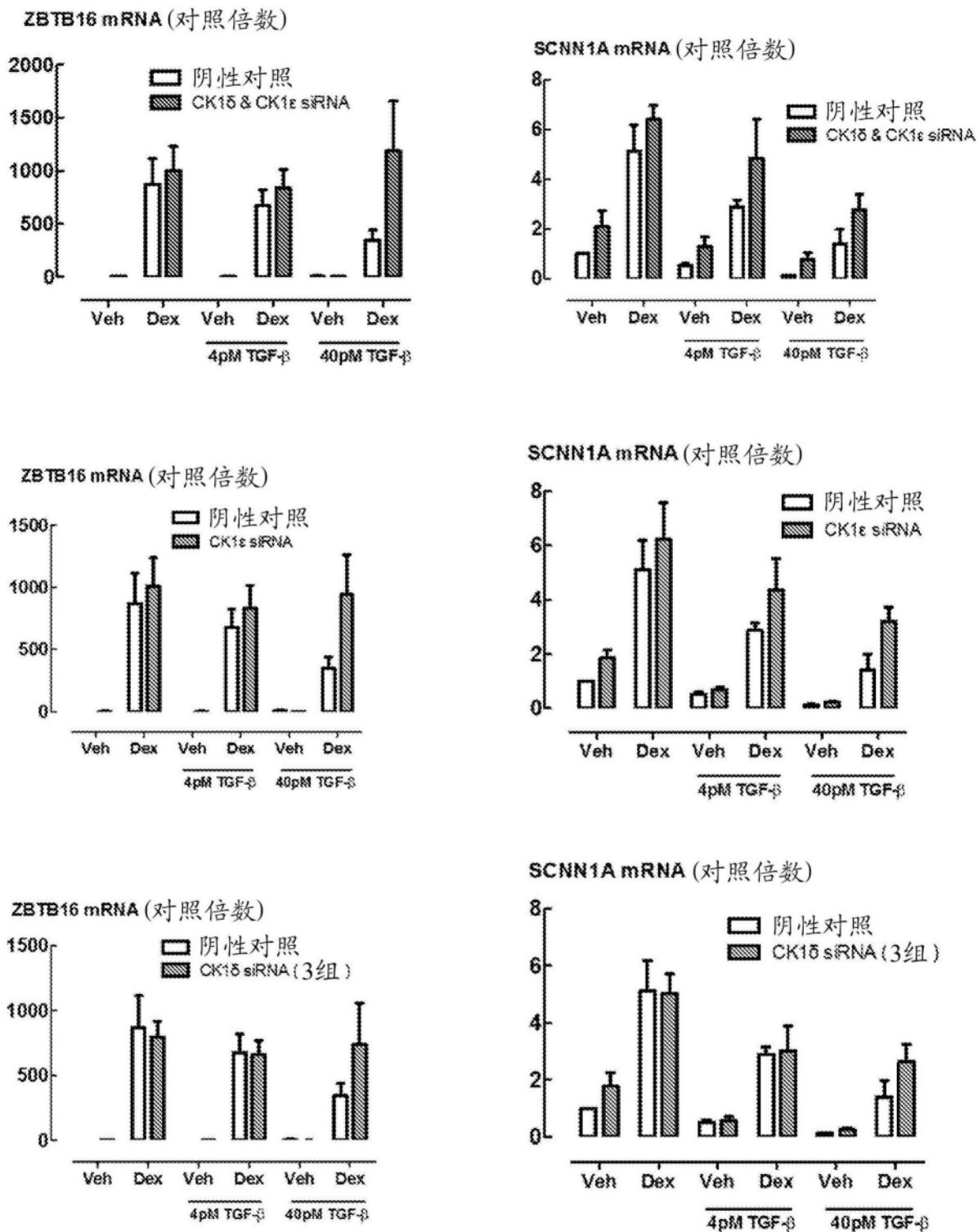


图11A

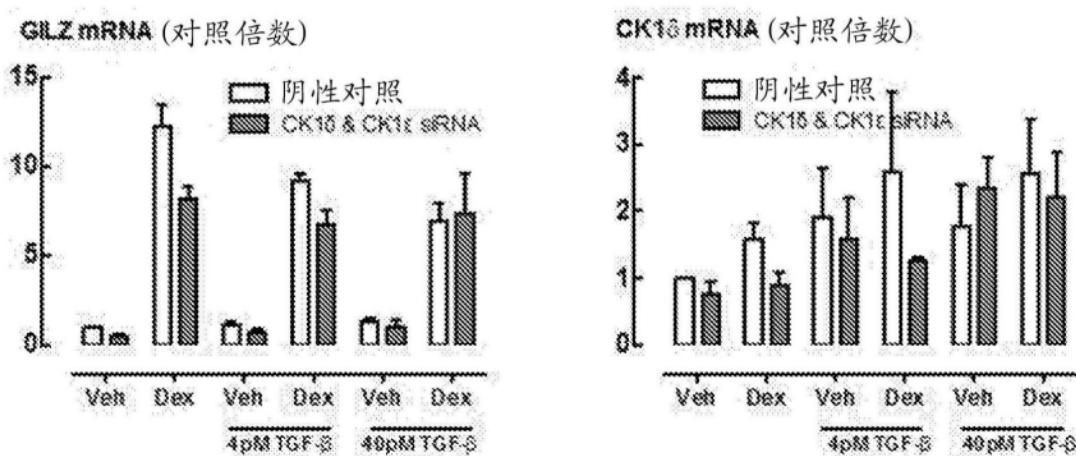
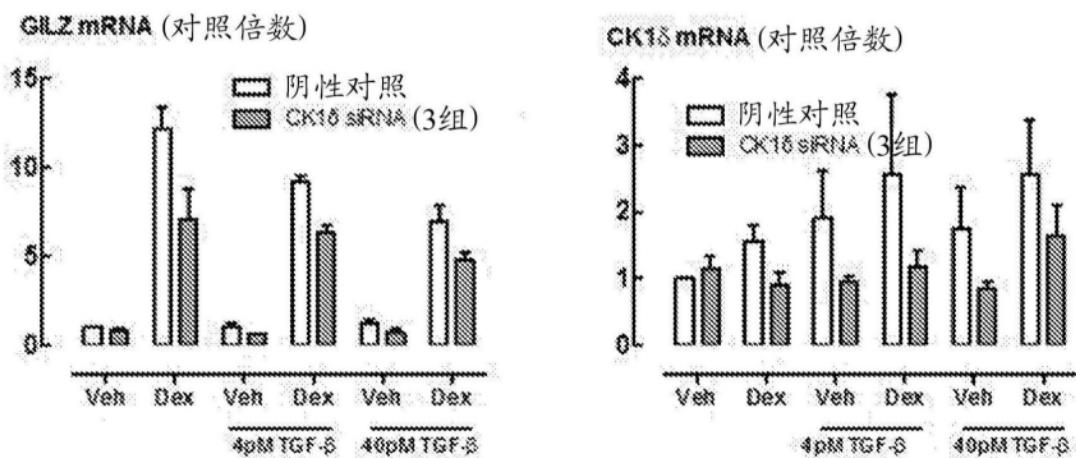
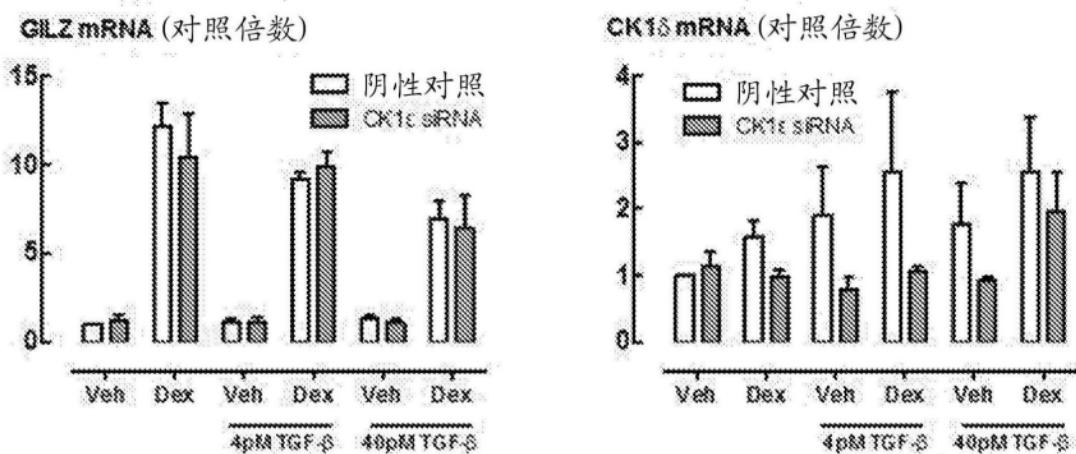


图11B

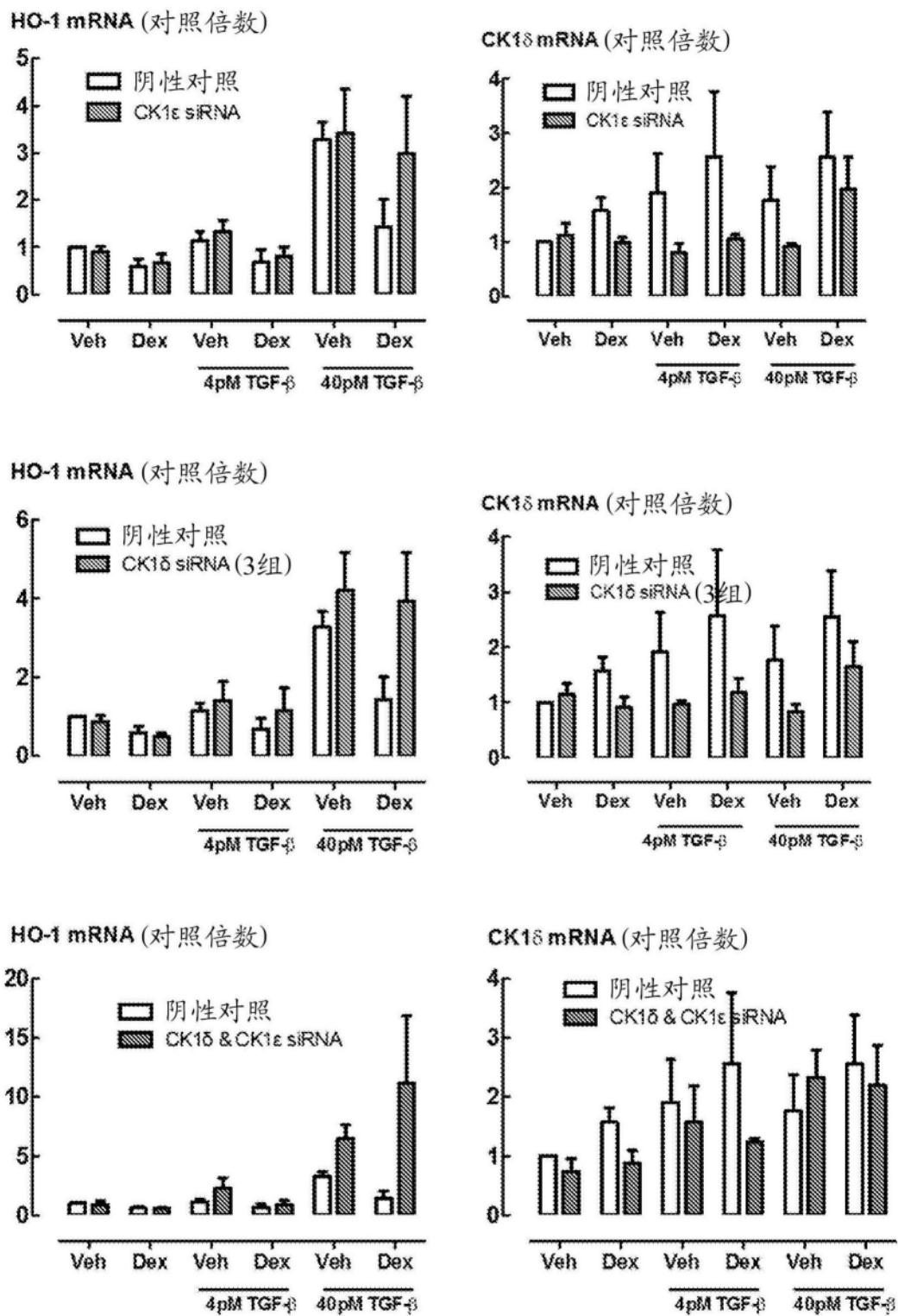
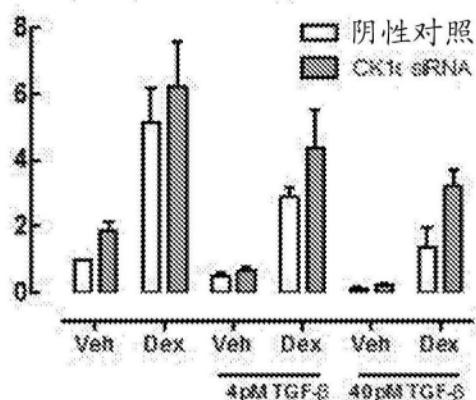
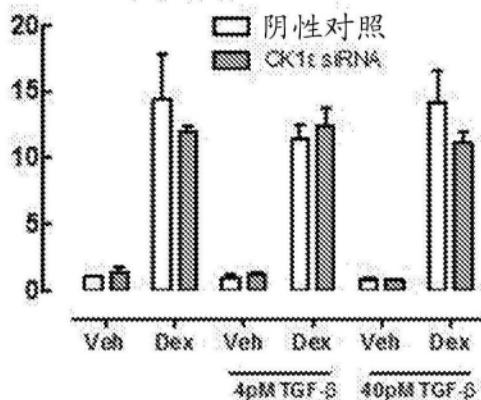


图11C

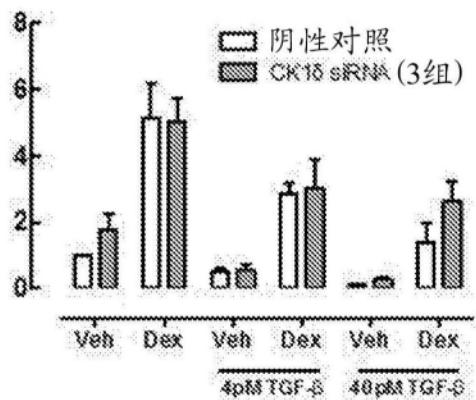
SCNN1A mRNA (对照倍数)



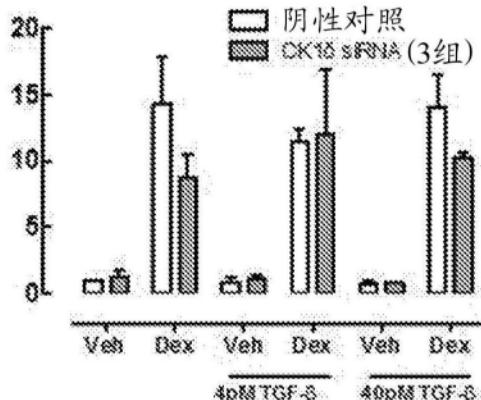
MKP-1 mRNA (对照倍数)



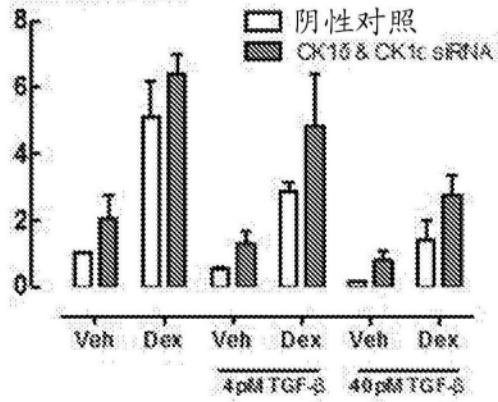
SCNN1A mRNA (对照倍数)



MKP-1 mRNA (对照倍数)



SCNN1A mRNA



MKP-1 mRNA (对照倍数)

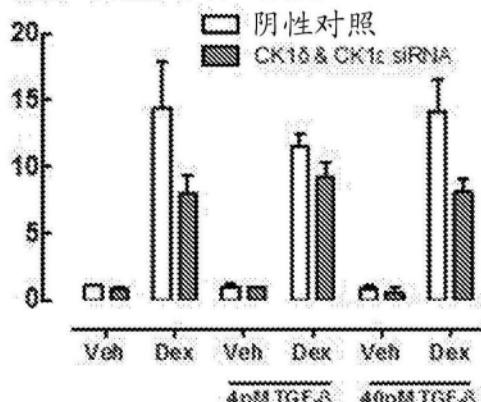


图11D

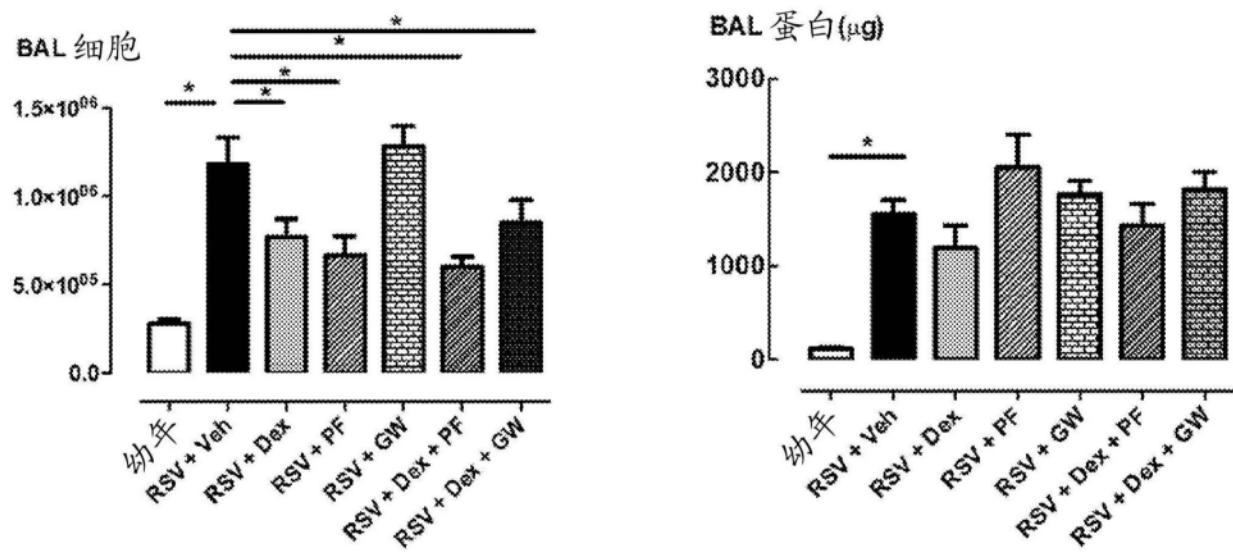


图12

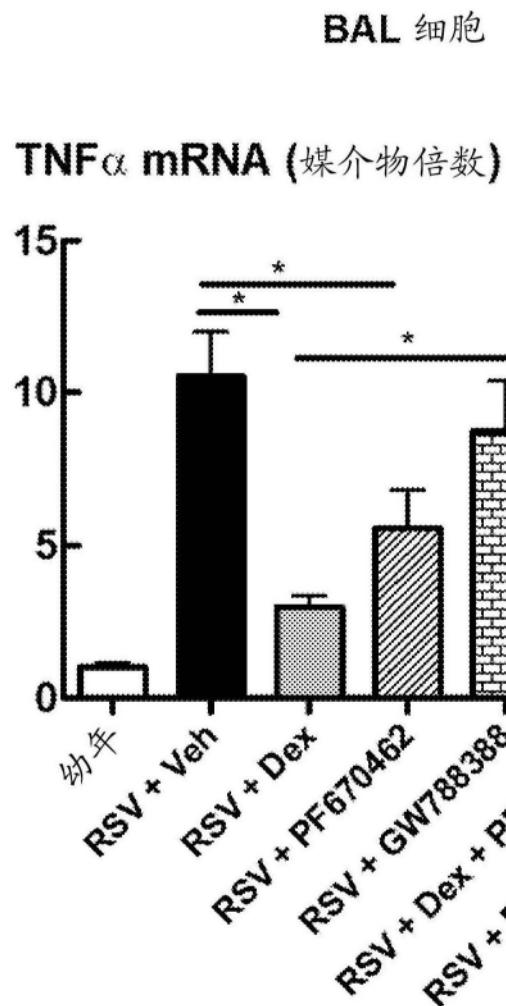


图13

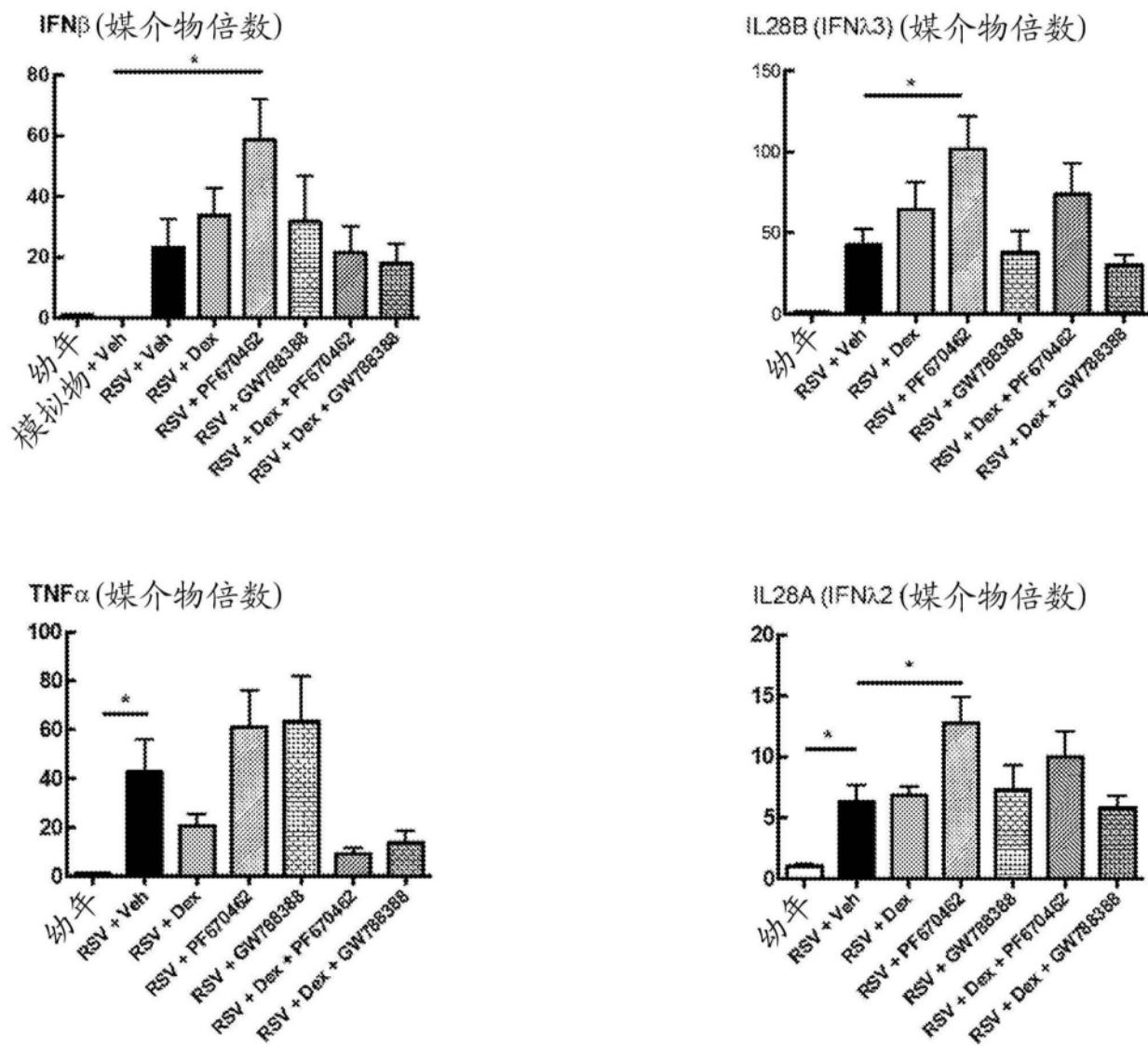


图14

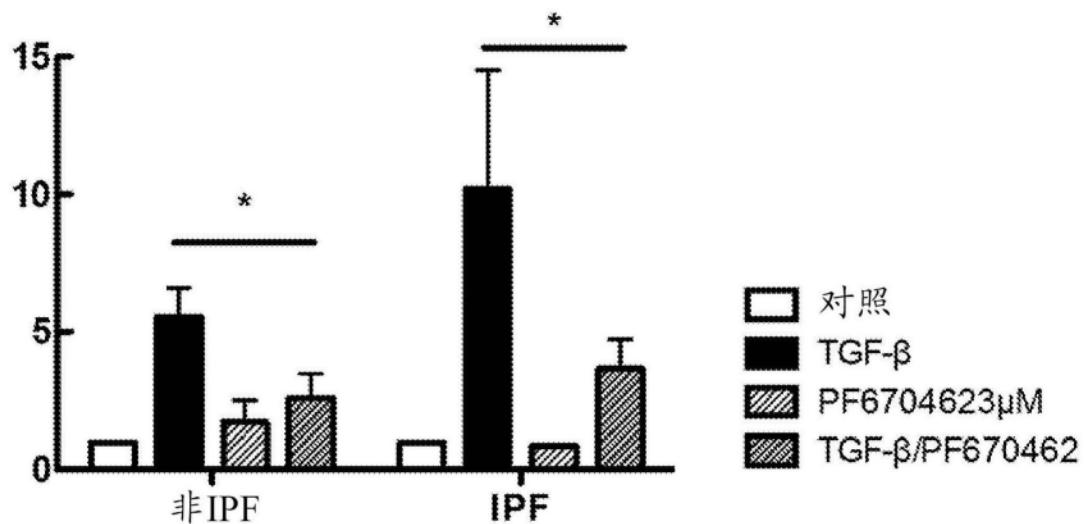
Col1A mRNA (对照倍数)

图15A

3D球状体

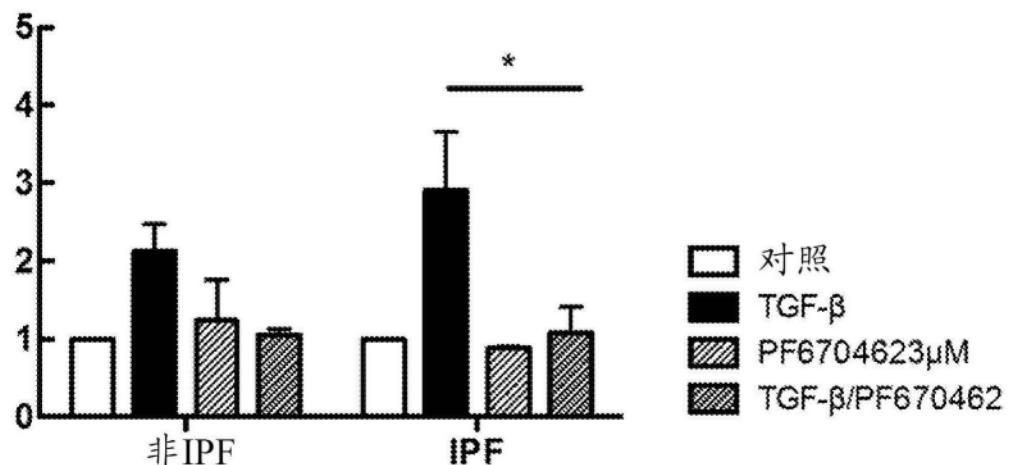
Col1A mRNA (对照倍数)

图15B

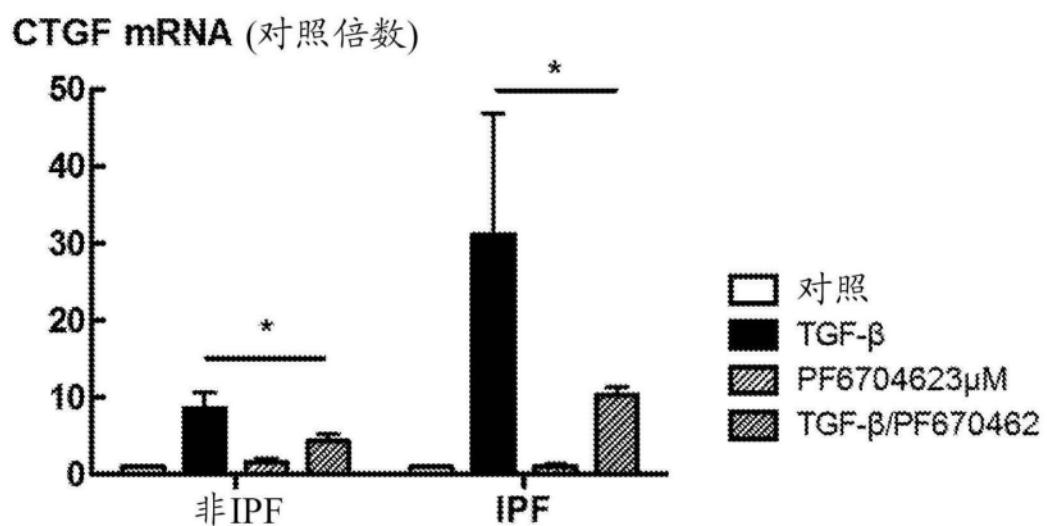


图15C

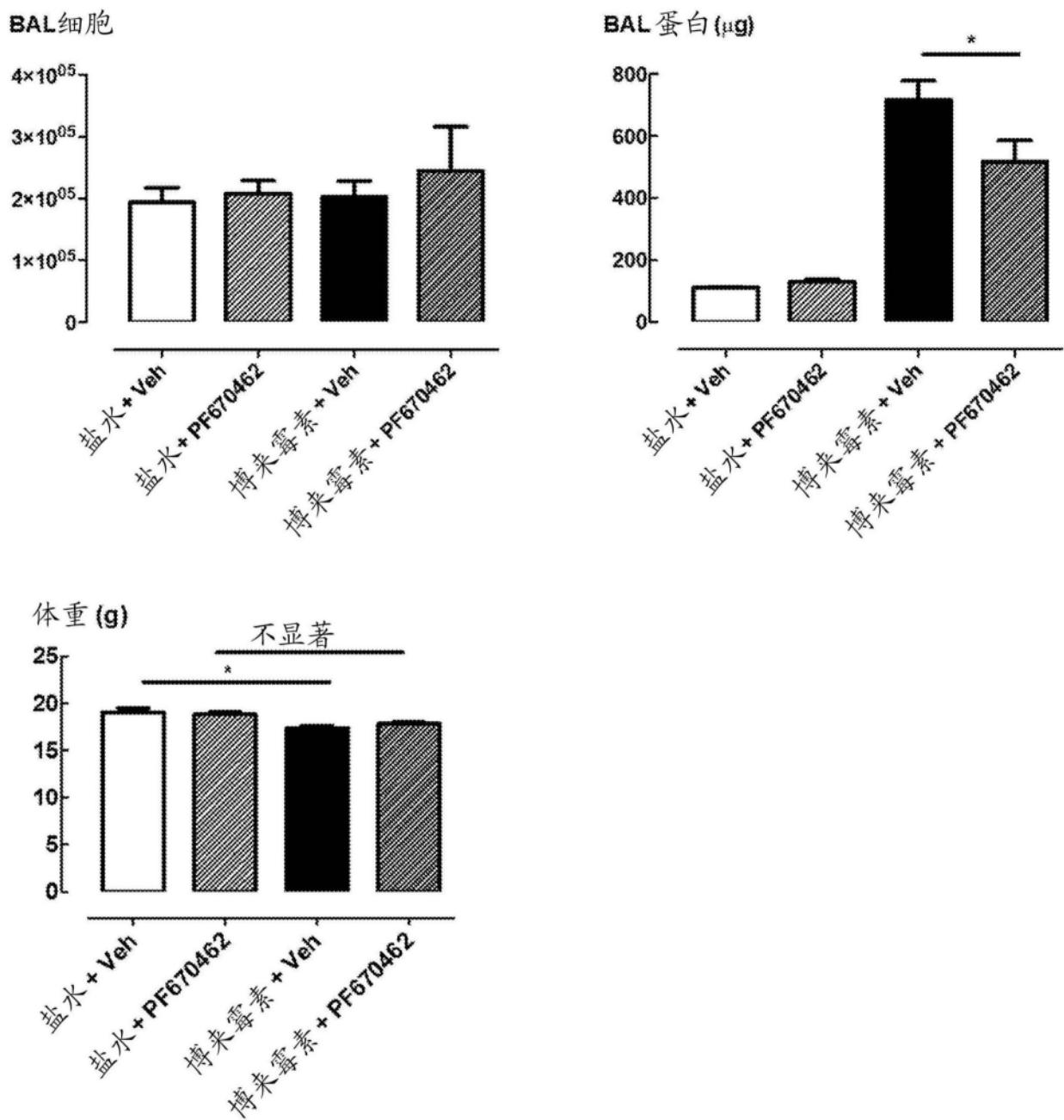


图16

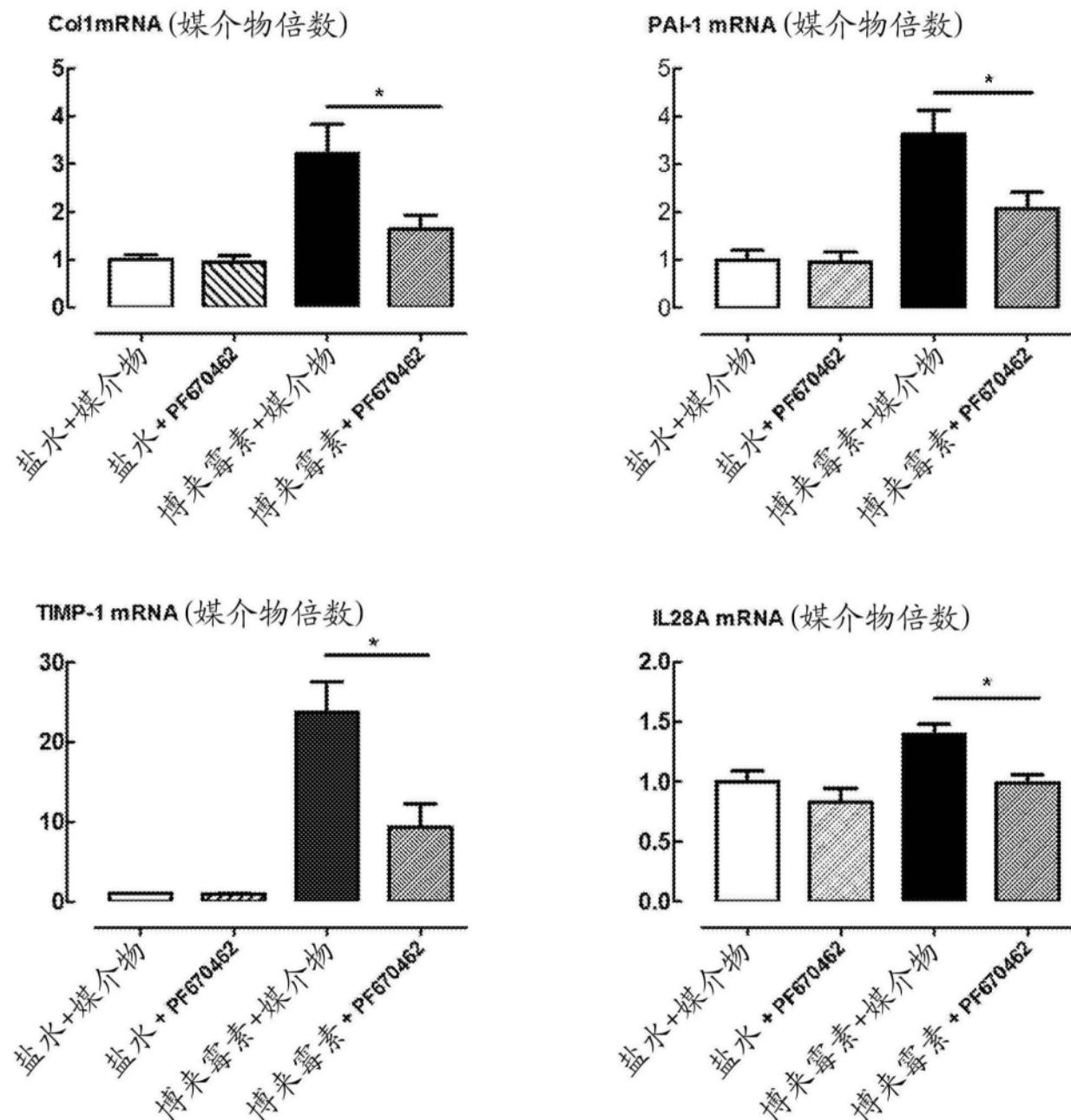


图17

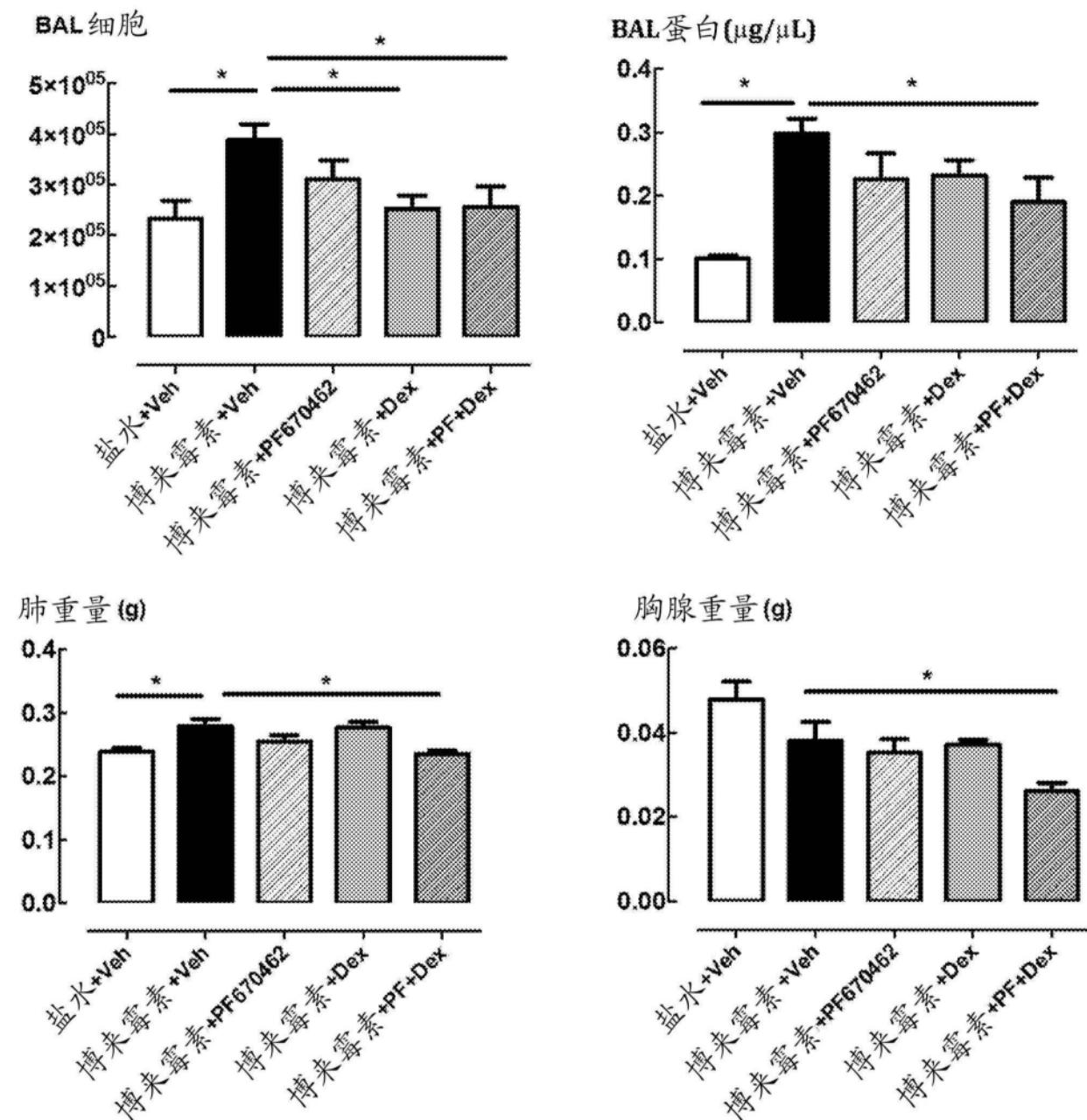


图18

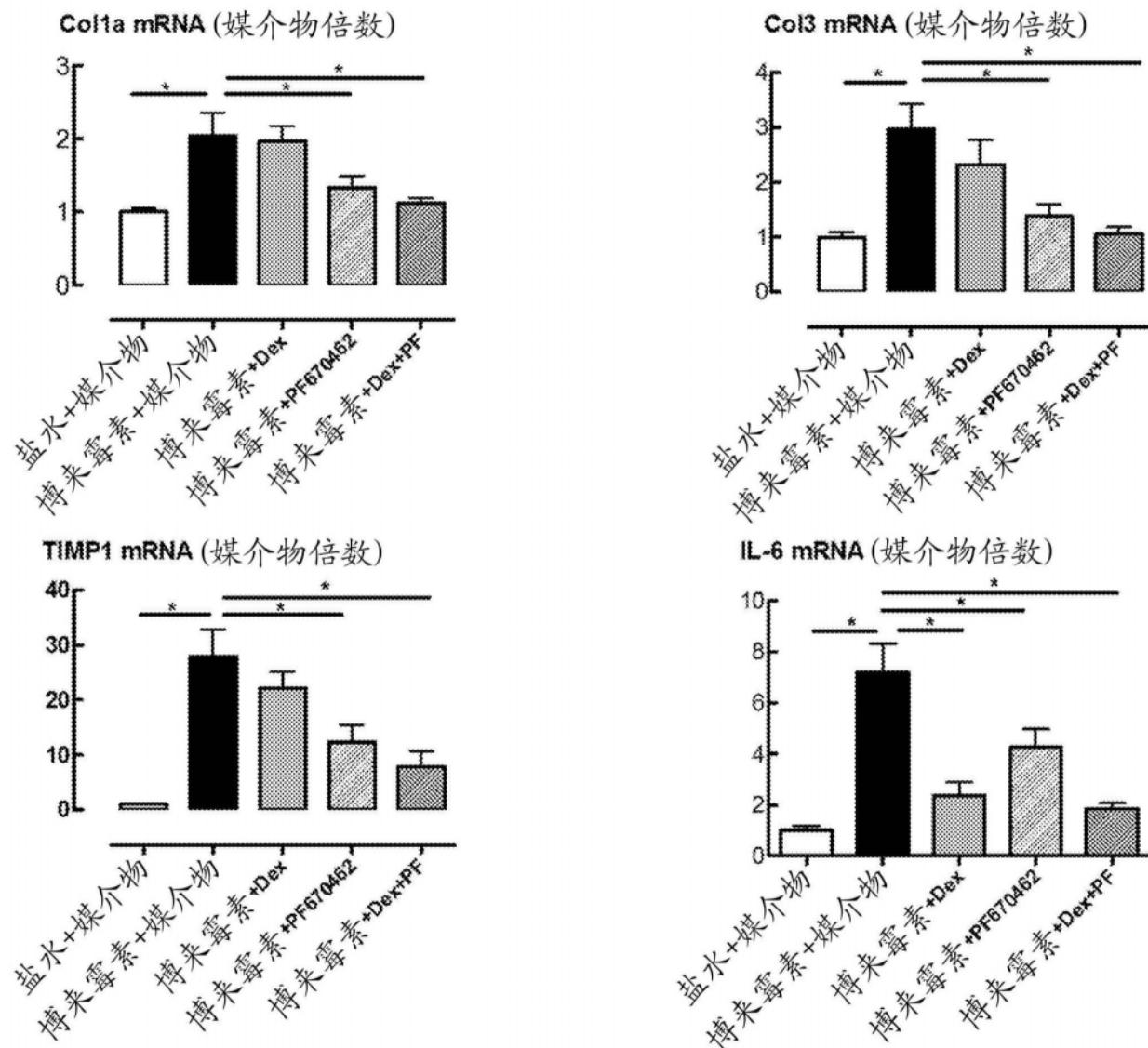


图19

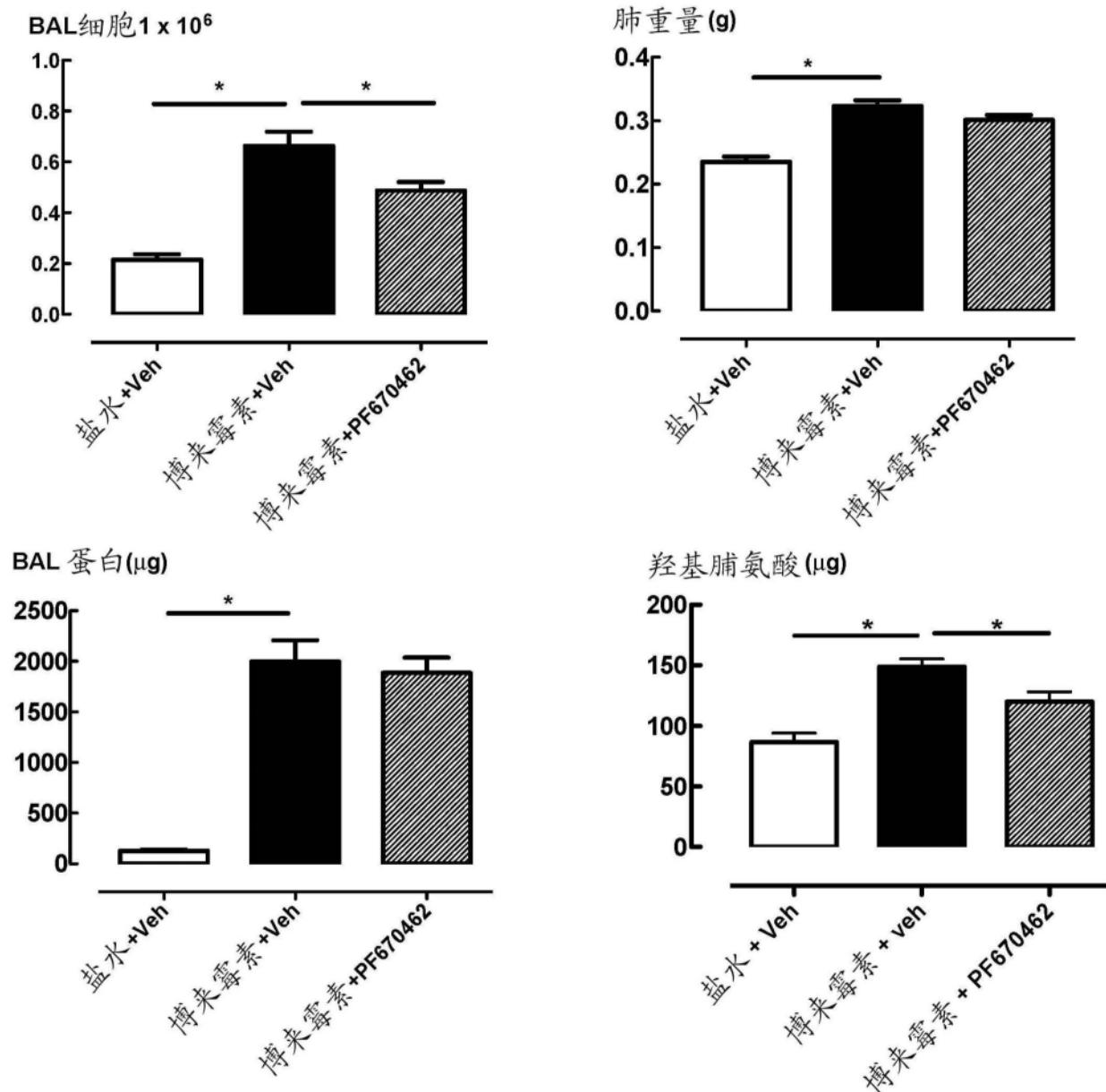


图20

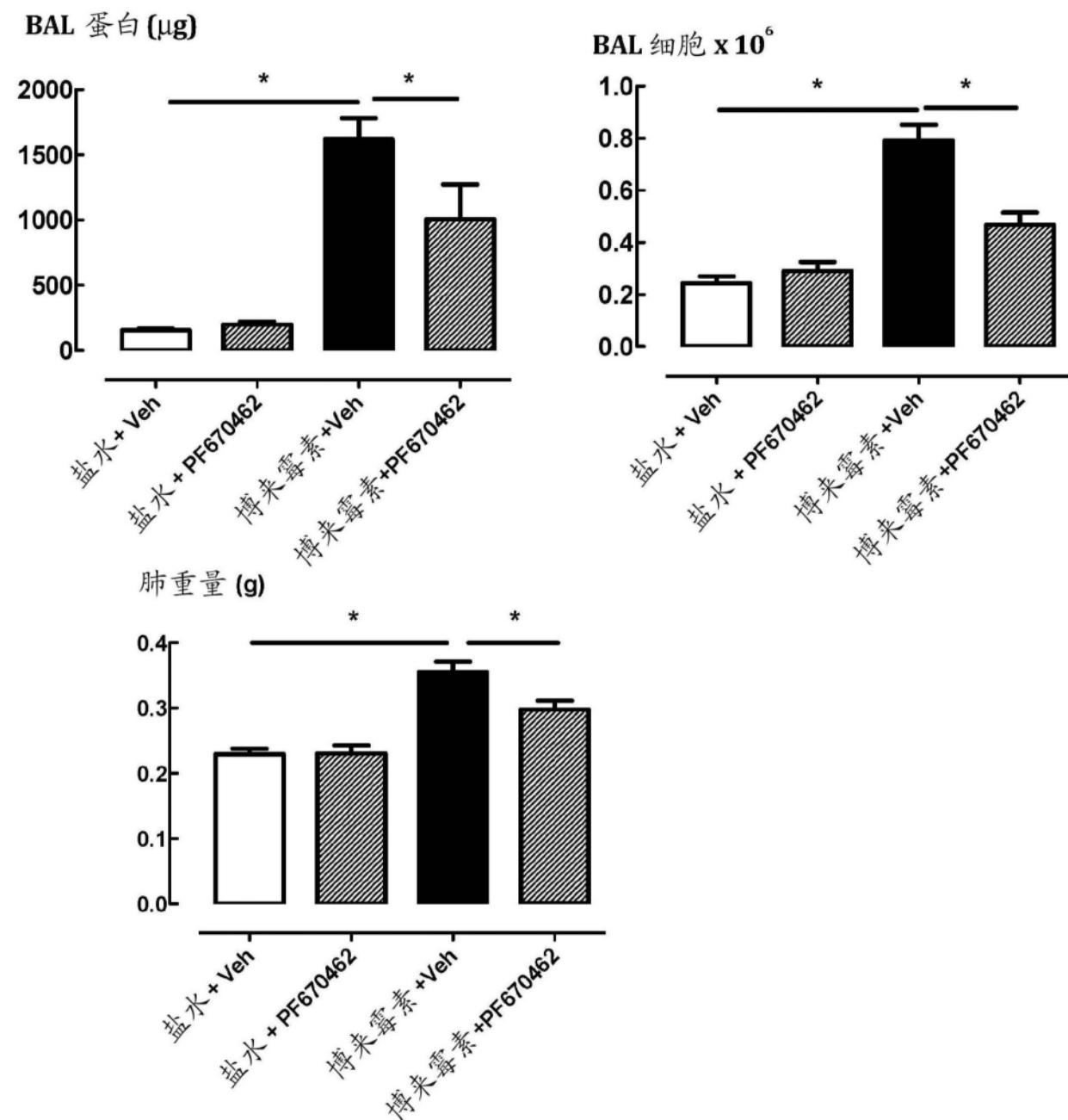


图21

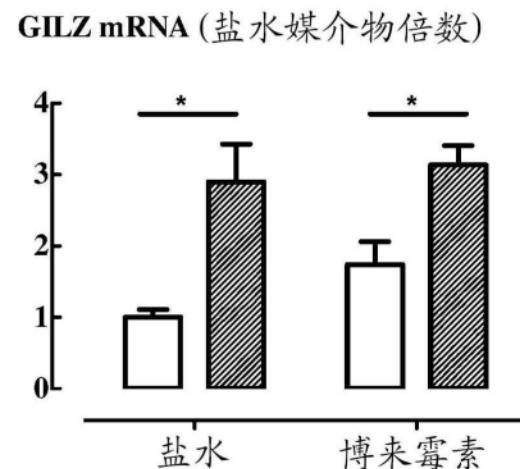
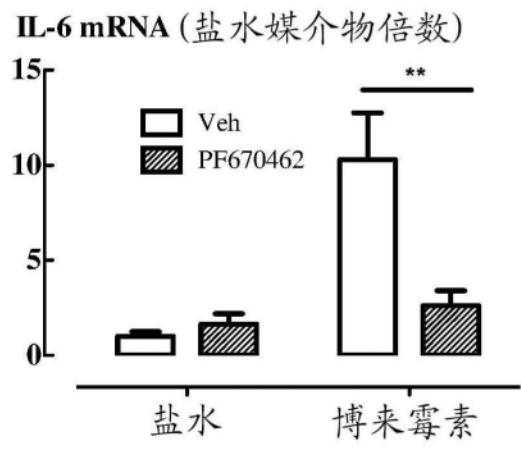
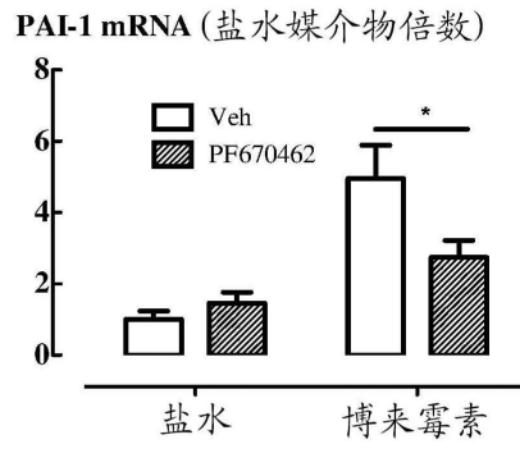
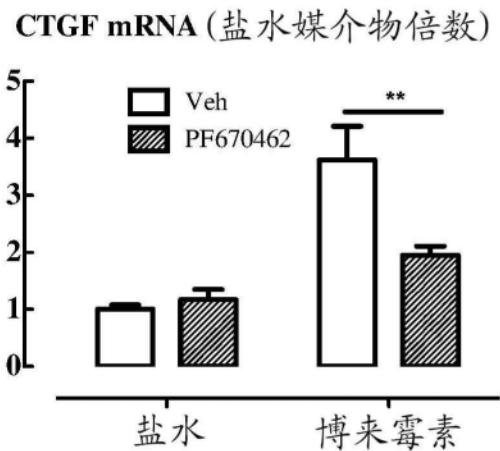


图22

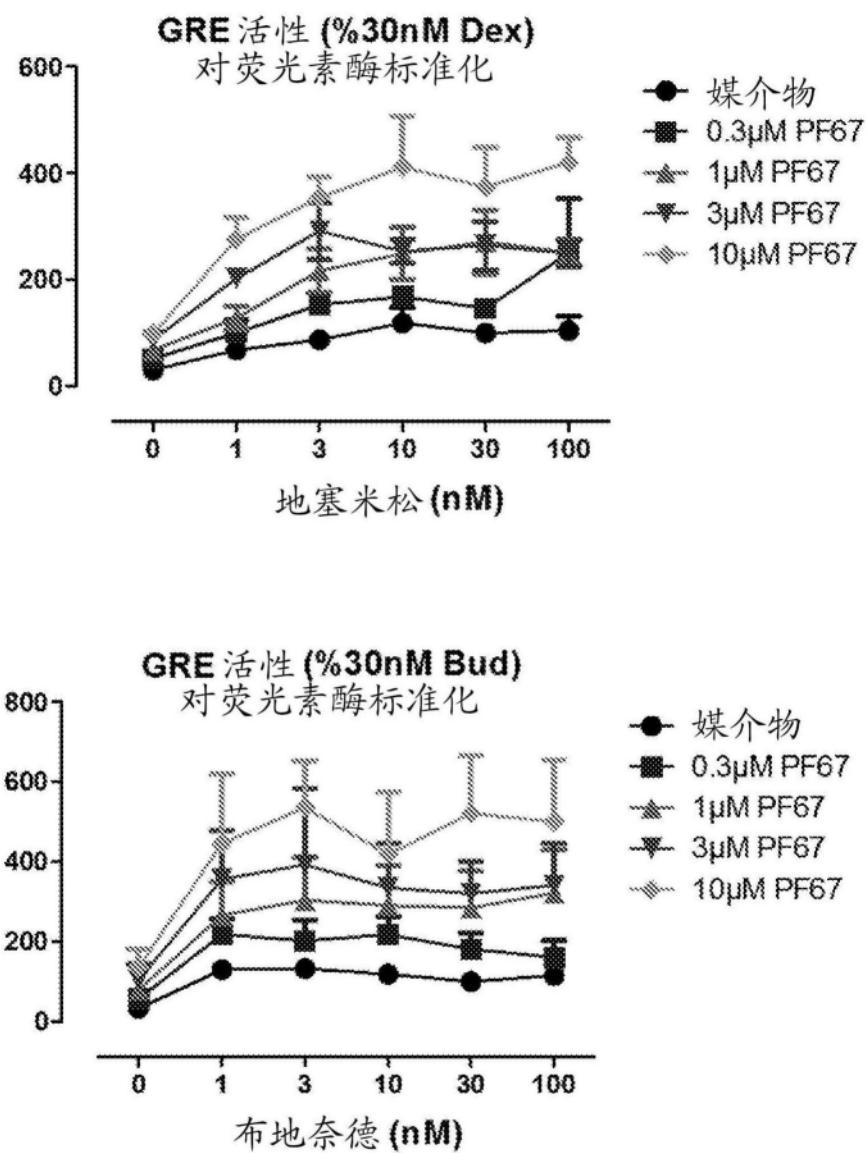


图23

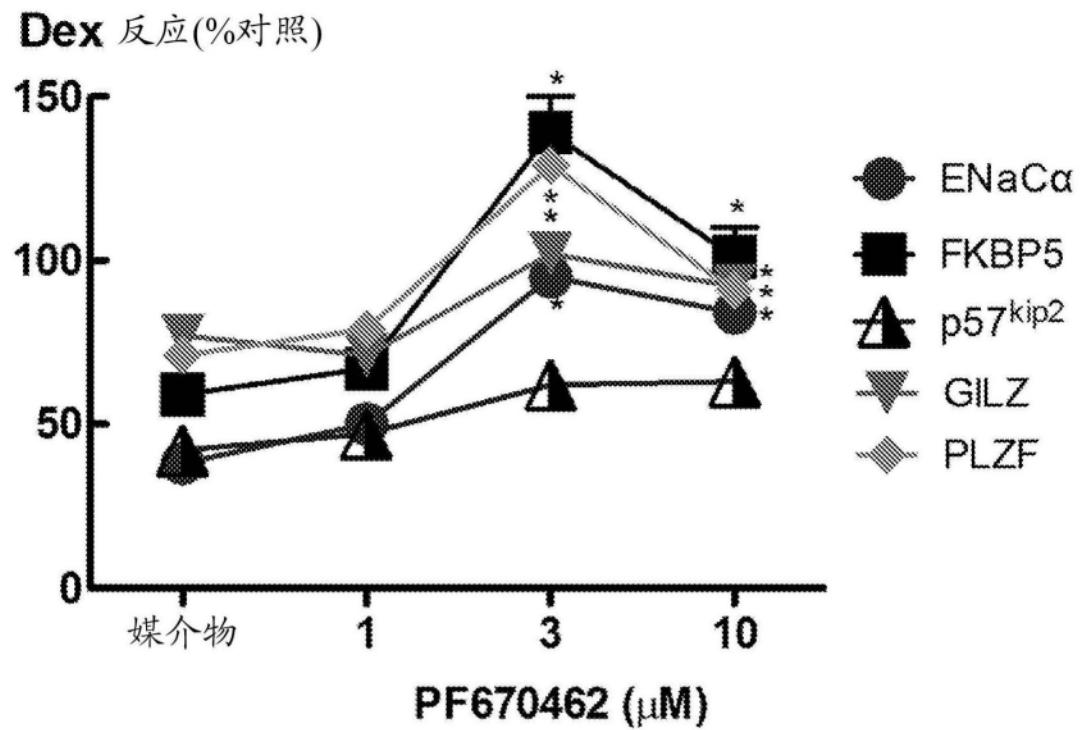


图24A

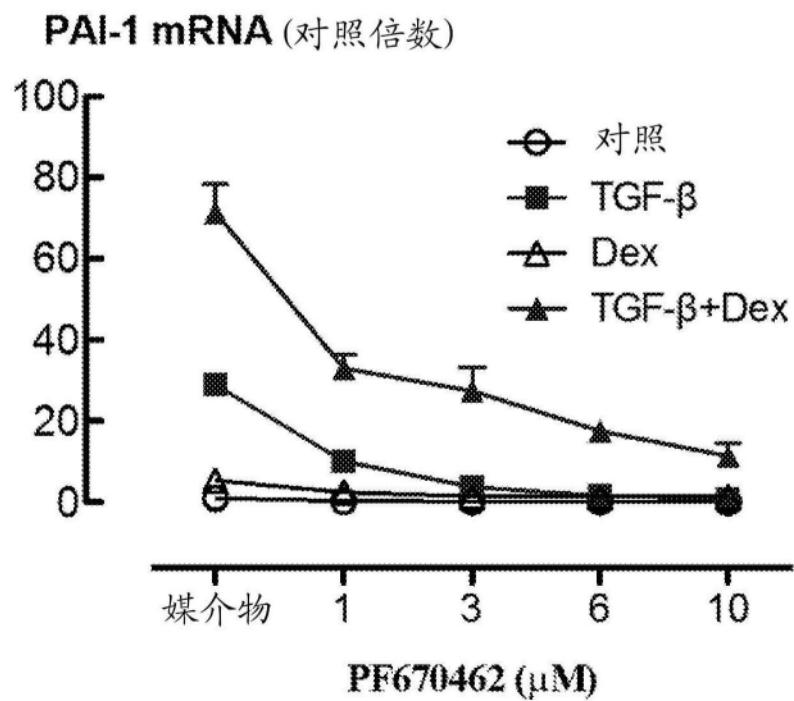


图24B

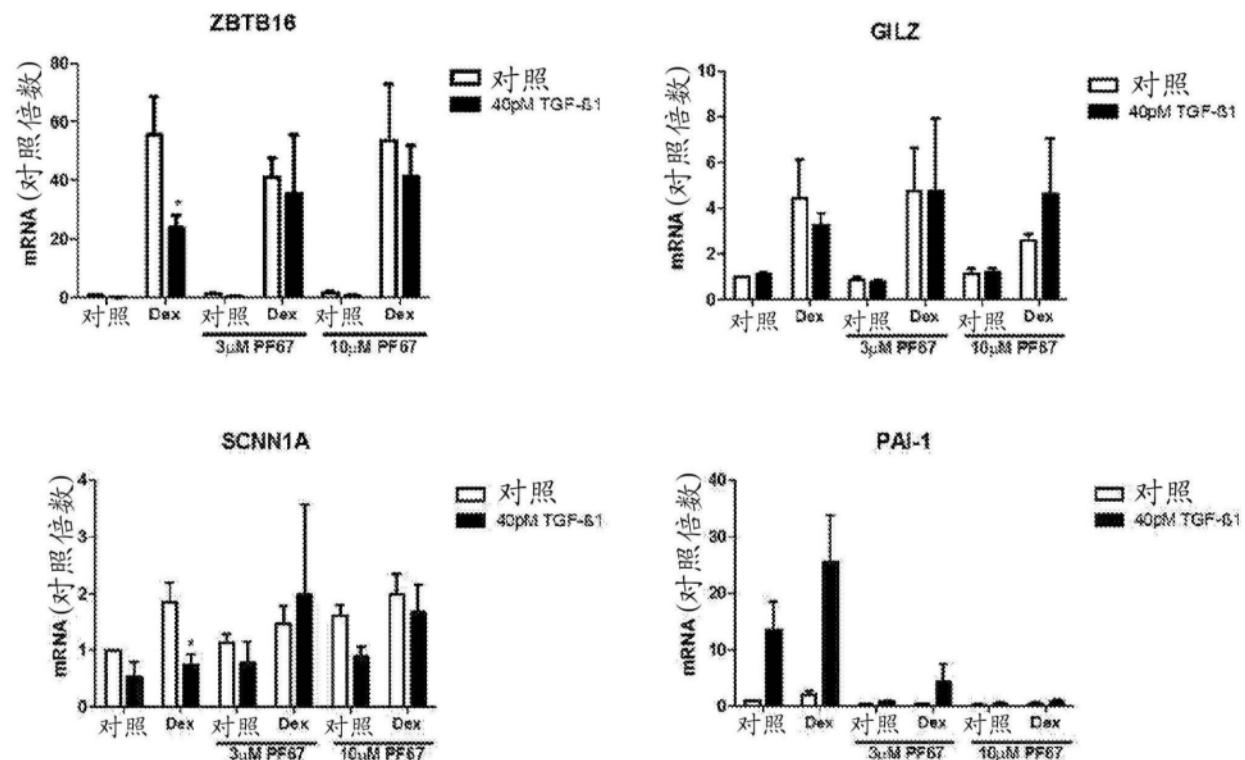


图25

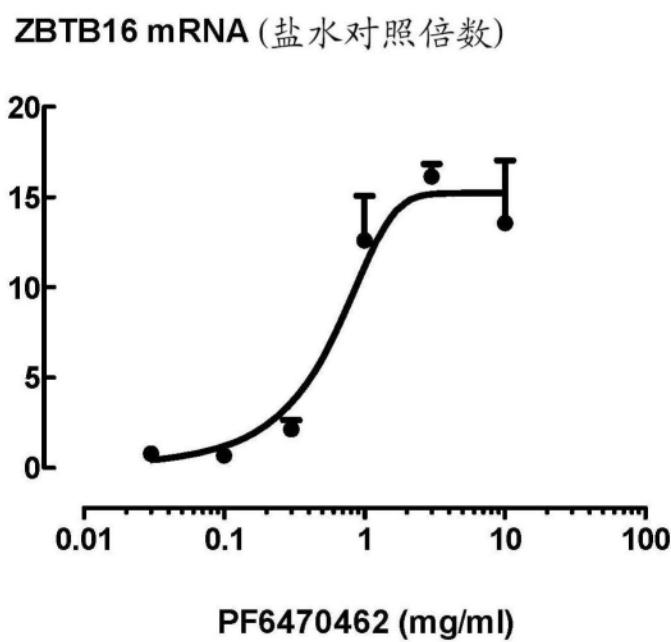
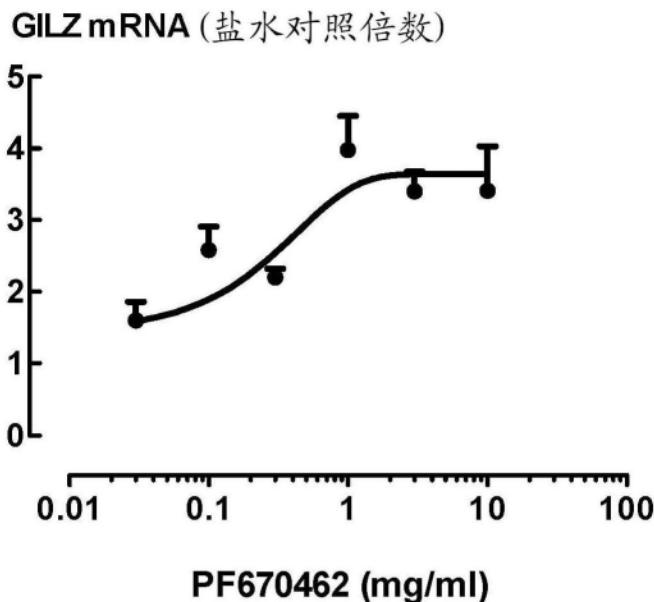


图26

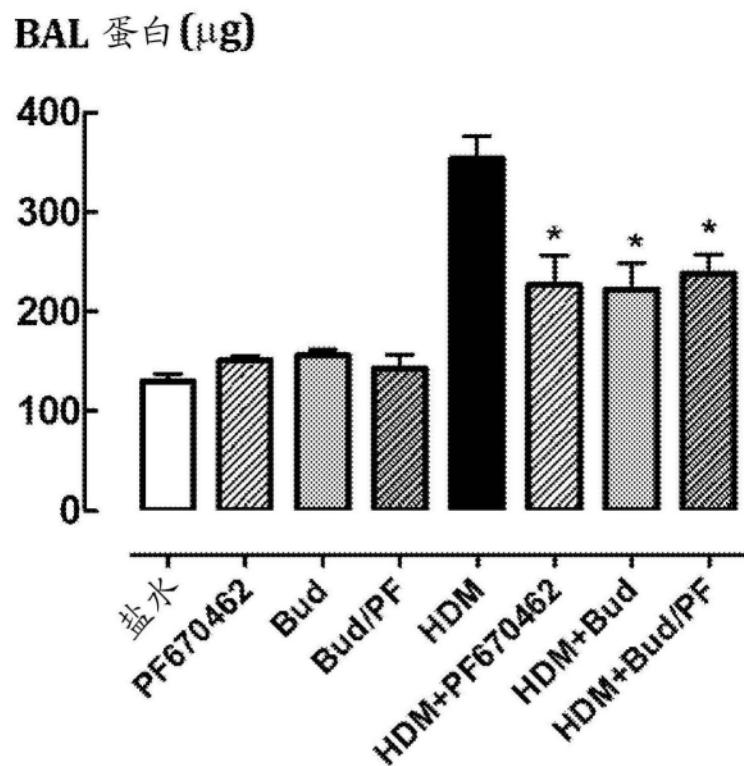


图27A

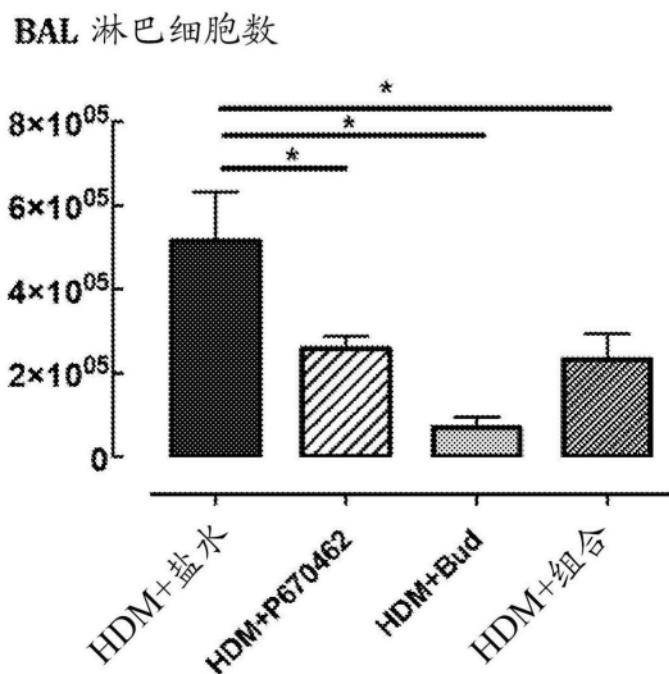


图27B

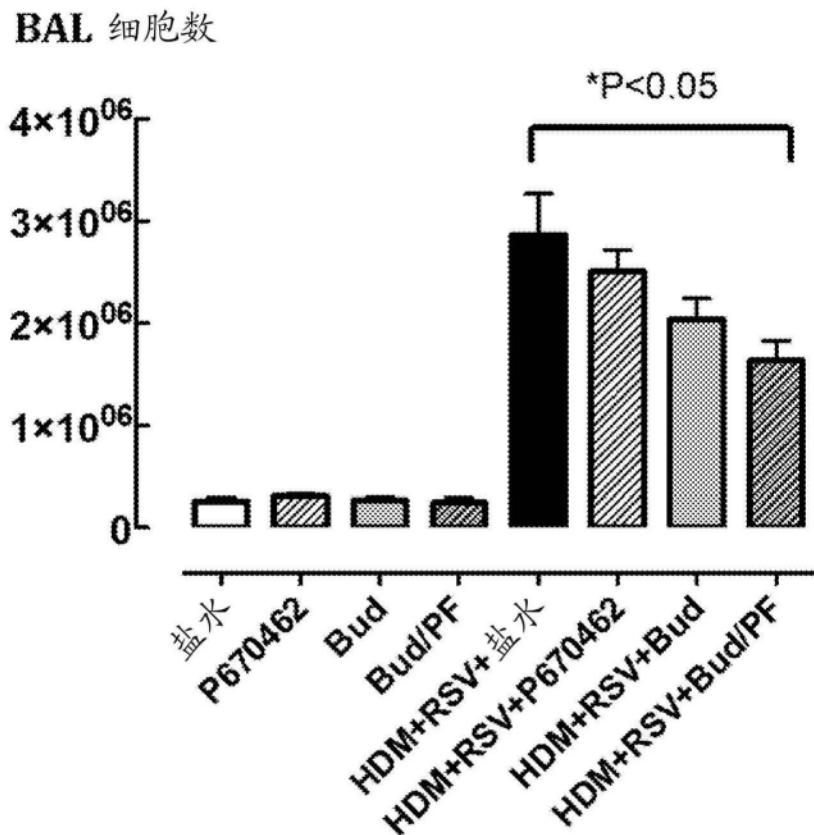


图28

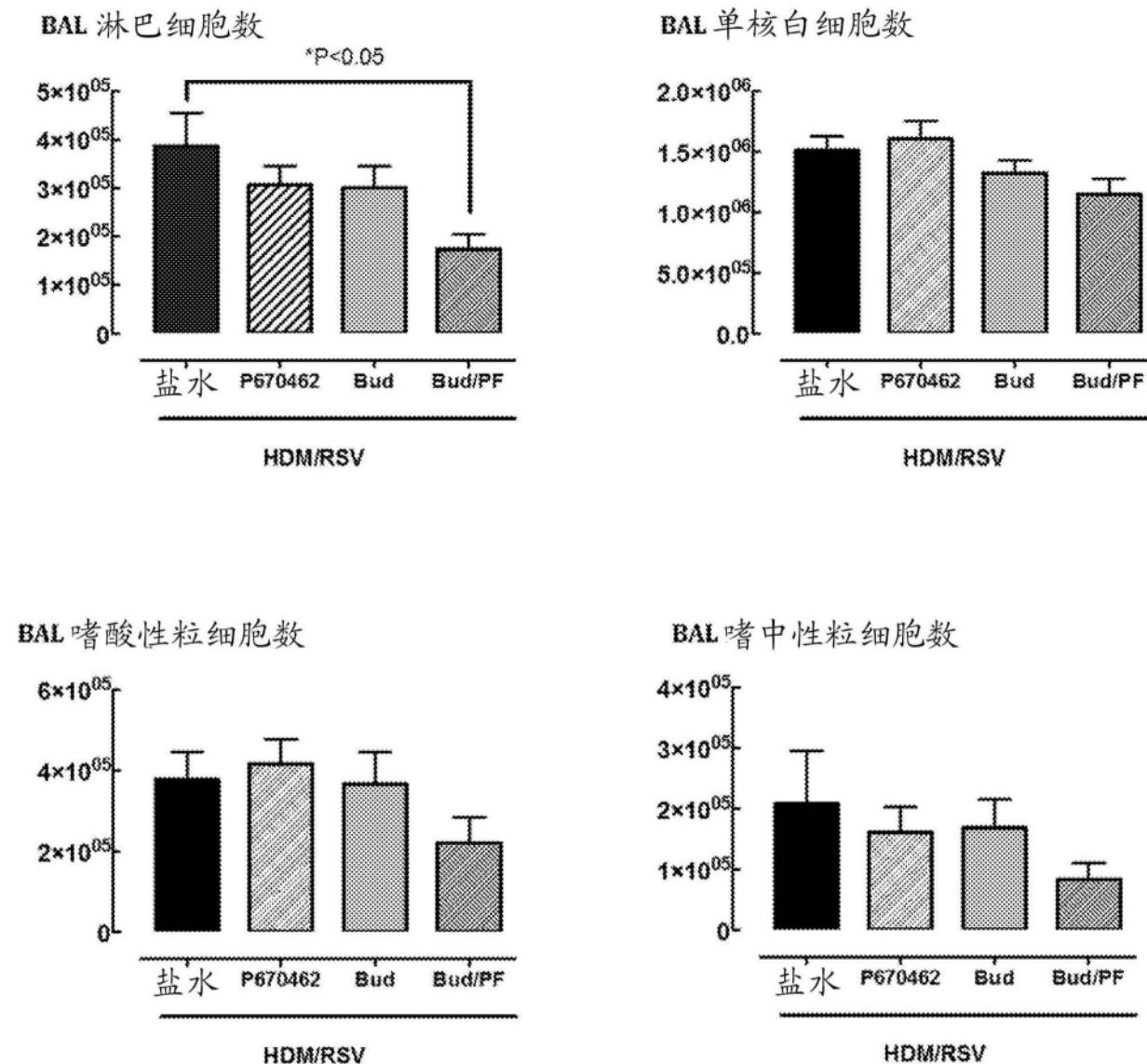
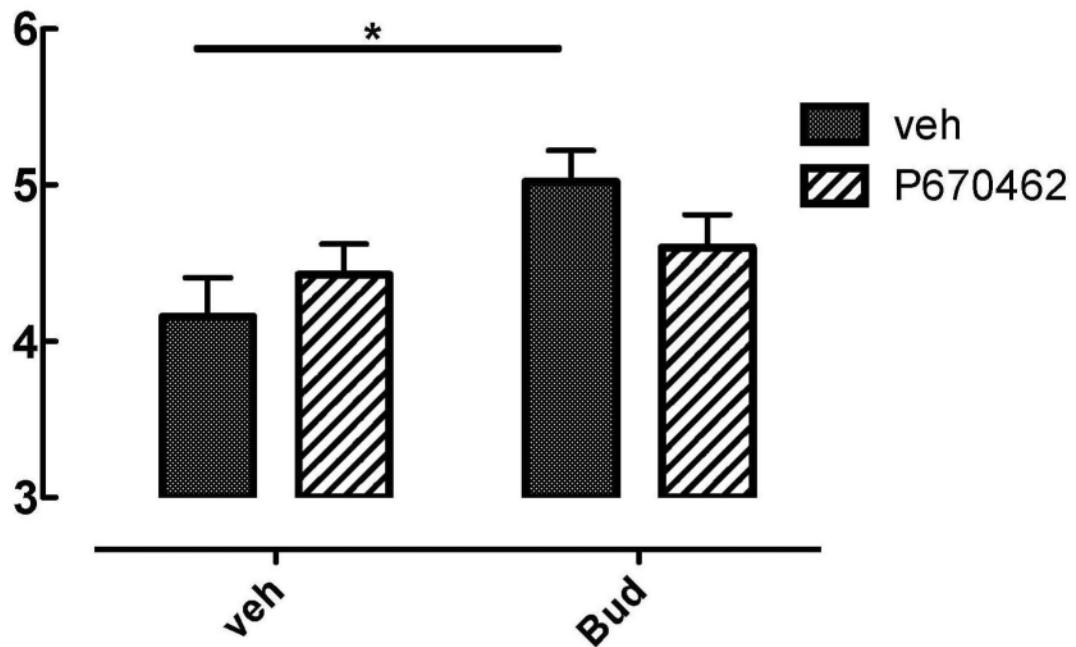


图29

Log₁₀ RSV 滴定度

在未感染小鼠中测试的RSV滴定度<3

图30