



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102648916 A

(43) 申请公布日 2012.08.29

(21) 申请号 201210059997.9

A61P 11/06(2006.01)

(22) 申请日 2008.02.08

(30) 优先权数据

60/900,320 2007.02.09 US

60/940,218 2007.05.25 US

(62) 分案原申请数据

200880004381.3 2008.02.08

(71) 申请人 联合治疗公司

地址 美国马里兰

(72) 发明人 M·瓦德 S·里奇 E·苏利万

R·罗希格诺 R·杰夫斯

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 于巧玲

(51) Int. Cl.

A61K 31/557(2006.01)

A61P 11/00(2006.01)

A61P 9/12(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 11 页

(54) 发明名称

用于间质性肺病和哮喘的曲前列尼治疗

(57) 摘要

本发明描述了使用曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐来治疗和 / 或预防间质性肺病或哮喘、或与间质性肺病有关的病况 (例如, 肺纤维化) 或与哮喘有关的病况的方法。本发明还涉及用于治疗 and / 或预防这种病况的药包, 其包括有效量的曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐。

1. 选自 MMP-9、Arg-2、VEG-F 和 PDGF 中的至少一种生物标志物在监测用药物治疗肺病的治疗过程中的应用。

2. 权利要求 1 的应用,其中所述药物包含曲前列尼或其药学可接受的盐。

3. 权利要求 1 的应用,其中所述肺病是肺动脉高压。

4. 权利要求 1 的应用,其中所述肺病是特发性肺纤维化。

5. 权利要求 1 的应用,其中所述治疗使所述至少一种生物标志物浓度正常化。

6. 曲前列尼或其药学可接受的盐在治疗肺病中的应用,其中所述治疗包括监测所述肺病的至少一种生物标志物。

7. 权利要求 6 的应用,其中所述至少一种生物标志物选自 MMP-9、Arg-2、VEG-F 和 PDGF。

8. 权利要求 6 的应用,其中所述肺病是肺动脉高压。

9. 权利要求 6 的应用,其中所述肺病是特发性肺纤维化。

10. 权利要求 6 的应用,其中所述治疗使所述至少一种生物标志物浓度正常化。

用于间质性肺病和哮喘的曲前列尼治疗

[0001] 本申请是中国专利申请号 200880004381.3 (PCT/US2008/053467), 申请日 2008 年 2 月 8 日, 发明名称“用于间质性肺病和哮喘的曲前列尼治疗”的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求 2007 年 2 月 9 日提交的美国临时申请号 60/900,320 和 2007 年 5 月 25 日提交的美国临时申请号 60/940,218 的优先权, 所述申请都被全文并入本文作为参考。

技术领域

[0004] 本发明涉及曲前列尼 (Trepstinil) 或其衍生物、或它们的药学可接受的盐用于治疗 and / 或预防间质性肺病或哮喘、或与间质性肺病或哮喘有关的病况的用途。本发明还涉及用于该目的的药包。

[0005] 发明背景

[0006] 特发性肺纤维化 (IPF)

[0007] 全世界有 500 万人受到肺纤维化的影响, 包括美国的超过 200,000 名患者, 全世界每年有超过 40,000 人死于肺纤维化。

[0008] 肺纤维化的已知原因包括吸入的职业性和环境的污染物; 诸如硬皮病、类风湿性关节炎、狼疮和肉状瘤病的疾病; 某些具有不期望的副作用的药物; 治疗性辐射; 遗传性 / 家族性病况。在所有的已知原因都被排除时, 所述病况被称为“特发性”肺纤维化 (IPF)。

[0009] 特发性肺纤维化 (IPF) 是一种以正常肺、纤维化和影响外周和胸膜下实质的间质性炎症的交替分布为特征的进行性疾病。纤维化的标志包括上皮下成肌纤维细胞 / 成纤维细胞病灶以及胶原和细胞外基质的沉积增加。这些过量的瘢痕组织引起肺泡壁变硬和顺应性降低, 导致肺总容量的不可逆损失以及将氧气转运到毛细血管中的能力降低。前列腺素类、环加氧酶依赖性花生四烯酸代谢物已经与肺纤维化的发展有牵连。

[0010] 目前, 对于肺纤维化没有有效的治疗方法或治愈方法。治疗包括单独或与其它药物组合给予皮质类固醇; 氧气疗法, 和肺移植。因此, 非常期望开发用于治疗肺纤维化和其它类型的间质性肺病的疗法。

[0011] 哮喘

[0012] 在美国, 已经有超过 2000 万人确诊患有哮喘。哮喘是一种复杂的病症, 其特征为阵发性气流限制、支气管高应答性、和气道炎症。气流阻塞典型地可通过给予支气管扩张药逆转; 然而, 对于长期的疾病而言, 由于气道重塑的进程, 一部分阻塞可能变得不可逆。气道炎症主要是由于嗜酸性粒细胞和 Th2 胸腺依赖性细胞引起。

[0013] 前列环素 (PGI₂) 对于预防哮喘中所见的气道炎症和重塑可能有作用。气道平滑肌细胞的营养过度 / 过度增生促使哮喘中的气道变窄。PGI₂ 对气道平滑肌具有抗增殖作用 (Belvisi, 1998)。缺乏前列环素受体 (IP 受体) 的小鼠显示出加强的过敏原诱导的炎症 (Takahashi, 2002; Nagao, 2003) 和气道重塑 (Nagao, 2003)。同样地, 在缺乏前列腺素 H 合酶的小鼠中, 过敏性肺反应 (气道嗜曙红细胞增多、IgE 产生、气道高应答性) 有所增加 (Gavett, 1999)。炎症的 Th2 模式是哮喘特有的。在过敏性气道炎症的小鼠卵清蛋白模型

中, PGI₂ 在气道中产生并且抑制 Th2- 介导的过敏性炎症 (IL-4、IL-5、IL-13) 和气道高反应性 (Jaffar, 2002)。前列环素类似物伊洛前列素已经表现出在哮喘的小鼠模型中具有抗炎作用 (Idzko, 2007)。伊洛前列素通过妨碍肺髓细胞样树突状细胞的功能而表现出这种作用, 所述肺髓细胞样树突状细胞是重要气道的抗原呈递细胞。伊洛前列素妨碍肺树突状细胞的成熟以及向纵隔淋巴结的迁移, 由此消除对这些淋巴结中的过敏原特异性 Th2 反应的诱导。

[0014] 哮喘的治疗包括使用快速释放的药物, 例如支气管扩张药。哮喘的长期控制用药物包括皮质类固醇、吸入的长效 β - 激动剂、白细胞三烯调节剂、色甘酸钠、奈多罗米、和茶碱。需要开发用于治疗哮喘的另外的疗法。

发明内容

[0015] 在一个实施方案中, 本发明是用于治疗或预防间质性肺病或与间质性肺病有关的病况 (例如肺纤维化) 的方法, 包括对此需要的受试者给予有效量的曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐。在一个实施方案中, 本发明是用于治疗或预防哮喘或与哮喘有关的病况的方法, 包括对此需要的受试者给予有效量的曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐。所述衍生物可以是曲前列尼的酸衍生物、曲前列尼的前体药物、曲前列尼的持续释放形式、曲前列尼的吸入形式、曲前列尼的口服形式、曲前列尼的多晶型物或曲前列尼的异构体。在另一个实施方案中, 治疗肺纤维化的方法用于特发性肺纤维化。所述纤维化可以由职业性或环境性接触引起的、由辐射所引起的肺纤维化、由结缔组织或胶原病所引起的肺纤维化、由遗传性 / 家族性疾病所引起的肺纤维化、由药物副作用所引起的肺纤维化、特发性肺纤维化及其组合。使用本发明进行治疗还减少、消除、或预防与肺纤维化有关的疼痛或其它症状。

[0016] 在本发明的另一个实施方案中, 所述方法给予曲前列尼的药学可接受的盐或其衍生物, 或者给予该衍生物的药学可接受的盐。所述方法的受试者可以是哺乳动物, 或者优选为人。给药可以通过静脉内、吸入进行, 或以选自片剂和胶囊的口服可用形式进行。在另一个实施方案中, 所述有效量最低为 1.0ng/kg 体重 /min。或者, 所述有效量为每天吸入 5-500 μ g 的曲前列尼。

[0017] 在另一个实施方案中, 本发明涉及治疗肺病的方法, 所述肺病为例如包括肺纤维化在内的间质性肺病、或者其它病况例如哮喘, 所述方法包括给予药物或已知使与肺病有关的生物标志物正常化的药物或药物组合。在另一个实施方案中, 所述药物是曲前列尼, 所述肺病是 IPF, 并且所述生物标志物是 MMP-9、Arg-2、VEG-F 和 PDGF。

[0018] 在另一个实施方案中, 本发明是用于治疗或预防间质性肺病或与间质性肺病有关的病况 (例如肺纤维化) 的药包, 其包括 (i) 有效量的曲前列尼或其衍生物, 或它们的药学可接受的盐, (ii) 一种或多种药学可接受的载体和 / 或添加剂, 和 (iii) 治疗或预防间质性肺病的使用说明书。在另一个实施方案中, 本发明是用于治疗或预防哮喘或与哮喘有关的病况的药包, 其包括 (i) 有效量的曲前列尼或其衍生物, 或它们的药学可接受的盐, (ii) 一种或多种药学可接受的载体和 / 或添加剂, 和 (iii) 治疗或预防哮喘的使用说明书。

[0019] 另外, 组分 (i) 可以是适合于静脉内给药、吸入、或口服给药形式的曲前列尼的药学可接受的盐。使用所述药包治疗的受试者可以是哺乳动物, 或者优选为人。治疗的肺纤

维化可以选自由职业性或环境性接触引起的肺纤维化、由辐射所引起的肺纤维化、由结缔组织或胶原病所引起的肺纤维化、由遗传性 / 家族性疾病所引起的肺纤维化、由药物副作用所引起的肺纤维化、特发性肺纤维化及其组合。

[0020] 发明详述

[0021] 本发明涉及通过增加流过较小血管和毛细血管的血流量而增强血流量并且有效治疗和预防间质性肺病或与间质性肺病有关的病况（例如肺纤维化）的疗法。

[0022] 本发明还涉及有效治疗和预防哮喘或与哮喘有关的病况的疗法。

[0023] 前列环素是一种小分子，以前已经表明其引起大血管的扩张、平滑肌的松弛、对平滑肌增殖的抑制作用、以及对血小板凝聚（其与血液凝固进程有关）的抑制作用。曲前列尼在微血管水平和对皮肤附近的毛细血管的类似作用被认为有助于增强皮肤的血流量和愈合和 / 或预防与硬皮病、血栓性闭塞性脉管炎、肢端动脉痉挛症、雷诺氏现象、和其它病况有关的缺血性损害或溃疡。

[0024] 本发明涉及治疗和 / 或预防间质性肺病或哮喘、或与间质性肺病或哮喘有关的病况的方法，包括对有此需要的受试者给予有效量的曲前列尼和 / 或其衍生物和 / 或它们的药学可接受的盐。适合的衍生物包括曲前列尼的酸衍生物、前体药物、持续释放形式、吸入形式和、口服形式，包括在 Cloutier 等人的美国专利 6, 521, 212 和 6, 756, 033 以及 Phares 等人的美国专利申请公布 20050085540 和 20050282901 中公开的那些。

[0025] 除非另作说明，本文中使用的术语“一”或“一个”意思是“一个或多个”。

[0026] 如本文中使用的，短语“使用说明书”是指任何 FDA 授权的标签、说明书、或药品说明书，其涉及曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐的给药，以便用于治疗或预防间质性肺病或哮喘或与间质性肺病或哮喘有关的病况。例如，使用说明书可包括但不限于哮喘、或与间质性肺病有关的病况（例如肺纤维化）/ 或与哮喘有关的病况的适应症；可以通过曲前列尼改善的与这种病况有关的具体症状的识别；和对于患有间质性肺病或哮喘受试者的推荐剂量。

[0027] 本文中使用的术语“酸衍生物”用于描述 C_1-C_4 烷基酯和酰胺，包括其中氮原子任选地被一个或两个 C_1-C_4 烷基取代的酰胺。

[0028] 具有不同炎症和纤维化程度的许多急性和慢性肺病统称为间质性肺病 (ILD)。由于肺的僵硬的纤维化，肺动脉高压 (PAH) 经常是某些 ILD 形式的晚期并发症。

[0029] 肺性高血压症包括多重的疾病，例如肺动脉高压 (PAH) 和肺静脉高压。

[0030] 术语“肺纤维化”是其中肺的组织变厚和有瘢痕的病况。该病况可以在医疗社区中确诊，并且涉及气短、疲劳、虚弱、慢性干咳、频咳、食欲不振、和胸部不适。随着时间的过去，肺中的瘢痕被纤维变性组织替代，并且肺组织变厚。这种变厚引起肺将氧气转移到血液中的能力降低。这种病况与其它肺病（例如肺性高血压症）不同。

[0031] 术语“哮喘”是其中携带空气到肺中的气道内部变得发炎的病况。该病况可以在医疗社区中确诊。这种炎症引起气道变窄和气流阻塞。这种病况与其它肺病不同。

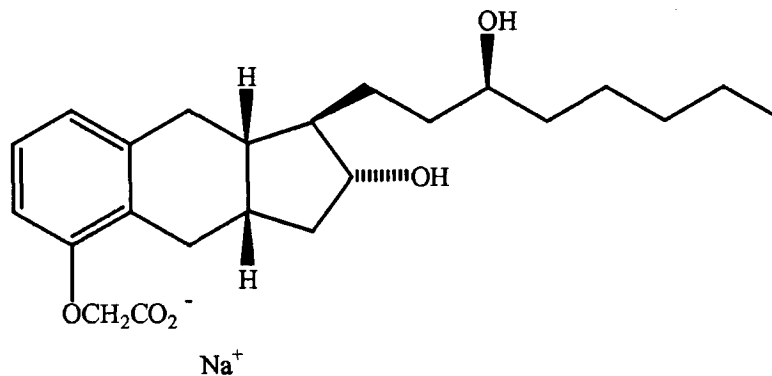
[0032] 本发明还包括曲前列尼的生物学前体或“前体药物”，即在体内转化为曲前列尼或其药学活性衍生物的化合物。

[0033] 本发明的另一个方面涉及曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐用于生产药物的用途，所述药物用于治疗或预防间质性肺病或哮喘、或与间质性肺病或哮喘有关

的病况。

[0034] 本发明还包括使用曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐的方法。在一个实施方案中,所述方法使用曲前列尼钠,目前以商品名**REMODULIN**[®]销售。FDA 已经批准曲前列尼钠以 1.0mg/mL、2.5mg/mL、5.0mg/mL 和 10.0mg/mL 的剂量浓度注射用于治疗肺动脉压。曲前列尼钠的化学结构式是:

[0035]



[0036] 曲前列尼钠有时通过化学名称来命名:(a) [(1R, 2R, 3aS, 9aS)-2, 3, 3a, 4, 9, 9a-六氢-2-羟基-1-[(3S)-3-羟基辛基]-1H-苯并[f]茚-5-基]氧基]乙酸;或(b) 9-脱氧-2', 9- α -桥亚甲基-3-氧杂-4, 5, 6-三去甲-3, 7-(1', 3'-间亚苯基(interphenylene))-13, 14-二氢前列腺素 F₁。曲前列尼钠还被称为:UT-15、LRX-15、15AU81、UNIPROST[™]、BW A15AU、和 U-62, 840。曲前列尼钠的分子量是 390. 52, 其实验式为 C₂₃H₃₄O₅。

[0037] 本发明提供使用曲前列尼的生理学可接受的盐以及曲前列尼的非生理学可接受的盐的方法,曲前列尼的所述非生理学可接受的盐可用于制备本发明的药理学活性化合物。

[0038] 曲前列尼的生理学可接受的盐包括衍生自碱的盐。碱盐包括铵盐(例如季铵盐);碱金属盐,例如那些钠和钾的盐;碱土金属盐,例如钙和镁的盐;与有机碱例如二环己基胺和 N-甲基-D-葡糖胺的盐;以及与氨基酸例如精氨酸和赖氨酸的盐。

[0039] 季铵盐可以通过例如与低级卤代烃、二烷基硫酸酯、长链卤化物、和芳烷基卤化物反应来形成,所述低级卤代烃例如是甲基、乙基、丙基和丁基的氯化物、溴化物和碘化物,所述长链卤化物例如是癸基、十二烷基、十四烷基、和十八烷基的氯化物、溴化物和碘化物,所述芳烷基卤化物,例如是苄基溴化物和苯乙基溴化物。

[0040] 用于实现预期效果的根据本发明的药物或诊断助剂中的曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐的量取决于许多因素,例如具体应用、所用的特定化合物的性质、给药方式、所用的化合物浓度、和患者的体重和状态。用于治疗或预防间质性肺病或哮喘、或与间质性肺病或哮喘有关的病况的每名患者的日剂量可以是每千克体重每天 25 μ g-250mg、0.5 μ g-2.5mg、或 7 μ g-285 μ g。例如,可以将每千克体重每天为 0.5 μ g-1.5mg 的静脉内剂量作为每千克体重每分钟为 0.5ng-1.0 μ g 的输注方便地给药。一个可能的剂量是 2.5ng/kg/min,在 12 周内以每周 2.50ng/kg/min 的量增加,直到达到目标剂量,例如 15ng/kg/min。适合于这种目的的输注流体包含例如 10ng-1 μ g/毫升。用于注射的安瓿包含例如 0.1 μ g-1.0mg,可口服给药的单位剂量制剂(例如片剂或胶囊)包含

例如 0.1-100mg, 典型地为 1-50mg。对于诊断的目的, 可以给予单个单位剂量制剂。在生理学可接受的盐的情况下, 上述的重量是指活性化合物离子的重量, 即由曲前列尼衍生的离子的重量。

[0041] 在生产本发明的药物或诊断助剂(以下简称“制剂”)时, 可以将曲前列尼和/或其衍生物、和/或它们的药学可接受的盐与尤其是可接受的载体混合。当然, 所述载体必须与制剂中的任何其它成分相容的意义上是可接受的, 并且不能对受试者有害。所述载体可以是固体或液体, 或者既有固体又有液体, 并且优选与化合物配制为单位剂量制剂, 例如片剂, 其可以包含 0.05 重量%到 95 重量%的活性化合物。可以将曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐中的一种或多种并入到本发明的制剂中, 所述制剂可以通过用于将组分混合的任何公知制药技术来制备。

[0042] 本发明的制剂包括适合于非肠道(例如, 皮下、肌肉内、真皮内或静脉内)、口服、吸入(以固体和液体形式)、直肠、局部、经颊(例如, 舌下)和透皮给药的那些, 尽管在任何给定情况中的最适合的途径可能取决于要治疗的病况的性质和严重程度以及取决于曲前列尼、其衍生物、或它们的药学可接受的盐的具体形式的性质。

[0043] 适合于非肠道给药的本发明的制剂方便地包括曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐的无菌含水制剂, 其中所述制备物可以与预定接受者的血液等渗。这些制剂可以通过皮下注射给药, 尽管还可以静脉内给药或者通过肌肉内或真皮内注射的方式给药。这种制剂可以方便地通过将化合物与水或甘氨酸或柠檬酸盐缓冲液混合并使得到的溶液灭菌和与血液等渗来制备。本发明的可注射制剂可以包含 0.1-5% w/v 的活性化合物并且可以以 0.1ml/min/kg 的速率给药。或者, 本发明可以以 0.625-50ng/kg/min 的速率给药。或者, 本发明可以以 10-15ng/kg/min 的速率给药。

[0044] 适合于口服给药的制剂可以作为独立的单位存在, 例如胶囊、扁囊剂、锭剂、或片剂, 其各自包含预定量的曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐; 作为粉末或颗粒存在; 作为在含水或非水液体中的溶液或悬浮液存在; 或者作为水包油或油包水的乳剂存在。这种制剂可以通过药剂学的任何适合方法来制备, 所述方法包括使活性化合物与适合的载体(其可以包含一种或多种助剂)相结合的步骤。

[0045] 通常, 如下制备本发明的制剂: 将活性化合物与液体或细分的固体载体或其两者均匀并且密切地混合, 如有必要, 然后将得到的混合物成型。例如, 可以通过将包含活性化合物的粉末或颗粒与任选的一种或多种助剂压制或模压来制备片剂。可以通过在适合的机器中压制任选地与粘结剂、润滑剂、惰性稀释剂、和/或表面活性剂/分散剂混合的自由流动形式的化合物(例如粉末或颗粒)来制备压制片。可以通过在适合的机器中模压用惰性液体粘结剂润湿的粉末化合物来制备模压片。

[0046] 适合于经颊(舌下)给药的制剂包括锭剂和软锭剂, 所述锭剂包括在调味的基质(通常为蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍胶)中的曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐, 所述软锭剂包括在惰性基质例如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶中的化合物。

[0047] 适合于直肠给药的制剂优选作为单位剂量栓剂存在。这些可以如下制备: 将曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐与一种或多种常规的固体载体例如可可脂混合, 然后将得到的混合物成型。

[0048] 适合于对皮肤局部施用的制剂优选为软膏剂、霜剂、洗液、糊剂、凝胶剂、喷雾剂、

气雾剂、或油的形式。可以使用的载体包括凡士林、羊毛脂、聚乙二醇、醇类、及其两种或更多的组合。活性化合物通常以 0.1-15% w/w 的浓度存在,例如为 0.5-2% w/w。用于透皮给药的制剂可以通过离子透入法递送(参见,例如, *Pharmaceutical Research*, 3(6): 318(1986)) 并且典型地为曲前列尼或其衍生物或其盐的任选被缓冲的含水溶液的形式。适合的制剂包括柠檬酸盐或 bis/tris 缓冲液 (pH6) 或乙醇/水,并且包含 0.1-0.2M 的活性成分。

[0049] 本发明的化合物方便地通过与美国专利 No. 4, 306, 075、美国专利 No. 6, 528, 688 和美国专利 No. 6, 441, 245 中所述那些相同或相似的方法制备。

[0050] 在某些药包实施方案中,曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐为适合于皮下给药、持续皮下输注、静脉内给药或吸入的形式。在其它药包实施方案中,曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐为选自片剂和胶囊的口服可利用形式。在另一个药包实施方案中,曲前列尼或其衍生物、或它们的药学可接受的盐的有效量最低为 1.0ng/kg 体重/min。

[0051] 曲前列尼对肺纤维化的作用可以使用肺纤维化的动物模型来检验,例如在 Bonner JC、Rice AB、Ingram JL、Moomaw CR、Nyska A、Bradbury A、Sessoms AR、Chulada PC、Morgan DL、Zeldin DC、和 Langenbach R., *Susceptibility of cyclooxygenase-2-deficient mice to pulmonary fibrogenesis. Am J Pathol* 161:459-470, 2002; 23; 和 Keerthisingam CB、Jenkins RG、Harrison NK、Hernandez-Rodriguez NA、Booth H、Laurent GJ、Hart SL、Foster ML、和 McAnulty RJ., *Cyclooxygenase-2 deficiency results in a loss of the anti-proliferative response to transforming growth factor-beta in human fibrotic lung fibroblasts and promotes bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. Am J Pathol* 158:1411-1422, 2001 中描述的肺纤维化的博来霉素和 V205 模型,所述文献都被全文并入本文作为参考。

[0052] 本发明的制剂还可以用于使与肺病有关的生物标志物正常化。肺病和受影响的细胞或组织涉及不同浓度的蛋白质和细胞化合物。这些化合物提供了用于评价疾病的严重程度和病程的生物标志物。例如,基质金属蛋白酶 9 (MMP-9)、血管蛋白-2 (Ang-2)、血管内皮衍生的生长因子 (VEGF)、和血小板衍生的生长因子 (PDGF) 与肺病有关并且可以在本发明中用于监控用曲前列尼或其它药物进行治疗的病程。

[0053] 曲前列尼对哮喘的作用可以使用哮喘的动物模型来检验,例如慢性人哮喘的鼠科模型。参见, Kumar RK 和 Foster PS., *Immunol Cell Biol.* 2001Apr, 79(2):141-4。

[0054] 上述引用的所有出版物的公开内容都明确地以如同每个出版物分别地被并入本文作为参考一样的程度被并入本文作为参考。

[0055] 本文中所述的实施例是本发明的示例性说明,并且不用于限制本发明。已经根据本发明描述了本发明的不同的实施方案。可以在不脱离本发明的精神实质和范围的情况下对本文中阐述和举例说明的技术进行许多改进和改变。因此,应该理解,所述实施例只是说明性的,而不是用于限制本发明的范围。

实施例

[0056] 实施例 1

[0057] 博来霉素诱导的纤维化

[0058] 博来霉素诱导的纤维化已经被广泛地用于模拟肺纤维化发病机理的情况。参见，例如，Smith 等人，J. Immunol. 153 :4704(1994)。

[0059] 将实验小鼠和对照小鼠用博来霉素处理并且分析，以便验证肺纤维化样症状的出现。以 150ng/kg/min 递送曲前列尼。典型的实验小鼠为约 20g，允许皮下递送 180ng/hr，或表示为 1.8×10^{-4} mg/hr。溶液中的曲前列尼浓度为 7.2×10^{-4} μ g/ μ l。

[0060] 总共有 18 只小鼠参与研究，9 只接受曲前列尼，9 只接受安慰剂。在第 7、14、和 21 天之后分析每个组的 3 只小鼠，以比较曲前列尼对组织的作用。在上述各天数的时间段之后，对小鼠进行分析，以便确定对曲前列尼治疗的小鼠和对照小鼠的影响。将未用博来霉素处理的小鼠的结果与在没有和有曲前列尼存在下用博来霉素处理的小鼠相比较，以便显示曲前列尼给药对肺纤维化病程的有效性。

[0061] 实施例 2

[0062] 肺病的卵清蛋白模型

[0063] 卵清蛋白敏感性小鼠已经广泛地用于模拟包括哮喘在内的肺病的发病机理的情况。

[0064] 将实验小鼠和对照小鼠用卵清蛋白处理并且进行分析，以便验证哮喘样表现的出现。典型的实验小鼠为约 20g。曲前列尼可以以本领域技术人员公知的多种剂型并且以约 4.32 μ g/天的总量递送给小鼠。

[0065] 总共有 18 只小鼠参与研究，9 只接受曲前列尼，9 只接受安慰剂。在第 7、14、和 21 天之后分析每个组的 3 只小鼠，以比较曲前列尼对组织的影响。在上述各天数的时间段之后，对小鼠进行分析，以便确定对曲前列尼治疗的小鼠和对照小鼠的影响。将未用卵清蛋白处理的小鼠的结果与在没有和有曲前列尼存在下用卵清蛋白处理的小鼠相比较，以便显示曲前列尼给药对哮喘病程的有效性。

[0066] 实施例 3

[0067] 使用在 Belperio 等人中描述的小鼠模型来评价用曲前列尼治疗肺纤维化。参见 Belperio, J. 等人, Critical role for the chemokine MCP-1/CCR2 in the pathogenesis of bronchiolitis obliterans syndrome, Journal of clinical investigation 108 : 547, 2001。这个模型考察被移植在 c57BL/6 小鼠的后背上的得自 balb/c 小鼠的气管，其中对该气管进行病理过程的组织学诊断评分。

[0068] 可以使用泵为小鼠递送曲前列尼和安慰剂。Alzet 渗透泵 2004 容纳 200 μ l，并且流速为 0.25 μ l/hr。根据情况，可以使用其它泵。以 150ng/kg/min 递送曲前列尼。典型的实验小鼠为约 20g，允许皮下以 180ng/hr 递送，或表示为 1.8×10^{-4} mg/hr。溶液中的曲前列尼浓度为 7.2×10^{-4} μ g/ μ l。

[0069] 每个 C57BL/6 小鼠后背上 4 个 balb/c 气管。

[0070] 总共有 18 只小鼠参与研究，9 只接受曲前列尼，9 只接受安慰剂。在第 7、14、和 21 天之后分析每个组的 3 只小鼠，以比较曲前列尼对组织的影响。在上述各天数的时间段之后，对小鼠进行分析，以便确定对曲前列尼治疗的小鼠和对照小鼠的影响。对所有的样品进行组织病理学分析和鼠科 BOS 评分。

[0071] 实施例 4

[0072] 使用 6 分钟步行试验分析曲前列尼（为 Remodulin 或吸入性曲前列尼的形式）对患者的影响，采用 Borg 呼吸困难评分，所述 Borg 呼吸困难评分为肺病患者的锻炼能力和气喘的一种标准评价方法。参见 Guyatt, G. Sullivan, M. 等人 (Canada Medical Assoc. J. Vol. 132, 1985)。六分钟步行接近对应于日常活动的要求并且是患者进行临床试验的功能性锻炼能力的安全且简单的测量方法。

[0073] 将 Remodulin 以 2.5-80ng/kg/min 的范围对患者静脉内或皮下给药。吸入性的曲前列尼以 5-60 μg 每天 4 次的范围口服给药。研究了两组受试者，一个受试者组接受药物，一个对照组接受安慰剂。在整个 12 周研究中，受试者接受安慰剂或药物并且定期（例如，每两周）使用六分钟步行试验进行检验。

[0074] 一般方法

[0075] 用于所述六分钟步行试验的区域应该预先测量为至少 108 英尺（33 米）长和至少 6-10 英尺（2-3 米）宽。长度应该用半码（0.5 米）标度进行标记。所述区域应该通风良好，空气温度控制在 20-23°C（68-76° F）。

[0076] 试验者可以在通道的出发点末端，或者在通道的中点，使用秒表。如果患者不能再继续，则允许间歇的休息期。如果患者需要短暂休息，其可以站立或坐下，然后在其充分休息之后再开始，但是秒表继续运转。在六分钟结束时，试验者说“停”，同时停止秒表，然后测量步行的距离。然后进行 Borg 呼吸困难评价。

[0077] 六分钟步行锻炼试验

[0078] 对患者的指导

[0079] 指导患者在试验前的膳食应该清淡。应该告诉患者穿舒适的衣服和运动鞋或舒适的步行鞋。控制试验的人与患者使用以下对话：

[0080] “这个试验的目的是要了解你可以在六分钟内走多远。你从这个点开始，沿门厅走到终点的标记物（例如椅子），转身向回走。在你返回起点之后，继续返回并再次前进。你应该在六分钟时间内往返尽可能多的次数。如果你需要，可以休息。但是在继续前进之前，你只能保持原位。然而，这个试验最重要的事情是在六分钟过程中你可以走的尽可能大的距离。我会告诉你时间，并且我会让你知道什么时候六分钟结束。当我说停止时，请站在原地。”

[0081] 在对患者进行这些指导之后，控制试验的人问：“你对这个试验有什么疑问？”“请向我解释你要做什么。”

[0082] 然后通过控制试验的人对患者说以下内容开始试验：“准备好了吗”、“在我说“开始”时，试验开始。”

[0083] 控制试验的人在第 2 和 4 分钟时告诉患者说“你已经完成 2 分钟。”、然后说：“你已经完成 4 分钟。”

[0084] 在试验过程中不给予其它指导或鼓励。在试验过程中应该避免与患者的目光接触。在步行之后，控制试验的人使用 Borg 评价法得到呼吸困难的评分。其使用以下对话：

[0085] Borg 呼吸困难评分

[0086] “我会使用以下评价法来表示你在步行试验过程中的最大程度的呼吸急促（显示 Borg 评分）。如果根本没有呼吸急促，则你应该得 0 分；如果呼吸急促不是很严重，你可以选择 0.5 到 2 分；如果你呼吸略有短促，你可以选择 3 分；如果呼吸非常困难，你可以选择 4

到 9 分,这取决于你呼吸困难的程度;10 分代表你曾经经历的最严重的呼吸急促,如果你感觉比之前曾经经历的呼吸急促更严重的呼吸急促,选择大于 10 的数字来表示你对呼吸急促的感觉。如果一个数字不能准确地表示你的呼吸急促情况,则你可以选自呼吸急促期间的小数。例如,如果你具有处于 4 和 5 之间的呼吸急促程度,你可以选择 4.5。”

[0087] 实施例 5

[0088] 这个实施例显示曲前列尼对与肺病有关的生物标志物的影响。另外,用曲前列尼治疗在上述的六分钟步行试验中表现出具有积极的结果。

[0089] 44 名 PAH 患者接受研究药物 (Remodulin 或安慰剂)。30 名患者接受 Remodulin, 14 名患者接受安慰剂。进行一个 12 周的试验。在第 12 周接受的 Remodulin 平均剂量为 72.5ng/kg/min(与 80.0ng/kg/min 安慰剂组的相当的剂量比较)。在六分钟步行试验中,与安慰剂相比,Remodulin 产生 93.0 米的中位数改善,Hodges-Lehmann 估计值,非参数 ANCOVA 的 95% CI 为 7.0-187.0($p = 0.0077$)。Remodulin 还显著地改善 6MW/Borg 评分指标的组合等级($p = 0.0023$)、Borg 呼吸困难评分(优于安慰剂的 2.0 的中位数改善, $p = 0.23$)、以及其它验证的效力终点。

[0090] 这些结果显示,对于肺动脉高压患者而言,Remodulin 对在 IPF 中重要的炎性过程有积极的影响。这表明 Remodulin 既可以治疗 IPF 的症状,例如减弱肺功能和锻炼能力,又可以改善肺动脉高压和 IPF 二者的肺病进程。

[0091] 尽管在哮喘的情况中的机理可能不同,但是曲前列尼对肺病理学的有利作用会改变与哮喘有关的生物标志物。

[0092] 患有 PAH 的基线患者似乎具有比正常水平更高的 MMP-9、Ang-2、VEG-F、和 PDGF(分别是基质金属蛋白酶 9、血管蛋白 -2、血管内皮衍生的生长因子、和血小板衍生的生长因子)。Remodulin 治疗 12 周显著地降低血清的 Ang-2 和 VEG-F。还有强烈的降低 PDGF 的趋势。

[0093] 另外,在 Ang-2 降低程度与六分钟步行试验中的改善程度间具有统计上显著的相关性。另外,在 MMP-9 降低与在观察到的六分钟步行距离的临床改善之间具有统计上显著的相关性,尽管单独的 MMP-9 的变化程度不是显著的。

[0094] 实施例 6

[0095] 以下研究显示静脉内给药的曲前列尼对特发性肺纤维化和肺动脉高压患者的影响。对受试者进行以下测量:1) 从基线到第 12 周时间的 6 分钟步行距离 (6MWD) 的变化, 2) 从基线到第 12 周的静止时血液动力学参数 (RHC) 的变化,和 3) 从基线到 12 周的纽约心脏学会 (NYHA) 分类。本研究提供的其它测量结果是:1) 从基线到第 6 周和 12 周时在 6MWD 过程中的 O₂ 去饱和和去饱和测量值的大小的变化,2) 从基线到第 6 周和 12 周时最大肺活量 (FVC) 和扩散能力 (DLCO) 的变化,3) 从基线到第 6 周和 12 周时使用 Borg 评价法得到的呼吸困难的变化,4) 使用循环几何形状从基线到第 12 周时评价的在锻炼时的血液动力学 (RHC) 的变化,和 5) “信号级联”的分析,用于确定 IPF 和 IPF/PAH 之间的细胞因子 / 趋化因子 / 生长因子和下游信号级联之间的差值。这些细胞因子 / 趋化因子 / 生长因子和下游信号级联特征可以预测哪个组会具有更大的积极的下降。

[0096] 初次剂量是 1.25ng/kg/分钟曲前列尼,输注速率通过患者所能耐受的以每周三次 1-2ng/kg/min 的增加剂量向上滴定,直到达到 40ng/kg/min 的最大剂量或受试者具有剂

量限制的不利影响（包括但不限于：低血压、输注位置反应、输注位置疼痛、头痛、腹泻、颞疼痛、呕吐、或潮红）。

[0097] 作为标准护理的一部分，对受试者进行以下操作：右心导管插入术、经胸廓的超声心动图、6 分钟步行、完整肺功能试验、HRCT 胸部和一组血液检查（BNP、D- 二聚体、CRP、肌钙蛋白 I、和肝功能试验）。

[0098] 在最初的右心导管插入术时，从心脏端口收集血液用于细胞因子 / 趋化因子 / 生长因子和下游信号级联特征分析。同样作为标准护理，在导管插入术试验的当天进行血液操作，检验 BNP、C 反应蛋白、D- 二聚体、肌钙蛋白 -I 和肝功能试验。血液研究操作包括在包括深绿色、紫色、红色和黄色盖的四个试管的每一个中放入 4cc 血液。根据时间表对于参加研究的所有患者重复血液操作（包括标准护理和血液分析）。

[0099] 在最初的 6MW 和随后根据时间表（如下列出的）进行的 6MW 时进行 Borg 呼吸困难评分。在最初进入研究时和其后根据时间表测定 NYHA 功能性分类。

[0100] 数据时间点流程图

[0101]

最初	6 周	12 周	6 个月	1 年
右心导管插入				右心导管插入
6MW	6MW	6MW	6MW	6MW
TTE				TTE
呼吸困难评分	呼吸困难评分	呼吸困难评分	呼吸困难评分	呼吸困难评分
血液操作(实验室)		血液操作(实验室)		血液操作(实验室)
QOL 指标				QOL 指标
肺活量计 DLCO(实验室)		肺活量计 DLCO(实验室)		肺活量计 DLCO(实验室)
NYHA/WHO 分类				NYHA/WHO 分类
HRCT 胸部				HRCT 胸部

[0102] 接受曲前列尼的受试者表现出研究标准的改善，表明曲前列尼治疗对特发性肺纤维化和肺动脉高压患者的积极影响。

[0103] 参考文献

[0104] Belvisi MG、Saunders M、Yacoub M、和 Mitchell JA., Expression of cyclooxygenase-2 in human airway smooth muscle is associated with profound reductions in cell growth. Br J Pharmacol,1998. 125 :1102-1108。

[0105] Gavett SH、Madison SL、Chulada PC 等人 Allergic lung responses are increased in prostaglandin H synthase-deficient mice. J Clin Invest,1999 ;104 : 721-732。

[0106] Idzko M、Hammad H、van Nimwegen M 等人, Inhaled iloprost suppresses the cardinal features of asthma via inhibition of airway dendritic cell function. J Clin Invest,2007. 117 :464-472。

[0107] Jaffar Z、Wan K-S、和 Roberts K., A key role for prostaglandin₁₂ in limiting lung mucosal Th₂,but not Th₁,responses to inhaled allergen. J Immunol, 2002 ;169 :5997-6004。

[0108] Nagao K、tanaka H、Komai M 等 人, Role of prostaglandin I₂in airway remodeling induced by repeated allergen challenge in mice. Am J Respir Cell Mol Biol, 2003 ;29 :314-320。

[0109] Takahashi Y、Tokuoka S、Masuda T 等 人, Augmentation of allergic inflammation in prostanoid IP receptor deficientmice. Br J Pharmacol, 2002 ;137 : 315-322。