(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119868365 A
(43)申请公布日 2025.04.25

(21)申请号 202510159677.8

(22)申请日 2020.06.24

(66)本国优先权数据
PCT/CN2019/092675 2019.06.25 CN

(62)分案原申请数据
202080045478.X 2020.06.24

(71)申请人 北京泰德制药股份有限公司
地址 100176 北京市大兴区北京经济技术开发区荣京东街8号

(72)发明人 赵焰平 王红军 姜媛媛 仲伟婷 赵静 李晶 刘伟娜 周丽莹 刘亚男

(74)专利代理机构 北京永新同创知识产权代理有限公司 11376
专利代理师 郭晓永 毕凤

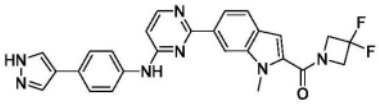
(51)Int.Cl.
A61K 31/506(2006.01)
C07D 403/14(2006.01)
A61P 11/00(2006.01)
A61P 43/00(2006.01)

权利要求书2页 说明书14页 附图6页

(54)发明名称

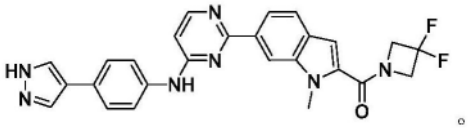
治疗特发性肺纤维化的方法

(57)摘要

本申请涉及具有所示结构的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药在制备用于预防、缓解和/或治疗特发性肺纤维化的药物中的用途。

CN 119868365 A

1.化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药在制备用于预防、缓解和/或治疗特发性肺纤维化的药物中的用途,其中所述化合物具有以下结构:



。

2.权利要求1的用途,其中将所述化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药用于以0.005mg/日至5000mg/日的量给药。

3.权利要求2的用途,其中将所述化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药用于以0.005、0.05、0.5、5、10、20、30、40、50、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500或5000mg/日的量给药。

4.权利要求1的用途,其中将所述化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药用于以每日1ng/kg至200mg/kg、1μg/kg至100mg/kg或者1mg/kg至50mg/kg体重的量给药。

5.权利要求4的用途,其中将所述化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药用于以每日1μg/kg、10μg/kg、25μg/kg、50μg/kg、75μg/kg、100μg/kg、125μg/kg、150μg/kg、175μg/kg、200μg/kg、225μg/kg、250μg/kg、275μg/kg、300μg/kg、325μg/kg、350μg/kg、375μg/kg、400μg/kg、425μg/kg、450μg/kg、475μg/kg、500μg/kg、525μg/kg、550μg/kg、575μg/kg、600μg/kg、625μg/kg、650μg/kg、675μg/kg、700μg/kg、725μg/kg、750μg/kg、775μg/kg、800μg/kg、825μg/kg、850μg/kg、875μg/kg、900μg/kg、925μg/kg、950μg/kg、975μg/kg、1mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、35mg/kg、40mg/kg、45mg/kg、50mg/kg、60mg/kg、70mg/kg、80mg/kg、90mg/kg、100mg/kg、125mg/kg、150mg/kg、175mg/kg、200mg/kg或300mg/kg体重的量给药。

6.权利要求1的用途,其中所述药物的每日剂量用于一次性给予或分两次、三次或四次给予。

7.权利要求1的用途,其中所述药物用于连续给药至少3天、至少4天、至少5天、至少6天、至少7天、至少8天、至少9天、至少10天、至少11天、至少12天、至少13天、至少14天、至少15天、至少16天、至少17天、至少18天、至少19天、至少20天、至少21天、至少22天、至少23天、至少24天、至少25天、至少1个月、至少2个月、至少3个月、至少4个月、至少5个月、至少6个月、至少1年或至少2年。

8.权利要求1的用途,其中所述药物用于给药一个或多个疗程,其中每个疗程持续至少3天、至少4天、至少5天、至少6天、至少7天、至少8天、至少9天、至少10天、至少11天、至少12天、至少13天、至少14天、至少15天、至少16天、至少17天、至少18天、至少19天、至少20天、至少21天、至少22天、至少23天、至少24天、至少25天、至少30天、至少35天、至少40天、至少45天或至少50天;并且每两个疗程之间间隔0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10天、两周、三周或四周。

9.权利要求8的用途,其中所述药物用于给药1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个疗程。

10.权利要求1的用途,其中所述药物用于通过注射或经皮给药;或通过口服、含服、经鼻、透粘膜、局部、以眼用制剂的形式或通过吸入给药。

治疗特发性肺纤维化的方法

[0001] 本申请是2020年6月24日提交的、发明名称为“治疗特发性肺纤维化的方法”的中国专利申请202080045478.X的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明属于生物医药领域,并具体涉及预防、缓解和/或治疗特发性肺纤维化的方法,其包括向需要其的个体给药有效量的本申请中的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药。

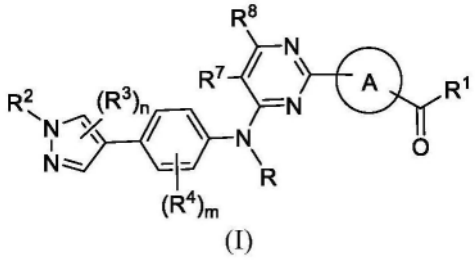
背景技术

[0003] 特发性肺纤维化(IPF)是一种病因未知的慢性、渐进性的下呼吸道纤维化异常,其具有越来越高的发病率。所述疾病的特征在于间质内细胞外基质的逐渐积累。纤维化增加导致肺功能降低,患者通常在生物活检确诊的3年内死于呼吸衰竭或其他并发症。在历史上,已提出将皮质类固醇(例如泼尼松龙)与免疫抑制剂(例如硫唑嘌呤)和/或N-乙酰半胱氨酸的组合作为IPF的治疗方案。另一种在日本、欧洲、印度和加拿大已被批准用于治疗IPF的药物是吡非尼酮,其在IPF的实验模型中具有组合的消炎、抗氧化和抗纤维化作用。它是已观察到无进展存活时间延长的唯一药物。目前,没有证据表明当前的治疗策略可以在IPF中逆转纤维化;大部分疗法的目标是降低疾病的发展速率和/或阻止疾病进展。

[0004] 显然,本领域中仍然需要用于IPF的更好且更有效的治疗方法。

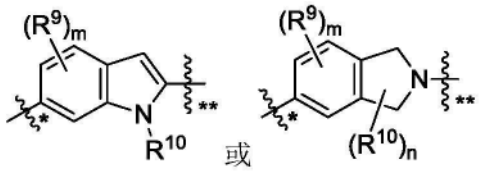
发明内容

[0005] 在一个方面中,本发明提供预防、缓解和/或治疗特发性肺纤维化的方法,其包括向需要其的个体给药有效量的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药:

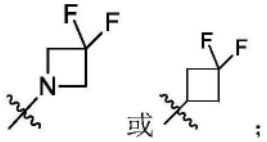
[0006] 

(I)

[0007] 其中:

[0008] 环A为  以上基团通过*或**标记的两个位置之一与嘧啶环连接,并且另一位置与羰基连接;

[0009] R选自H和C_{1-6}烷基;

[0010] R^1为或；

[0011] R^2选自H和C_{1-6}烷基；

[0012] R^3、R^4、R^7和R^8在每次出现时各自独立地选自H、卤素、-NR^5R^6、-OH、C_{1-6}烷基和-OR^5；

[0013] R^9和R^{10}在每次出现时各自独立地选自H、卤素、C_{1-6}烷基、C_{2-6}烯基、C_{3-10}环烃基、3-10元杂环基、C_{6-10}芳基、5-14元杂芳基、C_{6-12}芳烷基、-C(=O)R^5和-C_{1-6}亚烷基-O(P=O)$(OH)_2$；

[0014] 上述亚烷基、烷基、烯基、环烃基、杂环基、芳基、杂芳基和芳烷基在每次出现时各自任选地被一个或多个独立地选自卤素、C_{1-6}烷基和-OR^5的取代基取代；

[0015] R^5和R^6在每次出现时各自独立地选自H、C_{1-6}烷基、C_{3-10}环烃基、3-10元杂环基、C_{6-10}芳基、5-14元杂芳基和C_{6-12}芳烷基；

[0016] m在每次出现时各自独立地为0、1、2或3的整数；并且

[0017] n在每次出现时各自独立地为0、1或2的整数。

[0018] 在另一方面中，本发明提供上述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药在制备用于预防、缓解和/或治疗特发性肺纤维化的药物中的用途。

[0019] 在另一方面中，本发明提供上述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药，其用于预防、缓解和/或治疗特发性肺纤维化。

附图说明

[0020] 图1A显示实施例2测试期间各组动物体重变化(0天为博来霉素诱导第1天)。

[0021] 图1B显示实施例2测试结束时各组动物体重变化。

[0022] 图2显示实施例2测试中各组动物的生存率。

[0023] 图3显示实施例2中给药结束后，各组动物肺泡灌洗液中白细胞计数。

[0024] 图4A显示实施例2给药结束后，各组动物肺组织纤维化评分。

[0025] 图4B显示实施例2各组代表性Masson Trichome染色病理染色照片。

[0026] 图5A显示实施例2中给药结束后各组动物肺组织TIMP-1mRNA表达情况。

[0027] 图5B显示实施例2中给药结束后各组动物肺组织COL1A1 mRNA表达情况。

[0028] 图6显示实施例3中给药结束后，各组动物肺泡灌洗液中白细胞计数。

[0029] 图7A显示实施例3各组代表性H&E染色病理染色照片。

[0030] 图7B显示实施例3给药结束后，各组动物肺损伤评分。

[0031] 图8A显示实施例3各组代表性Masson Trichome染色病理染色照片。

[0032] 图8B显示实施例3给药结束后，各组动物肺组织纤维化评分。

具体实施方式

[0033] 定义

[0034] 除非在下文中另有定义，本文中所用的所有技术术语和科学术语的含义意图与本

领域技术人员通常所理解的相同。提及本文中使用的技术意图指在本领域中通常所理解的技术,包括那些对本领域技术人员显而易见的技术的变化或等效技术的替换。虽然相信以下术语对于本领域技术人员很好理解,但仍然阐述以下定义以更好地解释本发明。

[0035] 术语“包括”、“包含”、“具有”、“含有”或“涉及”及其在本文中的其它变体形式为包含性的(inclusive)或开放式的,且不排除其它未列举的元素或方法步骤。

[0036] 如本文中所使用,术语“亚烷基”表示饱和二价烃基,优选表示具有1、2、3、4、5或6个碳原子的饱和二价烃基,例如亚甲基、亚乙基、亚丙基或亚丁基。

[0037] 如本文中所使用,术语“烷基”定义为线性或支化饱和脂肪族烃。在一些实施方案中,烷基具有1至12个,例如1至6个碳原子。例如,如本文中所使用,术语“C_{1-6}烷基”指1至6个碳原子的线性或支化的基团(例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基或正己基),其任选地被1或多个(诸如1至3个)适合的取代基如卤素取代(此时该基团被称作“卤代烷基”)(例如CH_2F、CHF_2、CF_3、CCl_3、C_2F_5、C_2Cl_5、CH_2CF_3、CH_2Cl或-$CH_2CH_2CF_3$等)。术语“C_{1-4}烷基”指1至4个碳原子的线性或支化的脂肪族烃链(即甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基或叔丁基)。

[0038] 如本文中所使用,术语“烯基”意指线性的或支化的单价烃基,其包含一个双键,且具有2-6个碳原子(“C_{2-6}烯基”)。所述烯基为例如乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、2-戊烯基、3-戊烯基、4-戊烯基、2-己烯基、3-己烯基、4-己烯基、5-己烯基、2-甲基-2-丙烯基和4-甲基-3-戊烯基。当本发明的化合物含有亚烯基时,所述化合物可以纯E(异侧(entgegen))形式、纯Z(同侧(zusammen))形式或其任意混合物形式存在。

[0039] 如本文中所使用,术语“炔基”表示包含一个或多个三键的单价烃基,其优选具有2、3、4、5或6个碳原子,例如乙炔基或丙炔基。

[0040] 如本文中所使用,术语“环烷基”指饱和的单环或多环(诸如双环)烃环(例如单环,诸如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环壬基,或双环,包括螺环、稠合或桥连系统(诸如双环[1.1.1]戊基、双环[2.2.1]庚基、双环[3.2.1]辛基或双环[5.2.0]壬基、十氢化萘基等)),其任选地被1或多个(诸如1至3个)适合的取代基取代。所述环烷基具有3至15个碳原子。例如,术语“C_{3-6}环烷基”指3至6个成环碳原子的饱和的单环或多环(诸如双环)烃环(例如环丙基、环丁基、环戊基或环己基),其任选地被1或多个(诸如1至3个)适合的取代基取代,例如甲基取代的环丙基。

[0041] 如本文中所使用,术语“亚环烃基”、“环烃基”和“烃环”是指具有例如3-10个(适合地具有3-8个,更适合地具有3-6个)环碳原子的饱和(即,“亚环烷基”和“环烷基”)或不饱和的(即在环内具有一个或多个双键和/或三键)单环或多环烃环,其包括但不限于(亚)环丙基(环)、(亚)环丁基(环)、(亚)环戊基(环)、(亚)环己基(环)、(亚)环庚基(环)、(亚)环辛基(环)、(亚)环壬基(环)、(亚)环己烯基(环)等。

[0042] 如本文中所使用,术语“杂环基”、“亚杂环基”和“杂环”是指具有例如3-10个(适合地具有3-8个,更适合地具有3-6个)环原子、其中至少一个环原子是选自N、O和S的杂原子且其余环原子是C的饱和(即,杂环烷基)或部分不饱和的(即在环内具有一个或多个双键和/或三键)环状基团。例如,“3-10元(亚)杂环(基)”是具有2-9个(如2、3、4、5、6、7、8或9个)环碳原子和独立地选自N、O和S的一个或多个(例如1个、2个、3个或4个)杂原子的饱和或部分不饱和(亚)杂环(基)。亚杂环基和杂环(基)的实例包括但不限于:(亚)环氧乙烷基、(亚)氮

丙啶基、(亚)氮杂环丁基(azetidinyl)、(亚)氧杂环丁基(oxetanyl)、(亚)四氢呋喃基、(亚)二氧杂环戊烯基(dioxolinyl)、(亚)吡咯烷基、(亚)吡咯烷酮基、(亚)咪唑烷基、(亚)吡唑烷基、(亚)吡咯啉基、(亚)四氢吡喃基、(亚)哌啶基、(亚)吗啉基、(亚)二噻烷基(dithianyl)、(亚)硫吗啉基、(亚)哌嗪基或(亚)三噻烷基(trithianyl)。所述基团也涵盖双环系统,包括螺环、稠合或桥连系统(诸如8-氮杂螺[4.5]癸烷、3,9-二氮杂螺[5.5]十一烷、2-氮杂双环[2.2.2]辛烷等)。亚杂环基和杂环(基)可任选地被一个或多个(例如1个、2个、3个或4个)适合的取代基取代。

[0043] 如本文中所使用,术语“(亚)芳基”和“芳环”指具有共轭π电子系统的全碳单环或稠合环多环芳族基团。例如,如本文中所使用,术语“C_{6-10}(亚)芳基”和“C_{6-10}芳环”意指含有6至10个碳原子的芳族基团,诸如(亚)苯基(苯环)或(亚)萘基(萘环)。(亚)芳基和芳环任选地被1或多个(诸如1至3个)适合的取代基(例如卤素、-OH、-CN、-NO_2、C_{1-6}烷基等)取代。

[0044] 如本文中所使用,术语“(亚)杂芳基”和“杂芳环”指单环、双环或三环芳族环系,其具有5、6、8、9、10、11、12、13或14个环原子,特别是1或2或3或4或5或6或9或10个碳原子,且其包含至少一个可以相同或不同的杂原子(所述杂原子是例如氧、氮或硫),并且,另外在每一种情况下可为苯并稠合的。特别地,“(亚)杂芳基”或“杂芳环”选自(亚)噻吩基、(亚)呋喃基、(亚)吡咯基、(亚)噁唑基、(亚)噻唑基、(亚)咪唑基、(亚)吡唑基、(亚)异噁唑基、(亚)异噻唑基、(亚)噁二唑基、(亚)三唑基、(亚)噻二唑基等,以及它们的苯并衍生物;或(亚)吡啶基、(亚)哒嗪基、(亚)嘧啶基、(亚)吡嗪基、(亚)三嗪基等,以及它们的苯并衍生物。

[0045] 如本文中所使用,术语“芳烷基”优选表示芳基或杂芳基取代的烷基,其中所述芳基、杂芳基和烷基如本文中所定义。通常,所述芳基可具有6-14个碳原子,所述杂芳基可具有5-14个环原子,并且所述烷基可具有1-6个碳原子。示例性芳烷基包括但不限于苄基、苯基乙基、苯基丙基、苯基丁基。

[0046] 如本文中所使用,术语“卤代”或“卤素”基团定义为包括F、Cl、Br或I。

[0047] 如本文中所使用,术语“含氮杂环”指饱和或不饱和的单环或双环基团,其在环中具有2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或13个碳原子和至少一个氮原子,其还可任选地包含一个或多个(例如一个、两个、三个或四个)选自N、O、C=O、S、S=O和$S(=O)_2$的环成员,其通过所述含氮杂环中的氮原子以及任一其余环原子与分子的其余部分连接,所述含氮杂环任选地为苯并稠合的,并且优选通过所述含氮杂环中的氮原子以及所稠合的苯环中的任一碳原子与分子的其余部分连接。

[0048] 术语“取代”指所指定的原子上的一个或多个(例如一个、两个、三个或四个)氢被从所指出的基团的选择代替,条件是未超过所指定的原子在当前情况下的正常原子价并且所述取代形成稳定的化合物。取代基和/或变量的组合仅仅当这种组合形成稳定的化合物时才是允许的。

[0049] 如果取代基被描述为“任选地被取代”,则取代基可(1)未被取代或(2)被取代。如果取代基的碳被描述为任选地被取代基列表中的一个或多个取代,则碳上的一个或多个氢(至存在的任何氢的程度)可单独和/或一起被独立地选择的任选的取代基替代。如果取代基的氮被描述为任选地被取代基列表中的一个或多个取代,则氮上的一个或多个氢(至存在的任何氢的程度)可各自被独立地选择的任选的取代基替代。

[0050] 如果取代基被描述为“独立地选自”一组,则各取代基独立于另一者被选择。因此,

各取代基可与另一(其他)取代基相同或不同。

[0051] 如本文中所使用,术语“一个或多个”意指在合理条件下的1个或超过1个,例如2个、3个、4个、5个或10个。

[0052] 除非指明,否则如本文中所使用,取代基的连接点可来自取代基的任意适宜位置。

[0053] 当取代基的键显示为穿过环中连接两个原子的键时,则这样的取代基可键连至该可取代的环中的任一成环原子。

[0054] 本发明还包括所有药学上可接受的同位素标记的化合物,其与本发明的化合物相同,除了一个或多个原子被具有相同原子序数但原子质量或质量数不同于在自然界中占优势的原子质量或质量数的原子替代。适合包含入本发明的化合物中的同位素的实例包括(但不限于)氢的同位素(例如氘(^{2}H)、氚(^{3}H));碳的同位素(例如^{11}C、^{13}C及^{14}C);氯的同位素(例如^{36}Cl);氟的同位素(例如^{18}F);碘的同位素(例如^{123}I及^{125}I);氮的同位素(例如^{13}N及^{15}N);氧的同位素(例如^{15}O、^{17}O及^{18}O);磷的同位素(例如^{32}P);及硫的同位素(例如^{35}S)。某些同位素标记的本发明的化合物(例如掺入放射性同位素的那些)可用于药物和/或底物组织分布研究(例如分析)中。放射性同位素氚(即^{3}H)及碳-14(即^{14}C)因易于掺入且容易检测而特别可用于该目的。用正电子发射同位素(例如^{11}C、^{18}F、^{15}O及^{13}N)进行取代可在正电子发射断层显像术(PET)研究中用于检验底物受体占据情况。被同位素标记的本发明的化合物可通过与描述于随附路线和/或实施例及制备中的那些类似的方法通过使用适当的被同位素标记的试剂代替之前采用的非标记的试剂来制备。本发明的药学上可接受的溶剂合物包括其中结晶溶剂可被同位素取代的那些,例如,D_2O、丙酮-d_6或DMSO-d_6。

[0055] 术语“立体异构体”表示由于至少一个不对称中心形成的异构体。在具有一个或多个(例如一个、两个、三个或四个)不对称中心的化合物中,其可产生外消旋混合物、单一对映异构体、非对映异构体混合物和单独的非对映异构体。特定个别分子也可以几何异构体(顺式/反式)存在。类似地,本发明的化合物可以两种或更多种处于快速平衡的结构不同的形式的混合物(通常称作互变异构体)存在。互变异构体的代表性实例包括酮-烯醇互变异构体、苯酚-酮互变异构体、亚硝基-肟互变异构体、亚胺-烯胺互变异构体等。要理解,本申请的范围涵盖所有这样的以任意比例(例如60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%)的异构体或其混合物。

[0056] 本文中可使用实线(-)、实楔形()或虚楔形()描绘本发明的化合物的化学键。使用实线以描绘键连至不对称碳原子的键欲表明,包括该碳原子处的所有可能的立体异构体(例如,特定的对映异构体、外消旋混合物等)。使用实或虚楔形以描绘键连至不对称碳原子的键欲表明,存在所示的立体异构体。当存在于外消旋混合物中时,使用实及虚楔形以定义相对立体化学,而非绝对立体化学。除非另外指明,否则本发明的化合物意欲可以立体异构体(其包括顺式及反式异构体、光学异构体(例如R及S对映异构体)、非对映异构体、几何异构体、旋转异构体、构象异构体、阻转异构体及其混合物)的形式存在。本发明的化合物可表现一种以上类型的异构现象,且由其混合物(例如外消旋混合物及非对映异构体对)组成。

[0057] 本发明涵盖本发明的化合物的所有可能的结晶形式或多晶型物,其可为单一多晶型物或多于一种多晶型物的任意比例的混合物。

[0058] 还应当理解,本发明的某些化合物可以游离形式存在用于治疗,或适当时,以其药

学上可接受的衍生物形式存在。在本发明中,药学上可接受的衍生物包括但不限于,药学上可接受的盐、酯、溶剂合物、N-氧化物、代谢物或前药,在将它们向需要其的患者给药后,能够直接或间接提供本发明的化合物或其代谢物或残余物。因此,当在本文中提及“本发明的化合物”时,也意在涵盖化合物的上述各种衍生物形式。

[0059] 本发明的化合物的药学上可接受的盐包括其酸加成盐及碱加成盐。

[0060] 适合的酸加成盐由形成药学可接受盐的酸来形成。实例包括乙酸盐、己二酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、碳酸氢盐/碳酸盐、硫酸氢盐/硫酸盐、硼酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环己氨磺酸盐、乙二磺酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、延胡索酸盐、葡庚糖酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、六氟磷酸盐、海苯酸盐、盐酸盐/氯化物、氢溴酸盐/溴化物、氢碘酸盐/碘化物、羟乙基磺酸盐、乳酸盐、苹果酸盐、顺丁烯二酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、甲基硫酸盐、萘甲酸盐(naphthylate)、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、乳清酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、磷酸盐/磷酸氢盐/磷酸二氢盐、焦谷氨酸盐、糖二酸盐、硬脂酸盐、丁二酸盐、单宁酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐、三氟乙酸盐及昔萘酸盐(xinofoate)。

[0061] 适合的碱加成盐由形成药学可接受盐的碱来形成。实例包括铝盐、精氨酸盐、苄星青霉素盐、钙盐、胆碱盐、二乙胺盐、二乙醇胺盐、甘氨酸盐、赖氨酸盐、镁盐、葡甲胺盐、乙醇胺盐、钾盐、钠盐、氨丁三醇盐及锌盐。

[0062] 适合的盐的综述参见Stahl及Wermuth的“Handbook of Pharmaceutical Salts:Properties,Selection,and Use”(Wiley-VCH,2002)。用于制备本发明的化合物的药学上可接受的盐的方法为本领域技术人员已知的。

[0063] 如本文中所使用,术语“酯”意指衍生自本申请中各个通式化合物的酯,其包括生理上可水解的酯(可在生理条件下水解以释放游离酸或醇形式的本发明的化合物)。本发明的化合物本身也可以是酯。

[0064] 本发明的化合物可以溶剂合物(优选水合物)的形式存在,其中本发明的化合物包含作为所述化合物晶格的结构要素的极性溶剂,特别是例如水、甲醇或乙醇。极性溶剂特别是水的量可以化学计量比或非化学计量比存在。

[0065] 本领域技术人员会理解,由于氮需要可用的孤对电子来氧化成氧化物,因此并非所有的含氮杂环都能够形成N-氧化物;本领域技术人员会识别能够形成N-氧化物的含氮杂环。本领域技术人员还会认识到叔胺能够形成N-氧化物。用于制备杂环和叔胺的N-氧化物的合成方法是本领域技术人员熟知的,包括用过氧酸如过氧乙酸和间氯过氧苯甲酸(MCPBA)、过氧化氢、烷基过氧化氢如叔丁基过氧化氢、过硼酸钠和双环氧乙烷(dioxirane)如二甲基双环氧乙烷来氧化杂环和叔胺。这些用于制备N-氧化物的方法已在文献中得到广泛描述和综述,参见例如:T.L.Gilchrist,Comprehensive Organic Synthesis,vol.7,pp 748-750;A.R.Katritzky和A.J.Boulton,Eds.,Academic Press;以及G.W.H.Cheeseman和E.S.G.Werstiuk,Advances in Heterocyclic Chemistry,vol.22,pp 390-392,A.R.Katritzky和A.J.Boulton,Eds.,Academic Press。

[0066] 在本发明的范围内还包括本发明的化合物的代谢物,即在给药本发明的化合物时体内形成的物质。这样的产物可由例如被给药的化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、脱酰胺化、酯化、酶解等产生。因此,本发明包括本发明的化合物的代谢物,包括通过使本发明的化合物与哺乳动物接触足以产生其代谢产物的时间的方法制得的化合物。

[0067] 本发明在其范围内进一步包括本发明的化合物的前药,其为自身可具有较小药理学活性或无药理学活性的本发明的化合物的某些衍生物当被给药至身体中或其上时可通过例如水解裂解转化成具有期望活性的本发明的化合物。通常这样的前药会是所述化合物的官能团衍生物,其易于在体内转化成期望的治疗活性化合物。关于前药的使用的其他信息可参见“Pro-drugs as Novel Delivery Systems”,第14卷,ACS Symposium Series(T.Higuchi及V.Stella)。本发明的前药可例如通过用本领域技术人员已知作为“前-部分(pro-moiety)(例如“Design of Prodrugs”,H.Bundgaard(Elsevier,1985)中所述)”的某些部分替代本发明的化合物中存在的适当官能团来制备。

[0068] 本发明还涵盖含有保护基的本发明的化合物。在制备本发明的化合物的任何过程中,保护在任何有关分子上的敏感基团或反应基团可能是必需的和/或期望的,由此形成本发明的化合物的化学保护的形式。这可以通过常规的保护基实现,例如,在T.W.Greene&P.G.M.Wuts,Protective Groups in Organic Synthesis,John Wiley&Sons,1991中所述的那些保护基,这些参考文献通过援引加入本文。使用本领域已知的方法,在适当的后续阶段可以移除保护基。

[0069] 术语“约”是指在所述数值的±10%范围内,优选±5%范围内,更优选±2%范围内。

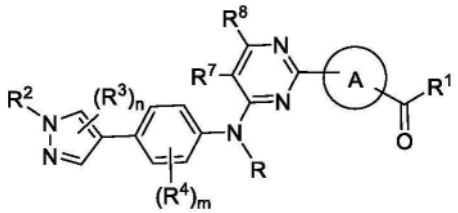
[0070] 术语“有效量”是指在施用条件下足以达到所需治疗效果的量,其导致病理学症状、疾病进展、与之相关的生理状况改善或诱导对前述疾病进行的抵抗力。

[0071] 除非另外说明,否则如本文中所使用,术语“治疗(treating)”意指逆转、减轻、抑制这样的术语所应用的病症或病况或者这样的病症或病况的一或多种症状的进展,或预防这样的病症或病况或者这样的病症或病况的一或多种症状。

[0072] 如本文所使用的“个体”包括人或非人动物。示例性人个体包括患有疾病(例如本文所述的疾病)的人个体(称为患者)或正常个体。本发明中“非人动物”包括所有脊椎动物,例如非哺乳动物(例如鸟类、两栖动物、爬行动物)和哺乳动物,例如非人灵长类、家畜和/或驯化动物(例如绵羊、犬、猫、奶牛、猪等)。

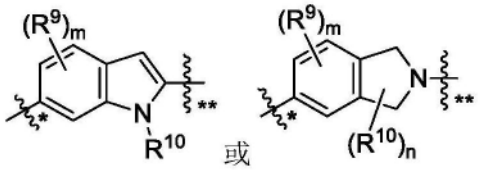
[0073]

[0074] 在一些实施方案中,本发明提供预防、缓解和/或治疗特发性肺纤维化的方法,其包括向需要其的个体给药有效量的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药:

[0075] 

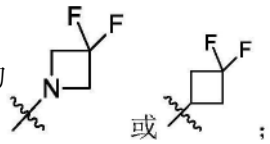
(I)

[0076] 其中:

[0077] 环A为  以上基团通过*或**标记的两个位置之

一与嘧啶环连接,并且另一位置与羰基连接;

[0078] R选自H和C_{1-6}烷基;

[0079] R^1为;

[0080] R^2选自H和C_{1-6}烷基;

[0081] R^3、R^4、R^7和R^8在每次出现时各自独立地选自H、卤素、$-NR^5R^6$、-OH、C_{1-6}烷基和$-OR^5$;

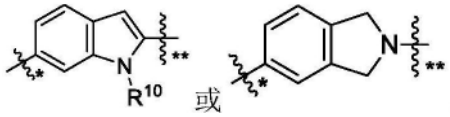
[0082] R^9和R^{10}在每次出现时各自独立地选自H、卤素、C_{1-6}烷基、C_{2-6}烯基、C_{3-10}环烃基、3-10元杂环基、C_{6-10}芳基、5-14元杂芳基、C_{6-12}芳烷基、$-C(=O)R^5$和$-C_{1-6}$亚烷基$-O(P=O)(OH)_2$;

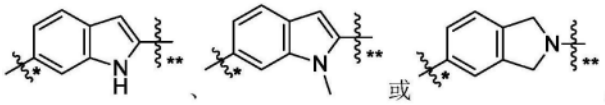
[0083] 上述亚烷基、烷基、烯基、环烃基、杂环基、芳基、杂芳基和芳烷基在每次出现时各自任选地被一个或多个独立地选自卤素、C_{1-6}烷基和$-OR^5$的取代基取代;

[0084] R^5和R^6在每次出现时各自独立地选自H、C_{1-6}烷基、C_{3-10}环烃基、3-10元杂环基、C_{6-10}芳基、5-14元杂芳基和C_{6-12}芳烷基;

[0085] m在每次出现时各自独立地为0、1、2或3的整数;并且

[0086] n在每次出现时各自独立地为0、1或2的整数。

[0087] 在优选的实施方案中,环A为以上基团通过*标记的位置与嘧啶环连接,并且通过**标记的位置与羰基连接,其中R^{10}选自H和C_{1-6}烷基,优选为H或甲基。

[0088] 在优选的实施方案中,环A优选为以上基团通过*标记的位置与嘧啶环连接,并且通过**标记的位置与羰基连接。

[0089] 在优选的实施方案中,R为H。

[0090] 在优选的实施方案中,R^2为H。

[0091] 在优选的实施方案中,R^5和R^6在每次出现时各自独立地选自H、甲基和乙基。

[0092] 在优选的实施方案中,R^3、R^4、R^7和R^8在每次出现时各自独立地选自H、F、Cl、Br、I、$-NH_2$、-OH、甲基、三氟甲基、$-CH_2$-Ph、甲氧基、乙氧基和$-CH_2OCH_3$。

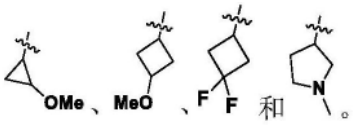
[0093] 在优选的实施方案中,R^3为H。

[0094] 在优选的实施方案中,R^4选自H和卤素(例如F、Cl、Br或I),优选为H或F。

[0095] 在优选的实施方案中,R^7选自H和卤素(例如F、Cl、Br或I),优选为H或F。

[0096] 在优选的实施方案中,R^8为H。

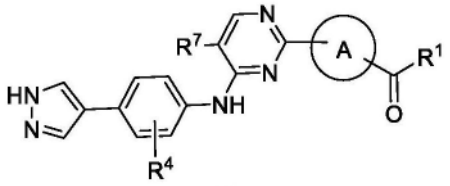
[0097] 在优选的实施方案中,R^9和R^{10}在每次出现时各自独立地选自H、F、Cl、Br、甲基、乙基、正丙基、异丙基、乙烯基、环丙基、环丁基、环戊基、氧杂环丁烷基、单氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、乙酰基、$-CH_2CHF_2$、$-CH_2OH$、$-CH_2OCH_3$、$-CH_2CH_2OCH_3$、$-CH_2-O(P=O)(OH)_2$、



[0098] 在优选的实施方案中,R^9在每次出现时各自独立地选自H、C_{1-6}烷基、C_{3-10}环烃基、3-10元杂环基、C_{6-10}芳基、5-14元杂芳基和C_{6-12}芳烷基,优选为H。

[0099] 在优选的实施方案中,R^{10}在每次出现时各自独立地选自H和C_{1-6}烷基,优选为H、甲基、乙基、正丙基或异丙基,最优选为H或甲基。

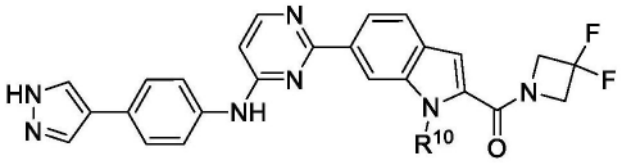
[0100] 在优选的实施方案中,本发明提供预防、缓解和/或治疗特发性肺纤维化的方法,其包括向需要其的个体给药有效量的式(II)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药:

[0101] 

(II)

[0102] 其中各基团如上文所定义。

[0103] 在优选的实施方案中,本发明提供预防、缓解和/或治疗特发性肺纤维化的方法,其包括向需要其的个体给药有效量的式(III)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药:

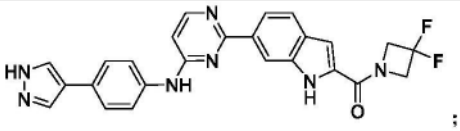
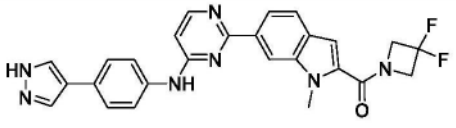
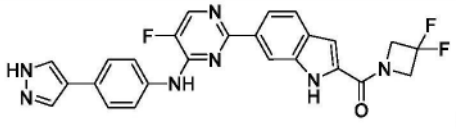
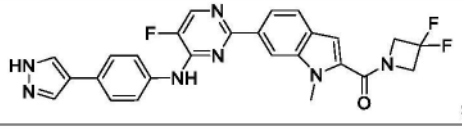
[0104] 

(III)

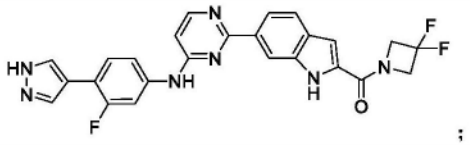
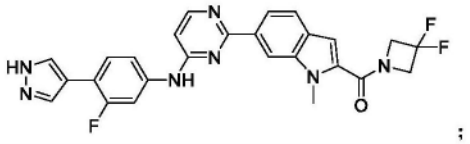
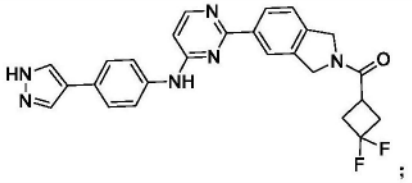
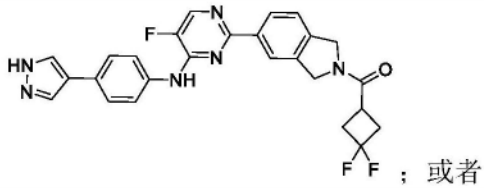
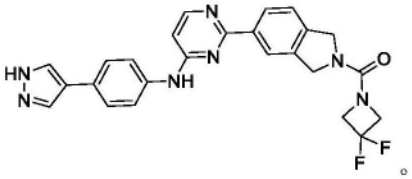
[0105] 其中R^{10}为H或甲基,优选为甲基。

[0106] 在优选的实施方案中,所述化合物具有以下结构:

[0107]

化合物编号	结构
006	 ;
007	 ;
008	 ;
009	 ;

[0108]

010	 ;
011	 ;
020	 ;
021	 ；或者
022	 。

[0109] 在一些实施方案中,所述化合物根据WO 2019/001572 A1(将其通过援引加入本文)中公开的方法制备。

[0110] 在一些实施方案中,将所述式(I)、式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药以约0.005mg/日至约5000mg/日的量,例如约0.005、0.05、0.5、5、10、20、30、40、50、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500或5000mg/日的量给药。

[0111] 在一些实施方案中,将所述式(I)、式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药以每日约1ng/kg至约200mg/kg、约1μg/kg至约100mg/kg或者约1mg/kg至约50mg/kg体重的量给药,例如以每单位剂量约1μg/kg、约10μg/kg、约25μg/kg、约50μg/kg、约75μg/kg、约100μg/kg、约125μg/kg、约150μg/kg、约175μg/kg、约200μg/kg、约225μg/kg、约250μg/kg、约275μg/kg、约300μg/kg、约325μg/kg、约350μg/kg、约375μg/kg、约400μg/kg、约425μg/kg、约450μg/kg、约475μg/kg、约500μg/kg、约525μg/kg、约550μg/kg、约575μg/kg、约600μg/kg、约625μg/kg、约650μg/kg、约675μg/kg、约700μg/kg、约725μg/kg、约750μg/kg、约775μg/kg、约800μg/kg、约825μg/kg、约850μg/kg、约875μg/kg、约900μg/kg、约925μg/kg、约950μg/kg、约975μg/kg、约1mg/kg、约5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约35mg/kg、约40mg/kg、约45mg/kg、约50mg/kg、约60mg/kg、约70mg/kg、约80mg/kg、约90mg/kg、约100mg/kg、约125mg/kg、约150mg/kg、约175mg/kg、约200mg/kg或约300mg/kg体重的量给药。

[0112] 在一些实施方案中,将所述式(I)、式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药的每日剂量一次性给予或分两次、三次或四次给予。

[0113] 在一些实施方案中,将所述式(I)、式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药连续给药至少3天、至少4天、至少5天、至少6天、至少7天、至少8天、至少9天、至少10天、至少11天、至少12天、至少13天、至少14天、至少15天、至少16天、至少17天、至少18天、至少19天、至少20天、至少21天、至少22天、至少23天、至少24天、至少25天、至少1个月、至少2个月、至少3个月、至少4个月、至少5个月、至少6个月、至少1年或至少2年。

[0114] 在一些实施方案中,将所述式(I)、式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药给药一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)疗程,其中每个疗程持续至少3天、至少4天、至少5天、至少6天、至少7天、至少8天、至少9天、至少10天、至少11天、至少12天、至少13天、至少14天、至少15天、至少16天、至少17天、至少18天、至少19天、至少20天、至少21天、至少22天、至少23天、至少24天、至少25天、至少30天、至少35天、至少40天、至少45天或至少50天;并且每两个疗程之间间隔0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10天、两周、三周或四周。

[0115] 在一些实施方案中,将所述式(I)、式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药通过注射(如静脉内、动脉内、皮下、腹膜内、肌内注射,包括滴注)或经皮给药;或通过口服、含服、经鼻、透粘膜、局部、以眼用制剂的形式或通过吸入给药。

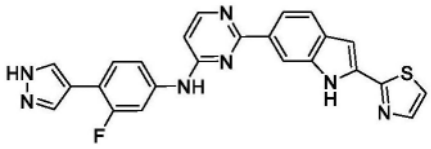
[0116] 在一些实施方案中,将所述式(I)、式(II)或式(III)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、立体异构体、多晶型物、溶剂合物、N-氧化物、同位素标记的化合物、代谢物或前药以选自片剂、胶囊剂、锭剂、硬糖剂、散剂、喷雾剂、乳膏剂、软膏剂、栓剂、凝胶剂、糊剂、洗剂、软膏剂、水性混悬剂、可注射溶液剂、酏剂和糖浆剂的剂型给药。

[0117] 本发明涵盖以上实施方案的任意组合。

[0118] 实施例

[0119] 为了使本发明的目的和技术方案更加清楚,以下结合具体实施例进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不用于限制本发明的范围。并且,下列实施例中未提及的具体实验方法,均按照常规实验方法进行。

[0120] 实施例中所使用化合物128具有以下结构,其根据WO 2019/001572 A1中公开的方法制备。

[0121] 

[0122] 实施例1.ROCK2激酶活性检测

[0123] 采用商品化的CISBIO激酶检测试剂盒HTRF KinEASE-STK S2试剂盒(62ST2PEC)进行激酶IC_{50}测定。反应所用的激酶ROCK2(01-119)购自Carna Biosciences。

[0124] 实验开始前,根据需要,按照激酶检测试剂盒说明书用相应试剂配制如下工作液:1×激酶缓冲液,5×STK-S2底物工作液(1.5μM)和5×ATP工作液(1.5μM)、5×ROCK2激酶工

作液、4×抗生蛋白链菌素-XL665工作液、4×STK-Ab-穴状化合物2检测液,然后进行如下操作。

[0125] 采用DMSO浓度为2.5%的1×激酶缓冲液配制得到10000nM的化合物溶液,采用上述含DMSO的激酶缓冲液再对化合物进行逐级稀释,得到9个不同浓度的待测化合物溶液。除测试化合物孔外,设置阳性孔(含有除化合物之外的所有试剂)和阴性孔(含有除待测化合物和激酶外的所有试剂)。除对照孔(阳性孔和阴性孔)外,向所有反应孔中加入4μL的待测化合物溶液,向对照孔中加入4μL 2.5%的DMSO溶液。然后,再向所有反应孔中加入2μM底物(即2μL 5×STK-S2底物工作液)。向除阴性孔外的所有反应孔中加入2μL的5×ROCK2激酶工作液(含1.4ng ROCK2激酶),阴性孔用2μL的1×激酶缓冲液补足体积。向所有反应孔中加入2μL 5×ATP工作液,室温孵育2小时。待激酶反应结束后,向所有反应孔中加入5μL 4×抗生蛋白链菌素-XL665工作液,混匀后立即加入5μL 4×STK-Ab-穴状化合物2检测液,室温孵育1小时后,用ENVISION(Perkinelmer)仪器检测荧光信号(激发波长为320nm,发射波长为665nm和615nm)。通过各孔荧光强度值计算出每个孔中的抑制率:ER(Emission Ratio,发射光比率)=(665nm处荧光强度/615nm处荧光强度);抑制率=(ER阳性-ER待测化合物)/(ER阳性-ER阴性)*100%,用软件PRISM 5.0绘制曲线图,同时用PRISM 5.0拟合得到各待测化合物的半数抑制浓度(IC_{50})。化合物IC_{50}值如下表所示。

[0126] 表1

[0127]

化合物	ROCK2 IC_{50} nM	化合物	ROCK2 IC_{50} nM
化合物006	34	化合物011	9
化合物007	33	化合物020	44
化合物008	24	化合物021	45
化合物009	12	化合物022	75
化合物010	61	化合物128	27

[0128] 实施例2.BLM诱导的小鼠特发性肺纤维化(IPF)模型中检测化合物用于治疗IPF的效果

[0129] 将60只C57BL/6小鼠(购于上海史莱克)适应性饲养1周,随机挑选50只动物,并通过向其气道内注射(IT)3mg/kg博莱霉素(BLM,购于SIGMA公司,#SIGMA-P9564)来建立IPF动物模型。向其余10只动物注射与所注射博来霉素等体积的生理盐水,设为正常组(N=10)。注射给药博莱霉素当天设为第0天(D0);第6天按照体重随机分4组:溶媒组(N=14)、化合物007给药组(N=12)、化合物128给药组(N=12)和阳性对照吡非尼酮(购于SIGMA公司,#SIGMA-P2116)给药组(N=12)。动物分组见表2。

[0130] 表2.动物分组

[0131]

编号	分组	给药	动物数(只)	剂量及给药频率	给药途径及持续时间
1	正常组	溶媒1	10	10 ml/kg体重，每天1次	经口给药，连续14天
2	溶媒组	溶媒1	14	10 ml/kg体重，每天1次	经口给药，连续14天
3	化合物007给药组	化合物007	12	100 mg/kg体重，每天1次	经口给药，连续14天
4	化合物128给药组	化合物128	12	100 mg/kg体重，每天1次	经口给药，连续14天
5	吡非尼酮给药组	吡非尼酮	12	90 mg/kg体重，每天2次	经口给药，连续14天

[0132] 第8-21天分别对各组动物给药:向正常组和溶媒组动物灌胃给予溶媒1(溶媒1为:20％ PEG 400+5％ Tween 80+75％ddH$_2$0),化合物007给药组灌胃给予化合物007(用溶媒1配制),化合物128给药组灌胃给予化合物128(用溶媒1配制),吡非尼酮给药组灌胃给予吡非尼酮(溶媒2:0.2％甲基纤维素+0.5％ Tween 80+99.3％ddH$_2$0)。

[0133] 记录每日体重及体重变化(第21天体重变化计算公式为:第21天体重变化＝第21天体重-第0天体重),结果见图1A和1B。

[0134] 记录动物存活率,结果见图2。由图2结果可见,在测试结束时,化合物007给药组的动物生存率显著更高。这表明化合物007的耐受性良好。

[0135] 在第21天给药后2小时对动物处以安乐死,收集肺泡灌洗液用于白细胞(WBC)计数,结果见图3。由图3中可见,各给药组动物的肺泡灌洗液中总白细胞计数无明显差异。

[0136] 将动物左肺固定用于组织病理学检测,通过Masson Trichome染色进行肺损伤Ashcroft score评分,评分标准如文献Ashcroft T等人,Journal of clinical pathology.1988中所报道。在100倍放大后,对每个连续的视野进行评分(范围从0分(正常肺))到8分(视野内完全纤维性闭塞)),取5个部分的得分计算平均值,结果见图4A和4B。由图4A和4B结果可见,在给药结束后,化合物007明显减少了小鼠肺部胶原堆积,显著降低了小鼠肺部纤维化程度,疗效显著优于吡非尼酮和化合物128。

[0137] 采用实时荧光定量PCR方法检测给药结束后肺组织中肺组织纤维化相关蛋白胶原1A1(COL1A1)和组织金属基质蛋白抑制蛋白1(TIMP-1)的mRNA水平。具体地,将肺组织碎块转移到含1mL的TRIzol试剂(Invitrogen,货号15596018)的离心管中,通过组织研磨机低温下研磨肺组织,并抽提细胞总RNA,用TransScript All-in-One First-Strand cDNASynthesis SuperMix for qPCR(One-Step gDNARemoval)(全式金,货号AT341-02)试剂盒反转录合成cDNA,用荧光定量PCR法检测肺组织中COL1A1和TIMP-1的mRNA表达变化。

[0138] 实时荧光定量PCR方法中用β-肌动蛋白基因作为内参基因,对数据进行归一化处理;所用引物序列均来源于PrimerBank网站,网站ID号分别为34328108a1(COL1A1引物)、6755795a1(TIMP-1引物)和6671509a1(β-肌动蛋白引物),3对引物均由英潍捷基公司合成。

[0139] 结果见图5A和5B。由结果可见,博来霉素诱导的肺组织TIMP-1表达上调被化合物007显著抑制($P<0.05$),吡非尼酮组有中度抑制但无统计学差异;博来霉素诱导的COL1A1表达的上调被化合物007和吡非尼酮显著抑制。

[0140] 实施例3BLM诱导的小鼠特发性肺纤维化(IPF)模型中检测不同剂量的化合物用于

治疗IPF的效果

[0141] C57BL/6J小鼠适应性饲养后,根据动物体重,随机将其分为2组:一组15只,向动物气道内注射50μL生理盐水;另一组90只,向动物气道内注射50μL博来霉素(2.5mg/kg)来建立IPF动物模型。建立动物模型后第七天,根据其体重变化(模型建立后第七天和模型建立当天体重之差)随机进行分组,从建立动物模型后第八天开始连续给药14天,分组和给药信息见表3。

[0142] 表3实验动物分组及给药方案

[0143]

组别	动物只数	建立模型方法(气道/单次 50 μL)	药物/方式/频率	给药体积(ml/kg)	给药时间(天)
正常组	15	生理盐水	0.5% CMC-Na;口服;每天 1 次	10	14
模型组	15	博来霉素 2.5 mg/kg	0.5% CMC-Na;口服;每天 1 次	10	14
吡非尼酮 - 90 mpk	15	博来霉素 2.5 mg/kg	吡非尼酮 90 mg/kg;口服;每天 2 次	10	14
尼达尼布 - 30 mpk	15	博来霉素 2.5 mg/kg	尼达尼布 30 mg/kg;口服;每天 1 次	10	14
化合物 007 - 30 mpk	15	博来霉素 2.5 mg/kg	化合物 007 30 mg/kg;口服;每天 1 次	10	14
化合物 007 - 100 mpk	15	博来霉素 2.5 mg/kg	化合物 007 100 mg/kg;口服;每天 1 次	10	14
化合物 007 - 300 mpk	15	博来霉素 2.5 mg/kg	化合物 007 300 mg/kg;口服;每天 1 次	10	14

[0144] 动物最后一次给药后2h下腔静脉放血处死后,收集肺泡灌洗液(BALF)用于白细胞计数,结果见图6。

[0145] 将动物左肺固定用于制备病理组织切片,进行H&E和Masson Trichome染色,以用于肺损伤和纤维化程度评分。肺纤维化评分标准参考文献《Standardized quantification of pulmonary fibrosis in histological samples》;肺组织损伤程度等级分数为0-16,主要从肺组织中炎症细胞浸润(0-4)、出血(0-4)、间质和肺泡水肿(0-4)以及肺泡间隔厚度(0-4)四个方面评估,分数越高,肺组织损伤程度越高。

[0146] 与模型组相比,化合物007可显著降低肺部白细胞的浸润情况(图6),肺损伤(图7A和7B)及纤维化程度(图8A和8B)也得到显著改善,其中化合物007-30和100mpk剂量组治疗效果与吡非尼酮给药组和尼达尼布给药组相当,化合物007-300mpk剂量组在改善肺损伤及纤维化程度方面优于吡非尼酮给药组及尼达尼布给药组。这表明化合物007可以通过降低肺部白细胞的浸润、改善肺损伤及肺纤维化程度等方面发挥对于IPF的治疗作用。

[0147] 除本文中描述的那些外,根据前述描述,本发明的各种修改对本领域技术人员而言会是显而易见的。这样的修改也意图落入所附权利要求书的范围内。本申请中所引用的各参考文献(包括所有专利、专利申请、期刊文章、书籍及任何其它公开)均以其整体援引加入本文。

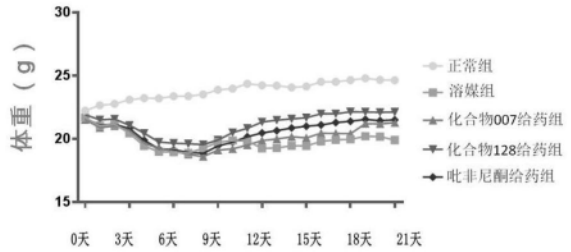

体重（g）
30
25
20
15
0天
3天
6天
9天
12天
15天
18天
21天
正常组
溶媒组
化合物007给药组
化合物128给药组
吡非尼酮给药组

图1A

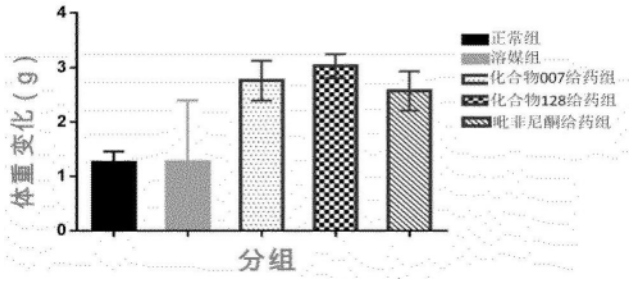

体重变化（g）
4
3
2
1
0
分组
正常组
溶媒组
化合物007给药组
化合物128给药组
吡非尼酮给药组

图1B

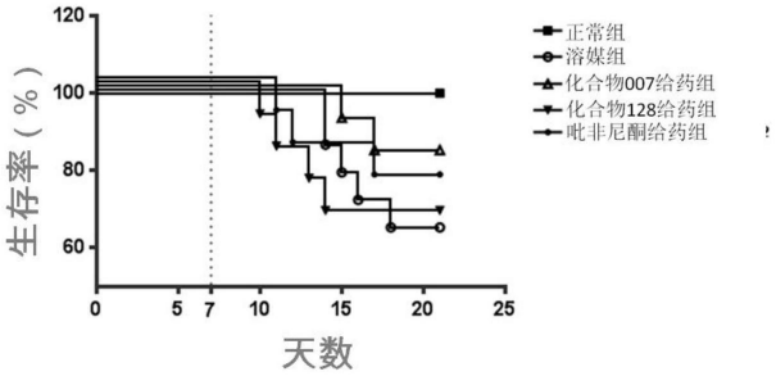
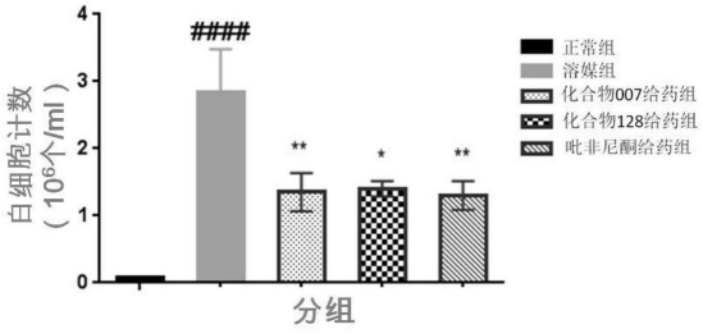
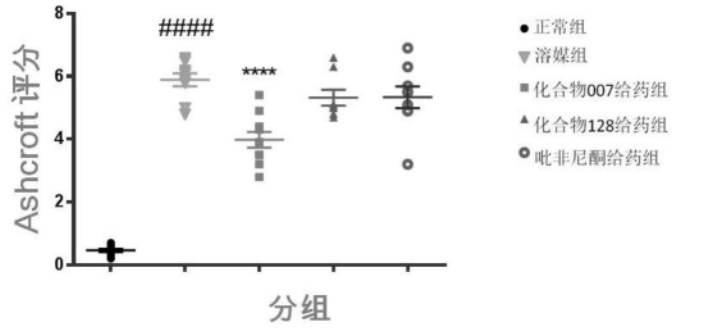

生存率（%）
120
100
80
60
0
5
7
10
15
20
25
天数
正常组
溶媒组
化合物007给药组
化合物128给药组
吡非尼酮给药组

图2



####表示与正常组相比，P<0.0001，*表示与溶媒组相比，P<0.05，
**表示与溶媒组相比，P<0.01

图3



####表示与正常组相比，P<0.0001，****表示与溶媒组相比，P<0.0001

图4A

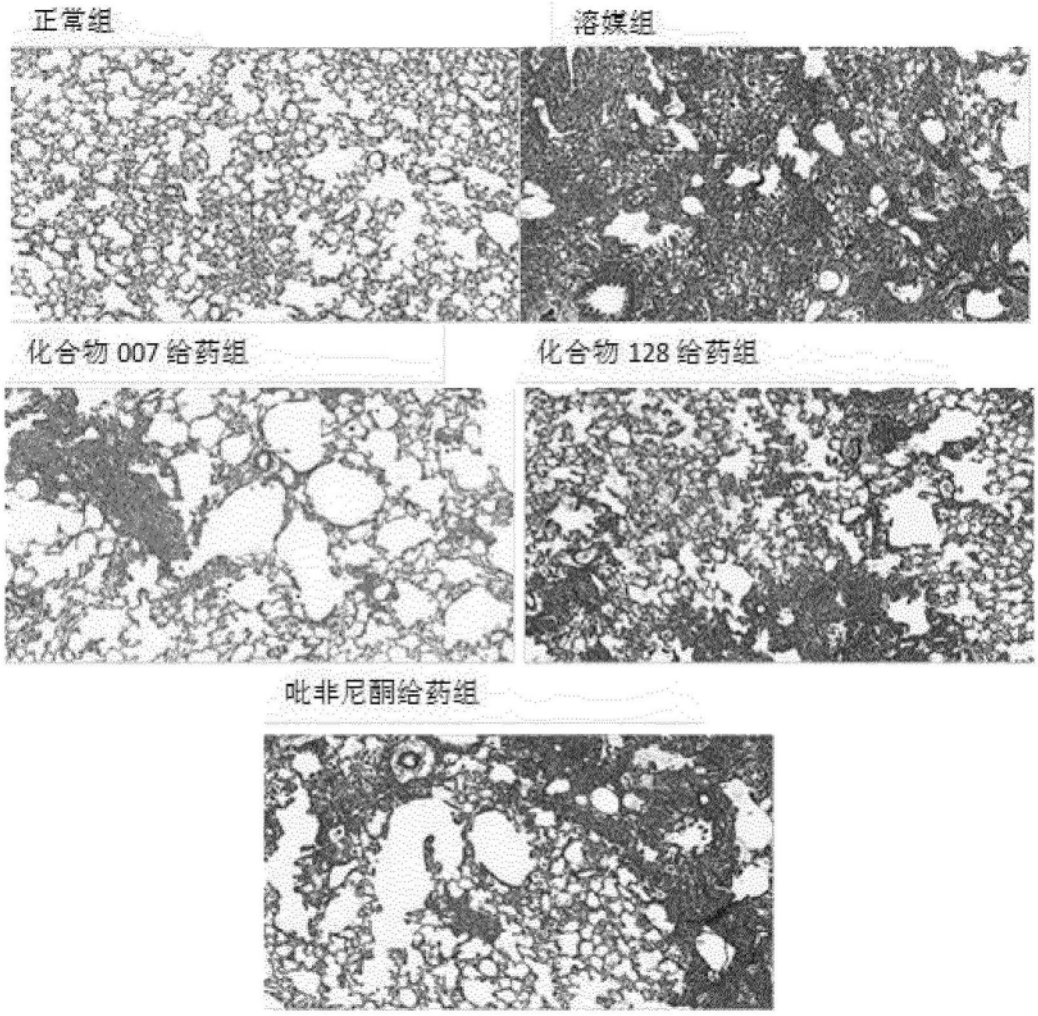

正常组
溶媒组
化合物 007 给药组
化合物 128 给药组
吡非尼酮给药组

图4B

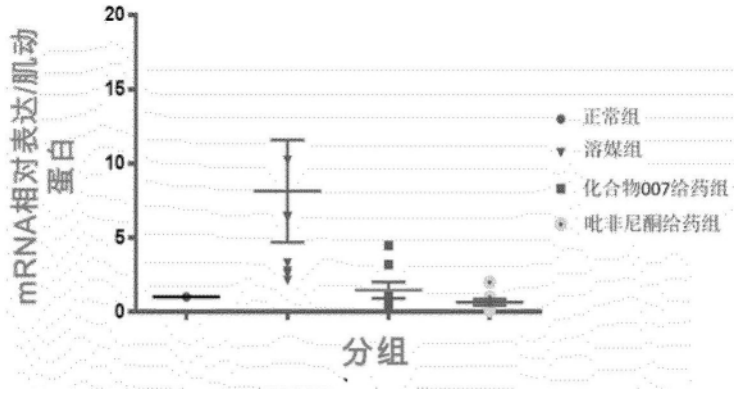

mRNA相对表达/肌动蛋白
20
15
10
5
0
分组
正常组
溶媒组
化合物007给药组
吡非尼酮给药组

图5A

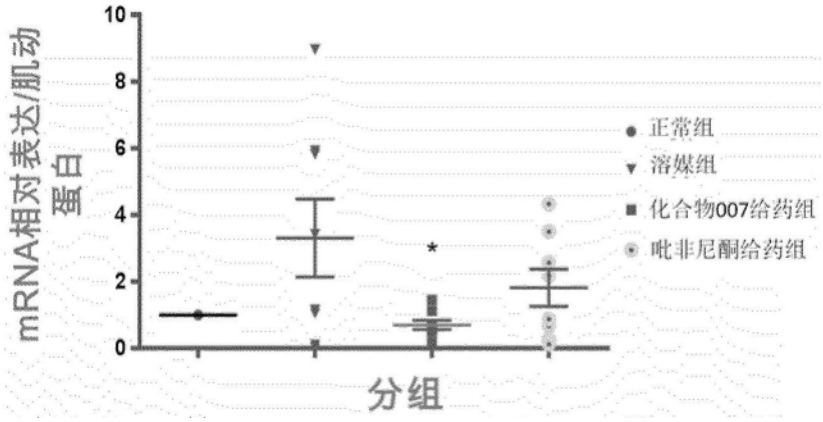

mRNA相对表达/肌动蛋白
分组
正常组
溶媒组
化合物007给药组
吡非尼酮给药组

图5B

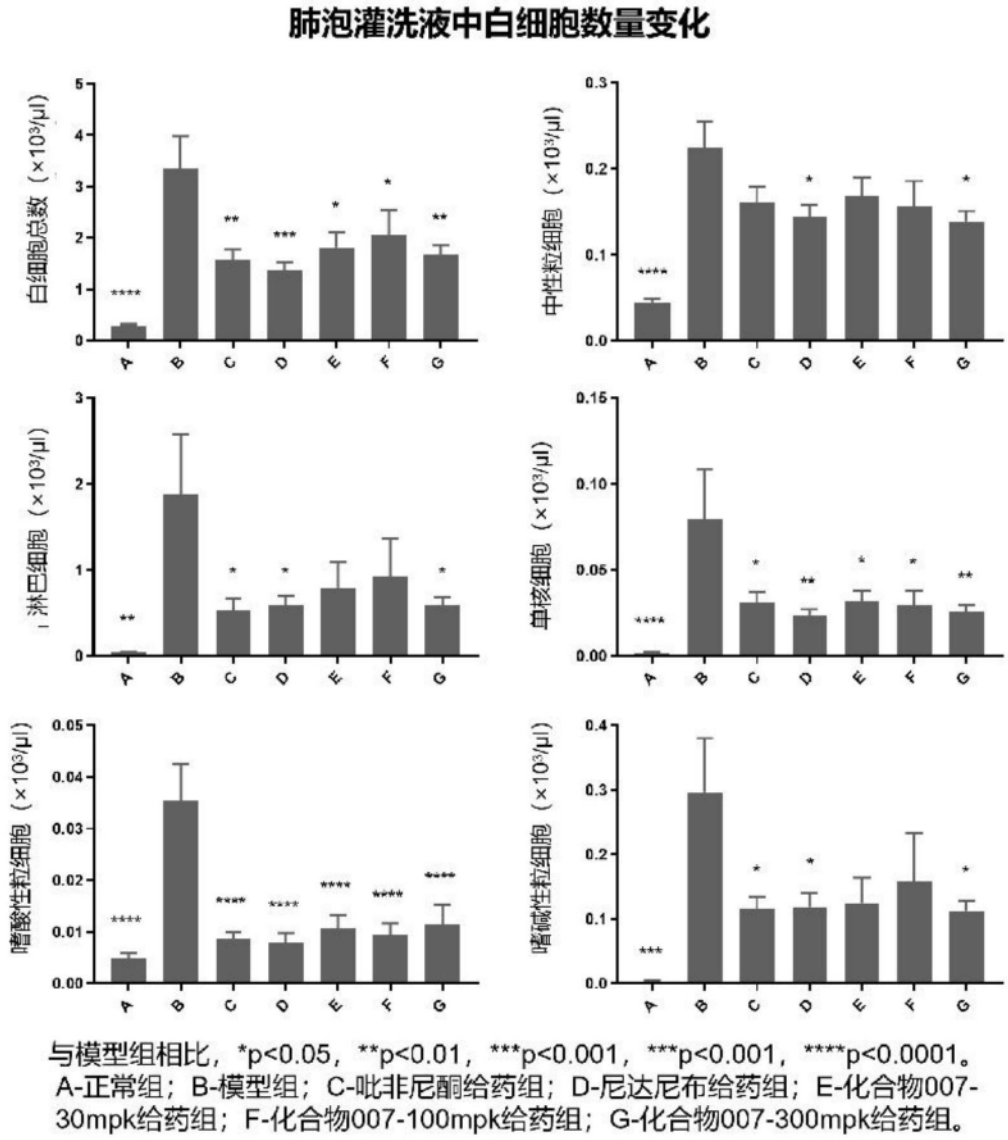

肺泡灌洗液中白细胞数量变化
白细胞总数（×10³/μl）
中性粒细胞（×10³/μl）
淋巴细胞（×10³/μl）
单核细胞（×10³/μl）
嗜酸性粒细胞（×10³/μl）
嗜碱性粒细胞（×10³/μl）
与模型组相比，*p<0.05，**p<0.01，***p<0.001，***p<0.001，****p<0.0001。
A-正常组；B-模型组；C-吡非尼酮给药组；D-尼达尼布给药组；E-化合物007-30mpk给药组；F-化合物007-100mpk给药组；G-化合物007-300mpk给药组。

图6

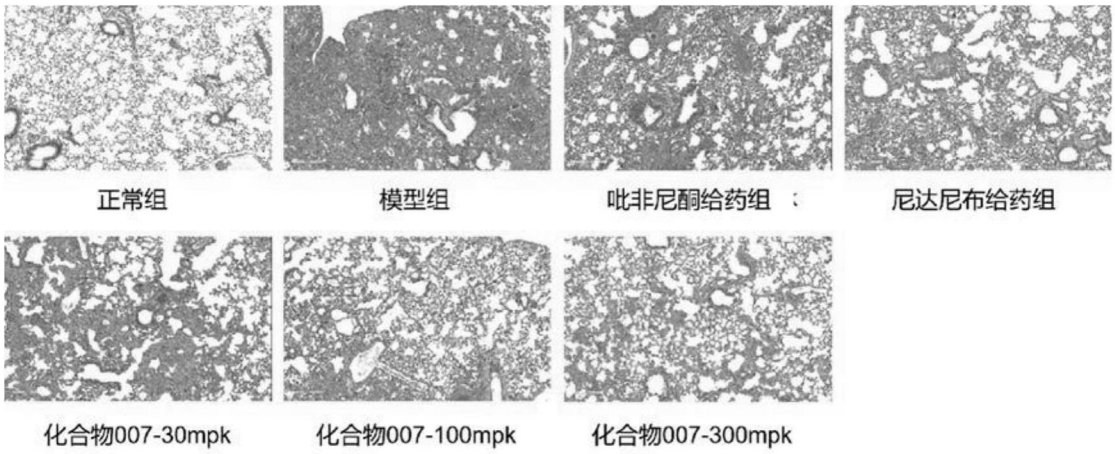

正常组
模型组
吡非尼酮给药组
尼达尼布给药组
化合物007-30mpk
化合物007-100mpk
化合物007-300mpk

图7A

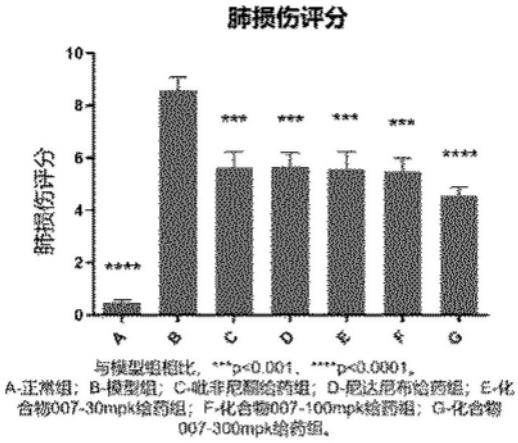

肺损伤评分
肺损伤评分
10
8
6
4
2
0
****
***
***
***
***
****
A
B
C
D
E
F
G
与模型组相比，***p<0.001，****p<0.0001。
A-正常组；B-模型组；C-吡非尼酮给药组；D-尼达尼布给药组；E-化合物007-30mpk给药组；F-化合物007-100mpk给药组；G-化合物007-300mpk给药组。

图7B

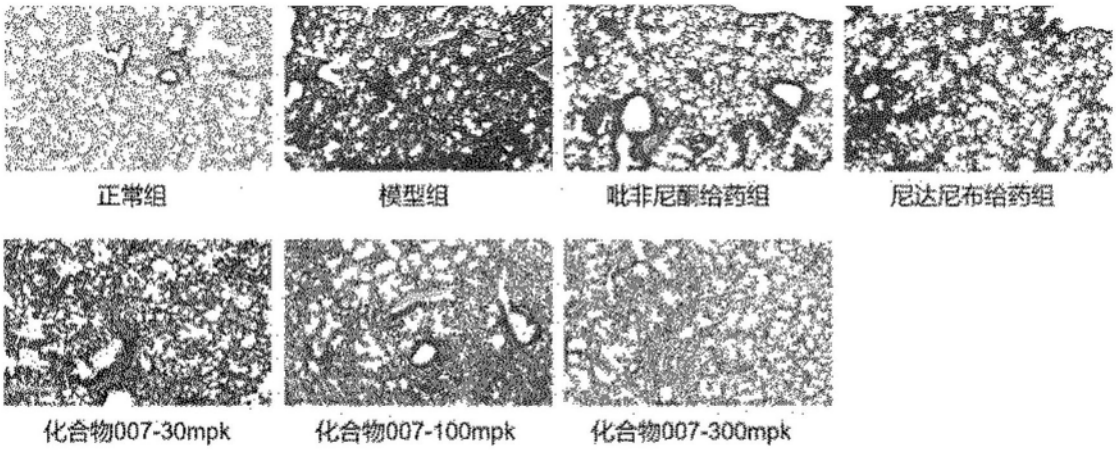

正常组
模型组
吡非尼酮给药组
尼达尼布给药组
化合物007-30mpk
化合物007-100mpk
化合物007-300mpk

图8A

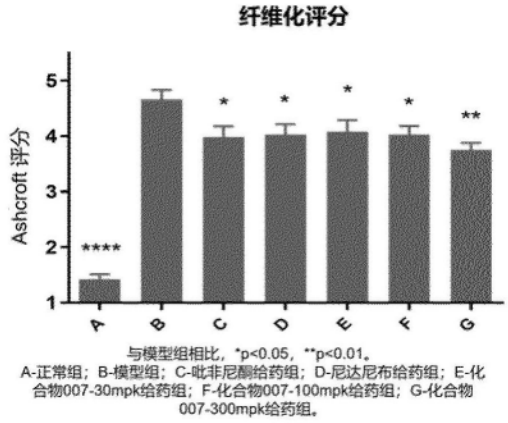

纤维化评分
Ashcroft 评分
5
4
3
2
1
****
*
*
*
*
**
A
B
C
D
E
F
G
与模型组相比，*p<0.05，**p<0.01。
A-正常组；B-模型组；C-吡非尼酮给药组；D-尼达尼布给药组；E-化合物007-30mpk给药组；F-化合物007-100mpk给药组；G-化合物007-300mpk给药组。

图8B