



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116349204 A

(43) 申请公布日 2023. 06. 27

(21) 申请号 202180069900.X

(22) 申请日 2021.10.13

(30) 优先权数据

63/091,128 2020.10.13 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.04.12

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/054713 2021.10.13

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/081661 EN 2022.04.21

(71) 申请人 奋进生物医药公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 米格尔·德·洛斯·里奥斯

约翰·胡德

安妮塔·迪弗朗西斯科

(74) 专利代理机构 北京东方亿思知识产权代理

有限责任公司 11258

专利代理师 谭玲玲

(51) Int.Cl.

H04L 9/40 (2006.01)

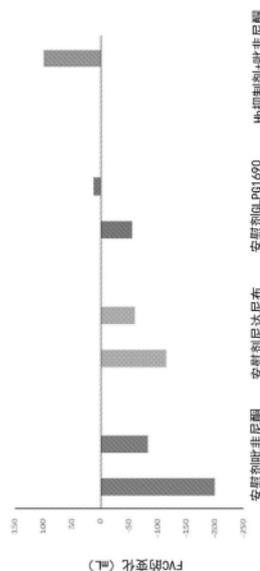
权利要求书2页 说明书14页 附图4页

(54) 发明名称

治疗纤维化的方法

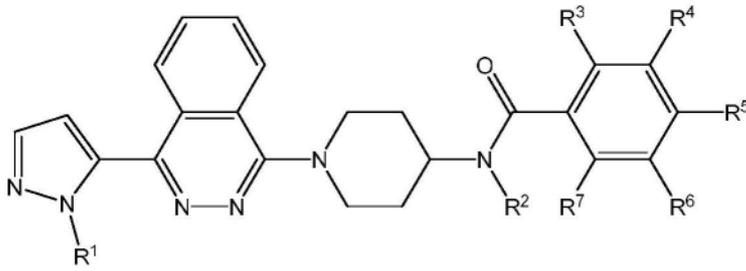
(57) 摘要

本说明书提供了用于治疗纤维化,特别是肺纤维化的方法和组合物。所述肺纤维化可以是特发性的或在肺部感染后出现。肺部感染可能是由SARS-CoV-2引起的。肺功能由于治疗而稳定化或得以改善。



1. 一种治疗纤维化的方法,所述方法包括向有需要的患者施用用于抑制Gli1的手段。

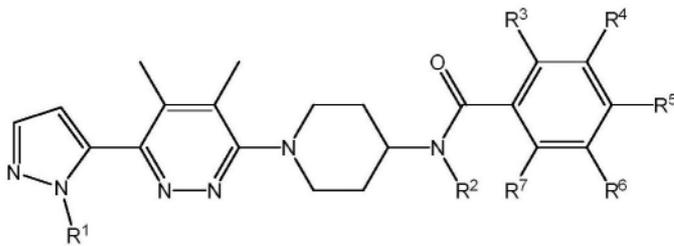
2. 根据权利要求1所述的方法,所述方法包括施用式I的化合物或其药学上可接受的盐:



其中, R^1 为氢或甲基; R^2 为氢或甲基; R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 或 R^7 独立地为氢、氟、氯、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、二氟甲氧基、甲基磺酰基或三氟甲基磺酰基,前提条件是 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 和 R^7 中的至少三者为氢。

3. 根据权利要求2所述的方法,所述方法包括施用塔拉迪吉。

4. 根据权利要求1所述的方法,所述方法包括施用式II的化合物或其药学上可接受的盐:



其中, R^1 为氢或甲基; R^2 为氢或甲基; R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 或 R^7 独立地为氢、氟、氯、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、二氟甲氧基、甲基磺酰基或三氟甲基磺酰基,前提条件是 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 和 R^7 中的至少三者为氢。

5. 根据权利要求4所述的方法,所述方法包括施用L-4。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的方法,所述方法包括施用50-200mg的所述手段或化合物。

7. 根据权利要求6所述的方法,其中施用100-300mg的初始剂量,但在所述患者经历药物相关的不良事件时逐渐降低所述剂量。

8. 根据权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述纤维化是特发性肺纤维化。

9. 根据权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述纤维化是系统性硬皮病。

10. 根据权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述纤维化是肺部感染后的肺纤维化。

11. 根据权利要求10所述的方法,其中所述肺部感染是SARS-CoV-2感染。

12. 根据权利要求1-11中任一项所述的方法,其中毒性限制为2级或更低。

13. 根据权利要求1-12中任一项所述的方法,其中所述纤维化在治疗开始后没有进展。

14. 根据权利要求1-13中任一项所述的方法,其中所述纤维化是肺纤维化并且肺功能是稳定化的。

15. 根据权利要求1-13中任一项所述的方法,其中所述纤维化是肺纤维化并且肺功能

是改善的。

16. 根据权利要求1-13中任一项所述的方法,其中所述纤维化是肺纤维化并且瘢痕形成减少。

17. 根据权利要求14-16中任一项所述的方法,其中肺功能通过选自由以下组成的组的参数进行评定:用力肺活量(FVC)、1秒钟用力呼气量(FEV_1)、肺部的一氧化碳扩散能力(DL_{CO})、 FEV_1/FVC 比率、预测的FVC%、预测的 FEV_1 %、根据肺部成像对纤维化程度的定量评定、根据肺部成像对纤维化程度的定性评定,呼吸系统住院的次数,在设定的时间间隔内可以步行的距离;以及呼吸系统健康问卷的得分。

治疗纤维化的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2020年10月13日提交的美国临时专利申请63/091,128的权益和优先权,该美国临时专利申请的全部内容以引用方式并入本文。

背景技术

[0003] 纤维化疾病的治疗已被证明是有挑战性的。虽然已有批准用于治疗一些纤维化疾病的药物,例如用于特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)的吡非尼酮(pirfenidone)和尼达尼布(nintedanib)。然而,这些药物只能适度减缓疾病的进展,而不能阻止或逆转所述疾病。刺猬因子(Hedgehog)/GLI信号传导途径是正常胚胎发育的重要调节因子,并且已经与纤维化的发展有关。然而,抑制典型的Hh信号传导途径,例如通过抑制刺猬因子(Hh)信号传导途径中的G蛋白偶联受体Smoothed (SMO)抑制典型的Hh信号传导途径,未能产生用于肺纤维化、肾纤维化、或骨髓纤维化的临床上可行治疗。实际上,已发现SMO抑制剂环巴胺和IPI-926在治疗肾纤维化方面无效。此外,IPI-926在骨髓纤维化中的2期临床试验不支持继续开发。另一种SMO抑制剂维莫德吉(vismodegib)(与吡非尼酮联用)治疗IPF的1b期临床试验表明有一定程度的功效,但许多患者因无法耐受该药物而退出该研究并且该药物的开发由于此适应症而被放弃。

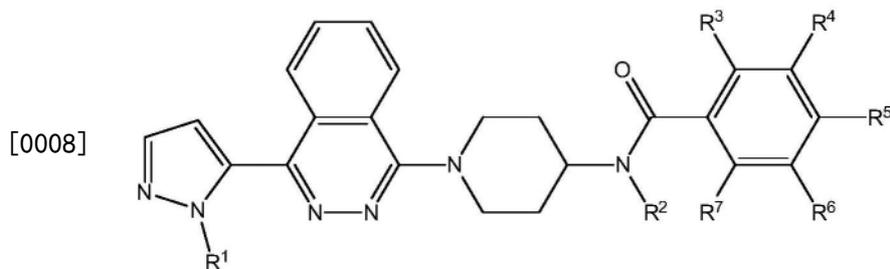
发明内容

[0004] 本文公开了用于使用刺猬因子信号传导途径抑制剂治疗纤维化疾病的方法和组合物,所述刺猬因子信号传导途径抑制剂的效力和耐受性足以允许临床利用。

[0005] 一个方面是一种治疗纤维化的方法,所述方法包括施用Gli1抑制剂。Gli1抑制可以是间接的。在一些实施方式中,使用SMO抑制剂来间接抑制Gli1。

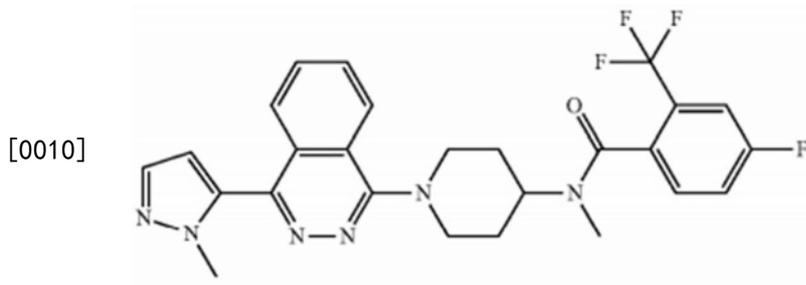
[0006] 一个方面是一种治疗纤维化的方法,所述方法包括施用用于抑制Gli1的手段。Gli1抑制可以是间接的。在一些实施方式中,用于抑制SMO的手段用于间接抑制Gli1。在各种实施方式中,一种或另一种属或品种的SMO抑制剂被明确排除。

[0007] 关于以上方面,在一些实施方式中,Gli1抑制剂或抑制Gli1的手段是SMO抑制剂(或用于抑制SMO的手段)。在一些实施方式中,SMO抑制剂、Gli1抑制剂或用于抑制Gli1或SMO的手段是式I的化合物或其药学上可接受的盐:



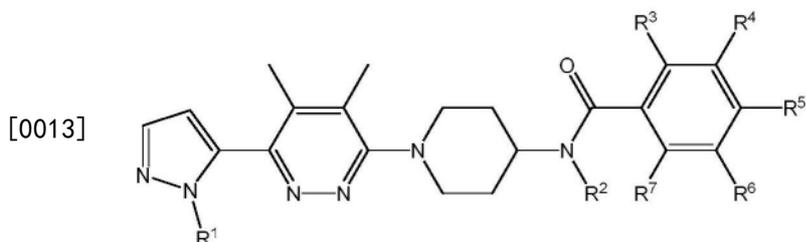
[0009] 其中, R^1 为氢或甲基; R^2 为氢或甲基; R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 或 R^7 独立地为氢、氟、氯、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、二氟甲氧基、甲基磺酰基或三氟甲基磺酰基,前提条件是 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6

和R⁷中的至少三者为氢。在本公开通篇使用的标准命名法下,首先描述指定侧链的末端部分,之后是朝向附接点的相邻官能团。例如,甲基磺酰基取代基等同于CH₃-SO₂-。在一些实施方式中,式I的化合物是4-氟-N-甲基-N-(1-(4-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)咪唑-1-基)哌啶-4-基)-2-(三氟甲基)苯甲酰胺(CAS 1258861-20-9):

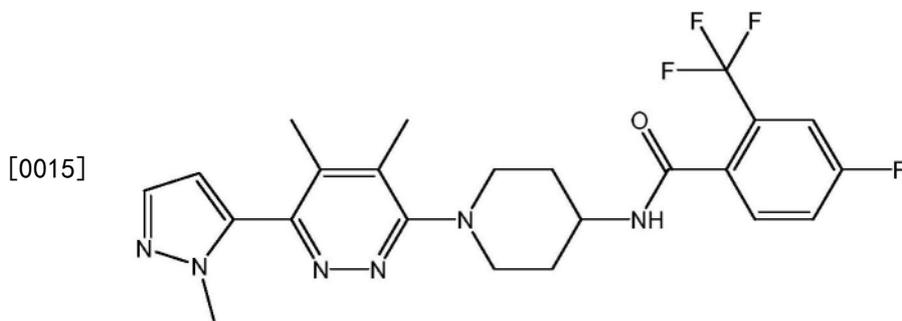


[0011] 也被称为塔拉迪吉(taladegib)。

[0012] 关于以上方面,在一些实施方式中,SMO抑制剂、Gli1抑制剂或用于抑制Gli1或SMO的手段是式II的化合物或其药学上可接受的盐:



[0014] 其中,R¹为氢或甲基;R²为氢或甲基;R³、R⁴、R⁵、R⁶或R⁷独立地为氢、氟、氯、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、二氟甲氧基、甲基磺酰基或三氟甲基磺酰基,前提条件是R³、R⁴、R⁵、R⁶和R⁷中的至少三者为氢。在一些实施方式中,式II的化合物为化合物L-4,其具有以下结构



[0016] 针对上述方面,在一些实施方式中,将Gli1抑制剂或用于抑制Gli1的手段施用于有需要的患者,即患有纤维化疾病的患者。在一些实施方式中,纤维化疾病是特发性肺纤维化(IPF)。在一些实施方式中,所述纤维化疾病是感染(包括细菌或病毒感染)后肺纤维化。在大多数情况下,纤维化在长达数年的慢性感染后发展,因此无法最终证明感染在导致纤维化中的作用;因此,这种纤维化仍被归类为特发性的。Covid-19提供了对照,因为纤维化的发作可能非常迅速。在一些实施方式中,肺纤维化发生在感染SARS-CoV-2之后。在一些实施方式中,纤维化疾病是硬皮病。在一些情况下,纤维化疾病是系统性硬皮病(也称为系统性硬化症),并且在另外的情况下,是涉及肺部的系统性硬皮病。在一些实施方式中,纤维化疾病是肝纤维化,例如非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis,NASH)。在一些实施方式中,纤维化疾病是肾纤维化。在一些实施方式中,纤维化疾病是胃纤维化。在

一些实施方式中,患者是人。

[0017] 关于以上方面,在一些实施方式中,Gli1抑制剂或用于抑制Gli1的手段以有效量施用。在一些实施方式中,所述有效量有效减轻症状。在一些实施方式中,所述有效量有效减缓或中止疾病的进展。在一些实施方式中,所述有效量有效减少由于疾病引起的损害。在一些实施方式中,所述有效量有效逆转由于疾病引起的损害(导致改善)。关于IPF,损害可以作为肺功能的变化来测量,例如,如通过肺活量测定法所确定的。可使用的肺活量测定法度量包括用力肺活量(FVC)、1秒钟用力呼气量(FEV_1)和肺部的一氧化碳扩散能力(DL_{CO})。纤维化程度也可以通过成像,例如高分辨率计算机断层扫描(high resolution computed tomography,HRCT)来评定。在一些实施方式中,有效量包括50-200mg的Gli1抑制剂或用于抑制Gli1的手段。

[0018] 一个方面是一种药物化合物,所述药物化合物包含Gli1抑制剂或用于抑制Gli1的手段。在一些实施方式中,所述Gli1抑制剂或用于抑制Gli1的手段是式1的化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方式中,所述式1的化合物是塔拉迪吉。

附图说明

[0019] 图1描绘了以下四种IPF治疗的临床试验结果的比较:吡非尼酮、尼达尼布、GLPG1690和Hh抑制剂维莫德吉。吡非尼酮、尼达尼布、GLPG1690的试验是安慰剂对照的,而维莫德吉试验采用开放标签。吡非尼酮数据是24周时三次3期研究的平均值。尼达尼布数据是24周时两次3期研究的平均值。GLPG1690数据是12周时的1b期数据。Hh抑制剂(维莫德吉)数据是24周时的1b期数据。

[0020] 图2描绘了来自接受各种剂量的塔拉迪吉的患者的皮肤样品中的Gli1 mRNA抑制(%)。

[0021] 图3描绘了四种被考虑用于IPF治疗的药物在临床试验中与药物相关的停药率。

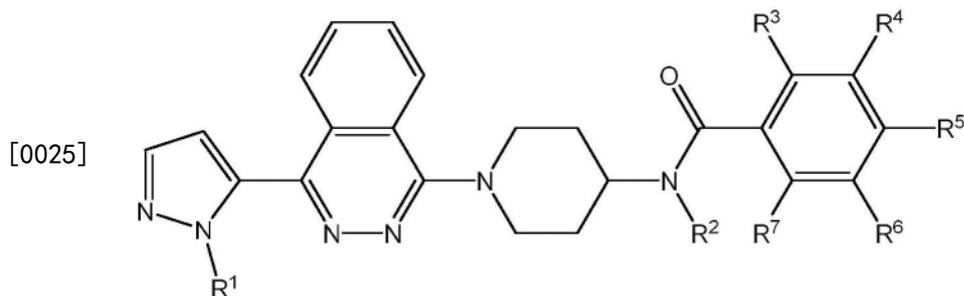
[0022] 图4A至图4B描绘了在博莱霉素(bleomycin)诱导的肺纤维化模型中使用和不使用塔拉迪吉治疗情况下的 α -SMA蛋白水平。图4A呈现了来自假对照、经媒介物处理的和经塔拉迪吉处理的小鼠的抗 α -SMA免疫染色的肺切片的代表性图像。图4B描绘了来自单独小鼠的 α -SMA阳性区域百分比以及治疗组的平均值和标准偏差。

具体实施方式

[0023] 纤维化疾病的一般机制已被理解为涉及初始组织损伤导致刺猬因子上调,从而驱动细胞转分化为肌成纤维细胞(即,分化细胞(非干细胞)转换为另一种类型的分化细胞,在本例为肌成纤维细胞)。肌成纤维细胞的生理功能是通过沉积细胞外基质和收缩组织(如在伤口闭合中)来修复组织。包括IPF在内的纤维化疾病是由失调的伤口重塑引起的,所述失调的伤口重塑涉及在初始组织创伤已得到解决后很久的慢性基质沉积和组织收缩。本文所公开的方法和组合物通过以下方式来治疗纤维化疾病:抑制Hh信号传导途径,使得上调的刺猬因子不再驱动这种病理,从而阻断肌成纤维细胞的产生并停止导致纤维化的慢性重塑。尽管这种机制已在临床上得到验证,但是Hh途径抑制剂治疗纤维化的前景迄今尚未实现。

[0024] 本文公开了某些作为SMO和下游转录因子Gli1和Gli2的有效抑制剂并且表现出所

需的毒理学特性的1,4-二取代酞嗪实现了这一前景。本发明实施方式提供使用式I的化合物或其药学上可接受的盐的治疗方法：

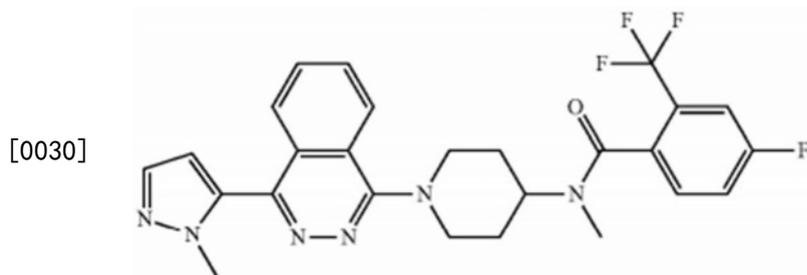


[0026] 其中, R^1 为氢或甲基; R^2 为氢或甲基; R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 或 R^7 独立地为氢、氟、氯、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、二氟甲氧基、甲基磺酰基或三氟甲基磺酰基, 前提条件是 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 和 R^7 中的至少三者为氢。在本公开通篇使用的标准命名法下, 首先描述指定侧链的末端部分, 之后是朝向附接点的相邻官能团。例如, 甲基磺酰基取代基等同于 $\text{CH}_3\text{-SO}_2\text{-}$ 。“药学上可接受的盐”是指本发明的化合物的相对无毒的无机盐和有机盐。

[0027] 美国专利号9,000,023中描述了式I的化合物及其合成, 该美国专利的全部内容据此以引用方式并入本文。

[0028] 本发明实施方式还提供了一种药物组合物, 所述药物组合物包含式I的化合物或其药学上可接受的盐与药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂的组合, 所述药物组合物用于在所述治疗方法中使用。“药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂”是本领域普遍认可的用于将生物活性剂递送至哺乳动物(例如人类)的介质。

[0029] 典范的式I化合物是4-氟-N-甲基-N-(1-(4-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)酞嗪-1-基)哌啶-4-基)-2-(三氟甲基)苯甲酰胺(CAS 1258861-20-9)：



[0031] 也被称为塔拉迪吉(taladegib)。塔拉迪吉(也被称为LY2940680)是一种有效的选择性可口服Smo抑制剂, 其具有良好的安全特性, 能够破坏Hh途径。这种分子已在超过192名人类受试者中使用, 并且最初开发的意图是治疗肿瘤适应症, 重点是肺癌和基底细胞癌(basal cell carcinoma, BCC)。虽然主要是癌症患者, 但是这些研究可以初步了解剂量和耐受性。塔拉迪吉具有口服生物利用度。在一些实施方式中, 平均口服生物利用度为约72%至约91%。

[0032] 塔拉迪吉的主要代谢产物M75是一种氧化N-去甲基化产物, 保留了作为SMO抑制剂的活性。M75被认为在式I的 R^2 失去了甲基, 因此该位置是氢而不是甲基。

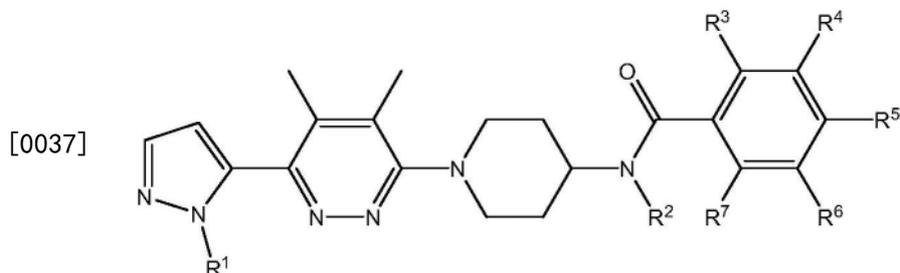
[0033] 与维莫德吉相比, 塔拉迪吉非常适合靶向肺部。在动物模型中, 塔拉迪吉在抑制肺部中的Gli1方面的效力比维莫德吉强20倍以上, Gli1是一种当Hh途径被激活时表达的下游效应分子。临床确定的塔拉迪吉的MTD是400mg。在此剂量下, 皮肤中的Gli1 mRNA抑制率>

85%，停药率为约9%。塔拉迪吉已在低至50mg（即为临床确定的MTD的八分之一（8-fold lower））的剂量下进行了临床评估，其中Gli1 mRNA抑制率仍大于80%。相比之下，维莫德吉在其MTD为150mg时抑制Gli1 mRNA低于50%。塔拉迪吉比维莫德吉具有更好的临床安全性，肌肉痉挛的发生率大大降低（40% vs. 高达80%）。因此，虽然维莫德吉被证明不适用于IPF，但是使用维莫德吉的临床研究表明抑制Hh途径可改善IPF患者的肺功能。

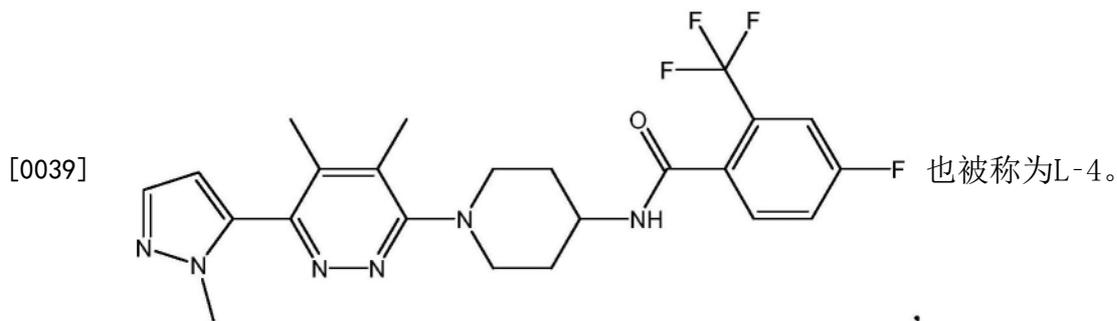
[0034] 式I的化合物抑制Gli1活性，通常 $IC_{50} < 40nM$ ，如在Daoy细胞中测量的和美国专利号9,000,023中描述的。在这个测定中塔拉迪吉的 IC_{50} 为约2.4nM。此类化合物构成了用于抑制Gli1活性的手段或用于抑制SMO的手段。

[0035] 此外，美国专利申请公开号20200000784A1出于其教导的关于使用塔拉迪吉治疗纤维化，特别是特发性肺纤维化的所有内容而以引用方式并入本文。

[0036] 上述咪唑的某些类似物是SMO和下游转录因子Gli1和Gli2的有效抑制剂，并且表现出所需的毒理学特性。在一些实施方式中，SMO抑制剂、Gli1抑制剂或用于抑制Gli1或SMO的手段是式II的化合物或其药学上可接受的盐：



[0038] 其中， R^1 为氢或甲基； R^2 为氢或甲基； R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 或 R^7 独立地为氢、氟、氯、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、二氟甲氧基、甲基磺酰基或三氟甲基磺酰基，前提条件是 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 和 R^7 中的至少三者为氢。在一些实施方式中，式II的化合物是N-(1-(4,5-二甲基-6-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)哒嗪-3-基)哌啶-4-基)-4-氟-2-(三氟甲基)苯甲酰胺，具有以下结构



[0040] L-4描述于Zhu等人(L-4, a Well-Tolerated and Orally Active Inhibitor of Hedgehog Pathway, Exhibited Potent Anti-tumor Effects Against Medulloblastoma in vitro and in vivo, *Frontiers in Pharmacology* 10:89, 2019)中，该文献的全部内容据此以引用方式并入。Zhu等人将L-4描述为一种有前途的抗癌剂。据报道，它与塔拉迪吉具有相似的Hh抑制 ID_{50} ，分别为2.33nM对比2.26nM。

[0041] 与塔拉迪吉和式I的化合物一样，L-4和式II的化合物构成了用于抑制Gli1活性的手段或用于抑制SMO的手段。各种实施方式特别地排除式I的化合物、式II的化合物、或式I或式II的特定亚属或种。

[0042] 本发明的化合物能够与例如多种无机酸和有机酸反应以形成药学上可接受的酸

加成盐。此类药学上可接受的盐和制备它们的常用方法是本领域中众所周知的。参见,例如,P.Stahl等人,HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL SALTS:PROPERTIES,SELECTION AND USE,(VCHA/Wiley-VCH,2002);S.M.Berge等人,"Pharmaceutical Salts,"Journal of Pharmaceutical Sciences,第66卷,第1期,1977年1月。

[0043] 可以使用药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂将本文所公开的化合物配制成药物组合物,并通过多种途径施用。在具体实施方式中,此类组合物用于口服或静脉内施用。此类药物组合物和制备它们的方法是本领域中众所周知的。参见,例如,REMINGTON:THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY(A.Gennaro等人编著,第19版,Mack Publishing Co.,1995)。

[0044] 在一些实施方式中,本文所公开的化合物可以配制成片剂,所述片剂含有50mg或100mg的化合物和以下常用药物成分:交联羧甲基纤维素钠、HPMCAS-H、甘露醇、微晶纤维素、二氧化硅和硬脂富马酸钠。一个特定的实施方式包含16.1%的塔拉迪吉、37.6%的HPMCAS-H、9.3%的甘露醇、28.6%的微晶纤维素、2.9%的交联羧甲基纤维素钠、1.0%的二氧化硅、1.2%的硬脂富马酸钠和3.4%的欧巴代(Opadry)(膜包衣)。

[0045] IPF是一种失调的伤口愈合过程,会导致进行性肺纤维化瘢痕形成。靶向刺猬因子途径是减缓、中止或逆转疾病进展的合理治疗方法。在伤口愈合过程中,Hh途径调节成纤维细胞的活化和转分化为肌成纤维细胞,所述肌成纤维细胞当失调时成为纤维化的关键驱动因素。在IPF中,肌成纤维细胞浸润肺部,在肺部处所述肌成纤维细胞产生细胞外基质蛋白,例如胶原蛋白。肌成纤维细胞粘附到细胞外基质上并像拉合伤口一样拉合肺部。肌成纤维细胞活性的结果是通过纤维化和组织重塑逐渐丧失肺功能。

[0046] 经由Smo抑制靶向Hh途径已在临床和临床前都得到验证。在临床环境中,将FDA批准的Smo抑制剂维莫德吉(被批准为Erivedge[®],用于治疗患有转移性BCC或局部晚期BCC的成人)与吡非尼酮联合在单臂IPF研究中进行评估。在六个月的治疗后,患者表现为用力肺活量(FVC)平均增加约100mL。在询问针对IPF所考虑的任何其他靶标的先前临床研究中没有发现FVC和肺活量的增加。虽然Smo抑制破坏作为IPF治疗靶标的Hh途径得到了验证,但是患者对维莫德吉耐受不良,因为严重的肌肉痉挛是导致超过40%的参与者停药的重大不良事件。这种停药率与服用维莫德吉的BCC患者的停药率相似。维莫德吉作为IPF治疗剂的所有进一步开发都已停止。

[0047] 对皮肤中Gli1 mRNA的抑制类似于对肺中Gli1 mRNA的抑制。在肺癌临床研究中,皮肤活检中的Gli1 mRNA抑制已被测量为用于肺中Gli1 mRNA抑制的替代物。非临床体内模型表明,口服施用的塔拉迪吉抑制Gli1 mRNA的动力学和量值在小鼠的皮肤和肺中非常相似。此外,小鼠皮肤和肺中的Gli1 mRNA抑制程度与在正在用临床上相关的剂量治疗的人类受试者的皮肤活检中观察到的Gli1mRNA抑制程度相似。

[0048] IPF患者样品已显示为Hh途径组分和肌成纤维细胞水平升高。几项研究检查了来自IPF患者肺样品的组织,并将它们与健康受试者的肺样品进行了比较。很明显,SHh(Hh途径的激活配体)和Gli1存在显著增加。正常肺不存在任何可检测量的SHh或Gli1,但IPF样品染色非常强烈,指示显著存在。IPF肺样品也对 α -平滑肌肌动蛋白1(α -SMA1)的染色非常强烈,所述 α -SMA1是限定肌成纤维细胞的标志物。正常健康的肺样品几乎没有或没有 α -SMA1染色。

[0049] 破坏Hh途径以抑制纤维化已在体外并在使用多种Smo抑制剂的许多动物模型中得到证实。这些动物模型具有使成纤维细胞浸润和转分化为肌成纤维细胞的类似特征,所述肌成纤维细胞然后驱动进行性纤维化。观察到抑制Smo会破坏纤维化并且在一些情况下逆转疾病。此外,已证明抑制Smo会导致经浸润的肌成纤维细胞的凋亡增加、 α -SMA1减少、Gli1和SHh减少、以及胶原蛋白减少。

[0050] 塔拉迪吉的非临床毒性发现与此类别中的经批准药物相似,与塔拉迪吉的靶效应相关联的重要潜在风险被认为是肝损伤、对生殖器官的影响、横纹肌溶解、生殖毒性和骨效应。临床或非临床上尚未观察到的塔拉迪吉的类效应包括闭经。

[0051] 在临床上,塔拉迪吉的所有剂量的平均半衰期($t_{1/2}$)估计为约16小时,从而允许每天投配一次。中值 t_{max} 为2小时。

[0052] 塔拉迪吉在已主要在晚期癌症患者中进行的6项行业赞助研究中显示出良好的安全特性。作为晚期癌症的单一疗法,最常观察到的不良事件(AE)是恶心、腹泻、味觉障碍、疲劳、食欲不振、脱发、呕吐、肌肉痉挛、便秘、体重减轻和头痛。

[0053] 药物的功效与毒性之间的关系一般用治疗窗和治疗指数来表示。治疗窗是从表现出可检测治疗效应的最低剂量直到最大耐受剂量(MTD)的剂量范围;MTD是可达到所需治疗效应而不会产生不可接受的毒性的最高剂量。最典型的治疗指数被计算为当基于动物研究时的 $LD_{50}:ED_{50}$ 比率和当基于人类研究时的 $TD_{50}:ED_{50}$ 比率(尽管这种计算也可以来源于动物研究,并且有时称为保护指数),其中 LD_{50} 、 TD_{50} 和 ED_{50} 分别是对测试群体的50%致死、有毒和有效的剂量。

[0054] 在这些实施方式的各个方面中,毒性是可观察到的毒性、显著毒性、严重毒性、或可接受的毒性、或剂量限制性毒性(例如但不限于MTD)。可观察到的毒性是指虽然观察到变化,但所述效应是可忽略或轻微的。显著毒性意指对患者的整体健康或生活质量有负面影响。在一些情况下,可以通过其他正在进行的医疗干预来减轻或解决显著毒性。严重毒性是指该效应需要紧急医疗干预和/或剂量减少或治疗暂停。毒性的可接受性将受到所治疗的特定疾病及其严重程度和是否有缓解的医疗干预的影响。

[0055] 毒性和不良事件有时根据5分制进行分级。1级或轻度毒性是无症状或仅引起轻微症状;可表征为仅临床或诊断观察结果;并且无干预指征。2级或中度毒性可能会损害日常生活活动(例如准备饭菜、购物、理财、使用电话等),但仅指示最小的、局部的或非侵入性的干预。3级毒性具有医学意义,但不会立即危及生命;指示住院或延长住院时间;与自我照顾相关的日常生活活动(例如洗澡、穿衣和脱衣、自己进食、上厕所、服药和不卧床)可能会受到损害。4级毒性会危及生命并且指示紧急干预。5级毒性会产生与不良事件相关的死亡。因此,在各种实施方式中,以本文所公开的方案或剂量使用药物与根据另一方案使用该药物相比将与治疗相关联的毒性等级降低了至少一个等级。在其他实施方式中,通过根据指定的方案或剂量使用药物,毒性被局限于在2级或更低、1级或更低,或者导致没有观察到毒性。在一些实施方式中,本文所公开的Gli1或SMO抑制剂的治疗指数大于维莫德吉的治疗指数(约0.37)。相比之下,塔拉迪吉的治疗指数为约8。在一些实施方式中,本文所公开的Gli1或SMO抑制剂的治疗指数大于1、2、3、4、5、6或7。

[0056] 本说明书的各方面部分地提供了施用有效量(或治疗有效量)的本文所公开的化合物或组合物。如本文所用,术语“有效量”与“有效剂量”同义,并且当参考治疗IPF时意指

至少本文所公开的化合物或组合物实现所需治疗效应所必需的最小剂量。考虑所有标准(例如,所使用的化合物或组合物的排泄率;所使用的化合物或组合物的药效动力学;组合物中要包含的其他化合物的性质;特定施用途径;个体的特定特性、病史和风险因素,例如年龄、体重、一般健康状况等;个体对治疗的反应;或它们的任何组合)并代表个体利用其最佳判断,尤其是根据本文所公开的示例性剂量和其他信息,本领域普通技术人员可以容易地确定本文所公开的化合物或组合物的有效剂量或量。在一些实施方式中,有效剂量为25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、350mg或400mg,或落入由前述值中的任何一对值所界定的范围内。在一些实施方式中,有效剂量每天施用一次。

[0057] 在一些实施方式中,塔拉迪吉、L-4或相关化合物的剂量以200mg/天开始。在一些实施方式中,剂量以单一日剂量提供。如果观察到3级或更高级别的AE,则逐渐减少剂量。在一些实施方式中,根据需要将剂量以50mg/天的减量递减,最低可至50mg/天以避免3级或更高级别的AE。在一些实施方式中,初始剂量(在逐渐减少之前)可以是高于被视为有效剂量的最低剂量的任何剂量。在一些实施方式中,初始剂量是有效剂量范围的上半部分。在一些实施方式中,初始剂量在有效剂量范围的顶部。例如,如果有效剂量范围为50-200mg,则初始剂量可以是>50mg(例如,75mg)、125-200mg、或200mg。在一些情况下,初始剂量在100-300mg/天的范围内。在一些情况下,剂量的递减为25mg/天、50mg/天或100mg/天。

[0058] 在一些实施方式中,有效剂量的Gli1或SMO抑制剂或用于抑制Gli1或SMO的手段导致纤维化的稳定或改善,例如在纤维化的物理程度、肺功能或本文所述的其他度量方面。在另外的实施方式中,纤维化的稳定或改善是在患者没有经历药物相关不良事件(毒性)的情况下实现的。在特定情况下,所避免的与药物相关的不良事件是3级或更高的毒性。在一些实施方式中,不存在的与药物相关的不良事件是肌肉痉挛、QT延长或肝毒性。

[0059] 多个方面是通过向有需要的患者,即患有纤维化疾病的患者施用Gli1或SMO抑制剂或用于抑制Gli1或SMO的手段来治疗纤维化的方法。在一些实施方式中,将Gli1或SMO抑制剂或用于抑制Gli1或SMO的手段用作单一疗法。在一些实施方式中,将Gli1或SMO抑制剂或用于抑制Gli1或SMO的手段与另一种抗纤维化药物联用。在一些实施方式中,其他抗纤维化药物不是Hh途径抑制剂。在一些情况下,非Hh途径抑制剂的抗纤维化药物是吡非尼酮、尼达尼布、GLPG4716或PRM-151。

[0060] 在一些实施方式中,纤维化疾病是特发性肺纤维化(IPF)。在一些实施方式中,所述纤维化疾病是感染(包括细菌或病毒感染)后肺纤维化。在大多数情况下,纤维化在长达数年的慢性感染后发展,因此无法最终证明感染在导致纤维化中的作用;因此,这种纤维化仍被归类为特发性的。Covid-19提供了对照,即纤维化的发作可能非常迅速。在一些实施方式中,肺纤维化发生在感染SARS-CoV-2之后。在一些实施方式中,纤维化疾病是硬皮病。在一些情况下,纤维化疾病是系统性硬皮病(也称为系统性硬化症),并且在另外的情况下,是涉及肺部的系统性硬皮病。在一些实施方式中,纤维化疾病是肝纤维化,例如非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis,NASH)。在一些实施方式中,纤维化疾病是肾纤维化,例如肾间质纤维化或肾同种异体移植物纤维化。在一些实施方式中,纤维化疾病是胃纤维化,例如胃粘膜纤维化、腺胃纤维化或腹膜后纤维化。在一些实施方式中,患者是人。在一些实施方式中,患者是非人类动物,例如哺乳动物。

[0061] 对于每种治疗方法,有表示为Gli1或SMO抑制剂或用于抑制Gli1或SMO的手段在纤

维化疾病治疗中的用途,或其在于用于治疗纤维化疾病的药物的制造中的用途,或用于在纤维化疾病治疗中使用的组合物或药物组合物等的并行实施方式。

[0062] 术语“治疗”等是指对患者进行医疗管理,意图是治愈、改善、稳定或预防疾病、病理状况、或疾患。该术语包括积极治疗,即专门针对改善疾病、病理状况或疾患的治疗,并且还包括病因治疗,即针对去除相关疾病、病理状况或疾患的病因的治疗。此外,该术语还包括姑息治疗,即被设计用于缓解症状而非治愈疾病、病理状况或疾患的治疗;预防性治疗,即旨在最小化或部分或完全抑制相关联的疾病、病理状况或疾患的发展的治疗;和支持性治疗,即用于补充另一种旨在改善相关联的疾病、病理状况或疾患的特定疗法的治疗。各种实施方式可以具体包括或排除这些治疗模式中的一种或多种治疗模式。

[0063] 治疗活动包括特别地根据本文所公开的各种治疗方法,无论是由医护专业人员、患者本人还是任何其他向患者施用本文所述的药物、剂型和药物组合物。治疗活动包括医护专业人员(例如医师、医师助理、执业护士等)的命令、指示和建议,所述命令、指示和建议然后由包括其他医护专业人员或患者本人在内的任何其他执行操作。这包括例如指导患者接受或指导临床实验室执行诊断程序,例如成像或肺功能评估,以便最终患者可接受有益的适当治疗。在一些实施方式中,治疗活动的命令、指示和建议方面还可以包括鼓励、诱导或强制选择特定药物或其组合来治疗病症,并且药物通过以下方式被实际使用:批准药物的保险范围、拒绝替代药物的范围,包括药物在药物处方集上,或从药物处方集中排除替代药物,或提供使用药物的财务激励,如可由保险公司或药房福利管理公司等所做的。在一些实施方式中,治疗活动还可以包括鼓励、诱导或强制选择特定的药物来治疗疾病一并且该药物实际上是按照如可由医院、诊所、健康维护组织、医疗实践或医师团体等建立的政策或实践标准使用的。所有此类命令、指示和建议都被视为以遵守指示为条件获得治疗的益处。在一些情况下,患者还会因为遵从此类命令、指示或建议而获得经济利益。在一些情况下,健康护理专业人员还会因为遵从此类命令、指示或建议而获得经济利益。

[0064] 对肺纤维化的治疗功效或益处通常通过肺功能变化来评定,例如,如通过肺活量测定法所确定的。可使用的肺活量测定法度量包括用力肺活量(FVC)、1秒钟用力呼气量(FEV_1)和肺部的一氧化碳扩散能力(DL_{CO})。可以考虑的其他肺活量测定法参数包括 FEV_1/FVC 比率、FVC观察值与FVC预测值的百分比(所预测的FVC%),以及 FEV_1 观察值与 FEV_1 预测值的百分比(所预测的 $FEV_1\%$)。由呼吸技术和生理学协会(Association for Respiratory Technology and Physiology)发布的FVC预测值(以升计)为 $5.76 \times \text{身高(以米计)} - 0.026 \times \text{年龄(以年计)} - 4.34$ 。呼吸技术和生理学协会发布的 FEV_1 预测值(以升计)为 $4.30 \times \text{身高(以米计)} - 0.029 \times \text{年龄(以年计)} - 2.49$ 。

[0065] 其他评定包括:

[0066] • 肺的外观—纤维化的定量程度(包括瘢痕形成或重塑),按百分比和/或体积计,如通过CT扫描、磁共振成像(magnetic resonance imaging,MRI)等确定的;

[0067] • 肺的外观—纤维化的定性程度:改善、相同或更差),如通过CT扫描、磁共振成像(MRI)等确定的;

[0068] • 呼吸系统住院的次数;

[0069] • 在设定的时间间隔内可以步行的距离,例如6分钟步行距离;以及

[0070] • 呼吸系统健康问卷的得分,所述呼吸系统健康问卷为例如圣乔治呼吸系统问

卷、UCSD呼吸短促问卷等。评定。

[0071] 可以定期进行肺活量测定法和其他评定,例如约每24周、每季度、每半年或每年一次。

[0072] 治疗功效或益处可被观察为疾病进展的减少、疾病的稳定化、或患者病症的改善。在一些实施方式中,进展、稳定化或改善是通过与该患者的一个或多个先前测量结果相比较来判断的。在一些实施方式中,先前测量结果是治疗开始之前的基线测量。在一些实施方式中,进展、稳定化或改善是基于与未接受治疗、接受安慰剂或替代治疗的实际或历史上的其他患者相比较来判断的。因此,在一些实施方式中,改善或稳定化是通过与未治疗的患者的预期情况相比较来判断的。例如,在此类实施方式中,瘢痕形成减少包括瘢痕形成增加小于在未治疗的患者中所预期的瘢痕形成增加。因此,肺功能的稳定化并不意味着肺功能的一种或另一种度量没有进一步下降,而是任何下降都不会超过在所考虑时间间隔内随着衰老所预期的下降。

[0073] 实施例

[0074] 以下非限制性实施例仅提供用于说明目的,以便于更完全地理解现在设想的代表性实施方式。这些实施例不应被解释为限制本说明书中描述的任何实施方式。

[0075] 实施例1

[0076] 塔拉迪吉的体外药理学

[0077] 使用体外竞争性结合测定,半数最大抑制浓度(IC_{50})和结合常数(K_i)是基于放射性配体的竞争性置换计算的。塔拉迪吉与hSMO受体结合并抑制 3H -2406189(一种已知的hSMO激动剂)与hSMO的结合, K_i 为 $76.4 \pm 75.3nM$ 并且 IC_{50} 为 $144 \pm 143nM$ ($n=4$,几何平均值 \pm 标准误差[SE])。

[0078] 为了确定塔拉迪吉在小鼠细胞中的生物活性,在用音猬因子条件培养基(sonic hedgehog conditioned media, SHh-CMs)刺激的小鼠间充质C3H10T1/2细胞系中对Gli-荧光素酶活性进行定量。塔拉迪吉盐酸盐抑制小鼠C3H10T1/2细胞中的Hh信号传导活性, IC_{50} 为 $11.2 \pm 5.33nM$ ($n=8$,几何平均值 \pm SE)。为了确定塔拉迪吉在人类细胞中的生物活性,在用SHh-CM刺激的人类Daoy肿瘤细胞系中定量Gli1转录物水平。塔拉迪吉盐酸盐抑制人Daoy细胞中的Hh信号传导活性, IC_{50} 为 $2.22 \pm 1.14nM$,如通过使用支链脱氧核糖核酸(DNA)测定技术测量Gli1 mRNA所确定的($n=8$,几何平均值 \pm SE)。

[0079] 实施例2

[0080] 塔拉迪吉的体内药理学

[0081] 为了了解PK/PD效应并指导功效研究的投配方案,在Ba1b/c替代物和PTCH^{-/+}x p53^{-/-}肿瘤模型中单次口服施用塔拉迪吉后,进行了涉及剂量反应和时程的关键PK/PD研究。在预定的投配期后,收获、处理来自Ba1b/C小鼠的替代组织(肺、皮肤和小脑)和来自Ptch^{-/+}x p53^{-/-}转基因肿瘤模型的肿瘤,并使用定量逆转录聚合酶链式反应TaqMan[®]测定评估Gli1表达水平。如表1中总结的,塔拉迪吉抑制Hh信号传导,如通过所评估的组织中的小鼠Gli1表达水平所测量的。时程研究表明,在单次口服投配8mg/kg的塔拉迪吉盐酸盐后,持续靶标抑制可维持至少24小时。鉴于平行PD效应,皮肤Gli1是肺组织Gli1的适当PD替代物。

[0082] 表1. 塔拉迪吉盐酸盐在小鼠药效动力学模型中的TED₅₀和TEC₅₀的汇总表

小鼠	肺 mGli1		皮肤 mGli1		小脑 mGli1		脑肿瘤 mGli1	
	TED ₅₀ (mg/kg)	TEC ₅₀ (ng/mL)	TED ₅₀ (mg/kg)	TEC ₅₀ (ng/mL)	TED ₅₀ (mg/kg)	TEC ₅₀ (ng/mL)	TED ₅₀ (mg/kg)	TEC ₅₀ (ng/mL)
[0083] Balb/c	2.6±0.6	264±114	1.1	84	2.2	230	-	-
PTCH Tg	-	-	-	-	-	-	1.0	63.0

[0084] 缩写:SE=标准误差;TEC50=阈值有效浓度;TED50=阈值有效剂量;Tg=转基因。

[0085] 实施例3

[0086] SMO抑制剂改善IPF患者的FVC

[0087] 对IPF治疗的各种临床试验结果进行了比较(图1)。抗炎药吡非尼酮和激酶抑制剂尼达尼布只能减缓FVC的恶化,而SMO抑制剂维莫德吉(与吡非尼酮联用)能够产生FVC的显著增加,表明了病理逆转。自分泌运动因子(autotaxin)zirtaxestat(也被称为GLPG1690)在1b期试验中导致FVC略有增加,然而由于在独立数据监测委员会(Independent Data Monitoring Committee)评定中的风险益处分布不再支持其使用,这种药物的开发在3期试验期间被放弃。ziraxestat的所有开发均已中断。由于严重的肌肉痉挛,维莫德吉用于IPF治疗的开发也被中断,但是这些数据验证了Hh抑制剂在IPF治疗中的用途。

[0088] 实施例4

[0089] 较低剂量的塔拉迪吉降低肌肉痉挛不良事件的严重程度,但维持Gli1抑制程度

[0090] 将塔拉迪吉以50mg、100mg、200mg、400mg和600mg的剂量施用于受试者。在这些剂量下,大多数患者表现出>80%的Gli1抑制,如在皮肤活检中所测量的(图2)。虽然在400mg/天时出现了一些3级毒性,但在200mg/天或100mg/天时没有出现(表2)。鉴于本研究中将最小生物有效剂量(biological effective dose,BED)定义为mGli1抑制>50%的第一剂量水平,可以得出的结论是塔拉迪吉在所有测试的剂量水平下均具有药理学活性。

[0091] 表2. 剂量—肌肉痉挛AE相关性

剂量水平 (n 名患者)	所报告的肌肉痉挛不良事件频率			
	1 级 (n 名患者)	2 级 (n 名患者)	3 级 (n 名患者)	4 级 (n 名患者)
[0092] 100 mg (24) ^T	21% (5)	0	0	0
200 mg (12) ^T	17% (2)	17% (2)	0	0
400 mg (90) ^T	17% (15)	10% (9)	4% (4)	0
150 (104) ^V	43% (45)	22% (23)	6% (7)	0

[0093] 从多项临床试验,包括与依托泊苷(etoposide)和卡铂(carboplatin)联用的1b期试验中收集的AE数据。由于功效不足,排除了少于10名患者的剂量水平。

[0094] T塔拉迪吉

[0095] V维莫德吉

[0096] 实施例5

[0097] 针对IPF治疗测试的药物的主要AE的比较

[0098] 塔拉迪吉、维莫德吉、吡非尼酮和尼达尼布都已用于临床试验,并已用于治疗IPF或针对用于治疗IPF进行了评估。除塔拉迪吉外,>20%的患者因药物相关原因而停止治疗(图3)。导致停药的主要AE是维莫德吉所致的肌肉痉挛、吡非尼酮所致的恶心和尼达尼布所致的腹泻。当剂量 $\leq 200\text{mg}/\text{天}$ 时,塔拉迪吉没有普遍的AE,并且<10%的患者因药物相关原因而停止治疗。

[0099] 实施例6

[0100] 博莱霉素诱导的肺纤维化模型中肌成纤维细胞的减少

[0101] 博莱霉素(BLM)诱导的肺纤维化模型是一种广泛用于药理学和基础研究的标准IPF模型。IPF疾病被定义为局限于肺部的进行性和不可逆的损伤。在IPF患者中,肺功能的丧失是由活化的肌成纤维细胞的浸润和扩增驱动的。使用 **Microsprayer®** 雾化器执行博莱霉素的气管内施用。通过经由 **Microsprayer®** 雾化器施用博莱霉素,博莱霉素可以均匀地暴露于肺部并由此形成可再现和均匀的病理学。在这种模型中,当进行抗 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)抗体染色时,通过免疫组织化学观察到了肌成纤维细胞的存在。

[0102] 将动物暴露于博莱霉素,然后在第7天出现纤维化时用塔拉迪吉治疗。在研究的第21天检查动物的病理学。每天口服施用 $5\text{mg}/\text{kg}$ 的塔拉迪吉进行治疗导致 α -SMA蛋白表达减少约40%,表明肌成纤维细胞的减少(图4A至图4B)。

[0103] 实施例7

[0104] 评估塔拉迪吉在患有IPF的受试者中的安全性和功效的2期多中心研究

[0105] 将基于美国胸科学会(American Thoracic Association)、日本呼吸学会(Japanese Respiratory Society)、欧洲呼吸学会(European Respiratory Society)、拉丁美洲胸科学会指南(Latin American Thoracic Association guidelines)诊断为IPF并经高分辨率计算机断层扫描(HRCT)确认的预测FVC百分比>50%并且预测DLCO百分比在35%与85%之间的患者随机分配到塔拉迪吉组和安慰剂组中。获得来自肺功能测试(FVC、FEV₁和DL_{CO})、HRCT和UCSD呼吸短促(SOB)问卷的基线结果。以 $200\text{mg}/\text{天}$ 开始,每天施用塔拉迪吉持续12周。在预先安排的治疗完成后,对患者再观察6周。如果经历与药物相关的不良事件,则可将剂量减少至 $100\text{mg}/\text{天}$ 。在研究的第6周、第12周和第18周再次进行肺功能测试和UCSD SOB问卷。在第12周时重复HRCT。在第6周、第12周和第18周时,通过相对于基线的变化来评估FVC、FEV₁、FEV₁/FVC比率、预测的FVC%、预测的FEV₁%和DL_{CO}以及UCSD SOB问卷方面的功效。将在筛选时和第12周时执行通过HRCT对肺纤维化进行定量(%和mL)和定性(改善、相同、更差)评定。筛选时的HRCT将充当研究HRCT评定的基线。在第12周时,没有观察到或观察到了有限的剂量限制性毒性。在第12周时,一些功效终点表明稳定化或改善。在第18周时,观察反应的持久性。患者没有经历严重的药物相关不良事件(如果有的话,则在充分的剂量逐渐减少后),包括没有出现肌肉痉挛。

[0106] 实施例8

[0107] Covid-19疗法临床试验

[0108] 通过CT扫描显示出肺纤维化的SARS-CoV-2感染康复患者被随机化以用治疗标准或塔拉迪吉单一疗法进行治疗。以200mg开始每天施用塔拉迪吉。如果经历与药物相关的不良事件,则可将剂量以100mg为步幅减少,以减少或消除不良事件。收集药代动力学数据。主要功效终点是24周时FVC相对于基线的变化。次要功效终点是肺纤维化相对于基线CT扫描的变化、6分钟步行距离相对于基线的变化、裁定呼吸系统住院的次数以及圣乔治呼吸问卷相对于基线的变化。在第24周时,一些功效终点表明稳定化或改善。患者没有经历严重的药物相关不良事件(如果有的话,则在充分的剂量逐渐减少后),包括没有出现肌肉痉挛。

[0109] 最后,应理解,尽管通过参考具体实施方式突出了本说明书的各方面,但本领域技术人员将容易理解,这些公开的实施方式仅说明本文公开的主题的原理。因此,应理解,所公开的主题绝不限于本文所述的特定方法、方案和/或试剂等。如此,在不脱离本说明书的精神的情况下,可以根据本文的教导对所公开的主题进行各种修改或改变或替代配置。最后,在此使用的术语仅用于描述特定实施方式的目的,并不意图限制本发明的范围,本发明的范围仅由权利要求限定。因此,本发明不限于精确地如所示和所述的那些。

[0110] 本文描述了本发明的某些实施方式,包括本发明人己知的用于实现本发明的最佳方式。当然,对于本领域普通技术人员来说,在阅读前面的描述后,这些描述的实施方式的变型将变得显而易见。本发明人希望技术人员适当地采用此类变型,并且本发明人希望以不同于本文具体描述的方式实践本发明。因此,本发明包括适用法律所允许的本文所附权利要求中所述主题的所有修改和等同物。此外,除非本文另有说明或明显与上下文相矛盾,否则本发明涵盖上述实施方式的所有可能变型的任何组合。

[0111] 本发明的替代实施方式、要素或步骤的分组不应被解释为限制。每个组成员可以单独地或与本文公开的其他组成员任意组合地被提及和要求保护。预期组中的一个或多个成员可以出于方便和/或可专利性的原因而被包括在组中或从组中删除。当发生任何此类包括或删除时,本说明书被视为包含经修改的组,从而满足对所附权利要求书中使用的所有马库什组的书面描述。

[0112] 除非另有说明,否则在本说明书和权利要求中使用的表示特征、项目、数量、参数、性质、术语等的所有数字应理解为在所有情况下均由术语“约”修饰。如本文所用,术语“约”是指如此限定的特征、项目、数量、参数、性质或期限包括高于和低于所述特征、项目、数量、参数、性质或期限的值的 $\pm 10\%$ 的范围。因此,除非有相反的指示,否则说明书和所附权利要求书中列出的数值参数是可以变化的近似值。无论如何并非试图限制权利要求书范围的等同物的原则的应用,每个数值指示应至少根据报告的有效位的数量并通过应用普通的舍入技术来解释。尽管阐述本发明广泛范围的数值范围和数值是近似值,但具体实施例中列出的数值范围和值尽可能精确地报告。然而,任何数值范围或值固有地含有必然由其各自相应的测试测量中存在的标准偏差引起的某些误差。本文中对数值范围的描述仅旨在用作引用落入该范围的每个单独数值的速记方法。除非本文另有说明,否则数值范围的每个单独的值被并入本说明书中,如同在本文中被单独引用一样。

[0113] 除非在此另外指明或者明显与上下文相矛盾,否则在描述本发明的上下文中(尤其是在以下权利要求的上下文中)使用的术语“一”、“一个(种)”、“该”以及类似的指示词应被解释为涵盖单数和复数两者。除非本文另有说明或明显与上下文相矛盾,否则本文所述

的所有方法均可以任何合适的顺序进行。本文提供的任何和所有示例、或例示性语言(例如“例如”)的使用仅旨在更好地说明本发明,而不是对要求保护的本发明的范围构成限制。本说明书中的任何语言都不应被解释为表示任何不要求保护的要素对于本发明的实践为必不可少的。

[0114] 本文公开的具体实施方式可以在权利要求中使用由……组成或基本上由……组成的语言来进一步限制。当在权利要求中使用时,无论是原始提交还是按照修正添加,过渡术语“由…组成”不包括权利要求中未指定的任何要素、步骤或成分。过渡术语“基本上由……组成”将权利要求的范围限制于指定的材料或步骤,以及不会对基本和新颖特征产生实质性影响的那些材料或步骤。如此要求保护的本发明的实施方式在本文中被固有地或明确地描述和实现。

[0115] 本说明书中引用和标识的所有专利、专利出版物和其他出版物均单独和明确地以引用方式整体并入本文,以用于描述和公开例如可以与本发明结合使用的此类出版物中描述的组合物和方法的目的。提供这些出版物仅仅是因为它们在本申请的提交日之前的公开内容。在这方面的任何内容都不应被解释为承认发明人无权凭借在先发明或任何其他原因而先于此类公开。关于这些文献的日期或内容的陈述都是以申请人可获得的信息为基础,申请人并不能保证所有这些文献的日期或内容的正确性。

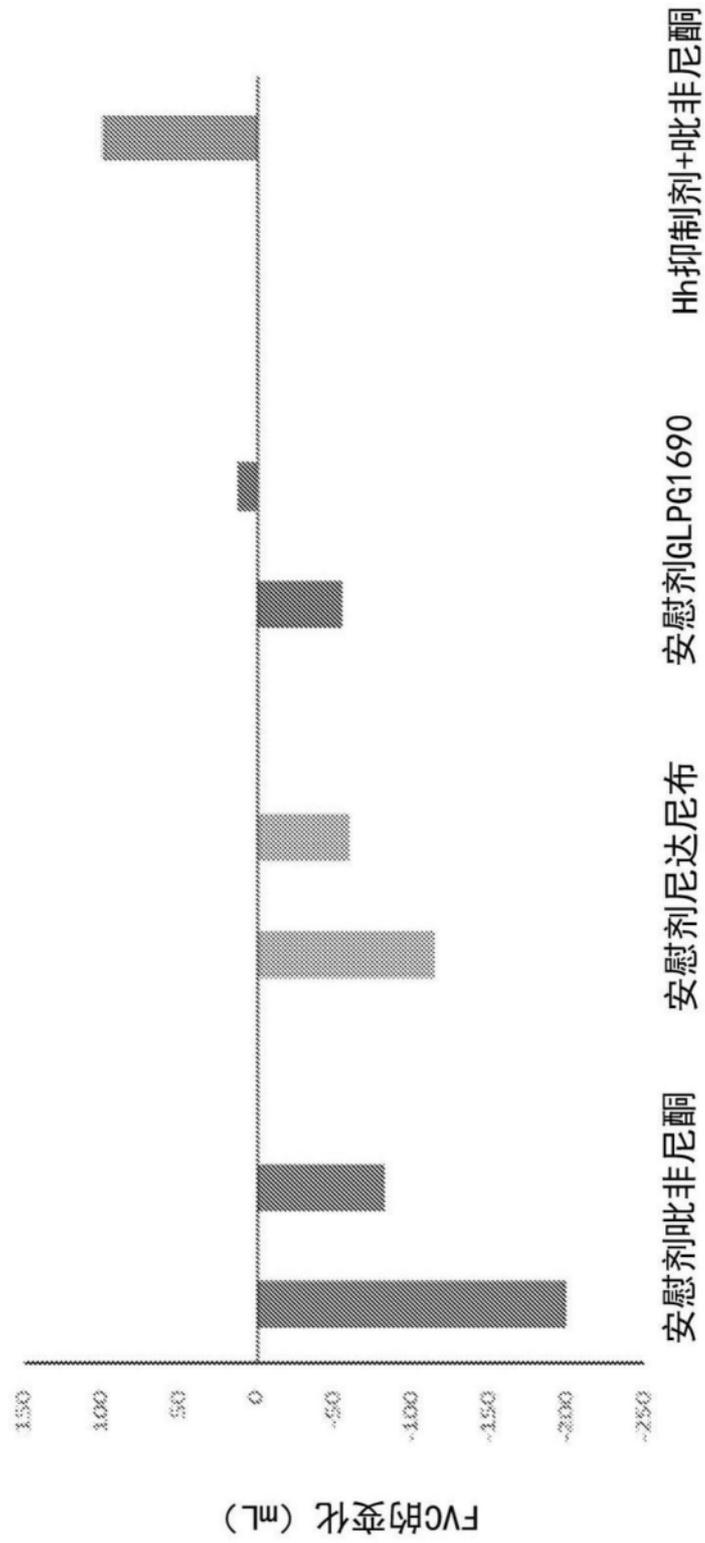


图1

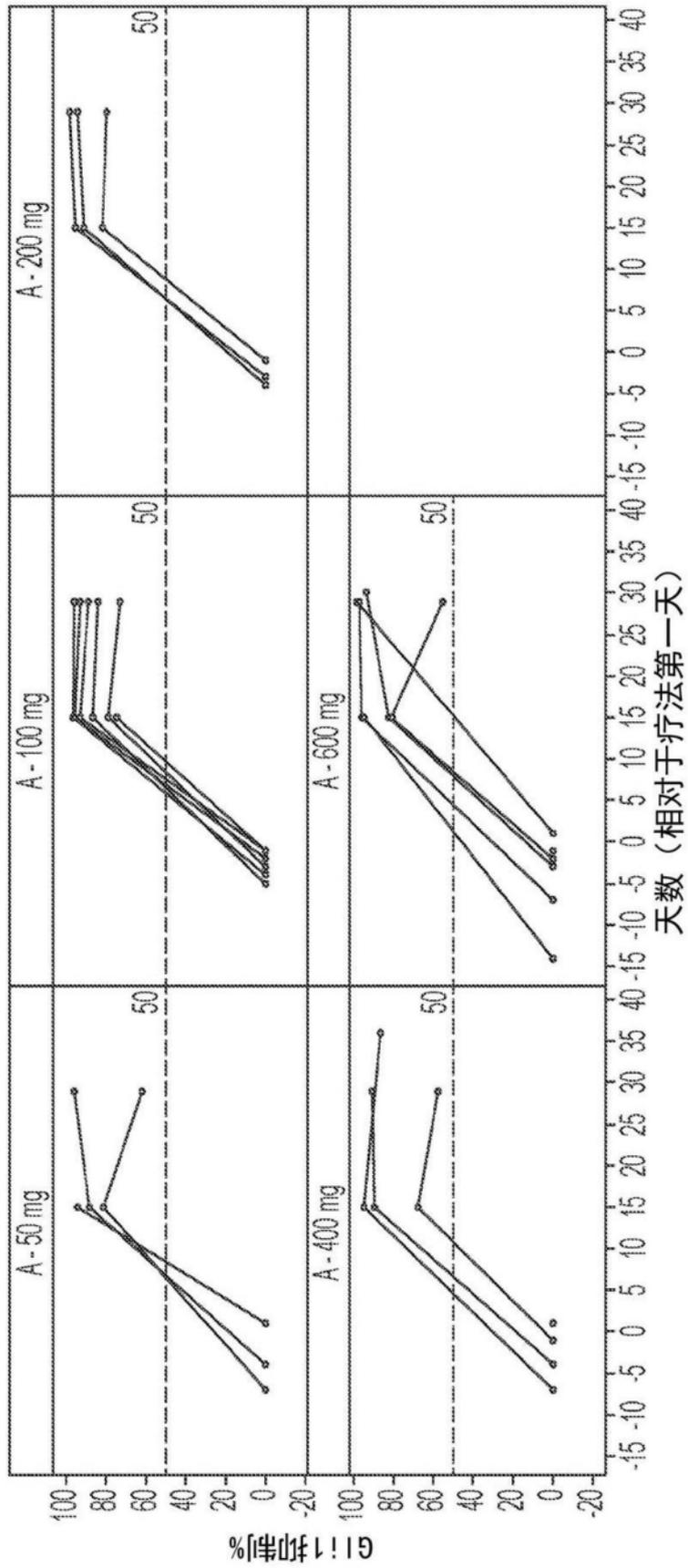


图2

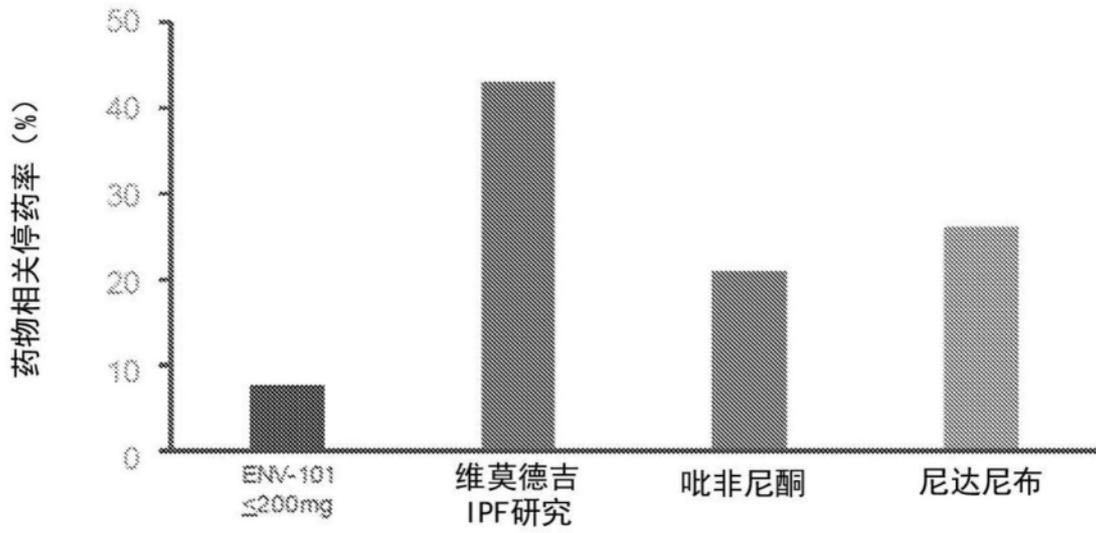


图3

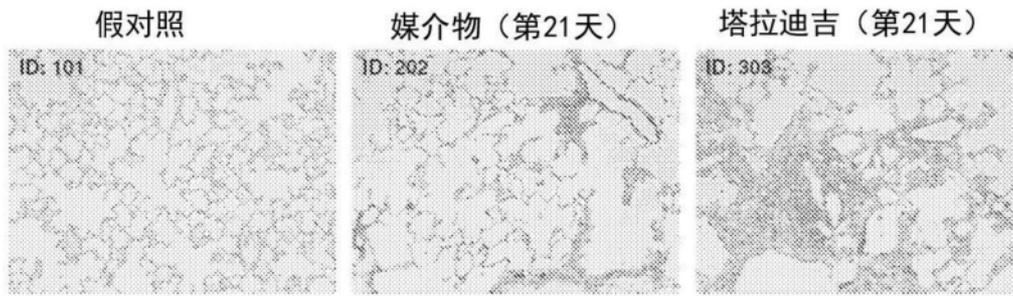


图4A

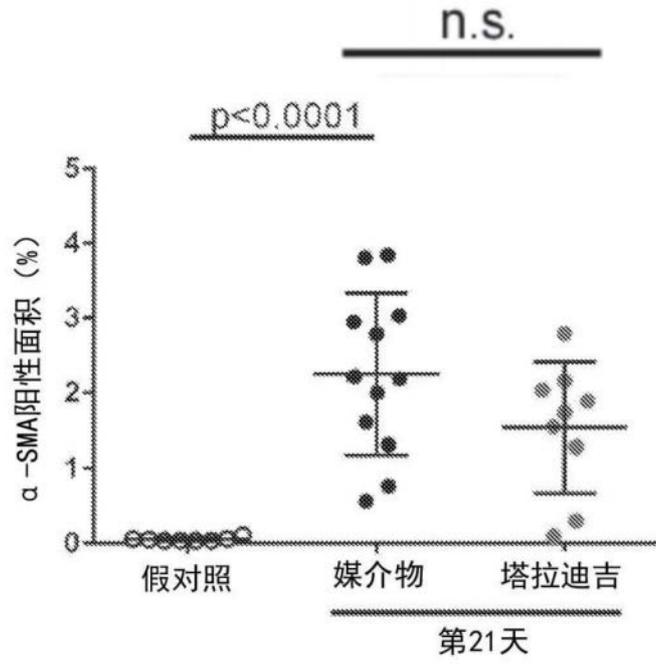


图4B