

一种 PDE4B 抑制剂化合物的口服药物组合物及其制备方法

技术领域

本发明涉及化药技术领域，具体涉及一种 PDE4B 抑制剂化合物的口服药物组合物及它的制备方法。

背景技术

特发性肺纤维化（IPF）是一种慢性、进行性、纤维化性间质性肺疾病，病变局限在肺脏，好发于中老年人群，其肺组织学和/或胸部高分辨率 CT（HRCT）特征性表现为普通型间质性肺炎（UIP），病因不清。按病程有急性、亚急性和慢性之分，本病多为散发，据统计，每年整体人群中的患病率约（2~29）/10 万，且呈逐渐增长趋势，估计以每年 11%的比例增长。在美国特发性肺纤维化患者大约有 100000 人，欧盟地区大约有 110000 人，而且每年欧盟地区新增 IPF 患者 35000 人。日本每年整体人群中的 IPF 患病率约（2.23~10）/10 万，实际值远高于这个数目。我国作为一个老龄化严重的国家，IPF 患病人数也是逐年增加，保守估计至少在 50 万左右。作为一种慢性间质性肺病，IPF 起病隐匿、病情逐渐加重，也可表现为急性加重。IPF 诊断后的平均生存期仅 2.8 年，死亡率高于大多数肿瘤，IPF 被称为一种“类肿瘤疾病”。

目前的治疗手段有限。习惯上采用糖皮质激素或联合细胞毒药物治疗，其使用剂量和疗程视患者的具体病情而定。目前推荐的治疗方案是糖皮质激素联合环磷酰胺或硫唑嘌呤。其他治疗药物包括 N-乙酰半胱氨酸、 γ -干扰素和吡非尼酮（pirfenidone, TNF- α 抑制剂）、秋水仙碱、青霉胺等。这些药物的临床疗效尚有待进一步论证。本技术方案提供一种磷酸二酯酶(PDEs) 抑制剂化合物的口服药物组合物及其制备方法，只在治疗特发性肺纤维化（IPF）等相关疾病。

磷酸二酯酶(PDEs)是一系列水解环磷酸腺苷(cAMP)与环磷酸鸟苷(cGMP)的水解酶，是调节 cAMP 和 cGMP 水平的重要环节。PDEs 分成三类：第一类特异性水解 cAMP，包括 PDE4、PDE7 和 PDE8；第二类特异性水解 cGMP，包括 PDE5、PDE6 和 PDE9；第三类能够水解 cAMP 和 cGMP，包括 PDE1、PDE2、PDE3、PDE10 和 PDE11。

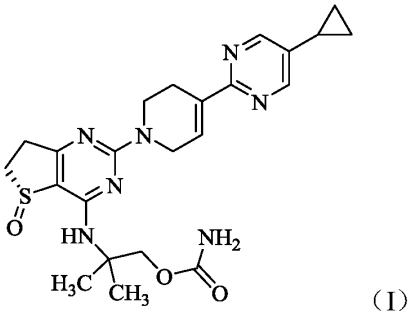
PDE4 广泛表达于各种组织内，PDE4 酶通常分为四种亚型（PDE4A，PDE4B，

PDE4C, PDE4D), 其作用包括调节脑功能、调节单核细胞及巨噬细胞功能、血管平滑肌细胞增殖等; PDE4 虽然在大部分的细胞中都有表达, 但在免疫细胞中, 催化 cAMP 水解却主要依赖 PDE4。因此 PDE4 抑制剂可能用于治疗多种炎症性疾病, 包括银屑病、神经炎症、慢性阻塞性肺病 (COPD)、哮喘、强直性脊柱炎 (AS)、炎症性肠病 (IBD)、特应性皮炎、类风湿关节炎 (RA)、系统性红斑狼疮 (SLE) 等。

本发明涉及药物制剂领域, 具体涉及一种小分子磷酸二酯酶(PDEs) 抑制剂化合物(I)的口服药物组合物, 本发明还涉及制备所述药物组合物的制备方法, 和所述药物组合物在治疗磷酸二酯酶(PDEs)受体相关的疾病或病况的药物中的用途。所述制剂技术采取了特定增溶技术、组合物和制备方法, 从而获得具有较高生物利用度、含量均匀性好、稳定性好、可工业化生产的制剂, 旨在治疗特发性肺纤维化等相关疾病, 丰富了目前该疾病领域的治疗手段。

发明内容

本发明提供一种口服药物组合物, 其包括:
活性成分, 所述活性成分为式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐,



其中, 所述活性成分在药物组合物中的质量百分含量为 0.1%-10%, 优选为 0.5%-6.5%。

在一些实施方案中, 所述组合物还包含填充剂、崩解剂、粘合剂、润滑剂中的至少一种。

在一些实施方案中, 所述组合物还进一步包含助流剂。

在一些实施方案中, 所述填充剂选自乳糖、微晶纤维素、甘露醇、淀粉、蔗糖、糊精、磷酸氢钙、硫酸钙、碳酸钙中的至少一种。

在一些实施方案中, 所述崩解剂选自交联羧甲基纤维素钠、交联聚维酮、羧甲淀粉

粉钠、低取代羟丙纤维素中的至少一种。

在一些实施方案中，所述粘合剂选自羟丙基纤维素、羟丙甲纤维素、共聚维酮、聚维酮、乙基纤维素、甲基纤维素中的至少一种。

5 在一些实施方案中，所述润滑剂选自硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂富马酸钠、山嵛酸甘油酯中的至少一种。

在一些实施方案中，所述助流剂选自二氧化硅、滑石粉、微粉硅胶中的至少一种。

在一些实施方案中，所述崩解剂在药物组合物中的质量百分含量为 1%-15%，优选为 2%-5%。

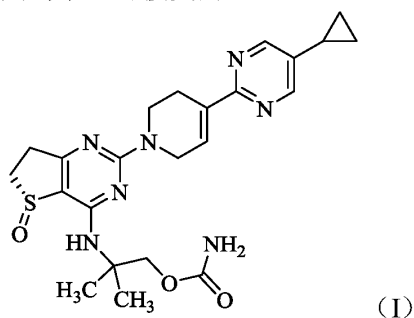
10 在一些实施方案中，所述粘合剂在药物组合物中的质量百分含量为 1%-20%，优选为 2%-5%。

在一些实施方案中，所述润滑剂在药物组合物中的质量百分含量为 0.5%-3%。

在一些实施方案中，所述助流剂在药物组合物中的质量百分含量为 0%-5%，优选为 0%-1%。

本发明提供一种口服药物组合物，其包括：

15 a) 式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐，



以及

增溶剂和/或酸性调节剂。

20 在一些实施方案中，所述增溶剂选自离子型表面活性剂、非离子型表面活性剂或其组合，所述非离子型表面活性剂不包括聚乙二醇-15-羟基硬脂酸酯。

在一些实施方案中，所述离子型表面活性剂选自硫酸化蓖麻油、十二烷基硫酸钠、十六烷基硫酸钠、十八烷基硫酸钠。

在一些实施方案中，所述非离子型表面活性剂选自司盘类（司盘 20、司盘 40、司盘 60 等）、吐温类（吐温 60、吐温 80 等）、卖泽类（卖泽 40、卖泽 45 等）、苯

泽类（苜蓿 35 等）和泊洛沙姆（泊洛沙姆 188、泊洛沙姆 407 等）。

在一些实施方案中，所述增溶剂选自十六烷基硫酸钠、十二烷基硫酸钠、泊洛沙姆 188、吐温 80、司盘 60 中的至少一种。

5 在一些实施方案中，所述酸性调节剂选自枸橼酸、富马酸、柠檬酸、琥珀酸、山梨酸、乙二酸、抗坏血酸中的至少一种。

在一些实施方案中，所述酸性调节剂选自枸橼酸、富马酸、琥珀酸、山梨酸、乙二酸、抗坏血酸中的至少一种。

在一些实施方案中，所述组合物还包含填充剂、崩解剂、粘合剂、润滑剂。

10 在一些实施方案中，所述填充剂选自乳糖、微晶纤维素、甘露醇、淀粉、蔗糖、糊精、磷酸氢钙、硫酸钙、碳酸钙中的至少一种。

在一些实施方案中，所述崩解剂选自交联羧甲基纤维素钠、交联聚维酮、羧甲基淀粉钠、低取代羟丙纤维素中的至少一种。

在一些实施方案中，所述粘合剂选自羟丙基纤维素、羟丙甲纤维素、共聚维酮、聚维酮、乙基纤维素、甲基纤维素中的至少一种。

15 在一些实施方案中，所述润滑剂选自硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂富马酸钠、山嵛酸甘油酯中的至少一种。

在一些实施方案中，所述组合物还进一步包含助流剂，所述助流剂选自二氧化硅、滑石粉、微粉硅胶中的至少一种。

20 在一些实施方案中，所述式（I）化合物在药物组合物中的质量百分含量为 0.1%-10%，优选为 0.5%-7%。

在一些实施方案中，所述式（I）化合物在药物组合物中的质量百分含量为 0.1%-10%，优选为 0.5%-6.5%。

在一些实施方案中，所述增溶剂与式（I）化合物的质量比为 1:1~50:1，优选为 1:1~20:1。

25 在一些实施方案中，所述酸性调节剂在药物组合物中的质量百分含量为 1%-20%。

在一些实施方案中，所述崩解剂在药物组合物中的质量百分含量为 1%-15%，优选为 2%-5%。

在一些实施方案中，所述粘合剂在药物组合物中的质量百分含量为 1%-20%，优

选为 2%-5%。

在一些实施方案中，所述润滑剂在药物组合物中的质量百分含量为 0.5%-3%。

在一些实施方案中，所述助流剂在药物组合物中的质量百分含量为 0%-5%，优选为 0%-1%。

5 在一些实施方案中，将所述口服药物组合物制成药物制剂。

在一些实施方案中，其单位制剂中式 (I) 化合物的量为 0.1mg~100mg。

在一些实施方案中，其单位制剂中式 (I) 化合物的量选自 0.5mg、1mg、2mg、4mg、8mg 或 10mg，优选自 0.5mg 或 4mg。

在一些实施方案中，所述制剂选自片剂、胶囊、颗粒剂或分散片。

10 在一些实施方案中，所述制剂为片剂，所述片剂的制备方法包括如下步骤：

(1) 将式 (I) 化合物与辅料混合均匀；

(2) 压片，即得。

在一些实施方案中，所述片剂的制备方法包括如下步骤：

(1) 称量：按照处方用量称取制粒用原辅料。

15 (2) 混合：取部分辅料与原料先手动，再将剩余辅料置于制粒机中，空白辅料混合 2min，再加入原料先搅拌混合 2min，再开启剪切混合 3min。

(3) 制粒：同时开启搅拌和剪切，加入润湿剂适量，制粒 2min 后取出。

(4) 湿整粒：采用 20 目筛网进行湿整粒。

(5) 干燥：在 60℃烘箱中干燥 1-3h 后取出。

20 (6) 干整粒：采用 24 目筛网进行干整粒。

(7) 总混：称取二氧化硅和硬脂酸镁，一次加入干颗粒中混合均匀，取出即可。

(8) 压片：控制压片参数，使片重为约 60mg 或约 70mg，使药片硬度大于 25N。

本发明可选主体工艺包括：湿法制粒、干法制粒和粉末直压。

本发明工艺特点：

25 (1) 采用特定的混合工艺，对低剂量药物进行混合，避免了低剂量药物含量均匀性问题。

(2) 原料经过预处理（微粉化）。

(3) 工艺制备过程：原料微粉化-原辅料混合-湿法制粒-干燥-整粒-总混-压片。

本发明提供的 PDE4B 抑制剂化合物口服药物组合物具有生物利用度高、含量均

匀度好、稳定性好、易于工业化等优势特点。

本发明溶解度实验方法：以纯化水为介质，用不同增溶剂配置不同浓度的介质，加入过量 API，使肉眼可见沉淀，超声 10min，制样，HPLC 法检测浓度。

本发明溶出曲线检测方法：浆法，900ml 溶出介质，转速 50rpm，温度 37.5℃，

5 HPLC 法检测溶出度。取样时间点：5/10/15/20/30/45/60min。

具体实施方式

以下结合实施例说明本发明要解决的技术问题、技术方案及有益效果。应当理解，此处所描述的具体实施例仅用于解释本发明，并不用于限定本发明。

实施例 1

10 考察原料药在不同浓度增溶剂溶液中的溶解度，分别考察了十二烷基硫酸钠（SDS）、富马酸和柠檬酸。

溶解度试验结果				
批号	辅料	浓度	溶解度 mg/ml	提高倍数
Y1	SDS	0.5%	0.307	34.1
Y2		1.0%	0.451	50.1
Y3	富马酸	5%	0.217	24.1
Y4		10%	0.246	27.3
Y5	柠檬酸	5%	0.454	50.4
Y6		10%	0.479	53.2
Y7	纯化水	/	0.009	1.0

选择富马酸作为增溶剂，制备样品，考察富马酸用量对制剂的影响。

	处方 1			处方 2		
原辅料	mg/片	比例/%	70 片/g	mg/片	比例/%	70 片/g
式 (I) 化合物	4.00	5.71	0.280	4.00	5.71	0.280
甘露醇	47.60	68.00	3.332	44.10	63.00	3.087
微晶纤维素	10.00	14.29	0.700	10.00	14.29	0.700
富马酸	3.50	5.00	0.245	7.00	10.00	0.490
交联聚维酮	2.10	3.00	0.147	2.10	3.00	0.147

羟丙纤维素	2.10	3.00	0.147	2.10	3.00	0.147
硬脂酸镁	0.70	1.00	0.049	0.70	1.00	0.049
合计	70.00	100.00	4.90	70.00	100.00	4.90

选择十二烷基硫酸钠作为增溶剂，制备样品，考察其用量对制剂的影响。

	处方 3			处方 4			处方 5（未加增溶剂）		
原辅料	mg/片	比例/%	70 片/g	mg/片	比例/%	70 片/g	mg/片	比例/%	70 片/g
API	4.00	5.71	0.280	4.00	5.71	0.280	4.00	6.67	0.280
甘露醇	41.10	58.71	2.877	31.10	44.43	2.177	39.8	66.33	2.786
微晶纤维素	10.00	14.29	0.700	10.00	14.29	0.700	10.8	18	0.756
十二烷基硫酸钠	10.00	14.29	0.700	20.00	28.57	1.400	0	0	0
交联聚维酮	2.10	3.00	0.147	2.10	3.00	0.147	3.0	5.00	0.21
羟丙纤维素	2.10	3.00	0.147	2.10	3.00	0.147	1.80	3.00	0.126
硬脂酸镁	0.70	1.00	0.049	0.70	1.00	0.049	0.60	1.00	0.042
合计	70.00	100.00	4.90	70.00	100.00	4.90	60.00	100.00	4.20

处方 1-处方 5 溶出曲线数据

	处方 1		处方 2		处方 3		处方 4		处方 5	
时间	溶出度	RAD/%	溶出度	RAD/%	溶出度	RAD/%	溶出度	RAD/%	溶出度	RAD/%
5	37.4	-12.1	68.7	-1.8	56.2	-0.6	64.9	0.5	28.0	-2.4
10	68.7	-7.9	80.6	1.0	83.3	-5.0	77.3	1.5	43.0	-1.5
15	84.4	-5.2	85.2	1.4	93.5	-2.4	84.5	3.0	51.0	-0.9
20	87.2	-3.2	86.0	0.0	92.5	-4.5	86.6	4.0	55.1	-1.3
30	89.2	-1.7	87.0	1.3	93.3	-3.1	90.9	1.5	59.9	-2.5
45	90.8	-2.2	87.9	1.2	96.9	-0.9	91.5	2.7	65.6	0.4
60	88.4	-4.8	90.2	2.2	96.5	-3.2	92.1	1.7	66.3	-1.6

结论：增溶剂十二烷基硫酸钠和酸性调节剂富马酸对制剂溶出曲线有显著改善，大大提高了制剂的溶出度，富马酸用量越大，其溶出度越大；十二烷基硫酸钠用量在

5 2.5:1-5:1 范围内，均有较好的溶出度。

实施例 2 犬体内药代研究

处方信息：

胶囊	处方 6		处方 7		处方 8	
原辅料	mg/片	比例/%	mg/片	比例/%	mg/片	比例/%
API	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
甘露醇 160C	96.00	96.00	56.00	56.00	16.00	16.00
SDS	0.00	0.00	40.00	40.00	80.00	80.00
合计	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

	处方 9		处方 10		处方 11		处方 12	
原辅料	mg/片	比例/%	mg/片	比例/%	mg/片	比例/%	mg/片	比例/%
式 (I) 化合物	4.00	5.95	4.00	5.60	4.00	5.60	4.00	3.59
甘露醇 160C	20.00	29.76	31.10	43.56	41.10	57.56	71.10	63.82
微晶纤维素 PH101	19.00	28.27	10.00	14.01	10.00	14.01	10.00	8.98
十二烷基硫酸钠	20.00	29.76	20.00	28.01	10.00	14.01	20.00	17.95
交联羧甲基纤维素钠	0.00	0.00	2.10	2.94	2.10	2.94	2.10	1.89
羟丙甲纤维素 E5	3.50	5.21	3.50	4.90	3.50	4.90	3.50	3.14
硬脂酸镁	0.70	1.04	0.70	0.98	0.70	0.98	0.70	0.63
合计	67.20	100.00	71.40	100.00	71.40	100.00	111.40	100.00

犬体内 PK 试验数据

PO PK-4mg/只	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-48h} (h·ng·mL ⁻¹)	T _{1/2} (h)	T _{max} (h)	F%
处方 9	130±26.5	1075±131	9.57±0.79	2.67±1.2	49.8±4.0
处方 10	72.4±19.4	565±213	9.78±3.0	3.33±1.2	23.8±8.9
处方 11	146±10.7	873±190	7.28±1.2	1.67±0.58	41.1±8.9
处方 12	139±38.0	880±161	8.55±1.5	1.17±0.76	38.9±7.1
处方 6	89.8±22.1	645±109	7.86±2.7	1.33±0.58	26.2±4.0
处方 7	196±8.33	1074±76	7.32±6.2	1.67±0.58	42.5±0.28
处方 8	150±26.3	1021±171	16.2±8.1	3.33±1.2	39.7±6.6

处方 9：原料:十二烷基硫酸钠=1:5，崩解时间 30min

处方 10：原料:十二烷基硫酸钠=1:5，原料药未粉碎，崩解时间 16-18min

处方 11: 原料:十二烷基硫酸钠=1:2.5, 崩解时间 16-17min

处方 12: 原料:十二烷基硫酸钠=1:5, 崩解时间小于 15min

处方 6: 无十二烷基硫酸钠, 原料直接装胶囊

处方 7: 原料:十二烷基硫酸钠=1:10

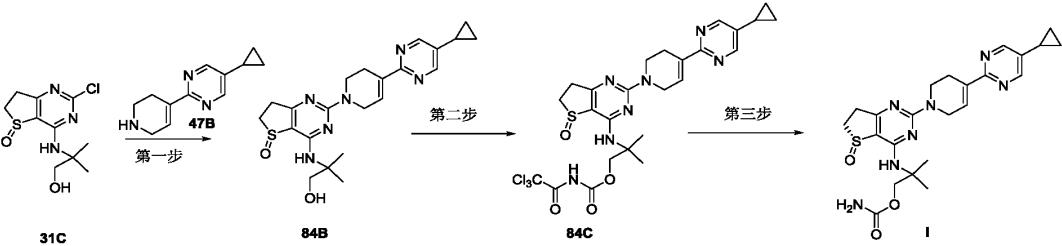
5 处方 8: 原料:十二烷基硫酸钠=1:20

注: 未特殊标注的原料药均为经过气流粉碎处理后的原料。

犬体内 PK 试验数据分析:

- (1) 原料药未经微粉化处理的处方, 其犬体内生物利用度最低;
- (2) 崩解时间最快的处方 12, 其犬体内生物利用度并非最好;
- 10 (3) 未添加崩解剂的处方 9, 其崩解时间较长, 但其犬体内生物利用度最好;
- (4) 十二烷基硫酸钠对犬体内生物利用度有显著提升, 其用量在原料:
SDS=1:2.5-1:20 范围内, 均能有效提高生物利用度。

实施例 3: 式(I)化合物的制备



15 第一步: 将化合物 **31C**(1.0 g, 3.63 mmol) 溶于 1, 4-二氧六环 (30 mL) 中, 加入化合物 **47B** (880 mg, 4.36 mmol)和 N, N-二异丙基乙胺(1.40g, 10.86 mmol), 氮气保护下 90℃搅拌过夜。反应完全后, 反应液浓缩, 硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇(v/v)=95/5) 得到化合物 **84B** (1.6 g, 94 %)。

20 LC-MS (ESI): m/z = 441.6 [M+H]⁺

第二步:将化合物 **84B** (1.6 g, 3.63 mmol) 溶于二氯甲烷 (5 mL)中, 冰浴下加入三氯乙酰异氰酸酯 (820 mg, 4.36 mmol), 冰浴下搅拌一小时。反应液浓缩得到化合物 **84C** (2.28 g, 100%)。

25 第三步: 将化合物 **84C** (2.28 g, 3.63 mmol) 溶于甲醇 (20 mL), 冰浴下加入碳酸钾(1.51 g, 10.89 mmol)和水 (20 mL), 室温搅拌 2.5 小时。反应液加水稀释, 二氯甲烷萃取, 合并有机相, 干燥、过滤、浓缩, SFC 手性拆分得到化合物 (I) (1.3 g, 74%)。

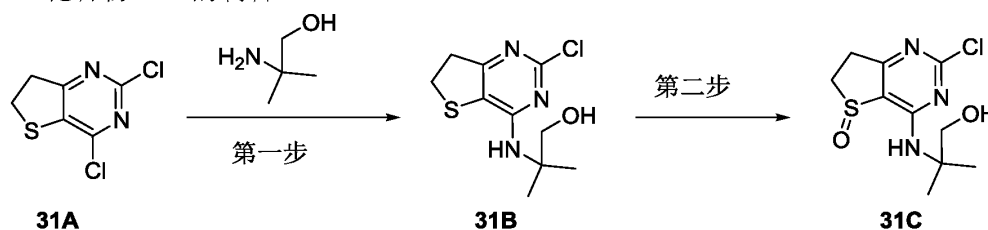
制备方法: 仪器: Waters 150 Prep-SFC E, 柱: Chiralcel OX column (250mm×30mm, 10 μ m), 流动相: (A 相: CO₂, B 相: EtOH (0.1%NH₃•H₂O)); 梯度: 50% 流动相 B 等度洗脱; 流速: 100 mL/min, 背压: 100bar 柱温: 25℃ 波长: 220 nm 循环时间: 7.0min 样品制备: 样品浓度 10 mg/ml, 乙腈溶液 进样: 每次 8 ml. 保留时间: 1.499 分钟。

- 5 分离后, 馏分经旋转蒸发仪在 35℃ 水浴中干燥馏分得到产物。用冻干机在 -80℃ 下干燥溶剂, 得到终产物式 (I) 化合物。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.54 (s, 2H), 7.19 (d, 1H), 6.70 – 6.40 (m, 3H), 4.46 (s, 2H), 4.30 (s, 2H), 4.00 (t, 2H), 3.48 – 3.38 (m, 1H), 3.28 – 3.23 (m, 1H), 3.01 – 2.92 (m, 1H), 2.92 – 2.82 (m, 1H), 2.67 (s, 2H), 1.98 – 1.88 (m, 1H), 1.46 (d, 6H), 1.10 – 10 0.96 (m, 2H), 0.91 – 0.77 (m, 2H).

LC-MS (ESI): m/z = 484.2 [M+H]⁺

化合物 31C 的制备:



- 第一步: 将化合物 **31A** (2.0 g, 9.64 mmol) 溶于乙腈 (20 mL) 中, 再加入 2-氨基-2-甲基丙烷-1-醇 (950.0 mg, 10.64 mmol) 和三乙胺 (2.93 g, 28.92 mmol), 加热至 70 °C 反应 14 h 后, 浓缩, 柱层析 (石油醚 / 乙酸乙酯 = 1 / 1) 得到化合物 **31B** (600 mg, 24%)。

LC-MS (ESI): m/z = 260.1 [M+1]⁺

- 第二步: 将化合物 **31B** (600.0 mg, 2.31 mmol) 溶于二氯甲烷 (10 mL) 中, 加入间氯过氧苯甲酸 (600.0 mg, 3.49 mmol), 搅拌 16 小时。饱和硫代硫酸钠水溶液淬灭, 水相用二氯甲烷萃取, 干燥浓缩, 柱层析 (二氯甲烷 / 甲醇 = 10 / 1) 得到化合物 **31C** (632.0 mg, 99%)。

LC-MS (ESI): m/z = 276.1 [M+H]⁺

- 第三步: 将化合物 **31C** (632.0 mg, 2.29 mmol) 溶于 1,4-二氧六环 (10.0 mL) 中, 再加入化合物 **9D** (540.0 mg, 2.75 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (890 mg, 6.87 mmol), 加热至 90℃ 反应 12 h 后, 冷至室温, 浓缩, 柱层析 (二氯甲烷 / 甲醇 = 10 / 1) 得到化合物 **31** (440.0 mg, 44%)。

LC-MS (ESI): $m/z = 435.1 [M+H]^+$

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.90 (s, 2H), 7.38 – 7.16 (m, 1H), 6.23 (s, 1H), 5.15 (t, 1H), 4.49 (s, 2H), 4.00 (t, 2H), 3.51 (d, 2H), 3.48 – 3.33 (m, 2H), 3.01 – 2.91 (m, 1H), 2.91 – 2.82 (m, 1H), 2.67 (s, 2H), 1.43 (s, 6H).

5 生物测试:

1. 化合物对 PDE4B2 活性的影响

使用荧光偏正试剂盒(BPS Bioscience , Catalog #60343)检测化合物对 PDE4B2 活性的影响。根据试剂盒说明书, 每孔加入终浓度 $0.1\mu\text{M}$ FAM-Cyclic-3',5'-AMP, 1ng/well PDE4B2(阴性对照加入 PDE 缓冲液),梯度稀释的化合物(阳性对照孔加入含 10%DMSO 的 PDE 缓冲液)充分混合后,室温反应 1h。用 Binding Agent Diluent (cAMP) 将 Binding Agent 按照 1: 100 稀释备用,取 $50\mu\text{l}$ /孔 Binding Agent 稀释液加入到测试板中,室温,慢速振荡孵育 20 分钟。结束孵育后,使用 Envision 进行 FP 检测,Excitation 480nm, Emission 535nm。FP 通常由 mP 值来表示。

$$mP = \left(\frac{I_{II} - G(I_I)}{I_{II} + G(I_I)} \right) \times 1000$$

15 $I_{II}(\text{S535})$: 平行方向的荧光强度

$I_{\perp}(\text{P535})$: 垂直方向的荧光强度

G: G 因子=1

抑制率(%Inhibition)计算:

$$\% \text{Inhibition} = [1 - (\text{mP}(\text{样品}) - \text{mP}(\text{阴性对照})) / (\text{mP}(\text{阳性对照}) - \text{mP}(\text{阴性对照}))] \times 100\%$$

20 mP(样品): 受试化合物反应孔的 mP

mP(阴性对照): 阴性对照孔 mP

mP(阳性对照): 阳性对照孔 mP

根据所计算的各浓度下抑制率,运用 GraphPad Prism 8 软件计算各化合物 IC_{50} 值。

25 本发明的化合物对 PDE4B2 的 IC_{50} 值 $< 300\text{nM}$, 优选的部分化合物 $< 100\text{nM}$, 更优选的部分化合物 $< 50\text{nM}$, 进一步优选的部分化合物 $< 10\text{nM}$ 。

本发明化合物对 PDE4B2 的 IC_{50} 值小于 300nM , 优选的化合物 IC_{50} 值小于 100nM , 更优选的小于 50nM , 进一步优选的化合物小于 10nM 。部分具体化合物的 IC_{50} 值如下表, 其中, $A < 10\text{nM}$, $10\text{nM} \leq B < 50\text{nM}$, $50\text{nM} \leq C < 100\text{nM}$ 。

PDE4B2 活性

化合物	PDE4B2 IC ₅₀ (nM)
式 (I) 化合物	A

2. 化合物对 PDE4D2 活性的影响

使用荧光偏振试剂盒（BPS Bioscience， Catalog #60345）检测化合物对 PDE4D2 活性的影响。反应时，先将 12.5μL 0.272ng/well 的酶（终浓度为 0.068ng/well）与 12.5μL 梯度稀释的化合物（DMSO 浓度为 4%）在室温预孵育 15 分钟，在阳性对照孔中加入同体积同浓度的酶及 12.5μL 含 4%DMSO 的 PDE 缓冲液，在阴性对照孔中加入 25μL 含 2%DMSO 的 PDE 缓冲液。完成后，在每个孔中加入 25μL 0.2μM FAM-Cyclic-3',5'-AMP（终浓度为 0.1μM），充分混合后，室温慢速振荡孵育 30 分钟。用 Binding Agent Diluent (cAMP)将 Binding Agent 按照 1: 100 稀释备用，取 100μl 每孔 Binding Agent 稀释液加入到测试板的所有孔中，室温，慢速振荡孵育 1 个小时。结束孵育后，使用 BMG LRBTECH 酶标仪进行 FP 检测，Excitation 485nm，Emission 520nm。FP 通常由 mP 值来表示。

$$mP = \left(\frac{I_{II} - G(I_{\perp})}{I_{II} + G(I_{\perp})} \right) \times 1000$$

III(S520)：平行方向的荧光强度

I_⊥ (P520): 垂直方向的荧光强度

G: G 因子=1

抑制率（%Inhibition）计算:

$$\%Inhibition = [1 - (mP(样品) - mP(阴性对照)) / (mP(阳性对照) - mP(阴性对照))] \times 100\%$$

mP(样品): 受试化合物反应孔的 mP

mP(阴性对照): 阴性对照孔 mP

mP(阳性对照): 阳性对照孔 mP

根据所计算的各浓度下抑制率，运用 GraphPad Prism 8 软件计算各化合物 IC₅₀ 值。

本发明部分具体化合物的 IC₅₀ 值如下表，其中，A<10nM，10nM ≤B<50nM，

50nM ≤C<100nM。

PDE4D2 活性

化合物	PDE4D2 IC ₅₀ (nM)
-----	------------------------------

(DMA: 二甲基乙酰胺; Solutol: 聚乙二醇-15-羟基硬脂酸酯; Saline: 生理盐水; MC: 甲基纤维素)

于给药前及给药后异氟烷麻醉经眼眶取血 0.15 ml, 置于 EDTAK2 离心管中, 5000rpm, 4 °C 离心 10min, 收集血浆。静脉组和灌胃组采血时间点均为: 0, 5, 15, 30min, 1, 2, 4, 6, 8, 24 h。分析检测前, 所有样品存于-80°C, 用 LC-MS/MS 对样品进行定量分析。

测试化合物在大鼠血浆中的药代动力学参数

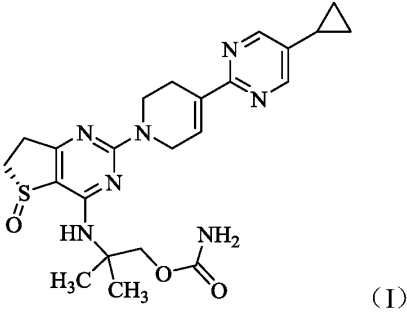
测试化合物	给药方式	CL (mL/min/kg)	Vd _{ss} (L/kg)	AUC _{0-t} (hr*ng/mL)	F (%)
式 (I) 化合物	i.v. (2.5 mg/kg)	2.54±0.32	0.324±0.012	16531±1991	-
	i.g. (10 mg/kg)	-	-	52179±21323	78.9±32

-: 不适用。

结论: 本发明式 (I) 化合物在小鼠 PK 测试中表现出优良的药代动力学性质。

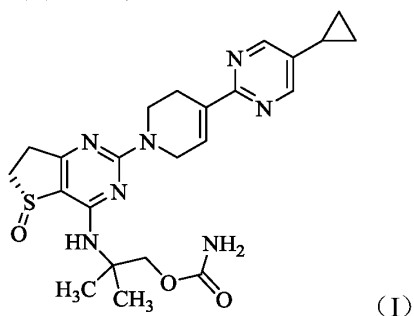
权利要求书

1. 一种口服药物组合物，其特征在于，其包括：
活性成分，所述活性成分为式（I）化合物或其药学上可接受的盐，



- 5 其中，所述活性成分在药物组合物中的质量百分含量为 0.1%-10%，优选为 0.5%-6.5%。
2. 根据权利要求 1 所述的组合物，其特征在于，所述组合物还包含填充剂、崩解剂、粘合剂、润滑剂中的至少一种；任选地，所述组合物还进一步包含助流剂。
3. 根据权利要求 2 所述的组合物，其特征在于，所述填充剂选自乳糖、微晶纤维
- 10 素、甘露醇、淀粉、蔗糖、糊精、磷酸氢钙、硫酸钙、碳酸钙中的至少一种；
所述崩解剂选自交联羧甲基纤维素钠、交联聚维酮、羧甲淀粉钠、低取代羟丙纤维素中的至少一种；
所述粘合剂选自羟丙基纤维素、羟丙甲纤维素、共聚维酮、聚维酮、乙基纤维素、甲基纤维素中的至少一种；
- 15 所述润滑剂选自硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂富马酸钠、山嵛酸甘油酯中的至少一种；
所述助流剂选自二氧化硅、滑石粉、微粉硅胶中的至少一种。
4. 根据权利要求 2 至 3 任一项所述的组合物，其特征在于，所述崩解剂在药物组合物中的质量百分含量为 1%-15%，优选为 2%-5%；
- 20 所述粘合剂在药物组合物中的质量百分含量为 1%-20%，优选为 2%-5%；
所述润滑剂在药物组合物中的质量百分含量为 0.5%-3%；
所述助流剂在药物组合物中的质量百分含量为 0%-5%，优选为 0%-1%。
5. 一种口服药物组合物，其特征在于，其包括：

a) 式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐,



(I)

以及

b) 增溶剂和/或酸性调节剂。

- 5 6. 根据权利要求 5 所述的组合物, 其特征在于, 所述增溶剂选自离子型表面活性剂、非离子型表面活性剂或其组合, 所述非离子型表面活性剂不包括聚乙二醇-15-羟基硬脂酸酯; 任选地, 所述离子型表面活性剂选自硫酸化蓖麻油、十二烷基硫酸钠、十六烷基硫酸钠、十八烷基硫酸钠; 所述非离子型表面活性剂选自司盘类、吐温类、卖泽类、苜泽类和泊洛沙姆; 进一步地, 所述增溶剂选自十六烷基硫酸钠、十二烷基硫酸钠、泊洛沙姆 188、吐温 80、司盘 60 中的至少一种;

任选地, 所述酸性调节剂选自枸橼酸、富马酸、柠檬酸、琥珀酸、山梨酸、乙二酸、抗坏血酸中的至少一种。

7. 根据权利要求 5-6 中任一项所述的组合物, 其特征在于, 还包含填充剂、崩解剂、粘合剂、润滑剂中的至少一种; 任选地, 还进一步包含助流剂。

- 15 8. 根据权利要求 7 所述的组合物, 其特征在于, 所述填充剂选自乳糖、微晶纤维素、甘露醇、淀粉、蔗糖、糊精、磷酸氢钙、硫酸钙、碳酸钙中的至少一种;

所述崩解剂选自交联羧甲基纤维素钠、交联聚维酮、羧甲淀粉钠、低取代羟丙纤维素中的至少一种;

- 20 所述粘合剂选自羟丙基纤维素、羟丙甲纤维素、共聚维酮、聚维酮、乙基纤维素、甲基纤维素中的至少一种;

所述润滑剂选自硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂富马酸钠、山嵛酸甘油酯中的至少一种;

所述助流剂选自二氧化硅、滑石粉、微粉硅胶中的至少一种。

9. 根据权利要求 5-8 中任一项所述的组合物，其特征在于，所述式 (I) 化合物在药物组合物中的质量百分含量为 0.1%-10%，优选为 0.5%-6.5%；

所述增溶剂与式 (I) 化合物的质量比为 1:1~50:1，优选为 1:1~20:1；

所述酸性调节剂在药物组合物中的质量百分含量为 1%-20%；

5 所述崩解剂在药物组合物中的质量百分含量为 1%-15%，优选为 2%-5%；

所述粘合剂在药物组合物中的质量百分含量为 1%-20%，优选为 2%-5%；

所述润滑剂在药物组合物中的质量百分含量为 0.5%-3%；

所述助流剂在药物组合物中的质量百分含量为 0%-5%，优选为 0%-1%。

10 10. 一种由权利要求 1-9 中任一项所述的口服药物组合物制成的药物制剂，任选地，其单位制剂中式 (I) 化合物的量为 0.1mg~100mg，例如选自 0.5mg、1mg、2mg、4mg、8mg 或 10mg。