

苯并异硒唑衍生物用于抗冠状病毒及控制冠状病毒相关的间质性肺疾病（ILD）的用途

技术领域

本发明属于医药领域，具体涉及苯并异硒唑衍生物用于制备抗冠状病毒药物的用途。

背景技术

冠状病毒在系统分类上属套式病毒目（Nidovirales）冠状病毒科（Coronaviridae）冠状病毒属（Coronavirus）。冠状病毒属的病毒是具囊膜、基因组为线性单股正链的RNA病毒，是自然界广泛存在的一大类病毒。

冠状病毒最先是在1937年从鸡身上分离出来，病毒颗粒的直径60~200nm，平均直径为100nm，呈球形或椭圆形，具有多形性。病毒有包膜，包膜上存在棘突，整个病毒像日冕，不同的冠状病毒的棘突有明显的差异。

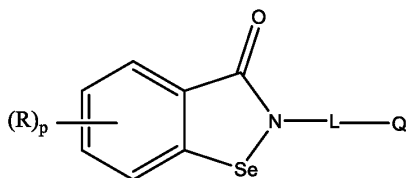
2019新型冠状病毒（2019-nCoV或者SARS-CoV-2，引发新型冠状病毒肺炎COVID-19）是目前已知的第7种可以感染人的冠状病毒，其余6种分别是HCoV-229E、HCoV-OC43、HCoV-NL63、HCoV-HKU1、SARS-CoV（引发重症急性呼吸综合征）和MERS-CoV（引发中东呼吸综合征）。2019-nCoV属于β属冠状病毒，有包膜，颗粒呈圆形或椭圆形，常为多形性，直径60-140nm。其基因特征与SARS-CoV和MERS-CoV有明显区别。目前研究显示其与蝙蝠SARS样冠状病毒（bat-SL-CoVZC45）同源性达85%以上。

2019-nCoV是一种RNA病毒，其增殖依赖于RNA依赖的RNA聚合酶（RdRp）的对母系RNA的再生，而2019-nCoV 3CLpro蛋白是2019-nCoV关键蛋白RdRp成为活性形式的关键蛋白，2019-nCoV 3CLpro蛋白通过水解病毒pp1a和pp1ab蛋白，使其形成成熟产物nsp1-16，进而组装成具有活性的RdRp，目前2019-nCoV 3CLpro已被认为是治疗冠状病毒的药物靶标之一。

目前，亟需能够有效对抗冠状病毒尤其是2019-nCoV的活性药物。

发明内容

本发明提供了苯并异硒唑衍生物用于制备抗冠状病毒的药物的用途，其中所述苯并异硒唑衍生物为式(I)的化合物，其立体异构体、药学上可接受的盐、溶剂合物、前药或活性代谢产物，



(I)

其中，R选自氢、氰基、羟基、巯基、卤素、硝基、氨基、COOH、SO₃H、C₁₋₁₂烷基、C₃₋₁₂环烷基、C₁₋₁₂烷氧基、C₁₋₁₂烷硫基、C₂₋₁₂烯基、C₁₋₁₂烷基酰氨基、C₁₋₁₂烷基酰氧基、3-14元杂环基、C₆₋₁₄芳基和5-14元杂芳基；其中所述C₁₋₁₂烷基、C₃₋₁₂环烷基、C₁₋₁₂烷氧基、C₁₋₁₂烷硫基、C₁₋₁₂烷基酰氨基、C₁₋₁₂烷基酰氧基、3-14元杂环基、C₆₋₁₄芳基和5-14元杂芳基任选地被一个或多个选自以下的取代基取代：氰基、羟基、巯基、卤素、氨基、硝基、氧代、硫代、COOH、SO₃H、C₁₋₁₂烷基、C₃₋₁₂环烷基、C₁₋₁₂烷氧基、C₂₋₁₂烯基、3-14元杂环基、C₆₋₁₄芳基和5-14元杂芳基；

p为0至4的整数；

L选自 *-(CH₂)_n-#、*-(CH₂)_n-NH-(CH₂)_n-#、*-(CH₂)_n-NR^N-(CH₂)_n-#、*-(CH₂)_n-CH(OH)-(CH₂)_n-#、*-(CH₂)_n-NH-C(O)-(CH₂)_n-#、*-(CH₂)_n-C(O)-NH-(CH₂)_n-#、*-(CH₂)_n-O-(CH₂)_n-#、*-(CH₂)_n-O-C(O)-(CH₂)_n-#、*-(CH₂)_n-C(O)-O-(CH₂)_n-#、*-(CH₂)_n-C(O)-(CH₂)_n-#、*-(CH₂)_n-C(O)-C(O)-(CH₂)_n-#、*-(CH₂)_n-S(O)-(CH₂)_n-#、

$^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{S}(\text{O})_2-(\text{CH}_2)_m\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}_{3-8}$ 亚环烷基 $-(\text{CH}_2)_m\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{S}-\text{S}-(\text{CH}_2)_m\#$ 、 $^{*}-(\text{CHR}^{\text{L}})(\text{CH}_2)_n-\text{S}-\text{S}-(\text{CH}_2)_m(\text{CHR}^{\text{L}})\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-(\text{CHR}^{\text{L}})-\text{S}-\text{S}-(\text{CHR}^{\text{L}})-(\text{CH}_2)_m\#$ 、亚苯基、亚联苯基、亚三苯基、 $^{*}-\text{苯基}-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{苯基}\#$ 、 $^{*}-\text{苯基}-(\text{CH}_2)_n-\text{苯基}\#$ 、 $^{*}-\text{苯基}-(\text{CH}_2)_n-\text{S}(\text{O})_2\#$ 和 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{S}(\text{O})_2-\text{苯基}\#$ ；

其中*表示与苯并异噻唑部分的N原子的连接位点，#表示与Q部分的连接位点；

n为0至12的整数，m为0至12的整数， R^{N} 表示 C_{1-12} 的烷基， R^{L} 表示卤素、羟基、氨基、羧基或巯基；

Q选自H、 C_{1-12} 烷基、 C_{3-12} 环烷基、 C_{1-12} 烷氧基、 C_{1-12} 烷硫基、 C_{1-12} 烷基酰氨基、 C_{1-12} 烷基酰氧基、 C_{2-12} 烯基、3-14元杂环基、 C_{6-14} 芳基和5-14元杂芳基；其中所述 C_{1-12} 烷基、 C_{3-12} 环烷基、 C_{1-12} 烷氧基、 C_{1-12} 烷基酰氨基、 C_{1-12} 烷基酰氧基、3-14元杂环基、 C_{6-14} 芳基、5-14元杂芳基任选地被一个或多个选自以下的取代基取代：氰基、羟基、巯基、卤素、氨基、硝基、氧代、硫代、 COOH 、 SO_3H 、 C_{1-12} 烷基、 C_{3-12} 环烷基、 C_{1-12} 烷氧基、 C_{2-12} 烯基、3-14元杂环基、 C_{6-14} 芳基和5-14元杂芳基。

根据本发明的实施方案，在式(I)的化合物中，R选自氢、氰基、羟基、巯基、卤素、硝基、氨基、 COOH 、 SO_3H 、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷硫基、 C_{1-6} 烷基酰氨基、 C_{1-6} 烷基酰氧基、 C_{2-6} 烯基、3-10元杂环基、 C_{6-10} 芳基和5-10元杂芳基；其中所述 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷硫基、 C_{1-6} 烷基酰氨基、 C_{1-6} 烷基酰氧基、 C_{2-6} 烯基、3-10元杂环基、 C_{6-10} 芳基和5-10元杂芳基任选地被一个或多个选自以下的取代基取代：氰基、羟基、巯基、卤素、氨基、硝基、氧代、硫代、 COOH 、 SO_3H 、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、3-10元杂环基、 C_{6-10} 芳基和5-10元杂芳基；

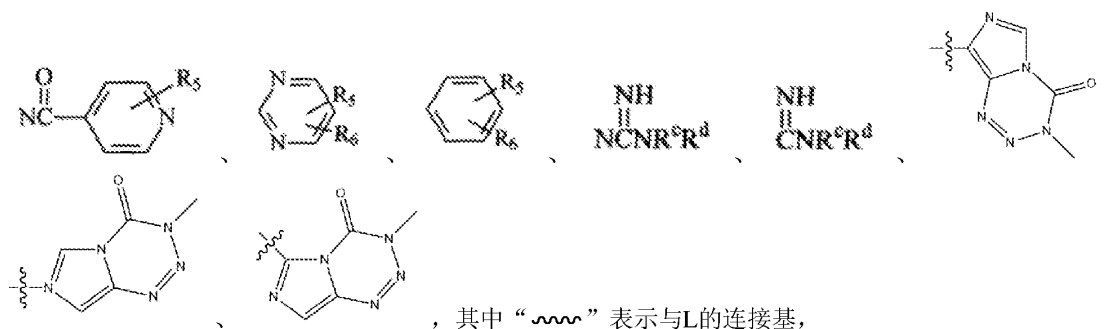
p为0至4的整数；

L选自 $^{*}-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^{\text{N}}-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}(\text{OH})-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})-\text{O}-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{S}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{S}(\text{O})_2-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}_{3-8}$ 亚环烷基 $-(\text{CH}_2)_m\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{S}-\text{S}-(\text{CH}_2)_m\#$ 、 $^{*}-(\text{CHR}^{\text{L}})(\text{CH}_2)_n-\text{S}-\text{S}-(\text{CH}_2)_m(\text{CHR}^{\text{L}})\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-(\text{CHR}^{\text{L}})-\text{S}-\text{S}-(\text{CHR}^{\text{L}})-(\text{CH}_2)_m\#$ 、亚苯基、亚联苯基、亚三苯基、 $^{*}-\text{苯基}-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{苯基}\#$ 和 $^{*}-\text{苯基}-(\text{CH}_2)_n-\text{苯基}\#$ 、 $^{*}-\text{苯基}-(\text{CH}_2)_n-\text{S}(\text{O})_2\#$ 和 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{S}(\text{O})_2-\text{苯基}\#$ ；其中*表示与苯并异噻唑部分的N原子的连接位点，#表示与Q部分的连接位点；n为0至12的整数，m为0至12的整数， R^{N} 表示 C_{1-6} 的烷基， R^{L} 表示卤素、羟基、氨基、羧基或巯基；

Q选自H、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷硫基、 C_{1-6} 烷基酰氨基、 C_{1-6} 烷基酰氧基、 C_{2-6} 烯基、3-10元杂环基、 C_{6-10} 芳基和5-10元杂芳基；其中所述 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基酰氨基、 C_{1-6} 烷基酰氧基、 C_{2-6} 烯基、3-10元杂环基、 C_{6-10} 芳基、5-10元杂芳基任选地被一个或多个选自以下的取代基取代：氰基、羟基、巯基、卤素、氨基、硝基、氧代、硫代、 COOH 、 SO_3H 、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、3-10元杂环基、 C_{6-10} 芳基和5-10元杂芳基。

根据本发明的实施方案，在式(I)的化合物中，L选自 $^{*}-(\text{CH}_2)_2\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_3\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_4\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_5\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_6\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_7\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_8\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_9\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_{10}\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_{11}\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_{12}\#$ 、亚环戊基、亚环己基、亚苯基、亚联苯基、亚三苯基、 $^{*}-\text{苯基}-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{苯基}\#$ 、 $^{*}-\text{苯基}-(\text{CH}_2)_n-\text{苯基}\#$ 、 $^{*}-\text{苯基}-\text{S}(\text{O})_2\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{S}(\text{O})_2-\text{苯基}\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^{\text{N}}-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}(\text{OH})-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})-\text{O}-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{S}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{S}(\text{O})_2-(\text{CH}_2)_n\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n$ -亚环丙基 $-(\text{CH}_2)_m\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n$ -亚环丁基 $-(\text{CH}_2)_m\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n$ -亚环戊基 $-(\text{CH}_2)_m\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n$ -亚环己基 $-(\text{CH}_2)_m\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-\text{S}-\text{S}-(\text{CH}_2)_m\#$ 、 $^{*}-(\text{CHR}^{\text{L}})(\text{CH}_2)_n-\text{S}-\text{S}-(\text{CH}_2)_m(\text{CHR}^{\text{L}})\#$ 、 $^{*}-(\text{CH}_2)_n-(\text{CHR}^{\text{L}})-\text{S}-\text{S}-(\text{CHR}^{\text{L}})-(\text{CH}_2)_m\#$ ；其中*表示与苯并异噻唑部分的N原子的连接位点，#表示与Q部分的连接位点；n为0、1、2、3、4、5或6，m为0、1、2、3、4、5或6， R^{N} 表示 C_{1-6} 的烷基， R^{L} 表示卤素、羟基、氨基、羧基或巯基。

根据本发明的实施方案，在式(I)的化合物中，Q选自H、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷硫基、 C_{1-6} 烷基酰氨基、 C_{1-6} 烷基酰氧基、 C_{2-6} 烯基、苯并异噻唑基、糖残基、氨基酸残基、 $\text{R}^{\text{e}}-\text{NH}-\text{R}^{\text{f}}$ 、



其中“~”表示与L的连接基，
 R_5 和 R_6 彼此独立地选自氢、卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷硫基、 $N(C_{1-6}烷基)_2$ 、 $NH(C_{1-6}烷基)$ 、 $COOR^b$ 和 SO_3R^b ；

R^b 选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 烷氧基；

R^c 和 R^d 彼此独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和苯基；或者 R^c 和 R^d 与它们所连接的氮原子一起形成含氮杂环或含氮杂芳环；

R^e 和 R^f 彼此独立地选自 C_{1-6} 烷基和 C_{3-7} 环烷基；

所述 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷硫基、 C_{1-6} 烷基酰氨基、 C_{1-6} 烷基酰氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{3-7} 环烷基、苯并异噻唑基、糖残基和氨基酸残基可任选地被一个或多个选自以下的取代基取代：氰基、羟基、巯基、卤素、氨基、硝基、氧代、硫代、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基和 C_{1-6} 烷氧基。

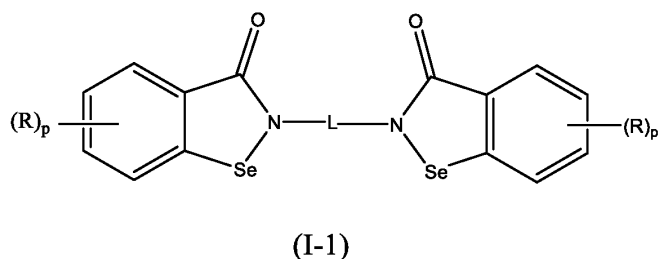
根据本发明的实施方案，上述糖残基可为D-吡喃葡萄糖基，例如1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-去氧-D-吡喃葡萄糖基。

根据本发明的实施方案，上述氨基酸残基被巯基取代，且进一步通过该巯基连接于L部分。

根据本发明的实施方案，在式(I)的化合物中，R选自氢、羟基、卤素、 $COOH$ 、 SO_3H 、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 烷氧基。

根据本发明的实施方案，在式(I)的化合物中，R选自氢、羟基、氟、氯、溴、碘、 $COOH$ 、 SO_3H 、甲基、氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基、正戊氧基和异戊氧基。

根据本发明的实施方案，所述式(I)的苯并异噻唑衍生物为下式(I-1)的化合物：

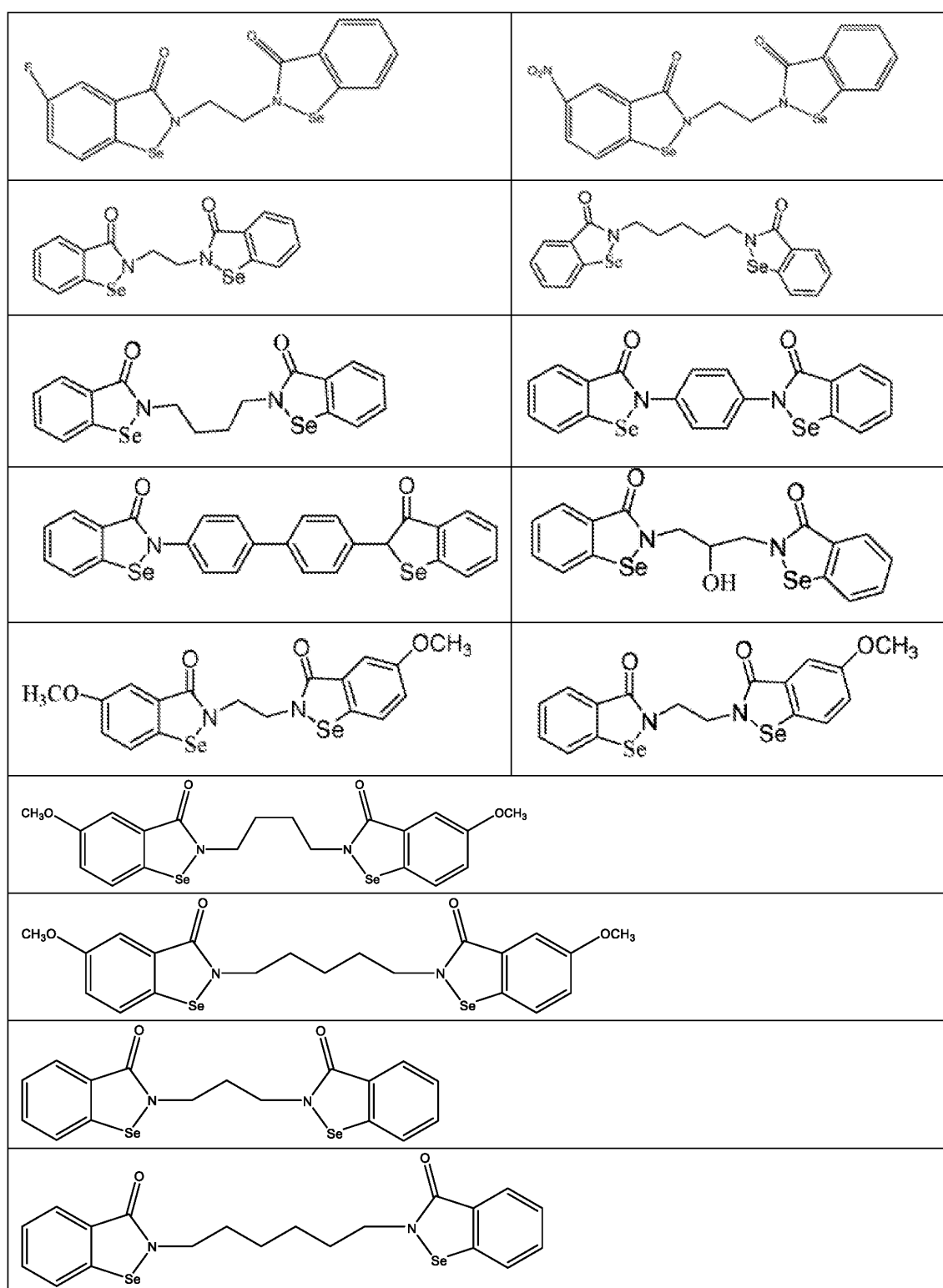


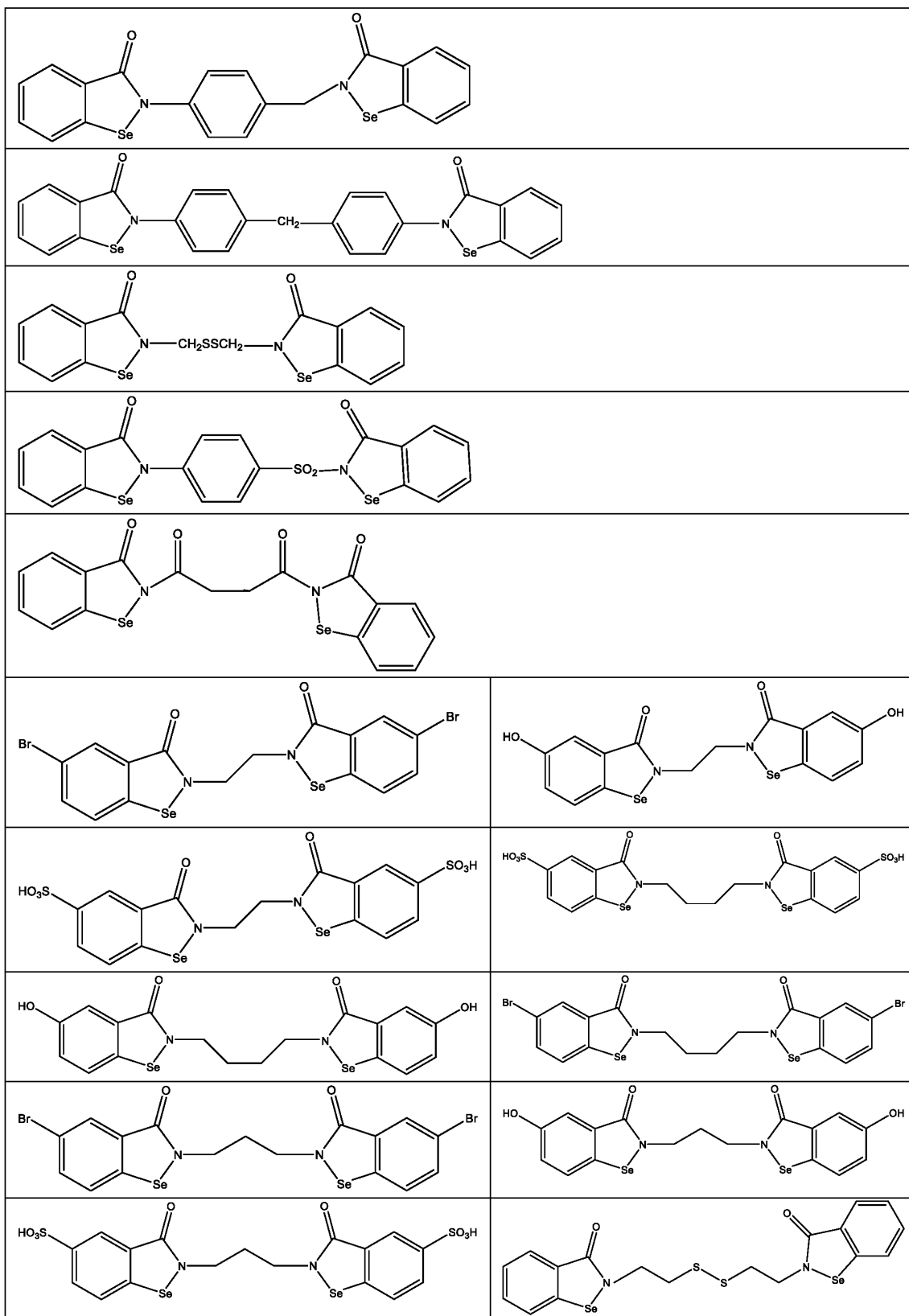
其中，R、L和p各自独立地分别具有上文在式(I)的化合物中所给出的定义。

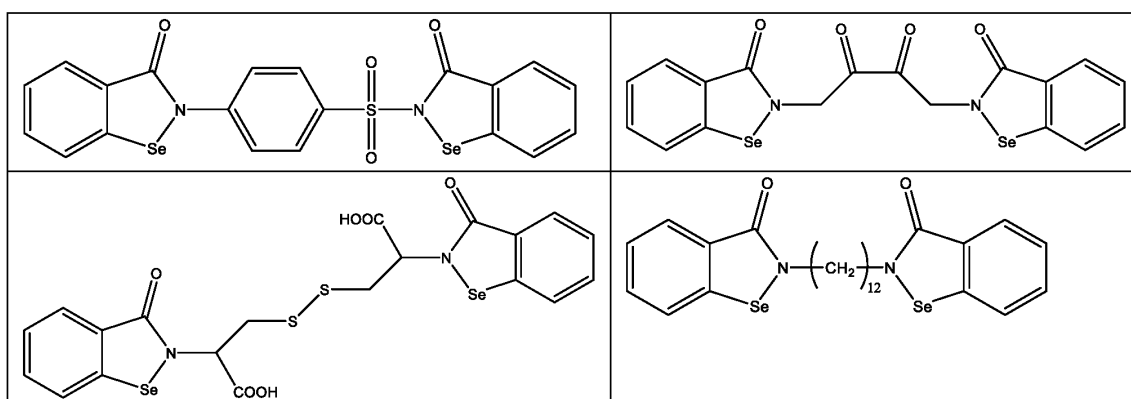
根据本发明，式(I-1)的苯并异噻唑衍生物选自下表1中的化合物：

表1

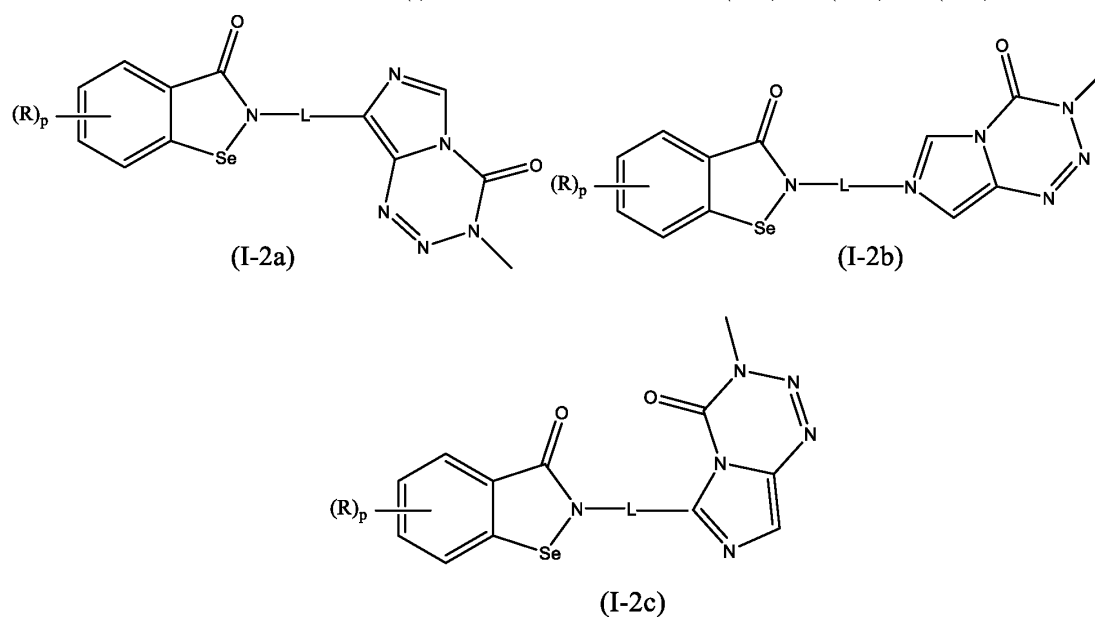
--	--







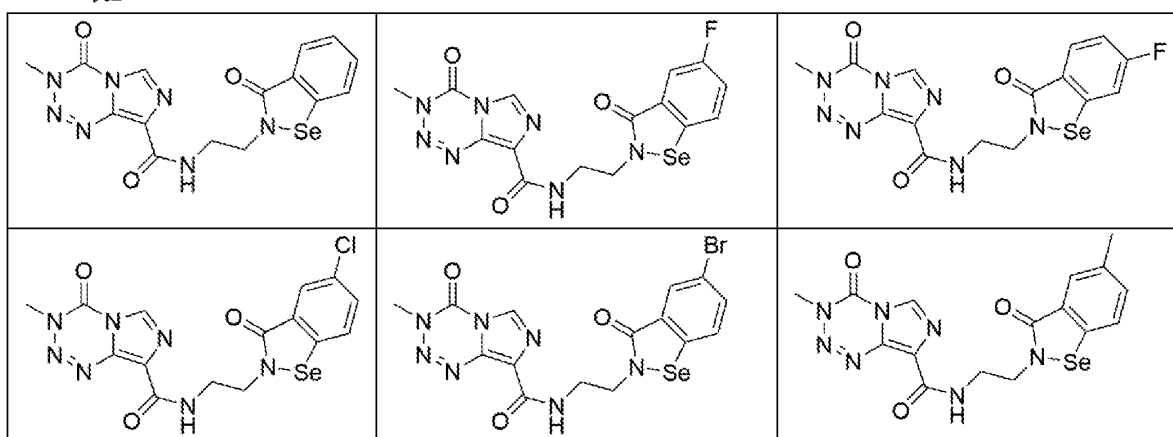
在本发明的实施方案中，所述式(I)的苯并异硒唑衍生物为下式(I-2a)、式(I-2b)或式(I-2c)的化合物：

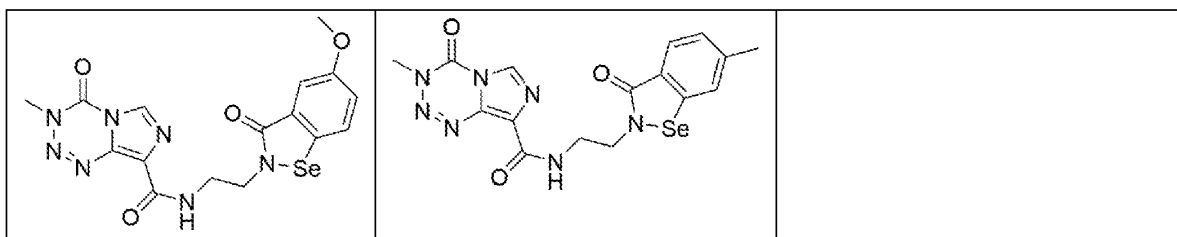


在上述式(I-2a)、式(I-2b)和式(I-2c)的化合物中，R、L和p分别具有上文在式(I)的化合物中所给出的定义。

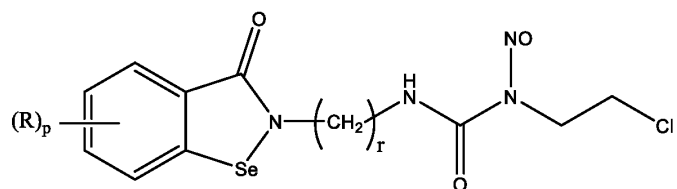
根据本发明，式(I-2a)、式(I-2b)或式(I-2c)的苯并异硒唑衍生物选自下表2中的化合物：

表2





在本发明的实施方案中，所述式(I)的苯并异噻唑衍生物为下式(I-3)的化合物：



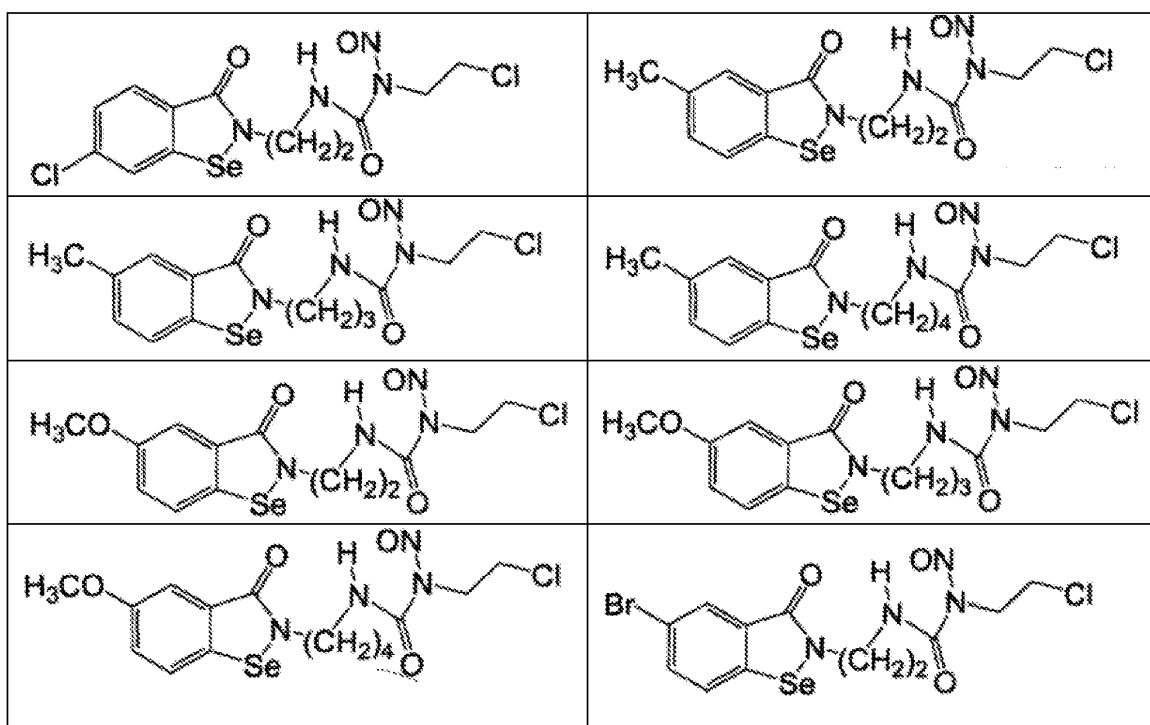
(I-3)

其中，R和p分别具有上文在式(I)的化合物中所给出的定义；

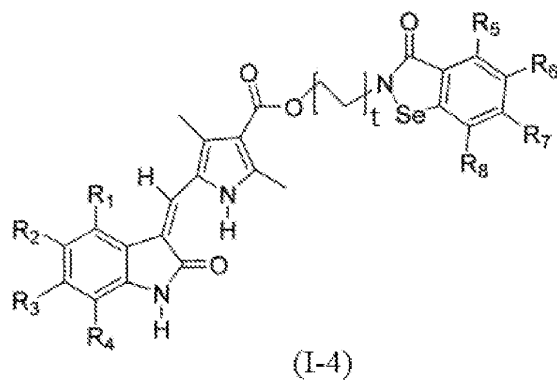
r为0至12的整数，优选为2-4的整数。

根据本发明，式(I-3)的苯并异噻唑衍生物选自下表3中的化合物：

表3



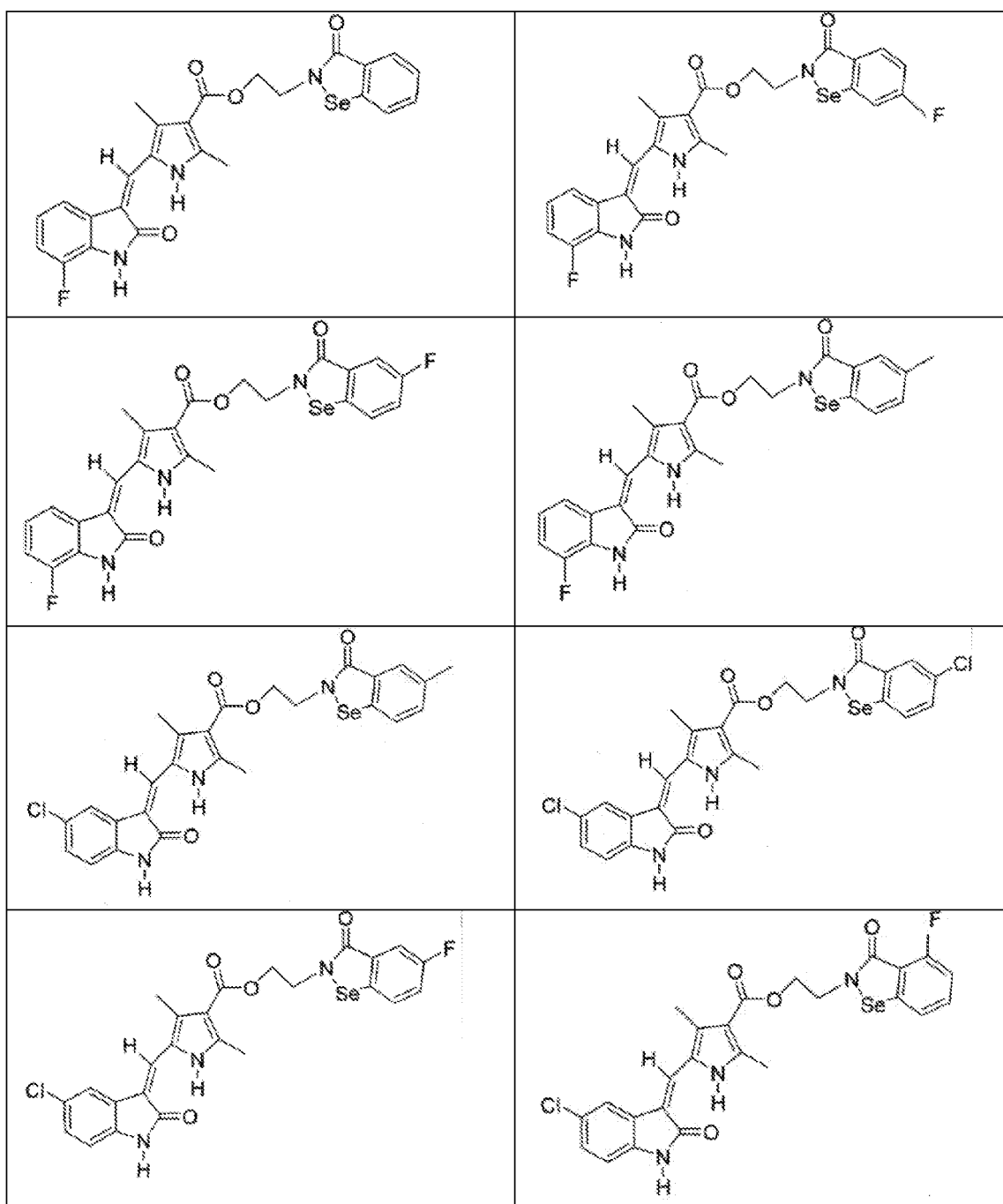
在本发明的实施方案中，所述式(I)的苯并异噻唑衍生物为下式(I-4)的化合物：

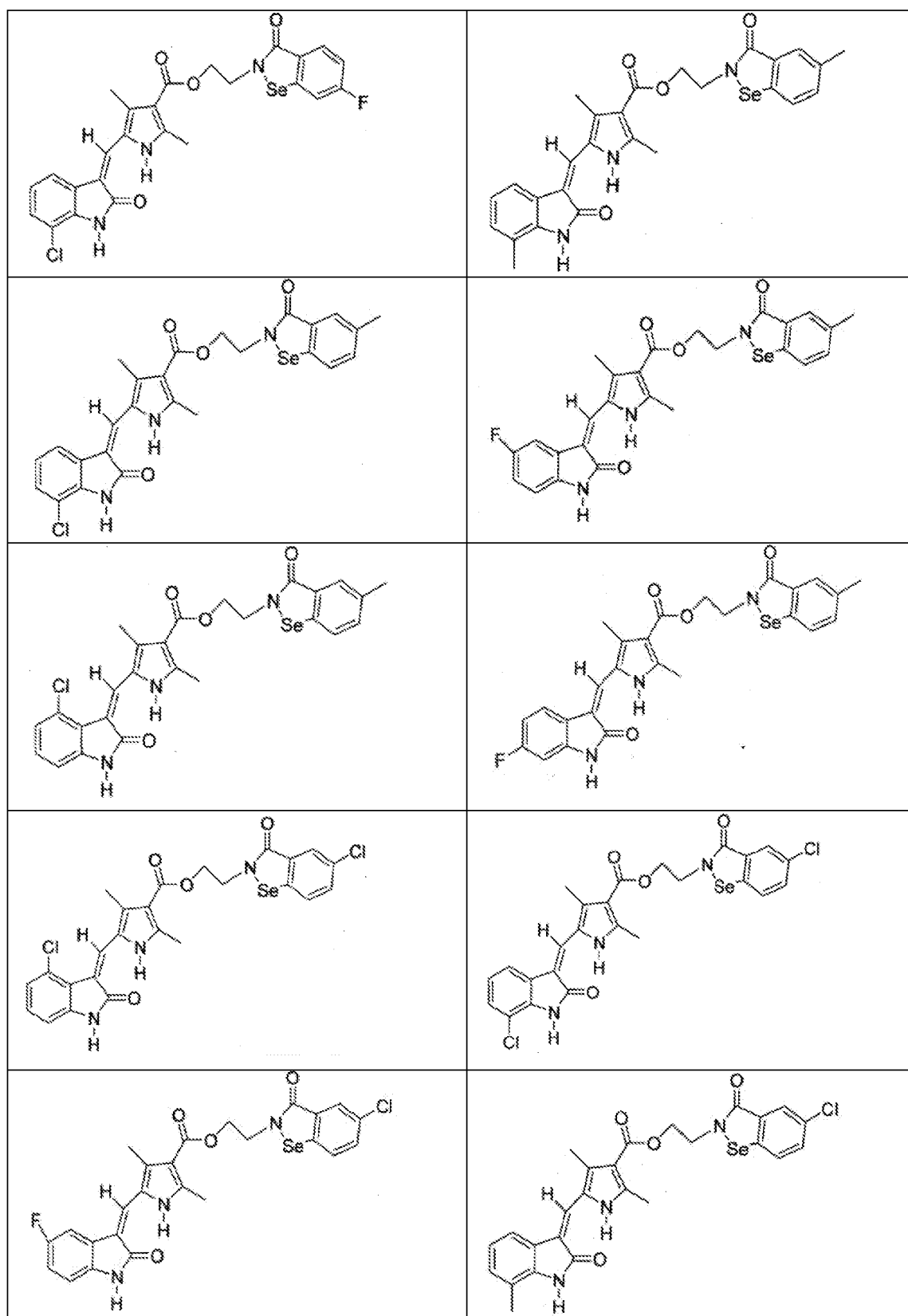


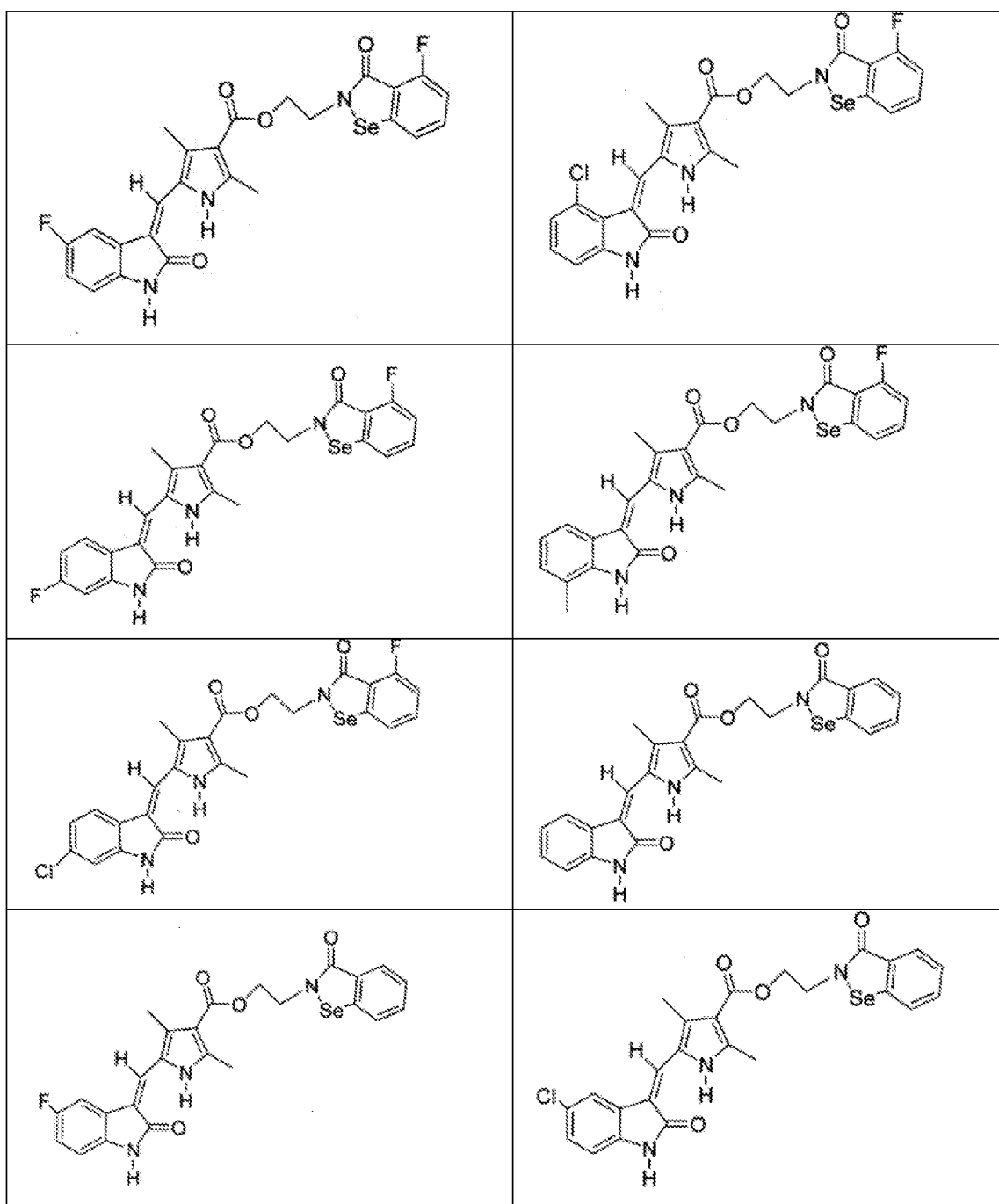
其中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 分别独立地位H、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基或卤素； t 为1至4的整数，优选2或3。

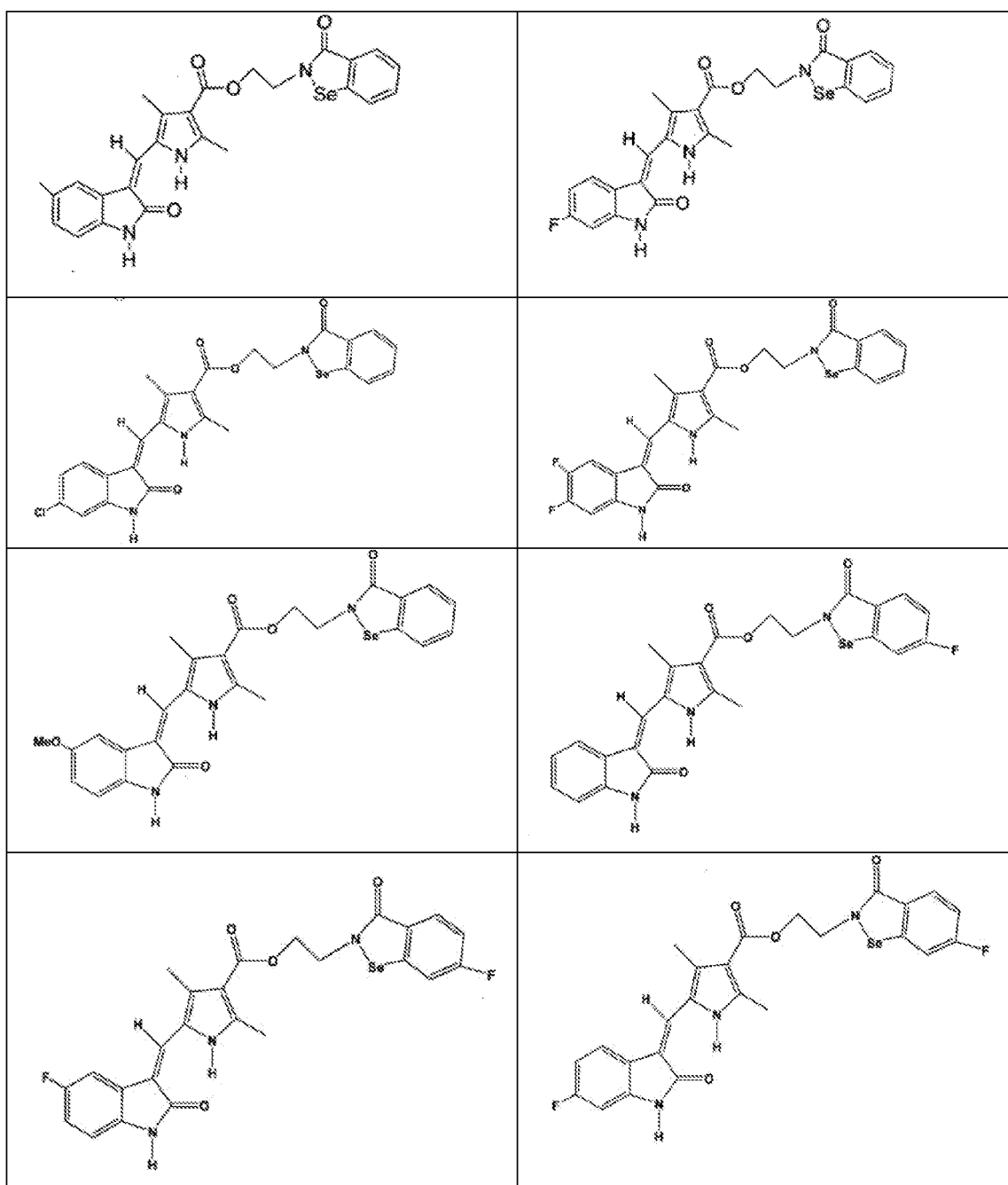
根据本发明，式(I-4)的苯并异噻唑衍生物选自下表4中的化合物：

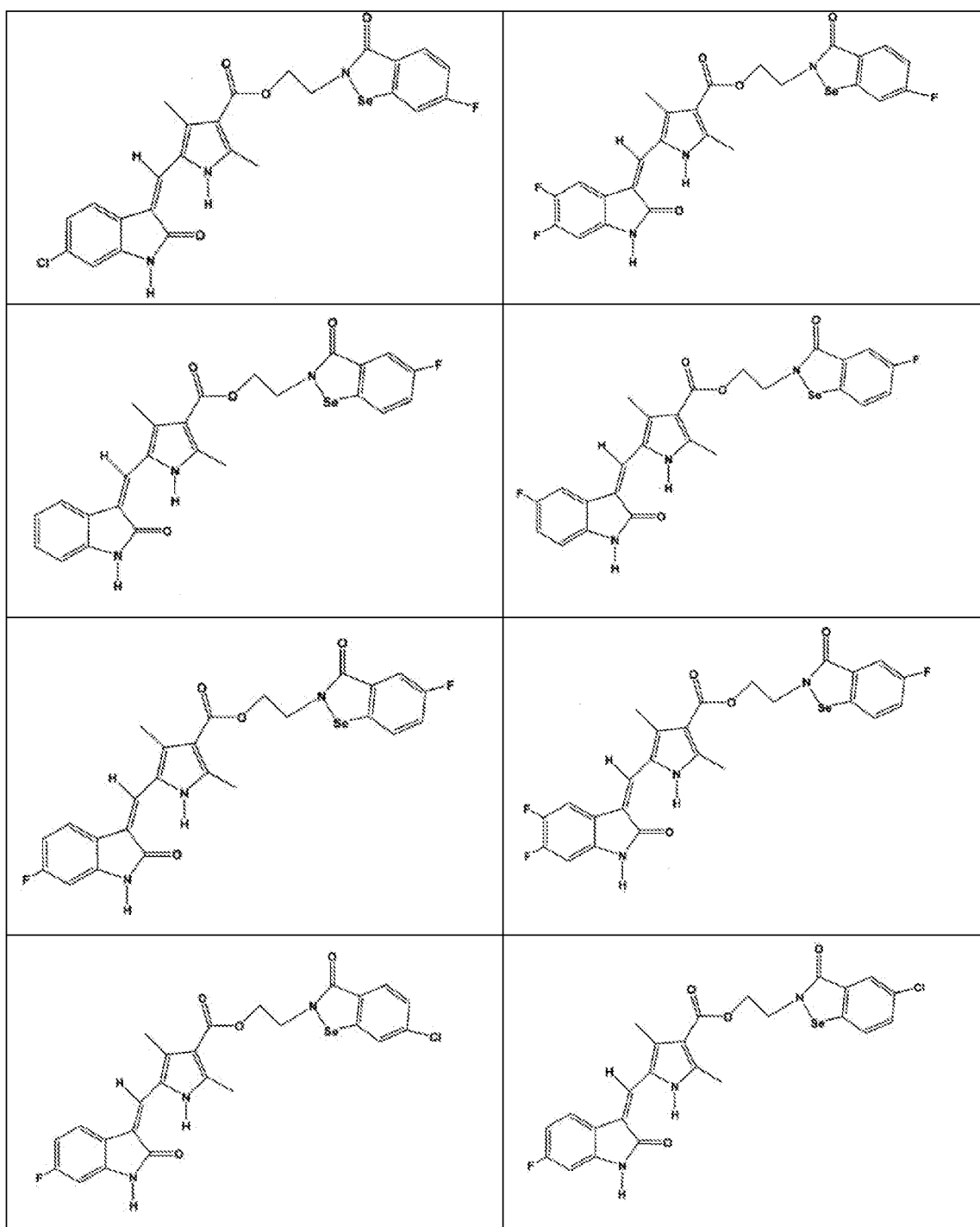
表4



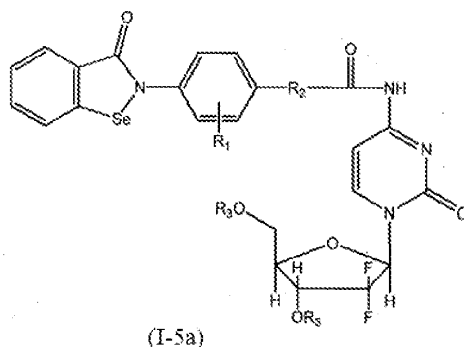








在本发明的实施方案中，所述式(I)的苯并异噻唑衍生物为下式(I-5a)或式(I-5b)的化合物：



在式(I-5a)中, R_1 选自氢、卤素、腈基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷硫基、 $N(C_{1-6}烷基)_2$ 、 $NH(C_{1-6}烷基)$ 、 $COOH$ 、 $-COR_b$ 、 $CONHR_b$ 、 $CONR_cR_d$ 、 SO_3R 、芳基、杂芳基、环烷基、杂环基, 所述基团可以任选被 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、卤素、腈基、芳基、杂芳基取代, 优选被-H、- CH_3 、卤素、-OAc、-OH取代, 更优选被-H、- CH_3 、-Cl、-F、-OAc、-OH取代;

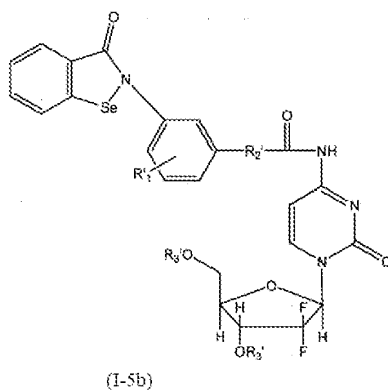
R_2 选自 C_{1-12} 亚烷基、亚苯基、亚联苯基、亚三苯基、亚环己烷、环戊烷、 $-R_aSSR_a-$ 、 $-(R_aO)_uR_a-$ 、 $-(CH_2)(R_aO)_3R_a-$ 、 $-R_aN(CH_3)_2R_a-$ 或 $-R_aNHR_a-$;

R_a 是 C_{1-6} 亚烷基; R_b 为H、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基; R_c 、 R_d 独立选自H、 C_{1-6} 烷基或苯基, 或 R_c 、 R_d 与连接的N形成含氮杂环或含氮杂芳环;

R_3 选自-H、苯基羰基、 C_{1-6} 烷基氧基羰基;

u 为0至4的整数;

或者



在式(I-5b)中, R_1' 选自氢、卤素、腈基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷硫基、 $N(C_{1-6}烷基)_2$ 、 $NH(C_{1-6}烷基)$ 、 $COOH$ 、 $-COR_b$ 、 $CONHR_b$ 、 $CONR_cR_d$ 、 SO_3R 、芳基、杂芳基、环烷基、杂环基, 所述基团可以任选被 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、卤素、腈基、芳基、杂芳基取代, 优选被-H、- CH_3 、卤素、-OAc、-OH取代, 更优选被-H、- CH_3 、-Cl、-F、-OAc、-OH取代;

R_2' 选自 C_{1-12} 亚烷基、亚苯基、亚联苯基、亚三苯基、亚环己烷、环戊烷、 $-R_aSSR_a-$ 、 $-(R_aO)_uR_a-$ 、 $-(CH_2)(R_aO)_3R_a-$ 、 $-R_aN(CH_3)_2R_a-$ 或 $-R_aNHR_a-$;

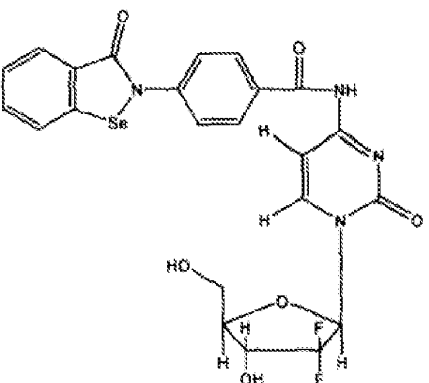
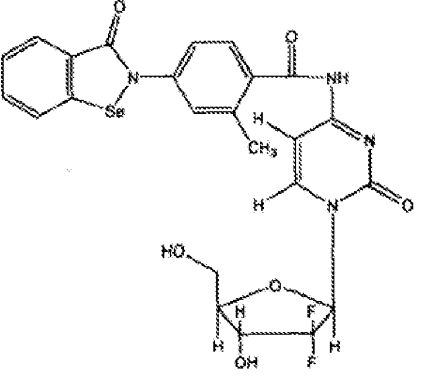
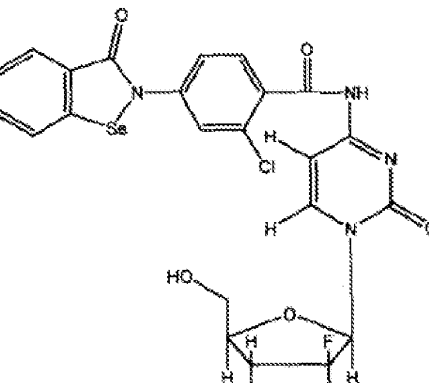
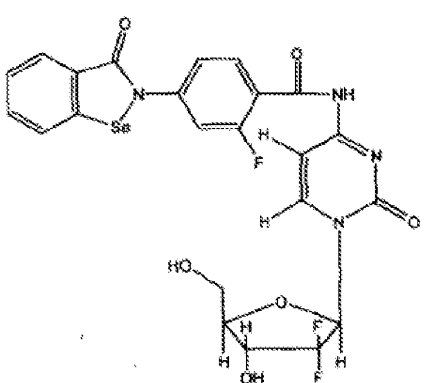
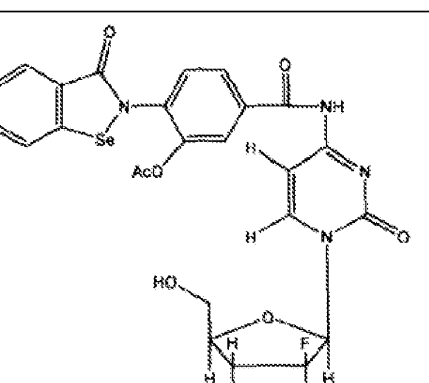
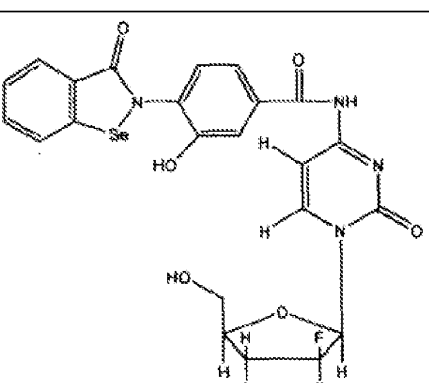
R_a 是 C_{1-6} 亚烷基; R_b 为H、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基; R_c 、 R_d 独立选自H、 C_{1-6} 烷基或苯基, 或 R_c 、 R_d 与连接的N形成含氮杂环或含氮杂芳环;

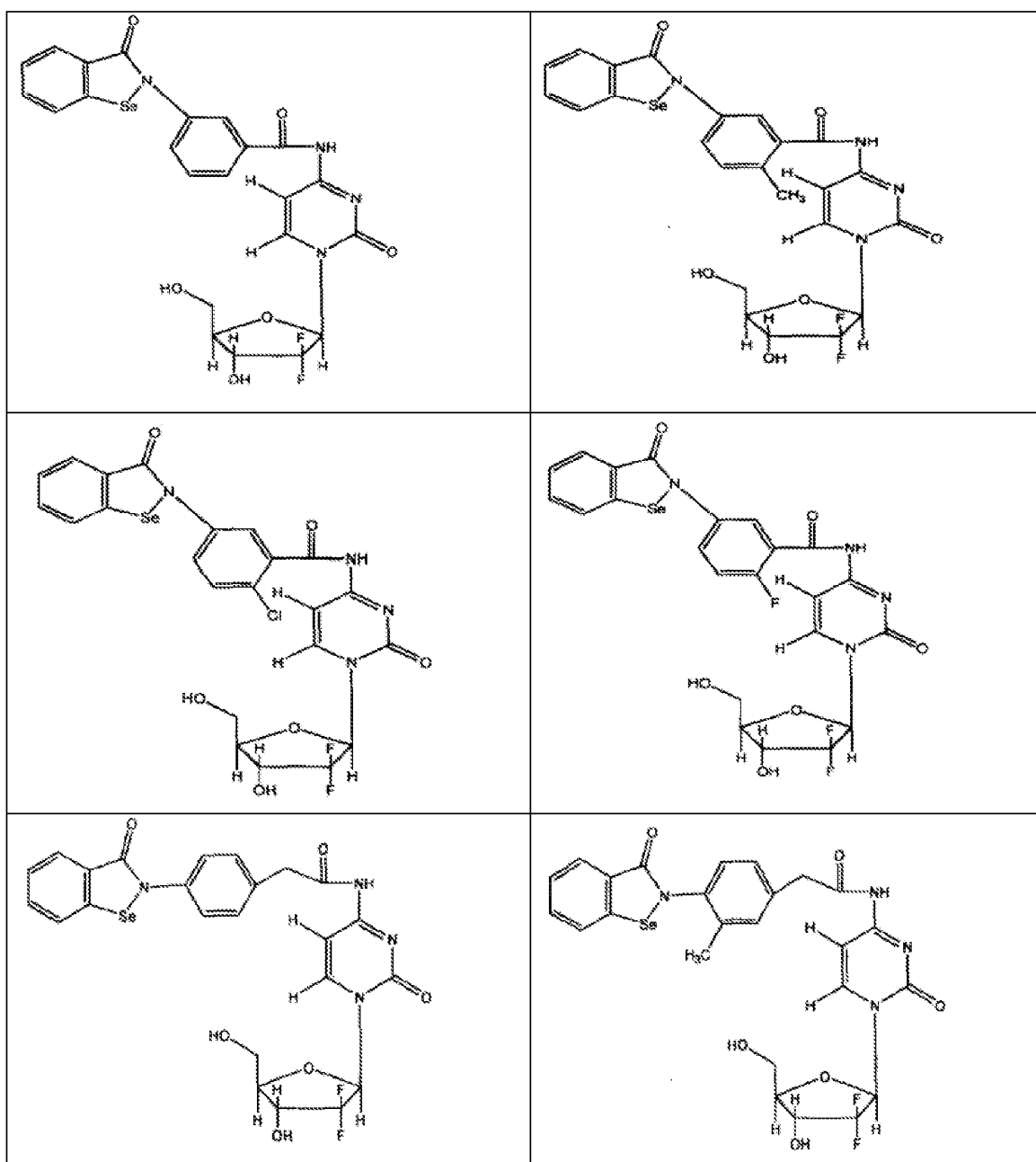
R_3' 选自-H、苯基羰基、 C_{1-6} 烷基氧基羰基;

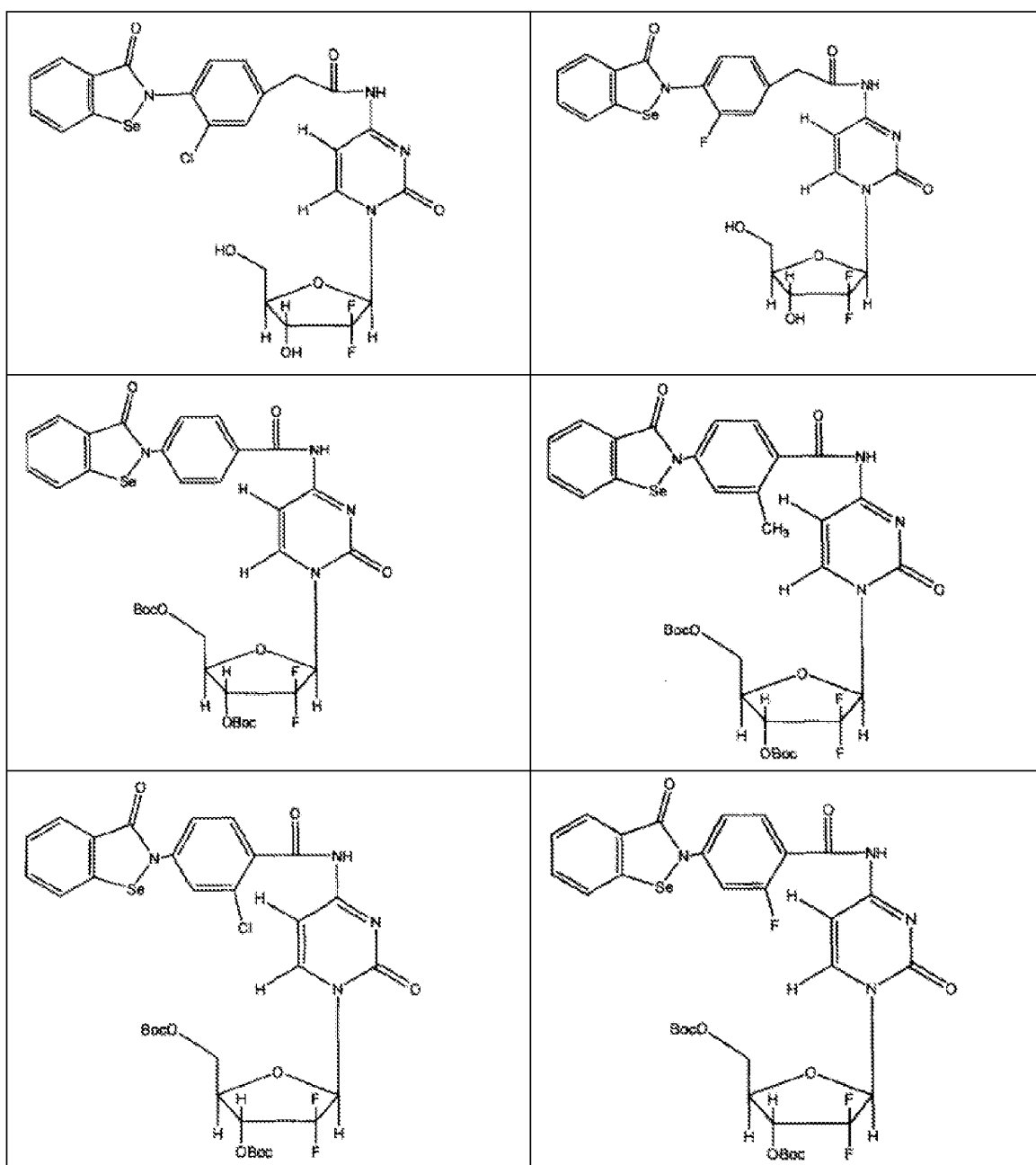
u 为0至4的整数。

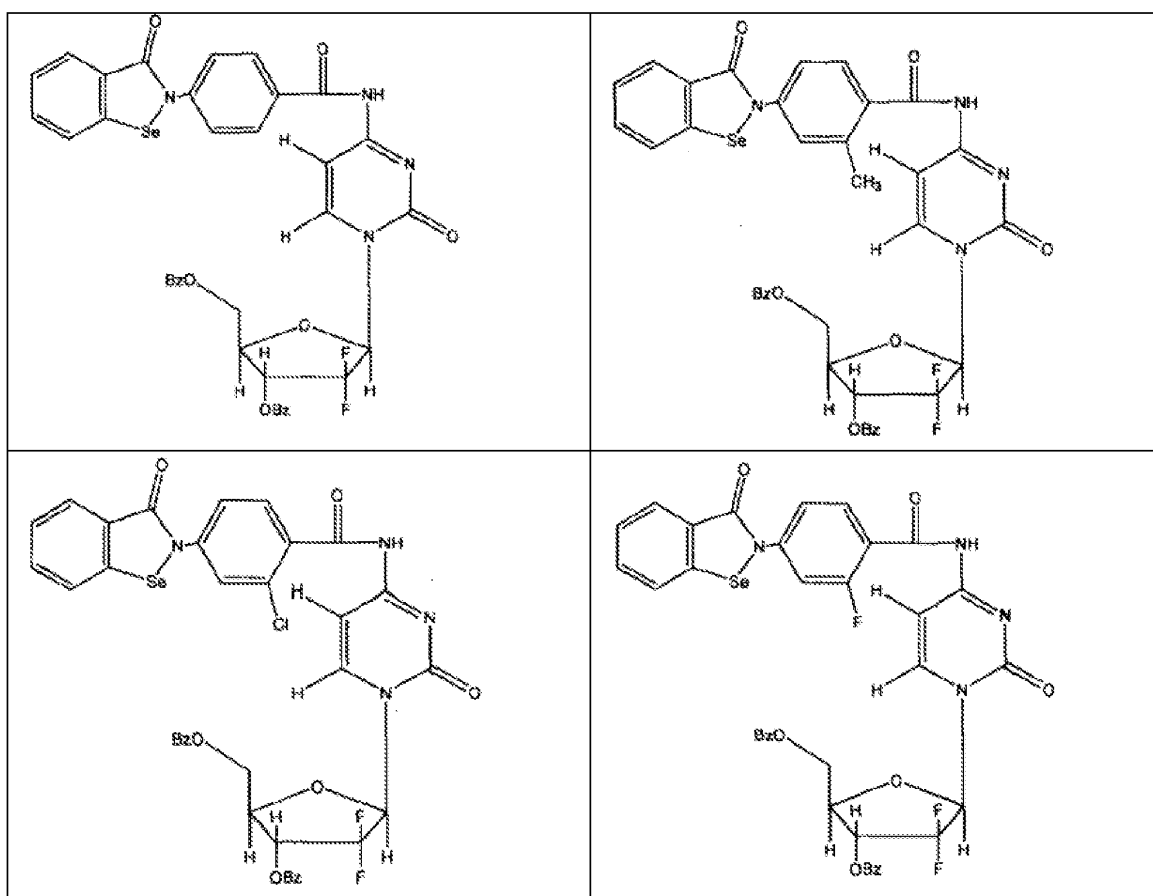
根据本发明, 式(I-5a)或式(I-5b)的苯并异噻唑衍生物选自下表5中的化合物:

表5

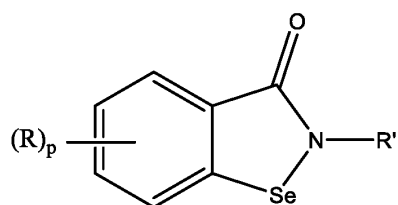
	
	
	





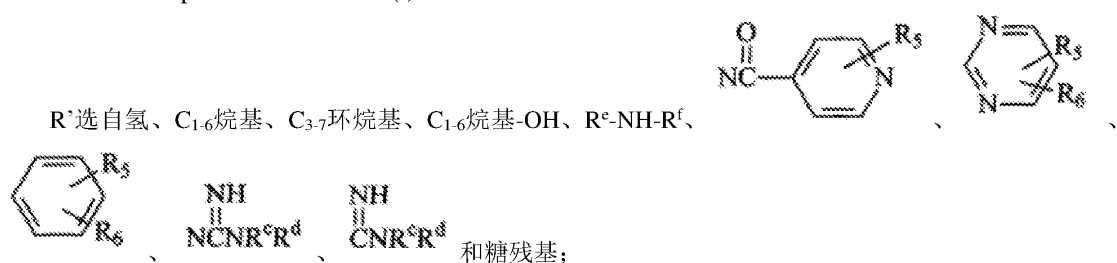


在本发明的实施方案中，所述式(I)的苯并异噻唑衍生物为下式(I-6)的化合物：



(I-6)

其中，R和p分别具有上文在式(I)的化合物中所给出的定义；



R₅和R₆彼此独立地选自氢、卤素、氰基、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷基硫基、N(C₁₋₆烷基)₂、NH(C₁₋₆烷基)、COOR^b和SO₃R^b；

R^b选自氢、C₁₋₆烷基和C₁₋₆烷氧基；

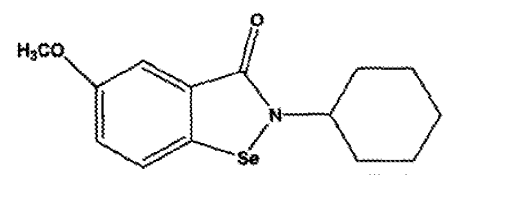
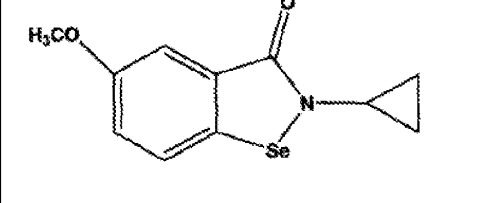
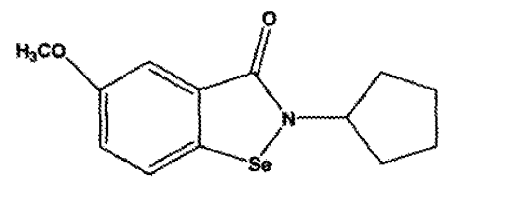
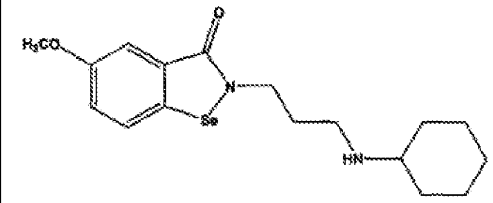
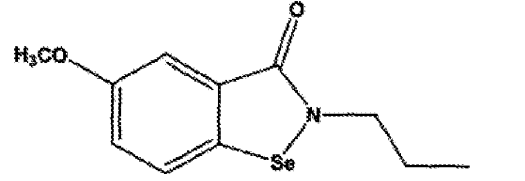
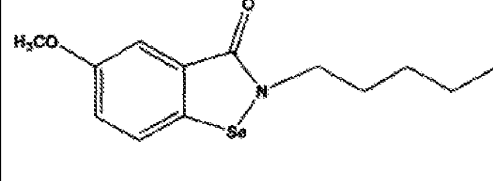
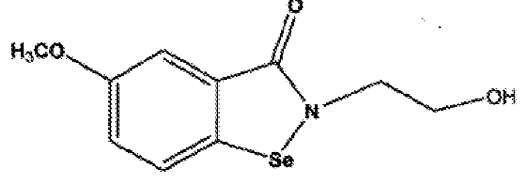
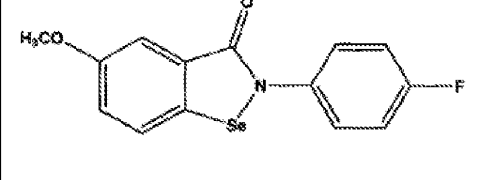
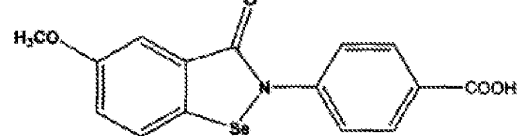
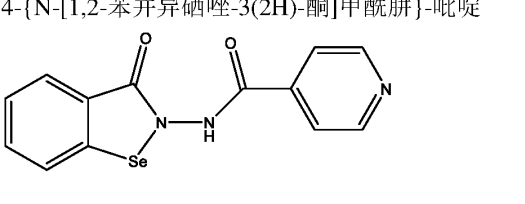
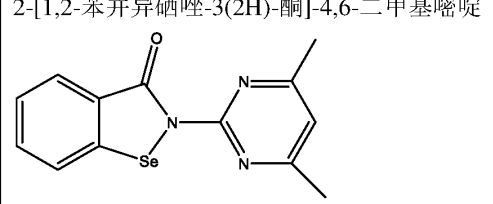
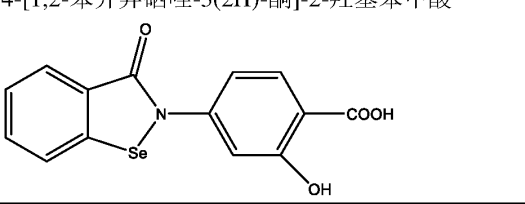
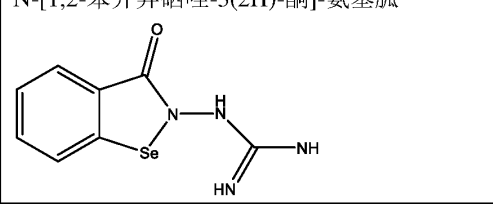
R^e和R^d彼此独立地选自氢、C₁₋₆烷基和苯基；或者R^e和R^d与它们所连接的氮原子一起形成含氮杂环或含氮杂芳环；

R^e和R^d彼此独立地选自C₁₋₆烷基和C₃₋₇环烷基。

根据本发明的实施方案，所述糖残基可为D-吡喃葡萄糖基，例如1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-去氧-D-吡喃葡萄糖基。

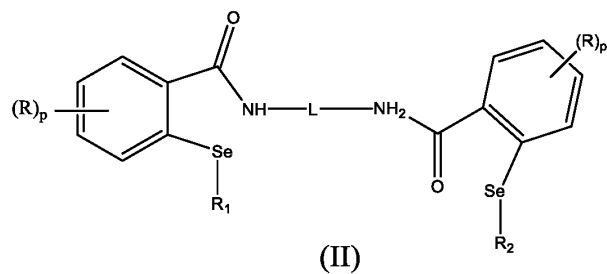
根据本发明，式(I-6)的苯并异硒唑衍生物选自下表6中的化合物：

表6

	
	
	
	
	
4-[N-[1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮]甲酰肼]-吡啶 	2-[1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮]-4,6-二甲基嘧啶 
4-[1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮]-2-羟基苯甲酸 	N-[1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮]-氨基胍 

N-[1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮]-胍	

本发明还提供下式(II)的苯并异硒唑衍生物用于制备抗冠状病毒的药物的用途：

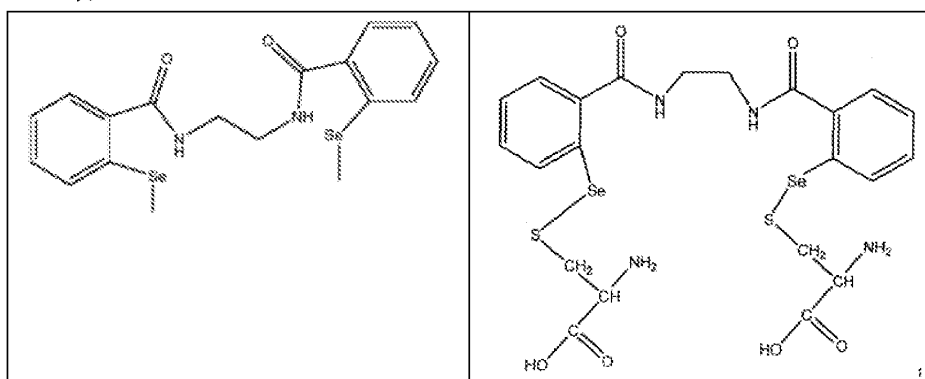


其中，R、p和L分别具有上文在式(I)的化合物中所给出的定义

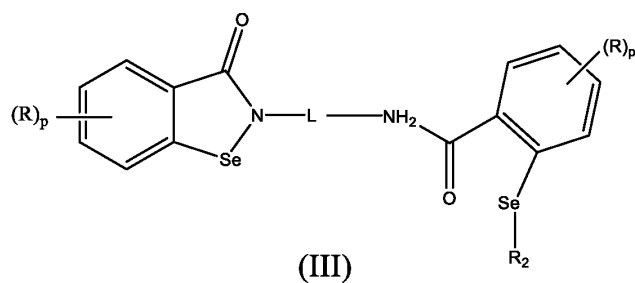
R_1 、 R_2 彼此独立地选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷硫基或 ，其中S原子以单键连接于Se原子。

根据本发明的实施方案， R_1 和 R_2 均为 ，其中S原子以单键连接于Se原子。
根据本发明，式(II)的苯并异硒唑衍生物选自下表7中的化合物：

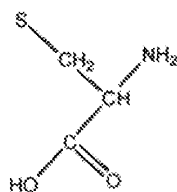
表7



本发明还提供下式(III)的苯并异硒唑衍生物用于制备抗冠状病毒的药物的用途：



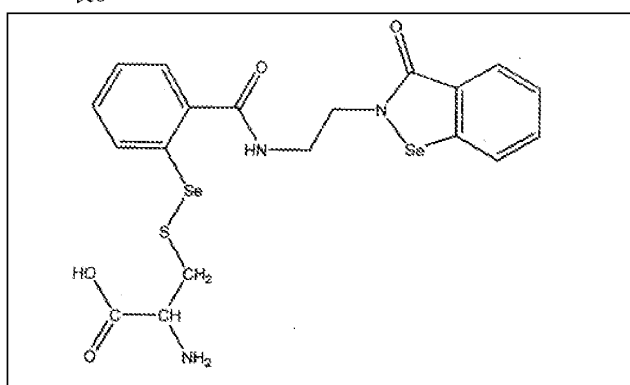
其中，R、p和L分别具有上文在式(I)的化合物中所给出的定义；



R₂选自C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷硫基或

根据本发明，式(III)的苯并异硒唑衍生物为下表8中的化合物：

表8



根据本发明，所述冠状病毒包括HCoV-229E、HCoV-OC43、HCoV-NL63、HCoV-HKU1、SARS-CoV、MERS-CoV和2019-nCoV，尤其是2019-nCoV。

本发明还提供上述式(I)所示的苯并异硒唑衍生物用于制备治疗由冠状病毒引起的疾病的药物的用途。

根据本发明,所述冠状病毒包括HCoV-229E、HCoV-OC43、HCoV-NL63、HCoV-HKU1、SARS-CoV、MERS-CoV和2019-nCoV,尤其是2019-nCoV。

根据本发明,所述由冠状病毒引起的疾病包括呼吸道疾病,例如上呼吸道疾病和/或下呼吸道疾病,如上、下呼吸道急性、慢性感染。

根据本发明,所述由冠状病毒引起的疾病包括重症急性呼吸综合征、中东呼吸综合征和新型冠状病毒肺炎COVID-19。

根据本发明,所述由冠状病毒引起的疾病包括间质性肺疾病(ILD)。

在一些实施方案中,所述药物能够修复肺功能、治疗肺损伤;

在一些实施方案中,所述药物能够抑制脾肿胀;

在一些实施方案中,所述药物可以治疗或缓解肺部炎症反应,例如,能够抑制CD8+T细胞、CD4+T细胞、B细胞数。

在一些实施方案中,所述药物可以抑制/缓解间质性肺炎并发的肺纤维化症状。一方面,所述药物能够改善患者的血液酸碱度、氧分压、组织间液剩余碱、实际碳酸氢根、二氧化碳总量、氧饱和度和/或乳酸水平。示例性地,以给药对象重量计,1,4-[二(1,2-苯并异噻唑-3(2H)-酮)]丁烷在90 mg/kg及180 mg/kg给药剂量下,对于患者的肺换气功能及其酸碱平衡状态具有显著改善。又一方面,所述药物还能够降低给药对象的肺泡灌洗液中NF- κ B、TNF- α 、IL-2、IL-6、IL-1 β 和/或TGF- β 水平,提高肺泡灌洗液中IFN- γ 水平。又一方面,所述药物可以在肺纤维化初期和/或肺纤维化成形阶段,即减少肺组织结构变化和炎症细胞浸润,改善肺纤维化状况。

根据本发明的实施方案,所述药物特别适用于预防/治疗间质性肺炎,在一些实施方案中,所述药物用于预防/治疗纤维化间质性肺炎,可以控制肺纤维化的发生发展进程。在一些实施方案中,所述药物可以控制肺纤维化性间质性肺炎的发生发展进程。

在一些实施方案中,所述药物能够抗ECM沉积。示例性地,以给药对象重量计,1,4-[二(1,2-苯并异噻唑-3(2H)-酮)]丁烷在180 mg/kg给药剂量下,能够抗ECM沉积。

在一些实施方案中,所述药物能够减少支气管粘膜下、肺间质胶原纤维沉积。

此外,本发明还提供一种治疗哺乳动物的冠状病毒感染的方法,其包括给予有需要的哺乳动物治疗有剂量的上述式(I)所示的苯并异噻唑衍生物。

有益效果

本发明的苯并异噻唑衍生物能够有效抑制2019-nCoV 3CLpro蛋白水解酶的活性,进而抑制2019-nCoV RNA聚合酶的活化,抑制病毒的复制,最终消灭病毒。因此,可有效对抗冠状病毒以及由冠状病毒引起的疾病。

术语定义与说明

除非另有说明,本申请说明书和权利要求书中记载的基团和术语定义,包括其作为实例的定义、示例性的定义、优选的定义、表格中记载的定义、实施例中具体化合物的定义等,可以彼此之间任意组合和结合。这样的组合和结合后的基团定义及化合物结构,应当属于本申请说明书记载的范围内。

术语“烷基”应理解为表示具有指定碳原子数的直链或支链饱和一价烃基。例如,“C₁₋₁₂烷基”表示具有1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个碳原子的直链和支链烷基。所述烷基是例如甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、异丙基、异丁基、仲丁基、叔丁基、异戊基、2-甲基丁基、1-甲基丁基、1-乙基丙基、1,2-二甲基丙基、新戊基、1,1-二甲基丙基、4-甲基戊基、3-甲基戊基、2-甲基戊基、1-甲基戊基、2-乙基丁基、1-乙基丁基、3,3-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,1-二甲基丁基、2,3-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基或1,2-二甲基丁基等或它们的异构体。

术语“烷氧基”应理解为-O-烷基,其中烷基具有上述定义。

术语“烷硫基”应理解为-S-烷基,其中烷基具有上述定义。

术语“环烷基”应理解为具有指定碳原子数的饱和的一价单环或双环烃环。术语“C₃₋₁₂环烷基”应理解为表示饱和的一价单环或双环烃环，其具有3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个碳原子。所述C₃₋₁₂环烷基可以是单环烷基，如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环壬基或环癸基，或者是双环烷基如十氢化萘环。

术语“亚烷基”表示具有指定碳原子数的二价烷基基团，例如C₁₋₁₂亚烷基表示二价C₁₋₁₂烷基基团。

术语“烯基”应理解为表示具有指定碳原子数且一个或多个烯键的直连或支链的一价烃基，例如，C₂₋₁₂烯基，优选C₂₋₆烯基，例如“C₂₋₆烯基”指具有2、3、4、5或6个碳原子（即，C₂₋₆烯基），具有2或3个碳原子（即，C₂₋₃烯基）。应理解，在所述烯基包含多于一个双键的情况下，所述双键可相互分离或者共轭。所述烯基是例如乙烯基、烯丙基、(E)-2-甲基乙烯基、(Z)-2-甲基乙烯基、(E)-丁-2-烯基、(Z)-丁-2-烯基、(E)-丁-1-烯基、(Z)-丁-1-烯基、戊-4-烯基、(E)-戊-3-烯基、(Z)-戊-3-烯基、(E)-戊-2-烯基、(Z)-戊-2-烯基、(E)-戊-1-烯基、(Z)-戊-1-烯基、己-5-烯基、(E)-己-4-烯基、(Z)-己-4-烯基、(E)-己-3-烯基、(Z)-己-3-烯基、(E)-己-2-烯基、(Z)-己-2-烯基、(E)-己-1-烯基、(Z)-己-1-烯基、异丙烯基、2-甲基丙-2-烯基、1-甲基丙-2-烯基、2-甲基丙-1-烯基、(E)-1-甲基丙-1-烯基、(Z)-1-甲基丙-1-烯基、3-甲基丁-3-烯基、2-甲基丁-3-烯基、1-甲基丁-3-烯基、3-甲基丁-2-烯基、(E)-2-甲基丁-2-烯基、(Z)-2-甲基丁-2-烯基、(E)-1-甲基丁-2-烯基、(Z)-1-甲基丁-2-烯基、(E)-3-甲基丁-1-烯基、(Z)-3-甲基丁-1-烯基、(E)-2-甲基丁-1-烯基、(Z)-2-甲基丁-1-烯基、(E)-1-甲基丁-1-烯基、(Z)-1-甲基丁-1-烯基、1,1-二甲基丙-2-烯基、1-乙基丙-1-烯基、1-丙基乙烯基、1-异丙基乙烯基。

术语“杂环基”指包含指定环原子数，例如3-14个环原子的饱和的一价单环或双环烃环，其包含1-5个独立选自N、O和S的杂原子，优选“3-10元杂环基”、。术语“3-10元杂环基”意指饱和的一价单环或双环烃环，其包含1-5个，优选1-3个选自N、O和S的杂原子。所述杂环基可以通过所述碳原子中的任一个或氮原子（如果存在的话）与分子的其余部分连接。特别地，所述杂环基可以包括但不限于：4元环，如氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基；5元环，如四氢呋喃基、二氧杂环戊烯基、吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、吡咯啉基；或6元环，如四氢吡喃基、哌啶基、吗啉基、二噻烷基、硫代吗啉基、哌嗪基或三噻烷基；或7元环，如二氮杂环庚烷基。任选地，所述杂环基可以是苯并稠合的。所述杂环基可以是双环的，例如但不限于5,5元环，如六氢环戊并[c]吡咯-2(1H)-基环，或者5,6元双环，如六氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-2(1H)-基环。含氮原子的环可以是部分不饱和的，即它可以包含一个或多个双键，例如但不限于2,5-二氢-1H-吡咯基、4H-[1,3,4]噻二嗪基、4,5-二氢噻唑基或4H-[1,4]噻嗪基，或者，它可以是苯并稠合的，例如但不限于二氢异喹啉基。根据本发明，所述杂环基是无芳香性的。

术语“芳基”应理解为具有指定碳原子数，例如6~20个碳原子，优选6~14个碳原子的一价芳香性或部分芳香性的单环、双环或三环烃环，优选“C₆₋₁₄芳基”。术语“C₆₋₁₀芳基”应理解为优选表示具有6、7、8、9、10、11、12、13或14个碳原子的一价芳香性或部分芳香性的单环、双环或三环烃环（“C₆₋₁₄芳基”），特别是具有6个碳原子的环（“C₆芳基”），例如苯基；或联苯基，或者是具有9个碳原子的环（“C₉芳基”），例如茚满基或茚基，或者是具有10个碳原子的环（“C₁₀芳基”），例如四氢化萘基、二氢萘基或萘基，或者是具有13个碳原子的环（“C₁₃芳基”），例如蒽基，或者是具有14个碳原子的环（“C₁₄芳基”），例如蒎基。当所述C₆₋₁₄芳基被取代时，其可以为单取代或者多取代。并且，对其取代位点没有限制，例如可以为邻位、对位或间位取代。

术语“杂芳基”应理解为具有指定环原子数，例如3~20个环原子，且包含1-5个独立选自N、O、S、Se和Te等的杂原子的一价单环、双环或三环芳族环基团，例如“5-14元杂芳基”。术语“5-14元杂芳基”应理解为具有5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个环原子——特别是5或6或9或10个碳原子——且其包含1-5个——优选1-3个——独立选自N、O和S的杂原子的一价单环、双环或三环芳族环基团，并且，另外在每一种情况下可为苯并稠合的。特别地，杂芳基选自噻吩基、呋喃基、吡咯基、噁唑基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、异噁唑基、异噻唑基、噁二唑基、三唑基、噻二唑基等以及它们的苯并衍生物，例如苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、苯并异噁唑基、苯并咪唑基、苯并三唑基、吡唑基、吡啶基、异吡啶基、苯并异噻唑基等；或吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基等，以及它们的苯并衍生物，例如喹啉基、喹唑啉基、异喹啉基等；或吡辛因基、吡嗪基、噁唑基等以及它们的苯并衍生物；或噻啉基、酞嗪基、喹啉

啉基、喹啉基、萘啉基、蝶啉基、呋啉基、吡啉基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噻嗪基等。

术语“氧代”是指取代基中的碳原子、氮原子或硫原子被氧化后形成的氧基取代(=O)。

术语“硫代”是指羰基中的氧原子被硫原子取代形成的基团C=S。

本发明的苯并异噻唑衍生物的药学上可接受的盐包括：所述化合物与无机酸或有机酸形成的酸加成盐；所述无机酸选自盐酸、氢氟酸、氢溴酸、氢碘酸、高氯酸、硫酸、焦硫酸、磷酸或硝酸中的至少一种；所述有机酸选自甲酸、乙酸、乙酰乙酸、丙酮酸、三氟乙酸、丙酸、丁酸、己酸、庚酸、十一烷酸、月桂酸、苯甲酸、水杨酸、2-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、樟脑酸、肉桂酸、环戊烷丙酸、二葡萄糖酸、3-羟基-2-萘甲酸、烟酸、扑酸、果胶酯酸、过硫酸、3-苯基丙酸、苦味酸、特戊酸、2-羟基乙磺酸、衣康酸、氨基磺酸、三氟甲磺酸、十二烷基硫酸、乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、甲磺酸、2-萘磺酸、萘二磺酸、樟脑磺酸、柠檬酸、酒石酸、硬脂酸、乳酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、苹果酸、己二酸、藻酸、马来酸、富马酸、D-葡萄糖酸、扁桃酸、抗坏血酸、葡庚酸、甘油磷酸、天冬氨酸、磺基水杨酸、半硫酸或硫氰酸中的至少一种；

或者，本发明的苯并异噻唑衍生物的药学上可接受的盐为其碱金属盐、碱土金属盐、铵盐，或与提供生理学上可接受的阳离子的有机碱形成的盐，例如与如下物质中的至少一种形成的盐：钠离子、钾离子、钙离子、镁离子、吗啉、哌啶、三乙胺、三丙胺、三丁胺、二异丙基胺、二异丙基乙二胺、吡啶、二甲胺、二乙胺、N-甲基葡萄糖胺、二甲基葡萄糖胺、乙基葡萄糖胺、赖氨酸、二环己基胺、1,6-己二胺、乙醇胺、葡萄糖胺、葡甲胺、肌氨酸、丝氨酸、三羟基甲基氨基甲烷、氨基丙二醇、1-氨基-2,3,4-丁三醇。

本发明的化合物可以溶剂合物(如水合物)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。

根据其分子结构，本发明的化合物可以是手性的，因此可能存在各种对映异构体形式。因而这些化合物可以以消旋体形式或光学活性形式存在。本发明的化合物或其中间体可以通过本领域技术人员公知的化学或物理方法分离为对映异构体化合物，或者以此形式用于合成。可以根据已知的方法，例如通过萃取、过滤或柱层析来分离相应的稳定异构体。

附图说明

图1为动物模型24h造模及给药示意图。

图2为动物模型7天造模及给药示意图。

图3为24h造模小鼠体重变化情况。

图4为7天造模小鼠体重变化情况。

图5为24h造模各组小鼠肺脏及脾脏系数。

图6为7天造模各组小鼠肺脏及脾脏系数。

图7为24h造模组给药结束各组小鼠血气分析结果比较。

图8为7天造模组给药结束各组小鼠血气分析结果比较。

图9为7天造模组肺泡灌洗液中炎症细胞数量比较。

图10为肺泡灌洗液中细胞因子比较。

图11为造模24h后给药35天时小鼠肺脏羟脯氨酸含量。

图12为24h造模各组小鼠肺纤维化评分。

图13为24h造模各组小鼠肺组织HE结果。

图14为7天造模各组小鼠肺纤维化评分。

图15为7天造模各组小鼠肺组织HE结果。

具体实施方式

下文将结合具体实施例对本发明的用途做更进一步的详细说明。应当理解，下列实施例仅为示例性地说明和解释本发明，而不应被解释为对本发明保护范围的限制。凡基于本发明上述内容所实现的技术均涵盖在本发明旨在保护的范围内。

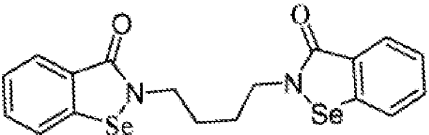
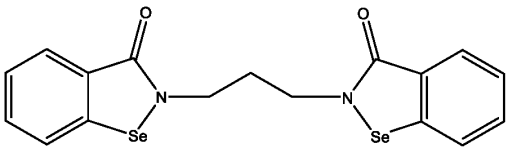
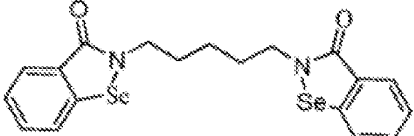
除非另有说明，以下实施例中使用的原料和试剂均为市售商品，或者可以通过已知方法制备。

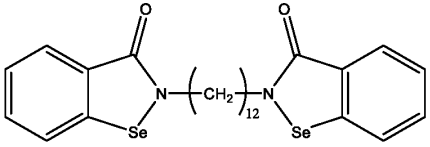
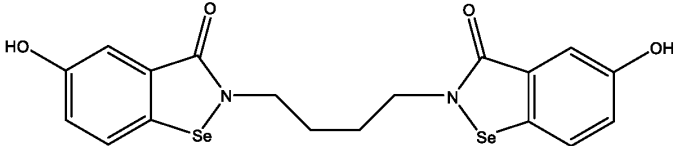
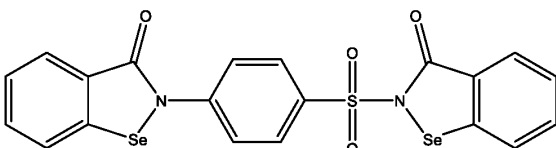
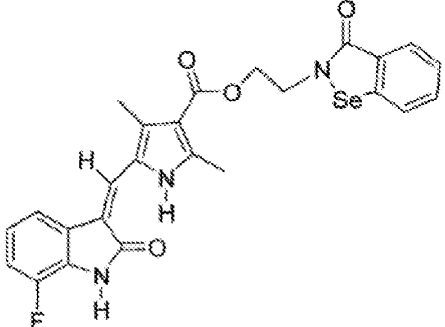
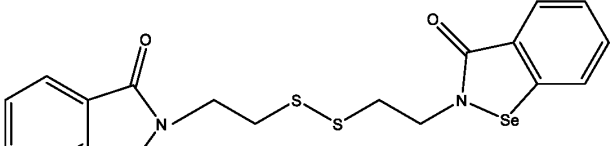
本发明的苯并异硒唑衍生物可通过现有技术中已知的方法或者参考文献中的方法来制备。例如可参考以下文献中的制备方法：CN106977472A中记载的制备方法，特别是实施例1-34描述的制备方法；CN106146371A中记载的制备方法，特别是实施例1-5中描述的制备方法；CN104119329A中记载的制备方法，特别是实施例1-68中描述的制备方法；CN102898402A中记载的制备方法，特别是实施例1-96中描述的制备方法；CN102234254A中记载的制备方法，特别是实施例1-13中描述的制备方法；CN101921303A中记载的制备方法，特别是实施例1-6中描述的制备方法；CN101786976A中记载的制备方法，特别是实施例1中描述的制备方法；CN100497324C中记载的制备方法，特别是实施例1-9中描述的制备方法；CN1990475A中记载的制备方法，特别是实施例1-17中描述的制备方法；CN1704409A中记载的制备方法，特别是实施例1-9中描述的制备方法；CN1280279C中记载的制备方法，特别是实施例1-12中描述的制备方法；CN1242999C中记载的制备方法，特别是实施例1-4中描述的制备方法；CN202010287745.6中记载的制备方法，特别是实施例1-8的制备方法。通过引用的方式将所述文献全文引入本申请中。

生物实施例1

2019-nCoV是一种RNA病毒，其增殖依赖于RNA依赖的RNA聚合酶（RdRp）的对母系RNA的再生，而2019-nCoV 3CLpro蛋白是2019-nCoV关键蛋白RdRp成为活性形式的关键蛋白，2019-nCoV 3CLpro蛋白通过水解病毒pp1a和pp1ab蛋白，使其形成成熟产物nsp1-16，进而组装成具有活性的RdRp，目前2019-nCoV 3CLpro已被认为是治疗冠状病毒的药物靶标之一。基于2019-nCoV 3CLpro蛋白是一种蛋白水解酶的基本特点，建立了荧光法检测2019-nCoV 3CLpro蛋白活性的筛选体系。2019-nCoV 3CLpro蛋白可特异性剪切P1位为Gln（Q）的底物，其活性检测可采用荧光多肽为底物，通过检测荧光信号的生成来反映其蛋白水解酶的活性。

表9:

化合物结构	IC ₅₀ (μg/ml)
	0.52±0.14
	0.05±0.00
	0.05±0.01
	0.04±0.00

	0.02±0.00
	0.02±0.00
	0.66±0.28
	0.86±0.28
	0.75±0.28

从以上结果中可以看出，本发明的苯并异噻唑衍生物可有效地抑制2019-nCoV 3CLpro蛋白酶的活性，进而抑制依赖于RNA依赖的RNA聚合酶（RdRp）的活性，从而抑制病毒复制。因此，可有效对抗冠状病毒以及由冠状病毒引起的疾病。

生物实施例2

实验目的：

体外细胞试验中，药物处理 Vero E6 细胞的生长状态判断受检测样品的细胞毒性作用；通过观察经药物处理后病毒感染 Vero E6 细胞导致的病变效应（CPE）判断受检测样品对病毒复制的抑制作用观察中发现药物在低浓度 1-2.5uM 可观察到对于对 SARS-CoV-2 病毒的抑制作用，更高的浓度情况下由于药物对于 CPE 的毒性背景无法合理评价，提示药物在此浓度情况下具备抑制 SARS-CoV-2 病毒作用。

实验材料与方法：

1、材料来源 2019-nCoV 病毒株由武汉病毒所预防控制中心分离获得,毒株经Vero E6传代 2 代,毒株于接种后第6天收获, -80℃ 保存. 病毒分离及 TCID₅₀测定等均在BSL-3实验室内进行。

2、试剂及仪器

VeroE6细胞(ATCC® CRL1586™)、细胞培养基 MinimumEssentialMedium (Gibco, Ref. No. 41500-034)、

胎牛血清 (PAN Sera ES, Cat. No. 2602-P130707); 仪器设备包括二氧化碳培养箱、细胞计数仪、倒置显微镜。

3、方法

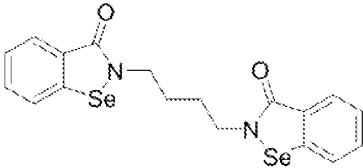
病毒半数感染剂量(TCID₅₀)的测定 将接种后第6天 (细胞已完全病变) 的病毒培养液冻融1次后,离心取上清并分装冻存。取1管冻存的病毒液按半对数稀释法自10⁻²稀释至10⁻⁷, 96孔板中充满单层的 Vero-E6贴壁细胞用细胞维持液 (含2%胎牛血清的MEM)洗涤2遍,加入100μL稀释好的病毒液,每个稀释度重复4孔,以细胞维持液为阴性对照,置36℃、5% CO₂的二氧化碳培养箱中 孵育90min,期间每30min晃动细胞板1次。孵育完成后吸出病毒液,用细胞维持液洗涤细胞1遍后,每孔加入200μL细胞维持液,置36℃、5% CO₂的二氧化碳培养箱中孵育,每日观察细胞病变,于接种后第6天终止实验,根据Reed-Muench方法计算TCID₅₀和计数。

4、病毒增殖及滴度测定

将病毒储存液稀释至5TCID₅₀/100μL, 取病毒液7.8mL(根据培养容器底面积和测定 TCID₅₀时100μL/孔的量换算)接种至T25(底面积为25cm²)细胞培养瓶中(细胞贴壁密度在95%~100%,细胞数量约2.42×10⁶/瓶, MOI 约为1.74×10⁻⁴TCID₅₀/cell), 置 36℃、5% CO₂的二氧化碳培养箱中孵育 90min,期间每30min晃动细胞瓶1次,孵育完成后吸出病毒液,用细胞维持液洗涤细胞1遍,往细胞瓶中加入10mL细胞维持液, 置36℃、5% CO₂的二氧化碳培养箱中 孵育,从孵育后开始,每24h观察细胞病变并同时吸取0.55mL增殖产物,离心后上清冻存于-80℃备用,至第6天时终止实验。将每日收集上清从原始浓度开始半对数稀释至10⁻⁵, 并接种至96孔细胞板,每个稀释度3孔,每日观察细胞病变,测定病毒TCID₅₀, 并计数。

5、药物配制 (将本发明化合物溶于5%CMC-Na溶液中制成混悬液)

本发明代表性化合物结构如下所示 (简称BS) :



实验结果如下表A所示:

表A BS对细胞的毒性和对SARS-CoV-2病毒的抑制作用

	20 μ m	10 μ m	5 μ m	2.5 μ m	1.25 μ m	0.625 μ m	0.3 μ m	0.16 μ m	virus	cell
抗病毒活性	++	++	++	++	+++	++++	++++	++++	++++	-
	++	++	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	-
细胞毒性	++	++	++	+	-	-	-	-	++++	-

生物实施例3

1 间质性肺疾病动物模型

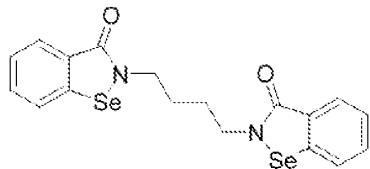
博莱霉素 (bleomycin)是一种化疗药物,用于治疗多种肿瘤,如淋巴瘤、睾丸癌、卵巢癌和恶性胸腔积液。博莱霉素最严重的不良反应是肺毒性,首先出现内皮细胞和间质毛细血管水肿、II型肺泡上皮细胞坏死、炎性介质释放。随后,成纤维细胞增殖并转化成肌成纤维细胞。目前,博莱霉素是动物模型中最重要的、应用最广泛的肺纤维化诱导剂。其模型发生过程包括了间质性肺病主要要素特征过程呈现,如炎症、炎症伴随纤维化发生发展、纤维化不可逆形成等。

本次实验中,针对小鼠给药得到的病理模型过程有炎症表现 (给药24小时后) 和纤维化发生等,且在模型后期发展成为纤维化为主,具体的,约第10天出现炎症反应及上皮细胞凋亡,第14天发生肺纤维化,

肺纤维化病变在第 21-28天最明显。博来霉素诱导的肺纤维化程度和分布是呈剂量依赖性的。单次给药 博来霉素会导致相对短暂的变化，而重复的给药则会导致长期的病变，这与人类纯粹的不可逆的肺纤维化阶段（含IPF）更为相近。

本研究选择Dex（地塞米松）作为阳性对照药，研究本发明化合物（例如表9中所列的活性化合物）对博来霉素诱导的小鼠肺病模型在早期炎症阶段控制纤维化发生发展的影响。

本发明代表性化合物结构如下所示（简称BS）：



缩写含义：
Model代表模型组；Dex代表地塞米松；BSL：BS低剂量组；BSM：BS中剂量组；BSH：BS高剂量组。

2 供试品和对照品信息

2.1 供试品

名称：BS

2.2 对照药

名称：地塞米松（Dex），批号：D107196（CAS：2392-39-4）
规格和纯度：250mg，98%，性状及理化性质：白色粉末
生产单位：上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

2.3 诱导药

名称：博来霉素 批号：B1010423（CAS：9041-93-4）
规格和纯度：25mg，1.5-2.0 units/mg
性状及理化性质：白色粉末
生产单位：上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

3 实验设计

3.1 动物筛选和分组

24h 造模动物按下表共随机分为 5 组，对照组每组 3 只，实验组每组 5 只。

组别	给药剂量 (mg/kg/次)	给药浓度 (mg/mL)	给药容量 (mL/kg)
对照组	0	0	10
Model	0	0	10
Dex	1-1.5	0.1-0.15	10
BS	90	9	10

7 天造模动物按下表共随机分为 7 组，对照组每组 6 只，实验组每组 12 只。

组别	给药剂量 (mg/kg/次)	给药浓度 (mg/mL)	给药容量 (mL/kg)
对照组	0	0	10
Model	0	0	10
Dex	1-1.5	0.1-0.15	10
BSL	36	3.6	10
BSM	90	9	10
BSH	180	18	10

3.2 给药方式和频率

造模24h或7天后开始给药, BS均为每日单次灌胃给药, Dex均为隔日单次腹腔注射给药, 开始给药时间为D1, 给药第2天为D2, 以此类推。正常组和Model组每天灌胃生理盐水200 μ l。

3.3 剂量选择

BS给药方案为1天给药1次。

BS在总剂量36, 90, 180mg/kg的范围内灌胃给药无毒副作用。因此本实验选择以上剂量作为给药剂量。

4 检测指标

4.1 体重

所有动物实验期间每天观察一次。观察内容包括死亡或濒死、粪便、摄食情况、精神状态以及行为活动等, 发现异常情况, 及时记录。所有动物分组前称重1次, 每次给药前称重1次。

4.2 脏器系数

检测动物: 所有动物。

检测时期: 小鼠自然死亡后。

方法: 动物安乐死后, 解剖, 取心肝脾肺肾进行称重。

检测指标: 脏器系数。

4.3 血气分析

1. 将小鼠麻醉后, 将小鼠四肢仰卧固定在木板上;

2. 酒精消毒皮肤后, 沿颈部正中线由上至下剪开皮肤约1.5cm, 用组织镊沿胸骨乳突肌前缘分离胸骨舌骨肌与胸骨甲状肌之间的结缔组织, 在气管旁右深侧即可见到搏动的颈总动脉, 分离出长约1.5cm颈总动脉, 远心端丝线结扎, 近心端用动脉夹夹住并穿一根丝线备用, 将鼠板移至解剖显微镜下, 用显微剪在动脉靠近远心端轻剪一“V”字形 向心切口, 将PE微导管插入动脉并用丝线打结固定, 松开动脉夹, 1 mL注射器抽吸0.1-0.2ml血液, 近心端夹上动脉夹, 移除注射器, 立即在AbboTTi-STAT微量血气分析仪上检测。

4.4 肺泡灌洗液炎症细胞分析

将小鼠固定后, 暴露小鼠气管和胸腔, 用眼科弯镊钝性分离气管和食管, 穿两根外科缝线于气管、食管之间, 将静脉留置套管针插入气管, 分别在套管进入气管处、套管远端处结扎紧, 连接1ml注射器抽取预冷的PBS 1ml, 灌入肺组织中, 肉眼可见肺脏明显充盈, 停留10s后进行回抽, 重复3次, 将回抽收集的BALF转移至干净的EP管中, 4 $^{\circ}$ C离心, 收集上清, -80 $^{\circ}$ C保存, 细胞进行常规检查。

4.5 肺泡灌洗液炎症因子分析

将小鼠固定后, 暴露小鼠气管和胸腔, 用眼科弯镊钝性分离气管和食管, 穿两根外科缝线于气管、食管之间, 将静脉留置套管针插入气管, 分别在套管进入气管处、套管远端处结扎紧, 连接1ml注射器抽取预冷的PBS 1ml, 灌入肺组织中, 肉眼可见肺脏明显充盈, 停留10s后进行回抽, 重复3次, 将回抽收集的BALF转移至干净的EP管中, 4 $^{\circ}$ C离心, 收集上清, -80 $^{\circ}$ C保存。用ELISA对肺泡灌洗液炎症因子进行检测。

4.6 肺组织羟脯氨酸含量分析

(一) 提取肝脏组织总蛋白

1、液氮中取出冻存的肝组织, 每个肝组织样本剪取100mg, 置于无DNA酶, 无RNA酶的5mL离心管中, 加入2mL预冷的生理盐水, 尽量剪碎组织, 2000 rpm/min离心2 min, 弃上清。

2、向沉淀中加入1mL RIPA 裂解液(临用前按照1:100比例加入混合蛋白酶抑制剂Cocktail, 冰上保存), 于冰上用电动匀浆器制备组织匀浆, 6000rpm 30s $\times$ 3 次, 冰上裂解30 min, 于4 $^{\circ}$ C 16000 rpm/min 离心15 min, 转移上清至新的EP管中, 即为所提取的总蛋白, -20 $^{\circ}$ C保存备用。

(二) BCA法测定蛋白浓度

1、96孔板中加入标准BSA蛋白溶液0、125、250、500、1000、2000 μ g/ml各20 μ l; 样品孔中加入2 μ L样品, 补充18 μ L PBS至20 μ L。

2、按照标准品和样品数量, 配制适当的BCA工作液, 现配现用, 充分混匀后每孔加入200 μ L, 37 $^{\circ}$ C

孵育30分钟；于酶标仪上检测570 nm处的吸光度。根据标准曲线，计算样品蛋白浓度。

(三) HYP水平检测

1、从室温平衡20 min后的铝箔袋中取出所需板条，设置标准品孔和样本孔，标准孔中加入不同浓度标准溶液50 μ L，样本孔中先加入待测样本10 μ L，再加入样本稀释液40 μ L，空白孔不加。

2、除空白孔外，每孔加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的检测抗体100 μ L，封板膜封住反应孔，37°C恒温箱孵育1h。

3、弃去液体，拍干，每孔加满洗涤液，静置1min，弃去、拍干，重复洗涤5次。

4、每孔加入底物A、B各50 μ L，37°C恒温箱避光孵育15-30min。

5、每孔加入终止液50 μ L，立即于450nm波长处检测吸光度值。

4.7 肺HE病理分析

1. 石蜡包埋和切片

1) 将肺脏组织拍好照片后取下，于10%甲醛固定48h；

2) 经过105%、80%、90%、95%、100%至完全脱水；

3) 二甲苯I透明20 min，二甲苯II透明60 min；

4) 浸蜡：软蜡1h，软蜡2h，硬蜡2h；

5) 使浸透蜡的组织块包裹在石蜡中。具体做法是：先准备好模具，将组织平放在模具底部，切面朝下后将包埋盒盖在模具上，将熔蜡倒入模具内至蜡液溢出模具后，再轻轻提起模具，平放在冰冻台中，待其迅速冷却凝固约10min后取出。

6) 切片方法

将所要切的包埋块固定在标本台上，使包埋块外切面与标本夹截面平行，并让包埋块稍露出一截。将刀台推至外缘后松开刀片夹的螺旋，上好刀片，使切片刀平面与组织切面间呈15°左右的夹角，包埋块上下边与刀口平行。在微动装置上调节切片要求的厚度，调节时应注意指针不可在两个刻度之间，否则容易损伤切片机，将刀台移至近标本台处。右手转动转轮，左手持毛笔在刀口稍下端接住切好的片子，并托住切下的蜡带，待蜡带形成一定长度后，右手停止转动，持另一枝毛笔轻轻将蜡带挑起。切片完毕，应及时用将切片机的有关部分擦净。

2. HE染色

1) 选取平整的切片进行HE染色。

2) 将切片于二甲苯I中脱蜡20min。

3) 将切片于二甲苯II中脱蜡20min。

4) 将切片于无水乙醇中浸泡10min。

5) 梯度复水，无水乙醇5min，90%乙醇5min，80%乙醇5min，100%乙醇5min，水洗。

6) 染苏木素3~5min。水洗。

7) 1%HCl-105%乙醇分化5~10s。水洗反蓝。

8) 伊红染色30~60s。水洗。

9) 80%乙醇洗3~5s、95%乙醇洗3~5s、无水乙醇洗3~5s。

10) 中性树脂封片，显微镜下观察，拍照。

HE切片：连续切片3张，选取组织完整，切片平整的切片进行HE染色，每张切片在200倍视野下，随机取个3视野，进行拍照。获得的图片进行评分。

5 数据采集和统计分析

5.1 数据采集

将方案要求测定、观察的结果和数据手记到适当的表格上或计算机直接采集数据。

5.2 统计分析

计量资料以平均值 $\pm$ 标准差来表示，所有数据统计均采用Graphpad prism 5.0统计学软件进行。Masson分析用Image J分析3个视野中的总面积和胶原阳性面积，通过阈值设置可以排除蓝色核的影响，将胶原阳性面积比上总面积即CVF%。

6 结果

第一部分 BS给药后各组体重变化及脏器系数分析

6.1 体重

本实验中, 随机选取105只C57小鼠, 以2.5mg/kg的剂量, 经单次器官滴注博来霉素诱导24h或7天。7天诱导结束后随机选取3只模型小鼠进行解剖, 观察造模是否成功。造模完成后记录小鼠的生存情况, 每天固定时间观察小鼠生活状态并称重小鼠体重。

动物模型24h造模及给药示意图如图1所示, 诱导24h后进行随机分组, 分别分为Model组, Dex组, BS组, 每组5只; 正常对照组3只小鼠。。

动物模型7天造模及给药示意图如图2所示, 诱导7天后进行随机分组, 分别分为Model组, Dex组, BSL组, BSM组, BSH组, 每组12只; 正常对照组6只小鼠。

表1 24h造模小鼠体重变化情况

天数	D1	D7	D14	D21	D28	D35
Control	23.10±1.22	23.33±0.86	24.47±0.25	24.70±0.10	25.03±0.06	25.13±0.06
Model	20.40±0.85	19.74±0.93	18.96±1.12	18.78±1.03	18.48±1.03	18.22±1.01
Dex	19.92±1.38	20.02±0.96	19.24±0.95	18.90±0.78	18.56±0.71	18.36±0.66
BS	20.34±1.01	19.50±1.35	18.84±1.70	18.52±1.75	18.30±1.60	18.02±1.75

小鼠在饲养期间, 对照组小鼠毛色光滑柔顺、精神状态好, 活动自如, 对刺激反应敏捷。Model 组小鼠毛色晦暗干枯、精神状态差, 不愿活动, 对刺激反应迟钝。BS 各剂量组活力较 Model 组高。

24h 造模组小鼠各组体重随天数变化如图 3 所示。图 3 中的 A 为给药期间各组小鼠体重变化图, 图 3 中的 B 为给药期间各组小鼠体重变化率, 图 3 中的 C 为给药第 1 天和给药第 35 天各组小鼠体重对比图。

各组小鼠体重变化如图 3 中的 A 及表 1 所示。除对照组, 各给药组小鼠体重均有所降低。Model 组小鼠精神状态欠佳, 体重大幅降低, 由最初的 20.40±0.85g 降低至 18.22±1.01g, 降幅达到 12.25%。给药 35 天时, 各组小鼠体重为: 对照组 25.13±0.06g; Model 组 18.22±1.01g; Dex 组 18.36±0.66g; BS 组 18.02±1.75g。

各组小鼠体重变化率如图 3 中的 B 所示。较给药第 1 天, 给药 35 天时对照组体重增长 8.10%; Model 组降低 12.25%; Dex 组降低 8.48%; BS 组降低 13.58%。

7 天造模组小鼠各组体重随天数变化如图 4 所示。图 4 中的 A 为给药期间各组小鼠体重变化图, 图 4 中的 B 为给药期间各组小鼠体重变化率, 图 4 中的 C 为给药第 1 天和给药第 28 天各组小鼠体重对比图。

表2 7天造模小鼠体重变化情况

天数	D1	D7	D14	D21	D28
Control	22.37±0.74	24.10±0.46	24.47±0.39	24.75±0.29	25.10±0.40
Model	18.02±0.52	17.67±0.67	17.34±0.76	17.24±0.60	17.19±0.63
Dex	17.79±0.89	17.61±1.02	17.45±0.96	17.43±0.92	17.38±0.85
BSL	17.80±0.72	17.49±0.84	17.37±0.80	17.23±0.76	17.23±0.82
BSM	18.20±0.87	17.89±0.92	17.63±0.79	17.46±0.73	17.41±0.72
BSH	19.88±0.47	19.45±0.62	19.26±0.44	19.13±0.54	19.19±0.71

各组小鼠体重变化如图4中的A及表2所示。除对照组, 各给药组小鼠体重均有所降低。Model组小鼠精神状态欠佳, 体重降低, 由最初的18.02±0.52g降低至17.19±0.63g, 降幅达到-4.85%。给药28天时, 各组小鼠体重为: 对照组25.10±0.40g; Model组17.19±0.63g; Dex组17.38±0.85g; BSL组17.23±0.82g; BSM组17.41±0.72g; BSH组19.19±0.71g。

各组小鼠体重变化率如图4中的B所示。较给药第1天, 给药28天时对照组体重增长10.91%; Model组降低4.85%; Dex组降低2.42%; BSL组降低3.39%; BSM组降低4.53%; BSH组降低3.62%。给药第1天和给药

第28天各组小鼠体重对比如图4中的C所示。

6.2 脏器系数

肺系数可以动态反应出肺脏疾病的进展情况。随着肺部炎症和纤维化的发展,肺脏渗出增多,水份增加,各种蛋白浸润肺组织,肺脏胶原含量增多,导致肺脏重量的增加,肺系数亦随之上升。Model组小鼠由于炎症和细胞外基质沉积造成肺脏系数显著升高,提示肺纤维化小鼠模型造模成功。

实验中,小鼠经过造模后,表现出了肺纤维化的症状和Model作为外来刺激导致的脾脏系数增加。

24h造模组小鼠给药结束后,对 各组动物的肺脏及脾脏系数进行统计分析如表3所示。其中,肺脏系数和脾脏系数观察到显著变化。

表3 24h造模各组小鼠肺脏及脾脏系数

组别	Control	Model	Dex	BS
肺脏系数 (%)	0.42±0.06	0.99±0.06	0.93±0.09	0.89±0.04
脾脏系数 (%)	0.27±0.04	0.42±0.03	0.41±0.06	0.37±0.02

表4 7天造模各组小鼠脏器系数

组别	Control	Model	Dex	BSL	BSM	BSH
肺脏系数 (%)	0.43±0.04	0.99±0.05	0.96±0.08	0.97±0.07	0.90±0.09	0.88±0.05
脾脏系数 (%)	0.25±0.03	0.44±0.04	0.43±0.04	0.40±0.07	0.40±0.05	0.39±0.02

7天造模组小鼠给药结束后,对 各组动物的肺脏及脾脏系数进行统计分析如表4所示。其中,肺脏系数和脾脏系数观察到显著变化。

BS可改善肺部炎症和纤维化状况,实验结果提示BS在180mg/kg研究剂量下,可显著降低肺纤维化模型小鼠的脾脏系数且效果优于Dex,对小鼠的脾肿胀有一定抑制作用。本实验条件下,BS(36, 90, 180 mg/kg)对小鼠没有明显毒副作用。

24h造模组小鼠给药结束后,对 各组动物的肺脏及脾脏系数进行统计分析。肺系数结果提示BS180I在90 mg/kg研究剂量下,单用及联用均可显著缓解肺纤维化模型小鼠肺系数上升现象,且效果优于Dex。BS可改善肺部炎症和纤维化状况。脾脏系数结果提示BS在90 mg/kg研究剂量下,可显著降低肺纤维化模型小鼠的脾脏系数且效果优于Dex,对小鼠的脾肿胀有一定抑制作用。

7天造模组小鼠给药结束后,对 各组动物的肺脏及脾脏系数进行统计分析。肺系数结果提示BS低中高剂量组对肺脏系数有影响并显示剂量依赖现象。BS在90 mg/kg、180 mg/kg研究剂量下单用,及在90 mg/kg研究剂量下联用均可显著缓解肺纤维化模型小鼠肺系数上升现象,且效果优于Dex。BS可改善肺部炎症和纤维化状况。脾脏系数结果提示BS在180mg/kg研究剂量下,可显著降低肺纤维化模型小鼠的脾脏系数且效果优于Dex,对小鼠的脾肿胀有一定抑制作用。

第二部分 BS给药血气分析

6.3 血气分析

血气分析通过测定血液的H⁺浓度和溶解在血液中的气体（主要指CO₂、O₂）能直接反映肺换气功能及其酸碱平衡状态。用于判断机体是否存在酸碱平衡失调以及缺氧和缺氧程度等。分析结果如下：

表5 24h造模组给药结束各组小鼠血气分析结果比较

指标	单位	Control	Model	Dex	BS
pH	mmHg	7.35±0.07	6.80±0.11	7.09±0.10	7.05±0.08
PCO ₂	mmHg	35.48±0.76	30.10±1.07	32.52±2.73	30.84±1.21
PO ₂	mmol/L	109.17±1.65	66.06±9.03	91.20±4.09	91.52±4.83
BEect	mmol/L	-6.33±0.82	-12.20±1.92	-9.20±1.30	-9.40±1.14
HCO ₃ ⁻	mmol/L	34.97±0.94	20.68±2.91	28.28±1.56	30.00±1.20
TCO ₂	%	38.90±0.39	27.24±1.96	29.32±1.52	33.20±1.01
SaO ₂	mmol/L	93.83±1.60	31.80±4.66	67.20±5.93	79.40±3.71
Lac	mmHg	1.21±0.02	5.05±0.71	2.87±0.23	3.31±0.34

*p < 0.05, ** p < 0.01, ***p < 0.001 vs. the Model group.

结果显示，BS在90 mg/kg研究剂量下，对于间质性肺病模型中发展成为肺纤维化小鼠的肺换气功能及其酸碱平衡状态具有显著改善，药效总体优于Dex（1-1.5mg/kg）。

表6 7天造模组给药结束各组小鼠血气分析结果比较

*p < 0.05, ** p < 0.01, ***p < 0.001 vs. the Model group.

指标	单位	Control	Model	Dex	BSL	BSM	BSH
PH	mm Hg	7.35±0.07	6.81±0.20	7.10±0.11	6.83±0.14	6.97±0.13	7.18±0.10
PCO ₂	mm Hg	35.48±0.76	30.82±1.03	33.60±1.92	27.45±1.35	31.62±1.34	32.82±2.02
PO ₂	mmo l/L	109.17±1.65	62.63±6.98	92.55±5.19	70.08±4.42	91.47±2.57	93.33±2.86
BEect	mmo l/L	-6.33±0.82	-14.00±4.86	-8.50±1.05	-15.67±4.13	-9.83±0.75	-8.00±1.10
HCO ₃ ⁻	mmo l/L	34.97±0.94	20.52±2.88	27.82±1.08	22.30±1.51	30.57±1.42	27.82±0.91
TCO ₂	%	38.90±0.39	23.37±2.82	31.70±1.31	24.13±6.00	32.45±2.30	31.38±1.30
SaO ₂	mmo l/L	93.83±1.60	34.83±5.27	69.00±5.87	34.00±4.86	75.83±5.00	69.50±1.87
Lac	mm Hg	1.21±0.02	4.18±0.91	2.95±0.36	3.95±0.51	2.56±0.35	2.94±0.22

结果显示，BS在90 mg/kg及180 mg/kg研究剂量下，对于肺纤维化模型小鼠的肺换气功能及其酸碱平衡状态具有显著改善，药效总体优于Dex（1-1.5mg/kg）。

表7-1 给药结束各组小鼠血气分析结果比较

指标	单位	Control	Model	
		/	24h	7 days

pH	mmHg	7.35±0.07	6.80±0.11	6.81±0.20
PCO ₂	mmHg	35.48±0.76	30.10±1.07	30.82±1.03
PO ₂	mmol/L	109.17±1.65	66.06±9.03	62.63±6.98
BEect	mmol/L	-6.33±0.82	-12.20±1.92	-14.00±4.86
HCO ₃ ⁻	mmol/L	34.97±0.94	20.68±2.91	20.52±2.88
TCO ₂	%	38.90±0.39	27.24±1.96	23.37±2.82
SaO ₂	mmol/L	93.83±1.60	31.80±4.66	34.83±5.27
Lac	mmHg	1.21±0.02	5.05±0.71	4.18±0.91

表7-2 给药结束各组小鼠血气分析结果比较

指标	单位	Dex		BSM	
		24h	7 days	24h	7 days
pH	mmHg	7.09±0.10	7.10±0.11	7.05±0.08	6.97±0.13
PCO ₂	mmHg	32.52±2.73	33.60±1.92	30.84±1.21	31.62±1.34
PO ₂	mmol/L	91.20±4.09	92.55±5.19	91.52±4.83	91.47±2.57
BEect	mmol/L	-9.20±1.30	-8.50±1.05	-9.40±1.14	-9.83±0.75
HCO ₃ ⁻	mmol/L	28.28±1.56	27.82±1.08	30.00±1.20	30.57±1.42
TCO ₂	%	29.32±1.52	31.70±1.31	33.20±1.01	32.45±2.30
SaO ₂	mmol/L	67.20±5.93	69.00±5.87	79.40±3.71	75.83±5.00
Lac	mmHg	2.87±0.23	2.95±0.36	3.31±0.34	2.56±0.35

血气分析结果直接反映了肺纤维化小鼠的呼吸功能与酸碱平衡状态。本实验条件下，24h及7天造模组小鼠血气分析结果一致。BS可显著改善小鼠血气检测中的血液酸碱度、氧分压、组织间液剩余碱、实际碳酸氢根、二氧化碳总量、氧饱和度及乳酸水平，直接改善肺纤维化模型小鼠的肺功能。

经24h及7天造模后，BS在90 mg/kg及180 mg/kg研究剂量下，对于肺纤维化模型小鼠的肺换气功能及其酸碱平衡状态具有显著改善，药效总体优于Dex（1 -1.5mg/kg）。

第三部分 肺泡灌洗液炎性细胞分析及炎症因子分析

6.4 肺泡灌洗液炎性细胞分析

白细胞的主要功能是防卫作用。不同种类的白细胞以不同的方式参与机体的防御反应。成年人白细胞数为（5-9）×10⁹/L，其中中性粒细胞占0.50-0.100，嗜酸性粒细胞占0.005-0.05，嗜碱性粒细胞占0.00-0.01，单核细胞占0.03-0.08，淋巴细胞占0.20-0.40。

实验表明，肺损伤早期支气管肺泡灌洗液及肺组织病理切片中，中性粒细胞和巨噬细胞的浸润显著增加，且增高的程度与肺纤维化的程度密切相关，说明中粒细胞和巨噬细胞在肺纤维化的过程中发挥着重要

作用。中性粒细胞和巨噬细胞在肺血管、间质和肺泡壁过多的聚集，能够导致血管和支气管的损伤，引起损伤的因素主要是产生的活性氧(ROS)和蛋白水解酶。中性粒细胞和巨噬细胞产生ROS，能够刺激介导纤维增生反应的 $TNF-\alpha$ 、 $IFN-\gamma$ 和 $TGF-\beta$ 等的产生，促进肺纤维化的形成。

表8 7天造模组肺泡灌洗液炎性细胞绝对值

指标 ($10^9/L$)	Control	Model	Dex	BSL	BSM	BSH
白细胞	0.17±0.02	1.03±0.07	0.57±0.02	0.87±0.04	0.69±0.06	0.43±0.04
中性粒细胞	0.01±0.00	0.09±0.02	0.03±0.01	0.08±0.01	0.08±0.01	0.02±0.01
淋巴细胞	0.13±0.02	0.87±0.06	0.46±0.03	0.70±0.03	0.56±0.05	0.34±0.03
单核细胞	0.01±0.00	0.05±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01	0.02±0.00

给药结束时，对7天造模组小鼠肺泡灌洗液中的白细胞（淋巴细胞，中性粒细胞和单核细胞）进行分类计数，分析结果如图9及表8所示。

Dex组、BSL组、BSM组、BSH组小鼠肺泡灌洗液中白细胞绝对值、淋巴细胞绝对值、单核细胞绝对值均显著低于Model组。且BS低中高剂量组显示剂量依赖现象。Dex组、BSH组小鼠肺泡灌洗液中的中性粒细胞绝对值较Model组显著降低。

表9 7天造模组肺泡灌洗液炎性细胞较Model组下降百分比

指标 (%)	Dex	BSL	BSM	BSH
白细胞	45.32	16.29	32.90	58.39
中性粒细胞	68.52	7.41	16.67	74.07
淋巴细胞	47.51	19.54	35.63	60.73
单核细胞	46.43	25.00	42.86	57.14

实验结果提示经7天造模后，BS在180 mg/kg研究剂量下，对于间质性肺病模型小鼠可显著缓解肺纤维化小鼠的肺部炎症反应，改善肺纤维化小鼠的肺部功能，药效优于Dex（1-1.5mg/kg）。

6.5 肺泡灌洗液炎症因子分析

炎症细胞的浸润、活化所致细胞因子的反常表达及细胞因子分泌的不平衡，在间质性肺炎的发生和发展过程中发挥着重要作用。肺损伤中起重要作用的细胞因子有： $TGF-\beta$ 、 $TNF-\alpha$ 、 $IFN-\gamma$ 、IL等。

表10 肺泡灌洗液中细胞因子比较

pg/ml	$TGF-\beta$	NF- κ B	$IFN-\gamma$	PPAR- γ
Control	155.77±18.37	800.20±136.32	91.83±8.31	250.84±34.67
Model	199.60±14.78	917.31±149.96	33.19±2.47	217.09±33.86
Dex	159.28±11.09	818.72±119.21	66.48±4.88	232.49±39.00
BSL	188.54±24.55	867.20±174.12	38.74±4.74	229.67±28.11
BSM	178.54±14.64	824.16±155.14	53.31±5.29	230.31±30.32
BSH	161.82±20.96	759.34±104.53	55.70±4.27	237.75±24.92
pg/ml	IL-2	IL-6	IL-1 β	TNF- α
Control	39.80±4.78	5.28±0.97	4.31±0.29	30.21±3.25
Model	45.29±4.66	28.77±18.00	12.49±0.85	56.12±4.02
Dex	41.67±4.69	12.84±1.02	9.59±0.90	53.21±3.80
BSL	43.46±7.51	14.41±1.33	10.26±1.29	51.98±4.37

BSM	40.84±3.88	13.13±1.03	6.50±1.38	49.57±5.97
BSH	40.37±5.25	9.47±1.96	4.78±0.69	43.24±7.14

表11 肺泡灌洗液中细胞因子较Model组降低百分比

%	TGF-β	NF-κB	IFN-γ	PPAR-γ
Dex	15.87	10.75	-100.30	-7.09
BSL	0.42	5.46	-16.73	-5.79
BSM	2.87	10.15	-60.63	-6.09
BSH	14.53	17.22	-67.81	-9.52
%	IL-2	IL-6	IL-1β	TNF-α
Dex	7.98	55.36	23.21	5.19
BSL	4.03	49.92	17.88	7.38
BSM	9.81	54.37	47.93	11.68
BSH	10.87	67.10	61.70	22.95

已有的研究表明，Dex主要通过抗炎作用，进而抑制成纤维细胞增殖和活化。与肺纤维化阳性对照药Dex单用相比，BSH单用对于炎性细胞（白细胞、淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞）及促炎因子（NF-κB、TNF-α、IL-1β、IL-2、IL-6）更强的抑制作用。缓解纤维化介导肺泡的炎症损伤，抑制成纤维细胞活化、增殖、胶原合成，从而抑制基质蛋白沉积和纤维组织生成，缓解肺纤维化情况。

在博莱霉素诱导的肺纤维化损伤中，炎症区域有明显的巨噬细胞，中性粒细胞，淋巴细胞的浸润。这些炎症细胞又可产生大量的细胞因子，如TGF-β、TNF-α、IFN-γ、IL等，从而形成复杂的细胞因子网络，调控肺泡上皮细胞和间质成纤维细胞的增殖和凋亡，使细胞外基质的沉积逐渐增多，抑制纤溶系统的激活，最终促使肺纤维化的形成。

第四部分 BS给药对肺组织羟脯氨酸含量分析

6.6 肺组织羟脯氨酸含量分析

对24h造模组每组3只动物，肝脏匀浆进行羟脯氨酸含量测定，分析结果如表12和图11所示。Dex组及BS组给药后羟脯氨酸低于Model组。

表12 造模24h后给药35天时小鼠肺脏羟脯氨酸含量

	Control	Model	Dex	BS
HYP(μg/ml)	2.09±0.57	2.42±0.36	2.25±0.31	2.17±0.19

第五部分 BS给药肺HE及Masson病理分析

6.7 HE病理分析

HE评分采用肺纤维化组织评分一般标准Ashcroft评分法。HE病理分析是对间质性肺病模型中发展成为不可逆的肺纤维化的一种结局评价。

对24h造模组每组5只动物，共15个HE视野进行评分，分析结果如表13和图13所示。对照组0.00±0.00，Model组6.00±0.65，Dex组2.53±0.52，BS组3.00±0.65。Dex组、BS组评分显著低于Model组，平均纤维化评分从6分水平下降为3分左右；根据评分标准，3分以下已经不明显伴随肺组织结构改变。因此本结果提示，BS组可以实现有效控制肺组织结构病变出现情况。

表13 24h造模组肺纤维化评分分析

组别	对照组	Model	Dex	BS
HE 评分	0.00±0.00	6.00±0.65	2.53±0.52	3.00±0.65

表14 24h肺纤维化评分受益率分析

HE 评分及受益率	≥ 3 分		≥ 4 分		≥ 5 分	
Dex 组	8/15	53.3%	0/15	0%	0/15	0%
BS 组	12/15	80.0%	3/15	20.0%	0/15	0%

HE评分达到5分认为明确达到肺组织损害，出现纤维条索等纤维化组织。对肺纤维化评分受益率进行分析如表14和图12所示。经35天给药后，Dex组、BS组均未出现明确肺组织损害。

结果提示在肺纤维化初期（24h模型），BS在（90mg/kg）剂量下，可显著减少肺组织结构变化和炎性细胞浸润，改善肺纤维化状况。

对7天造模组每组6只动物，共18个HE视野进行评分，分析结果如表15和图15所示。对照组0.00±0.00，Model组5.67±0.69，Dex组3.28±0.83，BSL组4.28±0.83，BSM组3.00±0.84，BSH组1.48±0.78。Dex组、BSL组、BSM组、BSH组肺纤维化评分显著低于Model组。本结果提示，BSH组可以实现有效控制肺组织结构病变出现情况。

表15 7天造模组肺纤维化评分分析

组别	对照组	Model	Dex	BSL	BSM	BSH
HE 评分	0.00±0.00	5.67±0.69	3.28±0.83	4.28±0.83	3.00±0.84	1.48±0.78

表16 7天肺纤维化评分受益率分析

HE 评分及受益率	≥ 4 分		≥ 5 分		≥ 6 分	
Dex 组	7/18	38.9%	1/18	5.6%	0/18	0%
BSL 组	15/18	83.3%	6/18	33.3%	1/18	5.6%
BSM 组	5/18	27.8%	1/18	5.6%	0/18	0%
BSH 组	0/18	0%	0/18	0%	0/18	0%

HE评分达到5分认为明确达到肺组织损害，出现纤维条索等纤维化组织。对肺纤维化评分受益率进行分析如表16和图14所示。BSM组出现明确肺组织损害的几率为5.6%（1/18），有病变组织改变的几率为27.8%（5/18）；而临床肺纤维化药物Dex组分别为5.6%（1/18）和38.9%（7/18），BSM与Dex组基本等效。BSH组未出现明确肺组织损害或有病变组织改变。由于肺组织病变是肺功能丧失的重要基础，因此本结果提示，在控制肺组织病变形成过程，BS药物具有显著的控制病变发生的功能作用。

对照组肺组织结构清晰，胞质胞核分别均匀，无明显炎症浸润及胶原纤维沉积。Model组小鼠的肺组织结构发生明显变化严重，肺组织结构被破坏，大量炎性细胞浸润，肺组织间隔增厚甚至充满，并出现肺大片纤维化改变区域。Dex组整体要比模型组的肺部结构大大好转，但肺组织结构仍有变化，肺组织结构有破坏，有炎性细胞浸润，可见肺纤维化改变区域。BSL组整体比模型组的肺部结构稍好，还是有大量炎性细胞浸润，但肺组织结构破坏严重，可见肺纤维化大片改变区域。BSM组整体要比模型组的肺部结构大大好转，但肺组织结构仍有变化，肺组织结构有破坏，有炎性细胞浸润，可见肺纤维化改变区域。BSH组的肺组织结构基本完整，可见少量肺纤维化区域和炎性细胞。

结果提示在肺纤维化形成阶段（7天模型），BSL（36mg/kg）、BSM（90mg/kg）和BSH（180mg/kg）剂量下，可显著减少肺组织结构变化和炎性细胞浸润，改善肺纤维化状况。BSH在（180mg/kg）剂量下，在抗ECM沉积方面明显增效。

在肺纤维化初期（24h模型），BS在（90mg/kg）剂量下，可显著减少肺组织结构变化和炎性细胞浸润，改善肺纤维化状况。

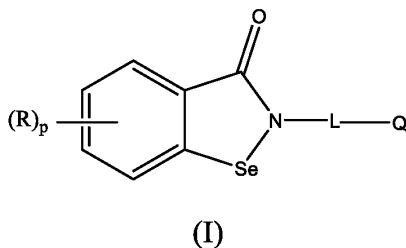
在模型肺纤维化形成阶段（7天模型），BSL（36mg/kg）、BSM（90mg/kg）和BSH（180mg/kg）剂量下，可显著减少肺组织结构变化和炎性细胞浸润，改善肺纤维化状况。BSH在（180mg/kg）剂量下，在抗ECM沉积方面明显增效。

以上对本发明的实施方式进行了说明。但是，本发明不限于上述实施方式。凡在本发明的精神和原

则之内，所做的任何修改、等同替换、改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

权 利 要 求 书

1. 苯并异硒唑衍生物用于制备抗冠状病毒的药物或者治疗由冠状病毒引起的疾病的药物的用途，其中所述苯并异硒唑衍生物为式(I)的化合物，其立体异构体、药学上可接受的盐、溶剂合物、前药或活性代谢产物，



其中，R选自氢、氰基、羟基、巯基、卤素、硝基、氨基、COOH、SO₃H、C₁₋₁₂烷基、C₃₋₁₂环烷基、C₁₋₁₂烷氧基、C₁₋₁₂烷硫基、C₂₋₁₂烯基、C₁₋₁₂烷基酰氨基、C₁₋₁₂烷基酰氧基、3-14元杂环基、C₆₋₁₄芳基和5-14元杂芳基；其中所述C₁₋₁₂烷基、C₃₋₁₂环烷基、C₁₋₁₂烷氧基、C₁₋₁₂烷硫基、C₁₋₁₂烷基酰氨基、C₁₋₁₂烷基酰氧基、3-14元杂环基、C₆₋₁₄芳基和5-14元杂芳基任选地被一个或多个选自以下的取代基取代：氰基、羟基、巯基、卤素、氨基、硝基、氧代、硫代、COOH、SO₃H、C₁₋₁₂烷基、C₃₋₁₂环烷基、C₁₋₁₂烷氧基、C₂₋₁₂烯基、3-14元杂环基、C₆₋₁₄芳基和5-14元杂芳基；

p为0至4的整数；

L选自 $^{*}-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-NR^N-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-CH(OH)-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-NH-C(O)-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-C(O)-NH-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-O-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-O-C(O)-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-C(O)-O-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-C(O)-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-C(O)-C(O)-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-S(O)-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-S(O)_2-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-C_{3-8}$ 亚环烷基 $-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-S-S-(CH_2)_m-#$ 、 $^{*}-(CHR^L)(CH_2)_n-S-S-(CH_2)_m(CHR^L)-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-(CHR^L)-S-S-(CHR^L)-(CH_2)_m-#$ 、亚苯基、亚联苯基、亚三苯基、 $^{*}-$ 苯基 $-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-^{*}-$ 苯基 $-(CH_2)_n-^{*}-$ 苯基 $-(CH_2)_n-^{*}-$ 苯基 $-(CH_2)_n-S(O)_2-#$ 和 $^{*}-(CH_2)_n-S(O)_2-^{*}-$ 苯基 $-(CH_2)_n-#$ ；其中 * 表示与苯并异硒唑部分的N原子的连接位点， $#$ 表示与Q部分的连接位点；n为0至12的整数，m为0至12的整数，R^N表示C₁₋₁₂的烷基，R^L表示卤素、羟基、氨基、羧基或巯基；

Q选自H、C₁₋₁₂烷基、C₃₋₁₂环烷基、C₁₋₁₂烷氧基、C₁₋₁₂烷硫基、C₁₋₁₂烷基酰氨基、C₁₋₁₂烷基酰氧基、C₂₋₁₂烯基、3-14元杂环基、C₆₋₁₄芳基和5-14元杂芳基；其中所述C₁₋₁₂烷基、C₃₋₁₂环烷基、C₁₋₁₂烷氧基、C₁₋₁₂烷基酰氨基、C₁₋₁₂烷基酰氧基、3-14元杂环基、C₆₋₁₄芳基、5-14元杂芳基任选地被一个或多个选自以下的取代基取代：氰基、羟基、巯基、卤素、氨基、硝基、氧代、硫代、COOH、SO₃H、C₁₋₁₂烷基、C₃₋₁₂环烷基、C₁₋₁₂烷氧基、C₂₋₁₂烯基、3-14元杂环基、C₆₋₁₄芳基和5-14元杂芳基。

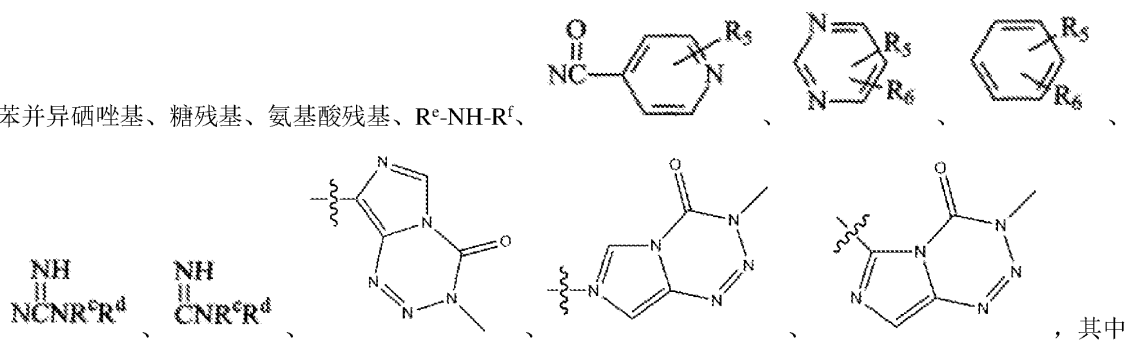
2. 根据权利要求1所述的用途，其中在式(I)的化合物中，

L选自 $^{*}-(CH_2)_2-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_3-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_4-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_5-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_6-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_7-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_8-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_9-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_{10}-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_{11}-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_{12}-#$ 、亚环戊基、亚环己基、亚苯基、亚联苯基、亚三苯基、 $^{*}-$ 苯基 $-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-^{*}-$ 苯基 $-(CH_2)_n-^{*}-$ 苯基 $-(CH_2)_n-^{*}-$ 苯基 $-(CH_2)_n-S(O)_2-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-S(O)_2-^{*}-$ 苯基 $-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-NR^N-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-CH(OH)-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-NH-C(O)-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-C(O)-NH-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-O-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-O-C(O)-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-C(O)-O-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-C(O)-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-C(O)-C(O)-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-S(O)-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-S(O)_2-(CH_2)_n-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-^{*}-$ 亚环丙基 $-(CH_2)_m-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-^{*}-$ 亚环丁基 $-(CH_2)_m-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-^{*}-$ 亚环戊基 $-(CH_2)_m-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-^{*}-$ 亚环己基 $-(CH_2)_m-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-S-S-(CH_2)_m-#$ 、 $^{*}-(CHR^L)(CH_2)_n-S-S-(CH_2)_m(CHR^L)-#$ 、 $^{*}-(CH_2)_n-(CHR^L)-S-S-(CHR^L)-(CH_2)_m-#$ ；其中 * 表示与苯并异硒唑部分的N原子的连接位点， $#$ 表示与Q部分

分的连接位点；n 为 0、1、2、3、4、5 或 6，m 为 0、1、2、3、4、5 或 6， R^N 表示 C_{1-6} 的烷基， R^L 表示卤素、羟基、氨基、羧基或巯基；

Q 选自 H、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷硫基、 C_{1-6} 烷基酰氨基、 C_{1-6} 烷基酰氧基、 C_{2-6} 烯基、

苯并异噻唑基、糖残基、氨基酸残基、 R^e-NH-R^f 、



“~”表示与 L 的连接基，

R_5 和 R_6 彼此独立地选自氢、卤素、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷硫基、 $N(C_{1-6} \text{ 烷基})_2$ 、 $NH(C_{1-6} \text{ 烷基})$ 、 $COOR^b$ 和 SO_3R^b ；

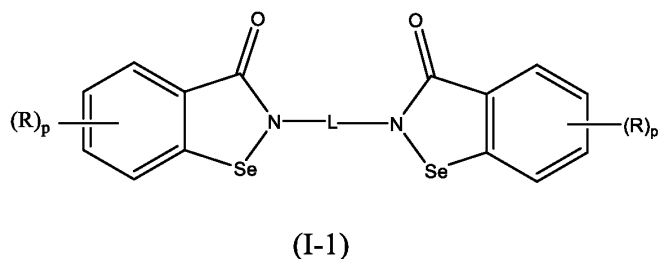
R^b 选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 烷氧基；

R^e 和 R^d 彼此独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和苯基；或者 R^e 和 R^d 与它们所连接的氮原子一起形成含氮杂环或含氮杂芳环；

R^e 和 R^f 彼此独立地选自 C_{1-6} 烷基和 C_{3-7} 环烷基；

所述 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷硫基、 C_{1-6} 烷基酰氨基、 C_{1-6} 烷基酰氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{3-7} 环烷基、苯并异噻唑基、糖残基和氨基酸残基可任选地被一个或多个选自以下的取代基取代：氰基、羟基、巯基、卤素、氨基、硝基、氧代、硫代、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 环烷基和 C_{1-6} 烷氧基。

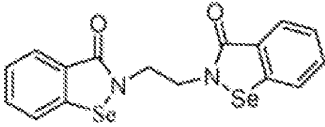
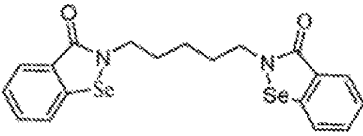
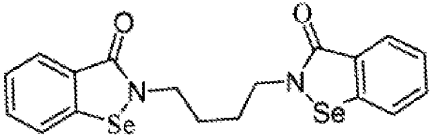
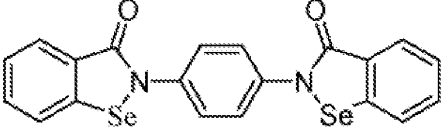
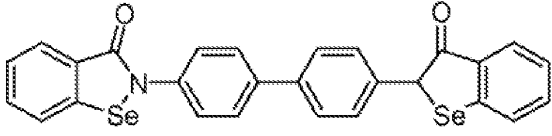
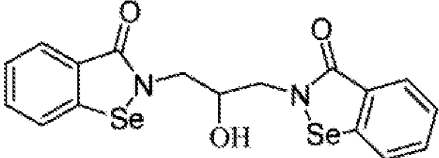
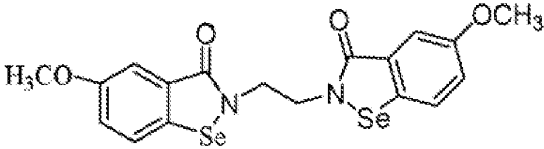
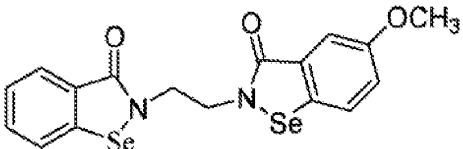
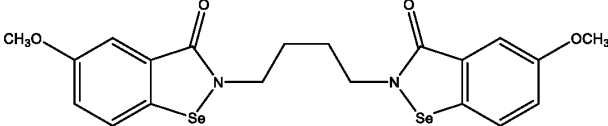
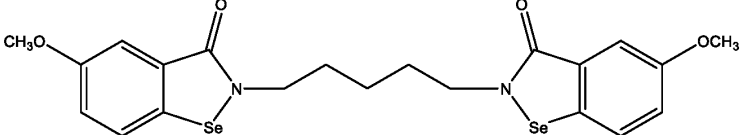
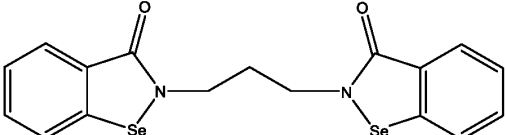
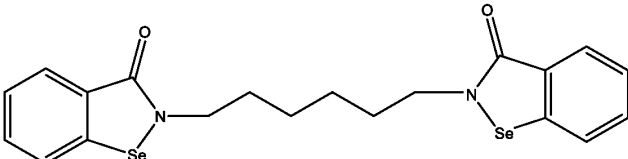
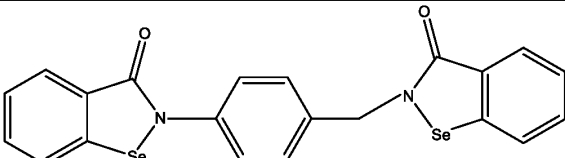
3. 根据权利要求 1 或 2 所述的用途，其中式 (I) 的苯并异噻唑衍生物为下式 (I-1) 的化合物：

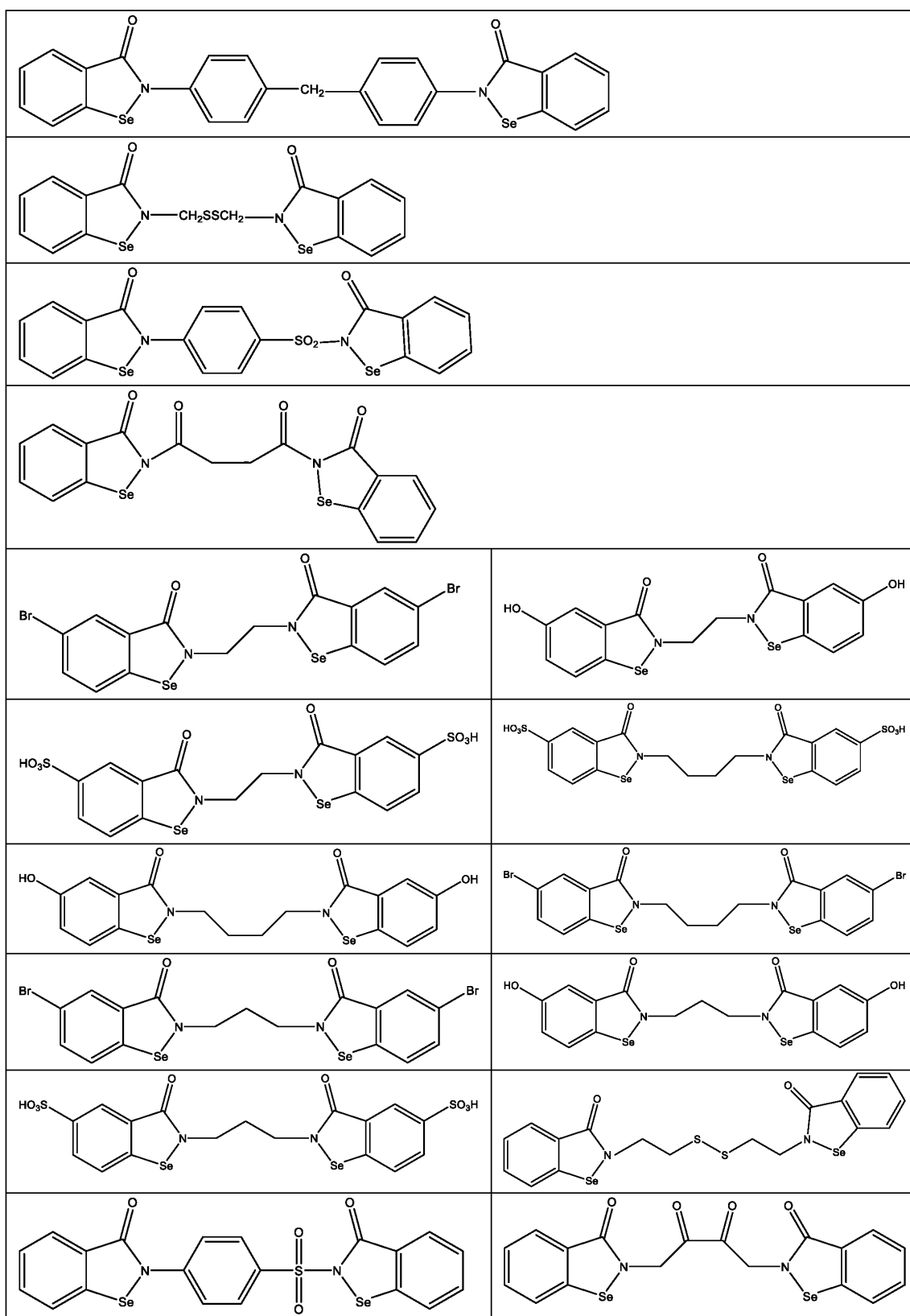


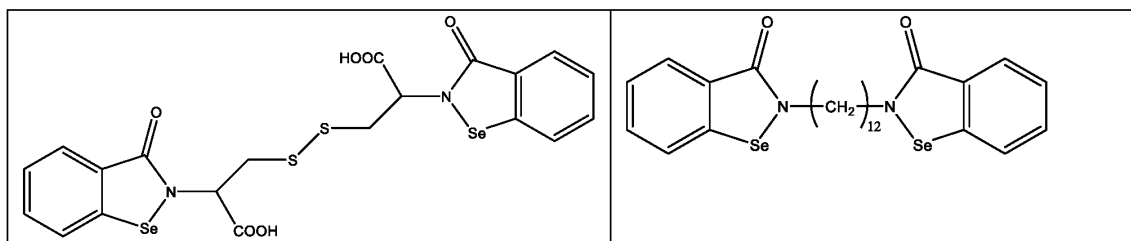
其中，R、L 和 p 分别具有权利要求 1 或 2 在式 (I) 的化合物中所给出的定义；

优选地，式 (I-1) 的苯并异噻唑衍生物选自下表 1 中的化合物：

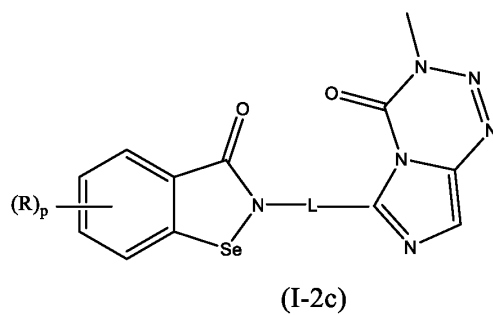
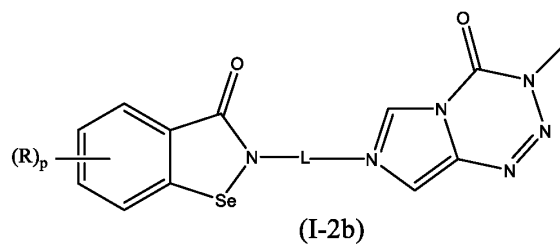
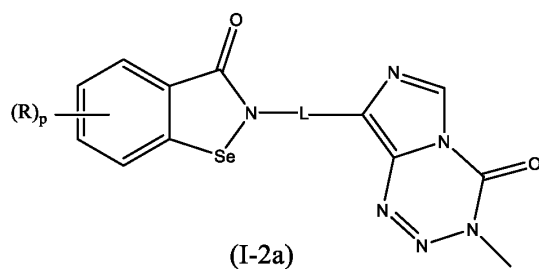
表 1





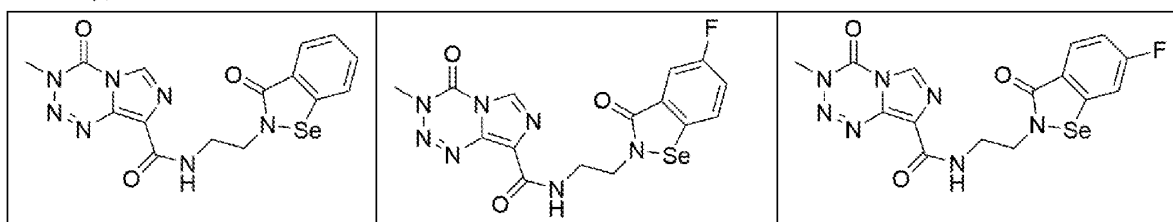
化合物:



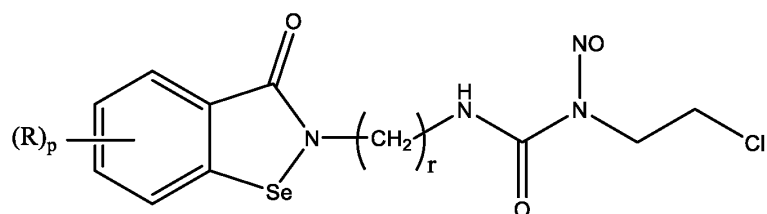
其中, R、L 和 p 分别具有权利要求 1 或 2 在式(I)的化合物中所给出的定义;

优选地, 式(I-2a)、式(I-2b)或式(I-2c)的苯并异硒啉衍生物选自下表2中的化合物:

表2



5. 根据权利要求1或2所述的用途，其中式(I)的苯并异硒唑衍生物为式(I-3)的化合物：



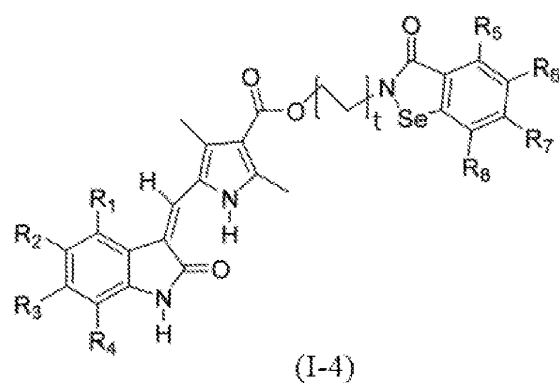
(I-3)

其中，R和p分别具有权利要求1或2在式(I)的化合物中所给出的定义；且r为0至12的整数，优选为2-4的整数。

优选地，式(I-3)的苯并异硒唑衍生物选自下表3中的化合物：

表3

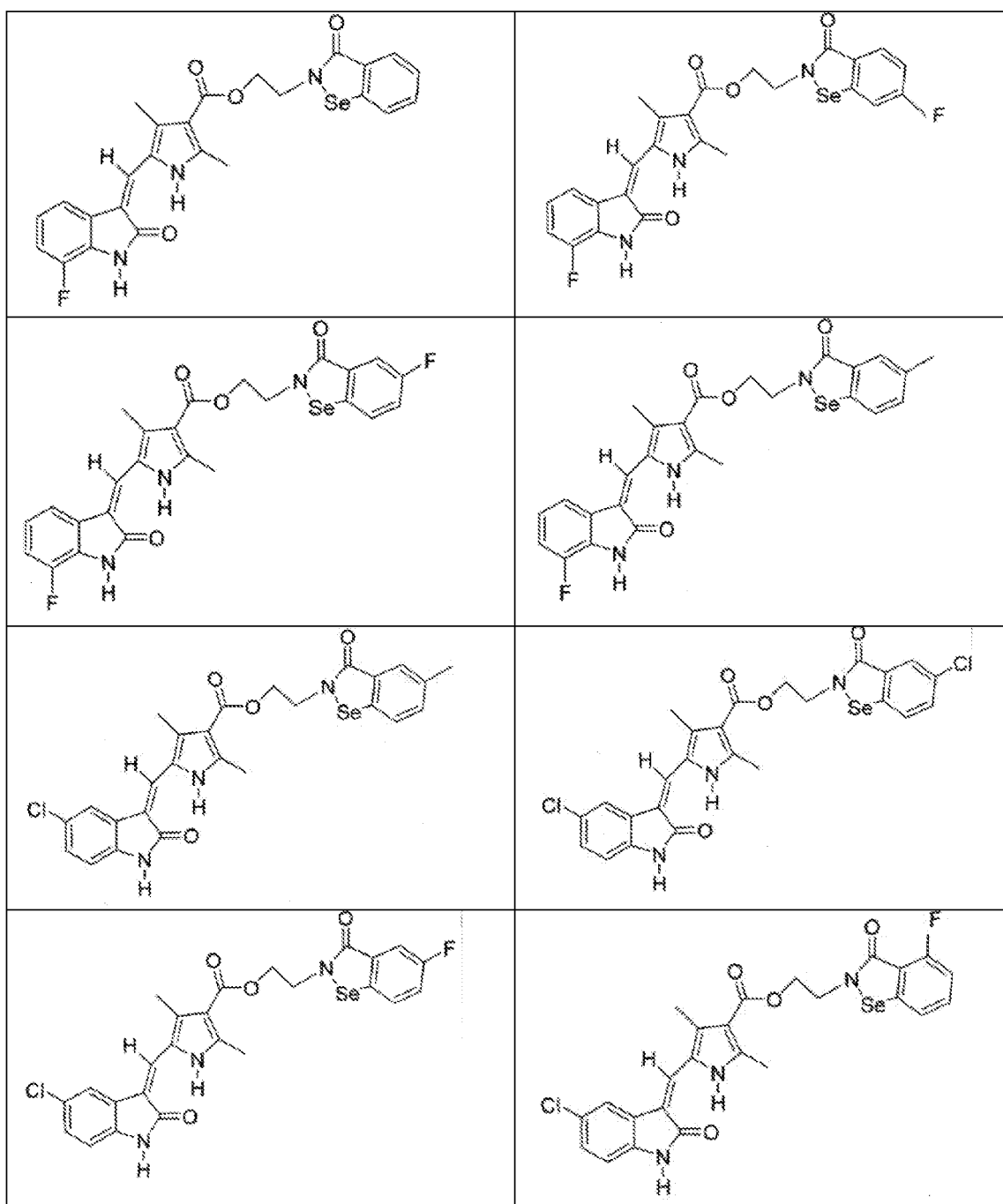
6. 根据权利要求1或2所述的化合物，其中式(I)的苯并异硒唑衍生物为式(I-4)的化合物：

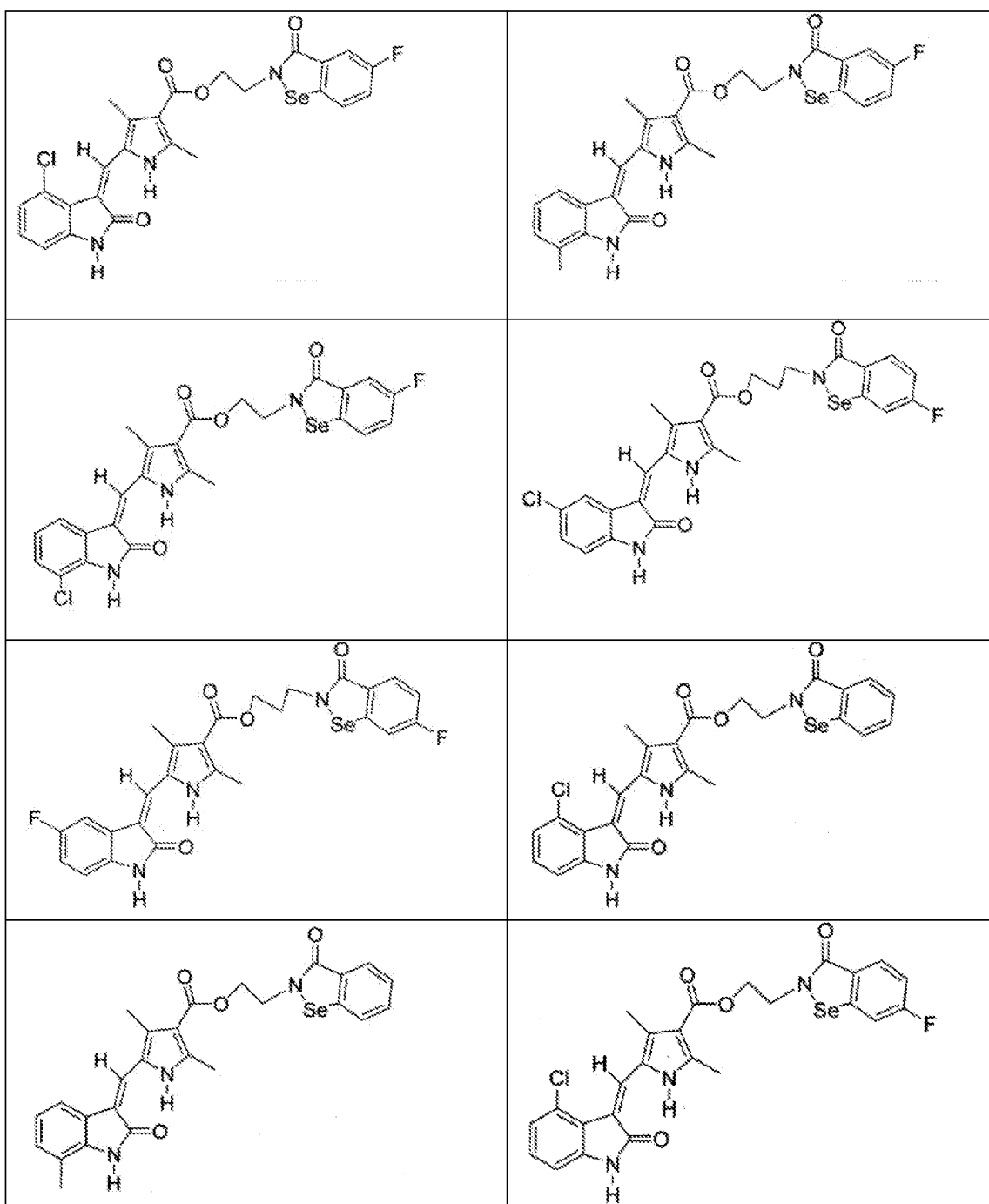


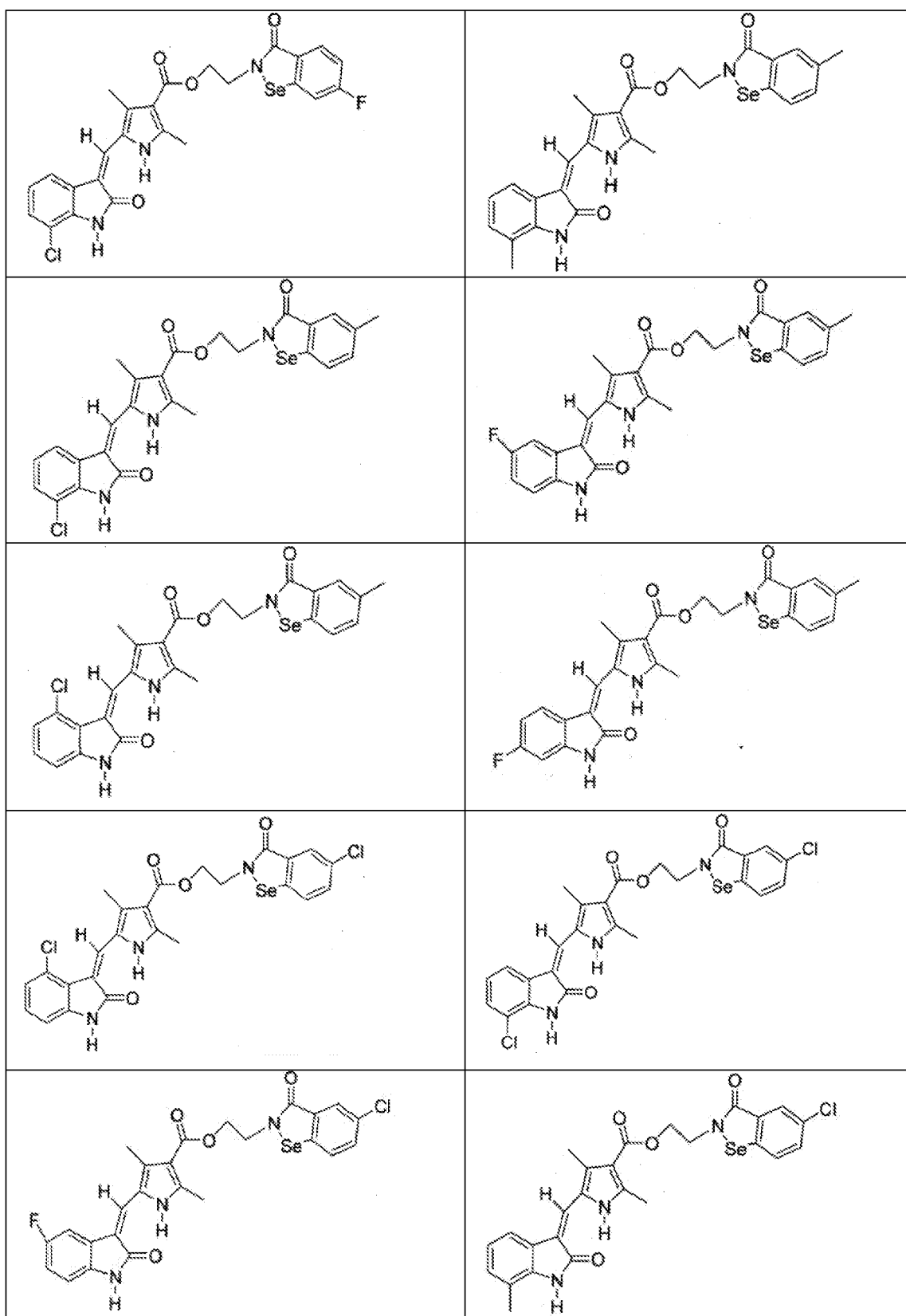
其中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 分别独立地位H、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基或卤素；且t为1至4的整数，优选2或3；

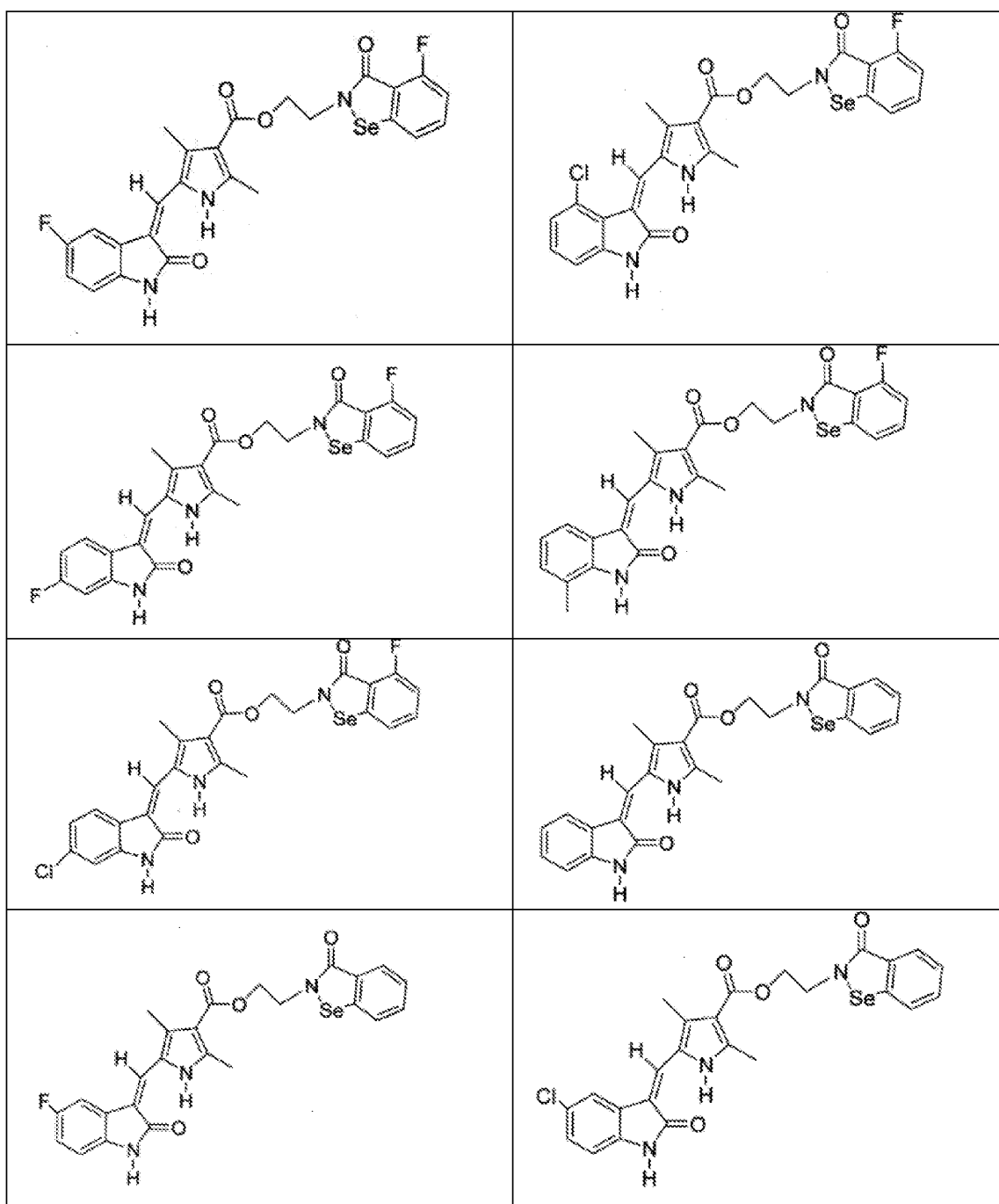
优选地，式(I-4)的苯并异硒唑衍生物选自下表4中的化合物：

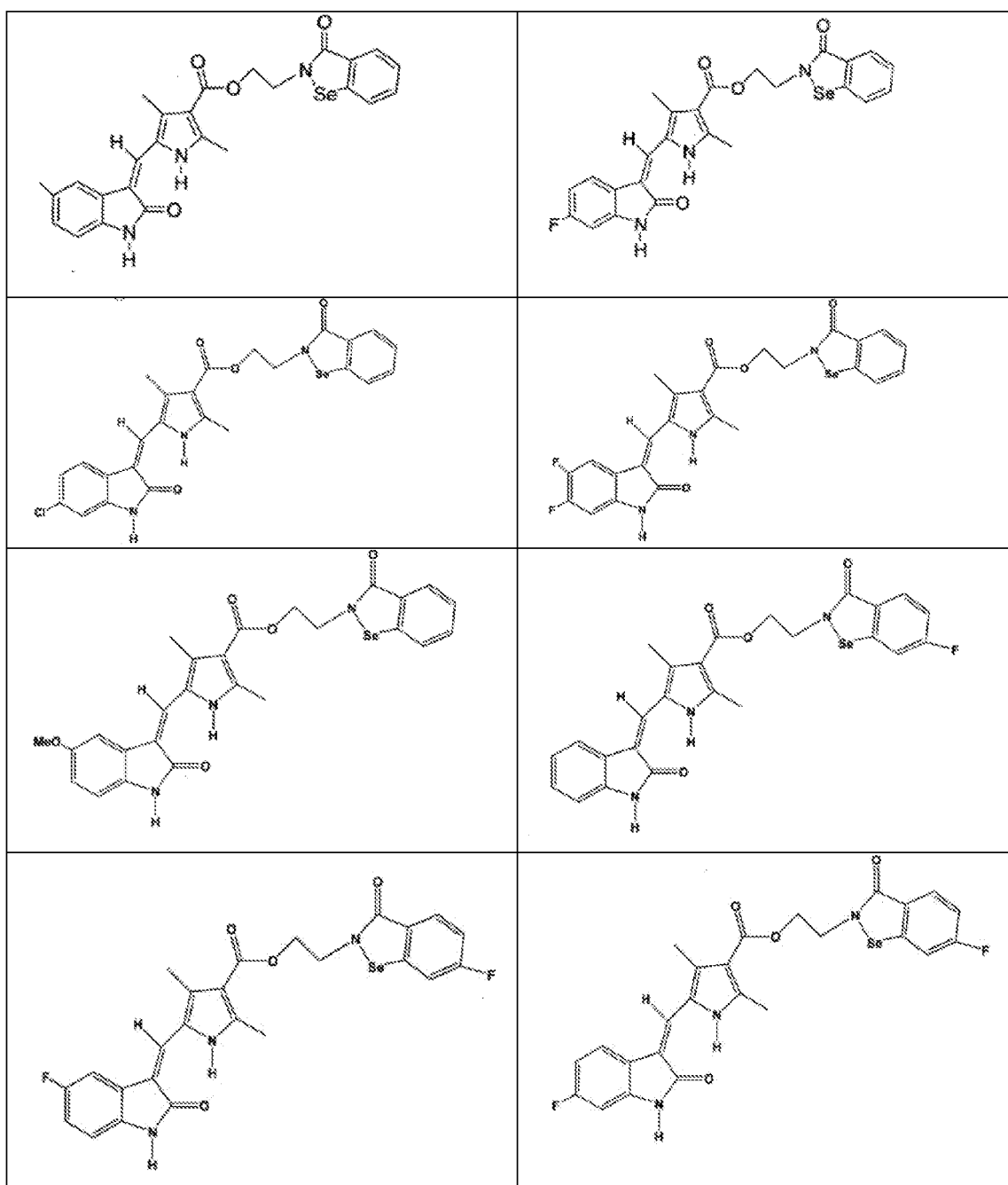
表4

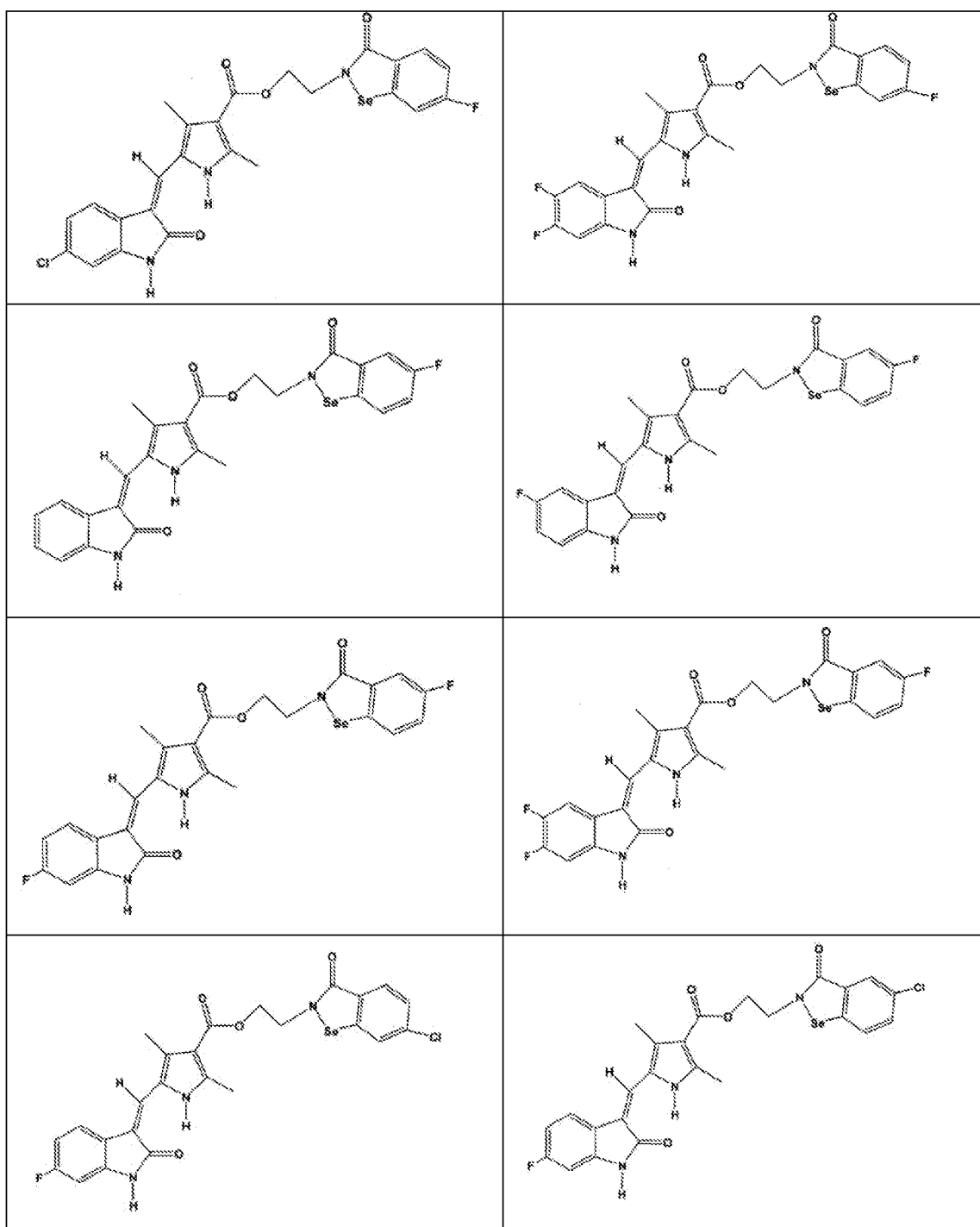






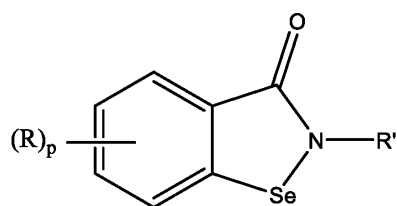






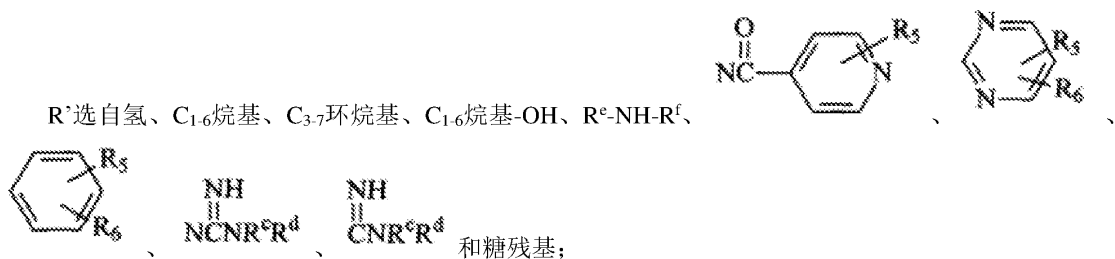
7. 根据权利要求1或2所述的用途，其中式(I)的苯并异噻唑衍生物为下式(I-6)的化合物：

53



(I-6)

其中，R和p分别具有权利要求1或2在式(I)的化合物中所给出的定义；



R₅和R₆彼此独立地选自氢、卤素、氰基、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷硫基、N(C₁₋₆烷基)₂、NH(C₁₋₆烷基)、COOR^b和SO₃R^b；

R^b选自氢、C₁₋₆烷基和C₁₋₆烷氧基；

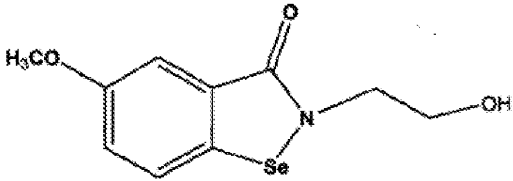
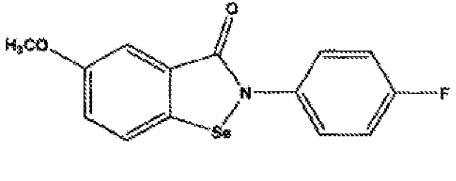
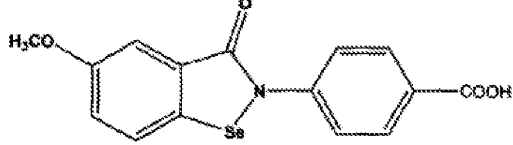
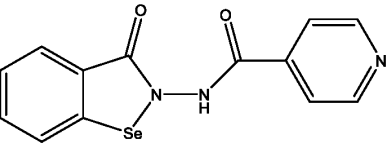
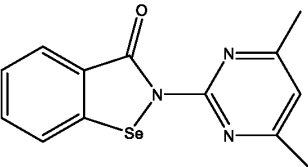
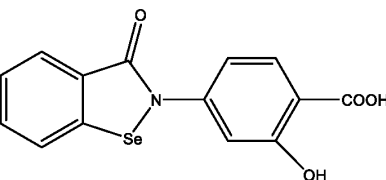
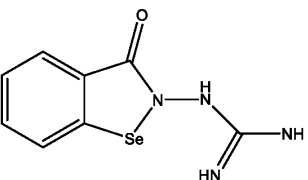
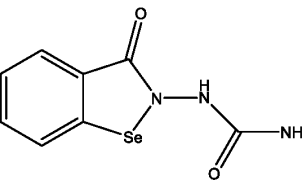
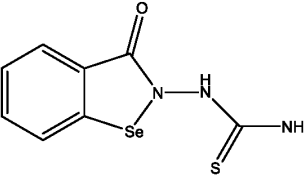
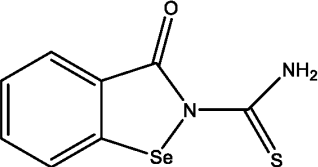
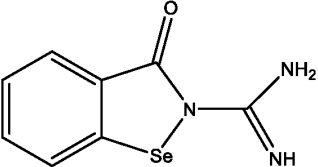
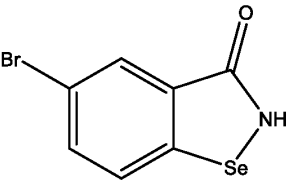
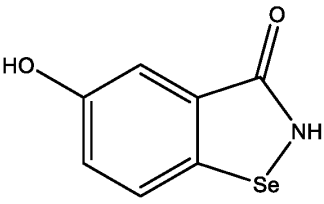
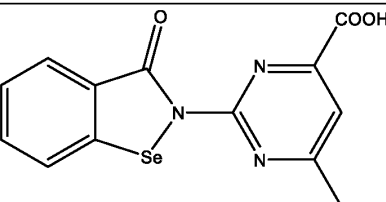
R^e和R^d彼此独立地选自氢、C₁₋₆烷基和苯基；或者R^e和R^d与它们所连接的氮原子一起形成含氮杂环或含氮杂芳环；

R^e和R^f彼此独立地选自C₁₋₆烷基和C₃₋₇环烷基；

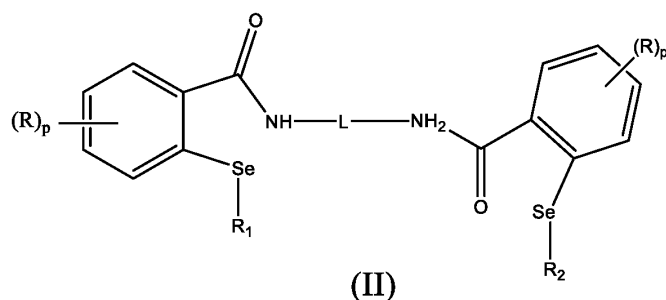
优选地，所述糖残基可为D-吡喃葡萄糖基，例如1,3,4,6-四-O-乙酰基-2-去氧-D-吡喃葡萄糖基；

更优选地，式(I-6)的苯并异噻唑衍生物选自下表6中的化合物：

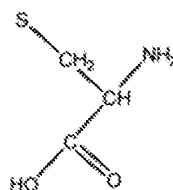
表6

	
	
4-[N-[1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮]甲酰肼]-吡啶	2-[1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮]-4,6-二甲基嘧啶
	
4-[1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮]-2-羟基苯甲酸	N-[1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮]-氨基胍
	
N-[1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮]-胍	
	
	
	
	

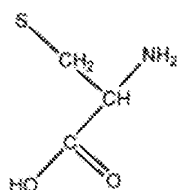
8. 式(II)的苯并异硒唑衍生物用于制备抗冠状病毒的药物或者治疗由冠状病毒引起的疾病的药物的用途：



其中，R、p和L分别具有权利要求1或2在式(I)的化合物中所给出的定义：



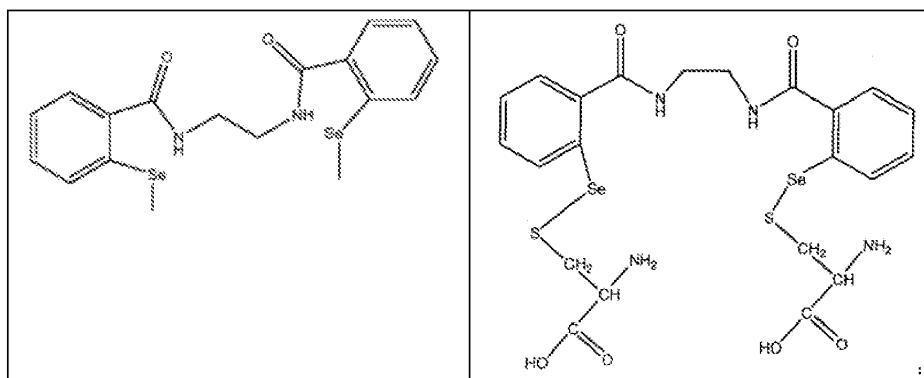
R_1 、 R_2 彼此独立地选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷硫基或于Se原子；



优选地， R_1 和 R_2 均为，其中S原子以单键连接于Se原子；

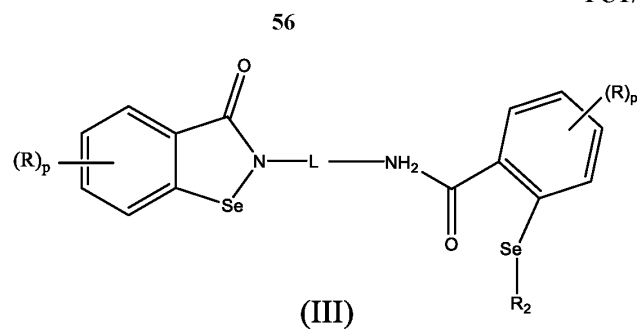
更优选地，式(II)的苯并异硒唑衍生物选自下表7中的化合物：

表7

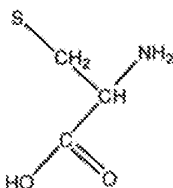


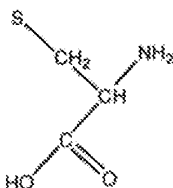
。

9. 式(III)的苯并异硒唑衍生物用于制备抗冠状病毒的药物或者治疗由冠状病毒引起的疾病的药物的用途：



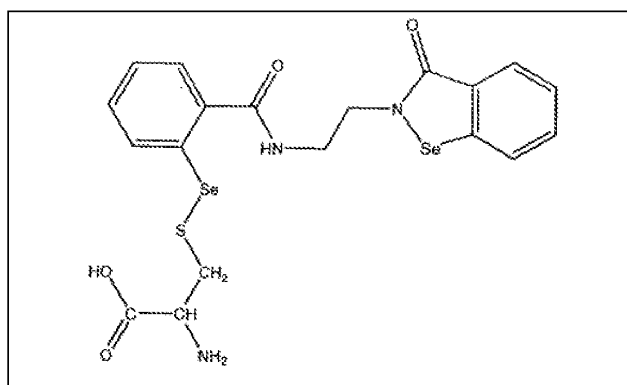
其中，R、p和L分别具有权利要求1或2在式(I)的化合物中所给出的定义；



R₂选自C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷硫基或, 其中S原子以单键连接于Se原子；

优选地，式(III)的苯并异硒唑衍生物为下表8中的化合物：

表8



。

10. 根据权利要求 1-9 任一项所述的用途，其特征在于，所述由冠状病毒引起的疾病包括间质性肺疾病（ILD）。