



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108697722 B

(45) 授权公告日 2021.03.23

(21) 申请号 201680070598.9	(72) 发明人 A·卡尔 P·费南德斯 D·J·利文斯顿
(22) 申请日 2016.09.30	
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 108697722 A	(74) 专利代理机构 北京嘉和天工知识产权代理 事务所(普通合伙) 11269 代理人 甘玲 缪策
(43) 申请公布日 2018.10.23	
(30) 优先权数据 62/236,657 2015.10.02 US	(51) Int.Cl. A61K 31/7028 (2006.01) A61K 31/7032 (2006.01) A61K 31/7052 (2006.01) C07H 19/048 (2006.01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2018.06.01	
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/US2016/054776 2016.09.30	(56) 对比文件 US 2011127471 A1,2011.06.02 审查员 童欣
(87) PCT国际申请的公布数据 W02017/059249 EN 2017.04.06	
(73) 专利权人 麦德龙国际生物科技有限责任公司 地址 美国密西根州	权利要求书2页 说明书31页 附图8页

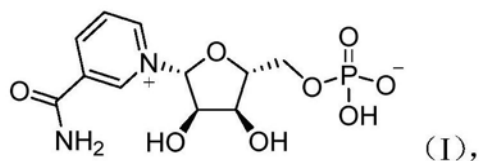
(54) 发明名称

β-烟酰胺单核苷酸的晶体形式

(57) 摘要

本发明涉及β-烟酰胺单核苷酸的结晶形式、其制备方法及其相关药物制剂。本发明还涉及适用于营养食品、兽医和农业相关用途的制剂。

1. 一种结晶化合物, 所述结晶化合物具有式 (I) 的结构,



其中所述结晶化合物具有20.03; 20.14; 21.83; 和25.73的 2θ 值, 并且其中所述结晶化合物是无水的。

2. 如权利要求1所述的结晶化合物, 所述结晶化合物具有20.03; 20.14; 21.03; 21.83; 23.08; 23.39; 25.73; 和26.59的 2θ 值。

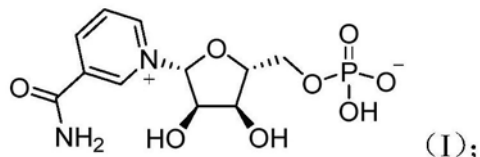
3. 如权利要求2所述的结晶化合物, 所述结晶化合物具有7.70; 11.54; 12.64; 16.03; 18.99; 20.03; 20.14; 20.83; 21.03; 21.83; 23.08; 23.39; 25.48; 25.73; 26.59; 和29.78的 2θ 值。

4. 如权利要求3所述的结晶化合物, 所述结晶化合物具有7.70; 9.95; 11.54; 12.64; 16.03; 18.18; 18.99; 19.16; 19.44; 20.03; 20.14; 20.83; 21.03; 21.83; 22.44; 23.08; 23.39; 23.89; 24.08; 24.53; 24.68; 25.05; 25.48; 25.73; 26.08; 26.59; 27.33; 27.67; 29.78; 和29.92的 2θ 值。

5. 如权利要求4所述的结晶化合物, 所述结晶化合物具有大体上如图1中所示的标记为形式1的XRD图谱。

6. 一种药物组合物, 所述药物组合物包括如权利要求1-5中任一项所述的结晶化合物以及一种或更多种药学上可接受的赋形剂。

7. 一种用于制备具有式 (I) 的结构的结晶化合物的方法:



其中所述结晶化合物是权利要求1-5中任一项所述的结晶化合物, 所述方法包括:

a) 提供式 (I) 的化合物在溶剂中的混合物; 以及

b) 从包括所述式 (I) 的化合物的所述混合物结晶所述式 (I) 的化合物。

8. 如权利要求7所述的方法, 其中包括所述式 (I) 的化合物的所述混合物是溶液, 并且从所述混合物结晶所述式 (I) 的化合物的步骤包括使所述溶液达到过饱和以引起所述式 (I) 化合物从溶液中沉淀。

9. 如权利要求8所述的方法, 其中使所述溶液达到过饱和的步骤包括缓慢添加反溶剂的操作、允许所述溶液冷却的操作、降低所述溶液的体积的操作、或其任何组合。

10. 如权利要求8所述的方法, 其中使所述溶液达到过饱和的步骤包括将所述溶液冷却至环境温度或更低的操作。

11. 如权利要求7所述的方法, 其中包括所述式 (I) 的化合物的所述混合物是浆。

12. 如权利要求7所述的方法, 所述方法还包括离析所述结晶化合物的操作。

13. 如权利要求12所述的方法, 其中离析所述结晶化合物的操作包括从所述混合物过滤所述结晶化合物的操作。

14. 如权利要求12所述的方法,所述方法还包括在减压下干燥所述结晶化合物的操作。

β-烟酰胺单核苷酸的晶体形式

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2015年10月2日提交的美国临时专利申请序列号62/236,657的优先权权益,其以引用方式特此被整体并入本文。

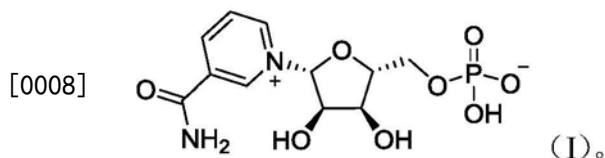
[0003] 背景

[0004] β-烟酰胺单核苷酸(NMN)近来因其在年龄相关退行性病变(如年龄相关性肥胖症、年龄相关性血脂水平增加、年龄相关性胰岛素敏感性降低、年龄相关性记忆功能降低和年龄相关性眼功能改变(如黄斑变性))的治疗、改善、减轻、减缓、控制、预防和/或逆转中的用途而获得关注。

[0005] 考虑到与此化合物有关的治疗益处,存在对于NMN的改进的组合物的需求。此外,存在对于用于制备和配制β-烟酰胺单核苷酸的改进的方法的需求。

[0006] 发明概述

[0007] 本发明的一个方面涉及具有式(I)的结构 of 的结晶化合物,



[0009] 本发明的另一方面涉及用于制备式(I)的结晶化合物的方法。

[0010] 在某些实施方案中,本发明提供适合于在人类患者中使用的药物制剂,所述药物制剂包括式(I)的结晶化合物,以及一种或更多种药学上可接受的赋形剂。在某些实施方案中,药物制剂可以用于治疗或预防如本文中所描述的病况或疾病中的应用。在某些实施方案中,药物制剂具有足够低的热原活性以适合于在人类患者中静脉内使用。

[0011] 附图的详细说明

[0012] 图1示出β-烟酰胺单核苷酸(NMN)形式1和形式2的XRPD图谱。

[0013] 图2示出形式1的差示扫描量热温谱图。

[0014] 图3示出形式2的差示扫描量热温谱图。

[0015] 图4示出在真空下干燥之后的无定形NMN、NMN形式1和NMN形式2的¹H NMR波谱。如波谱中所示,形式1是大体上无水的,并且形式2每分子NMN具有约1.1-1.2个DMSO分子。

[0016] 图5示出无定形NMN、储存后的无定形NMN和NMN形式1的XRPD图谱的比较。

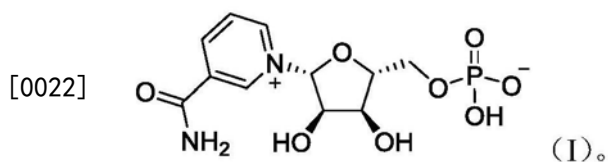
[0017] 图6示出无定形NMN的动态蒸汽吸附等温线。

[0018] 图7示出无定形NMN的质量曲线图中的动态蒸汽吸附变化。当无定形NMN的样品暴露于大气湿度时,样品经历多个阶段。图7示出随时间的质量变化。无定形样品是吸湿性的,直至其潮解并且开始结晶。低于1000min的重量损失示出结晶发生。一旦结晶,材料保持结晶状,在双重循环之后保持相同的XRPD图谱,但仍示出可逆地获得质量的能力(高达9%w/w变化)。

[0019] 图8是示出在偏振光显微镜下观察到的NMN形式1的单晶的图像。

[0020] 发明的详细说明

[0021] 在某些实施方案中,本发明提供具有式(I)的结构 of 的结晶化合物,



[0023] 在某些实施方案中,式(I)的结晶化合物不被溶剂化(例如,晶格不包括溶剂分子)。在某些实施方案中,式(I)的结晶化合物是无水的或大体上无水的。在某些可替代的实施方案中,式(I)的结晶化合物被溶剂化。在某些这样的实施方案中,式(I)的结晶化合物是二甲基亚砜(DMSO)溶剂化物。

[0024] 本文中所描述的任何结晶化合物可以被用于制造用于治疗本文公开的任何疾病或病况的药物。

[0025] 在某些实施方案中,本发明的化合物可以组装成多于一个的晶体形成。在示例性的实施方案中,具有式(I)的结构结晶化合物作为“形式I”和“形式II”存在,如下文中详细描述。这些不同的形式在本文中被理解为“多晶型体”。

[0026] 在某些实施方案中,结晶化合物的多晶型体通过粉末X射线衍射(XRD)表征。 θ 表示按度数计量的衍射角。在某些实施方案中,用于XRD的衍射仪测量衍射角 θ 的两倍的衍射角。因此,在某些实施方案中,本文中所描述的衍射图谱指针对角度 2θ 测量的X射线强度。

[0027] 在某些实施方案中,无水的式(I)的结晶化合物具有20.03;20.14;21.83;和25.73的 2θ 值。在进一步的实施方案中,无水的结晶化合物具有20.03;20.14;21.03;21.83;23.08;23.39;25.73;和26.59的 2θ 值。在又进一步的实施方案中,无水的结晶化合物具有7.70;11.54;12.64;16.03;18.99;20.03;20.14;20.83;21.03;21.83;23.08;23.39;25.48;25.73;26.59;和29.78的 2θ 值。在仍又进一步的实施方案中,无水的结晶化合物具有7.70;9.95;11.54;12.64;16.03;18.18;18.99;19.16;19.44;20.03;20.14;20.83;21.03;21.83;22.44;23.08;23.39;23.89;24.08;24.53;24.68;25.05;25.48;25.73;26.08;26.59;27.33;27.67;29.78;和29.92的 2θ 值。

[0028] 在某些实施方案中,无水的式(I)的结晶化合物具有大体上如图1中所示的标记为形式1的XRD图谱。

[0029] 在某些实施方案中,式(I)的结晶化合物不被溶剂化(例如,晶格不包括溶剂分子)。在某些可替代的实施方案中,式(I)的结晶化合物被溶剂化。

[0030] 在某些实施方案中,式(I)的化合物的结晶DMSO溶剂化物具有8.29;17.39;19.54;22.78;和22.98的 2θ 值。在进一步的实施方案中,结晶DMSO溶剂化物具有8.29;17.39;19.54;19.74;20.98;21.58;22.03;22.78;22.98;和25.53的 2θ 值。在又进一步的实施方案中,结晶DMSO溶剂化物具有8.29;16.10;17.39;19.24;19.54;19.74;20.33;20.78;20.98;21.18;21.58;22.03;22.78;22.98;25.53;28.48;和29.48的 2θ 值。在进一步的实施方案中,结晶DMSO溶剂化物具有8.29;13.12;15.79;16.10;16.69;17.39;19.03;19.24;19.54;19.74;20.33;20.78;20.98;21.18;21.58;22.03;22.78;22.98;23.95;24.14;24.48;24.64;25.14;25.53;25.87;26.89;27.18;27.67;28.02;28.13;28.48;28.98;29.34;29.48;和29.92的 2θ 值。

[0031] 某些实施方案,式(I)的化合物的结晶DMSO溶剂化物具有大体上如图1中所示的标记为形式2的XRD图谱。

[0032] 在某些实施方案中,式(I)的化合物的结晶DMSO溶剂化物对于一分子的NMN含有约1.0、约1.1或约1.2分子的DMSO。

[0033] 在某些实施方案中,本发明涉及药物组合物,所述药物组合物包括式(I)的结晶化合物和一种或更多种药学上可接受的赋形剂。在某些实施方案中,药物组合物选自片剂、胶囊剂和混悬液。

[0034] 如在本文使用的,术语“大体上纯的”指纯度大于90%的结晶多晶型体,意为含有小于10%的任何其他化合物,所述结晶多晶型体包含结晶盐的相应的无定形化合物或可替代的多晶型体。优选地,结晶多晶型体的纯度大于95%,或甚至纯度大于98%。

[0035] 制造NMN的结晶形式的方法

[0036] 在某些实施方案中,本发明涉及用于制备具有式(I)的结构结晶化合物的方法,所述方法包括a)提供式(I)的化合物在溶剂中的混合物;以及b)从包括式(I)的化合物的混合物结晶式(I)的化合物。

[0037] 在某些实施方案中,包括式(I)的化合物的混合物是溶液。在某些实施方案中,混合物是浆或悬浮液。

[0038] 在某些实施方案中,由本发明的方法制造的结晶化合物是无水的。

[0039] 在某些实施方案中,由本发明的方法制造的结晶化合物是溶剂化物,例如,DMSO溶剂化物。

[0040] 在某些实施方案中,包括式(I)的化合物的混合物是溶液,并且从混合物结晶化合物的步骤包括使溶液达到过饱和以引起式(I)化合物从溶液中沉淀。

[0041] 在某些实施方案中,使包括式(I)的化合物的混合物达到过饱和的操作包括缓慢添加反溶剂(如庚烷、己烷、乙醇或另一种可与有机溶剂混溶的极性液体或非极性液体)、允许溶液冷却的操作(在有或没有加晶种于溶液的操作的情况下)、降低溶液的体积的操作,或其任何组合。在某些实施方案中,使包括式(I)的化合物的混合物达到过饱和的操作包括添加反溶剂的操作、将溶液冷却至环境温度或更低的操作,以及降低溶液的体积的操作(例如,通过从溶液蒸发溶剂)。在某些实施方案中,允许溶液冷却的操作可以是被动的(例如,允许溶液在环境温度静置)或主动的(例如,在冰浴或冷冻装置中冷却溶液)。

[0042] 在某些实施方案中,制备方法还包括离析晶体的操作,例如,通过过滤晶体、通过从晶体倾析流体,或通过任何其他适合的分离技术。在进一步的实施方案中,制备方法还包括洗涤晶体的操作。

[0043] 在某些实施方案中,制备方法还包括诱导结晶的操作。方法还可以包括例如在减压下干燥晶体的操作。在某些实施方案中,诱导沉淀或结晶的操作包括二次成核,其中成核在存在晶种或与环境(结晶器壁、搅拌叶轮、超声处理等)的相互作用的情况下发生。

[0044] 在某些实施方案中,溶剂包括乙腈、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、二甲基甲酰胺(DMF)、二甲基亚砜(DMSO)、乙醇、乙酸乙酯、庚烷、己烷、乙酸异丙酯、甲醇、甲基乙基酮、N-甲基-2-吡咯烷酮(NMP)、四氢呋喃、甲苯、2-丙醇、1-丁醇、水或其任何组合。在某些优选的实施方案中,例如为了获得形式1,溶剂是甲醇或水。在其他优选的实施方案中,例如为了获得形式2,溶剂是二甲基亚砜。

[0045] 在某些实施方案中,洗涤晶体的操作包括用液体洗涤的操作,所述液体选自反溶剂、乙腈、乙醇、庚烷、己烷、甲醇、四氢呋喃、甲苯、水或其组合。如在本文使用的,“反溶剂”

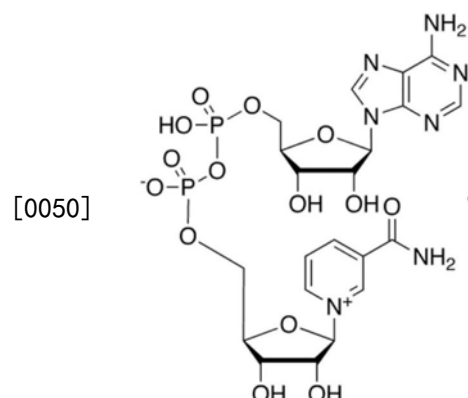
意为其中盐结晶是不溶的、最低限度可溶的或部分可溶的的溶剂。实际上,向盐结晶溶解在其中的溶液中添加反溶剂降低盐结晶在溶液中的溶解度,从而促进盐的沉淀。在某些实施方案中,用反溶剂和有机溶剂的组合洗涤结晶。在某些实施方案中,反溶剂是水,而在其他实施方案中,反溶剂是烷烃溶剂(如己烷或戊烷)或芳烃溶剂(如苯、甲苯或二甲苯)。在某些实施方案中,反溶剂是甲醇。

[0046] 在某些实施方案中,洗涤晶体的操作包括用如上所述的溶剂或一种或更多种溶剂的混合物洗涤式(I)的结晶化合物的操作。在某些实施方案中,溶剂或溶剂的混合物在洗涤操作之前被冷却。

[0047] 在某些实施方案中,制造NMN的结晶形式的方法被用于从NMN去除一种或更多种杂质。在某些实施方案中,本文中所描述的结晶方法被用于纯化NMN,例如,作为化合物的制造中的最终纯化步骤。

[0048] NMN的晶体形式的用途

[0049] NMN是由在NAD生物合成途径中的烟酰胺产生(Nampt催化的反应)。NMN在NAD生物合成途径中被进一步转化为NAD(Nmnat催化的反应)。“烟酰胺腺嘌呤二核苷酸”(NAD)对应于下列结构，



[0051] 其产生自Namp1催化的烟酰胺到NMN的转化,以及Nmnat催化的NMN到NAD的后续转化。在哺乳动物中,酵母PNC1的功能同系物是NAMPT,所述NAMPT也催化NAD补救中的第一步骤。NAMPT催化从NAM形成烟酰胺单核苷酸(NMN),然后烟酰胺单核苷酸(NMN)通过NMNAT1、NMNAT2和NMNAT3被转化成NAD。烟酰胺核糖甙(NAD的前体)在被烟酰胺核糖甙激酶(NRK)酶转化成NMN之后进入补救途径。

[0052] 因此,受增加的NAD水平影响的疾病、紊乱和病况同样受可用于NAD生物合成的NMN前体的量影响,并且因此可以通过施用本文公开的NMN化合物和组合物被治疗。

[0053] 在某些实施方案中, NMN通过在改善血浆脂质谱、中风的预防和/或延长寿命和健康中具有营养价值和/或治疗价值的烟酰胺单核苷酸腺苷转移酶 (Nmnat1) 途径或NAD⁺生物合成的其他途径起作用。其他实施方案涉及用于通过施用包括NMN的组合物预防或治疗与烟酰胺单核苷酸腺苷转移酶 (Nmnat1) 途径或NAD⁺生物合成的其他途径有关的疾病或病况的方法。通常具有改变的NAD⁺或其前体的水平, 并且可以通过用NMN和/或NAD⁺补充膳食或治疗方案被预防或治疗的疾病或病况包含, 但不限于, 脂质紊乱 (例如, 血脂异常、血胆固醇过多或高脂血症)、中风、I型糖尿病和II型糖尿病、心血管疾病以及与肥胖症有关的其他身体问题。

[0054] 神经退行性疾病

[0055] 轴突变性频繁发生在神经退行性疾病和外周神经病变中。在缓慢华勒变性 (Wlds) 小鼠中,横断的轴突的变性被烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD⁺) 合成酶、烟酰胺单核苷酸腺苷转移酶 (Nmnat1) 融合蛋白的过度表达延缓。在神经元培养中,Wld(s) 和Nmnat1两者自身在预防轴突变性中是起作用的。

[0056] 在受伤的、患病的或变性的神经细胞中,NAD⁺水平减少,并且预防此NAD⁺下降有效地保护神经细胞免于细胞死亡。参见,Araki&Milbrandt"Increased nuclear NAD⁺ biosynthesis and SIRT1activation prevent axonal degeneration" Science.2004Aug.13;305(5686):1010-3和Wang et al., "A local mechanism mediates NAD-dependent protection of axon degeneration" J Cell Biol.170(3):349-55 (2005),其以引用方式被整体并入本文。由于NMN能够增加NAD⁺的胞内水平,因此NMN作为治疗补充剂或营养补充剂,在处理影响中枢神经系统和外周神经系统的损伤、疾病和紊乱中是有用的,所述损伤、疾病和紊乱包含,但不限于,对神经细胞的创伤或损伤、损害神经细胞的疾病或病况以及神经退行性疾病或综合征。已经在例如,Stein et al., "Expression of Nampt in Hippocampal and Cortical Excitatory Neurons Is Critical for Cognitive Function" The Journal of Neuroscience 201434(17):5800-5815;和Stein et al., "Specific ablation of Nampt in adult neural stem cells recapitulates their functional defects during aging" EMBO J.2014 33:1321-1340中讨论了增加的NAD⁺合成与神经损伤和疾病或病况中的有益结果之间的相关性。

[0057] 下面描述了一些神经退行性疾病、神经退行性综合征、损害神经细胞或以另外的方式对神经细胞造成损伤的疾病和病况。

[0058] 特发性震颤 (ET) 是最常见的行动障碍。其是以缓慢进行的姿势性和/或运动性震颤为特征的综合征,通常影响两个上肢。

[0059] 帕金森病 (PD) 是与黑质纹状体多巴胺能神经元的丧失有关的进行性神经退行性紊乱。

[0060] 阿尔茨海默病 (AD) 是痴呆最常见的形式。其是一种与高龄密切相关的大脑的进行性的退化性疾病。随着时间推移,具有所述疾病的人丧失他们的思考和清晰地推理、判断状况、解决问题、专心、记住有用信息、照顾他们自己以及甚至说话的能力。许多神经退行性疾病 (如阿尔兹海默病) 在大脑中实行其生物学影响。优选的是,本文公开的基于烟酰胺单核苷酸的化合物能够通过血脑屏障 (BBB)。

[0061] 亨廷顿病 (HD) 是与在基底神经节和皮质层中神经元的特定子集中的细胞丧失有关的不可治愈的、成人发病的、常染色体显性遗传病症。

[0062] 共济失调被定义为无法保持正常的姿势和动作的平稳性。神经病学症状和病征 (如癫痫和运动障碍 (例如,肌张力障碍、舞蹈病)) 可能伴随共济失调。

[0063] 紧张性精神分裂症是一种在显然醒着的人中对外界刺激明显无应答性的状态。

[0064] 癫痫症被定义为以自发的、周期性的癫痫为特征的慢性病况;癫痫被定义为与短暂的超同步神经元放电相关的临床事件。

[0065] 神经阻滞剂恶性综合征 (NMS) 指过高热、僵硬和自主调节异常的结合,其可以作为抗精神病药物的使用的严重并发症出现。

[0066] 舞蹈病是一种无意识的异常运动,其以任何肢体的生硬的、简短的、不合拍的、非反复性的运动为特征,通常与非模式化的面部表情有关。妊娠舞蹈病(CG)是用于在怀孕期间出现的舞蹈病的术语。

[0067] 皮质基底神经节变性(CBGD)临床特征包含进行性痴呆、类帕金森征和肢体失用症。中枢或外周神经系统通路功能障碍可以引起自主神经功能障碍。

[0068] 肌张力障碍是持续的肌肉收缩的综合征,通常产生扭曲和重复的动作或异常的姿势。书写痉挛是特定任务的局灶性肌张力障碍的一种形式。

[0069] 智力迟钝(MR)是一种智力能力显著受限的病况。发育性残疾描述限制个体执行如在特定社会环境中所期望的活动和任务的能力的病况。MR和发育性残疾时常作为大脑损伤的结果同时出现。

[0070] 神经棘红细胞增多症是以运动障碍、性格改变、认知退化、轴突性神经病变和癫痫为特征的进行性神经疾病。大多数患者在所述疾病的过程的一些时间点在外周血涂片上有刺状红细胞增多症。

[0071] 佩利措伊斯-梅茨巴赫病(PMD)和X-连锁痉挛性截瘫2型(SPG2)位于由同一基因(蛋白脂蛋白1(PLP1)基因)的突变引起的X-连锁疾病的临床表现的相反的两端,并且造成有缺陷的中枢神经系统(CNS)髓鞘化。临床病征通常包含眼球震颤、喘鸣、痉挛性四肢瘫痪、张力减退、认知损害、共济失调、震颤,以及在MRI扫描中的弥散性脑白质病的一些组合。

[0072] 进行性核上性麻痹(PSP),又名Steele-Richardson-Olszewski综合征,是一种影响认知、眼运动和姿态的神经退行性疾病。

[0073] 纹状体黑质变性(SND)是一种代表多系统萎缩(MSA)的表现的神经退行性疾病。其他表现是夏-德综合征(例如,自主神经衰竭主导)和散发性橄榄体脑桥小脑变性(sOPCA,小脑主导)。

[0074] 缺血性中风发生是由于大脑的部分的血液供给减少,引发缺血级联反应。如果剥夺氧气超过60到90秒,大脑组织停止运行,并且在几小时之后将遭受不可逆转的、可能导致组织死亡(即梗塞)的伤害。通过缩小血管腔导致血流减少,通过引起血管内的血凝块的形成,或通过释放大量的动脉粥样硬化斑块的分解的小栓子,动脉粥样硬化可以破坏血液供给。当栓子在循环系统的其他地方形成时,栓子性梗塞,通常作为心房纤颤的后果在心脏或者在颈动脉发生。这些中断,进入脑循环,然后进入并且阻塞大脑血管。

[0075] 由于侧支循环,在受局部缺血影响的脑组织区域内存在一系列重症程度。因此,部分组织可能立刻死亡,而其他部分可能仅仅受伤害并且可能潜在地恢复。组织可以恢复的局部缺血区域被称为缺血暗影区。

[0076] 当氧气或葡萄糖在缺血脑组织中变为耗尽的,高能磷酸酯化合物(如三磷酸腺苷(ATP))的产生失败,导致组织细胞存活所必需的能量依赖过程的失效。这引发一系列造成细胞损伤和死亡的相关的事件。这些包含可以进一步导致能量耗尽并且由于细胞凋亡可能触发细胞死亡的线粒体障碍。其他过程包含在脑细胞中导致电解质失衡的膜离子泵功能丧失。还有在过量的浓度下有毒性作用的兴奋性神经递质的释放。

[0077] 脊髓损伤,或脊髓病变,是造成感觉和运动的丧失的脊髓紊乱。两类常见的脊髓损伤是:创伤(车祸、坠落、枪击、潜水事故等)和疾病(脊髓灰质炎、脊柱裂、肿瘤、弗里德赖希共济失调等)。值得注意的是,脊髓并不必须被完全断裂以丧失功能。事实上,在脊髓损伤的

大多数情况下,脊髓保持完整。

[0078] 外伤性脑损伤(TBI),也称颅内损伤,或仅仅头部损伤,发生在突发性创伤引起脑损伤时。TBI可以由闭合性头部损伤或贯穿性头部损伤造成,并且是获得性脑损伤(ABI)的两个子集之一。另一个子集是非外伤性脑损伤(例如,中风、脑膜炎、缺氧症)。大脑的可以被损害的部分包含大脑半球、小脑和脑干。根据对大脑的损伤程度,TBI的症状可以是轻微的、中等的或严重的。后果可以从完全康复到永久残疾或死亡中的任何事情。昏迷也可以影响儿童的大脑。来自TBI的损伤可以是局灶性的,限定于大脑的某个区域,或者弥散性的,涉及大脑的不止一个区域。对大脑的弥散性创伤常常与脑震荡(响应于头部突然运动的大脑的震动)、弥散性轴突损伤或昏迷有关。局部损伤可以与神经行为表现、轻偏瘫或其他局灶性神经缺陷有关。

[0079] 可以造成伤害的对大脑的另一损害是缺氧症。缺氧症是即使有充足的血液流向组织,其中存在对器官组织的氧气供给的缺乏的病况。低氧指氧气供给的减少,而非完全不存在氧气,并且如在脑肿胀的情况下所见的,局部缺血是不充足的血液供给。在任何这些情况下,没有充足的氧气,被称作缺血级联反应的生化级联反应被释放,并且大脑的细胞可以在几分钟内死亡。这类损伤通常在溺水受害者,在心脏病发作患者(特别是那些已经经历过心脏骤停的),或在遭受大量失血的人中可见,所述大量失血来自于循环性(低血容量性)休克,然后造成流向大脑的血液减少的其他损伤。

[0080] 调节血糖浓度

[0081] 本文提供用于调节哺乳动物中的血糖浓度的方法。如本文中所采用的,调节血糖浓度指与先前确定的水平相比,血糖浓度中的或血糖浓度的任何增加、减少和/或维持。

[0082] 可以向需要这样的治疗的哺乳动物施用NMN。例如,哺乳动物可能需要血糖浓度中的增加。可替代地,哺乳动物可能需要血糖浓度中的减少。或者,哺乳动物可能需要维持血糖浓度高于、处于或低于特定水平或在特定范围内(例如,通过一系列增加和/或减少,或通过不增加或减少)。血糖浓度调节NMN也可以作为预防措施被施用至哺乳动物;也就是说,哺乳动物需要治疗以预防或延迟医学病况(如,例如,1型糖尿病或2型糖尿病)的出现或发作。

[0083] 根据本文所描述的方法调节哺乳动物中血糖浓度(例如,通过向哺乳动物施用血糖调节量的本发明的化合物)的能力在各种并发症、疾病和/或病的治疗和/或预防中可以有利的。例如,Yoshino et al.,“Nicotinamide mononucleotide,a key NAD⁺ intermediate,treats the pathophysiology of diet-and age-induced diabetes”Cell Metab.2011 14:528-536;和Garten,et al.,“Nampt:Linking NAD biology,metabolism,and cancer”Trends Endocrinol Metab.200920(3):130-138中已经描述了增加的NAD⁺水平对代谢疾病和病况的作用。通常,本发明可以被用于治疗可能直接地或者间接地被系统性NAD生物合成影响的各种急性、中期和慢性病况。

[0084] 例如,血糖浓度的调节在医学病况(如脑局部缺血诱导的低血糖症、由例如儿童中的先天性胰岛素过多引起的低血糖脑损伤,和/或严重地降低血糖水平的其他病况)的治疗和/或预防中可以是有效的。可替代地,血糖浓度的调节在抵消胰岛素的过量注射,或不足的饮食或维生素摄入(例如,维生素B3缺乏(烟酸,其来源于烟碱酸和烟酰胺)可以导致糙皮病(典型的烟酸缺乏疾病,以双侧皮炎、腹泻和痴呆为特征))的影响中可以是有效的。

[0085] 此外,血糖浓度的调节在低血糖症、高血糖症、糖耐量减低、空腹血糖受损,以及1

型糖尿病和2型糖尿病的治疗和/或预防中可以是有效的。

[0086] 根据本文所描述的方法的血糖浓度的调节在抵消血糖浓度减少药物(如对乙酰氨基酚、醇类、蛋白同化甾类、氯贝丁酯、丙吡胺、吉非贝齐、单胺氧化酶抑制剂(MAOIs)、戊烷脒或磺酰脲药品(如格列吡嗪、格列本脲和格列美脲))的影响中也可以是有利的。

[0087] 与NAD生物合成具有似乎可能的关系的其他病况(如痴呆)也可以通过血糖调节被有益地治疗和/或预防。参见,例如,Guest,et al.,“Changes in Oxidative Damage, Inflammation and[NAD(H)]with Age in Cerebrospinal Fluid”PLOS One,January 2014 9(1):e85335。

[0088] 血糖浓度的增加、减少和/或维持可以,例如,通过高于、低于或在一个或多个先前确定的水平之间的百分比被定量,或可以通过特定的血糖浓度或其范围被定量。

[0089] 例如,血糖浓度可以被增加至高于先前确定的水平至少约5%;至高于先前确定的水平至少约10%;至高于先前确定的水平至少约25%;至高于先前确定的水平至少约50%;至高于先前确定的水平至少约75%;至高于先前确定的水平至少约100%;至高于先前确定的水平至少约150%;或至高于先前确定的水平至少约200%。通过另一实施例,血糖浓度可以被降低至低于先前确定的水平至少约5%;至低于先前确定的水平至少约10%;至低于先前确定的水平至少约25%;至低于先前确定的水平至少约50%;至低于先前确定的水平至少约75%;至低于先前确定的水平至少约100%;至低于先前确定的水平至少约150%;或至低于先前确定的水平至少约200%。通过又一实施例,血糖浓度可以被维持(例如,通过一系列增加和/或减少,或通过不增加和/或减少)在比先前确定的水平大不超过约50%或小不超过约50%的浓度;例如,大不超过约40%或小不超过约40%;大不超过约30%或小不超过约30%;大不超过约20%或小不超过约20%;大不超过约10%或小不超过约10%;或大不超过约5%或小不超过约5%。

[0090] 可替代地,血糖浓度可以被维持(例如,通过一系列增加和/或减少,或通过不增加或减少)处于、高于或低于特定血糖浓度或在期望的血糖浓度范围内。例如,血糖浓度可以被维持在大于约60mg/dL;大于约70mg/dL;大于约100mg/dL;大于约110mg/dL;或大于约125mg/dL的浓度。可替代地,血糖浓度可以被维持在小于约200mg/dL;小于约175mg/dL;小于约150mg/dL;小于约125mg/dL;小于约110mg/dL;或小于约100mg/dL的浓度。通过另一实施例,血糖浓度可以被维持在从约60mg/dL到约140mg/dL的浓度;从约90mg/dL到约130mg/dL;从约100mg/dL到约125mg/dL;或从约110mg/dL到约125mg/dL的浓度。

[0091] 药物毒性

[0092] 在一些实施方案中,本发明涉及NMN的使用以预防不利影响并且保护细胞免受毒性。毒性可以是辐射或外部化学物质对身体细胞的不利影响。毒素的实施例是药品、药物的滥用和辐射(如UV或X射线光)。辐射毒素和化学物质毒素两者都有可能损伤生物分子(如DNA)。此损伤通常通过外源性物质或其代谢物与生物分子的化学反应或间接地通过活性氧(例如,超氧化物、过氧化物、羟基自由基)的刺激生成发生。细胞中的修复系统切除和修复由毒素引起的损伤。

[0093] 使用NAD⁺的酶在DNA修复过程中起作用。例如,DNA修复综合征包括但不限于科凯恩氏综合征。具体地,聚(ADP-核糖)聚合酶(PARPs)(特别是PARP-1)被DNA链断裂激活并且影响DNA修复。PARP消耗NAD⁺作为腺苷二磷酸核糖(ADPR)供体,并且将聚(ADP-核糖)合成到

核内蛋白(如组蛋白)和PARP自身上。尽管PARP活性便利DNA修复,但是PARP的过度激活可以引起细胞NAD⁺的显著损耗,从而导致细胞坏死。NAD⁺代谢对基因毒性的表观灵敏度导致对PARP的抑制作为改善细胞存活的手段的药理学研究。许多报道已经显示,PARP抑制增加经受基因毒性的细胞中的NAD⁺浓度,伴随着作为结果的细胞坏死的减少。参见,例如,Fang, et al., Defective Mitophagy in XPA via PARP-1 Hyperactivation and NAD⁺/SIRT1 Reduction. Cell 2014 157:882-896。虽然如此,来自毒性的细胞死亡仍然发生,大概因为细胞能够完成被基因毒性激活的凋亡途径。因此,即使抑制PARP,显著的细胞死亡仍然是DNA/大分子损伤的后果。此结果表明,基因毒性中的NAD⁺代谢的改善在改善细胞存活中可以是部分有效的,但是调整细胞凋亡灵敏度的其他蛋白质(如去乙酰化酶)也可以在细胞对基因毒素的响应中起重要作用。

[0094] 决定化学物质毒性和辐射毒性在组织中的影响的生理学机制和生化机制是复杂的,并且证据表明NAD⁺代谢是细胞应激反应途径的一个重要方面。例如,经由烟酰胺/烟酸单核苷酸(NMNAT)过表达的NAD⁺代谢的上调已经显示防止神经元轴突变性,并且在药理学上使用的烟酰胺最近已经显示在胎儿酒精综合征和胎儿局部缺血的模型中提供神经元保护。这样的保护作用可以归因于上调的NAD⁺生物合成,其增加在基因毒性应激期间经受损耗的可用NAD⁺库。NAD⁺的此消耗是由PARP酶介导的,所述PARP酶被DNA损伤激活并且可以耗尽细胞NAD⁺,从而导致坏死性死亡。可以和上调的NAD⁺生物合成配合的增强的细胞保护的另一机制是通过乙酰化酶调节的细胞保护转录程序的激活。

[0095] 衰老/应激

[0096] 在某些实施方案中,本发明提供通过将细胞与NMN和/或NAD⁺接触延长细胞寿命、延长细胞增殖能力、延缓细胞衰老、促进细胞存活、延迟细胞中的细胞衰老、模拟卡路里限制的效果、增加细胞对应激的抵抗力或预防细胞凋亡的方法。最近的研究已经证明了NAD⁺在衰老过程中以及年龄相关性疾病和病况中所起的作用。参见,例如,Imai, et al., “NAD⁺ and sirtuins in aging and disease” Trends in Cell Biol. 2014 24 (8):464-471; 和 Gomes, et al. “Declining NAD⁺ Induces a Pseudohypoxic State Disrupting Nuclear-Mitochondrial Communication during Aging” Cell 2013 155:1624-1638。

[0097] 本文所描述的方法可以被用于增加细胞(特别是原代细胞(例如,从生物体(例如,人)获得的细胞)在离体细胞培养物中可以保持存活的时间量。胚胎干(ES)细胞和多能细胞以及由其分化的细胞也可以用基于烟酰胺单核苷酸的化合物或衍生的化合物处理,以使细胞或其后代在培养物中保持较长的一段时间。这样的细胞还可以用于移植入受试者,例如,在离体修饰之后。

[0098] 在某些实施方案中,意图长时间保存的细胞可以用NMN和/或NAD⁺处理。细胞可以在悬浮液(例如,血细胞、血清、生物生长培养基等)中或受试者中的组织或器官中。例如,为了输血目的而从个体收集的血液可以用NMN和/或NAD⁺处理以使血细胞保存较长的一段时间。此外,用于法医目的的血液也可以使用NMN和/或NAD⁺被保存。可以被治疗以延长其寿命或防止细胞凋亡的其它细胞包含用于消耗的细胞,例如,来自非人哺乳动物的细胞(如肉)或植物细胞(如蔬菜)。

[0099] NMN和/或NAD⁺还可以在哺乳动物、植物、昆虫或微生物的发育和生长阶段被应用,以便例如改变、推迟或加速发育和/或生长过程。

[0100] 在某些实施方案中, NMN和/或NAD⁺可以被用于处理对移植或细胞治疗有用的细胞, 所述移植或细胞治疗包含, 例如, 实体组织移植、器官移植、细胞悬液、干细胞、骨髓细胞等。细胞或组织可以是自体移植物、同种异体移植物、同种同基因移植物或异种移植物。在施用/植入受试者内之前、与施用/植入受试者内同时和/或在施用/植入受试者内后, 可以用NMN和/或NAD⁺处理细胞或组织。细胞或组织可以在从供体个体移除细胞之前、在从供体个体移除细胞或组织之后离体, 或在植入受体内后进行处理。例如, 供体个体或受体个体可以用NMN和/或NAD⁺系统性地处理, 或可以具有用NMN和/或NAD⁺局部处理的细胞/组织的子集。在某些实施方案中, 细胞或组织(或供体个体/受体个体)可以附加地用对延长移植物存活有用的另一治疗剂(如, 例如, 免疫抑制剂、细胞活素、血管生成因子等)处理。

[0101] 在某些实施方案中, 细胞可以用一定量的增加体内NAD⁺的水平NMN处理, 例如, 以增加其寿命或预防细胞凋亡。例如, 通过用一定量的增加胞内NAD⁺水平的NMN处理皮肤或上皮细胞, 可以保护皮肤免受衰老(例如, 产生皱纹、弹性损失等)。在示例性实施方案中, 皮肤与药物组合物或化妆品组合物接触, 所述药物组合物或化妆品组合物包括一定量的增加胞内NAD⁺水平的NMN。可以按照本文所描述的方法治疗的示例性皮肤病或皮肤病况包含与炎症、阳光损伤或自然衰老有关的或由炎症、阳光损伤或自然衰老引起的紊乱或疾病。例如, 组合物发现在接触性皮炎(包含刺激性接触性皮炎和变应性接触性皮炎)、特应性皮炎(也称为变应性湿疹)、光化性角化病、角质化紊乱(包含湿疹)、大疱性表皮松解疾病(包含天疱疮)、剥脱性皮炎、脂溢性皮炎、红斑(包含多形红斑和结节性红斑)、由太阳或其他光源引起的损伤、盘状红斑狼疮、皮炎、银屑病、皮肤癌和自然衰老的影响的预防或治疗中有效用。在其他实施方案中, 一定量的增加胞内NAD⁺水平的NMN可以用于治疗伤口和/或烧伤以促进愈合, 所述烧伤包含, 例如, 一度、二度或三度烧伤和/或热烧伤、化学烧伤和电烧伤。如在本文中进一步描述的, 在有效实现期望结果的剂量方案的范围内, 制剂可以作为软膏、洗剂、乳膏、微乳剂、凝胶剂、溶液等局部施用至皮肤或粘膜组织。

[0102] 包括一定量的增加胞内NAD⁺水平的NMN的局部制剂也可以用作预防性(例如, 化学预防)组合物。当用于化学预防方法时, 易感皮肤在特定个体中的任何可见病况之前被处理。

[0103] 在某些实施方案中, 一定量的增加胞内NAD⁺水平的NMN可以用于在受试者中治疗或预防由细胞衰老诱导或加剧的疾病或病况; 用于减少受试者衰老速率的方法, 例如, 在衰老开始后; 用于延长受试者的寿命的方法; 用于治疗或预防与寿命有关的疾病或病况的方法; 用于治疗或预防与细胞增殖能力有关的疾病或病况的方法; 以及用于治疗或预防由细胞损伤或死亡导致的疾病或病况的方法。在某些实施方案中, 方法不通过减少缩短受试者寿命的疾病的发生率起作用。在某些实施方案中, 方法不通过降低由疾病(如癌症)引起的致死率起作用。

[0104] 在某些实施方案中, 一定量的增加胞内NAD⁺水平的NMN可以被施用至受试者, 以便普遍地增加其细胞的寿命并且保护其细胞抵抗应激和/或抵抗细胞凋亡。用NMN治疗受试者可以类似于使受试者经受刺激作用, 即, 有益于生物体并且可以延长其寿命的适度应激。

[0105] 一定量的增加胞内NAD⁺水平的NMN也可以被施用至受试者用于治疗与细胞死亡有关的疾病(例如, 慢性疾病), 以便保护细胞免受细胞死亡。示例性疾病包含与神经细胞死亡、神经元功能障碍或肌细胞死亡或功能障碍有关的疾病(如帕金森病、阿尔茨海默病、多

发性硬化、肌萎缩侧索硬化和肌营养不良)；AIDS；暴发型肝炎；与脑的变性有关的疾病(如克-雅病、色素性视网膜炎和小脑变性)；脊髓发育不良(如再生障碍性贫血)；缺血性疾病(如心肌梗死和中风)；肝病(如酒精性肝炎、乙型肝炎和丙型肝炎)；关节疾病(如骨关节炎)；动脉粥样硬化；脱发；由于UV光对皮肤的损害；扁平苔藓；皮肤萎缩；白内障；和移植排斥。细胞死亡还可以由手术、药物治疗、化学物质暴露或辐射暴露引起。

[0106] 一定量的增加胞内NAD⁺水平的NMN也可以被施用至患有急性疾病(例如，对器官或组织的损伤)的受试者(例如，患有中风或心肌梗死的受试者或患有脊髓损伤的受试者)。一定量的增加胞内NAD⁺水平的NMN也可以用于修复酒精性肝脏。

[0107] 心血管疾病

[0108] 在某些实施方案中，本发明提供用于通过向有需要的受试者施用一定量的增加胞内NAD⁺水平的NMN治疗和/或预防心血管疾病的方法。在一些研究(如Borradaile, et al., “NAD⁺, Sirtuins, and Cardiovascular Disease” Current Pharmaceutical Design 201615(1):110-117)中已经描述了NAD⁺在治疗心血管疾病中的益处。

[0109] 可以通过一定量的增加胞内NAD⁺水平的NMN治疗或预防的心血管疾病包含心肌病或心肌炎；如特发性心肌病、代谢性心肌病、酒精性心肌病、药物性心肌病、缺血性心肌病和高血压性心肌病。使用本文所描述的化合物和方法也可治疗的或可预防的是主要血管(如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉和腘动脉)的动脉粥样硬化疾病(大血管疾病)。可以治疗或预防的其他血管疾病包含与血小板凝聚、视网膜小动脉、肾小球小动脉、神经滋养血管、心脏小动脉以及与眼睛、肾、心脏和中枢神经系统和外周神经系统的有关毛细血管床相关的血管疾病。

[0110] 可以用一定量的增加胞内NAD⁺水平的NMN治疗的其他紊乱包含例如冠状动脉介入后的再狭窄和与高密度和低密度胆固醇的异常水平相关的紊乱。可以受益于NAD⁺治疗的另一种疾病是非酒精性脂肪肝(NASH)(一种脂肪性肝病)。

[0111] 昼夜节律

[0112] 昼夜节律钟由转录-翻译反馈环编码，所述转录-翻译反馈环使行为和代谢与光暗周期同步。已经出乎意料地发现，哺乳动物NAD⁺生物合成中的限速酶、烟酰胺磷酸核糖转移酶(NAMPT)和NAD⁺的水平都显示由小鼠中的核心时钟机制调节的昼夜节律振荡。NAMPT的抑制通过释放来自SIRT1的抑制的CLOCK:BMAL1促进时钟基因Per2的振荡。反过来，昼夜节律转录因子CLOCK结合到并且上调Nampt，从而完成涉及NAMPT/NAD⁺和SIRT1/CLOCK:BMAL1的反馈环。参见，例如，Ramsey et al., “Circadian clock feedback cycle through NAMPT-mediated NAD⁺ biosynthesis” Science 2009 324:651-654。

[0113] 因此，NAMPT介导的NAD⁺生物合成的周期性变化表明其影响生理周期以及可能地睡眠-觉醒和禁食-进食周期。不受单一理论的约束，据信NAD⁺通过SIRT1活性的控制用作为对环境信号的响应的节律调节的关键“代谢振荡器”。本文公开的化合物可以用于通过哺乳动物中NAMPT介导的NAD⁺生物合成和/或代谢周期、生理周期和昼夜节律周期的时间耦合为基础的途径影响昼夜节律反馈环。

[0114] 对涉及NAMPT/NAD⁺-SIRT1/CLOCK:BMAL1的调节途径的认识对于理解生理周期和行为周期如何与环境光暗周期协调具有广泛的影响。例如，在睡眠期间，当动物正常静止和禁食时，NAMPT的水平稳定地增加，在觉醒期开始时达到峰值，并且与进食一致。作为NAMPT

增加的结果, NAD^+ 上升以刺激 SIRT1, SIRT1 在肝脏中协调适当的代谢反应, 涉及从分解代谢途径转换到合成代谢途径。

[0115] 在某些实施方案中, 本发明提供用于调节哺乳动物的核心时钟机制 (有时也称为昼夜节律钟), 从而影响行为、活性和/或生物功能的方法, 所述行为、活性和/或生物功能发生在昼间或昼夜节律周期中或受昼间或昼夜节律周期的影响, 并且所述行为、活性和/或生物功能至少部分通过昼夜节律钟被调节。通常, 方法涉及向需要调节昼夜节律钟的患者或哺乳动物施用治疗量或预防量的昼夜节律钟调节化合物。

[0116] 本文公开的治疗方法通常指向调节昼夜节律钟, 从而调节或影响生物功能的方法, 所述生物功能通过昼夜节律钟的活性调节 (有时也被认为被影响、附属于或被介导)。通常, 这些生物功能显示活性和无活性的模式, 所述模式通常大约每 24 小时重复, 在 24 小时期间在“活性的”状态和“无活性的”状态之间振荡。

[0117] 因此, 本发明提供通过向有需要的哺乳动物施用昼夜节律钟调节化合物来调节昼夜节律钟的活性的方法。通常, 昼夜节律钟的活性调节是 CLOCK:BMAL1 的调节的结果, 其根据本发明的方法通过调节 SIRT1 的活性实现。SIRT1 的活性通常根据本发明的方法通过施用昼夜节律钟调节化合物调节, 并且在某些实施方案中通过施用一定量的影响 NAD^+ 途径的 NMN 调节。因此, 昼夜节律钟的调节容许由昼夜节律钟介导的活性的调节。

[0118] 根据本发明, 通过施用昼夜节律钟调节化合物, 昼夜节律钟的活性可以增加、减少或维持。相应地, 由昼夜节律钟的活性调节的生物功能 (有时也称为生物活性) 也可以增加、减少或维持。此外, 这些生物功能也可以是时移的; 也就是说, 通常发生在特定时期期间 (例如, 在日间或白昼时间期间 (有时也称为光周期) 或在黑夜或夜间时间期间 (有时也称为黑暗周期)) 的活性可以被转换, 使得活性反而分别在黑暗周期或光周期期间发生。

[0119] 通常受昼夜节律钟的活性影响的许多生物功能中的任何一种可以通过本发明的方法被调节。因此, 本发明的方法可以用于治疗由例如, 昼夜节律钟的不规则的、不充分的或病理的功能所致的紊乱或疾病状态。类似地, 本发明的方法可以用于治疗由外部因素引起的紊乱或症状学, 所述外部因素影响昼夜节律钟的适当的功能或活性, 或所述外部因素需要时钟的“重置”。例如, 向患有代谢紊乱的患者施用昼夜节律钟调节化合物不仅在患者的血清 NMN 或 NAD 水平增加时提供治疗益处, 而且当在患者中观察到关于伴随代谢紊乱的其他紊乱 (像体重减轻或体重增加) 改善时提供治疗益处。在一些治疗方案中, 本发明的昼夜节律钟调节化合物可以被施用至处于发展如本文中描述的紊乱的风险的患者, 或施用至报告这样的紊乱的生理症状中的一种或更多种的患者, 即使代谢紊乱的诊断可能还未完成。

[0120] 可以根据本发明的方法治疗的紊乱、疾病状态或症状学的实施例包含, 但不限于, 行进到或穿过一个或更多个时区、工作班次中的变化、夜班工作或由例如怀孕或任何种类的药品的施用引起的哺乳动物身体状况的变化。因此, 本发明的方法可以被用于治疗或预防紊乱、紊乱的症状或由外部因素引起的症状。这样的紊乱和症状可以包含, 例如, 代谢紊乱, 如不适当的进食和禁食周期的循环或时间选择、高血糖症、低血糖症或糖尿病; 睡眠障碍, 如失眠、睡眠相位前移症候群、睡眠相位后移症候群、不一致的睡眠/觉醒周期或发作性睡病, 或改善患有过度嗜睡的个体的觉醒; 以及由外部因素引起的症状, 如行进到或穿过一个或更多个时区 (时差综合症)、转入或转出夏令时间、工作班次或夜班工作中的变化、怀孕或正在服用用于无关的疾病或紊乱的药物。

[0121] 相应地,在某些实施方案中,本发明指向调节哺乳动物中的生物功能的方法,所述功能受昼夜节律钟的影响。方法包括向哺乳动物施用治疗或预防(有时也称为昼夜节律钟调节)量的昼夜节律钟调节化合物。生物功能可以是,例如,本文所描述的生物功能中的任何一种。在某些实施方案中,本发明包括治疗哺乳动物中的代谢紊乱的方法,并且包括向哺乳动物施用治疗量或预防量的昼夜节律钟调节化合物。在其他实施方案中,本发明包括治疗由昼夜节律钟的功能介导的哺乳动物中的紊乱的方法,并且包括向哺乳动物施用治疗量或预防量的昼夜节律钟调节化合物。根据这些实施方案中的任何一个,昼夜节律钟调节化合物可以是,例如,烟酰胺、烟酰胺单核苷酸(NMN)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD);其盐和前体药物;烟酰胺磷酸核糖转移酶(NAMPT);及其组合,如下文更详细描述。在其他实施方案中,昼夜节律钟调节化合物可以是上列化合物中的任何一种的拮抗剂,从而要求与烟酰胺、烟酰胺单核苷酸(NMN)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD);其盐和前体药物;烟酰胺磷酸核糖转移酶(NAMPT);及其组合的效果相反的效果。

[0122] 在某些实施方案中,本发明指向调节哺乳动物的代谢活性的方法,所述方法包括向哺乳动物施用治疗量的昼夜节律钟调节化合物。在某些实施方案中,哺乳动物的代谢活性增加。在其他实施方案中,代谢活性减少。在又一其他实施方案中,哺乳动物的代谢活性维持在期望的水平,从而预防活性/无活性中的波动。在又一其他实施方案中,使代谢活性发生在光周期中(与其在黑暗周期中的典型发生相反)。在其他实施方案中,使代谢活性发生在黑暗周期中(与其在光周期中的典型发生相反)。在某些实施方案中,昼夜节律钟调节化合物被施用至哺乳动物,以便增加肝脏的合成代谢活性(例如,增加肝脏代谢途径的活性或将肝脏活性从分解代谢转变或转换为合成代谢)。在其他实施方案中,昼夜节律钟调节化合物被施用至哺乳动物,以便增加肝脏的分解代谢活性(例如,减少代谢过程的活性)。

[0123] 线粒体疾病和代谢效应

[0124] 除调节昼夜节律并且保护神经细胞免于细胞死亡之外,去乙酰化酶(如SIRT3、SIRT4和SIRT5)也在线粒体中被发现。SIRT3在代谢活性组织中以高水平表达。SIRT3的调整具有用于肌细胞的各种生理应用,所述生理应用包含模拟卡路里限制或运动、增加线粒体生物发生或代谢、使细胞对葡萄糖摄取敏感、增加脂肪酸氧化和减少活性氧。此外,本文证明SIRT3参与在基因毒性应激期间促进细胞存活。因此,SIRT3水平的调整也在介导细胞存活中具有应用。

[0125] 增加肌细胞中SIRT3的蛋白质水平或活性水平可以模拟卡路里限制或运动的益处。在一些实施方案中,本发明涉及通过使肌细胞与增加细胞中SIRT3的蛋白质水平或活性水平的药剂接触用于增加线粒体生物发生或代谢或用于提高肌细胞中的线粒体活性/耐久性的方法。在一些实施方案中,本发明涉及通过使肌细胞与增加细胞中SIRT3的蛋白质水平或活性水平的药剂接触用于使肌细胞对葡萄糖摄取敏化的方法。本发明进一步的实施方案涉及通过使肌细胞与提高细胞中SIRT3的蛋白质水平或活性水平的药剂接触用于增加肌细胞中的脂肪酸氧化的方法。本发明的一些实施方案涉及通过使肌细胞与增加细胞中SIRT3的蛋白质水平或活性水平的药剂接触用于减少肌细胞中的活性氧(ROS)的方法。

[0126] 增加SIRT3的水平有益于许多受线粒体内代谢影响的疾病和紊乱。增加SIRT3在任何需要其肌肉(例如,其平滑肌或心肌或其肌细胞)中的一种或更多种的代谢活化的受试者中可以是有益的。受试者可以是具有恶病质或肌肉萎缩的受试者。

[0127] 增加SIRT3也可以用于增加或维持体温,例如,在体温过低的受试者中。可替代地,抑制SIRT3可以用于降低体温,例如,在具有发烧或体温过高的受试者中。

[0128] 通常,SIRT3的激活可以用于刺激任何类型的肌肉(例如,肠或消化系统或泌尿道的肌肉)的代谢,并且从而可以用于控制肠运动(如便秘和失禁)。

[0129] 其中将对增加SIRT3有用的其他实施方案包含肌肉的修复,如在手术或事故之后,肌肉质量的增加;以及运动表现的增加。

[0130] 因此,本发明提供方法,其中通过使一个或多个肌细胞与一定量的增加细胞中SIRT3的蛋白质水平或活性水平的NMN接触产生有益效果。这些方法有效地便利、增加或刺激下列中的一种或更多种:模拟肌细胞中的卡路里限制或运动的益处、增加线粒体生物发生或代谢、增加肌细胞中的线粒体活性和/或耐久性、使肌细胞对葡萄糖摄取敏化、增加肌细胞中的脂肪酸氧化、减少肌细胞中的活性氧(ROS)、增加肌细胞中的PGC-1 α 和/或ucp3和/或GLUT4表达、以及激活肌细胞中的AMP激活的蛋白激酶(AMPK)。

[0131] 根据本发明可以接触各种类型的肌细胞。在一些实施方案中,肌细胞是骨骼肌细胞。在某些实施方案中,肌细胞是慢肌细胞,如比目鱼肌细胞。在一些实施方案中,本发明的方法包含向需要这样的治疗的受试者施用一定量的增加受试者细胞中的SIRT3的蛋白质水平或活性水平的NMN。

[0132] 接触的细胞或在上述方法中治疗的受试者优选地是需要SIRT3蛋白水平或活性水平增加的细胞。在某些实施方案中,细胞是受试者的患病细胞。

[0133] 还提供用于在受试者中调节骨骼肌代谢或骨骼肌能量体内平衡的方法。在这样的方法中,调整受试者中的SIRT3的蛋白质水平或活性水平的药剂,即本文所描述的SIRT3调节剂被施用至有需要的受试者。

[0134] 还提供用于增加受试者的肌细胞或肌肉中的SIRT3的蛋白质水平的方法。这样的方法包含使细胞或受试者经受热量限制或禁食,或向有需要的受试者施用一定量的增加肌细胞中的SIRT3的蛋白质水平或活性水平的NMN。在其中这样的方法有用的疾病、紊乱和病况包含线粒体疾病、代谢紊乱、神经障碍、肌肉失常、心血管疾病和过重或肥胖症。具体的代谢紊乱、疾病或病况包含胰岛素耐受性、糖尿病、糖尿病相关病况或紊乱、或代谢综合征。其他代谢紊乱对技术人员将是已知的。

[0135] 可以治疗的线粒体疾病包含显示由细胞中线粒体功能障碍引起的各种症状的疾病。线粒体疾病可以通过生化异常、临床症状或DNA异常类型以各种方式分类。命名为KSS(慢性进行性眼外肌麻痹)、MERRF(与破碎红纤维病有关的肌阵挛性癫痫症;福原综合征)、MELAS、利伯病、利氏脑病和皮尔森病的类型是众所周知的。其中,MELAS是一种主要表现为中风样发作的类型,占整体的30%或更多,并且被认为是线粒体疾病中最常见的类型。

[0136] 在某些实施方案中,NMN在治疗与DNA修复缺陷或线粒体功能障碍(例如,起因于线粒体体内平衡的失调)有关的疾病或紊乱中是有用的。在一些实施方案中,“线粒体功能障碍”或“线粒体体内平衡的失调”意为例如通过线粒体基因表达或线粒体DNA含量的降低耗尽一种或更多种线粒体成分(例如,ETC成分),导致被损害的线粒体功能(例如,氧化磷酸化(OXPHOS)能力的丧失或降低)。DNA修复疾病的实施例包含科凯恩氏综合征和TTD。

[0137] 视网膜疾病和紊乱

[0138] 感光器神经元细胞死亡和视力可以通过NMN施用被救护。在某些实施方案中,烟酰

胺磷酸核糖转移酶 (NAMPT) 介导的NAD生物合成可以在视杆细胞和/或视锥细胞PR神经元存活中起作用。在某些实施方案中,减少的NAD水平可以引起PR神经元中的线粒体功能受损、TCA循环代谢物的改变,并且可以导致细胞死亡和失明。

[0139] 删除NAMPT可以导致感光器死亡、正常视网膜结构和功能丧失,以及视力丧失。在一些情况下,可以用NMN(一种NAMPT酶促反应产物)的补充逆转对感光器神经元及其功能的损伤。本文公开了施用NMN以修复视网膜中的NAD水平的方法。在一些实施方案中,NMN补充可以是对于许多视网膜退行性疾病有效的治疗干预。

[0140] 本文提供通过向受试者施用NMN治疗、预防和降低与感光器功能障碍有关的疾病的风险的方法,所述疾病包含,不限于,年龄相关性黄斑变性 (AMD)、遗传性和获得性视网膜疾病(如,不限于色素性视网膜炎 (RP)、视杆细胞和视锥细胞营养不良,以及先天性利伯氏黑蒙 (LCA))。在某些实施方案中,NMN施用可以是对于孤儿视网膜退行性疾病的预防和/或治疗有效的干预,所述疾病包含但不限于视杆细胞营养不良、视锥细胞营养不良、色素性视网膜炎、其他遗传性视网膜变性、先天性利伯氏黑蒙 (LCA) 和获得性视网膜变性(如,但不限于,年龄相关性黄斑变性、视网膜脱落后的感光器变性)。

[0141] 在一些实施方案中,这些方法可以包括向受试者施用药学上有效量的烟酰胺单核苷酸 (NMN)。在一些实施方案中,烟酰胺单核苷酸 (NMN) 的药学上有效量可以是对于增加视网膜NAD水平有效的量。

[0142] 本文公开了在受试者中治疗黄斑变性的方法。在一些实施方案中,方法包含在受试者中治疗异常的视网膜NAD水平(包含异常低的视网膜NAD水平)。这些方法包括向受试者施用NMN。在一些实施方案中,方法包含在受试者中治疗视网膜变性。在一些实施方案中,方法包含在受试者中治疗感光器损伤。在一些实施方案中,方法包含在受试者中治疗感光器变性。

[0143] 在一些实施方案中,方法包含在受试者中治疗与视网膜变性有关的视力丧失。在一些实施方案中,方法包含在受试者中治疗异常的视网膜结构。在一些实施方案中,方法包含在受试者中增加视网膜NAD水平。

[0144] 在一些实施方案中,方法包含在受试者中降低发展黄斑变性的风险。在一些实施方案中,方法包含在受试者中降低发展异常的视网膜NAD水平的风险。在一些实施方案中,方法包含在受试者中降低发展视网膜变性的风险。在一些实施方案中,方法包含在受试者中降低发展感光器损伤/变性的风险。在一些实施方案中,方法包含在受试者中降低发展与视网膜变性有关的视力丧失的风险。在一些实施方案中,方法包含在受试者中降低发展异常的视网膜结构的危险。

[0145] 在一些实施方案中,方法包含在受试者中治疗视网膜疾病。在一些实施方案中,可以通过施用NMN治疗的视网膜疾病可以是色素性视网膜炎 (RP)、先天性利伯氏黑蒙 (LCA)、视杆细胞营养不良、视锥细胞营养不良、视杆细胞-视锥细胞营养不良、视锥细胞-视杆细胞营养不良、年龄相关性黄斑变性、视网膜脱落后的感光器变性或其组合。

[0146] 在某些实施方案中, β -烟酰胺单核苷酸 (NMN) 的晶体形式(和使用这样的晶体形式制备的剂型)可以用于在受试者中治疗、改善、减轻、减缓、控制、预防或逆转年龄相关性肥胖症。在一些实施方案中,本发明涉及在受试者中治疗、改善、减轻、减缓、控制、预防或逆转年龄相关性血脂水平增加的方法。在一些实施方案中,本发明涉及在受试者中治疗、改善、

减轻、减缓、控制、预防或逆转年龄相关性胰岛素敏感性丧失的方法。在一些实施方案中，本发明涉及在受试者中治疗、改善、减轻、减缓、控制、预防或逆转年龄相关性记忆功能损伤的方法。在一些实施方案中，本发明涉及在受试者中治疗、改善、减轻、减缓、控制、预防或逆转年龄相关性眼功能下降的方法。在一些实施方案中，本发明涉及在受试者中治疗、改善、减轻、减缓、控制、预防或逆转年龄相关性视网膜变性的方法。在一些实施方案中，本发明涉及治疗、改善、减轻、减缓、控制、预防或逆转干眼病的方法。在一些实施方案中，本发明涉及治疗、改善、减轻、减缓、控制、预防或逆转年龄相关性干眼病的方法。在一些实施方案中，本发明涉及治疗、改善、减轻、减缓、控制、预防或逆转不育的方法。

[0147] 在一些实施方案中，本发明提供在受试者中通过施用NMN的晶体形式或使用这样的晶体形式制备的剂型治疗年龄相关性神经干细胞/祖细胞 (NSPC) 功能性缺陷的方法。在一些实施方案中，本发明提供在受试者中通过施用NMN的晶体形式或使用这样的晶体形式制备的剂型降低NSPC群体的年龄相关性减少的方法。在一些实施方案中，本发明提供在受试者中通过施用NMN的晶体形式或使用这样的晶体形式制备的剂型维持至少一种NSPC的方法。在一些实施方案中，本发明提供在受试者中通过施用NMN的晶体形式或使用这样的晶体形式制备的剂型增强NAD生物合成的方法。在一些实施方案中，本发明提供在受试者中促进NSPC增殖的方法，其中方法包括向受试者施用NMN的晶体形式或使用这种晶体形式制备的剂型。这些实施方案中的每个的方法可以包括施用治疗有效的量的NMN的晶体形式或使用这样的晶体形式制备的剂型，基本上由施用治疗有效的量的NMN的晶体形式或使用这样的晶体形式制备的剂型组成，或由施用治疗有效的量的NMN的晶体形式或使用这样的晶体形式制备的剂型组成。

[0148] 在一些实施方案中，本发明提供在受试者中增加骨密度水平的方法。在一些实施方案中，本发明提供在受试者中治疗异常低的骨密度水平的方法。在一些实施方案中，本发明提供在受试者中治疗年龄相关性骨密度降低的方法。在一些实施方案中，本发明提供在受试者中治疗骨质疏松症的方法。在一些实施方案中，本发明提供在受试者中预防年龄相关性骨密度降低的方法。这些实施方案中的每个的方法可以包括施用治疗有效的量NMN的晶体形式的或使用这样的晶体形式制备的剂型，基本上由施用治疗有效的量的NMN的晶体形式或使用这样的晶体形式制备的剂型组成，或由施用治疗有效的量的NMN的晶体形式或使用这样的晶体形式制备的剂型组成。

[0149] 在某些实施方案中，本发明涉及通过施用NMN预防与感光器功能障碍有关的各种疾病的方法、降低与感光器功能障碍有关的各种疾病的风险的方法，以及治疗与感光器功能障碍有关的各种疾病的方法，所述疾病包含(不限于)年龄相关性黄斑变性(AMD)、遗传性和获得性视网膜疾病(如，不限于，色素性视网膜炎(RP)、视杆细胞和视锥细胞营养不良和先天性利伯氏黑蒙(LCA))。在各种实施方案中，NMN晶体形式或使用这样的晶体形式制备的剂型的施用可以是用于预防和/或治疗孤儿视网膜退行性疾病的有效干预，所述疾病包含但不限于视杆细胞营养不良、视锥细胞营养不良、色素性视网膜炎、其他遗传性视网膜变性、先天性利伯氏黑蒙(LCA)和获得性视网膜变性(如，但不限于，年龄相关性黄斑变性、视网膜脱落后的感光器变性)。在各种实施方案中，可以通过技术人员已知的任何施用途径(如，不限于，口服途径、肠胃外途径、眼内途径、腹膜内途径、静脉内途径或肌肉内途径)施用NMN的晶体形式或使用这样的晶体形式制备的剂型。在各种实施方案中，NMN可以在有或没

有赋形剂的情况下被施用。

[0150] 在一些实施方案中, NMN治疗年龄相关性疾病。在某些实施方案中, 年龄相关性疾病是阿尔茨海默病、侧索硬化、关节炎、动脉粥样硬化、恶病质、癌症、心脏肥大、心力衰竭、心脏肥大、心血管疾病、白内障、结肠炎、慢性阻塞性肺病、痴呆、糖尿病、衰弱、心脏病、肝性脂肪变性、高血胆固醇、高血压、亨廷顿病、高血糖、血压过高、不育、炎症性肠病、胰岛素耐受性紊乱、嗜睡、代谢综合征、肌营养不良、多发性硬化、神经病、肾病、肥胖症、骨质疏松症、帕金森病、银屑病、少肌症、睡眠障碍、脓毒病和/或中风。在一些实施方案中, 线粒体疾病是线粒体肌病、糖尿病和耳聋 (DAD)、利伯氏遗传性视神经病变 (LHON)、利氏综合征、神经病、共济失调、色素性视网膜炎和上睑下垂 (NARP)、肌阵挛型癫痫伴破碎红纤维病 (MERRF)、肌神经源性胃肠性脑肌病 (MNGIE)、线粒体肌病、脑肌病、乳酸性酸中毒、中风样症状 (MELAS)、卡·塞综合征 (KSS)、慢性进行性外眼肌麻痹 (CPEO) 和/或mtDNA耗尽。

[0151] 与线粒体功能障碍有关的疾病、紊乱或病况的实施例包含(但不限于)衰老、年龄相关性疾病、线粒体疾病(例如, 阿尔珀斯病、巴斯综合征、 β 氧化缺陷、肉碱-酰基-肉碱缺乏病、肉碱缺乏病、肌酸缺乏综合征、辅酶Q10缺乏、复合物I缺乏、复合物II缺乏、复合物III缺乏、复合物IV缺乏/COX缺乏、复合物V缺乏、慢性进行性眼外肌麻痹综合征、CPT I缺乏、CPT II缺乏、卡·塞综合征、乳酸性酸中毒、长链酰基-辅酶A脱氢酶缺乏、利氏综合征、勒夫特病、戊二酸尿症II型、线粒体细胞病、线粒体DNA耗尽、线粒体脑病、线粒体肌病和皮尔逊综合征)、代谢疾病和紊乱(例如, 氨基酸缺乏)、起因于线粒体和能量缺乏的疾病、嗜睡、心脏病、心血管疾病、中风、梗死、肺动脉高压、局部缺血、恶病质、少肌症、神经变性疾病(例如, 阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病)、痴呆、脂肪营养不良、脂肪肝、肝炎、肝硬化、肾衰竭、先兆子痫、男性不育症、肥胖症、糖尿病(例如, 糖尿病I型)、肌紊乱和肌肉萎缩。

[0152] 在一些实施方案中, NMN对于促进细胞活力(在各种物种中)、血管重构、伤口愈合和一般愈合(例如, 治疗起因于切伤、擦伤、外科手术、身体损害、创伤、烧伤、擦破、晒伤等的伤口)是有用的。在一些实施方案中, 方法和组合物对于促进铁体内平衡和/或红细胞生成是有用的。在一些实施方案中, 本文提供的方法和组合物对促进成功的器官和组织移植, 或对促进从器官和组织移植中恢复是有用的。在一些实施方案中, 提供的方法和组合物对于保存细胞和器官是有用的。在一些实施方案中, 本文提供的方法和组合物具有美容应用, 例如用于治疗与涉及皮肤或头皮/毛发的线粒体功能障碍有关的病况(如皮肤衰老(例如, 体积和弹性丧失、变色、雀斑(老年性雀斑样痣))、皱纹、脱发和毛发色素沉着丧失)。在一些实施方案中, 本文中所描述的药剂或组合物对于涉及化妆品、能量饮料和/或动物和植物工业(例如, 家畜、宠物和农产品)的产品或方法是有用的。

[0153] 可以如本文中所描述的被治疗的受试者包含真核生物(如哺乳动物(例如, 人、绵羊、牛、马、猪、犬、猫、非人灵长类动物、小鼠和大鼠))。可以被治疗的细胞包含例如来自如上所述的受试者的真核细胞、或植物细胞、酵母细胞和原核细胞(例如, 细菌细胞)。例如, NMN可以被施用至家畜以改进其长时间承受农场条件的能力。

[0154] 化合物也可以被用于在植物中增加寿命、抗逆性和细胞凋亡抵抗。在某些实施方案中, NMN被施加至植物(例如, 在周期性的基础上)或至真菌。在其他实施方案中, 植物被基因改造以产生NMN。在其他实施方案中, 在采摘和装运之前用NMN处理植物和果实以在装运过程中增加抗损性。植物种子也可以与NMN接触, 例如以保存它们。

[0155] NMN也可以被用于在昆虫中增加寿命、抗逆性和细胞凋亡抵抗。在某些实施方案中,NMN将被施加至益虫,例如,蜜蜂以及其他涉及植物的授粉的昆虫。在优选的实施方案中,NMN将被施加至涉及蜂蜜产生的蜜蜂。通常,本文中所描述的方法可以被施加至可能具有商业重要性的任何生物体,例如,真核生物。例如,其可以被施加至鱼(水产养殖)、虾、猪和鸟类(例如,鸡和禽)。

[0156] NMN的其他用途包含有利地调节微生物组或用作维生素B3的一种形式。作为NAD的前体,NMN还可以用于受NAD生物合成影响的疾病和病况的测定,如用作标准。

[0157] 如在本文使用的,“预防”紊乱或病况的治疗剂指化合物,在统计样品中,相对于未经处理的对照样品,所述化合物减少经处理的样品中的紊乱或病况的发生或频率,或相对于未经处理的对照样品,所述化合物延迟紊乱或病况的一种或更多种症状的发作或降低紊乱或病况的一种或更多种症状的严重性。因此,癌症的预防包含例如,相对于未经处理的对照群体,降低接受预防性治疗的患者群体中可检测的癌性生长的数量,和/或与未经处理的对照群体相比,延迟经处理的群体中可检测的癌性生长的出现,例如通过统计学和/或临床显著的量。感染的预防包含例如,与未经处理的对照群体相比,降低经处理的群体中感染的诊断数量,和/或与未经处理的对照群体相比,延迟经处理的群体中感染的症状的发作。疼痛的预防包含,例如,与未经处理的对照群体相比,降低经处理的群体中受试者经历的痛觉的量级,或可替代地延迟经处理的群体中受试者经历的痛觉。

[0158] 术语“治疗”包含预防性和/或治疗性治疗。术语“预防性或治疗性”治疗是本领域公认的,并且包含向宿主施用主题组合物中的一种或更多种。如果在有害病况(例如,宿主动物的疾病或其他有害状态)的临床表现之前被施用,则治疗是预防性的(即,其保护宿主免于发展有害病况),而如果其在有害病况的表现之后被施用,则治疗是治疗性的(即,其旨在减低、改善或稳定现有的有害病况或其副作用)。

[0159] 药物组合物

[0160] 在某些实施方案中,本发明涉及药物组合物,所述药物组合物包括式(I)的结晶化合物和一种或更多种药学上可接受的赋形剂,以及使用这样的结晶化合物和一种或更多种药学上可接受的赋形剂制备的剂型。在某些实施方案中,药物制剂可以用于治疗或预防如本文中所描述的病况或疾病。在某些实施方案中,药物制剂具有足够低的热原活性以适合于在人患者中静脉内使用。在某些实施方案中,本发明还涉及适合于营养食品、兽医和农业相关用途的制剂。

[0161] 示例性的药学上可接受的赋形剂在本文中被呈现,并且包含,例如粘合剂、崩解剂、润滑剂、矫味药、增溶剂、助悬剂、乳化剂、包衣剂、环糊精和/或缓冲剂。尽管剂量将根据症状、患者的年龄和体重、待治疗或预防的紊乱的性质和严重度、施用途径和药物的形式变化,但是通常对于成年人类患者,推荐从0.01mg至3000mg化合物的日剂量,并且其可以以单剂量或分次剂量被施用。可以与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将通常是产生治疗效果的化合物的量。

[0162] 将在被给予的患者中在治疗功效方面产生最有效的结果的组合物的施用的精确时间和/或量将取决于特定化合物的活性、药物代谢动力学和生物利用度、患者的生理状况(包含年龄、性别、疾病类型和阶段、一般身体状况、对给予剂量的反应性,以及药物类型)、施用途径等。然而,上述指导准则可以用作用于微调治疗的基础,例如,确定最佳施用时间

和/或施用量,其将仅仅需要常规实验,所述常规实验由监测受试者和调整剂量和/或时间组成。

[0163] 在某些实施方案中,组合物被施用至的个体是哺乳动物(如人或非人哺乳动物)。当组合物或化合物被施用至动物(如人)时,其优选地作为药物组合物被施用,所述药物组合物包括例如本发明的化合物和药学上可接受的载体。药学上可接受的载体是本领域中公知的,并且包含例如水性溶液(如水或生理缓冲盐水)或其他溶剂或载体(vehicle)(如乙二醇、甘油、油(如橄榄油)或可注射的有机酯)。在优选的实施方案中,当这样的药物组合物用于人类施用时,特别是用于侵入性施用途径(即,避免通过上皮屏障的运输或扩散的途径(如注射或植入))时,水性溶液是无热原的或基本上无热原的。可以选择赋形剂,例如,以实现药剂的延迟释放或以选择性地靶向一种或更多种细胞、组织或器官。药物组合物可以是以剂量单位形式,如片剂、胶囊剂(包含分散型胶囊和明胶胶囊)、颗粒剂、用于重建的亲液胶体、粉剂、溶液、糖浆剂、栓剂、注射剂等。组合物还可以存在于透皮给药系统中,例如,皮肤贴剂。组合物还可以存在于适合于通过眼黏膜施用而局部施用的溶液(如滴眼剂)中。

[0164] 药学上可接受的载体可以含有生理学上可接受的剂,所述生理学上可接受的剂起作用例如以稳定、增加溶解度或以增加化合物(如本发明的化合物)的吸收。这样的生理学上可接受的剂包含例如碳水化合物(如葡萄糖、蔗糖或葡聚糖)、抗氧化剂(如抗坏血酸或谷胱甘肽)、螯合剂、低分子量蛋白质或其他稳定剂或赋形剂。药学上可接受的载体(包含生理学上可接受的剂)的选择取决于例如组合物的施用途径。制剂或药物组合物可以是自乳化药物递送系统或自微乳化药物递送系统。药物组合物(制剂)也可以是可以被并入其中(例如,本发明的化合物)的脂质体或其他聚合物基质。例如,包括磷脂或其他脂质的脂质体是制造和施用相对简单的无毒的、生理学上可接受的和可代谢的载体。

[0165] 本文中采用短语“药学上可接受的”以指在合理的医学判断范围内适用于与人类和动物的组织接触,而没有过度毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症,与合理的利益/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0166] 如在本文使用的,短语“药学上可接受的载体”意为药学上可接受的材料、组合物或载体(vehicle)(如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包封材料)。每种载体在与剂型的其他成分相容并且对患者无害的意义上必须是“可接受的”。可以用作药学上可接受的载体的材料的一些实施例包含:(1)糖(如乳糖、葡萄糖和蔗糖);(2)淀粉(如玉米淀粉和马铃薯淀粉);(3)纤维素及其衍生物(如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素);(4)粉状黄芪胶;(5)麦芽;(6)明胶;(7)滑石;(8)赋形剂(如可可脂和栓剂蜡);(9)油类(如花生油、棉籽油、红花子油、麻油、橄榄油、玉米油和大豆油);(10)二醇类(如丙二醇);(11)多元醇(如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇和聚乙二醇);(12)酯类(如油酸乙酯和十二烷酸乙酯);(13)琼脂;(14)缓冲剂(如氢氧化镁和氢氧化铝);(15)藻酸;(16)无热原水;(17)等渗盐水;(18)林格溶液;(19)乙醇;(20)磷酸盐缓冲液;以及(21)药物剂型中采用的其他无毒相容物质。在某些实施方案中,本发明的药物组合物是非热原性的,即当被施用至患者时不引起显著的温度升高。

[0167] 术语“药学上可接受的盐”指化合物的相对无毒的、无机的和有机的酸加成盐。这些盐可以在化合物的最终离析和纯化过程中原位制备,或通过将其游离碱形式的纯化的化合物与适合的有机酸或无机酸分别反应,并且离析由此形成的盐而制备。代表性的盐包含

氢溴酸盐、盐酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、硝酸盐、醋酸盐、戊酸盐、油酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、月桂酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、磷酸盐、甲苯磺酸盐、柠檬酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、茶酸盐、甲磺酸盐、葡庚糖酸盐、乳糖醛酸盐、十二烷基磺酸盐和氨基酸盐等。结晶盐的制备详述于下面的实施例中(参见,例如,Berge et al. (1977) “Pharmaceutical Salts”, J. Pharm. Sci. 66:1-19.)。

[0168] 在其它情况下,在本发明的方法中有用的化合物可以含有一种或更多种酸性官能团,并且因此能够与药学上可接受的碱形成药学上可接受的盐。在这些情况下,术语“药学上可接受的盐”指化合物的相对无毒的、无机的和有机的碱加成盐。这些盐同样可以在化合物的最终离析和纯化过程中原位制备,或通过将其游离酸形式的纯化的化合物与适合的碱(如药学上可接受的金属阳离子的氢氧化物、碳酸盐或碳酸氢盐)、与氨、或与药学上可接受的有机伯胺、仲胺或叔胺分别反应而制备。代表性的碱金属盐或碱土金属盐包含锂盐、钠盐、钾盐、钙盐、镁盐和铝盐等。对于碱加成盐的形成有用的代表性的有机胺包含乙胺、二乙胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪等(参见,例如,Berge et al., supra)。

[0169] 可以通过很多施用途径中的任何一种将药物组合物(制剂)施用至受试者,所述施用途径包含,例如,口服地(例如,作为在水性溶液或非水性溶液或悬浮液中的兽用顿服药、片剂、胶囊剂(包含分散型胶囊和明胶胶囊)、大丸剂、粉剂、颗粒剂、用于施加至舌的糊剂);通过口腔粘膜吸收(例如,舌下地);肛门地、直肠地或阴道地(例如,作为阴道栓剂、乳膏或泡沫);肠胃外地(包含肌内地、静脉内地、皮下地或鞘内地,例如作为无菌溶液或混悬液);鼻地;腹膜内地;皮下地;经皮地(例如作为施加至皮肤的贴剂);以及局部地(例如,作为施加至皮肤的乳膏、软膏或喷雾剂,或作为滴眼剂)。化合物也可以被配制用于吸入。在某些实施方案中,化合物可以简单地溶解或悬浮在无菌水中。适当的施用途径和适用于所述施用途径的组合物的细节可以在例如美国专利号6,110,973、5,763,493、5,731,000、5,541,231、5,427,798、5,358,970和4,172,896中,以及在这些专利所引用的专利中找到。

[0170] 剂型可以方便地以单位剂型呈现,并且可以通过药学领域中公知的任何方法制备。可以与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将根据正在被治疗的宿主、特定的施用模式而变化。可以与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将通常是产生治疗效果的化合物的量。通常,从百分之百中,此量将在从约1%至约99%的活性成分变动,优选地从约5%至约70%,最优选地约10%至约30%。

[0171] 制备这些剂型或组合物的方法包含使活性化合物(如本发明的化合物)与载体以及可选的一种或更多种助剂结合的步骤。通常,通过将本发明的化合物与液体载体或精细粉碎的固体载体或两者均匀地且密切地结合,并且然后使产品成型(如果必要的话)而制备剂型。

[0172] 适合于口服施用的本发明的剂型可以是下列形式:胶囊剂(包含分散型胶囊和明胶胶囊)、扁囊剂、丸剂、片剂、糖锭(使用风味基质,通常是蔗糖和阿拉伯胶或黄芪胶)、亲液胶体、粉剂、颗粒剂、或作为水性或非水性液体中的溶液或混悬液、或作为水包油或油包水液体乳剂、或作为酞剂或糖浆剂、或作为软锭剂(使用惰性基质(如明胶和甘油、或蔗糖和阿拉伯胶))和/或作为漱口剂等,每种含有预定量的作为活性成分的本发明的化合物。组合物或化合物也可以作为大丸剂、药糖剂或糊剂被施用。

[0173] 为了制备用于口服施用的固体剂型(胶囊剂(包含分散型胶囊和明胶胶囊)、片剂、

丸剂、糖衣丸、粉剂、颗粒剂等),将活性成分与一种或更多种药学上可接受的载体(如柠檬酸钠或磷酸二钙)和/或下列中的任何混合:(1)填充剂或增容剂(如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇和/或硅酸);(2)粘合剂(如,例如,羧甲基纤维素、海藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和/或阿拉伯胶);(3)湿润剂(如甘油);(4)崩解剂(如琼脂、碳酸钙、马铃薯淀粉或木薯淀粉、藻酸、某些硅酸盐,以及碳酸钠);(5)溶液阻滞剂(如石蜡);(6)吸收加速剂(如季铵化合物);(7)润湿剂(如,例如,鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯);(8)吸收剂(如高岭土和膨润土);(9)润滑剂(如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠及其混合物);(10)络合剂(如改性的或未改性的环糊精);以及(11)着色剂。在胶囊剂(包含分散型胶囊和明胶胶囊)、片剂和丸剂情况下,药物组合物还可以包括缓冲剂。使用这样的赋形剂(如乳糖(lactose)或乳糖(milk sugar)以及高分子量聚乙二醇等),也可以将相似类型的固体组合物用作软填充的和硬填充的明胶胶囊中的填充剂。

[0174] 可以可选地用一种或更多种助剂通过压缩或模塑制造片剂。可以使用粘合剂(例如,明胶或羟丙基甲基纤维素)、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、崩解剂(例如,羧基乙酸淀粉钠或交联羧甲基纤维素钠)、表面活性剂或分散剂制备压制片剂。可以通过在适合的机器中模塑用惰性液体稀释剂润湿的粉状化合物的混合物制造模制片剂。

[0175] 药物组合物的片剂以及其他固体剂型(如糖衣丸、胶囊剂(包含分散型胶囊和明胶胶囊)、丸剂和颗粒剂)可以可选地被刻划或制备有包衣和壳(如肠溶衣以及其他药物配制领域中公知的包衣)。它们也可以被配制以便提供其中活性成分的缓慢释放或控制释放,使用例如不同比例的羟丙基甲基纤维素以提供期望的释放曲线、其他聚合物基质、脂质体和/或微球体。它们可以通过例如通过细菌截留过滤器过滤或通过并入无菌固体组合物形式的灭菌剂被灭菌,所述无菌固体组合物可以在使用之前即刻溶解在无菌水或一些其他无菌可注射介质中。这些组合物还可以可选地含有乳浊剂,并且可以是可选地以延迟的方式仅在或优先地在胃肠道的某个部分释放一种或多种活性成分的组合物。可以被使用的包埋组合物的实施例包含聚合物和蜡。活性成分也可以是具有上述赋形剂中的一种或更多种(如果有的话)的微囊化的形式。

[0176] 对口服施用有用的液体剂型包含药学上可接受的乳剂、用于重建的亲液胶体、微乳、溶液、混悬液、糖浆剂和酏剂。除活性成分之外,液体剂型可以含有本领域中通常使用的惰性稀释剂(如,例如,水或其他溶剂、环糊精及其衍生物)、增溶剂和乳化剂(如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油类(特别地,棉籽油、落花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢呋喃甲醇、聚乙二醇和失水山梨糖醇的脂肪酸酯,及其混合物)。

[0177] 除惰性稀释剂之外,本发明的组合物还可以包含佐剂(如润湿剂、润滑剂、乳化剂和悬浮剂(如十二烷基硫酸钠和硬脂酸镁)、或甜味剂、风味剂、着色剂、芳香剂、防腐剂或抗氧化剂)。

[0178] 除活性化合物之外,混悬液可以含有悬浮剂(如,例如,乙氧基化异硬脂醇、聚氧乙烷山梨糖醇和失水山梨糖醇酯、微晶纤维素、氢氧化铝、膨润土、琼脂和黄芪胶,及其混合物)。

[0179] 用于直肠、阴道或尿道施用的药物组合物的剂型可以以栓剂的形式存在,所述栓剂可以通过将一种或更多种活性化合物与一种或更多种适合的无刺激性的赋形剂或载体

(包括例如,可可脂、聚乙二醇、栓剂蜡或水杨酸酯)混合而制备,并且所述栓剂在室温下是固体,但是在体温下是液体,并且因此将在直肠或阴道腔中融化并且释放活性化合物。

[0180] 用于施用至口的药物组合物的剂型可以以漱口药、或口服喷雾剂、或口服软膏的形式存在。

[0181] 可替代地或附加地,组合物可以被配制用于经由导管、支架、线或其他管腔内装置递送。经由这样的装置递送对于递送至膀胱、尿道、输尿管、直肠或肠可以是特别有用的。

[0182] 适合于阴道施用的剂型还包含含有本领域已知适当的这样的载体的阴道栓剂、棉塞、乳膏、凝胶剂、糊剂、泡沫或喷雾剂剂型。

[0183] 用于局部施用或经皮施用的剂型包含粉剂、喷雾剂、软膏、糊剂、乳膏、洗液、凝胶剂、溶液、贴剂和吸入剂。活性化合物可以在无菌条件下与药学上可接受的载体、以及可能需要的任何防腐剂、缓冲剂或推进剂混合。

[0184] 除活性化合物之外,软膏、糊剂、乳膏和凝胶剂可以含有赋形剂(如动物脂肪和植物脂肪、油类、蜡、石蜡、淀粉、黄芪胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、聚硅氧烷、膨润土、硅酸、滑石和氧化锌,或其混合物)。

[0185] 除活性化合物之外,粉剂和喷雾剂可以含有赋形剂(如乳糖、滑石、硅酸、氢氧化铝、硅酸钙和聚酰胺粉末,或这些物质的混合物)。喷雾剂可以附加地含有通常的推进剂(如氯氟代烃和挥发性的未被取代的烃类(如丁烷和丙烷))。

[0186] 本文中所描述的化合物可以可替代地通过气雾剂被施用。这通过制备含有组合物的水性气雾剂、脂质体制剂或固体颗粒被完成。非水性(例如,碳氟化合物推进剂)混悬液可以被使用。声波喷雾器是优选的,因为其使药剂最小化地暴露于可以导致化合物的降解的剪切力。

[0187] 通常,通过将药剂的水性溶液或悬浮液与常规药学上可接受的载体和稳定剂一起配制而制造水性气雾剂。载体和稳定剂随特定组合物的要求而变化,但通常包含非离子表面活性剂(吐温(Tween)、普兰尼克(Pluronic)、失水山梨糖醇酯、卵磷脂、克列莫佛(Cremphor))、药学上可接受的共溶剂(如聚乙二醇)、无害蛋白质样血清白蛋白、油酸、氨基酸(如甘氨酸)、缓冲剂、盐、糖或糖醇。通常从等渗溶液制备气雾剂。

[0188] 经皮贴剂具有提供将本发明的化合物控制递送至身体的额外的优势。这样的剂型可以通过将活性化合物溶解或分散在适当的介质中被制造。吸收强化剂也可以被用于增加化合物穿过皮肤的通量。这样的通量的速率可以通过提供速率控制膜或将化合物分散在聚合物基质或凝胶中被控制。

[0189] 眼用剂型、眼用软膏、粉剂、溶液等也被预期在本发明的范围内。美国公开号2005/0080056、2005/0059744、2005/0031697和2005/004074以及美国专利号6,583,124中描述了示例性的眼用剂型,其内容以引用方式被并入本文。若需要,液体眼用剂型具有类似于泪液、眼房水或玻璃体液的性质,或与这样的流体相容。优选的施用途径是局部性施用(例如,局部施用(如滴眼剂或经由植入物施用))。

[0190] 如在本文使用的,短语“肠胃外施用”和“肠胃外地被施用”意为不同于肠和局部施用的通常通过注射的施用模式,并且包含(不限于)静脉内、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网腹下、脊柱内和胸骨内注射和输注。适合于肠胃外施用的药物组合物包括与一种或更多种药学上可接受的无菌等渗水性

或非水性溶液、分散体、混悬液或乳剂、或无菌粉剂组合的一种或更多种活性化合物,所述无菌粉剂可以仅在使用之前被重构为无菌注射液或分散体,其可以含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂、溶解物或悬浮剂或增稠剂,所述溶解物使剂型与预期接受者的血液等渗。

[0191] 如在本文使用的,短语“全身施用”、“全身地被施用”、“外周施用”和“外周地被施用”意为不同于直接进入中枢神经系统的配体、药物或其他材料的施用(例如,皮下施用),使得其进入患者的系统,并且因此经受代谢以及其他类似的过程。

[0192] 可以被用于本发明的药物组合物的适合的水性载体和非水性载体的实施例包含水、乙醇、多元醇(如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)及其适合的混合物、植物油(如橄榄油)和可注射的有机酯(如油酸乙酯)。例如,通过使用包衣材料(如卵磷脂)、通过保持对分散体而言所需要的颗粒尺寸,以及通过使用表面活性剂,可以保持适当的流动性。

[0193] 这些组合物还可以含有佐剂(如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂)。通过包含各种抗细菌剂和抗真菌剂(例如,对羟苯甲酸甲酯、氯丁醇、苯酚山梨酸等)可以确保预防微生物的作用。将等渗剂(如糖、氯化钠等)包含在组合物内也可以是期望的。此外,可以通过包含延迟吸收的剂(如单硬脂酸铝和明胶)引起可注射药物形式的延长吸收。

[0194] 在一些情况下,为了延长药物的效果,期望的是减缓来自皮下注射或肌肉注射的药物的吸收。这可以通过使用具有差的水溶性的结晶材料或无定形材料的液体悬浮液完成。药物的吸收速率则取决于其溶解速率,所述溶解速率转而可以取决于晶体尺寸和结晶形式。可替代地,肠胃外施用的药物形式的延迟的吸收通过将药物溶解或悬浮在油载体(vehicle)中完成。

[0195] 通过在可生物降解的聚合物(如聚交酯-聚乙交酯)中形成主题化合物的微囊化的基质而制造可注射储库形式。根据药物与聚合物的比例以及采用的特定聚合物的性质,可以控制药物释放速率。其他可生物降解的聚合物的实施例包含聚(原酸酯)和聚(酸酐)。也通过将药物包埋在与身体组织相容的脂质体或微乳中制备储库可注射剂型。

[0196] 可以口服地、肠胃外地、局部地或直肠地给予药剂的制剂。当然,它们通过适合于每种施用途径的形式被给予。例如,它们以片剂或胶囊剂形式,通过注射剂、吸入剂、洗眼剂、软膏、栓剂、浸剂;通过洗剂或软膏局部地;以及通过栓剂直肠地被施用。口服施用是优选的。

[0197] 为了用于本发明的方法中,活性化合物可以自身地被给与或作为药物组合物被给予,所述药物组合物含有例如0.1%至99.5%(更优选地0.5%至90%)的活性成分与药学上可接受的载体的组合。

[0198] 也可以通过可再充电的或可生物降解的装置提供引入方法。近年来已经开发和体内测试了各种缓慢释放聚合物装置,以用于药物(包含蛋白质生物药剂)的控制递送。各种生物相容的聚合物(包含水凝胶)(包含可生物降解的聚合物和不可降解的聚合物两者)可以被使用以形成用于在特定靶标位点的化合物的持续释放的植入物。

[0199] 可以通过任何适合的施用途径将这些化合物施用至人和其他动物以用于治疗,所述施用途径包含口服地、鼻地(通过例如作为喷雾剂)、直肠地、阴道内地、肠胃外地、脑池内地和局部地(通过作为粉剂、软膏或滴剂(包含颊地和舌下地))。

[0200] 无论选择的施用途径,通过本领域技术人员已知的常规方法将本发明的可以以适合的水合形式使用的化合物和/或药物组合物配制成药学上可接受的剂型。

[0201] 药物组合物中的活性成分的实际剂量水平可以变化,以便获得活性成分的量,所述活性成分的量对实现对于特定患者、组合物和施用模式的期望的治疗响应是有效的,而对患者无毒。

[0202] 选择的剂量水平将取决于各种因素,所述因素包含被采用的特定化合物或化合物的组合、或其酯、盐或酰胺的活性,施用途径,施用时间,正在被采用的一种或多种特定化合物的排泄率,治疗持续时间,与被采用的一种或多种特定化合物组合使用的其他药物、化合物和/或材料,正在被治疗的患者的年龄、性别、体重、病况、总体健康状况和在先病史,以及医学领域中公知的类似因素。通常,本发明的组合物可以被提供于用于肠胃外施用的除其他物质之外含有约0.1-30%w/v的本文公开的化合物的水性溶液中。典型的剂量范围是每天从约0.01至约50mg/kg体重,以1单剂量或2-4分次剂量被给与。每个分剂量可以含有相同或不同的本发明的化合物。

[0203] 本领域中具有普通技术的医师或兽医可以容易地确定和开出所需要的药物组合物的治疗有效的量。例如,医师或兽医可以起始于处于低于为实现期望的治疗效果所需要的剂量的水平的药物组合物或化合物的剂量,并且逐渐增加剂量直至实现期望的效果。针对主题治疗方法的化合物的“治疗有效的量”指制剂中的一种或多种化合物的量,当所述量作为期望的给药方案的一部分被施用(至哺乳动物(优选地人))时,其根据用于待治疗的紊乱或病况或美容目的的临床可接受的标准,例如以适用于任何医疗的合理的利益/风险比,减轻症状、改善病况或减缓疾病病况的发作。通常理解的是,化合物的有效的量将根据受试者的体重、性别、年龄和病史变化。影响有效的量的其他因素可以包含,但不限于,患者病况的严重度、正在被治疗的紊乱、化合物的稳定性、以及(若需要)与本发明的化合物一起被施用的另一类型的治疗剂。较大的总剂量可以通过药剂的多次施用被递送。确定功效和剂量的方法对本领域技术人员是已知的(Isselbacher et al.(1996)Harrison's Principles of Internal Medicine 13ed.,1814-1882,其以引用方式被并入本文)。

[0204] 通常,本发明的组合物和方法中使用的活性化合物的适合的日剂量将是对产生治疗效果有效的最低剂量的化合物的剂量。这样的有效剂量将通常取决于如上所述的因素。

[0205] 若需要,活性化合物的有效日剂量可以作为被单独施用的一、二、三、四、五、六或更多的亚剂量可选地以单位剂量形式在全天以适当的时间间隔被施用。在本发明的某些实施方案中,活性化合物可以每天两次或三次被施用。在优选的实施方案中,活性化合物将每天一次被施用。

[0206] 接受此治疗的患者是任何有需要的动物,所述动物包含灵长类动物(特别是人)和其他哺乳动物(如马、牛、猪和羊);以及通常的家禽和宠物。

[0207] 在某些实施方案中,本发明的化合物可以单独使用或与另一类型的治疗剂联合施用。如在本文使用的,短语“联合施用”指两种或更多种不同治疗化合物的任何形式的施用,使得当先前施用的治疗化合物在体内仍然有效时,第二化合物被施用(例如,两种化合物在患者中是同时有效的,其可以包含两种化合物的协同效应)。例如,不同的治疗化合物可以以相同剂型或以单独的剂型附随地或顺序地被施用。在某些实施方案中,不同的治疗化合物可以在1小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时或一周内相互施用。因此,接受这样的治疗的个体可以得益于不同的治疗化合物的组合效果。

[0208] 本发明包含本发明的化合物的药学上可接受的盐在本发明的组合物和方法中的

用途。在某些实施方案中,本发明的预期的盐包含(但不限于)烷基、二烷基、三烷基或四烷基铵盐。在某些实施方案中,本发明的预期的盐包含(但不限于)L-精氨酸、苯乙苄胺、苜蓿、甜菜碱、氢氧化钙、胆碱、丹醇、二乙醇胺、二乙胺、2-(二乙基氨基)乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-甲葡糖胺、哈胺、1H-咪唑、锂、L-赖氨酸、镁、4-(2-羟乙基)吗啉、哌嗪、钾、1-(2-羟乙基)吡咯烷、钠、三乙醇胺、氨丁三醇和锌盐。在某些实施方案中,本发明的预期的盐包含(但不限于)Na、Ca、K、Mg、Zn或其他金属盐。

[0209] 药学上可接受的酸加成盐也可以作为各种溶剂化物(如与水、甲醇、乙醇、二甲基甲酰胺、二甲基亚砷等)存在。也可以制备这样的溶剂化物的混合物。这样的溶剂化物的来源可以是来自结晶的溶剂、制备或结晶的溶剂中固有的或对于这样的溶剂是外来的。在一些实施方案中,公开的化合物的溶剂化物可以是二甲基亚砷溶剂化物。

[0210] 润湿剂、乳化剂和润滑剂(如十二烷基硫酸钠和硬脂酸镁),以及着色剂、隔离剂、包覆剂、甜味剂、风味剂和芳香剂、防腐剂和抗氧化剂也可以存在于组合物中。

[0211] 药学上可接受的抗氧化剂的实施例包含:(1)水溶性抗氧化剂(如抗坏血酸、盐酸半胱氨酸、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠等);(2)油溶性抗氧化剂(如抗坏血酸棕榈酸酯、叔丁对甲氧酚(BHA)、丁基化羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 α -生育酚等);以及(3)金属-螯合剂(如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸等)。

[0212] 现在概括描述的本发明通过参考下列实施例将更容易被理解,所述实施例仅是为了阐明本发明的某些方面和实施方案的目的而被包含,并且不旨在限制本发明。

实施例

[0213] 用于实施例1-5的分析方法

[0214] X射线粉末衍射

[0215] 在Bruker D8衍射仪上使用Cu K α 辐射(40kV,40mA)、 θ -2 θ 测角仪以及V4和接收狭缝的发散、Ge单色仪和Lynxeye探测器收集X射线粉末衍射图谱。使用经认证的刚玉标准(NIST 1976)对仪器进行性能检验。用于数据收集的软件是Diffraction Plus XRD Commander v2.6.1,并且使用Diffraction Plus EVA v15.0.0.0分析和呈现数据。

[0216] 样品在环境条件下使用按原样的粉末作为平板样本运行。将样品轻轻地装入被切割成抛光的、零背景(510)硅片腔中。样品在分析过程中在其自身平面中旋转。数据收集的细节是:

[0217] -角度范围:2至42°2 θ

[0218] -步长:0.05°2 θ

[0219] -收集时间:0.5s/步

[0220] HPLC

[0221] 在装备有二极管阵列检测器的安捷伦(Agilent)HP1100系列系统上,并且使用化学工作站(ChemStation)软件vB.04.03,使用下面表1中详述的方法进行纯度分析。

[0222] 表1

[0223] HPLC参数

[0224]

参数	值	
方法类型	反相梯度洗脱	
样品制备	在 20 mM 乙酸铵水溶液中 1 mg/mL、pH 5.0	
柱	Waters Atlantis C18, 100Å, 3 μM	
柱温	25℃	
进样体积	5 μL	
检测器波长、宽带	254 nm、4 nm	
流速	1.0 mL/min	
流动相 A	20 mM 乙酸铵水溶液、pH 5.0	
流动相 B	甲醇	
梯度时间表	时间（min）	%流动相 A
	0	100
	5	5
	8	5
	8.1	100
	16.1	100

[0225] 偏振光显微术 (PLM)

[0226] 在具有用于图像捕获的数字摄像机的Leica LM/DM偏振光显微镜上研究样品。将少量的每个样品放置在载玻片上,15安装在浸镜油中并且用玻璃片覆盖,单个颗粒被尽可能地分开。用适当的放大倍数和部分偏振光观察样品,将其与λ伪色过滤器耦合。

[0227] 实施例1:通过从甲醇结晶合成形式1

[0228] 将无定形烟酰胺单核苷酸(565mg)称重入玻璃小瓶中,并且添加甲醇(10.0mL)。将得到的浆在室温搅拌4h,并且然后加入另一部分MeOH(10.0mL)。通过过滤离析存在的白色固体,并且然后在真空下在室温干燥大约16h以产生结晶β烟酰胺单核苷酸形式1,如XRPD分析所示。(459mg,回收率81%)。

[0229] 实施例2:通过从水结晶合成形式1

[0230] 将无定形β烟酰胺单核苷酸(605mg)称重入玻璃小瓶中,并且添加去离子水(600μL)。在短暂涡旋之后,形成清液。将此溶液的一部分(大约200μL)分配到单独的小瓶中,并且冷却大约16h至5℃。通过过滤离析逐步形成的白色固体,并且通过XRPD分析证明为结晶β烟酰胺单核苷酸形式1(收率未测定)。

[0231] 实施例3:通过蒸汽扩散合成形式1用于SCXRD

[0232] 将无定形β烟酰胺单核苷酸(605mg)称重入玻璃小瓶中,并且添加去离子水(600μL)。在短暂涡旋之后,形成清液。将此溶液的一部分(100μL)分配入单独的小瓶中,所述单独的小瓶本身被放置入较大的含有甲醇(500μL)的瓶中,使得蒸汽可以在两个瓶之间自由地扩散。将较大的瓶密封,并且储存在室温大约16h,在16h之后,逐步形成白色固体。将此固体取样,并且通过SCXRD证明为结晶β烟酰胺单核苷酸形式1。

[0233] 实施例4:形式2的合成

[0234] 将无定形 β 烟酰胺单核苷酸(568mg)称重入玻璃小瓶中,并且添加DMSO(10.0mL)。将得到的浆在室温搅拌大约20h。然后通过过滤离析存在的白色固体,用丙酮($3 \times 1\text{mL}$)洗涤,并且在真空下在室温干燥大约16h以产生结晶 β 烟酰胺单核苷酸形式2(501mg,回收率*72%)。

[0235] *基于材料是DMSO单溶剂化物的假设

[0236] 实施例5:对于无定形NMN和结晶NMN的三个月稳定性和强制降解研究

[0237] 将无定形NMN和NMN结晶形式1的样品在25°C/0%相对湿度(RH)和40°C/75%RH作为固体储存三个月。一式两份制备样品,伴随着2周的偏移量。将每个复制品储存在不同的容器中。

[0238] 将复制品1装入敞开的HPLC小瓶中,所述小瓶被放置在密封的闪烁瓶中,所述闪烁瓶含有有关无机盐(表2)的饱和溶液。在4周、8周和12周的时间点通过HPLC、 ^1H NMR、XRPD和偏振光显微术(PLM)分析这些样品。

[0239] 将复制品2储存在具有含有有关无机盐(表2)的饱和溶液的接受器的密封箱中。在2周、6周、10周和12周的时间点通过HPLC分析这些样品。将处于25°C/0%RH的样品储存在含有干燥剂(P_2O_5)的密封箱中。

[0240] 表2

[0241]	条件	无机盐/干燥剂
	25°C/0%RH	P_2O_5
	25°C/60%RH	NH_4NO_3
	25°C/97%RH	K_2SO_4
	40°C/75%RH	NaCl

[0242] 在25°C、0%RH储存12周之后,无定形材料在固体形式和颗粒形态方面保持不变。观察到纯度从98.2%(时间0)下降至95.5%(时间12周)。通过HPLC观察到的主要生长杂质在RRT 1.73处被洗脱并且对应于烟酰胺(在12周的时间点2.8%)。(参见表3和表4)

[0243] 表3

[0244] 在 $t=0$ 处无定形NMN和结晶形式1NMN的HPLC纯度分布图

[0245]	J07086 (无定形)		RME-1304-063-01 (结晶)	
	RRT	面积%	RRT	面积%
	0.70	0.47	0.69	0.15
	0.76	0.10	0.75	0.09
	1.00	98.56	1.00	99.52
	-	-	1.31	0.06
	-	-	1.46	0.01
	-	-	1.48	0.03
	-	-	1.53	0.01
	1.76	0.87	1.74	0.12

[0246] 当无定形材料储存在25%或更大的相对湿度下时,无定形材料结晶,产生具有针状形态的形式1。在全部测试条件下(尤其在40°C/75%RH下),化学纯度在储存时显示出降

低。观察到的主要生长杂质也是烟酰胺 ($RRT=1.73$)。在 $40^{\circ}\text{C}/75\%\text{RH}$ 下 12 周之后材料的纯度被测定为 67.5% (复制品 2), 并且烟酰胺丰度为 20.6%。

[0247] 在全部测试条件下, 结晶形式 1 在固体形式和颗粒形态方面保持不变。在全部测试条件下, 在储存 4 周之后, 材料保持化学纯的 ($\sim 99.3\%$)。超过该时间点, 观察到纯度的轻微下降。在 $25^{\circ}\text{C}/0\%\text{RH}$ 下储存被证明是对于样品稳定性最有利的条件, 因为 12 周之后的分析显示样品纯度为 98.9% 并且烟酰胺为 0.38%。在高温 (40°C) 或高湿度 ($75\%\text{RH}$ 、 $97\%\text{RH}$) 下储存的样品观察到纯度的最大变化。纯度在 $25^{\circ}\text{C}/97\%\text{RH}$ 下在 12 周之后从 99.5% 降低至 95.8%, 并且在 $40^{\circ}\text{C}/75\%\text{RH}$ 下在 12 周之后降低至 90.7%。在全部条件下最丰富的杂质是烟酰胺 ($RRT=1.73\text{min}$)。在 $40^{\circ}\text{C}/75\%\text{RH}$ 和 $25^{\circ}\text{C}/97\%\text{RH}$ 两者下, 此杂质在 12 周之后从 0.12% (时间 0) 增加至 3.46%。

[0248] HPLC 结果在复制品中是一致的, 然而, 在复制品 1 中观察到更快的降解。潜在影响可能是容器的较小尺寸, 其需要较少时间以与相应的储存条件平衡。表 4-7 提供复制品 1 和 2 获得的结果。

[0249] 表 4

[0250] 稳定性和强制降解研究:

[0251] 无定形材料复制品 1 的结果

[0252]

样品 ID	条件	时间点	观察	XRPD	纯度 (%)	已知杂质* (%)	PLM
J07087_25_0_4w	25°C , 0% RH	4 周	白色固体	不变	96.9	1.81	不变
J07087_25_0_8w		8 周	白色固体	不变	95.8	2.44	不变
J07087_25_0_12w		12 周	白色固体	不变	95.0	2.81	不变
J07087_25_60_4w	25°C , 60% RH	4 周	棕色固体	形式 1	96.9	2.13	针状颗粒 达 $\sim 75\text{-}100\ \mu\text{m}$
J07087_25_60_8w		8 周	棕色固体, 致密的	形式 1	95.2	3.46	-
J07087_25_60_12w		12 周	棕色固体, 致密的	形式 1	95.7	3.46	针状颗粒 达 $\sim 75\text{-}100\ \mu\text{m}$
J07087_25_97_4w	25°C , 97% RH	4 周	白色固体, 非常湿	形式 1	97.1	2.44	针状颗粒 达 $\sim 75\text{-}100\ \mu\text{m}$
J07087_25_97_8w		8 周	部分潮解的 黄色固体	不适用	-	-	-
J07087_25_97_12w		12 周	潮解的黄色 固体	不适用	-	-	-
J07087_40_75_4w	40°C , 75% RH	4 周	棕色致密 固体	形式 1	91.3	6.70	针状颗粒 达 $\sim 75\text{-}100\ \mu\text{m}$
J07087_40_75_8w		8 周	棕色致密 固体	形式 1	76.9	14.23	-
J07087_40_75_12w		12 周	黑色固体, 非常湿 ^s	形式 1	-	-	-

[0253] *烟酰胺 (RRT=1.73min)

[0254] \$不进行HPLC分析,因为重量不能稳定以用于样品制备。

[0255] ¹H NMR波谱与全部样品的材料的结构一致。

[0256] 表5

[0257] 稳定性和强制降解研究:

[0258] 结晶材料复制品1的结果

[0259]	样品 ID	条件	时间 点	观察	XRPD	纯度(%)	已知 杂质* (%)	PLM
[0260]	RME-1304-63-01_25_0_4w	25°C, 0% RH	4 周	白色固体	不变	99.4	0.25	针状颗粒 达~75 μm
	RME-1304-63-01_25_0_8w		8 周	白色固体	不变	99.2	0.33	针状颗粒 达~75 μm
	RME-1304-63-01_25_0_12w		12 周	白色固体	不变	98.9	0.38	针状颗粒 达~75 μm
	RME-1304-63-01_25_60_4w	25°C, 60% RH	4 周	浅棕色固体	不变	99.3	0.34	针状颗粒达 ~75 μm
	RME-1304-63-01_25_60_8w		8 周	浅棕色固体, 松散颗粒	不变	98.9	0.63	针状颗粒 达~75 μm
	RME-1304-63-01_25_60_12w		12 周	浅棕色固体, 松散颗粒	不变	98.2	0.98	针状颗粒 达~75 μm
	RME-1304-63-01_25_97_4w	25°C, 97% RH	4 周	白色固体	不变	99.3	0.49	针状颗粒 <75 μm
	RME-1304-63-01_25_97_8w		8 周	白色固体	不变	98.3	1.38	针状颗粒 达 75-100 μm
	RME-1304-63-01_25_97_12w		12 周	白色固体, 湿 的	不变	95.8 ^s	3.46	针状颗粒 <75 μm
	RME-1304-63-01_25_75_4w	40°C, 75% RH	4 周	白色固体	不变	99.2	0.46	针状颗粒 达~75 μm
	RME-1304-63-01_25_75_8w		8 周	具有橙色斑点的 白色固体	不变	97.7	1.38	针状颗粒 达~75 μm
	RME-1304-63-01_25_75_12w		12 周	棕色固体, 非 常湿	不变	90.7	3.46	针状颗粒 <75 μm

[0261] *烟酰胺 (RRT=1.73min)

[0262] \$重量不能稳定。采用近似值。

[0263] ¹HNMR波谱与全部样品的材料的结构一致。

[0264] 表6

[0265] 无定形材料复制品2的强制降解研究结果

[0266]

样品 ID	条件	时间点	观察	纯度 (%)	已知杂质* (%)
J07087_25_60_2w	25°C, 60%	2 周	浅黄色固体, 非常致密	97.4	2.14
J07087_25_60_6w	RH	6 周	浅棕色, 致密的	97.4	2.06

[0267]

样品 ID	条件	时间点	观察	纯度 (%)	已知杂质* (%)
J07087_25_60_10w		10 周	浅棕色, 致密的	96.0	2.92
J07087_R2_25_60_12w		12 周	浅棕色, 致密的	96.2	2.32
J07087_25_97_2w	25°C, 97% RH	2 周	白色致密固体	97.8	1.79
J07087_25_97_6w		6 周	白色固体, 非常湿	96.5	3.01
J07087_25_97_10w		10 周	白色固体, 非常湿	94.9	4.39
J07087_25_97_12w		12 周	白色固体, 非常湿	91.5	7.02
J07087_40_75_2w	40°C, 75% RH	2 周	棕色致密固体	94.6	4.61
J07087_40_75_6w		6 周	深棕色固体	88.0	8.22
J07087_40_75_10w		10 周	黑色固体	75.9	16.18
J07087_R2_40_75_12w		12 周	黑色固体, 非常湿	67.5 ^s	20.60

[0268] *烟酰胺 (RRT=1.73min)

[0269] ^s重量不能稳定。采用近似值。

[0270] 表7

[0271] 无定形材料复制品2的强制降解研究结果

[0272]

样品 ID <i>RME-1304-63-01-</i>	条件	时间点	观察	纯度 (%)	已知杂质* (%)
<u>25_60_2w</u>	25°C, 60% RH	2 周	白色固体	99.6	0.19
<u>25_60_6w</u>		6 周	浅棕色致密固体	99.5	0.21
<u>25_60_10w</u>		10 周	浅棕色致密固体	99.1	0.35
<u>R2_25_60_12w</u>		12 周	浅棕色致密固体	98.8	0.23
<u>25_97_2w</u>	25°C, 97% RH	2 周	白色固体	99.5	0.22
<u>25_97_6w</u>		6 周	白色固体, 非常湿	99.4	0.38
<u>25_97_10w</u>		10 周	白色固体, 湿的	98.6	0.77
<u>R2_25_97_12w</u>		12 周	白色固体, 湿的	98.4	0.55
<u>40_75_2w</u>	40°C, 75% RH	2 周	白色固体	99.5	0.22
<u>40_75_6w</u>		6 周	具有橙色斑点的白色固体	99.4	0.27
<u>40_75_10w</u>		10 周	浅棕色松散颗粒	98.8	0.49
<u>R2_40_75_12w</u>		12 周	浅棕色松散颗粒	97.4	0.77

[0273] *烟酰胺 (RRT=1.73min)

[0274] 通过引用并入

[0275] 本文提及的全部刊物和专利以引用方式被整体并入本文,如同每个独立刊物和专利具体地且单独地表明以引用方式被并入。在冲突的情况下,本申请(包含本文中的任何定义)将受约束。

[0276] 等同物

[0277] 尽管已经讨论了主题发明的具体实施方案,但上述说明书是说明性的而非限制性的。在阅读本说明书和以下权利要求书后,本发明的许多变化对于本领域技术人员将变得显而易见。本发明的全部范围应该通过参考权利要求书连同它们的等同物的全部范围,以及说明书连同这样的变化而确定。

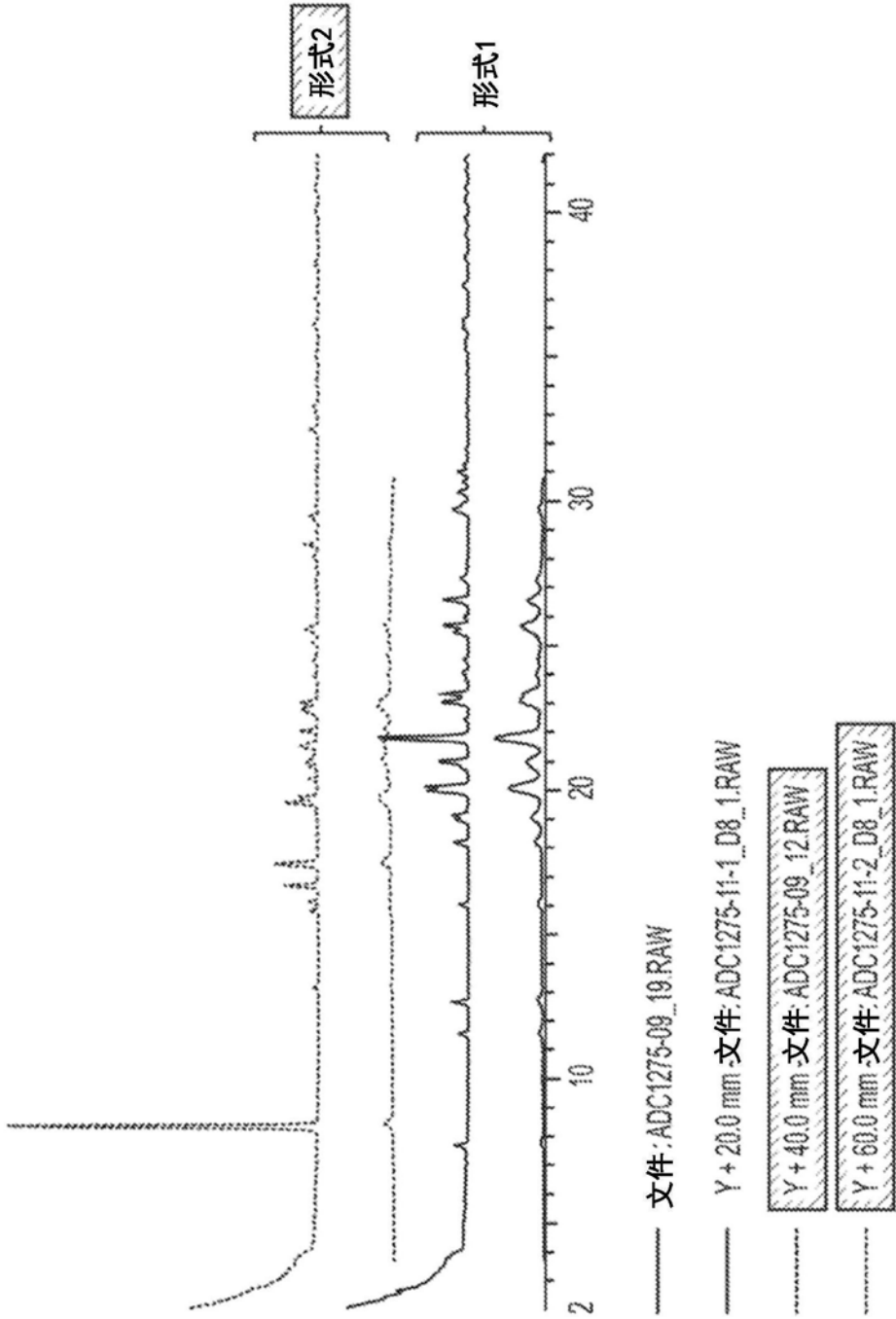


图1

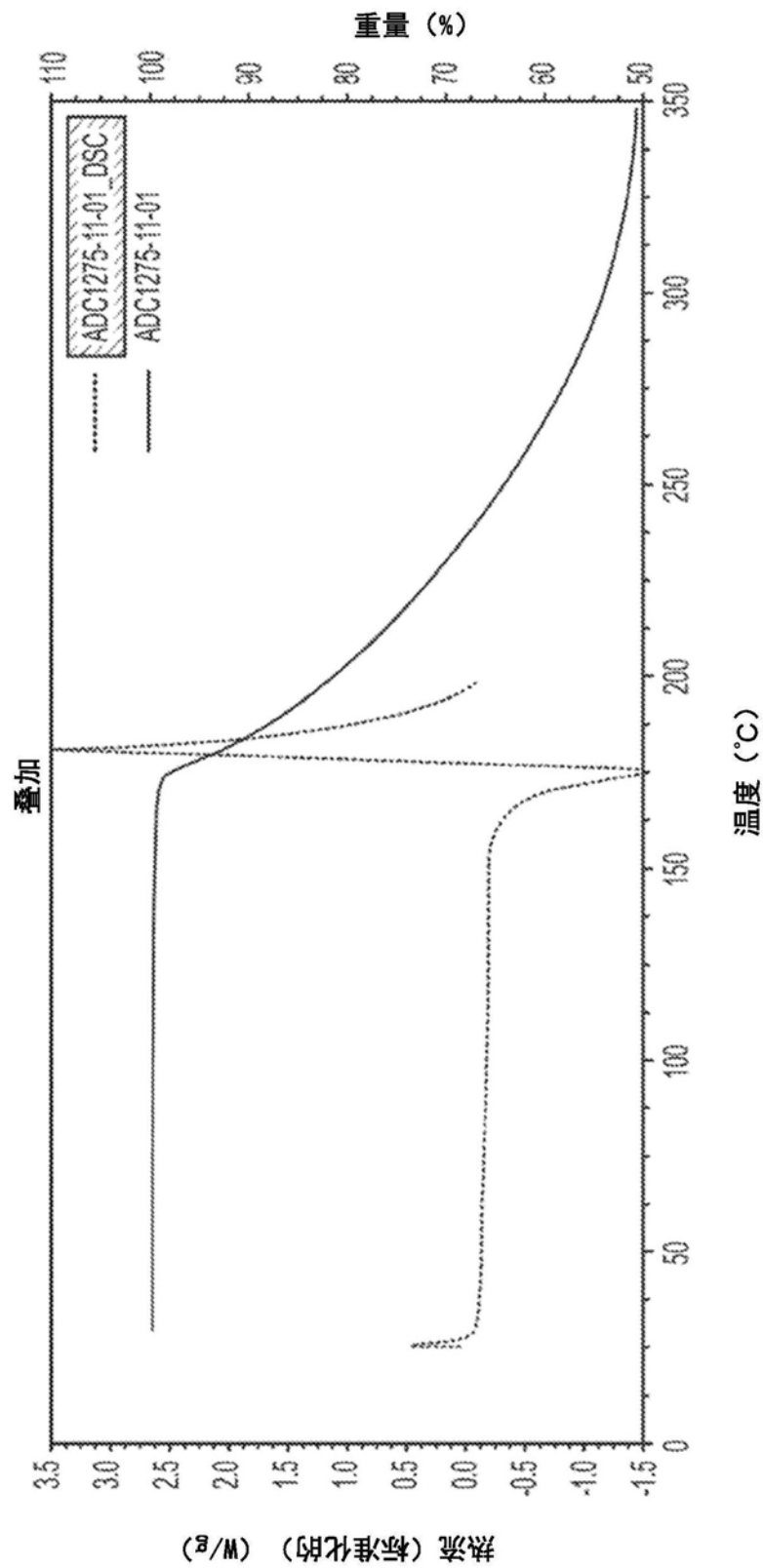


图2

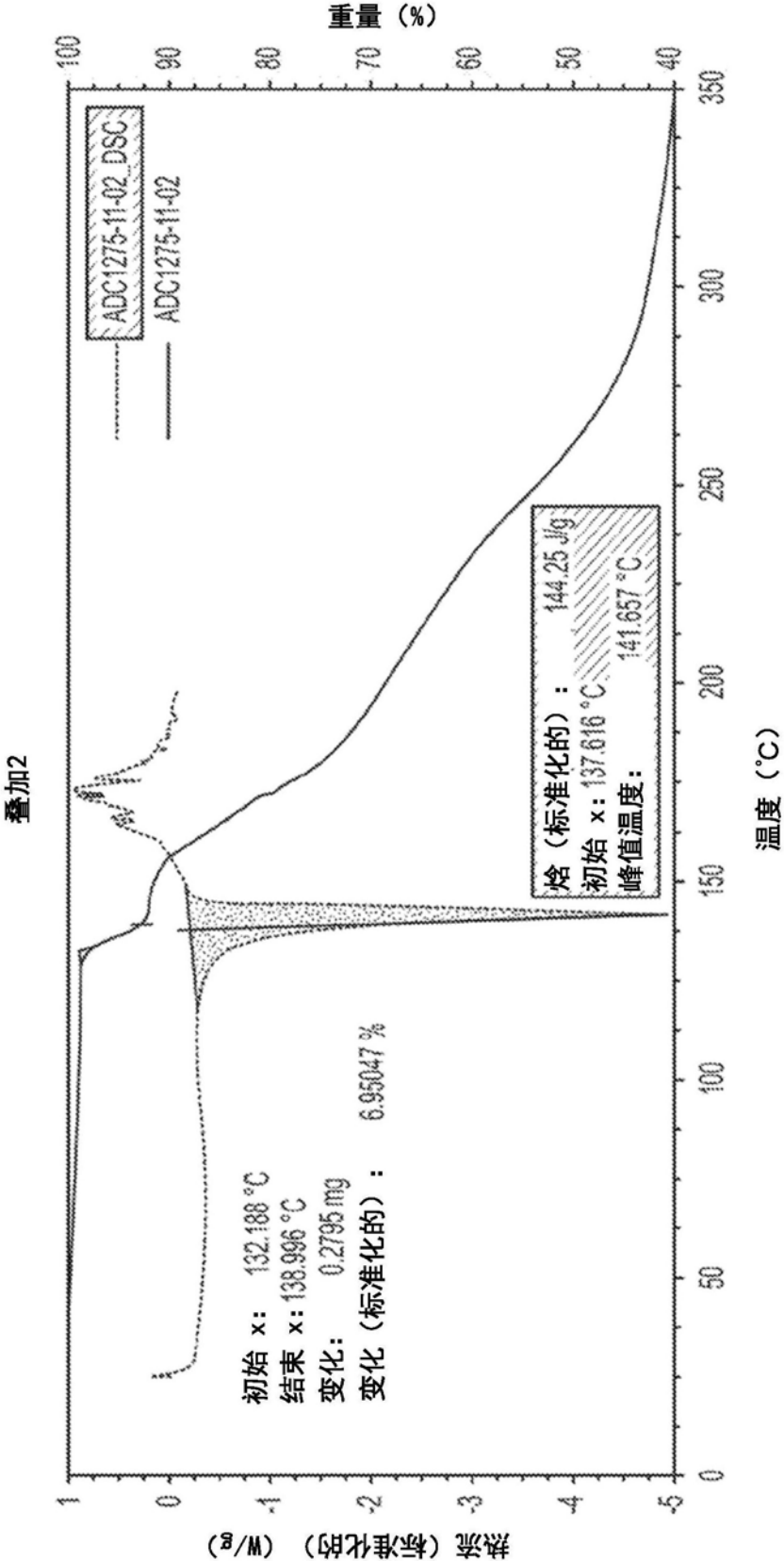


图3

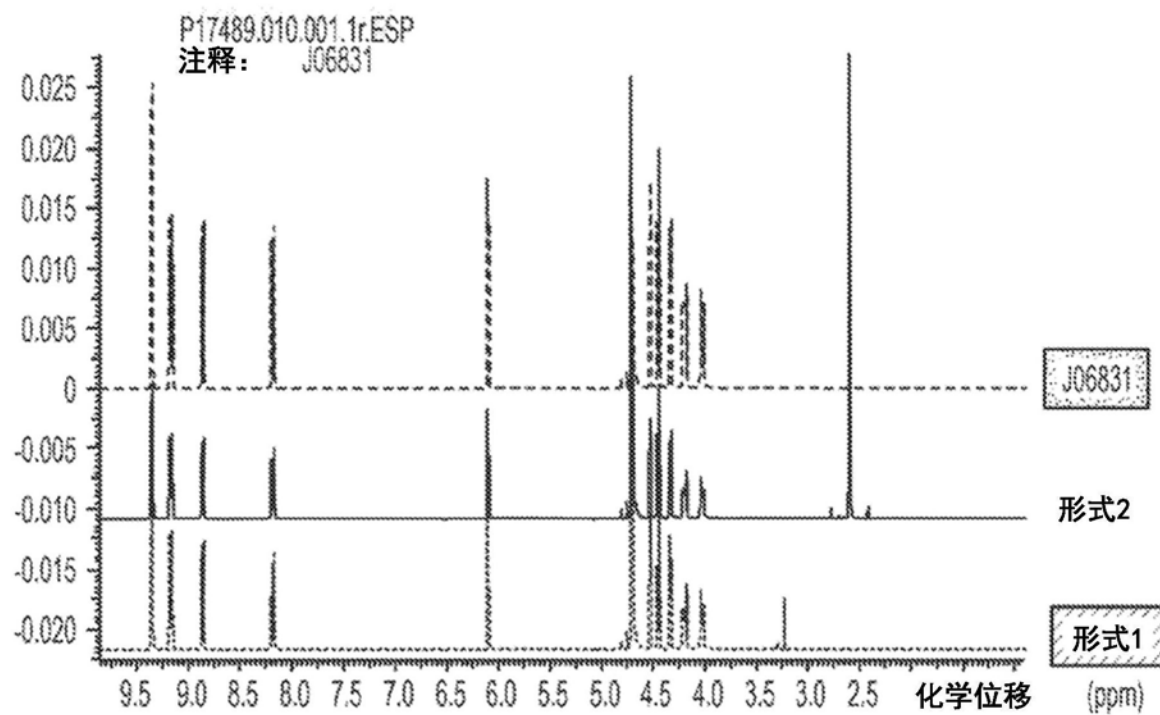


图4

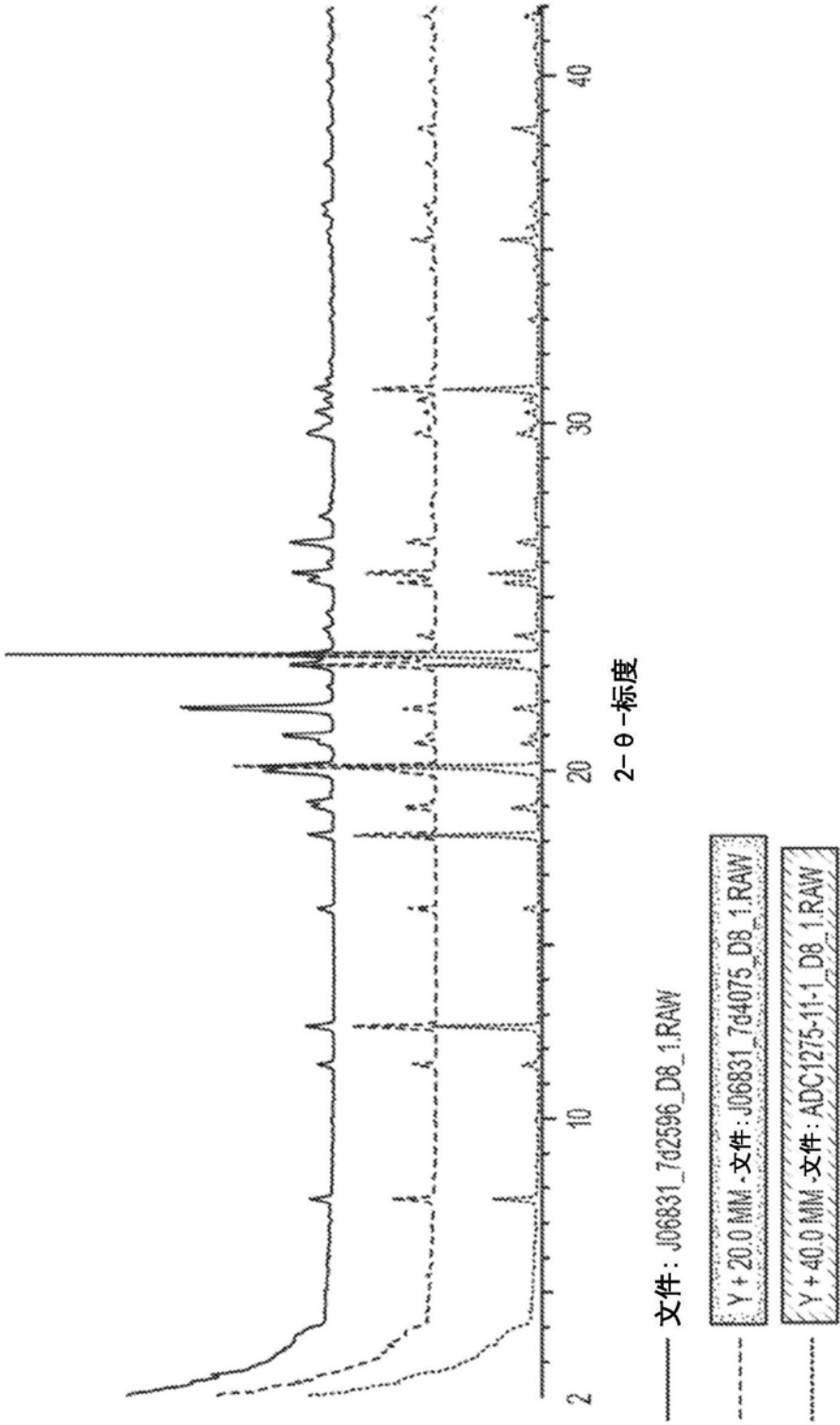


图5

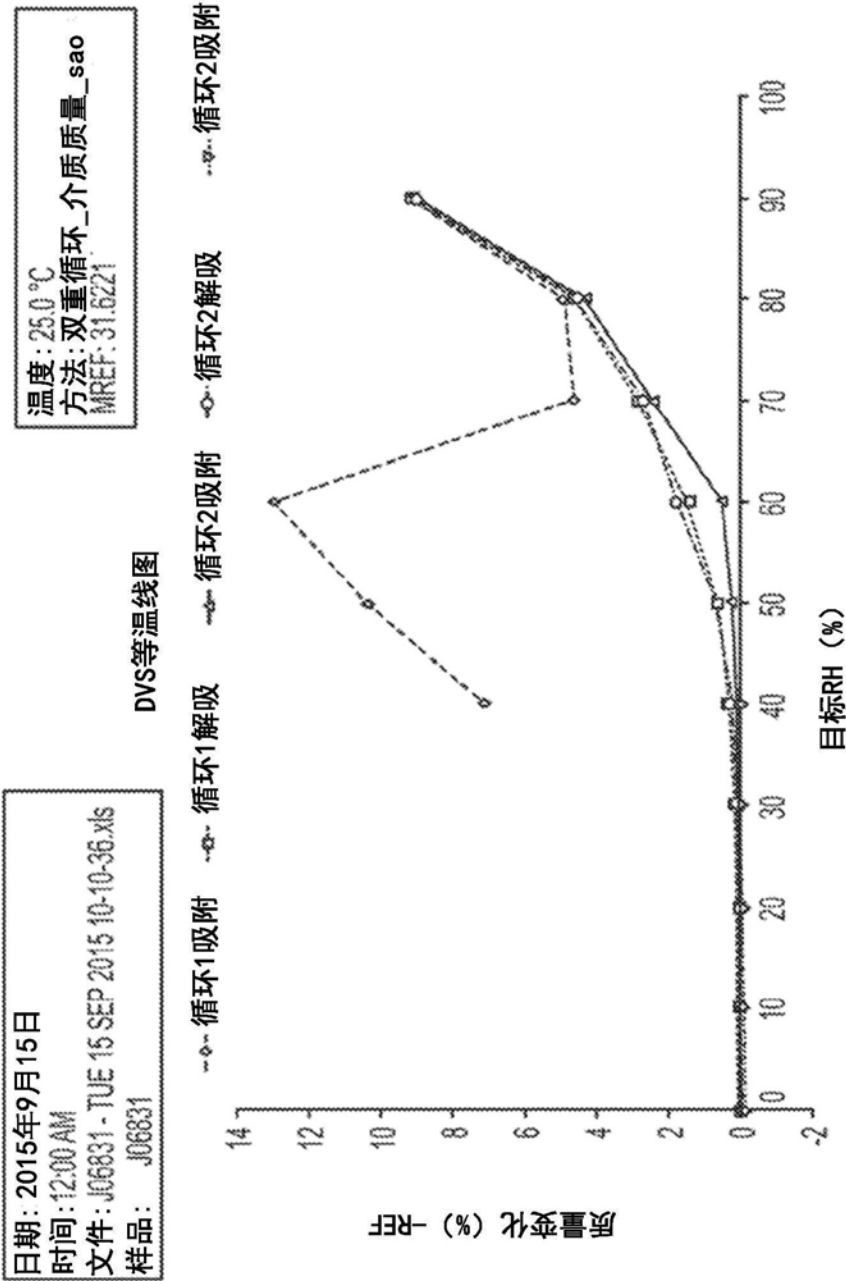


图6

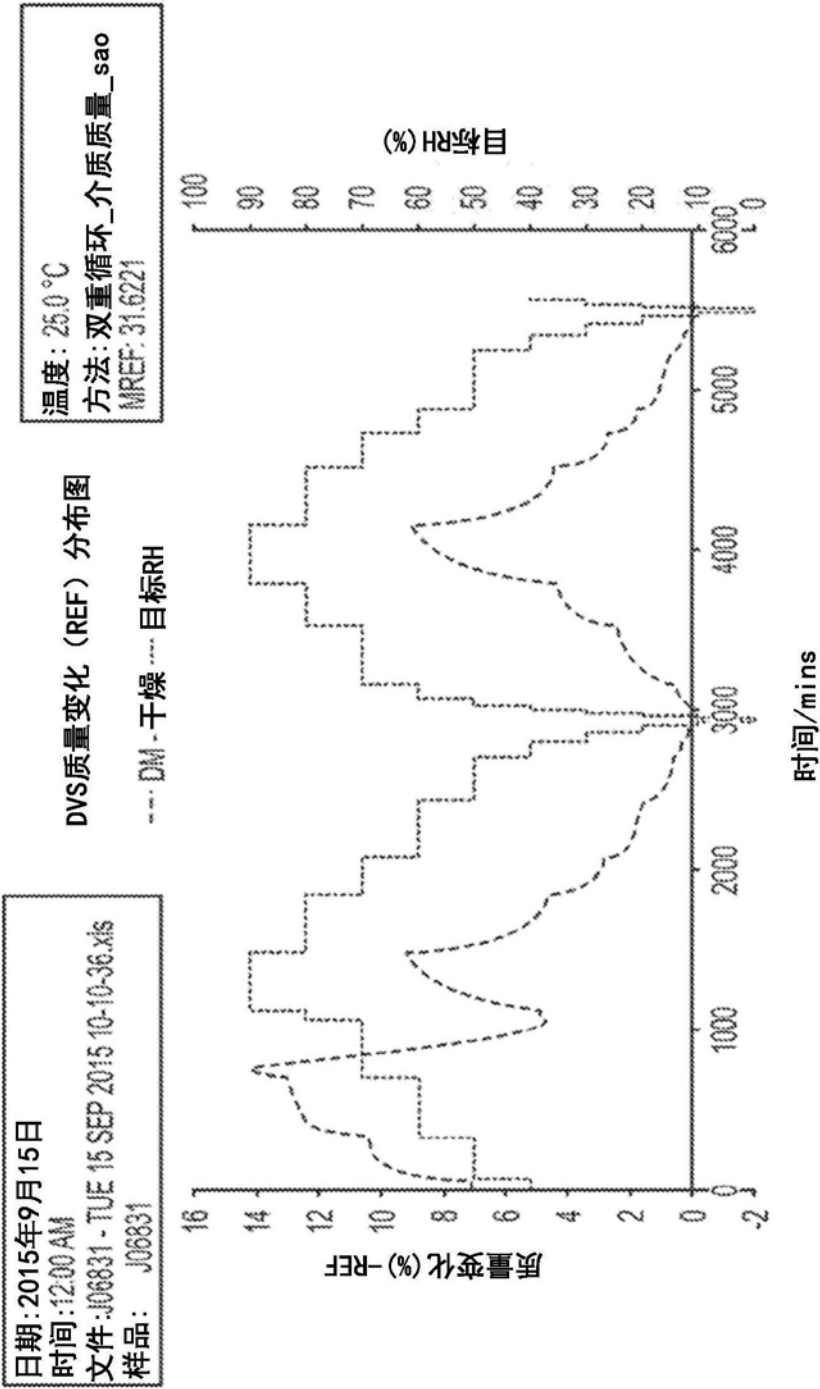


图7

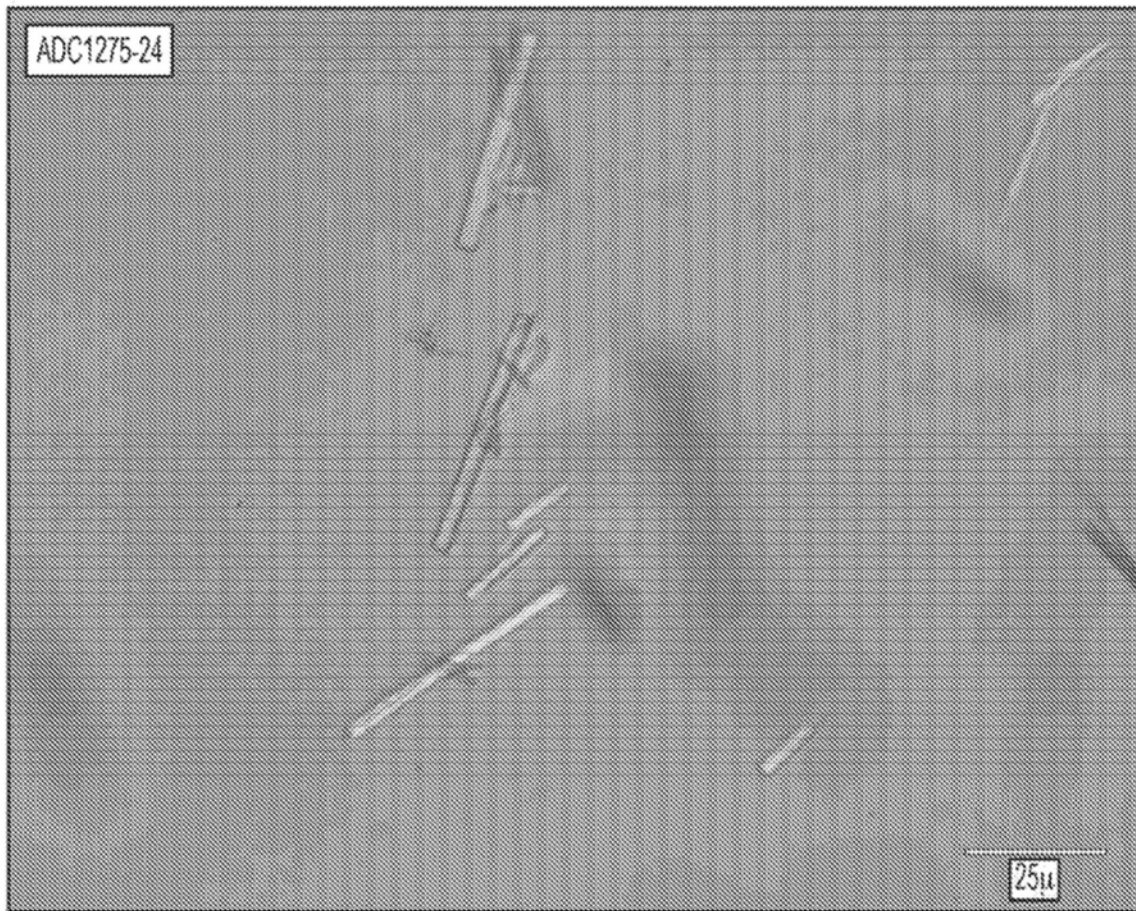


图8