



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114929724 B

(45) 授权公告日 2024. 12. 10

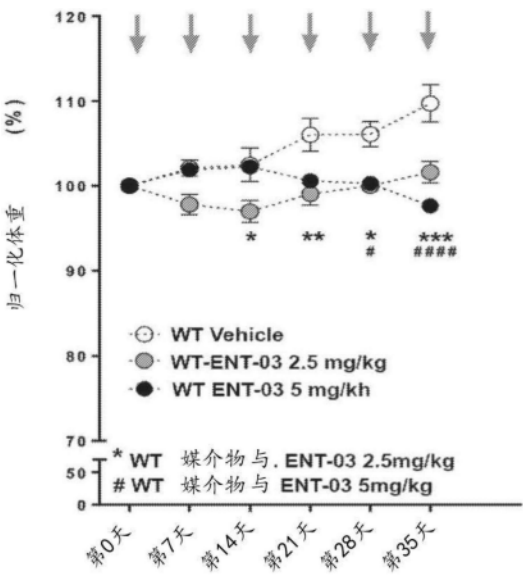
(21) 申请号 202080068162.2	(72) 发明人 D·巴布特 M·扎斯洛夫
(22) 申请日 2020.07.31	(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 114929724 A	专利代理师 封新琴
(43) 申请公布日 2022.08.19	(51) Int.Cl.
(30) 优先权数据 62/882,358 2019.08.02 US 63/041,031 2020.06.18 US	C07J 41/00 (2006.01) C07J 75/00 (2006.01) A61K 31/575 (2006.01) A61K 47/26 (2006.01) A61K 47/10 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01) A61P 9/10 (2006.01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2022.03.28	(56) 对比文件
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/US2020/044390 2020.07.31	US 5721226 A,1998.02.24 WO 2018/050814 A1,2018.03.22 WO 2009/032321 A2,2009.03.12
(87) PCT国际申请的公布数据 W02021/025973 EN 2021.02.11	审查员 贾祥玲
(73) 专利权人 英特尔公司 地址 美国宾夕法尼亚州	权利要求书11页 说明书125页 附图43页

(54) 发明名称

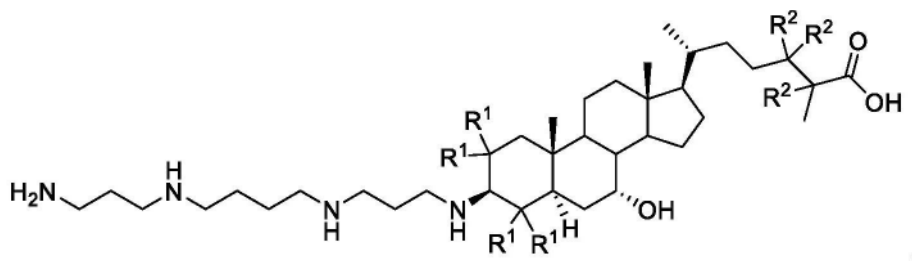
氨基固醇ENT-03化合物、包含其的相关组合物以及其使用方法

(57) 摘要

本申请总体上涉及新型氨基固醇化合物、包含其的组合物以及制备和使用所述新型氨基固醇化合物和组合物的方法。



1. 一种具有下式的氨基固醇化合物：



其中：

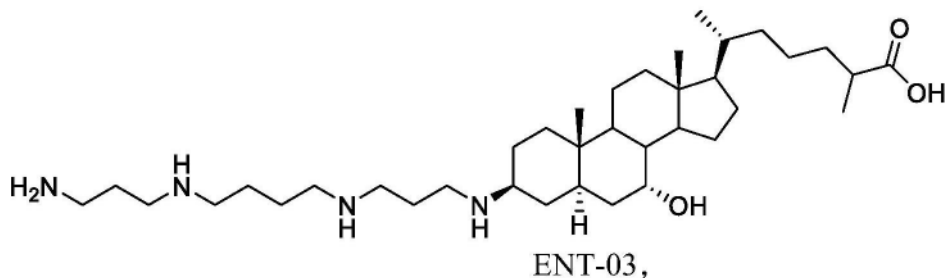
R¹是H或D；并且

R²是H或D；

其中所有R¹都是H或所有R²都是H，

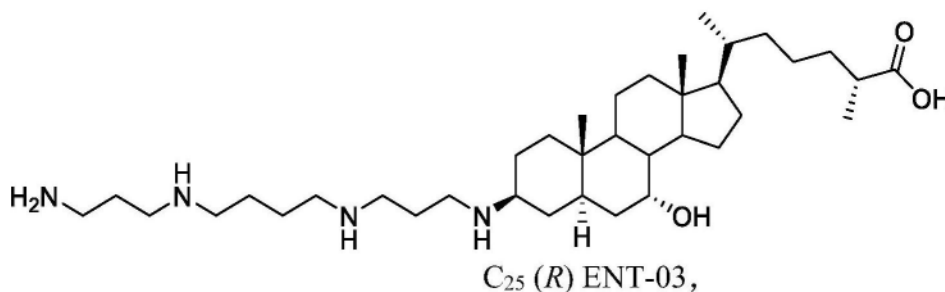
或其药学上可接受的盐。

2. 根据权利要求1所述的氨基固醇化合物，其具有下式：



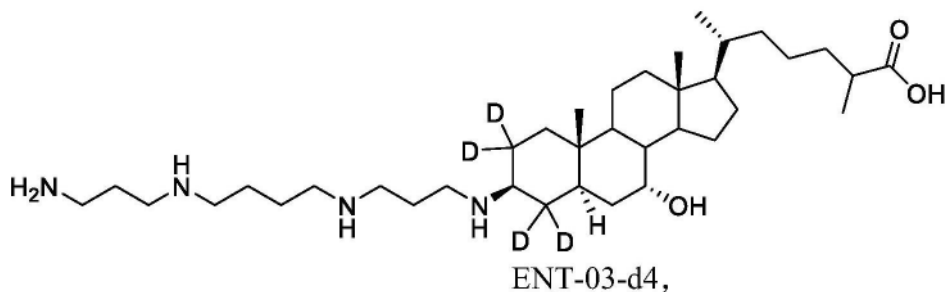
或其药学上可接受的盐。

3. 根据权利要求1所述的氨基固醇化合物，其具有下式：



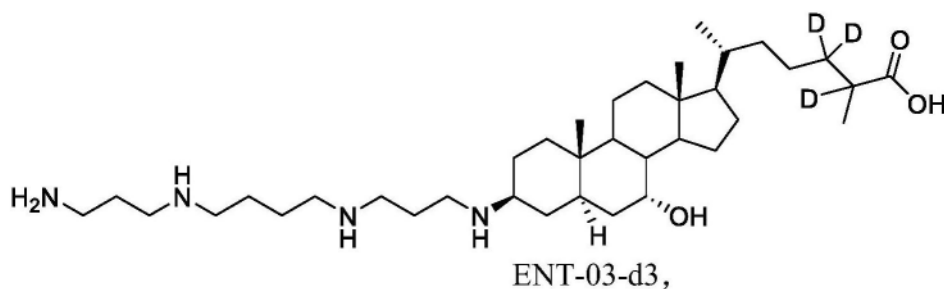
或其药学上可接受的盐。

4. 根据权利要求1所述的氨基固醇化合物，其具有下式：



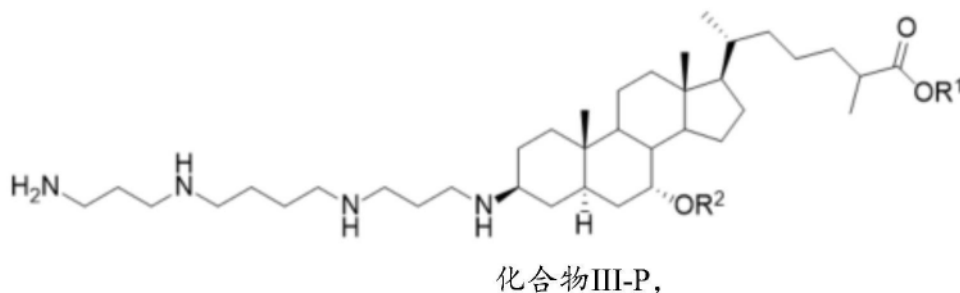
或其药学上可接受的盐。

5. 根据权利要求1所述的氨基固醇化合物，其具有下式：



或其药学上可接受的盐。

6. 一种具有下式的氨基固醇化合物：



其中：

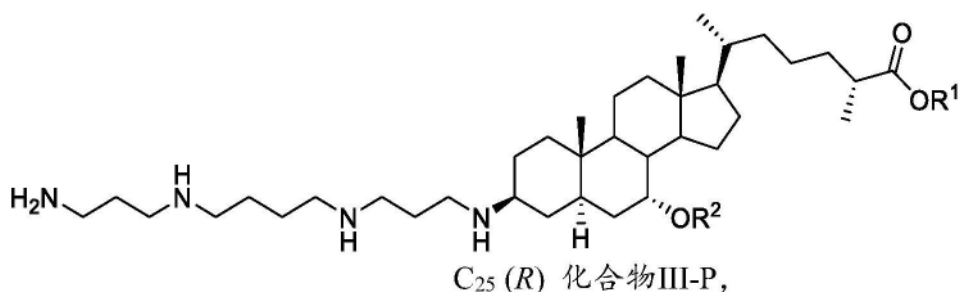
R^1 是H、芳基、杂芳基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 炔基、杂环基、 C_3 - C_8 环烷基或 C_1 - C_6 烯基；并且

R^2 是H或 $-C(O)R^3$ ，其中 R^3 是芳基、杂芳基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 炔基、杂环基、 C_3 - C_8 环烷基或 C_1 - C_6 烯基；

条件是 R^1 和 R^2 中的至少一个不是H，

或其药学上可接受的盐。

7. 根据权利要求6所述的氨基固醇化合物，其具有下式：



或其药学上可接受的盐。

8. 根据权利要求7所述的氨基固醇化合物，所述氨基固醇化合物是磷酸盐。

9. 一种组合物，所述组合物包含根据权利要求1-7中任一项所述的氨基固醇化合物和至少一种药学上可接受的载体或赋形剂。

10. 根据权利要求9所述的组合物，所述组合物包含以下中的一种或多种：

- (a) 水性载体；
- (b) 缓冲剂；
- (c) 糖；和/或
- (d) 多元醇化合物。

11. 根据权利要求9所述的组合物，其中所述组合物进一步包含至少一种另外的活性剂。

12. 根据权利要求9所述的组合物,其中所述组合物被配制:

(a) 用于选自以下的施用:口服、肺部、直肠、结肠、肠胃外、脑池内、阴道内、腹膜内、静脉内、皮下、肌肉内、雾化、吸入、眼部、耳部、局部、经颊、经鼻和外用施用;

(b) 成选自以下的剂型:液体分散体、凝胶、气雾剂、软膏、乳膏、冻干配制品、片剂、胶囊;

(c) 成选自以下的剂型:控制释放配制品、快速融化配制品、延迟释放配制品、延长释放配制品、脉冲释放配制品以及混合型立即释放和控制释放配制品;或

(d) (a)、(b)和(c)的任何组合。

13. 根据权利要求12所述的组合物,所述组合物被配制用于口服施用。

14. 根据权利要求13所述的组合物,所述组合物被配制为口服片剂或胶囊。

15. 根据权利要求12所述的组合物,所述组合物被配制用于鼻内施用。

16. 治疗有效量的根据权利要求1-7中任一项所述的氨基固醇化合物用以制备用于治疗对氨基固醇治疗易感的病症的药物中的用途。

17. 根据权利要求16所述的用途,其中所述病症与异常 α -突触核蛋白病理和/或多巴胺能功能障碍相关。

18. 治疗有效量的根据权利要求1-7中任一项所述的氨基固醇化合物用以制备用于治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的与异常 α -突触核蛋白病理和/或多巴胺能功能障碍相关的病症或障碍或相关症状的开始或进展的药物中的用途。

19. 根据权利要求18所述的用途,其中

(a) 所述症状选自便秘、幻觉、认知损害和炎症;

(b) 所述症状与突触核病、神经变性疾病、神经系统疾病或障碍、心理和/或行为障碍、或脑或全身缺血性障碍或病症相关;或

(c) 所述病症或障碍是突触核病、神经变性疾病、或神经系统疾病或障碍;

(d) 所述病症或障碍是心理和/或行为障碍;或

(e) 所述病症或障碍是脑或全身缺血性障碍或病症。

20. 根据权利要求19所述的用途,其中

(a) 所述突触核病、神经变性疾病、或神经系统疾病或障碍选自帕金森病、阿尔茨海默病、精神分裂症、多系统萎缩、路易体痴呆、亨廷顿病、多发性硬化症、肌萎缩侧索硬化症、弗里德赖希共济失调、血管性痴呆、脊髓性肌萎缩症、核上性麻痹、进行性核性麻痹、额颞叶痴呆、瓜德罗普型帕金森症、脊髓小脑性共济失调、和创伤性脑损伤;

(b) 所述心理或行为障碍选自抑郁症、自闭症谱系障碍、唐氏综合征、戈谢病、克拉伯病、影响鞘糖脂代谢的溶酶体病症、ADHD、激动、焦虑、谵妄、易怒、错觉和妄想、健忘症、冷漠、双相障碍、去抑制、异常运动和强迫性行为、成瘾、大脑性麻痹、癫痫、重度抑郁障碍、以及睡眠障碍,所述睡眠障碍选自REM睡眠行为障碍、睡眠片段化、REM行为障碍、昼夜节律功能障碍、睡眠呼吸暂停、和认知损害;或

(c) 所述脑或全身缺血性障碍或病症选自微血管病、分娩时脑缺血、心脏骤停或复苏期间/之后的脑缺血、由于手术中问题引起的脑缺血、由于脑部供血动脉狭窄引起的慢性脑缺血、窦血栓形成或脑静脉血栓形成、脑血管畸形、糖尿病性视网膜病变、高胆固醇、心肌梗塞、心功能不全、心力衰竭、心肌炎、心包炎、心包心肌炎、冠心病、心绞痛、先天性心脏病、休

克、四肢缺血、肾动脉狭窄、与疟疾相关的血栓形成、人工心脏瓣膜、贫血、脾功能亢进综合征、肺气肿、肺纤维化、勃起功能障碍、心脏传导缺陷、高血压、低血压、和肺水肿。

21. 治疗有效量的根据权利要求1-7中任一项所述的氨基固醇化合物用以制备用于治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的与异常 α -突触核蛋白病理和/或多巴胺能功能障碍相关的脑或全身缺血性障碍和/或相关症状的开始或进展的药物中的用途。

22. 根据权利要求21所述的用途,其中所述脑或全身缺血性障碍和/或相关症状选自微血管病、分娩时脑缺血、心脏骤停或复苏期间/之后的脑缺血、由于手术中问题引起的脑缺血、由于脑部供血动脉狭窄引起的慢性脑缺血、窦血栓形成或脑静脉血栓形成、脑血管畸形、糖尿病性视网膜病变、高血压、低血压、高胆固醇、心肌梗塞、心功能不全、心力衰竭、心肌炎、心包炎、心包心肌炎、冠心病、心绞痛、先天性心脏病、休克、四肢缺血、肾动脉狭窄、与疟疾相关的血栓形成、人工心脏瓣膜、贫血、脾功能亢进综合征、肺气肿、肺纤维化、勃起功能障碍、心脏传导缺陷、和肺水肿。

23. 治疗有效量的根据权利要求1-7中任一项所述的氨基固醇化合物用以制备用于抑制一种或多种调节性磷酸酶的药物中的用途,所述一种或多种调节性磷酸酶包括PTP1B、PTPRC/CD45、DUSP22/MKPX、PTPN7/LC-PTP、PTPN12/PTP-PEST、PTPN1/PTP1B-CD、PTPN11/SHP2、PTPN11/SHP2-FL、或具有E76K突变的PTPN11/SHP2-FL。

24. 根据权利要求23所述的用途,其中所述调节性磷酸酶包括PTP1B。

25. 治疗有效量的根据权利要求1-7中任一项所述的氨基固醇化合物用以制备用于抑制、预防和/或减缓有需要的受试者的食欲或体重增加和/或一种或多种相关症状的开始或进展的药物中的用途。

26. 根据权利要求16所述的用途,其中所述药物经配制用于口服施用、经鼻施用、舌下施用、经颊施用、直肠施用、阴道施用、静脉内施用、动脉内施用、皮内施用、腹膜内施用、鞘内施用、肌肉内施用、硬膜外施用、大脑内施用、脑室内施用、透皮施用或其任何组合。

27. 根据权利要求26所述的用途,其中所述药物经配制用于经鼻施用、口服施用或其组合。

28. 根据权利要求16所述的用途,其中所述治疗有效量的所述氨基固醇化合物或其药学上可接受的盐包括:

- (a) 0.1至20mg/kg所述受试者体重;
- (b) 0.1至15mg/kg所述受试者体重;
- (c) 0.1至10mg/kg所述受试者体重;
- (d) 0.1至5mg/kg所述受试者体重;或
- (e) 0.1至2.5mg/kg所述受试者体重。

29. 根据权利要求16所述的用途,其中所述治疗有效量的所述氨基固醇化合物或其药学上可接受的盐包括:

- (a) 0.001至500mg/天;
- (b) 0.001至250mg/天;
- (c) 0.001至125mg/天;
- (d) 0.001至50mg/天;
- (e) 0.001至25mg/天;

- (f) 0.001至10mg/天;
- (g) 0.001至6mg/天;
- (h) 0.001至4mg/天;或
- (i) 0.001至2mg/天。

30. 根据权利要求16所述的用途,其中所述药物经配制用于口服施用,并且其中所述治疗有效量的所述氨基固醇化合物或其药学上可接受的盐包括:

- (a) 1至300mg/天;或
- (b) 25至500mg/天。

31. 根据权利要求16所述的用途,其中将所述氨基固醇化合物或其药学上可接受的盐与至少一种另外的活性剂组合施用以实现加性或协同作用。

32. 根据权利要求31所述的用途,其中所述另外的活性剂通过选自以下之一的方法施用:

- (a) 附随地;
- (b) 作为混合物;
- (c) 单独地且同时地或并行地;和
- (d) 单独地且顺序地。

33. 根据权利要求31所述的用途,其中所述另外的活性剂是第二氨基固醇,所述第二氨基固醇具有与在根据权利要求16所述的用途中施用的氨基固醇不同的结构。

34. 根据权利要求16所述的用途,其中所述药物的施用包括空腹施用。

35. 根据权利要求34所述的用途,其中所述药物的施用在所述受试者醒来后两小时内施用。

36. 根据权利要求16所述的用途,其中在自所述药物的施用起60至90分钟后,所述受试者不食用食物。

37. 根据权利要求16所述的用途,其中所述氨基固醇或其药学上可接受的盐是药学上可接受的等级的。

38. 根据权利要求37所述的用途,其中施用所述氨基固醇的磷酸盐。

39. 根据权利要求16所述的用途,进一步包括:

(a) 确定用于所述受试者的所述氨基固醇或其药学上可接受的盐的剂量,其中所述氨基固醇的剂量是基于所述氨基固醇的剂量在改善或消退所评价的症状方面的有效性确定的,

(b) 然后向所述受试者施用包含所述剂量的所述氨基固醇的组合物持续一定时间段,其中所述用途包括:

- (i) 鉴定待评价症状,其中所述症状易感于氨基固醇治疗;
- (ii) 鉴定对于所述受试者的其氨基固醇起始剂量;

(iii) 在一定时间段内向所述受试者施用递增剂量的所述氨基固醇直到鉴定出对于所评价的症状的有效剂量,其中所述有效剂量是观察到所述症状改善或消退的氨基固醇剂量,并且针对所述特定受试者的所述特定症状将所述氨基固醇剂量固定在所述水平。

40. 根据权利要求39所述的用途,其中使用临床上认可的量表或工具测量所述症状的改善或消退。

41. 根据权利要求39所述的用途,其中所述组合物口服施用并且:
- (a) 所述起始氨基固醇剂量的范围为从10mg至150mg/天;
 - (b) 递增后针对所述受试者的所述氨基固醇剂量固定在从25mg至500mg/天的范围内;
- 和/或
- (c) 所述氨基固醇或其盐或衍生物的剂量以25mg的增量递增。
42. 根据权利要求39所述的用途,其中所述组合物鼻内施用并且:
- (a) 所述起始氨基固醇剂量的范围为从0.001mg至3mg/天;
 - (b) 递增后针对所述受试者的所述氨基固醇剂量固定在从0.001mg直至6mg/天;
 - (c) 递增后针对所述受试者的氨基固醇剂量是当口服或注射给药时亚治疗性的剂量;
- 和/或
- (d) 所述氨基固醇的剂量以0.1、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9或2mg的增量递增。
43. 根据权利要求39所述的用途,其中所述氨基固醇的剂量每3至5天递增。
44. 根据权利要求39所述的用途,其中所述症状与异常 α -突触核蛋白病理和/或多巴胺能功能障碍相关。
45. 根据权利要求39所述的用途,其中所述待评价症状选自:
- (a) 选自以下的如由统一帕金森病评定量表的第I部分所定义的日常生活体验的至少一个非运动方面:认知损害、幻觉和精神病、抑郁情绪、焦虑心境、冷漠、多巴胺失调综合征的特征、睡眠问题、疼痛、泌尿问题、便秘问题、站立时头晕、和疲劳;
 - (b) 选自以下的如由统一帕金森病评定量表的第II部分所定义的日常生活体验的至少一个运动方面:言语、唾液和流口水、咀嚼和吞咽、进食任务、穿衣、卫生、手写、在床上翻身、颤抖、从床、汽车或深椅子上下来、行走和平衡、和僵滞;
 - (c) 选自以下的统一帕金森病评定量表的第III部分中鉴定的至少一种运动症状:言语、面部表情、僵硬、手部运动、脚趾敲击、腿敏捷性、从椅子上起身、步态、步态僵滞、姿势、身体动作迟缓、静止性震颤幅度、和静止性震颤的持续性;
 - (d) 选自以下的统一帕金森病评定量表第IV部分中鉴定的至少一种运动并发症:异动症存在的时间、异动症的功能性影响、处于关态的时间、波动的功能性影响、运动波动的复杂性、和疼痛的关态肌张力障碍;
 - (e) 便秘;
 - (f) 抑郁症;
 - (g) 认知损害;
 - (h) 睡眠问题或睡眠紊乱;
 - (i) 昼夜节律功能障碍;
 - (j) 幻觉;
 - (k) 疲劳;
 - (l) REM紊乱睡眠;
 - (m) REM行为障碍;
 - (n) 勃起功能障碍;

- (o) 呼吸暂停;
- (p) 姿势性低血压;
- (q) 血压或直立性低血压的矫正;
- (r) 夜间高血压;
- (s) 温度调节;
- (t) 呼吸或呼吸暂停的改善;
- (u) 心脏传导缺陷的矫正;
- (v) 疼痛的改善;
- (w) 恢复膀胱感觉和排尿;
- (x) 尿失禁;和/或
- (y) 夜尿症的控制。

46. 根据权利要求45所述的用途, 其中所述待评价症状是便秘, 并且其中:

(a) 对于便秘的固定递增氨基固醇剂量定义为在给定剂量下在3天中的至少2天给药24小时内导致完全自发排便的氨基固醇剂量;

(b) 如果平均完全自发排便或平均自发排便大于或等于1次/周, 则递增前的起始氨基固醇剂量是75mg/天;和/或

(c) 如果平均完全自发排便或平均自发排便少于1次/周, 则递增前的起始氨基固醇剂量是150mg/天。

47. 治疗有效量的根据权利要求1-7中任一项所述的氨基固醇化合物用以制备用于增加受试者肠道中基因转录的药物中的用途。

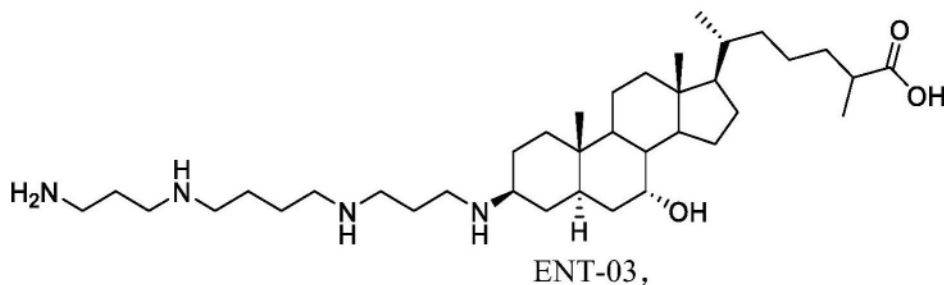
48. 根据权利要求47所述的用途, 其中所述基因转录的增加是针对选自以下的一种或多种基因: 半胱天冬酶14、XVII型胶原 $\alpha 1$ 、角膜锁链蛋白、角化蛋白、胱抑素E/M、皮肤因子、桥粒胶蛋白1、桥粒芯蛋白1 β 、丝聚蛋白、间隙连接蛋白 $\beta 4$ 、间隙连接蛋白 $\beta 6$ 、H19印迹母系表达转录物、角蛋白、激肽释放酶相关肽酶7糜蛋白酶层、角素1、角素10、角化细胞分化相关蛋白、角化细胞表达的富脯氨酸、晚期角质化包膜1A1、晚期角质化包膜1A2、晚期角质化包膜1B、晚期角质化包膜1C、晚期角质化包膜1E、晚期角质化包膜1F、晚期角质化包膜1G、晚期角质化包膜1H、晚期角质化包膜1I、晚期角质化包膜1J、晚期角质化包膜1L、晚期角质化包膜1M、晚期角质化包膜3C、晚期角质化包膜3E、晚期角质化包膜3F、可溶性半乳糖结合凝集素7、兜甲蛋白、角化包膜前体蛋白、肌红蛋白、慢型肌球蛋白结合蛋白C、肌球蛋白重多肽1骨骼肌、肌球蛋白重多肽8骨骼肌、肌球蛋白轻链可磷酸化快ske、肌球蛋白轻多肽3、肌原调节蛋白1、肌原调节蛋白2、和肌联蛋白-帽。

49. 根据权利要求47所述的用途, 其中所述基因转录的增加选自1%至10%、10%至20%、20%至30%、30%至40%、40%至50%、50%至60%、60%至70%、70%至80%、80%至90%、90%至100%、100%至125%、125%至150%、150%至175%、175%至200%、200%至250%、250%至300%、300%至350%、350%至400%、400%至450%、500%至600%、600%至700%、700%至800%、800%至900%、900%至1000%、或1000%至1500%。

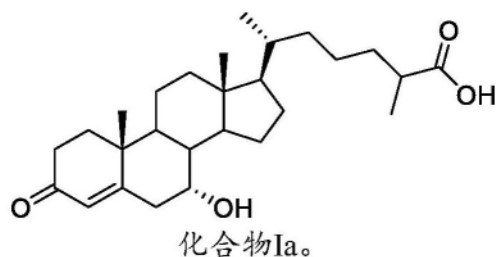
50. 治疗有效量的根据权利要求1-7中任一项所述的氨基固醇化合物用以制备用于抑制一种或多种调节性磷酸酶以实现治疗性或预防性益处的药物中的用途, 其中所述一种或多种调节性磷酸酶包括PTP1B、PTPRC/CD45、DUSP22/MKPX、PTPN7/LC-PTP、PTPN12/PTP-

PEST、PTPN1/PTP1B-CD、PTPN11/SHP2、PTPN11/SHP2-FL、或具有E76K突变的PTPN11/SHP2-FL。

51. 一种产生下式的氨基固醇的方法：



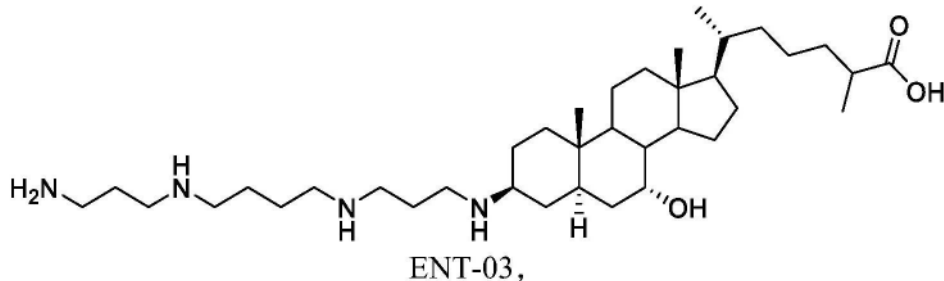
所述方法包括刺激精胺向化合物Ia上的添加：



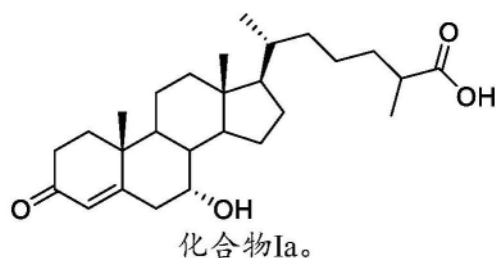
52. 根据权利要求51所述的方法，其中

- (a) 所述氨基固醇在受试者体内产生；或
- (b) 所述氨基固醇在体外产生。

53. 一种抑制下式的氨基固醇的形成的方法：



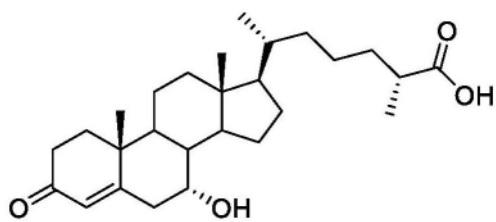
所述方法包括抑制精胺向化合物Ia上的添加：



54. 根据权利要求53所述的方法，其中

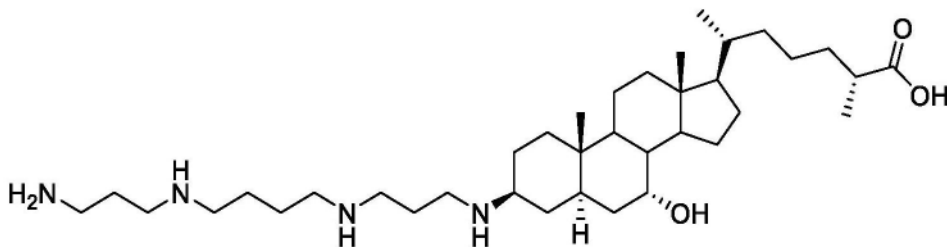
- (a) 在受试者体内抑制精胺向化合物Ia上的添加；或
- (b) 在体外抑制精胺向化合物Ia上的添加。

55. 根据权利要求51-54中任一项所述的方法，其中化合物Ia具有下式：

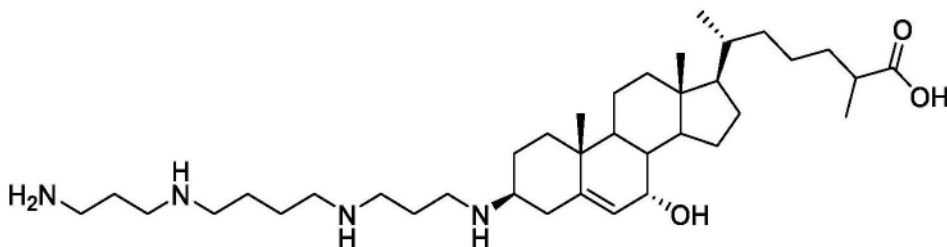


ENT-01

并且ENT-03具有下式：

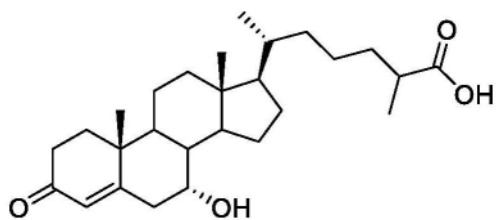
C₂₅ (R) ENT-03。

56. 一种产生下式的氨基固醇的方法：



化合物IV，

所述方法包括刺激精胺向化合物Ia上的添加：

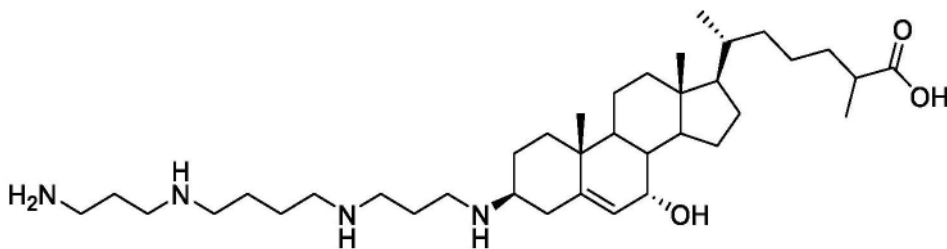


化合物Ia。

57. 根据权利要求56所述的方法，其中

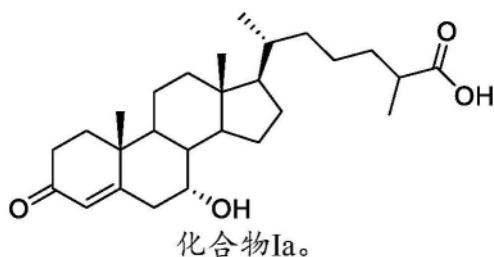
- (a) 所述氨基固醇在受试者体内产生；
- (b) 所述氨基固醇在体外产生。

58. 一种抑制下式的氨基固醇的形成的方法：



化合物IV，

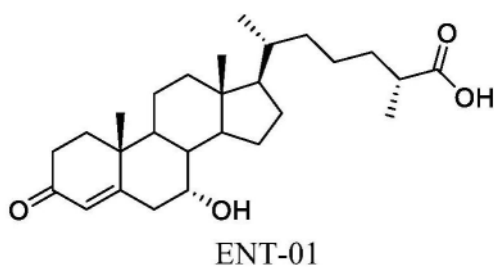
所述方法包括抑制精胺向化合物Ia上的添加：



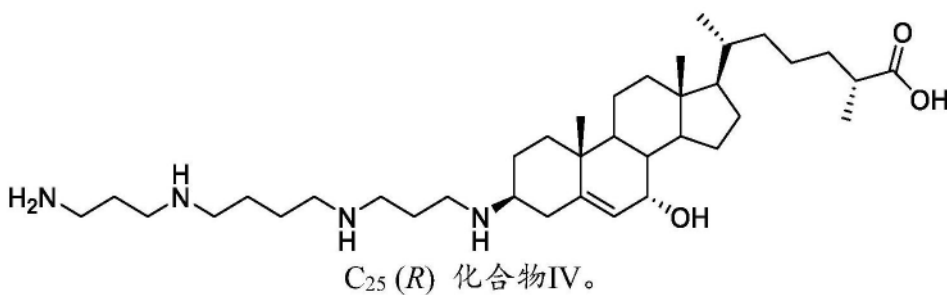
59. 根据权利要求58所述的方法, 其中

- (a) 在受试者体内抑制精胺向化合物Ia上的添加; 或
- (b) 在体外抑制精胺向化合物Ia上的添加。

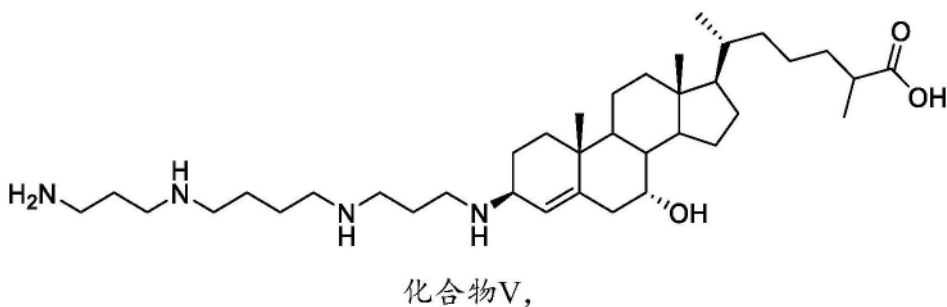
60. 根据权利要求56-59中任一项所述的方法, 其中化合物Ia具有下式:



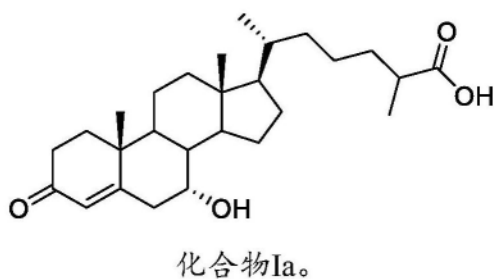
并且化合物IV具有下式:



61. 一种产生下式的氨基固醇的方法:



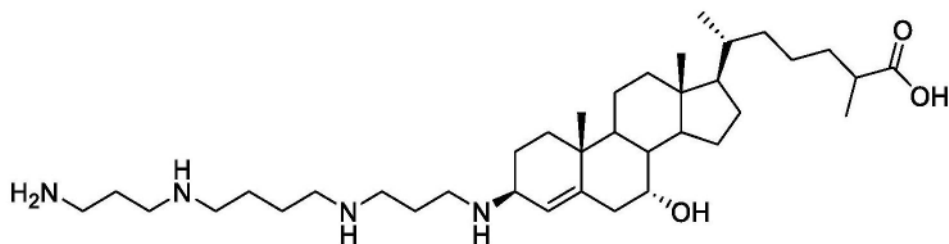
所述方法包括刺激精胺向化合物Ia上的添加:



62. 根据权利要求61所述的方法, 其中

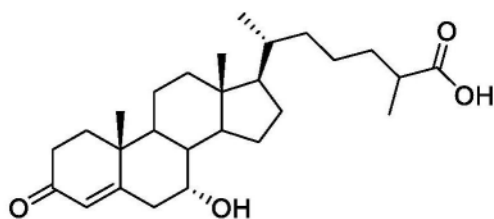
- (a) 所述氨基固醇在受试者体内产生;或
 (b) 所述氨基固醇在体外产生。

63. 一种抑制下式的氨基固醇的形成的方法:



化合物V,

所述方法包括抑制精胺向化合物Ia上的添加:

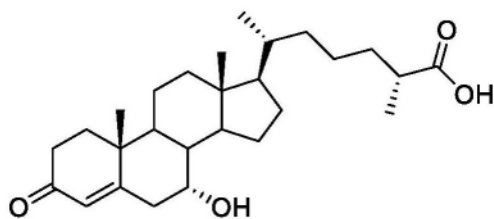


化合物Ia。

64. 根据权利要求63所述的方法, 其中

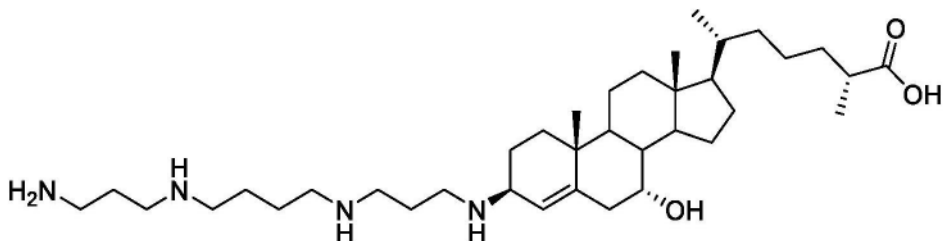
- (a) 在受试者体内抑制精胺向化合物Ia上的添加;或
 (b) 在体外抑制精胺向化合物Ia上的添加。

65. 根据权利要求61-64中任一项所述的方法, 其中化合物Ia具有下式:



ENT-01,

并且化合物V具有下式:



C₂₅ (R) 化合物V。

氨基固醇ENT-03化合物、包含其的相关组合物以及其使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2019年8月2日提交的美国临时申请号62/882,358和2020年6月18日提交的美国临时申请号63/041,031的根据35USC§119的优先权权益,将每个申请的全部内容通过引用以其整体并入本文。

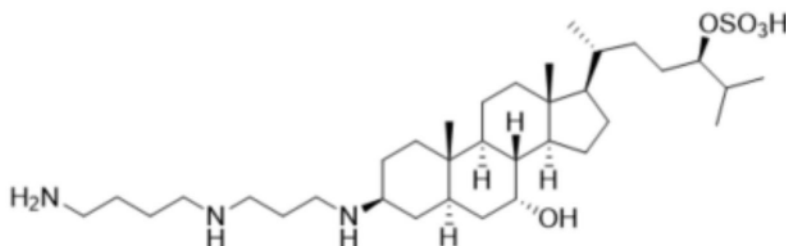
技术领域

[0003] 本申请总体上涉及用于治疗人类疾病的氨基固醇化合物。

背景技术

[0004] 氨基固醇是固醇的氨基衍生物。角鲨胺是包含至少12种相关化合物的较大氨基固醇家族中最丰富的成员(Rao等人,2000)。

[0005]

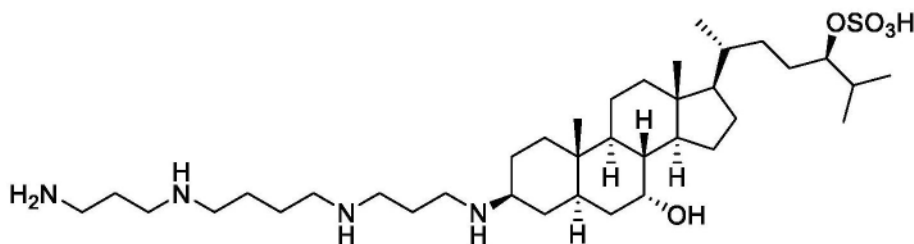


[0006] 角鲨胺

[0007] Michael Zasloff在1993年(美国专利号5,192,756)报道了角鲨胺的发现,其结构在上面示出。

[0008] 示例性氨基固醇还包括ENT-02,也称为氨基固醇1436、曲度奎明(trodesquamine)和MSI-1436。这些氨基固醇(美国专利号5,192,756)在哺乳动物系统中展现出不同的药理活性。氨基固醇1436导致脊椎动物的体重减轻和脂肪组织动员(Zasloff等人,2001)。

[0009]



[0010] 氨基固醇1436

[0011] 氨基固醇1436显示在参与食欲和能量平衡的下丘脑核中起作用并且在小鼠和大鼠的饮食诱导模型和遗传模型两者中逆转胰岛素抵抗。所述化合物显示抑制PTP1B(关闭激活的胰岛素受体的磷酸酶),有证据表明其在体内对下丘脑胰岛素受体有活性。在肥胖受试者中静脉内注射氨基固醇1436的1期人类临床试验证明胰岛素敏感性的改善。

[0012] 认识到氨基固醇1436在体内展现出PTP1B抑制,进行了大量研究。它们包括:改善下丘脑胰岛素抵抗小鼠模型的代谢综合征;逆转LDL受体敲除小鼠的动脉粥样硬化;抑制恶

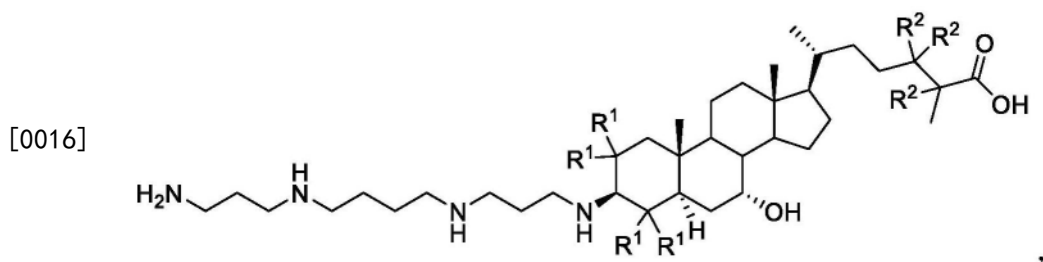
性肿瘤生长;刺激斑马鱼尾巴和心肌的再生;通过动员成年小鼠的干细胞再生修复心肌梗塞和创伤性肢体肌肉损伤;通过靶向边缘系统的mGluR5受体缓解小鼠的压力诱导的焦虑;通过神经元PTP1B依赖机制逆转阿尔茨海默病的 β 淀粉样蛋白和 τ 小鼠模型的记忆损害以及使行为正常化以及减少神经元损失;在体外和阿尔茨海默病的秀丽隐杆线虫 (*C.elegans*) 模型中 β 淀粉样蛋白聚集体的毒性的减少 (Limbocker等人, 2019);以及秀丽隐杆线虫帕金森病模型中毒性 α 突触核蛋白聚集体形成的减少和寿命的增加 (Perni等人, 2018)。

[0013] 已经进行了几项与氨基固醇1436的使用相关的临床试验,包括:(1)ClinicalTrials.gov标识符NCT00509132,Genaera Corp.的“A Phase I,Double-Blind Randomized,Placebo-Controlled Ascending IV Single-Dose Tolerance and Pharmacokinetic Study of Trodusquemine in Healthy Volunteers”;(2)ClinicalTrials.gov标识符NCT00606112,Genaera Corp.的“A Single Dose,Tolerance and Pharmacokinetic Study in Obese or Overweight Type 2Diabetic Volunteer”;(3)ClinicalTrials.gov标识符NCT00806338,Genaera Corp.的“An Ascending Multi-Dose,Tolerance and Pharmacokinetic Study in Obese or Overweight Type 2Diabetic Volunteers”;和(4)ClinicalTrials.gov标识符:NCT02524951,DepyMed Inc.的“Safety and Tolerability of MSI-1436C in Metastatic Breast Cancer”。

[0014] 本领域需要新型氨基固醇化合物及其使用方法。本公开文本满足了这些需求。

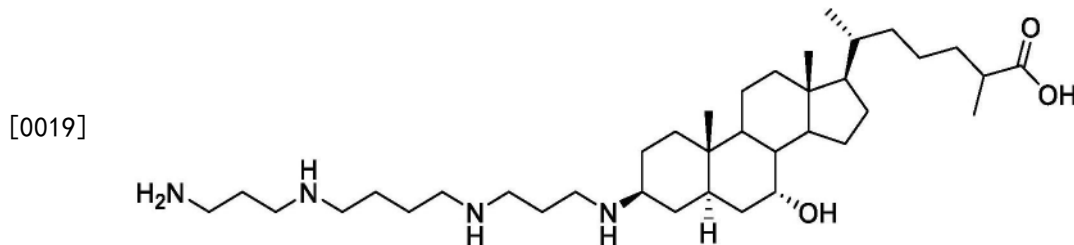
发明内容

[0015] 在一方面,提供了具有下式的氨基固醇化合物:



[0017] 其中:R¹是H或D;并且R²是H或D;条件是所有R¹都是H,所有R²都是H,或所有R¹和R²都是H,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0018] 在一个实施方案中,所述氨基固醇化合物具有下式:

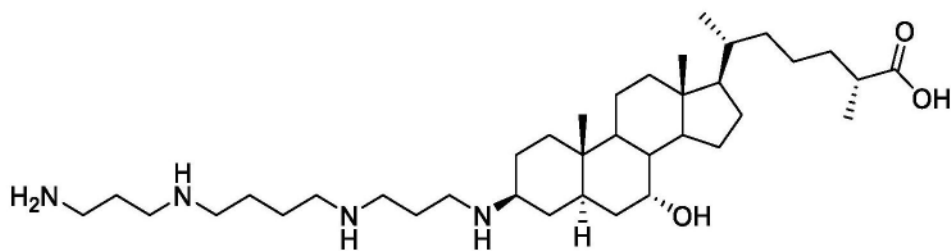


[0020] ENT-03 (化合物III),

[0021] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0022] 在一个实施方案中,所述氨基固醇具有下式:

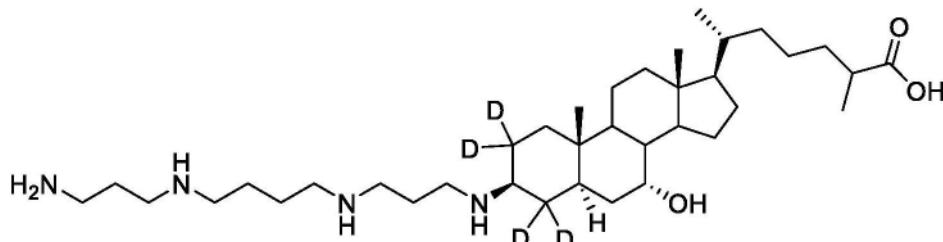
[0023]

[0024] C_{25} (R) ENT-03 (C_{25} (R) 化合物III),

[0025] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0026] 在一个实施方案中,所述氨基固醇具有下式:

[0027]

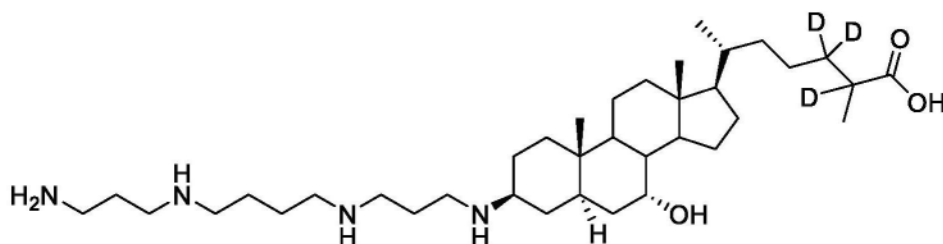


[0028] ENT-03-d4 (化合物III-d4),

[0029] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0030] 在一个实施方案中,所述氨基固醇具有下式:

[0031]

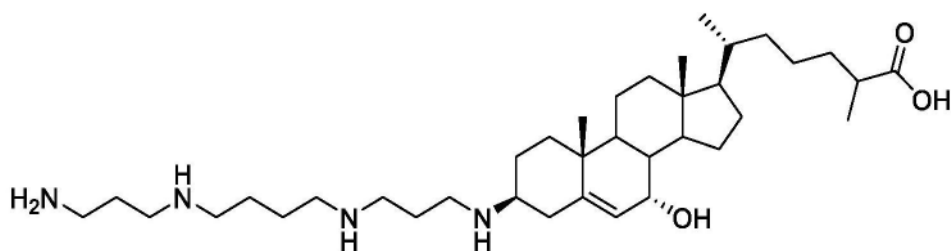


[0032] ENT-03-d3 (化合物III-d3),

[0033] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0034] 在另一方面,提供了具有下式的氨基固醇化合物:

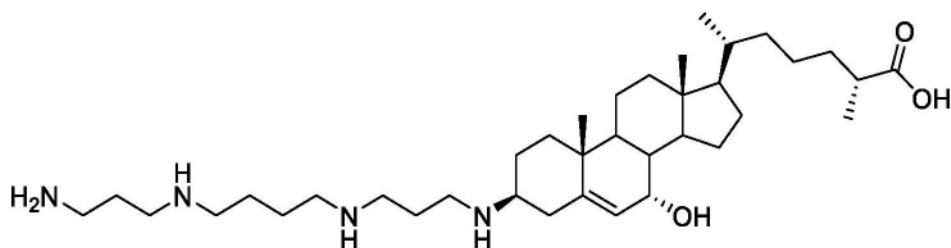
[0035]

[0036] 化合物IV (Δ^5 ENT-03),

[0037] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0038] 在一个实施方案中,所述氨基固醇化合物具有下式:

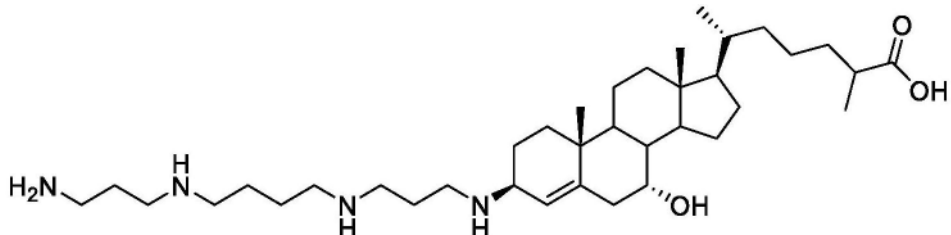
[0039]

[0040] C₂₅(R) 化合物IV (Δ 5ENT-03) ,

[0041] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0042] 在一方面,提供了具有下式的氨基固醇化合物:

[0043]

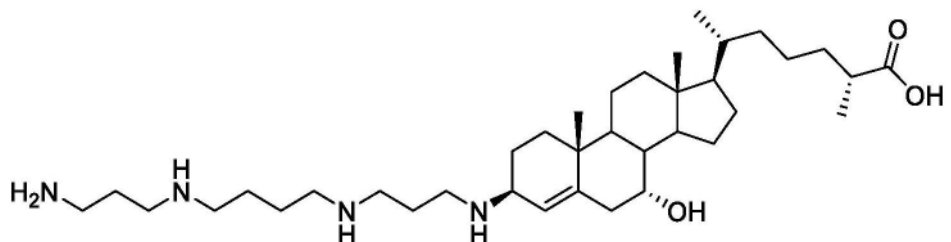


[0044] 化合物V (Δ 4ENT-03) ,

[0045] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0046] 在一个实施方案中,所述氨基固醇化合物具有下式:

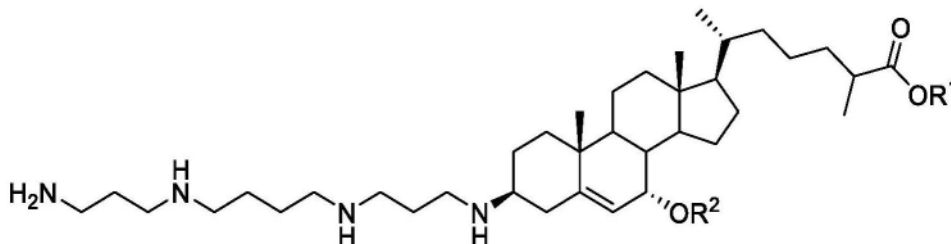
[0047]

[0048] C₂₅(R) 化合物V (Δ 4ENT-03) ,

[0049] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0050] 在另一方面,提供了具有下式的氨基固醇化合物:

[0051]

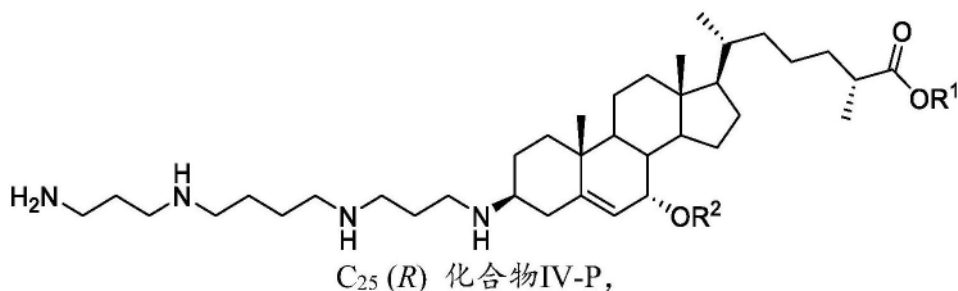


[0052] 化合物IV-P,

[0053] 其中:R¹是H、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的C₁-C₆烷基、任选经取代的C₁-C₆炔基、任选经取代的杂环基、任选经取代的C₃-C₈环烷基和任选经取代的C₁-C₆烯基;并且R²是H或-C(O)R³,其中R³是任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的C₁-C₆烷基、任选经取代的C₁-C₆炔基、任选经取代的杂环基、任选经取代的C₃-C₈环烷基或任选经取代的C₁-C₆烯基;条件是R¹和R²中的至少一个不是H,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0054] 在一个实施方案中,所述氨基固醇化合物具有下式:

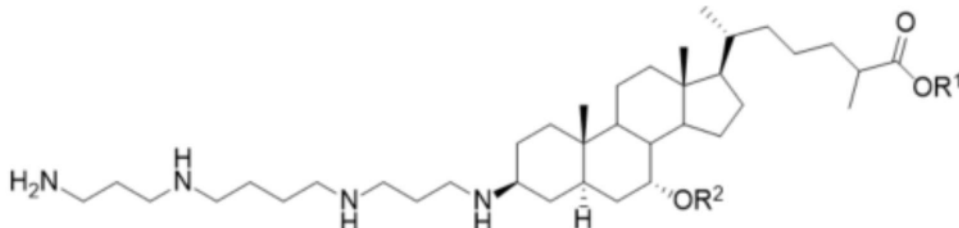
[0055]



[0056] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0057] 在另一方面,提供了具有下式的氨基固醇化合物:

[0058]

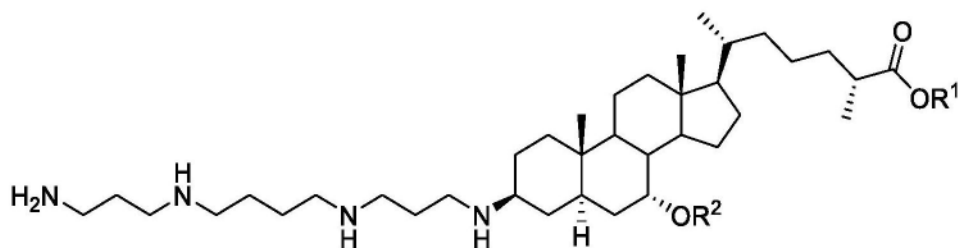


[0059] ENT-03-P (化合物III-P),

[0060] 其中: R^1 是H、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_1 - C_6 烷基、任选经取代的 C_1 - C_6 炔基、任选经取代的杂环基、任选经取代的 C_3 - C_8 环烷基或任选经取代的 C_1 - C_6 烯基;并且 R^2 是H或-C(=O) R^3 ,其中 R^3 是任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_1 - C_6 烷基、任选经取代的 C_1 - C_6 炔基、任选经取代的杂环基、任选经取代的 C_3 - C_8 环烷基或任选经取代的 C_1 - C_6 烯基;条件是 R^1 和 R^2 中的至少一个不是H,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0061] 在一些实施方案中,所述氨基固醇具有下式:

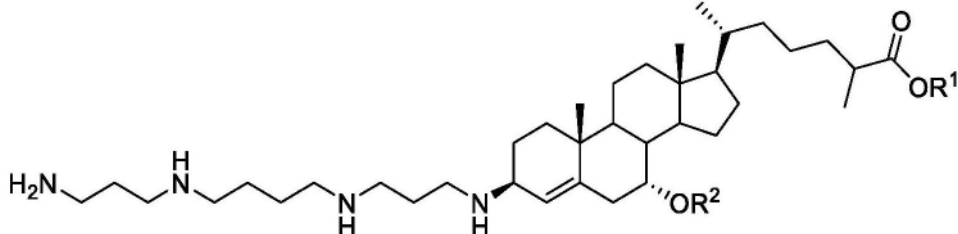
[0062]

[0063] C_{25} (R) ENT-03-P (C_{25} (R) 化合物III-P),

[0064] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0065] 在另一方面,提供了具有下式的氨基固醇化合物:

[0066]

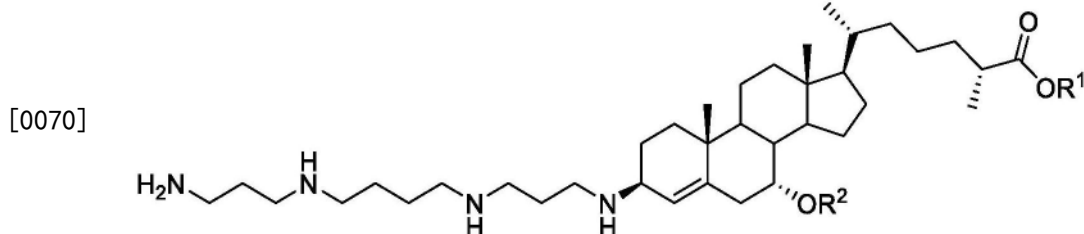


[0067] 化合物V-P,

[0068] 其中: R^1 是H、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_1 - C_6 烷基、任选经取代的 C_1 - C_6 炔基、任选经取代的杂环基、任选经取代的 C_3 - C_8 环烷基和任选经取代的

C₁-C₆烯基;并且R²是H或-C(O)R³,其中R³是任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的C₁-C₆烷基、任选经取代的C₁-C₆炔基、任选经取代的杂环基、任选经取代的C₃-C₈环烷基或任选经取代的C₁-C₆烯基;条件是R¹和R²中的至少一个不是H,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0069] 在一个实施方案中,所述氨基固醇化合物具有下式:



[0071] C₂₅(R) 化合物V-P,

[0072] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0073] 在一些实施方案中,氨基固醇被配制为药学上可接受的盐。在一些实施方案中,所述药学上可接受的盐是磷酸盐。

[0074] 在一方面,提供了包含根据本文任何实施方案的氨基固醇化合物的组合物,所述组合物包含至少一种药学上可接受的载体或赋形剂。在一些实施方案中,所述组合物包含以下中的一种或多种:(a) 水性载体;(b) 缓冲剂;(c) 糖;和/或(d) 多元醇化合物。在一些实施方案中,所述组合物包含至少一种另外的活性剂。

[0075] 在一些实施方案中,所述组合物被配制(a) 用于选自以下的施用:口服、肺部、直肠、结肠、肠胃外、脑池内、阴道内、腹膜内、静脉内、皮下、肌肉内、雾化、吸入、眼部、耳部、局部、经颊、经鼻和外用施用;(b) 成选自以下的剂型:液体分散体、凝胶、气雾剂、软膏、乳膏、冻干配制品、片剂、胶囊;(c) 成选自以下的剂型:控制释放配制品、快速融化配制品、延迟释放配制品、延长释放配制品、脉冲释放配制品以及混合型立即释放和控制释放配制品;或(d) (a)、(b) 和(c) 的任何组合。

[0076] 在一些实施方案中,所述组合物被配制用于口服施用。在一些实施方案中,所述组合物被配制为口服片剂或胶囊。在一些实施方案中,所述组合物被配制用于鼻内施用。

[0077] 在一方面,提供了一种治疗有需要的受试者的方法,所述受试者患有对氨基固醇治疗易感的病症,所述方法包括向所述受试者施用根据本文任何实施方案的组合物。在一些实施方案中,所述病症与异常 α -突触核蛋白病理和/或多巴胺功能障碍相关。

[0078] 在另一方面,提供了一种治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的与异常 α -突触核蛋白病理和/或多巴胺功能障碍相关的病症或障碍或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括施用治疗有效量的根据本文任何实施方案的组合物。

[0079] 在一些实施方案中,(a) 所述症状选自便秘、幻觉、认知损害和炎症;(b) 所述症状与突触核病、神经变性疾病、神经系统疾病或障碍、心理和/或行为障碍、或脑或全身缺血性障碍或病症相关;(c) 所述病症或障碍是突触核病、神经变性疾病、或神经系统疾病或障碍;(d) 所述病症或障碍是心理和/或行为障碍;或(e) 所述病症或障碍是脑或全身缺血性障碍或病症。

[0080] 在一些实施方案中,(a) 所述突触核病、神经变性疾病、或神经系统疾病或障碍选

自帕金森病、阿尔茨海默病、精神分裂症、多系统萎缩、路易体痴呆、路易体的痴呆、亨廷顿病、多发性硬化症、肌萎缩侧索硬化症、弗里德赖希共济失调、血管性痴呆、脊髓性肌萎缩症、核上性麻痹、进行性核性麻痹、额颞叶痴呆、进行性核性麻痹、瓜德罗普型帕金森症、脊髓小脑性共济失调、帕金森症、创伤性脑损伤、与衰老相关的变性过程、和衰老性痴呆；(b) 所述心理或行为障碍选自抑郁症、自闭症、自闭症谱系障碍、唐氏综合征、戈谢病、克拉伯病、影响鞘糖脂代谢的溶酶体病症、ADHD、激动、焦虑、谵妄、易怒、错觉和妄想、健忘症、冷漠、双相障碍、去抑制、异常运动和强迫性行为、成瘾、大脑性麻痹、癫痫、重度抑郁障碍、以及睡眠障碍，诸如REM睡眠行为障碍(RBD)、睡眠片段化、REM行为障碍、昼夜节律功能障碍、睡眠呼吸暂停、和认知损害；或(c) 所述脑或全身缺血性障碍或病症选自微血管病、分娩时脑缺血、心脏骤停或复苏期间/之后的脑缺血、由于手术中问题引起的脑缺血、颈动脉手术期间的脑缺血、由于脑部供血动脉狭窄引起的慢性脑缺血、窦血栓形成或脑静脉血栓形成、脑血管畸形、糖尿病性视网膜病变、高胆固醇、心肌梗塞、心功能不全、心力衰竭、充血性心力衰竭、心肌炎、心包炎、心包心肌炎、冠心病、心绞痛、先天性心脏病、休克、四肢缺血、肾动脉狭窄、糖尿病性视网膜病变、与疟疾相关的血栓形成、人工心脏瓣膜、贫血、脾功能亢进综合征、肺气肿、肺纤维化、勃起功能障碍、心脏传导缺陷、高血压、低血压、和肺水肿。

[0081] 在另一方面，提供了一种治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的与异常 α -突触核蛋白病理和/或多巴胺能功能障碍相关的脑或全身缺血性障碍和/或相关症状的开始或进展的方法，所述方法包括施用治疗有效量的根据本文任何实施方案的组合物。

[0082] 在一个实施方案中，所述脑或全身缺血性障碍和/或相关症状选自微血管病、分娩时脑缺血、心脏骤停或复苏期间/之后的脑缺血、由于手术中问题引起的脑缺血、颈动脉手术期间的脑缺血、由于脑部供血动脉狭窄引起的慢性脑缺血、窦血栓形成或脑静脉血栓形成、脑血管畸形、糖尿病性视网膜病变、高血压、低血压、高胆固醇、心肌梗塞、心功能不全、心力衰竭、充血性心力衰竭、心肌炎、心包炎、心包心肌炎、冠心病、心绞痛、先天性心脏病、休克、四肢缺血、肾动脉狭窄、糖尿病性视网膜病变、与疟疾相关的血栓形成、人工心脏瓣膜、贫血、脾功能亢进综合征、肺气肿、肺纤维化、勃起功能障碍、心脏传导缺陷(CCD)和/或相关症状、和肺水肿。

[0083] 在一方面，通过了一种抑制受试者的调节性磷酸酶诸如蛋白酪氨酸磷酸酶1B(PTP1B)的方法，所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的根据本文任何实施方案的组合物。本文中详述了被氨基固醇抑制的其他调节性磷酸酶。在一些实施方案中，一种或多种调节性磷酸酶的抑制选自约1%至约10%、约10%至约20%、约20%至约30%、约30%至约40%、约40%至约50%、约50%至约60%、约60%至约70%、约70%至约80%、约80%至约90%和约90%至约100%。

[0084] 在另一方面，提供了一种抑制、预防和/或减缓有需要的受试者的食欲或体重增加和/或一种或多种相关症状的开始或进展的方法，所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的根据本文任何实施方案的组合物。

[0085] 在另一方面，提供了一种增加受试者肠道中基因转录的方法，所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文任何实施方案的氨基固醇化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0086] 在一些实施方案中，所述基因转录的增加是针对选自以下的一种或多种基因：半

胱天冬酶14、XVII型胶原 $\alpha 1$ 、角膜锁链蛋白 (corneodesmosin)、角化蛋白 (cornifelin)、胱抑素 (cystatin) E/M、皮肤因子 (dermokine)、桥粒胶蛋白 (desmocollin) 1、桥粒芯蛋白 (desmoglein) 1 β 、丝聚蛋白、间隙连接蛋白 $\beta 4$ 、间隙连接蛋白 $\beta 6$ 、H19印迹母系表达转录物、角蛋白 (hornerin)、激肽释放酶相关肽酶7糜蛋白酶层、角素1、角素10、角化细胞分化相关蛋白、角化细胞表达的富脯氨酸的晚期角质化包膜1A1、晚期角质化包膜1A2、晚期角质化包膜1B、晚期角质化包膜1C、晚期角质化包膜1E、晚期角质化包膜1F、晚期角质化包膜1G、晚期角质化包膜1H、晚期角质化包膜1I、晚期角质化包膜1J、晚期角质化包膜1L、晚期角质化包膜1M、晚期角质化包膜3C、晚期角质化包膜3E、晚期角质化包膜3F、可溶性半乳糖结合凝集素7、兜甲蛋白、角化包膜前体蛋白 (scieillin)、肌红蛋白、慢型肌球蛋白结合蛋白C、肌球蛋白重多肽1骨骼肌、肌球蛋白重多肽8骨骼肌、肌球蛋白轻链可磷酸化快ske、肌球蛋白轻多肽3、肌原调节蛋白 (myozenin) 1、肌原调节蛋白2、和肌联蛋白-帽 (titin-cap)。

[0087] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括向所述受试者施用一种或多种非氨基固醇化合物,其上调或下调选自以下的一种或多种基因:半胱天冬酶14、XVII型胶原 $\alpha 1$ 、角膜锁链蛋白、角化蛋白、胱抑素E/M、皮肤因子、桥粒胶蛋白1、桥粒芯蛋白1 β 、丝聚蛋白、间隙连接蛋白 $\beta 4$ 、间隙连接蛋白 $\beta 6$ 、H19印迹母系表达转录物、角蛋白、激肽释放酶相关肽酶7糜蛋白酶层、角素1、角素10、角化细胞分化相关蛋白、角化细胞表达的富脯氨酸的晚期角质化包膜1A1、晚期角质化包膜1A2、晚期角质化包膜1B、晚期角质化包膜1C、晚期角质化包膜1E、晚期角质化包膜1F、晚期角质化包膜1G、晚期角质化包膜1H、晚期角质化包膜1I、晚期角质化包膜1J、晚期角质化包膜1L、晚期角质化包膜1M、晚期角质化包膜3C、晚期角质化包膜3E、晚期角质化包膜3F、可溶性半乳糖结合凝集素7、兜甲蛋白、角化包膜前体蛋白、肌红蛋白、慢型肌球蛋白结合蛋白C、肌球蛋白重多肽1骨骼肌、肌球蛋白重多肽8骨骼肌、肌球蛋白轻链可磷酸化快ske、肌球蛋白轻多肽3、肌原调节蛋白1、肌原调节蛋白2、和肌联蛋白-帽。非氨基固醇化合物可以是本领域已知调节上述任何基因的任何化合物。

[0088] 在一些实施方案中,所述基因转录的增加选自约1%至约10%、约10%至约20%、约20%至约30%、约30%至约40%、约40%至约50%、约50%至约60%、约60%至约70%、约70%至约80%、约80%至约90%、约90%至约100%、约100%至约125%、约125%至约150%、约150%至约175%、约175%至约200%、约200%至约250%、约250%至约300%、约300%至约350%、约350%至约400%、约400%至约450%、约500%至约600%、约600%至约700%、约700%至约800%、约800%至约900%、约900%至约1000%、或约1000%至约1500%。例如,可以通过定性或定量测量与相关基因的转录相关的蛋白质的表达的增加或使用临床上认可的量表或工具来测量基因转录的增加。

[0089] 在一方面,涵盖了抑制一种或多种调节性磷酸酶以实现治疗性或预防性益处的方法,所述方法包括施用治疗有效量的氨基固醇化合物或包含其的组合物,如本文所述。

[0090] 在一些实施方案中,所述施用方法包括口服、经鼻、肺部、舌下、经颊、直肠、阴道、静脉内、动脉内、皮内、腹膜内、鞘内、肌肉内、硬膜外、大脑内、脑室内、透皮或其任何组合。在一些实施方案中,所述施用方法是经鼻施用、口服施用或其组合。

[0091] 在一些实施方案中,治疗有效量的氨基固醇化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物包括: (a) 约0.1至约20mg/kg所述受试者体重; (b) 约0.1至约15mg/kg所述受试者体重; (c) 约0.1至约10mg/kg所述受试者体重; (d) 约0.1至约5mg/kg所述受试者体

重;或(e)约0.1至约2.5mg/kg所述受试者体重。

[0092] 在一些实施方案中,治疗有效量的氨基固醇化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物包括:(a)约0.001至约500mg/天;(b)约0.001至约250mg/天;(c)约0.001至约125mg/天;(d)约0.001至约50mg/天;(e)约0.001至约25mg/天;(f)约0.001至约10mg/天;(g)约0.001至约6mg/天;(h)约0.001至约4mg/天;或(i)约0.001至约2mg/天。

[0093] 在一些实施方案中,施用方法包括口服施用,并且治疗有效量的氨基固醇化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物包括:(a)约1至约300mg/天;或(b)约25至约500mg/天。

[0094] 在一些实施方案中,将所述氨基固醇化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物与至少一种另外的活性剂组合施用以实现加性或协同作用。在一些实施方案中,所述另外的活性剂通过选自以下的方法施用:(a)附随地;(b)作为混合物;(c)单独地且同时地或并行地;和(d)单独地且顺序地。在一些实施方案中,所述另外的活性剂是第二氨基固醇,所述第二氨基固醇具有与本文任何实施方案中施用的氨基固醇不同的结构。

[0095] 在一些实施方案中,所述组合物的施用包括空腹施用,任选地在所述受试者醒来后两小时内施用。在一些实施方案中,在自所述组合物的施用起约60至约90分钟后,所述受试者不食用食物。

[0096] 在一些实施方案中,所述氨基固醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物是药学上可接受的等级的。在一些实施方案中,施用所述氨基固醇的磷酸盐。在一些实施方案中,受试者是人。

[0097] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括(a)确定用于所述受试者的所述氨基固醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物的剂量,其中所述氨基固醇的剂量是基于所述氨基固醇的剂量在改善或消退所评价的症状方面的有效性确定的,(b)然后向所述受试者施用包含所述剂量的所述氨基固醇的组合物持续一定时间段,其中所述方法包括:(i)鉴定待评价症状,其中所述症状易感于氨基固醇治疗;(ii)鉴定对于所述受试者的其氨基固醇起始剂量;(iii)在一定时间段内向所述受试者施用递增剂量的所述氨基固醇直到鉴定出对于所评价的症状的有效剂量,其中所述有效剂量是观察到所述症状改善或消退的氨基固醇剂量,并且针对所述特定受试者的所述特定症状将所述氨基固醇剂量固定在所述水平。在一些实施方案中,使用临床上认可的量表或工具测量所述症状的改善或消退。

[0098] 在一些实施方案中,所述组合物口服施用并且:(a)所述起始氨基固醇剂量的范围为从约10mg至约150mg/天;(b)递增后针对所述受试者的所述氨基固醇剂量固定在从约25mg至约500mg/天的范围内;和/或(c)所述氨基固醇或其盐或衍生物的剂量以约25mg的增量递增。

[0099] 在一些实施方案中,所述组合物鼻内施用并且:(a)所述起始氨基固醇剂量的范围为从约0.001mg至约3mg/天;(b)递增后针对所述受试者的所述氨基固醇剂量固定在从约0.001mg直至约6mg/天;(c)递增后针对所述受试者的氨基固醇剂量是当口服或注射给药时亚治疗性的剂量;和/或(c)所述氨基固醇的剂量以约0.1、约0.2、约0.25、约0.3、约0.35、约0.4、约0.45、约0.5、约0.55、约0.6、约0.65、约0.7、约0.75、约0.8、约0.85、约0.9、约0.95、约1、约1.1、约1.2、约1.3、约1.4、约1.5、约1.6、约1.7、约1.8、约1.9或约2mg的增量递增。

[0100] 在一些实施方案中,所述氨基固醇的剂量每约3至约5天递增。在一些实施方案中,

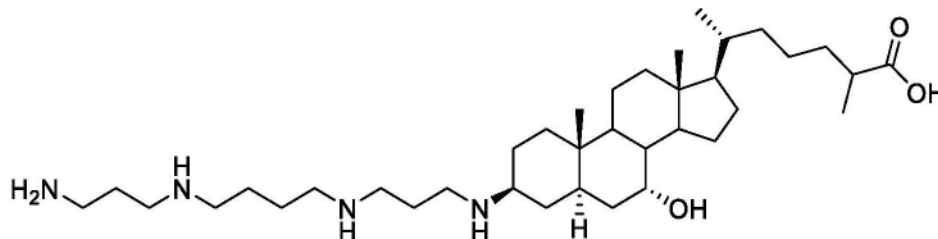
如果所评价的症状严重,则所述起始氨基固醇剂量较高。

[0101] 在一些实施方案中,所述症状与异常 α -突触核蛋白病理和/或多巴胺能功能障碍相关。在一些实施方案中,所述待评价症状选自:(a)选自以下的如由统一帕金森病评定量表(Unified Parkinson's Disease Rating Scale)的第I部分所定义的日常生活体验的至少一个非运动方面:认知损害、幻觉和精神病、抑郁情绪、焦虑心境、冷漠、多巴胺失调综合征的特征、睡眠问题、日间嗜睡、疼痛、泌尿问题、便秘问题、站立时头晕、和疲劳;(b)选自以下的如由统一帕金森病评定量表的第II部分所定义的日常生活体验的至少一个运动方面:言语、唾液和流口水、咀嚼和吞咽、进食任务、穿衣、卫生、手写、在床上翻身、颤抖、从床、汽车或深椅子上下来、行走和平衡、和僵滞;(c)选自以下的统一帕金森病评定量表的第III部分中鉴定的至少一种运动症状:言语、面部表情、僵硬、手指敲击、手部运动、手的旋前-旋后运动、脚趾敲击、腿敏捷性、从椅子上起身、步态、步态僵滞、姿势稳定性、姿势、身体动作迟缓、手的姿势性震颤、手的运动性震颤、静止性震颤幅度、和静止性震颤的持续性;(d)选自以下的统一帕金森病评定量表第IV部分中鉴定的至少一种运动并发症:异动症存在的时间、异动症的功能性影响、处于关态的时间、波动的功能性影响、运动波动的复杂性、和疼痛的关态肌张力障碍;(e)便秘;(f)抑郁症;(g)认知损害;(h)睡眠问题或睡眠紊乱;(i)昼夜节律功能障碍;(j)幻觉;(k)疲劳;(l)REM紊乱睡眠;(m)REM行为障碍;(n)勃起功能障碍;(o)呼吸暂停;(p)姿势性低血压;(q)血压或直立性低血压的矫正;(r)夜间高血压;(s)温度调节;(t)呼吸或呼吸暂停的改善;(u)心脏传导缺陷的矫正;(v)疼痛的改善;(w)恢复膀胱感觉和排尿;(x)尿失禁;和/或(y)夜尿症的控制。

[0102] 在一些实施方案中,所述待评价症状是便秘,并且其中:(a)对于便秘的固定递增氨基固醇剂量定义为在给定剂量下在3天中的至少2天给药24小时内导致完全自发排便(CSBM)的氨基固醇剂量;(b)如果平均完全自发排便(CSBM)或平均自发排便(SBM)大于或等于1次/周,则递增前的起始氨基固醇剂量是75mg/天;和/或(c)如果平均CSBM或SBM少于1次/周,则递增前的起始氨基固醇剂量是150mg/天。

[0103] 在一方面,提供了一种制造具有下式的氨基固醇的方法:

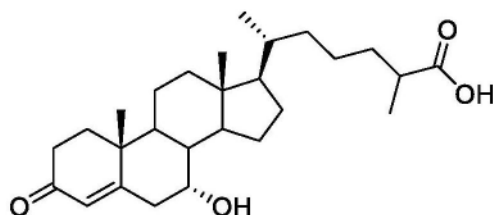
[0104]



[0105] ENT-03 (化合物III),

[0106] 所述方法包括刺激精胺向化合物Ia上的添加:

[0107]

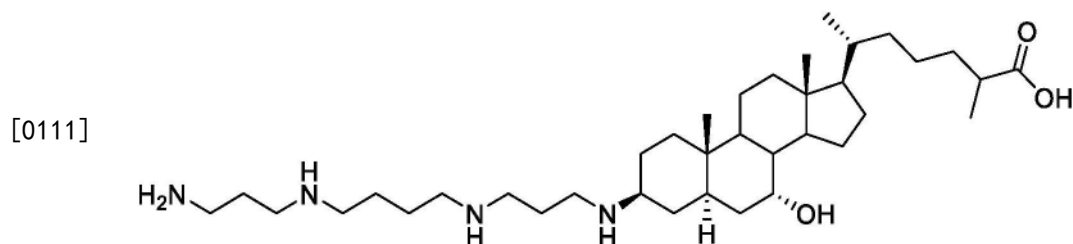


[0108] 化合物Ia。

[0109] 在一些实施方案中,(a)所述氨基固醇在受试者体内产生;或(b)所述氨基固醇在

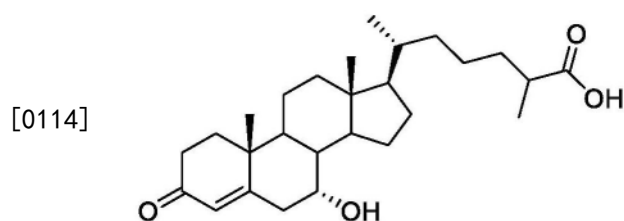
体外产生。

[0110] 在另一方面,提供了一种抑制下式的氨基固醇的形成的方法:



[0112] ENT-03 (化合物III),

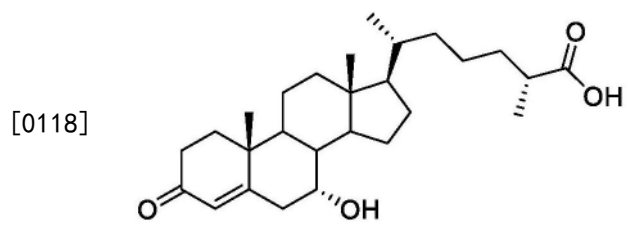
[0113] 所述方法包括抑制精胺向化合物Ia上的添加:



[0115] 化合物Ia。

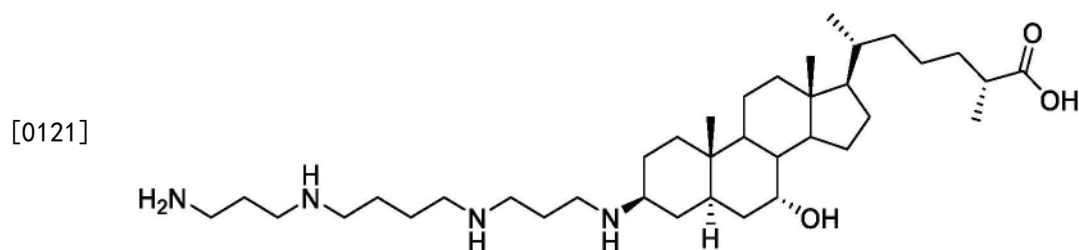
[0116] 在一些实施方案中, (a) 在受试者体内抑制精胺向化合物Ia上的添加; 或 (b) 在体外抑制精胺向化合物Ia上的添加。

[0117] 在一些实施方案中, 化合物Ia具有下式:



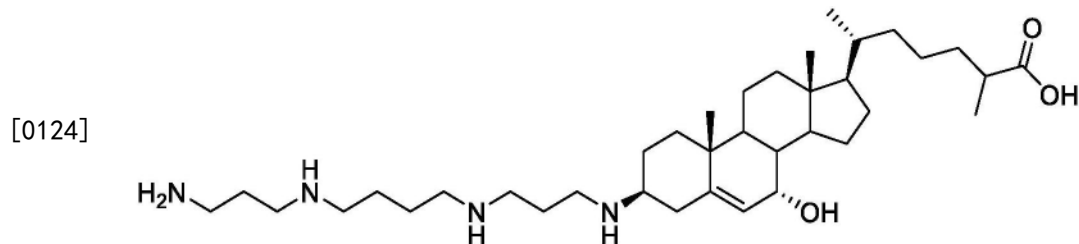
[0119] ENT-01 (化合物I) :

[0120] 并且ENT-03(化合物III)具有下式:



[0122] C₂₅(R)ENT-03 (C₂₅(R)化合物III)。

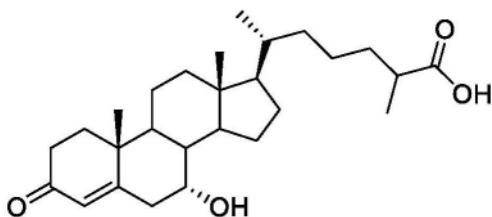
[0123] 在另一方面,提供了一种制造具有下式的氨基固醇的方法:



[0125] 化合物IV,

[0126] 所述方法包括刺激精胺向化合物Ia上的添加:

[0127]

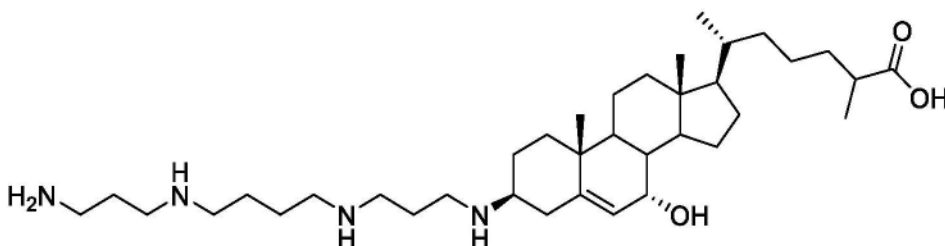


[0128] 化合物Ia。

[0129] 在一些实施方案中, (a) 所述氨基固醇在受试者体内产生; 或 (b) 所述氨基固醇在体外产生。

[0130] 在另一方面, 提供了一种抑制下式的氨基固醇的形成的方法:

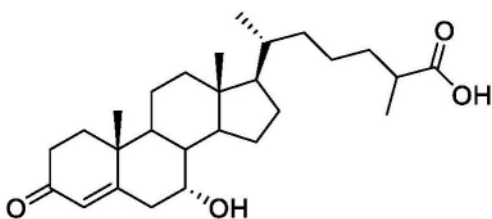
[0131]



[0132] 化合物IV,

[0133] 所述方法包括抑制精胺向化合物Ia上的添加:

[0134]

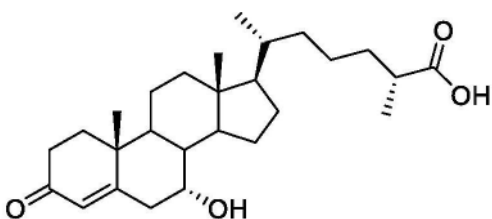


[0135] 化合物Ia。

[0136] 在一些实施方案中, (a) 在受试者体内抑制精胺向化合物Ia上的添加; 或 (b) 在体外抑制精胺向化合物Ia上的添加。

[0137] 在一些实施方案中, 化合物Ia具有下式:

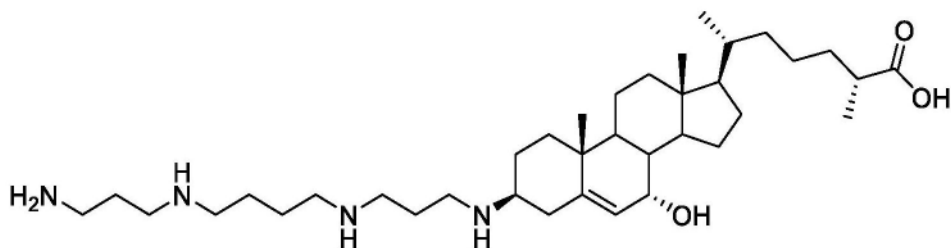
[0138]



[0139] (化合物I; ENT-01),

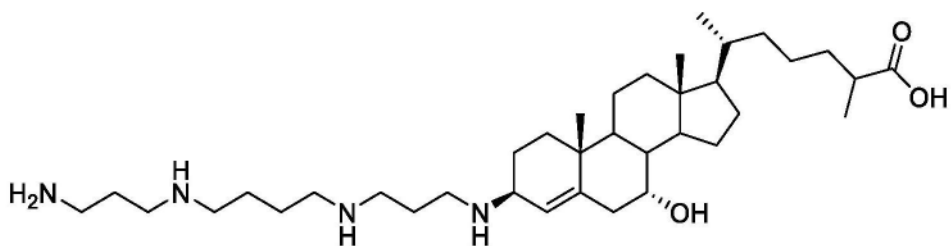
[0140] 并且化合物IV具有下式:

[0141]

[0142] (C₂₅ (R) 化合物IV)。

[0143] 在另一方面,提供了一种产生具有下式的氨基固醇的方法:

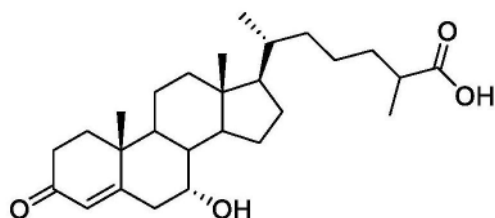
[0144]



[0145] 化合物V,

[0146] 所述方法包括刺激精胺向化合物Ia上的添加:

[0147]

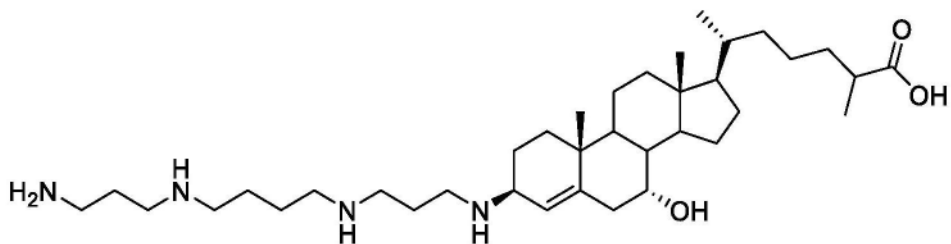


[0148] 化合物Ia。

[0149] 在一些实施方案中, (a) 所述氨基固醇在受试者体内产生; 或 (b) 所述氨基固醇在体外产生。

[0150] 在另一方面,提供了一种抑制下式的氨基固醇的形成的方法:

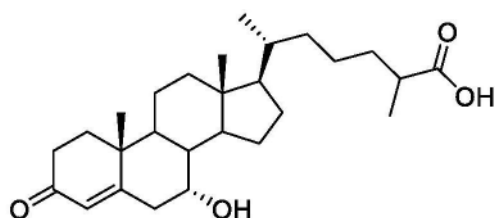
[0151]



[0152] 化合物V,

[0153] 所述方法包括抑制精胺向化合物Ia上的添加:

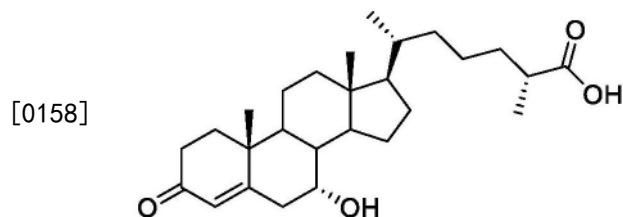
[0154]



[0155] 化合物Ia。

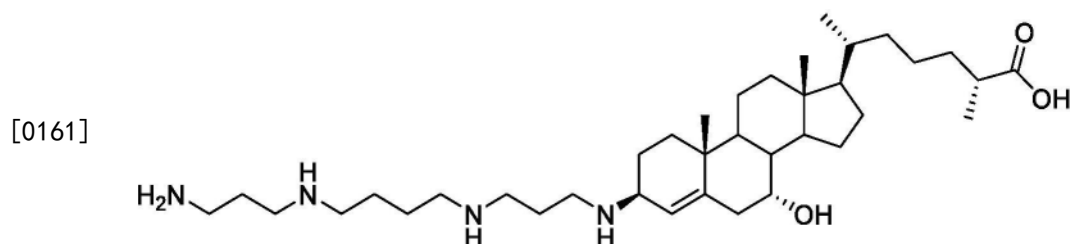
[0156] 在一些实施方案中, (a) 在受试者体内抑制精胺向化合物Ia上的添加; 或 (b) 在体外抑制精胺向化合物Ia上的添加。

[0157] 在一些实施方案中,化合物Ia具有下式:



[0159] 化合物I; ENT-01,

[0160] 并且化合物V具有下式:



[0162] C_{25} (R) 化合物V。

[0163] 前述发明内容以及以下附图说明和具体实施方式两者都是示例性和说明性的。它们旨在提供本公开文本的进一步细节,但不应解释为是限制性的。从以下具体实施方式中本领域技术人员将清楚本公开文本的其他目的、优点和新颖特征。

附图说明

[0164] 图1A和图1B示出了施用ENT-02 (MSI-1436) (圆圈) 或ENT-03 (化合物III; 方块) 的小鼠的随时间的体重减轻百分比。图1C示出了在6周内每周一次向C57b1/6雄性小鼠腹膜内施用ENT-03导致剂量依赖性体重减轻。

[0165] 图2示出了对生长小鼠施用ENT-03 (化合物III) 和ENT-02 (MSI-1436) 的结果。虽然这两种化合物都影响体重增加,但ENT-02具有更明显的作用,抑制了生长并且诱导了身体脂肪的消耗。相比之下,用ENT-03处理的动物继续正常生长,尽管它们“消瘦”,这表明ENT-03重新建立了新的最佳体重“设定点”。

[0166] 图3示出了胃粘膜层的图像,其示出了与较年轻的20周龄胃 (图3A) 相比,78周龄胃 (图3B) 的粘膜层减少。

[0167] 图4示出了测试的三种氨基固醇ENT-02 (MSI-1436)、ENT-03 (化合物III) 和D-1436 (图4A) 以及根据实施例1的对照PTP1B抑制剂 (图4B) 抑制PTP1B的 IC_{50} 曲线。

[0168] 图5A-H示出了ENT-03对PTP1B的抑制改善了hAPP-J20 (图5A-5D) 和PS19 (图5E-5H) 小鼠的认知损害。

[0169] 图6A-6C示出了火山图,其示出了在以下三种对比中显著性 (作为负 $\log_{10}$ 转换的FDR调节的p值) 与差异表达基因的幅度 ($\log_2$ 转换的倍数变化) 的关系: (图6A) 年老小鼠对比年轻小鼠, (图6C) ENT-03处理的年老小鼠对比媒介物处理的年老小鼠, (图6B) ENT-03处理的年轻小鼠对比媒介物处理的年轻小鼠。被鉴定为在组间具有不同水平的基因表示为红色 (上调) 或蓝色 (下调) 点,并且非显著基因表示为黑点。水平红线表示应用的p-值阈值。

[0170] 图7A和图7B示出了对于ENT-03而言老年人脑提取物的LC/MS/MS分析的色谱图。图7A是脑提取物的色谱图,并且图7B是合成ENT-03的质量控制样品。

[0171] 图8A和图8B示出了小鼠幼崽脑提取物(图8A)和肝脏提取物(图8B)的LC/MS/MS分析的色谱图。

[0172] 图9示出了在生命的前3周内,在新生小鼠的脑部和肝脏中测量的ENT-03的近似浓度。

[0173] 图10示出了用ENT-03或对照处理的年轻和年老小鼠的空肠(图10A-10D)或回肠(图10D-10F)的基因表达谱。

[0174] 图11示出了一组热图,研究了对比之间差异表达基因的重叠。图中的值表示特定对比之间相交的差异表达基因的数量(调节的 p -值 <0.05)。方块的颜色表示对于 x 轴和 y 轴上的对比的雅卡尔(Jaccard)指数(基因的交集和并集的商):(图11A)在两个方向上的差异表达基因,(图11B)上调基因,(图11C)下调基因,以及(图11D)在一种对比中上调和在另一种对比中下调的基因。注意,灰色方块中的数字表示特定对比的所选差异表达基因的总数。

[0175] 图12示出了与施用氘代形式的ENT-03(ENT-03D₃)相比在施用ENT-03后小鼠体重增加的结果。

[0176] 图13A和图13B示出了在4日龄小鼠脑提取物中ENT-03的代表性色谱图。图13A:MRM 619.6/545.5,上图迹线:提取物中的内源性ENT-03;MRM 623.6/549.5下图迹线:提取物+2.2ng ENT-03-d₄/克脑组织;图13B:MRM 619.6/474.5,上图迹线:提取物中的内源性ENT-03;MRM 623.6/478.5下图迹线:提取物+2.2ng ENT-03-d₄/克脑组织。

[0177] 图14示出了图,其表示每3天通过口服强饲施用不同剂量或媒介物的ENT-03的雄性C57b16/j(N=5/组)小鼠的体重减轻结果。

[0178] 图15示出了在衰老方面下调和由ENT-03上调的转录物的维恩(Venn)图。图示出了两组转录物之间重叠和非重叠的差异表达基因的数量,与在年轻小鼠中相比,所述基因在年老小鼠中下调,并且与对照相比在处理上调。示出了来自ENT-02(MSI-1436)和ENT-03的处理的特征数量。

[0179] 图16示出了比较了ENT-02(MSI-1436)对对照(年轻)中与ENT-03对未处理(年轻)中的显著基因的散点图。基因由点表示。点的颜色指示基因被分配到哪个集合。对于每个基因,示出了ENT-02(MSI-1436)与对照(年轻)对比(y 轴)中的 $\log_2$ (倍数变化)以及ENT-03与未处理(年轻)对比(x 轴)中的 $\log_2$ (倍数变化)。

[0180] 图17示出了根据实施例12的显著基因的upset图。图示出了上调基因集合与下调基因集合之间的交互。最左边的条形图示出了用作输入每个集合的大小。顶部的条形图示出了每个集合的独有大小(即,在此条形图中每个基因只计算一次)。中心的点图示出了在每种情况下交互的集合。

[0181] 图18A-18E:图18A:MSI-1436(氨基固醇1436)对对照(年轻)中与ENT-03对未处理(年轻)中的重叠基因的维恩图-全对全。图18B示出了MSI-1436对对照(年轻)中与ENT-03对未处理(年轻)中的重叠基因的维恩图-上对上。图18C示出了MSI-1436对对照(年轻)中与ENT-03对未处理(年轻)中的重叠基因的维恩图-下对下。图18D示出了MSI-1436对对照(年轻)中与ENT-03对未处理(年轻)中的重叠基因的维恩图-上对下。图18E示出了MSI-1436对对照(年轻)中与ENT-03对未处理(年轻)中的重叠基因的维恩图-下对上。

[0182] 图19示出了比较了MSI-1436(氨基固醇1436)对对照(年老)中与ENT-03对未处理

(年老)中的显著基因的散点图。基因由点表示。点的颜色指示基因被分配到哪个集合。对于每个基因,示出了MSI-1436与对照(年老)对比(y轴)中的 $\log_2$ (倍数变化)以及ENT-03与未处理(年老)对比(x轴)中的 $\log_2$ (倍数变化)。

[0183] 图20示出了根据实施例12的显著基因的Upset图。图示出了上调基因集合与下调基因集合之间的交互。最左边的条形图示出了用作输入的大小。顶部的条形图示出了每个集合的独有大小(即,在此条形图中每个基因只计算一次)。中心的点图示出了在每种情况下交互的集合。

[0184] 图21A-21E:图21A示出了ENT-02(MSI-1436)对对照(年老)中与ENT-03对未处理(年老)中的重叠基因的维恩图-全对全。图21B示出了ENT-02(MSI-1436)对对照(年老)中与ENT-03对未处理(年老)中的重叠基因的维恩图-上对上。图21C示出了ENT-02(MSI-1436)对对照(年老)中与ENT-03对未处理(年老)中的重叠基因的维恩图-下对下。图21D示出了ENT-02(MSI-1436)对对照(年老)中与ENT-03对未处理(年老)中的重叠基因的维恩图-上对下。图21E示出了ENT-02(MSI-1436)对对照(年老)中与ENT-03对未处理(年老)中的重叠基因的维恩图-下对上。

[0185] 图22示出了比较了年老对年轻(对照)中与年老对年轻(未处理)中的显著基因的散点图。基因由点表示。点的颜色指示基因被分配到哪个集合。对于每个基因,示出了年老与年轻(对照)对比(y轴)中的 $\log_2$ (倍数变化)以及年老与年轻(未处理)对比(x轴)中的 $\log_2$ (倍数变化)。

[0186] 图23示出了根据实施例12的显著基因的Upset图。图示出了上调基因集合与下调基因集合之间的交互。最左边的条形图示出了用作输入的大小。顶部的条形图示出了每个集合的独有大小(即,在此条形图中每个基因只计算一次)。中心的点图示出了在每种情况下交互的集合。

[0187] 图24A-24E:图24A示出了年老对年轻(对照)中与年老对年轻(未处理)中的重叠基因的维恩图-全对全。图24B示出了年老对年轻(对照)中与年老对年轻(未处理)中的重叠基因的维恩图-上对上。图24C示出了年老对年轻(对照)中与年老对年轻(未处理)中的重叠基因的维恩图-下对下。图24D示出了年老对年轻(对照)中与年老对年轻(未处理)中的重叠基因的维恩图-上对下。图24E示出了年老对年轻(对照)中与年老对年轻(未处理)中的重叠基因的维恩图-下对上。

[0188] 图25示出了比较了年老对年轻(ENT-02;MSI-1436)中与年老对年轻(ENT-03)中的显著基因的散点图。基因由点表示。点的颜色指示基因被分配到哪个集合。对于每个基因,示出了年老与年轻(ENT-02;MSI-1436)对比(y轴)中的 $\log_2$ (倍数变化)以及年老与年轻(ENT-03)对比(x轴)中的 $\log_2$ (倍数变化)。

[0189] 图26示出了根据实施例12的显著基因的Upset图。图示出了上调基因集合与下调基因集合之间的交互。最左边的条形图示出了用作输入的大小。顶部的条形图示出了每个集合的独有大小(即,在此条形图中每个基因只计算一次)。中心的点图示出了在每种情况下交互的集合。

[0190] 图27A-27E:图27A示出了年老对年轻(MSI-1436)中与年老对年轻(ENT-03)中的重叠基因的维恩图-全对全。图27B示出了年老对年轻(MSI-1436)中与年老对年轻(ENT-03)中的重叠基因的维恩图-上对上。图27C示出了年老对年轻(MSI-1436)中与年老对年轻(ENT-

03) 中的重叠基因的维恩图-下对下。图27D示出了年老对年轻 (MSI-1436) 中与年老对年轻 (ENT-03) 中的重叠基因的维恩图-上对下。图27E示出了年老对年轻 (MSI-1436) 中与年老对年轻 (ENT-03) 中的重叠基因的维恩图-下对上。

[0191] 图28:对比之间的重叠的热图:示出了所执行的对比之间重叠的选定基因的数量。注意,对角线上的数字表示对于每个对比找到的选定基因的总数。方块的颜色表示对于x轴上的对比与y轴上的对比的雅卡尔指数(交集比并集)。图28A:对于各对比,上调和下调(y轴)与上调和下调(x轴)选定基因的重叠热图。图28B:对于各对比,上调(y轴)与上调(x轴)选定基因的重叠热图。图28C:对于各对比,下调(y轴)与下调(x轴)选定基因的重叠热图。图28D:对于各对比,上调(y轴)与下调(x轴)选定基因的重叠热图。

具体实施方式

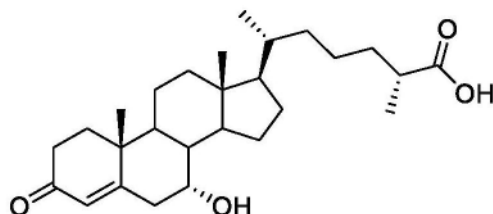
[0192] I. 概述

[0193] 氨基固醇的药理活性需要高度特异性的化学结构,这表明鲨鱼分子被存在的生理回路利用,以适应由哺乳动物制造的类似化合物。迄今为止,尚未发现此类化合物,甚至没有假设存在。本公开文本提供了此类化合物、其修饰形式以及其使用方法。因此,在一些实施方案中,本技术涉及化合物III或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物;制备此类化合物的方法;包含一种或多种化合物III或其衍生物的组合物;以及其使用相同。

[0194] A. 本公开文本的化合物的概述

[0195] 自1980年代以来已知的是,可以在特定情况下从人体中分离出具有特定化学结构的3-氧代胆烯酸。特别地,从慢性硬膜下血肿中抽取的液体显示含有高浓度的胆汁酸化合物I,其功能未知。

[0196]



[0197] 化合物I

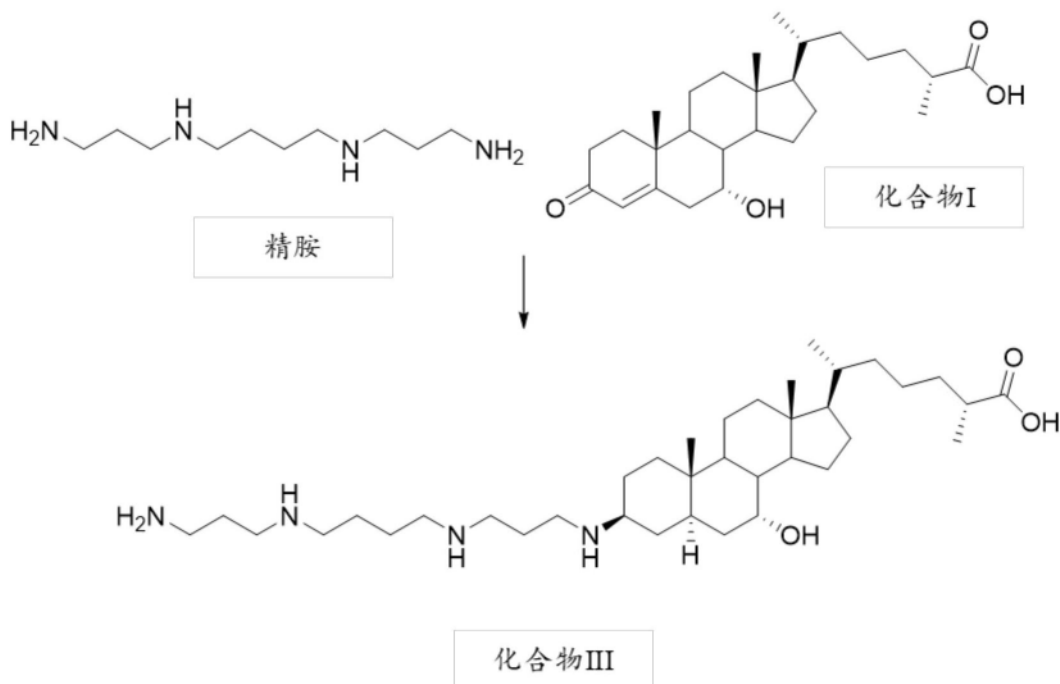
[0198] (在人类中检测到)

[0199] 后来,这种同样的化合物发现在蛛网膜下腔出血后还以高浓度存在于脑脊髓液(CSF)中并且以低浓度存在于健康成年人的CSF中。在新生儿健康人类的羊水和尿液两者中也发现了化合物I,其在C₁₂位带有羟基。化合物I及其相关代谢变体的功能仍然是一个谜。它似乎是由次要胆汁酸通路产生的,所述通路首先将胆固醇转化为27-羟基胆固醇并且然后转化为化合物I。这种次要通路的作用仍然未知并且负责人类产生的约5%的胆汁酸。据信,这种“酸性”通路的产物在脂肪乳化中没有发挥显著作用,脂肪乳化是胆汁酸在人类生理学中的主要功能。

[0200] 尽管不相同,但化合物I的结构让人想起角鲨属(Squalus)氨基固醇,包括本文所示和讨论的那些。由于A环与B环之间强加的空间约束,两种类固醇支架基本上都是平坦的。在化合物I的情况下,4-烯双键赋予平坦度。在鲨鱼分子中,平坦度是由5- α 氢强加的。化合物I的羧基部分的空间定位类似于鲨鱼分子的C₂₄上的硫酸酯,其中两种结构均在空间中相

对于类固醇支架的相同一般位置上呈现负电荷。基于此空间定位, ENT-03 (化合物III) 通过将多胺 (精胺) 与化合物I 偶联而合成, 如下所示。

[0201] 如实施例中详述的, 申请人发现 ENT-03 (化合物III) 存在于人和小鼠幼崽脑中的硬膜下血肿液中。化合物III 可以通过精胺和化合物I 的缩合而在脑部中合成。化合物I 被认为来自 27-羟基胆固醇 (也称为 (25R) 26-二羟基胆固醇) 的代谢, 这是一种从许多组织 (包括血管内皮和巨噬细胞) 释放到循环中的生物活性氧固醇 (Griffiths 等人, 2019; Bjorkhem 等人, 2002; Javitt 等人, 2002)。在脑部中, 27-羟基胆固醇经受被 CYP27A1、CYP7B1 和 HSD-3B7 的连续代谢, 可能以该顺序进行 (Meaney 等人, 2007)。Ent-03 (化合物III) 的合成将需要三个另外的生物合成步骤: 还原胆固醇 A 环中的双键以产生 5 α 氢; 精胺与 3-氧代基团缩合形成亚胺; 以及随后的亚胺还原。第一步可能由脑类固醇 5 α -还原酶催化 (Celotti 等人, 1992)。缺少的生物合成环节是将精胺与胆汁酸偶联的酶。



[0203] ENT-03 (化合物III) 含有 5- α 氢, 提供了与诸如化合物I 的 4-烯相比更大的化学稳定性。与鲨鱼来源的 ENT-02 一样, ENT-03 (化合物III) 在动物模型中减少食物摄入并且促进体重减轻, 如下文所讨论并且由以下实施例证明。通过确认 ENT-03 (化合物III; 3- β -精胺-7 α -羟基-5 α -胆甾烷酸) 具有与鲨鱼来源的 ENT-02 (MSI-1436) 相关的相同药理活性, ENT-03 (化合物III) 在 ENT-02 以及其他氨基固醇已知有用的其他应用中的有用性可以得到验证。

[0204] ENT-03 含有 5 α 氢而不是 4-烯, 因为前者的化学稳定性大于后者。由于 ENT-02 上的 C24 硫酸化羟基在 ENT-03 中被 C27 羧酸替代, ENT-03 将以所有胆汁酸共有的方式进行代谢, 即通过胆固醇侧链的逐步裂解。药理学差异可能部分是由于两种化合物的代谢处理的差异。

[0205] ENT-03 (化合物III) 在实施例1中也显示为蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B) 抑制剂。PTP1B 是治疗 2 型糖尿病和肥胖症两者的有效靶标; 然而, 由于高度保守且带正电荷的活性位点口袋, 对于药物发现而言靶向 PTP1B 具有挑战性。PTP1B 是胰岛素和瘦素信号传导的负调节因子, 并且对于糖尿病和肥胖症而言是高度验证的治疗靶标。常规的药物开发方法已

经产生了有效力且特异性的PTP1B抑制剂,但先前的出版物已报道这些抑制剂缺乏口服生物利用度,“这限制了它们的药物开发潜力”,因为据信药物必须被吸收到血液中才能产生药理作用(Krishnan等人,2018)。

[0206] 如实施例2中进一步描述的,已经显示ENT-03和曲度奎明具有相似的药理活性,在诸如阿尔茨海默病的病症中的治疗性作用,并且逆转胃肠道的老化表型。

[0207] B. ENT-03 (化合物III) 抑制食欲

[0208] 本公开文本的实施例2证明ENT-03 (化合物III) 与鲨鱼来源的ENT-02 (MSI-1436) 共享抑制食欲和促进体重减轻的特性。虽然食欲抑制本身是氨基固醇的效用,但据信ENT-03 (化合物III) 也可以具有鲨鱼来源的氨基固醇最近显示具有的对抗脑肠障碍的相同功效(数据未示出;参见例如,ClinicalTrials.gov Identifier NCT03047629 for “Evaluation of Safety and Tolerability of ENT-01 for the Treatment of Parkinson’s Disease Related Constipation (RASMET)” ;和ClinicalTrials.gov Identifier NCT03781791 for “Orally Administered ENT-01 for Parkinson’s Disease-Related Constipation (KARMET)”)。ENT-01是一种角鲨胺磷酸盐。此外,ENT-03 (化合物III) 及其衍生物的活性可以扩展到由 α S病理和/或多巴胺功能障碍标志的多种病症,如本文详述。

[0209] 肥胖症被定义为30.0或更高的身体质量指数(BMI),而25.0至<30被定义为超重范围。BMI提供将人的质量(以kg计)除以以米计的身高的平方来计算。促成肥胖症的因素包括不良饮食(高热量)、久坐不动的生活方式、睡眠不足、遗传、衰老和怀孕。少于5%的成年人每天参加30分钟的身体活动并且每天只有三分之一的儿童进行身体活动。各种医疗状况也可能通过引起体重增加和过度饥饿或食物消耗而导致肥胖症。最后,多于5%的人口可能患有食物成瘾。

[0210] 与体重增加或肥胖症相关的死亡率通常是由体重过重引起的继发性病症的结果。这些病症包括脂肪肝病、2型糖尿病、心脏病、中风、高血压、胆囊疾病、痛风、睡眠呼吸暂停、骨关节炎、高LDL胆固醇、低HDL胆固醇、高水平的甘油三酯(血脂异常)、子宫内膜癌、乳腺癌、结肠癌、肾癌、胆囊癌和肝癌。肥胖症还导致关节损害和骨关节炎。脂肪含量增加也被认为会促进炎症并且进一步损害关节。

[0211] 鲨鱼来源的ENT-02 (MSI-1436) 已知具有药理活性,导致食欲抑制和减轻体重。下面的实施例显示ENT-03 (化合物III) 也表现出同样的活性(实施例2)。下面的实施例还显示与鲨鱼来源的ENT-02 (MSI-1436) 一样,ENT-03 (化合物III) 是调节性磷酸酶诸如蛋白酪氨酸磷酸酶1B (PTP1B) 的抑制剂(实施例1)。由于ENT-03 (化合物III) 和鲨鱼来源的ENT-02共享相同的食欲抑制和体重减轻促进特性并且具有有可能共享药效团的相似化学结构,因此据信ENT-03 (化合物III) 及其衍生物可用于治疗已知其他氨基固醇有用的适应症。

[0212] C. ENT-02 (MSI-1436或氨基固醇1436) 和疾病

[0213] 不受理论束缚,据信氨基固醇通过靶向胃肠道中的 α -突触核蛋白(α S)的神经毒性聚集体而发挥作用以恢复肠神经细胞的功能,从而治疗和/或预防本文所述的脑肠障碍。基于这种理论,使用角鲨胺治疗帕金森病的几项临床试验正在进行或完成。参见例如,(1) ClinicalTrials.gov标识符:NCT03047629, “A Multi-Center, Single-Dose, Multiple-Dose, Double-Blind, Placebo-Controlled Study to Evaluate Safety, Tolerability, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Orally Administered ENT-01 for the

Treatment of Parkinson's Disease Related Constipation",有50名参与者(研究于2018年6月14日完成);(2)ClinicalTrials.gov标识符:NCT03781791,“A Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multiple Dose Study to Evaluate Safety, Tolerability and Efficacy of Orally Administered ENT-01 for the Treatment of Parkinson's Disease-Related Constipation (KARMET)”,有72名参与者(估计研究完成日期为2019年6月);和(3)ClinicalTrials.gov标识符:NCT03938922,“A Multicenter, Randomized, Double Blind Study to Evaluate Tolerability and Efficacy of Orally Administered ENT-01 for the Treatment of Parkinson's Disease Dementia”,目标为40名参与者(估计研究开始日期为2019年6月3日,并且估计研究完成日期为2020年2月)。

[0214] 鉴于氨基固醇具有非常低的生物利用度,例如,ENT-02和ENT-03似乎在局部起作用而不是通过吸收到血流中,氨基固醇的这种作用是非常出乎意料的。现在具有功能的肠神经细胞会防止蛋白质(诸如 α S)逆行运输到脑部。除了恢复GI功能,这种作用被认为会减缓并且可能地逆转脑肠障碍诸如帕金森病(PD)以及如本文所述的其他相关脑肠疾病和病症的疾病进展。

[0215] 靶向胃肠道中 α S的神经毒性聚集体的策略表示治疗脑肠障碍诸如PD以及本文所述的其他神经疾病和病症的新方法,并且其可以恢复肠神经细胞的功能并且防止逆行运输到脑部。除了恢复胃肠功能外,此类活动可能潜在地减缓脑肠疾病的进展。因此,但不受理论束缚,本文所述的使用新型ENT-03(化合物III)或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物以及包含其的组合物的方法预期适用于治疗和/或预防本文所述的任何所述脑肠疾病和症状。

[0216] PD与肠神经系统(ENS)中毒性 α -突触核蛋白(α S)聚集体的形成相关(Braak等人2003(a); Braak等人2003(b))。 α S是可溶性蛋白(α S、 β -突触核蛋白和 γ -突触核蛋白)突触核蛋白家族的成员,所述可溶性蛋白通常存在于脊椎动物中枢神经系统(CNS)。 α S在新皮质、海马、黑质、丘脑和小脑中表达,主要位置在神经元的突触前末端内,呈膜结合形式和胞质游离形式两者。突触前末端从称为突触小泡的隔室中释放出称为神经递质的化学信使。神经递质的释放在神经元之间传递信号并且对正常的脑功能至关重要。 α S可以在神经胶质细胞和黑素细胞中看到,并且在嗅球、海马、纹状体和丘脑的神经元线粒体中高度表达。

[0217] α S在以路易体为特征的病理病症(诸如PD、路易体的痴呆(DLB)和多系统萎缩(MSA)中聚集形成不溶性原纤维。这些障碍被称为突触核蛋白病。在散发性和家族性AD病例中也均发现了 α S病理。因此, α S病理的一个指标是 α S聚集体的形成。

[0218] 在分子水平上,蛋白质错误折叠、积累、聚集以及随后形成淀粉样蛋白沉积物是包括阿尔茨海默病(AD)和PD在内的许多神经系统障碍的共同特征。因此,神经变性疾病有时被称为蛋白质病。共同机制的存在表明神经变性障碍可能具有共同的触发因素,并且病理的性质由聚集蛋白的类型和受影响细胞的定位来确定。

[0219] 从二十年前 α S与PD风险之间的遗传联系以及聚集 α S被鉴定为路易(Lewy)病理的主要蛋白质成分的开始, α S已成为PD和相关突触核蛋白病的主要治疗靶标(Brundin等人,2017)。据信,典型地在PD中发现的 α -突触核蛋白异常是明显儿茶酚胺缺乏的原因(多巴胺是与其他儿茶酚胺共享代谢通路的儿茶酚胺)(Frisina等人,2009)。

[0220] 异常 α S病理相关的病症和/或多巴胺能功能障碍(也称为“脑肠”障碍)的例子包括但不限于突触核蛋白病、神经疾病、心理和/或行为障碍、脑和全身缺血性障碍、和/或障碍或病症。突触核蛋白病、神经变性疾病和/或神经系统疾病的例子包括,例如,AD、PD、路易体痴呆(LBD)或路易体的痴呆(DLB)、多系统萎缩(MSA)、亨廷顿病、多发性硬化症(MS)、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、精神分裂症、弗里德赖希共济失调、血管性痴呆、脊髓性肌萎缩症(SMA)、进行性核性麻痹、核上性麻痹、额颞叶痴呆(FTD)、进行性核上性麻痹、瓜德罗普型帕金森症、帕金森症、脊髓小脑性共济失调、中风、创伤性脑损伤、与衰老相关的变性过程、和衰老性痴呆。心理或行为障碍的例子包括,例如,抑郁症、自闭症、唐氏综合征、戈谢病(GD)、克拉伯病(KD)、影响鞘脂代谢的溶酶体病症、ADHD、激动、焦虑、谵妄、易怒、错觉和妄想、健忘症、冷漠、双相障碍、去抑制、异常运动和强迫性行为、成瘾、大脑性麻痹、癫痫、重度抑郁障碍、和睡眠障碍,诸如REM睡眠行为障碍(RBD)、睡眠片段化、REM行为障碍、昼夜节律功能障碍、睡眠呼吸暂停、和认知损害。一般缺血性或脑缺血性障碍的例子包括例如微血管病、分娩时脑缺血、心脏骤停或复苏期间/之后的脑缺血、由于手术中问题引起的脑缺血、颈动脉手术期间的脑缺血、由于脑部供血动脉狭窄引起的慢性脑缺血、窦血栓形成或脑静脉血栓形成、脑血管畸形、糖尿病性视网膜病变、高血压、高胆固醇、心肌梗塞、心功能不全、心力衰竭、充血性心力衰竭、心肌炎、心包炎、心包心肌炎、冠心病、心绞痛、先天性心脏病、休克、四肢缺血、肾动脉狭窄、糖尿病性视网膜病变、与疟疾相关的血栓形成、人工心脏瓣膜、贫血、脾功能亢进综合征、肺气肿、肺纤维化、勃起功能障碍、心脏传导缺陷、高血压、低血压和肺水肿。

[0221] 在怀疑便秘与肠神经系统(ENS)内毒性 α S聚集体的形成相关的程度上,便秘用作许多神经疾病(诸如PD)的早期指标(Braak等人2003(b))。由于 α S聚集体经由诸如迷走神经的传入神经从ENS正常运输到中枢神经系统(CNS)(Holmqvist等人2014;Svensson等人2015),神经毒性聚集体在脑干和更多的嘴侧(rostral)结构内逐渐积累。因此,抑制ENS中的 α S聚集可能减少ENS和CNS两者中持续的神经疾病过程(Phillips等人2008)。ENS与CNS之间的这种关系有时在本文中描述为与一类障碍或氨基固醇活性轴相关的“脑肠”。

[0222] 不受理论的束缚,据信氨基固醇通过局部作用于胃肠道来改善肠功能(如通过低口服生物利用度(例如,小于约0.3%)得到支持)。口服施用的氨基固醇诸如ENT-02会刺激因人 α S过表达而导致便秘的小鼠的胃肠蠕动(West等人,手稿准备中)。灌注氨基固醇通过PD小鼠模型的分离肠段的内腔导致作为与肠肌丛通讯的ENS主要感觉神经元的IPAN(内在初级传入神经元)的激发,从而增加推进性蠕动收缩的频率并且加强投射到迷走神经传入臂的神经信号。

[0223] 理论上,在施用氨基固醇(诸如化合物III)后从ENS开始的神经冲动加强了向CNS的传入神经信号传导。这可能刺激传入神经元本身以及在CNS中嘴侧投射的二级和三级神经元内的 α S聚集体的清除,因为已知神经刺激伴随着神经元自噬活动的增加(Shehata等人2012)。据信,在氨基固醇施用停止后,CNS的神经元局部地或通过肠道内的 α S重新聚集的运输而逐渐重新积累 α S负荷。

[0224] 在临床上和在动物模型中均描述了神经疾病诸如PD中的昼夜节律紊乱,并且可能与神经疾病(诸如PD)相关的异常睡眠结构、痴呆、情绪和自主神经功能障碍中发挥作用(Breen等人2014;Videnovic等人2017;Antonio-Rubio等人2015;Madrid-Navarro等人

2018)。腕部皮肤温度的昼夜周期已显示与睡眠觉醒周期相关,这反映了夜间皮肤散热对核心温度降低和睡眠开始的影响(Sarabia等人2008;Ortiz-Tudela等人2014)。据信,ENT-03(化合物III)的施用将对患者的昼夜节律具有显著的积极影响。不受理论的束缚,据信化合物III可以影响涉及主时钟(视交叉上核)及其自主神经投射的神经元回路,并且开启治疗性矫正昼夜节律功能障碍的可能性。

[0225] 在一方面,氨基固醇剂量可以是患者特异性的,因为ENT-03(化合物III)的治疗有效剂量可能与神经元损害的程度有关,更大的神经元损害与需要更高的ENT-03(化合物III)剂量相关以获得所希望的治疗性结果。如本文更详细描述,ENT-03(化合物III)的剂量范围可以为从约0.01至约500mg/天,并且剂量确定将在下文更详细地描述。然而,本公开文本不限于确定患者特异性ENT-03(化合物III)剂量的方法,因为本文还描述了非患者特异性的治疗性ENT-03(化合物III)剂量。

[0226] D. 实验结果

[0227] (1) 在人和小鼠幼崽脑中ENT-03的检测

[0228] 在1992年,Nagata等人在人类慢性硬膜下血肿液中以及后来在急性蛛网膜下腔出血中(Nagata等人,1995)鉴定出高浓度的胆汁酸7- α 羟基-3-氧代-4-胆固醇(7-HOCA)(图1C)(Nagata等人,1992)。在1997年,Zhang等人报道大鼠脑细胞可以将27-羟基胆固醇代谢为7-HOCA(Zhang等人,1997)。随后,Björkhem、Sjövall、Griffiths及其合作者将7-HOCA鉴定为人类脑脊髓液中最丰富的胆汁酸(Ogundare等人,2010;Meaney等人,2007;Saeed等人,2014;Saeed等人,2014)。7-HOCA似乎不是生物活性胆汁酸,因为它不激活胆汁酸和氧固醇是其已知配体的FXR、LXR或RXR/NURR1受体(Ogundare等人,2010)。Björkhem提出,脑部将从外周进入的27-羟基胆固醇代谢为7-HOCA以促进氧固醇回流到循环中(Meaney等人,2007)。

[0229] 本公开文本表明硬膜下血肿液中ENT-03的存在反映了其在此结构的发育中的可能作用。头部受伤后,通常在较年老的人中并且很少在婴儿中,形成高度血管化的囊样“器官”,其中一侧源自硬脑膜(“外膜”),另一侧来自蛛网膜下腔(“内膜”)(Yamashima等人,2000)。高浓度的多种生长因子,包括VEGF,积累在体液中(Edlmann等人,2017)。本公开文本表明ENT-03出现在硬膜下血肿内以试图修复颅内损伤。在此上下文中,人们可能希望推测为什么(十分常见)在通过产道后经历颅内创伤导致硬膜下和实质出血的健康新生儿通常无症状地恢复(Looney等人,2007)。

[0230] 由于慢性硬膜下血肿液中已知高浓度化合物Ia(7-HOCA),通过LC/MS/MS分析从3名患有慢性硬膜下血肿的老年患者排出的液体中ENT-03的存在。通过LC/MS/MS分析脑提取物的ENT-03。图7A示出了脑提取物中ENT-03的存在。图7B示出了合成ENT-03的参考样品。

[0231] 基于这些数据,分析来自出生后前两周新生小鼠的脑、肝脏和肾脏的提取物中ENT-03的存在。3-氧代-胆汁酸在人类胎儿发育的最后三期期间的羊水中包括18%-40%之间的未缀合胆汁酸(Nakagawa等人1990)并且在健康新生儿尿液中的胆汁酸中占显著百分比,在出生后第一个月期间逐渐减少(Wahlen等人,1989和Kimura等人,1999)。由于新生儿期3-氧代-胆汁酸丰富,因此推定的多胺-胆汁酸分子的寻找集中在新生小鼠上。使用被设计为基于其物理特性捕获ENT-03的方案从年龄为第1天至第24天的小鼠制备脑和肝脏提取物(参见实施例7)。

[0232] 实验结果显示,可以在新生小鼠的脑部和肝脏中检测到ENT-03(分别为图8A和图

8B)。内源性ENT-03的身份通过其保留时间、质量 ($[M+H]^+$ $m/z=619.6$) 和MS/MS MRM特征碎片质量545.57 (图13A) 和474.39 (图13B) 来建立。图9中呈现了在生命的前3周内,在新生小鼠的脑部和肝脏中测量的ENT-03的近似浓度。在脑和肝脏中,最高浓度在出生时出现,在接下来的3周内逐渐降低。使用合成的氘代ENT-03- d_4 ($-C_2D_2$ 、 $-C_4D_2$) 作为内标来确定色谱样品中存在的内源性ENT-03的浓度。基于表征ENT-03的合成类固醇前体的“平坦”(5 α) 和“扭曲”(5 β) 构象异构体的保留时间的显著差异,内源性和合成分子的相同保留时间 (图13A和图13B) 支持5- α 构型的试探性分配。

[0233] (2) 调节性磷酸酶的抑制

[0234] 在一方面,涵盖了抑制一种或多种调节性磷酸酶以实现治疗性或预防性益处的方法,所述方法包括施用治疗有效量的氨基固醇化合物或包含其的组合物,如本文所述。

[0235] 许多涉及健康和疾病的细胞过程受到磷酸化的调节。蛋白激酶参与细胞靶标的磷酸化。磷酸酶逆转激酶的作用。存在两大类调节性磷酸酶。第一组是酪氨酸特异性PTP,其将酪氨酸上的蛋白质底物去磷酸化。酪氨酸特异性PTP包括受体样PTP和非跨膜PTP。第二组是DSP (双特异性磷酸酶),其将酪氨酸、丝氨酸和苏氨酸残基上的蛋白质底物以及脂质底物去磷酸化。本发明的焦点在于第一组磷酸酶。

[0236] 尽管已经在抑制蛋白激酶的治疗剂的开发方面做出了重大努力,但在抑制剂的开发方面,可比较的成功已经滞后。大多数磷酸酶的活性位点被配置成深井,其底部是带正电荷的残基。相应的抑制剂必须携带负电荷或其他氢键接受官能团以停靠在井的基底,并且必须足够细长以延伸到井内。因为大的带强电荷的分子通常具有有限的细胞渗透性,所以在体外酶测定中展现出活性的少许化合物在细胞培养或体内测定时也展现出活性。

[0237] 本发明针对的磷酸酶包括调节至关重要的细胞和生理功能的几种磷酸酶。它们包括:下调许多受体酪氨酸激酶的PTP1B,诸如胰岛素和IGF受体;生长因子受体,诸如VEGF、PDGF、EGF、FGF;EGF受体通路中的stat蛋白。PTPN11 (E76K) 被认为是驱动许多人类恶性肿瘤的致癌基因。PTPRC/CD45已在淋巴细胞中进行了广泛研究,并且显示在抗原刺激后在T细胞中充当信号传导门卫。PTPN7/LC-PTP使MAPK失活,抑制诸如神经元信号传导和生长因子刺激的过程。PTPN12/PTP-PEST在影响诸如细胞迁移、细胞伸展和细胞分裂的过程的细胞骨架重排中起主要作用。

[0238] ENT-03是一种调节性磷酸酶抑制剂,对PTP1B具有最高的特异性。此外,它在小鼠中展现出预期的药理活性,即减少食物摄入和减轻体重。本文所述的氨基固醇是ENT-03的各种衍生物,其在体外和体内对调节性磷酸酶展现出抑制活性。

[0239] 实施例1显示ENT-03 (化合物III) 是调节性磷酸酶诸如蛋白酪氨酸磷酸酶1B (PTP1B) 的抑制剂。PTP1B是胰岛素信号传导通路的负调节剂,并且被认为是有前途的潜在治疗靶标,特别是对于2型糖尿病的治疗 (Combs等人2010)。在鼠模型中进行的基因敲除研究为PTP1B在调节胰岛素信号传导和肥胖症发展中所起的作用提供了大量证据 (Elchebly等人,1999)。

[0240] ENT-03 (化合物III) 和ENT-02 (MSI-1436) 以从100 μ M开始单重3倍连续稀释的10剂量 IC_{50} 模式进行测试。测量荧光以监测酶活性。如表2所见,已知抑制PTP1B的ENT-02 (MSI-1436,氨基固醇1436) 展现出2.89 μ M的 IC_{50} ;ENT-03 (化合物III) 展现出1.03 μ M的 IC_{50} 。半数最大抑制浓度或 IC_{50} 是物质抑制特定生物或生化功能的效力的量度。这种定量量度指示需

要多少特定药物或其他物质才能将给定的生物过程抑制一半。因此, ENT-03 (化合物III) 显著比氨基固醇1436更有效力, 因为ENT-03 (化合物III) 的 IC_{50} 是ENT-02 (MSI-1436) 的小于一半。

[0241] 如实施例1中详述的, 虽然ENT-02 (MSI-1436) 被描述为PTP1B抑制剂, 但它和ENT-03 (化合物III) 对参与细胞信号传导的其他磷酸酶展现出可比较的抑制活性。特别地, 两者都对全长PTPN11/SHP2有活性。SHP2 (含SH2结构域的磷酸酶2) 是一种蛋白酪氨酸磷酸酶, 其牵涉多种细胞信号传导过程并且与人类遗传障碍和癌症两者直接相关 (Zheng等人, 2018; Chen等人, 2016)。此外, 这两种化合物都有效地抑制功能获得PTPN11 (E76K) 变体, 所述变体被认为是驱动许多人类恶性肿瘤的致癌基因。这两种化合物均不抑制密切相关的磷酸酶PTPN6/SHP1, 所述磷酸酶在生物通路中发挥功能不同的作用。两者还针对PTPRC/CD45、PTPN7/LC-PTP和PTPN12/PTP-PEST。PTPRC/CD45已在淋巴细胞中进行了广泛研究, 并且显示在抗原刺激后在T细胞中充当信号传导门卫。PTPN7/LC-PTP使MAPK失活, 抑制诸如神经元信号传导和生长因子刺激的过程 (Fukunaga等人, 1998; Eswaran等人, 2006)。PTPN12/PTP-PEST在影响诸如细胞迁移、细胞伸展和细胞分裂的过程的细胞骨架重排中起主要作用。

[0242] 实施例2描述了ENT-03 (化合物III) 在小鼠中作为体重减轻剂的活性。将小鼠在第0、2、4、6、8和10天用ENT-03 (化合物III) 或ENT-02 (MSI-1436) 处理, 同时随意提供食物。如图2所见, 两种化合物的施用导致体重降低。

[0243] 这些数据证明, ENT-03 (化合物III) 在食欲和体重方面展现出与ENT-02 (MSI-1436) 相似的药理反应, 并且表明ENT-03 (化合物III) 可以用于已知与鲨鱼来源的氨基固醇1436相关的所有治疗性应用, 包括神经变性疾病或神经系统疾病 (诸如PD)、心理或行为障碍、和全身缺血性或脑缺血性障碍。

[0244] 尽管ENT-03 (化合物III) 抑制PTP1B, 还显示与ENT-02一起, ENT-03 (化合物III) 还抑制具有可比较的 K_i 的几种其他磷酸酶。特别感兴趣的是原癌基因PTPN11, 也称为SHP2, 它是一种普遍表达的非受体蛋白酪氨酸磷酸酶, 其与PTP1B一起调节激素诸如胰岛素、瘦素和多种生长因子所利用的PI3K/Akt、Ras/Raf/Erk和JAK/STAT信号传导通路 (Pulido等人, 2013)。在小鼠前脑中, 神经元SHP2似乎增强下丘脑中的瘦素信号传导, 而PTP1B相反主要充当下丘脑瘦素信号传导的负调节剂 (Zhang等人, 2004)。因此, 通过靶向在相反方向调节瘦素下游的两个主要细胞内通路的两种磷酸酶, ENT-03 (化合物III) 可以控制瘦素回路上的增加。

[0245] 最后, 实施例9详细评价了ENT-05的体内活性。实施例证明修饰ENT-03 (化合物III) 以产生ENT-05产生了对PTPN11 (E76K) 和可能其他尚未描述的磷酸酶具有特异性的化合物。对蝌蚪的体内药理作用是抑制钠重吸收的作用, 最有可能是在肾脏中。可能的靶标是2型钠钾氯共转运蛋白 (NKCC2)。目前对调节肾小管的NKCC2的活性的磷酸酶知之甚少。

[0246] 实施例教导了ENT-05已鉴定一种磷酸酶, 其激活可以被ENT-05抑制的通道的NKCC2转运蛋白。ENT-05显然具有治疗高血压的潜在效用, 类似于药物呋塞米, 呋塞米通过不涉及抑制磷酸酶活性以及颅内高压 (颅内压升高) 和眼内高压 (青光眼) 的机制来抑制肾NKCC2。

[0247] (3) 肠道复壮

[0248] 实施例3显示角鲨胺有效增加年老小鼠的转录组。如I.A部分所讨论, ENT-03 (化合

物III)和鲨鱼来源的氨基固醇诸如角鲨胺共享相似的结构和官能团的空间定位。因此,角鲨胺的活性被认为扩展至ENT-03(化合物III)。

[0249] 衰老涉及肠道中基因表达的缺失,这通过年老小鼠与年轻小鼠的肠道中RNA转录组的减少得到证明,实施例3评价了口服给药ENT-01(磷酸角鲨胺)对年老小鼠的影响。给药2周后,对动物实施安乐死,并且将胃肠道切段成胃、十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结肠和直肠。然后将胃组织送去进行组织学检查,并且通过RNAseq分析转录组。

[0250] 实施例中表4的所有基因的mRNA水平在用ENT-01(磷酸角鲨胺)处理后显示出显著增加(参见例如,表5A)。这表明角鲨胺在衰老的肠道中具有复壮的作用,并且这种活性将被认为扩展至ENT-03(化合物III)及其盐、溶剂化物、衍生物和前药。此外,当检查口服施用ENT-03(化合物III)对组织的转录组的影响时,在每种情况下都观察到,与年老动物的转录反应相比,年轻动物的转录反应减弱(图6A-6C)。例如,在经处理的年轻动物的胃中,13个基因差异表达,而年老组中是63个基因。类似地,对于空肠,在年轻组中42个基因差异表达,并且在处理的年老组中是382个基因。在回肠中,用ENT-03(化合物III)处理的年轻动物中80个基因差异表达,并且年老动物中1162个基因差异表达。

[0251] 将随着衰老而差异表达的基因(DEG)集合与在处理的年老动物或处理的年轻动物中差异表达的基因集合进行比较。对比之间重叠DEG的分析揭示了,例如,在胃中,在衰老中下调的37个基因(年老对年轻)与在年老小鼠中用ENT-03处理上调的基因显著重叠。相比之下,胃衰老基因与年轻ENT-03处理的胃中的基因之间仅有的显著重叠是12个基因,所述基因在衰老方向上进一步下调。

[0252] ENT-03(化合物III)似乎在胃内最显著补充的“衰老”基因列出在表5B中。值得注意的是,在胃中,“恢复”的衰老基因包括参与组织更新的基因(成纤维细胞生长因子2;锌指蛋白383;叉头盒C2);参与神经元分化的基因(神经细胞粘附分子2);参与免疫的基因(toll样受体9和12;白细胞介素2受体 β 链)、参与神经递质合成和摄取的基因(胆碱和血清素转运蛋白)以及参与线粒体呼吸的基因(细胞色素c氧化酶亚基6B2)。

[0253] 鉴定了在年轻之间与年老小鼠之间表达显著变化的基因(图6A)。随着衰老,胃中75个基因的表达显著降低,并且11个基因的表达显著增加(图6A)。同时,在年轻小鼠和年老小鼠的空肠(图10A-10D)或回肠(图10D-10F)的基因表达谱之间观察到的差异较小。在空肠中,随着衰老,5个基因的表达下降,并且2个基因的表达增加。而在回肠中,19个基因的表达降低并且9个基因的表达增加。这些结果与公认的衰老啮齿动物胃的再生能力降低(Fukunaga等人,1998)和小肠随着衰老的恢复能力(Eswaran等人,2006)一致。

[0254] 在向年轻小鼠(20周)口服施用ENT-03(化合物III)后,13个胃基因有反应,并且所有基因都被ENT-03处理转录抑制(图6B)。对于年轻小鼠和年老小鼠两者,响应于在空肠和回肠中ENT-03的暴露,不超过2个基因的表达显著变化。

[0255] 相比之下,在用ENT-03(化合物III)处理的较年老动物(78周)中观察到对胃中对基因表达的更稳健作用。63个基因被转录诱导(图6C)。有趣的是,在对年老小鼠进行ENT-03(化合物III)处理后表达增加的36个基因与随着衰老表达降低的基因相同。这些基因包括参与组织更新的基因(成纤维细胞生长因子2(Fgf2);锌指蛋白382(Zfp382)和叉头盒C2(Foxc2));参与神经元分化的基因(神经细胞粘附分子2(Ncam2));参与免疫的基因(toll样受体9和12(Tlr9、Tlr12)、白细胞介素2受体 β 链(IL2rb)和CD300(Cd300ld));参与神经递质

合成和摄取的基因(胆碱和血清素转运蛋白(Slc5a7、Slc6a4))以及参与线粒体呼吸的基因(细胞色素c氧化酶亚基6B2(Cox6b2))。这些数据支持这样的假设,即向年老小鼠口服施用ENT-03(化合物III)可以逆转与胃肠道内衰老相关的基因表达的一些变化。

[0256] (4) 化合物III和阿尔茨海默病治疗

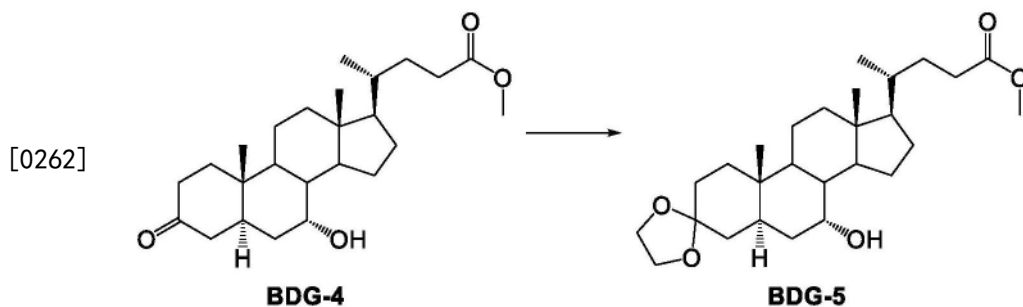
[0257] 实施例6详述了支持ENT-03(化合物III)治疗神经系统疾病诸如阿尔茨海默病的用途的数据。PTP1B依赖机制已被用于逆转阿尔茨海默病的 β 淀粉样蛋白和 τ 小鼠模型的记忆损害以及使行为正常化以及减少神经元损失(Ricke,Cruz等人2020)。其他研究已显示在体外和阿尔茨海默病的秀丽隐杆线虫模型中 β 淀粉样蛋白聚集体的毒性被ENT-02减少(Limbocker,Chia等人,2019)。

[0258] ENT-02(MSI-1436)逆转与衰老相关的几种病症(在小鼠中),诸如代谢综合征、阿尔茨海默病、动脉粥样硬化、癌症和再生修复能力降低。实施例6中的数据证明ENT-03可以治疗鼠模型的阿尔茨海默病,所述鼠模型是可接受的人类阿尔茨海默病动物模型。

[0259] 使用莫里斯(Morris)水迷宫测试ENT-03(化合物III)对2种家族性阿尔茨海默病小鼠模型(表达人类淀粉样前体蛋白双突变体的hAPP-J20小鼠(Mucke等人,2000)和表达人类微管相关 τ 蛋白的P301S突变体的PS19小鼠(Yoshiyama等人,2007))的空间学习和记忆缺陷的作用。在这两种疾病模型(一种患有淀粉样变性病并且另一种患有 τ 蛋白病)中,在训练阶段的学习(图5A和图5E)和在探查日的记忆(图5B、5C、5F和5G)与媒介物处理的hAPP-J20或PS19同窝对照小鼠(图5)相比在ENT-03处理下得到改善。预防认知下降的作用与用相关化合物ENT-02以及hAPP-J20和PS19小鼠观察到的作用相似(Ricke等人,2020)。

[0260] (5) 制备ENT-03(化合物III)的合成方法

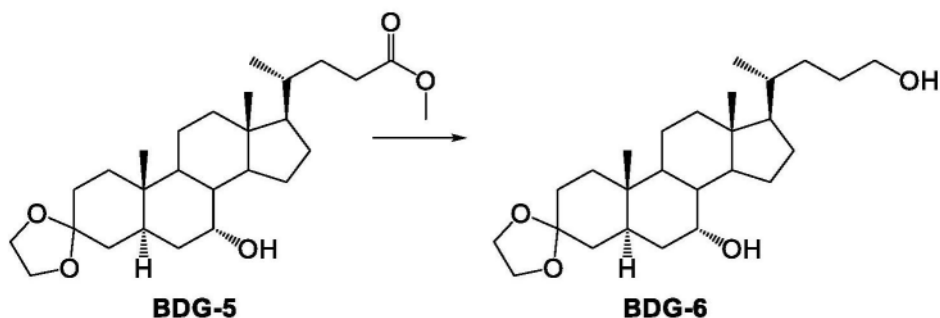
[0261] 实施例中描述了制备本文所述氨基固醇(包括ENT-03(化合物III))的合成方法。特别地,合成方法包括首先包括从BDG-4制备BDG-5:



[0263] BDG-5: ^1H NMR(500MHz, CDCl_3) δ 3.93(m, 4H), 3.82(br s, 1H), 3.66(s, 3H), 2.4-2.2(m, 2H), 1.9-1.2(m, 24H), 0.92(d, 3H, $J=7\text{Hz}$), 0.81(s, 3H), 0.66(s, 3H); ^{13}C NMR(CDCl_3) δ 177, 109, 67.9, 64.2, 64.1, 55.8, 51.4, 50.5, 45.6, 42.6, 39.5, 39.4, 37.5, 36.3, 36.1, 35.7, 35.5, 35.4, 31.2, 31.0, 30.9, 28.0, 23.6, 20.9, 18.3, 11.8, 10.4.

[0264] 接下来,从BDG-5制备BDG-6:

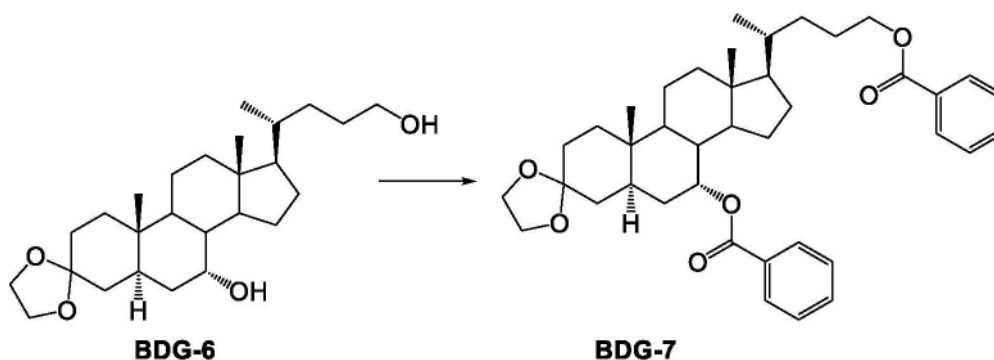
[0265]



[0266] BDG-6: ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 3.93 (m, 4H), 3.82 (br s, 1H), 3.61 (m, 2H), 1.97-1.84 (m, 4H), 1.7-1.0 (m, 22H), 0.93 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$), 0.81 (s, 3H), 0.66 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 109.3, 67.9, 64.15, 64.13, 63.5, 56.0, 50.6, 45.6, 42.6, 39.51, 39.48, 37.5, 36.3, 36.1, 35.7, 35.6, 35.5, 31.8, 31.2, 29.4, 28.2, 23.6, 20.9, 18.6, 11.8, 10.4.

[0267] 接下来,从BDG-6制备BDG-7:

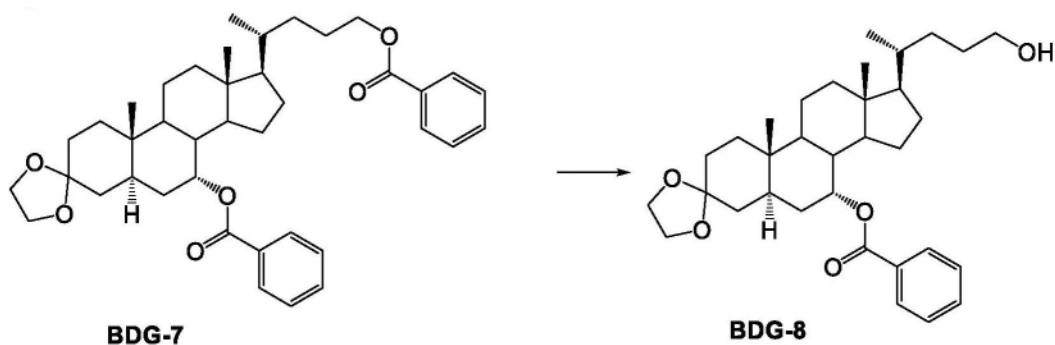
[0268]



[0269] BDG-7: ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 8.07 (d, 2H, $J=8\text{Hz}$), 8.00 (d, 2H, $J=8\text{Hz}$), 7.57 (t, 1H, $J=8\text{Hz}$), 7.53 (t, 1H, $J=8\text{Hz}$), 7.47 (t, 2H, $J=8\text{Hz}$), 7.41 (t, 2H, $J=8\text{Hz}$), 5.16 (br s, 1H), 4.25 (m, 2H), 3.87 (m, 4H), 2.02-1.85 (m, 2H), 1.8-1.1 (m, 22H), 0.95 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$), 0.88 (s, 3H), 0.68 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 166.7, 166.0, 132.8, 131.1, 130.5, 129.7, 129.5, 128.4, 128.3, 109.0, 71.9, 65.5, 64.2, 64.1, 55.8, 50.7, 47.2, 42.8, 39.5, 38.6, 37.4, 37.2, 35.7, 35.5, 35.3, 33.3, 32.0, 31.2, 28.0, 25.2, 23.6, 21.1, 18.6, 11.8, 10.5.

[0270] 接下来,从BDG-7制备BDG-8:

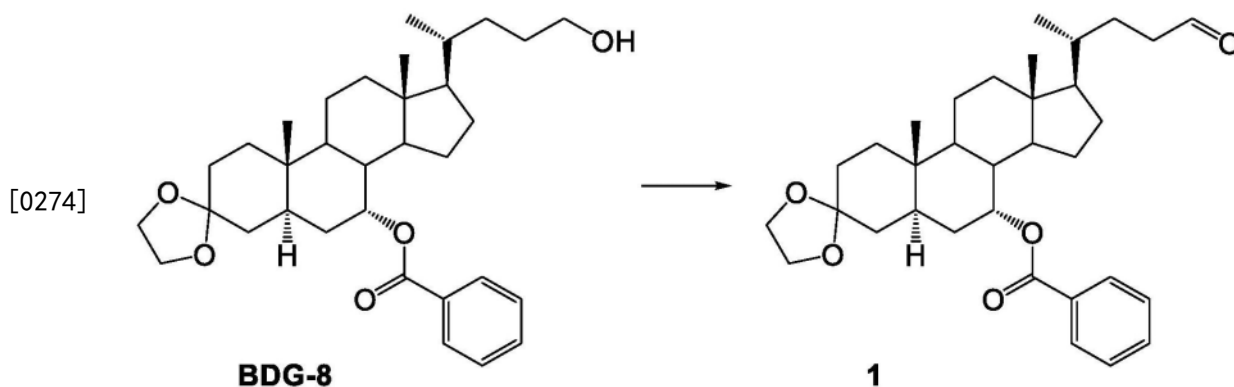
[0271]



[0272] BDG-8: 17.24kg, 93.3%). ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 8.07 (d, 2H, $J=8\text{Hz}$), 7.57 (t, 1H, $J=7\text{Hz}$), 7.48 (t, 2H, $J=7\text{Hz}$), 5.15 (br s, 1H), 3.88 (m, 4H), 3.56 (br s, 2H), 2.02-1.84 (m, 2H), 1.75-0.98 (m, 24H), 0.92 (d, 3H, $J=6.5\text{Hz}$), 0.88 (s, 3H), 0.67 (s, 3H). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 166.0, 132.7, 131.0, 129.7, 128.4, 109.0, 71.9, 64.2, 64.1, 63.5, 55.8, 50.7, 47.2, 42.7, 39.5, 38.6, 37.3, 37.2, 35.7, 35.5, 33.3, 31.7, 31.3, 29.3, 28.0, 23.6, 21.1,

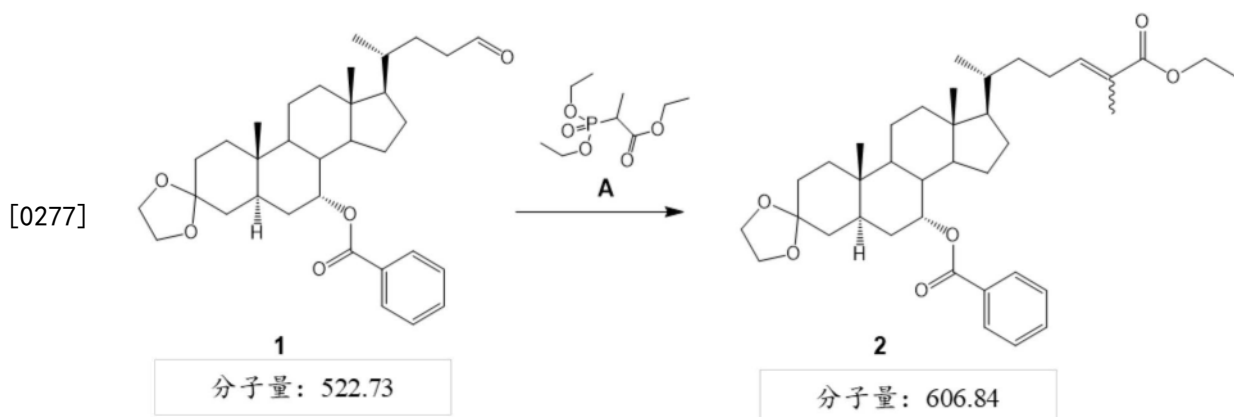
18.6, 11.8, 10.5.

[0273] 接下来,从BDG-8制备化合物1:



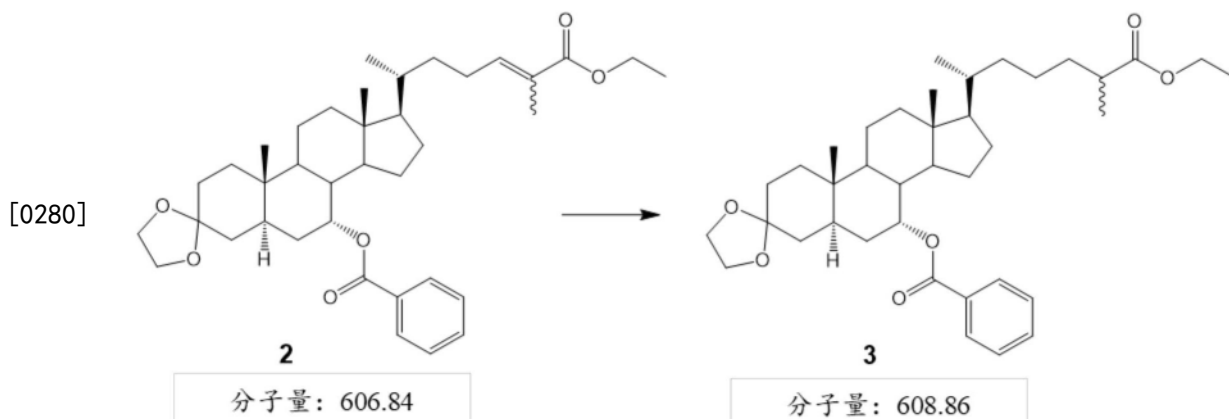
[0275] 化合物1: ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 9.72 (s, 1H), 8.07 (d, 2H, $J=7\text{Hz}$), 7.59 (t, 1H, $J=7\text{Hz}$), 7.49 (t, 2H, $J=7\text{Hz}$), 5.16 (br s, 1H), 3.88 (m, 4H), 2.45-2.27 (m, 2H), 2.00-1.85 (m, 2H), 1.78-1.17 (m, 22H), 0.913 (d, 3H, $J=\text{Hz}$), 0.88 (s, 3H), 0.68 (s, 3H). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 203, 166, 132.8, 131.0, 129.8, 128.4, 109, 72.0, 64.17, 64.11, 55.7, 50.7, 47.2, 42.8, 40.8, 39.5, 38.6, 37.3, 37.2, 35.7, 35.5, 35.4, 33.3, 31.2, 27.9, 27.8, 23.7, 21.1, 18.3, 11.7, 10.5.

[0276] 接下来,从化合物1制备化合物2:



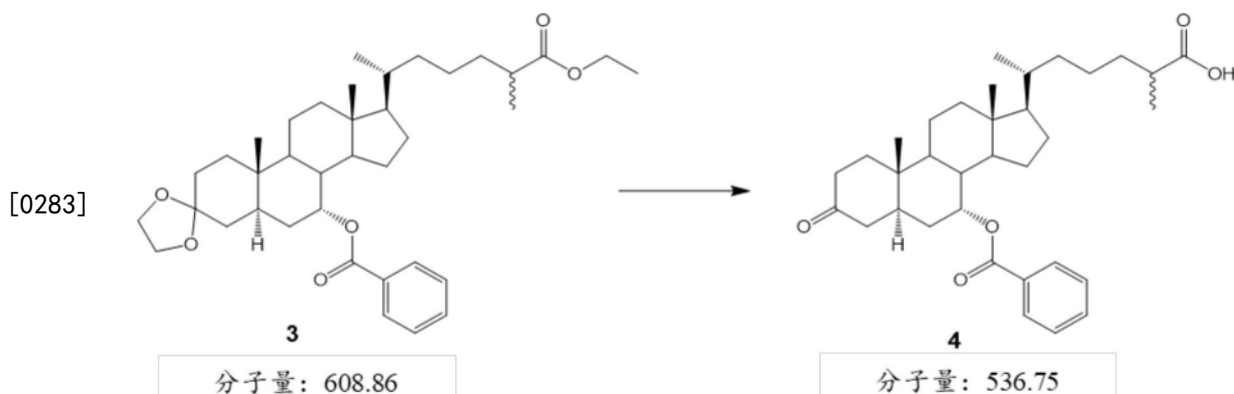
[0278] 化合物2: ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ 8.10-8.07 (m, 2H), 7.60-7.57 (m, 1H), 7.52-7.47 (m, 2H), 6.7, 5.9 (t, 1H), 5.17 (m, 1H), 4.21-4.12 (m, 2H), 3.92-3.88 (m, 4H), 2.06 (s, 3H), 2.2-1.0 (m, 29H), 0.95 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$), 0.90 (s, 3H), 0.69 (s, 3H); MS (ES $^+$) 485.45 ($\text{M}-\text{C}_7\text{H}_7\text{O}_2+\text{H}$).

[0279] 接下来,从化合物2制备化合物3:



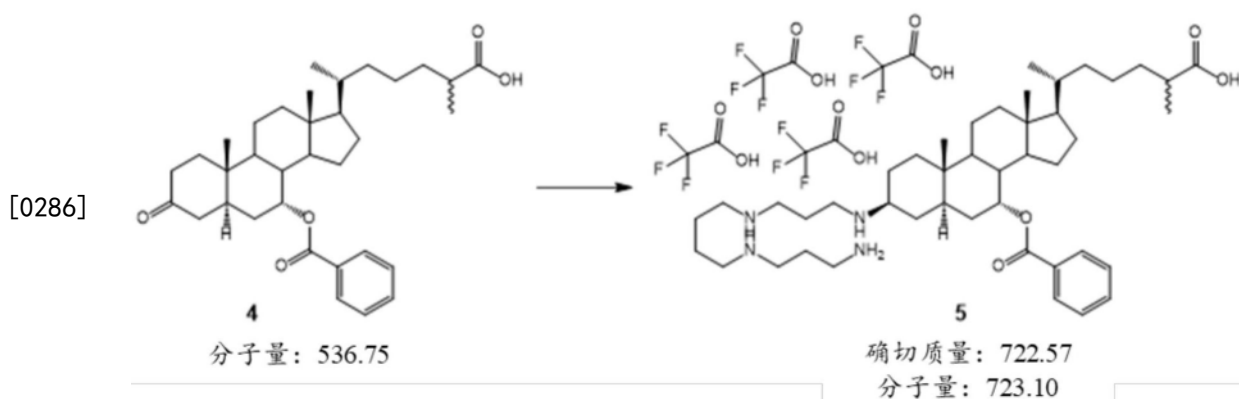
[0281] 化合物3: ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ 8.09-8.06 (m, 2H), 7.58-7.56 (m, 1H), 7.55-7.45 (m, 2H), 5.16 (m, 1H), 4.12-4.05 (m, 2H), 3.90-3.85 (m, 4H), 2.39-2.36 (m, 1H), 2.0-1.0 (m, 35H), 1.11 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$), 0.88 (s, 3H), 0.67 (s, 3H); MS (ES⁺) 487.46 ($\text{M}-\text{C}_7\text{H}_7\text{O}_2+\text{H}$)。

[0282] 接下来,从化合物3制备化合物4:



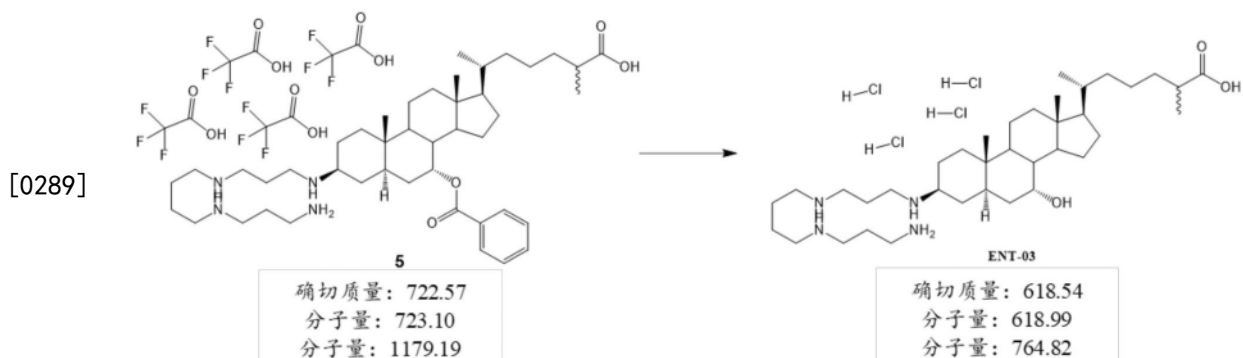
[0284] 化合物4: ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ 8.05-8.02 (m, 2H), 7.60-7.57 (m, 1H), 7.51-7.45 (m, 2H), 5.21 (m, 1H), 2.4-1.0 (m, 32H), 1.15 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$), 1.09 (s, 3H), 0.91 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$), 0.67 (s, 3H); MS (ES⁺) 415.52 ($\text{M}-\text{C}_7\text{H}_7\text{O}_2+\text{H}$)。

[0285] 接下来,从化合物4制备化合物5:



[0287] 化合物5: ^1H NMR (CD_3OD , 300MHz) δ 8.05-8.02 (m, 2H), 7.66-7.60 (m, 1H), 7.54-7.49 (m, 2H), 5.17 (m, 1H), 3.36-3.04 (m, 13H), 2.37 (m, 1H), 2.1-1.0 (m, 39H), 1.10 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$), 0.95 (m, 6H), 0.74 (s, 3H); MS (ES⁺) 723.78 ($\text{M}+\text{H}$)。

[0288] 接下来,从化合物5制备ENT-03(化合物III):

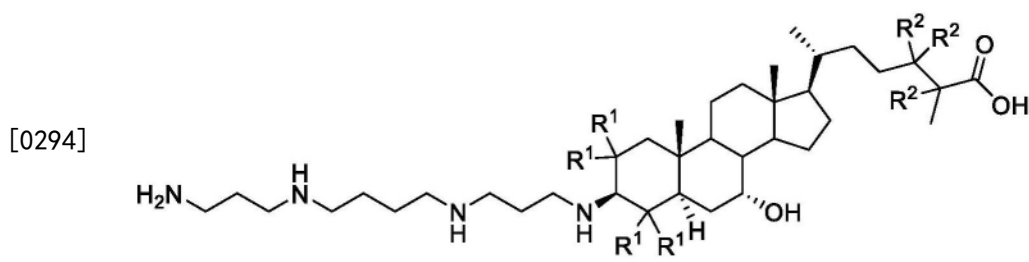


[0290] 呈四-HCl盐的化合物III (ENT-03): ^1H NMR (CD_3OD , 300MHz) δ 3.80 (br s, 1H), 3.20-3.05 (m, 13H), 2.37 (m, 1H), 2.2-1.0 (m, 36H), 1.13 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$), 0.93 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$), 0.87 (s, 3H), 0.69 (s, 3H); MS (ES+) 619.31 (M+H)。

[0291] 制备氘代ENT-03 (ENT-03-d3和ENT-03-d4)的示例性合成方法也描述在以下实施例中。

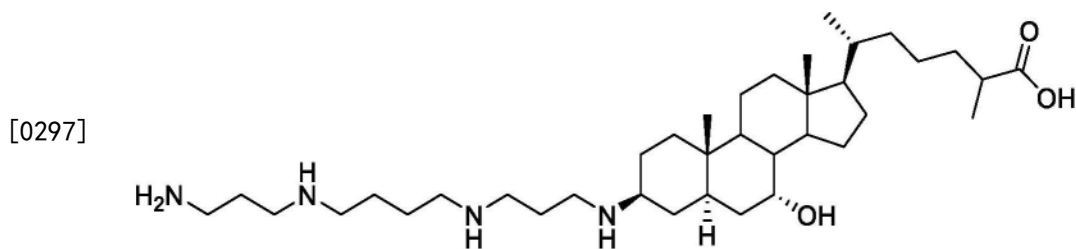
[0292] II. 化合物

[0293] 在一方面,提供了具有下式的氨基固醇化合物:



[0295] 其中: R^1 是H或D;并且 R^2 是H或D;条件是所有 R^1 都是H,所有 R^2 都是H,或所有 R^1 和 R^2 都是H,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

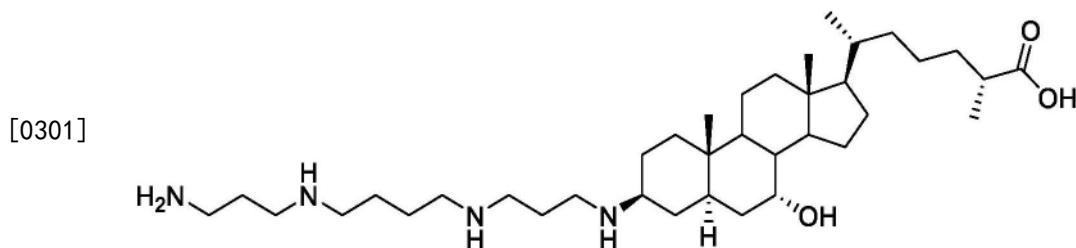
[0296] 在一个实施方案中,所述氨基固醇化合物具有下式:



[0298] 化合物III (ENT-03),

[0299] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0300] 在一个实施方案中,所述氨基固醇具有下式:

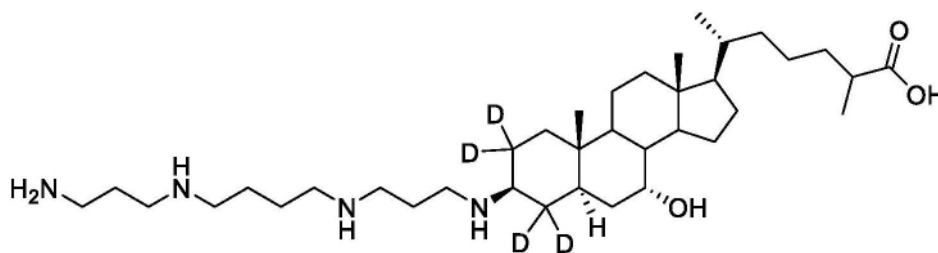


[0302] C_{25} (R) 化合物III (ENT-03),

[0303] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0304] 在一个实施方案中,所述氨基固醇具有下式:

[0305]

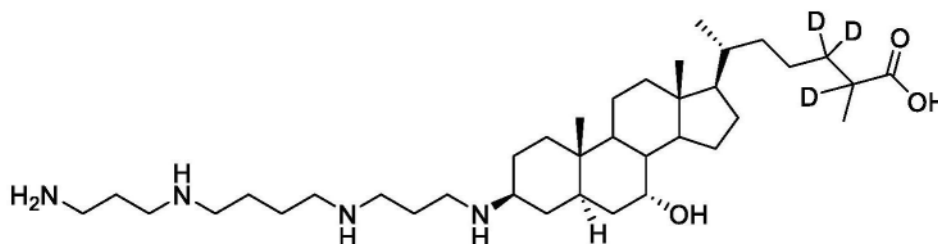


[0306] 化合物III (ENT-03-d4) ,

[0307] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0308] 在一个实施方案中,所述氨基固醇具有下式:

[0309]

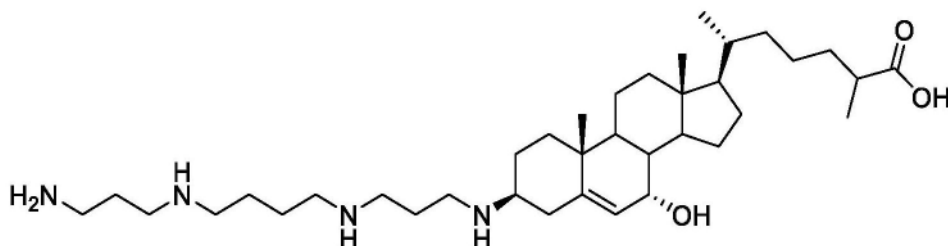


[0310] 化合物III (ENT-03-d3) ,

[0311] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0312] 在一方面,提供了具有下式的氨基固醇:

[0313]

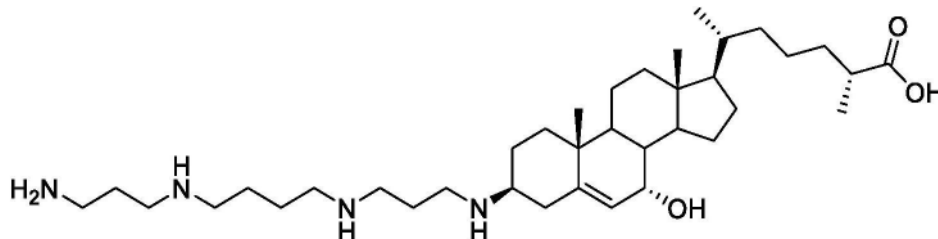


[0314] (化合物IV) ,

[0315] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0316] 在一个实施方案中,所述氨基固醇具有下式:

[0317]

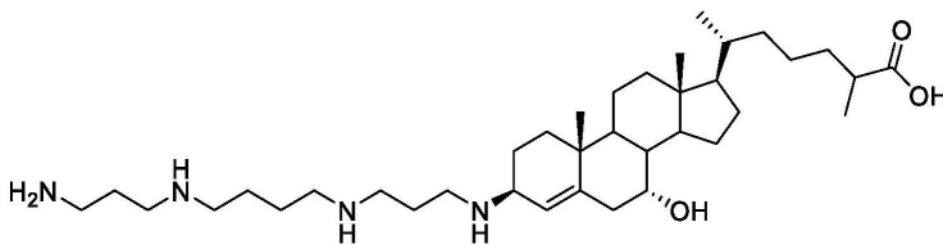


[0318] (C₂₅ (R) 化合物IV) (Δ⁵ENT-03) ,

[0319] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0320] 在另一方面,提供了具有下式的氨基固醇化合物:

[0321]

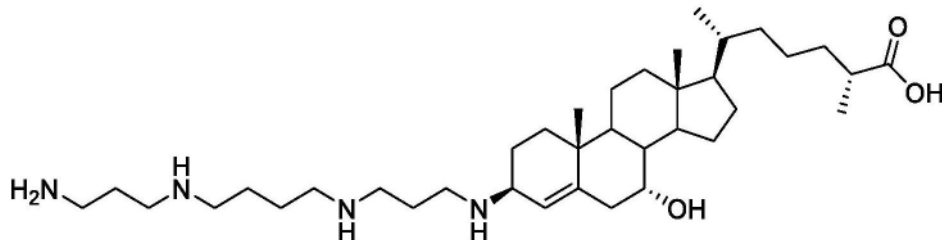


[0322] 化合物V (Δ4ENT-03) ,

[0323] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0324] 在一些实施方案中,氨基固醇化合物具有下式:

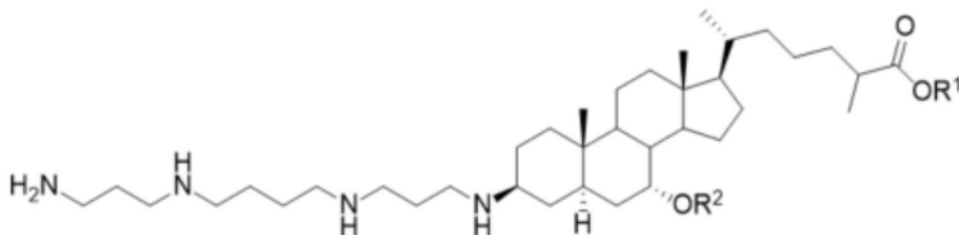
[0325]

[0326] C₂₅(R) 化合物V (Δ4ENT-03) ,

[0327] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0328] 在一个实施方案中,所述前药包括下式的化合物:

[0329]



[0330] (化合物III-P) ,

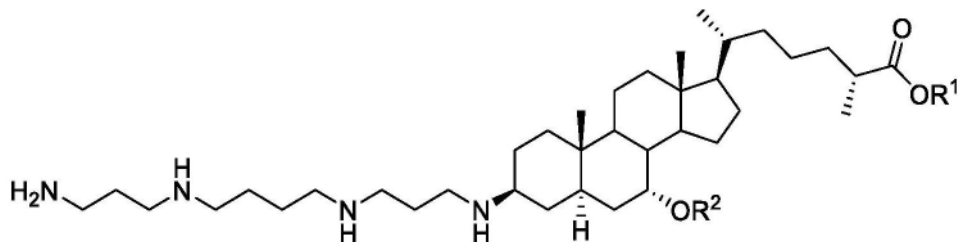
[0331] 其中:

[0332] R¹是H、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的C₁-C₆烷基、任选经取代的C₁-C₆炔基、任选经取代的杂环基、任选经取代的C₃-C₈环烷基或任选经取代的C₁-C₆烯基;并且

[0333] R²是H或-C(O)R³,其中R³是任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的C₁-C₆烷基、任选经取代的C₁-C₆炔基、任选经取代的杂环基、任选经取代的C₃-C₈环烷基或任选经取代的C₁-C₆烯基;条件是R¹和R²中的至少一个不是H,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

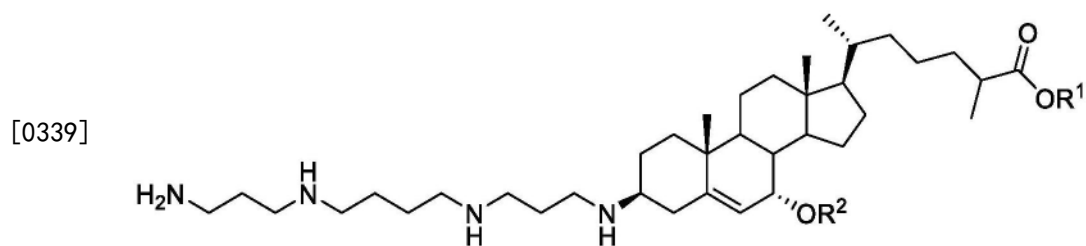
[0334] 在一个实施方案中,所述前药包括下式的化合物:

[0335]

[0336] (C₂₅(R) 化合物III-P) ,

[0337] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0338] 在一方面,所述前药包括具有下式的化合物:



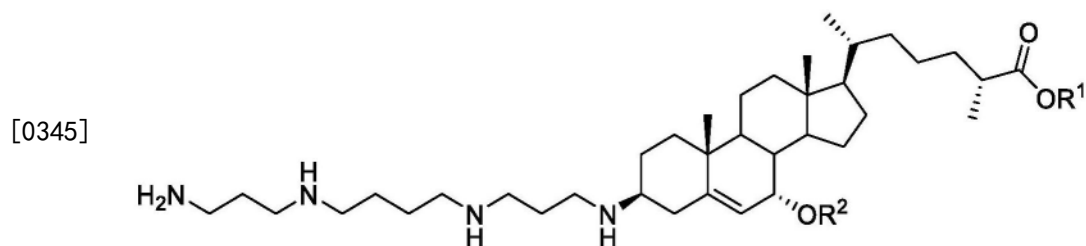
[0340] (化合物IV-P),

[0341] 其中:

[0342] R^1 是H、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_1 - C_6 烷基、任选经取代的 C_1 - C_6 炔基、任选经取代的杂环基、任选经取代的 C_3 - C_8 环烷基和任选经取代的 C_1 - C_6 烯基;并且

[0343] R^2 是H或 $-C(O)R^3$,其中 R^3 是任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_1 - C_6 烷基、任选经取代的 C_1 - C_6 炔基、任选经取代的杂环基、任选经取代的 C_3 - C_8 环烷基或任选经取代的 C_1 - C_6 烯基;条件是 R^1 和 R^2 中的至少一个不是H,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

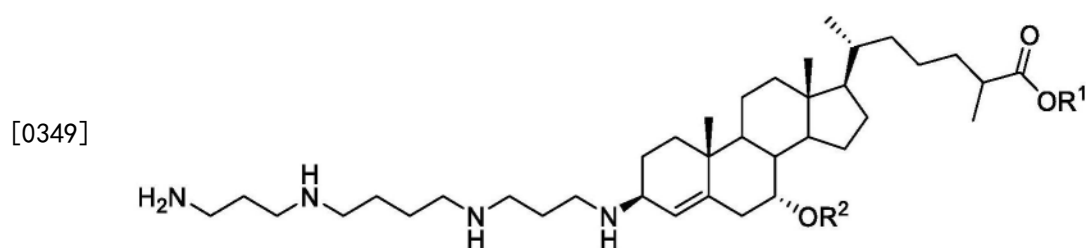
[0344] 在一个实施方案中,所述前药包括下式的化合物:



[0346] (C_{25} (R) 化合物IV-P),

[0347] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0348] 在另一方面,提供了具有下式的氨基固醇化合物:

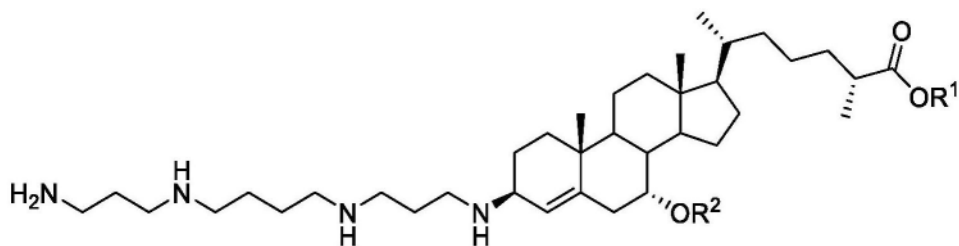


[0350] 化合物V-P,

[0351] 其中: R^1 是H、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_1 - C_6 烷基、任选经取代的 C_1 - C_6 炔基、任选经取代的杂环基、任选经取代的 C_3 - C_8 环烷基和任选经取代的 C_1 - C_6 烯基;并且 R^2 是H或 $-C(O)R^3$,其中 R^3 是任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、任选经取代的 C_1 - C_6 烷基、任选经取代的 C_1 - C_6 炔基、任选经取代的杂环基、任选经取代的 C_3 - C_8 环烷基或任选经取代的 C_1 - C_6 烯基;条件是 R^1 和 R^2 中的至少一个不是H,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0352] 在一个实施方案中,所述氨基固醇化合物具有下式:

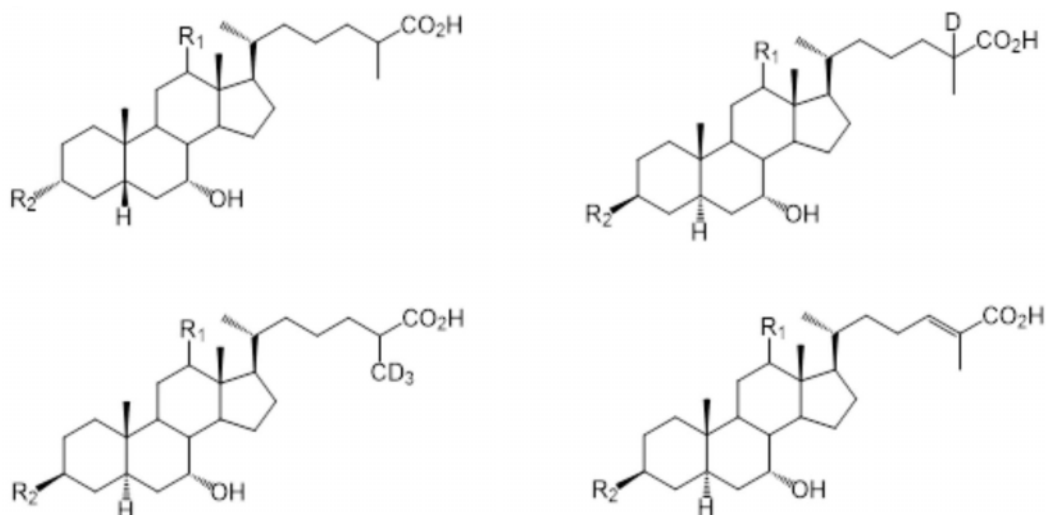
[0353]



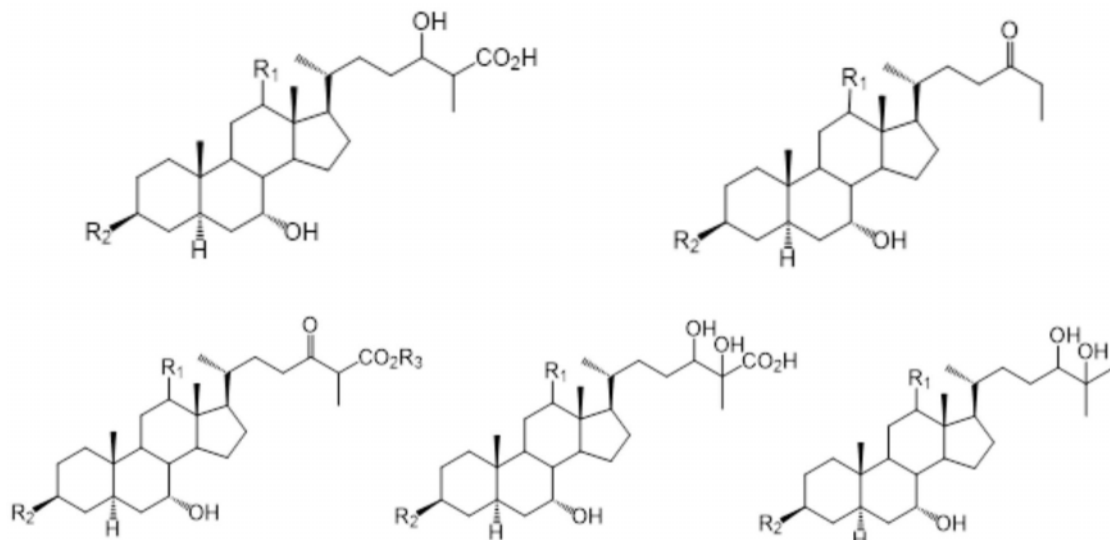
[0354] C₂₅ (R) 化合物V-P,

[0355] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

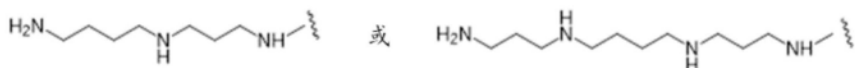
[0356] 本文提出的示例性结构包括:



[0357]



[0358] R_1 H或OH R_2



[0359] R_3 -CH₃、异丙基、H

[0360] 本公开文本的氨基固醇可以包含不对称碳原子。因此,本公开文本的氨基固醇可以作为单独的对映异构体或以上描述的混合物存在。本公开文本涵盖C25混合物和化合物的天然R-取向两者。因此,本公开文本的氨基固醇可以包括两种外消旋混合物以及还有基本上不含另一种可能的立体异构体的单独相应立体异构体。如本文所用,术语“基本上不含”

其他立体异构体”意指存在少于约25%、少于约20%、少于约15%、少于约10%、少于约5%、少于约4%、少于约3%、少于约2%或少于约1%的其他立体异构体,或少于“约X”%的其他立体异构体(其中X是0与100之间的数字,包括端点)。

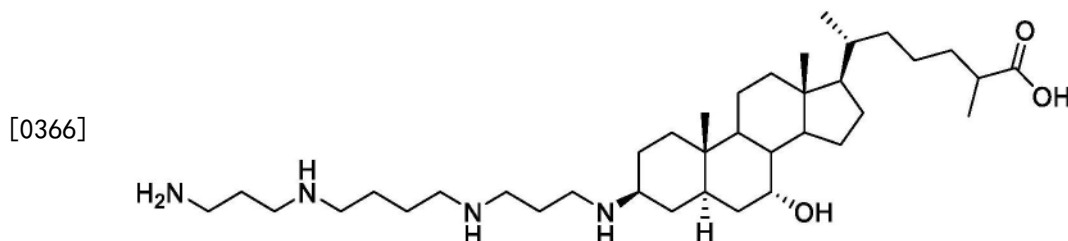
[0361] 在一些实施方案中,氨基固醇是本文公开的任何氨基固醇的衍生物或化合物III(ENT-03)的衍生物,其通过医学化学修饰以改善生物分布、易于施用、代谢稳定性或其任何组合。在一些实施方案中,化合物III或衍生物氨基固醇以包括以下中的一种或多种:(1)用所选择的磺酸盐、磷酸盐或其他阴离子部分取代羧酸盐,以规避硫酸盐部分的代谢去除和胆固醇侧链的氧化;(2)用不可代谢的极性取代基诸如氟原子替代羟基,以防止其代谢氧化或缀合;和/或(3)各种环氢原子的取代,以防止类固醇环体系的氧化或还原代谢。

[0362] 本技术还提供了本文公开的氨基固醇的盐、溶剂化物和水合物。此技术的氨基固醇的盐在氨基固醇的酸与碱性基团(诸如氨基官能团)或氨基固醇的碱与酸性基团(诸如羧基官能团)之间形成。根据另一个实施方案,氨基固醇是药学上可接受的酸加成盐。药学上可接受的盐的例子包括但不限于盐酸盐、钠、硫酸盐、乙酸盐、磷酸盐或二磷酸盐、氯化物、钾、马来酸盐、钙、柠檬酸盐、甲磺酸盐、硝酸盐、酒石酸盐、铝和葡萄糖酸盐。

[0363] 通常用于形成药学上可接受的盐的酸包括无机酸,诸如二硫化氢、盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸和磷酸;以及有机酸,诸如对甲苯磺酸、水杨酸、酒石酸、二氢酒石酸、抗坏血酸、马来酸、苯磺酸(besyllic acid)、富马酸、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、甲酸、谷氨酸、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸(benzenesulfonic acid)、乳酸、草酸、对溴苯磺酸、碳酸、琥珀酸、柠檬酸、苯甲酸和乙酸;以及相关的无机和有机酸。因此,此类药学上可接受的盐包括硫酸盐、焦硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、磷酸盐、磷酸一氢盐、磷酸二氢盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、乙酸盐、丙酸盐、癸酸盐、辛酸盐、丙烯酸盐、甲酸盐、异丁酸盐、癸酸盐、庚酸盐、丙炔酸盐、草酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、辛二酸盐、癸二酸盐、富马酸盐、马来酸盐、丁炔-1,4-二酸盐、己炔-1,6-二酸盐、苯甲酸盐、氯苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、羟基苯甲酸盐、甲氧基苯甲酸盐、邻苯二甲酸盐、对苯二甲酸盐、磺酸盐、二甲苯磺酸盐、苯基乙酸盐、苯基丙酸盐、苯基丁酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、 β -羟基丁酸盐、乙醇酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、甲烷磺酸盐、丙烷磺酸盐、萘-1-磺酸盐、萘-2-磺酸盐、扁桃酸盐和其他盐。在一些实施方案中,药学上可接受的酸加成盐包括与矿物酸(诸如盐酸、氢溴酸和磷酸)形成的那些。

[0364] III. 制造本公开文本氨基固醇化合物的方法

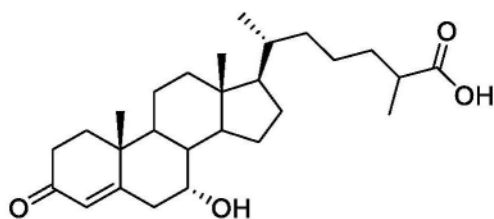
[0365] 在一方面,提供了一种产生具有下式的氨基固醇的方法:



[0367] ENT-03(化合物III),

[0368] 所述方法包括刺激精胺向ENT Ia(化合物Ia)上的添加:

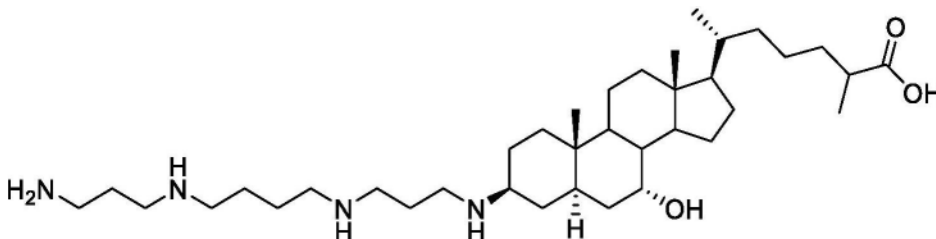
[0369]



[0370] ENT-01a (化合物Ia)。

[0371] 在一方面,提供了一种抑制下式的氨基固醇的形成的方法:

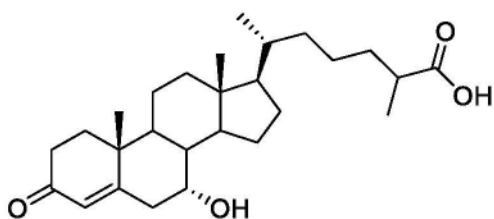
[0372]



[0373] ENT-03 (化合物III),

[0374] 所述方法包括抑制精胺向ENT-01a (化合物Ia) 上的添加:

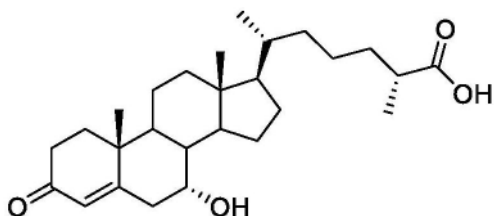
[0375]



[0376] ENT-01a (化合物Ia)。

[0377] 在一些实施方案中,ENT-01a (化合物Ia) 具有下式:

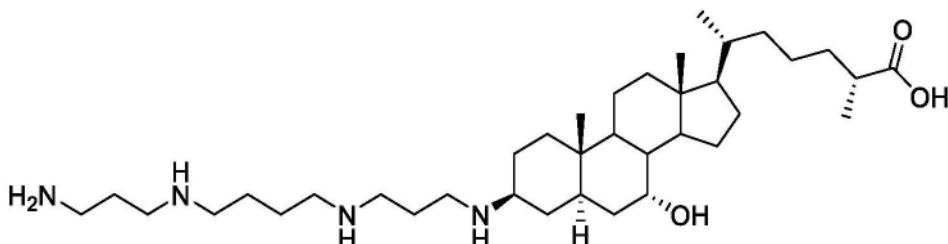
[0378]



[0379] ENT-01 (化合物I),

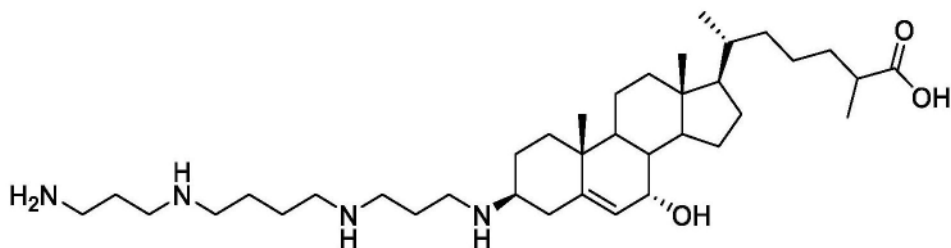
[0380] 并且ENT-03 (化合物III) 具有下式:

[0381]

[0382] C_{25} (R) ENT-03 (C_{25} (R) 化合物III)。

[0383] 在一方面,提供了一种产生具有下式的氨基固醇的方法:

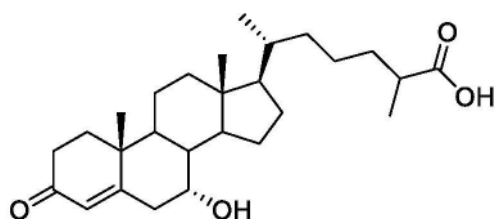
[0384]



[0385] (化合物IV),

[0386] 所述方法包括刺激精胺向化合物Ia (ENT-01a) 上的添加:

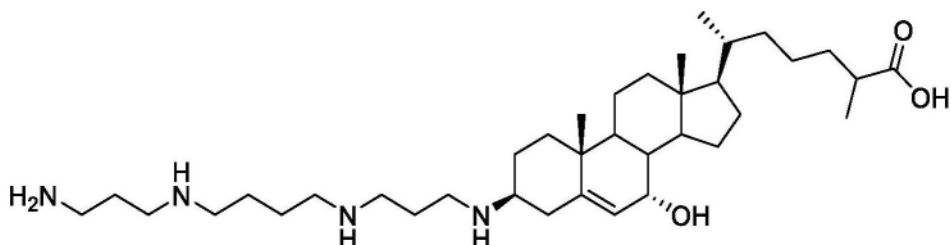
[0387]



[0388] (化合物Ia)。

[0389] 在一方面,提供了一种抑制下式的氨基固醇的形成的方法:

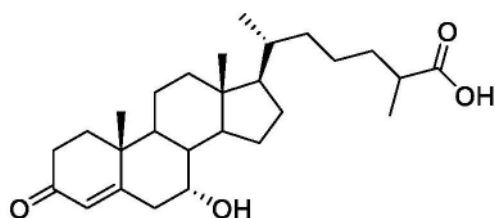
[0390]



[0391] (化合物IV)

[0392] 所述方法包括抑制精胺向化合物Ia上的添加:

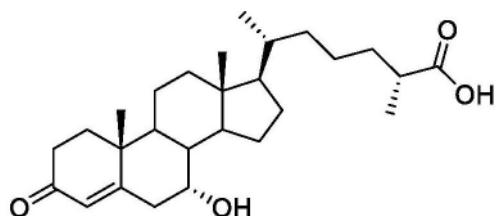
[0393]



[0394] (化合物Ia)。

[0395] 在一些实施方案中,化合物Ia具有下式:

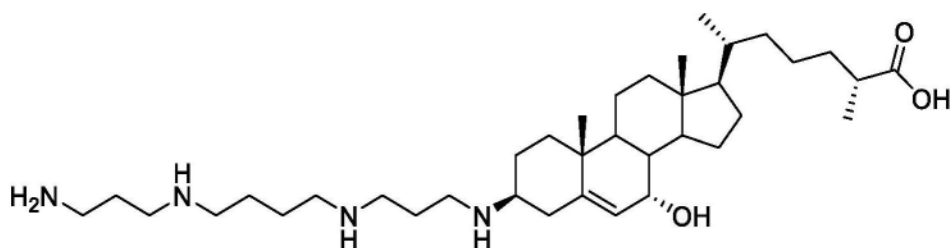
[0396]



[0397] (化合物I; ENT-01)

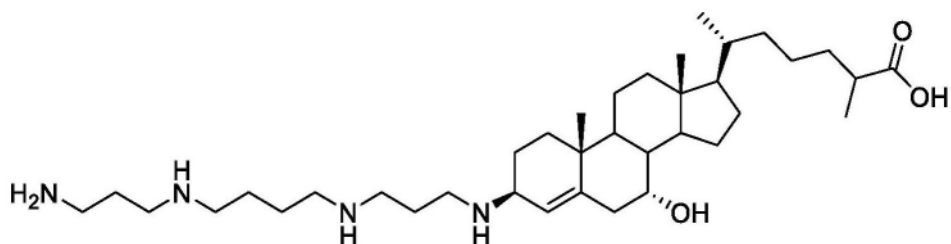
[0398] 并且化合物IV具有下式:

[0399]

[0400] (C_{25} (R) 化合物IV)。

[0401] 在另一方面,提供了一种产生具有下式的氨基固醇的方法:

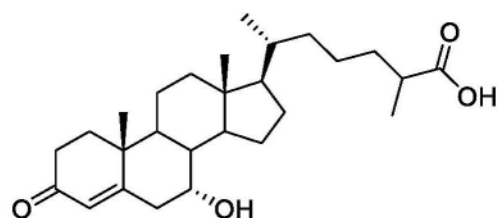
[0402]



[0403] (化合物V),

[0404] 所述方法包括刺激精胺向化合物Ia上的添加:

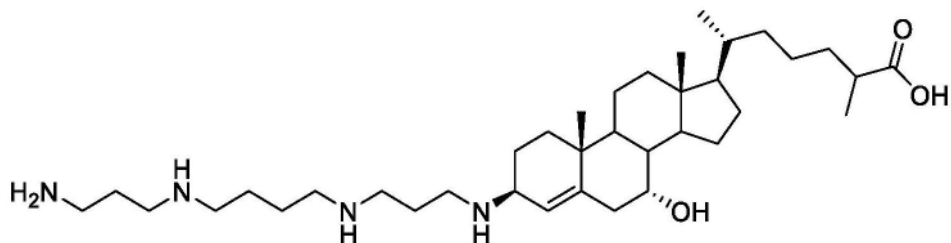
[0405]



[0406] ENT-01a (化合物Ia)。

[0407] 在另一方面,提供了一种抑制下式的氨基固醇的形成的方法:

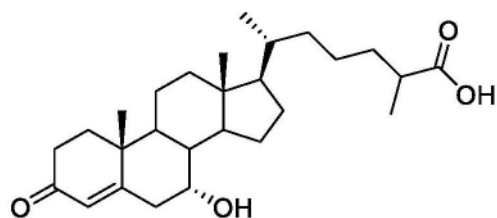
[0408]



[0409] (化合物V),

[0410] 所述方法包括抑制精胺向化合物Ia上的添加:

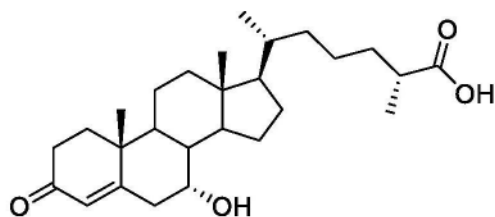
[0411]



[0412] ENT-01a (化合物Ia)。

[0413] 在一些实施方案中,化合物Ia具有下式:

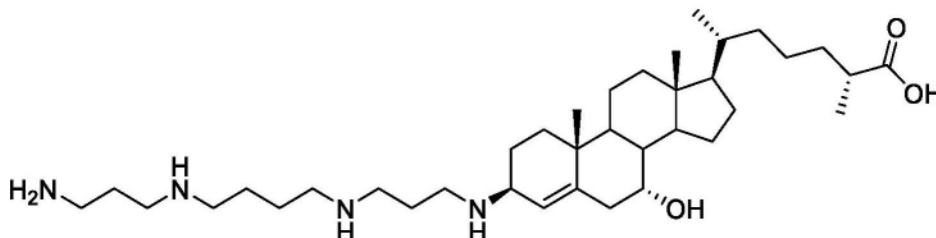
[0414]



[0415] ENT-01 (化合物I,

[0416] 并且化合物V具有下式:

[0417]

[0418] (C₂₅ (R) 化合物V)。

[0419] 在一些实施方案中,氨基固醇在受试者体内产生。在一些实施方案中,氨基固醇在体外产生。

[0420] 在一些实施方案中,在受试者体内抑制精胺向化合物I上的添加。在一些实施方案中,在体外抑制精胺向化合物I上的添加。在一些实施方案中,在受试者体内抑制精胺向化合物Ia上的添加。在一些实施方案中,在体外抑制精胺向化合物Ia上的添加。

[0421] 在一些实施方案中,刺激精胺向化合物Ia上的添加包括使包含精胺和化合物Ia的基质与促进精胺向化合物Ia上的添加的药剂接触。在一些实施方案中,刺激精胺向化合物Ia上的添加包括使包含精胺和化合物Ia的细胞与促进精胺向化合物Ia上的添加的药剂接触。在一些实施方案中,氨基固醇在受试者体内产生,并且刺激精胺向化合物Ia上的添加包括向所述受试者施用有效量的促进精胺向化合物Ia上的添加的药剂。药剂的施用可以包括通过本文讨论的用于施用氨基固醇的任何相同途径施用。

[0422] 在一些实施方案中,促进精胺向化合物Ia上的添加的药剂包含启动子或效应子。效应子可以包括酶激活剂、酶诱导剂、蛋白质、小分子或核酸。在一些实施方案中,所述药剂可以包括激活或催化精胺向化合物Ia上的添加的任何药剂。在一些实施方案中,所述药剂包括一种或多种催化精胺向化合物Ia上的添加的酶。在一些实施方案中,所述药剂包括一种或多种编码催化精胺向化合物Ia上的添加的酶的多核苷酸或一种或多种编码肽效应子的多核苷酸。所述一种或多种多核苷酸可以包括重组DNA和/或RNA。在一些实施方案中,所述药剂可以包含一种或多种多核苷酸的载体。

[0423] 在一些实施方案中,精胺的添加是酶还原胺化。在一些实施方案中,精胺的添加是合成还原胺化。在一些实施方案中,受试者是人类。在一些实施方案中,受试者包括人类和非人类动物,包括哺乳动物,以及未成熟和成熟的动物,包括人类儿童和成年人。人类受试者可以是婴儿、幼儿、学龄儿童、青少年、年轻成年人、成年人或老年患者。

[0424] IV. 组合物

[0425] 在另一方面,本文提供了组合物,其包含本文公开的氨基固醇化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物以及一种或多种药学上可接受的载体和/或赋形剂。本文公开的氨基固醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药的施用可以包括所述组合物

的施用。

[0426] A. 药物载体

[0427] 虽然氨基固醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药可以单独施用,但优选将其作为药物配制品与一种或多种药学上可接受的载体一起施用。所述一种或多种载体必须是在与氨基固醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药相容并且对其接受者无害的意义上“可接受的”。

[0428] 通常,配制品通过使本文所述的氨基固醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物与液体载体或细碎的固体载体或两者均匀且紧密地接触来制备。然后,如有必要,将产物成型为所希望的配制品。非水性载体诸如固定油和油酸乙酯以及脂质体也可用于本文。

[0429] 载体适当地包含少量添加剂,诸如增强等渗性和化学稳定性的物质。此类材料在使用的剂量和浓度下对接受者无毒,并且包括缓冲剂,诸如磷酸盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐、乙酸和其他有机酸或其盐;抗氧化剂,诸如抗坏血酸;低分子量(少于约十个残基)多肽,例如聚精氨酸或三肽;蛋白质,诸如明胶、血清白蛋白或免疫球蛋白;亲水性聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,诸如甘氨酸、谷氨酸、天冬氨酸或精氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括纤维素或其衍生物、葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,诸如EDTA;糖醇,诸如甘露醇或山梨糖醇;抗衡离子,诸如钠;和/或非离子表面活性剂,诸如聚山梨醇酯、泊洛沙姆或PEG。

[0430] 在适合气雾剂施用的情况下,本文所述的氨基固醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药可以使用标准程序配制成气雾剂。术语“气雾剂”包括本文所述化合物的任何气载悬浮相,其能够被吸入细支气管或鼻道,并且包括干粉和水性气雾剂以及肺气雾剂和鼻气雾剂。具体地,气雾剂包括本文所述化合物的液滴的气载混悬剂,其可以在计量剂量吸入器或雾化器中或在喷雾器中产生。气雾剂还包括悬浮在空气或其他载气中的本技术组合物的干粉组合物,其例如可以通过从吸入器装置吹入来递送。参见Ganderton&Jones, Drug Delivery to the Respiratory Tract (Ellis Horwood, 1987); Gonda, Critical Reviews in therapeutic Drug Carrier Systems, 6: 273-313 (1990); 和Raeburn等人. Pharmacol. Toxicol. Methods, 27: 143-159 (1992)。

[0431] B. 剂型

[0432] 氨基固醇组合物可以方便地以单位剂量形式呈现,并且可以通过药学领域众所周知的任何方法制备。示例性氨基固醇剂型包括但不限于口服、鼻内和注射(IP、IV或IM)。优选地,氨基固醇配制品口服施用、鼻内施用或其组合。在又一个实施方案中,施用包括非口服施用。

[0433] 本技术的配制品或组合物可以与说明书或包装插页一起包装或与其包含在试剂盒中。“药学上可接受的载体”是指任何类型的无毒固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、封装材料或配制助剂。

[0434] 根据本技术的药物组合物还可以包含一种或多种粘合剂、填充剂、润滑剂、助悬剂、甜味剂、调味剂、防腐剂、缓冲剂、润湿剂、崩解剂、泡腾剂和其他赋形剂。此类赋形剂是本领域已知的。

[0435] 填充剂的例子包括一水乳糖、无水乳糖和各种淀粉;粘合剂的例子包括各种纤维素和交联聚乙烯吡咯烷酮、微晶纤维素诸如Avicel® PH101和Avicel® PH102微晶纤维素、和硅

化微晶纤维素(ProSolv SMCC™)。

[0436] 合适的润滑剂,包括作用于待压缩粉末的流动性的试剂,可以包括胶体二氧化硅,诸如Aerosil® 200、滑石、硬脂酸、硬脂酸镁、硬脂酸钙和硅胶。

[0437] 甜味剂的例子可以包括任何天然或人造甜味剂,诸如蔗糖、木糖醇、糖精钠、甜蜜素、阿斯巴甜和安赛蜜。调味剂的例子是Magnasweet® (MAFCO的商标)、泡泡糖调味剂和水果调味剂等。

[0438] 防腐剂的例子包括山梨酸钾、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸及其盐、对羟基苯甲酸的其他酯诸如对羟基苯甲酸丁酯、醇诸如乙醇或苯甲醇、酚类化合物诸如苯酚、或季化合物诸如苯扎氯铵。

[0439] 合适的稀释剂包括药学上可接受的惰性填充剂,诸如微晶纤维素、乳糖、磷酸氢钙、糖类和/或任何前述物质的混合物。稀释剂的例子包括微晶纤维素,诸如Avicel® PH101和Avicel® PH102;乳糖,诸如一水乳糖、无水乳糖和Pharmatose® DCL21;磷酸氢钙,诸如Emcompress®;甘露醇;淀粉;山梨糖醇;蔗糖;和葡萄糖。

[0440] 合适的崩解剂包括轻度交联的聚乙烯吡咯烷酮、玉米淀粉、马铃薯淀粉、玉米淀粉和改性淀粉、交联羧甲基纤维素钠、交联聚维酮、淀粉乙醇酸钠及其混合物。

[0441] C. 剂量和给药期

[0442] 本文所述氨基固醇的剂量范围可以是从约1至约500mg/天或这两个值之间的任何量。在一些实施方案中,向受试者施用治疗有效剂量的本文所述氨基固醇。在本公开文本的方法中至少一种氨基固醇或其盐或衍生物的治疗有效量可以是例如约0.1至约20mg/kg、约0.1至约15mg/kg、约0.1至约10mg/kg、约0.1至约5mg/kg或约0.1至约2.5mg/kg受试者体重。在另一方面,在本公开文本的方法中至少一种氨基固醇或其盐或衍生物的治疗有效量可以是例如约0.001至约500mg/天、约0.001至约250mg/天、约0.001至约125mg/天、约0.001至约50mg/天、约0.001至约25mg/天或约0.001至约10mg/天。

[0443] 本文所述氨基固醇的口服剂量范围可以是从约1至约500mg/天或这两个值之间的任何量。在一个实施方案中,施用方法包括口服施用,并且氨基固醇的治疗有效量包括(i) 约1至约300mg/天;(ii) 约25至约300mg/天;(iii) 约50至约300mg/天;或(iv) 约75至约300mg/天。口服施用氨基固醇的其他示例性剂量包括但不限于约5、约10、约15、约20、约25、约30、约35、约40、约45、约50、约55、约60、约65、约70、约75、约80、约85、约90、约95、约100、约105、约110、约115、约120、约125、约130、约135、约140、约145、约150、约155、约160、约165、约170、约175、约180、约185、约190、约195、约200、约205、约210、约215、约220、约225、约230、约235、约240、约245、约250、约255、约260、约265、约270、约275、约280、约285、约290、约295、约300、约305、约310、约315、约320、约325、约330、约335、约340、约345、约350、约355、约360、约365、约370、约375、约380、约385、约390、约395、约400、约405、约410、约415、约420、约425、约430、约435、约440、约445、约450、约455、约460、约465、约470、约475、约480、约485、约490、约495或约500mg/天。

[0444] 氨基固醇的鼻内剂量远低于氨基固醇的口服剂量。此类鼻内氨基固醇低剂量的例子包括但不限于约0.001至约6mg/天或这两个值之间的任何量。在一些实施方案中,施用方法包括经鼻施用,并且氨基固醇的治疗有效量包括(i) 约0.001至约6mg/天;(ii) 约0.001至

约4mg/天;或(iii)约0.001至约2mg/天。例如,鼻内施用氨基固醇的低剂量可以是约0.001、约0.005、约0.01、约0.02、约0.03、约0.04、约0.05、约0.06、约0.07、约0.08、约0.09、约0.1、约0.2、约0.3、约0.4、约0.5、约0.6、约0.7、约0.8、约0.9、约1、约1.1、约1.2、约1.3、约1.4、约1.5、约1.6、约1.7、约1.8、约1.9、约2、约2.1、约2.2、约2.3、约2.4、约2.5、约2.6、约2.7、约2.8、约2.9、约3、约3.1、约3.2、约3.3、约3.4、约3.5、约3.6、约3.7、约3.8、约3.9、约4、约4.1、约4.2、约4.3、约4.4、约4.5、约4.6、约4.7、约4.8、约4.9、约5、约5.1、约5.2、约5.3、约5.4、约5.5、约5.6、约5.7、约5.8、约5.9或约6mg/天。

[0445] 对于鼻内(IN)施用,考虑到可以选择氨基固醇剂量,使得相同的剂量如果通过任何其他途径施用将不提供任何药理作用-例如,“亚治疗”剂量,并且另外,不会产生负面影响。例如,如本文所述,化合物III(ENT-03)具有减少食物摄入和减轻体重的药理作用。因此,在本公开文本的鼻内方法的某些实施方案中,如果氨基固醇可以是化合物III(ENT-03)或其盐、溶剂化物、前药或衍生物,那么如果相同的鼻内化合物III剂量经由另一种途径诸如口服、腹膜内或静脉内施用,则化合物III剂量将不会导致明显的食物摄入减少或明显的体重减轻。类似地,已知一些氨基固醇会产生恶心、呕吐和/或血压降低的药理作用。因此,在本公开文本的鼻内方法的某些实施方案中,如果氨基固醇在鼻内给药时具有这种作用,那么如果相同的鼻内氨基固醇剂量经由另一种途径诸如口服、腹膜内或静脉内施用,则氨基固醇剂量将不会导致明显的恶心、呕吐和/或血压降低。在一些实施方案中,鼻内施用包括向脑部递送氨基固醇。上面描述了合适的示例性氨基固醇剂量。

[0446] 如果任何给定的氨基固醇引起持续的不希望的副作用,诸如腹泻、呕吐或恶心,则可以递减(减少)氨基固醇剂量。在另一个实施方案中,氨基固醇的剂量可以加或减限定量而变化,以能够适度减少剂量以消除不良事件,或者如果临床结果表明这是希望的-例如,没有或最少的不良事件并且适度增加剂量潜在地增加功效,则适度增加剂量。例如,在一个实施方案中,氨基固醇剂量可以增加或降低约1%、约2%、约3%、约4%、约5%、约6%、约7%、约8%、约9%、约10%、约11%、约12%、约13%、约14%、约15%、约16%、约17%、约18%、约19%或约20%。

[0447] 包含氨基固醇或其衍生物、盐、溶剂化物或前药的药物组合物可以在任何合适的时间段内施用,包括在延长时间段内作为维持剂量。可以在需要的基础上使用任何药学上可接受的给药方案进行给药。氨基固醇给药可以不超过每天1次、每隔一天一次、每三天一次、每四天一次、每五天一次、每六天一次、每周一次,或在给定的一天内分在多个时间段内(例如,每天两次)。在一个示例性实施方案中,剂量是1次/天。

[0448] 在其他实施方案中,所述组合物可以如下施用:(1)作为单剂量或在一定时间段内作为多剂量;(2)维持剂量持续无限时间段;(3)一次、两次或多次;(4)每天、每隔一天、每3天、每周或每月;(5)持续一定时间段,诸如约1、约2、约3或约4周,约1、约2、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9、约10、约11或约12月,约1年、约1.5年、约2、约2.5、约3、约3.5、约4、约4.5、约5、约5.5、约6、约6.5、约7、约7.5、约8、约8.5、约9、约9.5、约10、约10.5、约11、约11.5、约12、约12.5、约13、约13.5、约14、约14.5、约15、约15.5、约16、约16.5、约17、约17.5、约18、约18.5、约19、约19.5、约20、约20.5、约21、约21.5、约22、约22.5、约23、约23.5、约24、约24.5或约25年;或(6)这些参数的任何组合,诸如每天施用持续6个月,每周施用持续1年或更多年,等等。

[0449] 又一个示例性给药方案包括定期给药,其中有效剂量可以每约1、约2、约3、约4、约5、约6天一次或每周一次递送。

[0450] 在一个优选的实施方案中,氨基固醇剂量在早晨服用,即优选在醒来后约两小时内空腹服用,并且随后可以禁食一定时间段,诸如例如约60至约90分钟。在其他实施方案中,氨基固醇剂量在醒来后约15min、约30min、约45min、约1hr、约1.25h、约1.5h、约1.75h、约2h、约2.25h、约2.5h、约2.75h、约3h、约3.25h、约3.5h、约3.75h或约4h内服用。在又进一步的实施方案中,氨基固醇剂量后禁食约时间段,其中所述时间段是至少约30min、约45min、约60min、约1.25h、约1.5h、约1.75h或约2h。

[0451] 不受理论的束缚,据信由于氨基固醇对昼夜节律有影响,可能是由于其ENS信号传导,早晨服用氨基固醇剂量能够使白天发生的所有自主生理功能同步。在本公开文本的其他实施方案中,氨基固醇剂量在醒来后约15min、约30min、约45min、约1小时、约1.25h、约1.5h、约1.75h、约2h、约2.25h、约2.5h、约2.75h、约3h、约3.25h、约3.5h、约3.75h或约4h内服用。另外,在本公开文本的其他实施方案中,在氨基固醇剂量后,受试者禁食约15min、约30min、约45min、约1小时、约1.25h、约1.5h、约1.75h、约2h、约2.25h、约2.5h、约2.75h或约3小时的时间段。

[0452] D. “固定氨基固醇剂量”

[0453] 在一方面,本申请涉及发现一种确定本文所述氨基固醇的“固定剂量”的方法,所述方法不依赖于年龄、大小或体重,而是单独校准的。通过这种方法获得的“固定剂量”在治疗基于其确定“固定剂量”的一种或多种症状、沿“脑肠”轴的相关症状、和潜在障碍方面产生了非常有效的结果。此外,本文考虑了将这种相同的“固定剂量”方法充分用于预防潜在障碍的方法的方法。本公开文本不限于由此确定特定患者的固定氨基固醇剂量的方法。

[0454] 通过建立氨基固醇组合物的起始剂量以及改善特定症状的阈值来针对每个患者确定将治疗有效的“固定氨基固醇剂量”本文也称为“固定递增氨基固醇剂量”,所述阈值用作评价氨基固醇剂量有效性的工具或标记。在针对特定患者确定起始氨基固醇剂量后,所述氨基固醇剂量然后在一致的时间间隔内以一致的量逐渐递增,直到实现所希望的改善;此氨基固醇剂量是针对该特定患者的该特定症状的“固定递增氨基固醇剂量”。在示例性实施方案中,口服施用的氨基固醇剂量每约3至约5天递增约25mg,直至达到所希望的改善。所评价的症状以及测量症状改善的工具可能在下面具体描述,包括但不限于便秘、幻觉、睡眠紊乱(例如,REM紊乱睡眠或昼夜节律功能障碍)、认知损害、抑郁症、或 α -突触核蛋白聚集。

[0455] 然后在整个治疗和/或预防过程中维持这种治疗有效的“固定剂量”。因此,即使患者“停药”并且停止服用氨基固醇组合物,在重新开始氨基固醇治疗后仍服用相同的“固定剂量”而没有斜升期。不受理论的束缚,据信氨基固醇剂量取决于与建立“固定剂量”阈值的症状相关的神经损害的严重程度-例如,对于便秘,剂量可能与患者肠道神经系统损害的程度有关。

[0456] 剂量递增:在针对特定患者确定“固定氨基固醇剂量”时,患者从较低剂量开始,并且然后递增剂量,直到观察到所评价症状的阳性结果。示例性待评价症状可以是便秘,但与待治疗疾病或障碍相关的任何症状都可以用作评价氨基固醇剂量的标记。如果任何给定的氨基固醇引起持续的不希望的副作用,诸如腹泻、呕吐或恶心,则还可以递减(减少)氨基固醇剂量。

[0457] 起始氨基固醇剂量取决于症状的严重程度-例如,对于经历严重便秘(定义为每周少于一次自发性排便(SBM))的患者,起始口服氨基固醇剂量可以是约150mg/天或更高。相比之下,对于患有中度便秘(例如,定义为每周有多于一次SBM)的患者,起始口服氨基固醇剂量可以是约75mg/天。因此,例如,经历中度便秘的患者可以以约75mg/天的口服氨基固醇剂量开始,而经历严重便秘的患者可以以约150mg/天的口服氨基固醇剂量开始。

[0458] 在其他实施方案中,经历中度症状(计算固定递增氨基固醇剂量的症状)的患者可以以从约10mg/天至约75mg/天的口服氨基固醇剂量或这些值之间的任何量开始。例如,中度症状的起始口服氨基固醇剂量可以是约10、约15、约20、约25、约30、约35、约40、约45、约60、约65、约70或约75mg/天。

[0459] 在又进一步的实施方案中,当患者正在经历严重症状(用于计算固定递增氨基固醇剂量的症状)时,患者可以以在从约75至约175mg/天的范围内的口服氨基固醇剂量或这两个值之间的任何量开始。例如,用于严重症状的起始口服氨基固醇剂量可以是约75、约80、约85、约90、约95、约100、约105、约110、约115、约120、约125、约130、约135、约140、约145、约150、约155、约160、约165、约170或约175mg/天。

[0460] 在一些实施方案中,起始口服氨基固醇剂量可以是约125mg或约175mg/天;同样取决于症状诸如便秘的严重程度。

[0461] 剂量递增之前的起始鼻内(IN)氨基固醇剂量可以是例如约0.001mg至约3mg/天或这两个值之间的任何量。例如,在剂量递增之前用于鼻内施用的起始氨基固醇剂量可以是例如约0.001、约0.005、约0.01、约0.02、约0.03、约0.05、约0.06、约0.07、约0.08、约0.09、约0.1、约0.15、约0.2、约0.25、约0.3、约0.35、约0.4、约0.45、约0.5、约0.55、约0.6、约0.65、约0.7、约0.75、约0.8、约0.85、约0.9、约1.0、约1.1、约1.25、约1.3、约1.4、约1.5、约1.6、约1.7、约1.75、约1.8、约1.9、约2.0、约2.1、约2.25、约2.3、约2.4、约2.5、约2.6、约2.7、约2.75、约2.8、约2.9或约3mg/天。

[0462] 在示例性实施方案中,氨基固醇剂量根据需要定期给予。例如,氨基固醇剂量可以每天一次给予。氨基固醇剂量也可以每隔一天,2、3、4或5次/周,一次/周,或2次/周给予。在另一个实施方案中,氨基固醇剂量可以每隔一周给予,或者其可以给予几周,然后跳过几周(因为效果在治疗后持续存在),然后重新开始氨基固醇治疗。

[0463] 当计算固定递增氨基固醇剂量时,可以在任何合适的时间段后递增剂量。在一个实施方案中,氨基固醇剂量每约3至约7天递增约限定的量,直到达到所希望的改善。例如,当所治疗/测量的症状是便秘时,阈值改善可以是一次SBM/周或至少总共三次排便/周的增加。在其他实施方案中,氨基固醇剂量可以每约1、约2、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9、约10、约11、约12、约13或约14天递增。在其他实施方案中,氨基固醇剂量可以递增约1次/周、约2次/周,约每隔一周,或约1次/月。

[0464] 在剂量递增期间,氨基固醇剂量可以增加限定的量。例如,当口服施用氨基固醇时,剂量可以以约5、约10、约15、约20、约25、约30、约35、约40、约45或约50mg的增量递增。当鼻内施用氨基固醇时,则剂量可以以约例如约0.1、约0.2、约0.25、约0.3、约0.35、约0.4、约0.45、约0.5、约0.55、约0.6、约0.65、约0.7、约0.75、约0.8、约0.85、约0.9、约0.95、约1、约1.1、约1.2、约1.3、约1.4、约1.5、约1.6、约1.7、约1.8、约1.9或约2mg的增量递增。

[0465] 可用作确定患者固定递增氨基固醇剂量的氨基固醇剂量的终点的其他症状是已

知与旨在治疗的疾病、障碍或病症相关的任何症状。例如,神经疾病症状描述在本文中并且包括但不限于(a)如由统一帕金森病评定量表(UPDRS)第I部分所定义的日常生活体验的至少一个非运动方面,例如像认知损害、幻觉和精神病、抑郁情绪、焦虑心境、冷漠、多巴胺失调综合征的特征、睡眠问题、日间嗜睡、疼痛、泌尿问题、便秘问题、站立时头晕、和疲劳;(b)如UPDRS第II部分所定义的日常生活体验的至少一个运动方面,例如像言语、唾液和流口水、咀嚼和吞咽、进食任务、穿衣、卫生、手写、在床上翻身、颤抖、从床、汽车或深椅子上下来、行走和平衡、和僵滞;(c)UPDRS第III部分中鉴定的至少一种运动症状,例如像言语、面部表情、僵硬、手指敲击、手部运动、手的旋前-旋后运动、脚趾敲击、腿敏捷性、从椅子上起身、步态、步态僵滞、姿势稳定性、姿势、身体动作迟缓、手的姿势性震颤、手的运动性震颤、静止性震颤幅度、和静止性震颤的持续性;(d)UPDRS第IV部分中鉴定的至少一种运动并发症,例如像异动症、异动症的功能性影响、处于关态的时间、波动的功能性影响、运动波动的复杂性、和疼痛的关态肌张力障碍;(e)便秘;(f)抑郁症;(g)认知损害;(h)睡眠问题或睡眠紊乱;(i)昼夜节律功能障碍;(j)幻觉;(k)疲劳;(l)REM紊乱睡眠;(m)REM行为障碍;(n)勃起功能障碍;(o)呼吸暂停;(p)姿势性低血压;(q)血压或直立性低血压的矫正;(r)夜间高血压;(s)温度调节;(t)呼吸或呼吸暂停的改善;(u)心脏传导缺陷的矫正;(v)疼痛的改善;(w)恢复膀胱感觉和排尿;(x)尿失禁;和/或(y)夜尿症的控制。

[0466] V. 治疗和/或预防方法

[0467] 本公开文本的方面涉及通过施用治疗有效量的本文公开的氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III或本文所述的另一种氨基固醇)或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物(任选存在于一种或多种药学上可接受的载体中)治疗某些症状的方法和/或治疗和/或预防与这些症状中的一种或多种相关的疾病或障碍的方法。治疗有效量可以如本文所述,包括但不限于如本文所述确定的“固定氨基固醇剂量”。

[0468] 在一个实施方案中,症状、疾病和/或障碍通常与异常 α S病理和/或多巴胺能功能障碍相关,这意味着它们可顺从本文所述氨基固体的治疗。本技术的组合物可以使用任何药学上可接受的方法施用,包括但不限于口服、肺部、经鼻和雾化施用。在又一个实施方案中,施用包括非口服施用。

[0469] 在一些实施方案中,本文提供了用于治疗具有易感于氨基固醇治疗的病症或症状的有需要的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所述氨基固醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。在一些实施方案中,本文提供了用于治疗患有对氨基固醇治疗易感的病症的有需要的受试者,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的组合物,所述组合物包含本文公开的氨基固醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药以及一种或多种药学上可接受的载体和/或赋形剂或基本上由其组成。

[0470] 顺从氨基固醇治疗的症状的非限制性例子包括但不限于便秘、幻觉、睡眠障碍、认知损害、抑郁症和炎症。

[0471] 顺从氨基固醇治疗的疾病的例子描述在本文中并且包括但不限于本文所述那些,诸如神经系统疾病,例如PD、AD、MSA、精神分裂症、亨廷顿病(HD)、进行性核上性麻痹、额颞叶痴呆(FTD)、血管性痴呆、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、多发性硬化症(MS)、脊髓性肌萎缩症(SMA)、弗里德赖希共济失调。在另一个实施方案中,提供了本文所述氨基固醇和包含其的组合物可以用于治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的心理或行为障碍和/或相关症状的

开始或进展的方法,在一个实施方案中,心理或行为障碍可以是例如抑郁症、焦虑、谵妄、易怒、错觉和妄想、健忘症、自闭症、冷漠、双相障碍、去抑制、异常运动和强迫性行为、睡眠障碍、睡眠片段化、REM行为障碍、昼夜节律功能障碍、睡眠呼吸暂停、和认知损害。在另一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的脑或全身缺血性障碍和/或相关症状的开始或进展的方法。脑或全身缺血性障碍可以是例如微血管病、分娩时脑缺血、心脏骤停或复苏期间/之后的脑缺血、由于手术中问题引起的脑缺血、颈动脉手术期间的脑缺血、由于脑部供血动脉狭窄引起的慢性脑缺血、窦血栓形成或脑静脉血栓形成、脑血管畸形、糖尿病性视网膜病变、高血压、高胆固醇、心肌梗塞、心功能不全、心力衰竭、充血性心力衰竭、心肌炎、心包炎、心包心肌炎、冠心病、心绞痛、先天性心脏病、休克、四肢缺血、肾动脉狭窄、糖尿病性视网膜病变、与疟疾相关的血栓形成、人工心脏瓣膜、贫血、脾功能亢进综合征、肺气肿、肺纤维化、勃起功能障碍、和肺水肿。

[0472] 在一个实施方案中,提供了抑制蛋白酪氨酸磷酸酶1B(PTP1B)的方法,所述方法包括使PTP1B与本文公开的至少一种氨基固醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药接触。

[0473] 申请人在实施例3中显示,角鲨胺可以增加年老小鼠肠道中的转录,从而对肠道具有复壮作用。据信此活性扩展至ENT-03(化合物III)及其衍生物。因此,在另一方面,提供了一种增加受试者肠道中转录的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文任何实施方案的氨基固醇化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0474] A. 与异常 α S病理和/或多巴胺能功能障碍相关并且顺从氨基固醇治疗的示例性症状

[0475] (1) 便秘

[0476] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的便秘和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0477] 便秘是世界范围内的常见问题,影响2%至27%的群体,大多数估计从12%至20%变化。在>65岁的人中,便秘的患病率增加到30%-40%,并且女性不成比例地受影响。在北美,6300万人符合便秘的罗马(Rome) IV标准,并且仅在美国,便秘导致每年超过200万医生就诊。每年为200万-300万患者开出泻药,并且此外,在大多数患者中,病症是慢性的,需要终生治疗。

[0478] 便秘在PD患者中比在普通群体中更常见。美国有100万人患有PD,其中大约60%或600,000人患有慢性便秘,并且在大多数情况下,病症是慢性的、严重且对标准疗法无反应。这对于患有PD的个体和医疗保健系统来说代表一种经济负担。根据在fss.gsa.gov上可访问的2016年4月的联邦供应计划(Federal Supply Schedule),对于一篮子口服施用便秘药物的平均30天补偿价格是每年大约260美元或3120美元。这代表仅对于患有PD的患者约18亿美元的处方泻药。

[0479] 便秘被定义为在固定时间内排便频率低于正常(例如,少于3次排便/周)。虽然经常严格而言被排除作为胃肠道症状,但便秘在ENS变性可能指示后期CNS变性的程度上被认为是神经变性疾病的早期指标。确实,不受理论的束缚,但便秘被认为是PD病理的最早指标之一。因此,本文公开的方法实施方案涉及便秘的治疗或与便秘相关的潜在障碍的治疗和/或预防。

[0480] 便秘在PD中常见,并且通常在运动功能障碍的开始和随后的PD诊断之前几年就出现症状。有大量证据表明,与PD相关的神经变性过程,即 α -突触核蛋白的毒性聚集体的积累,在它们出现在脑部中之前几年在肠神经系统中发生。据信,肠神经系统(ENS)(其表面积巨大)受到感染原和毒性物质的持续侵害。尽管 α -突触核蛋白的功能未知,但神经系统内的炎症会导致其细胞内水平的增加。在患有PD的个体中, α -突触核蛋白的增加导致神经毒性聚集体的形成,可能是由于神经元未能有效处理它们(由于遗传因素)。然后, α -突触核蛋白的聚集体沿着迷走神经运输到脑干内的背侧运动核,并且从那里到达更多嘴侧结构。

[0481] 患有PD的个体患有被认为主要由通过结肠的延迟运输引起的便秘形式。另外,PD受试者的肛门直肠反射的功能障碍通常损害排便。对于许多个体,肠问题代表生活质量的显著损害。未能有效管理此问题也可能导致肠梗阻,尤其是在PD末期临近时。有限数量的疗法已经受临床试验,并且它们包括通过阻断液体再吸收或增加肠道内的渗透负荷来增加粪便中液体含量的药剂。

[0482] PD中GI功能障碍的病理生理学涉及ENS和脑干两者内的 α S沉积。由于仍然未知的原因,通常在神经元中产生的蛋白质 α S在PD中形成神经毒性的细胞内聚集体。大量研究表明, α S聚集体的形成在运动症状开始之前许多年开始于PD个体的ENS。由于迷走神经内发生的正常逆行神经元运输,毒性 α S聚集体从ENS的神经元转运到迷走神经的背侧运动核,并且然后逐渐转运到脑干内参与身体运动和平衡的部位。因为便秘根本上具有获得性神经变性性质,所以它不同于此病症的其他形式。

[0483] 可用于测量和评价氨基固醇治疗对便秘的作用的工具的例子包括例如:(1)便秘的罗马-IV标准(7条标准,其中便秘诊断需要以下中的两项或多项:(i)在至少25%的排便期间张紧,(ii)在至少25%的排便中有块状或硬的粪便,(iii)对于至少25%的排便感觉不完全排空,(iv)对于至少25%的排便感觉肛门直肠梗阻/阻塞;(v)手动策略以促进至少25%的排便;(vi)少于3次排便/周;以及(vii)在不使用泻药的情况下很少存在稀便);(2)便秘-排空容易性量表(Ease of Evacuation Scale)(从1-7,其中7=失禁,4=正常,并且1=手动解除嵌塞);(3)布里斯托粪便图表(Bristol Stool Chart,这是一种对患者友好的粪便特征分类手段(粪便稠度评估是经过验证的肠道运动性的有效替代指标)和粪便日记;(4)统一帕金森病量表(UPSRS),第1.11节(便秘问题);(5)患者便秘评估症状(Patient Assessment of Constipation Symptoms)(PAC-SYM);以及(5)患者便秘评估生活质量(Patient Assessment of Constipation Quality of Life)(PAC-QOL)。

[0484] 可以通过氨基固醇治疗产生积极影响的便秘的特征的例子包括但不限于便秘的频率、便秘症状的持续时间、排便频率、粪便稠度、腹痛、腹胀、不完全排空、排空尝试不成功、排空时疼痛、和排空时张紧。潜在地,所有这些特征都可以受到本公开文本方法的积极影响。此外,这些特性的评估在本领域中是已知的,例如自发排便(SBM)/周、粪便稠度(布里斯托粪便图表)(Lewis和Heaton 1997;Heaton等人1992)、易通过性(排空容易性量表)(Andresen等人2007)、急救药物的使用以及与肠功能相关的症状和生活质量(PAC-SYM)(Frank等人1999)和PAC-QOL(Marquis等人2005))。

[0485] 使用治疗有效剂量的根据本公开文本的氨基固醇组合物治疗和/或预防便秘的方法优选导致自发排便数量/周的增加和/或其他粪便状况的改善。例如,增加可以是一周内约1至约3次之间自发排便的增加,或任选地,完全恢复正常肠功能。

[0486] 在本公开文本的一个实施方案中,在本文所述方法中用氨基固醇治疗患有便秘的受试者导致便秘的一种或多种特征的改善。改善可以是例如约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约100%、约110%、约120%、约130%、约140%、约150%、约160%、约170%、约180%、约190%、约200%、约210%、约220%、约230%、约240%、约250%、约260%、约270%、约280%、约290%、约300%、约325%、约350%、约375%或约400%。可通过本公开文本方法改善的便秘特征的例子包括但不限于便秘的频率、便秘症状的持续时间、排便频率、粪便稠度、腹痛、腹胀、不完全排空、排空尝试不成功、排空时疼痛、和排空时张紧。便秘特征的测量可以使用任何临床上认可的量表或工具来完成。

[0487] 在一个实施方案中,获得对所评价的症状的积极影响所需的氨基固醇的剂量,本文称为“固定递增氨基固醇剂量”,是患者特异性的,如本文所述。在另一个实施方案中,便秘的严重程度与较高需要的“固定递增氨基固醇剂量”相关。理论上,在受试者中获得对所评价的症状的积极作用所需的氨基固醇剂量与神经元损害的程度相关。因此,理论上,更大的神经元损害与在受试者中获得所评价的症状的积极作用所需的较高氨基固醇剂量相关。实现希望反应所需的氨基固醇剂量随着便秘严重程度增加而增加的结果支持了以下假设: α S阻碍神经元功能的负担越大,恢复正常肠功能所需的氨基固醇剂量就越高。还假设PD中的胃肠动力障碍是由于ENS中 α S的进行性积累引起的,并且氨基固醇治疗可以通过置换 α S和刺激肠神经元来恢复神经元功能。这些结果证明,PD中的ENS未被不可逆转地损害并且可以恢复到正常功能。

[0488] 在为特定患者校准固定氨基固醇剂量时,起始剂量基于便秘的严重程度而变化。因此,对于患有严重便秘的受试者,例如1或更少次CSBM或SMB/周的受试者,口服氨基固醇剂量开始于约100至约150mg/天或更多(或如本文所述这些值之间的任何量)。对于便秘不太严重(例如,多于1次CSBM或SBM/周)的受试者,口服氨基固醇剂量开始于约25至约75/天mg(或如本文所述这些值之间的任何量)。然后在限定的时间段内将两名患者的剂量递增限定的量,直到鉴定出患者的固定递增剂量。如果任何给定的氨基固醇引起持续的不希望的副作用,诸如腹泻、呕吐或恶心,则还可以递减(减少)氨基固醇剂量。

[0489] 例如,对于患有严重便秘的患者,起始口服氨基固醇剂量可以是75mg至约300mg/天或这两个值之间的任何量。在其他实施方案中,针对严重便秘患者的起始口服氨基固醇剂量可以是例如约75、约80、约85、约90、约95、约100、约105、约110、约115、约120、约125、约130、约135、约140、约145、约150、约155、约160、约165、约170、约175、约180、约185、约190、约195、约200、约205、约210、约215、约220、约225、约230、约235、约240、约245、约250、约255、约260、约265、约270、约275、约280、约285、约290、约295或约300mg/天。针对严重便秘患者的“固定递增”口服氨基固醇剂量可以在从约75mg直至约500mg/天的范围内。

[0490] 对于便秘不太严重的患者,口服氨基固醇剂量开始于约10至约75/天mg或如本文所述这两个值之间的任何量。例如,针对患有中度至轻度便秘的患者的起始口服氨基固醇剂量可以是约1、约5、约10、约15、约20、约25、约30、约35、约40、约45、约50、约55、约60、约65、约70、高达小于或等于约75mg/天。针对轻度至中度便秘患者的固定递增口服氨基固醇剂量可以在从约5mg至约350mg/天的范围内或如本文所述这两个值之间的任何量。

[0491] (2) 幻觉

[0492] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的幻觉和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0493] 幻觉是对物体或事件的感官印象或感知,在没有外部刺激基础的5种感官(景象、触觉、声音、气味或味道)中的任一种方面。幻觉可以通过对自己或他人造成伤害、使受试者在日常情况下难以正常发挥功能、以及引起睡眠中断而对受试者的健康和生活具有衰弱的影响。幻觉的例子包括“看到”不在那里的人(视觉幻觉)、“听到”别人没有听到的声音(听觉幻觉)、“感觉”有东西在你的腿上爬(触幻觉)、“闻”(嗅觉)和“尝”(味觉)。幻觉类型的其他例子包括睡前幻觉(在入睡时发生的生动的梦幻般的幻觉)、醒前幻觉(在觉醒时发生的生动的梦幻般的幻觉)、动觉幻觉(涉及身体运动感的幻觉)和躯体幻觉,躯体幻觉是涉及对身体内发生的身体感受的感知的幻觉。

[0494] 幻觉可能是精神病学病症的结果或与诸如神经疾病的疾病相关。幻觉、尤其是听觉幻觉是某些精神病学病症诸如精神分裂症的特征,发生在高达70%-80%的受试者中。它们也发生在30%-50%的患有边缘型人格障碍的个体中。听觉幻觉可以控制行动或行为并且引发暴力防御行为或可替代地导致自我伤害行为。它们也可能发生在产后精神病中。听觉幻觉可能不太经常发生在重度抑郁患者或甚至躁狂症中。药物滥用也可能与视觉幻觉相关。酒精中毒或戒断、创伤后应激障碍(PTSD)和丧亲之哀也可能与视觉幻觉有关。

[0495] 在某些情况下,幻觉是精神病学或神经系统障碍的结果。例如,氨基固醇组合物逆转精神病学或神经系统障碍的功能障碍并且治疗幻觉。例如,精神病学障碍可以选自双相障碍、边缘型人格障碍、抑郁症(混合型)、分离性身份障碍、广泛性焦虑障碍、重度抑郁症、强迫性障碍、创伤后应激障碍、精神病(NOS)、分裂情感障碍和精神分裂症。神经变性障碍可以是,例如,PD、核上性麻痹、多系统萎缩、帕金森症、阿尔茨海默病、额颞叶痴呆、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、亨廷顿病、精神分裂症、弗里德赖希共济失调、多发性硬化症(MS)、路易体痴呆或疾病、脊髓性肌萎缩症、额颞叶痴呆、进行性核性麻痹、瓜德罗普型帕金森症、脊髓小脑性共济失调、或血管性痴呆。在一个优选的实施方案中,本公开文本的氨基固醇组合物逆转神经变性障碍的功能障碍并且治疗幻觉。例如,神经系统障碍也可以是以下的结果:(a)脑肿瘤,(b)睡眠障碍诸如发作性睡病,或(c)局灶性脑病变,诸如枕叶病变或颞叶病变。在一个示例性实施方案中,颞叶病变可以是钩回、大脑脚或黑质的病变。例如,神经系统障碍可以是以下的结果:(d)大脑皮层弥漫性受累,诸如由病毒性传染病引起的大脑皮层弥漫性受累。

[0496] 大脑皮层弥漫性受累可能是大脑血管炎病症的结果,并且病毒性传染病可以是例如急性代谢性脑病、脑炎或脑膜炎。大脑血管炎病症可以由自身免疫性障碍、细菌或病毒感染、或全身性血管炎引起。自身免疫性障碍可以是例如系统性红斑狼疮(SLE)。

[0497] 再此外,幻觉可能是由感觉丧失引起的。感觉丧失可以是例如视觉、听觉、味觉、触觉或嗅觉的。在一个优选的实施方案中,本公开文本的氨基固醇组合物逆转感觉丧失的功能障碍并且治疗幻觉。在另一个优选的实施方案中,本公开文本的氨基固醇组合物逆转肠神经系统的功能障碍并且治疗幻觉。

[0498] 使用治疗有效量的根据本公开文本的氨基固醇组合物治疗和/或预防幻觉的方法

优选导致幻觉的降低。降低可以是例如幻觉发生减少约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。本公开文本的方法也可能导致受试者没有幻觉。幻觉可以包括例如视觉、听觉、触觉、味觉或嗅觉幻觉。可以使用任何临床上认可的评估或工具来测量改善。

[0499] 可用于测量和评价氨基固醇治疗对幻觉的作用的工具的例子包括例如：迈阿密大学帕金森病幻觉问卷 (University of Miami Parkinson's Disease Hallucinations Questionnaire) (UM-PDHQ)、统一帕金森病量表 (UPSRs) - 第1.2节 (幻觉和精神病)、直接询问、芝加哥幻觉评估工具 (Chicago Hallucination Assessment Tool) (CHAT)、精神病症状评定量表 (Psychotic Symptom Rating Scales) (PSYRATS)、听觉幻觉评定量表 (Auditory Hallucinations Rating Scale) (AHRS)、汉密尔顿计划精神分裂症声音问卷 (Hamilton Program for Schizophrenia Voices Questionnaire) (HPSVQ)、听觉幻觉特征问卷 (Characteristics of Auditory Hallucinations Questionnaire) (CAHQ)、心理健康研究所不寻常感知时间表 (Mental Health Research Institute Unusual Perception Schedule) (MUPS)、阳性和阴性综合征量表 (positive and negative syndrome scale) (PANSS)、阳性症状评估量表 (scale for the assessment of positive symptoms) (SAPS)、Launay-Slade幻觉量表 (Launay-Slade hallucinations scale) (LSHS)、卡迪夫异常感知量表 (Cardiff anomalous perceptions scale) (CAPS) 和用于评估感知异常的结构化访谈 (structured interview for assessing perceptual anomalies) (SIAPA)。

[0500] (3) 与异常 α S病理和/或多巴胺能功能障碍相关并且顺从氨基固醇治疗的炎症

[0501] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓受试者的与 α S病理相关的炎症和/或相关症状的开始或进展的方法。所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0502] α S是有效力的促炎激素。炎症可以通过两种策略中的任一种来阻断。首先,可以通过降低或停止 α S的产生来减少 α S的组织浓度而阻断炎症。可替代地,可以通过中断 α S与表达CD11b的炎症细胞之间的信号传导来阻断炎症。本公开文本方法的受试者可以是任何哺乳动物,包括人类。

[0503] 由神经元 α S过度表达引起的炎性疾病或病症可以是神经变性障碍 (NDD), 诸如 α -突触核蛋白病。示例性 α -突触核蛋白病包括但不限于PD、路易体痴呆、多系统萎缩、肌萎缩侧索硬化症、亨廷顿舞蹈病、多发性硬化症或精神分裂症。在其他实施方案中,由神经元 α 突触核蛋白过度表达引起的炎性疾病或病症可以是自身免疫性疾病、慢性炎性疾病或自身炎性疾病。在其他实施方案中,由神经元 α S过度表达引起的炎性疾病或病症可以选自哮喘、慢性消化性溃疡、肺结核、慢性牙周炎、慢性鼻窦炎、慢性活动性肝炎、银屑病性关节炎、痛风性关节炎、寻常痤疮、骨关节炎、类风湿性关节炎、狼疮、系统性红斑狼疮、多发性硬化症、强直性脊柱炎、克罗恩病、银屑病、原发性硬化性胆管炎、溃疡性结肠炎、过敏、炎性肠病、乳糜泻、慢性前列腺炎、憩室炎、皮炎、多发性肌炎、系统性硬化症、肾小球性肾炎、化脓性汗腺炎、超敏反应、间质性膀胱炎、耳炎、盆腔炎性疾病、再灌注损伤、风湿热、结节病、移植排斥和血管炎。

[0504] 在本公开文本的一些实施方案中,对 α S的过度产生或分泌特别易感的患者群体可以受益于本公开文本的方法并且是疗法(包括例如预防性疗法)的目标。例如,可以使用本公开文本的方法治疗具有导致组织中 α S量增加的突变形式的 α S的患者群体。易感于高水平 α S影响的患者群体的另一个例子是患有慢性炎症病症或疾病的患者。再进一步的例子是在其肠神经细胞中具有升高水平的 α S聚集(表现为便秘)的患者群体。

[0505] 在治疗之前来自同一患者或受试者的定性量或定量量相比,本公开文本的方法可以导致炎症强度、炎症标志物的血液水平、组织中的炎症标志物、或组织中炎性细胞的数量或其组合的降低。例如,降低可以是约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。可以使用任何临床上认可的工具或评估来测量改善。

[0506] 在一些实施方案中,通过选自高效液相色谱法、液相色谱质谱法、酶联免疫吸附测定、蛋白质免疫沉淀、免疫电泳、蛋白质印迹和蛋白质免疫染色的方法定量或定性地测量降低。

[0507] 另外,从本公开文本得出,患有适合用靶向本文所述 α S的方法治疗或预防的炎症病症的个体通过确定炎症部位处的 α S组织浓度来鉴定,其中与对照或健康受试者相比,高水平 α S与适合用本公开文本方法的治疗的患者相关。

[0508] 理论上,氨基固醇的施用减少体内神经毒性 α S聚集体的形成,并且刺激患有神经疾病(诸如PD和便秘)的患者的胃肠道运动。还假设 α S阻碍神经元功能的负担越大,恢复正常肠功能以及解决 α -突触核蛋白聚集的其他症状所需的氨基固醇剂量就越高。B. 与异常 α S病理和/或多巴胺能功能障碍相关并且顺从氨基固醇治疗的示例性疾病或障碍

[0509] 本文所述的氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III)),包括其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物,可以用于治疗和/或预防多种疾病和障碍的方法,所述疾病和障碍通常与异常 α S病理和/或多巴胺能功能障碍相关,如本文所述和如下所述。

[0510] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓受试者的与异常 α S病理相关的疾病或障碍和/或与 α S病理相关的多巴胺能功能障碍和/或相关症状的开始或进展的方法。所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0511] (1) 神经系统或神经变性障碍或疾病

[0512] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的神经变性疾病或神经系统疾病和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0513] 本公开文本的方法和氨基固醇组合物可以用于治疗和/或预防神经系统障碍或疾病,诸如本文所述的那些,其例子包括但不限于AD、PD、亨廷顿病、多发性硬化症、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、多系统萎缩(MSA)、精神分裂症、弗里德赖希共济失调、血管性痴呆、路易体痴呆或疾病、脊髓性肌萎缩症、核上性麻痹、额颞叶痴呆、进行性核性麻痹、瓜德罗普型帕金森症、脊髓小脑性共济失调、和自闭症。

[0514] 多种神经成像技术可以用于早期诊断和/或测量神经变性障碍的进展。此类技术的例子包括但不限于神经成像、功能MRI、结构MRI、扩散张量成像(DTI)(包括例如解剖连接

性的扩散张量测量)、[18F]氟脱氧葡萄糖 (FDG) PET、标记淀粉样蛋白的药剂、[18F]F-多巴 PET、放射性示踪剂成像、区域组织损失的体积分析、异常蛋白沉积的特定成像标志物 (例如,用于AD进展)、多模式成像和生物标志物分析。Jon Stoessl, “Neuroimaging in the early diagnosis of neurodegenerative disease,” *Transl. Neurodegener.*, 1:5 (2012)。这些技术的组合也可以用于测量疾病进展。

[0515] 可以使用众所周知的技术测量神经变性的进展。例如,脑电图 (EEG) 可以用作神经变性疾病的存在和进展的生物标志物 (Morairty, 2013)。另一种可用于测量MRI神经变性进展的示例性技术 (Rocca等人, 2017)。可替代地,可以通过使用选自例如高效液相色谱法、液相色谱质谱法、酶联免疫吸附测定、蛋白质免疫沉淀、免疫电泳、蛋白质印迹和蛋白质免疫染色的分析技术测量本领域已知指示神经变性的一种或多种生物标志物的水平来测量神经变性。指示神经变性的生物标志物是本领域技术人员已知的并且可以包括,例如,Beach等人2017中的那些中的任一种,将所述文献的全部公开内容通过引用特此并入。

[0516] 例如,结构MRI可以用于测量AD中海马和内嗅皮质的萎缩以及侧顶叶皮层、后上颞叶皮层和内侧后扣带皮层的受累情况。在额颞叶痴呆 (FTD) 中,结构MRI可以显示额极或颞极中的萎缩。与AD相比,DTI可以用于显示患有路易体的痴呆 (DLB) 的患者的顶叶中的异常白质。与AD相比,在FTD中执行工作记忆任务期间,功能MRI可以揭示减少的额叶激活但增加的小脑激活。在另一个例子中,[18F]氟脱氧葡萄糖 (FDG) PET可以显示AD中顶颞叶皮层中的葡萄糖代谢降低。Id.

[0517] 在本公开文本的一个实施方案中,在向有需要的受试者施用治疗有效量的根据本公开文本的氨基固醇后的限定时间段内,神经变性障碍的进展或开始被减缓或预防,如通过医学上认可的技术的测量。例如,神经变性障碍的进展或开始可以被减缓约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。

[0518] 测量神经变性障碍的进展或开始的时间段可以是例如一个月或多个月或一年或多年,例如约6个月、约1年、约18个月、约2年、约36个月、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9、约10、约11、约12、约13、约14、约15、约16、约17、约18、约19或约20年或在约6个月至约20年或更久的值之间的任何月或年量。

[0519] 在另一个实施方案中,神经变性障碍可以通过施用治疗有效量的根据本公开文本的氨基固醇而被积极影响。“积极影响”包括例如减缓病症的进展、改善一种或多种症状等。

[0520] (i) 帕金森病

[0521] 在一个实施方案中,提供了一种治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的帕金森病 (PD) 和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇 (例如,ENT-03 (化合物III)) 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0522] PD是由蛋白 α S在外周和中枢神经系统 (CNS) (包括肠神经系统 (ENS)、自主神经和脑部) 中的积累引起的进行性神经变性障碍 (Braak等人2003 (a) 和 (b))。虽然PD的诊断仍需要运动症状 (Hughes等人1992),但非运动症状代表更大的治疗挑战 (Zahodne等人2012)。这些症状包括便秘 (Ondo等人2012; Lin等人2014)、睡眠结构紊乱 (Ondo等人2001; Gjerstad等人2006)、认知功能障碍 (Auyeung等人2012)、幻觉 (Friedman等人2016; Diederich等人

2009)、REM行为障碍(RBD)和抑郁症(Aarsland等人2007),所有这些都是由多巴胺的替代无法恢复的神经通路功能损害所致。事实上,与运动症状相比,长期住院、照料者负担和预期寿命降低与这些症状的严重程度更显著相关(Goetz等人1995)。在2003年,Braak提出了PD在胃肠道内开始,当ENS内形成 α S的神经毒性聚集体时引起,这临床上通过大多数患有PD的人在运动症状开始之前许多年出现便秘得到证明(Braak等人,2003(a)和(b))。最近在大鼠中的研究证明, α S聚集体从ENS经由迷走神经和其他传入神经移动到CNS。神经毒性聚集体在脑干内逐渐积累,并且然后向嘴侧分散到间脑内的结构,最终到达大脑半球。

[0523] PD被定义为突触核蛋白病,并且突触核蛋白沉积仍然是诊断的主要最终评判指标。另外,如果患有痴呆症和路易体的患者符合临床疾病标准,则他们被认为患有PD。成像(例如,MRI、单光子发射计算机断层扫描[SPECT]和正电子发射断层扫描[PET])允许对PD患者的结构、功能和分子变化进行体内脑成像。

[0524] 在过去的几年中,已经有研究鉴定了用于前驱PD的概率估计的特定标志物或标志物组合。研究者已经鉴定了指示前驱PD和预测PD的症状的时间线。各自的存在都有助于估计前驱PD的可能性。一些已被用于鉴定前驱PD。其他研究使用症状和影像的组合(例如,已发现嗅觉减退与多巴胺受体成像的组合具有高的预测值)。在另一个例子中,发现REM睡眠行为障碍(SBD)、便秘和嗅觉减退在个体中常见但在没有PD的个体中很少共发生,导致对PD有高的预测值。

[0525] PD也可以使用UPDRS进行评估,UPDRS由四个分量表中的42个项目组成:(1)第I部分,日常生活体验的非运动方面(Part I,Non-Motor Aspects of Experiences of Daily Living)(nM-EDL):认知损害(第1.1部分)、幻觉和精神病(第1.2部分)、抑郁情绪(第1.3部分)、焦虑心境(第1.4部分)、冷漠(第1.5部分)、多巴胺失调综合征的特征(第1.6部分)、睡眠问题(第1.7部分)、日间嗜睡(第1.8部分)、疼痛和其他感觉(第1.9部分)、泌尿问题(第1.10部分)、便秘问题(第1.11部分)、站立时轻微头晕(第1.12部分)、和疲劳(第1.13);(2)第II部分,日常生活体验的运动方面(Part II,Motor Aspects of Experiences of Daily Living)(M-EDL):言语(第2.1部分)、唾液和流口水(第2.2部分)、咀嚼和吞咽(第2.3部分)、进食任务(第2.4部分)、穿衣(第2.5部分)、卫生(第2.6部分)、手写(第2.7部分)、做爱好和其他活动(第2.8部分)、在床上翻身(第2.9部分)、震颤(第2.10部分)、从床、汽车或深椅子上下来(第2.11部分)、行走和平衡(第2.12部分)、和僵滞(第2.13);第III部分,运动检查(Part III,Motor Examination):言语(第3.1部分)、面部表情(第3.2部分)、僵硬(第3.3部分)、手指敲击(第3.4部分)、手部运动(第3.5部分)、手的旋前-旋后运动(第3.6部分)、脚趾敲击(第3.7部分)、腿敏捷性(第3.8部分)、从椅子上起身(第3.9部分)、步态(3.10部分)、步态僵滞(第3.11部分)、姿势稳定性(第3.12部分)、姿势(第3.13部分)、全局运动自发性(global spontaneity of movement)(身体动作迟缓)(第3.14部分)、手的姿势性震颤(第3.15部分)、手的运动性震颤(第3.16部分)、静止性震颤幅度(第3.17部分)、和静止性震颤的持续性(第3.18);第IV部分,运动并发症(Part IV,Motor Complications):异动症存在的时间(第4.1部分)、异动症的功能性影响(第4.2部分)、处于关态的时间(第4.3部分)、波动的功能性影响(第4.4)、运动波动的复杂性(第4.5部分)、和疼痛的关态肌张力障碍(第4.6)。

[0526] 此外,可以使用已知量表评估基于症状的终点。例如,(1)抑郁症可以使用白氏抑

郁症量记录表(Beck Depression Inventory) (BDI-II) 来评估(Steer等人2000), 认知可以使用简易精神状态检查(Mini Mental State Examination) (MMSE) 进行评估(Palsetia等人2018), 睡眠和REM行为障碍(RBD) 可以使用每日日记和RBD问卷(RBDQ) 进行评估(Stiasny-Kolster等人2007), 并且可以使用PD幻觉问卷(PDHQ) (Papapetropoulos等人2008) 和直接问卷来评估幻觉。昼夜节律系统状态也可以通过按照公布的程序持续监测手腕皮肤温度(Thermochron iButton DS1921H;Maxim, 达拉斯) (Sarabia等人2008) 来评估。

[0527] 在另一个实施方案中, 向PD患者施用治疗有效量的本文所述氨基固醇组合物导致PD的一种或多种症状或一种或多种临床上可接受的评分指标改善约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。可以使用任何临床上认可的工具或评估来测量改善。

[0528] 鉴于患者产生对多巴胺的抗性以及随后的剂量递增直至无法引起反应, PD的进展和治疗特别困难。不受理论的束缚, 据信, 根据本公开文本的氨基固醇组合物(例如, ENT-03(化合物III))的预先或共施用可以减少引起对帕金森症状的治疗性作用所需的多巴胺剂量和/或增加患者对多巴胺敏感的时间段。还在理论上, 根据本公开文本的氨基固醇组合物的预先或共施用可以延迟建议患者开始多巴胺疗法的时间段。这很重要, 因为目前鼓励患者尽可能长时间地延迟多巴胺治疗的开始, 因为在一定时间段后受试者对多巴胺产生抗性。

[0529] (ii) 阿尔茨海默病

[0530] 在一个实施方案中, 提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的阿尔茨海默病(AD) 和/或相关症状的开始或进展, 所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如, ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0531] 阿尔茨海默病(AD) 是一种慢性神经变性疾病, 通常开始缓慢并且随着时间的推移而恶化。它是60%-70%的痴呆病例的原因。随着疾病的进展, 症状可能包括语言问题、迷失方向、情绪波动、失去动力、无法自我管理、和行为问题。随着人的状况下降, 但他们通常退出家庭和社会。渐渐地, 身体功能丧失, 最终导致死亡。尽管进展速度可能不同, 但诊断后的典型预期寿命为3至9年。在2015年, 全球大约2980万人患有AD。它最常见于年龄超过65岁的人, 尽管4%至5%的病例是早发性阿尔茨海默病。它影响约6%的65岁及以上的人。在2015年, 痴呆导致约190万人死亡。

[0532] 阿尔茨海默病的症状主要以认知缺陷为特征, 包括记忆损害、语言功能障碍和视觉空间技能; 可能涉及职业和社会问题的功能损害(例如, 日常生活活动); 并且随着疾病严重程度的进展, 也可能出现包括抑郁症、焦虑、攻击性和精神病在内的行为症状。

[0533] 此时, AD的明确诊断需要认知缺陷与AD一致的临床发现和脑部病变与AD一致的尸检鉴定。术语AD痴呆用于描述由于AD的病理生理学引起的痴呆。当受试者表现出AD的临床特征时并且当排除痴呆的其他可能生物学原因(例如, PD或中风)时, 在生活中使用术语“可能的阿尔茨海默病”。目前存在多种本领域接受的用于诊断可能AD的方法。典型地, 这些方法组合使用, 并且包括确定个体进行日常活动的的能力以及鉴定行为和个性的变化。AD型痴呆的典型特征还在于失忆表现(记忆缺陷)或语言、视觉空间或执行功能缺陷。认知能力/损

害可以通过本领域接受的方法来确定,所述方法包括但不限于经过验证的评估全局认知(例如,改良的简易精神状态检查(3MS-E))和特定领域诸如视觉和语言记忆(分别例如,简明视觉空间记忆测试(Brief Visuospatial Memory Test)(修订版)(BVMT-R)和霍普金斯语言学习测试(Hopkins Verbal Learning Test(修订版)(HVLTR))、语言(例如,生成语言流利度测试(Generative Verbal Fluency Test)(GVFT))和执行功能和注意力(例如,数字跨度测试(Digit Span Test)(DST))的工具。由AD引起的痴呆也被定义为起病隐匿和认知表现恶化的历史。

[0534] “可能AD”的标准描述在国家衰老研究所-阿尔茨海默病协会(National Institute of Aging-Alzheimer's Association)工作组中(McKhann等人2011)。根据此工作组,对于首先展现出AD痴呆的核心临床特征的人,与所述疾病相关的生物标志物的证据可能增强诊断的确定性。

[0535] 在另一个实施方案中,向AD患者施用治疗有效量的氨基固醇组合物导致AD的一种或多种症状或一种或多种临床上可接受的评分指标改善约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。

[0536] (iii)多系统萎缩

[0537] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的多系统萎缩(MSA)和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0538] 多系统萎缩(MSA)是一种进行性神经变性障碍,其特征在于影响自主神经系统(神经系统的控制诸如血压或消化的非自主动作的部分)和运动两者的症状的组合。MSA,也称为Shy-Drager综合征,是一种神经变性障碍,其特征在于颤抖、运动缓慢、肌肉僵硬、和姿势不稳(统称为帕金森症),由于自主神经系统功能障碍和共济失调引起。这是由脑部的几个部分中神经元的进行性变性引起的,所述部分包括黑质、纹状体、下橄榄核和小脑。没有已知的MSA治愈方法,并且管理主要是支持性的。

[0539] 可以使用众所周知的技术测量神经变性的进展。例如,脑电图(EEG)可以用作神经变性疾病的存在和进展的生物标志物(Morairty,2013)。另一种可用于测量MRI神经变性进展的示例性技术。Rocca等人2017。

[0540] 多种神经成像技术可以用于早期诊断和/或测量MSA的进展。此类技术的例子包括但不限于神经成像、功能MRI、结构MRI、扩散张量成像(DTI)(包括例如解剖连接性的扩散张量测量)、[18F]氟脱氧葡萄糖(FDG)PET、标记淀粉样蛋白的药剂、[18F]F-多巴PET、放射性示踪剂成像、区域组织损失的体积分析、异常蛋白沉积的特定成像标志物(例如,用于MSA进展)、多模式成像和生物标志物分析(Stoessl,2012)。这些技术的组合也可以用于测量疾病进展。

[0541] 例如,结构MRI可以用于测量MSA中海马和内嗅皮质的萎缩以及侧顶叶皮层、后上颞叶皮层和内侧后扣带皮层的受累情况。在额颞叶痴呆(FTD)中,结构MRI可以显示额极或颞极中的萎缩。

[0542] 在另一个实施方案中,向MSA患者施用治疗有效量的氨基固醇组合物导致MSA的一

种或多种症状改善约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。可以使用任何临床上认可的工具或评估来测量改善。

[0543] (iv) 精神分裂症

[0544] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的精神分裂症(SZ)和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0545] 精神分裂症是一种慢性进行性障碍,其根源具有白质和灰质两者的结构脑变化。这些变化很可能在皮层区域、特别是与语言处理有关的那些中临床症状开始之前开始。后来,它们可以通过进行性心室扩大来检测。当前的磁共振成像(MRI)技术可以提供用于检测皮质萎缩和异常语言处理的早期变化的有价值工具,所述早期变化可以预测谁将患上精神分裂症。

[0546] 2013年对精神分裂症患者的研究记录了多于200名患者的MRI扫描中看到的脑变化,从患者首次发作开始并且以固定间隔进行扫描持续长达15年。扫描显示,人在其首次发作时具有比健康个体少的脑组织。发现结果表明,患有精神分裂症的人在他们的显示出疾病的外在体征之前就受到了某些东西的影响。

[0547] 治疗的主要支柱是抗精神病药物,以及咨询、职业培训和社会康复。然而,2013年的研究发现,一般来说,抗精神病药物的剂量越高,脑组织的损失就越大。

[0548] 约0.3%-0.7%的人在其一生中受到精神分裂症的影响。在2013年,全球估计有2360万例病例。男性更容易受到影响,并且平均经受更严重的症状。约20%的人表现良好,并且少数人完全康复。约50%的人具有终生损害。诸如长期失业、贫困和无家可归的社会问题很常见。患有上述障碍的人的平均预期寿命比一般群体少十至二十五年。这是身体健康问题增加和自杀率较高(约5%)的结果。在2015年,全球估计有17,000人死于与精神分裂症相关或由精神分裂症引起的行为。

[0549] 尽管不希望受理论束缚,但理论上向精神分裂症患者施用治疗有效量的氨基固醇组合物可以治疗和/或预防精神分裂症或其任何一种或多种症状。在一些实施方案中,施用可以是口服的,导致在ENS中吸收。在一些实施方案中,施用可以是鼻内的,导致刺激神经发生,这对精神分裂症受试者的脑组织特征的损失具有积极影响。

[0550] 在本公开文本的一个实施方案中,向精神分裂症患者施用治疗有效量的氨基固醇组合物导致一种或多种症状的改善,如临床上认可的精神病学症状评定量表所确定的。此类评定量表的例子包括例如阳性和阴性综合征量表(Positive and Negative Syndrome Scale)(PANSS)、精神病症状评定量表(Psychotic Symptom Rating Scales)(PSYRATS)、生活质量量表(Quality of Life Scale)(QLS)、精神分裂症认知评定量表(Schizophrenia Cognition Rating Scale)(SCoRS)、药物态度记录表(Drug Attitude Inventory)(DAI)和异常不自主运动量表(Abnormal Involuntary Movement Scale)(AIMS)。

[0551] 在另一个实施方案中,向精神分裂症患者施用治疗有效量的氨基固醇组合物导致如通过临床上认可的精神病学症状评定量表确定的一种或多种症状的改善约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、

约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。可以使用任何临床上认可的工具或评估来测量改善。

[0552] (v) 其他神经疾病

[0553] 本公开文本的方法和组合物还可以用于治疗 and/或预防多种其他神经疾病。在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的本文所述神经疾病和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。示例性神经疾病的例子描述在下文和本文中。

[0554] 亨廷顿病(HD)是一种致命的遗传障碍,其引起脑部中神经细胞的进行性分解。它会在人的黄金工作年时期恶化人的身体和心智能力,并且无法治愈。在疾病的后期阶段需要全时护理。亨廷顿病的症状最常在35岁与44岁之间变得明显,但它们可以在从婴儿期到老龄的任何年龄开始。最具特征性的初始身体症状是急动、随机且无法控制的运动,称为舞蹈病。在约9%的病例中,自杀是死亡的原因。死亡典型地发生在自首次检测到疾病起15至20年。

[0555] 进行性核上性麻痹,也称为Steele-Richardson-Olszewski综合征,是一种脑障碍,其引起严重的行走、平衡和眼球运动问题。所述障碍是由脑部的控制身体运动和思维的区域中的细胞的退化引起的。没有已知的PSP治愈方法,并且管理主要是支持性的。

[0556] 额颞叶痴呆(FTD)是一组由脑部的颞叶和额叶进行性变性引起的相关病症。脑部的这些区域在决策、行为控制、情绪和语言方面发挥显著作用。额颞叶痴呆(FTD)涵盖涉及额叶或颞叶的六种类型的痴呆。它们是:FTD的行为变异、语义变异原发性进行性失语症、非流利语法变异原发性进行性失语症、皮质基底节综合征、进行性核上性麻痹和与运动神经元疾病相关的FTD。目前,没有治愈FTD的方法。

[0557] 血管性痴呆,也称为多发性梗塞性痴呆(MID)和血管性认知损害(VCI),是由脑部供血问题引起的痴呆,典型地是一系列轻微的中风,导致逐步发生的认知下降的恶化。血管性痴呆的风险因素包括年龄、高血压、吸烟、高胆固醇血症、糖尿病、心血管疾病和脑血管疾病。其他风险因素包括地理起源、遗传易感性和既往中风。

[0558] 肌萎缩侧索硬化症(ALS),也称为运动神经元疾病(MND)或Lou Gehrig疾病,是引起控制随意肌的神经元死亡的特定疾病。ALS的特征在于肌肉僵硬、肌肉颤搐、以及由于肌肉尺寸减小而逐渐恶化的虚弱。这会导致说话、吞咽和最终呼吸的困难。在90%至95%的病例中,原因未知。剩余5%-10%的病例是遗传性的。潜在的机制涉及对上运动神经元和下运动神经元两者的损害。ALS尚无已知治愈方法。所述疾病可以影响任何年龄的人,但通常在60岁左右开始并且遗传病例在50岁左右开始。从开始到死亡的平均生存期为2至4年,尽管约10%存活长于10年。

[0559] 多发性硬化症(MS)是一种脱髓鞘疾病,其中脑部和脊髓中神经细胞的绝缘覆盖层受损害。这种损害会破坏部分神经系统的通信能力,导致一系列体征和症状,包括身体、心智以及有时精神病学问题。MS有几种形式,其中新的症状在孤立的发作中发生(复发形式)或随着时间的推移积聚(进行性形式)。没有已知的MS治愈方法。预期寿命平均比未受影响的群体低5至10年。

[0560] 脊髓性肌萎缩症(SMA)是一种遗传性神经肌肉障碍,其特征是运动神经元损失和

进行性肌肉萎缩,通常导致过早死亡。所述障碍是由编码SMN的SMN1基因的遗传缺陷引起的,所述SMN是运动神经元存活所必需的蛋白质。较低水平的蛋白质会导致脊髓前角中神经元细胞功能丧失和随后的全系统骨骼肌萎缩。SMA是婴儿死亡的最常见遗传原因。在2016年12月,诺西那生钠(nusinersen)成为首个获批治疗SMA的药物,而其他几种化合物仍在临床试验中。

[0561] 弗里德赖希共济失调是一种常染色体隐性遗传疾病,其引起神经系统的进行性损害。其表现为诸如步态紊乱的协调性差的初始症状;它还可能导致脊柱侧弯、心脏病和糖尿病,但不影响认知功能。弗里德赖希共济失调的共济失调是由脊髓中神经组织、特别是对于指导手臂和腿肌肉运动必要的感觉神经元(通过与小脑的连接)的变性引起的。脊髓变得更薄,并且神经细胞失去一些髓鞘(一些神经细胞上的绝缘覆盖物,其有助于传导神经冲动)。

[0562] (2) 心理或行为障碍和/或相关症状

[0563] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的心理或行为障碍和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。在一个实施方案中,所述心理或行为障碍是抑郁症、焦虑、谵妄、易怒、错觉和妄想、健忘症、自闭症、冷漠、双相障碍、去抑制、异常运动和强迫性行为、睡眠障碍、睡眠片段化、REM行为障碍、昼夜节律功能障碍、睡眠呼吸暂停、或认知损害。

[0564] (i) 抑郁症

[0565] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的抑郁症和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0566] 临床抑郁症的特征是悲伤、忧郁的情绪,所述情绪高于且超出正常的悲伤或悲痛。10分之一的人将在其一生中患上抑郁症。医生临床诊断抑郁症;没有针对抑郁症的实验室测试或X光。

[0567] 研究显示,一些抑郁症的人的海马较小。例如,在The Journal of Neuroscience上发表的一项fMRI研究中,研究者研究了24名具有抑郁症病史的女性。与不抑郁的女性相比,抑郁女性的海马平均小9%至13%。女性抑郁症发作的次数越多,海马就越小。在抑郁症中起作用的应激可能是关键因素,因为专家认为应激可以抑制海马中新神经元(神经细胞)的产生。

[0568] 研究者正在探索海马中新神经元生成缓慢与情绪低落之间的可能联系。关于抗抑郁药的有趣事实支持了此理论。这些药物会立即提高脑部中化学信使(神经递质)的浓度。然而,人典型地不会在几周或更长时间内开始感觉好转。长期以来,专家想知道,如果抑郁症主要是神经递质水平低的结果,那么当神经递质水平增加时,人为什么不会尽快感觉好转。答案可能是,情绪只会随着神经生长并且形成新连接而改善,这个过程需要数周。事实上,动物研究显示,抗抑郁药确实会刺激海马中神经细胞的生长和增强分支。因此,理论认为,这些药物的真正价值可能在于产生新的神经元(称为神经发生的过程)、强化神经细胞连接以及改善神经回路之间的信息交换。

[0569] 因此,在本公开文本的一个实施方案中,涵盖治疗和/或预防抑郁症的方法,所述

方法包括施用治疗有效量的根据本公开文本的氨基固醇组合物。虽然不希望受理论束缚,但理论上,本公开文本的氨基固醇组合物触发神经发生,其功能是对抗抑郁症。

[0570] 在一些实施方案中,本公开文本的方法产生受试者临床抑郁症的改善。可以使用任何临床上认可的测量来测量受试者抑郁症的改善。例如,改善可以使用抑郁症评定量表来测量。在本公开文本的一个实施方案中,在治疗后,受试者经受约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%的改善。可以使用任何临床上认可的工具或评估来测量改善。

[0571] 可用于评价抑郁症和/或情绪以及氨基固醇治疗后改善的工具的例子包括:(1)白氏抑郁症量记录表(BDI-II);(2)UPDRS,第1.3节(抑郁情绪)、1.4(焦虑心境)、1.5(冷漠)和1.13(疲劳);和(3)帕金森病疲劳量表(Parkinson's Disease Fatigue Scale)(PFS-16)。在一些实施方案中,改善可以由一种或多种医学上认可的技术来测量,所述技术选自患者健康问卷(Patient Health Questionnaire-9)(PHQ-9);Zung自评抑郁症量表(Zung Self-Rating Depression Scale);流行病学研究中心-抑郁症量表(Center for Epidemiologic Studies-Depression Scale)(CES-D);和汉密尔顿抑郁症评定量表(Hamilton Rating Scale for Depression)(HRSD)。

[0572] (ii) 认知损害

[0573] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的认知损害和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0574] 认知损害(包括轻度认知损害(MCI))的特征在于与相同年龄的正常受试者相比,受试者展现出的记忆或思维问题增加。大约15%至20%的65岁或更大的人具有MCI,并且MCI尤其与神经变性病症诸如AD和突触核蛋白病如PD有关。在2002年,在美国超过70岁中估计540万人(22%)患有认知损害而没有痴呆。Plassman等人2009。

[0575] 认知损害可能涉及记忆问题,包括认知能力(包括记忆和思维技能)轻微但明显且可测量的下降。当MCI主要影响记忆时,它被称为“遗忘型MCI”。患有遗忘型MCI的人可能忘记以前很容易回忆的信息,诸如例如约会、对话或最近事件。当MCI主要影响除记忆以外的思维技能时,它被称为“非遗忘型MCI”。例如,患有非遗忘型MCI的人可能具有降低的做出正确决定、判断完成复杂任务所需的时间或步骤顺序、或视觉感知的能力。

[0576] 轻度认知损害是一种临床诊断。使用认知测试和来自与受试者频繁接触的人的信息的组合来全面评估认知损害。医学检查包括以下中的一种或多种:医师对受试者病史(包括当前症状、既往病患和家族史)的评估;独立功能和日常活动的评估;使用评价记忆、计划、判断、理解视觉信息的能力和其他关键思维技能的简短测试评估精神状态;评估神经和反射功能、运动、协调、平衡和感觉的神经系统检查;情绪评价;脑成像;或神经心理学测试。MCI的诊断指南由多个团体制定,包括与美国国立卫生研究院(U.S.National Institutes of Health)(NIH)机构国家衰老研究所(NIA)合作的阿尔茨海默病协会(Alzheimer's Association)。Jack等人2011;McKhann等人2011;Albert等人2011。美国预防服务工作组(U.S.Preventive Services Task Force)已经发布了筛查认知损害的建议。Screening

for Cognitive Impairment in Older Adults,U.S.Preventive Services Task Force (2014年3月),<https://www.uspreventiveservicestaskforce.org/Home/GetFileByID/1882>。例如,可以使用简明精神状态检查(MMSE)。Palsetia等人(2018);Kirkevold,O.& Selbaek,G.(2015)。关于MMSE,得分24或更高(满分30)可以指示正常认知,并且较低得分指示严重(小于或等于9分)、中度(10-18分)或轻度(19-23分)认知损害。其他筛查工具包括老年人认知下降的知情人问卷(Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly)(IQCODE),其中平均得分3指示没有认知下降,并且得分高于3指示有一定程度的下降。Jorm,A.F.2004。可替代地,在临床和研究环境中经常使用7分钟筛选器(7-Minute Screener)、简略心智测试得分(Abbreviated Mental Test Score)(AMTS)、剑桥认知检查(Cambridge Cognitive Examination)(CAMCOG)、时钟绘图测试(Clock Drawing Test)(CDT)、全科医师认知评估(General Practitioner Assessment of Cognition)(GPCOG)、Mini-Cog、记忆损害筛查(Memory Impairment Screen)(MIS)、蒙特利尔认知评估(Montreal Cognitive Assessment)(MoCA)、罗兰通用痴呆症评估(Rowland Universal Dementia Assessment)(RUDA)、自我管理的老年认知检查(Self-Administered Gerocognitive Examination)(SAGE)、简明扼要筛查工具(Short and Sweet Screening Instrument)(SAS-SI)、短期祝福测试(Short Blessed Test)(SBT)、圣路易斯精神状态(St.Louis Mental Status)(SLUMS)、简短的便携式精神状态问卷(Short Portable Mental Status Questionnaire)(SPMSQ)、精神状态简短测试(Short Test of Mental Status)(STMS)或时间和变化测试(Time and Change Test)(T&C)等。Cordell等人2013。可以使用许多检查,因为没有单个工具被认为是“黄金标准”,并且任何标准化检查的得分提高指示认知损害治疗成功,而获得与非损害群体可比较的得分指示完全恢复。

[0577] 在一些实施方案中,向有需要的患者施用治疗有效量的氨基固醇组合物导致如临床上认可的评估量表所确定的认知损害改善约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。可以使用任何临床上认可的工​​具或评估来测量改善。

[0578] 可用于评价认知损害和氨基固醇治疗后改善的工具例子包括:(1)简明精神状态检查(MMSE);(2)轨迹追踪测试(Trail Making Test)(TMT)部分A和B;和(3)UPDRS,第1.1节(认知损害)。

[0579] (iii)睡眠紊乱/睡眠问题(例如,REM紊乱睡眠或昼夜节律功能障碍)

[0580] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的睡眠紊乱、睡眠问题、睡眠障碍、昼夜节律功能障碍和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0581] 每24小时发生的睡眠和清醒交替模式被称为昼夜节律。节律由“授时因子(zeitgeber)” (时间设定器) 设定,授时因子是称为视交叉上核(SCN)并且位于下丘脑中的实体。SCN通常被外部明暗循环“夹带”或同步。昼夜节律睡眠-觉醒循环也可以响应于外部明暗循环的变化而变换,诸如从一个时区到另一个时区的旅行过程中发生的不同步(时差反应)。在这种情况下,发生进行性调节,直到SCN与外部明暗循环重新同步。类似的“相变(phase-shift)”和调节在夜班工人中发生。

[0582] 某些疾病和病症可能损害“授时因子”或昼夜节律钟的正常功能。这些病症可能是可逆的,诸如由时差反应、夜班工作或饥饿导致的不同步,病症容易通过适应或食物摄入来纠正。相比之下,从视网膜向SCN传递明暗相关信息的神经的损害(可能导致失明的病症)或从肠道向SCN传递信息的肠神经和神经结构的损害(可能导致神经变性障碍的病症)可能引起昼夜节律永久性功能障碍和异常睡眠行为。

[0583] 昼夜节律功能障碍首先且最主要表现为异常睡眠模式。此类异常典型地在开始时是轻微的,并且随着时间的推移逐渐恶化。睡眠障碍的常见症状是延迟入睡。这种延迟可能长达几个小时,并且个体可能要到早晨几小时才能入睡。另一个常见症状是睡眠片段化,意味着个体在夜间过程中醒来几次。一旦被唤醒,个体可能无法回到睡眠,并且每个清醒片段可能持续一个小时或更长时间,进一步减少“总睡眠时间”,这通过从在床上花费的总时间中减去清醒片段的总时间来计算。总睡眠时间也随着衰老而减少,从新生儿每天约14至约16小时、到一岁约12小时、到年轻成年人约7至约8小时、逐渐下降到老年个体约5至约6小时。总睡眠时间可以用于计算个体的“睡眠年龄”并且将其与他们的时序年龄进行比较。睡眠年龄与时序年龄之间的显著差异反映了睡眠障碍的严重程度。“睡眠效率”,定义为在占床上睡觉花费的时间的百分比,是另一个可以用来确定睡眠障碍严重程度的指标。当百分比低于约70%时,睡眠效率被认为是异常的。

[0584] 睡眠障碍和/或睡眠紊乱包括但不限于REM-行为障碍、昼夜节律紊乱(“昼夜节律功能障碍”)、延迟入睡、睡眠片段化、REM-行为障碍(RBD)和幻觉。可以根据所公开的方法治疗和/或预防的其他睡眠障碍或紊乱包括但不限于嗜睡症(即,日间嗜睡)、异态睡眠(诸如噩梦、夜惊、梦游和意识模糊)、周期性肢体运动障碍(诸如不安腿综合征)、时差反应、发作性睡病、晚期睡眠相障碍、非24小时睡眠-觉醒综合征。

[0585] “正常”或“不安”的睡眠时期被定义为不被清醒打断的睡眠时期。可替代地,所述时期可以通过针对受试者年龄类别的推荐或适当的睡眠量来定义,例如,(i) 婴儿0-3个月=约11至约19小时;(ii) 婴儿约4至约11个月=约12至约18小时;(iii) 幼儿约1至约2岁=约9至约16小时;(iv) 学龄前儿童约3至约5岁=约10至约14小时;(v) 学龄儿童约6至约13岁=约7至约12小时;(vi) 青少年约14至约17岁=约7至约11小时;(vii) 年轻成年人约18至约25岁=约6至约11小时;(viii) 成年人约26至约64岁=约6至约10小时;和(ix) 较年老成年人 ≥ 65 岁=约5至约9小时。因此,为了治疗受试者的睡眠紊乱,治疗可能导致至少约4、约5、约6、约7、约8、约9、约10、约11或约12小时的安宁睡眠时期。

[0586]

表1			
年龄	推荐	可能适当	不推荐
新生儿 0-3个月	14至17小时	11至13小时 18至19小时	少于11小时 多于19小时
婴儿 4-11个月	12至15小时	10至11小时 16至18小时	少于10小时 多于18小时
幼儿 1-2岁	11至14小时	9至10小时 15至16小时	少于9小时 多于16小时
学龄前儿童 3-5岁	10至13小时	8至9小时 14小时	少于8小时 多于14小时
学龄儿童 6-13岁	9至11小时	7至8小时 12小时	少于7小时 多于12小时
青少年 14-17岁	8至10小时	7小时 11小时	少于7小时 多于11小时
年轻成年人 18-25岁	7至9小时	6小时 10至11小时	少于6小时 多于11小时

[0587]

表1			
年龄	推荐	可能适当	不推荐
成年人 26-64岁	7至9小时	6小时 10小时	少于6小时 多于10小时
较年老成年人 ≥65岁	7至8小时	5至6小时 9小时	少于5小时 多于9小时

[0588] 有几种不同的科学上可接受的方法来测量不受清醒打断的睡眠时期。首先, 附接到受试者头部的电极可以通过脑电图 (EEG) 测量脑部中的电活动。使用此测量是因为与清醒相关的EEG信号与睡眠期间发现的EEG信号不同。其次, 可以使用肌电图 (EMG) 测量肌肉活动, 因为清醒与睡眠之间的肌肉紧张度也不同。第三, 可以使用眼电图 (EOG) 测量睡眠期间的眼球运动。这是一种非常具体的测量, 其有助于鉴定快速眼动或REM睡眠。这些方法中的任一种或其组合可以用于确定在向受试者施用至少一种氨基固醇或其盐或衍生物后受试者是否获得安宁的睡眠时期。

[0589] 此外, 可以通过多种方式监测昼夜节律调节, 所述方式包括但不限于监测手腕皮肤温度, 如Sarabia等人2008所述。类似地, 可以使用每日日记和RBD问卷来监测RBD的症状 (Stiasny-Kolster等人2007)。

[0590] 在一些实施方案中, 向具有紊乱的患者施用治疗有效量的氨基固醇组合物导致如通过临床上认可的针对一种或多种类型的睡眠失调的评估量表确定的正常或安宁睡眠频率改善约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。可以使用任何临床上认可的工具体或评估来测量改善。

[0591] 可用于测量和评价氨基固醇治疗对睡眠的作用的工具的例子包括: (1) 睡眠日记 (参与者在整个研究过程中每天完成睡眠日记。日记包括上床时间和估计入睡时间以及醒来时间和夜间持续时间); (2) I-Button温度评估 (I-Button Temperature Assessment)。I-

Button是小型、坚固的自给自足系统,其测量温度并且将结果记录在受保护的内存部分中。Thermochron I-Button DS1921H(Maxim Integrated,得克萨斯州达拉斯)用于皮肤温度测量。将I-Button编程为每10min采样一次,并且使用Velcro附接到双面棉质运动腕带上,其中I-Button的传感器面放置手腕内侧、在主导手的桡动脉上。受试者在必要时移除并且更换数据记录器(即,以沐浴或淋浴)。在睡眠研究中皮肤温度评估的价值在于由皮肤血流量增加引起的内源性皮肤变暖在功能上与睡眠倾向有关。从收集到的数据,计算中位值、振幅、峰位相位(峰值温度时间)、雷利氏测试(Rayleigh test)(日间稳定性指标)、平均波形);(3)UPDRS,第1.7节(睡眠问题)、第1.8节(日间嗜睡)和第1.13节(疲劳);(4)帕金森病疲劳量表(PFS-16);(5)REM睡眠行为障碍筛查问卷;和(6)帕金森病睡眠量表。

[0592] (iv) 自闭症

[0593] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的自闭症谱系障碍(ASD)和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0594] 自闭症或自闭症谱系障碍是指一系列以社交技能、重复行为、言语和非语言交流的挑战以及独特优势和差异为特征的病症。有许多类型的自闭症,由遗传和环境影响的不同组合引起。自闭症最明显的体征倾向于在2岁与3岁之间出现。在一些情况下,其可以在最早18个月时被诊断出来。可以甚至更早地鉴定和解决与自闭症相关的一些发育迟缓。

[0595] 美国疾病控制和预防中心(Centers for Disease Control and Prevention)(CDC)估计在美国自闭症的患病率为59名儿童中有1名。这包括37个男孩中有1名以及151个女孩中有1名。大约三分之一的患有自闭症的人仍然不会说话,并且大约三分之一的患有自闭症的个体具有智力残疾。某些医学和精神健康问题经常伴随自闭症。它们包括胃肠道(GI)障碍、癫痫、睡眠紊乱、注意力缺陷和多动障碍(ADHD)、焦虑和恐怖症。

[0596] 专家们仍然不确定自闭症的原因。很可能有多种原因。似乎许多不同的环境,包括环境、生物和遗传因素为自闭症奠定了基础并且使儿童更有可能患上所述障碍。遗传可能在自闭症的发展中发挥重要的因素。同卵双胞胎比异卵双胞胎(遗传上不相关)更可能均受到影响。在有一个自闭症儿童的家庭中,有另一个自闭症儿童的几率是约5%,这远高于正常群体。研究还发现,一些情绪障碍(诸如躁狂抑郁症)更常出现于自闭症儿童的家庭。

[0597] 至少有一组研究者已发现异常基因与自闭症之间的联系。所述基因可能只是以某种方式相互作用导致病症的3-5个或更多个基因中的一个。科学家怀疑,当还存在其他因素诸如化学失衡、病毒或化学物质、或者出生时缺氧时,一个或多个缺陷基因可能使人更有可能患上自闭症。自闭症的其他潜在原因是环境毒素,包括杀有害生物剂和重金属,诸如汞。环境中的重金属现在比过去确实更常遇到。患有自闭症的人或患自闭症风险较高的人可能对这些毒素比其他人更敏感。

[0598] 最近的脑组织研究表明,受自闭症影响的儿童有过多的突触或脑细胞之间的连接。过量是由于脑部发育过程中发生的正常修剪过程的减慢。在正常的脑部发育过程中,突触形成的爆发发生在婴儿期。这在皮层中特别明显,皮层是思考和处理感官信息的中心。然而,到青春期后期,修剪会消除这些皮质突触的约一半。另外,与自闭症相关的许多基因已知会影响脑部突触的发育或功能。研究还发现,患有自闭症的个体的脑细胞中充满了受损

部分并且缺乏被称为“自噬”的正常分解通路的迹象。Tang等人2014。

[0599] 因此,本公开文本的一个实施方案涉及治疗自闭症的方法,所述方法包括施用治疗有效量的根据本公开文本的氨基固醇组合物。在一个实施方案中,治疗导致自闭症的一个或多个特征改善。例如,此类特征可以是交流技巧、社交互动、感官敏感性和行为。可以使用任何临床上认可的工具或评估来测量改善。

[0600] 例如,本公开文本的方法可以显示出自闭症的一个或多个特征(诸如行为、交流、情绪等)的改善,如通过医学上认可的量表测量。改善可以是例如约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。

[0601] (3) 脑或全身缺血性障碍和/或相关症状

[0602] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的脑或全身缺血性障碍和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0603] 在一个实施方案中,所述脑或全身缺血性障碍选自微血管病、分娩时脑缺血、心脏骤停或复苏期间/之后的脑缺血、由于手术中问题引起的脑缺血、颈动脉手术期间的脑缺血、由于脑部供血动脉狭窄引起的慢性脑缺血、窦血栓形成或脑静脉血栓形成、脑血管畸形、糖尿病性视网膜病变、高血压、高胆固醇、心肌梗塞、心功能不全、心力衰竭、充血性心力衰竭、心肌炎、心包炎、心包心肌炎、冠心病、心绞痛、先天性心脏病、休克、四肢缺血、肾动脉狭窄、糖尿病性视网膜病变、与疟疾相关的血栓形成、人工心脏瓣膜、贫血、脾功能亢进综合征、肺气肿、肺纤维化、勃起功能障碍、或肺水肿。

[0604] 例如,本公开文本的方法可以显示出脑或全身缺血性障碍的一个或多个特征的改善,如通过医学上认可的量表测量。改善可以是例如约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。

[0605] 医学上认可的测量改善的量表或技术包括,例如,胆固醇测试、高灵敏度C反应蛋白测试、脂蛋白(a)、血浆神经酰胺、利尿钠肽、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、甘油三酯、心电图(EKG)、霍尔特氏监测仪(Holter monitor)、应激测试、超声心动图、正电子发射断层扫描(PET)、钆扫描、心肌灌注扫描、植入式循环记录仪、倾斜台测试、电生理研究、冠状动脉造影、磁共振成像、磁共振血管造影、心脏CT扫描、和事件记录器。

[0606] (i) 勃起功能障碍

[0607] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的勃起功能障碍(ED)和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0608] 勃起功能障碍可能是身体或心理病症的体征。它可能引起应激、关系紧张和自信心低下。主要症状是男性无法获得或保持足以进行性交的坚挺勃起。ED可以通过不同的机制表现出来。根据其机制,ED可以分为心因性、神经源性(无法开始勃起)、动脉源性(阴茎无法被填充血液)、海绵体性(一旦被填充,血管系统无法在阴茎中保留血液)(Dean等人

2005)。

[0609] 许多引起ED诸如PD的神经疾病被怀疑与肠神经系统(ENS)内毒性 α S聚集体的形成相关(Braak等人2003(a)和(b))。据报道,ED影响60%-79%范围内的患有PD的男性,而非帕金森男性中ED的患病率仅约37.5%(Papatsoris,2006)。由于 α S聚集体经由诸如迷走神经的传入神经从ENS正常运输到中枢神经系统(CNS)(Holmqvist等人2014;Svensson等人2015),神经毒性聚集体在脑干和更多的嘴侧(rostral)结构内逐渐积累。因此,抑制ENS中的 α S聚集可能减少ENS和CNS两者中持续的神经疾病过程(Phillips等人2008)并且从而对与异常 α S病理相关的ED产生积极影响。

[0610] 已知中枢多巴胺是包括勃起在内的性功能的控制中的关键神经递质(Giuliano等人2001)。据说,多巴胺缺乏可能是PD患者中经常观察到的勃起功能障碍的原因(Palma等人2014)。在患有PD的患者中,5-羟色胺能和胆碱能神经元中的 α S相关病理的发展与黑质多巴胺神经元中所见的平行。因此, α S的调节可能通过多巴胺能功能障碍在PD中的ED中发挥作用。

[0611] 在一个实施方案中,所述方法导致受试者不能勃起的实例的数量减少,并且受试者不能勃起的实例数量的减少包括在限定时间段内受试者不能勃起的实例的数量的减少。在另一方面,所述方法导致在限定时间段内ED的严重程度降低,其中ED严重程度的降低通过医学上认可的技术来测量,所述技术选自骨加压勃起长度(BPEL)测量、周长测量、勃起硬度量表(Erection Hardness Scale)(EHS)和国际勃起功能指数(International Index of Erectile Function)(IIEF)。

[0612] (ii) 血压

[0613] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的高血压(HBP)或低血压(LBP)和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0614] 高血压(HBP),也称为高血压,是一种长期的医疗病症,其中动脉血压持续升高。长期高血压是冠状动脉疾病、中风、心力衰竭、心房颤动、外周血管疾病、视力丧失、慢性肾病和痴呆的主要风险因素。HBP可以表征为(a)收缩血压(BP) ≥ 120 并且舒张BP < 80 ;或(b)收缩血压(BP) ≥ 130 或舒张BP ≥ 80 ;而低血压(LBP)可以表征为(a)收缩血压 ≤ 80 ;或(b)舒张血压 ≤ 50 。

[0615] 低血压(LBP),也称为低血压,通常分类为小于90毫米汞柱(mm Hg)的收缩血压或小于60mm Hg的舒张血压。主要症状包括头晕、眩晕和昏厥。严重的低血压可能剥夺脑部和其他重要器官的氧气和营养物,导致危及生命的病症,称为休克。对于一些锻炼身体并且身体状况良好的人来说,低血压是良好健康和强健的体征。对许多人来说,血压过低可能引起头昏和昏厥,或指示严重的心脏、内分泌或神经系统障碍。

[0616] 血压(BP)和 α S病理:许多引起HBP或LBP诸如PD的神经疾病被怀疑与肠神经系统(ENS)内毒性 α S聚集体的形成相关(Braak等人2003(a)和(b))。在美国针对1155万PD患者就诊的研究中,最常见记录的合并症是高血压,占就诊的37.8%(Lingala等人2017)。直立性低血压(OH)是患有特发性帕金森病(IPD)的患者中常出现的非运动症状之一(Fereshtehnejad等人2014)。

[0617] 与异常 α S病理相关的病症和/或与HBP或LBP相关的多巴胺能功能障碍的例子包括但不限于突触核蛋白病、神经疾病、心理和/或行为障碍、脑和全身缺血性障碍,其例子描述在本文中。

[0618] 在一个实施方案中,在患有HBP的受试者中,所述方法使收缩血压和/或舒张血压降低至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、或至少约100%,如使用临床上认可的量表或工具测量。

[0619] 在一个实施方案中,在患有LBP的受试者中,所述方法使收缩血压和/或舒张血压升高至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、或至少约100%,如使用临床上认可的量表或工具测量。

[0620] 在一个实施方案中,临床上认可的量表或工具测量选自自由血压测量法、动脉穿透、心悸、听诊、示波测量法、连续无创动脉压(CNAP)、脉搏波速度和动态监测。

[0621] (iii) 心脏传导缺陷

[0622] 在一个实施方案中,提供了治疗、预防和/或减缓有需要的受试者的心脏传导缺陷(CCD)和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0623] 心脏传导缺陷(CCD)涉及电脉冲如何到达和通过心脏方面的异常。心脏传导系统传输通常由窦房结产生的电信号以引起心肌收缩。心脏传导缺陷(CCD)是严重且潜在危及生命的障碍。它属于一组通过房室(AV)结改变心脏传导、伴有右或左束支传导阻滞的希-浦肯野(His-Purkinje)系统和心电图(EKG)中QRS波群增宽的病理。最初,CCD被认为是一种心脏结构疾病,其中传导系统中的解剖变化是异常冲动传播的根本。然而,在相当多情况下,发现传导紊乱在不存在解剖异常的情况下发生。在这些情况下,功能性而非结构性改变似乎是传导紊乱的根本。这些功能缺陷被称为“原发性心脏电疾病”。CCD的根本病理生理机制是多样的,但最常见的CCD形式是变性形式,也称为Lenegre-Lev病(特发性双侧束支纤维化)。如天,Lenegre-Lev病代表了世界上起搏器植入的主要原因。

[0624] 在一个实施方案中,CCD包括或导致(a)QT间期(QTc) ≥ 440 ms; (b)晕厥; (c)心电图(EKG)中存在 Δ 波; (d)EKG中的伪右束支传导阻滞; (e)EKG中V1-V3的ST升高; (f)EKG中QRS波群 >100 ms; (g)EKG中PR间期 <120 ms; (h)心率高于100次/分钟(BPM); (i)心率低于60BPM; (j)EKG中PR间期 >200 ms; (k)EKG中QRS不跟随P波; (l)EKG中P波与QRS波群之间无重复关系; (m)不同的心房率和心室率; (n)EKG中导联V1中的QS或rS波群; (o)导联V6中有缺口的(‘M’形)R波; (p)EKG中T波不调和; (q)EKG中左轴偏差在 -45° 与 -60° 之间; (r)EKG中侧肢导联I和aVL的qR模式(小q,高R); (s)EKG中下壁导联II、III和aVF的rS模式(小r,深S); (t)EKG中导联aVL的延迟类本位曲折(intrinsicoid deflection) (>0.045 s); (u)EKG中 90° 与 180° 之间的额平面轴; (v)EKG中导联I和aVL的rS模式; (w)EKG中导联III和aVF的qR模式; (x)胸部疼痛; (y)心悸; (z)呼吸困难; (aa)呼吸急促; (bb)恶心; (cc)疲劳; (dd)睡眠问题、睡眠障碍或

睡眠紊乱; (ee) 便秘; 和 (ff) 认知损害。

[0625] 在一个实施方案中, 在施用固定递增剂量的氨基固醇或其盐或衍生物后的限定时间段内, CCD的进展或开始减缓、停止或逆转, 如通过医学上认可的技术测量。另外, CCD可以受到固定递增剂量的氨基固醇或其盐或衍生物的积极影响, 如通过医学上认可的技术测量。CCD的积极影响和/或进展可以通过选自以下的一种或多种技术来定量或定性地测量: 超声心动图、心电图 (ECG或EKG)、磁共振成像 (MRI)、正电子发射断层扫描 (PET); 冠状导管插入、血管内超声、霍尔特氏监测、应激测试、计算机断层扫描血管造影 (CTA) 和冠状CT钙扫描。另外, CCD的进展或开始可以减缓、停止或逆转约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%, 如通过医学上认可的技术测量。

[0626] 在另一个实施方案中, 氨基固醇或其盐或衍生物逆转由CCD引起的功能障碍并且治疗、预防、改善和/或消退所评价的症状。使用临床上认可的量表或工具测量CCD症状的改善或消退。另外, CCD症状的改善可以是至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、或至少约100%, 如使用例如上述技术测量。

[0627] C. 食欲抑制/肥胖症治疗

[0628] 在一个实施方案中, 提供了抑制、预防和/或减缓有需要的受试者的食欲和/或一种或多种相关症状的开始或进展的方法, 所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇 (例如, ENT-03 (化合物III)) 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0629] 在一个实施方案中, 受试者患有食欲增加的病症, 并且食欲的增加与受试者在患有食欲增加病症之前的食欲有关。食欲的增加可以使用临床量表或工具来测量。

[0630] 在一个实施方案中, 所述方法导致受试者的食欲在限定时间段内降低, 其中食欲的降低与施用氨基固醇 (例如, v) 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物之前受试者的食欲有关。受试者食欲的增加可以是约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%, 如通过临床食欲量表或工具来测量。在一个实施方案中, 临床食欲量表或工具选自食欲的自我评估、食欲的主观评估、视觉模拟量表 (visual analogue scale) (VAS)、厌食/恶病质疗法功能评估 (Functional Assessment of Anorexia/Cachexia Therapy) (FAACT) 得分、和厌食问卷 (Anorexia Questionnaire) (AQ)。

[0631] 在一个实施方案中, 食欲增加病症选自应激、焦虑、抑郁症、经前期综合征、怀孕、贪食症、甲状腺机能亢进、瘦素抵抗、格雷夫病、低血糖症、糖尿病、普拉德-威利综合征 (Prader-Willi syndrome) (PWS)、暴食障碍 (BED)、肥胖症、药物戒断和药物消耗。

[0632] 在一个实施方案中, 所述一种或多种相关的食欲症状选自腹鸣 (borborygmi) (胃咆哮); 昏厥、头昏或头晕目眩; 头痛; 易怒; 认知损害; 和恶心。所述方法的执行可以导致一种或多种相关症状的减少或消除。

[0633] 在一个实施方案中, (a) 所述方法导致受试者的昏厥、头昏或头晕目眩的严重程度在限定时间段内降低, 如通过临床上认可的昏厥、头昏或头晕目眩量表或工具测量; (b) 所

述方法导致昏厥、头昏或头晕目眩的严重程度在限定时间段内降低,其中严重程度的降低选自降低约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%和约100%,如通过临床上认可的昏厥、头昏或头晕目眩量表或工具测量;和/或(c)所述方法导致受试者没有昏厥、头昏或头晕目眩。

[0634] 在一个实施方案中,通过临床上认可的昏厥、头昏或头晕目眩量表或工具选自Amer头昏诊断量表(Amer Dizziness Diagnostic Scale) (ADDS)、眩晕症状量表(Vertigo Symptom Scale)、头昏残障记录表(Dizziness Handicap Inventory)、日常生活前庭障碍量表(Vestibular Disorders of Daily Living Scale)、活动特异性平衡信心(Activities-specific Balance Confidence)、眩晕残障问卷(Vertigo Handicap Questionnaire)、眩晕、头昏、失衡问卷、加州大学洛杉矶分校头昏问卷(UCLA Dizziness Questionnaire)、头昏因素记录表(Dizzy Factor Inventory)、欧洲眩晕评价(European Evaluation of Vertigo)、和梅尼埃病患者导向的严重程度指数(Meniere's Disease Patients-Oriented Severity Index)。

[0635] 在一个实施方案中,(a)所述方法导致受试者的头痛在限定时间段内减轻,如通过一种或多种临床上认可的头痛评定量表测量;(b)所述方法导致受试者的头痛在限定时间段内减轻,如通过一种或多种临床上认可的头痛评定量表测量,并且减轻是一种或多种选自以下的头痛类型:紧张性头痛、丛集性头痛、偏头痛、高血压性头痛和低血压性头痛;和/或(c)所述方法导致受试者的头痛在限定时间段内减轻,如通过一种或多种临床上认可的头痛评定量表测量,并且受试者的头痛减轻了约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。

[0636] 在一个实施方案中,所述一种或多种临床上认可的头痛评定量表选自ID-偏头痛、视觉先兆评定量表(Visual Aura Rating Scale) (VARS)、偏头痛残疾评估问卷(Migraine Disability Assessment Questionnaire) (MIDAS)、偏头痛特定生活质量调查(Migraine-Specific Quality of Life Survey) (MSQ 2.1)和头痛对治疗反应不足(Headache Under-Response to Treatment) (HURT)问卷。

[0637] 在一个实施方案中,(a)所述方法导致受试者的认知损害在限定时间段内改善,如通过一种或多种临床上认可的认知评定量表测量;(b)所述方法导致受试者的认知损害在限定时间段内改善,如通过一种或多种临床上认可的认知评定量表测量,并且改善了约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。

[0638] 在一个实施方案中,所述一种或多种临床上认可的认知评定量表选自ADASCog、Woodcock-Johnson认知能力测试(Woodcock-Johnson Tests of Cognitive Abilities)、雷特国际表现量表(Leiter International Performance Scale)、米勒类比测试(Miller Analogies Test)、瑞文推理测试(Raven's Progressive Matrices)、温德利人事测试(Wonderlic Personnel Test)、IQ测试、统一帕金森病量表(UPDRS)、简明精神状态检查(MMSE)、简明精神帕金森(Mini Mental Parkinson) (MMP)、老年人认知下降的知情人问卷(IQCODE)、7分钟筛查、简略心智测试得分(AMTS)、剑桥认知检查(CAMCOG)、全科医师认知评

估 (GPCOG)、Mini-Cog、记忆损害筛查 (MIS)、蒙特利尔认知评估 (MoCA)、罗兰通用痴呆症评估 (RUDA)、自我管理的老年认知检查 (SAGE)、简明扼要筛查工具 (SAS-SI)、短期祝福测试 (SBT)、圣路易斯精神状态 (SLUMS)、简短的便携式精神状态问卷 (SPMSQ)、精神状态简短测试 (STMS)、时间和变化测试 (T&C)、测试你的记忆 (Test Your Memory) (TYM) 测试、Addenbrooke的认知检查-修订版 (Addenbrooke's Cognitive Examination-Revised) (ACER);和选自以下的计算机测试:Cantab Mobile、Cognigram、Cognivue、Cognition和自动神经心理学评估指标认知表现测试 (CPT)。

[0639] 在一个实施方案中,提供了逆转、预防和/或减缓有需要的受试者的体重增加和/或相关症状的开始或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的至少一种氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0640] 在一个实施方案中,提供了减轻有需要的受试者的体重的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文公开的氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物。

[0641] 在一些实施方案中,所述方法导致受试者在限定时间段内约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%的体重减轻。

[0642] 在一些实施方案中,所述方法导致受试者在限定时间段内的卡路里消耗降低,其中所述降低相对于在施用氨基固醇(例如,ENT-03(化合物III))或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物之前的时间跨度内受试者消耗的卡路里。所述限定时间段和所述时间跨度可以是相同的时间长度。另外,卡路里消耗降低可以是约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。

[0643] 在一些实施方案中,所述方法导致相对于受试者在施用氨基固醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药之前的时间宽度内消耗的食物质量,受试者在限定时间段内的食物质量消耗降低;其中所述限定时间段和所述时间跨度是相同的时间长度,并且其中食物质量消耗降低了约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。

[0644] 在一些实施方案中,所述方法导致受试者体重在限定时间段内降低,其中体重降低是在施用氨基固醇或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药或衍生物之前的受试者体重的约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。

[0645] 在一些实施方案中,每个限定时间段独立地选自约1天至约10天、约10天至约30天、约30天至约3个月、约3个月至约6个月、约6个月至约12个月和约大于12个月。

[0646] 在一些实施方案中,受试者患有和/或处于患有一种或多种选自以下的病症的风险:肥胖症、脂肪肝疾病、2型糖尿病、心脏病、中风、高血压、胆囊疾病、痛风、睡眠呼吸暂停、骨关节炎、高LDL胆固醇、低HDL胆固醇、高水平的甘油三酯(血脂异常)、子宫内膜癌、乳腺癌、结肠癌、肾癌、胆囊癌和肝癌。

[0647] D. 抗微生物治疗

[0648] (1) 微生物感染

[0649] 在一方面, 本文所述的氨基固醇可以施用于有需要的受试者以治疗微生物感染。在一些实施方案中, 有需要的受试者患有选自以下的病症: 病毒感染、微生物感染、细菌感染(例如, 革兰氏阴性和/或革兰氏阳性细菌感染、分枝杆菌 (*Mycobacteria*) 感染)、真菌感染和/或原生生物感染。

[0650] 在一些实施方案中, 病毒感染是由选自以下的病毒引起的: 黄热病病毒、巨细胞病毒 (*Cytomegalovirus*)、东方马脑炎病毒、乙型肝炎病毒、丁型肝炎病毒、登革热病毒和人类免疫缺陷病毒。在一些实施方案中, 待治疗的病症是由选自以下的病毒引起的病毒感染: “非洲猪瘟病毒”、虫媒病毒 (*Arbovirus*)、腺病毒科 (*Adenoviridae*)、沙粒病毒科 (*Arenaviridae*)、动脉病毒 (*Arterivirus*)、星状病毒科 (*Astroviridae*)、杆状病毒科 (*Baculoviridae*)、双链核糖核酸病毒科 (*Bimaviridae*)、双核糖核酸病毒科 (*Birnaviridae*)、布尼亚病毒科 (*Bunyaviridae*)、杯状病毒科 (*Caliciviridae*)、花椰菜病毒科 (*Caulimoviridae*)、圆环病毒科 (*Circoviridae*)、冠状病毒科 (*Coronaviridae*)、囊病毒科 (*Cystoviridae*)、登革热、EBV、HIV、德尔塔病毒科 (*Deltaviridae*)、纤丝病毒科 (*Filviridae*)、丝状病毒科 (*Filoviridae*)、黄病毒科 (*Flaviviridae*)、肝炎病毒科 (*Hepadnaviridae*) (肝炎)、疱疹病毒科 (*Herpesviridae*) (诸如巨细胞病毒 (*Cytomegalovirus*)、单纯疱疹 (*Herpes Simplex*)、带状疱疹 (*Herpes Zoster*))、虹彩病毒科 (*Iridoviridae*)、单负链病毒 (*Mononegavirus*) (例如, 副粘病毒科 (*Paramyxoviridae*)、麻疹病毒 (*Morbillivirus*)、弹状病毒科 (*Rhabdoviridae*))、肌病毒科 (*Myoviridae*)、正粘病毒科 (*Orthomyxoviridae*) (例如, 甲型流感、乙型流感和副流感病毒)、乳头状瘤病毒 (*Papilloma virus*)、乳多空病毒科 (*Papovaviridae*)、副粘病毒科 (*Paramyxoviridae*)、朊病毒 (*Prions*)、细小病毒科 (*Parvoviridae*)、藻类脱氧核糖核酸病毒科 (*Phycodnaviridae*)、小RNA病毒 (*Picomaviridae*) (例如, 鼻病毒 (*Rhinovirus*)、脊髓灰质炎病毒 (*Poliovirus*))、痘病毒科 (*Poxviridae*) (诸如天花或牛痘)、马铃薯Y病毒科 (*Potyviridae*)、呼肠孤病毒科 (*Reoviridae*) (例如, 轮状病毒 (*Rotavirus*))、逆转录病毒科 (*Retroviridae*) (HTLV-I、HTLV-II、慢病毒 (*Lentivirus*))、弹状病毒科 (*Rhabdoviridae*)、复层病毒科 (*Tectiviridae*)、披膜病毒科 (*Togaviridae*) (例如, 风疹病毒 (*Rubivirus*))、疱疹、痘、乳头状瘤、冠状病毒、流感、肝炎、仙台病毒、辛德比斯病毒 (*sindbis*)、牛痘病毒、西尼罗河病毒、汉他病毒 (*hanta*)、引起普通感冒的病毒及其任何组合。在一些实施方案中, 待治疗的病症选自艾滋病、病毒性脑膜炎、登革热、EBV、肝炎、怀疑是病毒源的慢性疾病、多发性硬化症、I型糖尿病、II型糖尿病、动脉粥样硬化、心肌病、川崎病、再生障碍性贫血及其任何组合。

[0651] 在一些实施方案中, 所述方法进一步包括施用一种或多种抗病毒药物。

[0652] (2) 冠状病毒感染

[0653] 在一方面, 提供了治疗或预防受试者的冠状病毒感染的方法, 所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文任何实施方案的氨基固醇化合物或本文任何实施方案的组合物。

[0654] 在一些实施方案中, 所述冠状病毒包括选自以下的病毒: α 冠状病毒; *Colacovirus*, 诸如蝙蝠冠状病毒CDPHE15; *Decacovirus*, 诸如蝙蝠冠状病毒HKU10或马铁菊

头蝠 (*Rhinolophus ferrumequinum*) α 冠状病毒HuB-2013; Duvinacovirus, 诸如人类冠状病毒229E; Luchacovirus, 诸如Lucheng Rn蝙蝠冠状病毒; Minacovirus, 诸如雪貂冠状病毒或貂冠状病毒1; Minunacovirus, 诸如长翼蝠属 (*Miniopterus*) 蝙蝠冠状病毒1或长指蝠属蝙蝠冠状病毒HKU8; Myotacovirus, 诸如大足鼠耳蝠 (*Myotis ricketti*) α 冠状病毒Sax-2011; nyctacovirus, 诸如中华山蝠 (*Nyctalus velutinus*) α 冠状病毒SC-2013; Pedacovirus, 诸如猪流行性腹泻病毒或黄蝠属 (*Scotophilus*) 蝙蝠冠状病毒512; Rhinacovirus, 诸如菊头蝠属 (*Rhinolophus*) 蝙蝠冠状病毒HKU2; Setracovirus, 诸如人类冠状病毒NL63或NL63相关蝙蝠冠状病毒毒株BtKYNL63-9b; Tegacovirus, 诸如 α 冠状病毒1; β 冠状病毒; Embecovirus, 诸如 β 冠状病毒1、人类冠状病毒OC43、中国鼠 (*China Rattus*) 冠状病毒HKU24、人类冠状病毒HKU1或鼠冠状病毒; Hibecovirus, 诸如蝙蝠Hp- β 冠状病毒浙江2013; Merbecovirus, 诸如刺猬冠状病毒1、中东呼吸综合征相关冠状病毒 (MERS-CoV)、伏翼属 (*Pipistrellus*) 蝙蝠冠状病毒HKU5或扁颅蝠属 (*Tylonycteris*) 蝙蝠冠状病毒HKU4; Nobecovirus, 诸如果蝠属 (*Rousettus*) 蝙蝠冠状病毒GCCDC1或果蝠属蝙蝠冠状病毒HKU9, Sarbecovirus, 诸如严重急性呼吸综合征相关冠状病毒、严重急性呼吸综合征冠状病毒 (SARS-CoV) 或严重急性呼吸综合征冠状病毒2 (SARS-CoV-2, COVID-19); δ 冠状病毒; Andecovirus, 诸如野鸭冠状病毒HKU20; Buldecovirus, 诸如夜莺冠状病毒HKU11、猪冠状病毒HKU15、文鸟冠状病毒HKU13或绣眼鸟冠状病毒HKU16; Herdecovirus, 诸如夜鹭冠状病毒HKU19; Moordecovirus, 诸如红冠水鸡 (*Common moorhen*) 冠状病毒HKU21; γ 冠状病毒; Cegacovirus, 诸如白鲸冠状病毒SW1; 和Igacovirus, 诸如鸟类冠状病毒。

[0655] 在一些实施方案中, 冠状病毒由包含SARS-CoV-2序列的多核苷酸或与包含SARS-CoV-2序列的多核苷酸具有至少80%序列同一性的多核苷酸编码。在一些实施方案中, 冠状病毒包括人类冠状病毒229E、人类冠状病毒OC43、SARS-CoV、HCoV NL63、HKU1、MERS-CoV或SARS-CoV-2或具有其特征。在一些实施方案中, 冠状病毒包括SARS-CoV-2或具有其特征。

[0656] 在一些实施方案中, 受试者被认为具有冠状病毒感染的严重病患和/或严重并发症的风险。在一些实施方案中, 受试者是约50岁或更大、约55岁或更大、约60岁或更大、或约65岁或更大。在一些实施方案中, 受试者患有一种或多种预先存在的选自糖尿病、哮喘、呼吸系统障碍、高血压和心脏病的病症。在一些实施方案中, 受试者免疫功能受损。在一些实施方案中, 受试者由于艾滋病、癌症、癌症治疗、肝炎、自身免疫性疾病、类固醇接受、免疫衰老或其任何组合而免疫功能受损。

[0657] 在一些实施方案中, 施用增加了受试者在暴露于冠状病毒后的存活机率。在一些实施方案中, 存活机率增加了约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%或约100%, 如使用任何临床上认可的技术测量。

[0658] 在一些实施方案中, 受试者暴露于或预期暴露于具有冠状病毒传染性的个体。在一些实施方案中, 具有冠状病毒传染性的个体具有一种或多种选自发烧、咳嗽、气短、腹泻、打喷嚏、流鼻涕和喉咙痛的症状。在一些实施方案中, 受试者是60岁或更大的医疗保健工作者、经常旅行者、军事人员、护理人员、或具有导致感染死亡风险增加的预先存在的病症的受试者。

[0659] 在一些实施方案中, 所述方法进一步包括施用一种或多种抗病毒药物。在一些实施方案中, 所述一种或多种抗病毒药物选自氯喹、羟氯喹、达芦那韦、加利地韦

(galidesivir)、干扰素 β 、洛匹那韦、利托那韦、瑞德西韦和/或三氮唑核苷。

[0660] 在一些实施方案中,施用会降低冠状病毒传播的风险。在一些实施方案中,传播风险降低了约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%或约100%,如使用任何临床上认可的技术测量。在一些实施方案中,医学上认可的技术包括PCR(聚合酶链式反应)或免疫测定。

[0661] VI. 患者群体

[0662] 所公开的氨基固醇和包含其的组合物可以用于治疗一系列受试者,包括人类和非人类动物,包括哺乳动物,以及未成熟和成熟的动物,包括人类儿童和成年人。待治疗人类受试者可以是婴儿、幼儿、学龄儿童、青少年、年轻成年人、成年人或老年患者。

[0663] 在本文公开的与预防有关的实施方案中,可以基于“处于”发展本文公开的任何病症的“风险”来选择特定患者群体。例如,病症或家族史的遗传标志物可以用作鉴定可能发展特定病症的受试者的标志。因此,在一些实施方案中,预防可能涉及首先鉴定处于发展病症风险中的患者群体。可替代地,某些症状被认为是特定障碍的早期标志。因此,在一些实施方案中,可以基于年龄和经历与病症相关的症状来选择处于发展病症的“风险”中的患者群体。进一步的基因或遗传标志可以用于细化患者群体。

[0664] VII. 试剂盒

[0665] 本公开文本的氨基固醇配制品或组合物可以与说明书或包装插页一起包装或与其一起包含在试剂盒中。考虑到氨基固醇或其衍生物或盐的保质期,此类说明书或包装插页可以说明推荐的储存条件,诸如时间、温度和光。此类说明书或包装插页还可以说明氨基固醇或其衍生物或盐的特定优点,诸如可能需要在受控医院、诊所或办公室条件之外的场地使用的配制品的易储存性。

[0666] 本公开文本还提供了一种药物包装或试剂盒,其包含一个或多个容器,所述一个或多个容器填充有本文公开的一种或多种氨基固醇药物组合物。所述试剂盒可以包含,例如,填充有适量氨基固醇药物组合物的容器,所述氨基固醇药物组合物作为待溶解的散剂、片剂,或作为无菌溶液。与一个或多个此类容器相关的可以是由管理药品或生物产品的制造、使用或销售的政府机构规定的形式的通告,所述通告反映了制造、使用或销售机构批准用于人类施用。另外,氨基固醇或其衍生物或盐可以与其他治疗性化合物结合使用。

[0667] 在其他方面,公开了一种试剂盒,其包含如本文所述的鼻喷雾装置。在一方面,所述试剂盒可以包含一种或多种如本文所公开的装置,其包含所公开的低剂量氨基固醇组合物,其中所述装置被密封在足以保护装置免受大气影响的容器内。容器可以是例如箔或塑料袋,特别是箔袋或热密封箔袋。本领域技术人员将容易理解足以充分保护装置的合适容器。

[0668] 在一方面,所述试剂盒可以包含一个或多个如本文公开的装置,其中所述装置可以密封在第一保护性包装或第二保护性包装或第三保护性包装内,所述保护性包装保护产品的物理完整性。第一、第二或第三保护性包装中的一个或多个可以包括箔袋。所述试剂盒可以进一步包含装置的使用说明书。在一方面,所述试剂盒含有两个或更多个装置。

[0669] 在一方面,所述试剂盒可以包含如本文公开的装置,并且可以进一步包含使用说明书。在一方面,说明书可以包括针对装置施用者的视觉帮助/图示和/或书面指导。

[0670] VIII. 组合法

[0671] 在本公开文本的方法中,氨基固醇组合物可以单独施用或与一种或多种其他治疗剂组合施用。另外的治疗剂的例子是已知的用于治疗正在施用氨基固醇治疗的病症的治疗剂。

[0672] 例如,在治疗、预防和/或减缓PD和/或相关症状的开始或进展的方法中,氨基固醇组合物可以与通常开出用于治疗PD或相关症状的药物诸如左旋多巴(通常与多巴脱羧酶抑制剂或COMT抑制剂组合)、多巴胺激动剂和MAO-B抑制剂共施用或组合。示例性多巴脱羧酶抑制剂是卡比多巴和苄丝肼。示例性COMT抑制剂是托卡朋和恩托卡朋。多巴胺激动剂包括例如溴隐亭、培高利特、普拉克索、罗匹尼罗、吡贝地尔、卡麦角林、阿扑吗啡、麦角乙脲和罗替戈汀。MAO-B抑制剂包括,例如,司来吉兰和雷沙吉兰。常用于治疗PD的其他药物包括,例如,金刚烷胺、抗胆碱能药、用于精神病的氯氮平、用于痴呆的胆碱酯酶抑制剂和用于日间嗜睡的莫达非尼。

[0673] 在治疗、预防和/或减缓AD或与AD相关的相关症状的开始或进展的方法中,氨基固醇组合物可以与通常开出用于治疗AD或相关症状的药物诸如谷氨酸盐、抗精神病药物、石杉碱A、乙酰胆碱酯酶抑制剂和NMDA受体拮抗剂诸如美金刚(Akatinol[®]、Axura[®]、Ebixa[®]/Abixa[®]、Memox[®]和Namenda[®])共施用或组合。乙酰胆碱酯酶抑制剂的例子是多奈哌齐(Aricept[®])、加兰他敏(Razadyne[®])和卡巴拉汀(Exelon[®])。

[0674] 在治疗、预防和/或减缓糖尿病或与糖尿病(diabetes)和/或糖尿病(diabetes mellitus)(包括1型和2型糖尿病或糖尿病性神经病变)相关的相关症状的开始或进展的方法中,氨基固醇组合物可以与通常开出用于治疗糖尿病或相关症状的药物诸如胰岛素(NPH胰岛素或合成胰岛素类似物)(例如, Humulin[®]、Novolin[®])和口服抗高血糖药物共施用或组合。口服抗高血糖药物包括但不限于(1)双胍类,诸如二甲双胍(Glucophage[®]);(2)磺脲类,诸如乙酰苯磺酰环己脲、氯磺丙脲(Diabinese[®])、格列美脲(Amaryl[®])、格列吡嗪(Glucotrol[®])、甲磺氮草脲、甲苯磺丁脲、和格列本脲(Diabeta[®]、Micronase[®]);(3)氯茴苯酸类,诸如瑞格列奈(Prandin[®])和那格列奈(nateglinide)(Starlix[®]);(4)噻唑烷二酮类,诸如罗格列酮(Avandia[®])和吡格列酮(Actos[®]);(5) α -葡萄糖苷酶抑制剂,诸如阿卡波糖(Precose[®])和米格列醇(Glyset[®]);(6)二肽基肽酶-4抑制剂,诸如西格列汀(januvia[®]);(7)胰高血糖素样肽激动剂,诸如艾塞那肽(Byetta[®]);和(8)胰淀素类似物,诸如普兰林肽(Symlin[®])。

[0675] 在治疗、预防和/或减缓HD或与亨廷顿舞蹈病或疾病相关的相关症状的开始或进展的方法中,氨基固醇组合物可以通常开出用于治疗亨廷顿舞蹈病或相关症状的药物诸如开出用于帮助控制与亨廷顿舞蹈病相关的情绪和运动问题的药物共施用或组合。此类药物包括但不限于(1)抗精神病药物,诸如氟哌啶醇和氯硝西泮;(2)用于治疗肌张力障碍的药物,诸如乙酰胆碱调节药物(苯海索、苯托品(Cogentin[®])和盐酸普环啉);GABA调节药物(地西泮(Valium[®])、劳拉西泮(Ativan[®])、氯硝西泮(Klonopin[®])和巴氯芬(Lioresal[®]));多巴胺调节剂(左旋多巴/卡比多巴(Sinemet[®])、溴隐亭(甲磺酸溴隐亭(parlodel))、利血平、四苯喹啉);抗惊厥药(卡马西平(Tegretol[®])和肉毒杆菌毒素(Botox[®]));和(3)用于治疗抑

郁症的药物(氟西汀、舍曲林和去甲替林)。常用于治疗HD的其他药物包括金刚烷胺、四苯喹啉、多巴胺阻滞剂和辅酶Q₁₀。

[0676] 在治疗、预防和/或减缓周围感觉神经病或与周围感觉神经病相关的相关症状的开始或进展的方法中,氨基固醇组合物可以与通常开出用于治疗周围感觉神经病或相关症状的药物共施用或组合。周围感觉神经病是指周围神经系统的神经的损害,所述损害可能是由神经疾病或神经创伤或者系统性病患的副作用引起的。通常用于治疗这种病症的药物包括但不限于神经营养因子-3、三环类抗抑郁药(例如,阿米替林)、抗癫痫疗法(例如,加巴喷丁或丙戊酸钠)、合成大麻类物质(大麻隆(Nabilone))和吸入大麻(cannabis)、鸦片衍生物、和普瑞巴林(Lyrica®)。

[0677] 在治疗、预防和/或减缓创伤性头部和/或脊柱损伤或与创伤性头部和/或脊柱损伤相关的相关症状的开始或进展的方法中,氨基固醇组合物可以与通常开出用于治疗创伤性头部和/或脊柱损伤或相关症状的药物诸如镇痛药(对乙酰氨基酚、NSAID、水杨酸盐和阿片类药物,诸如吗啡和鸦片)和麻痹药共施用或组合。

[0678] 在治疗、预防和/或减缓中风或与中风相关的相关症状的开始或进展的方法中,氨基固醇组合物可以与通常开出用于治疗中风或相关症状的药物诸如阿司匹林、氯吡格雷、双嘧达莫、组织型纤溶酶原激活剂(tPA)和抗凝剂(例如,阿替普酶、华法林、达比加群)共施用或组合。

[0679] 在治疗、预防和/或减缓ALS或与ALS相关的相关症状的开始或进展的方法中,氨基固醇组合物可以与通常开出用于治疗肌萎缩侧索硬化症或相关症状的药物诸如利鲁唑(Rilutek®)、KNS-760704(普拉克索的对映异构体)、奥利索西(TR019622)、他仑帕奈(talampanel)、阿莫氯醇(arimocloamol)、有助于减轻疲劳、缓解肌肉痉挛、控制痉挛状态、减少唾液过多和化痰、控制疼痛、抑郁症、睡眠紊乱、吞咽困难和便秘的药物共施用或组合。

[0680] 在治疗、预防和/或减缓MS或与多发性硬化症相关的相关症状的开始或进展的方法中,氨基固醇组合物可以与通常开出用于治疗多发性硬化症或相关症状的药物诸如皮质类固醇(例如,甲基强的松龙)、血浆除去术、芬戈莫德(Gilenya®)、干扰素 β -1a(Avonex®、CinnoVex®、ReciGen®和Rebif®)、干扰素 β -1b(Betaseron®和Betaferon®)、醋酸格拉替雷(Copaxone®)、米托蒽醌、那他珠单抗(Tysabri®)、阿仑单抗(Campath®)、达克珠单抗(Zenapax®)、利妥昔单抗、地瑞考肽(dirucotide)、BHT-3009、克拉屈滨、富马酸二甲酯、雌三醇、芬戈莫德、拉喹莫德、米诺环素、他汀类、替西罗莫司特立氟胺、纳曲酮、和维生素D类似物共施用或组合。

[0681] 在治疗、预防和/或减缓大脑性麻痹或与大脑性麻痹相关的相关症状的开始或进展的方法中,氨基固醇组合物可以与通常开出用于治疗大脑性麻痹或相关症状的药物诸如A型肉毒杆菌素注射液共施用或组合。

[0682] 在治疗、预防和/或减缓癫痫或与癫痫相关的相关症状的开始或进展的方法中,氨基固醇组合物可以与通常开出用于治疗癫痫或相关症状的药物诸如抗惊厥剂(例如,卡马西平(Tegretol®)、氯氮卓(Tranxene®)、氯硝西洋(Klonopin®)、乙琥胺(ethosuximide)(Zarontin®)、非尔氨酯(Felbatol®)、磷苯妥英(Cerebyx®)、加巴喷丁(Neurontin®)、拉考沙

胺(Vimpat[®])、拉莫三嗪(Lamictal[®])、左乙拉西坦(Keppra[®])、奥卡西平(Trileptal[®])、苯巴比妥(Luminal[®])、苯妥英(Dilantin[®])、普瑞巴林(Lyrica[®])、扑米酮(Mysoline[®])、噻加宾(Gabitril[®])、托吡酯(Topamax[®])、丙戊酸半钠(Depakote[®])、丙戊酸(Depakene[®])和唑尼沙胺(Zonegran[®])、氯巴占(Frisium[®])、氨己烯酸(Sabril[®])、瑞替加滨、布瓦西坦、塞曲西坦(seletracetam)、地西泮(Valium[®]和Diasat[®])、劳拉西泮(Ativan[®])、三聚乙醛(Paral[®])、咪达唑仑(Versed[®])、戊巴比妥(Nembutal[®])、乙酰唑胺(Diamox[®])、黄体酮、促肾上腺皮质激素(ACTH和Acthar[®])、各种促肾上腺皮质类固醇激素(强的松)和溴化物共施用或组合。

[0683] 在治疗、预防和/或减缓认知损害或与认知损害相关的相关症状的开始或进展的方法中,氨基固醇组合物可以与通常开出用于治疗认知损害的药物,诸如多奈哌齐(Aricept[®])、加兰他敏(Razadyne[®])、卡巴拉汀(Exelon[®]);和刺激剂,诸如咖啡因、苯丙胺(Adderall[®])、赖氨酸安非他命(lisdexamfetamine)(Vyvanse[®])和苯哌啶醋酸甲酯(Ritalin[®]);NMDA拮抗剂,诸如美金刚(Namenda[®]);补充剂,诸如银杏、L-茶氨酸、吡拉西坦、奥拉西坦(oxiracetam)、阿尼西坦、托卡朋、托莫西汀、人参和鼠尾草共施用或组合。

[0684] 在治疗、预防和/或减缓恶性肿瘤或与恶性肿瘤相关的相关症状的开始或进展的方法中,氨基固醇组合物可以与常用于治疗恶性肿瘤的药物共施用或组合。这些包括所有已知的抗癌药物,诸如但不限于截至2014年5月5日在<http://www.cancer.gov/cancertopics/druginfo/alphalist>中列出的那些,将其通过引用具体并入。在一个实施方案中,常用于治疗恶性肿瘤的药物可以选自放线菌素-D、马法兰(alkeran)、阿糖胞苷(ara-C)、阿那曲唑、BiCNU、比卡鲁胺、博来霉素、白消安、卡培他滨、碳铂(carboplatin)、卡铂(carboplatinum)、卡莫司汀、CCNU、苯丁酸氮芥、顺铂、克拉屈滨、CPT-11、环磷酰胺、阿糖胞苷(cytarabine)、胞嘧啶阿拉伯糖苷、环磷酰胺、达卡巴嗪、更生霉素、道诺霉素、右雷佐生、多西他赛、多柔比星、DTIC、表柔比星、乙烯亚胺、依托泊苷、氟尿苷、氟达拉滨、氟尿嘧啶、氟他胺、氟莫司汀、吉西他滨、六甲胺、羟基脲、伊达比星、异环磷酰胺、伊立替康、环己亚硝脲(lomustine)、二氯甲基二乙胺(mechlorethamine)、美法仑、巯基嘌呤、甲氨蝶呤、丝裂霉素、米托坦、米托蒽醌、奥沙利铂、紫杉醇、帕米膦酸盐(pamidronate)、喷司他丁、普卡霉素、丙卡巴肼、类固醇、链脲佐菌素、STI-571、他莫昔芬、替莫唑胺、替尼泊苷、四嗪、硫鸟嘌呤、噻替派、雷替曲塞(tomodex)、拓扑替康、曲奥舒凡(treosulphan)、三甲曲沙、长春花碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨、VP-16、希罗达(xeloda)、天冬酰胺酶、AIN-457、巴匹组单抗(bapineuzumab)、贝利木单抗、本妥昔单抗、布雷奴单抗(briakinumab)、卡那单抗(canakinumab)、达洛珠单抗(dalotuzumab)、狄诺塞麦(denosumab)、依帕珠单抗(epratuzumab)、estaferatox、法妥组单抗(farletuzumab)、芬妥木单抗(figitumumab)、加利昔单抗(galiximab)、吉妥珠单抗(gemtuzumab)、吉妥昔单抗(girentuximab)(WX-G250)、赫塞汀、替伊莫单抗(ibritumomab)、奥英妥珠单抗(inotuzumab)、易普利姆玛、美泊利单抗(mepolizumab)、莫罗莫那(muromonab)-CD3、那普妥莫单抗(naptumomab)、耐昔妥珠单抗(necitumumab)、尼妥珠单抗(nimotuzumab)、奥瑞组单抗(ocrelizumab)、奥法木单抗(ofatumumab)、奥昔组单抗(otelixizumab)、奥英妥珠单抗(ozogamicin)、帕昔单抗(pagibaximab)、帕尼单抗(panitumumab)、帕妥珠单抗(pertuzumab)、雷莫芦单抗、瑞利珠

单抗(reslizumab)、利妥昔单抗、REGN88、索拉珠单抗(solanezumab)、他尼组单抗(tanezumab)、替利组单抗(teplizumab)、替伊莫单抗(tiuxetan)、托西莫单抗(tositumomab)、曲妥珠单抗(trastuzumab)、替西利姆单抗(tremelimumab)、维多珠单抗(vedolizumab)、扎芦木单抗(zalututumab)、扎木单抗(zanolimumab)、5FC、异维甲酸(accutane hoffmann-la roche)、AEE788 novartis、AMG-102、抗肿瘤物质、AQ4N(巴诺蒽醌(banoxantrone))、AVANDIA(马来酸罗格列酮(rosiglitazone maleate))、安维汀(avastin)(贝伐单抗(bevacizumab))genetech、BCNU、biCNU卡莫司汀、CCI-779、CCNU、CCNU环己亚硝脲、塞来昔布(全身性)、氯喹、西仑吉肽(cilengitide)(EMD 121974)、CPT-11(CAMPTOSAR, Irinotecan)、达沙替尼(dasatinib)(BMS-354825, Sprycel)、树突状细胞疗法、依托泊苷(Eposin, Etopophos, Vepesid)、GDC-0449、格列卫(甲磺酸伊马替尼)、格立得植入剂(gliadel wafer)、羟化氯喹、IL-13、IMC-3G3、免疫治疗、易瑞沙(ZD-1839)、拉帕替尼(GW572016)、用于癌症的甲氨蝶呤(全身性)、novocure、OSI-774、PCV、RAD001 novartis(mTOR抑制剂)、雷帕霉素(Rapamune, 西罗莫司)、RMP-7、RTA 744、辛伐他汀、西罗莫司、索拉非尼、SU-101、SU5416 sugen、柳氮磺胺吡啶(Azulfidine)、索坦(Pfizer)、TARCEVA(盐酸埃罗替尼)、紫杉醇、替莫唑胺(TEMODAR) schering-plough、TGF-B反义、撒利多迈(thalomid)(沙利度胺(thalidomide))、拓扑替康(全身性)、VEGF捕获剂(VEGF trap)、VEGF-捕获剂、伏立诺他(vorinostat)(SAHA)、XL 765、XL184、XL765、zarnestra(替吡法尼(tipifarnib))、ZOCOR(辛伐他汀(simvastatin))、环磷酰胺(Cytosan)、(马法兰)、苯丁酸氮芥(瘤可宁(Leukeran))、噻替派(Thioplex)、白消安(Myleran)、丙卡巴肼(Matulane)、达卡巴嗪(DTIC)、六甲蜜胺(altretamine)(Hexalen)、苯丁酸氮芥(clorambucil)、顺铂(Platinol)、异环磷酰胺、甲氨蝶呤(MTX)、6-硫嘌呤(巯基嘌呤[6-MP]、硫鸟嘌呤[6-TG])、巯基嘌呤(Purinethol)、磷酸氟达拉滨、(Leustatin)、氟尿嘧啶(5-FU)、阿糖胞苷(cytarabine)(阿糖胞苷(ara-C))、阿扎胞苷、长春花碱(Velban)、长春新碱(Oncovin)、鬼臼毒素(依托泊苷{VP-16}和替尼泊苷{VM-26})、喜树碱(拓扑替康和伊立替康)、紫杉烷类诸如紫杉醇(Taxol)和多西他赛(Taxotere)、(阿霉素、Rubex、Doxil)、更生菌素(Cosmegen)、普卡霉素(光神霉素(mithramycin))、丝裂霉素:(突变霉素)、博来霉素(Blenoxane)、雌激素和雄激素抑制剂(Tamoxifen)、促性腺激素释放激素激动剂(亮丙瑞林和戈舍瑞林(Zoladex))、芳香酶抑制剂(氨鲁米特和(Arimidex))、安吡啶、天冬酰胺酶(E1-spar)、米托蒽醌(Novantrone)、米托坦(Lysodren)、维甲酸衍生物、骨髓生长因子(沙格司亭和非格司亭)、氨磷汀、培美曲塞、地西他滨、伊尼帕利(iniparib)、奥拉帕尼、维利帕尼、依维莫司、伏立诺他、恩替诺特(entinostat)(SNDX-275)、莫替司他(mocetinostat)(MGCD0103)、帕比司他(panobinostat)(LBH589)、罗米地辛(romidepsin)、丙戊酸、夫拉平度(flavopiridol)、奥罗莫星(olomoucine)、roscovitine、肯保隆(kenpaullone)、AG-024322(Pfizer)、fascaplysin、ryuvidine、purvalanol A、NU2058、BML-259、SU 9516、PD-0332991、P276-00、格尔德霉素(geldanamycin)、坦螺旋霉素(tanespimycin)、阿螺旋霉素(alvespimycin)、根赤壳菌素(radicicol)、鱼藤素、BIIB021、顺式咪唑啉、苯并二氮杂卓二酮、螺羟吡啶、异喹啉酮、噻吩、5-脱氮黄素、色胺、氨基吡啶、二氨基嘧啶、吡啶并异喹啉、吡咯并吡啶、吡咯并咪唑、吡咯并嘧啶、二苯胺嘧啶、苯甲酰胺、酞嗪酮、三环吡啶、苯并咪唑、咪唑、吡咯并咪唑、异吡啶酮、吗啉基蒽环、美登素类化合物(maytansinoid)、倍癌霉素(ducarmycin)、奥瑞他

汀 (auristatin)、刺孢霉素 (DNA 破坏剂)、 α -鹅膏菌素 (RNA 聚合酶 II 抑制剂)、centanamycin、吡咯并苯并二氮杂卓、streptonigtin、氮芥 (nitrogen mustard)、亚硝基脲、烷基磺酸盐、嘧啶类似物、嘌呤类似物、抗代谢物、叶酸类似物、蒽环类、紫杉烷类、长春花生物碱、拓扑异构酶抑制剂、激素剂及其任何组合。

[0685] 在治疗、预防和/或减缓抑郁症或与抑郁症相关的相关症状的开始或进展的方法中,氨基固醇组合物可以与常用于治疗抑郁症的药物共施用或组合。这些包括选择性5-羟色胺再摄取抑制剂 (SSRI), 诸如西酞普兰 (Celexa®、Cipramil®)、依他普仑 (Lexapro®、Ciprallex®)、帕罗西汀 (Paxil®、Seroxat®)、氟西汀 (Prozac®)、氟伏沙明 (Luvox®、Faverin®)、舍曲林 (Zoloft®、Lustral®)、叫达品 (Upstene®)、齐美利定 (Normud®、Zelmid®); 5-羟色胺-去甲肾上腺素再摄取抑制剂 (SNRI), 诸如地文拉法辛 (desvenlafaxine) (Pristiq®)、度洛西汀 (Cymbalta®)、左米那普仑 (Fetzima®)、米那普仑 (Ixel®、Savella®)、文拉法辛 (Effexor®); 5-羟色胺调节剂和刺激剂 (SMS), 诸如维拉佐酮 (Viibryd®)、沃替西汀 (Trintellix®); 5-羟色胺拮抗剂和再摄取抑制剂, 诸如奈法唑酮 (Dutonin®、Nefadar®、Serzone®)、曲唑酮 (Desyrel®)、依托哌酮; 去甲肾上腺素再摄取抑制剂 (NRI), 诸如瑞波西汀 (Edronax®)、替尼沙秦 (teniloxazine) (Lucelan®、Metatone®)、维洛沙嗪 (Vivalan®)、(Strattera®); 去甲肾上腺素-多巴胺再摄取抑制剂, 诸如安非他酮 (Wellbutrin®)、阿米庚酸 (Survector®、Maneon®)、诺米芬辛 (Merital®、Alival®)、苯哌啶醋酸甲酯 (Ritalin®、Concerta®)、赖右苯丙胺 (Vyvanse®); 三环类抗抑郁药, 诸如阿米替林 (Elavil®、Endep®)、氧阿米替林 (amitriptylin oxide) (Amioxid®、Ambivalon®、Equilibrin®)、氯丙咪嗪 (Anafranil®)、去郁敏 (Norpramin®、Pertofrane®)、二苯西平 (Noveril®、Victoril®)、二甲他林 (Istonil®)、度硫平 (Prothiaden®)、多虑平 (Adapin®、Sinequan®)、丙咪嗪 (Tofranil®)、洛非帕明 (Lomont®、Gamanil®)、美利曲辛 (Dixeran®、Melixeran®、Trausabun®)、nitroxazepine (Sintamil®)、去甲阿米替林 (Pamelor®、Aventyl®)、诺昔替林 (Agedal®、Elronon®、Nogedal®)、奥匹哌醇 (opipramol) (Insidon®)、哌泊非嗪 (Azafen®/Azaphen®)、普罗替林 (Vivactil®)、三甲丙咪嗪 (Surmontil®)、布替林 (butriptyline) (Evadyne®)、(Deparon®、Tinoran®)、三氟丙嗪 (fluacizine) (Phtorazisin®)、氧米帕明 (Imiprex®、Elepsin®)、(Prondol®、Galatur®、Tertran®)、美他帕明 (Timaxel®)、丙吡西平 (Depressin®、Vagran®)、(Kinupril®、Kevopril®)、硫西新 (Altinil®)、托芬那辛 (Elamol®、Tofacine®)、阿米庚酸 (amineptine) (Survector®、Maneon®)、噻奈普汀 (Stablon®、Coaxil®); 四环类抗抑郁药, 诸如阿莫沙平 (Asendin®)、马普替林 (Ludiomil®)、米安色林 (Bolidon®、Norval®、Tolvon®)、米氮平 (Remeron®)、司普替林 (Tecipul®)、米安色林、米氮平、司普替林; 单胺氧化酶抑制剂 (MAOI), 诸如异卡波肼 (isocarboxazid) (Marplan®)、苯乙肼 (Nardil®)、反苯环丙胺 (tranylcypromine) (Parnate®)、苯莫辛 (benmoxin) (Neuralex®)、异丙氯肼 (Sursum®)、异烟酰异丙肼 (Marsilid®)、美巴那肼 (Actomol®)、尼亚酰胺

(Niamid®)、奥他莫辛(octamoxin)(Ximaol®)、苯异丙肼(Catron®)、苯氧丙肼(Drazine®)、匹戊肼(Tersavid®)、沙夫肼(Safra®)、司来吉兰(Eldepryl®、Zelapar®、Emsam®)、卡罗沙酮(caroxazone)(Surodil®、Timostenil®)、美曲吡啶(Inkazan®)、吗氯贝胺(Aurorix®、Manerix®)、吡唑啉(Pirazidol®)、托洛沙酮(Humoryl®)、依普贝胺(Befol®)、米那卜林(Brantur®、Cantor®)、二苯美伦(Alnert®、Celeport®);非典型抗精神病药,诸如阿米舒必利(Solian®)、鲁拉西酮(Latuda®)、奎硫平(Seroquel®);和N-甲基D-天冬氨酸(NMDA)拮抗剂,诸如氯胺酮(Ketalar®)。

[0686] 在治疗和/或预防肥胖症的方法中,氨基固醇组合物可以与通常开出用于治疗肥胖症的药物共施用或组合,所述药物包括但不限于奥利司他(Xenical)、氯卡色林(Belviq)、苯丁胺-托吡酯(Qsymia)、纳曲酮-安非他酮(Contrave)、利拉鲁肽(Saxenda)、苯丁胺、苄非他明、二乙胺苯丙酮和苯二甲吗啉。

[0687] 组合可以附随地施用(例如,作为混合物),分开但同时或并行地施用;或顺序地施用。这包括将组合药剂作为治疗性混合物一起施用的呈现,以及还有将组合药剂分开但同时施用的程序,例如,通过单独的静脉内线进入同一个体。“组合”施用进一步包括分开施用,首先施用化合物或药剂中的一种,然后是第二种。选择的方案可以并行地施用,因为氨基固醇诱导反应的激活不需要氨基固醇全身吸收到血流中,并且因此消除了对氨基固醇与施用的药物之间的全身性药物-药物相互作用可能性的担忧。

[0688] IX. 定义

[0689] 提供以下定义以促进对在整个说明书中使用的某些术语的理解。

[0690] 除非另外定义,否则本文使用的技术和科学术语具有本领域普通技术人员通常理解的含义。可以使用本领域普通技术人员已知的任何合适的材料和/或方法来实施本文所述的方法。

[0691] 如本文所提供的组合物、氨基固醇或药剂的术语“药理学有效量”或“治疗有效量”是指无毒但足以提供所希望的反应的组合物、氨基固醇或药剂的量。所需的确切量将因受试者而异,取决于受试者的物种、年龄和一般状况、正在治疗的病症的严重程度、所用的一种或多种特定药物、施用方式等。在任何单独情况下的适当“有效”量可以由本领域普通技术人员基于本文提供的信息使用常规实验来确定。仅为方便起见,本文提供了示例性剂量。本领域技术人员可以根据本文公开的方法调节此类量以治疗患有特定症状或障碍的特定受试者。治疗有效量可以基于施用途径和剂型而变化。

[0692] 如本文所用,术语“包括”旨在意指化合物、组合物和方法包括列举的元素,但不排除其他元素。当用于定义化合物、组合物和方法时,“基本上由.....组成”是意指排除对组合具有任何重要意义的其他元素。因此,基本上由如本文定义的元素组成的组合物将不排除痕量污染物,例如,来自分离和纯化方法以及药学上可接受的载体、防腐剂等的污染物。“由.....组成”应意指不只排除痕量元素而且还排除其他成分。由这些过渡术语中的每一个限定的实施方案都在本技术的范围内。

[0693] 所有数字名称,例如质量、温度、时间和浓度(包括范围),都是以1%、5%或10%的增量变化(+)或(-)的近似值。应当理解,尽管不总是明确陈述,在所有数字表达前面加上术语“约”。

[0694] 术语“约”应是本领域普通技术人员所理解的,并且在某种程度上将根据使用它的上下文而变化。如果所述术语的使用在给定其中使用它的上下文的情况下对于本领域普通技术人员是不明确的,则“约”将意指高达特定术语的正负10%。例如,在一些实施方案中,它将意指特定术语的正负5%。某些范围在本文中通过前面带有术语“约”的数值呈现。本文中使用术语“约”是为了对其后的精确数值以及接近或近似所述术语后的数值提供文字支持。在确定数字是否接近或近似于特定列举的数字时,接近或近似的未列举的数字可以是在呈现它的上下文中提供特定列举的数字的基本等效形式的数字。

[0695] “任选的”或“任选地”意指随后描述的情况可以发生或可以不发生,使得所述描述包括情况发生的情形和情况不发生的情形。

[0696] “药学上可接受的赋形剂或载体”是指可任选地包含在本公开文本组合物中并且不对患者造成显著不利毒理学效应的赋形剂。

[0697] “显著地”或“基本上”意指几乎全部或完全,例如,某个给定数量的95%或更大。在一些实施方案中,“显著地”或“基本上”意指95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%。

[0698] 如在本公开文本说明书和所附权利要求中所用,单数形式“一个”、“一种”和“所述”可互换使用,并且旨在也包括复数形式并且落入每种含义内,除非上下文清楚地指示。此外,如本文所用,“和/或”是指并且涵盖一个或多个所列项目的任何和所有可能的组合,以及在解释为替代方案(“或”)时组合的缺少。

[0699] 如本文所用,术语“氨基固醇”是指固醇的氨基衍生物。用于本文公开的组合物和方法的合适氨基固醇的非限制性例子包括ENT-03(化合物III)。

[0700] 如本文所用,术语“施用”包括开具施用的处方以及实际施用,并且包括由被治疗的受试者或由另一人物理施用。

[0701] 如本文所用,“调节性磷酸酶”或“磷酸酶”是指本领域普通技术人员已知的从其底物蛋白的磷酸化氨基酸残基中去除磷酸基团的酶。非限制性例子包括蛋白Ser/Thr磷酸酶,包括1型(PP1)和2型(PP2,即PP2A、PP2C和PP2B),诸如PPP1CA、PPP1CB、PPP1CC、PPP2CA、PPP2CB、PPP3CA、PPP3CB、PPP3CC、PPP4C、PPP5C和PPP6C;I类基于Cys的蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP);II类基于Cys的PTP;III类基于Cys的PTP;IV类基于Cys的DSP(双特异性磷酸酶);PTP,诸如PTP1B、CDC14(CDC14A、CDC14B、CDC14C、CDKN3);磷酸酶和张力蛋白同源物,诸如PTEN;γ叉蛋白(slingshot),诸如SSH1、SSH2和SSH3;双特异性磷酸酶,诸如DUSP1、DUSP2、DUSP3、DUSP4、DUSP5、DUSP6、DUSP7、DUSP8、DUSP9、DUSP10、DUSP11、DUSP12、DUSP13、DUSP14、DUSP15、DUSP16、DUSP18、DUSP19、DUSP21、DUSP22、DUSP23、DUSP26、DUSP27和DUSP28;和其他磷酸酶,诸如CTDP1、CTDSP1、CTDSP2、CTDSPL、DULLARD、EPM2A、ILKAP、MDSP、PGAM5、PHLPP1、PHLPP2、PPEF1、PPEF2、PPM1A、PPM1B、PPM1D、PPM1E、PPM1F、PPM1G、PPM1H、PPM1J、PPM1K、PPM1L、PPM1M、PPM1N、PPTC7、PTPMT1、SSU72、UBLCP1、PP1B、PP1A、PP2Aα/PP2R1A复合物、PTPN6/SHP1、PTPRC/CD45、DUSP22/MKPX、PTPN2/TC-PTP、PTPN7/LC-PTP、PTPN12/PTP-PEST、PTPN1/PTP1B-CD、PTPN11/SHP2、PTPN11/SHP2-FL和PTPN11/SHP2-FL(E76K)。

[0702] 如本文所用,“受试者”、“患者”或“个体”是指任何受试者、患者或个体,并且所述术语在本文中可互换使用。在这方面,术语“受试者”、“患者”和“个体”包括哺乳动物并且特别是人类。当与“有需要的”结合使用时,术语“受试者”、“患者”或“个体”是指具有特定症状或障碍或处于特定症状或障碍风险中的任何受试者、患者或个体。

[0703] 术语“治疗(treatment)”、“治疗(treating)”或其任何变体包括减少、改善或消除(i)一种或多种特定症状,和/或(ii)特定障碍的一种或多种症状或影响。术语“预防(prevention)”、“预防(preventing)”或其任何变体包括降低、改善或消除发展(i)一种或多种特定症状和/或(ii)特定障碍的一种或多种症状或影响的风险。

[0704] “前药”,前药是在施用后被代谢(即,在体内转化)成药理学活性药物(例如,ENT-03(化合物III))的药物或化合物。在一些实施方案中,前药包括ENT-03(化合物III)的衍生物,其中醇和/或羧酸酯已被酯化。

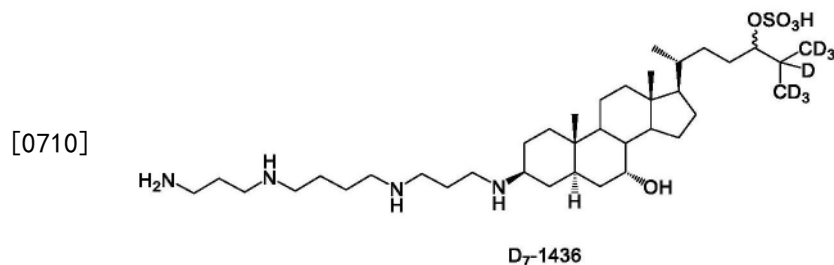
[0705] “任选经取代的”是指选自所述基团和所述基团的取代形式的基团。“经取代的”基团是指被化学取代基取代的基团,例如用C与取代基之间的键替代C-H键。在一个实施方案中,取代基选自,例如,CF₃、OCF₃、卤基、卤代芳基、C₁-C₆烷氧基、酰基、丙酰基、丁酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、经取代的氨基、氨基羰基、氨基硫代羰基、氨基羰基氨基、氨基硫代羰基氨基、羧基酯、羧基酯氨基、(羧基酯)氧基、卤代烷基、芳氧基、卤代烷氧基、羟基、硫醇、二羟基、氨基羟基、羧基、酰胺基、硫酸基(sulfoxy)、磺酰基、卤代芳氧基、芳基、苄基、苄氧基、杂芳基、腈、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烯基、C₁-C₆炔基、C₃-C₆环烷基、C₁-C₆卤代烷基、C₁-C₆卤代烯基、C₁-C₆卤代炔基、C₃-C₆卤代环烷基、C₆-C₁₀芳基、C₃-C₈环烷基、C₂-C₁₀杂环基、C₁-C₁₀杂芳基、-N₃、硝基、-CO₂H或其C₁-C₆烷基酯、其组合。

[0706] 如本文所用,“衍生物”是指例如化合物III、III-P、IV和IV-P或其盐或溶剂化物。ENT-03(化合物III)的“衍生物”还可以指ENT-03(化合物III)的氘代衍生物,例如本文公开的ENT-03-d4和ENT-03-d3。

[0707] X. 实施例

[0708] 实施例1: ENT-03(化合物III)作为蛋白酪氨酸磷酸酶1B(PTP1B)抑制剂的活性

[0709] 此实施例测试了ENT-03(化合物III)和ENT-02(MSI-1436)的PTP1B抑制活性。还包括具有以下结构的氨基固醇D₇-1436(D-1436)的抑制活性的对比数据:



[0711] 将ENT-02(MSI-1436)、ENT-03(化合物III)和D-1436溶解在二甲亚砜(DMSO)中至10mM的储备浓度。已知的PTP1B抑制剂3-(3,5-二溴-4-羟基-苯甲酰基)-2-乙基-苯并咪唑-6-磺酸-(4-(噻唑-2-基氨磺酰基)-苯基)-酰胺(Wiesmann等人,2004)用作对照。化合物以从100μM开始单重3倍连续稀释的10剂量IC₅₀模式进行测试。酶是在大肠杆菌(Escherichia coli)中重组产生的人类截短形式(1-321)。测量荧光以监测酶活性。监测磷酸酶活性作为来自荧光底物的荧光信号的增加的时间-过程测量,并且分析斜率的初始线性部分(信号/min)。没有化合物展现出可能干扰测定的荧光背景。

[0712] 对三种测试的氨基固醇(图4A)和对照化合物(图4B)生成IC₅₀曲线。当最高浓度化合物的活性小于65%时,进行曲线拟合。

[0713] 如表2所见,已知抑制PTP1B的ENT-02(MSI-1436)展现出2.89μM的IC₅₀; ENT-03(化

合物III) 展现出 $1.03\mu\text{M}$ 的 IC_{50} ; D-1436展现出 $2.09\mu\text{M}$ 的 IC_{50} ; 并且对照PTP1B化合物展现出 $2.47\mu\text{M}$ 的 IC_{50} 。

表2A					
针对PTPN1/PTP1B的磷酸酶谱分析报告					
斜率 (信号/min)					
	浓度 (M)	ENT-02 (MSI-1436)	ENT-03 (化合 物III)	PTP1B抑制 剂	D7-1436
	1.00E-04	-68	-334	-810	-161
	3.33E-05	-440	-201	-444	-362
	1.11E-05	292	109	1291	-319
	3.70E-06	16431	1266	18367	8429
	1.23E-06	37260	17650	34136	34760
	4.12E-07	39959	40062	40760	41755
	1.37E-07	40137	44343	42024	40150
	4.57E-08	42717	45535	45466	43697
	1.52E-08	44021	44067	47019	43819
	5.08E-09	43513	43877	48684	44655
	DMSO	47697	44496	47769	47400
活性%					
	浓度 (M)	ENT-02 (MSI-1436)	ENT-03 (化合 物III)	PTP1B抑制 剂	D7-1436
	1.00E-04	-0.16	-0.77	-1.88	-0.37
	3.33E-05	-1.02	-0.47	-1.03	-0.84
	1.11E-05	0.68	0.25	2.99	-0.74
	3.70E-06	38.12	2.94	42.61	19.55
	1.23E-06	86.43	40.94	79.19	80.63
	4.12E-07	92.69	92.93	94.55	96.86
	1.37E-07	93.11	102.86	97.48	93.14
	4.57E-08	99.09	105.63	105.47	101.36
	1.52E-08	102.11	102.22	109.07	101.65
	5.08E-09	100.94	101.78	112.93	103.59
	DMSO	110.64	103.22	110.81	109.95
	希尔斜率 (HILLSLOPE)	-2.19	-2.48	-1.47	-2.50
	IC_{50} (M)	2.89E-06	1.03E-06	2.47E-06	2.09E-06

[0714]

[0715] 还研究了ENT-03和ENT-06对许多其他磷酸酶的活性。两种化合物都在体外针对人类磷酸酶进行测定(表2B和表2C)。这两种化合物在其相应的 IC_{50} 方面展现出非常相似的磷酸酶“指纹”。这些数据有力地支持了ENT-03和曲度奎明是系统发育化学直系同源物的假设。发现所述化合物对PP1A、PP1B、PP2A α 、PTPN6和PTPN2无活性。

表2B: 氨基固醇对各种磷酸酶的活性

化合物IC50 (M)						
化合物ID	PP1B	PP1A	PP2A α /PP2R1A 复合物	PTPN6/ SHP1	PTPRC/ CD45	DUSP22/ MKPX
ENT-02 (MSI-1436)	>1.0E-04	>1.0E-04	5.72E-05	>1.0E-04	4.94E-07	6.39E-07
ENT-03 (化合物III)	>1.0E-04	>1.0E-04	>1.0E-04	>1.0E-04	5.71E-07	1.38E-06
PTP1B抑制剂	3.46E-05	2.15E-05	ND	5.75E-06	5.70E-05	1.45E-05
斑蝥酸 (Cantharidic Acid)	ND	ND	1.70E-08	ND	ND	ND
SHP099	ND	ND	ND	ND	ND	ND

[0716]

表2C: 氨基固醇对各种磷酸酶的活性

化合物IC50 (M)							
化合物ID	PTPN2/ TC-PTP	PTPN7/ LC-PTP	PTPN12/ PTP- PEST	PTPN1/ PTP1B- CD	PTPN11/ SHP2	PTPN11/ SHP2- FL	PTPN11/ SHP2-FL (E76K)
ENT-02 (MSI-1436)	>1.0E-04	1.65E-06	1.72E-06	9.44E-07	3.75E-07	7.52E-07	2.92E-07
ENT-03 (化合物III)	>1.0E-04	6.34E-07	8.61E-07	1.17E-07	5.00E-06	1.42E-06	2.94E-07
PTP1B 抑制剂	1.34E-05	1.28E-05	2.99E-05	4.25E-06	1.82E-06	ND	ND
斑蝥酸	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SHP099	ND	ND	ND	ND	ND	7.11E-08	2.64E-06

[0717] 这些数据证明, ENT-03 (化合物III) 是有效力的PTP1B抑制剂, 并且具有已知与PTP1B抑制剂相关的潜在治疗效用。

[0718] 实施例2: ENT-03 (化合物III) 在小鼠中作为体重减轻剂

[0719] 此实施例证明ENT-03 (化合物III) 在小鼠中促进体重减轻。

[0720] ENT-02 (MSI-1436) 已知通过涉及某些控制食欲的脑回路的机制诱导体重减轻。曲度奎明当全身施用于小鼠时引起体重减轻以及转换为脂质氧化。药理学靶点似乎位于下丘脑中, 基于放射性曲度奎明的定位和脑室内施用后的cFos激活, 包括弓状核、正中隆起和室旁核 (Ahima等人, 2002)。

[0721] 对ENT-02与体重减轻的结构活性关系的研究证明了这种药理作用所需的高度结构特异性 (Zaslloff等人, 2001)。例如, 改变C-3处精胺、C-7处羟基或C-21处甲基的手性会消除体重减轻。如果精胺被亚精胺替代或如果精胺的末端氨基被甲基化, 则失去活性。相比之下, C-24处硫酸的两种立体异构体具有相等的活性, 证明了阴离子部分周围的空间限制松散, 与ENT-03所观察到的活性一致。

[0722] 为了确定ENT-03 (化合物III) 是否展现出类似的活性,对先前随意喂食的雄性瑞士韦伯斯特(Webster)小鼠(约50克,每组N=3)用5剂ENT-02 (MSI-1436) 或ENT-03 (化合物III) 每隔一天以10mg/kg,例如,在第0、2、4、6、8和10天,进行腹膜内处理。随意提供食物。

[0723] 如图1A、图1B和图2中可见,施用ENT-03导致体重减轻,其动力学类似于施用ENT-02后所见。两种化合物的施用导致体重降低,在约第16天达到最低点,随后到约第45天逐渐恢复到起始体重。虽然对于两种化合物最初的重量降低相似,但到约10天,效果出现分歧,ENT-02引起更严重的下降。到27天,两组处理小鼠都失去约10%的其起始体重。

[0724] 这些数据证明,ENT-03 (化合物III) 在体重方面展现出与ENT-02 (MSI-1436) 相似的药理学反应,并且表明ENT-03 (化合物III) 可用于所有已知与ENT-02 (MSI-1436) 以及其他氨基固醇相关的治疗性应用。

[0725] 在第二实验中,按照类似的给药方案向约25克的生长的雄性小鼠施用任一化合物。如先前实验中那样,两种化合物均影响体重增加。参见图2。然而,在生长小鼠的情况下,ENT-02具有更明显的作用,抑制了生长并且诱导了身体脂肪的消耗。虽然用ENT-03处理的动物继续正常生长,但它们“消瘦”,这表明ENT-03重新建立了新的最佳体重“设定点”。

[0726] 在第三实验中,如图1C所见,在6周内每周一次向C57b1/6雄性小鼠腹膜内施用ENT-03导致剂量依赖性体重减轻。除了体重减轻外,处理动物临床上表现正常。

[0727] 最后,在第四实验中,如图14所见,在2周内每周一次向C57b1/6雄性小鼠腹膜内施用ENT-03 (3mg/kg、5mg/kg、10mg/kg或媒介物) 引起剂量依赖性体重减轻。除了体重减轻外,处理动物临床上表现正常。

[0728] 这些研究证明,ENT-03 (化合物III) 在小鼠中展现出与ENT-02相似的有效力的药理活性。

[0729] 实施例3:肠道中RNA转录组的复壮

[0730] 本实施例的目的是评价口服施用ENT-02和ENT-03 (化合物III) 对年轻与年老肠道组织的影响。

[0731] 衰老涉及肠道中基因表达的缺失。示出了年轻小鼠(20周,图3A) 与年老小鼠(78周,图3B) 的胃中粘膜组织的图比较显示,较年老试样中粘膜层的厚度减少。粘膜的这种减少与年老小鼠(78周) 与年轻小鼠(20周) 的胃中RNA转录组的减少相关,参见下表3。本实施例评价了口服给药ENT-01和ENT-02对年老小鼠的影响。

[0732] 用于确定口服施用角鲨胺和ENT-02对年轻和年老小鼠的胃肠道的影响的给药方案如下。从Jackson labs获得20周龄和78周龄的雄性C57B1/6小鼠。动物暴露于12h的明暗循环,并且提供Teklad标准小鼠饮食和自由饮水。将动物分配到表3中所示的处理组。

组	表3				
	剂量水平* (mg/kg/天)	浓度 (mg/ml)	剂量体积 (ml/kg)	第1天的年龄 (周)	动物数量
	雄性				
1.对照 (媒介物)	0	0	10.0	20	5
2.ENT-01 (角鲨胺)	40	4	10.0	20	5
3.ENT-02 (MSI-1436)	40	4	10.0	20	5
4.对照 (媒介物)	0	0	10.0	78	5
5.ENT-01 (角鲨胺)	40	4	10.0	78	5
6.ENT-02 (MSI-1436)	40	4	10.0	78	5

[0734] 每天一次在早晨通过口服强饲对动物给药,持续总共14天。动物在给药前3-4小时和给药后至少1小时禁食,禁食不超过6小时。将测试物品溶解在水中的0.5%羟丙基纤维素中。在第15天,通过CO₂窒息对动物实施安乐死、尸检并且准备组织用于组织学和RNAseq分析。

[0735] 将动物的胃肠道切段成胃、十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结肠和直肠。然后将组织送去进行组织学检查,并且通过RNAseq分析转录组。表4示出了年轻和年老小鼠胃中的相应mRNA量。

[0736] 如下表5A所示,表中所有基因的mRNA水平在用角鲨胺 (ENT-01) 处理后显示出显著增加。同样值得注意的是,虽然ENT-03刺激诱导较年老小鼠胃肠道的这些片段的转录组,但它在较年轻动物中的作用最小,对应于与衰老不相关的某些基因的轻微抑制或诱导。也许,ENT-03正在补充较年老小鼠中的缺陷,所述缺陷不存在于较年轻动物中。这表明角鲨胺 (ENT-01) 以及引申开来结构相关的氨基固醇诸如ENT-03 (化合物III) 及其衍生物在肠道中具有复壮作用。

表4：年轻和年老小鼠胃中的相应mRNA量

上皮屏障功能			
基因	年轻	年老	P值
半胱天冬酶_14	9.228	0.835	8.45E-10
XVII型胶原_α_1	9.835	2.804	2.07E-04
角膜锁链蛋白	12.75	4.295	6.74E-04
角化蛋白	23.74	6.442	3.01E-05
胱抑素_E/M	9.41	1.551	5.68E-07
皮肤因子	117.5	23.86	1.34E-07
桥粒胶蛋白_1	16.09	4.175	2.6E-05
桥粒芯蛋白_1_β	9.592	2.625	1.41E-04
丝聚蛋白	21.67	2.207	3.81E-11
间隙连接蛋白_β_4	1.882	0.239	2.52E-04
间隙连接蛋白_β_6	2.125	0.298	2.11E-04
H19_印迹母系表达转录物	39.95	1.909	1.59E-17
角蛋白	13.6	3.519	3.23E-05
激肽释放酶相关肽酶_7_(糜蛋白酶层_	10.14	0.656	1.33E-11
角素_1	332.6	69.79	1.72E-07
角素_10	337.7	45.93	8.03E-11
角化细胞分化相关蛋白	184.6	37.58	1.21E-07
角化细胞表达的富脯氨酸	12.93	2.267	3.87E-07
晚期角质化包膜_1A1	17.85	2.625	1.42E-08
晚期角质化包膜_1A2	23.43	4.056	6.01E-08
晚期角质化包膜_1B	9.774	1.491	2.05E-07
晚期角质化包膜_1C	10.93	1.73	1.90E-07
晚期角质化包膜_1E	5.767	1.074	1.23E-05
晚期角质化包膜_1F	8.742	1.551	1.67E-06
晚期角质化包膜_1G	8.378	1.611	4.59E-06
晚期角质化包膜_1H	5.282	1.312	2.14E-04
晚期角质化包膜_1I	8.682	1.074	3.37E-08
晚期角质化包膜_1J	5.16	0.895	1.01E-05

[0737]

表4：年轻和年老小鼠胃中的相应mRNA量

上皮屏障功能			
基因	年轻	年老	P值
晚期角质化包膜_1L	4.553	0.596	1.82E-06
晚期角质化包膜_1M	16.76	1.133	5.22E-13
晚期角质化包膜_3C	5.525	1.491	3.92E-04
晚期角质化包膜_3E	5.889	1.491	3.92E-04
晚期角质化包膜_3F	10.81	3.281	2.66E-04
可溶性半乳糖结合凝集素_7	139.3	25.77	2.70E-08
兜甲蛋白	275.3	45.75	3.37E-09
角化包膜前体蛋白	11.11	3.221	1.56E-04
肌肉组织			
肌红蛋白	47.9	2.923	4.10E-16
慢型肌球蛋白结合蛋白C	15.06	1.133	4.01E-12
肌球蛋白重多肽_1_骨骼肌	73.46	2.982	3.47E-20
肌球蛋白重多肽_8_骨骼肌	90.46	3.34	2.67E-21
肌球蛋白轻链可磷酸化_快_ske	30.23	4.235	1.42E-09
肌球蛋白轻多肽_3	26.77	1.312	2.72E-16
肌原调节蛋白_1	6.617	0.418	3.87E-10
肌原调节蛋白_2	4.31	0.239	7.95E-09
肌联蛋白-帽	17.36	0.418	3.66E-18

[0738]

表5A：年老小鼠与用角鲨胺（ENT-01）处理的年老小鼠的相应mRNA量

上皮屏障功能			
基因	年老	年老+Ent-01	P值
半胱天冬酶_14	0.795	6.077	2.25E-07
XVII型胶原_α_1	2.668	9.509	1.43E-04
角膜锁链蛋白	4.087	7.933	4.10E-02
角化蛋白	6.131	22.17	4.07E-05
胱抑素_E/M	1.476	8.721	6.89E-07
皮肤因子	22.71	88.45	5.65E-06
桥粒胶蛋白_1	3.974	8.102	2.83E-02
桥粒芯蛋白_1_β	2.498	7.089	2.14E-03
丝聚蛋白	2.1	16.32	2.05E-09
间隙连接蛋白_β_4	0.227	1.294	3.15E-03
间隙连接蛋白_β_6	0.284	1.575	1.59E-03
H19_印迹母系表达转录物	1.817	13.73	5.79E-09
角蛋白	3.349	11.82	1.09E-04
激肽释放酶相关肽酶_7_(糜蛋白酶层_	0.624	5.908	3.74E-08
角素_1	66.42	348.9	3.28E-08
角素_10	43.71	310.3	1.56E-10
角化细胞分化相关蛋白	35.77	181.2	7.27E-08
角化细胞表达的富脯氨酸	2.157	7.99	1.36E-04
晚期角质化包膜_1A1	2.498	10.97	1.03E-05

[0739]

表5A: 年老小鼠与用角鲨胺 (ENT-01) 处理的年老小鼠的相应mRNA量			
晚期角质化包膜_1A2	3.86	17.78	2.08E-06
晚期角质化包膜_1B	1.419	8.102	1.33E-06
晚期角质化包膜_1C	1.646	7.202	3.26E-05
晚期角质化包膜_1E	1.022	4.501	1.17E-04
晚期角质化包膜_1F	1.476	6.47	3.92E-05
晚期角质化包膜_1G	1.533	4.557	2.78E-03
晚期角质化包膜_1H	1.249	4.164	1.38E-03
晚期角质化包膜_1I	1.022	7.708	8.29E-08
晚期角质化包膜_1J	0.852	3.376	6.62E-04
晚期角质化包膜_1L	0.568	2.644	5.13E-04
晚期角质化包膜_1M	1.079	8.158	6.04E-08
晚期角质化包膜_3C	1.419	3.263	2.79E-02
晚期角质化包膜_3E	1.419	4.332	2.50E-03
晚期角质化包膜_3F	3.122	9.115	1.15E-03
可溶性半乳糖结合凝集素_7	24.52	142.5	7.67E-09
兜甲蛋白	43.54	209.5	1.63E-07
角化包膜前体蛋白	3.066	9.79	4.25E-04
肌肉组织			
肌红蛋白	2.782	17.72	2.49E-08
慢型肌球蛋白结合蛋白C	1.079	3.173	1.42E-03
肌球蛋白重多肽_1_骨骼肌	2.838	11.03	4.18E-05
肌球蛋白重多肽_8_骨骼肌	3.179	14.97	2.20E-06
肌球蛋白轻链可磷酸化_快_ske	4.031	15.92	1.79E-05
肌球蛋白轻多肽_3	1.249	10.58	4.49E-09
肌原调节蛋白_1	0.397	2.476	1.19E-04
肌原调节蛋白_2	0.227	1.519	8.72E-04
肌联蛋白-帽	0.397	3.376	3.15E-06

[0740] 申请人还研究了胃肠道各段内的转录组变化。对年老小鼠口服施用后,胃、空肠和回肠中随着衰老而减少的基因转录物的丰度增加,在一些情况下达到在较年轻个体中观察到的水平,如图6A-6C所示。

[0741] 年轻(20周)和年老(80周)C57b1/6雄性小鼠每天通过口服强饲施用ENT-03(40mg/kg)或媒介物(水),持续2周。在此时间段内,临床观察结果不明显,与胃肠道的大体检查和显微镜检查一样。通过RNAseq技术分析胃、空肠和回肠的转录组。对来自未处理动物的转录物的比较分析鉴定了许多转录物,所述转录物在来自年老个体和年轻个体的相应组织之间的丰度不同。观察到86个胃转录物的差异表达($p(\text{adj}) < 0.05$):随着衰老,70个降低并且16个增加;在空肠的情况下,随着衰老,超过400个转录物降低并且200个增加;并且对于回肠,随着衰老,700个转录物降低,而400个增加。因此,在小鼠胃肠道的这三个不同区域内,衰老与转录组的变化相关。

[0742] 当检查口服施用ENT-03对组织的转录组的影响时,在每种情况下都观察到,与年老动物的转录反应相比,年轻动物的转录反应减弱(图6A-6C)。例如,在经处理的年轻动物的胃中,13个基因差异表达($p(\text{adj}) < 0.05$),而年老组中是63个基因。类似地,对于空肠,在年轻组中42个基因差异表达,并且在处理的年老组中是382个基因。在回肠中,用ENT-03处

理的年轻动物中80个基因差异表达,并且年老动物中1162个基因差异表达。

[0743] 接下来,将随着衰老而差异表达的基因 (DEG) 集合与在处理的年老动物或处理的年轻动物中差异表达的基因集合进行比较。对比之间重叠DEG的分析揭示了,例如,在胃中,在衰老中下调的37个基因(年老对年轻)与在年老小鼠中用ENT-03处理上调的基因显著重叠 ($P < 0.0001$,超几何检验)。相比之下,胃衰老基因与年轻ENT-03处理的胃中的基因之间仅有的显著重叠是12个基因,所述基因在衰老方向上进一步下调。

[0744] ENT-03似乎在胃内最显著补充的“衰老”基因列出在表5B中。值得注意地,在胃中,“恢复”的衰老基因包括参与组织更新的基因(成纤维细胞生长因子2;锌指蛋白383;叉头盒C2);参与神经元分化的基因(神经细胞粘附分子2);参与免疫的基因(toll样受体9和12;白细胞介素2受体 β 链)、参与神经递质合成和摄取的基因(胆碱和血清素转运蛋白)以及参与线粒体呼吸的基因(细胞色素c氧化酶亚基6B2)。

表5B: 由ENT-03补充的衰老基因, (30个最显著) 胃

	锌指蛋白382
	核受体2C2相关蛋白
	CD300分子样家族成员d
	成纤维细胞生长因子2
	跨膜蛋白71
	锌指蛋白449
	鸟嘌呤核苷酸结合蛋白 (G蛋白), $\gamma 8$
	突触素样2
	白细胞介素2受体, β 链
	核组装因子1核糖核蛋白
	预测基因20604
	toll样受体12
[0745]	预测基因14322
	叉头盒C2
	溶质载体家族5 (胆碱转运蛋白), 成员7
	Ras相关和DIL结构域
	细胞色素c氧化酶亚基6B2
	神经细胞粘附分子2
	溶质载体家族6 (神经递质转运蛋白, 5-羟色胺), 成员4
	ELAV样RNA结合蛋白3
	朊蛋白影 (shadow of prion protein)
	分拣蛋白相关含VPS10结构域的受体1 (sortilin-related VPS10 domain containing receptor 1)
	含FXVD结构域的离子转运调节因子2
	toll样受体9
	闭合蛋白 (claudin) 34C1

[0746] 首先,鉴定了在年轻之间与年老小鼠之间表达显著变化的基因 (FDR调节的 p -值 < 0.05) (图6A)。随着衰老,胃中75个基因的表达显著降低,并且11个基因的表达显著增加(图6A)。同时,在年轻小鼠和年老小鼠的空肠(图10A-10D)或回肠(图10D-10F)的基因表达谱之

间观察到的差异较小。在空肠中,随着衰老,5个基因的表达下降,并且2个基因的表达增加。而在回肠中,19个基因的表达降低并且9个基因的表达增加。这些结果与公认的衰老啮齿动物胃的再生能力降低(Fukunaga等人,1998)和小肠随着衰老的恢复能力(Eswaran等人,2006)一致。

[0747] 在向年轻小鼠(20周)口服施用ENT-03后,13个胃基因有反应,并且所有基因都被ENT-03处理转录抑制(图6B)。对于年轻小鼠和年老小鼠两者,响应于在空肠和回肠中ENT-03的暴露,不超过2个基因的表达显著变化。

[0748] 相比之下,在用ENT-03处理的较年老动物(78周)中观察到对胃中对基因表达的更稳健作用。63个基因被转录诱导(FDR调节的 $p < 0.05$) (图6C)。有趣的是,在对年老小鼠进行ENT-03处理后表达增加的36个基因与随着衰老表达降低的基因相同。这些基因包括参与组织更新的基因(成纤维细胞生长因子2(Fgf2); 锌指蛋白382(Zfp382)和叉头盒C2(Foxc2)); 参与神经元分化的基因(神经细胞粘附分子2(Ncam2)); 参与免疫的基因(tol1样受体9和12(Tlr9、Tlr12)、白细胞介素2受体 β 链(I12rb)和CD300(Cd3001d)); 参与神经递质合成和摄取的基因(胆碱和血清素转运蛋白(Slc5a7、Slc6a4))以及参与线粒体呼吸的基因(细胞色素c氧化酶亚基6B2(Cox6b2))。

[0749] 使用R编程语言进行RNA测序数据的统计分析。在各组织的所有样品中,每百万读数少于一个读数计数的转录物被去除。然后使用M值归一化的切尾均值对样品的原始计数数据进行归一化,并且用voom进行转换(Law等人,2014),从而得到具有相关精度权重的 $\log_2$ 转换每百万计数。归一化数据为统计假设检验提供输入,其中鉴定了样品组之间显著不同的基因。使用线性建模进行统计比较,如在Bioconductor package limma中实施的那样(Ritchie等人,2015)。使用Benjamini-Hochberg程序调节多个检验的显著性值(p-值)(Benjamini等人,1995)。对于每个比较(例如,组A与组B),正 $\log_2$ 转换倍数变化指示组A相对于组B的上调。

[0750] 为了研究对比之间的重叠,计数所进行比较的所有成对组合之间重叠的差异表达基因的数量(使用调节的p-值 < 0.05 定义)。对于每个比较,雅卡尔指数(定义为交集比并集)测量所考虑的两个对比之间的相似性。在假设对比和基因是独立的情况下,使用考虑宇宙大小的超几何检验计算p-值。

[0751] 图11示出了一组热图,研究了对比之间差异表达基因的重叠。

[0752] 这些数据支持这样的假设,即向年老小鼠口服施用ENT-03可以逆转与胃肠道内衰老相关的基因表达的一些变化。

[0753] 实施例4:通过静脉内和口服施用的ENT-03(化合物III)的药代动力学研究

[0754] 本实施例的目的是通过静脉内和口服施用在雄性SD大鼠中确定ENT-03(化合物III)的药代动力学特征。

[0755] 研究组示出在下表6中。

[0756]

表6: 研究组						
组	处理	剂量水平* (mg/kg)	剂量体积 (mL/kg)	浓 度 (mg/mL)	施用途径	动物数 量
1	ENT-03	5	5	1	IV	3个雄性
2	(化合物 III)	5	10	0.5	PO	3个雄性

[0757] *:1.177的盐因子用于化合物III的配制品制备。

[0758] 动物喂养控制:在给药前将动物禁食过夜,并且在施用后4小时喂食,自由饮水。

[0759] 给药过程中的剂量配制品处理:将剂量配制品在室温下保持搅拌并且在2小时内使用。

[0760]

表7: PK时间点	
组	PK时间点
1	血浆: 给药后5 min、15 min、30 min, 1、2、4、8、24 h
2	血浆: 给药后15 min、30 min, 1、2、4、8、24 h

表7: PK时间点	
组	PK时间点

表8: 血液收集的可接受时间范围	
时间点	可接受时间范围
5-15 min	在± 0.25分钟内
0.5-2 h	在± 2分钟内
4-24 h	在± 10分钟内

[0761]

表9: 血液样品收集和处理	
收集部位:	颈静脉
收集体积:	约0.2 mL/时间点
抗凝剂:	K2EDTA抗凝剂管
血浆样品处理和储存:	1) 在每个时间点收集大约0.2 mL血液。将每个样品的血液转移到含有K2EDTA抗凝剂的塑料微量离心管中。 2) 将血液样品在4°C下以4,000 g离心5分钟以获得血浆。 3) 在分析之前将样品储存在-75°C±15°C的冰箱中。

表10: 在寿命期内的评价	
程序	频率
笼旁观察:	每天两次
详细的临床观察:	第1天给药之前一次
体重:	每次给药之前一次

[0762] 注意:根据需要还进行计划外的临床观察(笼旁或详细)。

表11: 测试系统

物种/品系/性别:	大鼠/SD/雄性
来源:	Si Bei Fu Laboratory Animal Technology Co. Ltd
给药日年龄:	大约6-8周
给药日体重:	大约200-300 ga

表12: 化合物鉴定

化合物鉴定	MW	FW	盐因子
ENT-03 (化合物III)	618.98	728.36	1.177

[0763]

表13: 剂量配制品

配制频率:	给药当天新鲜制备
媒介物组合物:	IV&PO: 无菌水
储存条件:	给药的剂量配制品: 室温
制备程序:	称取测试物品并且在超声、涡旋下将其溶解到媒介物中以获得目标浓度的测试物品和媒介物组分。
给药部位	对于静脉内给药, 通过尾静脉向动物静脉内施用。 对于口服给药, 通过口服管饲向动物施用。

[0764] PK样品分析: 使用LC-MS/MS方法分析血浆和剂量样品中ENT-03 (化合物III) 的浓度。使用WinNonlin (Phoenix™, 6.1版) 或其他类似软件用于药代动力学计算。尽可能从血浆浓度与时间的关系的数据计算以下药代动力学参数。

[0765] 静脉内推注施用: $T_{1/2}$ 、 C_0 、 $AUC_{最后}$ 、 AUC_{inf} 、 MRT_{inf} 、 Cl 、 V_{ss} 、用于回归的点数。

[0766] 口服施用: F 、 $T_{1/2}$ 、 C_{max} 、 T_{max} 、 AUC_{inf} 、 $AUC_{最后}$ 、 MRT_{inf} 、用于回归的点数。

[0767] 使用描述性统计诸如平均值和标准偏差来描述药代动力学数据。测试后, 将所有残留的生物样品在冰箱 ($-75^{\circ}\text{C} \pm 15^{\circ}\text{C}$) 中保存6个月的时间段。结果列出在下表14中。

表14: ENT-03 (化合物III) 静脉内 (组1) 血浆PK参数的总结

PK参数	单位	大鼠1	大鼠2	大鼠3	平均值	SD	CV (%)
Cl_{obs}	mL/min/kg	0.0903	0.0885	0.0761	0.0850	0.0078	9.16
$T_{1/2}$	h	18.6	17.5	18.6	18.2	0.6	3.55
C_0	ng/mL	80402	102409	76200	86337	14076	16.3
$AUC_{最后}$	h*ng/mL	557542	608321	661154	609005	51810	8.51
AUC_{inf}	h*ng/mL	922477	941130	1095763	986457	95121	9.64
$AUC_{\%Extrap_obs}$	%	39.6	35.4	39.7	38.2	2.5	6.42
MRT_{inf_obs}	h	25.3	22.9	25.5	24.6	1.5	5.96
$AUC_{last/D}$	h*mg/mL	111508	121664	132231	121801	10362	8.51
V_{ss_obs}	L/kg	0.137	0.122	0.116	0.125	0.011	8.55

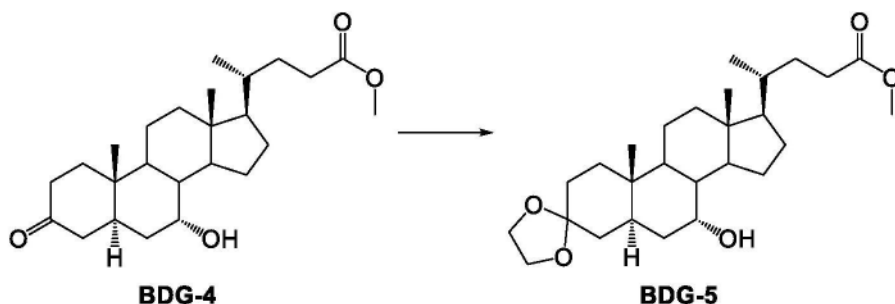
[0768]

[0769] 实施例5: 用于制备ENT-03的合成方法

[0770] 本实施例描述了制造本文所述化合物的合成方法。

[0771] BDG-5的制备

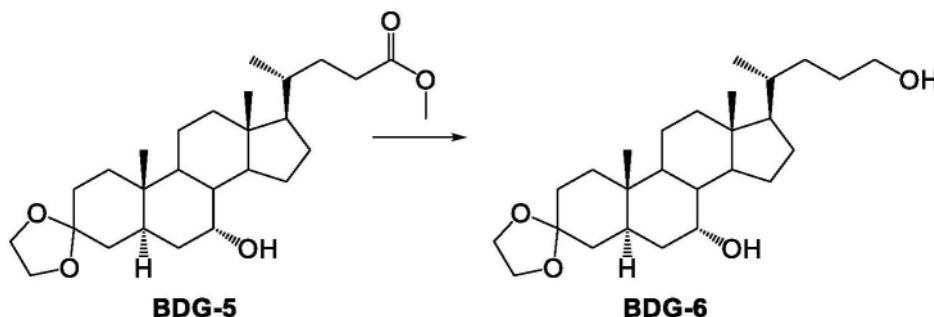
[0772]



[0773] 将BDG-4 (370.54g, 916.3mmol) 溶解在二氯甲烷 (DCM, 3,600mL) 中并且用乙二醇 (210mL, 3.77mol, 4.11当量) 以及对甲苯磺酸水合物 (36.27mmol, 0.04当量) 处理。将混合物回流直到反应完全 (在70:30己烷:丙酮中的TLC显示约3%-5%残留起始材料没有变化)。回流约4h后,将混合物冷却,用10%碳酸钾 (150mL) 处理,并且分离各层。将DCM用800mL 5%氯化钠溶液和10mL 10%碳酸氢钾溶液再萃取。将两个水层用500mL DCM反萃取。将合并的DCM萃取物经硫酸镁干燥,过滤,用DCM (2x 100mL) 洗涤,并且在真空下浓缩以提供固体,将固体在含有三乙胺 (2mL) 的乙腈 (4.8L) 中在55℃下浆化1h,然后在35℃下浆化1h并且最后在12℃下浆化2h。将产物过滤并且用含有三乙胺 (0.1mL) 的冷乙腈 (2x 100mL) 洗涤。将晶体在真空烘箱 (0.2mm) 中在50℃下干燥过夜以提供BDG-5 (351.0g, 85%); m.p. 为175.6-177.5° (以2°/分钟从大约140°); ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 3.93 (m, 4H), 3.82 (br s, 1H), 3.66 (s, 3H), 2.4-2.2 (m, 2H), 1.9-1.2 (m, 24H), 0.92 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$), 0.81 (s, 3H), 0.66 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 177, 109, 67.9, 64.2, 64.1, 55.8, 51.4, 50.5, 45.6, 42.6, 39.5, 39.4, 37.5, 36.3, 36.1, 35.7, 35.5, 35.4, 31.2, 31.0, 30.9, 28.0, 23.6, 20.9, 18.3, 11.8, 10.4。

[0774] BDG-6的制备

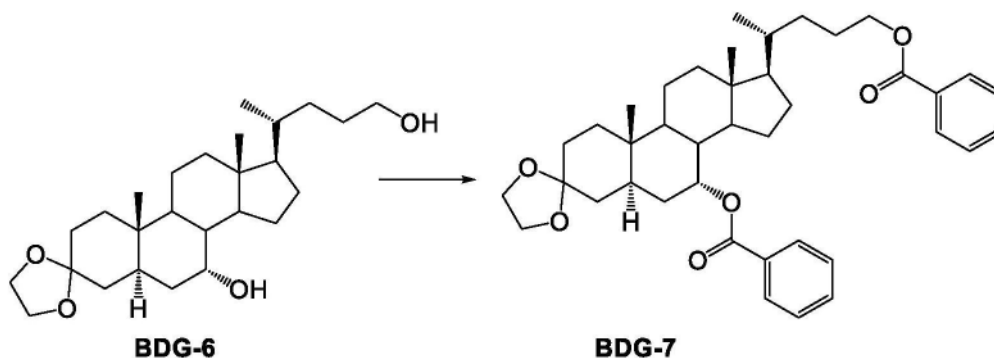
[0775]



[0776] 将氢化铝锂 (7.44g, 196.05mmol, 粒料) 在氮气下添加到无水THF (435mL) 中, 并且在20℃下搅拌过夜以破碎粒料。将悬浮液冷却至10℃, 并且经160min逐滴添加BDG-5溶液 (77.57g, 172.91mmol)。将混合物进一步搅拌1h, 并且通过添加2mL乙酸乙酯淬灭, 然后经10min逐滴添加20%氢氧化钾水溶液 (7.44mL)。随着在20℃下另外搅拌15h, 混合物变得非常稠, 然后变稀, 并且变得更呈颗粒状。将混合物通过Celite®545过滤以去除铝盐。将滤饼用THF (5x 90mL) 洗涤以确保在滤液中获得所有产物, 将其浓缩以提供粗制BDG-6 (82.01g, 理论=72.7g)。在较大型运行实践中, 将THF溶液浓缩至干, 并且用DCM重新浓缩以去除痕量水, 然后进行下一步; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 3.93 (m, 4H), 3.82 (br s, 1H), 3.61 (m, 2H), 1.97-1.84 (m, 4H), 1.7-1.0 (m, 22H), 0.93 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$), 0.81 (s, 3H), 0.66 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 109.3, 67.9, 64.15, 64.13, 63.5, 56.0, 50.6, 45.6, 42.6, 39.51, 39.48, 37.5, 36.3, 36.1, 35.7, 35.6, 35.5, 31.8, 31.2, 29.4, 28.2, 23.6, 20.9, 18.6, 11.8, 10.4。

[0777] BDG-7的制备

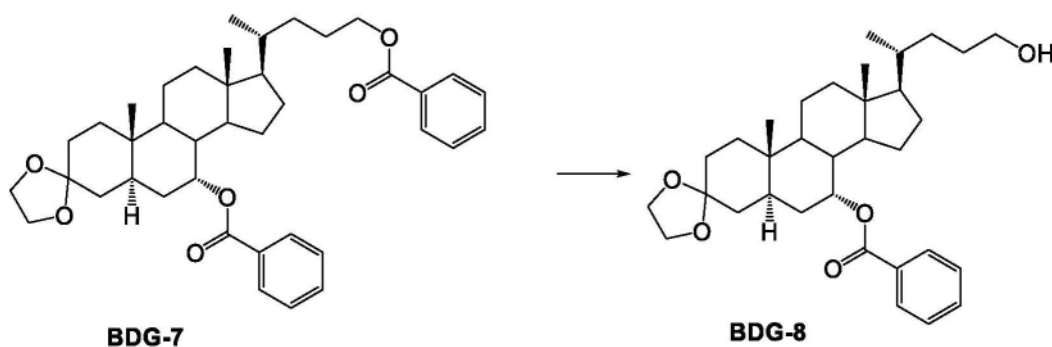
[0778]



[0779] 将BDG-6 (214.55g, 510.1mmol) 溶解于DCM (3.0L) 中并且然后用4-二甲氨基吡啶 (250.3g, 2.048mol) 和苯甲酰氯 (180mL, 217.98g, 1.551mol) 逐滴处理。在添加约40mL苯甲酰氯后, 注意到放热至31℃。对总共35min的添加的剩余部分, 温度保持至25℃。溶液在25℃下搅拌过夜, 用DCM (200mL) 稀释, 并且用10%碳酸氢钾水溶液 (2L) 处理, 产生少量二氧化碳。分离各层, 并且将水层用DCM (500mL) 再萃取。将总有机层经硫酸镁干燥并且浓缩以提供呈固体的BDG-7 (163.6g, 100%)。在较大型运行实践中, 将二苯甲酸盐溶液浓缩至合适的体积, 用于下一步。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ8.07 (d, 2H, J=8Hz), 8.00 (d, 2H, J=8Hz), 7.57 (t, 1H, J=8Hz), 7.53 (t, 1H, J=8Hz), 7.47 (t, 2H, J=8Hz), 7.41 (t, 2H, J=8Hz), 5.16 (br s, 1H), 4.25 (m, 2H), 3.87 (m, 4H), 2.02-1.85 (m, 2H), 1.8-1.1 (m, 22H), 0.95 (d, 3H, J=7Hz), 0.88 (s, 3H), 0.68 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ166.7, 166.0, 132.8, 131.1, 130.5, 129.7, 129.5, 128.4, 128.3, 109.0, 71.9, 65.5, 64.2, 64.1, 55.8, 50.7, 47.2, 42.8, 39.5, 38.6, 37.4, 37.2, 35.7, 35.5, 35.3, 33.3, 32.0, 31.2, 28.0, 25.2, 23.6, 21.1, 18.6, 11.8, 10.5。

[0780] BDG-8的制备

[0781]



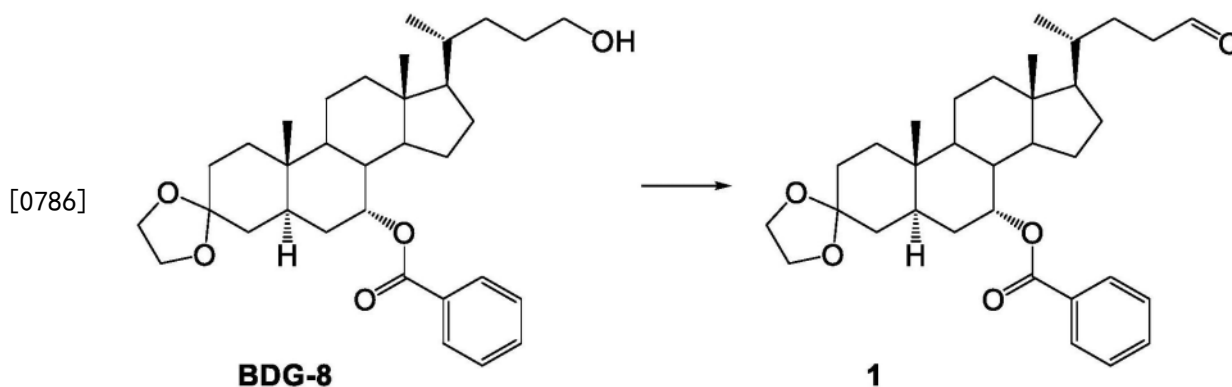
[0782] 将BDG-7 (22.13kg, 35.2mol) 在25℃下溶解于1:1四氢呋喃:甲醇溶液 (220L) 中并且用50%氢氧化钠 (3.7L, 70.4mol, 2.0当量) 在去离子水中 (11L) 中的溶液处理并且搅拌4h。将一等份 (0.1mL) 反应混合物分配在乙酸乙酯 (各0.5mL) 与1M碳酸氢钾溶液之间。通过TLC (70:30己烷:丙酮) 分析有机层, 并且判断反应完成。通过混合去离子水 (23L)、96%硫酸 (3.7L, 66.6摩尔) 和45%氢氧化钾 (5.7L, 66.7摩尔) 制备硫酸氢钾水溶液。将所得硫酸氢钾溶液通过喷雾球添加到反应混合物中, 至最终pH 8.39 (pH计)。将混合物真空蒸馏至约60L体积; 并且用乙酸乙酯 (100L) 和水 (100L) 处理。将2相混合物搅动10min, 并且经约20min分离各层。将水相用37L乙酸乙酯再萃取。将总乙酸乙酯层 (约160L) 在50℃下真空浓缩至80L体积。添加另外50L乙酸乙酯, 并且将溶液通过搅拌过夜经无水硫酸钠 (15kg) 干燥。将溶液经Celite®545过滤以去除硫酸钠。将滤饼和反应器用2x 37L乙酸乙酯冲洗。将干燥的乙酸乙

酯溶液从约225L体积真空浓缩至40L。添加乙腈(50L),并且将溶液重新蒸馏以去除乙酸乙酯。添加第二批和第三批乙腈(50L和100L)并且蒸发。最后,添加100L乙腈,并且将此溶液用3x 104L己烷逆流萃取以去除大部分苯甲酸甲酯。将3个己烷提取物用第二104L乙腈再萃取。

[0783] 通过TLC检查己烷层的BDG-8中间体,并且不存在。将乙腈(约300L)真空浓缩至约50L体积。添加异丙醇(57L)并且浓缩至约50L;此操作再重复2次以去除所有乙腈。用异丙醇将体积调节至100L,并且将溶液缓慢冷却至0℃并且用结晶BDG-8接种以开始结晶。将混合物缓慢冷却至-20℃过夜。将晶体浆料在-20℃下通过夹套过滤器过滤并且用10L-20℃异丙醇冲洗。将滤饼在-20℃下通过真空干燥几小时,然后让过滤器缓慢温热至室温(约18℃),并且然后用温热氮气干燥,产生11.92kg BDG-8。对母液进行色谱分析,以分离出另外的产物。将硅胶柱(19kg)填充在亚甲基氯中。将产物滤液真空浓缩至干,并且将1/2添加到亚甲基氯中的柱中。用100L亚甲基氯(DCM)洗脱得到产物。将柱用20L 85:15亚甲基氯:乙酸乙酯冲洗,然后用20L 60:40亚甲基氯:乙酸乙酯冲洗,并且最后返回亚甲基氯(40L)。

[0784] 对第二1/2母液类似地进行色谱分析以得到总共5.32kg纯BDG-8(BDG-8的总收率:17.24kg,93.3%)。¹H NMR(500MHz,CDCl₃) δ8.07(d,2H,J=8Hz),7.57(t,1H,J=7Hz),7.48(t,2H,J=7Hz),5.15(br s,1H),3.88(m,4H),3.56(br s,2H),2.02-1.84(m,2H),1.75-0.98(m,24H),0.92(d,3H,J=6.5Hz),0.88(s,3H),0.67(s,3H)。¹³C NMR(CDCl₃) δ166.0,132.7,131.0,129.7,128.4,109.0,71.9,64.2,64.1,63.5,55.8,50.7,47.2,42.7,39.5,38.6,37.3,37.2,35.7,35.5,33.3,31.7,31.3,29.3,28.0,23.6,21.1,18.6,11.8,10.5。

[0785] 化合物1的制备

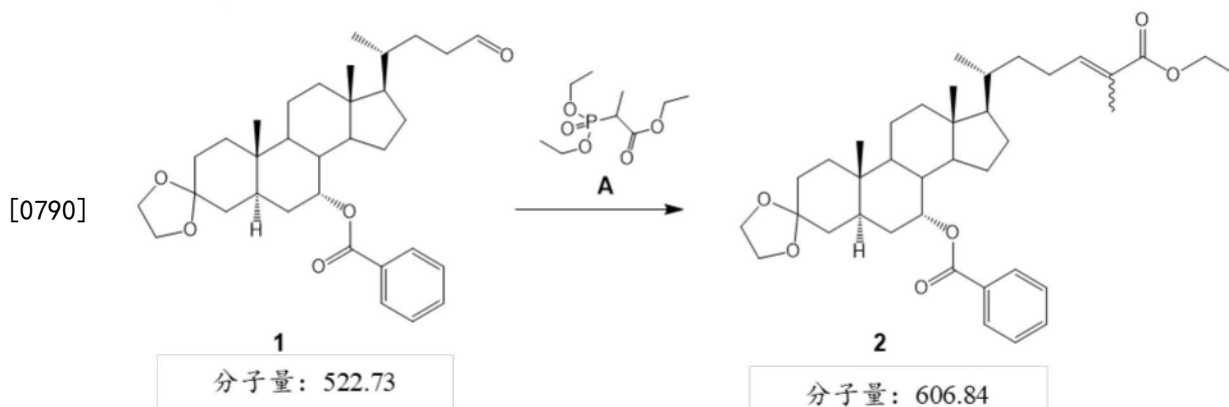


[0787] 向在氮气下的50L夹套反应器中装入溴化钾(250g,2.23mol)、碳酸氢钠(265g,3.15mol)和水(5L);用-5℃夹套搅动和冷却。向反应器中添加溶解在约13L二氯甲烷中的BDG-8(5.32kg,10.14mol),然后用8L二氯甲烷冲洗。当反应混合物达到<5℃的温度时,通过人孔添加TEMPO(50g,0.286摩尔)。然后通过泵向反应器中装入12.5%漂白剂(5.5kg),使混合物保持<5℃。对反应进行取样以估计所需的另外漂白剂量。在定期取样的同时继续以少量部分添加漂白剂,直到判断反应完成(剩余BDG-8<2%;添加总共6.2kg漂白剂)。在剧烈搅拌下添加硫代硫酸钠(200g)在水(1L)中的溶液,直到获得阴性淀粉/碘化物测试。在搅拌下将己烷(20L)添加到反应器中,并且使各层沉淀。排出下层水相,并且将有机层用饱和碳酸氢钾水溶液(5L)洗涤。将有机相通过烧结玻璃过滤漏斗中的硫酸钠/硅胶(各1kg)垫进行真空过滤,并且用己烷/二氯甲烷(1/1)、二氯甲烷以及最后在二氯甲烷中的5%甲基叔丁基醚(MTBE)冲洗。将合并的滤液在Buchi装置中在40℃下分两批蒸发。向每批中添加己烷,并且

再次蒸发,直到形成稠浆料。将固体过滤,用己烷洗涤,并且在真空烘箱中干燥以提供1 (4.58kg)。将滤液和洗涤液合并,并且浓缩以得到第二收获物,将其过滤并且用5% MTBE/己烷洗涤,然后用己烷洗涤,并且干燥以得到另一种565g产物,总产率5.145kg (97%产率)的1。

[0788] 材料含有约1.5%的残留起始材料,但没有可检测的(NMR)羧酸。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ9.72(s, 1H), 8.07(d, 2H, J=7Hz), 7.59(t, 1H, J=7Hz), 7.49(t, 2H, J=7Hz), 5.16(br s, 1H), 3.88(m, 4H), 2.45-2.27(m, 2H), 2.00-1.85(m, 2H), 1.78-1.17(m, 22H), 0.913(d, 3H, J=Hz), 0.88(s, 3H), 0.68(s, 3H)。¹³C NMR (CDCl₃) δ203, 166, 132.8, 131.0, 129.8, 128.4, 109, 72.0, 64.17, 64.11, 55.7, 50.7, 47.2, 42.8, 40.8, 39.5, 38.6, 37.3, 37.2, 35.7, 35.5, 35.4, 33.3, 31.2, 27.9, 27.8, 23.7, 21.1, 18.3, 11.7, 10.5。

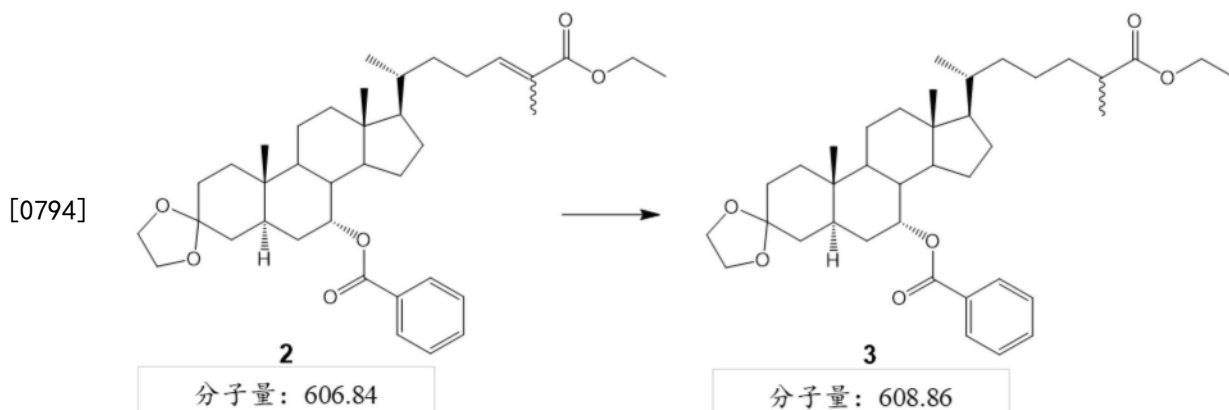
[0789] 化合物2的制备:



[0791] 将膦酸酯(A, 3.69g, 15mmol)添加到无水四氢呋喃(100mL)中,并且在盐冰浴中冷冻至约0℃。在氮气下在剧烈磁搅拌下添加叔丁醇钾(1.72g, 15mmol),并且允许反应搅拌30min。添加化合物1(8.0g, 15mmol)并且将其溶解在四氢呋喃(80mL)中,移除冰浴并且允许反应温热至室温过夜。总共大约16h后,通过分配在己烷/乙酸乙酯(50/50, 400mL)与水(400mL)之间将反应后处理。将有机层用另外的一部分水(100mL)洗涤,并且将有机层经Na₂SO₄干燥,过滤并且在真空中去除溶剂。将残留物重新溶解在最少量己烷/乙酸乙酯3/1中,并且通过约3x 9英寸硅胶塞。

[0792] 然后将洗脱液旋转蒸发以得到纯度令人满意的化合物2(8.3g, 12.4mmol, 83%),以不经进一步纯化用于下一步,¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ8.10-8.07(m, 2H), 7.60-7.57(m, 1H), 7.52-7.47(m, 2H), 6.7, 5.9(t, 1H), 5.17(m, 1H), 4.21-4.12(m, 2H), 3.92-3.88(m, 4H), 2.06(s, 3H), 2.2-1.0(m, 29H), 0.95(d, 3H, J=7Hz), 0.90(s, 3H), 0.69(s, 3H); MS (ES+) 485.45(M-C₇H₇O₂+H)。

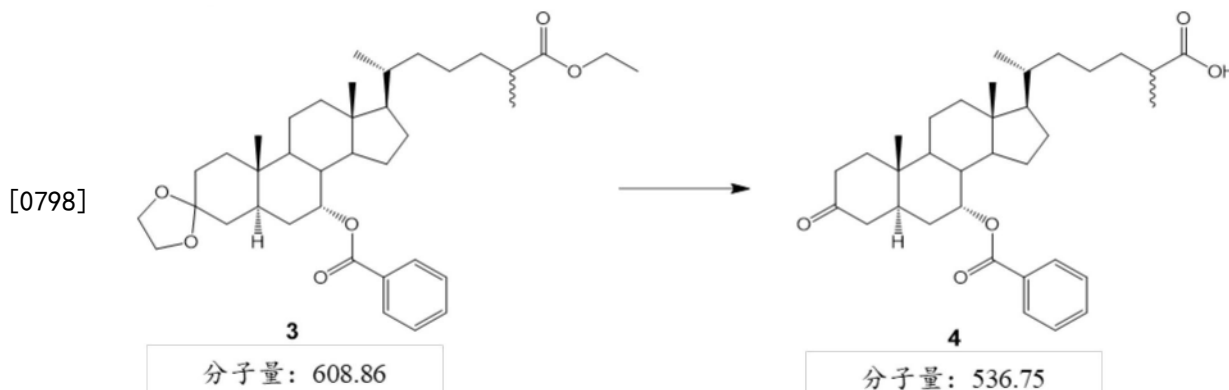
[0793] 化合物3的制备:



[0795] 将化合物2 (8.25g, 13.5mmol) 溶解于无水乙醇中, 并且在 N_2 下将10% 碳载钨 (400mg) 添加到帕尔 (Parr) 瓶中 (500mL)。将烧瓶冲洗并且用真空和 N_2 填充2x, 然后在50psi 下氢化24h。氢气的吸收减慢到接近停止, 但TLC显示可能痕量的起始材料。添加另外一部分催化剂 (400mg), 并且允许反应进行另外12h。

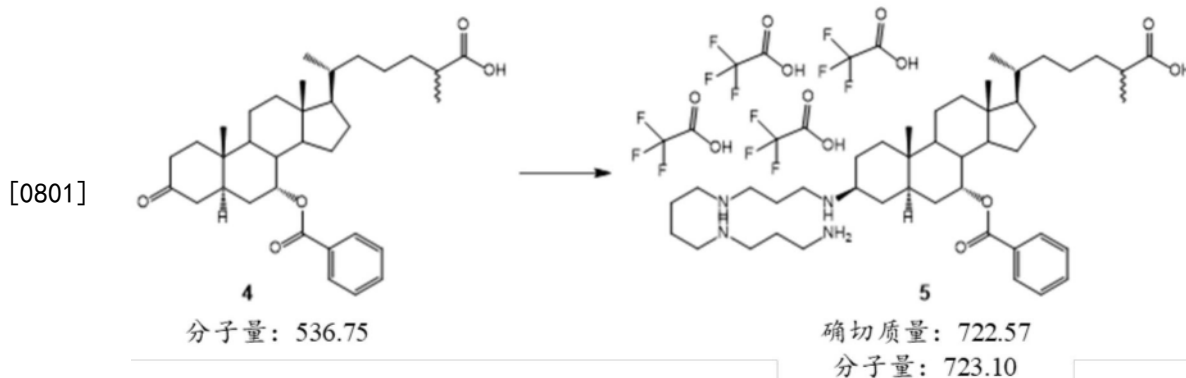
[0796] 过滤催化剂并且在真空中去除溶剂, 得到定量产率化合物3 (8.25g, 13.5mmol) 的饱和产物, ^1H NMR ($CDCl_3$, 300MHz) δ 8.09-8.06 (m, 2H), 7.58-7.56 (m, 1H), 7.55-7.45 (m, 2H), 5.16 (m, 1H), 4.12-4.05 (m, 2H), 3.90-3.85 (m, 4H), 2.39-2.36 (m, 1H), 2.0-1.0 (m, 35H), 1.11 (d, 3H, $J=7$ Hz), 0.88 (s, 3H), 0.67 (s, 3H); MS (ES+) 487.46 ($M-C_7H_7O_2+H$)。

[0797] 化合物4的制备:



[0799] 将化合物3 (8.2g, 13.5mmol) 溶解于3/1/1四氢呋喃/甲醇/1M KOH (约100mL) 中并且搅拌, 直到通过TLC显示乙酯水解完成。在这些条件下没有苯甲酸酯水解的证据。将溶液用1M盐酸溶液中和, 蒸发以去除有机溶剂, 用丙酮 (约100mL) 处理, 并且再次蒸发以确保去除任何甲醇。向烧瓶中添加丙酮 (约250mL), 并且添加3M HCl以降低pH至通过pH纸其表达在1-2范围内的点。在室温下进行缩酮水解过夜, 然后向烧瓶中添加水, 并且在真空中去除大部分丙酮。将材料分配在乙酸乙酯与水之间, 并且然后将有机层用盐水洗涤。将有机层在真空中干燥以得到纯度令人满意的化合物4 (6.36g, 11.9mmol, 87%), 不经进一步纯化而使用, ^1H NMR ($CDCl_3$, 300MHz) δ 8.05-8.02 (m, 2H), 7.60-7.57 (m, 1H), 7.51-7.45 (m, 2H), 5.21 (m, 1H), 2.4-1.0 (m, 32H), 1.15 (d, 3H, $J=7$ Hz), 1.09 (s, 3H), 0.91 (d, 3H, $J=7$ Hz), 0.67 (s, 3H); MS (ES+) 415.52 ($M-C_7H_7O_2+H$)。

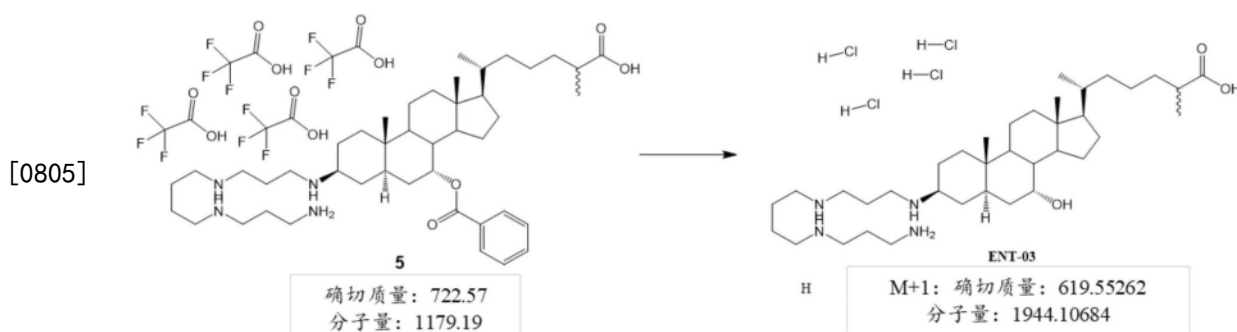
[0800] 化合物5的制备:



[0802] 将化合物4(3.5g,6.5mmol)溶解在甲醇(100mL)中,并且用在甲醇(约10mL)中的精胺(5g,24.8mmol)处理。将混合物在室温下搅拌2h,此后添加2-丙醇(100mL),并且在真空中去除大部分溶剂。将残留物重新溶解在甲醇(200mL)中并且搅拌过夜。添加异丙醇(200mL),并且将混合物蒸发成稠残留物。将残留物溶解在无水甲醇(200mL)中,并且在剧烈磁搅拌下,将溶液在 N_2 下的干冰丙酮浴中冷冻。当内部温度达到约 $-74^{\circ}C$ 时,添加 $NaBH_4$ (1.89g,50mmol)。用干冰丙酮浴将温度维持约4h,并且然后允许达到室温过夜。将反应混合物用在水中的10%三氟乙酸谨慎地酸化,直到pH纸显示pH 2-3范围。向混合物中添加水,并且将混合物转移到超大号烧瓶中(以允许混合物在旋转蒸发时起泡),并且在真空中去除大部分甲醇。将所得溶液直接应用于amberchrome,并且用在含0.5% TFA的水中的乙腈梯度洗脱(10%增量,500mL/增量),直到氨基固醇洗脱(约60%乙腈)。将梯度保持在此点,直到所有氨基固醇洗脱。

[0803] 对含有氨基固醇的级分进行分析,并且将相对干净的级分汇集并且冻干,以提供呈四TFA盐的化合物5(约4.5g,3.8mmol),其纯度足以不经进一步纯化而继续进行, ^1H NMR(CD_3OD ,300MHz) δ 8.05-8.02(m,2H),7.66-7.60(m,1H),7.54-7.49(m,2H),5.17(m,1H),3.36-3.04(m,13H),2.37(m,1H),2.1-1.0(m,39H),1.10(d,3H, $J=7Hz$),0.95(m,6H),0.74(s,3H);MS(ES $^{+}$)723.78(M $^{+}$ H)。

[0804] ENT-03(化合物III)的制备:

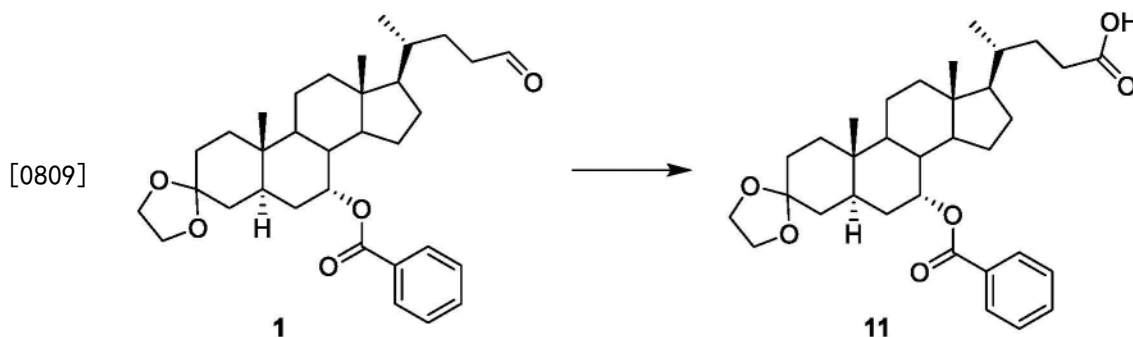


[0806] 将化合物5(3.0g,2.5mmol)添加到5%甲醇氢氧化钾(40mL)溶液中,并且将溶液在 $110^{\circ}C$ 下在 N_2 下搅拌2天,并且用TLC(6:3:1氯仿、甲醇、浓 NH_4OH)监测。2天后,将反应冷却至室温,在真空中蒸发,并且溶解在 H_2O (40mL)中。然后将此溶液用6M HCl进行酸化,并且在温和的加热和搅拌下迫使白色沉淀物回到溶液中。将溶液倒入大型Amberchrome柱上,并且用 H_2O (350mL),增量(500mL)10%、15%和25%乙腈/水洗涤。几乎只要一柱体积的25%溶液通过,就开始洗脱化合物。将收集的级分(40mL)通过LC/MS进行分析,以分离出3- α 副产物,所

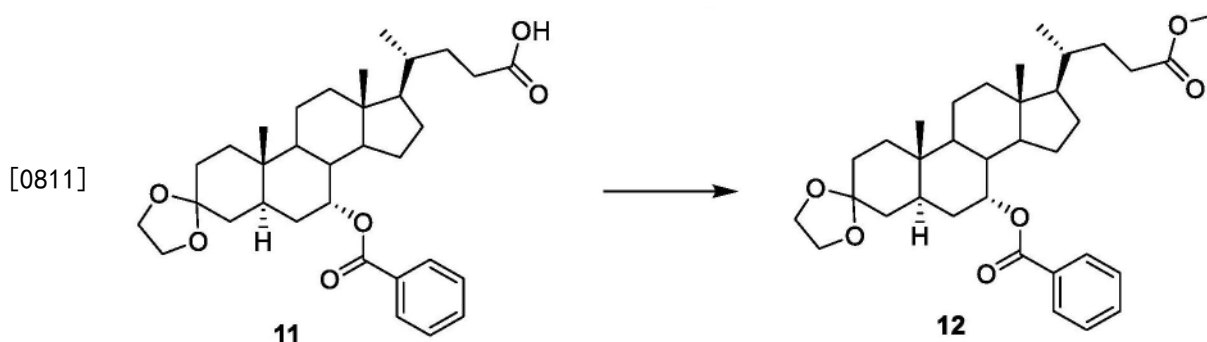
述副产物紧接着所希望的3- β 产物离开柱。尽管存在一些共洗脱,但显著部分的材料干净地出来。

[0807] 将这些级分合并,并且冻干过夜以得到(1.31g, 1.7mmol, 68%)呈四盐酸盐的ENT-03(化合物III), ^1H NMR (CD_3OD , 300MHz) δ 3.80(br s, 1H), 3.20-3.05(m, 13H), 2.37(m, 1H), 2.2-1.0(m, 36H), 1.13(d, 3H, $J=7\text{Hz}$), 0.93(d, 3H, $J=7\text{Hz}$), 0.87(s, 3H), 0.69(s, 3H)。通过HPLC(Waters Acquity ELSD)在以下条件下分析ENT-03的纯度:流动相A:在水中的0.1%甲酸;流动相B:在乙腈中的0.1%甲酸;柱:Kinetex XB-C18(2.1x 75mm, 1.7 μm);梯度:5%-95%/8min, 保持95% B/1min;0.6mL/min流速;ELSD检测器;保留时间:1.96min, 以及99.9%峰面积。通过质谱法(Waters Acquity TQD)对ENT-03进行分析;流动相A:在水中的0.1%甲酸;流动相B:0.1%甲酸乙腈;柱:Kinetex XB-C18(2.1x 75mm, 1.7 μm);梯度:5%-95%/8min, 保持95% B/1min;流速:0.6ml/min;MS(ES+, M+H):计算值619.55;实测值:619.31。

[0808] ENT-03-d3的制备:



[0810] 将化合物1(2.6g, 5mmol)溶解在四氢呋喃(THF, 50mL)中,并且经柠檬酸钠/柠檬酸缓冲液约0.5M(100mL)搅拌。将亚氯酸钠(900mg, 10mmol)溶解在去离子(DI)水(20mL)中,并且在冰浴冷却下添加到醛溶液中。观察到微黄色,并且TLC(SiO_2 , 在己烷中的15% EtAc)显示在20min内快速转化为酸。添加乙酸乙酯/己烷50/50(100mL), 去除水,并且将有机层用水、10%硫代硫酸盐溶液和盐水洗涤以得到希望产物11,其纯度令人满意而无需进一步纯化(2.7g, 5mmol, 100%)。

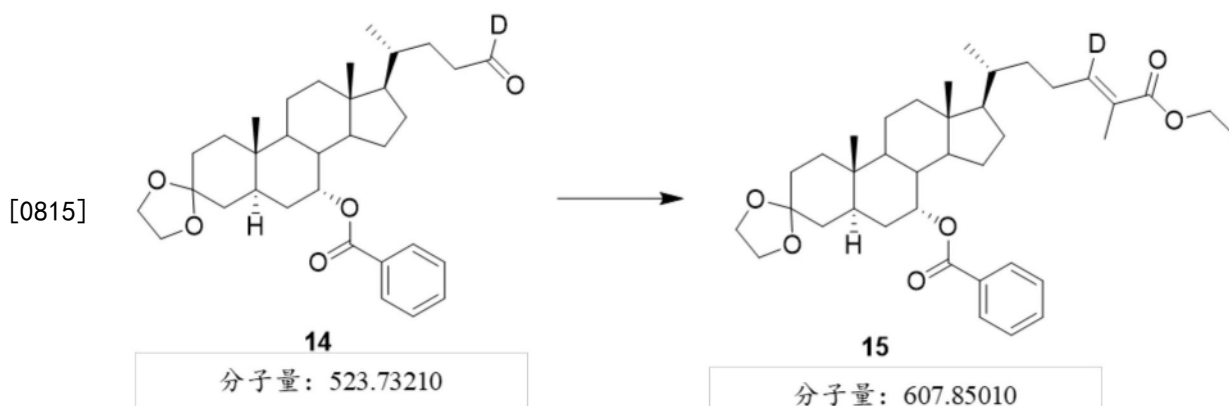


[0812] 将化合物11(2.6g, 4.9mmol)溶解在N-甲基吡咯烷酮(NMP, 25mL)中,并且添加无水 K_2CO_3 (约2g),并且将反应混合物在氮气下搅拌20min。一次性添加碘甲烷(2.8g, 20mmol),并且将反应在氮气下搅拌过夜。反应以接近定量的产率完全转化为化合物12(2.6g, 4.9mmol)。

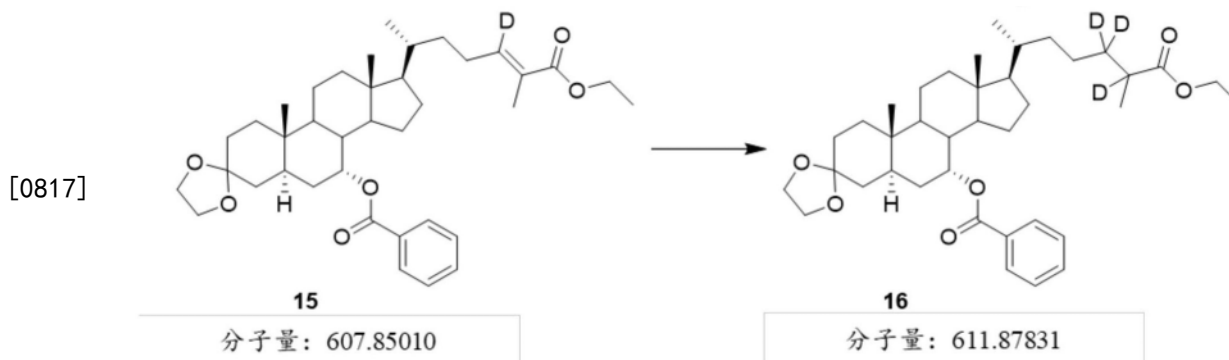
[0813] 将化合物12(1.3g, 2.3mmol)溶解在无水THF(30mL)中,并且添加无水氯化锂(约

1g)。将此溶液温热至40℃并且在氮气下搅拌。通过在室温下将 NaBD_4 溶解在EtOD中并且然后冷冻以防止经由烷氧基硼氢化物的分解,以500mg批次(2x 3mL)制备 NaBD_4 在EtOD中的溶液。在一时间(4h)内分部分添加 NaBD_4 溶液,并且然后温热至50℃,并且在氮气下搅拌过夜。将反应用水稀释并且用50/50己烷/乙酸乙酯萃取。将有机层合并,经 Na_2SO_4 干燥,并且在真空中浓缩。将残留物在硅胶上用在己烷中的25%乙酸乙酯进行色谱分析以得到所希望的呈白色固体的化合物13(1.1g, 2.0mmol, 87%)。

[0814] 将化合物13(1.0g, 1.9mmol)溶解在二氯甲烷(50mL)中,用活化的4Å筛(约1g)和4-甲基吗啉N-氧化物(500mg, 4.3mmol)处理,并且在室温下搅拌10min。向反应中添加四丙基过钨酸铵(约40mg),并且在室温下在氮气下继续搅拌过夜。通过TLC,这得到与未标记的化合物1匹配的单一产物。 ^1H NMR没有如预期的那样显示出醛质子。

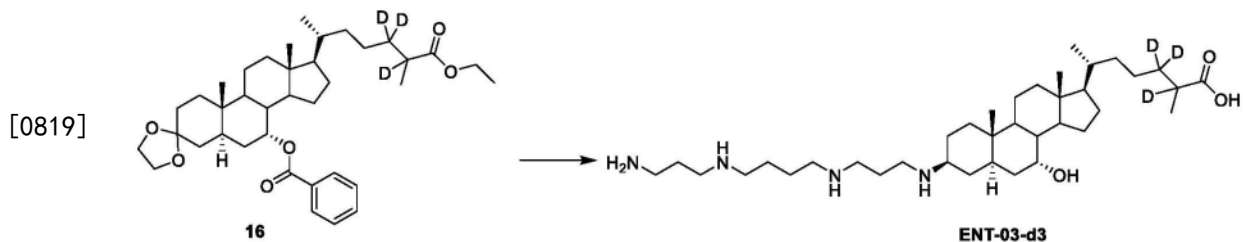


[0816] 将磷酸丙酸三乙酯(500mg 2.0mmol)溶解在EtOD中,并且添加催化乙醇钠,搅拌2h,并且将反应混合物汽提以将大部分酸性亚甲基质子交换为氘。将磷酸盐添加到无水THF(30mL)中,并且在0℃下用叔丁醇钾(225mg, 2.0mmol)在氮气下处理30min。将醛14(1.0g 1.9mmol)在0℃下一次性添加到THF(约5mL)中,并且冲洗。移除冰浴,并且允许反应混合物在室温下运行过夜。反应混合物相对较快地变得略微浑浊并且可能在1-2h内完成。将反应混合物分配在己烷/乙酸乙酯50/50(约100mL)与水之间,并且然后用盐水洗涤。将有机物经 Na_2SO_4 干燥,并且在真空中去除溶剂。相对干净的材料在硅胶上用己烷乙酸乙酯梯度进行色谱分析以得到化合物15(860mg, 1.4mmol, 74%)。



[0818] 将不饱和酯15(860mg, 1.4mmol)溶解在含有20% EtOD的乙酸乙酯中,并且在氮气下用催化剂(10%碳载钨,约100mg)处理。将反应吹扫并且用氦气回填,并且然后在500mL帕尔摇瓶中装填至40PSI。在室温下搅动过夜产生压力略微降低。另外8h后,没有观察到另外的吸收,因此将反应混合物吹扫并且用氮气回填三次,并且通过Celite®进行抽滤。将滤液在

真空中蒸发以得到化合物16 (850mg, 1.4mmol, 100%)。



[0820] 使用针对化合物3转化为ENT-03 (化合物III) 所述的相同程序, 将化合物16转化为ENT-03-d3。¹H NMR (D₂O, 400MHz) δ 3.90 (br s, 1H), 3.06-3.01 (m, 13H), 2.0-1.0 (m, 34H), 1.02 (s, 3H), 0.80 (br s, 3H), 0.73 (s, 3H), 和 0.57 (s, 3H)。通过HPLC (Agilent) 在以下条件下分析ENT-03-d3的纯度: 流动相A: 在水中的0.1% 甲酸; 流动相B: 在乙腈中的0.1% 甲酸; 柱: Kinetex XB-C18 (2.1x 75mm, 1.7μm); 梯度: 5% -95% /8min, 保持95% B; 0.6ml/min 流速; ELSD检测器; 保留时间: 4.93, 以及95.5% 峰面积。通过LC/MS (Waters Aquity HPLC-ZQ MS) 分析ENT-03-d3; 流动相A: 在水中的0.1% 甲酸; 流动相B: 乙腈; 柱: Waters XBridge C18 (4.6x 50mm, 3.5μm)。流速: 1.1mL/min。MS (ES+, M+H): 计算值: 622.57; 实测值: 622.60。

[0821] ENT-03-d4的制备:

[0822] 将化合物4 (2.14g, 4.0mmol) 溶解在MeOD (50mL) 中, 并且添加在D₂O中的10% K₂CO₃ (10mL)。将混合物在氮气下在回流下搅拌16h。在真空中去除溶剂, 并且将残留物重新悬浮在MeOD (50mL) 中并且在回流下搅拌8h。通过TLC的唯一变化是出现少量脱保护的C-7羟基, 这不令人担忧。在真空中去除溶剂, 并且将化合物21重新悬浮在MeOD (50mL) 中。通过将精胺 (2.1g, 10mmol) 溶解在甲醇中搅拌5min, 然后在真空中去除溶剂, 而与MeOD (3x 10mL) 交换。添加最后一部分MeOD, 并且将精胺溶液添加到交换的固醇中, 并且将混合物在室温下搅拌过夜。在真空中去除溶剂, 并且将残留物重新悬浮在MeOD (50mL) 中。将此溶液在室温下搅拌约9h, 然后在干冰丙酮浴中冷冻40min。将固体NaBH₄ (740mg, 20mmol) 作为固体分两部分添加, 间隔大约15min。向浴中装入干冰, 并且允许温热至室温过夜。在反应时间约14h时反应的薄层色谱 (TLC, SiO₂ 6/3/1CHCl₃/MeOH/NH₄OH) 显示没有起始材料并且化合物20的3-羟基的迹象非常少。将反应用去离子 (DI) 水稀释, 并且用三氟乙酸 (TFA) 缓慢酸化, 直到通过pH 纸 (pH<2) 呈强酸性。这产生厚的白色沉淀物, 将其过滤, 用在水中的0.5% TFA洗涤, 并且然后溶解在MeOH中的5% KOH (100mL) 中, 并且在氮气下回流过夜。回流过夜后, 通过TLC, C7-苯甲酸酯水解完全。在真空中去除大部分甲醇, 并且将材料用DI H₂O稀释。将材料直接应用于Amberchrome填充柱 (5x 20cm), 并且用水洗涤, 直到强碱性部分已洗脱。然后将柱在水中的1% TFA和5% 乙腈洗涤, 直到洗脱液呈酸性。在5%的梯级中运行梯级梯度, 并且将通过TLC含有最干净材料的级分汇集, 并且在接近溶剂去除结束时在真空中去除大部分溶剂。

[0823] 添加6N HCl溶液 (1mL), 并且去除溶剂以将TFA交换为HCl。将这重复三次, 并且添加2-丙醇 (100mL) 并其快速汽提以得到在干净的ENT-03-d4级分中自由流动的白色固体 (700mg, 0.96mmol, 总产率24%)。¹H NMR (D₂O, 400MHz) δ 3.77 (br s, 1H), 3.06-2.99 (m, 13H), 2.36 (m, 1H), 2.0-1.0 (m, 33H), 1.05 (d, 3H), 0.84 (br s, 3H), 0.73 (s, 3H), 和 0.57 (s, 3H)。通过HPLC (Agilent) 在以下条件下分析ENT-03-d4的纯度: 流动相A: 在水中的0.1% 甲酸; 流动相B: 在乙腈中的0.1% 甲酸; 柱: Kinetex XB-C18 (2.1x 75mm, 1.7μm); 梯度: 5% -95% /8min, 保持95% B; 0.6ml/min 流速; ELSD检测器; 保留时间: 4.94, 以及100% 峰面积。通过

LC/MS (Waters Aquity HPLC-ZQ MS) 分析ENT-03-d4; 流动相A: 在水中的0.1%甲酸; 流动相B: 乙腈; 柱: Waters XBridge C18 (4.6x 50mm, 3.5 μ m)。流速: 1.1mL/min。MS (ES+, M+H): 计算值: 623.58; 实测值: 623.31。

[0824] 实施例6: ENT-03 (化合物III) 逆转小鼠的阿尔茨海默病

[0825] PTP1B依赖机制已被用于逆转阿尔茨海默病的 β 淀粉样蛋白和 τ 小鼠模型的记忆损害以及使行为正常化以及减少神经元损失 (Ricke, Cruz等人2020)。其他研究已显示在体外和阿尔茨海默病的秀丽隐杆线虫模型中 β 淀粉样蛋白聚集体的毒性被曲度奎明减少 (Limbocker, Chia等人, 2019)。

[0826] ENT-02 (MSI-1436) 逆转与衰老相关的几种病症 (在小鼠中), 诸如代谢综合征、阿尔茨海默病、动脉粥样硬化、癌症和再生修复能力降低。如我们在此报告中所示, ENT-03可以治疗鼠模型的阿尔茨海默病。

[0827] 使用莫里斯 (Morris) 水迷宫测试ENT-03对2种家族性阿尔茨海默病小鼠模型 (表达人类淀粉样前体蛋白双突变体的hAPP-J20小鼠 (Mucke等人, 2000) 和表达人类微管相关 τ 蛋白的P301S突变体的PS19小鼠 (Yoshiyama等人, 2007)) 的空间学习和记忆缺陷的作用。

[0828] 表达带有瑞典和印第安纳州家族突变的人类APP的hAPP-J20小鼠 (B6.Cg-Zbtb20Tg (PDGFB-APPSwInd) 20Lms/2Mmjax (Mucke等人, 2000)) 和表达人类 τ 蛋白的P301S突变的PS19小鼠 (B6; C3-Tg (Prnp-MAPT*P301S) PS19Vle/J (Yoshiyama等人, 2007)) 购自Jackson laboratories, 并且在渥太华大学动物设施中保持为群落。使用杂合hAPP-J20和PS19小鼠。使用从尾部或耳朵活检中分离的基因组DNA, 通过PCR验证基因型。

[0829] 从4.5月龄开始, 以2.5mg/kg体重的剂量每周一次腹腔内施用 (i.p.) 临床级ENT-03 (由Enterin, Inc. 提供), 持续6周。在最后一次注射后10天进行行为实验。媒介物处理的对照接受无菌盐水 (在水中的0.9% NaCl)。

[0830] 在渥太华大学 (University of Ottawa) 医学院行为核心实验室 (Faculty of Medicine Behavior Core Laboratory) 中进行, Morris水迷宫测试以分析小鼠在含有不透明水的池中学习记忆淹没平台的位置的能力。80cm²平台表面对应于总池面积的0.6%。小鼠习惯于实验室房间, 并且在中午与下午4点之间进行连续实验。将小鼠训练5天 (每天四次试验, 试验间隔为20分钟, 并且在四个位置中的一个位置随机开始), 以寻找在固定位置处的看不见的淹没平台。在池周围的提示被提供为空间参考。试验持续1分钟或直到小鼠找到平台。如果小鼠找不到平台, 则引导其到达平台。在每次试验中, 小鼠在平台上停留15秒, 然后移出到其笼中。训练期后, 将平台从池中移除, 并且在第二天在1分钟内执行探查试验。在探查日, 对平台区域交叉和目标象限进行计数, 并且使用Ethovision自动视频跟踪软件 (Noldus) 测量游泳速度。

[0831] 在这两种疾病模型 (一种患有淀粉样变性病并且另一种患有 τ 蛋白病) 中, 在训练阶段的学习 (图5A和图5E) 和在探查日的记忆 (图5B、5C、5F和5G) 与媒介物处理的hAPP-J20或PS19同窝对照小鼠 (图5) 相比在ENT-03处理下得到改善。预防认知下降的作用与用相关化合物曲度奎明hAPP-J20和PS19小鼠观察到的作用相似 (Ricke等人, 2020)。

[0832] 特别地, Morris水迷宫测试揭示, 经6周的ENT-03处理 (2.5mg/kg/wk, 腹腔内) 降低了hAPP-J20小鼠在训练期的过程中寻找隐藏平台的潜伏 (图5A和图5E) 并且改善了记忆 (在平台位置所在区域处的交叉 (图5B和图5F) 以及在探查日在平台区域中的时间 (图5C和图

5G)。(图5D和图5H) 游泳速度。图5A, 重复测量双因素方差分析: 基因型/治疗, $F(3, 42) = 13.47, p < 0.0001$; 时间, $F(4, 168) = 23.45, p < 0.0001$; 受试者(匹配), $F(42, 168) = 4.420, p < 0.0001$; 交互, $F(12, 168) = 3.458, p = 0.0001$; *, Veh WT与Veh hAPP-J20之间的事后成对比较, 第2、3、4、5天: 分别为 $p = 0.0073, 0.0101, < 0.0001, < 0.0001$; #, Veh hAPP-J20与ENT-03hAPP-J20之间的事后成对比较, 第4、5天: 分别为 $p = 0.0260, 0.0298$ 。图5B, 双因素方差分析: 基因型, $F(1, 42) = 10.44, p = 0.0024$; 治疗, $F(1, 42) = 4.509, p = 0.0396$; 交互, $F(1, 42) = 3.625, p = 0.0638$; *, Veh WT与Veh hAPP-J20之间的事后比较, $p = 0.0020$, 并且对于Veh与ENT-03hAPP-J20之间, $p = 0.0487$ 。图5C, 双因素方差分析: 基因型, $F(1, 41) = 9.977, p = 0.0030$; 治疗, $F(1, 41) = 4.149, p = 0.0482$; 交互, $F(1, 41) = 1.570, p = 0.2173$ 。*, Veh WT与Veh hAPP-J20之间的事后比较, $p = 0.0080$, 并且对于Veh hAPP-J20与ENT-03hAPP-J20之间, $p = 0.0032$ 。图5D, 双因素方差分析, 基因型, $F(1, 42) = 10.95, p = 0.0019$; 治疗, $F(1, 42) = 1.352, p = 0.2515$; 交互, $F(1, 42) = 0.1378, p = 0.7123$ 。图5E, 重复测量双因素方差分析: 基因型/治疗, $F(3, 45) = 11.90, p < 0.0001$; 时间, $F(4, 180) = 29.09, p < 0.0001$; 受试者(匹配), $F(45, 180) = 2.780, p < 0.0001$; 交互, $F(12, 180) = 2.325, p = 0.0087$; *, Veh WT与Veh hAPP-J20之间的事后成对比较, 第2、3、4、5天: 分别为 $p = 0.0143, < 0.0001, 0.0037, < 0.0001$; #, Veh hAPP-J20与ENT-03hAPP-J20之间的事后成对比较, 第4天: $p = 0.0111$ 。图5F, 双因素方差分析: 基因型, $F(1, 45) = 5.413, p = 0.0245$; 治疗, $F(1, 45) = 16.87, p = 0.0002$; 交互, $F(1, 45) = 3.630, p = 0.0631$; *, Veh WT与Veh hAPP-J20之间的事后比较, $p = 0.0236$, 并且对于Veh hAPP-J20与ENT-03hAPP-J20之间, $p = 0.0004$ 。图5G, 双因素方差分析: 基因型, $F(1, 45) = 4.829, p = 0.0332$; 治疗, $F(1, 45) = 6.861, p = 0.0120$; 交互, $F(1, 45) = 4.500, p = 0.0394$ 。*, Veh WT与Veh hAPP-J20之间的事后比较, $p = 0.0201$, 并且对于Veh hAPP-J20与ENT-03hAPP-J20之间, $p = 0.0064$ 。图5H, 双因素方差分析, 基因型, $F(1, 45) = 4.572, p = 0.0380$; 治疗, $F(1, 45) = 0.6015, p = 0.4421$; 交互, $F(1, 45) = 0.0090, p = 0.9249$ 。

[0833] 实施例7: 在人和小鼠幼崽脑中ENT-03的检测

[0834] 在1992年, Nagata等人在人类慢性硬膜下血肿液中以及后来在急性蛛网膜下腔出血中(Nagata等人, 1995) 鉴定出高浓度的胆汁酸7- α -羟基-3-氧代-4-胆固醇(7-HOCA)(图1C)(Nagata等人, 1992)。在1997年, Zhang等人报道大鼠脑细胞可以将27-羟基胆固醇代谢为7-HOCA(Zhang等人, 1997)。随后, Björkhem、Sjövall、Griffiths及其合作者将7-HOCA鉴定为人类脑脊髓液中最丰富的胆汁酸(Ogundare等人, 2010; Meaney等人, 2007; Saeed等人, 2014; Saeed等人, 2014)。7-HOCA似乎不是生物活性胆汁酸, 因为它不激活胆汁酸和氧固醇是其已知配体的FXR、LXR或RXR/NURR1受体(Ogundare等人, 2010)。Björkhem提出, 脑部将从外周进入的27-羟基胆固醇代谢为7-HOCA以促进氧固醇回流到循环中(Meaney等人, 2007)。

[0835] 申请人表明硬膜下血肿液中ENT-03的存在反映了其在此结构的发育中的可能作用。头部受伤后, 通常在较年老的人中并且很少在婴儿中, 形成高度血管化的囊样“器官”, 其中一侧源自硬脑膜(“外膜”), 另一侧来自蛛网膜下腔(“内膜”)(Yamashima等人, 2000)。高浓度的多种生长因子, 包括VEGF, 积累在体液中(Edlmann等人, 2017)。我们表明ENT-03出现在硬膜下血肿内以试图修复颅内损伤。在此上下文中, 人们可能希望推测为什么(十分常见)在通过产道后经历颅内创伤导致硬膜下和实质出血的健康新生儿通常无症状地恢复(Looney等人, 2007)。

[0836] 人类研究

[0837] 由于慢性硬膜下血肿液中已知高浓度化合物Ia (7-HOCA), 申请人通过LC/MS/MS分析从3名患有慢性硬膜下血肿的老年患者排出的液体中ENT-03的存在。

[0838] 患者#1:66岁男性,具有3周步态不稳、头痛、精细运动困难。CT显示2.2cm右侧亚急性硬膜下血肿(SDH),具有显著的团块效应/中线移位。引流的指示是大的症状性SDH。引流程序为右侧颅骨切开术,以排空SDH。

[0839] 患者#2:75岁男性,他在3周前跌了一跤。呈现有2-3天恶化头痛、步态不稳和左下肢虚弱。CT显示双侧亚急性SDH(右侧1.7cm,左侧1.6cm)。引流的指示是大的症状性SDH。引流程序是床边扭曲钻孔颅骨切开术。

[0840] 患者#3:94岁男性,具有进行性困惑/精神状态改变/步态不稳。检查证明,慢性硬膜下血肿为双侧亚急性,大小均为2.5-3.0cm,并且具有团块效应/脑部压迫。引流的指示是大的症状性SDH。引流程序是床边扭曲钻孔颅骨切开术。

[0841] 通过LC/MS/MS分析脑提取物的ENT-03。图7A示出了脑提取物中ENT-03的存在。图7B示出了合成ENT-03的参考样品。

[0842] 小鼠幼崽研究

[0843] 基于这些报道,申请人分析来自出生后前两周新生小鼠的脑、肝脏和肾脏的提取物中ENT-03的存在。3-氧代-胆汁酸在人类胎儿发育的最后三期期间的羊水中包括18%-40%之间的未缀合胆汁酸(Nakagawa等人1990)并且在健康新生儿尿液中的胆汁酸中占显著百分比,在出生后第一个月期间逐渐减少(Wahlen等人,1989和Kimura等人,1999)。由于新生儿期3-氧代-胆汁酸丰富,因此申请人把推定的多胺-胆汁酸分子的寻找集中在新生小鼠上。使用被设计为基于如下其物理特性捕获ENT-03的方案从年龄为第1天至第24天的小鼠制备脑和肝脏提取物。

[0844] 从Layne Laboratories获得冷冻新生小鼠,并且在冷冻状态下解剖组织。在冷冻状态下解剖组织:“小指(pinky)”(1d);“大小指(large pinky)”(2-5d);“小茸(small fuzzy)”(6-9d);“大茸(large fuzzy)”(10-14d);“斗(hopper)”(15-18d);“小冷冻(small frozen)”(18-24d)。将组织(0.5-7克)放置到4体积的含有0.12NHC1的甲醇中,并且在80°C下加热5小时。将组织浸渍,然后进行短暂的离心。收集上清液,在空气流下减小体积,并且用1体积氯仿/1体积甲醇萃取。上层相体积减小,并且通过LC/MS/MS进一步分析样品。

[0845] 在LC/MS/MS分析中使用合成ENT-03作为内标,以允许在色谱分析中定位和鉴定相应的分子。

[0846] 可以在新生小鼠的脑部和肝脏中检测到ENT-03(化合物III)(分别为图8A和图8B)。内源性ENT-03的身份通过其保留时间、质量($[M+H]^+$) $m/z=619.6$)和MS/MS MRM特征碎片质量545.57(图13A)和474.39(图13B)来建立。图9中呈现了在生命的前3周内,在新生小鼠的脑部和肝脏中测量的ENT-03(化合物III)的近似浓度。在脑和肝脏中,最高浓度在出生时出现,在接下来的3周内逐渐降低。

[0847] 分析程序:将组织提取物用ENT-03- d_4 加标,并且在配备ExionLC™ LC(SCIEX,加利福尼亚州雷德伍德城)的Triple Quad 5500MS/MS系统上使用Analyst®1.7.1仪器控制软件进行分析。

[0848] 使用Kinetex®5 μ m C18100Å50×2.1mm色谱柱(Phenomenex,美国加利福尼亚州托

伦斯)实现从组织基质组分中分离出ENT-03(化合物III)。将柱维持在25℃,流速为0.3mL/min,并且进样体积为10μL。流动相(MP)由以下组成:A:在水中的0.1%甲酸,和B:在乙腈中的0.1%甲酸(ACN,v/v)。流动相梯度如下:注入后,将初始条件MPA在80%下保持0.3min,在1.7min内降低至70%,在0.5min内降低至50%,并且保持恒定0.5min,恢复初始条件持续另外3.5min的再平衡时间。

[0849] ENT-03(化合物III)的保留时间是大约2.3min,并且总运行时间为7min。使用涡轮离子喷射接口作为离子源,以正离子模式运行。在多反应监测(MRM)模式下进行采集,使用单位分辨率下 m/z 619.6 ($[M+H]^+$) $\rightarrow$ 545.5 (损失74.1 ($C_3H_{10}N_2$)) 和 m/z 619.6 ($[M+H]^+$) $\rightarrow$ 474.4 (损失145.2 ($C_7H_{19}N_3$))。内标是ENT-03-d4,使用MRM m/z 623.6 ($[M+H]^+$) $\rightarrow$ 549.5 或 m/z 623.6 ($[M+H]^+$) $\rightarrow$ 478.5。离子喷射电压为4500V,并且碰撞能量为55 (619.6/474.5) 或43 (619.5/545.5) V。去簇电位为70V。碰撞气体为氮气,并且离子喷射温度为650℃。在X500 QTOF系统(SCIEX)上使用高分辨率MRM确认MRM转换,其中质量误差为10ppm或更小。

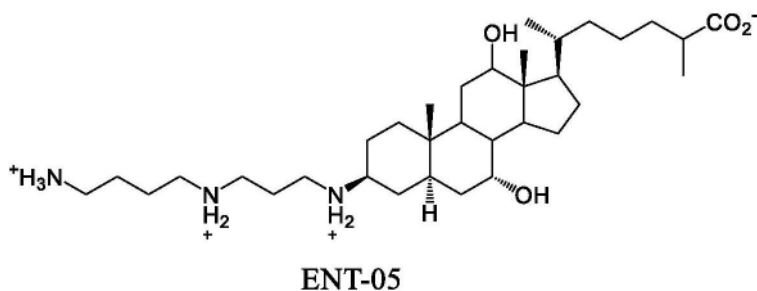
[0850] 对于ENT-03(化合物III)组织水平估计,从ENT-03色谱峰面积与内标的比率并且使用线性回归绘制校准曲线,其中 $(1/x^2)$ 加权因子基于拟合优度标准选择,包括确定系数(r^2)、单独校准物的反算浓度、和截距值的最小化。

[0851] 实施例8:ENT-05和调节性磷酸酶抑制

[0852] 本实施例的目的是评价ENT-05对调节性磷酸酶的抑制。

[0853] 根据调节性磷酸酶库合成并且测定ENT-05。

[0854]



[0855] 与ENT-03(化合物III)在多胺和C12上羟基的存在方面不同的ENT-05展现出对原癌基因PTPN11(E76K)具有高特异性的抑制活性,如下表15A和15B所示。

表 15A

化合物 ID	PP1B	PP1A	PP2A α /PP2R1A 复合物	PTPN6/ SHP1	PTPN11 / SHP	PTPRC/ CD45	DUSP22/ MKPX
ENT-05	>1.00E-04	>1.00E-04	3.80E-06	>1.00E-04	1.84E-05	>1.00E-04	**>1.00E-04
PTP1B 抑制剂	5.99E-06	6.91E-06	ND	3.47E-06	2.31E-06	2.80E-05	9.63E-06
斑蝥酸	ND	ND	2.785E-08	ND	ND	ND	ND
SHP099	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

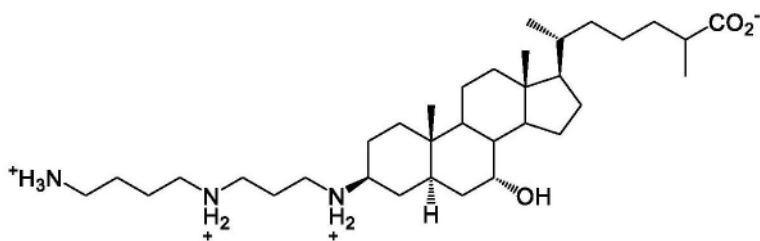
[0856]

表 15B

化合物 ID	PTPN2/T C-PTP	PTPN7/ LC-PTP	PTPN12/P TP-PEST	PTPN1/P TP1B- CD	PN11/ SHP2	PTPN11/S HP2-FL (E76K)
ENT-05	>1.00E-04	3.97E-06	**>1.00E-04	2.58E-06	9.76E-07	4.30E-08
PTP1B 抑制剂	7.53E-06	8.65E-06	2.16E-06	6.23E-06	ND	ND
斑蝥酸	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SHP099	ND	ND	ND	ND	1.75E-08	1.66E-06

[0857] 作为另一个例子,合成ENT-06。

[0858]



ENT-06

[0859] ENT-06与ENT-03的不同之处在于用亚精胺替代精胺。ENT-06展现出对人类调节性磷酸酶的以下抑制活性(表16A和16B)：

表 16A

化合物 ID	PP1B	PP1A	PP2A α /PP2R1A 复合物	PTPN6/ SHP1	PTPN11 / SHP	PTPRC/ CD45	DUSP22 / MKPXP T
ENT-03	>1.00E-04	>1.00E-04	>1.00E-04	>1.00E-04	5.00E-06	5.17E-07	1.38E-06
ENT-06	>1.00E-04	>1.00E-04	>1.00E-04	>1.00E-04	3.45E-06	1.22E-06	2.09E-06

[0860]

表 16A

化合物 ID	PP1B	PP1A	PP2A α /PP2R1A 复合物	PTPN6/ SHP1	PTPN11 / SHP	PTPRC/ CD45	DUSP22 / MKPXP T
PTP1B 抑制剂	4.97E-06	6.45E-06	ND	3.67E-06	2.12E-06	2.66E-05	7.23E-06
斑蝥酸	ND	ND	3.01E-08	ND	ND	ND	ND
SHP099	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

[0861]

表 16B

化合物 ID	PTPN2/TC-PTP	PTPN7/LC-PTP	PTPN12/PTP-PEST	PTPN1/P TP1B-CD	PN11/ SHP2	PTPN11/ SHP2-FL (E76K)
ENT-03	>1.00E-04	6.34E-07	8.61E-07	1.17E-07	1.42E-06	2.94E-07
ENT-06	>1.00E-04	1.05E-06	8.62E-07	1.47E-07	3.17E-06	3.45E-07
PTP1B 抑制剂	5.86E-06	6.89E-06	1.21E-06	5.10E-06	ND	ND
斑蝥酸	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SHP099	ND	ND	ND	ND	2.53E-08	1.58E-06

[0862] 如本实施例中可以看出,用亚精胺替代精胺不改变ENT-03的抑制特征。本实施例还教导了ENT-05(上)上的C-12部分极大地改变分子对人类调节性磷酸酶的特异性。

[0863] 使用的磷酸酶分析:使用的测定来自Recation Biology Inc.。PTPN11/SHP2-FL:在大肠杆菌中表达重组人PTPN11全长(Genbank登录号NM_00133043.1;aa 2-597,同种型1(典型)),带有N-末端StrepII-TEV,C-末端His标签。 $M_w=71.93\text{kDa}$ 。

[0864] PTPN11/SHP2(E76K)-FL:在大肠杆菌中表达具有E76K突变的重组人PTPN11全长(Genbank登录号NM_00133043.1;aa 2-597,同种型1(典型)),带有N-末端StrepII-TEV,C-末端His标签。 $M_w=71.93\text{kDa}$ 。

[0865] 激活肽:H2N-LN(pY)IDLDLV(dPEG8)LST(pY)ASINFQK-酰胺(Fortanet等人,2016)底物:测定中的DiFMUP[6,8-二氟-7-羟基-4-甲基香豆素]最终浓度:对于野生型:0.35 μM 激活肽;100 μM DiFMUP;对于突变体:无激活肽;100 μM DiFMUP测定缓冲液:60mM HEPES(pH 7.4)、1mM EDTA、75mM KCl、75mM NaCl、0.01% Brij-35、5mM DTT和10% DMSO(最终)。

[0866] 测定的其他磷酸酶:测定缓冲液:25mM HEPES(pH 7.5)、5mM MgCl₂、0.01% Brij-35、1mM DTT和1% DMSO。对于PP²A α /PPP²R¹A复合物,将PP¹A和PP¹B 1mM MnCl₂添加到测定缓冲液中。DiFMUP的浓度随选择的磷酸酶而变化:对于PTPN1/PTP1B-CD为2 μM ;对于PP1B为30 μM ;对于所有其他磷酸酶为10 μM 。磷酸酶抑制剂为PTP1BCAS 765317-72-4(Sigma Aldrich,目录号539741);斑蝥酸(Santa Cruz Biotech,目录号sc-201323);SHP009(ChemieTek,目录号CT-SHP099)。

[0867] 通用程序:在测定缓冲液中新鲜制备酶和底物;将酶溶液引入反应井中,然后通过

声学技术 (Echo550; 纳升范围) 将抑制剂递送在100% DMSO中; 在室温下孵育反应20min; 然后将底物递送到反应井中以开始反应; 通过在120min内在室温下荧光的增加来监测酶活性 (Ex/Em 355/460)。确定时间过程线性部分的斜率 (信号/min), 并且相对于DMSO对照, 计算抑制剂存在的比率。

[0868] 实施例9: 评估ENT-05的体内活性

[0869] 本实施例的目的是评价ENT-05在体内的活性。

[0870] 为了评估ENT-05在体内的活性, 将化合物添加到500ml蒸馏水中至浓度为10 μ g/ml。将非洲爪蟾 (*Xenopus leavis*) 蝌蚪 (前变形 (premetamorphic)) 放置到溶液中。在约1小时过程中, 蝌蚪逐渐肿胀, 停止移动, 并且最终死亡。将第二动物放置在500ml水中, 所述水含有10 μ g/ml ENT-05, 而且还有50mM NaCl。在这种情况下, 动物存活。然后将动物转移到不含盐或ENT-05的泉水中, 并且在接下来的几天内保持活跃。在ENT-06或ENT-03的情况下未观察到类似效果。

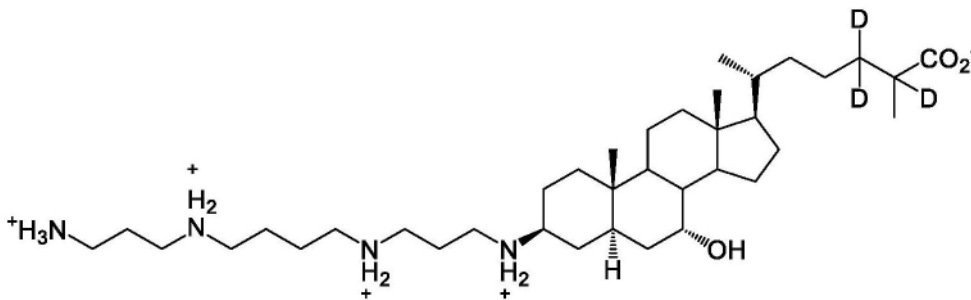
[0871] 本实施例证明修饰ENT-03以产生ENT-05产生了对PTPN11 (E76K) 和可能其他尚未描述的磷酸酶具有特异性的化合物。对蝌蚪的体内药理作用是抑制钠重吸收的作用, 最有可能是在肾脏中。可能的靶标是2型钠钾氯共转运蛋白 (NKCC2)。目前对调节肾小管的NKCC2的活性的磷酸酶知之甚少。

[0872] 实施例教导了ENT-05已鉴定一种磷酸酶, 其激活可以被ENT-05抑制的通道的NKCC2转运蛋白。ENT-05显然具有治疗高血压的潜在效用, 类似于药物呋塞米, 呋塞米通过不涉及抑制磷酸酶活性以及颅内高压 (颅内压升高) 和眼内高压 (青光眼) 的机制来抑制肾NKCC2。

[0873] 实施例10: 氘化NT-03化合物的评价

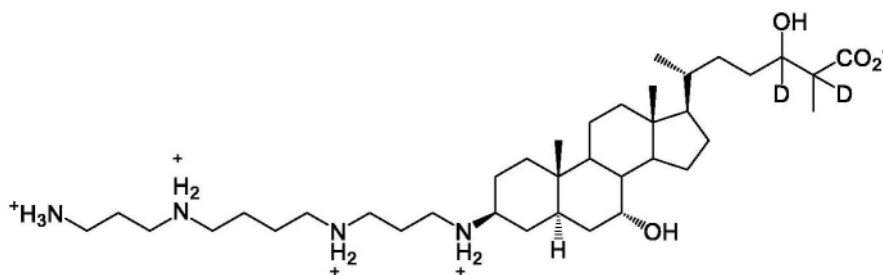
[0874] 多胺-胆汁酸缀合物ENT-03预期通过胆汁酸合成中利用的反应链进行代谢。合成以下分子ENT-03D₃ (C24D₂, C25D₁)

[0875]



[0876] 当向小鼠腹膜内施用, 动物体重增加, 与在施用ENT-03时观察到的体重减轻形成对比。参见图12。由于氘化形式的ENT-03应展现出与ENT-03相同的药理学, 因此, 依次代谢胆固醇侧链的酶的动力学中氘同位素的存在最好地解释了药理作用。侧链上氘的存在可能减缓2-甲酰基-辅酶A消旋酶对C-25的作用, 通过去除C24和C25处的氘原子产生24, 25-反式-不饱和衍生物的脱氢酶的后续作用, 以及D-双功能蛋白催化的C24键的后续水合和氧化。相反, ENT-03D₃的代谢将在C24被CYP46A1的氧化开始, 产生以下化合物:

[0877]



[0878] 由于药理作用是体重增加,因此人们可以容易地预测所述化合物以最高的特异性抑制PTPN11/SHP2,因为已知SHP2增强中枢瘦素通路。抑制SHP2会增加瘦素抵抗,这将导致食欲增加和脂肪组织积累。

[0879] 实施例11:ENT-03刺激年老小鼠脾脏中红细胞产生和免疫细胞功能相关的基因的转录

[0880] 如人类中的那样,小鼠脾脏发挥着主要免疫功能(Smith等人,2019年)。然而,在成年小鼠中,脾脏可以在各种实验环境中成为形成红细胞的器官(Morita等人,2011年),尽管它通常在出生后生命的最初几周内将此功能让与骨髓(Wolber等人,2002年)。

[0881] 为了探索ENT-03(化合物III)对年轻和年老小鼠脾脏造血和免疫系统的影响,研究了先前肠道转录组复壮深实施例中所述的动物脾脏转录组。

[0882] 年老脾脏(下表17)中对ENT-03(化合物III)的转录反应比较年轻动物脾脏(下表18)中更强烈。与年轻中的4个基因相比,年老脾脏中的109个基因显著上调 ≥ 1.5 倍。在年老脾脏中最稳健诱导的基因负责红细胞生成(表17中斜体的行)和免疫功能(表17中粗体的行)。参与血红蛋白合成的基因(血红蛋白 α 和 β 蛋白、氨基乙酰丙酸合酶)以及参与红细胞结构/功能的丰富蛋白质(氯化物-碳酸氢盐交换剂、带4.2蛋白和2,3二磷酸甘油酯变位酶)位于列表的顶部。这些数据与以下假设相符:在出生后生命的最初几周内表现正常的年老小鼠中,ENT-03刺激一种程序。

[0883] 一般来说,由ENT-03诱导的免疫基因对应于先天性分支的免疫基因。这些包括由T细胞和NKT细胞分泌的IL-21,其在整个先天性免疫系统的范围中具有广泛的刺激作用(Spolski等人,2014);以及由许多先天性免疫细胞分泌的IL22结合蛋白(IL22 α 2),其有助于在感染消退后抑制促炎细胞因子IL22的作用(Huber等人,2012),从而降低炎症后肿瘤发生的可能性(Huber等人,2012)。其他高度诱导的基因编码由树突状细胞和巨噬细胞表达的受体,诸如DC-SIGN(CD209),其在树突状细胞识别病毒和其他病原体中起关键作用(Svajger等人,2010);巨噬细胞趋化因子受体CCR2,其在对组织损伤的正常修复反应中起关键作用(Boniakowski等人,2018);以及介导巨噬细胞内吞IgM包被病原体的Fc α /mu受体(Fcamr)(Shibuya等人,2000)。

[0884] 在年老脾脏中由ENT-03高度诱导的脾脏基因均为出现在年轻动物的脾脏中的反应基因集合中。

[0885]

表 17: ENT-03 处理的年老脾脏与未处理年老脾脏中的转录反应				
基因	染色体 (Chrom)	log2 倍 数 Δ (处理 与未处 理)	padj	基因描述
<i>Hbb-bt</i>	<i>chr7</i>	3.7347	1.0409E-18	血红蛋白 β 成年 <i>t</i> 链
<i>Hbb-bs</i>	<i>chr7</i>	3.7096	3.6524E-17	血红蛋白 β 成年 <i>s</i> 链
<i>Hba-a1</i>	<i>chr11</i>	3.3063	2.5751E-12	血红蛋白 α 成年 链 1
<i>Alas2</i>	<i>chrX</i>	3.1518	5.5197E-10	氨基乙酰丙酸 合酶 2 红系
<i>Apol11b</i>	<i>chr15</i>	2.866	1.2774E-06	载脂蛋白 <i>L</i> 11b
<i>Snca</i>	<i>chr6</i>	2.7302	6.7702E-08	突触核蛋白 α
Il21	chr3	2.6995	1.4958E-07	白细胞介素 21
<i>Trim10</i>	<i>chr17</i>	2.6019	1.4584E-06	含三重基序 10
<i>Slc4a1</i>	<i>chr11</i>	2.4837	0.00001855 4	溶质载体家族 4 (阴离子交换 因子) 成员 1
Crisp3	chr17	2.4801	0.00001087	富半胱氨酸分泌蛋白 3
BC094916	chr1	2.4206	1.6453E-12	cDNA 序列 BC094916
Klra13-ps	chr6	2.2739	0.00005531 2	杀伤细胞凝集素样受体亚家族 A 成员 13

表 17: ENT-03 处理的年老脾脏与未处理年老脾脏中的转录反应

基因	染色体 (Chrom)	log2 倍数 Δ (处理 与未处理)	padj	基因描述
Ms4a4c	chr19	2.2629	1.4648E-06	跨膜 4 结构域亚家族_A_成员_4C
Gm15674	chr1	2.2616	0.00025227	预测基因_15674
Fcαr	chr1	2.26	0.00023611	Fc 受体_IgA_IgM_高亲和性
Cd209a	chr8	2.2387	9.2759E-08	CD209a_抗原
Il22ra2	chr10	2.1757	0.00001899 4	白细胞介素 22 受体_α_2
Klrl1	chr6	2.1282	0.00021207	杀伤细胞凝集素样受体家族_I_成员_1
Apol7c	chr15	2.1187	1.9578E-07	载脂蛋白_L_7c
S100a4	chr3	2.0775	1.1352E-06	S100_钙结合蛋白_A4
Dscaml1	chr9	2.0299	0.0013572	唐氏综合征细胞粘附分子样_1
<i>Angptl1</i>	<i>chr1</i>	<i>2.0064</i>	<i>0.0017673</i>	<i>血管生成素样_1</i>
Gm4841	chr18	1.993	0.0016464	预测基因_4841
Bex6	chr16	1.9805	0.001294	脑表达基因_6
<i>Epb4.2</i>	<i>chr2</i>	<i>1.9538</i>	<i>0.0024314</i>	<i>红细胞蛋白带_4.2</i>
Gm15056	chr8	1.9402	0.00074293	预测基因_15056
Gm15848	chr1	1.9395	0.0014089	预测基因_15848
RP23-291K4.3	chr12	1.9042	0.0034892	预测基因_29361
Slfn4	chr11	1.9041	0.0033094	schlafen_4
Erv3	chr2	1.9021	0.00041989	内源性逆转录病毒序列_3
Adipoq	chr16	1.8937	0.0037472	含脂联素_C1Q 和胶原结构域
Ccr2	chr9	1.8781	0.00066331	趋化因子_(C-C_基序)_受体_2
Gm16170	chr11	1.8443	0.0018004	预测基因_16170
<i>Hba-a2</i>	<i>chr11</i>	<i>1.8432</i>	<i>0.0050296</i>	<i>血红蛋白_α_成年_链_2</i>
Chordc1	chr9	1.8282	0.00002287 7	含半胱氨酸和组氨酸富集结构域(CHORD)的锌结合蛋白_1
Ms4a4b	chr19	1.8267	0.00074293	跨膜 4 结构域亚家族_A_成员_4B
Ceacam2	chr7	1.8202	0.0019663	癌胚抗原相关细胞粘附分子_2
Trim59	chr3	1.8191	0.00051144	含三重基序_59
A430104N18Rik	chr11	1.7777	0.0012186	Mir142_宿主基因_(非蛋白质编码)
H3f3c	chr2	1.7761	0.006137	H3_组蛋白家族_3C
Gpr174	chrX	1.7489	0.0013772	G 蛋白偶联受体_174
Ccl22	chr8	1.7457	0.0017096	趋化因子_(C-C_基序)_配体_22
<i>Bpgm</i>	<i>chr6</i>	<i>1.7452</i>	<i>0.0012861</i>	<i>23-二磷酸甘油酸变位酶</i>

[0886]

表 17: ENT-03 处理的年老脾脏与未处理年老脾脏中的转录反应

基因	染色体 (Chrom)	log2 倍数 Δ (处理 与未处理)	padj	基因描述
9130020K20Rik	chr4	1.744	0.0086611	RIKEN_cDNA_9130020K20_基因
4632427E13Rik	chr7	1.736	0.0051337	RIKEN_cDNA_4632427E13_基因
Mndal	chr1	1.7343	0.00029797	髓核分化抗原样
Klra10	chr6	1.7308	0.0092544	杀伤细胞凝集素样受体亚家族_A_成员_10
Cr2	chr1	1.7172	0.00005764	补体受体_2
Chil5	chr3	1.715	0.00659	几丁质酶样_5
Art2a-ps	chr7	1.714	0.00002623	ADP-核糖基转移酶_2a_假基因
Gm18853	chr7	1.7076	0.010528	预测基因_18853
Samd9l	chr6	1.6916	0.0025867	含不育 α 基序结构域_9 样
Kmo	chr1	1.6871	3.5618E-07	犬尿氨酸 3-单加氧酶_(犬尿氨酸 3-羟化酶)
Nudt17	chr3	1.6761	0.0062584	nudix_(核苷二磷酸连接部分 X)-型基序_17
Pyhin1	chr1	1.6712	0.0016474	pyrin 和 HIN 结构域家族成员_1
Gm14446	chr19	1.6636	7.5769E-09	预测基因_14446
Gm16754	chr9	1.663	0.013156	预测基因_16754
Skint3	chr4	1.6602	0.0066421	上皮内 T 细胞选择和维持_3
Gm15382	chr15	1.6598	0.013129	预测基因_15382
Gm14539	chrX	1.6584	0.011189	预测基因_14539
B3galt2	chr1	1.6529	0.012914	UDP-Gal:βGlcNAc_β_13-半乳糖基转移酶多肽_2
Gm20506	chr17	1.6511	0.0055872	预测基因_20506
Trbv3	chr6	1.6449	0.00075871	T 细胞受体_β_可变_3
Gvin1	chr7	1.6426	0.0030561	GTP 酶_非常大干扰素诱导型_1
Gapdhs	chr7	1.6401	0.012163	甘油醛 3-磷酸脱氢酶精子发生
Igkv10-95	chr6	1.6339	0.004547	免疫球蛋白_κ_可变_10-95
Tgtpl	chr11	1.6241	8.2575E-07	T 细胞特异性 GTP 酶_1
Tnfrsf4	chr4	1.6208	6.0546E-08	肿瘤坏死因子受体超家族成员_4
Gpr171	chr3	1.6192	2.4193E-06	G 蛋白偶联受体_171
Gm12359	chr11	1.612	0.017289	预测基因_12359

[0887]

表 17: ENT-03 处理的年老脾脏与未处理年老脾脏中的转录反应

基因	染色体 (Chrom)	log2 倍数 Δ (处理 与未处理)	padj	基因描述
Tespa1	chr10	1.6091	2.5415E-07	胸腺细胞表达阳性选择相关_1
Cxcr6	chr9	1.6084	0.00074332	趋化因子_(C-X-C_基序)_受体_6
Gm9733	chr3	1.6052	0.0033127	预测基因_9733
Phf11a	chr14	1.5879	0.00007223 9	PHD 指蛋白_11A
Bcl2l14	chr6	1.5821	0.0054825	BCL2 样_14_(凋亡促进因子)
Wfikkn1	chr17	1.5812	0.019127	含 WAP_FS_Ig_KU_和_NTR 蛋白_1
Gm12064	chr11	1.5812	0.017839	预测基因_12064
Stat4	chr1	1.5777	0.00028359	信号转导子和转录激活子_4
Gimap1os	chr6	1.5766	0.00002237 4	GTP 酶_IMAP_家族成员_1_ 相反链
AI504432	chr3	1.5764	0.00043427	表达序列_AI504432
Ddx43	chr9	1.5727	0.014119	DEAD_(Asp-Glu-Ala- Asp)_box_多肽_43
Cyp4b1-ps2	chr4	1.5655	0.02129	细胞色素 P450 家族_4_超家族 _b_多肽_1_假基因_2
Hsph1	chr5	1.5639	5.0637E-09	热休克_105kDa/110kDa_蛋白 _1
Gm26613	chr11	1.5638	0.017312	预测基因_26613
Phf11c	chr14	1.562	0.00010438	PHD 指蛋白_11C
Mterfla	chr5	1.5619	0.0012861	线粒体转录终止因子_1a
Igkv4-74	chr6	1.5563	0.022022	免疫球蛋白_κ_可变_4-74
Ifi203	chr1	1.5516	0.00025302	干扰素激活基因_203
Hbq1b	chr11	1.5454	0.020239	血红蛋白 θ_1B
Insm1	chr2	1.5427	0.0010054	胰岛瘤相关_1
Plac8	chr5	1.5426	6.9197E-14	胎盘特异性_8
Gad1-ps	chr10	1.5374	0.019744	谷氨酸脱羧酶_1_假基因
Cdcp1	chr9	1.5358	0.00036257	含 CUB 结构域蛋白_1
Ly6d	chr15	1.5352	8.0833E-10	淋巴细胞抗原_6_复合物基因 座_D
Serpina1e	chr12	1.5291	0.015891	丝氨酸(或半胱氨酸)肽酶抑制 剂进化枝_A_成员_1E
Gpr82	chrX	1.5279	0.024478	G 蛋白偶联受体_82
Gm10521	chr1	1.5248	0.0029372	预测基因_10521
Stap1	chr5	1.5241	0.00044727	信号转导衔接子家族成员_1
Ms4a1	chr19	1.5233	0.0019425	跨膜 4 结构域亚家族_A_成员 _1

[0888]

表 17: ENT-03 处理的年老脾脏与未处理年老脾脏中的转录反应

基因	染色体 (Chrom)	log2 倍数 Δ (处理 与未处理)	padj	基因描述
Bzap1	chr11	1.5216	0.020864	苯并二氯杂卓受体相关蛋白_1
Il4i1	chr7	1.521	0.000013199	白细胞介素_4_诱导_1
Tgtp2	chr11	1.5203	2.163E-08	T 细胞特异性 GTP 酶_2
Capsl	chr15	1.5194	0.02621	钙磷蛋白样
4631405J19Rik	chr2	1.5184	0.02629	RIKEN_cDNA_4631405J19_基因
A430110L20Rik	chr1	1.5155	0.025229	RIKEN_cDNA_A430110L20_基因
Malat1	chr19	1.51	0.0013738	转移相关肺腺癌转录物_1_(非编码 RNA)
Asprv1	chr6	1.508	0.0062434	天冬氨酸肽酶逆转录病毒样_1
Ighj4	chr12	1.507	0.000033775	免疫球蛋白重联_4
Spol1	chr2	1.5059	0.016958	SPO11 减数分裂蛋白共价结合 DSB 同源物_(酿酒酵母(S. cerevisiae))

[0889]

表18: ENT-03处理的年轻脾脏与未处理年轻脾脏中的转录反应

基因名称	染色体	log2倍数 Δ	padj	基因描述
BC147527	chr13	1.5492	5.13E-09	cDNA_序列_BC147527
Actr6	chr10	1.5441	5.13E-09	ARP6肌动蛋白相关蛋白_6
Gt(ROSA)26Sor	chr6	1.5188	0.0043575	基因陷阱 _ROSA_26_Philippe_Soriano
Lsm7	chr10	1.5096	1.164E-06	LSM7同源物U6小核RNA相关_(酿酒酵母)

[0890] 实施例12:小鼠胃组织中处理诱导的基因表达,ENT-03与ENT-02 (MSI-1436) 的比较

[0891] 本实施例的目的是鉴定年轻小鼠与年老小鼠之间的转录变化,并且比较ENT-02 (MSI-1436) 处理与ENT-03处理对基因表达的影响。将小鼠用ENT-03、ENT-02 (MSI-1436) 或媒介物对照处理。在Illumina平台上通过RNA测序分析来自小鼠的胃组织样品。

[0892] 此分析的目标是:鉴定年轻小鼠与年老小鼠之间的转录变化;确定ENT-01或ENT-02 (MSI-1436) 处理是否可以逆转这些与年龄相关变化;以及比较ENT-02 (MSI-1436) 处理与ENT-03处理对基因表达的影响。

[0893] 为了实现这些目标,对数据进行质量控制评价、差异表达和功能富集分析以及冗余(congruence)分析。将ENT-ENT-03处理的数据与ENT-02 (MSI-1436) 生成的结果进行比较。

[0894] 为了鉴定组间显著差异表达的那些基因,基于表达的倍数变化应用任意阈值。在

没有重复样品的情况下,将组间表达的四倍变化用作假显著性的度量。在此阈值下,在所有对比中鉴定出差异表达基因。对于与衰老相关的基因表达变化,或年轻小鼠的ENT-02(MSI-1436)处理,下调基因的比例(72%-80%)高于上调基因的比例(20%-28%)。在年老小鼠中对于两种处理的趋势相反,其中82%-89%的基因表达变化是上调的并且12%-18%是下调的。

[0895] 当比较对比中的差异表达基因时,明显的是,年老小鼠中下调的基因与年老小鼠中响应于ENT-02处理而上调的基因显著重叠(超几何 $P < 0.0001$)。在较小程度上,年老小鼠中下调的基因与年老小鼠中响应于处理而上调的基因也存在显著重叠。在年轻小鼠中,在ENT-02处理后下调的基因与衰老相关下调基因显著重叠。对于在两种对比中上调的基因,结果也是如此。

[0896] 对于每个比较,统计了在各种统计阈值和倍数变化4下显著的样品基因的数量。如先前所提及,对于统计鲁棒性,仅应考虑调节 p -值 < 0.05 的那些。

[0897] 选择以下统计显著性阈值来定义差异表达基因:倍数变化 ≥ 4

表19: 效应量评估总结: 在一系列效应量阈值下, 每个比较中显著特征的数量。每行与单个比较相关, 而每列涉及倍数变化阈值							
对比	方向	任何	1.3x	2x	4x	8x	16x
ENT-01对对照(年轻)	上调	7460	1430	232	58	38	28
ENT-01对对照(年轻)	下调	7553	2367	642	144	47	12
ENT-02(MSI-1436)对对照(年轻)	上调	7346	1860	232	30	7	1
ENT-02(MSI-1436)对对照(年轻)	下调	7667	2429	531	120	43	16
ENT-01对对照(年老)	上调	7553	2430	766	317	168	116
ENT-01对对照(年老)	下调	7460	2235	431	66	25	11
ENT-02(MSI-1436)对对照(年老)	上调	7416	2109	657	298	139	42
ENT-02(MSI-1436)对对照(年老)	下调	7597	1395	203	38	7	1
年老对年轻(对照)	上调	7386	1715	312	76	28	11
年老对年轻(对照)	下调	7627	2486	734	218	85	39
年老对年轻(ENT-01)	上调	7479	1647	559	263	178	135
年老对年轻(ENT-01)	下调	7534	1606	267	69	36	27
年老对年轻(ENT-02(MSI-1436))	上调	7669	2644	676	190	78	39
年老对年轻(ENT-02(MSI-1436))	下调	7344	1986	314	63	8	4

[0899] 为了研究来自所进行的多个对比的选定基因之间的重叠,计数所进行比较的所有成对组合之间重叠的差异表达基因的数量(使用倍数变化4定义)。重叠量在图28A-28D中表示。对于每个比较,图中的值表示交集的选定基因的数量,并且颜色表示所考虑的两个对比的雅卡尔指数(交集比并集)。

[0900] 为了研究来自所进行的对比的显著基因之间的重叠,生成一组散点图,比较了对比之间的倍数变化。对在单独对比中表达差异大于四倍的那些基因进行功能富集分析。询问Reactome和GO术语数据库以鉴定显著富集差异表达基因(富集 $P < 0.05$)的相关术语。与免疫系统相关的通路,诸如血小板脱粒、抗微生物肽和补体级联反应,通常属于对比中最富集的通路。诸如角质化和角化细胞分化的通路富集了因年老小鼠中衰老或ENT-02(MSI-1436)处理而变化的基因。诸如肌肉收缩和肌节组织的通路富集了因衰老而变化的基因,但在年轻小鼠中还富集ENT-02处理影响的基因。

[0901] 使用超几何测试通过基因到基因映射(如果适当)分析来自每个对比的显著基因(在倍数变化4下)以了解Reactome通路成员富集。对选定基因的并集评估富集(p -值 < 0.05)。

[0902] 将如在本研究中鉴定的响应于ENT-02处理而差异表达的基因分别与ENT-03处理相关基因分别进行比较。先前鉴定了ENT-03处理相关的基因表达变化。

[0903] 在用于鉴定显著特征的相关统计阈值下的所有对比中,存在十个或更少的在两种处理(ENT-02和ENT-03)中的表达发生变化的基因。注意,这包括与衰老相关的基因表达变化。具体地,在两项研究的年老小鼠与年轻小鼠之间,只有一个基因Syp12的表达发生显著变化。

[0904] 比较衰老中下调的基因与处理中上调的基因揭示,受ENT-02处理影响的基因与受ENT-03影响的基因不重叠。

[0905] 进行同余分析。具体地,分析比较了人源或鲨鱼源化合物类似物对鼠胃组织基因表达谱的影响,如下:

[0906] • ENT-02 (MSI-1436) 与ENT-03比较。

[0907] 使用散点图、upset图、维恩图、超几何检验和斯皮尔曼(Spearman)等级相关检验来评估重叠水平,如图15-27所示。

[0908] 注意,使用FDR调节的 $P < 0.05$ 的统计阈值确定ENT-03特异性对比中显著差异表达的基因。而此研究中的ENT-02 (MSI-1436) 特异性对比使用大于四倍表达变化的截止值定义了显著基因。

[0909] 在衰老中下调并且在处理后上调的基因

[0910] 对于每种化合物,鉴定在衰老中显著下调和通过处理年老小鼠而上调的转录物。然后通过比较ENT-02 (MSI-1436) 影响的基因与ENT-03影响的基因来评估这些基因集合之间的同余,这些结果展示在图15的维恩图中。

[0911] 同余分析结果示出在图16中,其示出了比较了ENT-02 (MSI-1436) 对对照(年轻)中与ENT-03对未处理(年轻)中的显著基因的散点图。图22示出了比较了年老对年轻(对照)中与年老对年轻(未处理)中的显著基因的散点图。图25示出了比较了年老对年轻(ENT-02 (MSI-1436))中与年老对年轻(ENT-03)中的显著基因的散点图。

[0912] 图18示出了ENT-02 (MSI-1436) 对对照(年轻)相对于ENT-03对未处理(年轻)的显著基因的维恩图。各图都考虑了不同的集合交互;忽略扰动方向,只考虑上调基因,只考虑下调基因,或检查在一个对比中上调的基因与在另一个对比中下调的基因之间的重叠。符号 U 表示宇宙。

[0913] 同余分析结果示出在图19中,其示出了比较了ENT-02 (MSI-1436) 对对照(年老)中与ENT-03对未处理(年老)中的显著基因的散点图。图21示出了ENT-02 (MSI-1436) 对对照(年老)相对于ENT-03对未处理(年老)的显著基因的维恩图。图24示出了年老对年轻(对照)相对于年老对年轻(未处理)中的显著基因的维恩图。图27示出了年老对年轻(ENT-02 (MSI-1436))中相对于年老对年轻(ENT-03)中的显著基因的维恩图。上调基因和下调基因的维恩图。各图都考虑了不同的集合交互;忽略扰动方向,只考虑上调基因,只考虑下调基因,或检查在一个对比中上调的基因与在另一个对比中下调的基因之间的重叠。符号 U 表示宇宙。

[0914] ****

[0915] 尽管已经说明和描述了某些实施方案,但是应当理解,可以根据本领域的普通技术在其中进行改变和修改,而不背离在如以下权利要求中所限定的其更宽的范围内的技术。

[0916] 可以在不存在本文没有明确公开的任一种要素和多种要素、任何一种限制或多种限制的情况下适当地实践本文说明性描述的实施方案。因此,例如,术语“包含”、“包括”、“含有”等应当被可扩张地阅读而不受限制。另外,本文采用的术语和表达已经被用作具有描述性而没有限制性的术语,并且在使用此类术语和表达时并非意图排除所示和所述特征或其部分的任何等效物,而是认为在所要求保护的技术的范围内可以进行各种修改。另外,短语“基本上由……组成”将被理解为包括那些具体列举的元素和那些不实质影响所要求保护的技術的基本和新颖特征的那些另外元素。短语“由……组成”不包括任何未指定的元素。

[0917] 如本领域技术人员将理解的,出于任何和所有目的,特别是就提供书面描述而言,本文公开的所有范围还涵盖任何和所有可能的子范围及其子范围的组合,不包括端点。任何列出的范围都可以被容易地认识为充分描述相同范围并且使得相同范围能分解为至少相等的二分之一、三分之一、四分之一、五分之一、十分之一等。作为非限制性例子,本文中论述的每个范围可以容易地分解为下三分之一、中三分之一和上三分之一等。同样如本领域技术人员将理解的,诸如“最高”、“至少”、“大于”、“小于”等所有言辞都包括所列举的数字并且涉及随后可以分解为如上所讨论的子范围的范围。最后,如本领域技术人员将理解,范围包括每个单独的成员。

[0918] 将本说明书中提及的所有出版物、专利申请、授权专利和其他文件均通过引用并入本文,如同具体且单独地指示将每个单独的出版物、专利申请、授权专利或其他文件通过引用以其整体并入一样。在通过引用并入的文本中包含的定义与本公开文本中的定义相抵触的程度上,将其排除。

[0919] 在以下权利要求中阐述了其他实施方案。

[0920] 参考文献

[0921] Aarsland et al., “Neuropsychiatric symptoms in patients with Parkinson’s disease and dementia: frequency, profile and associated care giver stress,” J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry, 78:36-42 (2007) .

[0922] Acsadi et al., “Alpha-synuclein loss in spinal muscular atrophy,” J. Mol. Neurosci., 43(3):275-83 (2011) .

[0923] Ahima RS, Flier JS. “Leptin,” Annu Rev Physiol 62, 413-437 (2000) .

[0924] Ahima RS, Patel HR, Takahashi N, Qi Y, Hileman SM, Zasloff MA. “Appetite suppression and weight reduction by a centrally active aminosterol,” Diabetes, 51(7):2099-104 (2002) .

[0925] Akhter, S., S.K. Nath, et al. (1999). “Squalamine, a novel cationic steroid, specifically inhibits the brush-border Na⁺/H⁺ exchanger isoform NHE3.” Am J Physiol 276(1Pt 1):C136-44.

[0926] Andresen, et al., “Effect of 5 Days Linaclotide on Transit and Bowel Function in Females With Constipation-Predominant Irritable Bowel Syndrome,”

Gastroenterology, Volume 133, Issue 3, September 2007, Pages 761-768.

[0927] Antonelou et al., "Decreased levels of alpha-synuclein in cerebrospinal fluid of patients with clinically isolated syndrome and multiple sclerosis," J. Neurochem., 134(4):748-55(2015).

[0928] Antonio-Rubio, et al., "Abnormal thermography in Parkinson's disease," Parkinsonism Relat Disord., 2015 Aug; 21(8):852-7.

[0929] Auyeung et al., "Ten year survival and outcomes in a prospective cohort of new onset Chinese Parkinson's disease patients," J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry, 83:607-11(2012).

[0930] Berg et al., "MDS Research Criteria for Prodromal Parkinson's Disease," Mov. Disord., 30:1600-1611(2015).

[0931] Beach et al. Neurol Ther. 2017 Jul; 6(Suppl 1):5-13

[0932] Bhargava et al., "A phase I and pharmacokinetic study of squalamine, a novel antiangiogenic agent, in patients with advanced cancers," Clin. Cancer Res., 7:3912-9(2001).

[0933] Bjorkhem, "Five decades with oxysterols," Biochimie 95, 448-454(2013).

[0934] Boeve et al., "Synucleinopathy pathology and REM sleep behavior disorder plus dementia or parkinsonism," Neurology 61(1):40-5(July 2003).

[0935] A.E. Boniakowski et al., Murine macrophage chemokine receptor CCR2 plays a crucial role in macrophage recruitment and regulated inflammation in wound healing. Eur J Immunol 48, 1445-1455(2018).

[0936] (a) Braak et al., "Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen," J. Neural Transm. (Vienna), 110:517-36(2003).

[0937] (b) Braak et al., "Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease," Neurobiol. Aging, 24:197-211(2003).

[0938] Breen, et al., "Sleep and circadian rhythm regulation in early Parkinson disease," JAMA Neurol., 2014 May; 71(5):589-595.

[0939] Brundin, et al., "Prying into the Prion Hypothesis for Parkinson's Disease," J Neurosci., 2017 Oct 11; 37(41):9808-9818.

[0940] Brunel et al., "Squalamine: A Polyvalent Drug of the Future?" Current Cancer Drug Targets, 5(4):267-272(6) (2005)

[0941] Celotti, et al., "The 5 alpha-reductase in the brain: molecular aspects and relation to brain function," Front Neuroendocrinol 13, 163-215(1992).

[0942] Chen, et al., "Allosteric inhibition of SHP2 phosphatase inhibits cancers driven by receptor tyrosine kinases," Nature 535, 148-152(2016).

[0943] Claassen et al., "REM sleep behavior disorder preceding other aspects of synucleinopathies by up to half a century," Neurology, 75(6):494-499 (Aug. 2010).

- [0944] Combs AP, "Recent advances in the discovery of competitive protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors for the treatment of diabetes, obesity, and cancer" J. Med. Chem., 53(6):2333-44(2010)
- [0945] Connolly, et al., "Squalamine Lactate for Exudative Age-Related Macular Degeneration," Ophthalmology Clinics of North America, 19, 381-391(2006).
- [0946] Corrochano et al., " α -synuclein levels modulate Huntington's disease in mice," Hum. Mol. Genet., 21(3):485-94(Feb. 2012).
- [0947] Courtney, et al., "CD45 functions as a signaling gatekeeper in T cells," Sci Signal 12, (2019).
- [0948] Crick et al., "The oxysterol and cholestenic acid profile of mouse cerebrospinal fluid," Steroids, 99, 172-177(2015).
- [0949] Demirel et al., "Decreased Expression of α -Synuclein, Nogo-A and UCH-L1 in Patients with Schizophrenia: A Preliminary Serum Study," Psychiatry Invest., 14(3) (2017).
- [0950] Diederich et al., "Hallucinations in Parkinson disease," Nat. Rev. Neurol., 5:331-42(2006).
- [0951] Edlmann, et al., "Pathophysiology of chronic subdural haematoma: inflammation, angiogenesis and implications for pharmacotherapy," J Neuroinflammation 14, 108(2017).
- [0952] Elchebly et al., "Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene" Science. 1999 Mar 5; 283(5407):1544-8.
- [0953] Eswaran et al., "Crystal structures and inhibitor identification for PTPN5, PTPRR and PTPN7: a family of human MAPK-specific protein tyrosine phosphatases," Biochem J, 395, 483-491(2006).
- [0954] Fahn S ER, Members of the UPDRS Development Committee. UNIFIED PARKINSON'S DISEASE RATING SCALE. Florham Park, NJ: Macmillan Health Care Information(1987).
- [0955] J. Garcia Fortanet et al., "Allosteric Inhibition of SHP2: Identification of a Potent, Selective, and Orally Efficacious Phosphatase Inhibitor." J Med Chem 59, 7773-7782(2016)
- [0956] Frank, et al., "Psychometric validation of a constipation symptom assessment questionnaire," Scand J Gastroenterol., 1999 Sep; 34(9):870-7.
- [0957] Frislinia, et al., "The neuropathological basis for depression in Parkinson's disease," Parkinsonism Relat Disord., 2009 Feb; 15(2):144-148.
- [0958] Fukunaga, et al., "Role of MAP kinase in neurons," Mol Neurobiol 16, 79-95(1998).
- [0959] Genaidy, et al., "Effect of Squalamine on Iris Neovascularization in Monkeys," Retina, December 2002-Volume 22-Issue 6-p 772-778.

- [0960] Gjerstad et al., "Excessive daytime sleepiness in Parkinson disease: is it the drugs or the disease?" *Neurology*, 67:853-8 (2006).
- [0961] Goetz, et al., "Risk factors for nursing home placement in advanced Parkinson's disease," *Neurology*, 43:2227-9 (1993).
- [0962] Griffiths, et al., "Oxysterol research: a brief review," *Biochem Soc Trans* 47, 517-526 (2019).
- [0963] Hao et al., "A Phase I and pharmacokinetic study of squalamine, an aminosterol angiogenesis inhibitor," *Clin. Cancer Res.*, 9:2465-71 (2003).
- [0964] Heaton, et al., "Defecation frequency and timing, and stool form in the general population: a prospective study," *Gut*, 1992 Jun; 33(6):818-824.
- [0965] Herbst, Roy S. et al., "A Phase I/IIA Trial of Continuous Five-Day Infusion of Squalamine Lactate (MSI-1256F) Plus Carboplatin and Paclitaxel in Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer," *Clin. Cancer Res.* 9(11) (2003).
- [0966] Higgins, et al., "Regression of Retinopathy by Squalamine in a Mouse Model," *Pediatric Research*, volume 56, pages 144-149 (2004).
- [0967] Higgins, et al., "Squalamine Improves Retinal Neovascularization," *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, May 2000, Vol. 41, 1507-1512.
- [0968] Hofmann, et al., "Bile salts of vertebrates: structural variation and possible evolutionary significance," *J Lipid Res* 51, 226-246 (2010).
- [0969] Holmqvist, et al., "Direct evidence of Parkinson pathology spread from the gastrointestinal tract to the brain in rats," *Acta neuropathologica*, 128.10.1007/s00401-014-1343-6 (2014).
- [0970] Hosokawa et al., "Accumulation of multiple neurodegenerative disease-related proteins in familial frontotemporal lobar degeneration associated with granulin mutation," *Scientific Reports*, 7:1513 (2017).
- [0971] S. Huber et al., "IL-22BP is regulated by the inflammasome and modulates tumorigenesis in the intestine." *Nature* 491, 259-263 (2012).
- [0972] Hughes, et al., "What features improve the accuracy of clinical diagnosis in Parkinson's disease," *Neurology*, June 01, 1992; 42(6).
- [0973] Javitt, "25R, 26-Hydroxycholesterol revisited: synthesis, metabolism, and biologic roles," *J Lipid Res* 43, 665-670 (2002).
- [0974] Kim et al., "Poststroke Induction of α -Synuclein Mediates Ischemic Brain Damage," *J. Neurosci.*, 36(26):7055-65 (2016).
- [0975] Kimura, et al., "Profile of urinary bile acids in infants and children: developmental pattern of excretion of unsaturated ketonic bile acids and 7 β -hydroxylated bile acids," *Pediatr Res* 45, 603-609 (1999).
- [0976] Krishnan, et al., "Targeting the disordered C terminus of PTP1B with an allosteric inhibitor," *Nat Chem Biol* 10, 558-566 (2014).

- [0977] Krishnan et al., "A potent, selective, and orally bioavailable inhibitor of the protein-tyrosine phosphatase PTP1B improves insulin and leptin signaling in animal models," *J. Biol. Chem.*, 293(5):1517-1525 (Feb. 2, 2018).
- [0978] Kuo, et al., "Tyrosine phosphatases Shp1 and Shp2 have unique and opposing roles in oligodendrocyte development," *J Neurochem* 113, 200-212 (2010).
- [0979] Lantz, et al., "Inhibition of PTP1B by trodusquemine (MSI-1436) causes fat-specific weight loss in diet-induced obese mice," *Obesity (Silver Spring)* 18, 1516-1523 (2010).
- [0980] Lee, et al., "Protein tyrosine phosphatase-PEST and beta8 integrin regulate spatiotemporal patterns of RhoGDI1 activation in migrating cells," *Mol Cell Biol* 35, 1401-1413 (2015).
- [0981] Lewis, et al., "Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time," *Scand J Gastroenterol.*, 1997;32:920-924.
- [0982] S.M. Lewis, A. Williams, S.C. Eisenbarth, Structure and function of the immune system in the spleen. *Sci Immunol* 4, (2019).
- [0983] Limbocker, et al., "Trodusquemine enhances Abeta42 aggregation but suppresses its toxicity by displacing oligomers from cell membranes," *Nat Commun* 10, 225 (2019).
- [0984] Lin, et al., "Genetics and genomics of Parkinson's disease," *Genome Medicine*, 2014 6:48.
- [0985] Liu, et al., "Nuclear hormone receptor regulation of microRNAs controls innate immune responses in *C. elegans*," *PLoS Pathog* 9, e1003545 (2013).
- [0986] Looney, et al., "Intracranial hemorrhage in asymptomatic neonates: prevalence on MR images and relationship to obstetric and neonatal risk factors," *Radiology* 242, 535-541 (2007).
- [0987] MacDonald, D. (1995). "Squalamine for STDs." Abstract no F7 35th ICAAC conference.
- [0988] Madrid-Navarro, et al., "Multidimensional Circadian Monitoring by Wearable Biosensors in Parkinson's Disease," *Front Neurol.*, 2018;9:157.
- [0989] Magen et al., "Mouse Models of Cognitive Deficits Due to Alpha-Synuclein Pathology," *J. of Parkinson's Dis.*, 1:217-227 (2011).
- [0990] Marquis, et al., "Development and validation of the Patient Assessment of Constipation Quality of Life questionnaire," *Scand J Gastroenterol.*, 2005 May;40(5):540-51.
- [0991] Mahanti, et al., "Comparative metabolomics reveals endogenous ligands of DAF-12, a nuclear hormone receptor, regulating *C. elegans* development and lifespan," *Cell Metab* 19, 73-83 (2014).
- [0992] McDowell et al., "Sleep dysfunction and EEG alterations in mice overexpressing alpha-synuclein," *J. Parkinsons Dis.*, 4(3):531-539 (2014).

- [0993] McKhann,et al.,“The diagnosis of dementia due to Alzheimer’s disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer’s Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer’s disease,”*Alzheimers Dement.*,2011 May;7(3):263-9.
- [0994] Meaney,et al.,“Novel route for elimination of brain oxysterols across the blood-brain barrier:conversion into 7 α -hydroxy-3-oxo-4-cholestenoic acid,”*J Lipid Res* 48,944-951(2007).
- [0995] Mearin et al.,“Bowel Disorders,”*Gastroenterology*,150(6):1393-1407 (2016).
- [0996] Moore,et al.,“Squalamine:an aminosterol antibiotic from the shark,”*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90,1354-1358(1993).
- [0997] Morairty,“Detecting Neurodegenerative Diseases Before Damage Is Done,”SRI International(July 26,2013).
- [0998] Y.Morita et al.,Functional characterization of hematopoietic stem cells in the spleen.*Exp Hematol* 39,351-359 e353(2011).
- [0999] Motola,et al.,“Identification of ligands for DAF-12 that govern dauer formation and reproduction in *C.elegans*,”*Cell* 124,1209-1223(2006).
- [1000] Moussaud et al.,“Alpha-synuclein and tau:teammates in neurodegeneration?”*Mol.Neurodeg.*,9:43(2014).
- [1001] Mucke,et al.,“High-level neuronal expression of abeta 1-42 in wild-type human amyloid protein precursor transgenic mice:synaptotoxicity without plaque formation,”*J Neurosci* 20,4050-4058(2000).
- [1002] Mucke,et al.,“High-Level Neuronal Expression of A β 1-42 in Wild-Type Human Amyloid Protein Precursor Transgenic Mice:Synaptotoxicity without Plaque Formation,”*The Journal of Neuroscience* 20,4050-4058(2000).
- [1003] Nagata,et al.,“Changes in the level of 7 α -hydroxy-3-oxo-4-cholestenoic acid in cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage,”*Neurol Med Chir(Tokyo)*35,294-297(1995).
- [1004] Nagata,et al.,“Identification of 7 α -hydroxy-3-oxo-4-cholestenoic acid in chronic subdural hematoma,”*Biochim Biophys Acta* 1126,229-236(1992).
- [1005] Nakagawa,et al.,“Bile acid metabolism in early life:studies of amniotic fluid,”*J Lipid Res* 31,1089-1098(1990).
- [1006] Ogundare,et al.,“Cerebrospinal fluid steroidomics:are bioactive bile acids present in brain?”*J Biol Chem* 285,4666-4679(2010).
- [1007] Ondo et al.,“Daytime sleepiness and other sleep disorders in Parkinson’s disease,”*Neurology*,57:1392-6(2001).
- [1008] Ondo,et al.,“Placebo-controlled trial of lubiprostone for constipation associated with Parkinson disease,”*Neurology*,2012 May 22;78(21):

1650-4.

[1009] Ortiz-Tudela et al., "Ambulatory circadian monitoring (ACM) based on thermometry, motor activity and body position (TAP): a comparison with polysomnography," *Physiol. Behav.*, 126:30-8 (2014).

[1010] Palma et al., "Treatment of autonomic dysfunction in Parkinson disease and other synucleinopathies". *Mov. Disord. (Review)*, 33(3):372-90 (March 2018).

[1011] Palsetia et al., "The Clock Drawing Test versus Mini-mental Status Examination as a Screening Tool for Dementia: A Clinical Comparison," *Indian J. Psychol. Med.*, 40:1-10 (2018).

[1012] Pandey, et al., "LM04 is required to maintain hypothalamic insulin signaling," *Biochem Biophys Res Commun* 450, 666-672 (2014).

[1013] Pandey, et al., "The LIM domain only 4 protein is a metabolic responsive inhibitor of protein tyrosine phosphatase 1B that controls hypothalamic leptin signaling," *J Neurosci* 33, 12647-12655 (2013).

[1014] Papapetropoulos et al., "A questionnaire-based (UM-PDHQ) study of hallucinations in Parkinson's disease," *BMC Neurol.*, 8:21 (2008).

[1015] Pelkmans, L. and A. Helenius (2003). "Insider information: what viruses tell us about endocytosis." *Curr Opin Cell Biol* 15(4):414-22.

[1016] Perni, et al., "Multistep Inhibition of alpha-Synuclein Aggregation and Toxicity in Vitro and in Vivo by Trodusquemine," *ACS Chem Biol* 13, 2308-2319 (2018).

[1017] Phillips, et al., "Alpha-synuclein-immunopositive myenteric neurons and vagal preganglionic terminals: autonomic pathway implicated in Parkinson's disease?," *Neuroscience*. 2008 May 15; 153(3):733-50.

[1018] Pulido, et al., "PTPs emerge as PIPs: protein tyrosine phosphatases with lipid-phosphatase activities in human disease," *Hum Mol Genet* 22, R66-76 (2013).

[1019] Qin, et al., "Chronic stress induces anxiety via an amygdalar intracellular cascade that impairs endocannabinoid signaling," *Neuron* 85, 1319-1331 (2015).

[1020] Rao, et al., "Aminosterols from the dogfish shark *Squalus acanthias*," *J Nat Prod* 63, 631-635 (2000).

[1021] Ricke, et al., "Neuronal Protein Tyrosine Phosphatase 1B Hastens Amyloid beta-Associated Alzheimer's Disease in Mice," *J Neurosci* 40, 1581-1593 (2020).

[1022] Rocca et al., "The Role of T1-Weighted Derived Measures of Neurodegeneration for Assessing Disability Progression in Multiple Sclerosis," *Front Neurol.*, 8:433 (Sept. 4, 2017).

[1023] Saeed, et al., "7alpha-hydroxy-3-oxo-4-cholestenoic acid in cerebrospinal fluid reflects the integrity of the blood-brain barrier," *J*

Lipid Res 55,313-318(2014) .

[1024] Saeed,et al., "Effects of a disrupted blood-brain barrier on cholesterol homeostasis in the brain," J Biol Chem 289,23712-23722(2014) .

[1025] Salmi et al., "Squalamine:An Appropriate Strategy against the Emergence of Multidrug Resistant Gram-Negative Bacteria?" PLoS One.3(7):e2765 (2008) .

[1026] Sarabia et al., "Circadian rhythm of wrist temperature in normal-living subjects A candidate of new index of the circadian system," Physiol.Behav.,95:570-80(2008) .

[1027] Schiller,JH and G.Bittner, "Potentiation of platinum antitumor effects in human lung tumor xenografts by the angiogenesis inhibitor squalamine: effects on tumor neovascularization," Clin Cancer Res.5(12):4287-94(1999) .

[1028] Shehata et al., "Neuronal stimulation induces autophagy in hippocampal neurons that is involved in AMPA receptor degradation after chemical long-term depression," J.Neurosci.,32:10413-22(2012) .

[1029] A.Shibuya et al., Fc alpha/mu receptor mediates endocytosis of IgM-coated microbes. Nat Immunol 1,441-446(2000) .

[1030] Sills Jr.,Allen K.,et al., "Squalamine Inhibits Angiogenesis and Solid Tumor Growth in Vivo and Perturbs Embryonic Vasculature," Cancer Research 58: 2784-2792(1998) .

[1031] Smith,et al., "The protein tyrosine phosphatase 1B inhibitor MSI-1436 stimulates regeneration of heart and multiple other tissues," NPJ Regen Med 2, 4(2017) .

[1032] Sokoloff,et al., "Adjunctive therapy for men with high risk localized and locally advanced prostate cancer:targeting disseminated tumor cells," J Urol.,2004 Dec;172(6 Pt 2):2539-44.

[1033] R.Spolski,W.J.Leonard, Interleukin-21:a double-edged sword with therapeutic potential. Nat Rev Drug Discov 13,379-395(2014) .

[1034] Sriwimol and Limprasert, "Significant Changes in Plasma Alpha-Synuclein and Beta-Synuclein Levels in Male Children with Autism Spectrum Disorder," BioMed Research International,2018,7 pages(2018) .

[1035] Steer et al., "Use of the Beck Depression Inventory-II with depressed geriatric inpatients," Behav.Res.Ther.,38:311-8(2000) .

[1036] Stiasny-Kolster et al., "The REM sleep behavior disorder screening questionnaire--a new diagnostic instrument," Movement disorders:Official J.of the Movement Dis.Soc.,22:2386-93(2007) .

[1037] Stoessl, "Neuroimaging in the early diagnosis of neurodegenerative disease," Transl.Neurodegener.,1:5(2012) .

[1038] U.Svajger,M.Anderluh,M.Jeras,N.Obermajer,C-type lectin DC-SIGN:an

adhesion,signalling and antigen-uptake molecule that guides dendritic cells in immunity.Cell Signal 22,1397-1405(2010) .

[1039] Svensson,et al.,“Vagotomy and subsequent risk of Parkinson’s disease,”Ann.Neurol.,2015;78:522-529.

[1040] Takahashi,et al.,“A novel aminosterol reverses diabetes and fatty liver disease in obese mice,”J Hepatol 41,391-398(2004) .

[1041] The US Burden of Disease Collaborators,“The State of US Health,1990-2016:Burden of Diseases,Injuries,and Risk Factors Among US States,”JAMA,319 (14):1444-1472(2018)

[1042] Thompson,et al.,“Pharmacological inhibition of protein tyrosine phosphatase 1B protects against atherosclerotic plaque formation in the LDLR (-/-)mouse model of atherosclerosis,”Clin Sci(Lond)131,2489-2501(2017) .

[1043] Videnovic,et al.,“Circadian Dysregulation in Parkinson’s Disease,”Neurobiol Sleep Circadian Rhythms,2017 Jan;2:53-58.

[1044] Wahlen,et al.,“Ketonic bile acids in urine of infants during the neonatal period,”J Lipid Res 30,1847-1857(1989) .

[1045] Williams,JI et al.,“Squalamine treatment of human tumors in nu/nu mice enhances platinum-based chemotherapies,”Clin Cancer Res. (2001) .

[1046] Wiesmann,C et al.,2004.Nat.Struct.Mol.Biol.11,730.

[1047] Wimo,et al.,“The worldwide economic impact of dementia 2010,”Alzheimer’s Dement.,9:1-11(2013) .

[1048] F.M.Wolber et al.,Roles of spleen and liver in development of the murine hematopoietic system.Exp Hematol 30,1010-1019(2002) .

[1049] Yamashima,“The inner membrane of chronic subdural hematomas:pathology and pathophysiology,”Neurosurg Clin N Am 11,413-424(2000) .

[1050] Yancopoulou et al.,“Tau and alpha-synuclein inclusions in a case of familial frontotemporal dementia and progressive aphasia,”J.Neuropathol.Exp.Neurol.,64(3):245-53(2005) .

[1051] Yin,M.,C.Gentili,et al. (2002).“Antiangiogenic treatment delays chondrocyte maturation and bone formation during limb skeletogenesis,”J.Bone Miner Res 17(1):56-65.

[1052] Yoshiyama,et al.,“Synapse loss and microglial activation precede tangles in a P301S tauopathy mouse model,”Neuron 53,337-351(2007) .

[1053] Zabolotny,et al.,“PTP1B regulates leptin signal transduction in vivo,”Dev Cell 2,489-495(2002) .

[1054] Zahodne,et al.,“Components of Depression in Parkinson Disease,”J Geriatr Psychiatry Neurol.,2012 Sep;25(3):131-137.

[1055] Zasloff,et al.,“A spermine-coupled cholesterol metabolite from the shark with potent appetite suppressant and antidiabetic properties,”Int J

Obes Relat Metab Disord.,2001 May;25(5):689-97.

[1056] Zasloff,et al., "A spermine-coupled cholesterol metabolite from the shark with potent appetite suppressant and antidiabetic properties," Int J Obes Relat Metab Disord 25,689-697(2001).

[1057] Zhang,et al., "Metabolism of 27-,25-and 24-hydroxycholesterol in rat glial cells and neurons," Biochem J 322(Pt 1),175-184(1997).

[1058] Zhang,et al., "Neuronal Shp2 tyrosine phosphatase controls energy balance and metabolism," Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101,16064-16069(2004).

[1059] Zheng,et al., "Gain-of-function mutations in the gene encoding the tyrosine phosphatase SHP2 induce hydrocephalus in a catalytically dependent manner," Sci Signal 11, (2018).

[1060] Zhao et al., "A comparative study of the amount of α -synuclein in ischemic stroke and Parkinson's disease," Neurol.Sci.,37(5):749-54(2016).

[1061] Zinsmeister et al., "Pharmacodynamic and clinical endpoints for functional colonic disorders:statistical considerations," Dig.Dis.Sci.,58:509-18(2013).

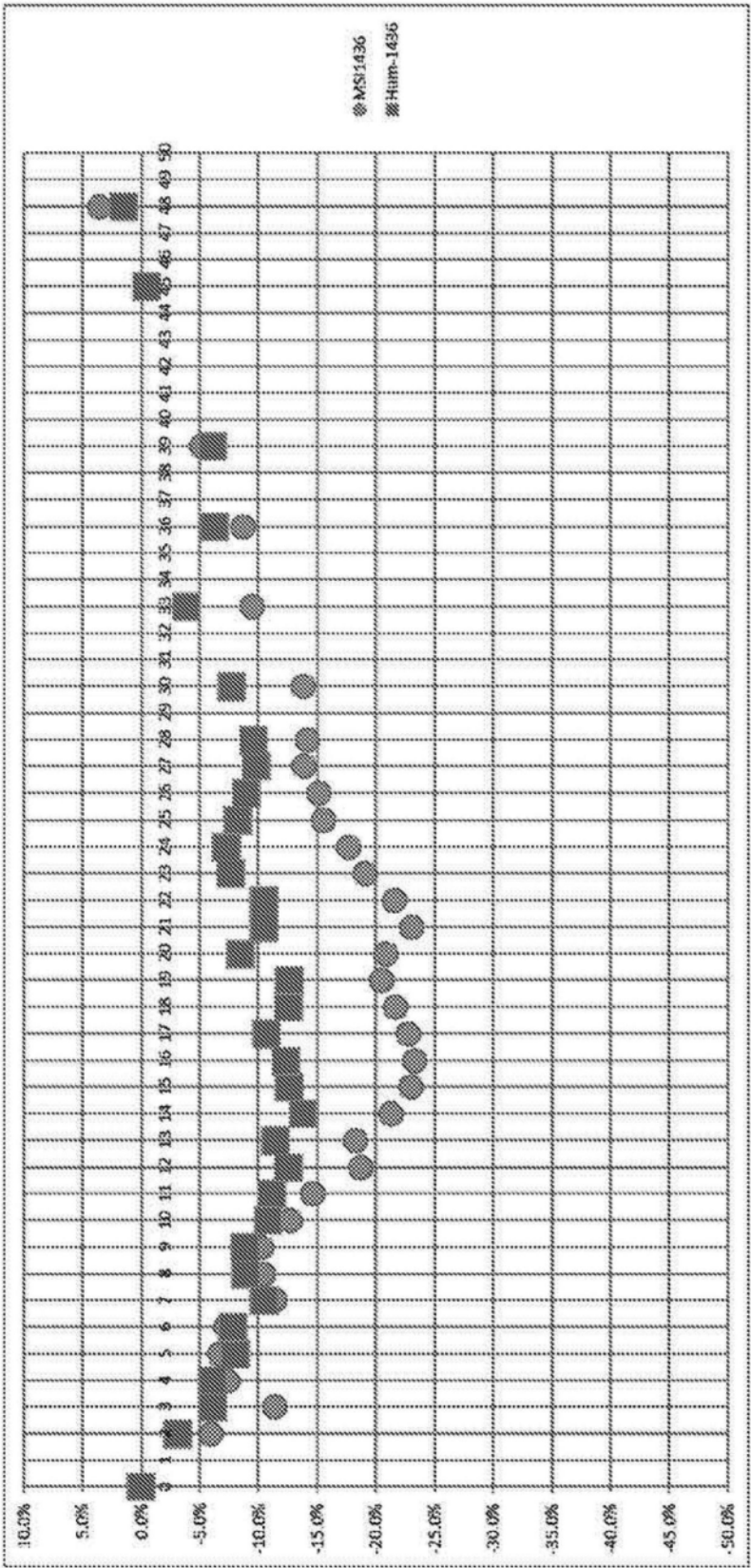


图1A

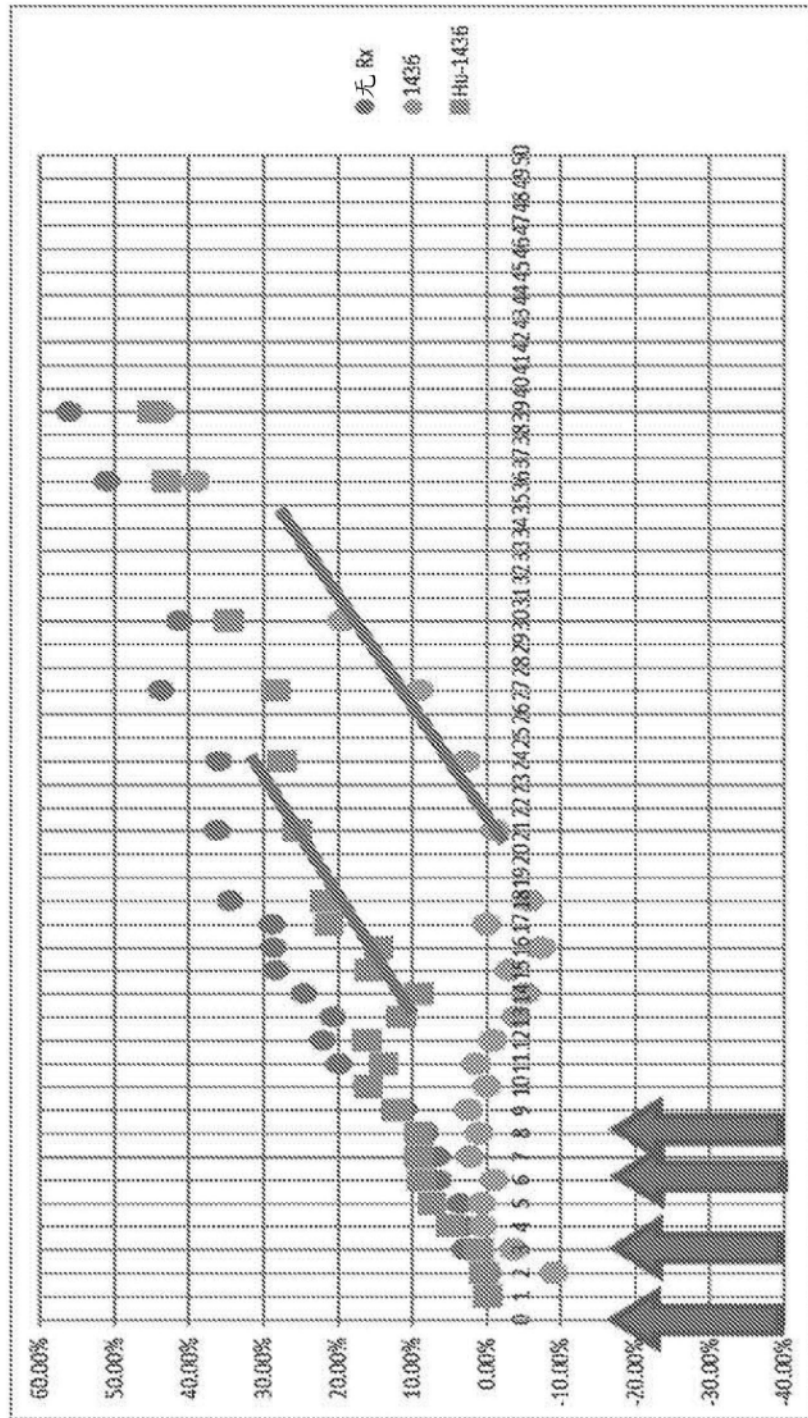


图1B

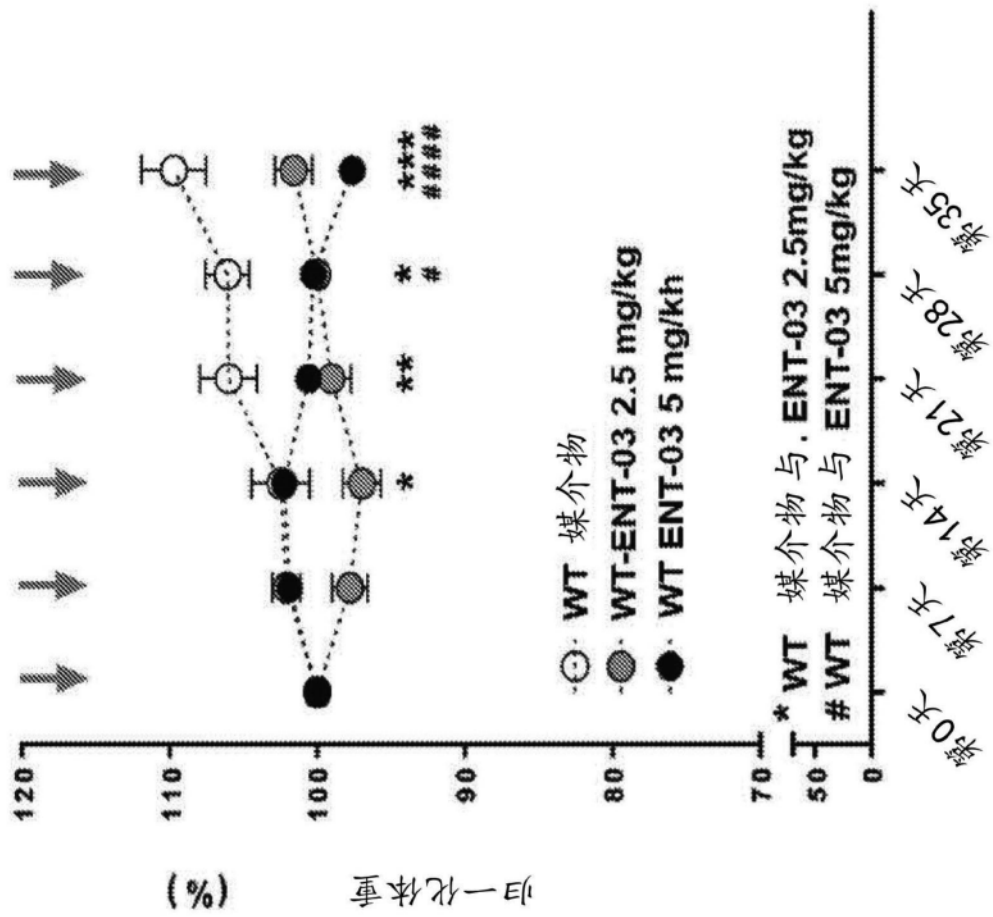


图1C

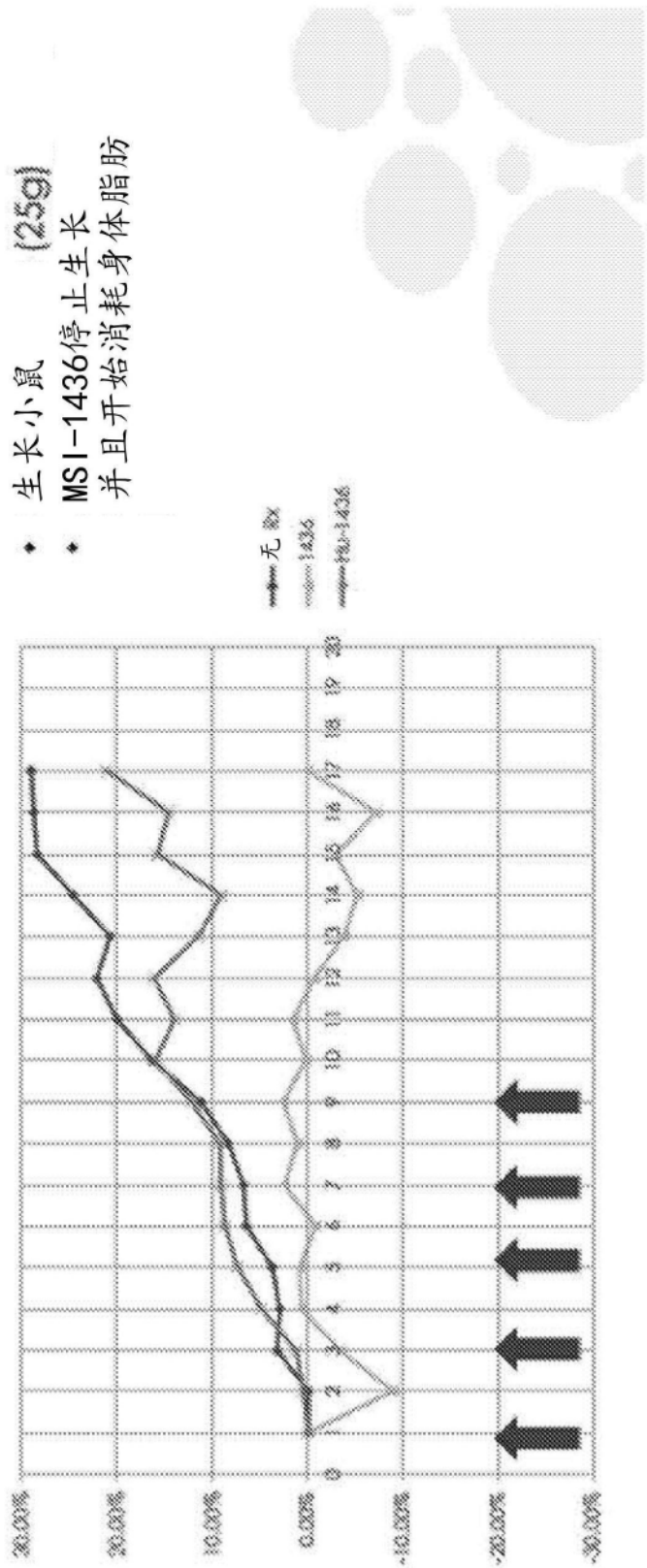


图2

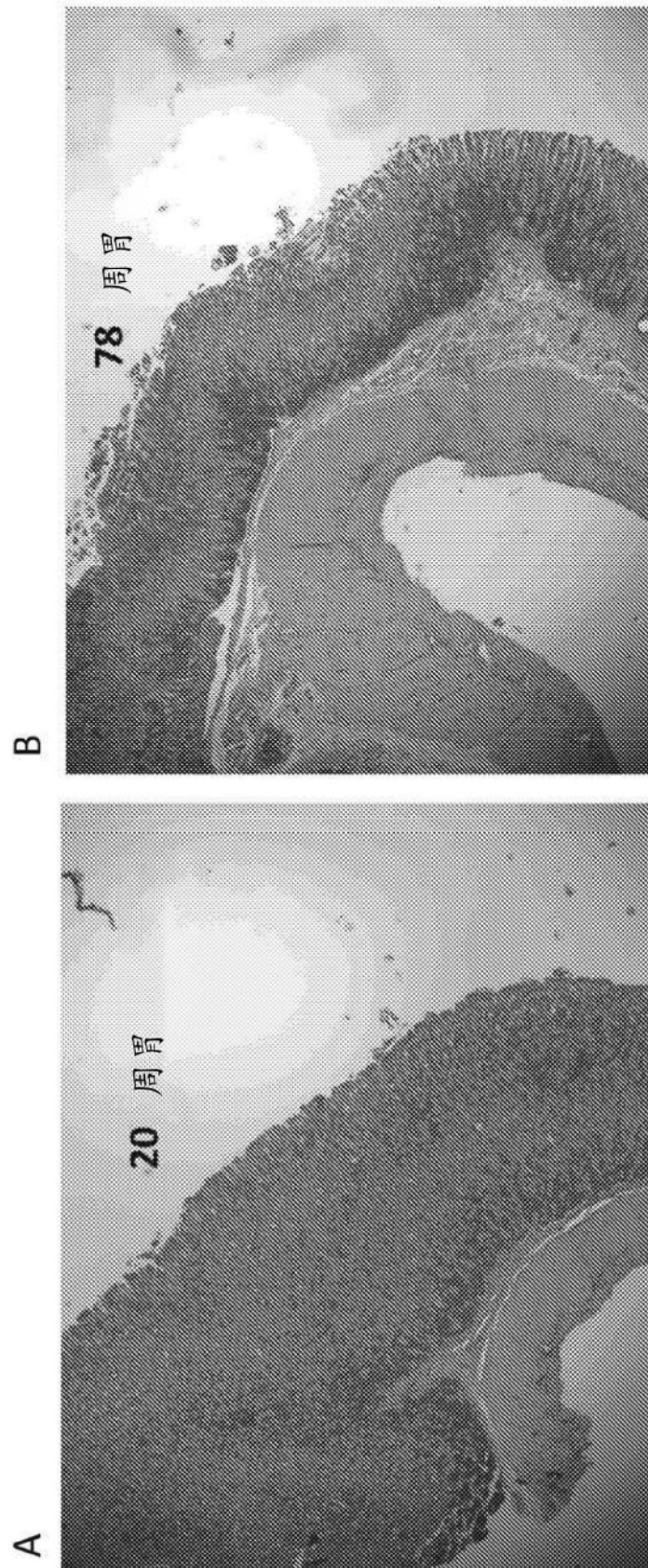


图3

A

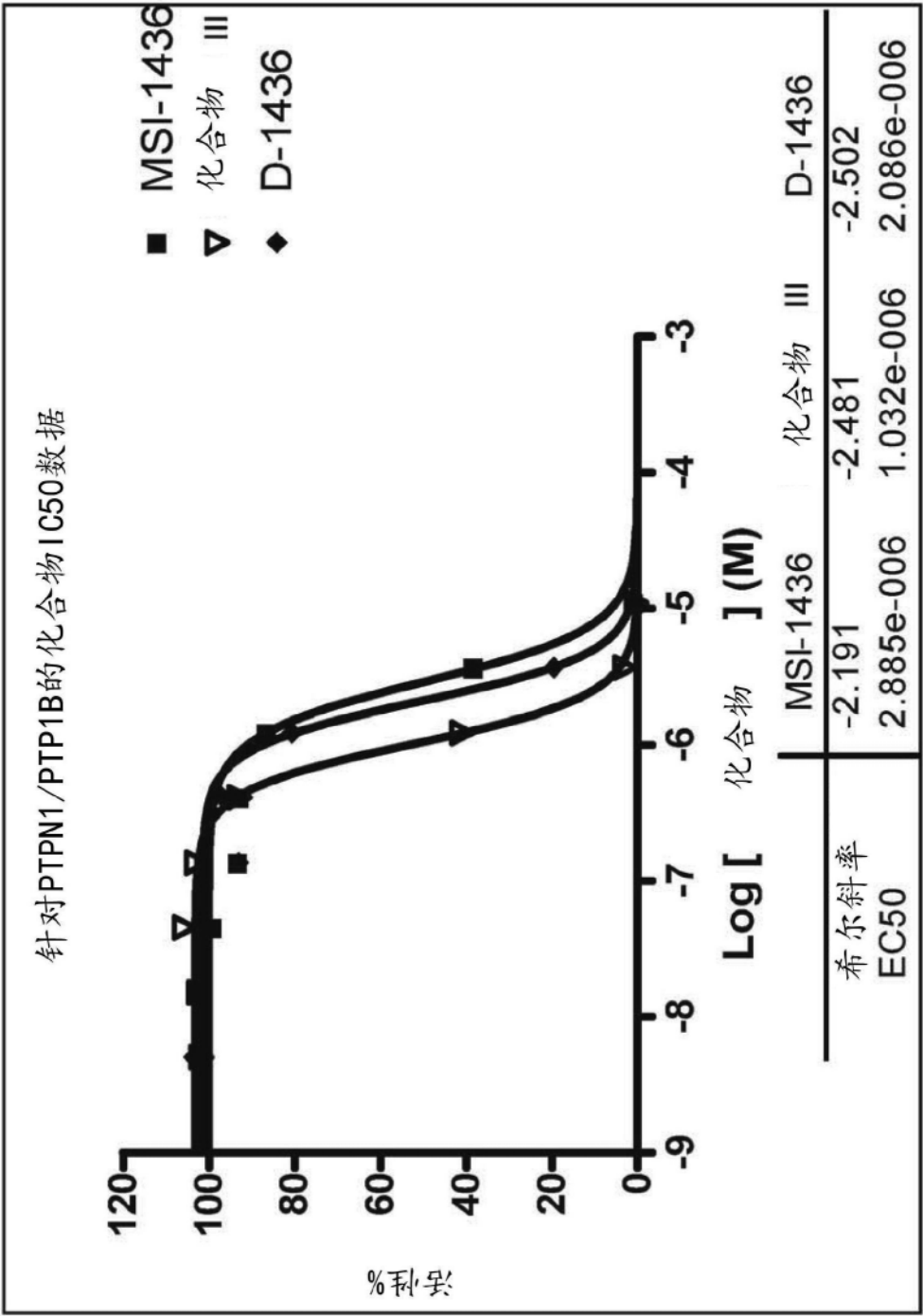


图4A

B

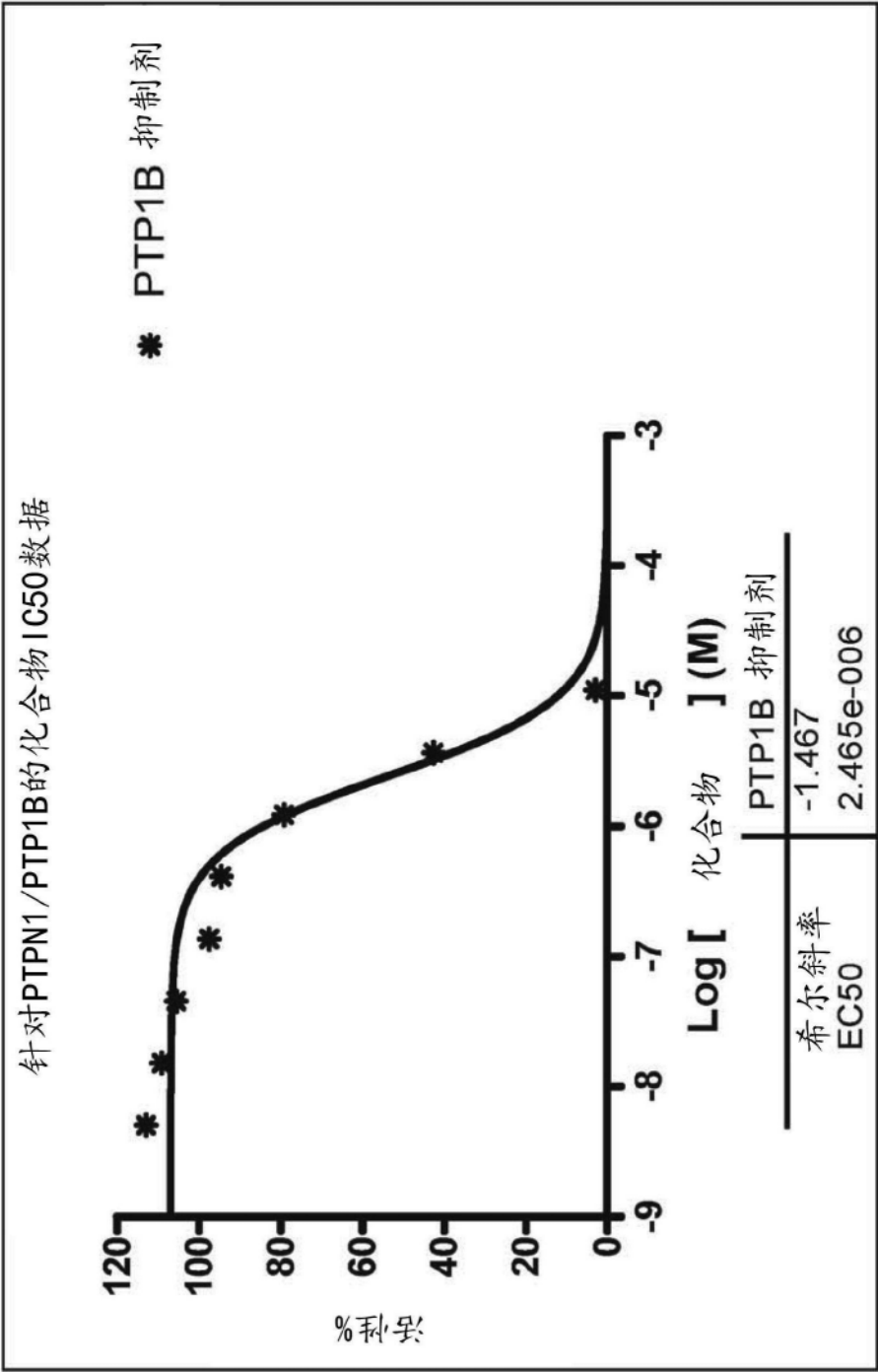


图4B

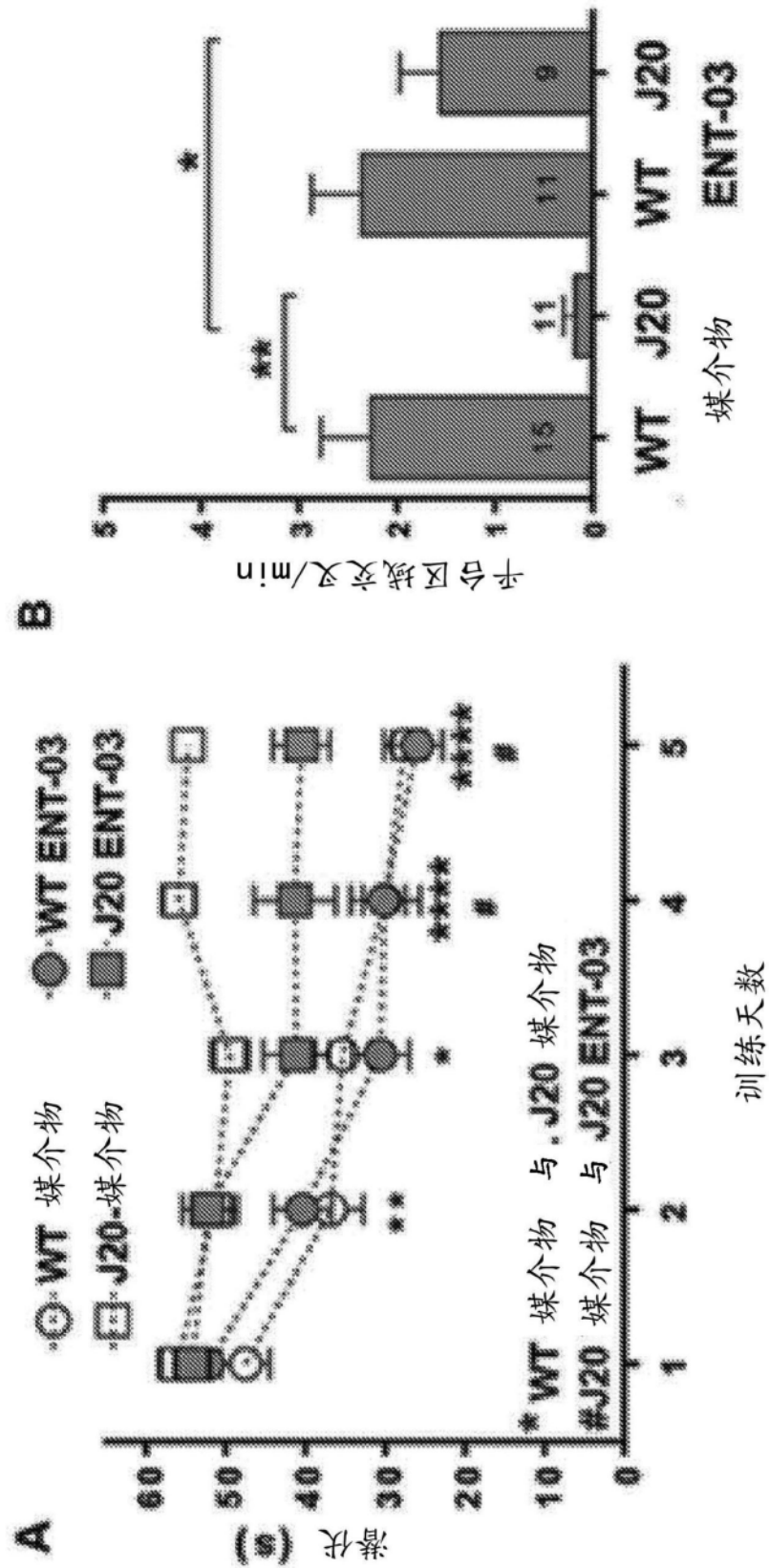


图5A和图5B

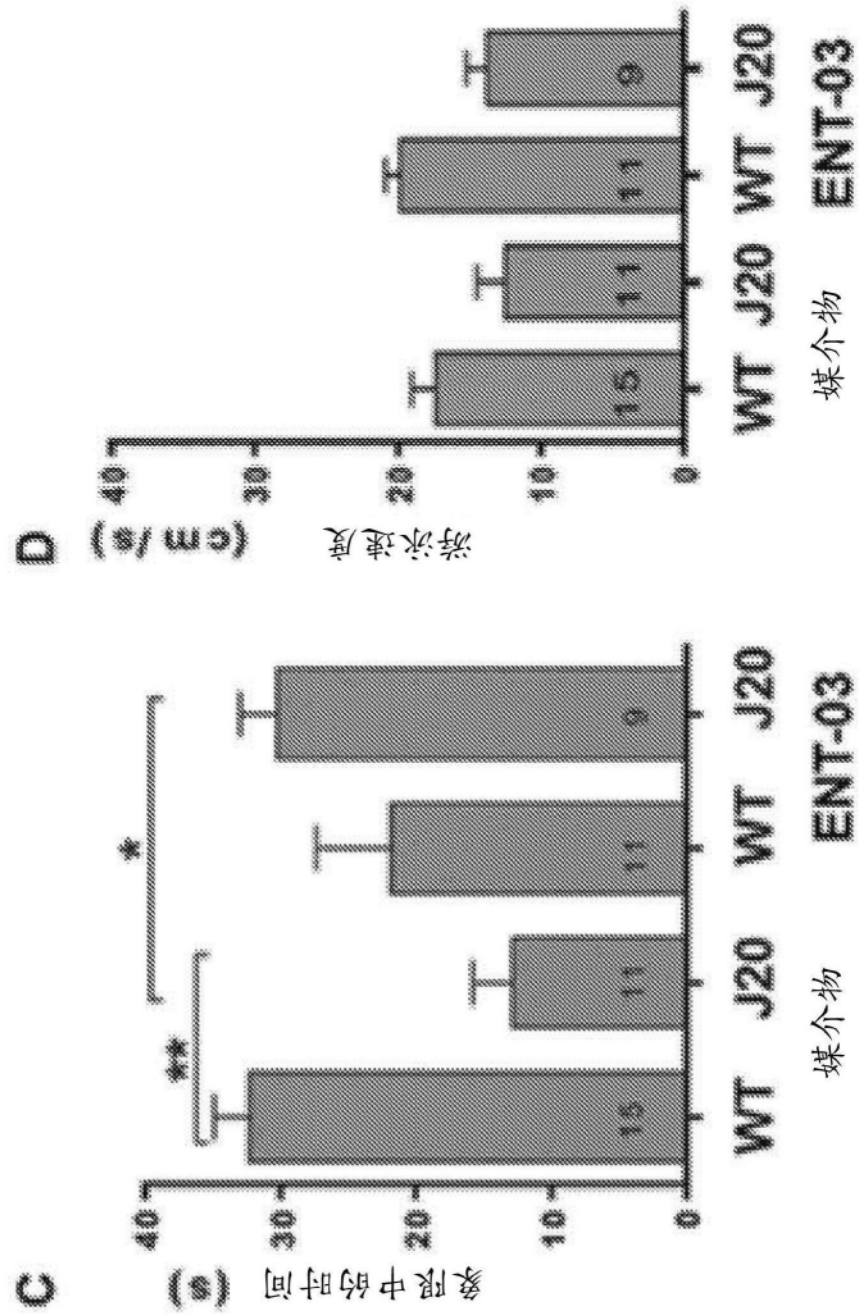


图5C和图5D

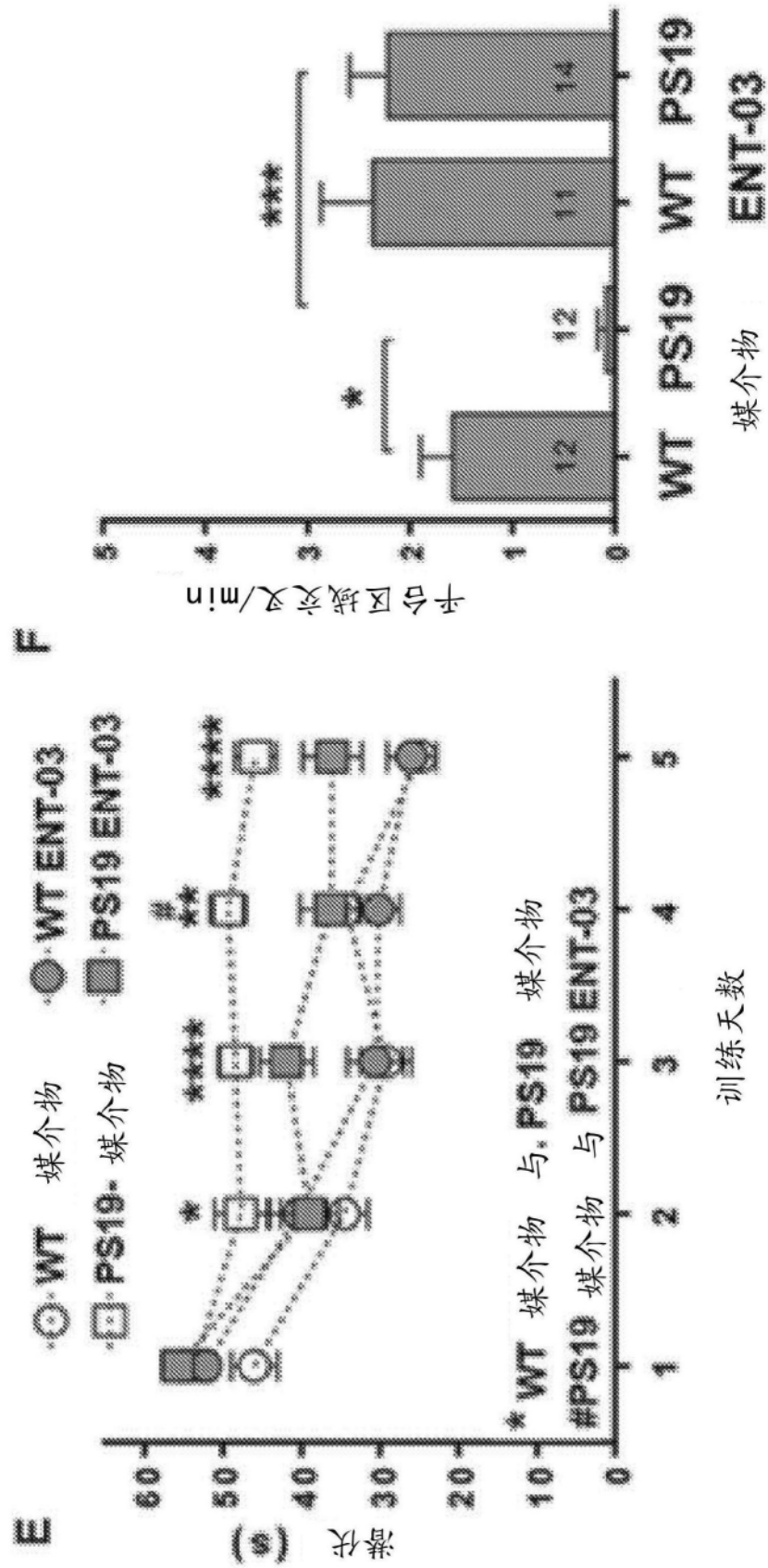


图5E和图5F

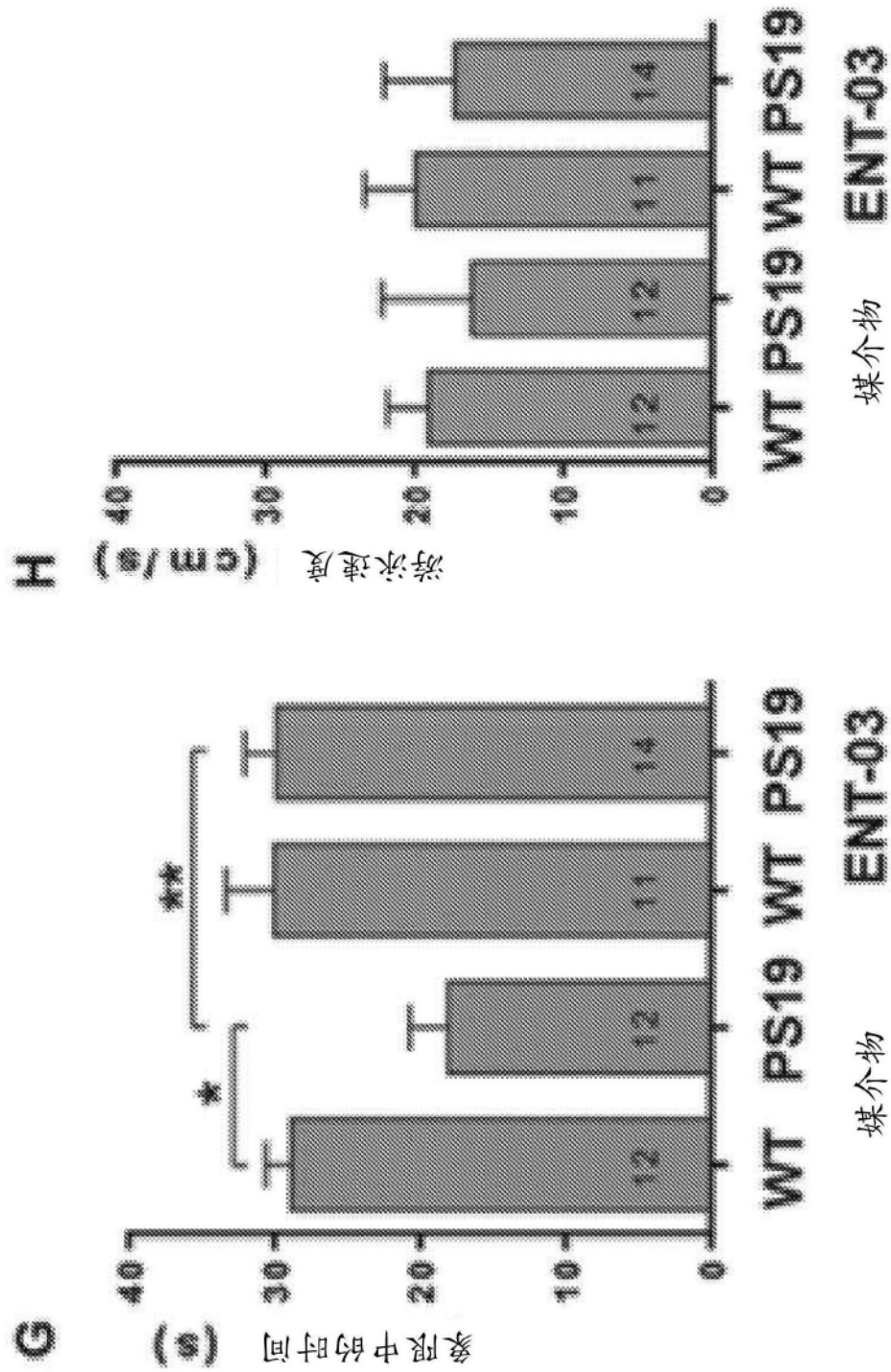


图5G和图5H

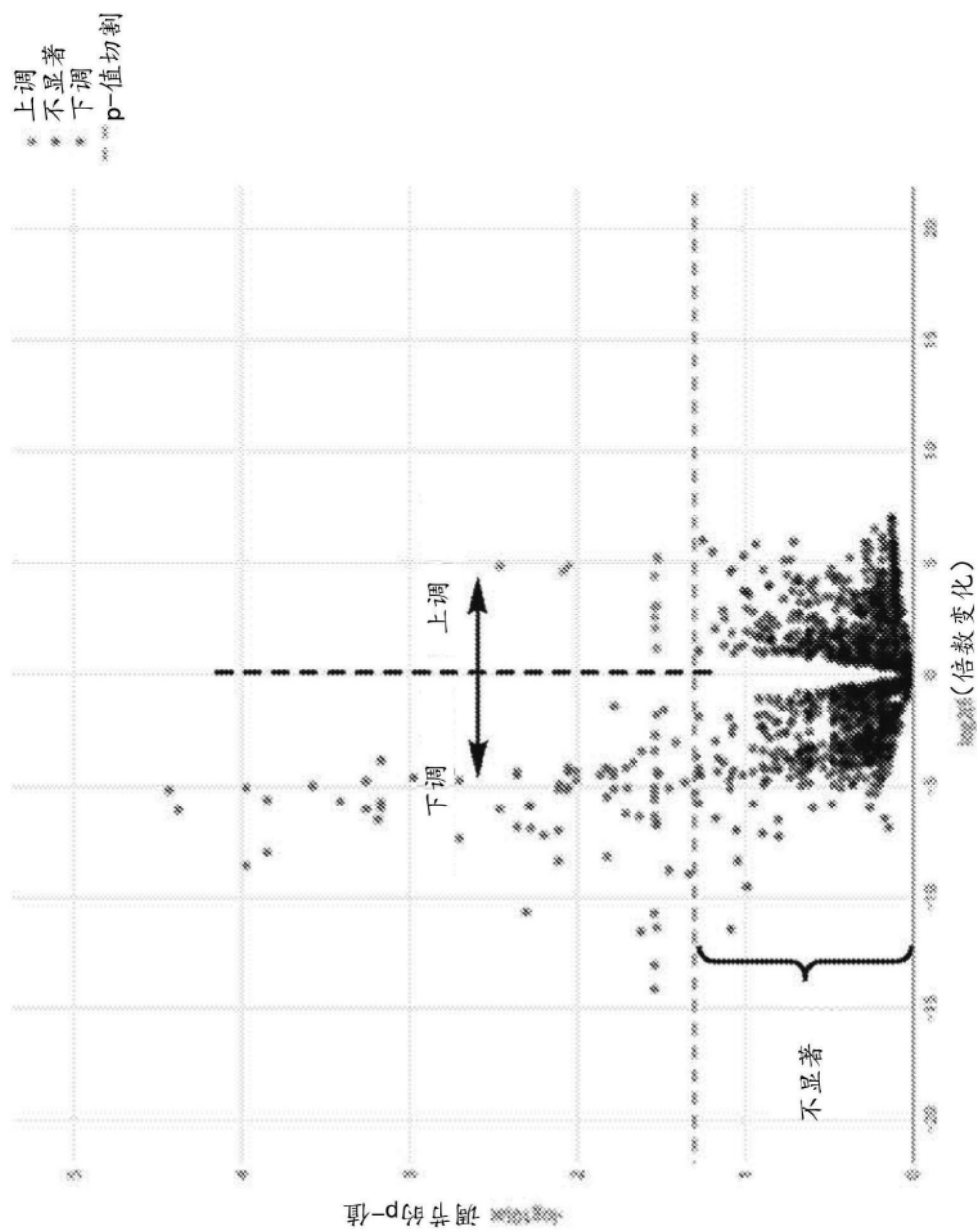


图6A

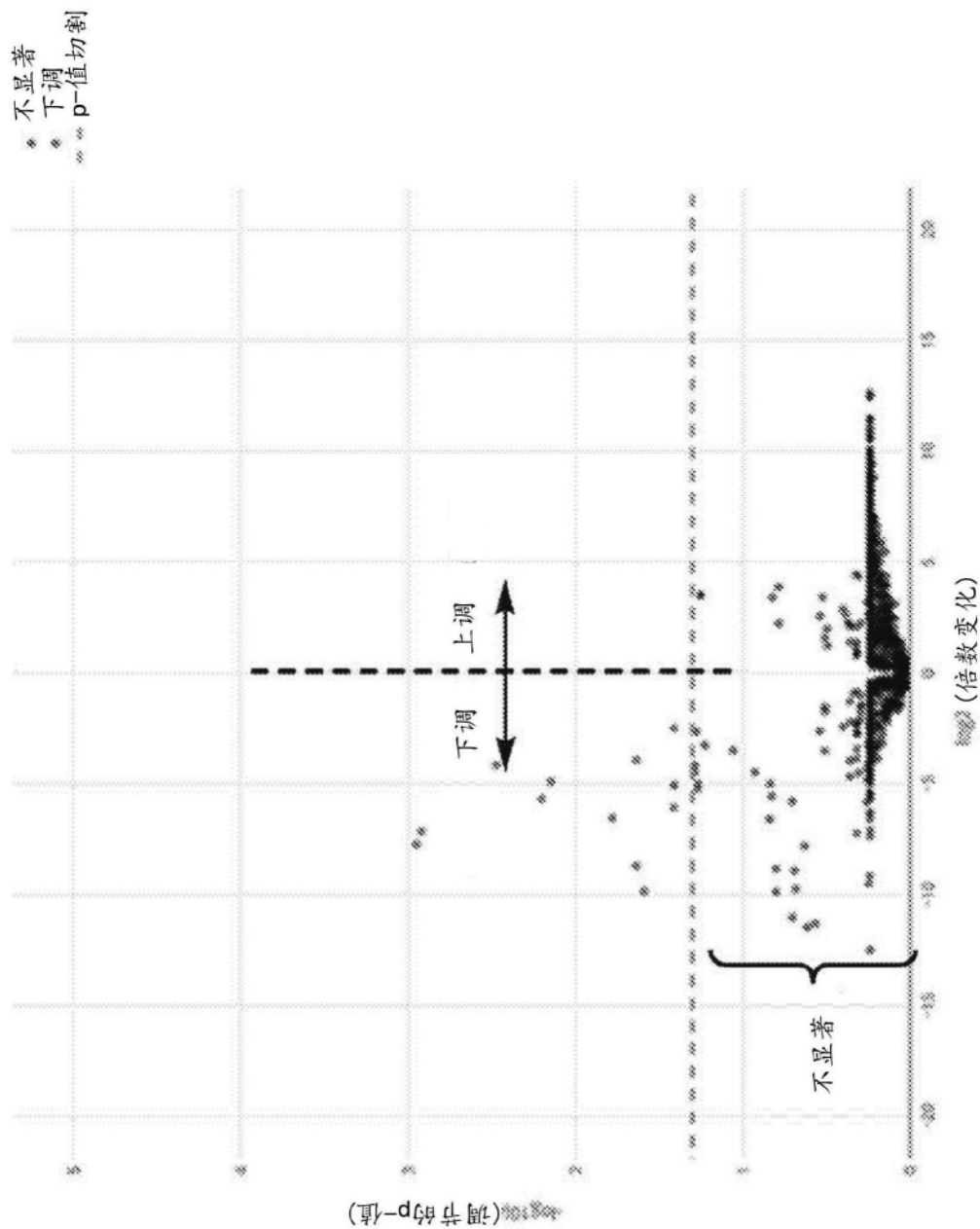


图6B

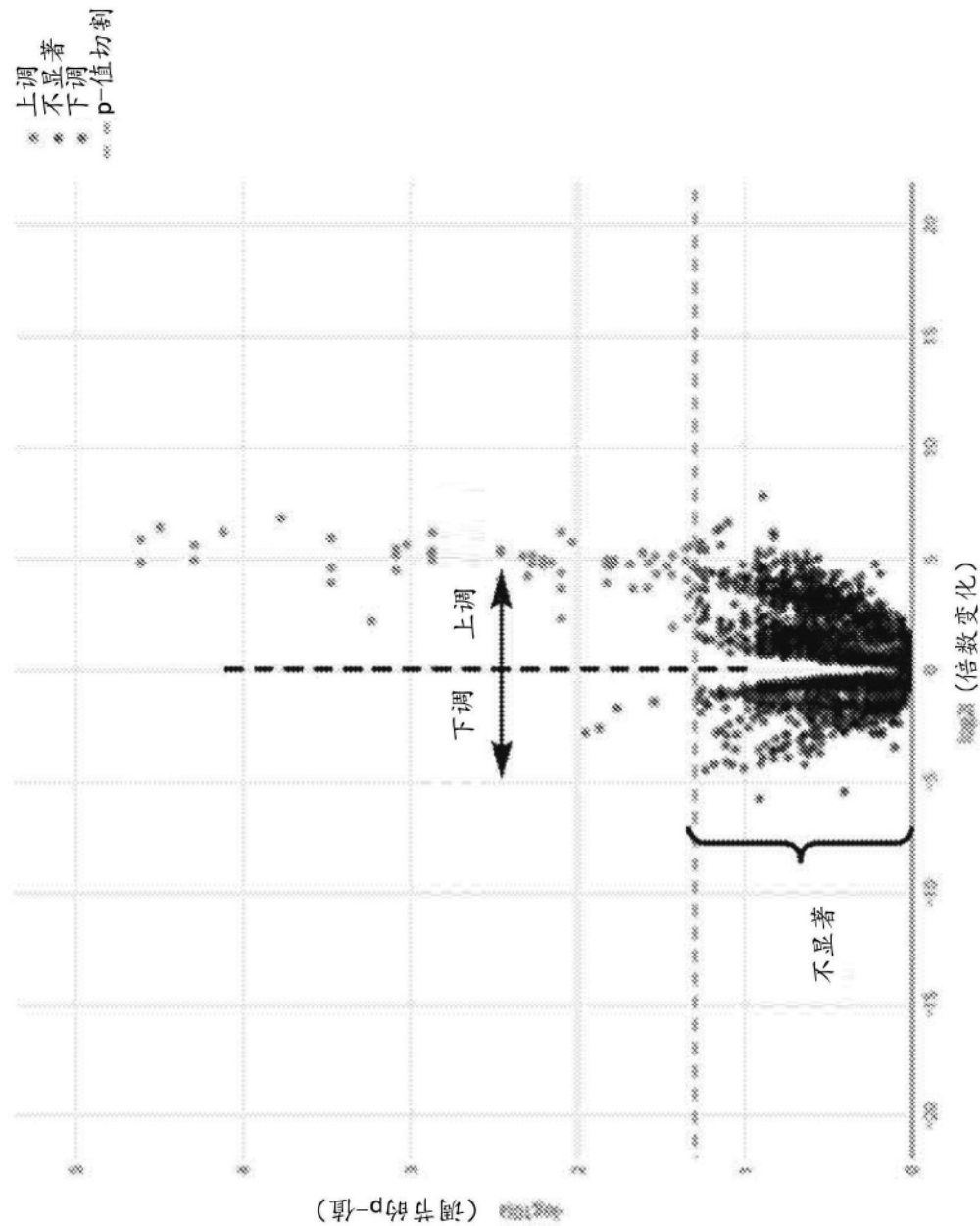


图6C

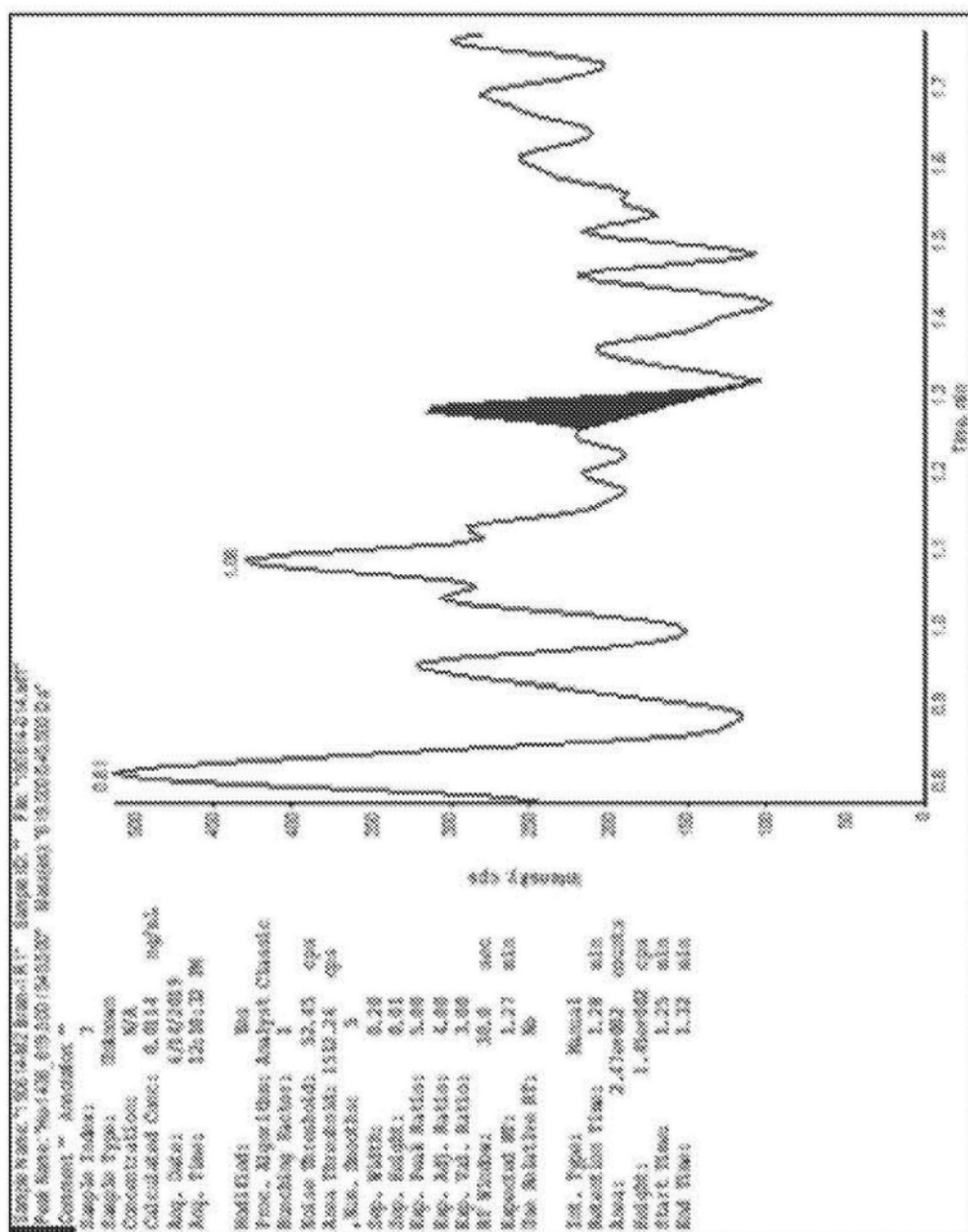


图7A

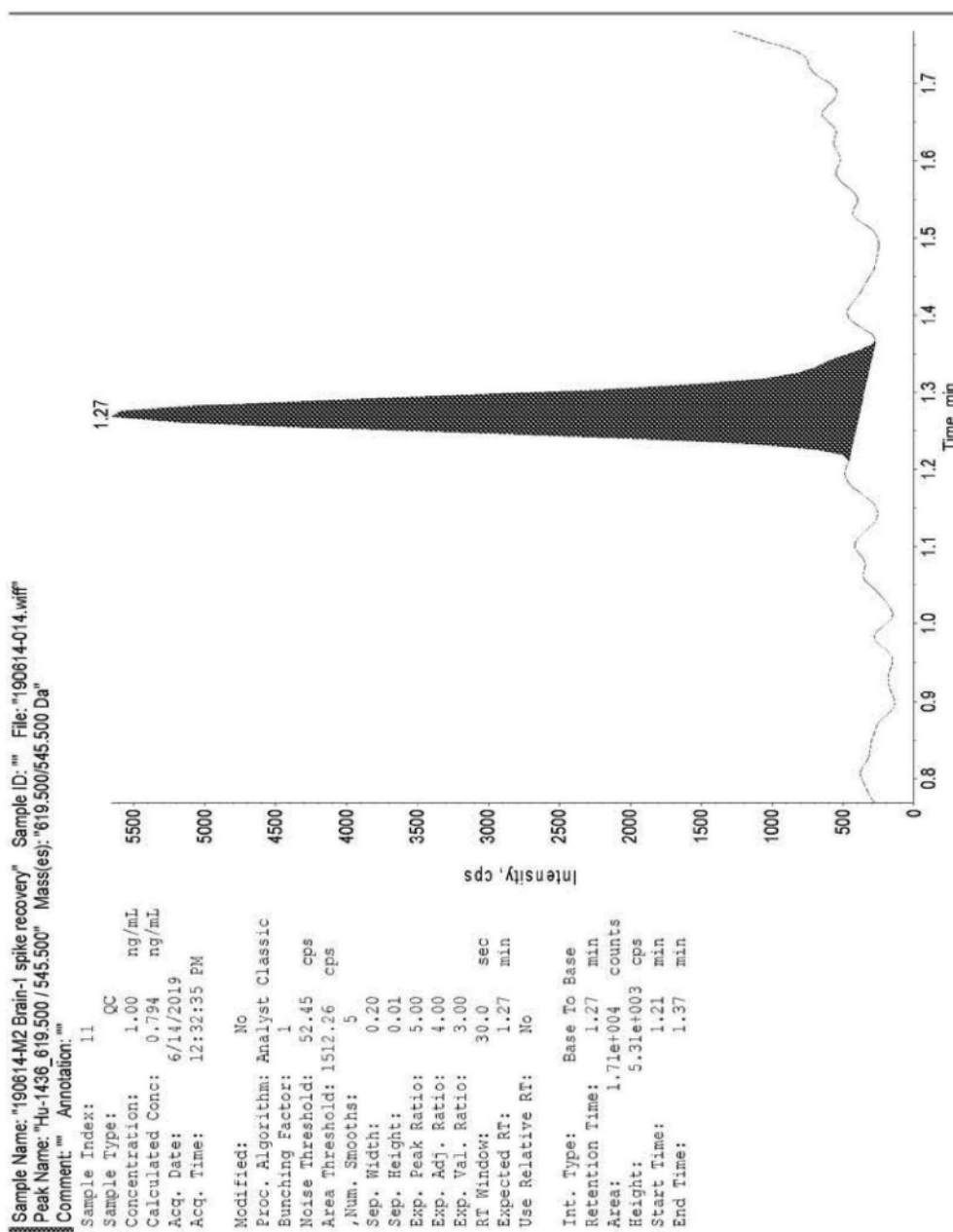


图7B

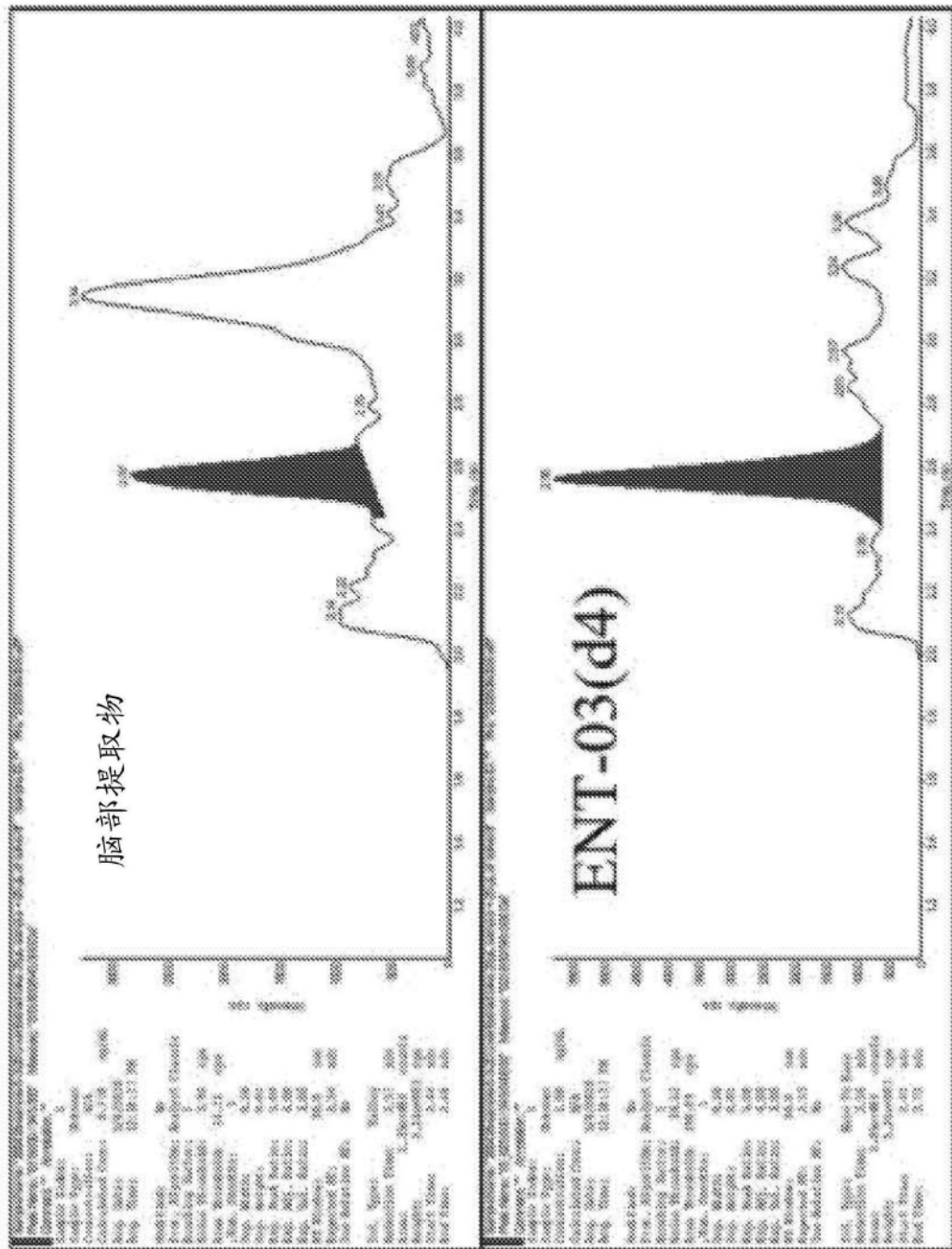


图8A

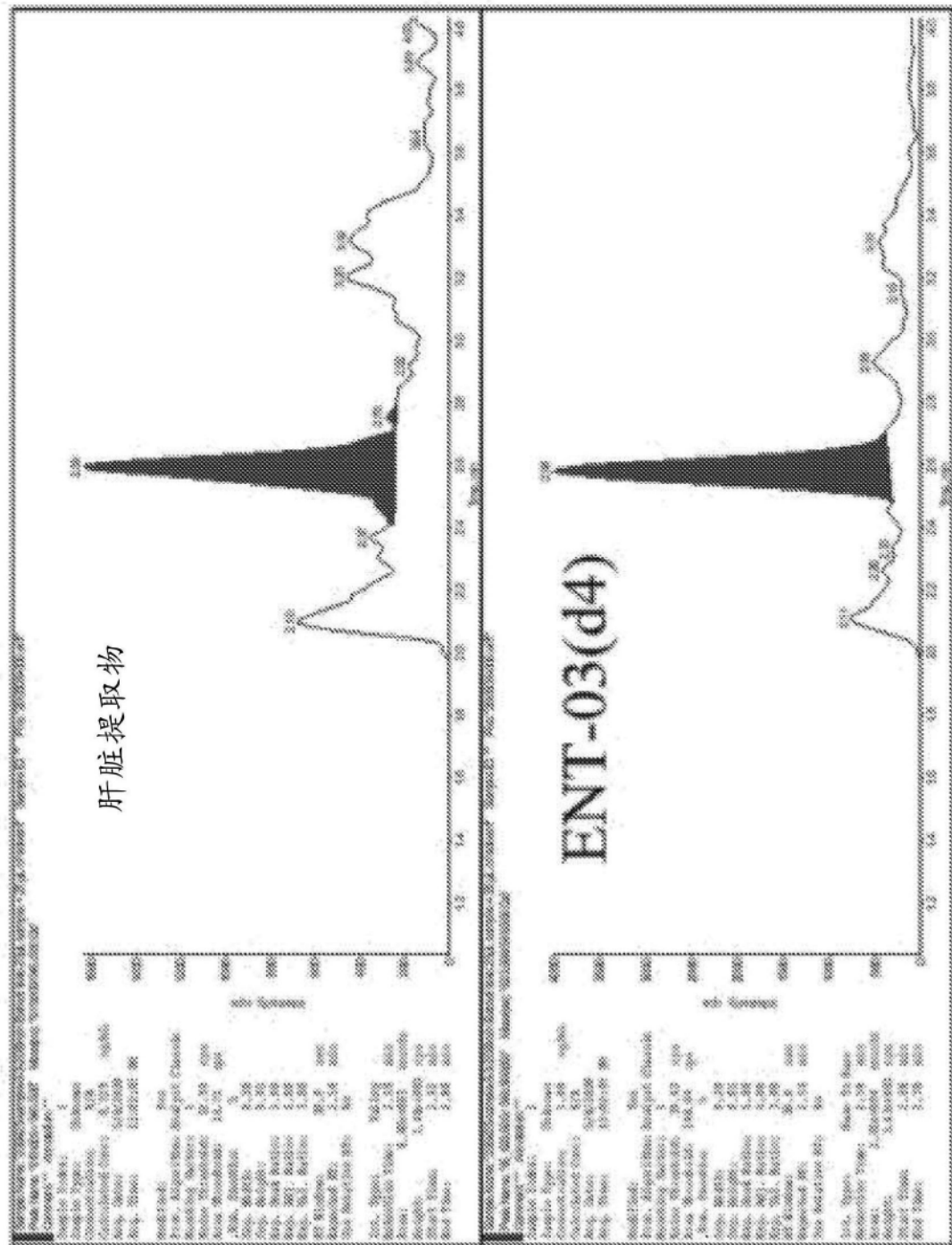


图8B

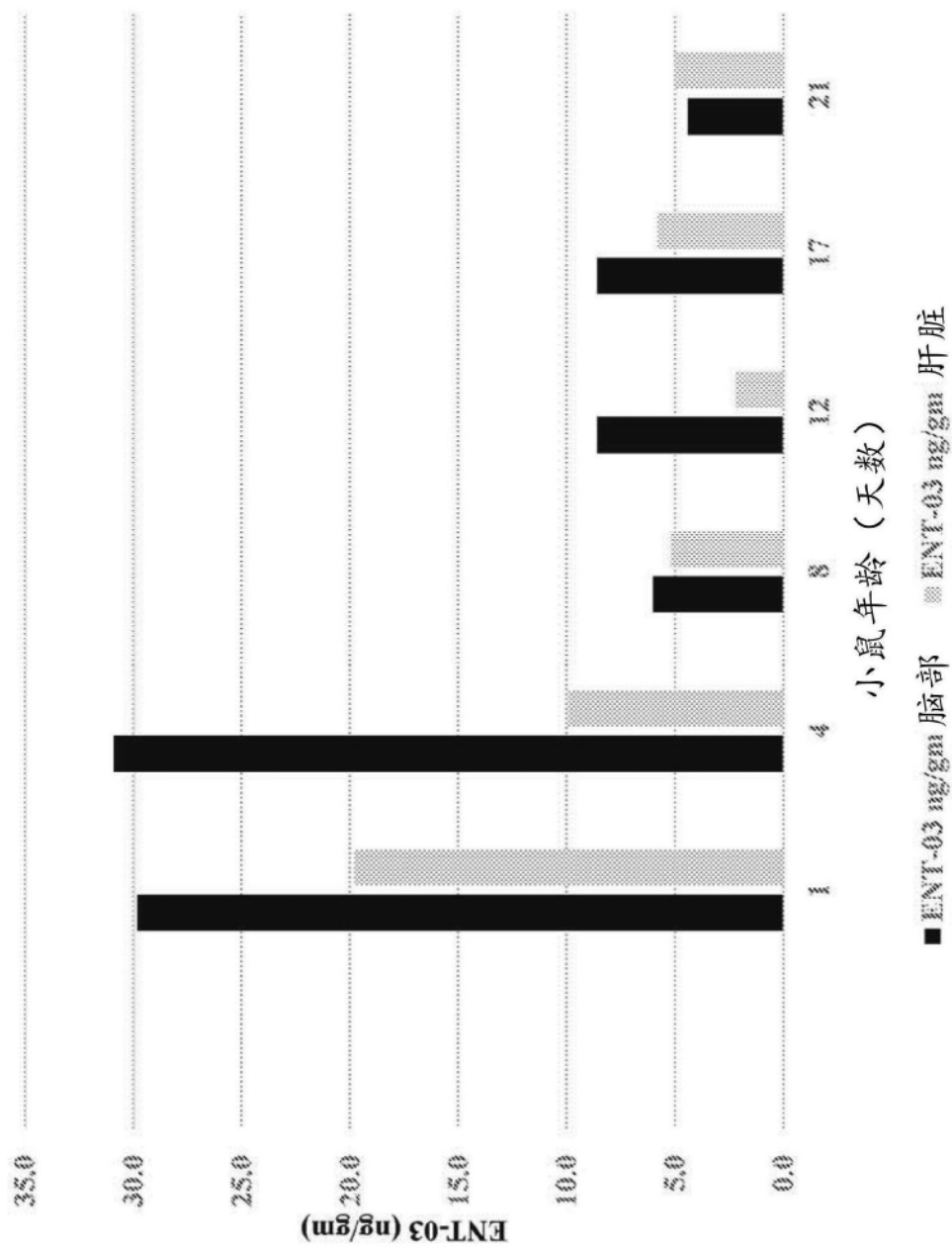


图9

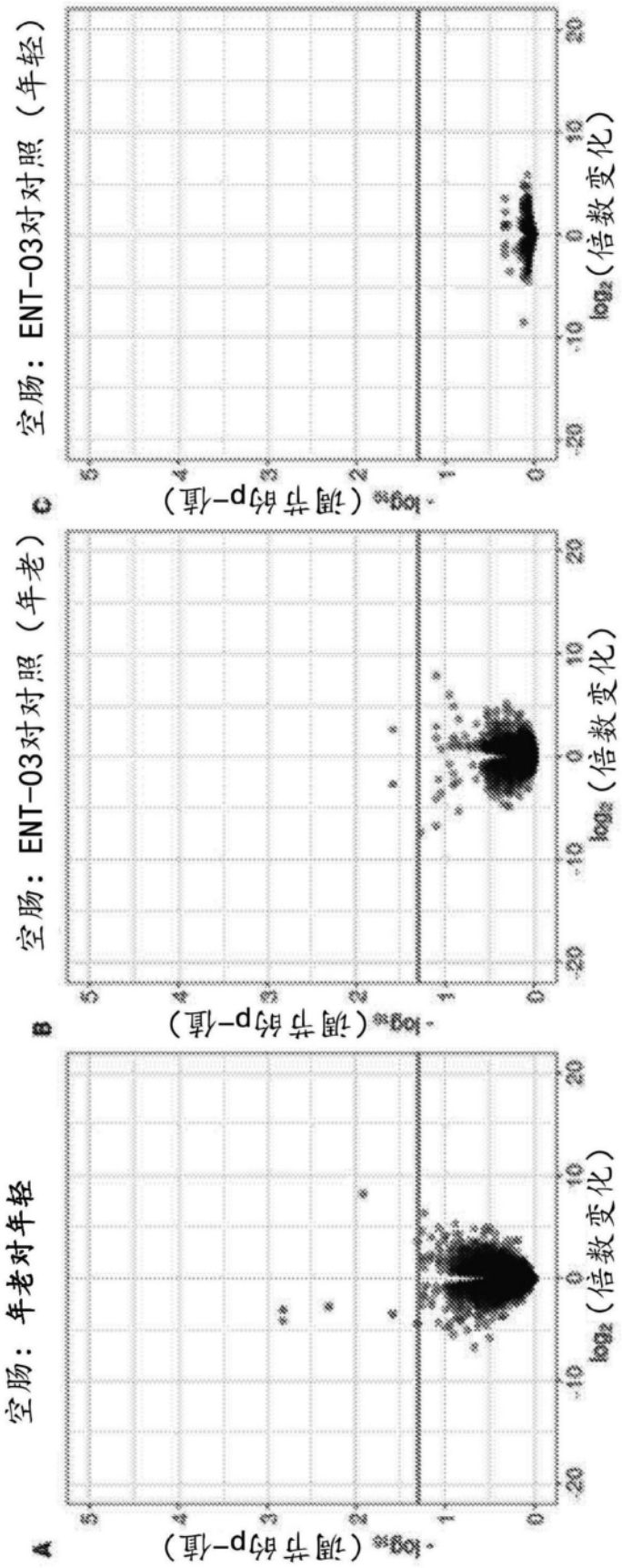


图10A-C

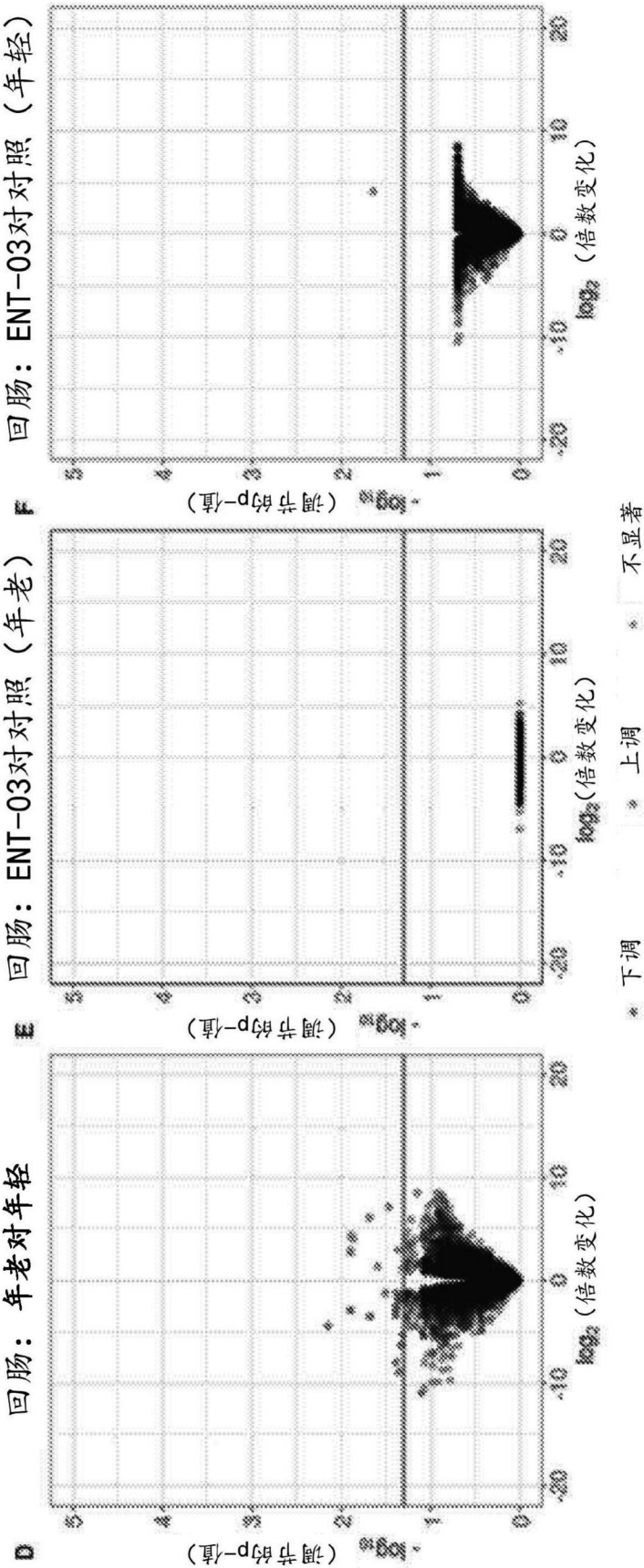


图10D-F

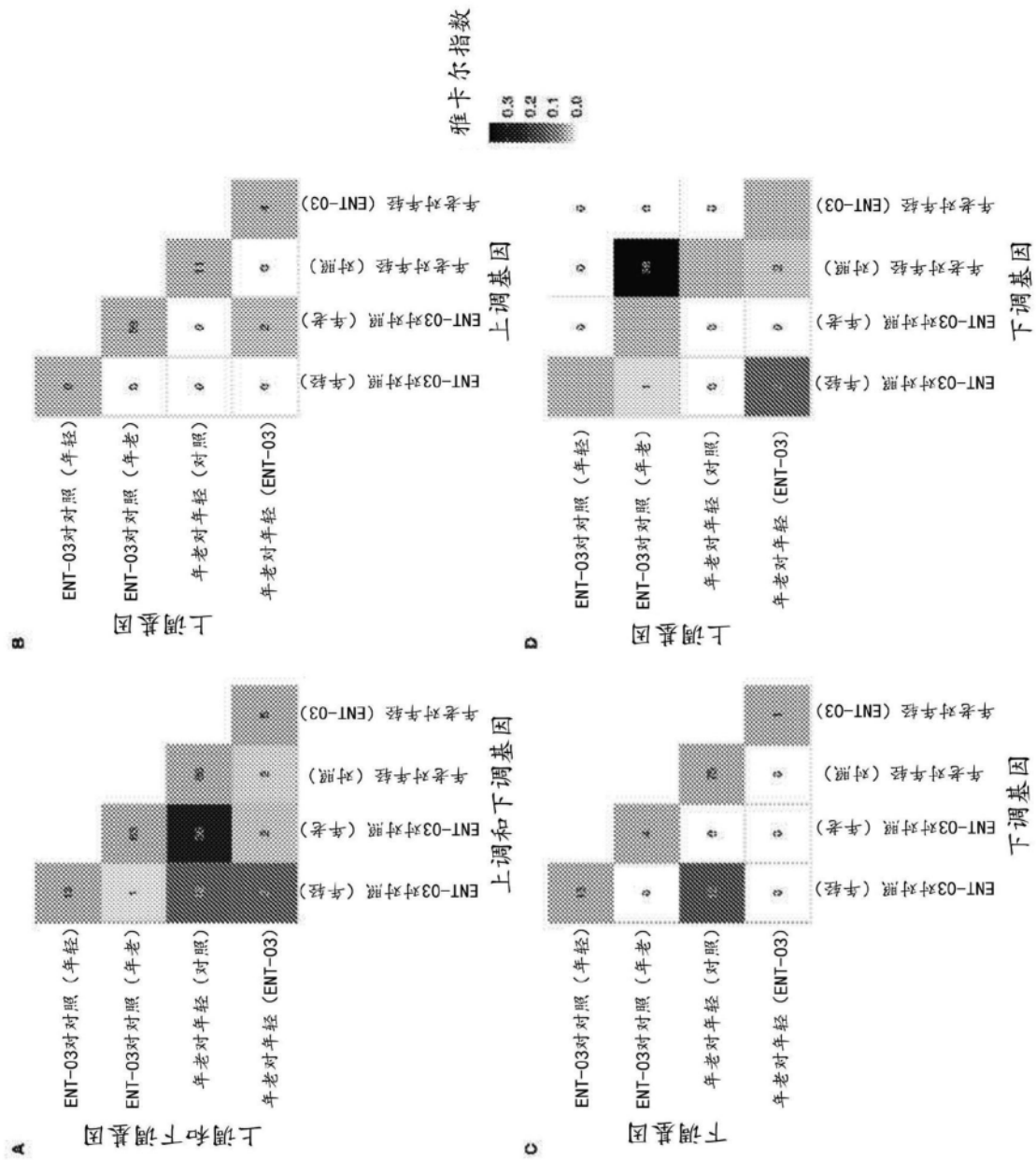


图11

ENT-03和ENT-03D3, 对于体重

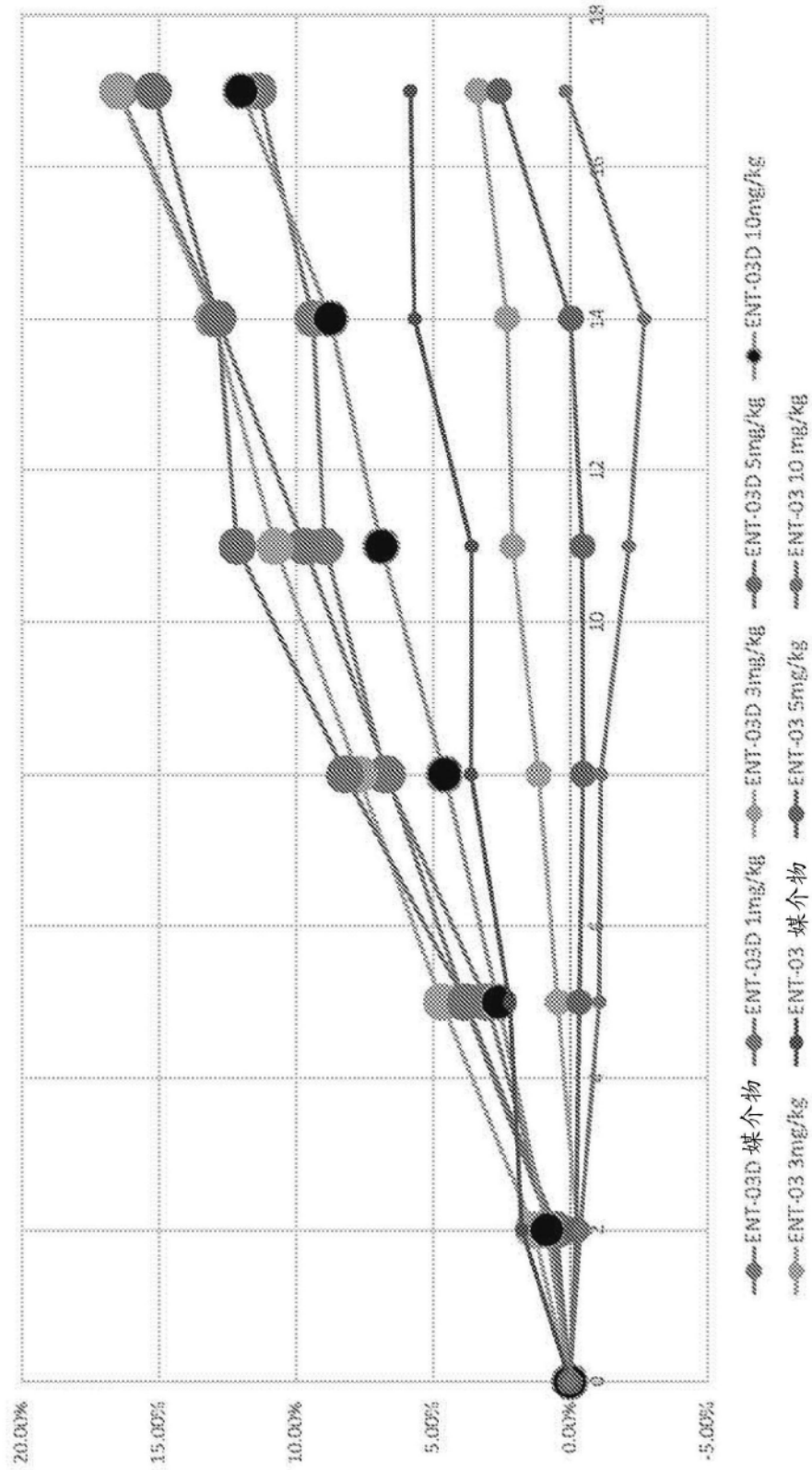


图12

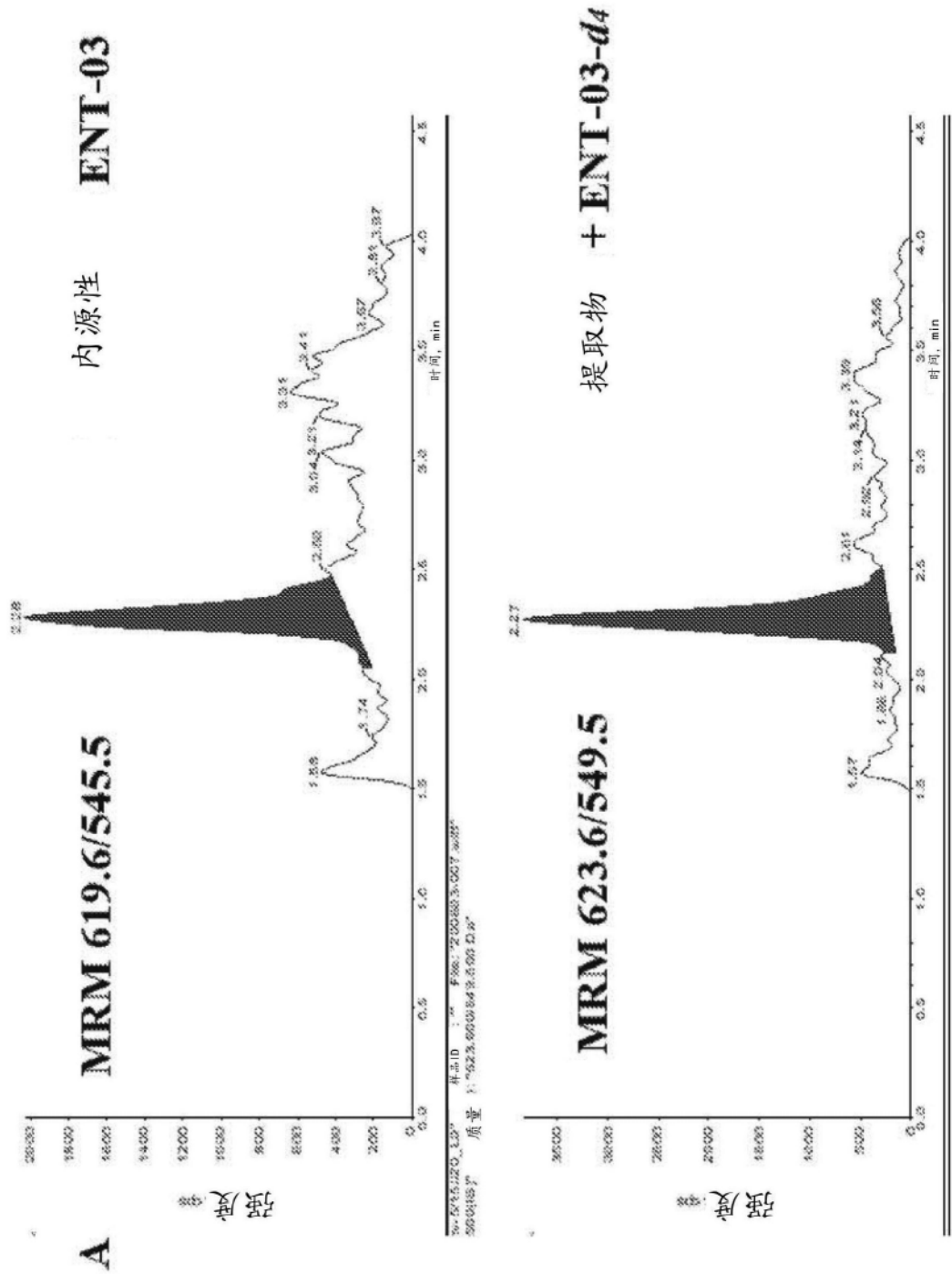


图13A

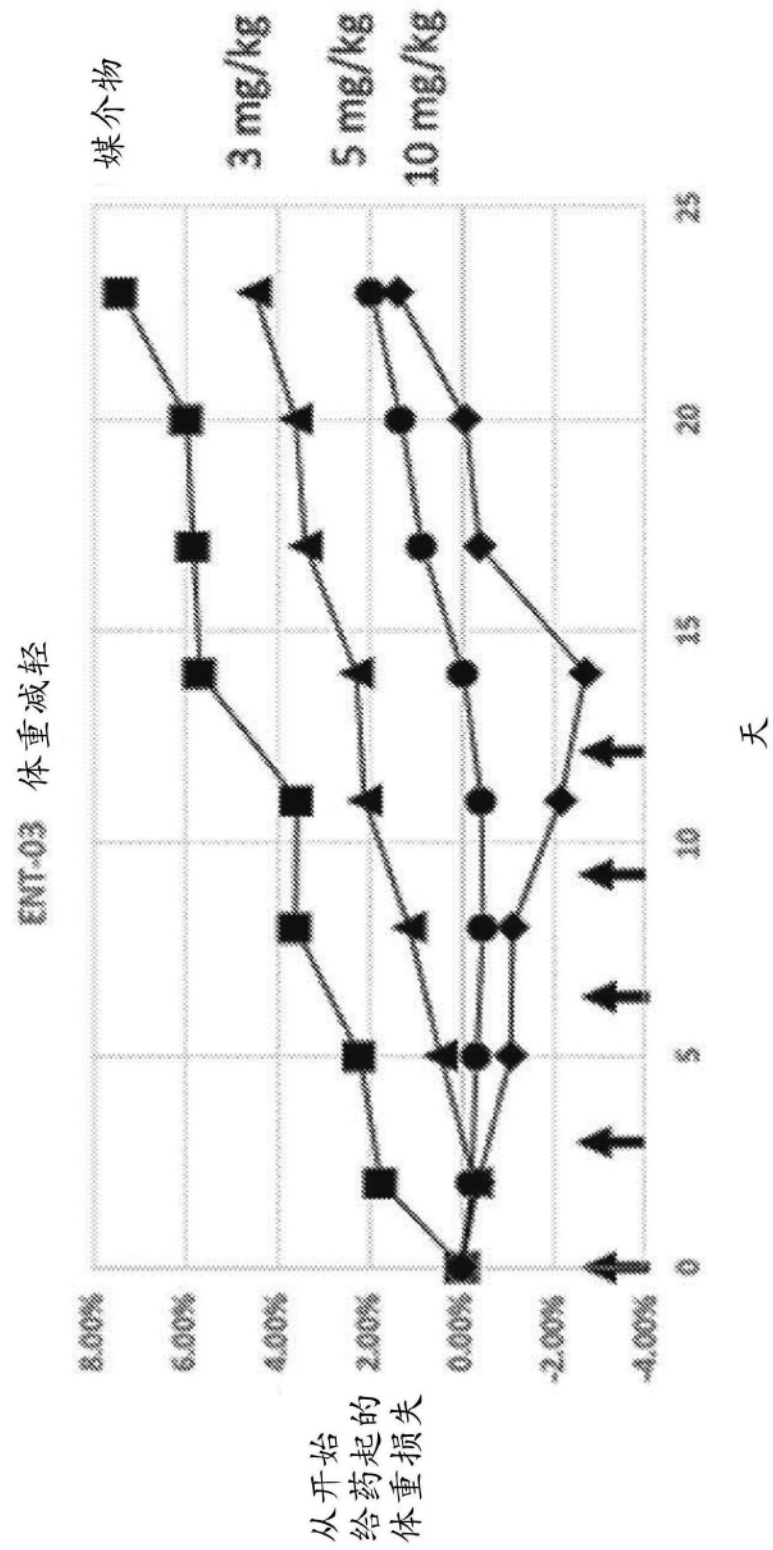


图14

在衰老方面下调和
在治疗中上调的转录物

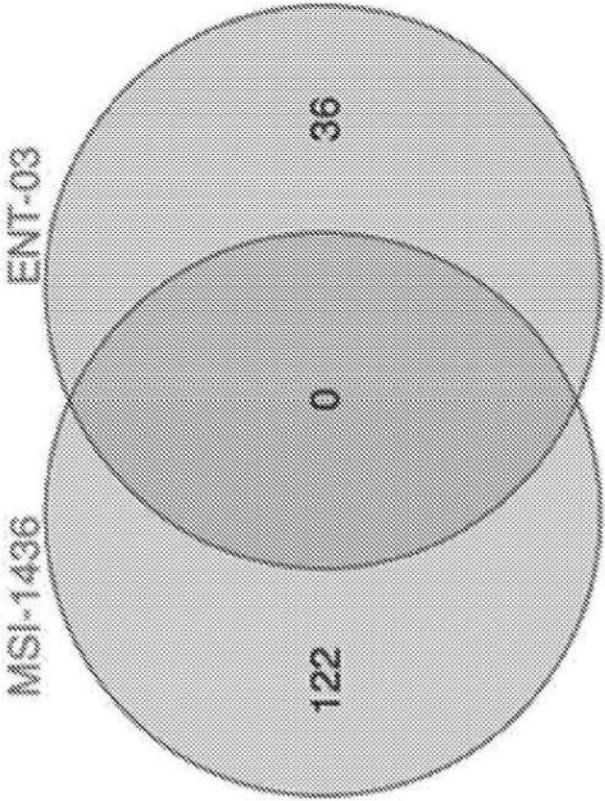


图15

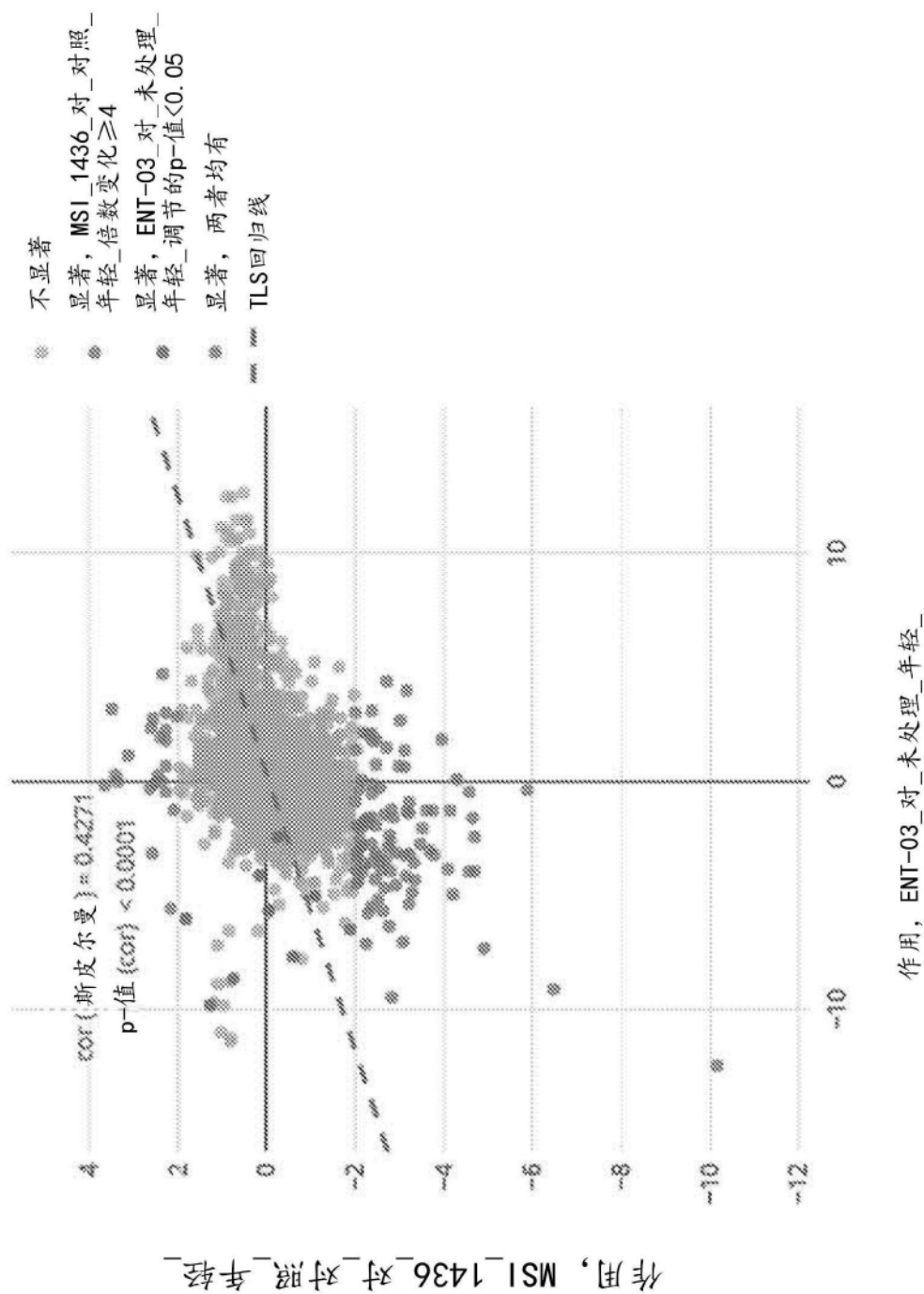


图16

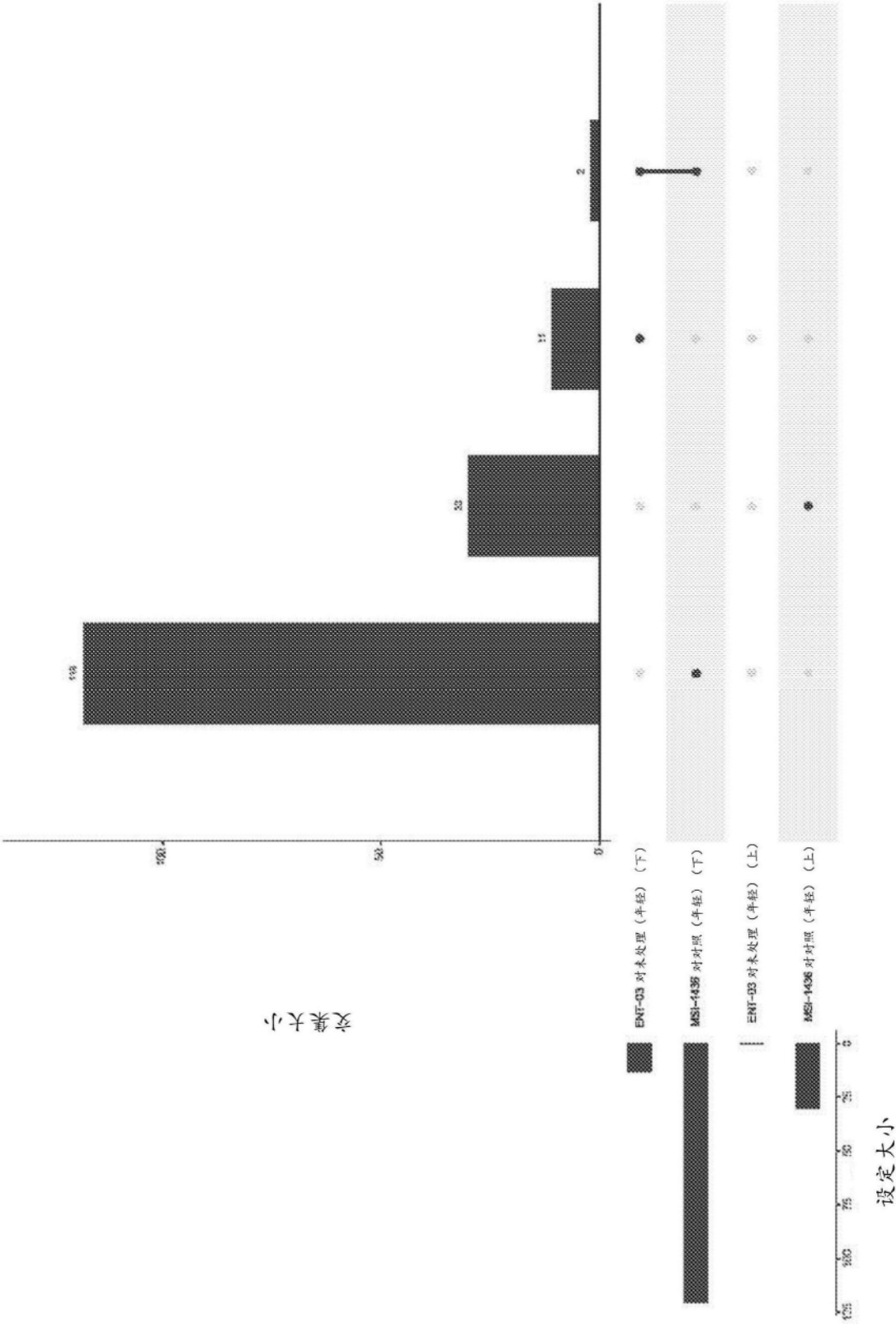


图17

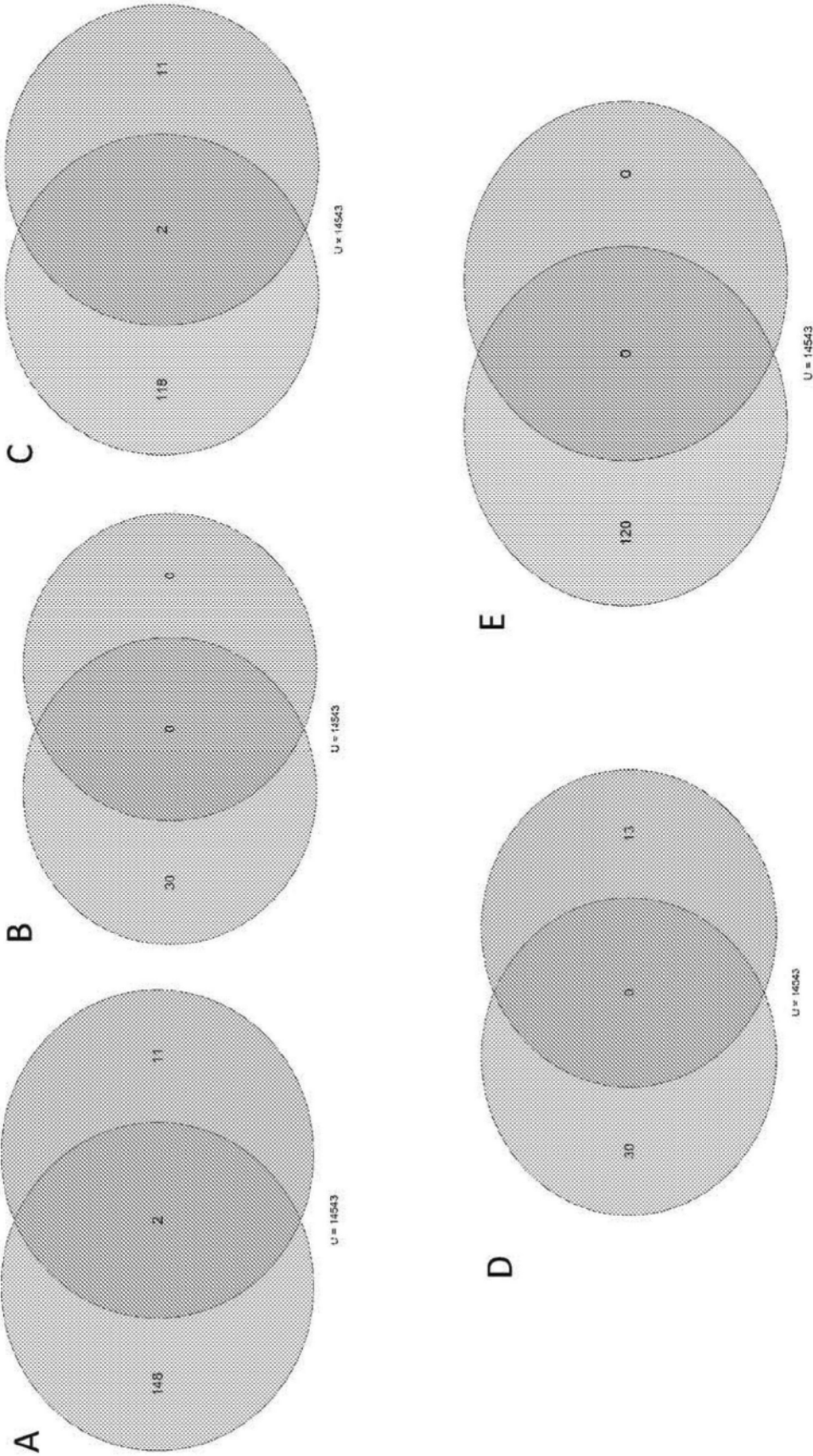


图18

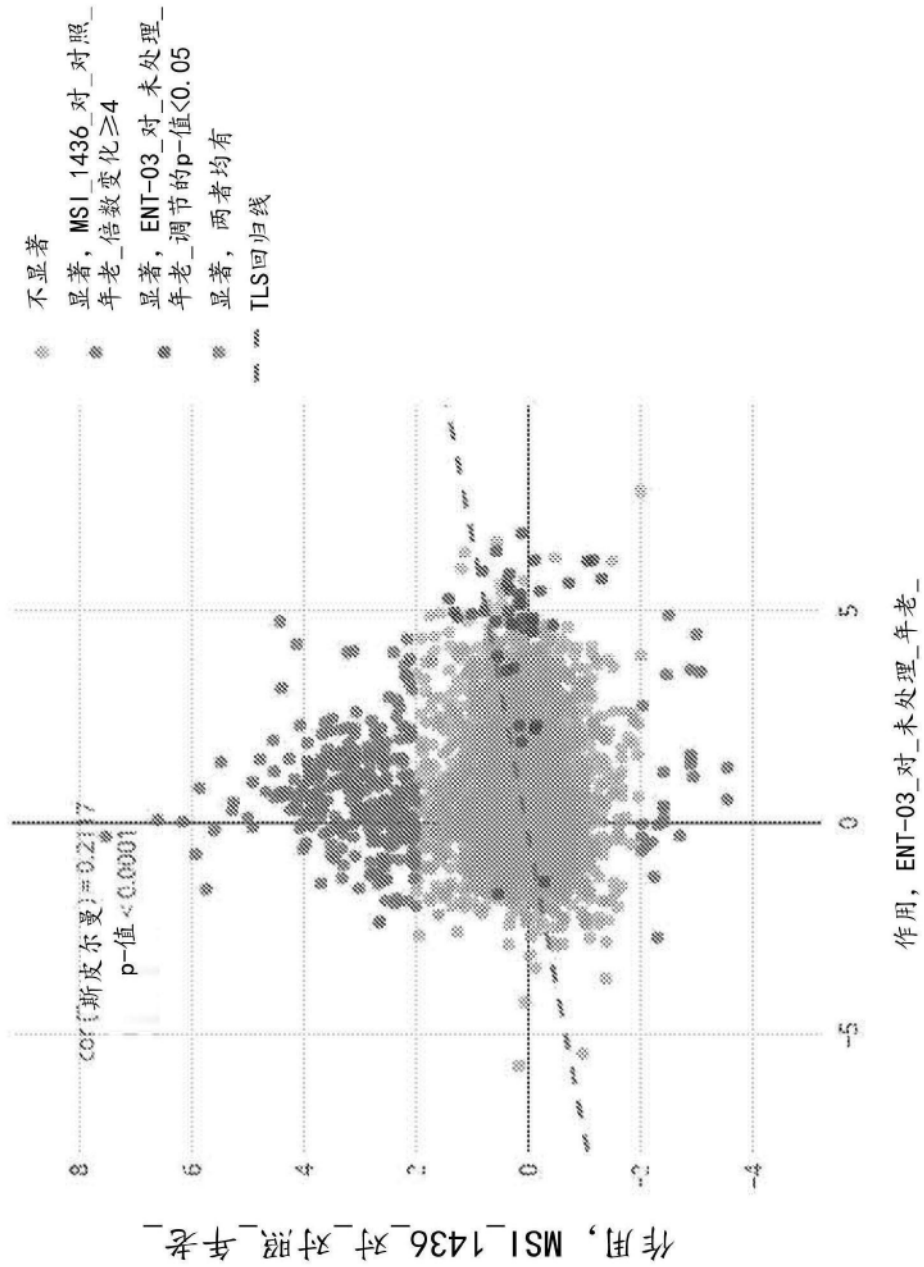


图19

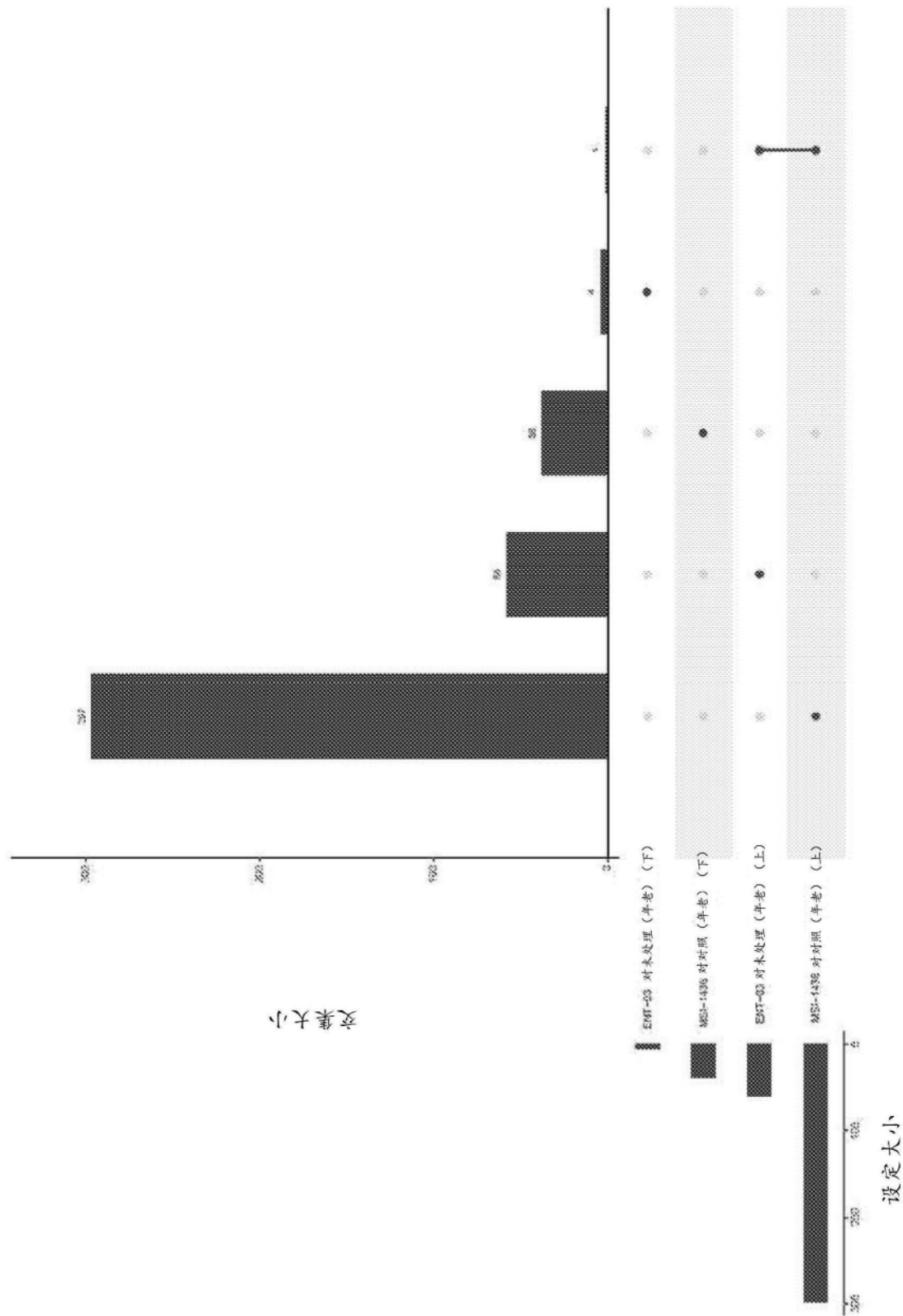


图20

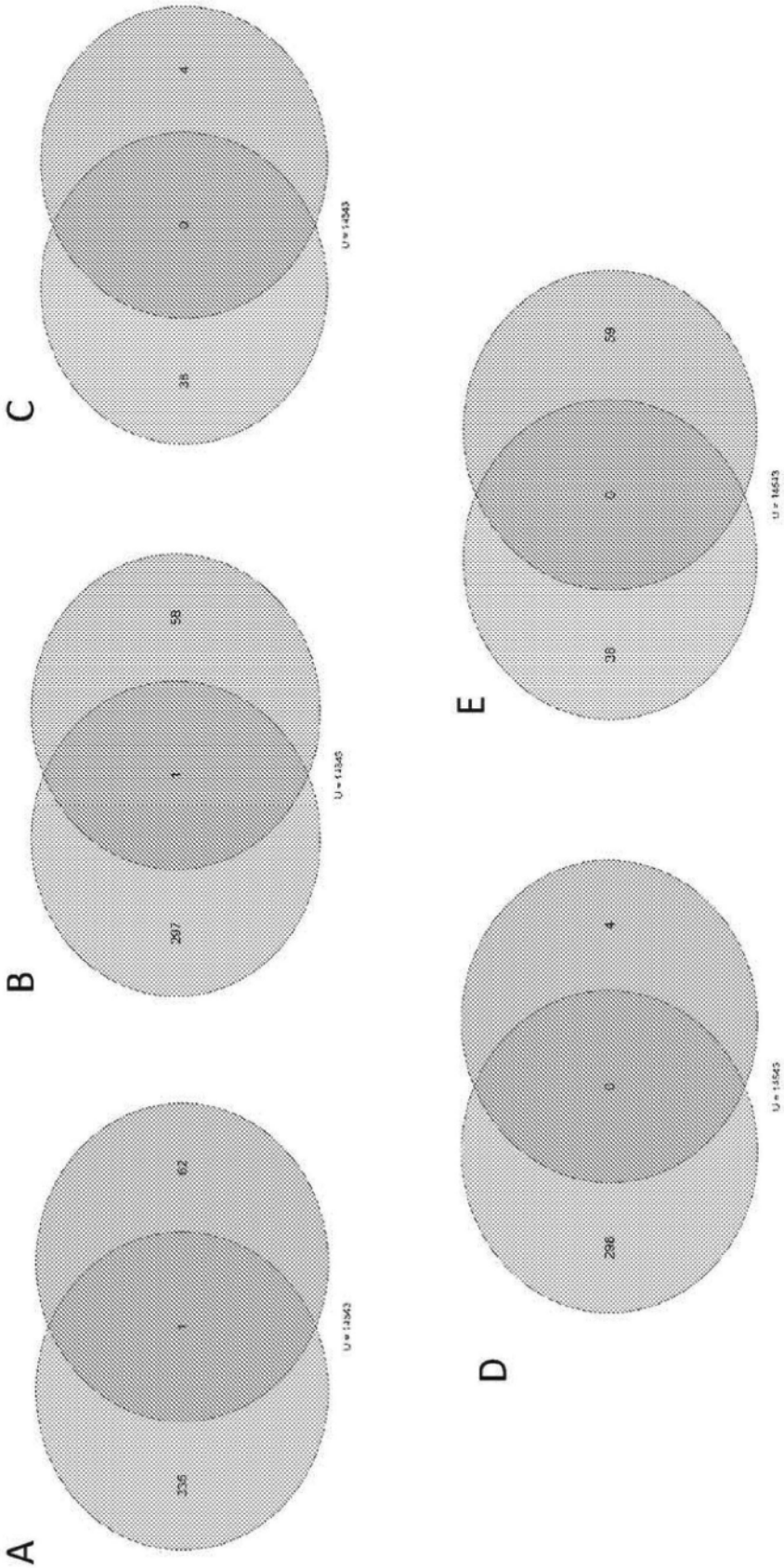


图21

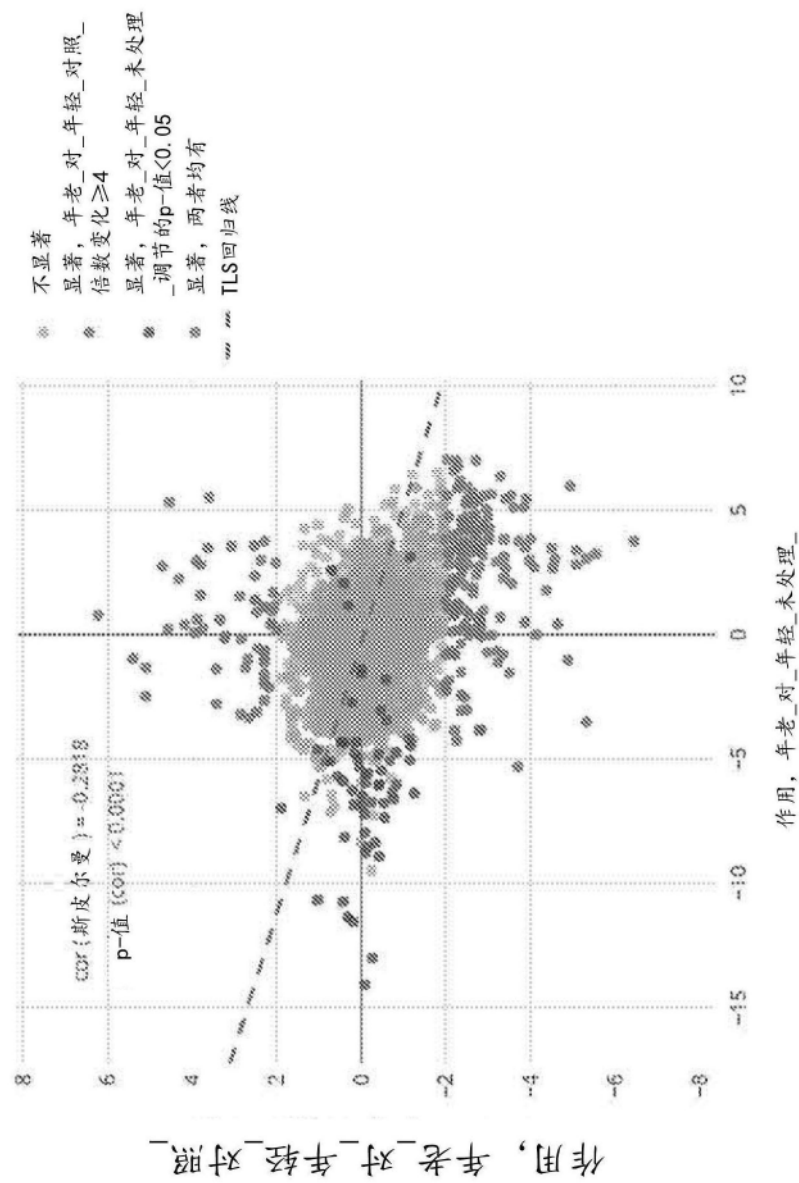


图22

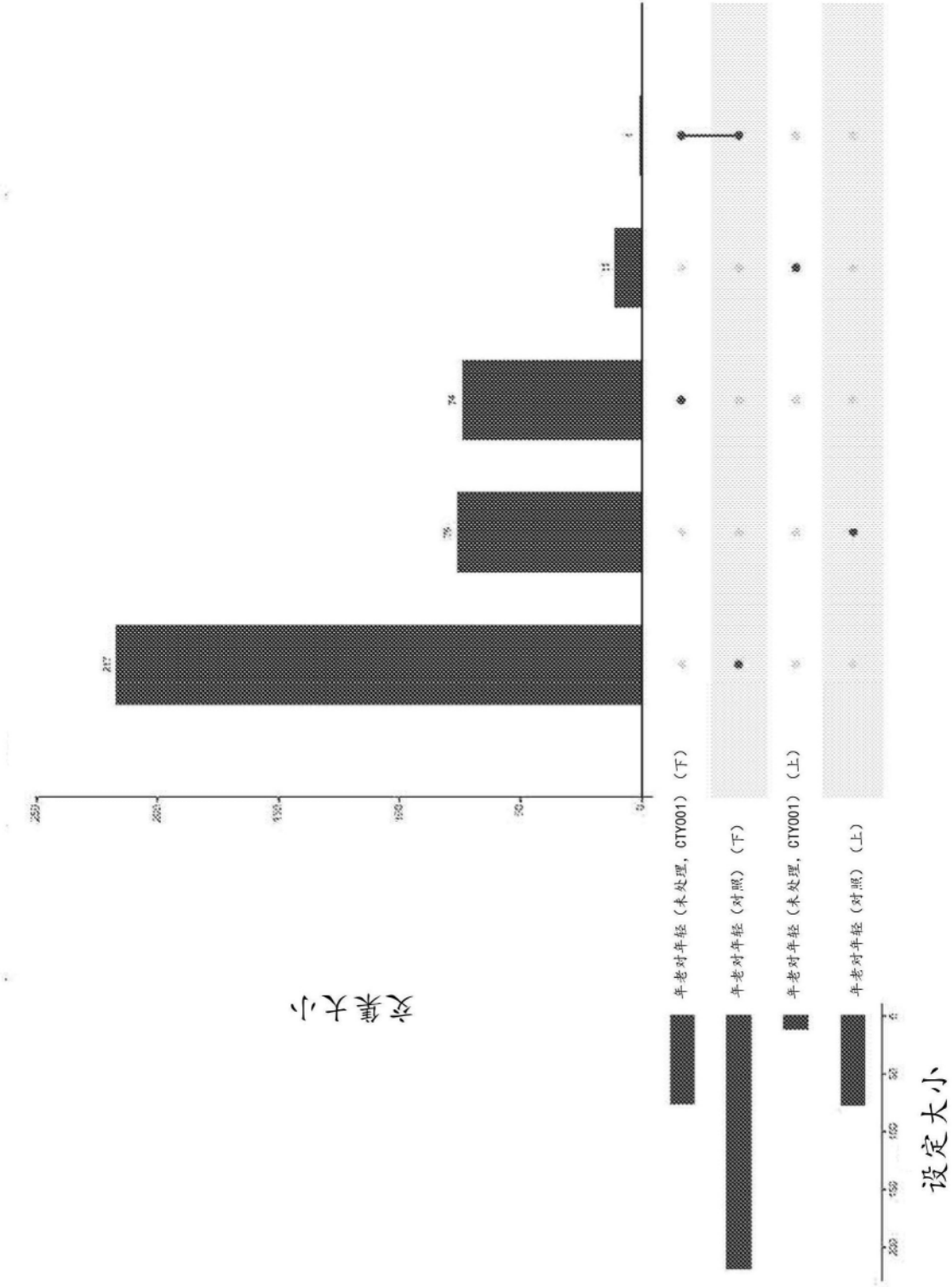


图23

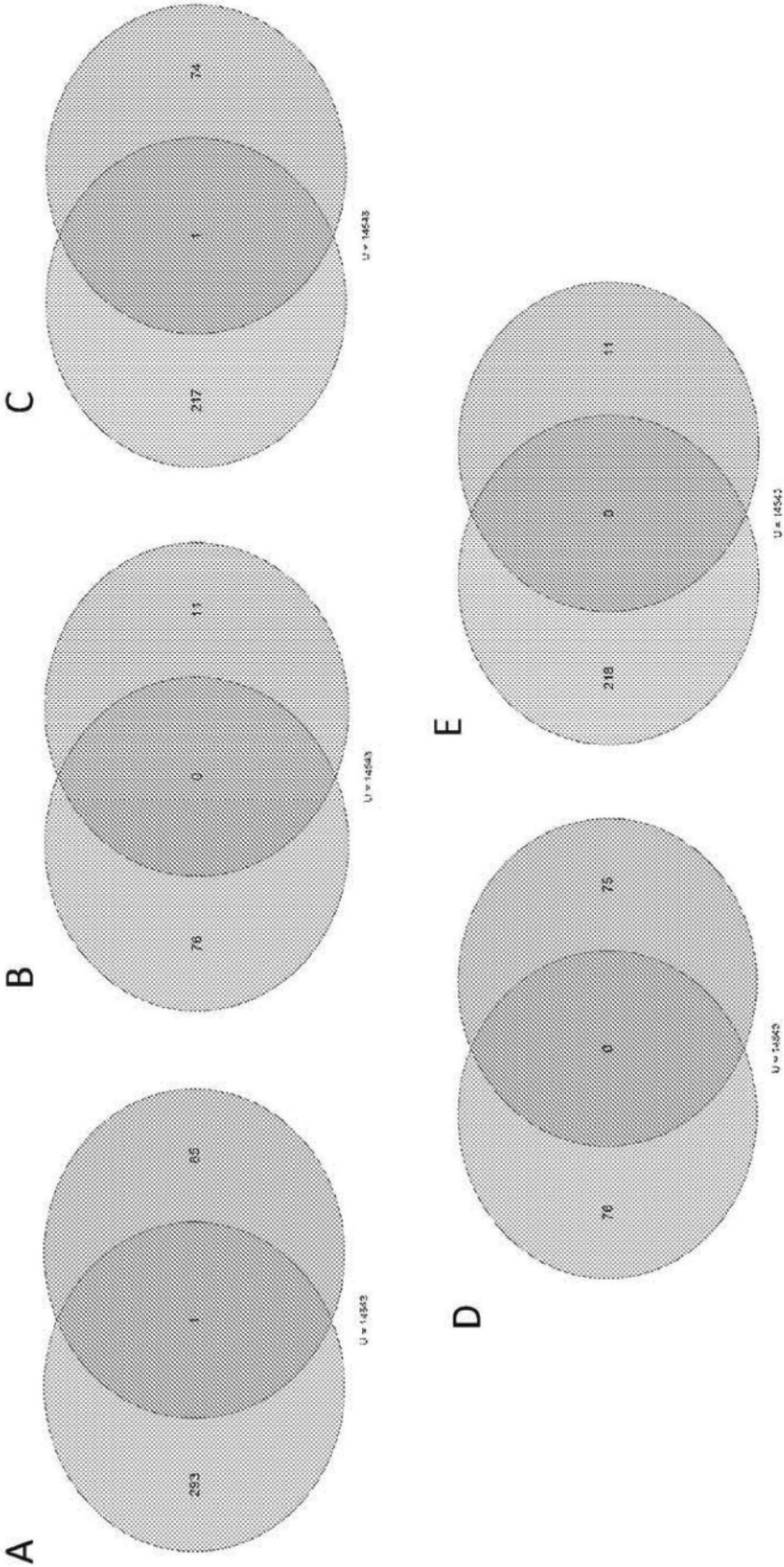


图24

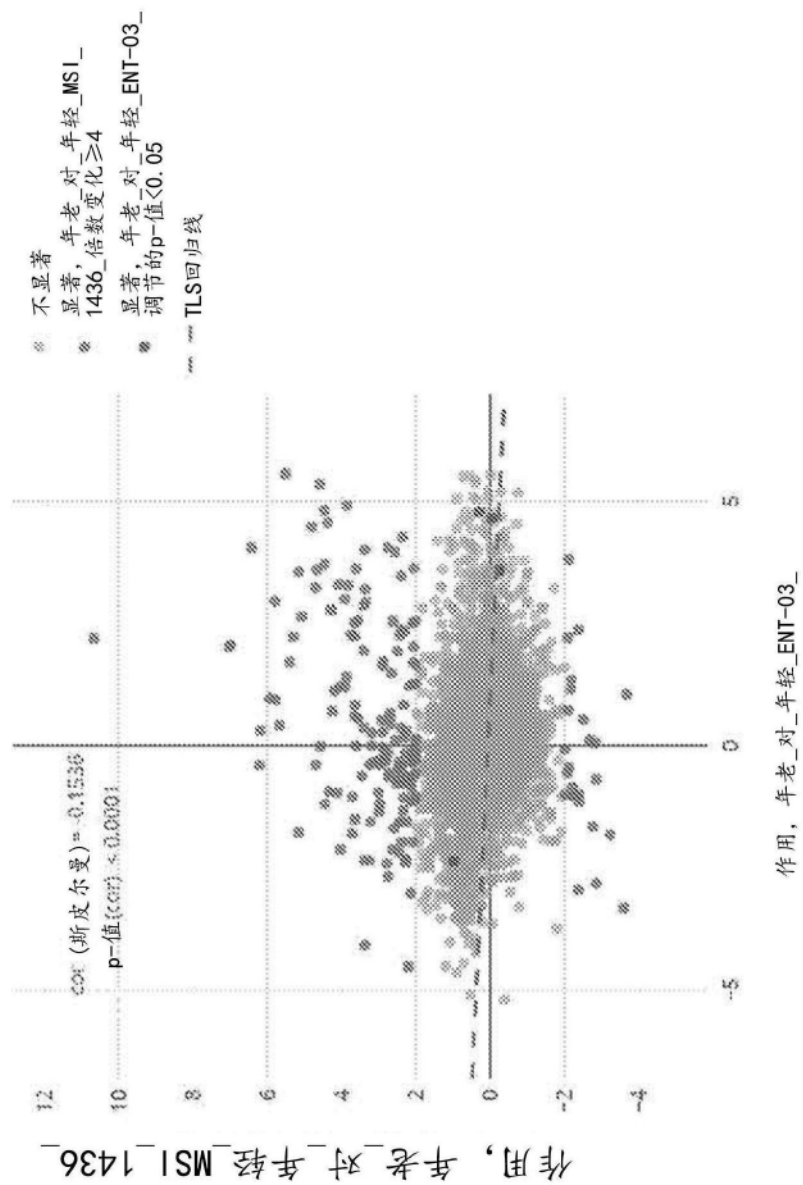


图25

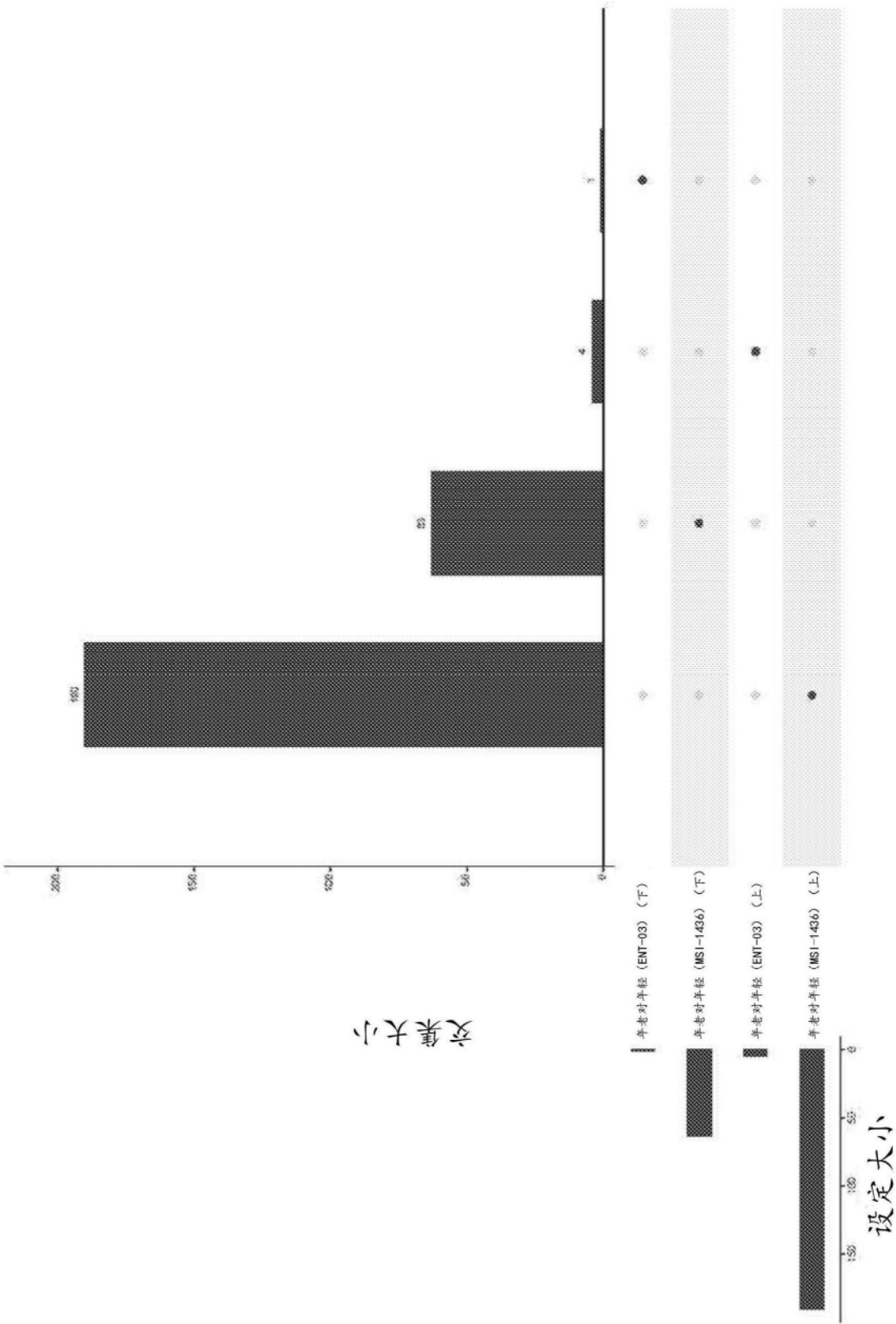


图26

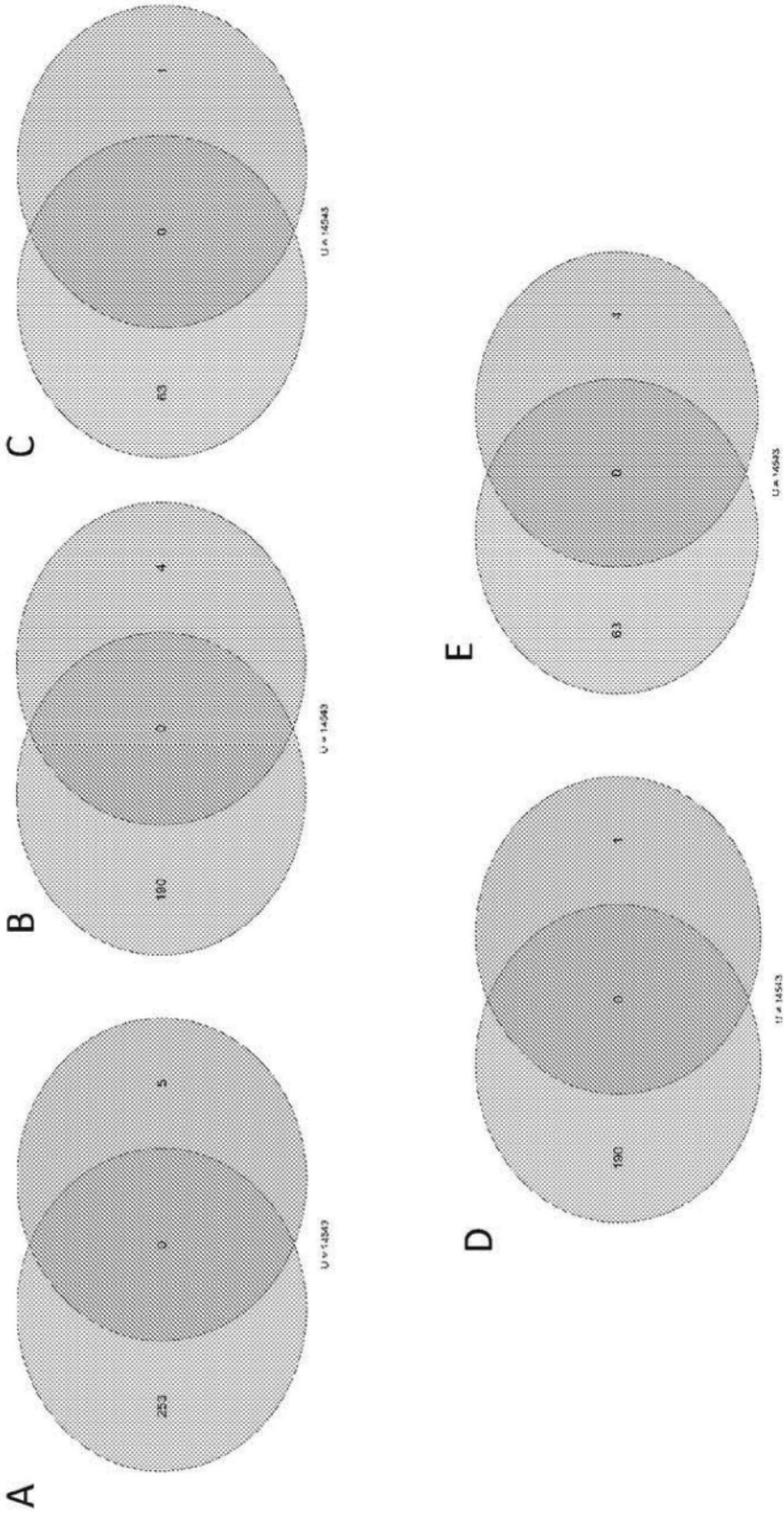


图27

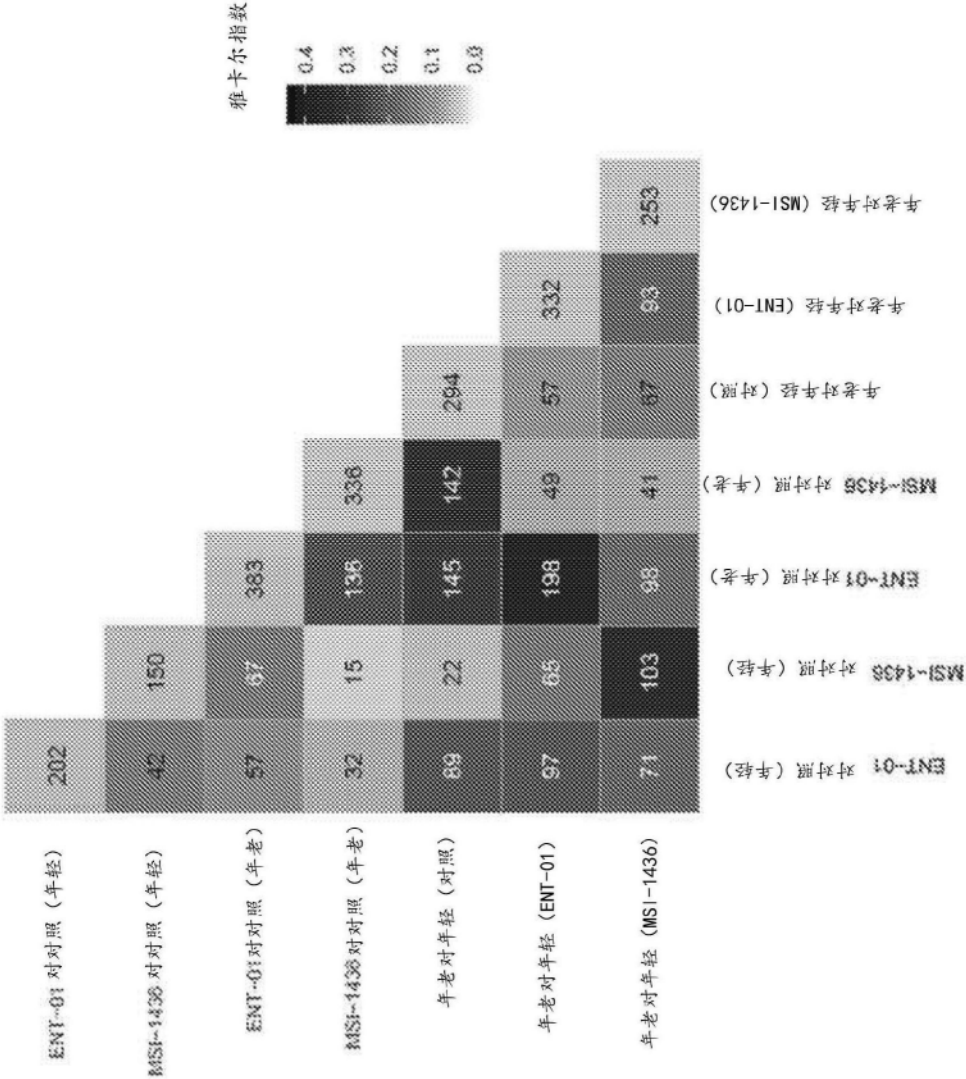


图28A

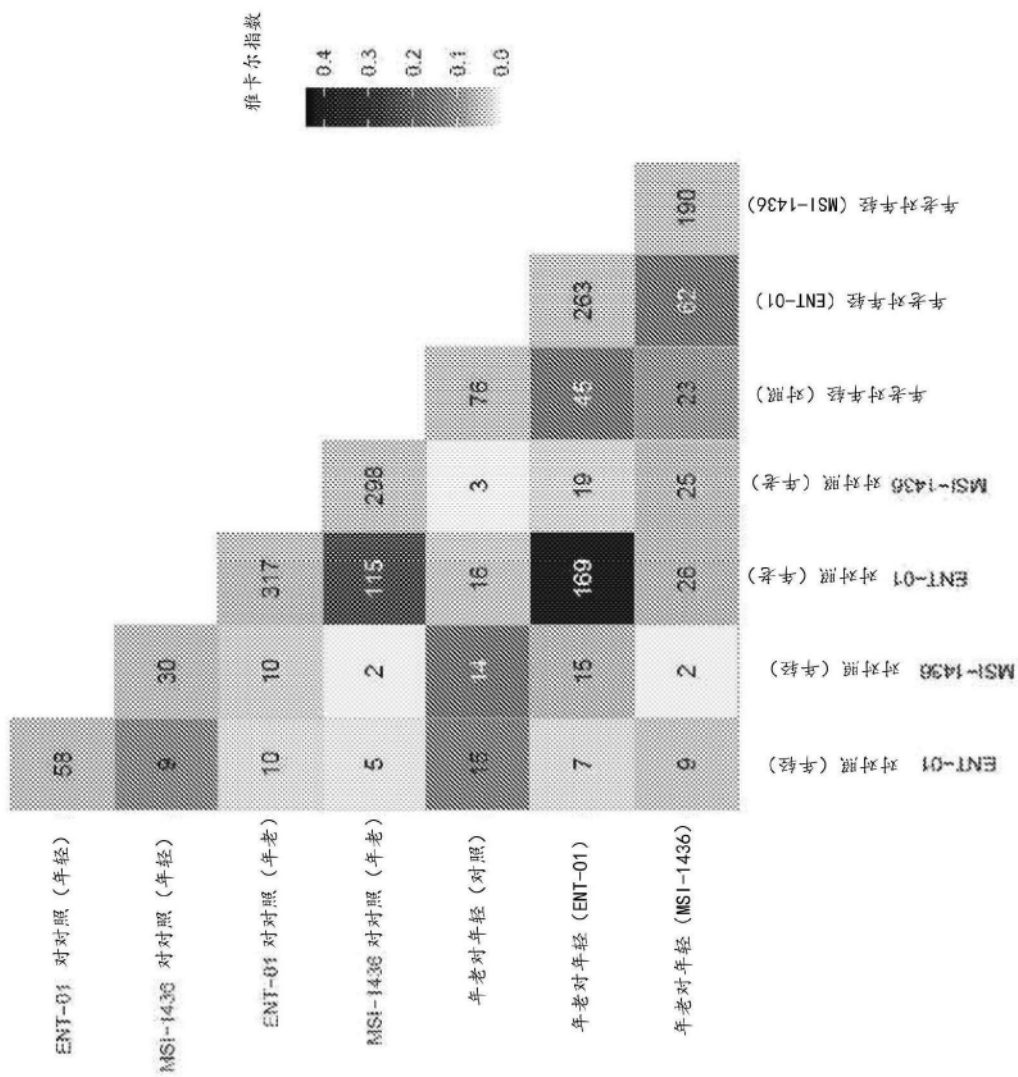


图28B

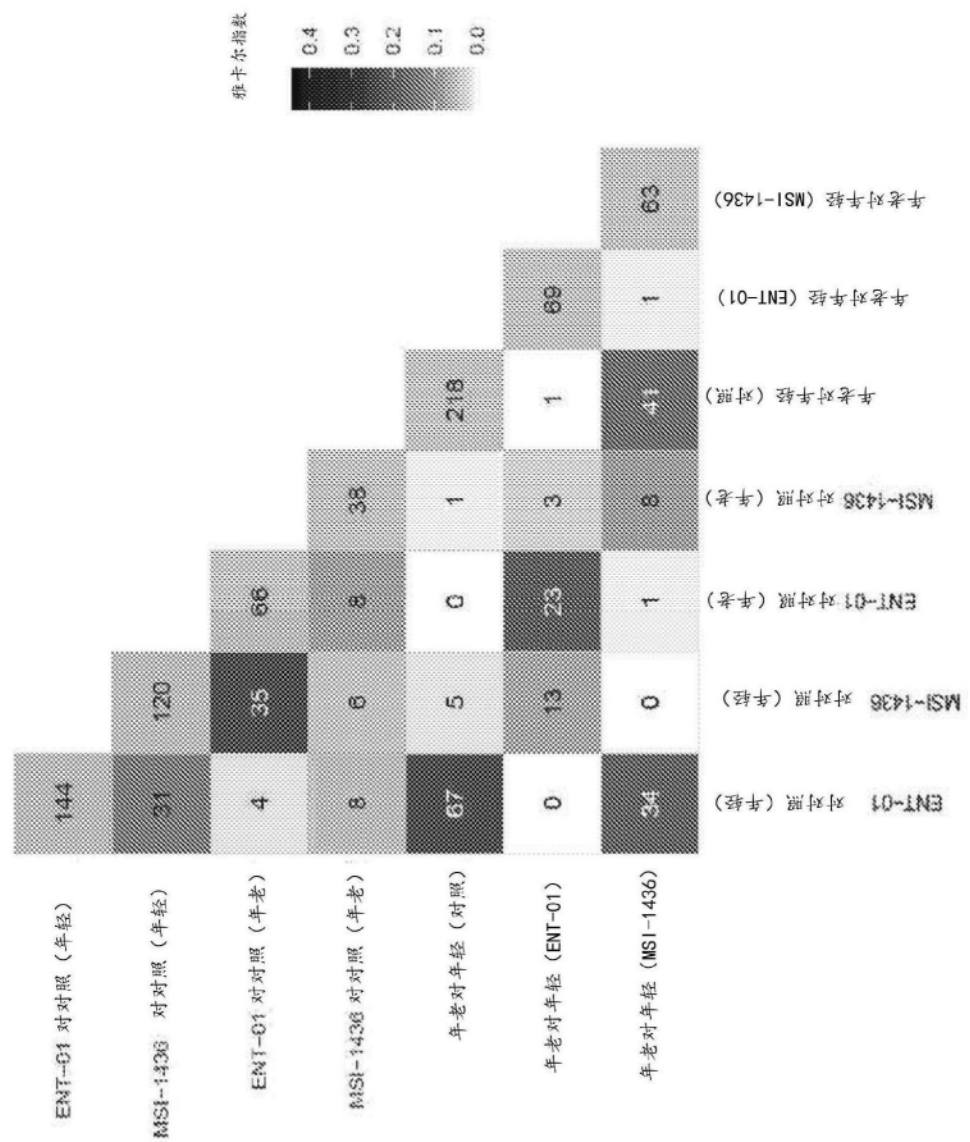


图28C

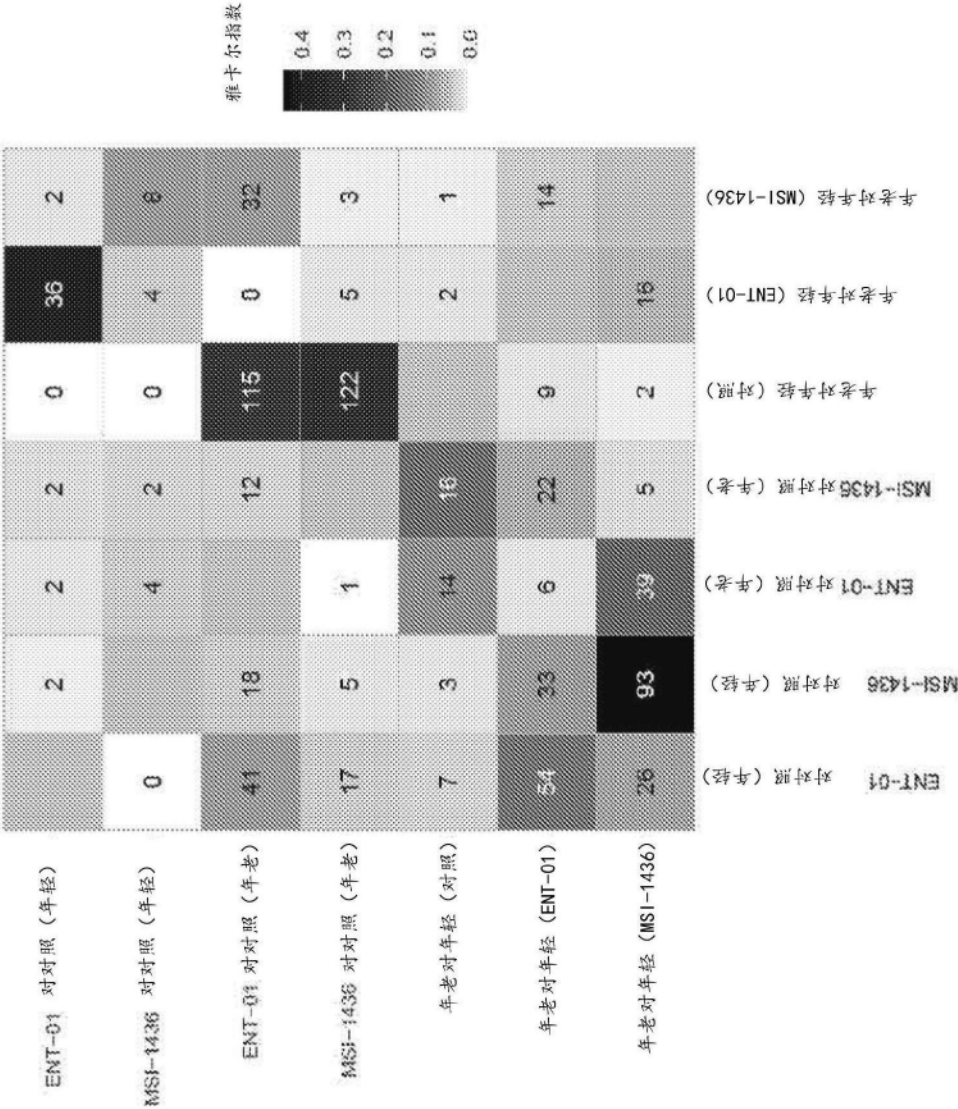


图28D