



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116440247 A

(43) 申请公布日 2023. 07. 18

(21) 申请号 202310408404.3

(22) 申请日 2014.02.28

(30) 优先权数据

61/771,534 2013.03.01 US

61/771,642 2013.03.01 US

(62) 分案原申请数据

201480022764.9 2014.02.28

(71) 申请人 康德生物医疗有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 D·特拉维斯·威尔逊

(74) 专利代理机构 北京同达信恒知识产权代理

有限公司 11291

专利代理师 黄志华 石磊

(51) Int.Cl.

A61K 38/07 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61P 1/10 (2006.01)

A61P 5/14 (2006.01)

A61P 25/08 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

A61P 25/18 (2006.01)

A61P 27/16 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 3/08 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

A61P 3/02 (2006.01)

A61P 1/04 (2006.01)

A61P 21/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 9/04 (2006.01)

A61P 5/00 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

权利要求书1页 说明书31页

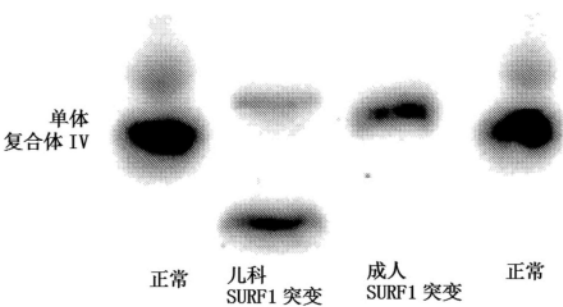
序列表 (电子公布) 附图18页

(54) 发明名称

治疗线粒体疾病的方法

(57) 摘要

本发明涉及治疗线粒体疾病的方法。本发明公开了一种增加哺乳动物细胞的解耦比的方法,所述方法包括:使所述细胞与治疗有效量的肽D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐接触。本发明还公开了治疗在有此需要的受试者中的雷氏综合征、阿尔珀斯病、共济失调-神经病变病症、或进行性眼外肌麻痹的方法,所述方法包括:施用治疗有效量的肽D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐。



1. 一种增加哺乳动物细胞的解耦比的方法,所述方法包括:使所述细胞与治疗有效量的肽D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐接触。

2. 一种治疗在有此需要的受试者中的雷氏综合征的方法,所述方法包括:施用治疗有效量的肽D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐。

3. 一种治疗在有此需要的受试者中的阿尔珀斯病的方法,所述方法包括:施用治疗有效量的肽D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐。

4. 一种治疗在有此需要的受试者中的共济失调-神经病变病症的方法,所述方法包括:施用治疗有效量的肽D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐。

5. 一种治疗在有此需要的受试者中的进行性眼外肌麻痹的方法,所述方法包括:施用治疗有效量的肽D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐。

6. 根据权利要求2至5中任一项所述的方法,其中,所述治疗减轻或缓解选自以下的一种或多种症状:生长缓慢、肌肉协调性损失、肌无力、神经功能缺损、癫痫、孤独症、自闭症谱系、自闭症样特征、学习能力缺失、心脏病、肝病、肾病、肠胃病症、顽固性便秘、糖尿病、感染危险增加、甲状腺功能障碍、肾上腺功能障碍、自主性功能障碍、精神混乱、定向障碍、记忆丧失、生长缓慢、发育停滞、协调性不良、感官(视力、听力)问题、心理功能降低、器官疾病、痴呆、呼吸问题、低血糖、呼吸暂停、乳酸性酸中毒、癫痫、吞咽困难、发育延缓、运动病症(肌张力障碍、肌肉痉挛、颤振、舞蹈病)、中风和脑萎缩。

7. 根据权利要求2至5中任一项所述的方法,其中,经口服、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内施用所述肽。

8. 根据权利要求2所述的方法,其中,所述雷氏综合征与SURF1基因突变相关。

9. 根据权利要求2所述的方法,其中,所述SURF1突变引起线粒体氧化磷酸化的破坏,所述破坏归因于选自由复合体I;复合体II;复合体III;复合体IV;和复合体V构成的组中的至少一种线粒体复合体的完全装配的损伤。

10. 根据权利要求3至5中任一项所述的方法,其中,所述受试者具有引起线粒体氧化磷酸化的破坏的POLG突变。

治疗线粒体疾病的方法

[0001] 本申请是申请日为2014年02月28日、申请号为201480022764.9、发明名称为“治疗线粒体疾病的方法”的中国专利申请的分案申请。

[0002] 相关专利申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2013年3月1日提交的美国临时专利申请61/771,534和2013年3月1日提交的美国临时专利申请61/771,642的优先权,其中两者都通过引用整体结合到本文中来。

技术领域

[0004] 本发明技术通常涉及用于预防、缓解或治疗线粒体功能的破坏和/或线粒体功能的破坏的症状的组合物和方法。特定而言,本发明技术的实施方案涉及施用有效量的芳族阳离子肽以预防、治疗或减缓在例如在遭受或易感与在surfeit位点蛋白(SURF1)基因或DNA聚合酶 γ (POLG)基因中的突变相关的线粒体疾病或病症的受试者中见到的细胞的细胞中的线粒体氧化磷酸化的破坏或其症状。

背景技术

[0005] 提供以下描述以帮助读者的理解。但并不承认所提供的信息或引用的参考文献为现有技术。

[0006] 线粒体(Mitochondria)(线粒体(mitochondrion)的复数形式)有时描述为细胞的“动力工厂(power plant)”,因为线粒体尤其负责产生超过90%的身体需要的能量以维持生命并支持生长。线粒体是在身体内的几乎每个细胞中见到的细胞器官且负责产生超过90%的细胞能量。对于身体维持生命并支持生长是必需的。除了产生能量之外,线粒体还深入地包括多种其它活性,例如产生甾体激素和制造DNA的建筑区块。线粒体故障导致引起细胞死亡的细胞损伤。

[0007] 线粒体疾病几乎与儿童癌症一样常见。每年在美国出生的4,000个小孩中有大约1个将在10岁患上线粒体病症。在成年人中,已经发现许多老年疾病具有线粒体功能的缺陷。这些包括但不限于二型糖尿病、帕金森氏病(Parkinson's disease)、动脉粥样硬化心脏病、中风、阿兹海默氏病(Alzheimer's disease)和癌症。另外,选择的药物可损害线粒体。

[0008] 存在多种形式的线粒体疾病。线粒体疾病可表现为在细胞的线粒体未能生成对于细胞和器官功能而言足够的能量时发生的慢性遗传病症。的确,对于许多患者,线粒体疾病为在家族中发生的遗传病状(遗传的)。线粒体疾病以例如常染色体遗传、线粒体DNA(mtDNA)遗传及其组合的多种不同方式遗传。例如,SURF1和/或POLG基因的突变可促成在人类中的线粒体疾病。另外,一些患者由于包括线粒体毒素的其它因子而获得线粒体功能障碍或疾病。

[0009] 线粒体疾病在个体之间表现非常不同。目前没有治愈基于线粒体的疾病的方案。治疗通常是减轻以改进疾病症状。治疗常包括维生素疗法和保存能量。治疗可包括特殊饮食和/或维生素和减低对身体的任何压力的组合。

发明内容

[0010] 本发明技术涉及经由施用治疗有效量的例如D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂的芳族阳离子肽或例如乙酸盐或三氟乙酸盐的其药学上可接受的盐到有此需要的受试者预防、治疗或缓解线粒体疾病及其症状,例如与在哺乳动物或哺乳动物细胞中的SURF1基因或POLG基因中的突变相关的病状。在一些方面,本发明技术涉及通过施用如本文公开的芳族阳离子肽预防、治疗或缓解在有此需要的受试者中与在SURF1基因或POLG基因中的突变相关的线粒体氧化磷酸化的破坏。在一些实施方案中,所述哺乳动物受试者处于以与线粒体基因突变相关的线粒体功能障碍为特征的疾病或病状的危险之中或遭受所述疾病或病状或处于所述疾病或病状的增加的危险之中。在一些实施方案中,所述受试者遭受以影响线粒体功能的基因突变为特征的疾病或病状或处于所述疾病或病状的增加的危险之中。在一些实施方案中,线粒体氧化磷酸化的破坏与至少一种基因突变相关。在一些实施方案中,所述受试者遭受以在SURF1中的突变为特征的疾病或病状或处于所述疾病或病状的增加之中。在一些实施方案中,所述受试者遭受以在POLG中的突变为特征的疾病或病状或处于所述疾病或病状的增加之中。

[0011] 在一些实施方案中,所述哺乳动物细胞在原位或离体的。在一些实施方案中,线粒体氧化磷酸化的破坏归因于例如复合体I、复合体II、复合体III、复合体IV和复合体V及其组合的至少一种线粒体多肽的完全装配的损伤。在一些实施方案中,线粒体氧化磷酸化的破坏归因于线粒体超级复合体装配的损伤。

[0012] 本文还公开了治疗或缓解有此需要的受试者的线粒体疾病或病症的方法,所述方法包括:施用治疗有效量的肽D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐,由此治疗或缓解所述线粒体疾病或病状的至少一种症状。

[0013] 在一些实施方案中,线粒体疾病的症状受到预防、治疗或缓解。在所公开方法的一些实施方案中,线粒体疾病、病状或病症的症状包括以下症状中的任一种或多种:生长缓慢、肌肉协调性损失、肌无力、神经功能缺损、癫痫、孤独症、自闭症谱系、自闭症样特征、学习能力缺失、心脏病、肝病、肾病、肠胃病症、顽固性便秘、糖尿病、感染危险增加、甲状腺功能障碍、肾上腺功能障碍、自主性功能障碍、精神混乱、定向障碍、记忆丧失、生长缓慢、发育停滞、协调性不良、感官(视力、听力)问题、心理功能降低、器官疾病、痴呆、呼吸问题、低血糖、呼吸暂停、乳酸性酸中毒、癫痫、吞咽困难、发育延缓、运动病症(肌张力障碍、肌肉痉挛、颤振、舞蹈病)、中风和脑萎缩。

[0014] 在所公开方法的一些实施方案中,所述线粒体疾病或病状可包括以下疾病或病状中的一种或多种:雷氏综合征(Leigh syndrome)、阿尔珀斯病(Alpers'disease)、共济失调-神经病变病症(ataxia-neuropathy disorders)和进行性眼外肌麻痹。

[0015] 在所公开方法的一些实施方案中,所述线粒体疾病或病状与至少一种基因突变相关。在所公开方法的一些实施方案中,所述基因突变位于SURF1或POLG基因中的一种或多种中。

[0016] 在一些方面,提供增加哺乳动物细胞的解耦比的方法。在一些实施方案中,所述方法包括:使所述细胞与治疗有效量的肽D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐接触,由此增加所述细胞的解耦比。在一些实施方案中,所述细胞为人类细胞。在一些实施方案中,所述细胞在人类受试者中。

[0017] 一些方面,本公开内容提供预防、治疗或缓解线粒体疾病或病状或其症状的方法,其包括对有此需要的受试者施用治疗有效量的芳族阳离子肽或其药学上可接受的盐,例如D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐,例如乙酸盐或三氟乙酸盐。在一些实施方案中,所述方法还包括施用一种或多种额外的治疗剂。在一些实施方案中,所述芳族阳离子肽为具有以下的肽:

[0018] 至少一个净正电荷;

[0019] 最少4个氨基酸;

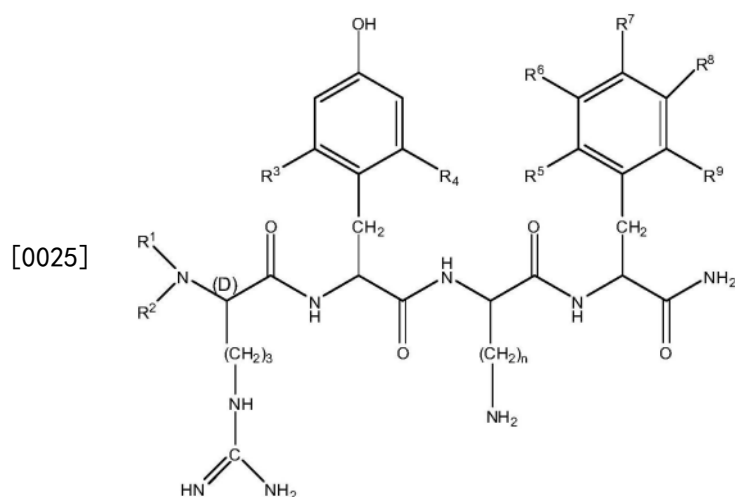
[0020] 最多约20个氨基酸;

[0021] 最小净正电荷数(p_m)和氨基酸残基总数(r)之间的如下关系,其中 $3p_m$ 为小于或等于 $r+1$ 的最大数;以及最小芳族基团数(a)和净正电荷总数(p_t)之间的如下关系,其中 $2a$ 为小于或等于 p_t+1 的最大数,例外之处在于,当 a 为1时, p_t 也可作为1。在特定的实施方案中,所述受试者为人类。

[0022] 在一些实施方案中, $2p_m$ 为小于或等于 $r+1$ 的最大数,且 a 可等于 p_t 。所述芳族阳离子肽可为具有最少2个或最少3个正电荷的水溶性肽。在一些实施方案中,所述肽包含一个或多个天然存在的氨基酸,例如一个或多个D-氨基酸。在一些实施方案中,在C-末端的氨基酸的C-末端羧基为酰胺化的。在某些实施方案中,所述肽具有最少4个氨基酸。所述肽可具有最多约6个、最多约9个或最多约12个氨基酸。

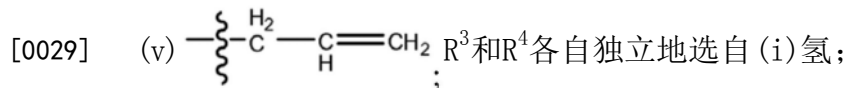
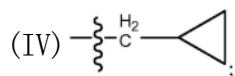
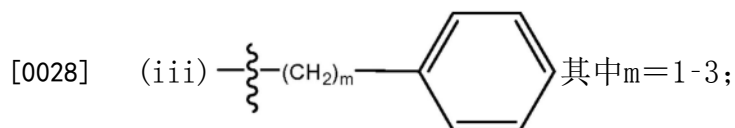
[0023] 在一些实施方案中,所述肽包含在N-末端的酪氨酸或2',6'-二甲基酪氨酸(Dmt)残基。例如,所述肽可具有式Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH₂或Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH₂。在另一实施方案中,所述肽包含在N-末端的苯丙氨酸或2',6'-二甲基苯丙氨酸残基。例如,所述肽可具有式Phe-D-Arg-Phe-Lys-NH₂或2',6'-Dmp-D-Arg-Phe-Lys-NH₂。在一个特定的实施方案中,所述芳族阳离子肽具有式D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐如乙酸盐或三氟乙酸盐。

[0024] 在一个实施方案中,所述肽由式I限定:



[0026] 其中 R^1 和 R^2 各自独立地选自(i)氢;

[0027] (ii)直链或支链的 C_1 - C_6 烷基;



[0030] (ii) 直链或支链的 C_1-C_6 烷基;

[0031] (iii) C_1-C_6 烷氧基;

[0032] (iv) 氨基;

[0033] (v) C_1-C_4 烷基氨基;

[0034] (vi) C_1-C_4 二烷基氨基;

[0035] (vii) 硝基;

[0036] (viii) 羟基;

[0037] (ix) 卤素, 其中“卤素”涵盖氯、氟、溴和碘;

[0038] R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 各自独立地选自

[0039] (i) 氢;

[0040] (ii) 直链或支链的 C_1-C_6 烷基;

[0041] (iii) C_1-C_6 烷氧基;

[0042] (iv) 氨基;

[0043] (v) C_1-C_4 烷基氨基;

[0044] (vi) C_1-C_4 二烷基氨基;

[0045] (vii) 硝基;

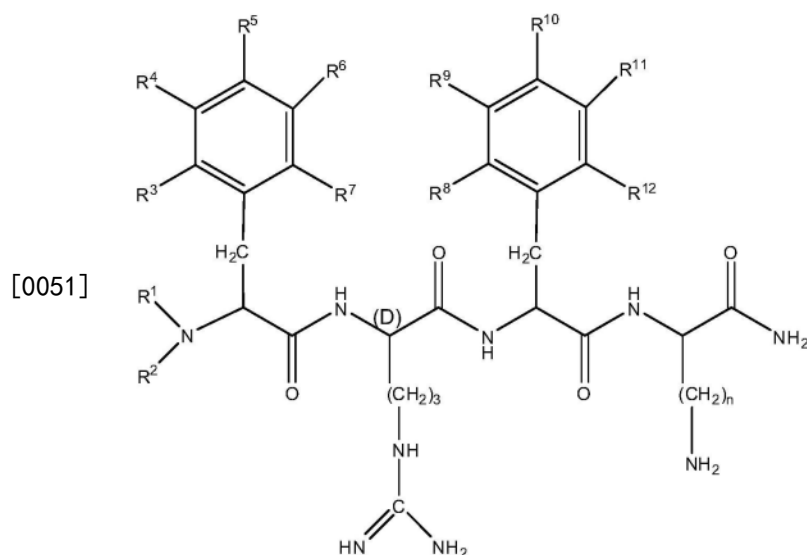
[0046] (viii) 羟基;

[0047] (ix) 卤素, 其中“卤素”涵盖氯、氟、溴和碘; 且

[0048] n 为 1-5 的整数。

[0049] 在一个特定的实施方案中, R^1 和 R^2 为氢; R^3 和 R^4 为甲基; R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 全部为氢; 且 n 为 4。

[0050] 在一个实施方案中, 所述肽由式 II 限定:



[0052] 其中 R^1 和 R^2 各自独立地选自

[0053] (i) 氢;

[0054] (ii) 直链或支链的C₁-C₆烷基;

[0055] (iii) $-\zeta-(\text{CH}_2)_m-$  其中 $m=1-3$

[0056] (IV) 

[0057] (v) $\text{---}\overset{\text{H}_2}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}\text{---}\text{C}=\text{CH}_2$.

[0058] $R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}$ 和 R^{12} 各自独立地选自 (i) 氢;

[0059] (ii) 直链或支链的C₁-C₆烷基;

[0060] (iii) C_1 - C_6 烷氧基;

[0061] (iv) 氨基

[0062] (v) C₁-C₄烷基氨基;

[0063] (vi) C₁-C₄二烷基氨基;

[0064] (vii) 硝基:

[0065] (viii)羟基:

[0066] (ix) 卤素, 其中“卤素”涵盖氯、氟、溴和碘; 且

[0067] n为1-5的整数。

[0068] 在一个特定的实施方案中, R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹和R¹²全都为氢;且n为4。在另一实施方案中, R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹和R¹¹全都为氢; R⁸和R¹²为甲基; R¹⁰为羟基;且n为4。

[0069] 所述芳族阳离子肽可以多种方式施用。在一些实施方案中,所述肽可经口服、局部、鼻内、腹膜内、静脉内、皮下或透皮(例如,通过离子电渗)施用。在一些实施方案中,所述芳族阳离子肽通过冠状动脉内路径或动脉内路径施用。

[0070] 在一个实施方案中,本发明技术提供通过施用如本文公开的芳族阳离子肽来预

防、治疗或缓解在有此需要的哺乳动物受试者中的线粒体疾病或病状或其症状和/或治疗、预防或缓解在有此需要的受试者中的线粒体氧化磷酸化的破坏的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的肽或其药学上可接受的盐如乙酸盐或三氟乙酸盐,由此缓解或治疗线粒体疾病、缺陷或病状和/或其体征或症状。在一个实施方案中,所述方法还包括对所述受试者施用一种或多种额外的治疗剂的步骤。在一个实施方案中,所述哺乳动物受试者处于以线粒体功能障碍为特征的疾病或病状的危险之中或遭受所述疾病或病状或处于所述疾病或病状的增加的危险之中。在一些实施方案中,所述受试者遭受线粒体氧化磷酸化的破坏或处于线粒体氧化磷酸化破坏的增加了的危险之中。在一些实施方案中,所述受试者遭受以影响线粒体功能的遗传突变为特征的疾病或病状或处于所述疾病或病状的增加之中。在一些实施方案中,所述受试者遭受以在SURF1中的突变为特征的疾病或病状或处于所述疾病或病状的增加之中。在一些实施方案中,所述受试者遭受以在POLG中的突变为特征的疾病或病状或处于所述疾病或病状的增加之中。在一些实施方案中,所述受试者通过施用如本文公开的芳族阳离子肽来治疗。

[0071] 另一方面,本发明技术涉及治疗在有此需要的受试者中的雷氏综合征的方法,所述方法包括:施用治疗有效量的所述肽D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐。

[0072] 另一方面,本发明技术涉及治疗在有此需要的受试者中的阿尔珀斯病的方法,所述方法包括:施用治疗有效量的所述肽D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐。

[0073] 另一方面,本发明技术涉及治疗在有此需要的受试者中的共济失调-神经病变病症的方法,所述方法包括:施用治疗有效量的所述肽D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐。

[0074] 另一方面,本发明技术涉及治疗在有此需要的受试者中的进行性眼外肌麻痹的方法,所述方法包括:施用治疗有效量的所述肽D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂或其药学上可接受的盐。

[0075] 在一些实施方案中,上述治疗方法中的任一种减轻或缓解选自以下的一种或多种症状:生长缓慢、肌肉协调性损失、肌无力、神经功能缺损、癫痫、孤独症、自闭症谱系、自闭症样特征、学习能力缺失、心脏病、肝病、肾病、肠胃病症、顽固性便秘、糖尿病、感染危险增加、甲状腺功能障碍、肾上腺功能障碍、自主性功能障碍、精神混乱、定向障碍、记忆丧失、生长缓慢、发育停滞、协调性不良、感官(视力、听力)问题、心理功能降低、器官疾病、痴呆、呼吸问题、低血糖、呼吸暂停、乳酸性酸中毒、癫痫、吞咽困难、发育延缓、运动病症(肌张力障碍、肌肉痉挛、颤振、舞蹈病)、中风和脑萎缩。

[0076] 在一些实施方案中,上述治疗方法中的任一种的肽经口服、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌肉内施用。

[0077] 在一些实施方案中,所述雷氏综合征与SURF1基因突变相关。在一些实施方案中,所述SURF1突变由于选自复合体I、复合体II、复合体III、复合体IV和复合体V的至少一种线粒体复合体的完全装配的损伤而导致线粒体氧化磷酸化的破坏。

[0078] 在一些实施方案中,具有阿尔珀斯病、共济失调-神经病变病症或进行性眼外肌麻痹的受试者具有导致线粒体氧化磷酸化破坏的POLG突变。

附图说明

- [0079] 图1为说明在具有SURF1突变的受试者中复合体IV单体OXPHOS酶装配的电泳凝胶；
- [0080] 图2A-图2G为说明SS-31对在表达突变的SURF1或POLG的转化的成纤维细胞中的OXPHOS容量的影响的图表。在图中的“隐形 (Stealth) 2”为携带SURF1突变体的成纤维细胞系的名称；在图中的“隐形4”为携带POLG突变体的成纤维细胞系的名称；
- [0081] 图3A-图3G为说明SS-31对在表达突变的POLG的转化的成纤维细胞 (细胞系“隐形4”) 中的OXPHOS容量的影响的图表；
- [0082] 图4提供例示性POLG突变的列表；
- [0083] 图5提供POLG的结构模式；
- [0084] 图6为说明在具有SURF1突变的受试者中复合体IV单体OXPHOS酶装配的电泳凝胶。

具体实施方式

[0085] 应当了解下文以各种详细程度描述本发明的某些方面、模式、实施方案、变体和特征以提供对本发明的充分理解。下文提供如在本说明书中所用的某些术语的定义。除非另外定义，否则本文使用的所有技术和科学术语通常具有与本发明所属领域中的普通技术人员通常理解的相同的含义。

[0086] 在实施本发明时，使用了分子生物学、蛋白质生物化学、细胞生物学、免疫学、微生物学和重组DNA中的许多常规技术。这些技术是熟知的并在例如Current Protocols in Molecular Biology, 第I-III卷, Ausubel编著(1997); Sambrook等人, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版 (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989); DNA Cloning: A Practical Approach, 第I和II卷, Glover编著(1985); Oligonucleotide Synthesis, Gait编著(1984); Nucleic Acid Hybridization, Hames & Higgins编著(1985); Transcription and Translation, Hames和Higgins编著(1984); Animal Cell Culture, Freshney编著(1986); Immobilized Cells and Enzymes (IRL Press, 1986); Perbal, A Practical Guide to Molecular Cloning; 系列丛书, Meth. Enzymol., (Academic Press, Inc., 1984); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells, Miller和Calos编著 (Cold Spring Harbor Laboratory, NY, 1987); 和分别由Wu和Grossman编著以及Wu编著的Meth. Enzymol. 第154卷和第155卷中解释。

[0087] 如在本说明书和所附权利要求书中所使用，除非上下文清楚地指明，否则单数形式的“一个(a)”、“一种(an)”以及“所述(the)”包括复数个对象。例如，提及“一个细胞”包括两个或更多个细胞的组合等。

[0088] 本文使用的向受试者“施用”试剂、药物或肽包括向受试者引入或递送化合物以执行其预期功能的任何路径。施用可通过任何合适的路径进行，包括经口服、鼻内、肠胃外(静脉内、肌肉内、腹膜内或皮下)或局部进行。在一些实施方案中，所述芳族阳离子肽通过冠状动脉内路径或动脉内路径施用。施用包括自施用和通过另一者施用。

[0089] 本文使用的术语“氨基酸”包括天然存在的氨基酸和合成氨基酸，以及以类似于天然存在的氨基酸的方式发挥作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸为由遗传密码编码的那些氨基酸，以及随后进行修饰的氨基酸，例如羟基脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸和O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物是指具有与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构(即，

与氢、羧基、氨基和R基团键结的 α -碳)的化合物,例如,高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基砷。这些类似物具有修饰的R基团(例如,正亮氨酸)或修饰的肽主链,但是保留与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸模拟物是指具有与氨基酸的一般化学结构不同的结构,但是以类似于天然存在的氨基酸的方式发挥作用的化学化合物。氨基酸可以通过其通常已知的三字母符号或通过IUPAC-IUB生物化学命名委员会(IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commission)推荐的单字母符号在本文中提到。

[0090] 本文使用的术语“有效量”是指足以实现所需治疗和/或预防作用的量,例如,引起预防或缓解与在SURF1基因或POLG基因中的突变相关的线粒体疾病或病症或其症状或者与在SURF1基因或POLG基因中的突变相关的线粒体氧化磷酸化破坏相关的一种或多种症状的量。在治疗应用的情况下,向受试者施用的组合物的量将取决于疾病的类型和严重性及个体的特征,例如一般健康状况、年龄、性别、体重和药物耐受性。其还将取决于疾病的程度、严重性和类型。技术人员能够根据这些因素和其它因素确定适当的剂量。组合物也可与一种或多种额外的治疗性化合物组合施用。在本文所述的方法中,可将芳族阳离子肽施用到具有线粒体氧化磷酸化破坏的一种或多种体征或症状的受试者。例如,“治疗有效量”的芳族阳离子肽意指其中在最小程度上缓解线粒体氧化磷酸化破坏的生理影响的水平。

[0091] 本文使用的术语“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”或“缓解”是指治疗性和预防性治疗或措施,其中目的是预防或减缓或减慢(减轻)所靶向的病理病状或病症。例如,如果在根据本文所述的方法接受治疗量的芳族阳离子肽后,受试者就与在SURF1基因或POLG基因中的突变相关的线粒体疾病或病症成功地受到“治疗”,则所述受试者显示出线粒体氧化磷酸化破坏的可观察和/或可度量的减少。还应当了解,治疗或预防如所述的医学病状和/或其症状的多种模式意指“基本上”,这包括完全治疗,还包括亚完全治疗,并且其中实现一些生物学上或医学上相关的结果。

[0092] 本文使用的“预防(prevention)”或“预防(preventing)”病症或病状指如下化合物,在统计样品中,所述化合物相对于未处理的对照样品减少该病症或病状的症状在处理过的样品中出现,或相对于未处理的对照样品延迟该病症或病状的一种或多种症状的发作或降低其严重性。本文使用的预防与在SURF1基因或POLG基因中的突变相关的线粒体疾病或病症包括预防氧化损伤或预防线粒体通透性转运,由此预防或缓解线粒体氧化磷酸化破坏的有害影响。

[0093] “分离的”或“纯化的”多肽或肽基本上不含来自产生该试剂的细胞或组织来源中的细胞物质或其它污染多肽,或当化学合成时基本上不含化学前体或其它化学品。例如,分离的芳族阳离子肽将不含会干扰药剂的诊断性或治疗性用途的物质。这类干扰性物质可包括酶、激素和其它蛋白质溶质及非蛋白质溶质。

[0094] 本文使用的术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换地用来意指包含通过肽键或修饰的肽键彼此接合的两个或更多个氨基酸的聚合物,即肽等排体。“多肽”是指短链(常称作肽、糖肽或低聚物)和较长的链(一般称作蛋白质)两者。多肽可含有不同于基因编码的20种氨基酸的氨基酸。多肽包括通过天然过程如翻译后加工或通过本领域熟知的化学修饰技术所修饰的氨基酸序列。

[0095] 本文使用的术语“同时”治疗性使用是指通过相同路径并在相同时间或在基本上相同的时间施用至少两种活性成分。

[0096] 本文使用的术语“分别”治疗性使用是指在相同时间或在基本上相同的时间通过不同路径施用至少两种活性成分。

[0097] 本文使用的术语“依次”治疗性使用是指在不同时间施用至少两种活性成分,施用路径相同或不同。更特定地讲,依次使用是指在开始施用另一种或其它活性成分之前,完全施用活性成分之一。因此可以在施用另一种或其它活性成分之前数分钟、数小时或数天范围内施用活性成分之一。在这种情况下不存在同时治疗。

[0098] 与线粒体疾病相关的突变

[0099] SURF1

[0100] 氧化磷酸化(OXPHOS)包括在如在大多数细胞类型中的能量的初始来源(ATP)、细胞氧化还原作用的控制点和从嘧啶合成到细胞凋亡调节范围的必要新陈代谢和信号途径的控制点的细胞功能中。最佳OXPHOS功能需要将个别OXPHOS酶聚集到超级复合体中,其允许电子的有效且迅速的输送。超级复合体允许由复合体I、III和IV产生的电化学(质子)梯度的有效形成,其随后被复合体V使用以合成ATP。在许多种类的线粒体疾病中,发生单体酶(复合体I-V)和超级复合体装配的损伤。功能性超级复合体含有单一复合体I酶、两种复合体III酶和可变数目的复合体IV酶(复合体I+III₂+IV)加移动电子载体CoQ10和细胞色素c。复合体II也可与复合体I+III₂+IV结构相关。在超级复合体分离期间,观察到其它种类的超级复合体:(1)复合体I+III₂+V;(2)复合体I+III₂+IV;(3)复合体III+IV。这些其它超级复合体种类(特别是缺乏复合体IV的那些)的作用尚不明确,但它们可为在功能性超级复合体装配中包括的中间结构。

[0101] SURF1为起复合体IV(细胞色素c氧化酶)的装配因子的作用的300个氨基酸、9个外显子的核基因。SURF1基因的病原性突变通常产生深刻的复合体IV缺陷。在SURF1基因中最常遇到的突变是雷氏综合征的常见原因。认为归因于SURF1突变的OXPHOS疾病以常染色体隐性方式传输。

[0102] 在携带SURF1、COX10和SCO1突变的仅少许案例中已经研究了包括复合体IV(细胞色素c氧化酶)的基因突变对超级复合体形成的影响,(参见Williams等,J.Biol.Chem.,279(9):7462-69(2004);Diaz等,Mol.Cell Biol.,26(13):4872-81(2006);Acin-Perez等,Mol.Cell,32(4):529-39(2008))。在SURF1、COX10和SCO1中的突变,复合体IV装配因子,可通过在通过组织化学、免疫荧光、酶学和蛋白质化学法观察到的复合体IV活性方面的扩散下降来识别。迄今为止,在这些基因中具有突变的所有患者都显示受损的超级复合体装配。

[0103] 具有SURF1突变的患者的评定说明对于OXPHOS功能的变化多样的影响。变化的SURF1的OXPHOS超级复合体分析和单体酶分析显示以下特征:

[0104] 1) 以下复合体的超级复合体形成减少:(A)复合体I+III₂;(B)复合体I+III₂+IV₁;和(C)复合体I+III₂+IV_n(n=2或更大)。

[0105] 2) 单体复合体IV是高度异常的,显示减少的装配以及异常高和低分子量的复合体IV结构。这些异常复合体IV结构可能表示异常装配且功能失调的复合体IV。

[0106] 3) 在严重的案例下,复合体V似乎受到影响。当分离整个复合体V(ATP合酶)酶以便透明非变性凝胶酶学分析时,患者可显示受损的ATPase活性。该发现提议复合体V可在一些具有SURF1突变的患者中第二位地受影响,因此导致在这些患者中观察到的表型变化。

[0107] POLG

[0108] DNA聚合酶 γ 基因POLG编码DNA聚合酶 γ 的催化亚单元,这是复制和修复线粒体DNA所需要的。已经在文献中多次报道了在POLG中的突变,且这些突变作为纯合突变或与另一突变混合的杂合突变与许多疾病和病状相关,例如进行性眼外肌麻痹(PEO)、阿尔珀斯病和具有发音困难和眼肌轻瘫的感官共济失调神经病变(SANDO), (参见Nature Genetics, 28(3):211-2(2001); Hum. Mol. Genet., 17, 2496-2506(2009); J. Med. Genet., 46, 209-14(2009); J. Inher. Metab. Dis., 32, 143-158(2009); Muscle Nerve, 41(2):265-9(2010); Neurology, 73(11):898-9003(2009); J. Med. Genet., 46(11):776-85(2009))。POLG蛋白的缺陷的最严重表现已经与POLG的“间隔”区的突变相关联。据报道该突变破坏亚单元相互作用并降低DNA结合和聚合酶的催化效率。

[0109] 线粒体疾病或病症

[0110] 雷氏综合征

[0111] 在具有通常在幼儿或低龄儿童中发生的渐进性脑病雷氏综合征的患者中已经识别出超过40种不同的SURF1基因突变。

[0112] 大约10-15%的具有雷氏综合征的人在SURF1基因具有突变。大多数SURF1基因突变产生异常短的SURF1蛋白。其它突变替换在SURF1蛋白中的单一氨基酸。这些突变的蛋白在细胞中降解,这导致SURF1蛋白缺乏。如上论述,在SURF1基因中的突变与减少的OXPHOS功能相关联。

[0113] 阿尔珀斯病

[0114] 阿尔珀斯病为渐进性神经发育性线粒体DNA(mtDNA)消耗综合征。阿尔珀斯病为由用于线粒体DNA聚合酶POLG的基因中的突变引起的常染色体隐性疾病。该疾病在100,000人中约1人发生。大多数具有阿尔珀斯病的个体在出生时没有显示出症状并且在症状发作之前的几周到几年发育正常。诊断通过对于POLG基因的试验建立。症状通常在组织样品显示线粒体DNA消耗之前的数月出现。大约80%的具有阿尔珀斯病的个体在生命的前两年发展症状,而20%的具有阿尔珀斯病的个体在2-25岁之间发展症状。

[0115] 进行性眼外肌麻痹

[0116] 进行性眼外肌麻痹(PEO)为由在线粒体中的缺陷引起的病状。受影响的个体常在肌肉组织中具有来自线粒体DNA(mtDNA)的遗传物质的重大缺失。PEO可由在数个不同基因中的突变所引起。在一些情况下,在核DNA中的突变造成PEO,特定而言在POLG基因中的突变。这些基因对于mtDNA维持是关键性的。尽管机制尚不明确,但是在这三种基因中的任何一种中的突变导致mtDNA的重大缺失,2,000-10,000个核苷酸。

[0117] POE通常在18-40岁之间的成年人中发生。进行性眼外肌麻痹的体征和症状包括但不限于眼睑下垂(上睑下垂症),可影响一个眼睑或两个眼睑;移动眼睛的肌肉虚弱或麻痹(眼肌麻痹);骨骼肌全身无力(骨骼肌变性),特定地在颈部、胳膊或腿部;和吞咽困难(咽下困难)。

[0118] 共济失调神经病谱系

[0119] 共济失调神经病谱系是称为POLG相关病症的一组病状的一部分。在该组中的病状的特点在于包括肌肉、神经和大脑有关功能的广泛的类似体征和症状。共济失调神经病谱系包括称为线粒体隐性共济失调综合征(MIRAS)和感官性共济失调神经病变发音困难和眼肌麻痹(SANDO)的病状。

[0120] 在POLG基因中的突变常产生较少的mtDNA复本(mtDNA消耗)或mtDNA的大区域的缺失(mtDNA缺失)。MtDNA消耗和/或mtDNA缺失可导致OXPHOS减少。

[0121] 具有共济失调神经病谱系的患者通常具有神经功能方面的协调性和平衡(共济失调)和障碍的问题(神经病变)。神经病可分类为感官、运动或两种的组合。感官神经病导致胳膊和腿麻木、震颤或疼痛,且运动神经病是指在用于肌肉运动的神经的破坏。

[0122] 芳族阳离子肽

[0123] 本发明技术涉及通过施例如D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂的如本文公开的芳族阳离子肽或例如乙酸盐或三氟乙酸盐的其药学上可接受的盐来预防、治疗或缓解在有此需要的受试者中与在SURF1基因或POLG基因中的突变相关的线粒体氧化磷酸化的破坏。本发明技术涉及经由施用治疗有效量的例如D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂的芳族阳离子肽或例如乙酸盐或三氟乙酸盐的其药学上可接受的盐到有此需要的受试者来预防、治疗或缓解在哺乳动物中的线粒体疾病或病状或其症状。

[0124] 所述芳族阳离子肽为水溶性且高度极性的。尽管存在这些性质,但所述肽可容易地渗透细胞膜。芳族阳离子肽通常包含通过肽键共价连接的最少3个氨基酸或最少4个氨基酸。在芳族阳离子肽中存在的最大氨基酸数目为约20个通过肽键共价连接的氨基酸。合适地,最大氨基酸数目为约12个,更优选约9个并且最优选约6个。

[0125] 芳族阳离子肽的氨基酸可为任意氨基酸。本文使用的术语“氨基酸”用以指含有至少一个氨基和至少一个羧基的任何有机分子。通常,至少一个氨基在相对于羧基的位置处。氨基酸可为天然存在的。天然存在的氨基酸包括,例如,在正常情况下在哺乳动物蛋白质中见到的20种最常见的左旋(L)氨基酸,即丙氨酸(Ala)、精氨酸(Arg)、天冬酰胺(Asn)、天冬氨酸(Asp)、半胱氨酸(Cys)、谷氨酰胺(Gln)、谷氨酸(Glu)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、赖氨酸(Lys)、甲硫氨酸(Met)、苯丙氨酸(Phe)、脯氨酸(Pro)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)和缬氨酸(Val)。其它天然存在的氨基酸包括,例如,在与蛋白质合成不相关的代谢过程中合成的氨基酸。例如,氨基酸鸟氨酸和瓜氨酸在尿生成期间在哺乳动物代谢中合成。天然存在的氨基酸的另一个实例包括羟基脯氨酸(Hyp)。

[0126] 所述肽任选含有一个或多个非天然存在的氨基酸。最佳地,所述肽不具有天然存在的氨基酸。非天然存在的氨基酸可为左旋的(L-)、右旋的(D-)或其混合物。非天然存在的氨基酸为通常不在活有机体中的正常代谢过程中合成并且不天然存在于蛋白质中的氨基酸。另外,非天然存在的氨基酸合适地还不被常见的蛋白酶所识别。非天然存在的氨基酸可以存在于肽中的任何位置处。例如,非天然存在的氨基酸可在N-末端、C-末端或在N-末端和C-末端之间的任何位置处。

[0127] 非天然氨基酸可例如包含在天然氨基酸中未见到的烷基、芳基或烷基芳基。非天然烷基氨基酸的一些实例包括 α -氨基丁酸、 β -氨基丁酸、 γ -氨基丁酸、 δ -氨基戊酸和 ϵ -氨基己酸。非天然芳基氨基酸的一些实例包括邻-、间-和对-氨基苯甲酸。非天然烷基芳基氨基酸的一些实例包括邻-、间-和对-氨基苯乙酸,以及 γ -苯基- β -氨基丁酸。非天然存在的氨基酸包括天然存在的氨基酸的衍生物。天然存在的氨基酸的衍生物可例如包括向天然存在的氨基酸添加一个或多个化学基团。

[0128] 例如,可以将一个或多个化学基团添加到苯丙氨酸残基或酪氨酸残基的芳族环的

2'、3'、4'、5'或6'位或色氨酸残基的苯并环的4'、5'、6'或7'位中的一个或多个位置。所述基团可为可添加至芳族环的任何化学基团。这类基团的一些实例包括分支或未分支的 C_1 - C_4 烷基,例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、异丁基或叔丁基; C_1 - C_4 烷氧基(即,烷氧基);氨基; C_1 - C_4 烷基氨基和 C_1 - C_4 二烷基氨基(例如,甲基氨基、二甲基氨基);硝基;羟基;卤素(即,氟、氯、溴或碘)。天然存在的氨基酸的非天然存在衍生物的一些具体实例包括正缬氨酸(Nva)和正亮氨酸(Nle)。

[0129] 在肽中氨基酸的修饰的另一实例为肽的天冬氨酸残基或谷氨酸残基的羧基衍生化。衍生化的一个实例是用氨或用伯胺或仲胺(例如,甲胺、乙胺、二甲胺或二乙胺)酰胺化。衍生化的另一实例包括用例如甲醇或乙醇酯化。另一种这样的修饰包括赖氨酸残基、精氨酸残基或组氨酸残基的氨基的衍生化。例如,这类氨基可以酰基化。一些合适的酰基例如包括苯甲酰基或包含上文提到的任一种 C_1 - C_4 烷基如乙酰基或丙酰基的烷酰基。

[0130] 非天然存在的氨基酸合适地抵抗常见的蛋白酶或对其不敏感。抵抗蛋白酶或对其不敏感的非天然存在的氨基酸的实例包括任一种上文提到的天然存在的L-氨基酸的右旋(D-)形式以及L-和/或D-非天然存在的氨基酸。D-氨基酸在正常情况下不出现于蛋白质中,不过它们存在于某些肽抗生素中,其中通过除细胞的正常核糖体蛋白合成机制之外的方式合成所述肽抗生素。将本文使用的D-氨基酸视为非天然存在的氨基酸。

[0131] 为了使蛋白酶敏感性最小化,所述肽应当具有少于5个、优选少于4个、更优选少于3个且最优选少于2个被常见蛋白酶识别的邻接L-氨基酸,无论这些氨基酸是否为天然存在的或是非天然存在的。最佳地,所述肽仅具有D-氨基酸并且不具有L-氨基酸。如果该肽含有蛋白酶敏感的氨基酸序列,则至少一个氨基酸优选为非天然存在的D-氨基酸,因而赋予蛋白酶抗性。蛋白酶敏感序列的实例包括被例如内肽酶和胰蛋白酶的常见蛋白酶容易地分裂的两个或多个连接碱性氨基酸。碱性氨基酸的实例包括精氨酸、赖氨酸和组氨酸。

[0132] 与在肽中的氨基酸残基总数相比,芳族阳离子肽应当在生理学pH下具有最小净正电荷数目。在生理学pH下的最小净正电荷数目将在下文称为(p_m)。在肽中的氨基酸残基总数将在下文称为(r)。下文论述的最小净正电荷数目均处于生理学pH下。本文使用的术语“生理学pH”是指在哺乳动物身体的组织和器官的细胞中的正常pH。例如,人的生理学pH在正常情况下为约7.4,但是在哺乳动物中的正常生理学pH可为约7.0-约7.8的任何pH。

[0133] 本文使用的“净电荷”是指在肽中存在的氨基酸所携带的正电荷数和负电荷数的平衡值。在本说明书中,应当理解净电荷在生理学pH下测量。在生理学pH下带正电的天然存在的氨基酸包括L-赖氨酸、L-精氨酸和L-组氨酸。在生理学pH下带负电荷的天然存在的氨基酸包括L-天冬氨酸和L-谷氨酸。

[0134] 通常,肽具有带正电荷的N-末端氨基和带负电荷的C-端羧基。电荷在生理学pH下彼此抵消。作为计算净电荷的实例,肽Tyr-Arg-Phe-Lys-Glu-His-Trp-D-Arg具有1个带负电荷的氨基酸(即,Glu)和4个带正电荷的氨基酸(即,2个Arg残基、1个Lys和1个His)。因此,上述肽具有3个净正电荷。

[0135] 在一个实施方案中,芳族阳离子肽在生理学pH下具有在最小净正电荷数目(p_m)和氨基酸残基总数(r)之间的如下关系,其中 $3p_m$ 是小于或等于 $r+1$ 的最大数字。在该实施方案中,在最小净正电荷数目(p_m)和氨基酸残基总数(r)之间的关系如下:

表 1. 氨基酸数目和净正电荷($3p_m \leq p+1$)

[0136]

(r)	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(p _m)	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5	6	6	6	7

[0137] 在另一实施方案中,芳族阳离子肽具有在最小净正电荷数目(p_m)和氨基酸残基总数(r)之间的如下关系,其中 $2p_m$ 为小于或等于 $r+1$ 的最大数字。在该实施方案中,在最小净正电荷数目(p_m)和氨基酸残基总数(r)之间的关系如下:

表 2. 氨基酸数目和净正电荷($2p_m \leq p+1$)

[0138]

(r)	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(p _m)	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10

[0139] 在一个实施方案中,最小净正电荷数目(p_m)和氨基酸残基总数(r)相等。在另一实施方案中,所述肽具有3或4个氨基酸残基和最少1个净正电荷,合适地,最少2个净正电荷且更优选最少3个净正电荷。

[0140] 同样重要的是,与净正电荷总数(p_t)相比较,芳族阳离子肽具有最小芳基数。最小芳基数将在下文称为(a)。具有芳基的天然存在氨基酸包括氨基酸:组氨酸、色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸。例如,六肽Lys-Gln-Tyr-D-Arg-Phe-Trp具有2个净正电荷(由赖氨酸残基和精氨酸残基贡献)和3个芳基(由酪氨酸残基、苯丙氨酸残基和色氨酸残基贡献)。

[0141] 芳族阳离子肽还应当具有最小芳基数(a)和在生理学pH下净正电荷总数(p_t)之间的如下关系,其中 $3a$ 为小于或等于 p_t+1 的最大数字,例外之处在于当 p_t 为1时,a也可1。在该实施方案中,最小芳基数(a)和净正电荷总数(p_t)之间的关系如下:

表 3. 芳族基团和净正电荷($3a \leq p_t+1$ 或 $a = p_t=1$)

[0142]

(p _t)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(a)	1	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5	6	6	6	7

[0143] 在另一实施方案中,芳族阳离子肽具有在最小芳基数(a)和净正电荷总数(p_t)之间的如下关系,其中 $2a$ 为小于或等于 p_t+1 的最大数字。在该实施方案中,在最小芳族氨基酸残基数目(a)和净正电荷总数(p_t)之间的关系如下:

表 4. 芳族基团和净正电荷($2a \leq p_t+1$ 或 $a = p_t = 1$)

[0144]

(p _t)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(a)	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10

[0145] 在另一实施方案中,芳族基团的数目(a)和净正电荷的总数(p_t)相等。

[0146] 羧基,尤其是C-末端氨基酸的末端羧基,用例如氨适当地酰胺化以形成C-末端酰胺。供选地,C-末端氨基酸的末端羧基可用任何伯胺或仲胺酰胺化。伯胺或仲胺可例如为烷基,特别是分支或未分支的 C_1 - C_4 烷基;或芳基胺。因此,在所述肽的C-末端的氨基酸可转化成酰胺基、N-甲基酰胺基、N-乙基酰胺基、N,N-二甲基酰胺基、N,N-二乙基酰胺基、N-甲基-N-乙基酰胺基、N-苯基酰胺基或N-苯基-N-乙基酰胺基。不在所述芳族阳离子肽的C-末端存

在的天冬酰胺残基、谷氨酰胺残基、天冬氨酸和谷氨酸残基中的游离羧基也可以酰胺化,无论它们在肽内的任何位置存在。在这些内部位置处的酰胺化可用氨或上文描述的任何伯胺或仲胺进行。

[0147] 在一个实施方案中,芳族阳离子肽为具有2个净正电荷和至少一个芳族氨基酸的三肽。在一个特定的实施方案中,芳族阳离子肽为具有2个净正电荷和2个芳族氨基酸的三肽。

[0148] 芳族阳离子肽包括但不限于下列肽实例:

[0149]	表 5: 例示性肽
	2',6'-Dmp-D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-NH ₂
	2',6'-Dmp-D-Arg-Phe-Lys-NH ₂
	2',6'-Dmt-D-Arg-PheOrn-NH ₂
	2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Ahp(2-氨基庚酸)-NH ₂
	2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH ₂
	2',6'-Dmt-D-Cit-PheLys-NH ₂
	Ala-D-Phe-D-Arg-Tyr-Lys-D-Trp-His-D-Tyr-Gly-Phe
	Arg-D-Leu-D-Tyr-Phe-Lys-Glu-D-Lys-Arg-D-Trp-Lys-D-Phe-Tyr-D-Arg-Gly
	Asp-Arg-D-Phe-Cys-Phe-D-Arg-D-Lys-Tyr-Arg-D-Tyr-Trp-D-His-Tyr-D-Phe-Lys-Phe
	Asp-D-Trp-Lys-Tyr-D-His-Phe-Arg-D-Gly-Lys-NH ₂
	D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH ₂
	D-Glu-Asp-Lys-D-Arg-D-His-Phe-Phe-D-Val-Tyr-Arg-Tyr-D-Tyr-Arg-His-Phe-NH ₂
	D-His-Glu-Lys-Tyr-D-Phe-Arg
	D-His-Lys-Tyr-D-Phe-Glu-D-Asp-D-Asp-D-His-D-Lys-Arg-Trp-NH ₂
	D-Tyr-Trp-Lys-NH ₂
	Glu-Arg-D-Lys-Tyr-D-Val-Phe-D-His-Trp-Arg-D-Gly-Tyr-Arg-D-Met-NH ₂
	Gly-Ala-Lys-Phe-D-Lys-Glu-Arg-Tyr-His-D-Arg-D-Arg-Asp-Tyr-Trp-D-His-Trp-His-D-Lys-Asp.
	Gly-D-Phe-Lys-His-D-Arg-Tyr-NH ₂
	His-Tyr-D-Arg-Trp-Lys-Phe-D-Asp-Ala-Arg-Cys-D-Tyr-His-Phe-D-Lys-Tyr-His-Ser-NH ₂
	Lys-D-Arg-Tyr-NH ₂

[0150]

Lys-D-Gln-Tyr-Arg-D-Phe-Trp-NH ₂
Lys-Trp-D-Tyr-Arg-Asn-Phe-Tyr-D-His-NH ₂
Met-Tyr-D-Arg-Phe-Arg-NH ₂
Met-Tyr-D-Lys-Phe-Arg
Phe-Arg-D-His-Asp
Phe-D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-NH ₂
Phe-D-Arg-His
Phe-D-Arg-Lys-Trp-Tyr-D-Arg-His
Phe-D-Arg-Phe-Lys-NH ₂
Phe-Phe-D-Tyr-Arg-Glu-Asp-D-Lys-Arg-D-Arg-His-Phe-NH ₂
Phe-Tyr-Lys-D-Arg-Trp-His-D-Lys-D-Lys-Glu-Arg-D-Tyr-Thr
Thr-Gly-Tyr-Arg-D-His-Phe-Trp-D-His-Lys
Thr-Tyr-Arg-D-Lys-Trp-Tyr-Glu-Asp-D-Lys-D-Arg-His-Phe-D-Tyr-Gly-Val-Ile-D-His-Arg-Tyr-Lys-NH ₂
Trp-D-Lys-Tyr-Arg-NH ₂
Trp-Lys-Phe-D-Asp-Arg-Tyr-D-His-Lys
Tyr-Asp-D-Lys-Tyr-Phe-D-Lys-D-Arg-Phe-Pro-D-Tyr-His-Lys
Tyr-D-Arg-Phe-Lys-Glu-NH ₂
Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH ₂
Tyr-D-His-Phe-D-Arg-Asp-Lys-D-Arg-His-Trp-D-His-Phe
Tyr-His-D-Gly-Met
Val-D-Lys-His-Tyr-D-Phe-Ser-Tyr-Arg-NH ₂

[0151] 在一个实施方案中,所述肽具有mu-阿片样物质受体激动剂活性(即,它们使mu-阿片样物质受体活化)。具有mu-阿片样物质受体激动剂活性的肽通常为具有在N-末端(即,第一个氨基酸位置)的酪氨酸残基或酪氨酸衍生物的那些肽。合适的酪氨酸衍生物包括2'-甲基酪氨酸(Mmt);2',6'-二甲基酪氨酸(2',6'-Dmt);3',5'-二甲基酪氨酸(3'5'-Dmt);N,2',6'-三甲基酪氨酸(Tmt);和2'-羟基-6'-甲基酪氨酸(Hmt)。

[0152] 在一个实施方案中,具有mu-阿片样物质受体激动剂活性的肽具有式Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH₂。Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH₂具有3个由氨基酸酪氨酸、精氨酸和赖氨酸贡献的净正电荷并具有2个由氨基酸苯丙氨酸和酪氨酸贡献的芳基。Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH₂的酪氨酸可为修饰的酪氨酸衍生物,例如在2',6'-二甲基酪氨酸中,以产生具有式2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH₂的化合物。2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH₂具有640的分子量并在生理学pH下携带3个净正电荷。2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH₂以能量非依赖性方式容易地渗透几种哺乳动物细胞类型的质膜(Zhao等,J.Pharmacol Exp Ther.,304:425-432,2003)。

[0153] 供选地,在其它情况下,所述芳族阳离子肽不具有mu-阿片样物质受体激动剂活性。例如,在长期治疗期间,例如在慢性疾病状态或情况下,可能禁忌使用活化mu-阿片样物质受体的芳族阳离子肽。在这些情况下,所述芳族阳离子肽的潜在地不利或上瘾影响可排

除在人类患者或其它哺乳动物的治疗方案中使用活化 μ -阿片样物质受体的芳族阳离子肽。潜在不利影响可包括镇静、便秘和呼吸衰退。在这类情况下,不活化 μ -阿片样物质受体的芳族阳离子肽可为适当的治疗。不具有 μ -阿片样物质受体激动剂活性的肽通常在N-末端(即,氨基酸位1)处没有酪氨酸残基或酪氨酸衍生物。在N-末端的氨基酸可为除酪氨酸外的任何天然存在或非天然存在的氨基酸。在一个实施方案中,在N-末端的氨基酸为苯丙氨酸或其衍生物。苯丙氨酸的例示性衍生物包括2'-甲基苯丙氨酸(Mmp)、2',6'-二甲基苯丙氨酸(2',6'-Dmp)、N,2',6'-三甲基苯丙氨酸(Tmp)和2'-羟基-6'-甲基苯丙氨酸(Hmp)。

[0154] 不具有 μ -阿片样物质受体激动剂活性的芳族阳离子肽的实例具有式Phe-D-Arg-Phe-Lys-NH₂。供选地,N-末端苯丙氨酸可为苯丙氨酸的衍生物,例如2',6'-二甲基苯丙氨酸(2',6'-Dmp)。在一个实施方案中,2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH₂的氨基酸序列重排使得Dmt不在N-末端。不具有 μ -阿片样物质受体激动剂活性的这一芳族阳离子肽的实例具有式D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂。

[0155] 本文列出的肽的合适取代变体包括保守氨基酸取代。氨基酸可根据它们的物理化学特性如下分组:

[0156] (a) 非极性氨基酸:Ala(A) Ser(S) Thr(T) Pro(P) Gly(G) Cys(C);

[0157] (b) 酸性氨基酸:Asn(N) Asp(D) Glu(E) Gln(Q);

[0158] (c) 碱性氨基酸:His(H) Arg(R) Lys(K);

[0159] d) 疏水氨基酸:Met(M) Leu(L) Ile(I) Val(V); 和

[0160] e) 芳族氨基酸:Phe(F) Tyr(Y) Trp(W) His(H)。

[0161] 在肽中的氨基酸被在同一组中的另一氨基酸取代称为保守取代且可保留原始肽的物理化学特性。相反,在肽中氨基酸被不同组中的另一氨基酸取代通常更可能改变原始肽的特性。

[0162] 不活化 μ -阿片样物质受体的肽的实例包括但不限于在表6中所示芳族阳离子肽。

表 6. 具有 Mu-阿片样物质活性的肽类似物

氨基酸 位置 1	氨基酸 位置 2	氨基酸 位置 3	氨基酸位置 4	C-末端修 饰
Tyr	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Tyr	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Tyr	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Tyr	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Lys-NH(CH ₂) ₂ -NH-d ns	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Lys-NH(CH ₂) ₂ -NH-a tn	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	dnsLys	NH ₂
2',6'Dmt	D-Cit	Phe	Lys	NH ₂
2',6'Dmt	D-Cit	Phe	Ahp	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Ahp(2-氨基庚酸)	NH ₂
Bio-2',6' Dmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
3'5'Dmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
3'5'Dmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
3'5'Dmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
3'5'Dmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Lys	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Orn	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Dab	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Dap	NH ₂

[0163]

表 6. 具有 Mu-阿片样物质活性的肽类似物

氨基酸 位置 1	氨基酸 位置 2	氨基酸 位置 3	氨基酸位置 4	C-末端修 饰
2',6'Dmt	D-Arg	Tyr	Lys	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Tyr	Orn	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Tyr	Dab	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Tyr	Dap	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	2',6'Dmt	Lys	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	2',6'Dmt	Orn	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	2',6'Dmt	Dab	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	2',6'Dmt	Dap	NH ₂
3'5'Dmt	D-Arg	3'5'Dmt	Arg	NH ₂
3'5'Dmt	D-Arg	3'5'Dmt	Lys	NH ₂
3'5'Dmt	D-Arg	3'5'Dmt	Orn	NH ₂
3'5'Dmt	D-Arg	3'5'Dmt	Dab	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
3'5'Dmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
3'5'Dmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
3'5'Dmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
3'5'Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Lys	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Orn	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Dab	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Dap	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Tyr	Lys	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Tyr	Orn	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Tyr	Dab	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Tyr	Dap	NH ₂

[0164]

表 6. 具有 Mu-阿片样物质活性的肽类似物

氨基酸 位置 1	氨基酸 位置 2	氨基酸 位置 3	氨基酸位置 4	C-末端修 饰
2',6'Dmt	D-Lys	2',6'Dmt	Lys	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	2',6'Dmt	Orn	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	2',6'Dmt	Dab	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	2',6'Dmt	Dap	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	dnsDap	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	atnDap	NH ₂
3'5'Dmt	D-Lys	3'5'Dmt	Lys	NH ₂
3'5'Dmt	D-Lys	3'5'Dmt	Orn	NH ₂
3'5'Dmt	D-Lys	3'5'Dmt	Dab	NH ₂
3'5'Dmt	D-Lys	3'5'Dmt	Dap	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
3'5'Dmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
3'5'Dmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
3'5'Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
3'5'Dmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Arg	NH ₂
Tyr	D-Orn	Tyr	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dab	Tyr	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dap	Tyr	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Arg	2',6'Dmt	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Lys	2',6'Dmt	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Orn	2',6'Dmt	Arg	NH ₂
2',6'Dmt	D-Dab	2',6'Dmt	Arg	NH ₂
3'5'Dmt	D-Dap	3'5'Dmt	Arg	NH ₂
3'5'Dmt	D-Arg	3'5'Dmt	Arg	NH ₂

[0165]

表 6. 具有 Mu-阿片样物质活性的肽类似物

氨基酸 位置 1	氨基酸 位置 2	氨基酸 位置 3	氨基酸位置 4	C-末端修 饰
3'5'Dmt	D-Lys	3'5'Dmt	Arg	NH ₂
3'5'Dmt	D-Orn	3'5'Dmt	Arg	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂

[0166]

表 6. 具有 Mu-阿片样物质活性的肽类似物

氨基酸位置 1	氨基酸位置 2	氨基酸位置 3	氨基酸位置 4	C-末端修饰
Mmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂

[0168] Dab=二氨基丁酸

[0169] Dap=二氨基丙酸

[0170] Dmt=二甲基酪氨酸

[0171] Mmt=2'-甲基酪氨酸

[0172] Tmt=N,2',6'-三甲基酪氨酸

[0173] Hmt=2'-羟基-6'-甲基酪氨酸

[0174] dnsDap=β-丹酰基-L-α,β-二氨基丙酸

[0175] atnDap=β-邻氨基苯甲酰基-L-α,β-二氨基丙酸

[0176] Bio=生物素

[0177] 不活化mu-阿片样物质受体的肽的实例包括但不限于在表7中所示芳族阳离子肽。

表 7. 缺乏 Mu-阿片样物质活性的肽类似物

氨基酸位置 1	氨基酸位置 2	氨基酸位置 3	氨基酸位置 4	C末端修饰
D-Arg	Dmt	Lys	Phe	NH ₂
D-Arg	Dmt	Phe	Lys	NH ₂
D-Arg	Phe	Lys	Dmt	NH ₂
D-Arg	Phe	Dmt	Lys	NH ₂

表 7. 缺乏 Mu-阿片样物质活性的肽类似物

氨基酸位置 1	氨基酸位 置 2	氨基酸位 置 3	氨基酸位 置 4	C 末端修饰
D-Arg	Lys	Dmt	Phe	NH ₂
D-Arg	Lys	Phe	Dmt	NH ₂
Phe	Lys	Dmt	D-Arg	NH ₂
Phe	Lys	D-Arg	Dmt	NH ₂
Phe	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Phe	D-Arg	Dmt	Lys	NH ₂
Phe	D-Arg	Lys	Dmt	NH ₂
Phe	Dmt	D-Arg	Lys	NH ₂
Phe	Dmt	Lys	D-Arg	NH ₂
Lys	Phe	D-Arg	Dmt	NH ₂
Lys	Phe	Dmt	D-Arg	NH ₂
Lys	Dmt	D-Arg	Phe	NH ₂
Lys	Dmt	Phe	D-Arg	NH ₂
Lys	D-Arg	Phe	Dmt	NH ₂
Lys	D-Arg	Dmt	Phe	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Phe	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Dmt	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Tyr	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Trp	NH ₂
Trp	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Trp	D-Arg	Tyr	Lys	NH ₂
Trp	D-Arg	Trp	Lys	NH ₂
Trp	D-Arg	Dmt	Lys	NH ₂
D-Arg	Trp	Lys	Phe	NH ₂
D-Arg	Trp	Phe	Lys	NH ₂
D-Arg	Trp	Lys	Dmt	NH ₂
D-Arg	Trp	Dmt	Lys	NH ₂
D-Arg	Lys	Trp	Phe	NH ₂
D-Arg	Lys	Trp	Dmt	NH ₂
Cha	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Ala	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂

[0179]

[0180] Cha=环己基丙氨酸

[0181] 在表中示出的肽的氨基酸可以L-构型或D-构型。

[0182] 所述肽可通过本领域熟知的任何方法合成。化学合成蛋白质的合适方法例如包括Stuart和Young在Solid Phase Peptide Synthesis,第二版本,Pierce Chemical Company (1984)中和在Methods Enzymol.,289,Academic Press,Inc.,New York(1997)中描述的那些。

[0183] 芳族阳离子肽的治疗用途

[0184] 通用.例如D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂的本文所述的芳族阳离子肽或例如乙酸盐或三氟乙酸盐的其药理学上可接受的盐可用于预防或治疗与在SURF1基因或POLG基因中的突变相关的线粒体疾病或其症状。具体地讲,本公开内容提供治疗具有或怀疑具有与在SURF1基因或POLG基因中的突变相关的线粒体疾病、病状或病症的受试者的预防性方法和治疗性方法。例如,在一些实施方案中,本公开内容提供治疗具有由在SURF1或POLG中的基因突变引起的氧化磷酸化的破坏的受试者的预防性方法和治疗性方法。因此,本发明方法提供通过施用有效量的芳族阳离子肽到此需要的受试者以降低所述受试者的氧化磷酸化的破坏而治疗或预防在所述受试者中与在SURF1基因或POLG基因中的突变相关的线粒体疾病或病症或其症状。本发明技术涉及经由施用治疗有效量的例如D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂的如本文公开的芳族阳离子肽或例如乙酸盐或三氟乙酸盐的其药理学上可接受的盐到此需要的受试者来预防、治疗或缓解在哺乳动物中与在SURF1基因或POLG基因中的突变相关的线粒体疾病或病状或线粒体功能障碍或其症状。

[0185] 在一些实施方案中,氧化磷酸化的破坏通过本领域熟知的测定来确定。例如,但并非限制地,氧化磷酸化的破坏通过测量辅酶Q10(COQ10)的水平来确定。在一些实施方案中,氧化磷酸化的破坏通过通过解耦比度量OXPHOS容量的测定来确定。在一些实施方案中,氧化磷酸化的破坏通过测量净常规通量控制比的测定来确定。在一些实施方案中,氧化磷酸化的破坏通过测量渗漏通量控制比的测定来确定。在一些实施方案中,氧化磷酸化的破坏通过测量磷酸化呼吸控制比的测定来确定。

[0186] 解耦比(UCR)为呼吸储备容量的表述且指示细胞的OXPHOS容量。在一些实施方案中,UCR定义为 Cr_u/Cr_o 。 Cr_u 为在线粒体使用FCCP(羧基氰化物4-(三氟甲氧基)苯腙)解耦时产生的最大耗氧率(氧通量)。必须进行FCCP滴定,因为需要FCCP的浓度来在不同的细胞系中产生最大耗氧量。一旦达到最大耗氧量,FCCP的进一步增加通过氧化磷酸化抑制耗氧量。在一些实施方案中, Cr 表示在正常细胞呼吸期间在过量底物的情况下细胞的耗氧量。

[0187] 在一些实施方案中,净常规通量控制比(Cr/Cr_u)为UCR的倒数。在一些实施方案中,该值评价常规呼吸如何紧密作用于氧化磷酸化的呼吸容量。

[0188] 在一些实施方案中,呼吸控制比(RCR)定义为 Cr_u/Cr_o 。 Cr_u 如上定义。 Cr_o =在通过寡霉素抑制复合体V(ATP合酶)之后的呼吸。在一些实施方案中,该比率允许评价解耦和OXPHOS功能障碍。

[0189] 在一些实施方案中,渗漏通量控制比通过 Cr_o/Cr_u 确定。在一些实施方案中,该参数为RCR的倒数且表示在通过寡霉素抑制ADP磷酸化的情况下质子渗漏。

[0190] 在一些实施方案中,磷酸化呼吸控制比(RCRp)定义为 $(Cr-Cr_o)/Cr_u$ (或 $1/UCR-1/RCR$)。在一些实施方案中,RCRp为表述作为呼吸容量(Cr_u)的函数的磷酸化相关呼吸($Cr-Cr_o$)的指数。在一些实施方案中,如果部分解耦通过增加的常规呼吸速率完全补偿且维持恒定的氧化磷酸化速率,则RCRp保持恒定。在一些实施方案中,呼吸容量下降,而对氧化磷

酸化的速率没有影响；在一些实施方案中，RCRp增加，这指示活化较高比例的最大容量以驱动ATP合成。在一些实施方案中，在完全解耦的细胞中或在新陈代谢完全中止的细胞中，RCRp下降到零。

[0191] 因此，在一些实施方案中，用例如D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ (SS-31)的如本文公开的芳族阳离子肽或例如乙酸盐或三氟乙酸盐的其药学上可接受的盐来对具有与在SURF1基因或POLG基因中的突变相关的线粒体病症或疾病的受试者治疗性预防症状和/或治疗将降低氧化磷酸化的破坏，由此缓解或预防与在SURF1基因或POLG基因中的突变相关的线粒体疾病和病症的症状。与在SURF1基因或POLG基因中的突变相关的线粒体疾病或病症的症状包括但不限于：生长缓慢、肌肉协调性损失、肌无力、神经功能缺损、癫痫、孤独症、自闭症谱系、自闭症样特征、学习能力缺失、心脏病、肝病、肾病、肠胃病症、顽固性便秘、糖尿病、感染危险增加、甲状腺功能障碍、肾上腺功能障碍、自主性功能障碍、精神混乱、定向障碍、记忆丧失、生长缓慢、发育停滞、协调性不良、感官(视力、听力)问题、心理功能降低、器官疾病、痴呆、呼吸问题、低血糖、呼吸暂停、乳酸性酸中毒、癫痫、吞咽困难、发育延缓、运动病症(肌张力障碍、肌肉痉挛、颤振、舞蹈病)、中风和脑萎缩。

[0192] 基于芳族阳离子肽的治疗的生物学作用的确定。在各种实施方案中，进行合适的体外或体内测定以确定基于芳族阳离子肽的具体治疗剂的作用且指出其施用是否适用于治疗。在各种实施方案中，体外测定可以用代表性动物模型进行，以确定基于芳族阳离子肽的给定治疗剂是否对降低线粒体功能的破坏如OXPHOS的破坏发挥所要作用。在人类受试者中试验之前，可在合适的动物模型系统中试验用于疗法中的化合物，所述动物模型系统包括但不限于大鼠、小鼠、鸡、奶牛、猴、兔等。类似地，对于体内试验，可在施用到人类受试者之前使用本领域已知的任何动物模型系统。

[0193] 施用模式和有效剂量

[0194] 可以采用本领域的技术人员已知的用于使细胞、器官或组织与肽接触的任何方法。合适的方法包括体外、离体或体内方法。体内方法通常包括施用芳族阳离子肽如上文描述的那些到哺乳动物，合适地为人类。在体内用于治疗时，将芳族阳离子肽以有效量(即，具有所要治疗作用的量)施用到所述受试者。剂量和剂量方案应取决于所述受试者中感染的程度、所用的特定芳族阳离子肽的特征(例如，其治疗指数)、受试者和受试者的病史。

[0195] 有效量可在前临床试验和临床试验期间通过医师和临床医生熟悉的方法确定。可通过用于施用医药化合物的众多熟知方法的任一种将有效量的可用于所述方法的肽施用到有此需要的哺乳动物。所述肽可全身地或局部地施用。

[0196] 所述肽可配制为药学上可接受的盐。术语“药学上可接受的盐”意指由可接受施用到例如哺乳动物的患者的碱或酸制备的盐(例如，对于给定剂量方案，具有可接受的哺乳动物安全性的盐)。然而，应理解不要求如下盐为药学上可接受的盐，例如没有设计成施用到患者的中间化合物的盐。药学上可接受的盐可衍生自药学上可接受的无机或有机碱和药学上可接受的无机或有机酸。另外，当肽含有例如胺、吡啶或咪唑的碱性部分和例如羧酸或四唑的酸性部分两者时，可形成两性离子且其包括在本文使用的术语“盐”内。衍生自药学上可接受的无机碱的盐包括铵、钙、铜、铁、亚铁、锂、镁、锰、亚锰、钾、钠和锌盐等。衍生自药学上可接受的有机碱的盐包括伯胺、仲胺和叔胺的盐，包括被取代的胺、环胺、天然存在的胺等，例如精胺酸、甜菜碱、咖啡因、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺、二乙胺、2-二乙基氨基乙醇、2-

二甲氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、葡糖胺、氨基葡糖、组氨酸、海卓胺、异丙胺、赖氨酸、甲基葡糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、多胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、氨基丁三醇等。衍生自药学上可接受的无机酸的盐包括硼酸、碳酸、氢卤酸(氢溴酸、盐酸、氢氟酸或氢碘酸)、硝酸、磷酸、氨基磺酸和硫酸的盐。衍生自药学上可接受的有机酸的盐包括以下酸的盐:脂族羧酸(例如,柠檬酸、葡糖酸、乙二醇酸、乳酸、乳糖酸、苹果酸和酒石酸)、脂族单羧酸(例如,乙酸、丁酸、甲酸、丙酸和三氟乙酸)、氨基酸(例如,天冬氨酸和谷氨酸)、芳族羧酸(例如,苯甲酸、对氯苯甲酸、二苯基乙酸、龙胆酸、马尿酸和三苯基乙酸)、芳族羧酸(例如,邻羟基苯甲酸、对羟基苯甲酸、1-羟基萘-2-羧酸和3-羟基萘-2-羧酸)、抗坏血酸、二羧酸(例如,富马酸、马来酸、草酸和丁二酸)、葡萄糖醛酸、扁桃酸、粘液酸、烟碱酸、乳清酸、帕莫酸、泛酸、磺酸(例如,苯磺酸樟脑磺酸、edislyic、乙磺酸、羟乙基磺酸、甲磺酸、萘磺酸、萘-1,5-二磺酸、萘-2,6-二磺酸和对甲苯磺酸)、1-羟基-2-萘甲酸(xinafoic acid)等。在一些实施方案中,所述盐为乙酸盐或三氟乙酸盐。

[0197] 可将本文所述的芳族阳离子肽掺合到医药组合物中以单独地或组合地施用到受试者以便治疗或预防本文所述的病症或其伴随症状。这类组合物通常包含活性剂和药学上可接受的载剂。本文使用的术语“药学上可接受的载剂”包括与医药施用相容的盐水、溶剂、分散介质、涂料、抗菌和防真菌剂、等渗和吸收延迟剂等。补充活性化合物也可掺合到所述组合物中。

[0198] 医药组合物通常配制成与其预定施用路径相容。施用路径的实例包括肠胃外施用(例如,静脉内、皮内、腹膜内或皮下)、口服、吸入、透皮(局部)、眼内、离子电渗和经粘膜施用。用于肠胃外、皮内或皮下应用的溶液或悬浮液可包含以下组分:无菌稀释剂,例如注射用水、盐水溶液、固定油类、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂;抗菌剂,例如苯醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂,例如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂,例如乙二胺四乙酸;缓冲剂,例如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐;和用于调节张力的试剂,例如氯化钠或右旋糖。pH可用例如盐酸或氢氧化钠的酸或碱调节。肠胃外制剂可装入由玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。为了患者或治疗医师的方便,剂量制剂可提供在含有对于治疗进程(例如,7天治疗)所需的所有设备(例如,药物小瓶、稀释剂小瓶、注射器和针)的试剂盒中。

[0199] 适合可注射用途的医药组合物可包括无菌水溶液(其中为水溶性的)或分散体以及用于临时制备无菌可注射溶液或分散体的无菌粉末。对于静脉内施用,合适的载剂包括生理盐水、抑菌水、Cremophor ELTM(BASF, Parsippany, N.J.)或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。在所有情况下,用于肠胃外施用的组合物必须为无菌的且应为存在易于注射性的程度的流体。其在生产和储存条件下应该稳定且必须保持抵抗例如细菌和真菌的微生物的污染作用。

[0200] 芳族阳离子肽组合物可包含可为溶剂或分散介质的载剂,其含有例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液态聚乙二醇等)以及其合适的混合物。恰当的流动性可例如通过使用例如卵磷脂的涂料、通过在分散体的情况下维持所需粒度或通过使用表面活性剂来维持。防止微生物作用可通过例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞(thiomerasol)等的各种抗菌剂和防真菌剂来实现。可包含谷胱甘肽及其它抗氧化剂以防止氧化。在许多情况下,在所述组合物中将优选包含等渗剂,例如糖;多元醇,例如甘露糖醇、山梨糖醇;或氯化钠。可注射组合物的延长吸收可通过在组合物中包含例如单硬脂酸铝

或明胶的延迟吸收的试剂来实现。

[0201] 无菌可注射溶液可通过将所需量的活性化合物和所需的上文所列成分中的一种或其组合一起掺合到适当溶剂中,接着通过过滤灭菌来制备。通常,分散体通过将活性化合物掺合到含有碱性分散介质和来自上文所列的其它所需成分的无菌赋形剂中来制备。在用于制备无菌注射溶液的无菌粉末的情况下,典型的制备方法包括真空干燥和冻干,其可产生活性成分加来自其先前无菌过滤的溶液的任何额外的所要成分的粉末。

[0202] 口服组合物通常包含惰性稀释剂或可食用的载剂。为了口服治疗施用,可将活性化合物与赋形剂掺合且以片剂、锭剂或胶囊剂如明胶胶囊的形式使用。口服组合物还可使用流体载剂制备,以作为漱口水使用。药学上相容的粘合剂和/或助剂物质可作为组合物的一部分而包含。片剂、丸剂、胶囊剂、锭剂等可含有任何下列成分或性质相似的化合物:粘合剂,例如微晶纤维素、黄蓍胶或明胶;赋形剂,例如淀粉或乳糖;崩解剂,例如海藻酸、Primogel或玉米淀粉;润滑剂,例如硬脂酸镁或Sterotes;助流剂,例如胶体二氧化硅;甜味剂,例如蔗糖或糖精;或矫味剂,例如胡椒薄荷、水杨酸甲酯或橙味剂。

[0203] 对于通过吸入施用,化合物从含有例如气体如二氧化碳的合适推进剂的加压容器或分配器或者雾化器中以气溶胶喷雾剂的形式递送。这类方法包括在美国专利6,468,798号中描述的那些。

[0204] 如本文所述的治疗化合物的全身性施用也可经粘膜或透皮方法进行。对于经粘膜或透皮施用,在制剂中使用适合穿透屏障的渗透剂。这类渗透剂通常为本领域所知,且例如对于经粘膜施用包括洗涤剂、胆汁盐以及夫西地酸(fusidic acid)衍生物。经粘膜施用可通过使用鼻腔喷雾实现。对于透皮施用,将活性化合物配制成本领域通常已知的软膏、药膏、凝胶剂或霜剂。在一个实施方案中,透皮施用可通过离子电渗进行。

[0205] 治疗蛋白或肽可以在载体体系中配制。所述载剂可为胶体体系。所述胶体体系可为脂质体、磷脂双层赋形剂。在一个实施方案中,所述治疗肽封装在脂质体中,同时维持肽完整性。如本领域的技术人员应当了解,存在许多制备脂质体的方法。(参见Lichtenberg等,Methods Biochem.Anal.,33:337-462(1988);Anselem等,Liposome Technology,CRC Press(1993))。脂质体制剂可延迟清除并增加细胞吸收(参见Reddy,Ann.Pharmacother.,34(7-8):915-923(2000))。活性剂也可装载到由包括但不限于可溶性、不溶性、可渗透性、不可渗透性、生物可降解性或胃内滞留聚合物或脂质体的药学上可接受的成分制备的粒子中。这类粒子包括但不限于纳米粒子、生物可降解的纳米粒子、微粒、生物可降解的微粒、纳米球、生物可降解的纳米球、微球、生物可降解的微球、胶囊、乳液、脂质体、胶束和病毒载体体系。

[0206] 所述载剂还可为聚合物,例如生物可降解、生物相容的聚合物基质。在一个实施方案中,所述治疗肽可包埋在聚合物基质中,同时维持蛋白完整性。所述聚合物可为天然的,例如多肽、蛋白质或多糖,或者合成的,例如聚- α -羟基酸。实例包括由例如胶原蛋白、粘连蛋白、弹性蛋白、醋酸纤维素、硝酸纤维素、多糖、纤维蛋白、明胶及其组合制成的载剂。在一个实施方案中,所述聚合物为聚-乳酸(PLA)或共聚乳酸/乙醇酸(PGLA)。聚合物基质可以包括微球或纳米球的多种形式和尺寸制备并分离。聚合物制剂可导致治疗作用的延长持续。(参见Reddy,Ann.Pharmacother.,34(7-8):915-923(2000))。用于人类生长激素(hGH)的聚合物制剂已经用于临床试验中。(参见Kozarich and Rich,Chemical Biology,2:548-552

(1998))。

[0207] 聚合物微球持续释放制剂的实例描述在PCT公告W0 99/15154(Tracy等)、美国专利5,674,534号和5,716,644号(两者都属于Zale等)、PCT公告W0 96/40073(zale等)和PCT公告W0 00/38651(Shah等)。美国专利5,674,534号和5,716,644号和PCT公告W0 96/40073描述含有相对于与盐聚集稳定的红细胞生成素粒子的聚合物基质。

[0208] 在一些实施方案中,所述治疗化合物用将保护治疗化合物以防止其从身体中迅速消除的载剂制备,例如受控释放制剂,包括植入剂和微囊化递送系统。可使用可生物降解的生物相容性聚合物,例如乙烯乙酸乙烯酯、聚酐、聚乙醇酸、胶原蛋白、聚原酸酯和聚乳酸。这类制剂可使用已知技术制备。这些物质也可例如自Alza Corporation和Nova Pharmaceuticals, Inc.购得。脂质体混悬剂(包括具有针对细胞特异性抗原的单克隆抗体的靶向大肺泡上皮细胞的脂质体)也可用作药理学上可接受的载剂。这些物质可使用本领域技术人员所知的方法,例如如在美国专利4,522,811号中所述来制备。

[0209] 所述治疗化合物也可配制成增强细胞内递送。例如,脂质体递送体系在本领域中已知,参见例如Chonn和Cullis,“Recent Advances in Liposome Drug Delivery Systems,”Current Opinion in Biotechnology6:698-708(1995);Weiner,“Liposomes for Protein Delivery:Selecting Manufacture and Development Processes,”Immunomethods,4(3):201-9(1994);和Gregoriadis,“Engineering Liposomes for Drug Delivery:Progress and Problems,”Trends Biotechnol.,13(12):527-37(1995)。Mizguchi等,Cancer Lett.,100:63-69(1996)描述融合脂质体体内或体外递送蛋白质到细胞中的用途。

[0210] 治疗剂的剂量、毒性和治疗功效可通过标准医药程序在细胞培养物和/或实验动物中确定,包括例如确定LD50(使50%的群体致命的剂量)和ED50(有效治疗50%的群体的剂量)。在毒性作用与治疗作用之间的剂量比为治疗指数,且其可表示为LD50/ED50的比率。优选表现出高治疗指数的化合物。虽然可使用表现出毒性副作用的化合物,但是应当小心设计将这类化合物靶向受影响组织的部位的递送体系以使对未感染细胞的潜在损害最小化且由此降低副作用。

[0211] 从细胞培养物测定和/或动物研究中获得的数据可用于配制用于人类的剂量范围。所述化合物的剂量优选在包括ED50而几乎没有毒性的循环浓度的范围内。所述剂量可根据所采用的剂型和所利用的施用路径而在该范围内变化。对于在所述方法中使用的任何化合物,最初可由细胞培养物测定估计治疗有效剂量。剂量可在动物模型中配制以达到包括如在细胞培养物中确定的IC50(即,试验化合物的浓度达到对症状的最大抑制作用的一半)的循环血浆浓度范围。可使用这类信息以更准确地确定在人类中的可用剂量。例如可通过高效液相色谱测量在血浆中的水平。

[0212] 通常,对于实现治疗性或预防性作用足够的芳族阳离子肽的有效量为约0.000001mg/公斤体重/天-约10,000mg/公斤体重/天。合适地,剂量范围为约0.0001mg/公斤体重/天-约100mg/公斤体重/天。例如,剂量可为每天、每隔一天或每隔两天1mg/kg体重/天或10mg/kg体重,或者在每周、每两周或每三周1-10mg/kg范围内。在一个实施方案中,单一剂量的肽为0.001-10,000微克/千克体重。在一个实施方案中,在载剂中的芳族阳离子肽浓度为0.2-2000微克/递送毫升。例示性治疗方案要求每天或每隔一周施用一次。在治疗性

应用中,有时需要在相对较短的间隔下的相对较高的剂量,直至疾病的进展降低或终止,且优选直至受试者显示疾病症状的部分或完全缓解。此后,患者可按预防性方案施用。

[0213] 在一些实施方案中,治疗有效量的芳族阳离子肽可定义为在靶组织中 10^{-12} - 10^{-6} 摩尔浓度如约 10^{-7} 摩尔浓度的肽浓度。该浓度可通过0.001-100mg/kg或等效剂量的全身性剂量通过体表面积递送。应该优化剂量的进度以维持在靶组织中的治疗浓度,最优选通过每天或每周单次施用,而且包括连续施用(例如,肠胃外输注或透皮应用)。

[0214] 熟练技术人员应当了解某些因素可能影响有效治疗受试者所需要的剂量和时程,这些因素包括但不限于疾病或病症的严重性、先前的治疗、受试者的一般健康状况和/或年龄及其它存在的疾病。此外,用治疗有效量的本文所述的治疗组合物治疗受试者可包括单一治疗或一系列治疗。

[0215] 根据本发明方法治疗的哺乳动物可为任何哺乳动物,包括例如家畜,例如绵羊、猪、奶牛和马;玩赏动物,例如狗和猫;实验室动物,例如大鼠、小鼠和兔。在一个优选的实施方案中,所述哺乳动物为人类。

[0216] 芳族阳离子肽与其它治疗剂的组合法

[0217] 在一些实施方案中,所述芳族阳离子肽可与一种或多种额外的治疗剂组合以治疗与在SURF1基因或POLG基因中的突变相关的线粒体疾病或病症。线粒体疾病或病症的治疗通常包括获取维生素和辅助因子。另外,也可施用作为非限制性实例的抗生素、激素、抗癌剂、免疫调节剂、皮肤病药物、抗血栓形成剂、抗贫血剂和心血管剂。

[0218] 在一个实施方案中,所述芳族阳离子肽可与一种或多种辅助因子或维生素组合。例如,但并非限制地,所述化合物可包括以下各物中的一种或多种:CoQ10、左卡尼汀(Levocarnitine)、核黄素(riboflavin)、乙酰基-L-卡尼汀、硫胺素、烟酰胺、维生素E、维生素C、硫辛酸、硒、 β -胡萝卜素、生物素、叶酸、钙、镁、磷、琥珀酸酯、肌氨酸、尿苷、citrate、烟酰胺、维生素K。

[0219] 在一个实施方案中,将额外的治疗剂与芳族阳离子肽组合施用到受试者,从而产生增效的治疗作用。“增效的治疗作用”是指更大的相加治疗作用,其通过两种治疗剂的组合产生且超过另外将由任一治疗剂的单个施用单独产生的作用。因此,在治疗心脏衰竭中可使用较低剂量的一种或两种治疗剂,产生增加的治疗功效和减小的副作用。

[0220] 在任何情况下,多种治疗剂可以任何顺序或甚至同时施用。如果同时施用,多种治疗剂可以单一一元化形式或以多种形式提供(仅举例而言,作为单一丸剂或作为两个单独的丸剂)。所述治疗剂中的一种可以多次剂量给予或者两者可作为多次剂量给予。如果不同时施用,在多次剂量之间的时程可为大于零周至小于4周。另外,组合方法、组合物和制剂不限于仅使用两种试剂。

[0221] 实施例

[0222] 通过以下实施例进一步说明本发明,不应该将其视为以任何方式加以限制。

[0223] 实施例1: SURF1突变体受试者的确认

[0224] SURF1突变通常产生深刻的复合体IV缺陷。单体复合体IV是高度异常的,显示减少的装配以及异常高和低的分子量的复合体IV结构(图1、图6)。图1示出来自具有雷氏病的儿科患者和成年患者的单体复合体IV。儿科患者显示具有异常分子量形式的复合体IV的减小的单体复合体IV装配。这些异常复合体IV结构可能表示异常装配且功能障碍的复合体IV。

图6显示在两个具有雷氏病的儿科受试者中的复合体IV装配。因此,遭受雷氏病的受试者可用本文公开的芳族阳离子肽治疗。

[0225] 实施例2:D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂ (SS-31) 增加在SURF1突变中的OXPHOS

[0226] SURF1在两个区域中突变:1) 外显子4:344-353del 10,ins AT(缺失序列=TCTGCCAGCC)(杂合)和2) 外显子9:875-876del CT(杂合)。成纤维细胞用突变的SURF1转化。

[0227] 突变的SURF1转化细胞随后在DMEM中生长并分成三组。1组(盐水组)用DMEM+盐水处理。2组(慢性治疗组)用DMEM+10nM SS-31治疗5天。3组(急性治疗组)用DMEM+10nM SS-31治疗1天(16-24小时)。将未转化的成纤维细胞用作对照物并分成如上所列的三个治疗组。

[0228] 转化的成纤维细胞和对照成纤维细胞也在糖酵解抑制条件下培养。在糖酵解抑制条件下,成纤维细胞在补充有乳酸盐和丙酮酸盐的糖酵解抑制培养基中培养。糖酵解抑制条件增加细胞对氧化磷酸化的依赖性且使得改变更加明显。

[0229] 解耦比(UCR)为呼吸储备容量的表述且指示细胞的OXPHOS容量。UCR定义为 Cr_u/Cr 。 Cr_u 为在线粒体使用FCCP(羧基氰化物4-(三氟甲氧基)苯胺)解耦时产生的最大耗氧率(氧通量)。必须进行FCCP滴定,因为需要FCCP的浓度来在不同的细胞系中产生最大耗氧量。一旦达到最大耗氧量,FCCP的进一步增加通过氧化磷酸化抑制耗氧量。 Cr 表示在正常细胞呼吸期间在过量底物的情况下细胞的耗氧量。进行以下额外测定且使用以下定义:

[0230] 1) 解耦比(UCR):UCR定义为 Cr_u/Cr 。UCR为呼吸储备容量的表述。 Cr_u 为在线粒体使用FCCP(羧基氰化物4-(三氟甲氧基)苯胺)解耦时产生的最大耗氧率(氧通量)。必须进行FCCP滴定,因为需要FCCP的浓度来在不同的细胞系中产生最大耗氧量。一旦达到最大耗氧量,FCCP的进一步增加通过氧化磷酸化抑制耗氧量。 Cr 表示在正常细胞呼吸期间在过量底物的情况下细胞的耗氧量。

[0231] 2) 净常规通量控制比(Cr/Cr_u)。该值为UCR的倒数。该值评价常规呼吸如何紧密作用于氧化磷酸化的呼吸容量。

[0232] 3) 呼吸控制比(RCR):RCR定义为 Cr_u/Cr_o 。 Cr_u 如上定义。 Cr_o 为在通过寡霉素抑制复合体V(ATP合酶)之后的呼吸。该比率允许评价解耦和OXPHOS功能障碍。

[0233] 4) 渗漏通量控制比: Cr_o/Cr_u 。该参数为RCR的倒数且表示在通过寡霉素抑制ADP磷酸化的情况下质子渗漏。

[0234] 5) 磷酸化呼吸控制比:RCRp定义为 $(Cr-Cr_o)/Cr_u$ (或 $1/UCR-1/RCR$)。RCRp为表述作为呼吸容量(Cr_u)的函数的磷酸化相关呼吸($Cr-Cr_o$)的指数。如果部分解耦通过增加的常规呼吸速率完全补偿且维持恒定的氧化磷酸化速率,则RCRp保持恒定。如果呼吸容量下降,而对氧化磷酸化的速率没有影响;然而,RCRp增加,这指示活化较高比例的最大容量以驱动ATP合成。在完全解耦的细胞中或在新陈代谢完全中止的细胞中,RCRp下降到零。

[0235] 结果示于图2A-图2G中。在图中的“隐形2”为携带SURF1突变体的成纤维细胞系的名称;在图中的“隐形4”为携带POLG突变体的成纤维细胞系的名称。如在图中所示,本公开内容的芳族阳离子肽可用于治疗线粒体病症,例如由SURF1突变引起的那些,例如雷氏综合征;和治疗与OXPHOS异常相关的疾病或病状。

[0236] 实施例3:D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂增加在POLG突变中的OXPHOS

[0237] 成纤维细胞用POLG突变基因转化,在外显子7处的突变;c.13399G>A,p.Ala467Thr(纯合)。POLG编码DNA聚合酶 γ 的催化亚单元,其是线粒体DNA的复制和修复所需要的。已知

在POLG中的突变导致进行性眼外肌麻痹(PEO)、阿尔珀斯病和具有发音困难和眼肌轻瘫的感官共济失调神经病变(SANDO)。

[0238] 突变的POLG成纤维细胞生长并分成三组。1组(盐水组)用DMEM和盐水处理。2组(慢性治疗组)用DMEM+10nM D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂治疗5天。3组(急性治疗组)用DMEM+10nM D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂治疗1天(16-24小时)。将未转化的成纤维细胞用作对照物并分成如上所列的三个治疗组。

[0239] 转化的成纤维细胞和对照成纤维细胞也在糖酵解抑制条件下培养。在糖酵解抑制条件下,成纤维细胞在补充有乳酸盐和丙酮酸盐的糖酵解抑制培养基中培养。糖酵解抑制条件增加细胞对氧化磷酸化的依赖性且使得改变更加明显。使用以下定义:

[0240] D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂治疗的作用通过UCR测量。解耦比(UCR)为呼吸储备容量的表述且指示细胞的OXPHOS容量。UCR定义为 Cr_u/Cr_o 。 Cr_u 为在线粒体使用FCCP(羰基氰化物4-(三氟甲氧基)苯胺)解耦时产生的最大耗氧率(氧通量)。必须进行FCCP滴定,因为需要FCCP的浓度来在不同的细胞系中产生最大耗氧量。一旦达到最大耗氧量,FCCP的进一步增加通过氧化磷酸化抑制耗氧量。 Cr_o 表示在正常细胞呼吸期间在过量底物的情况下细胞的耗氧量。进行以下额外测定且使用以下定义:

[0241] 1)解耦比(UCR):UCR定义为 Cr_u/Cr_o 。UCR为呼吸储备容量的表述。 Cr_u 为在线粒体使用FCCP(羰基氰化物4-(三氟甲氧基)苯胺)解耦时产生的最大耗氧率(氧通量)。必须进行FCCP滴定,因为需要FCCP的浓度来在不同的细胞系中产生最大耗氧量。一旦达到最大耗氧量,FCCP的进一步增加通过氧化磷酸化抑制耗氧量。 Cr_o 表示在正常细胞呼吸期间在过量底物的情况下细胞的耗氧量。

[0242] 2)净常规通量控制比(Cr/Cr_u)为UCR的倒数。该值为UCR的倒数。该值评价常规呼吸如何紧密作用于氧化磷酸化的呼吸容量。

[0243] 3)呼吸控制比(RCR):RCR定义为 Cr_u/Cr_o 。 Cr_u 如上定义。 Cr_o =在通过寡霉素抑制复合体V(ATP合酶)之后的呼吸。该比率允许评价解耦和OXPHOS功能障碍。

[0244] 4)渗漏通量控制比: Cr_o/Cr_u 。该参数为RCR的倒数且表示在通过寡霉素抑制ADP磷酸化的情况下的质子渗漏。

[0245] 5)磷酸化呼吸控制比:RCRp定义为 $(Cr-Cr_o)/Cr_u$ (或 $1/UCR-1/RCR$)。RCRp为表述作为呼吸容量(Cr_u)的函数的磷酸化相关呼吸($Cr-Cr_o$)的指数。如果部分解耦通过增加的常规呼吸速率完全补偿且维持恒定的氧化磷酸化速率,则RCRp保持恒定。如果呼吸容量下降,而对氧化磷酸化的速率没有影响;然而,RCRp增加,这指示活化较高比例的最大容量以驱动ATP合成。在完全解耦的细胞中或在新陈代谢完全中止的细胞中,RCRp下降到零。

[0246] 结果示于图3A-图3G中。在图中的“隐形4”为携带POLG突变体的成纤维细胞系的名称。如在图中所示,例如D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂的本公开内容的芳族阳离子肽或其药学上可接受的盐可用于治疗线粒体病症,例如由POLG突变引起的那些,例如阿尔珀斯病、进行性眼外肌麻痹(PEO)和具有发音困难和眼肌轻瘫的感官共济失调神经病变(SANDO),以及治疗与OXPHOS异常相关的疾病或病状。

[0247] 等效方案

[0248] 本发明不限于在申请中描述的特定实施方案,预期这些实施方案为本发明的单个方面的单一说明。如本领域的技术人员显而易见,本发明的许多改进和变化可在不脱离本

发明的精神和范围下进行。除了上文列举的那些之外,在本发明的范围内的功能等效方法和设备对于本领域的技术人员从上述描述中是显而易见的。希望这类改进和变化在所附权利要求书的范围内。本发明将仅受所附权利要求书以及授权所述权利要求书的等效物的完整范围限制。应当理解,本发明不限于特定的方法、试剂、化合物、组合物或生物学系统,当然其可为变化的。

[0249] 还应该理解本文使用的术语仅是用于描述特定方面的目的,而并非旨在加以限制。

[0250] 另外,在根据马库什群组描述本公开内容的特征或方面情况下,本领域技术人员应认识到,本公开内容由此还根据马库什群组的任何单个成员或其成员的亚群进行描述。

[0251] 如本领域的技术人员应出于任何和全部目的所理解,特别地就提供书面描述而言,本文公开的全部范围还涵盖任何和全部可能的子范围和其子范围组合。任何列出的范围可以被容易地视为充分描述的范围并能够使其可拆分成至少相等的两部分、三部分、四部分、五部分、十部分等。作为一个非限制性实例,在本文中论述的每个范围可以容易地拆分成下三分之一、中三分之一和上三分之一等。如本领域的技术人员还应当理解,例如“直至”、“至少”、“大于”、“小于”等全部语言包括所列举的数字并且是指可以随后拆分成如上文讨论的子范围的范围。最后,如本领域的技术人员应当理解,一个范围包括每个单个成员。因此,例如,具有1-3个细胞的一个组涉及具有1个、2个或3个细胞的多个组。类似地,例如,具有1-5个细胞的一个组涉及具有1个、2个、3个、4个或5个细胞等的多个组。

[0252] 本文提到或引用的所有专利、专利申请、临时申请和公告以包括所有图和表的整体形式结合到本文中,其结合的程度不会与本说明书的明确教导不一致。

[0253] 其它实施方案在以下权利要求书中阐述。

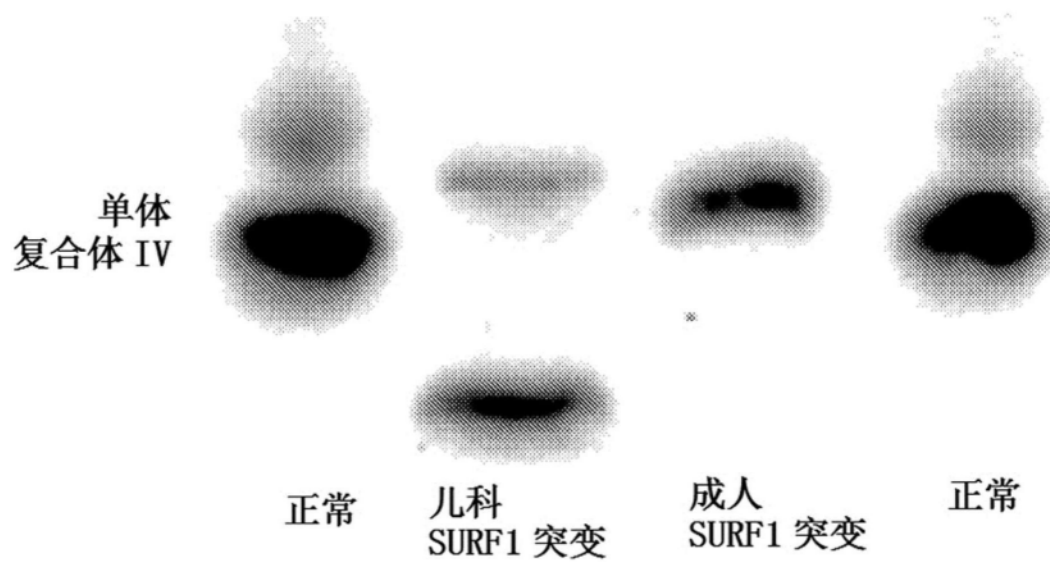


图1

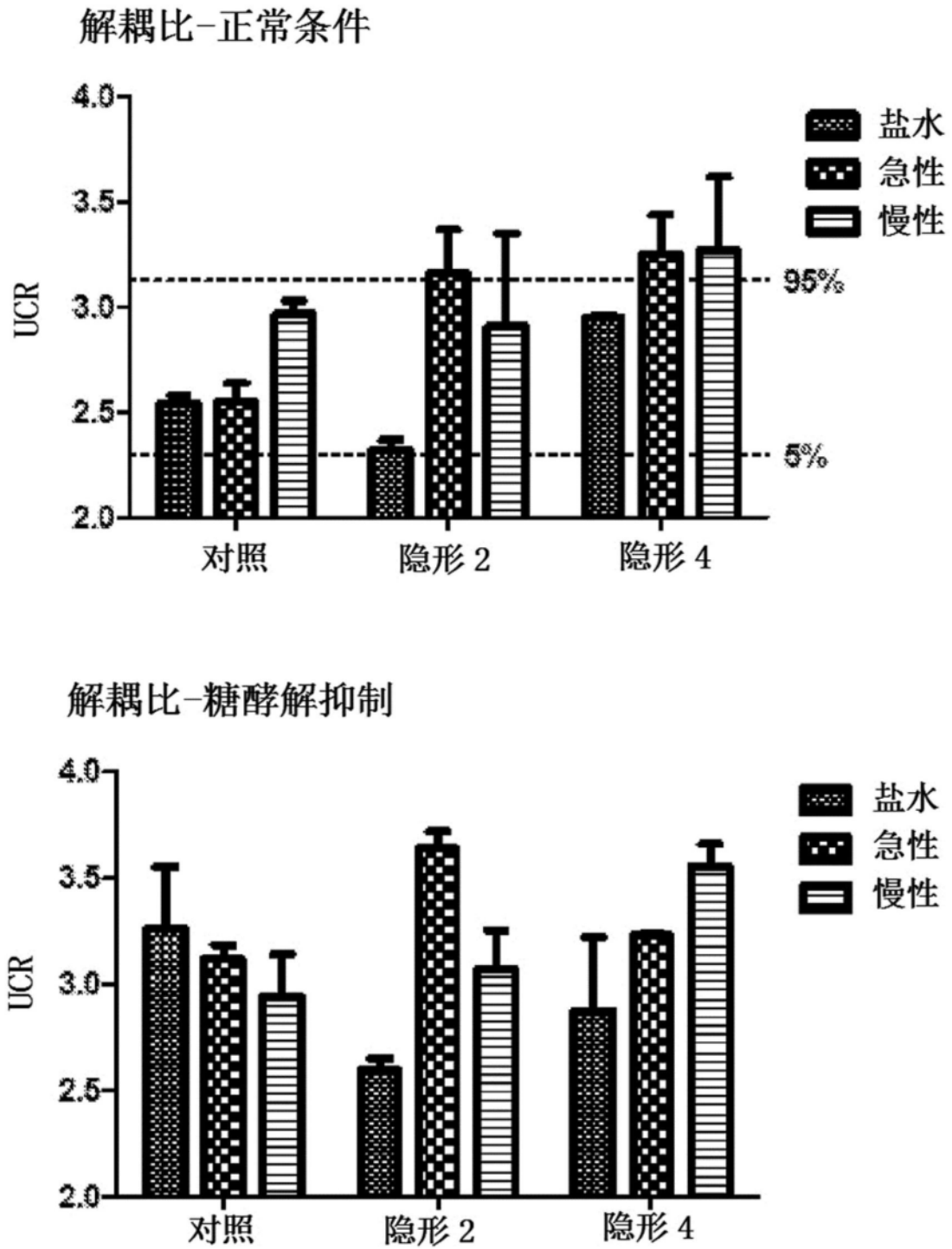


图2A

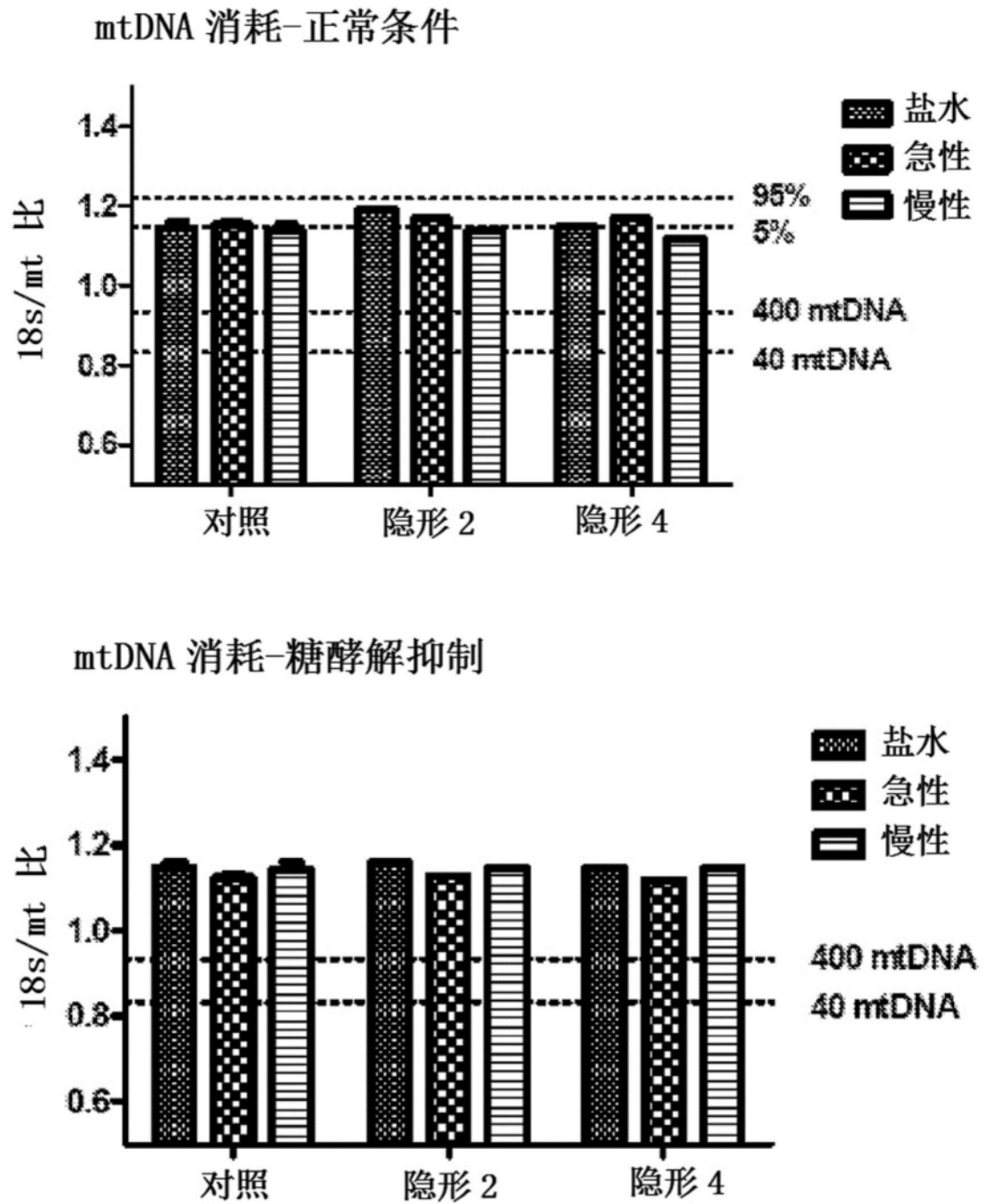


图2B

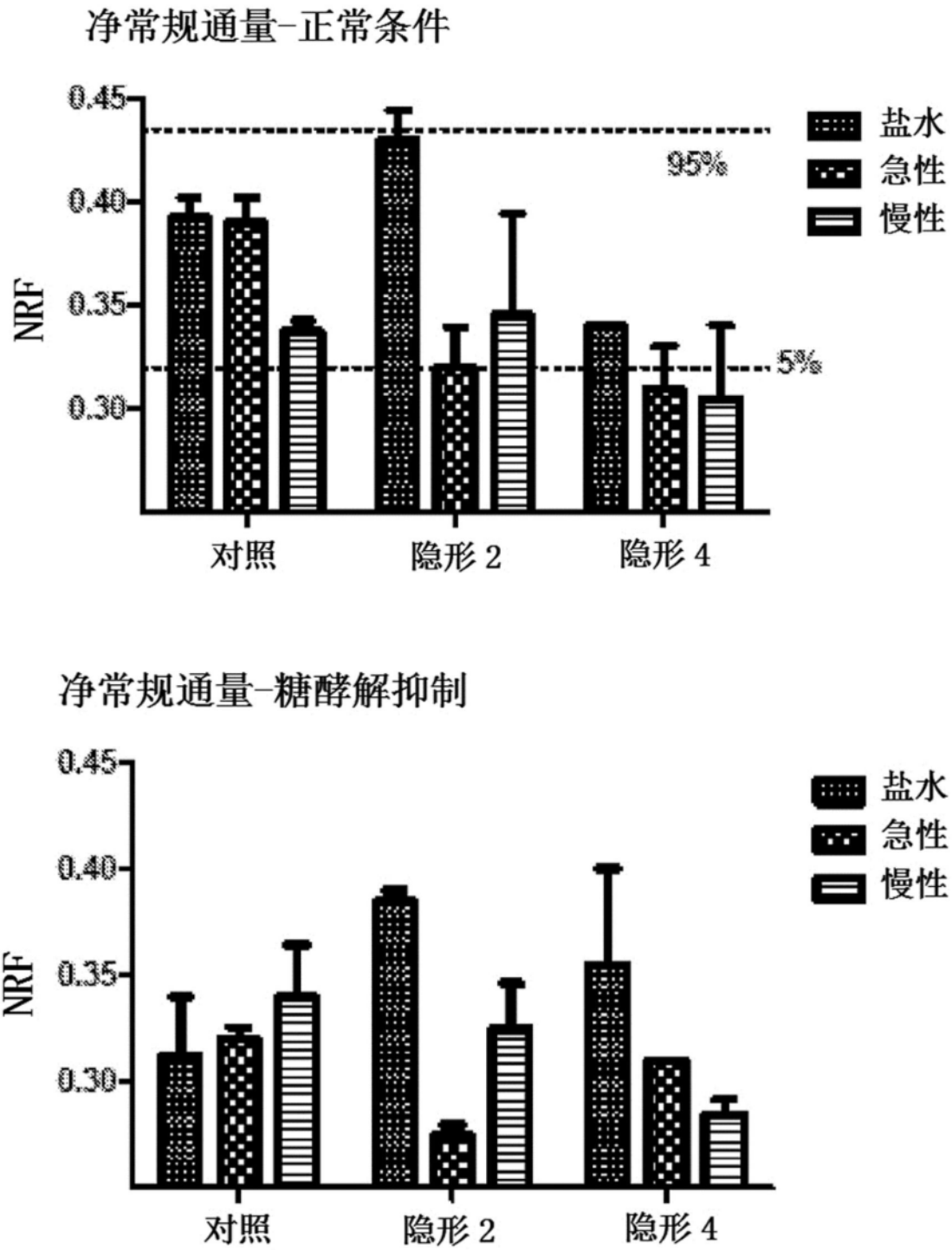
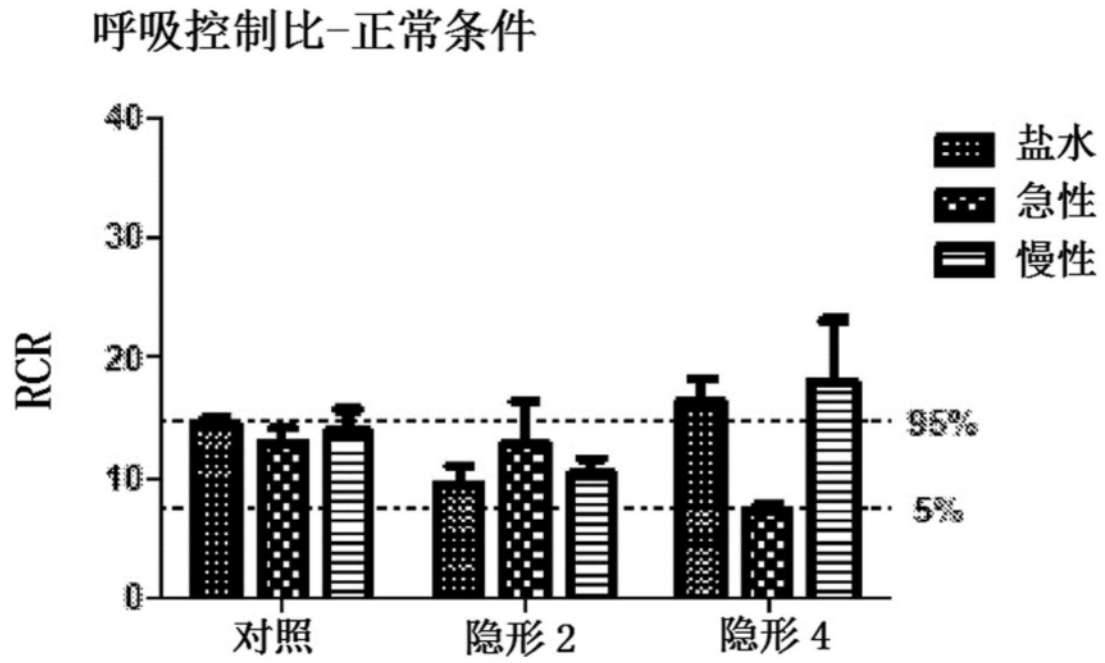


图2C



呼吸控制比-糖酵解抑制

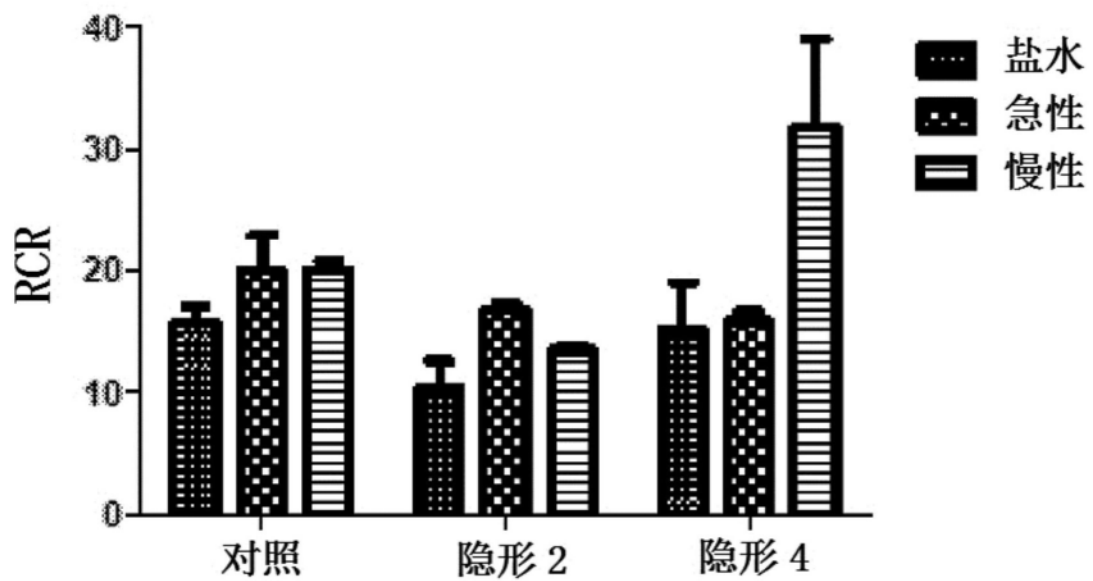


图2D

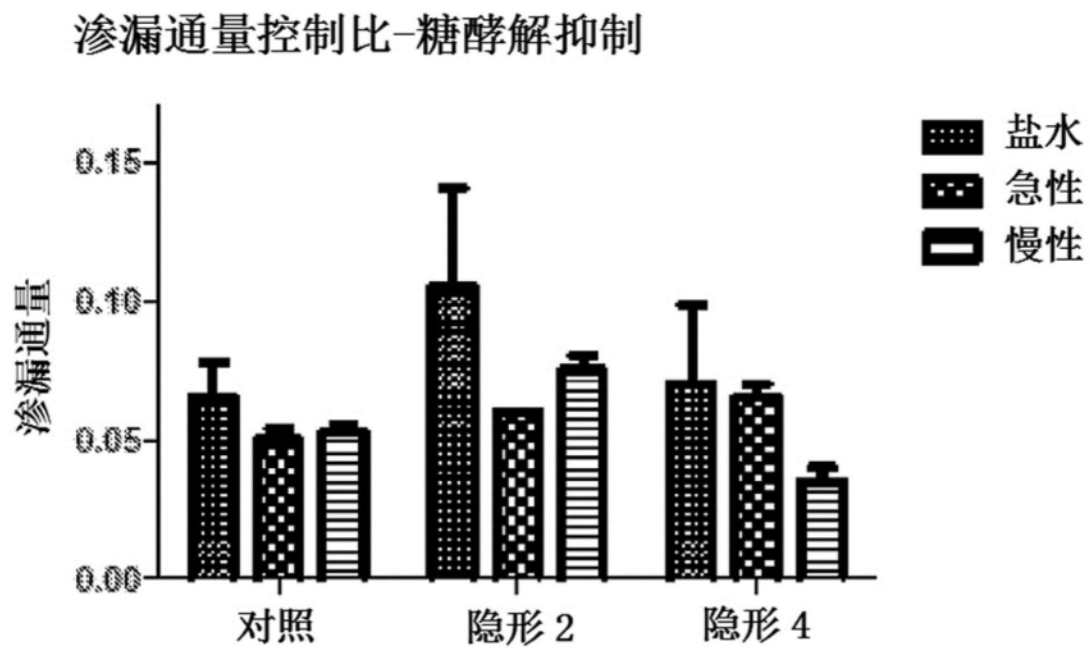
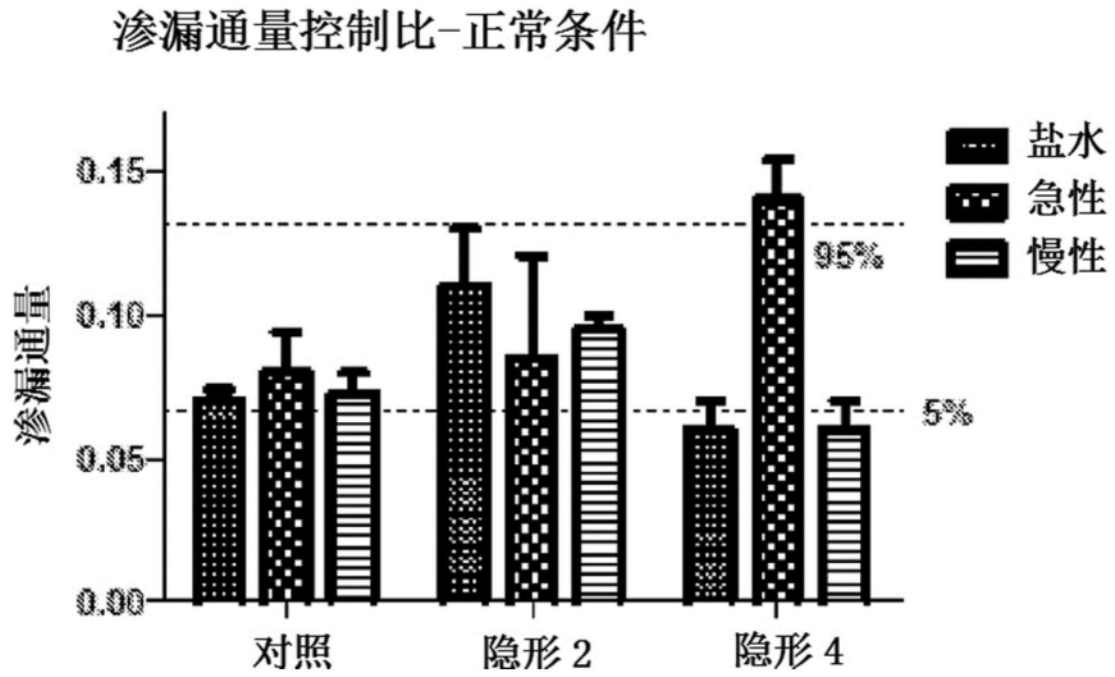
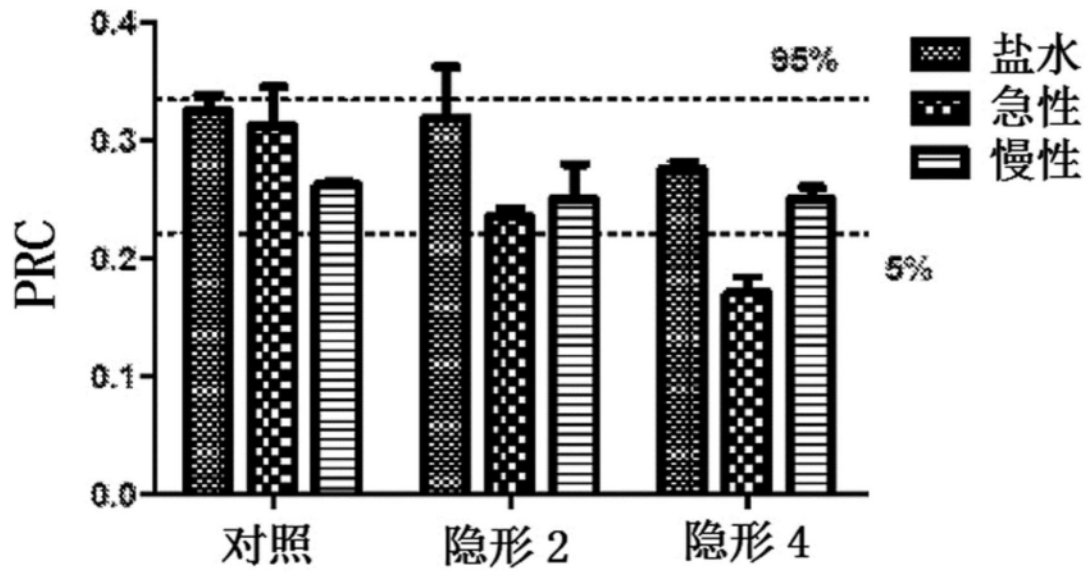


图2E

磷酸化呼吸控制比-正常条件



磷酸化呼吸控制比-糖酵解抑制

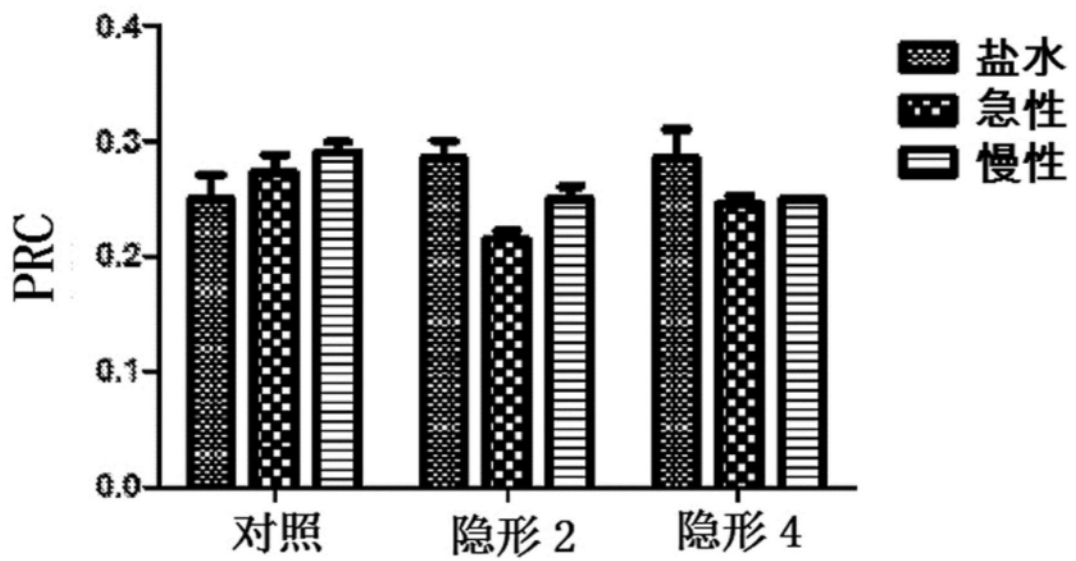


图2F

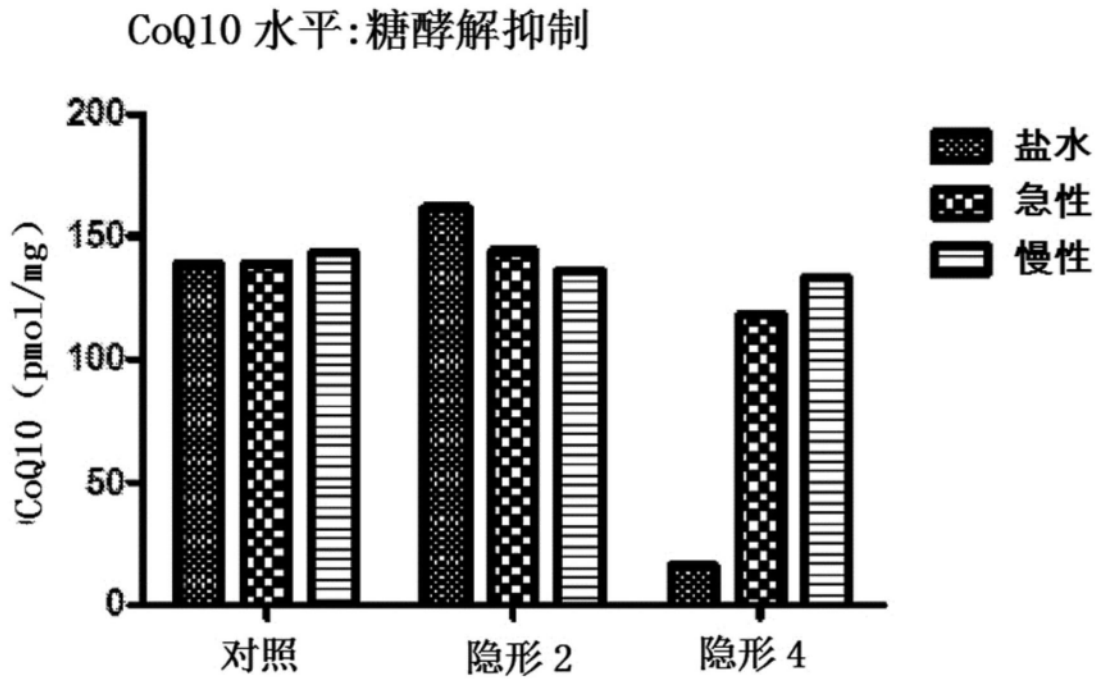
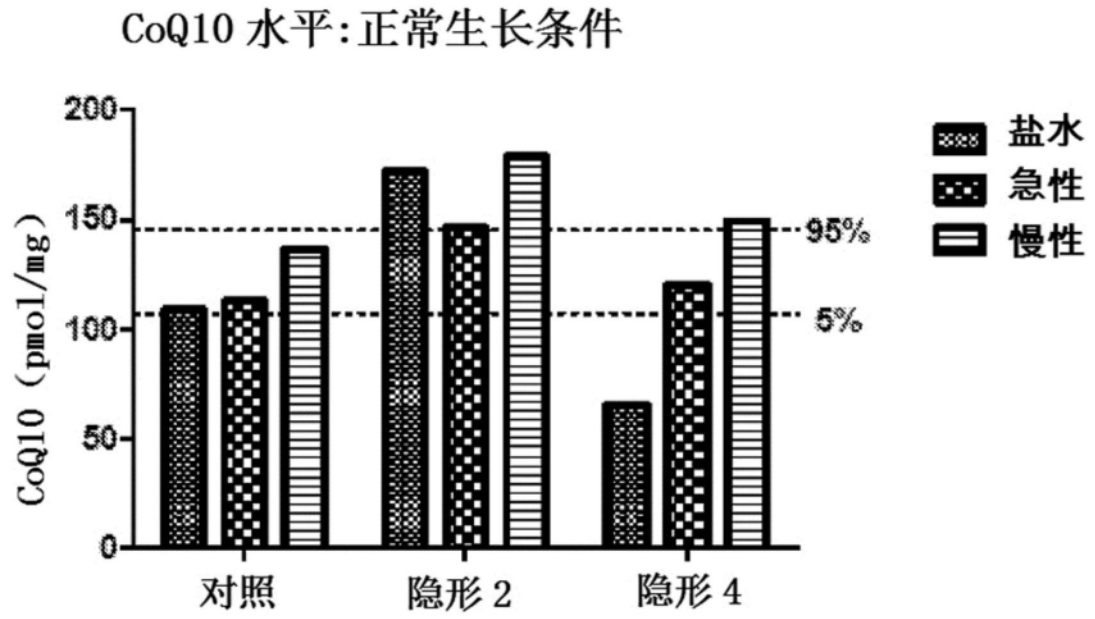


图2G

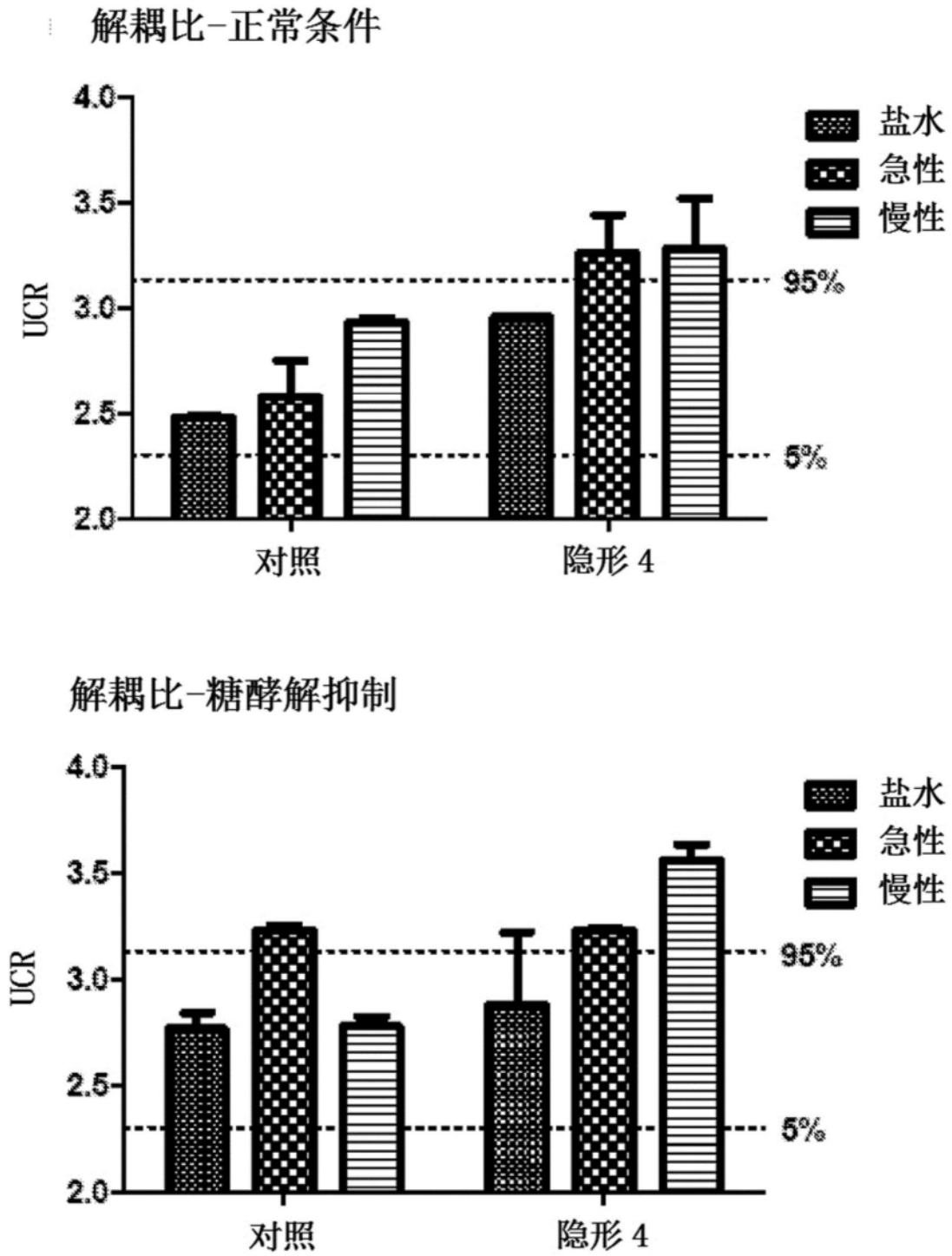


图3A

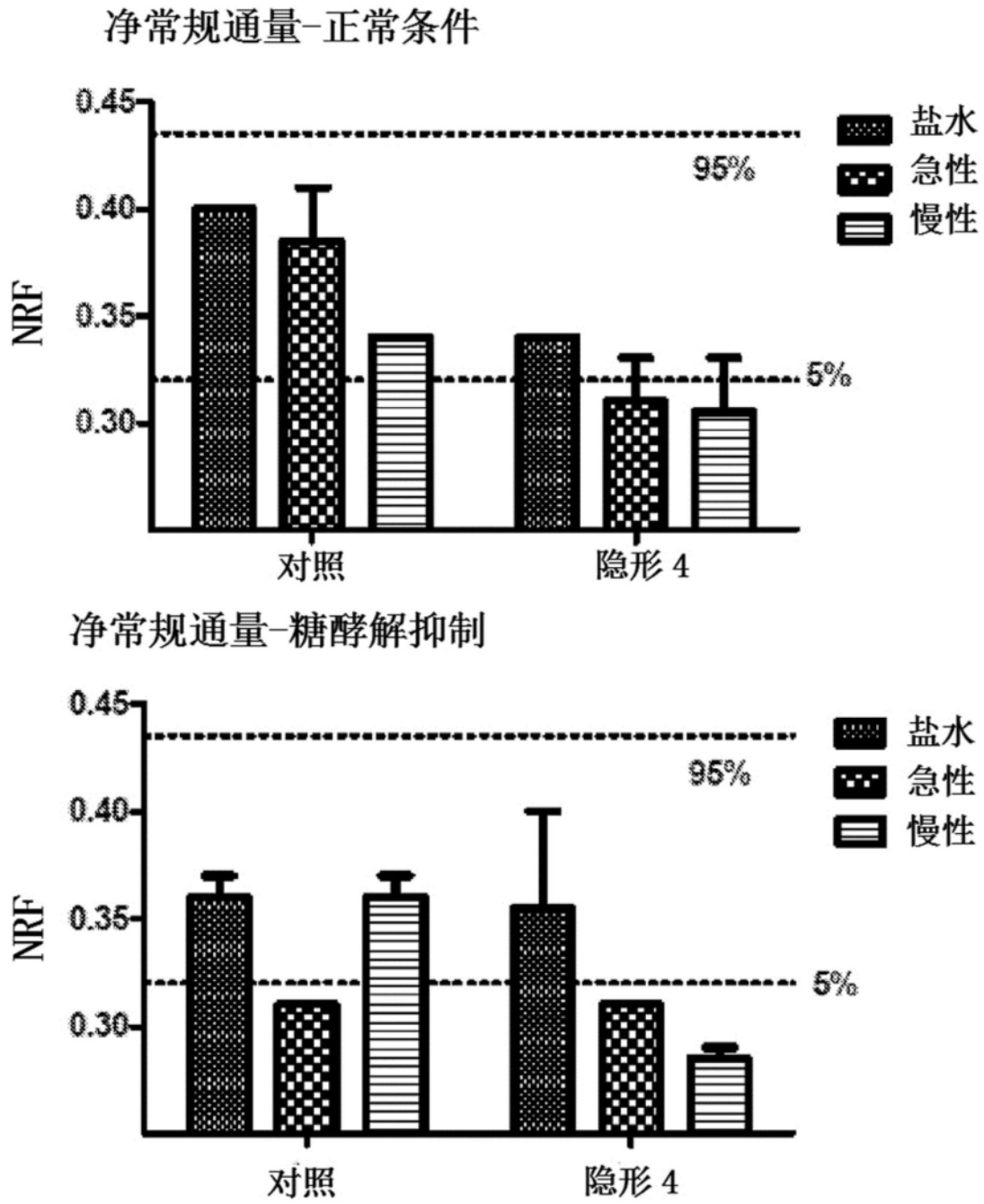


图3B

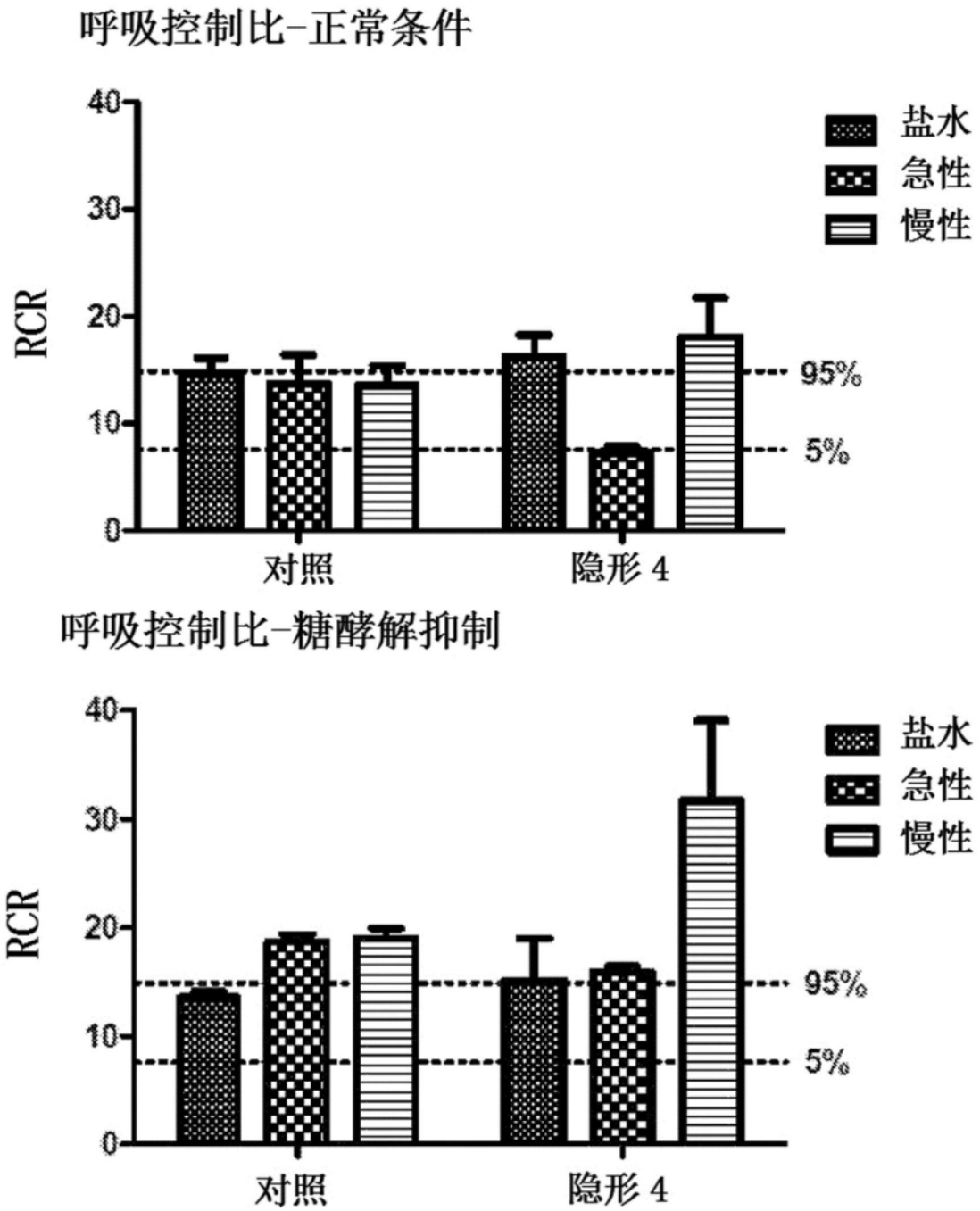


图3C

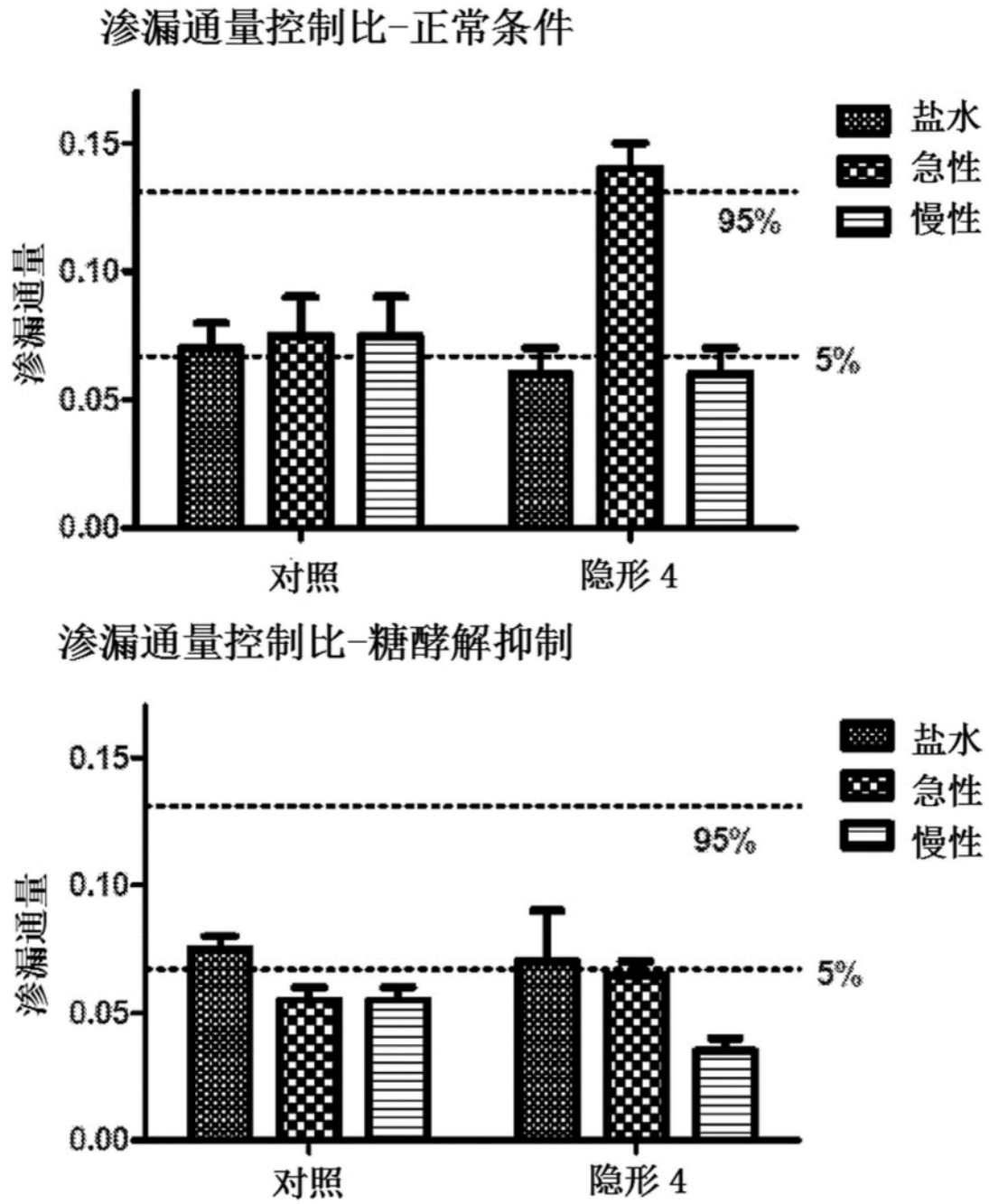
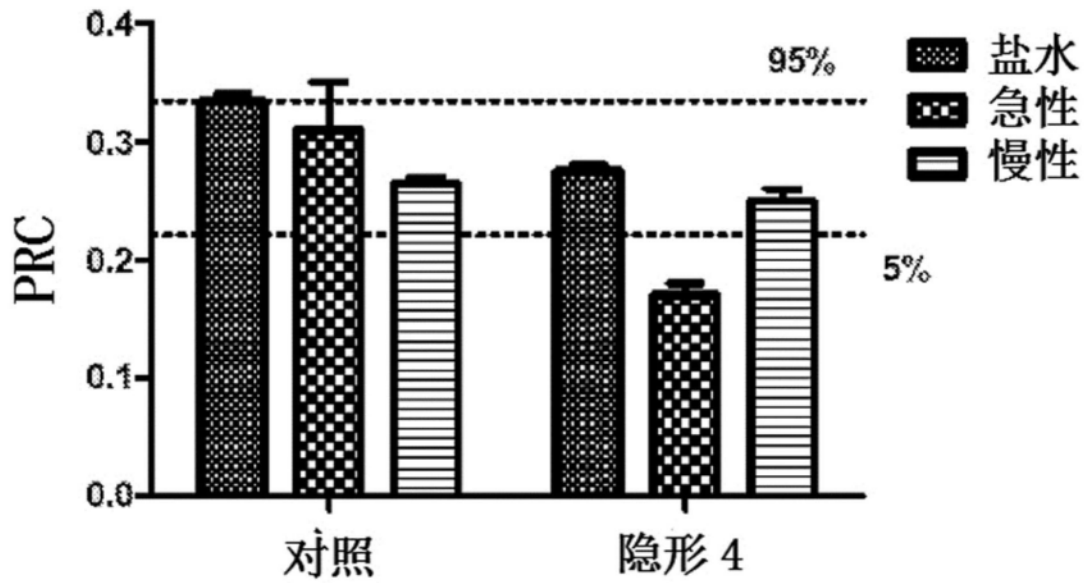


图3D

磷酸化呼吸控制比-正常条件



磷酸化呼吸控制比-糖酵解抑制

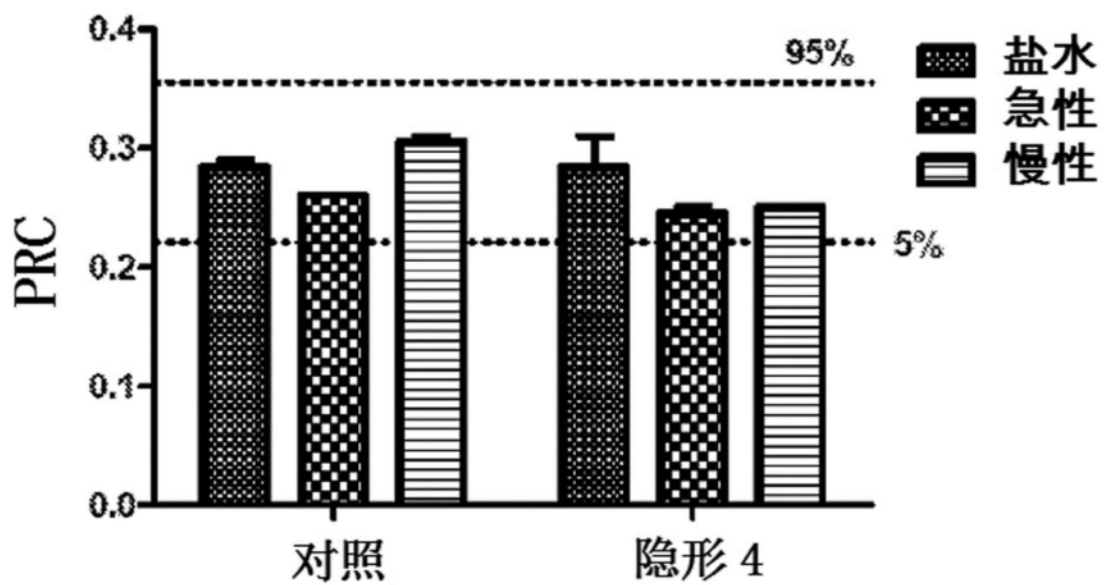


图3E

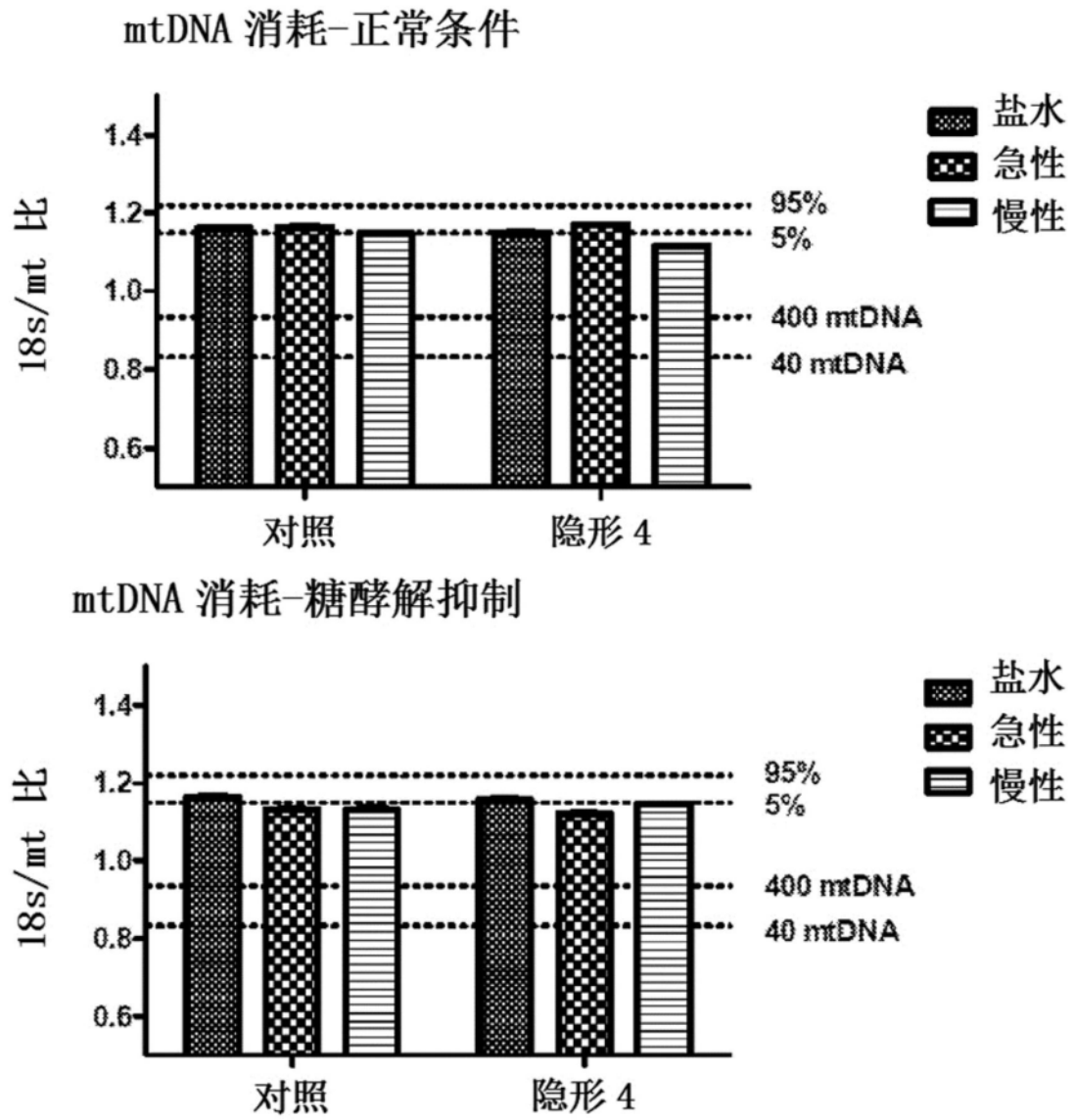


图3F

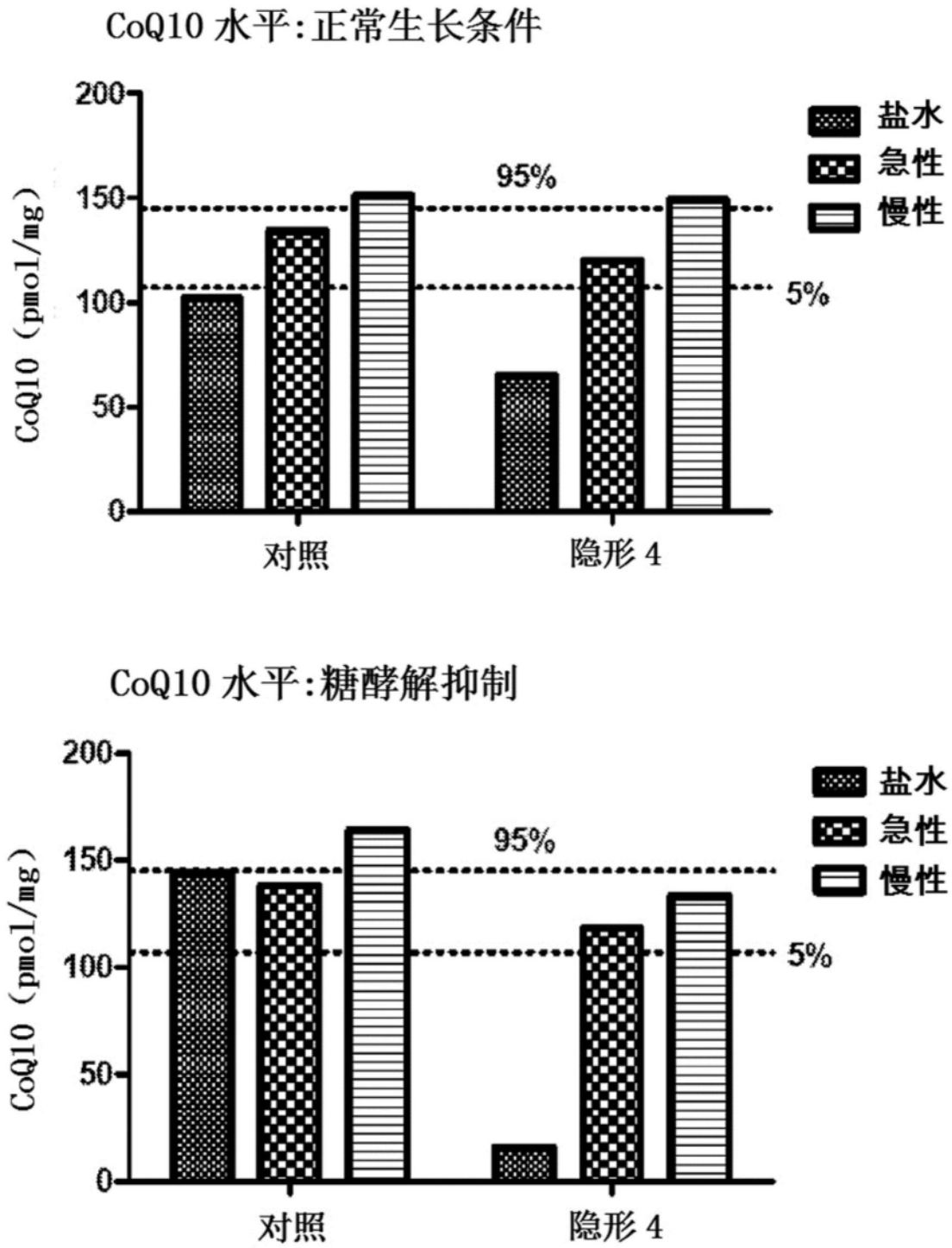


图3G

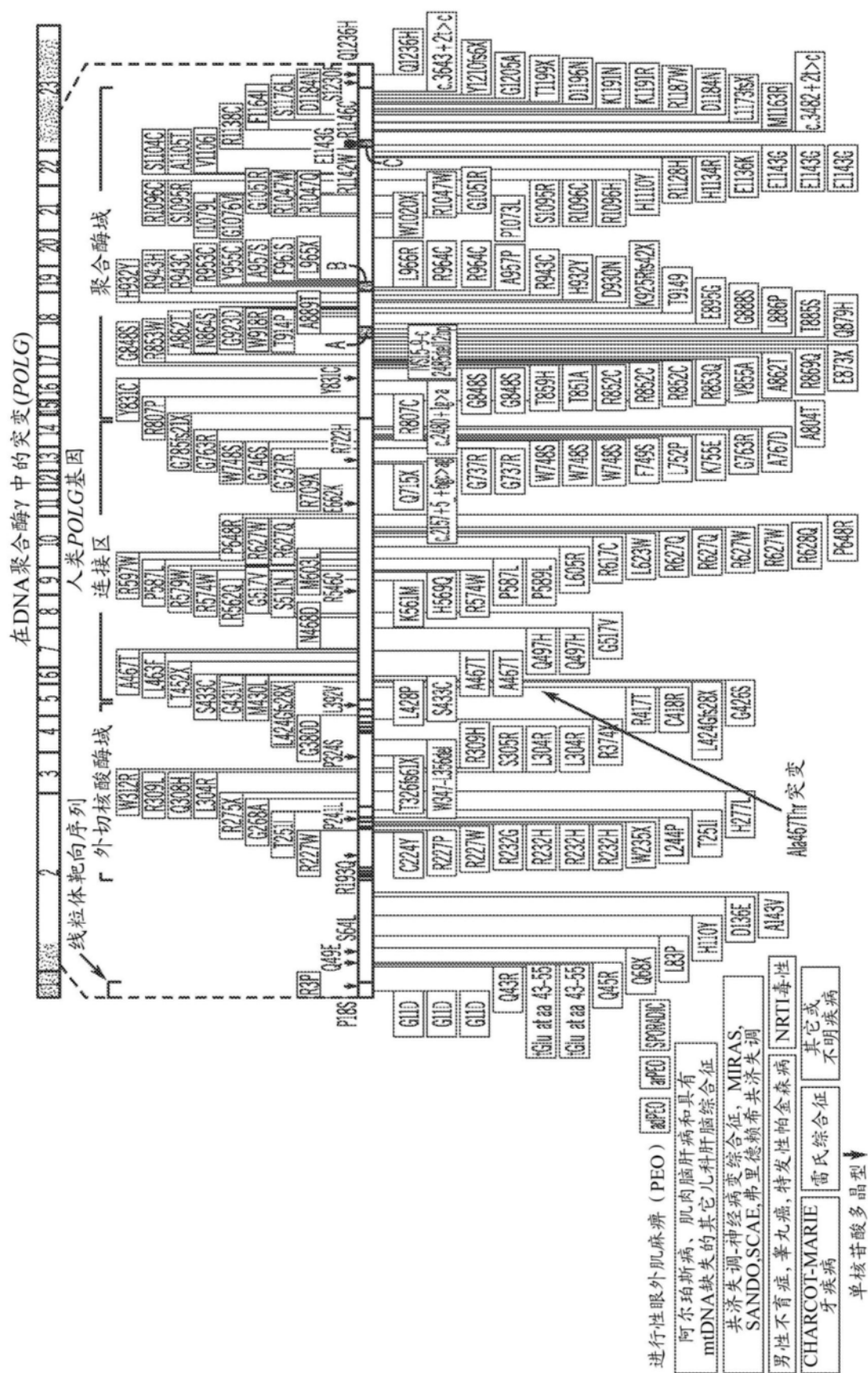


图4

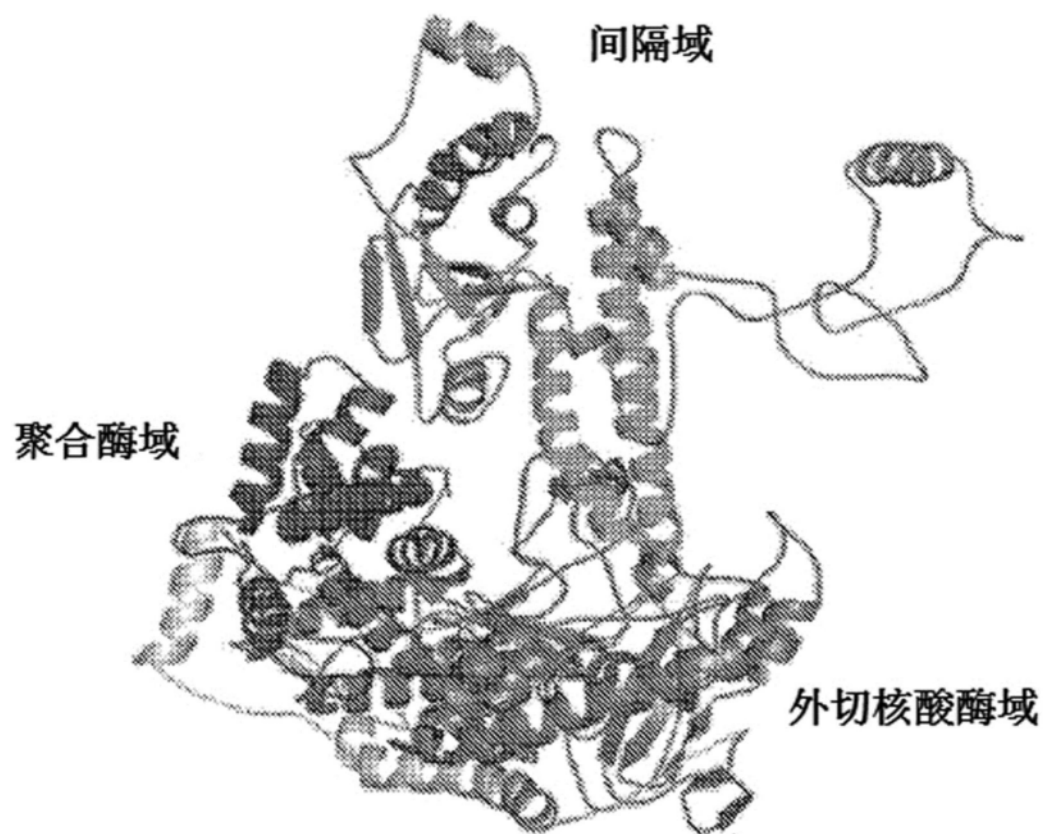


图5

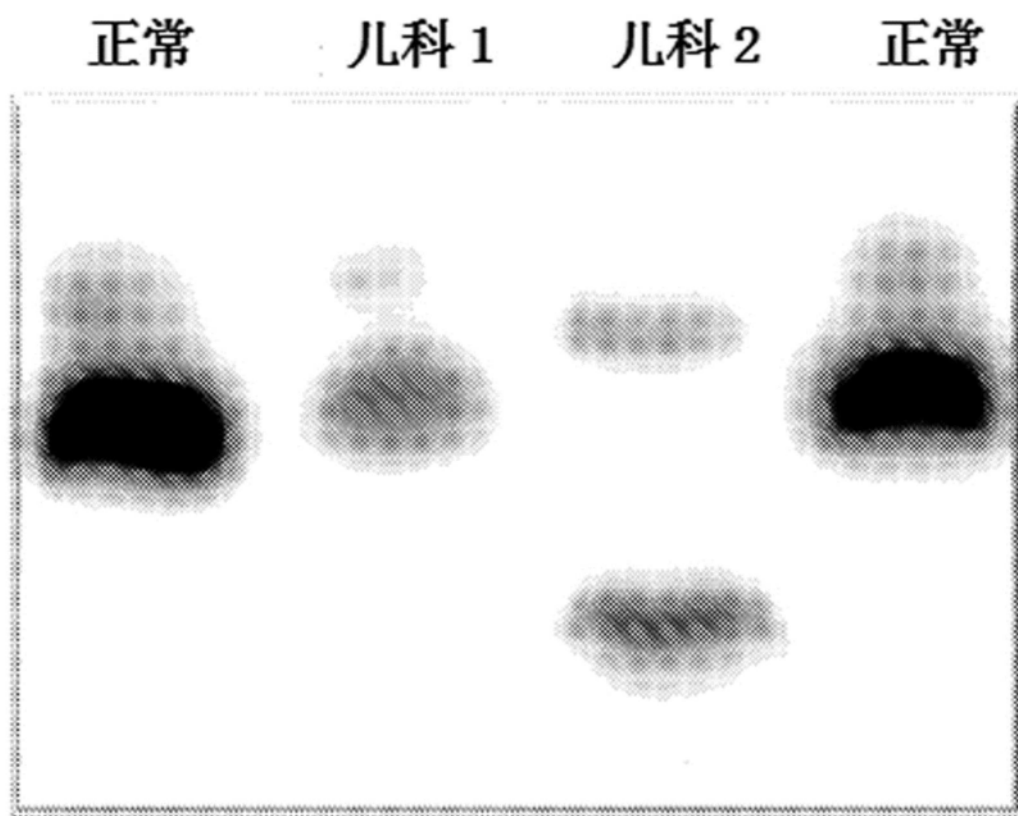


图6