



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109562097 B

(45) 授权公告日 2022.06.07

(21) 申请号 201780035899.2

(51) Int.CI.

(22) 申请日 2017.06.08

A61K 31/365 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61K 36/19 (2006.01)

申请公布号 CN 109562097 A

(56) 对比文件

(43) 申请公布日 2019.04.02

US 2014301981 A1, 2014.10.09

(30) 优先权数据

Carcamo, C等.ib-ms decreases

62/347,218 2016.06.08 US

disability progression in patients with  
progressive forms of multiple sclerosis.  
A double blind placebo controlled study.  
《MULTIPLE SCLEROSIS JOURNAL》.2016, 第22卷  
第854页.

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

Marcus W Koch等.Treatment trials in  
progressive MS--current challenges and  
future directions.《Nat Rev Neurol》.2013,  
第9卷(第9期), 第496-503页.

2018.12.10

Carcamo, C等.ib-ms decreases  
disability progression in patients with  
progressive forms of multiple sclerosis.  
A double blind placebo controlled study.  
《MULTIPLE SCLEROSIS JOURNAL》.2016, 第22卷  
第854页.

(86) PCT国际申请的申请数据

审查员 郑翠微

PCT/US2017/036463 2017.06.08

(87) PCT国际申请的公布数据

权利要求书1页 说明书10页 附图9页

W02017/214346 EN 2017.12.14

(73) 专利权人 因诺生物科学有限责任公司

地址 美国佛罗里达州

(72) 发明人 胡安·O·汉克

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限公司  
责任公司 11219

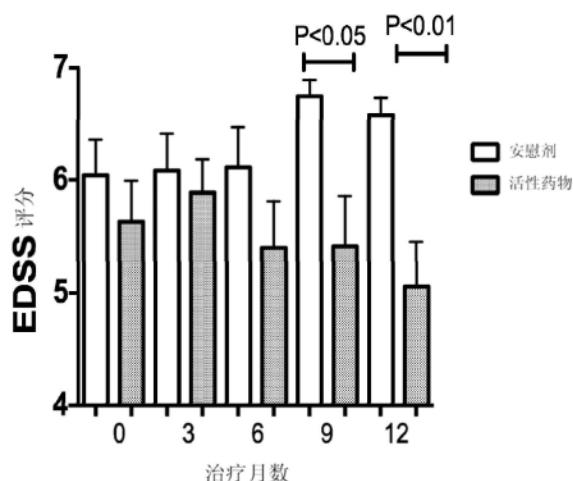
专利代理人 刘慧 杨青

## (54) 发明名称

穿心莲内酯治疗多发性硬化的进行形式

## (57) 摘要

本发明公开了口服240毫克/天穿心莲内酯是第一种显示出显著有益于人类患者的多发性硬化的进行形式的治疗。



1. 一种口服剂型在制备用于减缓被诊断患有进行性多发性硬化的人类患者的多发性硬化的进行形式的进展的药物中的用途,所述口服剂型包含有效量的穿心莲内酯或其药学上可接受的盐。

2. 根据权利要求1所述的用途,其中所述有效量包含每天240 mg所述穿心莲内酯。

3. 根据权利要求1所述的用途,其中,使用包含选自扩展的残疾状态量表、9孔钉测试、25英尺步行测试和多发性硬化综合功能指数的测定所测量的,所述有效量有效减缓多发性硬化的进行形式的进展。

4. 根据权利要求1所述的用途,其中多发性硬化的进行形式选自:原发进行性多发性硬化和继发进行性多发性硬化。

5. 根据权利要求1所述的用途,其中所述口服剂型包含有效量的穿心莲内酯。

6. 根据权利要求2所述的用途,其中所述多发性硬化的进行形式选自:原发进行性多发性硬化和继发进行性多发性硬化。

7. 根据权利要求3所述的用途,其中所述多发性硬化的进行形式选自:原发进行性多发性硬化和继发进行性多发性硬化。

8. 根据权利要求5所述的用途,其中所述多发性硬化的进行形式选自:原发进行性多发性硬化和继发进行性多发性硬化。

9. 穿心莲内酯在制备用于治疗被诊断患有多发性硬化的进行形式的人类患者的药物中的用途。

10. 根据权利要求9所述的用途,其中所述患者正施用干扰素治疗。

11. 根据权利要求9所述的用途,其中所述多发性硬化的进行形式选自:原发进行性多发性硬化和继发进行性多发性硬化。

12. 根据权利要求10所述的用途,其中所述多发性硬化的进行形式选自:原发进行性多发性硬化和继发进行性多发性硬化。

## 穿心莲内酯治疗多发性硬化的进行形式

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求美国临时专利申请序列号62/347218 (2016年6月08日提交) 的优先权, 该申请的内容通过引用并入本文中。

[0003] 政府利益

[0004] 无。

[0005] 联合研究协议的参与者

[0006] 根据智利天主教大学 (Pontificia Universidad Catolica de Chile) 与申请人/受让人之间的协议,这项研究的某些部分是在智利天主教大学进行的。

[0007] 序列表

[0008] 无。

[0009] 联合发明人的在先公开

[0010] 联合发明人是Bertoglio, J.C. 等人, 穿心莲减少患有复发-缓解性多发性硬化的患者的疲劳 (Andrographis paniculata Decreases Fatigue In Patients With Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis) , 16:77 BMC神经病学 (BMC Neurology) (2016年5月23日) 的共同作者。

### 背景技术

[0011] 多发性硬化 (MS) 是中枢神经系统 (CNS) 的一种慢性神经元-炎性脱髓鞘病症, 其主要影响20或40岁的年轻人, 并且是青年和中年人非创伤性残疾的最常见原因之一。在美国, 与MS相关的保健费用估计每年超过100亿美元, 并且全球超过150亿美元。

[0012] 截至2008年, 全球有200万至250万人受到影响, 世界不同地区和不同人群之间的比率差别很大。MS在美国影响了超过350,000人和在全球影响了超过250万人。在美国, 发病率估计为每10万人口约有90人。

[0013] MS症状可以在10至80岁之间开始, 但其通常在20至40岁之间开始, 平均年龄为32岁。女性数量比男性多, 其比率为2-3比1, 尽管在原发进行性MS (PPMS) 中, 该比率接近相等。

[0014] 多发性硬化症的名称是指疤痕 (巩膜-更好地被称为斑块或病灶), 特别是在脑和脊髓的白质中。尚未知晓MS的病因。其被认为是一种自身免疫疾病, 其中身体的免疫系统攻击其自身的组织。在MS中, 这个过程会破坏髓鞘质, 髓鞘质是包覆并保护脑和脊髓中的神经纤维的脂肪物质。当髓鞘质受损时, 沿着该神经传播的信息可能会被减缓或阻断。MS的特征在于在整个CNS中播散的脱髓鞘斑块区域, 其偏好于视神经、脊髓、脑室周围白质 (WM) 、胼胝体、以及皮质和皮质下灰质 (GM) 。

[0015] 在疾病过程的后期, 观察到残疾的逐渐进展。当持续性不可逆组织损伤超过临界阈值时, 发生残疾的明显进展 (继发进行性MS) , 超过该临界阈值时神经系统不再能进行补偿。此时, 该疾病基本上变成退行性病程, 具有不依赖于持续性炎症的神经系统功能恶化。

[0016] 多发性硬化也称为“播散性硬化”或“脑脊髓炎播散症”。它是一种炎性疾病, 其中脑和脊髓中的神经细胞的绝缘覆盖物受损。这种损害破坏了部分神经系统通信的能力, 导

致各种病征和症状,包括身体、记忆和有时的精神问题。

[0017] 虽然原因尚不清楚,但认为潜在的机制是被免疫系统破坏或产生髓鞘质的细胞发生故障。对此提出的原因包括遗传和环境因素,如感染。MS通常根据呈现的病征和症状以及支持医学测试的结果进行诊断。

[0018] 可以通过症状随时间变化的比较性严重性对MS进行分类。在独立的发作中出现新症状时,这种形式被称为MS的“复发-缓解”形式。复发缓解性MS (RRMS) 是该疾病的最常见形式(85%的患者),其中症状出现数天至数周,之后其通常自发地消除。

[0019] 当新症状随时间增加或变得更加严重时,这种形式被称为MS的“进行性”形式。在发作之间,症状可能会完全消失;但永久性神经学问题经常发生,特别是在疾病进展时。患有MS的进行形式的患者比患有复发-缓解形式的患者具有明显更差的临床前景。本发明涉及用于治疗MS的进行形式的药物组合物,并且更特别地涉及治疗MS的继发进行性 (SP) 形式和原发进行性 (PP) 形式。

[0020] 尚无已知能治愈多发性硬化的方法。治疗尝试在发作后改善功能并防止新的发作。用于治疗MS的药物虽然适度有效,但可能具有副作用并且具有不良耐受性。许多人在寻求替代治疗,尽管缺乏功效的证据。长期结果很难预测。预期寿命比未受影响人口低5至10年。高于平均水平的结果更常见于女性、早年患有该疾病的人、以及最初很少发作的人。在以下段落中,对MS的各种现有技术治疗的临床试验中迄今已评估的8种药物进行了分析。

[0021] 在组织损害累积多年后,50%的RRMS患者通常演变为显示继发进行性MS (SPMS) ,其中预先存在的神经系统功能缺陷随时间逐渐恶化并且停止对标准MS疗法作出反应。迄今为止,还没有免疫调节治疗可用于终止或逆转MS的这种形式。

[0022] 原发进行性MS (PPMS) 影响约15%的MS患者;这些患者从发病开始表现逐渐恶化,无临床复发,PPMS患者往往年龄较大,脑MRI异常较少,并且通常对标准MS疗法没有反应。约15%的患者从发病产生PPMS。迄今为止,还没有免疫调节治疗可用于终止或逆转MS的这种形式。

[0023] 进行复发性MS (PRMS) 需要从发病开始逐渐发生神经系统功能恶化,随后出现叠合的复发。PPMS被怀疑代表其中最初的复发未被识别、被遗忘或临幊上无症状的SPMS。

[0024] 干扰素β1a、干扰素β1b和乙酸格拉替雷 (glatiramer acetate) 未能证明有效减缓残疾进展。如米托蒽醌 (mitoxantrone)、甲氨蝶呤 (methotrexate)、硫唑嘌呤 (azathioprine) 和环磷酰胺的疗法具有不良的方法学临床研究,其中对RRMS患者以及SP和PPMS患者进行评估,并且未显示残疾进展减少。最后,没有关于纳他珠单抗 (natalizumab)、芬戈莫德 (fingolimod) 和特立氟胺 (teriflunomide) 的证据;但是,未公布的数据指示对进行形式没有效果。因此,目前可用的药物,包括用于RRMS的疾病调节药物,不能逆转、停止或甚至减缓SP和PPMS形式的进行性残疾。

[0025] 已经测试了干扰素β-1a (IFNB-1a) 在继发进行性MS (SPMS) 中的功效。这个测试包括两个临床试验。IMPACT研究包括总共436名患有继发进行性MS并复发的患者,其随机接受每周IFNB-1a (肌肉内) 或安慰剂持续两年。IMPACT数据显示IFNB-1a组在如下方面有显著益处:MSFC减少 (40.4%, p=0.033),复发较少 (33%, p=0.008),11个MS生活质量量表中有8个获得较好的结果并且MRI活动较少 (p<0.001)。

[0026] SPECTRIMS研究包括总共618名患有继发进行性MS并复发的患者,其接受IFNB-1a

(每周三次)或安慰剂持续3年。数据显示IFNB-1a没有显著影响残疾进展( $p=0.146$ )，但对于复发率(从每年0.71降至0.50,  $p<0.001$ )和MRI结果观察到显著治疗益处。

[0027] 已经在两个临床试验中测试了干扰素β-1b(IFNB-1b)在继发进行性MS中的功效。在EUSPMS中：总共718名患有继发进行性MS的患者随机接受IFNB-1b或安慰剂，治疗持续时间长达3年。EUSPMS数据显示，到达扩展的残疾状态量表(EDSS)上的被证实的1.0分进展的时间被延迟( $p=0.007$ )，并且2.0EDSS分的进展降低27%。

[0028] NASPMS研究包括939名患有继发进行性MS并复发的受试者，其随机接受安慰剂或IFNB-1b。NASPMS数据显示对到达被证实的残疾进展的时间没有治疗益处，尽管复发和MRI相关的结果显示显著益处。EUSPMS试验和NASPMS试验的组合分析显示，具有更明显的残疾进展和继续复发活动的患者更有可能从治疗中获益。

[0029] 对于原发进行性MS(PPMS)，Cochrane系统综述包括两个随机对照试验(需要总共123名患者)，并将患有PPMS的患者的干扰素治疗与安慰剂进行比较。该综述关于具有疾病进展的患者比例没有显示差异(RR 0.89, 95%CI 0.55至1.43)，并且其与治疗相关的不良事件的较大出现率相关(RR 1.90, 95%CI 1.45-2.48)。试验之一显示干扰素组两年的活动性MRI病灶数量较少(差异-1.3, 95%CI-2.15至-0.45,  $P=0.003$ )。

[0030] 在对照临床试验(Wolinsky 2007)中测试了乙酸格拉替雷，其中总共943名患有PPMS的患者被随机化。数据显示到达持续累积残疾的时间没有显著延迟(风险比, 0.87 [95%置信区间, 0.71-1.07];  $p=0.1753$ )。

[0031] 在La Mantia 2010(Cochrane系统综述)中，1049名患有原发进行性MS的患者的数据有助于元分析。SPMS患者和PPMS患者未显示益处。没有发现大的毒性。最常见的全身性不良事件是潮红、胸闷、出汗、心悸和焦虑的短暂和自限性模式化反应。在高达一半的用乙酸格拉替雷治疗的患者中观察到局部注射部位反应，因此使得盲式评定结果是有问题的。

[0032] 在Hartung(2002)中评估了米托蒽醌，该文献描述了194名患有恶化的RRMS或SPMS并复发的患者的对照临床试验。患者被分配安慰剂或米托蒽醌；188名患者完成了方案，并能够在24个月时进行评定。在24个月时，与安慰剂组相比，米托蒽醌组在不同的临床量度方面具有益处(差异0.3[95%CI 0.17-0.44];  $p<0.001$ )，从而减少了残疾进展和临床恶化。

[0033] 类似地，Martinelli(2005)，Cochrane系统综述，提供了四个临床试验的元分析，所述试验总共包括270名患有RRMS、PRMS和SPMS并复发的患者。元分析显示，米托蒽醌在2年随访时减少残疾进展(6个月证实残疾进展的患者比例：优势率0.3,  $p=0.05$ )。然而，这些结果基于药物剂量和包括标准方面的异质性试验。

[0034] 在La Mantia(2007)，Cochrane系统综述中对环磷酰胺进行了元评估。元分析包括四个RCT，其比较了环磷酰胺与安慰剂或不治疗，总共需要152名参与者。元分析显示环磷酰胺并未阻止长期(12、18、24个月)的临床残疾进展，临床残疾进展被定义为进展到EDSS评分的下一步。然而，残疾的平均变化(减去基线的最终残疾)显著有利于12个月(效应量-0.21, 95%置信区间-0.25至-0.17)和18个月(-0.19, 95%置信区间-0.24至-0.14)时的治疗组，但有利于24个月时的对照组(0.14, CI 0.07至0.21)。

[0035] 仅在具有60名进行性MS患者的试验中研究了甲氨蝶呤。Gray(2006)的结果显示，持续的EDSS进展和复发次数没有显著减少，支持了甲氨蝶呤疗法。没有关于复发率的数据，并且首次复发的时间没有差异。甲氨蝶呤组(87.1%)和安慰剂组(89.7%)中均报告有轻微

副作用,但无大的副作用。

[0036] 在439名PPMS患者中研究了利妥昔单抗(rituximab),所述患者随机接受静脉内利妥昔单抗或安慰剂。来自Hawker (2009) 的数据显示利妥昔单抗和安慰剂之间到达被证实的疾病进展的时间差异不具有显著性(96周比率:38.5%安慰剂,30.2%利妥昔单抗;p=0.14)。从基线至第96周,利妥昔单抗患者的T2病灶体积增加较少(p<0.001);脑容量变化与安慰剂相似(p=0.62)。各组之间的不良事件相当。

[0037] 硫唑嘌呤Cochrane系统综述(Casetta (2007))包括698名患有MS的所有临床形式的随机化患者。汇总数据显示,硫唑嘌呤减少了治疗一年(相对风险降低[RRR]=20%;95%CI=5%至33%)、两年(RRR=23%;95%CI=12%至33%)和三年(RRR=18%;95%CI=7%至27%)随访时复发患者的数据。这些结果在敏感度分析中是一致的。研究中没有异质性。可以使用仅来自三个小型试验总共87名患者的数据来计算在前两至三年期间进展的患者数量。在三年随访时,硫唑嘌呤疗法存在统计学上显著的益处(RRR=42%;95%CI=7%至64%);敏感度分析后,这个结果很稳固。

[0038] 因此,现有技术教导了MS的许多潜在疗法。然而,本领域还教导了MS的某些形式仍然对任何目前已知的疗法具有抗性。

[0039] Juan Luis HANCKE等人,美国专利特许号8080495教导了穿心莲内酯(要求保护的化合物)和某些类似化合物。该专利还教导了自身免疫疾病,包括“类风湿性疾病、牛皮癣、全身性皮肌炎、多发性硬化症[和]红斑狼疮”。参见1:29-39。关于多发性硬化,该专利说,“使用实施例9中描述的穿心莲内酯的混合物,在本发明组合物治疗3个月后发生疾病症状的正常化。另外,该组合物不干扰其它治疗。”参见18:10-15。遗憾的是,该专利没有明确说明其中研究的是多发性硬化的哪种形式。然而,提及“其它治疗”意味着其中研究的MS的形式必须是实际上具有“其它治疗”的唯一一种,即复发-缓解形式的MS。因此,这个专利未能明确地或隐含地教导使用穿心莲内酯来治疗MS的任何进行形式。

[0040] 此外,本领域教导了复发-缓解性MS的每一种其它治疗对MS的进行形式都是无效的。见上文。因此,该现有技术专利未能向本领域技术人员提供成功地将要求保护的化合物用于MS的任何进行形式的合理预期。

[0041] 公布的PCT申请W02013/096423教导了要求保护的化合物协同改善了干扰素在治疗多发性硬化中的功效。参见第2页摘要、第8页第7段。然而,本领域教导了干扰素完全不能有效治疗MS的进行形式。见上文。因此,本领域技术人员将阅读教导了将干扰素与要求保护的化合物组合来治疗MS的复发-缓解性,而不是MS的进行形式的W0'423。类似地,技术人员将阅读教导干扰素是MS治疗中不可缺少的部分的W0'423。

## 发明内容

[0042] 我们在患有多发性硬化的进行形式的患者中每天口服施用两次(即每天280mg)的穿心莲内酯的对照、随机、双盲人类临床试验中测试了穿心莲内酯。该研究的主要目的是确定穿心莲内酯在延缓脑萎缩进展中的功效、安全性和耐受性。第二终点包括:与基线相比,在第24个月时通过扩展的残疾状态量表(EDSS)和多发性硬化综合功能(MSFC)发现残疾能力进展的延迟;与基线相比,在24个月时通过节奏的听觉连续添加测试(PASAT)、符号-数字模态测试(SDMT)和抑郁(Beck)发现认知障碍的延迟;与基线相比,在24个月时通过患者报

告的参数发现多发性硬化生活质量影响量表 (MSIS 29) 和疲劳 (Krupp) ;与基线相比,在24个月时通过磁共振 (MR) 测量的穿心莲内酯的耐受性;与基线相比,在24个月时通过MR发现T2的新病灶的数量或体积或更大尺寸;与基线相比,在24个月时通过MR发现T1的新高强度病灶数量或(钆俘获);与基线相比,在24个月时通过光学相干断层扫描 (OCT) 和视野测量的视网膜变薄的延迟;以及在24个月时通过症状日记和程序化访谈中的副作用记录获得穿心莲内酯的安全性结果。美国临时专利申请序列号62/347218 (2016年6月08日提交) 中更全面地描述了所述研究的详情,所述申请通过引用并入本文中。

## 附图说明

[0043] 图1显示了体外结果。(A) 将从C57BL/6和BALB/c小鼠获得的淋巴结细胞悬浮液与增加浓度的IB-MS共培养72h。之后,收获上清液,并通过ELISA测定分析IL-2释放(圆圈),并通过细胞效价测定法测定T细胞增殖(正方形)。(B) 将用媒介物(实心圆圈)或穿心莲内酯(空心圆)处理的小鼠一周后进行MOG免疫,并且每天测定临床评分。这些数据指示IB-MS处理干扰T细胞活化并阻止EAE。

[0044] 图2显示IB-MS处理和IFN- $\beta$ 处理对三组MOG免疫的C57BL/6J小鼠 (150 $\mu$ g MOG-肽; 500 $\mu$ g MT; 200ng PT) 的比较性作用,其中在慢性期开始时(免疫后第15天),每隔一天用PBS(黑色三角形)、IFN- $\beta$ (紫色正方形)或4mg/kg IB(蓝色圆圈)处理所述小鼠直到免疫后第30天。这些数据指示IB-MS在EAE中具有治疗作用。

[0045] 图3显示用AG处理的小鼠的脊髓中炎性浸润和脱髓鞘减少。每天用4mg/kg穿心莲内酯处理MOG免疫的C57BL/6J小鼠 (150 $\mu$ g MOG-肽; 500 $\mu$ g MT; 200ng PT)。在慢性期开始时(免疫后第15天)处理动物直到免疫后第20天。作为对照,每天用媒介物(PBS)注射MOG免疫的C57BL/6J小鼠。在腹腔内注射后第21天,处死小鼠。将用PBS(A-C)或AG(B-D)处理的MOG免疫小鼠灌注并用4%多聚甲醛固定。解剖胸脊髓切片,通过苏木精-伊红染色(H&E)分析炎性浸润,并用勒克素尔固蓝染色(luxol fast blue staining; LFB)分析脱髓鞘。插图显示更高的放大倍数(20倍)。

[0046] 图4显示了我们为期12个月的先导临床研究的流程图。

[0047] 图5列出了某些次要结果并提供了研究时间表。

[0048] 图6呈现了IB-MS对患有进行性MS的患者的扩展的残疾状态量表 (EDSS) 的影响。

[0049] 图7呈现了IB-MS对患有进行性MS的患者的九孔钉测试 (9HPT) (L=左手;R=右手)的影响。

[0050] 图8呈现了IB-MS对患有进行性MS的患者的25英尺行走测试 (EDSS) 的影响。

[0051] 图9呈现了本发明的在细胞水平下的可能作用机制的示意图 (AP=穿心莲内酯)。

[0052] 图10显示了穿心莲内酯 (A) 对人类患者的9-HPT的影响。图中的数字 (x轴) 是6个测量值,其对应于2年治疗。仍有许多需要完成2年治疗的患者。因此,数据显示很多差异。尽管如此,我们可以看到经治疗的患者能更熟练并更快速地完成上肢功能的任务。9-HPT是上肢功能的简要的、标准化的定量测试。其为每次访问时要施用的MSFC的第二组成部分。优势手和非优势手都经过两次测试。患者坐在一张桌子前,桌上有一个小而浅的容器,容器里面装着九个钉子和含有九个空孔的木头或塑料块。在启动秒表时启动命令,患者尽可能快地一次一个地捡起九个钉子,将其放入九个孔中,并且当它们在孔中之后,尽可能快地将它们一

次一个地移出,将它们放回浅容器中。记录完成任务的总时间。用优势手进行两次连续试验,接着立即用非优势手进行两次连续试验。

[0053] 图11显示人类患者的MSIS 29量表结果。在对照组 (b) 中,可以看到患者在2年后与第0天相比,百分比从95变为75,这意味着身体和心理恶化。在处理组 (a) 中,百分比从80变为90。初步显示治疗患者维持或轻微改善其评分。

## 具体实施方式

[0054] 美国临时专利申请序列号62/347218(2016年6月08日提交)中描述了我们的临床研究的详情,所述申请通过引用并入本文中。虽然该研究设计为24个月的研究,但仅在治疗12个月后的中期结果就显示了统计学上显著的功效。我们的中期结果显示,在治疗多发性硬化(MS)的继发进行性(SP)形式和原发进行性(PP)形式时,通过口服施用穿心莲内酯类化合物刺激了髓鞘再生和神经发生。

[0055] 多发性硬化综合功能(MSFC)疾病活动指数有3个组成部分:腿的功能、手臂的功能和认知功能。相应的测试是25英尺(7.6m)行走;9个孔和钉的测试;以及节奏的听觉连续添加测试3(PASAT3)。每次访问中将对每个测试进行多次尝试。将在每次访问中记录MSFC评分和3个子量表的评分以及从基础值的变化。

[0056] 进行性MS疾病严重性的一个量度是扩展的残疾状态量表(EDSS)。EDSS是用于确定MS中神经学残疾的量表,并且用于证实疾病的进展。其由具有两个部分的系统组成。第一部分测量八个功能系统(FS)。第二部分以1至10的等级测量残疾,0为无残疾,并且10为因MS死亡。

[0057] 文献显示,在未经治疗的MS患者中,2年随访后,在15%的受试者中,通过EDSS评估的残疾增加了1分(Kragt等人,2010)。在干预组中预计样本的大小以评估这个参数的50%的减少,即7.5%的受试者在残疾量表中增加一分。为了发现显著性水平为0.05和效力为0.80的差异,每组必需评估28名受试者。还考虑每个对照有一名干预受试者和20%的离开百分比,待评估的受试者总数为68。为了发现显著性水平为0.05和效力为0.80的差异,每组必需评估28名受试者。还考虑每个对照有一名干预受试者和20%的“离开率”,评估的总数为68。

[0058] 图6中提供我们的治疗12个月的结果。图6显示相对于安慰剂,治疗提供了改善,其到9个月时变成统计学上显著的,并且到治疗12个月时更显著。

[0059] 九孔钉测试(9HPT)是MS综合功能(MSFC)评分的组成部分。9HPT是一种计时测试,其测量将九个钉子中的每一个插入厚木板中的九个孔所要的时间(秒)。对右臂和左臂各自进行测试。该测试测量了眼-手协调和精细肌肉控制。图7中提供我们的治疗12个月的结果。右手测试(9HPT-R)的结果显示,治疗提供了完成测试所要求的时间的改善(减少),这种改善到治疗12个月时变成统计学上显著的。左手测试(9HPT-L)的数据证实了这种改善,但奇怪地显示这种改善几乎立即变成统计学上显著的,并且在12个月内显著性增加。注意,在比较左手数据和右手数据时,左手测试的垂直(时间)量表被压缩。这是因为左手通常是非优势手,因此系统地需要更长时间来完成。

[0060] 另一种协调测试是25英尺步行测试(25FWT)。25FWT测量行走7.6米(25英尺)的距离所要的时间(秒)。文献显示,在未经治疗的MS患者中,在45%的受试者中,按时间(秒)(患

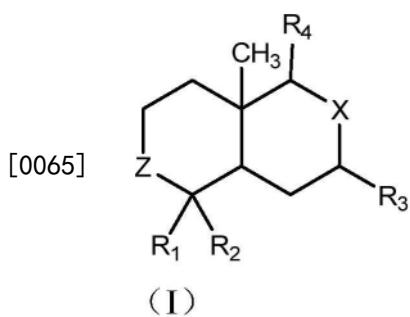
者行走25英尺距离所花费的时间)评估的残疾增加一分(Kragt等人,2010)。计算样本大小以评估这个参数的50%的减少(即预期在干预组中22.5%的受试者在残疾量表中增加一分)。为了发现显著性水平为0.05和效力为0.80的差异,每组必需评估68名受试者。还考虑每个对照有一名干预受试者和20%的离开率,待评估的受试者总数为68。为了发现显著性水平为0.05和效力为0.43的差异,每组必需评估28名受试者。还考虑每个对照有一名干预受试者和20%的“离开率”,评估的受试者总数为68。

[0061] 我们在图8中的初步数据显示,相对于安慰剂,治疗提供了完成测试所要求的时间的改善(减少),这种改善在治疗开始时立即变成统计学上显著的,并且对于治疗十二个月而言持续地是统计学上显著的。

[0062] 因此,本发明的一个目的在于提供用于治疗多发性硬化(MS)的继发进行性(SP)形式和原发进行性(PP)形式的药物组合物,其包含口服施用穿心莲内酯和/或其类似物,任选地包括一种或多种药学上可接受的赋形剂和/或载体。

[0063] 因此,本发明的另一个目的在于提供一种治疗罹患SPMS和PPMS和/或另一种脱髓鞘疾病受试者的方法,该方法向受试者施用有效量的本发明的药物组合物并历时足以产生髓鞘再生和神经发生的时间。

[0064] 本发明提供用于治疗SPMS形式和PPMS形式和/或其它脱髓鞘疾病的药物组合物,所述药物组合物包含式(I)化合物:



[0066] 其中

[0067] R<sub>1</sub>选自氢、烷基或羟基,

[0068] R<sub>2</sub>选自羟基烷基或烷基-0-L<sub>1</sub>,其中L<sub>1</sub>为碳水化合物部分,

[0069] R<sub>3</sub>选自氢或羟基,

[0070] X选自C(=CH<sub>2</sub>)、CH(OH)或2,2-二甲基环氧乙烷;

[0071] Z选自CH<sub>2</sub>、CH(OH)或C(=O),并且

[0072] R<sub>4</sub>选自任选取代的L<sub>2</sub>-烷基或L<sub>2</sub>-烯基,其中L<sub>2</sub>是任选取代的3-呋喃基或3-呋喃-3-烯基部分,

[0073] 或其药学上可接受的盐、酯、醚或前药,以及一种或多种药学上可接受的赋形剂和/或载体。

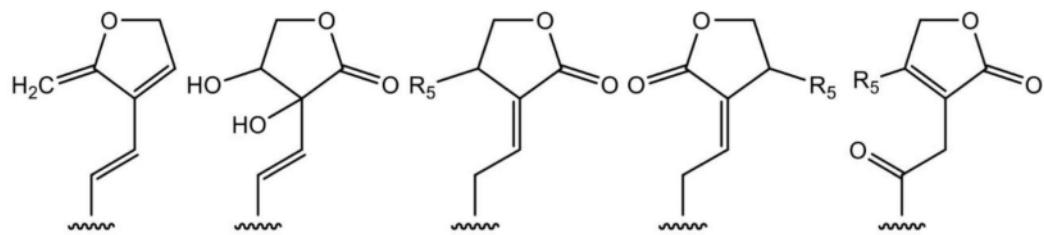
[0074] 在一个实施方式中,R<sub>1</sub>为甲基。

[0075] 在另一个实施方式中,R<sub>2</sub>是羟基甲基或CH<sub>2</sub>-0-Glc,其中Glc是形成糖昔的葡萄糖部分。

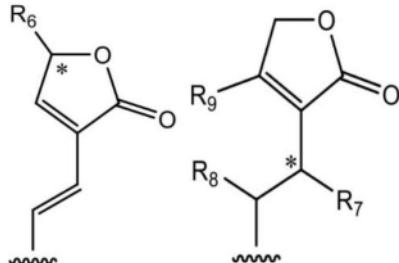
[0076] 在另一个实施方式中,R<sub>4</sub>是任选取代的3-(3-呋喃基)-丙基、3-(3-呋喃基)-丙-1-烯基、3-(3-呋喃基)-丙-2-烯基、3-(3-呋喃-3-烯基)-丙基或3-(3-呋喃-3-烯基)-丙-1-烯

基,其中3-呋喃基或3-呋喃-3-烯基部分被进一步任选取代。

[0077] 在一个实施方式中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $X$ 和 $Z$ 是如上所述的基团,并且 $R_4$ 选自:



[0078]



[0079] 其中:

[0080]  $R_5$ 选自氢或羟基,

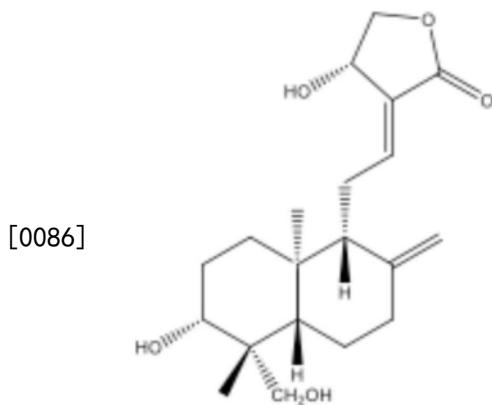
[0081]  $R_6$ 和 $R_7$ 独立地选自氢、羟基或烷氧基,或 $R_6$ 和 $R_7$ 同时被\*表示的碳原子之间的单个直接键置换,从而形成式(I)的两个单体分子的二聚体,并且 $R_8$ 和 $R_9$ 独立地选自氢、羟基或烷氧基。

[0082] 在一个实施方式中,  $R_6$ 、 $R_7$ 、 $R$ 或 $R_9$ 可以独立地为甲氧基。

[0083] 在优选实施方式中,式(I)化合物选自穿心莲内酯、新穿心莲内酯、14-脱氧穿心莲内酯、14-脱氧-11,12-二脱氢穿心莲内酯、穿心莲内酯苷、新穿心莲内酯苷元(andrograpanin)、14-脱氧-11-氧代-穿心莲内酯、14-脱氧-11-羟基-穿心莲内酯、14-脱氧-12-羟基-穿心莲内酯、3,14-二脱氧穿心莲内酯、3-氧代-14-脱氧穿心莲内酯、8,17-环氧-14-脱氧穿心莲内酯、14-脱氧-17- $\beta$ -羟基穿心莲内酯、12-羟基穿心莲内酯、双穿心莲内酯A、3-氧代-14-脱氧-11,12-二脱氢穿心莲内酯、7-羟基-14-脱氧穿心莲内酯、15-甲氧基-3,19-二羟基-8(17)11,13-对映-半日花(labda)-三烯-16,15-内酯、穿心莲潘林内酯(andropanolide)、14-脱氧-12-甲氧基-穿心莲内酯、14-表-穿心莲内酯、19-羟基-对映-半日花-8(17),13-二烯-15,16-内酯、3,13,14,19-四羟基-对映-半日花-8(17),11-二烯-16,15-内酯、3,19-二羟基-15-甲氧基-对映-半日花-8(17),11,13-三烯-16,15-内酯和3,19-二羟基-对映-半日花-8(17),12-二烯-16,15-内酯。

[0084] 例如,我们的发明需要通过在不伴随干扰素的条件下施用穿心莲内酯来治疗MS的进行形式。或者,可以组合穿心莲内酯与干扰素。

[0085] 穿心莲内酯(或AP)是负责穿心莲(Andrographis Paniculata)的大部分生物学活性的主要活性组分,穿心莲是亚洲国家如中国、印度、马来西亚传统上用于治疗普通感冒、痢疾、发热、扁桃体炎、肝脏疾病的药用植物(Panossian, Davtyan等人, 2002; C.Patarapanich 2007; S.K.Mishra 2007)。穿心莲的传统用途和药理学研究以前已被文献充分记载(Nemoto 2008)。



穿心莲内酯。

[0087] AP是二萜内酯,其主要存在于叶子中,相对容易提取,其已经确定分子结构(A.B.Smith III 1982)。该化合物具有多种生物学作用,包括在肿瘤细胞内的细胞毒性作用、抗血管生成作用、消炎作用和免疫调节作用。AP借助于诱导细胞凋亡、坏死,通过诱导细胞凋亡、坏死,抑制细胞周期或细胞分化和抑制血管生成因子如内皮血管生长因子(VEGF)以及金属蛋白酶抑制剂(TIMP-1) (Shee ja, Guruvayoorappan等人, 2007) 来选择性抑制不同类型肿瘤细胞的增殖 (Cheung, Cheung等人, 2005; Kim, Hwi等人, 2005; Zhou, Zhang等人, 2006; Geethangili, Rao等人, 2008; Shi, Lin等人, 2008; Wang 2008; Zhao, He等人, 2008; Zhou, Lu等人, 2008; Yang, Wu等人, 2009)。出于这个原因,AP具有作为所述治疗的药剂(Rajagopal, Kumar等人, 2003; Jada, Subur等人, 2007) 和用于HIV感染的药剂(Calabrese, Berman等人, 2000) 的潜力。临幊上,AP已在类风湿性关节炎(Burgos, Hancke等人, 2009)、某些类型的癌症(参见Mason等人, 2002) 和普通感冒(Caceres, Hancke等人, 1997) 中证明有效。

[0088] AP的有效作用之一是其具有消炎和免疫调节活性。AP具有在体内诱导针对传染剂和致癌剂的保护性免疫反应的显著刺激的能力(Puri, Saxena等人, 1993; Kumar, Sridevi等人, 2004; Khan 2007)。在消炎作用中,氧活性分子的产生减少,促炎酶如COX-2和iNOS的表达被抑制(Chiou, Lin等人, 1998; Chiou, Chen等人, 2000),并且活化转录因子NF- $\kappa$ B被抑制(Wang, Liu等人, 2004; Xia, Ye等人, 2004; Hidalgo, Romero等人, 2005; Iruretagoyena, Tobar等人, 2005)。

[0089] 在小鼠模型中,我们先前已经证明AP:1)减少了树突状细胞的成熟和其向T细胞呈递抗原的能力,从而干扰转录因子NF- $\kappa$ B的活化(Hidalgo, Romero等人, 2005);2)通过抑制转录因子NFAT和转导信号路径MAPK-Erk 1/2的活化来减少Jurkat细胞系(T细胞淋巴瘤)的活化过程(Carretta, Alarcon等人, 2009)。此外,AP可能对炎症介导的神经变性具有作用,因为AP减少了小胶质细胞中的活性氧物质、TNF- $\alpha$ 、一氧化氮和前列腺素E<sub>2</sub>(Wang, Liu等人, 2004)。已经在不同模型中证明了AP在体内炎性疾病如关节炎(Burgos, Hancke等人, 2009)、狼疮和哮喘(Kalergis, Iruretagoyena等人, 2009) 中的消炎和免疫调节作用。在EAE模型中,我们已经报道了预防性施用AP通过抑制针对髓鞘质抗原的T和B细胞反应来阻止EAE发展(Iruretagoyena, Tobar等人, 2005)。许多临床研究显示AP具有良好的耐受性和安全性。

[0090] 考虑到AP的消炎和免疫调节前情以及MS炎性过程的分子基础,我们假设这种化合物是MS的潜在治疗方法。

[0091] 鉴于本文的公开,技术人员可以容易地衍生出其变体。例如,图9呈现了穿心莲内酯的可能作用机制和细胞水平结合部位的示意图。因此,技术人员可以使用提供类似作用机理的穿心莲内酯的类似物来产生类似的作用。或者,技术人员可以改变剂量以提供等效治疗效果。虽然我们的实际实验使用固体片剂,但预期硬明胶胶囊、液体提取物和其它口服剂型将等效地起作用。因此,我们希望我们的专利的合法覆盖范围不是由我们的特定实施例来限定,而是由专利局批准的本文合法权利要求书以及其法律上允许的等效物来限定。

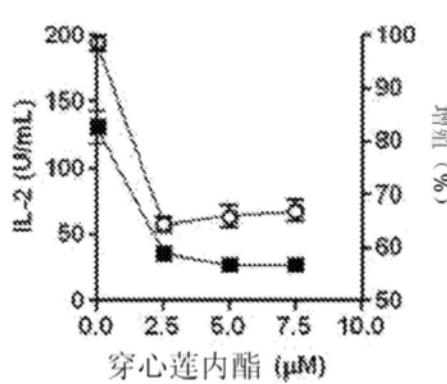


图1A

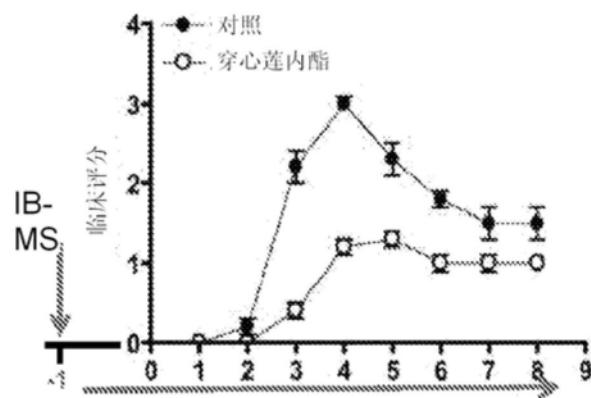


图1B

图1

## 疾病进展IFN-β

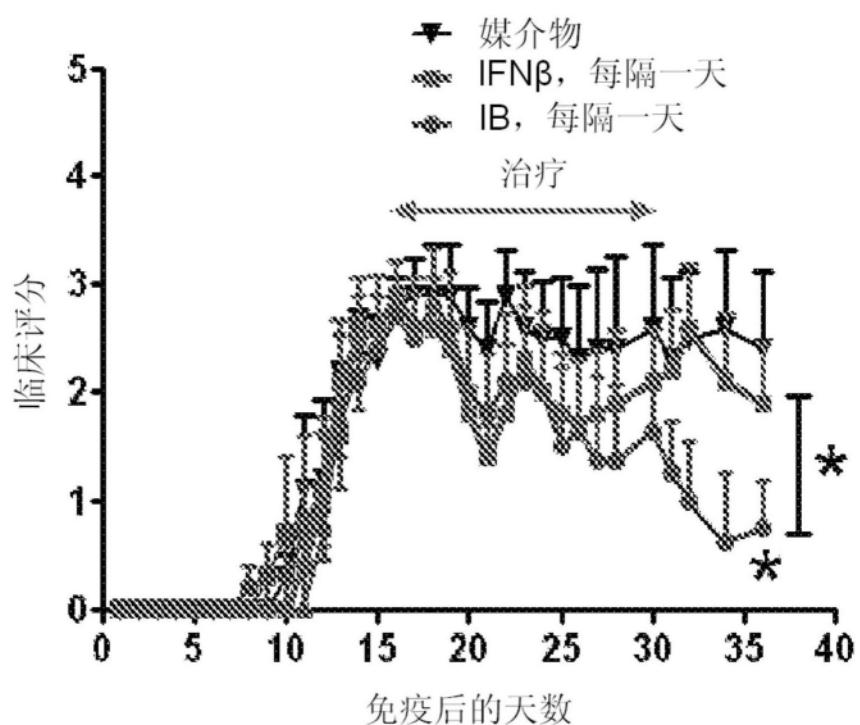


图2

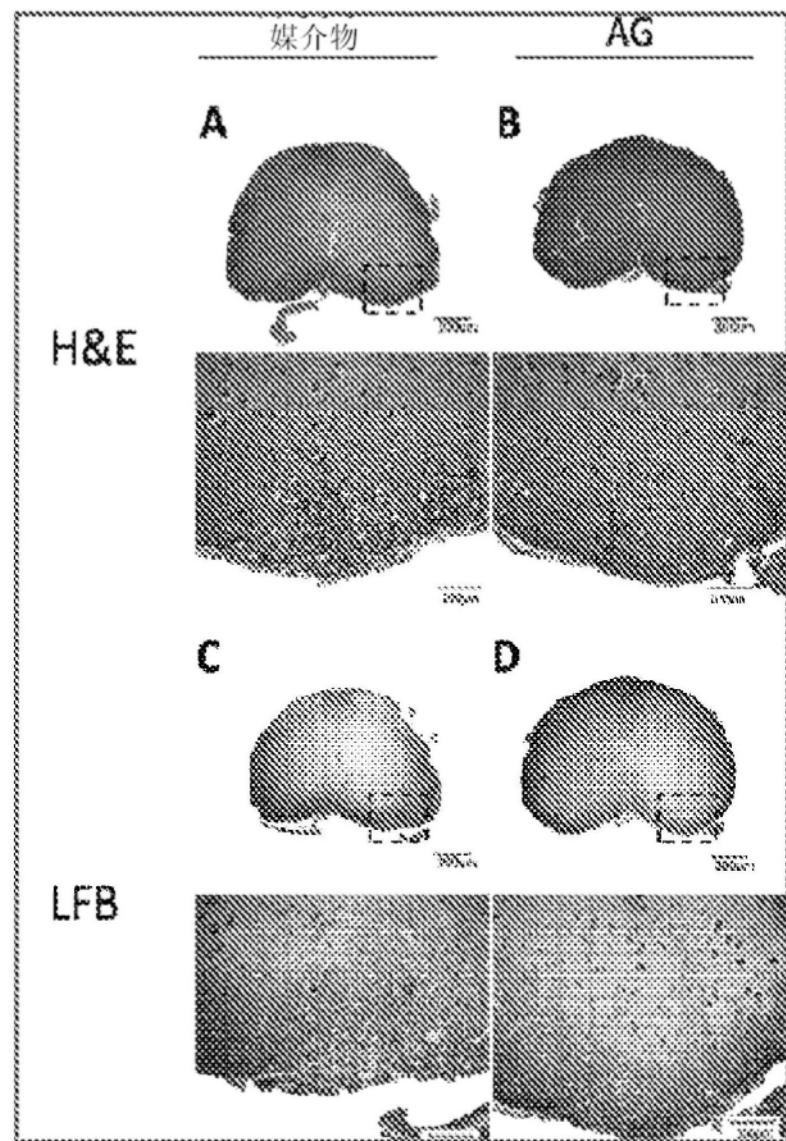


图3

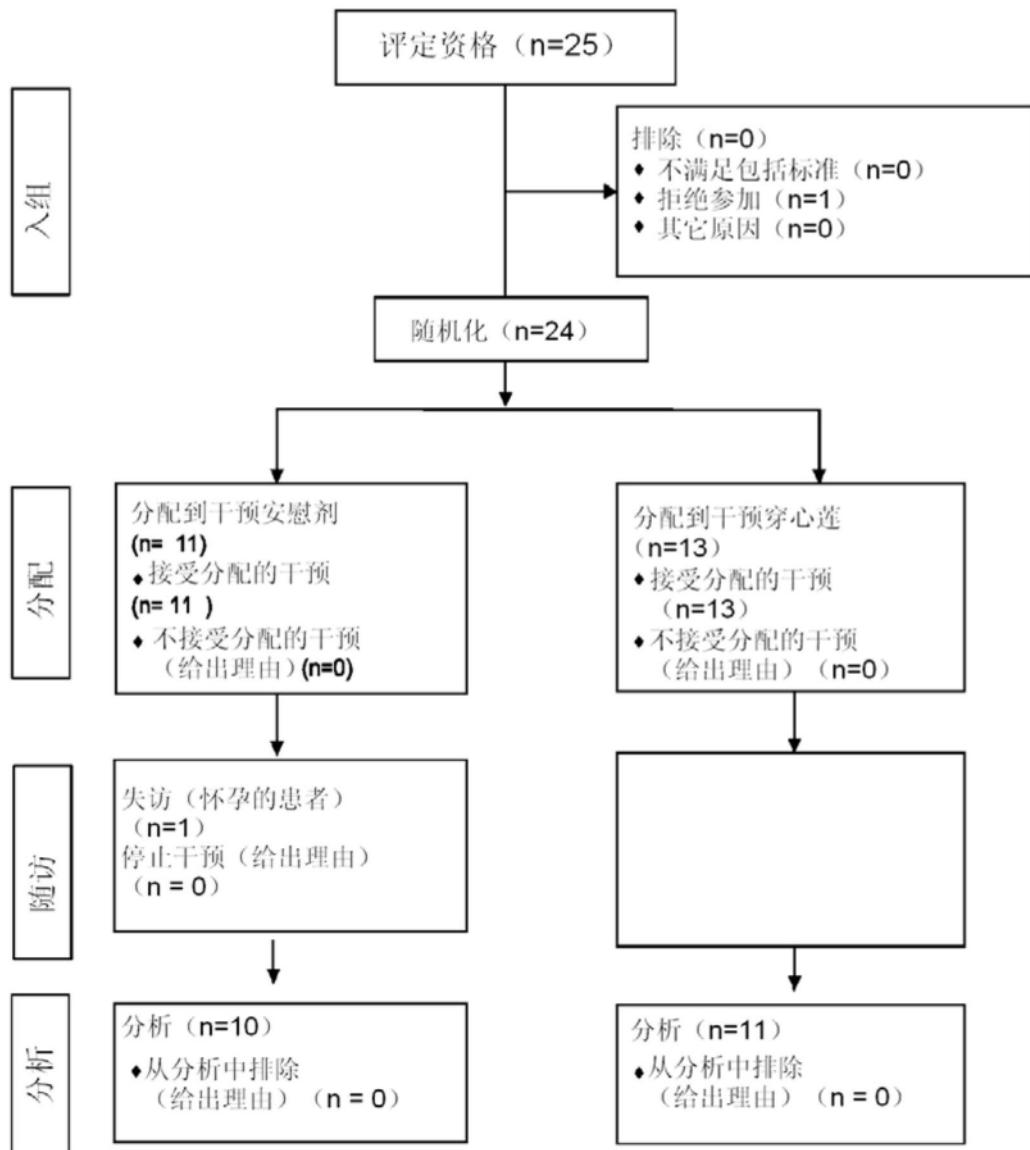
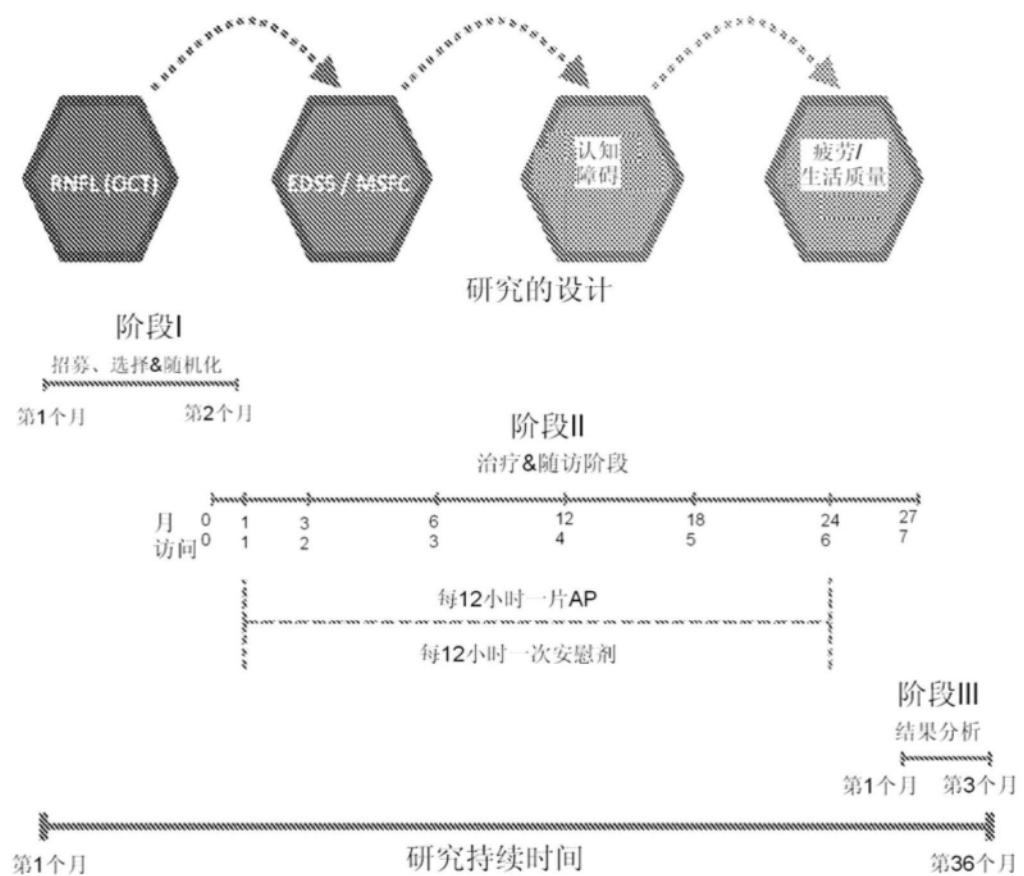


图4



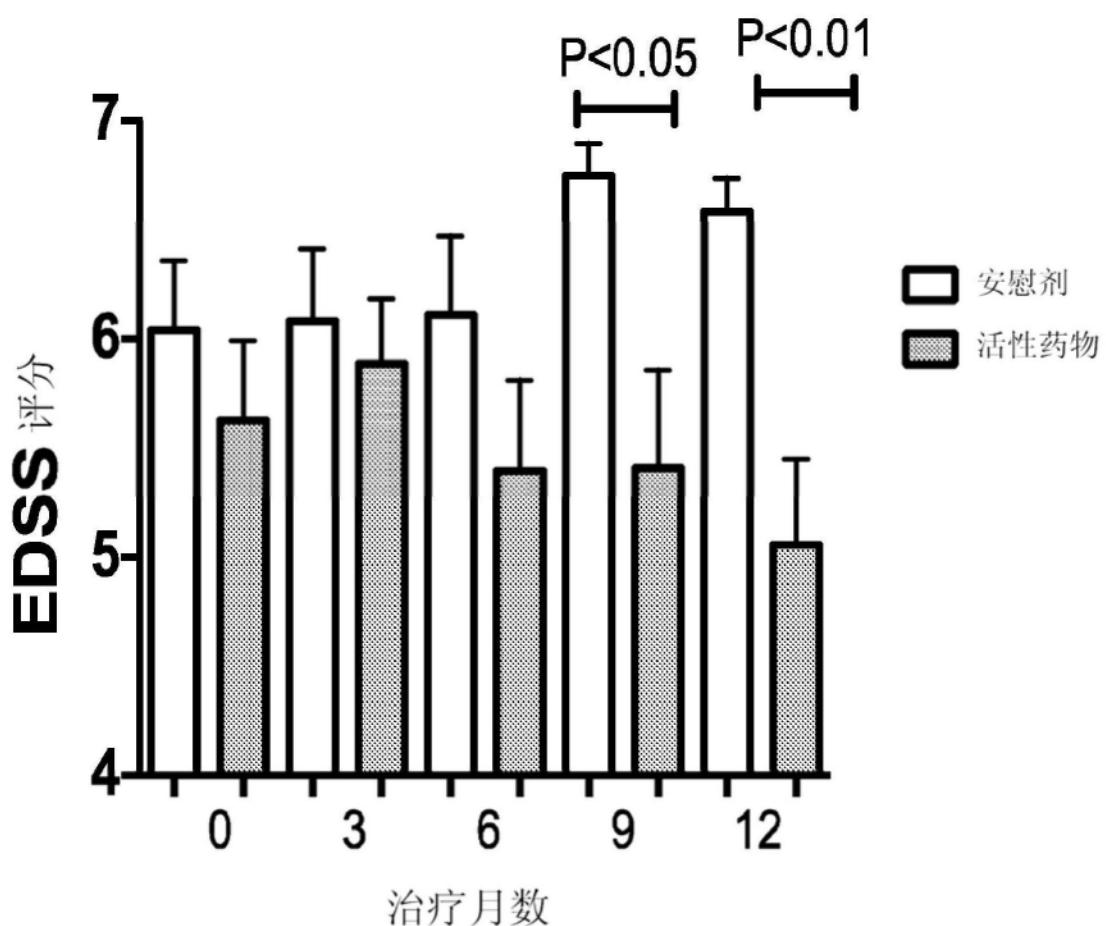


图6

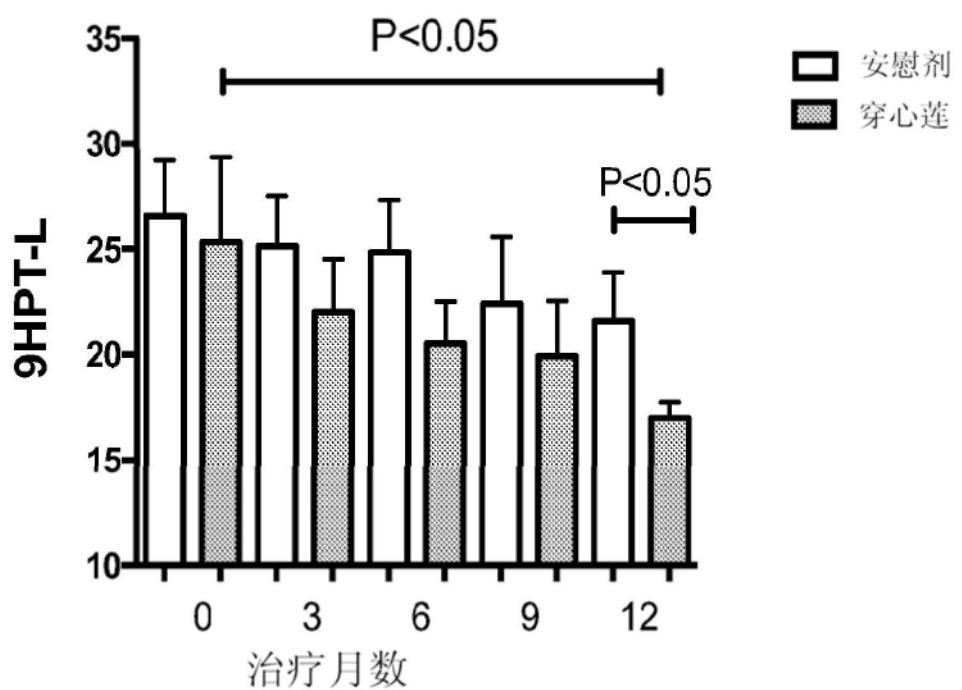
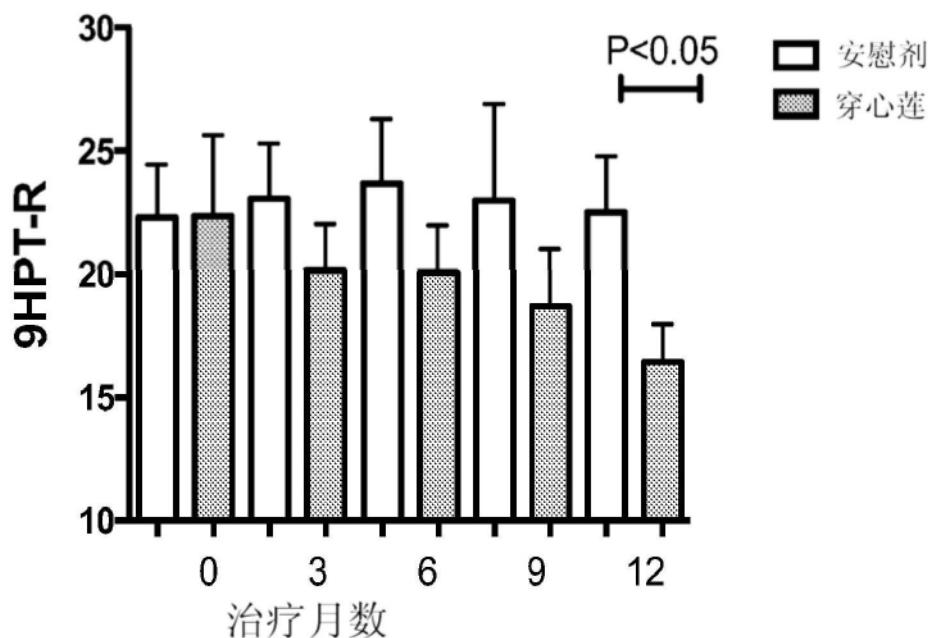


图7

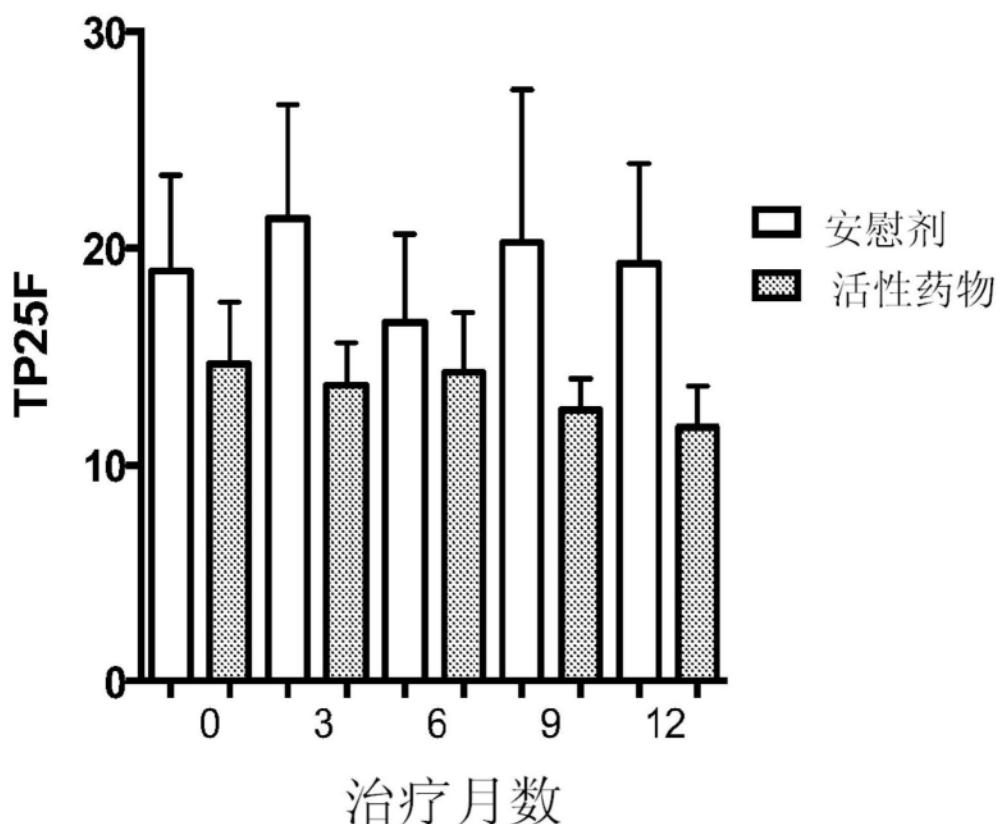


图8

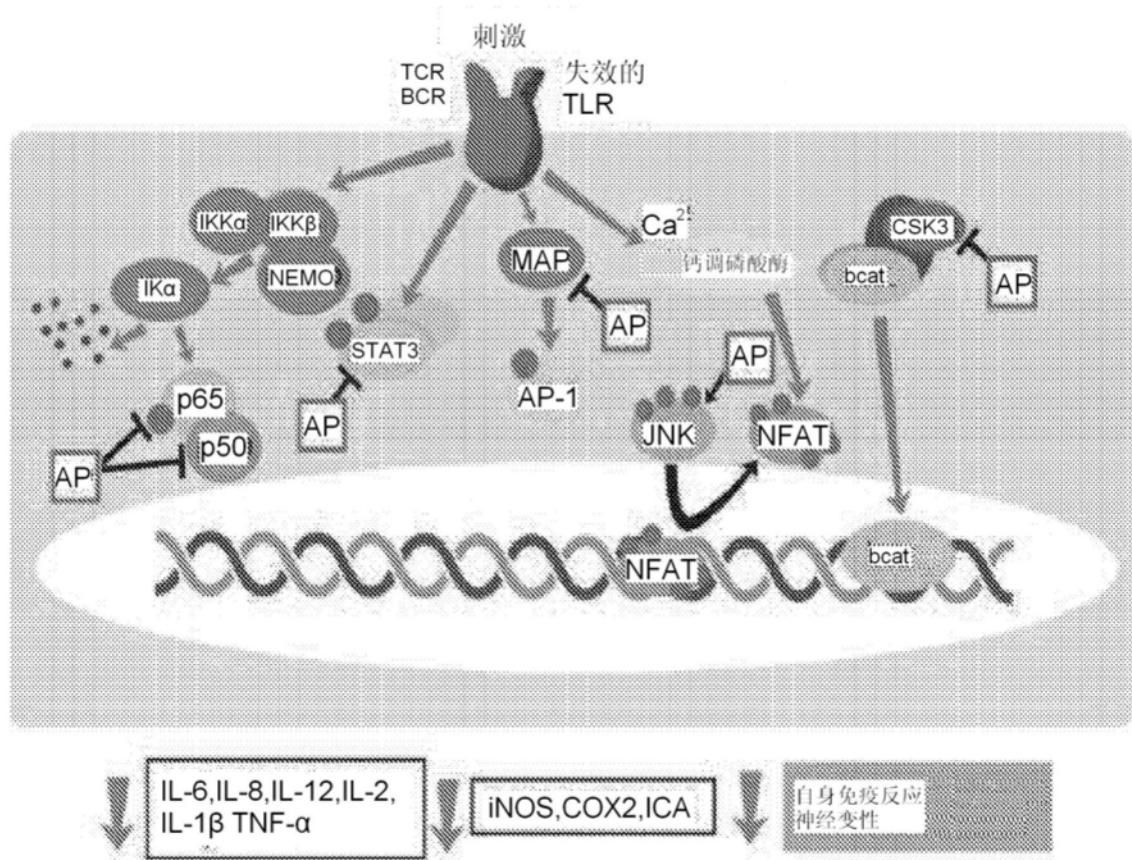


图9

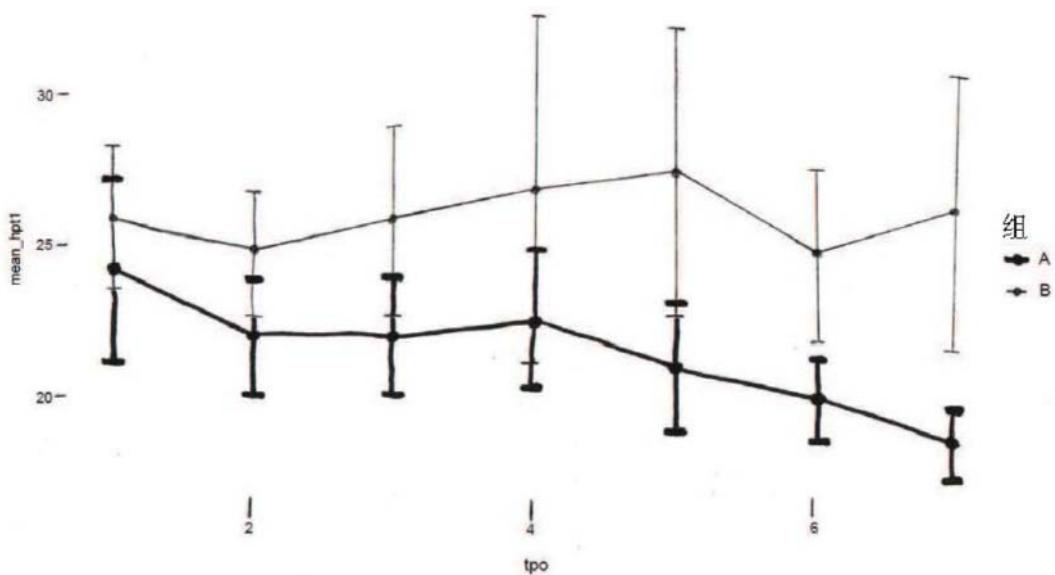


图10

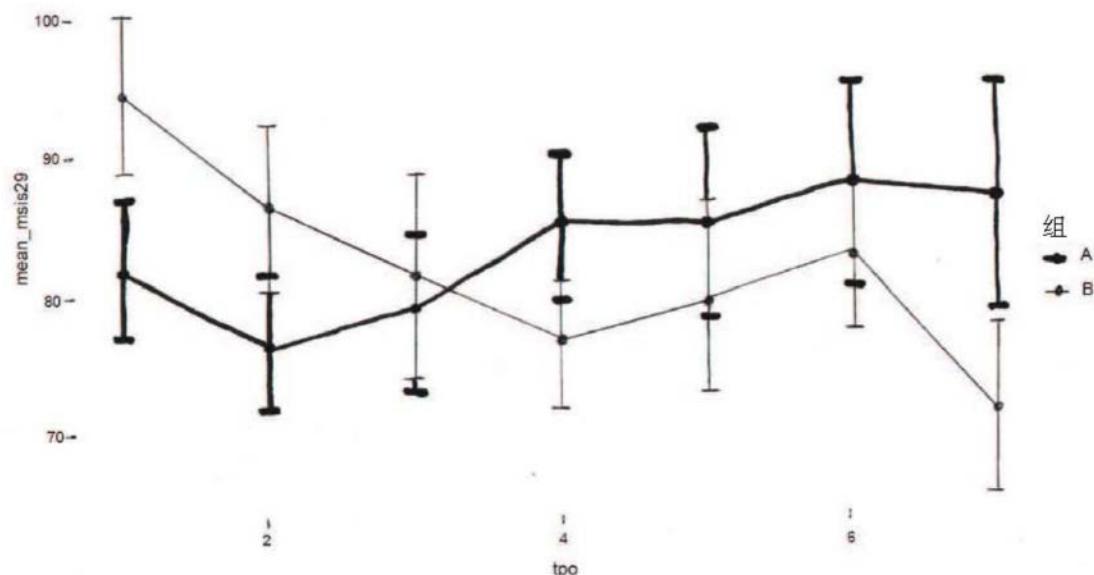


图11