



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101820765 A

(43) 申请公布日 2010.09.01

(21) 申请号 200880109558.6

A61K 31/265(2006.01)

(22) 申请日 2008.07.31

(30) 优先权数据

60/962,880 2007.07.31 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010.03.30

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2008/009300 2008.07.31

(87) PCT申请的公布数据

W02009/017815 EN 2009.02.05

(71) 申请人 安德鲁科技有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 石秋洋 苏卿渊 王慧康 史谦

(74) 专利代理机构 北京市路盛律师事务所

11326

代理人 吴振江

(51) Int. Cl.

A01N 47/06(2006.01)

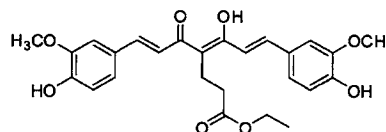
权利要求书 1 页 说明书 23 页 附图 21 页

(54) 发明名称

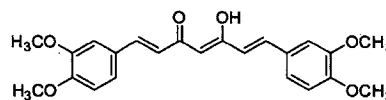
包含雄激素受体降解 (ARD) 增强剂的组合物和预防性或治疗性治疗皮肤病与脱发的方法

(57) 摘要

本发明包括用于治疗 and 预防皮肤病症、脱发和其他皮肤病症的方法和组合物。所述组合物包含与第二化合物或组合物组合的 ARD 增强剂。在一些实施方案中,第二化合物是杀菌剂、抗生素、抗菌肽、维生素 A、维生素 A 衍生物、类视黄醇和抗炎化合物和抗雄激素化合物的至少一种。



5-羟基-7-(4-羟基-3-甲氧基苯)-4-[3-(4-羟基-3-甲氧基苯)-丙炔基]-辛-4,6-二烯酸乙酯 (ASD-J15)



1,7-双-(3,4-二甲氧基苯)-5-羟基辛-1,4,6-三烯-3-酮(二甲氧基黄葵) (ASD-J9)

1. 一种药物组合物,包含:
  - a. ARD 增强剂;
  - b. 第二化合物,其选自杀菌剂、抗生素、抗菌肽、维生素 A、维生素 A 衍生物、类视黄醇和抗炎化合物;以及
  - c. 药学上可接受的载体。
2. 根据权利要求 1 的药物组合物,其中所述的 ARD 增强剂是 ASC-J9 或 ASC-J15。
3. 根据权利要求 1 的药物组合物,其中所述的 ARD 增强剂是 ASC-Q9 或 ASC-Q44。
4. 根据权利要求 1 的药物组合物,其中所述的 ARD 增强剂选自 ASC-Q49、ASC-Q77 和 ASC-Q98。
5. 根据权利要求 1 的药物组合物,其中所述的 ARD 增强剂选自 ASC-Q99、ASC-Q101、ASC-Q102 和 ASC-Q103。
6. 根据权利要求 1 的药物组合物,其中所述的 ARD 增强剂是 ASC-Q110 或 ASC-Q111。
7. 根据权利要求 1 的药物组合物,其中所述的 ARD 增强剂选自 ASC-Q113、ASC-Q116、ASC-JM1、ASC-JM2 和 ASC-JM4。
8. 根据权利要求 1 的药物组合物,其中所述的 ARD 增强剂选自 ASC-JM5、ASC-JM6、ASC-JM7、ASC-JM12、ASC-JM13、ASC-JM14。
9. 根据权利要求 1 的药物组合物,其中所述的 ARD 增强剂选自 ASC-JM16、ASC-JM17、ASC-JM18 和 ASC-JM19。
10. 根据权利要求 1 的药物组合物,其中所述的杀菌剂是过氧化苯甲酰。
11. 根据权利要求 1 的药物组合物,其中所述的抗菌肽是卡特迪欣抗菌肽。
12. 一种治疗皮肤病症的方法,包括:
  - a. 提供患有皮肤病症的患者;和
  - b. 向所述患者施用治疗有效量的权利要求 1 的药物组合物。
13. 根据权利要求 12 的方法,其中所述的皮肤病症是痤疮。
14. 一种治疗脱发的方法,包括:
  - a. 提供患有脱发的患者;和
  - b. 向所述患者施用治疗有效量的药物组合物,该药物组合物包含:
    - i) ARD 增强剂;和
    - ii) 包含毛发生长刺激活性的第二组合物或化合物。
15. 根据权利要求 14 的药物组合物,其中所述的 ARD 增强剂是 ASC-J9 或 ASC-J15。
16. 根据权利要求 14 的药物组合物,其中所述的 ARD 增强剂选自 ASC-Q9、ASC-Q44、ASC-Q49、ASC-Q77、ASC-Q98、ASC-Q99、ASC-Q101、ASC-Q102、ASC-Q103、ASC-Q110 或 ASC-Q111、ASC-Q113、ASC-Q116、ASC-JM1、ASC-JM2、ASC-JM4、ASC-JM5、ASC-JM6、ASC-JM7、ASC-JM12、ASC-JM13、ASC-JM14、ASC-JM16、ASC-JM17、ASC-JM18 和 ASC-JM19。

## 包含雄激素受体降解 (ARD) 增强剂的组合物和预防性或治疗性治疗皮肤病与脱发的方法

[0001] 与相关申请的交叉参照

[0002] 本发明要求 2007 年 7 月 31 日提交的美国专利申请系列号 60/962,880 的优先权,所述文献的全部内容通过引用方式完整地并入本文。

### 技术领域

[0003] 本发明一般地涉及用于治疗 and 预防皮肤病症和脱发的方法和组合物,并且更具体地涉及包括与第二化合物或组合物组合所提供的雄激素受体降解 (ARD) 增强剂的方法和组合物;所述组合具有针对皮肤病症或脱发的有益活性或作用。

[0004] 发明背景

[0005] 自尊降低和抑郁经常存在于患有皮肤病症和脱发的那些人中。在一些情况下,心理作用可能是惊人的。因而,开发治疗每种医学病症的疗法正在进行中。本发明致力于现有疗法并提供具有满意效果的新组合物。

[0006] 痤疮(寻常性痤疮)是皮肤的常见炎性疾病,其因应答于性激素的毛囊皮脂单位(包括毛囊及其附属皮脂腺的皮肤结构)改变所致。痤疮最常存在于面部、胸部和背部。该病症在青春期最常见并且当个体达到二十出头时通常趋向消失或减弱。然而,痤疮可以仍引起问题至三十至五十岁并且在一些情况下甚至影响更长时间。

[0007] 称作粉刺或黑头粉刺的基本痤疮损伤是被过多油堵塞的膨大毛囊,其中所述的油从应答于雄激素的皮脂腺分泌。此外,死亡的皮肤细胞和痤疮丙酸杆菌(*Propionibacterium acnes*)堆积也导致扩大毛囊。痤疮丙酸杆菌(*P. Acnes*)产生可以将甘油三酯裂解成游离脂肪酸的脂肪酶,所述游离脂肪酸可以刺激毛囊细胞。痤疮的严重性可以从轻微至严重。除黑头粉刺之外,丘疹、脓疱、节结和炎性囊肿也是与痤疮相关的损伤。也称作表皮样囊肿的未发炎皮脂囊肿可以伴随炎性痤疮或单独地出现,不过通常不是恒定特征。在痤疮消退后,难看的疤痕可以仍存在。

[0008] 众多产品可用于痤疮的治疗,最流行的产品包括表皮剥落产品、抗生素、局部用杀菌剂、类视黄醇和口服激素疗法。然而,每种疗法具有潜在的缺陷。最近,正在研究能够诱导雄激素受体降解的化合物作为针对雄激素受体相关病症的潜在疗法。

[0009] 手工或化学方式表皮剥落法试图从皮肤去除死亡皮肤细胞,因而减少毛孔阻塞的可能性。表皮剥落可以通过使用擦洗产品手工进行或可以化学方式进行。化学表皮剥落产品水杨酸和乙醇酸可用作化学剥落剂。表皮剥落可以引起皮肤表面剥落或刺激作用。

[0010] 口服或局部用抗生素一般用来攻击痤疮丙酸杆菌。一般指定红霉素、克林霉素、复方新诺明和众多四环素衍生物(如强力环素、土霉素、氯四环素、赖甲环素和米诺环素)作为痤疮的疗法。虽然抗生素有效减少细菌菌落,然而减少细菌的存在不影响来自皮脂腺的油分泌,并且耐受抗生素的细菌菌株的潜在发展也是一种担忧。

[0011] 与抗生素类似,局部用杀菌剂如过氧化苯甲酰攻击痤疮丙酸杆菌。尽管局部用杀菌剂具有胜过抗生素的更多益处,即没有发现细菌抗性,然而强力氧化剂过氧化苯甲酰可

以导致皮肤干燥、潮红并且可以漂白衣物。因此,减少使用这种强力氧化剂的频率或降低其浓度的方法会是胜过现有疗法的明显益处。

[0012] 类视黄醇如局部用类视黄醇维甲酸(商品名 Retin-A)、阿达帕林(商品名 Differin)和他扎罗汀(商品名 Tazorac)与维生素 A 相关并且可以调节毛囊组织中的细胞周期。局部用类视黄醇可以导致明显的皮肤刺激。认为口服类视黄醇如维生素 A 衍生物异维甲酸(商品名 Accutane 和 Sotret)减少来自皮脂腺的油分泌,但也认为它们具有不利的副作用。

[0013] 雄激素源性脱发是男性中脱发的最常见形式。这种病症一般也称作雄性类型秃顶。头发以清晰可辨的形式丢失,在两侧太阳穴上开始。随时间推移,发际线退缩以形成典型的“M”形状。头发还在头顶部变薄,往往发展成局部或完全秃顶。脱发形式在女性中不同于雄性类型秃顶。在女性中,头发在头部各处变得更薄,并且发际线不退缩。女性中雄激素性脱毛症很少导致完全秃顶。米诺地尔(Minoxidil)是 FDA 唯一批准的用于雄激素源性脱发的疗法,然而,它不靶向雄激素的功能并且效力并不广泛。

[0014] 更高的血清雄激素水平已经与一些女性中痤疮、雄激素源性脱发和脱发的存在关联。雄激素因其作用于皮脂排泄而知名并且终末皮脂细胞分化受到过氧化酶体增生剂-激活的受体配体促进。已经确定激素疗法对痤疮和雄激素源性脱发具有潜在影响。具有抗雄激素特性的化合物包括与孕激素类组合的雌激素,如炔雌醇与醋酸环丙孕酮、醋酸氯地孕酮、去氧孕烯、屈螺酮、左炔诺孕酮、醋酸炔诺酮、诺孕酯组合。用作抗雄激素药的其他化合物包括以不同水平直接阻断雄激素受体(如氟他胺)或抑制雄激素活性的那些化合物,如皮质类固醇、螺内酯、西咪替丁和酮康唑。然而,雄激素参与众多生物学过程;因而阻断或抑制雄激素与其相应受体的结合导致周围环境中有效雄激素水平提高,这影响其他雄激素相关的生物学过程并能引起不希望的副作用。

[0015] 已经提出诱导雄激素受体降解的新的一组抗雄激素化合物。这些化合物与阻断雄激素受体和配体(雄激素)结合作用的常规抗雄激素药不同。不同于广泛使用的抗雄激素疗法,这些新化合物防止过多配体(雄激素)聚集以作用于雄激素受体并因而预计具有更小的副作用。尽管提出了多种化合物,然而在临床上仍不可用该技术并且长期效果仍是未知的。

[0016] 尽管大部分的皮肤病症疗法使用单一活性化合物或药物,已经在轻微至中度炎性痤疮中探索疗法组合,包括与口服抗生素联合的局部用类视黄醇。认为这些组合导致快速减少口服抗生素剂量和更快地停用口服抗生素,这提高了功效并减缓耐受抗生素的细菌发展。尽管已经提出疗法的组合,然而现有疗法试图减少与皮肤病症相关的症状并且没有选择性地靶向疾病病因。因此,存在开发这样的方法和组合物的需要,所述方法和组合物选择性靶向引起皮肤病症的途径,同时治疗相关症状。

[0017] 发明简述

[0018] 本发明解决了皮肤病症和脱发的现有疗法中的缺陷并提供相关益处。目前,不存在试图阻断雄激素活性的雄激素相关局部疗法,并且用于雄激素源性脱发的唯一口服疗法-非那雄胺-用来阻断睾酮转化成 DHT;不存在调节潜在的雄激素受体的存在或可用性且因此不靶向疾病病因的方法。本发明通过提供至少某种程度上调节自身雄激素受体的存在并且因而提供更有效治疗的组合物和方法解决了这个缺陷。在一些实施方案中,提供了

组合调节方法,其中至少一种化合物是如本文所述的 ARD 增强剂。

[0019] 本发明的方法和组合物通过施用一种或多种所披露的化合物或其衍生物治疗或预防多种皮肤病症和毛发病。本文包括的 ARD 增强剂包括但不限于图 1 和 2 中提供的那些 ARD 增强剂。在所述 ARD 增强剂中包括 ASC-J9、ASC-J15、ASC-Q9、ASC-Q44、ASC-Q49、ASC-Q77、ASC-Q98、ASC-Q99、ASC-Q101、ASC-Q102、ASC-Q103、ASC-Q110 或 ASC-Q111、ASC-Q113、ASC-Q116、ASC-JM1、ASC-JM2、ASC-JM4、ASC-JM5、ASC-JM6、ASC-JM7、ASC-JM12、ASC-JM13、ASC-JM14、ASC-JM16、ASC-JM17、ASC-JM18 和 ASC-JM19。

[0020] 在本发明的一个方面,提供用于预防或治疗皮肤病症的组合物。在这个方面,第一化合物是雄激素受体降解 (ARD) 增强剂。ARD 增强剂是调节雄激素受体降解的化合物,其与干扰受体-配体(雄激素)结合作用的常规抗雄激素药不同。在一个实施方案中,该 ARD 增强剂诱导雄激素受体降解。在另一个实施方案中,与不存在 ARD 增强剂相比,该 ARD 增强剂提高雄激素受体降解的速率。还在另一个实施方案中,该 ARD 增强剂防止突变雄激素受体聚集。仍在另一个实施方案中,ARD 增强剂防止雄激素和雄激素受体(转录因子)介导的基因激活。第二化合物选自包括杀菌剂、抗生素、抗菌肽、维生素 A、维生素 A 衍生物或类视黄醇在内的多种化合物中的至少一种和炎性化合物。与现有疗法相比,此类化合物的组合会为皮肤病症提供更有效的治疗,同时减少副作用。尽管是非限制的,本发明人认为 ARD 增强剂降低来自皮脂腺的油分泌、减少皮脂细胞增生或抑制或减少皮脂细胞分化。本发明人认为在治疗多种皮肤病症时第二化合物可以靶向细菌菌落或会根据需要提供额外的抗炎辅助作用。因而,本发明能够给予症状的治疗以及途径的调节以预防或限制皮肤病症发生。

[0021] 在本发明的另一个方面,披露了一种药物组合物,该药物组合物包含雄激素受体降解 (ARD) 增强剂、杀菌剂和药学上可接受的载体。该药物可以局部施加、注射等,取决于希望的施用途径。在优选的实施方案中,该杀菌剂是过氧化苯甲酰。

[0022] 在本发明的另一个方面,披露了一种药物组合物,该药物组合物包含雄激素受体降解 (ARD) 增强剂、抗生素和药学上可接受的载体。

[0023] 在本发明的另一个方面,披露了一种药物组合物,该药物组合物包含雄激素受体降解 (ARD) 增强剂、抗菌肽和药学上可接受的载体。

[0024] 仍在本发明的另一个方面,披露了一种药物组合物,该药物组合物包含雄激素受体降解 (ARD) 增强剂、维生素 A、维生素 A 衍生物或类视黄醇,和药学上可接受的载体。

[0025] 仍在本发明的另一个方面,披露了一种药物组合物,该药物组合物包含雄激素受体降解 (ARD) 增强剂、抗炎化合物和药学上可接受的载体。

[0026] 仍在本发明的另一个方面,提供治疗或预防皮肤病症的方法,所述方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的本发明药物组合物。在一个实施方案中,该药物组合物包含 ARD 增强剂和杀菌剂。在一个实施方案中,该药物组合物包含 ARD 增强剂和抗生素。又在另一个实施方案中,该药物组合物包含 ARD 增强剂和抗菌肽。仍在另一个实施方案中,该药物组合物包含 ARD 增强剂和维生素 A、维生素 A 衍生物或类视黄醇。仍在另一个实施方案中,该药物组合物包含 ARD 增强剂和抗炎化合物。在多种实施方案中,皮肤病症的非限制例子是痤疮、脱毛症、异位性皮炎、红斑痤疮、狼疮、腋臭、伤口等。

[0027] 在本发明的其他方面,化合物的组合作为化妆品制剂中的化妆品提供。本发明包

括一种化妆品组合物,该化妆品组合物在化妆品可用载体中包含 ARD 增强剂和化合物,所述化合物如但不限于是杀菌剂、抗生素、抗菌肽、维生素 A、维生素 A 衍生物或类视黄醇和抗炎化合物。

[0028] 仍在本发明的其他方面,ARD 增强剂与至少一种组合物或化合物组合用于治疗或预防脱发。该 ARD 增强剂可以与寡肽、肽、提取物、核苷酸等组合。在一些实施方案中,本发明的组合物治疗雄激素源性脱发。在一些实施方案中,提供了认为防止脱发的化合物,该化合物与认为刺激毛发生长的化合物组合。

[0029] 附图简述

[0030] 图 1 描述示例性 ARD 增强剂 ASC-J15 和 ASC-J9 的结构式。

[0031] 图 2 描述了具有(与载体对照相比,与雄激素受体(AR)减少百分数对应的)相对效力的相应值的多种 ARD 增强剂的结构式表。在相应 ARD 增强剂的存在下孵育人前列腺癌细胞系 LNCaP48 小时后,通过蛋白质印迹分析法验证抗 AR 活性。可以在实施例 2 内提供的表 1 中找到活性的值含意。

[0032] 图 3A 和 3B 描述了在暴露于化合物(3A)ASC-Q49、ASC-Q103、ASC-JM12、ASC-JM14 以及(3B)ASC-Q49、ASC-Q77、ASC-JM4 和 ASC-JM5 后,人前列腺癌细胞(LNCaP)中雄激素受体(AR)蛋白质表达减少的蛋白质印迹分析结果。

[0033] 图 4 描述 ASC-J9 处理的 LNCaP 细胞中细胞生长(增殖)和雄激素受体表达水平的示意图。接种 LNCaP 细胞并孵育 2 日。在有或无 DHT 下 ASC-J9 以终浓度 5  $\mu$ M 添加至培养基。参考图 4A,结果表明在 DHT 促进培养 LNCaP 细胞生长的同时,ASC-J9 显著抑制细胞生长,无论 DHT 存在或不存在。图 4B 描述了作为基线(第 0 日)值百分数的 ASC-J9 样品的归一化雄激素受体信号。从与 ASC-J9 一起培养的细胞收集细胞裂解物(图 4A)并且通过蛋白质印迹法检测 AR 表达。数据表明 LNCaP 细胞中由 ASC-J-9 诱导的 AR 表达抑制与细胞生长抑制相关。

[0034] 图 5 描述在 DHT 存在或不存在下与 ASC-J9 一起培养 48 小时的 LNCaP 细胞裂解物的蛋白质印迹分析结果。数据表明 ASC-J9 降低 AR、PR 蛋白质表达,无论 DHT 存在或不存在,但不影响其他蛋白质如 ER、PPAR、RXR、HSP 和肌动蛋白的表达。

[0035] 图 6 描述 T47D(人乳腺癌)细胞裂解物的蛋白质印迹分析结果,其表明 ASC-J9 降解雄激素受体能力的特异性。数据表明 ASC-J9 选择性地降低雄激素受体(AR)表达。其他受体蛋白、过氧化酶体增生剂激活的受体  $\gamma$  和  $\beta$  (PPAR $\gamma$ 、PPAR $\beta$ )、类视黄醇 X 受体  $\alpha$  (RXR $\alpha$ )、雌激素受体  $\alpha$  和  $\beta$  (ER $\alpha$  和 ER $\beta$ )、胞外信号相关激酶(ERK)、热休克蛋白 70(HSP70) 和肌动蛋白的表达不受影响。

[0036] 图 7A 描述了暴露于化合物 ASC-J9 和蛋白质合成抑制物环己酰胺时 LNCaP 细胞裂解物的蛋白质印迹分析结果。雄激素受体在蛋白质合成抑制物存在下随时间的减少表明 ASC-J9 增强 AR 蛋白的降解。图 7B 是一个蛋白质印迹结果,该结果表明 ASC-J9 是能够降低 AR 蛋白表达的唯一抗雄激素药而常规抗雄激素药如 CPA(醋酸环丙孕酮)、HF(羟基氟他胺)或非那雄胺则不是。

[0037] 图 8A 描述了用野生型 GFPAR(其含有绿色荧光蛋白基因和野生型雄激素受体基因)转染的猴肾 COS-1 细胞的荧光显微照片。转染的细胞仅用载体处理(对照)或用试验化合物 ASC-J9 处理。显微图片在针对绿色荧光蛋白(GFPAR)的荧光成像条件下拍摄。对照

细胞在胞核内含有致密的荧光量（即野生型 AR）而在胞浆中含有较黯淡的荧光。在已经用 ASC-J9 处理的细胞的胞核和胞浆中均检测到黯淡荧光，这表明 ASC-J9 降低 AR 表达（或降解 AR）。图 8B 描述了用如实施例 5 中详述的质粒 GFPARQ49（其含有绿色荧光蛋白基因和突变的雄激素受体聚 Q4 基因）转染的猴肾 COS-1 细胞的荧光显微照片。转染的细胞仅用载体处理（对照）或用试验化合物 ASC-J9 处理。显微图片在针对绿色荧光蛋白（GFPARQ49）的荧光成像条件下拍摄。对照细胞在胞浆内含有大量的荧光包含物或聚集物（即聚集的突变聚 Q49）。已经用 ASC-J9 处理的细胞含有显著更少量的荧光包含物，表明突变聚 Q49 雄激素受体的表达因 ASC-J9 处理而抑制或降解。

[0038] 图 9 描述了如实施例 6 中所述而治疗的 Fuzzy 大鼠的代表性照片。Fuzzy 大鼠用仅含有载体（左侧动物）或 ASC-J9（25 微摩尔，右侧动物）的局部用膏剂治疗所示的时间。该照片显示用 ASC-J9 治疗的 Fuzzy 大鼠（右侧动物）中皮脂腺的条带和皮脂分泌（皮肤颜色）在 4-5 周内减少。

[0039] 图 10 描述 Fuzzy 大鼠皮肤中皮脂腺的导管和腺叶尺寸的代表性照片（图 10A-C）和示意图（图 10D、10E）。制备皮肤组织样品（破裂的皮肤）并通过显微镜检验。图 10A-C 是描述用载体对照（8A）或化合物 ASC-J9（8B）治疗时皮脂腺（破裂皮肤样品的）和阉割动物（8C）的导管和腺叶的照片。在图 10D 中，腺叶的尺寸通过追踪充分保存的腺小叶的边缘进行测量并随后用图像 J 软件量化并且表述为所扫描区域内包含的像素计数。获得的数据显示仅用载体（对照膏剂）局部治疗未引起腺叶尺寸的显著变化。用试验化合物 ASC-J9 的多个浓度局部治疗雄性大鼠则导致皮脂腺叶的尺寸明显缩小，尽管未到因阉割所致的程度，不过好于常规抗雄激素药氟他胺。图 10E 描述代表性数据，其显示施加至皮肤的 ASC-J9 显著降低雄性 Fuzzy 大鼠中皮脂腺导管的尺寸，其可与阉割效果相比较而好于氟他胺。

[0040] 图 11A 描述来自脱毛症（脱发或秃顶）动物模型研究的结果，如实施例 7 中详述。6 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠用电动剃毛并且随后用褪毛膏剂处理。由最左侧 2 只动物（标记“载体 #1”和“载体 #2”）代表的一组小鼠被剃毛并仅用乙醇处理。由最右侧 2 只动物（标记“睾酮 #1”和“睾酮 #2”）代表的第二组小鼠被剃毛并在早晨用睾酮 / 乙醇溶液处理并在下午用对照溶液处理。在 20 日治疗期结束时将所述动物拍照。用仅乙醇载体（无睾酮）处理的小鼠在 20 日局部治疗后显示剃毛区内毛发迅速再生长。用睾酮处理的小鼠在 20 日局部治疗后显示剃毛区内毛发很少或无再生长。图 11B 描述来自如实施例 7 中详述的脱毛症（脱发或秃顶）动物模型研究的进一步结果。6 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠用电动剃毛并且随后用褪毛膏剂处理。一组小鼠（由标记“睾酮 #1”和“睾酮 #2”的动物表示）被剃毛并在早晨用睾酮局部处理并在下午用对照溶液局部处理，持续 20 日。第二组小鼠（由标记“ASC-J9/ 睾酮 #1”和“ASC-J9/ 睾酮 #2”的动物代表）被剃毛并在早晨用睾酮局部处理并在下午用 ASC-J9 局部处理，持续 20 日。接受早晨局部施加睾酮和下午局部仅施加对照溶液的小鼠在 20 日治疗后显示剃毛区内毛发很少或无再生长。接受早晨局部施加睾酮和下午局部施加 ASC-J9 的小鼠在第 8 日显示剃毛区内毛发生长并且在 20 日局部 ASC-J9 治疗后显示毛发的完全再生长。这些结果表明局部施加 ASC-J9 能够克服动物模型中睾酮诱导的毛发生长抑制。

[0041] 图 12 描述用 2 百万个 LNCaP 细胞接种的裸鼠的照片。小鼠用 ASC-J9（50mg/kg 体重）或载体对照给予腹膜内注射，每周 3 次，持续 7 周。7 周后，切下肿瘤并称量。与从用

载体对照处理的小鼠中切下的肿瘤相比, ASC-J9 治疗的裸鼠显示肿瘤大小减少 75%, 表明 ASC-J9 化合物能够在体内抑制肿瘤细胞生长。

[0042] 图 12 描述了显示裸鼠中 LNCaP 生长减少的照片。小鼠每周 3 次通过腹膜内注射接受 100mg/kg ASC-J9, 持续 7 周。与载体对照动物相比, 肿瘤重量减少 75% 且血清 PSA 水平降低 90%。

[0043] 图 13 显示 ASC-J9 在使用 Balb/c 小鼠的动物模型中加速伤口愈合的能力。数据描述了治疗动物皮肤上人造伤口的结果。使用皮肤穿孔器在退役繁育雄性 Balb/c 小鼠的脖颈区域上产生人造皮肤伤口。动物随后用载体膏剂或含 ASC-J9 (25  $\mu$ M) 的膏剂在伤口区域每日 2 次处理。图 13 中的数据表明与载体治疗的动物相比, ASC-J9 治疗的动物在第 5 日具有更小的创伤开口; 并且在 ASC-J9 治疗的动物中, 伤口于第 10 日完全愈合; 而在载体治疗的动物中, 仍可见到伤口结痂过程。这个数据表明 ARD 增强剂 ASC-J9 能够加速伤口愈合。

[0044] 图 14A 描述了显示皮肤病症的典型可见改善的照片, 其中所述的典型可见改善因局部施加试验化合物 ASC-J9 (载体基质中的 2.5 微摩尔) 至患有痤疮的男性志愿者前额和在另一个患有痤疮的男性 (在图 14B 中显示背部) 局部施加 ASC-J9 (625  $\mu$ M) 产生, 如实施例 10 中详述。

[0045] 发明详述

[0046] 本发明通过引用的方式并入名为“具有 (取代的苯基)- 丙烯醛部分的化合物、它们的衍生物、生物学活性和其用途”的美国专利申请系列号 12/008, 124。可以在所援引的申请中找到合成本文中所述 ARD 增强剂的方法并且因而找到制备其的方法。也可以在并入的申请中找到其他定义。

[0047] A. 定义

[0048] 除非另外定义, 本文中所有的全部技术术语和科学术语具有与本发明所属领域的技术人员通常所理解相同意义。全部专利、申请、公开的申请和其他出版物通过引用的方式完整地并入。在本文术语存在多种定义的情况下, 在这部分中的那些定义居于优先, 除非另外说明。

[0049] 如本文中所用的术语“雄激素受体”或“AR”指特异性结合雄激素、甾酮和 DHT 的胞内蛋白质受体。AR 包括雄激素受体的全部哺乳动物同工型、剪接变体、突变体和多态性。

[0050] 如本文中所用的术语“化妆品可用的”指由联邦或州政府批准或可批准作为用于动物并且更具体地用于人的化妆品。如本文中所用的术语“化妆品可用载体”指已批准或可批准的稀释剂、佐药、赋形剂或载体, 如但不限于随其掺入或施用化合物的脂质体。

[0051] 如本文中所用的术语“增强雄激素受体降解”指与安慰剂或不治疗相比, 减少雄激素受体的量或提高雄激素受体降解 (减少) 的速率。

[0052] 如本文中所用的术语“延长释放”指提供化合物或组合物延迟、经过一段时间延缓、连续、间断或持久释放的剂型。

[0053] 如本文中所用的术语“肽”指连接起来的氨基酸系列。“寡肽”指长度短的肽。

[0054] 如本文中所用的术语“可药用的”指由联邦或州政府批准或可批准用于动物并且更具体地用于人。术语“药学上可接受的载体”指已批准或可批准的稀释剂、佐药、赋形剂或载体, 如但不限于随其掺入或施用化合物的脂质体。

[0055] 如本文中所述的术语“前药”指这样的化合物,其在体内施用时因一个或多个步骤或过程代谢或转化成该化合物的生物学、药学或治疗学活性形式。为产生前药,修饰药理学活性化合物,从而使得该活性化合物将通过代谢过程再生。可以设计前药来改变药的代谢稳定性或转运特征、掩蔽副作用或毒性、改善药的味道或者改变药的其他特征或属性。

[0056] 如本文中所述的术语“治疗有效量”指化合物或组合物的量,该量在施用至患者以治疗疾病或病症时足以影响对疾病或病症的治疗。“治疗有效量”将取决于所述化合物或组合物、疾病或病症及其严重性和待治疗患者的年龄与体量而变化。

[0057] B. 用于治疗皮肤病症的组合物

[0058] 本发明人认为与用于治疗皮肤病症的现有疗法相比,本文中提供的化合物的组合将具有增强的治疗用途。因而,在本发明的一个方面,提供用于预防或治疗皮肤病症的组合物。可以在多个实施方案中提供本发明的组合物,其中所述实施方案在下文提供作为医学治疗或制药工业领域技术人员的指导。因而,本发明的实施方案将展示根据皮肤病症、所需施用或治疗方案所需的多种非限制性制剂或有用组合。本发明的组合物包含至少两种化合物。一种化合物包括雄激素受体降解 (ARD) 增强剂。第二化合物可以选自己知或认为具有用于治疗或预防皮肤病症用途的多种化合物。在多种实施方案中,所述第二化合物可以包括杀菌剂、抗生素、抗菌肽、抗炎化合物、能够减少与皮肤病症相关的一种或多种症状的化合物或其组合。

[0059] 因而,本发明可以包括以本文中所提供或所示的一种、两种、三种或多种化合物联合提供的 ARD 增强剂。

[0060] 雄激素受体降解 (ARD) 增强剂

[0061] 雄激素受体降解 (ARD) 增强剂是调节或增加雄激素受体降解的化合物。据信众多皮肤病症由雄激素相关的基因激活途径引起或影响。现有抗雄激素疗法靶向或干扰受体-配体 (雄激素) 结合作用,这仅在内源雄激素水平低时有效地工作并且有时候导致过多雄激素积累或可能完全阻断雄激素调节的功能,因而进一步影响雄激素相关的其他功能。因此,导致过多配体积累的先前疗法可能引起不希望的疗法副作用。相反,本发明的 ARD 增强剂提供了与常规疗法相比不引起内源配体 (雄激素) 积累的有效替代。此外,ARD 增强剂,其不受内源雄激素影响的功能可以减少雄激素受体的表达,这可以导致配体 (雄激素) 活性下调。通过引用方式并入的题名为“具有 (取代的苯基)-丙烯醛部分的化合物、它们的衍生物、生物学活性和其用途”的美国专利申请系列号 12/008,124 披露了据信具有 ARD 增强活性的一系列化合物,然而,该活性可以变化。在优选的实施方案中,该 ARD 增强剂选自 ASC-J9、ASC-J15、ASC-Q9、ASC-Q44、ASC-Q49、ASC-Q77、ASC-Q98、ASC-Q99、ASC-Q101、ASC-Q102、ASC-Q103、ASC-Q110 or ASC-Q111、ASC-Q113、ASC-Q116、ASC-JM1、ASC-JM2、ASC-JM4、ASC-JM5、ASC-JM6、ASC-JM7、ASC-JM12、ASC-JM13、ASC-JM14、ASC-JM16、ASC-JM17、ASC-JM18 和 ASC-JM19。图 2 提供优选的 ARD 增强剂的结构式,以及证明每种 ARD 增强剂的相对效力的数据。在相应化合物存在下孵育 LNCaP (人前列腺癌细胞系) 48 小时后,通过蛋白质印迹分析法测定效力。通过与载体对照比较,确定下降百分数。

[0062] 就皮肤病症而言,认为雄激素受体降解 (ARD) 增强剂减少附属于毛囊的皮脂腺的油 (皮脂) 分泌,这限制或降低细菌 (痤疮丙酸杆菌) 的增殖。皮脂,一种油质物质,由皮脂腺应答于雄激素受体刺激而分泌。无论刺激皮脂腺引起皮脂细胞增生或皮脂产生增加,

认为结合配体的雄激素受体是皮脂产生增加的原因。因此,认为增强雄激素受体降解,即避免被配体(雄激素)激活,可以降低来自皮脂腺的皮脂分泌、减少皮脂细胞增生或抑制或减少皮脂细胞分化,因而减少皮脂的存在和减少细菌或细菌性感染的存在,

[0063] 因为 ARD 增强剂不同于作用于受体 - 配体相互作用的传统抗雄激素药,故 ARD 增强剂可以引起对皮脂腺的调节,而不明显干扰与 AR 功能相关的其他雄激素或配体。认为一个亚类的化合物(ARD 增强剂)通过蛋白酶体依赖性(或泛素介导的)蛋白酶解途径发挥作用而诱导细胞内雄激素受体的降解。已经证实化合物如 ASC-J9 诱导雄激素受体降解并影响痤疮的存在。也证实图 2 中提供的化合物降低雄激素受体的表达。

[0064] 本发明的 ARD 增强剂不限于影响皮脂腺的那些 ARD 增强剂。本发明的 ARD 增强剂可以作用或影响多种细胞类型,其导致与皮肤病症相关的一种或多种症状的减少。因而,途径仅作为例子提供并且相对于本发明而言是非限制性的。

#### [0065] 杀菌剂

[0066] 在本发明的另一个实施方案中,提供与杀菌剂组合的 ARD 增强剂用于预防或治疗皮肤病症。在联合使用时,ARD 增强剂可以影响皮脂细胞或皮脂腺而杀菌剂影响痤疮丙酸杆菌或其他细菌菌株的种群。尽管是非限制性的,然而因可能存在局部细菌菌落,发现该实施方案的特定用途是用于皮肤病症如痤疮、红斑痤疮和伤口愈合。然而,该实施方案将具有广泛用途,如其中想要减少细菌种群的任意皮肤病症。

[0067] 本领域已知具有杀细菌属性的众多化合物并且可以随本发明一起使用。可以根据类型或根据想要的属性或作用模式鉴定化合物。例子包括山梨酸、苯甲酸和对 - 羟基苯甲酸。一个特别受欢迎的本发明杀菌剂是过氧化苯甲酰。过氧化苯甲酰包含由过氧化物基团连接的 2 个苄基(移去 CHO 中 H 的苯甲醛)。过氧化苯甲酰可以通过过氧化钠与苯甲酰氯的化合形成(形成过氧化苯甲酰和氯化钠)。过氧化苯甲酰可以凝胶剂或膏剂形式施用,一般在约 0.1% 至约 20% 或约 1% 至约 10% 的浓度,然而,本发明也包括这些范围之外的浓度。与雄激素受体降解(ARD)增强剂联合使用时,可以降低过氧化苯甲酰的剂量,这降低了往往与现有基于过氧化苯甲酰的疗法相关的皮肤干燥或刺激的频率。

#### [0068] 抗生素

[0069] 将抗生素划分为是杀细菌的(杀死细菌的化合物)或抑细菌的(防止细菌分裂的化合物)。抗生素对病毒、真菌或寄生虫具有有限效果或无效果。它们对于宿主是相对无害的并因此可以用来治疗细菌性感染。然而,单独使用时,抗生素的频繁使用已经导致抗性细菌菌株,连同其他不希望的特征。可以在本发明中使用的抗生素类型包括氨基糖甙类(包括阿米卡星、庆大霉素、卡那霉素、新霉素、奈替米星、链霉素和妥布霉素);碳头孢烯类(包括氯碳头孢烯)、碳青霉烯类(包括厄他培南、亚胺培南/西司他丁和美洛培南);第一代头孢菌素(包括头孢羟氨苄、头孢唑啉和头孢氨苄);第二代头孢菌素(包括头孢克洛、头孢孟多、头孢西丁、头孢丙烯和头孢呋辛);第三代头孢菌素(包括头孢克肟、头孢地尼、头孢妥仑、头孢哌酮、头孢噻肟、头孢泊肟、头孢他啶、头孢布烯、头孢唑肟和头孢曲松);第四代头孢菌素(包括头孢吡肟);糖肽类(包括替考拉宁和万古霉素);大环内酯类(包括阿奇霉素、克拉霉素、地红霉素、红霉素、罗红霉素和醋竹桃霉素);单菌胺环(包括氨曲南);青霉素类(包括阿莫西林、氨苄西林、阿洛西林、羧苄西林、氯唑西林、双氯西林、氟氯西林、美洛西林、萘夫西林、青霉素、哌拉西林和替卡西林);多肽类(包括杆菌肽、黏菌素和多粘

菌素 B) ;喹诺酮类 (包括环丙沙星、依诺沙星、加替沙星、左氧氟沙星、洛美沙星、莫西沙星、诺氟沙星、氧氟沙星和曲伐沙星) ;磺胺类 (包括磺胺米隆、偶氮磺胺、磺胺醋酰、磺胺甲二唑、磺胺二甲异恶唑、柳氮磺吡啶、磺胺异唑、甲氧苄啶和甲氧苄啶 - 磺胺甲恶唑) ;四环素类 (包括地美环素、强力霉素、米诺环素和土霉素) 和其他抗生素,包括氯霉素、克林霉素、乙胺丁醇、磷霉素、呋喃唑酮、异烟肼、利奈唑酮、甲硝唑、呋喃妥因、平板霉素、吡嗪酰胺、奎奴普丁、利福平和壮观霉素。目前,用来治疗痤疮的最常见抗生素包括红霉素、克林霉素、复方新诺明、四环素或四环素衍生物如强力霉素和米诺环素,可以在本发明中使用每一种所述抗生素。

#### [0070] 抗微生物剂和肽

[0071] 在本发明的另一个实施方案中,ARD 增强剂与抗菌肽或能够诱导或介导抗菌肽产生或可获得的化合物联合使用。抗菌肽一般是短蛋白质,通常长度在 12 与 50 个氨基酸之间 (尽管具有相似属性的较大蛋白质常常被划分为抗菌肽并且并入本发明的范围)。这些肽经常包括由精氨酸、赖氨酸或在酸性环境下由组氨酸提供的 2 个或多个带正电荷残基和大比例 (通常 > 50%) 的疏水性残基。除了直接杀死细菌之外,还认为它们具有多种可以参与清除感染的免疫调节功能,包括改变宿主基因表达、作为趋化因子发挥作用和 / 或诱导趋化因子产生的能力,抑制脂多糖诱导的促炎细胞因子产生、促进伤口愈合和调节树突细胞及获得性免疫应答细胞的应答。认为抗菌肽在功能上各异,从影响细菌膜至获得细胞内靶。可以随本发明使用的抗菌肽的非限制例子包括,但不限于防卫素和以高度保守区域 (cathelin 结构域) 和高变性卡特林史迪抗菌肽 (cathelicidin) 肽结构域为特征的 cathelicidin 多肽家族。认为 cathelicidin 在皮肤中的抗微生物效果由蛋白酶解过程介导并且可能涉及肥大细胞、角膜细胞和嗜中性粒细胞。已经提出了激肽释放酶介导的蛋白酶解过程 (FASEB. J 2006 Oct ;20(12) :2068-80,该文献通过引用方式完整地并入本文中)。认为在与 ARD 增强剂联合使用时, cathelicidin 家族将用作针对多种皮肤病症的疗法并且尤其用于治疗异位性皮炎和红斑痤疮。需要提供辅因子如维生素 D 用于增强效力。

#### [0072] 维生素 A、维生素 A 衍生物和类视黄醇

[0073] 在本发明的另一个方面,提供与维生素 A 或维生素 A 衍生物组合的 ARD 增强剂。维生素 A 促进眼、呼吸道、尿道和肠道的表面组织健康并有助于皮肤和粘膜功能作为细菌和病毒的屏障起作用。此外,维生素 A 帮助调节免疫系统,这有助于通过制造杀死有害细菌和病毒的血液白细胞而预防或抗击感染。维生素 A 也可以帮助淋巴细胞更有效地抗击感染。

[0074] 在本发明范围内所包括的维生素 A 衍生物包括修饰,如,但不限于烷基化、酯化等并且可以包括添加一个或多个不同官能团如醇类、烯醇类、酮类、羧基等。维生素 A 衍生物可以改变维生素 A 的抗细菌特性。

[0075] 视黄醇是动物形式的维生素 A。视黄醇属于一个更大的称作类视黄醇的化合物家族。因而,在本发明的另一个方面,雄激素受体降解 (ARD) 增强剂可以与类视黄醇组合用于治疗皮肤病症的组合物。本发明的组合物提供胜过先前类视黄醇疗法的改进,在于可以至少部分地降低类视黄醇的剂量,原因是与 ARD 增强剂组合的活性提高。因而,降低的剂量将导致通常与类视黄醇相关化合物相伴的皮肤刺激作用减少。

#### [0076] 抗炎化合物

[0077] 在本发明的另一个方面,ARD 增强剂与抗炎化合物联合使用。炎性化合物可以划

分成类固醇抗炎化合物和非甾类抗炎化合物,在本发明的范围内包括所述每一种化合物。

[0078] 众多类固醇如糖皮质激素类通过与可的松受体结合减少炎症。这些类固醇经常称作皮质类固醇化合物。

[0079] 非甾类的抗炎化合物包括抵消或抑制环氧合酶 (COX) 的那些化合物。COX 酶合成导致炎症的前列腺素。本发明的组合物可以包括减少或防止前列腺合成,因而减少或消除与炎症相关的疼痛的非甾类抗炎化合物。

[0080] 众多草药或从草药分离的化合物具有抗炎属性并可以与 ARD 联合使用。认为具有抗炎属性的草药例子是牛膝草 (hyssop)、姜、含有一种倍半萜内酯 - 土木香灵的山金车 (Arnica Montana) 和含有水杨酸的柳树皮。类似地,认为一些食物具有抗炎属性。因而,在本发明范围内也包括从食物分离的认为具有抗炎属性的化合物。例如,辣椒碱和  $\omega$ -3- 脂肪酸是食物中发现的抗炎化合物并且由本发明包括。

[0081] C. 用于治疗或预防脱发的组合物

[0082] 本发明人认为与用于治疗脱发的现有疗法相比,本文中提供的化合物的组合将具有增强的治疗用途。因而,在本发明的一个方面,提供用于预防或治疗脱发的组合物。认为所述组合物和治疗方法在治疗或预防雄激素源性脱发中具有特定用途。然而,与雄激素积累或堆积相关或与雄激素受体相关的任何脱发病症可以加以治疗或预防,至少部分地由本发明治疗或预防。可以在多个实施方案中提供本发明的组合物,其中所述实施方案在下文提供作为医学治疗或制药工业领域技术人员的指导。因而,本发明的实施方案将展示根据医学病症、所需的施用或治疗方案而可以是想要的多种非限制性制剂或有用组合。本发明的组合物包含至少两种化合物。一种化合物包括雄激素受体降解 (ARD) 增强剂。第二化合物可以选自已知或认为具有用于治疗或预防脱发、秃顶或雄激素源性脱发的用途的多种化合物。在一些实施方案中,认为所述第二化合物增强或促进毛发生长。因而,本发明可以包括与本文中所提供或所示的一种、两种、三种或多种化合物或组合物联合提供的 ARD 增强剂。可以在本发明中使用的 ARD 增强剂的例子包括题为“具有 (取代的苯基)- 丙烯醛部分的化合物、它们的衍生物、生物学活性和其用途”的美国专利申请系列号 12/008, 124 中提供的那些例子,其在此通过引用引入本文。在优选的实施方案中,该 ARD 增强剂选自 ASC-J9、ASC-J15、ASC-Q9、ASC-Q44、ASC-Q49、ASC-Q77、ASC-Q98、ASC-Q99、ASC-Q101、ASC-Q102、ASC-Q103、ASC-Q110 或 ASC-Q111、ASC-Q113、ASC-Q116、ASC-JM1、ASC-JM2、ASC-JM4、ASC-JM5、ASC-JM6、ASC-JM7、ASC-JM12、ASC-JM13、ASC-JM14、ASC-JM16、ASC-JM17、ASC-JM18 和 ASC-JM19。

[0083] 如制药 / 化妆品领域中已知或如本发明中所述,在本发明范围内提供的化合物组合或组合物可以以局部、口服等方式施用。在一些实施方案中,提供化合物的组合,其中口服施用至少一种化合物并且局部施用第二种化合物。

[0084] 在本发明的优选方面,ARD 增强剂与认为刺激毛发生长的化合物或组合物联合提供。因而联合提供时,本发明可以预防脱发并刺激毛发生长。

[0085] 尽管是非限制性的,本发明的 ARD 增强剂可以与相互作用于雄激素受体或雄激素的化合物联合。在一些实施方案中,ARD 增强剂与阻断结合雄激素受体的雄激素的化合物或组合物联合。

[0086] 在一些实施方案中,ARD 增强剂与非那雄胺联合提供。在另一个实施方案中,ARD

增强剂与氟他胺或比卡鲁胺联合提供。在另一个实施方案中,ARD 增强剂与米诺地尔联合提供。因而,ARD 增强剂可以与现有可用或建议的脱发疗法联合。

#### [0087] 促进毛发生长的肽和寡肽

[0088] 本文所披露的 ARD 增强剂可以与表现或认为其表现毛发生长或预防脱发的潜在活性的肽或寡肽联合。所述肽可以编码与受体如雄激素受体、辅因子如 STAT 等相互作用的结构域。

[0089] 作为非限制性例子,ARD 增强剂可以与如但不限于下文的肽联合。通过引用方式并入的题名为“用于促进毛发生长的寡肽”的美国专利 7,241,731 提供了认为具有有益活性的多种寡肽。肽如含谷氨酰胺的肽也有希望治疗或预防毛发生长。例如,通过引用方式并入的题名为“治疗脱毛症的方法”的美国专利 6,376,557 披露了与丁酸辛酯联合使用的含谷氨酰胺的肽的用途。

[0090] 上文的肽和寡肽不试图限制、而是例举了本发明的组合物,其与 ARD 增强剂联合使用时,认为所述组合物可用于治疗或预防脱发。

#### [0091] 核苷酸和寡核苷酸

[0092] 本发明的 ARD 增强剂可以与认为增强或促进毛发生长或减少脱发的核苷酸或寡核苷酸联合使用。此类核苷酸可以是调节雄激素受体、雄激素受体的辅因子等的那些核苷酸。核苷酸可以在预期基因上游或下游起作用、增强或抑制启动子活性等。在一些实施方案中,此类寡核苷酸是反义寡核苷酸。

#### [0093] 抗微生物剂和肽

[0094] 治疗或预防脱发的组合物也可以包括与抗微生物剂或抗菌肽联合的 ARD 增强剂。上文就皮肤病症方面所讨论的化合物和肽也并入本文中。

#### [0095] 植物提取物

[0096] 在本发明的一些实施方案种,ARD 增强剂与认为包含抗雄激素化合物、抗雄激素性活性或有助于预防或治疗脱发的一种或多种植物提取物(或从中获得的组合物)联合。此类提取物包括从植物叶、花、果实或浆果、主干、种子等获得的那些提取物。提取物可以是粗提物或可以纯化如大于 50%纯度、60%纯度、75%纯度、80%纯度、90%纯度或大于 95%纯度。因而,本文所提供的提取物、它们的活性化合物和认为与其在一起有活性的任意化合物可以与本发明的 ARD 增强剂联合使用。

[0097] 在一些实施方案中,所述提取物从锯叶棕(saw palmetto)植物获得,其为经常在美国东南部分(包括佐治亚州和佛罗里达州)存在的美洲树。锯叶棕植物提取物以及其与乙酰肉碱和辅酶 Q 组合在通过引用方式并入的题名为“用于局部治疗雄激素源性脱毛症的组合物和方法”的美国专利 6,333,057 中披露,可以与 ARD 增强剂联合使用。在通过引用方式并入的题名为“治疗雄性类型脱发的天然制备物”的美国专利 5,972,345 中,锯叶棕植物提取物也与非洲臀果木(African Pygeum)提取物和荨麻(stinging nettle)提取物联合提供。

[0098] 本发明也包括与以下提取物或从中分离或纯化的化合物组合的 ARD 增强剂。在通过引用方式并入的题名为“用于治疗头皮病的口服组合物”的美国专利 7,201,931 中提供的提取物披露了锯叶棕榈(Seranoa repens)和葡萄(Vitis vinifera)的用途。来自锯叶棕榈的提取物在前列腺癌细胞上进行“体外”测试并且通过用放射标记的 3H-美曲勃龙

(methyltrienolene) 替代而显示对雄激素受体的强亲和力。通过引用方式并入的题为“用于治疗脱发的局部用制备物”的美国专利 6,358,541 披露了含有如用于低应激性溶液中的植物固醇的锯叶棕浆果醇提取物的用途。

[0099] 上文的提取物不试图限制、而是例举了植物提取物的不同来源,其与 ARD 增强剂联合使用时,认为所述植物提取物可用于治疗或预防脱发。

#### [0100] D. 药物组合物和化妆品组合物

[0101] 本发明的化合物可以与药学上可接受的载体联合以形成药物或化妆品的可用载体而组成化妆品。药物和化妆品生产的技术是本领域熟知的并且一般包括在合适载体存在下混合化合物或其盐。本发明的化合物可以与单一载体或载体类型一起混合或可以独立地与各个载体混合。与本发明化合物使用的合适载体包括根据预期施用的形式并符合常规药物或化妆品实践而选择的稀释剂、赋形剂或其他载体材料。合适载体的其他非限制性例子包括,但不限于水、生理盐水、磷酸盐缓冲盐水、生理相容性缓冲液,用生理相容性盐缓冲的盐水、油包水乳液和水包油乳液、醇、二甲基亚砷、葡萄糖、甘露醇、乳糖、甘油、丙二醇、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、卵磷脂、白蛋白、谷氨酸钠、盐酸半胱氨酸等及其混合物。合适的载体也可以包括合适的可药用抗氧化剂或还原剂、防腐剂、悬浮剂、增溶剂、稳定剂、螯合剂、络合剂、粘度调节剂、崩解剂、粘合剂、矫味剂、着色剂、增味剂、遮光剂、湿润剂、pH 缓冲剂及其混合物,如与通过引用方式完整并入本文中的常规制药实践(“雷明顿:药剂学科学与实践”(The Science and Practice of Pharmacy)”,20 版,Gennaro(编辑)和 Gennaro, Lippincott, Williams & Wilkins,2000)一致。本发明的组合物可以提供于洗发剂中。

[0102] 所述化合物以治疗有效剂量提供。“治疗有效剂量”可以通过化合物的具体组合加以确定。该剂量可以多少依化合物与化合物、患者与患者而变化,并且将取决于患者状况和送递途径。作为一般指导,联合化合物或组合物从约 0.1 至约 50mg/kg 的剂量可以具有治疗效力,同时仍可能使用更高或更低的剂量。在确定与 ARD 增强剂一起的化合物的剂量时,可以从该化合物最初处方的剂量开始,随后优选降低该剂量。

[0103] 本发明的化合物或组合物可以以前药形式、以延缓释放制剂型等提供。备选地,组合物可以以适于起效而无实质性修饰的活性形式提供。类似地,本发明的化合物或组合物可以与脂质体送递载体联合提供。脂质体是主要由两亲性双层组成的溶致性液晶并具有主要包含作为人体中天然存在物质的卵磷脂和胆固醇的优点。卵磷脂和胆固醇也在身体内大量存在,并且因而提供良好的生物容纳性。因而,脂质体可以帮助降低毒性并帮助送递药物至目的部位。有效靶向通常涉及配体与表面脂质体的附着和脂质体的变形。配体可以包括抗体或抗体片段、酶、凝集素、糖等。配体可以共价或非共价地附着,不过共价附着更有用。脂质体分成三类:多层囊泡(MLV);单层小囊泡(SUV,直径小于 100nm)和单层大囊泡(LUV,直径大于 100nm)。MLV 容易制备并且需要最少的实验设备。与 LUV 相比,MLV 和 SUV 均具有低包囊容量。LUV 具有众多优势,包括水溶性药物的高包囊作用、脂质成本和药物重复释放的高速率。

[0104] 还构思了在药物送递领域技术人员已知、猜测或公开的药物送递过程中使用的其他送递载体并纳入本发明的范围。例如,纳米粒子是具有大分子物质的、大小从约 10 纳米(nm)变化至约 1000nm 的固态胶体粒子。化合物或组合物溶解、截留、吸附、附着或包裹在该大分子材料中。纳米粒子已经被描述为具有以下非限制性组成:具有容留基体的壳样壁的

微球体、包裹液态溶液的聚合物晶格；和用于表面附着化合物或组合物和导向分子的固态粒子（生物可降解或不可降解的）。一般注射纳米粒子。

#### [0105] 化合物的共同施用

[0106] 尽管可以在单一药物或化妆品中提供化合物组合，然而在其他实施方案中，本发明的化合物作为两种不同的组合物提供并且共同或分别地施用。施用的途径可以是相同的，如局部用施加两种或多种化合物或可以是不同的。例如，一种化合物可以作为口服药物提供并且第二种化合物作为局部用药物或化妆品提供。在这个例子中，治疗包括施用两种药物，一种局部用药物和一种口服药物，它们可以同时地或以周期性间隔或时间施加或可以不这样施加。因而，所述组合物可以根据想要的治疗方案而不同。

#### [0107] E. 治疗皮肤病症的方法

[0108] 本发明的组合物可以用来治疗、预防或减少来自多种皮肤病症的不愉快症状。皮肤是身体最大的器官并且显然是最常见到的。尽管众多皮肤疾病局限于特定区域或部位，然而某些皮肤疾病是内在疾病的表现。多种皮肤病症已经被鉴定并且可以在多种医学字典中找到，如但不限于通过引用方式完整并入本文的 Taber's 百科全书字典（20 版，2001，FA Davis Company）。对于化合物或组合物的额外潜在治疗用途或评价其潜在剂量时，可以咨询专攻诊断和治疗皮肤及附属部分疾病和肿瘤的皮肤病学家、内科医生。

[0109] 在治疗皮肤中最常使用局部用法；然而，口服药物也是常见的。根据需要或根据药物或化妆品适应性，本发明的组合物适应于局部施加、口服施加、注射或任何其他合适的施用途径。

[0110] 本发明的治疗方法包括提供患有皮肤病症的个体和向该患者施用治疗有效剂量的一种或多种本发明组合物。如所提供，本发明的组合物包含所披露化合物的至少两种化合物，其中所述化合物之一是 ARD 增强剂。此外，该组合物可以是药物或化妆品形式。类似地，可以通过向有需要的患者施用药物上可接受量或化妆品上可接受量的一种或多种本发明组合物预防皮肤病症，其中所述组合物之一包含 ARD 增强剂。下文提供对使用本发明的化合物和组合物可以治疗或预防的皮肤病症的简要且非限制性描述。

#### [0111] 痤疮

[0112] 本发明的化合物或组合物可以用来治疗或预防痤疮并可以加速因痤疮所致的损伤愈合。痤疮部分地由雄激素诱导的皮脂腺 AR 激活引起。本发明通过提供能够防止或降低雄激素受体相关激活的 ARD 增强剂影响皮脂腺激活。还认为炎症和伤口愈合与应答配体的雄激素受体相关并且因而可以被治疗。因而，本发明的方法可以包括施用化合物、药物或化妆品制剂至需要这种治疗或预防的个体。此类制剂的局部施加、口服和注射形式可以具有特殊意义，同时本发明范围内也包括其他施用途径。

[0113] 在本发明的多个方面，提供治疗或预防痤疮的方法，所述方法包括向有需要的个体或受试者施用治疗有效量的药物组合物或化妆品组合物。优选地，该组合物降低所分泌的油的量并减少痤疮丙酸杆菌种群。治疗有效剂量可以多少依化合物与化合物、患者与患者而变化，并且将取决于患者状况和送递途径。作为一般指导，该组合物从约 0.1 至约 50mg/kg 的剂量可以具有治疗效力，同时仍可能使用更高或更低的剂量。可能在治疗或预防痤疮中具有特殊用途的组合物或化合物组合包括与杀菌剂如过氧化苯甲酰联合提供的 ARD 增强剂；与至少一种抗生素联合提供的 ARD 增强剂；与抗菌肽如卡特迪欣抗菌肽

(cathedycin) 联合提供的 ARD 增强剂;与维生素 A、维生素 A 衍生物或类视黄醇联合提供的 ARD 增强剂;与抗炎化合物联合提供的 ARD 增强剂或其组合。

[0114] 在一个实施方案中,所述药物包括 ARD 增强剂和杀菌剂,如但不限于过氧化苯甲酰。在该实施方案中,药物组合物优选地作为膏剂或凝胶剂提供并且局部施加至皮肤的患病区域。可以是单次施加或多次施加。在其他实施方案中,局部施加过氧化苯甲酰并口服 ARD 增强剂。在另一个实施方案中,该药物组合物包含 ARD 增强剂和抗生素。在该实施方案中,优选提供该药物用于口服施用。然而,局部施用、注射施用或其组合也可以是想要的。可以是单次投药或多次投药,这取决于患者的状况。又在另一个实施方案中,该组合物包含 ARD 增强剂和抗菌肽。仍在另一个实施方案中,该组合物包含 ARD 增强剂和维生素 A、维生素 A 衍生物或类视黄醇。仍在另一个实施方案中,该组合物包含 ARD 增强剂和抗炎化合物。

#### [0115] 异位性皮炎

[0116] 异位性皮炎是在具有过敏史的患者中存在发现的病因未知的慢性皮炎形式。该病通常在出生头两个月后开始并且患病个体可以在整个儿童和成年期间经历加剧和缓解。在众多情况下,该家族具有过敏史。皮肤损伤由可能因抓挠而变成痂样的发红、皴裂和增厚的皮肤构成。可能出现疤痕或继发感染。

[0117] 本发明提供治疗或预防异位性皮炎的方法,包括向有需要的个体施用治疗有效量的本发明药物组合物或化妆品组合物。在一个实施方案中,所述药物包括 ARD 增强剂和杀菌剂,如但不限于过氧化苯甲酰。在另一个实施方案中,该药物组合物包含 ARD 增强剂和抗生素。又在另一个实施方案中,该组合物包含 ARD 增强剂和抗菌肽。仍在另一个实施方案中,该组合物包含 ARD 增强剂和维生素 A、维生素 A 衍生物或类视黄醇。仍在另一个实施方案中,该组合物包含 ARD 增强剂和抗炎化合物。

#### [0118] 红斑痤疮

[0119] 红斑痤疮是通常位于面部中央如患者鼻部、颊、前额、眼或下颚周围的慢性疹。当病症进展时,可以出现皮肤的小水泡状畸形并且鼻的皮脂腺可以逐步肿胀并产生变形(肥大性酒渣鼻)。现有治疗方法包括局部施加甲硝唑、克林霉素或红霉素;口服四环素和类视黄醇。本病呈慢性,目前使用的疗法可试图控制该病症但无法治愈它。

[0120] 本发明提供治疗或预防红斑痤疮的方法,包括向有需要的个体施用治疗有效量的本发明药物组合物或化妆品组合物。在一个实施方案中,所述药物包括 ARD 增强剂和杀菌剂,如但不限于过氧化苯甲酰。在另一个实施方案中,该药物组合物包含 ARD 增强剂和抗生素。又在另一个实施方案中,该组合物包含 ARD 增强剂和抗菌肽。仍在另一个实施方案中,该组合物包含 ARD 增强剂和维生素 A、维生素 A 衍生物或类视黄醇。仍在另一个实施方案中,该组合物包含 ARD 增强剂和抗炎化合物。

#### [0121] 狼疮

[0122] 狼疮是因自身免疫性疾病所致的慢性炎症状况。自身免疫性疾病是身体组织受其自身免疫系统攻击时出现的疾病。免疫系统是身体内旨在抗击传染原例如细菌和其他外来入侵者的复杂系统。免疫系统用来抗击感染的机制之一是产生抗体。狼疮患者在其血液产生靶向患者自身身体内的组织而非外来传染原的异常抗体。因为炎症的抗体和相伴细胞可以进入身体内组织任何地方,故狼疮具有影响身体多个区域的潜力。有时候,狼疮可以引起皮肤、心脏、肺、肾脏、关节和 / 或神经系统的疾病。当仅涉及皮肤时,该病症才称作盘状

狼疮。当涉及内脏器官时,该病症称作系统性红斑狼疮(SLE)。

[0123] 本发明提供治疗或预防狼疮(包括盘状狼疮和SLE)的方法,包括向有需要的个体施用治疗有效量的本发明药物组合物或化妆品组合物。在一个实施方案中,所述药物包括ARD增强剂和杀菌剂,如但不限于过氧化苯甲酰。在另一个实施方案中,该药物组合物包含ARD增强剂和抗生素。又在另一个实施方案中,该组合物包含ARD增强剂和抗菌肽。仍在另一个实施方案中,该组合物包含ARD增强剂和维生素A、维生素A衍生物或类视黄醇。仍在另一个实施方案中,该组合物包含ARD增强剂和抗炎化合物。

[0124] F. 刺激毛发生长和/或预防脱发的方法

[0125] 本发明的治疗方法包括提供患有脱发的受试者和向该受试者施用治疗有效剂量的一种或多种本发明组合物。在本发明的一个方面,脱发因雄激素源性脱发所致。在其他方面,不认为脱发与雄激素源性脱发相关。在一些方面,脱发与雄激素或AR的积累相关。在其他方面,本发明的组合物可以与引起脱发或减少或消除此类作用的医学疗法一起提供。在一些实施方案中,提供了认为防止脱发的化合物,该化合物与认为刺激或促进毛发生长的化合物组合。

[0126] 可能需要多剂量并且剂量可以随时间改变如提高或降低。因而,ARD增强剂对第二化合物的比率也可以在治疗期间变化,如随时间提高或降低。

[0127] 如所提供,本发明的组合物包含所披露化合物的至少两种化合物,其中所述化合物的至少一种为ARD增强剂。

[0128] 此外,该组合物可以是药物、洗发剂、调理剂、膏剂、化妆品等形式。类似地,可以通过向有需要的患者施用药物上可接受量的一种或多种本发明组合物预防或减少脱发,其中所述组合物之一包含ARD增强剂。

[0129] 类似地,本发明的方法包括用于刺激毛发生长或引起毛发生长增加的方法或疗法。所述方法包括向有需要的患者施用与第二化合物(如认为刺激毛发生长的化合物)联合的治疗有效量的ARD增强剂。

[0130] 雄激素源性脱发

[0131] 认为雄激素源性脱发是因毛囊或周围组织对激素的敏感性所致。这种敏感性因遗传因素所致并且往往在家族中传递。雄激素源性脱发在男性中与几种其他医学病症关联,所述医学病症包括冠状动脉性心脏病和前列腺肿大、前列腺癌、胰岛素耐受病症(如糖尿病和肥胖症)和高血压。在女性中,脱发可以与提高的多囊性卵巢综合征(PCOS)风险关联。PCOS可以导致月经失调、痤疮、过多体毛(多毛症)和体重增加的激素失衡为特征。脱发在女性中往往与雄激素堆积或雄激素的量增加有关。

[0132] 本发明提供治疗或预防毛发病(包括如雄激素源性脱发)或与雄激素积累相关的那些病症的方法,包括向有需要的个体施用治疗有效量的本发明药物组合物或化妆品组合物。该组合物包含与至少一种第二化合物联合的至少一种ARD增强剂。在一个实施方案中,ARD增强剂与米诺地尔联合。在另一个实施方案中,ARD增强剂与非那雄胺或非那雄胺生发剂联合。在另一个实施方案中,ARD增强剂与抗雄激素化合物联合。在另一个实施方案中,ARD增强剂与肽或寡肽联合。

[0133] 在一些实施方案中,本发明的方法包括治疗雄激素源性脱发的方法,包括向有需要的受试者施用化合物组合,其中所述的化合物组合包含了认为延缓或预防脱发的化合物

和认为刺激或促进毛发生长的第二化合物。至少一种化合物是 AR 增强剂。认为刺激毛发生长的化合物被认为具有毛发生长刺激活性。非限制的例子包括有机化合物、肽、小肽、核酸序列、植物提取物等。此类活性可以使用确定毛发生长是否出现的任何适合方法测量或确定。

## 实施例

[0134] 实施例 1 增强转录因子降解的概述

[0135] 以下实施例描述增强胞核受体（转录因子）如雄激素受体降解的方法的非限制性实施方案。可以运用增强目的胞核受体降解的任意机制，所述机制包括，但不限于干扰胞核受体转位至胞核或使胞核受体滞留在细胞的胞浆中，暴露胞核受体内部能够诱导蛋白酶活性的基序、提高能够特异性降解胞核受体的蛋白酶的活性、抑制胞核受体的稳定性、减低胞核受体的溶解度、激活能够降解胞核受体的途径、增加胞核受体的泛素化、通过适宜激酶增加 / 减少胞核受体的磷酸化、诱导凋亡或减少胞核受体与能够稳定该胞核受体的辅因子之间的相互作用。在这个具体实施例中，目的胞核受体是类固醇激素受体，雄激素受体。

[0136] 多种方法和测定法可以用来检测胞核受体转录活性的下调并且因而检测目的胞核受体降解或用来检测这种降解的后续影响。例如，用来检测雄激素受体下调的测定法可以至少部分地用来检测雄激素受体的降解。在下文概述适用于雄激素受体的此类方法和测定法的非限制性例子。

[0137] 使用蛋白质印迹分析检测 AR 降解

[0138] 先前已经描述了适合检测雄激素受体 (AR) 降解的蛋白质印迹方法 (Su 等人, 1999)。简而言之，将细胞（例如 LNCap 细胞）收获于  $2 \times$  十二烷基磺酸钠 (SDS) 上样缓冲液或含有 10 微克 / 毫升苯胺、10 微克 / 毫升胰蛋白酶抑制物和 1 毫摩尔苯甲基磺酰氟 (PMSF) 的放射免疫沉淀测定 (RIPA) 裂解缓冲液（见“《抗体实验手册》(Antibodies :A Laboratory Manual)”，E. Harlow 和 D. Lane, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988）。来自细胞裂解物的总蛋白（40 微克 / 样品或按照需要）在 SDS-PAGE 凝胶上分开。在分开后，按照标准蛋白质印迹法方案，将蛋白质从该凝胶转移至硝酸纤维素膜。该膜用降低非特异性结合的合适封闭剂（如补充有 0.1% Tween-20 (PBST) 的磷酸盐缓冲盐水中的 10% 脱脂乳）封闭过夜。该膜与合适的人 AR 特异性第一抗体（例如来自 BD-PharMingen 的抗人 AR）在 4 摄氏度孵育过夜或在室温孵育 2 小时。该膜用 PBST 淋洗 3 次，每次 10 分钟，并且随后与合适的第二抗体（例如酶标记的第二抗体，如辣根过氧化物酶缀合的第二抗体）在室温孵育 1 小时。该膜用 PBST 淋洗，并使用合适的可视方法来检测第二抗体（例如辣根过氧化物酶可以用比色底物或由如源自 Amersham 的增强型化学发光 (ECL Plus) 试剂盒提供的化学发光底物检测）。作为印迹物上雄激素受体蛋白的量的度量，第二抗体信号可以通过按照制造商推荐剥离该膜并将该膜与适宜抗体（如针对  $\beta$ -肌动蛋白的抗体，Sigma）再孵育，对每份样品容纳的蛋白质总量进行归一化。蛋白质信号的量化可以使用适宜软件（来自美国国家卫生研究所 (National Institutes of Health) 的 Image J 软件）通过光密度测定法完成。

[0139] 抑制 AR 活性和肿瘤细胞生长的化合物

[0140] 在非限制性实施例中，使用化合物来降解细胞中的雄激素受体 (AR)。测试降解 AR

能力的化合物的非限制性例子包括在通过引用方式完整并入的 Ohtsu 等人 (2002), J. Med. Chem., 45 :5037-5042 和 Ohtsu 等人 (2003) Bioorg. Med. Chem., 11 :. 5083-5090 中描述其结构和制备的化合物。作为实例,在培养的细胞上测试化合物 ASC-J9。ASC-J9 是合成化合物 (俗名,二甲基姜黄素) 并具有结构 5- 羟基 -1,7- 双 (3,4- 二甲氧苯基) -1,4,6- 辛三烯 -3- 酮;它是通过例如用重氮甲烷过甲基化天然姜黄素可获得的。

[0141] 实施例 2 增强胞核受体降解

[0142] 下文描述可用于研究胞核受体降解作用的方法和测定法的非限制性实施例。在这个具体实施例中,检验已知增强胞核受体雄激素受体 (AR) 降解的化合物对 AR 活性和对细胞增殖的影响。癌症防控中的重要任务之一是控制或延缓肿瘤增生。雄激素和 AR 在刺激前列腺癌细胞增殖中发挥明显作用,并且因而通过 AR 降解而调节 AR 活性可充当延缓或控制前列腺癌进展的有用手段。

[0143] 检测 LNCaP 细胞中的细胞生长和雄激素受体表达

[0144] 生长测定法

[0145] LNCaP 细胞表达存在于前列腺癌患者中的内源性突变 AR。使用这种临床上重要的细胞模型来研究 ASC-J9 在抑制前列腺癌细胞生长中的作用。细胞以密度大约  $6.5 \times 10^4$  个细胞 / 孔接种到 6 孔组织培养皿中。2 日后,吸出完全培养基并添加含有 10% 活性碳 / 葡聚糖处理 (激素耗尽) 的血清的培养基。试验化合物 ASC-J9 随后以终浓度  $5 \mu\text{M}$ , 伴随和不伴随 1nM DHT 添加至该培养基。对于载体对照,将相同量的 DMSO 添加至培养基。在后续 5 日期间,每日吸出培养基一次并更换含有试验化合物和 / 或 DHT 的新鲜培养基。在指定的时间,通过胰酶消化法收获一部分细胞并且使用血细胞计数器进行细胞计数。

[0146] 在 5 日实验持续期间,载体对照处理孔中的细胞数目稳定地增加 (图 4A)。在第 1 日,ASC-J9 处理孔的细胞数目是与载体对照的细胞数目可比的,不过从第 2 日开始,这些孔中的细胞数目显著减少。在 5 日孵育结束时,仅在 ASC-J9 处理孔中找到极少数目的活细胞。

[0147] 在雄激素 DHT 存在下进一步分析 ASC-J9 对前列腺癌细胞生长的影响。如所预期,DHT 上调 LNCaP 细胞生长;在使所述细胞与这种雄性激素孵育 4-5 日后,每孔细胞数目的升高变得明显。在 DHT 存在下,ASC-J9 仍表现减少 LNCaP 细胞生长的良好效力;在 DHT 存在或不存在下细胞生长减少的幅度实际上是可比较的。基于上述研究结果,得出结论:ASC-J9 可以在雄性激素存在下有效地消除前列腺癌细胞生长。ASC-J9 可以用作候选药物用于前列腺癌疾病防控。

[0148] AR 表达的蛋白质印迹分析

[0149] AR 是调节前列腺癌细胞对雄激素应答的关键因子。我们检验了 ASC-J9 是否影响 AR 的稳态水平和 AR 的减少是否与 LNCaP 细胞生长相关。在指定时间收获来自上述实验的 LNCaP 细胞,如先前所述,制备用于蛋白质印迹分析的细胞裂解物。随后使用颜色检测方法检验膜中的 AR 和肌动蛋白信号,并且所得蛋白质信号通过光密度测定法定量。在图 4B 中,报道了归一化的 AR 信号 (如相对于肌动蛋白),其表述为基线 (第 0 日) 值的百分数。

[0150] 结果显示用 ASC-J9 处理的 LNCaP 细胞中 AR 的内源水平稳定下降。AR 下降首先在连续与 ASC-J9 孵育 2 日后观察到并在 5 日孵育结束时观察到,在处理的细胞中仅剩余 -10% 初始水平的 AR。值得注意的是在 ASC-J9 孵育后细胞数目降低与 AR 降低之间存在

相关性。此信息有力地提示 ASC-J9 可至少部分通过 AR 降低机制起到下调 LNCaP 细胞生长的作用。

[0151] 测试了额外化合物降低 LNCaP 细胞中 AR 表达的能力。结果在图 2 中汇总。LNCaP 细胞在每种试验化合物存在下孵育 48 小时,随后通过蛋白质印迹法进行分析。与载体对照在多个浓度上相比,通过测定 AR 降低百分数评估相对效力。示值如下:

[0152] 表 1

[0153]

相对效力	0.5 $\mu$ M	1 $\mu$ M	2.5 $\mu$ M	5 $\mu$ M	7.5 $\mu$ M
+++++	10-40%	50-70%	70-100%		
++++	0	10-20%	30-60%	70-100%	
+++	0	0	10-20%	30-60%	70-100%
++	0	0	0	10-40%	60-90%

[0154] 图 3A 和 3B 描述化合物 ASC-Q49, ASC-Q103, ASC-JM12, ASC-JM14, ASC-77, ASC-JM4 和 ASC-JM5 的蛋白质印迹数据的照片。将相应化合物添加至 LNCaP 细胞并使其在分析前孵育 48 小时。结果表明雄激素受体 (AR) 蛋白表达在暴露于 ARD 增强剂时降低。

[0155] 体内异种移植肿瘤生长测定法

[0156] 在相关体内研究中, LNCaP 人前列腺肿瘤细胞通过皮下注射 (每部位  $2 \times 10^6$  个) 异种移植到裸鼠中。小鼠随后通过用作为对照的载体溶液或试验化合物 (ASC-J9 以剂量 100 毫克 / 公斤体重) 腹膜内注射进行治疗, 一周 3 次, 持续 7 周。在接下来的 7 周期间一周 2 次测量肿瘤体积。预期用化合物如 ASC-J9 治疗持续充足的时间段 (例如从 2 周至几个月之间) 导致显著降低的肿瘤生长速率。图 12 中的数据显示接受异种移植 LNCaP 肿瘤的 2 只裸鼠以及用载体溶液治疗 (左侧) 的一只小鼠和用 ASC-J9 (右侧) 治疗的另一只。在接受 ASC-J9 治疗的动物中检测到肿瘤大小和血浆中 PSA 含量的显著降低。此类结果可以视为这样的有力暗示, 即由 AR- 降解化合物如 ASC-J9 诱导的 AR 活性抑制和所致的肿瘤生长减少可以转化至用以治疗或预防与 AR 活性相关的疾病和病症, 如前列腺癌和其他癌症的实际运用中。

[0157] 实施例 3: 不同细胞系中类固醇激素受体降解的特异性

[0158] 下文描述了多种细胞系中胞核受体 (在本例子中, 类固醇激素受体) 特异性降解的非限制性实施例。使用两个代表性肿瘤细胞系: 人前列腺癌细胞系 LNCaP 和人乳腺癌细胞系 T47D 来测试 ASC-J9 对雄激素受体和其他胞内蛋白质和受体影响的特异性。

[0159] 人前列腺癌 LNCaP 细胞和 T47D 细胞以密度  $7 \times 10^5$  个细胞 / 每 60 毫米组织培养皿接种在含有 10% FBS 的 Richter' s 改良 MEM 胰岛素 (RPMI) 培养基中。24 小时后, 该培养基更换成含有活性碳处理的 10% 血清的 RPMI 或 DME 培养基以耗尽细胞的雄激素或雌激素。另外 24 小时后, 开始用试验化合物处理。ASC-J9 的试验剂量为 1 和 5 微摩尔。LNCaP 细胞也接受二氢睾酮 (DHT) (3 纳摩尔)。对照细胞接受相应量的载体、二甲基亚砜 (DMSO)

( $< 0.04\%$ ) 持续相同的暴露时间。细胞与 ASC-J9 孵育 24 小时,并在 250 微升  $1\times$ SDS/PAGE 上样缓冲液中裂解。在预制凝胶 (NuPAGE, Invitrogen) 的每个泳道中上样大约 40 微克细胞总蛋白。蛋白质分离和转移按照制造商手册进行。

[0160] 对于 LNCaP 细胞裂解物,通过将所得膜与抗-AR 抗体 (BD-PharMingen) 孵育,随后进行化学发光检测 (ECL Plus, Amersham),显现雄激素受体 (AR) 蛋白。为检验试验化合物对其他细胞蛋白质的影响,制备几块完全相同的凝胶并将所得膜与针对黄体酮受体 (PR)、雌激素受体  $\beta$  (ER $\beta$ )、过氧化酶体增生剂激活的受体  $\alpha$ 、 $\beta$  或  $\gamma$  (PPAR $\alpha$ 、 $\beta$  或  $\gamma$ )、类视黄醇 X 受体  $\alpha$  (RXR $\alpha$ )、70-kDa 热休克蛋白 (hsp70) 和细胞骨架蛋白、肌动蛋白特异性的抗体孵育。从 Santa Cruz Biochemicals 获得针对 PR 和其他胞核受体的抗体,同时分别从 StressGen 和 Sigma 获得针对 hsp70 和肌动蛋白的抗体。所得蛋白质信号使用光密度测定法和 NIH Image J 软件量化。

[0161] LNCaP 细胞裂解物的蛋白质印迹结果在图 5 显示。在 DHT 存在或不存在下 LNCaP 细胞与 ASC-J9 (1 或 5 微摩尔,24 小时) 的孵育显著地降低 AR 的细胞浓度并且较低程度地降低黄体酮受体的细胞浓度,但是没有明显地影响其余所测试的胞核受体或蛋白质。

[0162] T47D 细胞裂解物的蛋白质印迹结果在图 6 显示。在雌二醇 (E2) 存在或不存在下细胞与 ASC-J9 (5 或 10 微摩尔) 的孵育降低 AR 的细胞浓度,但不降低其他受体蛋白质的细胞浓度,类似于 LNCaP 细胞中所得到的观察结果。

[0163] 实施例 4:在蛋白质合成抑制剂存在下增强转录因子降解

[0164] 为确定观察到的 AR 蛋白水平降低是否因蛋白质降解而非抑制 AR 蛋白合成所致,进行了第二组一式三份实验。在这些实验中,使用蛋白质合成抑制物环己酰亚胺 (CHX) 来防止细胞合成新蛋白质。在新 AR 蛋白合成不存在下,AR 水平的任意改变将主要归因于蛋白质降解。LNCaP 细胞在 ASC-J9 (20 微摩尔) 存在和不存在下和在环己酰亚胺 (15 微克/毫升) 存在和不存在下培养。细胞孵育 0、3、6 和 12 小时,随后收获并通过蛋白质印迹法分析 AR 水平。

[0165] 来自实验的代表性蛋白质印迹结果在图 7A 中描述。用环己酰亚胺处理 3 小时后检测到对照细胞中内源 AR 浓度降低,表明从头 AR 合成有助于这种受体的稳态水平。观察到的 AR 蛋白减少表明该试验化合物 (ASC-J9) 在 4 小时或更少时间内或增强或提高现有 AR 蛋白的降解 (并且因而降低 AR 活性)。

[0166] 为比较 ARD 增强剂与常规抗雄激素药在降低 AR 表达方面活性的效果,在 LNCaP 细胞上测试 ASC-J9 和常规抗雄激素药 CPA (醋酸环丙孕酮)、HF (羟基氟他胺) 和非那雄胺。图 7B, LNCaP 细胞在 ASC-J9、CPA、HF 或非那雄胺存在下培养 48 小时。随后收获细胞并通过蛋白质印迹法量化 AR 蛋白。仅 ASC-J9 处理导致降低的 AR 蛋白,表明 ASC-J9 诱导雄激素受体降解,而常规抗雄激素药 CPA、HF 和非那雄胺不诱导雄激素受体降解。

[0167] 实施例 5:突变雄激素受体的降解

[0168] 下文描述在与突变胞核受体积累相关的人疾病模型中降解突变胞核受体的非限制性实施例。在该具体实施例中,研究了肯尼迪 (Kennedy) 病模型。肯尼迪病或脊髓延髓肌萎缩症 (SMA) 是雄激素受体突变所致的神经退行性疾病,其中所述的雄激素受体突变由 AR 基因的 JV 末端区域中异常长的多聚谷氨酰胺延长物组成。用具有延长的多聚谷氨酰胺 (聚 Q49 (多聚谷氨酰胺的 49 重复序列)) 的突变 AR 实验性转染的细胞已证实与降低的

反式激活功能并且在一些情况下与错误折叠的 AR 蛋白的核内包含物相关 (Chamberlain 等人 (1994) *Nucleic Acid Res.*, 22 :3181-3186)。异常 AR 的这种核内积累是有细胞毒性的, 触发神经元细胞死亡, 这与肯尼迪病的体内病理学一致。

[0169] 猴肾 COS-1 细胞以每 0.5-毫升体积  $3 \times 10^4$  个细胞的密度接种到醇清洁和消毒的盖玻片上, 其中所述的盖玻片置于含有 Dulbecco 改良 Eagle's (DME) 培养基的 35 毫米悬浮培养皿中, 所述培养基含 10% FBS。细胞用含有野生型 AR (GFPAR) 或聚 Q49 (野生型 GFPARQ49) 突变雄激素受体和作为报道分子的绿色荧光蛋白 (GFP) 的质粒转染。对于每个盖玻片, 将 12.3 微升 SuperFect 添加至 102.5 微升 DME 培养基中的 3.075 微克野生型 (以产生 DNA 对 SuperFect 试剂的 1 : 4 比率); 短暂涡旋混合该混合物, 并且使该复合物经 15 分钟形成。每份混合物随后接受 897 微升 CD/DME 并轻柔混合。将所得的 1 毫升体积添加至含有所述盖玻片的培养皿 (质粒终浓度是每平皿 3.02 微克)。使细胞与转染溶液孵育 5 小时, 随后, 将培养基更换成仅含所添加载体 (DMSO) 或 ASC-J9 (终浓度 5 微摩尔) 的 1.5 毫升新鲜 CD/DME 培养基。转染终止后 24 小时, 再次将培养基更换成新鲜 CD/DME 培养基 (含或不含 1.5 纳摩尔 DHT), 并且添加载体或 ASC-J9 (终浓度 5 微摩尔)。更换培养基 24 小时后, 除去培养基并用磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中的 1% 甲醛在室温固定细胞 1 小时。移去甲醛并用 PBS 洗涤固定的细胞 3 次, 并随后使盖玻片干燥。标记盖玻片以显示处理方案并且用蜡笔在细胞周围画出疏水环。每个盖玻片用 200 微升碘化丙啶 (水中每毫升 0.7 微克) 在室温染色 5 分钟, 随后用 PBS 淋洗 3 次。盖玻片经空气干燥, 用甘油基固定剂固定于载玻片上并根据需要贮存在 4 摄氏度, 随后用荧光显微镜观察。图 8A 和 8B 中描述了显示用 GFPAR 和 GFPAR 聚 Q49 野生型转染的 COS-1 细胞的代表性显微照片。如显微照片中所示, 转染的细胞通过荧光报道蛋白 GFP 所示, 表达所述质粒。对照细胞含有大量的荧光包含物或聚集物 (图 8B)。已经用 ASC-J9 处理的细胞含有显著更少量的荧光包含物, 表明表达的突变聚 Q49 雄激素受体因 ASC-J9 处理而降解。

[0170] 实施例 6 : 通过降解雄激素受体减少大鼠中的皮脂腺

[0171] 在这个实施例中, 使用试验化合物 ASC-J9 来减少动物模型中的皮脂腺叶尺寸, 其中在先前实施例中证实所述试验化合物 ASC-J9 特异性地通过诱导雄激素受体降解而缓解雄激素受体激活途径的作用并且有效治疗人受试者中的痤疮。皮脂腺通过局部治疗的有效减少可以用于治疗皮肤病症如痤疮。如通过引用方式完整并入的 Ye 等人 (1997) *Skin Pharmacol*, 10 :10288-10297 中所述, Fuzzy 大鼠用于这个动物模型中。

[0172] 局部用膏剂如稍后实施例 12 所述制备。试验膏剂含有 ASC-J9 (25 微摩尔) 或还制备仅含有所添加载体的对照膏剂。使用棉签施加试验膏剂或对照膏剂至动物的背部皮肤, 每日一次, 持续 8 周时间。然后, 处死动物并收集皮肤样品用于显微镜检验。将商业褪毛剂施加至麻醉动物的背部表面。5 分钟后, 褪毛剂和毛发随组织除去。该部位用 75% 异丙醇彻底清洁。4-毫米皮肤打孔器用来取出皮肤组织样品, 所述皮肤组织样品在乙二胺四乙酸 (EDTA, 17 毫摩尔)、磷酸钠 (0.1 摩尔, pH7.4) 溶液中于 37 摄氏度孵育 2 至 3 小时。将表皮仔细地与真皮分开并贮存在 10% 磷酸盐缓冲的福尔马林中。在显微镜检验前, 将样品固定在载玻片上。选择充分保留腺小叶的区域用于显微镜成像。扫描腺叶的边缘并且用 Image J 软件 (美国国家健康研究所) 获得所扫描腺叶的面积。

[0173] 结果在图 9 和图 10 中显示。如图 9 中所示, 在用 ASC-J9 处理的 Fuzzy 大鼠中皮肤

皮脂腺带的棕颜色在 4-5 周内减弱。如图 10A-C 中所示,尽管没有到因阉割所致的程度,用化合物 ASC-J9 (200 $\mu$ M) 局部治疗雄性大鼠引起皮脂腺大小明显降低。在图 10D 中,数据显示仅用载体(对照膏剂)局部治疗未引起腺叶大小的显著变化。尽管未到因阉割所致的程度,用 ASC-J9 多个浓度的局部治疗导致皮脂腺叶的大小明显降低(图板 A),不过好于常规抗雄激素药氟他胺。图 10E(标记的图板 B)描述代表性数据,其显示施加至皮肤的 ASC-J9 显著地降低雄性 Fuzzy 大鼠中皮脂腺导管的大小,可与阉割效果相比较并且好于氟他胺。

[0174] 实施例 7:通过降解雄激素受体治疗动物模型中雄激素诱导的脱毛症

[0175] 本实施例描述通过降解胞核受体治疗受试者中的胞核受体相关疾病。在这个实施例中,胞核受体是类固醇激素受体,雄激素受体。胞核受体相关疾病是已知受雄激素受体影响的脱毛症(脱发或秃顶)。在这个实施例中,使用试验化合物 ASC-J9 来减少动物模型中的脱发,其中在先前实施例中证实所述试验化合物 ASC-J9 特异性地通过诱导雄激素受体降解而缓解雄激素受体激活途径的作用。

[0176] C57BL/6J 小鼠用于这个脱发和再生长的动物模型中(Uno 等人(1990) *J. Cutaneous Aging & Cosm. Derm.*, 1:193, 该文献通过引用的方式完整并入本文)。6 周龄雄性小鼠(每组 6 至 7 只动物)用电动剪剃毛并且随后用褪毛膏剂处理 1 至 2 分钟。从该研究中排除剃毛后发现具有深皮肤颜色的动物,其中所述的深皮肤颜色表明这些动物处于其中存在毛囊活跃生长的毛发生长期。在除去毛发 1 日后,第一组动物均接受 100 微升在乙醇中的 1% 睾酮溶液,局部施加至剃毛区域,每个早晨一次,连续 20 日。第二组动物均接受仅 100 微升载体(乙醇),局部施加至剃毛区域,每个早晨一次,连续 20 日。第一组小鼠(睾酮处理)进一步分成对照组和治疗组。也在除去毛发 1 日后开始,对照组中的每只小鼠接受 100 微升对照溶液(60% 乙醇,20% 丙二醇和 20% 水)并且治疗组中的每只小鼠接受 100 微升试验化合物 ASC-J9(在相同的 60% 乙醇、20% 丙二醇和 20% 水溶液中 0.02%),局部施加至剃毛区域,每个下午一次,连续 20 日。观察到剃毛区域中的毛发再生长并在局部治疗开始后 0、4、8、11 和 14 日拍照。

[0177] 剃毛并随后接受早晨局部施加睾酮和下午局部施加仅对照溶液的小鼠在 20 日治疗后显示剃毛区内毛发很少或无再生长(图 11A)。剃毛并随后接受早晨局部施加仅乙醇载体(无睾酮)的小鼠在 20 日局部载体治疗后显示剃毛区内毛发的迅速再生长(图 11A)。

[0178] 剃毛并随后接受早晨局部施加睾酮和下午局部施加仅对照溶液的小鼠在 17 日治疗后显示剃毛区内毛发很少或无再生长(图 11A)。剃毛并随后接受早晨局部施加睾酮和下午局部施加 ASC-J9 的小鼠从第 8 日至第 17 日显示剃毛区内毛发的迅速再生长(图 11B)。这些结果表明局部施加 ASC-J9(已知降解雄激素受体的一种化合物)能够克服动物模型中睾酮诱导的毛发生长抑制。

[0179] 实施例 8:使用胞核受体降解化合物 ASC-J9 体内减少癌肿瘤

[0180] 将 2 百万个 LNCaP 肿瘤细胞皮下接种到裸鼠的左侧腹。在实验动物中,每周 3 次以 100mg/kg/日给予裸鼠腹膜内(ip)注射化合物 ASC-J9 或仅注射载体。治疗 7 周后,将肿瘤切下、称重并比较。载体对照与 ASC-J9 的肿瘤重量比率是 0.694g : 0.172g,因而 ASC-J9 治疗的动物显示 75% 的肿瘤大小减少。此外,来自 ASC-J9 治疗的动物血浆中的 PSA(前列腺特异性抗原)水平降低 90%(从 57.0ng/ml 降低至 7.6ng/ml)。结果在图 12 中显示。

[0181] 实施例 9:ARD 增强剂 ASC-J9 化合物能够加速动物模型中的皮肤伤口愈合。

[0182] 使用 Balb/c 小鼠,测试 ASC-J9 在动物模型中加速伤口愈合的能力。使用皮肤打孔器,在靠近退役繁育雄性 Balb/c 小鼠的脖颈区域背部产生伤口。小鼠用 ASC-J9 膏剂 (25  $\mu$ M) 或载体对照膏剂每日两次局部在伤口部位处治疗。参考图 13,与载体治疗的动物相比,ASC-J9 治疗的动物在第 5 日具有更小的伤口大小;并且在 ASC-J9 治疗的小鼠中,伤口于第 10 日完全愈合;而在载体治疗的动物中,仍可见到伤口结痂过程。

[0183] 实施例 10 :通过降解雄激素受体治疗人受试者中的雄激素相关疾病

[0184] 本实施例描述通过降解胞核受体(雄激素受体)治疗受试者中的胞核受体相关疾病(寻常痤疮)。寻常痤疮,通常简单地称作痤疮,是通常影响两性少年和青年成人的面部、胸部和背部的红色皮肤疹,尽管它可以在任何年龄和在其他身体区域上出现(见,例如, J. C. Harper 和 J. Fulton, Jr. (2003), " Acne Vulgaris", 以电子方式在 [www.emedicine.com/derm/topic2.htm](http://www.emedicine.com/derm/topic2.htm) 可获得,2004 年 4 月 23 日登陆)。痤疮在人生命的某些时间点上几乎影响全部人,并且可以引起永久疤痕和情感抑郁和低自尊,以及潜在地导致严重的健康问题,如皮肤感染。表达于皮脂腺基部细胞和腺细胞中的雄激素受体具有在雄性和雌性之间相似的皮肤分布 (Blauer 等人 (1991) J. Investig. Dermatol. ,97 :264-268)。在皮肤中,雄激素受体刺激终末皮脂细胞分化和皮脂产生。痤疮的常见疗法经常具有不受欢迎的副作用。例如,局部用类视黄醇可以导致阳光敏感性,抗生素可以产生抗生素抗性,并且过氧化苯甲酰可以引起接触性皮炎。需要新且有效的、优选局部(非全身性)的痤疮疗法。

[0185] 在本实施例中,人受试者成功地通过局部施用含有化合物 ASC-J15 或 ASC-J9 的膏剂治疗了痤疮,其中在先前实施例中呈现的化合物 ASC-J15 或 ASC-J9 特异性地通过诱导雄激素受体降解而缓解雄激素受体激活途径的作用。通过混合以下两种溶液制备一种基础载体制剂:(1) 含有丙烯酰二甲基牛磺酸胺 /VP 共聚物 (aristoflex avc)、Osmocide、Tween 20 和水的水基溶液;和 (2) 含有十四酸异丙酯、椰油二乙醇胺 (coconut diethanolamine)、对羟基苯甲酸乙酯、异对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯的油基溶液。根据需要,将试验化合物 (ASC-J15 或 ASC-J9) 添加到该膏剂至终浓度 1 至 2.5 微摩尔。

[0186] 年龄从 15 岁至 52 岁的男性和女性志愿者通过局部施加试验化合物至患痤疮的皮肤进行治疗。要求受试者一日两次(一次在早晨并且一次在晚上)施加膏剂至患痤疮的区域。通常,观察到痤疮症状在 2 至 3 日内明显减退并且 1 至 2 周内完全愈合。结果在表 2 中给出并且来自一位志愿者的代表性结果(照片图)在图 14 中描述。图 14A 描述该志愿者的前额而图 14B 描述该志愿者的背部。

[0187] 表 2

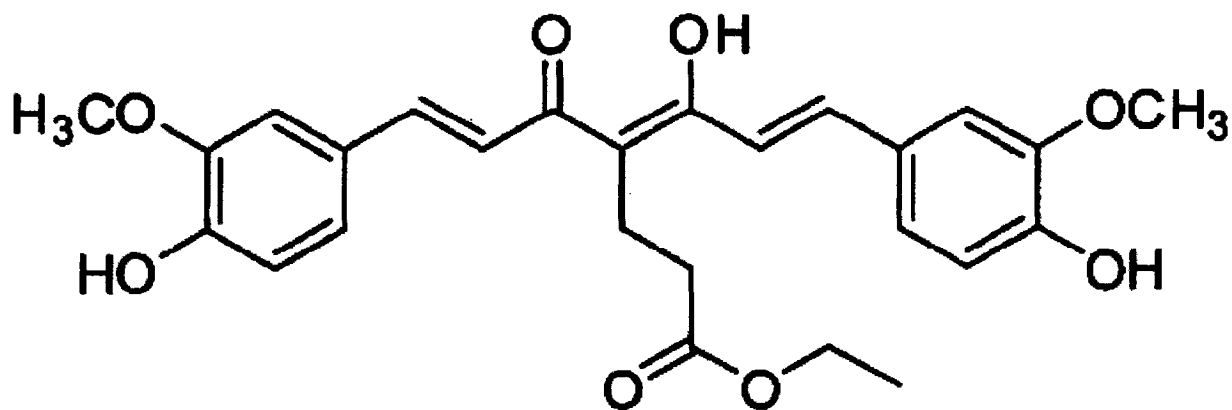
[0188]

受试者		治疗			相对有效性	恢复时间
年龄	性别	化合物	浓度(微摩尔)	频率		
17	女	ASCJ15	1	一日两次	++	1 周
15	男	ASCJ15	1	按所需,经常	+++	1 周

[0189]

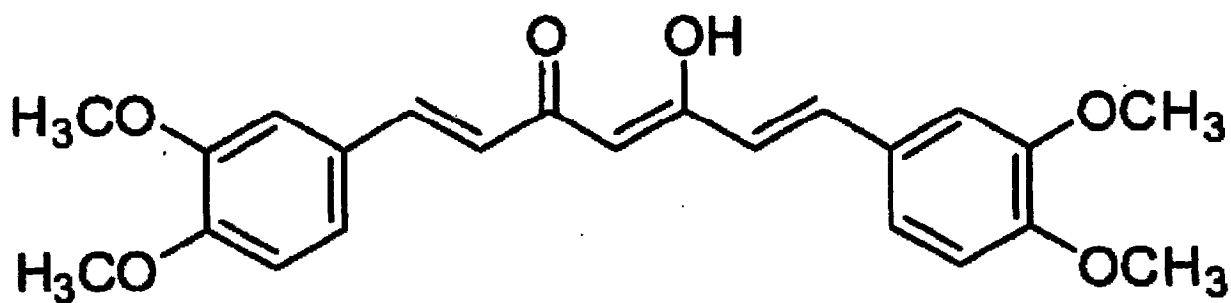
15	男	ASCJ15	1	按所需, 经常	+++	1 周
38	女	ASCJ15	1	按所需, 经常	++	2 周
52	女	ASCJ15	1	一日两次	++	2 周
42	女	ASCJ15	1	一日两次	++	2 周
19	男	ASCJ9	1	一日两次	+	2 周
18	女	ASCJ9	1	一日四次	+++	1 周
24	女	ASCJ9	2.5	一日两次	+++	1 周

[0190] 除非特别说明的, 全部标题旨在方便读者并且不应当用来限制该标题后续文本的意思。可在不脱离本发明的精神和范围下对本发明作出多种改变和偏离。因此, 不试图使本发明限于本说明书中具体描绘或如附图中所示的那些内容, 而使其仅如权利要求书所述。



5-羟基-7-(4-羟基-3-甲氧苯基)-4-[3-(4-羟基-3-甲氧苯基)-丙烯酸酰]-辛-4,6-二烯酸乙酯

(ASC-J15)

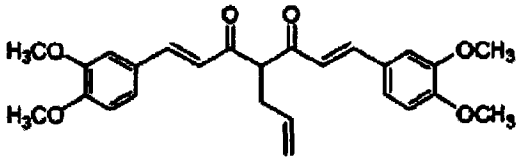
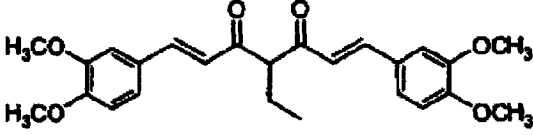
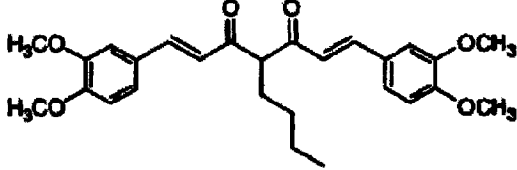
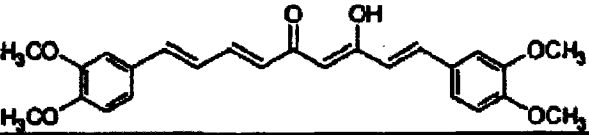
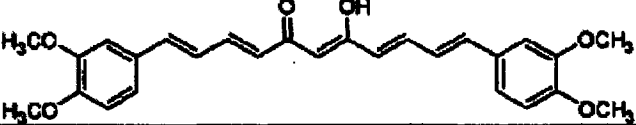
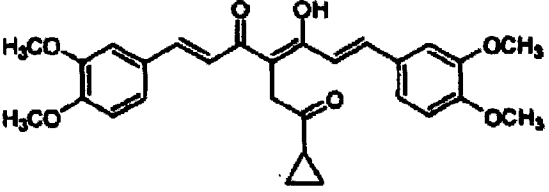
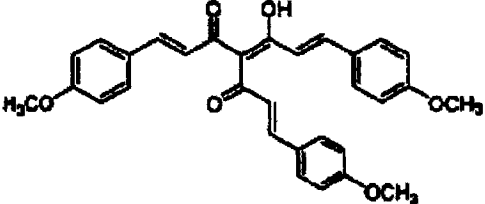


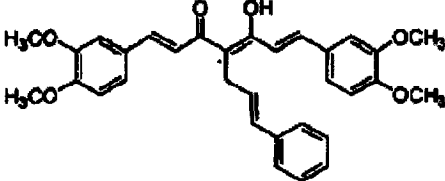
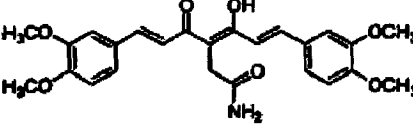
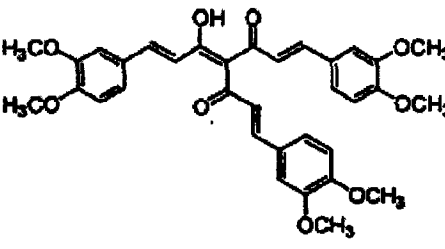
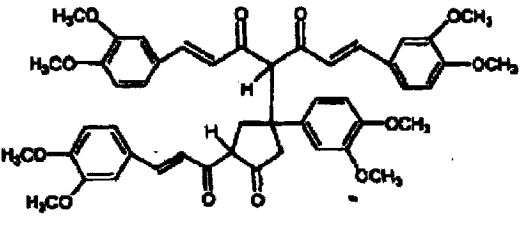
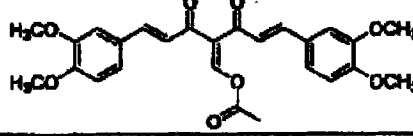
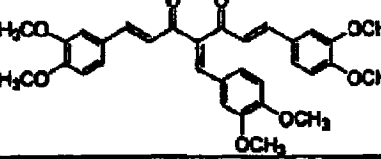
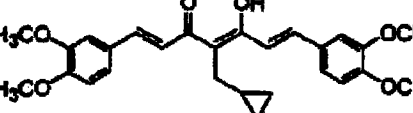
1,7-双-(3,4-二甲氧苯基)-5-羟基-辛-1,4,6-三烯-3-酮(二甲基姜黄素)

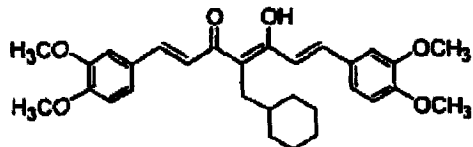
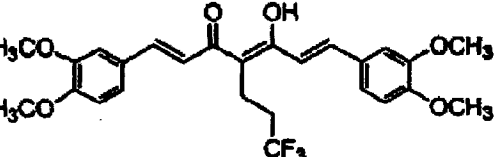
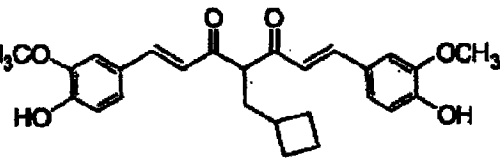
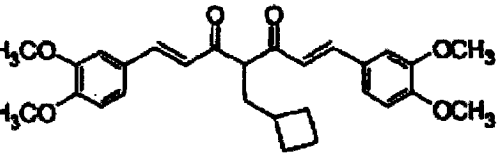
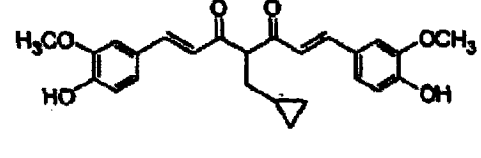
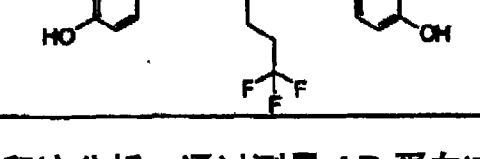
(ASC-J9)

图 1

化合物 ID	结构	分子式 分子量	*抗AR 活性
ASC-Q9		$C_{25}H_{28}O_7$ 440.49	++
ASC-Q44		$C_{27}H_{30}O_8$ 482.52	++
ASC-Q49		$C_{29}H_{35}NO_7$ 509.59	++++
ASC-Q77		$C_{27}H_{31}NO_7$ 481.54	+++
ASC-Q98		$C_{27}H_{31}NO_7$ 481.54	+++
ASC-Q99		$C_{26}H_{28}O_7$ 452.50	++

ASC-Q101		$C_{26}H_{28}O_6$ 436.50	++
ASC-Q102		$C_{25}H_{28}O_6$ 424.49	+++
ASC-Q103		$C_{27}H_{32}O_6$ 452.54	+++
ASC-Q110		$C_{25}H_{26}O_6$ 422.47	++
ASC-Q111		$C_{27}H_{28}O_6$ 448.51	++
ASC-Q113		$C_{28}H_{30}O_7$ 478.53	+++
ASC-Q116		$C_{31}H_{28}O_6$ 496.55	++

ASC- JM1		$C_{32}H_{32}O_6$ 512.59	+++
ASC- JM2		$C_{25}H_{27}NO_7$ 453.48	++
ASC- JM4		$C_{34}H_{34}O_9$ 586.63	+++++
ASC- JM5		$C_{47}H_{46}O_{12}$ 804.87	++++
ASC- JM6		$C_{26}H_{26}O_8$ 466.48	++
ASC- JM7		$C_{32}H_{32}O_8$ 544.59	+++++
ASC- JM12		$C_{27}H_{30}O_6$ 450.52	++++

ASC-JM13		$C_{30}H_{36}O_6$ 492.60	++
ASC-JM14		$C_{26}H_{27}F_3O_6$ 492.48	++++
ASC-JM16		$C_{26}H_{28}O_6$ 436.50	++
ASC-JM17		$C_{28}H_{32}O_6$ 464.55	++++
ASC-JM18		$C_{25}H_{26}O_6$ 422.47	++
ASC-JM19		$C_{24}H_{23}F_2O_6$ 464.43	+++

\*注： 使用蛋白质印迹分析，通过测量 AR 蛋白减少分析人前列腺癌细胞系 (LNCaP) 中的抗 AR 活性。化合物的相对效力表达为在细胞与化合物孵育 48 小时后，与载体对照相比的 AR 蛋白减少%。

图 2 示例性 ARD 增强剂及相应的抗 AR 活性

ASC-Q49、ASC-Q103、ASC-JM12 和 ASC-JM14 减少人前列腺癌细胞 (LNCaP) 中的雄激素受体 (AR) 蛋白表达

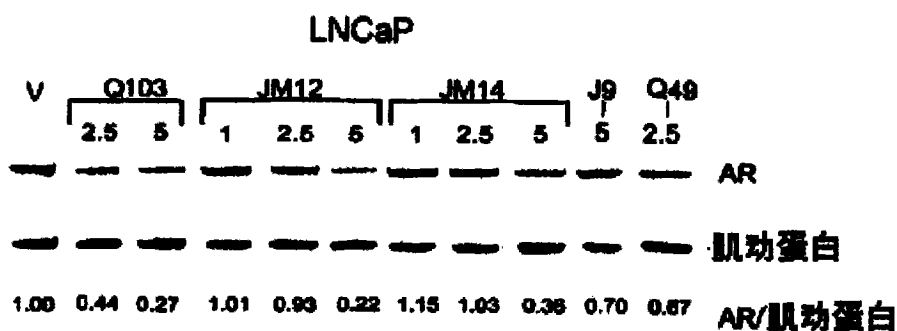


图 3A

ASC-Q49、ASC-Q77、ASC-JM4 和 ASC-JM5 减少人前列腺癌细胞 (LNCaP) 中的雄激素受体 (AR) 蛋白表达

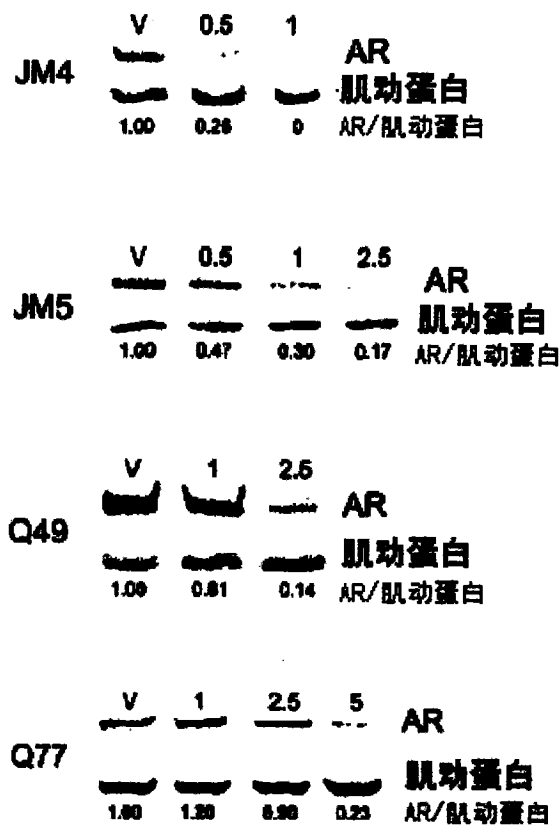


图 3B

ASC-J9 降低 AR 水平并抑制前列腺癌 (LNCaP) 细胞体外生长

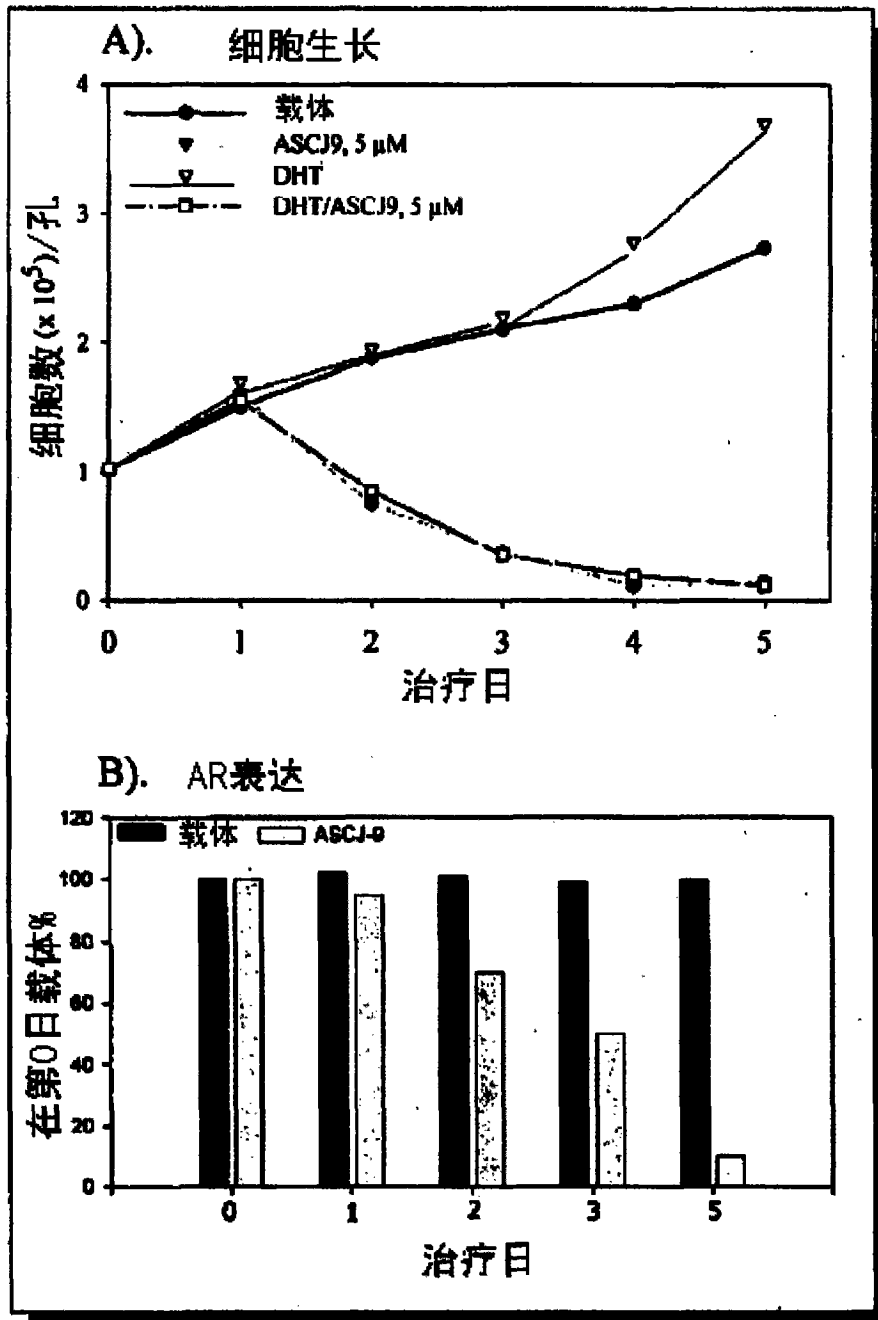


图 4

ASC-J9 选择性减少 LNCaP 细胞中的 AR 表达

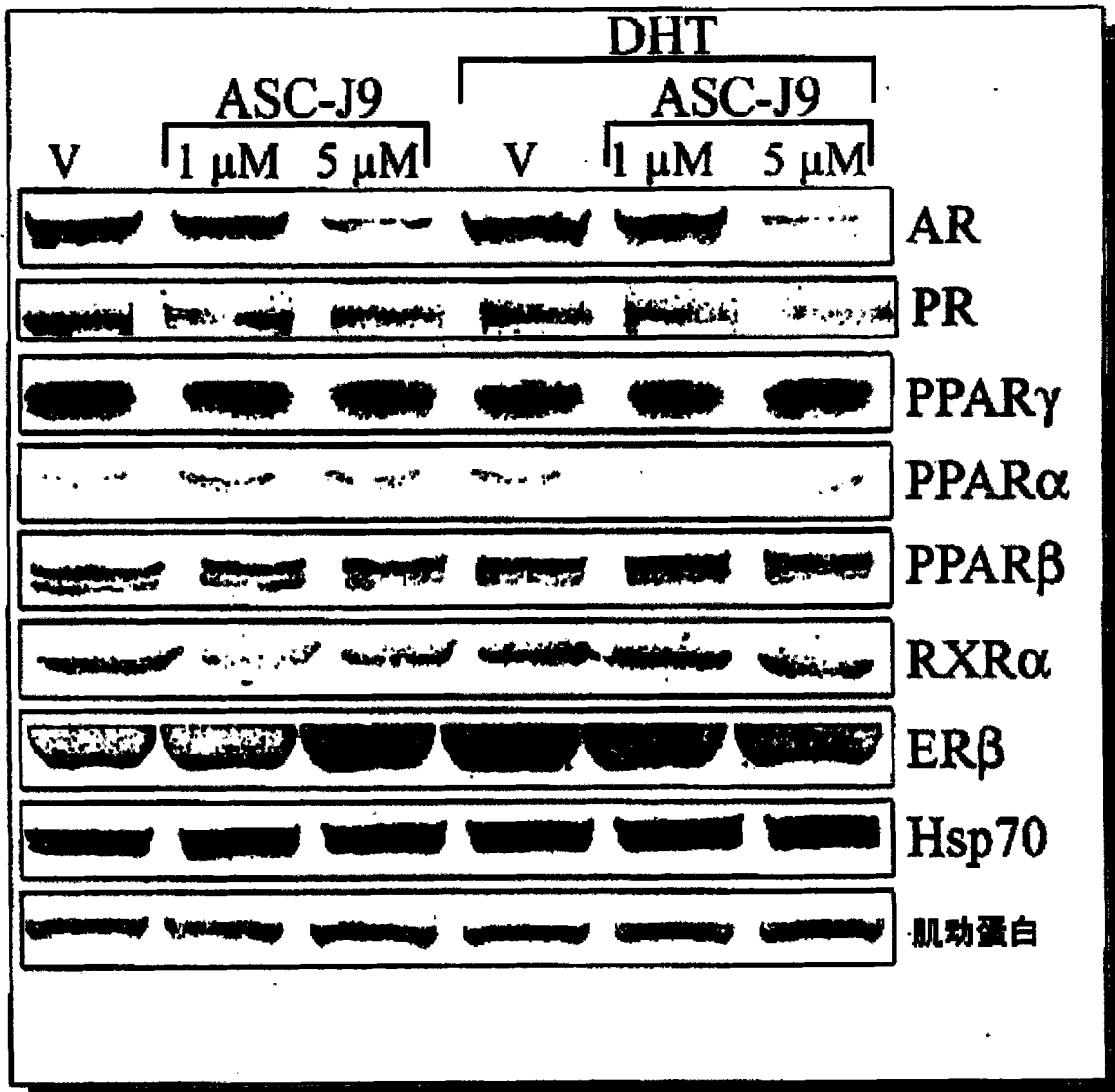


图 5

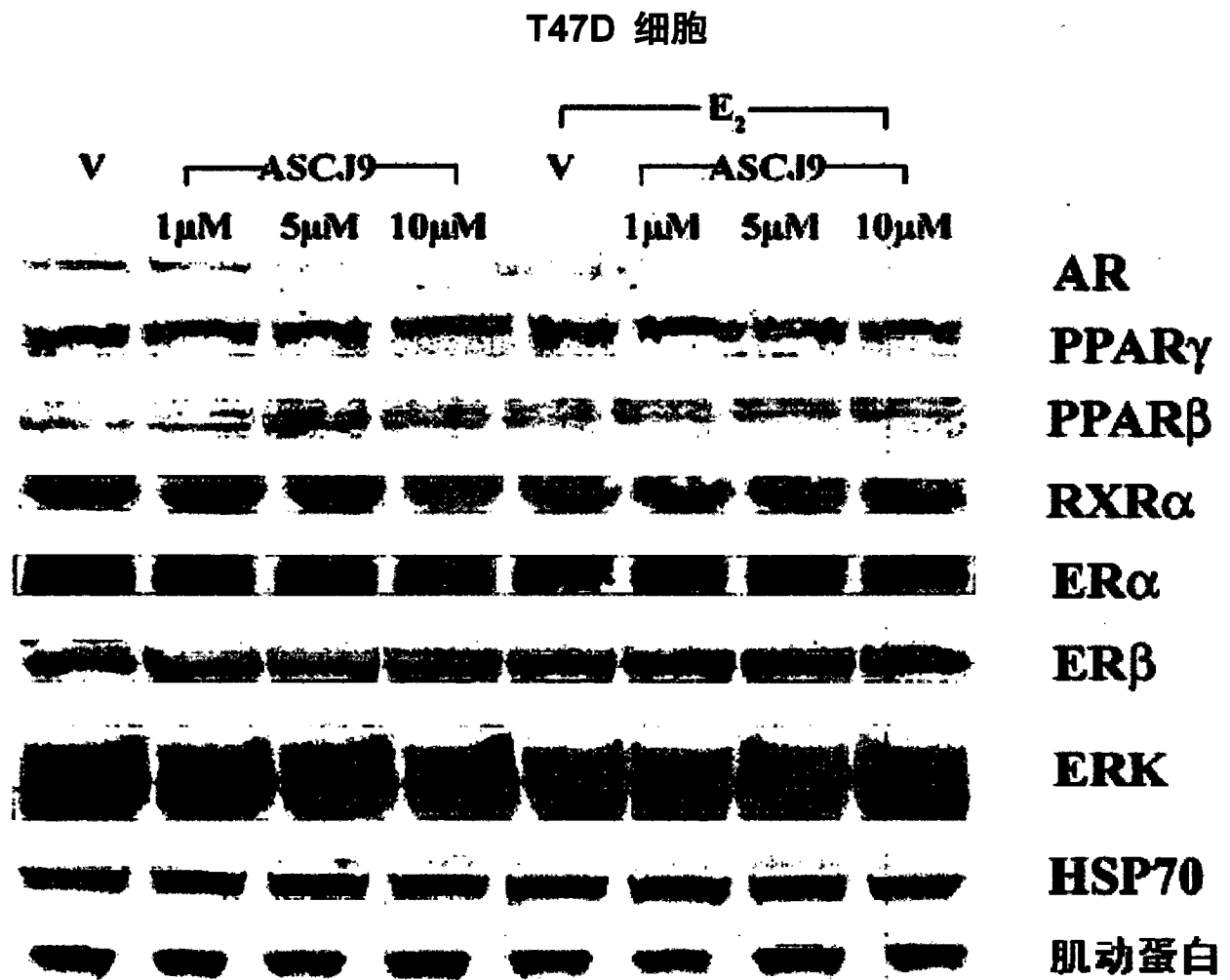


图 6

ASC-J 在环己酰亚胺存在下增强 AR 降解 LNCaP 细胞在环己酰亚胺中的 ASC-J9 存在下培养,在指定时间上收获,并通过蛋白质印迹法 (WB) 量化 AR

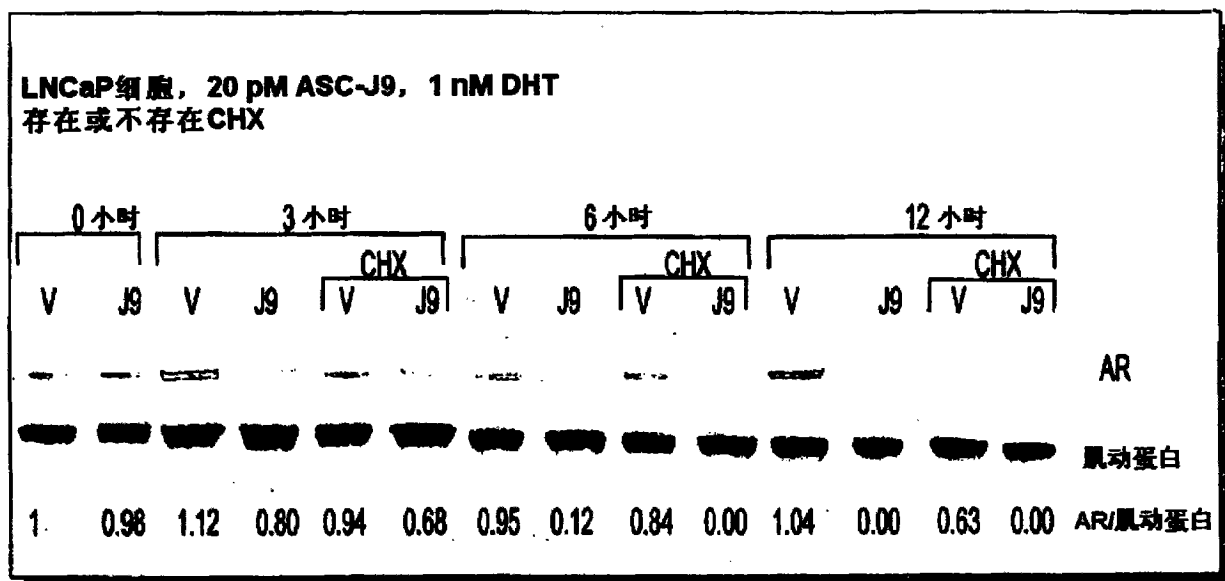


图 7

ASC-J9 诱导 AR 降解, 常规抗雄激素剂不能 LNCaP 细胞在 ASC-J9 和其他抗雄激素剂存在下培养 48 小时, 然后收获细胞, 并通过蛋白质印迹法 (WB) 量化 AR

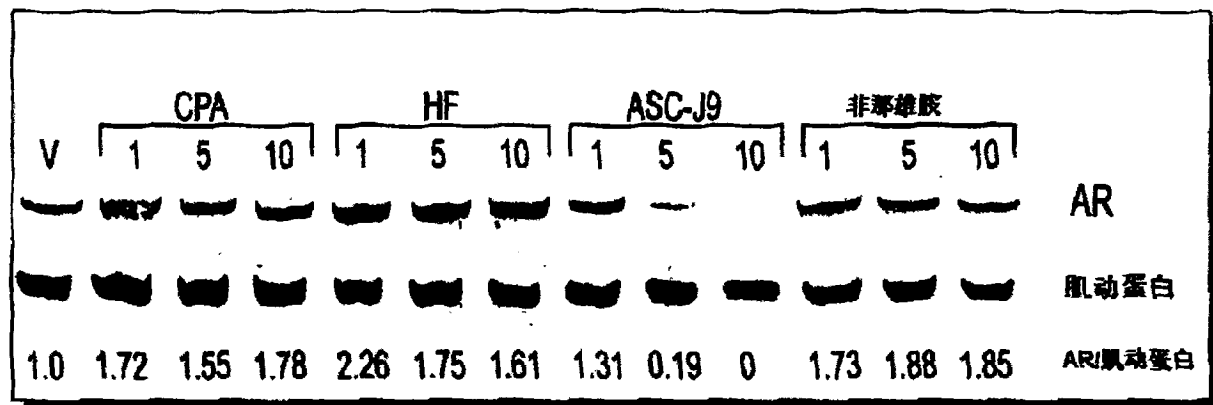


图 7B

ASC-J9 化合物降低使用 AR-GFP 构建体转染的 COS-1 细胞中的 AR 表达

**COS-1 细胞中的 AR 表达**



**在 ASC-J9 存在下 COS-1 细胞中的 AR 表达**

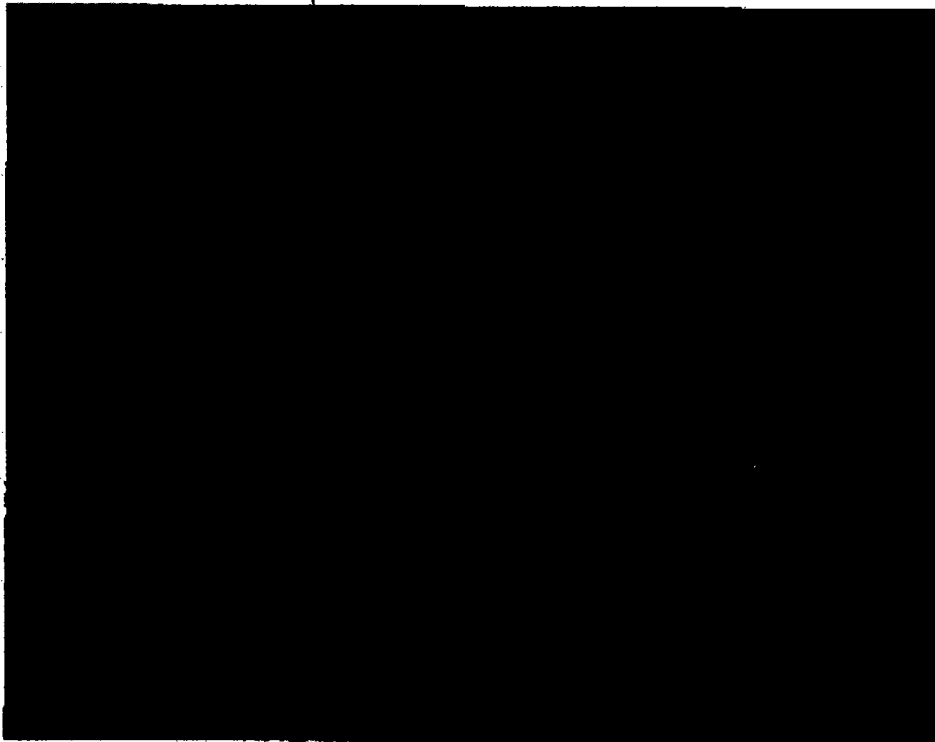


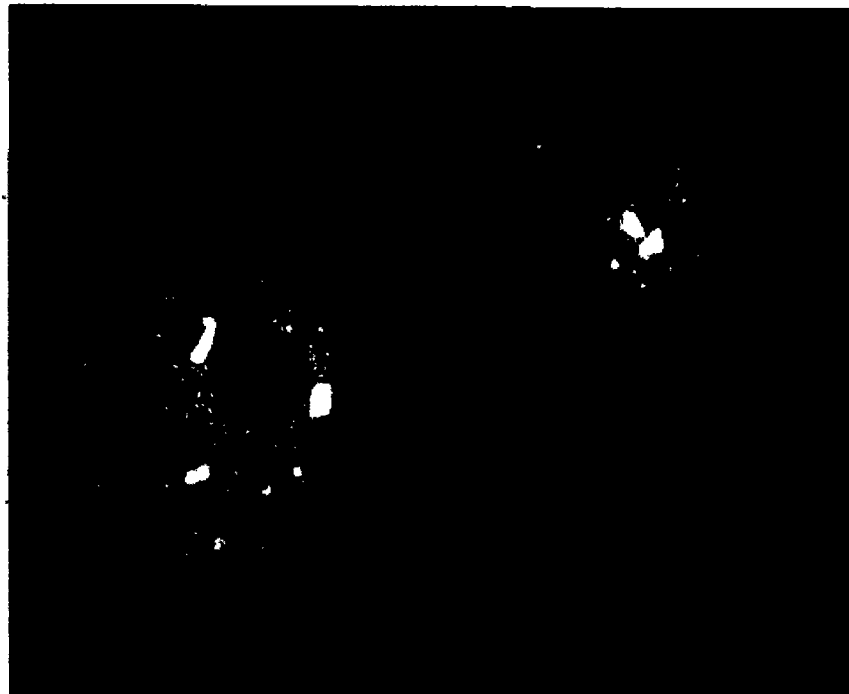
图 8A

**COS-1 细胞中的 GFPAR49Q (来自 KD 患者的突变 AR)表达**



**突变 AR 引起细胞浆中的 AR 聚集**

**COS-1 细胞中的 GFPAR49Q +ASC-J9(来自 KD 患者的突变 AR)表达**



**ASCJ 降解突变 AR 聚集物**

图 8B

ASC-J9 膏剂诱导雄性 Fuzzy 大鼠中皮脂腺（箭头）退化并降低皮脂分泌

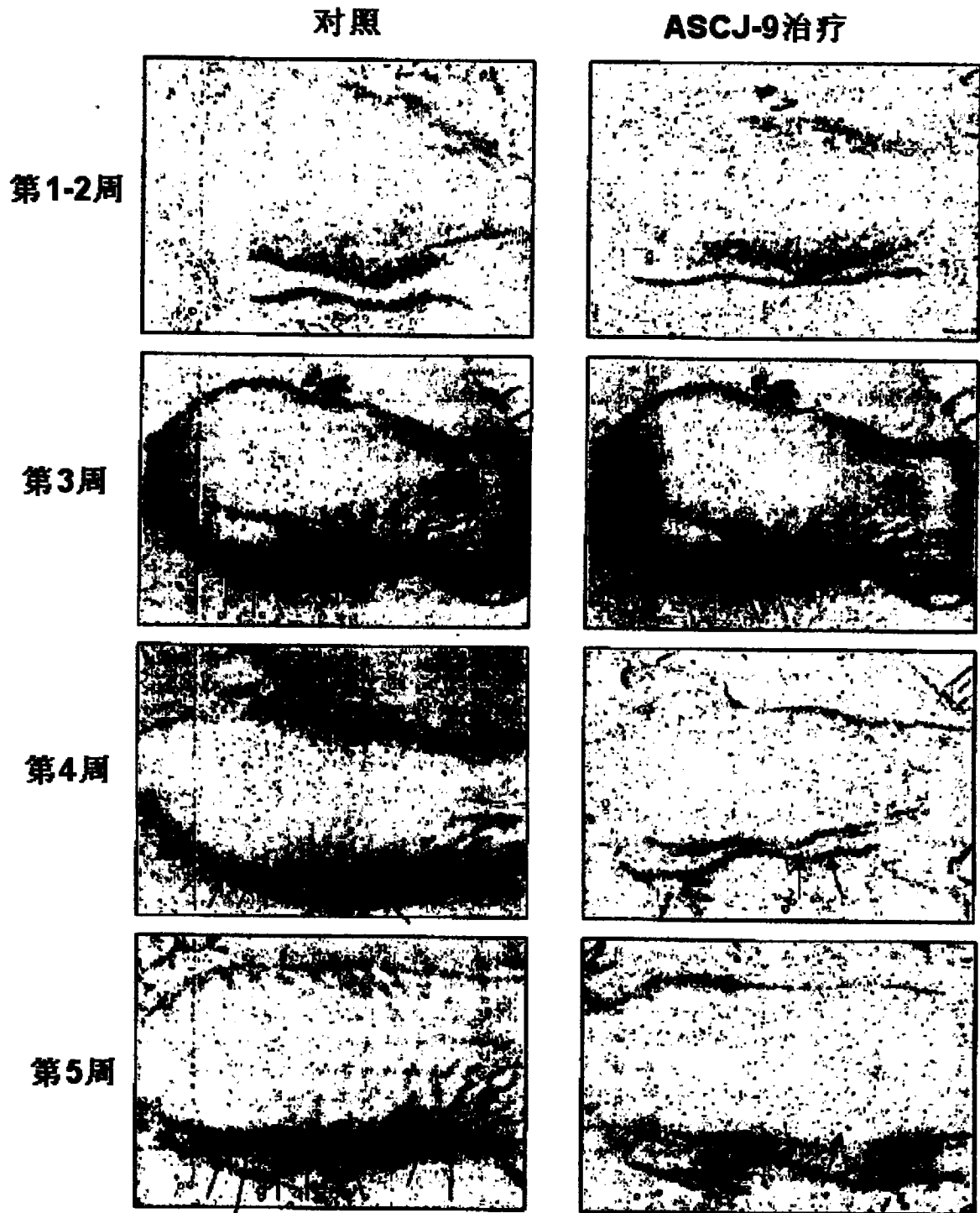
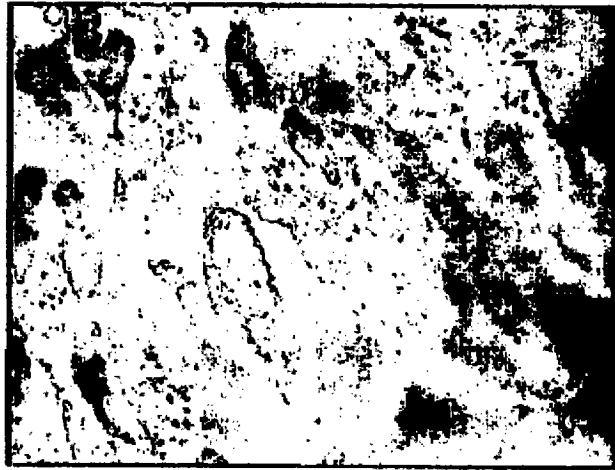


图 9

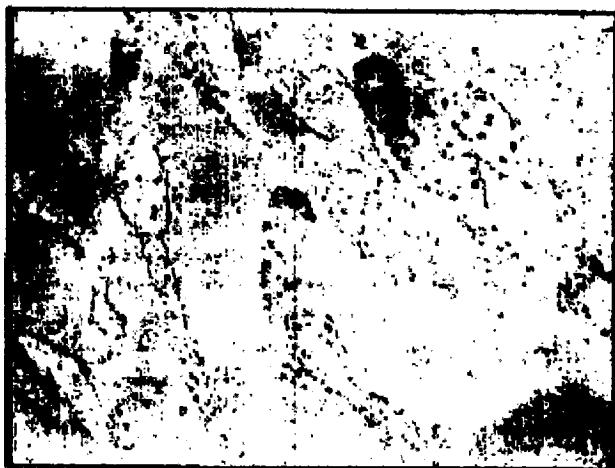
ASC-J9 减小 Fuzzy 大鼠中的皮脂腺尺寸并抑制皮脂细胞增生



载体



ASC-J9 (200µM)



阿割

图 10A-C

ASC-J9 减小 Fuzzy 大鼠中腺叶和导管中的皮脂腺尺寸

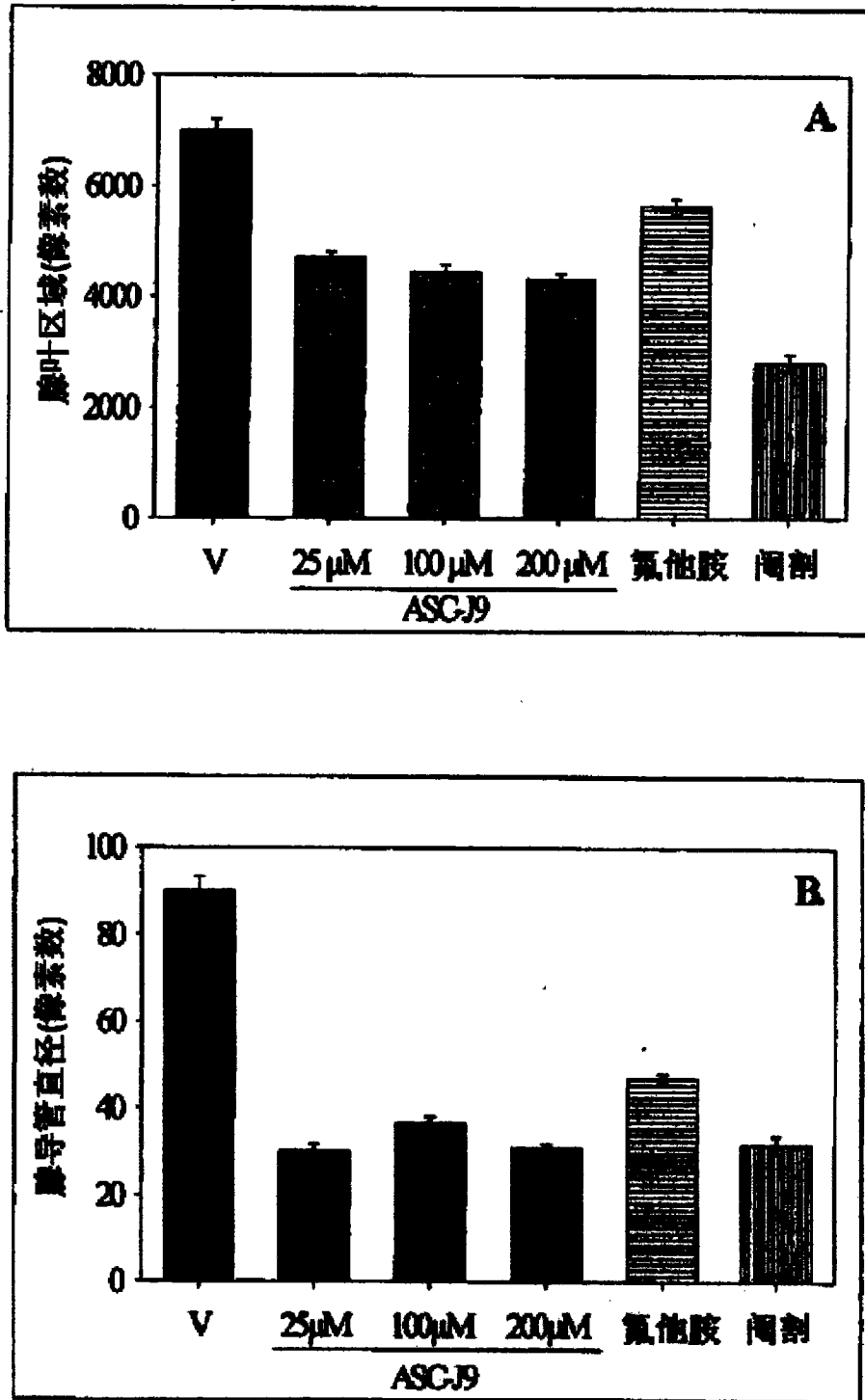
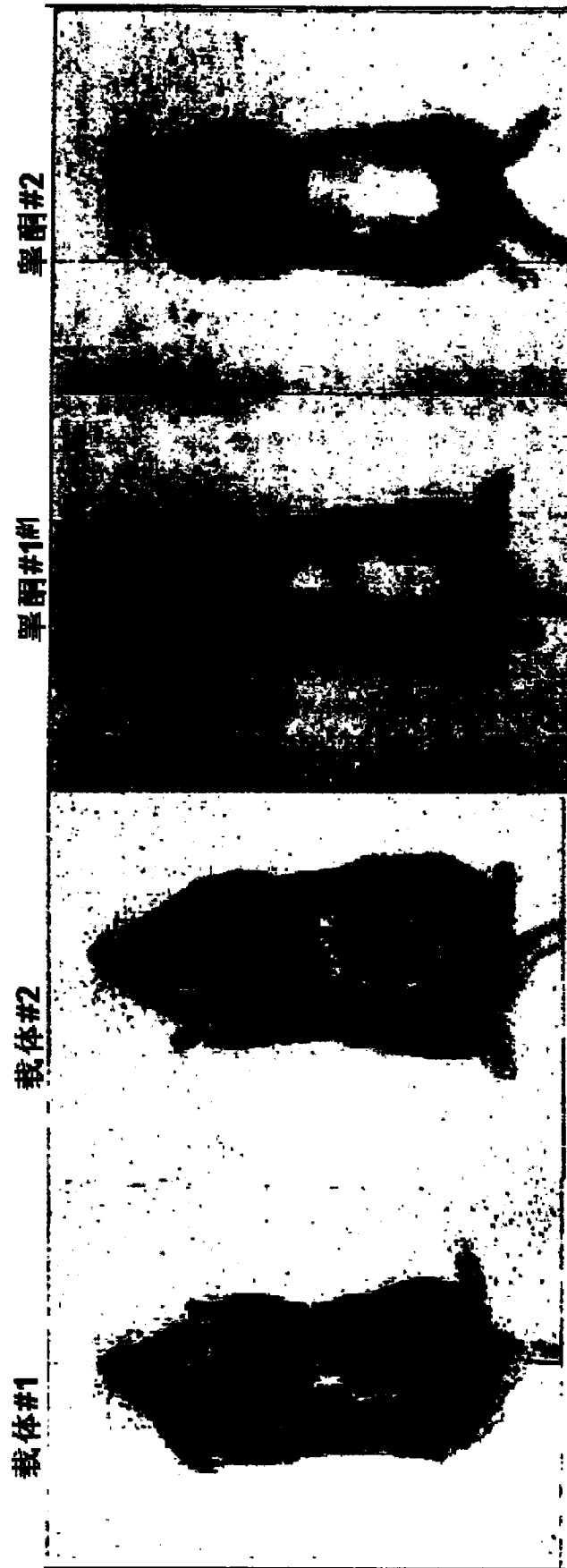


图 10D-E

脱发模型中雄激素诱导的“毛发生长抑制”



睾酮诱导的毛发生长抑制  
小鼠模型 H. Uno 等人, J. Cutaneous, Aging & Cosm Derm 1:193 (1990)

图 11A

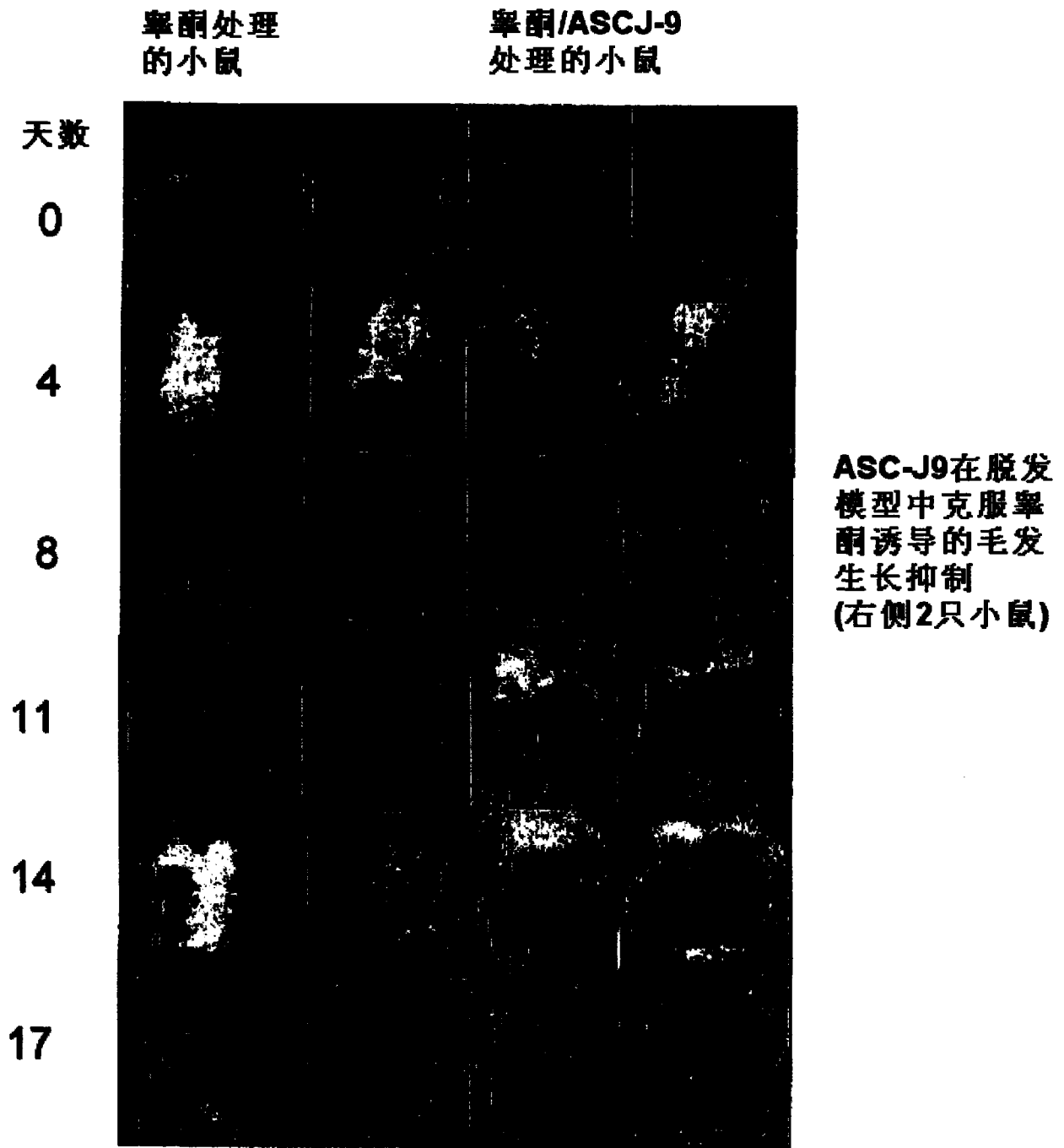
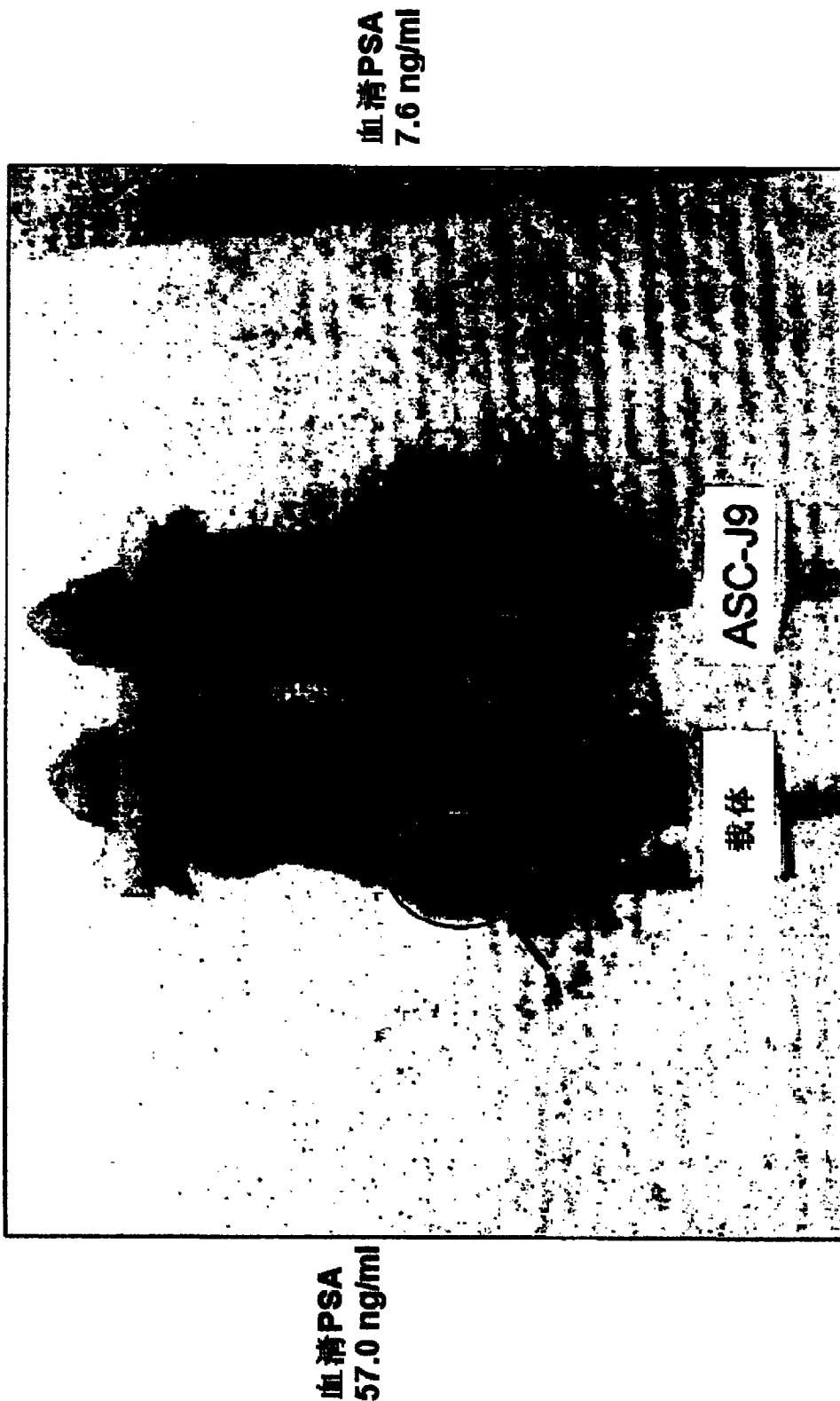


图 11B

**ASC-J-9抑制裸鼠中的人前列腺肿瘤(LNcaP)生长**



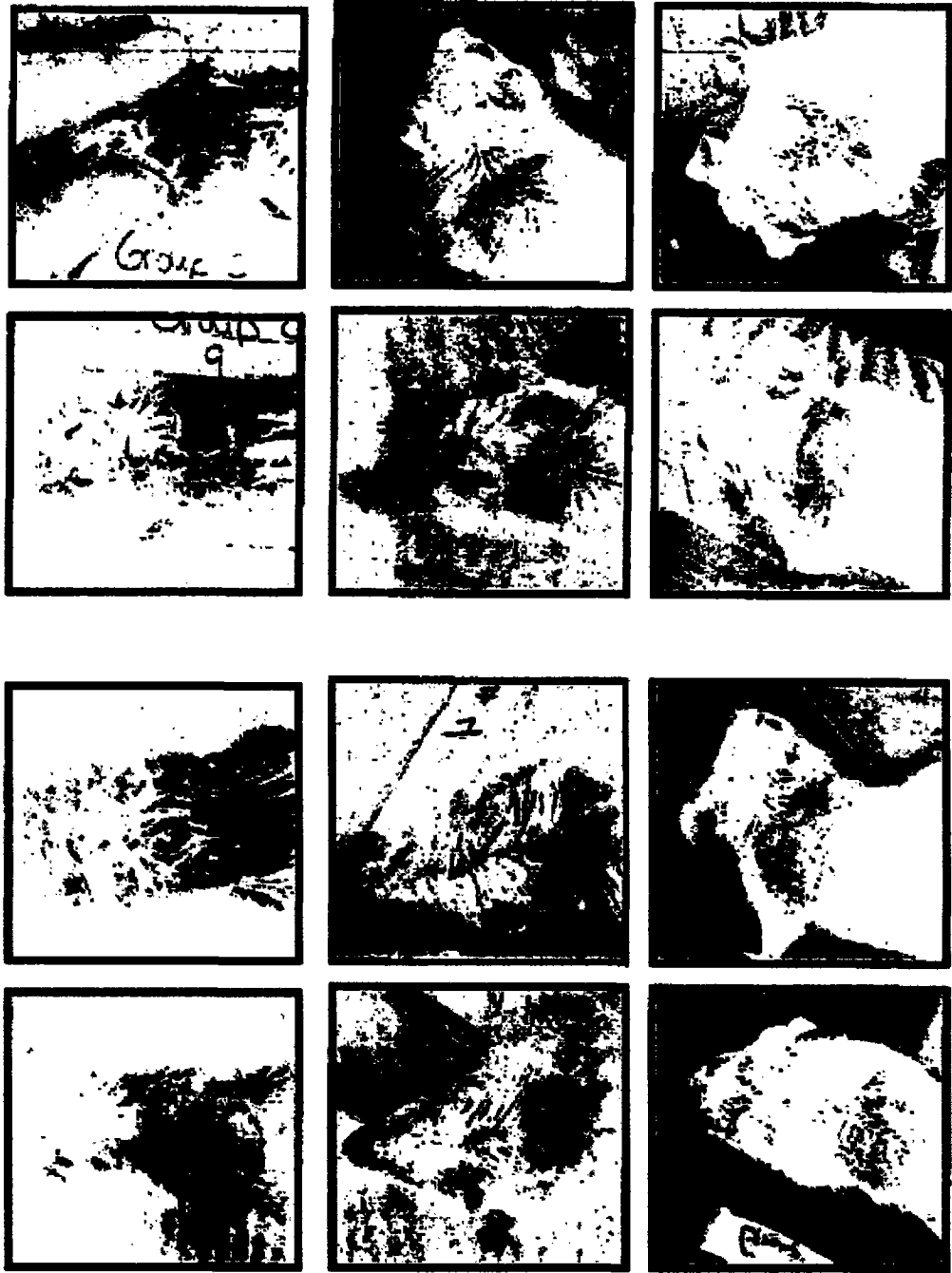
动物接受ASC-J-9腹腔内注射(100 mg/kg, 每周3次)持续7周, 与载体对照动物相比, 它们的肿瘤重量降低75% 并且血清PSA水平降低90%

图 12

ASCJ加速小鼠中的伤口愈合

用ASCJ-9膏剂治疗的小鼠

用载体治疗的小鼠



天数 0

天数 5

天数 10

图 13

ASC-J15 膏剂在人志愿者中的抗痤疮活性



治疗前

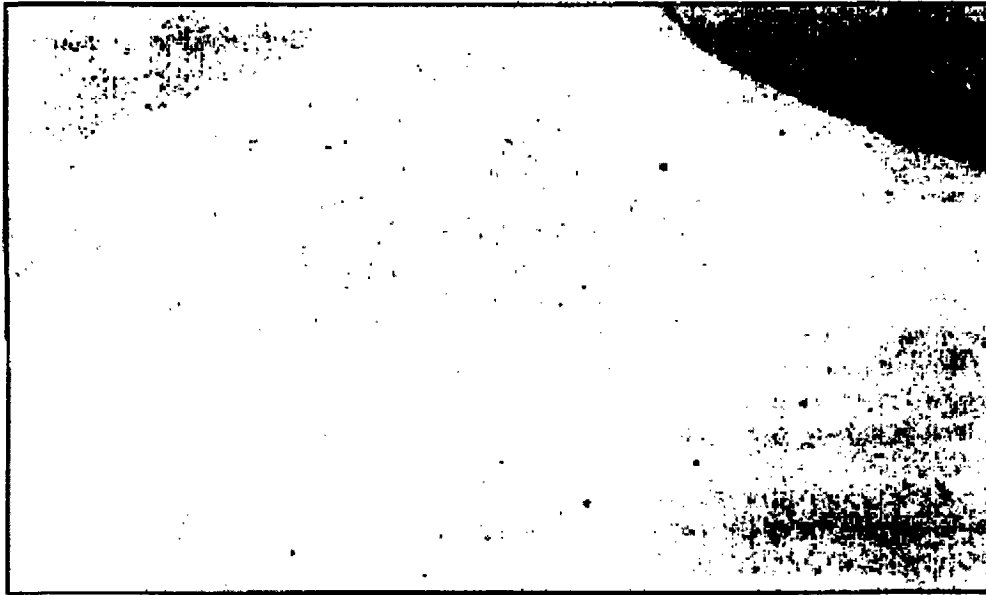


用 ASCJ 膏剂治疗后 1 个月

图 14A

用 ASC-J9 膏剂治疗的受试者 BJL

**基线**



**第 14 天**

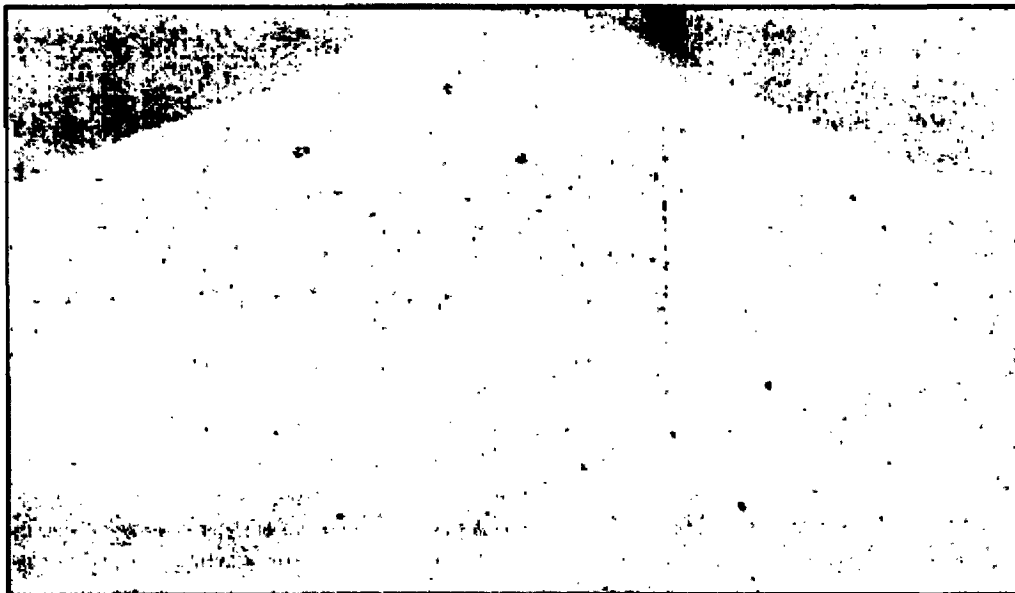


图 14B