(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 114007603 A
(43)申请公布日 2022.02.01

(21)申请号 202080046190.4

(22)申请日 2020.04.24

(30)优先权数据
62/838216 2019.04.24 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.12.23

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CA2020/050547 2020.04.24

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/215164 EN 2020.10.29

(71)申请人 因美制药公司
地址 加拿大不列颠哥伦比亚省

(72)发明人 E·徐 U·库马 R·K·索姆万施 S·邹

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 罗文锋 彭昶

(51)Int.Cl.
A61K 31/352(2006.01)
A61K 9/10(2006.01)
A61K 9/107(2006.01)
A61P 25/28(2006.01)
A61P 27/02(2006.01)
C07D 311/58(2006.01)
C07D 311/60(2006.01)
C12N 5/079(2006.01)

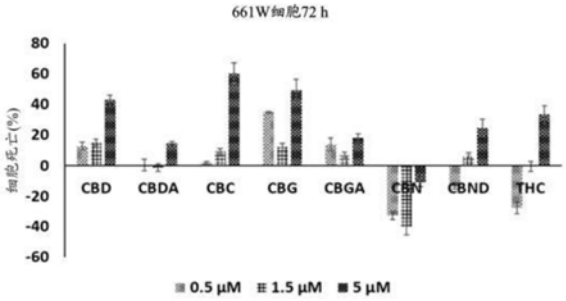
权利要求书3页 说明书23页 附图8页

(54)发明名称

用于使用大麻素进行神经保护的组合物和方法

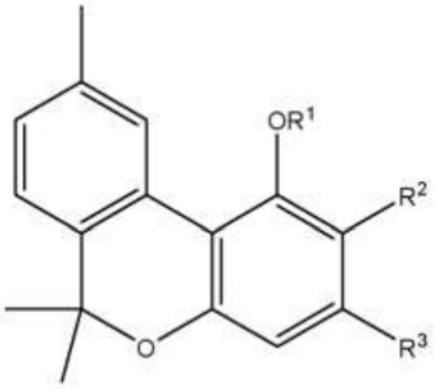
(57)摘要

本文提供了用于神经保护的方法和组合物。所述神经保护组合物可以是或包含大麻酚或其衍生物。所述神经保护组合物可用于治疗神经变性疾病。所述神经保护组合物可用于保护有需要的受试者的视网膜神经元免于变性，诸如用于治疗青光眼。



CN 114007603 A

1.一种保护神经元免于神经变性的方法,所述方法包括使所述神经元与包含足以抑制神经变性的量的神经保护化合物的组合物接触,其中所述神经保护化合物包含式I的化合物:



其中

I ,

R^1是H,R^2是COOH,并且R^3是n-C_5H_{11};

R^1是H,R^2是H,并且R^3是n-C_5H_{11};

R^1是CH_3,R^2是H,并且R^3是n-C_5H_{11};

R^1是H,R^2是H,并且R^3是n-C_4H_9;

R^1是H,R^2是H,并且R^3是n-C_3H_7;

R^1是H,R^2是H,并且R^3是C_2H_5;或者

R^1是H,R^2是H,并且R^3是CH_3,

或其衍生物。

2.如权利要求1所述的方法,其中所述接触包括向有需要的受试者施用所述组合物。

3.如权利要求1或2所述的方法,其中所述神经元是视网膜神经元。

4.如权利要求2或3所述的方法,其中所述接触包括向有需要的受试者施用所述组合物并且所述受试者罹患神经变性疾病。

5.如权利要求4所述的方法,其中神经变性疾病是影响眼睛的神经变性疾病,优选其中所述神经变性疾病选自由青光眼、年龄相关性黄斑变性(AMD)、视网膜色素变性和糖尿病视网膜病变组成的组。

6.如权利要求4所述的方法,其中神经变性疾病是青光眼。

7.如权利要求6所述的方法,其中所述方法包括同时或依次施用用于治疗青光眼的另外的活性剂。

8.如权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述足以抑制神经变性的量是足以减少与所述组合物接触的神经元群体的细胞凋亡量或细胞凋亡速率的量。

9.如权利要求1至8中任一项所述的方法,其中所述神经元经受高静水压并且所述方法包括使所述神经元与包含足以减少压力诱导的神经变性的量的所述神经保护化合物的所述组合物接触。

10.如权利要求1至9中任一项所述的方法,其中包含所述神经保护化合物的所述组合物以微乳液形式提供。

11.如权利要求1至9中任一项所述的方法,其中包含所述神经保护化合物的所述组合

物以延长释放制剂形式提供。

12.如权利要求11所述的方法,其中所述制剂包括:

a.包含纤维素聚合物和阴离子多糖的递送载剂;和

b.包含两亲性不可电离嵌段共聚物和所述神经保护化合物的纳米颗粒,

其中所述制剂具有约30℃至约37℃的凝胶点。

13.如权利要求1至12中任一项所述的方法,其中所述足以抑制神经变性的量是导致与所述神经元接触的所述神经保护化合物的浓度为约0.15μM至小于约15μM的量。

14.如权利要求13所述的方法,其中所述足以抑制神经变性的量是导致与所述神经元接触的所述神经保护化合物的浓度大于约0.5μM且小于15μM的量。

15.如权利要求14所述的方法,其中所述足以抑制神经变性的量是导致与所述神经元接触的所述神经保护化合物的浓度为约0.5μM至小于15μM,优选大于约0.5μM至小于12μM的量。

16.如权利要求15所述的方法,其中所述足以抑制神经变性的量是导致与所述神经元接触的所述神经保护化合物的浓度为约1.5μM至10μM的量。

17.如权利要求1至16中任一项所述的方法,其中所述接触包括全身施用包含所述神经保护化合物的所述组合物。

18.如权利要求17所述的方法,其中所述全身施用包括静脉注射。

19.如权利要求1至16中任一项所述的方法,其中所述接触包括局部施用包含所述神经保护化合物的所述组合物。

20.如权利要求1至16中任一项所述的方法,其中所述接触包括向眼睛直接施用包含所述神经保护化合物的所述组合物。

21.如权利要求20所述的方法,其中所述接触包括向眼睛施用包含所述神经保护化合物的滴眼剂制剂。

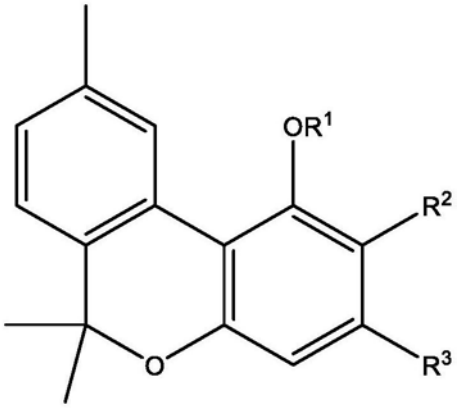
22.如权利要求21所述的方法,其中所述滴眼剂制剂每周一次、每天一次或每天两次施用。

23.如权利要求1至22中任一项所述的方法,其中所述神经保护化合物是大麻酚或大麻酚酸或其前药。

24.如权利要求23所述的方法,其中所述神经保护化合物是大麻酚。

25.包含如权利要求1所述的神经保护化合物的组合物用于治疗有需要的受试者的神经变性的用途,优选在根据权利要求1至24中任一项所述的方法中的用途。

26.一种药物组合物,其在滴眼剂制剂中包含神经保护化合物,其中所述神经保护化合物包含式I的化合物:



I,其中

R^1是H,R^2是COOH,并且R^3是n-C_5H_{11};

R^1是H,R^2是H,并且R^3是n-C_5H_{11};

R^1是CH_3,R^2是H,并且R^3是n-C_5H_{11};

R^1是H,R^2是H,并且R^3是n-C_4H_9;

R^1是H,R^2是H,并且R^3是n-C_3H_7;

R^1是H,R^2是H,并且R^3是C_2H_5;或者

R^1是H,R^2是H,并且R^3是CH_3,

或其衍生物。

27.如权利要求26所述的药物组合物,其中所述神经保护化合物以0.1%w/w至0.5%w/w的浓度存在。

28.如权利要求26或27所述的药物组合物,其中所述神经保护化合物是大麻酚或大麻酚酸。

29.如权利要求26、27或28所述的药物组合物,其中所述神经保护化合物是大麻酚。

30.如权利要求26至29中任一项所述的药物组合物,其中所述神经保护化合物的量足以使与靶标神经元接触的所述神经保护化合物的浓度达到约0.15μM至小于约15μM。

31.如权利要求26至30中任一项所述的药物组合物,其中所述滴眼剂制剂是微乳剂或水凝胶制剂。

32.如权利要求31所述的药物组合物,其中所述滴眼剂制剂是水凝胶制剂,其包含:a)包含纤维素聚合物和阴离子多糖的递送载剂;以及b)包含两亲性不可电离嵌段共聚物和所述神经保护化合物的纳米颗粒,其中所述制剂具有约30℃至约37℃的凝胶点。

用于使用大麻素进行神经保护的组合物和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2019年4月24日提交的美国临时申请号62/838,216的权益,所述申请的内容出于所有目的特此以引用的方式整体并入。

背景技术

[0003] 神经变性是中枢和外周神经系统的多种不同疾病的潜在症候。神经变性包括神经元萎缩、轴索变性(例如,华勒(Wallerian)和/或华勒样变性)和坏死性或程序性细胞死亡机制的诱导。不同类型的程序性细胞死亡,诸如细胞凋亡、细胞自噬、细胞焦亡和肿瘤病都已在神经元中得到证实。诸如物理伤害、氧化应激、兴奋性毒性、线粒体功能障碍、炎症、铁积累和蛋白质聚集的刺激都已证明有助于神经变性的机制。

[0004] 青光眼是视神经变性的一种形式,其特征在于视网膜神经节细胞的进行性变性,所述视网膜神经节细胞是中枢神经系统的细胞,其定位成使得细胞体位于视网膜内,并且轴突位于视神经中。这些神经元的变性与视力的逐渐丧失和称为“杯状”的光盘特征形态有关。

[0005] 对青光眼的病因知之甚少,并且导致其进展的因素尚未得到完全表征。青光眼影响全球超过7000万人,其中10%的人因这种疾病失去视力。青光眼在早期和中期没有任何症状,因此罹患青光眼的人数可能远高于诊断患有此疾病的人数。事实上,多项调查表明,不到50%诊断患有青光眼的人意识到自己受到了这种疾病的影响。青光眼可分为2大类:开角型青光眼和闭角型青光眼。在美国,超过80%的青光眼病例是开角型病例。

[0006] 青光眼可以是原发性的,即没有明确的原因,或继发性的,由外伤、糖皮质激素、色素分散或假性剥脱综合征引起。虽然,如上所述,青光眼的发病机制尚不完全清楚,但已知眼内压升高与视网膜神经节细胞的神经变性相关。眼内压由睫状体分泌的房水与其经由小梁和葡萄膜巩膜流出的引流之间的平衡决定。

[0007] 由于小梁和葡萄膜巩膜管的部分阻塞,患有开角型青光眼的患者显示出房水流出减少。眼内压会对眼睛的后部结构,特别是筛板和相邻组织造成压力和机械应变。由眼内压升高诱导的压力和机械应变可导致筛板的压缩、变形和重塑,从而损害视网膜神经节细胞所必需的营养因子的轴突运输。视网膜神经节细胞的死亡已被证明能够诱导周围神经元的神经变性,从而导致继发性和跨突触神经元损害,这可对疾病的进展具有重要意义。

[0008] 眼内压升高并不是唯一的风险因素,因为眼内压高的个体可能不会发展出所述疾病,而在某些情况下,单独的降压疗法证明无法减缓或阻止疾病的进展。微循环和免疫系统的改变、兴奋性毒性和氧化应激也可导致视神经变性的发展,无论是否存在高眼内压值。

[0009] 目前已知且有效治疗青光眼神经变性的少数方法之一是降低眼内压。许多多中心研究表明,降低眼内压存在预防这种疾病的发作和减缓其进展的益处。然而,降低眼内压并不总是有效。此外,即使在降低眼内压显示出有效的受试者中,也可能无法阻止疾病进展并且无法逆转现有的损害。

[0010] 与神经变性相关的其他眼部疾病包括年龄相关性黄斑变性(AMD)、糖尿病视网膜

病变和色素性视网膜炎。年龄相关性黄斑变性(AMD)影响全球约14-24％的65至74岁人群和约35％的75岁以上人群，并且由于视网膜和/或相关神经元受损，导致视野中心(黄斑)的视力受损或丧失。它是50岁以上人群视力丧失和潜在失明的主要原因。AMD的两种主要形式是萎缩性(非渗出性或“干性”)AMD和新生血管性(渗出性或“湿性”)AMD。萎缩性AMD的特征在于在AMD晚期阶段在黄斑中心出现地图状萎缩(GA)，并且由于光感受器的丧失和GA的发展，视力会在多年内缓慢恶化。新生血管性AMD是一种更严重的AMD形式，并且其特征在于AMD晚期阶段的新血管形成(例如脉络膜新血管形成)，这可迅速导致失明。新生血管性AMD影响全球超过3000万患者，并且是60岁或以上人群视力丧失的主要原因，如果不治疗，患者很可能在疾病发作的24个月内失去受影响眼睛的中心视力。约90％的AMD患者是干性形式，并且约10％发展出新生血管性AMD。

[0011] 糖尿病视网膜病变是糖尿病的一种并发症，其由高血糖诱导的血管壁功能不全引起，导致微血管视网膜变化，诸如血-视网膜屏障功能障碍和毛细血管循环通透性过高。随后，毛细血管变性和神经变性都会导致严重视力缺陷。糖尿病视网膜病变是患有糖尿病的患者失明的主要原因。

[0012] 用于减轻糖尿病视网膜病变症状的常规方法包括激光外科手术、玻璃体切除术和皮质类固醇眼内注射。然而，所有常规方法都属于侵入性治疗，但不能完全治愈糖尿病视网膜病变。因此，患有糖尿病视网膜病变的患者必须时刻监测血糖水平以适于维持正常的血糖水平(血糖正常)。此外，皮质类固醇眼内注射还会导致副作用，诸如类固醇诱导的病症。有鉴于此，有必要对用于减轻糖尿病视网膜病变症状的常规方法进行改进。

[0013] 色素性视网膜炎是由各种基因突变引起的视网膜、视网膜神经元和视网膜色素上皮的缓慢进行性双侧变性。症状包括夜盲症和周边视力丧失。

[0014] 神经保护是可以挽救或恢复神经系统、其细胞、结构和/或功能，或抵抗神经变性刺激的作用。神经保护组合物可用于治疗引起或导致神经变性的多种疾病诸如青光眼，或减轻其症状。尽管在理解神经变性的潜在机制方面取得了重大进展，但本领域仍然需要改进的用于神经保护的方法和组合物。

[0015] 大麻素及其衍生物具有若干种带有治疗潜力的特性。用大麻素活化或阻断CB1和/或CB2受体可调节下游信号传导和代谢途径，并随后影响突触传递，其包括疼痛和其他感觉信号在外周的传递、免疫反应和炎症。因此，人们对将天然或合成大麻素用于治疗目的感兴趣。然而，尽管有大麻素治疗效果存在轶事报告，但许多大麻素及其衍生物已经证明在生理浓度下没有表现出可检测的神经保护作用。此外，一些大麻素及其衍生物已经证明在生理浓度下会导致兴奋性毒性。

发明内容

[0016] 本文描述了神经保护组合物和制剂，以及其制备和使用方法。神经保护组合物或含有神经保护组合物的制剂可与神经元接触，从而提供神经保护作用。在某些实施方案中，通过向有需要的受试者施用神经保护组合物或含有所述组合物的制剂来进行接触。神经保护组合物、制剂和相关方法可用于治疗多种神经变性疾病。在某些实施方案中，提供神经保护组合物用于在视网膜神经元中诱导神经保护作用。例如，可将神经保护组合物局部或全身施用于受试者以在视网膜神经元中诱导神经保护作用，例如治疗诸如青光眼的视神经变

性疾病或抑制与糖尿病视网膜病变、AMD和/或视网膜色素变性相关的神经变性。

[0017] 在一个方面，本发明提供了一种保护神经元免于神经变性的方法，所述方法包括使神经元与包含足以抑制神经变性的量的大麻酚或其衍生物的组合物接触。在一些实施方案中，接触是在体外。在一些实施方案中，接触是在体内。在一些实施方案中，接触包括向有需要的受试者施用组合物。在一些实施方案中，神经元是视网膜神经元(例如视网膜神经节)。

[0018] 在一些实施方案中，接触包括向有需要的受试者局部施用组合物。例如，向罹患神经变性，例如眼部神经变性的受试者施用组合物。在一些情况下，接触包括向罹患神经变性疾病，例如眼部神经变性疾病的受试者施用组合物。在一些情况下，接触包括向罹患青光眼的受试者施用组合物。在一些情况下，接触包括向诊断患有青光眼的受试者施用组合物。在一些实施方案中，所述方法包括同时或依次施用用于治疗青光眼的另外的活性剂。

[0019] 在一些情况下，接触包括向罹患AMD的受试者施用组合物。在一些情况下，接触包括向诊断患有AMD的受试者施用组合物。在一些实施方案中，所述方法包括同时或依次施用用于治疗AMD的另外的活性剂。

[0020] 在一些情况下，接触包括向罹患糖尿病视网膜病变的受试者施用组合物。在一些情况下，接触包括向诊断患有糖尿病视网膜病变的受试者施用组合物。在一些实施方案中，所述方法包括同时或依次施用用于治疗糖尿病视网膜病变的另外的活性剂。

[0021] 在一些情况下，接触包括向罹患视网膜色素变性的受试者施用组合物。在一些情况下，接触包括向诊断患有视网膜色素变性的受试者施用组合物。在一些实施方案中，所述方法包括同时或依次施用用于治疗视网膜色素变性的另外的活性剂。

[0022] 在一些实施方案中，足以抑制神经变性的量是足以降低与组合物接触的神经元群体的细胞凋亡量或细胞凋亡速率的量。在一些实施方案中，神经元经受高静水压力并且所述方法包括使神经元与包含足以减少压力诱导的神经变性的量的大麻酚或其衍生物的组合物接触。

[0023] 在一些实施方案中，足以抑制神经变性的量是导致与靶标神经元、靶标神经元群或眼睛的眼部组织接触的大麻酚(或其衍生物，诸如大麻酚酸，或其前药)的浓度为约0.15μM至小于约15μM的量。在一些实施方案中，足以抑制神经变性的量是导致与靶标神经元、靶标神经元群或眼睛的眼部组织接触的大麻酚的浓度大于约0.5μM且小于15μM的量。

[0024] 在一些实施方案中，足以抑制神经变性的量是导致与靶标神经元、靶标神经元群或眼睛的眼部组织接触的大麻酚(或其衍生物，诸如大麻酚酸，或其前药)的浓度为约0.5μM至小于15μM的，优选地大麻酚(或其衍生物，诸如大麻酚酸，或其前药)的浓度大于约0.5μM至小于12μM的量。在一些实施方案中，足以抑制神经变性的量是导致与靶标神经元、靶标神经元群或眼睛的眼部组织接触的大麻酚(或其衍生物诸如大麻酚酸，或其前药)的浓度为约1.5μM至10μM的量。

[0025] 在一些实施方案中，大麻酚以延长释放制剂提供。在一些实施方案中，所述制剂包含：a)包含纤维素聚合物和阴离子多糖的递送载剂；以及b)包含两亲性不可电离嵌段共聚物和大麻酚的纳米颗粒，其中所述制剂具有约30℃至约37℃的凝胶点。

[0026] 在一些实施方案中，接触包括全身施用包含大麻酚或其前药或其衍生物(诸如大麻酚酸或其前药)的组合物。在一些实施方案中，全身施用包括静脉注射。在一些实施方案

中,全身施用包括口服施用。在一些实施方案中,全身施用包括透皮施用。

[0027] 在一些实施方案中,接触包括局部施用包含大麻酚或其前药或其衍生物(诸如大麻酚酸或其前药)的组合物。在一些情况下,接触包括将包含大麻酚或其前药或其衍生物(诸如大麻酚酸或其前药)的组合物直接施用于眼睛。例如,接触可包括将包含大麻酚或其前药或其衍生物(诸如大麻酚酸或其前药)的组合物施用于眼睛上(例如,作为滴眼剂诸如呈微乳液滴眼剂的形式,或眼胶)。作为另一个实例,接触可包括将包含大麻酚或其前药或其衍生物(诸如大麻酚酸或其前药)的组合物直接施用于眼中(例如,经由玻璃体内注射或泵)。

[0028] 在另一个方面,本文描述了一种用于治疗受试者的神经变性的组合物,其包含大麻酚或其衍生物。在一些实施方案中,组合物是适用于达到大麻酚或其衍生物的神经保护剂量的药物制剂。在一些实施方案中,组合物被配制用于施用于眼睛。在一些实施方案中,组合物被配制成在眼睛的眼组织中和/或与视网膜神经节接触时达到约0.15μM至小于约15μM的大麻酚或其衍生物的浓度。

[0029] 在另一个方面,本文描述了包含大麻酚或其衍生物的组合物用于治疗受试者的神经变性(诸如静水压力诱导的神经变性)的用途,优选地根据前述方面、实施方案、情况或实例中的一个或多个,使用本文所述的组合物,或根据本文所述的方法。

[0030] 以引用的方式并入

[0031] 在本说明书中提及的所有出版物、专利和专利申请均以引用的方式并入本文,其程度就如同每个单独的出版物、专利或专利申请被具体和单独地指出以引用方式并入一般。

附图说明

[0032] 图1示出了通过使细胞与每种大麻素分别为0.5μM、1.5μM和5μM的CBD、CBDA、CBC、CBG、CBGA、CBN、CBND、Δ^9-THC接触得到的对在大气压下培养的分化的661W视网膜神经节前体样细胞进行的体外神经保护。媒介物对照(VC)含有0.15%乙醇。数据表示为相对于媒介物对照的细胞死亡(%)(看作是0%)。处理条件:不同大麻素在0.5、1.5和5μM浓度下或媒介物对照(VC)处理72小时。

[0033] 图2示出了通过使细胞与每种大麻素分别为0.5μM、1.5μM和5μM处理浓度的CBD、CBDA、Δ^9-THC、CBGA或CBND,或媒介物对照(VC)接触72小时得到的当在加压室中以大约20至40mm Hg的高静水压力培养时对分化的661W细胞不存在显著的神经保护。媒介物对照(VC)含有0.15%乙醇。数据表示为相对于正常压力媒介物对照的细胞死亡(%)(看作是0%细胞死亡)。

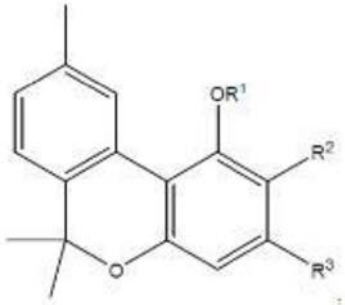
[0034] 图3示出了通过使细胞与含有0.15%乙醇的媒介物对照(VC)或所指示的0.015μM、0.05μM、0.15μM、0.5μM、1.5μM、5μM、10μM和15μM的CBN接触72小时得到的当在加压室中以大约20至40mm Hg的高静水压力培养时对分化的661W细胞进行的统计学显著的神经保护。数据表示为相对于正常压力媒介物对照的细胞死亡(%)(看作是0%细胞死亡)。通过单向ANOVA(Dunnett多重比较检验)与媒介物对照(VC)相比的统计学显著差异。

[0035] 图4示出了与Δ^9-THC相比CBN当在大约20至40mm Hg的静水压力下培养72小时时对分化的661W细胞的显著神经保护作用的比较。CBN处理浓度分别为0.5μM、1.5μM、5μM、10μ

M和15μM,并且Δ^9-THC分别为0.5μM、1.5μM和5μM。媒介物对照(VC)含有0.15％乙醇。数据表示为相对于正常压力媒介物对照的细胞死亡(％)(看作是0％细胞死亡)。通过单向ANOVA(Dunnett多重比较检验)与媒介物对照(VC)相比的统计学显著差异。

[0036] 图5示出了CBN和CBD当在大约20至40mm Hg的静水压力下培养72小时时对分化的661W细胞的显著神经保护作用的比较。CBN分别为0.5μM、1.5μM、5μM、10μM和15μM,并且CBD分别为0.5μM、1.5μM和5μM,或媒介物对照(VC)。媒介物对照(VC)含有0.15％乙醇。数据表示为相对于正常压力媒介物对照的细胞死亡(％)(看作是0％细胞死亡)。通过单向ANOVA(Dunnett多重比较检验)与媒介物对照(VC)相比的统计学显著差异。

[0037] 图6示出了通过使细胞与具有下式的大麻酚-衍生物CBNA接触得到的当在加压室内以大约10至25mmHg的高静水压力培养时对分化的661W细胞的统计学显著的神经保护:

[0038] 

[0039] 其中:R^1是H,R^2是COOH,并且R^3是n-C_5H_{11}。媒介物对照(VC)含有0.15％乙醇。数据表示为相对于媒介物对照的细胞死亡(％)(看作是0％)。处理条件:在浓度0.015、0.05、0.15、0.5、1.5、5、10和15μM下或媒介物对照处理72小时。通过单向ANOVA(Dunnett多重比较检验)与媒介物对照(VC)相比的统计学显著差异。

[0040] 图7示出了在高压力下培养时大麻酚对661W细胞免于细胞凋亡的保护作用。在高压下用不含大麻素的媒介物对照(VC)处理661W细胞导致诱导大约35％的细胞凋亡。用大麻酚处理661W细胞能够在大于0.015μM和小于5μM的浓度下保护神经元细胞免于凋亡,在0.05和1.5μM之间的范围内具有统计学显著的保护作用($p<0.05$和$p<0.01$)。媒介物对照(VC)含有0.15％乙醇。数据表示为相对于正常压力媒介物对照的细胞凋亡(％)(看作是0％)。通过单向ANOVA(Dunnett多重比较检验)与媒介物对照(VC)相比的统计学显著差异。

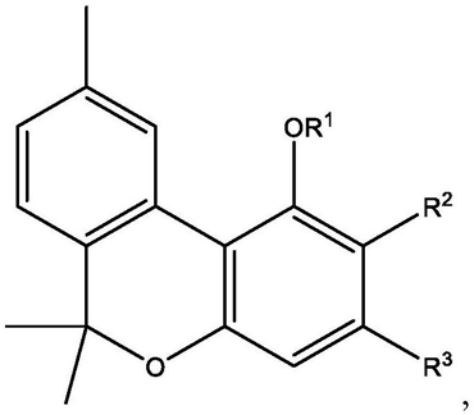
[0041] 图8示出了通过测量青光眼的大鼠巩膜外静脉激光光凝模型中的图形视网膜电图(pERG)振幅得到的大麻酚对RGC的神经保护作用。在通过激光处理诱导的眼内压(IOP)升高后,通过pERG振幅的减小测量的RGC的功能反应在所有处理组中均降低。在第21天的媒介物处理组和第14天和第21天的CBN(高剂量)组中观察到RGC功能的统计学显著损伤(双向ANOVA,随后进行Tukey多重比较检验,$*p<0.05$)。眼内最终浓度为5μM的CBN(低剂量)组和溴莫尼定(Brimonidine)(ALPHAGAN)组的pERG振幅在随后的第14天和第21天与基线没有显著差异,这表明低剂量的CBN对RGC赋予的神经保护作用类似于ALPHAGAN。

具体实施方式

[0042] 本文描述了用于保护神经元免于一种或多种细胞毒性刺激的方法和组合物。在一些实施方案中,所述方法包括使神经元与神经保护组合物接触,诸如通过向有需要的受试者施用所述组合物。本文所述的方法和组合物具有特殊用途,但不限于保护视网膜神经元。

在一些情况下，本文所述的方法和组合物可用于对受试者(诸如罹患青光眼或与例如正常受试者的正常眼内压相比眼内压升高的受试者)的视网膜神经元进行神经保护。在某些实施方案中，神经保护组合物是大麻素，诸如大麻酚。在一些情况下，所述方法包括使视网膜神经元与神经保护剂(例如大麻酚)接触，诸如通过向有需要的受试者施用神经保护剂。在一些情况下，神经保护组合物是或含有大麻酚或其溶剂化物。

[0043] 在一些情况下，神经保护组合物是或含有大麻酚衍生物，诸如在US 2003/0158191中描述的衍生物、其盐或其溶剂化物。在一个实施方案中，神经保护组合物是或含有如US 7,105,685中要求保护的大麻酚衍生化合物。在一个实施方案中，神经保护组合物是或含有选自由在ElSohly&Slade,Life Sciences,78(2005),第539-48页中描述的大麻酚型(CBN型)大麻素组成的组的大麻酚衍生化合物。例如，神经保护组合物可以是或含有大麻酚或具有式I的式的衍生物：

[0044] 

，

I

[0045] 其中：R^1是H，R^2是COOH，并且R^3是n-C_5H_{11}；

[0046] R^1是H，R^2是H，并且R^3是n-C_5H_{11}；

[0047] R^1是CH_3，R^2是H，并且R^3是n-C_5H_{11}；

[0048] R^1是H，R^2是H，并且R^3是n-C_4H_9；

[0049] R^1是H，R^2是H，并且R^3是n-C_3H_7；

[0050] R^1是H，R^2是H，并且R^3是C_2H_5；或者

[0051] R^1是H，R^2是H，并且R^3是CH_3。

[0052] 在一些实施方案中，神经保护组合物可以是或含有具有式I的式的衍生物，其中R^1是H，R^2是COOH，并且R^3是n-C_5H_{11}。

[0053] 在一些实施方案中，神经保护组合物可含有本文所述的任一种大麻酚或其衍生物的前药。例如，神经保护组合物可含有大麻酚或其衍生物的前药。作为另一个实例，神经保护组合物可含有具有式I的式的衍生物的前药。作为另一个实例，神经保护组合物可以含有具有式I的式的衍生物的前药，其中R^1是H，R^2是COOH，并且R^3是n-C_5H_{11}；R^1是H，R^2是H，并且R^3是n-C_5H_{11}；R^1是CH_3，R^2是H，并且R^3是n-C_5H_{11}；R^1是H，R^2是H，并且R^3是n-C_4H_9；R^1是H，R^2是H，并且R^3是n-C_3H_7；R^1是H，R^2是H，并且R^3是C_2H_5；或者R^1是H，R^2是H，并且R^3是CH3。在一些情况下，神经保护组合物含有具有式I的式的衍生物的前药，其中R^1是H，R^2是COOH，并且R^3是n-C_5H_{11}。

[0054] 在一些情况下，前药是大麻酚或其衍生物的酯。在一些情况下，前药是具有式I的

式的衍生物(诸如本文所述的衍生物之一)的酯。在一些情况下,前药是大麻酚或其衍生物的D-(-)-甘油酸酯。在一些情况下,前药是大麻酚酸或其衍生物的D-(-)-甘油酸酯。在一些情况下,前药是具有式I的式的衍生物(诸如本文所述的衍生物之一)的D-(-)-甘油酸酯。本文所述的神经保护化合物的另外的前药策略可在美国专利公布号2016/0228490;2011/0052694;2015/0197484;2008/0076789;2009/0143462;2012/0289484;2009/0036523;2009/0156814;和2008/0008745;以及Adelli等人,Investigative Opthalmology&Visual Science,2017年4月,第58卷,第4期,第2168页;以及Upadhye等人,AAPS PharmSciTech,第11卷,第2期,2010年6月,第509页中找到,所述文献的内容出于所有目的并且特别是对于大麻素前药组合物和制剂以及其中描述的制备、使用和/或施用此类前药组合物的方法特此整体并入。

[0055] 神经保护组合物可含有另外的活性剂。在一些实施方案中,神经保护组合物可含有大麻酚或其衍生物,以及另外的大麻素或萜类化合物。在一些实施方案中,神经保护组合物可含有用于治疗青光眼的另外的活性药剂或用于治疗眼内压升高的另外的活性药剂。

[0056] 目前,不同类别的治疗剂用于降低眼内压和/或治疗青光眼,所述治疗剂包括但不限于:前列腺素类似物、β-肾上腺素能拮抗剂、α-肾上腺素能激动剂、碳酸酐酶抑制剂和/或胆碱能激动剂。

[0057] 前列腺素类似物包括但不限于拉坦前列素(latanoprost)、曲伏前列素(travoprost)、他氟前列素(tafluprost)、乌诺前列酮(unoprostone)或比马前列素(bimatoprost)。前列腺素类似物是增加房水的葡萄膜巩膜流出的治疗剂。这些药物通常每天晚上施用一次,并且这将减压作用仅限于晚上。它们具有许多局部和全身副作用,其包括结膜充血、睫毛增厚、虹膜着色、葡萄膜炎、黄斑水肿和头痛。

[0058] β-肾上腺素能拮抗剂包括但不限于噻吗洛尔(timolol)、左布洛尔(levobunolol)、卡替洛尔(carteolol)、美替洛尔(metipranolol)或倍他洛尔(betaxolol)。这些药物的作用机制在于减少房水的产生。它们通常每天早上施用一次,并且由于对β-肾上腺素能受体的拮抗作用而具有严重的全身副作用。这限制了在患有哮喘、慢性阻塞性肺病和心动过缓的患者中使用的可能性。

[0059] α-肾上腺素能激动剂包括但不限于溴莫尼定或阿可乐定(apraclonidine)。这些药物可导致房水产生的初始减少并增加后者的流出。在这种情况下,也会出现许多局部和全身副作用,诸如刺激和眼睛干燥、过敏反应、对中枢神经系统的影响、呼吸停止、体位性低血压、脑或冠状动脉衰竭、肝肾损害。它们通常必须每天施用3次,并且这会降低患者的依从性。

[0060] 碳酸酐酶抑制剂包括但不限于多佐胺(dorzolamide)、布林佐胺(brinzolamide)或乙酰唑胺。这些药物可减少房水的产生。副作用包括眼睛刺激、眼睛灼热、感觉异常、恶心、腹泻、食欲不振。

[0061] 胆碱能激动剂包括但不限于匹鲁卡品(pilocarpine)或卡巴胆碱(carbachol)。这些药物可增加房水的流出。它们通常每天施用超过4次,由于很难遵守治疗方案,患者依从性显著降低,从而有效性降低。在这种情况下也会出现副作用,包括眼睛刺激、近视、睫状肌痉挛、瞳孔变小、视力模糊或昏暗,以及近视眼导致的头痛和视力丧失。

[0062] 在一些实施方案中,本文所述的神经保护组合物(例如,含有大麻酚或其衍生物的

神经保护组合物)允许使用较低剂量或较少频率给药的一种或多种治疗剂来治疗青光眼。

[0063] 定义

[0064] 如本文所用,“有需要的受试者”等是指哺乳动物,优选人。

[0065] 如本文所用,“大麻酚”或“CBN”是指6,6,9-三甲基-3-戊基苯并[c]色烯-1-醇。

[0066] “盐”是指在本发明的方法中使用的化合物的酸式盐或碱式盐。药学上可接受的盐的说明性实例是无机酸(盐酸、氢溴酸、磷酸等)盐、有机酸(乙酸、丙酸、谷氨酸、柠檬酸等)盐、季铵(甲基碘、乙基碘等)盐。应理解药学上可接受的盐是无毒的。合适的药学上可接受的盐的其他信息可在Remington's Pharmaceutical Sciences,第17版,Mack Publishing Company,Easton,Pa.,1985中找到,所述文献以引用的方式并入本文。

[0067] 如本文所用,术语“溶剂化物”意指通过溶剂化(溶剂分子与溶质的分子或离子的组合)形成的化合物,或由具有一个或多个溶剂分子的溶质离子或分子(即本发明的化合物)组成的聚集体。当水是溶剂时,对应的溶剂化物是“水合物”。水合物的实例包括但不限于半水合物、一水合物、二水合物、三水合物、六水合物和其他含水物质。本领域普通技术人员应理解,化合物的药学上可接受的盐和/或前药也可以溶剂化物形式存在。溶剂化物通常经由水合作用(其为制备化合物的一部分)或通过由本发明的无水化合物进行天然吸湿而形成。一般来说,所有物理形式都旨在处于本发明的范围内。

[0068] 因此,当根据本发明的方法制备或包含在根据本发明的组合物中的治疗活性剂(诸如但不限于大麻酚衍生物)具有足够酸性、足够碱性或足够酸性和足够碱性两者的官能团时,所述一个或多个基团可因此与多种无机碱或有机碱以及无机酸和有机酸中的任一种反应,以形成药学上可接受的盐。示例性的药学上可接受的盐包括通过使药理活性化合物与无机酸或有机酸或无机碱反应制备的那些盐,诸如包括以下的盐:硫酸盐、焦硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、磷酸盐、磷酸一氢盐、磷酸二氢盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、乙酸盐、丙酸盐、癸酸盐、辛酸盐、丙烯酸盐、异丁酸盐、己酸盐、庚酸盐、丙炔酸盐、草酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、辛二酸盐、癸二酸盐、富马酸盐、马来酸盐、丁炔-1,4-二酸盐、己炔-1,6-二酸盐、苯甲酸盐、氯苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、羟基苯甲酸盐、甲氧基苯甲酸盐、邻苯二甲酸盐、磺酸盐、二甲苯磺酸盐、苯乙酸盐、苯丙酸盐、苯丁酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、β-羟基丁酸盐、乙醇酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、丙磺酸盐、萘-1-磺酸盐、萘-2-磺酸盐和扁桃酸盐。如果药理活性化合物具有一个或多个碱性官能团,那么所需的药学上可接受的盐可通过本领域可用的任何合适方法制备,例如,用以下项处理游离碱:无机酸诸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等,或有机酸诸如乙酸、马来酸、琥珀酸、扁桃酸、富马酸、丙二酸、丙酮酸、草酸、乙醇酸、水杨酸,或吡喃糖苷酸诸如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸,或α-羟基酸诸如柠檬酸、酒石酸,或氨基酸诸如天冬氨酸、谷氨酸,或芳香酸诸如苯甲酸、肉桂酸,或磺酸诸如对甲苯磺酸或乙磺酸等。如果药理活性化合物具有一个或多个酸性官能团,那么所需的药学上可接受的盐可以通过本领域可用的任何合适的方法制备,例如,用无机碱或有机碱诸如胺(伯、仲或叔)、碱金属氢氧化物或碱土金属氢氧化物等处理游离酸。合适的盐的说明性实例包括:衍生自氨基酸(诸如甘氨酸和精氨酸)、氨、伯胺、仲胺和叔胺,以及环胺(诸如哌啶、吗啉和哌嗪)的有机盐,以及衍生自钠、钙、钾、镁、锰、铁、铜、锌、铝和锂的无机盐。

[0069] 如本文所用,“组合物”旨在涵盖包含指定量的指定成分的产品,以及由指定量的

指定成分的组合产生的任何产品。“药学上可接受的”意指载剂、稀释剂或赋形剂必须与制剂的其他成分相容并且对于其接受者无害。

[0070] “药学上可接受的赋形剂”是指有助于将活性剂施用于受试者和/或被受试者吸收的物质。可用于本发明的药物赋形剂包括但不限于粘合剂、填充剂、崩解剂、润滑剂、包衣、甜味剂、调味剂和颜料(color)。本领域普通技术人员将认识到其他药物赋形剂也可用于本发明。

[0071] 在一些情况下,保护基团可包含在根据本发明的方法或根据本发明的组合物中使用的化合物中。使用此保护基团是为了防止随后的水解或其他可在体内发生并可降解所述化合物的反应。可受到保护的基团包括醇、胺、羰基、羧酸、磷酸和末端炔烃。可用于保护醇的保护基团包括但不限于乙酰基、苯甲酰基、苄基、β-甲氧基乙氧基乙基醚、二甲氧基三苯甲基、甲氧基甲基醚、甲氧基三苯甲基、对甲氧基苄基醚、甲硫基甲基醚、新戊酰基、四氢吡喃基、四氢呋喃、三苯甲基、甲硅烷基醚、甲醚和乙氧基乙基醚。可用于保护胺的保护基团包括苄氧羰基、对甲氧基苄基羰基、叔丁氧基羰基、9-芴基甲氧基羰基、乙酰基、苯甲酰基、苄基、氨基甲酸酯、对甲氧基苄基、3,4-二甲氧基苄基、对甲氧基苯基、甲苯磺酰基、氯甲酸三氯乙酯和磺酰胺。可用于保护羰基的保护基包括缩醛、缩酮、酰基和二噻烷。可用于保护羧酸的保护基团包括甲酯、苄酯、叔丁酯、2,6-二取代酚的酯、甲硅烷基酯、原酸酯和噁唑啉。可用于保护磷酸基团的保护基团包括2-氰基乙基和甲基。可用于保护末端炔烃的保护基团包括炔丙醇和甲硅烷基。其他保护基团是本领域已知的。

[0072] 如本文所用,术语“前药”是指作为前体化合物的衍生物,其在施用后经由一些化学或生理过程在体内释放生物活性化合物(例如,达到生理pH或通过酶作用的前药转化为生物活性化合物)。前药本身可缺乏或具有所需的生物活性。因此,术语“前药”是指药学上可接受的生物活性化合物的前体。在某些情况下,前药相对于衍生出前药的母体化合物具有改善的物理和/或递送特性。前药在哺乳动物生物体中通常具有溶解性、组织相容性或延迟释放的优点(H.Bundgard,Design of Prodrugs(Elsevier,Amsterdam,1988),第7-9,21-24页)。T.Higuchi等人,“Pro-Drugs as Novel Delivery Systems,”ACS Symposium Series,第14卷和E.B.Roche编辑,Bioreversible Carriers in Drug Design(American Pharmaceutical Association&Pergamon Press,1987)中提供了对前药的讨论。前药的示例性优点可包括但不限于其物理特性,诸如用于长期储存的增强的药物稳定性。

[0073] 术语“前药”还意在包括任何共价结合的载剂,当向受试者施用前药时,所述前药在体内释放活性化合物。如本文所述的治疗活性化合物的前药可以通过以一种方式修饰治疗活性化合物中存在的一个或多个官能团使得在常规操作中或在体内裂解所述修饰,以产生母体治疗活性化合物来制备,所述治疗活性化合物包括大麻素,诸如大麻酚,或大麻酚衍生物,以及根据本发明的方法中使用的或包含在根据本发明的组合物中的其他治疗活性化合物。前药包括其中羟基、氨基或巯基与任何基团共价键合的化合物,当向受试者施用活性化合物的前药时,所述基团分别裂解形成游离羟基、游离氨基或游离巯基。前药的实例包括但不限于醇或乙酰胺的甲酸酯或苯甲酸酯衍生物、具有可用于反应的胺官能团的治疗活性剂的甲酰胺或苯甲酰胺衍生物等。在一些情况下,前药是神经保护化合物的保护基团修饰的衍生物,诸如保护基团修饰的大麻酚或大麻酚的保护基团修饰的衍生物。

[0074] 例如,如果治疗活性剂或治疗活性剂的药学上可接受的形式含有羧酸官能团,那

么前药可包含通过用诸如以下的基团替换羧酸基团的氢原子而形成的酯:C_{1-8}烷基、C_{2-12}烷酰氧基甲基、具有4至9个碳原子的1-(烷酰氧基)乙基、具有5至10个碳原子的1-甲基-1-(烷酰氧基)乙基、具有3至6个碳原子的烷氧基羰基氧基甲基、具有4至7个碳原子的1-(烷氧基羰基氧基)乙基、具有5至8个碳原子的1-甲基-1-(烷氧基羰基氧基)乙基、具有3至9个碳原子的N-(烷氧基羰基)氨基甲基、具有4至10个碳原子的1-(N-(烷氧基羰基)氨基)乙基、3-邻苯二甲酰基、4-巴豆内酯基、γ-丁内酯-4-基、二-N,N(C_1-C_2)烷基氨基(C_2-C_3)烷基(诸如(3-二甲基氨基乙基)、氨基甲酰基-(C_1-C_2)烷基、N,N-二(C_1-C_2)烷基氨基甲酰基-(C_1-C_2)烷基和哌啶-、吡咯烷-或吗啉代(C_2-C_3)烷基。

[0075] 在一些情况下,治疗活性剂或治疗活性剂的药学上可接受的形式是大麻素,诸如式I的大麻素,其在R^2处含有H并且前药在R^1处包含3,6,9,12-四氧杂十三烷酸酯;N,N-二甲基甘氨酸酯;3,6,9,12-四氧杂十三烷基碳酸酯;N-甲酰基甘氨酸酯;N-甲酰基肌氨酸酯;3,6,9,12-四氧杂十三烷基草酸酯;半琥珀酸酯;4-氨基丁基氨基甲酸酯;脯氨酸酯;3-二甲基氨基丙酸酯;乙醇酸酯;(D)-核糖酸酯;磷酸铵盐;(R)-2,3-二羟丙基碳酸酯;3-羟基-2-(羟甲基)-2-甲基丙酸酯;甘氨酸酯;β-丙氨酸酯;(S)-2,3-二羟基丙酸酯;(S)-2,3-二羟基丙基碳酸酯或(R)-2,3-二羟基丙基碳酸酯。

[0076] 在一些情况下,治疗活性剂或治疗活性剂的药学上可接受的形式是大麻素,诸如式I的大麻素,其在R^2处含有羧酸官能团,并且前药在R^1处包含3,6,9,12-四氧杂十三烷酸酯;N,N-二甲基甘氨酸酯;3,6,9,12-四氧十三烷基碳酸酯;N-甲酰基甘氨酸酯;N-甲酰基肌氨酸酯;3,6,9,12-四氧杂十三烷基草酸酯;半琥珀酸酯;4-氨基丁基氨基甲酸酯;脯氨酸酯;3-二甲基氨基丙酸酯;乙醇酸酯;(D)-核糖酸酯;磷酸铵盐;(R)-2,3-二羟丙基碳酸酯;3-羟基-2-(羟甲基)-2-甲基丙酸酯;甘氨酸酯;β-丙氨酸酯;(S)-2,3-二羟基丙酸酯;(S)-2,3-二羟基丙基碳酸酯或(R)-2,3-二羟基丙基碳酸酯衍生物。

[0077] 在一些情况下,前药是CBNA的前药(式I的R^2处是COOH,R^3处是n-C_5H_{11}),其在R^1处包含酯、碳酸酯、氨基甲酸酯或磷酸酯,诸如前述酯、碳酸酯、氨基甲酸酯或磷酸酯之一。

[0078] 类似地,如果所公开的化合物或所述化合物的药学上可接受的形式含有醇官能团,那么前药可通过用诸如以下的基团替换醇基团的氢原子而形成:(C_1-C_6)烷酰氧基甲基、1-((C_1-C_6)烷酰氧基)乙基、1-甲基-1-((C_1-C_6)烷酰氧基)乙基(C_1-C_6)烷氧基羰氧基甲基、N(C_1-C_6)烷氧基羰基氨基甲基、琥珀酰基、(C_1-C_6)烷酰基、α-氨基(C_1-C_4)烷酰基、芳基酰基和α-氨基酰基或α-氨基酰基-α-氨基酰基,其中每个α-氨基酰基独立地选自天然存在的L-氨基酸、P(O)(OH)$_2$、P(O)(O(C_1-C_6)烷基)$_2$或糖基(由去除碳水化合物的半缩醛形式的羟基而产生的基团)。

[0079] 如果所公开的化合物或所述化合物的药学上可接受的形式包含胺官能团,那么前药可通过用诸如以下的基团替换胺基团的氢原子而形成:R-羰基、RO-羰基、NRR′-羰基,其中R和R各自独立地是(C_1-C_{10})烷基、(C_3-C_7)环烷基、苄基,或R-羰基是天然α-氨基酰基或天然α-氨基酰基-天然α-氨基酰基,C(OH)C(O)OY^1,其中Y^1是H、(C_1-C_6)烷基或苄基,C(OY^2)Y^3,其中Y^2是(C_1-C_4)烷基并且Y^3是(C_1-C_6)烷基、羧基(C_1-C_6)烷基、氨基(C_1-C_4)烷基或单-N或二-N,N(C_1-C_6)烷基氨基烷基,C(Y^4)Y^5,其中Y^4是H或甲基并且Y^5是单-N或二-N,N(C_1-C_6)烷基氨基、吗啉代、哌啶-1-基或吡咯烷-1-基。

[0080] T.Järvinen等人,"Design and Pharmaceutical Applications of Prodrugs"in

Drug Discovery Handbook(S.C.Gad,ed.,Wiley-Interscience,Hoboken,NJ,2005),第17章,第733-796页中描述了前药系统的使用。用于前药构建和使用的其他替代方案是本领域已知的。当根据本发明的方法或药物组合物使用或包括大麻酚或其他治疗活性剂的前药时,可使用本领域已知的常规技术鉴定化合物的前药和活性代谢物。参见例如Bertolini等人,J.Med.Chem.,40,2011-2016(1997);Shan等人,J.Pharm.Sci.,86(7),765-767;Bagshawe,Drug Dev.Res.,34,220-230(1995);Bodor,Advances in Drug Res.,13,224-331(1984);Bundgaard,Design of Prodrugs(Elsevier Press 1985);Larsen,Design and Application of Prodrugs,Drug Design and Development(Krogsgaard-Larsen等人编辑,Harwood Academic Publishers,1991);Dear等人,J.Chromatogr.B,748,281-293(2000);Spraul等人,J.Pharmaceutical&Biomedical Analysis,10,601-605(1992);以及Prox等人,Xenobiol.,3,103-112(1992)。

[0081] 如本文所用,术语“治疗有效数量”、“治疗有效剂量”或“治疗有效量”是指本文所述的一种或多种组合物产生治疗效果的施用剂量。确切的剂量将取决于治疗的目的,并且将由本领域技术人员使用已知的技术来确定(参见例如,Lieberman,Pharmaceutical Dosage Forms(第1-3卷,1992);Lloyd,The Art,Science and Technology of Pharmaceutical Compounding(1999);Pickar,Dosage Calculations(1999);以及Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第20版,2003,Gennaro编辑,Lippincott,Williams&Wilkins)。

[0082] 大麻素

[0083] 大麻素是一组已知活化整个人体细胞(包括皮肤)中的大麻素受体的化学物质。植物大麻素是来源于大麻植物的大麻素。它们可以从植物中分离而来或合成生产。内源性大麻素是由人体细胞自然产生的内源性大麻素。经典植物大麻素是带有苯并吡喃部分的ABC三环萜类化合物。

[0084] 大麻素通过与细胞表面上存在的大麻素受体相互作用来发挥其作用。迄今为止,已鉴定出两种类型的大麻素受体,CB1受体和CB2受体。这两种受体共有约48%的氨基酸序列同一性并分布在不同的组织中,并且具有不同的细胞信号传导机制。它们对激动剂和拮抗剂的敏感性也不同。

[0085] 在一些情况下,大麻素或其前体可以被纯化、衍生化(例如,以形成前药、溶剂化物或盐,或从前体形成靶标大麻素),和/或配制在药物组合物中。

[0086] 大麻素包括但不限于植物大麻素。在某些情况下,大麻素包括但不限于大麻酚、大麻二酚、Δ^9-四氢大麻酚(Δ^9-THC)、合成大麻素HU-210(6aR,10aR)-9-(羟甲基)-6,6-二甲基-3-(2-甲基辛烷-2-基)-6H,6aH,7H,10H,10aH-苯并[c]异色烯-1-醇)、HU-308([(1R,2R,5R)-2-[2,6-二甲氧基-4-(2-甲基辛烷-2-基)苯基]-7,7-二甲基-4-双环[3.1.1]庚-3-烯基]甲醇)、HU-433(HU-308的对映体)、次大麻二酚(cannabidivarin,CBDV)、大麻色原烯(cannabichromene,CBC)、次大麻色酚(cannabichromevarin,CBCV)、大麻萜酚(CBG)、次大麻萜酚(cannabigerovarin,CBGV)、大麻艾尔松(cannabielsoin,CBE)、大麻环酚(cannabicyclol,CBL)、次大麻酚(cannabivarin,CBV)和二羟基大麻酚(cannabitriol,CBT)。还有其他大麻素包括四氢次大麻酚(THCV)和大麻萜酚单甲醚(CBGM)。另外的大麻素包括大麻色烯酸(CBCA)、Δ^9-四氢大麻酚酸(THCA)和大麻二酚酸(CBDA);这些另外的大麻

素的特征在于其结构中存在羧酸基团。

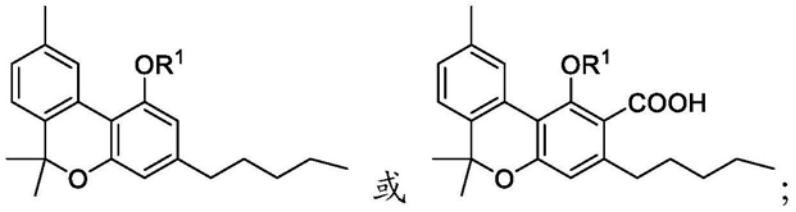
[0087] 还有其他大麻素包括大麻隆(nabilone)、利莫那班(rimonabant)、JWH-018(萘-1-基-(1-戊基吲哚-3-基)甲酮)、JWH-073萘-1-基-(1-丁基吲哚-3-基)甲酮、CP-55940(2-[(1R,2R,5R)-5-羟基-2-(3-羟丙基)环己基]-5-(2-甲基辛烷-2-基)苯酚)、二甲基庚基吡喃、HU-331(3-羟基-2-[(1R)-6-异丙烯基-3-甲基-环己-2-烯-1-基]-5-戊基-1,4-苯醌)、SR144528(5-(4-氯-3-甲基苯基)-1-[(4-甲基苯基)甲基]-N-[(1S,2S,4R)-1,3,3-三甲基双环[2.2.1]庚烷-2-基]-1H-吡唑-3-羧酰胺)、WIN 55,212-2((11R)-2-甲基-11-[(吗啉-4-基)甲基]-3-(萘-1-羰基)-9-氧杂-1-氮杂三环[6.3.1.0^{4},12]十二碳-2,4(12),5,7-四烯)、JWH-133((6aR,10aR)-3-(1,1-二甲基丁基)-6a,7,10,10a-四氢-6,6,9-三甲基-6H-二苯并[b,d]吡喃)、左那曲多(levonatradol)和AM-2201(1-[(5-氟戊基)-1H-吲哚-3-基]-(萘-1-基)甲酮)。其他大麻素包括Δ^{8}-四氢大麻酚(Δ^{8}-THC)、11-羟基-Δ^{9}-四氢大麻酚、Δ^{11}-四氢大麻酚和11-羟基-四氢大麻酚。

[0088] 在另一个替代方案中,这些大麻素的类似物或衍生物可通过提供前体大麻素并进一步衍生化(例如通过合成手段)来获得。合成大麻素包括但不限于Attala等人的美国专利号9,394,267;Herkenroth等人的美国专利号9,376,367;Gijsen等人的美国专利号9,284,303;Travis的美国专利号9,173,867;Fulp等人的美国专利号9,133,128;Jones等人的美国专利号8,778,950;Adam-Worrall等人的美国专利号7,700,634;Davidson等人的美国专利号7,504,522;Barth等人的美国专利号7,294,645;Kruse等人的美国专利号7,109,216;Thomas等人的美国专利号6,825,209和Mittendorf等人的美国专利号6,284,788中所描述的那些合成大麻素。

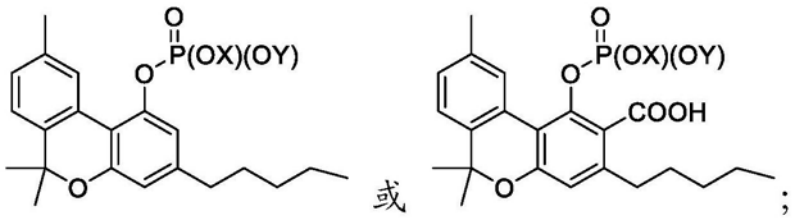
[0089] 根据本发明的神经保护性大麻素可至少部分选择性地与CB2大麻素受体或CB1大麻素受体结合。在一些实施方案中,神经保护性大麻素与CB1和CB2大麻素受体两者结合。在一些情况下,根据本发明的神经保护性大麻素对CB1大麻素受体具有选择性并充当部分激动剂。在一些其他情况下,根据本发明的神经保护性大麻素对CB2大麻素受体具有选择性并充当部分激动剂。在某些情况下,神经保护性大麻素与CB1和CB2受体两者结合,充当两个受体的部分激动剂,但对CB2受体具有更高的亲和力,其效力与Δ^{9}-THC类似。在一些情况下,大麻素或神经保护性大麻素混合物中的大麻素之一是CB2受体的反向激动剂。作为反向激动剂,神经保护性大麻素可与CB2受体结合,但会诱导与激动剂相反的药理反应。在一些情况下,根据本发明的神经保护组合物和方法中的大麻素对CB2大麻素受体具有部分选择性。在一些情况下,在体外竞争测定中神经保护性大麻素或大麻素混合物表现出例如与CB1受体相比,对CB2受体的K_i低至少3倍,对CB2的结合亲和力总体上更高。

[0090] 示例性大麻素是大麻酚或大麻酚酸。

[0091] 可用于本发明的示例性前药包括但不限于以下大麻酚(左)和大麻酚酸(右)的前药:

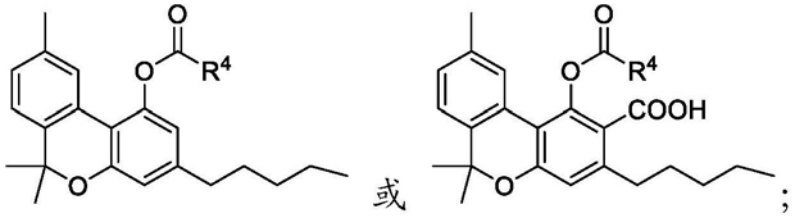


[0092]



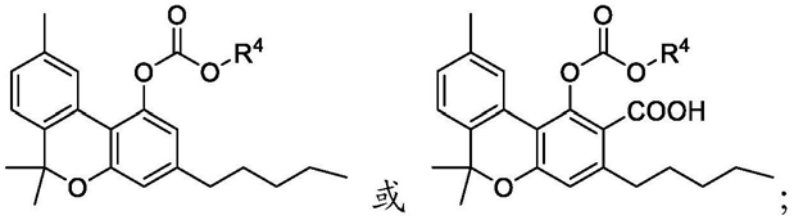
[0093] 其中X和Y可相同或不同，并选自由以下组成的组：氢、碱金属(例如钠和钾)、碱土金属(例如钙和镁)；和药学上可接受的有机胺(例如季铵化或质子化胺，其包括烷基胺、羟烷基胺、单胺、二胺、和天然存在的胺)的阳离子。此类药学上可接受的有机碱的实例包括胆碱、甜菜碱、咖啡因、N,N'-二苄基乙二胺、二乙胺、2-二乙基氨基乙醇、2-二甲基氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、葡糖胺、哈胺、异丙胺、甲基葡糖胺、吗啉、哌啶、多胺树脂、普鲁卡因(procaine)、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、氨丁三醇、四甲基氢氧化铵、苄基三甲基氢氧化铵、三(羟甲基)氨基甲烷(TRIS)、N-(2-羟乙基)吡咯烷、哌嗪、葡萄糖胺、精氨酸、赖氨酸和组氨酸。在又一个实施方案中，X和Y是不同的取代基。在另一个实施方案中，X和Y是相同的取代基。在又一个的实施方案中，X和Y都可以是相同官能团诸如哌嗪的一部分。在又一个实施方案中，磷酸酯选自由二磷酸酯和三磷酸酯组成的组。在另一个实施方案中，化合物是二磷酸酯或三磷酸酯的盐形式；

[0094]

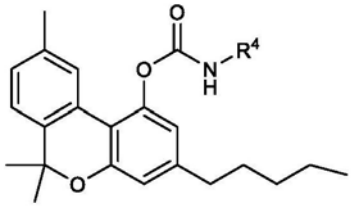
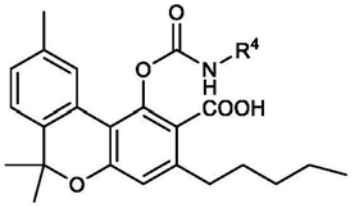


[0095] 其中R^4是直链或支链取代或未取代的烷基或烷氧基烷基、烷基胺、羟烷基或羟烷基胺，优选其中R^4包含1至12个碳和任选不超过4个取代，更优选其中R^4包含1至6个碳原子和任选不超过2个取代；

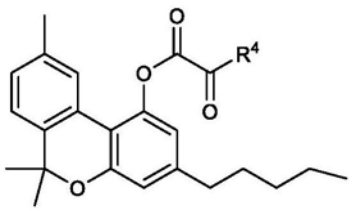
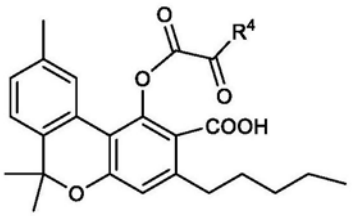
[0096]



[0097] 其中R^4是直链或支链取代或未取代的烷基或烷氧基烷基、烷基胺、羟烷基或羟烷基胺，优选其中R^4包含1至12个碳和任选不超过4个取代，更优选其中R^4包含1至6个碳原子和任选不超过2个取代；

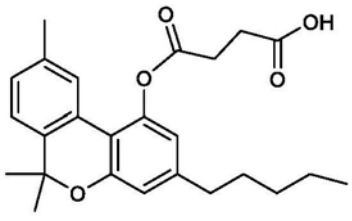
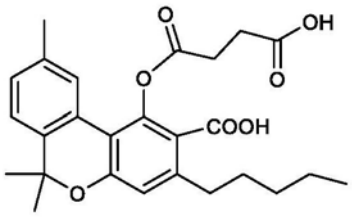
[0098]  或 ;

[0099] 其中R^4是直链或支链取代或未取代的烷基或烷氧基烷基、烷基胺、羟烷基或羟烷基胺,优选其中R^4包含1至12个碳和任选不超过4个取代,更优选其中R^4包含1至6个碳原子和任选不超过2个取代;

[0100]  或 

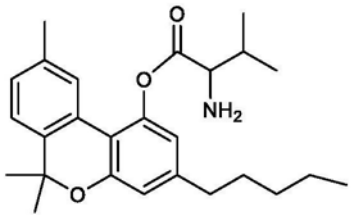
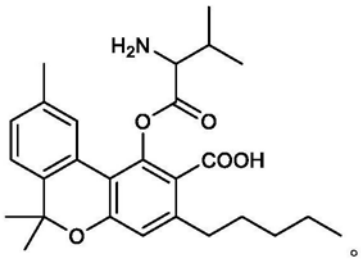
[0101] 其中R^4是直链或支链取代或未取代的烷基或烷氧基烷基、烷基胺、羟烷基或羟烷基胺,优选其中R^4包含1至12个碳和任选不超过4个取代,更优选其中R^4包含1至6个碳原子和任选不超过2个取代。

[0102] 在一些实施方案中,可用于本发明的前药包括但不限于以下大麻酚(左)和大麻酚酸(右)的前药:

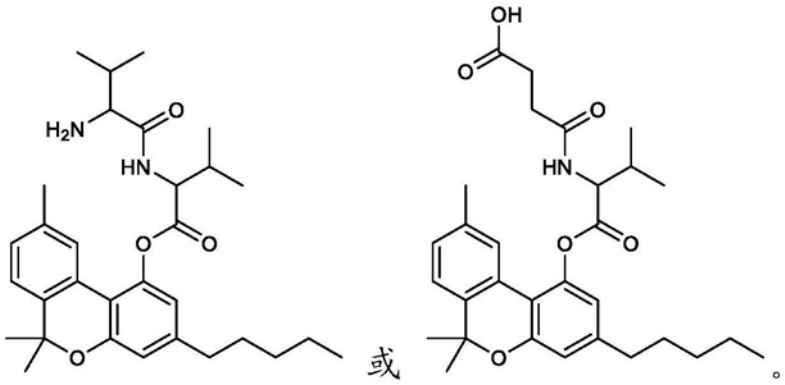
[0103]  或 ,

[0104] 在一些实施方案中,可有利地用环糊精诸如随机甲基化β-环糊精、2-羟丙基β-环糊精或磺丁基醚β-环糊精配制前述前药。

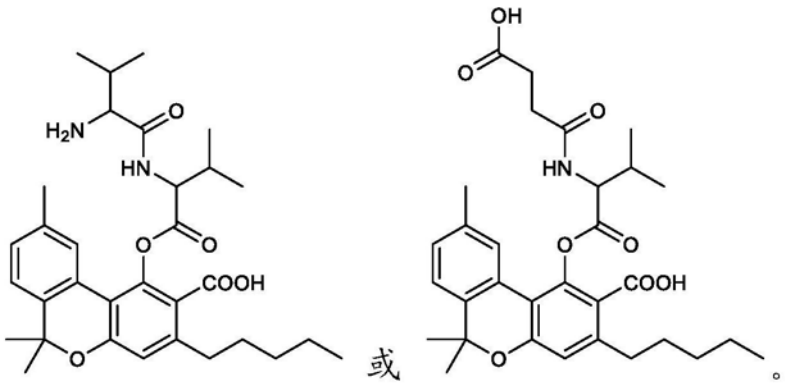
[0105] 在一些实施方案中,可用于本发明的前药包括但不限于以下大麻酚(左)和大麻酚酸(右)的前药:

[0106]  或 。

[0107] 在一些实施方案中,可用于本发明的前药包括但不限于以下大麻酚的前药:

[0108] 

[0109] 在一些实施方案中,可用于本发明的前药包括但不限于以下大麻酚酸的前药:

[0110] 

[0111] 药物组合物

[0112] 本文所述的组合物通常配制用于施用。因此,本文描述了一种组合物,其包含与一种或多种药学上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂一起配制用于施用的大麻酚。

[0113] 药物组合物可通过已知程序使用众所周知且容易获得的成分制备。

[0114] 包含大麻酚的药物组合物可配制用于通过多种标准途径(例如,经眼部、口服、局部、胃肠外、通过吸入或喷雾、经直肠或阴道)中的一种以含有常规无毒药学上可接受的载剂、佐剂、赋形剂和/或媒介物的剂量单位制剂的形式施用于受试者。

[0115] 如本文中所用,术语“胃肠外”在各种实施方案中包括皮下注射、皮内、关节内、静脉内、肌肉内、血管内、胸骨内、鞘内注射和输注技术。药物组合物通常以适用于通过所选的途径向受试者施用的形式(例如作为滴眼剂、眼用眼科长效剂、糖浆剂、酏剂、片剂、锭剂(troche)、锭剂(lozenge)、硬胶囊或软胶囊、丸剂、栓剂、油性或水性混悬液、可分散粉剂或颗粒、乳液、注射剂或溶液)配制。

[0116] 在某些实施方案中,大麻酚组合物被配制用于经由全身途径(例如,静脉内、肌肉内、皮内、腹膜内、皮下或口服)施用。

[0117] 旨在用于口服使用的组合物可制备成固体或液体单位剂型。液体单位剂型可根据本领域已知的用于制造药物组合物的程序来制备,并且此类组合物可含有一种或多种选自由甜味剂、调味剂、着色剂和防腐剂组成的组的剂,以便提供药学上优良且可口的制剂。酏剂是通过使用具有合适的甜味剂(诸如糖或糖精)的水醇(例如乙醇)媒介物连同芳香调味剂一起制备的。混悬液可以在助悬剂诸如阿拉伯胶、黄蓍胶、甲基纤维素等的帮助下用水性媒介物制备。

[0118] 固体制剂诸如片剂含有与适用于制造片剂的无毒药学上可接受的赋形剂混合的

活性成分。这些赋形剂可以是例如惰性稀释剂，诸如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠；造粒剂和崩解剂，例如玉米淀粉或海藻酸；粘合剂，例如淀粉、明胶或阿拉伯胶；以及润滑剂，例如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石粉；以及其他常规成分，诸如磷酸二钙、硅酸铝镁、硫酸钙、淀粉、乳糖、甲基纤维素和功能类似的材料。片剂可以是未包衣的或者它们可通过已知技术包衣以延迟在胃肠道中的崩解和吸收，从而在延长的时间段内提供持续的作用。例如，可采用诸如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯的时间延时材料。

[0119] 用于口服使用的制剂还可以硬明胶胶囊形式存在，其中活性成分与惰性固体稀释剂(例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土)混合；或以软明胶胶囊形式存在，其中活性成分与水或油性介质(例如花生油、液体石蜡或橄榄油)混合。软明胶胶囊通过用可接受的植物油、轻质液体石蜡或其他惰性油对化合物的浆液进行机器包封来制备。

[0120] 水性混悬液含有与一种或多种适用于制造水性混悬液的赋形剂混合的活性成分。此类赋形剂包括助悬剂，例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙甲基纤维素、海藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、黄蓍胶以及阿拉伯树胶；以及分散剂或润湿剂诸如天然存在的磷脂(例如，卵磷脂)、环氧烷烃与脂肪酸的缩合产物(例如，聚氧乙烯硬脂酸酯)、环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物(例如，十七元环氧乙基十六醇)、环氧乙烷与源于脂肪酸和己糖醇的部分酯的缩合产物(例如，聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯)或环氧乙烷与衍生自脂肪酸和己糖醇酐的偏酯的缩合产物(例如，聚乙烯山梨聚糖单油酸酯)。水性混悬液还可含有一种或多种防腐剂(例如，对羟基苯甲酸乙酯或正丙酯)、一种或多种着色剂、一种或多种调味剂或一种或多种甜味剂(诸如蔗糖或糖精)。

[0121] 油性混悬液可通过使活性成分混悬于植物油(例如，花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油)或矿物油(诸如液体石蜡)中来配制。油性混悬液可含有增稠剂，例如蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。可添加如上所述的甜味剂以及调味剂以提供合乎口味的口服制剂。这些组合物可通过添加如抗坏血酸的抗氧化剂来保存。

[0122] 适用于通过添加水来制备水性混悬液的可分散粉剂和颗粒提供了与分散剂或润湿剂、混悬剂以及一种或多种防腐剂混合的活性成分。适合的分散剂或润湿剂和混悬剂通过已在以上提及的那些药剂来例证。还可存在另外的赋形剂，例如甜味剂、调味剂和着色剂。

[0123] 药物组合物还可以呈水包油乳液的形式。油相可以是植物油(例如，橄榄油或花生油)或矿物油(例如，液体石蜡)或这些的混合物。合适的乳化剂可以是天然存在的树胶(例如，阿拉伯树胶或黄蓍胶)、天然存在的磷脂(例如，大豆卵磷脂)以及衍生自脂肪酸和己糖醇酐的酯或偏酯(例如，脱水山梨糖醇单油酸酯)以及此类偏酯与环氧乙烷的缩合产物(例如，聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯)。所述乳液还可任选地含有甜味剂和调味剂。

[0124] 药物组合物可以呈无菌注射用水性混悬液或油性混悬液形式。可使用合适的分散剂或润湿剂和助悬剂(诸如在以上提及的那些)如本领域已知的那样配制此类混悬液。无菌注射制剂还可以是在胃肠外可接受的无毒稀释剂或溶剂中的无菌注射用溶液或混悬液，例如，作为1,3-丁二醇中的溶液。可采用的其他可接受的媒介物和溶剂包括例如水、林格氏溶液(Ringer's solution)和等渗氯化钠溶液。另外，可采用无菌、不挥发性油(fixed oil)作为溶剂或助悬介质。可采用已知适用于这个目的的各种温和不挥发性油，包括合成甘油单酯或甘油二酯。另外，脂肪酸诸如油酸可用于制备注射剂。诸如局部麻醉剂、防腐剂和缓冲

剂的佐剂也可任选地包含在注射用溶液或混悬液中。

[0125] 其他药物组合物和制备药物组合物的方法是本领域已知的并且在例如“Remington:The Science and Practice of Pharmacy”(以前称为“Remingtons Pharmaceutical Sciences”);Gennaro,A.,Lippincott,Williams&Wilkins,Philadelphia,Pa.(2000)中有所描述。

[0126] 制剂中神经保护化合物(例如大麻酚)的浓度将根据待治疗的病状和/或施用模式而变化。

[0127] 方法

[0128] 本文描述了保护神经元免于神经变性刺激的方法。一般来说,所述方法包括使神经元与有效量的包含大麻酚或大麻酚衍生物的组合物接触。所述方法可以是体外方法。可替代地,所述方法可以是至少部分在体内进行的方法,诸如通过向受试者施用神经保护组合物。施用可以通过全身注射(例如,静脉注射或皮下注射)或局部注射进行。例如,局部注射可包括玻璃体内注射。施用可通过非侵入性的局部施用方法进行。例如,局部施用于视网膜神经元(诸如视网膜神经节)可包括施用滴眼剂制剂,诸如水凝胶(参见例如,WO 2018/205022)或微乳液(参见例如,US 9,149,453)。

[0129] 在某些实施方案中,施用化合物的时间段少于六周。在某些实施方案中,施用化合物的时间段为约一至四个星期。在其他实施方案中,诸如为了治疗神经变性疾病诸如青光眼,将在延长的时间段内诸如数年或患者的剩余生命期间施用化合物。化合物可每周一次、每隔一天一次、每天一次、每天两次或每天三次施用。

[0130] 可施用神经保护化合物来治疗需要治疗的受试者的眼睛以保护视网膜神经元(例如视神经纤维)。例如,受试者可能已经受到影响视神经纤维的损伤,诸如物理伤害。作为另一个实例,受试者可能患有青光眼或已被诊断为青光眼。如果施用神经保护化合物以保护神经元,诸如视网膜神经元,那么可以以提供与靶标神经元或靶标神经元群体接触的神经保护化合物(例如大麻酚或其衍生物)的峰值、中值或谷值,优选峰值神经保护有效浓度的剂量施用神经保护化合物。在一些实施方案中,靶标神经元是视网膜神经元。在一些实施方案中,靶标神经元是外周神经元。在一些实施方案中,靶标神经元是中枢神经元。

[0131] 在一个实施方案中,与靶标神经元或靶标神经元群体接触的神经保护化合物(例如大麻酚或其衍生物或前药)的神经保护有效浓度小于约25μM、小于约20μM、小于约15μM、小于约14μM、小于约13μM、小于约12μM或小于约10μM。在一个实施方案中,与靶标神经元或靶标神经元群体接触的神经保护化合物(例如大麻酚或其衍生物)的神经保护有效浓度为大于约0.15μM至小于约25μM,或大于0.15μM至小于25μM,或至少约0.15μM至小于约25μM,或至少0.15μM至小于25μM,或大于约0.15μM至小于约20μM,或大于0.15μM至小于20μM,或至少约0.15μM至小于约20μM,或至少0.15μM至小于20μM。

[0132] 在一个实施方案中,与靶标神经元或靶标神经元群体接触的神经保护化合物(例如大麻酚或其衍生物)的神经保护有效浓度为大于约0.15μM至小于约15μM,或大于0.15μM至小于15μM,或至少约0.15μM至小于约15μM,或至少0.15μM至小于15μM,或大于约0.15μM至小于约12μM,或大于0.15μM至小于12μM,或至少约0.15μM至小于约12μM,或至少0.15μM至小于12μM。在一个实施方案中,神经保护化合物(例如大麻酚或其衍生物)的神经保护有效浓度为至少约0.5μM至小于约25μM,或至少0.5μM至小于25μM,或至少约0.5μM至小于约20μM,

或至少0.5μM至小于20μM。在一个实施方案中，神经保护化合物(例如大麻酚或其衍生物)的神经保护有效浓度为至少约0.5μM至小于约15μM，或至少0.5μM至小于15μM，或至少约0.5μM至小于约12μM，或至少0.5μM至小于12μM。

[0133] 在一个实施方案中，眼内眼组织中神经保护化合物(例如大麻酚或其衍生物或前药)的神经保护有效浓度小于约25μM、小于约20μM、小于约15μM、小于约14μM、小于约13μM、小于约12μM或小于约10μM。在一个实施方案中，眼内眼组织中神经保护化合物(例如大麻酚或其衍生物)的神经保护有效浓度为大于约0.15μM至小于约25μM，或大于0.15μM至小于25μM，或至少约0.15μM至小于约25μM，或至少0.15μM至小于25μM，或大于约0.15μM至小于约20μM，或大于0.15μM至小于20μM，或至少约0.15μM至小于约20μM，或至少0.15μM至小于20μM。

[0134] 在一个实施方案中，眼内眼组织中神经保护化合物(例如大麻酚或其衍生物)的神经保护有效浓度为大于约0.15μM至小于约15μM，或大于0.15μM至小于15μM，或至少约0.15μM至小于约15μM，或至少0.15μM至小于15μM，或大于约0.15μM至小于约12μM，或大于0.15μM至小于12μM，或至少约0.15μM至小于约12μM，或至少0.15μM至小于12μM。在一个实施方案中，神经保护化合物(例如大麻酚或其衍生物)的神经保护有效浓度为至少约0.5μM至小于约25μM，或至少0.5μM至小于25μM，或至少约0.5μM至小于约20μM，或至少0.5μM至小于20μM。在一个实施方案中，神经保护化合物(例如大麻酚或其衍生物)的神经保护有效浓度为至少约0.5μM至小于约15μM，或至少0.5μM至小于15μM，或至少约0.5μM至小于约12μM，或至少0.5μM至小于12μM。

[0135] 在一个实施方案中，眼内眼组织中神经保护化合物(例如大麻酚或其衍生物)的神经保护有效浓度为大于约0.15μM至小于约10μM，或大于0.15μM至小于7.5μM，或至少约0.15μM至小于约10μM，或至少0.15μM至小于7.5μM，或大于约0.15μM至约5μM，或大于0.15μM至5μM，或至少约0.15μM至约5μM，或至少0.15μM于5μM。

[0136] 例如，神经保护化合物可口服、鞘内、静脉内、局部或注射施用，和/或直接向靶标神经元或靶标神经元群体的部位施用。在一个实施方案中，通过约1mg/kg至约100mg/kg，优选约1mg/kg至约20mg/kg，更优选约1mg/kg至约15mg/kg，还更优选约1mg/kg至约10mg/kg，最优选约1mg/kg至约13mg/kg的全身剂量达到神经保护有效浓度。可重复给药，例如每周一次、每隔一天一次、每天一次或每天两次。

[0137] 神经保护化合物可鞘内、静脉内或注射施用，或直接施用到眼中，诸如通过局部眼部滴注或玻璃体内注射或泵。在一个实施方案中，对于眼部适应症的眼部施用(例如治疗青光眼)，全身剂量可为1mg/kg至20mg/kg。可重复给药，例如每周一次、每隔一天一次、每天一次或每天两次。在一个实施方案中，对于眼部适应症的全身施用(例如治疗青光眼)，全身剂量可为1mg/kg至15mg/kg、1mg/kg至13mg/kg或1mg/kg至10mg/kg。可重复给药，例如每周一次、每隔一天一次、每天一次或每天两次。在一个实施方案中，对于外周适应症的全身施用(例如治疗外周神经病和/或外周神经损伤或伤害)，剂量可为1mg/kg至20mg/kg、1mg/kg至15mg/kg、1mg/kg至13mg/kg或1mg/kg至10mg/kg。可重复给药，例如每周一次、每隔一天一次、每天一次或每天两次。在一个实施方案中，对于中枢适应症的全身施用(例如，治疗中枢神经损伤或伤害)，剂量可为1mg/kg至20mg/kg、1mg/kg至15mg/kg、1mg/kg至13mg/kg或1mg/kg至10mg/kg。可重复给药，例如每周一次、每天一次或每天两次。

[0138] 在一个实施方案中，对于眼部适应症的眼部施用(例如治疗青光眼)，眼部剂量可

为0.5mg至20mg、0.5mg至15mg、0.5mg至10mg、1mg至20mg、1mg至15mg、1mg至10mg、0.5mg至5mg或1mg至5mg，诸如以滴眼剂或眼凝胶的形式应用于眼睛。可重复给药，例如每周一次、每隔一天一次、每天一次或每天两次。在一个实施方案中，对于眼部适应症的眼部施用(例如治疗青光眼)，眼部剂量可为0.05mg至2mg、0.05mg至1.5m g、0.05mg至1mg、0.1mg至2mg、0.1mg至1.5mg、0.1mg至1mg、0.05mg至0.5mg或0.1mg至0.5mg，诸如以玻璃体内注射或泵的形式应用于眼睛。可重复给药，例如每周一次、每隔一天一次、每天一次或每天两次。

[0139] 在某些实施方案中，神经保护化合物在影响视网膜神经元的损伤的约0-48小时内施用。在某些实施方案中，神经保护化合物在影响视网膜神经元的损伤的约2-24小时内施用。在某些实施方案中，神经保护化合物在影响视网膜神经元的损伤的约3-12小时内施用。在某些实施方案中，神经保护化合物在影响视网膜神经元的损伤的约3-5小时内施用。

[0140] 在某些实施方案中，向患有糖尿病视网膜神经病的受试者施用神经保护化合物或其制剂。在某些实施方案中，向患有AMD的受试者施用神经保护化合物或其制剂。在某些实施方案中，向患有视网膜色素变性的受试者施用神经保护化合物或其制剂。在某些实施方案中，向患有青光眼的受试者施用神经保护化合物或其制剂。

[0141] 可施用神经保护化合物来治疗需要治疗的受试者以保护外周神经元。例如，受试者可能已经受到影响一个或多个外周神经的损伤，诸如物理伤害。作为另一个实例，受试者可患有以外周神经变性为特征的疾病或病状。

[0142] 在某些实施方案中，神经保护化合物在影响外周神经元的损伤的约0-48小时内施用。在某些实施方案中，神经保护化合物在影响外周神经元的损伤的约2-24小时内施用。在某些实施方案中，神经保护化合物在影响外周神经元的损伤的约3-12小时内施用。在某些实施方案中，神经保护化合物在影响外周神经元的损伤的约3-5小时内施用。

[0143] 可施用神经保护化合物来治疗需要治疗的受试者以保护中枢神经元。例如，受试者可能已经受到影响中枢神经系统(CNS)中的神经元的损伤。作为另一个实例，受试者可能患有以中枢神经变性为特征的疾病或病状。

[0144] 在某些实施方案中，神经保护化合物在影响CNS的损伤诸如物理伤害的约0-48小时内施用。在某些实施方案中，神经保护化合物在影响CNS的损伤的约2-24小时内施用。在某些实施方案中，神经保护化合物在影响CNS的损伤的约3-12小时内施用。在某些实施方案中，神经保护化合物在影响CNS的损伤的约3-5小时内施用。

[0145] 所述方法可包括或进一步包括同时或依次施用第二药物活性剂与神经保护组合物的组合。在一些情况下，第二药物活性剂是用于治疗青光眼的治疗剂。例如，所述方法可包括施用药物以降低有需要的受试者的眼内压。

[0146] 实施例

[0147] 实施例1:在大气压下用大麻酚对神经元细胞的保护作用

[0148] 细胞培养和分化:在37℃下在5％CO_2的湿润气氛中将小鼠661W(RGC-5)细胞系保持在补充有10％FBS和1％抗生素-抗真菌青霉素/链霉素(生长培养基)的DMEM细胞培养基中。为了在661W细胞中诱导神经元分化，将培养基替换为含有321nM星形孢菌素(STSR)的生长培养基，并将细胞在37℃下在5％CO_2的湿润气氛中孵育24小时。

[0149] 化合物和给药制剂:所选的大麻素:CBN、CBD、CBGA、CBDA、CBND和Δ^9-THC购自Cayman和Toronto Research Chemicals。将乙醇用作溶剂以制备1和10mM储备溶液。制备的

CBN的处理浓度为0.015、0.05、0.15、0.5、1.5、5、10和15μM。通过使用适当的储备溶液直接在对照培养基(DMEM+5%FBS+1%抗生素-抗真菌素)中制备其他大麻素的0.5、1.5和5μM处理浓度。

[0150] 细胞毒性和神经保护的评估:使用MTT(3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基溴化四唑鎓)测定进行在大气压下大麻素对分化的661W细胞的细胞毒性的评估。将细胞接种至96孔板(4,000细胞/孔)上的DMEM完全培养基中,并使其达到约70%汇合持续24小时。24小时后,将细胞培养基替换为含有321nM星形孢菌素(STSR)的生长培养基并孵育1天以诱导其分化为神经元表型。

[0151] MTT测定:对于MTT测定,将分化的661W细胞用不同浓度的大麻素处理并进行处理以确定细胞毒性。简言之,在PBS中制备5mg/mL的甲基噻唑基二苯基溴化四唑(Sigma-Aldrich)储备溶液。在大麻素处理72小时后,将661W细胞与200μL DMEM中的20μL MTT储备液在37℃下孵育2小时。随后用PBS进行后续洗涤后,将200μL异丙醇添加到每个孔中,并且立即使用分光光度计(BMG Labtech)在570nm波长下对溶解甲臜盐导致的颜色变化进行定量。将数据归一化为含有0.15%乙醇的媒介物对照(VC),并表示为%细胞死亡。大气压下的VC(%)被视为0%细胞死亡。结果在图1中示出。

[0152] 实施例2:在高静水压力下用大麻酚对661W细胞的神经保护

[0153] 除非另有指定,否则所有程序均按实施例1所述进行。将用相应浓度的大麻素处理的分化的661W细胞置于加压室中,所述加压室中保持20～40mmHg高静水压力72小时。在孵育结束时,处理661W细胞以用于MTT测定以确定细胞毒性。结果在图2-图5中示出。

[0154] 在一项单独的研究中,将浓度为0.015、0.05、0.15、0.5、1.5、5、10和15μM的大麻酚衍生物CBNA置于加压室中的分化661W细胞上,所述加压室中保持约10-25mmHg的高静水压力72小时。在孵育结束时,处理661W细胞以用于MTT测定以确定细胞毒性。结果在图6中示出。

[0155] 实施例3:使用细胞凋亡测定检测大麻素对661W细胞的神经保护

[0156] 使用Cell-APO Percentage™细胞凋亡试剂盒评估细胞凋亡,所述试剂盒通过比色法检测和测量细胞凋亡。所述测定使用Cell-APO Percentage™细胞凋亡系统来监测体外培养过程中哺乳动物贴壁依赖性细胞凋亡的发生。它测量细胞凋亡的执行阶段,所述阶段与磷脂酰丝氨酸从哺乳动物细胞膜的内表面到外表面的转位有关,这在实验上得到了膜联蛋白V与磷脂酰丝氨酸的结合的支持。磷脂酰丝氨酸跨膜运动导致凋亡定型细胞摄取APO Percentage染料。这种染料摄取一直持续到出现起泡并被正在经历细胞凋亡的细胞选择性输入。坏死细胞不能保留染料,因此不会被染色。

[0157] 根据制造商的说明,评估了在压力室中的高压(约20-25mmHg)下用0.015、0.05、0.15、0.5、1.5和5μM浓度的大麻酚处理的分化的661W细胞的细胞凋亡。简言之,将661W细胞以4×10^4细胞接种在24孔组织培养板的500μl培养基中,并且然后在37℃/5%CO_2下培养直至达到汇合(约24h)。将大麻酚的测试样品和媒介物对照以所选的浓度添加到细胞中并孵育6h时间段。

[0158] 在达到孵育时间前30min,除空白孔外,所有孔均用含有5%染料的处理培养基替换原先的处理培养基,并且然后在37℃/5%CO_2下再进一步孵育30min。然后从每个孔中去除所有培养基,用PBS(1000μl/孔)轻轻洗涤细胞两次以去除非细胞结合染料。将胰蛋白酶

(50μl)添加到每个孔中,并在37℃/5%CO_2下孵育10分钟。将细胞从塑料的细胞培养物处理过的表面上分离,并且将200μl染料释放试剂添加到振荡板上的每个孔中持续10分钟。标记细胞内在30分钟内积累的染料被释放到溶液中,并且使用微孔板色度计测量释放的胞内染料的浓度。将每个孔(250μl)的内容物转移到96孔平底板上,并使用酶标仪在550nm的吸光度(蓝绿色滤光片)下读取。从所有其他条件的值中减去空白的值。将平均吸光度值±平均值的标准误差绘制为媒介物对照吸光度值的百分比。

[0159] 如图7所示,大麻酚在大于0.015μM和小于5μM的浓度下在高压条件下与神经元接触时表现出有效的细胞凋亡保护作用,在0.05与1.5μM之间的浓度范围内具有统计学上显著的保护作用($p<0.05$和$p<0.01$)。加压室中的高压力条件模拟了青光眼患者眼内压升高的临床情况,并且在这些条件下观察到的大麻酚对细胞凋亡的抑制可引起视网膜细胞变性和视神经损害的改善。

[0160] 如这些实施例所示,当以约0.15μM至小于约15μM的浓度范围与神经元接触时,大麻酚表现出令人惊讶的有效神经保护作用。还展示了以大于0.015μM和小于5μM的浓度范围在高压条件下针对细胞凋亡的有效保护。相比之下,其他大麻素(诸如CBD和THC)在以0.5μM(CBD、CBG、CBGA)、1.5μM(CBD、CBC、CBG、CBGA、CBND)或5μM(CBD、CBDA、CBC、CBG、CBGA、CBND和THC)的浓度与神经元接触时,表现出高毒性。鉴于Colasanti等人,Exp.Eye Res.(1984)39,251-59的早期出版物,这些作用令人惊讶,所述文献公开了大麻酚的施用导致神经毒性。在模拟青光眼眼内压升高的临床情况的加压室中的高压力条件下还观察到大麻酚的神经保护作用,并且在相同条件下令人惊讶地优于CBD和Δ^9-THC。大麻酚衍生物CBNA(式I,其中R1是H,R2是COOH,并且R3是n-C5H11)也显示出类似的神经保护作用。

[0161] 实施例4:使用青光眼的大鼠巩膜外静脉激光光凝模型检测大麻酚的神经保护

[0162] 图形视网膜电图(pERG)振幅是在麻醉动物的眼睛上评估测量视网膜神经节细胞(RGC)活性的参数。在pERG记录期间,用一滴2.5%GonioVisc眼用润滑剂溶液(Hub Pharmaceuticals)保持眼睛湿润,这也确保了角膜与ERG电极之间的电接触。ERG电极是薄银/氯化银线环。一只眼睛被记录,而另一只眼睛被机械遮挡。被遮挡的眼睛充当ERG记录中的参考,提供最小的生理噪声,而接地电极放置在尾部。仅记录来自右眼(OD)的信号。pERG刺激是用伽马线性化监视器屏幕产生的,在观看距离处,产生每度视角0.10个周期的垂直正弦图形。刺激的平均亮度为45lux,深色与白色之间的对比度为99%。所述图形每300毫秒反转一次,一次记录显示1,200次反转。每只眼睛进行两次记录。对于pERG分析,将pERG波形叠加、检查一致性并取平均值作为最终的pERG反应。在激光照射前四天的第0天和激光照射后第7、14和21天记录基线pERG反应。最初在基线时记录所有动物的眼睛上的pERG基线振幅。然后基于它们的pERG反应将动物随机分为对照组和处理组。

[0163] 研究中使用了以下处理组:

[0164] • 第1组:媒介物(0.5%DMSO-PBS)(IVT,第0天、第7天和第15天)n=11

[0165] • 第2组:CBN低剂量,在0.05%DMSO-PBS中的5μM(IVT,第0天、第7天和第15天)n=13

[0166] • 第3组:CBN高剂量,在0.5%DMSO-PBS中的50μM(IVT,第0天、第7天和第15天)n=11

[0167] • 第4组:溴莫尼定(局部用药,每天两次,每只眼5μl,第-3天至第21天)n=14

[0168] 图8和表1展示了大麻酚对pERG活性的作用。在激光处理后，通过pERG振幅的降低测量的RGC的功能反应在所有治疗组中均降低。然而，仅在第21天的媒介物组([1.92μV]对基线[3.84μV])和在第14天和第21天的CBN高剂量组(第14天[1.87μV]和第21天[2.19μV]对基线[3.83μV]，表1)中观察到疾病诱导的统计学显著差异。溴莫尼定(ALPHAGAN)组和CBN低剂量组的pERG振幅与疾病诱导后的基线在随后的第14天和第21天都没有显著差异。此数据表明，眼内终浓度为5μM的CBN低剂量对RGC具有类似于ALPHAGAN的神经保护作用。

[0169] 表1.与基线值(%)相比的pERG振幅值(平均值±SEM)和振幅降低

[0170]

组	基线 MV	第7天 MV	第14天 MV	第21天 MV	与基线值相比		
					第7天 %	第14天 %	第21天 %
媒介物	3.8±0.5	3.9±0.8	2.9±0.5	1.9±0.2	1.8	-25.4	-49.9*
CBN低	3.3±0.3	3.2±0.5	2.3±0.2	2.2±0.3	-3.7	-31.2	-31.6
CBN高	3.8±0.4	3.6±0.6	1.9±0.3	2.2±0.4	-6.4	-51.2**	-42.9*
Alphagan	3.6±0.4	3.9±0.6	2.8±0.4	2.4±0.3	9.6	-22.8	-31.6

[0171] -在随后的第7、14和21天，所有处理组的pERG振幅(μV)降低。

[0172] -在第21天的媒介物组对基线和在第14天和第21天的CBN高剂量组对基线中观察到统计学显著差异(双向ANOVA，随后进行Tukey多重比较检验，*$p<0.05$，**$p<0.01$)。

[0173] -眼内终浓度为5μM的ALPHAGAN组和CBN低剂量组的pERG值(%)在随后的第7、14和21天均与基线无显著差异。

[0174] 参考文献：

[0175] Kalesnykas G,Uusitalo H.Comparison of simultaneous readings of intraocular pressure in rabbits using Perkins handheld,Tono-Pen XL,and TonoVet tonometers.Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.2007May;245(5):761-2.

[0176] ***

[0177] 本文说明性描述的本发明可在不存在本文未具体公开的任一个或多个要素、一个或多个限制的情况下进行合适的实践。因此，例如，术语“包含”、“包括”、“含有”等应被扩展地且非限制地解读。另外，本文所采用的术语和表达已用作描述性术语而非限制性术语，并且没有意图使用此类术语和表达来排除所示和所述的特征的任何等同物或其任何部分，并且应认识到各种修改在所要求保护的本发明的范围内是可能的。

[0178] 因此，应理解，尽管本发明已由优选实施方案和任选特征来具体公开，但是本领域技术人员可对本文公开的发明进行修改和变化，并且这种修改和变化被认为处于本文公开的发明的范围内。本发明已在本文中进行了广泛性和一般性的描述。落在一般性公开范围内的每个较狭义的物种和亚属群也是这些发明的形成部分。这包括具有附带条件或否定限制的每个发明的一般性描述，以从类属中去除任何主题而不管删除的材料是否特别存在于其中。

[0179] 另外，在根据马库什组(Markush group)描述了本发明的特征或方面的情况下，本领域技术人员将认识到本发明还因此根据马库什组的任何个别成员或成员亚组进行了描

述。还应理解以上描述意图是说明性的而非限制性的。在查阅以上描述后，许多实施方案对于本领域技术人员而言将是显而易见的。因此不应参考以上描述来确定本发明的范围，而应参考所附权利要求连同所述权利要求赋予权利的等效物的全部范围来确定。所有文章和参考文献(包括专利公布)的公开内容均以引用方式并入本文。

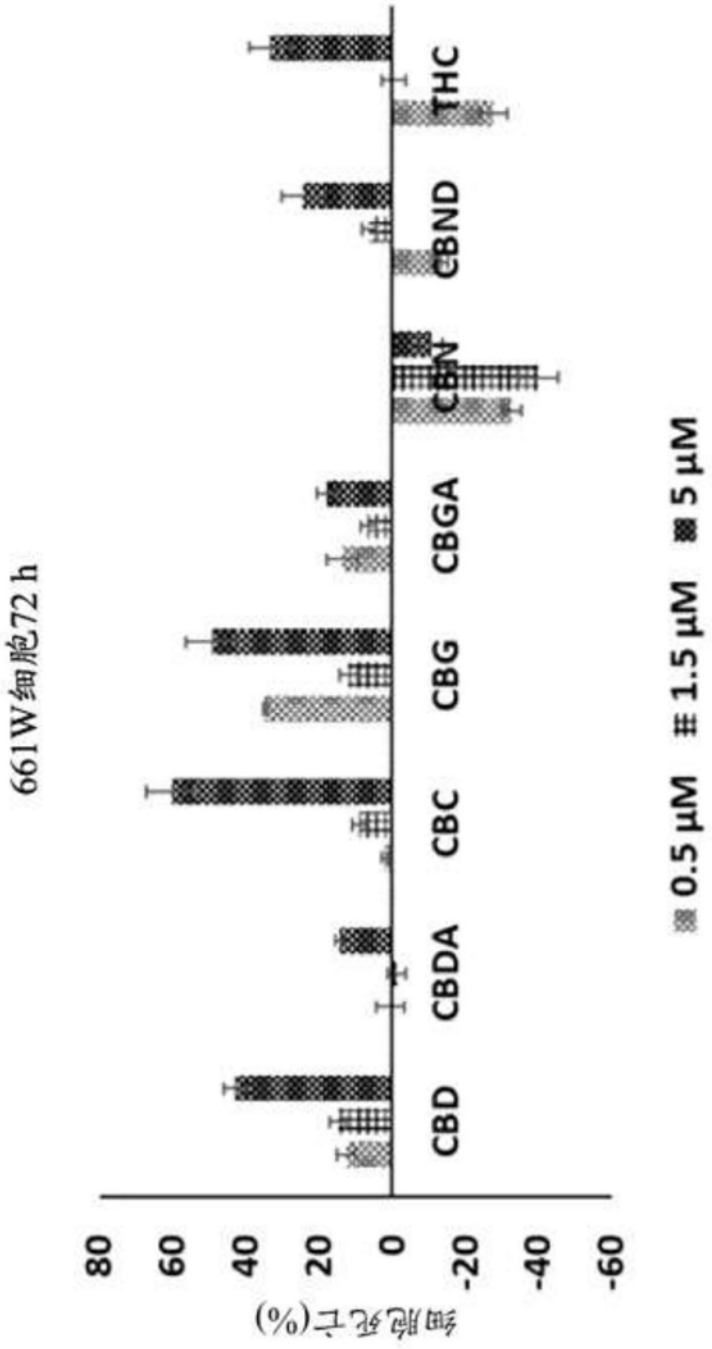

661W细胞72 h
细胞死亡(%)
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
CBD
CBDA
CBC
CBG
CBGA
CBN
CBND
THC
0.5 μM
1.5 μM
5 μM

图1

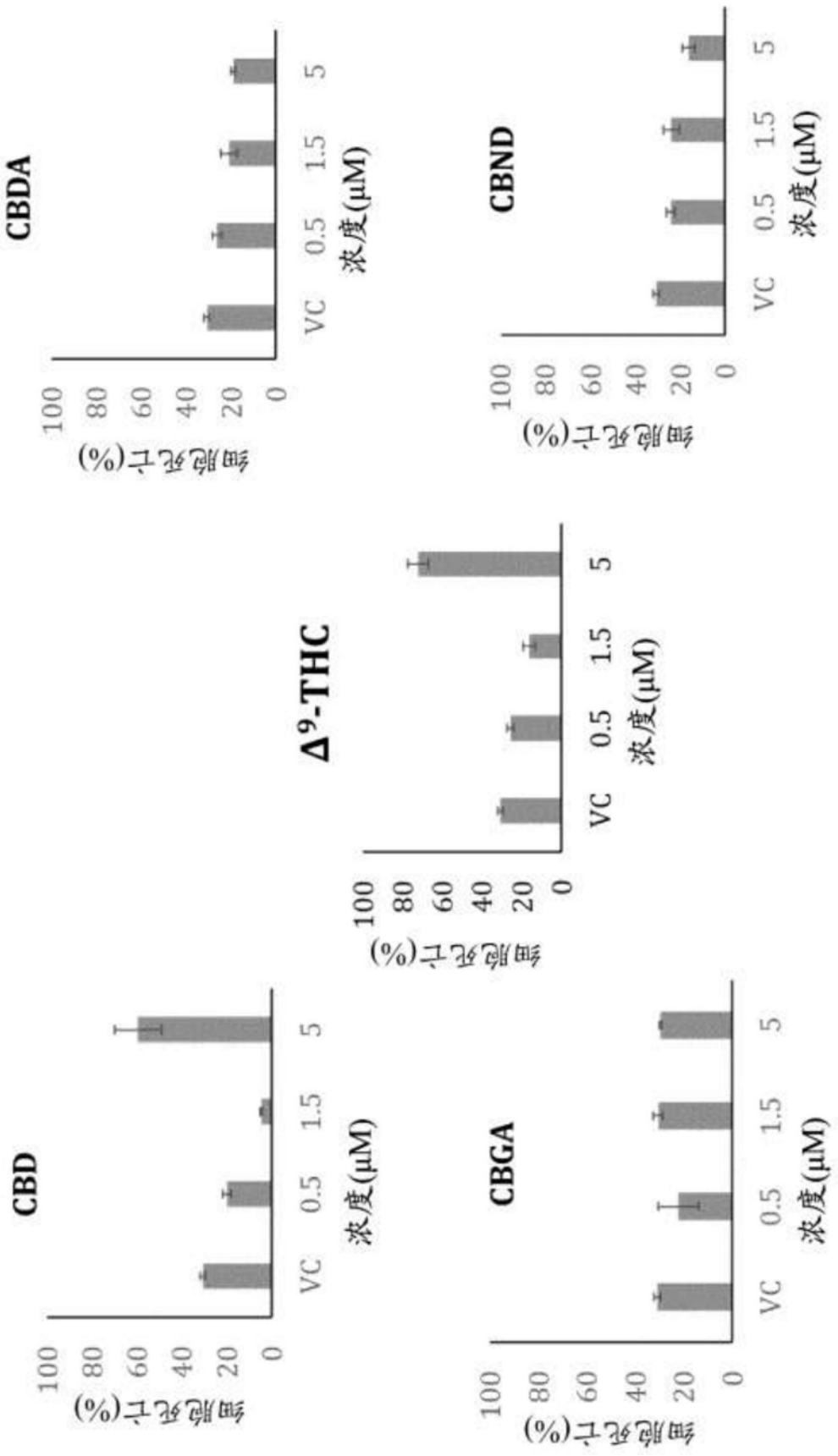


图2

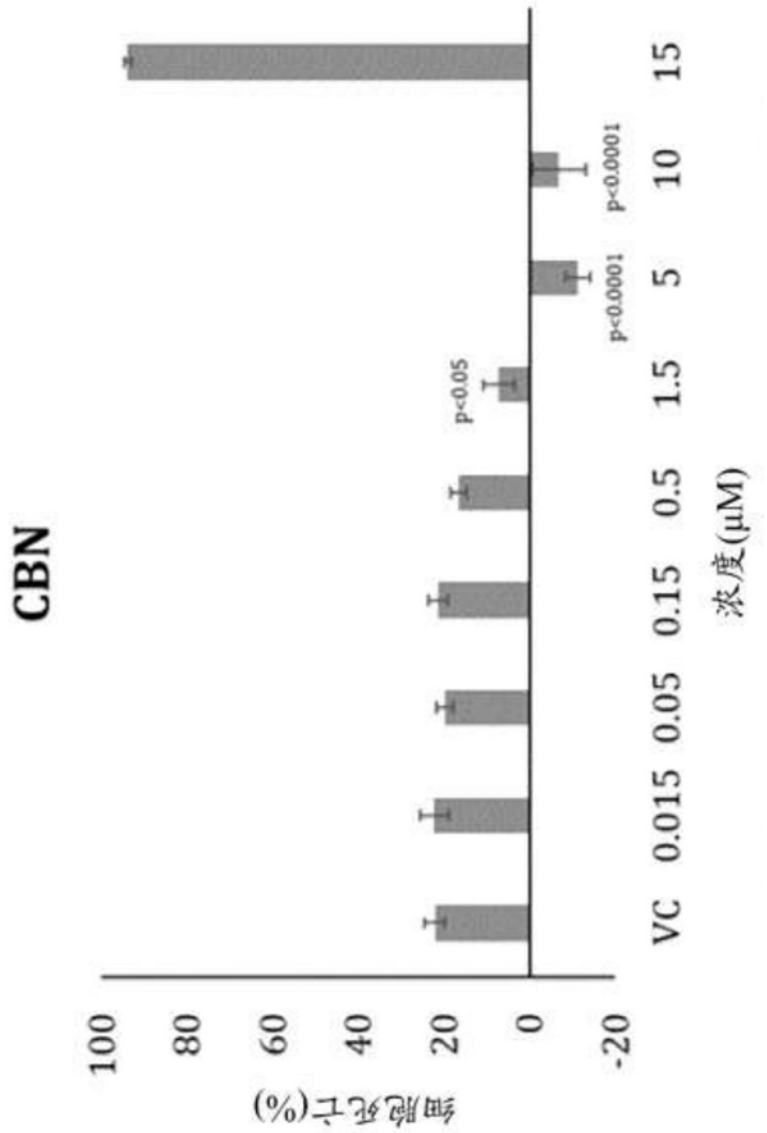

CBN
细胞死亡(%)
100
80
60
40
20
0
-20
VC
0.015
0.05
0.15
0.5
1.5
5
10
15
浓度(μM)
p<0.05
p<0.0001
p<0.0001

图3

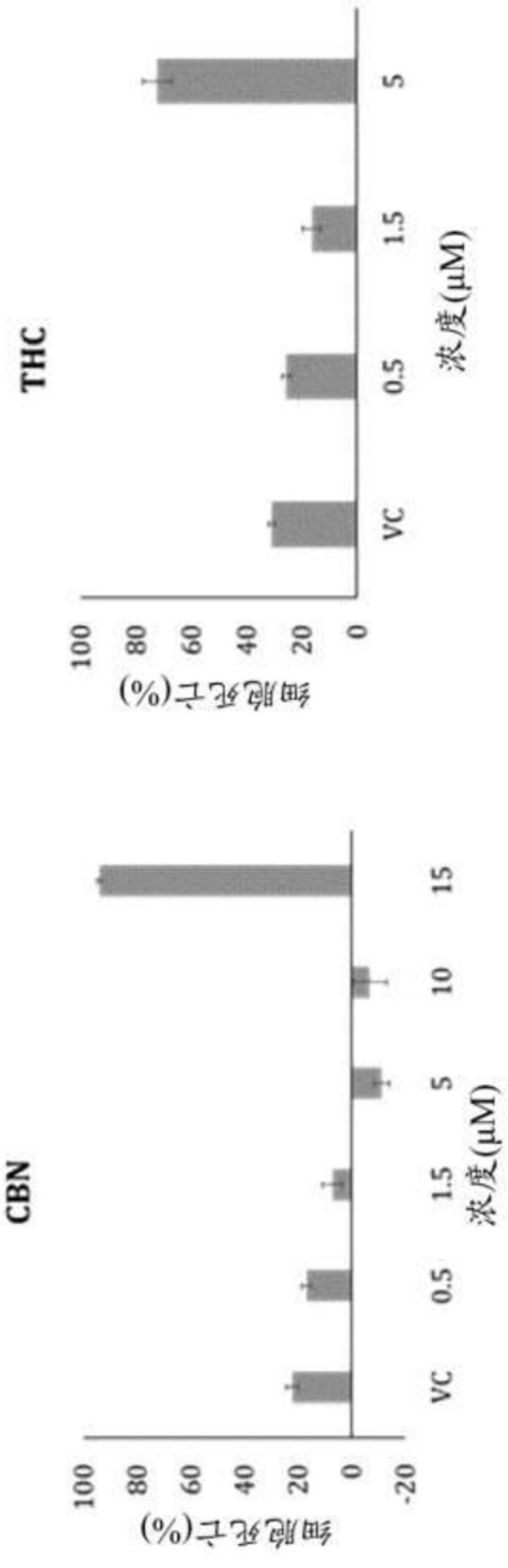

THC
细胞死亡(%)
100
80
60
40
20
0
VC
0.5
1.5
5
浓度(μM)
CBN
细胞死亡(%)
100
80
60
40
20
0
-20
VC
0.5
1.5
5
10
15
浓度(μM)

图4

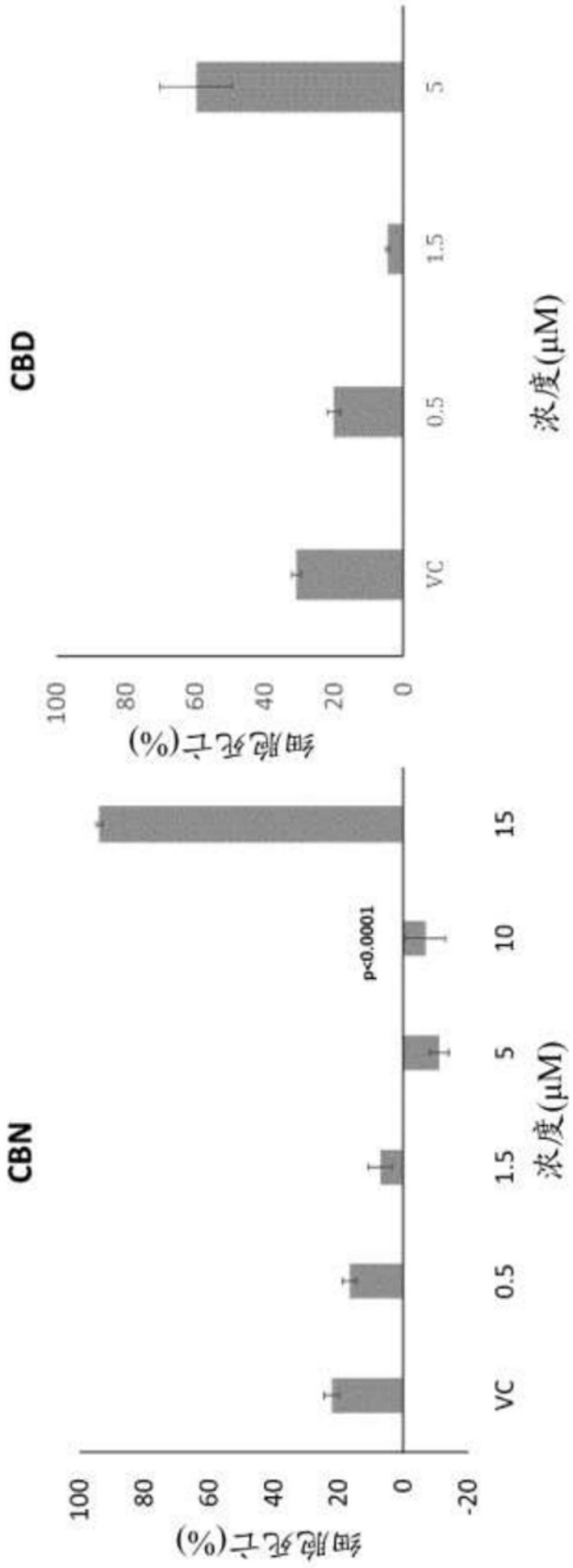

CBD
细胞死亡(%)
100
80
60
40
20
0
VC
0.5
1.5
5
浓度(μM)
CBN
细胞死亡(%)
100
80
60
40
20
0
-20
VC
0.5
1.5
5
10
15
浓度(μM)
p<0.0001

图5

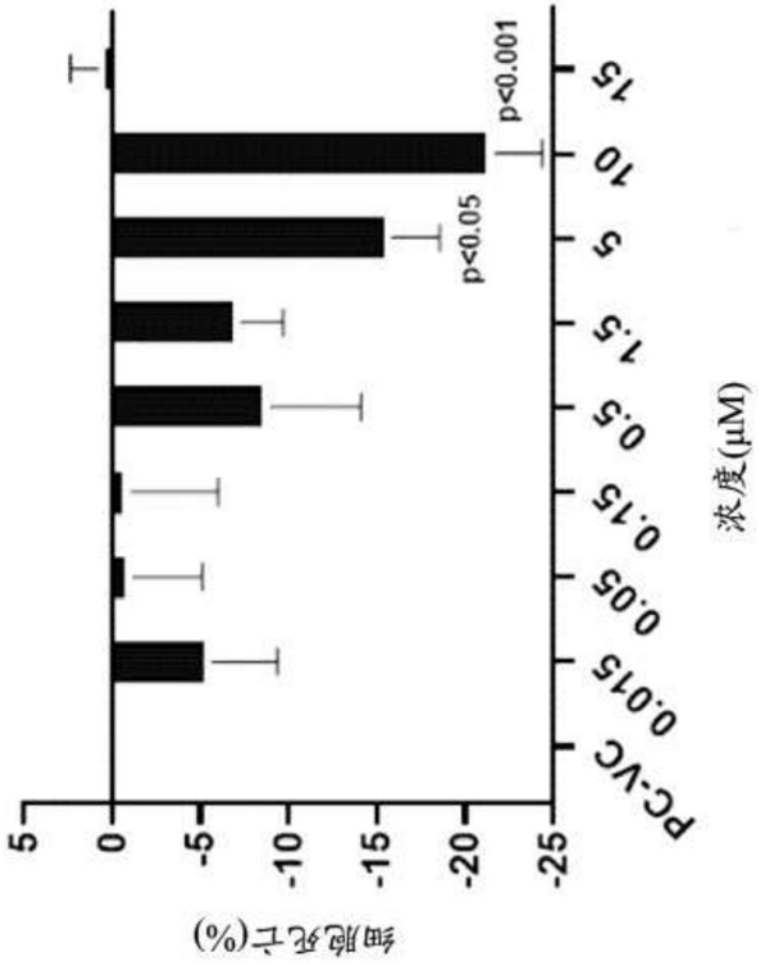

细胞死亡(%)
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
PC-VC
0.075
0.05
0.15
0.5
1.5
5
10
15
浓度(μM)
p<0.001
p<0.05

图6

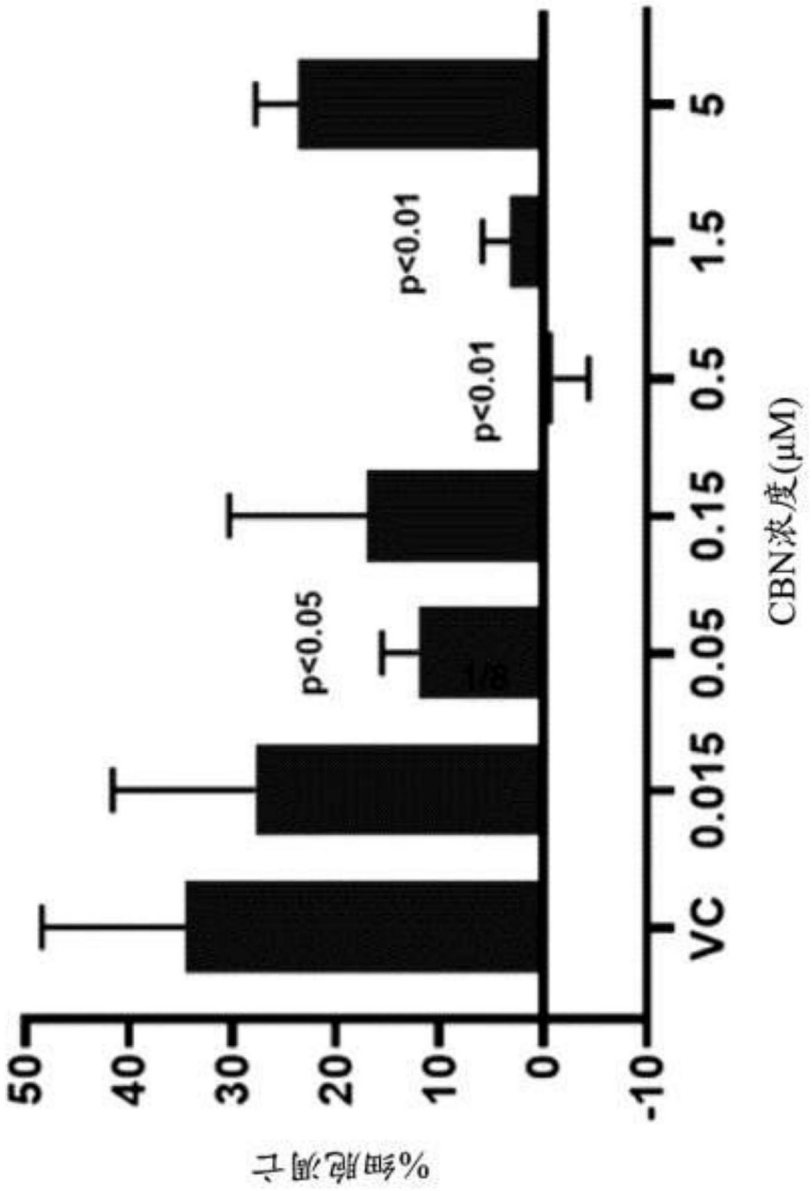

%细胞凋亡
50
40
30
20
10
0
-10
VC
0.015
0.05
0.15
0.5
1.5
5
CBN浓度(μM)
p<0.05
p<0.01
p<0.01
1/8

图7

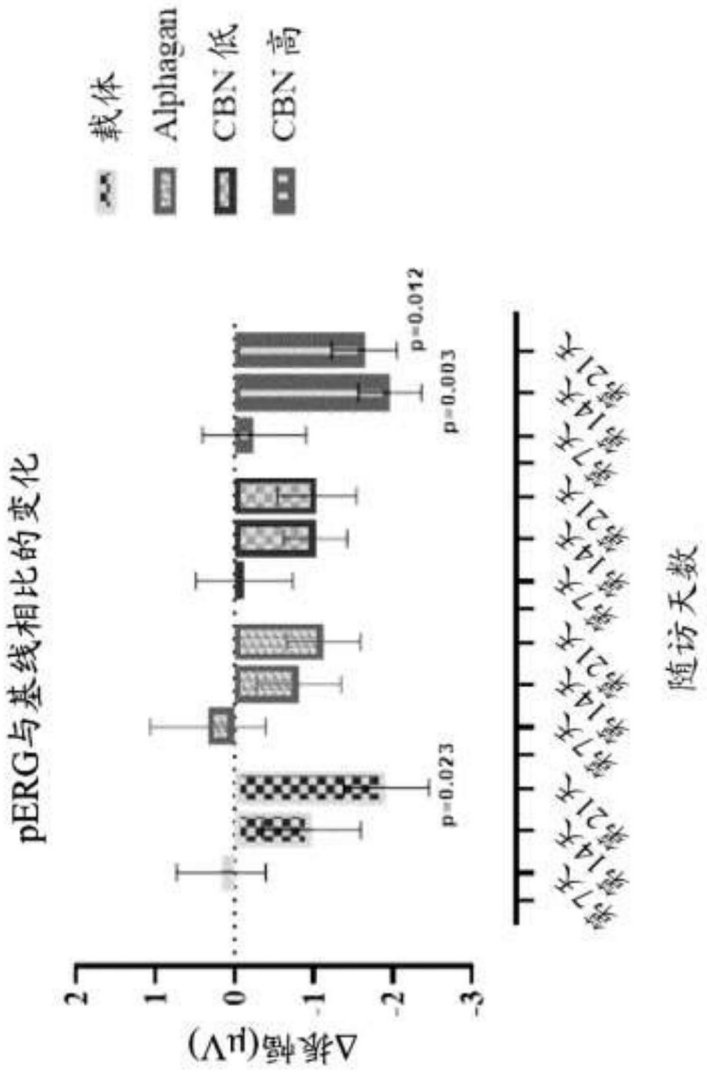

pERG与基线相比的变化
载体
Alphagan
CBN 低
CBN 高
Δ振幅(μV)
2
1
0
-1
-2
-3
p=0.012
p=0.003
p=0.023
随访天数

图8