(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 114401725 A
(43)申请公布日 2022.04.26

(21)申请号 202080053643.6
(22)申请日 2020.07.24
(30)优先权数据
P201930713 2019.07.31 ES
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.01.25
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/ES2020/070482 2020.07.24
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/019116 ES 2021.02.04
(71)申请人 圣地亚哥德·冈波忒拉大学
地址 西班牙拉科鲁尼亚
(72)发明人 A·M·穆尼奥斯 帕蒂诺
J·L·拉班德拉 加西亚
A·罗佩斯 罗佩斯
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 王颖煜 杨思捷
(51)Int.Cl.
A61K 31/551(2006.01)
A61P 25/16(2006.01)

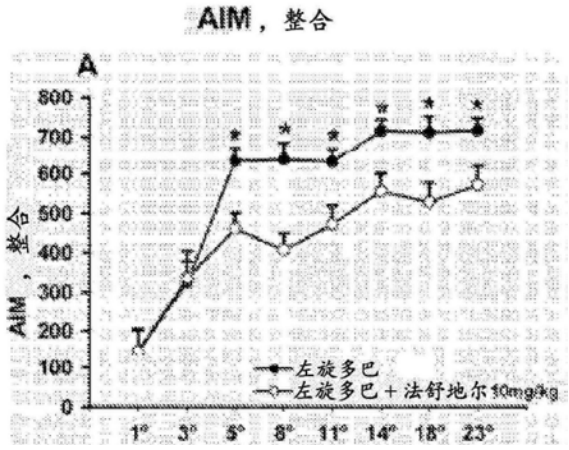
权利要求书1页 说明书6页 附图11页

(54)发明名称

用于在左旋多巴诱发的运动障碍的预防性和/或治疗性治疗中使用的药物组合物

(57)摘要

披露了用于在左旋多巴诱发的运动障碍的预防性和/或治疗性治疗中使用的药物组合物。本发明涉及制药领域，更特别地涉及Rho激酶抑制剂用于治疗或预防左旋多巴诱发的运动障碍的用途。



CN 114401725 A

1.-一种药物组合物,其包含能够抑制ROCK途径的化合物,用于在左旋多巴诱发的运动障碍的预防性或治疗性治疗中使用。

2.-如权利要求1所述使用的药物组合物,其中该能够抑制ROCK途径的化合物选自法舒地尔及其衍生物、瑞舒地尔、Y-27632、Y-32885、AMA-0076、AR-12286、AR-13324(Rhopressa)、KD-025(Slx2119)、LX7101、PG-324(Roclatan)、SAR407899。

3.-如权利要求1所述使用的药物组合物,其中该能够抑制ROCK途径的化合物是法舒地尔、其药学上可接受的盐、或其类似物。

4.-如前述权利要求中任一项所述使用的组合物,其中所述组合物以适合口服或可注射施用的剂型施用。

5.-如权利要求1所述使用的药物组合物,其中该化合物是法舒地尔或其药学上可接受的盐,其剂型适合口服或可注射施用以在左旋多巴诱发的运动障碍的预防中使用。

6.-如前述权利要求中任一项所述的组合物,用于在左旋多巴诱发的运动障碍的预防性治疗中使用,该预防性治疗包括:(i)在左旋多巴治疗开始前,以治疗有效量施用所述药物组合物,以及(ii)与左旋多巴的每次施用同时或依次施用治疗有效量的所述药物组合物。

7.-如权利要求6所述使用的药物组合物,其中该化合物是法舒地尔或其药学上可接受的盐,其剂型适合口服或可注射施用。

8.-如权利要求1-5中任一项所述的组合物,用于在左旋多巴诱发的运动障碍的治疗性治疗中使用,该治疗性治疗包括与左旋多巴的每次施用同时或依次施用治疗有效量的所述药物组合物。

9.-如权利要求8所述使用的药物组合物,其中该化合物是法舒地尔或其药学上可接受的盐,其剂型适合口服或可注射施用。

10.-如权利要求1所述使用的药物组合物,其中该化合物是法舒地尔或其药学上可接受的盐,其剂型适合口服或可注射施用以在左旋多巴诱发的运动障碍的治疗中使用。

用于在左旋多巴诱发的运动障碍的预防性和/或治疗性治疗中使用的药物组合物

[0001] 披露了用于在左旋多巴(L-DOPA)诱发的运动障碍的预防性和/或治疗性治疗中使用的药物组合物。

技术领域

[0002] 本发明涉及制药领域,更特别地涉及Rho激酶抑制剂用于治疗或预防左旋多巴诱发的运动障碍的用途。

背景技术

[0003] 帕金森病(Parkinson's disease,PD)是我国人群中最常见的神经系统变性疾病之一。该疾病的主要特征是由于黑质多巴胺能神经元变性而出现的运动症状,但也涉及其他神经元系统。该疾病的常用且迄今为止最有效的治疗由施用多巴胺前体分子左旋多巴组成。该药物在最初几年里被证明是有效的,但从长期来看,该药物引起了并发症和副作用,尤其包括运动障碍。

[0004] 左旋多巴诱发的运动障碍由舞蹈病类型的异常快速不自主运动和手足徐动症组成,通常累及四肢且有时累及面颈部。根据表达的时间模式,已经描述了几种形式的运动障碍:剂峰运动障碍(与多巴胺的最高血浆水平一致)、双相运动障碍和非周期性(off-period)肌张力障碍。这些并发症可能使人丧失能力,因为它们大大降低了左旋多巴的治疗作用,使患者日常活动受限。据描述,治疗5年后,约50%的患者患有运动障碍,而在10年时,该百分比增加至90%(Olanow CW,Stocchi F.Levodopa:A new look at an old friend[左旋多巴:老朋友的新面貌].Mov Disord[运动障碍](2018)33(6):859-866.doi:10.1002/mds.27216)。

[0005] 运动障碍的发展中涉及的原因尚不完全清楚,但已知的是谷氨酸能系统发挥着重要作用。事实上,目前用于对抗运动障碍的药物是金刚烷胺,该药物是一种NMDA谷氨酸受体拮抗剂。然而,这种化合物在肾功能不全和心脏功能不全以及精神问题的病例中是禁忌的,并且导致出现并发症和诸多副作用,如:意识错乱、注意集中困难、失眠、食欲不振、恶心和精神问题(意识错乱、幻觉、谵妄综合征、精神病)。在过去十年中,已经证明其他系统(如五羟色胺能系统)也有涉及,因为在疾病晚期,左旋多巴在五羟色胺能末端转化为多巴胺并以不受控方式释放。然而,在该水平起作用的化合物(例如像五羟色胺5-HT1a受体激动剂(丁螺环酮(buspirone)、沙立佐坦(saritozan)、坦度螺酮(tandospirone)))可能出现问题,因为尽管在初步试验中观察到抗运动障碍作用,但在某些情况下这些化合物可能影响抗帕金森病反应。或者,例如5-HT1a/b激动剂(依托拉嗪(eltoprazine)和安吡托林(anpirtoline)),其药理学特征比前者更有利,但也可能部分降低左旋多巴的治疗作用。

[0006] 因此,必须研究和开发其他副作用更少且更有效的对抗运动障碍的预防性和/或治疗性治疗。

发明内容

[0007] 本文件中呈现的结果证明,抑制RhoA/Rho激酶(ROCK)途径使得能够治疗和/或预防可能由左旋多巴(施用于帕金森病患者)长期治疗引起的运动障碍。

[0008] 因此,本发明涉及药物组合物,其包含能够抑制ROCK的化合物,用于在左旋多巴诱发的运动障碍的预防性或治疗性治疗中使用。

[0009] 本发明进一步涉及ROCK抑制剂的药物组合物、其用于不同施用途径的剂型,并且涉及可用于预防运动障碍的某些剂量以及可用于治疗运动障碍的某些剂量。

附图说明

[0010] 图1示出了左旋多巴诱发的运动障碍对黑质(A-C)和纹状体(D-F)中RhoA/ROCK途径的影响。在使用两种剂量的左旋多巴(6mg/kg,LD-6和12mg/kg)治疗的运动障碍型动物中,在黑质中,观察到RhoA和ROCK的蛋白质表达(A,B)以及ROCK的活性(C)显著增加,而在纹状体中,仅使用高剂量(D,E)时差异显著。然而,实时PCR分析后,在纹状体中使用两种剂量均观察到显著差异。将结果相对于用盐水处理的6-OHDA致病变的动物的值归一化。数据表示为平均值±SEM,学生t检验*p＜0.05

[0011] 图2示出了使用左旋多巴和不同剂量的法舒地尔(fasudil)(10mg/kg:A、C、E和G,以及30-40mg:B、D、F、H)进行长期治疗(23天和32天)后观察到的异常不自主运动(AIM)。在使用法舒地尔(白色圆圈)共同治疗的动物组中,在总得分(A,B)方面以及在单独组成部分(四肢(C,D)、中轴(E,F)、口舌(G,H))的分析中均观察到这些运动的统计学上的显著减少。数据表示为平均值±SEM(平均值的标准误差),学生t检验,*p＜0.05

[0012] 图3示出了有单侧多巴胺能病变的动物的圆筒试验(cylinder test),其中在基线条件下观察到＜20%的左侧肢体的使用,并且在对照动物(仅左旋多巴;黑色条柱)和在使用法舒地尔10mg/kg(A)、30和40mg/kg(B)共同治疗的那些动物(灰色条柱)中在60和90min时注射左旋多巴后观察到运动不对称性的恢复。使用法舒地尔进行治疗后旋转行为也未受影响,这表明运动障碍的减少不是由于运动活动的减少(C-E)。数据表示为平均值±SEM,学生t检验,*p＜0.05

[0013] 图4示出了ROCK抑制在运动障碍程度稳定的动物(用左旋多巴进行长期治疗,3周)中的影响。在这种情况下,低剂量(10mg/kg,A)的法舒地尔对运动障碍型运动无任何影响(A)。然而,高剂量的化合物(30和40mg/kg)导致左旋多巴显著降低,即使使用高剂量的左旋多巴(24mg/kg)也是如此(B)。数据表示为平均值±SEM,学生t检验*p＜0.05

具体实施方式

[0014] 如说明书和所附权利要求中所用,术语“ROCK途径”是指GTP酶RhoA蛋白质及其相关激酶(也称为Rho激酶)参与的途径。Rho A与ROCK的特定区域结合,从而将其激活。ROCK可使各种靶蛋白(包括肌球蛋白的轻链)磷酸化,从而使细胞骨架的肌动蛋白重组并且调节凋亡事件(Amin E,Dubey BN,Zhang SC,Gremer L,Dvorsky R,Moll JM,Taha MS,Nagel-Steger L,Piekorz RP,Somlyo AV,Ahmadian MR(2013)Rho-kinase:regulation,(dys)function,and inhibition[Rho激酶:调节、功能(障碍)和抑制].Biol Chem[生物化学]394:1399-410.doi:10.1515/hsz-2013-0181.)。该途径与某些疾病(包括神经系统变性疾

病如帕金森病)中的炎性反应有关。ROCK也在自噬过程中发挥作用,并且抑制该途径会产生轴突稳定化(axonal stabilization),从而引起神经保护作用。已经描述了两种同种型,这两种同种型由不同的基因(ROCK I和ROCK II)编码。ROCK II优先在脑中表达(综述参见Labandeira-Garcia等人,2014)。

[0015] 如说明书和所附权利要求中所用,术语"能够抑制ROCK途径的化合物"是指相对于未施用抑制剂的相应对照,能够以统计学上显著的方式降低酶活性及其表达水平的化合物。本领域技术人员能够通过各种方法对所述抑制进行检验,这些方法例如有:通过酶免疫测定技术(ROCK活性测定试剂盒;细胞生物实验室公司(Cell Biolabs,Inc.),美国加利福尼亚州圣地亚哥(San Diego,CA,USA))检测肌球蛋白的磷酸化来测量所述ROCK酶的活性、通过实时PCR检验mRNA的表达水平、或通过免疫印迹检验蛋白质表达水平。这些技术在以下出版物中详细描述,其全部内容并入本说明书中:Rodriguez-Perez AI,Dominguez-Meijide A,Lanciego JL,Guerra MJ,Labandeira-Garcia JL.Inhibition of Rho kinase mediates the neuroprotectiVe effects of estrogen in the MPTP model of Parkinson′s disease[Rho激酶的抑制介导雌激素在帕金森病的MPTP模型中的神经保护作用].Neurobiol Dis[疾病的神经生物学]201358:209-19.doi:10.1016/j.nbd.2013.06.004。

[0016] 根据本发明,能够抑制ROCK途径的化合物可以直接或间接调节ROCK途径。

[0017] 如说明书和所附权利要求中所用,术语"左旋多巴诱发的运动障碍"应理解为患有帕金森病并接受左旋多巴治疗的哺乳动物(例如人类)经历的异常不自主运动。

[0018] 在本发明中,诸位作者已经研究了6-OHDA致病变的大鼠模型中左旋多巴的长期施用在分子水平上产生的影响,证明Rho A和ROCK的水平相对于对照增加(参见图1),这表明激活了该途径。在这些条件下,在功能水平上,大鼠罹患左旋多巴长期治疗引起的运动障碍。基于这些实验,首次证明了ROCK途径的激活与运动障碍之间的关系。本发明的诸位发明人已经证明ROCK途径的调节对运动障碍有影响,因此,通过抑制ROCK途径,可以减少在左旋多巴治疗的动物模型中已经建立的运动障碍(参见实例4),或者减少开始用左旋多巴治疗的动物模型中运动障碍的发展(参见实例2)。

[0019] 因此,在一方面,本发明涉及药物组合物,其包含能够抑制ROCK途径的化合物,用于在左旋多巴诱发的运动障碍的预防性或治疗性治疗中使用。

[0020] 在特定的实施例中,本发明的组合物以适合腹膜内、口服或可注射施用的剂型施用。在特定的实施例中,可注射施用包括肌内、皮下、静脉内和皮内施用。

[0021] 在特定的实施例中,ROCK抑制剂选自法舒地尔及其衍生物、瑞舒地尔(Ripasudil)、Y-27632、Y-32885、AMA-0076、AR-12286、AR-13324(Rhopressa)、KD-025(Slx2119)、LX7101、PG-324(Roclatan)、SAR407899。

[0022] 在优选实施例中,本发明感兴趣的ROCK途径的抑制剂是法舒地尔。因此,在特定的实施例中,本发明涉及上述药物组合物,其中所述化合物是法舒地尔、其药学上可接受的盐、或其衍生物。在另一个特定的实施例中,法舒地尔衍生物选自羟基法舒地尔和二甲基法舒地尔。

[0023] 本发明还描述了在用左旋多巴治疗前将法舒地尔施用于帕金森动物模型,并且如果在用左旋多巴治疗期间也施用法舒地尔,则实现对运动障碍的预防作用,从而在整个治

疗期间减少运动障碍的发展。另外在实例2中还证明,在左旋多巴急性施用的情况下并且当运动障碍更明显时,使用法舒地尔进行治疗仍然有效,从而与未使用法舒地尔治疗的情况相比减少了运动障碍的发展(参见实例2和图2)。

[0024] 因此,在特定的实施例中,本发明涉及用于在左旋多巴诱发的运动障碍的预防性治疗中使用的本发明的药物组合物,该预防性治疗包括:(i)在左旋多巴治疗开始前,以治疗有效量施用所述药物组合物,以及(ii)与左旋多巴的每次施用同时或依次施用治疗有效量的所述药物组合物。

[0025] 在特定的实施例中,本发明涉及用于预防左旋多巴诱发的运动障碍的方法,其中患者患有帕金森病,该方法包括在左旋多巴治疗开始之前施用治疗有效量的法舒地尔,以及与左旋多巴的每次施用同时或依次施用治疗有效量的法舒地尔。

[0026] 在特定的实施例中,本发明涉及用于在左旋多巴诱发的运动障碍的预防性治疗中使用的本发明的药物组合物。

[0027] 此外,在这种情况下,还有一个额外的优势,因为在该剂量下,法舒地尔为帕金森病患者提供神经保护并减缓多巴胺能变性(Villar-Cheda B,Dominguez-Meijide A,Joglar B,Rodriguez-Perez AI,Guerra MJ,Labandeira-Garcia JL.(2012)Involvement of microglial RhoA/Rho-kinase pathway activation in the dopaminergic neuron death[多巴胺能神经元死亡中小胶质细胞RhoA/Rho激酶途径激活的参与].Role of angiotensin via angiotensin typelreceptors[血管紧张素通过血管紧张素1型受体的作用].Neurobiol Dis[疾病的神经生物学]47:268-79doi:10.1016/j.nbd.2012.04.010)。此外,用于预防运动障碍的本发明的组合物的施用具有如上所述的优选剂量学,该优选剂量学也促进法舒地尔的神经保护作用(BorrajoA,Rodriguez-Perez AI,Villar-Cheda B,Guerra MJ,Labandeira-GarciaJL.(2014)Inhibition of the microglial response is essential for the neuroprotective effects of Rho-kinase inhibitors on MPTP-induced dopaminergic cell death[小胶质细胞反应的抑制对于Rho激酶抑制剂对MPTP诱发的多巴胺能细胞死亡的神经保护作用至关重要].Neuropharmacology[神经药理学]85:1-8doi:10.1016/j.neuropharm.2014.05.021;Villar-Cheda B,Dominguez-Meijide A,Joglar B,Rodriguez-Perez AI,Guerra MJ,Labandeira-Garcia JL.(2012)Involvement of microglial RhoA/Rho-kinase pathway activation in the dopaminergic neuron death[多巴胺能神经元死亡中小胶质细胞RhoA/Rho激酶途径激活的参与].Role of angiotensin via angiotensin type 1 receptors[血管紧张素通过血管紧张素1型受体的作用].Neurobiol Dis[疾病的神经生物学]47:268-79doi:10.1016/j.nbd.2012.04.010;Labandeira-Garcia JL,Rodriguez-Perez AI,Villar-Cheda B,Borrajo A,Dominguez-Meijide A,Guerra MJ.(2015)Rho Kinase and Dopaminergic Degeneration:A Promising Therapeutic Target for Parkinson's Disease[Rho激酶和多巴胺能变性:帕金森病的有前景的治疗靶标].Neuroscientist[神经科学家]21:616-29doi:10.1177/1073858414554954)。

[0028] 本发明还描述了本发明的组合物用于治疗性治疗左旋多巴诱发的运动障碍的有用性。实例4中证明了即使在已经建立了运动障碍的情况下,具有ROCK抑制剂的组合物也能够减少运动障碍。通过增加法舒地尔的剂量(40mg/kg),在已经出现运动障碍的那些动物

(用左旋多巴定期治疗3-4周)中运动障碍几乎减少至50％。即使在急性施用左旋多巴后,当伴随施用本发明的组合物时运动障碍也会减少更多。

[0029] 因此,在特定的实施例中,本发明涉及用于在左旋多巴诱发的运动障碍的治疗性治疗中使用的本发明的药物组合物,该治疗性治疗包括与左旋多巴的每次施用同时或依次施用治疗有效量的所述药物组合物。

[0030] 在特定的实施例中,本发明涉及用于治疗左旋多巴诱发的运动障碍的方法,其中患者患有帕金森病,该方法包括与左旋多巴的每次施用同时或依次施用治疗有效量的法舒地尔。

[0031] 在特定的实施例中,本发明涉及用于在左旋多巴诱发的运动障碍的治疗性治疗中使用的本发明的药物组合物。

[0032] 本发明中的优选施用途径之一是可注射途径,因此在本发明的特定实施例中,施用途径涉及已在上文进行了描述的药物组合物,该药物组合物的剂型适合可注射施用以在左旋多巴诱发的运动障碍的预防或治疗中使用。

[0033] 本发明中的另一种优选施用途径是口服途径,因此在本发明的特定实施例中,施用途径涉及已在上文进行了描述的药物组合物,该药物组合物的剂型适合口服施用以在左旋多巴诱发的运动障碍的预防或治疗中使用。

[0034] 以下实例用于阐述本发明而不代表其限制。

[0035] 方法及实验设计

[0036] 在以下实例中,使用Sprague-Dawley品系大鼠,按照立体定位技术在大鼠内侧前脑束中注射神经毒素6-羟多巴胺(6-OHDA)。该技术是用于研究帕金森病(PD)及其可能的治疗途径的最广泛实验室模型之一(Ungerstedt U.6-Hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons[6-羟基-多巴胺诱发的中枢单胺神经元变性].Eur J Pharmacol[欧洲药理学杂志].(1968)5(1):107-10;Cenci MA,Crossman AR.Animal models of l-dopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease[帕金森病中左旋多巴诱发的运动障碍的动物模型].Mov Disord[运动障碍](2018)33(6):889-899.doi:10.1002/mds.27337)。

[0037] 为了建立运动障碍的动物模型,用6mg/kg的左旋多巴(治疗剂量)和苄丝肼(10mg/kg)长期治疗动物3-4周,并且在此期间,利用特殊试验评价异常不自主运动(AIM)(Cenci MA,Lundblad M.Ratings of L-DOPA induced dyskinesia in unilateral 6-OHDA lesion model of Parkinson's disease in rats and mice[在大鼠和小鼠帕金森病的单侧6-OHDA病变模型中左旋多巴诱发的运动障碍的评级].Curr Protoc Neurosci[神经科学实验指南].(2007)第9章:9.25单元.doi:10.1002/0471142301)。

[0038] 实例1.运动障碍型模型的研究

[0039] 向PD动物模型组每日注射不同剂量的左旋多巴(6mg/kg和12mg/kg),直至运动障碍水平稳定(3-4周)。尸检时,解剖纹状体和黑质,并通过免疫印迹和实时PCR分析RhoA和ROCK的表达水平。

[0040] 据观察,在运动障碍型动物中,RhoA蛋白质和ROCK蛋白质的水平显著增加。还观察到,在用更高剂量的左旋多巴治疗并且表现出更早和更严重的运动障碍的动物中,所述蛋白质的水平增加得更多(参见图1)。

[0041] 该实验证明,运动障碍型动物的ROCK途径被激活。

[0042] 实例2.在左旋多巴长期治疗期间使用法舒地尔进行治疗

[0043] 在本研究中,使用如上所述经左旋多巴治疗的大鼠组作为对照。除了左旋多巴,通过腹膜内途径(尽管在适当调整剂量后可以通过口服途径施用)向一个组施用剂量为10mg/kg/天的法舒地尔(一种ROCK途径的抑制剂),该施用在开始左旋多巴治疗前5天开始,且在每次施用左旋多巴前30分钟施用。除了左旋多巴,以腹膜内途径向另一组施用剂量为30和40mg/kg/天的法舒地尔,频率与前一组相同。在所有情况下,治疗均长期进行,持续3周,并在此期间评价异常不自主运动。

[0044] 在用低剂量法舒地尔(10mg/kg)和左旋多巴治疗的动物中,观察到相对于仅用左旋多巴治疗的动物组,运动障碍的发展有统计学上的显著减少:四肢的运动障碍减少大约25%,口舌的运动障碍减少30%,并且中轴的运动障碍减少35%。从第5天开始观察到运动障碍的减少。

[0045] 当增加法舒地尔的剂量(30mg/kg)时,在分析的所有运动障碍型组成部分中均观察到运动障碍更大幅的减少(口舌的运动障碍减少70%、中轴的运动障碍减少60%、并且四肢的运动障碍减少60%)。当法舒地尔剂量增加至40mg/kg时,运动障碍的减少达到70%。

[0046] 治疗结束时,将左旋多巴的剂量增加至24mg/kg,以验证法舒地尔在严重的运动障碍的情况下是否同样有效,观察到大约50%的显著大幅的减少(参见图2)。

[0047] 本研究证明,ROCK途径的抑制剂(如法舒地尔)可用于减少运动障碍的发展,即使是由急性剂量的左旋多巴引起的运动障碍也是如此。

[0048] 实例3.ROCK途径抑制与左旋多巴治疗作用之间相互作用的研究

[0049] 为了研究法舒地尔是否会干扰左旋多巴的治疗作用,进行了圆筒试验,该试验基于对6-OHDA致单侧病变后影响动物的运动不对称性的分析,(Schallert T,Kozlowski DA,Humm JL,Cocke RR.(1997)73:229-38)。在该实验中,经所有研究剂量(10、30和40mg/kg)的法舒地尔治疗的动物在注射左旋多巴后1h恢复了由病变引起的运动不对称性,未观察到相对于仅注射左旋多巴的动物的差异,这表明该化合物不会改变左旋多巴的治疗作用(参见图3A-B)。此外,在评价旋转行为的实验中,在经不同剂量的法舒地尔治疗的动物中,未观察到左旋多巴诱发的旋转的差异,这证明运动障碍的减少不是由于运动活动的减少(参见图3C-E)。

[0050] 该实验证明,通过施用法舒地尔(即使在高剂量下),抑制ROCK途径不会干扰左旋多巴的治疗作用。

[0051] 实例4.治疗作用的研究

[0052] 用左旋多巴每日治疗6-OHDA致单侧病变的动物组,持续3周,然后用左旋多巴和法舒地尔进行治疗以研究一旦已建立运动障碍,ROCK途径的抑制是否会使运动障碍减少。当使用10mg/kg/天的法舒地尔剂量时,未在动物中观察到改善(治疗长达7天)。

[0053] 然而,当使用40mg/kg/天的法舒地尔剂量时,从治疗第三天开始,运动障碍减少约45%。

[0054] 在将左旋多巴的剂量增加至24mg/kg,导致严重的运动障碍的情况时,减少幅度甚至更大(大约50%),这种减少维持直到治疗结束(参见图4)。

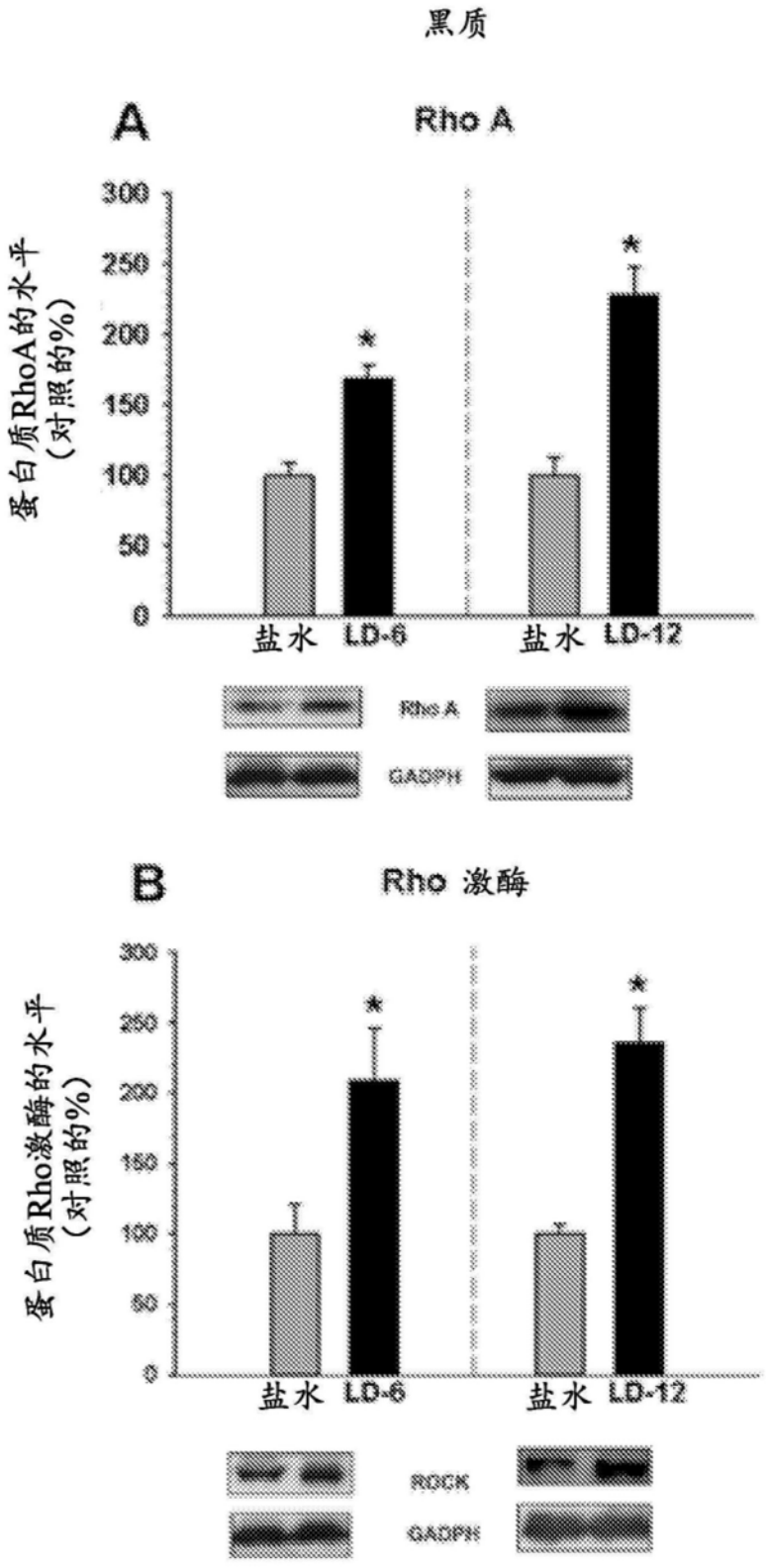

黑质
A
Rho A
蛋白质RhoA的水平
(对照的%)
盐水
LD-6
盐水
LD-12
Rho A
GADPH
B
Rho 激酶
蛋白质Rho激酶的水平
(对照的%)
盐水
LD-6
盐水
LD-12
ROCK
GADPH

图1A,图1B

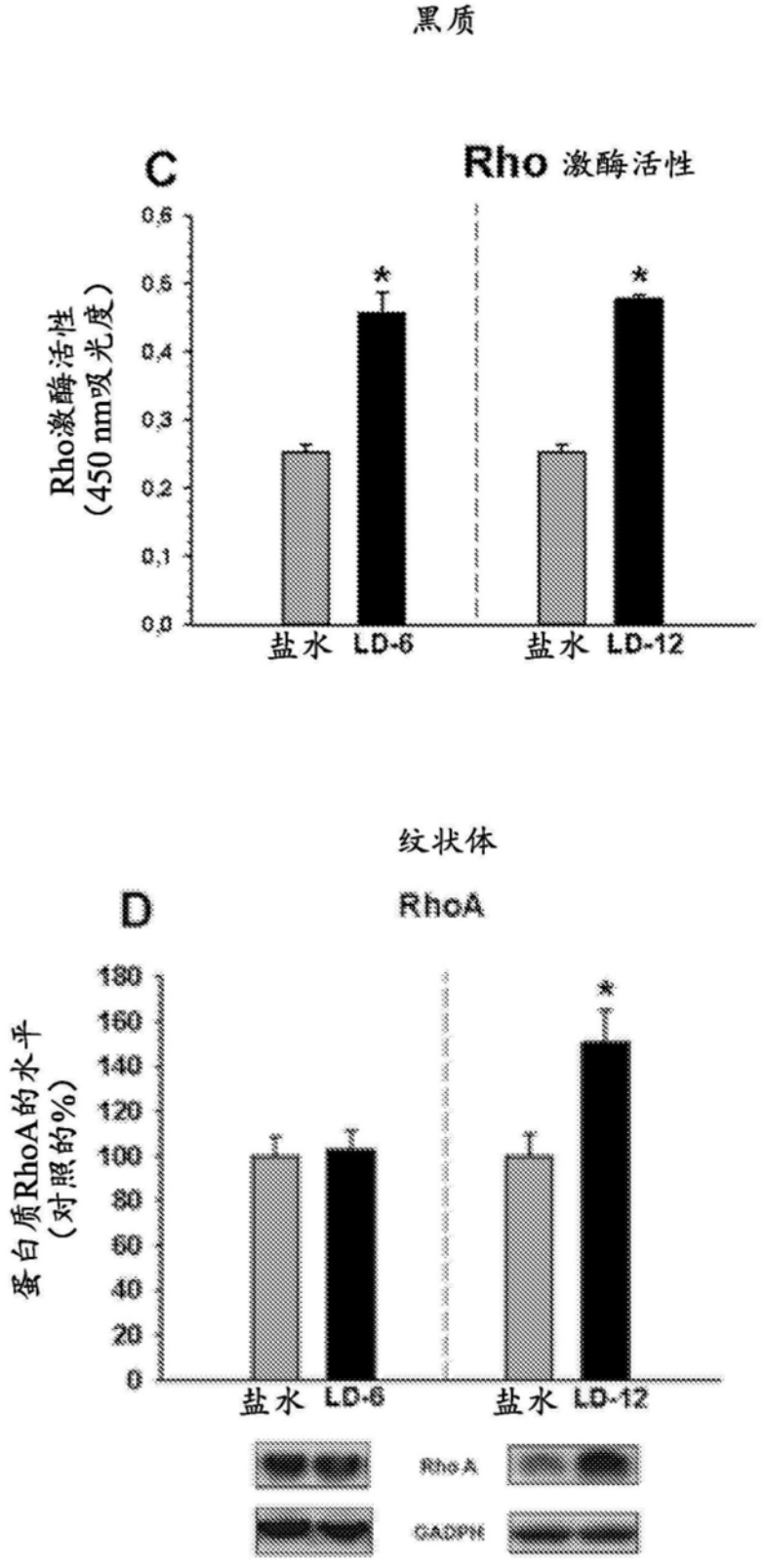

黑质
C
Rho 激酶活性
Rho激酶活性
(450 nm吸光度)
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
*
*
盐水
LD-6
盐水
LD-12
纹状体
D
RhoA
蛋白质RhoA的水平
(对照的%)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
*
盐水
LD-6
盐水
LD-12
RhoA
GADPH

图1C,图1D

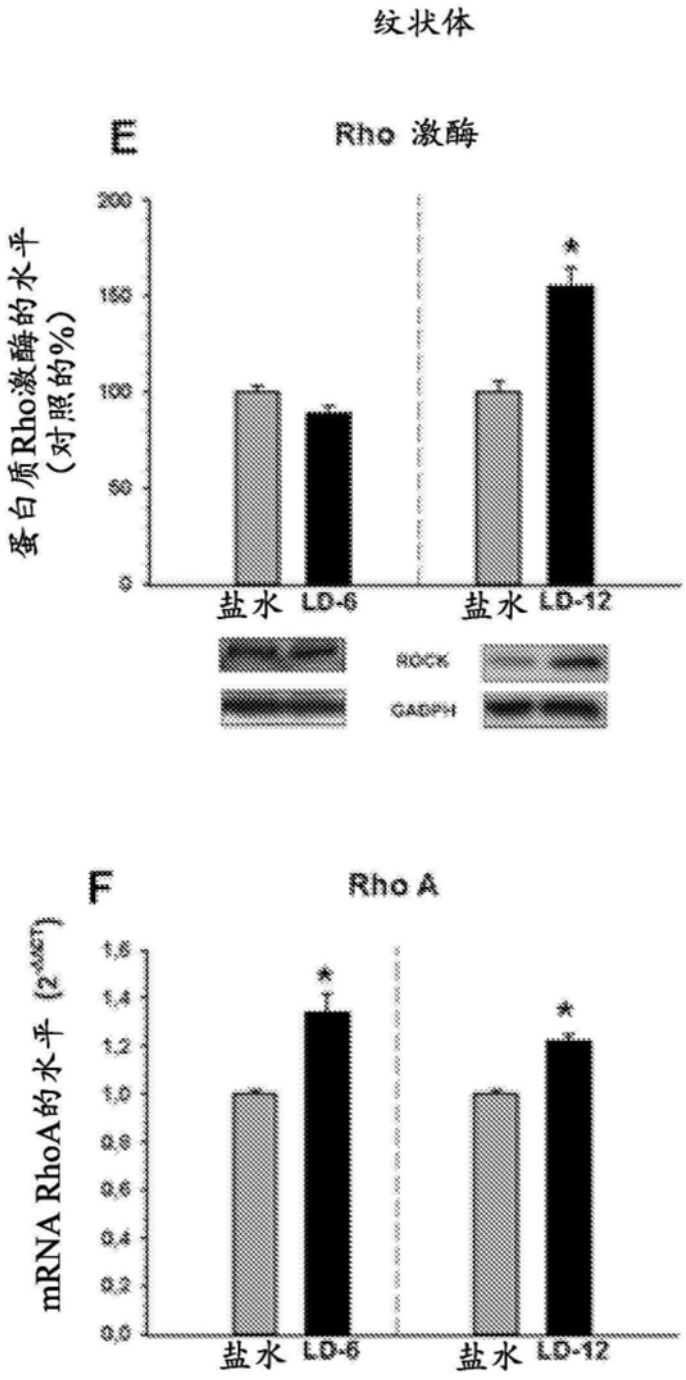

纹状体
E
Rho 激酶
蛋白质Rho激酶的水平
(对照的%)
盐水
LD-6
盐水
LD-12
ROCK
GAPDH
F
Rho A
mRNA RhoA的水平
盐水
LD-6
盐水
LD-12

图1E,图1F

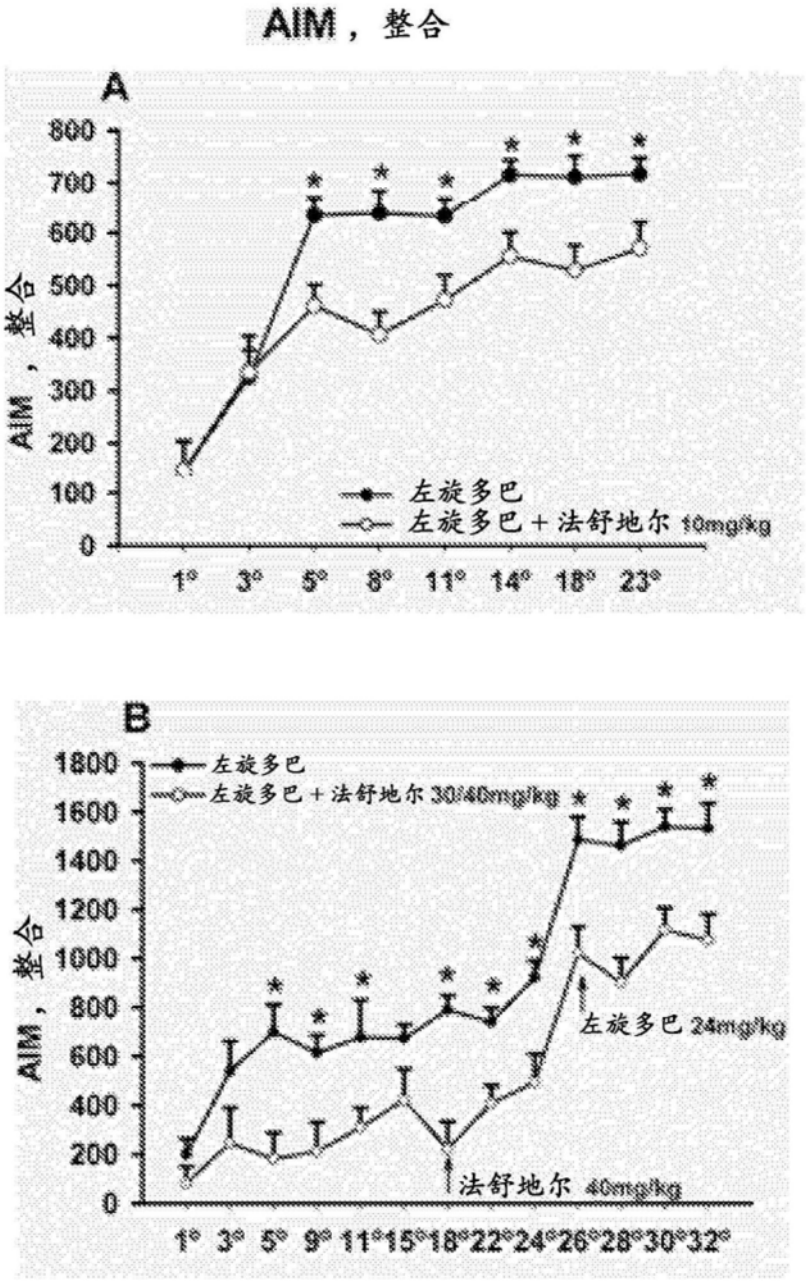
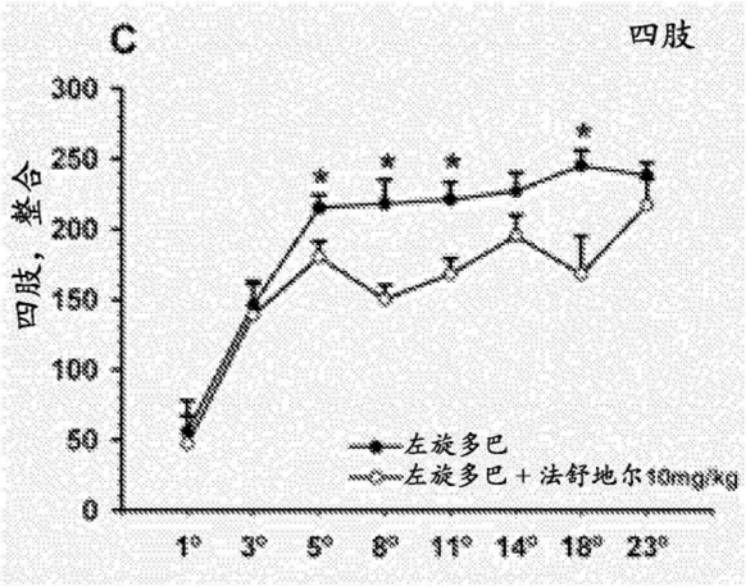

AIM，整合
A
AIM，整合
800
700
600
500
400
300
200
100
0
左旋多巴
左旋多巴＋法舒地尔 10mg/kg
1° 3° 5° 8° 11° 14° 18° 23°
B
AIM，整合
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
左旋多巴
左旋多巴＋法舒地尔 30/40mg/kg
左旋多巴 24mg/kg
法舒地尔 40mg/kg
1° 3° 5° 9° 11° 15° 18° 22° 24° 26° 28° 30° 32°

图2A,图2B


C
四肢
四肢，整合
300
250
200
150
100
50
0
左旋多巴
左旋多巴＋法舒地尔10mg/kg
1° 3° 5° 8° 11° 14° 18° 23°

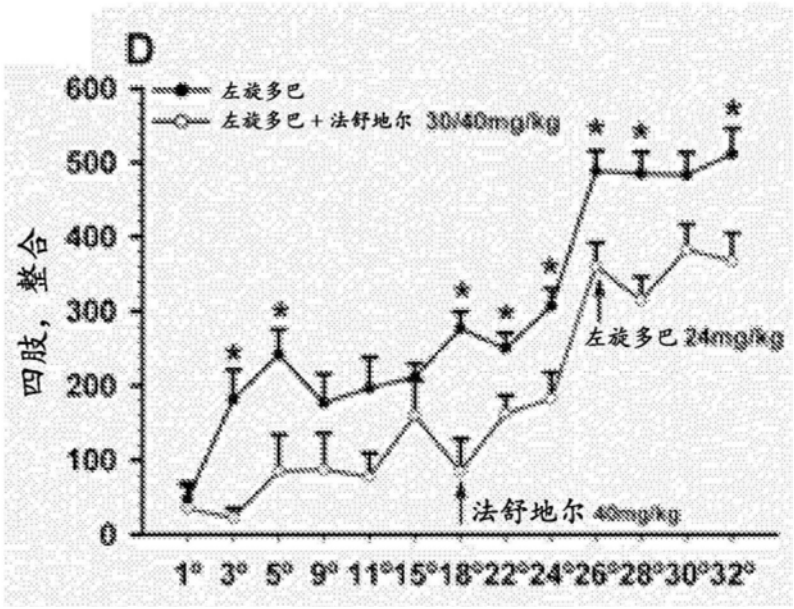
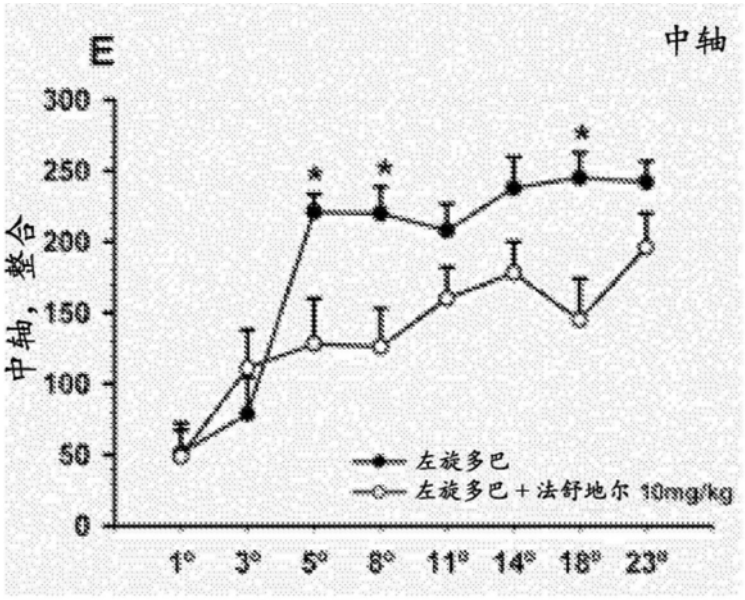

D
四肢，整合
600
500
400
300
200
100
0
左旋多巴
左旋多巴＋法舒地尔 30/40mg/kg
左旋多巴 24mg/kg
法舒地尔 40mg/kg
1° 3° 5° 9° 11° 15° 18° 22° 24° 26° 28° 30° 32°

图2C,图2D


E
中轴
中轴，整合
300
250
200
150
100
50
0
左旋多巴
左旋多巴＋法舒地尔 10mg/kg
1° 3° 5° 8° 11° 14° 18° 23°

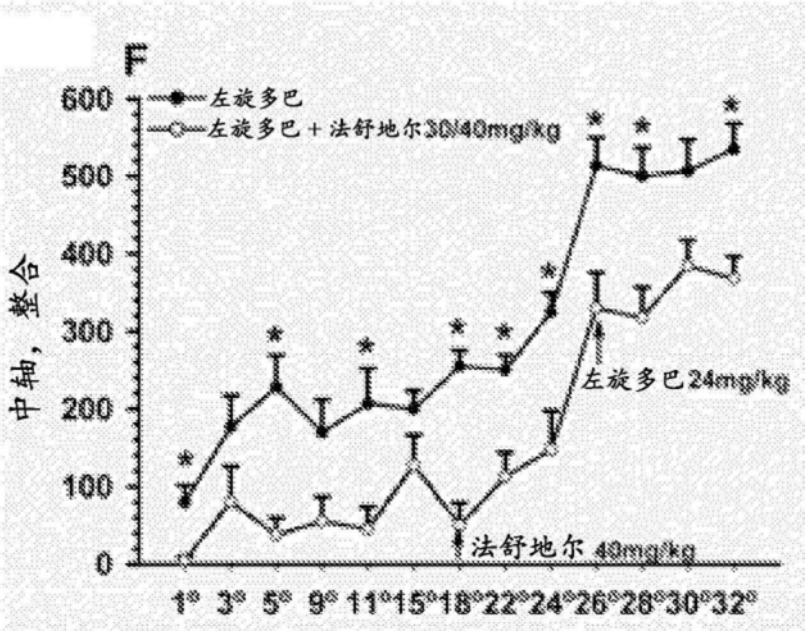

F
600
500
400
300
200
100
0
中轴，整合
左旋多巴
左旋多巴＋法舒地尔30/40mg/kg
左旋多巴24mg/kg
法舒地尔 40mg/kg
1° 3° 5° 9° 11° 15° 18° 22° 24° 26° 28° 30° 32°

图2E,图2F

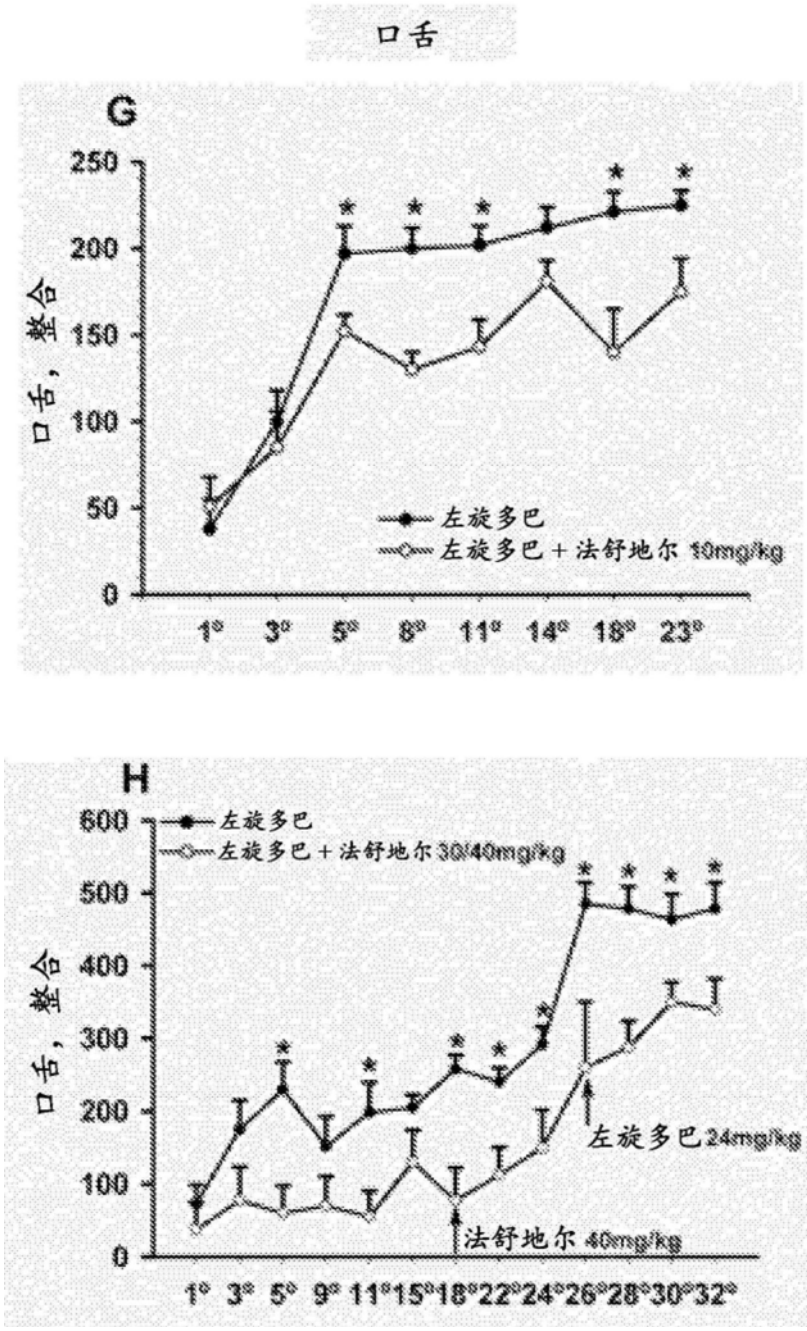

口舌
G
口舌，整合
250
200
150
100
50
0
左旋多巴
左旋多巴＋法舒地尔 10mg/kg
1° 3° 5° 8° 11° 14° 18° 23°
H
口舌，整合
600
500
400
300
200
100
0
左旋多巴
左旋多巴＋法舒地尔 30/40mg/kg
左旋多巴24mg/kg
法舒地尔 40mg/kg
1° 3° 5° 9° 11°15°18°22°24°26°28°30°32°

图2G,图2H

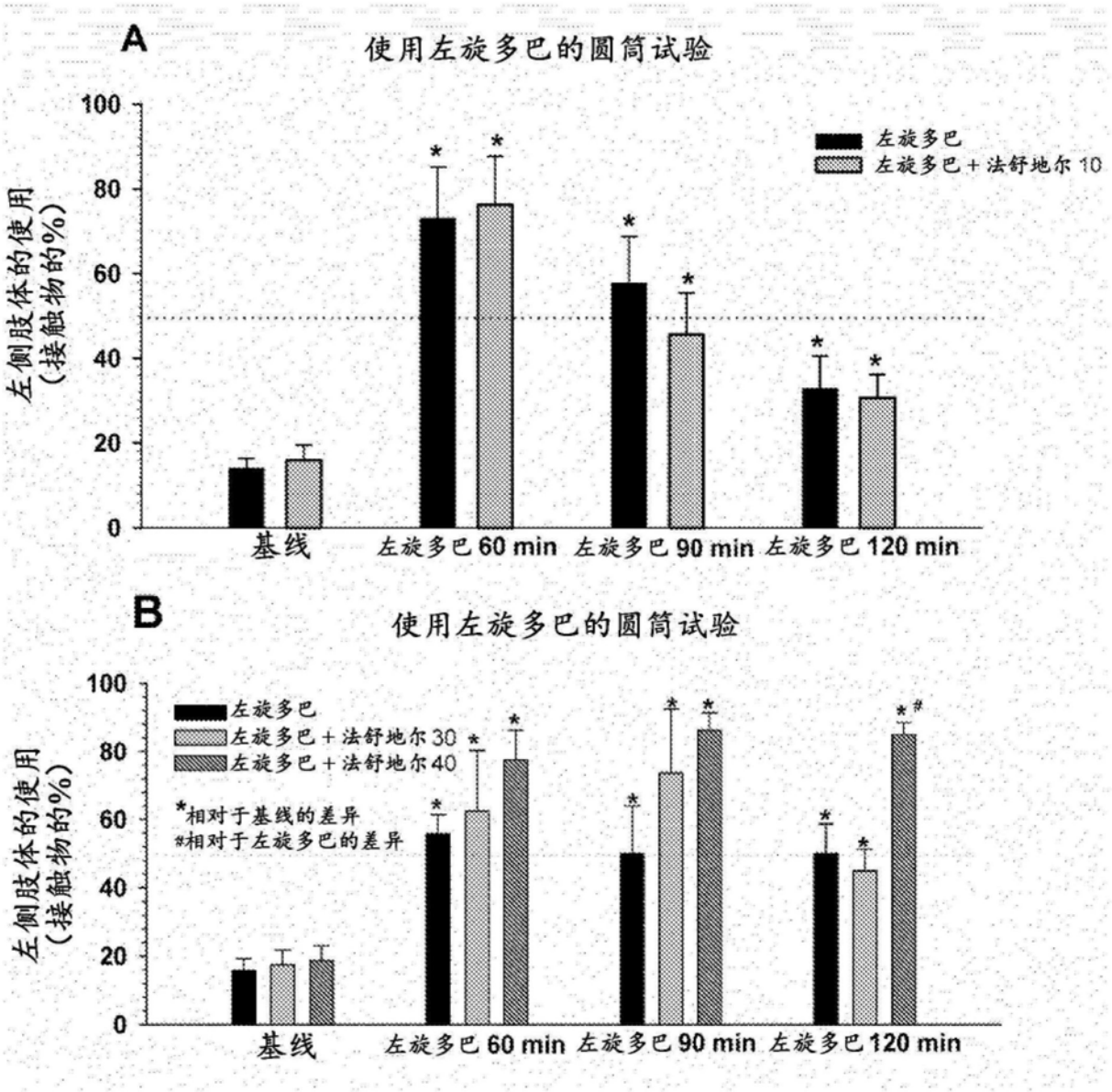

A
使用左旋多巴的圆筒试验
左侧肢体的使用（接触物的%）
100
80
60
40
20
0
左旋多巴
左旋多巴＋法舒地尔 10
基线
左旋多巴 60 min
左旋多巴 90 min
左旋多巴 120 min
B
使用左旋多巴的圆筒试验
左侧肢体的使用（接触物的%）
左旋多巴
左旋多巴＋法舒地尔 30
左旋多巴＋法舒地尔 40
*相对于基线的差异
#相对于左旋多巴的差异
基线
左旋多巴 60 min
左旋多巴 90 min
左旋多巴 120 min

图3A,图3B

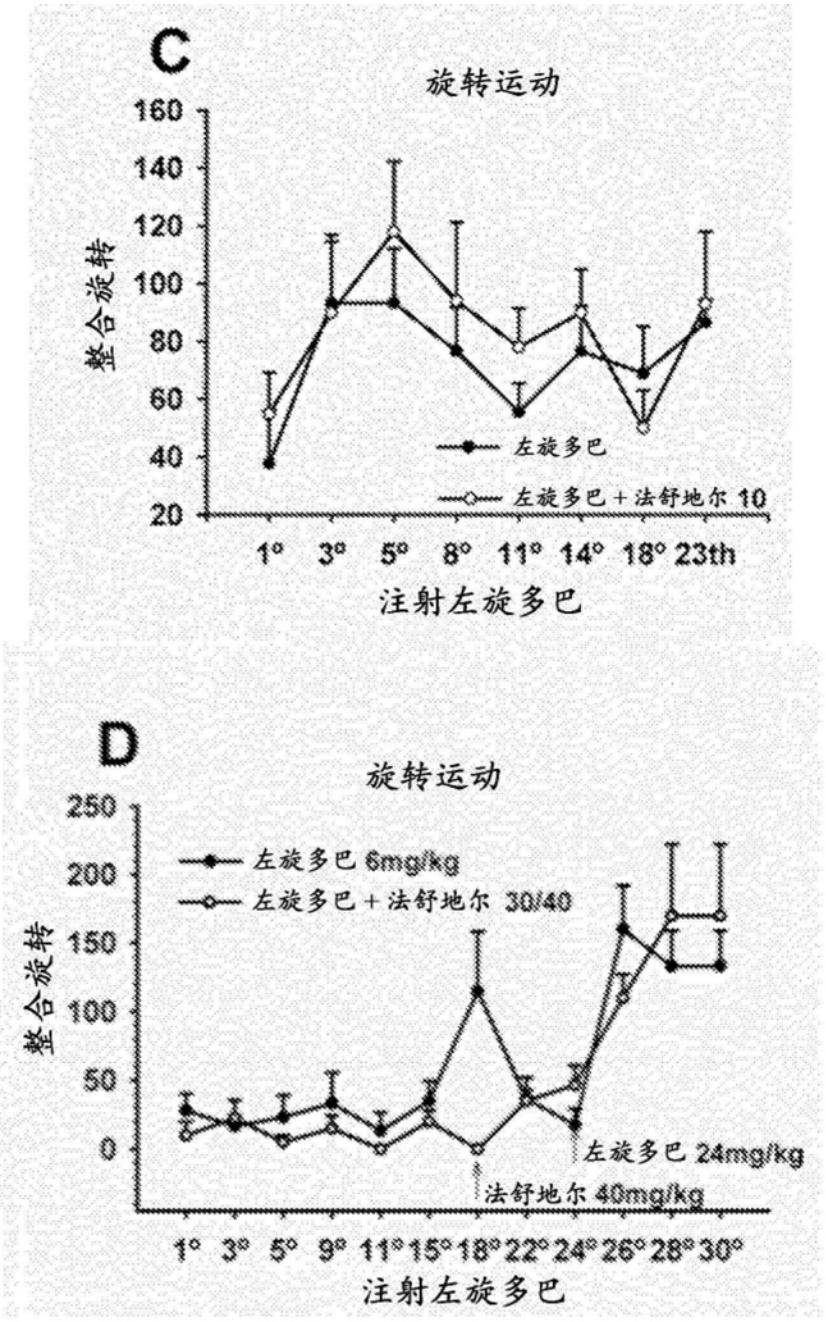

C
旋转运动
整合旋转
160
140
120
100
80
60
40
20
左旋多巴
左旋多巴＋法舒地尔 10
1° 3° 5° 8° 11° 14° 18° 23th
注射左旋多巴
D
旋转运动
整合旋转
250
200
150
100
50
0
左旋多巴 6mg/kg
左旋多巴＋法舒地尔 30/40
左旋多巴 24mg/kg
法舒地尔 40mg/kg
1° 3° 5° 9° 11° 15° 18° 22° 24° 26° 28° 30°
注射左旋多巴

图3C,图3D

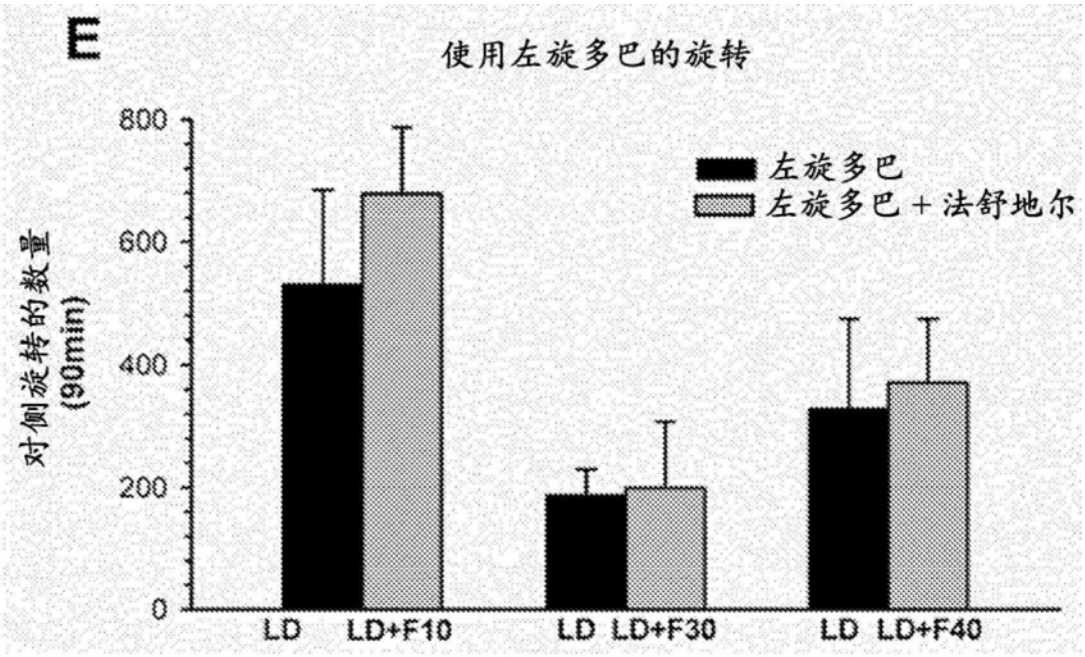

E
使用左旋多巴的旋转
对侧旋转的数量
(90min)
800
600
400
200
0
左旋多巴
左旋多巴＋法舒地尔
LD
LD+F10
LD
LD+F30
LD
LD+F40

图3E

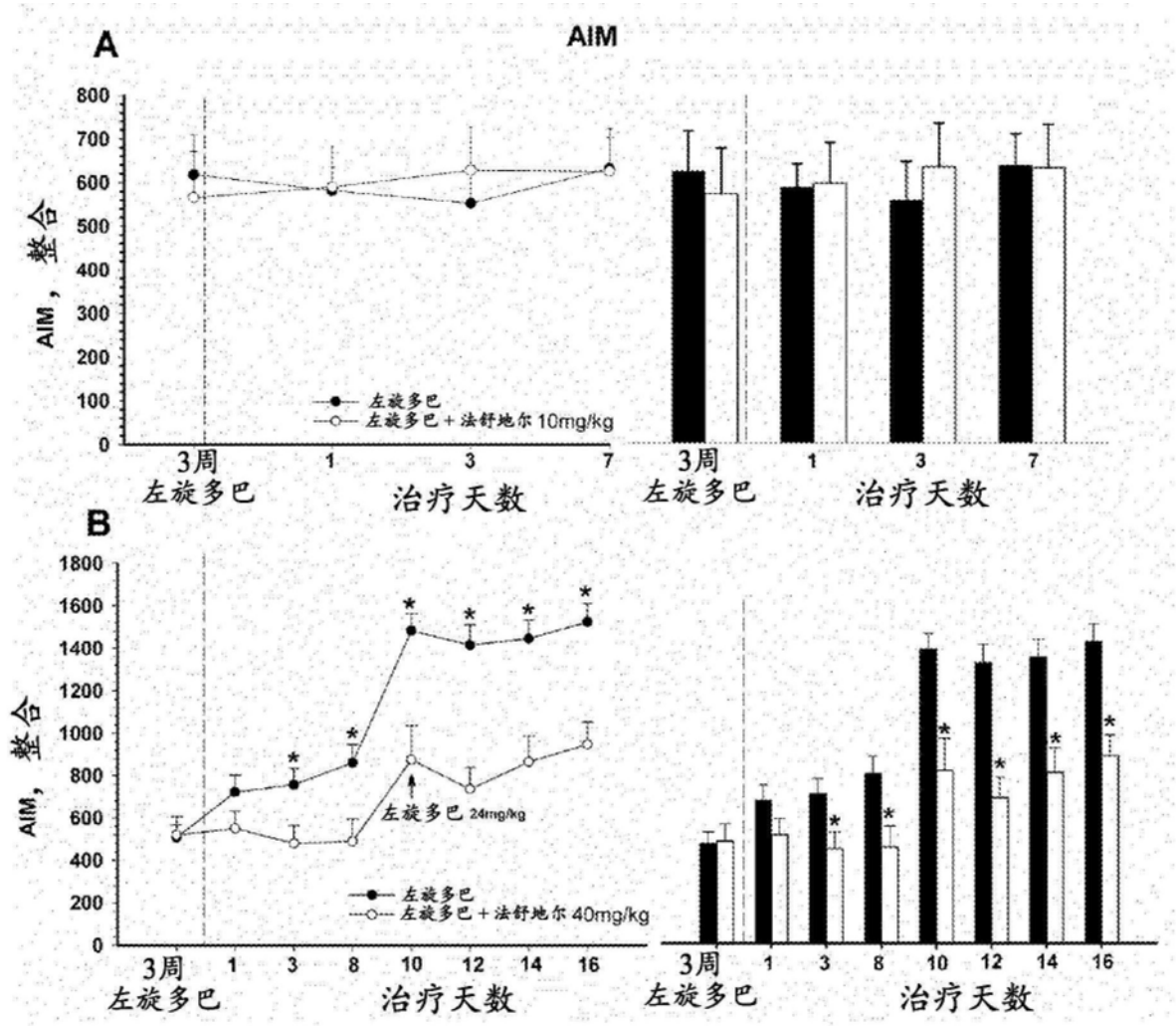

A
AIM
AIM，整合
800
700
600
500
400
300
200
100
0
左旋多巴
左旋多巴＋法舒地尔 10mg/kg
3周
1
3
7
左旋多巴
治疗天数
B
AIM，整合
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
左旋多巴 24mg/kg
左旋多巴
左旋多巴＋法舒地尔 40mg/kg
3周
1
3
8
10
12
14
16
左旋多巴
治疗天数

图4