



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 110913851 B

(45) 授权公告日 2023. 08. 25

(21) 申请号 201880040029.9

(22) 申请日 2018.04.25

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 110913851 A

(43) 申请公布日 2020.03.24

(30) 优先权数据  
62/489,735 2017.04.25 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2019.12.16

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2018/029372 2018.04.25

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02018/200680 EN 2018.11.01

(73) 专利权人 伊斯切米克斯公司  
地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 A·巴古斯 R·贝乌威克斯  
R·卡塞莱 D·A·小德沃尔  
S·A·凯特 A·S·拉德尔

(74) 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司 11127  
专利代理师 肖轶 庞东成

(51) Int.Cl.  
A61K 31/385 (2006.01)  
A61K 31/4178 (2006.01)  
A61K 31/661 (2006.01)  
A61K 31/662 (2006.01)  
A61K 45/06 (2006.01)  
A61K 38/06 (2006.01)  
A61K 9/00 (2006.01)  
A61P 25/00 (2006.01)  
A61P 25/28 (2006.01)  
A61P 43/00 (2006.01)

(56) 对比文件  
CN 102802622 A, 2012.11.28  
Szu-Fu Chen等.Salidroside Improves Behavioral and Histological Outcomes and Reduces Apoptosis via PI3K/Akt Signaling after Experimental Traumatic Brain Injury.《PLOS ONE》.2012,第7卷(第9期),

审查员 邓丽娟

权利要求书1页 说明书32页 附图14页

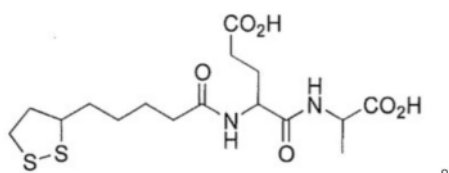
(54) 发明名称

治疗外伤性脑损伤的组合物和方法

(57) 摘要

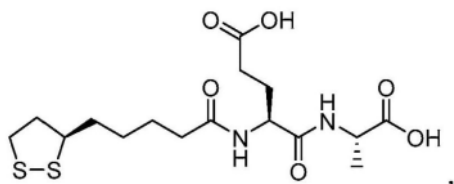
在某些实施方式中,本发明涉及使用神经保护性硫辛酰基化合物预防和/或治疗神经退行性损伤(例如神经退行性损伤的继发级联)和改善由外伤性脑损伤引起的功能后果(例如与认知、行为和感觉运动功能有关的后果)的方法。在各种实施方式中,本发明还提供了用于在有需要的受试者中治疗和/或预防TBI的组合物,用于制备在有需要的受试者中治疗和/或预防TBI的药物的化合物,以及制备用于治疗/或预防由TBI引起的继发性脑损伤的药物组合物的方法。

1. 化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗外伤性脑损伤的药物中的应用, 其中, 所述化合物具有以下结构式:



2. 如权利要求1所述的应用, 其中, 所述化合物是(R)-硫辛酰基化合物。

3. 如权利要求1或2所述的应用, 其中, 所述化合物是:



或其药学上可接受的盐。

4. 如权利要求1或2所述的应用, 其中, 治疗外伤性脑损伤包括治疗由所述外伤性脑损伤引起的神经退行性损伤。

5. 如权利要求4所述的应用, 其中, 所述神经退行性损伤影响大脑海马区。

6. 如权利要求5所述的应用, 其中, 对大脑海马区的所述神经退行性损伤影响与学习和记忆有关的认知功能。

7. 如权利要求4所述的应用, 其中, 所述神经退行性损伤影响感觉运动功能。

8. 如权利要求4所述的应用, 其中, 所述神经退行性损伤与局灶性或弥漫性外伤性脑损伤有关。

9. 如权利要求4所述的应用, 其中, 所述神经退行性损伤是原发病变部位以外的其他部位的继发性损伤。

10. 如权利要求1或2所述的应用, 其中, 治疗外伤性脑损伤包括改善所述外伤性脑损伤后的功能后果。

11. 如权利要求10所述的应用, 其中, 所述功能后果与受试者的认知、行为或感觉运动功能有关。

## 治疗外伤性脑损伤的组合物和方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2017年4月25日提交的美国临时申请号62/489,735的权益。该申请的全部教导通过引用并入本文。

### 背景技术

[0003] 外伤性脑损伤(TBI)是由物理冲击或其他破坏大脑的外伤引起的。根据外伤的来源,所产生的冲击可能会导致开放性头部或闭合性头部损伤。开放性头部损伤通常是由穿透性物体(例如子弹或其他弹丸)造成的。闭合性头部损伤通常是由钝器造成的,例如在车祸中头部撞到挡风玻璃上。在开放性和闭合性头部损伤中,有对大脑的直接的原发性损伤(例如脑出血),继而随着时间的推移,有继发性脑损伤(例如颅骨内压力增加和癫痫发作)。继发性脑损伤有时会影响大脑的与学习和记忆有关的海马区。TBI之后的继发性脑损伤也会在不同程度上影响认知、行为和感觉运动功能。

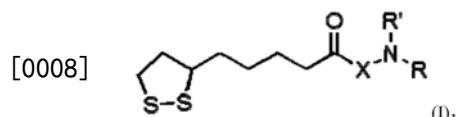
[0004] TBI的治疗因受伤的类型和严重程度而异。有时需要手术来解决原发性脑损伤并稳定患者的病情。有时可以提供紧急治疗,以最大程度地减少继发性损伤,但这种治疗趋向于姑息治疗。例如,可以给患者服用镇静剂以引起昏迷,从而减少患者的躁动并促进康复。当患者恢复功能时,也可以使用减少痉挛的药物。其他药物可用于帮助解决注意力和注意力集中问题(包括金刚烷胺、哌醋甲酯、溴隐亭和抗抑郁药)或抑制攻击性行为(包括例如卡马马氮平(carbamamazapine)和阿米替林)。但是,几乎没有有效的药物可以直接治疗或保护大脑免受继发性脑损伤。

[0005] 鉴于广泛的发病率和缺乏有效的治疗选择,仍然存在着巨大的未满足的医疗需求,即寻找新的方法来治疗或预防TBI引起的脑损伤(例如继发性脑损伤)。

### 发明内容

[0006] 本文所述的发明应对了对治疗和/或预防TBI的新方法的医学需求,这通过提供例如针对外伤性脑损伤引起的神经退行性损伤的继发级联反应并改善外伤性脑损伤后与认知、行为和感觉运动功能相关的长期功能后果(functional outcome)的方法来实现。

[0007] 在一个实施方式中,本发明提供了在有需要的受试者中治疗和/或预防TBI(例如,治疗或预防由外伤性脑损伤引起的神经退行性损伤;改善外伤性脑损伤后与认知、行为和/或感觉运动功能相关的功能后果)的方法。在某些实施方式中,本发明的方法包括向有需要的受试者施用有效量的由结构式I表示的化合物:

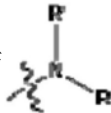


[0009] 或其药学上可接受的盐或前药,其中:

[0010] R是(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基、(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)芳基或(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基并且被至少一个选自以下基团的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH,其中

(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>) 芳基或 (C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>) 芳基 (C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>) 烷基的芳基任选地进一步被一个或更多个选自以下的取代基取代: 羟基、卤素、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) 烷基、卤代 (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) 烷基、氰基、硝基、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) 烷氧基和硫代 (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) 烷基;

[0011] R' 是氢或 (C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>) 烷基, 其中 (C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>) 烷基任选地被一个或更多个选自以下基团的酸性取代基取代: -CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub> 和 -NHOH; 并且 X 不存在或者

是氨基酸, 其中所述氨基酸经取向以与  形成酰胺键。

[0012] 在各种实施方式中, 本发明还提供了用于在有需要的受试者中治疗和/或预防 TBI 的组合物, 用于制备在有需要的受试者中治疗和/或预防 TBI 的药物的化合物, 和制备用于治疗和/或预防由 TBI 引起的继发性脑损伤的药物组合物的方法。因此, 本发明的一个实施方式是由结构式 (I) 表示的化合物或其药学上可接受的盐或前药, 其用于治疗 and/或预防 (例如, 治疗) TBI。本发明的另一个实施方式是由结构式 (I) 表示的化合物或其药学上可接受的盐或前药在制备用于治疗 and/或预防 (例如, 治疗) TBI 的药物中的用途。

[0013] 本发明的结构式 (I)、(Ia)、(II) 和 (IIa) 的硫辛酰基 (lipoyl) 化合物 (在本文中也称为“所公开的化合物”)、组合物和方法对于治疗 TBI 有效, 包括由 TBI 引起的继发性脑损伤和/或 TBI 后与认知、行为和感觉运动功能相关的长期功能后果。

## 附图说明

[0014] 图1显示了在弥散性外伤性脑损伤 (TBI) 的液压冲击模型 (fluid percussion model) 中用不同剂量的化合物 N-(R)-硫辛酰基-谷氨酰丙氨酸 (RLip-Glu-Ala, 在本文中也称为 CMX-2043) 治疗后大鼠肢体放置测试的结果。\*\*\*P<0.01 表示与盐水治疗的动物有显著差异。

[0015] 图2显示了在弥散性 TBI 的液压冲击模型中用不同剂量的 CMX-2043 治疗后大鼠肢体摆动测试的结果。\*P<0.05 表明与盐水治疗的动物有显著差异。

[0016] 图3显示了在弥散性 TBI 的液压冲击模型中用不同剂量的 CMX-2043 治疗后大鼠的体重变化。H=空载剂, I=CMX 2043 30mg/kg, M=CMX 2043 15mg/kg, O=CMX 2043 45mg/kg, Z=CMX 2043 7.5mg/kg。

[0017] 图4A和4B是莫里斯水迷宫池的示意图。

[0018] 图5显示了在外伤性脑损伤的局灶性模型中, 用 CMX-2043 治疗对大鼠体重的影响。数据表示为平均值±SEM。n=10 盐水; n=9 CMX-2043。

[0019] 图6显示了用 CMX-2043 进行 TBI 治疗对横梁平衡时间的影响。数据表示为平均值±SEM。n=10 盐水; n=9 CMX-2043。

[0020] 图7显示了用 CMX-2043 进行治疗对莫里斯水迷宫逃逸延迟期的影响。数据表示平均值±SEM。n=10 盐水; n=9 CMX-2043。\*P<0.05 表明与盐水治疗的动物有显著差异。

[0021] 图8显示了用 CMX-2043 进行 TBI 治疗对从莫里斯水迷宫逃逸延迟期的改善的效果。数据表示平均值±SEM。n=10 盐水; n=9 CMX-2043。\*P<0.05 表明与盐水治疗的动物有显著差异。

[0022] 图9示出了用 CMX-2043 进行 TBI 治疗对在莫里斯水迷宫训练期间的游动距离的影

响。数据表示平均值 $\pm$ SEM。 $n=10$ 盐水; $n=9$ CMX-2043。

[0023] 图10显示了用CMX-2043进行TBI治疗对在莫里斯水迷宫训练期间的游动速度的影响。数据表示平均值 $\pm$ SEM。 $n=10$ 盐水; $n=9$ CMX-2043。

[0024] 图11显示了用CMX-2043进行TBI治疗对在莫里斯水迷宫探索试验期间每个象限所花费的时间的影响。数据表示平均值 $\pm$ SEM。 $n=10$ 盐水; $n=9$ CMX-2043。

[0025] 图12显示了用CMX-2043进行TBI治疗对在莫里斯水迷宫探索试验期间进入目标平台区域的影响。数据表示平均值 $\pm$ SEM。 $n=10$ 盐水; $n=9$ CMX-2043。

[0026] 图13显示了在仔猪局灶性TBI模型中的CMX-2043盲测安慰剂对照概念验证试验中,CCI后24小时测得的CMX-2043对呼吸控制率(氧化磷酸化CI+CII/泄漏衰竭CI+CII)的影响。

[0027] 图14显示了在仔猪局灶性TBI模型中的CMX-2043盲测安慰剂对照概念验证试验中,CCI后24小时测得的CMX-2043对线粒体活性氧物质生成的影响。

[0028] 图15A显示了在局灶性TBI模型中的CMX-2043盲测安慰剂对照概念验证试验中,在CCI后收集自仔猪的皮质半影(penumbra)中通过4-羟基壬烯醛(4-HNE)测量的脂质过氧化。

[0029] 图15B显示了在局灶性TBI模型中的CMX-2043盲测安慰剂对照概念验证试验中,在CCI后从收集自仔猪的皮质半影中通过ELISA测量的蛋白质羧化。

## 具体实施方式

[0030] 下面描述本发明的示例性实施方式。

[0031] 本发明一般涉及使用本文所述的神经保护性硫辛酰基化合物在有需要的受试者中预防和/或治疗TBI的化合物、组合和方法。如本文所用,“治疗TBI”包括治疗由外伤性脑损伤引起的神经退行性损伤(例如,神经退行性损伤的继发级联),以及改善外伤性脑损伤后的长期功能后果(例如,与认知、行为和感觉运动功能相关的后果)。

[0032] 为了更好地理解本发明,以下术语定义如下:

[0033] 除非另有说明,否则可用于本发明方法的化合物可以以各种立体异构形式或其混合物存在。“立体异构体”是仅在其空间排列上不同的化合物。“对映异构体”是成对的立体异构体,它们互为不可重叠的镜像,最常见的是因为它们包含不对称取代的碳原子充当手性中心。

[0034] “非对映异构体”是非镜像关系的立体异构体,最常见的是因为它们包含两个或更多个不对称取代的碳原子。“R”和“S”代表一个或更多个手性碳原子周围的取代基的构型。

[0035] 如本文所用,“外消旋物(Racemate)”或“外消旋混合物”是指包含化合物的等摩尔量的两种对映异构体的混合物。这样的混合物没有光学活性(即,它们不旋转偏振光的平面)。

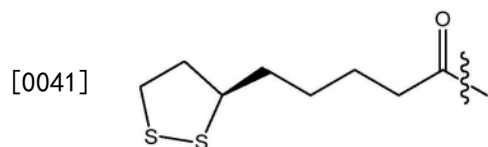
[0036] 对映体过量百分比(ee)定义为每种对映体的摩尔分数之间的绝对差乘以100%,可以用以下公式表示:
$$ee = \left| \frac{R-S}{R+S} \right| \times 100\%$$
其中R和S代表混合物中每种对映体的各自分数(fraction),使得 $R+S=1$ 。当命名或以结构描绘单个对映体时,所描绘或命名的对映异构体以至少或约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%、约98%、约99%或约99.9%的ee存在。

[0037] 非对映异构体过量百分比 (de) 定义为每个非对映异构体的摩尔分数乘以100%的绝对差, 可以用以下等式表示:  $de = \left| \frac{D1 - (D2 + D3 + D4 \dots)}{D1 + (D2 + D3 + D4 \dots)} \right| \times 100\%$ , 其中D1和(D2+D3+D4...)代表混合物中每种非对映异构体的各自分数, 使得D1+(D2+D3+D4...) = 1。当命名或以结构描绘单个非对映异构体时, 所描绘或命名的非对映异构体以至少或约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%、约98%、约99%或约99.9%的de存在。

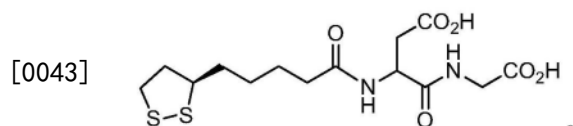
[0038] 当所公开的化合物以结构命名或描绘而未指明立体化学, 并且该化合物具有一个手性中心时, 应理解该名称或结构涵盖该化合物的基本与相应的光学异构体分开的一种对映异构体、该化合物的外消旋混合物以及相对于相应的光学异构体富含一种对映异构体的混合物。

[0039] 当所公开的化合物以结构命名或描绘而未指明立体化学, 并且具有两个或更多个手性中心时, 应理解的是, 该名称或结构涵盖基本上与其他非对映异构体分开的非对映异构体、基本上与其他非对映异构体对分离的一对非对映异构体、非对映体的混合物、非对映体对的混合物、其中一个非对映异构体相对于其他非对映异构体富集的非对映异构体混合物和其中一对非对映异构体相对于其他非对映异构体对富集的非对映异构体对混合物。

[0040] “(R)-硫辛酰基”是指包含硫辛酰基部分的化合物, 其中硫辛酰基部分中的立体中心为(R)构型。(R)-硫辛酰基部分如下图所示:

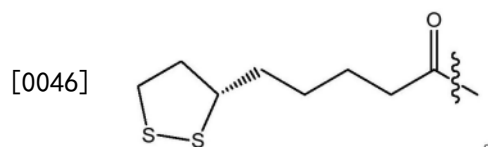


[0042] (R)-硫辛酰基化合物的一个实例如下所示:

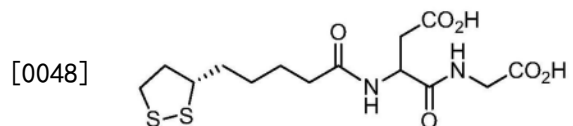


[0044] 在本发明的一个实施方式中, 将用于本发明的方法的具有结构式(I)的化合物的(R)-硫辛酰基立体异构体与(S)-硫辛酰基立体异构体相分离。

[0045] “(S)-硫辛酰基”是指包含硫辛酰基部分的化合物, 其中硫辛酰基部分中的立体中心为(S)构型。(S)-硫辛酰基部分如下图所示:



[0047] (S)-硫辛酰基化合物的一个实例如下所示:



[0049] 在本发明的一个实施方式中, 将用于本发明的方法的具有结构式(I)的化合物的(S)-硫辛酰基立体异构体与(R)-硫辛酰基立体异构体相分离。

[0050] “烷基”是指具有指定碳原子数的饱和脂族支链或直链一价烃基。因此, “(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 烷

基”是指具有1-6个碳原子的直链或支链排列的基团。“ $(C_1-C_6)$  烷基”包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、戊基和己基。通常,烷基具有1至20、1至15、1至10、1至5或1至3个碳原子。

[0051] 术语“烷氧基”是指-O-烷基,其中烷基如上定义。

[0052] 术语“卤素”是指F、Cl、Br或I。

[0053] 术语“芳基”是指碳环芳环。“ $(C_6-C_{14})$  芳基”包括苯基、萘基、茚基和蒽基。通常,芳基具有6至20、6至14、6至10、6至9或6个碳原子。

[0054] 如本文所用,“基本上分离的”或“基本上纯的”是指所描绘或命名的化合物的ee或de为至少约50%。例如,“基本上分离的”或“基本上纯的”可以表示所描绘或命名的对映体的ee或de为至少或约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%、约98%、约99%或约99.9%。在一个实施方式中,基本上分离的或基本上纯的是指所描绘或命名的化合物的ee或de为至少或约75%。在一个具体的实施方式中,基本上分离的是指所描绘或命名的化合物的ee或de为至少或约90%。在一个更具体的实施方式中,基本上分离的是指所描绘或命名的化合物的ee或de为至少或约95%。在又一个更具体的实施方式中,基本上分离的是指所描绘或命名的化合物的ee或de为至少或约99%。在另一个具体的实施方式中,基本上分离的是指所描绘或命名的化合物的ee或de为至少或约99.9%。

[0055] 如本文所用,术语“氨基酸”是指包含氨基、羧酸基和在不同氨基酸之间变化的侧链的分子,并且包括天然存在的氨基酸和非天然存在的氨基酸。在一个实施方式中,“氨基酸”用于指天然存在的氨基酸。

[0056] 如本文所用,术语“天然存在的氨基酸”是指由式 $NH_2-CHR-COOH$ 表示的化合物,其中R是天然存在的氨基酸(例如在下表中列出或命名的氨基酸)的侧链。“天然存在的氨基酸”包括d-和l-构型。当氨基酸以结构命名或描绘而未指明立体化学并且具有至少一个手性中心时,应理解的是,该名称或结构涵盖与另一种对映异构体或非对映异构体基本上分离的单个对映异构体或非对映异构体(其中一种对映异构体或非对映异构体相对于另一种对映异构体或非对映异构体富集)、对映体或非对映体的外消旋或非对映混合物、以及相对于其相应的光学异构体或其他非对映异构体富含一种对映异构体或非对映异构体的混合物。

[0057] 常见天然氨基酸表

[0058]

	氨基酸	三字母代码	单字母代码
非极性; 在 pH 7.4 为 中性	丙氨酸	Ala	A
	异亮氨酸	Ile	I
	亮氨酸	Leu	L
	甲硫氨酸	Met	M
	苯丙氨酸	Phe	F
	脯氨酸	Pro	P
	色氨酸	Trp	W
	缬氨酸	Val	V
极性, 在 pH 7.0 不带电荷	天冬酰胺	Asn	N
	半胱氨酸	Cys	C
	甘氨酸	Gly	G
	谷氨酰胺	Gln	Q
	丝氨酸	Ser	S

[0059]

	氨基酸	三字母代码	单字母代码
极性; 在 pH 7 带电荷	苏氨酸	Thr	T
	酪氨酸	Tyr	Y
	谷氨酸	Glu	E
	精氨酸	Arg	R
	天冬氨酸	Asp	D
	组氨酸	His	H
	赖氨酸	Lys	K

[0060] “非天然氨基酸”是指没有核酸密码子的氨基酸。非天然氨基酸的实例包括具有非天然侧链的天然 $\alpha$ -氨基酸; $\beta$ -氨基酸(例如 $\beta$ -丙氨酸);和 $\gamma$ -氨基酸(例如 $\gamma$ -氨基丁酸)。

[0061] 如本文所用,“有效量”是在施用条件下足以在有需要的受试者中实现期望的治疗或预防作用的量,诸如,例如足以治疗或抑制(例如预防或延迟)TBI继发性脑损伤的量。治疗的有效性可以通过本领域技术人员已知的合适方法来确定。有效量包括任何量的化合物(例如,结构式(I)的化合物),其可以在受试者中防止受治疗的病况、病症或疾病的发作,减轻其症状,阻止其发展,和/或促进长期功能后果的改善(例如,由于TBI引起的继发性脑损伤)。

[0062] 术语“治疗”在本文中定义为向有需要的受试者施用足以防止所治疗的病况、病症或疾病的发作,减轻其症状或阻止其进展的有效量的化合物(例如结构式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或前药)。

[0063] 如本文所用,术语“受试者”是指哺乳动物。在一个特定的实施方式中,所述受试者是人。

[0064] 术语“有需要的受试者”是指已经患有TBI或持续处于TBI风险中的受试者。

[0065] “有效量”是指将引起由研究人员、兽医、医生或其他临床诊治者所寻求的细胞、组织、系统、动物、哺乳动物或人的生物学或医学响应的化合物的量。有效量可以在0.001mg/



kg至1000mg/kg的范围内。有效量也可以在0.1mg/kg至100mg/kg的范围内。有效量也可以在1mg/kg至20mg/kg的范围内。可以根据需要以急性、亚急性或慢性方案施用有效量,以达到期望的结果。

[0066] 本发明的方法对于预防和/或治疗由TBI引起的神经退行性损伤的继发级联,和/或对于TBI之后改善与认知、行为和感觉运动功能有关的功能后果特别有用。继发性神经退行性损伤可能与局灶性或弥漫性外伤性脑损伤有关。在一个实施方式中,TBI是由钝力外伤、爆炸冲击或过度的加速和/或减速引起的。导致TBI的钝力外伤是由钝器对头部的突然撞击导致的严重外伤性发作。在汽车事故中,碰撞到汽车的任何部件(例如,仪表板、方向盘、驾驶员或乘客侧座椅的后部或挡风玻璃)后,会遭受钝力外伤。用拳头、木块、棒球棍或其他会造成这种伤害的物品对受害者的攻击也可能导致钝力外伤。爆炸伤害可能是由于,例如在爆炸装置(例如炸弹或简易爆炸装置(IED))爆炸后,暴露于初级爆炸波而对头部有直接冲击或没有直接冲击。颅骨运动突然加速或突然减速之后的颅腔内大脑的突然运动和变形造成了加速和减速伤害。这种伤害在机动车辆事故或其他引起挥鞭(whiplash)型伤害的事件中很常见。

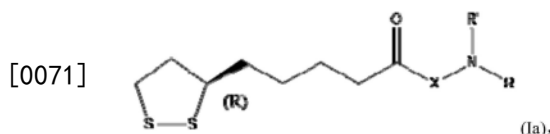
[0067] 本发明的方法还特别适合于治疗脑震荡损伤,包括例如在高冲击运动中经历的各种脑震荡损伤。因此,本文提供了用于治疗遭受了脑震荡损伤的受试者的脑震荡损伤的方法,其包括向受试者施用有效量的本文公开的化合物(例如,结构式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或前药)。

[0068] 本发明的方法也可能特别适合于治疗和预防TBI后对大脑海马区的损伤。这种类型的继发性脑损伤可能会对TBI患者造成毁灭性的打击,因为海马体全面参与学习和记忆。在本发明的方法中使用的化合物可以在TBI之后帮助保留关键的脑功能,并恢复或增强患者的学习和记忆能力(例如,通过神经保护作用)。因此,本文提供了用于在TBI之后治疗和/或预防对受试者大脑海马区的损伤的方法,包括向受试者施用有效量的本文公开的化合物(例如,结构式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或前药)。本文还提供了一些用于在TBI之后保留关键的脑功能和/或恢复或增强受试者学习和记忆能力的方法,包括向受试者施用有效量的本文公开的化合物(例如,结构式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或前药)。

[0069] 另外,如本文实施例中所述,在TBI的动物模型中,本发明的方法已显示出在TBI之后提供导致认知、行为和感觉运动改善的治疗益处。因此,本发明的方法可用于促进患有TBI的患者的认知、行为和感觉运动恢复。因此,本文还提供了用于促进患有TBI的受试者的认知、行为和感觉运动恢复的方法,包括向受试者施用有效量的本文公开的化合物(例如,结构式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或前药)。在一个实施方式中,该方法是用于促进患有TBI的受试者的认知恢复的方法,包括向受试者施用有效量的本文公开的化合物(例如,结构式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或前药)。在另一个实施方式中,该方法是用于促进患有TBI的受试者的行为恢复的方法,包括向受试者施用有效量的本文公开的化合物(例如,结构式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或前药)。在又一个实施方式中,该方法是用于促进患有TBI的受试者的感觉运动恢复的方法,包括向受试者施用有效量的本文公开的化合物(例如,结构式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或前药)。

[0070] 在一个实施方式中,本发明涉及一种用于在有需要的受试者中治疗和/或预防(例如,治疗)TBI的方法(例如,通过治疗由TBI引起的继发性神经退行性损伤和/或改善TBI引

起的与认知、行为和感觉运动功能相关的长期功能后果),包括向受试者施用有效量的结构式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或前药(例如,其药学上可接受的盐)。在一些实施方式中,该化合物由结构式(Ia)表示:



[0072] 或是其药学上可接受的盐或前药。

[0073] R是(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基、(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)芳基或(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基并且被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH,其中(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)芳基或(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基的芳基任选地进一步被一个或多个选自以下的取代基取代:羟基、卤素、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、卤代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、氰基、硝基、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷氧基和硫代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基;

[0074] 在一个实施方式中,R是(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基并且被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH。在另一个实施方式中,R是(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基并且被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH。在另一个实施方式中,R是(C<sub>3</sub>)烷基并且被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH。在另一个实施方式中,R是(C<sub>2</sub>)烷基并且被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH。作为选择,R是(C<sub>1</sub>)烷基并且被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH。

[0075] 在另一个实施方式中,R是(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)芳基并且被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH,并且任选地进一步被一个或多个选自以下的取代基取代:羟基、卤素、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、卤代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、氰基、硝基、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷氧基和硫代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。在另一个实施方式中,R是(C<sub>6</sub>)芳基并且被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH,并且任选地进一步被一个或多个选自以下的取代基取代:羟基、卤素、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、卤代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、氰基、硝基、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷氧基和硫代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。

[0076] 在另一个实施方式中,R是(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基并且被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH,其中(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基的芳基任选地进一步被一个或多个选自以下的取代基取代:羟基、卤素、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、卤代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、氰基、硝基、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷氧基和硫代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。在另一个实施方式中,R是(C<sub>6</sub>)芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基并且被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH,其中(C<sub>6</sub>)芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基的芳基任选地进一步被一个或多个选自以下的取代基取代:羟基、卤素、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、卤代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、氰基、硝基、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷氧基和硫代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。作为一种选择,R是(C<sub>6</sub>)芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)烷基并且被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH,其中(C<sub>6</sub>)芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)烷基的芳基任选地进一步被一个或多个选自以下的取代基取代:羟基、卤素、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、卤代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、氰基、硝基、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷氧基和硫代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。

[0077] 在另一个实施方式中,R是(C<sub>6</sub>)芳基(C<sub>2</sub>)烷基并且被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH,其中(C<sub>6</sub>)芳基(C<sub>2</sub>)烷基的芳基任选地进一步被一个或多个选自以下的取代基取代:羟基、卤素、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、卤代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、氰基、硝基、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷氧基和硫代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。在另一个实施方式中,R是(C<sub>6</sub>)芳基(C<sub>1</sub>)烷基并且被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH,其中(C<sub>6</sub>)芳基(C<sub>1</sub>)烷基的芳基任选地进一步被一个或多个选自以下的取代基取代:羟基、卤素、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、卤代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、氰基、硝基、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷氧基和硫代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。

[0078] 所述至少一个酸性取代基选自-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH。在一个实施方式中,所述至少一个酸性取代基选自-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H和-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>。

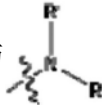
[0079] R被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH。在一个实施方式中,R被一个、两个或三个酸性取代基取代。在另一个实施方式中,R被一个或两个酸性取代基取代。

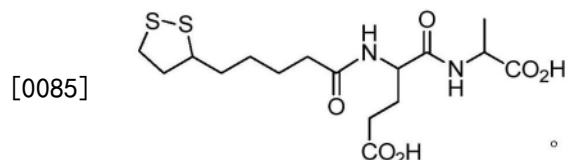
[0080] 芳基任选地进一步被一个或多个选自以下的取代基取代:羟基、卤素、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、卤代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、氰基、硝基、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷氧基和硫代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。在一个实施方式中,芳基进一步被一个、两个或三个取代基取代。在另一个实施方式中,芳基被一个取代基取代。作为一种选择,芳基是未取代的。在另一个实施方式中,芳基进一步被一个或多个选自羟基或卤素的取代基取代。

[0081] R'是氢或(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基,其中所述(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基任选地被一个或多个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH。在一个实施方式中,R'是氢。

[0082] 在一个实施方式中,R'是(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基。在另一个实施方式中,R'是(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。在另一个实施方式中,R'是(C<sub>3</sub>)烷基。在另一个实施方式中,R'是(C<sub>2</sub>)烷基。作为选择,R'是(C<sub>1</sub>)烷基。

[0083] R'被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH。在一个实施方式中,R'被一个、两个或三个酸性取代基取代。在另一个实施方式中,R'被一个或两个酸性取代基取代。在另一个实施方式中,R'被一个酸性取代基取代。作为选择,R'是未取代的。

[0084] X不存在或者是氨基酸,其中所述氨基酸经取向以与形成酰胺键。例如,N-硫辛酰基-谷氨酰胺丙氨酸中的部分如下结构式所示进行取向:



[0086] 在一个实施方式中,X不存在。作为选择,X是氨基酸。在另一个实施方式中,X是天然存在的氨基酸。在另一个实施方式中,X是天冬氨酸、酪氨酸、谷氨酸或丙氨酸。

[0087] 在第一具体实施方式中,该化合物由结构式(I)和/或(Ia)表示,其中变量的值和

替代值如上所述。

[0088] 在本发明的第一具体实施方式的第一方面,由结构式(I)或(Ia)表示的化合物的(R)-硫辛酰基立体异构体与(S)-硫辛酰基立体异构体是基本上分离的。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)或(Ia)所述或在第一具体实施方式中所述。

[0089] 在本发明的第一具体实施方式的第二方面,R'是H。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)或(Ia)所述或在第一具体实施方式或其第一方面中所述。

[0090] 在本发明的第一具体实施方式的第三方面,R'是H且X是天然存在的氨基酸。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)或(Ia)所述或在第一具体实施方式或其第一或第二方面中所述。

[0091] 在本发明的第一具体实施方式的第四方面,R和R'各自是被一个或两个各自独立地选自以下的酸性取代基取代的(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H和-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)或(Ia)所述或在第一具体实施方式或其第一至第三方面中所述。

[0092] 在本发明的第一具体实施方式的第五方面,R'是H且X不存在。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)或(Ia)所述或在第一具体实施方式或其第一至第四方面中所述。

[0093] 在本发明的第一具体实施方式的第六方面,R是被一个或两个各自独立地选自以下的酸性取代基取代的(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H和-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)或(Ia)所述或在第一具体实施方式或其第一至第五方面中所述。

[0094] 在本发明的第一具体实施方式的第七方面,R是被一个或两个各自独立地选自以下的酸性取代基取代的(C<sub>6</sub>)芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H和-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)或(Ia)所述或在第一具体实施方式或其第一至第六方面中所述。

[0095] 在本发明的第一具体实施方式的第八方面,R是被一个或两个各自独立地选自以下的酸性取代基取代的(C<sub>2</sub>)烷基:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H和-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)或(Ia)所述或在第一具体实施方式或其第一至第七方面中所述。

[0096] 在本发明的第一具体实施方式的第九方面,R是被一个选自以下的酸性取代基取代的(C<sub>6</sub>)芳基:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H和-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)或(Ia)所述或在第一具体实施方式或其第一至第八方面中所述。

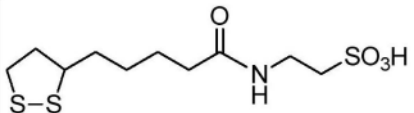
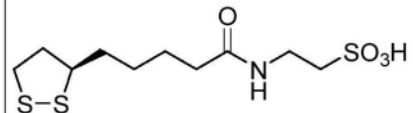
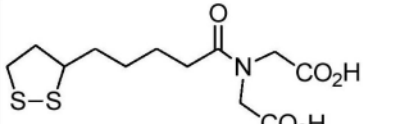
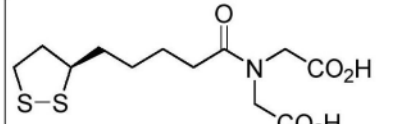
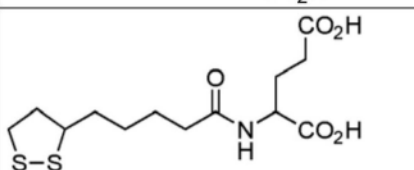
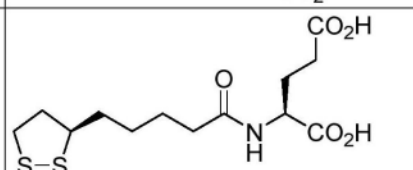
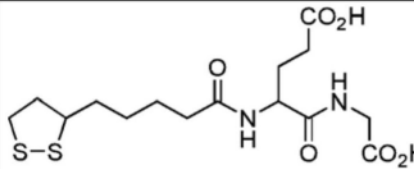
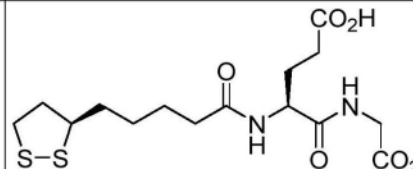
[0097] 在本发明的第一具体实施方式的第十方面,该化合物由结构式(I)表示,其中的值和替代值如以上针对结构式(I)或(Ia)所述或在第一具体实施方式或其第一至第九方面中所述。

[0098] 在本发明的第一具体实施方式的第十一方面,该化合物由结构式(Ia)表示,其中的值和替代值如以上针对结构式(I)或(Ia)所述或在第一具体实施方式或其第一至第十方面中所述。

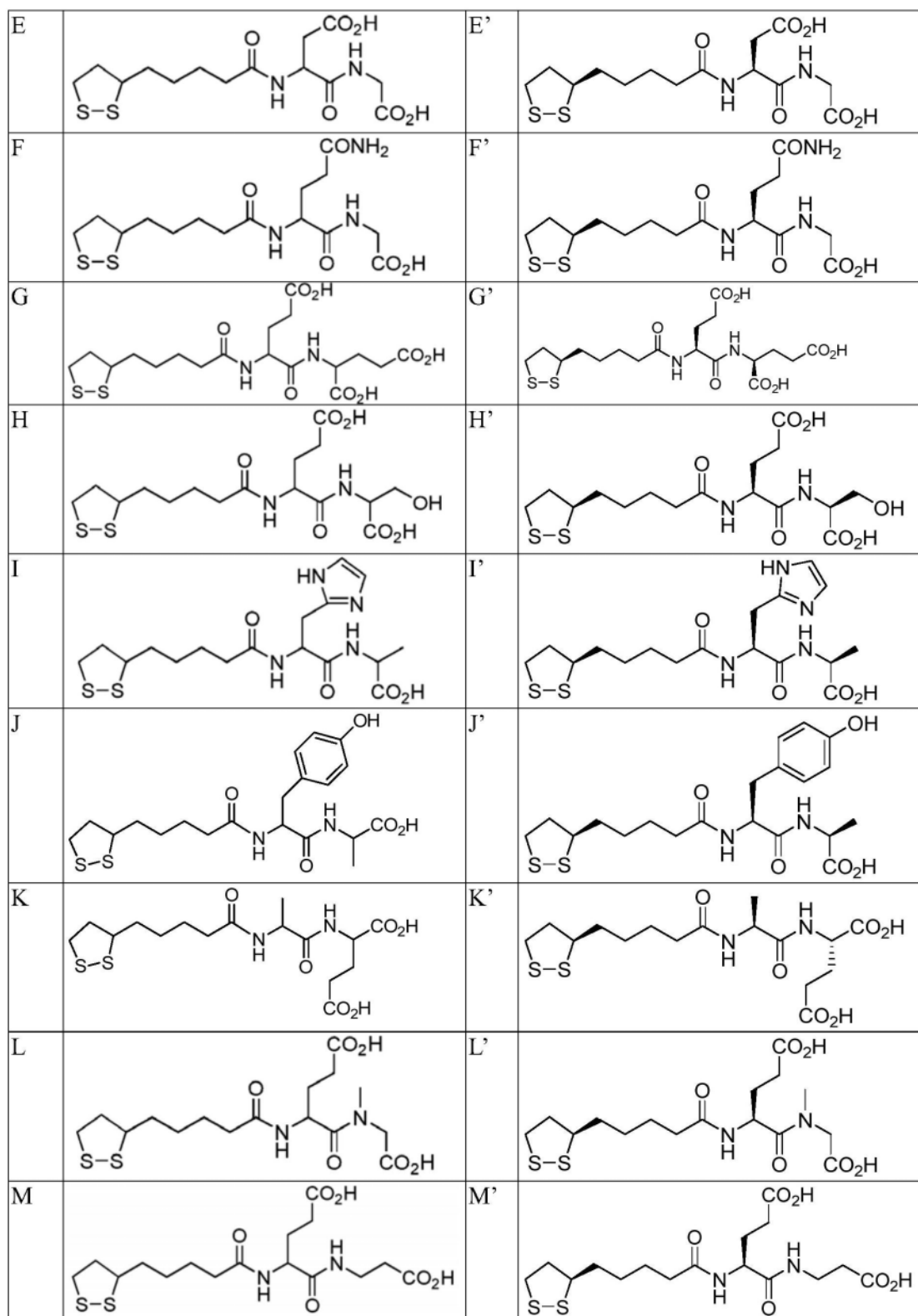
[0099] 在第二具体实施方式中,该化合物由表A中的任何一种结构式表示或是其药学上可接受的盐或前药(例如药学上可接受的盐)。

[0100] 表A

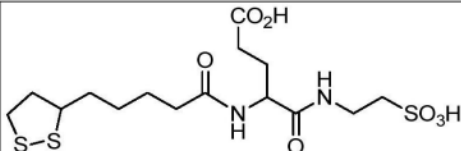
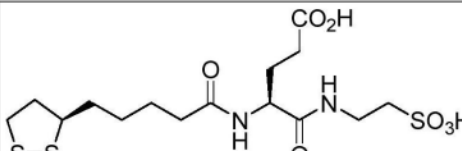
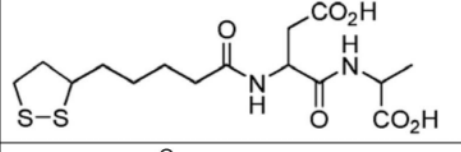
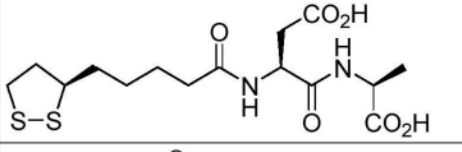
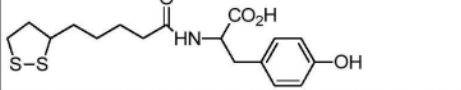
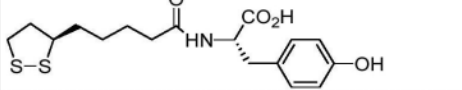
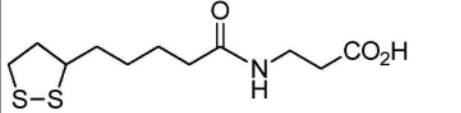
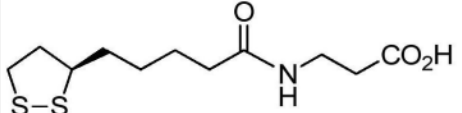
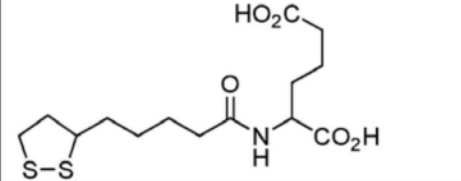
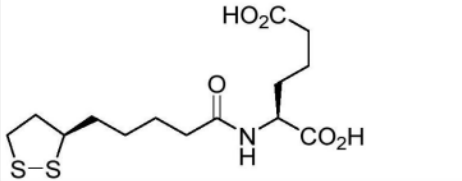
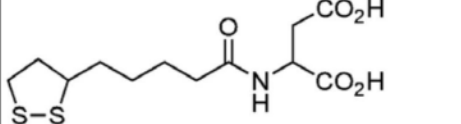
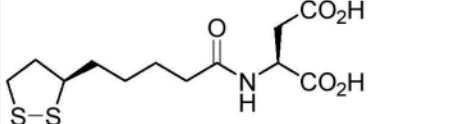
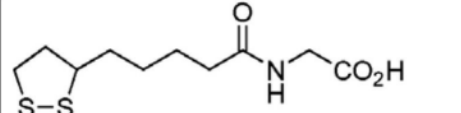
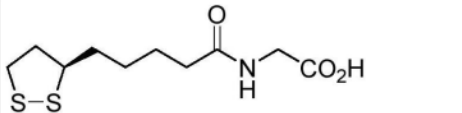
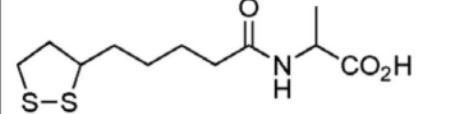
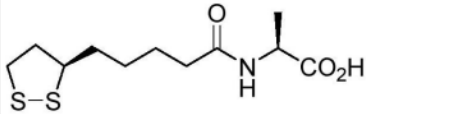
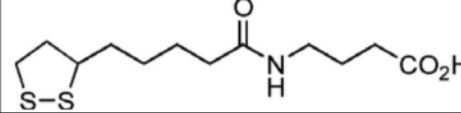
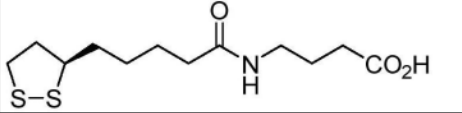
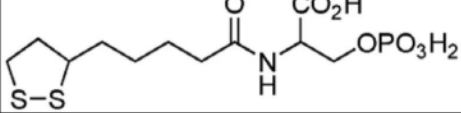
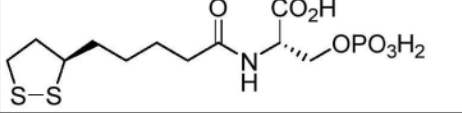
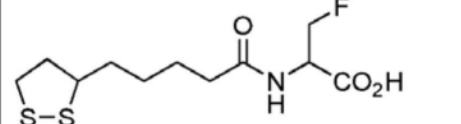
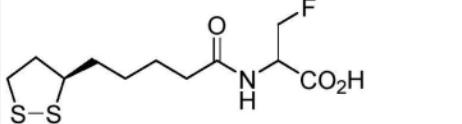
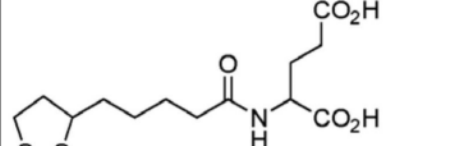
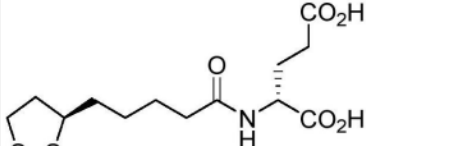
[0101]

化合物编号	结构式	化合物编号	结构式
A		A'	
B		B'	
C		C'	
D		D'	

[0102]



[0103]

N		N'	
O		O'	
Q		Q'	
R		R'	
S		S'	
T		T'	
U		U'	
V		V'	
W		W'	
X		X'	
Y		Y'	
Z		Z'	

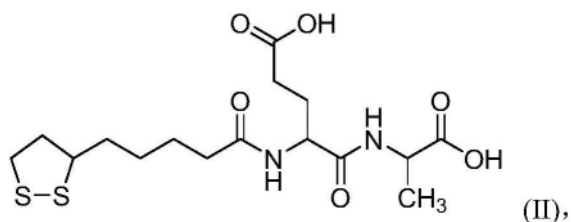
[0104]

AB		AB'	
AC		AC'	
AD		AD'	
AE		AE'	
AF		AF'	
AG		AG'	
AH		AH'	
AI		AI'	

[0105] 在本发明的第二具体实施方式的第一方面,表A中任何化合物的(R)-硫辛酰基立体异构体与(S)-硫辛酰基立体异构体是基本上分离的。

[0106] 在第三具体实施方式中,该化合物由以下结构式表示:

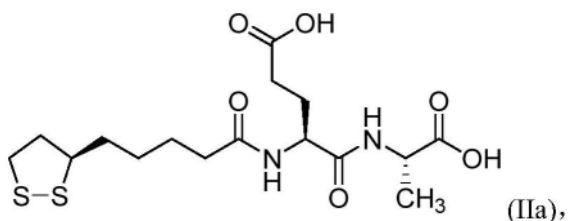
[0107]



[0108] 或是其药学上可接受的盐。

[0109] 在第三具体实施方式的第一方面,该化合物由以下结构式表示:

[0110]



[0111] 或是其药学上可接受的盐。

[0112] 在本发明的第三具体实施方式的第二方面,结构式II或IIa的化合物的(R)-硫辛



酰基立体异构体与(S)-硫辛酰基立体异构体是基本上分离的。

[0113] 在一个实施方式中,本发明涉及一种治疗和/或预防神经退行性损伤的继发级联和/或改善TBI引起的与认知、行为和感觉运动功能有关的长期功能后果的方法,所述方法包括(例如,向有需要的受试者)施用由结构式(Ia)表示的化合物(例如,有效量的化合物)或其药学上可接受的盐或前药。

[0114] 在另一个实施方式中,本发明涉及一种治疗和/或预防神经退行性损伤的继发级联和/或改善TBI引起的与认知、行为和感觉运动功能有关的长期功能后果的方法,所述方法包括(例如,向有需要的受试者)施用由结构式(I)表示的化合物(例如,有效量的化合物),其中R是(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基、(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)芳基或(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基并且被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH,其中(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)芳基或(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基的芳基任选地进一步被一个或更多个选自以下的取代基取代:羟基、卤素、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、卤代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、氰基、硝基、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷氧基和硫代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。

[0115] 在另一个实施方式中,R是(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基。在另一个实施方式中,R是(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。在另一个实施方式中,R是(C<sub>3</sub>)烷基。在另一个实施方式中,R是(C<sub>2</sub>)烷基。作为选择,R是(C<sub>1</sub>)烷基。

[0116] 在另一个实施方式中,R是(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)芳基。在另一个实施方式中,R是(C<sub>6</sub>)芳基。

[0117] 在另一个实施方式中,R是(C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基。在另一个实施方式中,R是(C<sub>6</sub>)芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。作为选择,R是(C<sub>6</sub>)芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)烷基。

[0118] 在另一个实施方式中,R是(C<sub>6</sub>)芳基(C<sub>2</sub>)烷基。在另一个实施方式中,R是(C<sub>6</sub>)芳基(C<sub>1</sub>)烷基。

[0119] 在又一个实施方式中,所述至少一个酸性取代基选自-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH。在一个实施方式中,所述至少一种酸性取代基选自-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H和-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>。

[0120] 在另一个实施方式中,R被至少一种选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH。在一个实施方式中,R被一个、两个或三个酸性取代基取代。在另一个实施方式中,R被一个或两个酸性取代基取代。

[0121] 在另一个实施方式中,芳基任选进一步被一个或更多个选自以下的取代基取代:羟基、卤素、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、卤代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基、氰基、硝基、(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷氧基和硫代(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。在一个实施方式中,芳基进一步被一个、两个或三个取代基取代。在另一个实施方式中,芳基被一个取代基取代。作为一种选择,芳基是未取代的。在另一个实施方式中,芳基进一步被一个或更多个选自羟基和卤素的取代基取代。

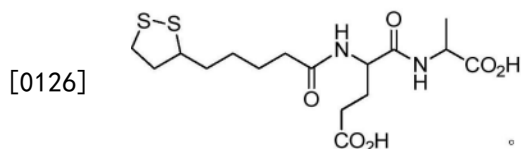
[0122] 在另一个实施方式中,R'是氢或(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基,其中所述(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基任选地被一个或更多个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H、-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-B(OH)<sub>2</sub>和-NHOH。在一个实施方式中,R'是氢。

[0123] 在一个实施方式中,R'是(C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)烷基。在另一个实施方式中,R'是(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。在另一个实施方式中,R'是(C<sub>3</sub>)烷基。在另一个实施方式中,R'是(C<sub>2</sub>)烷基。作为选择,R'是(C<sub>1</sub>)烷基。

[0124] 在另一个实施方式中,R'被至少一个选自以下的酸性取代基取代:-CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-

$\text{PO}_3\text{H}_2$ 、 $-\text{OSO}_3\text{H}$ 、 $-\text{OPO}_3\text{H}_2$ 、 $-\text{B}(\text{OH})_2$ 和 $-\text{NHOH}$ 。在一个实施方式中， $\text{R}'$ 被一个、两个或三个酸性取代基取代。在另一个实施方式中， $\text{R}'$ 被一个或两个酸性取代基取代。在另一个实施方式中， $\text{R}'$ 被一个酸性取代基取代。作为选择， $\text{R}'$ 是未取代的。

[0125] 在另一个实施方式中， $\text{X}$ 不存在或者是氨基酸，其中所述氨基酸经取向以与 $-\text{N}(\text{R}')$  ( $\text{R}$ )形成酰胺键。例如， $\text{N}$ -硫辛酰基-谷氨酰胺丙氨酸中的部分如下结构式所示进行取向：



[0127] 在一个实施方式中， $\text{X}$ 不存在。作为选择， $\text{X}$ 是氨基酸。在另一个实施方式中， $\text{X}$ 是天然存在的氨基酸。在又一个实施方式中， $\text{X}$ 是天冬氨酸、酪氨酸、谷氨酸或丙氨酸。

[0128] 在第四具体实施方式中，用于治疗或预防神经退行性损伤的继发级联并改善TBI引起的与认知、行为和感觉运动功能有关的长期功能后果的方法包括施用有效量的结构式(I)或(Ia)表示的化合物或其药学上可接受的盐或前药，其中变量的值和替代值如上文所述。

[0129] 在本发明的第四具体实施方式的第一方面，由结构式(I)表示的化合物的( $\text{R}$ )-硫辛酰基立体异构体或其药学上可接受的盐或前药与( $\text{S}$ )-硫辛酰基立体异构体或其药学上可接受的盐或前药是基本上分离的。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)所述或在第四实施方式中所述。

[0130] 在本发明的第四具体实施方式的第二方面， $\text{R}'$ 为 $\text{H}$ 。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)所述或在第四具体实施方式或其第一方面中所述。

[0131] 在本发明的第四具体实施方式的第三方面， $\text{R}'$ 是 $\text{H}$ 且 $\text{X}$ 是天然存在的氨基酸。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)所述或在第四具体实施方式或其第一或第二方面中所述。

[0132] 在本发明的第四具体实施方式的第四方面， $\text{R}$ 和 $\text{R}'$ 各自是被一个或两个各自独立地选自以下的酸性取代基取代的( $\text{C}_1$ - $\text{C}_3$ )烷基： $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{PO}_3\text{H}_2$ 、 $-\text{OSO}_3\text{H}$ 和 $-\text{OPO}_3\text{H}_2$ 。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)所述或在第四具体实施方式或其第一至第三方面中所述。

[0133] 在本发明的第四具体实施方式的第五方面， $\text{R}'$ 是 $\text{H}$ 且 $\text{X}$ 不存在。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)所述或在第四具体实施方式或其第一至第四方面中所述。

[0134] 在本发明的第四具体实施方式的第六方面， $\text{R}$ 是被一个或两个各自独立地选自以下的酸性取代基取代的( $\text{C}_1$ - $\text{C}_3$ )烷基： $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{PO}_3\text{H}_2$ 、 $-\text{OSO}_3\text{H}$ 和 $-\text{OPO}_3\text{H}_2$ 。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)所述或在第四具体实施方式或其第一至第五方面中所述。

[0135] 在本发明的第四具体实施方式的第七方面， $\text{R}$ 是被一个或两个各自独立地选自以下的酸性取代基取代的( $\text{C}_6$ )芳基( $\text{C}_1$ - $\text{C}_3$ )烷基： $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{PO}_3\text{H}_2$ 、 $-\text{OSO}_3\text{H}$ 和 $-\text{OPO}_3\text{H}_2$ 。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)所述或在第四具体实施方式或其第一至第六方面中所述。

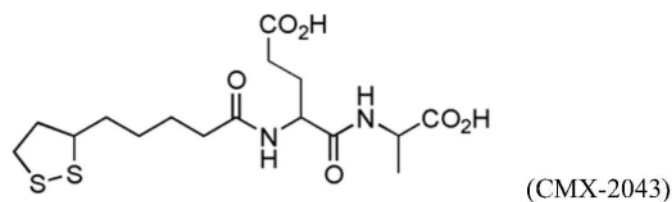
[0136] 在本发明的第四具体实施方式的第八方面， $\text{R}$ 是被一个或两个各自独立地选自以下的酸性取代基取代的( $\text{C}_2$ )烷基： $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{PO}_3\text{H}_2$ 、 $-\text{OSO}_3\text{H}$ 和 $-\text{OPO}_3\text{H}_2$ 。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)所述或在第四具体实施方式或其第一至第七方面中所述。

[0137] 在本发明的第四具体实施方式的第九方面, R是被一个选自以下的酸性取代基取代的(C<sub>6</sub>)芳基: -CO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>、-OSO<sub>3</sub>H和-OP<sub>3</sub>H<sub>2</sub>。其余变量的值和替代值如以上针对结构式(I)所述或在第四具体实施方式或其第一至第八方面中所述。

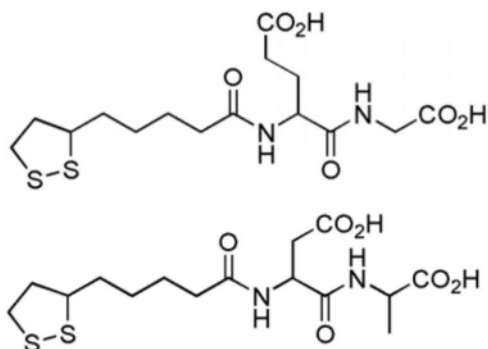
[0138] 在本发明的第四具体实施方式的第十方面, 该化合物由结构式(I)表示, 其中的值和替代值如以上针对结构式(I)所述或在第四具体实施方式或其第一至第九方面中所述。

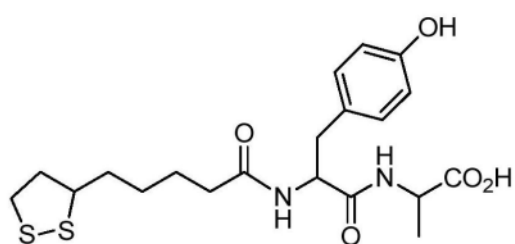
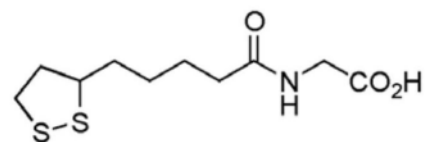
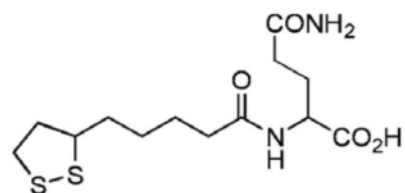
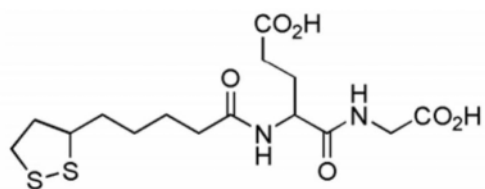
[0139] 在本发明的第四具体实施方式的第十一方面, 该化合物由结构式(I)表示, 其中的值和替代值如以上针对结构式(I)或(Ia)所述或在第四具体实施方式或其第一至第十方面中所述。

[0140] 在第五具体实施方式中, 用于治疗或预防神经退行性损伤的继发级联并改善TBI引起的与认知、行为和感觉运动功能有关的长期功能后果的方法包括施用有效量的以下结构式之一表示的化合物或其药学上可接受的盐或前药:

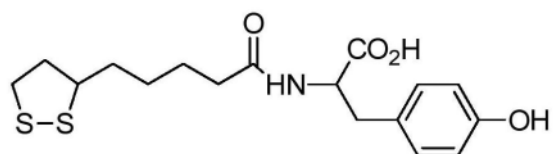
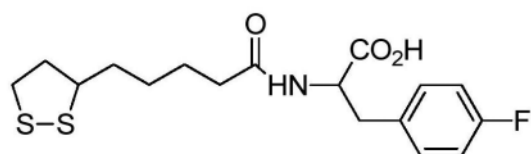
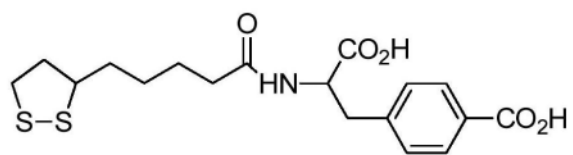
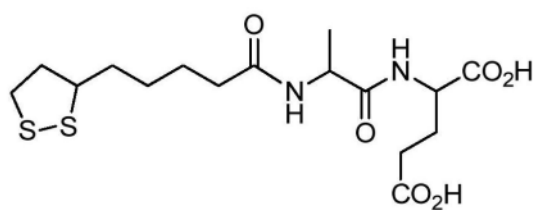
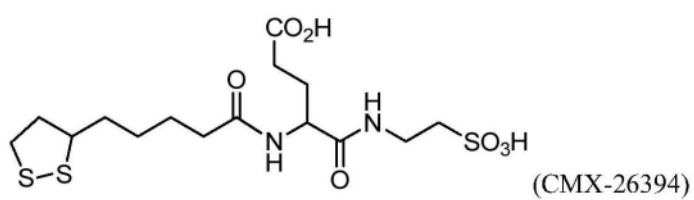


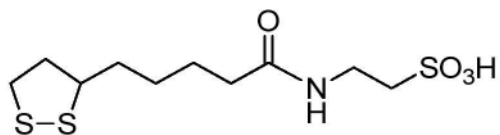
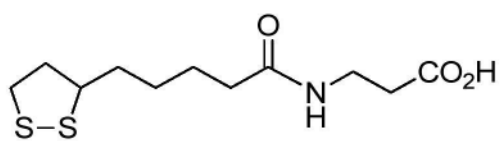
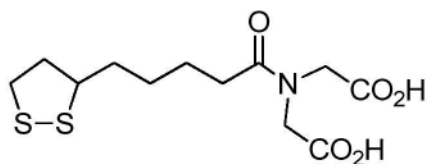
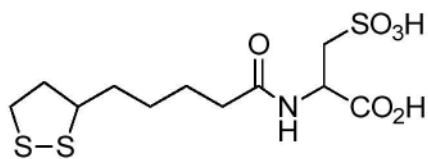
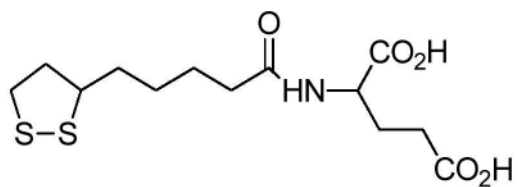
[0141]



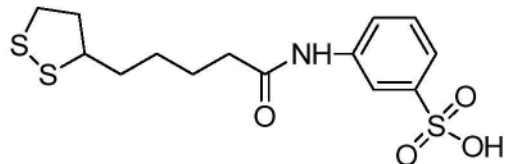
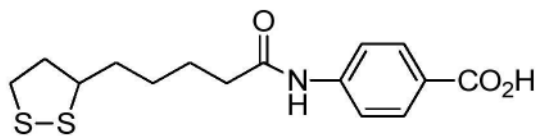
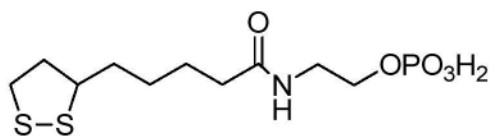
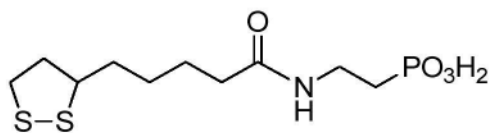
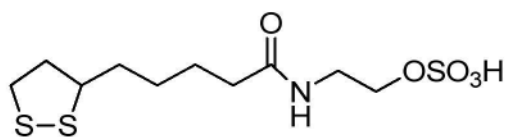


[0142]

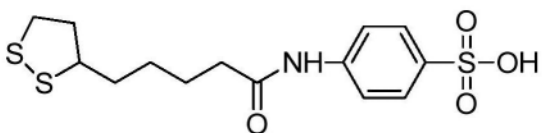




[0143]



[0144]



[0145] 本发明还涉及本发明公开的化合物的药学上可接受的盐。术语“药学上可接受的盐”包括通常用于形成碱金属盐和形成游离碱的加成盐的盐。盐的性质并不关键,只要它是药学上可接受的即可。

[0146] 本发明化合物的药学上可接受的盐包括碱加成盐。本发明化合物的合适的药学上可接受的碱加成盐包括但不限于由铝、钙、锂、镁、钾、钠和锌制成的金属盐或由N,N'-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、N-甲基葡萄糖胺、赖氨酸和普鲁卡因制成的有机盐。所有这些盐可以通过常规方法由本发明的相应化合物通过用合适的酸或碱处理例如本文所述的化合物来制备。

[0147] 在一个实施方式中,药学上可接受的盐包括一价或二价阳离子。如本文所用,“阳离子”是指具有正电荷的原子或分子。阳离子可以是例如金属或胺。在一个特定的实施方式中,阳离子是金属阳离子,例如钠阳离子。

[0148] 如本文所用,“胺盐”是指含有质子化氨基的阳离子。胺盐包括氨基酸盐,例如赖氨酸盐。在另一个实施方式中,阳离子是胺,药学上可接受的盐是胺盐。在特别的实施方式中,药学上可接受的盐包括赖氨酸。

[0149] 盐可以是手性的。当所公开的盐具有至少一个手性中心并且由结构命名或描绘而未指明立体化学时,应理解为该名称或结构涵盖化合物的一种立体异构体或对映异构体而不含相对应的立体异构体或对映异构体、化合物的外消旋混合物、或相对于其相对应的立体异构体或对映体富含一种立体异构体或对映异构体的混合物。

[0150] 本发明还涉及本发明公开的化合物的药学上可接受的前药。

[0151] 在一个实施方式中,本发明涉及用于治疗 and/或预防TBI (例如,TBI引起的神经退行性损伤的继发级联反应,如通过改善与认知、行为和感觉运动功能有关的长期功能后果)的方法,包括(例如,向有需要的受试者)施用有效量的结构式(I)的化合物,其中每个酸性官能团(例如, $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{OSO}_3\text{H}$ 、 $-\text{PO}(\text{OH})_2$ 、 $-\text{OPo}(\text{OH})_2$ )的氢可选地并独立地被可水解基团取代。本发明还包括包含所述可水解基团的化合物的药学上可接受的盐的用途。

[0152] 如本文所用,术语“可水解基团”是指当存在于本发明的分子中时在水解时产生羧酸或其盐的部分。水解可以例如在生理环境(例如血液、代谢活跃的组织如肝、肾、肺、脑)中在酸性或碱性条件下自发发生,或者可以被一种或多种酶(例如酯酶、肽酶、水解酶、氧化酶、脱氢酶、裂解酶或连接酶)催化。可水解基团可以赋予本发明化合物体内有益的性质,例如改善的水溶性、改善的血液循环半衰期、改善的摄取、改善的作用持续时间或改善的起效。

[0153] 在一个实施方式中,可水解基团不破坏化合物的生物活性。在另一个实施方式中,具有可水解基团的化合物可以是生物惰性的,但可在体内转化为生物活性化合物。

[0154] 包括可水解基团的本发明化合物可以用作前药。如本文所用,术语“前药”是指可以在生物学条件下水解、氧化、代谢或以其他方式反应以提供本发明化合物的化合物。在生物学条件下,前药可能会因此类反应而变得有活性,或者它们可能以未反应的形式具有活性。前药可在生理条件下(例如由于存在可水解基团)经历减少的代谢,从而导致前药(例如在血液中)的循环半衰期改善。前药通常可以使用众所周知的方法来制备,例如,Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery(1995)172-178,949-982(Manfred E.Wolff编著,第5版)中所述的方法。

[0155] 在一个实施方式中,可水解基团选自(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)烷基、(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>)烯基、(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>)炔基、(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)烷氧基(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)烷氧基(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)烷基、芳基和芳基(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)烷基,其中各自任选地被1至3个选自以下的取代基取代:卤素、硝基、氰基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、氨基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基氨基、二(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基氨基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基、卤代(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基、卤代(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基、吗啉基、苯基和苄基。

[0156] 在另一个实施方式中,可水解基团选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、戊基、己基、庚基、烯丙基、乙氧基甲基、甲氧基乙基、甲氧基乙氧基甲基、甲氧基乙氧基乙基、苄基、五氟苯基、2-N-(吗啉代)乙基、二甲基氨基乙基和对甲氧基苄基。

[0157] 本发明的某些方法可用于改善与认知、行为和感觉运动功能有关的长期功能后果。可以使用本领域普通技术范围内的认知、行为和感觉运动测试来评估这种功能后果的改善。

[0158] 本发明的方法还包括施用在药物组合物中的结构式(I)的化合物。因此,本文提供了在有需要的受试者中治疗和/或预防(例如,治疗)TBI的方法,包括向受试者施用包含药学上可接受的载剂或稀释剂和有效量的结构式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或前药的药物组合物。本文公开的药物组合物是根据标准程序制备的,并且以选择的减少、预防、消除或减缓或阻止所治疗病症的发展的剂量进行施用。对用于人类治疗的各种药剂的施用方法的一般描述,参见例如Remington's Pharmaceutical Sciences,第17版,Remington, J.P., Easton, PA, Mack Publishing Company, 2005, 和 Goodman and Gilman's The Pharmaceutical Basis of Therapeutics, 第12版, Brunton, L. 等编著, New York, McGraw-Hill, 2010, 其内容通过引用并入本文。可以使用控制或持续释放的递送系统(例如,胶囊、生物侵蚀性基质)来递送药物组合物。在美国专利号5,990,092(授予Walsh); 5,039,660(授予Leonard); 4,452,775(授予Kent); 和3,854,480(授予Zaffaroni)中描述了适用于施用药物组合物的示例性的用于药物递送的延迟释放递送系统。

[0159] 本发明的组合物包含一种或多种结构式(I)和/或(Ia)的化合物,或其药学上可接受的盐或前药,以及一种或多种无毒的药学上可接受的载剂和/或稀释剂和/或佐剂和/或赋形剂,在本文中统称为“载剂(carrier)”材料,以及任选的其他活性成分。取决于施用方法,组合物可包含按重量计约0.01%至约99%的活性成分。

[0160] 为了由本发明的化合物制备组合物,药学上可接受的载剂可以是固体或液体。固体形式的制剂包括散剂、片剂、丸剂、胶囊剂、扁囊剂、栓剂和可分散颗粒剂。例如,本发明的化合物可以是粉末形式,以便在递送时重构。固体载体可以是一种或多种还可以用作稀释剂、调味剂、增溶剂、润滑剂、悬浮剂、粘合剂、防腐剂、片剂崩解剂或包封材料的物质。在粉剂中,载剂是细分的固体,其与细分的活性成分混合。

[0161] 在片剂中,将活性成分与具有必要粘合性质的载剂以合适的比例混合,并压制成为所需的形状和大小。

[0162] 散剂和片剂优选包含约百分之一至约百分之七十的活性成分。合适的载剂是碳酸镁、硬脂酸镁、滑石粉、糖、乳糖、果胶、糊精、淀粉、明胶、黄芪胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、低熔点蜡、可可脂等。片剂、散剂、扁囊剂、锭剂、速熔条、胶囊和丸剂可以用作固体剂型,其中含有适合口服的活性成分。

[0163] 液体形式的制剂包括溶液、悬浮液、保留灌肠剂和乳剂,例如水或水丙二醇溶液。对于肠胃外注射,可以将液体制剂配制在水性聚乙二醇的溶液中。

[0164] 可以通过将活性成分溶解在水中并根据需要添加合适的着色剂、调味剂、稳定剂和增稠剂来制备适合口服的水溶液。可以通过将细分的活性成分分散在具有粘性物质的水中来制备用于口服的水性混悬剂,所述粘性物质例如天然或合成树胶、树脂、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和其他众所周知的悬浮剂。

[0165] 作为选择,本发明的化合物或组合物可以是粉末形式,以便在递送时进行重构。

[0166] 该组合物优选为单位剂型。以这种形式,将组合物细分为包含适当量的活性成分的单位剂量。单位剂型可以是包装的制剂,该包装在小瓶或安瓿中包含离散量的例如片剂、散剂和胶囊剂。同样,单位剂型可以是片剂、扁囊剂、胶囊剂或锭剂本身,或者可以是包装形式的任何这些的适当量。单位剂量制剂中活性成分的量可以在约0.1mg至约1000mg,优选约0.1mg至约100mg(例如,对于静脉内施用)或约1.0mg至约1000mg(例如,例如口服)之间变化或调节。然而,剂量可以根据受试者的需求、所治疗疾病的严重程度、化合物和所采用的施用途径而变化。确定用于特定情况的合适剂量在本领域技术范围内。在一个实施方式中,剂量为约0.01mg/kg至约100mg/kg。

[0167] 通常,用于体内递送本发明的所公开的化合物和药物组合物的方法利用本领域公认的方案来递送试剂,唯一实质性的程序修改是用所公开的化合物中的任何一种所代表的化合物来替换本领域公认的方案中的药物。

[0168] 可用于本发明方法的药物组合物可以通过多种途径或方式施用,包括但不限于肠胃外、口服、气管内、舌下、肺、局部、直肠、鼻、颊、阴道或通过植入的储库。植入的储库可以通过机械、渗透或其他方式起作用。化合物和组合物还可以血管内、肌肉内、皮下、腹膜内、心内、口服或局部施用。如本文所理解 and 使用的,术语“肠胃外”包括静脉内、颅内、腹膜内、椎旁、关节周围、骨膜周围、皮下、皮内、动脉内、肌肉内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内和病灶内注射或输注技术。这种组合物优选配制用于肠胃外施用,最优选用于静脉内、颅内或动脉内施用。通常,特别是当是静脉内或动脉内施用时,药物组合物可以作为在时间上分开的两个或更多个剂量以团注给予,或以恒定或非线性流输注的形式给予。

[0169] 制备结构式I的化合物的方法及其生物活性的细节公开在例如国际公开号W02010/132657和国际公开号W02012/067947中,通过引用将其相关教导整体并入本文。

[0170] 在本发明的方法中有用的硫辛酰基化合物的合成和制备也描述在美国专利号9,540,417和9,359,325中,其通过引用整体并入本文。合成和纯化本发明硫辛酰基化合物的方法也描述在Kates, S.A., Casale, R.A., Baguisi, A., Beeuwkes, R. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2014, 22, 505-512中,这些方法通过引用整体并入本文。

[0171] 包含结构式I的化合物的药物组合物和制备包含结构式I的化合物的药物组合物的方法公开于例如国际公开号W0 2015/174948中,通过引用将其相关教导整体并入本文。

[0172] 可将本发明方法中有用的药物组合物以与其他治疗剂、预防剂和诊断剂尤其是包含治疗性激素肽的组合物相似的方式施用于受试者,例如哺乳动物,特别是人。施用剂量和施用方式将取决于多种因素,包括年龄、体重、性别、受试者的状况和遗传因素,并且最终将由主治医师或兽医决定。通常,诊断敏感性或治疗功效所需的剂量范围为约0.001至1000.0mg/kg宿主身体质量(在本文中也称为体重)。



[0173] 可用于本发明的硫辛酰基化合物的药学上可接受的盐包括例如衍生自药学上可接受的无机酸和碱以及有机酸和碱的那些。合适的酸的实例包括盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、高氯酸、富马酸、马来酸、苹果酸、帕莫酸(pamoic acid)、磷酸、乙醇酸、乳酸、水杨酸、琥珀酸、甲苯-对-磺酸、酒石酸、乙酸、柠檬酸、甲磺酸、甲酸、苯甲酸、丙二酸、萘-2-磺酸、单宁酸、羧甲基纤维素、聚乳酸、聚乙醇酸和苯磺酸。其他酸,例如草酸,虽然本身不是药学上可接受的,但可用于制备用作获得本发明化合物及其药学上可接受的酸加成盐的中间体的盐。衍生自适当碱的盐包括碱金属(例如,钠)、碱土金属(例如,镁)、铵和N-(C<sub>1-4</sub>烷基)<sub>4</sub><sup>+</sup>盐。

[0174] 应当理解,可用于本发明方法的硫辛酰基化合物可以经过修饰以增强某些生物学特性,特别是治疗或预防由TBI引起的继发性脑损伤的能力。此类修饰是本领域已知的,包括增加硫辛酰基化合物渗透或转运到给定生物系统(例如,循环系统、淋巴系统)的能力、增加口服可用性、增加溶解度以允许通过注射施用、改变硫辛酰基化合物的代谢以及改变硫辛酰基化合物的排泄速率的那些修饰,另外,可以将硫辛酰基化合物改变为前药形式,从而由于代谢或其他生化过程对该前药的作用而在个体体内产生所需的硫辛酰基化合物。这种前药形式通常在体外测定中显示很少活性或没有活性。前药形式的一些实例可以包括具有酮基或醛基的化合物的缩酮、缩醛、肟形式。前药形式的其他实例包括半缩酮、半缩醛、酰氧基缩酮、酰氧基缩醛、缩酮和缩醛形式。

[0175] 可用于本发明方法的药物组合物中可使用的药学上可接受的载体、佐剂和载剂包括但不限于离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白例如人血清白蛋白、缓冲物质例如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物、水、盐或电解质例如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素基物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯聚氧丙烯嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。

[0176] 用于本发明方法的药物组合物可以是无菌的可注射制剂的形式,例如无菌的可注射的水性或油性悬浮液。可以根据本领域已知的技术,使用合适的分散剂或湿润剂(例如,吐温80)和悬浮剂来配制这种悬浮液。无菌注射制剂也可以是在无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌注射溶液或混悬液,例如在1,3-丁二醇中的溶液。可以使用的可接受的载剂和溶剂包括甘露醇、水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。另外,无菌的不挥发油通常用作溶剂或悬浮介质。为此,可以使用任何温和的不挥发性油,包括合成的甘油单酯或甘油二酯。脂肪酸例如油酸及其甘油酯衍生物,与天然药学上可接受的油例如橄榄油或蓖麻油,特别是其聚氧乙烯化形式,可用于制备注射剂。这些油溶液或悬浮液也可以包含长链醇稀释剂或分散剂,例如在Pharmacoplia Halselica中描述的那些。

[0177] 可用于本发明方法的药物组合物可以以任何口服可接受的剂型施用,包括但不限于水溶液和悬浮液、胶囊、片剂、囊片、丸剂、油性悬浮液和溶液、糖浆和酏剂。对于口服片剂,通常使用的载体包括乳糖和玉米淀粉。通常还添加润滑剂,例如硬脂酸镁。对于胶囊形式的口服施用,有用的稀释剂包括乳糖和干燥的玉米淀粉。可以配制胶囊、片剂、丸剂和囊片以延迟或持续释放。

[0178] 对于口服施用,组合物也可以是例如片剂、胶囊、悬浮液或液体的形式。组合物优选制成含有有效量活性成分的剂量单位形式。这种剂量单位的实例是片剂和胶囊剂。为了治疗目的,片剂和胶囊剂除了活性成分外还可以包含常规载体,例如粘合剂,例如阿拉伯

胶、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、山梨糖醇或黄芩胶；填充剂，例如磷酸钙、甘氨酸、乳糖、玉米淀粉、山梨糖醇或蔗糖；润滑剂，例如硬脂酸镁、聚乙二醇、二氧化硅或滑石；崩解剂，例如马铃薯淀粉，调味剂或着色剂或可接受的润湿剂。通常以水性或油性溶液、悬浮液、乳液、糖浆或酞剂形式的口服液体剂可以包含常规添加剂，例如助悬剂、乳化剂、非水性剂、防腐剂、着色剂和调味剂。用于液体剂剂的添加剂的实例包括阿拉伯胶、杏仁油、乙醇、分馏椰子油、明胶、葡萄糖浆、甘油、氢化食用脂肪、卵磷脂、甲基纤维素、对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯、丙二醇、山梨醇或山梨酸。

[0179] 当水性混悬剂要口服施用时，可以将其他乳化剂和/或悬浮剂添加到本发明方法中使用的药物组合物中。如果需要，可以添加某些甜味剂和/或调味剂和/或着色剂。口服施用的制剂可包含10%-95% (重量/体积, w/v) 活性成分，优选25%-70% (w/v)。优选地，用于口服的药物组合物防止或抑制硫辛酰基化合物被消化系统水解，但允许吸收到血流中。

[0180] 所述组合物也可以通过例如注射剂肠胃外施用。肠胃外施用的制剂可以是水性或非水性等渗无菌注射溶液或混悬液的形式。这些溶液或悬浮液可以由具有一种或多种上述用于口服制剂中的载体的无菌粉末或颗粒制备。化合物可溶于聚乙二醇、丙二醇、乙醇、玉米油、苯甲醇、氯化钠和/或各种缓冲液中。

[0181] 递送也可以通过注射到患者的脑或体腔中或通过使用定时释放或持续释放的基质递送系统，或通过使用胶束、凝胶和脂质体的现场递送来实现。雾化装置、粉末吸入器和雾化溶液是可用于将此类制剂施用于呼吸道的方法的代表。递送可以是体外、体内或离体的。

[0182] 对于本发明的某些方法，药物组合物也可以栓剂的形式用于阴道或直肠施用。这些组合物可通过将本文所述的硫辛酰基化合物与合适的无刺激性赋形剂混合来制备，所述赋形剂在室温下为固体，而在体温下为液体，从而该组合物将在相关的体腔中融化以释放活性成分。这些材料包括但不限于可可脂、蜂蜡和聚乙二醇。通过栓剂施用的制剂可包含0.5%-10% (w/v)，优选1%-2% (w/v) 的活性成分。

[0183] 用于本发明方法的药物组合物的局部施用也可能是有用的。对于局部应用，可以添加合适的软膏载体。局部施用的载体包括但不限于矿物油、液体石油、白石油、丙二醇、聚氧乙烯聚氧丙烯化合物、乳化蜡和水。作为一种选择，可以使用合适的洗剂或霜剂载体。合适的载体包括但不限于矿物油、脱水山梨醇单硬脂酸酯、聚山梨酯60、鲸蜡酯蜡、鲸蜡硬脂醇、2-辛基十二烷醇、苯甲醇和水。在适当的情况下，本发明的药物组合物还可以被配制为果冻状、凝胶或润肤剂(emollient)以用于局部或其他应用。药物组合物也可以通过直肠栓剂或以合适的灌肠剂形式局部施用于下肠道。局部施用也可以通过透皮贴剂来实现。

[0184] 对于局部使用，本文公开的化合物还可以以适合的形式制备以施用于皮肤或鼻和喉咙的粘膜，并且可以采取乳膏、软膏、液体喷雾剂或吸入剂、锭剂或喉咙涂覆剂的形式。这样的局部制剂还可以包括化合物例如二甲基亚砜(DMSO)以促进活性成分的表面渗透。用于局部给药的合适载体包括使用矿物油、凡士林等的水包油或油包水乳液，以及诸如水凝胶的凝胶。替代的局部制剂包括洗发剂、口服糊剂和漱剂。

[0185] 为了施用于眼睛或耳朵，本发明的化合物可以以液体或半液体形式存在，所述液体或半液体形式以疏水性或亲水性基质配制为软膏、乳膏、洗剂、涂覆剂或散剂。

[0186] 可用于本发明方法的药物组合物也可通过鼻或口吸入施用，在这种情况下，吸收

可通过鼻或口的粘膜吸收或吸入肺中。这种施用方式通常需要以粉末、溶液或液体悬浮液的形式提供组合物,然后将其与气体(例如,空气、氧气、氮气或其组合)混合以产生气雾剂或液滴或颗粒的悬浮液。此类组合物是根据药物制剂领域中熟知的技术制备的,并且可以制备为在盐水中的溶液,采用苯甲醇或其他合适的防腐剂、增强生物利用度的吸收促进剂、碳氟化合物和/或本领域已知的其他增溶剂或分散剂。在一个优选的实施方式中,通过吸入将本发明的药物组合物施用于受试者。

[0187] 在本发明方法的某些实施方式中,将硫辛酰基化合物选择性地递送至脑。为了本发明的目的,“向脑选择性递送”或“选择性地递送至脑”意指将药剂直接施用于受试者的脑(例如,通过分流器或导管;参见,例如,美国专利申请公开号US 2008/0051691),不直接鞘内注射而施用于受试者的椎间隙(参见,例如,美国专利号7,214,658),或以促进穿过血脑屏障递送从而减少其他器官或组织中潜在副作用的形式施用。在这方面,通过在稳定剂的存在下通过单体的聚合(例如,甲基丙烯酸甲酯、聚乳酸、聚乳酸-聚乙醇酸共聚物或聚戊二醛)将硫辛酰基化合物的制剂配制成纳米颗粒以允许穿过血脑屏障,而不会使该试剂影响其他器官。参见例如美国专利号7,402,573,其通过引用整体并入本文。

[0188] 在本发明的一个实施方式中,将硫辛酰基化合物通过外泌体(exosome)、特别是被靶向脑细胞的部分进行了修饰的外泌体递送至大脑。适用于本发明的外泌体可以通过常规方法制备,参见例如Sun等,(2010)Mol. Ther. 18:1606-1614。同样,可以通过常规方法将化合物包封在外泌体中,例如,将化合物与外泌体制剂在盐水中于室温下温育几分钟,然后通过例如蔗糖梯度分离将外泌体与未包封的化合物和碎片分离。如相关领域中所述,靶向脑细胞的部分包括靶向脑细胞(例如神经元、小胶质细胞和/或少突胶质细胞)的肽以及其他靶向剂,例如对小胶质细胞上的表面标记具有高度亲和力的脂多糖(Chow等,(1999)J. Biol. Chem. 274:10689-10692)。靶向肽包括例如RVG肽,其可以与膜结合蛋白例如Lamp2b(与溶酶体相关的膜蛋白2b)融合以促进整合入外泌体。未靶向或脑靶向的脂质体也已成功用于促进小分子抑制剂向脑组织的递送(Pardridge, W.M. 2007. Adv. Drug Deliv. Rev. 59:141-152;Pulford等,2010.PLoS ONE 5:e11085)。结果,本发明方法的实施方式包括使用靶向的或未靶向的脂质体。

[0189] 可用于本发明方法的药物组合物也可以配制成缓释制剂。这样的制剂可以通过例如皮下或肌肉植入或通过肌肉注射来施用。这样的制剂可以根据药物制剂领域中众所周知的技术来制备,例如,作为在可接受的油中的乳液,或离子交换树脂,或作为难溶的衍生物(例如,难溶的盐)。

[0190] 用于本发明方法的药物组合物可以以适合剂型和施用模式的各种方式进行包装。这些包括但不限于小瓶、瓶、罐、小包、安瓿、纸箱、柔性容器、吸入器和雾化器。这些组合物可以包装用于从同一容器中一次或多次施用。可以提供一剂或多剂的试剂盒,其中包含干粉或冻干形式的组合物和适当的稀释剂,在施用前应将它们合并;以及制备和/或施用重构制剂的说明书或另外制备的药物组合物。药物组合物也可以包装在一次性使用的预填充注射器中,或包装在用于自动注射器和无针喷射注射器的药筒中。

[0191] 多次使用包装可能需要添加抗菌剂,例如苯酚、苯甲醇、间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵和苄索氯铵,其浓度应能防止细菌、真菌等的生长但施用于患者时无毒。

[0192] 有关剂量、剂型、施用模式、组成的详细信息可见于标准的药学著作，例如 Remington's Pharmaceutical Sciences(1990)，其通过引用结合到本文中。

[0193] 本文公开的化合物对受试者的剂量可以根据受试者的需求、所治疗病症的严重程度、施用途和所用化合物而变化。确定用于特定情况的合适剂量在本领域技术范围内。例如，可以从在动物(例如，大鼠)模型上进行的实验中获得的数据推断适用于人的剂量。将非人类动物模型剂量数据外推至人类剂量的指南可见于FDA Draft Guidance:Estimating the Safe Starting Dose in Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers(2005)。

[0194] 例如，本发明化合物的合适静脉内剂量可以为每次治疗约0.001mg/kg体重至约100mg/kg体重，约0.01mg/kg体重至约100mg/kg体重，约0.01mg/kg体重至约10mg/kg体重，约0.01mg/kg到约1mg/kg体重。确定特定药剂、受试者和TBI的剂量和施用途完全在本领域技术人员的能力范围内。优选地，该剂量不引起或产生最小的不良副作用。

[0195] 有效量的本发明化合物可以在本文公开的方法中单独或与一种或多种其他治疗剂组合施用。

[0196] 因此，本发明的化合物可以作为联合疗法的一部分(例如，与一种或多种其他治疗剂一起)施用。本发明的化合物可以在一种或多种其他治疗剂之前、之后或同时施用。在一些实施方式中，本发明的化合物和其他治疗剂可以作为单独制剂或作为联合制剂同时(例如，同步)共同施用。作为一种选择，可以在由熟练的临床医生确定的适当时间范围内(例如，足以使疗法的药物作用重叠的时间)，在单独的时间范围内，以单独的组合物依次施用所述药剂。硫辛酰基化合物和一种或多种其他治疗剂可以以单剂量或多剂量、以适合于实现期望的治疗效果(例如，减轻和/或抑制关节发炎；减少和/或抑制缺血、减少和/或抑制缺血性损伤；减少和/或抑制缺血再灌注损伤)的顺序和时间表施用。合适的施用剂量和方案可由临床医生确定，并取决于所选择的药剂、药物制剂和施用途、各种患者因素和其他考虑因素。

[0197] 在下面的实施例中描述了本发明，这些实施例是为了帮助理解本发明而提出的，不应以任何方式限制如以下权利要求书所限定的本发明的范围。

[0198] 实施例

[0199] 实施例1:CMX-2043在大鼠弥散性外伤性脑损伤(TBI)的液压冲击模型中的功效

[0200] 程序步骤

[0201] 在TBI手术前一天(第-1天)，用一氧化二氮和氧气(2:1)混合物中的3%的异氟烷麻醉大鼠以诱导麻醉以进行麻醉，然后保持在一氧化二氮和氧气(2:1)混合物中的1-3%的异氟烷。将手术部位的皮肤剃光，然后将大鼠置于立体定位框架中。此时s.c给予丁丙诺啡SR(0.9-1.2mg/kg Zoopharm:批次:BSR1-142111)和i.p.给予头孢唑啉(40-50mg/kg; Hospira:批次:101D032)。颅骨通过中线切口暴露。在前囟后1毫米和中线外侧1毫米(外圆周)处使用环钻进行矢状旁开颅术(5毫米)。将无菌塑料损伤管(无菌针的塑料连接器接头切成1厘米长，并修剪整齐以牢固地填充颅骨切开术)放置在裸露的硬脑膜上，并用超级胶水粘结到颅骨上。然后将牙科粘固粉倒在损伤管周围以获得完全密封。牙科粘固粉硬化后，用无菌生理盐水填充损伤管，并用手术夹子闭合皮肤。从麻醉中恢复后，将动物放回到干净的家笼中。

[0202] 在TBI手术当天(第0天),将大鼠用一氧化二氮和氧气(2:1)混合物中的3%异氟烷麻醉,插管,连接到呼吸器,并通入一氧化二氮和氧气(2:1)混合物中的1-2%异氟烷。此时再次给予头孢唑啉(40-50mg/kg)。打开手术部位以暴露损伤管。检查密封和连接,并用无菌盐水重新填充损伤管。然后将大鼠连接到液压冲击(F-P)设备。(F-P)设备由一个有机玻璃圆柱状储液器组成,该储液器的一端由橡胶覆盖的有机玻璃活塞界定,另一端装有换能器壳体和一个适用于大鼠头骨的中央损伤连接器。整个系统在室温下充满无菌蒸馏水。接下来,将(无菌)金属损伤连接器牢固地连接到已插管并麻醉的大鼠的塑料损伤管上。金属摆锤下降撞击活塞,从而将少量液体(无菌盐水,随后用少量无菌蒸馏水)注入封闭的颅腔并产生神经组织的短暂移位以引起损伤。通过压力传感器在大气中测量所得压力脉冲的幅度。引起中等程度的损伤(2.5-3.0个大气压)。移除损伤管,然后通过手术夹闭合皮肤。拔管并从麻醉中恢复后,将动物放回其家笼中。

[0203] 给药溶液和给药

[0204] 以盲配方式制备带有H、I、M、O和Z标签的给药溶液,以供随时使用。在TBI后30分钟和TBI后24小时,动物接受静脉注射H、I、M、O或Z。收集并提供所有数据后,将溶液编码揭示为以下组:H=载体,I=CMX 2043 30mg/kg,M=CMX 2043 15mg/kg,O=CMX 2043 45mg/kg,Z=CMX 2043 7.5mg/kg。

[0205] 行为测试

[0206] 使用以下方法评估功能活动:

[0207] 1. 肢体放置测试。这些测试是在手术前(前一日),TBI之后1天(第1天)、3天(第3天)、7天(第7天)、14天(第14天)、21天(第21天)和28天(第28天)进行的(第0天=TBI当天)。

[0208] 肢体放置测试分为前肢和后肢测试。对于前肢放置测试,检查者将大鼠紧贴桌面,并根据触须、视觉、触觉或本体感受刺激对大鼠将前肢放在桌面上的能力进行评分。对于后肢放置测试,检查者评估了大鼠在触觉和本体感受刺激下将后肢放置在桌面上的能力。对于每种感觉输入模式,都获得了单独的子得分(可以判定为半分),并将其相加得出总分(对于前肢放置测试:0=正常,12=最大受损;对于后肢放置测试:0=正常;6=最大受损)。计算出的总肢体得分为1/2(左前肢总得分)+左后肢总得分。

[0209] 2. 肢体摆动测试。在TBI之后21天(第21天,第3至14号动物的第22天)和28天(第28天)进行了这些测试(第0天=TBI当天)。

[0210] 离尾巴根部大约一英寸处固定住大鼠。然后将其抬起到桌子表面上方一英寸的地方。将大鼠保持在垂直轴上,垂直轴定义为左侧或右侧不超过10°。每当大鼠将头从垂直轴移向任一侧时,都会记录一次摆动。大鼠必须回到垂直位置才能计数下一次摆动。总共计数三十(30)次摆动。正常的大鼠通常向两侧的摆动次数相同。局灶性缺血后,大鼠倾向于向对侧(左侧)摆动。该测试与肢体放置测试同时进行。

[0211] 牺牲和大脑收集

[0212] 在TBI之后二十八(28)天(行为测试后),用氯胺酮/甲苯噻嗪(50-100mg/kg氯胺酮,5-10mg/kg甲苯噻嗪,i.p.)深度麻醉动物。然后用生理盐水(含肝素2单位/毫升)和10%福尔马林经心血灌注动物。取出大脑,并保存在10%福尔马林中。

[0213] 数据分析:

[0214] 所有数据均表示为平均值±S.E.M.通过重复测量ANOVA和/或ANCOVA来分析行为

数据和体重。对于肢体放置测试,分析中不包括TBI之前一天(前一日)以确保数据的正态分布。

#### [0215] 行为测试

[0216] 肢体放置测试(见图1):在TBI后1天开始,接受CMX 2043 15mg/kg、30mg/kg和45mg/kg的动物显示出比用空载剂治疗的动物更好的恢复( $p<0.001$ )。

[0217] 肢体摆动测试(见图2):在第28天,接受CMX 2043 45mg/kg的动物显示出比用空载剂治疗的动物更好的恢复( $p<0.05$ )。

[0218] 重量变化(见图3):CMX 2043和载剂治疗组之间的体重随时间变化无显著差异。

#### [0219] 结论

[0220] 在成年雄性Sprague-Dawley大鼠中制造TBI,导致局灶性单侧脑挫伤。在TBI后30分钟开始静脉内给予7.5mg/kg、15mg/kg、30mg/kg或45mg/kg的CMX 2043,并于TBI之后24小时重复。在TBI之前以及TBI之后1天、3天、7天、14天、21天和28天对感觉运动功能进行行为评估,包括肢体放置测试。在TBI之后21(或22)天和28天进行了摆动试验。

[0221] 这项盲测随机研究显示,使用CMX 2043(每次给药15mg/kg、30mg/kg和45mg/kg)在肢体放置测试中,以及在TBI之后30分钟开始使用CMX 45mg/kg在肢体摆动测试中,感觉运动功能显著增强。这些结果表明,CMX 2043可能有潜力以15mg/kg、30mg/kg和45mg/kg的剂量用于改善TBI后的感觉运动恢复。

[0222] 实施例2:在局灶性TBI大鼠模型中CMX-2043和CMX-26394在莫里斯水迷宫测试中的功效评估

#### [0223] 动物

[0224] 使用来自Charles River的成年雄性Sprague-Dawley大鼠。PsychoGenics接收了动物,并为其分配了唯一的识别号(尾巴标记)。以每笼两只将动物圈养在配备有微隔离器的聚碳酸酯大鼠笼中,并使其适应环境长达7天。在开始研究之前,对所有大鼠进行检查、处理和称重,以确保足够的健康和适宜性。在研究过程中,维持12/12亮/暗周期。室温保持在20至23℃之间,相对湿度保持在50%左右。在研究期间随意提供食物和水。将动物随机分配到各治疗组中。

#### [0225] 双边受控皮质撞击(BCCI)外伤性脑损伤(TBI)

[0226] 由皮质挫伤装置(Custom Design&Fabrication, Inc [CDF], Richmond, VA)引起内侧额叶皮质(MFC)的BCCI TBI。该设备使用黄铜尖端的钳子对大脑的裸露区域造成可靠的挫伤(Hoffman等,1994)。用异氟烷(5%) (Novaplus™)和O<sub>2</sub> (300cm<sup>3</sup>/min)麻醉大鼠,并将其安装在立体定位框架中。在无菌条件下,在头皮上进行矢状切开,并将筋膜缩回以暴露颅骨。然后,使用直径6毫米的苯丙胺钻打开紧靠前囟的颅骨。MFC的TBI由直径5毫米的圆形黄铜撞击器造成,该撞击器连接到以电子方式驱动的计算机控制活塞上,并使用以下参数:速度=2.5m/s;深度=3毫米;持续时间=100毫秒)。BCCI后,控制任何皮质表面出血,并缝合筋膜和头皮。使动物在加热的恢复室内恢复,并进行适当的术后护理。

#### [0227] 治疗组

[0228] 受伤后30分钟和受伤后约24小时进行治疗。

[0229] 表1. 治疗组

[0230]	组	N	治疗
	1	10	TBI + 盐水 1 mL/kg IV
	2	10	TBI + CMX-2043 30mg/kg IV
		20	动物总数

### [0231] 横梁平衡

[0232] 横梁平衡测试检查了受伤后动物的前庭运动反射活性。手术前对动物进行了训练,以保持它们在横梁上的平衡长达60秒。在损伤后的第一周(D3、D5、D7)对大鼠进行测试。将动物轻轻放置在1.5厘米宽表面粗糙的悬浮窄梁上,并以60秒的最大截止时间测量其停留在梁上的持续时间。每只动物每个测试日接受三次试验,对所述试验进行平均以获得横梁平衡时间。将垫子放在地板上,以防万一动物摔倒而受伤。

### [0233] 莫里斯水迷宫

[0234] 受伤两周后,在莫里斯水迷宫(MWM)中对大鼠进行了测试。MWM是充分表征的对啮齿类动物的空间学习和记忆的测试。MWM的目的是教导大鼠在一个充满水的大水池中某处有一个逃生平台。大鼠有天然动力逃离水池。在一系列试验中,大鼠使用迷宫外视觉提示(extra-maze visual cue)来定位浸没平台的位置。

[0235] 在外伤性脑损伤后第14天开始进行MWM测试。在测试前至少1小时,使大鼠适应测试室。MWM由一个装有水的圆形水池(直径160厘米×高50厘米)组成,该水池用无毒的黑色涂料造成不透明,以便隐藏逃生平台(见图4A)。水温保持在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 。水面距离游泳池边缘15厘米,并且始终仔细擦拭内壁,以消除任何局部提示。游泳池位于一间大房间里,房间内有许多迷宫外视觉线索,包括挂在墙上的高度可见几何图形(正方形、三角形、圆形等)、漫射照明和用来遮盖实验者的帘幕以及等待的大鼠。通过悬挂在泳池上方的摄像机跟踪行为。视频跟踪软件(ANY-迷宫)记录并分析了池中动物的行为。训练后,将大鼠用干净的纸巾轻轻干燥,并置于温暖的保持笼中,待大鼠干燥后再返回其家笼。

[0236] 训练:在训练过程中,将大鼠放在面对水池壁的水中,并允许其搜索平台。如果老鼠在60秒内找到平台,则停止试验,并让老鼠在被移走之前在平台上停留30秒钟。如果在60秒内未找到平台,则将大鼠放在平台上30秒钟,以便让它们有时间学习相对于房间视觉提示的平台位置。每天给大鼠进行4次试验,共4天(第14至17天),试验之间间隔30秒。每个试验中每只大鼠的起始点随机旋转。

[0237] 探索试验:在第五天(手术后第18天),大鼠接受了探索试验(probe trial)。探索试验包括将动物在没有平台的情况下放在水池中60秒,并监视在水池四个象限中所花费的时间(见图4B)。已经了解平台位置的动物将花费更多时间搜索池的目标象限(target quadrant)。在训练期间,将一个淹没的隐藏目标平台放置在池中,并将此区域定义为目标象限(请参见图4A)。在探针试验期间,将平台移走,并通过摄像机和计算机跟踪在不同象限中游动的时间。还跟踪目标平台先前占用的区域中的进入次数。

### [0238] 统计分析

[0239] 数据以平均值 $\pm$ SEM表示,并通过单向重复测量方差分析(ANOVA)进行分析,以测试治疗对横梁平衡时间和莫里斯水迷宫性能的影响。对显著主要效果随后进行事后比较。如果 $p < 0.05$ ,则认为效果显著。

## [0240] 结果

[0241] 体重和术后观察:CMX-2043治疗对体重的影响如图5所示。手术后动物的体重立即下降,但在第3天和第5天开始恢复。在任何治疗组之间,体重均无显著差异,表明在研究期间,CMX-2043治疗对体重增加没有不利影响。

[0242] 第一CMX-2043组中的一只动物在受伤后24小时内死亡。在第二外科手术队列中,向该组添加了额外的应急替换动物。在第二队列中,CMX-2043组的另一只动物在受伤后24小时内也死亡,在该组中治疗的11只动物中有9只存活。

[0243] 横梁平衡:图6中显示了使用CMX-2043进行的TBI治疗对受伤后横梁平衡的影响。在受伤之前,所有动物都能够在横梁上保持平衡至少60秒。受伤后第3天,所有组的横梁平衡时间均减少到不到3秒。

[0244] 莫里斯水迷宫逃逸延迟期(latency):图7中显示了用CMX-2043进行TBI治疗对TBI损伤大鼠的MWM逃逸延迟期的影响。

[0245] 受伤后第14至17天,训练动物在莫里斯水迷宫中定位逃生平台。越短的逃生延迟时间表明该平台位置的学习和记忆得到改善。

[0246] 重复测量ANOVA检测到两组之间存在显著差异。事后比较显示,在训练的第一天,用30mg/kg CMX-2043治疗的动物比用盐水治疗的动物表现出更长的延迟时间。训练的第二天和第三天各组之间没有差异。在最后的训练日,用30mg/kg CMX-2043治疗的TBI动物比用盐水治疗的动物表现出明显更快的逃逸延迟期。

[0247] 莫里斯水迷宫逃逸延迟期的改善:在对MWM逃逸延迟期数据的替代分析中,相对于每只动物在第一天的表现,计算了逃逸延迟期的改善。图8中显示了CMX-2043或CMX-26394治疗对逃逸延迟期改善的影响。盐水治疗的动物在第2天的逃逸延迟期没有显示任何改善,并且在训练的第4天仅显示了适度的5秒改善。相反,用30mg/kg CMX-2043治疗的动物在第2天(4.9秒)、第3天(8.7秒)和第4天(24.2秒)显示出逃逸延迟期的稳定改善,其中改善明显优于生理盐水对照。用15mg/kg治疗的动物在第3天(6.8秒)和第4天(15.0秒;与盐水治疗相比, $p=0.07$ )也表现出逃逸延迟期的逐步改善。

[0248] 莫里斯水迷宫游动距离和游动速度:图9和图10显示了用CMX-2043进行TBI治疗对TBI损伤大鼠的MWM游动距离和游动速度的影响。

[0249] 除了逃逸延迟期外,莫里斯水迷宫测试还可以得出动物寻找逃逸平台时的游动距离和游动速度。

[0250] 重复测量ANOVA显示治疗组之间的游动距离和游动速度均无差异。这些结果表明,在用30mg/kg CMX-2043治疗的动物中观察到改善的逃逸延迟期归因于认知能力的改善,而不是游动过程中运动能力的差异。

[0251] 莫里斯水迷宫探针试验:图11和12显示了CMX-2043治疗对TBI损伤大鼠中MWM探针试验性能的影响。

[0252] 手术后第18天,对动物进行了莫里斯水迷宫探针试验,在没有逃生平台的情况下,它们在水迷宫游泳池中游了60秒。在先前包含逃生平台的象限中花费的持续时间指示了对平台位置的了解。还测量了平台先前占据的圆形区域的进入次数。

[0253] ANOVA没有显示治疗组之间在目标象限中花费的时间的总体差异,也没有显示其他象限中的任何差异。ANOVA也未显示隐藏平台先前占据的平台区域进入数量上的显著差



异。

#### [0254] 总结

[0255] 这项临床前研究显示,通过静脉注射30mg/kg的CMX-2043,可有效治疗外伤性脑损伤。在莫里斯水迷宫认知测试中检测到治疗功效,但在横梁平衡运动测试中未检测到。这种功效上的差异可能源于受伤的大脑区域之间神经保护的差异。TBI在远离损伤震中的区域中导致原发性病变以及继发性神经退行性病变。在当前的研究中,大鼠运动皮层位于内侧额叶皮层的原发病变震中附近。结果表明,CMX-2043可能在远离病灶中心的区域发挥神经保护,该区域受TBI引发的继发性退化过程影响。一个这样的区域是海马体,它参与了在莫里斯水迷宫中观察到改善的学习和记忆类型。

#### [0256] 实施例3:CMX-2043改善了猪模型中局灶性外伤性脑损伤后的结果

[0257] 设计了旨在测试在局灶性外伤性脑损伤后施用CMX-2043是否会限制TBI后24小时的线粒体生物能、线粒体活性氧生成(mtROS)和氧化损伤的减少的研究。

[0258] 研究设计:在四周大的仔猪(8-10公斤)中进行了CMX-2043的盲测安慰剂对照概念验证试验(blinded, placebo controlled proof of concept trial)。这个年龄的仔猪具有与人类幼儿相当的神经发育。将16头仔猪(n=16)分为三个队列:1)用团注CMX-2043治疗的延髓回受控皮层撞击(CCI)(n=5),2)安慰剂治疗的CCI损伤动物(n=5),和3)假手术动物(n=6)。CMX-2043治疗的动物在TBI后1小时接受CMX-2043的静脉推入团注(13.4mg/kg),在TBI后13小时接受4.5mg/kg团注。对受试者进行插管,通气并在异氟烷(1.0%)下维持麻醉。插管后立即给予丁丙诺啡(0.02mg/kg IM)镇痛。监控记录氧饱和度、心率、呼吸频率、直肠温度和呼气末CO<sub>2</sub>。动物最初表现出无呼吸暂停的混乱和共济失调,数小时后恢复正常活动。在TBI后24-25小时之间处死所有仔猪。

[0259] 线粒体呼吸和ROS产生:CCI后二十四小时,收集同侧半影(ipsilateral penumbra)和镜像的对侧皮层。通过高分辨率的Oroboros Oxygraph-2k<sup>TM</sup>和特定的底物-解偶联-抑制剂-滴定协议(SUIT)记录耗氧率。在添加NADH相关底物苹果酸盐/丙酮酸盐然后添加ADP/谷氨酸后,获得了复合物I(OXPHOSCI)活性。随后,琥珀酸通过Q结刺激了会聚电子输入(OXPHOSCI+CII)。然后,寡霉素诱导了独立于ATP产生的4型呼吸(LEAKCI+CII)呼吸。通过滴定质子载体羰基氰化物对-(三氟-甲氧基)苯腈(FCCP)来测量电子转移系统(ETSCI+CII)的最大储备容量。最后,依次添加复合物I抑制剂鱼藤酮,然后依次添加抗坏血酸盐+四甲基苯二胺(TMPD)和叠氮化钠,可揭示复合物II(ETSCII)和复合物IV(CIV)的呼吸作用。通过使用集成荧光计同时定量ROS的生成来测量每个呼吸阶段中线粒体活性氧的产生。用组织匀浆进行的高分辨率呼吸测定评估可最大程度地减少细胞破坏,并很接近地模拟对线粒体网络和超复合物至关重要的生理环境。最后,为了确定每个样品的线粒体含量,根据制造商的说明使用市售试剂盒(柠檬酸合酶测定试剂盒,CS0720, Sigma)确定柠檬酸合酶(CS)的活性。

[0260] 线粒体生物能:CCI后24小时测量呼吸控制率(氧化磷酸化CI+CII/泄漏呼吸CI+CII)。图13显示,与假手术组皮层测量值( $19.44 \pm 1.37$ )相比,在CCI安慰剂治疗的动物的两个区域中,呼吸控制率(RCR)(衡量线粒体总体健康的指标)均显著降低(同侧: $6.0 \pm 0.26$ , \* $P < 0.0001$ ;对侧: $6.6 \pm 0.32$ , \* $P < 0.0001$ )。与CCI同侧安慰剂相比,CCI后1小时静脉团注CMX-2043并在12小时后重复团注进行治疗的仔猪显示出治疗效果,同侧RCR显著增加(CMX-2043

11.61±2.28, #p<0.05)。治疗后的对侧皮质确实有RCR的增加(11.05±1.71),但没有达到显著性,P=0.09。用CMX-2043进行治疗并不能在任何区域的假手术水平上维持线粒体呼吸控制率(在受伤的皮层中测量)。在海马体中观察到类似的治疗效果。

[0261] 线粒体活性氧物质:CMX-2043的盲测安慰剂对照概念验证试验:CCI后24小时测量的线粒体活性氧生成。通过在最大的氧化磷酸化CI+CI呼吸过程中使用集成荧光计同时定量ROS生成来测量线粒体ROS(mtROS)的生成。图14显示,在两个受伤的队列中,同侧和对侧组织中线粒体ROS的生成(以H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/(μmol O<sub>2</sub>/s\*mg)为单位)均显著增加,\*P<0.001。具体而言,安慰剂治疗的CCI同侧安慰剂的mtROS产生为18.77±1.58单位H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/(μmol O<sub>2</sub>/s\*mg (p<0.0001),CCI对侧安慰剂为13.7±0.58单位H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/(μmol O<sub>2</sub>/s\*mg (p<0.0001),假手术组为2.96±0.19单位H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/(μmol O<sub>2</sub>/s\*mg。与安慰剂治疗过的CCI的各个区域相比,TBI后用CMX-2043治疗的动物两侧的mtROS产量均显著降低(同侧:8.28±1.47, p<0.0001;对侧:5.13±1.67, #p<0.0001)。在海马体中观察到类似的治疗效果。

[0262] 氧化损伤:图15A显示了通过在皮影半影中测量的4-羟基壬烯醛(4-HNE)测量的脂质过氧化。通过测量4-HNE来分析来自同一同侧受伤区域的mtROS的氧化损伤,通过Western Blot分析(EMD Millipore)评估脂质过氧化,通过GAPDH(EMD Millipore)进行标准化,并与安慰剂组和假手术组进行比较。TBI后用CMX-2043治疗的动物与安慰剂治疗的动物相比,表现出脂质过氧化作用的显著降低, #p<0.001。在海马区中观察到类似的治疗效果。

[0263] 图15B显示了通过在皮质半影中ELISA测量的蛋白质羧化。通过测量蛋白质羧化作用(VWR Int'l),分析了来自同侧区域的经过mtROS分析的样品的氧化损伤,并与安慰剂组和假手术组进行了比较。TBI后用CMX-2043治疗的动物与用安慰剂治疗的动物相比,表现出蛋白质羧化显著降低, #p<0.01。在海马体中观察到类似的治疗效果。

[0264] 这些数据表明,CMX-2043在局灶性TBI之后改善了线粒体的生物能,并限制了线粒体活性氧的产生以及氧化损伤。

[0265] 本文引用的所有专利、公开的申请和参考文献的教导通过引用整体并入本文。

[0266] 虽然已经参考本发明的示例实施方式具体地示出和描述了本发明,但是本领域技术人员将理解,在不脱离所附权利要求所涵盖的实施方式的范围的情况下,可以在形式和细节上进行各种改变。

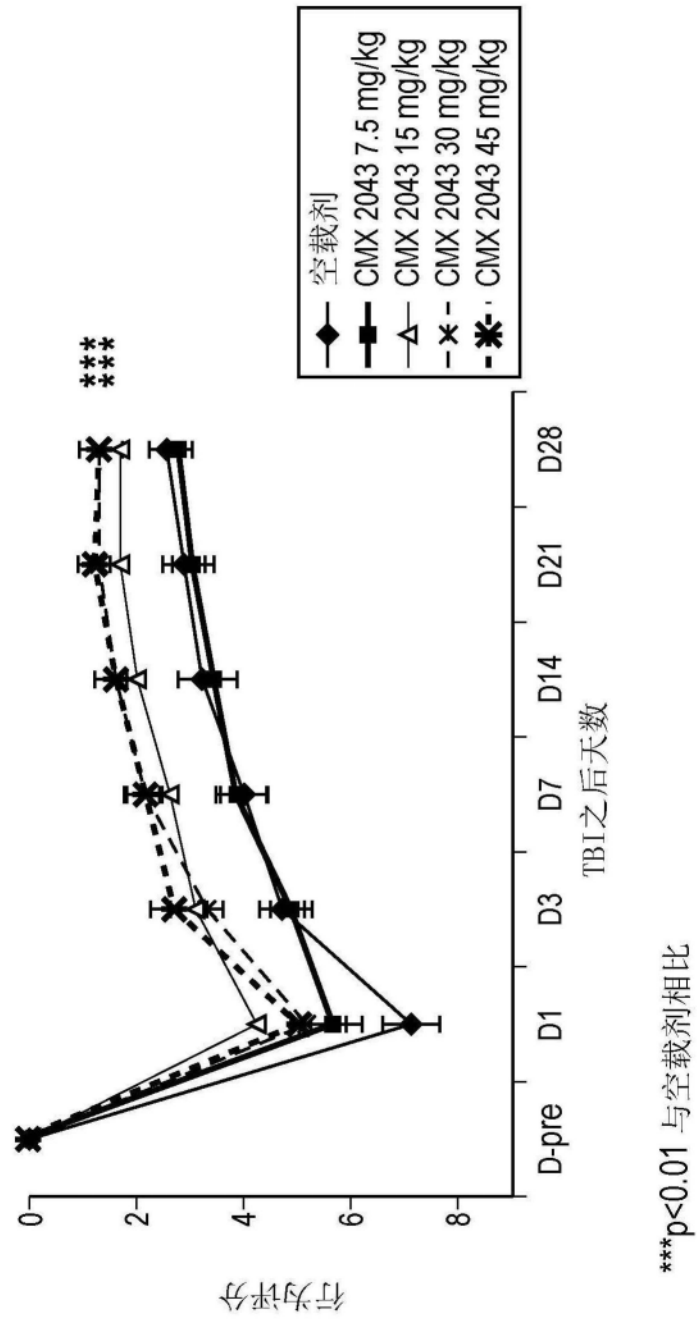


图1

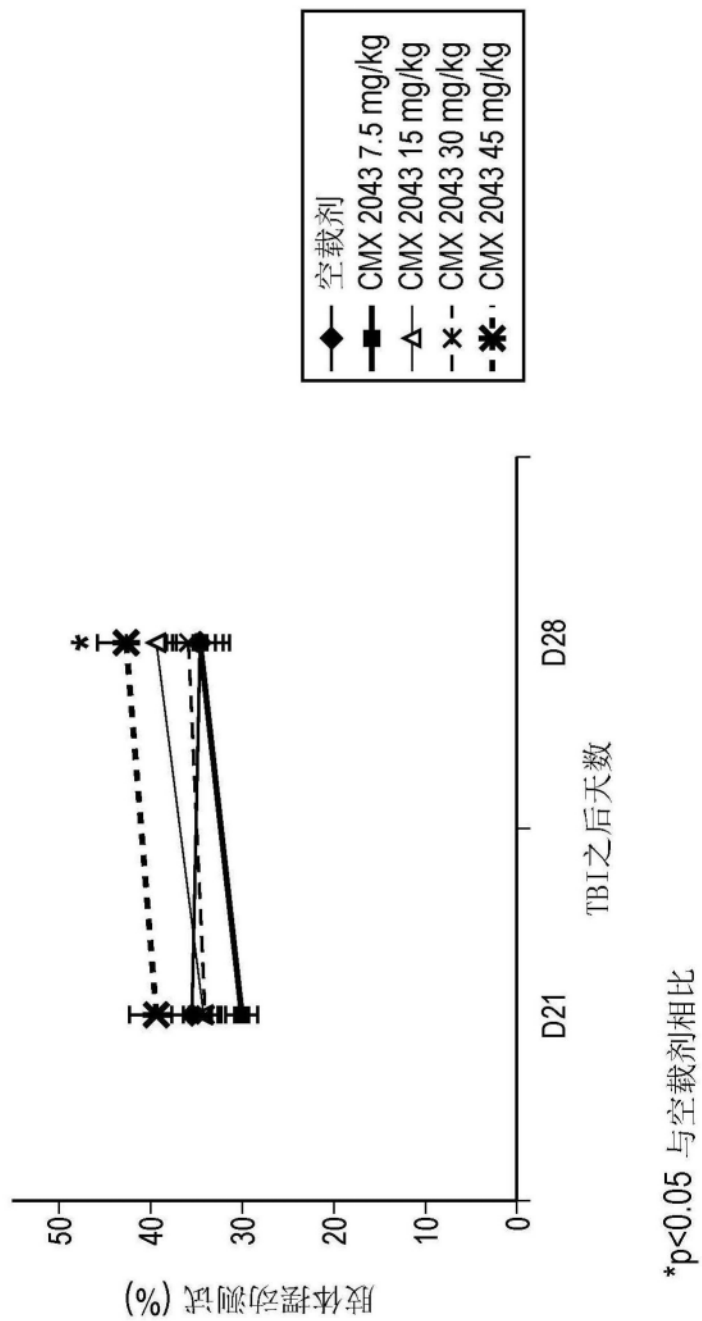


图2

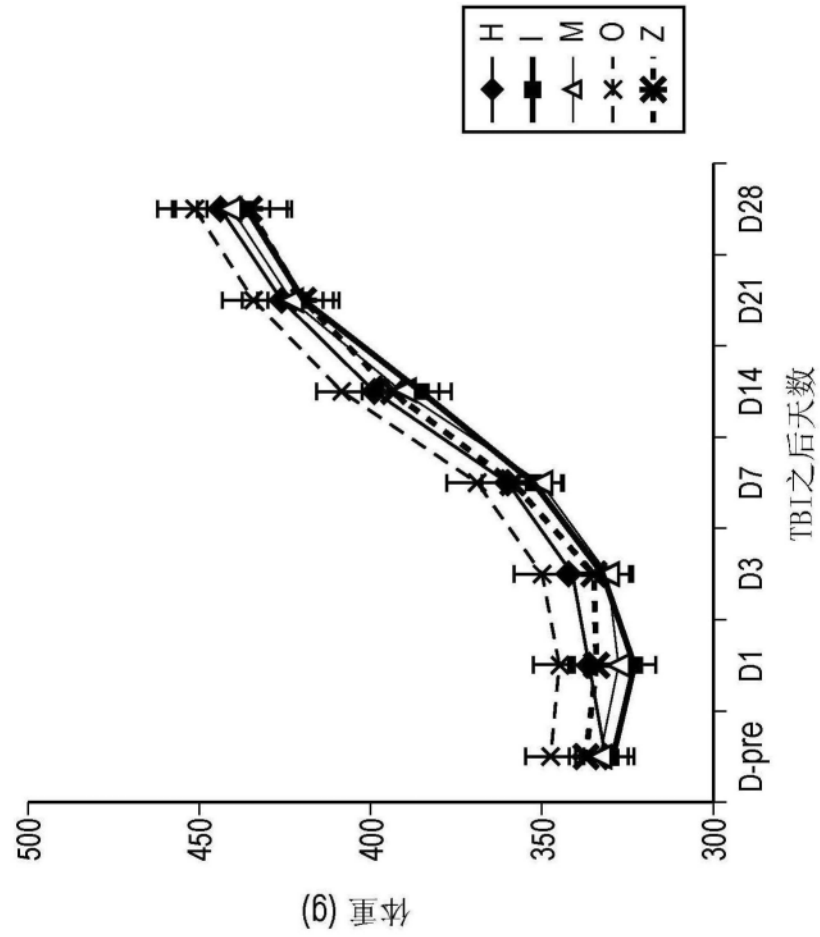


图3

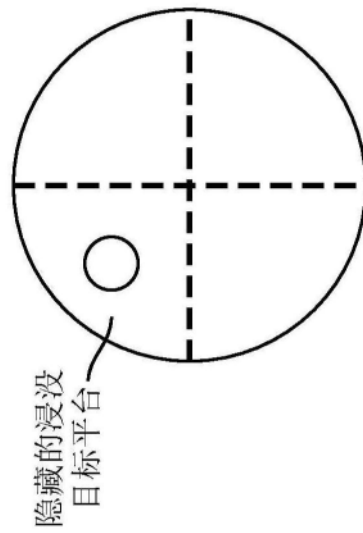


图4A

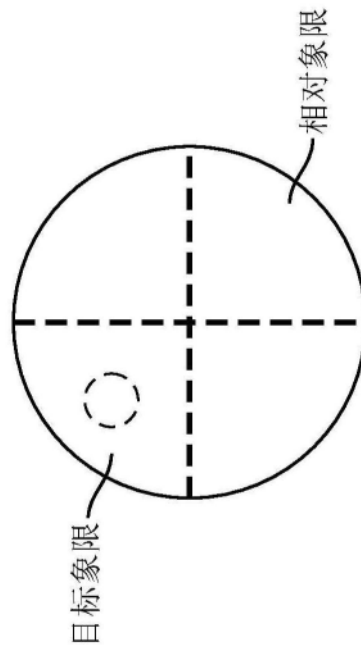


图4B

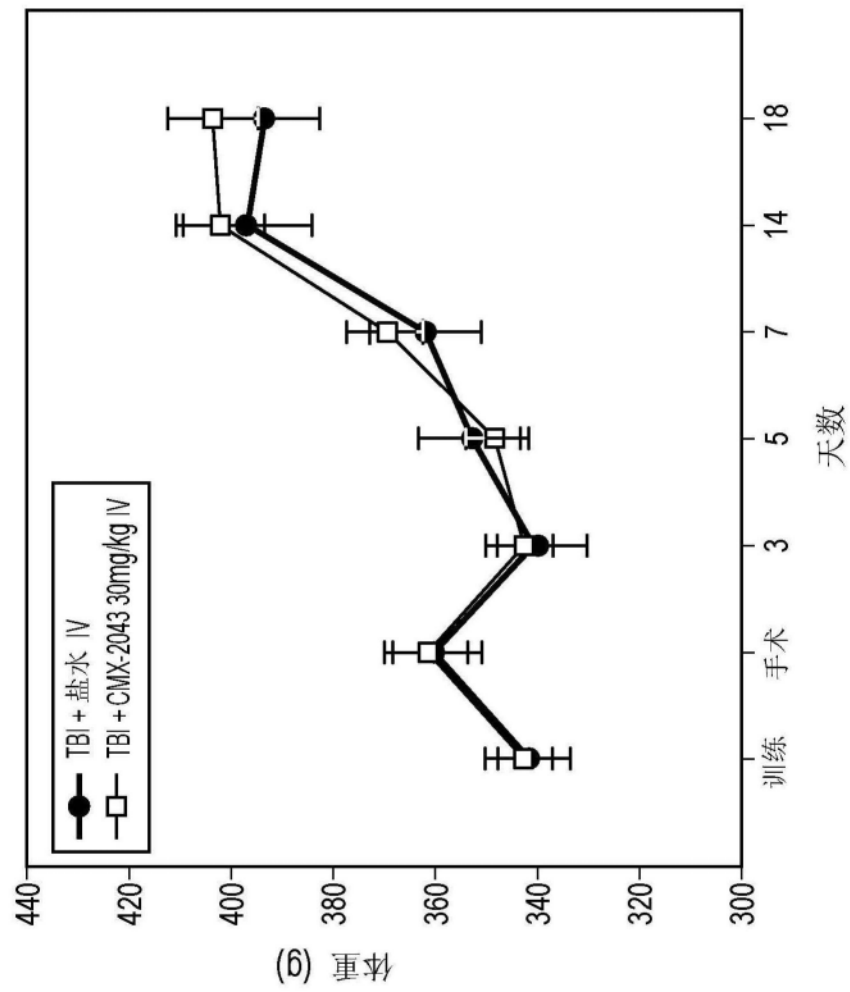


图5

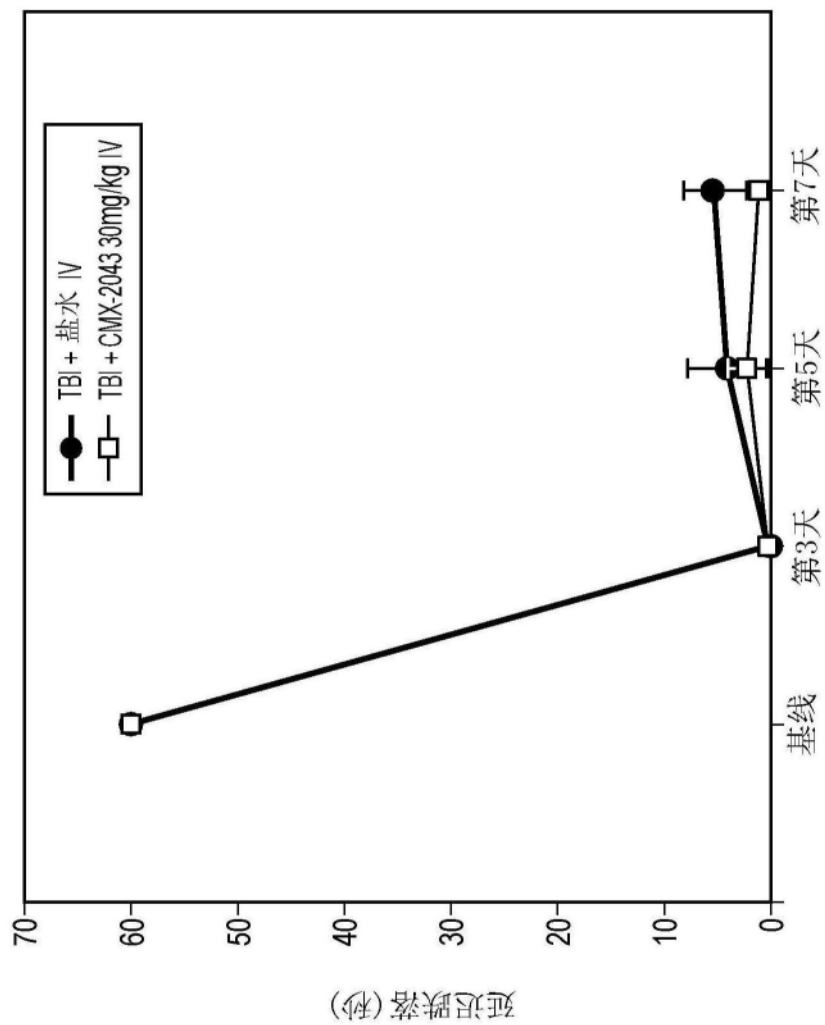


图6



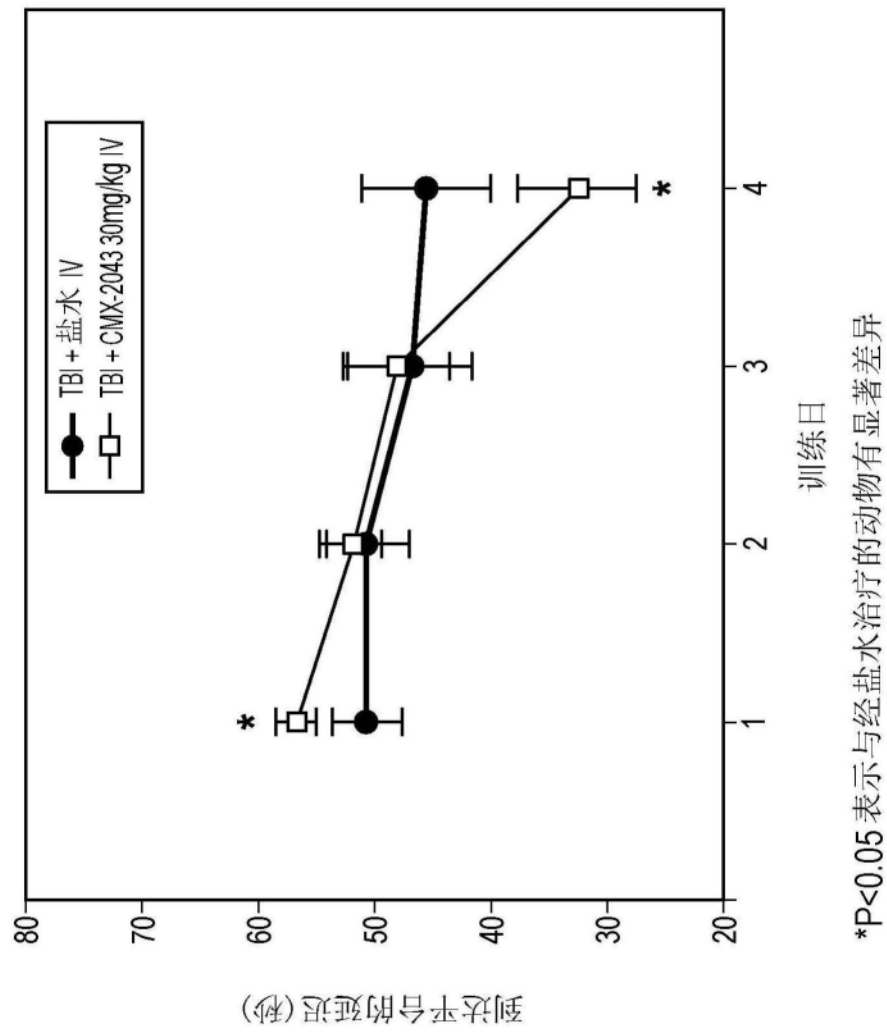


图7

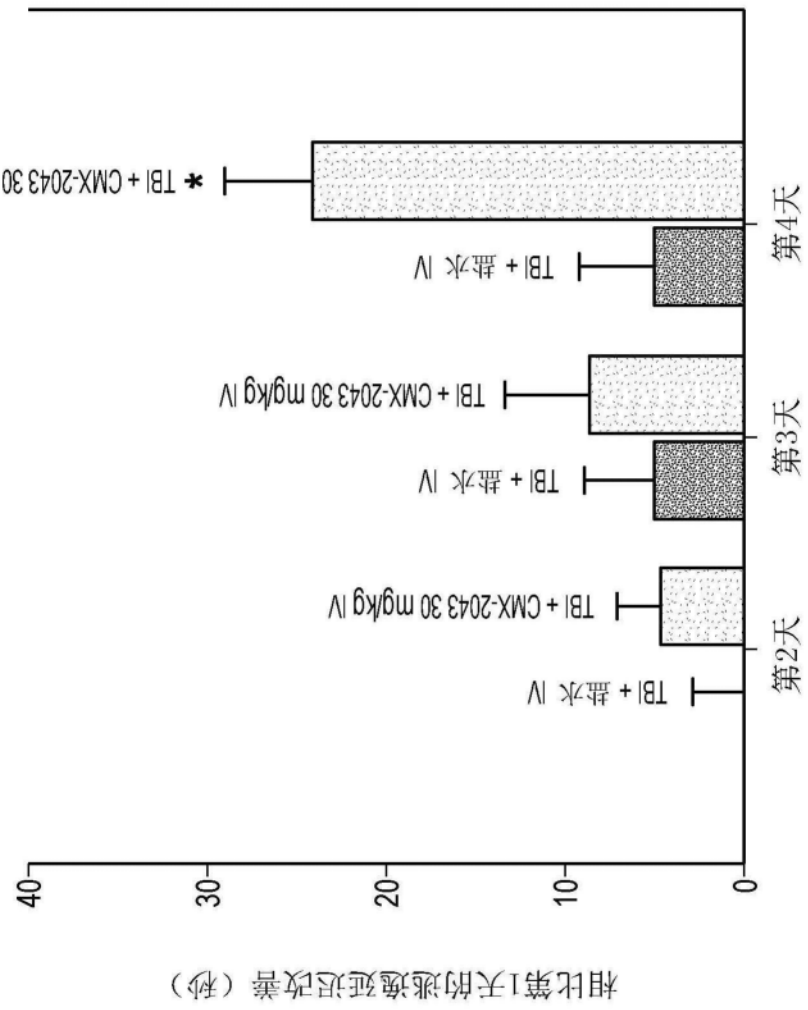


图8

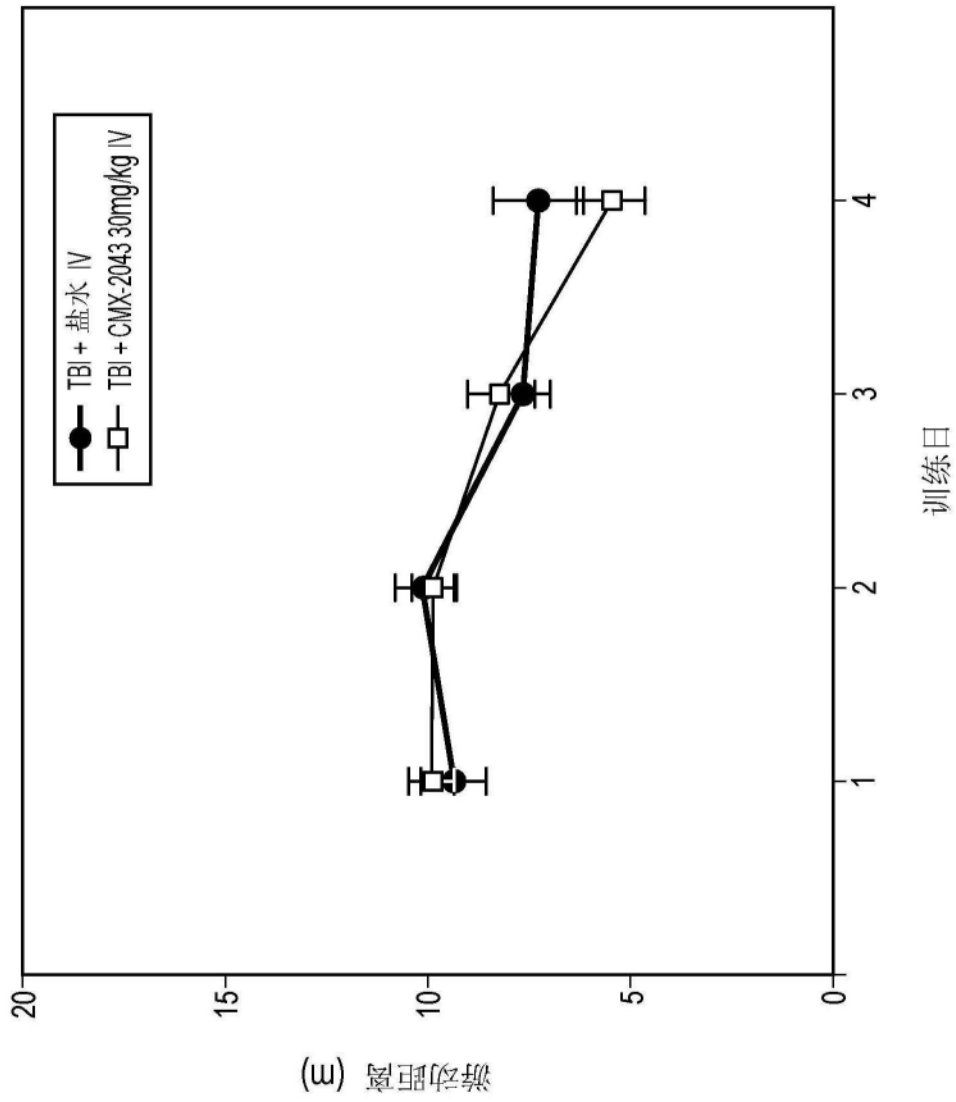


图9

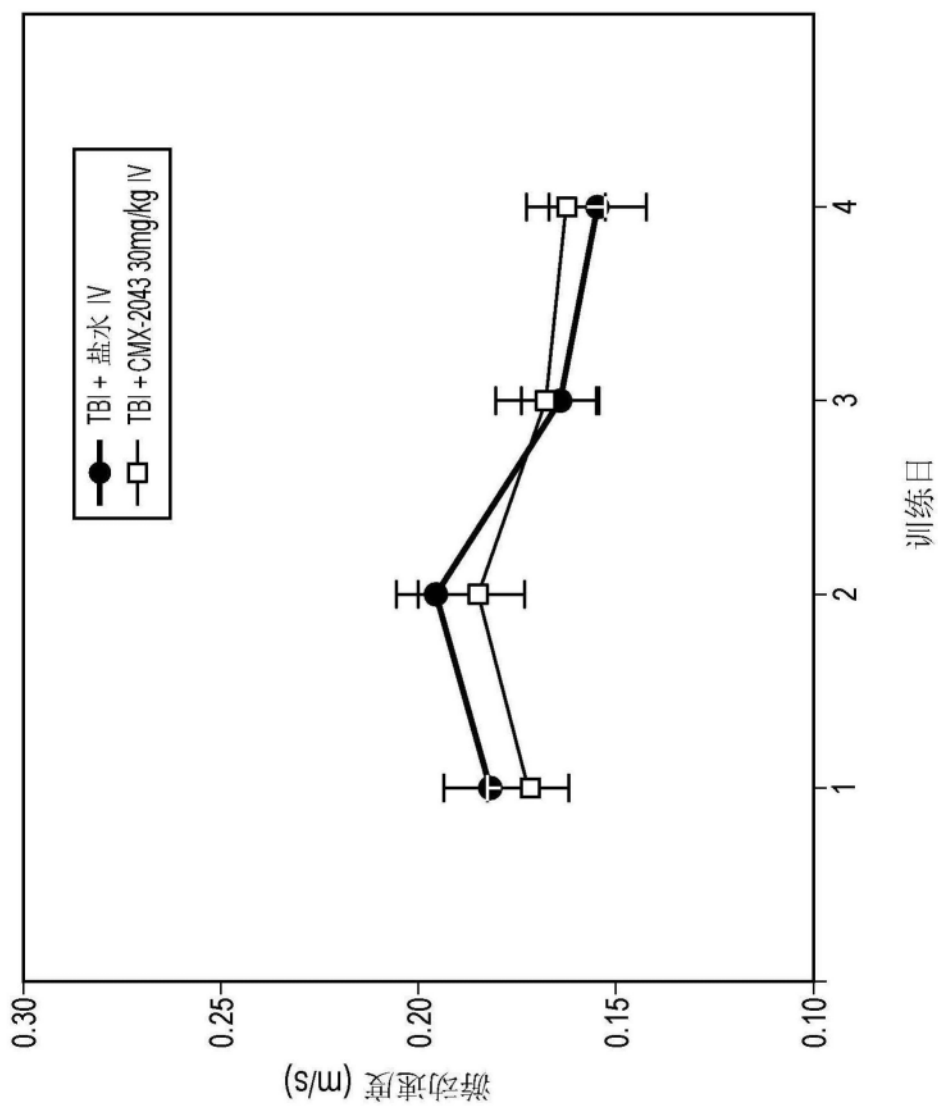


图10

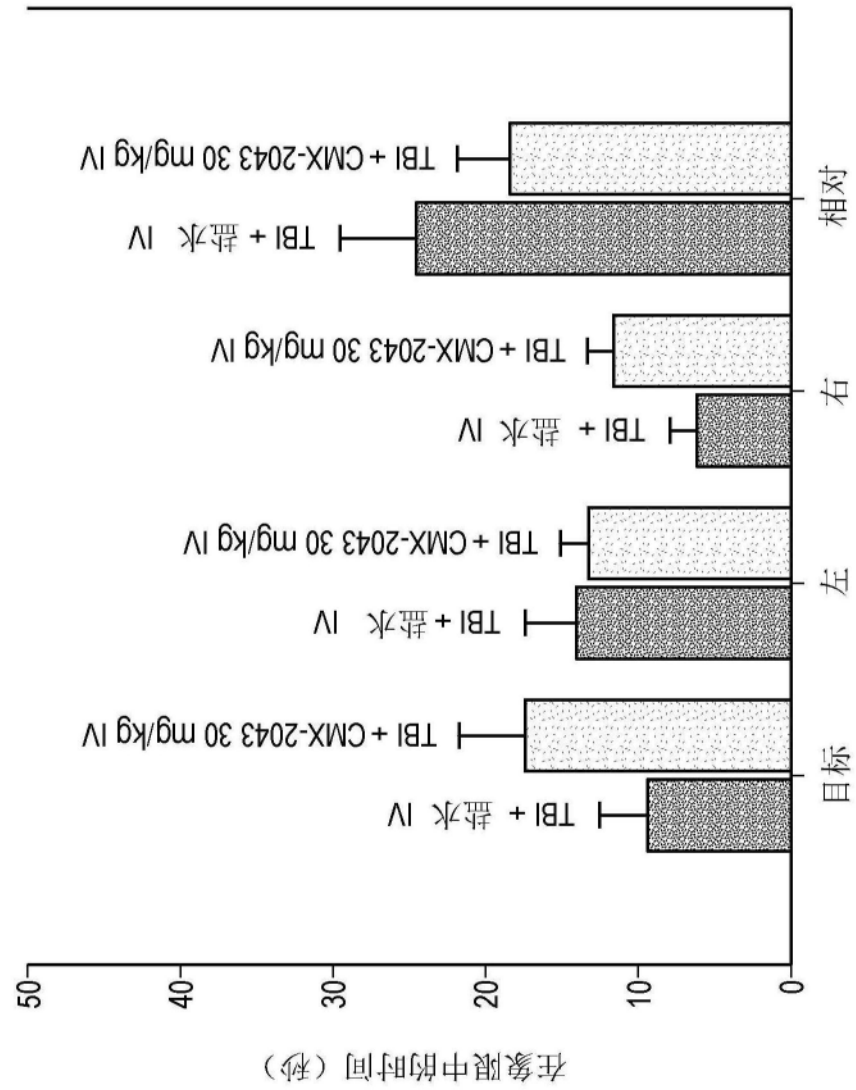


图11

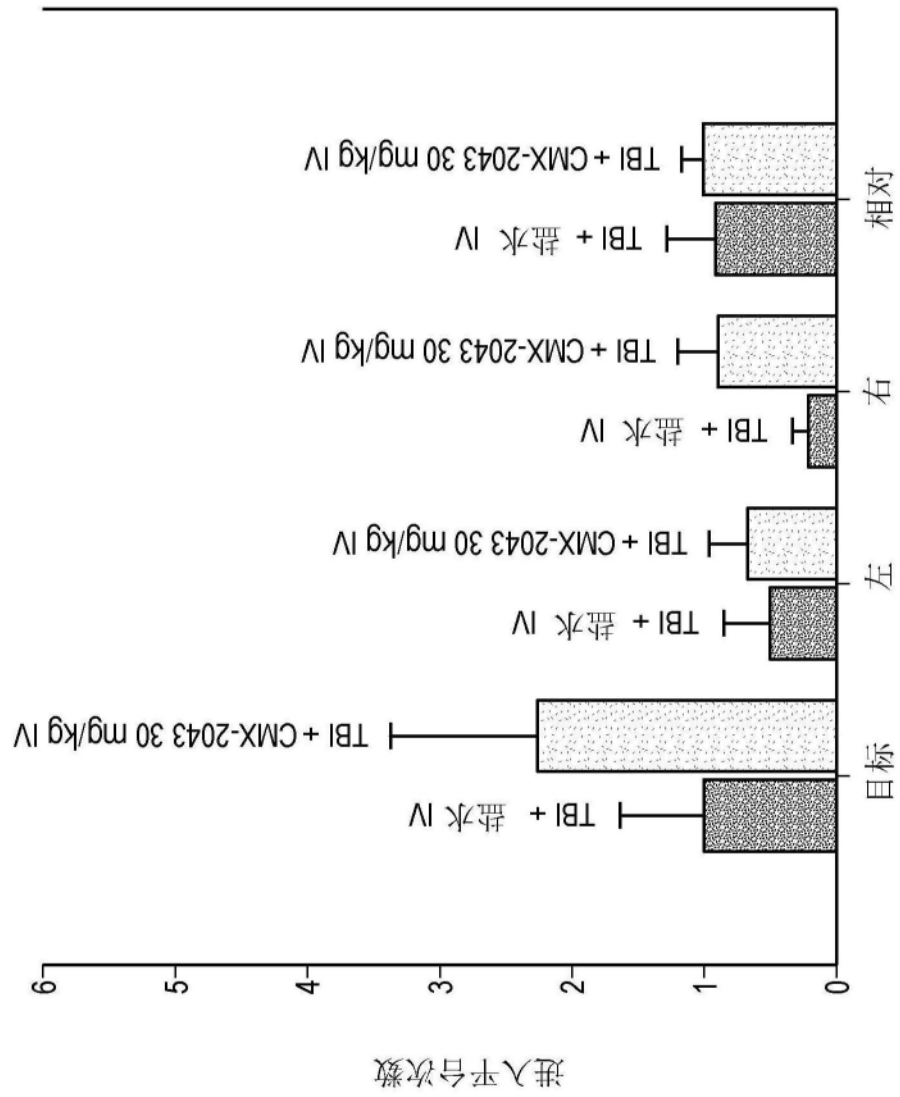


图12

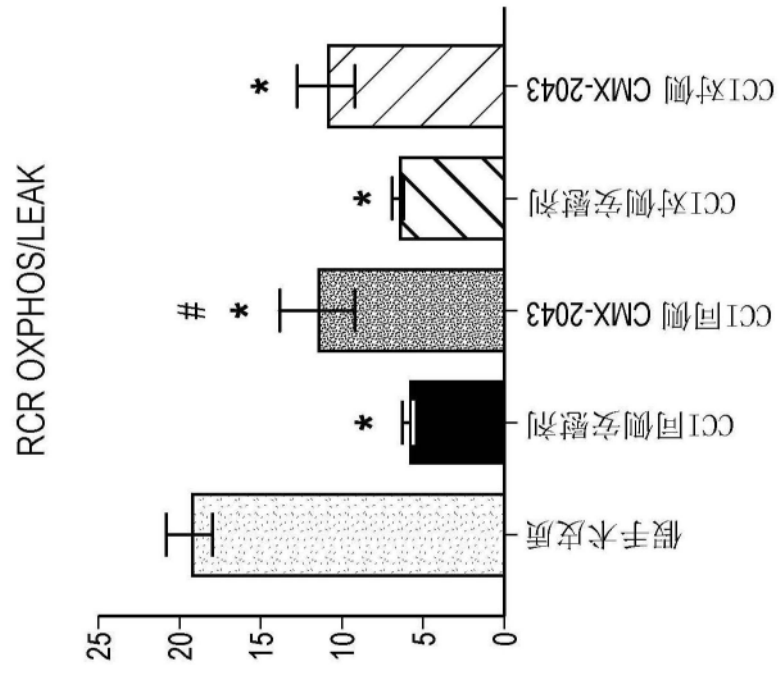


图13

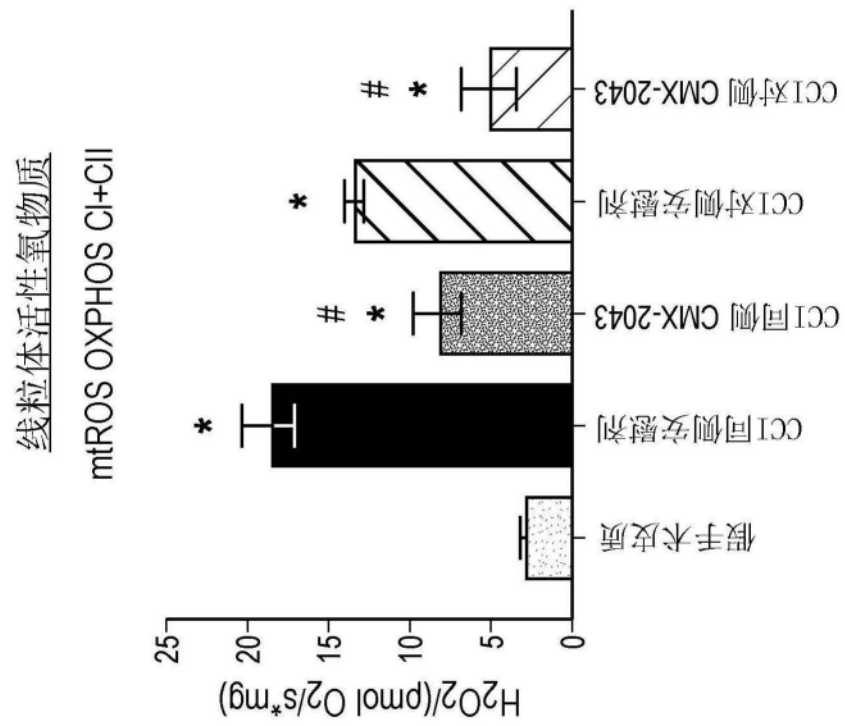


图14

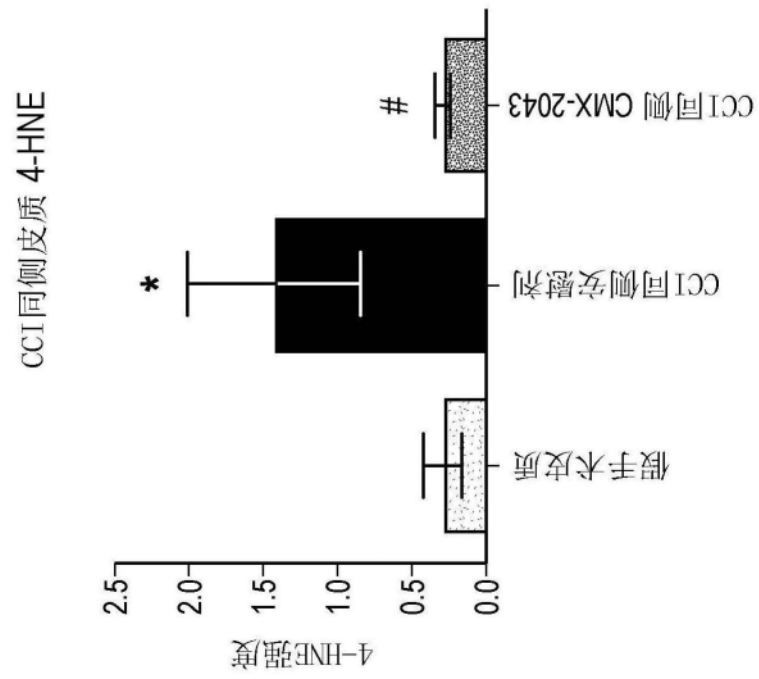


图15A

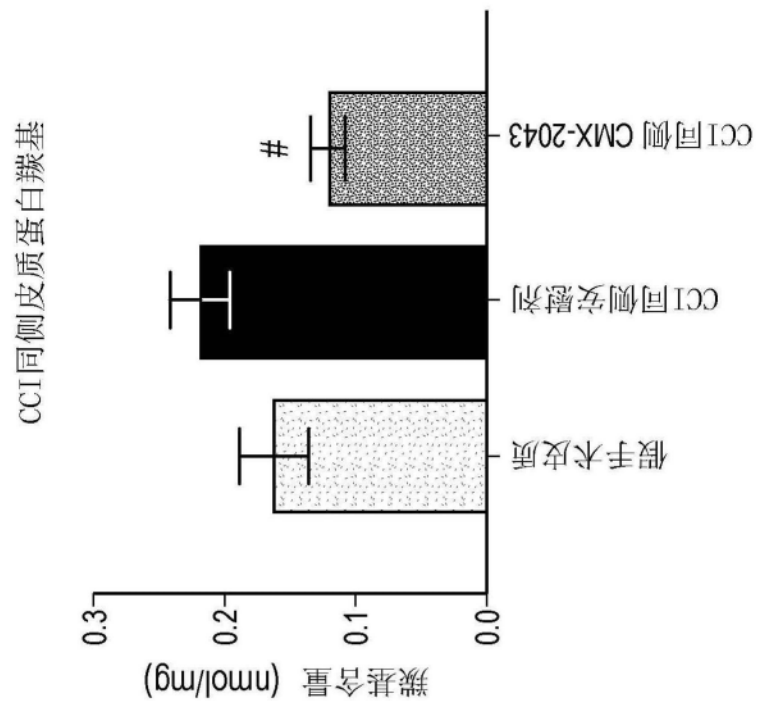


图15B