(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116981449 A
(43)申请公布日 2023.10.31

(21)申请号 202180060125.1

(22)申请日 2021.05.20

(30)优先权数据
FR2005138 2020.05.20 FR

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.01.19

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/FR2021/050929 2021.05.20

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/234324 FR 2021.11.25

(71)申请人 瑞斯特医疗公司
地址 法国蒙彼利埃
申请人 蒙彼利埃大学
国家健康科学研究所
高等研究实践学院

(72)发明人 G·鲁宾斯坦 T·莫里斯

(74)专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314
专利代理师 程伟 程云

(51)Int.Cl.
A61K 31/13(2006.01)

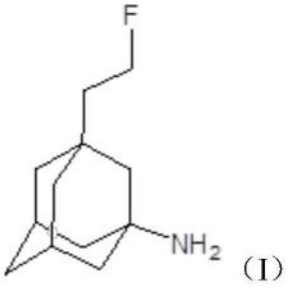
权利要求书4页 说明书29页
序列表1页 附图8页

(54)发明名称

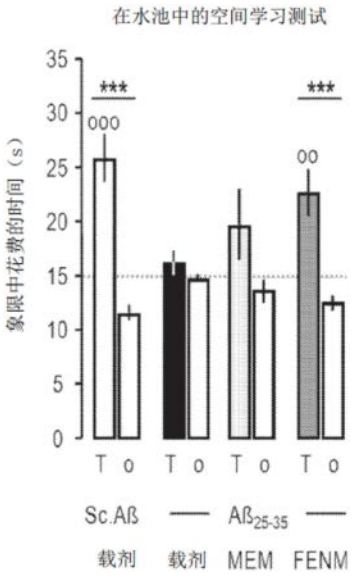
用于引起神经保护的化合物和组合物

(57)摘要

本发明涉及具有式(I)的化合物、或所述化合物的药学上可接受的盐之一,用于在需要其的受试者中引起神经保护的用途。

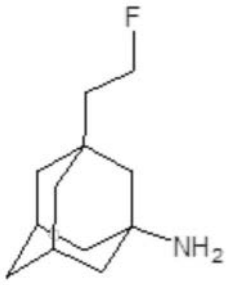


(I)



CN 116981449 A

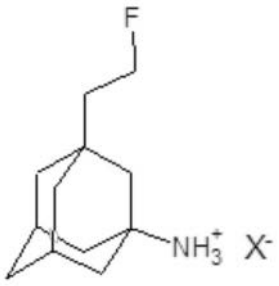
1.一种式(I)的化合物：



（I），

或其药学上可接受的盐，用于在需要其的受试者中引起神经保护的用途。

2.根据权利要求1所述的用途的化合物，其特征在于，所述药学上可接受的盐对应于式(II)：



（II）

其中，X^-表示平衡阴离子，选自氯离子、溴离子、碘离子、乙酸根、甲磺酸根、苯磺酸根、樟脑磺酸根、酒石酸根、二苯甲酸根、抗坏血酸根、富马酸根、柠檬酸根、磷酸根、水杨酸根、草酸根、氢溴酸根和甲苯磺酸根。

3.根据权利要求1或2所述的用途的化合物，其中所述神经保护包括防止或减少神经炎症。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的用途的化合物，其中所述神经保护包括防止或减少神经元细胞中的氧化应激。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的用途的化合物，其中所述神经保护包括防止或减少所述受试者的神经元凋亡。

6.根据权利要求1至5中任一项所述的用途的化合物，其中所述神经保护包括抑制所述受试者的海马体细胞损失。

7.根据权利要求1至6中任一项所述的用途的化合物，其中所述神经保护包括防止或减少对所述受试者的认知能力的损伤。

8.根据权利要求1至7中任一项所述的用途的化合物，其中所述神经保护包括防止或减少对所述受试者的短期记忆的损伤。

9.根据权利要求1至8中任一项所述的用途的化合物，其中所述神经保护包括防止或减少对所述受试者的中期记忆的损伤。

10.根据权利要求1至9中任一项所述的用途的化合物，其中所述神经保护包括防止或减少对所述受试者的空间记忆的损伤。

11.根据权利要求1至10中任一项所述的用途的化合物，其中所述神经保护包括防止或减少对所述受试者的识别和/或学习能力的损伤。

12.根据权利要求1至11中任一项所述的用途的化合物，其中所述神经保护包括保护所

述受试者免受β-淀粉样聚集体、其片段或其寡聚物的毒性。

13.根据权利要求1至12中任一项所述的用途的化合物，其中所述受试者患有、疑似患有、或视为有风险患有中枢神经系统的病变，所述中枢神经系统的病变选自tau蛋白病、突触核蛋白病、淀粉样蛋白病、阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、多系统萎缩症、亨廷顿氏病、后皮质萎缩症、匹克氏病、癫痫、血管性痴呆症、额颞叶痴呆症、路易体痴呆症、肌萎缩侧索硬化症、科尔萨科夫综合征、酒精戒断、缺血、新生儿缺血、头部受伤或中风，优选阿尔茨海默氏病。

14.一种组合，用于在需要其的受试者中引起神经保护的用途，其包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物以及：

-至少一种乙酰胆碱酯酶抑制剂，优选选自多奈哌齐、利斯的明、加兰他敏或其药学上可接受的盐，

-至少一种连接蛋白抑制剂，优选选自甲氯芬那酸、依诺酮、甲氟喹和硼酸2-氨基乙氧基二苯酯(APB)或其药学上可接受的盐，

-能够对抗β-淀粉样聚集体、其片段或其寡聚物的毒性的阿达卡努单抗或其抗原结合片段，或者

-至少一种sigma 1受体的正调节剂，如WO 2017191034申请中描述的那些或其药学上可接受的盐，优选选自2-(2-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(4-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3,5-二氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(2,3-二氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氟苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(4-氟苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-硝基苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(4-苄氧基氨基甲酰基苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(吡啶-2-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(吡啶-3-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(吡啶-4-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(嘧啶-2-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(嘧啶-5-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氨基苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(4-氨基苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氯苯基)-N-甲基-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氯苯基)-2-硫羰基-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-吗啉代-4-基乙基1-苯基环己烷-1-羧酸酯);(+)-喷他佐辛(pentazocine);1,13-二甲基-10-丙基-2-烯基-10-氮杂三环[7.3.1.02,7]十三烷-2(7),3,5-三烯-4-醇;1-[2-(3,4-二甲氧基苯基)乙基]-4-(3-苯基丙基)哌嗪;1-(2,2-二苯基四氢-3-呋喃基)-N,N-二甲基甲胺;2-{[(E)-{5-甲氧基-1-[4-(三氟甲基)苯基]亚戊基]氨基]氧基}乙胺;N-(1-苄基哌啶-4-基)-4-碘代苯甲酰胺;(5E)-N-(环丙基甲基)-N-甲基-3,6-二苯基-5-己烯-3-胺;1-{3-[4-(3-氯苯基)-1-哌嗪基]丙基}-5-甲氧基-3,4-二氢-2(1H)-喹啉酮;(1S,2R)-N-[2-(3,4-二氯苯基)乙基]-N-甲基-2-(1-吡咯烷基)环己胺);6-[(4-苄基哌嗪-1-基)甲基]-2,3-二甲氧基苯酚);4-(3-(甲基磺酰基)苯基)-1-丙基哌啶或其药学上可接受的盐，优选2-(3-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷、或2-吗啉代-4-基乙基1-苯基环己烷-1-羧酸酯或其药学上可

接受的盐。

15.根据权利要求14所述的用途的组合，所述受试者患有、疑似患有、或有风险患有阿尔茨海默氏病。

16.根据权利要求1至13中任一项所述的用途的化合物，所述神经保护包括对所述受试者的认知障碍进行对症治疗，所述化合物以每天大于20mg，优选每天大于或等于30mg的剂量进行口服施用。

17.根据权利要求16所述的用途的化合物，与以下组合：

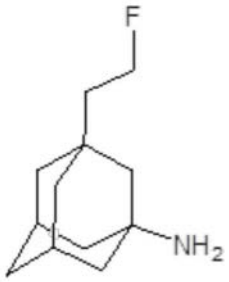
-至少一种乙酰胆碱酯酶抑制剂，优选选自多奈哌齐、利斯的明、加兰他敏或其药学上可接受的盐，

-至少一种连接蛋白抑制剂，优选选自甲氯芬那酸、依诺酮、甲氟喹和硼酸2-氨基乙氧基二苯酯(APB)或其药学上可接受的盐，

-能够对抗β-淀粉样聚集体、其片段或其寡聚物的毒性的阿达卡努单抗或其抗原结合片段，或者

-至少一种sigma 1受体的正调节剂，如WO 2017191034申请中描述的那些或其药学上可接受的盐，优选选自以下：2-(2-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(4-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3,5-二氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(2,3-二氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氟苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(4-氟苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-硝基苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(4-苄氧基氨基甲酰基苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(吡啶-2-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(吡啶-3-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(吡啶-4-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(嘧啶-2-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(嘧啶-5-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氨基苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(4-氨基苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氯苯基)-N-甲基-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氯苯基)-2-硫羰基-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-吗啉代-4-基乙基1-苯基环己烷-1-羧酸酯);(+)-喷他佐辛;1,13-二甲基-10-丙基-2-烯基-10-氮杂三环[7.3.1.02,7]十三烷-2(7),3,5-三烯-4-醇;1-[2-(3,4-二甲氧基苯基)乙基]-4-(3-苯基丙基)哌嗪;1-(2,2-二苯基四氢-3-呋喃基)-N,N-二甲基甲胺;2-{[(E)-{5-甲氧基-1-[4-(三氟甲基)苯基]亚戊基]氨基]氧基}乙胺;N-(1-苄基哌啶-4-基)-4-碘代苯甲酰胺;(5E)-N-(环丙基甲基)-N-甲基-3,6-二苯基-5-己烯-3-胺;1-{3-[4-(3-氯苯基)-1-哌嗪基]丙基}-5-甲氧基-3,4-二氢-2(1H)-喹啉酮;(1S,2R)-N-[2-(3,4-二氯苯基)乙基]-N-甲基-2-(1-吡咯烷基)环己胺);6-[(4-苄基哌嗪-1-基)甲基]-2,3-二甲氧基苯酚);4-(3-(甲基磺酰基)苯基)-1-丙基哌啶或其药学上可接受的盐，优选2-(3-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷、或2-吗啉代-4-基乙基1-苯基环己烷-1-羧酸酯或其药学上可接受的盐。

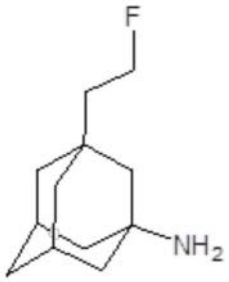
18.一种式(I)的化合物：



(I)

或其药学上可接受的盐,用于防止或治疗与神经元细胞死亡和/或神经退行相关的病变的用途。

19.一种式(I)的化合物:



(I)

或其药学上可接受的盐,用于防止或减少患有、疑似患有或视为有风险患有与神经元细胞死亡和/或神经退行相关的病变的受试者的认知损伤的用途。

用于引起神经保护的化合物和组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及神经退行性疾病领域。

[0002] 本发明涉及用于在需要其的受试者中引起神经保护的式(I)的化合物。

[0003] 本发明进一步涉及一种组合,其包含式(I)的化合物和至少一种其他化合物,如,但不限于,连接蛋白调节剂、乙酰胆碱酯酶抑制剂、sigma 1受体的正调节剂、或用于对抗淀粉样斑块形成或Tau蛋白过度磷酸化的抗体。

背景技术

[0004] 世界卫生组织(OMS)估计,到2050年,60岁以上的人口数将达到20亿。世界人口前所未有的老龄化表明,与年龄有关的慢性病给卫生系统带来了巨大压力。痴呆症就是这样一种疾病。例如,OMS估计,到2050年痴呆症患者总数将超过1.5亿。

[0005] 痴呆症的特征是认知功能,特别是记忆和推理退化,这会影响患者的行为和执行日常任务的能力。痴呆症是一种综合征,包括影响大脑的不同区和/或中枢神经系统其他区域的广泛病变,特别是涉及神经退行和神经元细胞死亡。与衰老直接相关的线粒体功能障碍和氧化应激在神经退行性疾病的发病机理中起着至关重要的作用。这些疾病通常还与某些蛋白的异常积累和/或突变和/或异常折叠蛋白的积累有关,如在Aβ淀粉样变性、tau蛋白病、突触核蛋白病、以及超氧化物歧化酶1(SOD1)、聚谷氨酰胺或TDP-43蛋白的聚集中所见的。并非所有的神经退行性疾病在其早期都涉及认知能力的退化。这些症状特别可以主要是运动症状。此外,这些症状并不都与衰老有关,特别是当它们与基因突变或创伤性事故有关时。

[0006] 阿尔茨海默氏病是最常见的神经退行性病变的形式,占痴呆症病例的60-70%。神经退行性病变的其他常见形式特别包括血管性痴呆症、路易体痴呆症(帕金森痴呆症)、额颞叶痴呆症(大脑额叶退行)、亨廷顿氏病、后皮质萎缩症、帕金森氏病、肌萎缩侧索硬化症和中风。

[0007] 在存在急性和慢性神经病症(如上述神经退行性病变、以及脊髓损伤、头部损伤、酒精中毒和酒精戒断(科尔萨科夫综合征))的情况下,通常在神经元组织中观察到兴奋性毒性。兴奋性毒性对应于由N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDA受体)选择性激活的谷氨酸受体的过度激活,这导致神经元细胞通过凋亡死亡(特别地,但以非限制性的方式,与大量钙流入细胞相关)以及这导致线粒体功能障碍。

[0008] 因此,已知NMDA受体阻断剂在各种急性神经毒性模型中是神经保护的。WO 2009/062391描述此类拮抗剂,包括美金刚胺。然而,实现神经保护作用所需的剂量使得不利的副作用,甚至是与对记忆力的预期作用相反的作用,使得这些分子无法用于人。迄今为止,美金刚胺(3,5-二甲基-1-金刚烷胺)(NMDA通道的非竞争性抑制剂)是此类中唯一已经被某些国家卫生机构批准用于阿尔茨海默氏病的轻度至中度重度形式的对症治疗的化合物,用于治疗与阿尔茨海默氏病相关的认知障碍(trouble)。然而,在人中,其治疗症状的作用似乎有限。2016年10月,临床数据的荟萃分析显示,在批准的剂量下,疗效充其量是适中的,只是

在短期内建立,主要针对认知功能障碍,导致法国国家卫生局(France,la Haute Autorité de Santé)裁定(juger),这些作用的临床相关性尚未明确确定。由于以下原因,这导致该分子在2018年退市:(i)其对症效果缺乏临床相关性,(ii)缺乏其对行为障碍、生活质量、进入机构的时间、死亡率、疾病进展和护理人员的疾病负担的疗效证明,(iii)其安全性特征以及(iv)老年受试者的药物相互作用的高风险。美金刚胺的这些效果不大在各种荟萃分析中都有报道(例如,Knight等人,2018)。

[0009] 这种低疗效可以解释为施用剂量不足,使得对于该分子无法在中枢神经系统中获得与体外观察到的IC_{50}值相对应的有效浓度(Valis等人,2019)。然而,美金刚胺的副作用,特别是其遗忘和神经精神副作用,以及副作用(如消化和心血管病症),不允许增加施用剂量。此外,一些作者已经表明,在动物模型中,仅在引起严重神经行为病症,特别是严重感觉运动损伤和显著记忆损伤的美金刚胺剂量下观察到针对神经毒性的效果(Creeley等人,2006)。

[0010] 然而,中度NMDA受体抑制剂仍然是治疗神经退行的主要候选物。因此,强烈需要这样一种抑制剂,其使用剂量应允许在脑脊液(LCR)中获得有效剂量,以在患者中引发对神经毒性的抑制,而不会产生不可接受的副作用,并且不会恶化认知症状。更具体地说,与其他谷氨酸受体一样,NMDA受体也在神经可塑性中发挥作用;因此,虽然阻断这些受体的试剂不会阻止突触传递,但众所周知,一些会阻止触发长期增强:随着拮抗剂的剂量增加,突触可塑性减少并且记忆缺陷增加。

[0011] 已知不同的NMDA受体拮抗剂具有不同的作用模式,因此从一种拮抗剂很难预测另一种的效果,以及从一种病变类型很难预测另一种,即使对于具有相似结构的分子也是如此。

[0012] WO 2014/191424申请描述了^{18}F标记的2-氟乙基去甲美金刚胺(3-(2-氟乙基)金刚烷-1-胺,FENM)用于标记NMDA受体,以及其通过正电子发射断层扫描成像以研究这些受体的分布,以及其对药物治疗的反应或神经退行性疾病发展。该申请描述了FENM对NMDA受体的亲和力,其数量级与美金刚胺的亲和力相似。

[0013] WO 2019/115833申请描述FENM在治疗焦虑症和抑郁症方面的作用。

[0014] WO 2013/064579申请描述了连接蛋白阻断剂(例如,甲氯芬那酸)与乙酰胆碱酯酶抑制剂(如多奈哌齐(donépézil))的组合用于治疗认知障碍。然而,需要注意的是,最初被批准用于阿尔茨海默氏病对症治疗的乙酰胆碱酯酶抑制剂,也因疗效不佳而在法国被退市。

[0015] 因此,今天的患者面临着缺少能够在神经退行或急性神经元损伤的情况下引起神经保护的任何令人信服的治疗方案。

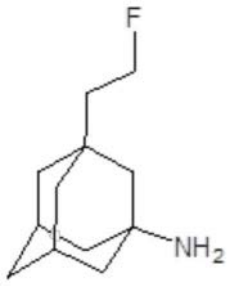
[0016] 技术问题

[0017] 因此,本发明的目的是克服现有技术的缺点。特别地,本发明旨在提供一种用于神经保护的化合物;所述化合物具有神经保护作用,防止神经元细胞死亡的机制,以及在患有特别与兴奋性毒性有关的病变(但不限于此)的受试者中维持认知能力。此外,本发明的目的是提供一种化合物,其没有显示对认知的有害作用(如对于NMDA受体抑制剂所观察到的有害作用),从而安全地扩大可以对人施用的以对症治疗阿尔茨海默氏病的剂量范围。最后,本发明旨在提供一种化合物,其有效地对症治疗由神经退行引起的认知障碍。

发明内容

[0018] 申请人出人意料地发现，FENM具有美金刚胺所缺乏的显著的神经保护作用，这在包含脑内施用淀粉样β_{25-35}($A\beta_{25-35}$)肽寡聚物的小鼠模型中具有防止细胞死亡的机制，产生维持认知的能力。此外，申请人已证明FENM不具有美金刚胺对记忆的有害作用。这使得可以设想以比批准用于美金刚胺的剂量更高的剂量施用，从而预期增加有效性。最后，发现FENM在对神经退行引起的认知障碍的对症治疗上也比美金刚胺更有效。

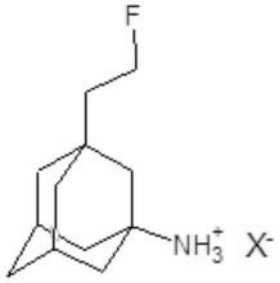
[0019] 因此，本发明的一个目的是提供一种式(I)的化合物：

[0020] 

(I)

[0021] 或其药学上可接受的盐，用于在需要其的受试者中引起神经保护的用途。

[0022] 根据一个任选的特征，药学上可接受的盐对应于式(II)：

[0023] 

(II)

[0024] 其中，X^-表示平衡阴离子，选自氯离子、溴离子、碘离子、乙酸根、甲磺酸根、苯磺酸根、樟脑磺酸根、酒石酸根、二苯甲酸根、抗坏血酸根、富马酸根、柠檬酸根、磷酸根、水杨酸根、草酸根、氢溴酸根和甲苯磺酸根。

[0025] 发明人发现FENM引起针对神经退行的各个部分的显著保护，因此：

[0026] -根据本发明的一个方面，本发明的化合物获得的神经保护包括防止或减少神经炎症。

[0027] -根据本发明的另一个方面，本发明的化合物获得的神经保护包括防止或减少在神经元细胞中的氧化应激。

[0028] -根据本发明的一个方面，本发明的化合物获得的神经保护包括防止或减少在所述受试者中的神经元凋亡。

[0029] 这种神经保护可以对大脑结构，特别是那些涉及认知过程的结构产生积极作用。根据本发明的一个方面，本发明的化合物获得的神经保护包括在所述受试者中抑制海马体细胞的损失。海马体结构和体积的变化通过医学成像检测，可以用于监测治疗的疗效。

[0030] 由式(I)的化合物获得的神经保护进一步导致受试者认知能力的保留。因此，根据本发明的一个方面，本发明的化合物获得的神经保护包括防止或减少对受试者认知能力的损伤，特别是防止或减少以下损伤：

[0031] -对受试者的短期记忆、

[0032] -对受试者的中期记忆、

[0033] -对受试者的空间记忆、或

[0034] -对受试者的识别和/或学习能力。

[0035] 式(I)的化合物在引起针对毒性蛋白聚集体(如寡聚化的$A\beta_{25-35}$)的毒性的神经保护上特别有效。因此,根据本发明的一个方面,神经保护包括在所述受试者中保护免受β-淀粉样聚集体、其片段或其寡聚物的毒性。

[0036] 通过式(I)的化合物获得的神经保护使其可能对抗许多神经退行性病变的潜在机制。因此,根据一个方面,本发明进一步涉及式(I)的化合物用于患有、疑似患有、或视为有风险患有中枢神经系统的病变的受试者,所述中枢神经系统的病变选自tau蛋白病、突触核蛋白病、淀粉样蛋白病、阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、多系统萎缩症、亨廷顿氏病、后皮质萎缩症、匹克氏病、癫痫、血管性痴呆症、额颞叶痴呆症、路易体痴呆症、肌萎缩侧索硬化症、科尔萨科夫综合征、酒精戒断、缺血、新生儿缺血、头部受伤或中风,优选阿尔茨海默氏病。

[0037] 由于其推定的作用方式,式(I)的化合物特别适合与靶向神经退行过程中涉及的其他方面或途径的化合物组合使用。因此,本发明的一个目的是提供式(I)的化合物与以下的组合:

[0038] -至少一种乙酰胆碱酯酶抑制剂,优选选自多奈哌齐、利斯的明(rivastigmine)、加兰他敏(galantamine)或其药学上可接受的盐,

[0039] -至少一种连接蛋白抑制剂,优选选自甲氯芬那酸(l'acide méclofénamique)、依诺酮(enoxolone)、甲氟喹和硼酸2-氨基乙氧基二苯酯(APB)或其药学上可接受的盐,

[0040] -能够对抗β-淀粉样聚集体、其片段或其寡聚物的毒性的阿达卡努单抗(aducanumab)或其抗原结合片段,或者

[0041] -至少一种sigma 1受体的正调节剂,如WO 2017191034申请中描述的那些或其药学上可接受的盐,优选选自2-(2-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷(oxazaphosphinane);2-(4-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3,5-二氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(2,3-二氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氟苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(4-氟苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-硝基苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(4-苄氧基氨基甲酰基苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(吡啶-2-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(吡啶-3-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(吡啶-4-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(嘧啶-2-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(嘧啶-5-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氨基苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(4-氨基苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氯苯基)-N-甲基-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氯苯基)-2-硫羰基-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-吗啉代-4-基乙基1-苯基环己烷-1-羧酸酯;(+)-喷他佐辛(pentazocine);1,13-二甲基-10-丙基-2-烯基-10-氮杂三环[7.3.1.02,7]十三烷-2(7),3,5-三烯-4-醇;1-[2-(3,4-二甲氧基苯基)乙基]-4-(3-苯基丙基)哌嗪;1-(2,2-二苯基四氢-3-呋喃基)-N,N-二甲基甲胺;2-{[(E)-

{5-甲氧基-1-[4-(三氟甲基)苯基]亚戊基]氨基]氧基}乙胺;N-(1-苄基哌啶-4-基)-4-碘代苯甲酰胺;(5E)-N-(环丙基甲基)-N-甲基-3,6-二苯基-5-己烯-3-胺;1-{3-[4-(3-氯苯基)-1-哌嗪基]丙基}-5-甲氧基-3,4-二氢-2(1H)-喹啉酮;(1S,2R)-N-[2-(3,4-二氯苯基)乙基]-N-甲基-2-(1-吡咯烷基)环己胺);6-[(4-苄基哌嗪-1-基)甲基]-2,3-二甲氧基苯酚);4-(3-(甲基磺酰基)苯基)-1-丙基哌啶或其药学上可接受的盐,优选2-(3-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷或2-吗啉代-4-基乙基1-苯基环己烷-1-羧酸酯、或其药学上可接受的盐。

[0042] 根据一个特别的方面,本发明涉及用于在需要其的受试者中引起神经保护的所述组合,特别是患有、疑似患有或有风险患有上述中枢神经系统的病变的受试者,以及特别是患有、疑似或有风险患有阿尔茨海默氏病的受试者。

[0043] 式(I)的化合物的活性特征显示在大剂量范围中具有神经保护,而对接受治疗的受试者的认知能力没有有害作用。因此,比目前对于美金刚胺所允许的剂量更高是可能的,从而产生更有效的治疗。根据另一方面,本发明因此涉及用于在需要其的受试者中引起神经保护的式(I)的化合物,所述化合物以大于每天20mg,优选大于或等于每天30mg的剂量通过口服施用,任选地在如上所述的组合内。

[0044] 本发明的其他优点和特征将在阅读以下说明书(其是作为一种粗略的指导,绝不是限制性的指导)以及参考附图时显示出来,附图显示为:

附图说明

[0045] 图1,用于施用寡聚化的$A\beta_{25-35}$肽、测试化合物的实验设计和行为测试表现以评价动物的认知能力。(A、B)对寡聚化的$A\beta_{25-35}$肽引起的遗忘的对症效果的评价。(C)测试化合物的神经保护作用的评价。YMT,Y迷宫测试(盎格鲁-撒克逊术语中的Y-迷宫测试);PAT,被动回避测试(盎格鲁-撒克逊术语中的被动规避测试);ORT,物体识别测试;WMT,莫里斯水迷宫测试;†,处死;黑色箭头:脑室内注射寡聚化的$A\beta_{25-35}$肽;灰色箭头:施用测试化合物/载剂。

[0046] 图2,在来自使用寡聚化的$A\beta_{25-35}$肽中毒的或未中毒的小鼠的海马体匀浆中,美金刚胺(MEM)和FENM(0.3mg/Kg i.p.)对白介素-6(IL-6)水平(A)、脂质过氧化(B)或Bax/Bcl-2比率(C)的作用。ANOVA:A,$F_{(3,22)}=2.53$,$p>0.05$;B,$F_{(3,21)}=4.33$,$p<0.05$;C,$F_{(3,22)}=0.763$,$p>0.05$.*$p<0.05$,***$p<0.001$vs.(V+V);#$p<0.05$vs.(V+$A\beta_{25-35}$);邓尼特氏检验。在每个柱中指出每组小鼠的数量。V:载剂溶液。与未处理、未中毒的对照组(V+V)相比,寡聚化的$A\beta_{25-35}$引起的百分比增加显示在柱上方。

[0047] 图3,在施用寡聚化的$A\beta_{25-35}$肽之后,美金刚胺(MEM)和FENM(0.3mg/Kg i.p.)对星形胶质细胞反应的作用。在海马体的辐射层(A,Rad)、分子层(B,Mol)、齿状回的多形层(C,PoDT)和外侧顶叶联合区(D,LPTA)中的GFAP的免疫组化定量,ANOVA:A,$F_{(3,22)}=5.06$,$p<0.01$;B,$F_{(3,23)}=4.50$,$p<0.05$;C,$F_{(3,23)}=3.24$,$p<0.05$;D,$F_{(3,22)}=3.71$,$p<0.05$。*$p<0.05$,vs.(V+V);#$p<0.05$,##$p<0.01$vs.($A\beta_{25-35}$+V);邓尼特氏检验。V:载剂溶液。在每个柱中指出每组小鼠的数量。与未处理、未中毒的对照组(V+V)相比,寡聚化的$A\beta_{25-35}$引起的百分比增加显示在柱上方。

[0048] 图4,在施用寡聚化的$A\beta_{25-35}$肽之后,美金刚胺(MEM)和FENM(0.3mg/Kg i.p.)对小胶质细胞反应的作用。在海马体的辐射层(A,Rad)、分子层(B,Mol)、齿状回的多形层(C,

PoDT)和外侧顶叶联合区(D,LPTA)中的Iba-1标记物的免疫组化定量,ANOVA:A,$F_{(3,23)}$=3.22,p<0.05;B,$F_{(3,22)}$=2.86,p>0.05;C,$F_{(3,23)}$=3.38,p<0.05;D,$F_{(3,23)}$=6.43,p<0.01。*p<0.05,**p<0.01vs.(V+V);#p<0.05,##p<0.01vs.($A\beta_{25-35}$+V);邓尼特氏检验。V:载剂溶液。在每个柱中指出每组小鼠的数量。与未处理、未中毒的对照组(V+V)相比,寡聚化的$A\beta_{25-35}$引起的百分比增加显示在柱上方。

[0049] 图5,对于$A\beta_{25-35}$寡聚物中毒引起的影响空间参考记忆(莫里斯水迷宫)和学习的损伤,美金刚胺(MEM)和FENM(0.3mg/Kg i.p.)的神经保护作用。通过视频监控分析在东北象限(称为训练象限(T))或其他象限(o)中花费的时间。°°°p<0.001vs.15秒;单样本t检验;***p<0.001vs.o象限。Veh:载剂溶液;Sc.Aβ:对照肽。

[0050] 图6,在Y迷宫测试中,美金刚胺(A)和FENM(B)(0.1-10mg/Kg i.p.)对寡聚化的$A\beta_{25-35}$肽引起的记忆损伤的对症效果。ANOVA:A,$F_{(6,83)}$=2.62,p<0.05;B,$F_{(6,89)}$=4.94,p<0.001.)。**p<0.01,***p<0.001vs.(Sc.Aβ+V);#p<0.05,##p<0.01vs.(V+$A\beta_{25-35}$);邓尼特氏检验,V:载剂溶液;Sc.Aβ:对照肽。在每个柱中指出每组小鼠的数量。

[0051] 图7,在被动回避测试中,美金刚胺和FENM(0.1-10mg/Kg i.p.)对$A\beta_{25-35}$寡聚物中毒引起的记忆损伤的对症效果。结果是非参数数据,并以中位数和四分位数范围显示。Kruskal-Wallis ANOVA:A,H=23.4,p<0.001;B,H=19.5,p<0.01,在(d)中。*p<0.05,**p<0.01,***p<0.001vs.(Sc.Aβ+V);#p<0.05,##p<0.01vs.(V+$A\beta_{25-35}$);邓尼特氏检验。V:载剂溶液;Sc.Aβ:对照肽。在每个柱中指出每组小鼠的数量。

[0052] 图8,在hameau测试(Hamlettest®)中,美金刚胺和FENM(0.3mg/Kg i.p.)对复杂记忆力损伤的对症效果。迷失指数是根据错误(A)或延迟(B)计算得出的。p<0.05vs.0水平,单样本t检验。V:载剂溶液;Sc.Aβ:对照肽。

具体实施方式

[0053] 本发明涉及2-氟乙基去甲美金刚胺(FENM)在用于需要其的受试者中引起神经保护的用途。本发明进一步涉及用于引起所述神经保护的FENM的组合。

[0054] 更具体地,已经发现,如实验部分所示,FENM通过减少所述细胞中的细胞凋亡、氧化应激以及通过减少大脑中的神经炎症以保护神经元细胞和防止引起的细胞死亡。这导致防止由此产生的认知缺陷。这也导致了对神经毒性引起的认知障碍的有效、对症纠正。

[0055] 定义

[0056] 在本发明的上下文中,提及具体药物或化合物不仅包括具体命名的药物或化合物,还包括该药物的活性分子或所述化合物的任何药学上可接受的盐、水合物、衍生物、异构体、外消旋体、对映体纯组合物、偶联物或相应的前药。优选地,提及化合物包括具体命名的化合物,以及所述化合物的任何药学上可接受的盐、水合物、异构体、外消旋物、异构体或对映体纯组合物。更优选地,对化合物的指定是为了指定具体指定的化合物本身,以及其任何药学上可接受的盐。

[0057] 术语“药学上可接受的盐”在本文中理解为是指本发明化合物的药学上可接受且相对无毒的无机或有机酸加成盐。药用盐的形成包括将酸性、碱性或两性离子药物分子与平衡离子偶联以产生药物的盐版本。多种化学物质可以在中和反应中使用。因此,本发明的药学上可接受的盐包括通过作为碱的主要化合物与无机酸或有机酸反应形成盐而获得的

盐，例如乙酸、硝酸、酒石酸、盐酸、硫酸、磷酸、甲磺酸、樟脑磺酸、草酸、马来酸、琥珀酸或柠檬酸的盐。本发明的药学上可接受的盐进一步包括其中主要化合物作为酸发挥作用并与合适的碱反应形成的盐，例如钠盐、钾盐、钙盐、镁盐、铵盐或胆碱盐。虽然给定活性成分的大多数盐是生物等效的，但其中一些盐可能具有增强的溶解度或生物利用度特性。正如Stahl和Wermuth在他们的手册(Stahl和Wermuth)中所教导的那样，现在盐的选择是药物开发过程中常见的、标准操作。

[0058] 术语“神经保护”在本文中理解为指通过停止或至少减缓神经细胞功能损失以及这些系统中的细胞(特别是神经元)的退行或损失导致的认知下降，以防止或减缓影响中枢或周围神经系统的疾病的进展。因此，需要神经保护的受试者定义为患有、疑似患有或视为有风险患有与神经元细胞死亡和/或神经退行相关，特别是与兴奋性毒性相关的病变的受试者，但不限于此。这些病变是，例如神经退行性病变，如tau蛋白病、突触核蛋白病或淀粉样蛋白病，如阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、多系统萎缩症、路易体痴呆症、皮层基底节退行症、匹克氏病、额颞叶痴呆症或后皮质萎缩症。其他神经退行性病变包括，例如，亨廷顿氏病、肌萎缩侧索硬化症、癫痫、血管性痴呆症、科尔萨科夫综合征或急性神经元病变(如酒精戒断、缺血、新生儿缺血、头部受伤或中风)。

[0059] 术语“受试者”在本文中理解为是指动物界的任何成员，优选哺乳动物，甚至更优选为人。在另一个优选的实施方案中，还包括也具有控制记忆产生的NMDA系统的蜂、昆虫。

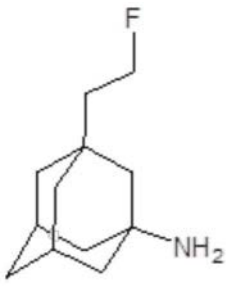
[0060] 术语“组合(combinaison)”、“联合治疗(traitement combiné)”或“联合疗法(thérapie combinée)”应理解为是指为了实现生物学效果而向所述受试者共同施用的组合，其中所述组合的基础是由式(I)的化合物或其药学上可接受的盐(即FENM)、和至少一种其他化合物或药物组成。FENM和该组合中的所述至少一种其他化合物可以一起或分开、伴随或顺序施用。当一起施用时，其可以在包含FENM和所述至少一种其他化合物或药物的单一组合物中施用。换句话说，因此，FENM和所述至少一种其他化合物或药物配制在一起。或者，它们可以通过相同或不同的施用途径分别施用至所述受试者。因此，例如，FENM可以口服施用，与FENM共同施用的所述至少一种其他化合物可以，例如，静脉内或皮下注射至所述受试者。在另一个实施方案中，例如，FENM可以口服施用，与FENM共同施用的所述至少一种其他化合物也可以通过口服施用至所述受试者。优选地，组合的活性成分的施用顺序使得所述活性成分或活性代谢物同时发挥它们的生物学作用，使得受试者受益于所述组合的最大作用。因此，以特别优选的方式，施用FENM和所述至少一种其他化合物或药物，以同时达到它们在血浆或脑脊液中，优选在脑脊液中的最大浓度。

[0061] “A-β肽”、“Aβ”、“β-淀粉样肽”、“淀粉样肽”或“β-淀粉样”由γ和β分泌酶切割位于神经元的膜中的APP蛋白(“淀粉样蛋白前体”)产生。在人中，它们尺寸可以变化(主要是38至42个氨基酸)，以不同尺寸和溶解度的寡聚物组装体存在。每种类型的寡聚物都具有潜在毒性，导致突触结构、功能和可塑性发生改变，最终导致神经元死亡(Pike等人，1991)。突触的这种改变是造成记忆和学习过程中所涉及区域的功能障碍的原因。这些片段也存在于随着年龄或某些疾病而积累的所谓淀粉样斑块中。在体内，在人中，$A\beta_{1-42}$具有很强的自聚集倾向；家族性形式的阿尔茨海默氏病伴随着$A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$肽相对水平升高，正是这种相对水平而不是$A\beta_{1-42}$和/或$A\beta_{1-40}$肽的积累，指示对病变的诊断。$A\beta_{25-35}$是在体外对神经元细胞有毒性的片段。在小鼠和大鼠中，脑室内(icv)注射$A\beta_{25-35}$肽寡聚物是用于研究Aβ寡聚物引起

的神经退行,特别是阿尔茨海默氏病的模型之一,以及是用于测试该疾病的候选药物的模型之一(Maurice等人,1996)。“A-β肽”、“Aβ”、“β-淀粉样肽”、“淀粉样肽”或“β-淀粉样”的神经毒性在本文中理解为,通过切割APP蛋白产生的一种或多种肽形成的任何寡聚物和/或聚集体引起的神经毒性。

[0062] 申请人已发现FENM在动物模型中有效引起免受脑内注射$A\beta_{25-35}$寡聚物引起的毒性的神经保护。已知当$A\beta_{25-35}$寡聚物注射到动物模型的大脑中时,$A\beta_{25-35}$寡聚物引起神经元细胞的炎症过程、氧化应激和凋亡。出人意料地是,在$A\beta_{25-35}$寡聚物注射当天对动物施用FENM,减少了凋亡和线粒体应激标记物、神经炎症的水平,并减少了海马体细胞中的细胞死亡。这种减少伴随着动物的认知能力恢复至与未注射$A\beta_{25-35}$的动物的认知能力没有统计学差异的水平。对于用于神经退行性病变的参考NMDA受体拮抗剂美金刚胺,虽然结构相似,但未观察到这种水平的神经保护。此外,与美金刚胺不同,申请人还观察到FENM没有任何遗忘作用。最后,与美金刚胺相比,FENM允许以更有效的方式对症治疗由$A\beta_{25-35}$注射引起的认知障碍。

[0063] 因此,本发明的第一个目的是提供式(I)的化合物:

[0064] 

(I),或其药学上可接受的盐,用于在需要其的受试者中引起神经保护的用途。

[0065] 在一个具体实施方案中,所述需要其的受试者患有、疑似患有、或视为有风险患有中枢神经系统的病变。在另一个具体实施方案中,该中枢神经系统的病变与神经元细胞死亡和/或神经退行有关。在另一个具体实施方案中,该中枢神经系统的病变与兴奋性毒性有关。在另一个更具体实施方案中,所述受试者患有、疑似患有、或视为有风险患有中枢神经系统的病变,其选自tau蛋白病、突触核蛋白病或淀粉样蛋白病(如阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、多系统萎缩症、路易体痴呆症、皮层基底节退行症、匹克氏病、额颞叶痴呆症、后皮质萎缩症),或病变,如亨廷顿氏病、肌萎缩侧索硬化症、癫痫、血管性痴呆症、科尔萨科夫综合征、酒精戒断、缺血、新生儿缺血、头部受伤或中风。

[0066] 在另一个具体实施方案中,所述受试者因此可以已经被诊断出患有中枢神经系统的病变。特别地,该病变与神经元细胞死亡和/或神经退行有关。更特别地,所述受试者可能已被诊断患tau蛋白病、突触核蛋白病或淀粉样蛋白病(如阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、多系统萎缩症、路易体痴呆症、皮层基底节退行症、匹克氏病、额颞叶痴呆症、后皮质萎缩症)或病变,如亨廷顿氏病、肌萎缩侧索硬化症、癫痫、血管性痴呆症、科尔萨科夫综合征、酒精戒断、缺血、新生儿缺血、头部受伤或中风。该诊断基于本领域技术人员公知的行为、认知、生物学和/或医学成像分析。在这种情况下,通过式(I)的化合物获得的神经保护作用将允许疾病的进展减缓或停止,即在由此诊断出的疾病中已经开始的神经元细胞死亡和/或神经退行将减缓或停止。结果,所述受试者因此获得的所述神经保护作用将导致停止或减缓由神经退行产生的认知损伤和与其相关的症状的进展。

[0067] 在另一个具体实施方案中,所述受试者还可以疑似患有与神经元细胞死亡和/或

神经退行相关的病变。换句话说，对该受试者做出的诊断是不确定的，即，例如，该受试者没有表现出症状的水平(就其强度而言)，或者没有表现出允许做出正式病变诊断的临床表现的全部不同症状或体征。然而，在该受试者中，注意到的症状或体征与病变相关。例如，这可以是处于疾病早期的患者，因此其仅表现出一些、潜在的轻微的、先兆体征。更特别地，所述受试者具有与tau蛋白病、突触核蛋白病或淀粉样蛋白病(如阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、多系统萎缩症、路易体痴呆症、皮层基底节退行症、匹克氏病、额颞叶痴呆症、后皮质萎缩症)相容的相关体征或症状、或与病变(如，亨廷顿氏病、肌萎缩侧索硬化症、癫痫、血管性痴呆症、科尔萨科夫综合征、酒精戒断、缺血、新生儿缺血、头部受伤或中风)相容的相关体征或症状。

[0068] 可以通过本领域技术人员公知的且常用于诊断这些病变的行为、认知、生物和/或医学成像分析检测相关体征或症状。

[0069] 常规用于人受试者认知评估的测试有，例如，简易精神状态检查(MMSE或Folstein测试)、改良简易精神状态检查(或3MS量表)、简略精神测试评分(AMTS)、智力迟钝者痴呆症问卷(或DMR问卷)、认知能力筛查工具(CASI)、追踪测试、画钟测试、阿尔茨海默氏病评估量表-认知(ADAS-Cog)、全科医生认知评估(GPCOG)、蒙特利尔认知评估(MoCA)、罗兰通用痴呆症评估量表(RUDAS)或阿尔茨海默氏病合作研究-日常生活活动(ADCS-ADL)。

[0070] 更特别地说，MMSE可以用于识别患有严重神经认知损伤(痴呆症)的人，而无需将其与特定病变联系起来。MMSE还用于监测人的认知状态，并用于测量具有神经认知损伤的人的认知功能下降。该测试评估方向感、配准(l'enregistrement)、注意力和计算、回忆、语言和重复技能。CERAD(阿尔茨海默氏病登记协会(Establish a Registry for Alzheimer's Disease ou Consortium))已经建立了与MMSE评分相关的痴呆症严重程度量表。评分在19至24之间与轻度痴呆症相关，评分在10至18之间与中度痴呆症相关，评分低于10与重度痴呆症相关，最高评分为30。

[0071] ADAS-Cog是阿尔茨海默氏病评估量表的认知子量表，因此仅涉及痴呆症的认知方面。因此，ADAS-Cog可以用于评估(即评分)和监测任何类型痴呆症的进展。ADAS-Cog评估方向感、记忆、执行功能、视觉空间能力、语言或实践，评分范围从0至70，评分越高指示损伤越严重。ADAS-Cog视为比MMSE更灵敏。ADAS-Cog是临床评价候选化合物最常用的测试之一，目的是在抗痴呆治疗的背景下获得上市批准，以及用于测量认知损伤如何进展。

[0072] 医学成像可以用于识别大脑特定区的结构或功能损害，因此也有助于诊断这些神经退行性病变中的一些。例如，使用碘氟烷进行的脑部扫描可以用于表征帕金森氏病或路易体痴呆症中的多巴胺能神经元的损害。^{18}F标记的FENM视为NMDA受体通过正电子发射断层扫描(TEP)的标记物，是在人中进行试点研究的对象(Beaurain等人，2019)。IRM或TEP扫描可以用于诊断，例如额颞叶痴呆症(通过识别额叶和颞叶萎缩)或阿尔茨海默氏病(皮质萎缩和/或海马体萎缩)。因此，在一个具体实施方案中，需要神经保护的受试者具有多巴胺能神经元损害、额叶和/或颞叶萎缩、或皮质萎缩和/或一个或两个海马体萎缩。

[0073] 分析在LCR中某些蛋白质的存在可以用于诊断，例如，阿尔茨海默氏病，其典型特征结合了$A\beta_{42}$肽浓度的降低以及Tau蛋白及其磷酸化形式P-Tau的增加。在某些情况下，$A\beta_{1-40}$剂量和$A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$比率的测量可以改进诊断。影像学和LCR标记物允许及早地诊断出疾病，在某些情况下在认知症状发作之前诊断出。因此，在一个具体实施方案中，需要神经

保护的受试者在$A\beta_{1-42}$和/或$A\beta_{1-40}$肽和/或Tau蛋白和/或其磷酸化形式的水平上、和/或在$A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$的比率上具有异常特征。

[0074] 此外，事件相关电位(ERP)记录的分析对于评价认知进展非常有用，因为结果与所使用的刺激无关。ERP是在对不协调刺激作出反应中观察到的，代表激活的认知现象，如感知、注意力、决策制定、记忆过程和语言等。ERP是通过，例如脑电图(EEG)或脑磁图(MEG)记录的。ERP提供有关大脑如何加工刺激的信息，即使在行为没有可注意到的变化时也是如此。ERP的特性可以因各种因素而异，例如刺激的相关性、正在执行的任务、对神经系统的损害或使用药物。

[0075] 在现有技术中，已知ERP作为认知的生物标记物用于诊断痴呆症、监测疾病进展和评估治疗的促进认知作用。例如，在患有阿尔茨海默氏病、血管性痴呆症或与帕金森症状相关的痴呆症(例如，路易体痴呆症)的患者中，ERP发生改变。特别地，ERP测量可以在早期，特别是在阿尔茨海默氏病的早期或中期检测到认知功能的损伤。在临床实践中最常检查的ERP是P300(或P3)波，其是大的中心顶叶正波，发生在不协调的刺激之后约300ms的延迟中。P300波可以分为两个子分量P3a和P3b。P3a通常视为与注意力集中程度有关，而P3b据信是工作记忆更新过程的指数。P300波的振幅特别指的是动机(与任务的难度有关)和与刺激发生的概率相关的警惕性。延迟指做出决定所需的时间。在患有痴呆症，特别是阿尔茨海默氏病的患者中观察到P300(或其子分量)的延迟增加及其振幅(或其子分量)的降低。研究延迟的变化有助于监测痴呆症，特别是阿尔茨海默氏病的进展，以及评估对阿尔茨海默氏病治疗的反应。

[0076] 因此，在一个具体实施方案中，需要神经保护的受试者具有损伤的认知能力。优选地，该损伤由MMSE或ADAS-Cog测量。在特别优选的方式中，所述受试者具有的MMSE评分小于30、小于或等于29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3，或小于或等于2。同样优选地，在所述受试者中通过分析受试者的ERP的P300波测量这种损伤，受试者表现出P300波或其分量的振幅和/或延迟的降低。

[0077] 在另一个具体实施方案中，所述需要神经保护的受试者患有轻度痴呆症。在另一个具体实施方案中，所述需要神经保护的受试者患有中度痴呆症。在另一个具体实施方案中，所述需要神经保护的受试者患有重度痴呆症。在特别优选的方式中，需要神经保护的受试者患有轻度痴呆症。因此，在一个具体实施方案中，本发明涉及式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，用于在患有轻度痴呆症的受试者中引起神经保护。

[0078] 在特别优选的方式中，需要神经保护的受试者已被诊断为患有如上定义的与神经元细胞死亡和/或神经退行相关的中枢神经系统的病变，然而未表现出认知症状，或者在该受试者中未检测到症状。因此，由于实验部分中描述的神经保护特性，可以防止、延迟或减缓这些症状的发作，因此可以维持患者的生活质量，以及可以防止与神经退行性病变相关的其他病变，特别是精神疾病(如抑郁症)的发作。

[0079] 最后，所述需要神经保护的受试者也可以视为是有风险患有中枢神经系统的病变，特别是如上所述的与神经元细胞死亡和/或神经退行相关的病变的受试者。换句话说，所述受试者没有任何与所述病变相关的症状或体征，但与一般群体相比，发展为这种病变的风险增加，因为他/她具有与他/她的生活方式、遗传易感性或家族史相关的、与合并症的存在和/或与他/她的年龄相关的风险因素。更特别地，所述受试者具有增加他/她发展为

tau蛋白病、突触核蛋白病或淀粉样蛋白病(如阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、多系统萎缩症、路易体痴呆症、皮层基底节退行症、匹克氏病、额颞叶痴呆症、后皮质萎缩症)的风险、或发展为病变(如亨廷顿氏病、肌萎缩侧索硬化症、癫痫、血管性痴呆症、科尔萨科夫综合征、酒精戒断、缺血、新生儿缺血、头部受伤或中风)的风险(与一般群体相比)的生活方式、遗传易感性或家族史、患有合并症和/或上了年纪。

[0080] 例如,但以非限制性方式,年龄是痴呆症(其中包括阿尔茨海默氏病)的主要风险因素,因为60岁以上的人中有5%至8%患有此病。对于SNC病(其是与神经元细胞死亡和/或神经退行相关的病变)的遗传易感性的一个示例是存在载脂蛋白E(ApoE)的ε4等位基因,这与几种痴呆症,特别是与阿尔茨海默氏症的风险增加相关(Liu等人,2013);此外,例如在SNCA(α-突触核蛋白)、PRKN(parkine)、LRRK2(富含亮氨酸的重复激酶2)、PINK1(PTEN诱导的推定的激酶1)、DJ-1和ATP13A2基因中的突变以及在PARK1-PARK11基因的11个基因座中的突变与此类遗传易感性或突变的携带者患帕金森氏病的风险增加有关;SOD1基因突变以及其与肌萎缩侧索硬化症或编码亨廷顿蛋白的基因中的突变的关联,也是对SNC病的遗传易感性的示例。与发展为这些病变的风险增加相关的合并症包括,例如,唐氏综合征、创伤后应激障碍(PTSD)、抑郁症、高血压、糖尿病、头部受伤或中风。过量饮酒与痴呆症的风险增加相关。暴露至某些金属(例如,锰、铜、铅)或某些化合物(例如,百草枯、鱼藤酮或代森锰)与发展为帕金森氏病的风险增加相关。

[0081] 因此,在一个实施方案中,需要神经保护的受试者是有风险患有中枢神经系统的病变,更特别是与神经元细胞死亡和/或神经退行相关的病变的受试者。更特别地,受试者没有病变的其他症状。优选地,受试者没有病变的认知症状。在一个优选的实施方案中,受试者具有对所述病变的遗传易感性。在另一个优选的实施方案中,受试者患有的病变与发展为中枢神经系统的病变,更特别是与神经元细胞死亡和/或神经退行相关的病变的风险增加相关。在定义为有风险和需要神经保护的这些受试者中施用式(I)的化合物,允许防止或推迟这些病变和/或其症状的发作,特别是中枢神经系统的病变,更特别是与神经元细胞死亡和/或神经退行相关的病变。

[0082] 在另一个具体实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,用于在患有PTSD的受试者中引起神经保护。本发明的另一具体实施方案涉及式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,用于在患有PTSD的受试者中引起神经保护,例如防止阿尔茨海默氏病或其症状的发作。

[0083] 所提供的实验数据表明,在许多病变中(如,但不限于,阿尔茨海默氏病)中,式(I)的化合物在防止由Aβ-寡聚物毒性引起的神经元细胞的神经炎症、氧化应激和凋亡中特别有效,以及其中Aβ-寡聚物毒性是神经退行和SNC细胞死亡,更特别是神经元死亡的根源。

[0084] 因此,本发明的一个目的还在于提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,用于防止或降低Aβ寡聚物的毒性,更特别地用于防止或降低Aβ寡聚物的神经毒性。本发明的一个具体实施方案进一步涉及式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,用于在受试者中防止或降低Aβ寡聚物的毒性,更特别地用于防止或降低Aβ寡聚物的神经毒性,所述受试者患有、疑似患有或有风险患有阿尔茨海默氏病或涉及Aβ聚集体或寡聚物的病变,如路易体痴呆症。

[0085] 如上所述,在许多神经退行性病变中观察到神经元细胞的神经炎症、氧化应激和

凋亡。

[0086] 本发明的另一个目的还在于提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，用于防止或降低需要其的受试者的神经炎症。本发明的一个目的还在于提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，用于防止或降低需要其的受试者的氧化应激。本发明的一个目的还在于提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，用于防止或降低在需要其的受试者的SNC中的凋亡，包括向所述受试者施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐。本发明的一个目的还在于提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，用于防止或降低所述受试者中的海马体细胞损失。如上所述，可以通过例如磁共振成像(IRM)，通过例如观察海马体的萎缩、体积减小、形状变化或大脑皮层的萎缩或减少检测到这种损失。在一个具体实施方案中，根据本发明的用途的化合物和组合包括通过医学成像对SNC的结构和/或功能进行监测。

[0087] 在这些目的的每一个的一个具体实施方案中，所述受试者患有、疑似患有或视为有风险患有中枢神经系统的病变，其选自tau蛋白病、突触核蛋白病、淀粉样蛋白病、阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、多系统萎缩症、亨廷顿氏病、后皮质萎缩症、匹克氏病、癫痫、血管性痴呆症、额颞叶痴呆症、路易体痴呆症、肌萎缩侧索硬化症、科尔萨科夫综合征、酒精戒断、缺血、新生儿缺血、头部受伤或中风，优选阿尔茨海默氏病。

[0088] 关于防止神经退行和SNC细胞死亡，更特别是神经元细胞死亡的潜在的细胞和生物化学机制，已发现在动物神经退行和痴呆症模型中，式(I)的化合物对防止和对症治疗认知损伤特别有效。实验数据表明，在病变条件下，式(I)的化合物有效维持和保护许多不同类型的涉及各种神经元机制和大脑区的记忆和认知过程。

[0089] 因此，本发明的一个目的还在于提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，用于防止或降低需要其的受试者的认知损伤。“认知能力”在本文中必须理解为指智力功能，如记忆、感知、协调和推理。特别地，ADAS-Cog是一种综合测试，允许在受试者中测试认知的这些不同方面。本发明的另一个具体目的是提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，用于防止或降低需要其的受试者的短期、中期和/或长期记忆损伤。本发明的另一个具体目的是提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，用于防止或降低需要其的受试者的空间记忆损伤，包括向所述受试者施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐。本发明的另一个具体目的是提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，用于防止或降低在需要其的受试者的识别和/或学习能力中的损伤。在这些目的的每一个的一个具体实施方案中，所述受试者患有、疑似患有、或视为有风险患有中枢神经系统的病变，其选自tau蛋白病、突触核蛋白病、淀粉样蛋白病、阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、多系统萎缩症、亨廷顿氏病、后皮质萎缩症、匹克氏病、癫痫、血管性痴呆症、额颞叶痴呆症、路易体痴呆症、肌萎缩侧索硬化症、科尔萨科夫综合征、酒精戒断、缺血、新生儿缺血、头部受伤或中风，优选阿尔茨海默氏病。

[0090] MMSE和/或ADAS-Cog可以用于容易地监测症状的进展，以及由此监测由根据本发明的用途的式(I)的化合物、或其药学上可接受的盐或其组合获得的神经保护。MMSE评分降低或ADAS-cog增加(或其中一项)表示受测个体的认知能力的恶化。以非限制性方式，据估计，在轻度和中度疾病中，认知表现的平均恶化表示为在MMSE上每年损失2至4个点，在ADAS-Cog上每年增加6至8个点(阿尔茨海默氏病研究所;<http://www.imaalzheimer.com> ADAS-Cog)。ADS-cog在连续两次测试中增加将表明疾病和/或症状正在恶化。MMSE在连续两次测试中降低将表明疾病和/或症状正在恶化。可以每1、2、3、4周，每月，每2、3、4、5、6、7、8、

9、10、11、12个月，或者每年3至4次或者甚至一年一次进行测试。例如，对于相隔一个月进行的两次测试，Adas-Cog的增加小于或等于20％、15％，优选小于或等于10％，或甚至优选小于或等于5％将表示神经保护。例如，对于相隔一个月进行的两次测试，MMSE的降低小于或等于20％、15％，优选小于或等于10％，或甚至优选小于或等于5％将表示神经保护。或者，与通常的病变过程相比，认知症状恶化减缓将表示神经保护。此外，如在综合评分(但不一定是总测试评分)中测量的一种或多种记忆或认知表现类别的评分的恶化减缓，将表示神经保护。在一个具体实施方案中，根据本发明的用途的化合物和组合包括监测受试者在治疗期间的认知状态，优选通过应用MMSE或ADAS-Cog测试。

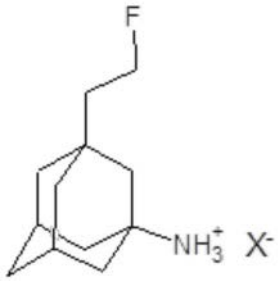
[0091] 如上所述，分析ERP允许监测神经退行症状的进展，因此可以用于监测由根据本发明的用途的式(I)的化合物、或其药学上可接受的盐或其组合获得的神经保护。P300波出现延迟的增加和/或其振幅的降低表示受测个体的认知能力的恶化。因此，P300波延迟的降低和/或其振幅的增加将表示神经保护。在一个具体实施方案中，根据本发明的用途的化合物和组合包括监测受试者在治疗期间的认知状态，优选通过EEG或MEG分析ERP。

[0092] 本发明的另一目的是提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐用于在需要其的受试者中防止或治疗中枢神经系统的病变，其选自tau蛋白病、突触核蛋白病或淀粉样蛋白病(如阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、多系统萎缩症、路易体痴呆症、皮层基底节退行症、匹克氏病、额颞叶痴呆症、后皮质萎缩症)、或病变，如亨廷顿氏病、肌萎缩侧索硬化症、癫痫、血管性痴呆症、科尔萨科夫综合征、酒精戒断、缺血、新生儿缺血、头部受伤或中风，优选阿尔茨海默氏病。本发明的一个具体目的是提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，用于防止或治疗需要其的受试者的阿尔茨海默氏病。该人可以患有轻度(也称为早发性)、中度或晚期的阿尔茨海默氏病。在一个优选的实施方案中，所述受试者患有轻度阿尔茨海默氏病。

[0093] 本发明的另一个目的是提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，用于防止或治疗需要其的受试者的痴呆症。在一个具体实施方案中，受试者患有轻度痴呆症(例如，认知衰退)。

[0094] 本发明的另一目的是提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐用于防止或治疗受试者的兴奋性毒性，所述受试者患有、疑似患有或视为有风险患有中枢神经系统的病变，其选自tau蛋白病、突触核蛋白病或淀粉样蛋白病(如阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、多系统萎缩症、路易体痴呆症、皮层基底节退行症、匹克氏病、额颞叶痴呆症、后皮质萎缩症)、或病变，如亨廷顿氏病、肌萎缩侧索硬化症、癫痫、血管性痴呆症、科尔萨科夫综合征、酒精戒断、缺血、新生儿缺血、头部受伤或中风，优选阿尔茨海默氏病。本发明的一个具体目的是提供式(I)的化合物或其药学上可接受的盐，用于在需要其的受试者中防止或治疗患有阿尔茨海默氏病的受试者的兴奋性毒性。

[0095] 在一个具体实施方案中，式(i)的化合物的药学上可接受的盐选自式(II)的盐：

[0096] 

(II)

[0097] 其中，X^-表示平衡阴离子，其选自氯离子、溴离子、碘离子、乙酸根、甲磺酸根、苯磺酸根、樟脑磺酸根、酒石酸根、二苯甲酸根、抗坏血酸根、富马酸根、柠檬酸根、磷酸根、水杨酸根、草酸根、氢溴酸根和甲苯磺酸根。优选地，平衡阴离子是氯离子。

[0098] 不希望受任何科学理论的束缚，可以认为FENM的这种作用与其NMDA受体拮抗剂的作用相关，因此与其兴奋性毒性调节作用相关。尽管该化合物在结构上与美金刚胺相似，但与美金刚胺不同的是，该化合物具有意想不到的特性，因为该化合物引起显著的神经保护，而美金刚胺则没有。此外，FENM没有美金刚胺在大剂量施用时对记忆的有害作用，这是特别有益的，特别是在导致受影响受试者患有痴呆症和/或认知障碍的神经退行性病变的情况下。因此，可以向受试者施用大剂量的该化合物以在中枢神经系统中达到有效剂量，这对于美金刚胺是不可能的，对于美金刚胺的最大批准剂量(对于Ebixa®是每天20mg)不允许达到NMDA受体在脑脊液(LCR)中的IC_{50}值。最后，与美金刚胺相比，FENM似乎具有完全不同的、意想不到的和更有利的剂量效应曲线。与美金刚胺相比，FENM在动物中在显著更宽的剂量范围内具有活性。与美金刚胺相比，这些出人意料的特性允许考虑大得多的有用剂量范围，从而促进盖伦制剂并获得比美金刚胺更有效的治疗。

[0099] 在一个具体实施方案中，用于在需要其的受试者中的式(I)的化合物、或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物在施用的剂量下对患者没有不良认知作用，特别是遗忘作用。

[0100] 优选地，式(I)的化合物、或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物作为药物制剂，例如，但不限于口服或肠胃外(皮下或静脉内)施用至受试者。特别优选口服施用。

[0101] 在一个实施方案中，式(I)的化合物、或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物以以下口服剂量施用至受试者：在每天1至1,000mg之间(包括端值)、优选在每天5至500mg之间，更优选在每天10至100mg之间，特别优选在每天20至70mg之间，甚至更优选在每天30至60mg之间。

[0102] 在另一个实施方案中，式(I)的化合物、或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物以以下口服剂量施用：每天大于20mg，优选大于或等于每天30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg，或者甚至大于或等于每天100mg。

[0103] 关于在慢性病的情况下获得的神经保护，所述慢性病如中枢神经系统的病变，其选自tau蛋白病、突触核蛋白病或淀粉样蛋白病(如阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、多系统萎缩症、路易体痴呆症、皮层基底节退行症、匹克氏病、额颞叶痴呆症、后皮质萎缩症)或病变(如亨廷顿氏病、肌萎缩侧索硬化症、癫痫、血管性痴呆症或科尔萨科夫综合征)，很容易理解使用式(I)的化合物、或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物治疗受试者，至少只要治疗有效就一直在受试者的整个生命中持续。对于急性病变，如酒精戒断、缺血、新生儿缺血、头部受伤或中风，可以考虑这样的治疗，使得其有时间上的限制。其可以持续1、2、3、4、5、6、

7天，或1、2、3、4周，或2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12个月，或1、2、3、4、5、6年或甚至更长，即只要需要神经保护，特别是针对神经毒性。对于这些急性病变，包含式(I)或(II)的化合物的治疗应尽早实施(例如，在急性病变发生的当日、次日甚至之后的一日)以最佳地防止神经退行。

[0104] 所述剂量可以是单一剂量，即以单一剂量施用至受试者。剂量也可以通过在一天中分散的几次摄入进行施用，一天中的剂量的数量允许获得所需的每日剂量。因此，在一个具体实施方案中，所讨论的剂量可以按照每天摄入一至四次而施用，例如一次，例如两次，例如3次，或甚至4次。

[0105] 在一个具体实施方案中，式(I)的化合物、或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物被包装，用于提供对应于一次摄入的剂量而不需要任何处理操作，如体积测量、称重或将药片分开，这对认知损伤的受试者特别有利，因为这避免了任何特殊处理或计算。

[0106] 在一个实施方案中，式(I)的化合物、或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物为片剂或丸剂形式。在一个具体实施方案中，所述片剂或丸剂可以分成1、2、3或甚至4份，以便能够使用1、2或3份所述片剂为受试者提供一次摄入所需的剂量。这是特别令人感兴趣的，例如，在治疗需要一段时间的剂量递增以达到目标日剂量的情况下，其中该份可以对应于增量并且整个片剂或丸剂对应于治疗的目标剂量。

[0107] 在一个具体实施方案中，包括施用式(I)的化合物、或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物的治疗包括剂量递增阶段，以允许受试者习惯于治疗。该阶段发生在治疗开始时、或治疗中断后恢复时。在该阶段期间，每日剂量有规律地增加，直到达到患者耐受的最大剂量或医生规定的最大剂量。例如，剂量递增增量可以是2、3、4、5、6、7或更多天，优选递增增量是7天，以及剂量可以在每次增量中增加5mg，或10mg或更多，优选5mg。因此，在一个具体实施方案中，剂量每周增加5mg，直到达到受试者耐受的最大剂量或医生规定的剂量。在另一个实施方案中，剂量每周增加10mg，直到达到受试者耐受的最大剂量或医生规定的剂量。

[0108] 在另一个实施方案中，式(I)的化合物、或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物配制为液体形式。然后，可以将其作为单位剂量包装在容器(如安瓿)中、或在与装置相连的容器(如瓶子)中，所述装置允许提取获得足够剂量所需的体积并任选地施用。

[0109] 尽管当FENM在单独使用时在需要其的受试者中有效地引起神经保护，但是将FENM与至少一种其他化合物组合也是让人感兴趣的，所述其他化合物已知在神经保护或神经退行性病变的对症治疗中同样有益。更具体地说，这些是复杂的疾病，涉及许多不同的生化途径和细胞机制，在某些情况下，通过组合的多效性作用与目标相关，以获得更大的治疗疗效和/或允许减少剂量和/或减少不良反应。

[0110] 乙酰胆碱酯酶抑制剂是一种分子，其已被批准超过二十年用于对症治疗阿尔茨海默氏病、与帕金森氏病相关的痴呆症或其他神经退行性痴呆症。通过减缓/抑制对从完整胆碱能神经元释放的乙酰胆碱的降解，这些抑制剂视为促进胆碱能神经传递，因此对在阿尔茨海默氏病、或与帕金森氏病相关的痴呆症期间依赖于这些胆碱能途径的认知缺陷具有有利作用。使用的乙酰胆碱酯酶抑制剂有多奈哌齐、利斯的明和加兰他敏。他克林(tacrine)不太理想，特别是因为其肝毒性。

[0111] 因此，本发明的一个目的是提供一种组合用于在需要其的受试者中引起神经保

护,所述组合包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物、和至少一种乙酰胆碱酯酶抑制剂,其优选选自多奈哌齐、利斯的明、加兰他敏或其药学上可接受的盐。在一个具体实施方案中,所述受试者患有、疑似患有或有风险患有阿尔茨海默氏病。

[0112] 连接蛋白调节剂,更具体地说是甲氟喹,正在用于阿尔茨海默氏病的对症治疗的临床试验中进行测试。该试验的重点是多奈哌齐与甲氟喹的联合治疗。发现甲氟喹对连接蛋白,特别是对参与星形胶质细胞间隙接合的连接蛋白43具有调节作用。星形胶质细胞在支持SNC中的神经元中发挥作用,而且也在通过三联突触进行信息传递和神经元活动中发挥作用。多奈哌齐和甲氟喹之间的协同作用已被报道,允许多奈哌齐以较低的剂量施用并产生更快的作用。

[0113] 因此,本发明的一个目的是提供一种组合用于在需要其的受试者中引起神经保护,所述组合包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物、和至少一种连接蛋白调节抑制剂。WO 2013/064579或WO 2010/029131申请中列出的连接蛋白调节剂通过参考并入本文。因此,本发明的一个具体目的是提供一种组合,其包含式(I)的化合物、或其药学上可接受的盐、或式(II)的化合物和至少一种连接蛋白调节剂,如在WO 2013/064579或WO 2010/029131申请中列出的那些。在一个优选的实施方案中,所述至少一种连接蛋白调节剂选自甲氯芬那酸、依诺酮、甲氟喹和硼酸2-氨基乙氧基二苯酯(APB)或其药学上可接受的盐。甚至更优选地,所述连接蛋白调节剂是甲氯芬那酸。在一个具体实施方案中,所述受试者患有、疑似患有或有风险患有阿尔茨海默氏病。

[0114] 本发明的一个具体目的还在于提供一种组合用于在需要其的受试者中引起神经保护,所述组合包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物、至少一种连接蛋白调节剂(如在WO 2013/064579或WO 2010/029131申请中列出的那些)以及至少一种乙酰胆碱酯酶抑制剂。在一个优选的实施方案中,所述至少一种连接蛋白调节剂选自甲氯芬那酸、依诺酮、甲氟喹和硼酸2-氨基乙氧基二苯酯(APB)、或其药学上可接受的盐。甚至更优选地,所述连接蛋白调节剂是甲氯芬那酸。在一个优选的实施方案中,所述至少一种乙酰胆碱酯酶抑制剂选自多奈哌齐、利斯的明和加兰他敏。在一个更优选的实施方案中,所述至少一种乙酰胆碱酯酶抑制剂是多奈哌齐。在一个特别优选的实施方案中,所述用于在需要其的受试者中引起神经保护的组合包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物、甲氯芬那酸或其药学上可接受的盐、以及多奈哌齐或其药学上可接受的盐。在一个具体实施方案中,所述受试者患有、疑似患有或有风险患有阿尔茨海默氏病。

[0115] 尽管旨在减少淀粉样斑块形成、或防止或降低Tau蛋白的过度磷酸化的几种基于单克隆抗体的疗法在临床试验中失败,但这种策略仍然是寻找治疗阿尔茨海默氏病的积极途径。阿达卡努单抗是一种重组人抗体,相较于非致病性的Aβ单体,阿达卡努单抗对Aβ的可溶性和不溶性的寡聚的原纤维状聚集体表现出优异的选择性(Arndt等人,2018)。阿达卡努单抗目前正在临床试验中用于治疗阿尔茨海默氏病。

[0116] 因此,本发明的一个目的是提供一种组合用于破坏淀粉样斑块形成、或防止或降低Tau蛋白的过度磷酸化,所述组合包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物、和基于抗体的疗法。本发明的一个具体目的是提供一种组合用于在需要其的受试者中引起神经保护,所述组合包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物、以及能够对抗β-淀粉样聚集体、其片段或其寡聚物的毒性的阿达卡努单抗或其抗原结

合片段。在一个具体实施方案中，所述受试者患有、疑似患有或有风险患有阿尔茨海默氏病或路易体痴呆症。

[0117] σ_1受体激动剂目前正在开发用于若干神经退行性适应症。σ_1受体激动剂获得的神经保护作用已在阿尔茨海默氏病的某些模型中观察到，而且也在其他病变，如帕金森氏病、亨廷顿氏病和肌萎缩侧索硬化症中观察到。这些激动剂中的一些已被证明具有神经保护作用(Meunier等人，2006；Maurice等人，2019)。WO 2017/191034申请中显示了σ_1受体激动剂的家族和神经保护化合物。该申请中的化合物并入本文以供参考。此外，PRE-084(2-吗啉代-4-基乙基1-苯基环己烷-1-羧酸酯)、(+)-喷他佐辛)、(+)-SKF10,047(1,13-二甲基-10-丙基-2-烯基-10-氮杂三环[7.3.1.$0^{2,7}$]十三烷-2(7),3,5-三烯-4-醇)、SA4503(1-[2-(3,4-二甲氧基苯基)乙基]-4-(3-苯基丙基)哌嗪)；1-(2,2-二苯基四氢-3-呋喃基)-N,N-二甲基甲胺；氟伏沙明(fluvoxamine)(2-{[(E)-{5-甲氧基-1-[4-(三氟甲基)苯基]亚戊基]氨基]氧基}乙胺)、4-IBP(N-(1-苄基哌啶-4-基)-4-碘代苯甲酰胺)、伊格美新(igmesine)((5E)-N-(环丙基甲基)-N-甲基-3,6-二苯基-5-己烯-3-胺)、OPC-14523(1-{3-[4-(3-氯苯基)-1-哌嗪基]丙基}-5-甲氧基-3,4-二氢-2(1H)-喹啉酮)、BD-737((1S,2R)-N-[2-(3,4-二氯苯基)乙基]-N-甲基-2-(1-吡咯烷基)环己胺)、BHDP(6-[(4-苄基哌嗪-1-基)甲基]-2,3-二甲氧基苯酚)、普利多匹啶(pridopidine)(4-(3-(甲基磺酰基)苯基)-1-丙基哌啶)已知为其他σ_1受体激动剂。

[0118] 因此，本发明的一个目的因此是提供一种组合，其包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物、和至少一种σ_1受体激动剂，如在WO 2017191034申请中所列举的那些，或选自：PRE-084(2-吗啉代-4-基乙基1-苯基环己烷-1-羧酸酯)、(+)-喷他佐辛、(+)-SKF10,047(1,13-二甲基-10-丙基-2-烯基-10-氮杂三环[7.3.1.$0^{2,7}$]十三烷-2(7),3,5-三烯-4-醇)、SA4503(1-[2-(3,4-二甲氧基苯基)乙基]-4-(3-苯基丙基)哌嗪)、1-(2,2-二苯基四氢-3-呋喃基)-N,N-二甲基甲胺、氟伏沙明(2-{[(E)-{5-甲氧基-1-[4-(三氟甲基)苯基]亚戊基]氨基]氧基}乙胺)、4-IBP(N-(1-苄基哌啶-4-基)-4-碘代苯甲酰胺)、伊格美新((5E)-N-(环丙基甲基)-N-甲基-3,6-二苯基-5-己烯-3-胺)、OPC-14523(1-{3-[4-(3-氯苯基)-1-哌嗪基]丙基}-5-甲氧基-3,4-二氢-2(1H)-喹啉酮)、BD-737((1S,2R)-N-[2-(3,4-二氯苯基)乙基]-N-甲基-2-(1-吡咯烷基)环己胺)、BHDP(6-[(4-苄基哌嗪-1-基)甲基]-2,3-二甲氧基苯酚)、普利多匹啶(4-(3-(甲基磺酰基)苯基)-1-丙基哌啶、或其药学上可接受的盐，用于在需要其的受试者中引起神经保护。在一个具体实施方案中，所述至少一种σ_1受体激动剂选自2-(2-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷；2-(4-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷；2-(3,5-二氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷；2-(2,3-二氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷；2-(3-氟苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷；2-(4-氟苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷；2-(3-硝基苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷；2-(4-苄氧基氨基甲酰基苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷；2-(吡啶-2-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷；2-(吡啶-3-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷；2-(吡啶-4-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷；2-(嘧啶-2-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷；2-(嘧啶-5-基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷；2-(3-氨基苯基)-

2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(4-氨基苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氯苯基)-N-甲基-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氯苯基)-2-硫羰基-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷;2-(3-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷、PRE-084(2-吗啉代-4-基乙基1-苯基环己烷-1-羧酸酯)、(+)-喷他佐辛、(+)-SKF10,047(1,13-二甲基-10-丙基-2-烯基-10-氮杂三环[7.3.1.$0^{2,7}$]十三烷-2(7),3,5-三烯-4-醇)、SA4503(1-[2-(3,4-二甲氧基苯基)乙基]-4-(3-苯基丙基)哌嗪)、1-(2,2-二苯基四氢-3-呋喃基)-N,N-二甲基甲胺、氟伏沙明(2-{[(E)-{5-甲氧基-1-[4-(三氟甲基)苯基]亚戊基]氨基]氧基}乙胺)、4-IBP(N-(1-苄基哌啶-4-基)-4-碘代苯甲酰胺)、伊格美新((5E)-N-(环丙基甲基)-N-甲基-3,6-二苯基-5-己烯-3-胺)、OPC-14523(1-{3-[4-(3-氯苯基)-1-哌嗪基]丙基}-5-甲氧基-3,4-二氢-2(1H)-喹啉酮)、BD-737((1S,2R)-N-[2-(3,4-二氯苯基)乙基]-N-甲基-2-(1-吡咯烷基)环己胺)、BHDP(6-[(4-苄基哌嗪-1-基)甲基]-2,3-二甲氧基苯酚)、普利多匹啶(4-(3-(甲基磺酰基)苯基)-1-丙基哌啶)或其药学上可接受的盐,优选2-(3-氯苯基)-2-氧代-3,3,5,5-四甲基-[1,4,2]-氧氮杂膦烷,或其药学上可接受的盐。PRE-084(2-吗啉代-4-基乙基1-苯基环己烷-1-羧酸酯)或其药学上可接受的盐也是优选的。在一个具体实施方案中,所述至少一种σ_1受体激动剂是对映体纯形式。在一个具体实施方案中,所述至少一种σ_1受体激动剂是外消旋混合物的形式。在一个具体实施方案中,所述受试者患有、疑似患有或有风险患有阿尔茨海默氏病。

[0119] 对于根据本发明的每种组合,每种化合物都适用于如上定义的同时、分开或交错施用,这取决于这些化合物的特异性,但也优选以这样的方式使得这些化合物或其活性代谢物同时发挥其生物学作用,使得受试者受益于所述组合的最大效果。

[0120] 本发明的一个目的还在于提供一种药物组合物,其包含至少一种式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或式(II)的化合物,单独或与另一种活性成分的组合,所述组合物特别适用于根据提到的各种实施方案获得神经保护。

[0121] 实施例

[0122] 缩略语

[0123] $A\beta_{25-35}$:APP肽的序列Nt-GSNKGAIIGLM-Ct(SEQ ID NO 1)的11个氨基酸的片段。

[0124] Sc AC_{25-35}:或Sc Aβ、对照肽,其包含$A\beta_{25-35}$的11个氨基酸,序列为随机顺序Nt-MAKGINGISGL-Ct(SEQ ID NO 2)。

[0125] YMT:Y-迷宫自发交替测试。

[0126] PAT:被动回避测试或步进被动回避测试。

[0127] ORT:物体识别测试。

[0128] WMT:莫里斯水迷宫测试。

[0129] icv:脑室内。

[0130] i.p.:腹膜内。

[0131] SNC:中枢神经系统。

[0132] Iba-1:离子钙结合衔接分子1。

[0133] GFAP:胶质纤维酸性蛋白。

[0134] RaD:辐射层(Rad)。

[0135] Mol:分子层(Mol)。

[0136] PoDG:齿状回的多形层。

[0137] LPtA:外侧顶叶联合区(LPtA)。

[0138] 1.材料和方法

[0139] 动物实验是根据欧盟第2010/63号指令的规定进行,并得到法兰西共和国国家伦理委员会(CCNE)的正式批准。

[0140] 1.1.动物

[0141] 在7至9周龄的雄性Swiss CD-1(RjOrl:SWISS)小鼠或C57Bl/6j小鼠(Janvier,Le Genest-Saint-Isle,法国)上进行体内实验。动物被圈养在塑料笼中,每组8-10个个体,在受控环境(23±1℃,40-60%湿度,12小时昼/夜循环)中自由进食和饮水。除了用C57Bl/6j基因型小鼠进行hameau测试(见下文)外,所有实验均使用Swiss小鼠进行。

[0142] 1.2.测试化合物和肽

[0143] 美金刚胺和FENM(测试化合物)的原液。

[0144] 使用美金刚胺盐酸盐(Sigma-Aldrich,Saint-Quentin-Fallavier,法国)。FENM盐酸盐(FENM HCl)由M2i Life Sciences(Saint-Cloud,法国)合成。通过在NaCl缓冲液(0.9%,载剂)中溶解获得化合物的原液,浓度为2ng/mL,相当于每100μL中10mg/Kg的剂量。原液在4℃下储存至多2周。

[0145] 淀粉样肽[25-35]的原液;寡聚物的形成。

[0146] 淀粉样肽[25-35],表示为$A\beta_{25-35}$(供应商:Polypeptide,Illkirch,法国或Eurogentec,Angers,法国),以3mg/mL的浓度溶解在无菌蒸馏水中,并将所得原液等分并储存在-20℃直至使用。

[0147] 注射载剂溶液(蒸馏水)与注射Sc Aβ(对照肽)一样缺少效果,所述Sc Aβ包含与$A\beta_{25-35}$相同但顺序随机的氨基酸,并且不会寡聚化。

[0148] 如Maurice等人(1996)所述,$A\beta_{25-35}$的寡聚物在37℃中孵育4天形成。载剂溶液或对照肽在施用前经过相同的处理。

[0149] 施用至动物

[0150] 以0.1至10mg/Kg的剂量范围通过腹膜内向动物施用测试化合物(美金刚胺、FENM HCl)。

[0151] 3μL的$A\beta_{25-35}$寡聚物溶液(载剂、无菌蒸馏水或Sc Aβ)通过脑室内(icv)注射施用至小鼠,描述见于,尤其是Maurice等人(1996)、Meunier等人(2006)或Villard等人(2009)。

[0152] 1.3.实验设计:对症治疗和神经保护

[0153] $A\beta_{25-35}$寡聚物的icv注射模型是现有技术中公知的模型。已知$A\beta_{25-35}$寡聚物对小鼠的神经元细胞具有细胞毒性,引起空间和工作记忆损伤。这种缺陷伴随特别是在海马体中产生线粒体应激、氧化应激和细胞凋亡,以及伴随中枢神经系统的炎症。$A\beta_{25-35}$肽也包含在$A\beta_{1-40}$或$A\beta_{1-42}$肽中,已在人中检测到针对这些短片段的自身抗体(Gruden等人,2007)。此外,与使用最广泛使用的阿尔茨海默氏病的转基因小鼠模型的研究相比,该模型具有明显的预测有效性(Maurice等人,2013;Rodriguez-Cruz等人,2017)。因此,尽管疾病发作迅速,但该模型视为是用于化合物的神经保护活性的相关筛选模型,特别是阿尔茨海默氏病的相关一线模型。至少有一种主要在该模型上进行研究的分子(Villard等人,2009、2011)在临床试

验中被证明是有效的(Hampel等人,2020),目前正处于3期。

[0154] 图1是根据$A\beta_{25-35}$寡聚物和测试化合物的icv施用的日期,不同测试顺序的图表说明。

[0155] 对测试化合物在降低$A\beta_{25-35}$寡聚物引起的神经退行的认知症状的能力进行测试,即它们提供对症抗遗忘治疗的能力(图1A和图1B)。简而言之,为了对测试化合物的对症效果进行测试,在$A\beta_{25-35}$寡聚物进行icv注射后8天施用测试化合物,进行YMT和PAT记忆测试前30分钟进行施用,或者在MWT或ORT的情况中,是在测试前30分钟但在训练时间段(session)之后(图1A)。Hameau(Hamlet测试®,图1B)包括为期2周的训练时间段(4小时/天),然后是在水剥夺条件和正常条件下进行的测试(最多10分钟);在第一次测试后注射$A\beta_{25-35}$肽。一周后,施用化合物,在注射后30分钟,进行水剥夺条件和正常条件下的第二次测试。该测试测量空间时间迷失,这是阿尔茨海默氏病的主要警示性体征(Crouzier等人,2018)。

[0156] 还测试了该化合物的神经保护作用,即其保护细胞免受$A\beta_{25-35}$寡聚物的神经毒性和神经退行的能力(图1C)。因此,在注射$A\beta_{25-35}$寡聚物的同一天施用测试化合物,并继续每天施用直至注射寡聚物之后第7天,在此时小鼠经受YMT、PAT、MWT或ORT。对在D13处死的小鼠,分析大脑的解剖结构,并通过免疫组织化学进行神经元细胞计数。在D16,对一组接受WMT的小鼠进行对于氧化应激和凋亡的标记物定量的生化分析(图1C)。

[0157] 因此,在一种情况下,允许$A\beta_{25-35}$寡聚物在实施治疗之前发挥其神经毒性并引起神经退行,而在另一种情况下,评估化合物在防止这种级联事件,从而防止神经退行和细胞死亡的能力。

[0158] 1.4.认知/行为测试

[0159] T迷宫自发交替测试(YMT)

[0160] 自发交替测试用于评估啮齿动物的空间工作记忆(极短期记忆)。迷宫由灰色不透明聚氯乙烯(PVC)制成。每只臂长40cm,高13cm,底部宽3cm,顶部宽10cm。在不同的臂之间,臂以相等的角度相互会聚。简而言之,每只小鼠都被放在一只臂的末端,允许在8分钟的时间段内自由地移动。小鼠进入每只臂,包括进入该小鼠被放置在其末端的臂,都会被记录下来。交替定义为动物连续进入三个不同的臂。因此,最大交替数是进入每个臂的总次数减去2,交替百分比根据以下式计算:

[0161] %交替=真实的交替次数/最大交替次数×100

[0162] 测量的参数包括交替百分比(记忆指数)和进入迷宫臂的总次数(探索指数,Maurice等人,1994,1996;Meunier等人,2006,2013;Villard等人,2009,2011)。来自表现出极端行为的动物的数据(交替百分比<25%或>90%,或进入次数小于10)被排除在计算之外。流失率通常为5%。在正常情况下,小鼠将会自发地交替探索每只臂。记忆和/或方向能力受损的小鼠将具有较低的交替百分比。

[0163] 被动回避测试(PAT)

[0164] 该测试是测量非空间(背景)的长期记忆。用于此测试的设备是有两个隔间(15×20×15cm高)的盒子,一个具有白色PVC墙壁的有照明的,另一个在黑暗中具有黑色PVC墙壁和网格地板。闸门将隔间分隔开。60W的灯位于盒子上方40cm处,照亮白色隔间。可以使用发电机(Lafayette Instruments,Lafayette,USA)将电击(0.3mA,持续3s)传递到网格地板上。测试包括训练时间段和测试时间段。闸门在训练时间段内是关闭的。将每只小鼠放在白

色的隔间里。5秒后，将门升起。当小鼠进入黑暗的隔间并将所有四只脚都与网格地板接触时，将门关闭并进行3秒的电击。记录小鼠重新进入黑暗隔间所花费的时间(STL-Tg)和发声次数。在训练时间段后24小时进行测试时间段。将每只小鼠重新放回在有照明的白色的隔间里。在将门升起5秒后，测量步进延迟(STL-R)，即小鼠进入黑暗隔间所花费的时间。最长持续时间为300秒。STL-Tg>30s、或STL-Tg和STL-R<10s的小鼠不考虑用于测试。流失率通常为5％(Meunier等人，2006、2013；Villard等人，2009、2011)。记忆力受损的小鼠的STL-R低于记忆力正常的小鼠。

[0165] 物体识别测试

[0166] 该测试用于评估识别记忆力(Rodríguez Cruz等人，2017；Maurice等人，2019)。将每只小鼠放置在方形场(arène)(50×50cm^2)中。在时间段1中，允许小鼠适应环境10分钟。在时间段2(即时间段1之后24小时)中，两个相同的物体放置在场的对角线之一的1/4(位置1)和3/4(位置2)。记录动物鼻子的探索行为、活动和位置达10分钟(Nosetrack®软件，Viewpoint，Lissieu，法国)。测量与物体接触的次数及其持续时间。在时间段3(即时间段2后一小时)中，在位置2的物体被形状、颜色和质地不同的新物体取代。然后，还记录每只小鼠的探索行为10分钟。与物体没有接触或少于10次接触的动物被从研究中剔除。

[0167] 使用以下式计算探索指数：

[0168] $$\text{探索指数} = \frac{\text{与物体2接触的次数（或持续时间）}}{\text{与两个物体接触的总次数（或持续时间）}}$$

[0169] 该测试基于小鼠天生的探索行为。其用于测量涉及大脑许多区的识别记忆。记忆力受损的小鼠在其探索行为中不太可能选择物体2。

[0170] 空间学习(莫里斯水迷宫)测试

[0171] 该测试用于评估长期空间参考记忆。该测试在现有技术中是公知的，并且描述特别见于Rodríguez Cruz等人(2017)和Maurice等人(2019)。它由两个阶段-习得阶段和测试阶段组成。在习得阶段，水池呈圆形(直径140cm)，10cm的平台浸没在水面下。标记物放置在水池周围，以帮助动物找到其路径。记录动物的游泳行为(Videotrack®软件，Viewpoint)，并测量游过的轨迹、延迟和所走距离。习得阶段包括每天3次游泳的时间段，持续5天。动物的起始位置是从北、南、东和西的基点中随机选择的。允许每只动物在90秒内找到位于东北象限中间的水下平台，水用白粉悬浮液变得不透明。将动物留在平台上20秒。将90秒后仍未找到平台的动物放在平台上，并在那里放置20秒。计算每个训练日的中位延迟(找到平台所花费的时间)，并将该组表示为平均延迟±标准差。在最后一次训练时间段后72小时，进行保留探查测试。在本次测试中移除该平台。将每只小鼠在水中停留60秒，记录其游泳行为。测量在东北象限(最初包含平台(T)的象限)中花费的时间，并将其与在其他象限(o)中花费的平均时间进行比较。

[0172] 空间参考记忆力受损的小鼠在训练阶段中将在包含平台的象限中花费更少的时间(作为在其他象限中花费的时间的部分)，甚至与机会水平(15秒)相比，没有显著增加时间量。

[0173] 地形记忆，hameau测试

[0174] 该测试旨在测量小鼠在复杂环境中的地形记忆。其基于动物对复杂且丰富环境的熟悉，并在这种丰富的环境中通过习得卓越的记忆和社会功能来学习(Crouzier等人，

2018)。

[0175] 直径为1.2米的Hamlet测试®装置包括中央广场(集市)和从中央广场辐射出去并通向功能化的隔间或笼舍的街道,这些隔间或笼舍允许满足生理功能或者使环境丰富。Hameau的墙壁和街道由对红外线透明的PVC制成,测试室均匀照明(200Lux),红外二极管放置在hameau的地板下,红外摄像机记录动物的行为。集市是聚会场所以及训练和测试时间段的起点。这些笼舍编码(encodent)基本的生理功能,包含颗粒(进食笼舍)、水(饮水笼舍)、Novomaze® (Viewpoint)迷宫(隐藏笼舍)、跑轮(跑动笼舍)或隔离陌生小鼠的分隔网格(互动笼舍)。

[0176] 该测试由Crouzier等人描述(2018a和b)。简而言之,在为期两周的训练阶段,来自同一笼舍的动物每天被放置在hameau中4小时。在最后一次训练时间段后72小时的测试阶段(PTO),在小鼠被剥夺饮水之后(前一天晚上,即测试前15小时,将瓶子移除),测试地形记忆。比较动物到达饮水笼舍的表现水平以及同一动物在第二天在没有剥夺饮水情况下重新测试的表现水平。将动物在10分钟的时间段中单独放置在hameau中。记录探索行为以及找到饮水笼舍所花费的时间和错误次数(进入没有通往饮水笼舍的街道的次数)。在测试阶段后2小时,注射寡聚化的$A\beta_{25-35}$肽或对照和测试化合物(图1B)。7天后重复测试阶段。计算每个变量的迷失指数(DI)(找到饮水笼舍的时间、错误次数):

[0177] $$DI = \frac{\text{在A}\beta\,25\text{-}35\text{寡聚物注射前的表现}}{\text{在A}\beta\,25\text{-}35\text{寡聚物注射后的表现}} - \frac{\text{在载剂注射前的表现}}{\text{在载剂注射后的表现}}$$

[0178] 1.5.生化分析

[0179] 膜中的脂质过氧化

[0180] 如图1C所示,在$A\beta_{25-35}$注射后15天,将小鼠在行为测试后通过断头术处死。将小鼠的大脑取出,将海马体分离出,称重并冷冻在-80℃等待生化分析。

[0181] 通过定量Fe^{3+}-二甲苯酚橙复合物以测量样本中存在的氢过氧化物的量:在酸性介质中,氢过氧化物将Fe^{2+}氧化为Fe^{3+}。Fe^{3+}与二甲苯酚橙形成有色复合物,通过测量有色复合物在580nm处的吸光度对有色复合物的形成进行定量。

[0182] 将海马体解冻后,在冷甲醇(1/10w/v)中匀浆,以1000g离心5分钟,收集上清液。将匀浆添加到含有$FeSO_4$(0.25mM)、H_2SO_4(25mM)和二甲苯酚橙(0.1mM)的溶液中,在环境温度中孵育30分钟。测量在580nm处的吸光度($A_{580}1$),添加10μl的氢过氧化异丙基苯(CHP,1mM),将整体在环境温度中孵育30分钟。再次测量580nm处的吸光度($A_{580}2$)。使用以下的式以CHP当量(CHP eq.)确定脂质过氧化的水平:

[0183] $$\text{CHP eq.} = \frac{A_{580}1}{A_{580}2} \times [\text{CHP (nmol)}] \times \text{稀释倍数}$$

[0184] CHP eq.表示为单位组织的质量,表示为对照组值的百分比。

[0185] ELISA测试、炎症的定量和凋亡标记物

[0186] 在小鼠海马体中通过ELISA测试测量白介素6(IL-6)(细胞因子炎症标记物)、以及凋亡标记物Bcl2和Bax蛋白的水平(在下表1中列出)。Bcl2通常被称为抗凋亡标记物,Bax称为促凋亡标记物。在每种条件下使用6-8只动物的两个海马体。将组织在细胞裂解缓冲液(1mL,3 IS007,Cloud-Clone)中解冻后并在冰上超声处理(2×10s)进行均质化。离心(10,000g,5分钟,4℃)后,将含有待测标记物的上清液等分并储存在-80℃,直到根据供应商的

说明进行ELISA测试。结果表示为每mg总蛋白中标记物的纳克数，以及表示为对照(未受Aβ_{25-35}中毒且未用测试化合物处理的小鼠)的百分比。

[0187] 表1

[0188]

标记物	供应商	参考号
IL-6	Cloud-Clone Corp	SEA079MU
Bax	Cloud-Clone Corp	SEB343MU
Bcl-2	Cloud-Clone Corp	SEA778MU

[0189] 1.6.免疫组化分析

[0190] 组织切片的制备

[0191] 如图1C所示，在第13天，对于每个实验条件，将5-6只小鼠安乐死以进行这些研究。这些小鼠在之前通过i.p.注射200μL的氯胺酮(80mg/Kg)和甲苯噻嗪(10mg/Kg)溶液进行麻醉，然后通过心内灌注50mL盐水溶液和随后50mL的Antigenfix®固定剂(Diapath)固定组织。将样本在4℃中在固定剂中再保存48小时，然后将小鼠大脑储存在含30％蔗糖的PBS溶液中，然后切片。

[0192] 对大脑的每个区进行切片，特别是皮质、大细胞基底核和海马体(即，根据小鼠大脑的立体定位坐标，在前囟+1.8至前囟-2.8之间，Paxinos等人，2004)。用冷冻切片机(Microm HM 450，Thermo Fisher)切割厚度为25μm的连续冠状切片，并在-20℃下储存在冷冻保护溶液中。

[0193] CA1区的活神经元的定量

[0194] 在阿尔茨海默氏病的患者中，据报道CA1区域中的神经元降低(CA3区域的神经元减少程度较小)。在icv注射Aβ_{25-35}寡聚物的小鼠模型中，也观察到这种降低。为了定量小鼠海马体的CA1区域中的活神经元，将相应的切片用甲酚紫(0.12％，Sigma-Aldrich)染色，用乙醇脱水，用二甲苯处理并用封固介质(Mountex介质，BDH Laboratory供应商)进行封固，在24℃环境温度中干燥。记录并分析图像(Nanozoomer虚拟显微镜系统，Hamamatsu，Massy，法国)。在20×放大倍率下测量CA1区的厚度和锥体神经元的数量(ImageJ v1.46软件(NIH)的细胞计数宏)。数据表示为每只小鼠的4-6个海马体切片的每mm^2中的活细胞数量(Rodríguez Cruz等人，2017；Maurice等人，2019)。

[0195] 炎症标记物GFAP和Iba-1的免疫组织化学定量

[0196] 小胶质细胞通常表现为SNC的巨噬细胞。其在响应病变情况时增殖并变得活跃。小胶质细胞可以分泌细胞因子或活性氧，因此对兴奋性毒性现象负有部分责任。它们也是病变性神经炎症的标记物。Iba-1标记特异于SNC中的小胶质细胞。GFAP蛋白是星形胶质细胞中间丝的组分，用作星形胶质细胞的标记物。星形胶质细胞在神经元的功能和结构支持中发挥作用。然而，星形胶质细胞也参与神经炎症，并可以产生多种具有神经毒性活性的细胞因子。

[0197] 以常规方式进行免疫组织化学标记。简而言之，将分别稀释250倍和400倍的兔多克隆抗Iba-1抗体(参考号019-19741，Wako)和小鼠单克隆抗GFAP抗体(参考号G3893，Sigma-Aldrich)用于标记小胶质细胞和星形胶质细胞。在4℃中进行标记过夜。在环境温度下，与稀释1000倍的Cy3偶联抗兔二抗和Alexa Fluor488偶联的抗小鼠二抗进行杂交一小时。然后将切片在10ug/mL的DAPI溶液中孵育5分钟。用PBS洗涤后，将切片固定在封固液

(ProLong、ThermoFischer)中,使用共聚焦荧光显微镜(Leica SPE)对海马体的不同子区域(如辐射层(Rad)、分子层(Mol)、齿状回的多形层(PoDG))以及对皮质、外侧顶叶联合区(LPtA))拍摄每个切片的图像。已知这些区域是$A\beta_{25-35}$寡聚物引起的星形胶质细胞增生和小胶质细胞增生的位点(Maurice等人,2019)。

[0198] 1.7.统计分析

[0199] 使用Prism v5.0(GraphPad Software,San Diego,CA,USA)进行分析。使用单因素方差分析(ANOVA,F值)分析数据,之后进行邓尼特氏检验。被动回避测试中的延迟通过非参数Kruskal-Wallis测试(ANOVA(H值)),然后是邓尼特氏检验进行分析。在莫里斯水迷宫测试中,使用单样本t检验分析在T或o象限中花费的时间,以获取探查测试vs.15秒的数据。对物体识别测试的时间段3的数据也是如此,根据探索物体所花费的时间以及与物体的接触次数vs.50%进行偏好分析。统计显著性水平为:$p<0.05$、$p<0.01$和$p<0.001$。

[0200] 2.结果

[0201] 2.1.神经保护和防止炎症、凋亡和氧化应激

[0202] 在海马体中的炎症、凋亡和氧化应激的生化标记物。

[0203] 通过测量海马体中的炎症标记物(IL-6,图2A)、凋亡标记物(Bax和Bcl-2,以及Bax/Bl-2比率,图2C)和氧化应激(脂质过氧化,图2B)的水平,在生化水平上评估美金刚胺和FENM的神经保护作用。

[0204] 与未处理的未中毒的小鼠相比,在$A\beta_{25-35}$寡聚物中毒的未处理的小鼠的海马体中,在中毒后5天观察到在IL-6(促炎细胞因子)水平上显著增加83%,这证实了$A\beta_{25-35}$寡聚物中毒引起神经炎症。与中毒但未处理的小鼠相比,用美金刚胺(0.3mg/Kg)处理小鼠并未使IL-6水平显著降低。与之相反,相较于未处理的中毒的小鼠的水平,在用FENM处理的小鼠海马体中观察到的IL-6水平显著更低,并且达到与未处理的未中毒的小鼠观察到的同级水平。(图2A)。因此,FENM防止了$A\beta_{25-35}$寡聚物引起的炎症。

[0205] 正如预期的那样(Maurice等人,2013),在中毒组中未观察到抗凋亡蛋白Bcl2水平的显著增加(未显示)。由于$A\beta_{25-35}$寡聚物中毒,Bax蛋白水平显著增加(未显示)。美金刚胺(0.3mg/Kg)和FENM(0.3mg/Kg)显著减少了这种增加(与中毒的未处理组相比)(未显示)。尽管如此,只有用FENM(0.3mg/Kg)处理小鼠才显著降低了Bax/Bcl-2比率,而在未用FENM处理的小鼠中,由于$A\beta_{25-35}$中毒,Bax/Bcl-2比率显著增加(图2C),Bax/Bcl-2在现有技术中已知是细胞凋亡的潜在标记物。因此,如增加的Bax/Bcl-2比率所确定的,只有FENM可以防止由$A\beta_{25-35}$寡聚物引起的凋亡。

[0206] 还观察到,用FENM(0.3mg/Kg i.p.)处理维持了海马体的CA1区的活神经元的数量,并抵消寡聚物中毒的小鼠中该区厚度的增加,然而未处理的中毒的小鼠显示出在CA1区的活细胞数量降低13%,与CA1区厚度增加12%相关(未显示)。因此,FENM防止了$A\beta_{25-35}$寡聚物引起的海马体细胞和结构改变。

[0207] 与凋亡相关,线粒体功能障碍也是氧化应激的来源。脂质过氧化是氧化应激的长期标记物。正如预期的那样,$A\beta_{25-35}$寡聚物中毒引起在中毒的小鼠的海马体细胞中脂质过氧化水平显著增加(+47%,图2B)。美金刚胺(0.3mg/Kg)不会显著降低脂质过氧化水平,因此无法有效地防止$A\beta_{25-35}$寡聚物中毒引起的氧化应激。在用FENM(0.3mg/Kg)处理的小鼠的海马体中观察到,水平与对照组(未中毒、未处理)的水平相当,并且显著低于中毒但未处理的

小鼠的水平。因此，与美金刚胺相比，只有FENM能够防止在中毒的小鼠中观察到的氧化应激(通过脂质过氧化测量)。

[0208] 因此，针对$A\beta_{25-35}$寡聚物引起的凋亡和炎症，只有FENM能够提供有效的神经保护(在强度和统计显著性方面)。

[0209] 通过免疫组化观察神经炎症。

[0210] $A\beta_{25-35}$寡聚物中毒引起皮质中GFAP(图3，星形胶质细胞增生)和Iba-1(图4，小胶质细胞增生)标记大幅度且显著地增加(与未中毒的小鼠相比)(LPtA，分别为+110％和+55％)。在研究的三个区(Rad、Mol和PoDG)中，在中毒的小鼠的海马体中也观察到GFAP和Iba-1的增加；在Rad(+68％)和Mol(+52％)中的GFAP标记增加显著，以及在Rad(+68％)中的Iba-1标记增加显著(图3和图4)。尽管美金刚胺对PoDG区有积极作用，但只有FENM显著减少所有测试的脑区的星形胶质细胞和小胶质细胞反应(图3和图4)。美金刚胺对Mol中的星形胶质细胞增生(图3B)或皮质中的小胶质细胞增生(图4D)也没有作用。因此，与美金刚胺相比，FENM在防止由$A\beta_{25-35}$寡聚物中毒引发的炎症反应中显著更有效。

[0211] 因此，与美金刚胺相比，在神经保护实验设计中在分子水平(生化标记物)以及在细胞和形态学水平上，FENM特别有效地防止在神经退行中观察到的炎症、氧化应激和凋亡机制的发展。

[0212] 此外，对所有研究的标记物而言，只有FENM都获得显著地改善。

[0213] 2.2.神经保护和认知能力的保护

[0214] 然后，与使用美金刚胺处理的动物相比，检查在大脑中在生化和细胞水平上检测到FENM的特定神经保护能力是否对接受FENM处理的动物的认知能力具有作用。

[0215] 在测量工作记忆、中期记忆、识别记忆、长期空间记忆(学习)和方向技能的认知和行为测试中，评估和比较FENM和美金刚胺的神经保护作用。这些测试是根据图1C所示的实验设计进行的。除非另有说明，美金刚胺和FENM(测试化合物)以0.03；0.1；0.3；1.0和3mg/kg的剂量施用。因此，测试的剂量在测试的剂量范围内呈对数分布，这允许比较两个分子的活性特征。

[0216] FENM在莫里斯水迷宫测试中的优越效果。

[0217] 该测试是对长期空间记忆和学习能力的评估。

[0218] $A\beta_{25-35}$寡聚物引起学习和长期记忆功能的损失(图5)。在未处理、未中毒的小鼠(对照组)中，发现小鼠在训练象限中的花费时间显著多于15秒；在训练象限中花费的时间与在其他象限中花费的时间相比，也观察到显著差异。未处理的中毒的小鼠在其他象限中花费的时间几乎与在训练象限中花费的时间一样多，并且在训练象限中花费的时间与15秒没有显著差异。施用0.3mg/Kg的美金刚胺不能防止学习和记忆功能的损伤。相比之下，中毒但用0.3mg/Kg的FENM处理的小鼠维持了其学习和记忆力，因为这些小鼠在学习象限中花费的时间显著多于在其他象限中花费的时间，而且该时间显著多于15秒(图5)。

[0219] 因此，只有FENM对该测试测量的动物的认知能力提供显著的保护。

[0220] FENM在被动回避测试中的优越效果

[0221] 如材料和方法部分所述，该测试是一种通常用于评估中期记忆的恐惧动机测试。

[0222] 与未中毒的小鼠相比，观察到$A\beta_{25-35}$寡聚物中毒的小鼠的重新进入黑暗隔间的延迟显著降低(未显示)。美金刚胺的保护作用仅在两个测试剂量(0.1和1mg/Kg i.p.)中观察

到。相比之下,发现对于0.1mg/Kg i.p.至3mg/Kg(包括3mg/Kg)的所有测试剂量,FENM都获得对记忆的神经保护。

[0223] 因此,FENM在提供神经保护方面比美金刚胺更有效,即使在美金刚胺没有效果的更高剂量下也是如此。因此,在用于由icv注射$A\beta_{25-35}$寡聚物引起的神经退行模型中,FENM在防止认知损伤上更有效。

[0224] 2.3.FENM在相同剂量下没有美金刚胺的遗忘作用。

[0225] 如上所述,已证明美金刚胺在动物模型和在人中以高剂量施用时对认知具有有害作用。此实验中,美金刚胺和FENM以10mg/Kg i.p.的剂量施用,使用未中毒的小鼠通过被动回避测试和Y迷宫以测试小鼠的表现。结果在下表2中给出:

[0226] 表2

[0227]

	载剂	美金刚胺 (10 mg/Kg i.p.)	FENM (10 mg/Kg i.p.)
Y 迷宫			
交替 (%)	70.8 ± 3.8	48.8 ± 3.0 ***	63.7 ± 4.2
进入次数	30.8 ± 1.3	28.2 ± 2.9	32.7 ± 3.4

[0228]

被动回避			
延迟时间(s)	220.8 ± 39.3	56.0 ± 31.1**	183.0 ± 38.4
N	8	9	7

[0229] ANOVA:交替,$F_{(2,23)}=10.3$,$p<0.001$;进入次数,$F_{(2,23)}=0.728$,$p>0.05$。Kruskal-Wallis ANOVA:对于被动回避测试的$H=11.4$,$p<0.01$。**$p<0.0034$vs.载剂,邓尼特氏检验。

[0230] 表2中的数据显示,美金刚胺对动物的工作记忆和中期记忆有负面作用。在施用美金刚胺的动物中观察到,在Y迷宫中的交替次数显著降低,以及在被动回避测试中的延迟显著降低。应该注意的是,在这些测试中,美金刚胺对动物表现的有害作用与观察到的$A\beta_{25-35}$寡聚物的有害作用处于同级,例如,在图6中。相反,对于施用FENM的动物,没有报告显著的记忆损伤(表2)。

[0231] 这种没有遗忘作用的情况特别令人感兴趣,因为除了FENM的优越神经保护作用(和对症效果,见下文)之外,可以考虑使用比目前接受的美金刚胺更高的剂量进行治疗,因此可以获得在SNC中更有效的浓度,这与更高的疗效一起获得对人更有效的治疗。

[0232] 2.4.使用FENM对认知损伤的对症治疗。

[0233] 为评价对由$A\beta_{25-35}$寡聚物引起的神经毒性所导致的认知损伤的对症治疗,根据图1(A)和图1(B)中的实验设计施用该分子。已知,美金刚胺在动物模型中获得对记忆损伤的症状改善,但在人中却令人失望;其效果已与FENM的效果进行了比较。在进行的所有行为测试(Y迷宫、被动回避、物体识别(未显示)、莫里斯水迷宫(未显示))中证实了在$A\beta_{25-35}$寡聚物中毒后之后FENM的抗遗忘作用。除非另有说明,美金刚胺和FENM(测试化合物)以0.1;0.3;1.0;3和10mg/kg的剂量施用。因此,测试的剂量在测试的剂量范围内呈对数分布,这允许对两个分子的活性特征进行比较。

[0234] 一般而言,发现FENM在比美金刚胺更宽的剂量范围内,特别是在该范围内的较高剂量中有效。例如,使用FENM的处理在Y迷宫测试中表现优异(图6),因为FENM处理在从

0.1mg/Kg开始的所有测试剂量下均有效,而美金刚胺仅在0.3mg/Kg时有效恢复与未经处理的中毒小鼠显著不同的交替%。

[0235] 在被动回避测试中(图7),仅在0.3mg/Kg美金刚胺剂量时观察到美金刚胺对认知损伤的显著改善。此外,当以10mg/Kg注射时,美金刚胺使得中毒的小鼠的认知症状恶化。相比之下,FENM在0.1;0.3和1mg/Kg时有效,并且不会像在用美金刚胺处理的情况下观察到的那样对遗忘症状产生加重作用(图7)。

[0236] 对$A\beta_{25-35}$寡聚物引起的记忆损伤,还在hameau测试中比较了美金刚胺和FENM的对症治疗的作用。该测试评估动物的复杂记忆过程,包括地形记忆、空间定位和学习。将测试化合物以0.3mg/Kg的剂量施用于该测试的小鼠。对于FENM处理的组,针对错误和延迟计算的迷失指数降低至未处理、未中毒的小鼠的水平,但美金刚胺处理的动物组则不然(图8)。

[0237] 因此,FENM在对由神经退行引起的记忆损伤的对症治疗中也更有效,并且可以在美金刚胺无效或甚至对记忆有害的情况中以更高剂量使用。此外,FENM有助于维持复杂的记忆过程(hameau测试),这对于美金刚胺是不可能的。

[0238] 3.结论

[0239] 因此,实验数据表明,与美金刚胺不同,FENM有效引起神经保护(这在生物化学和细胞水平上均被检测到),以对抗潜在的SNC细胞死亡和神经退行事件。这种神经保护防止动物的认知损伤。于通过FENM处理获得的神经保护,在美金刚胺中未观察到。此外,当FENM在以高剂量施用时,没有美金刚胺的遗忘作用,并且FENM在这些剂量用于对症治疗时仍然有效。因此,这些数据表明FENM对于防止神经退行性病变(神经保护)和神经退行性病变的对症治疗特别有意义。所获得的数据显示,对于美金刚胺在动物模型中发现有效的剂量范围和获得的生物作用而言,FENM的行为是完全不典型和不可预测的。

[0240] 参考文献

[0241] Arndt,J.W.,Qian,F.,Smith,B.A.et al.Structural and kinetic basis for the selectivity of aducanumab for aggregated forms of arnyloid-β.Sci Rep 8,6412(2018).

[0242] Beaurain M.,Salabert A.S.,Ribeiro M.J.,Arlicot N.,Damier P.,Le Jeune F.,Demonet J.F.,Payoux P.Innovative Molecular Imaging for Clinical Research,Therapeutic Stratification,and Nosography in Neuroscience.Frontiers in Medicine,2019,6:268.Creeley C,Wozniak DF,Labruyere J,Taylor GT,Olney JW.Low doses of memantine disrupt memory in adult rats.J Neurosci.2006;26(15):3923-3932.doi:10.1523/JNEUROSCI.4883-05.2006

[0243] Crouzier L,Gilabert D,Rossel M,Trousse F,Maurice T.Topographical memory analyzed in mice using the Hamlet Test,a novel complex maze.Neurobiol Learn Mem.2018;149:118-134.

[0244] Crouzier L,Maurice T.Assessment of topographic memory in mice in a complex environment using the Hamlet test.Current Protoc Mouse Biol.2018;8:e43.

[0245] Gruden MA,Davidova TB,Malisauskas M,Sewell RD,Voskresenskaya NI,Wilhelm K,Elistratova EI,Sherstnev VV,Morozova-Roche LA Differential

neuroimmune markers to the onset of Alzheimer's disease neurodegeneration and dementia:autoantibodies to Abeta((25-35))oligomers,S100b and neurotransmitters.J Neuroimmunol.2007 May;186(1-2):181-92.Epub 2007 May 2.

[0246] Knight R,Khondoker M,Magill N,Stewart R,Landau S:A Systematic Review and Meta-Analysis of the Effectiveness of Acetylcholinesterase Inhibitors and Memantine in Treating the Cognitive Symptoms of Dementia.Dement Geriatr Cogn Disord 2018;45:131-151.doi:10.1159/000486546.

[0247] Liu CC,Liu CC,Kanekiyo T,Xu H,Bu G.Apolipoprotein E and Alzheimer disease:risk,mechanisms and therapy[published correction appears in Nat Rev Neurol.2013.doi:10.1038/nmeurol.2013.32.Liu,Chia-Chan[corrected to Liu,Chia-Chen]].Nat Rev Neurol.2013;9(2):106-118.

[0248] Maurice T,Hiramatsu M,Itoh J,Kameyama T,Hasegawa T,Nabeshima T.Behavioral evidence for a modulating role of sigma ligands in memory processes.I.Attenuation of dizocilpine(MK-801)-induced amnesia.Brain Res.1994;647:44-56.

[0249] Maurice T,Lockhart BP,Privat A.Amnesia induced in mice by centrally administeredβ-amyloid peptides involves cholinergic dysfunction.Brain Res.1996;706:181-93.

[0250] Maurice T,Mustafa MH,Desrumaux C,Keller E,Naert G,de la C.García-BarcelóM,Rodríguez Cruz Y,Garcia Rodríguez JC.Intranasal formulation of erythropoietin(EPO)showed potent protective activity against amyloid toxicity in the Aβ25-35 nontransgenic mouse model of Alzheimer's disease.J Psychopharmacol.2013;27;1044-57.

[0251] Maurice T,Voile JN,Strehaiano M,Crouzier L,Pereira C,Kaloyanov N,Virieux D,Pirat JL.Neuroprotection in non-transgenic and transgenic mouse models of Alzheimer's disease by positive modulation of σ1 receptors.Pharmacol Res.2019;144:315-330.

[0252] Meunier J,leni J,Maurice T.The anti-amnesic and neuroprotective effects of donepezil against amyloidβ_{25-35} peptide-induced toxicity in mice involve an interaction with theσ_1 receptor.Br J Pharmacol.2006;149:998-1012.

[0253] Meunier J,Villard V,Givalois L,Maurice T.Theγ-secretase inhibitor 2-[(1R)-1-[(4-chlorophenyl)sulfonyl](2,5-difluorophenyl)amino]ethyl-5-fluorobenzenebutanoic acid(BMS-299897)alleviates $A\beta_{1-42}$ seeding and short-term memory deficits in the $A\beta_{25-35}$ mouse model of Alzheimer's disease.Eur J Pharmacol.2013;698:193-9.

[0254] Paxinos G,Franklin KBJ.The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates.Academic Press,San Diego,CA,USA.2004.

[0255] Pike CJ,Walencewicz AJ,Glabe CG,Cotman CW.In vitro aging of beta-amyloid protein causes peptide aggregation and neurotoxicity.Brain Res.1991

Nov 1;563(1-2):311-4.

[0256] Rodríguez Cruz Y,Strehaiano M,Rodríguez Obaya T,García Rodríguez JC,Maurice T.An intranasal formulation of erythropoietin(Neuro-EPO)prevents memory deficits and amyloid toxicity in the APPSwe transgenic mouse model of Alzheimer's disease.J AIz Dis.2017;55:231-248.

[0257] Stahl HP and Wermuth CG.Handbook of Pharmaceutical Salts:Properties,Selection,and Use Edited by VHCA,Verlag Helvetica Chimica Acta,Zürich,Switzerland,and Wiley-VCH,Weinheim,Germany.

[0258] Villard V,Espallergues J,Keller E,Alkam T,Nitta A,Yamada K,Nabeshima T,Vamvakides A,Maurice T.Anti-amnesic and neuroprotective effects of the aminotetrahydrofuran derivative ANAVEX1-41 against amyloid β25-35-induced toxicity in mice.Neuropsychopharmacology.200934:1552-66.

[0259] Villard V,Espallergues J,Keller E,Vamvakides A,Maurice T.Anti-amnesic and neuroprotective potentials of the mixed muscarinic receptor/sigma$_1$(σ_1) ligand ANAVEX2-73,a novel aminotetrahydrofuran derivative.J Psychopharmacol.2011;25:1101-17.

序列表

<110> 瑞斯特医疗公司
蒙彼利埃大学
国家健康科学研究所
高等研究实践学院

<120> 用于引起神经保护的化合物和组合物

<130> 0821-RST01-FR-PC

<150> FR2005138

<151> 2020-05-20

<160> 2

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> APP片段 (beta 25-35)

<400> 1

Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile Gly Leu Met
1 5 10

<210> 2

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 搅乱的A beta

<400> 2

Met Ala Lys Gly Ile Asn Gly Ile Ser Gly Leu
1 5 10

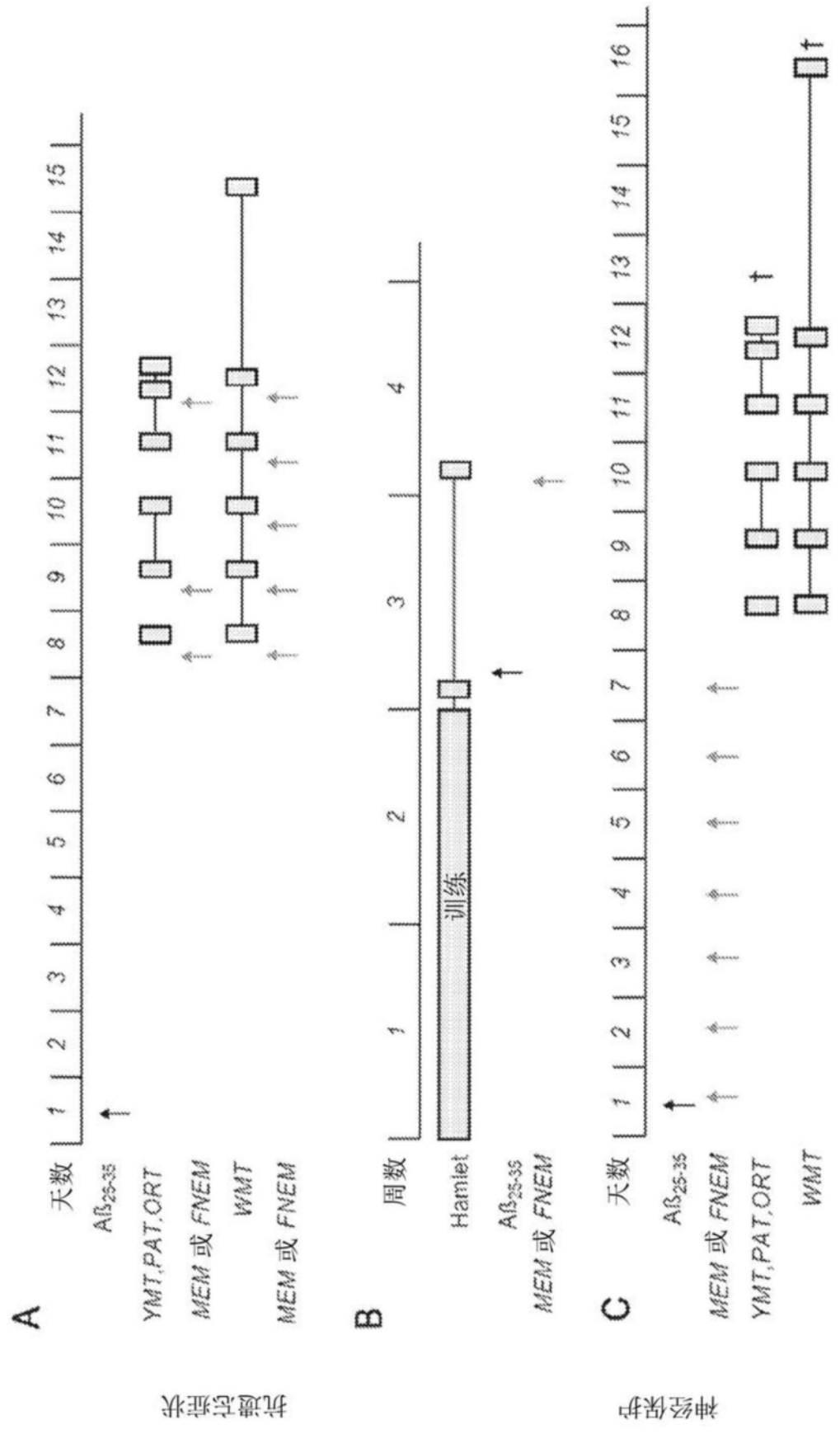

A
天数
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
$A\beta_{25-35}$
YMT,PAT,ORT
MEM 或 FNEM
WMT
MEM 或 FNEM
抗遗忘症状
B
周数
1 2 3 4
训练
Hamlet
$A\beta_{25-35}$
MEM 或 FNEM
C
天数
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16
$A\beta_{25-35}$
MEM 或 FNEM
YMT,PAT,ORT
WMT
t
t
神经保护

图1

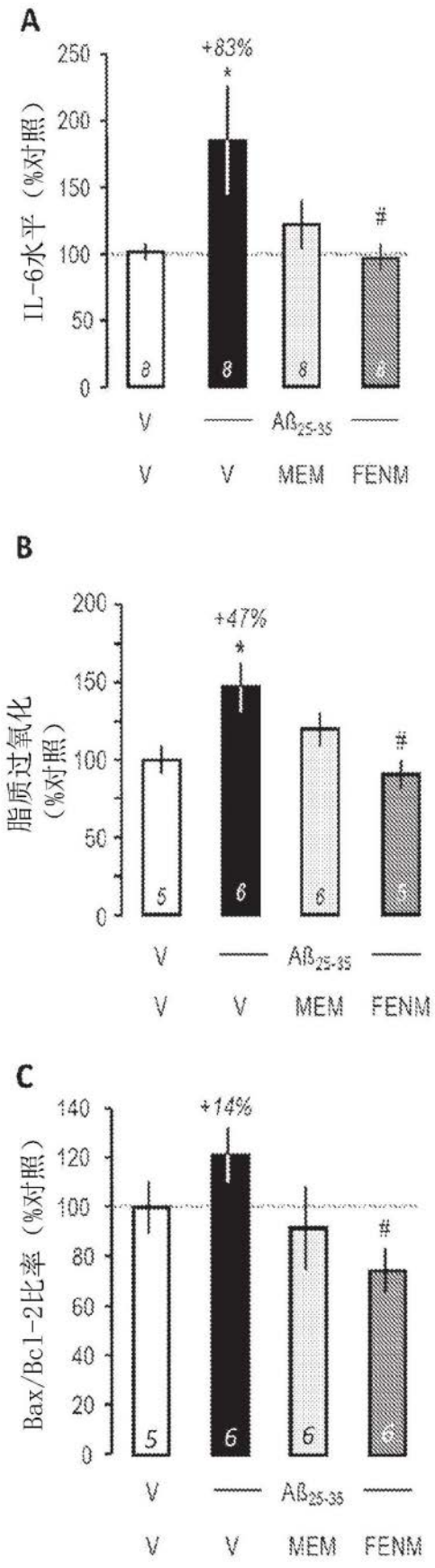

A
IL-6水平（%对照）
250
200
150
100
50
0
+83%
*
#
8
8
8
8
V
Aß25-35
V
V
MEM
FENM
B
脂质过氧化（%对照）
200
150
100
50
0
+47%
*
#
5
6
6
6
V
Aß25-35
V
V
MEM
FENM
C
Bax/Bcl-2比率（%对照）
140
120
100
80
60
40
20
0
+14%
#
5
6
6
6
V
Aß25-35
V
V
MEM
FENM

图2

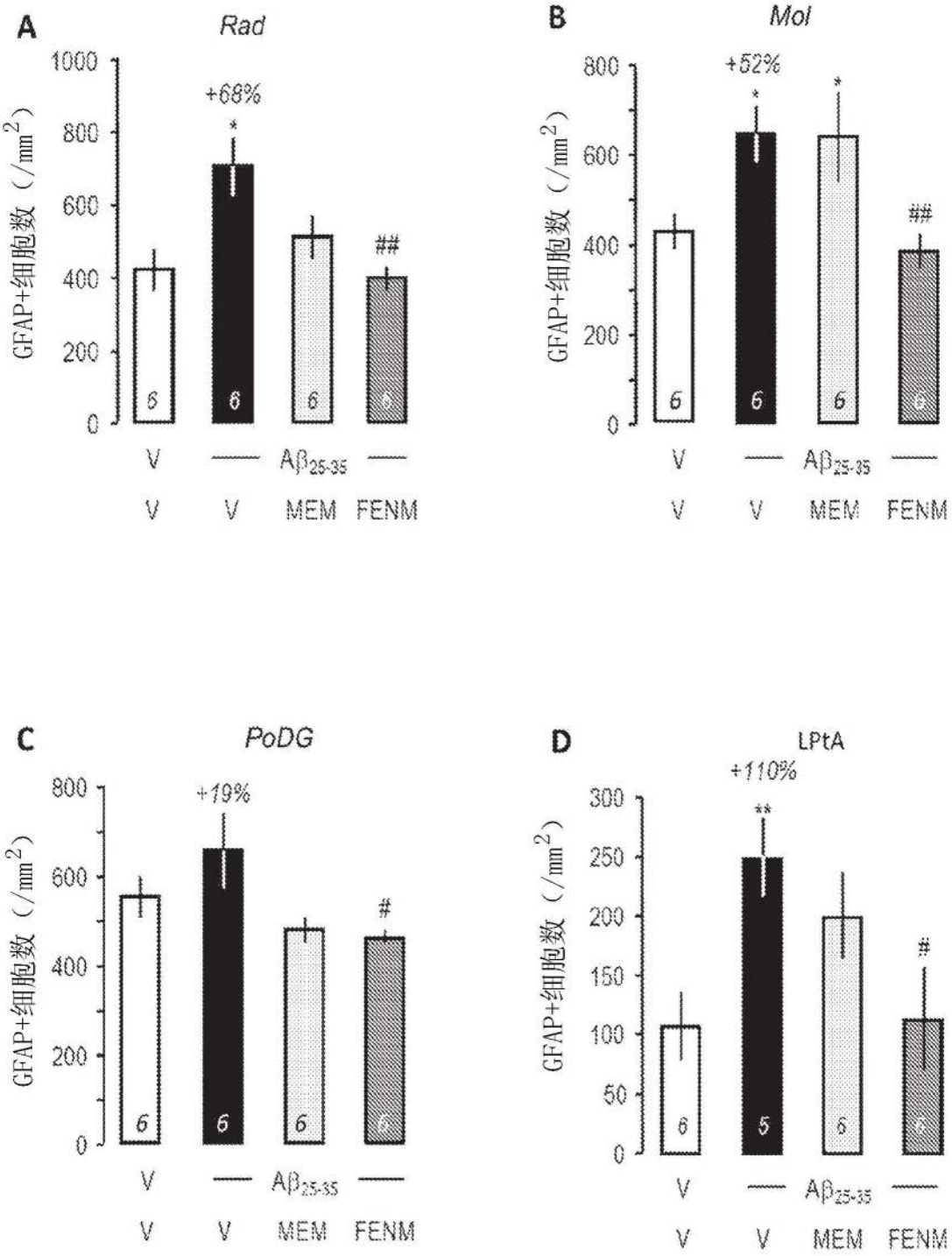

A
Rad
GFAP+细胞数（/mm²）
1000
800
600
400
200
0
+68%
*
##
6
V
Aβ25-35
V
V
MEM
FENM
B
Mol
GFAP+细胞数（/mm²）
800
600
400
200
0
+52%
*
*
##
6
V
Aβ25-35
V
V
MEM
FENM
C
PoDG
GFAP+细胞数（/mm²）
800
600
400
200
0
+19%
#
6
V
Aβ25-35
V
V
MEM
FENM
D
LPtA
GFAP+细胞数（/mm²）
300
250
200
150
100
50
0
+110%
**
#
6
5
6
6
V
Aβ25-35
V
V
MEM
FENM

图3

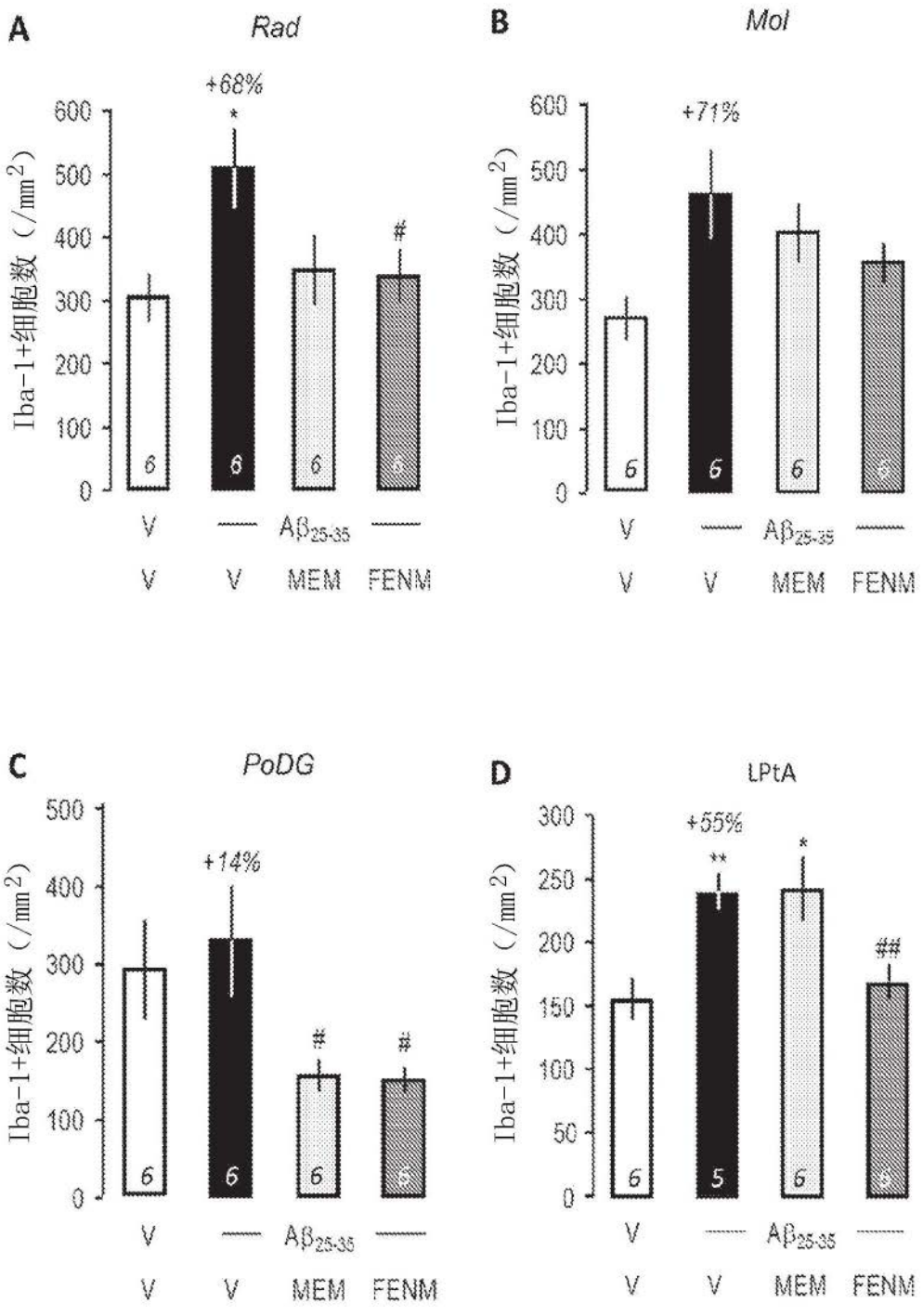

A
Rad
+68%
*
#
Iba-1+细胞数（/mm2）
600
500
400
300
200
100
0
6
V
V
V
Aβ25-35
MEM
FENM
B
Mol
+71%
C
PoDG
+14%
D
LPtA
+55%
**
##
50
250
150

图4

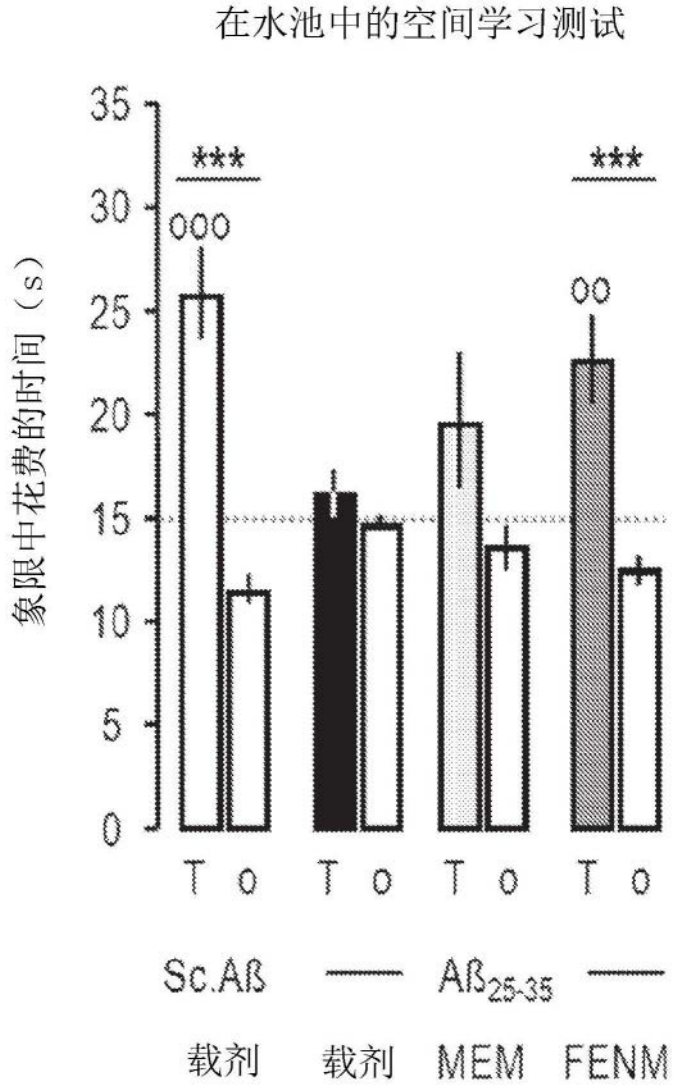

在水池中的空间学习测试
象限中花费的时间（s）
35
30
25
20
15
10
5
0
***
***
ooo
oo
T o T o T o T o
Sc.Aß
Aß25-35
载剂 载剂 MEM FENM

图5

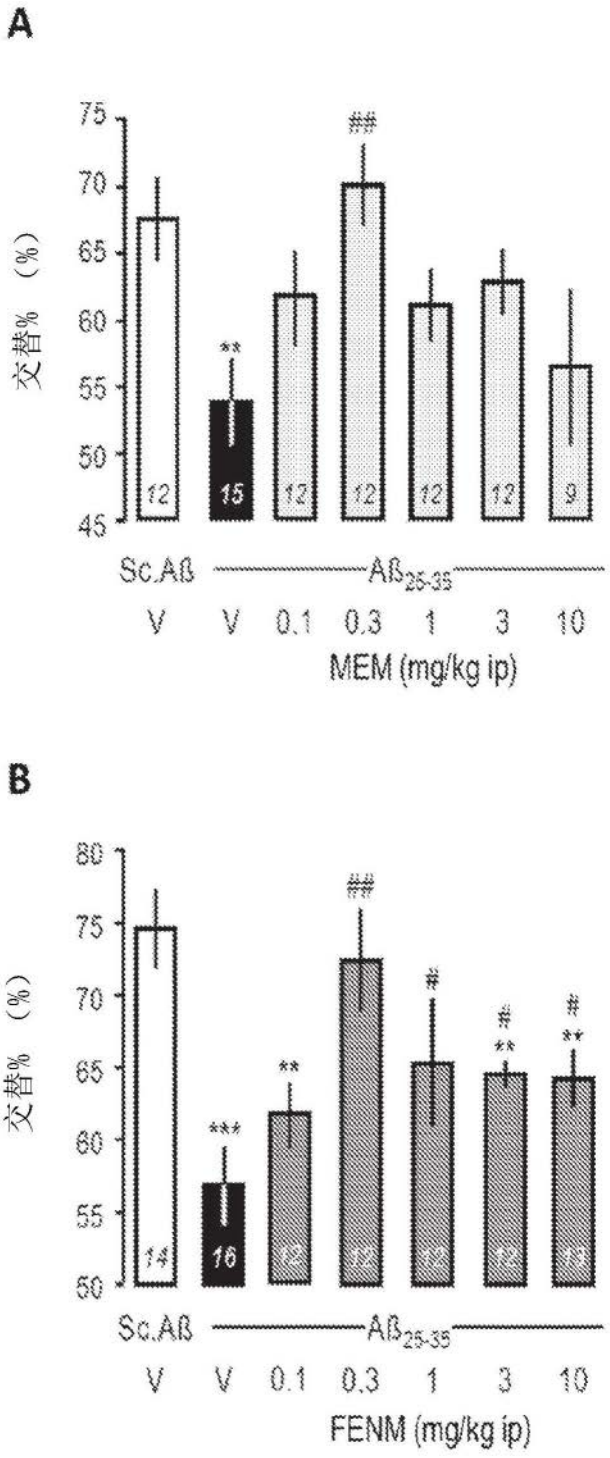

A
交替% （%）
75
70
65
60
55
50
45
##
**
12
15
12
12
12
12
9
Sc.Aß
Aß25-35
V
V
0.1
0.3
1
3
10
MEM (mg/kg ip)
B
交替% （%）
80
75
70
65
60
55
50
##
#
#
#
**
**
**
***
14
16
12
12
12
12
13
Sc.Aß
Aß25-35
V
V
0.1
0.3
1
3
10
FENM (mg/kg ip)

图6

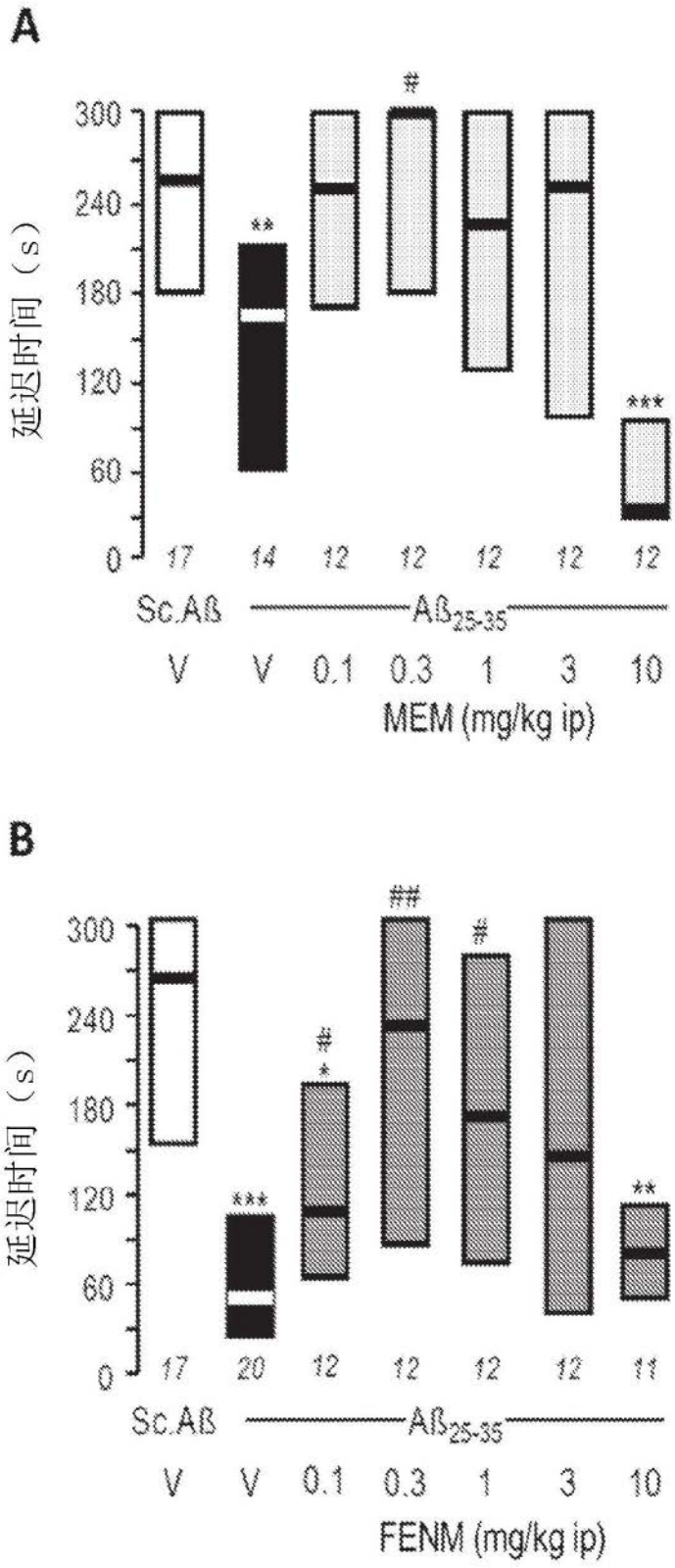

A
延迟时间（s）
300
240
180
120
60
0
**
#
***
17 14 12 12 12 12 12
Sc.Aß
Aß25-35
V V 0.1 0.3 1 3 10
MEM (mg/kg ip)
B
延迟时间（s）
300
240
180
120
60
0
***
#
*
##
#
**
17 20 12 12 12 12 11
Sc.Aß
Aß25-35
V V 0.1 0.3 1 3 10
FENM (mg/kg ip)

图7

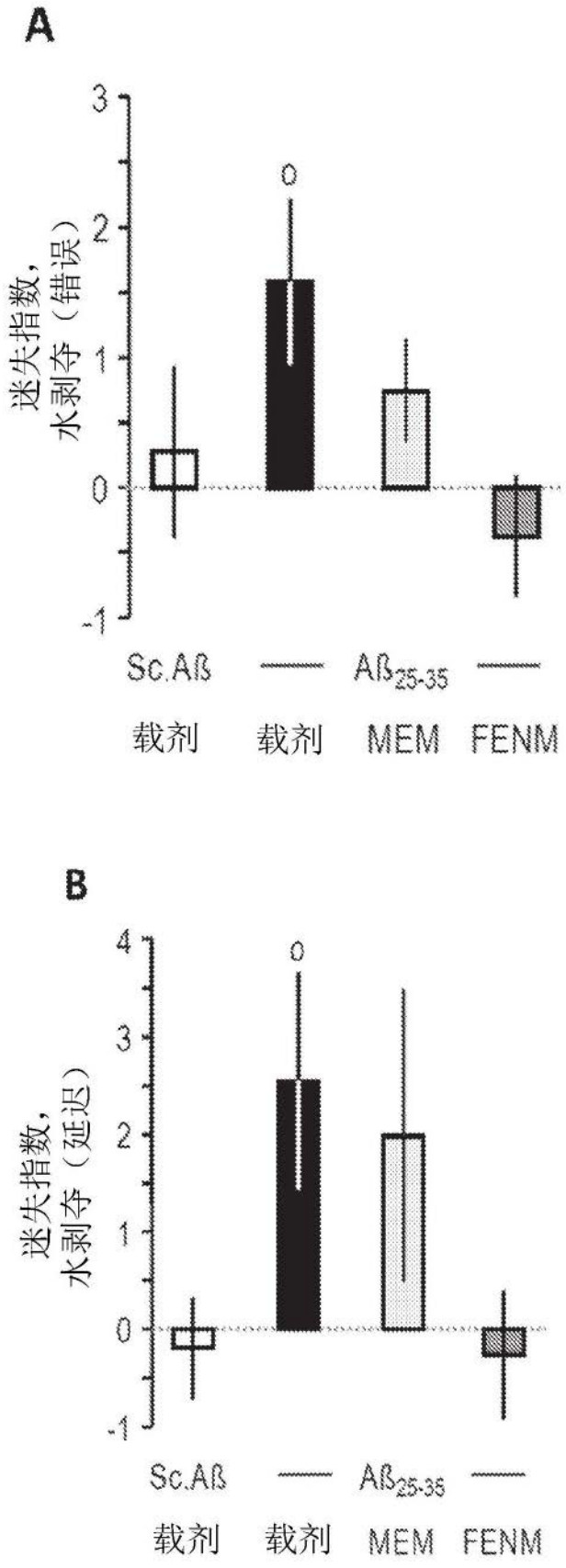

A
迷失指数，
水剥夺（错误）
3
2
1
0
-1
Sc.Aß
Aß25-35
载剂
载剂
MEM
FENM
B
迷失指数，
水剥夺（延迟）
4
3
2
1
0
-1
Sc.Aß
Aß25-35
载剂
载剂
MEM
FENM

图8