



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109069450 A

(43)申请公布日 2018.12.21

(21)申请号 201780010107.6	(51)Int.Cl.
(22)申请日 2017.02.03	A61K 31/13(2006.01)
(30)优先权数据	A61K 31/185(2006.01)
EP16305128.7 2016.02.05 EP	A61K 31/197(2006.01)
EP17152720.3 2017.01.23 EP	A61K 31/198(2006.01)
(85)PCT国际申请进入国家阶段日	A61K 31/27(2006.01)
2018.08.06	A61K 31/445(2006.01)
(86)PCT国际申请的申请数据	A61K 31/473(2006.01)
PCT/EP2017/052470 2017.02.03	A61K 31/496(2006.01)
(87)PCT国际申请的公布数据	A61K 31/55(2006.01)
W02017/134280 EN 2017.08.10	A61P 25/00(2006.01)
(71)申请人 法奈克斯公司	A61P 25/02(2006.01)
地址 法国伊西莱穆利诺	A61P 25/08(2006.01)
(72)发明人 D.科恩 S.纳比罗奇金 R.哈吉	A61P 25/16(2006.01)
(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所	A61P 25/28(2006.01)
11105	A61P 25/32(2006.01)
代理人 曹立莉	A61P 25/30(2006.01)

权利要求书2页 说明书32页 附图1页

(54)发明名称
神经障碍的新的组合疗法

(57)摘要
本发明涉及用于治疗与淀粉样蛋白β毒性和/或神经元死亡相关的神经障碍的组合和方法。更具体地,本发明涉及阿尔茨海默疾病、阿尔茨海默病相关疾病、帕金森疾病、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、亨廷顿疾病、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、肌萎缩侧索硬化、多发性硬化、脊髓损伤、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件的新的组合疗法,其基于3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和/或阿坎酸。

1. 化合物的组合,其包含:(i) 3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮或它们的盐、衍生物或前药;和(ii)巴氯芬和/或阿坎酸,或它们的盐、衍生物或前药,所述组合用于治疗选自以下的神经障碍:阿尔茨海默病(AD)、AD相关疾病、帕金森病、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化、多发性硬化、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、脊髓损伤、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件。

2. 根据权利要求1的用于所述用途的组合,其包含3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮、巴氯芬和阿坎酸,或它们的盐、衍生物或前药。

3. 根据权利要求1或2的用于所述用途的组合,其中所述神经障碍选自阿尔茨海默病(AD)或AD相关疾病。

4. 根据权利要求3的用于所述用途的组合,还包含至少一种选自以下的药物:多奈哌齐、美金刚、利伐斯的明、他克林或加兰他敏,或它们的盐、衍生物或前药。

5. 根据权利要求4的用于所述用途的组合,其包括以下化合物组合之一:

-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和多奈哌齐,

-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和多奈哌齐,

-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和多奈哌齐,

-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和美金刚,

-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和美金刚,

-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和美金刚,

-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和他克林,

-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和利伐斯的明,或

-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和加兰他敏,

或其盐、衍生物或前药。

6. 根据权利要求1或2的用于所述用途的组合,其中所述神经障碍选自帕金森病、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病。

7. 根据权利要求1或2的用于所述用途的组合,其中所述神经障碍为帕金森病。

8. 根据权利要求7的用于所述用途的组合,还包含左旋多巴。

9. 根据上述权利要求任一项的用于所述用途的组合,其中所述化合物配制用于分开、同时或相继给药。

10. 根据权利要求1至8的用于所述用途的组合,其中所述化合物被配制在一起。

11. 根据权利要求1的用于所述用途的组合,其中阿坎酸为阿坎酸的钙盐。

12. 药物组合物,其包含:(i) 3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮;和(ii) 巴氯芬和/或阿坎酸,或它们的盐、衍生物或前药。

13. 根据权利要求12的药物组合物,包含3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮、巴氯芬和阿坎酸,或它们的盐、衍生物或前药。

14. 根据权利要求12或13的药物组合物,还包含至少一种选自以下的化合物:多奈哌齐、美金刚、利伐斯的明、他克林、加兰他敏或左旋多巴,或它们的盐、衍生物或前药。

15. 根据权利要求14的药物组合物,包含:

-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和多奈哌齐,

-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和多奈哌齐,

-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和多奈哌齐,
-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和美金刚,
-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和美金刚,
-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和美金刚,
-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和他克林,
-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和利伐斯的明,或
-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和加兰他敏,
或其盐、衍生物或前药。

16. 根据权利要求14的药物组合物,包含:

-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和左旋多巴,
-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和左旋多巴,或
-3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和左旋多巴,
或其盐、衍生物或前药。

17. 根据权利要求12或13的药物组合物,其用于治疗选自以下的神经障碍:阿尔茨海默病(AD)、AD相关疾病、帕金森病、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化、多发性硬化、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、脊髓损伤、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件。

18. 权利要求15所述的药物组合物,其用于治疗阿尔茨海默病或AD相关疾病。

19. 根据权利要求16的药物组合物,其用于治疗帕金森病。

20. 根据权利要求12的药物组合物,其中阿坎酸为阿坎酸的钙盐。

21. 根据权利要求18或19的用于所述用途的药物组合物,其中,当存在阿坎酸时,阿坎酸为阿坎酸的钙盐。

神经障碍的新的组合疗法

技术领域

[0001] 本发明涉及治疗神经疾病和障碍的新的组合和方法。更具体地,本发明涉及神经障碍的新的组合疗法,其基于3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮、巴氯芬和/或阿坎酸的组合。

背景技术

[0002] 阿尔茨海默病(AD)是原型皮层性痴呆,其特征为可归因于与皮层相关区域有关的记忆损伤并伴有言语困难(语言障碍,其中存在语言和语言理解的受损)、运动障碍(在不存在运动或感觉受损的情况下不能协调和执行某些有意的运动和姿势)以及认识失能(无法识别物体、人、声音、形状或气味)。也会涉及特殊症状例如痉挛性截瘫(影响下肢的虚弱症)[1-4]。

[0003] 阿尔茨海默病的发病率随着年龄急剧增加。目前,AD是最常见的痴呆症病因。它的临床特征是认知功能的整体下降,其缓慢发展,并最终使患者卧床不起、失禁并依赖于监护护理。平均来说,死亡发生在诊断后9年[5]。联合国人口规划项目估计,到2050年超过80岁的人口数量将达到3亿7千万。目前,据估计年龄超过85岁的人中有50%患有AD。因此,在50年内,全世界将有超过1亿人患有痴呆症。需要经常性护理和其他服务的人口的巨大数量,将严重影响医疗、财政和人力资源[6]。

[0004] 记忆损伤是疾病的早期特点,并涉及情景记忆(日常事件的记忆)。在疾病后期涉及语义记忆(言语和视觉意义的记忆)。相比较而言,工作记忆(用于暂时储存和操作信息的涉及结构和过程的短期记忆)和程序记忆(无意识记忆,是技术和过程的长期记忆)保留到更晚。随着疾病发展,出现了语言受损、视觉感知和空间的缺损、认识失能和运用失能等其他特征。

[0005] 阿尔茨海默病的经典描述具有足够的特性,从而允许鉴定约80%的病例[7]。然而,确实存在着临床异质性,这对于临床管理来说是重要的,而且为功能不同形式的特异性药物治疗提供了进一步的暗示[8]。

[0006] AD的病理标志物包括含有 β -淀粉样蛋白(AB)的淀粉样蛋白斑块、含有Tau的神经原纤维缠结以及神经元和突触机能障碍和丧失[9-11]。最近十年,关于AD的病因已经提出了两种主要假说:“淀粉样蛋白级联假说”,其认为神经退行性过程是由淀粉样蛋白前体蛋白(APP)的异常加工所触发的一系列事件[12],以及“神经元细胞骨架退化假说”[13],其提出细胞骨架改变是触发事件。解释AD发展的最为广泛接受的理论仍然是淀粉样蛋白级联假说[14-16],AD研究人员主要聚焦于确定与AB蛋白相关的毒性背后的机制。微血管通透性和重塑、异常血管发生和血脑屏障破裂已被鉴定为与淀粉样蛋白级联中的APP毒性有关的关键事件[17]。相反,由于基础和实践两方面的考虑,与淀粉样蛋白相比,Tau蛋白受到的来自制药工业的关注要少得多。此外,突触密度改变与其他两者相比是与认知受损最相关的病理损伤。研究显示,淀粉样蛋白病理学以神经递质特异性的方式发展,其中胆碱能末梢表现得最易受伤害,其次是谷氨酸能末梢,最后是GABA能末梢[11]。谷氨酸是哺乳动物神经系统

中最丰富的兴奋性神经递质。在病理学条件下,其在突触间隙中的异常积累导致谷氨酸受体的过度激活[18],这导致病理学过程并且最终导致神经元细胞死亡。这个过程,被称为兴奋毒性,通常在急性和慢性神经性障碍期间在神经元组织中观察到。

[0007] AD的另一主要功能特点为能量代谢显著普遍的下降,并伴随氧化应激[19],其特征为线粒体功能障碍和胰岛素抗性状态的发展,导致降低的葡萄糖摄取,和最终,突触瓦解。受损的脑代谢通常被认为是在年龄相关的痴呆中认知减退的主要病因[20,21],且在AD的情况下,其可以先于、伴随或甚至刺激A β 斑块沉积,其在恶性循环机理中可进一步抑制葡萄糖摄取[22]。

[0008] 迄今为止,两种药物治疗(在大多数国家总共批准5种药物)被用于改善或减缓AD症状,其依赖于一些乙酰基胆碱酯酶调节剂和NMDA谷氨酸受体(NMDAR)阻断剂[23-25]。

[0009] 乙酰基胆碱酯酶抑制剂如多奈哌齐、利伐斯的明、他克林和加兰他敏目前在市场上可得且有效用于症状缓解,且对认知、功能和行为症状具有有益效果[26]。

[0010] 已测试了靶向该受体多个位点的NMDAR拮抗剂以对抗兴奋性毒性。反竞争性(uncompetitive)NMDAR拮抗剂靶向离子通道孔,因此减少进入突触后神经元的钙。其中只有一种,即美金刚,对于中度至重度AD达到批准状态。然而该分子对于大多数AD患者具有有限的益处,因为其仅具有中等的症状作用,且进一步显示对轻度阿尔茨海默病没有明显作用[27,28]。而且,许多其它NMDAR拮抗剂在多种神经退行性疾病的晚期临床实验中失败[24,29,30]。另一种限制兴奋性毒性的方法在于抑制谷氨酸的突触前释放。

[0011] W02009/133128、W02009/133141、W02009/133142、W02011/054759和W02012/117076公开了适合用于治疗AD的药物组合。W02012/117076具体公开了巴氯芬-阿坎酸组合在AD中的治疗功效,包括防止谷氨酸毒性和/或A β 毒性。

[0012] 3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮为选择性5-HT₆受体拮抗剂,其在治疗AD中显示一些功效且目前在临床试验中作为多奈哌齐的辅助治疗。W02003/080580、W02005/026125、W02009/074607公开了基于3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮的组合物,其适用于治疗中枢神经系统疾病。

[0013] 尽管在这个领域存在积极研究,但是仍然需要用于神经性障碍并且,特别是,与神经元细胞中谷氨酸和/或A β 毒性和/或氧化应激和/或缺血性应激相关的神经性障碍的替代或改进的有效疗法。

发明内容

[0014] 本发明提供新的治疗方法和组合物,其适合治疗神经障碍,特别是与神经元细胞死亡和认知减退相关的神经障碍。更具体地,本发明涉及包含3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和/或阿坎酸的组合物,以及涉及其治疗与谷氨酸兴奋性毒性和/或淀粉样蛋白 β (A β)毒性和/或缺血性应激和/或氧化应激相关的神经障碍的用途。

[0015] 本发明尤其源于发明人的意外发现,即3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮与巴氯芬和/或阿坎酸的组合特别强烈地保护神经元细胞免受各种应激,例如,A β 毒性、谷氨酸毒性、氧化应激或缺血性应激,这是各种神经疾病的基础。

[0016] 因此,3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮与巴氯芬和/或阿坎酸的组合对患有、易患或怀疑患有神经障碍的患者构成有效的治疗方法。

[0017] 因此本发明一个目的涉及包含：(i) 3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基) 喹诺酮；和 (ii) 巴氯芬和/或阿坎酸的组合物。

[0018] 本发明另一目的涉及包含3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基) 喹诺酮与巴氯芬和/或阿坎酸的组合的组合物。

[0019] 一个具体目的涉及包含3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基) 喹诺酮、巴氯芬和阿坎酸的组合物。

[0020] 另一目的涉及组合物，其包含：

[0021] - (i) 3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基) 喹诺酮和 (ii) 巴氯芬和/或阿坎酸，和

[0022] -选自多奈哌齐、美金刚、利伐斯的明、他克林或加兰他敏的化合物。

[0023] 如本申请进一步所公开的，本发明的组合中的化合物可分开或一起配制。而且，它们可同时、分开、相继和/或先后给药于受试者。它们也可重复给药于受试者。

[0024] 本发明的组合物通常还包含一种或几种药用赋形剂或载体。而且，本发明中使用的化合物可以为盐、水合物、酯、醚、酸、酰胺、外消旋体、异构体、对映异构纯的组合物或缀合物的形式。它们还可以为缓释制剂形式。也可以使用所述化合物的前药或衍生物。

[0025] 在一个优选实施方案中，化合物以其本身或以其盐、水合物、酯、醚的形式或缓释形式使用。用于本发明的特别优选的盐是阿坎酸钙。

[0026] 在另一优选实施方案中，使用前药或衍生物。

[0027] 本发明的另一目的为制备药物组合物的方法，该方法包括在可药用的赋形剂或载体中混合3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基) 喹诺酮与巴氯芬和/或阿坎酸。

[0028] 优选地，该方法包括在药物可接受的赋形剂或载体中混合3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基) 喹诺酮、巴氯芬和阿坎酸。

[0029] 本发明另一目的涉及如上限定的组合物或组合，其用于治疗神经障碍，特别是阿尔茨海默病 (AD)、AD相关的疾病、帕金森病 (PD)、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、亨廷顿病 (HD)、肌萎缩侧索硬化 (ALS)、多发性硬化 (MS)、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、脊髓损伤 (SCI)、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件。

[0030] 本发明的另一个目的涉及一种用于治疗有需要的哺乳动物受试者，优选有需要的人受试者的神经障碍的方法，所述方法包括向所述受试者施用有效量的本发明的组合物或组合。

[0031] 本发明另一目的涉及在有需要的哺乳动物受试者，优选有需要的人受试者中治疗AD或AD相关的疾病的方法，该方法包括向所述受试者给药有效量的如上限定的组合物或组合。

[0032] 本发明的一个优选目的涉及在有需要的哺乳动物受试者，优选有需要的人受试者中治疗神经障碍的方法，该方法包括同时、分开、相继或随后向所述受试者给药有效量的3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基) 喹诺酮和巴氯芬和/或阿坎酸。

[0033] 更优选地，该方法包括同时、分开、相继或随后向所述受试者给药有效量的3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基) 喹诺酮、巴氯芬和阿坎酸。

[0034] 本发明的更优选目的涉及在有需要的哺乳动物受试者，优选有需要的人受试者中治疗AD或AD相关的疾病的方法，该方法包括同时、分开、相继或随后向所述受试者给药有效

量的3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和/或阿坎酸。

[0035] 本发明另一优选目的涉及在需要的哺乳动物受试者,优选需要的人受试者中治疗PD或路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病的方法,该方法包括同时、分开、相继或随后向所述受试者给药有效量的3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和/或阿坎酸。

[0036] 本发明可以用于在该疾病的任何阶段治疗哺乳动物受试者,优选任何人受试者中的神经障碍的方法。如将在实施例中公开的,本发明的组合物能够减轻所述受试者的病理状况。

[0037] 附图简述

[0038] 图1A-1B:3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮、巴氯芬和阿坎酸的组合在由A β_{25-35} 毒性诱导的认知缺损的体内模型中的作用。在空间工作记忆(Y-迷宫测试-图1A)和情境长期记忆(逐步被动回避-图1B)方面评估认知缺损。组如下:(1) Sc.A β_{25-35} ; (2) A β_{25-35} ; (3) A β_{25-35} /3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮(1mg/Kg); (4) A β_{25-35} /巴氯芬和阿坎酸(分别为0.480mg/Kg和0.032mg/Kg); 和(5) A β_{25-35} /3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮(1mg/Kg)、巴氯芬和阿坎酸(分别为0.480mg/Kg和0.032mg/Kg)。数据表示为平均值和SEM。Anova随后是Dunnett检验(对比A β_{25-35}) (**p-值<0.01)。在两种行为测试中,该效果显著协同(S)(Loewe's检验)(Y-迷宫CI=0.691STPA CI=0.996)。

[0039] 发明详述

[0040] 本发明提供用于治疗神经障碍的新的方法和组合物。本发明公开了新的活性化合物组合,其使这些疾病得到有效矫正且可用于任何哺乳动物受试者。

[0041] 更具体地,本发明提供新的包含3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮、巴氯芬和/或阿坎酸的组合物。如实施例所示,3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮的存在出人意料地增加了巴氯芬或阿坎酸或巴氯芬和阿坎酸的组合对A β 寡聚物毒性、谷氨酸兴奋性毒性、6OHDA诱导的氧化应激和缺血性应激的神经保护作用。本发明因此适用于治疗任何神经障碍,特别是涉及神经和/或神经元损伤、 β 淀粉样蛋白、谷氨酸兴奋性毒性、氧化应激、缺血性应激和/或认知缺损的疾病,如神经退行性疾病。

[0042] 因此本发明一个目的在于一种或多种组合物,其包含、基本上由以下组成或由以下组成:

[0043] -任何化学纯度的3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮或其药物可接受的盐、水合物、衍生物、异构体、外消旋化合物或前药,和

[0044] -任何化学纯度的巴氯芬和/或阿坎酸,或其药物可接受的盐、水合物、衍生物、异构体、外消旋化合物或前药。

[0045] 本发明的一个具体目的在于一种或多种组合物,其包含、基本上由以下组成或由以下组成:

[0046] -任何化学纯度的3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮或其药物可接受的盐、水合物、衍生物、异构体、外消旋化合物或前药,和

[0047] -任何化学纯度的巴氯芬,或其药物可接受的盐、水合物、衍生物、异构体、外消旋化合物或前药,和

[0048] -任何化学纯度的阿坎酸,或其药物可接受的盐、水合物、衍生物、异构体、外消旋

化合物或前药。

[0049] 定义

[0050] “神经障碍”是指包括阿尔茨海默病 (AD)、AD 相关疾病、帕金森病 (PD)、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、亨廷顿病 (HD)、肌萎缩侧索硬化 (ALS)、多发性硬化 (MS)、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、脊髓损伤 (SCI)、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件的疾病。

[0051] “AD 相关疾病”包括 AD 类型的老年痴呆 (SDAT)、额颞叶痴呆 (FTD)、血管性痴呆、轻度认知缺损 (MCI) 和年龄相关的记忆缺陷 (AAMI)。

[0052] 如本文所述,“治疗”包括治疗、防止、预防、延迟或减少由上述疾病或障碍引发的症状或上述疾病或障碍作为其病因的症状。术语治疗特别包括控制疾病和相关症状的进展。术语治疗特别包括: i) 针对由 β 淀粉样蛋白 ($A\beta$) 引起的毒性的保护,或所述毒性的减少或延迟;和/或 ii) 针对谷氨酸兴奋性毒性的保护,或所述毒性的减少或延迟;和/或 iii) 针对 6-OHDA 毒性的保护,或所述毒性的减少或延迟;和/或 iv) 针对缺血性应激的保护,或在所述应激下细胞死亡的减少或延迟。术语治疗具体还指认知症状的改善或神经元细胞的保护。

[0053] 术语“组合或组合治疗/疗法”是指其中 3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和至少巴氯芬和/或阿坎酸共同给药于受试者以引起生物作用的治疗。在根据本发明的组合治疗中,化合物可一起给药或分开、同时、相继或顺序给药。而且,3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和/或阿坎酸可以通过不同的途径和方案进行给药。

[0054] 在一个具体实施方案中,所述组合治疗包括化合物作为单一制剂的同时给药。

[0055] 在另一具体实施方案中,所述组合治疗包括分开地一方面给药 3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮,且另一方面给药巴氯芬和阿坎酸。

[0056] 本发明的组合疗法还包括“附加”疗法,其中受试者已经用一些(一种或多种)本发明组合的化合物治疗,并且该治疗包括给予其他疗法。例如,在用 3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮治疗的受试者中,本发明的组合治疗包括向受试者施用巴氯芬和/或阿坎酸。

[0057] 在本发明的上下文,指定具体的药物或化合物意味着不仅包括具体命名的分子,而且包括其任何化学纯度的任何可药用的盐、水合物、衍生物、异构体、外消旋体、对映异构纯的组合物、缀合物或前药。

[0058] 如本文所用的,术语“前药”是指本发明的化合物的任何功能性衍生物(或前体),当施用至生物学系统时,其由于例如自发化学反应、酶催化的化学反应和/或代谢化学反应而产生所述化合物。前药通常具有 X-药物的结构,其中 X 为惰性载体部分且药物为活性化合物。通常,前药没有活性或活性比药物低,且该药物在体内从载体释放。相比所得药物,前药通常是无活性或活性较低的并且可以例如用来改善药物的物理化学性质,以将药物靶向特定组织、改善药物的药代动力学和药效学性质和/或减少不需要的副作用。符合前药设计的一些常见官能团包括但不限于羧基、羟基、胺基、磷酸酯/膦酸酯基和羰基。通常经由这些基团改性产生的前药包括但不限于酯类、碳酸酯(盐)类、氨基甲酸酯类、酰胺类和磷酸酯(盐)类。用于选择合适前药的具体技术指南是公知常识[31-35]。此外,前药的制备可以通过本领域技术人员已知的常规方法进行。可以用来合成其他前药的方法描述于大量关于该主题的综述[31-38]。例如,普阿氯芬(arbaclofen placarbil)被列举在 ChemID plus Advance

数据库(网站:chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/)并且普阿氯芬是众所周知的巴氯芬的前药[39,40]。

[0059] 术语化合物的“衍生物”包括与所述化合物功能和/或结构相关的任何分子,如该化合物的酸、酰胺、酯、醚、乙酰化变体、羟基化变体或烷基化(C1-C6)变体。术语衍生物还包括失去了如上列出的一个或多个取代基的结构相关的化合物。例如,高牛磺酸是阿坎酸的去乙酰化衍生物。化合物的优选衍生物是与所述化合物具有显著程度的相似性的分子,如通过已知的方法确定的。类似化合物连同它们与母体分子的相似性指数可以发现于大量的数据库中如PubChem(<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/>)或DrugBank(<http://www.drugbank.ca/>) [41]。在一个更优选的实施方案中,衍生物应具有与母体药物的大于0.4、优选大于0.5、更优选大于0.6、甚至更优选大于0.7的Tanimoto相似性指数。Tanimoto相似性指数广泛用来测量两种分子之间的结构相似性程度。Tanimoto相似性指数可以通过可在线获得的软件如Small Molecule Subgraph Detector(<http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/software/SMSD/>) [42,43]计算。优选的衍生物应在结构和功能上均与母体化合物相关,即它们还应保留母体药物的至少部分活性,更优选它们应针对A β 毒性和/或谷氨酸毒性和/或缺血性应激和/或氧化应激、和或认知功能的损伤具有保护活性。

[0060] 术语“衍生物”还包括药物的代谢物,例如,在施用至有机体后,通常通过专门的催化系统由所述药物的(生化)改性或加工产生,并且其显示或保留药物的生物学活性的分子。代谢物已被公开为负责母体药物的大部分治疗作用。在一个具体实施方案中,如本文所用的,“代谢物”是指保留母体化合物的至少部分活性、优选针对A β 毒性和/或谷氨酸毒性和/或缺血性应激和/或氧化应激、和或认知功能的损伤具有保护活性的改性或加工药物。

[0061] 术语“盐”是指本发明的化合物的可药用的且相对无毒的、无机或有机酸加成盐。药学盐的形成由以下组成:用对抗离子配对酸性、碱性或两性离子的药物分子以生成该药物的盐形式。在中和反应中可以使用广泛的各种各样的化学物质。本发明的可药用的盐因此包括通过使主要化合物(充当碱)与无机或有机酸反应以形成盐而获得的那些盐,例如,乙酸盐、硝酸盐、酒石酸盐、盐酸盐、硫酸盐、磷酸盐、甲磺酸盐、樟脑磺酸盐、草酸盐、马来酸盐、琥珀酸盐或柠檬酸盐。本发明的可药用的盐还包括那些盐,其中主要化合物充当酸并且与适当碱反应以形成例如钠、钾、钙、镁、铵或胆碱的盐。尽管所给出的活性成分的大多数盐是生物等价物,但是其中一些可以具有增加的溶解度或生物利用度性质。现在,盐的选择是药物开发过程中的普通标准操作,如由Stahl和Wermuth在他们的手册中教导的[44]。

[0062] 在一个优选实施方案中,化合物的名称意味着指化合物本身,及其任意可药用的盐、水合物、异构体、外消旋体、异构体、对映异构纯的组合物、酯或醚。

[0063] 在一个更优选的实施方案中,化合物的名称意味着指具体命名的化合物本身,及其任意可药用的盐。

[0064] 在一个具体实施方案中,使用化合物的缓释制剂。

[0065] 巴氯芬、阿坎酸和3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮的示例性CAS号提供在表1。表1还以非限制性方式引用了根据本发明的化合物的常见的盐、外消旋体、异构体、对映异构纯的组合物、前药、代谢产物或衍生物。

[0066] 表1

[0067]

药物	CAS 号	分类或 Tanimoto 相似性指数
阿坎酸和相关化合物		
阿坎酸	77337-76-9; 77337-73-6	NA
高牛磺酸	3687-18-1	0.73
乙基二甲基丙磺酸铵	160255-06-1	0.77
牛磺酸	107-35-7	0.5
巴氯芬和相关化合物		
巴氯芬	1134-47-0; 66514-99-6;	NA

[0068]

	69308-37-8; 70206-22-3; 63701-56-4; 63701-55-3	
3-(对氯苯基)-4-羟基丁酸	52977-95-4	代谢物
普阿氯芬	847353-30-4	前药
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮		
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮	607742-69-8; 607742-55-2	NA

[0069] NA: 不适用

[0070] 巴氯芬前药的具体实例在Hanafi中给出[45],特别是巴氯芬酯和巴氯芬氨基甲酸酯,它们因靶向中枢神经系统而特别受关注。因此这些前药特别适合本发明的组合物。之前所述的普阿氯芬也是众所周知的前药,因此可在本发明组合物中代替巴氯芬使用。巴氯芬的其它前药可参见以下专利申请:W02010102071、US2009197958、W02009096985、W02009061934、W02008086492、US2009216037、W02005066122、US2011021571、W02003077902和W02010120370,其可在本发明组合物中代替巴氯芬使用。

[0071] 阿坎酸可用的前药(如阿坎酸的泛解酸酯新戊基磺酰基酯、新戊基磺酰基酯前药或掩蔽的羧酸酯新戊基磺酰基酯前药)显著列于W02009033069、W02009033061、W02009033054、W02009052191、W02009033079、US 2009/0099253、US 2009/0069419、US 2009/0082464、US 2009/0082440和US 2009/0076147,它们可在本发明的组合物中代替阿坎酸使用。

[0072] 发明的描述

[0073] 本发明的优选的组合包含以下药物组合之一,其被组合、分开、相继或顺序给药:

[0074] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬,

[0075] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸,或

[0076] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸。

[0077] 如上所述,本发明的药物组合对神经障碍涉及的多种生物过程具有较强的出人意料的作用。发明人出人意料地发现这些新的组合物可同时地以协同方式减弱A β 毒性、重新建立被扰乱的谷氨酸信号传递、减弱氧化应激、在受影响神经元中减弱缺血性应激、和/或减弱或逆转认知功能的损伤。

[0078] 实施例表明,在本发明的组合疗法中,3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮当与巴氯芬或阿坎酸或巴氯芬和阿坎酸的组合联合时,有效地针对A β 中毒和/或谷氨酸兴奋性毒性、和/或缺血性应激或6-OHDA诱导的应激提供了保护,即使以相对于分别使用时的保护浓度而言较低浓度的范围使用化合物,因此导致了期望避免可能的副作用。

[0079] 在认知缺损的体内模型中,实施例表明,在本发明的组合疗法中,3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮当与巴氯芬和阿坎酸的组合联合时,有效且协同地逆转了A β (25-35)毒性诱导的认知功能的损伤。

[0080] 这些药物组合因此代表了用来治疗神经障碍的新方法,如AD和AD相关疾病、MS、ALS、PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、HD、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件。

[0081] 本发明因此提出了神经障碍的新疗法,其基于3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮与巴氯芬和/或阿坎酸的组合。更具体地,本发明提出了AD和AD相关疾病、MS、ALS、PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、HD、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件的新的疗法,其基于3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮与巴氯芬和/或阿坎酸的组合。

[0082] 在这点上,在一个具体实施方案中,本发明涉及包含3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮与巴氯芬和/或阿坎酸的组合物,其用于治疗AD、AD相关疾病、MS、PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、ALS、HD、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件。

[0083] 在一个更具体实施方案中,本发明涉及以下组合物之一,所述组合物包含以下、基本上由以下组成或由以下组成:

[0084] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬,

[0085] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸,或

[0086] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸,

[0087] 其用于治疗AD、AD相关疾病、MS、PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、ALS、HD、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件。

[0088] 在另一实施方案中,本发明涉及以下化合物的组合之一:

[0089] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬,

[0090] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸,或

[0091] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸,

[0092] 其用于治疗AD、AD相关疾病、MS、PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、ALS、HD、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件。

[0093] 在根据本发明的组合疗法中,化合物可分开、同时、相继或顺序给药于受试者。

[0094] 在另一实施方案中,本发明涉及3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮与巴氯芬和/或阿坎酸在制备用于治疗AD、AD相关疾病、MS、PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、ALS、HD、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件的药物中的用途。

[0095] 在一个具体实施方案中,本发明涉及这些组合或组合物在有需要的受试者中治疗AD或AD相关的疾病的用途。

[0096] 在一个具体实施方案中,本发明涉及这些组合或组合物在有需要的受试者中治疗MS、PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、ALS、HD、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件的用途。

[0097] 如实施例所公开的,本发明的至少包含3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和/或阿坎酸的组合疗法在体外显示非常有效的能力以保护神经元细胞免受A β 寡聚物毒性和/或谷氨酸兴奋性毒性和/或6-OHDA诱导的氧化应激和/或缺血性应激。这些组合因此代表用于治疗神经障碍的新方法,如AD和AD相关疾病、MS、ALS、PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、HD、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件,以用于治疗与这些疾病相关的认知症状。

[0098] 实验部分进一步显示本发明的组合物也可有效协同保护神经元细胞以防止神经障碍潜在的上述应激,且在已知认知功能障碍小鼠模型中改善临床症状如认知缺损。

[0099] 协同作用可通过不同方式证实,例如通过从各单独化合物和它们组合的剂量-效应曲线计算组合指数[46-48]和/或使用因子ANOVA检验,其中将治疗作为因子,指示因子之间的相互作用是否为显著的[49]。协同作用可通过本领域技术人员已知的方法评估。

[0100] 所呈现的结果明确地表明上述组合疗法在神经细胞中对A β 毒性具有重要的协同作用。还观察到这种保护性协同效应对抗谷氨酸毒性和/或6-OHDA诱导的氧化应激和/或缺血性应激。因此,这些组合疗法代表治疗AD、AD相关病症以及与AD共享一些这种生理特征的其他病症的新颖且有效的方法。

[0101] 因此本发明一个目的还在于如上定义的一种或多种组合物,其用于治疗神经障碍如AD、AD相关疾病、MS、PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、ALS、HD、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件。

[0102] 如上所述,本发明特别适用于治疗AD和AD相关疾病,如实验部分所示,通过与A β 寡聚物毒性和谷氨酸毒性相关的结果,并且以较少程度通过与作为氧化缺血性应激的较少特异性应激相关的结果。因此,本发明的目的还在于如上定义的用于治疗AD或AD相关病症的组合物,其进一步包含至少一种选自以下的药物:他克林(CAS:321-64-2)、多奈哌齐(CAS:120014-06-4)、加兰他敏(CAS:357-70-0;1953-04-4)、利伐斯的明(CAS:123441-03-2)或美金刚(CAS:19982-08-2)。

[0103] 在一个具体实施方案中,本发明涉及以下组合物之一本身,其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成:

- [0104] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬，
- [0105] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸，
- [0106] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸，
- [0107] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和多奈哌齐，
- [0108] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和多奈哌齐，
- [0109] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和多奈哌齐，
- [0110] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和美金刚，
- [0111] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和美金刚，
- [0112] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和美金刚，
- [0113] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和他克林，
- [0114] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和利伐斯的明，或
- [0115] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和加兰他敏。
- [0116] 在一个更具具体实施方案中，本发明涉及以下组合物之一，其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成：
- [0117] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬，
- [0118] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸，
- [0119] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸，
- [0120] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和多奈哌齐，
- [0121] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和多奈哌齐，
- [0122] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和多奈哌齐，
- [0123] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和美金刚，
- [0124] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和美金刚，
- [0125] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和美金刚，
- [0126] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和他克林，
- [0127] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和利伐斯的明，或
- [0128] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和加兰他敏，
- [0129] 其用于治疗AD或AD相关疾病。
- [0130] 在另一实施方案中，本发明涉及以下化合物的组合之一，其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成：
- [0131] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬，
- [0132] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸，
- [0133] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸，
- [0134] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和多奈哌齐，
- [0135] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和多奈哌齐，
- [0136] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和多奈哌齐，
- [0137] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和美金刚，
- [0138] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和美金刚，
- [0139] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和美金刚，
- [0140] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和他克林，

[0141] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和利伐斯的明,或

[0142] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和加兰他敏,

[0143] 其用于治疗AD或AD相关疾病。

[0144] 本发明还特别适用于治疗PD,如实验部分所公开,通过涉及谷氨酸毒性、缺血性应激和在多巴胺能神经元中的6-OHDA毒性的结果。因此,本发明的目的还在于如上定义的用于治疗PD的组合物,其进一步包含左旋多巴或包含左旋多巴和卡比多巴。

[0145] 在一个具体实施方案中,本发明涉及以下组合物本身之一,其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成:

[0146] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和左旋多巴,

[0147] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和左旋多巴,或

[0148] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和左旋多巴。

[0149] 在一个更具体实施方案中,本发明涉及以下组合物之一,其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成:

[0150] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬,

[0151] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸,

[0152] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸,

[0153] 其用于治疗PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病。

[0154] 在一个更具体实施方案中,本发明涉及以下组合物之一,其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成:

[0155] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和左旋多巴,

[0156] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和左旋多巴,

[0157] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和左旋多巴,

[0158] 其用于治疗PD。

[0159] 在另一实施方案中,本发明涉及以下化合物的组合之一,其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成:

[0160] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬,

[0161] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸,

[0162] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸,

[0163] 其用于治疗PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病。

[0164] 在另一实施方案中,本发明涉及以下化合物的组合之一,其包含、基本上由以下组成或由以下组成:

[0165] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和左旋多巴,

[0166] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和左旋多巴,

[0167] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和左旋多巴,

[0168] 其用于治疗PD。

[0169] 如前所述,在本发明的组合治疗中,化合物或药物可以一起或分开配制,并一起、分开、依次或先后给药。

[0170] 本发明的另一目的在于如上定义的组合物或组合在制备用于治疗神经障碍如AD、AD相关疾病、MS、PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、ALS、HD、周围神经

病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件的药物中的用途。

[0171] 本发明进一步提供治疗神经障碍如AD、AD相关疾病、MS、PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、ALS、HD、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件的方法，包括向需要的受试者给药有效量的如上定义的组合物或组合。

[0172] 本发明的另一目的为治疗神经障碍如AD、AD相关疾病、MS、PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、ALS、HD、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件的方法，该方法包括同时、分开、相继或顺序地向需要的受试者给药有效量的如上定义的组合物或组合。

[0173] 本发明的另一目的为治疗神经障碍如AD、AD相关疾病、MS、PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、ALS、HD、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件的方法，该方法包括随后向有需要的且已用3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮治疗的受试者给药有效量的巴氯芬和/或阿坎酸。本发明的另一目的为治疗神经障碍如AD、AD相关疾病、MS、PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、ALS、HD、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件的方法，该方法包括随后向有需要且已用巴氯芬和/或阿坎酸[衍生物]治疗的受试者给药有效量的3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮。

[0174] 在一个优选实施方案中，本发明涉及在有需要的受试者中治疗神经障碍如AD、AD相关疾病、MS、PD、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、ALS、HD、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件的方法，包括向受试者同时、分开、相继或顺序给药有效量的3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和/或阿坎酸。

[0175] 本发明的组合物通常包含一种或多种可药用的载体或赋形剂。而且，为了用于本发明，该药物或化合物通常与可药用的赋形剂或载体混合。

[0176] 在这点上，本发明的另一目的为制备药物组合物的方法，该方法包括在合适的赋形剂或载体中混合上述化合物。

[0177] 在一个具体实施方案中，该方法包括在合适的赋形剂或载体中混合3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮、巴氯芬和阿坎酸。

[0178] 根据本发明的优选实施方案，如上面所指出，所述化合物以原样使用或以其可药用的盐、前药、衍生物或持续/控制释放的制剂形式使用。

[0179] 尽管在体内非常有效，但根据受试者或具体病症，本发明的组合疗法可进一步与其它有利于治疗受试者神经疾病的药物或疗法结合或联合或组合。

[0180] 与根据本发明的药物或药物组合结合使用的其它疗法可包括一种或多种改善MS、路易体痴呆、多系统萎缩症和其它相关共核蛋白病、ALS、HD、周围神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、SCI、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件的症状的药物，或可用于这些疾病的保守疗法的药物。因此，可与本发明的组合一起使用的示例性疗法为用于AD和AD相关疾病的他克林(CAS:321-64-2)、多奈哌齐(CAS:120014-06-4)、加兰他

敏 (CAS:357-70-0;1953-04-4)、利伐斯的明 (CAS:123441-03-2) 或美金刚 (CAS:19982-08-2);或用于PD的麦角乙脞 (CAS:140387-89-9、1189731-50-7、14611-52-0、14611-51-9)、雷沙吉兰 (CAS:136236-51-6)、托卡朋 (CAS:134308-13-7)、恩他卡朋 (CAS:130929-57-6)、氯氮平 (CAS:5786-21-0)、地昔帕明 (CAS:50-47-5)、西酞普兰 (CAS:59729-33-8)、去甲替林 (CAS:72-69-5)、帕罗西汀 (CAS:61869-08-7)、阿托西汀 (CAS:82248-59-7)、文拉法辛 (CAS:93413-69-5)、金刚烷胺 (CAS:768-94-5)、多奈哌齐 (CAS:120014-06-4)、利伐斯的明 (CAS:123441-03-2)、美金刚 (CAS:19982-08-2)、溴麦角环肽 (CAS:25614-03-3)、卡麦角林 (CAS:81409-90-7)、培高利特 (CAS:66104-22-1)、普拉克索 (CAS:104632-26-0)、罗匹尼罗 (CAS:91374-21-9)、罗替戈汀 (CAS:99755-59-6、92206-54-7)、阿扑吗啡 (CAS:58-00-4)、卡比多巴 (CAS:28860-95-9)、苄丝肼 (CAS:322-35-0)、司来吉兰 (CAS:14611-51-9)、奥米加匹 (omigapil) (CAS:181296-84-4)、CEP-1347 (CAS:156177-65-0)、伊拉地平 (CAS:75695-93-1) 或DOPA (CAS:59-92-7);或用于ALS的锂或利鲁唑 (CAS:1744-22-5);或用于癫痫的左乙拉西坦 (CAS:102767-28-2)、依佐加滨 (CAS:150812-12-7)、普加巴林 (CAS:148553-50-8)、卢非酰胺 (CAS:106308-44-5)、非氨酯 (CAS:25451-15-4)、卡马西平 (CAS:298-46-4)、丙戊酸盐 (CAS:99-66-1)、丙戊酸钠 (CAS:1069-66-5)、拉莫三嗪 (CAS:84057-84-1)、苯妥英 (CAS:57-41-0)、奥卡西平 (CAS:28721-07-5)、乙琥胺 (CAS:77-67-8、39122-19-5、39122-20-8)、加巴喷丁 (CAS:60142-96-3)、噻加宾 (CAS:115103-54-3)、托吡酯 (CAS:97240-79-4)、氨基烯酸 (CAS:60643-86-9)、苯巴比妥 (CAS:50-06-6)、扑米酮 (CAS:125-33-7) 和氯硝西洋 (CAS:1622-61-3);或用于MS的干扰素 β -1a (CAS:145258-61-3)、干扰素 β -1b (CAS:145155-23-3)、米托蒽醌 (CAS:65271-80-9)、那他珠单抗 (CAS:189261-10-7)、芬戈莫德 (CAS:162359-55-9)、那他珠单抗 (CAS:189261-10-7)、特立氟胺 (CAS:108605-62-5)、富马酸二甲酯 (CAS:624-49-7、23057-98-9) 或格拉默 (CAS:28704-27-0;147245-92-9)。

[0181] 本发明的疗法可以在家里、医生办公室、诊所、医院的门诊部或医院提供,以便医生可以密切观察疗法的效果并做出任何需要的调整。

[0182] 治疗的持续时间取决于被治疗的疾病的阶段、患者的年龄和状况以及患者对治疗如何反应。组合的每种组分的给药剂量、频率和方式可以独立地控制。例如,一种化合物可以口服给药,而第二种化合物可以肌肉内给药。组合疗法可通过包括恢复期的断续循环方式提供,以便患者的身体有机会从任何尚无法预料的副作用恢复。化合物也可以配制在一起以便一次给药递送所有药物。

[0183] 组合中的每种化合物的给药可以通过任何适合的方式进行,产生的化合物浓度在与其他组分组合时能够改善患者状况和/或有效治疗疾病或障碍。

[0184] 尽管组合的化合物可以作为纯的化学物质给药,但优选将它们作为药物组合物(在本文中也称为药物制剂)提供。可能的组合物包括适合于经口、直肠、局部(包括透皮、经颊和舌下)或肠胃外(包括皮下、肌肉内、静脉内和真皮内)给药的组合物。

[0185] 更通常情况下,这些药物制剂以“患者包”的形式开给患者,所述患者包在单一包装、通常为泡罩包装中含有多个定量投配单元或其他在不同治疗期间使用的用于给药计量单位药剂的装置。患者包与传统处方(药剂师从散料供应中分装出患者的药物供应)相比的优势在于,患者总是能够得到患者包中包含的包装说明书,而这在传统处方中一般是缺失的。已经显示,包含包装说明书增加了患者对医生指导的顺从性。因此,本发明还包括本文

前述的药物组合物,其与适合于所述制剂的包装材料组合。在这样的患者包中,用于组合疗法的制剂的预期使用方法,可以从说明书、器具、附文、适应症和/或用于帮助制剂最适合地用于治疗的其他装置推断出来。这样的措施使患者包特别适合于和适用于使用本发明的组合进行治疗。

[0186] 化合物可以以任何适合的量被包含在任何适合的载体物质中。化合物可以以组合物总重量的至多99重量%的量存在。组合物可以提供在适合于经口、肠胃外(例如静脉内、肌肉内)、直肠、皮肤、鼻、阴道、吸入、皮肤(贴片)或眼给药途径的剂型中。因此,组合物可以采用例如片剂、胶囊、丸剂、粉剂、颗粒、混悬剂、乳液、溶液、包括水凝胶在内的凝胶剂、糊剂、软膏、霜剂、膏药、浸液、渗透递送装置、栓剂、灌肠剂、注射剂、植入物、喷剂或气雾剂的形式。

[0187] 药物组合物可以按照常规药物实践进行配制(参见,例如,Remington: The Science and Practice of Pharmacy [50]和the Encyclopedia of Pharmaceutical Technology [51])。

[0188] 本发明的药物组合物可以配制成在给药后基本上立即释放或在给药后任何预定的时间或时间段内释放活性化合物。

[0189] 持续/控制释放制剂包括:(i)在较长时期内在体内产生基本上恒定的化合物浓度的制剂;(ii)在预定延迟期后在较长时期内在体内产生基本上恒定的化合物浓度的制剂;(iii)通过在体内维持相对恒定、有效的药物水平而在预定时间段内维持化合物作用,同时使得与活性药物的血浆水平波动相关的不期望的副作用最小化的制剂;(iv)通过例如将控制释放组合物在空间上放置在患病组织或器官附近或其中,使化合物作用局部化的制剂;以及(v)通过使用将药物递送到特定靶细胞类型的载体或化学衍生物而靶向化合物作用的制剂。

[0190] 采用持续/控制释放制剂形式的药物的给药,在药物具有下述特征的情况下是特别优选的:(i)狭窄的治疗指数(即产生有害副作用或毒性反应的血浆浓度与产生疗效的血浆浓度之间的差值小;一般来说,治疗指数TI被定义为中值致死剂量(LD50)与中值有效剂量(ED50)的比);(ii)在胃肠道中狭窄的吸收窗口;或(iii)非常短的生物半衰期,使得为了将血浆水平维持在治疗水平,需要在一天中频繁用药。

[0191] 可以采取许多策略中的任一种以便获得持续/控制释放,其中所研究的化合物的释放速率超过其代谢速率。控制释放可以通过适当选择各种配制参数和成分、包括例如各种类型的控制释放组合物和涂层来获得。因此,使用适合的赋形剂将化合物配制成药物组合物,其在给药后以受控的方式释放药物(单一或多个单位片剂或胶囊组合物、油溶液、混悬剂、乳液、微胶囊、微球、纳米颗粒、贴片和脂质体)。

[0192] 用于经口使用的固体剂型

[0193] 用于经口使用的剂型包括在无毒性的可药用赋形剂的混合物中包含本发明的组合物的片剂。这些赋形剂可以是例如惰性稀释剂或填充剂(例如蔗糖、微晶纤维素、包括马铃薯淀粉在内的淀粉、碳酸钙、氯化钠、磷酸钙、硫酸钙或磷酸钠);造粒剂和崩解剂(例如包括微晶纤维素在内的纤维素衍生物、包括马铃薯淀粉在内的淀粉、交联羧甲基纤维素钠、藻酸盐或藻酸);粘合剂(例如阿拉伯树胶、藻酸、藻酸钠、明胶、淀粉、预胶化淀粉、微晶纤维素、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、乙基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮或聚乙

二醇);和润滑剂、助流剂和抗粘附剂(例如硬脂酸、二氧化硅或滑石粉)。其它可药用的赋形剂可为着色剂、增味剂、增塑剂、润湿剂、缓冲剂等。

[0194] 片剂可以是未包衣的,或它们可以通过已知技术包衣,从而任选地延迟在胃肠道中的崩解和吸收,从而在较长时期内提供持续作用。包衣可以适于以预定方式释放活性化合物物质(例如以便获得控制释放制剂),或者它可以适用于直到通过胃之后才释放活性化合物物质(肠溶包衣)。包衣可以是糖包衣、薄膜包衣(例如基于羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、甲基羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羧甲基纤维素、丙烯酸酯类共聚物、聚乙二醇和/或聚乙烯吡咯烷酮)或肠溶包衣(例如基于甲基丙烯酸共聚物、邻苯二甲酸乙酸纤维素、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素、乙酸琥珀酸羟丙基甲基纤维素、邻苯二甲酸聚乙酸乙烯酯、虫胶和/或乙基纤维素)。可以使用延时材料例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。

[0195] 固体片剂组合物可以包括包衣,其适用于保护组合物免于经受不想要的化学变化(例如在活性药物释放前的化学降解)。包衣可以以与Encyclopedia of Pharmaceutical Technology中描述的相似的方式被施用于固体剂型上[51]。

[0196] 在片剂中,药物/化合物可以混合在一起,也可以分区。例如,第一种化合物被包含在片剂内部,第二种化合物位于外部,使得第二种化合物的主要部分在第一种化合物释放之前释放。

[0197] 用于经口使用的制剂也可被提供成可咀嚼片剂,或作为其中活性成分与惰性固体稀释剂(例如马铃薯淀粉、微晶纤维素、碳酸钙、磷酸钙或高岭土)混合的硬明胶胶囊,或作为其中活性成分与水或油介质(例如液体石蜡或橄榄油)混合的软明胶胶囊。粉剂、颗粒、微米-或纳米-颗粒可以使用在上面关于片剂和胶囊下所提到的成分以常规方式制备。

[0198] 用于经口使用的控制释放组合物可以被构建成例如通过控制活性药物的溶出和/或扩散来释放活性药物。

[0199] 溶解或扩散的控制释放可以通过药物的片剂、胶囊、丸剂或颗粒制剂的合适包衣,或通过将药物掺入到适合的基质中来实现。控制释放包衣可以包括一种或多种上面提到的包衣物质,和/或例如虫胶、蜂蜡、glycowax、蓖麻蜡、巴西棕榈蜡、硬脂醇、单硬脂酸甘油酯、二硬脂酸甘油酯、棕榈酸硬脂酸甘油酯、乙基纤维素、丙烯酸树脂、d1-聚乳酸、乙酸丁酸纤维素、聚氯乙烯、聚乙酸乙烯酯、乙烯吡咯烷酮、聚乙烯、聚甲基丙烯酸酯、甲基丙烯酸甲酯、丙烯酸2-羟基甲酯、甲基丙烯酸酯水凝胶、1,3-丁二醇、甲基丙烯酸乙二醇酯和/或聚乙二醇。在控制释放基质制剂中,基质材料也可以包括例如水合甲基纤维素、巴西棕榈蜡和硬脂醇、卡波普(carbopol) 934、硅酮、三硬脂酸甘油酯、丙烯酸甲酯-甲基丙烯酸甲酯、聚氯乙烯、聚乙烯和/或卤代氟烃。

[0200] 含有一种或多种要求保护的药物组合的控制释放组合物,也可以采用漂浮片剂(buoyant tablet)或胶囊的形式(即在口服给药后,在胃内容物顶部漂浮一段时间的片剂或胶囊)。药物的漂浮片剂制剂可以通过将药物与赋形剂和20-75%w/w的水凝胶剂(例如羟乙基纤维素、羟丙基纤维素或羟丙基甲基纤维素)的混合物成粒来制备。然后将获得的颗粒压制成片剂。在与胃液接触后,片剂在其表面周围形成基本上不透水的凝胶剂阻挡层。这种凝胶剂阻挡层参与将密度维持在小于1,从而允许片剂保持漂浮在胃液中。

[0201] 用于经口给药的液体

[0202] 适合于通过添加水制备水性混悬剂的粉剂、可分散粉剂或颗粒,是用于经口给药

的方便剂型。作为混悬剂的制剂提供了活性成分与分散剂或润湿剂、助悬剂和一种或多种防腐剂的混合物。适合的助悬剂是例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、藻酸钠等。

[0203] 肠胃外组合物

[0204] 药物组合物也可以通过注射、输注或植入(静脉内、肌肉内、皮下等),以剂型、制剂或通过适合的递送装置或含有常规的无毒可药用载体和佐剂的植入物的形式肠胃外给药。这样的组合物的配制和制备对于药物制剂领域的专业人员来说是众所周知的。

[0205] 用于肠胃外使用的组合物可以单位剂型提供(例如在单剂量安瓿中)或在含有几份剂量的小管中提供,并且其中可以添加适合的防腐剂(参见下文)。组合物可以采取溶液、混悬剂、乳液、输注装置或用于植入的递送装置的形式,或者它可以作为干粉存在,在使用前用水或其他适合的介质重构。除了活性化合物之外,组合物可以包含适合的肠胃外可接受的载体和/或赋形剂。活性化合物可被掺入到微球、微胶囊、纳米颗粒或脂质体等中,以用于控制释放。组合物可以包含助悬剂、增溶剂、稳定剂、pH调节剂和/或分散剂。

[0206] 本发明的药物组合物可以采取适合于无菌注射的形式。为了制备这样的组合物,将适合的活性化合物溶解或悬浮在肠胃外可接受的液体介质中。在可以使用的可接受介质和溶剂中包括水、通过加入适量的盐酸、氢氧化钠或适合的缓冲液调整到适合pH的水、1,3-丁二醇、林格氏液和等渗氯化钠溶液。水性制剂也可以包含一种或多种防腐剂(例如对羟基苯甲酸的甲酯、乙酯或正丙酯)。在其中一种化合物仅仅少量或微溶于水的情况下,可以加入溶解增强剂或增溶剂,或溶剂可以包含10-60%w/w的丙二醇等。

[0207] 控制释放肠胃外组合物可以采取水性混悬剂、微球、微胶囊、磁性微球、油溶液、油混悬剂或乳液的形式。可替代地,活性化合物可被掺入到可生物相容的载体、脂质体、纳米颗粒、植入物或输注装置中。用于制备微球和/或微胶囊的材料是例如可生物降解/可生物蚀刻的聚合物,例如聚乙醇乳酸(polygalactin)、聚(氰基丙烯酸异丁酯)、聚(2-羟基乙基-L-谷氨酰胺)。在配制控制释放肠胃外制剂时可以使用生物相容载体是糖类(例如葡聚糖)、蛋白(例如白蛋白)、脂蛋白或抗体。用于植入物的材料可以是不可生物降解的(例如聚二甲基硅氧烷)或可生物降解的(例如聚己内酯、聚乙醇酸或聚原酸酯)。

[0208] 可替代途径

[0209] 尽管不太优选和不太方便,但也可考虑其它给药途径,以及因此可考虑其它制剂。在这点上,对于直肠使用来说,适用于组合物的剂型包括栓剂(乳液或混悬剂类型)和直肠明胶胶囊(溶液或混悬剂)。在典型的栓剂制剂中,活性化合物与适合的可药用栓剂基质组合,所述基质为例如可可脂、酯化的脂肪酸、甘油化的明胶以及各种水溶性的或水可分散的基质例如聚乙二醇。可以掺入各种添加剂、增强剂或表面活性剂。

[0210] 药物组合物也可以在含有常规的无毒可药用载体和赋形剂(包括微球和脂质体)的剂型或制剂中,局部给药于皮肤上,以用于经皮吸收。制剂包括霜剂、软膏、洗剂、搽剂、凝胶剂、水凝胶剂、溶液、混悬剂、棒剂、喷剂、糊剂、膏药和其他类型的经皮药物递送系统。可药用的载体或赋形剂可以包括乳化剂、抗氧化剂、缓冲剂、防腐剂、保湿剂、渗透增强剂、螯合剂、成凝胶剂、软膏基质、香料和皮肤保护剂。

[0211] 防腐剂、保湿剂、渗透增强剂可以是对羟基苯甲酸酯例如对羟基苯甲酸的甲酯或丙酯,以及苯扎氯铵、甘油、丙二醇、脲等。

[0212] 上面描述的用于局部给药于皮肤上的药物组合物,也可以用于局部给药到身体待

治疗部分上或其附近的情况中。组合物可以适用于直接施用或利用特制的药物递送装置施用,例如敷料或可替选的膏剂、衬垫、海绵、条板或其他适合的柔性材料形式。

[0213] 缓释制剂

[0214] 本发明组合疗法的任一种化合物可在缓释制剂中使用,和/或与修饰组织分布或生物利用度的试剂一起配制。更具体地,当可适用时,本发明疗法的一种或多种化合物与用于口服或肠胃外或鞘内给药的药物洗脱聚合物或生物分子或胶束或形成脂质体的脂质或水包油乳剂、或聚乙二醇化的或固体的纳米颗粒或微米颗粒一起配制以修饰组织分布或生物利用度。这些配制试剂的具体实例包括PGA、PLGA、环糊精、白蛋白或蛋白质载体、纳米和微米颗粒、脂质体、乳剂和PEG。

[0215] 缀合物 (Conjugates)

[0216] 在本发明的组合疗法中,所述化合物可以不同方式在药物组合物中联合。它们可作为单独实体混合在一起。它们可单独配制。它们也可使用或不使用连接基而共价或非共价连接。在一个具体实施方案中,至少两个化合物被连接,优选通过可裂解或不可裂解的连接基连接。

[0217] 治疗的剂量和持续时间

[0218] 应该理解,组合的药物/化合物可以在相同或不同的药物制剂中共同给药,以相继给药或顺序给药。如果进行顺序给药或相继给药,在给药第二种(或附加)活性成分时的延迟不应该导致活性成分组合的有效效果的益处丧失。对本发明的组合的最低要求是,该组合应该旨在与活性成分的组合的有效效果的益处组合使用。组合的预期使用,可以通过器具、附文、适应症和/或用于帮助使用本发明的组合的其他装置推断出来。

[0219] 本发明组合中化合物的治疗有效量包括,例如,有效减少AD症状、停止或减缓疾病进展(一旦其具有临床显性)或防止或减少疾病发展的风险的量。

[0220] 本发明的活性药物可以以分剂量给药,例如每日2到3次。此外,每种化合物可以使用不同的给药频率,例如,一种化合物可以每天给药一次,而另一化合物可以每天给药两次。优选每天单次给药3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮的组合物,并伴随每天两次给药巴氯芬和阿坎酸的组合物。作为替代实施方案,优选每天给药一次组合中的每种化合物,最优选在单一药物组合物(单位剂型)中每天给药一次所有药物。

[0221] 给药可重复几天至几年,且可甚至持续患者的终身。在大多数情况下需要持续或至少周期重复的长期给药。

[0222] 同样,给药也可以每两天一次,每周三至二次或每周一次。此外,对于每种化合物,可以使用不同的给药频率。

[0223] 术语“单位剂型”是指适合作为人类受试者的单一剂量的物理离散的单位(例如胶囊、片剂、装药的注射器筒、摇杯、安瓿),每个单位包含根据计算能够产生所需疗效的预定量的活性物质或多种活性物质,以及所需的药物载体。

[0224] 优选的单位剂量组合物中各药物的量取决于多种因素,包括给药方法、患者体重和年龄、疾病阶段、潜在副作用的风险(考虑到待治疗个体的一般健康状况)。此外,关于特定患者的药物基因组学(基因型对药代动力学、药效学或治疗效能情况的影响)信息可以影响使用的剂量。

[0225] 除了当对应于特别受损的病例时可能需要较高剂量之外,组合中每种药物的优选

剂量通常将在不高于长期维持性治疗所通常开出的剂量或在3期临床研究中被证明是安全的剂量的范围内。

[0226] 本发明一个显著优点为在组合疗法中各化合物可以低剂量使用,但组合时对患者产生显著的临床益处。在所述化合物单独具有低效果或无效果的剂量下,该组合疗法可实际上是有利的。因此,本发明的一个具体优点在于能够使用低于最佳剂量的各化合物的能力,即,比通常的处方治疗剂量低的剂量,优选治疗剂量的1/2,更优选治疗剂量的1/3、1/4、1/5、1/6、1/7、1/8、1/9或甚至更优选1/10。在具体实例中,可使用低至治疗剂量的1/20、1/30、1/50、1/100或甚至更低的剂量。

[0227] 在这些亚治疗剂量下,所述化合物将显示较低副作用至无副作用,而根据本发明的组合在治疗神经障碍方面完全有效。

[0228] 优选剂量对应于通常针对长期维持治疗开出的处方量的1%至最高50%。

[0229] 最优的剂量可对应于用于长期维持性治疗所开出的剂量的1%到最高10%的量。

[0230] 此外,当本发明的疗法还包括给予多奈哌齐、美金刚、利伐斯的明、他克林、或加兰他敏或左旋多巴时,这些药物以其通常剂量和方案使用(即作为附加治疗),或甚至以较低剂量使用,即以其各自适应症中通常规定的1%至50%。

[0231] 用于本发明的化合物剂量的具体实例在以下提供:

[0232] -阿坎酸:0.01 μ g至1000mg/天,优选少于400mg/天,优选少于200mg/天,更优选少于100mg/天,还更优选少于50mg/天,优选少于1mg/天,优选少于0.5mg/天,优选少于10 μ g/天,更优选少于1 μ g/天,还更优选少于0.1 μ g/天,该剂量特别适合于口服给药。

[0233] -巴氯芬:0.0001 μ g/天至150mg/天,优选少于100mg/天,更优选少于50mg/天,还更优选少于25mg/天,优选少于1mg/天,优选少于0.5mg/天,优选少于10 μ g/天,优选少于1 μ g/天,优选少于0.1 μ g/天,更优选少于0.01 μ g/天,还更优选少于0.001 μ g/天,该剂量特别适合于口服给药。

[0234] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮:0.5至75mg/天,优选少于35mg/天,优选少于17mg/天,更优选少于5mg/天,还更优选少于1mg/天,该剂量特别适合于口服给药。

[0235] -多奈哌齐:0.5至23mg/天,优选少于10mg/天,更优选少于5mg/天,还更优选少于2mg/天,该剂量特别适合于口服给药。

[0236] -美金刚:0.5至20mg/天,优选少于10mg/天,更优选少于5mg/天,还更优选少于2mg/天,该剂量特别适合于口服给药。

[0237] -他克林:0.4至160mg/天,优选少于80mg/天,更优选少于40mg/天,还更优选少于20mg/天,该剂量特别适合于口服给药。

[0238] -利伐斯的明:0.3至12mg/天,优选少于6mg,更优选少于3mg/天。

[0239] -加兰他敏:0.8至24mg/天,优选少于12mg,更优选少于6mg/天,还更优选3mg/天。

[0240] -左旋多巴:0.1至6g/天,优选少于3g/天,更优选少于1g/天,还更优选少于500mg/天。

[0241] 可配制药剂组合物以提供口服剂量,介于:

[0242] -阿坎酸:0.01 μ g至1000mg,优选少于400mg,优选少于200mg,更优选少于100mg,还更优选少于50mg,优选少于1mg,优选少于0.5mg,优选少于10 μ g,更优选少于1 μ g,还更优选

少于0.1 μ g,该剂量特别适合于口服给药;

[0243] -巴氯芬:0.0001 μ g至150mg,优选少于100mg,更优选少于50mg,还更优选少于25mg,优选少于1mg,优选少于0.5mg,优选少于10 μ g,优选少于1 μ g,优选少于0.1 μ g,更优选少于0.01 μ g,还更优选少于0.001 μ g,该剂量特别适合于口服给药;

[0244] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮:0.5至75mg,优选少于35mg,优选少于17mg,更优选少于5mg,还更优选少于1mg,该剂量特别适合于口服给药;

[0245] -多奈哌齐:0.5至23mg,优选少于10mg,更优选少于5mg,还更优选少于2mg,该剂量特别适合于口服给药;

[0246] -美金刚:0.5至20mg,优选少于10mg,更优选少于5mg,还更优选少于2mg,该剂量特别适合于口服给药;

[0247] -他克林:0.4至160mg,优选少于80mg,更优选少于40mg,还更优选少于20mg,该剂量特别适合于口服给药;

[0248] -利伐斯的明:0.3至12mg,优选少于6mg,更优选少于3mg;

[0249] -加兰他敏:0.8至24mg,优选少于12mg,更优选少于6mg,还更优选3mg,和/或

[0250] -左旋多巴:0.1至6g,优选少于3g,更优选少于1g,还更优选少于500mg。

[0251] 而且,本发明的药物组合物可配制为包含以下活性成分:

[0252] -阿坎酸,其量为0.001 μ g至16mg/kg的人受试者,优选少于7mg/kg的人受试者,优选少于4mg/kg的人受试者,更优选少于2mg/kg的人受试者,还更优选少于1mg/kg的人受试者,优选少于0.2mg/kg的人受试者,优选少于0.1mg/kg的人受试者,优选少于0.2 μ g/kg的人受试者,更优选少于0.02 μ g/kg的人受试者,还更优选少于0.002 μ g/kg的人受试者,该剂量特别适合于口服给药;

[0253] -巴氯芬,其量为0.000002 μ g至3mg/kg的人受试者,优选少于2mg/kg的人受试者,更优选少于1mg/kg的人受试者,还更优选少于0.5mg/kg的人受试者,优选少于0.02mg/kg的人受试者,优选少于0.01mg/kg的人受试者,优选少于0.2 μ g/kg的人受试者,优选少于0.02 μ g/kg的人受试者,优选少于0.002 μ g/kg的人受试者,更优选少于0.0002 μ g/kg的人受试者,还更优选少于0.00002 μ g/kg的人受试者,该剂量特别适合于口服给药;

[0254] -3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮,其量为0.01至1.25mg/kg的人受试者,优选少于0.6mg/kg的人受试者,优选少于0.3mg/kg的人受试者,更优选少于0.1mg/kg的人受试者,还更优选少于0.02mg/kg的人受试者,该剂量特别适合于口服给药;

[0255] -多奈哌齐,其量为0.01至0.4mg/kg的人受试者,优选少于0.2mg/kg的人受试者,更优选少于0.1mg/kg的人受试者,还更优选少于0.04mg/kg的人受试者,该剂量特别适合于口服给药;

[0256] -美金刚,其量为0.01至0.4mg/kg的人受试者,优选少于0.2mg/kg的人受试者,更优选少于0.1mg/kg的人受试者,还更优选少于0.04mg/kg的人受试者,该剂量特别适合于口服给药;

[0257] -他克林,其量为0.006至2.7mg/kg的人受试者,优选少于1.3mg/kg的人受试者,更优选少于0.7mg/kg的人受试者,还更优选少于0.4mg/kg的人受试者,该剂量特别适合于口服给药;

[0258] -利伐斯的明,其量为0.005至0.2mg/kg的人受试者,优选少于0.1mg/kg的人受试

者,更优选少于0.005mg/kg的人受试者;

[0259] -加兰他敏,其量为0.013至0.4mg/kg的人受试者,优选少于0.2mg/kg的人受试者,更优选少于0.1mg/kg的人受试者,还更优选0.05mg/kg的人受试者;和/或

[0260] -左旋多巴,其量为0.016至0.1g/kg的人受试者,优选少于0.5g/kg的人受试者,更优选少于0.017g/kg的人受试者,还更优选少于10mg/kg的人受试者。

[0261] 在本发明的组合物中,巴氯芬和阿坎酸可以不同比例使用,例如,阿坎酸/巴氯芬的重量比包括0.05至1000 (w/w),优选0.05至100 (w/w),更优选0.05至50 (w/w)。

[0262] 应该理解,实际给药的化合物的量将由医生根据相关的情况确定,所述情况包括待治疗的病症或多种病症、所给药的具体组合物、患者的年龄、体重和反应、患者症状的严重性以及所选的给药途径。因此,上述剂量范围只是旨在为本文中的教导提供一般性指导和支持,而不是打算限制本发明的方法。

[0263] 以下实施例以解释而非限制的目的给出。

实施例

[0264] A. 本发明的组合疗法在体外预防人 $A\beta_{1-42}$ 的毒性

[0265] 人 $A\beta_{1-42}$ 肽的毒性对原代皮质神经元细胞的影响。

[0266] 原代皮质神经元的培养

[0267] 如Singer等[52]所述培养大鼠皮质神经元。简言之,通过颈椎脱位将妊娠15天的怀孕雌性大鼠处死(Rats Wistar),并从子宫中取出胎鼠。取出皮质并置于含有2%青霉素10.000U/ml和10mg/ml链霉素和1%牛血清白蛋白(BSA)的Leibovitz(L15)的冰冷培养基中。通过胰蛋白酶在37°C(0.05%)下将皮质解离20分钟。通过加入含有DNase I III级和10%胎牛血清(FCS)的Dulbecco改良Eagle培养基(DMEM)终止反应。然后通过10ml移液管将细胞连续通过3次机械解离,并在+4°C下以515×g离心10分钟。弃去上清液,将细胞沉淀重新悬浮在由补充有B27(2%)、L-谷氨酰胺(0.2mM)、2%PS溶液和10ng/ml BDNF的Neurobasal组成的确定培养基中。使用台盼蓝排除试验在Neubauer细胞计数器中计数活细胞。将细胞以30000个细胞/孔的密度接种在96孔板中(孔预涂有聚-L-赖氨酸(10μg/ml))并在+37°C下在潮湿空气(95%)/CO₂(5%)气氛培养。

[0268] 每种条件进行三次独立培养,每种条件6个孔。

[0269] 测试化合物和人淀粉样蛋白- β_{1-42} 处理

[0270] 简言之,将 $A\beta_{1-42}$ 肽在限定培养基中以40μM(母液)重建,并在+37°C下在黑暗中缓慢振荡3天。对照培养基在相同条件下制备。

[0271] 3天后,溶液如下用于原代皮质神经元。

[0272] 神经元培养10天后,将测试化合物及其组合在培养基(+0.1%DMSO)中溶解,然后在 $A\beta_{1-42}$ 应用前与神经元预孵育1小时(每个培养孔的最终体积为100μl)。在测试化合物孵育1小时后,在药物存在下加入100μl $A\beta_{1-42}$ 肽至稀释的10μM终浓度,以避免进一步测试化合物的稀释。皮质神经元被中毒24小时。每种条件进行三次单独培养,每种条件6个孔。

[0273] 将BDNF(50ng/ml)用作阳性对照。每种条件进行三次单独培养,每种条件12个孔。

[0274] MAP2抗体标记测定

[0275] 中毒24小时后,取出细胞培养上清液,用乙醇(95%)和乙酸(5%)的冷溶液在-20

℃下固定皮质神经元5分钟。用0.1%皂苷透化后,在含有1%胎牛血清和0.1%皂苷的PBS中将细胞与小鼠单克隆抗体抗微管相关蛋白2 (MAP-2;Sigma) 一起孵育2小时,稀释度为1/400 (该抗体特异性染色细胞体和神经突,从而允许研究神经突网络和细胞死亡)。这种抗体在室温在含有1%胎牛血清和0.1%皂苷的PBS中用Alexa Fluor 488山羊抗小鼠IgG(分子探针)显示1小时,稀释度为1/400。对于每种条件,使用InCell Analyzer™1000 (GEHealthcare)以20x放大倍数每孔拍摄30张图片。所有图像都采用相同的条件拍摄。通过使用Developer软件(GE Healthcare)自动执行总神经突网络和神经元数量的分析。

[0276] 数据处理

[0277] 数据以对照条件的百分比表示(无中毒,无淀粉样蛋白=100%)以表达淀粉样蛋白损伤。所有值均表示为3种培养物的平均值 \pm SEM(s.e.mean) (每种条件n=6个孔)。统计分析是在不同条件下进行的(单因素ANOVA,然后当允许时进行Dunnett检验,Statview软件5.0版)。

[0278] 结果

[0279] 结果显示,测试的组合在保护神经元细胞对抗 $A\beta_{1-42}$ 毒性方面是有效的(表2)。值得注意的是,在3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮、巴氯芬,阿坎酸、利伐斯的明、加兰他敏、他克林、美金刚或多奈哌齐单独使用时显示无保护或极小保护作用的剂量情况下,这些组合以这些剂量对神经元细胞显示出有效的保护作用。

[0280] 表2

[0281]

药物组合	在神经细胞中对抗 $A\beta$ 毒性的保护活性
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸	+

[0282]

3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和多奈哌齐	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和多奈哌齐	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和多奈哌齐	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和美金刚	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和美金刚	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和美金刚	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和他克林	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和利伐斯的明	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和加兰他敏	+

[0283] B-预防对神经元细胞的谷氨酸毒性

[0284] 谷氨酸毒性参与多种神经疾病或障碍的发病机制,如多发性硬化、阿尔茨海默病、AD相关疾病、肌萎缩侧索硬化、帕金森病、路易体痴呆、多系统萎缩症或PD相关共核蛋白病、亨廷顿病、神经病、酗酒或酒精戒断、药物滥用的神经学表现或药物滥用戒断、癫痫、创伤性脑损伤或脑缺血事件或脊髓损伤。首先单独测试药物,然后进行组合作用的测定。在这组实验中,已经测试了化合物预防或减少谷氨酸对神经元细胞的毒性作用的能力。

[0285] 神经元细胞制备

[0286] 在原代皮质神经元细胞上评估本发明药物组合的功效。

[0287] 如前所述制备细胞。

[0288] 谷氨酸毒性测定

[0289] 通过定量特异性显示谷氨酸能神经元的神经突网络(神经丝棉以染色(NF))来评估化合物的神经保护作用。

[0290] 神经元培养12天后,将候选组合的药物在培养基(+0.1%DMSO)中溶解。然后在谷氨酸损伤之前将候选组合和药物与神经元预孵育1小时。孵育1小时后,在候选组合的存在下,加入谷氨酸20分钟至终浓度为40 μ M,以避免进一步的药物稀释。在孵育结束时,用具有候选组合但不含谷氨酸的培养基更换培养基。在谷氨酸损伤后24小时固定培养物。将MK801(地佐环平马来酸氢盐,77086-22-7-20 μ M)用作阳性对照。

[0291] 在用皂苷(Sigma)透化后,用含有10%山羊血清的PBS将细胞封闭2小时,然后将细胞用针对神经丝抗体(NF,Sigma)的小鼠单克隆一抗孵育。用Alexa Fluor 488山羊抗小鼠

IgG显示该抗体。

[0292] 通过荧光标记物 (Hoechst溶液, Sigma) 标记细胞核, 并定量神经突网络。每种条件下将六个孔用于评估3种不同培养物中的神经元存活。

[0293] 结果

[0294] 所有测试的药物组合对皮质神经元细胞的谷氨酸毒性具有保护作用。结果显示在下表3中。

[0295] 本发明的组合在上述实验条件下强烈保护神经元免受谷氨酸毒性。值得注意的是, 使用该药物浓度观察到有效的保护, 而当药物在该浓度下单独使用时没有显著保护作用或保护作用较低。

[0296] 表3

[0297]

药物组合	对谷氨酸毒性的神经保护作用
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和多奈哌齐	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和多奈哌齐	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和	+

[0298]

巴氯芬和阿坎酸和多奈哌齐	
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和美金刚	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和美金刚	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和美金刚	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和他克林	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和利伐斯的明	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和加兰他敏	+

- [0299] C-对抗缺血/缺氧诱导的神经细胞元死亡的保护作用。
- [0300] 缺血性应激与帕金森病(特别是线粒体功能障碍和氧化应激)具有共同的生理和基因组特征。
- [0301] 大鼠神经元皮质细胞的制备
- [0302] 如前所述制备细胞。
- [0303] 氧和葡萄糖剥夺测试(体外缺血模型)
- [0304] 通过使用MAP2抗体定量神经突网络(神经丝免疫染色(NF))来评估化合物或其组合的神经保护作用。将利鲁唑,一种神经保护药物(Riluteck®,5 μ M)用作阳性对照。
- [0305] 神经元培养10天后,将候选药物在培养基(+0.1%DMSO)中溶解,然后与神经元预孵育1小时,然后除去氧和葡萄糖。在候选药物(或组合)孵育1小时后,除去培养基并加入不含葡萄糖的新鲜培养基。该培养基由不含葡萄糖且补充有2%B27、0.2mM L-谷氨酰胺、1%PS溶液、10ng/ml BDNF的DMEM(Invitrogen)组成。将细胞转移到含有95%N₂和5%CO₂的厌氧培养箱中,温度为37°C。
- [0306] 2小时后,在培养基中加入25mM D-葡萄糖,并将细胞转移至在37°C下具有95%空气/5%CO₂的经典培养箱中。在氧葡萄糖再灌注24小时后,经5分钟用冷乙醇/乙酸的溶液固定细胞。
- [0307] 在用皂苷(Sigma)透化后,用含有10%山羊血清的PBS将细胞封闭2小时,然后将细胞与针对MAP2的小鼠单克隆一抗(MAP2,Sigma)一起孵育。用Alexa Fluor 488山羊抗小鼠IgG(分子探针)显示这些抗体。
- [0308] 细胞核用荧光标记物(Hoechst溶液,SIGMA)标记。每种条件下的六个孔用于评估3种不同培养物中的神经元存活。
- [0309] 每种条件下的六个孔用于评估3种不同培养物中的神经元存活。对于每种条件,使用InCell Analyzer TM 1000(GE Healthcare)以20x放大率拍摄每孔2 \times 10个图片并进行分析。
- [0310] 结果
- [0311] 如下表4中所示,所有要求保护的药物组合对皮质神经元细胞的缺血/缺氧诱导的细胞死亡具有保护作用。
- [0312] 表4

[0313]

药物组合	对缺血/缺氧诱导的细胞死亡的神经保护
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和多奈哌齐	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和多奈哌齐	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和多奈哌齐	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和美金刚	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和美金刚	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和美金刚	+

[0314]

3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和他克林	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和利伐斯的明	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和加兰他敏	+

[0315] 此外,使用该药物浓度观察到有效保护,在该浓度下药物单独没有显著的保护作用,从而表明组合疗法对氧化应激和线粒体功能障碍或细胞凋亡具有有效和协同的作用。

[0316] D-药物在多巴胺能神经元上对6-OHDA损伤的神经保护作用

[0317] 6-羟基多巴胺(6-OHDA)是一种神经毒性药物,它通过产生活性氧物质并诱导细胞中的线粒体死亡来选择性地破坏多巴胺能神经元。由于这种神经细胞特异性,6-OHDA毒性通常在体外和体内用于研究帕金森病。尽管如此,由6-OHDA诱导的对抗氧化应激和能量剥夺的保护活性确实显示本发明的组合有效地保护神经细胞对抗在其它神经障碍如多发性硬化、阿尔茨海默病、额颞叶痴呆、肌萎缩侧索硬化、帕金森病、亨廷顿病、神经病、酗酒或酒精戒断、或脊髓损伤中发生的氧化应激和能量剥夺。

[0318] 中脑多巴胺能神经元的培养

[0319] 如Schinelliet等[53]所述培养大鼠多巴胺能神经元。通过颈脱位(Rats Wistar; Janvier)杀死妊娠15天的怀孕雌性大鼠并从子宫中取出胎鼠。取出胚胎中脑并置于含有2%青霉素-链霉素(PS;PanBiotech)和1%牛血清白蛋白(BSA;PanBiotech)的Leibovitz(L15;PanBiotech)的冰冷培养基中。只有中脑曲的腹侧部分用于细胞制备,因为这是富含多巴胺能神经元的发育中的脑区域。中脑通过胰蛋白酶消化在37℃下解离20分钟(胰蛋白酶EDTA 1X;PanBiotech)。加入含有DNA酶I级II(0.1mg/ml;PanBiotech)和10%胎牛血清(FCS;Invitrogen)的Dulbecco改良Eagle培养基(DMEM;PanBiotech)终止反应。然后通过10ml移液管将细胞连续通过3次机械解离,并在+4℃下在L15培养基中的BSA(3.5%)层上以180×g离心10分钟。弃去上清液,将细胞沉淀重新悬浮在由补充有B27(2%;Invitrogen)、L-谷氨酰胺(2mM;PanBiotech)和2%PS溶液和10ng/ml脑-衍生的神经营养因子(BDNF, PanBiotech)和1ng/ml Glial-衍生的神经营养因子(GDNF, PanBiotech)的Neurobasal组成的确定培养基中。使用台盼蓝排除试验在Neubauer细胞计数器中计数活细胞。将细胞以40000个细胞/孔的密度接种在96孔板中(预涂有聚-L-赖氨酸(Greiner))并在37℃下在潮湿空气(95%)/CO₂(5%)气氛培养。使用新鲜培养基每2天更换一半培养基。5至6%的神经元细胞群是多巴胺能神经元。

[0320] 6-OHDA和测试化合物暴露

[0321] 在培养的第6天,除去培养基并加入新鲜培养基,其不含或含有以下浓度的6-OHDA:在48小时内对照培养基中稀释的20μM。将试验化合物在48小时内施用6-OHDA之前预孵育1小时。

[0322] 终点评估:TH阳性神经元总数的测量

[0323] 用6-OHDA中毒48小时后,将细胞用4%多聚甲醛(Sigma)的PBS溶液(pH=7.3)在室温下固定20分钟。将细胞再次在PBS中洗涤两次,然后透化并用含有0.1%皂苷(Sigma)和1%FCS的PBS溶液在室温下封闭非特异性位点15分钟。然后,将细胞与小鼠中产生的单克隆抗酪氨酸羟化酶抗体(TH, Sigma)一起在含有1%FCS、0.1%皂苷的PBS中以1/1000稀释,在室温下孵育2小时。这些抗体用Alexa Fluor 488山羊抗小鼠IgG(分子探针)在含有1%FCS、0.1%皂苷的PBS中以1/800的稀释度在室温下显示1小时。

[0324] 对于每种条件,使用InCell Analyzer™ 1000(GE Healthcare)以10x放大率每孔拍摄2×10个图片(代表总孔面积的约80%)。所有图像都在相同的条件下拍摄。使用Developer软件(GE Healthcare)分析TH阳性神经元的数量。

[0325] 数据以对照条件的百分比表示(无中毒,无6OHDA=100%)以表达6OHDA损伤。所有值均表示为3种培养物的平均值±SEM(s.e.mean)(每种培养物每个条件n=6个孔)。统计分析包括ANOVA,然后是Dunnnett和PLSD Fisher的检验,当允许时,使用Statview软件5.0版。

[0326] 结果

[0327] 在多巴胺能神经元48小时6-OHDA损伤后,在TH神经元存活测试中观察到本发明组合的神经保护作用。

[0328] 如下表5中所示,所有要求保护的药物组合对多巴胺能神经元细胞中的6-OHDA损伤具有保护作用。

[0329] 表5

[0330]

药物组合	对 6OHDA 诱导的立体定位运动不能的保护作用
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和多奈哌齐	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和多奈哌齐	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和多奈哌齐	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和美金刚	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和阿坎酸和美金刚	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和美金刚	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和他克林	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和利伐斯的明	+
3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮和巴氯芬和阿坎酸和加兰他敏	+

[0331] 表5的组合显示了与3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮、巴氯芬、阿坎酸、多奈哌齐、美金刚、他克林、利伐斯的明、加兰他敏单独使用时药物的保护作用相比,该组合对多巴胺能神经元细胞中6-OHDA损伤的有效保护作用。

[0332] E-本发明的组合疗法体内预防A β ₂₅₋₄₂毒性引起的认知缺损

[0333] 肽淀粉样蛋白- β ₂₅₋₃₅ (A β ₂₅₋₃₅) 是全长淀粉样蛋白肽的疏水部分。已知在啮齿动物的脑中注射该肽会诱导进行性神经变性过程,从而导致认知缺损。该模型通常用于涉及认知缺损症状的疾病。结果表明,3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮、巴氯芬和阿坎酸的组合不仅有效,而且具有协同作用保护治疗过的动物免受由于注射毒性肽而导致的神经变性过程。

[0334] 治疗方案

[0335] 从第0天至第10天向雄性Swiss小鼠给予:假产品(组1和2);3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮(组3);巴氯芬和阿坎酸(组4);或3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮、巴氯芬和阿坎酸(组5)。

[0336] 每天一次通过管饲口服给予3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮(1mg/Kg的每只小鼠个体体重)。

[0337] 巴氯芬和阿坎酸的组合物通过管饲法每天两次口服给药(分别为480 μ g/Kg和32 μ g/Kg的每只小鼠个体体重)。

[0338] 在第1天,向ICV(脑室内)注射寡聚A β_{25-35} 肽以引起淀粉样蛋白毒性(第2、3、4和5组)。皮下ICV注射A β 肽作为寡聚A β_{25-35} 肽ICV注射的阴性对照(组1)。用2.5%异氟烷麻醉雌性Swiss小鼠,并根据之前所述的方法,向ICV注射A β_{25-35} 肽(9nmol/小鼠)或皮下注射A β 肽(9nmol/小鼠),最终体积为3 μ l/小鼠(Maurice等人,1996,1998;Meunier等人,2006,2013;Villard等人,2009,2011)。根据AMYLGEN的方法进行A β_{25-35} 肽的均质寡聚物制备。

[0339] 在第8-10天,进行了两种不同的行为测试以监测测试化合物的效果:第8天Y-迷宫中的自发交替过程(评估空间工作记忆),以及第9天(训练阶段)和第10天(保持阶段)的逐步被动回避测试。

[0340] 在第10天,在行为测试后,对动物实施安乐死。

[0341] 行为分析-自发交替行为

[0342] 动物在Y-型迷宫中测试自发交替表现,即一种空间工作记忆的指数。Y-型迷宫由灰色聚氯乙烯制成。每臂长40厘米,高13厘米,底部宽3厘米,顶部宽10厘米,并等角收拢。每只小鼠被放置于一臂的端部,并使之在8分钟的时间内自由移动通过迷宫。目视检查一系列臂入口,包括可能返回到相同的臂的回路。交替(alternation)定义为在连续场合下进入所有三个臂。最大交替数因此就是入臂总数减去2,而交替百分数计算为(实际交替/最大交替) \times 100。参数包括交替的百分比(记忆指数)和入臂总数(探索指数)。

[0343] 表现出极端行为(交替百分数 $<20\%$ 或 $>90\%$ 或入臂数 <8)的动物被淘汰。通常情况下,这占0~5%的动物。

[0344] 行为分析-被动回避试验

[0345] 测试所有动物的被动回避表现,这是情境长期记忆的指标。该装置是具有两个隔室(15x20x15cm高)的盒子,一个隔室用白色聚氯乙烯壁照亮,另一个用黑色聚氯乙烯壁和网格地板避光。闸门(guillotine door)将每个隔室分割开。在实验期间将60W的灯置于装置上方40cm,照亮白色隔室。使用电击发生器扰频器(MedAssociates,USA)向网格地板给予乱序的足部电击(0.3mA,共3秒)。在训练阶段闸门最初是关闭的。将每只小鼠置于白色隔室中。5秒后,所述门升起。当小鼠进入黑暗隔室并将其所有爪子置于网格地板上之后,所述门关闭,并给予足部电击3秒。记录步入潜伏期即进入黑暗隔室所花费的潜伏期和发声的次数。训练后24小时进行停留试验。将每只小鼠再次置于白色隔室中。5秒后门升起。记录步入潜伏期长达300秒。

[0346] 结果

[0347] 联合的研究表明,3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮、巴氯芬和阿坎酸的组合,在仅有3-苯基磺酰基-8-(哌嗪-1-基)喹诺酮或仅有巴氯芬和阿坎酸的情况下对认知功能的损害没有显示任何显著作用的个体低剂量下,能够显著逆转A β (25-35)在小鼠中诱导的

损伤。在行为测试中(Y-迷宫CI=0.691STPA CI=0.996),该效果是显著协同的(Loewe's检验)。

[0348] 参考文献

[0349] 1 Crook R, Verkkoniemi A, Perez-Tur J, Mehta N, Baker M, Houlden H, Farrer M, Hutton M, Lincoln S, Hardy J, Gwinn K, Somer M, Paetau A, Kalimo H, Ylikoski R, Pöyhönen M, Kucera S & Haltia M (1998) A variant of Alzheimer's disease with spastic paraparesis and unusual plaques due to deletion of exon 9 of presenilin 1. *Nat. Med.* 4, 452-5.

[0350] 2 Houlden H, Baker M, McGowan E, Lewis P, Hutton M, Crook R, Wood NW, Kumar-Singh S, Geddes J, Swash M, Scaravilli F, Holton JL, Lashley T, Tomita T, Hashimoto T, Verkkoniemi A, Kalimo H, Somer M, Paetau A, Martin JJ, Van Broeckhoven C, Golde T, Hardy J, Haltia M & Revesz T (2000) Variant Alzheimer's disease with spastic paraparesis and cotton wool plaques is caused by PS-1 mutations that lead to exceptionally high amyloid-beta concentrations. *Ann. Neurol.* 48, 806-8.

[0351] 3 Kwok JB, Taddei K, Hallupp M, Fisher C, Brooks WS, Broe GA, Hardy J, Fulham MJ, Nicholson GA, Stell R, St George Hyslop PH, Fraser PE, Kakulas B, Clarnette R, Relkin N, Gandy SE, Schofield PR & Martins RN (1997) Two novel (M233T and R278T) presenilin-1 mutations in early-onset Alzheimer's disease pedigrees and preliminary evidence for association of presenilin-1 mutations with a novel phenotype. *Neuroreport* 8, 1537-42.

[0352] 4 Verkkoniemi A, Kalimo H, Paetau A, Somer M, Iwatsubo T, Hardy J & Haltia M (2001) Variant Alzheimer disease with spastic paraparesis: neuropathological phenotype. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 60, 483-92.

[0353] 5 Citron M (2004) Strategies for disease modification in Alzheimer's disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 5, 677-85.

[0354] 6 Suh Y-H & Checler F (2002) Amyloid precursor protein, presenilins, and alpha-synuclein: molecular pathogenesis and pharmacological applications in Alzheimer's disease. *Pharmacol. Rev.* 54, 469-525.

[0355] 7 Blacker D, Albert MS, Bassett SS, Go RC, Harrell LE & Folstein MF (1994) Reliability and validity of NINCDS-ADRDA criteria for Alzheimer's disease. The National Institute of Mental Health Genetics Initiative. *Arch. Neurol.* 51, 1198-204.

[0356] 8 Rossor MN, Fox NC, Freeborough PA & Harvey RJ (1996) Clinical features of sporadic and familial Alzheimer's disease. *Neurodegeneration* 5, 393-7.

[0357] 9 Glenner GG, Wong CW, Quaranta V & Eanes ED (1984) The amyloid deposits in Alzheimer's disease: their nature and pathogenesis. *Appl. Pathol.* 2, 357-69.

[0358] 10 Ballatore C, Lee VM-Y & Trojanowski JQ (2007) Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders. *Nat. Rev. Neurosci.* 8, 663-72.

- [0359] 11 DiLuca M, Bell KFS & Claudio Cuello A (2006) Altered synaptic function in Alzheimer's disease. *Eur. J. Pharmacol.* 545, 11-21.
- [0360] 12 Hardy JA & Higgins GA (1992) Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 256, 184-5.
- [0361] 13 Braak H & Braak E (1991) Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* 82, 239-59.
- [0362] 14 Golde TE (2005) The Abeta hypothesis: leading us to rationally-designed therapeutic strategies for the treatment or prevention of Alzheimer disease. *Brain Pathol.* 15, 84-7.
- [0363] 15 Hardy J & Selkoe DJ (2002) The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 297, 353-6.
- [0364] 16 Selkoe DJ (2000) The genetics and molecular pathology of Alzheimer's disease: roles of amyloid and the presenilins. *Neurol. Clin.* 18, 903-22.
- [0365] 17 Zlokovic B V (2008) The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron* 57, 178-201.
- [0366] 18 Budd Haeberlein SL & Lipton SA (2009) Excitotoxicity in neurodegenerative disease. In *Encyclopedia of neuroscience* (Squire LR, ed), pp. 77-86. Elsevier.
- [0367] 19 Mosconi L, Pupi A & De Leon MJ (2008) Brain glucose hypometabolism and oxidative stress in preclinical Alzheimer's disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1147, 180-95.
- [0368] 20 Struble RG, Ala T, Patrylo PR, Brewer GJ & Yan X-X (2010) Is brain amyloid production a cause or a result of dementia of the Alzheimer's type? *J. Alzheimers. Dis.* 22, 393-9.
- [0369] 21 Cunnane S, Nugent S, Roy M, Courchesne-Loyer A, Croteau E, Tremblay S, Castellano A, Pifferi F, Bocti C, Paquet N, Begdouri H, Bentourkia M, Turcotte E, Allard M, Barberger-Gateau P, Fulop T & Rapoport SI (2011) Brain fuel metabolism, aging, and Alzheimer's disease. *Nutrition* 27, 3-20.
- [0370] 22 Uemura E & Greenlee HW (2001) Amyloid beta-peptide inhibits neuronal glucose uptake by preventing exocytosis. *Exp. Neurol.* 170, 270-6.
- [0371] 23 McGleenon BM, Dynan KB & Passmore AP (1999) Acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 48, 471-480.
- [0372] 24 Parsons CG, Danysz W & Quack G (1999) Memantine is a clinically well tolerated N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist--a review of preclinical data. *Neuropharmacology* 38, 735-67.
- [0373] 25 Gauthier S & Scheltens P (2009) Can we do better in developing new drugs for Alzheimer's disease? *Alzheimer's Dement.* 5, 489-491.
- [0374] 26 Aliabadi A, Foroumadi A, Mohammadi-Farani A & Garmsiri Mahvar M (2013) Synthesis and Evaluation of Anti-acetylcholinesterase Activity of 2-(2-(4-(2-

Oxo-2-phenylethyl)piperazin-1-yl)ethyl) Isoindoline-1,3-dione Derivatives with Potential Anti-Alzheimer Effects. Iran. J. Basic Med. Sci. 16, 1049-54.

[0375] 27 Kaduszkiewicz H & Hoffmann F (2008) Review: cholinesterase inhibitors and memantine consistently but marginally improve symptoms of dementia. Evid. Based. Ment. Health 11, 113.

[0376] 28 Galvin JE (2012) OPTIMIZING DIAGNOSIS AND MANAGEMENT IN MILD-TO-MODERATE ALZHEIMER'S DISEASE. Neurodegener. Dis. Manag. 2, 291-304.

[0377] 29 Lipton SA (2004) Failures and successes of NMDA receptor antagonists: molecular basis for the use of open-channel blockers like memantine in the treatment of acute and chronic neurologic insults. NeuroRx 1, 101-10.

[0378] 30 Lipton SA (2006) Paradigm shift in neuroprotection by NMDA receptor blockade: memantine and beyond. Nat. Rev. Drug Discov. 5, 160-70.

[0379] 31 Stella VJ (2007) Prodrugs: challenges and rewards. (A. Press and Springer, eds.) Springer Singapore Pte. Limited, New-York.

[0380] 32 Wermuth CG (2011) The Practice of Medicinal Chemistry Elsevier Science.

[0381] 33 Pezron I, Mitra AK, Duvvuri S & Tirucherai GS (2002) Prodrug strategies in nasal drug delivery. Expert Opin. Ther. Pat. 12, 331-340.

[0382] 34 Stella VJ (2004) Prodrugs as therapeutics. Expert Opin. Ther. Pat. 14, 277-280.

[0383] 35 Stella VJ & Nti-Addae KW (2007) Prodrug strategies to overcome poor water solubility. Adv. Drug Deliv. Rev. 59, 677-94.

[0384] 36 Beaumont K, Webster R, Gardner I & Dack K (2003) Design of ester prodrugs to enhance oral absorption of poorly permeable compounds: challenges to the discovery scientist. Curr. Drug Metab. 4, 461-85.

[0385] 37 Higuchi T & Stella VJ (1975) Pro-drugs as Novel Drug Delivery System, ACS Sympos American Chemical Society, Washington, DC.

[0386] 38 Roche EB (1977) Design of biopharmaceutical properties through prodrugs and analogs: a symposium, American P The Academy, Washington, DC.

[0387] 39 Lal R, Sukbuntherng J, Tai EHL, Upadhyay S, Yao F, Warren MS, Luo W, Bu L, Nguyen S, Zamora J, Peng G, Dias T, Bao Y, Ludwikow M, Phan T, Scheuerman RA, Yan H, Gao M, Wu QQ, Annamalai T, Raillard SP, Koller K, Gallop MA & Cundy KC (2009) Arbaclofen placarbil, a novel R-baclofen prodrug: improved absorption, distribution, metabolism, and elimination properties compared with R-baclofen. J. Pharmacol. Exp. Ther. 330, 911-21.

[0388] 40 Xu F, Peng G, Phan T, Dilip U, Chen JL, Chernov-Rogan T, Zhang X, Grindstaff K, Annamalai T, Koller K, Gallop MA & Wustrow DJ (2011) Discovery of a novel potent GABA (B) receptor agonist. Bioorg. Med. Chem. Lett. 21, 6582-5.

- [0389] 41 Wishart DS, Knox C, Guo AC, Cheng D, Shrivastava S, Tzur D, Gautam B & Hassanali M (2008) DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets. *Nucleic Acids Res.* 36, D901-6.
- [0390] 42 Leach AR & Gillet VJ *An Introduction to Chemoinformatics* (Springer-Verlag New York Inc, ed.).
- [0391] 43 Rahman SA, Bashton M, Holliday GL, Schrader R & Thornton JM (2009) Small Molecule Subgraph Detector (SMSD) toolkit. *J. Cheminform.* 1, 12.
- [0392] 44 Stahl H & Wermuth CG (2011) *Pharmaceutical salts: Properties, selection, and use*, 2nd ed. (Wiley-VCH, ed.).
- [0393] 45 Hanafi R, Mosad S, Abouzid K, Niess R & Spahn-Langguth H (2011) Baclofen ester and carbamate prodrug candidates: a simultaneous chromatographic assay, resolution optimized with DryLab. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 56, 569-76.
- [0394] 46 Chou T-C (2006) Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacol. Rev.* 58, 621-81.
- [0395] 47 Grabovsky Y & Tallarida RJ (2004) Isobolographic analysis for combinations of a full and partial agonist: curved isoboles. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 310, 981-6.
- [0396] 48 Berenbaum MC (1977) Synergy, additivism and antagonism in immunosuppression. A critical review. *Clin. Exp. Immunol.* 28, 1-18.
- [0397] 49 Slinker BK (1998) The statistics of synergism. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 30, 723-31.
- [0398] 50 Gennaro AR (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20th ed. (A. D. Gennaro, W. Lippincott, and Wilkins, eds.) Lippincott Williams & Wilkins.
- [0399] 51 Swarbrick J & Boylan JC (eds.) *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* Dekker, Marcel, New-York.
- [0400] 52 Singer CA, Figueroa-Masot XA, Batchelor RH & Dorsa DM (1999) The mitogen-activated protein kinase pathway mediates estrogen neuroprotection after glutamate toxicity in primary cortical neurons. *J. Neurosci.* 19, 2455-63.
- [0401] 53 Schinelli S, Zuddas A, Kopin IJ, Barker JL & di Porzio U (1988) 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine metabolism and 1-methyl-4-phenylpyridinium uptake in dissociated cell cultures from the embryonic mesencephalon. *J. Neurochem.* 50, 1900-7.

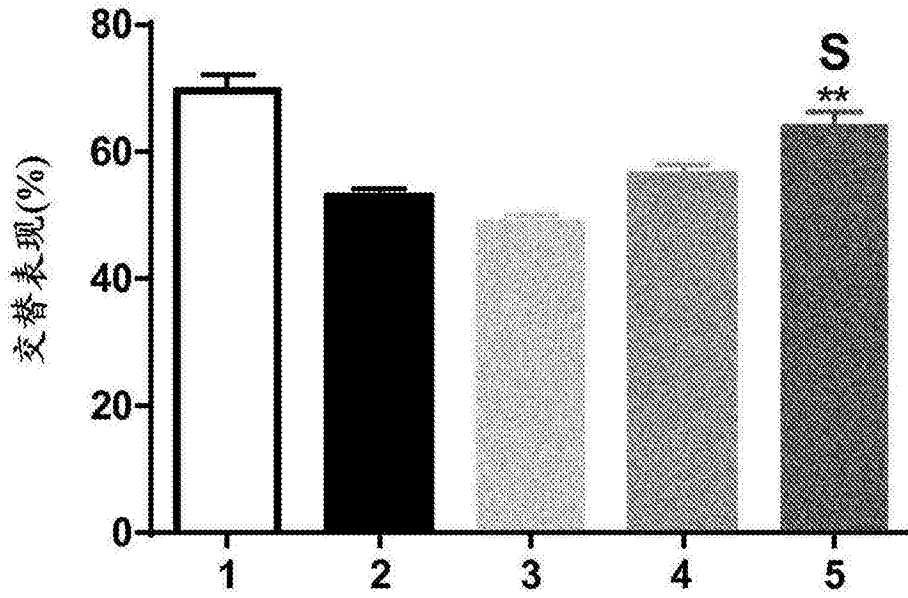


图1A

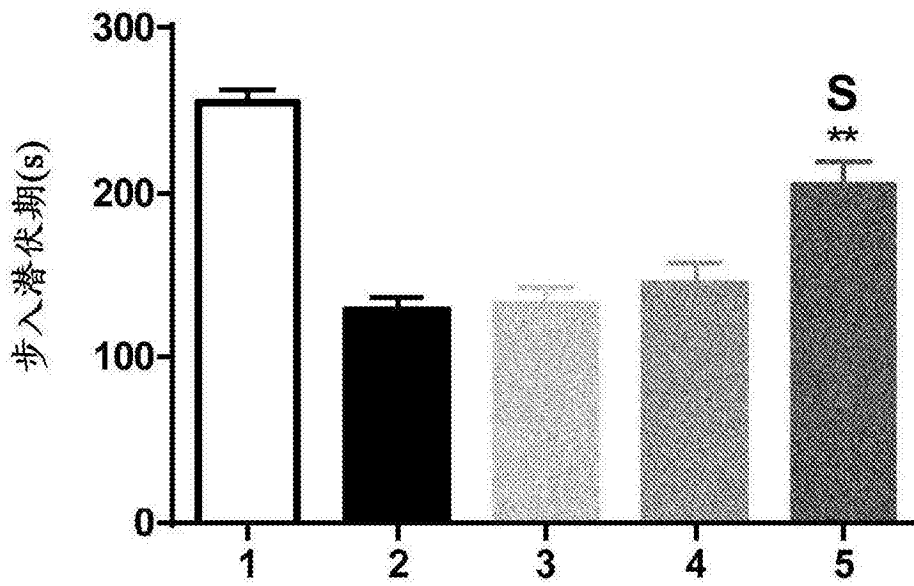


图1B