



(21)申請案號：105125790

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 08 月 12 日

(51)Int. Cl. : *A61K31/407 (2006.01)*

A61P25/00 (2006.01)

(30)優先權：2015/08/14 美國

62/205,431

(71)申請人：Q R 製藥股份有限公司 (美國) QR PHARMA, INC. (US)
美國

(72)發明人：麥克切奇尼 瑪麗亞 MACCECCHINI, MARIA (US)

(74)代理人：惲軼群；劉法正

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：40 項 圖式數：5 共 29 頁

(54)名稱

治療或預防急性腦部或神經損傷的方法

METHODS OF TREATMENT OR PREVENTION OF ACUTE BRAIN OR NERVE INJURIES

(57)摘要

本發明的一個方面是針對一種治療或預防個體的急性腦部或神經損傷的方法，其包含向有需要的所述個體投予有效量的珀斯芬(posiphen)或珀斯芬的藥學上可接受的鹽。類似地，本發明的另一方面是針對珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽的用途，其用於治療或預防急性腦部或神經損傷。優選地，本發明的方法或用途中的珀斯芬是珀斯芬酒石酸鹽。

One of the aspects of the invention is directed toward a method of treating or preventing acute brain or nerve injury in a subject, comprising administering an effective amount of posiphen, or a pharmaceutically acceptable salt of posiphen, to the subject in need thereof. Similarly, another aspect of the invention is directed toward a use of posiphen, or a pharmaceutically acceptable salt of posiphen, for the treatment or prevention of acute brain or nerve injury. Preferably, the posiphen in the method or use of the invention is posiphen tartrate.

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

治療或預防急性腦部或神經損傷的方法

METHODS OF TREATMENT OR PREVENTION OF ACUTE
BRAIN OR NERVE INJURIES

【技術領域】

[0001] 本專利申請案涉及治療或預防急性腦部或神經損傷的方法。本專利申請案要求2015年8月14日提申的美國臨時專利申請案第US 62/205,431號的益處，所述臨時專利申請案的公開內容以引用的方式併入。

[0002] 本發明係有關於治療或預防急性腦部或神經損傷的方法。

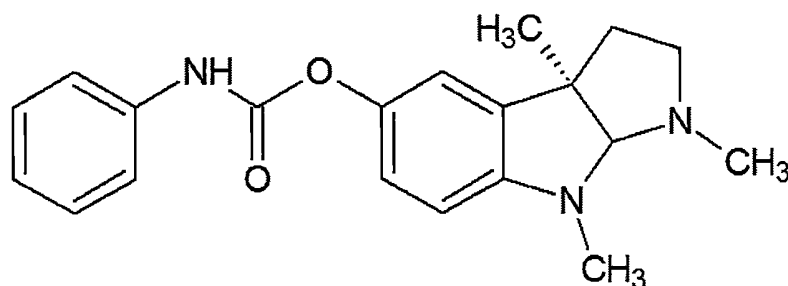
【先前技術】

發明背景

[0003] 腦部及神經功能對異常的生物化學和/或結構改變敏感。腦部中異常低位準的氧會不利地影響腦部功能，甚至會引起腦部的結構損傷。因此，腦部對供血的任何改變都極其敏感。舉例來說，腦部區域的供血中斷或減少可引起所述區域梗塞和/或神經元喪失。腦部和神經在結構上也是脆弱的，並且在經受劇烈物理衝擊時結構容易破壞。腦部和/或神經的這些損傷或破壞在病理上不同於與例如帕金森氏病(Parkinson's Disease)和阿爾茨海默氏病(Alzheimer's Disease)等疾病相關的慢性神經退化。在時間模式方面，腦部和/或神經的這些損傷或破壞比帕金森氏病和阿爾茨海默氏病更急性。

[0004] 當前還沒有藥物被批准用於預防或治療急性腦部和/或神經損傷。在體育運動和戶外活動變得日益流行並且汽車(automobile)事故變得更普遍的情況下，急性腦部或神經損傷的發生率比以前高。因為急性腦部或神經損傷變得更常見，所以更加需要預防和/或治療急性腦部和/或神經損傷的藥物。

[0005] 本發明展示了珀斯芬(posiphen)有效預防或治療急性腦部或神經損傷。已知珀斯芬有效預防或治療神經毒性或神經退化性過程(US 2012/0225922A1)。珀斯芬的化學名稱是苯基胺基甲酸(3aR)-1,3a,8-三甲基-1,2,3,3a,8,8a-六氫吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基酯。珀斯芬的化學結構用式I表示。



式I

【發明內容】

發明概要

[0006] 本發明是針對治療或預防個體的急性腦部或神經損傷的方法，其包含向有需要的個體投予有效量的珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽。

[0007] 類似地，本發明是針對珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽的用途，其用於治療或預防急性腦部或神經損傷。或者，本發明是針對珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽的用途，其用

於製造供治療或預防急性腦部或神經損傷用的藥物。

【圖式簡單說明】

[0008] 圖1展示了兩組大鼠中經受短暫性局部缺血再灌注 (ischemia reperfusion, IR) 的眼睛的視網膜和未經受IR的對側眼睛的視網膜(充當對照)中死神經細胞的程度：在實例1中，一組用珀斯芬處理(“IR-Pos”和“對照-Pos”)，並且另一組用媒劑(vehicle)處理(“IR-veh”和“對照-veh”)。

圖2展示了實例2中假操作大鼠和經受液壓衝擊損傷(fluid percussion injury, FPI)並用生理食鹽水處理的大鼠的整個紋狀體中酪胺酸羥化酶(tyrosine hydroxylase, TH)免疫反應性的強度，其中同側是用生理食鹽水處理的大鼠(媒劑處理組)中經受液壓衝擊損傷的腦側。

圖3展示了實例2中經受液壓衝擊損傷(FPI)的用生理食鹽水、2.5 mg/kg珀斯芬、5 mg/kg珀斯芬或10 mg/kg珀斯芬處理的大鼠的整個紋狀體中酪胺酸羥化酶(TH)免疫反應性的強度，其中同側是經受液壓衝擊損傷的腦側。

圖4展示了實例3中經受液壓衝擊損傷(FPI)並用生理食鹽水(媒劑)或10 mg/kg珀斯芬處理的大鼠的黑質(substantia nigra)中IBA-1⁺微神經膠質細胞(microglial cell)的百分比，證實在輕微創傷性腦部損傷後珀斯芬減輕腦部發炎，其中IBA-1⁺對離子鈣銜接結合蛋白呈陽性。橫軸上的資料是液壓衝擊損傷(FPI)同側的黑質中IBA陽性細胞體的直徑，其為一種發炎指數。

圖5展示了實例4中在莫里斯水迷宮(Morris water maze)中大鼠到達平臺的等待時間。大鼠經受輕微創傷性腦部損傷，並分成

假操作組、媒劑處理組和每公斤體重2.5 mg、每公斤體重5 mg或每公斤體重10 mg劑量的珀斯芬處理組。

【實施方式】

具體實施方式

[0009]如本文所用，術語“珀斯芬”是指苯基胺基甲酸(3aR)-1,3a,8-三甲基-1,2,3,3a,8,8a-六氫吡咯並[2,3-b]呋喃-5-基酯，其具有式I中所示的化學結構，化學純度為至少90%、優選至少95%、至少98%、至少99%、至少99.5%、至少99.9%或100%。

[0010]如應用於苯基胺基甲酸(3aR)-1,3a,8-三甲基-1,2,3,3a,8,8a-六氫吡咯並[2,3-b]呋喃-5-基酯或珀斯芬的藥學上可接受的鹽的術語“化學純度”意指根據苯基胺基甲酸(3aR)-1,3a,8-三甲基-1,2,3,3a,8,8a-六氫吡咯並[2,3-b]呋喃-5-基酯或珀斯芬的藥學上可接受的鹽和其他可能存在的化學雜質(例如其(-)-對映異構體)的苯基胺基甲酸(3aR)-1,3a,8-三甲基-1,2,3,3a,8,8a-六氫吡咯並[2,3-b]呋喃-5-基酯或珀斯芬的藥學上可接受的鹽的重量百分比。

[0011]珀斯芬的藥學上可接受的鹽的實例包括由適合的酸製備的酸加成鹽。適合的酸可為氫溴酸、鹽酸、氫碘酸、硫酸、碳酸、硝酸、磷酸、四氟硼酸、過氯酸、1-羥基-2-萘甲酸、2,2-二氯乙酸、甲烷磺酸、三氟甲烷磺酸、2-羥基乙烷磺酸、苯磺酸、對甲苯磺酸、環己基胺磺酸、2-側氧戊二酸、4-乙醯胺基苯甲酸、乙酸、苯乙酸、丙酸、甲酸、丁二酸、乙醇酸、葡萄糖酸、蘋果酸、乳酸、酒石酸、檸檬酸、葡萄糖醛酸、抗壞血酸、順丁烯二酸、反丁烯二酸、丙酮酸、天冬胺

酸、麩胺酸、苯甲酸、4-羥基苯甲酸、鄰胺苯甲酸、4-羥基苯甲酸、杏仁酸、撲酸、泛酸、對胺苯磺酸、硬脂酸、褐藻酸、 β -羥基丁酸、水楊酸、半乳糖二酸和半乳糖醛酸。優選地，藥學上可接受的鹽為珀斯芬酒石酸鹽，即酒石酸的酸加成鹽。

[0012] 利用本發明的方法或用途治療或預防的急性腦部或神經損傷的實例包括創傷性腦部損傷、中風、由腦部缺血誘發的急性腦部損傷、由腦部供氧不足誘發的急性腦部損傷、由缺氧或低氧誘發的急性腦部損傷、微型梗塞、由腦震盪誘發的急性腦部損傷、由麻醉或手術誘發的發炎引起的手術後認知功能下降、由溺水誘發的急性腦部損傷、與鞭打相關的急性腦部損傷、與自行車碰撞相關的急性腦部損傷、與汽車事故相關的急性腦部損傷、嬰兒搖盪症候群、由墜落(例如從窗外墜落)誘發的急性腦部損傷、與頭部物理衝擊相關的急性腦部損傷和急性閉角型青光眼。利用本發明的方法或用途治療或預防的急性腦部或神經損傷不包括與阿爾茨海默氏病、帕金森氏病、亨廷頓氏症(Huntington's disease)、普列昂病(Prion's disease)、肌萎縮性脊髓側索硬化症(Amyloid Lateral Sclerosis)、 τ 蛋白質病變(Tauopathy)、額顳葉型癡呆(Frontotemporal dementia)和慢性腦病之失智症相關的神經退化。

[0013] 在本發明的方法或用途中，珀斯芬可不經腸投予或腸內投予。珀斯芬投予途徑的實例是靜脈內、眼內、肌肉內、皮下、局部、經口、舌下和經頰。優選地，珀斯芬經靜脈內投予。為治療急性閉角型青光眼，珀斯芬優選眼內或經靜脈內投予，眼內途徑更優選。

[0014] 珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽可投予一次或重複投予。在本發明的治療急性腦部或神經損傷的方法或用途中，可在發生急性腦部損傷或急性閉角型青光眼事件後投予珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽。舉例來說，在本發明的治療急性腦部或神經損傷的方法或用途的一些實施例中，可在發生急性腦部損傷或急性閉角型青光眼事件後24小時內，早在發生例如急性閉角型青光眼等急性腦部或神經損傷事件後一分鐘開始，或在發生後0.5、1、1.5、2、3、6、12、18、20或22小時內，投予珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽一次、兩次、三次或四次。也可以在急性腦部損傷或急性青光眼事件發生後長達一個月每日投予珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽一次、兩次、三次或四次。舉例來說，可在發生急性腦部損傷或急性青光眼事件後連續幾天(如2、3、4、5、6或7天)每日投予珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽，或連續2或3周每日投予，或長達一個月每日投予一次、兩次、三次或四次。在預防例如手術後認知功能下降或創傷性腦部損傷等急性腦部或神經損傷的本發明的方法或用途中，在預期發生急性腦部或神經損傷事件前，例如當預期發生急性腦部或神經損傷事件前的1小時、2小時、3小時、6小時、12小時、1天、2天或3天內，投予珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽，從而預防急性腦部或神經損傷。舉例來說，在本發明的預防急性腦部或神經損傷的方法或用途的一些實施例中，可在發生急性腦部損傷或急性青光眼事件前的第一天、第二天或第三天內投予珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽一次、兩次、三次或四次。在本發明的預防急性腦部

或神經損傷的方法或用途的一些實施例中，可在發生急性腦部損傷或急性青光眼事件前的第一天內投予珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽一次、兩次、三次或四次，並且在事件發生前的第二天內投予一次、兩次、三次或四次。在本發明的預防急性腦部或神經損傷的方法或用途的一些實施例中，可在發生急性腦部損傷或急性青光眼事件前的第一天內投予珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽一次、兩次、三次或四次，在事件發生前的第二天內投予一次、兩次、三次或四次，並且在事件發生前的第三天內投予一次、兩次、三次或四次。

[0015]取決於投予途徑，珀斯芬可依不同劑量範圍投予。舉例來說，在本發明的方法或用途的一些實施例中，珀斯芬經靜脈內以每公斤體重0.01到2 mg、優選每公斤體重0.05到1 mg、0.05到0.5 mg或0.1到0.5 mg投予。在本發明的方法或用途的一些實施例中，珀斯芬以每公斤體重0.1到10 mg、優選每公斤體重0.2到5 mg或每公斤體重0.5到1 mg經口投予。在本發明的方法或用途的一些實施例中，珀斯芬經眼內以每公斤體重0.001到0.2 mg、優選每公斤體重0.002到0.1 mg或每公斤體重0.005到0.05 mg投予。當在本發明的方法或用途中投予珀斯芬的藥學上可接受的鹽時，所投珀斯芬的藥學上可接受的鹽的適當劑量可基於本文中所公開的珀斯芬的劑量，使用珀斯芬的分子量與珀斯芬的藥學上可接受的鹽的分子量的比率計算，使得所投予的珀斯芬的藥學上可接受的鹽的量將傳遞與本文中所公開的珀斯芬的劑量相等的劑量。

[0016]在本發明的方法或用途中，所治療的個體是哺乳動

物，優選人類。舉例來說，本發明的方法或用途中治療的個體是罹患急性神經或腦部損傷的哺乳動物或人類。

[0017] 本發明包括以下實施例。

實施例1：一種治療或預防個體的急性腦部或神經損傷的方法，其包含向有需要的該個體投予有效量的珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽。

實施例2：根據實施例1的方法，其中向該個體投予的該珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽是該珀斯芬的藥學上可接受的鹽。

實施例3：根據實施例2的方法，其中該珀斯芬的藥學上可接受的鹽是珀斯芬酒石酸鹽。

實施例4：根據實施例1的方法，其中向該個體投予的珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽具有至少98%的化學純度。

實施例5：根據實施例4的方法，其中向該個體投予的珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽具有至少99%的化學純度。

實施例6：根據實施例1的方法，其中該急性腦部或神經損傷是創傷性腦部損傷、中風、由腦部缺血誘發的急性腦部損傷、由腦部供氧不足誘發的急性腦部損傷、由缺氧或低氧誘發的急性腦部損傷、微型梗塞、由腦震盪誘發的急性腦部損傷、由麻醉或手術誘發的發炎引起的手術後認知功能下降、由溺水誘發的急性腦部損傷、與鞭打相關的急性腦部損傷、與自行車碰撞相關的急性腦部損傷、與汽車事故相關的急性腦部損傷、嬰兒搖盪症候群、由墜落誘發的急性腦部損傷、與頭部物理衝擊相關的急性腦部損傷或急性閉角型青光眼。

實施例7：根據實施例1的方法，其中治療的該急性腦部或神經損傷是急性腦部損傷。

實施例8：根據實施例7的方法，其中治療的該急性腦部損傷是創傷性腦部損傷、中風、由腦部缺血誘發的急性腦部損傷、由腦部供氧不足誘發的急性腦部損傷、由缺氧或低氧誘發的急性腦部損傷、微型梗塞、由腦震盪誘發的急性腦部損傷、由麻醉或手術誘發的發炎引起的手術後認知功能下降、由溺水誘發的急性腦部損傷、與鞭打相關的急性腦部損傷、與自行車碰撞相關的急性腦部損傷、與汽車事故相關的急性腦部損傷、嬰兒搖盪症候群、由墜落誘發的急性腦部損傷或與頭部物理衝擊相關的急性腦部損傷。

實施例9：根據實施例1的方法，其中治療的該急性腦部或神經損傷是急性神經損傷。

實施例10：根據實施例9的方法，其中治療的該急性神經損傷是急性閉角型青光眼。

實施例11：根據實施例1的方法，其中珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽經靜脈內投予。

實施例12：根據實施例10的方法，其中珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽經眼內投予。

實施例13：根據實施例1的方法，其中珀斯芬以每公斤體重0.1到10 mg的劑量經口投予，或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽以等於每公斤體重0.1到10 mg的珀斯芬劑量的劑量經口投予。

實施例14：根據實施例11的方法，其中珀斯芬以每公斤體重0.01到2 mg的劑量經靜脈內投予，或該珀斯芬的藥學上可接受的

鹽以等於每公斤體重0.01到2 mg的珀斯芬劑量的劑量經靜脈內投予。

實施例15：根據實施例12的方法，其中珀斯芬以每公斤體重0.001到0.2 mg的劑量經眼內投予，或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽以等於每公斤體重0.001到0.2 mg的珀斯芬劑量的劑量經眼內投予。

實施例16：根據實施例1的方法，其中在發生該急性腦部或神經損傷事件後投予珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽，從而治療該急性腦部或神經損傷。

實施例17：根據實施例16的方法，其中在發生該急性腦部損傷或急性閉角型青光眼事件後24小時內，早在發生該急性腦部或神經損傷事件後一分鐘開始，或在發生後0.5、1、1.5、2、3、6、12、18、20或22小時內，投予珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽一次、兩次、三次或四次；或在發生該急性腦部損傷或急性青光眼事件後長達一個月每日投予一次、兩次、三次或四次。

實施例18：根據實施例1的方法，其中在預期發生該急性腦部或神經損傷事件前，例如在該急性腦部或神經損傷事件前的1小時、2小時、3小時、6小時、12小時、1天、2天或3天內投予珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽，從而預防該急性腦部或神經損傷。

實施例19：根據實施例18的方法，其中在發生該急性腦部或神經損傷事件前的第一天、第二天或第三天內投予珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽一次、兩次、三次或四次。

實例

實例1

視網膜局部缺血再灌注中神經元細胞死亡的預防

[0018] 證實珀斯芬在大鼠中有效保護視網膜在短暫性局部缺血再灌注(IR)後避免神經元細胞死亡。IR是青光眼以及其他視網膜疾病中神經元細胞死亡的一種公認實驗模型。在每只大鼠的一個眼睛上誘發IR，而對側眼睛充當內部對照。通過將生理食鹽水可控地微注射到眼睛前房中使眼內壓提高來誘發短暫性IR。非常確定此方法誘發視網膜中大量的細胞凋亡式細胞死亡，在再灌注後數小時內開始並持續若干天，引起約50%視網膜喪失。在此時間段期間，視網膜內側血管的滲透性也顯著並持久地增加，其可引起水腫。

[0019] 將成年雄性史泊格多利大鼠(Sprague-Dawley rats)(大約450 g，n=8)圈養在正常12小時光/暗條件下，自由取用食物和水。通過經口管飼法，每天給予大鼠珀斯芬酒石酸鹽(每公斤體重30 mg，在15 mg/ml水中傳遞)或同等體積的水(媒劑)一次。管飼在三天內每日進行，並接著在第四天在麻醉大鼠中誘發IR (氯胺酮(ketamine)：甲苯噻嗪(xylazine)，100：10 mg/kg，腹膜內)。通過使用注射泵(哈佛儀器(Harvard Instruments))緩慢注射生理食鹽水到眼睛前房中，使眼內壓升高超過視網膜灌注所要求的眼內壓，導致視網膜缺血(無血流，由眼底粉紅色喪失指示)來誘發IR。眼壓保持恒定50分鐘，接著去除引起視網膜迅速再灌注的套管針。再一周後犧牲大鼠(IR後14天)。迅速解剖視網膜並速凍用於儲存。將視網膜均質化並分級分離以獲得細胞質樣品，使用細胞死亡ELISA (羅氏(Roche))二重複地評估樣品的核小體含

量。將資料求平均值並表示為光密度(optical density, OD)。

結果：視網膜細胞死亡分析

[0020] 圖1中展示了用珀斯芬或媒劑處理的大鼠中經受短暫性IR的眼睛的視網膜和對側眼睛的視網膜(對照視網膜)中死神經細胞的數目，其中IR-veh是投予媒劑的大鼠中經受短暫性IR的眼睛；對照-veh是投予媒劑的大鼠中的對側眼睛；IR-Pos是用珀斯芬處理的大鼠中經受短暫性IR的眼睛；並且對照-Pos是用珀斯芬處理的大鼠中的對側眼睛。

[0021] 在用媒劑處理的大鼠中，在經受短暫性IR的眼睛的視網膜(IR-veh)中觀測到的死神經細胞多達未經受短暫性IR的對側眼睛的視網膜(對照-veh)的大約兩倍。相比之下，用珀斯芬處理的大鼠中，經受短暫性IR的眼睛的視網膜(IR-Pos)中死神經細胞的數目僅僅略微超過未經受短暫性IR的對側眼睛的視網膜(對照-Pos)中死神經細胞的數目。珀斯芬拯救了所處理的大鼠(IR-Pos)中72%的視網膜神經元。N=6。因此，珀斯芬有效治療由短暫性IR誘發的急性神經細胞損傷。

實例2

創傷性腦部損傷(TBI)

[0022] 使用格裡斯巴赫(Griesbach)等人(腦部研究(Brain Research), 1288:105-115, 2009；PMCID:PMC2735616)和赫特森(Hutson)等人(神經外傷雜誌(J. Neurotrauma), 6月6日, 2011；PMID:21644813)中描述的相同程序，對大鼠腦的一側進行液壓衝擊損傷(fluid percussion injury)(FPI)或假手術。液壓衝擊引起所述腦側內輕微創傷性腦部損傷(TBI)。在FPI或假手術後約5到30

分鐘，經腹膜內向大鼠投予每公斤體重2.5 mg、5 mg或10 mg劑量的生理食鹽水或珀斯芬酒石酸鹽，並且隨後28到32天每日投予。在最後一次生理食鹽水或珀斯芬處理後90分鐘，將所有大鼠都犧牲並且針對酪胺酸羥化酶(TH)對每個大鼠的腦部切片進行染色，其中TH僅僅染色活細胞。測量腦部切片的整個紋狀體中TH免疫反應性的量。使用詹森(Johnson)等人(腦部病理學(Brain Pathol.) 6月29日, 2011, doi: 10.1111/j.1750-3639.2011.00513.x)和星野(Hoshino)等人(神經病學醫學外科(Neurol. Med. Chir.) (東京(Tokyo)), 2003, 4月; 43(4):165-74)中描述的程序，對黑質中多巴胺(DA)神經元進行體視學分析(stereological analysis)以確定珀斯芬是否將阻斷TBI誘發的FPI損傷同側和對側的DA神經元喪失。結果展示在圖2與3中。大鼠組包括LOC超過/處於中位值的大鼠。圖2中，利用雙向ANOVA、邦弗朗尼比較(Bonferroni comparison)將假操作組與媒劑組比較，其中 $p < 0.05$ 。圖3中，利用單向ANOVA、邦弗朗尼比較將媒劑組與珀斯芬處理組比較，其中 $p < 0.05$ 。

[0023] 與假操作組中的大鼠比較，在媒劑組中經受FPI的大鼠中，檢測到紋狀體對側區域中神經細胞25%死亡，並且同側區域42%死亡，其中同側是經受FPI的腦側。在珀斯芬組中，用3種劑量珀斯芬處理的大鼠展示在所有3種劑量下腦部同側區域中存活細胞的數目統計學上顯著增加超過假操作動物，並且在10 mg/kg最高劑量下腦部對側部分中紋狀體的神經細胞的數目增加。在所有3種測試的劑量下珀斯芬在液壓衝擊損傷中保護紋狀體。

[0024] 數據展示在圖2和3中，呈平均值 $\pm$ S . E .M.(平均值的標準誤差)。假操作組與媒劑處理組之間的史都登氏t檢驗(Student's t-test)揭露媒劑處理組的紋狀體中TH+螢光強度顯著減少($t=2.470$ ， $^*p=0.0295$)。基於同側紋狀體中的資料(同側是經受FPI的腦側)，珀斯芬處理的動物展示在紋狀體所有部分(整個、喙側、內側和尾側)中完全保護TH+細胞。單向ANOVA與邦弗朗尼事後比較揭露在所有珀斯芬處理組中，與媒劑處理組相比，TH+螢光強度顯著更高($F=5.499$ ， $^{\#}p<0.05$)。珀斯芬減弱FPI誘發的紋狀體中TH+終端減少。

[0025] 雖然在黑質的任何子區域未見到TBI對TH+螢光強度有顯著作用，但當用單尾史都登氏t檢驗分析資料($p=0.059$)時檢測到腹部子區域中TH+神經元的平均數目極其強烈地傾向於降低。

實例3

[0026] 因為根據赫特森等人(神經外傷雜誌, 6月6日, 2011; PMID:21644813)，FPI可誘發微神經膠質活化(microglial activation)，所以使用定量量度，在來自實例2的媒劑或珀斯芬酒石酸鹽處理(10 mg/kg)大鼠中測試珀斯芬是否將逆轉此病理反應(實例2中來自每只安樂死大鼠的腦部部分針對酪胺酸羥化酶染色並且實例3中腦部另一部分針對微神經膠質細胞(microglia)染色)。通過IBA-1陽性細胞直徑的定量量度來評估微神經膠質活化，其中IBA-1代表離子鈣銜接結合蛋白。細胞體直徑小於5 μm 的微神經膠質細胞具有特徵為多種分枝突起的靜止形態。過度分枝的微神經膠質細胞/部分活化的微神經膠質細胞具有5-6 μm

的平均細胞體直徑。完全活化的變形蟲狀微神經膠質細胞具有7-14 μm 的平均細胞體直徑，具有特徵為具有少數短突起的變形蟲狀細胞體的活化形態。使用StereoInvestigator軟體(佛蒙特州科爾賈斯特的微亮菲爾德公司(MicroBrightField, Colchester, VT))，在具有Ludl XYZ電動台和z軸指針測微計的徠卡(Leica) DM-LB顯微鏡(MT12，德國特勞恩施泰因的海頓海姆(Heidenheim, Traunreut, Germany))上進行分析。在5x物鏡下繪出輪廓以劃定黑質，從而確保解剖準確性。劃定後，在40x放大率下在第一計數框(100 μm)中並接著每第五計數框中測量微神經膠質細胞體的直徑。選擇此採樣頻率以計數黑質每一側中大約30-50個IBA-1+細胞。第一計數框一直位於輪廓的左上角，並從左到右和從上到下系統地移動，直到對整個劃定的輪廓區域進行了取樣。接著相對於每個切片中計數的總數，將細胞直徑在1 μm 到14 μm 範圍內的IBA-1+微神經膠質細胞的數目標準化，並表示為總微神經膠質細胞的百分比。結果展示在圖4中(其中IBA-1+細胞的百分比繪製在縱軸上，且以 μm 為單位的微神經膠質細胞直徑繪製在橫軸上)。珀斯芬增加靜止微神經膠質細胞的數目並減少活化微神經膠質細胞的數目。

[0027] 資料表明FPI增加損傷同側的黑質中微神經膠質細胞活化，10 mg/kg劑量的珀斯芬以統計學上顯著的方式減弱此作用。損傷同側的黑質中IBA陽性細胞體的直徑是發炎指數。資料表明在創傷性腦部損傷後珀斯芬減少腦部發炎。

實例4

[0028] 本實例的目標是確定珀斯芬作為創傷性腦部損傷

(TBIs)之治療的功效。在TBI輕微模型中，展示珀斯芬改善經受TBI的大鼠的水迷宮性能，如下所述。

珀斯芬改善莫里斯水迷宮中工作記憶性能

[0029] 來自實例2的經媒劑或珀斯芬酒石酸鹽處理之大鼠還經受莫里斯水迷宮中工作記憶測試。每只大鼠在莫里斯水迷宮中個別地測試，莫里斯水迷宮具有4個用於將大鼠放到水中的釋放點和4個供大鼠遊到的平臺。對於總共連續3天(在最後一次媒劑或珀斯芬處理前的一天和兩天；以及也在安樂死前最後一次媒劑或珀斯芬處理當天)，使用成對試驗(每天4個成對試驗)測試大鼠發現4個平臺位置的能力。在每對試驗中，第一試驗是學習試驗，用於大鼠獲悉平臺的位置，並且第二試驗是記憶試驗，用於測試大鼠遊到大鼠在學習試驗中獲悉的平臺的記憶。在學習試驗中，允許每只大鼠90秒的最大游泳時間遊到平臺，並且在90秒後如果需要，就引導到平臺。記憶試驗在完成學習試驗後5秒開始，並記錄大鼠在記憶試驗中通過在迷宮中游泳而到達平臺的時間。在每對試驗後轉換4個平臺位置。一天中連續兩對試驗的學習試驗之間的時間間隔是5分鐘。將3天內的數據求平均值。莫里斯水迷宮中記憶試驗中5組大鼠到達平臺的平均持續時間(平均值的 $\pm$ 標準誤差)展示在圖5中。基於單向ANOVA以及媒劑處理組與10 mg/kg珀斯芬處理組(用標記有#符號的條柱描繪)之間的邦弗朗尼事後比較，發現統計學上顯著的差異($t=2.209$ 和 $p=0.0335$)。其它兩個珀斯芬劑量2.5 mg/kg和5 mg/kg揭露不顯著的傾向於減少發現平臺的等待時間($F=2.192$ ； $p=0.0961$)。因此，如工作記憶莫里斯水迷宮中所測試，10 mg/kg劑量的珀斯芬拯救

FPI損傷誘發的障礙。

[0030] 實驗表明，當與假操作組相比時，媒劑處理組的性能顯著降低，表明如在工作記憶莫裡斯水迷宮下所測試，FPI誘發媒劑處理大鼠的性能不足。實驗還表明，當與媒劑處理組相比時，10 mg/kg珀斯芬組的此不足得到改善。

【符號說明】

(無)

發明摘要

※ 申請案號：105125790

※ 申請日：105.08.12

※IPC 分類：A61K 31/47 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

治療或預防急性腦部或神經損傷的方法

METHODS OF TREATMENT OR PREVENTION OF ACUTE BRAIN
OR NERVE INJURIES

【中文】

本發明的一個方面是針對一種治療或預防個體的急性腦部或神經損傷的方法，其包含向有需要的所述個體投予有效量的珀斯芬(posiphen)或珀斯芬的藥學上可接受的鹽。類似地，本發明的另一方面是針對珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽的用途，其用於治療或預防急性腦部或神經損傷。優選地，本發明的方法或用途中的珀斯芬是珀斯芬酒石酸鹽。

【英文】

One of the aspects of the invention is directed toward a method of treating or preventing acute brain or nerve injury in a subject, comprising administering an effective amount of posiphen, or a pharmaceutically acceptable salt of posiphen, to the subject in need thereof. Similarly, another aspect of the invention is directed toward a use of posiphen, or a pharmaceutically acceptable salt of posiphen, for the treatment or prevention of acute brain or nerve injury. Preferably, the posiphen in the method or use of the invention is posiphen tartrate.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ ）圖。（無）

【本代表圖之符號簡單說明】：

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

（無）

申請專利範圍

1. 一種治療或預防個體的急性腦部或神經損傷的方法，其包含向有需要的該個體投予有效量的珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽。
2. 如請求項1的方法，其中向該個體投予的該珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽是該珀斯芬的藥學上可接受的鹽。
3. 如請求項2的方法，其中該珀斯芬的藥學上可接受的鹽是珀斯芬酒石酸鹽。
4. 如請求項1的方法，其中向該個體投予的珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽具有至少98%的化學純度。
5. 如請求項4的方法，其中向該個體投予的珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽具有至少99%的化學純度。
6. 如請求項1的方法，其中該急性腦部或神經損傷是創傷性腦部損傷、中風、由腦部缺血誘發的急性腦部損傷、由腦部供氧不足誘發的急性腦部損傷、由缺氧或低氧誘發的急性腦部損傷、微型梗塞、由腦震盪誘發的急性腦部損傷、由麻醉或手術誘發的發炎引起的手術後認知功能下降、由溺水誘發的急性腦部損傷、與鞭打相關的急性腦部損傷、與自行車碰撞相關的急性腦部損傷、與汽車事故相關的急性腦部損傷、嬰兒搖盪症候群、由墜落誘發的急性腦部損傷、與頭部物理衝擊相關的急性腦部損傷或急性閉角型青光眼。
7. 如請求項1的方法，其中治療的該急性腦部或神經損傷是急性腦部損傷。

8. 如請求項7的方法，其中治療的該急性腦部損傷是創傷性腦部損傷、中風、由腦部缺血誘發的急性腦部損傷、由腦部供氧不足誘發的急性腦部損傷、由缺氧或低氧誘發的急性腦部損傷、微型梗塞、由腦震盪誘發的急性腦部損傷、由麻醉或手術誘發的發炎引起的手術後認知功能下降、由溺水誘發的急性腦部損傷、與鞭打相關的急性腦部損傷、與自行車碰撞相關的急性腦部損傷、與汽車事故相關的急性腦部損傷、嬰兒搖盪症候群、由墜落誘發的急性腦部損傷或與頭部物理衝擊相關的急性腦部損傷。
9. 如請求項1的方法，其中治療的該急性腦部或神經損傷是急性神經損傷。
10. 如請求項9的方法，其中治療的該急性神經損傷是急性閉角型青光眼。
11. 如請求項1的方法，其中珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽經靜脈內投予。
12. 如請求項10的方法，其中珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽經眼內投予。
13. 如請求項1的方法，其中珀斯芬以每公斤體重0.1到10 mg的劑量經口投予，或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽以等於每公斤體重0.1至10 mg體重的珀斯芬劑量的劑量經口投予。
14. 如請求項11的方法，其中珀斯芬以每公斤體重0.01到2 mg的劑量經靜脈內投予，或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽以等於每公斤體重0.01到2 mg的珀斯芬劑量的劑量經靜脈內投予。
15. 如請求項12的方法，其中珀斯芬以每公斤體重0.001到0.2 mg

的劑量經眼內投予，或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽以等於每公斤體重0.001到0.2 mg的珀斯芬劑量的劑量經眼內投予。

16. 如請求項1的方法，其中在發生該急性腦部或神經損傷事件後投予珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽，從而治療該急性腦部或神經損傷。
17. 如請求項16的方法，其中在發生該急性腦部損傷或急性閉角型青光眼事件後24小時內，早在發生該急性腦部或神經損傷事件後一分鐘開始，或在發生後0.5、1、1.5、2、3、6、12、18、20或22小時內，投予珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽一次、兩次、三次或四次；或在發生該急性腦部損傷或急性青光眼事件後長達一個月每日投予一次、兩次、三次或四次。
18. 如請求項1的方法，其中在預期發生該急性腦部或神經損傷事件前投予珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽，從而預防該急性腦部或神經損傷。
19. 如請求項18的方法，其中在發生該急性腦部或神經損傷事件前的第一天、第二天或第三天內投予珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽一次、兩次、三次或四次。
20. 一種珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽的用途，其用於治療或預防急性腦部或神經損傷。
21. 如請求項20的用途，其中該珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽是該珀斯芬的藥學上可接受的鹽。
22. 如請求項21的用途，其中該珀斯芬的藥學上可接受的鹽是珀斯芬酒石酸鹽。

23. 如請求項20的用途，其中珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽具有至少98%的化學純度。
24. 如請求項23的用途，其中珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽具有至少99%的化學純度。
25. 如請求項20的用途，其中該急性腦部或神經損傷是創傷性腦部損傷、中風、由腦部缺血誘發的急性腦部損傷、由腦部供氧不足誘發的急性腦部損傷、由缺氧或低氧誘發的急性腦部損傷、微型梗塞、由腦震盪誘發的急性腦部損傷、由麻醉或手術誘發的發炎引起的手術後認知功能下降、由溺水誘發的急性腦部損傷、與鞭打相關的急性腦部損傷、與自行車碰撞相關的急性腦部損傷、與汽車事故相關的急性腦部損傷、嬰兒搖盪症候群、由墜落誘發的急性腦部損傷、與頭部物理衝擊相關的急性腦部損傷或急性閉角型青光眼。
26. 如請求項20的用途，其中治療的該急性腦部或神經損傷是急性腦部損傷。
27. 如請求項26的用途，其中治療的該急性腦部損傷是創傷性腦部損傷、中風、由腦部缺血誘發的急性腦部損傷、由腦部供氧不足誘發的急性腦部損傷、由缺氧或低氧誘發的急性腦部損傷、微型梗塞、由腦震盪誘發的急性腦部損傷、由麻醉或手術誘發的發炎引起的手術後認知功能下降、由溺水誘發的急性腦部損傷、與鞭打相關的急性腦部損傷、與自行車碰撞相關的急性腦部損傷、與汽車事故相關的急性腦部損傷、嬰兒搖盪症候群、由墜落誘發的急性腦部損傷或與頭部物理衝擊相關的急性腦部損傷。

28. 如請求項20的用途，其中治療的該急性腦部或神經損傷是急性神經損傷。
29. 如請求項28的用途，其中治療的該急性神經損傷是急性閉角型青光眼。
30. 如請求項20的用途，其中珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽經靜脈內投予。
31. 如請求項30的用途，其中珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽經眼內投予。
32. 如請求項20的用途，其中珀斯芬以每公斤體重0.1到10 mg的劑量經口投予，或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽以等於每公斤體重0.1到10 mg的珀斯芬劑量的劑量經口投予。
33. 如請求項32的用途，其中珀斯芬以每公斤體重0.01到2 mg的劑量經靜脈內投予，或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽以等於每公斤體重0.01到2 mg的珀斯芬劑量的劑量經靜脈內投予。
34. 如請求項31的用途，其中珀斯芬以每公斤體重0.001到0.2 mg的劑量經眼內投予，或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽以等於每公斤體重0.001到0.2 mg的珀斯芬劑量的劑量經眼內投予。
35. 如請求項20的用途，其中在發生該急性腦部或神經損傷事件後投予珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽，從而治療該急性腦部或神經損傷。
36. 如請求項35的用途，其中在發生該急性腦部損傷或急性閉角型青光眼事件後24小時內，早在發生該急性腦部或神經損傷事件後一分鐘開始，或在發生後0.5、1、1.5、2、3、6、12、18、20或22小時內，投予珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受

的鹽一次、兩次、三次或四次；或在發生該急性腦部損傷或急性青光眼事件後長達一個月每日投予一次、兩次、三次或四次。

37. 如請求項20的用途，其中在預期發生該急性腦部或神經損傷事件前投予珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽，從而預防該急性腦部或神經損傷。
38. 如請求項37的用途，其中在發生該急性腦部或神經損傷事件前的第一天、第二天或第三天內投予珀斯芬或珀斯芬的藥學上可接受的鹽一次、兩次、三次或四次。
39. 如請求項37的用途，其中在預期發生該急性腦部或神經損傷事件前的1小時、2小時、3小時、6小時、12小時、1天、2天或3天內投予珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽，從而預防該急性腦部或神經損傷。
40. 如請求項18的方法，其中在預期發生該急性腦部或神經損傷事件前的1小時、2小時、3小時、6小時、12小時、1天、2天或3天內投予珀斯芬或該珀斯芬的藥學上可接受的鹽。

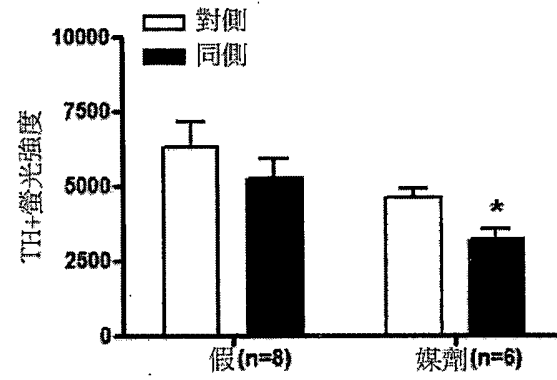


圖2

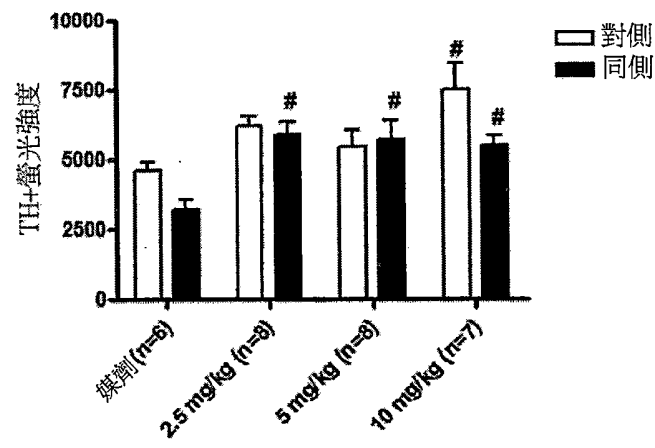
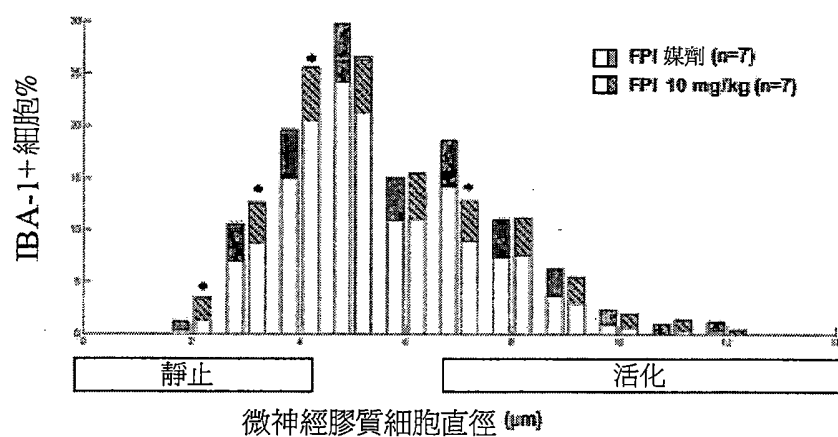


圖3

創傷性腦部損傷後珀斯芬減少腦部發炎



利用側向液壓衝擊使大鼠經受輕微創傷性腦部損傷並用珀斯芬處理31天。資料是損傷同側的黑質中IBA1陽性細胞體的直徑，其為一種發炎指數。

圖4