



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112805008 A

(43) 申请公布日 2021.05.14

(21) 申请号 201980061773.1

(22) 申请日 2019.07.18

(30) 优先权数据

1812193.9 2018.07.26 GB

1909458.0 2019.07.01 GB

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.03.19

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2019/069428 2019.07.18

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/020751 EN 2020.01.30

(71) 申请人 维斯塔实验室有限公司

地址 新加坡新加坡市

(72) 发明人 C·M·维希克 B·O·谢尔特

H·C·希尔斯

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 陈桢

(51) Int.Cl.

A61K 31/5415 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

权利要求书9页 说明书55页 附图16页

(54) 发明名称

在群体中最优的二氨基吩噻嗪剂量

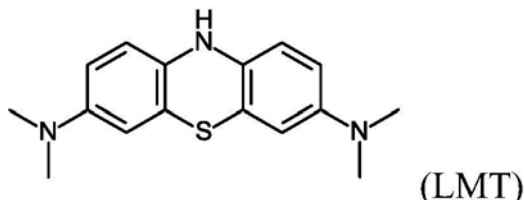
(57) 摘要

本发明提供了针对无色甲基硫堇鎓(LMT)化合物的新颖给药方案,所述给药方案最大化受试者的比例,在所述受试者中MT浓度将超过其中可以实现关于治疗诸如阿尔茨海默病和额颞叶痴呆等神经变性障碍的治疗功效的浓度,而同时保持希望的临床概况。还提供了含有LMT的剂量单位和其他组合物。

1. 一种对受试者的神经变性障碍进行治疗性治疗的方法，

所述方法包括向所述受试者口服施用含有甲基硫堇鎓 (MT) 的化合物，其中所述施用向所述受试者提供在20.5与40mg、20.5与60mg、20.5与80mg或20.5与99mg或100mg之间的MT/天的总日剂量，任选地分成2个或更多个剂量，

其中所述含有MT的化合物是以下的盐



或其水合物或溶剂化物。

2. 根据权利要求1所述的方法，其中所述总日剂量在20.5与60mg之间。

3. 根据权利要求1所述的方法，其中所述总日剂量是从大约20.5、21、21.5、22、22.5、23、23.5、24mg中的任一者至大约25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60mg中的任一者。

4. 根据权利要求1所述的方法，其中所述总日剂量在20.5与40mg之间。

5. 根据权利要求4所述的方法，其中所述总日剂量是从大约20.5、21、21.5、22、22.5、23、23.5、24mg中的任一者至大约25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40mg中的任一者。

6. 根据权利要求4或权利要求5所述的方法，其中所述总日剂量是21至40mg；21至32mg；或24至32mg。

7. 根据权利要求4所述的方法，其中所述总日剂量是约20.5、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40mg。

8. 根据权利要求1至7中任一项所述的方法，其中所述含有MT的化合物的总日剂量以每天两次或每天三次的分剂量施用。

9. 根据权利要求1至8中任一项所述的方法，其中所述受试者在历史上未接受过用所述神经传递调节化合物的治疗，所述神经传递调节化合物是乙酰胆碱或谷氨酸神经递质的活性的调节剂。

10. 根据权利要求1至8中任一项所述的方法，其中所述受试者在历史上已接受过用所述神经传递调节化合物的治疗，但在用所述含有MT的化合物治疗之前至少1、2、3、4、5、6、7天或2、3、4、5、6、7、8周停止所述治疗，所述神经传递调节化合物是乙酰胆碱或谷氨酸神经递质的活性的调节剂。

11. 根据权利要求1至8中任一项所述的方法，其中所述受试者被选择为是正在接受用所述神经传递调节化合物的治疗的受试者，所述神经传递调节化合物是乙酰胆碱或谷氨酸神经递质的活性的调节剂，其中所述治疗在用所述含有MT的化合物的治疗之前中止。

12. 根据权利要求1至11中任一项所述的方法，其中所述治疗性治疗不与神经传递调节化合物组合，所述神经传递调节化合物是乙酰胆碱或谷氨酸神经递质的活性的调节剂。

13. 根据权利要求1至11中任一项所述的方法, 其中所述治疗性治疗与神经传递调节化合物组合, 所述神经传递调节化合物是乙酰胆碱或谷氨酸神经递质的活性的调节剂。

14. 根据权利要求13所述的方法, 其中所述含有MT的化合物和所述神经传递调节化合物在彼此的12小时内顺序地施用。

15. 根据权利要求13或权利要求14所述的方法, 其中在用所述含有MT的化合物的治疗开始之前, 所述受试者用所述神经传递调节化合物进行预处理。

16. 根据权利要求15所述的方法, 其中同时施用所述含有MT的化合物和所述神经传递调节化合物, 任选地在单一剂量单位内。

17. 根据权利要求9至16中任一项所述的方法, 其中所述神经传递调节化合物是乙酰胆碱酯酶抑制剂。

18. 根据权利要求9至17中任一项所述的方法, 其中所述神经传递调节化合物选自多奈哌齐; 卡巴拉汀; 和加兰他敏。

19. 根据权利要求9至16中任一项所述的方法, 其中所述神经传递调节化合物是N-甲基-D-天冬氨酸受体 (NMDA) 受体拮抗剂。

20. 根据权利要求9至16或权利要求19中任一项所述的方法, 其中所述神经传递调节化合物是美金刚。

21. 根据权利要求1至20中任一项所述的方法, 其中所述障碍是tau蛋白病。

22. 根据权利要求1至21中任一项所述的方法, 其中所述障碍选自: 阿尔茨海默病、皮克病、进行性核上性麻痹、额颞叶痴呆、连锁于17号染色体伴帕金森综合征的FTD、额颞叶变性综合征、脱抑制-痴呆-帕金森综合征-肌萎缩征群、苍白球脑桥黑质变性、关岛-ALS综合征、苍白球黑质路易体变性、皮层基底变性、嗜银颗粒性痴呆、拳击员痴呆或慢性创伤性脑病、唐氏综合征、亚急性硬化性全脑炎、轻度认知损害、C型尼曼-匹克病、B型沙费利波综合征、或肌强直性营养不良DM1或DM2。

23. 根据权利要求1至20中任一项所述的方法, 其中所述障碍是FTLD综合征。

24. 根据权利要求23所述的方法, 其中所述障碍是TAR DNA结合蛋白43 (TDP-43) 蛋白病。

25. 根据权利要求23或权利要求24所述的方法, 其中所述FTLD综合征是tau病理性FTLD或TDP-43病理性FTLD。

26. 根据权利要求23至25中任一项所述的方法, 其中所述FTLD综合征选自行为变异型额颞叶痴呆 (bvFTD)、原发性进行性失语症、和语义性痴呆。

27. 根据权利要求1至20中任一项所述的方法, 其中所述障碍是多聚谷氨酰胺障碍, 所述多聚谷氨酰胺障碍任选地选自亨廷顿病、脊髓延髓肌肉萎缩症、齿状核红核苍白球路易体萎缩症或脊髓小脑性共济失调。

28. 根据权利要求1至20中任一项所述的方法, 其中所述障碍是共核蛋白病, 所述共核

蛋白病任选地选自帕金森氏病、路易体痴呆和多系统萎缩症。

29. 根据权利要求1至20中任一项所述的方法, 其中所述障碍是遗传性脑血管病、肌萎缩性脊髓侧索硬化症、伴有神经元包涵体的家族性脑病或拉福拉病。

30. 根据权利要求22所述的方法, 其中所述障碍是阿尔茨海默病, 任选地其中所述总日剂量是对于所述受试者在20.5与60mg之间的MT/天, 任选地分成2个或更多个剂量。

31. 根据权利要求30所述的方法, 其中所述治疗是第一药剂与第二药剂的组合物, 所述第一药剂是指定剂量的所述含有MT的化合物, 所述第二药剂是淀粉样蛋白前体蛋白向 β -淀粉样蛋白加工的抑制剂。

32. 根据权利要求30或权利要求31所述的方法, 其中所述治疗实现或用于实现所述受试者的认知下降的减轻, 所述减轻任选地是在65周的时间段内在11项的阿尔茨海默病评估量表-认知子量表(ADAS-cog)上在下降方面至少1、2、2.5、3、4、5或6分的降低。

33. 根据权利要求30至32中任一项所述的方法, 其中所述治疗是治疗方案的一部分, 所述治疗方案包括:

(i) 向所述受试者口服施用所述含有MT的化合物持续第一时间段, 其中所述施用向所述受试者提供在1与10mg之间的MT/天、任选地8mg/天的总日剂量, 任选地分成2个或更多个剂量;

(ii) 向所述受试者口服施用所述含有MT的化合物持续另外的时间段, 其中所述施用向所述受试者提供在20.5与40mg、20.5与60mg、20.5与80mg或20.5与100mg之间的MT/天的总日剂量, 任选地分成2个或更多个剂量。

34. 根据权利要求26所述的方法, 其中所述FTLD综合征是行为变异型额颞叶痴呆(bvFTD), 任选地其中所述总日剂量是对于所述受试者在20.5与40mg之间的MT/天, 任选地分成2个或更多个剂量。

35. 根据权利要求30或权利要求31所述的方法, 其中所述治疗实现或用于实现:

(i) 所述受试者的认知下降的减轻, 所述减轻任选地是在52周的时间段内在阿登布鲁克改良认知检查(ACE-R)量表上在下降方面至少1、2、3、4、5、6、7或8分的降低;或

(ii) 所述受试者的功能下降的减轻, 所述减轻任选地是在52周的时间段内在功能活动问卷(FAQ)上在下降方面至少1、2、3、4、5或6分的降低。

36. 根据权利要求34或权利要求35所述的方法, 其中所述治疗是治疗方案的一部分, 所述治疗方案包括:

(i) 向所述受试者口服施用所述含有MT的化合物持续第一时间段, 其中所述施用向所述受试者提供在1与10mg之间的MT/天、任选地8mg/天的总日剂量, 任选地分成2个或更多个剂量;

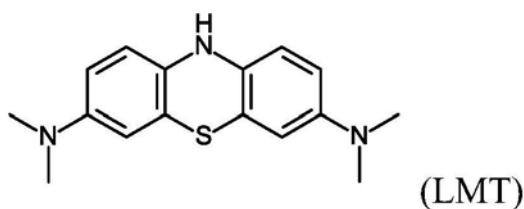
(ii) 向所述受试者口服施用所述含有MT的化合物持续另外的时间段, 其中所述施用向所述受试者提供在20.5与40mg之间的MT/天、任选地约21至30mg/天的总日剂量, 任选地分成2个或更多个剂量;

(iii) 将在(ii)中的治疗与作为乙酰胆碱或谷氨酸神经递质的活性的调节剂的神经传

递调节化合物的施用组合,持续另外的时间段。

37. 根据权利要求1至36中任一项所述的方法,其中所述受试者是已被诊断为患有神经变性障碍的人,或者其中所述方法包括进行所述诊断。

38. 一种对受试者的神经变性障碍进行预防性治疗的方法,
所述方法包括向所述患者口服施用含有MT的化合物,
其中所述施用向所述受试者提供在20.5与40mg、20.5与60mg、20.5与80mg或20.5与99mg或100mg之间的MT/天的总日剂量,任选地分成2个或更多个剂量,
其中所述含有MT的化合物是以下的盐



或其水合物或溶剂化物。

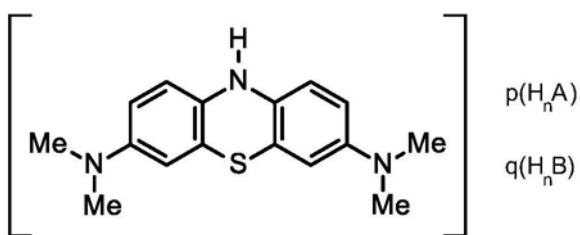
39. 根据权利要求38所述的方法,其中所述剂量是如权利要求2至8中任一项所定义的。

40. 根据权利要求38或权利要求39所述的方法,其中所述预防方法与或不与如权利要求13至20中任一项所定义的神传递调节化合物组合。

41. 根据权利要求38至40中任一项所述的方法,其中所述障碍是如权利要求21至29中任一项所定义的。

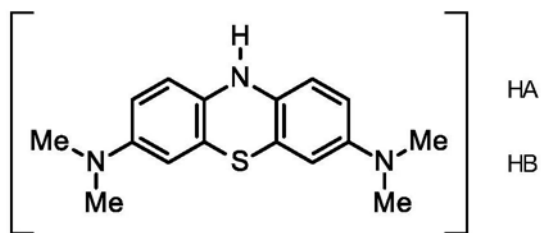
42. 根据权利要求38至41中任一项所述的方法,其中所述受试者是已经任选地基于家族或遗传或其他数据被评估为易患所述障碍或处在所述障碍的风险中的人。

43. 根据权利要求1至42中任一项所述的方法,其中所述含有MT的化合物是下式的LMTX化合物:

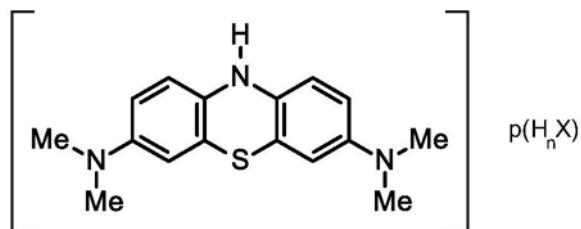


其中 H_nA 和 H_nB (当存在时)各自均是质子酸,所述质子酸可以相同或不同,
并且其中 $p=1$ 或 2 ; $q=0$ 或 1 ; $n=1$ 或 2 ; $(p+q) \times n=2$ 。

44. 根据权利要求43所述的方法,其中所述含有MT的化合物具有下式,其中HA和HB是不同的单质子酸:

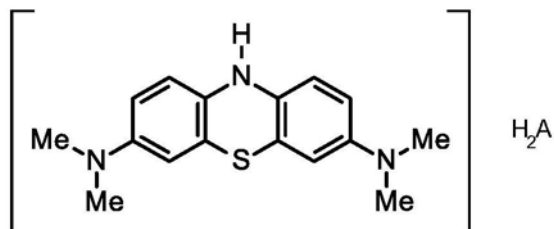


45. 根据权利要求43所述的方法,其中所述含有MT的化合物具有下式:

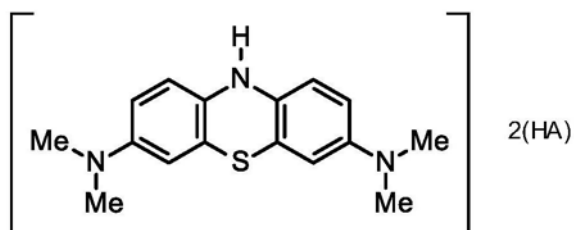


其中每个 H_nX 是质子酸。

46. 根据权利要求43所述的方法,其中所述含有MT的化合物具有下式,并且 H_2A 是二质子酸:



47. 根据权利要求45所述的方法,其中所述含有MT的化合物具有下式,并且是双-单质子酸:



48. 根据权利要求43至47中任一项所述的方法,其中所述或每个质子酸是无机酸。

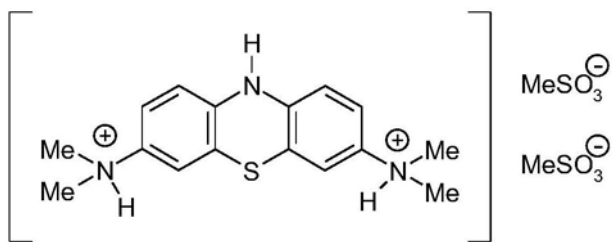
49. 根据权利要求48所述的方法,其中每个质子酸是氢卤酸。

50. 根据权利要求48所述的方法,其中所述或每个质子酸选自 HCl ; HBr ; HNO_3 ; H_2SO_4 。

51. 根据权利要求43至47中任一项所述的方法,其中所述或每个质子酸是有机酸。

52. 根据权利要求51所述的方法,其中所述或每个质子酸选自 H_2CO_3 、 CH_3COOH 、甲磺酸、1,2-乙二磺酸、乙磺酸、萘二磺酸、对甲苯磺酸。

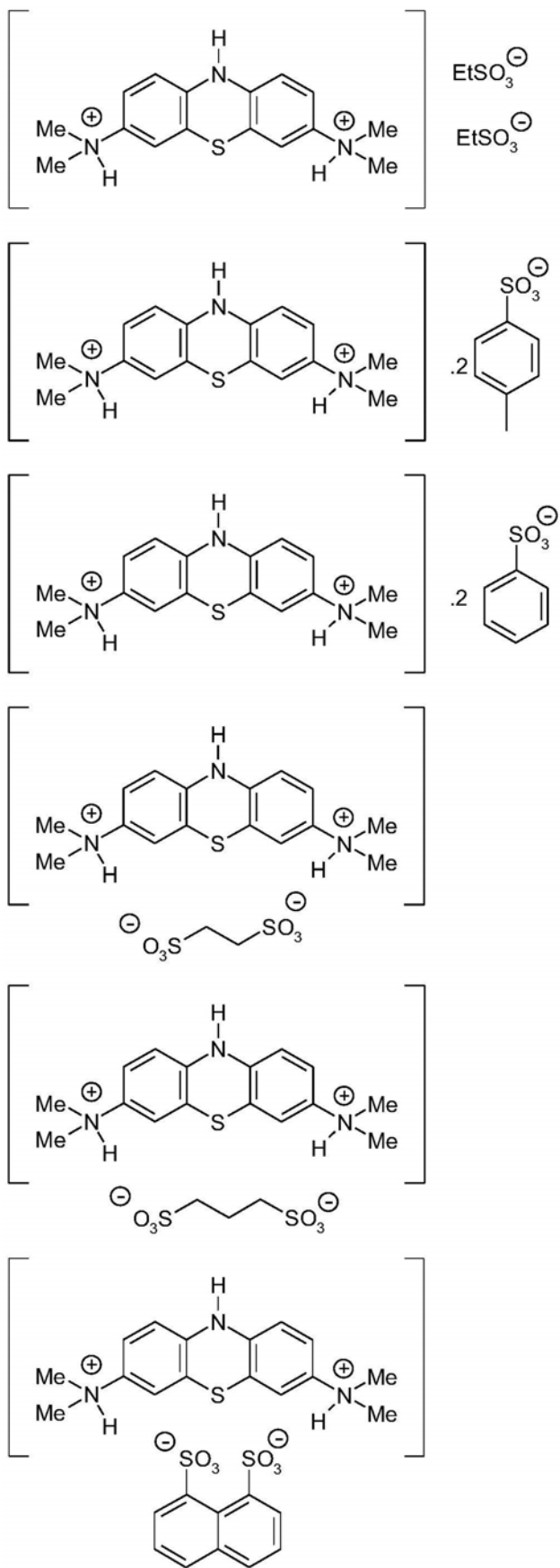
53. 根据权利要求1至42或权利要求52中任一项所述的方法,其中所述含有MT的化合物是LMTM:



54. 根据权利要求53所述的方法, 其中LMTM的总日剂量是大约34至67mg、34至100mg、34至134mg、或34至167mg/天。

55. 根据权利要求54所述的方法, 其中LMTM的剂量是约34、38、67、或100mg/一次/天。

56. 根据权利要求1至42中任一项所述的方法, 其中所述含有MT的化合物选自:



57. 一种剂量单位药物组合物,其包含约34、67或100mg LMTM。

58. 根据权利要求57所述的剂量单位药物组合物, 其为片剂或胶囊。

59. 一种营养药物组合物, 其包含如权利要求32至56中任一项所定义的含有MT的化合物,

和复合营养素, 任选地呈食品的剂量单位或定义部分的形式,

并且其中所述营养素选自: 维生素、微量营养素、抗氧化剂、药草、植物提取物、种子提取物、植物油或鱼油、矿物质、微量元素、酶、或氨基酸。

60. 根据权利要求59所述的组合物, 其选自:

维生素, 其任选地是维生素B₉、B₆或B₁₂, 维生素C, 维生素E;

微量营养素和/或抗氧化剂, 其任选地是黄烷醇、黄酮醇、黄酮、异黄酮、黄烷酮、花青素、非类黄酮多酚、类胡萝卜素、藏红花素、二萜;

药草或其他植物提取物, 其任选地是银杏 (*Ginkgo biloba*)、贯叶金丝桃 (*Hypericum perforatum*)、卡瓦胡椒 (*Piper methysticum*)、缬草 (*Valeriana officinalis*)、假马齿苋 (*Bacopa monniera*)、多枝旋花 (*Convolvulus pluricaulis*);

植物油或鱼油, 其任选地是 ω -3 多不饱和脂肪酸。

61. 根据权利要求59或权利要求60所述的组合物, 其为食品的定义部分。

62. 根据权利要求59或权利要求60所述的组合物, 其为片剂或胶囊。

63. 根据权利要求59至62中任一项所述的组合物, 其包含约34至67mg、34至100mg、34至134mg、或34至167mg LMTM。

64. 一种容器, 其包含:

(i) 多个剂量单位或定义部分食品, 其各自是根据权利要求57至63中任一项所述的组合物;

(ii) 用于根据如权利要求1至56中任一项所定义的治疗方法而使用它们的标签和/或说明书。

65. 根据权利要求64所述的容器, 其中所述容器包含剂量单位, 并且所述剂量单位存在于泡罩包装中, 所述泡罩包装是基本上不透水的。

66. 根据权利要求64或权利要求65所述的容器, 其中所述标签或说明书提供关于所述组合物旨在针对的障碍的信息。

67. 根据权利要求64至66中任一项所述的容器, 其中所述标签或说明书提供关于所述剂量单位的最大允许日剂量的信息。

68. 根据权利要求64至67中任一项所述的容器, 其中所述标签或说明书提供关于所述治疗的建议持续时间的信息。

69. 根据权利要求1至63中任一项所述的含有MT的化合物或组合物, 其用于如权利要求1至56中任一项所定义的治疗方法。

70. 根据权利要求1至63中任一项所述的含有MT的化合物或组合物在制造药剂中的用途, 所述药剂用于如权利要求1至56中任一项所定义的治疗方法。

71. 一种对受试者的神经变性障碍进行治疗性治疗或预防性治疗的方法, 所述神经变性障碍任选地是阿尔茨海默病,

所述方法包括向所述受试者口服施用如权利要求57至63中任一项所定义的组合。

在群体中最优的二氨基吩噻嗪剂量

技术领域

[0001] 本发明总体上涉及在治疗或预防神经变性障碍中,特别是在具有不同药代动力学反应的个体的群体中,二氨基吩噻嗪的最优给药方案。

背景技术

[0002] 蛋白质聚集异常被认为是许多疾病状态的近端病因,其可能表现为神经变性、临床痴呆和其他病理症状。

[0003] 通常,异常蛋白质聚集是由诱导的构象聚合相互作用引起的异常蛋白质聚集,即,其中蛋白质或其片段的构象变化引起其他(前体)蛋白质分子以自蔓延的方式模板化结合和聚集的异常蛋白质聚集。

[0004] 一旦开始成核,就可能继而发生聚集级联,其涉及其他蛋白质分子的诱导构象聚合,从而导致聚集体中形成有毒产物片段,所述有毒产物片段基本上抵抗进一步的蛋白水解。

[0005] 例如,痴呆的某些状况的特征可以在于在受影响的患者的脑中蛋白质结构(诸如 β -淀粉样蛋白斑和神经原纤维缠结(NFT))的细胞内和/或细胞外沉积物的逐渐积累。这些病变的出现在很大程度上与病理性神经原纤维变性和脑萎缩以及与认知损害相关(参见例如,Mukaetova-Ladinska等人,2000)。

[0006] ***

[0007] 目前批准的针对阿尔茨海默病的治疗包括乙酰胆碱酯酶抑制剂(AChEI)和N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂美金刚。它们是对症的,并且未解决潜在的疾病病理学。迄今为止,针对淀粉样蛋白病理学的疗法在后期临床试验中被证明是不成功的(Geerts等人,2013;Mullane和Williams,2013)。根据最近的Lancet Neurology Commission,“an effective treatment for AD is perhaps the greatest unmet medical need facing modern medicine”,(Winblad等人,2016),尤其是因为痴呆的全球经济成本估计为8180亿美元或占全球国内生产总值的0.65%(Alzheimer's Disease International,2015)。

[0008] NFT(由Alois Alzheimer(Alzheimer,1907)发现的病理学)由成对的螺旋丝(PHF)构成,所述成对的螺旋丝主要由与微管相关蛋白tau的12kDa重复结构域片段构成(Wischik等人,1985;Wischik等人,1988a,b)。众多研究已经证实了阿尔茨海默病中神经原纤维缠结病理学的扩散和聚集的tau的数量与临床痴呆的程度和功能性分子成像缺陷两者的定量联系(Arriagada等人,1992;Brier等人,2016;Giannakopoulos等人,2003;Josephs等人,2003;Maruyama等人,2013)。由于tau蛋白的病理学聚集在任何临床表现前至少20年开始(Braak和del Tredici,2013),因此针对这种病理学提供了一种合理的方法来既治疗又预防AD及相关tau聚集障碍(Huang和Mucke,2012;Wischik等人,2014;Wischik等人,2010)。

[0009] 最初被鉴定为PHF核心的内在结构成分的tau片段在体外具有朊病毒样特性,因为在自蔓延和自催化的过程中它以非常高的亲和力捕获正常tau蛋白(Lai等人,2016)并且将其转化为自身的蛋白水解稳定的复制物(Wischik等人,1996;Harrington等人,2015)。tau

的磷酸化抑制了其聚集 (Lai等人,2016) 并且不太可能驱动级联 (Mukaetova-Ladinska等人,2000;Schneider等人,1999;Wischik等人,1995)。tau聚集的直接抑制代表治疗干预的似乎合理的点。

[0010] ***

[0011] 甲基硫堇鎓 (Methylthioninium) (MT) 在体外充当tau聚集抑制剂 (TAI) (Wischik等人,1996;Harrington等人,2015), 溶解阿尔茨海默病脑组织的PHF (Wischik等人,1996) 并且在与人类口服给药一致的脑浓度下降低转基因小鼠tau模型中的tau病理学和相关行为缺陷 (Melis等人,2015;Baddeley等人,2015)。

[0012] MT还显示抑制其他的疾病相关蛋白质聚集 (参见例如,WO 2007/110629及其中的参考文献)。

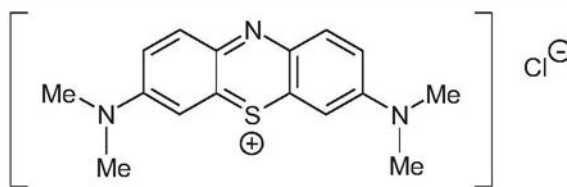
[0013] ***

[0014] MT是氧化还原分子,并且取决于环境条件 (例如,pH、氧气、还原剂),在还原形式 [无色甲基硫堇鎓 (leucomethylthioninium) (LMT)] 与氧化形式 (MT^+) 之间处于平衡存在。

[0015] WO 96/30766描述了用于治疗 and 预防包括AD和路易体病的多种疾病的此类含有MT的化合物。一种示例性化合物是通常被称为亚甲蓝 (methylene blue) 的甲基硫堇鎓氯化物 (“MTC”), MTC是甲基硫堇鎓 (MT) 的氧化形式的氯化物盐,即 MT^+ 。

[0016]

MTC



甲基硫堇鎓氯化物

[0017] WO 96/30766描述了在口服施用的情况下约50mg至约700mg、优选约150mg至约300mg的日剂量,分为优选1-3个单位剂量。

[0018] WO 2007/110630公开了与MTC有关的某些特定的二氨基吩噻嗪化合物,包括 (所谓的) ETC、DEMTC、DMETC、DEETC、MTZ、ETZ、MTI、MTILHI、ETI、ETLHI、MTN、和ETN,它们可用作药物,例如在阿尔茨海默病和诸如额颞叶痴呆 (FTD) 的其他疾病的治疗中。

[0019] WO 2007/110630描述了包含20至300mg其中所述的3,7-二氨基吩噻嗪 (DAPTZ) 化合物的剂量单位,例如30至200mg,例如30mg、60mg、100mg、150mg、200mg。提出了DAPTZ化合物的合适剂量在约100ng至约25mg (更典型地约1μg至约10mg) /千克受试者体重/天的范围内,例如100mg每天3次、150mg每天2次、200mg每天2次。还讨论了50mg每天3次或4次的剂量。

[0020] DiSanto和Wagner, J Pharm Sci 1972,61:1086-1090和1972,61:1090-1094以及Moody等人, Biol Psych 1989,26:847-858基于对人、狗和大鼠的尿液排泄数据集的研究提出了针对亚甲蓝的初步药代动力学模型。

[0021] Peter等人 (2000) Eur J Clin Pharmacol 56:247-250提供了整合了血液水平数据的模型,所述模型与来自DiSanto和Wagner的关于终末消除半衰期的早期数据相矛盾。

[0022] May等人 (Am J Physiol Cell Physiol,2004,第286卷,第C1390-C1398页) 显示,人类红细胞顺序地还原并且吸收MTC,即MTC本身不被所述细胞吸收,而是穿过细胞膜的是MT的还原形式。他们还显示,摄取速率是酶依赖性的;并且氧化的MT和还原的MT都集中在细

胞中(还原的MT一旦进入细胞内就重新平衡,形成氧化的MT)。

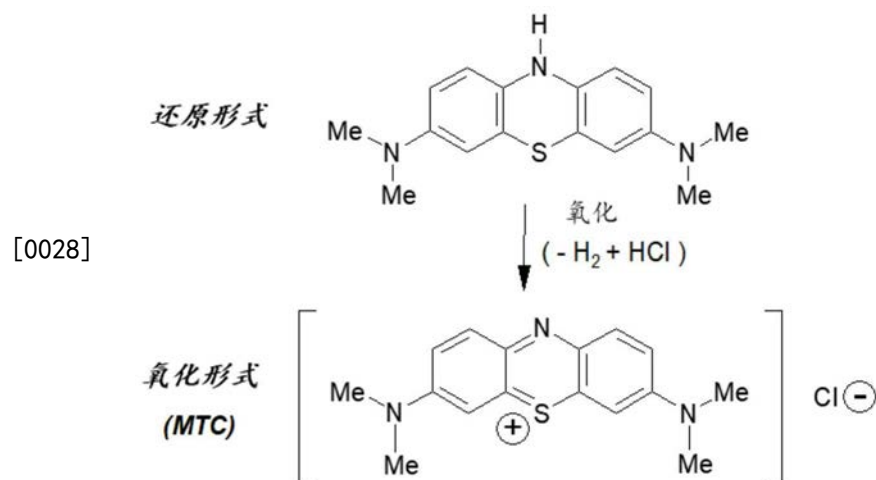
[0023] 基于这些和其他公开内容,据信口服施用的MTC和类似药物在胃肠道中被吸收并且进入血流,而未被吸收的药物则沿消化道向下渗透至远端胃肠道。一种重要的不希望有的副作用是未被吸收的药物在远端胃肠道中的作用,例如,远端胃肠道的致敏和/或未被吸收的药物对远端胃肠道中的微生物群的抗微生物作用,两者均导致腹泻。

[0024] 在2期研究中对MTC进行临床测试(Wischik等人,2015)。尽管鉴定的最小安全且有效剂量为138mg/天,但是由于吸收限制,最可能地由于需要将 MT^+ 还原为无色MT(LMT)形式以允许通过被动扩散而有效吸收,218mg/天的较高剂量具有有限的功效。

[0025] WO 2009/044127公开了2期临床试验的结果,其表明MTC具有两种全身性药理学作用:认知作用和血液学作用,但是这些作用是可分离的。具体而言,认知作用没有显示出单调的剂量-反应关系,而血液学作用却显示出。已提出,两种不同的物质负责这两种类型的药理学活性:以不带电荷的LMT的形式被吸收的MTC负责有益的认知活性,并且以氧化的二聚体物质的形式被吸收的MTC负责血红蛋白的氧化。WO 2009/044127描述了如何使用剂型来最大化治疗活性(认知有效)物质的生物利用度,无论以氧化的化合物或无色DAPTZ化合物给药。

[0026] 由于被细胞吸收的是MT的还原形式,因此已经提出向患者施用还原形式。这也可以减少对酶促还原的速率限制步骤的依赖。

[0027] 相对于可被认为是“还原形式”的相应的10H-吩噻嗪化合物,N,N,N',N'-四甲基-10H-吩噻嗪-3,7-二胺,MTC(吩噻嗪-5-鎓盐)可以被认为是“氧化形式”:

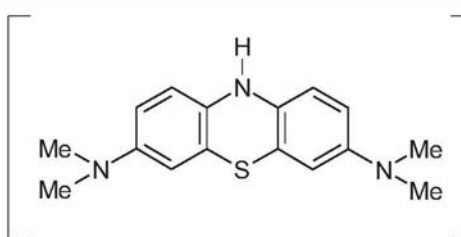
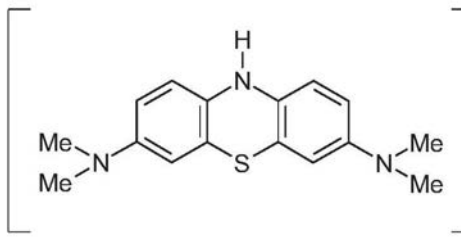
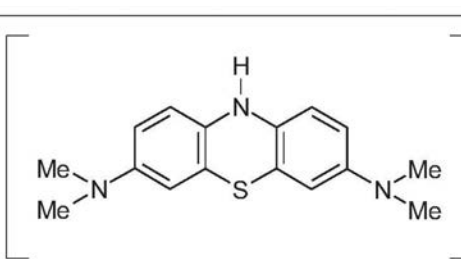


[0029] 已知“还原形式”(或“无色形式”)是不稳定的,并且可以容易且快速地被氧化以给出相应的“氧化”形式。

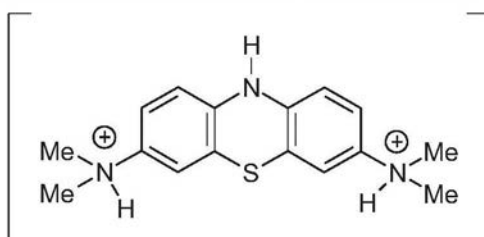
[0030] WO 02/055720公开了某些二氨基吩噻嗪的还原形式用于治疗蛋白质聚集疾病(主要是tau蛋白病)的用途。基于其中的二氨基吩噻嗪的还原形式的体外活性,建议的日剂量是3.2-3.5mg/kg,并且还描述了20mg t.d.s.、50mg t.d.s.或100mg t.d.s.的剂量,以在摄入之前实现大于90%还原的方式与抗坏血酸的2x mg比率组合。

[0031] WO 2007/110627公开了某些3,7-二氨基-10H-吩噻嗪鎓盐,其有效地作为用于治疗疾病(包括阿尔茨海默病和诸如额颞叶痴呆(FTD)的其他疾病)的药物或前药。当考虑MTC时,这些化合物也呈“还原”或“无色”形式。这些无色硫堇鎓化合物被称为“LMTX”盐,并且包

括以下盐:

[0032]		HCl HCl N,N,N',N'-四甲基-10H-吩噻嗪-3,7-二胺鎧二(盐酸盐), (LMT.2HCl)
		HBr HBr N,N,N',N'-四甲基-10H-吩噻嗪-3,7-二胺鎧二(氢溴酸盐), (LMT.2HBr)
[0033]		HI HI N,N,N',N'-四甲基-10H-吩噻嗪-3,7-二胺鎧二(氢碘酸盐), (LMT.2HI)

[0034] W02012/107706描述了特性优于以上列出的LMTX盐的其他LMTX盐,包括无色甲基硫鎧鎧双(氢甲磺酸盐)(LMTM):

[0035]		MeSO_3^- MeSO_3^- N,N,N',N'-四甲基-10H-吩噻嗪-3,7-二胺鎧鎧双(氢甲磺酸盐)。 LMT.2MsOH/LMTM
--------	---	---

[0036] 特别地,LMTM在体外和体内均保留TAI活性(Harrington等人,2015;Melis等人,2015),就溶解度和pKa而言具有优异的药物特性,并且不受制于MT+形式的吸收限制(Baddeley等人,2015年)。

[0037] W0 2007/110627和W0 2012/107706描述了包含20至300mg其中所述的DAPTZ化合物的剂量单位,例如30至200mg,例如30mg、60mg、100mg、150mg、200mg。提出了DAPTZ化合物的合适剂量在约100ng至约25mg(更典型地约1μg至约10mg)/千克受试者体重/天的范围内,例如100mg每天3次、150mg每天2次、200mg每天2次。

[0038] ***

[0039] W0 2018/019823描述了使用含有甲基硫鎧鎧(MT)的化合物治疗神经变性障碍的新颖方案。简而言之,这些方案鉴定了两个关键因素。第一个与MT化合物的剂量有关,并且第二个是它们与基于乙酰胆碱酯酶水平的调节的对症治疗的相互作用。

[0040] 在W0 2018/019823中描述的分析中,当将单药疗法与附加疗法进行比较时,低剂

量的MT化合物(例如4mg b.i.d)显示出治疗益处。对于大多数测量结局,轻度和中度受试者的功效概况相似。

[0041] 此外,对AD的治疗益处(根据试验标准)局限于服用LMTM作为单药疗法的患者。相比之下,在占大多数的服用LMTM与AD标记治疗(乙酰胆碱酯酶抑制剂[AChEI]和/或美金刚)的组合的患者中在相应的剂量下看到的所有参数的下降与在对照组中看到的下降不可区分。

[0042] WO 2018/019823中讨论了LMT化合物在低剂量下具有活性的潜力以及剂量-反应的明显缺乏,并且假设在tau聚集抑制剂靶标处的活性可能存在临界阈值,并且在高于1 μ M的脑浓度下,较高剂量的作用可能趋于平稳或甚至变成负的(Melis,2015)。基于这些分析并且鉴于较低剂量(4mg每天两次)具有比高剂量(100mg每天两次)更好的总体临床概况,WO 2018/019823教导了治疗蛋白质聚集性神经变性障碍的方法,其包括口服施用含有MT的化合物,其中所述施用向受试者提供总计在0.5与20mg之间的MT/天,任选地作为单剂量或分成2个或更多个剂量。

[0043] WO 2018/019823中描述了关于含有MT的化合物使用“低剂量(low dose)”或“低剂量(low dosage)”的其他出版物。例如:

[0044] Telch,Michael J.等人“Effects of post-session administration of methylene blue on fear extinction and contextual memory in adults with claustrophobia.”American Journal of Psychiatry 171.10(2014):1091-1098:此出版物提到了对于在恐惧消退训练后恐惧消退和背景记忆保留而使用“低剂量亚甲蓝”。所述论文报道,“亚甲蓝是一种二氨基吩噻嗪药物,其在低剂量(0.5-4mg/kg)下具有增强神经代谢的特性。对于成人参与者,所述出版物中使用的剂量为260mg/天,对应于4mg/kg剂量。

[0045] Gonzalez-Lima F和Auchter A(2015)“Protection against neurodegeneration with low-dose methylene blue and near-infrared light”.Front.Cell.Neurosci.9:179.doi:10.3389/fncel.2015.00179:此出版物讨论了介导低剂量亚甲蓝和近红外光的神经保护作用的细胞机制。它提到了较早期的工作,其引述了0.5-4mg/kg的亚甲蓝是安全且有效的。

[0046] Alda,Martin等人“Methylene blue treatment for residual symptoms of bipolar disorder:randomised crossover study.”The British Journal of Psychiatry (2016):doi:10.1192/bjp.bp.115.173930:此出版物描述了在6个月的试验中使用15mg“低剂量”的亚甲蓝作为安慰剂。“有效剂量”是195mg。在每种情况下,剂量被分成每天三次。

[0047] Rodriguez,Pavel等人“Multimodal Randomized Functional MR Imaging of the Effects of Methylene Blue in the Human Brain.”Radiology(2016):152893:此出版物还提到了“低剂量”(0.5-4.0mg/kg)亚甲蓝的“已知”药代动力学和副作用,其与大于10mg/kg的剂量的作用形成对比。对于成人参与者,所述出版物中使用的剂量为280mg/天,接近于4mg/kg剂量。

[0048] Naylor等人(1986)“A two-year double-blind crossover trial of the prophylactic effect of methylene blue in manic-depressive psychosis”.Biol.Psychiatry 21:915-920和Naylor等人(1987)A controlled trial of methylene

blue in severe depressive psychosis. *Biol. Psychiatry* 22:657-659: 这些研究使用了 15mg/天的亚甲基(名义上作为安慰剂)对比 300mg/天的亚甲蓝的治疗。然而,在最后一篇论文中,作者提出了所述安慰剂剂量可以充当抗抑郁剂。

[0049] ***

[0050] 如上所讨论,由于它们在 tau 聚集和 TDP-43 聚集方面的活性,提出了将基于 MT 的化合物用于治疗 FTD (参见 WO 2007/110630; WO 2007/110627; WO 2009/044127; WO 2012/107706, 均描述在前)。

[0051] WO 2018/041739 描述了研究使用 LMTM 治疗额颞叶痴呆 (FTD) 疾病的 3 期临床试验的结果。

[0052] 结果表明,与在历史对照中看到的认知下降相比,甚至相对低剂量的 MT 化合物(其在试验中用作对照)可以显示出对 FTD 的益处。

[0053] 此外,出乎意料地,结果表明,当 MT 与 AD 治疗联合药疗时,具有强的交互作用,所述 AD 治疗调节脑中的突触神经传递。与单独的 MT 相比,在服用 MT 与此类 AD 治疗(例如,乙酰胆碱酯酶抑制剂和/或美金刚)的组合的 FTD 患者出现了显著的认知益处。WO 2018/041739 进一步描述了 MT 化合物可以如何与乙酰胆碱酯酶抑制剂和/或美金刚组合而没有明显的不相容性。

[0054] ***

[0055] WO 2018/019823 和 WO 2018/041739 中提供的洞悉为本领域提供了关于 MT 化合物的最低给药实现患有神经变性障碍(诸如 AD 和 FTD)或处于其风险中的受试者的认知益处的重要贡献。

[0056] 尽管如此,众所周知,在给定剂量的药物将如何转化为受试者体液中的药物浓度方面受试者之间存在个体间变化性。有利的是,将应用于此类受试者群体的任何给药方案可以尽可能地考虑此类变化性,以便确保对所有受试者的最大治疗益处,而无需个人定制化方案,并且尽管如此仍保持希望的临床概况。

发明内容

[0057] 本发明诸位发明人已经设计出一种用于在患者群体中给药 MT 化合物的新颖药代动力学(PK)模型。这种通用模型源自对老年志愿者的 1 期研究,并且描述在下文的实施例中。

[0058] 所述新颖群体 PK 模型然后用于估计在患者中母体 MT 的 C_{max} , 所述患者在 WO 2018/019823 中描述的 AD 研究(研究“005”和“015”,分别针对轻度或轻度至中度 AD 患者的治疗)的两个 3 期试验中接受 LMTM。一旦估计出每个受试者中的 C_{max} , 就可以得出受治疗的群体中的每个的 C_{max} 估计值的分布。

[0059] 如所预期的,对于给定的低剂量,在整个群体中 MT C_{max} 值存在显著变化性。对这种分布的分析证实了在 WO 2018/019823 中的发现:低剂量(4mg MT bid)是有效的(如例如通过在阿尔茨海默病评估量表-认知子量表(Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale) (ADAS-cog) 上降低的下降而测量的。它进一步证实,与用 AChEI 和/或美金刚的附加疗法相比,单药疗法通过此标准给出了显著的益处(其中在 65 周内,单药疗法与附加疗法之间的平均益处是约 4 个 ADAS-cog 单位)(参见图 3a)。

[0060] 然而,出乎意料地,鉴于已发表的描述了缺乏可识别的剂量反应的文献,新颖的分析揭示,在低剂量治疗的群体中存在浓度反应。在从研究015和005中合并的患者中,使用 $S_{E_{max}}$ 分析在65周内对于接受8mg/天的患者ADAS-cog₁₁下降可以显示出这一点(图12)。

[0061] 基于对群体的 C_{max} 阈值划分,“高”估计 C_{max} 的个体的组显示出与“低”估计 C_{max} 的个体的组相比大约2至3个ADAS-cog单位的改善(参见图3a)。

[0062] 然而,基于根据阈值0.373ng/ml对患者的划分,其涵盖35%的具有最低值的患者,接受8mg/天剂量的患者中的治疗差异是-3.4个ADAS-cog个单位(参见图14)。

[0063] 这些洞悉表明,有利的是采用这样的给药方案,所述给药方案既最大化其中MT浓度将超过 C_{max} 或 C_{ave} 阈值的受试者的比例,并且又最大化LMTM的预期治疗功效(无论其单独使用还是与对症治疗(或至少在其之前)组合),而尽管如此仍保持相对低的剂量,从而关于对最小副作用的良好耐受而保持希望的临床概况。

[0064] 图17所示的对于LMTM的总体双相浓度-反应支持以下主张:达到所有这些目标的最小剂量是至少20mg/天,并且在20-40mg/天或20-60mg/天的范围内的剂量将预期最大化治疗益处,尽管在100mg或更高剂量下仍然可以看到良好的功效(特别是在未经对症治疗预治疗的AD患者中)。

[0065] ***

[0066] 所述新颖群体PK模型另外用于估计在WO 2018/041739中描述的研究bvFTD的治疗的3期临床试验中接受不同剂量的LMTM bid的患者中母体MT的 C_{max} 。

[0067] 这些结果证实了对于通过在52周内认知量表(ACE-R)上和在功能量表(FAQ)上的变化而测量的临床益处,低剂量单药疗法的浓度-反应关系类似于在AD中看到的那样。对于通过MRI测量脑萎缩进展(额颞叶体积、侧脑室体积、全脑体积),存在相似的浓度-反应关系。这示出在图18中。

[0068] 如比较AD和bvFTD的相应扩展希尔(Hill)方程曲线图(图17和图20)可以看出,对于bvFTD的浓度-反应关系的两相性质更加明显。这意味着实现对bvFTD的最大治疗益处的最优给药范围对于bvFTD稍微较窄,即20-40mg/天或更不优选地20-60mg/天。

[0069] 如先前在WO 2018/041739中看出,相对于与对症治疗的组合,存在另外的益处,这可以特别在血浆水平低于 $C_{max,ss}$ 的群体平均值的患者中看到。

[0070] ***

[0071] 根据本文所述的结果,可以看出使用使治疗作用最大化的最小剂量的MT化合物存在至少两种不同的益处。首先,与MT相关的某些罕见不良事件或副作用以剂量相关的方式发生。因此,明显希望避免比必要剂量更高的剂量,以便维持最优临床概况。其次,有证据表明在高剂量下对于某些治疗标准,反向的剂量-反应关系:因此,在高剂量下益处实际上可能减弱。

[0072] 总体而言,这些新颖的发现表明,与先前已假设的相比,使用稍微较高的“低剂量”LMT治疗存在益处,并且进一步表明,在某些环情下,LMT治疗可以有利地用作与对症治疗的附加,这增加了基于MT的治疗方案的通用性。

[0073] ***

[0074] 本发明诸位发明人的进一步分析表明,高于20mg MT(例如,以LMTM形式施用)的给药将在90%至100%的受试者中实现高于中值得出的阈值的 C_{max} (参见图5),并且精确的百

分比取决于所使用的分剂量的数量。

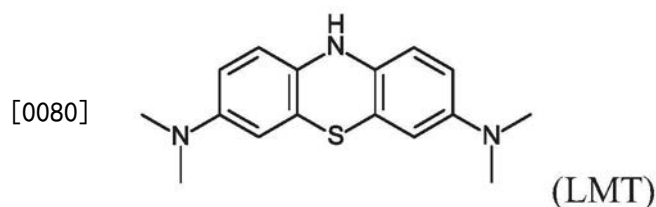
[0075] 关于AD治疗,此类治疗将优选是单药疗法,或至少在当前可用的AD治疗AChEI和美金刚停止之前或之后引入。然而,重要地并且如上所解释,本文所述的分析表明,即使当使用MT治疗作为附加疗法时,与低的C_{max}值相比,实现高于阈值的C_{max}的给药可能存在益处(约2或更多个ADAS-cog单位)。

[0076] ***

[0077] 因此,在一方面,公开了一种对受试者的神经变性障碍(例如神经变性障碍(例如蛋白质聚集的)进行治疗性治疗的方法,所述方法包括向所述受试者口服施用含有甲基硫堇鎓(MT)的化合物,

[0078] 其中所述施用向受试者提供在20.5与40mg、20.5与50mg、20.5与60mg、20.5与70mg、20.5与80mg、或20.5与99mg或100mg之间的MT/天的总日剂量,任选地分成2个或多个剂量,

[0079] 其中所述含有MT的化合物是以下的盐



[0081] 或其水合物或溶剂化物。

[0082] 总日MT剂量可以在20.5或21与60mg之间。

[0083] 总日剂量可以是约20.5、21、21.5、22、22.5、23、23.5、24mg至大约25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60mg中的任一者。

[0084] 总日剂量可以是约20.5、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40mg。

[0085] 示例性剂量是20.5或21至40mg。

[0086] 进一步的示例性剂量是22至35mg。

[0087] 进一步的示例性剂量是23至30mg。

[0088] 本发明涉及以还原(LMT)形式施用MT。

[0089] 所述化合物的总日剂量可以以每天两次或每天三次的分剂量施用。

[0090] 如下所解释,当施用以较大数量的剂量/天而划分的MT剂量时,与每日单次给药或较少数量的剂量/天相比,可能希望在所列举的范围内使用较小的总量。

[0091] 如本文所解释,在一些实施方案中,特别是关于AD的治疗,所述治疗将是单药疗法,或者至少将排除与AChEI和美金刚进行的联合药疗。在一些实施方案中,选择这样的受试者,所述受试者最近尚未进行过先前的用AChEI或美金刚的治疗或其他对症治疗,但是此类治疗任选地在用LMT的治疗开始之后开始或重新开始。

[0092] 因此,如本文所解释,在其他实施方案中,所述治疗将是附加疗法,例如与AChEI和/或美金刚的联合药疗。因此,已接受AChEI和/或美金刚的患者可能受益于接受这些剂量的MT化合物,而接受这些剂量的MT化合物的患者可能受益于AChEI和/或美金刚。

[0093] 在一些实施方案中,所述治疗是治疗方案的一部分,所述治疗方案包括:

[0094] (i) 向所述受试者口服施用所述含有MT的化合物持续第一时间段,其中所述施用向所述受试者提供在1与10mg之间的MT/天、任选地8mg/天的总日剂量,任选地分成2个或更多个剂量;

[0095] (ii) 向所述受试者口服施用所述含有MT的化合物持续随后紧接的时间段,其中所述施用向所述受试者提供在20.5与40mg、20.5与60mg、20.5与80mg或20.5与100mg之间的MT/天、任选地约21至40、50、或60mg/天的总日剂量,任选地分成2个或更多个剂量;

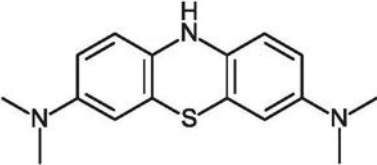
[0096] (iii) 任选地将在(ii)中的治疗与作为乙酰胆碱或谷氨酸神经递质的活性的调节剂的神经传递调节化合物(诸如AChEI和/或美金刚)的施用组合。

[0097] 所述方案的这些不同阶段将典型地紧随彼此之后。

[0098] 本文还提供了对蛋白质聚集性神经变性障碍进行预防性治疗的方法。

[0099] 现在将更详细地描述这些方面和实施方案:

[0100] 甲基硫堇蒽部分

结构	
IUPAC	N3,N3,N7,N7-四甲基-10H-吩噻嗪-3,7-二胺
组成	式量: 285.41(1) 确切质量: 285.1299683(1) 式: C ₁₆ H ₁₉ N ₃ S 组成: C 67.33%, H 6.71%, N 14.72%, S 11.23%
同义词	无色甲基硫堇蒽 (LMT)

[0102] 在本发明中使用的含有MT的化合物含有MT部分,作为还原形式中的活性成分(称为“LMT”)。上述LMT部分本身是不稳定的。因此,它将以LMT化合物(例如,LMT盐)的形式施用。

[0103] 含有LMT的化合物将通常例如通过存在一种或多种质子酸,例如两种质子酸来稳定。

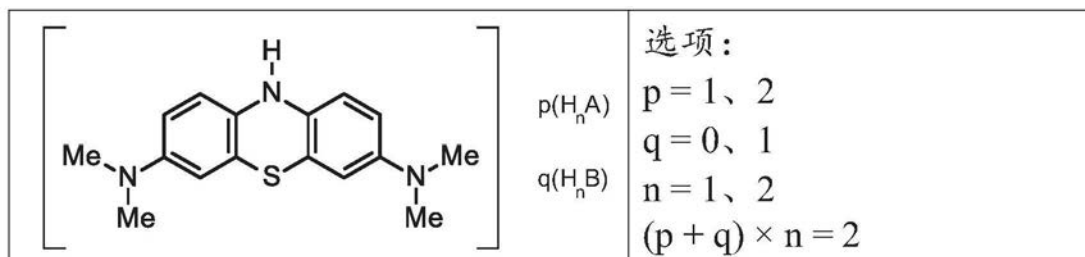
[0104] 基于所述化合物的分子量和MT部分的分子量,本领域技术人员可以容易计算出此类盐的MT含量。此类计算的例子在本文中给出。

[0105] LMT化合物

[0106] 优选地,LMT化合物是WO 2007/110627或WO 2012/107706中描述的类型“LMTX”化合物。

[0107] 因此,所述化合物可以选自下式的化合物、或其水合物或溶剂化物:

[0108]

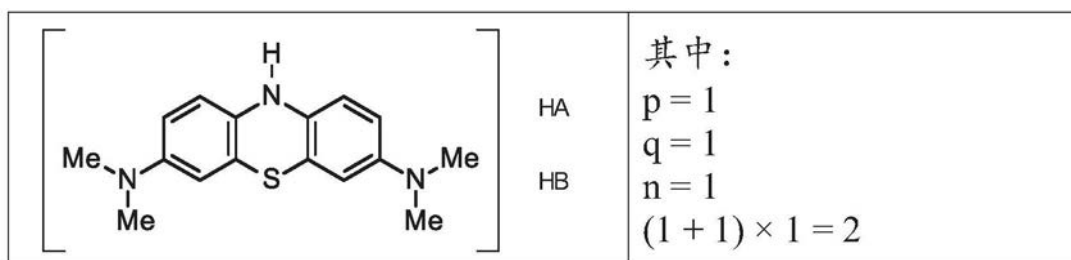


[0109] H_nA 和 H_nB (存在时) 各自均是质子酸, 所述质子酸可以相同或不同。

[0110] “质子酸”意指在水溶液中的质子(H^+)供体。因此, 质子酸中的 A^- 或 B^- 是共轭碱。因此, 质子酸在水中的pH小于7 (即, 水合氢离子的浓度大于 10^{-7} 摩尔/升)。

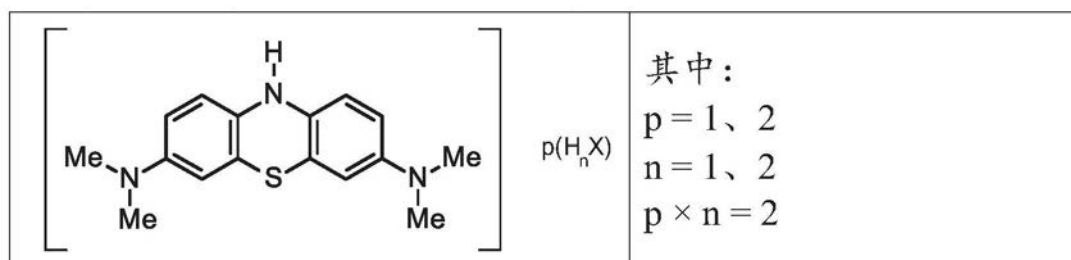
[0111] 在一个实施方案中, 所述盐是具有下式的混合盐, 其中HA和HB是不同的单质子酸:

[0112]



[0113] 然而, 优选地, 所述盐不是混合盐, 并且具有下式:

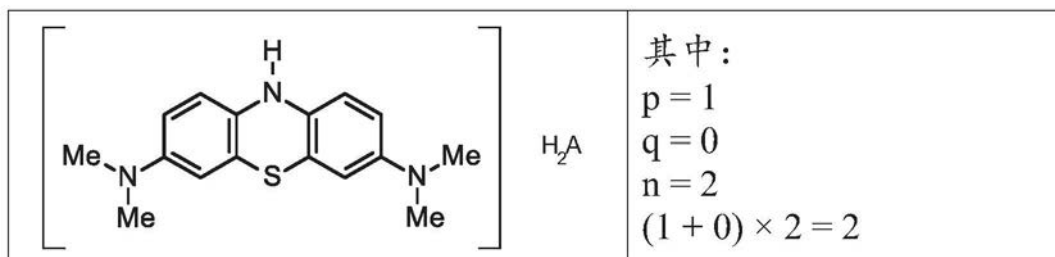
[0114]



[0115] 其中各 H_nX 是质子酸, 诸如二质子酸或单质子酸。

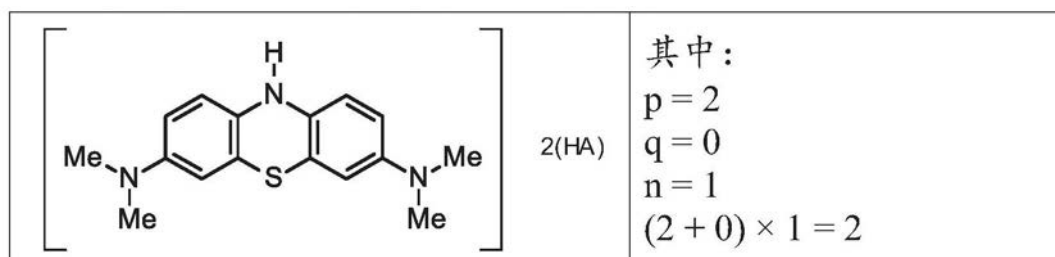
[0116] 在一个实施方案中, 所述盐具有下式, 其中 H_2A 是二质子酸:

[0117]



[0118] 优选地, 所述盐具有下式, 其为双单质子酸:

[0119]



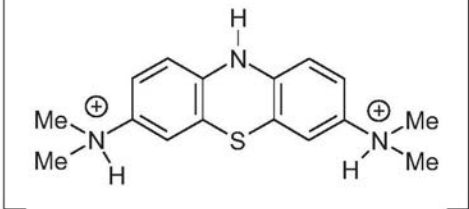
[0120] 可存在于本文所用的LMTX化合物中的质子酸的例子包括:

[0121] 无机酸: 氢卤酸 (例如, HCl、HBr)、硝酸 (HNO₃)、硫酸 (H₂SO₄)

[0122] 有机酸: 碳酸 (H₂CO₃)、乙酸 (CH₃COOH)、甲磺酸、1,2-乙二磺酸、乙磺酸、萘二磺酸、对甲苯磺酸,

[0123] 优选的酸是单质子酸, 并且盐是双 (单质子酸) 盐。

[0124] 优选的MT化合物是LMTM:

[0125]	1		LMT.2MsOH (LMTM)	477.6 (1.67)
--------	---	---	---------------------	-----------------

[0126] 重量因子

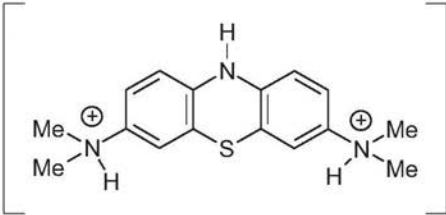
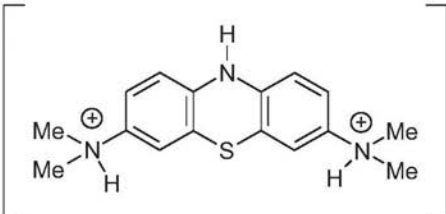
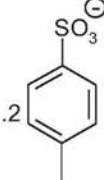
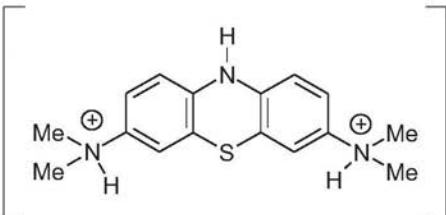
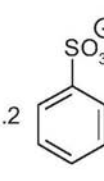
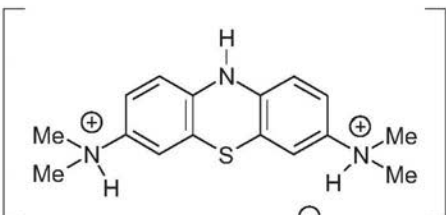
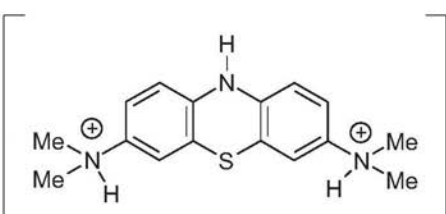
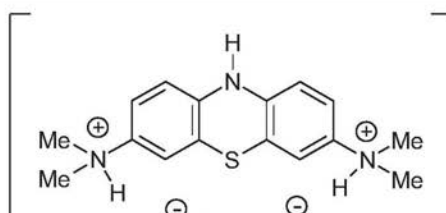
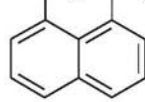
[0127] 无水盐具有大约477.6的分子量。基于LMT核心的分子量为285.1, 在本发明中使用这种MT化合物的重量因子是1.67。“重量因子”意指含有纯MT的化合物相对于其含有的MT的重量的相对重量。

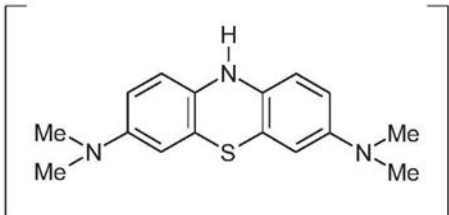
[0128] 可以计算其他重量因子, 例如本文的MT化合物, 并且可以由此计算相应的剂量范围。

[0129] 因此, 本发明包括大约34至67mg、34至100mg、34至134mg、或34至167mg/天的LMTM的总日剂量。

[0130] 其他示例性LMTX化合物如下。也示出了它们的分子量 (无水) 和重量因子:

[0131]

2	 EtSO_3^- EtSO_3^-	LMT.2EsOH	505.7 (1.77)
3	 SO_3^- 	LMT.2TsOH	629.9 (2.20)
4	 SO_3^- 	LMT.2BSA	601.8 (2.11)
5	 O_3S^- CH_2 CH_2 SO_3^-	LMT.EDSA	475.6 (1.66)
6	 O_3S^- CH_2 CH_2 CH_2 SO_3^-	LMT.PDSA	489.6 (1.72)
7	 SO_3^- SO_3^- 	LMT.NDSA	573.7 (2.01)

[0132]	 HCl HCl	LMT.2HCl	358.33 (1.25)
--------	---	----------	------------------

[0133] 因此,本文所述的关于MT的剂量加以必要的修改应用于这些含有MT的化合物,如根据其分子量进行调整。

[0134] 积累因子

[0135] 如本领域技术人员所理解的,对于给定的日剂量,更频繁的给药可以导致更大的药物积累。

[0136] 因此,在所要求保护的发明的某些实施方案中,MT化合物的总日给药量可以当更频繁给药时(例如每天两次[bid]或每天三次[tid])相对较低,或当每天一次[qd]给药时较高。

[0137] 治疗和预防

[0138] 如本文所用在治疗病症的上下文中的术语“治疗”通常涉及治疗和疗法,无论是对人还是动物(例如,在兽医应用中),其中实现了一些希望的治疗作用,例如病症进展的抑制,并且包括进展速度的降低、进展速度的停止、病症的消退、病症的改善、和病症的治愈。

[0139] 如本文所用的术语“治疗有效量”涉及本发明的化合物或者包含所述化合物的材料、组合物或剂型的这样的量,所述量当根据所希望的治疗方案施用时有效产生与合理的效益/风险比相称的一些所希望的治疗作用。本发明诸位发明人已经证明,就本发明的疾病而言,MT化合物的治疗有效量可以比本领域迄今所理解的低得多。

[0140] 本发明还包括作为预防措施的治疗。因此,本发明还提供了一种预防受试者的神经变性障碍(例如蛋白质聚集)的方法,所述方法包括向所述患者口服施用含有MT的化合物,其中所述施用向受试者提供总计在20或21与40mg、20.5与60mg、20.5与80mg、或20.5与99mg之间或100mg的MT/天,任选地分成2个或更多个剂量,如上所述。

[0141] 如本文所用的术语“预防有效量”涉及本发明的化合物或者包含所述化合物的材料、组合物或剂型的这样的量,所述量当根据所希望的治疗方案施用时有效产生与合理的效益/风险比相称的一些所希望的预防作用。

[0142] 在本说明书的上下文中,“预防”不应被理解为限制完全成功,即完全保护或完全预防。相反,在本上下文中的预防是指在检测到症状状况之前施用的措施,其目的是通过帮助延迟、减轻或避免此特定病症而保持健康。

[0143] 组合治疗和单药疗法

[0144] 术语“治疗”包括“组合”治疗和疗法,其中将针对相同的神经变性障碍的两种或更多种治疗或疗法组合(例如,顺序地或同时)。它们可以是对症治疗或疾病缓解治疗。

[0145] 具体组合将由医师决定。

[0146] 在组合治疗中,药剂(即,如本文所述的MT化合物+一种或多种其他药剂)可以同时或顺序地施用,并且可以以单独变化的剂量方案和通过不同途径施用。例如,当顺序地施用时,可以以紧密间隔(例如,在5-10分钟的时间段内)或以更长的间隔(例如,在需要时相隔

1、2、3、4或更多个小时,或甚至间隔更长时间段)施用药剂,精确的剂量方案与一种或多种治疗剂的特性相称。

[0147] 本发明的组合治疗的例子(针对AD)将是作为指定剂量的含有MT的化合物的药剂与作为淀粉样蛋白前体蛋白向成 β -淀粉样蛋白加工的抑制剂(例如,淀粉样蛋白前体蛋白加工的抑制剂,其导致 β -淀粉样蛋白的生成增强)的药剂的组合。

[0148] 本发明还允许联合施用乙酰胆碱酯酶抑制剂或N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂中的一种或两种。

[0149] 如本文所述,关于组合疗法,本发明提供了增强第一化合物的治疗有效性的方法,所述第一化合物是以本文中针对受试者的神经变性障碍的治疗所述的剂量的MT化合物,所述方法包括向所述受试者施用第二化合物,所述第二化合物直接调节受试者脑中的突触神经传递(例如,乙酰胆碱酯酶抑制剂或N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂)。

[0150] 本发明进一步提供了在治疗方案中的以本文在治疗受试者的神经变性障碍的方法中所述的剂量的第一化合物(其为MT化合物),所述治疗方案另外包括用第二化合物进行治疗,所述第二化合物直接调节受试者的脑中的突触神经传递。

[0151] 本发明进一步提供了直接调节受试者脑中突触神经传递的化合物增强本文在受试者的神经变性障碍的治疗中所述的剂量的MT化合物的治疗有效性的用途。

[0152] 本发明进一步提供了本文所述剂量的MT化合物和直接调节脑中突触神经传递的化合物,其用于本发明的组合方法。

[0153] 本发明进一步提供了一种直接调节受试者脑中突触神经传递的化合物,其用于增强本文在受试者的神经变性障碍的治疗中所述的剂量的MT化合物的治疗有效性的方法。

[0154] 本发明进一步提供了本文所述剂量的第一化合物(其为MT化合物)与第二化合物的组合在制造用于治疗神经变性障碍的药剂中的用途,所述第二化合物直接调节受试者脑中突触神经传递。

[0155] 本发明进一步提供了本文所述剂量的第一化合物在制造用于治疗受试者的神经变性障碍综合征的药剂中的用途,所述治疗进一步包括使用第二化合物,所述第二化合物直接调节受试者脑中突触神经传递。

[0156] 本发明进一步提供了直接调节受试者脑中突触神经传递的化合物在制造用于治疗受试者的神经变性障碍的药剂中的用途,所述治疗进一步包括使用本文所述剂量的第一化合物和直接调节受试者脑中突触神经传递的化合物。

[0157] ***

[0158] 在其他实施方案中,治疗是“单药疗法”,也就是说,含有MT的化合物不与用于治疗受试者的相同的蛋白质聚集性神经变性障碍的另一种活性剂组合使用(在上面讨论的含义内)。

[0159] 治疗持续时间

[0160] 对于本文所述的神经变性障碍的治疗,基于低剂量MT化合物的治疗方案将优选延伸在持续的时间段内。具体的持续时间将由医师判定。

[0161] 例如,治疗的持续时间可以是:

[0162] 至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12个月或更长。

[0163] 至少2、3、4、5年或更长。

[0164] 在6与12个月之间。

[0165] 在1与5年之间。

[0166] 对于预防,治疗可能正在进行中。

[0167] 在所有情况下,治疗持续时间通常将服从医师的建议和评论。

[0168] 希望的终点

[0169] 本文所述的方法(剂量方案)可以用于实现具体的特定治疗或预防结局。所述具体结局可以根据与神经变性障碍相关的量表进行量化。这样的量表可以例如测量与障碍相关的认知、功能或身体标准的变化。本文的实施例举例说明了适当的量表,通过所述量表,可以证实与安慰剂或其他参考点(例如,不同的剂量方案)相比所述剂量方案的效果。它们包括关于AD而使用的阿尔茨海默病评估量表-认知子量表(ADAS-cog)和关于bvFTD而使用的阿登布鲁克改良认知检查(Addenbrooke's Cognitive Examination-revised)(ACE-R)。

[0170] 因此,作为非限制性例子,在一个实施方案中,其中所述治疗是AD治疗,实现(或用于实现)受试者的认知下降的减轻,所述减轻任选地是与未根据本发明治疗的相应对照或对照群体相比,在65周的时间段内在11项的阿尔茨海默病评估量表-认知子量表(ADAS-cog)上在下降方面至少1、2、2.5、3、4、5或6分的降低。

[0171] 在一个实施方案中,所述治疗是bvFTD治疗,其实现(或用于实现):(i)所述受试者的认知下降的减轻,所述减轻任选地是在52周的时间段内在阿登布鲁克改良认知检查(ACE-R)量表上在下降方面至少1、2、3、4、5、6、7或8分的降低;或(ii)所述受试者的功能下降的减轻,所述减轻任选地是在每种情况下与未根据本发明治疗的相应对照或对照群体相比,在52周的时间段内在功能活动问卷(FAQ)上在下降方面至少1、2、3、4、5或6分的降低。

[0172] 药物剂型

[0173] 将本发明的MT化合物或包含它的药物组合物口服施用于受试者/患者。

[0174] 典型地,在本发明的实践中,所述化合物将以包含所述化合物和药学上可接受的载体或稀释剂的组合物的形式来施用。

[0175] 在一些实施方案中,所述组合物是药物组合物(例如,配制品、制剂、药剂),其包含如本文所述的化合物和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0176] 如本文所用的术语“药学上可接受的”涉及在合理的医学判断范围内适合用于与所讨论的受试者(例如,人)的组织接触使用而没有过多的毒性、刺激、过敏反应、或其他问题或并发症的与合理的益处/风险比相称的化合物、成分、材料、组合物、剂型等。在与配制品的其他成分相容的意义上,每种载体、稀释剂、赋形剂等也必须是“可接受的”。

[0177] 在一些实施方案中,所述组合物是药物组合物,其包含如本文所述的至少一种化合物,以及本领域技术人员熟知的一种或多种其他药学上可接受的成分,包括但不限于药学上可接受的载体、稀释剂、赋形剂、佐剂、填充剂、缓冲剂、防腐剂、抗氧化剂、润滑剂、稳定剂、增溶剂、表面活性剂(例如,润湿剂)、掩蔽剂、着色剂、调味剂和甜味剂。

[0178] 在一些实施方案中,所述组合物进一步包含其他活性剂,例如其他治疗剂或预防剂。

[0179] 合适的载体、稀释剂、赋形剂等可以在标准药学文献中找到。参见例如,Handbook of Pharmaceutical Additives,第2版(M.Ash和I.Ash编,2001(Synapse Information Resources, Inc., Endicott, 纽约, 美国), Remington's Pharmaceutical Sciences, 第20

版, pub. Lippincott, Williams and Wilkins, 2000; 和 Handbook of Pharmaceutical Excipients, 第2版, 1994。

[0180] 本发明的一个方面涉及一种剂量单位(例如, 药物片剂或胶囊), 其包含如本文所述的MT化合物(例如, 通过或可通过本文所述的方法获得; 具有如本文所述的纯度等)和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0181] 虽然以相对低的量存在, 但“MT化合物”是所述剂量单位的活性剂, 也就是说, 旨在对于蛋白质聚集性神经变性障碍具有治疗或预防作用。相反, 所述剂量单位中的其他成分将无治疗活性, 例如, 载体、稀释剂或赋形剂。因此, 优选地, 所述剂量单位中将不存在其他活性成分, 不存在旨在对于有待使用所述剂量单位所针对的障碍具有治疗或预防作用的其他药剂。

[0182] 在一些实施方案中, 所述剂量单位是片剂。

[0183] 在一些实施方案中, 所述剂量单位是胶囊。

[0184] 在一些实施方案中, 所述胶囊是明胶胶囊。

[0185] 在一些实施方案中, 所述胶囊是HPMC(羟丙基甲基纤维素)胶囊。

[0186] 所述组合物中MT的适当量将取决于受试者服用MT的频率/天。

[0187] 示例性剂量单位可以含有8至32mg MT。

[0188] 进一步示例性剂量单位可以含有8至16mg MT。

[0189] 在一些实施方案中, 所述量是约8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60mg MT。

[0190] 使用本文所述或解释的重量因子, 本领域技术人员可以选择适当量的含有MT的化合物以用于口服配制品。

[0191] 如上所解释, LMTM的MT重量因子是1.67。由于使用单一或简单分量的活性成分是方便的, 因此非限制性示例性LMTM剂量单位可以包括13.4、15、16.7mg等。

[0192] 在一个实施方案中, 提供了一种剂量单位药物组合物, 其包含约34、67或100mg LMTM。

[0193] 营养药物组合物

[0194] 在本发明中使用的含有MT的组合物可以存在于“营养药物组合物”中, 所述营养药物组合物含有如本文所述的适当剂量的MT化合物与一种或多种呈可食用形式的营养素(例如, 口服剂型)的组合。

[0195] 本发明的新颖营养药物组合物可以用作食物和饮料的补充剂以及用作药物组合物。具有本文所述MT化合物剂量的这些营养药物组合物本身构成了本发明的另一方面。

[0196] 如本文所用的“营养素”是指营养药物组合物的在人体或动物体中起生化和/或生理作用的组分。“营养素”包括这样的物质, 如维生素、矿物质、微量元素、微量营养素、抗氧化剂等, 以及其他生物活性材料, 诸如酶或由人或动物酶生物合成产生的化合物; 以及药草和药草提取物; 脂肪酸、氨基酸及其衍生物。

[0197] “可食用形式”表示可以直接摄入或转化为可摄入形式(诸如通过溶解在水中)的组合物。

[0198] 可替代地, 所述营养药物组合物可以呈食物或饮料的形式, 诸如补充有限剂量

的MT化合物的食品的定义部分(所述术语包括食物和饮料两者)。这些食品将典型地包含脂肪、蛋白质或碳水化合物中的一种或多种。

[0199] 如本文所用的术语“营养药物”表示在营养和药物应用领域两者中的有用性,并且本文中涉及药物剂型的公开内容加以必要的修改应用于营养药物组合物。

[0200] 特别适用于营养药物组合物的口服剂型是本领域熟知的,并且更详细地描述在本文其他地方。它们包括粉末、胶囊、丸剂、片剂、扁囊剂、囊形片、和可食用食物类的定义部分。液体形式包括溶液或悬浮液。剂型和营养药物形式的一般例子例如在W0 2010/078659中给出。

[0201] 可用于本发明组合物的营养素的一些例子如下。本发明设想了这些营养素的任何组合:

[0202] 维生素

[0203] 据报道,补充B族维生素(叶酸[叶酸盐,维生素B₉]、维生素B₁₂、维生素B₆)可以减缓特定脑区的萎缩,所述脑区是AD过程的关键组成部分并且与认知下降相关。这对于具有高同型半胱氨酸水平的老年受试者尤其如此(Douaud, **Gwenaëlle**等人“Preventing Alzheimer’s disease-related gray matter atrophy by B-vitamin treatment.” Proceedings of the National Academy of Sciences 110.23(2013):9523-9528;还参见Quadri,Pierluigi等人“Homocysteine,folate,and vitamin B₁₂ in mild cognitive impairment,Alzheimer disease,and vascular dementia.”The American journal of clinical nutrition 80.1(2004):114-122;Rosenberg IH,Miller JW.Nutritional factors in physical and cognitive functions of elderly people.The American Journal of Clinical Nutrition.1992年6月1日;55(6):1237S-1243S.)。

[0204] 已提出,与其他抗氧化剂(参见下文)一起,维生素C可以用于保护神经组织,以及通过调节一氧化氮而潜在地减少β-淀粉样蛋白的生成和乙酰胆碱酯酶活性并且防止内皮功能障碍(参见例如,Heo JH,Hyon-Lee, Lee KM.The possible role of antioxidant vitamin C in Alzheimer’s disease treatment and prevention.American Journal of Alzheimer’s Disease&Other Dementias.2013年3月;28(2):120-5)。

[0205] 还已提出,补充维生素E可以在AD治疗中发挥作用(参见例如,Mangialasche, Francesca等人“Serum levels of vitamin E forms and risk of cognitive impairment in a Finnish cohort of older adults.”Experimental Gerontology 48.12(2013):1428-1435)。

[0206] 微量营养素、抗氧化剂

[0207] 据报道,微量营养素或抗氧化剂(诸如多酚)在保护或治疗年龄相关疾病(包括神经变性疾病,特别是认知损害和AD)方面具有益处。

[0208] 可用于本文所述的营养药物组合物中的微量营养素和/或抗氧化剂包括下表中所示的类黄酮(复制于Mecocci,Patrizia等人“Nutraceuticals in cognitive impairment and Alzheimer’s disease.”Frontiers in pharmacology5:147(2014)):

[0209] 类黄酮化学亚组和相关食物来源:

	组	分子	食物来源
[0210]	黄烷醇类	儿茶素、表儿茶素、表没食子儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)	可可和巧克力、绿茶、葡萄
	黄酮醇类	山萘酚、槲皮素	洋葱、苹果、绿茶、酸豆、韭葱、西兰花
	黄酮类	木犀草素、芹菜素	芹菜、欧芹、迷迭香
	异黄酮类	大豆黄素、染料木黄酮	大豆
	黄烷酮类	橙皮素、柚皮素	柑橘类水果、蕃茄
	花青素类	天竺葵素、花青色素、锦葵色素	浆果、红酒

[0211] 可潜在用于保护或治疗年龄相关疾病并且由Mecocci等人描述的其他微量营养素包括:

[0212] • 非类黄酮多酚:白藜芦醇和姜黄素,

[0213] • 类胡萝卜素:番茄红素、叶黄素、玉米黄素、 β -隐黄质、 α -胡萝卜素、以及最突出的类胡萝卜素(β -胡萝卜素),

[0214] • 藏红花素(在藏红花中鉴定的主要化学化合物),

[0215] • 二萜:例如,鼠尾草酸和迷迭香酸是迷迭香中最重要的两种抗氧化剂。

[0216] 药草和植物提取物

[0217] 除了以上关于微量营养素和抗氧化剂而描述或交叉引用的植物外,据报道,其他植物提取物和药草也有益于CNS障碍-参见Kumar,Vikas.“Potential medicinal plants for CNS disorders:an overview.”Phytotherapy Research20.12(2006):1023-1035。它们包括银杏(*Ginkgo biloba*)、贯叶金丝桃(*Hypericum perforatum*) (圣约翰草(*St John's wort*))、卡瓦胡椒(*Piper methysticum* Forst.(胡椒科(*Piperaceae*))),也称卡瓦卡瓦(*kava kava*))、缬草(*Valeriana officinalis* L.或Valerian)、假马齿苋(*Bacopa monniera*) (在印度当地称为Brahmi或Jalanimba)、多枝旋花(*Convolvulus pluricaulis*) (也称为Shankpushpi或shankapushpi)

[0218] 油和脂肪

[0219] 据报道,例如, ω -3多不饱和脂肪酸(PUFA)可能是有前途的用于预防年龄相关脑退化的工具。诸如(二十二碳六烯酸(DHA,22:6)和二十碳五烯酸(EPA,20:5)的PUFA的来源包括鱼油(Denis,I.等人“Omega-3fatty acids and brain resistance to ageing and stress:body of evidence and possible mechanisms.”Ageing Research Reviews 12.2(2013):579-594.)

[0220] 受试者、患者和患者组

[0221] 本发明的教导可以应用于受试者/患者,所述受试者/患者是动物、哺乳动物、胎盘哺乳动物、啮齿动物(例如,豚鼠、仓鼠、大鼠、小鼠)、鼠科动物(例如,小鼠)、兔形目动物(例如,兔)、禽类(例如,鸟)、犬科动物(例如,狗)、猫科动物(例如,猫)、马科动物(例如,马)、猪类(例如,猪)、绵羊类(例如,绵羊)、牛科动物(例如,牛)、灵长类猿猴(例如,猴或猿)、猴(例如,绒猴、狒狒)、单孔目动物(例如,鸭嘴兽)、猿(例如,大猩猩、黑猩猩、猩猩、长臂猿)、或人。

[0222] 在优选的实施方案中,所述受试者/患者是已被诊断为患有本文所述的一种认知或CNS障碍或(对于预防性治疗)被评估为易患本文所述的一种蛋白质聚集性神经变性障碍(例如,认知或CNS障碍)-例如基于家族或遗传或其他数据-的人。

[0223] 所述患者可以是成年人,并且本文所述的基于群体的剂量以所述基础为前提(典型体重50至70kg)。如果希望,则可以通过使用受试者重量因子将相应剂量用于在此范围之外的受试者,因而受试者体重除以60kg以提供所述个体受试者的乘积因子。

[0224] 因此,例如,对于AD的诊断和严重性的评估,初次选择患者可以涉及以下中的任何一项或多项:由经验丰富的临床医生进行的严格评价;通过补充的实验室和其他研究尽可能排除非AD诊断;使用神经病理学验证的成套测验来客观评价认知功能水平。

[0225] 本文所述的AD和其他障碍的诊断可以由医师通过本领域技术人员熟知的方法进行。

[0226] 如本文所解释,即使在使用乙酰胆碱酯酶抑制剂或N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂治疗AD的受试者或患者群体中,适当剂量的MT化合物也可以证实益处(例如,关于减较慢的退速率,如通过ADAS-Cog测量的)。

[0227] 乙酰胆碱酯酶抑制剂的例子包括多奈哌齐(AriceptTM)、卡巴拉汀(ExelonTM)或加兰他敏(ReminyTM)。NMDA受体拮抗剂的例子是美金刚(EbixaTM、NamendaTM)。这些神经递调节化合物的总日剂量的例子如下:多奈哌齐:在5与23mg之间;卡巴拉汀:在3与12mg之间;加兰他敏:在4与24mg之间;美金刚:在5与20mg之间。

[0228] 因此,在本发明的一个实施方案中,提供了一种治疗(或预防)受试者的AD的方法,

[0229] 所述方法包括向所述受试者口服施用本文所述剂量的含有甲基硫堇鎓(MT)的化合物,

[0230] 其中所述治疗进一步包括施用乙酰胆碱酯酶抑制剂或N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂中的一种或两种。

[0231] 在其他实施方案中,AD受试者或患者组可以对这些其他治疗是完全幼稚的,并且在历史上尚未接受过乙酰胆碱酯酶抑制剂或N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂中的一种或两种。

[0232] 可替代地,AD受试者或患者组在历史上可能已接受其中的一种或两种,但在用根据本发明的MT化合物治疗之前至少1、2、3、4、5、6、7天,或2、3、4、5、6、7、8、12或16周,或更优选至少1、2、3、4、5或6个月等停止所述药疗。

[0233] 本发明的任何方面可以包括以下主动步骤:根据这些标准选择AD受试者或患者组,或选择正在接受用乙酰胆碱酯酶抑制剂或N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂中的一种或两者进行的治疗的AD受试者或患者组,以及在用根据本发明的MT化合物的治疗之前中止所述治疗(指示所述受试者或患者组中止所述治疗)。

[0234] 可以任选地在用MT化合物的治疗开始之后开始或重新开始此类治疗。

[0235] 标签、说明书和试剂盒

[0236] 本文所述的单位剂量组合物(例如,低剂量的含有MT的化合物+任选地其他成分,或更通常用于AD治疗的MT组合物)可以在标记的小包中连同它们的使用说明书一起提供。

[0237] 在一个实施方案中,包装是瓶,诸如在制药领域中熟知的。典型的瓶可以由药典级HDPE(高密度聚乙烯)制成,其具有儿童防护的HDPE推锁封口并且含有硅胶干燥剂,所述硅胶干燥剂存在于小袋或罐中。所述瓶本身可以包括标签,并且包装在纸板容器中,其中具有给我们的说明书和任选地所述标签的其他拷贝。

[0238] 在一个实施方案中,包装或小包是泡罩包装(优选地具有铝腔和铝箔),因此基本上不透水。在这种情况下,包装可以包装在纸板容器中,其中具有给我们的说明书以及在容器上的标签。

[0239] 所述标签或说明书可以提供关于药疗旨在针对的蛋白质聚集性神经变性障碍(例如,认知或CNS障碍)的信息。

[0240] 当表明药疗用于AD的时,所述标签或说明书可以提供指示使用者所述组合物不应结合乙酰胆碱酯酶抑制剂或N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂中任何一种而使用的信息。

[0241] 所述标签或说明书可以提供关于如本文所述的组合物的最大允许日剂量-例如基于每日一次、每日两次或每日三次-的信息。

[0242] 所述标签或说明书可以提供关于如本文所述的治疗的建议持续时间的信息。

[0243] 逆转和/或抑制蛋白质聚集

[0244] 本发明的一个方面是使用如本文所述的MT化合物或组合物用于调节(例如,逆转和/或抑制)蛋白质聚集(例如,与神经变性疾病和/或临床痴呆相关的蛋白质聚集)的用途。如下所讨论,聚集将与疾病状态相关。

[0245] 类似地,本发明的一个方面涉及一种调节(例如,逆转和/或抑制)哺乳动物脑中蛋白质聚集的方法,所述聚集与如本文所述的疾病状态相关,所述治疗包括以下步骤:向需要所述治疗的所述哺乳动物施用预防或治疗有效量的如本文所述的MT化合物或组合物,所述MT化合物或组合物是所述聚集的抑制剂。

[0246] 通过本发明可治疗的疾病病症将在下文更详细地讨论。

[0247] 治疗方法

[0248] 如上所解释的本发明的另一方面涉及一种治疗方法,其包括向需要治疗的患者施用预防或治疗有效量的如本文所述的化合物(优选呈药物组合物的形式)。

[0249] 在疗法方法中的用途

[0250] 本发明的另一方面涉及如本文所述的化合物或组合物,其用于通过疗法对人体或动物体(例如疾病病症)进行治疗的方法。

[0251] 在制造药剂中的用途

[0252] 本发明的另一方面涉及如本文所述的MT化合物或组合物在制造用于治疗(例如疾病病症)的药剂中的用途。

[0253] 在一些实施方案中,所述药剂是组合物,例如,如本文所述的低剂量单位剂量组合物。

[0254] 蛋白质聚集性神经变性障碍

[0255] 本文所述的发现对于在不同疾病中MT化合物的给药具有意义。特别地,采用最大化其中MT浓度将超过C_{max}阈值的受试者的比例而尽管如此仍保持相对低的剂量以便维持希望的临床概况的给药方案可以应用于治疗或预防各种蛋白质聚集性疾病,其中MT被描述为是有效的。

[0256] 因此,在一些实施方案中,所述疾病病症是蛋白质聚集性疾病,并且例如,所述治疗采用一定量的如本文所述的化合物或组合物,所述量足以抑制与所述疾病病症相关的蛋白质聚集。

[0257] 下表列出了各种疾病相关聚集蛋白和相应的蛋白质聚集性神经变性疾病。本发明涵盖了本发明剂量方案针对这些蛋白质或疾病的用途。

蛋白质	疾病	聚集结构域和/或突变	原纤维亚基大小 (kDa)	参考
朊病毒蛋白	朊病毒病	遗传和散发形式	27	Prusiner (1998)
[0258]	(CJD、nvCJD、致命性家族性失眠症、Gerstmann-Straussler-Scheinker综合征、库鲁病)	PrP-27-30; 许多突变。	27	Prusiner (1998)
		原纤维生成结构域: 113-120 , 178-191 , 202-218。		Gasset 等人 (1992)

[0259]

蛋白质	疾病	聚集结构域和/或突变	原纤维亚基大小 (kDa)	参考
tau蛋白	阿尔茨海默病、唐氏综合征、FTDP-17、CBD、脑炎后帕金森综合征、匹克病、关岛帕金森综合征痴呆征群(parkinsonism with dementia complex of Guam)	遗传和散发形式	10-12	Wischik 等人 (1988)
		截短tau (微管蛋白结构域) 297-391。	10-12	Wischik 等人 (1988)
		FTDP-17 中的tau突变。		Hutton 等人 (1998)
		早老素蛋白中的许多突变。		Czech 等人 (2000)
淀粉样蛋白 β -蛋白	阿尔茨海默病/唐氏综合征	遗传和散发形式	4	Glenner & Wong, (1984)
		淀粉样蛋白 β -蛋白；1-42(3)。	4	Glenner & Wong, (1984)
		罕见家族中的APP突变。		Goate 等人 (1991)
亨廷顿蛋白	亨廷顿病	具有扩展的谷氨酰胺重复序列的蛋白质的N-末端。	40	DiFiglia 等人 (1997)
共济失调蛋白	脊髓小脑性共济失调 (SCA1、2、3、7)	具有扩展的谷氨酰胺重复序列的蛋白质。		Paulson 等人 (1999)
萎缩蛋白 (Atrophin)	齿状核红核苍白球路易体萎缩症 (DRPLA)	具有扩展的谷氨酰胺重复序列的蛋白质。		Paulson 等人 (1999)

[0260]

蛋白质	疾病	聚集结构域和/或突变	原纤维亚基大小 (kDa)	参考
雄激素受体	脊髓延髓肌肉萎缩症	具有扩展的谷氨酰胺重复序列的蛋白质。		Paulson 等人(1999)
神经源性丝氨酸蛋白酶抑制剂 (Neuroserpin)	伴有神经元包涵体的家族性脑病 (FENIB)	神经源性丝氨酸蛋白酶抑制剂；S49P, S52R。	57	Davis 等人(1999)
α -突触核蛋白	帕金森氏病、路易体痴呆、多系统萎缩症	遗传和散发形式	19	Spillantini 等人 (1998), 还有 PCT/GB2007/001105
		罕见的常染色体显性PD家族中的A53T、A30P。		Polymeropoulos 等人(1997)
TDP-43	FTLD-TDP	若干个TDP-43突变	10-43	Mackenzie 等人 (2010)
	肌萎缩性脊髓侧索硬化症	若干个TDP-43突变	10-43	Mackenzie 等人 (2010)
胱抑素C	遗传性脑血管病 (冰岛)	胱抑素C少10个残基；L68Q。	12-13	Abrahamsen 等人 (1992)
超氧化物歧化酶1	肌萎缩性脊髓侧索硬化症	SOD1突变。	16	Shibata 等人(1996)

[0261] 如WO 02/055720、WO 2007/110630和WO 2007/110627中所述,二氨基吩噻嗪可用于抑制此类蛋白质聚集疾病。

[0262] 因此,应当理解,除非上下文另有要求,否则关于tau蛋白或tau样蛋白(例如,MAP2;参见下文)的实施方案的描述应被视为同等地应用于本文所讨论的其他蛋白质(例如,TDP-43、 β -淀粉样蛋白、突触核蛋白、朊病毒等)或可以通过对聚集体蔓延至关重要的结

构域中的构象变化而引发或经受类似的病理聚集或者向由此形成的聚集体赋予蛋白水解稳定性的其他蛋白质(参见例如,Wischik等人“Neurobiology of Alzheimer's Disease”,第2版,2000,Dawbarn,D.和Allen,S.J.编,The Molecular and Cellular Neurobiology Series,Bios Scientific Publishers,Oxford)。所有此类蛋白质在本文中可以为“聚集疾病蛋白”。

[0263] 同样地,在本文中提及“tau-tau聚集”等的情况下,这也可以被认为可适用于其他“聚集-蛋白质聚集”,诸如 β -淀粉样蛋白质聚集、朊病毒聚集、突触核蛋白质聚集等。同样应用于“tau蛋白水解降解”等。

[0264] 优选的聚集疾病靶蛋白

[0265] 本发明的优选实施方案基于tau蛋白。如本文所用的术语“tau蛋白”通常是指tau蛋白家族的任何蛋白质。tau蛋白的特征在于它是在组装和拆解的重复循环期间与微管共纯化的较大量蛋白质家族中的一种(参见例如,Shelanski等人,1973,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,第70卷,第765-768页),并且被称为微管相关蛋白(MAP)。tau家族的成员享有共同特征,即具有特征性N末端区段(在N末端区段插入的大约50个氨基酸的序列,其受到脑中的发育调控)、由3或4个串联的具有31-32个氨基酸的重复序列组成的特征性串联重复区域和C末端尾。

[0266] MAP2是体树突状区室中主要的微管相关蛋白(参见例如,Matus,A.,“Microtubules”[Hyams和Lloyd编]第155-166页,John Wiley and Sons,纽约,美国)。MAP2同种型与串联重复序列区域中的tau蛋白几乎相同,但在N末端结构域的序列和范围两者上基本不同(参见例如,Kindler和Garner,1994,Mol.Brain Res.,第26卷,第218-224页)。然而,在串联重复区结构域中的聚集对于tau重复结构域不是选择性的。因此,应当理解,本文中关于tau蛋白或tau-tau聚集的任何讨论应当被视为也涉及tau-MAP2聚集、MAP2-MAP2聚集等。

[0267] 在一些实施方案中,所述蛋白质是tau蛋白。

[0268] 在一些实施方案中,所述蛋白质是突触核蛋白,例如, α -或 β -突触核蛋白。

[0269] 在一些实施方案中,所述蛋白质是TDP-43。

[0270] TAR DNA结合蛋白43(TDP-43)是由1p36.2染色体上的TARDBP编码的414个氨基酸的蛋白质。所述蛋白质高度保守,广泛表达,并且主要定位于细胞核,但可以在细胞核与细胞质之间穿梭(Mackenzie等人2010)。它参与转录和剪接调节,并且可以在诸如以下的其他过程中发挥作用:微RNA加工、细胞凋亡、细胞分裂、信使RNA的稳定化、神经元可塑性的调节和树突完整性的维持。此外,自2006年以来,已经积累了大量证据支持肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)中TDP-43毒性功能获得假设。TDP-43是固有易聚集的蛋白质,并且在体外形成的聚集体在超微结构上类似于在ALS患者的退化神经元中看到的TDP-43沉积物(Johnson等人,2009)。Johnson等人(2008)显示,当TDP-43在酵母模型中过表达时,仅聚集形式是有毒的。若干项体外研究还显示,TDP-43的C末端片段比全长TDP-43更可能形成不溶性细胞质聚集体,其变得泛素化并且对细胞有毒(Arai等人2010;Igaz等人2009;Nonaka等人2009;Zhang等人2009)。尽管Nonaka等人(2009)提出这些细胞质聚集体结合内源性全长蛋白,从细胞核中消耗它,但Zhang等人(2009)发现了正常核表达的保留,这表明所述聚集体的纯毒性作用。Yang等人(2010)描述了在培养的NSC34运动神经元中TDP-43的C末端和N末端片段

的聚集体内捕获全长TDP-43。由于存在此类截短片段而受损的神经突增生可以通过全长蛋白的过表达来拯救。尽管尚未建立神经突增生在体内的作用,但此模型将支持由Nonaka及同事提出的关于TDP-43聚集在ALS发病机理中的作用的意见。

[0271] 已经反复报道了在细胞培养物中突变型TDP-43的表达导致C末端片段的生成增加,具有比野生型蛋白质甚至更大的细胞质聚集和毒性作用(Kabashi等人2008; Sreedharan等人2008; Johnson等人2009; Nonaka等人2009; Arai等人2010; Barmada等人2010; Kabashi等人2010)。

[0272] 在所述蛋白质是tau蛋白的情况下,在本发明的一些实施方案中,提供了一种抑制蛋白质聚集体(例如,呈成对的螺旋丝(PHF)的形式)(任选地在哺乳动物脑中的神经原纤维缠结(NFT)中)产生的方法,所述治疗如上所述。

[0273] 优选的适应症-蛋白质聚集疾病

[0274] 在一个实施方案中,本发明用于治疗阿尔茨海默病(AD)-例如轻度、中度或重度AD。

[0275] 值得注意地,其不仅是阿尔茨海默病(AD),其中tau蛋白(及其功能或加工异常)可能起作用。神经变性障碍(诸如皮克病和进行性核上性麻痹(PSP))的发病机理似乎分别与新皮质的齿状回和星状锥体细胞中病理性截短tau聚集体的积累相关。其他痴呆包括额颞叶痴呆(FTD);连锁于17号染色体伴帕金森综合征的FTD(FTDP-17);脱抑制-痴呆-帕金森综合征-肌萎缩征群(DDPAC);苍白球脑桥黑质变性(PPND);关岛-ALS综合征;苍白球黑质卢易体变性(pallido-nigro-luysian degeneration,PNLD);皮层基底变性(CBD)及其他(参见例如,Wischik等人的文章“Neurobiology of Alzheimer's Disease”,第2版,2000,Dawbarn,D.和Allen,S.J.编,The Molecular and Cellular Neurobiology Series,Bios Scientific Publishers,牛津;尤其是表5.1)。主要或部分地由异常tau聚集表征的所有这些疾病在本文中称为“tau蛋白病”。

[0276] 因此,在一些实施方案中,所述疾病病症是tau蛋白病。

[0277] 在一些实施方案中,所述疾病病症是神经变性tau蛋白病。

[0278] 在一些实施方案中,所述疾病病症选自阿尔茨海默病(AD)、皮克病、进行性核上性麻痹(PSP)、额颞叶痴呆(FTD)、连锁于17号染色体伴帕金森综合征的FTD(FTDP 17)、额颞叶变性(FTLD)综合征;脱抑制-痴呆-帕金森综合征-肌萎缩征群(DDPAC)、苍白球脑桥黑质变性(PPND)、关岛-ALS综合征、苍白球黑质卢易体变性(PNLD)、皮层基底变性(CBD)、嗜银颗粒性痴呆(AgD)、拳击员痴呆(DP)或慢性创伤性脑病(CTE)、唐氏综合征(DS)、路易体痴呆(DLB)、亚急性硬化性全脑炎(SSPE)、MCI、C型尼曼-匹克病(NPC)、B型沙费利波综合征(粘多糖病III B)、或肌强直性营养不良(DM)(DM1或DM2)、或慢性创伤性脑病(CTE)。

[0279] 在一些实施方案中,所述疾病病症是伴有tau病理学的溶酶体贮积障碍。NPC是由影响胆固醇代谢的NPC1基因突变引起的(Love等人1995),并且B型沙费利波综合征是由基因NAGLU突变引起的,其中存在硫酸肝素溶酶体积累(Ohmi等人2009)。在这些溶酶体贮积障碍中,观察到tau病理学并且其治疗可以降低所述疾病的进展。其他溶酶体贮积障碍的特征也可以在于tau的积累。

[0280] 在PCT/GB2007/001105和PCT/GB2008/002066中更详细地描述了吩噻嗪二胺盐在治疗帕金森氏病和MCI中的用途。

[0281] 在一些实施方案中,所述疾病病症是帕金森氏病、MCI、或阿尔茨海默病。

[0282] 在一些实施方案中,所述疾病病症是亨廷顿病或其他多聚谷氨酰胺障碍,诸如脊髓延髓肌肉萎缩症(或肯尼迪病)和齿状核红核苍白球路易体萎缩症以及各种脊髓小脑性共济失调。

[0283] 在一些实施方案中,所述疾病病症是FTLD综合征(其可以是例如tau蛋白病或TDP-43蛋白病,参见下文)。

[0284] 在一些实施方案中,所述疾病病症是PSP或ALS。

[0285] TDP-43蛋白病包括肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS;ALS-TDP)和额颞叶变性(FTLD-TDP)。

[0286] 最近的若干出版物中已综述了对TDP-43在ALS和其他神经变性障碍中的神经变性中的作用(Chen-Plotkin等人2010;Gendron等人2010;Geser等人2010;Mackenzie等人2010)。

[0287] ALS是一种神经变性疾病,其特征不在于进行性麻痹和肌肉萎缩,起因于主要运动皮层、脑干和脊髓中上运动神经元和下运动神经元的退化。它有时被称为运动神经元疾病(MND),但存在除ALS以外的影响上运动神经元或下运动神经元的疾病。明确的诊断需要在延髓、手臂和腿部肌肉组织中有上运动神经元体征和下运动神经元体征两者,并且有临床进展的明确证据,这是无法通过任何其他疾病过程解释的(Wijesekera和Leigh 2009)。

[0288] 尽管大多数病例是ALS-TDP,但是存在其中病理蛋白不同于TDP-43的其他病例。由于FUS的突变(融合于肉瘤蛋白中),错误折叠的SOD1是在具有SOD1突变(Seetharaman等人2009)的泛素阳性包涵体中和在非常小的家族性ALS子集(打约3%-4%)中的病理蛋白,泛素化的病理蛋白是FUS(Vance等人2009;Blair等人2010)。与TDP-43一样,FUS似乎在核-细胞质穿梭中很重要,尽管FUS核输入受损的方式仍不清楚。改编自Mackenzie等人(2010)的新的ALS分子分类反映了不同亚型中不同的潜在病理机制(参见下表)。

[0289] 新的ALS分子分类(改编自Mackenzie等人2010)。在大多数病例中,TDP-43是在ALS中发现的泛素化病理蛋白。

[0290]

ALS中的泛素阳性包涵体			
泛素化疾病蛋白	TDP-43	FUS	SOD1
临床病理亚型	ALS-TDP	ALS-FUS	ALS-SOD1
相关基因型	<i>TARDBP</i>	<i>FUS</i>	<i>SOD1</i>
ALS病例的频率	常见	罕见	罕见

[0291] 肌萎缩性脊髓侧索硬化症已被认为是近一个半世纪的疾病分类学实体,并且它被认为在ICD-10中,并且被归类为ICD 10中MND的亚型(codeG12.2)。与Charcot的原始描述不同,针对ALS可获得可靠的临床诊断,并且还议定了反映潜在分子病理学的神经病理标准。

[0292] 虽然ALS在病理学上分为三个亚组:ALS-TDP、ALS-SOD1和ALS-FUS,但后两种均罕

见。迄今为止最大的研究显示所有散发ALS病例都具有TDP-43病理学(Mackenzie等人, 2007)。仅大约5%的ALS是家族性的(Byrne等人, 2010), 并且在FALS中发现的最常见的突变SOD1突变占在12%-23%之间的病例(Andersen等人, 2006)。SOD1也可能牵涉在2%-7%的SALS中。FUS的突变似乎不太常见, 仅占3%-4%左右的FALS(Blair等人, 2010)。因此, 可以可靠地预测SALS的临床病例将具有基于TDP-43的病理学。类似地, 由于TDP-43的突变, 这可以在FALS中可靠地预测, 其占大约4%的病例(Mackenzie等人2010)。还报道了具有VCP突变(占1%-2%的FALS)(Johnson等人2010)、ANG突变(Seilhean等人2009)和CHMP2B突变(Cox等人2010)的ALS与TDP-43阳性病理学相关。尽管尚未发现SOD1、FUS和ATXN2突变与TDP-43阳性聚集体有关, 但据报道推测由这些突变引起的病理过程中牵涉TDP-43(Higashi等人2010; Ling等人2010; Elden等人2010)。

[0293] 因此, 确定的是, TDP-43在绝大多数SALS病例的发病机理中具有重要且潜在核心的作用, 并且可能牵涉在大部分FALS的发病机理中。ALS现被广泛认为是TDP-43蛋白病(Neumann等人2009), 并且许多体外和体内研究对以下假设提供了支持: 由TDP-43聚集引起的功能毒性获得是所述疾病中的至少一些神经毒性的原因。

[0294] FTLN综合征是隐匿性发作的进展势不可挡的神经变性疾病, 在中年晚期为发病高峰。在一级亲属中通常存在类似病症的阳性家族史。

[0295] 行为变异型FTD的特征在于社交和人际功能的早期突出变化, 通常伴随着重复行为和饮食模式的变化。在语义性痴呆中, 尽管语言流利, 但仍有明显的唤词问题, 其中具有对象知识的退化和在认知评估时对单个词语理解受损。进行性非流利性失语表现有运动语言问题和语法缺陷的组合。这三种FTLD综合征的核心临床诊断特征示出在下表和Neary等人(1998)的完整标准中。

[0296] FTLN综合征的临床概况和核心诊断特征

[0297]

FTLD综合征-临床概况	核心诊断特征
额颞叶痴呆 性格改变和无序的社会行为是最初和整个疾病过程中的主要特征。感知、空间技能、实践和记忆的工具功能保留得完好或相对好。	1. 隐匿性发作和逐步进展 2. 社会人际行为的早期下降 3. 个人行为规范的早期损害 4. 早期的情感迟钝 5. 早期洞察力损失
语义性痴呆 语义性障碍(对词义和/或对象身份的理解受损)是最初和整个疾病过程中的主要特征。认知的其他方面(包括自传记忆)保留得完好或相对好。	A) 隐匿性发作和逐步进展 B) 语言障碍, 其特征不在于 1. 渐进、流畅但空洞的讲话 2. 词义丧失, 表现为命名和理解受损 3. 语义性错语症和/或 4. 感知障碍, 其特征不在于 1. 面孔失认症: 对熟悉面孔身份的识别受损, 和/或 2. 联想性失认症: 物体身份识别受损 C) 保留的感知匹配和图画再现 D) 保留的单个词语重复力 E) 保留的大声朗读并且照口述正字形地写出正规字的能力
渐进性非流利性失语症 表达语言障碍是最初和整个疾病过程中的主要特征。认知的其他方面保留得完好或相对好。	A) 隐匿性发作和逐步进展 B) 伴有以下中至少一项的非流利性即兴讲话: 语法缺失、音韵性错语或命名性失语

[0298] 发现TDP-43阳性包涵体表征ALS和FTLD-TDP (Neumann等人2006) 后很快发现了家族性和散发性ALS病例中TARDBP基因的错义突变 (Gitcho等人2008; Sreedharan等人, 2008)。到目前为止, 报道了全世界79个血缘无关家族中38种不同的TARDBP突变 (Mackenzie等人, 2010)。TARDBP突变占有家族性ALS病例的大约4%和散发性ALS病例的大约1.5%。

[0299] 截至2010年12月, 已鉴定出与家族性和散发性ALS相关的13个基因的突变。ALS与其他五个染色体位点的联系已得到证明, 但迄今为止尚未鉴定出特定的突变。

[0300] TDP-43蛋白病

[0301] MT具有这样的作用模式, 所述作用模式靶向并且可以减少细胞中的TDP-43蛋白质聚集, 这是绝大多数家族性和散发性ALS的病理特征并且也是FTLD-P的特征。

[0302] 另外, 实验室数据显示, 甲基硫堇抑制SH-SY5Y细胞中TDP-43聚集体的形成。用0.05 μ M MT治疗后, TDP-43聚集体的数量减少了50%。通过免疫印迹分析证实了这些发现 (Yamashita等人2009)。

[0303] 因此, 本发明的化合物和组合物可用于治疗肌萎缩性脊髓侧索硬化症 (ALS) 和额

颞叶变性 (FTLD)。

[0304] 亨廷顿病和多聚谷氨酰胺障碍

[0305] MT可以减少细胞中的多聚谷氨酰胺蛋白质聚集,这是亨廷顿病的病理特征。亨廷顿病是由位于亨廷顿蛋白的N末端的经翻译的CAG重复序列的扩增引起的。野生型染色体含有6-34个重复序列,而在亨廷顿病中,染色体含有36-121个重复序列。疾病发作的年龄与编码所述蛋白质内的多聚谷氨酰胺重复序列的CAG束的长度负相关。

[0306] 实验室数据显示,甲基硫堇抑制斑马鱼中含有102个残基的多聚谷氨酰胺延伸段的亨廷顿衍生物聚集体的形成 (van Bebbber等人2010)。当在0、10和100 μ M下测试时,MT以剂量依赖性方式防止斑马鱼中此类聚集体的形成。

[0307] 因此,本发明的化合物和组合物可以用于治疗亨廷顿病和其他多聚谷氨酰胺障碍,诸如脊髓延髓肌肉萎缩症 (或肯尼迪病) 和齿状核红核苍白球路易体萎缩症以及各种脊髓小脑性共济失调 (Orr&Zoghbi,2007)。

[0308] 线粒体疾病和拉福拉病 (Ldfora Disease)

[0309] 除骨骼肌外,线粒体障碍 (特别是呼吸链疾病 (RCD)) 中最常受影响的器官是中枢神经系统 (CNS)。RCD的CNS表现包括中风样发作、癫痫、偏头痛、共济失调、痉挛、运动障碍、精神障碍、认知下降、或甚至痴呆 (线粒体痴呆)。迄今为止,已报道了MELAS、MERRF、LHON、CPEO、KSS、MNGIE、NARP、Leigh综合征和Alpers-Huttenlocher病 (Finsterer,2009) 中的线粒体性痴呆。线粒体呼吸链中存在四种复合物,涉及一系列电子转移。这些复合物中的任何一种的异常功能都可能导致继发于异常电子传递链的线粒体疾病和随后的异常线粒体呼吸。线粒体呼吸链的复合物III起到将电子转移至细胞色素c的作用。

[0310] 本发明的化合物和组合物还可以用于治疗与呼吸链的复合物III功能缺陷和/或受损相关的线粒体疾病。所述化合物具有充当有效电子载体和/或转移的能力,因为硫堇部分具有在氧化形式与还原形式之间转化的低氧化还原电位。在导致线粒体疾病的复合物III功能受损和/或缺陷的情况下,本发明的化合物还能够执行复合物III的电子传递和转移作用 (因为硫堇部分在氧化形式与还原形式之间穿梭的能力),因此代替次最佳功能的复合物III充当电子载体,将电子转移到细胞色素c。

[0311] 本发明的化合物和组合物还具有生成活性硫堇部分的能力,所述活性硫堇部分能够使错误折叠的蛋白质/氨基酸单体/寡聚体离开Hsp70 ADP相关蛋白积累和/或重折叠途径,并且取而代之地以使这些异常折叠的蛋白质单体/寡聚体改道至直接通向Hsp70 ATP依赖性泛素-蛋白酶体系统 (UPS) 的途径,所述途径通过直接路线去除这些错误折叠的蛋白质/氨基酸单体/寡聚体 (Jinwal等人2009)。

[0312] 拉福拉病 (LD) 是一种青少年发病的常染色体隐性致命性癫痫,其与许多组织中分支不均和不溶性糖原 (称为聚葡萄糖) 的逐渐积累相关。在脑中,在神经元中形成聚葡萄糖体或拉福拉体。通过MT抑制Hsp70 ATP酶 (Jinwal等人2009) 可以上调错误折叠的蛋白质的去除。拉福拉病主要是由于溶酶体泛素-蛋白酶体系统 (UPS) 缺陷,因为Laforin或Malin基因的突变 (都位于染色体6上),这导致包涵体可能使错误折叠的tau蛋白的聚集加速。来自受损UPS的继发性线粒体损伤可能进一步导致线粒体活性受抑和电子传递链受损,导致进一步的脂褐素并且引发惊厥,它们是拉福拉病的特征。

[0313] MT部分可以解聚现有的tau聚集体,减少更多的tau积累并且通过抑制Hsp70 ATP

酶而增强溶酶体效率。通过MT对Hsp70 ATP酶的抑制作用,MT可以通过增强泛素蛋白酶体系去除tau单体/寡聚体而导致tau缠结的减少。

[0314] 因此,本发明的化合物和组合物可用于治疗拉福拉病。

[0315] 氧化MT化合物和还原MT化合物的混合物

[0316] 本发明中使用的含有LMT的化合物可以包括在合成过程中作为“杂质”的氧化(MT+)的化合物,并且还可以在合成后氧化(例如,自动氧化)以给出相应的氧化形式。因此,如果不是不可避免的话,则很可能的是,包含本发明化合物的组合物将含有作为杂质的至少一些相应的氧化的化合物。例如,“LMT”盐可以包含高达15%,例如10%至15%的MT+盐。

[0317] 当使用混合MT化合物时,MT剂量可以使用存在的化合物的分子量因子容易计算。

[0318] 盐和溶剂化物

[0319] 虽然本文所述的含有MT的化合物本身是盐,但它们也可以以混合盐的形式(即,本发明的化合物与另一种盐组合)提供。此类混合盐旨在涵盖在术语“及其药学上可接受的盐”中。除非另外指定,否则对特定化合物的提及还包括其盐。

[0320] 本发明的化合物也可以以溶剂化物或水合物的形式提供。术语“溶剂化物”在本文中以常规含义使用,是指溶质(例如,化合物、化合物的盐)和溶剂的络合物。如果溶剂是水,则溶剂化物可以方便地称为水合物,例如,一水合物、二水合物、三水合物、五水合物等。除非另外指定,否则对化合物的任何提及还包括溶剂化物及其任何水合物形式。

[0321] 当然,化合物的盐的溶剂化物或水合物也涵盖在本发明中。

[0322] 本文引用了许多专利和出版物,以便更全面地描述和公开本发明以及本发明所属领域的现状。这些参考文献中的每一个以引用的方式整体并入本文的公开内容中,其程度如同每个单独的参考文献被具体和单独地指出以引用的方式并入。

[0323] 贯穿本说明书及其后的权利要求,除非上下文另有要求,否则词语“包含(包括)(comprise)”以及变型如“包含(包括)(comprises)”或“包含(包括)(comprising)”应当被理解为是指包含一个提及的整体或步骤或者多个整体或步骤的组,但不排除任何其他整体或步骤或者多个整体或步骤的组。

[0324] 必须指出,如在说明书和所附权利要求中所用,单数形式“一个/一种(a/an)”和“所述(the)”包括复数指示物,除非上下文另外清楚地规定。因此,例如,对“一种药物载体”的提及包括两种或更多种这此类载体的混合物等。

[0325] 范围在本文中通常表达为从“约”一个特定值和/或至“约”另一个特定值。当表达这样的范围时,另一个实施方案包括从一个特定值和/或至另一个特定值。类似地,当通过使用先行词“约”将值表达为近似值时,将理解所述特定值形成另一个实施方案。

[0326] 本文中的任何子标题仅为了方便而包括,并且不应被解释为以任何方式限制本公开内容。

[0327] 现在将参考以下非限制性附图和实施例进一步描述本发明。本领域技术人员根据这些内容将会想到本发明的其他实施方案。

[0328] 本文引用的所有参考文献的公开内容,因为本领域技术人员可以使用它们来实施本发明,因此通过交叉引用特此确切地并入本文。

附图说明

[0329] 图1.针对MT的简化群体PK模型的示意图。

[0330] 图2a和b.在接受LMTM 4mg BID或大约200mg/天的来自研究005和015的AD患者中稳态母体MT C_{max}的贝叶斯事后估计值的直方图。

[0331] 图3a和3b.对于合并8mg/天剂量作为单药疗法或附加疗法,在来自研究005和015的AD受试者中根据估计的稳态C_{max}在65周内的ADAS-cog变化。注意,“strata.Acmem”中的p值较低是由于接受LMTM作为附加治疗的受试者数量较多。

[0332] 图4.对AD受试者的分析显示在作为单药疗法和附加疗法两者的高C_{max}组中,脑萎缩和脑室扩张减小。

[0333] 图5.根据剂量估计高C_{max}组中AD受试者的比例。Y轴显示超出阈值的%。4mg BID为50%,反映了在此剂量下高C_{max}组和低C_{max}组的原始中值划分。

[0334] 图6.在bvFTD试验受试者中对于8和200mg/天的估计C_{max}值的分布

[0335] 图7.在接受LMTM 8mg/天作为单药疗法用于治疗bvFTD的bvFTD患者中根据C_{max}组在ACE-R量表上在下降方面的差异

[0336] 图8.在接受LMTM 200mg/天作为单药疗法用于治疗bvFTD的bvFTD患者中根据C_{max}组在ACE-R量表上在下降方面的差异

[0337] 图9.在接受LMTM 8mg/天作为单药疗法的bvFTD患者中根据C_{max}组在FAQ量表上在下降方面的差异

[0338] 图10.在接受LMTM 8mg/天或200mg/天作为单药疗法的bvFTD患者中根据C_{max}组在FAQ量表上在下降方面的差异

[0339] 图11a、b和c.在接受LMTM 8mg/天作为单药疗法的bvFTD患者中根据C_{max}组在WBV、FTV和LVV方面的差异。

[0340] 图12.在模型协变量的情况下在群体平均值和90%自举(bootstrap)置信区间下对在第65周ADAS-cog₁₁下降的S形E_{max}分析,使用对于来自研究TRx-237-005和TRx-237-015的低剂量AD患者的第1天C_{max,ss}。

[0341] 图13.对于接受8mg/天剂量的LMTM的AD患者的C_{max,ss}分组,对于临床和MRI体积终点的浓度-反应关系

[0342] 图14.所有AD患者的主要临床和MRI体积终点的比较:按高于(“高暴露”)或低于(“低暴露”)母体MT阈值0.373ng/mL的C_{max,ss}进行分类。

[0343] 图15.根据每天一次(qd)和每天两次(bid)的给药方案,高于临界治疗阈值C_{max,ss}(0.393ng/ml)和C_{ave,ss}(0.223ng/ml)的AD患者的预期百分比。

[0344] 图16.接受LMTM 8mg/天的AD患者的主要临床和MRI终点的比较:按高于(“高暴露”)或低于(“低暴露”)母体MT阈值0.373ng/ml的C_{max,ss}以及AChEI和/或美金刚的使用状态进行分类。

[0345] 图17.在服用8mg/天剂量的LMTM并且按与AD标记治疗的联合药疗状况进行分类的AD患者中在65周内ADAS-cog量表上的药代动力学-药效学反应。

[0346] 图18.在bvFTD患者中对于ACE-R、FAQ、FTV、LVV和WBV的浓度-反应关系。

[0347] 图19.在按高于或低于C_{max,ss}阈值0.346ng/ml的血浆水平进行分类的服用8mg/天的bvFTD患者中,临床和MRI神经影像学终点的从基线随时间的估计变化。

[0348] 图20.对于bvFTD患者,扩展希尔方程与在52周内的全脑体积变化的拟合。

实施例

[0349] 实施例1-提供含有MT的化合物

[0350] 用于化学合成本文所述的含有MT的化合物的方法是本领域已知的。例如:

[0351] 化合物1至7的合成可以根据WO 2012/107706中所述的方法或与其类似的方法进行。

[0352] 化合物8的合成可以根据WO 2007/110627中所述的方法或与其类似的方法进行。

[0353] 实施例2-提供AD对症治疗

[0354] AD对症治疗包括直接调节脑中突触神经传递的那些,它们是作为乙酰胆碱酯酶抑制剂(AChEI)或NMDA受体拮抗剂可商购的。

[0355] AChEI的例子包括他克林(CognexTM, First Horizon)、多奈哌齐(AriceptTM, Eisai/Pfizer)、卡巴拉汀(ExelonTM, Novartis)和加兰他敏(RazadyneTM, 以前为ReminylTM, Ortho-McNeil)。美金刚作为EbixaTM或NamendaTM(例如来自Forest)可获得。

[0356] 实施例3-针对MT的新颖群体PK模型

[0357] 在初始模型(未示出)中,所有MT部分(母体MT、去甲基MT、和LMT-共轭物)的配置同时通过多室模型进行表征。两室模型充分描述了在P0施用后母体MT的配置,其中在血浆和组织隔室中发生结合并且在两个转运隔室中发生延迟吸收。此模型具有固定的V_c。存在吸收速率随剂量增加而变慢的趋势,使用剂量依赖性吸收速率常数(K_a)将其纳入模型。母体MT的表观口腔清除率(CL/F)与肾功能有关,使得母体CL的变化性的一小部分由归一化肌酐清除率(CL_{CRN})来描述。母体MT的一小部分被代谢为去甲基MT,并且去甲基MT的配置通过具有线性消除的两室模型来描述。亲本MT也被转化为LMT-葡萄糖苷酸,并且其配置通过具有线性消除的一室模型来描述。值得注意地,一部分LMT-共轭物经历了肠肝再循环(EHR),所述EHR在生理上通过具有脉动模式的胆汁分泌的潜在胆囊隔室来模拟。

[0358] 将上述模型应用于来自老年受试者的单剂量和多剂量1期研究(研究036)的数据,以便评估所述模型预测母体MT的稳态PK的能力。所述模型成功地拟合从在研究036中接受4mg BID或10mg QD LMTM的受试者获得的数据。

[0359] 然后,进一步开发此PK模型并且将其简化为仅拟合母体MT浓度的两室模型。图1提供了针对MT的此简化群体PK模型的示意图。此模型具有固定的V_c,但是去除了剂量依赖性K_a。

[0360] 此模型源自上面讨论的研究036。两室模型充分描述了P0施用LMTM后母体MT的配置,并且在两个转运隔室中发生延迟吸收。母体MT的表观口腔清除率(CL/F)与肾功能有关,使得母体CL的变化性的一小部分由归一化肌酐清除率(CL_{CRN})来描述。

[0361] 所述模型成功地拟合从在研究036中接受4mg BID或10mg QD LMTM的受试者获得的数据。

[0362] 所述简化模型提供了与先前更复杂的模型相似的拟合,但是允许对来自研究036的所有数据进行共建模。

[0363] 总体而言,获得了与个体受试者数据的优异拟合,表明所述模型对在施用LMTM后母体MT的PK提供了充分描述。

[0364] 实施例4-在3期AD研究(研究“005”和“015”)中接受4mg BID的患者中母体MT的C_{max}的估计。

[0365] 在WO 2018/019823的实施例4和3中分别描述了3期AD研究“005”和“015”的试验设计,所述实施例还讨论了那些结果。将这些实施例的公开内容通过引用明确地并入本文。简而言之,那些3期试验比较了高剂量LMTM(150-250mg/天)与低剂量(8mg/天),其旨在作为潜在尿液变色的掩蔽(Gauthier,2016;Wilcock,2018)。它们显示出在临床和脑成像终点上延迟疾病进展方面,LMTM(特别作为单药疗法)的潜在效用,并且与8mg/天剂量相比,高剂量不产生更大的潜在益处。

[0366] 然后,将群体PK模型用于估计在这些3期AD研究中接受4mg或高剂量(大约200mg/天)的患者中母体MT的C_{max}。这种贝叶斯过程涉及将群体平均值和个体间可变性参数固定至来自群体PK模型与来自研究036的稳态数据的拟合的估计值,以及允许程序根据这些贝叶斯先验条件选择一组参数,其最佳地预测从第1天起每位个体中的母体MT浓度。

[0367] 在图2a和2b中提供了所得C_{max}估计值的分布。约200mg/天的组代表来自研究015(150和250mg/天)和研究005(200mg/天)的合并高剂量受试者。

[0368] 在这些图中,黑色竖线指示每种分布的中值,其可以用于将患者分为低C_{max}组和高C_{max}组。

[0369] 实施例5-在高C_{max}组和低C_{max}组中在稳态下来自研究005和015的合并8mg/天剂量作为单药疗法或附加疗法的不同效果的评估

[0370] 使用混合效应模型重复测量(Mixed effect Model Repeat Measurement)(MMRM)方法,然后针对“高C_{max}”组和“低C_{max}”组计算来自研究005和015的合并8mg/天剂量作为单药疗法或附加疗法在65周内的ADAS-cog变化,所述组在每种情况下被分为接受LMTM作为单药疗法的那些或与对症治疗(AChEI和/或美金刚)组合(“附加疗法”)的那些。结果示出在图3a和3b中,其示出了相同的数据。将使用对症治疗的患者标记为“Achmem”。

[0371] 图3a强调了WO 2018/019823中的发现,即对症治疗会干扰LMTM的治疗效果。可以看出单药疗法与附加疗法之间的平均差异是约4个ADAS-cog单位。

[0372] 如图3b中突出的,出乎意料地,对这种低剂量(8mg/天)的分析还揭示出对于单药疗法,高C_{max}组与低C_{max}组之间的差异为约2.4个ADAS-cog单位,以及对于附加疗法,高C_{max}组与低C_{max}组之间的差异为约2.7个ADAS-cog单位,即对于单药疗法和附加治疗看到相同的浓度依赖性差异。

[0373] 在进一步的分析中,图4显示,作为单药疗法和附加疗法两者,高C_{max}组具有较少的全脑和颞叶萎缩以及较小的脑室扩张。如所预期,单药疗法的脑萎缩少于附加疗法组。应当注意,所述差异仅对具有显著较大数量的受试者的附加疗法组才实现统计显著性。

[0374] 对合并高剂量组(平均200mg/天)的相应分析未显示在高C_{max}组与低C_{max}组之间相应的不同治疗效果,无论是作为单药疗法还是附加疗法(数据未示出)。

[0375] 实施例6-安全性和不良事件:使用最小有效剂量的LMT化合物的益处

[0376] 已经完成三项LMTM的3期双盲对照研究(患有轻度和轻度至中度AD的受试者各一项,以及患有bvFTD的受试者的一项)。AD研究的结果已经发表(Gauthier等人,2016;Wilcock等人,2018)。

[0377] 在这三项研究中,1897名受试者接受了至少一剂LMTM(安全性群体[另外5名患有

AD的受试者,在研究TRx-237-005中的一个站点参与,接受了一剂研究药物,但由于GCP违规而被排除在所有分析之外],1679名患有AD的受试者和218名患有bvFTD的受试者)。其中,860名受试者接受了对照(LMTM 8mg/天,750名患有AD以及110名患有bvFTD),并且1037名受试者以150至250mg/天的较高剂量接受了至少一剂LMTM(929名患有AD以及108名患有bvFTD)。

[0378] 研究参与者的平均年龄对于患有AD的受试者为71岁(范围最高达89岁),并且对于患有bvFTD的受试者为63岁(范围最高达79岁)。总体而言,按性别存在可比较的展示(55%女性),其中更多AD受试者为女性(58%)并且更多bvFTD受试者为男性(63%)。大多数受试者是白人(88%AD以及91%bvFTD)。大约17%的AD受试者接受了LMTM作为单药疗法(如在伴随药疗案例报告表中记录,而不是通过分层[总体上,基于分层随机分配,87%的受试者正在接受AChEI和/或美金刚]),其余部分则接受伴随的AChEI和/或美金刚。另一方面,大多数患有bvFTD的受试者接受了LMTM作为单药疗法(79%)。精神障碍/症状很常见,并且据报道抑郁占总受试者的23%并且焦虑占12%。与AD(分别为36%和10%)相比,抗抑郁药和抗精神病药的伴随使用在患有bvFTD的患者中更常见(分别为50%和22%)。

[0379] 被认为至少可能与以8mg/天剂量给予的LMTM相关的最常见的治疗紧急不良事件(TEAE)是GI(大多是腹泻和恶心)、泌尿生殖系统(大多是尿频和尿失禁)、血液系统的(贫血、叶酸减少和叶酸缺乏)、以及与神经系统有关的(大多是疲劳、头晕、头痛、躁动、和失眠)。其他常见事件被认为代表了在12至18个月的持续时间内在这些患者群体中预期的事件。

[0380] 在研究的较高LMTM剂量(150至250mg/天)下,在以下情况的发生方面存在剂量相关的增加:贫血相关TEAE(除了贫血、叶酸减少和叶酸缺乏之外,还有血红蛋白减少)、胃肠道事件(除了腹泻和恶心之外,还包括呕吐以及可能相关观察到的体重减轻)、以及泌尿生殖系统事件(除了尿频和尿失禁之外,还包括排尿困难、排尿急、和明显的尿路感染)。在跌倒和神经系统/精神疾病事件(躁动除外)中剂量反应的缺乏表明,它们与受试者的基础状况而非治疗相关。

[0381] 下表EX1中按剂量总结了最常见TEAE的发生率。这包括在随机分配到LMTM 8mg/天或较高剂量(150至250mg/天)的受试者中以 $\geq 2.0\%$ 的发生率发生的TEAE。还包括强度严重的TEAE的子集。如可以看出,无论剂量如何,很少发生严重强度的事件。

[0382] 表EX1:按剂量在 $\geq 2.0\%$ 的受试者中的治疗紧急不良事件的发生率:LMTM 8mg/天与较高剂量(3期,双盲LMTM合并安全性群体)

[0383]

MedDRA 系统 器官类别/ 优选项	LMTM 8 mg/天 (N=860)		较高剂量 (150-250 mg/天) (N=1037)	
	全部 n (%)	严重强度 n (%)	全部 n (%)	严重强度 n (%)
报告至少一例 TEAE 的受试 者的数量 (%)	720 (83.7%)	86 (10.0%)	902 (87.0%)	126 (12.2%)
血液及淋巴系统障碍				
贫血	19 (2.2%)	1 (0.1%)	59 (5.7%)	0
心脏障碍				
房颤	17 (2.0%)	3 (0.3%)	10 (1.0%)	2 (0.2%)
胃肠道障碍				

[0384]

MedDRA 系统 器官类别/ 优选项	LMTM 8 mg/天 (N=860)		较高剂量 (150-250 mg/天) (N=1037)	
	全部 n (%)	严重强度 n (%)	全部 n (%)	严重强度 n (%)
腹痛	16 (1.9%)	1 (0.1%)	30 (2.9%)	1 (0.1%)
上腹痛	10 (1.2%)	1 (0.1%)	21 (2.0%)	0
便秘	23 (2.7%)	2 (0.2%)	24 (2.3%)	1 (0.1%)
腹泻	109 (12.7%)	5 (0.6%)	278 (26.8%)	14 (1.4%)
恶心	39 (4.5%)	1 (0.1%)	86 (8.3%)	1 (0.1%)
呕吐	20 (2.3%)	0	80 (7.7%)	3 (0.3%)
全身障碍及施用部位状况				
疲劳	26 (3.0%)	0	38 (3.7%)	1 (0.1%)
外周水肿	19 (2.2%)	0	20 (1.9%)	0
感染和侵染				
支气管炎	27 (3.1%)	0	19 (1.8%)	0
鼻咽炎	40 (4.7%)	0	43 (4.1%)	0
上呼吸道感染	35 (4.1%)	0	34 (3.3%)	0
尿路感染	76 (8.8%)	1 (0.1%)	116 (11.2%)	3 (0.3%)
损伤、中毒及手术并发症				
挫伤	24 (2.8%)	0	15 (1.4%)	0
跌倒	90 (10.5%)	4 (0.5%)	78 (7.5%)	7 (0.7%)
裂伤	17 (2.0%)	0	14 (1.4%)	1 (0.1%)
研究				
血肌酸磷酸激酶升高	18 (2.1%)	0	31 (3.0%)	0
血叶酸降低	45 (5.2%)	0	76 (7.3%)	0
肌酐肾清除率降低	20 (2.3%)	0	26 (2.5%)	0
血红蛋白减少	6 (0.7%)	0	34 (3.3%)	0
维生素B ₁₂ 减少	23 (2.7%)	0	21 (2.0%)	0
体重降低	18 (2.1%)	0	39 (3.8%)	0
代谢及营养障碍				
食欲下降	13 (1.5%)	0	39 (3.8%)	1 (0.1%)
脱水	17 (2.0%)	4 (0.5%)	18 (1.7%)	2 (0.2%)
叶酸缺乏	17 (2.0%)	0	45 (4.3%)	0
肌肉骨骼及结缔组织障碍				
关节痛	28 (3.3%)	0	31 (3.0%)	1 (0.1%)

[0385]

MedDRA 系统 器官类别/ 优选项	LMTM 8 mg/天 (N=860)		较高剂量 (150-250 mg/天) (N=1037)	
	全部 n (%)	严重强度 n (%)	全部 n (%)	严重强度 n (%)
背痛	31 (3.6%)	1 (0.1%)	44 (4.2%)	2 (0.2%)
四肢疼痛	19 (2.2%)	1 (0.1%)	17 (1.6%)	0
神经系统障碍				
脑微出血	24 (2.8%)	0	16 (1.5%)	0
头晕	49 (5.7%)	3 (0.3%)	64 (6.2%)	2 (0.2%)
头痛	55 (6.4%)	1 (0.1%)	61 (5.9%)	3 (0.3%)
晕厥	26 (3.0%)	1 (0.1%)	28 (2.7%)	5 (0.5%)
震颤	20 (2.3%)	0	13 (1.3%)	0
精神障碍				
躁动	46 (5.3%)	1 (0.1%)	61 (5.9%)	7 (0.7%)
焦虑	52 (6.0%)	0	39 (3.8%)	2 (0.2%)
精神混乱状态	22 (2.6%)	2 (0.2%)	45 (4.3%)	2 (0.2%)
抑郁	41 (4.8%)	0	37 (3.6%)	2 (0.2%)
幻觉	13 (1.5%)	0	21 (2.0%)	4 (0.4%)
失眠	29 (3.4%)	0	32 (3.1%)	0
自杀意念	27 (3.1%)	2 (0.2%)	30 (2.9%)	0
肾脏及泌尿系统障碍				
排尿困难	6 (0.7%)	0	75 (7.2%)	1 (0.1%)
排尿急	11 (1.3%)	0	35 (3.4%)	0
尿频	19 (2.2%)	0	71 (6.8%)	2 (0.2%)
尿失禁	34 (4.0%)	0	63 (6.1%)	1 (0.1%)
呼吸系统、胸及纵膈障碍				
咳嗽	37 (4.3%)	0	42 (4.1%)	0
皮肤及皮下组织障碍				
皮疹	21 (2.4%)	0	30 (2.9%)	0
血管障碍				
高血压	20 (2.3%)	0	22 (2.1%)	1 (0.1%)

[0386] 通过使用相关MedDRA(监管活动医学词典(Medical Dictionary for Regulatory Activities))优选项的分组进一步分析TEAE,以更好地估计潜在治疗相关的不良事件的发生率。下表EX2示出了按剂量(8mg/天与150至250mg/天的较高剂量)分类的受试者的所有分组的发生率:

[0387] 表EX2:治疗紧急不良事件发生率,分组的LMTM 8mg/天与较高剂量(3期,双盲LMTM合并安全性群体)

[0388]

TauRx分组项	LMTM 8 mg/天 (N=860) n (%)	较高剂量 (150-250 mg/天) (N=1037) n (%)
情感/焦虑症状	60 (7.0%)	55 (5.3%)
贫血	111 (12.9%)	219 (21.1%)
行为症状	114 (13.3%)	118 (11.4%)
跌倒及相关术语	188 (21.9%)	202 (19.5%)
肝功能损害	13 (1.5%)	34 (3.3%)
超敏反应	42 (4.9%)	63 (6.1%)
缺血事件, 包括心肌梗塞	20 (2.3%)	35 (3.4%)
精神病症状	28 (3.3%)	34 (3.3%)
肾功能损害	29 (3.4%)	42 (4.1%)
肾脏及泌尿系统障碍 (包括感染)	135 (15.7%)	326 (31.4%)
睡眠障碍	41 (4.8%)	48 (4.6%)
目标胃肠道事件	183 (21.3%)	401 (38.7%)

[0389] 在用LMTM 8mg/天治疗的 $\geq 10.0\%$ 的受试者中出现的分组包括跌倒及相关术语(22%)、GI事件(21%)、肾及泌尿系统障碍(包括感染)(16%)、行为症状和指示贫血的术语(每个分组占13%)。

[0390] 对于所有这些(跌倒和行为症状除外)的发生率增加,存在剂量相关趋势。对于较不常见的组,肝功能损害也存在剂量相关趋势的证据。

[0391] 若干种TEAE似乎与剂量有关的事实清楚地表明希望使用最小有效剂量的MT。

[0392] 实施例7-使用其他量表, C_{max}对治疗效果的影响

[0393] 从可用数据来看,当评估颞叶FDG-PET下降时未观察到C_{max}作用。对于这种测量,似乎高剂量LMTM(合并200mg/天)实际上减弱了对于LMTM单药疗法在其他方面看到的益处,尽管仍然存在一些单药疗法的益处(结果未示出)。

[0394] 从可用数据来看,当评估结局测量时未看到C_{max}作用:阿尔茨海默病合作研究-日常生活能力(Alzheimer's Disease Cooperative Study Activities of Daily Living)(ADCS-ADL)下降。

[0395] 实施例8-在AD受试者群体中提供最优剂量方案

[0396] 总而言之,已经基于来自紧密采样的1期研究的数据开发了PK模型。由此,估计每名受试者的稳态C_{max},并且将其用于将服用8mg/天剂量的患者分为高(高于中值)C_{max}组和低(低于中值)C_{max}组。出乎意料地,高C_{max}组与低C_{max}组在认知下降方面(如使用ADAS-cog评估)相差约2.5个单位,其中在单药疗法组和附加治疗组中均观察到所述效果。有趣的是,有证据表明在高剂量下FDG-PET具有反向的剂量-反应关系。

[0397] 因此,治疗反应由两个因素确定:

[0398] 1单药疗法与附加治疗的状态

[0399] 2血浆浓度,其即使对于给定剂量也将在受试者群体中变化。

[0400] 因此,对于两个组(单药疗法和附加疗法),水平足以最大化高C_{max}组中的受试者

的比例(同时还避免具有不太希望的临床概况的高剂量)的给药存在益处。图5根据剂量估计了预期在高C_{max}组中的受试者的比例。

[0401] 举例说明:

[0402] 在4mg bid下,50%的受试者高于C_{max}阈值,并且在65周内相对于安慰剂的预计治疗效果为约5个ADAS-cog单位

[0403] 通过使用至少16mg bid或更优选约20mg/天(10mg bid),对其的估计比例为约100%,可以看到甚至更高的ADAS-cog治疗效果。

[0404] 因此,基于图5,希望高于4mg bid的剂量方案。然而,超过大约20mg bid(总共40mg)很可能存在很少益处,因为在所述水平下,据估计,无论是否划分剂量,绝大多数受治疗的受试者都将在高C_{max}组中。

[0405] 想要使用使认知益处治疗效果最大化的最小浓度有至少两个不同的原因。首先,TEAE(最值得注意的是GI事件、肾及泌尿系统障碍(包括感染)、和溶血性贫血)以剂量相关的方式发生。因此,明显希望避免比必要剂量更高的剂量,以便维持最优临床概况。其次,有证据表明在高剂量下对于FDG-PET存在反向的剂量-反应关系,即,在高剂量下所述益处实际上可能减弱。

[0406] 总体而言,这些新颖的发现表明,与先前已假设的相比,使用稍微较高的“低剂量”LMT治疗存在益处,并且进一步表明,LMT治疗可以用作与对症治疗的附加(尽管比单药疗法的效果更小)。

[0407] 实施例9-在bvFTD受试者群体中提供最优剂量方案

[0408] 在WO 2018/041739的实施例3至10中描述了针对行为变异型额颞叶痴呆(bvFTD)的LMTM 3期试验的试验设计,所述实施例还讨论了那些结果。将这些实施例的公开内容通过引用明确地并入本文。

[0409] WO 2018/041739中得出以下结论:在每日两次4mg和每日两次100mg时看到的认知下降(如使用ACE-R所评估)比历史研究预测的要少。如果4mg b.i.d.(“对照组”)和100mg b.i.d.(“有效”组)两者均证明了功效,则这可以得到解释。

[0410] 此外,发现AD-联合药疗状态和严重性是显著的协变量。对这些协变量的考虑显示出在服用LMTM与标签外AD治疗(乙酰胆碱酯酶抑制剂和/或美金刚)的组合的患者中相对于单独LMTM在ACE-R上的显著益处。在FAQ、MMSE和颞叶体积方面似乎也存在定向支持的益处。

[0411] 在bvFTD研究中,上述群体PK模型用于估计在患者中母体MT的C_{max}。与上述AD试验一样,将在每种剂量下的中值视为用于将患者分为“高C_{max}”组和“低C_{max}”组的阈值。

[0412] 图6示出了bvFTD中C_{max}值的分布。黑色竖线指示将低C_{max}组与高C_{max}组分开的中值。

[0413] 图7示出了在接受LMTM 8mg/天作为单药治疗的bvFTD患者中根据C_{max}组在阿登布鲁克改良认知检查(ACE-R)量表上在下降方面的差异。发现低C_{max}组中的下降是 -13.3 ± 1.8 (它是与Kipps等人(2008) -15.3 ± 1.4 可比较的)。然而,高C_{max}组中的下降减小得多(-6.1 ± 1.8)。所有功效分析均基于MMRM方法

[0414] 低C_{max}组与高C_{max}组之间的差异在32周时为 4.2 ± 2.0 ($p=0.0389$),并且在52周时为 7.3 ± 2.6 ($p=0.0059$)。

[0415] 如图8所展示,对于8mg/天,高C_{max}组/低C_{max}组之间的差异非常显著。对于200mg/

天,实际上似乎是反向的剂量-反应。

[0416] 图9示出了在接受LMTM 8mg/天作为单药治疗的bvFTD患者中根据C_{max}组在功能活动问卷(FAQ)量表上在下降方面的差异。再次,在此量表上高C_{max}组中的下降较低(在第52周时低C_{max}组中的下降: 8.3 ± 0.9 ;在第52周时高C_{max}组中的下降: 2.9 ± 0.9 ;在第32周时的差异: -3.6 ± 1.2 ($p=0.0022$);在第52周时的差异: -5.4 ± 1.3 ($p<0.0001$)。

[0417] 图10展示了在8mg/天下的高C_{max}中看到FAQ益处大大低于200mg/天的。此外,存在反向的剂量-反应,使得对于200mg/天,总益处减少。

[0418] 图11a、11b和11c示出了bvFTD患者的全脑体积(WBV)、颞叶萎缩和侧脑室体积(LVV)的相应变化。

[0419] 对于图11a中的WBV,在第52周时低C_{max}组中的下降为 -24.5 ± 2.6 (cm³)。在第52周时高C_{max}组中的下降为 -15.3 ± 2.5 。在第52周时的差异为 9.2 ± 3.5 ($p=0.0089$)。

[0420] 图11b示出了在接受LMTM 8mg/天作为单药疗法的bvFTD患者中根据C_{max}组进展额颞叶萎缩的差异(在第52周时低C_{max}组中的下降: -2.3 ± 0.2 (cm³);在第52周时高C_{max}组中的下降: -1.7 ± 0.2 ;在第52周时的差异: 0.6 ± 0.3 ($p=0.0247$))。

[0421] 图11c是在接受LMTM 8mg/天作为单药疗法的患者中根据C_{max}组脑室扩张的差异(在第52周时低C_{max}组中的增加: 8.3 ± 0.8 (cm³);在第52周时高C_{max}组中的增加: 5.0 ± 0.8 ;在第52周时的差异: -3.3 ± 1.1 ($p=0.0027$))。

[0422] 有趣的是,对于200mg/天的高剂量,ACE-R再次出现反向的剂量-反应。

[0423] 如在WO 2018/041739中得出的结论,此进一步的分析证实了相对于与对症治疗组合另外的益处,其中三联疗法(MT、乙酰胆碱酯酶抑制剂和美金刚)潜在地提供了益处。对于组合疗法,考虑到较小的组以及因此估计值中的误差条较大,无法证实超过C_{max}(关于ACE-R和FAQ)的益处(数据未示出)。此外,相同的数据表明,至少关于这些量表,对症治疗的添加克服了高剂量损害(反向的剂量反应)(数据未示出)。作为附加疗法,最好地看到对于C_{max}的显著MRI体积益处(数据未示出)。

[0424] 这些结果证实了对于8mg/天的单药疗法的浓度-反应关系在bvFTD的认知功能方面与在AD中看到的相似。在功能FAQ量表上在bvFTD方面对于8mg/天的单药疗法还存在浓度-反应关系以及对于高剂量单药疗法存在反向的剂量-反应(即,200mg/天比8mg/天更差)。

[0425] 总体而言,以确保高C_{max}的方案施用的低剂量(例如,约20mg/天(10mg bid))似乎是针对bvFTD的最优单药治疗。

[0426] 然而,如先前看到并且与AD相比,相对于与对症治疗的组合存在另外的益处,这特别在低C_{max}组中可以看出。

[0427] 鉴于这些因素,一种方案可以开始于8mg/天的LMTX单药疗法,并且然后将剂量增加至约20mg/天,其中有可能随着疾病的进展对于bvFTD添加AD对症治疗。

[0428] 实施例10-关于在AD受试者群体中的最优剂量方案的进一步分析

[0429] 允许进行统计分析的更有用信息性方法基于C_{max,ss}使用阈值将接受8mg/天剂量的LMTM的患者分类,所述阈值定义了最低35%的患者的上限,对应于在第1天首次给药后血浆水平低于验证的定量限(0.2-10ng/ml;N=208)的35%的患者。所述阈值是 <0.373 ng/mL。

[0430] 将其余的65%被分类为可比较大小(N约128/组)的三个C_{max,ss}组,以允许更好地可

视化浓度-反应关系。根据剂量将高剂量分组 (N=187-329/组)。下表EX3中示出了这些组中的基于模型的血浆暴露估计值以及较高剂量:

[0431] 表EX3:对于所有患者的血浆建模的母体MT $C_{\max,ss}$ 与根据血浆 $C_{\max,ss}$ 子组 (LMTM, 8mg/天) 或剂量 (LMTM, 150-250mg/天) 在研究TRx-237-015和TRx-237-005中的可用血浆数据:

	剂量组	n (%)	$C_{\max,ss}$ (ng/mL)	
			平均值 (SD)	范围
[0432]	8 mg/天 - 第1组	208 (35%)	0.334 (0.0251)	0.257-0.373
	8 mg/天 - 第2组	127 (21%)	0.393 (0.0125)	0.373-0.414
	8 mg/天 - 第3组	129 (22%)	0.449 (0.0189)	0.415-0.478
	8 mg/天 - 第4组	128 (22%)	0.565 (0.0810)	0.479-0.812
	150 mg/天	188 (100%)	7.820 (1.787)	5.099-18.611
	200 mg/天	329 (100%)	10.126 (2.374)	6.557-21.291
	250 mg/天	187 (100%)	12.573 (2.460)	8.833-21.188

[0433] 在接受8mg/天剂量的LMTM的患者中, ADAS-cog₁₁、ADCS-ADL₂₃、LVV和WBV的变化的最小二乘均值和标准误差估计值显示出明显的浓度反应与 $C_{\max,ss}$ 分组的关系 (图13)。与在150-250mg/天范围内的剂量相关的高暴露水平存在结局差的总体趋势, 这意味着存在双相剂量-反应。

[0434] 实施例11-关于在AD受试者群体中的最优剂量方案, 基于临界治疗 $C_{\max,ss}$ 阈值0.393ng/ml的分析。

[0435] 基于根据阈值0.373ng/ml对患者的划分, 接受8mg/天剂量的患者的治疗差异是-3.4个ADAS-cog单位 (参见下表EX4; 参阅实施例8, 其涉及显示出约2至3个ADAS-cog单位的中值划分):

[0436] 表EX4:

	A. 所有患者均按 $C_{\max,ss}$ 0.373 ng/mL划分					B. 接受LMTM 8 mg/天的患者按 $C_{\max,ss}$ 0.373 ng/mL划分				
	差异 ± SEM	CI	p值	N _低	N _高	差异 ± SEM	CI	p值	N _低	N _高
[0437] ADAS-cog	-2.99	-4.32	<0.0001	193	969	-3.41	-4.89	<0.0001	193	373
	± 0.67	-				± 0.76	-			
ADCS-ADL	0.54	-1.67	0.5634	192	967	1.22	-1.92	0.2283	192	373
	± 0.94	-				± 1.01	-			
LVV (cm ³)	-1.52	2.38	<0.0001	184	863	-1.78	3.21	<0.0001	184	335
	± 0.34	-				± 0.38	-			
WBV (cm ³)	3.55	-0.83	0.0008	180	859	4.39	-1.03	0.0002	180	332
	± 1.06	-				± 1.18	-			
		5.62					6.71			

[0438] 图14示出了根据高于或低于阈值0.373ng/mL的 $C_{\max,ss}$ 在65周内对应的纵向轨迹。

[0439] 由于仅65%的接受8mg/天的患者的血浆浓度高于显著治疗益处所需的阈值,因此希望确定最小剂量,所述最小剂量下将预期100%的患者具有在治疗范围内的血浆水平。鉴于在大的可用数据集中观察到的群体变化性,有可能估计根据每天一次(QD)和每天两次(BID)的给药方案高于 $C_{\max,ss}$ (0.393ng/ml)和 $C_{ave,ss}$ (0.223ng/ml)的临界治疗阈值的患者的预期百分比。如在图15中可以看出,使用标准和给药方案,LMTM需要以至少16mg/天剂量来给予,以使100%的患者具有在治疗范围内的血浆水平。

[0440] 实施例12-在单药疗法与附加疗法之间加入鉴别因子

[0441] 进一步的考虑是,是否用单独的LMTM或与经批准的AD治疗(AChEI和/或美金刚)组合的LMTM向患者给药。根据与这些药物的联合药疗状况进一步检查接受8mg/天剂量的患者。如在下表EX5中可以看出,在认知(ADAS-cog)和脑萎缩(LVV和WBV)终点方面,稳态血浆水平低于或高于阈值0.373ng/ml的患者之间的差异达到统计显著性,无论将LMTM作为单药疗法还是作为附加疗法来采用。

[0442] 表EX5: $C_{\max,ss}$ 高于或低于母体MT阈值0.373ng/mL的接受LMTM 8mg/天的AD患者的比较:根据在基线时AChEI和/或美金刚的使用状态进行分类。

[0443]

	LMTM 8 mg/天, 作为单药疗法						LMTM 8 mg/天, 作为附加疗法							
	差异	±	CI	<i>p</i> 值	N _低	N _高	差异	±	CI	<i>p</i> 值	N _低	N _高		
	SEM						±	SEM						
ADAS-cog ₁₁	-2.60	±	-4.88	-	0.0	33	67	-3.52	±	-5.05	-	<	160	306
	1.16		-0.33		251			0.78		-2.00		0.0001		
ADCS-A	0.46	±	-2.43	-	0.7	32	67	1.32	±	-0.71	-	0.2016	160	306
DL ₂₃	1.47		3.34		552			1.04		3.36				
LVV (cm ³)	-1.46	±	-2.33	-	0.0	33	61	-1.35	±	-2.08	-	0.0003	151	274
	0.45		-0.58		011			0.37		-0.62				
WBV (cm ³)	2.76	±	-0.49	-	0.0	32	61	4.69	±	2.32	-	0.0001	148	271
	1.66		6.01		966			1.21		7.06				

[0444] 图16在以下展示了对于ADAS-cog₁₁、ADCS-ADL₂₃、LVV和WBV,在65周内的相应纵向轨迹。

[0445] 实施例13-ADAS-cog₁₁下降与血浆浓度的关系的分析

[0446] 使用改良形式的希尔方程(Wagner,1968年)在65周内对ADAS-cog的下降进行进一步分析,以便估计在65周内预期治疗反应的最小和最大血浆浓度。在非协同性的假设下应用希尔方程,并且使用强制总零,其中存在无作用水平,在0.29ng/ml的 $C_{\max,ss}$ 浓度下基于对数据的目视检查,所述无作用水平被认为是11个单位。不同限值的使用并未有意义地改变结果。此外,添加线性项,以允许在使用在150-250mg/天的范围内的剂量的数据的模型中包括在高浓度下出现的趋势。将扩展希尔方程以以下形式应用于数据:

[0447] 参数的变化= $E_{\min} - (E_{\max} * ([C] - 0.29)) / (EC_{50} + ([C] - 0.29)) + (A * ([C] - 0.29))$

[0448] 其中 $E_{\min}$ 是强制零值, $E_{\max}$ 是在标准希尔方程中假设的最大治疗效果, EC_{50} 是在治疗效果是在标准希尔方程中假设的最大值的50%时的 $C_{\max,ss}$,并且A是模型估计的另一个线性项以考虑潜在的双相反应。 $C_{\max,ss}$ 也表示为估计的等效平均剂量,使用通过将线性模型拟合于在8、150、200和250mg/天剂量下的平均血浆浓度而获得的关系:

[0449] 估计剂量(mg/天) = $0.045 * C_{\max,ss} + 0.016$

[0450] 如从图17可以看出,对于单独服用的LMTM或与对症治疗组合服用的LMTM,存在总

体双相的浓度-反应。其中估计治疗反应最大的剂量范围是20-60mg/天。

[0451] 与单药疗法相比，当将LMTM与对症治疗组合时，估计的最大治疗减少了约4个ADAS-cog单位。进一步的效果是将半最大治疗反应所需的C_{max,ss}浓度从0.32±0.01ng/ml右移至0.40±0.05ng/ml。

[0452] 很明显，血浆浓度和联合药疗状态的影响是累加的。将接受8mg/天剂量作为单药疗法并且血浆水平高于阈值0.373ng/ml的患者与接受相同剂量与对症治疗的组合并且血浆水平低于此阈值的患者相比，这允许总体估计治疗益处。如从图17可以看出，后一组最接近于近似最小可测治疗反应。此分析显示，在具有治疗性药物血浆水平的患者中8mg/天剂量作为单药疗法的治疗效果是-7.53 (CI-9.93至-5.13, p<0.0001) 个ADAS-cog₁₁单位，以及对于ADCS-ADL₂₃、LVV和WBV的相应治疗效果(下表EX6)：

[0453] 表EX6：LMTM作为附加疗法与作为单药疗法以及低C_{max}附加疗法与高C_{max}单药疗法之间的比较。

		LMTM 8 mg/天低C _{max} 附加疗法与高C _{max} 单药疗法的比较				
		差异 SEM	± CI	p值	N _{低,附加}	N _{高,单药}
[0454]	ADAS-cog ₁₁	-7.53 1.22	± -9.93 -5.13	- < 0.0001	160	67
	ADCS-ADL ₂₃	6.14 1.64	± 2.93 9.34	- 0.0002	160	67
	LVV (cm ³)	-3.15 0.62	± -4.37 -1.93	- < 0.0001	151	61
	WBV (cm ³)	11.54 1.87	± 7.88 15.21	- < 0.0001	148	61

[0455] 实施例14-涉及单药疗法与附加疗法的发现关于给药方案的意义

[0456] 如从前述内容明显看出，当将LMTM与对症治疗组合时，LMTM的最大效果降低。然而，应注意的是，这涉及其中患者在用对症药物进行长期预治疗的背景下已接受LMTM的环境。已经在一系列实验中在充分表征的tau转基因小鼠模型中阐明了其机制。如果将这些动物用胆碱酯酶抑制剂(巴拉汀)进行长期预治疗，则在单独施用LMTM时看到的几乎所有神经生物学作用都会减少或完全消除，从而导致LMTM对空间学习记忆的有益作用消除。用美金刚的预治疗同样消除了对空间学习记忆的作用(结果未示出)。

[0457] 所述机制似乎是普遍的稳态下调，其影响脑中的许多突触和神经递质系统，这抵消了对症药物的激活作用。因此，如果脑已经通过对症治疗而经受先验慢性刺激，则LMTM诱导的作用服从动态下调。

[0458] 实施例15-关于在FTD受试者群体中提供最优剂量方案的进一步分析

[0459] 对于bvFTD群体，定义最低35%组(对应于在第1天血浆水平低于验证的定量限的患者的百分比)的上限的截止限为0.346ng/ml。

[0460] 对于AD(参见实施例10)，在8mg/天剂量下第1天血浆水平在验证的定量范围内的其余部分分布在数量大致相等(各为22%；参见下表EX7)的3个组中。

[0461] 表EX7：对于LMTM组，血浆建模的母体MT C_{max,ss}

	剂量组	C _{max,ss} (ng/mL)		
		n (%)	平均值 (SD)	范围
[0462]	8 mg/天			
	8 mg/天 - 第1组	32 (35%)	0.321 (0.0198)	0.281-0.346
	8 mg/天 - 第2组	20 (22%)	0.355 (0.0082)	0.346-0.372
	8 mg/天 - 第3组	19 (21%)	0.387 (0.0121)	0.373-0.409
	8 mg/天 - 第4组	20 (22%)	0.470 (0.0537)	0.413-0.583
	200 mg/天	81	9.040 (1.6259)	6.800-14.235

[0463] 对于通过MRI测量脑萎缩进展(额颞叶体积、侧脑室体积、全脑体积),存在相似的浓度-反应关系。这示出在图18中。

[0464] 进行替代功效分析,其中将全身药物暴露最少的患者组用作安慰剂的代表。它们示出在下表EX8中并且展示在图19中。

[0465] 实施例16-对结局中的机会与血浆浓度的关系的分析

[0466] 如从上图18可以看出,对于所有结局,在200mg/天的高剂量下的治疗效果均差,这意味着bvFTD的双相浓度-反应关系。

[0467] 对于AD,在非协同性的假设下应用扩展的希尔方程,并且使用强制总零值,其中在0.29ng/ml的C_{max,ss}浓度下基于对数据的目视检查,所述无作用水平被视为-12个ACE-R单位、8个FAQ单位或对于全脑体积为-30cm³。不同限值的使用并未有意义地改变结果。此外,添加线性项,以允许在使用在200mg/天剂量下发生的平均下降的模型中包括在高浓度下出现的趋势。

[0468] 扩展希尔方程提供了对在52周内ACE-R、FAQ和全脑体积的变化的平均浓度-反应的稳健拟合。对所有结局的模型拟合与以下假设一致:在接受8mg/天剂量的患者中,治疗反应所需的下限血浆浓度为0.29ng/ml。将接受200mg/天剂量的患者的全脑体积数据细分为三等分(图20),使得可以估计在治疗效果损失时的最大极限浓度,即13.57ng/ml(对应于301mg/天的预计剂量)。

[0469]

表EX8: 按高于 (“高”) 或低于 (“低”) 母体MTI阈值0.346 ng/mL进行分类的患者的比较

所有患者											
对于C _{max,ss} > 0.346 ng/ml 的差异 ± SEM						对于C _{max,ss} > 0.346 ng/ml的 CI 差异 ± SEM					
											对于C _{max,ss} ≤ 0.346 ng/ml 的下降 ± SEM
		CI	p值	N _低	N _高			CI	p值	N _低	N _高
ACE-R	1.37 ± 2.60	-3.73 - 6.47	0.5973	31	125	5.06 ± 2.62	-0.08 - 10.21		0.0536	31	57
FAQ	-2.98 ± 1.10	-5.15 - -0.82	0.0069	31	114	-3.27 ± 1.32	-5.85 - -0.69		0.0131	31	57
WBV (cm ³)	9.05 ± 3.06	3.06 - 15.04	0.0031	28	112	11.67 ± 3.41	5.00 - 18.36		0.0006	28	51
LVV (cm ³)	-3.41 ± -0.95	-5.27 - -1.55	0.0003	28	104	-4.12 ± 1.06	-6.19 - -2.05	<	0.0001	28	45
FTV (cm ³)	0.73 ± 0.24	0.26 - 1.19	0.0023	28	112	0.72 ± 0.27	0.19 - 1.26		0.0076	28	51

[0470] 讨论背景技术的参考文献

- [0471] Alzheimer A. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. Allg Z Psych Psych-gerich Med 1907;64:146-8[German].
- [0472] Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2015: The global impact of dementia, an analysis of prevalence, incidence, cost and trends. World Alzheimer Report 2015.
- [0473] Arriagada PW, Growdon JH, Hedley-White ET, Hyman BT. Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. Neurology 1992;42:631-9.
- [0474] Baddeley T, C., McCaffrey J, Storey JMD, et al. Complex disposition of methylthioninium redox forms determines efficacy in tau aggregation inhibitor therapy for Alzheimer's disease. J Pharmacol Exptl Therapeutics 2015;352:110-8.
- [0475] Braak H, Del Tredici K. The pathological process underlying Alzheimer's disease in individuals under thirty. Acta Neuropathol 2011;121:171-81.
- [0476] Brier MR, Gordon B, Friedrichsen K, et al. Tau and Aβ imaging, CSF measures, and cognition in Alzheimer's disease. Science Transl Med 2016;8:338ra66.
- [0477] DiSanto AR, Wagner JG. Pharmacokinetics of highly ionized drugs. II. Methylene blue-absorption, metabolism, and excretion in man and dog after oral administration. J Pharmaceut Sci 1972;61:1086-90.
- [0478] Geerts H, Spiros A, Roberts P, Carr R. A strategy for developing new treatment paradigms for neuropsychiatric and neurocognitive symptoms in Alzheimer's disease. Front Pharmacol 2013;4:47.
- [0479] Giannakopoulos P, Herrmann FR, Bussiere T, et al. Tangle and neuron numbers, but not amyloid load, predict cognitive status in Alzheimer's disease. Neurology 2003;60:1495-500.
- [0480] Harrington CR, Storey JMD, Clunas S, et al. Cellular models of aggregation-dependent template-directed proteolysis to characterize tau aggregation inhibitors for treatment of Alzheimer's disease. J Biol Chem 2015;290:10862-75.
- [0481] Huang Y, Mucke L. Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies. Cell 2012;148:1204-22.
- [0482] Josephs KA, Whitwell JL, Ahmed Z, et al. b-Amyloid burden is not associated with rates of brain atrophy. Ann Neurol 2008;63:204-12.
- [0483] Lai RYK, Harrington CR, Wischik CM. Absence of a role for phosphorylation in the tau pathology of Alzheimer's disease. Biomolecules 2016;6:19.
- [0484] Maruyama M, Shimada H, Suhara T, et al. Imaging of tau pathology in a tauopathy mouse model and in Alzheimer patients compared to normal

controls.Neuron 2013;79:1094-108.

[0485] May JM,Qu Z-c,Cobb CE.Reduction and uptake of methylene blue by human erythrocytes.Am J Physiol-Cell Physiol 2004;286:C1390-8.

[0486] Melis V,Magbagbeolu M,Rickard JE,et al.Effects of oxidized and reduced forms of methylthioninium in two transgenic mouse tauopathy models.Behav Pharmacol 2015;26:353-68.

[0487] Mukaetova-Ladinska EB,Garcia-Sierra F,Hurt J,et al.Staging of cytoskeletal and b-amyloid changes in human isocortex reveals biphasic synaptic protein response during progression of Alzheimer's disease.Am J Pathol 2000;157:623-36.

[0488] Mullane K,Williams M.Alzheimer's therapeutics:Continued clinical failures question the validity of the amyloid hypothesis-but what lies beyond?Biochem Pharmacol 2013;85:289-305.

[0489] Peter C,Hongwan D,Küpfer A,Lauterburg BH.Pharmacokinetics and organ distribution of intravenous and oral methylene blue.Eur J Clin Pharmacol2000; 56:247-50.

[0490] Schneider A,Biernat J,von Bergen M,Mandelkow E,Mandelkow E-M.Phosphorylation that detaches tau protein from microtubules (Ser262,Ser214) also protects it against aggregation into Alzheimer paired helical filaments.Biochemistry 1999;38:3549-58.

[0491] Winblad B,Amouyel P,Andrieu S,et al.Defeating Alzheimer's disease and other dementias:a priority for European science and society.Lancet Neurol 2016;15:455-532.

[0492] Wischik CM,Crowther RA,Stewart M,Roth M.Subunit structure of paired helical filaments in Alzheimer's disease.J Cell Biol 1985;100:1905-12.

[0493] Wischik CM,Edwards PC,Lai RYK,et al.Quantitative analysis of tau protein in paired helical filament preparations:implications for the role of tau protein phosphorylation in PHF assembly in Alzheimer's disease.Neurobiol Aging 1995;16:409-31.

[0494] Wischik CM,Edwards PC,Lai RYK,Roth M,Harrington CR.Selective inhibition of Alzheimer disease-like tau aggregation by phenothiazines.Proc Natl Acad Sci USA 1996;93:11213-8.

[0495] Wischik CM,Harrington CR,Storey JMD.Tau-aggregation inhibitor therapy for Alzheimer's disease.Biochem Pharmacol 2014;88:529-39.

[0496] Wischik CM,Novak M,Edwards PC,Klug A,Tichelaar W,Crowther RA.Structural characterization of the core of the paired helical filament of Alzheimer disease.Proc Natl Acad Sci USA 1988;85:4884-8.

[0497] Wischik CM,Novak M,Thøgersen HC,et al.Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer's

disease.Proc Natl Acad Sci USA 1988;85:4506-10.

[0498] Wischik CM,Staff RT,Wischik DJ,et al.Tau aggregation inhibitor therapy:an exploratory phase 2 study in mild or moderate Alzheimer's disease.J Alzheimer's Dis 2015;44:705-20.

[0499] Wischik CM,Wischik DJ,Storey JMD,Harrington CR.Rationale for tau aggregation inhibitor therapy in Alzheimer's disease and other tauopathies.In:Martinez A,ed.Emerging drugs and targets for Alzheimer's disease Volume 1:Beta-amyloid,tau protein and glucose metabolism.Cambridge: Royal Society of Chemistry;2010:210-32.

[0500] 蛋白质聚集疾病中涉及的蛋白质的参考文献

[0501] Abrahamson,M.,Jonsdottir,S.,Olafsson,I.&Grubb,A. (1992) Hereditary cystatin C amyloid angiopathy identification of the disease-causing mutation and specific diagnosis by polymerase chain reaction based analysis.Human Genetics 89,377-380.

[0502] Andersen,P. (2006) Amyotrophic lateral sclerosis associated with mutations in the CuZn superoxide dismutase gene.Current Neurology and Neuroscience Reports 6,37-46.

[0503] Arai,T.,Hasegawa,M.,Nonoka,T.,Kametani,F.,Yamashita,M.,Hosokawa,M., Niizato,K.,Tsuchiya,K.,Kobayashi,Z.,Ikeda,K.,Yoshida,M.,Onaya,M.,Fujishiro,H.&Akiyama,H. (2010) Phosphorylated and cleaved TDP-43 in ALS,FTLD and other neurodegenerative disorders and in cellular models of TDP-43 proteinopathy.Neuropathology 30,170-181.

[0504] Askanas,V.,Engel,W.K.&Nogalska,A. (2009) Inclusion body myositis:a degenerative muscle disease associated with intra-muscle fiber multi-protein aggregates,proteasome inhibition,endoplasmic reticulum stress and decreased lysosomal degradation.Brain Pathology 19,493-506.

[0505] Barmada,S.J.,Skibinski,G.,Korb,E.,Rao,E.J.,Wu,J.Y.&Finkbeiner,S. (2010) Cytoplasmic mislocalization of TDP-43 is toxic to neurons and enhanced by a mutation associated with familial amyotrophic lateral sclerosis.Journal of Neuroscience 30,639-649.

[0506] Blair,I.P.,Williams,K.L.,Warraich,S.T.,Durnall,J.C.,Thoeng,A.D., Manavis,J.,Blumbergs,P.C.,Vucic,S.,Kiernan,M.C.&Nicholson,G.A. (2010) FUS mutations in amyotrophic lateral sclerosis:clinical,pathological, neurophysiological and genetic analysis.Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry 81,639-645.

[0507] Booth,D.R.,Sunde,M.,Bellotti,V.,Robinson,C.V.,Hutchinson,W.L.,Fraser,P.E.,Hawkins,P.N.,Dobson,C.M.,Radford,S.E.,Blake,C.C.F.&Pepys,M.B. (1997) Instability,unfolding and aggregation of human lysozyme variants underlying amyloid fibrillogenesis.Nature 385,787-793.

- [0508] Byrne, S., Walsh, C., Lynch, C., Bede, P., Elamin, M., Kenna, K., McLaughlin, R. & Hardiman, O. (2011) Rate of familial amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 82, 623-627.
- [0509] Carrell, R.W. & Gooptu, B. (1998) Conformational changes and disease-serpins, prions and Alzheimer's. *Current Opinion in Structural Biology* 8, 799-809.
- [0510] Chen-Plotkin, A.S., Lee, V.M.Y. & Trojanowski, J.Q. (2010) TAR DNA-binding protein 43 in neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neurology* 6, 211-220.
- [0511] Chiti, F., Webster, P., Taddei, N., Clark, A., Stefani, M., Ramponi, G. & Dobson, C. (1999) Designing conditions for in vitro formation of amyloid protofilaments and fibrils. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 96, 3590-3594.
- [0512] Cox, L.E., Ferraiuolo, L., Goodall, E.F., Heath, P.R., Higginbottom, A., Mortiboys, H., Hollinger, H.C., Hartley, J.A., Brockington, A., Burness, C.E., Morrison, K.E., Wharton, S.B., Grierson, A.J., Ince, P.G., Kirby, J. & Shaw, P.J. (2010) Mutations in CHMP2B in lower motor neuron predominant amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *PLoS One* 5, e9872.
- [0513] Czech, C., Tremp, G. & Pradier, L. (2000) Presenilins and Alzheimer's disease: biological functions and pathogenic mechanisms. *Progress in Neurobiology* 60, 363-384.
- [0514] Davis, R.L., Shrimpton, A.E., Holohan, P.D., Bradshaw, C., Feiglin, D., Collins, G.H., Sonderegger, P., Kinter, J., Becker, L.M., Lacbawan, F., Krasnewich, D., Muenke, M., Lawrence, D.A., Yerby, M.S., Shaw, C.-M., Gooptu, B., Elliott, P.R., Finch, J.T., Carrell, R.W. & Lomas, D.A. (1999) Familial dementia caused by polymerization of mutant neuroserpin. *Nature* 401, 376-379.
- [0515] DiFiglia, M., Sapp, E., Chase, K.O., Davies, S.W., Bates, G.P., Vonsattel, J.P. & Aronin, N. (1997) Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science* 277, 1990-1993.
- [0516] Dische, F.E., Wernstedt, C., Westermark, G.T., Westermark, P., Pepys, M.B., Rennie, J.A., Gilbey, S.G. & Watkins, P.J. (1988) Insulin as an amyloid-fibril protein at sites of repeated insulin injections in a diabetic patient. *Diabetologia* 31, 158-161.
- [0517] Elden, A.C., Kim, H.-J., Hart, M.P., Chen-Plotkin, A.S., Johnson, B.S., Fang, X., Armakola, M., Geser, F., Greene, R., Lu, M.M., Padmanabhan, A., Clay-Falcone, D., McCluskey, L., Elman, L., Juhr, D., Gruber, P.J., Rub, U., Auburger, G., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.Y., Van Deerlin, V.M., Bonini, N.M. & Gitler, A.D. (2010) Ataxin-2 intermediate-length polyglutamine expansions are associated with increased risk for ALS. *Nature* 466, 1069-1075.
- [0518] Finsterer, J. (2009) Mitochondrial disorders, cognitive impairment and

dementia.J.Neurol.Sci.283:143-148

[0519] Gasset,M.,Bladwin,M.A.,Lloyd,D.H.,Gabriel,J.-M.,Holtzman,D.M.,Cohen,F.E.,Fletterick,R.&Prusiner,S.B. (1992) Predicted α -helical region of the prion protein when synthesized as peptides form amyloid.Proceedings of the National Academy of Sciences,USA 89,10940-10944.

[0520] Gendron,T.F.,Josephs,K.A.&Petrucelli,L. (2010) Review:Transactive response DNA-binding protein 43 (TDP-43):mechanisms of neurodegeneration.Neuropathology and Applied Neurobiology 36,97-112.

[0521] Geser,F.,Lee,V.M.-Y.&Trojanowski,J.Q. (2010) Amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration:A spectrum of TDP-43proteinopathies.Neuropathology 30,103-112.

[0522] Gitcho,M.A.,Baloh,R.H.,Chakraverty,S.,Mayo,K.,Norton,J.B.,Levitch,D.,Hatanpaa,K.J.,White,C.L.,III,Bigio,E.H.,Caselli,R.,Baker,M.,Al-Lozi,M.T.,Morris,J.C.,Pestronk,A.,Rademakers,R.,Goate,A.M.&Cairns,N.J. (2008) TDP-43 A315T mutation in familial motor neuron disease.Annals of Neurology 63,535-538.

[0523] Glenner,G.G.&Wong,C.W. (1984) Alzheimer's disease:initial report of the purification and characterisation of a novel cerebrovascular amyloid protein.Biochemical and Biophysical Research Communications 120,885-890.

[0524] Goate,A.,Chartier-Harlin,M.-C.,Mullan,M.,Brown,J.,Crawford,F.,Fidani,L.,Giuffra,L.,Haynes,A.,Irving,N.,James,L.,Mant,R.,Newton,P.,Rooke,K.,Roques,P.,Talbot,C.,Pericak-Vance,M.,Roses,A.,Williamson,R.,Rossor,M.,Owen,M.&Hardy,J. (1991) Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease.Nature 349,704-706.

[0525] Gorevic,P.D.,Casey,T.T.,Stone,W.J.,DiRaimondo,C.R.,Prelli,F.C.&Frangione,B. (1985) β -2 Microglobulin is an amyloidogenic protein in man.Journal of Clinical Investigation 76,2425-2429.

[0526] Gustavsson,A.,**Engström**,U.&Westermarck,P. (1991) Normal transthyretin and synthetic transthyretin fragments form amyloid-like fibrils in vitro.Biochemical and Biophysical Research Communications 175,1159-1164.

[0527] Higashi,S.,Tsuchiya,Y.,Araki,T.,Wada,K.&Kabuta,T. (2010) TDP-43physically interacts with amyotrophic lateral sclerosis-linked mutant CuZn superoxide dismutase.Neurochemistry International 57,906-913.

[0528] Hutton,M.,Lendon,C.,Rizzu,P.,Baker,M.,Froelich,S.,Houlden,H.,Pickering-Brown,S.,Chakraverty,S.,Isaacs,A.,Grover,A.,Hackett,J.,Adamson,J.,Lincoln,S.,Dickson,D.,Davies,P.,Petersen,R.C.,Stevens,M.,de Graaf,E.,Wauters,E.,van Baren,J.,Hillebrand,M.,Joosse,M.,Kwon,J.M.,Nowotny,P.,Che,L.K.,Norton,J.,Morris,J.C.,Reed,L.A.,Trojanowski,J.Q.,Basun,H.,Lannfelt,L.,Neystat,M.,Fahn,S.,Dark,F.,Tannenberg,T.,Dodd,P.R.,Hayward,N.,Kwok,J.B.J.,Schofield,

P.R., Andreadis, A., Snowden, J., Craufurd, D., Neary, D., Owen, F., Oostra, B.A., Hardy, J., Goate, A., van Swieten, J., Mann, D., Lynch, T. & Heutink, P. (1998) Association of missense and 5' -splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature* 393, 702-705.

[0529] Igaz, L.M., Kwong, L.K., Chen-Plotkin, A., Winton, M.J., Unger, T.L., Xu, Y., Neumann, M., Trojanowski, J.Q. & Lee, V.M.Y. (2009) Expression of TDP-43 C-terminal fragments in vitro recapitulates pathological features of TDP-43 proteinopathies. *Journal of Biological Chemistry* 284, 8516-8524.

[0530] Jinwal, UK, Miyata, Y., Koren, J., III, Jones, JR, Trotter, JH et al. (2009) Chemical manipulation of Hsp70 ATPase activity regulates tau stability. *J. Neurosci.* 29:12079-12088

[0531] Johansson, B., Wernstedt, C. & Westermark, P. (1987) Atrial natriuretic peptide deposited as atrial amyloid fibrils. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 148, 1087-1092.

[0532] Johnson, B.S., McCaffery, J.M., Lindquist, S. & Gitler, A.D. (2008) A yeast TDP-43 proteinopathy model: Exploring the molecular determinants of TDP-43 aggregation and cellular toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 6439-6444.

[0533] Johnson, B.S., Snead, D., Lee, J.J., McCaffery, J.M., Shorter, J. & Gitler, A.D. (2009) TDP-43 is intrinsically aggregation-prone, and amyotrophic lateral sclerosis-linked mutations accelerate aggregation and increase toxicity. *Journal of Biological Chemistry* 284, 20329-20339.

[0534] Johnson, J.O., Mandrioli, J., Benatar, M., Abramzon, Y., Van Deerlin, V.M., Trojanowski, J.Q., Gibbs, J.R., Brunetti, M., Gronka, S., Wu, J., Ding, J., McCluskey, L., Martinez-Lage, M., Falcone, D., Hernandez, D.G., Arepalli, S., Chong, S., Schymick, J.C., Rothstein, J., Landi, F., Wang, Y.-D., Calvo, A., Mora, G., Sabatelli, M., Monsurro, M.R., Battistini, S., Salvi, F., Spataro, R., Sola, P., Borghero, G., Galassi, G., Scholz, S.W., Taylor, J.P., Restagno, G., Chiappa, A. & Traynor, B.J. (2010) Exome sequencing reveals VCP mutations as a cause of familial ALS. *Neuron* 68, 857-864.

[0535] Kabashi, E., Lin, L., Tradewell, M.L., Dion, P.A., Bercier, V., Bourgouin, P., Rochefort, D., Bel Hadj, S., Durham, H.D., Velde, C.V., Rouleau, G.A. & Drapeau, P. (2010) Gain and loss of function of ALS-related mutations of TARDBP (TDP-43) cause motor deficits in vivo. *Human Molecular Genetics* 19, 671-683.

[0536] Kabashi, E., Valdmanis, P.N., Dion, P., Spiegelman, D., McConkey, B.J., Velde, C.V., Bouchard, J.-P., Lacomblez, L., Pochigaeva, K., Salachas, F., Pradat, P.-F., Camu, W., Meininger, V., Dupre, N. & Rouleau, G.A. (2008) TARDBP mutations in individuals with sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Genetics* 40, 572-574.

- [0537] Ling, S.-C., Albuquerque, C.P., Han, J.S., Lagier-Tourenne, C., Tokunaga, S., Zhou, H. & Cleveland, D.W. (2010) ALS-associated mutations in TDP-43 increase its stability and promote TDP-43 complexes with FUS/TLS. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 13318-13323.
- [0538] Lomas, D.A., Evans, D.L., Finch, J.T. & Carrell, R.W. (1992) The mechanism of Z α 1-antitrypsin accumulation in the liver. *Nature* 357, 605-607.
- [0539] Love, S., Bridges, L.R. & Case, C.P. (1995) Neurofibrillary tangles in Niemann-Pick disease type C. *Brain* 118, 119-129.
- [0540] Mackenzie, I.R.A., Bigio, E.H., Ince, P.G., Geser, F., Neumann, M., Cairns, N.J., Kwong, L.K., Forman, M.S., Ravits, J., Stewart, H., Eisen, A., McClusky, L., Kretzschmar, H.A., Monoranu, C.M., Highley, J.R., Kirby, J., Siddique, T., Shaw, P.J., Lee, V.M.Y. & Trojanowski, J.Q. (2007) Pathological TDP-43 distinguishes sporadic amyotrophic lateral sclerosis from amyotrophic lateral sclerosis with SOD1 mutations. *Annals of Neurology* 61, 427-434.
- [0541] Mackenzie, I.R.A., Rademakers, R. & Neumann, M. (2010) TDP-43 and FUS in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. *The Lancet Neurology* 9, 995-1007.
- [0542] Maury, C.P. & Baumann, M. (1990) Isolation and characterization of cardiac amyloid in familial amyloid polyneuropathy type IV (Finnish): relation of the amyloid protein to variant gelsolin. *Biochimica et Biophysica Acta* 1096, 84-86.
- [0543] Neary, D., Snowden, J.S., Gustafson, L., Passant, U., Stuss, D., Black, S., Freedman, M., Kertesz, A., Robert, P.H., Albert, M., Boone, K., Miller, B.L., Cummings, J. & Benson, D.F. (1998) Frontotemporal lobar degeneration: a consensus on clinical diagnostic criteria. *Neurology* 51, 1546-1554.
- [0544] Neumann, M. (2009) Molecular neuropathology of TDP-43 proteinopathies. *International Journal of Molecular Sciences* 10, 232-246.
- [0545] Neumann, M., Sampathu, D.M., Kwong, L.K., Truax, A.C., Micsenyi, M.C., Chou, T.T., Bruce, J., Schuck, T., Grossman, M., Clark, C.M., McCluskey, L.F., Miller, B.L., Masliah, E., Mackenzie, I.R., Feldman, H., Feiden, W., Kretzschmar, H.A., Trojanowski, J.Q. & Lee, V.M.Y. (2006) Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 314, 130-133.
- [0546] Nonaka, T., Kametani, F., Arai, T., Akiyama, H. & Hasegawa, M. (2009) Truncation and pathogenic mutations facilitate the formation of intracellular aggregates of TDP-43. *Human Molecular Genetics* 18, 3353-3364.
- [0547] Ohmi, K., Kudo, L.C., Ryazantsev, S., Zhao, H.-Z., Karsten, S.L. & Neufeld, E.F. (2009) Sanfilippo syndrome type B, a lysosomal storage disease, is also a tauopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 8332-8337.
- [0548] Orr, H.T. & Zoghbi, H.Y. (2007) Trinucleotide repeat disorders. *Annual Review of Neuroscience* 30, 575-621.

- [0549] Paulson,H.L.(1999) Human genetics '99:trinucleotide repeats.American Journal of Human Genetics 64,339-345.
- [0550] Pepys,M.B.,Hawkins,P.N.,Booth,D.R.,Vigushin,D.M.,Tennent,G.A.,Soutar,A.K.,Totty,N.,Nguyen,O.,Blake,C.C.F.,Terry,C.J.,Feest,T.G.,Zalin,A.M.&Hsuan,J.J.(1993) Human lysozyme gene mutations cause hereditary systemic amyloidosis.Nature 362,553-557.
- [0551] Polymeropoulos,M.H.,Lavedan,C.,Leroy,E.,Ide,S.E.,Dehejia,A.,Dutra,A.,Pike,B.,Root,H.,Rubenstein,J.,Boyer,R.,Stenroos,E.S.,Chandrasekharappa,S.,Athanasias,A.,Papaetropoulos,T.,Johnson,W.G.,Lazzarini,A.M.,Duvoisin,R.C.,Di Iorio,G.,Golbe,L.I.&Nussbaum,R.L.(1997) Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease.Science 276,2045-2047.
- [0552] Prusiner,S.B.,Scott,M.R.,DeArmond,S.J.&Cohen,F.E.(1998) Prion protein biology.Cell 93,337-348.
- [0553] Seetharaman,S.V.,Prudencio,M.,Karch,C.,Holloway,S.P.,Borchelt,D.R.&Hart,P.J.(2009) Immature copper-zinc superoxide dismutase and familial amyotrophic lateral sclerosis.Experimental Biology and Medicine 234,1140-1154.
- [0554] Seilhean,D.,Cazeneuve,C.,Thuries,V.,Russaouen,O.,Millecamps,S.,Salachas,F.,Meininger,V.,LeGuern,E.&Duyckaerts,C.(2009) Accumulation of TDP-43 and α -actin in an amyotrophic lateral sclerosis patient with the K17I ANG mutation Acta Neuropathologica 118,561-573.
- [0555] Shibata,N.,Hirano,A.,Kobayashi,M.,Siddique,T.,Deng,H.X.,Hung,W.Y.,Kato,T.&Asayama,K.(1996) Intense superoxide dismutase-immunoreactivity in intracytoplasmic hyaline inclusions of familial amyotrophic lateral sclerosis with posterior column involvement.Journal of Neuropathology and Experimental Neurology 55,481-490.
- [0556] Sletten,K.,Westermarck,P.&Natvig,J.B.(1976) Characterization of amyloid fibril proteins from medullary carcinoma of the thyroid.Journal of Experimental Medicine 143,993-998.
- [0557] Spillantini,M.G.,Crowther,R.A.,Jakes,R.,Hasegawa,M.&Goedert,M.(1998) α -Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies.Proceedings of the National Academy of Sciences,USA 95,6469-6473.
- [0558] Sreedharan,J.,Blair,I.P.,Tripathi,V.B.,Hu,X.,Vance,C.,Rogelj,B.,Ackerley,S.,Durnall,J.C.,Williams,K.L.,Buratti,E.,Baralle,F.,de Belleruche,J.,Mitchell,J.D.,Leigh,P.N.,Al-Chalabi,A.,Miller,C.C.,Nicholson,G.&Shaw,C.E.(2008) TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis.Science 319,1668-1672.
- [0559] Uemichi,T.,Liuepnicks,J.J.&Benson,M.D.(1994) Hereditary renal

amyloidosis with a novel variant fibrinogen. *Journal of Clinical Investigation* 93,731-736.

[0560] van Bebber, F., Paquet, D., Hruscha, A., Schmid, B. & Haass, C. (2010) Methylene blue fails to inhibit Tau and polyglutamine protein dependent toxicity in zebrafish. *Neurobiology of Disease* 39,265-271.

[0561] Vance, C., Rogelj, B., Hortobagyi, T., De Vos, K. J., Nishimura, A. L., Sreedharan, J., Hu, X., Smith, B., Ruddy, D., Wright, P., Ganesalingam, J., Williams, K. L., Tripathi, V., Al-Saraj, S., Al-Chalabi, A., Leigh, P. N., Blair, I. P., Nicholson, G., de Belleruche, J., Gallo, J.-M., Miller, C. C. & Shaw, C. E. (2009) Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science* 323,1208-1211.

[0562] Westermark, P., Engstrom, U., Johnson, K. H., Westermark, G. T. & Betsholtz, C. (1990) Islet amyloid polypeptide: pinpointing amino acid residues linked to amyloid fibril formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 87,5036-5040.

[0563] Westermark, P., Johnson, K. H. & Pitkanen, P. (1985) Systemic amyloidosis: A review with emphasis on pathogenesis. *Applied Physiology* 3,55-68.

[0564] Westermark, P., Johnson, K. H., O'Brien, T. D. & Betsholtz, C. (1992) Islet amyloid polypeptide-a novel controversy in diabetes research. *Diabetologia* 35, 297-303.

[0565] Wijesekera, L. & Leigh, P. N. (2009) Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 4,3.

[0566] Wischik, C. M., Novak, M., Thøgersen, H. C., Edwards, P. C., Runswick, M. J., Jakes, R., Walker, J. E., Milstein, C., M. R. & Klug, A. (1988) Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 85,4506-4510.

[0567] Yamashita, M., Nonaka, T., Arai, T., Kametani, F., Buchman, V. L., Ninkina, N., Bachurin, S. O., Akiyama, H., Goedert, M. & Hasegawa, M. (2009) Methylene blue and dimebon inhibit aggregation of TDP-43 in cellular models. *FEBS Letters* 583, 2419-2424.

[0568] Zhang, Y.-J., Xu, Y.-F., Cook, C., Gendron, T. F., Roettges, P., Link, C. D., Lin, W.-L., Tong, J., Castaneda-Casey, M., Ash, P., Gass, J., Rangachari, V., Buratti, E., Baralle, F., Golde, T. E., Dickson, D. W. & Petrucelli, L. (2009) Aberrant cleavage of TDP-43 enhances aggregation and cellular toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106,7607-7612.

[0569] 实施例的参考文献

[0570] Gauthier, S., Feldman, H. H., Schneider, L. S., Wilcock, G. K., Frisoni, G. B., Hardlund, J. H., Moebius, H. J., Benthams, P., Kook, K. A., Wischik, D. J., Schelter, B. O., Davis, C. S., Staff, R. T., Bracoud, L., Shamsi, K., Storey, J. M. D., Harrington, C. R. &

Wischik,C.M.(2016)Efficacy and safety of tau-aggregation inhibitor therapy in patients with mild or moderate Alzheimer's disease:a randomised,controlled, double-blind,parallel-arm,phase 3 trial.The Lancet 388,2873-2884.

[0571] Wilcock,G.K.,Gauthier,S.,Frisoni,G.B.,Jia,J.,Hardlund,J.H.,Moebius,H.J.,Bentham,P.,Kook,K.A.,Schelter,B.O.,Wischik,D.J.,Davis,C.S.,Staff,R.T.,Vuksanovic,V.,Ahearn,T.,Bracoud,L.,Shamsi,K.,Marek,K.,Seibyl,J.,Reidel,G.,Storey,J.M.D.,Harrington,C.R.&Wischik,C.M.(2018)Potential of low dose leuco-methylthioninium bis(hydromethanesulphonate) (LMTM) monotherapy for treatment of mild Alzheimer's disease:cohort analysis as modified primary outcome in a phase 3 clinical trial.Journal of Alzheimer's Disease 61,635-657.

[0572] Kipps,C.M.,Nestor,P.J.,Dawson,C.E.,Mitchell,J.,Hodges,J.R.(2008)Measuring progression in frontotemporal dementia:Implications for therapeutic interventions.Neurology 70:2046-2052.

[0573] Wagner JG.Kinetics of pharmacologic response I.Proposed relationships between response and drug concentration in the intact animal and man.J Theor Biol.1968;20 (2) :173-201.

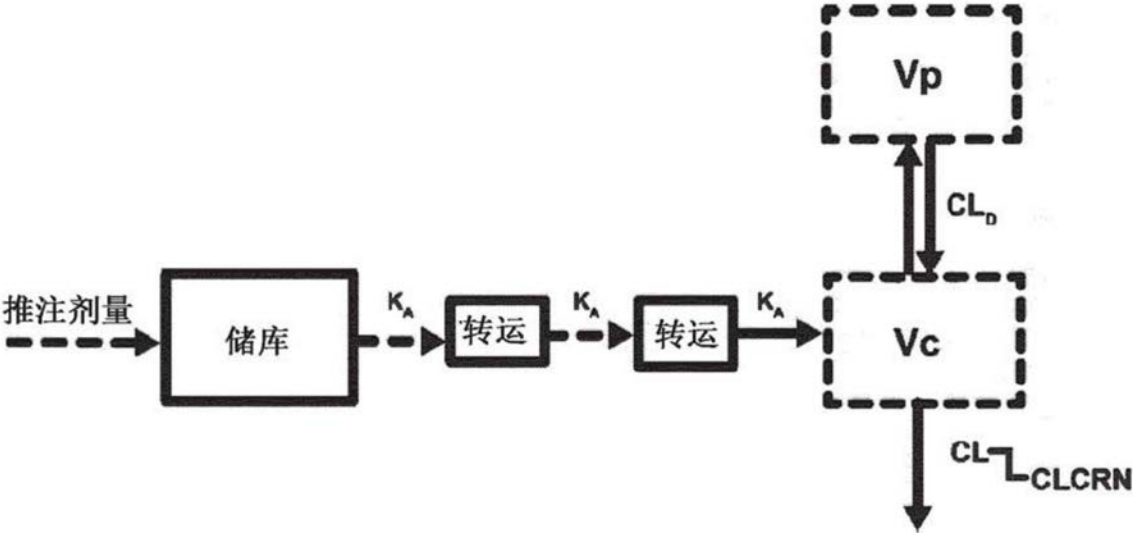


图1

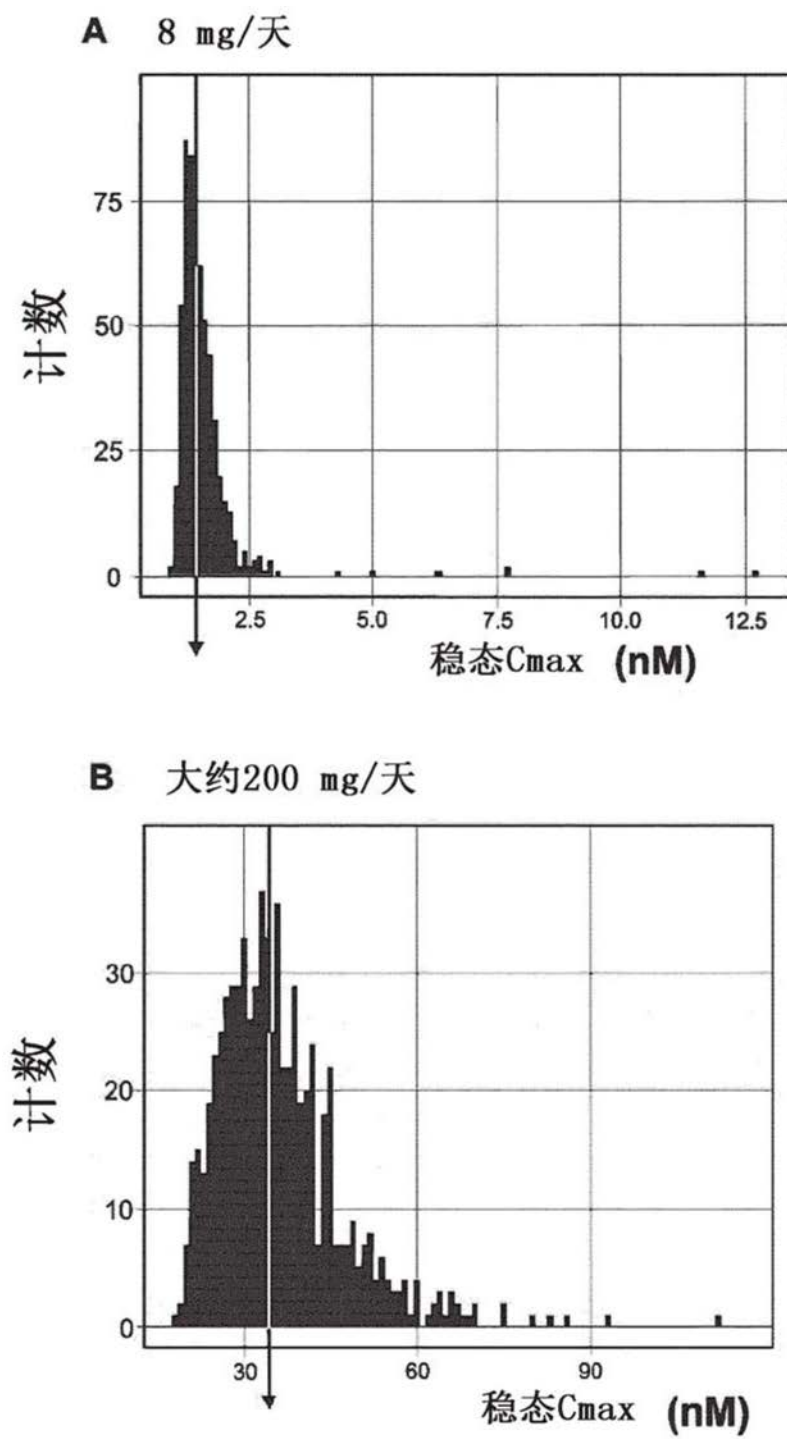


图2a和b

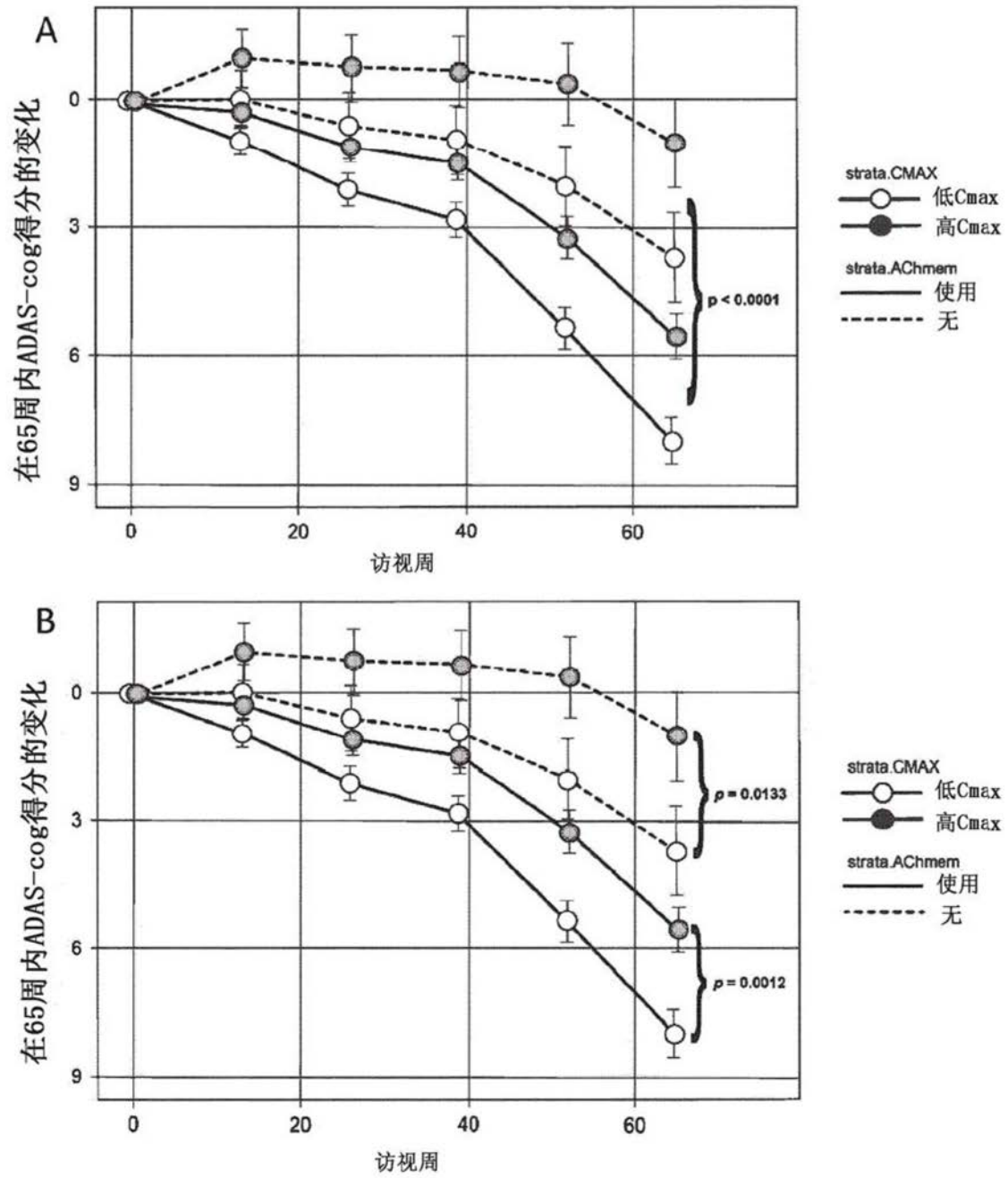


图3a和3b

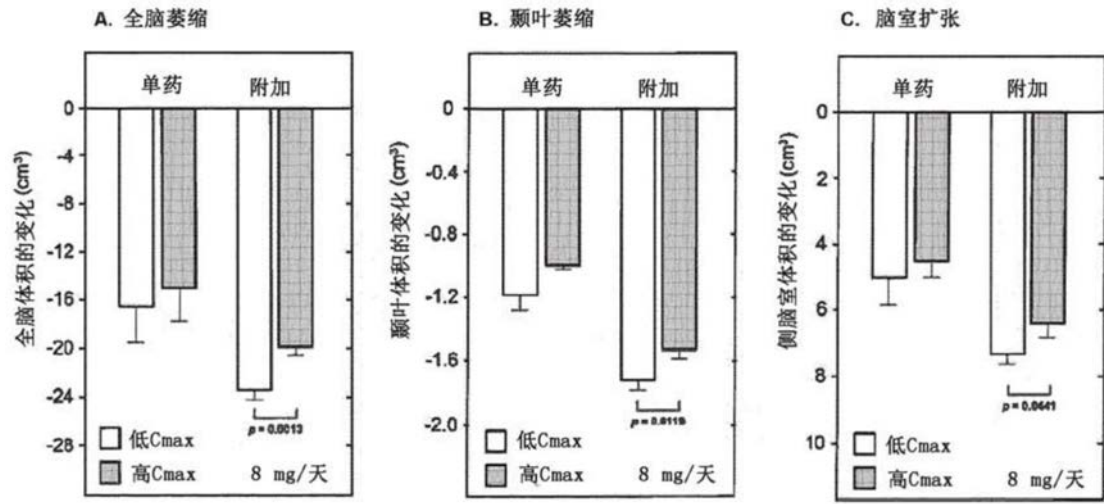


图4

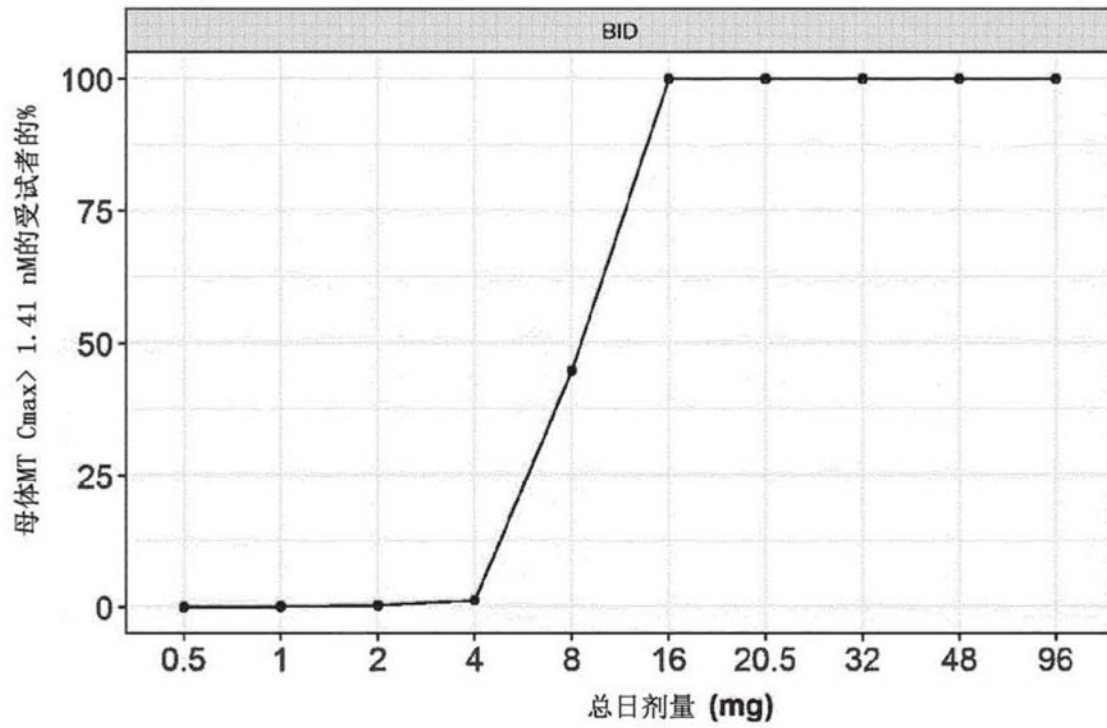


图5

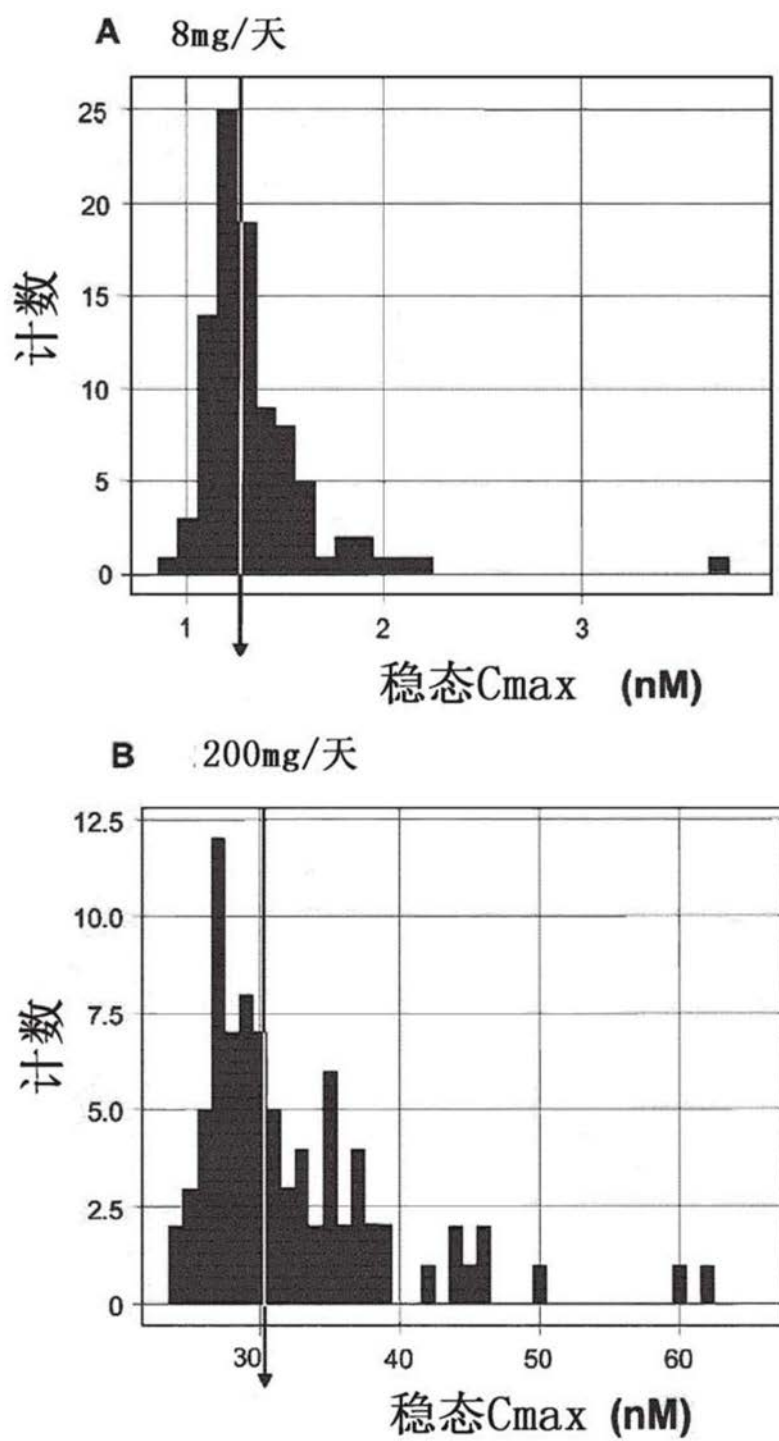


图6

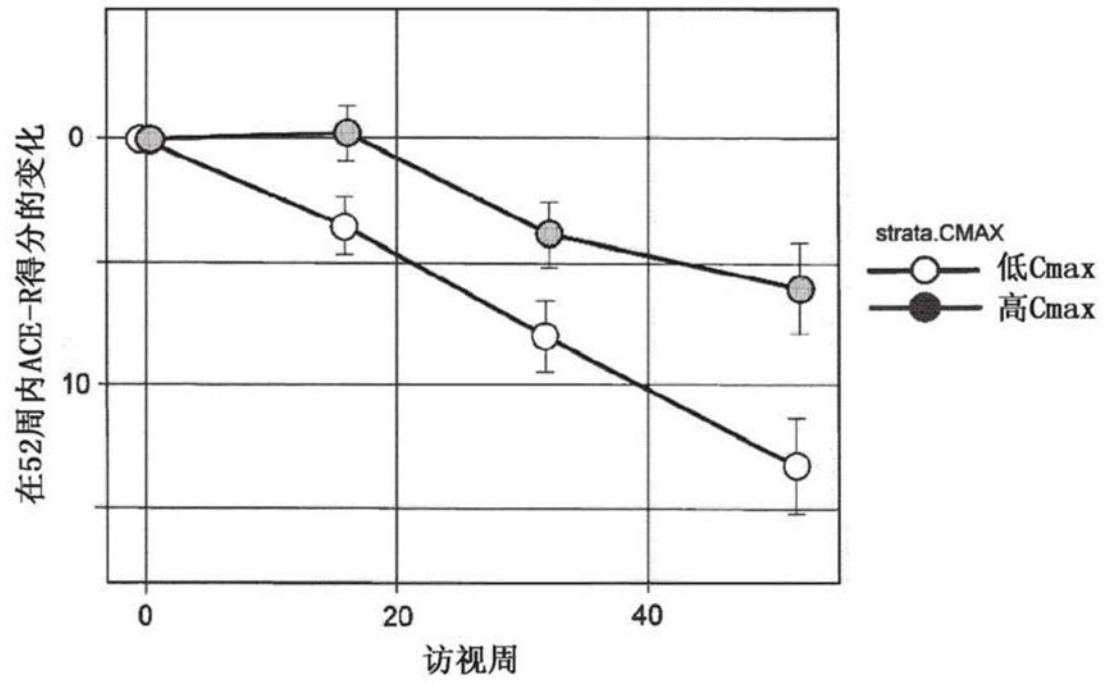


图7

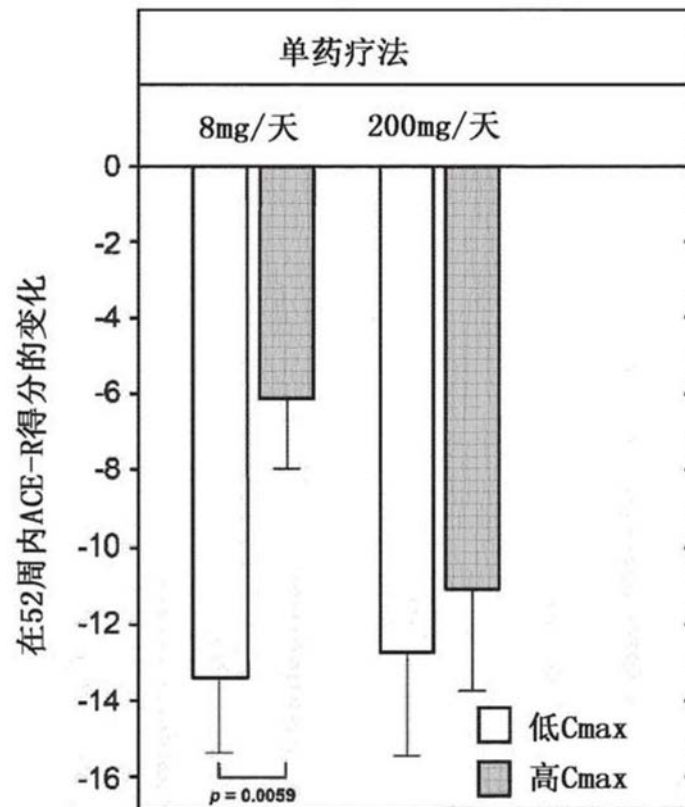


图8

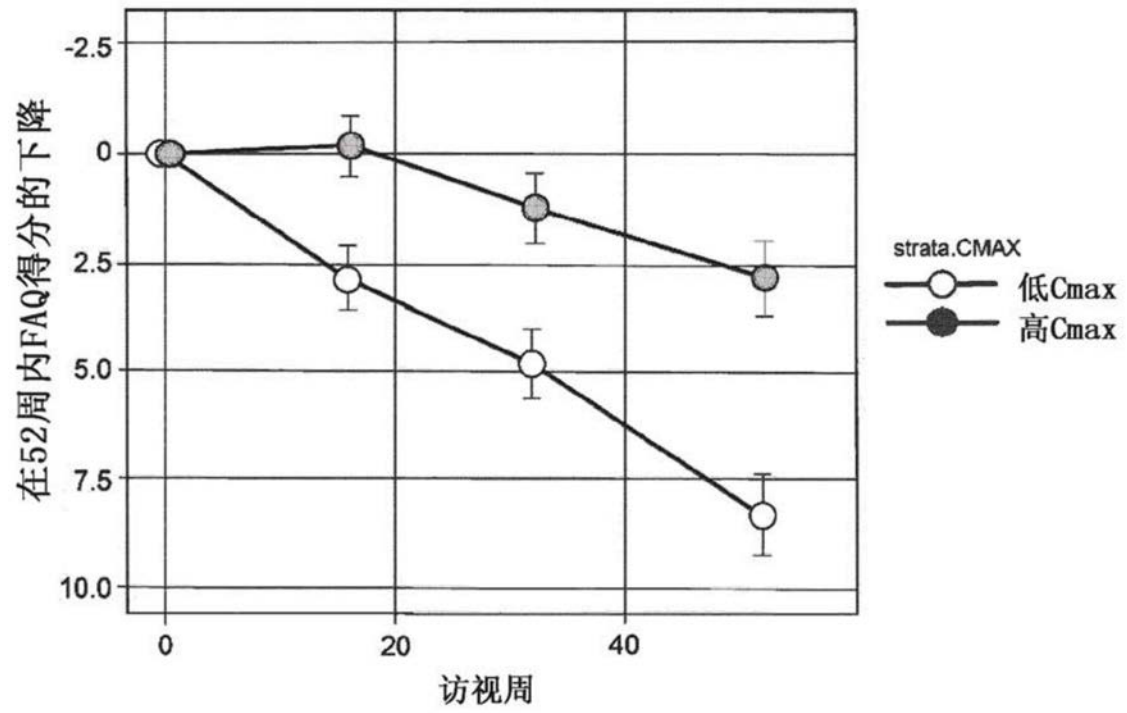


图9

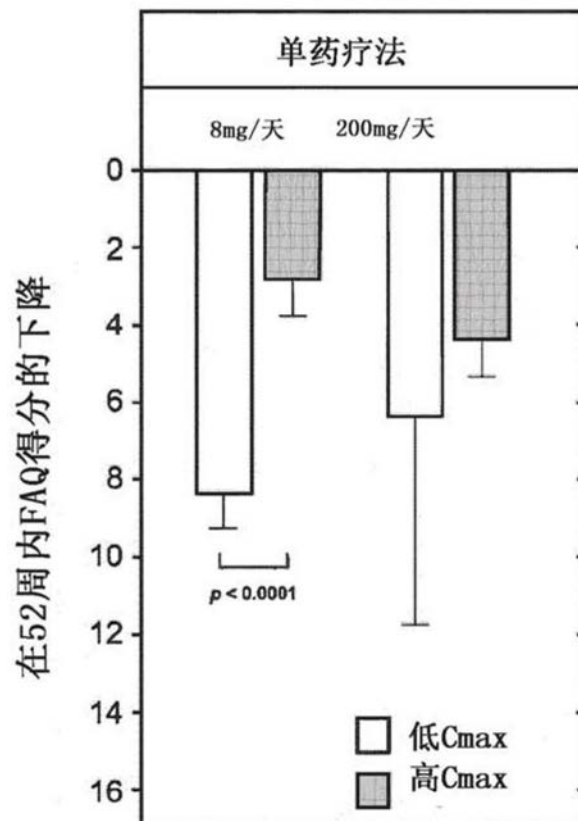
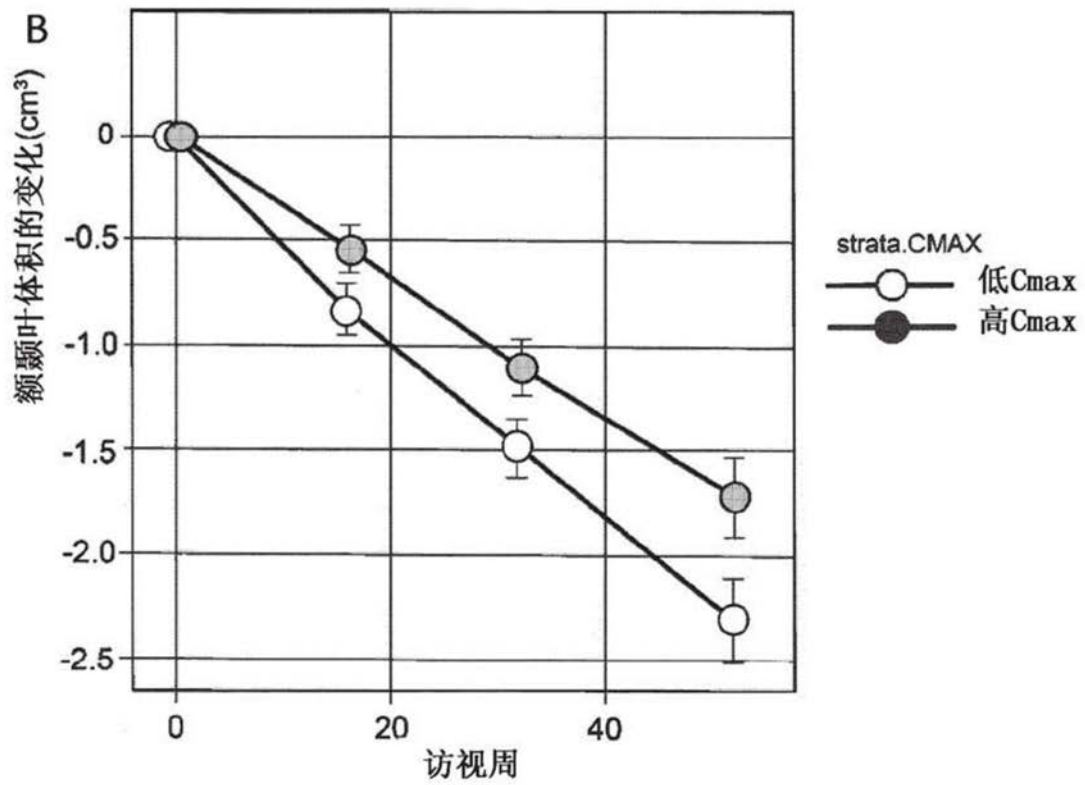
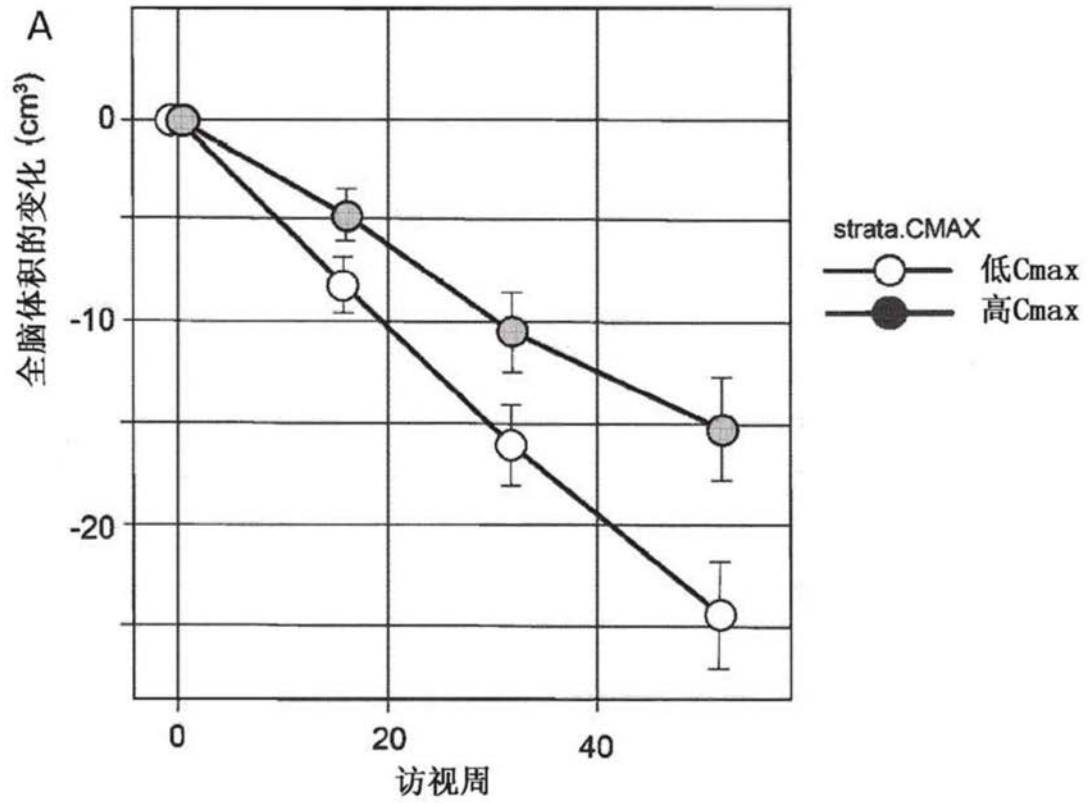


图10



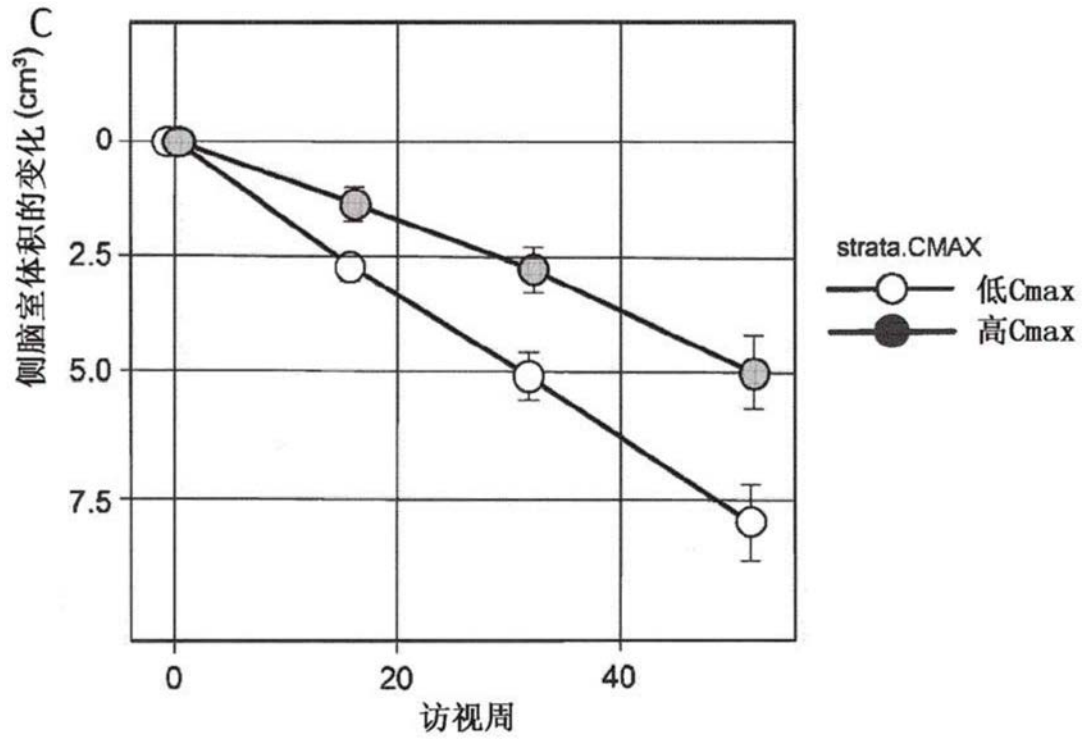


图11a、b和c

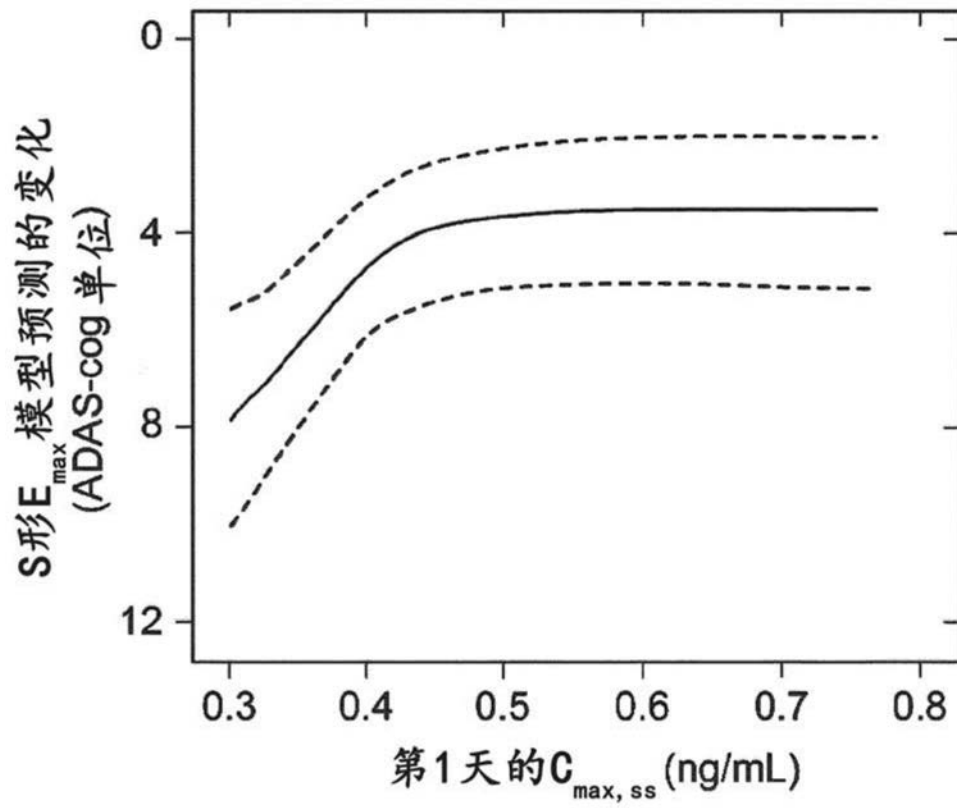


图12

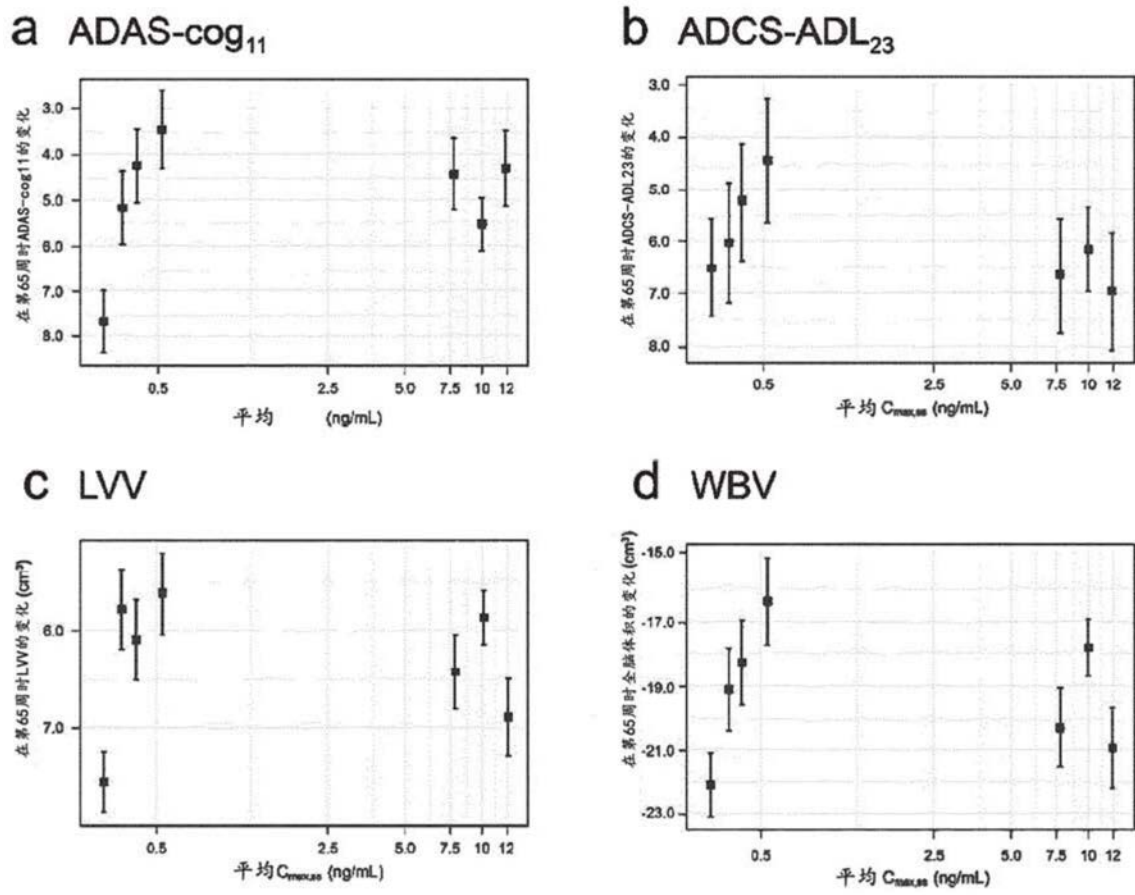


图13

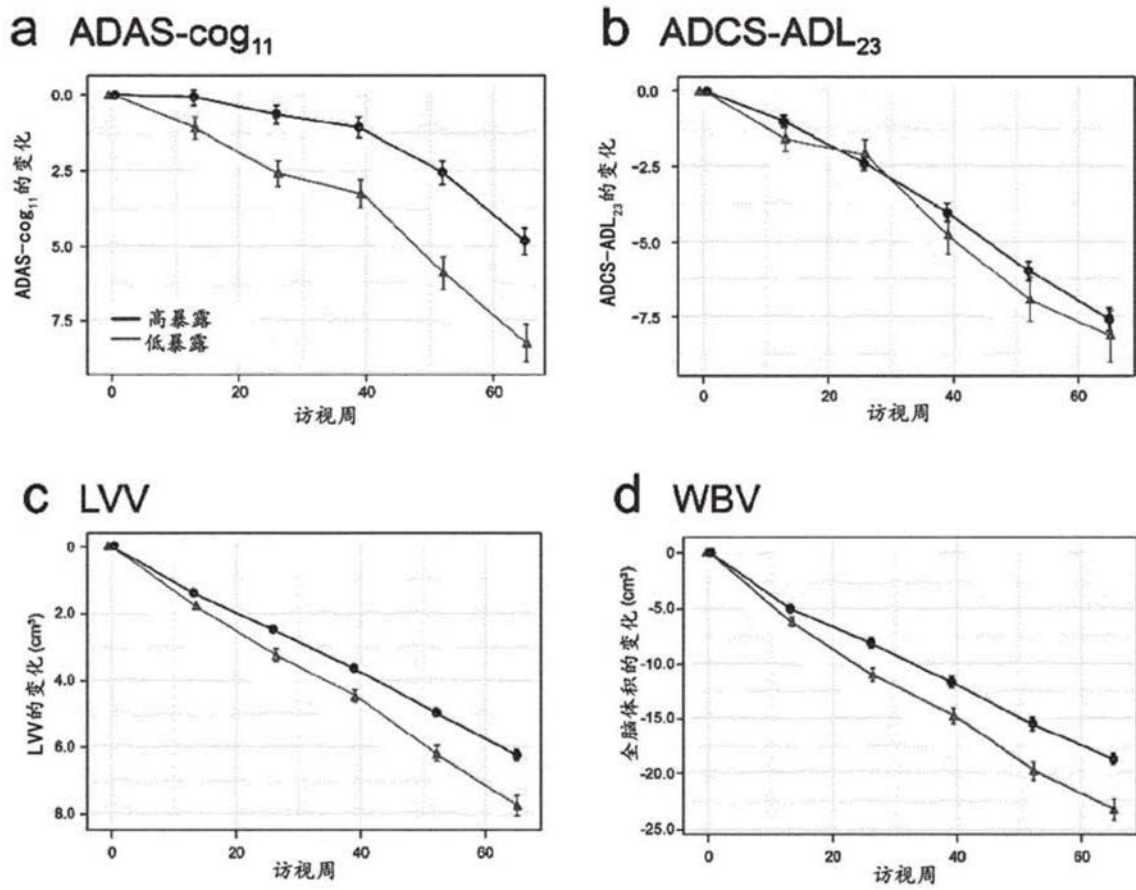


图14

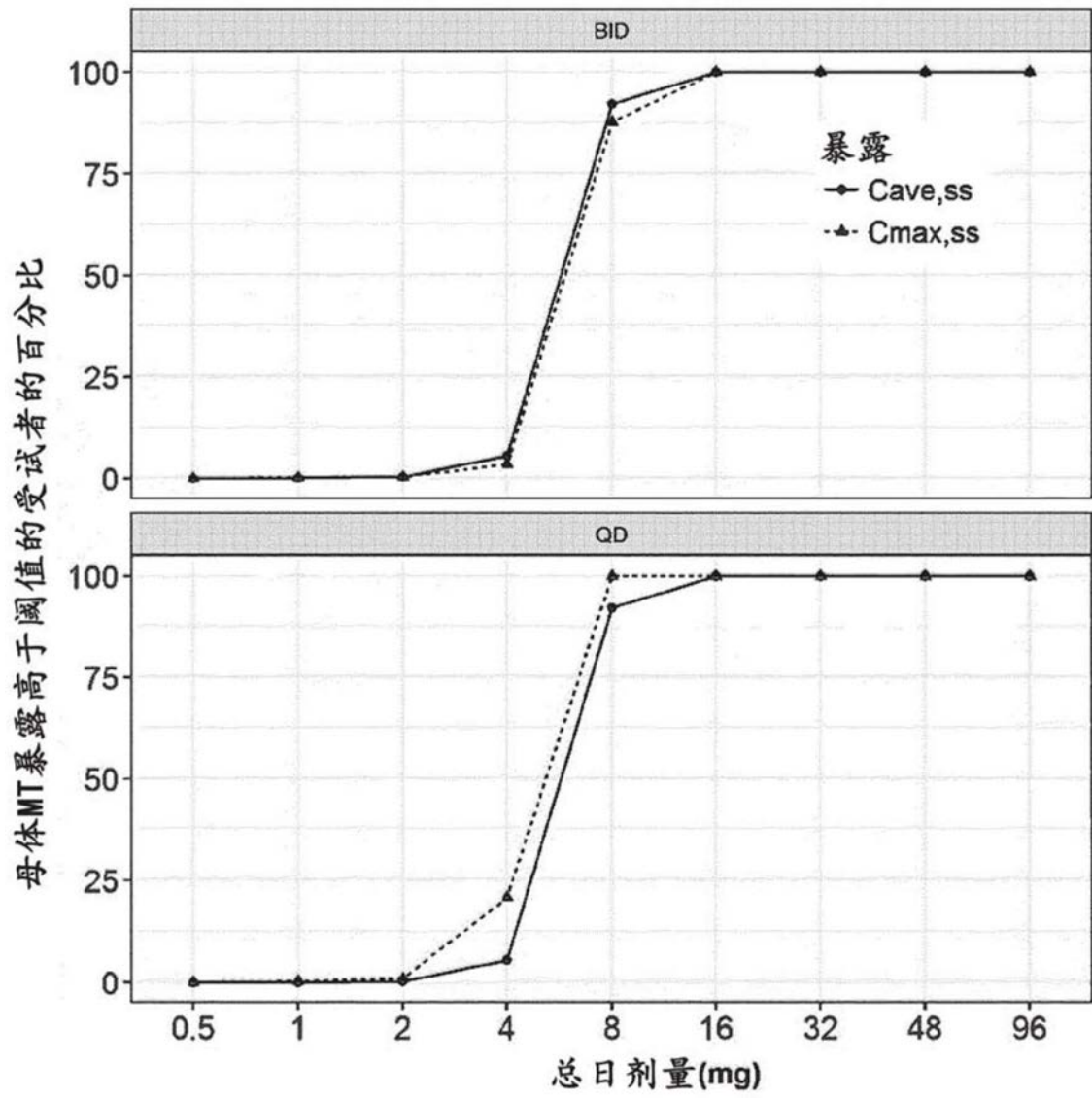


图15

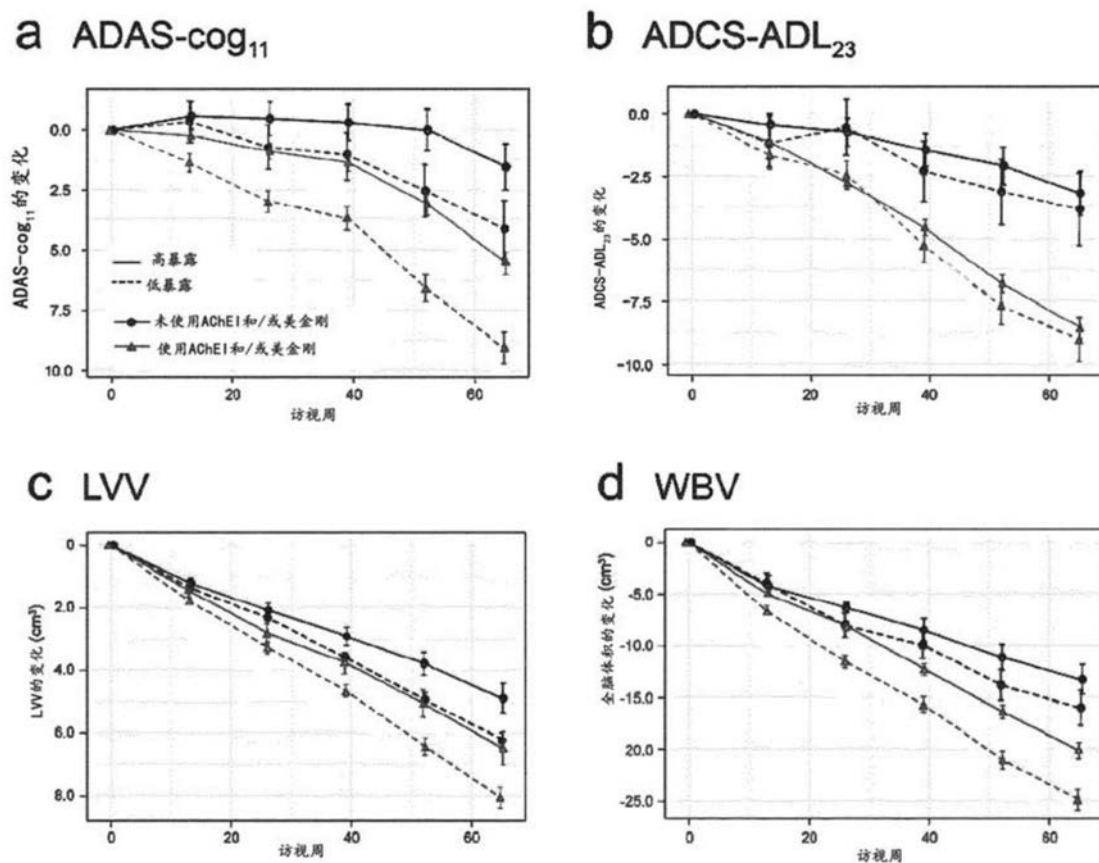


图16

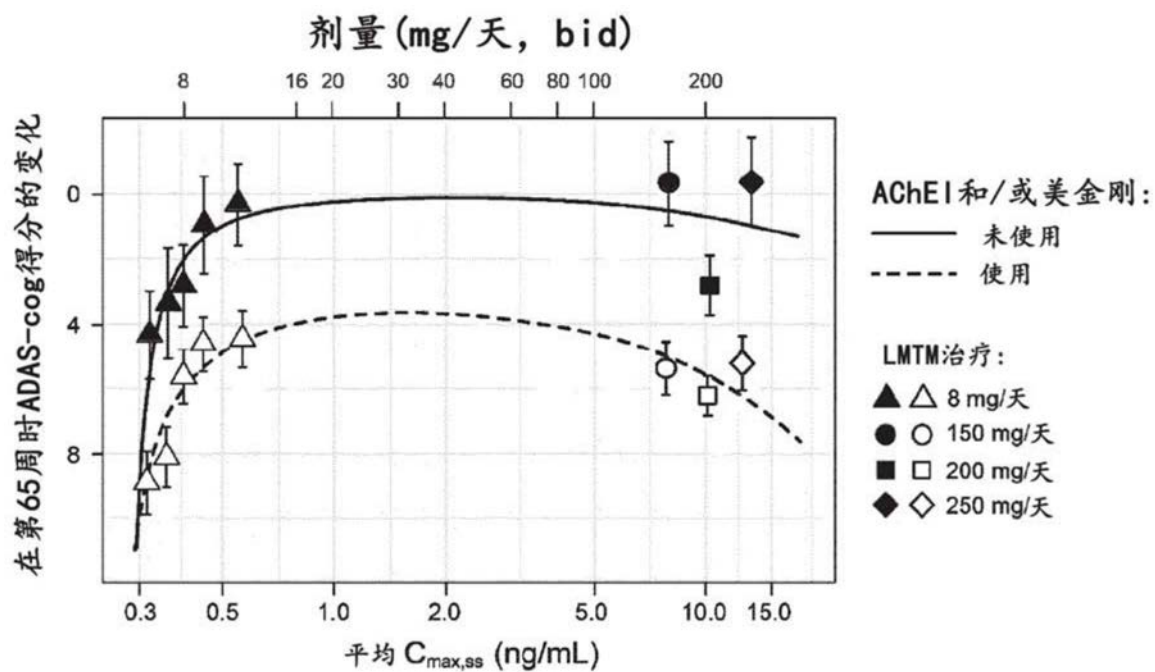


图17

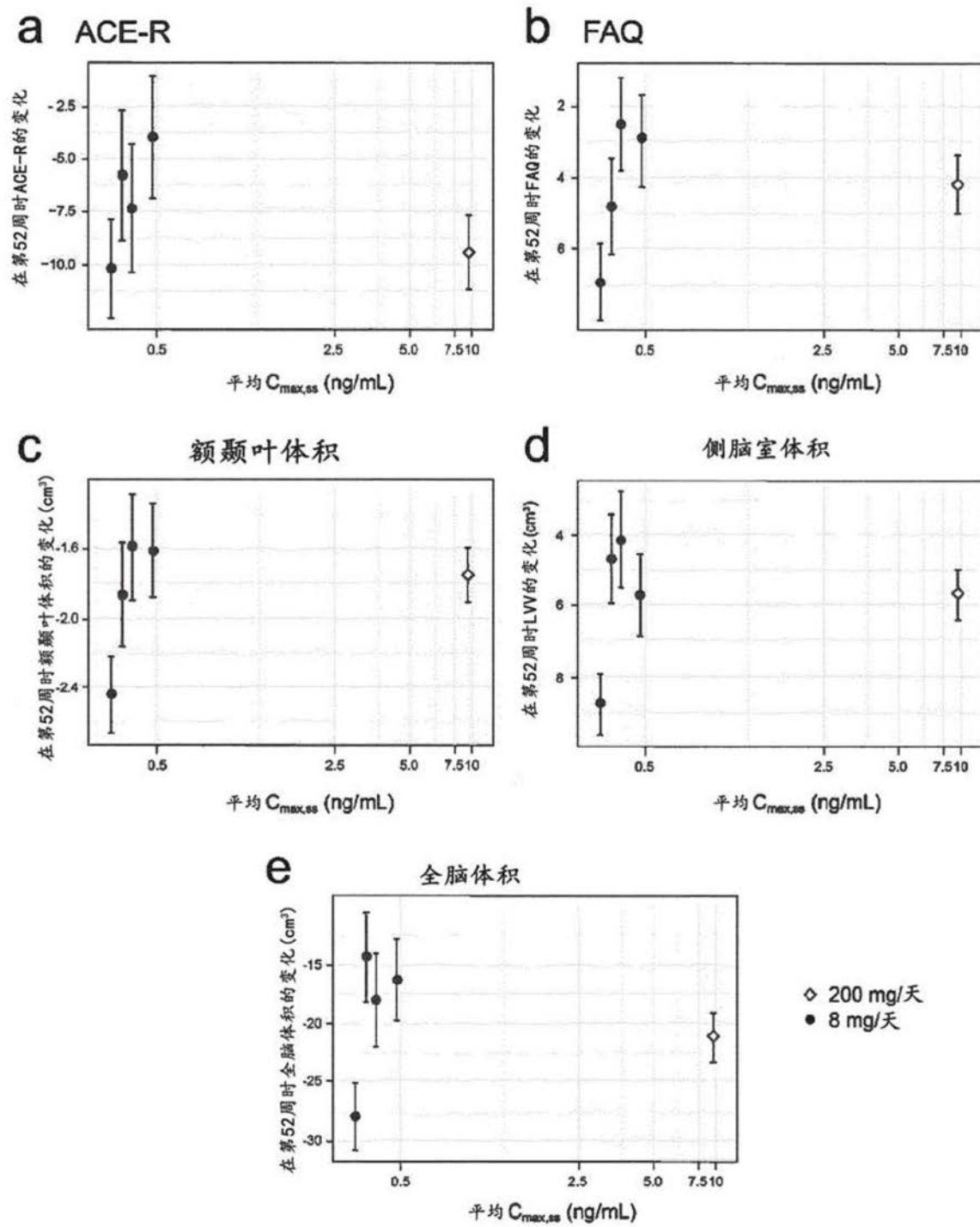


图18

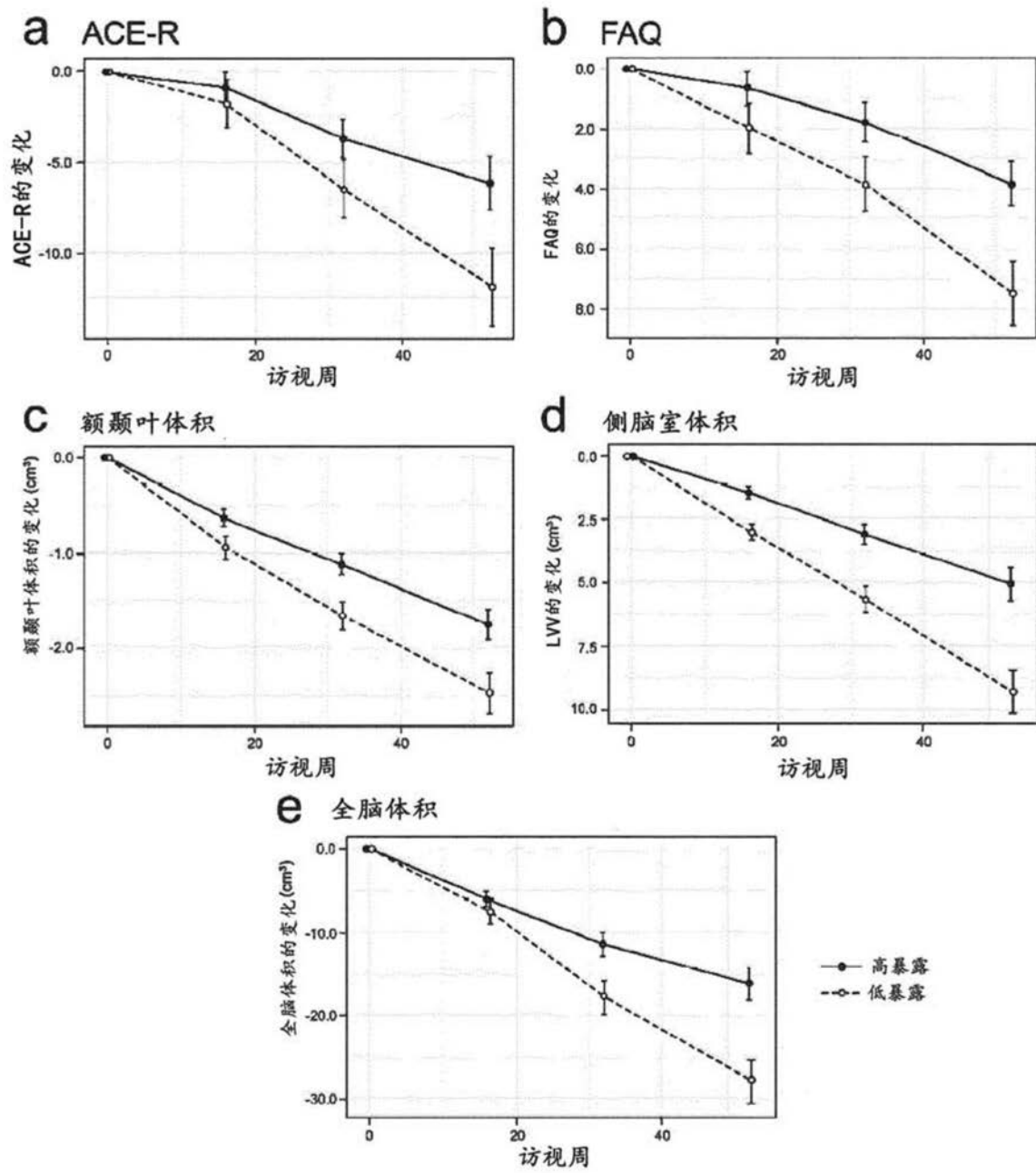


图19

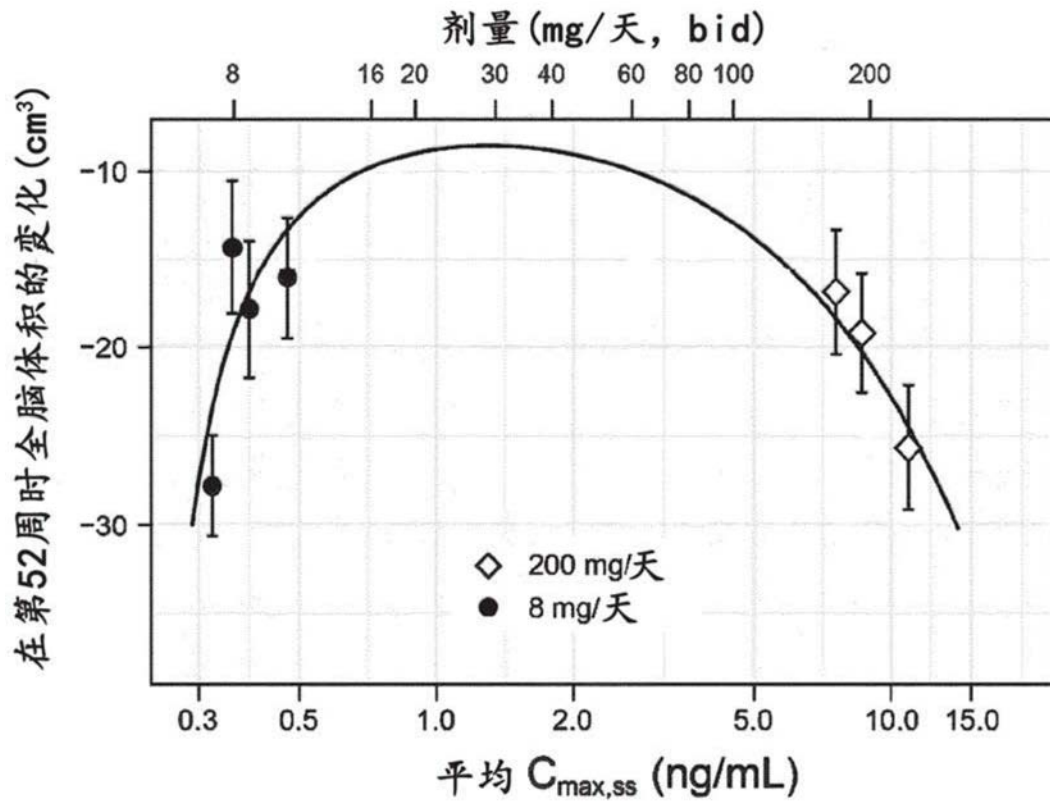


图20