



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101945653 B

(45) 授权公告日 2013. 01. 16

(21) 申请号 200880126611. 3

(22) 申请日 2008. 12. 31

(30) 优先权数据

61/018, 594 2008. 01. 02 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 08. 11

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2008/088660 2008. 12. 31

(87) PCT申请的公布数据

W02009/088939 EN 2009. 07. 16

(73) 专利权人 海洋生物有限公司

地址 美国威斯康星

(72) 发明人 梁谷慎一

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 李华英

(51) Int. Cl.

A61K 31/385(2006. 01)

A61K 31/12(2006. 01)

A61P 27/16(2006. 01)

(56) 对比文件

US 20030055099 A1, 2003. 05. 20, 摘要, 权利要求 1-39.

US 20050107338 A1, 2005. 05. 19, 摘要, 权利要求 1-21.

US 20020177558 A1, 2002. 10. 28, 摘要, 说明书 [0040], [0049], 权利要求 1, 2, 4, 9.

HIROSE Y ET AL. 《Effect of water-soluble coenzyme Q10 on noise-induced hearing loss in guinea pigs》. 《ACTA OTO-LARYNGOLOGICA. 》. SUPPLEMENTUM, SCANDINAVIAN UNIVERSITY PRESS. OSLO, NO, , 1989, 第 128 卷 (第 10 期), 11-13.

审查员 曾振文

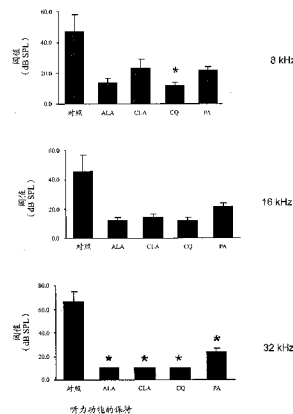
权利要求书 1 页 说明书 7 页 附图 4 页

(54) 发明名称

用于治疗神经变性疾病的组合物和方法

(57) 摘要

本发明涉及用于治疗神经变性疾病的组合物和方法。在一些实施方案中, 本发明提供用于治疗 and 预防老年性耳聋的组合物。



1. 共轭亚油酸在制备用于预防老年性耳聋的药物中的应用。
2. 如权利要求 1 所述的应用,其中所述药物用于预防所述受治疗者中螺旋神经节细胞损失。
3. 共轭亚油酸在制备用于预防老年性耳聋的食物产品中的应用。
4. 共轭亚油酸在制备用于预防老年性耳聋的营养补充剂中的应用。
5. 共轭亚油酸在制备用于预防老年性耳聋的药物组合物中的应用。

## 用于治疗神经变性疾病的组合物和方法

[0001] 本申请要求 2008 年 1 月 2 日提交的美国临时申请第 61/018,594 号的优先权,其通过引用整体并入本文。

### 发明领域

[0002] 本发明涉及用于治疗神经变性疾病的组合物和方法。在一些实施方案中,本发明提供用于治疗 and 预防老年性耳聋的组合物。

[0003] 发明背景

[0004] 年龄相关的听力损失或老年性耳聋向社会提出了巨大的人道主义和经济挑战。在美国,预计 23% 的年龄在 65 和 75 岁之间的人和 40% 的 75 岁以上的人具有老年性耳聋,并且随着老年人人口的增加,预期患有此疾患的人的数目将显著增加 (Someya 等人, Neurobiol. Aging 20 :1613[2007])。

[0005] 老年性耳聋是在大多数个体中随着他们变老而逐渐发生的听力的损失。听力损失是与衰老相关的常见疾患。对于高音调声音或高频率声音,老年性耳聋相关的损失通常更大。

[0006] 老年性耳聋有许多原因。最常见地,它是由患者衰老过程中他或她的内耳的病理学变化造成的,但是老年性耳聋也可由中耳的病理学变化造成或由通向脑部的神经通路的复杂病理学变化造成。老年性耳聋最常发生于双耳,同等地影响它们。因为损失的过程是逐渐的,所以具有老年性耳聋的人们可能并没有意识到他们的听力正在消失。患老年性耳聋后,声音经常听起来更不清楚并且音量更低。这促成了听力和语言理解的困难。

[0007] 感觉神经性听力损失是由内耳或听神经的障碍引起的。老年性耳聋通常是感觉神经性听力障碍。它最通常是由内耳的逐渐变化引起的。反复暴露于日常的交通噪声或建筑工程、喧嚣的办公室、产生噪音的设备和嘈杂音乐的累积效应可引起感觉神经性听力损失。感觉神经性听力损失最经常是由于毛细胞(内耳中的感觉感受器)的损失。这可作为遗传因素以及衰老、各种健康状况和一些药物(阿司匹林和某些抗生素)的副作用的结果而发生。

[0008] 老年性耳聋可由心脏病、高血压、糖尿病引起的脉管(vascular)(属于血管)病症或其他循环问题造成的向耳朵的供血的变化而引起。损失可能是温和的、中度的或严重的。

[0009] 有时老年性耳聋是传导性听力疾患,意指声音敏感性的损失是由外耳和/或中耳的异常引起的。此类异常可包括鼓膜(鼓室)的功能降低或中耳中将声波从鼓膜载送到内耳的三根细小骨头的功能降低。

[0010] 有许多策略来帮助患有老年性耳聋的人们。对于一些个体,可推荐助听器。助听装置可提供某些情形下听力能力的进一步改善。此装置的一个实例是内置的电话放大器。另一个实例是在有或无助听器下,通过像无线电一样传送声波而使声音更清楚的 FM 系统。读唇法(使用视觉线索确定讲话内容)训练可帮助那些具有老年性耳聋的人们更好地理解谈话或演讲中的说话内容。

[0011] 尽管如此,尚未开发用于老年性耳聋的预防性或治疗性干预。

## [0012] 发明概述

[0013] 本发明涉及用于治疗神经变性疾病的组合物和方法。在一些实施方案中,本发明提供用于治疗 and 预防老年性耳聋的组合物。在一些实施方案中,治疗其他神经变性疾病。在一些实施方案中,本发明提供包含预防或减轻神经变性疾病的化合物的营养补充剂、食物产品和药物组合物以及用于施用此类产品的方法。

[0014] 例如,在一些实施方案中,本发明提供治疗神经变性疾病的方法,包括:在使神经变性疾病症状减轻的条件下向具有所述症状的受治疗者施用选自由  $\alpha$ -硫辛酸 (ALA)、共轭亚油酸 (CLA)、辅酶 Q10 (CQ) 或苯丙氨酸 (PA) 或其衍生物、模拟物或类似物组成的组的至少一种化合物。在一些实施方案中,所述一种或多种化合物是两种化合物(如,ALA 和 CLA; ALA 和 CQ; ALA 和 PA; CLA 和 CQ; CLA 和 PA; 或 CQ 和 PA)。在一些实施方案中,所述一种或多种化合物是三种化合物(如,ALA、CLA 和 CQ; ALA、CLA 和 PA; CLA、CQ 和 PA; 或 ALA、CQ 和 PA)。在一些实施方案中,所述一种或多种化合物是 ALA、CLA、CQ 和 PA。在一些实施方案中,任何上述化合物与一种或多种其他组分(如,佐剂、赋形剂、药物、营养补充剂、载体等)一起提供。在一些实施方案中,所述神经变性疾病是老年性耳聋。在其他实施方案中,所述神经变性疾病是本文所述的神经变性疾病。在一些实施方案中,所述一种或多种化合物的施用预防或减轻受治疗者中螺旋神经节细胞的损失。

[0015] 本发明进一步提供预防神经变性疾病的方法,包括:在预防受治疗者中的神经变性疾病的条件下向所述受治疗者施用选自由 ALA、CLA、CQ 或 PA 或其衍生物、模拟物或类似物组成的组的至少一种化合物。在一些实施方案中,所述一种或多种化合物的施用预防所述受治疗者中螺旋神经节细胞水平的下降。

[0016] 本发明另外提供包括或由选自 ALA、CLA、CQ 或 PA 或其衍生物、类似物或模拟物的一种或多种化合物组成的食物产品。

[0017] 本发明还提供包括或由选自 ALA、CLA、CQ 或 PA 或其衍生物、类似物或模拟物的一种或多种化合物组成的营养补充剂。

[0018] 本发明还提供包括或由选自 ALA、CLA、CQ 或 PA 或其衍生物、类似物或模拟物的一种或多种化合物组成的药物组合物。

[0019] 本发明的其他实施方案在本文描述。

## [0020] 附图描述

[0021] 图 1 显示在开发本发明的实施方案的过程中进行的一些实验的研究设计。

[0022] 图 2 显示对照、ALA、CLA、CQ 和 PA 小鼠的平均 ABR 阈值。

[0023] 图 3 显示来自对照、ALA、CQ 和 PA 小鼠的耳蜗底转的显微照片。

[0024] 图 4 显示对照、ALA、CQ 和 PA 小鼠耳蜗 (cocleae) 的平均螺旋神经节细胞密度。

## [0025] 定义

[0026] 为了促进对本发明的理解,下面定义了许多术语和用语:

[0027] 如本文所用,术语“受治疗者”指将成为特定治疗的接受者的任何动物(如,哺乳动物),包括但不限于人、非人灵长类、啮齿动物和类似动物。典型地,术语“受治疗者”和“患者”在本文可互换使用以指人受治疗者。

[0028] 如本文所用,术语“非人动物”指所有非人动物,包括但不限于脊椎动物诸如啮齿动物、非人灵长类、绵羊、牛、反刍动物、兔形目动物、猪、山羊、马、犬、猫、鸟类等。

[0029] 如本文所用,术语“体外”指人工环境以及在人工环境内发生的过程或反应。体外环境可由试管和细胞培养物组成,但并不限于试管和细胞培养物。术语“体内”指天然环境(如,动物或细胞)以及天然环境内发生的过程或反应。

[0030] 术语“测试化合物”和“候选化合物”指为用于治疗或预防疾病、生病 (illness)、患病 (sickness)、或身体功能障碍(如,听力损失)的候选物的任何化学实体、药物、药和类似化合物。测试化合物既包含已知的治疗化合物,也包含潜在的治疗化合物。通过使用本发明筛选方法的筛选,可确定测试化合物是治疗性的。

[0031] 如本文所用,术语“样品”使用其最广泛的含义。在某种意义上,它意指包括从任何来源获得的样本或培养物,以及生物和环境样品。生物样品可从动物(包括人)获得,并涵盖流体、固体、组织和气体。生物样品包括血液制品,诸如血浆、血清和类似血液制品。环境样品包括环境材料,诸如表面物质、土壤、水、晶体和工业样品。但是此类实例不应解释为对适用于本发明的样品类型的限制。

[0032] “制备的食物产品”意指批准用于人类消费的任何预包装的食物。

[0033] 如本文所用,术语“生理上可接受的载体”指通常用于油性药物的任何载体或赋形剂。此类载体或赋形剂包括但不限于油、淀粉、蔗糖和乳糖。

[0034] 如本文所用,术语“口服递送媒介物”指口服递送药物的任何工具,包括但不限于,胶囊剂、丸剂、片剂和糖浆剂。

[0035] 如本文所用,术语“食物产品”指适于被人、非反刍动物或反刍动物消耗的任何食物或饲料。“食物产品”可以是制备并包装的食物(如,蛋黄酱、色拉调味料、面包或乳酪食物)或动物饲料(如,压制并粒化的动物饲料或粗混合饲料)。

[0036] 如本文所用,术语“模拟物”指模拟配体与其靶标的结合或相互作用或者模拟化合物的生理效应的小分子化合物。例如,本文所述的化合物的模拟物是与所述化合物具有相同生理效应(如,预防或治疗神经变性疾病)的小分子。

[0037] 发明详述

[0038] 本发明涉及用于治疗神经变性疾病的组合物和方法。

[0039] 本发明的一些实施方案提供用于预防和治疗老年性耳聋的组合物、药物组合物、食物产品、营养补充剂和施用所述组合物的方法。

[0040] 开发本发明的过程中进行的实验评估了许多膳食化合物的效应并鉴定了四种化合物( $\alpha$ -硫辛酸(ALA)、CLA、辅酶 Q10(CQ) 和苯丙氨酸(PA)),可用于预防和治疗神经变性疾病。例如,在 C57BL/6(B6) 小鼠中进行了实验,该小鼠已被广泛用作老年性耳聋的模型,并显示至 15 个月龄时年龄相关的听力损失的晚期发作(Keithley 等人, Hear Res. 188: 21[2004]) 和至 12 个月龄时 SGC 和毛细胞的显著损失(Keithley 等人, [2004], 同上)。

[0041] I. 治疗方法

[0042] 在一些实施方案中,本发明提供预防和治疗神经变性疾病(包括但不限于老年性耳聋)的方法。例如,通过向患者施用一种或多种本文所述的化合物,人们可由于所述化合物的效应而预防和/或治疗疾病和病症。类似地,可向患者施用所述化合物的类似物或衍生物。老年性耳聋主要是由耳蜗中的毛细胞或神经细胞的变性引起的。本发明不限于特定的机制。事实上,理解所述机制不是实施本发明必需的。虽然如此,ALA 和 CQ 二者都是抗氧化剂,预期它们可以足以实现本文所述益处的水平保护耳蜗细胞免受氧化损伤。

PA(L-苯丙氨酸)可被转化为L-酪氨酸,而L-酪氨酸又被转化为L-DOPA,L-DOPA被进一步转化为耳蜗中的神经传递所需的多巴胺、去甲肾上腺素(norepinephrine)(去甲肾上腺素(noradrenaline))和肾上腺素(epinephrine)(肾上腺素(adrenaline))。热限制(Caloric restriction, CR)完全预防了哺乳动物中的老年性耳聋(Someya等人,[2007],同上)。CR小鼠保持无脂肪,并维持体重在与幼小鼠体重相同的水平。CLA是体重减轻诱导物,并因此被认为模拟CR-样、抗衰老作用。因此,提供这些化合物中的一种或这些化合物的混合物是利用这些化合物的效应预防和治疗老年性耳聋的另一方法。在一些实施方案中,本发明进一步提供预防和治疗其他年龄相关的神经变性疾病(包括但不限于下文描述的那些疾病)的方法。

#### [0043] A. 组合物

[0044] 在一些实施方案中,本发明提供 $\alpha$ -硫辛酸(ALA)、CLA、辅酶Q10(CQ)和苯丙氨酸(PA)中的一种或多种来用于治疗或预防神经变性疾病(如,老年性耳聋)。硫辛酸是需氧生命必需的。硫辛酸充当需氧代谢特别是丙酮酸脱氢酶复合物的辅因子。硫辛酸(lipoate)参与2-酮酸脱氢酶和甘氨酸切割复合体中酰基或甲胺基团的转移。CLA指亚油酸异构体家族。CLA由反刍动物瘤胃中的微生物产生。CQ是苯醌。CQ存在于所有人类细胞中,并负责身体所有自身能量的产生。人体ATP的95%是在CQ的帮助下转化的。PA是非极性 $\alpha$ -氨基酸。PA是动物无法合成的必需氨基酸。PA由植物和微生物从莽草酸途径的中间产物预苯酸(prephenate)提供。

[0045] 在一些实施方案中,在组合物中提供ALA、CLA、CQ或PA中的一种以施用于受治疗者。在其他实施方案中,提供ALA、CLA、CQ或PA中的2种(如,ALA和CLA、ALA和CQ、ALA和PA、CLA和CQ、CLA和PA、或CQ和PA)。在其他实施方案中,提供ALA、CLA、CQ或PA中的3种或更多种(如,ALA、CLA和CQ,ALA、CLA和PA,CLA、CQ和PA,或ALA、CQ和PA)。在又进一步的实施方案中,提供ALA、CLA、CQ和PA。

[0046] 在本发明的优选实施方案中,将安全和有效的营养或治疗量的ALA、CLA、CQ和PA中的一种或多种口服施用于动物(包括人)以预防或治疗神经变性疾病(如老年性耳聋)。因为ALA、CLA、CQ和PA中的一种或多种是无毒的、天然发生的产物而不是药物,所以它们可以作为正常膳食的一部分而消耗,并用作希望治疗或预防神经变性疾病的人们的日常营养的一部分。营养或治疗有效量是当以纯化形式或作为食品补充剂被摄取时,造成预防神经变性疾病或减轻神经变性疾病的症状的量。

[0047] 在一些实施方案中,对于成年人,本发明的化合物以每周一次或多次至多达每天一次或多次施用(如,以一个或多个相等或不等的剂量)。在一些实施方案中,剂量是从小鼠研究中使用的剂量估算的。例如,假定为60kg成年人,根据FDA准则,将以mg/kg为单位的小鼠剂量乘以0.081得到以mg/kg为单位的人类等同剂量(Human Equivalent Doses, HED)。

[0048] 例如,在一些实施方案中,ALA以大约0.1至100mg/kg或6至6000mg的剂量施用,以一个或多个剂量(如,30至3000mg、15至1500mg、或大约60mg)以每天一次或多次施用,CLA以大约0.5至5000mg/kg或30至300,000mg的剂量施用,以一个或多个剂量(如,1000至100,000mg,1,500至150,000mg或大约3,000mg)以每天一次或多次施用,CQ以大约0.03至33.3mg/kg或2至2000mg的剂量施用,以一个或多个剂量(如,10至1000mg、5至500mg

或大约 20mg) 以每天一次或多次施用, 而 PA 以大约 0.2 至 166.6mg/kg 或 10 至 10,000mg 的剂量施用, 以一个或多个剂量 (如, 50 至 5000mg、25 至 2500mg 或大约 100mg) 以每天一次或多次施用, 虽然可使用更高或更低的剂量。

[0049] 由于个体之间在参数诸如体重、基础代谢、运动和膳食的其他方面的差异, 因此预期效力将有一些变化。

[0050] 本发明还考虑了 ALA、CLA、CQ 和 PA 的衍生物的使用。例如, 化合物可以是游离的或通过酯键结合的。在一些实施方案中, CLA 以含有 CLA 甘油三酯的油的形式提供。在这些实施方案中, 甘油三酯可部分地或完全地包括连接至甘油主链的 CLA。CLA 还可作为甲酯或乙酯提供。此外, CLA 可以是无毒盐的形式, 诸如钾盐或钠盐 (如, 通过在约 8 至 9 的 pH 下使化学当量的游离酸与碱金属氢氧化物反应形成的碱)。在其他实施方案中, 可利用 ALA、CLA、CQ 或 PA 的其他衍生物、模拟物和变体。

#### [0051] B. 施用

[0052] 在一些实施方案中, 施用是口服的。组合物可与合适的载体诸如淀粉、蔗糖或乳糖配制成片剂、丸剂、糖锭剂、胶囊剂、溶液剂、液体、浆体、混悬剂和乳剂。本发明实施方案的组合物可以水溶液、油性溶液、作为或以上文讨论的任何其他形式提供。本发明实施方案的片剂或胶囊剂可以肠溶衣包衣, 肠溶衣在约 6.0 至 7.0 的 pH 下溶解。在小肠而不在胃中溶解的合适的肠溶衣是苯二甲酸醋酸纤维素。在一些实施方案中, 组合物提供为软明胶胶囊。组合物还可通过许多其他路径中的任何路径提供, 包括但不限于, 静脉内、肌肉内、动脉内、髓内、鞘内、心室内、经皮、皮下、腹膜内、鼻内、肠内、局部、舌下或直肠手段。关于制剂和施用技术的进一步详情可在 Remington's Pharmaceutical Sciences (雷明顿药物科学) 的最新版本 (Maack Publishing Co., Easton, PA) 中找到。在一些实施方案中, 制剂包括单一施用剂量中单独的或组合的 ALA、CLA、CQ 或 PA 中的一种或多种。

[0053] ALA、CLA、CQ 或 PA 组合物还可作为补充剂在各种制备的食物产品和饮料中提供。对于此应用目的, 制备的食物产品意指其中已添加 ALA、CLA、CQ 或 PA 中的一种或多种的任何天然的、加工的、膳食的或非膳食的食物产品。所述组合物可直接掺入各种制备的食物产品, 包括但不限于饮料、酒类 (bars)、补充剂、制备的冷冻餐 (prepared frozen meals)、糖果、小吃产品 (如, 薯条)、制备的肉产品、牛奶、乳酪或酸奶。

[0054] 在一些实施方案中, 组合物单独或与合适的赋形剂 (如, 上文描述的那些) 组合的营养补充剂 (如, 作为片剂、胶囊剂、液体等)。在一些实施方案中, 营养补充剂包装在包括说明所述补充剂的施用剂量和时间的说明书的容器或瓶中。

[0055] 在一些实施方案中, 组合物与合适的抗氧化剂诸如卵磷脂、生育酚、抗坏血酸、抗坏血酸棕榈酸酯或香料提取物诸如迷迭香提取物包装在一起用于人类使用。

#### [0056] C. 疾病

[0057] 本发明的组合物和方法适于治疗许多神经变性疾病。例如, 在一些实施方案中, 本发明的组合物和方法用于治疗或预防老年性耳聋。在其他实施方案中, 本发明的组合物和方法用于治疗其他神经变性疾病, 包括但不限于: 阿耳茨海默病、帕金森病、亨廷顿舞蹈病、肌萎缩侧索硬化、亚历山大病、阿耳珀病、运动失调性毛细血管扩张症、巴藤病 (也称为 Spielmeyer-Vogt-Sjogren-Batten 病)、牛海绵样脑病 (BSE)、卡纳万病、科凯恩综合征、皮质基底节变性 (Corticobasal degeneration)、克罗伊茨费尔特-雅

各布病、人类免疫缺陷病毒伴发的痴呆、肯尼迪病、克拉伯病、路易体痴呆 (Lewy body dementia)、马-约病 (脊髓小脑性共济失调 3 型)、多发性硬化、多系统萎缩症、发作性睡病、神经螺旋体病、佩利措伊斯-梅茨巴赫病、皮克病、原发性侧索硬化、朊病毒病、植烷酸贮积症、桑德霍夫病、谢耳德病、恶性贫血继发的脊髓亚急性混合变性、精神分裂症、Spielmeyer-Vogt-Sjogren-Batten 病 (也称为巴藤病)、脊髓小脑性共济失调 (具有不同特征的不同类型)、脊髓性肌萎缩、进行性核上性眼肌瘫痪和脊髓痨。

#### [0058] 实验

[0059] 提供下列实施例以证明和进一步说明本发明的某些优选实施方案和方面。并且这些实施例不应解释为限制其范围。

#### [0060] 实施例 1

##### [0061] 2. 材料和方法

##### [0062] 2.1. 动物和饮食操作

[0063] 有关用于圈养和喂食雄性近亲交配 C57BL/6 (B6) 小鼠的方法的详情已有描述 (Pugh 等人, *Cancer Res.* 59:1642[1999])。简要而言,将小鼠分成五组:对照、 $\alpha$ -硫辛酸 (ALA)、CLA、辅酶 Q10 (CQ) 和苯丙氨酸 (PA)。化合物处理组喂食与对照相同的热量摄入,但是从 4 个月龄直至 15 个月龄补充有 ALA (150mg/kg)、CLA (5000mg/kg)、CQ (50mg/kg) 和 PA (250mg/kg) (图 1)。

##### [0064] 2.2. 听力评估

[0065] ABR 测量的详细实验方案已有描述 (Yamasoba 等人, *Neurosci Lett.* 395:18[2005])。简要而言,使用 ABR 记录系统 (Intelligent HearingSystem) 以短纯音刺激 (4、8 和 16kHz) 来测量 ABR。用盐酸赛拉嗪 (10mg/kg, i. m.) 和盐酸氯胺酮 (40mg/kg, i. m.) 的混合物麻醉小鼠。每组五至七只小鼠用于此研究,并且相同的小鼠用于下列组织病理学分析。使用双尾标准  $t$ -检验检查数据,并使用单向 ANOVA 检验 (GraphPadPrism 5.0, San Diego, CA) 检验数据的统计显著性。所有数据报告为平均值  $\pm$  S. E. M.。

##### [0066] 2.3. 组织病理学分析

[0067] 组织加工的详细实验方案已有描述 (Someya 等人, [2007], 同上)。简要而言,将 4% 低聚甲醛固定并且石蜡包埋的样本切成 4  $\mu$  m 切片,在硅烷包被的载玻片上固定,用苏木精和伊红 (HE) 染色,并在光学显微镜 (Leica Microsystems, Bannockburn, IL) 下观察。罗林塔尔管被划分成三个区域:顶部、中部和底部 (Keithley 等人, [2004], 同上),使用这三个区域评估耳蜗组织病理学。使用与 ABR 检验中使用的小鼠相同的每组五只小鼠。对于每只小鼠,评估在来自一个单侧耳蜗的每第五个切片中获得的五个蜗轴状切片。使用相同的动物进行螺旋神经节细胞计数。

[0068] 通过直接观察,使用 40X 物镜在 0.3  $\mu$  m x 0.225  $\mu$  m 的视野中计数耳蜗切片顶、中和底转中的螺旋神经节细胞 (SGC)。通过核的存在鉴定 SGC。SGC 密度计算为每平方毫米的 SGC 数目。在每只小鼠的一个耳蜗中评估单侧顶转的五个切片。使用双尾标准  $t$ -检验分析数据。所有数据报告为平均值  $\pm$  S. E. M.。

#### [0069] 3. 结果

##### [0070] 3.1. 听力功能和耳蜗组织病理学评估

[0071] 为了检查 ALA、CLA、CQ 和 PA 对老年性耳聋预防和治疗的效应,检查了这些化合物



是否延迟 B6 小鼠中老年性耳聋的晚期发作。从这些小鼠测量的 ABR 阈值揭示对照小鼠在 8、16、32kHz (分别为低、中和高频率) 下表现中度的年龄相关性听力损失 (图 2)。相反, CQ 小鼠在 8 和 32kHz 下展示正常的听力, 而 ALA、CLA 和 PA 小鼠在 32kHz 下展示正常的听力 (\* $P < 0.05$ ,  $n = 5$ ), 显示这些化合物预防了该年龄的老年性耳聋的显现 (图 2)。

[0072] 接下来研究了所述化合物对年龄相关性耳蜗变性的效应。病理学分析揭示, 对照小鼠的耳蜗展示严重的毛细胞和 SGC 损失 (图 3A-B), 而 ALA、CQ 和 PA 小鼠的耳蜗不展示毛细胞和 SGC 损失或仅展示少量的毛细胞和 SGC 损失 (图 3C-H), 显示了所述化合物对耳蜗变性的预防。降低的 SGC 密度是哺乳动物中老年性耳聋的标志之一 (Keithley 等人, [2004], 同上)。ALA、CQ 和 PA 小鼠的平均螺旋神经节细胞密度显著高于对照小鼠的平均螺旋神经节细胞密度 (\* $P < 0.05$ ,  $n = 5$ ) (图 4), 显示所述化合物对螺旋神经节神经细胞损失的预防。总之, 此实施例提供了 ALA、CLA、CQ 和 PA 可预防和治疗哺乳动物中的老年性耳聋以及这些化合物可保护关键的耳蜗细胞诸如螺旋神经节神经元免受年龄相关性变性的强烈证据。

[0073] 耳蜗中的螺旋神经节主要由神经元 (I 和 II 型神经细胞) 组成。毛细胞接收声音, 并将该声音传递给螺旋神经节神经元, 螺旋神经节神经元将声音信息发送至脑部。

[0074] 以上说明书中提及的所有出版物和专利通过引用并入本文。本发明所述方法和系统的各种修改和变化对本领域技术人员将是明显的, 并且不背离本发明的范围和精神。尽管已参考具体的优选实施方案描述了本发明, 但是应理解, 所要求保护的发明不应不适当地限于此类具体的实施方案。事实上, 对相关领域技术人员明显的用于实施本发明的所述模式的各种修改意欲包括在下列权利要求的范围内。

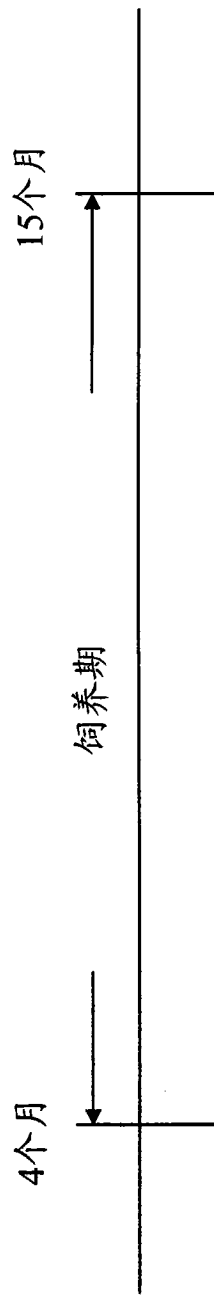
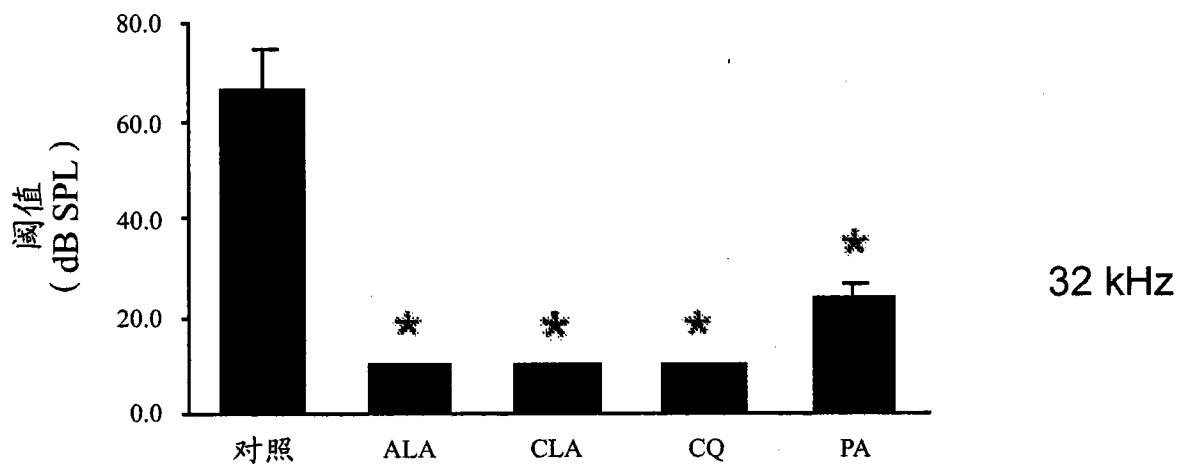
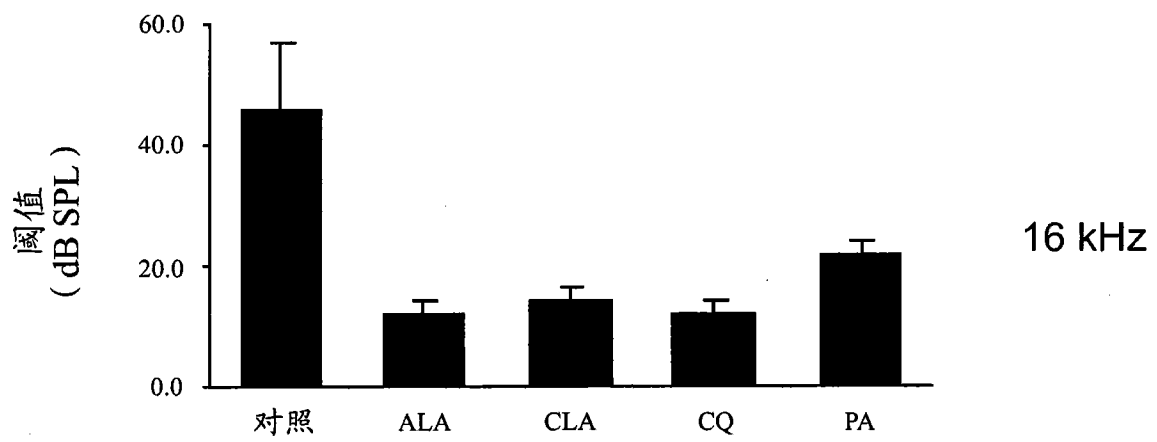
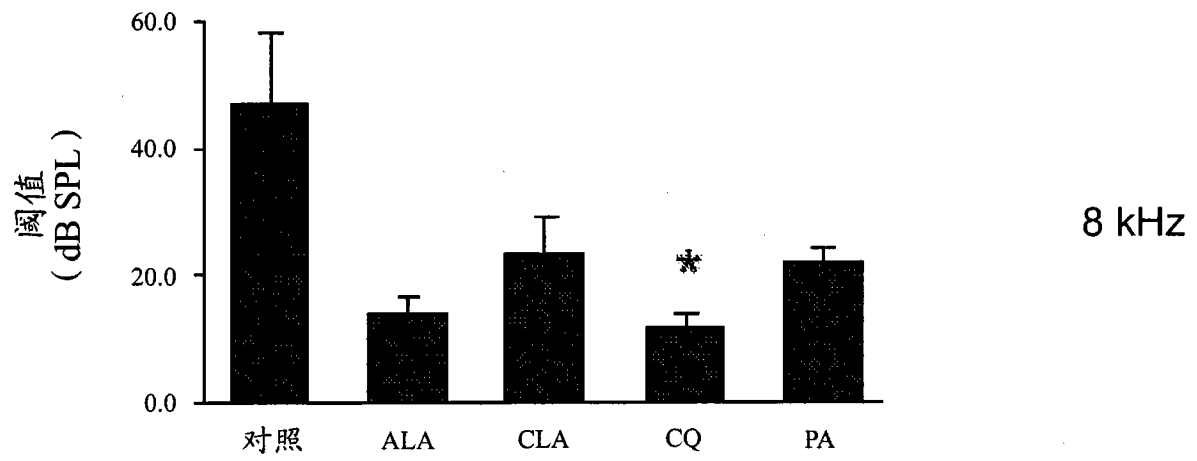


图 1 研究设计



听力功能的保持

图 2

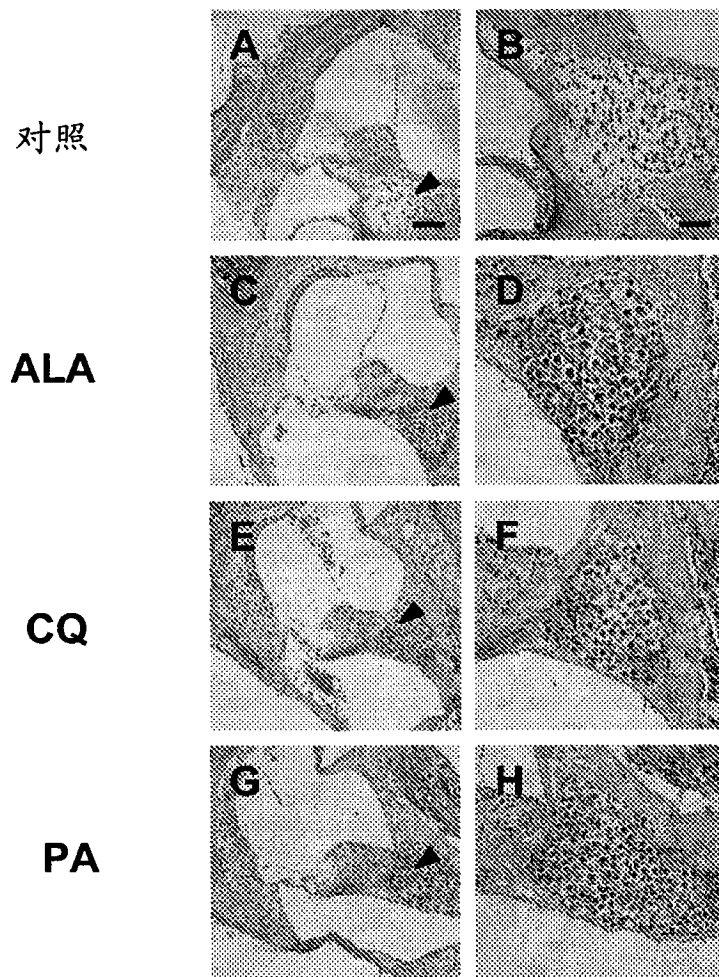


图 3 对照 (A-B)、ALA (C-D)、CQ (E-F) 和 PA (G-H) 小鼠的耳蜗底转的显微照片

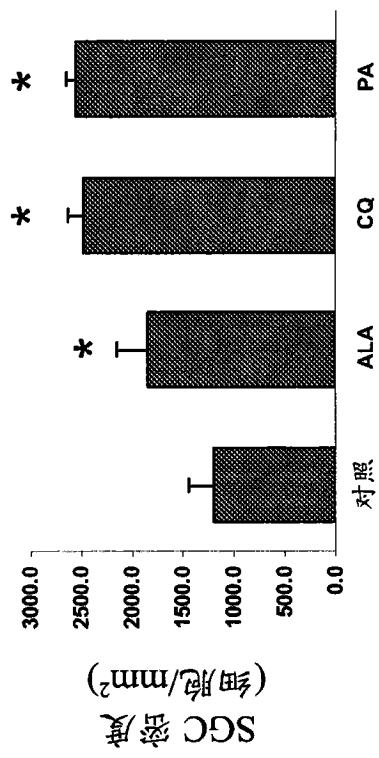


图 4 对照、ALA、CQ 和 PA 小鼠耳蜗的平均螺旋神经节细胞密度