



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113662934 A

(43) 申请公布日 2021. 11. 19

(21) 申请号 202111171539.X

(22) 申请日 2021.10.08

(71) 申请人 徐州医科大学

地址 221004 江苏省徐州市铜山路209号

(72) 发明人 潘伟 于英华 赵进秀 何妍
颜子易 徐大祥 杨晓莹 张鹏
胡敏敏 胡涛 李梦迪

(74) 专利代理机构 西安铭泽知识产权代理事务
所(普通合伙) 61223

代理人 徐云侠

(51) Int. Cl.

A61K 31/225 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

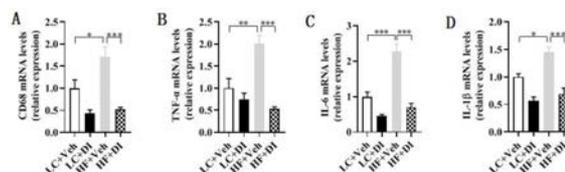
权利要求书1页 说明书7页 附图12页

(54) 发明名称

衣康酸二甲酯在制备治疗和/或预防神经退
行性疾病的药物中的应用

(57) 摘要

本发明属于退行性疾病治疗药物技术领域，
涉及衣康酸二甲酯在制备治疗和/或预防神经退
行性疾病的药物中的应用。经过试验验证，衣康
酸二甲酯能够减轻学习和记忆能力下降、突触超
微结构损伤、降低神经炎症。



1. 衣康酸二甲酯在制备治疗和/或预防神经退行性疾病的药物中的应用。
2. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述衣康酸二甲酯通过抑制小胶质细胞分泌TNF- α 及IL-6,防止神经炎症反应的发生。
3. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述衣康酸二甲酯用于制备改善肥胖诱导的认知功能损伤的药物。
4. 根据权利要求3所述的应用,其特征在于,所述认知功能损伤是:
以学习、记忆及生活自理能力下降为特征的认知功能损伤,和/或
以突触超微结构损伤为特征的认知功能损伤,和/或
以神经炎症为特征的认知功能损伤。
5. 根据权利要求3所述的应用,其特征在于,所述衣康酸二甲酯能够用于制备改善由肥胖导致的学习、记忆及生活自理能力下降的药物。
6. 根据权利要求3所述的应用,其特征在于,所述衣康酸二甲酯通过增加突触后膜蛋白PSD95的厚度、增加活性带长度、降低突触间隙宽度,防止突触超微结构损伤。
7. 根据权利要求3所述的应用,其特征在于,所述衣康酸二甲酯能够用于制备突触前膜蛋白SYN、突触后膜蛋白PSD95及神经营养因子BDNF的表达上调剂。
8. 根据权利要求3所述的应用,其特征在于,所述衣康酸二甲酯能够用于制备海马区CA1、CA3、DG中小胶质细胞的增殖抑制剂;和/或
所述衣康酸二甲酯能够用于制备海马区CD68、TNF- α 、IL-6及IL-1 β mRNA水平的表达下调剂。
9. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述神经退行性疾病为阿尔茨海默症或肥胖相关认知障碍。
10. 一种用于治疗 and/或预防神经退行性疾病的药物,其特征在于,其以权利要求1-9任一项所述的衣康酸二甲酯为活性成分,并辅以药学上可接受的辅料或载体。

衣康酸二甲酯在制备治疗和/或预防神经退行性疾病的药物中的应用

技术领域

[0001] 本发明属于退行性疾病治疗药物技术领域,涉及衣康酸二甲酯在制备治疗和/或预防神经退行性疾病的药物中的应用。

背景技术

[0002] 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD),是老年痴呆的主要类型,是全球共同面对的重大医学难题。2018年国际阿尔茨海默病协会发布报告显示,全球每3秒钟就有1例AD患者产生。据估计,到2030年,全球AD相关经济成本为2万亿美元。迄今为止,尚缺乏有效治疗AD的药物与疗法。由于该病的发病机制尚不完全清楚,患者得到临床诊断时大部分已处于疾病晚期,故很难通过药物逆转脑内的神经病变。

[0003] 肥胖是严重危害人类健康的流行性、全身代谢性疾病。2016年《柳叶刀》报道,目前全球肥胖人口约6亿,我国的肥胖人口数已超过美国位列全球首位。人群流行病学调查和动物实验均显示,肥胖不仅增加高血压病、糖尿病、癌症等疾病的风险,而且可引起认知功能的减退,是引发认知功能障碍和阿尔茨海默病的重要诱因。因此,探究肥胖相关的认知损伤干预策略,将有助于防治AD。

[0004] 认知功能障碍是AD的主要特征。近年来研究发现,神经炎症在促进认知损伤中发挥重要作用。一方面,小胶质细胞作为中枢神经系统的固有免疫细胞,在神经炎症环境下被广泛激活,可吞噬突触,损伤突触超微结构,造成认知损伤;另一方面,这些免疫细胞还可产生大量促炎细胞因子,介导疾病进展。我们前期研究发现,肥胖小鼠脑区小胶质细胞大量激活,诱导神经炎症,损伤突触超微结构,造成学习、记忆及生活自理相关行为学异常,表明神经炎症是肥胖导致认知损伤的重要基础。因此,改善神经炎症,修复神经元损伤,成为治疗认知功能障碍的重要策略。

[0005] 衣康酸是三羧酸循环产生的一种代谢产物,由顺乌头酸脱羧酶1催化顺乌头酸脱羧。较为熟知的是,衣康酸具有较强的杀菌及抗病毒效应。免疫代谢学的兴起,极大地拓宽了衣康酸在免疫调节机制及疾病中的作用认识。在体外LPS刺激的巨噬细胞中证实,衣康酸是巨噬细胞免疫与代谢的重要连接点,也是负向调控巨噬细胞炎症反应的一个关键代谢结点。因此,衣康酸具备防治炎性疾病的潜力。然而,由于天然的衣康酸无法通过细胞膜,限制了其开发应用。而衣康酸衍生物—衣康酸二甲酯(Dimethyl itaconate,DI)可顺利通过细胞膜,具有较好的抗炎作用。但衣康酸二甲酯是否能够改善肥胖引起的认知功能损伤和神经退行性疾病,未有报道。

发明内容

[0006] 为了解决上述技术问题,本发明提供了以下技术方案:

[0007] 本发明提供了衣康酸二甲酯在制备治疗和/或预防神经退行性疾病的药物中的应用。

- [0008] 优选地,所述衣康酸二甲酯通过抑制小胶质细胞分泌TNF- α 及IL-6,防止神经炎症反应的发生。
- [0009] 优选地,所述衣康酸二甲酯用于制备改善肥胖诱导的认知功能损伤的药物。
- [0010] 优选地,所述认知功能损伤是:
- [0011] 以学习、记忆及生活自理能力下降为特征的认知功能损伤;和/或
- [0012] 以突触超微结构损伤为特征的认知功能损伤;和/或
- [0013] 以神经炎症为特征的认知功能损伤。
- [0014] 优选地,所述衣康酸二甲酯能够用于制备改善由肥胖导致的学习、记忆及生活自理能力下降的药物。
- [0015] 优选地,所述衣康酸二甲酯通过增加突触后膜蛋白PSD95的厚度、增加活性带长度、降低突触间隙宽度,防止突触超微结构损伤。
- [0016] 优选地,所述衣康酸二甲酯能够用于制备突触前膜蛋白SYN、突触后膜蛋白PSD95及神经营养因子BDNF的表达上调剂。
- [0017] 优选地,所述衣康酸二甲酯能够用于制备海马区CA1、CA3、DG中小胶质细胞的增殖抑制剂;和/或
- [0018] 所述衣康酸二甲酯能够用于制备海马区CD68、TNF- α 、IL-6及IL-1 β mRNA水平的表达下调剂。
- [0019] 优选地,所述神经退行性疾病为阿尔茨海默症或肥胖相关认知障碍。
- [0020] 本发明还提供一种用于治疗 and/或预防神经退行性疾病的药物,其以上述任一项所述的衣康酸二甲酯为活性成分,并辅以药学上可接受的辅料或载体。
- [0021] 对比现有技术,本发明的有益效果为:
- [0022] 1、本发明提供了衣康酸二甲酯在制备治疗与预防神经退行性疾病的药物中的应用,该衣康酸二甲酯可以通过抑制小胶质细胞分泌TNF- α 及IL-6,防止神经炎症反应的发生;也可以治疗和/或预防由肥胖诱导的认知功能损伤性疾病。
- [0023] 2、本发明实验研究证明:(1)衣康酸二甲酯能够有效下调LPS及棕榈酸诱导的小胶质细胞炎症;(2)衣康酸二甲酯能够改善高脂饮食诱导肥胖小鼠的认知损伤;(3)衣康酸二甲酯能够改善高脂饮食诱导肥胖小鼠的突触超微结构损伤;(4)衣康酸二甲酯能够减轻高脂饮食诱导肥胖小鼠的神经炎症;(5)衣康酸二甲酯对高脂饮食诱导肥胖小鼠的体重、肝脏、脂肪重量、能量摄入、胰岛素抵抗均无明显影响。

附图说明

- [0024] 图1衣康酸在三羧酸循环中的地位示意图;
- [0025] 图2是CCK-8法检测不同浓度衣康酸二甲酯对小胶质细胞增殖影响及毒性作用;*** $P<0.001$;
- [0026] 图3是衣康酸二甲酯抑制LPS刺激的小胶质细胞分泌TNF- α 及IL-6;A、TNF- α ,B、IL-6;** $P<0.01$,*** $P<0.001$;
- [0027] 图4是衣康酸二甲酯抑制棕榈酸刺激的小胶质细胞分泌TNF- α 及IL-6;A、TNF- α ,B、IL-6;* $P<0.05$,*** $P<0.001$;
- [0028] 图5是小鼠的筑巢行为学实验中棉花的撕开情况;

- [0029] 图6是小鼠筑巢行为学评价;A、筑巢评分统计;B、未撕开棉花重量统计;*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001;
- [0030] 图7是小鼠物体位置识别实验代表图;
- [0031] 图8是小鼠物体位置识别实验中探索新位置物体的时间占总的探索时间的百分比;*P<0.01;
- [0032] 图9是小鼠新物体试别实验代表图;
- [0033] 图10是小鼠新物体试别实验中探索新物体的时间占总的探索时间的百分比;*P<0.01,***P<0.001;
- [0034] 图11是小鼠的体重变化;A、体重曲线,B、累计体重变化;***P<0.001;
- [0035] 图12是小鼠剖杀时体重及肝重;A、剖杀时体重,B、肝重;***P<0.001;
- [0036] 图13是小鼠脂肪重量变化;A、剖杀时皮下脂肪重,B、剖杀时附睾脂肪重,C、剖杀时棕色脂肪重;*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001;
- [0037] 图14是小鼠能量摄入情况;*P<0.01;
- [0038] 图15是对小鼠胰岛素抵抗的影响;A、空腹血清胰岛素水平;B、HOMA-IR指数;C、糖耐量曲线;D、糖耐量曲线下面积;*P<0.01,***P<0.001;
- [0039] 图16是透射电镜检测突触超微结构图;图中PSD是指突触后膜,AZ是指活性带,SC是指突触间隙;
- [0040] 图17是透射电镜检测PSD厚度、活性带长度、突触间隙宽度;A、PSD厚度统计,B、活性带长度统计,C、突触间隙宽度统计;*P<0.05,**P<0.01;
- [0041] 图18是Westernblot法检测海马区SYN蛋白图;A、表达代表图;B、SYN蛋白的统计结果;*P<0.01,***P<0.001;
- [0042] 图19是Westernblot法检测海马区PSD95蛋白图;A、表达代表图;B、PSD95蛋白的统计结果;*P<0.05;
- [0043] 图20是Westernblot法检测海马区BDNF蛋白图;A、表达代表图;B、BDNF蛋白的统计结果;*P<0.05;
- [0044] 图21是海马区CA1、CA3、DG的Iba-1免疫荧光代表图;
- [0045] 图22是Iba-1⁺细胞的变化图;A、每个视野中Iba-1⁺细胞的数量;B、Iba-1⁺细胞的Circularity分析;C、Iba-1⁺细胞的solidity分析;*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001;
- [0046] 图23是RT-PCR检测海马区CD68 mRNA、TNF- α mRNA、IL-6mRNA及IL-1 β mRNA水平;A、CD68 mRNA,B、TNF- α mRNA水平,C、IL-6mRNA水平,D、IL-1 β mRNA水平;*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001。

具体实施方式

[0047] 下面通过实施例进一步描述本发明,但是本发明不受这些实施例的限制。凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

[0048] 本发明提供衣康酸二甲酯在制备治疗和/或预防神经退行性疾病的药物中的应用。经过体外实验证实:衣康酸二甲酯能够有效抑制小胶质细胞介导的神经炎症。

[0049] 本发明人在研究中发现,衣康酸二甲酯能够显著改善肥胖诱导的认知功能损伤。

在体内试验验证:衣康酸二甲酯能够改善学习、记忆及生活自理能力下降、改善突触超微结构,并抑制小胶质细胞活化以及下调神经炎症。

[0050] 上述衣康酸二甲酯能够用于制备预防、缓解或治疗改善学习和记忆功能下降的药物。

[0051] 上述衣康酸二甲酯能够用于制备预防、缓解或治疗改善突触损伤的药物。

[0052] 上述衣康酸二甲酯能够用于制备预防、缓解或治疗改善神经炎症的药物。

[0053] 上述衣康酸二甲酯能够用于制备预防、缓解或治疗改善小胶质细胞介导神经炎症的药物。

[0054] 下面结合具体实验对本发明的效果进行说明。

[0055] 需要说明的是,以下实验结果中对应的附图中所指:LC+Vehicle为正常饮食小鼠注射PBS对照组、LC+DI为正常饮食小鼠注射衣康酸二甲酯(Dimethyl itaconate,DI,货号:617-52.7,Sigma-Aldrich)对照组、HF+Vehicle为高脂饮食诱导肥胖小鼠注射PBS组、HF+DI为高脂饮食诱导肥胖小鼠注射DI组。

[0056] 一、体外实验

[0057] 1、方法

[0058] 1.1、将小胶质细胞系BV-2以 5×10^4 /ml铺于96孔细胞培养板,待细胞贴壁后,分为Vehicle对照组、不同浓度DI组,培养24h后,用CCK-8法检测DI对BV-2增殖或毒性作用。

[0059] 1.2、将BV-2以 2×10^5 /ml铺于24孔细胞培养板,待细胞贴壁后,分为Vehicle对照组、LPS(100ng/ml)组、棕榈酸盐(Palmitate Sodium,PA,2.5mM)组、DI组(0.25 μ M)、PA+DI组、LPS+PA组。培养24h后,用ELISA法检测培养上清中炎症因子TNF- α 、IL-6的分泌情况。

[0060] 2、结果

[0061] 在三羧酸循环中,衣康酸由顺乌头酸脱羧酶1催化顺乌头酸脱羧产生(图1)。

[0062] 2.1、不同浓度衣康酸二甲酯对BV-2小胶质细胞增殖影响及作用

[0063] CCK-8法检测不同浓度衣康酸二甲酯对BV-2小胶质细胞增殖影响及作用,确定0.25 μ M为最适体外刺激BV-2细胞浓度(图2)。

[0064] 2.2、对LPS及棕榈酸刺激的BV-2细胞的影响

[0065] 在LPS(细菌脂多糖)刺激的BV-2细胞中,衣康酸二甲酯可显著抑制小胶质细胞分泌TNF- α 及IL-6(图3);

[0066] 在棕榈酸刺激的BV-2细胞中,衣康酸二甲酯可显著抑制小胶质细胞分泌TNF- α 及IL-6(图4)。

[0067] 以上结果说明,衣康酸二甲酯可显著抑制小胶质细胞相关的神经炎症。

[0068] 二、体内试验

[0069] 1、小鼠及分组

[0070] 7周龄雄性C57BL/6J小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司,适应一周后,随机分成4组,每组10只:①LC+Vehicle组:常规饲料喂养,每鼠每周2次腹腔注射200 μ l的无菌PBS溶液;②LC+DI组:常规饲料喂养,每鼠每周2次腹腔注射含DI(Dimethyl itaconate,0.5mg/kg,货号:617-52.7)的PBS溶液200 μ l;③HF+Vehicle组:高脂饲料喂养,每鼠每周2次腹腔注射200 μ l的无菌PBS溶液;④HF+DI组:高脂饲料喂养,每鼠每周2次腹腔注射含DI(0.5mg/kg)的PBS溶液200 μ l。上述小鼠于SPF级动物中心饲养12周。每周监测摄食量以及体

重变化。

[0071] 2、小鼠行为学测试

[0072] 上述小鼠饲养12周后进行行为学实验。

[0073] 2.1、筑巢实验

[0074] 天黑前1h,鼠笼垫料,每笼放一块绵垫(3g),把鼠放入笼中,1只/笼,第二天评估筑巢得分并称重未撕开的棉垫(大于0.1g的棉垫定义为未撕开),用于评估小鼠日常活动的执行能力。

[0075] 筑巢得分评价标准:

[0076] 1分:未筑巢(棉花90%以上剩余);

[0077] 2分:巢穴部分成型(棉花50%-90%以上剩余);

[0078] 3分:巢穴基本成型但无法分辨筑巢位置(棉花50%-90%已经被撕碎,但是棉花不是聚集在同一个巢穴中,而是散布在笼子中);

[0079] 4分:巢穴成型但平坦(超过90%的棉花被撕碎,但巢穴四周高度小于老鼠身体高度的50%);

[0080] 5分:巢穴接近完美(超过90%的棉花被撕碎,且巢穴四周高度大于老鼠身体高度的50%)。

[0081] 2.2、新物体识别(New object recognition,NOR)实验

[0082] 实验前1天,将鼠拿至行为学实验室熟悉环境,在行为学箱子里自由探索5min;24h后,行为箱里放两个相同的物体,探索5min;间隔1h后,其中一个物体被替换为新物体,探索5min。记录探索每个物体的时间,用于评估小鼠的记忆识别能力。

[0083] 2.3、物体位置识别实验

[0084] 实验前1天,将鼠拿至行为学实验室熟悉环境,在行为学箱子里自由探索5min;24h后,在行为箱放入两个相同的物体,探索5min;间隔1h后,将其中一个物体移到新的位置,探索5min。记录探索每个物体的时间,用于评估小鼠的空间记忆能力。

[0085] 3、HOMA-IR测定

[0086] 小鼠禁食6h后,通过鼠尾采血法获取全血,用血糖检测仪检测空腹血糖含量(mmol/L),用ELISA法测定空腹胰岛素含量(mU/L)。计算稳态模型胰岛素抵抗指数(Homeostasis model assessment-insulin resistance,HOMA-IR): $HOMA-IR = \text{血糖浓度}(\text{mmol/L}) * \text{胰岛素浓度}(\text{mU/L}) / 22.5$ 。

[0087] 4、葡萄糖耐量测定

[0088] 检测前小鼠禁食16h,腹腔注射葡萄糖,注射量为1g/kg体重。通过鼠尾采血法获取全血,用血糖检测仪分别检测注射后0、15min、30min、45min、1h和2h的血糖浓度(mmol/L)。

[0089] 5、免疫荧光

[0090] 新鲜结肠用质量分数4%多聚甲醛固定24h后,石蜡包埋,制作石蜡切片(5 μm)。切片脱蜡至水,抗原修复,3%BSA封闭,用ZO-1(Servicebio,GB11195,1:200稀释)和F4/80(Servicebio,GB11195,1:1000稀释)一抗4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜,用Cy3标记的山羊抗兔荧光二抗避光室温下孵育50分钟,DAPI(Servicebio,G1012)复染细胞核,避光室温孵育10分钟。滴加自发荧光淬灭剂5分钟,抗荧光淬灭封片剂封片。

[0091] 新鲜脑组织固定24h后,蔗糖脱水,OCT包埋剂包埋后,冰冻切片机切片,厚度20 μm 。

切片控水后,质量分数4%多聚甲醛固定,然后进行抗原修复,3%BSA封闭,Iba-1 (Servicebio,GB13105,1:50稀释)和GFAP (Servicebio,GB11096,1:800稀释)一抗4℃孵育过夜。PBS清洗后,Cy3标记的山羊抗兔荧光二抗避光室温孵育50分钟,DAPI (Servicebio, G1012)复染细胞核,避光室温孵育10分钟。滴加自发荧光淬灭剂5分钟,抗荧光淬灭封片剂封片。

[0092] 使用OLYMPUS IX51倒置荧光显微镜对上述结肠及脑组织样本进行观察,并用ImageJ统计视野内阳性细胞数量。

[0093] 6、透射电镜

[0094] 小鼠经生理盐水及质量分数4%多聚甲醛灌注后,取左侧海马CA1区1mm³组织。2%多聚甲醛-2.5%戊二醛混合物固定24小时后,PBS冲洗三次。用1%四氧化锇(OsO₄)后固定2小时,然后梯度乙醇和丙酮脱水,包埋在环氧树脂中,制作超薄切片(70nm),用4%醋酸铀酰和0.5%柠檬酸铅染色。使用FEI Tecnai G2SpiritTwin透射电镜测定Gray I型非对称突触的超微结构,并对非对称突触突触形态进行研究。使用Image J软件分析突触活性带长度、突触后致密物厚度、突触间隙宽度三个指标变化。

[0095] 7、Westernblot

[0096] 用细胞裂解液裂解细胞和组织。总蛋白浓度采用BCA法测定。样品在95℃的SDS上样缓冲液中加热。使用10%的SDS-PAGE凝胶进行分级,然后转移到PVDF膜上。使用BDNF、PSD95、SYN和β-Actin抗体在含1%脱脂牛奶的TBST中4℃过夜。二抗孵育1h。将化学发光液A和B按1:1体积配制混匀。将化学发光液完全覆盖在膜上,应用凝胶电泳成像分析仪进行拍照分析。

[0097] 8、荧光定量RT-PCR

[0098] 用Trizol法提取海马组织RNA,并进行逆转录,使用Roche LightCycler 480II荧光定量PCR仪进行检测。用公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算特定基因的mRNA水平,并用β-actin mRNA水平进行归一化。荧光信号由荧光DNA结合染料(SYBR Green I)产生。荧光定量PCR仪上机程序:①预变性:95℃5分钟。②扩增循环:变性:95℃15秒。退火:60℃15秒。延伸:72℃15秒。共45个循环。③熔解程序:95℃5秒,65℃1分钟,然后加热升温至97℃变性DNA产物。④冷却程序:40℃30秒。引物序列见表1。

[0099] 表1荧光定量PCR引物序列

[0100]

引物名	上游序列 (Forward)	下游序列 (Reverse)
TNF-α	CTTGTTGCCTCCTCTTTGCTTA	CTTTATTTCTCTCAATGACCCGTAG
IL-6	TCACAGAAGGAGTGGCTAAGGACC	ACGCACTAGGTTTGCCGAGTAGAT
IL-1β	TGGGAAACAACAGTGGTCAGG	CTGCTCATTACGAAAAGGGA
CD68	TCACCTTGACCTGCTCTCTCTAA	GCTGGTAGGTTGATTGTCGTCTG
β-actin	CGTGGGCCGCCCTAGGCACCA	TTGGCCTTAGGGTTCAGGGGGG

[0101] 9、统计分析

[0102] 正态分布的计量资料以 $\bar{X}\pm S$ 表示。经正态性和方差齐性检验,具有正态性和方差齐性的两组比较采用t检验,多组计量资料间差异比较采用单因素方差分析(ANOVA),各组间的两两比较使用Turkey's法检验,其中多个实验组与对照组比较采用Dunnett法检验。检

验水准 $\alpha=0.05$ 。应用SPSS 21.0软件进行统计学分析。

[0103] 10、结果

[0104] 10.1、衣康酸二甲酯能够改善高脂饮食诱导肥胖小鼠的认知损伤

[0105] 在筑巢实验中,衣康酸二甲酯能显著提高肥胖小鼠的筑巢评分,降低未撕开棉的重量(图5-6),表明衣康酸二甲酯可改善肥胖小鼠的生活自理能力。

[0106] 在物体位置试别实验中,相比溶液对照组,衣康酸二甲酯干预肥胖小鼠探索新位置物体的时间占总的探索时间的百分比明显增加(图7-8)。

[0107] 在新物体试别实验中,衣康酸二甲酯干预肥胖小鼠探索新物体的时间占总的探索时间的百分比明显增加(图9-10)。

[0108] 以上研究结果表明,衣康酸二甲酯能够改善高脂饮食诱导肥胖小鼠的生活自理、学习及记忆能力。

[0109] 10.2、衣康酸二甲酯对高脂饮食诱导肥胖小鼠的体重、肝脏、脂肪重量、能量摄入、胰岛素抵抗的影响

[0110] 衣康酸二甲酯并不能改善肥胖小鼠的体重以及体重增长(图11)。剖杀时,相对对照肥胖小鼠,衣康酸二甲酯干预肥胖小鼠的体重、肝脏重量、皮下脂肪、附睾脂肪及棕色脂肪的重量均未明显改变(图11-13),且其每日能量摄入无明显变化(图14)。

[0111] 相对对照肥胖小鼠,衣康酸二甲酯并不会明显改善肥胖小鼠的空腹血清胰岛素水平以及HOMA-IR指数(图15A-B);但可显著影响肥胖小鼠的葡萄糖耐量情况(图15C-D)。

[0112] 10.3、衣康酸二甲酯能够改善高脂饮食诱导肥胖小鼠的突触超微结构损伤

[0113] 透射电镜检测结果显示,衣康酸二甲酯能显著增加肥胖小鼠突触后膜蛋白PSD95的厚度、增加活性带长度、降低突触间隙宽度(图16-17)。

[0114] Westernblot显示,相对对照肥胖小鼠,衣康酸二甲酯干预肥胖小鼠海马区突触前膜蛋白(SYN)、突触后膜蛋白PSD95以及神经营养因子BDNF的表达均明显上调(图18-20)。

[0115] 这些结果表明,衣康酸二甲酯可有效防止高脂饮食诱导的突触超微结构损伤。

[0116] 10.4、衣康酸二甲酯能够减轻高脂饮食诱导肥胖小鼠的神经炎症

[0117] 相比肥胖对照小鼠,衣康酸二甲酯干预小鼠海马区CA1、CA3、DG中Iba-1⁺细胞(小胶质细胞)的数量明显减少(图21),且细胞的Circularity、solidity指标明显降低(图22)。表明衣康酸二甲酯可抑制小胶质细胞数量增多及活化。

[0118] 与此同时,衣康酸二甲酯干预肥胖小鼠海马区CD68、TNF- α 、IL-6及IL-IL-1 β mRNA水平明显下调(图23)。

[0119] 这些结果表明,衣康酸二甲酯可抑制肥胖小鼠小胶质细胞的激活,从而改善神经炎症。

[0120] 综上,衣康酸二甲酯能够改善肥胖诱导的认知功能损伤、突触超微结构损伤以及神经炎症。

[0121] 以上公开的仅为本发明的具体实施例,但是,本发明实施例并非局限于此,任何本领域的技术人员能思之的变化都应落入本发明的保护范围。

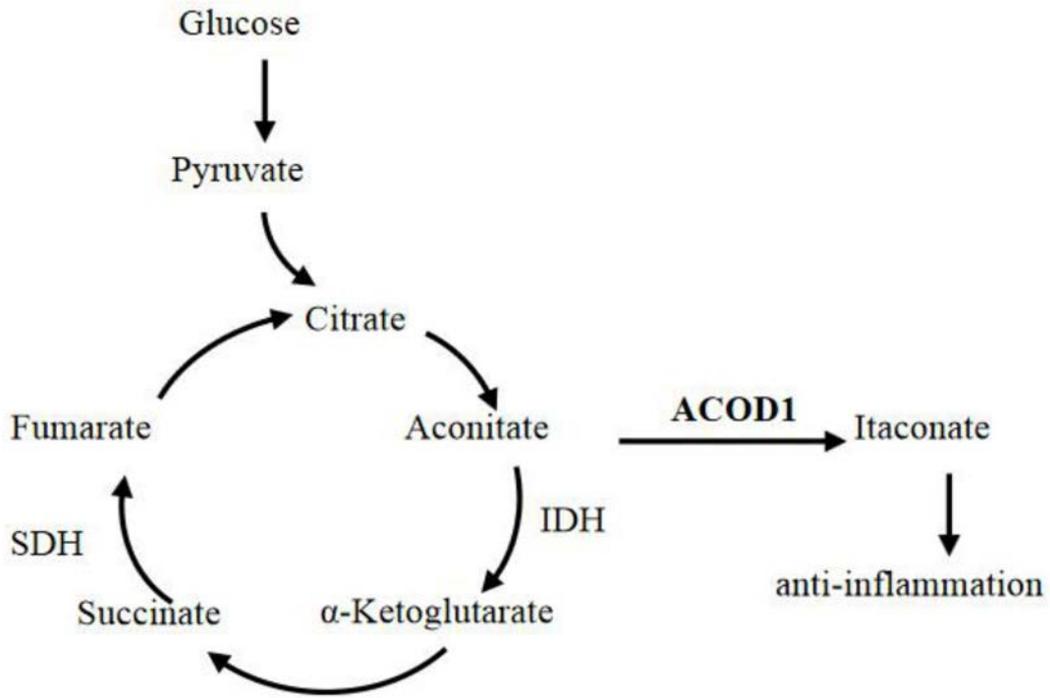


图1

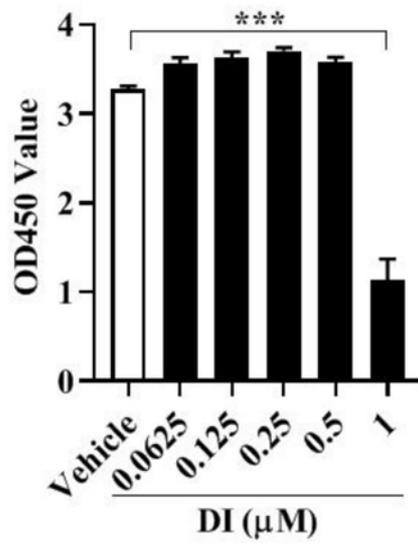


图2

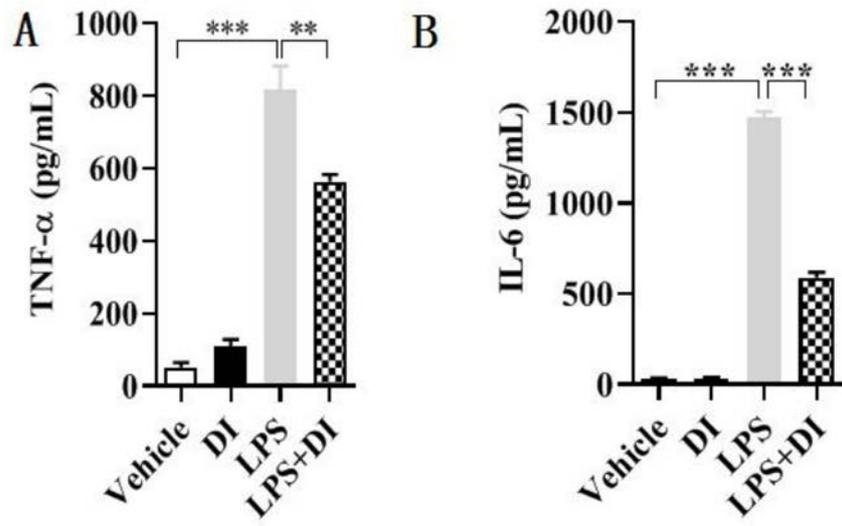


图3

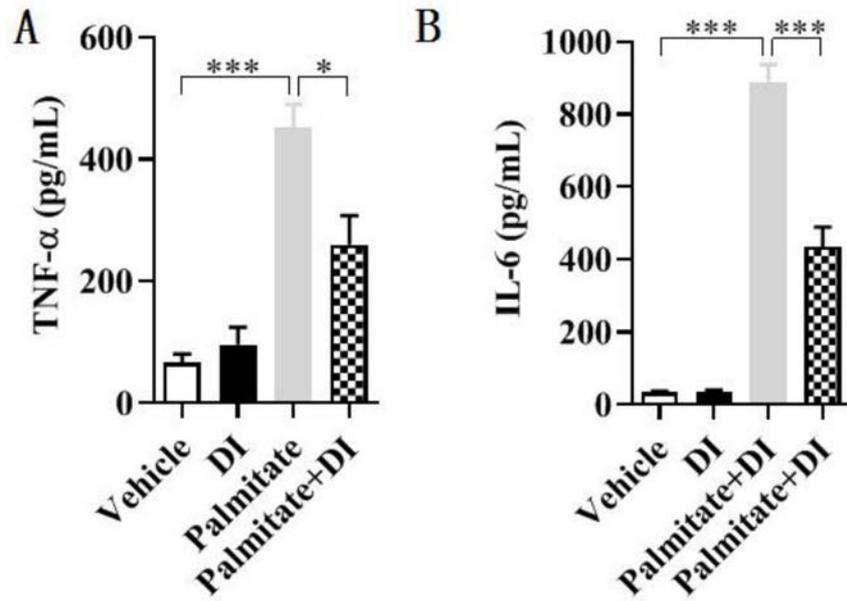


图4

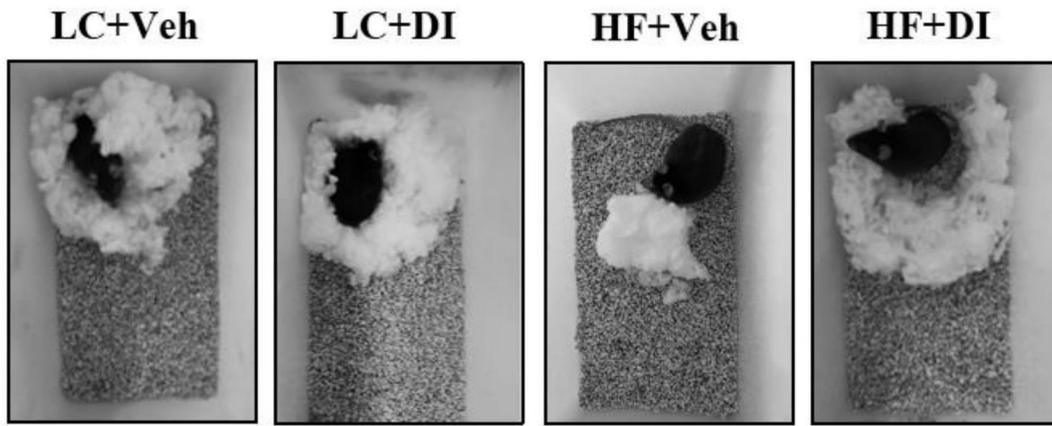


图5

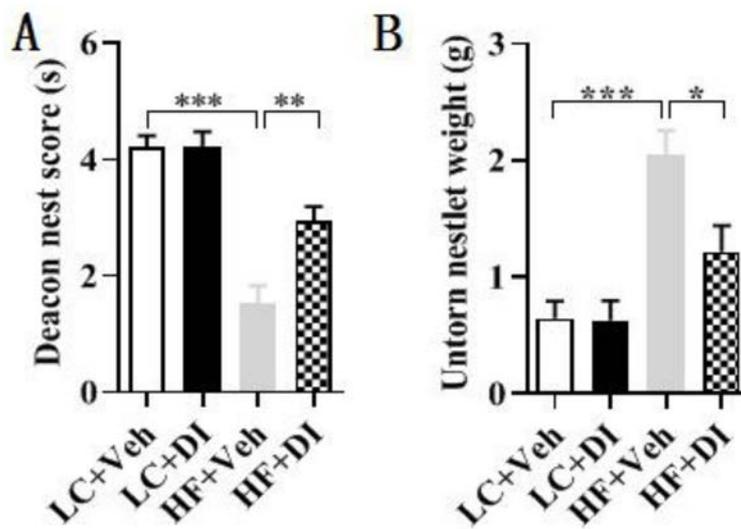


图6

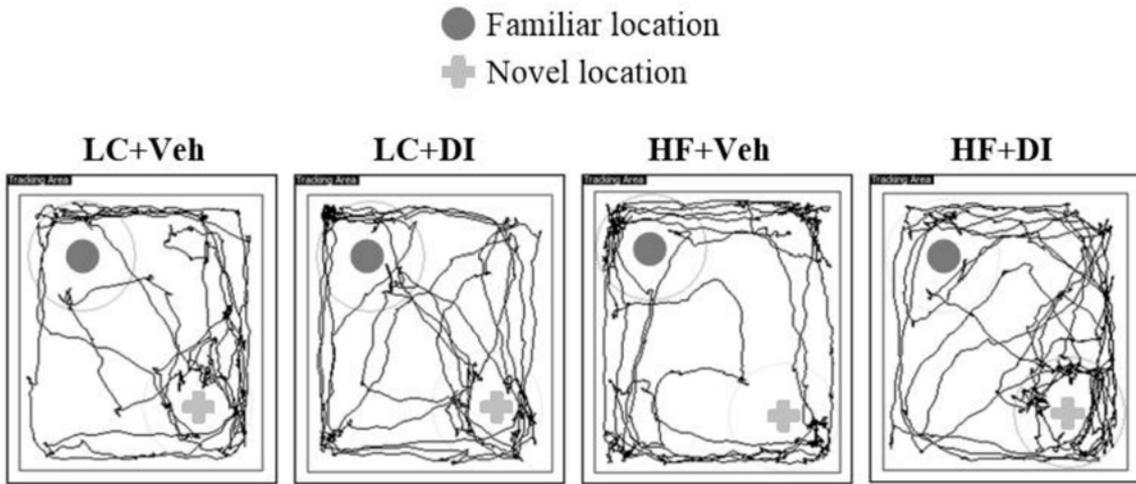


图7

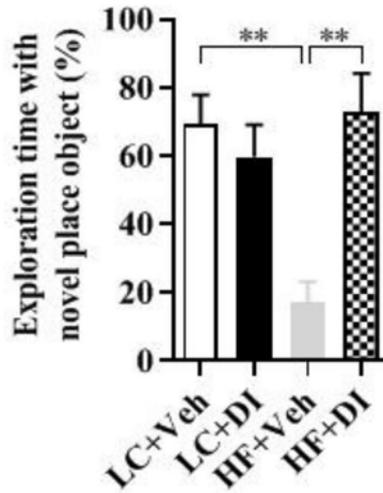


图8

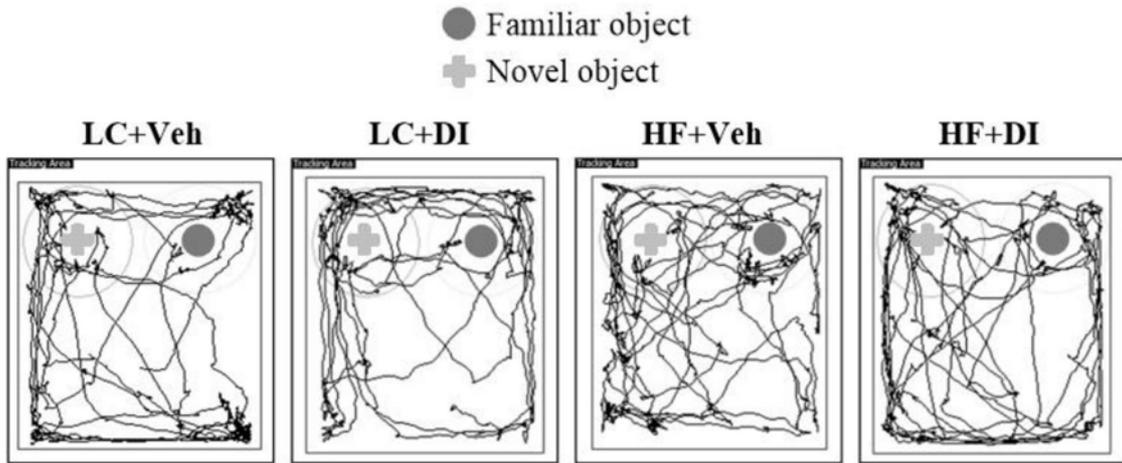


图9

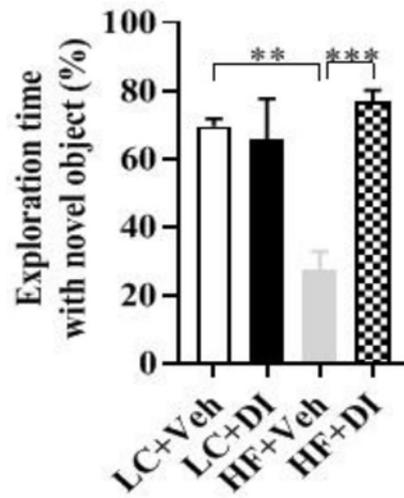


图10

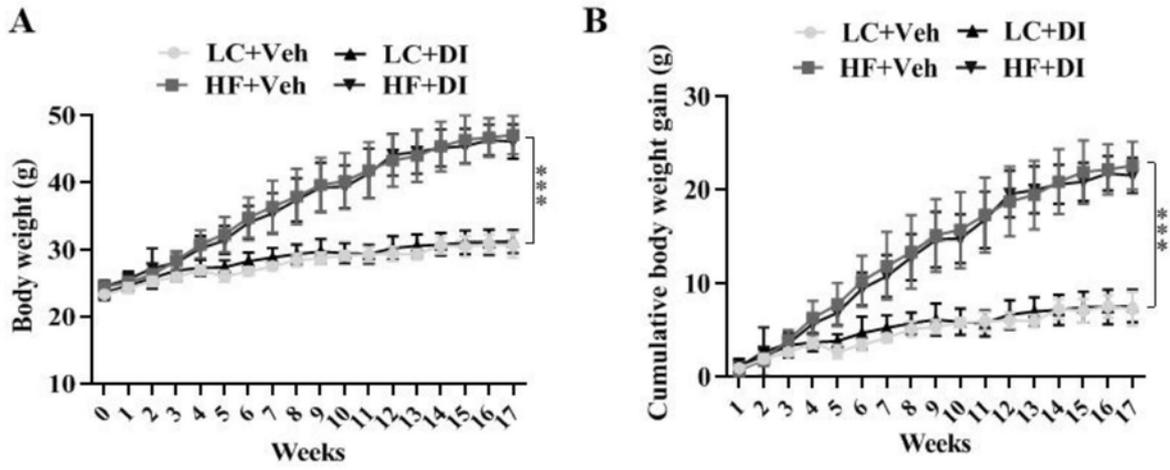


图11

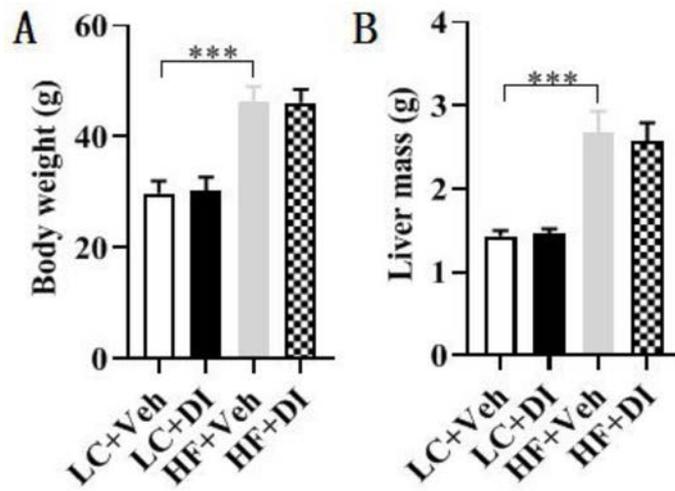


图12

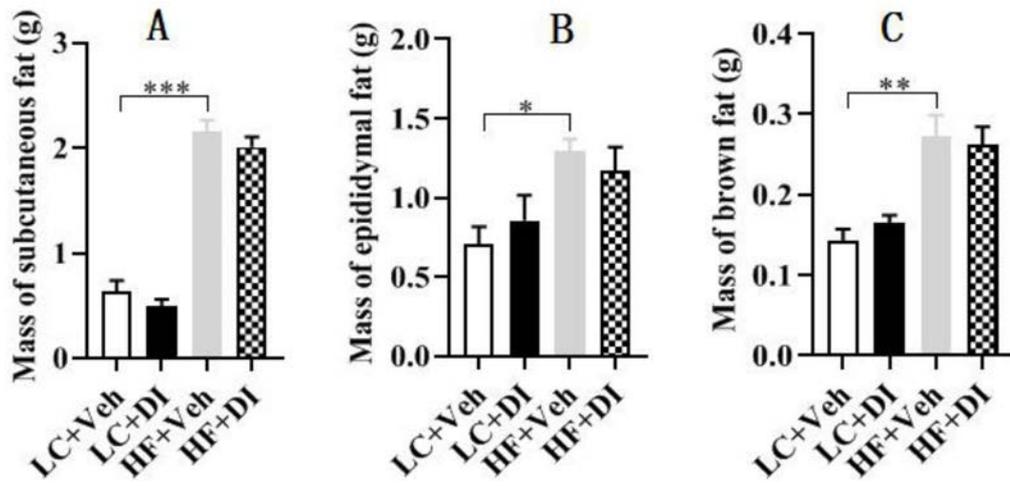


图13

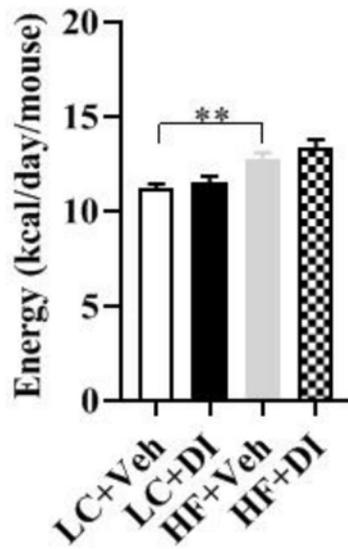


图14

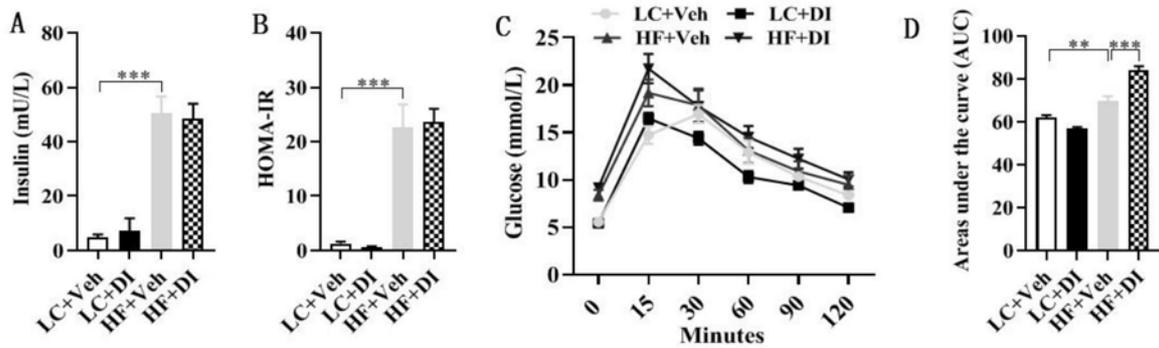


图15

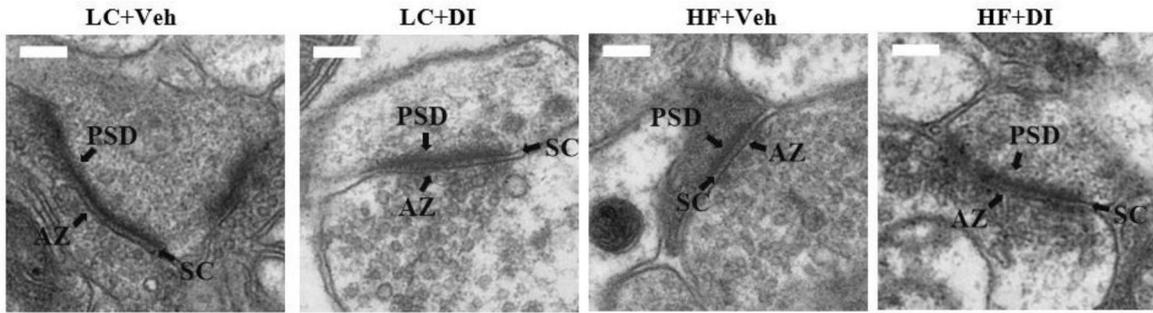


图16

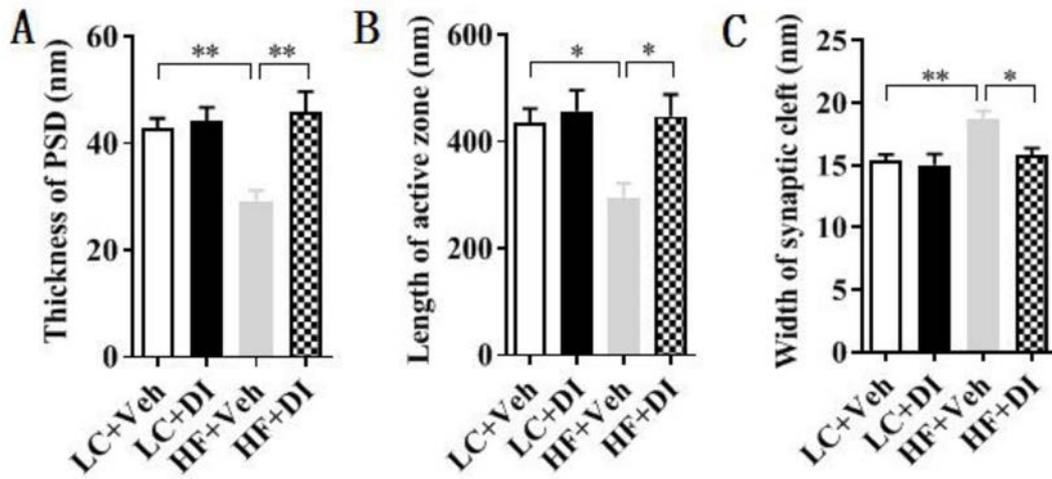


图17

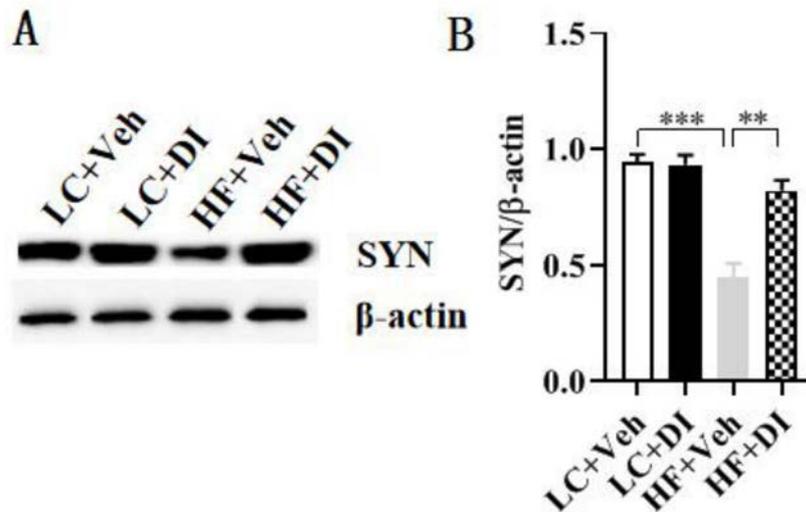


图18

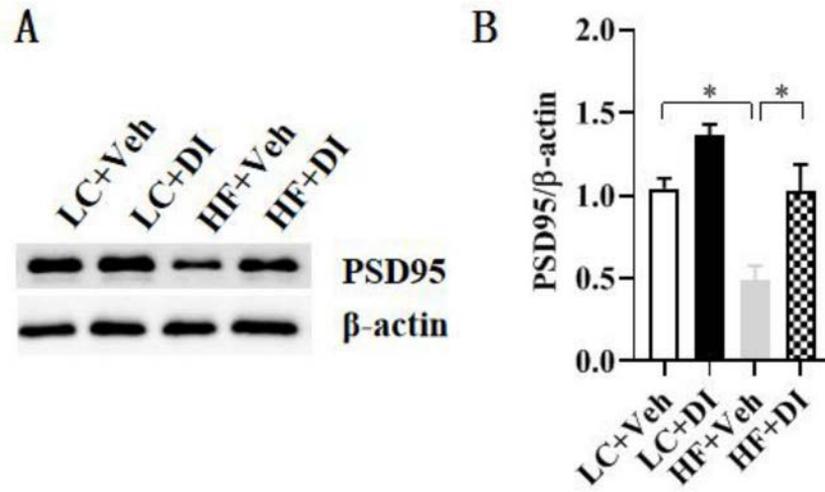


图19

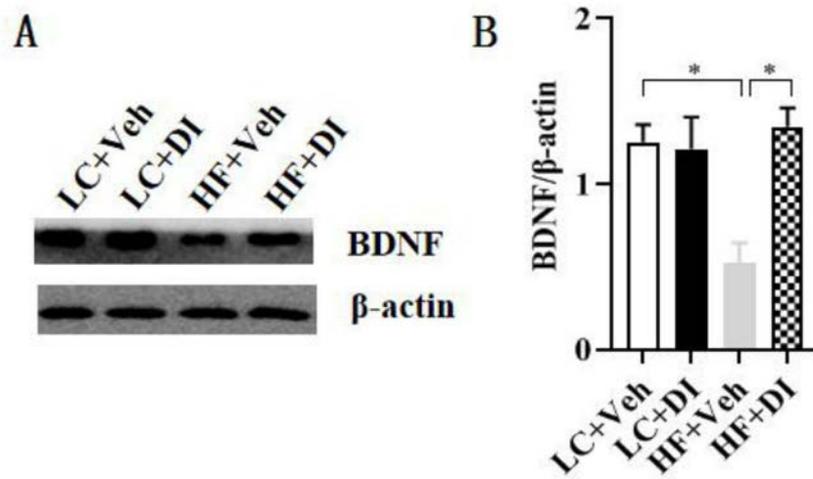


图20

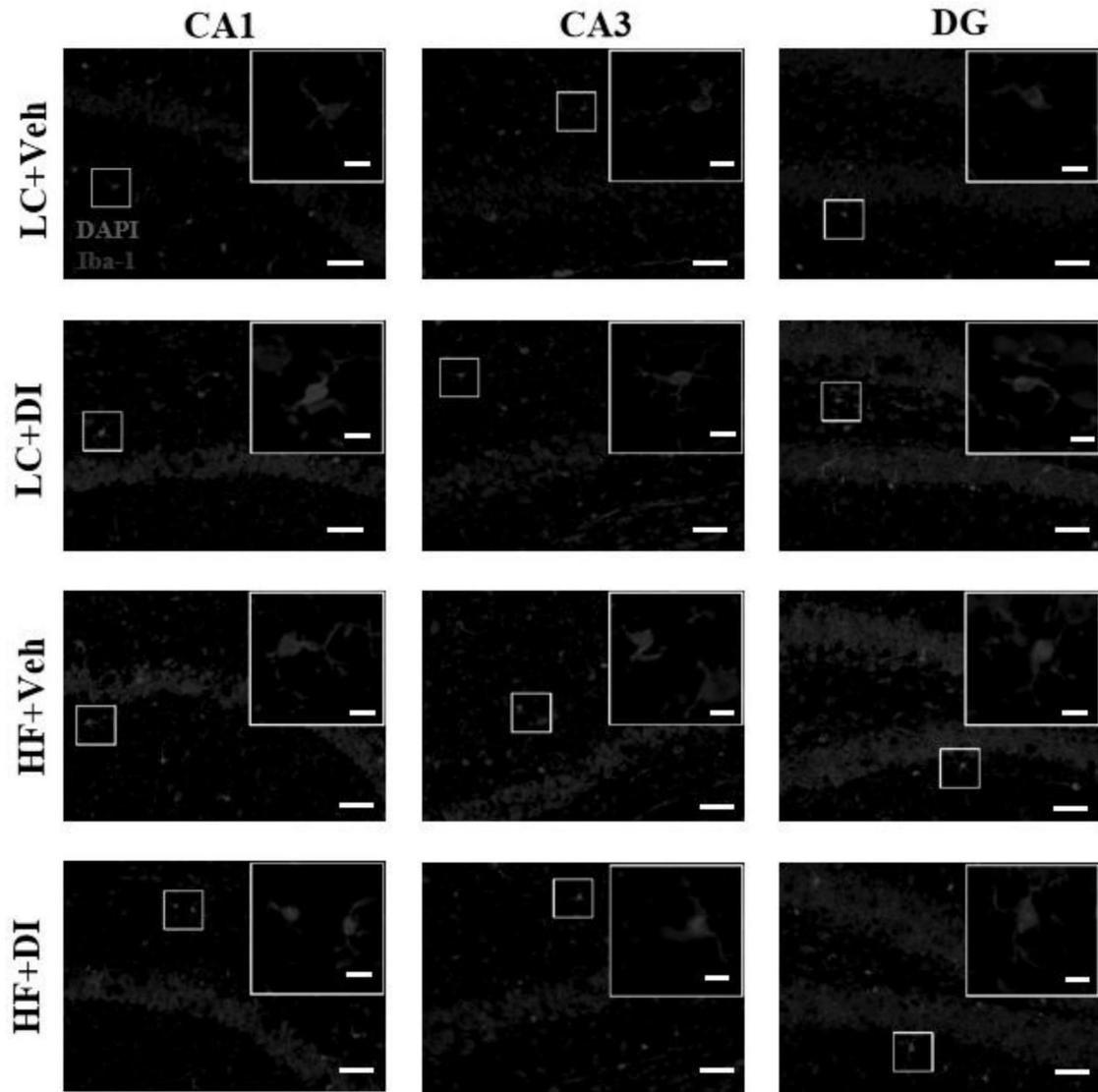


图21

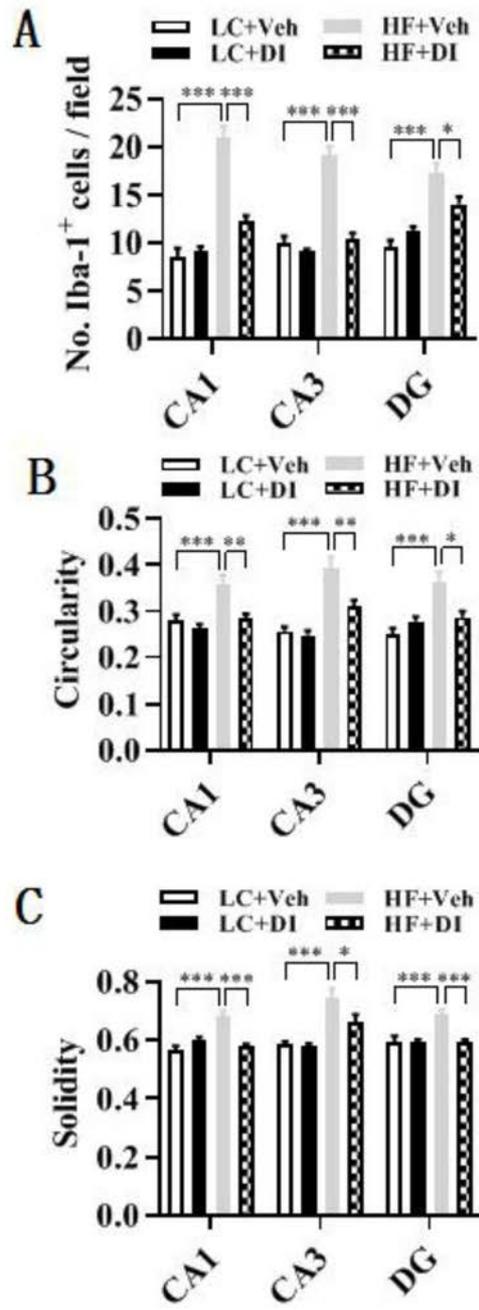


图22

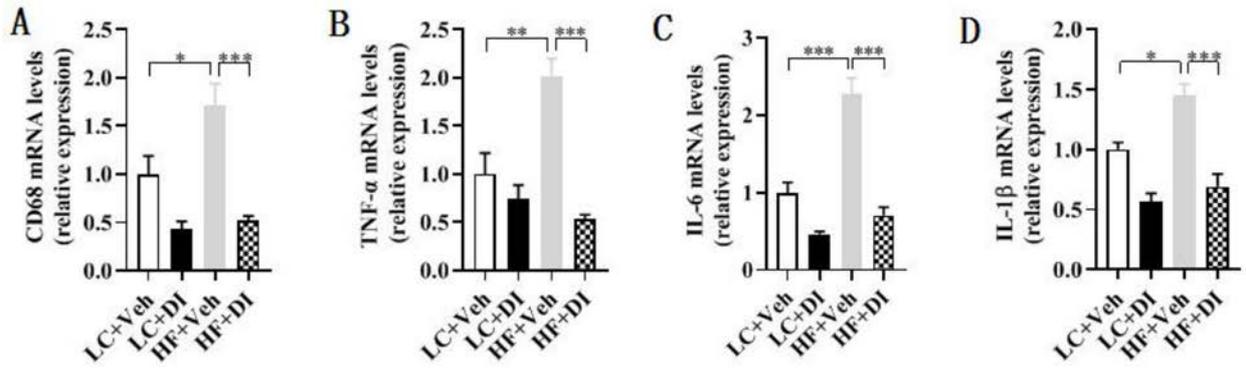


图23