

异类叶升麻苷或其药学上可接受的盐的用途

5

技术领域

本发明涉及异类叶升麻苷在抑制淀粉样 β 肽生成、积累或聚集的抑制剂的新用途，尤其涉及使用异类叶升麻苷预防或治疗与淀粉样 β 肽相关的疾病或状况的新用途。

10

背景技术

阿滋海默氏症(Alzheimer's disease)被认为与一种具有 39-43 个氨基酸的肽的积累相关，该肽被称为淀粉样 β 肽(amyloid β peptides)(简称 $A\beta$)，其为类淀粉前体蛋白 APP (amyloid precursor protein)的一种水解产物。其中 $A\beta$ 1-40 最为大量且毒性低，而 $A\beta$ 1-42 则对神经元有较高的毒性，且具高度纤维形成性(fibrillogenic)，被认为是与阿滋海默氏症的发病最为相关的 $A\beta$ 形式。 $A\beta$ 单体可经寡聚化而形成可溶性的 $A\beta$ 寡聚体(oligomer)，进一步聚集于细胞外形成不可溶性的纤维丝或老年斑块(senile plaque)。

一般认为与 $A\beta$ 相关的疾病或状况包含唐氏症(Down syndrome)、荷兰型遗传性脑出血伴淀粉样变病(Hereditary cerebral hemorrhage with amyloid (HCHWA) Dutch)、关岛帕金森氏症-失智症复合症(Parkinsonism-dementia complex on Guam)(Clinical Neurology and Neurosurgery (1990) 92: 305-310); 大脑淀粉样血管病(J. Neuropath. Exp. Neuro. (2002) 61: 282-293); 包涵体肌炎(Neurology (2006) 66: 65-68); 额颞叶型失智症(Neuro report (2002) 13-5: 719-723); 年龄相关黄斑变性(Experimental Eye Research (2004) 78: 243-256); 皮克病(Pick's disease)(Neuroscience Letters (1994) 171: 63-66)及其它。

所述 $A\beta$ 相关的疾病或状况一般而言与 $A\beta$ 的生成、积累或聚集有关，包括因先天如遗传、或后天如老化或环境等因素而导致生物体中存在不正常的 $A\beta$ 或 $A\beta$ 聚集体数量。

一般认为如果能抑制 $A\beta$ 的生成、积累或聚集，应可作为有效预防或治疗阿滋海默氏症或其它与淀粉样 β 肽相关的疾病或状况的一种方式。

发明内容

鉴于淀粉样 β 肽和其聚集体，容易在生物体内引发各种疾病或状况，因此本发明的目的之一是提供一种抑制淀粉样 β 肽生成、积累或聚集的有效成份，其可作为食品、饮品、咀嚼物、贴片、皮肤保养品或其它添加剂。5 本发明的另一目的则是提供一种预防或治疗淀粉样 β 肽相关疾病或状况的药物及方法。

为达到上述目的，本发明揭示了以异类叶升麻苷或其医药学上可接受的盐抑制淀粉样 β 肽生成、积累或聚集的用途，以及制备预防或治疗淀粉10 样 β 肽相关的疾病或状况的药物的用途。

作为优选，上述异类叶升麻苷或其医药学上可接受的盐用以抑制该淀粉样 β 肽导致神经元的损伤或凋亡，进而保留、改善或恢复学习与记忆能力。

作为优选，上述药物对人类的有效剂量相当于每日每公斤体重 0.2 毫克至 4.0 毫克的异类叶升麻苷或其医药学上可接受的盐。15

为使本发明的上述目的、特征和优点能更明显易懂，下文特举出实施例，并配合附图作详细说明。

附图的简要说明

20 图 1 示出了各井(well)的细胞外 $A\beta$ 1-40 含量百分比，结果显示本发明的异类叶升麻苷(D)具有显著降低 $A\beta$ 1-40 在细胞外积累的极佳活性；

图 2 示出了各井的细胞内的 $A\beta$ 1-40 含量百分比；

图 3 示出了各测试样品对 APP 表现量的影响；

图 4 示出了各测试样品对 $A\beta$ 1-40 降解的影响；

25 图 5 示出了各测试样品对 $A\beta$ 1-42 寡聚化的影响；

图 6 示意地示出了 $A\beta$ 的生成、清除与聚集过程；

图 7 示出了动物试验的时程表；

图 8 示出了各测试样品对实验大鼠的探索能力影响；

图 9 示出了各测试样品对实验大鼠的被动回避反应的影响；

30 图 10 示出了各测试样品对实验大鼠进行水迷宫空间表现的影响；

图 11 示出了各测试样品对实验大鼠进行水迷宫参考记忆试验的影响；

图 12A-12E 示出了实验大鼠的脑部组织染色结果；

图 13A 示出了实验大鼠脑部皮质区和海马区的乙酰胆碱含量检测结

果;

图 13B 示出了实验大鼠脑部皮质区和海马区的胆碱含量检测结果;

图 14A 示出了实验大鼠脑部皮质区所测得的乙酰胆碱酯酶活性结果;

图 14B 示出了实验大鼠脑部海马区所测得的乙酰胆碱酯酶活性结果。

5

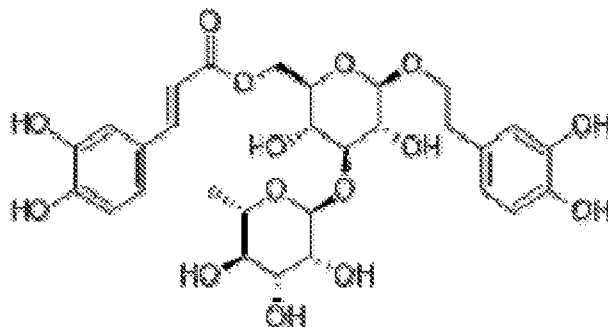
实施发明的最佳方式

许多由淀粉样 β 肽引发的疾病均具有一种共通的特征, 即淀粉样 β 肽聚集体的形成。这些淀粉样 β 肽聚集体可以如纤维或斑块的形态出现, 并且沉淀在生物体的系统、器官、组织或体液中, 进而引发各种疾病或状况。

10 如能有效抑制淀粉样 β 肽的生成、积累或聚集, 应可避免淀粉样 β 肽形成聚集体而引发的各种疾病或状况, 其应可作为有效预防或治疗淀粉样 β 肽相关疾病或状况的方式之一。

有鉴于此, 本发明以具有下式的异类叶升麻苷或其医药学上可接受的盐作为抑制(例如降低或避免)淀粉样 β 肽生成、积累或聚集的有效成份,

15 尤其是抑制淀粉样 β 肽于细胞外的生成、积累或聚集。



20 美国专利 7,087,252 B2 揭示了一种从管花肉苁蓉(*Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight)的肉质茎所制备的含 25-50 wt%松果菊苷(echinacoside)及 5-15 wt%类叶升麻苷(acteoside)的制剂, 其可用于抗老年痴呆症(senile dementia)。异类叶升麻苷及多种其它苯乙醇苷类(phenylethanoid glycosides)已知被包含于该制剂中。

25 在本发明中, 异类叶升麻苷的水合物或其它溶剂溶合物、前药及代谢物均被视为异类叶升麻苷的功能上的等同物。所述“前药”指某种前趋化合物可于生物条件(活体内或活体外)下水解、氧化或进行其它反应而产生异类叶升麻苷。所述“代谢物”指异类叶升麻苷于细胞或生物体内被代谢所形成的化合物。

当异类叶升麻苷的“医药学上可接受盐”施予生物体时, 其通常可具有与异类叶升麻苷相同或类似的医疗功效, 在生理上可忍受, 且不会产生过

敏或类似反应。所述异类叶升麻苷的医药学上可接受盐可包含但不限于铁盐、钙盐或镁盐等。

所述“预防”指避免或延迟疾病或状况在生物体中出现，而所述“治疗”则指减缓或阻止疾病或状况的发展，或使生物体的状况回复至较佳或正常的状态。

所述“淀粉样 β 肽相关性疾病或状况”指此疾病或状况的发生通常与淀粉样 β 肽的生成、积累或聚集相关，尤其指此疾病或状况的发生为淀粉样 β 肽所导致。而当在具有某种疾病或状况的一定比例的生物体上发现有淀粉样 β 肽的不正常生成、积累或聚集现象时，也可认为此疾病或状况为淀粉样 β 肽相关。另外，当淀粉样 β 肽的聚集处与疾病或状况所发生的病理特征影响位置相近时，亦可认为此疾病或状况为淀粉样 β 肽相关。

本发明所提供的抑制淀粉样 β 肽的有效成份，亦可作为食品、饮品等添加剂使用，以达到抑制淀粉样 β 肽生成、积累或聚集的方便性使用。

本发明所提供的用于治疗淀粉样 β 肽相关性疾病或状况的药物或医药组合物，包含异类叶升麻苷或其医药学上可接受的盐作为有效成份，并可包含适当的载剂、稀释剂或赋形剂等，以呈现如散剂(powder)、颗粒剂(granule)、锭剂(tablet)、片剂(troche)、丸剂(pill)、胶囊(capsule)、水性或油性溶液(solution)、悬浮液(suspension)、乳膏(cream)、软膏(ointment)、凝胶(gel)、气雾剂(aerosol)、栓剂(suppository)、贴剂(patch)或其它所需形式。上述药物或医药组合物可通过口腔、局部、非经肠、皮肤、鼻、眼、眼内或其它途径给药。

在本文中，所述“或”一般定义为“及/或”，除非另有特别说明。

随着世界人口老龄化的日益严重，与衰老有关的许多疾病例如失智症(dementia)已然成为现今老年疾病的重点医疗研究之一，而在各种失智症中又以阿滋海默氏症最为普遍。阿滋海默氏症是一种慢性的神经退化性疾病，其特征为病人逐渐失去认知能力且出现严重的行为异常，后续也会造成语言和运动能力的丧失，对病患本身与其家人的生活质量容易造成极大的影响。有鉴于罹患阿滋海默氏症的患者人数有逐渐增加的趋势，造成家庭与社会的严重负担，因此本发明特挑选与阿滋海默氏症较为相关的 $A\beta$ 进行试验。

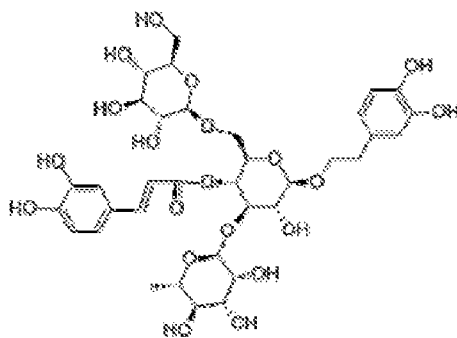
在下列实施例中，利用表一所提供的测试样品进行 $A\beta$ 试验，并且与未加入任何测试样品处理的对照组(Vehicle)进行比较。

表一：进行试验的样品

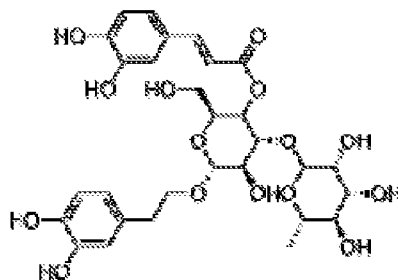
代号	试验样品	纯度(%)	来源
A	含苯乙醇苷的制剂	—	天力再生 Tianlife® (参考 US7087252B2 所述的抽提物)
B	松果菊苷	99	杏辉实验室
C	类叶升麻苷	97	杏辉实验室
D	异类叶升麻苷	97	杏辉实验室

松果菊苷(Echinacoside)、类叶升麻苷(Acteoside)和异类叶升麻苷(Isoacteoside)分别具有下列结构式:

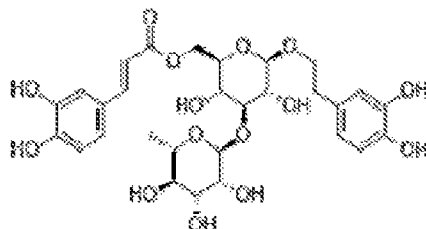
5 松果菊苷:



类叶升麻苷:



异类叶升麻苷:



10

实施例一：神经瘤母细胞株的培养

将原生型(wild type)人类神经瘤母细胞 SH-SY5Y 培养于 Eagle's

Minimum essential Medium (EMEM)/Ham's F12 medium (1:1 混合物) (含 10% FBS, 10 units/ml penicillin, 10 μ g/ml Streptomycin) 中, 而原生型小鼠神经瘤母细胞 Neuro-2a 则培养于 minimum essential medium (MEM) 培养基 (含 10% FBS, 10 units/ml penicillin, 10 μ g/ml Streptomycin) 中。

5

实施例二：各样品对 A β 1-40 于细胞外的积累测试

将实施例一中的原生型人类神经瘤母细胞 SH-SY5Y 的培养基置换成化学成份培养基 (EMEM/F12 medium (Cat.No.12500-062), Hepes 5 mM, 葡萄糖 0.6%, NaHCO₃ 3 mM, 麸酰胺 2.5 mM, 胰岛素 25 μ g/ml, Transferin 100 μ g/ml, Progesterone 20 nM, Putrescine 60 μ M, 亚硒酸钠 (Sodium selenite) 30 nM, Heparin 2 μ g/ml)。每个井 (well) 具有 1x10⁵ 个 SH-SY5Y 细胞, 而培养基体积为 300 μ l。30 分钟后, 将表一中所示的测试样品 A-D 分别以 50 μ g/ml 的浓度加入至不同井中处理 24 小时, 接着以 Human A β 1-40 Immunoassay kits (Catalog # KHB3482 Invitrogen) 分析各井的培养基中的 A β 1-40 含量。

人类神经瘤母细胞 SH-SY5Y 会积累 A β 于细胞外的培养基中, 而图 1 示出了 SH-SY5Y 井分别经各测试样品 A-D 处理后, A β 1-40 于培养基中的含量百分比, 其以未加入任何测试样品处理的对照组为比较基准。结果显示为平均值 $\pm$ 标准误差, 而对照组和测试样品组间的统计差异标示 * 表示 P<0.05, ** 表示 P<0.01, *** 表示 P<0.001。

参考图 1 所示, 测试样品 A (含苯乙醇苷的制剂) 和测试样品 C (类叶升麻苷) 减少培养基中的 A β 1-40 含量约 20%, 而测试样品 D (异类叶升麻苷) 则减少培养基中的 A β 1-40 含量达 47.44 $\pm$ 16.62%。图 1 结果显示异类叶升麻苷 (D) 具有显著降低 A β 1-40 于细胞外积累的极佳活性。

25

实施例三：各测试样品对 A β 1-40 于细胞内的积累实验

每个井均具有 1x10⁵ 个 SH-SY5Y 细胞, 而培养基体积为 300 μ l。将各井中的 SH-SY5Y 细胞以浓度 50 μ g/ml 的测试样品 A-D 处理 24 小时后, 分别将各井中的细胞部份制成细胞均质液, 并利用 Human A β 1-40 Immunoassay kits (Catalog # KHB3482 Invitrogen) 分析其 A β 1-40 含量。

图 2 示出了 SH-SY5Y 井的细胞内的 A β 1-40 含量百分比, 以未加入任何测试样品处理的对照组为比较基准。如图 2 所示, 测试样品 A-D 均未明显造成 A β 于细胞中积累。

实施例四：各测试样品对 APP 在细胞中表现的影响实验

- 每个井具有 1×10^5 个 SH-SY5Y 细胞，而培养基体积为 300 μl 。将各井中的 SH-SY5Y 细胞以浓度 50 $\mu\text{g/ml}$ 的测试样品 A-D 处理 24 小时后，
- 5 将细胞部分以均质缓冲液(50 mM Hepes pH 7.5, 1 mM EDTA, 150 mM NaCl, 1% NP-40, 1 mM PMSF, 5 $\mu\text{g/ml}$ aprotinin, 10 $\mu\text{g/ml}$ leupeptin)进行均质，利用超高速离心除去不溶物质。将蛋白质以 SDS-聚丙烯酰胺胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis)分离，并转渍到 PVDF 膜后再利用免疫转渍法(immunoblot) (antiA β 1-17, 6E10 或 antiAPP-c 端抗体)来检测
- 10 holoAPP 含量。

图 3 示出了测试样品 A-D 对 APP 在细胞中表现的影响，其以百分比表示，并以未加入任何测试样品处理的对照组(Vehicle)为基准。如图 3 所示，测试样品 A-D 并未降低 APP 表现的活性。

15 实施例五：各测试样品对 A β 1-40 于细胞外的降解实验

- 小鼠神经瘤母细胞 neuro-2a 会在化学成份培养基中释放出分解 A β 的酵素，但不会在培养基中积累足以侦测的 A β 量。将 neuro-2a 在培养基中培养 24 小时，之后将不含细胞的培养基取出，并分别以浓度 50 $\mu\text{g/ml}$ 的测试样品 A-D 及 10ng 人工合成的 A β 1-40 处理 24 小时，之后检视各测试
- 20 样品是否具有可促进培养基中的酵素降解 A β 的活性。利用 Human A β 1-40 Immunoassay kits(Catalog # KHB3482 Invitrogen)分别检验各井中的 A β 1-40 之残留量，其显示为百分比，并以未加入任何测试样品处理的对照组(Vehicle)为比较基准。如图 4 所示，测试样品 D (异类叶升麻苷)并未促进 A β 于细胞外的降解。

25

实施例六：各测试样品对 A β 1-42 寡聚化的实验

- 将干燥的 Human A β 1-42 自从冰箱取出静置至室温，加入 1,1,1,3,3,3-Hexa-fluoro-2-propanol(HFIP)溶解 A β 1-42 至浓度为 1mM，然后在室温下静置 1 小时。以 Hamilton 注射器将上述 A β 1-42/HFIP 容易进行分
- 30 装，并且以氮气将 HFIP 吹干，接着存放于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 。将 HFIP 处理后的 A β 1-42 以 PBS 溶解，并分别以浓度 50 $\mu\text{g/ml}$ 的测试样品 A-D 且于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下振荡处理 24 小时，以制备 A β 1-42 的寡聚物(oligomer)，并利用 thioflavine T 结合荧光(Ex=450 nm, Em=482 nm)以分析 A β 1-42 的寡聚化程度。

图 5 示出了测试样品 A-D 分别对 A β 1-42 寡聚化(oligomerization)的影响, 结果以百分比显示, 并以未加入任何测试样品处理的对照组为基准。参考图 5 所示测试样品 A(含苯乙醇苷的制剂)、B(松果菊苷)、C(类叶升麻苷)和 D(异类叶升麻苷)均具有抑制 A β 1-42 寡聚化的活性, 其中异类叶升麻苷(D)可抑制 A β 1-42 寡聚化程度达 98.93 ± 1.70 , 亦即异类叶升麻苷(D)可有效降低 A β 1-42 的寡聚化, 进而可抑制 A β 形成纤维丝或老年斑块。

图 6 示意地示出了 A β 的生成、清除与聚集过程(参考来源: Pharmacology & Therapeutics (2005) 108:131)。图 6 表明培养基中细胞外的 A β 积累(1)会受到 A β 细胞内积累量(2)、APP 表现(3)、A β 降解(4)、A β 寡聚化(5)以及 A β 生成(6)等影响。根据上述实施例二至六的细胞实验结果, 相较于其它测试样品 A-C 而言, 异类叶升麻苷(D)具有降低细胞外 A β 积累(1)的作用, 并且对于降低 A β 的寡聚化程度(5)有极佳的效用, 应可进一步用以抑制 A β 的聚集。此外, 异类叶升麻苷(D)降低 A β 于细胞外积累(1)的作用并非源于异类叶升麻苷增进了 A β 于细胞内的积累(2)、降低了细胞的 APP 表现(3)、或增进了 A β 于细胞外进行降解(4), 因此推测异类叶升麻苷(D)可直接减少 A β 的生成(6)。

综合上述结果, 异类叶升麻苷(D)或其医药学上可接受的盐可作为抑制 A β 生成、积累或聚集的有效成份, 预计异类叶升麻苷(D)可有效抑制 A β 导致神经元的损伤或凋亡, 以进而保留、改善或恢复学习与记忆能力。此外, 根据上述结果, 异类叶升麻苷(D)或其医药学上可接受盐应可用于预防或治疗 A β 相关疾病或状况, 以及用于抑制 A β 的生成、积累或聚集。

所述 A β 相关疾病或状况可包含但不限于阿滋海默氏症、轻度认知障碍、路易氏体失智症、唐氏症、荷兰型类淀粉变性症、关岛帕金森氏症-失智症复合症、大脑淀粉样血管病、包涵体肌炎、额颞叶型失智症、年龄相关性黄斑变性、皮克病以及其它。另外, 所述 A β 虽以 A β 中最大量的 A β 1-40 或具有高度纤维形成性的 A β 1-42 为例, 但也可包含其它胺基酸片段。

在上述测试样品中, 异类叶升麻苷(D)具有降低 A β 生成、积累和聚集的最佳效用。下列实施例七至十一中, 首先于 250~300 公克重的雄性 SD 大鼠(购自乐斯科股份有限公司)的侧脑室内输注 A β 1-42, 以造成大鼠的神经损坏, 影响大鼠的记忆与学习操作能力, 并可诱导大鼠脑中形成似老年斑块的沉积, 以作为拟似阿滋海默氏症的动物模式。经 A β 诱导的阿滋海默氏症的动物模式可参考 Nabeshima 等人的文献数据(Neuroscience Letters

(1994) 170: 63-66)(British Journal of Pharmacology (1999) 126: 235-244)。

将大鼠麻醉后，在大鼠的左脑室设置输注管，进行缝合后回归饲养笼中照顾。图 7 示出了动物试验的实验排程，在开始输注 A β 1-42 后的第 7 天进行探索能力(exploration behavior)评估，第 8 至 9 天进行被动回避反应 (passive avoidance learning)评估，第 10 至 13 天进行水迷宫(water maze)评估，第 14 天则进行空间性探索实验(probe test)。实验组别设计如表二所示，其中假手术组(Sham)以 TFA 溶液(64.9% sterile ddH₂O, 35% acetonitrile, 0.1% trifluoroacetic acid)进行处理，而其它实验组则每小时以 0.5 μ l 溶解于 TFA 溶液的 A β 1-42 处理，相当于每天给予 300pmol/12 μ l 的 A β 1-42 (Tocris 1428; MW: 4514.08)。整个试验期间，在进行探索能力、被动回避反应以及水迷宫等测试的训练前经口投予测试样品给实验大鼠。表二显示各个实验组别的条件，其中测试样品 D 为表一中的异类叶升麻苷，而 Aricept 则为市售用以治疗失智症例如阿滋海默氏症的药物。所有测试样品均以二次蒸馏水每日制备，并以胃管经口灌胃方式给予。

在实施例七至十一中，结果显示为平均值 $\pm$ 标准误差，而 A β 1-42 对照组和其它实验组间的统计差异标示*表示 P<0.05，**表示 P<0.01，***表示 P<0.001。

最后牺牲所有实验大鼠，取其脑部进行切片和染色，并进行神经传递物质的测定。

表二： 动物实验设计

实验组别	诱导药 (脑室输入)	测试样品 (胃管经口灌食)	大鼠数
假手术组(Sham)	TFA solution	二次蒸馏水	12
Aβ1-42	Aβ1-42		12
D 低剂量组		D 2.5 mg/kg	12
D 高剂量组		D 5 mg/kg	12
正对照组 Aricept		Aricept 0.75 mg/kg	12

实施例七：探索能力的设备与测定

探索能力测定装置系由一长、宽、高均 40 cm 及一个不锈钢底板所组成，底板上 有 16 个直径 3 cm 的洞，距两侧 7 cm，各洞的间距为 4 cm。每只大鼠的测定时间为 10 分钟，测试大鼠穿洞的次数。

图 8 示出了根据表二所示的动物探索行为(exploration behavior)的实验结果。如图 8 所示，A β 1-42 经脑室输注予实验大鼠后，会造成实验大鼠的探索能力低下，而测试样品 D(异类叶升麻苷)和 Aricept 均可有效增进实验大鼠的探索能力，且测试样品 D(异类叶升麻苷)在 5 mg/kg 的剂量下优于 Aricept 0.75 mg/kg 的功效。

10 实施例八：被动回避反应实验

被动回避装置由一明室、一暗室以及一介于两室间的闸门所构成。

将大鼠置入明室，同时开启闸门，以大鼠在 90 秒内进入暗室者，供做本实验。

训练期：将筛选过的大鼠置入明室，同时开启闸门，待大鼠进入暗室后，关闭闸门，同时将底板通以电流刺激 5 秒，之后自暗室取出大鼠，归回饲养笼。

于训练后 24 小时，再将大鼠置入明室，同时开启闸门，记录大鼠在明室之滞留时间 (step-through latency, STL)。

图 9 示出了根据表二所示动物进行被动回避反应的实验结果。参考图 9，实验大鼠经脑室输注给予 A β 1-42 后，会显著造成实验大鼠的被动回避学习反应的障碍，而经测试样品 D(异类叶升麻苷)和 Aricept 的治疗均可改善实验大鼠因脑室输注 A β 1-42 导致实验大鼠被动回避的学习障碍现象。如图 9 所示，测试样品 D(异类叶升麻苷)于 2.5 mg/kg 的剂量下与 Aricept 0.75 mg/kg 的效果相当，而测试样品 D(异类叶升麻苷)于 5 mg/kg 的剂量下则优于 Aricept 0.75 mg/kg 的功效。

实施例九：水迷宫实验

本实验将泳池分成四个象限，将隐藏平台固定置于第四象限上，并且置于水面下方 1 公分处。每一大鼠每天均给予两次训练，两次训练间隔为 4 小时，每次训练均给予 2 分钟以找寻隐藏平台。第一次训练为空间表现 (spatial performance) 试验，每只大鼠最多给予 120 秒的时间游泳找寻隐藏平台，若大鼠于 120 秒内成功找到隐藏平台，则让大鼠于平台上休息 30 秒钟；而若大鼠于时间终止前尚未找到隐藏平台，则将大鼠的分数计为 120

秒，并将其抓至隐藏平台休息 30 秒钟。此空间表现试验一共进行 4 天。于第 5 天将隐藏平台自水迷宫泳池取走，再将大鼠置于第一象限，并且给予 60 秒钟的时间游泳，记录大鼠在泳池内原隐藏平台的象限所花的时间，以进行参考记忆试验(probe test)。

5 图 10 示出了根据表二所示动物进行空间表现试验结果，而图 11 示出了根据表二所示动物进行参考记忆试验的实验结果，并与假手术组(Sham)、A β 1-42 对照组和正对照组 Aricept 的结果作比较。参考图 10 及图 11 所示，动物实验结果显示测试样品 D 和药物 Aricept 均可改善 A β 1-42 诱发水迷宫空间表现和参考记忆缺失的现象，而测试样品 D 5 mg/kg 则优
10 于对照组 Aricept 0.75 mg/kg 的效果。

实施例十：大鼠脑部组织染色结果

将进行水迷宫实验后的大鼠断头，并且快速将脑自头盖骨内移开，进行脑部海马区 A β 1-42 免疫组织染色。图 12A 至 12E 示出了脑部组织染色
15 结果。在图 12B 中，在连续输注 A β 1-42 的大鼠脑中发现大量的斑块，而在图 12C 和图 12D 中，经测试样品 D(异类叶升麻苷)2.5mg/kg 处理后的大鼠脑中仅发现极少量的斑块，而经测试样品 D(异类叶升麻苷) 5mg/kg 处理后的大鼠脑中则几乎没有斑块产生。比较图 12C 至图 12E，经测试样品 D(异类叶升麻苷)处理后的大鼠脑中，其斑块数量明显小于经药物 Aricept
20 处理过后的结果。由此结果可知，测试样品 D(异类叶升麻苷)可有效抑制 A β 经聚集而形成斑块，或者可消除斑块。

实施例十一：大鼠大脑皮质区及海马区中的神经传导物质含量

将进行水迷宫实验后的大鼠牺牲掉，并快速将脑自头盖骨内移开，按
25 Glowinski & Iversen 的方法，将大脑皮质区及海马区分别取出，分别称重，并加入 50 mM Na-phosphate buffer(pH 7.8) 进行均质，以供进行神经传递物质浓度及酶含量的测定。

表三和表四分别为根据表二所示实验大鼠于其脑部皮质区和海马区的神经传导物质多巴胺(DA)与其代谢物 DOPAC 和 HVA 的含量检测结果。
30 参考表三和表四所示的结果，A β 1-42 造成实验大鼠的皮质区和海马区的 DA 含量降低，而测试样品 D 和 Aricept 均可改善 A β 1-42 所造成的实验大鼠皮质区和海马区的 DA 含量降低的现象。

表三：根据表二所示实验大鼠于其脑部皮质区的神经传导物质多巴胺 (DA) 与其代谢物 DOPAC 和 HVA 的含量检测结果

	DOPAC	HVA	DA
Sham	16.75±1.70*	3.71±0.58	3.92±0.44**
Vehicle	11.66±1.13	2.76±0.43	2.33±0.28
D 2.5 mg/kg	12.53±3.33	2.92±0.58	2.67±0.43
D 5 mg/kg	13.80±3.03	2.74±0.69	3.84±0.47*
Aricept	10.49±2.38	2.42±0.78	3.10±0.46

5 表 4：根据表 2 所示实验大鼠于其脑部海马区的神经传导物质多巴胺 (DA) 与其代谢物 DOPAC 和 HVA 的含量检测结果

	DOPAC	HVA	DA
Sham	5.87±0.92	3.68±0.41	5.36±0.75***
Vehicle	5.13±0.80	3.39±0.36	1.00±0.21
D 2.5 mg/kg	4.98±1.15	3.68±0.46	5.41±1.30***
D 5 mg/kg	4.13±0.45	3.29±0.25	4.07±0.59***
Aricept	3.19±1.00	2.45±0.33	1.33±0.37

图 13A 为根据表二所示实验大鼠于其脑部皮质区和海马区的神经传
 10 导物质乙酰胆碱(Acetylcholine)的含量检测结果，而图 13B 则为根据表二
 所示实验大鼠于其脑部皮质区和海马区的胆碱(Choline)含量检测结果。参
 考图 13A 和图 13B 所示结果，Aβ1-42 造成实验大鼠之皮质区和海马区的
 乙酰胆碱含量降低，而测试样品 D 和 Aricept 均可改善 Aβ1-42 所造成的实
 验大鼠皮质区和海马区的乙酰胆碱含量降低的现象，且其中以测试样品 D
 15 (异类叶升麻苷) 5 mg/kg 的结果最佳。

图 14A 和图 14B 分别示出了根据表二所示实验大鼠于其脑部皮质区和
 海马区所测得的乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase)活性结果。参考图 14A
 和图 14B 所示结果，Aβ1-42 造成实验大鼠皮质区和海马区的乙酰胆碱酯
 酶活性增加，而测试样品 D 和 Aricept 均可改善 Aβ1-42 所造成的实验大鼠

皮质区和海马区的乙酰胆碱酯酶活性增加的现象。

由于 A β 的聚集体会损伤细胞，进而引发各种疾病或状况。根据实施例二至六的细胞试验结果，异类叶升麻苷可有效抑制 A β 的生成、积累或聚集，进而避免 A β 形成聚集体，其可用于预防或治疗阿滋海默氏症以及其它 A β 相关疾病或状况。

根据实施例七至九的动物试验结果，异类叶升麻苷具有显著改善 A β 所致的记忆或学习能力衰退的效果。而根据实施例十所示结果，异类叶升麻苷可有效抑制 A β 经聚集而形成斑块，或者消除斑块。此外，根据实施例十一，异类叶升麻苷可有效改善神经传导物质因 A β 而减少的现象，故可具有改善记忆或学习能力衰退的效果。根据上述细胞和动物试验结果，如将异类叶升麻苷或其医药学上可接受的盐以某种有效治疗量，如相当于约 0.2 毫克/公斤至 4 毫克/公斤(即对 60 公斤成人的建议剂量约为 12 毫克至 240 毫克)的异类叶升麻苷的每日剂量投予至某一人类个体，其应可作为预防或治疗阿滋海默氏症以及其它 A β 相关疾病或状况的方法。

虽然本发明已以数个较佳实施例揭露如上，但其并非用以限定本发明，本领域技术人员在未脱离本发明所揭示的精神下所进行的等效替换或修饰，均应包含在本发明权利要求的范围内。

权 利 要 求

1. 一种以异类叶升麻苷或其医药学上可接受的盐用于制备预防或治疗与淀粉样 β 肽相关的疾病或状况的药物的用途。
5
2. 根据权利要求 1 所述的用途, 其中所述疾病或状况与该淀粉样 β 肽的生成、累积或聚集有关。
3. 根据权利要求 2 所述的用途, 其中所述疾病或状况与该淀粉样 β 肽在细胞外的生成、累积或聚集有关。
10
4. 根据权利要求 1 至 3 中任一项所述的用途, 其中所述淀粉样 β 肽为 A β 1-40 或 A β 1-42。
- 15 5. 根据权利要求 1 所述的用途, 其中, 与淀粉样 β 肽相关的所述疾病或状况为阿滋海默氏症、轻度认知障碍、路易氏体失智症、唐氏症、荷兰型类淀粉变性症、关岛帕金森氏症-失智症复合症、大脑淀粉样血管病、包涵体肌炎、额颞叶型失智症、年龄相关性黄斑变性或皮克病。
- 20 6. 根据权利要求 5 所述的用途, 其中所述药物用于预防或治疗阿滋海默氏症。
7. 根据权利要求 1 所述的用途, 其中所述异类叶升麻苷或其医药学上可接受的盐用以抑制所述淀粉样 β 肽导致神经元的损伤或凋亡, 进而保留、改善或恢复学习与记忆能力。
25
8. 根据权利要求 1 所述的用途, 其中, 所述药物对人类的一种有效剂量相当于每日每公斤体重 0.2 毫克至 4.0 毫克的异类叶升麻苷或其医药学上可接受的盐。
30
9. 一种以异类叶升麻苷或其医药学上可接受的盐抑制淀粉样 β 肽生成、累积或聚集的用途。

10. 根据权利要求 9 所述的用途, 其中, 所述异类叶升麻苷或其医药学上可接受的盐用以抑制该淀粉样 β 肽细胞外的生成、累积或聚集。
11. 根据权利要求 9 或 10 所述的用途, 其中, 所述淀粉样 β 肽为 $A\beta 1-40$
5 或 $A\beta 1-42$ 。
12. 根据权利要求 9 所述的用途, 其中, 所述异类叶升麻苷或其医药学上可接受的盐供以制备药品、食品、饮品、咀嚼物、贴片或皮肤保养品。

10