



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109715152 A

(43)申请公布日 2019.05.03

(21)申请号 201780040800.8

M.莫特瓦尼 T.L.邦菲尔德

(22)申请日 2017.04.28

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

(30)优先权数据

代理人 罗文锋 万雪松

62/329514 2016.04.29 US

62/400503 2016.09.27 US

62/470419 2017.03.13 US

(51)Int.Cl.

A61K 31/352(2006.01)

A61K 9/20(2006.01)

A61K 9/48(2006.01)

A61P 31/00(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.12.28

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/030236 2017.04.28

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/190070 EN 2017.11.02

(71)申请人 柯巴斯医药有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 M.泰珀 D.W.吉尔罗伊

权利要求书3页 说明书25页 附图18页

(54)发明名称

医治感染的方法

(57)摘要

本发明提供了医治有此需要的受试者的感染的方法,所述医治通过向所述受试者施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物来进行。在各种实施例中,感染可以是细菌、病毒或真菌感染。本发明的特征还在于医治有此需要的受试者的感染的方法,所述医治通过向所述受试者施用阿佳酸或其药学上可接受的盐和合适的抗生素、抗真菌剂或抗病毒剂来进行。

1. 一种医治有此需要的受试者的感染的方法,所述方法包含以有效医治所述感染的量向所述受试者施用包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物,其中所述受试者不患有囊性纤维化或HIV感染。

2. 一种医治有此需要的受试者的局部感染的方法,所述方法包含以有效医治所述局部感染的量向所述受试者施用包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物,其中所述受试者不患有囊性纤维化。

3. 根据权利要求2所述的方法,其中所述局部感染是皮肤感染、肺部感染、支气管感染、咽喉感染、眼部感染、耳部感染、膀胱感染或尿路感染。

4. 一种医治有此需要的受试者的全身性感染的方法,所述方法包含以有效医治所述全身性感染的量向所述受试者施用包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物,其中所述受试者不患有HIV感染。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的方法,其中所述感染是细菌感染。

6. 根据权利要求5所述的方法,其中所述细菌感染是假单胞菌、葡萄球菌或链球菌感染。

7. 根据权利要求5或6所述的方法,其中施用所述包含阿佳酸的药物组合物降低了所述感染的细菌负荷。

8. 根据权利要求1至4中任一项所述的方法,其中所述感染是病毒感染。

9. 根据权利要求8的方法,其中施用所述包含阿佳酸的药物组合物降低了所述感染的病毒负荷。

10. 根据权利要求1至4中任一项所述的方法,其中所述感染是真菌感染。

11. 根据权利要求10所述的方法,其中施用所述包含阿佳酸的药物组合物降低了所述感染的真菌负荷。

12. 一种医治有此需要的受试者的细菌感染的方法,所述方法包含以有效医治所述细菌感染的量向所述受试者施用包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。

13. 根据权利要求12所述的方法,其中所述细菌感染是假单胞菌、葡萄球菌或链球菌感染。

14. 根据权利要求12或13所述的方法,其中施用所述包含阿佳酸的药物组合物降低了所述感染的细菌负荷。

15. 一种医治有此需要的受试者的病毒感染的方法,所述方法包含以有效医治所述病毒感染的量向所述受试者施用包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。

16. 根据权利要求15所述的方法,其中施用所述包含阿佳酸的药物组合物降低了所述感染的病毒负荷。

17. 一种医治有此需要的受试者的真菌感染的方法,所述方法包含以有效医治所述真菌感染的量向所述受试者施用包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。

18. 根据权利要求17所述的方法,其中施用所述包含阿佳酸的药物组合物降低了所述感染的真菌负荷。

19. 一种医治有此需要的受试者的细菌感染的方法,所述方法包含以下步骤:

(e) 施用包含抗生素或其药学上可接受的盐的药物组合物;和

(f) 施用包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物;

其中与所述细菌感染消退相关的时间长度小于在已施用所述单独包含所述抗生素的药物组合物的受试者中与相同类型的细菌感染消退相关的时间长度。

20. 一种医治有此需要的受试者的病毒感染的方法,所述方法包含以下步骤:

(c) 施用包含抗病毒剂或其药学上可接受的盐的药物组合物;和

(d) 施用包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物;

其中与所述病毒感染消退相关的时间长度小于在已施用所述单独包含所述抗病毒剂的药物组合物的受试者中与相同类型的病毒感染消退相关的时间长度。

21. 一种医治有此需要的受试者的真菌感染的方法,所述方法包含以下步骤:

(e) 施用包含抗真菌剂或其药学上可接受的盐的药物组合物;和

(f) 施用包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物;

其中与所述真菌感染消退相关的时间长度小于在已施用所述单独包含所述抗真菌剂的药物组合物的受试者中与相同类型的真菌感染消退相关的时间长度。

22. 根据权利要求19至21所述的方法,其中步骤(a)进行第一时间段,步骤(b)进行第二时间段,并且步骤(a)先于步骤(b)进行。

23. 根据权利要求19至21所述的方法,其中步骤(b)进行第一时间段,步骤(a)进行第二时间段,并且步骤(b)先于步骤(a)进行。

24. 根据权利要求19至21所述的方法,其中步骤(a)进行第一时间段,步骤(b)进行第二时间段,并且所述第一时间段和所述第二时间段同时发生。

25. 一种医治有此需要的受试者的细菌感染的方法,所述方法包含以有效医治所述细菌感染的量向所述受试者施用包含抗生素或其药学上可接受的盐和阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。

26. 根据权利要求25所述的方法,其中所述细菌感染是假单胞菌、葡萄球菌或链球菌感染。

27. 根据权利要求25或26所述的方法,其中施用所述包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物降低了所述感染的细菌负荷。

28. 一种医治有此需要的受试者的真菌感染的方法,所述方法包含以有效医治所述真菌感染的量向所述受试者施用包含抗真菌剂或其药学上可接受的盐和阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。

29. 根据权利要求28所述的方法,其中施用所述包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物降低了所述感染的真菌负荷。

30. 一种医治有此需要的受试者的病毒感染的方法,所述方法包含以有效医治所述病毒感染的量向所述受试者施用包含抗病毒剂或其药学上可接受的盐和阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。

31. 根据权利要求30所述的方法,其中施用所述包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物降低了所述感染的病毒负荷。

32. 根据权利要求1至31中任一项所述的方法,其中与未施用所述包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物的受试者中相同类型的感染相比,与所述感染消退相关的时间长度减少了20%或更多。

33. 根据权利要求1至31中任一项所述的方法,其中与未施用所述包含阿佳酸或其药学

上可接受的盐的药物组合物的受试者中相同类型的感染相比,与所述感染消退相关的时间长度减少了50%或更多。

34. 根据权利要求1至33中任一项所述的方法,其中所述包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物口服、通过吸入、体表、静脉内、间质、经由贴剂、经由植入物或通过眼科给药来施用。

35. 根据权利要求34所述的方法,其中所述包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物是口服施用。

36. 根据权利要求35所述的方法,其中所述包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物以胶囊或片剂形式施用。

37. 根据权利要求35或36所述的方法,其中阿佳酸或其药学上可接受的盐的有效量包含每天约5mg的剂量。

38. 根据权利要求35或36所述的方法,其中阿佳酸或其药学上可接受的盐的有效量包含每天约20mg的剂量。

39. 根据权利要求35或36所述的方法,其中阿佳酸或其药学上可接受的盐的有效量包含每天约40mg的剂量。

40. 根据权利要求34所述的方法,其中所述包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物通过吸入施用。

41. 根据权利要求40所述的方法,其中所述包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物以气雾剂或喷雾剂形式施用。

42. 根据权利要求34所述的方法,其中所述包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物是体表施用。

43. 根据权利要求42所述的方法,其中所述包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物以凝胶或乳膏形式施用。

44. 根据权利要求1至43中任一项所述的方法,其中所述受试者是人类受试者。

45. 根据权利要求4至44中任一项所述的方法,其中所述受试者不患有囊性纤维化。

46. 根据权利要求2至45中任一项所述的方法,其中所述受试者不患有HIV。

医治感染的方法

背景技术

[0001] 四氢大麻酚 (THC) 是大麻的主要精神活性成分。除了情绪改变作用之外,据报道 THC 还表现出其它活性,其中一些可能具有治疗价值。THC 的潜在治疗价值已经导致寻找相关化合物,其最小化精神活性作用,同时保留潜在药用价值的活性。

[0002] 一种这样的相关合成大麻素是 (6aR, 10aR) -1-羟基-6,6-二甲基-3-(2-甲基-2-辛基)-6a,7,10,10a-四氢-6H-苯并[c]色烯-9-羧酸(也称为阿佳酸 (ajulemic acid)、AJA、JBT-101、Resunab 或 Anabasum)。已经研究了阿佳酸在许多疾病模型中的潜在治疗益处,包括疼痛、纤维化疾病和炎性疾病。

[0003] 本发明涉及阿佳酸也可用于医治感染,如细菌感染、病毒感染或真菌感染的发现。在替代医治可导致例如不良副作用(例如,由于长期使用)或提高形成抗性病原体的可能性的情况下,阿佳酸可用于医治感染。具体来说,阿佳酸可用于医治患有炎性病症的患者的感染,因为已知其它已知的抗炎剂(例如,类固醇如泼尼松 (prednisone)) 会降低受试者解决感染的能力。

发明内容

[0004] 本发明提供了医治有此需要的受试者的感染的方法,所述医治通过向所述受试者施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物来进行。在各种实施例中,感染可以是细菌、病毒、真菌或其它微生物感染。本发明的特征还在于医治有此需要的受试者的感染的方法,所述医治通过向所述受试者施用阿佳酸或其药学上可接受的盐和合适的抗生素、抗真菌剂或抗病毒剂来进行。

[0005] 在第一方面,本发明的特征在于医治有此需要的受试者的感染的方法。方法包括以有效医治感染的量向受试者施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。在该方面的一些实施例中,受试者不患有囊性纤维化或 HIV 感染。

[0006] 在另一方面,本发明的特征在于医治有此需要的受试者的局部感染的方法。方法包括以有效医治所述局部感染的量向受试者施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。在该方面的一些实施例中,受试者不患有 HIV 感染。

[0007] 在一些实施例中,局部感染是皮肤感染、肺部感染、支气管感染、咽喉感染、眼部感染、耳部感染、膀胱感染或尿路感染。

[0008] 在另一方面,本发明的特征在于医治有此需要的受试者的全身性感染的方法。方法包括以有效医治全身性感染的量向受试者施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。在该方面的一些实施例中,受试者不患有 HIV 感染。

[0009] 在一些实施例中,感染是细菌感染(例如,假单胞菌感染、葡萄球菌感染或链球菌感染)。在一些实施例中,相对于同一受试者体内的医治前水平,或相对于未施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物的具有相同类型感染的受试者,包括阿佳酸的药物组合物的施用降低了感染的细菌负荷(例如,降低了至少 5%、至少 10%、至少 15%、至少 20%、至少 30%、至少 35%、至少 40%、至少 45%、至少 50%、至少 55%、至少 60%、至少 65%、

至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、或95%或更多)。

[0010] 在一些实施例中,感染是病毒感染。在一些实施例中,相对于同一受试者体内的医治前水平,或相对于未施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物的具有相同类型感染的受试者,包括阿佳酸的药物组合物的施用降低了感染的病毒负荷(例如,降低了至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或95%或更多)。

[0011] 在一些实施例中,感染是真菌感染。在一些实施例中,相对于同一受试者体内的医治前水平,或相对于未施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物的具有相同类型感染的受试者,包括阿佳酸的药物组合物的施用降低了感染的真菌负荷(例如,降低了至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%,或95%或更多)。

[0012] 在另一方面,本发明的特征在于医治有此需要的受试者的细菌感染的方法。方法包括以有效医治细菌感染的量向受试者施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0013] 在另一方面,本发明的特征在于医治有此需要的受试者的病毒感染的方法。方法包括以有效医治病毒感染的量向受试者施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0014] 在另一方面,本发明的特征在于医治有此需要的受试者的真菌感染的方法。方法包括以有效医治真菌感染的量向受试者施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0015] 在另一方面,本发明的特征在于通过与阿佳酸和合适的抗生素的组合疗法医治有此需要的受试者的细菌感染的方法。方法包括以下步骤:

[0016] (a) 施用包括抗生素或其药学上可接受的盐的药物组合物;和

[0017] (b) 施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物;

[0018] 其中与细菌感染消退相关的时间长度小于在已施用单独包括抗生素的药物组合物的受试者中与相同类型的细菌感染消退相关的时间长度。

[0019] 在另一方面,本发明的特征在于通过与阿佳酸和合适的抗病毒剂的组合疗法医治有此需要的受试者的病毒感染的方法。方法包括以下步骤:

[0020] (c) 施用包括抗病毒剂或其药学上可接受的盐的药物组合物;和

[0021] (d) 施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物;

[0022] 其中与病毒感染消退相关的时间长度小于在已施用单独包括抗病毒剂的药物组合物的受试者中与相同类型的病毒感染消退相关的时间长度。

[0023] 在另一方面,本发明的特征在于通过与阿佳酸和合适的抗真菌剂的组合疗法医治有此需要的受试者的真菌感染的方法。方法包括以下步骤:

[0024] (a) 施用包含抗真菌剂或其药学上可接受的盐的药物组合物;和

[0025] (b) 施用包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物;

[0026] 其中与真菌感染消退相关的时间长度小于在已施用单独包括抗真菌剂的药物组

合物的受试者中与相同类型的真菌感染的消退相关的时间长度。

[0027] 在一些实施例中,在施用具有阿佳酸的药物组合物之前,施用具有抗生素、抗病毒剂或抗真菌剂的药物组合物一段时间。在这些实施例中,步骤(a)进行第一时间段,步骤(b)进行第二时间段,并且步骤(a)先于步骤(b)进行。

[0028] 在一些实施例中,在施用具有抗生素、抗病毒剂或抗真菌剂的药物组合物之前,施用具有阿佳酸的药物组合物一段时间。在这些实施例中,步骤(b)进行第一时间段,步骤(a)进行第二时间段,并且步骤(b)先于步骤(a)进行。

[0029] 在一些实施例中,具有阿佳酸的药物组合物

[0030] 与具有抗生素、抗病毒剂或抗真菌剂的药物组合物同时施用。在这些实施例中,步骤(a)进行第一时间段,步骤(b)进行第二时间段,并且第一时间段和第二时间段同时进行。

[0031] 在另一方面,本发明的特征在于医治有此需要的受试者的细菌感染的方法。方法包括以有效医治细菌感染的量向受试者施用包括抗生素或其药学上可接受的盐和阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0032] 在另一方面,本发明的特征在于医治有此需要的受试者的病毒感染的方法。方法包括以有效医治病毒感染的量向受试者施用包括抗病毒剂或其药学上可接受的盐和阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0033] 在另一方面,本发明的特征在于医治有此需要的受试者的真菌感染的方法。方法包括以有效医治真菌感染的量向受试者施用包括抗真菌剂或其药学上可接受的盐和阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0034] 在另一方面,本发明的特征在于医治有此需要的受试者的感染的方法。方法包括以下步骤:(a)以有效医治感染的量向受试者施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物,其中药物组合物施用使感染消退的时间段(例如,1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周、2周、3周、4周或更久);(b)在感染消退后,停止施用药物组合物一段时间(例如,1天、1周、2周、3周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、1年或更久)。

[0035] 在任何前述方面的一些实施例中,与未施用包括阿佳酸的药物组合物的受试者中相同类型的感染相比,与感染消退相关的时间长度减少了20%或更多(例如,30%或更多、40%或更多、50%或更多、60%或更多、70%或更多、80%或更多,或90%或更多)。

[0036] 在任何前述方面的一些实施例中,包括阿佳酸的药物组合物口服(例如,作为胶囊或片剂)、通过吸入(例如,作为气雾剂或喷雾剂)、体表(例如,作为凝胶或霜剂)、静脉内、间质内、经由贴剂、经由植入物或通过眼科给药来施用。

[0037] 在任何前述方面的一些实施例中,阿佳酸的有效量包含每天约5mg或更少、每天约10mg、每天约20mg、每天约30mg、每天约40mg或每天约80mg或更多的剂量。日剂量可以一剂、两剂、三剂或更多剂施用。

[0038] 在任何前述方面的一些实施例中,受试者是哺乳动物(例如,人、猫、狗、马或猪)。最优选地,受试者是人类受试者。

[0039] 在任何前述方面的一些实施例中,受试者患有与感染的发生或严重程度增加相关或导致感染发生或严重程度增加的疾病。

[0040] 在任何前述方面的一些实施例中,受试者患有囊性纤维化。

[0041] 在任何前述方面的一些实施例中,受试者不患有囊性纤维化。在任何前述方面的

一些实施例中,所述受试者不患有囊性纤维化,但患有与感染的发生或严重程度增加相关或导致感染的发生或严重程度增加的另一种疾病。

[0042] 在任何前述方面的一些实施例中,受试者不患有HIV感染。

[0043] 在任何前述方面的一些实施例中,受试者除感染外不患有任何其它疾病或病理。

[0044] 在任何上述方面的具体实施例中,方法包括医治受试者的细菌感染。待医治的细菌感染可选自社区获得性肺炎、上下呼吸道感染、皮肤和软组织感染、骨和关节感染、医院获得性肺部感染、急性细菌性中耳炎、细菌性肺炎、并发感染、非并发感染、肾盂肾炎、腹腔感染、深部脓肿、细菌性败血症、中枢神经系统感染、菌血症、伤口感染、腹膜炎、脑膜炎、烧伤后感染、泌尿生殖道感染、胃肠道感染、盆腔炎、心内膜炎、血管内感染、并发皮肤和皮肤结构感染、并发腹腔内感染、医院获得性肺炎、呼吸机相关性肺炎、伪膜性结肠炎、小肠结肠炎、与假体或透析相关的感染以及本文所述的任何其它感染。

[0045] 在任何上述方面的具体实施例中,方法包括医治受试者的真菌感染。待医治的真菌感染可选自受试者的血流感染、组织感染(例如,肺部、肾部或肝部感染),或本文所述的任何其它类型的真菌感染。所医治的真菌感染可以是选自以下的感染:头癣、体癣、足癣、甲癣、外周甲癣(perionychomycosis)、花斑癣、口腔鹅口疮、阴道念珠菌病、呼吸道念珠菌病、胆管念珠菌病、食管念珠菌病、尿路念珠菌病、全身性念珠菌病、粘膜皮肤念珠菌病、曲霉菌病、毛霉菌病、副球菌病、北美芽生菌病、组织胞浆菌病、球孢子菌病、孢子丝菌病、真菌性鼻窦炎或慢性鼻窦炎。

附图说明

[0046] 图1是示出在用媒剂1mg/kg AJA或5mg/kg AJA处理10天的野生型(C57BL/6J)小鼠中铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)的细菌负荷(测量为每毫升CFU)的图。5mg/kg剂量有效降低肺部中细菌CFU的总数。

[0047] 图2是描绘与未用安慰剂(-AVA)处理的小鼠相比,用阿佳酸(+AJA)处理后感染假单胞菌(*Pseudomonas*)的囊性纤维化(CF)和WT小鼠体重变化的图。

[0048] 图3是简要描绘用于确定AJA医治对WT和CF感染模型的肺部中的假单胞菌感染的影响的研究方案的示意图。

[0049] 图4是描绘用阿佳酸处理后感染假单胞菌的CF和WT小鼠的总支气管肺泡灌洗(BAL)和肺部(组合的)中支气管白细胞的变化变化的图。

[0050] 图5是描绘与未用安慰剂(Di1)处理的小鼠相比,用阿佳酸(AJ)处理后感染假单胞菌的CF和WT小鼠的肺部中白细胞的变化变化的图。

[0051] 图6是描绘与未用安慰剂(Di1)处理的小鼠相比,用阿佳酸(AJ)处理后感染假单胞菌的CF和WT小鼠的肺部中嗜中性粒细胞计数的变化变化的图。

[0052] 图7是描绘用阿佳酸处理后感染假单胞菌的CF和WT小鼠的肺部中肺泡巨噬细胞的相对数目的变化变化的图。

[0053] 图8是描绘用阿佳酸处理后感染假单胞菌的CF和WT小鼠的肺部中细菌计数的变化变化的图。

[0054] 图9是一系列图像,其描绘在炎症发作时(4小时),阿佳酸对血管血流量的影响(血管高反应性/局部血流)。

[0055] 图10是一系列图像,其描绘与安慰剂相比,在炎症发作后24和48小时,阿佳酸对血管血流量的影响(血管高反应性/局部血流)。

[0056] 图11是描绘在炎症发作后阿佳酸对血管血流量的影响的时间过程(血管高反应性/局部血流量)的图。

[0057] 图12是一组图,其描绘在水疱模型中阿佳酸(5mg或20mg)对嗜中性粒细胞水平的影响。

[0058] 图13是描绘在水疱模型中阿佳酸(20mg)对嗜中性粒细胞水平的影响的时间过程的图。

[0059] 图14是描绘在水疱模型中在注射UV灭活的大肠杆菌(UVKEc,UV-killed E.coli)后10小时,阿佳酸(5mg或20mg)处理对巨噬细胞数目的影响的图。

[0060] 图15是一系列图,其示出在人中在感染诱导的先天免疫应答的消退期间用阿佳酸(5mg或20mg)的处理增加了促分解巨噬细胞。

[0061] 图16是一系列图,其示出在水疱模型中注射UVKEc后4小时和10小时,IL-8细胞因子水平的阿佳酸(5mg或20mg)处理的影响。

[0062] 图17是示出阿佳酸(5mg或20mg)处理对内毒素水平的影响的一系列图,其中内毒素减少指示在水疱模型中注射UVKEc后4小时和10小时,细菌清除率增加。

[0063] 图18是描绘水疱模型中阿佳酸对C-反应蛋白水平的时间过程影响的图。

[0064] 图19是示出在患有囊性纤维化的受试者中,用阿佳酸医治与需要施用静脉内抗生素的急性肺部恶化的剂量依赖性减少相关的图。

[0065] 图20是示出在患有囊性纤维化的受试者中,用阿佳酸医治与用任何新抗生素医治的急性肺部恶化的剂量依赖性减少相关的图。

[0066] 定义

[0067] 为了便于理解本发明,下面定义了许多术语。本文定义的术语具有本发明相关的领域的普通技术人员通常理解的含义。诸如“一个(a)”、“一种(an)”和“所述”之类的术语不旨在仅指单个实体,而是包括可以用于说明的具体实例的一般类。本文的术语用于描述本发明的具体实施例,但是除了权利要求中所概述的之外,它们的使用不限制本发明。

[0068] 如本文所用,术语“约”是指高于或低于所述值的10%以内的值。

[0069] 如此处所用,以值的范围形式提供的任何值包括上限和下限,以及包含在上限和下限内的任何值。

[0070] 如本文所用,术语“医治(treat)”或“治疗(treat)”包括例如通过任何途径,例如口服、体表或通过吸入,向受试者施用化合物。化合物可以单独施用或与一种或多种另外的化合物联合施用。医治可以是顺序的,其中本发明化合物在其它药剂施用之前或之后施用。或者,化合物可以同时施用。受试者,例如患者,可以是患有病症(例如,如本文所述的病症)、病症的症状或对病症的易感性的受试者。医治不限于治愈或完全愈合,而是可以引起以下中的一种或多种;减轻、缓解、改变、部分补救、改善、改善或影响病症,减少病症的一种或多种症状或对病症的易感性。在一实施例中,医治(至少部分地)减轻或缓解与感染有关的症状。在一些实施例中,与未施用医治的受试者中相同类型的感染相比,医治使与感染消退相关的时间长度减少了20%或更多(例如,30%或更多、40%或更多、50%或更多、60%或更多、70%或更多、80%或更多,或90%或更多)。在一些实施例中,医治降低了感染的细菌

负荷、真菌负荷或病毒负荷。在一个实施例中，医治减轻病症的至少一种症状或延迟病症的至少一种症状的发作。效果超出了没有医治时的效果。

[0071] 如本文所用，术语“药学上可接受的盐”是指具有所需药理学活性，例如生物活性、药代动力学活性的本发明化合物的盐。这类盐可包括与无机酸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等形成的酸加成盐。药学上可接受的盐还可包括碱加成盐，其可在存在的酸性质子能够与无机或有机碱反应时形成。可接受的无机碱可包括氢氧化钠、碳酸钠、氢氧化钾、氢氧化铝和氢氧化钙。可接受的有机碱包括乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、氨丁三醇、N-甲基葡糖胺。合适的药学上可接受的金属盐包括由铝、钙、锂、镁、钾、钠和锌制成的盐，或由有机碱制成的盐，所述有机碱包括伯胺、仲胺和叔胺、取代的胺，包括环胺，如咖啡因、精氨酸、二乙胺、N-乙基哌啶、组氨酸、葡糖胺、异丙胺、赖氨酸、吗啉、N-乙基吗啉、哌嗪、哌啶、三乙胺、三甲胺。应该认识到，形成本发明任何盐的一部分的特定阴离子或阳离子并不重要，只要该盐作为一个整体是药理学上可接受的。

[0072] 术语“药物组合物”是指活性剂与惰性或活性赋形剂的组合，使得该组合物特别适合于体内或离体的诊断或治疗用途。施用于受试者或对受试者施用后，“药学上可接受的赋形剂”不会引起不希望的生理作用。药物组合物中的赋形剂也必须是“可接受的”，因为它与活性成分相容并且能够使活性成分稳定。一种或多种增溶剂可用作药物赋形剂以递送活性化合物。药学上可接受的赋形剂的实例包括但不限于生物相容性媒剂、佐剂、添加剂和稀释剂，以获得可用作剂型的组合物。其它赋形剂的实例包括胶体氧化硅、硬脂酸镁、纤维素和月桂基硫酸钠。

[0073] 如本文所用，术语“载体”是指与活性化合物一起施用的稀释剂、佐剂、赋形剂或媒剂。这类药物媒剂可以是液体，如水和油，包括石油、动物、植物或合成来源的那些，如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。药物媒剂可以是盐水、阿拉伯树胶、明胶、淀粉糊、滑石、角蛋白、胶体二氧化硅、尿素等。此外，可以使用辅助剂、稳定剂、增稠剂、润滑剂和着色剂。当施用于受试者时，药学上可接受的媒剂优选是无菌的。当静脉内施用活性化合物时，水可以是媒剂。盐水溶液以及葡萄糖和甘油水溶液也可用作液体媒剂，特别是用于可注射溶液。合适的药物媒剂还包括赋形剂，如淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、硬脂酸钠、甘油单硬脂酸酯、滑石、氯化钠、甘油、丙二醇、水和乙醇。如果需要，本发明组合物还可含有少量的润湿剂或乳化剂或pH缓冲剂。

[0074] 如本文所用，“治疗有效量”是指在受试者或患者中诱导所需生物效果方面或在医治患有本文所述病症或病症的患者方面有效的量，例如药物剂量。在本文至还应理解，“治疗有效量”可以解释为得到所需治疗效果的量，可以单剂量或任何剂量或途径服用，单独服用或与其它治疗剂组合服用。在一些实施例中，当施用于有需要的受试者时，治疗有效量将减轻至少一些感染症状。

具体实施方式

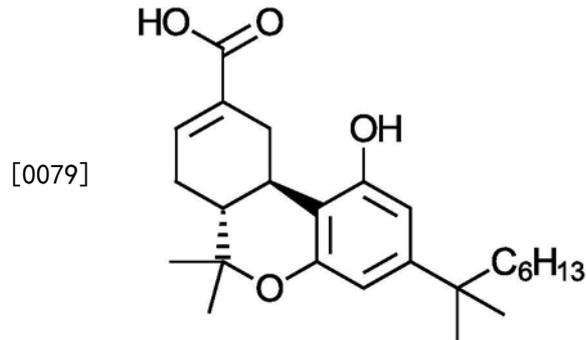
[0075] 本发明提供了医治有此需要的受试者的感染的方法，所述医治通过向所述受试者施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物来进行。在各种实施例中，感染可以是细菌、病毒或真菌感染。本发明的特征还在于医治有此需要的受试者的感染的方法，所述医治通过向所述受试者施用阿佳酸或其药学上可接受的盐和合适的抗生素、抗真菌剂或抗

病毒剂来进行。

[0076] 阿佳酸

[0077] (6aR,10aR)-1-羟基-6,6-二甲基-3-(2-甲基-2-辛基)-6a,7,10,10a-四氢-6H-苯并[c]色烯-9-羧酸(阿佳酸、AJA、JBT-101、Resunab或Anabasum)是一种合成大麻素,其结构与THC有关,但缺乏与THC相关的不希望的精神作用。因此,已经研究了阿佳酸在包括纤维化疾病和炎性疾病的许多疾病中的潜在治疗效用。

[0078] 阿佳酸具有以下结构:



[0080] 阿佳酸

[0081] 治疗

[0082] 本文所述的医治方案和药物组合物可用于医治感染(例如,细菌感染、病毒感染、真菌感染、蠕虫感染或原生动感染,或另一种微生物感染)。

[0083] 医治感染

[0084] 本发明的特征在于医治有此需要的受试者的感染的方法。方法包括以有效医治感染的量向受试者施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。在一些实施例中,受试者不患有囊性纤维化或HIV感染。

[0085] 如本文所用,术语“医治感染”是指对受试者的感染的治疗性医治。治疗性医治减缓感染的进展、改善受试者的结果,和/或消除感染。在一些实施例中,相对于同一受试者体内的医治前水平,或相对于未施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物的具有相同类型感染的受试者,通过施用包括阿佳酸的药物组合物医治感染降低了感染的细菌负荷、病毒负荷或真菌负荷(例如,降低了至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%,或95%或更多)。在一些实施例中,与未施用包括阿佳酸的药物组合物的受试者中相同类型的感染相比,通过施用包括阿佳酸的药物组合物医治感染使与感染消退相关的时间长度减少了20%或更多(例如,30%或更多、35%或更多、40%或更多、45%或更多、50%或更多、55%或更多、60%或更多、65%或更多、70%或更多、75%或更多、80%或更多、95%或更多,或90%或更多)。

[0086] 如本文所用,术语“感染”是指病原体如细菌、病毒、真菌、蠕虫或原生动侵入受试者的细胞、组织和/或器官。在一些实施例中,病原体可在受试者的细胞、组织和/或器官中生长、繁殖和/或产生毒素。在一些实施例中,受试者可对病原体产生阴性反应(即,过敏反应或免疫应答)。感染的实例包括但不限于细菌感染、病毒感染、真菌感染、蠕虫感染和原生动感染。

[0087] 如本文所用,术语“细菌感染”是指由一种或多种细菌引起的感染。引起感染的细菌的实例是本领域熟知的,并且包括但不限于假单胞菌属中的细菌(例如铜绿假单胞菌)、葡萄球菌(*Staphylococcus*)属中的细菌(例如金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*))、链球菌(*Streptococcus*)属中的细菌(例如化脓性链球菌(*Streptococcus pyogenes*))、在埃希氏菌(埃希氏杆菌)属中的细菌(例如大肠杆菌(*Escherichia coli*))、弧菌(*Vibrio*)属中的细菌(例如霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*))、肠炎(*Enteritis*)属中的细菌(例如肠炎沙门氏菌(*Enteritis salmonella*))和沙门氏菌(*Salmonella*)属中的细菌(例如伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*))。

[0088] 如本文所用,术语“病毒感染”是指由一种或多种病毒引起的感染。引起感染的病毒的实例是本领域熟知的,并且包括但不限于逆转录病毒科中的病毒(例如,人免疫缺陷病毒(HIV))、腺病毒科中的病毒(例如,腺病毒)、疱疹病毒科中的病毒(例如,1型和2型单纯疱疹病毒)、乳头瘤病毒科中的病毒(例如人乳头瘤病毒(HPV))、痘病毒科中的病毒(例如天花)、小核糖核酸病毒科中的病毒(例如,甲型肝炎病毒、脊髓灰质炎病毒、鼻病毒)、嗜肝DNA病毒科中的病毒(例如乙型肝炎病毒)、黄病毒科病毒中的病毒(例如,丙型肝炎病毒、黄热病病毒、西尼罗病毒)、披膜病毒科中的病毒(例如,风疹病毒)、正粘病毒科中的病毒(例如,流感病毒)、丝状病毒科中的病毒(例如,埃博拉病毒、马尔堡病毒)和副粘病毒科中的病毒(例如,麻疹病毒、腮腺炎病毒)。

[0089] 如本文所用,术语“真菌感染”是指引起一种或多种真菌的感染。引起感染的真菌的实例在本领域中是熟知的,并且包括但不限于曲霉属(*Aspergillus*)属中的真菌(例如,烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)、黄曲霉(*A.flavus*)、土曲霉(*A.terreus*)、黑曲霉(*A.niger*)、白曲霉(*A.candidus*)、棒曲霉(*A.clavatus*)、赭曲霉(*A.ochraceus*))、念珠菌(*Candida*)属中的真菌(例如,白色念珠菌(*Candida albicans*)、近平滑念珠菌(*C.parapsilosis*)、光滑念珠菌(*C.glabrata*)、季也蒙念珠菌(*Candida guilliermondii*)、克柔念珠菌(*C.krusei*)、葡萄牙念珠菌(*C.lusitaniae*)、热带念珠菌(*C.tropicalis*))、隐球菌(*Cryptococcus*)属中的真菌(例如,新型隐球菌(*Cryptococcus neoformans*))和镰刀菌(*Fusarium*)属中的真菌(例如,茄病镰刀菌(*Fusarium solani*)、轮状镰刀菌(*F.verticillioides*)、尖孢镰刀菌(*F.oxysporum*))。

[0090] 如本文所用,术语“蠕虫感染”是指由一种或多种蠕虫引起的感染。蠕虫的实例包括但不限于绦虫(绦虫类)、蛔虫(线虫类)、吸虫(吸虫类)和单殖吸虫。

[0091] 如本文所用,术语“原生动感染”是指由一种或多种原生动物引起的感染。原生动物的实例包括但不限于在阿米巴(*Entamoeba*)属中的原生动物(例如,溶组织内阿米巴(*Entamoeba histolytica*))、疟原虫(*Plasmodium*)属中的原生动物(例如,恶性疟原虫(*Plasmodium falciparum*)、三日疟原虫(*P.malariae*))、贾第虫(*Giardia*)属中的原生动物(例如,兰伯贾第虫(*Giardia lamblia*))和锥虫(*Trypanosoma*)属中的原生动物(例如,布氏锥虫(*Trypanosoma brucei*))。

[0092] 局部感染

[0093] 在本发明的一些实施例中,感染是局部感染。本发明的特征在于医治有此需要的受试者的局部感染的方法。方法包括以有效医治局部感染的量向受试者施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0094] 在一些实施例中,局部感染是皮肤感染、肺部感染、支气管感染、咽喉感染、眼部感染、耳部感染、膀胱感染或尿路感染。

[0095] 在一些实施例中,局部感染是轻度感染。

[0096] 在一些实施例中,相对于其它可用的医治(例如,抗生素医治),阿佳酸的施用与不良事件的减少和/或抗性病原体的发生的减少相关。

[0097] 在一些实施例中,局部感染是在患有囊性纤维化的受试者中(例如,在患有囊性纤维化的受试者的肺部中的感染,例如假单胞菌感染)。

[0098] 在一些实施例中,局部感染是在不患有囊性纤维化的受试者中。

[0099] 全身性感染

[0100] 在本发明的一些实施例中,感染是全身性感染。本发明的特征在于医治有此需要的受试者的全身性感染的方法。方法包括以有效医治全身性感染的量向受试者施用包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0101] 在一些实施例中,全身性感染是慢性感染。

[0102] 在一些实施例中,相对于其它可用的医治(例如,抗生素医治),阿佳酸的施用与不良事件的减少和/或抗性病原体的发生的减少相关。

[0103] 组合疗法

[0104] 还应了解,本发明的化合物和药物组合物可以配制并用于组合疗法,即,化合物和药物组合物可以与一种或多种其它所需的治疗剂或医疗程序一起配制或同时或在之前或之后施用。在组合方案中使用的特定疗法组合(治疗剂或程序)将考虑所需治疗剂和/或程序的相容性以及要实现的所需治疗效果。还应了解,所采用的疗法可以对相同的病症实现期望的效果,或者它们可以实现不同的效果(例如,控制任何不利影响)。

[0105] 在一些实施例中,本发明包括通过与阿佳酸和合适的治疗剂(例如,抗生素、抗真菌剂或抗病毒治疗剂)的组合疗法医治有此需要的受试者的感染(例如,细菌感染、真菌感染或病毒感染)的方法。方法包括以下步骤:

[0106] (a) 施用包含合适的治疗剂(例如抗生素、抗真菌剂或抗病毒治疗剂)或其药学上可接受的盐的药物组合物;和

[0107] (b) 施用包含阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物;

[0108] 其中与感染消退相关的时间长度小于在已施用包括单独步骤(a)的治疗剂的药物组合物的受试者中与相同类型的感染消退相关的时间长度。

[0109] 步骤(a)可以在步骤(b)之前进行一段时间,步骤(b)也进行一段时间。步骤(b)可以进行一段时间,之后进行行步骤(a)一段时间。步骤(a)和步骤(b)可以同时进行。

[0110] 其中合适的治疗剂(例如,抗生素、抗真菌剂或抗病毒剂)和包括阿佳酸的药物组合物在相同的时间段内施用,每种给药可以一起发生(在单独的药物制剂的相同药物制剂中)或可以单独发生。

[0111] 抗生素组合疗法

[0112] 在用于医治有此需要的受试者的感染的上述组合疗法的一些实施例中,抗生素选自阿米卡星(amikacin)、庆大霉素(gentamicin)、卡那霉素(kanamycin)、新霉素(neomycin)、奈替米星(netilmicin)、妥布霉素(tobramycin)、巴龙霉素(paromomycin)、链霉素(streptomycin)、壮观霉素(spectinomycin)、格尔德霉素(geldanamycin)、除莠霉素

(herbimycin)、利福昔明(rifaximin)、劳拉卡帕(loracarbef)、厄他培南(ertapenem)、多利培南(doripenem)、亚胺培南/西司他丁(imipenem/cilastatin)、美罗培南(meropenem)、头孢羟氨苄(cefadroxil)、头孢唑啉(cefazolin)、头孢噻吩(cefalotin)、头孢氨苄(cefalexin)、头孢克洛(cefaclor)、头孢孟多(cefamandole)、头孢西丁(cefoxitin)、头孢丙肟(cefprozil)、头孢呋辛(cefuroxime)、头孢克肟(cefixime)、头孢地尼(cefdinir)、头孢地嗪(cefditoren)、头孢哌酮(cefoperazone)、头孢噻肟(cefotaxime)、头孢泊肟(cefpodoxime)、头孢他啶(ceftazidime)、头孢布烯(ceftibuten)、头孢唑肟(ceftizoxime)、头孢曲松(ceftriaxone)、头孢吡肟(cefepime)、头孢洛林酯(ceftaroline fosamil)、头孢比普(ceftobiprole)、替考那嗪(teicoplanin)、万古霉素(vancomycin)、特拉万星(telavancin)、达巴万星(dalbavancin)、奥他霉素(oritavancin)、克林霉素(clindamycin)、林可霉素(lincomycin)、达托霉素(daptomycin)、阿奇霉素(azithromycin)、克拉霉素(clarithromycin)、地红霉素(dirithromycin)、红霉素(erythromycin)、罗红霉素(roxithromycin)、醋竹桃霉素(troleandomycin)、泰利霉素(telithromycin)、螺旋霉素(spiramycin)、氨曲南(aztreonam)、呋喃唑酮(furazolidone)、呋喃妥因(nitrofurantoin)、利奈唑胺(linezolid)、泼斯佐利(posizolid)、雷得佐利(radezolid)、特地佐利(torezolid)、阿莫西林(amoxicillin)、氨苄青霉素(ampicillin)、阿洛西林(azlocillin)、羧苄青霉素(carbenicillin)、氯西林(cloxacillin)、双氯西林(dicloxacillin)、氟氯西林(flucloxacillin)、美洛西林(mezlocillin)、甲氧西林(methicillin)、萘夫西林(nafcillin)、苯唑西林(oxacillin)、青霉素g(penicillin g)、青霉素v(penicillin v)、哌拉西林(piperacillin)、青霉素g(penicillin g)、替莫西林(temocillin)、替卡西林(ticarcillin)、阿莫西林克拉维酸(amoxicillin clavulanate)、氨苄青霉素/舒巴坦(ampicillin/sulbactam)、哌拉西林/他唑巴坦(piperacillin/tazobactam)、替卡西林/克拉维酸(ticarcillin/clavulanate)、杆菌肽(bacitracin)、粘菌素(colistin)、多粘菌素b(polymyxin b)、环丙沙星(ciprofloxacin)、依诺沙星(enoxacin)、加替沙星(gatifloxacin)、吉米沙星(gemifloxacin)、左氧氟沙星(levofloxacin)、洛美沙星(lomefloxacin)、莫西沙星(moxifloxacin)、萘啶酸(nalidixic acid)、诺氟沙星(norfloxacin)、氧氟沙星(ofloxacin)、曲伐沙星(trovafloxacin)、格帕沙星(grepafloxacin)、司帕沙星(sparfloxacin)、替马沙星(temafloxacin)、磺胺米隆(mafenide)、磺胺醋酰(sulfacetamide)、磺胺嘧啶(sulfadiazine)、磺胺嘧啶银(silver sulfadiazine)、磺胺二甲氧嘧啶(sulfadimethoxine)、磺胺甲二唑(sulfamethizole)、磺胺甲恶唑(sulfanilimide)、柳氮磺吡啶(sulfasalazine)、磺胺异恶唑(sulfisoxazole)、复方新诺明(trimethoprim-sulfamethoxazole, tmp-smx)、2,4-二氨基偶氮苯-4-磺酰胺(sulfonamidochrysoidine)、地美环素(demeclocycline)、强力霉素(doxycycline)、米诺环素(minocycline)、土霉素(oxytetracycline)、四环素(tetracycline)、氯法齐明(clofazimine)、氨苯砞(dapsone)、卷曲霉素(capreomycin)、环丝氨酸(cycloserine)、乙胺丁醇(bs)(ethambutol(bs))、乙硫异烟胺(ethionamide)、异烟肼(isoniazid)、吡嗪酰胺(pyrazinamide)、利福平(rifampicin)、利福布汀(rifabutin)、利福喷汀(rifapentine)、链霉素(streptomycin)、肿凡纳明(arsphenamine)、氯霉素(chloramphenicol)、磷霉素

(fosfomycin)、夫西地酸(fusidic acid)、甲硝哒唑(metronidazole)、莫匹罗星(mupirocin)、平片霉素(platensimycin)、奎奴普丁/达福普汀(quinupristin/dalfopristin)、甲磺霉素(thiamphenicol)、替加环素(tigecycline)、替硝唑(tinidazole)和甲氧苄啶(trimethoprim)。前面的列表是本领域技术人员已知的用于医治感染的抗生素的示例,并不意味着限制本发明的范围。

[0113] 抗真菌剂组合疗法

[0114] 在用于医治有此需要的受试者的感染的上述组合疗法的一些实施例中,抗真菌剂选自以下组成的组:两性霉素B(amphotericin B)、杀念珠菌素(candicidin)、菲律宾菌素(filipin)、哈霉素(hamycin)、那他霉素(natamycin)、制霉菌素(nystatin)、龟裂霉素(rimocidin)、联苯苄唑(bifonazole)、布康唑(butoconazole)、克霉唑(clotrimazole)、益康唑(econazole)、苯唑醇(fenticonazole)、异康唑(isoconazole)、酮康唑(ketoconazole)、卢立康唑(luliconazole)、咪康唑(miconazole)、依康唑(omoconazole)、奥昔康唑(oxiconazole)、舍他康唑(sertaconazole)、舒康唑(sulconazole)、噻康唑(tioconazole)、三唑(triazoles)、阿巴康唑(albaconazole)、艾氟康唑(efinaconazole)、氟环唑(epoxiconazole)、氟康唑(fluconazole)、艾沙康唑(isavuconazole)、伊曲康唑(itraconazole)、泊沙康唑(posaconazole)、丙环唑(propiconazole)、雷夫康唑(ravuconazole)、特康唑(terconazole)、伏立康唑(voriconazole)、噻唑(thiazoles)、阿巴芬净(abafungin)、阿莫罗芬(amorolfing)、布替萘芬(butenafine)、萘替芬(naftifine)、特比萘芬(terbinafine)、阿尼芬净(anidulafungin)、卡泊芬净(caspofungin)、米卡芬净(micafungin)、环匹罗司(ciclopirox)、氟胞嘧啶(flucytosine)、灰黄霉素(griseofulvin)、托萘酯(tolnaftate)和十一碳烯酸。前面的列表是本领域技术人员已知的用于医治感染的抗真菌剂的示例,并不意味着限制本发明的范围。

[0115] 抗病毒剂组合疗法

[0116] 在用于医治有此需要的受试者的感染的上述组合疗法的一些实施例中,抗病毒剂选自阿糖腺苷(vidarabine)、阿昔洛韦(acyclovir)、更昔洛韦(gancyclovir)、缬草昔韦(valgancyclovir)、核苷类似物逆转录酶抑制剂(例如齐多夫定(Zidovudine,AZT)、地达诺新(Didanosine,ddI)、扎西他滨(Zalcitabine,ddC)、司他夫定(Stavudine,d4T)或拉米夫定(Lamivudine,3TC)、非核苷类逆转录酶抑制剂(例如奈韦拉平(nevirapine)或地拉夫定(delavirdine))、蛋白酶抑制剂(沙奎那韦(saquinavir)、利托那韦(ritonavir)、茚地那韦(indinavir)或奈非那韦(nelfinavir))、利巴韦林(ribavirin)或干扰素)。前述列表是本领域技术人员已知的用于医治感染的抗病毒剂的示例,并不意味着限制本发明的范围。

[0117] 药物组合物

[0118] 如上所述,本发明的药物组合物另外包括药学上可接受的赋形剂,如本文所用,其包括适合于所需的特定剂型的任何和所有的溶剂、稀释剂或其它液体媒剂、分散或悬浮剂、表面活性剂、等渗剂、增稠剂或乳化剂、防腐剂、固体粘结剂和润滑剂。《雷明顿药物科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)》,第十六版,E.W.Martin(宾夕法尼亚州伊斯顿的麦克出版有限公司(Mack Publishing Co.,Easton,Pa.),1980年)公开了用于配制药物组合物的各种赋形剂和用于其制备的已知技术。除非任何常规赋形剂介质与本发明化合物不相容,如通过产生任何不希望的生物效应或以有害方式与药物组合物的任何其它组分相

互作用,否则其用途被认为是在本发明的范围。可用作药理学上可接受的赋形剂的材料的一些实例包括但不限于糖,如乳糖、葡萄糖和蔗糖;淀粉,如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素及其衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素;粉末状黄蓍草;麦芽;明胶;滑石;如可可脂和栓剂蜡的赋形剂;油,如花生油、棉籽油;红花油、芝麻油;橄榄油;玉米油和大豆油;乙二醇;如丙二醇;酯,如油酸乙酯和月桂酸乙酯等类;琼脂;天然和合成磷脂,如大豆和蛋黄磷脂、卵磷脂、氢化大豆卵磷脂、二肉豆蔻基卵磷脂、二棕榈酰卵磷脂、二硬脂酰卵磷脂、二油酰卵磷脂、羟化卵磷脂、溶血磷脂酰胆碱、心磷脂、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、二硬脂酰磷脂酰乙醇胺 (DSPE) 及其聚乙二醇化酯,如DSPE-PEG750和DSPE-PEG2000、磷脂酸、磷脂酰甘油和磷脂酰丝氨酸。优选的商品级卵磷脂包括以商品名 **Phosal®** 或 **Phospholipon®** 获得的那些,包括Phosal 53MCT、Phosal 50PG、Phosal 75SA、Phospholipon 90H、Phospholipon 90G和Phospholipon 90NG;大豆-磷脂酰胆碱 (SoyPC) 和DSPE-PEG2000是特别优选的;缓冲剂,如氢氧化镁和氢氧化铝;海藻酸;无热原水;等渗盐水;林格氏 (Ringer's) 溶液;乙醇和磷酸盐缓冲溶液以及其它无毒相容润滑剂,如月桂基硫酸钠和硬脂酸镁,以及着色剂、脱模剂、涂层剂、甜味剂、调味剂和芳香剂、防腐剂和抗氧化剂也可以根据配方设计者的判断而存在于组合中。

[0119] 上述任何形式的上述组合可用于医治本文所述的感染或任何其它疾病或病症。有效量是指赋予被医治受试者治疗效果所需的活性化合物/药剂的量。如本领域技术人员所认识到的,有效剂量将根据所医治疾病的类型、施用途径、赋形剂使用以及与其它治疗性医治共同使用的可能性而变化。

[0120] 本发明的药物组合可以胃肠外、口服、鼻腔、直肠、体表、口颊、提供眼科给药或通过吸入来施用。本文所用的术语“肠胃外”是指皮下、皮内、静脉内、肌肉内、关节内、动脉内、滑膜内、胸骨内、鞘内、病灶内或颅内注射,以及任何合适的输注技术。

[0121] 无菌可注射组合可以是于无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的溶液或悬浮液。这类溶液包括但不限于1,3-丁二醇、甘露醇、水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。另外,固定油通常用作溶剂或悬浮介质(例如,合成的甘油单酯或甘油二酯)。脂肪酸,如但不限于油酸及其甘油酯衍生物,可用于制备注射剂,还有天然药理学上可接受的油,如但不限于橄榄油或蓖麻油或其聚氧乙烯化形式。这些油溶液或悬浮液也可含有长链醇稀释剂或分散剂,如但不限于羧甲基纤维素或类似的分散剂。其它常用的表面活性剂,如但不限于Tweens或Spans或其它类似的乳化剂或生物利用度增强剂,其通常用于制备药理学上可接受的固体、液体或其它剂型,也可用于配制的目的。

[0122] 用于口服施用的组合可以是任何口服可接受的剂型,其包括胶囊、片剂(例如压制片剂)、乳液和水性悬浮液、分散体和溶液。在片剂的情况下,常用的赋形剂包括但不限于乳糖和玉米淀粉。通常还添加润滑剂,如但不限于硬脂酸镁。对于胶囊形式的口服施用,适用的稀释剂包括但不限于乳糖和干玉米淀粉。当口服施用水性悬浮液或乳液时,可将活性成分悬浮或溶解在与乳化剂或悬浮剂结合的油相中。如果需要,可以添加某些甜味剂、调味剂或着色剂。

[0123] 根据所述发明的用于体表施用的药物组合可以配制成溶液、软膏、乳膏、悬浮液、洗剂、粉末、糊剂、凝胶、喷雾剂、气雾剂或油。或者,体表制剂可以用活性成分浸渍的贴剂或敷料的形式,其可任选地包括一种或多种赋形剂或稀释剂。在一些优选的实施例中,

体表制剂包括可以增强活性剂通过皮肤或其它受感染区域的吸收或渗透的材料。

[0124] 体表用组合物含有安全有效量的适用于皮肤的皮肤病学上可接受的赋形剂。“化妆品可接受的”或“皮肤病学上可接受的”组合物或组分是指适合于与人皮肤接触而没有过度毒性、不相容性、不稳定性或过敏反应的组合物或组分。赋形剂使活性剂和任选组分能够以适当的浓度递送至皮肤。因此，赋形剂可以充当稀释剂、分散剂、溶剂等，以确保活性材料以适当的浓度施加并均匀地分布在所选择的目标上。赋形剂可以是固体、半固体或液体。赋形剂可以是洗剂、乳膏或凝胶的形式，特别是具有足够厚度或屈服点以防止活性材料沉降的赋形剂。赋形剂可以是惰性的或具有皮肤病学益处。它还应与本文所述的活性组分在物理和化学上相容，并且不应过度损害与组合物相关的稳定性、功效或其它使用益处。

[0125] 药物剂型

[0126] 各种剂型的阿佳酸可用于本发明的方法中以医治感染。在一些实施例中，剂型是口服剂型，如压制片剂、硬或软凝胶胶囊、肠溶衣片剂、渗透释放胶囊或赋形剂的独特组合。

[0127] 在进一步的实施例中，剂型包括另外的药剂或与第二剂型一起提供，所述第二剂型包括另外的药剂。示例性另外的药剂包括止痛剂，如NSAID或鸦片制剂、抗炎剂或天然药剂，如含有不饱和脂肪酸的甘油三酯，或分离的纯脂肪酸，如二十碳五烯酸(EPA)、二高 γ 亚麻酸(DGLA)、二十二碳六烯酸(DHA)等。在另外的实施例中，剂型包括胶囊，其中胶囊含有材料混合物以提供所需的持续释放制剂。

[0128] 剂型可包括涂有半透性涂层的片剂。在某些实施例中，片剂包括两层，一层含有阿佳酸(例如超纯阿佳酸)和第二层称为“推”层。半透性涂层用于允许流体(例如，水)进入片剂并侵蚀一层或多层。在某些实施例中，这种持续释放剂型进一步包括在包衣片剂的中心钻出的激光孔。含有阿佳酸的层可包括阿佳酸、崩解剂、粘度增强剂、粘结剂和渗透剂。推层包括崩解剂、粘结剂、渗透剂和粘度增强剂。

[0129] 本发明组合物可以配制用于持续释放(例如，在2小时内、在6小时内、在12小时内、在24小时内或在48小时内)。

[0130] 在进一步的实施例中，剂型包括包括生物相容性基质和阿佳酸的片剂。持续释放剂型还可包含含有生物聚合物微球的硬壳胶囊，其含有治疗活性剂。生物相容性基质和生物聚合物微球各自含有用于药物释放和递送的孔。这些孔是通过将生物聚合物微球的生物相容性基质与成孔剂混合而形成的。每种生物相容性基质或生物聚合物微球体由生物相容性聚合物或生物相容性聚合物的混合物构成。可以通过将生物相容性聚合物和活性剂(本文所述的化合物)溶解在溶剂中并添加成孔剂(例如，挥发性盐)来形成基质和微球。蒸发溶剂和成孔剂提供含有活性化合物的基质或微球。在另外的实施例中，持续释放剂型包括片剂，其中片剂含有阿佳酸和一种或多种聚合物，并且其中片剂可以通过压制阿佳酸和一种或多种聚合物来制备。在一些实施例中，一种或多种聚合物可包含与阿佳酸一起配制的吸湿性聚合物。在暴露于水分时，片剂溶解并溶胀。这种溶胀允许持续释放剂型保留在胃肠道上部。可使用不同等级的聚环氧乙烷来改变聚合物混合物的溶胀速率。

[0131] 在其它实施例中，持续释放剂型包括胶囊，其进一步包括涂有活性剂悬浮液和粘结剂的颗粒核心，其随后用聚合物涂布。聚合物可以是速率控制聚合物。一般来说，速率控制聚合物的输送速率由活性剂溶解的速率决定。

[0132] 在一些实施例中，可用于医治感染的本发明方法中的一种或多种治疗剂可以与药

学上可接受的载体、媒剂或佐剂一起配制。术语“药学上可接受的载体、媒剂或佐剂”是指可以与本发明化合物一起施用于受试者的载体、媒剂或佐剂,并且其不破坏本发明化合物的药理学活性并且当以足以递送治疗量的化合物的剂量施用时无毒的。

[0133] 可用于本发明剂型中的药学上可接受的载体、佐剂和媒剂包括但不限于离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、自乳化药物递送体系 (SEDDS) 如d-E-生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯;用于药物剂型中的表面活性剂,如Tweens或其它类似的聚合递送基质;血清蛋白质如人血清白蛋白;缓冲物质,如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐;或电解质,如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素基物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。环糊精如 α 、 β 和 γ -环糊精,或化学改性的衍生物如羟烷基环糊精(包括2-和3-羟丙基- β -环糊精)或其它溶解的衍生物也可有利地用于增强本文所述方剂的化合物的递送,所述方剂可用于预防和/或医治纤维化病症的本发明的方法中。在某些实施例中,单位剂量制剂被混配用于立即释放,但也公开了混配用于延迟或延长释放一种或两种药剂的单位剂量制剂。

[0134] 在一些实施例中,可以在本发明方法中使用的治疗剂以单一单位剂量配制,使得药剂在不同时间从剂量中释放。

[0135] 在另一个实施例中,例如,当一种或多种治疗剂每天施用一次或两次时,配制药剂以提供延长释放。例如,药剂配制有肠溶衣。在替代实施例中,使用双相控释递送体系配制药剂,从而提供延长的胃滞留。例如,在一些实施例中,递送体系包括(1)由基本上均匀的颗粒形成的内部固体颗粒相,所述内部固体颗粒相含有具有高水溶性的药物和一种或多种亲水性聚合物、一种或多种疏水性聚合物和/或一种或多种更疏水的材料,如一种或多种蜡、脂肪醇和/或脂肪酸酯,和(2)外部固体连续相,其中内部固体颗粒相的上述颗粒嵌入并分散在整个外部固体连续相中,所述外部固体连续相包括一种或多种疏水性聚合物、一种或多种疏水性聚合物和/或一种或多种更疏水性材料,如一种或多种蜡、脂肪醇和/或脂肪酸酯,它们可以压制成片剂或填充到胶囊中。在一些实施例中,将所述药剂掺入由亲水性聚合物构成的聚合基质中,所述亲水性聚合物在吸水时溶胀至足够大的尺寸以促进剂型在进食模式期间保留在胃中。

[0136] 制剂中的阿魏酸可以配制成速效和控释形式的组合。例如,阿魏酸配制成具有单一释放特性。例如,它不以修改的释放形式存在,例如,控释形式。

[0137] 本发明组合物可以恰在三餐中的每一餐、两次主餐中的每一餐或一餐之前或随其服用。在其它实施例中,本文公开的组合物可以每日施用一次或多次(例如,每日一次、每日两次或每日三次),并且不需要恰在餐前或随餐施用。

[0138] 本发明化合物或组合物可以口服施用,例如作为剂型中的组分。剂型可含有任何常规的无毒的药学上可接受的载体、佐剂或媒剂。在一些情况下,可以用药学上可接受的酸、碱或缓冲剂调节制剂的pH,以增强配制的化合物或其递送形式的稳定性。

[0139] 本发明的剂型可以以任何口服可接受的剂型口服施用,包括但不限于胶囊、片剂、乳液和水性悬浮液、分散体和溶液。在口服的片剂的情况下,常用的载体包括乳糖和玉米淀粉。通常还添加润滑剂,如硬脂酸镁。对于胶囊形式的口服施用,可用的稀释剂包括乳糖和干玉米淀粉。当口服施用水性悬浮液和/或乳液时,可将活性成分悬浮或溶解在与乳化剂

和/或悬浮剂混合的油相中。如果需要,可以添加某些甜味剂和/或调味剂和/或着色剂。

[0140] 胶囊的非限制性实例包括但不限于明胶胶囊、HPMC、硬壳、软壳或用于保持持续释放混合物的任何其它合适的胶囊。用于上述缓释剂型中的溶剂包括但不限于乙酸乙酯、三醋精、二甲基亚砷(DMSO)、碳酸亚丙酯、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、乙醇、苯甲醇、糖原质、 α -生育酚、Miglyol 810、异丙醇、邻苯二甲酸二乙酯、聚乙二醇400(PEG 400)、柠檬酸三乙酯和苯甲酸苄酯。

[0141] 可用于上述药物组合物中的粘度调节剂包括但不限于辛酸/癸酸甘油三酯(Miglyol 810)、肉豆蔻酸异丙酯(IPM)、油酸乙酯、柠檬酸三乙酯、邻苯二甲酸二甲酯、苯甲酸苄酯和各种等级的聚环氧乙烷。用于上述缓释剂型中的高粘度液体载体包括但不限于乙酸异丁酸蔗糖酯(SA1B)和乙酸丁酸纤维素(CAB) 381-20。

[0142] 构成优选的半透性层的材料的非限制性实例包括但不限于纤维素聚合物,如乙酸纤维素、酰化纤维素、二酰化纤维素、三酰化纤维素、二乙酸纤维素、三乙酸纤维素或其任何混合物;乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、聚乙烯、乙烯共聚物、聚烯烃,包括环氧乙烷共聚物(例如Engage.RTM.--Dupont Dow弹性体)、聚酰胺、纤维素材料、聚氨酯、聚醚封端的酰胺和共聚物(例如PEBAX.RTM.、纤维素乙酸丁酸酯和聚乙酸乙烯酯)。可用于上述持续释放剂型中的崩解剂的非限制性实例包括但不限于交联羧甲基纤维素钠、交联维酮、海藻酸钠或类似的赋形剂。

[0143] 可用于上述剂型中的粘结剂的非限制性实例包括但不限于羟烷基纤维素、羟烷基纤维素或聚乙烯吡咯烷酮。

[0144] 可用于上述剂型中的渗透剂的非限制性实例包括但不限于山梨糖醇、甘露醇、氯化钠或其它盐。用于上述持续释放剂型中的生物相容性聚合物的非限制性实例包括但不限于聚(羟基酸)、聚酸酐、聚原酸酯、聚酰胺、聚碳酸酯、聚烯烃、聚亚烷基二醇、聚环氧烷、聚亚烷基对苯二甲酸酯、聚乙烯醇、聚乙烯醚、聚乙烯酯、聚卤乙烯、聚乙烯吡咯烷酮、聚硅氧烷、聚(乙烯醇)、聚(乙酸乙烯酯)、聚苯乙烯、聚氨酯及其共聚物、合成纤维素、聚丙烯酸、聚(丁酸)、聚(戊酸)和聚(丙交酯-共-己内酯)、乙烯乙酸乙烯酯、其共聚物和共混物。

[0145] 可用于上述剂型中的吸湿兴聚合物的非限制性实例包括但不限于聚环氧乙烷(例如,MW为4,000,000至10,000,000的Polyox.RTM.)、纤维素羟甲基纤维素、羟乙基纤维素、交联聚丙烯酸和黄原胶。

[0146] 可用于上述剂型中的速率控制聚合物的非限制性实例包括但不限于聚合丙烯酸酯、甲基丙烯酸酯漆或其混合物、聚合丙烯酸酯漆、甲基丙烯酸酯漆、丙烯酸树脂,其包括丙烯酸酯和甲基丙烯酸酯的共聚物或甲基丙烯酸铵漆与增塑剂。

[0147] 试剂盒

[0148] 本文所述的剂型可以提供在试剂盒中。试剂盒包括(a)用于本文所述方法中的化合物,和任选的(b)信息材料。信息材料可以是描述性的、指导性的、市场营销的或涉及本文所述方法和/或剂型用于本文所述方法的用途的其它材料。

[0149] 试剂盒的信息材料不限制其形式。在一个实施例中,信息材料可包括关于化合物的生产、化合物的分子量、浓度、有效期、批次或产地信息等的信息。在一个实施例中,信息材料涉及施用化合物的方法。

[0150] 在一个实施例中,信息材料可包括以合适的方式使用本文所述的化合物或组合物

以进行本文所述的方法,例如,进行反应以产生本文所述的化合物的说明书。

[0151] 试剂盒的信息材料不限制其形式。在许多情况下,信息材料(例如,说明书)以印刷品提供,例如印刷文本、图画和/或照片,例如标签或印刷纸。然而,信息材料也可以以其它格式提供,如盲文、计算机可读材料、视频记录或音频记录。在另一个实施例中,试剂盒的信息材料是联系信息,例如物理地址、电子邮件地址、网站或电话号码,其中试剂盒的用户可以获得关于本文所述化合物的实质性信息和/或其在本文所述方法中的用途。当然,信息材料也可以以任何格式组合提供。

[0152] 除了本文所述的剂型之外,试剂盒的组合物可包括其它成分,如溶剂或缓冲剂、稳定剂、防腐剂、调味剂(例如,苦味拮抗剂或甜味剂)、香料、染料或着色剂,例如,用于对试剂盒中的一种或多种组分或其它化妆品成分进行染色或着色,和/或用于医治本文所述的病况或病症的第二种药剂。或者,其它成分可以包括在试剂盒中,但是在与本文所述的化合物不同的组合物或容器中。在这类实施例中,试剂盒可包括用于混合本文所述化合物和其它成分的说明书,或用于将本文所述化合物与其它成分一起使用的说明书。

[0153] 在一些实施例中,试剂盒的组分在惰性条件下(例如,在氮气或另一种惰性气体如氩气下)储存。在一些实施例中,试剂盒的组分在无水条件下储存(例如,用干燥剂)。在一些实施例中,组分储存在遮光容器中,例如琥珀色小瓶。

[0154] 本文所述的剂型可以任何形式提供,例如液体、干燥或冻干形式。优选本文所述的化合物基本上是纯的和/或无菌的。当以液体溶液提供本文所述的化合物时,液体溶液优选为水溶液,其中优选无菌水溶液。当本文所述的化合物以干燥形式提供时,通常通过添加合适的溶剂进行重构。可任选地在试剂盒中提供溶剂,例如无菌水或缓冲液。

[0155] 试剂盒可包括用于含有本文所述剂型的组合物的一个或多个容器。在一些实施例中,试剂盒含有用于组合物和信息材料的单独的容器、分隔物或隔室。例如,组合物可以含于瓶子、小瓶或注射器中,并且信息材料可以含于塑料套管或包装中。在其它实施例中,试剂盒的单独元件含于单个未分开的容器内。例如,剂型含于其上贴有标签形式的信息材料的瓶子、小瓶或注射器中。在一些实施例中,试剂盒包括多个(例如,一包)各个容器,每个容器含有本文所述化合物的一种或多种单位剂型(例如,本文所述的剂型)。例如,试剂盒包括多个注射器、安瓿、箔包或泡罩包装,每个含有单个单位剂量的本文所述的剂型。

[0156] 套件的容器可以是气密的、防水的(例如,不透水分或蒸发的变化)和/或不透光的。

[0157] 试剂盒任选地包括适合于使用剂型的装置,例如注射器、移液管、镊子、量匙、拭子(例如,棉签或木拭子),或任何这样的装置。

[0158] 本发明的试剂盒可包括不同强度的剂型,以向受试者提供适合于本文所述的起始阶段方案、诱发阶段方案或维持阶段方案中的一个或多个的剂量。或者,试剂盒可包括刻痕片剂,以允许使用者根据需要施用分剂量。

[0159] 已经公开了具体的化合物和组合物(例如,包括阿佳酸或其药学上可接受的盐的药物组合物)。已经描述了本发明的许多实施例。然而,应理解,在不脱离本发明的精神和范围的情况下,可以进行各种修改。因此,其它实施例在以下权利要求书的范围内。然而,对于本领域技术人员显而易见的是,在不脱离本发明的发明构思的情况下,除了已经描述的那些之外的更多修改是可能的。因此,除了本公开的精神之外,本发明的主题不受限制。

[0160] 本文提及的所有专利、专利出版物和出版物均通过引用整体并入本文,以公开和描述与所引用的出版物相关的方法和/或材料。本文讨论的出版物仅仅是为了它们在本申请的提交日之前的公开内容而提供的。本文中的任何内容均不应被解释为承认本发明无权凭借在先发明而先于这些出版物。

[0161] 实例

[0162] 提出以下实例以向本领域普通技术人员提供如何使用、制备和评估本文所述的组合物和方法的描述,并且旨在纯粹是本发明的示例且不在限制发明人认为是其发明的范围。

[0163] 实例1.在WT小鼠肺部中阿佳酸在用铜绿假单胞菌珠粒感染的小鼠中的研究

[0164] 概述

[0165] 在接种铜绿假单胞菌的小鼠中测试了阿佳酸(AJA),以确定其对医治感染的作用,包括促进细菌清除的能力。小鼠(WT,C57BL/6J)在肺部中接种铜绿假单胞菌琼脂糖珠,然后每天用口服剂量1mg/kg和5mg/kg的阿佳酸处理两次。然后在建立慢性铜绿假单胞菌感染后24小时开始,通过管饲法以于2%甲基纤维素中的1mg/kg或5mg/kg剂量BID施用阿佳酸10天。每天跟踪该研究中的WT动物的临床评分和体重,持续10天。在第10天,对动物实施安乐死并评估细菌负荷(菌落形成单位,cfu)、总支气管肺泡灌洗(BAL)、白细胞计数(WBC)和差异细胞计数。在WT C57BL/6J小鼠中,相较于媒剂,阿佳酸具有良好的耐受性并且在医治感染方面更有效。

[0166] 方法

[0167] 该研究用40只野生型雌性C57BL/6J小鼠进行。每组小鼠接种 10^5 个菌落形成单位(CFU)的铜绿假单胞菌(PAM 5715,CF临床分离物)。感染后一天,对小鼠给予2%甲基纤维素、2%甲基纤维素+1mg/kg阿佳酸,或2%甲基纤维素+5mg/kg阿佳酸BID。跟踪动物10天。在第10天,对动物实施安乐死用于用体液获得的BAL CFU、差异、总白细胞计数,并保存沉淀用于将来的研究。

[0168] 处理组和对照组包括以下:用2%甲基纤维素处理的感染铜绿假单胞菌的对照组、用于2%甲基纤维素中的1mg/kg BID AJA处理的感染铜绿假单胞菌的动物、用于2%甲基纤维素中的5mg/kg BID AJA处理的感染铜绿假单胞菌的动物和未经处理的基线对照组。

[0169] 结果

[0170] 相对于感染或未感染的对照组,在第3天在阿佳酸处理组(1mg/kg和5mg/kg)中的白细胞应答升高。所有组在第10天标准化,与对照相比没有白细胞升高。

[0171] 与白细胞计数一致,相对于未处理的对照组,所有处理组中嗜中性粒细胞水平升高。到第10天,处理组转向肺泡巨噬细胞增加和嗜中性粒细胞减少。在任何组中,淋巴细胞或嗜酸性粒细胞没有显著差异或水平。

[0172] 就用阿佳酸处理对铜绿假单胞菌的细菌负荷的影响而言,在第10天,5mg/kg剂量有效地降低肺部中细菌CFU的总数(图1)。

[0173] 各组之间的体重曲线一致,对动物如何保持体重没有实际不利影响(图2)。

[0174] 在WT C57BL/6J小鼠中,相较于媒剂,阿佳酸具有良好的耐受性并且在医治感染方面更有效。

[0175] 实例2.在CFTR KO小鼠肺部中阿佳酸在用铜绿假单胞菌珠粒感染的小鼠中的研究

[0176] 概述

[0177] 先前已经确定,Cftr缺陷型动物对铜绿假单胞菌感染具有更强的炎症反应,因此在解决细菌负荷方面效率非常低。此外,感染后的Cftr缺陷型动物体重显著减轻,并且临床评分较高。在接种假单胞菌的Cftr基因敲除小鼠中测试了阿佳酸(AJA),以确定其对医治感染的作用,包括其促进细菌清除的能力。

[0178] 在口服给药5mg/kg阿佳酸BID后,评估有限数量的WT(C57BL/6J,n=5)和Cftr KO(同基因同源,De1F508-FABP肠道校正动物,n=5)的安全性、毒性和功效。作为对照,感染PA的WT C57BL/6J和Cftr KO小鼠给予2%甲基纤维素媒剂。每天跟踪该研究中的Cftr KO和WT动物的临床评分和体重,持续10天。在第10天,对动物实施安乐死并评估细菌负荷(菌落形成单位,cfu)、总支气管肺泡灌洗(BAL)白细胞计数(WBC)和差异细胞计数。

[0179] 该研究表明,阿佳酸可有效医治具有增加的感染易感性和/或降低的消退感染能力的动物(例如具有囊性纤维化的动物)的感染。

[0180] 方法

[0181] 该研究的设计总结在图3中。小鼠在肺部中接种铜绿假单胞菌(PA)琼脂糖珠,然后每天用口服剂量1mg/kg和5mg/kg的阿佳酸处理两次。然后在建立慢性铜绿假单胞菌(PA)感染后24小时开始,通过管饲法以于2%甲基纤维素中的1mg/kg或5mg/kg剂量BID施用阿糖酸10天。该研究包括4组:

[0182] 1) C57BL/6J+媒剂(WT DIL,n=5),

[0183] 2) C57BL/6J+5mg/kg阿佳酸BID(WT AJ,n=5),

[0184] 3) Cftr KO+媒剂(CF DIL,n=5),和

[0185] 4) Cftr KO+5mg/kg阿佳酸BID(CF AJ,n=5),

[0186] 并且使用标准琼脂糖珠模型对所有动物用铜绿假单胞菌慢性感染。

[0187] 研究方案

[0188] 研究方案总结在表1中。

[0189] 表1. 铜绿假单胞菌琼脂糖珠模型研究方案总结

[0190]

天数	行动
第-3 天	验证 <i>铜绿假单胞菌</i> 培养物
第-2 天	开始第二瓶 <i>铜绿假单胞菌</i> 以标准化细菌的生长动力学和活力
第-1 天	进行琼脂糖珠制备，将活的 10^5 个 <i>铜绿假单胞菌</i> 掺入具有已知大小和分布的琼脂糖珠中。在给予小鼠之前，将这些珠粒铺板以确定程序的成功。
第 0 天	验证培养的珠粒并使用 CFU 对滴度作图以确定琼脂糖珠制剂的定量值。该过程用于鉴定 <i>铜绿假单胞菌</i> 的 10^5 CFU 剂量。记录动物组的体重，然后进行经气管施用琼脂糖珠制剂。
第+1 天	再次评估小鼠的体重和临床评分。开始施用治疗剂量。
第+ 2 至 9 天	记录所有体重和临床评分，并继续治疗施用。
第+10 天	在评估所有小鼠的体重、临床评分后，对动物实施安乐死，以使用支气管肺泡灌洗 (BAL) 评估感染和炎症的状态。评估 BAL 液的细胞差异、细菌负荷和

[0191]

	弹性蛋白酶，其中剩余的 BAL 液等分用于生物标志物评定，包括：TNF α 、IL-1 β 、IFN γ 、KC、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1、IL-6、IL-10、IL-17、G-CSF、GM-CSF 和钙卫蛋白。如果研究结果认为合理，则保留 BAL 液和细胞沉淀用于将来通过基因阵列分析。将经 BAL 的肺均质化以得到细菌负荷，保存肺匀浆沉淀和上清液用于进一步分析。从所有动物获得血清用于与 CF 模型相关的系统生物标志物，并保存等分试样用于将来分析。还获得了用于所讨论的治疗剂的造血作用的骨髓。
--	--

[0192] 结果

[0193] 阿佳酸将 Cftr KO (Cftr $^{-/-}$) 动物的存活率从 3/5 (仅媒介剂) 提高至 5/5 (5mg/kg 阿佳酸 BID)。存活率总结在表 2 中。

[0194] 表 2. 在肺部中用铜绿假单胞菌珠粒感染的小鼠的存活率

[0195]

处理组	存活率 (第 10 天)
WT	5/5 (100%)
WT + AJA	5/5 (100%)
CF	3/5 (60%)
CF + AJA	5/5 (100%)

[0196] 此外,用阿佳酸处理Cftr KO动物可降低体重减轻($P<0.01$) (图2)、降低BAL WBC计数(图4和5)、减少嗜中性粒细胞数量($P<0.05$) (图6)、增加肺泡巨噬细胞的数量(图7),并且如通过肺CFU所评定的,改善了动物消退肺部感染的能力($P_{\text{方差}}=0.002$) (图8)。该研究表明,阿佳酸可有效医治具有增加的感染易感性和/或降低的消退感染能力的动物(例如但不限于具有囊性纤维化的动物)的感染。

[0197] 实例3. 使用皮肤攻击模型(也称为水疱模型)的感染消退的研究

[0198] 概述

[0199] 在皮肤攻击模型中测定施用包含阿佳酸的药物组合物医治感染的能力。通过将UV灭活的大肠杆菌皮内注射到健康志愿者的前臂来触发自消退急性炎症反应。虽然已知阿佳酸具有抗炎作用,但用阿佳酸医治可提供优于替代抗炎医治(例如,泼尼松或其它类固醇医治)的益处,这已示出可降低细菌清除率,因此可降低消退感染的能力。进行该研究以确定阿佳酸是否促进炎症部位的感染消退,从而医治该感染。

[0200] 通过在发炎部位施加负压,在注射UV灭活的大肠杆菌后的几个时间点收获细胞和渗出物。发作的特点是高血流量、中性白细胞增多以及促炎性细胞因子的峰值水平,而消退示出血流量下降、嗜中性粒细胞减少、单核细胞/巨噬细胞增加以及经典的促炎性细胞因子的水平变小。

[0201] 处理组

[0202] 该研究包括四个实验组(每组 $n=10$):

[0203] (1) 安慰剂,每日两次,持续四天

[0204] (2) 阿佳酸,5mg,每日两次,持续四天

[0205] (3) 阿佳酸,20mg,每日两次,持续四天

[0206] (4) 泼尼松,每日15mg,持续四天

[0207] 将志愿者(健康男性,18-50岁)随机分配到上述三组中的一组,并连续四天口服施用试验药物。在第四天的早晨(在摄入第一剂量后),通过用UV灭活的大肠杆菌感染引发实验性急性炎症。药物和安慰剂作为胶囊提供。

[0208] 紫外线灭活的大肠杆菌(UVKEc):制备和注射

[0209] UV灭活的大肠杆菌(菌株:NCTC 10418,来源:英国公共卫生部门,英国(Public Health England,UK)如下制备。所述大肠杆菌在Luria Broth(西格玛(Sigma))中于37°C下生长过夜。第二天早晨,将细菌在无菌PBS(2500g,20分钟,4°C)中洗涤两次,并重悬于无菌皮氏培养皿中。然后细菌通过暴露于紫外光(UV)源(302nm,ChemiDoc,反-UV模式;Bio-Rad实验室)进行灭活60分钟,然后再次在无菌盐水洗涤。通过光密度测定细菌计数($OD_{600}=0.365$ 等于108个大肠杆菌/ml)。将UVKEc重悬于一定体积的无菌盐水中以获得 1.5×10^8 /ml的计数,等分到无菌埃彭道夫(eppendorf)管中,然后在-80°C冷冻直至用于注射。

[0210] 皮内注射UVKEc

[0211] 在消毒和剃刮皮肤后,将100 μ l盐水中的 1.5×10^7 UVKEc皮内注射到每个前臂的掌侧上的标记部位。为了表征使用阿佳酸医治感染,将每个前臂分配到预定时间点之一,即4、8、14、24、48或72小时(h)。因此,允许皮内注射UVKEc的效果持续时间点,之后在标记的注射部位上方产生吸疱,然后立即吸出。总之,志愿者有两个注射部位,每个前臂一个,并有两个时间点。在另一组志愿者身上,在原生皮肤上产生水疱,并作为基线时间点进行处理。在同

意之前,与志愿者讨论研究时间点。

[0212] 激光多普勒成像

[0213] 激光多普勒成像仪 (moor LDI-HIR, 英国 Devon 阿克西斯斯特的摩尔仪器有限公司 (Moor Instruments Ltd, Axminster, Devon, UK)) 用于量化感染部位的血流量。在注射 UVKEc 后的预定时间点,将前臂以固定距离放置在扫描仪下方以扫描固定区域。扫描仪发射激光束,其中一部分被发炎区域的红细胞散射。散射引起反射光频率的变化,这然后由光电检测器检测。在所述部位处的红细胞的速度和浓度直接影响多普勒频移,并考虑以任意灌注单位测量的信号强度。通过 moorLDI 软件 (第5版) 分析数据并显示为示出扫描区域上的不同血流水平的彩色编码图像。计算总血流量 (以灌注单位测量) 作为高于背景信号的有效像素数 (截止点 = 300 灌注单位) 和有效像素 11、12 上的平均血流信号的乘积。

[0214] 吸疱的诱生

[0215] 为了从感染部位获得渗出物,直接在注射部位诱生直径为 10mm 的吸疱。通过将通过管连接的吸疱腔室放置到负压仪器 (NP-4, 美国马里兰州的电子多样性有限公司 (Electronic diversities Ltd., MD, USA)) 来产生吸疱。腔室由三部分构成:具有 10mm 孔的铝板、尼龙杯和透明玻璃盖,所有这些都通过可拆卸的气密密封件固定。将抽吸腔室放置在前臂上,使 10mm 孔以标记的注射部位为中心。在将抽吸腔室牢固地捆绑在前臂上之后,由 2 至 6-7 英寸的汞 (Hg) 逐渐施加负压,直到形成覆盖孔内表面区域的单个未接种的水疱。在完全形成水疱后,压力逐渐降至基线。吸疱诱生过程需要 1.5-2 小时。

[0216] 水疱渗出物抽吸

[0217] 在形成后立即吸出吸疱以收集渗出物。为了吸出渗出液,使用 26.5 号针头沿水疱侧边缘刺穿水疱顶。然后通过在水疱顶上滚动 1ml 注射器将渗出物轻轻推出到皮肤上,并使用 200 μ l 移液管尖端同时吸出。将渗出物收集到 96 孔 V 底板的孔中,该底板含有 50 μ l 含 3% 柠檬酸钠 (西格玛) 的 PBS (Gibco)。然后将板在 4 $^{\circ}$ C 下以 1000g 离心 5 分钟以将细胞与上清液分离。离心后,将得到的细胞沉淀重悬于 200 μ l ACK 裂解缓冲液 (龙沙 (Lonza)) 中以裂解红细胞 (RBC)。将 RBC 耗尽的细胞沉淀重悬于 100 μ l 细胞染色缓冲液 (含有 5% FCS (Gibco) + 0.1% 叠氮化钠的 PBS) 中,并使用手动血细胞计数器获得细胞计数。称重上清液以估计水疱液体积,分成 30 μ l 等分试样,然后储存在 -80 $^{\circ}$ C 下。然后使用 0.5% Cetrimide 喷雾 (沙威隆 (Savlon)) 清洁水疱区域并用保护性敷料垫 (9 \times 10cm, Mepore) 覆盖。

[0218] 外周血分析

[0219] 使用无菌技术通过静脉穿刺从内侧肘静脉收集外周血。1} 在 UVKEc 皮内注射后基线、4、24、48 和 72 小时收集血液,收集到 EDTA 和肝素抗凝固真空采血管 (BD) 中。对于全血细胞计数,EDTA 抗凝固的血液被送到外部病理实验室 (博士实验室,英国伦敦惠特菲尔德大街 (The Doctor's Laboratory, Whitfield Street, London, UK))。将肝素抗凝固的血液以 2500g 在室温下离心 10 分钟以分离血浆。将血浆等分并储存在 -80 $^{\circ}$ C 下,直至分析细胞因子。

[0220] 流式细胞术

[0221] 通过多色流式细胞仪鉴定水疱液中的白细胞亚群。对于细胞表面标志物染色,将 100 μ l 细胞染色缓冲液 (含有 5% FCS + 0.1% 叠氮化钠的 PBS) 中的水疱细胞与抗体混合液一起温育。将染色的样品在细胞洗涤缓冲液 (含有 1% FCS 的 PBS + 2mm EDTA) 中以 1000g 在 4 $^{\circ}$ C 下洗涤 5 分钟。然后将细胞固定在等体积的 1% 多聚甲醛中,并在 4 $^{\circ}$ C 下避光储存,并在 4 小时内

在BD LSR Fortessa™流式细胞仪上分析。流式细胞术数据由Flowjo软件 (Treestar公司 (Treestar Inc.)) 分析。

[0222] 多重ELISA

[0223] 人细胞因子30重试剂盒购自Meso Scale Delivery (美国马里兰州的MSD (MSD, MD, USA))。每个试剂盒由三个10重面板组成-促炎性面板1、细胞因子面板1和趋化因子面板1。将来自水疱渗出物或血浆的上清液稀释在合适的测定稀释剂中,并按照制造商的说明书进行测定。所有测定组分均由制造商提供。

[0224] 水疱模型的结果总结

[0225] 皮下注射UV灭活的大肠杆菌 (UVKEc) 以诱发人类的先天免疫应答。健康男性志愿者随机接受安慰剂、5mg AJA BID、20mg AJA BID或15mg泼尼松QD,持续四天。在第四天,通过在两个前臂上皮内注射UV灭活的大肠杆菌引发急性炎症。在注射后4小时或10小时诱生水疱以收集和评估脂质介质和细胞的水平。

[0226] 发现阿佳酸可减少血管舒张、趋化因子IL-8的产生和嗜中性粒细胞的组织浸润。对炎症的医治的结果与用皮质类固醇 (例如泼尼松) 医治产生的结果类似。重要的是,用泼尼松处理不会增加细菌清除率并且可能减慢细菌清除的速率,而用阿佳酸处理会降低注射部位的内毒素水平,表明阿佳酸可以有效增加细菌清除率,从而医治感染。

[0227] 阿佳酸处理可以增加局部血流量

[0228] 在用安慰剂、5mg AJA、20mg AJA和15mg泼尼松处理后,在UVKEc触发的炎症部位观察到血管充血 (图9-11)。通过激光多普勒成像仪 (moorLDI-HIR) 在指定的时间点评定注射部位的总血流量。图像对局部血管血流量对相应量化示出在至少20mg AJA下的局部血流量增加,这表明20mg AJA可能触发有效的促消退因子。

[0229] 阿佳酸处理可以减少嗜中性粒细胞浸润

[0230] 注射部位的炎性渗出物被收集到在前臂上4小时 (发作阶段) 和对侧前臂上10小时 (消退阶段) 后产生的吸疱中。渗出物中的嗜中性粒细胞通过多色流式细胞术作为 (HLA-DR-/CD16++) 进行表型分型。图12示出相对于安慰剂,在用阿佳酸或泼尼松处理后炎症部位的嗜中性粒细胞浸润减少。图13示出在20mg阿佳酸组中炎症部位的嗜中性粒细胞浸润的时间过程,并且同样相对于安慰剂,嗜中性粒细胞浸润减少。因此,虽然阿佳酸似乎增加感染部位的血流量,但它似乎不会引起嗜中性粒细胞 (例如,多形核嗜中性粒细胞或PMN) 的流入。

[0231] 阿佳酸处理可以增加单核吞噬细胞 (巨噬细胞)

[0232] 注射部位的炎性渗出物被收集到在前臂上4小时 (发作阶段) 和对侧前臂上10小时 (消退阶段) 后产生的吸疱中。渗出物中的单核细胞/巨噬细胞通过多色流式细胞术作为HLA-DR⁺CD14⁺⁺细胞进行表型分型。图14示出用阿佳处理可增加UVKEc注射部位的巨噬细胞浸润。

[0233] 用阿佳酸处理可以增加单核细胞/巨噬细胞上的CD163和CD86表达

[0234] 注射部位的炎性渗出物被收集到在前臂上4小时 (发作阶段) 和对侧前臂上10小时 (消退阶段) 后产生的吸疱中。通过多色流式细胞术对渗出物中的单核细胞/巨噬细胞进行表型分型。CD163和CD86单核细胞/巨噬细胞在4小时和10小时的表面表达 (中值荧光强度-MFI) 示于图15中。数据表明,阿佳酸处理可能导致单核细胞/巨噬细胞上CD163和CD86表达

的增加。

[0235] 用阿佳酸处理可以降低促炎性细胞因子的水平

[0236] 注射部位的炎性渗出物被收集到在前臂上4小时(发作阶段)和对侧前臂上10小时(消退阶段)后产生的吸疱中。使用多重ELISA (MSD) 测量炎性渗出物中的IL-8细胞因子。图16示出用阿佳酸处理可以降低促炎性细胞因子如IL-8的水平。

[0237] 用阿佳酸处理可以降低内毒素水平,这表明UVKEc注射部位的细菌清除率增加

[0238] 注射部位的炎性渗出物被收集到在前臂上4小时(发作阶段)和对侧前臂上10小时(消退阶段)后产生的吸疱中。使用动态比浊法鲎变形细胞裂解物测试测量内毒素。如图17所示,在人的皮内UV灭活的大肠杆菌驱动的炎症模型中,用阿佳酸处理降低了内毒素水平。这表明注射部位的细菌清除率增加。值得注意的是,用泼尼松处理后未观察到细菌清除率的这种降低。事实上,泼尼松处理似乎会增加内毒素水平,这表明注射部位的细菌清除率降低。

[0239] 用阿佳酸处理不会抑制C反应蛋白(CRP)的升高

[0240] 在炎症后的多个时间点采集外周血,并分析由其制备的血清的C反应蛋白(CRP)(博士实验室,英国伦敦(The Doctor's laboratory, London, UK))。图18示出在UvkEc触发的急性炎症后,用阿佳酸处理似乎不会抑制血清中C反应蛋白水平的升高。这是值得注意的,因为CRP促进调理作用(例如,免疫过程,其中如细菌的粒子被靶中而被吞噬细胞破坏)。相比之下,泼尼松似乎确实抑制了CRP的升高。

[0241] 实例4. 在患有囊性纤维化的受试者的2期研究中,阿佳酸(anabasum)减少急性肺部恶化

[0242] 评估施用包括阿佳酸的药物组合物的在患有囊性纤维化的受试者的2期研究中减少急性肺部恶化的能力。用阿佳酸医治减少与安慰剂组相比的需要用静脉内抗生素医治的急性肺部恶化。用阿佳酸医治还减少与安慰剂组相比的需要用新抗生素医治的急性肺部恶化。在所有处理组中观察到减少,在最高剂量(20mg, 每天两次)的受试者中观察到最大程度的减少。

[0243] 研究设计

[0244] 在患有囊性纤维化的受试者中进行国际、多中心、双盲、随机、安慰剂对照的2期研究。该研究的主要目的是测试在患有囊性纤维化的成人中阿佳酸的安全性和耐受性,所述患有囊性纤维化的成人在1秒钟内用力呼气量(FEV1)百分比预测至少40%预测,而不考虑其CFTR突变、感染病原体或基线医治。特别感兴趣的事件包括需要静脉内抗生素医治或用新抗生素医治的急性恶化。

[0245] 在美国和欧洲的21个囊性纤维化中心,八十五名稳定标准护理药疗的受试者服用了阿佳酸,并且每天用阿佳酸医治持续84天,随访时间为28天。在研究的第一部分(第1-4周)期间,受试者被随机分配到以下处理组:安慰剂(n=35)、1mg/天阿佳酸(n=26)或5mg/天阿佳酸(n=24)。在研究的第二部分(第5-13周)期间,在研究的第一部分中给予阿佳酸的受试者被重新随机分成每天一次20mg的阿佳酸(n=31)或每天两次20mg阿佳酸(n=30),其中来自安慰剂组的11名受试者也被随机分配到阿佳酸组中。研究的最后一部分是医治后28天的随访期。

[0246] 结果

[0247] 八十五名受试者服用研究药物,其中74人完成了研究。三名受试者撤回同意书,5名因不良事件退出(安慰剂组2名,anabasum 3名),1名受试者失访,2名受试者因医治无关的原因而退出。阿佳酸和安慰剂组之间的基线特征总体类似。未观察到相关的重大或严重医治突发性不良事件。

[0248] 当与安慰剂相比时,用阿佳酸医治引起需要用静脉内抗生素医治的急性肺部恶化的发生的剂量依赖性减少(图19)。在用20mg BID的阿佳酸医治的受试者中,在48周的急性肺部恶化率中观察到75%的减少。在施用1mg/天、5mg/天或20mg/天的阿佳酸的受试者中,对于他们各自的医治期也观察到减少。表3中提供了观察到需要用静脉内抗生素医治的肺部恶化的发生的总结。

[0249] 表3. 需要静脉注射抗生素的急性肺部恶化

[0250]

处理组	受试者, n (风险%)	
	第 1-4 周	第 5-12 周
安慰剂	3 (8.6)	
阿佳酸 1 mg	1 (3.8)	
阿佳酸 5 mg	1 (4.2)	
安慰剂		3 (16.7)
阿佳酸 20 mg		3 (6.5)
阿佳酸 20 mg BID		1 (3.3)

[0251] 用阿佳酸医治还引起需要用任何新抗生素医治的急性肺部恶化的发生的剂量依赖性减少,(例如,长期用一种或多种抗生素医治的受试者,或由于急性肺部恶化进一步需要用新抗生素医治的受试者)(图20)。在用20mg BID的阿佳酸医治的受试者中,在48周的急性肺部恶化率中观察到82%的减少。在施用1mg/天、5mg/天或20mg/天的阿佳酸的受试者中,对于他们各自的医治期也观察到减少。表4中提供了观察到需要用新抗生素医治的肺部恶化的发生的总结。

[0252] 表4. 需要新抗生素的急性肺部恶化

[0253]

处理组, 有第 1 次恶化风险的 N	有风险的受试者 n/N (%)		
	第 1-4 周	第 5-12 周	医治后
安慰剂, N=34	6 (25.0)		
阿佳酸 1 mg, N=22	3 (13.6)		
阿佳酸 5 mg, N=23	3 (13.0)		
安慰剂, N=18		9 (50.0)	
阿佳酸 20 mg, N=25		4 (16.0)	
阿佳酸 20 mg BID, N=24		2 (8.3)	
安慰剂, N=9			2 (22.2)
阿佳酸 20 mg, N=20			6 (30.0)
阿佳酸 20 mg BID, N=22			2 (9.1)

[0254] 其它实施例

[0255] 虽然已经结合本发明的具体实施例描述了本发明,但应理解,本发明能够进一步修改,并且本申请旨在涵盖通常遵循本发明原理并包括本发明所属领域中公知或普遍实践且可应用于本文前述的基本特征的与本发明有所偏离的一些内容的本发明的任何变化、用途或修改,并且归入权利要求的范围内。其它实施例在权利要求内。

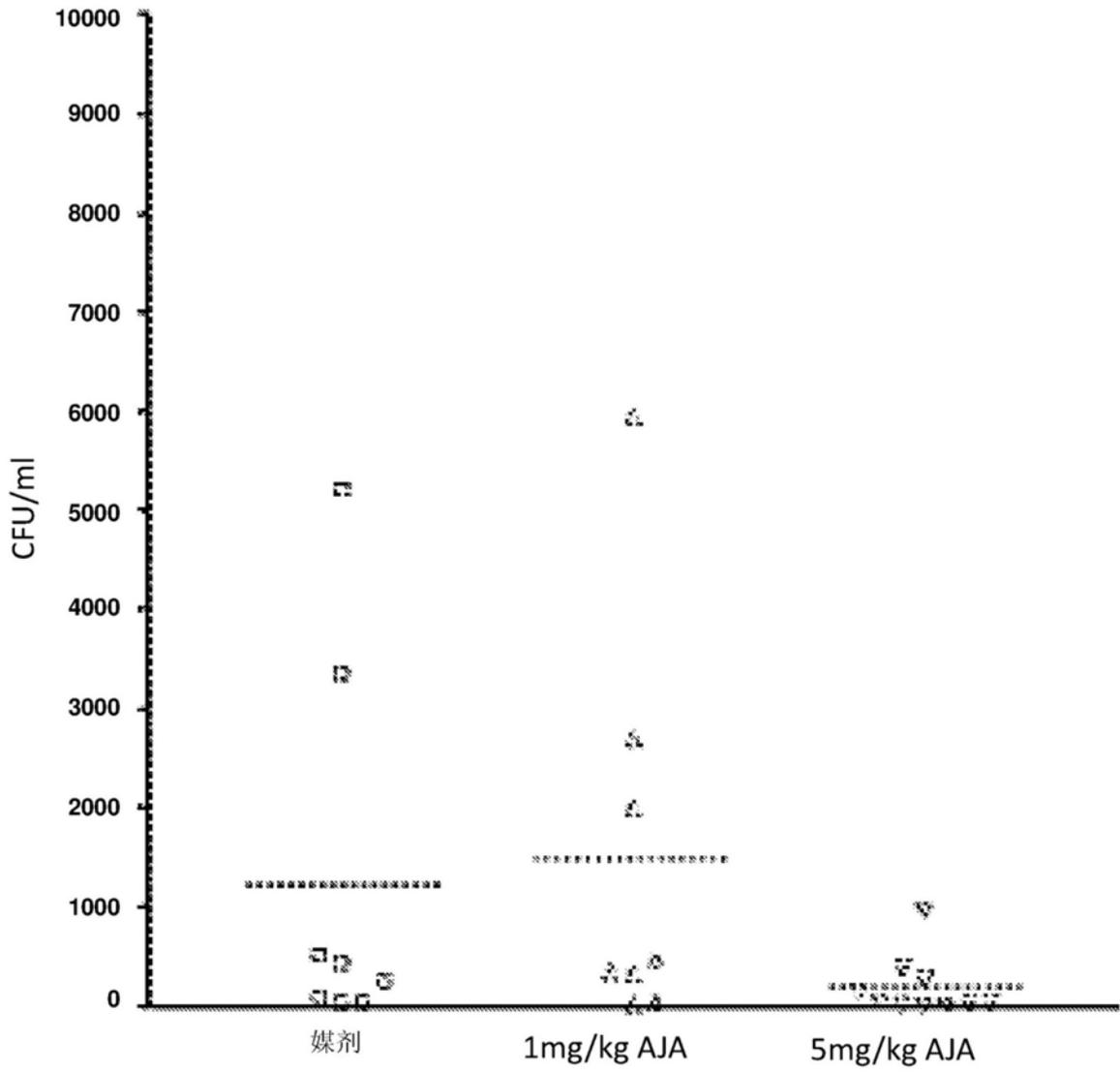


图1

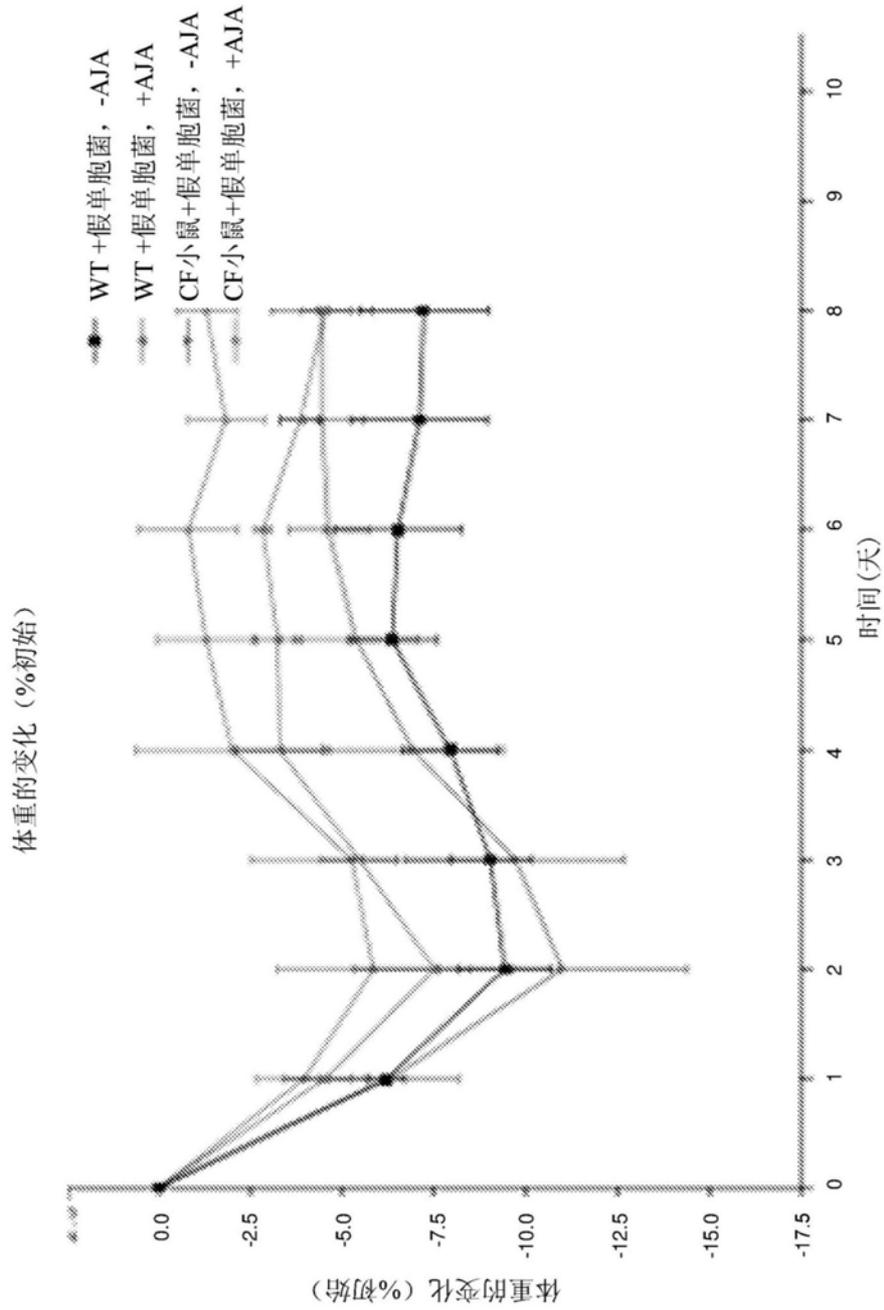


图2



图3

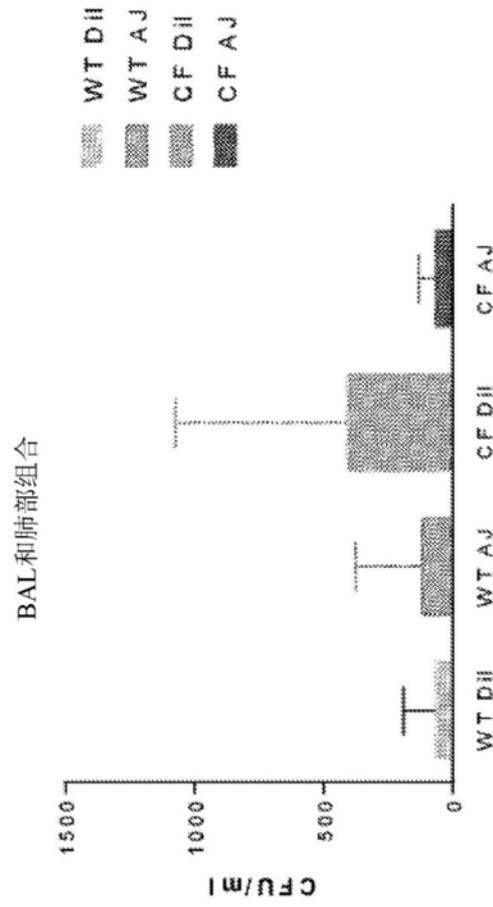


图4

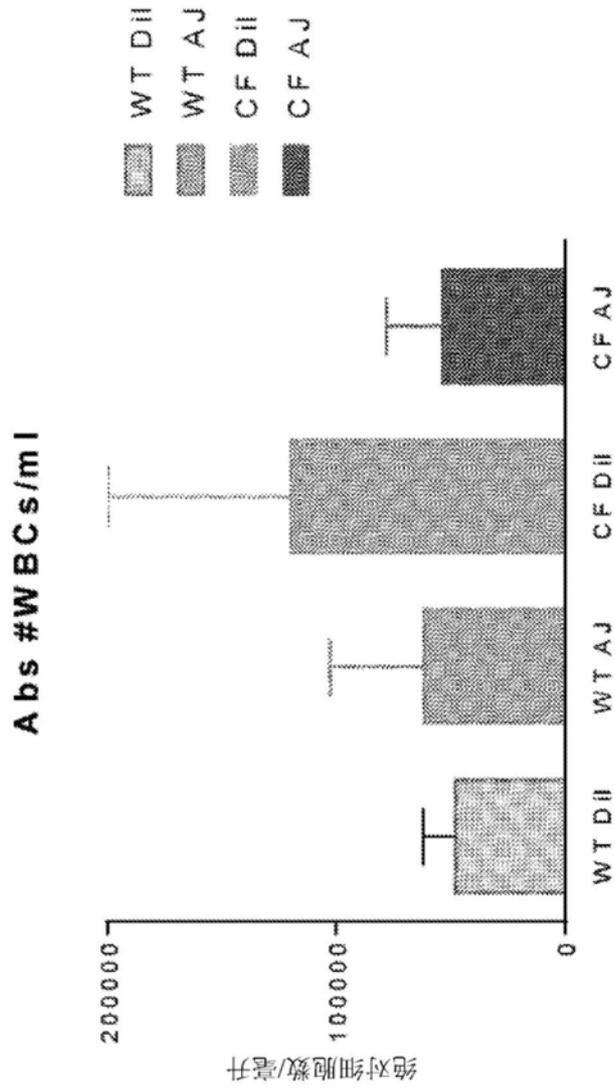


图5

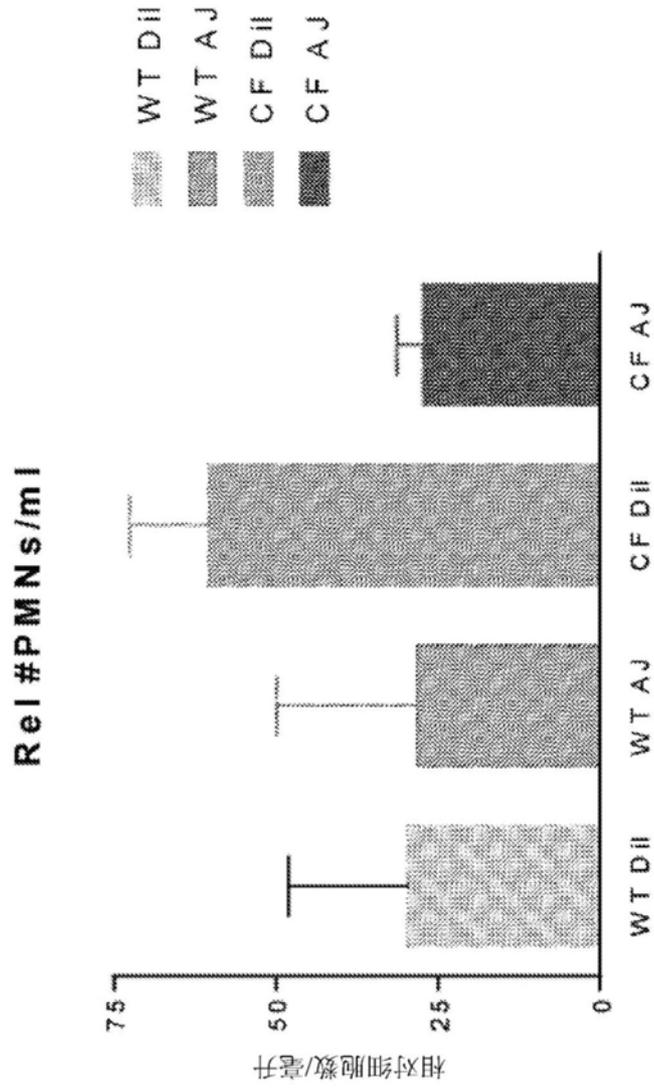


图6

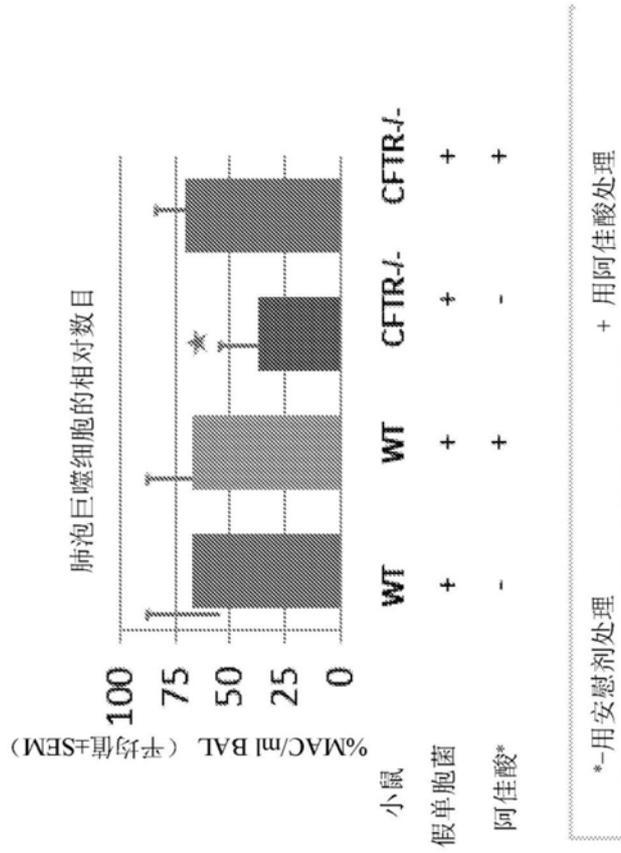


图7

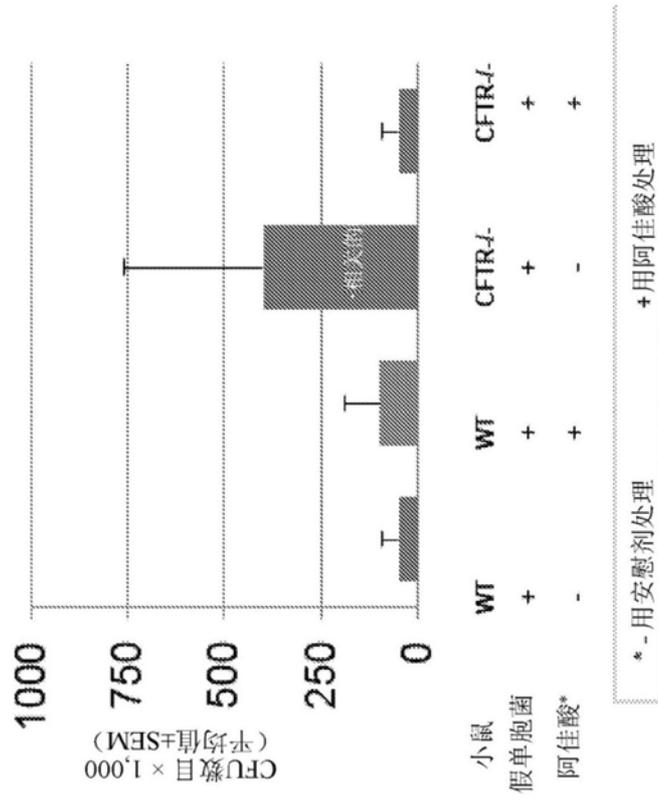


图8

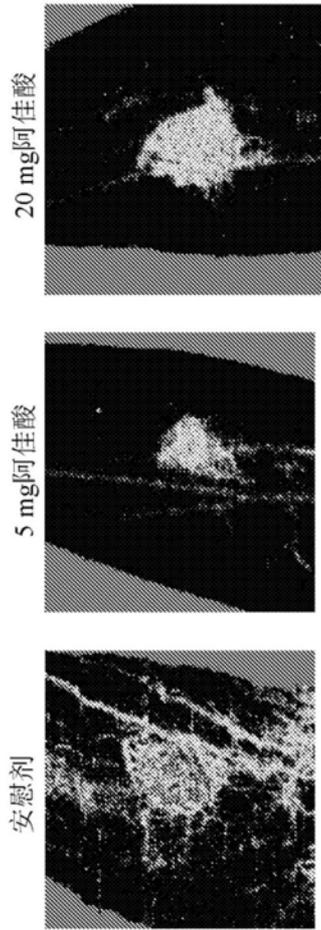


图9

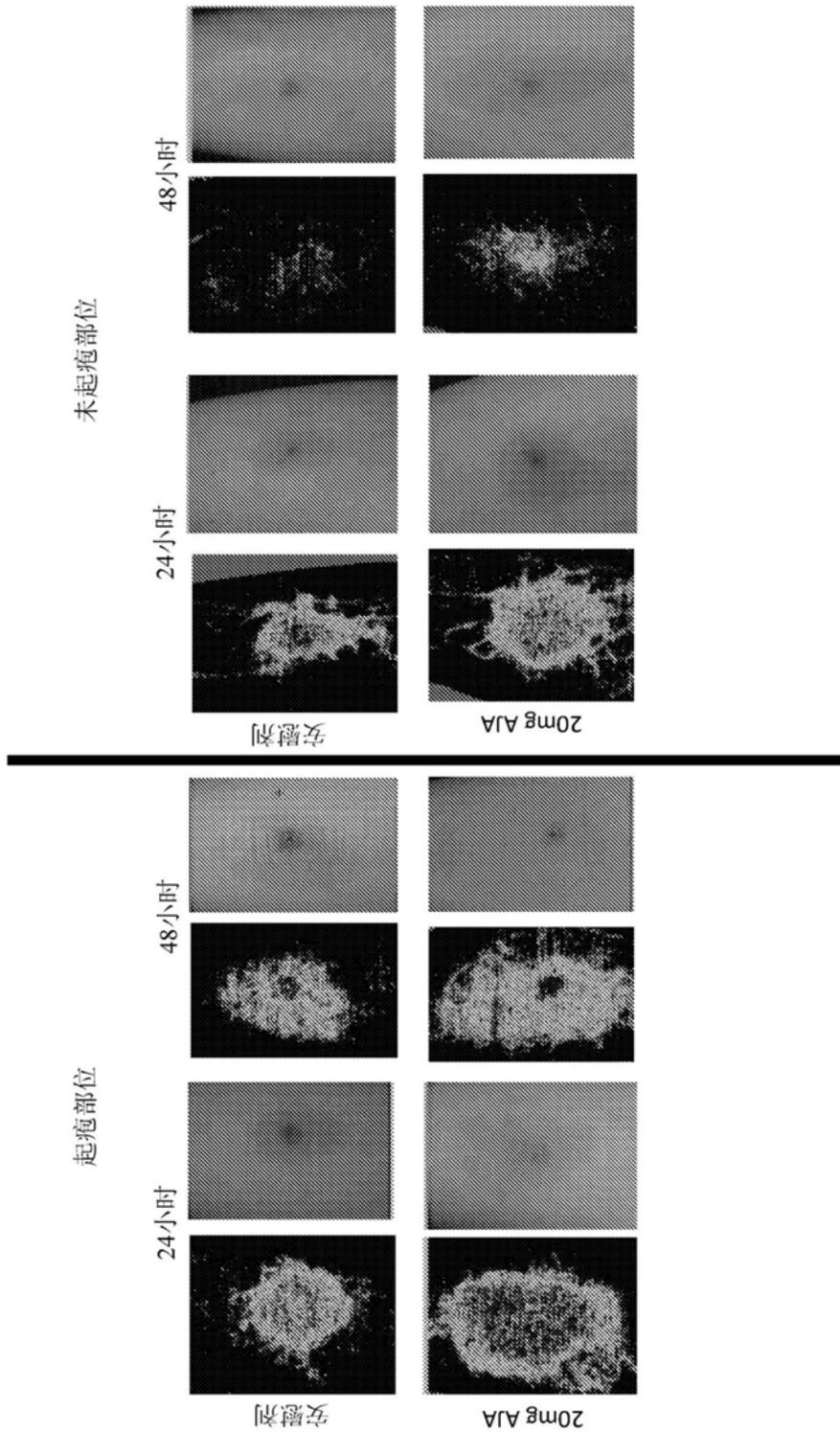


图10

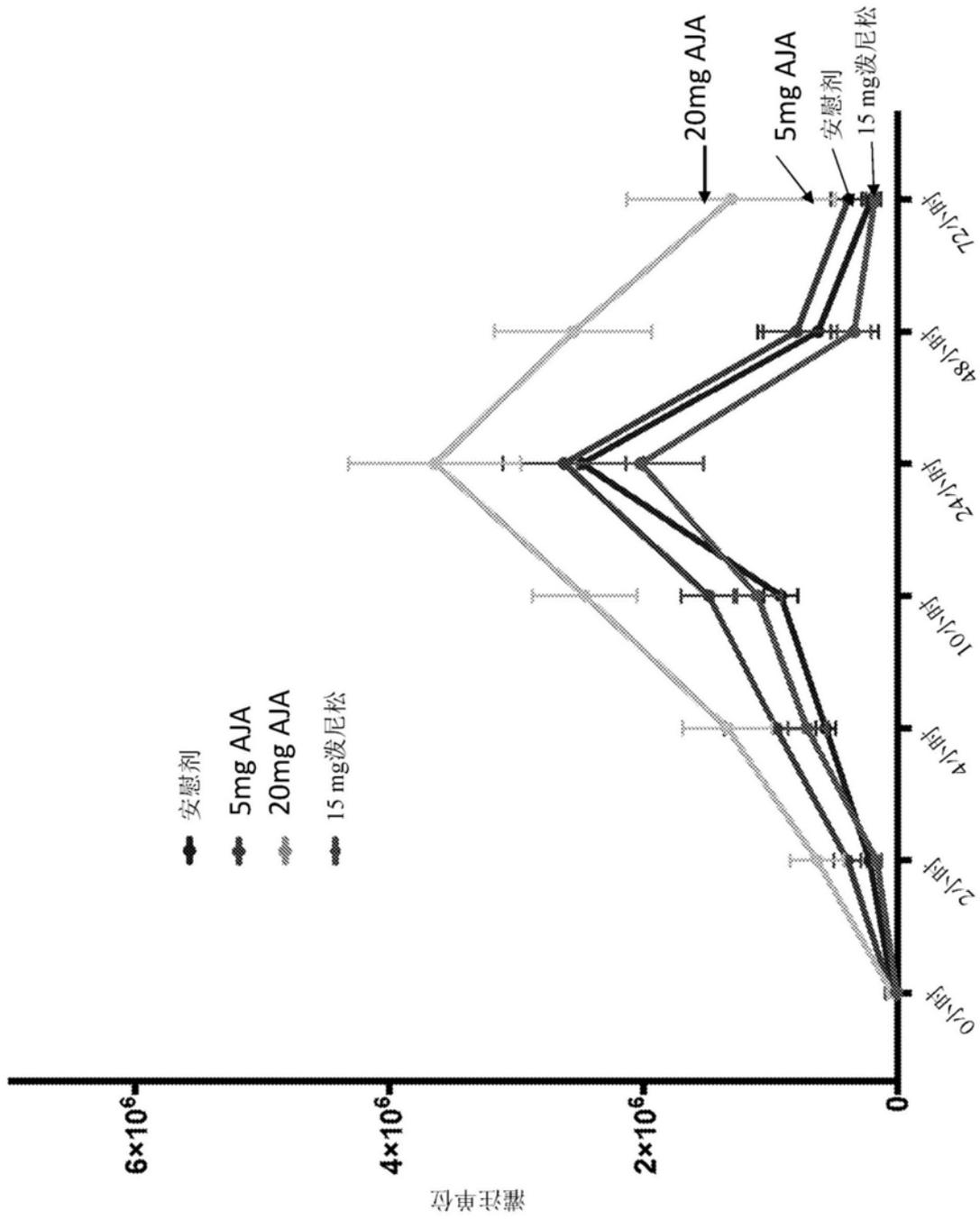


图11

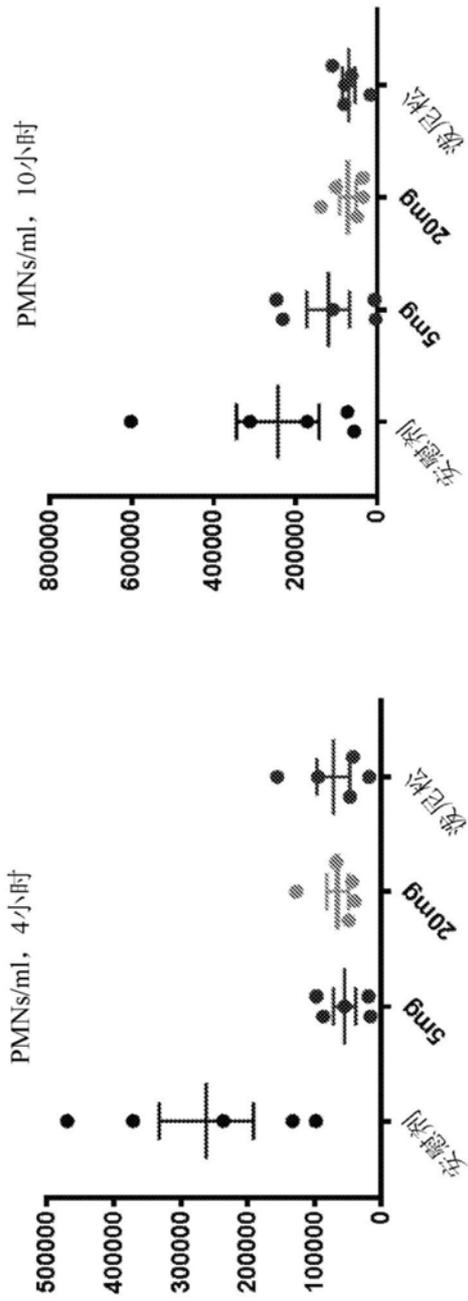


图12

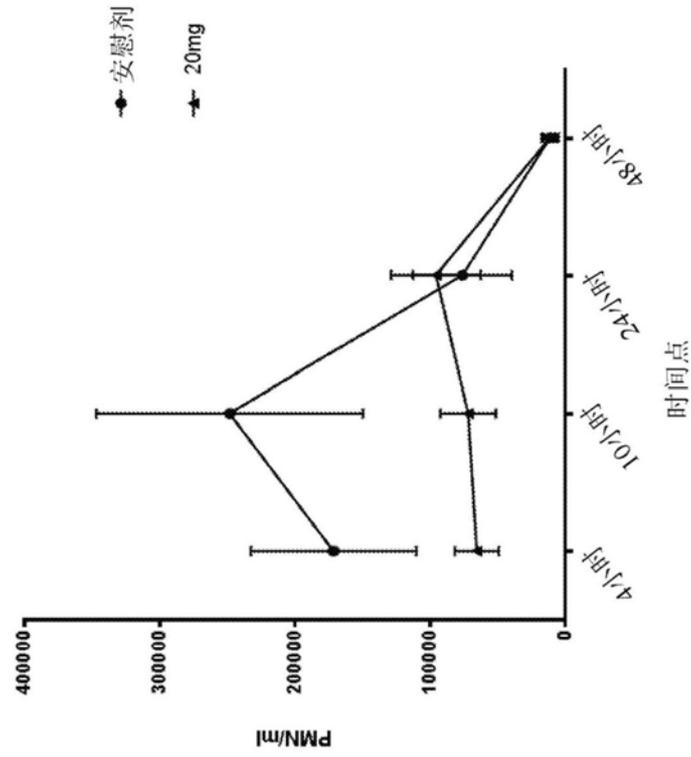


图13

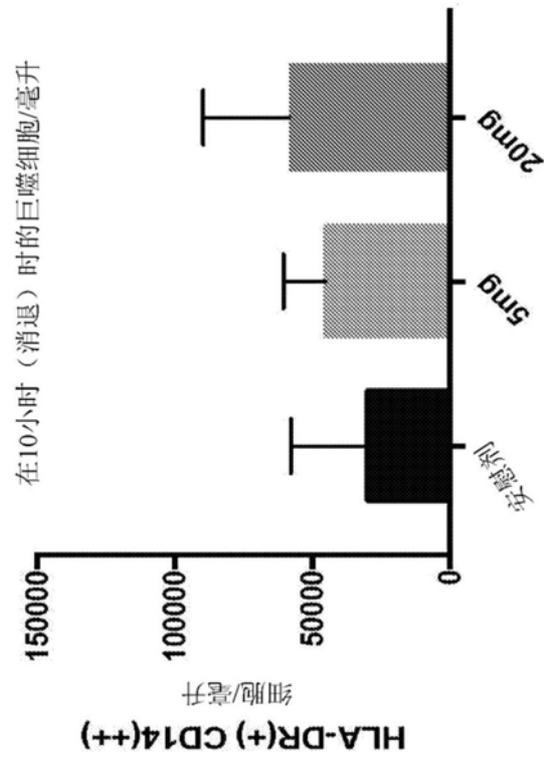


图14

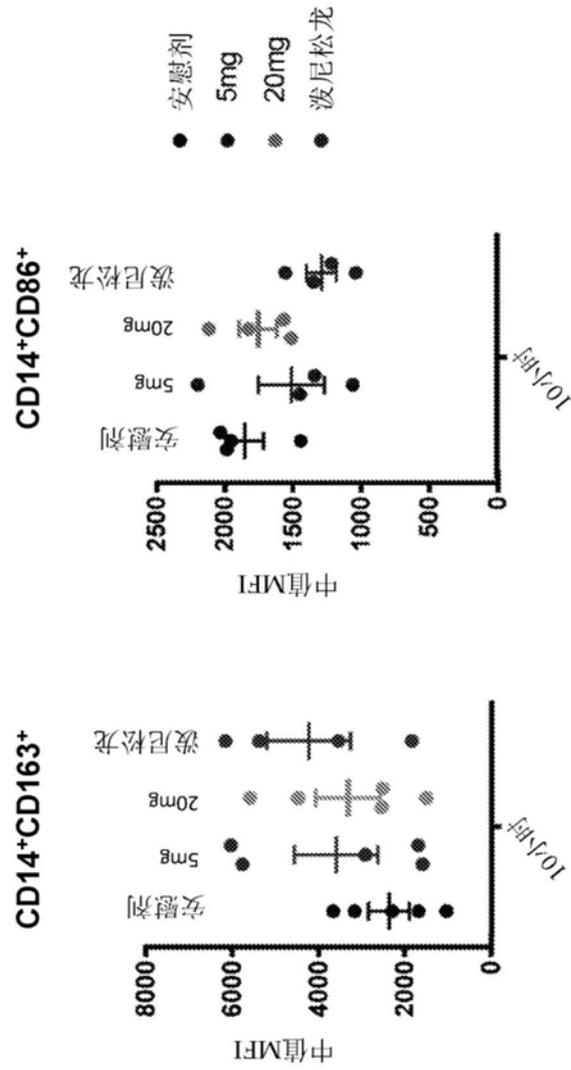


图15

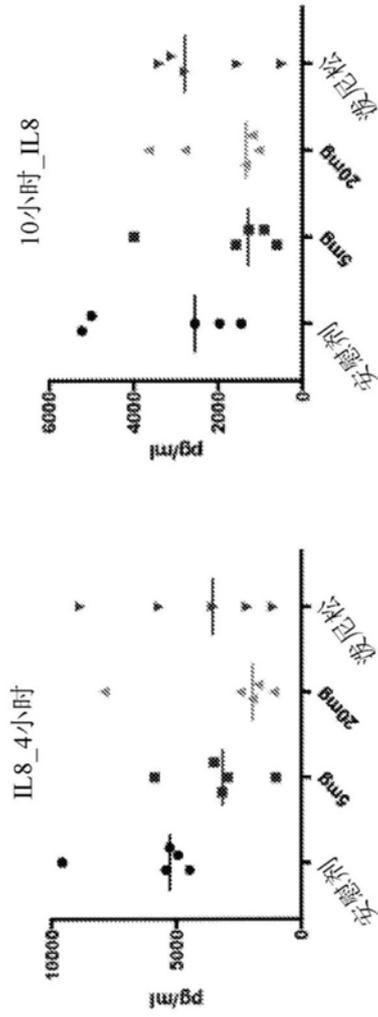


图16

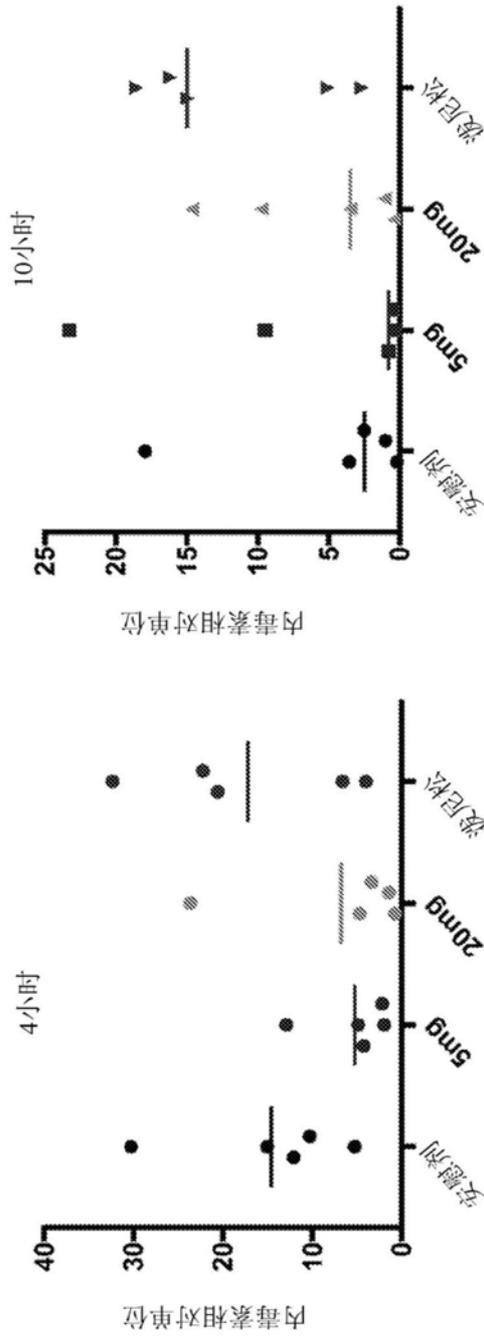


图17

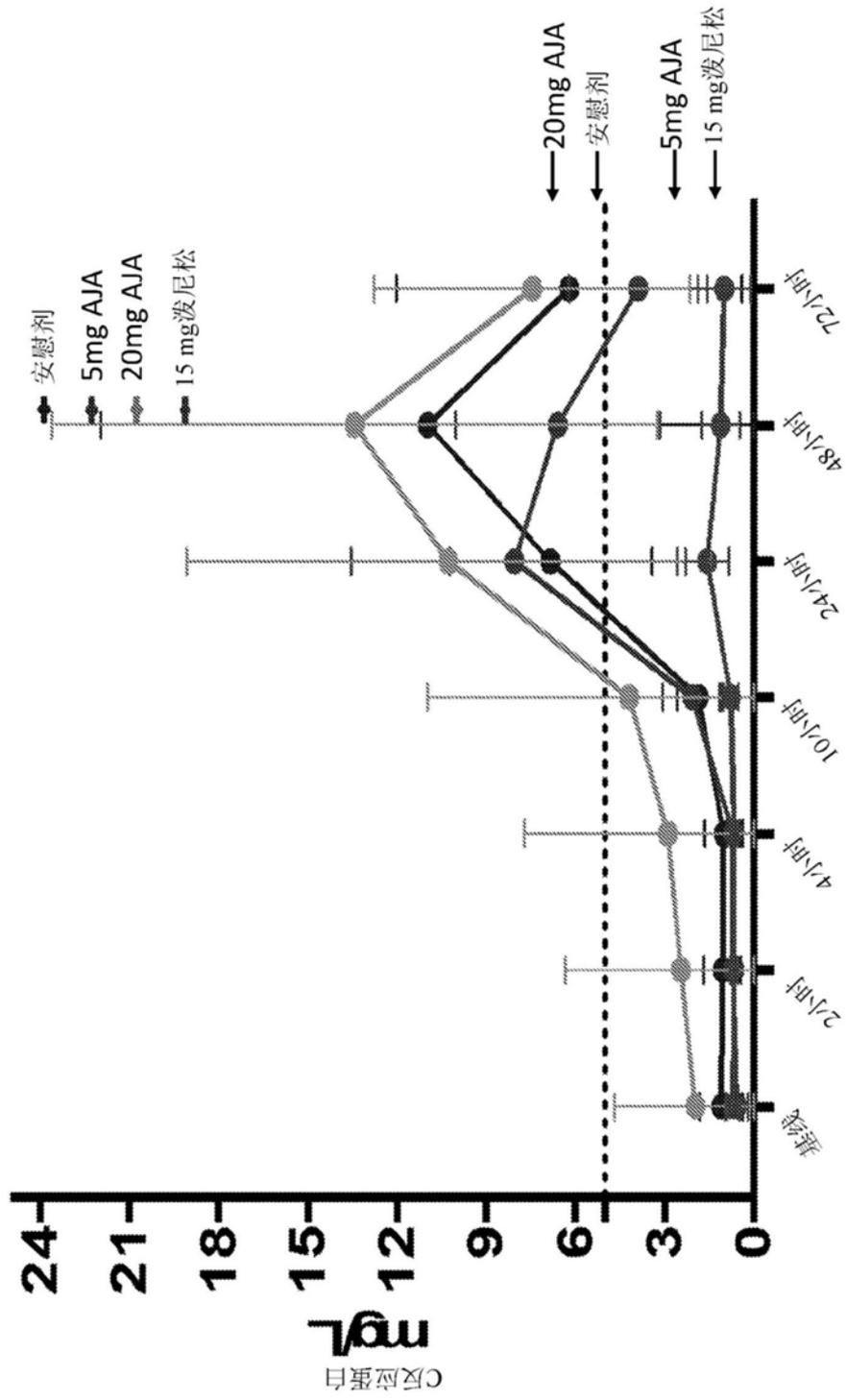


图18

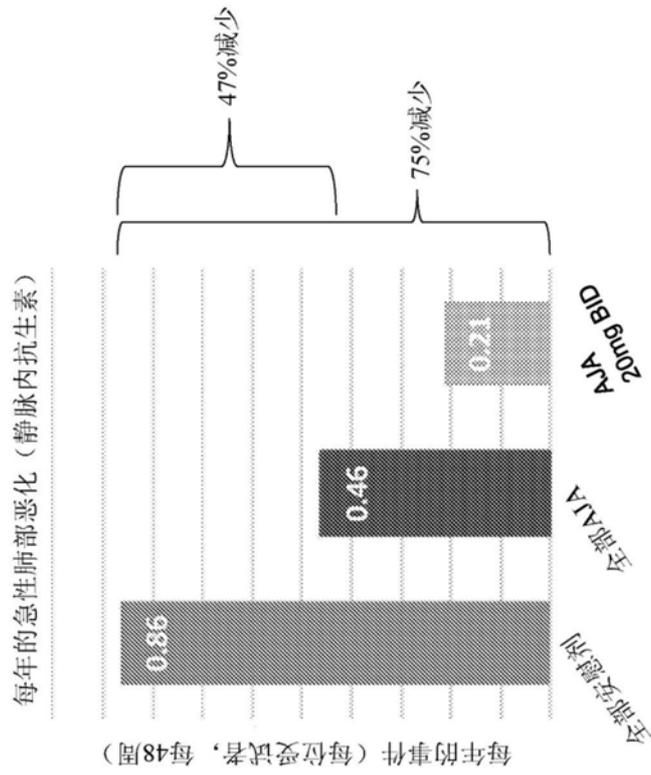


图19

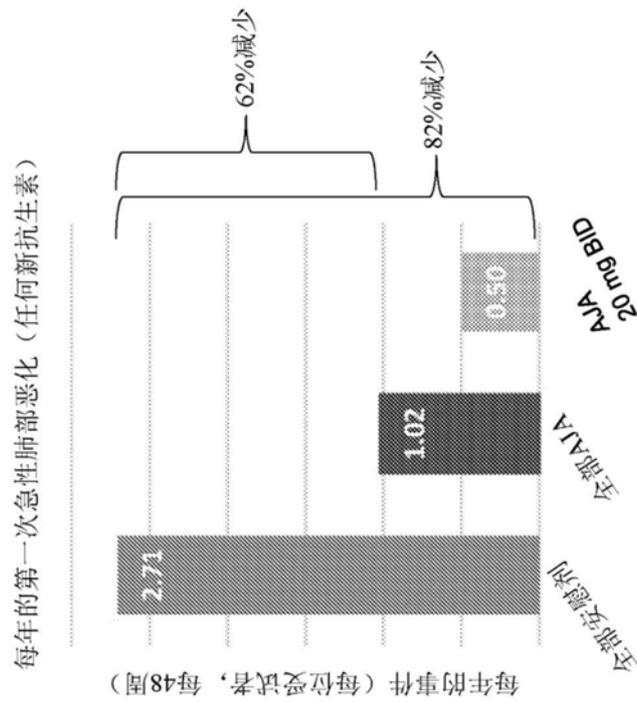


图20