(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105228614 A
(43)申请公布日 2016.01.06

(21)申请号 201380070968.5
(22)申请日 2013.11.26
(30)优先权数据
61/730761 2012.11.28 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2015.07.20
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2013/072076 2013.11.26
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2014/085494 EN 2014.06.05
(71)申请人 阿菲欧斯公司
地址 美国马萨诸塞州
(72)发明人 T.P. 卡斯托尔
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 刘辛 李炳爱
(51)Int.Cl.
A61K 31/357(2006.01)

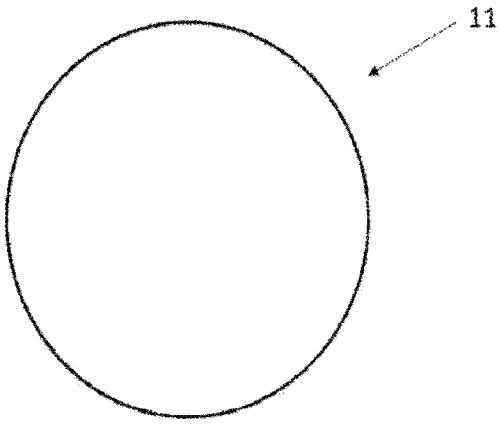
权利要求书3页 说明书8页 附图4页

(54)发明名称

用于治疗神经退化疾病和其它疾病的组合治疗剂和方法

(57)摘要

本发明的实施方案是针对施用苔藓抑素以及苔藓抑素和视黄素用于治疗响应α分泌酶活性增加的疾病。本申请的发明是针对治疗神经退化疾病,诸如哈钦森病、帕金森氏病、唐氏综合症以及阿尔茨海默氏病;以及病毒潜伏疾病,诸如HIV和疱疹;癌症,诸如前列腺癌、黑素瘤、淋巴瘤以及肾癌;食管和眼部疾病,诸如青光眼。



CN 105228614 A

1. 一种包含有效量的类苔藓抑素和有效量的视黄素的剂型，其用于治疗增强的 α 分泌酶加工有益的一种或多种疾病。

2. 如权利要求 1 所述的制品，其中所述类苔藓抑素选自由苔藓抑素 1-20 组成的群组并且包括第一类苔藓抑素、第二类苔藓抑素以及第三类苔藓抑素。

3. 如权利要求 3 所述的制品，其中所述视黄素是视黄酸。

4. 如权利要求 4 所述的制品，其中所述视黄素以增加 α 分泌酶表达的量存在。

5. 如权利要求 1 所述的制品，其中所述类苔藓抑素以刺激 α 分泌酶产生的量存在。

6. 如权利要求 1 所述的制品，其中所述类苔藓抑素以每周每平方米表面积 0.1 至 50 微克的剂量存在以供施用。

7. 如权利要求 7 所述的制品，其中所述类苔藓抑素以每周每平方米表面积 5 至 10 微克的剂量存在以供施用。

8. 如权利要求 3 所述的制品，其中所述视黄素以每天 1.0 至 240 毫克的剂量存在。

9. 如权利要求 9 所述的制品，其中所述视黄素选自由视黄酸、视黄醇、视黄醇乙酸酯、视黄醇棕榈酸酯、13- 顺视黄酸以及蓓萨罗丁组成的口服视黄素的群组。

10. 一种有效量的类苔藓抑素和视黄素于生物聚合物中的制品，所述生物聚合物包含多个球，其中所述球具有 1 至 1000 纳米的直径，所述制品用于治疗响应 α 分泌酶活性增加的疾病。

11. 如权利要求 10 所述的制品，其中所述生物聚合物对酸具抗性。

12. 如权利要求 11 所述的制品，其中所述生物聚合物是聚 (D,L- 丙交酯 - 共乙交酯)。

13. 如权利要求 12 所述的制品，其中所述聚 (D,L- 丙交酯 - 共 - 乙交酯) 的丙交酯与乙交酯的比率为 25-75％丙交酯。

14. 如权利要求 10 所述的制品，其中所述微球被冻干用于在水溶液中复原。

15. 如权利要求 10 所述的制品，其中所述微球保持于供口服施用的悬浮液中。

16. 如权利要求 10 所述的制品，其中所述微球保持于选自片剂、胶囊、凝胶帽以及粉末的群组的口服剂型中。

17. 一种治疗神经退化疾病的方法，其包括施用有效量的保持于多个微球中的类苔藓抑素和视黄素的步骤，所述微球包含生物聚合物并且具有 1 至 1000 纳米的直径。

18. 如权利要求 17 所述的方法，其中所述类苔藓抑素选自由苔藓抑素 1-20 组成的群组并且包括第一类苔藓抑素、第二类苔藓抑素以及第三类苔藓抑素。

19. 如权利要求 17 所述的方法，其中所述视黄素是视黄酸。

20. 如权利要求 19 所述的方法，其中所述视黄素以增加 α 分泌酶表达的量存在。

21. 如权利要求 17 所述的方法，其中所述类苔藓抑素以刺激 α 分泌酶产生的量存在。

22. 如权利要求 17 所述的方法，其中所述类苔藓抑素以每周每平方米表面积 0.1 至 50 微克的剂量施用。

23. 如权利要求 22 所述的方法，其中所述类苔藓抑素以每周每平方米表面积 5 至 10 微克的剂量施用。

24. 如权利要求 20 所述的方法，其中所述视黄素以每天 1.0 至 240 毫克的剂量施用。

26. 如权利要求 20 所述的方法，其中所述视黄素选自由视黄酸、视黄醇、视黄醇乙酸酯、视黄醇棕榈酸酯、13- 顺视黄酸以及蓓萨罗丁组成的口服视黄素的群组。

27. 如权利要求 17 所述的方法，其中所述生物聚合物对酸具抗性。

28. 如权利要求 27 所述的方法，其中所述生物聚合物是聚 (D,L- 丙交酯 - 共乙交酯）。

29. 如权利要求 28 所述的方法，其中所述聚 (D,L- 丙交酯 - 共 - 乙交酯) 的丙交酯与乙交酯的比率为 25-75％丙交酯。

30. 如权利要求 17 所述的方法，其中所述微球被冻干用于在水溶液中复原。

31. 如权利要求 17 所述的方法，其中所述微球保持于供口服施用的悬浮液中。

32. 如权利要求 17 所述的方法，其中所述微球保持于选自片剂、胶囊、明胶胶囊以及粉末的群组的口服剂型中。

33. 一种有效量的类苔藓抑素和视黄素溶解于口服可接受的油介质中的制品，其用于口服施用以供治疗神经退化疾病、癌症、病毒潜伏以及眼部疾病。

34. 如权利要求 33 所述的制品，其中所述神经退化疾病选自由阿尔茨海默氏病、哈钦森氏病、帕金森氏病、库鲁病、库贾氏病、唐氏综合症以及海绵状脑病组成的群组。

35. 如权利要求 33 所述的制品，其中所述癌症是前列腺癌、黑素瘤、淋巴瘤和肾癌、食管癌以及其它癌症。

36. 如权利要求 33 所述的制品，其中所述病毒潜伏与 HIV 和疱疹相关。

37. 如权利要求 33 所述的制品，其中所述有效量的类苔藓抑素为每天每公斤体重约 3 至 10 微克。

38. 如权利要求 33 所述的制品，其中所述有效量的视黄素以每天 1.0 至 240 毫克的剂量施用。

39. 一种治疗神经退化疾病的方法，其包括口服施用有效量的溶解于口服可接受的油介质中的类苔藓抑素和视黄素的步骤。

40. 一种治疗神经退化疾病的方法，其包括通过静脉内施用来口服施用有效量的类苔藓抑素和视黄素的步骤。

41. 如权利要求 39 所述的方法，其中所述有效量的类苔藓抑素为每天每公斤体重约 3 至 10 微克。

42. 如权利要求 39 所述的方法，其中所述有效量的视黄素以每天 1.0 至 240 毫克的剂量施用。

43. 一种治疗癌症的方法，其包括口服施用有效量的溶解于口服可接受的油介质中的类苔藓抑素和视黄素的步骤。

44. 一种治疗癌症的方法，其包括通过静脉内施用来口服施用有效量的类苔藓抑素和视黄素的步骤。

45. 如权利要求 43 所述的方法，其中所述有效量的类苔藓抑素为每天每公斤体重约 3 至 10 微克。

46. 如权利要求 43 所述的方法，其中所述有效量的视黄素以每天 1.0 至 240 毫克的剂量施用。

47. 一种治疗病毒潜伏的方法，其包括口服施用有效量的溶解于口服可接受的油介质中的类苔藓抑素和视黄素的步骤。

48. 一种治疗病毒潜伏的方法，其包括通过静脉内施用来口服施用有效量的类苔藓抑素和视黄素的步骤。

49. 如权利要求 48 所述的方法，其中所述有效量的类苔藓抑素为每天每公斤体重约 3 至 10 微克。

50. 如权利要求 48 所述的方法，其中所述有效量的视黄素以每天 1.0 至 240 毫克的剂量施用。

用于治疗神经退化疾病和其它疾病的组合治疗剂和方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2012年11月28日提交的美国临时专利申请号61/730,761的权益，其全部内容以引用的方式并入本文中。

[0003] 关于联邦支持的声明

[0004] 本发明是在包括国家卫生研究院(National Institutes of Health)批准号1R44AG034760-01A1的联邦支持下进行。

技术领域

[0005] 本申请的发明是针对治疗神经退化疾病，诸如哈钦森病(Hutchinson Disease)、帕金森氏病(Parkinson′ s disease)、唐氏综合症(Down′ s syndrome)以及阿尔茨海默氏病(Alzheimer′ s disease)；以及病毒潜伏疾病，诸如HIV和疱疹；癌症，诸如前列腺癌、黑素瘤、淋巴瘤以及肾癌；食管和眼部疾病，诸如青光眼。

背景技术

[0006] 神经退化疾病，诸如阿尔茨海默氏病、哈钦森氏病(Hutchinson′ s Disease)、帕金森氏病、库鲁病(Kuru)、库贾氏病(Creutzfeldt-Jakob disease)以及其它海绵状脑病仍然是主要的健康问题。关于阿尔茨海默氏病、哈钦森氏病以及帕金森氏病，这些疾病倾向于在老年个体中并且随着疾病发展而自己显现出来；罹病的个体很少能够自理。关于癌症，诸如（但不限于）前列腺癌，苔藓抑素1(Bryostatin 1)通过差异化调节蛋白激酶C(PKC)δ易位并且防止PKCδ介导的肿瘤坏死因子-α释放来抑制佛波酯(phorbol ester)诱导的前列腺癌细胞凋亡。关于病毒潜伏疾病，诸如HIV潜伏，苔藓抑素-1以及许多PKC激动剂活化细胞转录因子，诸如结合HIV-1启动子并且调控其转录活性的NF-kB。在HIV-1潜伏中，病毒启动子较难接近细胞转录因子，因为围绕病毒启动子的核组蛋白被脱乙酰化（致密的染色质）。因此，HDAC抑制剂可以增加组蛋白的乙酰化（松弛的染色质），并且然后转录因子可以容易接近HIV启动子。关于眼部疾病，诸如（但不限于）青光眼，β淀粉样蛋白的存在与升高的眼内压相关。当前存在非常有限的手段来治疗这些疾病。

[0007] 因此，极其需要具有有效的治疗剂、协同起作用的组合治疗剂、有效的配制方法以及简单的施用方法（例如，口服制剂），而无需受过专门训练的保健提供者。

发明内容

[0008] 本发明的实施方案是针对用于治疗神经退化疾病、癌症、病毒潜伏以及眼病的单一和组合疗法、药物递送系统、剂型以及方法。作为本发明的治疗对象的神经退化疾病由阿尔茨海默氏病、哈钦森氏病、帕金森氏病、库鲁病、库贾氏病、唐氏综合症以及海绵状脑病例示。其它疾病包括癌症，诸如前列腺癌；以及病毒潜伏，诸如HIV和疱疹。针对制品的实施方案包括一种剂型，其包含有效量的苔藓抑素或类苔藓抑素(Bryoid)与有效量的视黄素(Retinoid)。如本文所用的术语“剂型”指的是用于施用药物的工具，诸如（但不限于）胶

囊、片剂、丸剂、薄膜、软膏、乳膏、溶液、悬浮液、气雾剂、糊剂、滴剂、栓剂、用于复原的粉末、可注射剂、静脉内溶液，等等。

[0009] 如本文所用的术语“苔藓抑素”或“类苔藓抑素”指的是任何和所有苔藓抑素以及其衍生物。已经鉴别出二十种苔藓抑素，并且某些实施例关于作为苔藓抑素 -1 的苔藓抑素。本发明的实施方案关于分子量为约 896 至 898Amu（质量 + 钠）并且纯度为约 50％至晶体成形纯度的第一类苔藓抑素组合物。第一类苔藓抑素组合物还可以特征在于分子量为约 873 至 875Amu（单同位素质量）并且纯度为约 50％和晶体成形纯度的类苔藓抑素化合物。第一类苔藓抑素组合物的测量质量 + 钠为 897.2Amu 并且测量单同位素质量为 874.2Amu。以下详细论述将这种类苔藓抑素称作 B10。

[0010] 本发明的实施方案关于分子量为约 910 至 912Amu（质量 + 钠）并且纯度为约 50％至晶体成形纯度的第二类苔藓抑素组合物。第二类苔藓抑素组合物还可以特征在于分子量为约 888 至 890Amu（单同位素质量）并且纯度为约 50％和晶体成形纯度的类苔藓抑素化合物。第二类苔藓抑素组合物的测量质量 + 钠为 911.5Amu 并且测量单同位素质量为 888.9Amu。以下详细论述将这种类苔藓抑素称作 B12。

[0011] 本发明的实施方案关于分子量为约 868 至 870Amu（质量 + 钠）并且纯度为约 50％至晶体成形纯度的第三类苔藓抑素组合物。第三类苔藓抑素组合物还可以特征在于分子量为约 846 至 848Amu（单同位素质量）并且纯度为约 50％和晶体成形纯度的类苔藓抑素化合物。第三类苔藓抑素组合物的测量质量 + 钠为 869.5Amu 并且测量单同位素质量为 846.6Amu。以下详细论述将这种类苔藓抑素称作 B14B。

[0012] 本发明的实施方案关于分子量为约 895 至 897Amu（质量 + 钠）并且纯度为约 50％至晶体成形纯度的第四类苔藓抑素组合物。第四类苔藓抑素组合物还可以特征在于分子量为约 872 至 874Amu（单同位素质量）并且纯度为约 50％和晶体成形纯度的类苔藓抑素化合物。第四类苔藓抑素组合物的测量质量 + 钠为 895.5Amu 并且测量单同位素质量为 872.6Amu。以下详细论述将这种类苔藓抑素称作 B14C。

[0013] 本发明的这些类苔藓抑素化合物具有不同于苔藓抑素 1-20 的分子量的分子量。

[0014] 如本文所用的晶体成形纯度意味着组合物具有使组合物能够形成晶体的纯度。所述纯度通常高于 90％，并且更常高于 95％纯度。本申请中所呈现的实施例关于纯度高于 99％的组合物。晶体纯度将包含没有杂质能被检测到的组合物，但并不限于此。

[0015] 上文所描述的第一类苔藓抑素、第二类苔藓抑素、第三类苔藓抑素以及第四类苔藓抑素是本发明者和申请者于 2012 年 11 月 27 日提交的共同未决专利申请序列号 US 61/730,227 的主题。这个共同未决申请的全部内容以引用的方式并入。

[0016] 本发明的实施方案关于以刺激 α 分泌酶产生的量存在的类苔藓抑素。举例来说，类苔藓抑素以每周每平方米表面积 0.1 至 50 微克的剂量存在以供施用。本发明的另一个实施方案关于以每周每平方米表面积 5 至 10 微克的剂量存在以供施用的类苔藓抑素。

[0017] 制品的其它实施方案包括视黄素。视黄素以口服形式是生物可利用的并且选自包含视黄酸、视黄醇、视黄醇乙酸酯、视黄醇棕榈酸酯、13- 顺视黄酸以及蓓萨罗丁 (bexarotene) 的群组。实施例将关于视黄素、视黄酸。实施例关于增加 α 分泌酶表达的量的视黄素。举例来说（但不限于此），视黄素以每天 1.0 至 240 毫克的剂量存在。

[0018] 本发明的实施方案关于包含对酸具抗性的生物聚合物的纳米球。举例来说（但不

限于此），一种生物聚合物是聚（D，L- 丙交酯 - 共乙交酯）。这种生物聚合物具有两种组分。本发明的实施方案关于丙交酯与乙交酯的比率为 25-75％丙交酯并且其余部分包含乙交酯的聚（D，L- 丙交酯 - 共 - 乙交酯）。如以重量测定，常用比率为 50 ： 50 的丙交酯：乙交酯。这种生物聚合物对胃酸降解具抗性并且允许口服递送药物至小肠以供吸收。纳米球的直径为约 1 至 1000 纳米。

[0019] 本发明的实施方案关于被冻干用于在水溶液中复原的球。另一个实施方案关于保持于供口服施用的悬浮液中和 / 或保持于选自片剂、胶囊、凝胶帽以及粉末的群组的口服剂型中的球。供口服施用的悬浮液优选地加以调味以改善患者接受性。

[0020] 本发明的另一个实施方案是针对一种治疗神经退化疾病的方法。这种方法包括施用有效量的保持于多个球中的苔藓抑素的步骤，每个球包含生物聚合物和苔藓抑素，并且每个球具有 1 至 1000 纳米的直径。

[0021] 本发明方法的实施方案关于选自由苔藓抑素 1-20 组成的群组的苔藓抑素。某些实施例关于作为苔藓抑素 -1 的苔藓抑素。具有很大效力的几种苔藓抑素是苔藓抑素 -3；以及上文所提及的第一类苔藓抑素、第二类苔藓抑素以及第三类苔藓抑素。

[0022] 本发明的实施方案关于以刺激 α 分泌酶产生的量施用的苔藓抑素。举例来说，苔藓抑素以每周每平方米表面积 0.1 至 50 微克的剂量施用。本发明的另一个实施方案关于以每周每平方米表面积 5 至 10 微克的剂量施用的苔藓抑素。

[0023] 这种方法的其它实施方案包括共同施用视黄素。视黄素以口服形式是生物可利用的并且选自包含视黄酸、视黄醇、视黄醇乙酸酯、视黄醇棕榈酸酯、13- 顺视黄酸以及蓓萨罗丁的群组。实施例将关于视黄素、视黄酸。实施例关于增加 α 分泌酶表达的量的视黄素。举例来说（但不限于此），视黄素以每天 1.0 至 240 毫克的剂量施用。

[0024] 本发明的一个实施方案关于对酸具抗性的生物聚合物。举例来说（但不限于此），一种抗酸的生物聚合物是聚（D，L- 丙交酯 - 共乙交酯）。聚（D，L- 丙交酯 - 共 - 乙交酯）具有丙交酯与乙交酯的比率。优选的比率为 25-75％丙交酯并且其余部分包含乙交酯。

[0025] 优选地，微球被冻干用于在水溶液中复原，或保持于供口服施用的悬浮液中或保持于选自片剂、胶囊、凝胶帽以及粉末的群组的口服剂型中。

[0026] 作为另一种制品，本发明的实施方案关于有效量的溶解于医药学上可接受的油中的苔藓抑素，其用于口服施用以供治疗神经退化疾病。如本文所用的术语“医药学上可接受的油”指的是对于以 5 至 10 毫升少量口服摄取合理地良好耐受的油。本发明的实施方案关于橄榄油。其它实施方案包括例如，但不限于包括棉籽油、鱼肝油、蓖麻油、红花油、花生油、芝麻油、玉米油、植物油、起源于动物的油，以及通常用于食品工业中的其它油。油优选地于凝胶帽中施用。

[0027] 用于人类的苔藓抑素的有效量为于医药学上可接受的油中每天约 0.1 至 3.0 毫克以及于微球中每天约 100 微克至 2 毫克。

[0028] 制品的其它实施方案包括溶解于医药学上可接受的油中的视黄素，其用于口服施用以供治疗神经退化疾病、癌症以及病毒潜伏。优选地，医药学上可接受的油具有以口服形式生物可利用的视黄素并且选自包含视黄酸、视黄醇、视黄醇乙酸酯、视黄醇棕榈酸酯、13- 顺视黄酸以及蓓萨罗丁的群组。实施例将关于视黄素、视黄酸。实施例关于增加 α 分泌酶表达的量的视黄素。举例来说（但不限于此），视黄素以每天 1.0 至 240 毫克的剂量存

在。

[0029] 制品的其它实施方案包括溶解于医药学上可接受的油中的苔藓抑素和视黄素，其用于口服施用以供治疗神经退化疾病、癌症、病毒潜伏以及眼病。

[0030] 本发明的另一个实施方案是针对一种治疗神经退化疾病、癌症、病毒潜伏和/或眼病的方法，其包括口服施用有效量的溶解于医药学上可接受的油中的苔藓抑素的步骤。

[0031] 因此，作为神经退化疾病的治疗，本发明的实施方案关于用于口服施用有效量的伴有和不伴有视黄素的苔藓抑素的剂型和方法。本发明的这些和其它特征和优点在阅读以下具体实施方式的正文以及查看随附图式后将显而易见。

附图说明

[0032] 图 1 描绘了体现本发明的特征的微球；

[0033] 图 2 描绘了用于制造本发明的一个或多个微球的装置；

[0034] 图 3 示出了在 SH-SY5Y 成神经细胞瘤细胞中苔藓抑素 -1 诱导的 sAPP-a 形成在 3 小时由 2μM 和 4μM 视黄酸增加。视黄酸，一种 ADAM10/α-分泌酶诱导剂，增加由 SH-SY5Y 细胞产生 sAPP-a。左图示出了 sAPP-a 的 6E10 西方墨点，右图示出了光密度分析。*-$p < 0.05$ 对比对照，**-$p < 0.01$ 对比对照，$n = 3$；以及

[0035] 图 4 描绘了视黄酸 (RA，2μM) 和苔藓抑素 -1 对 SH-SY5Y 细胞中 sAPPα 的水平的影响。用 RA、苔藓抑素 -1(10^{-9}M)+RA、苔藓抑素 -1(10^{-10}M)、RA+ 苔藓抑素 -1(10^{-10}M) 处理细胞 3 小时。代表性的西方墨点示出了从培养基回收的 sAPPα。苔藓抑素 -1 与 RA 相较于对照都显著增加 sAPPα ($p < 0.05$，$p < 0.01$)。组合 RA 与苔藓抑素 -1 显著增加从培养基回收的 sAPPα。

具体实施方式

[0036] 本发明的实施方案将关于用于治疗由阿尔茨海默氏病例示的神经退化疾病的单一和组合疗法、药物递送系统、剂型以及方法来描述，应了解，论述也涉及其它神经退化疾病；癌症，诸如前列腺癌；以及病毒潜伏，诸如 HIV 和疱疹。这个论述将关于本发明的优选实施方案，应了解，本发明的特征能够在不脱离教义的情况下进行修改和变更。

[0037] 首先转向图 1，描绘了体现本发明的特征的微球，一般以数字 11 指示。微球 11 当与足够数量的同样的微球组合时，包括有效剂量的于生物聚合物中的苔藓抑素。每个微球 11 具有 1 至 1000 纳米的直径。尽管以微球描绘，但制品可以具有不规则形状、粗糙度，或形式呈丝状。

[0038] 如本文所用的术语“苔藓抑素”指的是任何和所有苔藓抑素和类苔藓抑素以及其衍生物。根据 Castor 的美国专利 5,750,709 和 Castor 的“苔藓抑素 -1 的超临界流体分离 (Supercritical fluid Isolation of Bryostatin-1)”，第 1I 阶段最终报告 (Phase II Final Report)，SBIR 批准号 5R44CA64017-03，2001 年 4 月 21 日来分离苔藓抑素和类苔藓抑素。

[0039] 某些实施例关于作为苔藓抑素 -1 的苔藓抑素。苔藓抑素 -1 在本领域中良好表征，并且所述化合物的结构无须在这里重现。具有很高效力的几种苔藓抑素是苔藓抑素 -3，以及先前所提及的第一苔藓抑素、第二苔藓抑素和第三苔藓抑素，以及以引用的方式并入的

共同未决专利申请的主题。

[0040] 苔藓抑素以刺激 α 分泌酶产生的量施用。举例来说，苔藓抑素以每周每平方米表面积 0.1 至 50 微克的剂量施用。本发明的另一个实施方案关于以每周每平方米表面积 5 至 10 微克的剂量施用的苔藓抑素。

[0041] 在关于共同施用视黄素的实施方案中，视黄素存在于同一生物聚合物中，或在施用之前独立地制得并组合，或同时或在时间上接近地施用以与苔藓抑素具有组合效应。

[0042] 视黄素以口服形式是生物可利用的并且选自包含视黄酸、视黄醇、视黄醇乙酸酯、视黄醇棕榈酸酯、13-顺视黄酸以及蓓萨罗丁的群组。视黄酸可用作口服施用的药物并且以药品名维甲酸 (Tretinoin) 和商标名 Retin-A® 出售。不受特定理论约束，据信视黄素与苔藓抑素协同起作用以增加 α 分泌酶的表达。出于这个目的，视黄素以每天 1.0 至 240mg 的剂量施用。

[0043] 本发明的实施方案关于对酸具抗性的生物聚合物。出于本发明论述的目的，对酸具抗性指的是在 pH 为约 1 至 3 的胃酸中维持约 0.5 至 4.0 小时的时段。一种生物聚合物是聚 (D,L- 丙交酯 - 共乙交酯)。这种生物聚合物具有两种组分，丙交酯和乙交酯组分。本发明的实施方案关于丙交酯与乙交酯的比率为 25-75％丙交酯并且其余部分包含乙交酯的聚 (D,L- 丙交酯 - 共 - 乙交酯)。如以重量测定，常用比率为 50 ： 50 的丙交酯：乙交酯。这种生物聚合物对酸降解具抗性并且允许口服递送药物至小肠以供吸收。

[0044] 本发明的实施方案关于被冻干用于在水溶液中复原的微球。另一个实施方案关于保持于供口服施用的悬浮液中和 / 或保持于选自片剂、胶囊、凝胶帽以及粉末的群组的口服剂型中的微球。制造片剂、胶囊、凝胶帽以及粉末的方法在本领域中广为熟知。(Remington，‘制药科学与实践 (The Science and Practice of Pharmacy)’ - 第 20 版 Lippincott，Williams and Williams)。供口服施用的悬浮液优选地加以调味以改善患者接受性。

[0045] 本发明的另一个实施方案关于含有有效量的苔藓抑素的医药学上口服可接受的油。确定供施用的油量，并且以本领域中已知的方式将有效量的苔藓抑素溶解于所述油中。优选地，以本领域中已知的方式将意图用于口服施用的油量封入凝胶帽中。举例来说，常常将维生素 D 和维生素 E 补充物封入凝胶帽制剂中。

[0046] 本发明方法和装置将关于图 2 来描述，图 2 以示意图形式描绘了聚合物球装置，一般以数字 13 指示。聚合物球装置由以下主要元件组成 :聚合物容器 15、苔藓抑素药物注射组合件 17、掺合室 19、减压容器 21 以及孔口式喷嘴 23。

[0047] 聚合物容器 15 经由管道 27a、27b 以及 27c 与超临界、临界或近临界注射泵 25 流体连通。超临界、临界或近临界泵 25 与超临界、临界或近临界流体的来源流体连通。

[0048] 聚合物容器 15 还经由管道 33 与改性剂注射泵 31 流体连通，管道 33 在接点 35 处与管道 27a 相交。改性剂注射泵 31 与改性剂和 / 或夹带剂的来源 (未示出) 连通。

[0049] 聚合物容器 15 加载有聚合物。这个聚合物容器经由管道 27a、27b 以及 27c 从超临界、临界或近临界泵 25 接收超临界、临界或近临界流体。聚合物容器 15 经由管道 33 从改性剂泵 31 接收改性剂和 / 或夹带剂。将聚合物溶解于超临界、临界或近临界流体和改性剂中以形成聚合物溶液。通过使聚合物和超临界、临界或近临界流体在具有管道 27d、27d、27e、27f 以及 27g、总阀 29、静态混合器 31 以及循环泵 33 的回路中循环来促进聚合物溶液

的形成。

[0050] 聚合物容器 15 经由管道 37 和 39 与掺合室 19 流体连通。掺合室 19 还与苔藓抑素药物注射组合件 17 流体连通。苔藓抑素药物注射组合件 17 包括苔藓抑素药物注射泵 43、苔藓抑素来源 41 以及管道 45。苔藓抑素药物注射泵 43 与苔藓抑素物质的来源连通并且加压并迫使所述物质通过管道 45。管道 45 经由管道 39 与掺合室连通，管道 39 在接点 47 处与管道 45 相交。优选地，接点 47 是混合“T”。

[0051] 掺合容器 19 具有在线混合器的性质并且充分混合来自聚合物容器 15 和苔藓抑素药物注射组合件 17 的引入流。掺合容器 19 经由管道 49 与孔口式喷嘴 23 连通。孔口式喷嘴 23 具有背压调节器的性质并且具有界定经由管道 51 排料至减压容器 21 中的一个或多个孔口的喷嘴。优选地，孔口式喷嘴 23 控制压力和减压速率以使得超临界、临界或近临界二氧化碳以约 0.425ml/min 与 0.075ml/min 丙酮或约 0.5ml/min 二氧化碳与乙醇组合的速率进入孔口以维持 2,500psig 的系统压力。

[0052] 可以经由作为注射泵的一部分的计算机控制器（未示出）将系统的操作压力预置为精确水平。通过将装置 11 封入 1/4″ Lexan 板材中，同时利用与热交换器（未示出）耦接的 Neslab 加热 / 冷却系统以维持整个系统中的均匀温度来达成系统中的温度控制。

[0053] 在操作中，将聚合物质首先包装于聚合物容器 15 中。将超临界、临界或近临界流体以及一种或多种苔藓抑素化合物的乙醇溶液分别馈入超临界、临界或近临界注射泵 25 和 31 中，并且使其达到所需操作压力。在替代方案中，将一种或多种苔藓抑素化合物的乙醇溶液馈入生物活性注射泵 43 中。

[0054] 在关于一种或多种苔藓抑素化合物和一种或多种视黄素化合物的制剂中，将超临界、临界或近临界流体以及苔藓抑素和视黄素化合物的乙醇溶液分别馈入超临界、临界或近临界注射泵 25 和 31 中，并且使其达到所需操作压力。在替代方案中，将苔藓抑素和视黄素化合物的乙醇溶液馈入生物活性注射泵 43 中。

[0055] 经由超临界、临界或近临界注射泵 25 用超临界、临界或近临界流体将系统加压至等于在改性剂注射泵 31 和生物活性注射泵 43 中设置的压力水平的压力水平，并且用喷嘴孔口 23 维持在这个水平下。设置所有泵的动态操作模式以使得每个泵可以在其自身所需的流动速率下操作。超临界、临界或近临界流流经聚合物容器 15，溶解聚合物，并且在接点 47 处接触一种或多种苔藓抑素化合物、或一种或多种苔藓抑素和视黄素化合物的流。超临界、临界、近临界流体、苔藓抑素药物、或苔藓抑素和视黄素、或单独的视黄素与聚合物物质的混合物然后通过掺合室 19 以供进一步混合。最后，混合溶液进入孔口式喷嘴 23 并且被注射至减压容器 21 中的含有 0.1％聚乙烯醇、40％乙醇与微量乙酸的 10％蔗糖溶液中。作为超临界流体减压的结果，在 10％蔗糖溶液、0.1％聚乙烯醇、40％乙醇与微量乙酸中形成含有一种或多种苔藓抑素化合物的聚合物球、或含有一种或多种苔藓抑素和视黄素化合物的聚合物球、或含有视黄素化合物的聚合物化合物。膨胀的超临界流体经由减压容器 21 上的排气管线退出系统。

[0056] 聚合物纳米球具有微球 11 的性质。这些微球 11 在 -80℃（摄氏度）下冷冻并且冻干。

[0057] 实施例

[0058] 视黄酸增强苔藓抑素 -1 介导的 α 分泌酶活性。图 3 示出了在 SH-SY5Y 成神经细

胞瘤细胞中苔藓抑素 -1 诱导的 sAPP-a 形成在 3 小时由 2 μ M 和 4 μ M 视黄酸增加。视黄酸，一种 ADAM10/ α - 分泌酶诱导剂，增加由 SH-SY5Y 细胞产生 sAPP-a。左图示出了 sAPP-a 的 6E10 西方墨点，右图示出了光密度分析。*-p ＜ 0.05 对比对照，**-p ＜ 0.01 对比对照，n ＝ 3 ；以及

[0059] 因为苔藓抑素 -1 能够增强我们的 AD 模型的记忆和认知，并且能够有效力地刺激 SH-SY5Y 成神经细胞瘤细胞中 α - 分泌酶的活性，所以我们研究了用视黄酸 (RA，2 或 4 μ M) 共同处理这些细胞以增加 a- 分泌酶 (ADAM10，以及可能的 ADAM17、ADAM9、ADAM19) 表达是否将使得总体 APP 加工增强。实际上，我们确实发现用苔藓抑素 -1 与 2 μ M 或 4 μ M RA 处理的 SH-SY5Y 细胞显示较高 sAPP-α 释放 (如由 sAPP-α 释放所测量)。

[0060] 苔藓抑素 -1+ 视黄酸 2 μ M(红条) 或 4 μ M(蓝条) 视黄酸 (RA) 为时 24 小时显示 APP 至 sAPP-α 的 α 分泌酶加工增强。这些发现显示用 RA+ 苔藓抑素 -1 共同处理神经元培养物展现 APP 加工成 sAPP-α 的增强，并且表明体内 RA 与苔藓抑素 -1 的组合可以协同增强 α - 分泌酶活化 (图 1)。

[0061] 这个资料在这里表明 RA+ 苔藓抑素 -1 代表创新的组合，其 (1) 提高 α - 分泌酶水平，以及 (2) 活化更丰富的 α - 分泌酶至 (3) 达成 APP 加工成 sAPP-α 的较高总体水平。

[0062] 视黄酸 + 苔藓抑素 -1

[0063] 图 2 示出了在 SH-SY5Y 成神经细胞瘤细胞中，sAPP □形成由 2 μ M 视黄酸增加 (p ＜ 0.01)，类似于 10^{9}M 苔藓抑素 -1。当视黄酸 (RA) 以 2 μ M 浓度与 10^{9}M 和 10^{10}M 的苔藓抑素 -1 一起添加时，观测到相加效应。

[0064] 令人感兴趣的是，图 2 示出了 RA 与苔藓抑素 -1 都可以各自显著增加 ADAM10(α - 分泌酶的主要形式) 的表达，并且组合起来对表达至少存在相加效应。这将首次证实苔藓抑素 -1 增加□ - 分泌酶的表达，其为苔藓抑素 -1 的新颖并且未预期的作用。因此，苔藓抑素 -1 可以经由 2 个独立的机制增加□ - 分泌酶加工 :(i) 刺激□□分泌酶的 PKC 活化 ；以及 (ii) □ - 分泌酶的表达增加。

[0065] 还有可能的是，增加的 ADAM10 丰度可能反映增加的 ADAM10 稳定性并且未必反映更多的蛋白质合成。在任何情况下，对 ADAM10 的作用是新颖的。ADAM10 mRNA 合成可以由苔藓抑素 -1 增加，最终得到更多 α - 分泌酶。

[0066] 油基苔藓抑素溶液

[0067] 用所需量的溶解于橄榄油中的苔藓抑素制得油基苔藓抑素溶液，其中维生素 E 作为防腐剂并且卵磷脂和中链甘油三酯乳化剂用以增加生物利用度。用氮气吹洗和压头将溶解有苔藓抑素的油囊封于凝胶胶囊中。在替代方案中，将溶解有苔藓抑素的油作为液体剂型施用。在替代方案中，还可以乳化溶解有苔藓抑素的油并且作为液体制剂施用。乳化可以掩蔽一些与油基口服制剂相关的不合需要的味道和质地。

[0068] 油基苔藓抑素和视黄酸溶液

[0069] 用所需量的溶解于橄榄油中的苔藓抑素和视黄酸制得油基苔藓抑素和视黄酸溶液，其中维生素 E 作为防腐剂并且卵磷脂和中链甘油三酯乳化剂用以增加生物利用度。用氮气吹洗和压头将溶解有苔藓抑素和视黄酸的油囊封于凝胶胶囊中。在替代方案中，将溶解有苔藓抑素和视黄酸的油作为液体剂型施用。在另一个替代方案中，还可以乳化溶解有苔藓抑素和视黄酸的油并且作为液体制剂施用。乳化可以掩蔽一些与油基口服制剂相关的

不合需要的味道和质地。

[0070] 苔藓抑素微球

[0071] 根据上文所描述的方法制备包含聚合物和苔藓抑素 1 的微球。结果概述于下表 1 中。

[0072] 表 1 :苔藓抑素 -1 实验的聚合物纳米囊封的概述

[0073]

实验编号	SFS	P	T	粒度	Bryo-1	囊封

[0074]

		(巴)	(℃)	(nm)	(mg/100ml)	(%)
ALZ-01-01	CO_2 : 丙酮 : :95 : 5	171	45	259	0.0511	11.4
ALZ-02-01	Freon-22	205	22	973	0.3089	16.8
ALZ-03-01	CO_2 : 乙醇 : :85 : 15	171	45	246*	0.0027	71.3
ALZ-04-01	CO_2 : 丙酮 : :95 : 5	171	45	215*	0.0160	50.8
ALZ-05-01	CO_2 : 丙酮 : :95 : 5	171	45	254*	0.1323	84.0
ALZ-06-01	CO_2 : 丙酮 : :85 : 15	171	45	251*	0.2374	82.3

[0075] * 在冻干和复原之后

[0076] 纳米球似乎在 4-25℃（摄氏度）下稳定至少一周的持续时间。此外，纳米球似乎在 37℃（摄氏度）下在约 pH 1.13 的溶液中稳定，类似于胃环境。

[0077] 结果进一步表明，具有苔藓抑素和苔藓抑素 1 的纳米球特别地诱导淀粉样前体蛋白 (APP) 至 s-APPα 的 α - 分泌酶加工，并且活化 SH-SY5Y 成神经细胞瘤细胞系中的蛋白激酶 C(PKC) 同种型 α 、δ 以及 ε（由膜易位测量）。这些事件是与防止 β - 分泌酶介导的 β - 淀粉样蛋白形成相关的良好描述的细胞和药理事件，β - 淀粉样蛋白形成是人类阿尔茨海默氏病和阿尔茨海默氏病的 sweAPP/PS1 小鼠模型的痴呆的推定原因。

[0078] 苔藓抑素和视黄素微球

[0079] 根据上文所描述的方法制备包含聚合物以及一种或多种苔藓抑素和视黄素化合物的微球。

[0080] 水迷宫研究

[0081] 对带有与早发型阿尔茨海默氏病相关的突变瑞典淀粉样前体蛋白 (sweAPP) 和 PS1(早老素 -1(presenilin-1)) 基因的小鼠品系 B6C3-Tg 在 5-6 月龄进行水迷宫测试。这些测试表明，与在对照动物中观察的记忆获得技能相比，隔天口服接收于油制剂中的剂量为 5 微克 / 小鼠的苔藓抑素 -1 的小鼠显示出对抗阿尔茨海默氏病介导的由 APP/PS1 突变产生的记忆丧失的显著保护。

[0082] 因此，我们已经关于优选的实施方案描述本发明，应了解，这些实施方案能够在不脱离本文中的教义的情况下进行修改和变更。因此，本发明不应限于精确的细节，而应涵盖以上权利要求书和其等效物的主题。

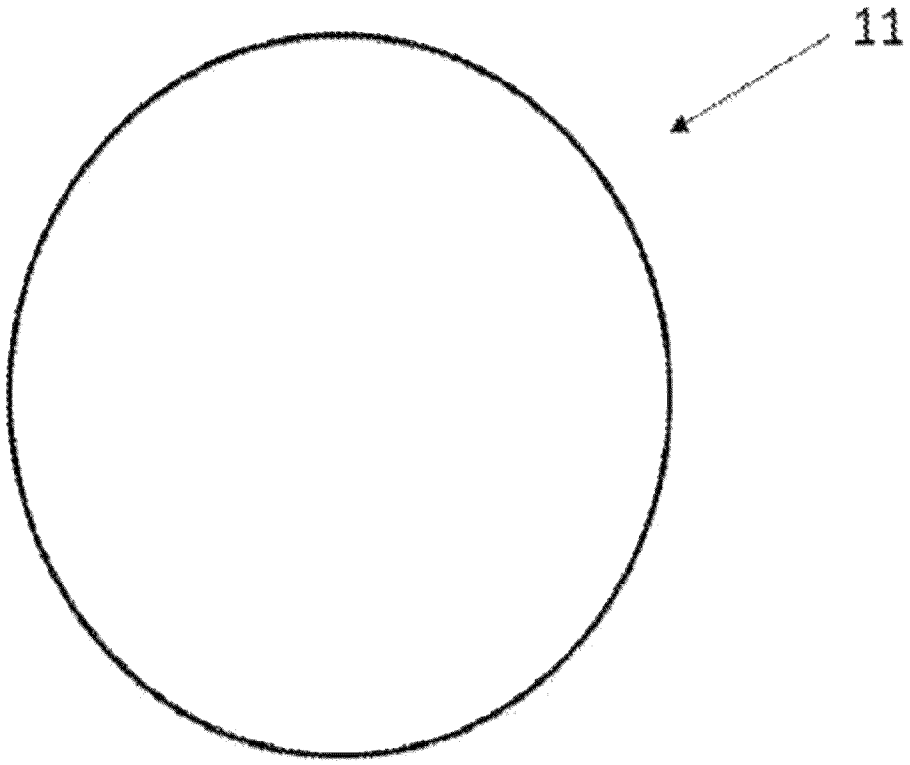


图 1

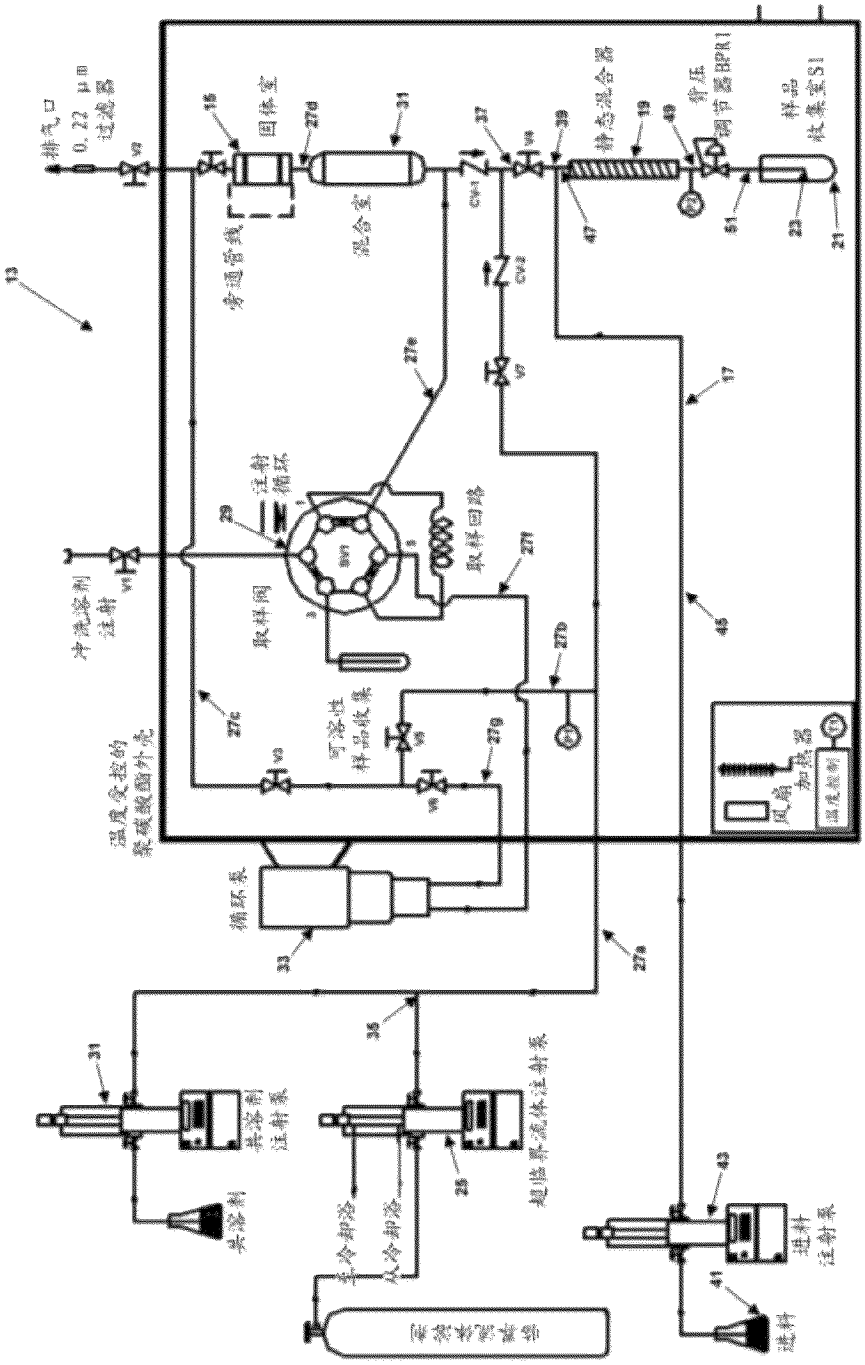

排气口
0.22 μm
过滤器
V9
15
固体室
27a
31
混合室
CV-1
37
V8
39
静态混合器
19
49
背压
调节器BPR1
样品
收集室S1
61
23
21
47
CV-2
V7
27e
17
13
注射
循环
29
取样回路
取样阀
V1
冲洗溶剂
注射
27
27c
27d
可溶性
样品收集
V6
27b
V5
V3
V4
温度受控的
聚碳酸酯外壳
风扇
加热器
循环泵
33
27a
35
31
共溶剂
注射泵
超临界流体注射泵
共溶剂
共冷却液
从冷却液
28
43
进样
注射泵
41
进样
收集流体容器

图 2

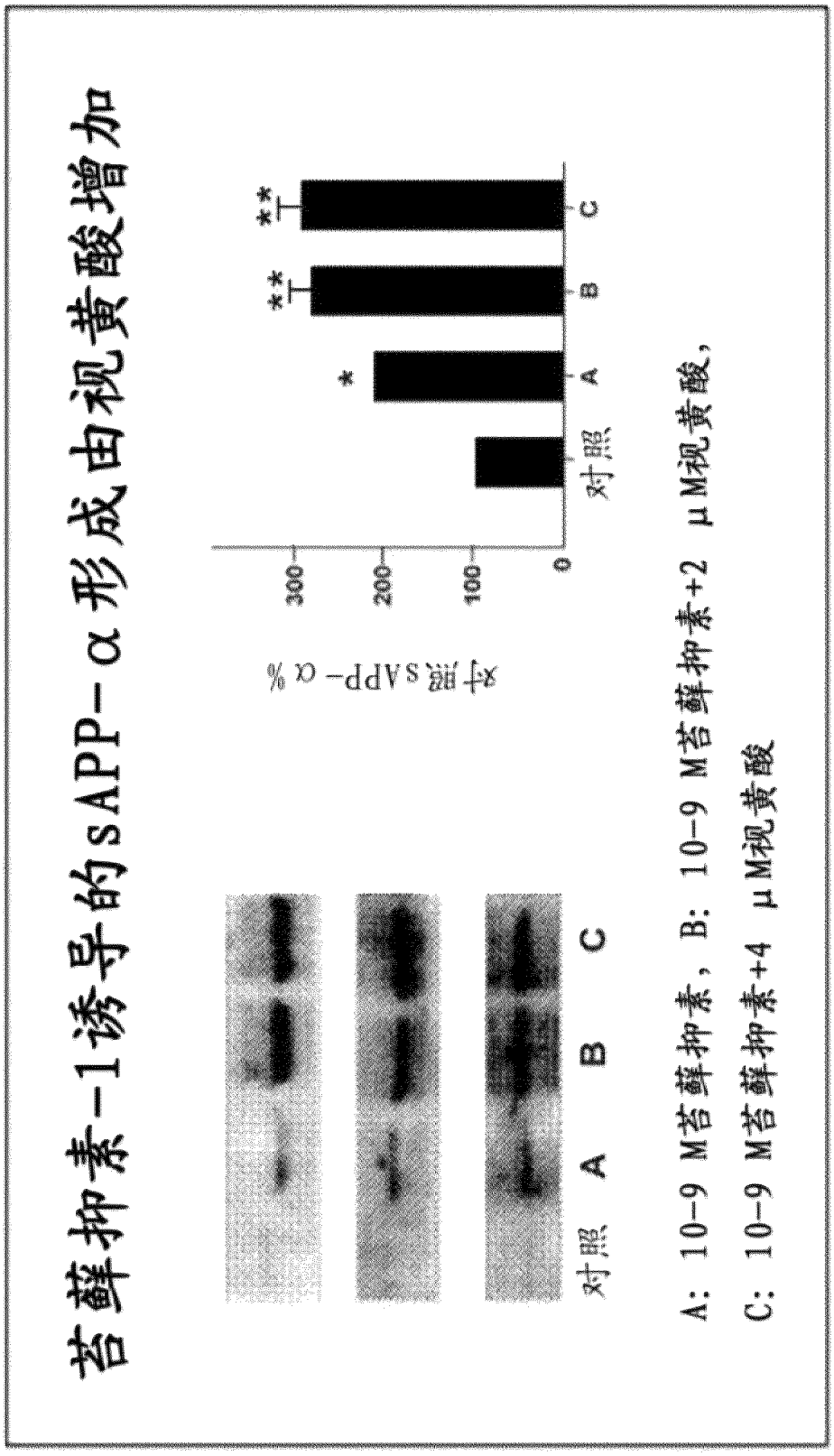

苔藓抑素-1诱导的sAPP-α形成由视黄酸增加
对照 A B C
对照
A
B
C
0
100
200
300
*
**
**
对照sAPP-α %
A: 10-9 M苔藓抑素, B: 10-9 M苔藓抑素+2 μM视黄酸,
C: 10-9 M苔藓抑素+4 μM视黄酸

图 3

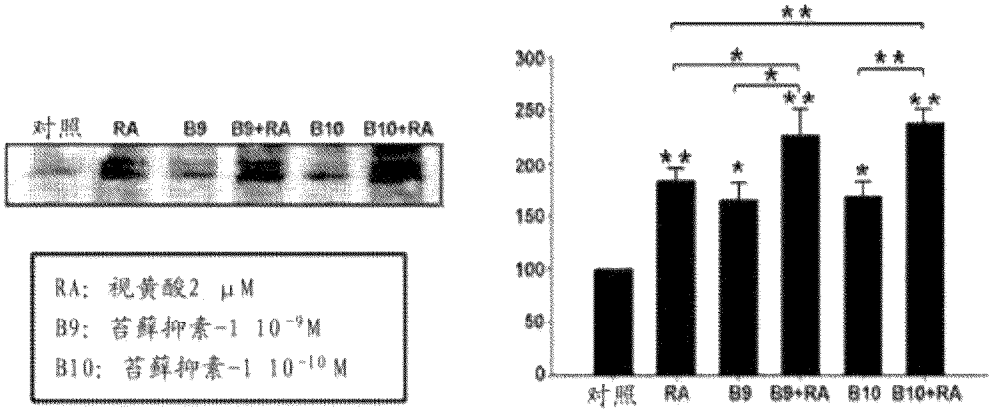

视黄酸（RA，2 μM）+苔藓抑素-1对
SH-SY5Y成神经细胞瘤细胞中sAPPα释放的影响
对照
RA
B9
B9+RA
B10
B10+RA
RA：视黄酸2 μM
B9：苔藓抑素-1 10⁻⁹M
B10：苔藓抑素-1 10⁻¹⁰M
300
250
200
150
100
50
0
对照
RA
B9
B9+RA
B10
B10+RA

图 4