(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 113559108 A
(43)申请公布日 2021.10.29

(21)申请号 202110489234.7

(22)申请日 2015.06.22

(30)优先权数据
62/015,657 2014.06.23 US
14/329,627 2014.07.11 US

(62)分案原申请数据
201580033333.7 2015.06.22

(71)申请人 因特尔公司
地址 美国宾夕法尼亚州

(72)发明人 M·札斯洛夫

(74)专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245
代理人 丁秀云

(51)Int.Cl.
A61K 31/575(2006.01)
A61K 45/06(2006.01)
A61P 3/10(2006.01)
A61P 25/00(2006.01)
A61P 1/00(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

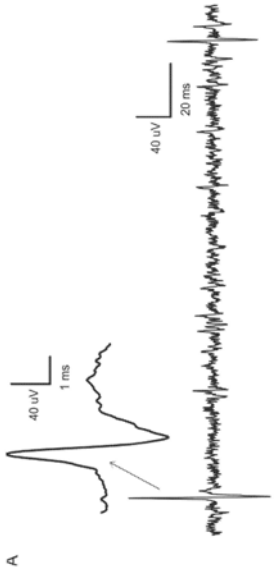
权利要求书3页 说明书35页 附图5页

(54)发明名称

用于刺激肠内分泌系统以治疗与其相关的疾病或状况的方法和组合物

(57)摘要

本发明的发明名称为用于刺激肠内分泌系统以治疗与其相关的疾病或状况的方法和组合物。本发明涉及刺激人和动物肠神经系统活性的方法。所述方法包括口服给予氨基甾醇，诸如角鲨胺——一种从海绿角鲨分离的天然存在的氨基甾醇——或其衍生物至有需要的对象。



CN 113559108 A

1.包括药学可接受等级的至少一种氨基甾醇、或其药学可接受的盐的氨基甾醇组合物,其用于在治疗或预防状况或病症中的应用,其中:

(a)所述应用包括口服给予所述组合物;和

(b)所述至少一种氨基甾醇、或其药学可接受的盐以足以在对象中产生有益神经保护效果的剂量存在于所述组合物中;

(c)所述氨基甾醇是角鲨胺或其盐或者氨基甾醇1436或其盐;和

(d)所述状况或病症选自糖尿病、糖尿病神经病变、胃肠活动病症、或涉及所述神经系统的状况或病症,其中涉及所述神经系统的状况或病症是阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病、肌萎缩侧索硬化、中枢神经系统的急性创伤性损伤、中风、脊柱损伤、与衰老相关的变性过程、老年痴呆、脑性麻痹、癫痫、周围感觉神经病变、抑郁、或自闭症。

2.权利要求1所述的氨基甾醇组合物,其中所述氨基甾醇组合物在所述脑中触发产生神经保护激素或神经肽,其起预防所述状况或病症或相关症状发作或发展的作用。

3.权利要1或2所述的氨基甾醇组合物,其中所述氨基甾醇组合物生理上减小来自其目标膜的膜结合的β-淀粉样蛋白的浓度,其起预防所述状况或病症或相关症状发作或发展的作用。

4.权利要求1-3中任一项所述的组合物,其中:

(a)所述有效每日给药量是约0.1至约20mg/kg体重;和/或

(b)所述有效剂量通过限定需要引起所述氨基甾醇诱导的GI反应的初始剂量进行制定,其为需要刺激肠活性的变化、恶心、分泌性腹泻、或其任意组合的初始剂量。

5.权利要求1-4中任一项所述的组合物,其中:

(a)所述组合物是液体、胶囊或片剂的口服剂型,其被设计在胃、小肠上段、或肠的更远端部分以适合实现预期治疗益处的溶解速率崩解;和/或

(b)所述组合物进一步包含至少一种药学上可接受的载体。

6.权利要求1-5中任一项所述的组合物,其中所述氨基甾醇是角鲨胺或其盐,并且任选地其中所述氨基甾醇是角鲨胺的磷酸盐。

7.权利要求1-5中任一项所述的组合物,其中所述氨基甾醇是氨基甾醇1436或其盐。

8.权利要求1-7中任一项所述的组合物,其中所述状况或病症是阿尔茨海默氏病。

9.权利要求8所述的组合物,其中:

(a)所述氨基甾醇组合物与通常指定用于治疗阿尔茨海默氏病或相关症状的一种或多种药物共同给予或组合;或

(b)所述氨基甾醇组合物与通常指定用于治疗阿尔茨海默氏病或相关症状的一种或多种药物共同给予或组合,并且所述一种或多种药物选自:谷氨酸盐、抗精神病药物、石杉碱甲、乙酰胆碱脂酶抑制剂和NMDA受体拮抗剂诸如美金刚(Akatinol®、Axura®、Ebixa®/Abixa®、Memox®和Namenda®),乙酰胆碱脂酶抑制剂的实例是多奈哌齐(Aricept®)、加兰他敏(Razadyne®)、和利凡斯的明(Exelon®)。

10.权利要1-7中任一项所述的组合物,其中所述状况或病症是亨廷顿氏病或亨廷顿舞蹈症。

11.权利要求10所述的组合物,其中:

(a)所述氨基甾醇组合物与通常指定用于治疗亨廷顿氏病和/或亨廷顿舞蹈症或相关症状的一种或多种药物共同给予或组合;或

(b)所述氨基甾醇组合物与通常指定用于治疗亨廷顿氏病和/或亨廷顿舞蹈症或相关症状的一种或多种药物以及共同给予或组合,并且所述一种或多种药物选自:抗精神病药物、用于治疗张力失调的药物、GABA调节药物、多巴胺调节剂、抗痉挛剂、用于治疗抑郁的药物、通常用于治疗亨廷顿氏病的其它药物如金刚烷胺、丁苯那嗪、多巴胺阻断剂、和辅酶Q10。

12.权利要求1-7中任一项所述的组合物,其中所述状况或病症是肌萎缩侧索硬化。

13.权利要求12所述的药物组合物,其中:

(a)所述氨基甾醇组合物与通常指定用于治疗肌萎缩侧索硬化或相关症状的一种或多种药物共同给予或组合;或

(b)所述氨基甾醇组合物与通常指定用于治疗肌萎缩侧索硬化或相关症状的一种或多种药物共同给予或组合,并且所述一种或多种药物选自利鲁唑,KNS-760704,奥利索西,他仑帕奈,阿莫氯醇,和帮助减小疲劳、缓解肌肉痉挛、控制强直、减少唾液和痰过多、控制疼痛、抑郁、睡眠障碍、吞咽困难、和便秘的药物。

14.权利要求1-7中任一项所述的组合物,其中所述状况或病症是中枢神经系统的急性创伤性损伤、中风、脊柱损伤、或周围感觉神经病变。

15.权利要求1-7中任一项所述的组合物,其中所述状况或病症是与衰老相关的变性过程或老年痴呆。

16.权利要求1-7中任一项所述的组合物,其中所述状况或病症是脑性麻痹。

17.权利要求16所述的组合物,其中所述氨基甾醇组合物与通常指定用于治疗脑性麻痹或相关症状的一种或多种药物共同给予或组合,诸如肉毒杆菌毒素A注射剂。

18.权利要求1-7中任一项所述的组合物,其中所述状况或病症是抑郁。

19.权利要求18所述的组合物,其中:

(a)所述氨基甾醇组合物与通常指定用于治疗抑郁的一种或多种药物共同给予或组合;或

(b)所述氨基甾醇组合物与通常指定用于治疗抑郁的一种或多种药物共同给予或组合,并且所述一种或多种药物选自:三环抗抑郁剂、单胺氧化酶抑制剂、选择性血清素再摄取抑制剂、和血清素和去甲肾上腺素再摄取抑制剂。

20.权利要求1至7中任一项所述的组合物,其中所述状况或病症是癫痫。

21.权利要求20所述的组合物,其中:

(a)所述氨基甾醇组合物与通常指定用于治疗癫痫或相关症状的一种或多种药物共同给予或组合;或

(b)所述氨基甾醇组合物与通常指定用于治疗癫痫或相关症状的一种或多种药物共同给予或组合,并且所述一种或多种药物选自抗痉挛剂、氯氮卓、氯硝西泮、乙琥胺、非氨酯、磷苯妥英、加巴喷丁、拉科酰胺、拉莫三嗪、左乙拉西坦、奥卡西平、鲁米那、苯妥英、普瑞巴林、扑米酮、硫加宾、托吡酯、丙戊酸半钠、丙戊酸、和唑尼沙胺、氯巴占、氨己烯酸、瑞替加滨、布瓦西坦、塞曲西坦、地西泮、劳拉西泮、三聚乙醛、咪达唑仑、戊巴比妥、乙酰唑胺、孕酮、促肾上腺皮质激素、各种促肾上腺皮质类固醇激素、和溴化物。

22.权利要求1-7中任一项所述的组合物,其中所述状况或病症是自闭症。

用于刺激肠内分泌系统以治疗与其相关的疾病或状况的方法和组合物

[0001] 本申请是分案申请，原申请的申请日是2015年6月22日，申请号为2015800333337(PCT/US2015/036935)，发明名称为“用于刺激肠内分泌系统以治疗与其相关的疾病或状况的方法和组合物”。

[0002] 相关申请的交叉引用

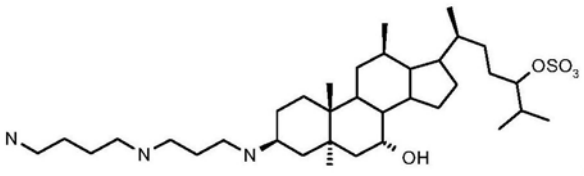
[0003] 本申请要求2014年6月23日提交的美国临时专利申请号62/015,657和2014年7月11日提交的美国专利申请号14/329,627的优先权。这两个申请的公开内容均通过引用被具体地并入。

发明领域

[0004] 本发明涉及刺激人和动物肠神经系统的活性的方法，其可用于治疗多种疾病或状况。所述方法包括对有需要的对象口服给予角鲨胺——从海绿角鲨(Squalus acanthias)分离的天然存在的氨基甾醇——或其衍生物。所述方法导致肠的肠神经系统的受控激活。所述方法可用于治疗胃肠活动病症诸如慢性特发性便秘、阿片样物质诱导的便秘、肠易激综合征和炎性肠病；糖尿病；和神经变性疾病，诸如帕金森氏病、阿尔茨海默氏病、老年痴呆、亨廷顿舞蹈症、糖尿病神经病变、周围感觉神经病变、创伤性头部和/或脊柱损伤、中风、肌萎缩侧索硬化、多发性硬化、抑郁、癫痫和自闭症。此外，所述方法可用于治疗和预防多种恶性肿瘤，包括结肠、胰、肝、脑、男性和女性泌尿生殖道、淋巴和血液组织、肺、皮肤、乳腺、和子宫内膜的恶性肿瘤。

[0005] 发明背景

[0006] 在化学上，角鲨胺呈现自然界中从未见过的胆汁酸与多胺(亚精胺)连接的结构：

[0007] 

角鲨胺

[0008] 角鲨胺(其结构如上所示)的发现在1993年被Michael Zasloff报道(美国专利号5,192,756)。在寻找抗菌剂时在角鲨鱼(海绿角鲨)的多个组织中发现了角鲨胺。最充足的角鲨胺来源是在海绿角鲨的肝中，虽然在其它来源中也有发现，诸如七鳃鳗(Yun等，“Identification of Squalamine in the Plasma Membrane of White Blood Cells in the Sea lampreys,”Petromyzon marinus,”J.Lipid Res.,48(12):2579-2586(2007))。

[0009] 之后很多研究表明角鲨胺显示出强大的体外抗菌活性(Salmi,Loncle等2008)。随后，发现角鲨胺显示出体外和给予动物后的抗血管生成活性(Sills,Williams等1998;Yin,Gentili等2002)。因此，角鲨胺在已知与病理性新血管形成相关的疾病状态中进行评价，诸如癌症(Sills,Williams等1998;Schiller和Bittner 1999;Bhargava,Marshall等2001;Williams,Weitman等2001;Hao,Hammond等2003;Herbst,Hammond等2003;Sokoloff,Rinker-Schaeffer等2004)，和眼睛血管疾病——其包括黄斑变性(US2007/10504A1

2007)、早产儿视网膜病变(Higgins,Sanders等2000;Higgins,Yan等2004;US2007/10504A1 2007)、角膜新生血管形成(Genaidy,Kazi等2002)和糖尿病性视网膜病变(US2007/10504A1 2007)。

[0010] 已经证明角鲨胺作为抗感染剂具有体外抗细菌和真菌的效用(Moore,Wehrli等1993;Rao,Shinnar等2000;Salmi,Loncle等2008)。角鲨胺是显示出对由阴离子磷脂组成的膜的亲和力的阳离子两亲性物质(Selinsky,Zhou等1998;Selinsky,Smith等2000)。类似于其它这样的剂——包括马加宁(magainin)和阳离子抗菌肽,角鲨胺被认为通过与通常在暴露于环境的膜表面上显示阴离子磷脂的目标微生物的膜静电相互作用、随后扰乱其功能完整性、并引起目标微生物的死亡而发挥抗菌作用(Sills,Williams等1998;Zasloff 2002;Salmi,Loncle等2008)。

[0011] 最近的研究已经强调了全身给予角鲨胺以预防或治疗动物中病毒感染的效果(Zasloff等"Squalamine as a broad-spectrum systemic antiviral agent with therapeutic potential,"Proc.Natl.Acad.Sci.USA,108(38):15978-83(2011);US(2011)12/913,648)。

[0012] 作用机理。据报道,角鲨胺通过置换静电结合至带负电膜的蛋白质、引起细胞功能状态的多效性变化而在细胞水平发挥其效果(Alexander等,"Membrane surface charge dictates the structure and function of the epithelial na+/h+exchanger,"EMBO J.,30:679-691.(2011);Yeung等,"Membrane phosphatidylserine regulates surface charge and protein localization,"Science,319(5860):210-3(2008);Sumioka等,"TARP phosphorylation regulates synaptic AMPA receptors through lipid bilayers,"Neuron,66(5):755-67(2009);Zasloff等,"Squalamine as a broad-spectrum systemic antiviral agent with therapeutic potential,"Proc.Natl.Acad.Sci.USA,108(38):15978-83(2011))。

[0013] 氨基甾醇1436是从角鲨鱼分离的氨基甾醇,其在结构上与角鲨胺相关(美国专利号5,840,936;Rao,Shinnar等2000)。氨基甾醇1436凭借所提出的涉及通过1436抑制淋巴细胞特异性NHE,导致细胞因子反应性的抑制,并且随后抑制淋巴细胞支持HIV复制的能力的机理(美国专利号5,763,430),显示了组织培养中的抗HIV抗病毒活性(美国专利号5,763,430)。但是,氨基甾醇1436具有另外的与角鲨胺不同的药理特性,即强大的食欲抑制和促进剂量依赖性重量减轻(美国专利号6,143,738;Ahima等,"Appetite suppression and weight reduction by a centrally active aminosterol."Diabetes,51(7):2099-104(2002);Patel等2002)。

[0014] 先前的人体临床研究集中在角鲨胺的抗血管生成特性。处于其静脉注射形式的角鲨胺,角鲨胺乳酸盐,处于测试进行性骨化性纤维发育不良——一种结缔组织受损时会骨化的罕见疾病——的治疗的过程中。Genesis,A.,"Squalamine trial for the treatment of fibrodysplasia ossificans progressiva initiated",Angiogenesis Weekly,8:45(2002)。角鲨胺也经历非小细胞肺癌(I/IIA期)的治疗的试验以及通常I期药动力学研究。Herbst等,"A Phase I/IIA Trial of Continuous Five-Day Infusion of Squalamine Lactate(MSI-1256F)Plus Carboplatin and Paclitaxel in Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer 1,"Clinical Cancer Research,9:4108-4115(2003);Hao

等,“A Phase I and Pharmacokinetic Study of Squalamine,an Aminosterol Angiogenesis Inhibitor”,Clin Cancer Res.,9(7):2465-2471(2003)。在2005年,食品和药品管理局(Food and Drug Administration)授予角鲨胺批准用于治疗老年性黄斑变性的快速通道地位。CATE:California Assistive Technology Exchange,"California Assistive Technology Exchange,http://cate.ca.gov/index.cfm?a=Resources&p=News&article=176,检索于2009-03-31。在2011年,Ohr Pharmaceuticals开始临床试验以评价作为滴眼剂给予、用于治疗湿性黄斑变性的角鲨胺乳酸盐,根据它们的评估,当该物质被置于角膜表面时,足够高浓度的角鲨胺可以进入视网膜。这些研究正在进行。Genaera Corporation在2007年中止了角鲨胺在治疗癌症中的应用的试验。“前列腺癌;Genaera中止了针对囊性纤维化的LOMUCIN以及针对前列腺癌的角鲨胺的研究”,Drug Week,251页,2007-07-20;“报告描述来自Genaera Corporation的最近消息”,Biotech Business Week,1540页,(2007-09-17)。角鲨胺也在商标名称Squalamax™下作为膳食补充剂进行销售,虽然其没有被批准为此形式的药物并且因此不能做治疗主张。Squalamax™是鲨鱼肝的未分级提取物,其包含除角鲨胺外无数的未表征物质,并且角鲨胺以小于提取物总重量的0.01%存在于Squalamax™中。“Cyber Warning Letter”,Center for Drug Evaluation and Research(2002-05-06),http://www.fda.gov/CDER/warn/cyber/2002/CFSANnuGen.htm;检索于2009-03-31。而且,膳食补充剂形式的角鲨胺不是药物级角鲨胺,因为药物级角鲨胺需要显著更大的生产工作。

[0015] 截止到2006年,在3个I期和9个II期研究中,已经有超过300位患者以6-700mg/m^2/天的范围的剂量经静脉注射给予而接受角鲨胺。Hao等,“A Phase I and pharmacokinetic study of squalamine,an aminosterol angiogenesis inhibitor,”Clin.Cancer Res.,9:2465-71(2003);Herbst等,“A phase I/IIA trial of continuous five-day infusion of squalamine lactate(MSI-1256F)plus carboplatin and paclitaxel in patients with advanced non-small cell lung cancer,”Clin.Cancer Res.,9:4108-15(2003);Bhargava等,“A phase I and pharmacokinetic study of squalamine,a novel antiangiogenic agent,in patients with advanced cancers,”Clin.Cancer Res.,7:3912-9(2001);和Connolly等,“Squalamine lactate for exudative age-related macular degeneration,”Ophthalmol.Clin.North Am.,19:381-91(2006)。研究显示,化合物在这些早期试验中显示了可接受的安全性和有效的证据。在2006年,由于经济/战略原因,角鲨胺的研发被Genaera停止。在2011年,Ohr Pharmaceuticals开始研究作为滴眼剂给予、用于治疗视网膜眼疾病的该化合物,但是此化合物抗癌的所有研究一直处于静止阶段。

[0016] 与本发明所公开的发明相关的,角鲨胺从未在人类中作为口服剂被研究,并且因此人(和其它哺乳动物)中的其药理学和生物效应仅在静脉注射给予后才是已知。动物中的广泛研究已经显示角鲨胺和氨基甾醇1436均不能以任何程度从胃肠道吸收,要求这些化合物各种先前设想的应用的肠胃外给予。氨基甾醇1436,虽然在肠胃外对狗给药时能够引起体重减轻,并且啮齿动物在口服给予时没有显示厌食活性,但是在口服递送时与其差的生物利用度是一致的。实际上,在关于角鲨胺作为治疗剂的应用的发表评论中,Genaera科学家陈述了“虽然角鲨胺乳酸盐在啮齿动物中通过皮下和腹膜内途径吸收良好,但是初步研究指出其具有差的口服生物利用度。”(Connolly等,“Squalamine lactate for exudative

age-related macular degeneration,"Ophthalmol.Clin.North Am.,19:381-91,(2006))。迄今,没有公开的专利申请或参考文献已记录或报告在人或动物中口服给予角鲨胺(或任意其它相关的氨基甾醇)的药理学作用。(美国专利号5,192,756;美国专利号5,637,691;美国专利号5,721,226;美国专利号5,733,899;美国专利号5,763,430;美国专利号5,792,635;美国专利号5,795,885;美国专利号5,840,740;美国专利号5,840,936;美国专利号5,847,172;美国专利号5,856,535;美国专利号5,874,597;美国专利号5,994,336;美国专利号美国专利号6,017,906;美国专利号6,143,738;美国专利号6,147,060;美国专利号6,388,108;美国专利号6,596,712;美国专利公开号2005/0261508A1 2005;美国专利号6,962,909;美国专利公开号2006/0166950A1 2006;美国专利公开号2006/0183928A1 2006;美国专利公开号2007/10504A1 2007。)

[0017] 角鲨胺和相关的氨基甾醇诸如1436没有离开胃肠道进入门静脉或全身血液流。截至2014年——在报道发现角鲨胺之后约20年,其导致药物研发领域技术人员通常接受的结论:当口服给予时,角鲨胺不能为包括恶性肿瘤的系统性状况提供益处。

[0018] 本领域仍然需要治疗与人和动物肠神经系统的活性刺激相关的疾病和状况的新方法。本发明满足了这个需要。

[0019] 发明概述

[0020] 如本文所述,本发明涉及刺激胃肠道以实现某种医疗益处的方法。所述方法包括口服给予包括一种或多种氨基甾醇的药物组合物至有需要的对象。"氨基甾醇"可以是角鲨胺或其衍生物、氨基甾醇1436或其衍生物、或从海绿角鲨分离的天然存在的氨基甾醇或其衍生物,本文统称为"角鲨胺"。所述药物组合物可以包括一种或多种药物可接受的载体。对象可以是包括人的哺乳动物。

[0021] 本发明基于口服给予角鲨胺和相关的氨基甾醇(例如,氨基甾醇1436)的意料不到和史无前例的活性的发现。所述活性涉及具有治疗价值的刺激人GI道内的一系列事件。由氨基甾醇诸如角鲨胺或其衍生物刺激的系列事件涉及诱导肠分泌反应,之后是一段时间的"小肠静止(small intestinal quieting)",和随后正常形成的排便的通道。这些事件被最佳解释为在本发明中显示的由有效口服剂量的氨基甾醇诸如角鲨胺或相关的氨基甾醇1436所控制或发起的迄今未知的生理学胃肠反应的刺激的结果(氨基甾醇诱导的GI反应)。

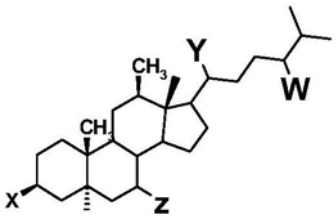
[0022] 基于反应的药理学,以及已经参与的胃肠道的可能的已知部分,可以预测本发明方法的用途或应用。这些用途包括:(1)治疗和预防胃肠活动病症,诸如慢性特发性便秘、阿片样物质诱导的便秘、肠易激综合征、和炎性肠病;(2)治疗和预防诸如糖尿病和糖尿病神经病变的状况;(3)治疗和预防可以受益于神经保护的神经系统的病症,诸如帕金森氏病、阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病,包括脊髓的中枢神经系统的急性创伤性损伤、中风、急性脑和/或脊柱损伤、与衰老相关的变性过程——包括记忆丧失("老年痴呆")、脑性麻痹、癫痫、周围感觉神经病变、和多发性硬化;(4)治疗或预防多种恶性肿瘤,特别地血管化恶性肿瘤,包括但不限于结肠、胰、肝、脑、男性和女性泌尿生殖道、淋巴和血液组织、肺、皮肤、乳腺、和子宫内膜的恶性肿瘤(如本文所述,预料不到的反应包括恶性肿瘤的消退);(5)治疗或预防抑郁,和(6)治疗或预防自闭症。

[0023] 发明包括口服给予治疗有效量的角鲨胺或其衍生物、角鲨胺的异构体或前体药物、或其药学等效盐至有需要的对象,诸如哺乳动物。"有需要的对象"是患有其中"氨基甾

醇诱导的GI反应”的刺激会提供治疗或医疗益处的病症的人或哺乳动物。

[0024] 优选地，角鲨胺是药物级角鲨胺。组合物可以进一步包括一种或多种药学可接受的赋形剂。角鲨胺或其衍生物以足以产生预期益处或反应的量存在。

[0025] 在另一个实施方式中，发明包含治疗和/或预防受益于氨基甾醇诱导的GI反应的刺激的状况的方法，所述方法包括给予治疗有效量的氨基甾醇，其可以抑制受已知诱导张力丝形成的配体刺激的内皮细胞中肌动蛋白张力丝的形成。可用于本发明方法的示例性氨基甾醇具有式I的化学结构：

[0026] 

[0027] 其中，

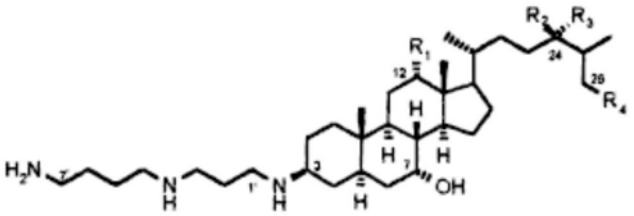
[0028] W是24S-OSO_3或24R-OSO_3；

[0029] X是3β-H_2N-$(CH_2)_4$-NH-$(CH_2)_3$-NH-或3α-H_2N-$(CH_2)_4$-NH-$(CH_2)_3$-NH-；

[0030] Y是20R-CH_3；和

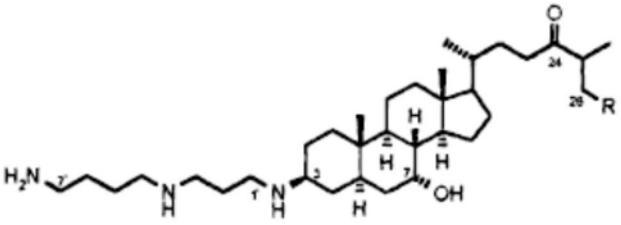
[0031] Z是7α或7β--OH。

[0032] 在本发明的另一个实施方式中，氨基甾醇是从海绿角鲨分离的天然存在的氨基甾醇(1-8)之一：

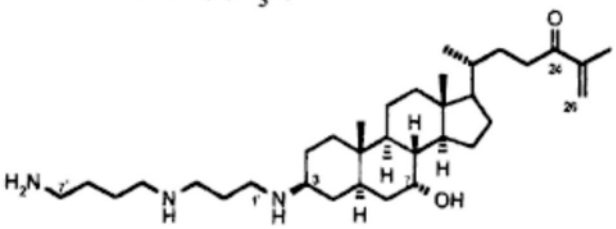


2: R_1=H, R_2=OH, R_3=H, R_4=OSO_3H
4: R_1=OH, R_2=OSO_3H, R_3=H, R_4=H
5: R_1=H, R_2=OSO_3H, R_3=CH_2OH, R_4=H
8: R_1=H, R_2=OSO_3H, R_3=H, R_4=H

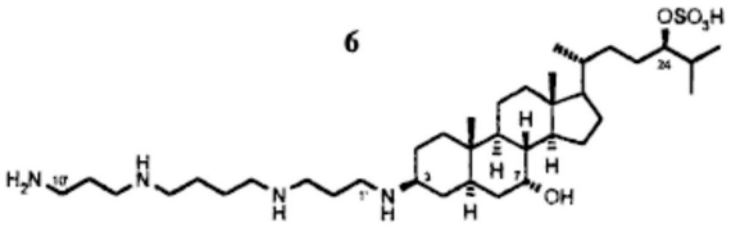
[0033]



1: R=$SCH_2CH(NH_2)CO_2H$
3: R=OSO_3H



6



7

[0034] 在一个实施方式中，氨基甾醇是氨基甾醇1436或角鲨胺异构体。

[0035] 在本发明的另一个实施方式中，氨基甾醇是通过医药化学修饰以提高生物分布、给予容易度、代谢稳定性、或其任意组合的角鲨胺或另一种天然存在的氨基甾醇的衍生物。在另一个实施方式中，角鲨胺或氨基甾醇被修饰以包括以下的一种或多种：(1)通过磺酸盐、磷酸盐、羧酸盐、或选择防止硫酸盐部分的代谢去除和胆固醇侧链的氧化的其它阴离子部分取代硫酸盐；(2)通过非可代谢的极性取代基，诸如氟原子置换羟基，以防止其代谢氧化或共轭；和(3)取代各种环氢原子以阻止类固醇环系统的氧化或还原代谢。

[0036] 在另一个实施方式中，氨基甾醇包括甾醇核和连接甾醇上任意位置的多胺，以便分子显示至少+1的净电荷，该电荷由多胺贡献。

[0037] 在另一个实施方式中，氨基甾醇包括胆汁酸核和连接在胆汁酸上任意位置的多胺，以便分子显示由多胺贡献的净正电荷。

[0038] 在本发明的某些实施方式中，所述方法包括给予角鲨胺或其衍生物约0.1至约20mg/kg体重的有效每日剂量。在某些实施方式中，有效剂量可以通过限定需要引起氨基甾醇诱导的GI反应的初始剂量，即，需要刺激恶心和分泌性腹泻的初始剂量而确立。

[0039] 组合物可以通过任意药学可接受的方法给予，包括但不限于口服给予。

[0040] 本发明的方法可以进一步包括结合至少一种另外活性剂给予角鲨胺或其衍生物以实现相加或协同效应。此类另外的剂可以通过选自伴随地、作为混合物、分别地和同时地或并行地、和分别地和相继地的方法进行给予。

[0041] 在本发明的一个实施方式中，口服剂型是液体、胶囊或片剂，其被设计以在胃、小肠上段、或肠的更远端部分以适合实现预期治疗益处的溶解速率崩解。

[0042] 在本发明的另一个实施方式中，在口服给予后的对象的血流中实质上没有检测到氨基甾醇。

[0043] 以上本发明的概要和以下本发明的详细描述均为示例性和说明性的，并且旨在提供发明所要保护的另外详细内容。通过以下本发明的详细描述，其它目的、优点和新颖特点对本领域技术人员是容易明显的。

[0044] 附图描述

[0045] 图1显示腔内角鲨胺增加肠系膜神经发射频率。图1A显示抽吸电极多单元记录(suction electrode multiunit recording)的代表性图形。图1A的插入图显示在更快的时基(1ms)上的胞外动作电位(40V)。图1B显示在1分钟bins期间平均的多单元发射频率的柱形图。在开始记录后11分钟通过重力进料将角鲨胺施用至腔中。图1C显示5个单独实验的在3分钟期间平均的尖峰频率的在前和在后数据。对照代表应用角鲨胺之前的背景放电，并且峰给出了3分钟期间在响应的峰处的平均发射频率。

[0046] 图2A显示角鲨胺的腔内应用对小鼠结肠移行性复合运动(MMC)峰压力波没有明显效果，即便图2B显示从口至肛门的MMC传播速度增加。

[0047] 图3显示IPAN成员电位的代表性记录。在简短地(20ms)将一股50μL的角鲨胺应用至上皮上后，角鲨胺引起持续10至30分钟的突发动作电位。

[0048] 发明详述

[0049] 本发明涉及在口服给予角鲨胺或其衍生物、或氨基甾醇1436或其衍生物后在人胃肠道中刺激定型药理学反应(氨基甾醇诱导GI反应)的方法。本发明基于包括角鲨胺和氨基甾醇1436的氨基甾醇的已知和预测性质是意想不到和令人惊奇的。特别地，发明允许以文献中没有先例的方式对肠神经系统发挥药理学控制。此能力所提供的的实用性包括其中肠系统以此方式的激活可具有益处的所有应用。这些应用包括GI状况，其将会受益于小肠“静止”(类似于通常所称的“回肠制动”)时期的强加，或受益于对通过给予氨基甾醇强加的氨基甾醇特异性激活的肠神经系统的直接作用。

[0050] 可以用根据本发明的方法治疗的状况的实例包括糖尿病，其中食物穿过小肠的延时通过会降低营养物吸收速率并且其次降低内分泌胰腺的应激。可以使用根据本发明的方法治疗的其它状况包括肠易激综合征、阿片样物质诱导的便秘、和炎性肠病，其中小肠平滑肌的舒缓会提供痉挛蠕动活动的减轻。但是可以用根据本发明的方法治疗的其它状况包括会受益于氨基甾醇对肠神经元的直接效果和它们与固有层内的免疫细胞的通讯，以及通往中枢神经系统的更高中心的迷走神经传入的刺激的神经变性疾病，诸如帕金森氏病、阿尔

茨海默氏病、亨廷顿舞蹈症、糖尿病神经病变、周围感觉神经病变、创伤性头部和/或脊柱损伤、中风、肌萎缩侧索硬化、多发性硬化、抑郁、癫痫和自闭症。最后，根据本发明的方法也可用于治疗和预防多种恶性肿瘤，其包括例如任意血管化恶性肿瘤，诸如结肠、胰、肝、脑、男性和女性泌尿生殖道、淋巴和血液组织、肺、皮肤、乳腺、和子宫内膜的恶性肿瘤。意想不到的益处包括恶性肿瘤的消退。

[0051] I.定义

[0052] 提供以下定义以促进贯穿此说明书使用的某些术语的理解。

[0053] 如本文所使用的，术语“氨基甾醇”包含如本文所述的角鲨胺或其衍生物、角鲨胺的异构体或前体药物、氨基甾醇1436或其衍生物、氨基甾醇1436的异构体或前体药物、或从海绿角鲨分离的天然存在的氨基甾醇或其衍生物。可用于发明的“氨基甾醇”也包含本文所描述的任意氨基甾醇化合物的药学等效盐。这些化合物和其药学可接受的盐在本文中统称为“角鲨胺”和“氨基甾醇”。因此，如本文所使用的术语“氨基甾醇”旨在包含包括角鲨胺和已知天然存在的氨基甾醇两者的更广泛种类。

[0054] 如本文所使用的，“约”会被本领域普通技术人员所理解并且会在其所使用的上下文中一些程度地改变。如果存在对本领域普通技术人员不清楚的术语的使用在其所使用的上下文中被给出，则“约”将意味着至多加或减特定术语的10％。

[0055] 如本文所使用的，"治疗活性"或"活性"可指其效果与人中所想要的治疗结果一致的活性，或指在非人哺乳动物中或其它物种或生物体中想要的效果。可在体内或体外测量治疗活性。例如，可在细胞培养中测定想要的效果。

[0056] 如本文所使用的，词语“治疗有效量”应该指提供给予显著数量的需要此类治疗的对象的药物的特定药理学反应的药物剂量。着重指出，在特定情况下给予特定对象的药物的治疗有效量将不总是对本文所描述的治疗状况/疾病有效，即便此剂量被本领域那些技术人员认为是治疗有效量。

[0057] II.作用机理

[0058] 作用机理。据报道，角鲨胺通过置换静电结合至带负电膜的蛋白质，引起细胞功能状态的多效改变而在细胞水平发挥其效果。参见Alexander等，“Membrane surface charge dictates the structure and function of the epithelial na+/h+exchanger,”EMBO J.,30:679-691.(2011);Yeung等,"Membrane phosphatidylserine regulates surface charge and蛋白质localization,"Science,319(5860):210-3(2008);Sumioka等,"TARP phosphorylation regulates synaptic AMPA receptors through lipid bilayers,"Neuron,66(5):755-67(2009);和Zasloff等,"Squalamine as a broad-spectrum systemic antiviral agent with therapeutic potential,"Proc.Natl.Acad.Sci.USA,108(38):15978-83(2011)。关于公开的发明，认为角鲨胺和其它氨基甾醇，诸如氨基甾醇1436，被输送至肠上皮细胞中。氨基甾醇的存在引起肠上皮细胞内的反应，包括对水和盐重吸收的影响。氨基甾醇随后被输送至固有层中——其中它随后进入肠神经系统的某些神经元(通过特异性转运子)并且最后，通过提出的静电机理引起电激活。大部分氨基甾醇随后很可能被泵回至肠腔中，其中其以粪便的形式被排泄。

[0059] 已知角鲨胺获得进入神经细胞，中和这些细胞的负静电表面电位，并且改变电通道活性(Sumioka等2009)。假设，角鲨胺可以以与皮质颗粒神经元中已经发现的类似的方式

进入和影响肠神经系统的神经元的表现(Sumioka等2009)。此外,已知角鲨胺通过相同机理抑制涉及人小肠中水和盐重吸收的钠氢交换子(Alexander等2011)。

[0060] 如以下实施例3所述,最佳口服给药似乎在空胃上。由于其物理性质,角鲨胺被预期与食物紧密结合,和不能与肠上皮细胞相互作用。只有当食物材料被消化时才释放角鲨胺。这将发生在更远端肠中。

[0061] 基于反应的定型性质和某些人胃肠激素的已知性质和已知存在于人GI道和中枢神经系统之间的通讯,在氨基甾醇诱导GI反应下面的的生理学事件可以被具体化。观察到的反应可以被分成3个阶段。

[0062] 阶段I:恶心。此阶段在口服摄取氨基甾醇后约1至约3小时内开始,并且持续约30分钟。阶段II和III(参见以下)可以被需要刺激有意识的恶心感觉以下的剂量引起,所以有意识经历不是全部氨基甾醇诱导GI反应的需要的要素。需要引起恶心的剂量大于需要开始阶段II和III的剂量。人们提出,给予角鲨胺或氨基甾醇1436后的恶心感觉是通过肠壁内刺激的迷走神经传入的直接刺激脑干的结果。反应的定型性质和其短暂的持续时间的可预测性暗示氨基甾醇通过特定机理刺激特定组的肠神经元。恶心是次于非特异性粘膜损伤的效果,将预期在强度、开始出现和持续时间方面更多的可变性。

[0063] 基于恶心的定时,作用的部位很可能接近小肠、十二指肠和/或空肠。可能的,更高剂量的氨基甾醇所经历的恶心产生于肠的肠嗜铬细胞(其释放组胺和血清素)、L-细胞(GLP-1)、K-细胞(GIP)、和I-细胞(CCK)的排放物,各个均释放已知系统循环、在血流中显示短暂的寿命、并且引起恶心的激素。

[0064] 在实施例6中,显示口服给予的角鲨胺不会引起GLP-1释放至健康人的血流中,并且因此很可能阶段I产生于脑中的恶心中心的迷走神经传入刺激。这种解释由实施例10(图1)所支持,其中显示将角鲨胺应用至小鼠结肠导致流过迷走神经的传入臂的电信号的刺激。

[0065] 阶段II:来自肠的净流体损失:如果足够大剂量的氨基甾醇被口服给予,则对象将经历小体积水状流体的直肠排出物。排出物是清晰、水状性质的并且关于其腔内流体流量的处理反映出肠的增加分泌反应或减少吸收反应。VIP(vasoactive intestinal peptide;血管活性肠肽)是良好表征的神经肽,存在于肠神经系统内并且熟知引起此类分泌反应。假定,阶段I中肠神经系统的放电触发了肠神经系统内VIP表达神经元的激活,导致由空肠内的肠上皮细胞处理的流体的改变。可选地,氨基甾醇可以抑制在肠上皮细胞腔表面上表达的III型钠氢交换子(NHE-3),其是负责从肠吸收钠和水的主要转运子。

[0066] 据先前报道,角鲨胺通过静电机理抑制NHE-3转运子,其中角鲨胺经特定转运子进入上皮细胞(Alexander等2011),并且这是以上描述的关于要求保护的方法的相同机理。为了进入肠神经系统,氨基甾醇首先必须穿过将肠腔与肠壁分开的上皮层,肠神经系统的神经元位于其中。假定,角鲨胺和其它活性氨基甾醇主要通过转运至上皮细胞中,之后是该分子从该细胞的随后离开而穿过上皮。在角鲨胺留在细胞中的一段时间期间(以及很可能一段时间后),预期NHE-3转运子被抑制,并且因此影响对肠区段内的流体流量的效果。反应持续时间和可重复的释放体积暗示反应是自我限制的,可能通过涉及肠神经系统的负/抑制反馈回路,或作为从上皮细胞清除化合物和随后恢复正常功能的结果。不管机理如何,分泌反应的定型和剂量依赖的性质暗示氨基甾醇的给予以高度特异性的方式刺激小肠。

[0067] 阶段III:肠活动。角鲨胺对小和大肠活动和肌紧张均具有独特的药理学效应。在水状排出物后,在更大角鲨胺剂量(例如200mg,虽然如本文所述的其它更大剂量可以被使用)后,肠进入持续2-3天之间的“静止”时期。在较低角鲨胺剂量时,“静止”期持续时间按比例减小。在此期间,肠不是无活性的(“肠梗阻”),因为其将随后口服给予阿片类麻醉药。存在肠鸣音,并且气被间歇地传递。食欲接近正常,虽然其原则上会轻微减少。感觉到进餐后的胃胀。在此阶段期间,人不会经历胃气胀、腹部不适、腹痛、恶心、或发胀感。在具有更频繁的肠模式的个体中粪便经过延迟将被认为“不正常”。此阶段以无紧迫性软便经过结束——对比于在“便秘”期后观察到的。此阶段是角鲨胺对肠神经系统的直接效应,随着化合物向直肠移动渐进地刺激肠神经系统,和/或通过肠内角鲨胺的存在引起的脑激活的结果,导致由脑指导的改变肠活动的传出信号。

[0068] 此阶段暗示称为“回肠制动”的减少的肠活动的状况。其在生理学上被设计以减慢肠活动来增强营养物提取。某些肠激素诸如GLP-1显示此药理学活性。事实上,GLP-1和其类似物在治疗糖尿病的益处大部分被认为是源自GLP-1和其类似物的减慢来自肠的营养物进入到肝中,并且从而减少需要匹配营养物流入的胰岛素分泌速率的能力。但是,如实施例6中所示,口服给予角鲨胺不会刺激在血流中测量的GLP-1的释放。也可以被解释为肠神经内的VIP能神经元激活的结果。从这些神经元的VIP释放是针对肠壁肌肉层的并且对肠的肌肉收缩具有已知的放松效果。人们认为此机理是最合理的。此机理可如此产生:通过角鲨胺的存在直接刺激这些神经元,或非直接地经来自指向脑的肠神经系统的特定信号的刺激,其反过来发送出从肠神经释放VIP的信号。

[0069] 由于角鲨胺并非吸收自GI道,所以其在口服摄取后缓慢移向直肠。随着角鲨胺在小肠内向远端行进,角鲨胺刺激下面的上皮(增加腔的流体含量)并且刺激下面的肠神经系统。在约2至约3天的过程里,角鲨胺运动至结肠中并且最后其以粪便排出导致其药理学活性的终止和先前肠功能的恢复。

[0070] 角鲨胺对结肠的效果似乎不同于对小肠的效果。特别地,基于受治疗的人中产生的粪便的柔软性质,似乎角鲨胺增加了结肠活动,其作为氨基甾醇诱导的GI反应的部分。此外,小鼠中的研究(实施例11,图2)证实角鲨胺刺激结肠活动。因此,虽然小肠活动似乎减慢,但是结肠活动似乎增强,补偿性调整肠内的净流体流量以保证正常硬度(consistency)的粪便。

[0071] III.氨基甾醇诱导的GI反应的有益结果

[0072] 基于对口服给予角鲨胺的GI道未预料的药理学反应,可以理解数个意料之外和史无前例的应用。

[0073] 慢性特发性便秘、阿片样物质诱导的便秘、肠易激综合征和炎性肠病:这些共同状况的基本病因尚未可知。两大类肠易激综合征存在,一个特征为腹泻,另一个特征为便秘。其中更有效的治疗是血清素类似物,其作用于肠神经系统以刺激流动性(以便秘形式)或抑制它(以腹泻形式)。口服氨基甾醇治疗IBS可以“重启”肠神经系统。显然地,在腹泻形式的情况下,给药应当强加约2至约5天的肠静止/静默周期,其预期会减小小肠运送。在便秘形式的情况下,对小肠的肌肉放松效果的强加和GI道的结肠流动性的刺激可以引入常态。净肠分泌的刺激伴随强加小肠和大肠“受控的”活动模式会在慢性便秘背景中提供益处。类似地,根据本发明的方法可以在阿片样物质诱导的便秘的背景中提供益处,其中分泌被抑制、

蠕动性收缩变得不协调、并且结肠活动被明显减小，因为口服氨基甾醇给予应该解决这些问题。

[0074] 糖尿病：GLP-1类似物在治疗糖尿病中的应用已被良好建立。这些化合物减小胰岛素需求和趋于将整个胰岛素滴定变得平缓。GLP-1化合物种类产生其益处的机理仍存争议，其中一些争论存在于促进胰岛素分泌的支持，而其它争论支持“回肠制动”的有益效果。因此，利用口服给予一种或多种氨基甾醇，以触发氨基甾醇诱导的GI反应的根据本发明的方法应该证明连同糖尿病管理中的胰岛素/和胰岛素促分泌素一起是有益的。

[0075] 神经变性病症：所提出的角鲨胺引起氨基甾醇诱导GI反应的机理涉及肠神经系统内神经的直接刺激，和通过迷走神经的传入神经流向脑的电流的刺激。分散于脑内的中央和神经束的迷走神经的传入的刺激将预期刺激脑自身内一系列神经肽的释放。在氨基甾醇给药后继续强加回肠制动数天，证明氨基甾醇引起的肠/CNS相互作用的时间长度在单一给药角鲨胺后必须是可操作的。

[0076] 此外，角鲨胺进入肠神经系统的神经中可以在其中某些蛋白质的积累被认为具有因果关系的变性状况中提供直接益处。具体地，在帕金森氏病中，α-突触核蛋白的积累被认为在与状况有关的神经元损伤中起作用。α-突触核蛋白是具有阳离子N-末端的蛋白质并且可以与其被表达的神经细胞的内膜静电相互作用。由于角鲨胺可以进入神经细胞并中和这些膜表面的负表面电位，所以角鲨胺和相关的氨基甾醇具有置换来自神经内的膜位点的α-突触核蛋白的能力，并且因此，中断了疾病的病理生理学。此原理在实施例14中表明。

[0077] 癌症治疗：上皮细胞和肠神经元之间的复杂相互作用暗示本发明的方法可以影响癌症的生长和传播。在动物和人中的近期研究已强烈暗示恶性肿瘤必须与自主神经系统建立通讯。从角鲨胺刺激的肠神经系统中传出的增强流量的电信号可以扰乱恶性肿瘤和自主神经系统的分区之间的有效通讯。事实上，如实施例14-19中所示，在角鲨胺自身不进入血流的情况下，引起氨基甾醇诱导的GI反应与当前无法医治的恶性肿瘤的显著消退有关，并且因此氨基甾醇必须以非直接的方式起作用。可以利用本发明的方法治疗的恶性肿瘤的实例包括但不限于血管化恶性肿瘤，和/或结肠、胰、肝、脑、男性和女性泌尿生殖道、淋巴和血液组织、肺、皮肤、乳腺、和子宫内膜的恶性肿瘤。所有这些癌症已知会受到通过淋巴和血管系统转移性扩散的影响，我们认为其受到自主神经系统的作用影响的过程。

[0078] 因此，本文公开的发明教导了如何刺激肠神经系统以实现在很多不同疾病中的某些有益效果，并且导致了在引起氨基甾醇诱导的GI反应的状况下通过给予氨基甾醇诸如角鲨胺或其衍生物，神经保护益处可以使得个体被如此治疗的可能性。

[0079] 所提到的状况是其中神经保护激素的诱导可以提供预防性或治疗性益处的那些状况。这些状况包括，例如，帕金森氏病、阿尔茨海默氏病、中风、肌萎缩侧索硬化、包括脊髓的中枢神经系统的急性创伤性损伤、老化的神经变性过程、早期脑性麻痹、癫痫、周围感觉神经病变、糖尿病神经病变、亨廷顿舞蹈症、多发性硬化、抑郁和自闭症。此外，通过在引起氨基甾醇诱导的GI反应的状况下给予角鲨胺，在口服给予的角鲨胺没有进入血流的背景下，可以引起某些人恶性肿瘤消退。

[0080] 神经变性疾病的动物模型中的实验已经证明很可能在展开氨基甾醇诱导的GI反应期间神经系统内释放的若干神经肽的神经保护益处。这些包括：

[0081] • 血管活性肠肽：阿尔茨海默氏(White等2010)；帕金森氏(Delgado and Ganea，

2003);头部创伤(Gressens,Marret等,1997);多发性硬化(Gonzalez-Rey,Fernandez-Martin等2006)

[0082] • GLP-1:帕金森氏(Li,Perry等2009);头部创伤(Li,Perry等2009);阿尔茨海默氏(Li,Perry等2009)。

[0083] • CCK:癫痫(Tirassa,Costa等2005)

[0084] 人中临床研究已经证明若干病症中迷走神经刺激的益处,并且作为由氨基甾醇诱导GI反应引起的迷走神经传入激活的结果,若干状况可以被认为口服氨基甾醇给予可以为其提供临床益处,诸如抑郁、癫痫和自闭症。

[0085] IV.氨基甾醇作为氨基甾醇诱导的GI反应的刺激剂的有益药理学性质

[0086] 氨基甾醇,诸如角鲨胺和其衍生物,包括但不限于氨基甾醇1436,不从包括人在内的哺乳动物的胃肠道吸收。因此,本发明教导如何刺激氨基甾醇诱导的GI反应而不将氨基甾醇引入人全身循环中。这是重要的,因为已知与例如,氨基甾醇和其衍生物的可注射给予有关的毒性不是本发明中公开的应用所关注的。此外,关于尚未可知的潜在毒性(对生育的影响等)的问题将受到本发明的口服给予方案的较少关注。

[0087] 在本发明的一个实施方式中,在口服给予后对象的血流中实质上没有可检测水平的给予的氨基甾醇。在本发明的另一个实施方式中,在口服给予后对象的血流中存在优选少于约10ng/ml的给予的氨基甾醇,其在口服给予后约1-约12小时之间测量。

[0088] 保持氨基甾醇于肠腔内允许氨基甾醇诱导的GI反应的最优协调结合(orchestration)。由于对表征为阶段III的肠活动的影响被启动,和小肠内的肠活动被减慢,所以氨基甾醇向远侧通行被减慢。因此,氨基甾醇诱导的GI反应的强度将由“正反馈回路”保持,借此小肠活动减慢延长作用时间直到其到达其被最后排出的结肠,导致氨基甾醇诱导的GI反应的终止。

[0089] 重复给药方案通过氨基甾醇从肠的清除速率进行定时。假设,在初始“装载”剂量后的某一时间,随着物质传播穿过肠壁表面并且向远处行进,氨基甾醇的表面浓度将会减少。在以下描述的实例中,在单一200mg口服给药角鲨胺或氨基甾醇1436后,氨基甾醇诱导的GI反应似乎持续约4天。在第4天第二次给药约100mg,随后相继每4天给药约100mg,将表示一个被设计以保持肠中稳态的表面浓度的合理方案。

[0090] 有效给药方案也可以基于观察口服给药后至少约1-约2小时肠行为的改变所需要的剂量进行临床建立。肠行为的改变包括正常排便频率、大便硬度、肠的感知活性、恶心、或水状直肠排出物通道的改变。有效口服给药一般落在约10mg至约400mg之间。

[0091] 给药可以为一天一次,或在一天期间划分多个时间段。

[0092] 示例性给药方案包括,但不限于:(1)以“低”初始每日剂量开始,和逐渐增加每日剂量直到剂量达到获取肠神经系统激活的证据,其中“低”剂量为约10-约100mg每人,和最终有效每日剂量是在约25-约1000mg/人之间;(2)以“高”初始剂量开始,其必然会刺激肠神经系统,并且减少随后的每日给药至获取肠行为的临床可接受改变所需要的每日给药,其中“高”每日剂量为在约50-约1000mg/人之间,和随后更低的每日口服剂量为在约25-约500mg/人之间;(3)周期性给药,其中可以用确定能够获取氨基甾醇诱导反应的初始剂量,每约2、约3、约4、约5、约6天一次、或一周一次递送有效剂量。

[0093] 口服给药应该继续至少直到临床状况已解决。为了确立继续给药的需要,治疗可

以被中断并且重新评价状况。如果需要，口服给予应该被重新开始。口服给药的周期可以为约1、约2、约3、或约4周；约1、约2、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9、约10、约11、或约12个月，或约1、约2、约3、约4、或5年，或更长。

[0094] 未能获取氨基甾醇诱导的GI反应将暗示给予的剂量不充分，和将暗示继续滴定直到观察到GI反应。给药可以自较低至较高剂量进行，伴随着监测每日增加的GI反应。有效剂量为引起完全GI反应的剂量。低剂量的过度氨基甾醇诱导的GI反应将证明敏感性并且将会指导更低剂量的适当给药。

[0095] 氨基甾醇诱导的GI反应对口服给予氨基甾醇的敏感性很可能是由于数个变量：(1)氨基甾醇吸收至粘膜层中，将降低可用于扩散至上皮表面上的氨基甾醇的游离浓度，从而减少给予的口服给药的反应的效果；和(2)上皮壁的渗透性增加(易漏)，其发生在感染、过敏性肠病后、和肠炎症状态中。在此环境中，氨基甾醇正常转运穿过上皮——其被分子受控的进入并且随后从内衬上皮细胞离开而促进——将会被防止。化合物将会泄漏穿过上皮屏障，并且将肠壁内的神经网络暴露于异常高的浓度。因此，过度的反应可提供上皮渗透性状态的诊断印象。

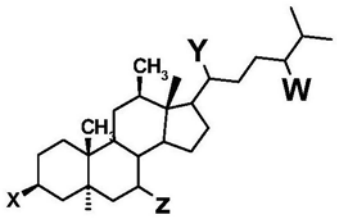
[0096] V.可用于本发明的方法的组合物

[0097] 本发明涉及治疗受益于氨基甾醇诱导的GI反应的刺激的状况的方法。所述方法包括口服给予治疗有效量的一种或多种氨基甾醇或其药学等效盐至有需要的对象。“有需要的对象”是在濒临如下状况的风险或遭受如下状况的人或动物，所述状况包括，但不限于肠易激综合征、阿片样物质诱导的便秘、炎性肠病、糖尿病、帕金森氏病、阿尔茨海默氏病、老年痴呆、亨廷顿舞蹈症、糖尿病神经病变、周围感觉神经病变、创伤性头部和/或脊柱损伤、中风、肌萎缩侧索硬化、多发性硬化、抑郁、癫痫和自闭症。此外，在引起氨基甾醇诱导的GI反应的状况下通过口服给予氨基甾醇，在氨基甾醇没有进入血流的背景下，可以引起某些人恶性肿瘤消退。类似地，慢性口服给予一种或多种氨基甾醇应该阻止恶性肿瘤的出现。

[0098] Zasloff等的美国专利号6,962,909“Treatment of neovascularization disorders with squalamine”公开了多种氨基甾醇，其公开内容通过引用被具体并入。包括美国专利号6,962,909中描述的那些氨基甾醇的本领域已知的任意氨基甾醇可以在本发明中使用，只要氨基甾醇携带由多胺部分产生的至少+1的净正电荷。

[0099] 在另一个实施方式中，氨基甾醇包括胆汁酸核和连接在胆汁酸的任意位置的多胺，以便分子显示由多胺贡献的净正电荷。

[0100] 在另一个实施方式中，发明包含治疗本发明描述的状况的方法，其包括口服给予治疗有效量的可以抑制由已知诱导张力丝形成的配体刺激的内皮细胞中的肌动蛋白张力丝形成的一种或多种氨基甾醇。氨基甾醇可以具有式I的化学结构：

[0101] 

[0102] 其中，

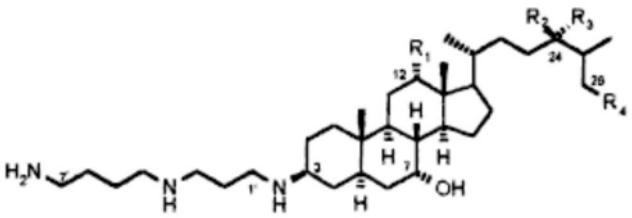
[0103] W是24S-OSO_3或24R-OSO_3；

[0104] X是3β-H_2N-$(CH_2)_4$-NH-$(CH_2)_3$-NH-或3α-H_2N-$(CH_2)_4$-NH-$(CH_2)_3$-NH-；

[0105] Y是20R-CH_3；和

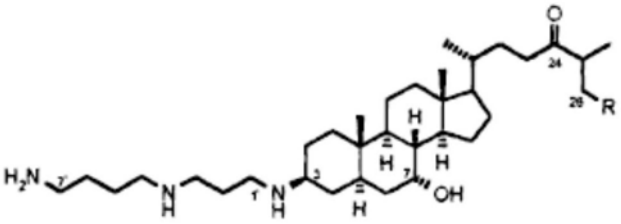
[0106] Z是7α或7β-OH。

[0107] 可以在本发明的方法中使用的示例性氨基甾醇包括，但不限于，从海绿角鲨分离的已知的氨基甾醇(化合物1-8)：

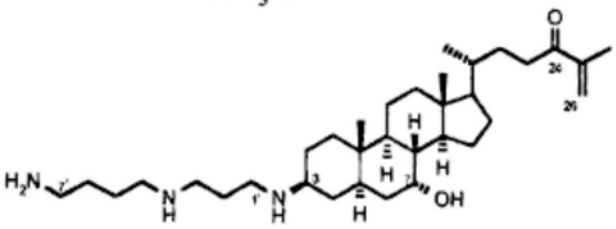


2: R_1=H, R_2=OH, R_3=H, R_4=OSO_3H
4: R_1=OH, R_2=OSO_3H, R_3=H, R_4=H
5: R_1=H, R_2=OSO_3H, R_3=CH_2OH, R_4=H
8: R_1=H, R_2=OSO_3H, R_3=H, R_4=H

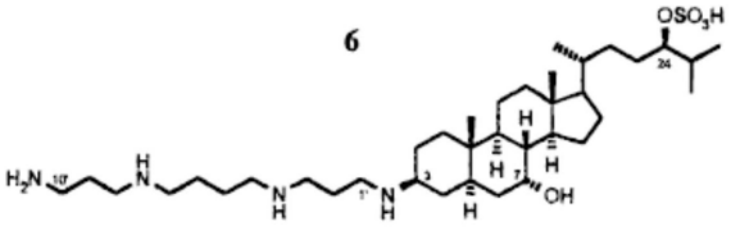
[0108]



1: R=$SCH_2CH(NH_2)CO_2H$
3: R=OSO_3H



6



7

[0109] 角鲨胺的变体或衍生物可具有一种或多种不会改变角鲨胺活性的化学修饰。类似地，类似的修饰可以对上述其他已知天然存在的氨基甾醇进行。角鲨胺的“变体”或“衍生物”或天然存在的氨基甾醇，其中“模仿”部分原始结构的原始空间和电荷特征的药物化学领域熟知的修饰已被引入，以提高氨基甾醇的治疗特性。一般而言，引入此类修饰以影响新陈代谢和生物分布。此类变体或衍生物的实例包括，但不限于(1)通过磺酸盐、磷酸盐、羧酸盐、或选择以防止硫酸盐部分的代谢去除和胆固醇侧链的氧化的其它阴离子部分取代硫酸

盐；(2)通过非可代谢的极性取代基，诸如氟原子置换羟基，以防止其代谢氧化或共轭；和(3)取代各种环氢原子以阻止类固醇环系统的氧化或还原代谢。

[0110] 可用于本发明的方法的组合物包括至少一种氨基甾醇。在一个实施方式中，用于本发明的方法的组合物包括：(a)至少一种药物级氨基甾醇；和任选地(b)至少一种选自无机磷酸盐、无机焦磷酸盐、和有机磷酸盐的磷酸盐，其中氨基甾醇被配制为磷酸盐的弱水溶性盐。在本发明的另一个实施方式中，磷酸盐是无机聚磷酸盐，和磷酸盐的数目可以为3(三聚磷酸盐)至400的范围。在另一个实施方式中，磷酸盐是包括2-甘油磷酸酯的有机磷酸盐。在另一个实施方式中，氨基甾醇选自：(a)角鲨胺或其药学可接受的盐或衍生物；(b)角鲨胺异构体；(c)氨基甾醇1436；(d)包括甾醇或胆汁酸核和连接在甾醇或胆汁酸任意位置的多胺的氨基甾醇，以便分子显示至少+1的净电荷，电荷由多胺贡献；(e)氨基甾醇，其为通过医药化学修饰以提高生物分布、给予容易度、代谢稳定性、或其任意组合的角鲨胺的衍生物；(f)修饰以包括以下一种或多种的氨基甾醇：(i)通过磺酸盐、磷酸盐、羧酸盐、或选择以防止硫酸盐部分的代谢去除和胆固醇侧链的氧化的其它阴离子部分取代硫酸盐；(ii)通过非可代谢的极性取代基，诸如氟原子置换羟基，以防止其代谢氧化或共轭；和(iii)取代各种环氢原子以阻止类固醇环系统的氧化或还原代谢；(g)可以抑制被已知引起张力丝形成的配体刺激的内皮细胞中的肌动蛋白张力丝的形成的氨基甾醇，其具有式I(上面的)的化学结构。

[0111] 在一个实施方式中，本发明的方法可以使用氨基甾醇1436(Zasloff，Williams等2001)作为磷酸、聚磷酸、或有机磷酸酯的不溶性盐的制剂。在另一个实施方式中，氨基甾醇可以由多胺被化学地连接至其的甾醇或胆汁酸核组成，其显示至少+1的净正电荷。本发明可以体现在包括磷酸盐悬浮剂或作为用于口服给予的片剂的制剂。作为口服制剂，角鲨胺磷酸盐会在胃肠道中缓慢溶解，并且不使肠的内衬经受会以其它方式刺激或损伤器官的高局部浓度。

[0112] 剂型。制剂可方便地存在于单位剂型中并且可通过任意药学领域所熟知的方法进行制备。任意药学可接受的剂型可在本发明的方法中利用，例如，组合物可以被配制成(a)选自液体分散剂、凝胶、喷雾剂、冻干制剂、片剂、胶囊的剂型；和/或(b)配制成选自可控释放制剂、速溶制剂、延迟释放制剂、缓释制剂、脉冲式释放制剂、和混合的立即释放和可控释放制剂的剂型；或(c)(a)和(b)的任意组合。

[0113] 示例性剂型是口服给予剂型，诸如片剂或胶囊。此方法包括使氨基甾醇与构成一种或多种助剂的载体结合的步骤。一般而言，制剂通过均匀和紧密地使活性成分与液体载体或细分固体载体或两者结合，并且随后，如果需要，使产品成型来进行制备。

[0114] 本发明的制剂或组合物可被与说明书或包装插页一起包装，或与说明书或包装插页一起被包括在试剂盒中。例如，此说明书或包装插页可告知推荐的储存条件，诸如考虑到氨基甾醇保存期限的时间、温度和光。此说明书或包装插页也可告知氨基甾醇的具体优点，诸如易于储存可需要在受控的医院、诊所或办公室条件之外的场地使用的制剂。

[0115] 氨基甾醇组合物液也可以被包括在营养品中。例如，氨基甾醇组合物可在自然产品中被给予，包括获自表达α-甲胎蛋白融合蛋白的转基因哺乳动物的奶或奶产品。此组合物也可以包括获自表达氨基甾醇的转基因植物的植物或植物产品。氨基甾醇也可以以粉末或片剂形式提供，其中具有或没有其它已知的添加剂、载体、填充剂和稀释剂。在Scott

Hegenhart的Food Product Design:1993年12月中描述了示例性营养品。

[0116] 氨基甾醇组合物将以与良好的医疗实践一致的形式被配制和给药,考虑个体患者的临床情况(尤其单独用氨基甾醇治疗的副作用)、给药方法、给药时间安排、和医师已知的其它因素。针对本文目的的"有效量"因此通过这些考虑而确定。

[0117] 有效给药方案可以基于在口服给药后至少约1-约2小时观察肠行为的改变所需要的剂量。肠行为的改变包括正常排便频率、大便硬度、肠的感知活性、恶心、或水状直肠排出物通道的改变。有效口服给药通常落在约10mg至约400mg之间。

[0118] 给药可以是一天一次,或在一天期间划分多个时间段。

[0119] 有效给药方案可以部分地通过测量口服给予的氨基甾醇的排泄速率并且将其与临床症状和迹象关联来建立。示例性给药方案包括,但不限于:(1)以"低"初始每日剂量开始,并且逐渐增加每日剂量直到剂量达到获取肠神经系统激活证据的剂量,其中"低"剂量是约10-约100mg每人,并且最终有效每日剂量在约25-约1000mg/人之间;(2)以"高"初始剂量开始,其必然刺激肠神经系统,并且减少随后每日给药至获取肠行为的临床可接受改变所需的剂量,其中"高"每日剂量为在约50-约1000mg/人之间,和随后的较低每日口服给药是在约25-约500mg/人之间;(3)周期性给药,其中有效剂量可以以能够获取氨基甾醇诱导反应所确定的初始剂量每约2、约3、约4、约5、约6天递送一次、或每周递送一次。

[0120] 口服给药应当继续至少直到临床状况已经解决。为了证实继续给药的需要,治疗可以被中断并且重新评价状况。如果需要,口服给予应该被重新开始。口服给药的周期可以为约1、约2、约3、或约4周;约1、约2、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9、约10、约11、或约12个月,或约1、约2、约3、约4、或5年,或更长。

[0121] 在本发明的其它实施方式中,角鲨胺的首次或初始"大"剂量(每人)可以选自约50、约75、约100、约125、约150、约175、约200、约225、约250、约275、约300、约325、约350、约375、约400、约425、约450、约475、约500、约525、约550、约575、约600、约625、约650、约675、约700、约725、约750、约775、约800、约825、约850、约875、约900、约925、约950、约975、约1000、约1025、约1050、约1075、约1100、约1125、约1150、约1175、约1200、约1225、约1250、约1275、约1300、约1325、约1350、约1375、约1400、约1425、约1450、约1475、约1500、约1525、约1550、约1575、约1600、约1625、约1650、约1675、约1700、约1725、约1750、约1775、约1800、约1825、约1850、约1875、约1900、约1925、约1950、约1975、和约2000mg。在本发明的其它实施方式中,角鲨胺的第二次较小剂量(每人)少于首次或初始剂量并且可以选自约10、约25、约50、约75、约100、约125、约150、约175、约200、约225、约250、约275、约300、约325、约350、约375、约400、约425、约450、约475、约500、约525、约550、约575、约600、约625、约650、约675、约700、约725、约750、约775、约800、约825、约850、约875、约900、约925、约950、约975、和约1000mg。最后,在本发明的其它实施方式中,周期性角鲨胺剂量(每人)可以选自约10、约25、约50、约75、约100、约125、约150、约175、约200、约225、约250、约275、约300、约325、约350、约375、约400、约425、约450、约475、约500、约525、约550、约575、约600、约625、约650、约675、约700、约725、约750、约775、约800、约825、约850、约875、约900、约925、约950、约975、和约1000mg。

[0122] 用于治疗给药的任意药物可以是无菌的。通过经无菌的过滤膜(例如,0.2微米膜)过滤而容易地实现无菌性。

[0123] 本发明还提供药物包装或试剂盒，其包括由用于本发明的方法的氨基甾醇组合物的一种或多种成分填充的一种或多种容器，包括由适量的作为将被溶解的粉末、或作为无菌溶液的磷酸盐填充的容器。与此类容器(一种或多种)结合的可以是以由调整药物或生物制品的生产、使用或销售的政府机构规定的形式的通知，所述通知反映了针对人给药的生产、使用或销售机构的批准。此外，氨基甾醇可与其它治疗化合物结合使用。

[0124] 根据本发明的药物组合物也可包括一种或多种粘合剂、填充剂、润滑剂、悬浮剂、增甜剂、调味剂、防腐剂、缓冲剂、润湿剂、崩解剂、泡腾剂、和其它赋形剂。此类赋形剂是本领域所已知的。填充剂的实施例包括乳糖一水合物、无水乳糖、和各种淀粉；粘合剂的实例包括各种纤维素和交联的聚乙烯基吡咯烷酮、微晶纤维素，诸如Avicel® PH101和Avicel® PH102、微晶纤维素、和硅化微晶纤维素(ProSolv SMCC™)。包括作用于将被压缩的粉末的流动性的剂的适合的润滑剂可包括胶体二氧化硅，诸如Aerosil®200、滑石、硬脂酸、硬脂酸镁、硬脂酸钙、和硅胶。增甜剂的实施例可包括任意天然或人工增甜剂，诸如蔗糖、木糖醇、糖精钠、甜蜜素(cyclamate)、阿斯巴甜、和安赛蜜。调味剂的实施例为Magnasweet®(商标为MAFCO)、泡泡糖食用香料、和水果食用香料等。防腐剂的实施例包括山梨酸钾、对羟苯甲酸甲酯、对羟苯甲酸丙酯、苯甲酸和其盐，其它对羟基苯甲酸的酯诸如对羟基苯甲酸丁酯、醇诸如乙醇或苄醇、酚化合物诸如苯酚，或季化合物诸如苯扎氯铵。

[0125] 适合的稀释剂包括药学可接受的惰性填充剂，诸如微晶纤维素、乳糖、二元钙磷酸盐、糖类、和/或任意上述混合物。稀释剂的实施例包括微晶纤维素，诸如Avicel® PH101和Avicel® PH102；乳糖诸如乳糖一水合物、无水乳糖、和Pharmatose® DCL21；磷酸氢钙诸如Emcompress®；甘露醇；淀粉；山梨糖醇；蔗糖；和葡萄糖。

[0126] 适合的崩解剂包括轻度交联的聚乙烯基吡咯烷酮、谷物淀粉、马铃薯淀粉、玉米淀粉、和改性淀粉、交联甲羧纤维素钠、交聚维酮、羧基乙酸淀粉钠、和其混合物。泡腾剂的实施例包括泡腾伴侣诸如有机酸和碳酸盐或碳酸氢盐。适合的有机酸包括，例如，柠檬酸、酒石酸、苹果酸、富马酸、己二酸、琥珀酸和褐藻酸和酸酐和酸盐。适合的碳酸盐和碳酸氢盐包括，例如，碳酸钠、碳酸氢钠、碳酸钾、碳酸氢钾、碳酸镁、甘氨酸钠碳酸盐、L-赖氨酸碳酸盐、和精氨酸碳酸盐。可选地，仅可存在泡腾伴侣的碳酸氢钠成分。

[0127] 联合治疗。在本发明的方法中，氨基甾醇组合物可被单独给予或与其它治疗剂结合给予。如上所示，本发明的方法可用于治疗和/或预防本文所描述的状况，其包括但不限于慢性特发性便秘、阿片样物质诱导的便秘、肠易激综合征、炎性肠病、糖尿病、帕金森氏病、阿尔茨海默氏病、老年痴呆、亨廷顿舞蹈症、糖尿病神经病变、周围感觉神经病变、脑性麻痹、癫痫、糖尿病神经病变、创伤性头部和/或脊柱损伤、中风、肌萎缩侧索硬化、多发性硬化、和某些恶性肿瘤。因此，已知可用于治疗这些状况的任意活性剂可以在本发明的方法中使用，和与本发明的方法中使用的氨基甾醇组合物组合给予，或分别地或相继地给予。

[0128] 例如，在治疗肠易激综合征的方法中，氨基甾醇组合物可以与通常指定用于治疗IBS或相关症状的药物共同给予或组合，诸如盐酸阿洛司琼(Lotronex®)、用于便秘的纤维补充剂或缓泻药或减轻腹泻的药物，诸如地芬诺酯和阿托品(Lomotil®)或洛哌丁胺(Imodium®)。止痉挛药被通常指定用于治疗IBS，其帮助控制结肠肌肉痉挛和减轻腹痛。抗

抑郁剂可缓解一些IBS的症状。但是，止痉挛药和抗抑郁剂均可以使便秘恶化，所以一些医生也会开松弛膀胱和肠中肌肉的药物，诸如颠茄生物碱组合和鲁米那(Donnatal®)和利眠宁和克利溴铵(Librax®)。

[0129] 在治疗炎性肠病的方法中，氨基甾醇组合物可以与通常指定用于治疗炎性肠病或相关症状的药物共同给予或组合，诸如氨基水杨酸盐、皮质甾类、免疫调节剂、抗肿瘤坏死因子(TNF)剂、和抗生素。示例性氨基水杨酸盐包括但不限于水杨酸偶氮磺胺吡啶(Azulfidine®)、马沙拉嗪(Asacol®、Pentasa®)、奥撒拉嗪(Dipentum®)、和巴柳氮(Colazal®)。示例性皮质甾类包括但不限于甲基强的松龙、泼尼松、泼尼松龙、布地奈德、地塞米松、醋酸氢化可的松、倍他米松、可的松、泼尼松龙、和氟羟氢化泼尼松。示例性免疫调节剂包括但不限于6-巯基嘌呤(6-MP，Purinethol®)和硫唑嘌呤(Imuran®)。示例性抗TNF剂包括但不限于英夫利昔单抗(Remicade®)。示例性抗生素包括但不限于甲硝哒唑和环丙沙星。抗生素剂的其它实例包括但不限于氨基糖苷类、安沙霉素类、碳头孢烯类、碳青霉烯类、头孢菌素类、糖肽类、大环内酯类、单环β-内酰胺类、青霉素类、聚肽类、多粘菌素、喹诺酮类、磺胺类、四环素类、和其它类(例如，砷凡纳明、氯霉素、可林达霉素、林可霉素、乙氨丁醇、磷毒素、夫西地酸、呋喃唑酮、异烟肼、利奈唑胺、甲硝哒唑、莫匹罗星、硝基呋喃妥因、平板霉素、吡嗪酰胺、奎奴普丁/达福普汀、利福平(在美国为Rifampin)、甲砜霉素、替硝唑、氨苯砜、和lofazimine)。这些种类抗生素的实例包括但不限于

Amikacin®、Gentamicin®、Kanamycin®、Neomycin®、Netilmicin®、Streptomycin®、Tobramycin®、Paromomycin®、Geldanamycin®、Herbimycin®、Loracarbef®、Ertapenem®、Doripenem®、Imipenem®/Cilastatin®、Meropenem®、Cefadroxil®、Cefazolin®、Cefalotin®或Cefalothin®、Cefalexin®、Cefaclor®、Cefamandole®、Cefoxitin®、Cefprozil®、Cefuroxime®、Cefixime®、Cefdinir®、Cefditoren®、Cefoperazone®、Cefotaxime®、Cefpodoxime®、Ceftazidime®、Ceftibuten®、Ceftizoxime®、Ceftriaxone®、Cefepime®、Ceftobiprole®、Teicoplanin®、Vancomycin®、Azithromycin®、Clarithromycin®、Dirithromycin®、Erythromycin®、Roxithromycin®、Troleandomycin®、Telithromycin®、Spectinomycin®、Aztreonam®、Amoxicillin®、Ampicillin®、Azlocillin®、Carbenicillin®、Cloxacillin®、Dicloxacillin®、Flucloxacillin®、Mezlocillin®、Meticillin®、Nafcillin®、Oxacillin®、Penicillin®、Piperacillin®、Ticarcillin®、Bacitracin®、Colistin®、Polymyxin® B、Ciprofloxacin®、Enoxacin®、Gatifloxacin®、Levofloxacin®、Lomefloxacin®、Moxifloxacin®、Norfloxacin®、Ofloxacin®、Trovafloxacin®、Grepafloxacin®、Sparfloxacin®、Temafloxacin®、Mafenide®、Sulfonamidochrysoidine®（旧）、Sulfacetamide®、Sulfadiazine®、Sulfamethizole®、Sulfanilimide®（旧）、Sulfasalazine®、Sulfisoxazole®、Trimethoprim®、rimethoprim-Sulfamethoxazole®(复方新诺明)(TMP-SMX)、Demeclocycline®、Doxycycline®、Minocycline®、Oxytetracycline®、和四环素。

[0130] 在治疗包括1型和2型糖尿病两者的糖尿病或糖尿病神经病变的方法中，氨基甾醇组合物可以与通常指定用于治疗糖尿病或相关症状的药物共同给予或组合，诸如胰岛素(ular胰岛素和NPH胰岛素，或合成的胰岛素类似物)(例如，Humulin®，Novolin®)和口服抗

高血糖药物。口服抗高血糖药物包括但不限于(1)双胍类诸如二甲双胍(Glucophage®),(2)磺脲类诸如醋磺已脲、氯磺丙脲(Diabinese®)、格列美脲(Amaryl®)、格列吡嗪(Glucotrol®)、甲磺吖庚脲、甲苯磺丁脲、和格列本脲(Diabeta®、Micronase®),(3)氯茴苯酸类诸如瑞格列奈(Prandin®)和那格列奈(Starlix®),(4)噻唑烷二酮类诸如罗格列酮(Avandia®)和吡格列酮(Actos®),(5)α-葡萄糖苷酶抑制剂诸如阿卡波糖(Precose®)和米格列醇(Glyset®),(6)二肽基肽酶-4抑制剂诸如磷酸西他列汀(Januvia®),(7)胰高血糖素样肽激动剂诸如艾塞那肽(Byetta®),和(8)胰淀素类似物诸如普兰林肽(Symlin®)。

[0131] 在治疗帕金森氏病的方法中,氨基甾醇组合物可以与通常指定用于治疗帕金森氏病或相关症状的药物共同给予或组合,诸如左旋多巴(经常与多巴脱羧酶抑制剂或COMT抑制剂组合)、多巴胺激动剂和MAO-B抑制剂。示例性多巴脱羧酶抑制剂是卡比多巴和苄丝肼。示例性COMT抑制剂是托卡朋和恩他卡朋。多巴胺激动剂包括,例如,溴隐亭、培高利特、普拉克索、罗匹尼罗、吡贝地尔、卡麦角林、阿扑吗啡、麦角乙脲、和罗替戈汀。MAO-B抑制剂包括,例如,司来吉兰和雷沙吉兰。通常用于治疗帕金森氏病的其它药物包括,例如,用于精神病的金刚烷胺、抗胆碱能类、氯氮平,用于痴呆的胆碱脂酶抑制剂,和用于日间嗜睡的莫达非尼。

[0132] 在治疗阿尔茨海默氏病的方法中,氨基甾醇组合物可以与通常指定用于治疗阿尔茨海默氏病或相关症状的药物共同给予或组合,诸如谷氨酸盐、抗精神病药物、石杉碱甲、乙酰胆碱脂酶抑制剂和NMDA受体拮抗剂诸如美金刚(Akatinol®、Axura®、Ebixa®/Abixa®、Memox®和Namenda®)。乙酰胆碱脂酶抑制剂的实例是多奈哌齐(Aricept®)、加兰他敏(Razadyne®)、和利凡斯的明(Exelon®)。

[0133] 在治疗亨廷顿舞蹈症的方法中,氨基甾醇组合物可以与通常指定用于治疗亨廷顿舞蹈症或相关症状的药物共同给予或组合,诸如指定帮助控制与亨廷顿舞蹈症有关的情感和运动问题的药物。此类药物包括但不限于(1)抗精神病药物,诸如氟哌啶醇和氯硝西泮,(2)用于治疗张力失调的药物,诸如乙酰胆碱调节药物(苯海索、苯托品(Cogentin®)、和盐酸普环啶);GABA调节药物(地西泮(Valium®)、劳拉西泮(Ativan®)、氯硝西泮(Klonopin®)、和巴氯芬(Lioresal®));多巴胺调节剂(左旋多巴/卡比多巴(Sinemet®)、溴隐亭(parlodel))、利血平、丁苯那嗪;抗痉挛剂(卡马西平(Tegretol®);和肉毒杆菌毒素(Botox®);和(3)用于治疗抑郁的药物(氟西汀、舍曲林、和去甲替林)。通常用于治疗HD的其它药物包括金刚烷胺、丁苯那嗪、多巴胺阻断剂、和辅酶Q10。

[0134] 在治疗周围感觉神经病变的方法中,氨基甾醇组合物可以与通常指定用于治疗周围感觉神经病变或相关症状的药物共同给予或组合。周围感觉神经病变是指周围神经系统的神经损伤,其可由疾病或神经创伤或系统性疾病的副作用引起。通常用于治疗此状况的药物包括但不限于神经营养因子-3、三环抗抑郁剂(例如,阿米替林)、抗癫痫治疗剂(例如,加巴喷丁或丙戊酸钠)、合成大麻素类(纳比隆)和吸入的大麻、鸦片衍生物、和普瑞巴林

(Lyrica®)。

[0135] 在治疗创伤性头部和/或脊柱损伤的方法中,氨基甾醇组合物可以与通常指定用于治疗创伤性头部和/或脊柱损伤或相关症状的药物共同给予或组合,诸如镇痛剂(对乙酰氨基酚、NSAID、水杨酸类、和阿片类药物诸如吗啡和鸦片)和麻痹剂(paralytics)。

[0136] 在治疗中风的方法中,氨基甾醇组合物可以与通常指定用于治疗中风或相关症状的药物共同给予或组合,诸如阿司匹林、氯吡格雷、双嘧达莫、组织纤维蛋白溶酶原激活剂(tPA)、和抗凝血剂(例如,阿替普酶、华法林、达比加群)。

[0137] 在治疗肌萎缩侧索硬化的方法中,氨基甾醇组合物可以与通常指定用于治疗肌萎缩侧索硬化或相关症状的药物共同给予或组合,诸如利鲁唑(Rilutek®)、KNS-760704(普拉克索的对映异构体)、奥利索西(TRO19622)、他仑帕奈、阿莫氯醇(Arimoclomol)、帮助减小疲劳、缓解肌肉痉挛、控制强直、减少唾液和痰过多、控制疼痛、抑郁、睡眠障碍、吞咽困难、和便秘的药物。

[0138] 在治疗多发性硬化的方法中,氨基甾醇组合物可以与通常指定用于治疗多发性硬化或相关症状的药物共同给予或组合,诸如皮质甾类(例如,甲基强的松龙)、血浆置换(plasmapheresis)、芬戈莫德(Gilenya®)、干扰素β-1a(Avonex®、CinnoVex®、ReciGen®和Rebif®)、干扰素β-1b(Betaseron®、Betaferon®)、醋酸格列默(Copaxone®)、米托蒽醌、那他珠单抗(Tysabri®)、阿仑单抗(Campath®)、达克珠单抗(Zenapax®)、利妥昔单抗、地瑞考肽(dirucotide)、BHT-3009、克拉屈滨、富马酸二甲酯、雌三醇、芬戈莫德、拉喹莫德、米诺环素、他汀类、西罗莫司特立氟胺、纳曲酮、和维生素D类似物。

[0139] 在治疗脑性麻痹的方法中,氨基甾醇组合物可以与通常指定用于治疗脑性麻痹或相关症状的药物共同给予或组合,诸如肉毒杆菌毒素A注射剂。

[0140] 在治疗癫痫的方法中,氨基甾醇组合物可以与通常指定用于治疗癫痫或相关症状的药物共同给予或组合,诸如抗痉挛剂(例如,卡马西平(Tegretol®)、氯氮卓(Tranxene®)、氯硝西泮(Klonopin®)、乙琥胺(Zarontin®)、非氨酯(Felbatol®)、磷苯妥英(Cerebyx®)、加巴喷丁(Neurontin®)、拉科酰胺(Vimpat®)、拉莫三嗪(Lamictal®)、左乙拉西坦(Keppra®)、奥卡西平(Trileptal®)、鲁米那(Luminal®)、苯妥英(Dilantin®)、普瑞巴林(Lyrica®)、扑米酮(Mysoline®)、硫加宾(Gabitril®)、托吡酯(Topamax®)、丙戊酸半钠(Depakote®)、丙戊酸(Depakene®)、和唑尼沙胺(Zonegran®)、氯巴占(Frisium®)、氨己烯酸(Sabril®)、瑞替加滨、布瓦西坦、塞曲西坦(seletracetam)、地西泮(Valium®、Diastat®)、劳拉西泮(Ativan®)、三聚乙醛(Paral®)、咪达唑仑(Versed®)、戊巴比妥(Nembutal®)、乙酰唑胺(Diamox®)、孕酮、促肾上腺皮质激素(ACTH,Acthar®)、各种促肾上腺皮质类固醇激素(泼尼松)、和溴化物。

[0141] 在治疗抑郁的方法中,氨基甾醇组合物可以与通常指定用于治疗抑郁的药物共同给予或组合,诸如三环抗抑郁剂的任意种类、单胺氧化酶抑制剂、选择性血清素再摄取抑制剂、和血清素和去甲肾上腺素再摄取抑制剂。

[0142] 在治疗恶性肿瘤的方法中,氨基甾醇组合物可以与通常用于治疗恶性肿瘤的药物共同给予或组合。这些包括所有已知的癌症药物,诸如但不限于在http://www.cancer.gov/cancertopics/druginfo/alphalist上截至2014年5月5日所列出的那些药物,其通过引用被具体地并入。

[0143] 组合物可被伴随地,例如,作为混合物,分别地但同时地或并存地;或相继地给予。这包括其中结合剂作为治疗混合物被一起给予的呈现,并且也包括其中结合剂被分别地但同时地给予的过程,例如,如通过单独的静脉注射线进入同一个体。"组合"给药进一步包括单独给予首先所给的化合物或剂的一种,随后给予其次所给的化合物或剂。选择的方案可以被并行地给予,因为氨基甾醇诱导的反应的激活不需要氨基甾醇系统性吸收进入血流,并因此消除了氨基甾醇和给予的药物之间的可能系统性的药物-药物相互作用的忧虑。

[0144] 提供以下实施例以示例本发明。但是,应该理解,本发明不限制于这些实施例中描述的具体条件或细节。遍及本说明书,对包括美国专利的公开可用的文件的任何和所有引用通过引用被具体地并入。

实施例

[0145] 实施例1

[0146] 此实施例的目的是评价角鲨胺/氨基甾醇1436给予对胃肠行为的药理学效应,被称为"氨基甾醇诱导的GI反应"。

[0147] 制备明胶胶囊用于口服给予。胶囊用虫胶包被以防止它们在胃内释放。此外,由于角鲨胺和相关的氨基甾醇具有抗菌活性,所以肠溶衣阻止药物改变胃的微生物种群。其中胶囊应当溶解的近端小肠正常地是几乎无菌的,因此不会由氨基甾醇的存在而在微生物学上明显地扰动。角鲨胺二乳酸盐粉末,99%纯度,或1436盐酸盐,99%纯度,被手动添加至0号(用于200mg剂量)或1号(用于100mg剂量)明胶胶囊。不添加赋形剂。胶囊用5%虫胶(80%丙酮/20%乙醇)二次包被并且用前干燥。

[0148] 在早晨空胃时用水将包被的明胶胶囊中的200mg的角鲨胺(乳酸盐,无赋形剂)口服给予至人类男性。如Zasloff等2011中描述的合成角鲨胺。2小时内经历恶心,持续约30分钟。在2.5小时时,经历增加的蠕动("隆隆响的肠"),持续若干分钟。在约3小时时,约200ml的清水状排泄物通过直肠。第二次发作发生在3.2小时。此次发作后,肠听起来安静。随后没有经历恶心或不舒服。食欲接近正常。尽管正常进食,但在没有经历不舒服时的2.5天期间粪便未通过。在此静止期间后通过的第一次粪便是软并且相对小的——考虑摄取的食物和间隔时间。在角鲨胺给予约4天后恢复平常的肠功能。

[0149] 结果:由于此个体的正常肠行为是每24小时约1次排便,所以可以判断,200mg的角鲨胺乳酸盐减小正常小肠活动2.5倍。正常的大便硬度(尽管排便延迟)反映了肠液体分泌和吸收的补偿性生理调节,和结肠活动,足以保证粪便物质正常的含水量。

[0150] 实施例2

[0151] 此实施例的目的是评价角鲨胺/氨基甾醇1436给予对胃肠行为的药理学效应。

[0152] 在早晨空胃时用水将明胶胶囊中的200mg的1436(HCl盐,无赋形剂)口服给予至人类男性。在1小时内经历增加的蠕动,而无恶心。在2小时时,约100ml的清水状腹泻,在2.75小时、3小时、3.25小时、和4小时再次发生,伴有渐进的减少的排出液体体积。第一次粪便在

3.5天时排出，硬度正常。在此期间对象没有经历腹部不适、胃气胀等。在给予氨基甾醇1436约4.5天后恢复平常的肠功能。

[0153] 基于此研究，可以判断，200mg的氨基甾醇1436(HCl盐)已减小小肠活动3.5倍。如在给予角鲨胺后所记录的，第一次排出的大便具有正常硬度，尽管排便延迟。

[0154] 实施例3

[0155] 此实施例的目的是评价角鲨胺/氨基甾醇1436给予对胃肠行为的药理学效应。

[0156] 在傍晚饱餐后将明胶胶囊中的200mg的角鲨胺(乳酸盐，无赋形剂)口服给予至人类男性。在整晚或之后的早晨没有察觉与给予角鲨胺相关的胃肠反应。在早晨排出了正常粪便。

[0157] 此反应暗示最佳口服给药应该是在胃空时。此外，此观察暗示角鲨胺在小肠近端而不是远端使氨基甾醇诱导的GI反应开始。由于其物理性质，角鲨胺预期与食物紧密结合，并且无法与肠上皮细胞相互作用。

[0158] 实施例4

[0159] 此实施例的目的是评价角鲨胺/氨基甾醇1436给予对胃肠行为的药理学效应。

[0160] 如第一个实施例给予200mg的角鲨胺至人类男性。收集给予后6天的所有粪便。随后用60％乙腈和1％HCl过夜萃取粪便。收集上清液并且在所公开的程序后通过薄层色谱评估角鲨胺的存在。可以从粪便中回收大约80％的剂量。

[0161] 考虑到萃取的损失和效率，和角鲨胺在小鼠和狗中已知的低生物利用度，可以得出结论，最后在GI道观察到的效果归因于角鲨胺和肠上皮和神经元细胞之间的直接相互作用。

[0162] 实施例5

[0163] 此实施例的目的是评价角鲨胺/氨基甾醇1436给予对胃肠行为的药理学效应.

[0164] 如第一个实施例将100mg的角鲨胺以胶囊的形式口服给予。恶心和水状腹泻均未经历。但是，引起了持续2天的“肠静止”期间，其后排出了正常形成的粪便。

[0165] 这些结果教导了肠活动的减少可以在较低剂量的角鲨胺时发生，而没有有意识的恶心感觉和腹泻的出现。粪便的软硬度(尽管其延迟的通过时间)暗示在氨基甾醇诱导的GI反应的背景下的腔液体交换在生理学上匹配以适应小肠活动的减少。

[0166] 实施例6

[0167] 此实施例的目的是确定是否以足以引起完全的氨基甾醇诱导的GI反应的剂量口服给予的角鲨胺会刺激GLP-1释放至血流中。

[0168] 包含肠激素的肠内分泌细胞已知对它们在肠腔中接触的多种刺激响应，并且将激素释放至粘膜下层中并且随后至血流中。特别地，GLP-1——L-细胞的产物——已知对小肠具有动力效应，其与口服给予角鲨胺后观察到的效应类似。在此实施例中，给予脂质/碳水化合物餐，其已知会引起GLP-1释放至血流中。存在或不存在角鲨胺时比较GI道对于进餐的GLP-1反应，其中利用基于ELISA的免疫测定测量GLP-1的血液水平。

[0169] 基本方案如下：

[0170] 对照反应

[0171] 1.对象(高加索人男性，66岁，BMI:2.2，无医学疾病)被禁食一晚上

[0172] 2. 18规格的IV导管被植入R卧位窝(R decubitus fossa)

[0173] 3.在9:30A、11A、11:30A、12:30P、1:30P、2P、2:30、3、3:30、4:30、5:30时抽取血液样本

[0174] 4.在10:30A时,空的胶囊和水

[0175] 5.在2P时,脂质/碳水化合物餐(2片白面包,每片具有5.5gms黄油)

[0176] 6.血液样本:2ml进入Becton-Dickenson蛋白酶抑制的生物标记管;3ml进入标准红顶血液收集管

[0177] 7.所有样品即刻以3000rpm旋转x15,并且血清或血浆等分至1.5ml微量离心管(eppendorfs),并且随后储存在-80℃

[0178] 角鲨胺反应

[0179] 1.对象休息3天并且在对照反应后4天再次评价

[0180] 2.禁食一晚上

[0181] 3.植入IV导管

[0182] 4.在10、11、11:30、12:30、1:30、2:30、3、3:30、4:30、5:30时抽取样本

[0183] 5.在10:30A时,角鲨胺胶囊,200mg

[0184] 6. 2P时,面包和黄油

[0185] 7.收集血液样本并且按照对照研究处理

[0186] 结果:

[0187] 角鲨胺反应:临床

[0188] 轻度头痛发作11A-12:15

[0189] 轻微恶心发作1:45

[0190] 水状腹泻的排便:2P、2:20、2:36、3:15

[0191] GLP-1分析(总免疫反应的GLP-1):利用Millipore ELISA试剂盒(产品分类编号EZGLP1T-36K)。试剂盒中提供的标准曲线证实了0->20pM之间的线性反应。结果显示在表1中。没有观察到角鲨胺对来自小肠的GLP-1的释放的明显效应。

[0192]

表 1

对照	GLP-1（pM）	角鲨胺	GLP-1（pM0
9:30	6	10	6
11	11	11	5
11:30	12	11:30	4
12:30	17	12:30	10
1:30	7	1:30	9
2:30	11	2:30	8
3:00	12	3:00	8
3:30	1	3:30	6
4:30	5	4:30	5
5:30	10	5:30	3

[0193] 此实施例证实口服给予的角鲨胺不会在药理学上刺激肠内分泌细胞表达GLP-1的分泌,以及对肠活动的效应不能是继发于存在水平升高的GLP-1的结果。

[0194] 实施例7

[0195] 此实施例的目的是评价口服给药的角鲨胺对肠易激综合征(IBS)的效果。

[0196] 66岁女性(其它方面健康)自从幼年便患有“混合”型IBS。状况特征为在排出粪便后未能感觉“干净(cleared)”;偶尔痉挛;腹胀和“发胀”感。状况使她全天都“感觉到她的

肠”，并且经常中断她的睡眠。她在厕所试图缓解自己通常是无效的，留给她的感觉是“仍然不得不去厕所”。

[0197] 第1天，个体在空胃时用水口服给予单一200mg角鲨胺胶囊。2小时内，她经历恶心，在3小时时她呕吐，稍后接着经直肠排出约200ml的澄清排泄物。经过3.5小时，恶心已经过去。她正常地进食午餐和晚餐。单一给药的情况下她经历了自第1天至第5天的“肠静止”，而没有痉挛或紧急情况。她睡得比在很多年里睡得更好。在第4天第一次排出粪便，粪便是软的并且容易排出，并且随后在第5、6、7、和8天相继地排便。第6天开始，她开始经历先前的GI症状。到第8天，她平时的GI症状复发。

[0198] 第二次给药试验在第15天开始，其中给予了50mg胶囊。没有经历恶心和排泄。经历了肠静止的感觉。在第17天排出粪便。在第19天给予25mg胶囊。到第21天，先前的IBS症状复发。认为每隔一天给药50mg是最佳方案。个体保持每隔一天口服50mg的给药安排。

[0199] 在给药的第10个月，个体不再经历IBS症状。粪便具有正常硬度。睡眠不再被紧急排便中断。个体认为治疗使得情绪改善并且是产生“幸福感”的原因。粪便相比先前记录的略小，并且一般一天排便一次。

[0200] 此实施例证明本发明用于治疗肠易激综合征的实用性并且制定了有效给药方案。

[0201] 实施例8

[0202] 此实施例的目的是评价口服给药角鲨胺对与帕金森氏病有关的便秘的效果。

[0203] 70岁男性(其它方面健康)患有帕金森氏病约5年时间。他有严重的便秘并且遭受频繁发作的痉挛。这些GI症状与在帕金森氏中描述的症状类似并且不可以医学上地或通过饮食调整而减轻。他的药物包括5粒L-DOPA/DDC胶囊/天和睡前1-2粒罗匹尼罗。此时他的神经状态如下，在L-DOPA给药约1小时后——当他出现充分供应多巴胺的时间点——进行确定：

[0204] • 拖着脚缓慢行走，需要间歇地蹲下

[0205] • 发音差，难以理解他的话，断断续续

[0206] • 在使用餐具吃饭时动作缓慢、笨拙

[0207] • 脸似乎有点像面具；不自觉地做着咀嚼动作

[0208] • 认知功能(记忆、智力)少于先前观察的3个月

[0209] • 平衡性不稳定

[0210] • 心情沮丧

[0211] • 注意到吞咽有时困难

[0212] • 咀嚼食物缓慢

[0213] • 字迹小

[0214] 在第1天开始口服给予200mg角鲨胺胶囊。在早饭前的上午连同L-DOPA服用胶囊。没有经历恶心和水状排泄。在第1天排出若干湿润粪便。200mg胶囊在第2天给药后2小时引起水状腹泻，但是到第3天给药排泄减弱。在第13天，保持随后的给药为每隔一天200mg，伴有较小程度的恶心。无水状排泄。在约第30天，对象调整为每隔一天100mg，并且保持此方案约9.5个月。

[0215] 给予角鲨胺的治疗反应是渐进和客观明显的，如表2中详细所示

[0216]

表 2

时间点	观察结果
3 周（收集超过 3 天的观察）	• 肠显著改善 • 走路更舒适，但仍不均匀 • 对象感觉呼吸更容易 • 发音改善很多 • 能用他的舌头触碰上前牙的后面 • 心情似乎改善 • 即便在服用 L-DOPA 后还有一些颤抖 • 上午平衡性仍然较差，但观察到一些改善
2 月（收集超过 5 天的观察）	• 正常肠功能；无便秘；无 GI 问题；无痉挛 • 手臂和腿无颤抖 • 走路更平稳，摆动手臂更自然 • 耐力增加 • 在走过一个或两个街区或上楼梯时，对象可以在他的手中持有各种物

[0217]

表 2	
时间点	观察结果
	体；不像之前，现在显得有信心能够在他走路时抓住物体 • 可以保持全神贯注的工作，包括通过纸张分类、弯腰拾取和移动纸张；他进行了 2.5 小时并没有停止。至此他能够维持这种运动和弯腰的能力是非常有限的，以至于他报告他的背痛并且全身无力，其将工作时间缩短到少于一小时。 • 对象在吃饭时操作餐具的能力大大提高；他可以以自然的方式控制叉子和勺子，这不是几个月前的情况。他能够以现在看起来非常正常的速度移动餐具，而不是在过去的月份期间非常低速的移动餐具 • 对象仍然报告他感到很累的时期。然而，在 5 天的观察期间不同于以前的访问，他不需要蹲下来以减轻他的腿感到的疲惫。 • 他走路没有拖着脚 • 现在他讲话在音量和发音方面平稳和正常。这不是前几个月的情况。他现在不报告吞咽困难——与以往不同。他能够同时说话和进食。 • 他保留了口部怪癖，其中他咀嚼他的舌头/面颊。这在过去的几个月里已经发展了。他知道他在做它并且报告它已经成为习惯。 • 对象没有做出在过去几个月开始看到的脸的任何极端怪癖 • 对象对于恢复力量和更健康的总体感觉表现出希望。这种希望是新的。 • 虽然历史上是焦虑性人格，但是现在对象似乎更少焦虑。似乎能够更多的控制焦虑并做出积极的决定：走出他的办公室、包装、处置不必要的财产、文件等。 • 保持的最明显的帕金森氏病体征是当被推或拉时不稳定。他会失去平衡并且通过在力的方向移动伴随蹒跚变向的步子来补偿，连同喊叫“哦、哦、哦....” • 药物需要保持稳定。
9 月（收集超过 5 天的观察）	• 肠功能正常 • 一般来说，在服用 L-DOPA 剂量后约一小时内，对象不具有帕金森氏病的人的外观或行为或体征. • 平衡（如在前面访问的测试），通过推或拉遇到他部分地抵抗，反方向施加的力。对象保持直立和稳定，不从他的站立位置移动 • 所有的动作（手、走路）全部平稳和正常。 • 没有注意到颤抖 • 走路有力，没有任何拖着脚的迹象。 • 在徒步穿过 Will Rogers 公园的过程中能够在平坦道路上行走，持续约 2 小时。随后渴望继续穿过参观 Getty 博物馆。没有疲劳。耐力良好。 • 情绪乐观 • 发音正常 • 字迹似乎正常 • 认知功能正常。记忆正常. • 药物需求保持稳定：4 粒 L-DOPA，+ 1-2 粒罗匹尼罗/天。

[0218] 此实施例暗示口服给予角鲨胺在帕金森氏病中具有治疗益处并且制定了有效给药方案。评定是出现2个潜在目标。第一个是黑质内产生多巴胺的细胞。第二个是神经系统线路的功能性。当对象被供应充足的多巴胺(外源性(exogeneously)给予)时，角鲨胺似乎恢复了神经系统的功能，允许接近正常功能。氨基甾醇给药方案可能停止多巴胺产生组织的进一步退化，或甚至可能恢复一些另外的生产能力，但如果是这样，这种效果相比于整体神经行为的恢复不太明显。

[0219] 神经系统恢复的进行似乎开始于GI道，最受影响的目标可能是肠神经系统。在若干周内使便秘消退。稍晚些，注意到发音的改善。之后是手臂和腿运动。最后改善平衡性。

[0220] 实施例9

[0221] 此实施例的目的是评价口服给药角鲨胺对于个体——没有平常帕金森氏相关便

秘和GI病症和可能的“帕金森氏样”综合征——中与帕金森氏病有关的神经病学体征的效果。

[0222] 个体是男性,59岁。他是专攻成瘾性的精神科专家。运动障碍在53岁时开始。最初诊断为多发性硬化。呈现的症状是抑郁和难以控制坐在椅子上的动作。他会“扑通”地坐上而没有制动动作。MRI显示许多弥漫性病变分散在整个皮层,其似乎保持稳定。用L-DOPA治疗引起了坐下困难的一些矫正,导致推定诊断为帕金森氏病。增加息宁(Sinemet)的剂量,随后添加罗匹尼罗,继续治疗。退化继续(尽管L-DOPA剂量超过10-11片/天),添加罗匹尼罗(5x2mg和4x1mg,每日)和金刚烷胺。针对抑郁他靠Wellbutryn。没有GI病症历史,和肠功能据说正常。

[0223] 个体与妻子和2个孩子在家生活。他必须驾车去工作。走路不稳。他的话几乎不可理解。脸和面具一样。没有明显颤抖。走路踌躇。对象先前跌倒(或绊倒)若干次并且使用手杖。表3总结了给药方案和观察结果。

[0224]

表 3

时间	观察结果
第 1 天	对象服用 100 mg 角鲨胺胶囊。无明显 GI 反应。每隔一天继续 100 mg。
第 9 天	观察到对象在没有助行架或手杖的情况下平稳并轻快的行走一段距离。
第 14 天	对象听起来比以前更连贯。这也被他的病人注意到。
第 21 天	个体独立地开始 200 mg 每隔一天。其它注意到的，他的发音已经变得明显更好。注意到他的自信正在提高并且他的能量水平增加。
第 3 个月	对象 2 周前用完角鲨胺。“他曾记得最厉害的便秘”停止。这在接下来的几天自动消退。他也注意到他“在继续它时从未感觉如此好”不是准确地抑郁，难以解释...” 他的发音清晰。
第 4 个月	对象开始 100 mg 每隔一天。发现他的家庭情况极不稳定，他预期离婚或分居。他停止定期服用 L-DOPA，但继续角鲨胺。
第 5 个月	对象在 5.5 个月时独立地增加剂量至 200 mg 每天。无 GI 问题（即，腹泻）。注释，同事注意到改善。他摔倒若干次，他归因于就他而言的“冒险行为”。
第 6 个月	个体可以补偿性地被拉和推而没有蹒跚。他告诉我，他感到他的平衡性已经改善。开始行走时仍有困难。没有颤抖。声音具有低音量。面部仍然是面具样。一旦移动对象便不拖着脚地走路。对象仍然有非常复杂的家庭问题。坚持继续服用角鲨胺。药物给药没有改变。

[0225] 此实施例暗示角鲨胺可以在没有注意到开始的胃肠症状的患有帕金森氏样综合征的个体中提供治疗益处。

[0226] 实施例10

[0227] 实验在小鼠中进行以检验角鲨胺在肠神经系统起作用的假设,如通过人对象中观察到的临床反应所推测的。

[0228] 在适当和批准的麻醉下,将小鼠的远端结肠连同肠系膜从腹部外部化。肠系膜血管和淋巴被仔细地从肠系膜神经——包含迷走神经(传出和传入)和脊髓传入神经的结构——切开。切断神经,并且游离端(其接收来自肠的信号)被引至封装银电极的毛细管中,连同检测和放大自肠经过肠系膜神经脉冲的弱电信号需要的适当的电子。如图1所见,将角鲨胺引至结肠腔中导致自肠神经系统指向脑的电活动增加。浓度为3、10、30和100μM的角鲨胺被评价。角鲨胺应用的反应在30μM可辨识,但是强大和可重复的反应在100μM时首次明显。在后面的浓度,成功进行了5个实验并且均揭示角鲨胺引起肠系膜神经多单元发射频率(firing frequency)的增加。配对实验是对照记录期间的平均放电速率(firing rate)与角鲨胺的峰值反应期间的三分钟时间段的比较。利用配对t检验进行统计学比较。角鲨胺将

背景放电率从(平均值±SD)2.0±1.2增加至5.2±3.1Hz(P＝0.03)。开始放电增加的延迟为4.4±4.1min,同时放电率的峰值的延迟增加12±7.5min(图1)。

[0229] 此实施例教导了给予至肠腔的角鲨胺刺激肠神经元,并且这些神经元中的一些可以将电流发送至CNS中心。这支持了口服给予角鲨胺在迷走神经内传入电流的刺激可以提供治疗益处的那些状况中的实用性。

[0230] 实施例11

[0231] 进行实验以检测角鲨胺对结肠活动和腔内压力的效果。

[0232] 将结肠段从小鼠切离,并且一端附接至封装压力传感器的玻璃管。摄像机记录该段的可见收缩。当角鲨胺被添加至结肠腔时,收缩频率增加约2倍,代表向直肠运动的协调蠕动波。这些波的峰值压力与先前角鲨胺应用观察到的那些没有不同。数据在图2中显示。

[0233] 此实施例证明角鲨胺具有“抗便秘”性质。此动物模型用于证实,例如,阿片类,诸如洛哌丁胺的便秘诱导性质。此实施例支持了角鲨胺在特征为延迟的结肠活动的人病症中的实用性。

[0234] 实施例12

[0235] 在小鼠中进行实验以确定角鲨胺是否可以刺激结肠的内在初级传入神经元(IPAN),所述神经元在结肠内起作用以影响活动性和分泌。

[0236] 在此实验中,小鼠结肠的外膜层被剥离,暴露IPAN。结肠壁的肠肌层神经丛内的个体IPAN利用膜片钳装置修补。这些细胞代表自肠通讯感觉数据的主要神经元群体。它们与肠内各种神经网络形成突触,所述神经网络影响肌肉和分泌活性,以及与迷走神经端连接。给予角鲨胺30μM至腔(通过50ms的“一股”溶液施加)导致电活性非常持久(10min)的爆发(图3)。

[0237] 此实施例显示这些位于结肠腔表面附近的关键感觉细胞的神经末梢可以检测角鲨胺并且电学地响应,具有强大的、长期存在的信号。而且,此实施例显示角鲨胺对肠活动和肌肉收缩(和可能的分泌)的效应很可能是继发于IPAN刺激的结果,其反过来通讯至肠肌层和粘膜下神经丛。

[0238] 实施例13

[0239] 进行实验以确定角鲨胺是否直接或间接地刺激IPAN。

[0240] 在此实施例中,进行如实施例12中所描述的相同步骤,除了在应用角鲨胺至腔之前剥离结肠的上皮层。记录来自个体IPAN的信号。浓度低至1uM的角鲨胺立刻可以刺激强大的反应;当存在完整上皮时,定量(和定性)地类似于30-100倍更高的浓度。

[0241] 此实施例清晰地显示角鲨胺与肠的神经元直接相互作用以刺激活性。如果化合物间接地作用于神经系统,即,通过刺激肠嗜铬细胞以释放神经递质诸如血清素或组胺——其反过来刺激神经细胞上它们的受体,则剥离上皮会引起相反的结果,即角鲨胺响应性丧失。此实施例支持了角鲨胺在细胞内膜净表面电位的减少可以获取益处的神经系统疾病治疗中——诸如在帕金森氏病中来自神经元质膜的α-突触核蛋白的置换中——的实用性。

[0242] 实施例14

[0243] 此实施例的目的是证明角鲨胺置换来自显示负表面电位的膜的α-突触核蛋白的能力。

[0244] α-突触核蛋白与由DOPE(50％)、DOPS(30％)、DOPC(20％)组成的囊泡的制剂混合。

脂质浓度为2.4mM;N-末端乙酰化α-突触核蛋白的浓度为10μM。该相互作用之后接着是圆二色谱。角鲨胺的浓度以40μM增量增加。随着角鲨胺浓度增加,观察到α-突触核蛋白膜结合数量线性减小,反映对于带负电磷脂,角鲨胺比α-突触核蛋白具有更高亲和力。在脂质与角鲨胺为15:1的比,观察到α-突触核蛋白的完全置换。将角鲨胺单独添加至α-突触核蛋白溶液对圆二色谱没有影响。

[0245] 此实施例证明角鲨胺具有生理上减小膜结合的α-突触核蛋白的浓度的能力。因此,此实施例支持给予角鲨胺和相关的氨基甾醇在α-突触核蛋白/膜相互作用被认为引起病理的状况中,诸如在帕金森氏病中的实用性。β-淀粉样蛋白——与阿尔茨海默氏有关的蛋白质——如同α-突触核蛋白,已知结合于阴离子磷脂;从此实施例的结果看,将合乎逻辑地设想,角鲨胺和其它相关的氨基甾醇应该从其目标膜将β-淀粉样蛋白置换,支持了其在阿尔茨海默氏病治疗中的实用性。

[0246] 实施例15

[0247] 进行实验以确定是否角鲨胺在阿片样物质诱导的便秘治疗中显示功效。

[0248] 正常对象在第1天上午8点开始给药1片可待因30mg/对乙酰氨基酚300mg,并且在第2天和第3天重复给药。正常排便频率为1次或更多次大便/天,正常形成。在第1天服用可待因之前,对象在上午排出正常粪便。从开始给药至第3天上午8点给药,没有排便。无痉挛;一些气。第2天傍晚有一些发胀感。

[0249] 在9:15A时,对象被给予200mg角鲨胺胶囊。约10分钟内,对象喝了一杯咖啡并吃了一些饼干。无恶心。无清晰直肠流体。在11:15A时,对象在正常紧急情况下排出大的软的、成形良好的粪便。第二次更小的粪便在12:30时排出。第三次,大的水状粪便在7P排出。对象体会到肠缓解的感觉。对结肠活动的迅速效果似乎不像角鲨胺对于结肠的直接作用,而可能是肠神经系统刺激的下游结果。在第4天,30mg可待因。不给予角鲨胺。7P排出了正常体积的松散粪便。

[0250] 此实施例暗示氨基甾醇诱导的GI反应可以压倒阿片类对GI功能的抑制效果。而且,此实施例提供了在阿片样物质诱导的便秘的背景下角鲨胺和相关的氨基甾醇可以发挥治疗益处的证据。

[0251] 实施例14

[0252] 此实施例的目的是证明刺激氨基甾醇诱导的GI反应以引起无法医治、不可切除的4b期结肠癌症完全消退的实用性。

[0253] 65岁白人男性,其表现有若干个月期间的腹胀、腹痛、和进行性体重减轻。放射影像学研究显示广泛弥散的肿块遍及腹部。探索性外科手术操作显示粘液胰癌分布广的移植物,贯穿腹膜,在肝上和肝内,并且覆盖其它主要器官而没有清晰的原发肿瘤。由于癌症的程度,决定关闭并且没有进一步治疗,除了被建议对症处理和生命终期护理。

[0254] 个体开始服用总共每日剂量为50mg的角鲨胺,每日两次给予25mg,作为分散在苹果酱中的粉末。在开始角鲨胺治疗后大约6个月,个体又由于在他右肾上肿块的机会识别再次到医院。肾被外科手术移除,并且在手术操作期间探查腹膜。未见肿瘤。肾上的肿块为良性囊肿。每天继续用角鲨胺治疗5年。个体没有再发生癌症。对象在83岁死于心肌梗死。

[0255] 实施例15

[0256] 此实施例的目的是证明刺激氨基甾醇诱导的GI反应以引起子宫内膜癌消退的实

用性。

[0257] 66岁白人女性，其表现为腹部不适并且存在可触及的腹部肿块。放射影像学研究表明存在子宫肿块和许多受影响的结节从锁骨上延伸到腹膜。外科手术移除子宫和卵巢，之后化学疗法。随后，发现粘附到远端结肠的大的肿瘤，连同另外结节。进行结肠切除术连同腹膜局部辐照。

[0258] 由于癌症的进展和先前经历的不良反应，个体决定停止所有的化学疗法。对象在2012年8月开始以胶囊形式口服角鲨胺。到2013年3月，通过PET/CT成像未见恶性肿瘤的证据。在2013年7月，靠近右输尿管出现小的肿瘤，并且第二个连接于左侧降结肠。角鲨胺的剂量被升高至100mg/天(以两个分开的剂量)。在2013年10月，照射靠近输尿管的肿瘤。在2013年2月，结肠附近的小肿块通过PET/CT保持活跃，略大于2013年7月第一次注意时，并且没有观察到另外的转移。个体保持服用角鲨胺100mg/天。她在其他方面非常健康。

[0259] 实施例16

[0260] 此实施例的目的是证明刺激氨基甾醇诱导的GI反应以引起4b期胰腺癌消退的实用性。

[0261] 67岁白人女性，其表现为腹部不适、体重减轻、和全身乏力。在大量的医学会诊后，做出了胰腺癌的诊断。对象用化学疗法进行治疗并且经历几个不良反应，其包括腹水和胸腔积液。在2013年7月，PET/CT显示在胰头和胰尾内存在肿块，连同肝中的若干肿瘤和许多活性周围淋巴结。在2013年8月，对象在亚利桑那的TGEN被临床试验评价，但由于胰、肝、和结节中明显的大量癌症而没有被收治。

[0262] 在2013年8月下旬，对象开始50mg/天，随后一周后增加至100mg/天。对象开始每月一次的顺铂和5-FU循环。在2013年12月上旬的PET/CT扫描显示所有先前活跃的癌症的PET强度大幅减小。2014年2月的PET/CT扫描显示包括淋巴结的所有PET活性肿块完全消失。个体表现的整体水平继续改善，但是腹水和胸腔积液仍存。腹膜液的细胞学对异常细胞仍然是否定的。已停止所有并行的化学疗法。继续角鲨胺治疗。

[0263] 实施例17

[0264] 此实施例的目的是证明刺激AIR以引起脑肿瘤消退的实用性。

[0265] 63岁白人男性，其表现为头痛和记忆丧失。放射影像学研究表明存在大的星形胶质母细胞瘤。肿瘤通过手术部分切除，之后局部辐照。对象被置于评价依维莫司和替莫唑胺的临床方案。

[0266] 在2013年10月中旬，对象开始以100mg单一剂量服用角鲨胺胶囊。2013年12月上旬，MRI显示肿瘤肿块已减小约20％，并且2014年2月初的第二次研究显示剩余肿瘤继续收缩至其手术/辐照后其体积的60％。继续角鲨胺治疗。

[0267] 实施例18

[0268] 此实施例的目的是证明刺激氨基甾醇诱导的GI反应以引起淋巴瘤消退的实用性。

[0269] 92岁白人女性，其具有2年的进行性痴呆和虚弱历史和表现为大量颈部、腋窝和腹股沟淋巴结病，并伴有全身乏力、嗜睡和疼痛。临床化学表明轻微高钙血症、多克隆免疫球蛋白增多、和血液中无异常细胞。颈部区域的MRI显示大量腺病，具有若干大如核桃的结节。她脚的皮肤是一种非漂白亮粉色的色调，直到具有分散的棕紫红色皮疹的踝部。个体被提供生命终期护理。

[0270] 在2013年12月末，个体开始服用每日剂量为一个50mg角鲨胺胶囊。以前便秘的肠开始运动。皮疹在3天内清除。开始服用角鲨胺后的第4天，开始地塞米松的短期疗程以治疗高钙血症，并且刺激食欲。20mg(4天)、16mg(2天)、8mg、4mg(2天)、随后每日2mg。截至1周，注意到结节尺寸明显减小。2014年1月中旬，注意到右侧虚弱，涉及手臂和腿；诊断为轻微中风。2014年2月底的体检表明无可触及的颈部结节。感觉平的左下颌下淋巴结具有正常尺寸和硬度。重复的临床化学研究证明多克隆丙种球蛋白病的完全消退并且重回正常血清值。继续角鲨胺治疗。

[0271] 实施例19

[0272] 此实施例的目的是证明刺激氨基甾醇诱导的GI反应以引起肉瘤的消退的实用性并得出给药方法。

[0273] 22岁的人由于胚胎横纹肌肉瘤的复发而被看出。在20岁时，他注意到左腹股沟处有肿块。MRI表明软组织肿块；活检显示肿块是梭形细胞胚胎横纹肌肉瘤。肿块被手术切除。随后用化疗剂的混合物治疗患者。数月后，发现肿块在左腹股沟复发。再次切除肿块。数月后，在腹股沟中注意到获得肿瘤，在左肺中存在大的肿块。

[0274] 患者开始服用100mg角鲨胺胶囊数天，无任何显著的GI症状。增加剂量至每天200mg，同样没有任何GI反应。在每天300mg时，注意到清楚的效果，是在给药2小时后轻微恶心，随后在当天稍晚时排便。在开始给药3周后，手术移除肺肿瘤，并且显示由于血管损伤的大量内出血；继续给药。手术过后2个月，既没有肺肿瘤的迹象，也没有腹股沟的任何软组织肿瘤复发的迹象。

[0275] ***

[0276] 对本领域技术人员明显的是可以对本发明的方法和组合物进行多种修饰和改变，而不脱离本发明的精神和范围。因此，期望本发明覆盖本发明的修饰和改变，条件是它们在所附权利要求和它们的相等物的范围内。

[0277] 参考文献

[0278] Ahima等，"Appetite suppression and weight reduction by a centrally active aminosterol."Diabetes,51(7):2099-104(2002).

[0279] Akhter等，"Squalamine,a novel cationic steroid,specifically inhibits the brush-border Na+/H+exchanger isoform NHE3."Am.J.Physiol.,276(1Pt 1):C136-44(1999).

[0280] Alexander等，“Membrane surface charge dictates the structure and function of the epithelial na+/h+exchanger.EMBO J.,30:679-691.(2011)

[0281] Bhargava等，"A phase I and pharmacokinetic study of squalamine,a novel antiangiogenic agent,in patients with advanced cancers,"Clin.Cancer Res.,7(12):3912-9(2001).

[0282] Delgado等，"Neuroprotective effect of vasoactive intestinal peptide(VIP)in a mouse model of Parkinson's disease by blocking microglial activation."Faseb.J.,17(8):944-6(2003).

[0283] Genaidy等，"Effect of squalamine on iris neovascularization in monkeys."Retina,22(6):772-8(2002).

[0284] Gonzalez-Rey等,"Therapeutic effect of vasoactive intestinal peptide on experimental autoimmune encephalomyelitis:down-regulation of inflammatory and autoimmune responses,"Am.J.Pathol.,168(4):1179-88(2006)

[0285] Gressens等,"Vasoactive intestinal peptide prevents excitotoxic cell death in the murine developing brain,"J.Clin.Invest.,100(2):390-7(1997).

[0286] Hao等,"A Phase I and pharmacokinetic study of squalamine,an aminosterol angiogenesis inhibitor,"Clin.Cancer Res.,9(7):2465-71(2003).

[0287] Herbst等,"A phase I/IIA trial of continuous five-day infusion of squalamine lactate(MSI-1256F)plus carboplatin and paclitaxel in patients with advanced non-small cell lung cancer,"Clin.Cancer Res.,9(11):4108-15(2003).

[0288] Higgins等,"Squalamine improves retinal neovascularization," Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.,41(6):1507-12(2000).

[0289] Higgins等,"Regression of retinopathy by squalamine in a mouse model," Pediatr.Res.,56(1):144-9(2004).

[0290] Li等,"Squalamine and cisplatin block angiogenesis and growth of human ovarian cancer cells with or without HER-2gene overexpression,"Oncogene,21 (18):2805-14(2002).

[0291] Li等,"GLP-1receptor stimulation preserves primary cortical and dopaminergic neurons in cellular and rodent models of stroke and Parkinsonism,"Proc.Natl.Acad.Sci.USA,106(4):1285-90(2009).

[0292] MacDonald,D.(1995)."Squalamine for STDs."Abstract no F7 35th ICAAC conference.

[0293] Moore等,"Squalamine:an aminosterol antibiotic from the shark," Proc.Natl.Acad.Sci.USA,90(4):1354-8(1993).

[0294] Rao等,"Aminosterols from the dogfish shark Squalus acanthias," J.Nat.Prod.,63(5):631-5(2000).

[0295] Salmi等,"New stereoselective titanium reductive amination synthesis of 3-amino and polyaminosterol derivatives possessing antimicrobial activities,"Eur.J.Med.Chem.,43(3):540-7(2008).

[0296] Salmi等,"Squalamine:an appropriate strategy against the emergence of multidrug resistant gram-negative bacteria?"PLoS ONE,3(7):e2765(2008).

[0297] Schiller,J.H.和G.Bittner,"Potentiation of platinum antitumor effects in human lung tumor xenografts by the angiogenesis inhibitor squalamine: effects on tumor neovascularization,"Clin.Cancer Res.,5(12):4287-94(1999).

[0298] Selinsky等,"Squalamine is not a proton ionophore," Biochim.Biophys.Acta.,1464(1):135-41(2000).

[0299] Selinsky等,"The aminosterol antibiotic squalamine permeabilizes large unilamellar phospholipid vesicles,"Biochim.Biophys.Acta.,1370(2):218-34 (1998).

[0300] Sills等,"Squalamine inhibits angiogenesis and solid tumor growth in vivo and perturbs embryonic vasculature,"Cancer Res.,58(13):2784-92(1998).

[0301] Sokoloff等,"Adjunctive therapy for men with high risk localized and locally advanced prostate cancer:targeting disseminated tumor cells,"J.Urol.,172(6Pt 2):2539-44(2004).

[0302] Steinberg,B.E.和S.Grinstein,"Pathogen destruction versus intracellular survival:the role of lipids as phagosomal fate determinants,"J.Clin.Invest.,118(6):2002-11(2008).

[0303] Sumioka等,"TARP phosphorylation regulates synaptic AMPA receptors through lipid bilayers,"Neuron,66(5):755-67(2009).

[0304] Tirassa等,"CCK-8prevents the development of kindling and regulates the GABA and NPY expression in the hippocampus of pentylenetetrazole(PTZ)-treated adult rats,"Neuropharmacology,48(5):732-42(2005).

[0305] US 2005/0261508A1:“Aminosterol Compounds useful as inhibitors of the sodium/proton exchanger(NHE),pharmaceutical methods,and compositions employing such inhibitors,and processes for evaluating the NHE-inhibtory efficacy of compounds,”Zasloff等,公开于11/24/05.

[0306] US 2006/0166950A1:“Treatment of neovascularization disorders with squalamine,”Zasloff等,公开于6/27/2006

[0307] US 2006/0183928A1:“Aminosterol Compounds useful as inhibitors of the sodium/proton exchanger(NHE),pharmaceutical methods,and compositions employing such inhibitors,and processes for evaluating the NHE-inhibtory efficacy of compounds”,公开于8/17/2006

[0308] US 2007/10504A1:“Polymorphic and Amorphous salt forms of squalamine dilactate”Chellquist,Doubleday,Gilbert,Zhang,McLane,Armbruster,Levitt,公开于1/11/07

[0309] US 2011/0097303:“Methods and Compositions for Treating and Preventing Viral Infections,”公开于4/28/11,Zasloff

[0310] 美国专利号5,192,756:“Aminosterol antibiotic,”Zasloff,Moore,Wehrli,Issued 3/9/93

[0311] 美国专利号5,637,691(1993):“Steroid derivatives,pharmaceutical compositions containing them,and their use as antibiotics and disinfectants”,Frye,Zasloff,Kinney,Moriarty.

[0312] 美国专利号5,721,226(1998):“Methods for treating angiogenesis using squalamine and squalamine steroid derivatives,”Frye,Zasloff,Kinney,Moriarty,Collins

[0313] 美国专利号5,733,899(1998):“Methods for treating infections using steroid based pharmaceutical compositions,”Frye,Zasloff,Kinney,Moriarty,Collins

[0314] 美国专利号5,763,430(1998):“Method of treating a viral infection by administering a steroid compound,”Zasloff.

[0315] 美国专利号5,792,635(1998):“Method of inhibiting the sodium-proton exchanger NHE3 and method of inhibiting growth by administering squalamine,”Zasloff.

[0316] 美国专利号5,795,885(1998):“Method of Inhibiting proliferation of cells by administering an aminosterol compound,”Zasloff,Shinnar,Kinney,Anderson,Williams,McLane.

[0317] 美国专利号5,834,453(1998):“Methods for the manufacture and use of antimicrobial sterol conjugates,”Regen(Leheigh Univ).

[0318] 美国专利号5,840,740(1998):“Aminosterol compounds and a method of treating infection using the aminosterol compounds,”Zasloff,Shinnar,Kinney,Rao.

[0319] 美国专利号5,840,936(1998):“Aminosterol compounds useful as inhibitors of the sodium/proton exchanger(NHE),”Zasloff,Shinnar,Rao,Kinney.

[0320] 美国专利号5,847,172(1998):“Certain Aminosterol compounds and Pharmaceutical compositions including these compounds,”Zasloff,Shinnar,Kinney,Jones.

[0321] 美国专利号5,856,535(1999):“Aminosterol ester compounds,”Zasloff,Kinney,Jones.

[0322] 美国专利号5,874,597(1999):“Certain Aminosterol compounds and pharmaceutical compositions including these compounds,”Jones,Issued 2/23/99.

[0323] 美国专利号5,994,336(1999):“Method of inhibiting proliferation of cells by administering an aminosterol compound,”Zasloff,Shinnar,Kinney,Rao,Issued 11/30/99.

[0324] 美国专利号6,017,906(2000):“Polyamine conjugates for treatment of infection,”Mintz,CS et al Intercardia,Inc.,Issued 1/25/00

[0325] 美国专利号6,143,738(2000):“Therapeutic uses for an aminosterol compound,”Zasloff,Issued 11/7/00

[0326] 美国专利号6,147,060(2000):“Treatment of carcinomas using squalamine in combination with other anti-cancer agents,”Zasloff,Williams,Issued 11/14/00

[0327] 美国专利号6,388,108(2002):“Aminosterol compounds and uses thereof,”Rao,Feibush,Kinney,Zasloff,Noecker,Issued 5/14/02.

[0328] 美国专利号6,596,712(2003):“Treatment of carcinomas using squalamine in combination with other anticancer agents or modalities,”Zasloff,Williams,Sokoloff,Issued 7/22/03.

[0329] 美国专利号6,962,909(2005):“Treatment of neovascularization disorders with squalamine,”Zasloff,Shinnar,Kinney,Jones,Issued 11/8/05.

[0330] Verdin等,"Characterization of a common high-affinity receptor for reovirus serotypes 1 and 3on endothelial cells,"J.Virol.,63(3):1318-25(1989).

[0331] White等,"Therapeutic potential of vasoactive intestinal peptide and its receptors in neurological disorders,"CNS Neurol.Disord.Drug Targets,9(5):661-6(2010).

[0332] Williams等,"Squalamine treatment of human tumors in nu/nu mice enhances platinum-based chemotherapies,"Clin.Cancer Res.,7(3):724-33(2001).

[0333] WO 96/08270(1996):"Method for inhibiting sexually transmitted diseases using Magainin antimicrobials or Squalamine Compounds,"Jacob,Zasloff,Williams,Bedi.

[0334] Yeung等,"Membrane phosphatidylserine regulates surface charge and protein localization,"Science,319(5860):210-3(2008).

[0335] Yin等,"Antiangiogenic treatment delays chondrocyte maturation and bone formation during limb skeletogenesis,"J.Bone Miner.Res.,17(1):56-65(2002).

[0336] Zasloff,M.,"Antimicrobial peptides of multicellular organisms,"Nature,415(6870):389-95(2002).

[0337] Zasloff等,"A spermine-coupled cholesterol metabolite from the shark with potent appetite suppressant and antidiabetic properties,"Int.J.Obes.Relat.Metab.Disord.,25(5):689-97(2001).

[0338] Zasloff等,"Squalamine as a broad-spectrum systemic antiviral agent with therapeutic potential,"Proc.Natl.Acad.Sci.USA,108(38):15978-83(2011).

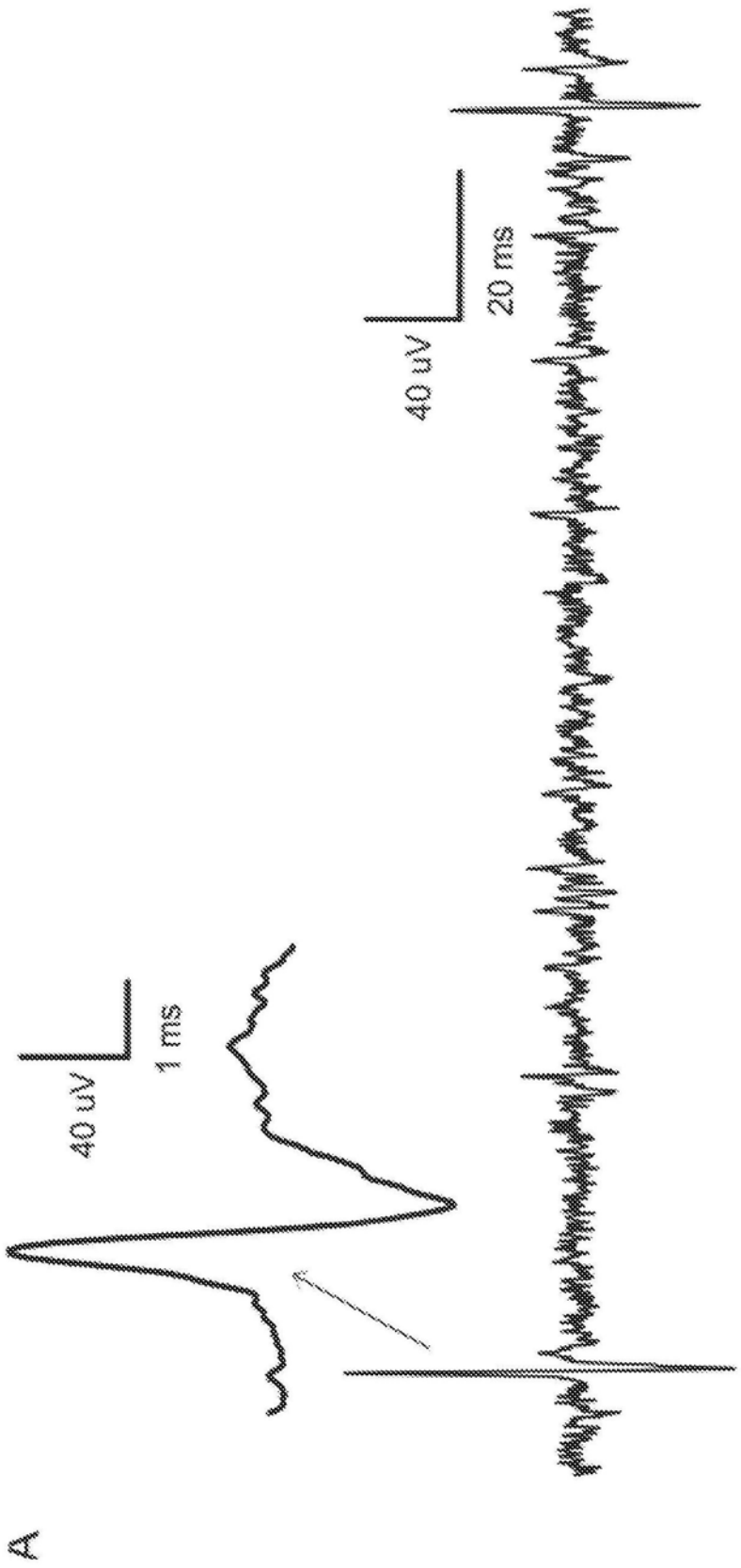


图1A

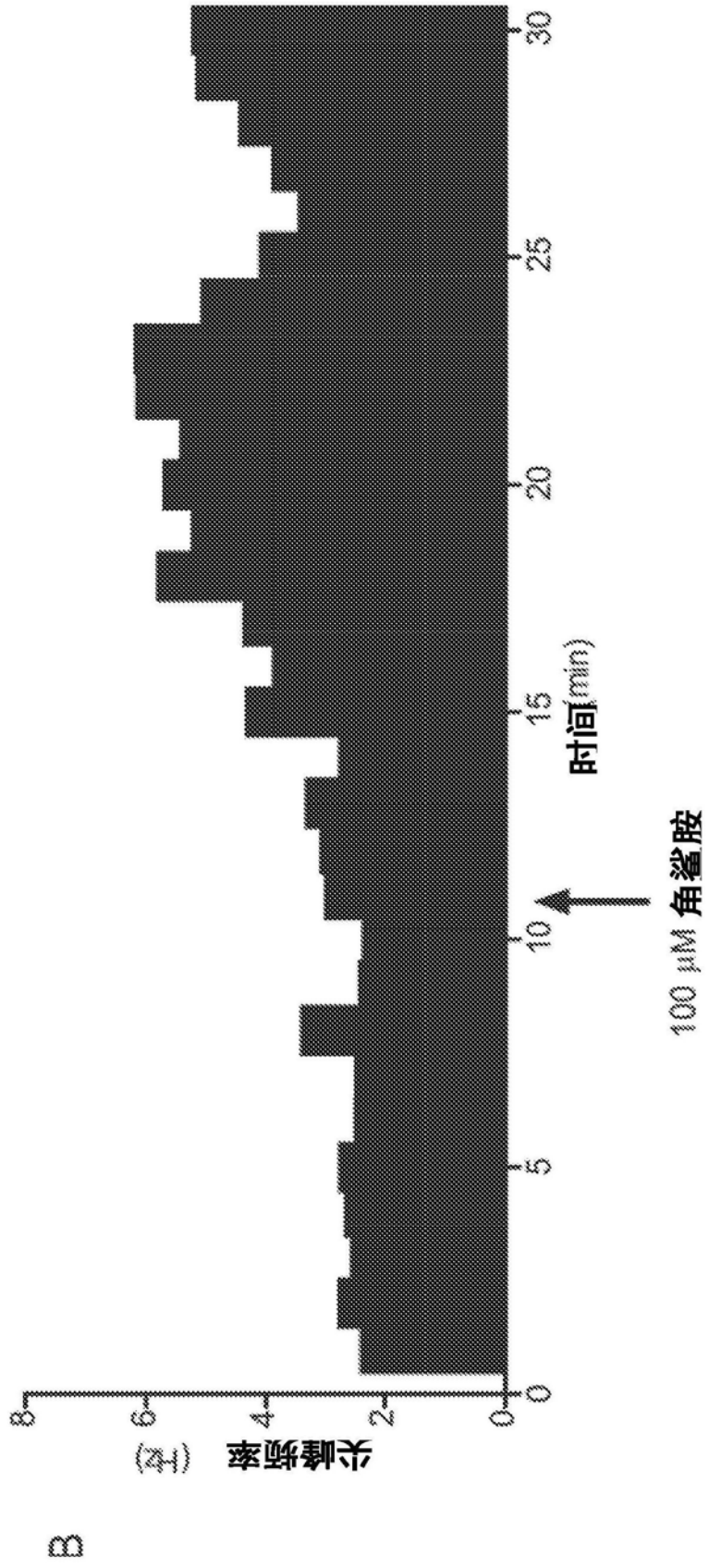


图1B

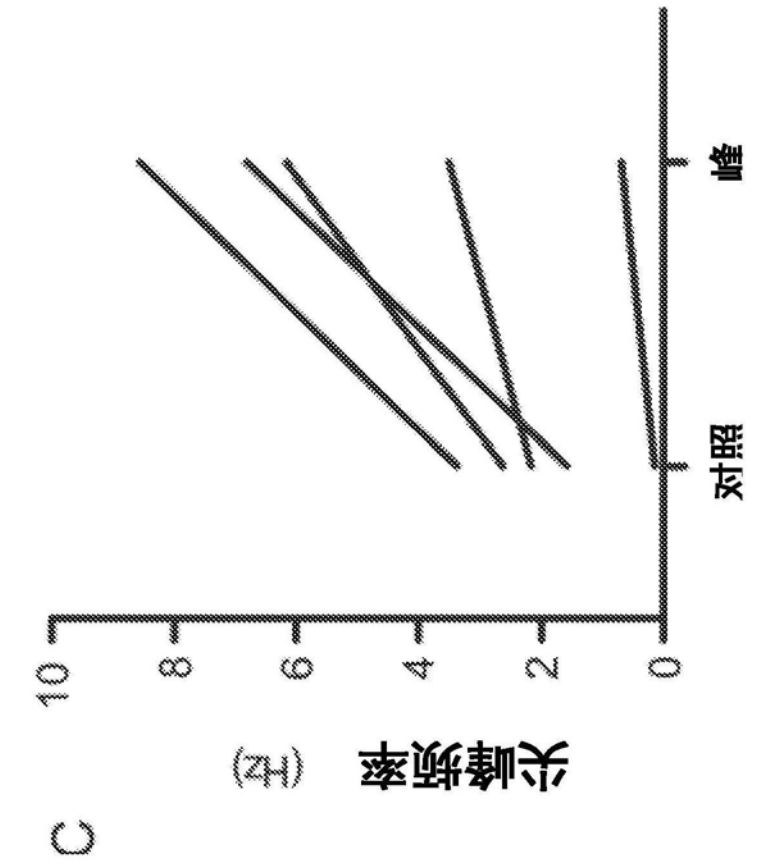


图1C

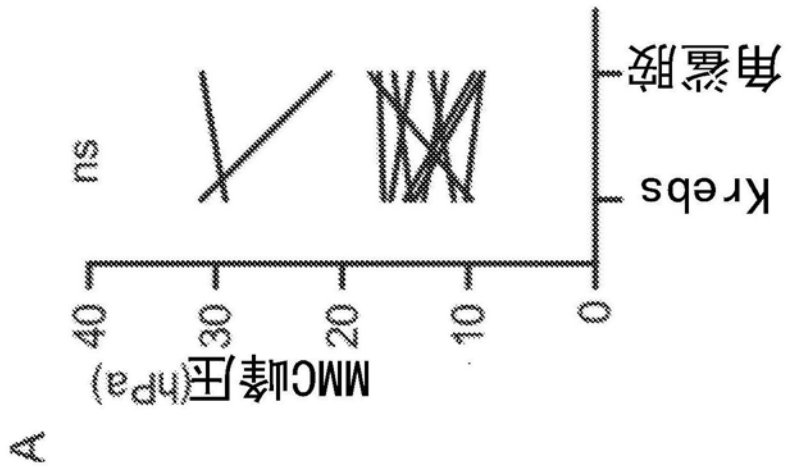


图2A

图2B

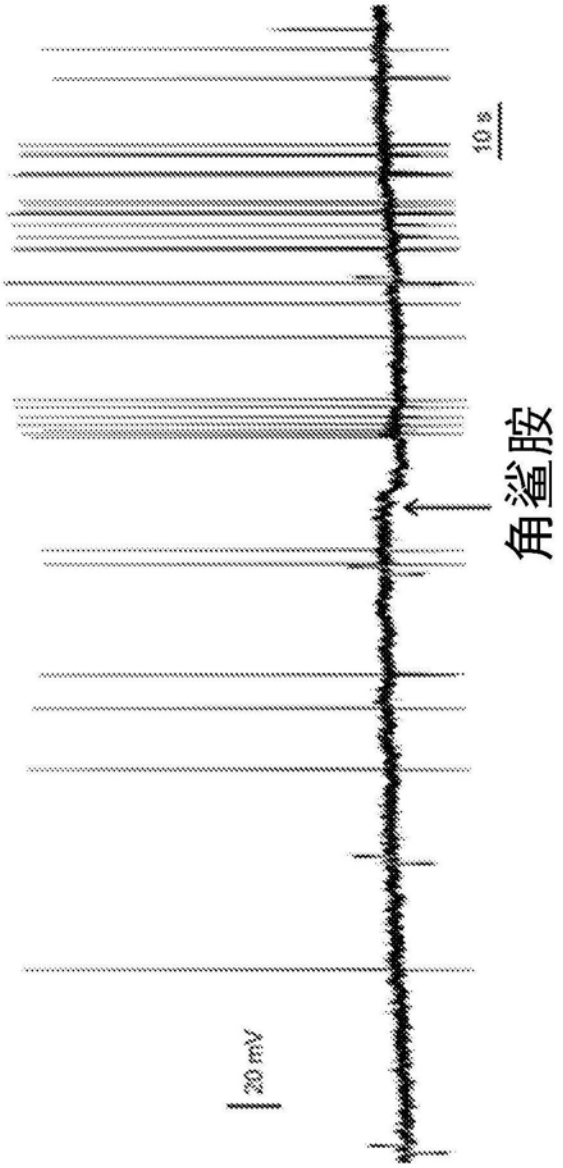


图3