

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 9/127

A61K 9/133



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03812566.8

[43] 公开日 2005 年 8 月 17 日

[11] 公开号 CN 1655764A

[22] 申请日 2003.4.4 [21] 申请号 03812566.8

[30] 优先权

[32] 2002. 4. 5 [33] US [31] 60/370,409

[86] 国际申请 PCT/US2003/010339 2003.4.4

[87] 国际公布 WO2003/086351 英 2003.10.23

[85] 进入国家阶段日期 2004.11.30

[71] 申请人 埃斯佩里安 LUV 发展公司

地址 美国密执安州

[72] 发明人 W·V·罗德里格扎

C·L·比斯盖尔

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 王景朝

权利要求书 5 页 说明书 34 页 附图 5 页

[54] 发明名称 用于给予一定大小的脂质体治疗或
预防疾病的组合物和方法

[57] 摘要

本发明涉及包含脂质体的药用组合物和使用这种脂质体预防、治疗或处理各种疾病和/或机体状况的方法。所述脂质体可只包含大单层脂质体(LUVs)或者包含大单层脂质体(LUVs)和多空脂质体(MLVs)、小单空脂质体(SUVs)或其它治疗药物。本发明涉及采用具体剂量和/或给药方案给予患者具有一定直径的脂质体。

ISSN 1008-4274

1. 一种预防、治疗或处理疾病或机体病症的方法，所述方法包括以单剂量或分剂量给予 50mg/kg-300mg/kg 的脂质体，所述脂质体包含
5 磷脂和水层，所述脂质体的平均直径为约 50nm-250nm。

2. 权利要求 1 的方法，其中以 4-10 天间隔给予剂量为 50mg/kg-300mg/kg 的脂质体。

3. 权利要求 1 的方法，其中所述脂质体的平均直径为约 50-150nm。

10 4. 权利要求 1 的方法，其中所述脂质体的平均直径为约 50-200nm。

5. 权利要求 1 的方法，其中所述脂质体的平均直径为约 100-200nm。

15 6. 权利要求 1 的方法，其中所述脂质体的平均直径为约 100-250nm。

7. 权利要求 1 的方法，其中所述脂质体的平均直径为约 150-200nm。

8. 权利要求 1 的方法，其中所述脂质体的平均直径为约 150-250nm。

20 9. 权利要求 5 的方法，其中所述脂质体与其它磷脂囊泡联合应用，所述磷脂囊泡选自多室脂质体、大单室脂质体、小单室脂质体以及它们的混合物。

10. 权利要求 1 的方法，所述方法不会引起患者 LDL 水平显著升高或降低。

25 11. 权利要求 1 的方法，所述方法会引起患者 LDL 水平显著升高或降低。

12. 权利要求 1 的方法，其中所述磷脂选自：卵磷脂酰胆碱，卵磷脂酰甘油，二硬脂酰磷脂酰胆碱，或二硬脂酰磷脂酰甘油，磷脂酰

- 胆碱, 磷脂酰甘油, 卵磷脂, β , 糖脂, γ -二棕榈酰- α -卵磷脂, 鞘磷脂, 磷脂酰丝氨酸, 磷脂酸, N-(2,3-二(9-(Z)-十八烯基氧基))-丙-1-基-N,N,N-三甲基氯化铵, 磷脂酰乙醇胺, 溶血卵磷脂, 溶血磷脂酰乙醇胺, 磷脂酰肌醇, 脑磷脂, 心磷脂, 脑苷脂, 磷酸联十六烷基酯,
- 5 二油酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰胆碱, 二棕榈酰磷脂酰甘油, 二油酰磷脂酰甘油, 棕榈酰-油酰-磷脂酰胆碱, 二-硬脂酰-磷脂酰胆碱, 硬脂酰-棕榈酰-磷脂酰胆碱, 二-棕榈酰-磷脂酰乙醇胺, 二-硬脂酰-磷脂酰乙醇胺, 二-肉豆蔻酰-磷脂酰丝氨酸, 二-油酰-磷脂酰胆碱, 油酰-棕榈酰磷脂酰胆碱, 37℃时为液晶相的脂质, 以及它们的混合物。
- 10 13. 权利要求 1 的方法, 其中所述磷脂为棕榈酰-油酰磷脂酰胆碱。
14. 权利要求 1 的方法, 其中所述疾病或机体病症选自: 动脉粥样硬化, 静脉硬化或在静脉内膜或内层形成含有胆固醇或其它物质的斑块沉积物的任何静脉病症, 急性冠脉综合征, 包括稳定性心绞痛、
- 15 不稳定性心绞痛在内的心绞痛, 炎症, 血管炎症, 皮肤炎症, 充血性心力衰竭, 冠心病(CHD), 室性心律失常, 外周血管疾病, 心肌梗塞, 致命性心肌梗塞的发作, 非致命性心肌梗塞, 局部缺血, 心血管局部缺血, 短暂性缺血发作, 与心血管疾病无关的局部缺血, 缺血-再灌注损伤, 再血管化需要减少, 凝血障碍, 血小板减少症, 深静脉血栓形
- 20 成, 胰腺炎, 非酒精性脂肪性肝炎, 糖尿病性神经病, 视网膜病, 疼痛性糖尿病性神经病, 跛行, 银屑病, 严重肢体缺血, 阳痿, 高脂血症, 高脂蛋白血症, 低 α 脂蛋白血症, 高甘油三酯血症, 任何导致局部缺血病变的狭窄病症, 包括 I 型和 II 型的糖尿病, 鱼鳞癣, 中风, 易损性斑块, 阿尔茨海默病, 下肢溃疡, 严重冠脉缺血, 淋巴瘤, 白
- 25 内障, 内皮功能不全, 黄瘤, 终末器官功能紊乱, 血管疾病, 吸烟和糖尿病引起的血管疾病, 颈动脉和冠状动脉疾病, 形成的斑块的消退和缩小, 不稳定性斑块, 脆弱性血管内膜, 不稳定性血管内膜, 内皮损伤, 外科手术导致的内皮损伤, 与血管疾病有关的发病, 动脉腔溃

疡，球囊血管成形术引起的再狭窄，以及亚临床表现的上述病症。

15. 权利要求 1 的方法，其中所述治疗增强血管壁内膜，刺激细胞外胆固醇流出以转运至肝脏，调节免疫应答，动员动脉粥样硬化性斑块的胆固醇，帮助伤口愈合，改善机体的任何膜、细胞、组织、器官、细胞外区域或结构。

16. 权利要求 1 的方法，其中所述脂质体与选自以下的化合物联合应用或者与选自以下的化合物附属性结合：肽、对氧磷酶、脂蛋白脂肪酶、Apo A-I 及 A-I 的类似物和 A-I 的变体、以及它们的组合物。

17. 权利要求 1 的方法，其中所述脂质体与影响胆固醇水平的小分子或药物联合应用。

18. 权利要求 17 的方法，其中所述小分子为抑制素、重组 HDL、小 HDL 或合成的类似 HDL 的脂蛋白颗粒。

19. 权利要求 1 的方法，其中所述脂质体与一种或多种心血管药物、抗糖尿病药物或其它治疗物质联合用药。

20. 权利要求 19 的方法，其中所述心血管药物选自：小分子，抑制素，阿司匹林，包括氯吡格雷的 β -阻滞剂，钙阻滞剂，包括低分子量肝素在内的肝素，降血糖药物，硝酸酯，IIb/IIIa 抑制剂，ACE 抑制剂，氯贝特类药物和胆汁酸螯合剂。

21. 权利要求 1 的方法，其中约每 7 天给予约 50mg/kg 剂量的所述脂质体。

22. 权利要求 1 的方法，其中约每 7 天给予约 100mg/kg 剂量的所述脂质体。

23. 权利要求 1 的方法，其中约每 7 天给予约 150mg/kg 剂量的所述脂质体。

24. 权利要求 1 的方法，其中约每 7 天给予约 200mg/kg 剂量的所述脂质体。

25. 权利要求 1 的方法，其中每 7 天给予约 250mg/kg 剂量的所述脂质体。

26. 权利要求1的方法,其中每7天给予约300mg/kg剂量的所述脂质体。
27. 权利要求1的方法,其中给予所述脂质体1次。
28. 权利要求1的方法,其中以4-7天间隔给予所述脂质体2次。
- 5 29. 权利要求1的方法,其中以4-7天间隔给予所述脂质体3次。
30. 权利要求1的方法,其中以4-7天间隔给予所述脂质体4次。
31. 权利要求1的方法,其中以4-7天间隔给予所述脂质体5次。
32. 权利要求1的方法,其中以4-7天间隔给予所述脂质体6次。
33. 权利要求1的方法,其中以4-7天间隔给予所述脂质体7次。
- 10 34. 权利要求1的方法,其中以4-7天间隔给予所述脂质体8次。
35. 权利要求1的方法,其中以4-7天间隔给予所述脂质体9次。
36. 权利要求1的方法,其中以4-7天间隔给予所述脂质体10次。
37. 权利要求1的方法,其中以4-7天间隔给予所述脂质体11次。
38. 权利要求1的方法,其中以4-7天间隔给予所述脂质体12次。
- 15 39. 权利要求1的方法,其中以4-7天间隔给予所述脂质体13次。
40. 权利要求1的方法,其中以4-7天间隔给予所述脂质体14次。
41. 权利要求1的方法,其中以1周间隔给予所述脂质体2-14次。
42. 权利要求1的方法,其中以2周间隔给予所述脂质体2-14次。
43. 权利要求1的方法,其中以1个月间隔给予所述脂质体2-14
- 20 次。
44. 权利要求1的方法,其中以2个月间隔给予所述脂质体2-14次。
45. 权利要求1的方法,其中以3个月间隔给予所述脂质体2-14次。
- 25 46. 权利要求1的方法,其中以4个月间隔给予所述脂质体2-14次。
47. 权利要求1的方法,其中以5个月间隔给予所述脂质体2-14次。

48. 权利要求 1 的方法, 其中以 6 个月间隔给予所述脂质体 2-14 次。
49. 权利要求 1 的方法, 其中以 7 个月间隔给予所述脂质体 2-14 次。
- 5 50. 权利要求 1 的方法, 其中以 8 个月间隔给予所述脂质体 2-14 次。
51. 权利要求 1 的方法, 其中以 9 个月间隔给予所述脂质体 2-14 次。
52. 权利要求 1 的方法, 其中以 10 个月间隔给予所述脂质体 2-14 10 次。
53. 权利要求 1 的方法, 其中以 11 个月间隔给予所述脂质体 2-14 次。
54. 权利要求 1 的方法, 其中以 3 年间隔给予所述脂质体 2-14 次。
55. 权利要求 1 的方法, 其中以 4 年间隔给予所述脂质体 2-14 次。
- 15 56. 一种降低外周组织胆固醇的同时降低或避免脂质体治疗伴有的副作用的方法, 所述方法包括将 100mg/kg 至 200mg/kg 剂量的具有 50nm-250nm 平均粒度的脂质体给予需要患者。
57. 一种预防或治疗与胆固醇水平异常有关的疾病或病症的方法, 所述方法包括将 100mg/kg 至 200mg/kg 剂量的脂质体给予需要患 20 者, 所述用药为每 7 天或 7 天以上以单剂量或多剂量给药。
58. 权利要求 56 的方法, 其中每 7 天进行所述用药 1 次。
59. 权利要求 56 的方法, 其中所述用药进行 6 至 14 次。
60. 一种降低病人胆固醇的方法, 所述方法包括每 4 天或 4 天以 上, 将 100mg/kg 至 200mg/kg 的剂量的脂质体给予所述病人, 所述脂 25 质体的平均直径为 50nm-250nm。
61. 权利要求 59 的方法, 所述方法还包括联合给予所述脂质体和 一种或多种心血管药物、抗糖尿病药物和/或血糖控制药物和/或其它治 疗药物。

用于给予一定大小的脂质体治疗或预防疾病的组合物和方法

- 5 本申请要求于2002年4月5日提交的美国临时申请第60/370,409号的权益，后者通过引用而整体结合至本文中。

1. 发明领域

- 10 本发明涉及包含脂质体的组合物和使用这些脂质体预防、治疗或处理各种疾病和/或机体病症的方法。所述脂质体可只包含大单室脂质体(LUVs)或者包含大单室脂质体和多室脂质体(MLVs)、小单室脂质体(SUVs)或其它治疗药物。本发明涉及采用具体剂量和/或给药方案给予患者的具有一定直径的脂质体。

15 2. 发明背景

- 在美国，动脉粥样硬化是主要死亡原因。动脉粥样硬化在动脉壁上形成动脉粥样硬化斑，使血管腔闭塞并阻碍血流通过血管。甚至在并没有明显狭窄的血管中，斑块也会破裂并导致血栓形成，引起血管闭塞和血流障碍。由于局部缺血导致的终末器官病变和器官机能障碍，常常引起发病和死亡。最常见的缺血性终末器官病变是心肌梗塞和脑血管意外。这些血管病变通常导致劳动能力丧失或死亡。即使不会永久损害心肌或导致轻微心肌病变的动脉粥样硬化相关的局部缺血，也会导致心绞痛和充血性心力衰竭。动脉粥样硬化性闭塞也可损害例如肾、肠、脊髓等其它器官。而且，在例如主动脉瘤等疾病中，
- 20 动脉粥样硬化性动脉可引起与终末器官机能障碍无关的临床症状。动脉硬化性病变的动脉粥样硬化斑的形成过程是：胆固醇、胆固醇酯和磷脂在主动脉的内膜内累积、平滑肌细胞增殖、单核细胞渗出(包括它们转化成为巨噬细胞和泡沫细胞)。脂质构成斑块的主要部分(一般为

30-65%干重)。Small, *ARTERIOSCLEROSIS*, 8:103-129 页(1988 年)。实际上, 发生动脉硬化的危险直接与某些类型血浆胆固醇的浓度相关。

其它与脂质水平异常高有关的疾病和病症有: 急性冠脉综合征, 稳定性心绞痛, 不稳定性心绞痛, 炎症, 血管炎症, 皮肤炎症, 冠心病(CHD), 室性心率失常, 外周血管疾病, 外周闭塞性疾病, 间歇性跛行, 短暂性缺血发作, 再狭窄, 再血管化需要下降, 凝血障碍, 局部缺血, 心血管缺血, 与心血管疾病无关的局部缺血(例如缺血-再灌注损伤), 血小板减少症, 胰腺炎, 非酒精性脂肪性肝炎(NASH), 糖尿病性神经病, 视网膜病, 疼痛性糖尿病性神经病, 跛行, 银屑病, 严重的肢体缺血, 阳痿, 高脂血症, 高脂蛋白血症, 低 α 脂蛋白血症, 高甘油三酯血症, 任何导致局部缺血病变的狭窄疾病, 糖尿病, 鱼鳞癣, 中风, 易损性斑块, 下肢溃疡, 严重的冠脉缺血, 淋巴瘤, 白内障, 内皮功能不全, 黄瘤, 血管疾病, 吸烟和糖尿病引起的血管疾病, 颈动脉和冠状动脉疾病, 充血性心力衰竭, 形成的斑块的消退和缩小, 阿尔茨海默病, 导致内皮损伤的外科手术, 外科手术导致的内皮损伤, 与血管疾病有关的发病(morbidity), 动脉腔溃疡, 球囊血管成形术导致的再狭窄, 以及亚临床表现的上述病症。

包括胆固醇在内的脂质一般不溶于含水血浆中。可溶性脂蛋白复合体携带血浆脂质。这些脂蛋白复合体由非极性脂质(胆固醇酯和甘油三酯)的内核和两性蛋白质与极性脂质(磷脂和未酯化的胆固醇)的表层构成。不同蛋白质(载脂蛋白)存在于不同脂蛋白复合体(脂蛋白)的表层膜上。在脂质代谢中, 不同脂蛋白的作用不同。

已知有 5 类脂蛋白。一些脂蛋白携带甘油三酯和胆固醇酯从肝脏到外周组织, 而其他的脂蛋白则将脂质运输到肝脏。在肝脏中, 胆固醇可被代谢成为胆汁酸盐排泄出去, 从而降低了体内总胆固醇。低密度脂蛋白(LDL)和高密度脂蛋白(HDL)这两种脂蛋白与动脉粥样硬化的发生高度相关。LDL 具有高胆固醇浓度, 可将脂质释放到外周组织的细胞内, 并与动脉粥样硬化的高危险性有关。HDL 也具有相对高的

胆固醇浓度，但携带脂质到肝脏代谢为胆汁酸盐，并与降低发展动脉粥样硬化的危险性有关。

5 胆固醇代谢和体内平衡是细胞和血浆内游离固醇之间的复杂平衡的结果。Phillips 等, *BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA*, 906:223-276 页(1987 年)。经受体介导的 LDL 途径，通过清除受体 B-I 选择性摄取，并通过质膜和脂蛋白之间的固醇的被动交换，胆固醇释放至细胞。只有产生类固醇激素和胆汁酸的组织才能代谢胆固醇。为防止过量的游离固醇在其它的外周组织中蓄积，有一个将胆固醇从质膜转运至 HDL 和脂蛋白样颗粒的逆转运过程。HDL 将过量的胆固醇转移到肝脏，在肝脏中或者以未酯化的胆固醇进入胆汁，被代谢成胆汁酸盐排泄、被酯化并储存在肝脏，或者掺入极低密度脂蛋白(VLDL)，重新进入脂蛋白库。

10 经固醇分子扩散通过水性间隙，会发生在细胞和脂蛋白之间的胆固醇的被动交换。Phillips 等, *supra*, 和 Schroeder 等, *EXP. BIOL. MED.*, 196:235-252 页(1991 年)。如果血浆中游离胆固醇的化学势能比细胞内低，会发生净细胞流出，以便固醇根据其活动梯度离开膜。这些情况表明，有早期动脉粥样硬化性病变形态特征的装载胆固醇酯的细胞，不仅输出胆固醇，而且促进酯水解，导致这类脂质在细胞内的沉积减少。Small, *ARTERIOSCLEROSIS*, 8:103-129 页(1988 年)。而且如上所述，有流行病学证据表明，预期促进胆固醇逆转运(降低血浆胆固醇浓度，或提高了 HDL 浓度)时，可降低早期动脉粥样硬化的危险性并可使斑块消退。

25 斑块的特征在于与血管内膜的溃疡有关。溃疡中的含脂质的斑块可发展为特别易碎的团块进入动脉腔。斑块也会损害并减弱血管平滑肌中层。随斑块形成的发展，更大的斑块中心区域远离循环。大量的斑块形成也会在斑块位置引起血管同心性或偏心性狭窄。

当前，预防是动脉粥样硬化最有效的治疗。有证据表明，当血浆 LDL 浓度保持在接近正常水平时，病变中的脂质的进展和蓄积可以停止。Reynolds, *Circulation*, 79:1146-1148 页(1989 年)。目前动脉粥样硬

化病的预防性治疗主要是药物使用结合饮食限制来调节血浆胆固醇水平。此外,也证明通过抑制动脉壁细胞形成和摄取修饰 LDL 颗粒的抗氧化剂疗法是有益的。Chisolm, *CLIN. CARDIOL.*, 14:25-30 页(1991 年)。但是,当降胆固醇药物产生明显减缓动脉粥样硬化进展的有利的血浆胆固醇变化时,他们一般不会诱导促进动脉粥样硬化的胆固醇流出和除去的条件。很显然,为获得显著的动脉粥样硬化消退并使腔梗塞变小,必须动员这些占据空间的脂质。现在的证据表明刺激多余的肝细胞胆固醇流出并将其转运至肝脏排泄(胆固醇逆转运(RCT))的过程,在动脉粥样硬化的预防中非常重要。Gwynne, *Clin. CARDIOL.*, 14:17-24 页(1991 年)。

目前,动脉硬化的治疗方式主要分为外科治疗和药物治疗。外科治疗可能需要进行绕开闭塞部位的血管移植手术(例如冠状动脉旁路移植术)、从动脉壁切除闭塞性斑块(例如颈动脉内膜切除术)或经皮使斑块裂解(例如球囊血管成形术)。外科治疗具有很大的危险,并且只能治疗孤立的病变。治疗后的病变下游的动脉粥样硬化性斑块可继续阻塞血液流动。外科治疗也不能限制动脉粥样硬化的发展并与以后的再狭窄并发症有关。

药物治疗直接减少其它涉及血管疾病的危险因素(例如吸烟、糖尿病和高血压)并降低与上述动脉粥样硬化的发展有关的各种血清胆固醇形式。虽然药物治疗可延缓斑块形成的发展,但斑块的消退相对稀少。因此,症状性动脉粥样硬化通常既需要外科治疗又需要药物治疗。

反常的是,已表明静脉输注磷脂和脂质体可使动脉粥样硬化性斑块消退,尽管血清脂质水平短暂升高。Willams 等, *PERSPECT. BIOL. MED.*, 27:417-431 页(1984 年)。但是在一些情况中,给予脂质体后,可提高与动脉粥样硬化的发展和进展有关的胆固醇水平。

以前在体内对磷脂诱导的胆固醇动员的研究,采用多层或超声的脂质体泡囊。脂质体大小是一个重要的清除动力学特征并且是期望超声的泡囊成为最适合促进胆固醇逆转运的双层结构的原因之一。超声

将多室脂质体(MLV)缩小为“限定大小”的泡囊。这些系统表现出可被双层结构采用而不会破坏的最小的曲率半径。例如,可制备的最小的卵磷脂酰胆碱脂质体的直径一般约为 30nm,通常被归为小单室脂质体(SUV)。对于给定的脂质体组合物,一般认为颗粒直径越小,循环的半衰期越长(Gregoriadis 和 Senior, LIFE SCI., 113:183-192 页(1986 年))。所以,希望由磷脂酰胆碱组成的 SUV 比较大的脂质体循环更长,并因此动员更多的胆固醇。而且, SUV 中磷脂的包封限制,(由于成锐角的曲率半径)会引起可导致融合的不稳定, Hope 等, CHEM. PHYS. LIPIDS, 40:89-107 页(1986 年), 以及增加了吸收脂蛋白的趋势。参见, 例如 Scherphof 等, BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA, 542:296-307 页(1978 年)和 Krupp 等, BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA, 72:1251-1258 页(1976 年)。因此,预期 SUV 将产生更多的 HDL-样颗粒,从而促使固醇从外周组织中流出。支持这种预测的是,研究报道具有 50-80nm 的直径的脂质体使固醇动员和斑块消退最佳,欧洲专利公告 0461559 A2 号。

名称为“在避免有害性破坏肝胆固醇内环境稳定的同时,自机体内部的胆固醇逆转运的方法”的美国专利第 5,746,223 号(‘223 专利)、名称为“血管成形术和心脏导管插入术的方法”的美国专利第 6,080,422 号(‘422 专利)以及名称为“脂质体组合物及动脉粥样硬化的治疗方法”的美国专利第 6,139,871 号(‘871 专利),公开了 LUVs 诱导自外周组织的胆固醇逆转运从而治疗动脉粥样硬化的用途以及用于血管成形术中,其中每篇专利通过引用而整体结合至本文中。

更具体地讲, ‘223 和 ‘422 专利公开了直径达 1000nm (较大的脂质体可能“有效性较低”)的 LUVs 的用途,而且权利要求列举了大于约 50、80、或 100nm 的直径的 LUVs,说明书在一个实施方案中公开了优选 120nm 直径的 LUVs。 ‘223 和 ‘422 专利中给药剂量范围为每剂 10-1600mg/kg。在更具体的实施方案中,每日剂量小于 600mg/kg,并且在其他特别的实施方案中,在第 1 天、第 3 天和第 5 天,快速浓注给予兔 300mg/kg。

‘871 专利公开了具有 100-150nm 范围直径、优选 125nm 的直径的 LUVs 的用途。‘871 专利也公开了在多剂治疗中，“一般每周”给予范围约为 100-150mg/kg、“通常”约为 200 至 750mg/kg 并“最通常”约为 280 至 420mg/kg 的 LUVs，连续约 4-16 周、“通常”约 10 周。‘871 专利指出载体中的 LUVs 浓度可变化，但浓度一般将为约 20-200mg/ml，通常约 50-150mg/ml，最通常约 100mg/ml。

最近，使用 ETC-588 (由 1-棕榈酰、2-油酰磷脂酰胆碱制备的脂质体，Esperion Therapeutics, Inc.的专利产品)进行了两项研究。ETC-588 从血管和外周组织中吸收了胆固醇和其它可交换的脂质(称为动员的过程)，引起血清胆固醇短暂升高，在 ETC-588 将其胆固醇载荷释放至肝脏处理或排泄后，会恢复到初始水平。在临床前模型中使用大小和组成与 ETC-588 非常相似的脂质体，表明用实验室方法诱导的动脉粥样硬化被动员和消退。在体内，ETC-588 显著增加了胆固醇流出并加强了脂质逆转运途径。

第一项研究中，采用单剂量的 20、60、150、300 和 600mg/kg 的 ETC-588 脂质体，评价 ETC-588 对健康志愿者的安全性和耐受性。使用输液泵，以 10 ml/分钟的速度经静脉输注 ETC-588 脂质体 (200mg/ml)。以磷脂(PL)测定血浆中的 ETC-588。通过标准的自动方法，测定总的未酯化胆固醇(UC)和 PL。根据随机表，将患者分入治疗组。在每个时间点，采用描述性统计方法总结安全性、耐受性、实验室数据、生命体征和副作用给药前后的变化。采用描述性统计方法总结药代动力学和药效学的测定结果。结果表明虽然胆固醇动员在宽剂量范围内发生，但效力不同。另外，在 600mg/kg 剂量时，三个患者的肝功能检验值均升高，并且有一名患者的肝功酶升高，显示存在严重副作用。其它不良反应包括头痛、头晕、恶心和疲劳。

第二项研究以 3 天间隔接受总计 4 个剂量的健康志愿者，评价 ETC-588 的安全性和耐受性。给予的剂量为 100、150、200、250 和 300mg/kg。使用输液泵以每分钟 10 ml 的速度，经静脉输入 ETC-588

脂质体(200mg/ml)。以磷脂(PL)测定血浆中的 ETC-588。通过标准的自动方法测定总的未酯化胆固醇(UC)和 PL。按照随机表将患者分入治疗组。在每个时间点采用描述性统计方法总结安全性、耐受性、实验室数据、生命体征和副作用给药前后的变化。采用描述性统计方法总结药代动力学和药效学测定结果。结果表明虽然效力不同,但胆固醇动员以剂量依赖性的方式增加。另外,以 3 天间隔给予总计 4 个剂量,引起不需要的 ETC-588 蓄积。同第一项研究一样,其它副作用包括头痛、头晕、恶心和疲劳。而且,这些给药研究只在健康患者而非患有疾病或其它不需要的机体病症的患者身上进行。

因此,需要在患病的患者中确定安全、有效并且无毒的剂量和给药方法,以防止或降低任何不需要的副作用。另外,需要确定更优的使用最佳大小的脂质体治疗患有本文公开的疾病和/或机体病症或其它疾病或病症的患者的给药方案。

发明概述

本发明涉及给予脂质体的药用组合物和方法,所述脂质体可只包含 LUVs 或包含 LUVs 和 MLVs、SUVs 和/或其它用于预防、治疗或处理以下的各种疾病和机体病症的治疗药物,所述疾病和机体病症包括但不限于:动脉硬化,包括动脉粥样硬化、静脉硬化或在静脉内膜或内层形成含有胆固醇或其它物质的斑块沉积物的任何静脉病症;急性冠脉综合征;包括稳定性心绞痛和不稳定性心绞痛的心绞痛;炎症或炎性疾病,包括但不限于血管炎症和皮肤炎症;充血性心力衰竭;冠心病(CHD);高血压;冠状血管性室性心律失常;室上性心律失常(supraventricular arrhythmias);外周血管疾病;致命性心肌梗塞;非致命性心肌梗塞;包括心血管缺血在内的局部缺血;心肌休眠;短暂性缺血发作;与心血管疾病无关的局部缺血,包括缺血-再灌注损伤(例如由髋部手术、膝手术、器官移植或 PTCA 引起的病变);冠脉再灌注;再狭窄;围手术期(PCI)局部缺血;再血管化需要减少;减小梗塞面积;

凝血障碍；血小板减少症；深静脉血栓形成；胰腺炎；非酒精性脂肪性肝炎(NASH)；糖尿病性神经病；视网膜病；糖尿病性神经病；银屑病；严重的肢体缺血；跛行；阳痿；前列腺癌；高脂血症；高脂蛋白血症；低 α 脂蛋白血症；高甘油三酯血症；任何导致局部缺血病变的狭窄病症；糖尿病(包括I型和II型)；鱼鳞癣；中风；易损性斑块；易损性斑块破裂；阿尔茨海默病；下肢溃疡；严重的冠脉缺血；淋巴瘤；白内障；内皮功能不全；黄瘤；终末器官功能紊乱；血管疾病；吸烟和糖尿病引起的血管疾病；颈动脉和冠状动脉疾病；形成的斑块的消退和缩小；导致内皮损伤的复合外科手术；外科手术导致的内皮损伤；与血管疾病有关的发病；动脉腔溃疡；球囊血管成形术引起的再狭窄；以及亚临床表现的上述病症。

本发明的组合物和方法可用于提高 HDL 水平，提高低 HDL 水平，降低 LDL 水平，降低高 LDL 水平，暂时提高 LDL 水平，降低甘油三酯水平，提高或降低其它脂质水平，提高斑块稳定性或降低斑块破裂的概率，提高或降低血管舒张，治疗或预防炎症，治疗或预防炎症性疾病或炎症反应，加强或稳固平滑肌和血管内膜，刺激细胞外胆固醇流出以便转运至肝脏，调节免疫应答，动员动脉粥样硬化性斑块的胆固醇，改善任何膜、细胞、组织、器官以及细胞外区域和/或结构(其中组成和/或功能性改善将是有利的)。本发明的组合物和方法也包括局部施用和伤口愈合。

本发明包括给药方案，其中以具体的时间间隔并以具体的剂量给予具体剂量的脂质体、尤其是特定大小范围的脂质体，以降低和/或治疗疾病，同时减少或避免不良反应或不需要的效应。因此，本文详细描述了给予脂质体的方法，通过给予脂质体降低总及 LDL 胆固醇的方法，通过给予脂质体提高 HDL 胆固醇的水平或功效的方法，以及将脂质体给予需要患者的方法。

所述囊泡颗粒(或脂质体)使胆固醇从动脉粥样硬化性斑块流出最佳。所述囊泡颗粒可结合至载脂蛋白(一般为载脂蛋白 AI 或 AII)上，

并通常含有至少一种磷脂，例如磷脂酰胆碱或磷脂酰甘油。所述组合物主要包含脂质体和药学可接受的载体。在一个优选的实施方案中，脂质体在给药前不含胆固醇。用于新的给药方案的脂质体可具有任何大小的直径。另外，所述脂质体可具有任何标准差或粒度分布的任何大小的平均直径。

5 在一个独立实施方案以及优选的实施方案中，脂质体具有任何标准差或粒度分布的 50 至 250 纳米(nm)的平均直径。在个别优选的实施方案中，脂质体具有 $\pm 50\%$ 、优选 $\pm 40\%$ 的分布的 50 至 250nm 的平均直径。在个别优选的实施方案中，脂质体具有任何标准差或粒度分布的 100 至 140nm 的平均直径。在个别优选的实施方案中，脂质体具有 $\pm 50\%$ 、优选 $\pm 40\%$ 的分布的 100 至 140nm 的平均直径。在个别优选的实施方案中，脂质体具有任何标准差或粒度分布的 110 至 120nm 的平均直径。在个别优选的实施方案中，脂质体具有 $\pm 50\%$ 、优选 $\pm 40\%$ 的分布的 110 至 120nm 的直径。在个别优选的实施方案中，脂质体具有任何标准差或粒度分布的 100 和 200nm 的平均直径。在特别的实施方案中，脂质体具有任何标准差或粒度分布(优选粒度分布在 $\pm 40\%$ 和 $\pm 50\%$ 之间)的以下大小的平均直径：100-110nm, 110-120nm, 120-130nm, 130-140nm, 140-150nm, 150-160nm, 160-170nm, 170-180nm, 180-190nm 或 190-200nm。在特别的实施方案中，所用的脂质体为 ETC-588 (Esperion Therapeutics, Inc. 专利产品)。

20 本发明也提供了可治疗性或预防性使用的治疗上述疾病和机体病症的方法。所述方法主要包括将本发明的组合物给予患有任何上述疾病或机体病症的哺乳动物，优选人。通常所述组合物将连续给予一段时间。可经口服或肠胃外给予所述组合物。一般情况，所述组合物将经肠胃外、优选经静脉给药，或者肌肉、皮下、腹膜内、鞘内、动脉、经淋巴管、经输注、血管给药，以及通过长期留置导管或急用放置的导管经注射器或推进给药。在其它实施方案中，可舌下、口颊、粘膜、局部、直肠、阴道、动脉、经皮、经输注、经注射或经推进给

药。在一个特别的实施方案中，本发明的组合物经局部给药以预防或治疗炎症或帮助伤口愈合。

本发明的方法包括以 20mg/kg 和 600mg/kg 之间、优选 50mg/kg 和 600mg/kg 之间、更优选 50mg/kg 和 300mg/kg 之间的单剂量或分剂量，将脂质体给予需要患者。在个别优选的实施方案中，以 100mg/kg 和 200mg/kg 之间、优选 150mg/kg 和 200mg/kg 之间的单剂量或分剂量，将脂质体给予需要患者。在特别的实施方案中，以下剂量的单剂量或分剂量，将囊泡颗粒给予需要患者：110mg/kg-120mg/kg，120mg/kg-130mg/kg，130mg/kg-140mg/kg，140mg/kg-150mg/kg，150mg/kg-160mg/kg，160mg/kg-170mg/kg，170mg/kg-180mg/kg，180mg/kg-190mg/kg，或 190mg/kg-200mg/kg。

在具体的实施方案中，以一个或多个以下间隔、以单剂量或分剂量给予囊泡颗粒：每 1 天 1 次，每 2 天 1 次，每 3 天 1 次，每 4 天 1 次，每 5 天 1 次，每 6 天 1 次，每 1 周 1 次，每 2 周 1 次，每 3 周 1 次，每 1 个月 1 次，每 2 个月 1 次，每 3 个月 1 次，每 4 个月 1 次，每 5 个月 1 次，每 6 个月 1 次，每 7 个月 1 次，每 8 个月 1 次，每 9 个月 1 次，每 10 个月 1 次，每 11 个月 1 次，每 1 年 1 次，或另外就预定治疗周期而言，则以预定时间间隔给药。在一个优选的实施方案中，在一个疗程内的给药间隔为每 1 周 1 次。优选的一个疗程的治疗周期可持续 1 天、2 天、3 天、4 天、5 天、6 天、1 周、2 周、3 周、4 周、5 周、6 周、7 周、8 周、9 周、10 周、11 周、12 周、13 周、14 周、4 个月、5 个月、6 个月、7 个月、8 个月、9 个月、10 个月、11 个月、1 年、2 年、3 年、4 年或 5 年。在一个优选的实施方案中，一个疗程的治疗周期不超过 14 周。在其它优选的实施方案中，以 4-7 天间隔，给予每个疗程指定的 1-4、1-8 或 1-14 个剂量的脂质体。给药方案也包括连续输注治疗(可包括先使用初始剂量，接着使用维持剂量)。用这些组合物以及按照这些方法治疗的患者可为任何年龄并可患有一种或多种上面列举的疾病或机体病症和/或其它疾病和病症。

附图简述

图 1A 说明通过挤压法制备的一批大单室脂质体的粒度分布。

5 图 1B 说明通过均化法制备的一批约 200nm 的大单室脂质体的粒度分布。

图 1C 说明通过挤压法制备的一批 ETC-588 脂质体的粒度分布。

图 2 举例说明每 4 天给予多个剂量的脂质体后的脂质体和未酯化的胆固醇的水平。

10 图 3 举例说明每 7 天给予脂质体的剂量后的脂质体和未酯化的胆固醇的水平。

有用的定义

本文使用的“药物”意指没有结合载体、佐剂、活化剂或辅因子的适合治疗应用的合成化合物。“药物”不包括天然或内源性载脂蛋白、卵磷脂-胆固醇酰基转移酶或白蛋白。“脂质体”、“囊泡”和“脂质体囊泡”将被理解为表示含有脂质的膜结构，膜内包封水性物。尽管脂质体一般只有一层膜，但除非另外说明，否则所述结构可具有一层或多层脂质膜。单室脂质体在本文中被称为“单层”。术语“LUVs”是指大单室脂质体，术语“SUVs”是指小单室脂质体，术语“MLVs”是指多室脂质体。本文使用的术语“治疗动脉粥样硬化”包括进行导致降低至少一块动脉粥样硬化性斑块的胆固醇含量或预防性抑制或防止动脉粥样硬化性斑块的形成和扩大的治疗介入。

发明详述

25 本发明部分基于以下发现：用于给予脂质体、特别是特定大小的脂质体的具体剂量和给药方案，在通过这些脂质体使外周组织的胆固醇的清除和/或从动脉粥样硬化性斑块中清除的胆固醇的代谢的最佳化方面起关键性作用。本发明的新方法包括治疗或预防疾病或其症状

的同时降低或避免不良反应(例如毒副作用或不需要的反应)。另外,同以前的脂质体的治疗相反,本发明的发明人发现脂质体可用于预防、治疗或处理包括先前描述的脂质体治疗的动脉粥样硬化和其它适应征的各种疾病和机体病症。

5 在一个实施方案中,本发明包括一种将脂质体给予需要患者的方法,所述方法包括每4至7天以约100mg/kg至约250mg/kg、优选约100mg/kg至约200mg/kg的单剂量或分剂量,将具有100nm、优选小于250nm的平均直径的脂质体给予患有可通过胆固醇降低治疗的疾病的患者。下面将详细讨论治疗的患者、用于本发明的脂质体、具体剂
10 量以及给药方案。

1. 脂质体

 本发明的发明人发现具有大于100nm并优选100nm至140nm、更优选110nm至120nm的平均直径的脂质体,对于系统中胆固醇的清除
15 是最佳的。一般情况,可通过肝脏的组织学解释直径大于100纳米的脂质体的优异作用。当在肝脏中循环时,大脂质体(本文使用的直径大于100nm的脂质体)可主要通过排列在窦状隙口的枯否细胞清除。枯否细胞将胆固醇转运至肝细胞,排泄在胆汁中或再利用。小脂质体(本文使用的小于100nm的脂质体)可直接进入肝细胞而不经(或有限制的)枯
20 否细胞预处理。因为对于固定的剂量,输注入的小脂质体可能比较大的颗粒多,因此肝细胞可突然暴露在相对高浓度的小脂质体和它们蓄积的胆固醇中。本发明的发明人发现具有在100nm和140nm之间、优选在110nm至120nm之间的直径的脂质体最佳,这是因为它们主要通过枯否细胞清除,并且在动员胆固醇方面比更小或更大的脂质体更有
25 效。

 除脂质体的粒度分布并与其无关外,本发明人发现在治疗疾病时,某些剂量和给药方案对患病的患者既比较安全又更有效。在这些方法和用于这些方法的组合物中,人们可使用任何大小的脂质体或具

有任何标准差或粒度分布的任何平均直径的脂质体。实际上, 优选最佳大小的脂质体用于新的给药方案或优选的剂量中。

在具体的实施方案中, 脂质体具有不考虑标准差或粒度分布的大于 100nm 的平均直径。在个别优选的实施方案中, 脂质体具有任何标准差或粒度分布的 50-250 纳米(nm)之间的平均直径。在个别优选的实施方案中, 脂质体具有 50-250nm($\pm 40-50\%$)之间的平均直径。在个别优选的实施方案中, 脂质体具有任何标准差或粒度分布的 100-140nm 之间的平均直径。在个别优选的实施方案中, 脂质体具有 100-140nm ($\pm 40-50\%$)之间的平均直径。在个别优选的实施方案中, 脂质体具有任何标准差或粒度分布的 110-120nm 之间的平均直径。在个别优选的实施方案中, 脂质体具有 110-120nm ($\pm 40-50\%$)之间的平均直径。在个别优选的实施方案中, 脂质体具有任何标准差或粒度分布的 100-200nm 之间的平均直径。在特别的实施方案中, 脂质体具有任何标准差或粒度分布(优选粒度分布在 $\pm 40\%$ 和 $\pm 50\%$ 之间)的以下大小范围的平均直径: 100-110nm, 110-120nm, 120-130nm, 130-140nm, 140-150nm, 150-160nm, 160-170nm, 170-180nm, 180-190nm、或 190-200nm。在一个优选的个别实施方案中, 所用的脂质体是制备后具有 100nm-140nm($\pm 40-50\%$)的平均直径的 ETC-588 (Esperion Therapeutics, Inc. 的专利产品)。

本发明也包括使用平均直径大于 50nm 和优选大于 100nm 并小于 250nm 的脂质体, 当使用给予时提高或不提高 LDL 血清浓度。本发明也包括使用平均直径大于 50nm 和优选大于 100nm 并小于 250nm 的脂质体, 当给予时降低或不降低 LDL 血清浓度。在一些情况中, 脂质体不结合至另一种分子上, 例如药物或蛋白质。在其他情况中, 本发明的脂质体与以下物质结合、组合和/或联合用药: (1)与脂质体结合的蛋白质和肽, 如脂质结合蛋白质, 包括肽、对氧磷酶、脂蛋白脂肪酶、卵磷脂胆固醇酰基转移酶、磷脂转移蛋白、Apo A-I 和 Apo A-I 的变体 (variants) 或类似物(mimetics); (2)小受体, 包括 HDL、合成和/或重组

HDL 颗粒、用载脂蛋白 Apo A-I 或 Apo A-I 类似物制备的合成和/或重组 HDL 颗粒; (3)心血管药物, 包括小分子、抑制素、阿司匹林、氯吡格雷、 β -阻滞剂、血糖控制和/或抗糖尿病药物、抗高血压药物、肝素、硝酸酯、IIB/IIIA 抑制剂、ACE 抑制剂、 β -阻滞剂、氯贝特类药物、钙通道阻滞剂和/或胆汁酸螯合剂; 和(4)抗糖尿病(和/或血糖控制)药物, 包括但不限于胰岛素及口服药物。另外, 大脂质体可单独应用或与多室脂质体和/或小单室脂质体联合应用。在以下美国专利中描述了蛋白质和肽(例如脂质结合蛋白质, 包括肽、Apo A-I 和 A-I 的类似物或变体)的实例: 6,004,925、6,046,166、6,037,323、6,287,590、6,329,341 和 6,265,377, 其中全部专利通过引用而整体结合至本文中。美国专利申请第 09/540,740 号、09/540,739 号和 09/540,738 号中描述了调节 HDL、LDL 或胆固醇水平的小分子实例, 其中全部专利申请通过引用而整体结合至本文中。

技术人员知道, 通过以下的文献描述的各种方法, 可制备本发明的脂质体组合物: 例如美国专利 4,186,183; 4,217,344; 4,261,975; 4,485,054; 4,774,085; 4,946,787; 5,726,157; 5,746,223; 5,843,474; 5,448,435; 5,853,402; 6,080,422; 6,312,719; 6,139,871; PCT 公告号 WO 91/17424; Deamer 和 Bangham, *BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA*, 443: 629-634 页(1976 年); Fraley 等, *PROC. NATL. ACAD. SCI. USA*, 76: 3348-3352 页(1979 年); Hope 等, *BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA*, 812: 55-65 页(1985 年); Mayer 等, *BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA*, 858: 161-168 页(1986 年); 和 Williams 等, *PROC. NATL. ACAD. SCI.*, 85: 242-246 页(1988 年), 其中每篇文献通过引用而整体结合至本文中。合适的方法包括例如超声法、挤压法、高压/均化法、微流化法、去污剂分散法、钙-诱导的小脂质体囊泡的融合法和乙醚注入法, 这些方法均为本领域熟知的方法。

一般情况, 通过超声和挤压方法制备脂质体最方便。简单地讲, 将脂质与生理盐水和缓冲剂混合即可。在一个实施方案中, 涡旋脂质

的氯仿溶液并在稳定的 N_2 流下除去溶剂；在高真空下干燥样品；在 150 mM NaCl 和 20 mM 的[4-(2-羟乙基)]-哌嗪-乙磺酸(Hepes, pH 为 7.4) 中，将得到的脂质干膜再水化。该方法主要制备多室脂质体泡囊。单室脂质体可通过超声法或挤压法制备。

5 一般在冰浴中，使用尖头超声波仪(例如 Branson 尖头超声波仪) 进行超声。悬浮液一般需经几次超声循环。挤压可通过膜挤压机(例如 Lipex Biomembrane 挤压机)完成。挤压过滤器中的固定孔径可产生具体大小的单室脂质体的泡囊。挤压通过不均匀的陶瓷过滤器(例如从马萨诸塞州伍斯特的 Norton Company 买到的 Ceraflow 微量滤器)，也可
10 生成脂质体。ETC-588 脂质体(Esperion Therapeutics 的专利产品，目前正在进行临床实验的评价)是通过挤压法制备。目前的方法包括用磷酸盐缓冲盐液将 1-棕榈酰-2-油酰磷脂酰胆碱(POPC)水化并将其挤压通过膜滤器，直至得到约 100 至 140nm 的平均直径，并更优选直至得到约 110 至 120nm 的平均直径。通过膜滤器可进行 1 次或多次。在一个
15 具体的实施方案中，通过 2-10 次，优选通过 2-5 次。另外，膜滤器大小可相同或不同(即可有膜梯度)。将最终产品称为 ETC-588。于 2001 年 9 月 28 日提交的美国临时专利申请第 60/326,032 号中，描述了通过挤压法制备具体大小的脂质体的实例，该申请通过引用而整体结合至本文中。

20 其它制备相同平均直径的脂质体的方法包括匀化法或微流化法，但颗粒分布较大。参见图 1A 与图 1B。采用目前的技术，通过匀化法和微流化法制备的生物效应颗粒与通过挤压法制备的那些颗粒不同。消除动力学稍快并且胆固醇动员测定的曲线下面积稍小，这表明即使将相同的剂量(以 mg 磷脂/kg 计)给予动物，这些颗粒的有效性比
25 挤压的脂质体差。

脂质体囊泡的大小可通过 Bloomfield, *ANN. REV. BIOPHYS. BIOENG.*, 10:421-450 页(1981 年)描述的准弹性光散射法(QELS)测定，该篇文献通过引用而整体结合至本文中。通过将形成的脂质体超声处

理,可减小脂质体的平均直径。间断的超声循环与 QELS 测定交替进行,可进行有效的脂质体制备。脂质体可由各种脂质组成。一般情况,脂质体将由至少一种磷脂、典型的卵磷脂酰胆碱、卵磷脂酰甘油、二硬脂酰磷脂酰胆碱或二硬脂酰磷脂酰甘油组成。本发明的许多实施方案将包括多于一种的磷脂。

其它适合形成可用于本文描述的组合物或方法中的脂质体的磷脂包括但不限于:磷脂酰胆碱,磷脂酰甘油,卵磷脂, β 、 γ -二棕榈酰- α -卵磷脂,鞘磷脂,磷脂酰丝氨酸,磷脂酸,N-(2,3-二(9-(Z)-十八烯基氧基))-丙-1-基-N,N,N-三甲基氯化铵,磷脂酰乙醇胺,溶血卵磷脂,溶血磷脂酰乙醇胺,磷脂酰肌醇,脑磷脂,心磷脂,脑苷脂,联十六烷基磷酸酯,二油酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰胆碱,二棕榈酰磷脂酰甘油,二油酰磷脂酰甘油,棕榈酰-油酰-磷脂酰胆碱,二硬脂酰-磷脂酰胆碱,硬脂酰-棕榈酰-磷脂酰胆碱,二-棕榈酰磷脂酰乙醇胺,二-硬脂酰-磷脂酰乙醇胺,二-肉豆蔻酰-磷脂酰丝氨酸,二-油酰-磷脂酰胆碱,油酰-棕榈酰磷脂酰胆碱,棕榈酰油酰磷脂酰胆碱,37℃液晶相的脂质,以及它们的混合物等。在一个优选的实施方案中,脂质体由棕榈酰油酰磷脂酰胆碱组成。不含磷的脂质也可用于本发明的组合物的脂质体中。这些包括例如硬脂酰胺、十二胺、乙酰基棕榈酸酯、脂肪酸酰胺等。另外的适用于本发明的脂质体的脂质为本领域技术人员来所熟知,并在例如 *MCCUTCHEON'S DETERGENTS AND EMULSIFIERS and MCCUTCHEON'S FUNCTIONAL MATERIALS* (新泽西瑞吉伍德的 Allured 出版公司)的文献中有介绍,其中该两篇文献通过引用而整体结合至本文中。

一般情况,最好脂质体由 37℃、通常 35℃、甚至 32℃时为液晶的脂质组成。液晶态的脂质体接受胆固醇一般比凝胶态的脂质体更有效。由于患者内温一般约为 37℃,所以在治疗期间,由 37℃时为液晶的脂质组成的脂质体主要呈液晶状态,并因此使斑块中胆固醇的除去最佳。

优选用于所述方法和组合物中的脂质体不含胆固醇。

2. 药用组合物

5 本发明的药用组合物可包含药学可接受的载体或稀释剂。许多药学可接受的载体可用于本发明的组合物中。一般情况，用生理盐水作为药学可接受的载体。其它合适的载体包括例如水、缓冲水溶液、0.4% 盐水、0.3%甘氨酸等，包括用于提高稳定性的糖蛋白，例如白蛋白、脂蛋白、球蛋白等。通过熟知的常规灭菌技术，可将这些组合物灭菌。得到的水溶液可包装使用，或在无菌条件下过滤并冻干，冻干制剂在
10 给药前用无菌水溶液溶解使用。所述组合物可包含药学可接受的需接近生理条件的辅料(例如 pH 调节和缓冲剂、张力调节剂等)，例如乙酸钠、乳酸钠、氯化钠、磷酸钠、氯化钾、氯化钙等。

脂质体的浓度可改变。在特别的实施方案中，脂质体的浓度可为从约 20mg/ml 至约 1000mg/ml 的范围，优选在 50-300mg/ml 之间，更
15 优选在 50-200mg/ml 之间，并最优选在 100-200mg/ml 之间。在个别优选的实施方案中，脂质体的浓度可约为以下范围：1-20mg/ml, 20-30mg/ml, 30-40mg/ml, 40-50mg/ml, 50-60mg/ml, 60-70mg/ml, 70-80mg/ml, 80-90mg/ml, 90-100mg/ml, 100-110mg/ml, 110-120mg/ml, 120-130mg/ml, 130-140mg/ml, 140-150mg/ml, 150-160mg/ml, 160-170mg/ml, 170-
20 180mg/ml, 180-190mg/ml 或 190-200mg/ml。在某些优选的实施方案中，浓度将约为 50mg/ml、100mg/ml、150mg/ml、200mg/ml、250mg/ml 或 300mg/ml。技术人员可改变这些浓度以使采用不同的脂质体组分治疗或对特殊患者的治疗最佳。例如，可将浓度增加，从而降低治疗性液体量负荷。这对于患有动脉粥样硬化性充血性心力衰竭或严重高血压
25 的患者，可能特别需要。同样，可将由刺激性脂质组成的脂质体稀释至低浓度，从而减轻给药部位炎症。

所述脂质体可任选被结合至各种蛋白质和多肽上，以提高胆固醇转运率或所述脂质体的运载胆固醇的能力。将载脂蛋白结合至所述脂

质体上特别有用。本文使用的“被结合至脂质体上”或“结合至脂质体上”是指目的化合物共价或非共价键合至脂质体的表面上，或全部或部分被包含在脂质体的内部。载脂蛋白 AI、载脂蛋白 AII 和载脂蛋白 E 一般是最适用的结合至脂质体上的载脂蛋白。这些载脂蛋白促进胆固醇和胆固醇酯运输至肝脏代谢。卵磷脂-胆固醇酰基转移酶也用于将游离的胆固醇代谢为胆固醇酯。本发明的药用组合物中的脂质体可分别或以任合组合和摩尔比被结合至载脂蛋白 AI、载脂蛋白 AII、载脂蛋白 E 和卵磷脂-胆固醇酰基转移酶分子上。另外的蛋白质或其它非蛋白质的分子也可用于结合至脂质体上，以促进脂质体的稳定性或半衰期等。这些另外的蛋白质或其它非蛋白质的分子包括例如胆固醇、聚乙二醇连接的磷脂和神经节苷脂、固醇、硫酸烷基酯、溴化铵、白蛋白等。

在具体的实施方案中，采用一种或多种生理学可接受的载体(包括使活性化合物容易制成可药学应用的制剂的赋形剂和助剂)，可以常规方法制成本发明的药用组合物。在具体的实施方案中，这些制剂包括稳定剂和/或抗氧化剂。合适的制剂取决于所选的给药途径。本发明的脂质体可为冻干形式、液体形式、冻结形式或粉末形式。在特别的实施方案中，本发明的脂质体为粉末形式，优选为冻干形式，更优选为冻结形式，并最优选为液体形式。

对于特别的实施方案，本发明的脂质体可在注射用水溶液中，优选在生理相容的缓冲液(例如 Hanks 液、林格氏液或生理盐水缓冲液)中配制。为经粘膜给药，将适合将渗透通过的屏障的渗透剂用于所述制剂中。在本领域中，这些渗透剂一般是熟知的。在具体的实施方案中，局部或经皮制剂包含稳定剂和/或抗氧化剂。

在其它实施方案中，通过将脂质体与本领域熟知的药学可接受的载体组合，可容易的将化合物配制成口服剂型。这些载体能使本发明的化合物配制为用于待治疗患者口服的片剂、丸剂、糖锭剂、胶囊剂、明胶制成的推进式胶囊、明胶和增塑剂制成的软或密封胶囊、液体制

剂、凝胶剂、糖浆剂、膏剂、混悬液等。另外，可加入稳定剂。所有口服制剂应有适合如此给药的剂量。

5 在特别的涉及口颊给药的实施方案中，组合物可采用以常规方法配制成的滴剂、片剂或锭剂。可配制脂质体用于肠胃外的经注射给药，例如上述快速浓注或连续输注。在几个实施方案中，经静脉、肌肉或皮下连续注入可给予化合物。注射用制剂可采用添加防腐剂的单位剂型，例如安瓿或多剂量容器。组合物可采用如混悬液、溶液剂或在油或含水介质中的乳剂的形式，并且可包含例如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂等配方剂(formulatory agent)。

10 另外，可将脂质体的悬浮液制备为合适的油性注射用混悬剂。水性注射用混悬剂可包含增加该混悬剂粘性的物质，例如羧甲基纤维素钠、甘油、山梨醇或右旋糖酐。任选混悬剂可包含合适的稳定剂或提高脂质体的溶解度以便制备高浓度溶液的试剂。

15 此外，活性组分可为使用前用合适的介质(例如无菌无热原的水)重新配制的粉末或冻干形式。也可将组合物配制成例如含有常规栓剂基质(例如可可油或其它甘油酯)的经直肠的组合物，例如栓剂或滞留型灌肠剂。

20 除前面描述的制剂外，也可将脂质体配制成贮库长效制剂。通过植入(例如皮下或肌肉)或通过肌肉注射，可给予该类长效制剂。因此，例如可将化合物以合适的聚合材料、疏水材料或离子交换树脂、或微溶衍生物配制。

药用组合物也可包含合适的固相或凝胶相载体或赋形剂。这些载体或赋形剂的实例包括但不限于：碳酸钙，磷酸钙，各种糖，淀粉，纤维素衍生物，明胶和聚合物(例如聚乙二醇)。

25

3. 使用脂质体预防、治疗或处理某些疾病和其它机体病症的方法

本发明也提供了预防、治疗或处理包括但不限于以下疾病的各种

疾病和机体病症的方法：包括动脉粥样硬化、静脉硬化或在静脉内膜或内层形成含有胆固醇或其它物质的斑块沉积物的任何静脉病症的动脉硬化，急性冠脉综合征，包括稳定性心绞痛和不稳定性心绞痛的心绞痛，包括但不限于血管炎症和皮肤炎症的炎症或炎性疾病，充血性心力衰竭，冠心病(CHD)，高血压，冠状血管性室性心律失常(coronary ventricular arrhythmias)，室上性心律失常，外周血管疾病，致命性心肌梗塞，非致命性心肌梗塞，包括心血管缺血的局部缺血，心肌休眠，短暂性缺血发作，与心血管疾病无关的局部缺血(包括缺血-再灌注损伤(例如由髋部手术、膝手术、器官移植或经皮腔内冠状动脉成形术(PTCA)引起的损伤)，冠脉再灌注，再狭窄，围手术期(PCI)的局部缺血，再血管化需要减少，减小的梗塞面积，凝血障碍，血小板减少症，深静脉血栓形成，胰腺炎，非酒精性脂肪性肝炎(NASH)，糖尿病性神经病，视网膜病，疼痛性糖尿病性神经病，银屑病，严重的肢体缺血，跛行，阳痿，前列腺癌，高脂血症，高脂蛋白血症，低 α 脂蛋白血症，高甘油三酯血症，任何导致局部缺血病变的狭窄疾病，包括 I 型和 II 型的糖尿病，鱼鳞癣(ichthyosis)，中风，易损性斑块，易损性斑块破裂，阿尔茨海默病，下肢溃疡，严重的冠脉缺血，淋巴瘤，白内障，内皮功能不全，黄瘤，终末器官功能紊乱，血管疾病，吸烟和糖尿病引起的血管疾病，颈动脉和冠状动脉疾病，形成的斑块的消退和缩小，导致内皮损伤的复合外科手术，外科手术导致的内皮损伤，与血管疾病有关的发病，动脉腔溃疡，球囊血管成形术引起的再狭窄，以及亚临床表现的上述病症。

本发明的组合物和方法可用于提高 HDL 水平，提高低 HDL 水平，降低 LDL 水平，降低高 LDL 水平，暂时提高 LDL 水平，降低甘油三酯水平，提高或降低其它脂质的水平，提高斑块稳定性或降低斑块破裂的概率，提高或降低血管舒张，治疗或预防炎症，治疗或预防炎性疾病或炎症反应，增强或使平滑肌和脉管内膜稳定，刺激细胞外的胆固醇转运至肝脏，调节免疫应答，动员动脉粥样硬化性斑块的胆

固醇，并改善任何膜、细胞、组织、器官以及细胞外区域和/或结构(其中组成和/或功能性改善将是有利的)。本发明的组合物和方法也包括局部施用和伤口愈合。

5 所述方法主要包括将脂质体组合物给予患有疾病或病症的哺乳动物、优选人，其中所述脂质体组合物包含具有大于 100nm、优选在 100nm 和 250nm 之间、优选在 100nm 和 140nm 之间、并更优选在 110nm 和 120nm 之间的平均直径的脂质体。在特别的实施方案中，给予患者的脂质体具有以下大小范围的平均直径：100-110nm, 110-120nm, 120-130nm, 130-140nm, 140-150nm, 150-160nm, 160-170nm, 170-180nm, 10 180-190nm、190-200nm。在一个更优选的实施方案中，所用的脂质体为制备后具有 100nm-140nm、优选 110nm-120nm 的平均直径的 ETC-588 (Esperion Therapeutics, Inc.的专利产品)。

该方法特别适用于治疗动脉粥样硬化性病变以及其它与脂质失调相关的上述疾病和机体病症。在一个特别的实施方案中，本发明的方法可预防性抑制或防止动脉粥样硬化性斑块的形成和扩大，降低动 15 脉粥样硬化性斑块的胆固醇含量和/或减小动脉粥样硬化性斑块的体积、因此而减轻任何血管腔闭塞的程度。斑块体积减少一般为至少 5%-30%、通常多达 50%，并且在一些情况中达 75%或以上。胆固醇含量一般将降低至少 10%-30%、通常 30%-50%，并且在一些情况中多达 20 75%-80%或以上。通过直接流入脂质体中或脂蛋白(随后将胆固醇转移到脂质体)上，可动员斑块中的胆固醇。随着胆固醇从脂蛋白转运至脂质体中，脂蛋白可从斑块中接受更多的胆固醇。当从脂蛋白接受胆固醇时，胆固醇一般是从 HDL 转运。

该方法可用于治疗各种动物和各种血管的动脉粥样硬化以及其它 25 疾病和机体病症。尽管可用本发明的方法治疗不是人的灵长目动物、狗、猫、啮齿动物、马、母牛等，但所述动物一般指人。本发明的方法可治疗任何血管(例如主动脉、颈动脉(总、内和外)、冠状动脉、肠系膜动脉、肾动脉、髂动脉、腘动脉等)的动脉粥样硬化。同样，本

发明的方法可治疗静脉硬化或其中在静脉内膜或内层形成含有胆固醇或其它物质的斑块沉积的任何静脉病症。治疗的病人包括先前没有治疗的婴儿、儿童、少年、成人和老人或那些先前因胆固醇相关疾病治疗过的病人。本发明的方法也包括治疗手术前、期间或之后的患者，
5 和那些患有本文公开的具体疾病或机体病症和/或本文没有公开的其它疾病和病症的患者。在特别的实施方案中，该方法包括将本文描述的脂质体制剂给予患有以下的病症的患者：包括动脉粥样硬化、静脉硬化或在其中静脉的内膜或内层形成含有胆固醇或其它物质的斑块沉积的任何静脉病症的动脉硬化，急性冠脉综合征，包括稳定性心绞痛和不稳定性心绞痛的心绞痛，包括但不限于血管炎症和皮肤炎症的炎症或炎性疾病，充血性心力衰竭，冠心病(CHD)，高血压，冠状血管性室性心律失常(coronary ventricular arrhythmias)，室上性心律失常(supraventricular arrhythmias)，外周血管疾病，致命性心肌梗塞，非致命性心肌梗塞，包括心血管缺血的局部缺血，心肌休眠，短暂性缺血发作，与心血管疾病无关的局部缺血(包括缺血-再灌注损伤(例如由髋部手术、膝手术、器官移植或 PTCA 引起的损伤，冠脉再灌注，再狭窄，
10 围手术期(PCI)的局部缺血，再血管化需要减少，减小的梗塞面积，凝血障碍，血小板减少症，深静脉血栓形成，胰腺炎，非酒精性脂肪性肝炎(NASH)，糖尿病性神经病，视网膜病，疼痛性糖尿病性神经病，银屑病，严重的肢体缺血，跛行，阳痿，前列腺癌，高血脂症，高脂蛋白血症，低 α 脂蛋白血症，高甘油三酯血症，任何导致局部缺血病变的狭窄疾病，糖尿病(包括 I 型和 II 型)，鱼鳞癣(ichthyosis)，中风，易损性斑块，易损性斑块破裂，阿尔茨海默病，下肢溃疡，严重的冠脉缺血，淋巴瘤，白内障，内皮功能不全，黄瘤，终末器官功能紊乱，
15 血管疾病，吸烟和糖尿病引起的血管疾病，颈动脉和冠状动脉疾病，形成的斑块的消退和缩小，导致内皮损伤的复合外科手术，外科手术导致的内皮损伤，与血管疾病有关的发病，动脉腔溃疡，球囊血管成形术引起的再狭窄，以及亚临床表现的上述病症。
20
25

也可将本发明的脂质体制剂给予患者以提高 HDL 水平, 提高低 HDL 水平, 降低 LDL 水平, 降低高 LDL 水平, 暂时提高 LDL 水平, 降低甘油三酯水平, 提高或降低其它脂质水平, 提高斑块稳定性或降低斑块破裂的概率, 提高或降低血管舒张, 治疗或预防炎症, 治疗或预防炎性疾病或炎症反应, 加强或使平滑肌和血管内膜稳定, 刺激细胞外胆固醇流出以转运至肝脏, 调节免疫应答, 动员动脉粥样硬化性斑块的胆固醇和改善任何膜、细胞、组织、器官以及细胞外区域和/或结构(其中组成和/或功能性改善将是有利的)。本发明的组合物和方法也包括局部施用和伤口愈合。

本发明的方法也用于预防性治疗, 特别是防止侵袭性血管手术后恢复的患者出现复发或并发症。损害内皮的血管部位增加了发生动脉粥样硬化性斑块的危险性。因此, 例如冠脉血管成形术、血管旁路移植术和其它损害血管内皮层的手术等侵袭性血管手术, 可与本发明的方法联合使用。由于侵袭性手术损害了内皮, 因此在内皮愈合过程中, 所述脂质体可用于从病变的部位清除胆固醇并抑制或防止斑块扩大形成。

本发明的方法也可治疗高血脂症。将单独的脂质体或被结合至载脂蛋白 AI、载脂蛋白 AII 和载脂蛋白 E 的脂质体, 给予患有遗传性或继发性的低 α 脂蛋白血症、家族性混合性高血脂症和高胆固醇血症的患者, 是有效的治疗。

本发明的方法中使用的脂质体将由上述脂质组成。所述脂质一般于 37°C 时为液晶态。所述脂质一般包括一种或多种磷脂, 在一些情况中为磷脂酰胆碱或磷脂酰甘油, 尽管脂质体可由许多其它脂质组成, 其实例如上所述。

所述脂质体可经多种途径给药。例如, 可经口或肠胃外给予所述组合物。组合物一般经肠胃外、优选经静脉给药, 或肌内、皮下、腹膜内、动脉、鞘内、经淋巴管、血管给药。给药也可通过长期留置导管或急用放置的导管, 使用泵经静脉注入、用注射器经静脉注入或采

用注射器推进经静脉注入来完成。在其它的实施方案中，可舌下、口
颊、粘膜、局部、直肠或经皮给药。在一个特别的实施方案中，局部
给予本发明的组合物来预防或治疗炎症或帮助伤口愈合。在优选的实
施方案中，脂质体经静脉给药。通常将脂质体给至大的中央静脉(例如
5 上腔静脉或下腔静脉)，以便使高浓度溶液进入大容量并流动的血管
中。在血管手术前、期间或之后，脂质体可经动脉给药以便直接将高
浓度的脂质体释放到病变血管。在开放手术中，外科医生也可将脂质
体以局部方式直接给予血管。在一些情况中，可经口或经皮给予脂质
体。也可将脂质体加至血管支架(vascular stents)中，用于放置后长时间
10 持续释放。这对于冠状动脉再狭窄的血管成形术治疗特别有效。

在特别的实施方案中，本发明的脂质体制剂经静脉、优选通过输
液泵以以下大致速度给药：1-2ml/min, 2-3ml/min, 3-4ml/min, 4-5 ml/min,
5-6ml/min, 6-7ml/min, 7-8ml/min, 8-9ml/min, 9-10ml/min, 10-11ml/min,
11-12ml/min, 12-13ml/min, 13-14ml/min, 14-15ml/min, 15-16ml/min, 16-
15 17ml/min, 17-18ml/min, 18-19ml/min, 19-20ml/min, 20-30ml/min, 30-
40ml/min, 40-50ml/min, 50-60ml/min, 60-70ml/min, 70-80ml/min, 80-
90ml/min 或 90-100ml/min; 或其它预先确定的给药速度。在一个特别
优选的实施方案中，通过输液泵、通过注射泵、IV 滴注和/或快速滴注，
以约 10ml/min 的速度经静脉给予本发明的脂质体制剂。在另一个实施
20 方案中，本发明的脂质体制剂可经透析或血液分离机(apheresis machine)
给药。

在其它具体的实施方案中，经静脉输注或其它给药方式的脂质体
的浓度约为：1-10mg/ml, 10-20mg/ml, 20-30mg/ml, 30-40mg/ml, 40-
50mg/ml, 50-60mg/ml, 60-70mg/ml, 70-80mg/ml, 80-90mg/ml, 90-
25 100mg/ml, 100-110mg/ml, 110-120mg/ml, 120-130mg/ml, 130-140mg/ml,
140-150mg/ml, 150-160mg/ml, 160-170mg/ml, 170-180mg/ml, 180-
190mg/ml, 190-200mg/ml, 200-210mg/ml, 210-220mg/ml, 220-230mg/ml,
230-240mg/ml, 240-250mg/ml, 250-260mg/ml, 260-270mg/ml, 270-
280mg/ml, 280-290mg/ml, 290-300mg/ml, 300-310mg/ml, 310-320mg/ml,

320-330mg/ml, 330-340mg/ml, 340-350mg/ml, 350-360mg/ml, 360-370mg/ml, 370-380mg/ml, 380-390mg/ml 或 390-400mg/ml; 或其它预先确定的浓度。在一个优选的实施方案中, 经静脉输注的脂质体的浓度约为 200mg/kg。

5 本发明的方法包括将本发明的脂质体制剂在治疗性或预防性给予患有任何上述疾病或机体病症或任何其它疾病或机体病症的动物。脂质体的剂量可根据临床病症和接受治疗的患者或患者的体形而定。在具体的实施方案中, 本发明包括约 20mg/kg 至约 300mg/kg、50mg/kg 至约 200mg/kg 的剂量, 和/或在消除或降低不良反应的同时, 有病的患者可耐受的剂量。

10 在特别的实施方案中, 以 50mg/kg 和 300mg/kg 之间的单剂量或分剂量, 将本发明的脂质体给予患者。在个别优选的实施方案中, 以 100mg/kg 和 200mg/kg 之间并更优选在 150mg/kg 和 200mg/kg 之间的单剂量或分剂量, 将本发明的脂质体给予患者。在其他更特别的实施方案中, 以以下剂量的单剂量或分剂量将囊泡颗粒给予患者:

15 110mg/kg-120mg/kg, 120mg/kg-130mg/kg, 130mg/kg-140mg/kg, 140mg/kg-150mg/kg, 150mg/kg-160mg/kg, 160mg/kg-170mg/kg, 170mg/kg-180mg/kg, 180mg/kg-190mg/kg 或 190mg/kg-200mg/kg。在其它实施方案中, 以固定剂量或以下剂量给予患者脂质体: 0-1g, 1-2g, 2-

20 3g, 3-4g, 4-5g, 5-6g, 6-7g, 7-8g, 8-9g, 9-10g, 10-11g, 11-12g, 12-13g, 13-14g, 14-15g, 15-16g, 16-17g, 17-18g, 18-19g 或 19-20g。

 在具体的实施方案中, 以一个或多个以下大致间隔、以单剂量或分剂量给予上述剂量(或脂质体的其它剂量): 每天 1 次, 每 2 天 1 次, 每 3 天 1 次, 每 4 天 1 次, 每 5 天 1 次, 每 6 天 1 次, 每 7 天 1 次,

25 每 8 天 1 次, 每 9 天 1 次, 每 10 天 1 次, 每 11 天 1 次, 每 12 天 1 次, 每 13 天 1 次, 每 14 天 1 次, 每 2-3 周 1 次, 每 3-4 周 1 次, 每 4-5 周 1 次, 每 5-6 周 1 次, 每 6-7 周 1 次, 每 7-8 周 1 次, 每 2-3 个月 1 次, 每 3-4 个月 1 次, 每 4-5 个月 1 次, 每 5-6 个月 1 次, 每 6-7 个月 1 次,

每 7-8 个月 1 次, 每 8-9 个月 1 次, 每 9-10 个月 1 次, 每 10-11 个月 1 次, 每 11-12 个月 1 次, 每 1-2 年 1 次, 每 2-3 年 1 次, 每 3-4 年 1 次, 每 4-5 年 1 次; 或对于一个预先确定的治疗周期, 以预定的时间间隔给药。在一个特别优选的实施方案中, 一个疗程期间的给药间隔约为每周 1 次。

优选的一个疗程的治疗周期可从首次给药时间起持续约: 1 天, 2 天, 3 天, 4 天, 5 天, 6 天, 7 天, 1-2 周, 2-3 周, 3-4 周, 4-5 周, 5-6 周, 6-7 周, 7-8 周, 2-3 个月, 3-4 个月, 4-5 个月, 5-6 个月, 6-7 个月, 7-8 个月, 8-9 个月, 9-10 个月, 10-11 个月, 11-12 个月, 1-2 年, 2-3 年, 3-4 年和 4-5 年。

在某些实施方案中, 疗程可循环或间断进行, 其中将本发明的化合物和制剂给予患者一段限定的时间或直至副作用或副作用需要减少剂量或治疗中断一段特定的时间(休息期)。主治医师有权决定剂量减少、治疗中断或休息期限。休息期之后, 或这些副作用或其它副作用消除以后, 或经主治医师决定治疗可恢复(如果需要)。

在一个疗程前、期间或之后和/或在间断性或循环性疗程期间的各段时期, 可监控耐受性、安全性和有效性(包括但不限于胆固醇水平、肝酶、具体决定因子或标记的血液浓度和生理因子)。在优选的实施方案中, 通过成像技术(包括但不限于例如核磁共振成像(MRI)、血管内超声波和血流技术)可监控生理因子、血管变化、斑块稳定性、血管壁和其它标记。本领域已知的血液学检验可监控血液标记。该类监控期间或完成后, 治疗方案可作相应地调整[包括改变剂量、脂质体的大小或分布、给药速度、脂质体浓度、剂量数、间隔时间或治疗周期长度]。

另外, 本发明的脂质体可与其它药物、治疗药物或脂质控制治疗联合给予患者。例如, 本发明的脂质体可与以下的治疗药物同时给予: HMG-CoA 还原酶抑制剂, 氯贝特类药, 胆汁酸螯合剂, 烟酸和其它降高血脂药, 抗糖尿病药物和/或血糖控制药物, 抗炎药, 抗高血压药物, 抗凝药, Apo-AI 类似物和 Esperion Therapeutics Inc. 的 HDL 提高

剂，本领域已知的其它心血管药，以及它们的组合物。

5 在一个特别的实施方案中，本发明的脂质体与其它抗糖尿病药和/或血糖控制药物同时给予患有糖尿病的患者。在其它特别的实施方案中，给予脂质体来预防、治疗或处理患有炎症、炎症疾病的患者，或防止或降低炎症反应。在其它具体的实施方案中，将本发明的脂质体局部地施用于皮肤以治疗皮肤、皮下或局部炎症，或帮助伤口愈合。在另一个具体的实施方案中，将本发明的脂质体给予患者来预防、处理或治疗患有阿尔茨海默病的患者。在另一个具体的实施方案中，将本发明的脂质体给予患者以预防、处理或治疗患有动脉粥样硬化、静脉硬化或其中在血管的内膜或内层形成含有胆固醇或其它物质的斑块沉积的任何病症的患者。在另一个具体的实施方案中，将本发明的脂质体给予患者，以预防、处理或治疗患有包括非心血管性缺血的局部缺血的患者。在另一个具体的实施方案中，本发明的脂质体用于在非急需施行的可引起缺血再灌注病变的外科手术(例如髋部手术、膝手术、器官移植、PTCA)之前预处理患者。

15 在一个优选的实施方案中，一个疗程的治疗周期不超过 14 周。在其它特别优选的实施方案中，以 4-7 天间隔给予 5-200mg/kg 的脂质体，并且每个疗程给予总共 1-4、1-8 或 1-14 个剂量。在另一个特别的实施方案中，每周 1 次给予 5-200mg/kg 的脂质体约 4-16 周，优选约 10 周(总共 10 次治疗)。

20 在一个具体的实施方案中，将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体，单独应用或与其它抗硬化药物联合应用，以 100mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的速度，每 7 天总共 10 个剂量，给予患有动脉粥样硬化的患者。

25 在另一个具体的实施方案中，将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体，单独应用或与其它抗硬化药联合应

用，以 150mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的速度，每 7 天总共 12 个剂量，给予患有动脉粥样硬化的患者。

5 在另一个具体的实施方案中，将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体，单独应用或与其它抗硬化药物联合应用，以 200mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的速度，每 7 天总共 14 个剂量，给予患有动脉粥样硬化的患者。

10 在另一个实施方案中，将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体，单独应用或与其它心血管药物联合应用，以 100mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的速度，每 7 天总共 10 个剂量，给予患有心绞痛、充血性心力衰竭、冠心病、高血压或心律失常 (arrythmias) 的患者。

15 在另一个实施方案中，将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体，单独应用或与其它心血管药物联合应用，以 150mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的速度，每 7 天总共 12 个剂量，给予患有心绞痛、充血性心力衰竭、冠心病、高血压或心律失常 (arrythmias) 的患者。

20 在另一个实施方案中，将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体，单独应用或与其它心血管药物联合应用，以 200mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的速度，每 7 天总共 14 个剂量，给予患有心绞痛、充血性心力衰竭、冠心病、高血压或心律失常 (arrythmias) 的患者。

25 在另一个实施方案中，将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体，单独应用或与其它抗炎药物联合应用，以

100mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的速度, 每 7 天总共 10 个剂量, 给予患有炎症的患者。

5 在另一个实施方案中, 将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体, 单独应用或与其它抗炎药物联合应用, 以 150mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的速度, 每 7 天总共 12 个剂量, 给予患有炎症的患者。

10 在另一个实施方案中, 将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体, 单独应用或与其它抗炎药物联合应用, 以 200mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的速度, 每 7 天总共 14 个剂量, 给予患有炎症的患者。

15 在另一个实施方案中, 将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体, 单独应用或与抗缺血药物联合应用, 以 100mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的速度, 每 7 天总共 10 个剂量, 给予患有局部缺血的患者。

20 在另一个实施方案中, 将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体, 单独应用或与抗缺血药物联合应用, 以 150mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的速度, 每 7 天总共 12 个剂量, 给予患有局部缺血的患者。

25 在另一个实施方案中, 将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体, 单独应用或与抗缺血药物联合应用, 以 200mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的速度, 每 7 天总共 14 个剂量, 给予患有局部缺血的患者。

在另一个实施方案中, 将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$

50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体，单独应用或与升高血脂药、抗高脂蛋白血症药、抗低 α 脂蛋白血症药或抗高甘油三酯药联合应用，以 100mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的速度，每 7 天总共 10 个剂量，给予患有高

5 血脂症、高脂蛋白血症、低 α 脂蛋白血症、高甘油三酯症的患者。

在另一个实施方案中，将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体，单独应用或与升高血脂药、抗高脂蛋白血症药、抗低 α 脂蛋白血症药或抗高甘油三酯药联合应用，以 150mg/kg 的

10 剂量和 10ml/min 或更快的速度，每 7 天总共 12 个剂量，给予患有高

在另一个实施方案中，将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体，单独应用或与升高血脂药、抗高脂蛋白血症药、

15 抗低 α 脂蛋白血症药或抗高甘油三酯药联合应用，以 200mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的速度，每 7 天总共 14 个剂量，给予患有高

在另一个实施方案中，将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体，单独应用或其它抗糖尿病药和/或血糖控制药物和/或心血管药联合应用，以 100mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的

20 速度，每 7 天总共 10 个剂量，给予患有心血管疾病和糖尿病的患者。

在另一个实施方案中，将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$ 50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体，单独应用或其它抗糖尿病药和/或血糖控制药物和/或心血管药联合用药，以 150mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的

25 速度，每 7 天总共 12 个剂量，给予患有心血管疾病和糖尿病的患者。

在另一个实施方案中，将浓度为 50-200mg/ml 的具有 50-250nm $\pm$

50%之间、优选 100-140nm $\pm$ 50%之间、更优选 110-120nm $\pm$ 50%之间的平均直径的脂质体，单独应用或与其它抗糖尿病药和/或血糖控制药物和/或心血管药联合应用，以 200mg/kg 的剂量和 10ml/min 或更快的速度，每 7 天总共 14 个剂量，给予患有心血管疾病和糖尿病的患者。

5 给药方案也包括快速浓注给药或连续输注治疗(可包括先使用初始剂量，接着使用维持剂量)。在优选的实施方案中，治疗过程的剂量将不变。在其它优选的实施方案中，剂量将改变。在特别的实施方案中，脂质体制剂将只给予 1 次，在其它实施方案中，以多剂量连续给药，在其它实施方案中，以非连续的多剂量给药。通过本领域技术人员熟知的方法，可改变持续时间、治疗方案和给药方案。在治疗期间，
10 总游离胆固醇、总酯化胆固醇、HDL 胆固醇、LDL 胆固醇和 VLDL 胆固醇的血清测定，可用于评价并修正剂量和方案。随着斑块中胆固醇的动员，总血清胆固醇会升高。最好在治疗期间，总血清胆固醇和 HDL 胆固醇升高并且酯化胆固醇降低(或最小限度受影响)。用于不同的动物的脂质体剂量一般接近以人体重计量的剂量。用这些组合物和按照这些方法治疗的患者，可为任何年龄并可患有一种或多种上面列举的疾病或机体病症和/或其它疾病和病症。
15

实施例

20 下面提供的实施例用于说明，并不限制本发明。

实施例 1

给予动脉粥样硬化患者多剂量的 ETC-588 脂质体

25 进行一项多剂量研究来评价多剂量的 ETC-588 脂质体对患有动脉粥样硬化的病人的作用(ETC-588-003 研究)。使用输液泵经静脉注入 ETC-588 脂质体(200mg/ml)。以磷脂(PL)测定血浆中的 ETC-588。研究的剂量组如下：安慰剂(7 或 14 个剂量)，50mg/kg (14 个剂量)，100 mg/kg (7 个剂量)或 200mg/kg(7 个剂量)。以 4 天间隔(q4d)或 7 天间隔(q7d)给

药。总共有 42 位年龄在 44 岁和 76 岁之间(平均年龄为 63 ± 7 岁)的患者参加该项研究(男: 36 人, 女: 6 人)。患者的平均体重为 $87.7 \text{ kg} \pm 17.0 \text{ kg}$, 体重范围为 52.4 kg 至 147.7 kg。患者的平均基础 HDL-胆固醇水平为 $36 \pm 4 \text{ mg/dL}$, 患者的平均基础总胆固醇水平为 $182 \pm 36 \text{ mg/dL}$ 。另外, 以下百分比的患者有心血管病史: 冠状动脉疾病: 98%; 外周动脉疾病: 2%; 冠状动脉旁路移植术: 57%; 稳定性心绞痛: 29%; 不稳定性心绞痛: 19%。

通过标准的自动化方法测定总的未酯化胆固醇(UC)和 PL。按照随机表, 将患者分入治疗组。在每个时间点采用描述性统计方法总结安全性和耐受性、实验室数据、生命体征和副作用并用于分析给药前后的变化。采用描述性统计方法总结药物代谢动力学和药效学的测定结果。在参加研究的 42 例患者中, 实际上有 36 例接受了药物, 有 2 例患者由于副作用或副作用以外的原因在完成所有剂量以前退出了研究。报告发生任何副作用(AE)的患者人数共有 26 例(72%), 并且报告发生严重副作用(SAE)的患者人数共有 5 例(14%)。进行安全性分析的患者人数为 36, 但只有 33 例进行药物代谢动力学和药效学的分析(有 3 例患者的药物代谢动力学数据不完全)。也检查了 ETC-588 对内皮功能(血管结构)、炎性标记物和核磁共振成像(MRI)的影响。

结果见图 2 和图 3。结果表明全部剂量的 ETC-588 发生了程度不同的胆固醇动员。下面是各组报道的副作用和严重副作用:

剂量组

副作用 分类 (AE)	安慰剂 (n=6)	50 mg/kg q7d (n=4)	50 mg/kg q4d (n=4)	100 mg/kg q7d (n=5)	100 mg/kg q4d (n=5)	200 mg/kg q7d (n=5)	200 mg/kg q4d (n=7)
任 何 AE	4 (66.7%)	4 (100%)	2 (50.0%)	5 (100%)	3 (60.0%)	2 (40.0%)	6 (85.7%)
任 何 SAE	0	0	1 (25.0%)	0	1 (25.0%)	1 (20.0%)	2 (28.6%)
任何治 疗停止	0	0	0	0	0	0	0

下表总结了患者中最常见的副作用(一种副作用至少发生一次)。治疗医师认为严重副作用(膀胱颈挛缩、胸痛、高血糖症或糖尿病恶化)与 ETC-588 的给药无关:

5

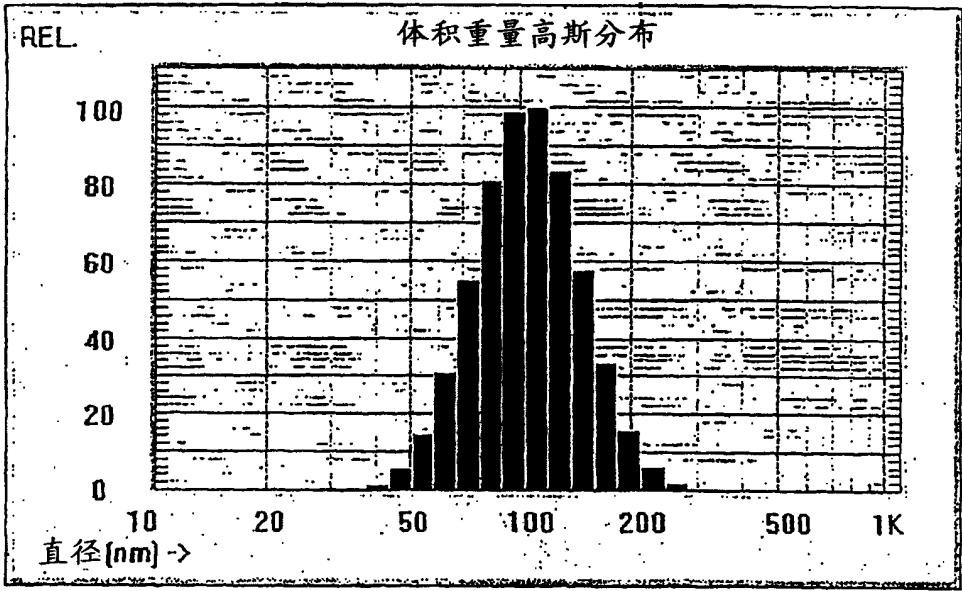
副作用(发生 总数)	安慰剂 n=6	50 mg/kg n=8	100 mg/kg n=10	200 mg/kg n=12
头痛(23)	2	1	5	4
头晕(6)	1	3	0	0
疲劳(6)	0	0	2	3
恶心(5)	0	2	0	1
血压升高 (4)	0	2	1	0
胸痛(3)	0	1	1	0

总之, 根据 ETC-588-003 研究的结果认为 ETC-588 脂质体以剂量依赖性的方式动员胆固醇, 并且 200mg/kg 或以下的剂量一般是安全的并且可很好的耐受。而且如上所证实, 对于 ETC-588 脂质体而言, 由于 7 天给药使血清中的磷脂和未酯化的胆固醇清除最理想, 所以 7 天给药间隔明显优于 4 天给药间隔。另外, 7 天给药间隔可优于 4 天给药间隔是因为可减少或防止副作用和严重副作用。

10

- 例如，如上表所证实，当以 7 天间隔给予 200mg/kg 时，任何副作用的百分率为 40%，任何严重副作用的百分率为 20%。相反，当以 4 天间隔给予 200mg/kg 时，任何副作用的百分率为 85.7%，任何严重副作用的百分率为 28.6%。同样，当以 7 天间隔给予 100mg/kg 时，“任何严重副作用”的百分率为 0%。相反，当以 4 天间隔给予 100mg/kg 时，“任何严重副作用”的百分率为 25%。同样，当以 7 天间隔给予 50mg/kg 时，“任何严重副作用”的百分率为 0%。但是，当以 4 天间隔给予 50mg/kg 时，“任何严重副作用”的百分率为 25%。
- 5

A



TEST.006

平均直径 [nm] X 变异系数 = 标准偏差 [nm]

110.1 0.332 36.542

图 1A

B

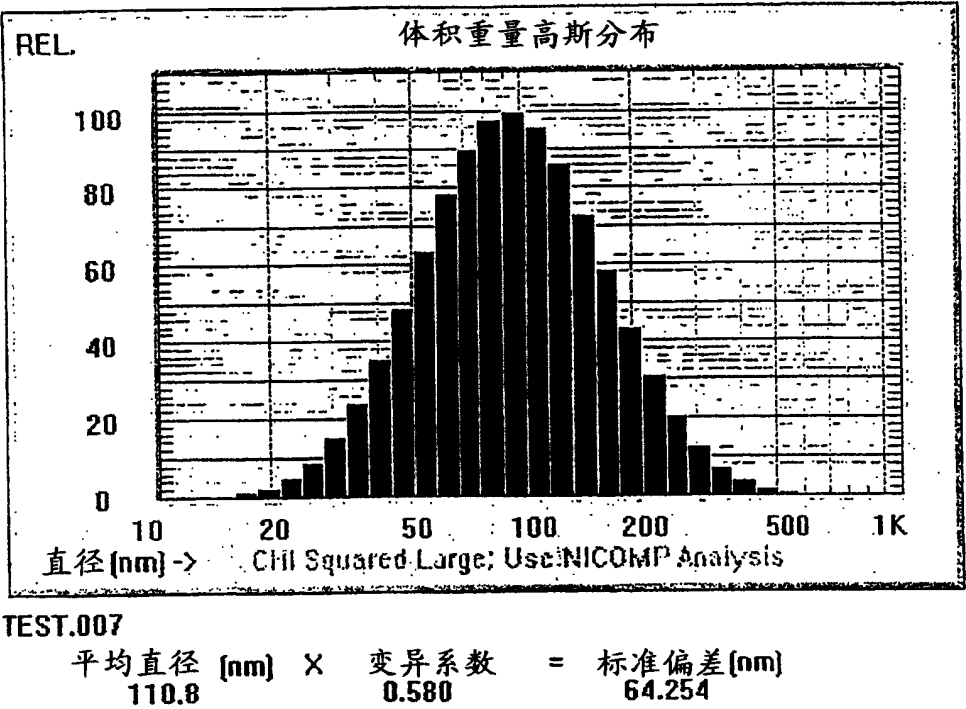


图 1B

C

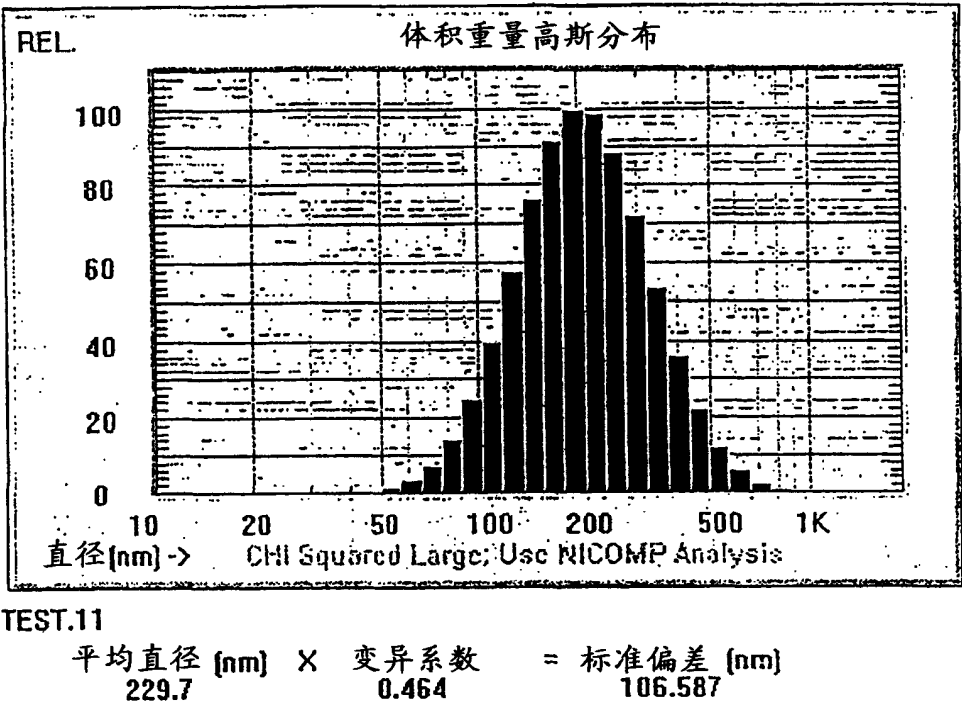
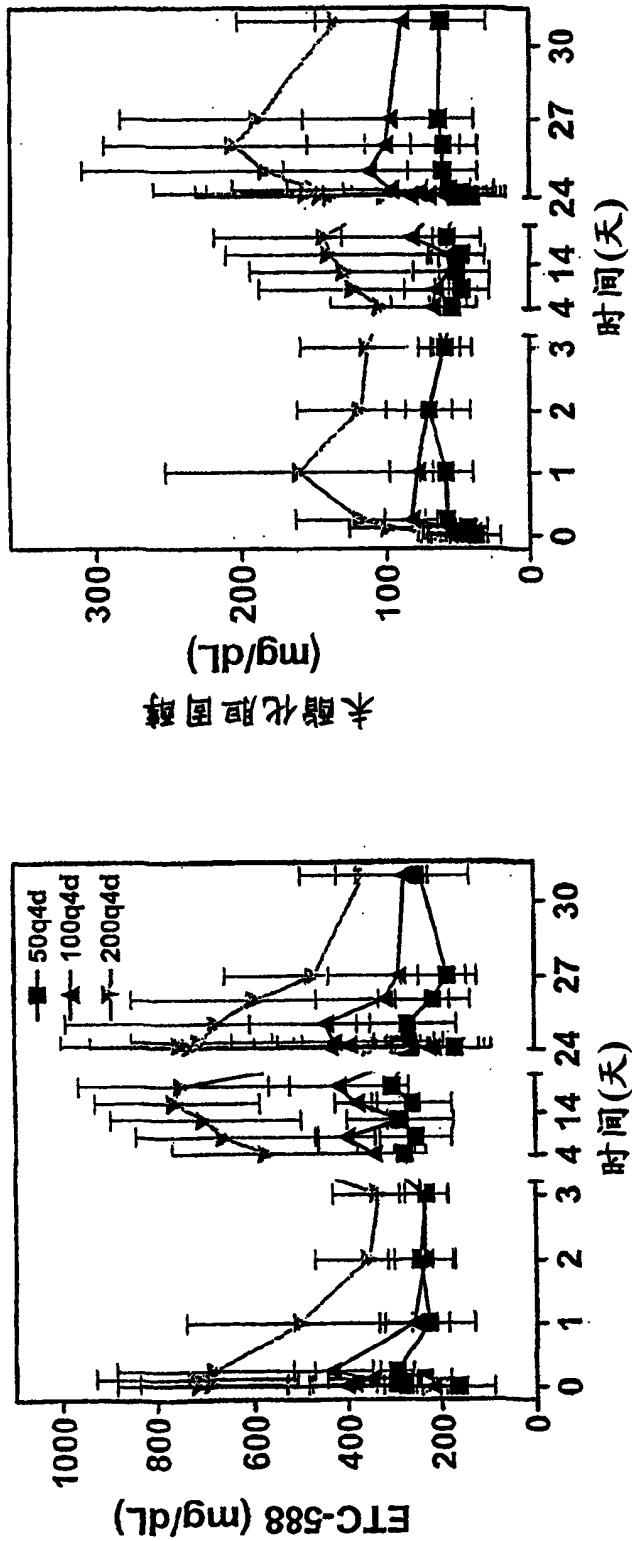


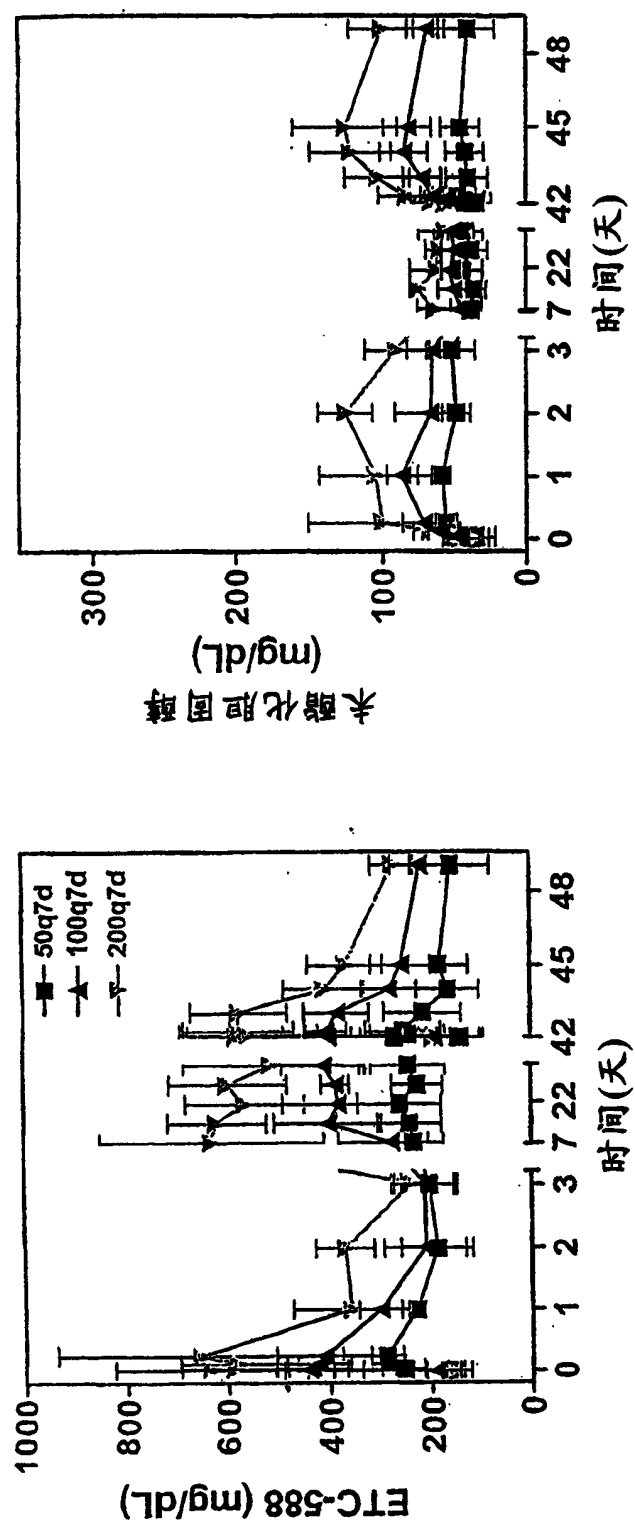
图 1C



没有从ETC-588水平中减去基础磷脂值。
图示值(4-20天)表示给药1小时后收集的数据。

ETC-588-003：每4天给予的剂量

图 2



证实全部剂量均发生胆固醇动员。
图示值(7-35天)表示给药1小时后收集的数据。
对于剂量间的消除，7天给药频率是最佳的。
ETC-588-003：每7天给予的剂量

图 3