



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114601799 B

(45) 授权公告日 2023. 09. 26

(21) 申请号 202210282704.7

(22) 申请日 2018.08.21

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114601799 A

(43) 申请公布日 2022.06.10

(30) 优先权数据
62/548,429 2017.08.22 US

(62) 分案原申请数据
201880053772.8 2018.08.21

(73) 专利权人 莫比斯医疗有限公司
地址 以色列特拉维夫

(72) 发明人 Y·巴伦霍兹 Y·多乐夫
K·土尔曼 G·萨拉法蒂
M·埃尔-赫什科维茨

(74) 专利代理机构 北京汉智嘉成知识产权代理
有限公司 11682

专利代理师 金洁 郇春艳

(51) Int.Cl.
A61K 9/127 (2006.01)
A61K 31/685 (2006.01)
A61K 47/10 (2006.01)
A61K 47/22 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61L 27/50 (2006.01)
A61L 27/54 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61K 31/047 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 101541308 A, 2009.09.23
US 2002142048 A1, 2002.10.03

审查员 杜俊

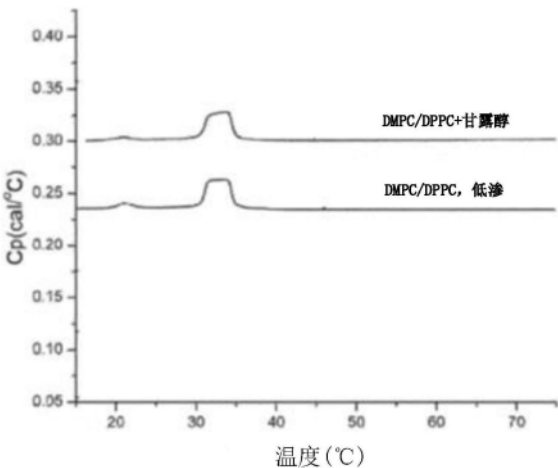
权利要求书2页 说明书30页 附图8页

(54) 发明名称

用于关节润滑的脂质体制剂

(57) 摘要

本发明涉及用于关节润滑的脂质体制剂,具体而言,本发明提供了一种用于润滑关节的药物组合物,所述药物组合物包含非离子张度剂和脂质体,所述非离子张度剂包含多元醇,所述脂质体包含至少一层膜,所述至少一层膜包含至少一种选自甘油磷脂 (GPL) 和鞘磷脂 (SM) 的磷脂 (PL),所述GPL具有两条相同或不同的C₁₂-C₁₈烃链,所述鞘磷脂具有C₁₂-C₁₈烃链,所述药物组合物基本上不含另外的药物活性剂,其中所述至少一层膜具有在约20℃至约39℃范围内的相变温度,并且所述关节具有高于所述相变温度的关节温度。



1. 一种药物组合物,其由以下组成:

脂质体,所述脂质体由磷脂组成,所述磷脂为1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DMPC)和1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DPPC)的组合,其中所述脂质体是具有至少一层膜且相变温度在20℃至39℃范围内的多层囊泡(MLV);

非离子张度剂,所述非离子张度剂包含多元醇,所述多元醇选自甘露醇、右旋糖、乳糖、海藻糖及其组合;和

所述脂质体悬浮于其中的选自缓冲液或水的流体介质;

其中所述药物组合物不含任何另外的药物活性剂;

其中所述药物组合物被配制用于关节内给药;其中所述药物组合物为哺乳动物关节提供润滑,所述哺乳动物关节的温度高于所述相变温度;

其中所述多元醇的存在量足以提供在200至600mOsm范围内的所述组合物的重量渗克分子浓度,并改善所述组合物的润滑功效;并且

其中所述多元醇以占所述药物组合物总重量的0.05% (w/w) 至10% (w/w) 范围内的重量百分数存在。

2. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述脂质体由DMPC和DPPC的组合组成,并且其中DMPC以1% (w/w) 至10% (w/w) 范围内的重量百分数存在,并且DPPC以2% (w/w) 至12% (w/w) 范围内的重量百分数存在。

3. 根据权利要求2所述的药物组合物,其中DMPC与DPPC的摩尔百分数比在25:75至70:30的范围内。

4. 根据权利要求3所述的药物组合物,其中DMPC与DPPC的摩尔百分数比为45:55。

5. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述脂质体与所述多元醇之间的重量比在6:1至2:1的范围内。

6. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述药物组合物以具有30mg至550mg的DPPC、20mg至450mg的DMPC,和20mg至350mg的多元醇的剂量单位提供。

7. 根据权利要求6所述的药物组合物,其中所述剂量单位含有0.5ml至10ml的药物组合物。

8. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述缓冲液是组氨酸缓冲液。

9. 根据权利要求1所述的药物组合物,具有5~8的pH。

10. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述脂质体具有在0.5μm至10μm之间的平均直径。

11. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述至少一层膜具有30℃至35℃的相变温度。

12. 根据权利要求1所述的药物组合物,用于治疗哺乳动物关节中的疼痛和/或减少局部刺激。

13. 根据权利要求12所述的药物组合物,其中所述药物组合物被配制用于通过选自关节内注射、关节镜给药和外科手术给药的途径给药。

14. 根据权利要求13所述的药物组合物,其中所述药物组合物被配制在0.5ml至10ml的剂量单位中。

15. 根据权利要求7或14所述的药物组合物,

其中所述多元醇以0.5至100mg/ml范围内的浓度存在于所述剂量单位中；并且
其中所述磷脂以10mg/ml至500mg/ml范围内的浓度存在于所述剂量单位中。

16. 一种用于治疗患有关节障碍的受试者的关节中的疼痛或刺激的药物组合物，该药物组合物由以下组成：

脂质体，所述脂质体由选自1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (DMPC) 与1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (DPPC) 的组成的磷脂组成，其中所述脂质体是具有至少一层膜且相变温度在20℃至39℃范围内的多层囊泡 (MLV)；

非离子张度剂，所述非离子张度剂包含多元醇，所述多元醇选自甘露醇、右旋糖、乳糖、海藻糖及其组合；和

所述脂质体悬浮于其中的选自缓冲液或水的流体介质；

其中所述药物组合物不含任何另外的药物活性剂；

其中所述药物组合物被配制在0.5ml至10ml的剂量单位中；

其中所述磷脂以10mg/ml至500mg/ml范围内的浓度存在于所述剂量单位中；并且

其中所述多元醇以0.5至100mg/ml范围内的浓度存在于所述药物组合物中。

17. 根据权利要求1所述的药物组合物，其通过包括以下步骤的方法制备：

(a) 将DPPC和DMPC溶解在乙醇中，

(b) 将步骤(a)的乙醇溶液转移到包含所述张度剂的组氨酸缓冲液中，并混合以使脂质水合并形成脂质体的分散体，

(c) 将分散体离心以除去乙醇，并在4℃进行冷缓冲液置换，和

(d) 重复离心和冷缓冲液置换过程，直到分散体中的重量渗克分子浓度为300mOsm。

18. 根据权利要求17所述的药物组合物，其中乙醇溶液中DPPC和DMPC的浓度为180mM。

19. 根据权利要求17所述的药物组合物，其中所述方法包括将步骤(a)的乙醇溶液置于60℃的水浴中20分钟。

20. 根据权利要求17所述的药物组合物，其中步骤(b)中组氨酸缓冲液的pH为6.5。

21. 根据权利要求17所述的药物组合物，其中步骤(d)包括至少5个离心循环。

22. 根据权利要求21所述的药物组合物，其中所述方法包括在第一循环中以3000rpm离心40分钟，并且在随后的循环中以4000rpm离心30分钟。

23. 权利要求1所述的药物组合物在制备用于治疗患有关节障碍的受试者的关节中的疼痛或刺激的药物中的应用，

其中所述药物不含任何另外的药物活性剂；

其中所述药物被配制用于关节内给药；其中所述药物为哺乳动物关节提供润滑，所述哺乳动物关节的温度高于所述相变温度；

其中所述多元醇的存在量足以提供所述药物在200至600mOsm范围内的重量渗克分子浓度，并改善所述药物的润滑功效；并且

其中所述多元醇以占所述药物总重量的0.05% (w/w) 至10% (w/w) 范围内的重量百分比存在。

用于关节润滑的脂质体制剂

[0001] 本申请为国际申请日2018年8月21日、申请号201880053772.8、发明名称为“用于关节润滑的脂质体制剂”的中国专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及脂质体药物组合物及其用于关节润滑的治疗用途,其中磷脂本身是唯一的药物活性剂。

背景技术

[0003] 关节功能障碍影响了很大一部分群体。充分的生物润滑是适当的关节活动性的先决条件,这对于预防和改善关节的退行性改变至关重要。

[0004] 常见的关节功能障碍是骨关节炎(OA),仅在美国患病人数就超过2000万。目前的治疗集中在减轻关节的超负荷、物理疗法以及减轻疼痛和炎症,通常通过全身或关节内施用药物。

[0005] 关节软骨形成促进骨运动的光滑、坚韧、弹性且柔性的表面。滑膜空间充满了高粘性滑液(SF),该滑液含有透明质酸(HA)和糖蛋白润滑素。HA是D-葡萄糖醛酸和D-N-乙酰葡萄糖胺的聚合物,其在OA的炎症状态下高度不稳定并降解(Nitzan,D.W.,Kreiner,B.&Zeltser,R.TMJ lubrication system:its effect on the joint function,dysfunction,and treatment approach.Compend.Contin.Educ.Dent.25,437-444(2004);Yui,N.,Okano,T.&Sakurai,Y.Inflammation responsive degradation of crosslinked hyaluronic acid gels.J.Control.Release 22,105-116(1992))。润滑素由~44%的蛋白质、~45%的碳水化合物和~11%的磷脂(PL)组成,磷脂中~41%是磷脂酰胆碱(PC)、~27%是磷脂酰乙醇胺(PE),~32%是鞘磷脂。这些PL被称为“表面活性磷脂”(SAPL)。

[0006] 在关节负荷下发生边界润滑,其中润滑剂分子层将相对的表面分开。已经提出了几种不同的物质作为关节软骨中的天然边界润滑剂,包括HA和润滑素。Pickard等人以及Schwartz和Hills证实,被定义为润滑素的表面活性磷脂的磷脂促进关节软骨中的关节润滑(Pickard,J.E.,Fisher,J.,Ingham,E.&Egan,J.Investigation into the effects of proteins and lipids on the frictional properties of articular cartilage.Biomaterials 19,1807-1812(1998);Schwarz,I.M.&Hills,B.A.Surface-active phospholipid as the lubricating component of lubricin.Br.J.Rheumatol.37,21-26(1998))。Hills及其同事证实,OA关节具有SAPL缺陷,并且将表面活性磷脂1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DPPC)注射到OA患者的关节中导致持续长达14周的活动性改善且没有严重副作用(Vecchio,P.,Thomas,R.&Hills,B.A.Surfactant treatment for osteoarthritis.Rheumatology(Oxford) 38,1020-1021(1999);Gudimelta,O.A.,Crawford,R.&Hills,B.A.Consolidation responses of delipidized cartilage.Clin.Biomech.19,534-542(2004))。在另一项研究中,利用独特的低温软骨保存技术,Watanabe等人在健康软骨表面上观察到脂质球状囊泡,认为这些囊

泡在润滑中起主要作用(Watanabe,M.等人,Ultrastructural study of upper surface layer in rat articular cartilage by "in vivo cryotechnique" combined with various treatments.Med.Elect.Microsc.33,16-24(2000))。Kawano等人(Forsey等人使用动物模型已经表明,使用高分子量HA(~2000kDa)与DPPC的组合改善了后者的润滑能力(Kawano,T.等人,Mechanical effects of the intraarticular administration of high molecular weight hyaluronic acid plus phospholipid on synovial joint lubrication and prevention of articular cartilage degeneration in experimental osteoarthritis.Arthritis Rheum.48,1923-1929(2003);Forsey,R.W.等人,The effect of hyaluronic acid and phospholipid based lubricants on friction within a human cartilage damage model.Biomaterials 27,4581-4590(2006))。

[0007] 美国专利6,800,298公开了用于润滑哺乳动物关节的含有脂质(特别是磷脂)的基于葡聚糖的水凝胶组合物。

[0008] 美国专利申请2005/0123593涉及用于关节内施用以治疗骨关节炎的包含包封在脂质体递送系统中的糖胺聚糖的组合物。

[0009] 美国专利8,895,054涉及利用脂质体润滑关节和/或预防软骨磨损的方法,所述脂质体基本上由具有在约20℃至约39℃范围内的相变温度的磷脂膜组成。

[0010] 基于透明质酸作为活性成分的用于预防和治疗骨关节炎的可商购获得的药物组合物尤其包括Antalvisc®、Kartilage®和Kartilage® Cross。所述药物组合物除了HA之外还包含甘露醇。已发现甘露醇具有降低氧化应激下HA降解的能力,因此可用于显著增加注射的HA的关节内停留时间并改善基于HA的关节内注射的粘性补充效果(M.Rinaudo、B.Lardy、L.Grange和T.Conrozier,Polymers 2014,6,1948-1957)。一项比较由与高浓度甘露醇混合的中等分子量(MW)透明质酸和单独的高MW HA(Bio-HA)制成的关节内粘性补充剂在膝骨关节炎患者中的安全性和功效两者的临床研究表明,就六个月内的疼痛缓解和功能改善而言,含甘露醇的粘性补充剂的有效性不亚于其比较物Bio-HA,且没有引起更多的副作用(Conrozier、Thierry等人,The Knee,2016,23(5),842-848)。Eymard等人(Eymard F、Bossert M、Lecurieux R、Maillet B、Chevalier X等人,(2016)Addition of Mannitol to Hyaluronic Acid may Shorten Viscosupplementation Onset of Action in Patients with Knee Osteoarthritis:Post-Hoc Analysis of A Double-blind,Controlled Trial.J Clin Exp Orthop 2:21)和Conrozier,T.等人(Role of high concentrations of mannitol on the stability of hyaluronan in an oxidative stress model induced by xanthine/xanthine oxidase Osteoarthritis and Cartilage,第22卷,S478)还研究了甘露醇对基于HA的粘性补充剂组合物功效的影响。Ferraciacoli等人已经表明,滑液的紫外线照射可能是一种用于筛选药物的自由基清除效果的有用方法,因为紫外线照射会导致产生自由基,从而引起黏度下降。对人滑液粘度的保护是由超氧化物歧化酶、甘露醇和过氧化氢酶介导的(G.F.Ferraccioli,U.Ambanelli,P.Fietta,N.Giudicelli,C.Giori,Decrease of osteoarthritic synovial fluid viscosity by means of u.v.illumination:A method to evaluate the free radical scavenging action of drugs,Biochemical Pharmacology,30,(13)1981,1805-1808)。

[0011] 国际专利申请W02012/001679涉及用于减轻或减少关节刺激或用于减少现有关节炎恶化的可注射药物制剂,其被配制用于关节内注射,包含活性多元醇组分,该多元醇活性组分是木糖醇。对于预防关节刺激,将木糖醇的功效与甘露醇和甘油的功效进行了比较,并且公开了甘露醇或甘油的溶液在通过关节内注射向兔子的膝盖注射时不防止刺激。

[0012] 美国专利申请2014/0038917涉及呈凝胶的形式在受试者的关节内关节的关节内空间中施用的无菌和可注射的水性制剂,该水性制剂包含:透明质酸或其盐之一,以及浓度等于或高于7mg/ml的多元醇(优选山梨醇)。

[0013] 国际专利申请W02003/000191涉及用于治疗关节炎的组合物和方法,该组合物包含一种或多种糖胺聚糖与一种或多种透明质酸酶抑制剂的组合,其中这些透明质酸酶抑制剂可选自硫酸乙酰肝素、硫酸葡聚糖和硫酸木糖,并且其中透明质酸可与透明质酸酶抑制剂共包封在脂质体中。

[0014] 已知可注射的HA组合物具有各种副作用,诸如运动困难、肌肉疼痛或僵硬、关节疼痛和关节肿胀或发红。**Antalvisc®**的一些副作用包括注射后注射关节的短暂疼痛和肿胀。

[0015] 因此,对关节润滑的有效药物组合物的需求仍未得到满足,这种药物组合物将提供持久的作用,同时降低与关节内施用相关的副作用的可能性。

发明内容

[0016] 本发明提供了一种用于引入到滑膜关节中以提供润滑以便减少疼痛和刺激并改善或恢复关节活动性的脂质体制剂。该脂质体制剂特别适于关节内递送。本发明的药物组合物包含脂质体作为活性成分,该脂质体包含相变温度略低于生理温度的磷脂膜。因此,当施用于滑膜关节时,脂质体处于液体无序(LD)相。该药物组合物还包含张度剂,该张度剂是多元醇。张度剂被用于通过防止施用部位的渗透压休克来减少局部刺激。

[0017] 本发明部分基于令人惊讶的发现,即与离子张度剂相比,添加到脂质体组合物中的非离子张度剂提供增强的润滑。特别地,向脂质体制剂中添加甘露醇改善了组合物的润滑功效,而氯化钠的使用导致脂质体的润滑功效降低。鉴于以下事实,甘露醇的作用甚至更令人惊讶,即该药物组合物不包含除磷脂本身之外的任何另外的药物活性剂,并且特别地不含透明质酸,已知透明质酸的活性通过添加多元醇而增强。与使用氯化钠相比,添加不同的非离子多元醇,特别是包括甘油,也导致脂质体制剂的润滑能力增强,尽管程度不太显著。

[0018] 因此,根据第一方面,本发明提供了一种药物组合物,该药物组合物包含张度剂和脂质体,该张度剂包含多元醇;该脂质体包含至少一层膜,该至少一层膜包含至少一种选自甘油磷脂(GPL)和鞘磷脂(SM)的磷脂(PL),所述GPL具有两条相同或不同的C₁₂-C₁₈烃链,所述鞘磷脂具有C₁₂-C₁₈烃链,其中该至少一层膜具有在约20℃至约39℃范围内的相变温度;其中该药物组合物基本上不含另外的药物活性剂。该药物组合物用于润滑具有高于相变温度的温度的哺乳动物关节。根据一些实施方案,张度剂是非离子的。根据进一步的实施方案,多元醇选自甘露醇和甘油。根据一个具体的实施方案,张度剂包含甘露醇。

[0019] 另一方面,提供了一种用于润滑哺乳动物的关节的方法,该方法包括:向关节的腔中施用药物组合物,该药物组合物包含张度剂和脂质体,该张度剂包含多元醇;该脂质体包含至少一层膜,该至少一层膜包含至少一种选自甘油磷脂(GPL)和鞘磷脂(SM)的磷脂(PL),

所述GPL具有两条相同或不同的 C_{12} - C_{18} 烃链,所述鞘磷脂具有 C_{12} - C_{18} 烃链,其中该至少一层膜具有在约20℃至约39℃范围内的相变温度;其中该药物组合物基本上不含另外的药物活性剂,其中该关节具有高于相变温度的关节温度。根据一些实施方案,张度剂是非离子的。根据进一步的实施方案,多元醇选自甘露醇和甘油。根据一个具体的实施方案,张度剂包含甘露醇。

[0020] 在另一方面,提供了一种用于治疗患有关节障碍的受试者的关节中的疼痛或刺激的方法,该方法包括通过向关节的腔中施用药物组合物来润滑所述受试者的关节,该药物组合物包含张度剂和脂质体,该张度剂包含多元醇;该脂质体包含至少一层膜,该至少一层膜包含至少一种选自甘油磷脂(GPL)和鞘磷脂(SM)的磷脂(PL),所述GPL具有两条相同或不同的 C_{12} - C_{18} 烃链,所述鞘磷脂具有 C_{12} - C_{18} 烃链,其中该至少一层膜具有在约20℃至约39℃范围内的相变温度;其中该药物组合物基本上不含另外的药物活性剂,并且其中该关节具有高于相变温度的关节温度。根据一些实施方案,张度剂是非离子的。根据进一步的实施方案,多元醇选自甘露醇和甘油。根据一个具体的实施方案,张度剂包含甘露醇。

[0021] 在另一方面,本发明提供了张度剂和脂质体在制备用于润滑具有高于所述相变温度的温度的哺乳动物关节的药物组合物中的用途,该张度剂包含多元醇,该脂质体基本上由至少一层膜组成,该至少一层膜包含至少一种选自甘油磷脂(GPL)和鞘磷脂(SM)的磷脂(PL),所述GPL具有两条相同或不同的 C_{12} - C_{18} 烃链,所述鞘磷脂具有 C_{12} - C_{18} 烃链,其中该至少一层膜具有在约20℃至约39℃范围内的相变温度,其中该药物组合物基本上不含另外的药物活性剂。根据一些实施方案,张度剂是非离子的。根据进一步的实施方案,多元醇选自甘露醇和甘油。根据一个具体的实施方案,张度剂包含甘露醇。

[0022] 在一些实施方案中,多元醇不包括木糖醇。

[0023] 在一些实施方案中,多元醇以占药物组合物干重的约5% (w/w) 至约50% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在一些实施方案中,甘露醇以占药物组合物干重的约20% (w/w) 至约40% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在一些实施方案中,甘油以占药物组合物干重的约5% (w/w) 至约25% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在一些实施方案中,磷脂以占药物组合物干重的约50% (w/w) 至约95% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。

[0024] 在一些实施方案中,药物组合物还包含脂质体分散或悬浮在其中的流体介质。在进一步的实施方案中,多元醇分散或溶解在所述流体介质中。在更进一步的实施方案中,甘露醇溶解在所述流体介质中。流体介质可选自缓冲液和水。在某些实施方案中,所述缓冲液包含组氨酸缓冲液或磷酸盐缓冲盐水。每种可能性代表本发明的单独实施方案。在某些实施方案中,所述缓冲液包含组氨酸缓冲液。

[0025] 在一些实施方案中,药物组合物为包含悬浮在流体介质中的脂质体的药学上可接受的悬浮液形式。

[0026] 根据一些实施方案,脂质体内部的多元醇浓度与脂质体外的介质中的多元醇浓度基本上相同。

[0027] 在一些实施方案中,多元醇以占药物组合物总重量的约0.05% (w/w) 至约10% (w/w) 的重量百分数存在于药物组合物中。在进一步的实施方案中,多元醇的重量百分数在约0.1% (w/w) 至约7% (w/w) 的范围内。在更进一步的实施方案中,多元醇的重量百分数在约

1% (w/w) 至约5% (w/w) 的范围内。

[0028] 在一些实施方案中,甘露醇以占药物组合物总重量的约0.1% (w/w) 至约7% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在进一步的实施方案中,甘露醇的重量百分数在约1% (w/w) 至约7% (w/w) 的范围内。

[0029] 在一些实施方案中,甘油以占药物组合物总重量的约0.05% (w/w) 至约5% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在进一步的实施方案中,甘油的重量百分数在约0.5% (w/w) 至约5% (w/w) 的范围内。

[0030] 在一些实施方案中,药物组合物具有在约200至约600mOsm范围内的重量渗克分子浓度(osmolality)。在某些实施方案中,药物组合物具有约300mOsm的重量渗克分子浓度。在某些此类实施方案中,药物组合物是等渗的。

[0031] 在一些实施方案中,药物组合物的pH为约5-8。

[0032] 在一些实施方案中,脂质体与多元醇之间的重量比在约15:1至约1:1的范围内。在进一步的实施方案中,脂质体与甘露醇之间的重量比在约10:1至约1:1的范围内。在另外的实施方案中,脂质体与甘油之间的重量比在约15:1至约2:1的范围内。

[0033] 根据一些实施方案,脂质体具有多于一层膜。在某些此类实施方案中,脂质体是多层囊泡(MLV)。

[0034] 在一些实施方案中,GPL包含两条酰基链。在进一步的实施方案中,所述链选自由以下项构成的组: C_{14} 、 C_{15} 、 C_{16} 和 C_{18} 酰基链。在某些实施方案中,所述烃链中的至少一者是饱和和烃链。在进一步的实施方案中,两条烃链均为饱和的。

[0035] 在一些实施方案中,PL是磷脂酰胆碱(PC)。在进一步的实施方案中,该至少一层膜包含1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DMPC)。

[0036] 在一些实施方案中,该至少一层膜还包含选自1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DPPC)、1,2-双十五酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(C15)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)和N-棕榈酰基-D-赤型-鞘氨醇基磷酸胆碱(D-赤型C16)的PC。在一些实施方案中,在该至少一层膜中DMPC的摩尔百分数在约10%至约75%的范围内。

[0037] 在一些实施方案中,该至少一层膜包含DMPC和DPPC。在进一步的实施方案中,DMPC与DPPC的摩尔百分数比在约25:75至约70:30的范围内。在某些实施方案中,DMPC与DPPC的摩尔百分数比为约45:55。

[0038] 在一些实施方案中,该至少一层膜包含DMPC和C15。在进一步的实施方案中,DMPC与C15的摩尔百分数比在约25:75至约45:55的范围内。

[0039] 在一些实施方案中,该至少一层膜包含DMPC和DSPC。在进一步的实施方案中,DMPC与DSPC的摩尔百分数比为约75:25。

[0040] 在一些实施方案中,该至少一层膜包含DMPC和D-赤型C16。在进一步的实施方案中,DMPC与D-赤型C16的摩尔百分数比在约10:90至约25:75的范围内。

[0041] 在一些实施方案中,该至少一层膜包含C15。

[0042] 根据本发明一些实施方案的药物组合物中磷脂的总浓度在约50至约300mM的范围内。在某些实施方案中,磷脂的总浓度在约100mM至约200mM的范围内。

[0043] 在一些实施方案中,磷脂以占药物组合物总重量的约0.5% (w/w) 至约30% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在进一步的实施方案中,磷脂的重量百分数在

约3% (w/w) 至约30% (w/w) 的范围内。

[0044] 在一些实施方案中,脂质体具有在约0.5 μ m至约10 μ m之间的平均直径。

[0045] 在某些实施方案中,该至少一层膜具有约30℃至约35℃的相变温度。

[0046] 在一些实施方案中,关节的温度在所述相变温度以上约1-15℃的范围内。

[0047] 在一些目前优选的实施方案中,药物组合物基本上不含透明质酸。

[0048] 在某些实施方案中,脂质体基本上由至少一层包含至少一种磷脂(PL)的膜组成,如上文详述。

[0049] 在一些实施方案中,药物组合物包含MLV脂质体、甘露醇和组氨酸缓冲液,该MLV脂质体的膜基本上由DMPC和DPPC组成。在进一步的实施方案中,DMPC以占药物组合物总重量的约1% (w/w) 至约10% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在更进一步的实施方案中,DPPC以占药物组合物总重量的约2% (w/w) 至约12% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在其他实施方案中,甘露醇以占药物组合物总重量的约1% (w/w) 至约7% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。

[0050] 在一些实施方案中,关节的润滑用于治疗关节障碍或由其引起的症状。在进一步的实施方案中,关节障碍选自关节炎、骨关节炎、类风湿性关节炎患者中的骨关节炎、创伤性关节损伤、关节交锁、运动损伤、关节穿刺后状态、关节镜手术、开放性关节手术和关节置换。每种可能性代表本发明的单独实施方案。在某些实施方案中,药物组合物用于减轻骨关节炎患者的膝关节疼痛。

[0051] 在一些实施方案中,润滑用于防止关节磨损。

[0052] 根据具体的实施方案,药物组合物是包含脂质体悬浮液的肠胃外药物组合物。药物组合物可以是适于通过关节内注射、关节镜施用或通过外科手术施用的形式。每种可能性代表本发明的单独实施方案。

[0053] 根据本发明的各种实施方案的药物组合物可以约0.5ml至约10ml的剂量施用。在进一步的实施方案中,药物组合物以约1ml至约6ml的剂量施用。在某些实施方案中,药物组合物以约3ml的剂量施用。

[0054] 在一些实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约20mg至约350mg的甘露醇。在某个实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约120mg的甘露醇。

[0055] 在一些实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约50mg至约1000mg的磷脂。在一些实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约50mg至约500mg的DPPC。在一些实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约40mg至约300mg的DMPC。

[0056] 根据下文给出的详细描述,本发明的进一步实施方案和适用范围将变得显而易见。然而,应当理解,详细描述和具体示例虽然指示了本发明的优选实施方案,但仅以举例的方式给出,因为根据该详细描述,在本发明的精神和范围内的各种改变和修改对于本领域技术人员将变得显而易见。

附图说明

[0057] 图1示出了包含DMPC/DPPC的等渗和低渗脂质体组合物的原始差示扫描量热法(DSC)热分析图。

[0058] 图2示出了包含C15的等渗和低渗脂质体组合物的原始差示扫描量热法(DSC)热分

析图。

[0059] 图3是示出由DSC扫描评估的包含不同磷脂混合物的脂质体的S0至LD相变温度范围的柱状图。灰色区域表示20℃-39℃的温度范围。

[0060] 图4示出了在基于蛋白质的液体中进行磨损测试之前和之后的软骨针的轮廓。软骨下骨出现的位置用箭头标记。由于轮廓被移位以获得更好的可视性,因此该比例尺未显示有效高度。

[0061] 图5A至图5B示出了在基于蛋白质的液体中进行磨损测试之前(图5A)和之后12小时(图5B)的软骨针#9的光学图像。除了外软骨环之外,软骨下骨出现在软骨穿破的地方(由箭头指示)。

[0062] 图6示出了在脂质体组合物中进行磨损测试之前和之后的软骨针的轮廓。由于轮廓被移位以获得更好的可视性,因此该比例尺未显示有效高度。

[0063] 图7A至图7B示出了在脂质体组合物中进行磨损测试之前(图7A)和6小时之后(图7B)的软骨针#14的光学图像。

[0064] 图8A至图8B示出了在脂质体组合物中进行磨损测试之前(图8A)和之后12小时(图8B)的软骨针#17的光学图像。

[0065] 图9A至图9B示出了基于蛋白质的组合物相对于脂质体组合物的质量损失(图9A)和高度损失(图9B)的图形比较。误差条是对测量精度的粗略估计。

[0066] 图10A至图10B示出了在基于蛋白质的液体(图10A)和脂质体组合物(图10B)中进行磨损测试之前和之后的软骨表面的轮廓。

[0067] 图11示出了对于在脂质体组合物中进行测试的针13-18在磨损测试之前($t=0$)和之后(6h和12h)的粗糙度参数 R_a (●)、 R_k (◆)、 R_{pk} (▲)和 R_{vk} (▼),其中 R_a 是粗糙度轮廓的算术平均偏差, R_k 是核心粗糙度深度(不包括最高峰(R_{pk})和下谷(R_{vk})的值的粗糙度深度)。

具体实施方式

[0068] 本发明提供了用于润滑哺乳动物的关节的脂质体制剂,所述润滑提供减少的疼痛和刺激并允许改善或恢复关节活动性和减少关节磨损。该药物组合物还可用于治疗、管理或预防关节障碍或病症。根据本发明原理的药物组合物基于脂质体组合物,其具有脂质体膜的限定的相变温度,所述温度低于关节的温度。

[0069] 如本文所用,术语“相变温度”在一些实施方案中是指脂质体发生固体有序(S0)至液体无序(LD)相变的温度。脂质体的相变温度可通过差示扫描量热法(DSC)来评估。可进行检查以评估相变温度的DSC热分析图的各种参数包括 T_{on} (其表示S0-LD相变开始时的温度)和 T_{off} (其表示在加热扫描期间S0-LD相变结束时的温度),以及 T_p 和 T_m ,它们分别表示在预转变(T_p)和主转变(T_m)期间热容量发生最大变化的温度。

[0070] 多层囊泡脂质体由各种具有两条 C_{12} - C_{16} 烃链的PC组成,其中先前显示它们在略高于(例如,约1℃、2℃、3℃、5℃、8℃、11℃和有时高达约15℃)S0至LD相变温度的温度下是有效的软骨润滑剂和减磨剂(如美国专利8,895,054中详述的,其内容全文以引用方式并入本文)。本发明的药物组合物还包含非离子张度剂,其增加了组合物的容积渗克分子浓度(osmolality)。

[0071] 令人惊讶地发现,与包含离子张度剂(特别是氯化钠盐)的药物组合物相比,包含非离子多元醇的药物组合物的润滑效率明显更高。与氯化钠相比,多元醇的积极作用是完全无法预料的,因为本发明的药物组合物不是基于透明质酸,而透明质酸的活性已知是通过添加多元醇来增强的。

[0072] 发明人还表明,甘露醇的添加不会改变脂质体膜的相变温度。不希望受理论或作用机理的束缚,可假设多元醇添加的令人惊讶的效果与脂质体的相变温度不直接相关,脂质体的相变温度先前已被报道是提供其润滑能力的基本特征。

[0073] 因此,根据本发明的一个方面,提供了一种药物组合物,该药物组合物包含张度剂和脂质体,该张度剂包含多元醇;该脂质体包含至少一种选自甘油磷脂(GPL)或鞘脂(SPL)的磷脂(PL)并且具有在约20℃至约39℃范围内的相变温度,其中该药物组合物基本上不含另外的药物活性剂。在一些实施方案中,该药物组合物用于润滑哺乳动物关节。

[0074] 在另一方面,提供了一种用于润滑哺乳动物的关节的方法,该方法包括:向关节的腔中施用药物组合物,该药物组合物包含:张度剂,该张度剂包含多元醇;脂质体,该脂质体包含至少一种选自甘油磷脂(GPL)或鞘脂(SPL)的具有在约20℃至约39℃范围内的相变温度的磷脂(PL),其中该药物组合物基本上不含另外的药物活性剂。

[0075] 在另一方面,提供了一种用于治疗患有关节障碍的受试者的关节中的疼痛或刺激的方法,该方法包括通过向关节的腔中施用药物组合物来润滑所述受试者的关节,该药物组合物包含:张度剂,该张度剂包含多元醇;脂质体,该脂质体包含至少一种选自甘油磷脂(GPL)或鞘脂(SPL)的具有在约20℃至约39℃范围内的相变温度的磷脂(PL),其中该药物组合物基本上不含另外的药物活性剂。

[0076] 在另一方面,本发明提供了张度剂和脂质体在制备用于润滑哺乳动物关节的药物组合物中的用途,该张度剂包含多元醇,该脂质体包含至少一种选自甘油磷脂(GPL)或鞘脂(SPL)的具有在约20℃至约39℃范围内的相变温度的磷脂(PL),其中该药物组合物基本上不含另外的药物活性剂。

[0077] 如本文所用,术语“张度剂”在一些实施方案中是指适于在关节内注射的药物组合物中使用的张度剂。

[0078] 在一些实施方案中,张度剂是非离子的。在一些实施方案中,多元醇是线性多元醇。在一些实施方案中,多元醇是环状多元醇。适用于本发明药物组合物的非离子多元醇的非限制性示例包括甘露醇、甘油、右旋糖、乳糖和海藻糖。

[0079] 在一些目前优选的实施方案中,多元醇是甘露醇。甘露醇是众所周知且低成本的赋形剂,其经常被配制者用于各种类型的药物组合物中。如上文所述,甘露醇已与透明质酸组合用于关节润滑的药物组合物中。甘露醇也被报道在脂质体的低温保存中是有用的(Talsma H, van Steenberg MJ, Saleminck PJ, Crommelin DJ, Pharm Res. 1991, 8(8): 1021-6)。

[0080] 在一些实施方案中,张度剂包含甘油。

[0081] 在一些实施方案中,药物组合物包含多元醇的组合,即甘露醇和甘油的组合。药物组合物可还包括多元醇与另外的张度剂的组合。

[0082] 在一些实施方案中,多元醇不包括木糖醇。

[0083] 需要强调的是,根据一些目前优选的实施方案,张度剂没有包封在脂质体内。如本

文所用,术语“包封的”在一些实施方案中是指脂质体内的张度剂的浓度显著高于脂质体外的介质中的张度剂的浓度。术语“在脂质体内部”应理解为涵盖脂质体的至少一种内部水相。术语“浓度”可包括渗透浓度。如本文所用,术语“显著更高”在一些实施方案中是指浓度差异为至少约90%。在一些实施方案中,多元醇没有包封在脂质体内。在进一步的实施方案中,甘露醇没有包封在脂质体内。在另外的实施方案中,甘油没有包封在脂质体内。

[0084] 根据进一步的实施方案,脂质体内部的张度剂的浓度与脂质体外部的介质中的张度剂的浓度基本上相同。如本文所用,术语“基本上相同”在一些实施方案中是指浓度差异小于约15%。在进一步的实施方案中,术语“基本上相同”是指浓度差异小于约10%、小于约5%、小于约2.5%或小于约1%。每种可能性代表本发明的单独实施方案。

[0085] 根据进一步的实施方案,脂质体内部的多元醇的浓度与脂质体外部的介质中的多元醇的浓度基本上相同。根据更进一步的实施方案,脂质体内部的甘露醇浓度与脂质体外部的介质中的甘露醇浓度基本上相同。根据其他实施方案,脂质体内部的甘油浓度与脂质体外部的介质中的甘油浓度基本上相同。

[0086] 在一些实施方案中,脂质体未被冷冻干燥。在进一步的实施方案中,在施用于关节之前,脂质体未被冷冻干燥和/或融化。

[0087] 在一些实施方案中,药物组合物还包含流体介质。在一些实施方案中,脂质体分散或悬浮在所述流体介质中。在进一步的实施方案中,张度剂溶解或分散在所述流体介质中。在进一步的实施方案中,甘露醇或甘油溶解在所述流体介质中。在一些实施方案中,药物组合物为包含悬浮在流体介质中的脂质体的药学上可接受的悬浮液形式。

[0088] 还提供了包含根据上文各种实施方案的药物组合物并且还包含流体介质的药学上可接受的悬浮液。

[0089] 在一些实施方案中,多元醇以占药物组合物干重的约5% (w/w) 至约50% (w/w)、或约10% (w/w) 至约40% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在某些实施方案中,多元醇以占药物组合物干重的约30% (w/w) 的重量百分数存在于药物组合物中。在另外的实施方案中,多元醇以占药物组合物干重的约15% (w/w) 的重量百分数存在于药物组合物中。

[0090] 在一些实施方案中,甘露醇以占药物组合物干重的约10% (w/w) 至约50% (w/w)、或约20% (w/w) 至约50% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在进一步的实施方案中,甘露醇以占药物组合物干重的约30% (w/w) 的重量百分数存在于药物组合物中。

[0091] 在一些实施方案中,甘油以占药物组合物干重的约5% (w/w) 至约35% (w/w)、或约5% (w/w) 至约25% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在进一步的实施方案中,甘油以占药物组合物干重的约15% (w/w) 的重量百分数存在于药物组合物中。

[0092] 在一些实施方案中,形成脂质体的磷脂以占药物组合物干重的约50% (w/w) 至约95% (w/w)、或约60% (w/w) 至约85% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在进一步的实施方案中,磷脂油以占药物组合物干重的约70% (w/w) 的重量百分数存在于药物组合物中。在进一步的实施方案中,磷脂油以占药物组合物干重的约85% (w/w) 的重量百分数存在于药物组合物中。

[0093] 如本文所用,术语“干重”在一些实施方案中是指不包括流体介质的药物组合物的重量。在进一步的实施方案中,术语“干重”是指不包括水的药物组合物的重量。

[0094] 在一些实施方案中,本发明的组合物是药学上可接受的。如本文所用,术语“药学上可接受的”在一些实施方案中是指安全的并且提供用于本发明的有效量的活性成分的期望施用途径的适当递送的任何制剂。该术语也指缓冲制剂的使用,其中根据化合物的稳定性和施用途径,pH被保持在pH 4.0至pH 9.0范围内的特定期望值。

[0095] 因此,流体介质可选自缓冲液、水和盐溶液。在一些实施方案中,流体介质包括缓冲液。在某些实施方案中,所述缓冲液包含组氨酸缓冲液或磷酸盐缓冲盐水。每种可能性代表本发明的单独实施方案。组氨酸的浓度可在约0.5mg/ml至约10mg/ml的范围内。在某些实施方案中,组氨酸的浓度为约2mg/ml。在一些实施方案中,组氨酸的浓度为约1mM至约50mM。在某些实施方案中,组氨酸的浓度为约10mM。组氨酸可以溶解的盐酸或乙酸盐的形式存在于组合物中。在某些实施方案中,药物组合物还包含痕量的无机酸,例如盐酸。

[0096] 药物组合物的pH可在约5至约8的范围内。在一些实施方案中,pH范围在约6至约7之间。在某些实施方案中,药物组合物的pH为约6.5。

[0097] 在一些实施方案中,药物组合物中多元醇的浓度在约0.5至约100mg/ml的范围内。在进一步的实施方案中,多元醇的浓度在约1至约70mg/ml的范围内。在更进一步的实施方案中,多元醇的浓度在约2.5至约60mg/ml的范围内。在其他实施方案中,多元醇的浓度在约5至约50mg/ml的范围内。在更进一步的实施方案中,多元醇的浓度在约30至约50mg/ml的范围内。在某些实施方案中,多元醇的浓度在约5至约30mg/ml的范围内。

[0098] 在一些实施方案中,药物组合物中甘露醇的浓度在约1mg/ml至约70mg/ml的范围内。在进一步的实施方案中,甘露醇的浓度在约10mg/ml至约70mg/ml的范围内。在更进一步的实施方案中,甘露醇的浓度在约10mg/ml至约50mg/ml的范围内。在某些实施方案中,甘露醇的浓度为约40mg/ml。在另外的实施方案中,甘露醇的浓度为约20mg/ml。

[0099] 在一些实施方案中,药物组合物中甘油的浓度在约0.5mg/ml至约50mg/ml的范围内。在进一步的实施方案中,甘油的浓度在约1mg/ml至约40mg/ml的范围内。在更进一步的实施方案中,甘油的浓度在约5mg/ml至约30mg/ml的范围内。在某些实施方案中,甘油的浓度为约20mg/ml。在另外的实施方案中,甘油的浓度为约10mg/ml。

[0100] 在一些实施方案中,药物组合物中多元醇的浓度在约50至约500mM的范围内。在进一步的实施方案中,多元醇的浓度在约100至约400mM的范围内。在更进一步的实施方案中,多元醇的浓度在约200至约300mM的范围内。多元醇可选自甘露醇和甘油。

[0101] 在一些实施方案中,多元醇以占药物组合物总重量的约0.05% (w/w) 至约10% (w/w)、约0.1% (w/w) 至约7% (w/w)、约0.5% (w/w) 至约10% (w/w) 或约1% (w/w) 至约5% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在某些实施方案中,多元醇的重量百分数为约4% (w/w)。在另外的实施方案中,多元醇的重量百分数为约2% (w/w)。

[0102] 在一些实施方案中,甘露醇以占药物组合物总重量的约0.1% (w/w) 至约7% (w/w)、约0.5% (w/w) 至约10% (w/w) 或约1% (w/w) 至约7% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在某些实施方案中,甘露醇的重量百分数为约4% (w/w)。

[0103] 在一些实施方案中,甘油以占药物组合物总重量的约0.05% (w/w) 至约5% (w/w)、或约0.5% (w/w) 至约5% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在某些实施方案中,甘油的重量百分数为约2% (w/w)。

[0104] 如本文所用,术语“总重量”在一些实施方案中是指包含流体介质的药物组合物的

重量。在进一步的实施方案中,术语“总重量”是指药学上可接受的悬浮液的重量。

[0105] 在一些实施方案中,药物组合物具有在约200至约600mOsm范围内的重量渗克分子浓度。在进一步的实施方案中,药物组合物具有在约250至约500mOsm范围内的重量渗克分子浓度。在进一步的实施方案中,药物组合物具有在约250至约400mOsm范围内的重量渗克分子浓度。在某些实施方案中,药物组合物具有约300mOsm的重量渗克分子浓度。在某些此类实施方案中,药物组合物是等渗的。

[0106] 在一些实施方案中,脂质体与多元醇之间的重量比在约30:1至约1:2的范围内。在进一步的实施方案中,脂质体与多元醇之间的重量比在约15:1至约2:1的范围内。在更进一步的实施方案中,脂质体与多元醇之间的重量比在约10:1至约2:1的范围内。在其他实施方案中,脂质体与多元醇之间的重量比在约6:1至约2:1的范围内。在另外的实施方案中,脂质体与多元醇之间的重量比在约10:1至约6:1的范围内。

[0107] 在一些实施方案中,脂质体与甘露醇之间的重量比在约10:1至约1:1的范围内。在进一步的实施方案中,脂质体与甘露醇之间的重量比在约6:1至约2:1的范围内。在某些实施方案中,脂质体与甘露醇之间的重量比为约4:1。

[0108] 在一些实施方案中,脂质体与甘油之间的重量比在约15:1至约2:1的范围内。在进一步的实施方案中,脂质体与甘油之间的重量比在约12:1至约2:1的范围内。在更进一步的实施方案中,脂质体与甘油之间的重量比在约10:1至约6:1的范围内。

[0109] 在一些实施方案中,可通过使用无机酸或碱来调节药物组合物的pH。合适的无机碱的非限制性示例包括氢氧化钠和氢氧化钾。每种可能性代表本发明的单独实施方案。

[0110] 根据本发明的一些实施方案,GPL包含磷酸胆碱头基(磷脂酰胆碱,基于PC的脂质)或磷酸甘油头基(磷脂酰甘油,基于PG的脂质),并且SPL是神经酰胺(携带磷酸胆碱的N-酰基鞘氨醇)头基,也称为N-酰基鞘氨醇-磷酸胆碱(基于SM的脂质)。

[0111] PC和SM是具有阳离子胆碱和阴离子二酯磷酸酯部分(构成磷酸胆碱头基)的两性离子磷脂。PC和PG的疏水部分包括2个烃(例如酰基和烷基)链。SM也具有两条疏水性烃链,其中一条是鞘氨醇类碱本身的链,另一条是N-酰基链。烃链高于12个碳原子的PC、SM和PG的形状均为圆柱形,因为它们的填充参数在0.74-1.0范围内。它们形成脂质双层,其在S0至LD相变温度以上变得高度水合并起泡以形成脂质囊泡(脂质体)。PC和PG脂质体双层可以是固体有序(S0)相,或液体无序(LD)相。S0至LD相之间的转变涉及吸热的、一级相变,称为主相变。 T_m 是在S0至LD相变期间热容变化发生最大变化的温度。 T_m 和PL的S0至LD相变的温度范围尤其取决于PL烃链的组成。在LD相(而不是S0相)中,带电荷的磷酸胆碱和磷酸甘油头基是高度水合的。

[0112] 在一些实施方案中,术语“相变温度”是指 T_m 。在其他实施方案中,术语“相变温度”是指S0至LD相变的温度范围。

[0113] 还应当指出的是,PG和SM具有与对应PC(相同长度的取代烃链)相似的 T_m 。例如,1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸甘油(DMPG)的 T_m 与DMPC(即23°C)的 T_m 相同,并且1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸甘油(DPPG)或N-棕榈酰SM的 T_m 与DPPC(即41°C)的 T_m 相同。因此,尽管以下实施方案主要利用基于PC的脂质,但根据本发明的PL也可以是基于PG或SM的脂质。

[0114] 根据本发明的原理,可使用两种或多种PL的混合物(例如两种不同的PC、PC与PG、两种不同的PG、两种SM、PC或PG与SM等),只要形成的混合物在原位(例如在健康或功能障碍

关节的关节区域)处于LD状态。

[0115] 在一些具体实施方案中,脂质体包含PC。在进一步具体的实施方案中,脂质体包含两种不同PC的组合。在其他具体实施方案中,脂质体包含PC和SM的组合。

[0116] 在一些实施方案中,脂质体的特征在于它们具有至少一层膜,该至少一层膜包含至少一种选自具有两条相同或不同的 C_{12} - C_{18} 烃链的甘油磷脂(GPL)和具有 C_{12} - C_{18} 烃链的鞘脂(SPL)的磷脂(PL)。发生固体有序(SO)至液体无序(LD)相变的相变温度在约20℃至约39℃的温度范围内。脂质体用于润滑关节温度高于相变温度的关节。因此,脂质体在关节内处于LD相。

[0117] 应当指出的是,上述条件是累积的,即选择脂质体中所含的PL(单一PL或PL与另外PL的组合),以使脂质体具有在约20℃至约39℃之间的SO-LD相变温度。

[0118] GPL或SPL可具有烷基、烯基或酰基 C_{12} 至 C_{18} 烃链。对于GPL,两条链可相同或不同。在一些实施方案中,GPL具有 C_{12} - C_{16} 烃链。在另外的实施方案中,SPL具有 C_{12} - C_{16} 烃链。

[0119] 一个具体实施方案涉及包含具有带至少一条 C_{14} 酰基链的GPL或SPL的脂质体的药物组合物。另一个具体实施方案涉及包含具有带至少一条 C_{15} 酰基链的GPL或SPL的脂质体的药物组合物。另一个具体实施方案涉及包含具有 C_{14} 、 C_{15} 、 C_{16} 和 C_{18} 酰基链中至少一者的GPL的药物组合物。另一个具体实施方案涉及包含具有带 C_{16} 酰基链的SPL的脂质体的药物组合物。另外的实施方案涉及包含上述脂质体中的任一种的组合物。

[0120] 在一些实施方案中,至少一条 C_{12} - C_{18} 或 C_{12} - C_{16} 疏水链为饱和的。在进一步的实施方案中, C_{12} - C_{18} 和 C_{12} - C_{16} 疏水链均为饱和的。

[0121] 在一个实施方案中,所述 C_{12} - C_{18} 或 C_{12} - C_{16} 疏水链为不饱和的。

[0122] 根据本发明的原理可存在于脂质体中的磷脂的非限制性示例包括1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DMPC, $T_m \sim 24^\circ\text{C}$); 1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱(DPPC, $T_m 41.4^\circ\text{C}$); 1,2-双十五酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱($C15$, $T_m 33.0^\circ\text{C}$); 1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱(DSPC), $T_m 55^\circ\text{C}$); 和N-棕榈酰-D-赤型-鞘氨醇磷酸胆碱(D-赤型 $C16$, $T_m 41.0^\circ\text{C}$)。各种基于PC的脂质的 T_m 值可见于“Thermotropic Phase Transitions of Pure Lipids in Model Membranes and Their Modifications by Membrane Proteins”, John R. Silvius, Lipid-Protein Interactions, John Wiley&Sons, Inc., New York, 1982和Lipid Thermotropic Phase Transition Data Base-LIPIDAT以及Marsh (1990)中。

[0123] 根据一些实施方案,当使用两种或更多种PL的混合物时,设计它们之间的摩尔比,使得当将药物组合物施用于关节时,组合的 T_m 提供LD相的脂质体。在进一步的实施方案中,选择摩尔比以提供具有在约20℃至约39℃范围内的相变温度的脂质体。

[0124] 在一些实施方案中,脂质体包含DMPC。在进一步的实施方案中,脂质体基本上由DMPC组成。在更进一步的实施方案中,脂质体的至少一层膜基本上由DMPC组成。在另外的实施方案中,基本上由DMPC组成的脂质体包括张度剂,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的张度剂的浓度基本上相同。在进一步的实施方案中,基本上由DMPC组成的脂质体包括多元醇,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的多元醇的浓度基本上相同。在更进一步的实施方案中,基本上由DMPC组成的脂质体包括甘露醇,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的甘露醇的浓度基本上相同。

[0125] 在一些实施方案中,药物组合物包含脂质体,该脂质体包含DMPC和另外的PC的组合。在一些实施方案中,药物组合物包含脂质体,该脂质体包含DMPC和SPM的组合。

[0126] 在一些实施方案中,脂质体膜中DMPC的摩尔百分数在约5%至约100%的范围内。在进一步的实施方案中,脂质体膜中DMPC的摩尔百分数在约5%至约80%的范围内。在进一步的实施方案中,脂质体膜中DMPC的摩尔百分数在约10%至约75%、约15%至约70%、约20%至约65%、约25%至约60%、约30%至约55%、约35%至约50%、约5%至约15%、约20%至约30%、约5%至约30%、约40%至约50%、或约70%至约80%的范围内。每种可能性代表本发明的单独实施方案。在一些示例性实施方案中,脂质体膜中DMPC的摩尔百分数为约10%。在其他示例性实施方案中,脂质体膜中DMPC的摩尔百分数为约25%。在进一步的示例性实施方案中,脂质体膜中DMPC的摩尔百分数为约45%。在另外的示例性实施方案中,脂质体膜中DMPC的摩尔百分数为约75%。

[0127] 在一些实施方案中,脂质体包含DMPC和DPPC的组合。在进一步的实施方案中,脂质体基本上由DMPC和DPPC组成。在更进一步的实施方案中,脂质体的至少一层膜基本上由DMPC和DPPC组成。在另外的实施方案中,基本上由DMPC和DPPC组成的脂质体包括张度剂,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的张度剂的浓度基本上相同。在进一步的实施方案中,基本上由DMPC和DPPC组成的脂质体包括多元醇,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的多元醇的浓度基本上相同。在更进一步的实施方案中,基本上由DMPC和DPPC组成的脂质体包括甘露醇,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的甘露醇的浓度基本上相同。

[0128] 在一些实施方案中,DMPC与DPPC的摩尔百分数比在约25:75至约70:30的范围内。在进一步的实施方案中,DMPC与DPPC的摩尔百分数比在约30:70至约65:25、约35:65至约60:30或约40:60至约55:45的范围内。每种可能性代表本发明的单独实施方案。在某些实施方案中,DMPC与DPPC的摩尔百分数比为约45:55。在另外的实施方案中,DMPC与DPPC的摩尔百分数比为约25:75。

[0129] 在一些实施方案中,包含DMPC和DPPC的組合的脂质体的相变温度在约33℃至约37℃之间的范围内。

[0130] 在一些实施方案中,脂质体包含DMPC和C15的组合。在进一步的实施方案中,脂质体基本上由DMPC和C15组成。在更进一步的实施方案中,脂质体的至少一层膜基本上由DMPC和C15组成。在另外的实施方案中,基本上由DMPC和C15组成的脂质体包括张度剂,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的张度剂的浓度基本上相同。在进一步的实施方案中,基本上由DMPC和C15组成的脂质体包括多元醇,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的多元醇的浓度基本上相同。在更进一步的实施方案中,基本上由DMPC和C15组成的脂质体包括甘露醇,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的甘露醇的浓度基本上相同。

[0131] 在一些实施方案中,DMPC与C15的摩尔百分数比在约15:85至约55:45的范围内。在进一步的实施方案中,DMPC与C15的摩尔百分数比在约25:75至约45:55的范围内。在某些实施方案中,DMPC与C15的摩尔百分数比为约45:55。在另外的实施方案中,DMPC与C15的摩尔百分数比为约25:75。

[0132] 在一些实施方案中,包含DMPC和C15的組合的脂质体的相变温度在约29℃至约31

°C之间的范围内。

[0133] 在一些实施方案中,该至少一层膜包含DMPC和DSPC。在进一步的实施方案中,脂质体基本上由DMPC和DSPC组成。在更进一步的实施方案中,脂质体的至少一层膜基本上由DMPC和DSPC组成。在另外的实施方案中,基本上由DMPC和DSPC组成的脂质体包括张度剂,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的张度剂的浓度基本上相同。在进一步的实施方案中,基本上由DMPC和DSPC组成的脂质体包括多元醇,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的多元醇的浓度基本上相同。在更进一步的实施方案中,基本上由DMPC和DSPC组成的脂质体包括甘露醇,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的甘露醇的浓度基本上相同。

[0134] 在一些实施方案中,DMPC与DSPC的摩尔百分数比为约75:25。

[0135] 在一些实施方案中,包含DMPC和DSPC的組合的脂质体的相变温度为约27°C。

[0136] 在一些实施方案中,脂质体包含DMPC和D-赤型C16的組合。在进一步的实施方案中,脂质体基本上由DMPC和D-赤型C16组成。在更进一步的实施方案中,脂质体的至少一层膜基本上由DMPC和D-赤型C16组成。在另外的实施方案中,基本上由DMPC和D-赤型C16组成的脂质体包括张度剂,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的张度剂的浓度基本上相同。在进一步的实施方案中,基本上由DMPC和D-赤型C16组成的脂质体包括多元醇,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的多元醇的浓度基本上相同。在更进一步的实施方案中,基本上由DMPC和D-赤型C16组成的脂质体包括甘露醇,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的甘露醇的浓度基本上相同。

[0137] 在一些实施方案中,DMPC与D-赤型C16的摩尔百分数比在约5:95至约50:50的范围内。在进一步的实施方案中,DMPC与D-赤型C16的摩尔百分数比在约10:90至约45:55、约10:90至约40:60、约10:90至约35:65、约10:90至约30:70或约10:90至约25:75的范围内。每种可能性代表本发明的单独实施方案。在一些实施方案中,DMPC与D-赤型C16的摩尔百分数比在约5:95至约50:50的范围内。在一些示例性实施方案中,DMPC与D-赤型C16的摩尔百分数比为约10:90。在其他示例性实施方案中,DMPC与D-赤型C16的摩尔百分数比为约25:75。

[0138] 在一些实施方案中,包含DMPC和D-赤型C16的組合的脂质体的相变温度在约27°C至32°C之间的范围内。

[0139] 在一些实施方案中,脂质体包含C15。在进一步的实施方案中,脂质体基本上由C15组成。在更进一步的实施方案中,脂质体的至少一层膜基本上由C15组成。在另外的实施方案中,基本上由C15组成的脂质体包括张度剂,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的张度剂的浓度基本上相同。在进一步的实施方案中,基本上由C15组成的脂质体包括多元醇,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的多元醇的浓度基本上相同。在更进一步的实施方案中,基本上由C15组成的脂质体包括甘露醇,其在脂质体内部的浓度与在脂质体外部的介质中的甘露醇的浓度基本上相同。

[0140] 根据本发明一些实施方案的药物组合物中的总PL浓度在约20mM至约500mM的范围内。在进一步的实施方案中,浓度在约50mM至约300mM的范围内。在更进一步的实施方案中,浓度在约100mM至约200mM的范围内。在其他实施方案中,浓度在约130mM至约170mM的范围内。在某些实施方案中,总PL浓度为约150mM。

[0141] 在一些实施方案中,总PL浓度在约10mg/ml至约500mg/ml的范围内。在进一步的实

施方案中,浓度在约30mg/ml至约300mg/ml的范围内。在更进一步的实施方案中,浓度在约50mg/ml至约200mg/ml的范围内。在某些实施方案中,总PL浓度为约100mg/ml。

[0142] 在一些实施方案中,形成脂质体的磷脂以占药物组合物总重量的约0.1% (w/w) 至约40% (w/w)、约0.5% (w/w) 至约30% (w/w)、约3% (w/w) 至约30% (w/w) 或约1% (w/w) 至约20% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在某些实施方案中,形成脂质体的磷脂以约10% (w/w) 的重量百分数存在于药物组合物中。

[0143] 根据一些实施方案,适用于本发明的药物组合物的脂质体在其双层中不包括膜活性固醇,例如胆固醇。应当指出的是,本发明的药物组合物优选地不含丙二醇。还应当指出的是,本发明的药物组合物优选地不含葡聚糖。

[0144] 另外,应当强调的是,用于本发明的药物组合物的脂质体本身用作活性成分,而不是用作某些药物活性剂的载体。因此并且如上所述,根据本发明原理的药物组合物基本上不含另外的药物活性剂。如本文所用,术语“基本上不含另外的药物活性剂”在一些实施方案中是指药物组合物包括少于治疗有效量的已知用于关节润滑、关节功能障碍的治疗、关节疼痛的减轻、刺激和/或磨损或其任何组合的药物活性剂。如本文所用,术语“已知用于”在一些实施方案中是指在本发明时被批准用于指定用途的药物活性剂。在进一步的实施方案中,术语“已知用于”是指将来将被批准用于指定用途的药物活性剂。在更进一步的实施方案中,术语“已知用于”是指在科学文献和/或专利中提及的适合用于指定用途的药物活性剂。

[0145] 在一些实施方案中,本发明的药物组合物不包括为润滑剂的药物活性剂,诸如尤其是糖胺聚糖或其药学上可接受的盐、酯或衍生物。在某些实施方案中,所述糖胺聚糖是透明质酸或含透明质酸的盐或酯。在某些实施方案中,透明质酸没有包封在脂质体内。除此之外或另选地,透明质酸不应分散在流体介质中。在一些目前优选的实施方案中,药物组合物基本上不含透明质酸或其药学上可接受的盐或酯。与透明质酸结合使用的术语“基本上不含”在一些实施方案中是指药物组合物包括少于治疗有效量的透明质酸或其盐或酯。在另外的实施方案中,术语“基本上不含”是指药物组合物包括少于可检测量的透明质酸或其盐或酯。

[0146] 在一些实施方案中,本发明的药物组合物不包括药物活性剂,所述药物活性剂是选自表面区蛋白(SZP)、润滑素、蛋白聚糖4及其类似物和衍生物的润滑剂。

[0147] 在一些实施方案中,本发明的药物组合物不包括为抗炎剂的药物活性剂,诸如木糖醇、倍他米松、泼尼松龙、吡罗昔康、阿司匹林、氟比洛芬、(+)-N-{4-[3-(4-氟苯氧基)苯氧基]-2-环戊烯-L-基}-N-羟基脲双水杨酯、二氟尼柳、布洛芬、非诺洛芬、芬那酯、酮洛芬、萘丁美酮、萘普生、双氯芬酸、吲哚美辛、舒林酸、托美丁、依托度酸、酮咯酸、奥沙普秦、塞来昔布、甲氯芬那酸盐、甲芬那酸、羟基保泰松(oxyphenbutazone)、保泰松(phenylbutazone)、水杨酸盐或植物鞘氨醇型药物。

[0148] 在一些实施方案中,本发明的药物组合物不包括为抗病毒剂的药物活性剂,诸如阿昔洛韦、奈非那韦或韦拉唑。

[0149] 在一些实施方案中,本发明的药物组合物不包括为抗生素的药物活性剂,包括属于青霉素、头孢菌素、氨基糖苷类、大环内酯、碳青霉烯和青霉烯家族的抗生素、 β -内酰胺单环、 β -内酰胺酶抑制剂和四环素、脂肽类抗生素、氯霉素和衍生物、聚醚离子载体和喹诺酮。

此类抗生素的非限制性示例包括氨苄青霉素、氨苯砒、氯霉素、新霉素、头孢克洛、头孢羟氨苄、头孢氨苄、头孢拉定、红霉素、克林霉素、林可霉素、阿莫西林、氨苄青霉素、巴卡西林、羧苄青霉素、双氯西林、环己西林、匹氯西林(picloxacillin)、缩酮氨苄青霉素、甲氧西林、萘夫西林、苯唑西林、青霉素G、青霉素V、替卡西林、利福平、四环素、夫西地酸、林可霉素、新生霉素和大观霉素。

[0150] 在一些实施方案中,本发明的药物组合物不包括为抗感染剂的药物活性剂,诸如苯扎氯铵或氯己定。

[0151] 在一些实施方案中,本发明的药物组合物不包括为类固醇的药物活性剂。如本文所用,术语“类固醇”是指天然存在的类固醇及其衍生物以及具有类固醇样活性的合成或半合成的类固醇类似物。类固醇可以是糖皮质激素或皮质类固醇。特定的天然和合成类固醇的示例包括但不限于:醛固酮、倍氯米松、倍他米松、布地奈德、氯泼尼醇、可的松、可的伐唑、脱氧皮质酮、地奈德、去羟米松、地塞米松、二氟可龙、氟氯龙、氟米松、氟尼缩松、氟轻松、醋酸氟轻松、氟考丁酯、氟可的松、氟可龙、氟米龙、氟氢缩松、氟替卡松、哈西奈德、氢化可的松、艾可米松、甲泼尼松、甲基强的松龙、帕拉米松、泼尼松龙、泼尼松、替可的松或曲安西龙以及它们相应的药学上可接受的盐或衍生物。

[0152] 根据一些实施方案,磷脂在本发明的药物组合物中用作唯一的活性成分。

[0153] 根据一些实施方案,如本文所述,药物组合物基本上由包含多元醇的非离子张度剂和脂质体组成。在一些实施方案中,术语“基本上由...组成”是指这样的组合物,其仅有的活性成分是指定的活性成分(即脂质体),然而可包括用于稳定、保存或控制制剂的容积渗克分子浓度、粘度和/或pH但不直接涉及脂质体和/或磷脂的治疗效果的其他化合物。在一些实施方案中,术语“由...组成”是指包含脂质体、张度剂和药学上可接受的载体或赋形剂的组合物。

[0154] 根据本发明的各种实施方案的药物组合物可被灭菌,并且如果需要,可与助剂混合,所述助剂例如防腐剂、稳定剂、润湿剂、合成乳化剂、用于影响渗透压的另外的盐、着色剂和/或不与脂质体发生有害反应的芳香物质等。

[0155] GPL、SPL或其组合形成脂质体,优选平均直径大于约0.3 μm 、大于约0.5 μm 、大于约0.8 μm 或大于约1 μm 的脂质体。脂质体的平均直径可小于约10 μm 、8 μm 、7 μm 、6 μm 或5 μm 。每种可能性代表本发明的单独实施方案。根据一些实施方案,脂质体具有在约0.3 μm 至10 μm 之间的范围内的平均直径。根据进一步的实施方案,脂质体具有在约0.5 μm 至9 μm 之间的范围内的平均直径。根据更进一步的实施方案,脂质体具有在约1 μm 至8 μm 之间的范围内的平均直径。根据其他实施方案,脂质体具有在约3 μm 至5 μm 之间的范围内的平均直径。

[0156] 术语“平均直径”和“平均粒度”在本文中可互换使用,在一些实施方案中是指由基于数量分布模型的粒度分布得到的脂质体的平均直径。在一些实施方案中,所述术语是指由基于体积分布模型的粒度分布得到的脂质体的平均直径。在另外的实施方案中,所述术语是指由基于表面积分布模型的粒度分布得到的脂质体的平均直径。粒度分布可尤其通过激光衍射和/或通过库尔特计数器方法(coulter counter method)来测定。

[0157] 脂质体可以是单膜脂质体,或者根据一些实施方案可以是多层囊泡(MLV)脂质体。根据其他实施方案,脂质体也可以是大得多囊泡(LMVV)或脱水再水化囊泡(DRV)脂质体。

[0158] 在一些目前优选的实施方案中,脂质体是多层囊泡(MLV)。在某些此类实施方案

中,脂质体具有多于一层膜。

[0159] 根据一个实施方案,MLV由在0.3 μ m与10 μ m之间的范围内的平均直径限定。根据另一个实施方案,MLV由在0.5 μ m与9 μ m之间的范围内的平均直径限定。根据更进一步的实施方案,MLV由在约1 μ m与8 μ m之间的范围内的平均直径限定。根据其他实施方案,MLV由在约3 μ m与5 μ m之间的范围内的平均直径限定

[0160] 在某些实施方案中,药物组合物包含多元醇和MLV脂质体,该MLV脂质体膜基本上由DMPC和DPPC组成。多元醇可选自甘露醇和甘油。在进一步的实施方案中,药物组合物包含甘露醇和MLV脂质体,该MLV脂质体膜基本上由DMPC和DPPC组成。在另一个实施方案中,甘露醇的浓度在约1至约70mg/ml之间的范围内。在另一个实施方案中,药物组合物具有在约200至约600mOsm范围内的重量渗克分子浓度。在另一个实施方案中,脂质体与甘露醇之间的重量比在约6:1至约2:1的范围内。

[0161] 在一些实施方案中,药物组合物包含甘露醇和MLV脂质体,该MLV脂质体膜基本上由DMPC和DPPC组成。在一些实施方案中,DMPC以占药物组合物干重的约20% (w/w) 至约40% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在某些实施方案中,DMPC以约30% (w/w) 的重量百分数存在于药物组合物中。在一些实施方案中,DPPC以占药物组合物干重的约30% (w/w) 至约60% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在某些实施方案中,DPPC以约40% (w/w) 的重量百分数存在于药物组合物中。在一些实施方案中,甘露醇以占药物组合物干重的约20% (w/w) 至约40% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在某些实施方案中,甘露醇以约30% (w/w) 的重量百分数存在于药物组合物中。

[0162] 在一些实施方案中,包含甘露醇和脂质体的药物组合物还包含组氨酸缓冲液作为流体介质,该脂质体膜基本上由DMPC和DPPC组成。在进一步的实施方案中,DMPC以占药物组合物总重量的约1% (w/w) 至约10% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在某些实施方案中,DMPC以约4% (w/w) 的重量百分数存在于药物组合物中。在一些实施方案中,DPPC以占药物组合物总重量的约2% (w/w) 至约12% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在某些实施方案中,DPPC以约5% (w/w) 的重量百分数存在于药物组合物中。在一些实施方案中,甘露醇以占药物组合物总重量的约1% (w/w) 至约7% (w/w) 范围内的重量百分数存在于药物组合物中。在某些实施方案中,甘露醇以约4% (w/w) 的重量百分数存在于药物组合物中。

[0163] 根据本发明的各种实施方案的药物组合物可用于制备天然软骨PL的替代物,即作为关节润滑剂和/或减磨剂。

[0164] 应当指出的是,受关节润滑减少或关节磨损(诸如骨关节炎)困扰的患者的关节温度随疾病的进展而变化[Hollander,J.L.;Moore,R.,Studies in osteoarthritis using Intra-Articular Temperature Response to Injection of Hydrocortisone. Ann. Rheum. Dis. 1956, 15, (4), 320-326]。事实上,这种温度变化已被用作评估骨关节炎炎症的临床工具[Thomas,D.;Ansell,B.M.;Smith,D.S.;Isaacs,R.J.,Knee Joint Temperature Measurement using a Differential Thermistor Thermometer. Rheumatology 1980, 19, (1), 8-13]。在骨关节炎患者的手关节中,温度显示为从~28℃变化到~33℃[Varju,G.;Pieper,C.F.;Renner,J.B.;Kraus,V.B.,Assessment of hand osteoarthritis: correlation between thermographic and radiographic methods. Rheumatology 2004,

43,915-919],而健康颞下颌关节(TMJ)的温度从 $\sim 35^{\circ}\text{C}$ 变化到 37°C [Akerman, S.; Kopp, S., Intra-articular and skin surface temperature of human temporomandibular joint. Scand. J. Dent. Res. 1987, 95, (6), 493-498]。

[0165] 因此,根据本发明的原理,PL或其混合物在待用其进行润滑的关节区域原位处于LD相是必要的,事实上是先决条件。在一些实施方案中,脂质体具有相对于原位(即关节处)温度不高于 15°C 的在约 20°C 到约 39°C 的范围内的S0至LD相变的偏移温度(上限)。根据本发明的原理,脂质体由GPL、SPL或其组合形成,因此上述S0至LD的相变温度涉及由GPL、SPL及其组合形成的脂质体,因此提供了一种其中PL或其混合物处于LD相的脂质体。

[0166] 在某些实施方案中,包含多元醇的非离子张度剂不影响脂质体的相变温度。在进一步的实施方案中,包含多元醇的非离子张度剂组合的脂质体的相变温度与单独的脂质体的相变温度相差不超过约10%。在更进一步的实施方案中,包含多元醇的非离子张度剂组合的脂质体的相变温度与单独的脂质体的相变温度相差不超过约5%。

[0167] 本发明的药物组合物可用于治疗、缓解、延缓、预防、管理或治愈与关节功能障碍有关的任何关节障碍或由其引起的症状。如本文所用,术语“关节障碍”应被认为是指引起关节退化、疼痛、活动性降低、炎症、刺激或生理破坏和关节功能障碍的关节区域的任何痛苦(先天性、自身免疫性或其他方面)、损伤或疾病。该障碍可能与关节分泌和润滑减少以及膝关节和髋关节置换术的并发症有关。

[0168] 根据本发明原理的关节可以是膝盖、髌、踝、肩、肘、跗骨、腕骨、指间和椎间中的任一者。每种可能性代表本发明的单独实施方案。在某些实施方案中,所述关节是膝关节。

[0169] 特定的关节障碍包括但不限于由关节炎引起的关节分泌和/或润滑不足,包括类风湿性关节炎中的关节侵蚀病症、骨关节炎、类风湿性关节炎患者中的骨关节炎、创伤性关节损伤(包括运动损伤)、关节交锁(诸如颞下颌关节(TMJ))、关节穿刺后的状态、关节镜手术、开放性关节手术、哺乳动物(优选人)中的关节(例如膝关节或髋关节置换术)。通过使用本发明的药物组合物治疗或预防的优选障碍是骨关节炎。

[0170] 在某些实施方案中,药物组合物用于减轻骨关节炎患者的膝关节疼痛。

[0171] 本发明的药物组合物可用作预防措施以预防将来的损伤或退化。例如,药物组合物可在运动员的整个职业中间歇地关节内施用于运动员,以使与应激相关的损伤或软骨退化的风险最小化。

[0172] 本发明的药物组合物可单独地施用,或作为通常用于治疗与关节僵硬有关的障碍(诸如关节炎)的抗炎剂、止痛剂、肌肉放松剂、抗抑郁药或促进关节润滑的药剂的辅助剂施用。组合治疗方法有益于减少与通常用于预防、管理或治疗与关节润滑减少有关的障碍(诸如骨关节炎)的药物(诸如非甾体抗炎药(NSAID))有关的副作用。除了提高安全性之外,组合治疗方法在提高治疗功效方面也可能是有利的。

[0173] 在一些实施方案中,药物组合物是适于肠胃外施用的形式。本发明的药物组合物向患者的关节腔内的肠胃外施用可通过选自关节内注射、关节镜施用或外科手术施用的方法进行。因此,在一些实施方案中,药物组合物被配制或适于通过选自关节内注射、关节镜施用或通过外科手术施用的途径施用的形式。所公开的药物组合物的有益特征之一是张度剂的存在,其将脂质体组合物的重量渗克分子浓度调节至生理值,从而减少与关节内施用相关的副作用。

[0174] 根据本发明的各种实施方案的药物组合物可以约0.5ml至约10ml的剂量施用。在进一步的实施方案中,药物组合物以约1ml至约6ml的剂量施用。在某些实施方案中,药物组合物以约3ml的剂量施用。

[0175] 在一些实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约20mg至约350mg的甘露醇。在一些实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约40mg至约250mg的甘露醇。在某个实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约120mg的甘露醇。在另一个实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约40mg的甘露醇。在另一个实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约250mg的甘露醇。

[0176] 在一些实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约50mg至约1000mg的磷脂。在一些实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约100mg至约800mg的磷脂。在某些实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约300mg的磷脂。在另一个特定实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约100mg的磷脂。在另外的实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约600mg的磷脂。

[0177] 在一些实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约30mg至约550mg的DPPC。在一些实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约50mg至约500mg的DPPC。在某个实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约180mg的DPPC。在另一个实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约60mg的DPPC。在另一个实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约365mg的DPPC。

[0178] 在一些实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约20mg至约450mg的DMPC。在一些实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约40mg至约300mg的DMPC。在某个实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约140mg的DPPC。在另一个实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约45mg的DPPC。在某个实施方案中,药物组合物的一个剂量单位包含约275mg的DPPC。

[0179] 可将药物组合物分装在小瓶中或以单次注射或任何其他方便的方式用于实际使用。

[0180] 考虑施用本发明药物组合物的受试者包括哺乳动物,例如但不限于人和其他灵长类动物。

[0181] 在本说明书的整个描述和权利要求书中,单数形式“一”、“一种”和“该”包括复数引用,除非上下文另外明确指出。因此,例如,提及“一种PL”是指一种或多种PL,而“脂质体”是指一种或多种脂质体。在本说明书的整个描述和权利要求书中,词语的复数形式也包括单数引用,除非上下文另外明确指出。应当指出的是,除非内容另外明确指出,否则术语“和”或术语“或”通常以其包括“和/或”的含义使用。

[0182] 然而,在本说明书的整个描述和权利要求书中,词语“包括”和“包含”以及这些词语的变体,例如“包括(comprising)”和“包含(comprises)”,意为“包括但不限于”,并且不旨在(并且不)排除其他部分、添加物、组分、整体或步骤。

[0183] 如本文所用,在提及诸如量、时间持续时间等的可测量值时,术语“约”意在涵盖相对于指定值的+/-10%、更优选+/-5%、甚至更优选+/-1%并且还更优选+/-0.1%的变化,因为此类变化适于执行所公开的方法。

[0184] 给出以下实施例以更充分地说明本发明的一些实施方案。然而,它们决不应被解

释为限制本发明的广泛范围。在不脱离本发明的范围的情况下,本领域的技术人员可容易地设计出本文所公开的原理的许多变型和修改。

[0185] 实施例

[0186] 材料和方法

[0187] 材料

[0188] 1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DMPC 14:0,目录号:556200)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DPPC 16:0,目录号:556300)购自Lipoid(Ludwigshafen, Germany)。1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC 18:0,目录号:850365P)、1,2-双十五酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(C15(本文也缩写为PC(15:0)),目录号:850350P)购自Avanti Polar Lipids(Alabaster,AL,USA)。N-棕榈酰基-D-赤型-鞘氨醇磷酸胆碱(棕榈酰鞘磷脂,D-赤型C16(本文也缩写为C16 SPM),目录号:16608050)购自Bio-Lab ltd.(Jerusalem, Israel)

[0189] 使用WaterPro PS HPLC/超滤混合系统(Labconco,Kansas City,MO)获得高纯水(电阻为18.2兆欧)。HPLC级乙醇购自BioLab Ltd,Jerusalem,Israel。L-组氨酸一盐酸盐一水合物、氢氧化钠(NaOH)和D-甘露醇均购自Merck(Darmstadt,Germany)。甘油购自Merck,目录号为1.04093。氯化钠购自J.T.Baker,目录号为4058-02

[0190] 方法

[0191] 包含MLV脂质体的低渗组合物的制备

[0192] 将期望磷脂的混合物溶解在2.5ml乙醇中至180mM的浓度。将该溶液通过涡旋搅拌并在水浴(60℃)中放置约20分钟。重复搅拌数次直至磷脂完全溶解。将该乙醇溶液转移到10ml温热的10mM或7.5mM组氨酸缓冲液(pH6.5)中,通过涡旋剧烈混合2分钟,以使脂质水合并形成期望的MLV的分散体。

[0193] 在4℃下通过5次离心和冷缓冲液置换循环去除乙醇。对于由PC组成的脂质体系统,在第1循环中在3000rpm下离心40分钟,在随后的循环中在4000rpm下离心30分钟。对于包含SPL的脂质体系统,在第1循环中在4000rpm下离心50分钟两次,其间放置过夜,然后在第2和3循环中在4000rpm下离心40分钟两次。第4和5循环在4000rpm下离心60分钟。通过重量渗克分子浓度测量进行乙醇去除的监测。在每次冷缓冲液置换后,使用无菌移液管重悬沉淀以松动粘性沉淀,然后将管紧闭并涡旋2分钟。重复离心过程和溶液置换,直到混合物中的重量渗克分子浓度小于50mOsm。测量HB的渗透压(10mM,7.5mM),发现分别为26和19mOsm。将MLV储存在2-8℃下直至分析。

[0194] 包含MLV脂质体和张度剂的等渗组合物的制备

[0195] 如上文所述制备脂质体。将脂质体的乙醇溶液转移到10ml温热的13.5mM组氨酸缓冲液(pH 6.5)中,该缓冲液包含选自甘露醇、甘油和氯化钠的张度剂,并通过涡旋剧烈混合2分钟,以使脂质水合并形成期望的MLV的分散体。

[0196] 组氨酸缓冲液中张度剂的浓度如下:甘油-235mM;甘露醇-234mM;和NaCl-131mM。

[0197] 重复离心过程和溶液置换,直到混合物中的重量渗克分子浓度为约300mOsm。将组合物储存在2-8℃下直至分析。

[0198] MLV脂质体表征

[0199] 使用改进的Bartlett法测定磷脂浓度[Barenholz,Y.and S.Amselem,Quality

control assays in the development and clinical use of liposome-based formulations. Liposome technology, 1993.1: 第527-616页]。脂质体尺寸分布通过激光衍射粒度分析仪 (LS13320 Beckman Coulter) 测定, 该分析仪能够测量40nm至2mm范围内的粒度。库尔特计数器方法(其基于测量悬浮在导电流体中的颗粒通过小孔时电导率的变化)也用于尺寸分布测定。

[0200] 用于润滑效率评估的软骨-软骨离体模型

[0201] 供体(年龄: 男性70岁, 女性68、72、81、87、98岁)的正常关节软骨是从Jerusalem Hadassah医学中心的股骨头骨折手术中获得的。将组织冷冻在-20℃直至分析。

[0202] 从Jerusalem Hadassah医学中心的8个供体收集滑液。

[0203] 用于制备软骨样本的试剂包括Superglue (氰基丙烯酸酯粘合剂, 3g)、NaCl (Bio Lab LTD, Israel, 19030291

[0204] 目录号: 19030291批号: 57747) 和乙醇(Frutarm, Israel,

[0205] 目录号: 5551640批号: 26141007)。

[0206] 在laboratory of Cartilage and Joints Diseases (Department of Biomedical Engineering Technion, IIT, Haifa, Israel) 中制备样品。在Shamban & Microsystems Tribology Laboratories (Department of Mechanical Engineering Technion, IIT, Haifa, Israel) 中进行测试。用于摩擦测量的内部设备配备有具有应变仪测量系统 (HBM Z8, Germany) 和LabView软件 (National Instruments, USA) 的测压元件。

[0207] 该设备的设置如下。制备并固定软骨栓。由每个软骨制备10-20个直径为4mm或8mm的栓。将这些栓随机分配到各种所测试的制剂中。将这些8mm的栓安装在该设备中的固定支架上, 并浸没在含2ml的1:1比例 (v/v) 的滑液 (SF) 和所测试溶液的溶液中。将这些4mm的栓固定在上部活塞上。

[0208] 测量: 在不同的所测试样品存在下, 进行多次重复的摩擦测试。对于每次测量, 将上部栓定位在下部栓上, 并且在几秒的停留间隔之后, 测量摩擦系数。对于任何给定的一对栓, 执行不少于10次的独立测量, 在每次随后的测试之前旋转栓, 以在所有重复中提供相似的条件。

[0209] 在如表1所示的所施加负荷、滑动速度、停留时间和温度的特定摩擦条件下测定静摩擦系数:

[0210] 表1: 软骨-软骨模型实验条件:

[0211]	正常负荷	30N
	滑动速度	1mm s ⁻¹
	停留时间(滑动开始前的加载持续时间)	5s
	滑动距离	5mm
	润滑剂温度	32至34℃

[0212] 差示扫描量热(DSC) 测量

[0213] 为了测定不同脂质体系统的 T_m , 使用MicroCal™ VP-DSC GE Healthcare Life Sciences (Uppsala, Sweden, 现由Malvern UK拥有) 扫描样品。在10℃与75℃之间的范围内, 以1℃/分钟的加热速率扫描溶于HB的MLV样品以及溶于HB的包含浓度为约20mM磷脂的脂质体和甘露醇的药物组合物的样品或HB与甘露醇的参比样品。以相同的速率扫描每个研究样

品三次-将温度从10℃增加到75℃(扫描1),将温度从75℃降低到10℃(扫描2),并且再次将温度从10℃增加到75℃(扫描3)。量热数据的处理由Origin® 7.0软件进行。通过外推直线以限定主相变的温度范围来测定主相变的 T_{on} 和 T_{off} 。对于系统F1,由于峰2中存在宽“肩”,因此通过拟合Model:MN2State进行了附加分析。

[0214] 实施例1-张度剂对脂质体药物组合物的润滑性能的影响

[0215] 使用软骨-软骨离体模型评估包含张度剂和脂质体的药物组合物对软骨的润滑。软骨-软骨离体模型提供了测试生物润滑剂制剂对静摩擦系数的相对影响的实验系统。这种类型的测量可指示不同润滑剂降低软骨摩擦系数的能力。软骨-软骨离体模型使用一种设备,其中允许两个固定的人软骨栓在浸没在不同的润滑剂溶液中的同时一个在另一个上滑动。该设备能够测量两个软骨样本之间的静摩擦力[Merkher Y等人“A rational human joint friction test using a human cartilage-on-cartilage.”Tribology Letters (2006):29-36]。过去已使用该模型来比较不同脂质体组合物的摩擦系数[Sivan S等人“Liposomes act as effective biolubricants for friction reduction in human synovial joints.”Langmuir(2010):1107-16]。

[0216] 本实验被设计为测定包含张度剂的脂质体制剂的相对润滑性能,如由静摩擦系数测量所反映的,并将它们与低渗脂质体制剂进行比较。表2列出了所测试的药物组合物。所选择的脂质体组合是DMPC/DPPC,其摩尔百分数比为45:55。

[0217] 表2:低渗和等渗脂质体组合物

[0218]	制剂 #	磷脂 (摩尔百分数比)	张度剂	流体介质
	1	DMPC/DPPC (45:55)	-	组氨酸缓冲液
	2	DMPC/DPPC (45:55)	甘油	组氨酸缓冲液
	3	DMPC/DPPC (45:55)	甘露醇	组氨酸缓冲液
	4	DMPC/DPPC (45:55)	NaCl	组氨酸缓冲液

[0219] 脂质体组合物包含分散在3ml pH 6.5的10mM组氨酸缓冲液(HB)中的183mg的DPPC和136mg的DMPC。包含10mM组氨酸缓冲液的脂质体组合物具有约50mOsm的容积渗克分子浓度(表3)。因此,为了将容积渗克分子浓度增加到约300mOsm的等渗水平,应调节张度剂的浓度以提供约250mM的溶质。

[0220] 添加120mg(4重量%或40mg/ml)的量的甘露醇以形成等渗组合物。添加的甘油量为61mg(2%重量或20mg/ml)。添加21mg氯化钠。

[0221] 表3总结了不同脂质体组合物的物理化学性质。用三种不同的张度剂制备脂质体组合物,每种张度剂对制剂的总重量渗克分子浓度具有相同的贡献。这些制剂的等渗度为约300mOsm。对离子(NaCl)和非离子(甘露醇和甘油)张度剂进行了比较。还测试了不含张度剂(小于50mOsm)的低渗脂质体组合物。如材料和方法中所述,使用软骨-软骨模型装置评估张度剂对脂质体组合物的润滑能力的影响。

[0222] 表3:脂质体组合物的物理化学性质。

[0223]			等渗制剂		
		缓冲液	甘露醇	甘油	NaCl
	pH	6.6	6.4	6.4	6.4
	重量渗透分子浓度(mOsm)	49	307	299	289
	粒度（按体积计）(μm)	5.8	4.4	3.8	4.5
	粒度（按表面积计）(μm)	3.4	2.8	2.9	3.2
	粒度（按数量计）(μm)	1.3	1.5	1.7	1.8
	测定DMPC(mM)	66.4	67.5	70.2	69.6
	测定DPPC(mM)	81.7	82.1	84.7	83.3
	磷脂浓度(mM)	148	150	155	153
	摩尔百分数比DMPC/DPPC	55.2/44.8	45.1/54.9	45.3/54.7	45.5/54.5
	溶血-肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(%)	NMT* 0.5	ND**	ND	ND
	溶血-棕榈酰磷脂酰胆碱(%)	NMT 0.5	ND	ND	ND
	肉豆蔻酸(%)	0.27	ND	ND	ND
棕榈酸(%)	0.27	0.06	0.04	ND	
总杂质	LT*** 0.2	0.06	0.04	ND	

[0224] *NMT-不超过

[0225] **ND-未检测到

[0226] ***LT-小于

[0227] 表4列出了在实验中获得平均静摩擦系数的初步结果。重复测量的精度在所有测试的制剂中是相似的,如相对SD所反映的。

[0228] 表4:脂质体组合物的润滑性能。

[0229]	制剂	缓冲液	甘油	甘露醇	NaCl
	重复次数	53	55	56	50
	平均静摩擦系数	0.093	0.075	0.064	0.098

[0230]	标准差	0.025	0.020	0.022	0.026
--------	-----	-------	-------	-------	-------

[0231] 制剂的比较表明,与其他等渗制剂相比,含甘露醇的制剂表现出最低的静摩擦系数。最低的静摩擦系数指示甘露醇制剂具有较高的润滑性能。令人惊讶地发现,当使用甘露醇制剂时获得的静摩擦系数比使用不含张度剂的低渗脂质体组合物时低约30%。甘油制剂还提供更好的润滑(与低渗制剂相比,平均静摩擦系数降低约20%)。相反,向脂质体组合剂中添加离子张度剂并没有增强其润滑能力。

[0232] 实施例2-张度剂对脂质体药物组合物的热致性能的影响

[0233] 本实验被设计为确定张度剂的添加是否影响脂质体组合物的热致性行为 and 热力学参数,包括S0-LD相变的范围($T_{\text{on}} \rightarrow T_{\text{off}}$)、 T_p 、 T_m 、 $T_{1/2}$ 和 ΔH 。 T_{on} 和 T_{off} 表示在加热扫描期间S0-LD相变开始和结束时的温度, T_p 和 T_m 表示在预转变(T_p)和主转变(T_m)期间热容量发生最大变化的温度, $T_{1/2}$ 表示在代表S0-LD相变期间焓变化的吸热的一半高度处的温度(宽度)范围,并且 ΔH 是表示在S0-LD相变期间焓的总变化的曲线下面积。

[0234] 选择两种类型的脂质体组合物,每种在含和不含甘露醇(作为张度剂)的情况下进行测试。所测试的脂质体组合物示于表5中。

[0235] 表5:低渗和等渗脂质体组合物

[0236]	磷脂 (摩尔百分数比 (如适用))	张度剂	流体介质
	DMPC/DPPC (45:55)	-	组氨酸缓冲液
	DMPC/DPPC (45:55)	甘露醇	组氨酸缓冲液
	1,2-双十五酰基- <i>sn</i> -甘油-3-磷酸胆碱(C15)	-	组氨酸缓冲液
	1,2-双十五酰基- <i>sn</i> -甘油-3-磷酸胆碱(C15)	甘露醇	组氨酸缓冲液

[0237] DMPC/DPPC脂质体组合物包含分散在3ml pH 6.5的10mM组氨酸缓冲液(HB)中的183mg的DPPC和136mg的DMPC。C15脂质体组合物包含212mg (70.6mg/ml)的磷脂。添加120mg (4重量%)的量的甘露醇以形成等渗组合物。

[0238] 表6总结了不同脂质体组合物的物理化学性质。

[0239] 表6:脂质体组合物的物理化学性质。

[0240]	磷脂	张度剂	总 PC (mM)	MLV 重量 渗透克分子	尺寸分布 (按体积计)		
					平均 均	中位数	标
[0241]				浓 度 (mOsm)	值(μ m)	(μ m)	准 差
	DMPC/DPPC	-	105	34	2.7	2.18	1.73
	DMPC/DPPC	甘露醇	91	288	4.24	2.70	4.61
	C15	-	102.7	28	3.97	2.59	3.96
	C15	甘露醇	99.3	272	3.1	2.61	1.96

[0242] 为了测定不同系统的热致性行为 and 热力学参数 ($T_{on} \rightarrow T_{off}$ 、 T_m 、 $T_{1/2}$ 、 ΔH)，使用 MicroCal™ VP-DSC (GE Healthcare Life Sciences, Uppsala, Sweden) 扫描样品。量热数据的处理由 Origin® 7.0 软件进行。 $T_{on} \rightarrow T_{off}$ 范围的测定方法在材料和方法中进行了描述。

[0243] 表7列出了由DSC扫描评估的所测试脂质体组合物的热致性表征

[0244] 表7:脂质体组合物的热致性表征。

[0245]

磷脂	张度剂	热致性表征									
		峰 1 (预转变)					峰 2 (相变)				
		T _{on} (°C)	T _{off} (°C)	T _p (°C)	T _{1/2} (°C)	ΔH (卡/摩尔)	T _{on} (°C)	T _{off} (°C)	T _m (°C)	T _{1/2} (°C)	ΔH (卡/摩尔)
DMPC/ DPPC	-	17.8	24.7	21.0	2.2	1030.5	30.44	35.19	33.6	3.5	9782.1
DMPC/ DPPC	甘露醇	17.6	24.5	21.0	2.5	962.7	30.49	35.42	33.7	3.3	10707.7
C15	-	21.7	27.3	24.6	2.2	1316.9	33.03	35.16	34.3	1.3	6716.9
C15	甘露醇	20.5	27.0	24.5	2.5	1009.1	32.66	35.29	34.4	1.5	6081.3

[0246] 结果总结在表7中,并且图1和图2指示甘露醇对DMPC/DPPC摩尔比为45/55的MLV和100摩尔%C15的MLV的热致性行为没有影响。

[0247] 实施例3-脂质体组合的相变温度

[0248] 本研究被配置为评估各种脂质体组合物的热致性行为 and 热力学参数,并且特别是发现相变温度在20℃至39℃范围内的脂质体组合。由于甘露醇的添加不影响脂质体的热致性行为(如实施例2中所示),因此本研究中所测试的各种脂质体组合物的相变温度应与对应的等渗组合物的相变温度相似。

[0249] 所测试的脂质体组合物示于表8中。

[0250] 表8:脂质体组合物

系统	磷脂 (摩尔%)					缓冲液	预期 T _m
	DMPC	DPPC	DSPC	C15	D-赤 型 C16		
A1	0	100	-	-	-	HB	41°C
B1	10	90	-	-	-	HB	<41°C
C1	25	75	-	-	-	HB	<<41°C
D1	45	55	-	-	-	HB	~34°C
F1	75	-	25	-	-	HB	<<55°C
G1	45	-	-	55	-	HB	<<35°C
H1	25	-	-	75	-	HB	<35°C
A2	-	-	-	-	100	HB	~41°C
B2	10	-	-	-	90	HB	<41°C
C2	25	-	-	-	75	HB	<41°C
D2	75	-	-	-	25	HB	<<41°C
E2	90	-	-	-	10	HB	<<41°C
F2	100	-	-	-	-	HB	~24°C
G2	-	-	-	100	-	HB	~34°C

[0253] 表征不同的MLV系统的尺寸分布、重量渗克分子浓度和总PC浓度。结果总结在表9-12中。

[0254] 表9:不同DPPC:DMPC混合物的MLV的物理化学性质

系统 PC 比 (摩尔%)	总 PC (mM)	MLV 重量渗克分子浓度 (mOsm)	尺寸分布 (按体积计)		
			平均 均值 (μm)	中 位 数 (μm)	标准 差
A1 DPPC 100	93	31	3.12	2.4	2.38
B1 DMPC/DPPC 10/90	111	29	3.10	2.34	2.31
C1 DMPC/ 25/75	107	27	3.92	2.64	4.03
D1 DMPC/DPPC 45/55	105	34	2.7	2.18	1.73
F2 DMPC 100	136.5	32	2.93	1.87	3.02

[0256] 基于该表中描述的重量渗克分子浓度结果,对于所有MLV系统,乙醇水平低于0.1%。基于脂质体/水分配系数,其大部分在水相中。

[0257] 表10: DSPC: DMPC混合物的MLV的物理化学性质

系统 PC 比 (摩尔%)	总 PC (mM)	MLV 重量渗克分子浓度 (mOsm)	尺寸分布 (按体积计)		
			平均 均值 (μm)	中 位 数 (μm)	标 准 差
F1 DMPC/DSPC 75/25	69	50	3.72	3	2.77

[0259] 基于该表中描述的重量渗克分子浓度结果,乙醇水平低于0.2%。基于脂质体/水分配系数,其大部分在水相中。该MLV代表在去除乙醇期间发生的主要脂质损失。

[0260] 表11: 不同C15: DMPC混合物的MLV的物理化学性质

系统 PC 比 (摩尔%)	总 PC (mM)	MLV 重量渗克分子浓度 (mOsm)	尺寸分布 (按体积计)		
			平均 均值 (μm)	中 位 数 (μm)	标 准 差
G2 PC(15:0) 100	102.7	28	3.97	2.59	3.96
G1 DMPC/PC15 45/55	103	40	4.57	3.44	3.84
H1 DMPC/PC15 25/75	97	34	3.06	2.16	2.38

[0262] 基于该表中描述的重量渗克分子浓度结果,对于所有MLV系统,乙醇水平低于0.1%。基于脂质体/水分配系数,其大部分在水相中。

[0263] 表12: 不同DMPC/D-赤型C16混合物的MLV的物理化学性质

[0264]

系统 PC 比 (摩尔%)	总 PC (mM)	MLV 重量渗透克分子浓度 (mOsm)	尺寸分布 (按体积计)		
			平均 均值 (μm)	中 位 数 (μm)	标准差
A2 D-赤型 C16 100	53.9	20	4.04	2.66	4.38
B2 DMPC/D-赤型 C16 10/90	76.6	20	3.31	2.27	3.25
C2 DMPC/D-赤型 C16 25/75	85.7	21	3.37	2.31	3.18
D2 DMPC/C16 D-赤型 C16 75/25	90.4	24	2.67	2.05	1.83
E2 DMPC/D-赤型 C16 10/90	56.6	22	3.7	3.03	2.5
F2 DMPC 100	136.5	32	2.93	1.87	3.02

[0265] 基于该表中描述的重量渗透克分子浓度结果,对于所有MLV系统,乙醇水平低于0.1%。基于脂质体/水分配系数,其大部分在水相中。

[0266] 如实施例2和材料和方法中所述评估脂质体组合的热致性行为 and 热力学参数。表13总结了所测试的脂质体组合的热致性表征结果,并且图3示出了由DSC扫描评估的不同磷脂混合物的MLV的S0-LD相变温度范围。

[0267] 表13:由DSC扫描评估的不同混合物的MLV的热致性表征

[0268]

PC 比 (摩尔%)	热致性表征									
	峰 1 (预转变)					峰 2 (相变)				
	T _{on} (°C)	T _{off} (°C)	T _p (°C)	T _{1/2} (°C)	ΔH (卡 /摩尔)	T _{on} (°C)	T _{off} (°C)	T _m (°C)	T _{1/2} (°C)	ΔH (卡 /摩尔)
DPPC: DMPC 混合物										
DPPC (100)	32.3	37.3	34.9	2.2	1983.5	40.44	42.45	41.8	1.3	7993.7
DMPC/DPPC (10/90)	28.3	33.8	30.8	2.9	1666.2	37.77	40.91	40.0	1.9	9982.4
DMPC/DPPC (25/75)	22.6	29.8	25.8	3.2	1429.3	34.24	38.23	37.4	2.8	10363.0
DMPC/DPPC (45/55)	17.8	24.7	21.0	2.2	1030.5	30.44	35.19	33.6	3.5	9782.1
DMPC (100)	11.4	16.4	14.0	1.0	683.7	23.24	25.24	24.4	1.1	5394.7
DSPC: DMPC 混合物										
DMPC/DSPC (75/25)	11.4	17.4	14.2	4.0	369.5	24.67	34.6	27.1	2.7	10199.9
C15: DMPC 混合物										
C15 (100)	21.7	27.3	24.6	2.2	1316.9	33.03	35.16	34.3	1.3	6716.9
DMPC/C15 (45/55)	15.9	21.0	18.1	1.7	1059.7	28.03	30.28	29.4	1.3	7767.7
DMPC/C15 (25/75)	17.9	22.9	20.4	1.2	851.1	30.35	32.12	31.3	1.2	7107.5
D-赤型 C16/DMPC 混合物										
SPM (100)	30.2	38.8	33.9	0.8	941.5	41.14	43.24	41.8	1.0	7967.0
D-赤型 C16/DMPC (90/10)	32.5	36.0	33.8	0.7	200.2	38.36	41.91	39.7	2.2	7503.7
D-赤型 C16/DMPC (75/25)	22.3	25.8	23.8	0.5	97.5	34.7	39.77	36.5	3.1	6758.1
D-赤型 C16/DMPC (25/75)	13.9	19.1	16.6	2.9	126.9	30.91	36.19	32.1	3.2	7304.5
D-赤型 C16/DMPC (10/90)	11.4	14.8	13.0	1.3	233.9	26.68	29.72	27.5	1.7	7592.0
DMPC (100)	11.4	16.4	14.0	1.0	683.7	23.24	25.24	24.4	1.1	5394.7

[0269] 可以看出,各种脂质体组合,包括例如DMPC/DPPC (25/75)、DMPC/DPPC (45/55)、DMPC/DSPC (75/25)、DMPC/C15 (45/55)、DMPC/C15 (25/75)、D-赤型C16/DMPC (75/25)、D-赤型C16/DMPC (25/75)和D-赤型C16/DMPC (10/90)具有在期望的20℃-39℃温度范围内的脂质体膜相变温度。

[0270] 实施例4-通过装针盘软骨磨损测试评估脂质体组合物

[0271] 使用猪软骨针在CoCrMo盘上滑动,通过装针盘测试体外模拟膝中的摩擦条件。在得自Advanced Mechanical Technology Inc. (AMTI), Watertown, MA 02472-4800, USA的OrthopOD机器上进行装针盘测试。通过恒温器加热机器以确保液体内部的温度为37±3℃。在圆柱形容器中填充20mL测试液体。使用Mecmesin测力计,用在盘上方居中的针在3、10、30、50和100N下检查由每个单独的夹持臂施加的力。

[0272] 从猪肩部获取软骨针。用手术刀打开关节囊以暴露软骨表面。通过使用内径为5.0mm的中空冲头,获得至少十个圆柱形针。对于每个装针盘磨损测试,选择来自同一动物的具有适当长度和最小表面倾斜度的六个针。

[0273] 通过在磨损测试12小时后测量软骨下骨质量损失和高度损失来评估本发明的药物组合物的润滑能力。每个测试使用六个软骨针,而在6小时后移除三个针,并且另外三个针另外测试6小时。除了测定针的重量和质量损失之外,在测试之前和之后还通过光学轮廓仪分析软骨表面。所用的装置是Sneox干涉仪和共聚焦显微镜(Sensofar, Spain)。为了测定粗糙度参数,在去除模板后从形貌中提取了12条以上的线轮廓。为了说明表面倾斜度,从5X共焦测量中提取了沿南北方向的轮廓,因为针的位置是最高的水平面朝南。为了提高清晰度,使用Kaleidagraph 4.0对这些轮廓进行平滑和偏移。

[0274] 在磨损测试中测试了包含甘露醇的基于脂质体的组合物(表2的制剂#3)。将该组合物与用于髌模拟器测试(ISO 14242-1)的含蛋白质的液体进行比较,该液体含有30g/l的小牛血清蛋白、EDTA和 NaN_3 。

[0275] 结果

[0276] 磨损测试

[0277] 在含蛋白质的液体中进行的装针盘测试表明软骨磨损。针的平均质量损失从6小时后的22mg增加到测试12小时后的26mg。针的平均高度损失的增加更加明显,在磨损6小时后为0.6mm,在磨损12小时后为1.1mm。提取的轮廓(图4)显示,在磨损6小时后,软骨表面已变平。一些软骨材料被移到一边,并形成仅松散地附接到初始针的外部凸起。因此,当测定包括附接的凸起的重量时,低估了实际的质量损失。在磨损12小时后,剩余的三个针显示出软骨已穿破并且出现软骨下骨的区域(图4和图5A、图5B)。

[0278] 脂质体组合物(制剂#3)中的软骨针在去除后显示出磨损的迹象。在磨损6小时后,针的平均质量损失为14mg,并且在另外6小时的磨损后保持在该水平。两个时间点的高度损失为约0.3-0.4mm。在磨损6小时后,软骨表面已变平(图6和图7A、图7B),并且软骨材料在中心周围形成凸起。在磨损12小时后,剩余针的软骨表面仍然完整,并且没有显示出出现软骨下骨的区域(图8A、8B)。

[0279] 在经过12小时的磨损测试后,蛋白液体中的软骨针显示出软骨下骨的外观,而脂质体组合物中的软骨针在整个测试过程中保持完整。在脂质体组合物中磨损似乎减慢了,因为在6至12小时之间没有观察到额外的质量损失或高度损失

[0280] 磨损结果在图9A(质量损失)和图9B(高度损失)中进一步说明。两种液体的比较显示,脂质体组合物导致软骨针的质量和高度损失较小。

[0281] 粗糙度测量

[0282] 基于使用DI 10X物镜的干涉测量法,从一系列提取的轮廓测定粗糙度参数。测量是在很好地位于接触表面内的针的中心部分进行的。图10A和图10B示出了在去除基础平面之后的示例性轮廓。

[0283] 所选择的粗糙度参数 R_a 、 R_k 、 R_{pk} 和 R_{vk} 如图11所示。对于在基于蛋白质的液体中的磨损测试,可以观察到这些参数因磨损而显著增加2 ($p < 0.01$)。例如,对于磨损的针,平均粗糙度 R_a 从 $t=0$ 时的 $0.5 \pm 0.2 \mu\text{m}$ 增加到 $1.6 \pm 0.4 \mu\text{m}$,并且核心粗糙度 R_k 从 $1.4 \pm 0.5 \mu\text{m}$ 增加到 $4.5 \pm 1.1 \mu\text{m}$ 。对于在脂质体组合物中的磨损测试,观察到粗糙度参数较小但显著增加,但

Rpk除外 ($p>0.2$)。平均粗糙度Ra从 $0.4\pm0.2\mu\text{m}$ 增加到 $0.8\pm0.3\mu\text{m}$,核心粗糙度Rk从 $0.9\pm0.4\mu\text{m}$ 增加到 $2.4\pm0.8\mu\text{m}$ 。

[0284] 本领域技术人员应理解,本发明不受上文已具体示出和描述的内容的限制。相反,本发明的范围包括上述各种特征以及变型和修改的组合和子组合。因此,本发明不应被解释为限于具体描述的实施方案,并且通过参考权利要求书将更容易理解本发明的范围和概念。

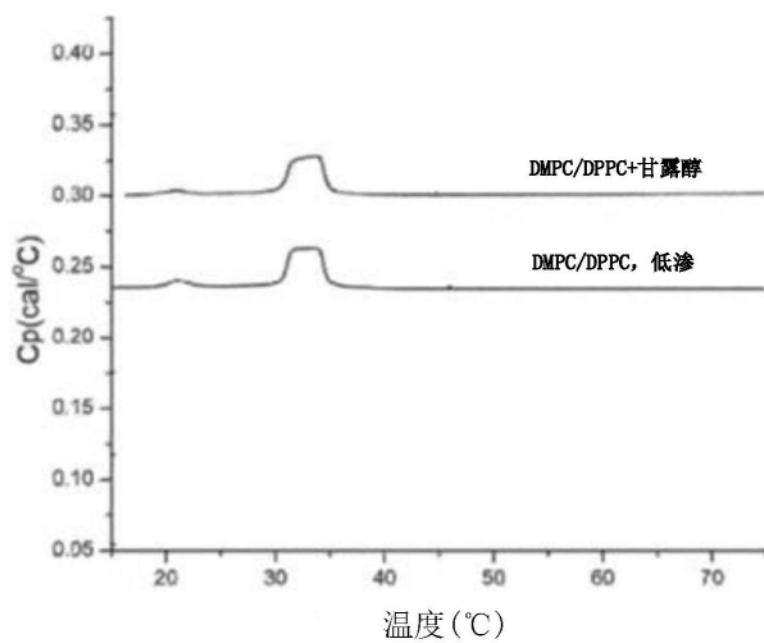


图1

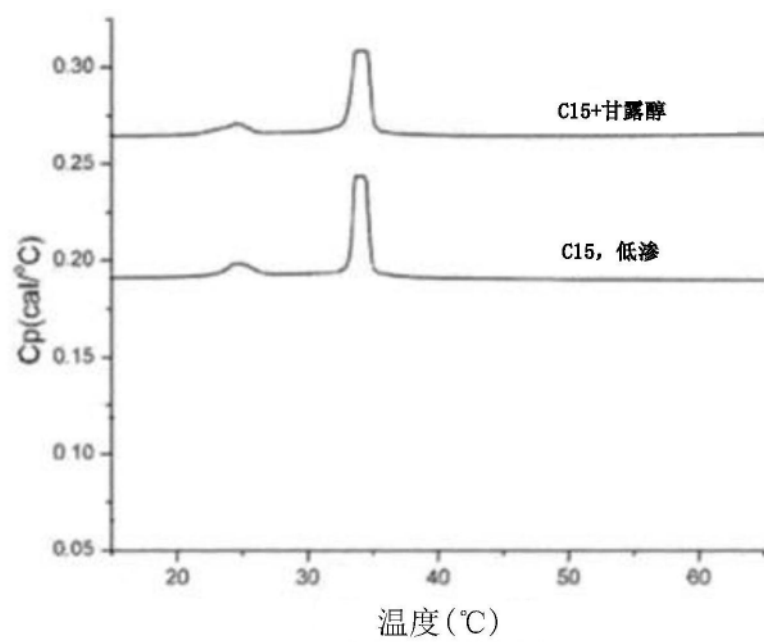


图2

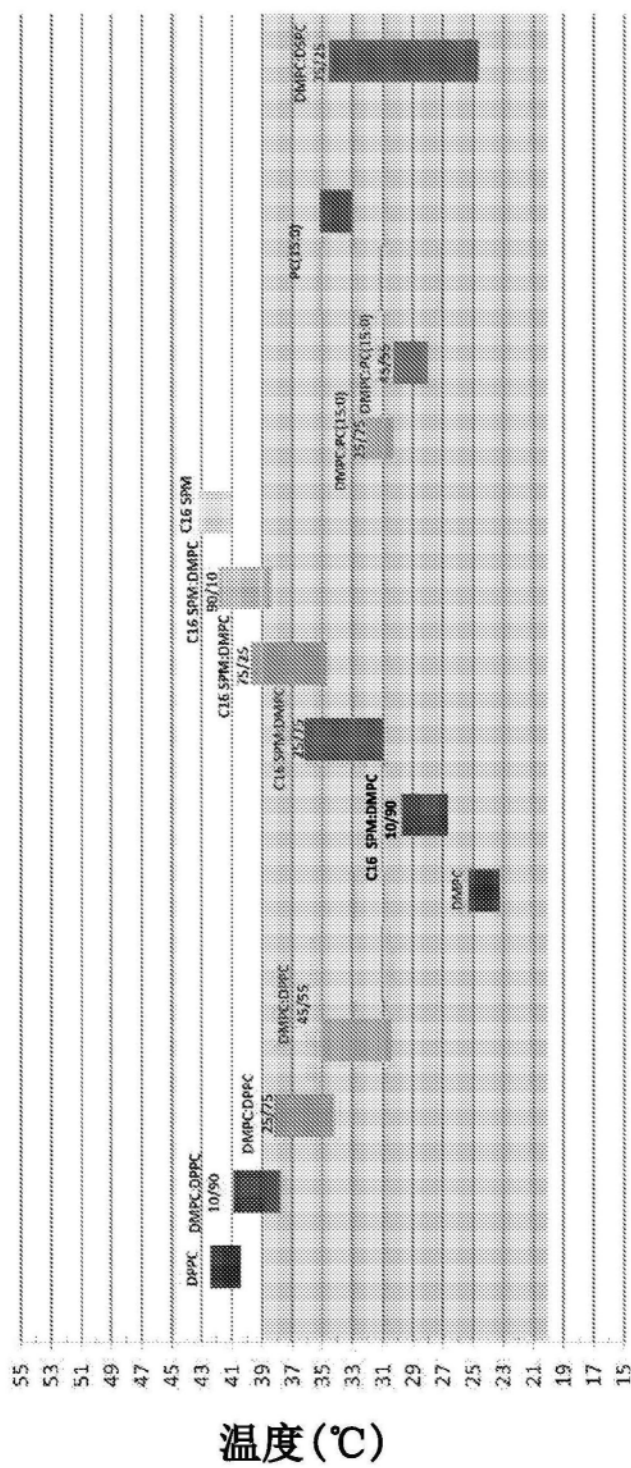


图3

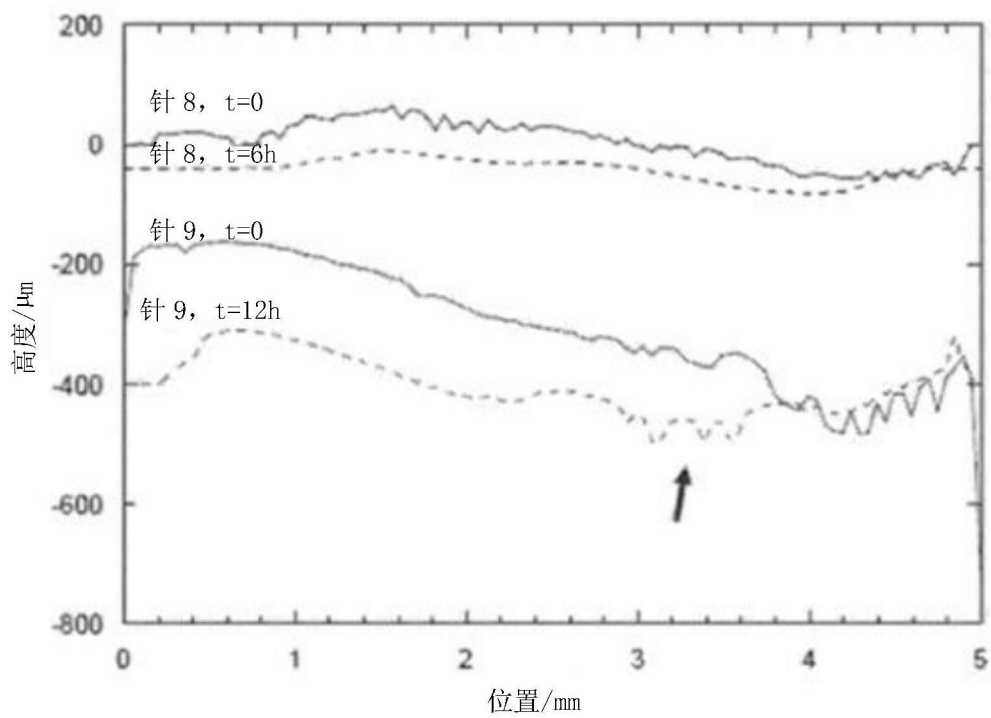


图4

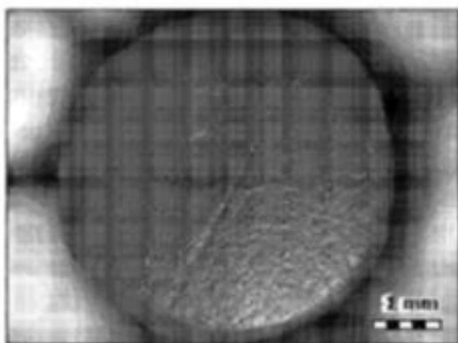


图5A

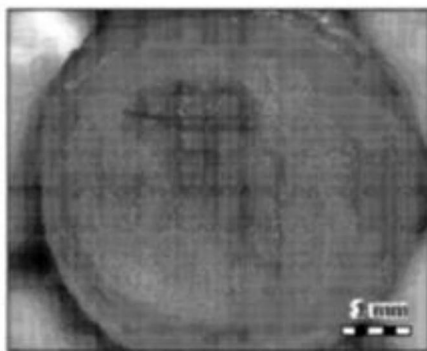


图5B

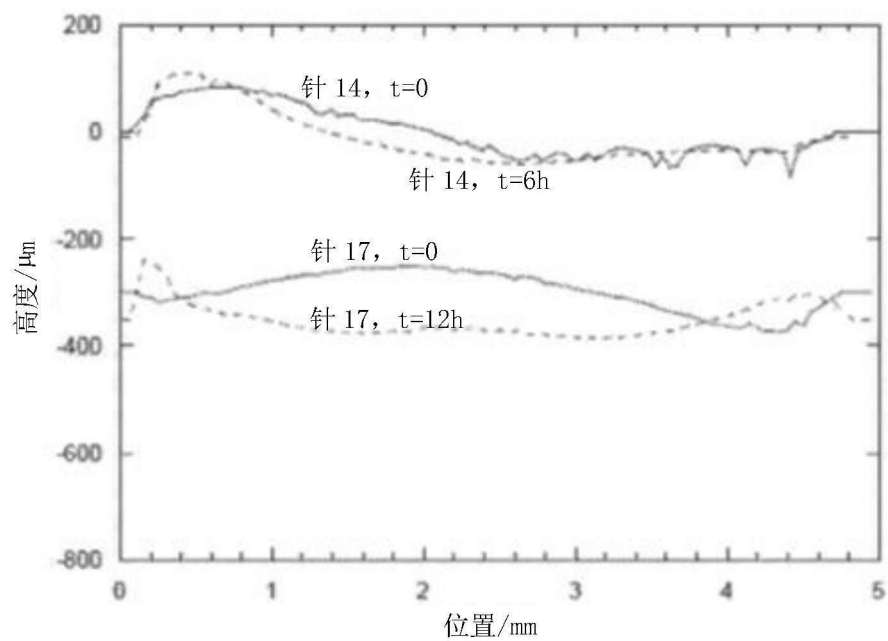


图6

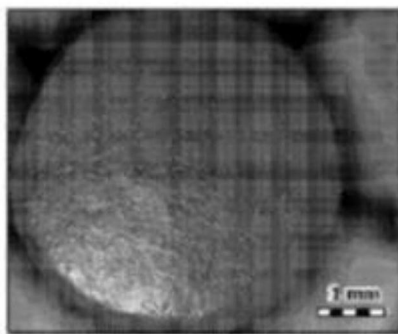


图7A

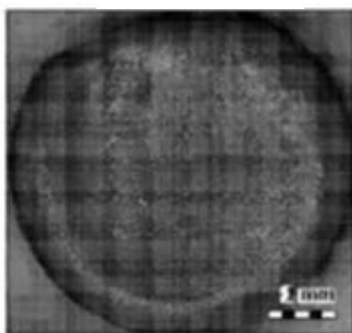


图7B

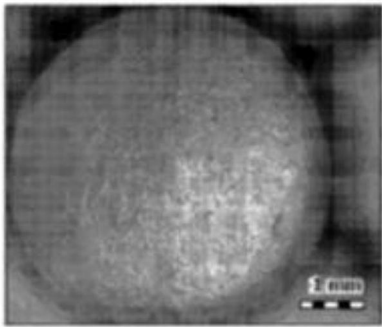


图8A

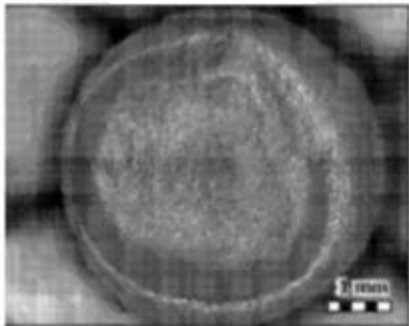


图8B

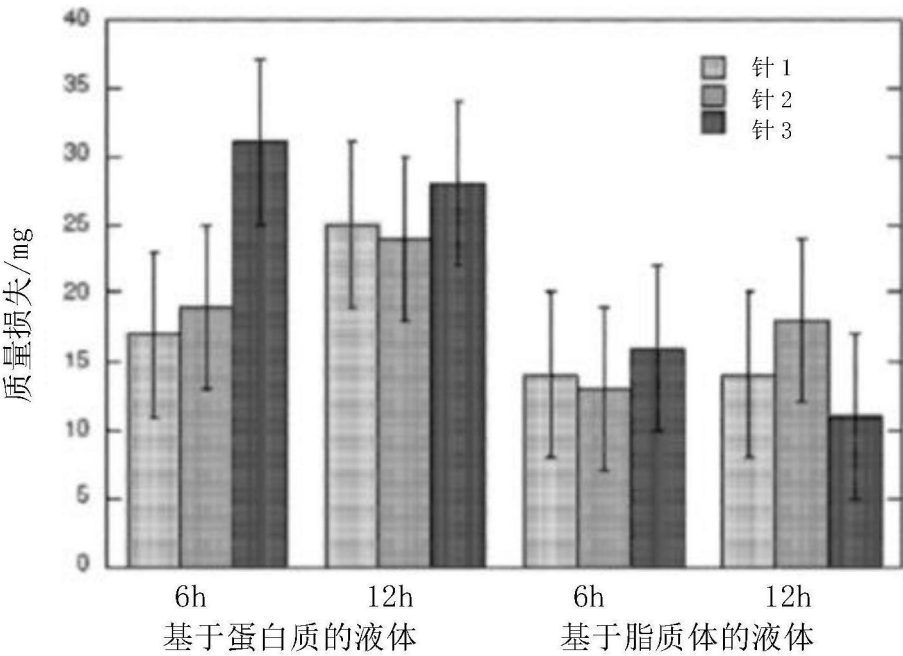


图9A

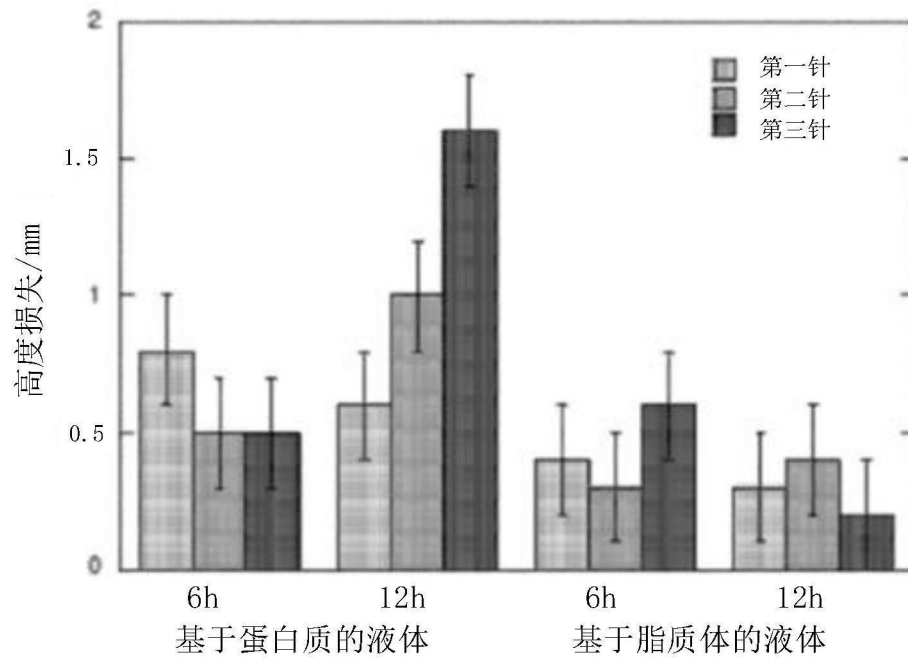
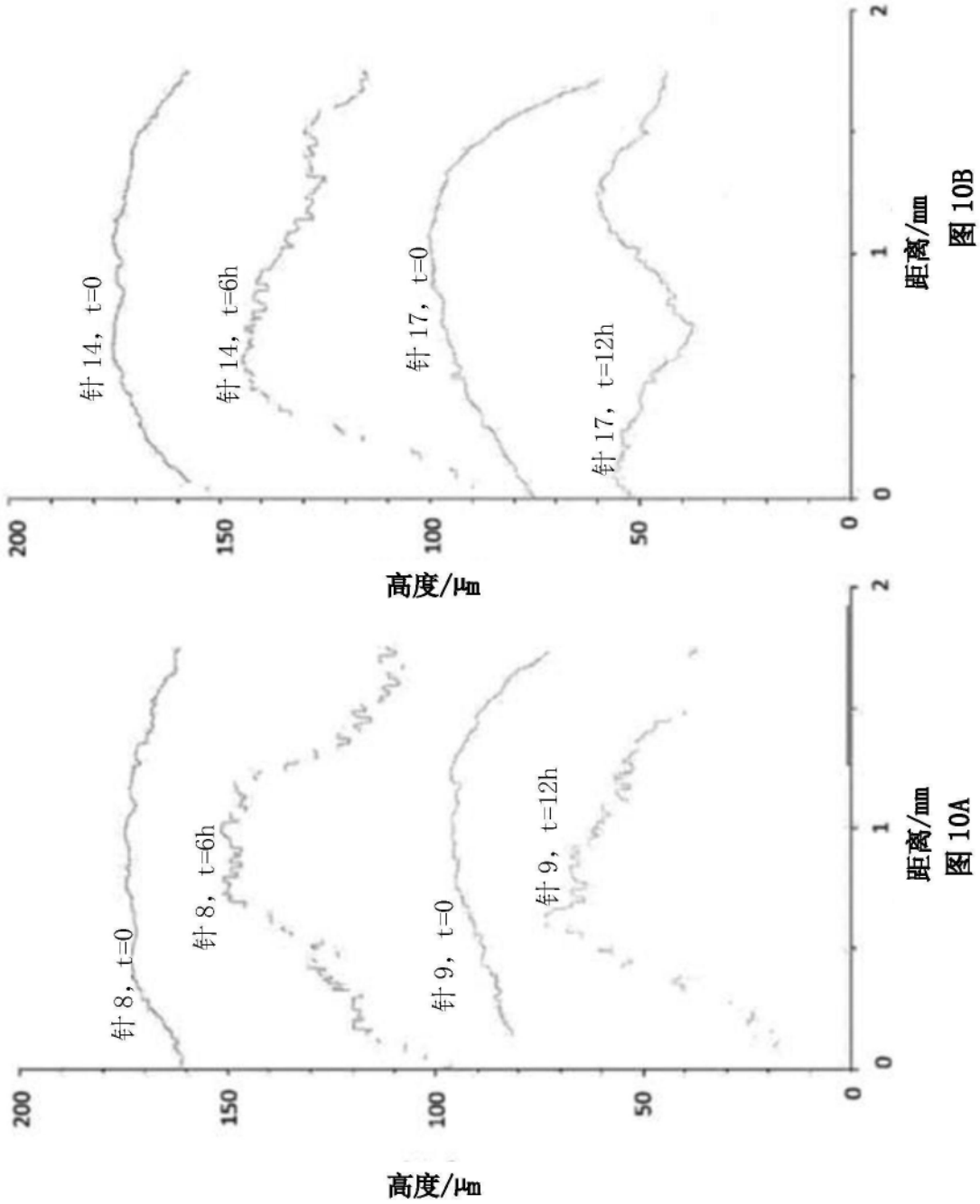


图9B



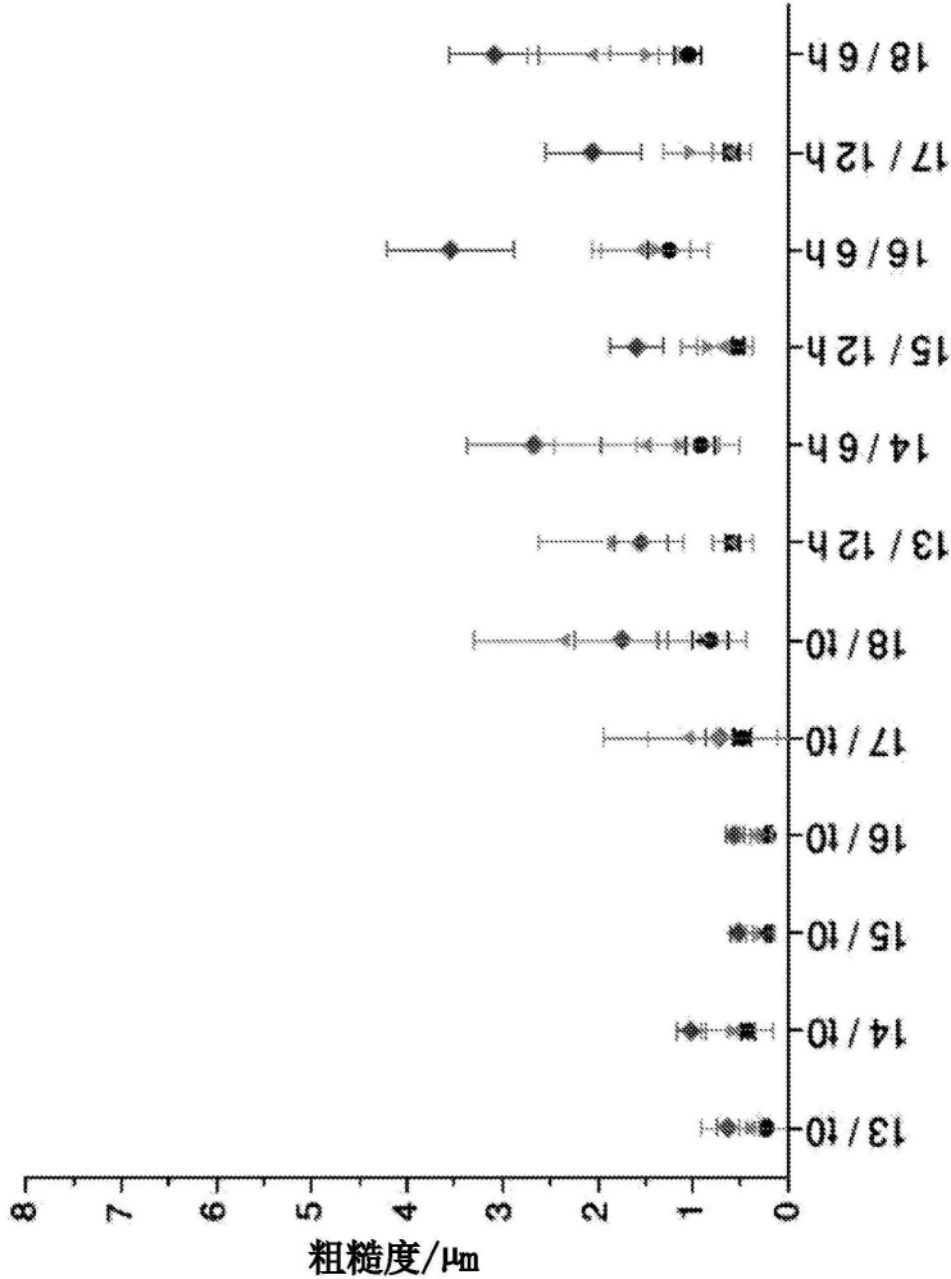


图11