

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101756961 A

(43) 申请公布日 2010. 06. 30

(21) 申请号 200910176277. 9

A61P 31/00 (2006. 01)

(22) 申请日 2003. 10. 04

A61P 25/20 (2006. 01)

(30) 优先权数据

60/454, 812 2003. 03. 13 US

PCT/US03/10533 2003. 04. 04 US

60/478, 430 2003. 06. 12 US

60/491, 050 2003. 07. 29 US

(62) 分案原申请数据

200380110249. 8 2003. 10. 04

(71) 申请人 康福玛医药公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 埃德加·H·厄尔马

罗伯特·曼斯菲尔德 马库斯·贝姆

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

代理人 陈文平 尚继栋

(51) Int. Cl.

A61K 31/395 (2006. 01)

A61K 47/14 (2006. 01)

A61K 31/23 (2006. 01)

权利要求书 2 页 说明书 15 页 附图 1 页

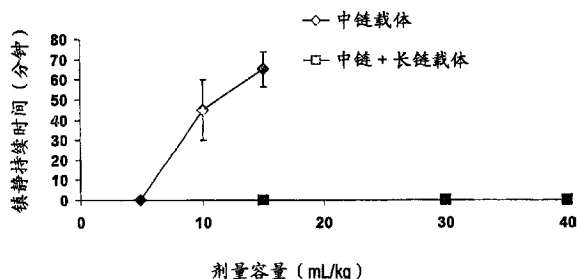
(54) 发明名称

含有长链和中链甘油三酯的药物制剂

(57) 摘要

本发明描述了含有乳化剂及中链和长链甘油三酯的药物制剂。在优选实施方案中,长链甘油三酯消除或减轻了中链甘油三酯导致的有害的中枢神经系统作用。

向 SD 大鼠中静脉内输注后的载体效应
(n=3)



1. 一种药物组合物,其包含:
HSP90 抑制剂,任选安沙霉素;
乳化剂;和
油,所述的油同时包含中链甘油三酯和长链甘油三酯。
2. 权利要求 1 的药物组合物,其中所述的 HSP90 抑制剂是安沙霉素。
3. 权利要求 2 的药物组合物,其中所述的安沙霉素是格尔德霉素或格尔德霉素衍生物。
4. 权利要求 3 的药物组合物,其中所述格尔德霉素衍生物选自 17-AAG 和 DMAG。
5. 权利要求 1 的药物组合物,其中所述中链甘油三酯与所述长链甘油三酯的 w/w 比为 10 : 1 至 0.01 : 10。
6. 权利要求 1 的药物组合物,它是具有脂相和水相的水包油乳剂,其中所述的脂相占总重量的 5-30% w/w。
7. 权利要求 1 的药物组合物,它包含 3-10% w/w 的磷脂和 5-20% w/w 的油。
8. 权利要求 7 的药物组合物,其中所述磷脂以卵磷脂形式存在。
9. 权利要求 8 的药物组合物,其中卵磷脂的量为水包油乳剂的 3-10% w/w。
10. 权利要求 1 的药物组合物,其包含不超过 10% w/w 的长链甘油三酯。
11. 权利要求 10 的药物组合物,其进一步包含少于或等于 7% w/w 的长链甘油三酯。
12. 权利要求 10 的药物组合物,其中所述长链甘油三酯包含由 16-18 个直链碳单元组成的脂肪酸酯,所述甘油三酯任选自亚油酸、油酸、棕榈酸及硬脂酸中的一种或多种。
13. 权利要求 7 的药物组合物,其中所述的磷脂是卵磷脂形式,任选为大豆或蛋卵磷脂。
14. 权利要求 2 的药物组合物,其中所述安沙霉素是熔点不超过 200℃ 的 17-AAG 低熔点异构体。
15. 权利要求 14 的药物组合物,其中所述的低熔点异构体是熔点为 147-175℃ 的 17-AAG。
16. 权利要求 1 的药物组合物,其中所述的油包含一种或多种选自大豆油、芝麻油、红花油及玉米油的天然油。
17. 权利要求 1 的药物组合物,它是一种乳剂,任选是冻干的。
18. 权利要求 1 的药物组合物,其包含水、防腐剂、抗冻剂、缓冲液、螯合剂和张度调节剂中的一种或多种。
19. 权利要求 1 的药物组合物,其包含 Miglyol 812N。
20. 权利要求 1-19 任一项所述的药物组合物,其中包含 0.5mg/ml-4mg/ml 的 17-AAG。
21. 权利要求 1-19 任一项所述的药物组合物,其中包含 0.05% w/w-0.4% w/w 的 17-AAG。
22. 权利要求 1 的药物组合物,其中包含如下组分:2mg/ml 的 17-AAG,3.3% 的大豆油,6.6% 的卵磷脂,9.9% 的 Miglyol 812N,7.5% 的蔗糖,和水。
23. 权利要求 1 的药物组合物,其中包含如下组分:2mg/ml 的 17-AAG,7.5% 的卵磷脂,15% 的 Miglyol 812N,10% 的蔗糖,和水。
24. 权利要求 22 或 23 的药物组合物,其进一步包含乙二胺四乙酸钠。

25. 权利要求 24 的药物组合物,其中所述乙二胺四乙酸钠为 0.005% w/w。
26. 权利要求 1 的药物组合物,其中所述的长链甘油三酯的存在量足够减少或避免发生中链甘油三酯介导的中枢神经系统作用。
27. 权利要求 26 的药物组合物,其中所述中枢神经系统作用选自嗜睡、恶心、困倦及 EEG 改变中的一种或多种。
28. 权利要求 1 的药物组合物,其进一步包含短链甘油三酯。
29. 一种药物制剂在制备用于减少接受包含中链甘油三酯作为制剂组分的药物制剂的患者发生由中链甘油三酯介导的中枢神经系统作用的药物中的用途,其中所述药物制剂包含安沙霉素和中链以及长链甘油三酯并且所述的长链甘油三酯的量足以减少或者避免中链脂肪酸介导的中枢神经系统作用的发生。
30. 权利要求 29 的用途,其中所述中枢神经系统作用选自嗜睡、恶心、困倦及 EEG 改变中的一种或多种。
31. 权利要求 1 的药物组合物,它是冻干、冷冻、融化或重建形式中的一种或多种。
32. 权利要求 1 的药物组合物,其储藏于惰性环境中。

含有长链和中链甘油三酯的药物制剂

[0001] 本申请是申请日为 2003 年 10 月 4 日、发明名称为“含有长链和中链甘油三酯的药物制剂”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求下列的优先权并在此一并引用其全部内容作为参考:Ulm 等 2003 年 7 月 29 日提交的标题为“安沙霉素制剂及其制备和使用方法”的美国临时专利申请 60/491,050 号;Ulm 等 2003 年 6 月 12 日提交的标题为“基于磷脂的制剂及其制备和使用方法”的美国临时专利申请 60/478,430 号;Ulm 等 2003 年 3 月 13 日提交的标题为“HSP90 抑制剂制剂和资料”的美国临时专利申请 60/454,812 号;和 Ulm 等 2003 年 4 月 4 日提交的标题为“新型安沙霉素制剂及其制备和使用方法”的 PCT 申请 PCT/US03/10533 号,其要求 2002 年 4 月 10 日提交的同样标题的美国临时专利申请 60/371,668 的优先权。

技术领域

[0004] 本发明一般涉及药物制剂和方法,并且在更特别的实施方案中涉及安沙霉素的乳化制剂,如 17-AAG。

背景技术

[0005] 以下描述中包括可能有助于理解本发明的信息。这并不是认可在此提供的任何信息为现有技术或与目前所申请的发明相关,或者明确或暗示提到的任何公开出版物为现有技术。

[0006] 17-烯丙基氨基-格尔德霉素(17-AAG)是格尔德霉素(GDM)的一种合成类似物。这两种分子都属于被称为安沙霉素的一大类抗生素分子。GDM 首先从微生物吸水链霉菌(*Streptomyces hygroscopicus*)中分离出来,最初被确定为是某些激酶的有效抑制剂,后来表明它们的作用是通过促进激酶降解,特别是靶向“分子伴侣”,例如热休克蛋白 90(HSP90)。后来,各种其他的安沙霉素也显示出或多或少的这种活性,其中 17-AAG 是最有希望的之一,目前正由国家癌症研究院(NCI)实施的深入的临床研究已经将它作为研究对象。参见,例如, *Federal Register*, 66(129):35443-35444; Erlichman et al., *Proc. AACR*(2001), 42, abstract 4474。

[0007] HSP90 是普遍存在的伴侣蛋白质,它与许多蛋白质的折叠、激活和装配有关,这些蛋白质包括涉及信号转导、细胞周期控制和转录调节的关键蛋白质。据研究人员报道, HSP90 伴侣蛋白质与重要的信号蛋白质有关,例如类固醇激素受体和蛋白质激酶,包括如, Raf-1、EGFR、v-Src 家族激酶、Cdk4 和 ErbB-2 (Buchner J., 1999, *TIBS*, 24:136-141; Stepanova, L. et al., 1996, *Genes Dev.* 10:1491-502; Dai, K. et al., 1996, *J. Biol. Chem.* 271:22030-4)。研究进一步表明某些辅伴侣分子,如, Hsp70、p60/Hop/Sti1、Hip、Bag1、HSP40/Hdj2/Hsj1、亲免疫素、p23 和 p50,会有助于 HSP90 功能的发挥(参见,例如, Caplan, A., *Trends in Cell Biol.*, 9:262-68(1999))。

[0008] 人们认为安沙霉素类抗生素,例如除莠霉素 A(HA)、格尔德霉素(GM)和 17-AAG,

可通过与 HSP90 的 N- 末端 ATP 结合袋 (ATP-binding pocket) 紧密结合发挥其抗癌效果 (Stebbins, C. et al., 1997, Cell, 89 :239-250)。该袋是高度保守的, 并且与 DNA 促旋酶的 ATP 结合部位之间具有弱的同源性 (Stebbins, C. et al., 同上; Grenert, J. P. et al., 1997, J. Biol. Chem., 272 :23843-50)。此外, 已经有结果显示 ATP 和 ADP 均以低亲和力与该袋结合, 并具有弱的 ATP 酶活性 (Proromou, C. et al., 1997, Cell, 90 :65-75; Panaretou, B. et al., 1998, EMBO J., 17 :4829-36)。在体外和体内的研究表明, N- 末端袋被安沙霉素和其他 HSP90 抑制剂占据改变了 HSP90 的功能并且抑制了蛋白质的折叠。在高浓度下, 安沙霉素和其他 HSP90 抑制剂可以阻止蛋白质底物与 HSP90 的结合 (Scheibel, T. H. et al., 1999, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 96 :1297-302; Schulte, T. W. et al., 1995, J. Biol. Chem. 270 :24585-8; Whitesell, L., et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 91 :8324-8328)。同时也已经表明安沙霉素能够抑制伴侣相关蛋白底物的 ATP 依赖的释放 (Schneider, C. L. et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93 :14536-41; Sepp-Lorenzino et al., 1995, J. Biol. Chem. 270 :16580-16587)。无论何种情况, 底物都被蛋白酶体中存在的一种依赖遍在蛋白的过程降解 (Schneider, C., L., 同上; Sepp-Lorenzino, L., et al., 1995, J. Biol. Chem. 270 :16580-16587; Whitesell, L. et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91 :8324-8328)。

[0009] 该底物的去稳定化发生在肿瘤和非转化细胞中, 同时显示对一亚类信号调节物特别有效, 如 Raf (Schulte, T. W. et al., 1997, Biochem. Biophys. Res. Commun. 239 :655-9; Schulte, T. W., et al., 1995, J. Biol. Chem. 270 :24585-8)、核类固醇受体 (Segnitz, B., and U. Gehring. 1997, J. Biol. Chem. 272 :18694-18701; Smith, D. F. et al., 1995, Mol. Cell. Biol. 15 :6804-12)、v-src (Whitesell, L., et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 91 :8324-8328) 以及某些跨膜酪氨酸激酶 (Sepp-Lorenzino, L. et al., 1995, J. Biol. Chem. 270 :16580-16587), 例如 EGF 受体 (EGFR) 和 Her2/Neu (Hartmann, F., et al., 1997, Int. J. Cancer 70 :221-9; Miller, P. et al., 1994, Cancer Res. 54 :2724-2730; Mimnaugh, E. G., et al., 1996, J. Biol. Chem. 271 :22796-801; Schnur, R. et al., 1995, J. Med. Chem. 38 :3806-3812)、CDK4 和突变型 p53。Erlichman et al., Proc. AACR(2001), 42, abstract 4474。安沙霉素诱导的这些蛋白质的损失导致某些调节路径遭到选择性破坏, 并造成在细胞周期的特定阶段生长停滞 (Muisse-Heimericks, R. C. et al., 1998, J. Biol. Chem. 273 :29864-72), 以及所处理的细胞的凋亡和 / 或分化 (Vasilevskaya, A. et al., 1999, Cancer Res., 59 :3935-40)。

[0010] 近来, Nicchitta 等的 WO 01/72779 (PCT/US01/09512) 表明, 可以设想 HSP90 在热休克和 / 或被荧光团 bis-ANS 结合后具有一种不同的构象。具体地, Nicchitta 等证明了, 诱导的这种构象, 与在正常细胞中占优势的 HSP90 的不同形态相比, 显示了对某些 HSP90 配体有更高的亲和力。共同拥有的申请 PCT/US02/39993 通过证明癌细胞裂解物作为高亲和力 HSP90 的优良来源的用途和应用进一步支持了这一发现。

[0011] 除了抗癌和抗肿瘤发生的活性外, HSP90 抑制剂也涉及多种其它应用, 包括作为抗炎药、抗传染病药、治疗自身免疫的药物、治疗中风、局部缺血、心脏疾患的药物以及有助于促进神经再生的药物 (参见, 例如, Rosen et al., WO 02/09696 (PCT/US01/23640); Degranco et al., WO 99/51223 (PCT/US99/07242); Gold, 美国专利 6,210,974B1;

DeFranco et al., 美国专利 6,174,875)。与上面的某些内容有所重叠,文献还报道了其也可以治疗纤维生成性疾病,包括但不限于硬皮病、多发性肌炎、全身性红斑狼疮、类风湿性关节炎、肝硬化、瘢痕疙瘩形成、间质性肾炎、以及肺纤维化。(Strehlow, W002/02123; PCT/US01/20578)。另外, HSP90 的调变、调节物和应用还在下列文献中报道: PCT/US03/04283, PCT/US02/35938, PCT/US02/16287, PCT/US02/06518, PCT/US98/09805, PCT/US00/09512, PCT/US01/09512, PCT/US01/23640, PCT/US01/46303, PCT/US01/46304, PCT/US02/06518, PCT/US02/29715, PCT/US02/35069, PCT/US02/35938, PCT/US02/39993, 60/293, 246, 60/371, 668, 60/331, 893, 60/335, 391, 06/128, 593, 60/337, 919, 60/340, 762 和 60/359, 484。

[0012] 目前,和其它许多亲脂性药物一样,安沙霉素难以制备成药用制剂,尤其是静脉注射用制剂。迄今为止,已经尝试将其制备成脂囊泡和水包油型乳剂,但这都需要复杂的加工步骤、粗糙或临床不能接受的溶剂和/或造成制剂不稳定。通常可参见 Vemuri, S. and Rhodes, C. T., Preparation and characterization of liposomes as therapeutic delivery systems: a review, *Pharmaceutica Acta Helvetiae* 70, pp. 95-111 (1995); 也可参见 2000 年 6 月 29 日公布公开号为 W000/37050 的 PCT/US99/30631。本申请要求优先权的共同拥有的申请 PCT/US03/10533 描述了含有中链甘油三酯的乳剂。但是,承载它们的中链脂肪酸和甘油三酯可能导致代谢生成辛酸盐,从而导致不希望有的中枢神经系统作用,例如,嗜睡、恶心、困倦以及 EEG 的改变。参见 Cotter et al., *Am. J. Clin. Nutr.* 50: 794-800 (1989); Miles et al., *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 15: 37-41 (1991); Traul et al., *Food Chem. Toxicol.* 38: 79-98 (2000)。迄今为止,这类副作用通过以营养补充剂的形式使用长链脂肪酸可以部分改善,其作用机理是长链脂肪酸以更高的结合效率竞争关键的辛酸盐途经酶。但是,根据申请人迄今为止所知,它们并没有与中链甘油三酯和安沙霉素联合应用。

[0013] 因此,需要另外的制剂及其制备方法,其可以相对简单地制造出来并能改善一个或几个通常由中链甘油三酯引起的上述的缺点。

发明内容

[0014] 通过将长链甘油三酯作为制剂的一个组分与化合物配制在一起,发现申请人在此要求保护的制剂能够用于耐受性更好地静脉内施用亲脂化合物例如安沙霉素。

[0015] 在第一方面,本发明的特征在于一种药物组合物,其包含药学活性化合物,例如安沙霉素,如 17-AAG,与一种乳化剂(例如磷脂,如在卵磷脂中所发现的磷脂)和油组合使用。油可以并优选包含长链甘油三酯。该组合物也可包含中链甘油三酯。乳化剂和油共同构成脂相。

[0016] 在某些实施方案中,脂相占总制剂的 5-30% w/w,优选 5-20% w/w。

[0017] 在某些实施方案中,长链甘油三酯的总 w/w 百分比不超过 10%,更优选范围为 7% 或更低,更优选范围为 6% 或更低,以适应粘度限制。

[0018] 在某些实施方案中,中链甘油三酯与长链甘油三酯的 w/w 比为 10 : 0.0001 至 0.0001 : 10,更优选 10 : 1 至 1 : 10。

[0019] 在某些实施方案中,磷脂占总重量的 3-10% w/w。

[0020] 在某些实施方案中,甘油三酯占总重量的 5-20% w/w。

[0021] 在某些实施方案中,甘油三酯是,或至少部分是自然存在的油的形式,例如植物油,如大豆油、芝麻油、红花油和玉米油。

[0022] 在某些实施方案中,该组合物进一步包含水、防腐剂(例如乙二胺四乙酸钠)、抗冻剂、缓冲液、螯合剂和张度调节剂(tonicifier)中的一种或多种。

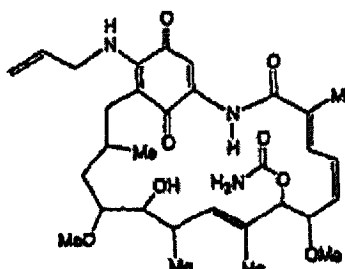
[0023] 在某些实施方案中,药物为 17-AAG(17-烯丙基氨基格尔德霉素、17-烯丙基氨基-17-脱甲氧基-格尔德霉素),并且量为 0.5mg/ml-4mg/ml 或者占总制剂重量的 0.05% w/w-0.4% w/w。

[0024] 在一个实施方案中,该组合物含有如下成分:2mg/ml 的 17-AAG,3.3% 的大豆油,6.6% 的卵磷脂,9.9% 的 Miglyol 812N,7.15% 的蔗糖,和水。

[0025] 在另一个实施方案中,该组合物含有如下成分:2mg/ml 的 17-AAG,7.5% 的卵磷脂,15% 的 Miglyol 812N,10% 的蔗糖,和水。

[0026] 17-AAG 是 17-烯丙基氨基格尔德霉素,具有如下结构:

[0027]



[0028] 在某些实施方案中,本发明的组合物也包含短链甘油三酯。

[0029] 在一个特别优选的实施方案中,该组合物包含足够量的长链甘油三酯以减少或避免中链甘油三酯介导的中枢神经系统(CNS)作用的发生,特别是在该组合物中也包含中链甘油三酯的情况下。CNS 作用通常是负面的、不希望发生的作用,包括但不限于嗜睡、恶心、困倦及 EEG 改变中的一种或多种。然而,在某些实施方案中,这种(些)作用在给定的背景下可能是希望的,以使得中链甘油三酯相对于长链甘油三酯的量增加。

[0030] 在某些实施方案中,该组合物是冷冻的和/或冻干的,如在 PCT/US03/10533 中所概述的那样。在冻干的实施方案中,甘油三酯、磷脂、药物和非挥发性组分每个组分的重量百分比都必须增加并超过上述范围,以符合在损失了最初存在但在冻干后失去的水和其他挥发性组分之后它们的相对分数的增加。

[0031] 在某些实施方案中,该组合物也可以在惰性气体条件中配制和/或储藏,例如储藏于黑暗和/或不透光的瓶子、管形瓶或安瓿中。

[0032] 适当的时候也涉及任何上述实施方案的组合。

[0033] 另一方面,本发明的特征在于一种减少患者发生由中链甘油三酯介导的中枢神经系统作用的方法,包括:提供一种包含药学活性药物和长链甘油三酯的药物制剂,所述的长链甘油三酯的量足以减少或避免中链脂肪酸介导的中枢神经系统作用的发生,并将上述产品施用给患者。这方面的实施方案可以参照上述方面的任何组合物实施方案及其组合。

[0034] 另一方面,本发明的特征在于使用药物组合物、制剂的方法及通过对生物施用药学有效量的产品以治疗或预防生物如哺乳动物疾病的上述方法和产品。所述疾病,至少在

治疗哺乳动物的情况时,优选选自局部缺血、增生性疾病及神经损伤等疾病,并包含 HSP90 抑制剂,如一种或多种安沙霉素作为药学活性药物。增生性疾病包括但不限于肿瘤和癌症、炎性疾病、真菌感染、酵母菌感染和病毒感染。在某些优选实施方案中,哺乳动物是人。在某些优选实施方案中,给药方式为静脉注射,虽然如此,在下面更详细的说明中,其他给药方式也是可以考虑的。

[0035] 根据具体的实施方案,本发明的优点包括下列一项或多项优点:易于制备、使用临床可接受的试剂(如可以减少对环境和/或患者的毒性)、制剂的稳定性提高、易于装运和入库、配方和床边操作简单、给药时的静脉内和全身耐受、以及避免了由体内的中链脂肪酸和甘油三酯经常引起的某些不希望有的副作用。其他的优点、方面和实施方案通过下面附图、详述和权利要求将是显而易见的。

附图说明

[0036] 图 1 显示由于在包含中链甘油三酯的制剂中加入长链脂肪酸,大鼠的嗜睡减轻。

[0037] 优选实施方案的说明

[0038] 本发明的制剂在适于对患者以静脉注射和以其他方式给药的水溶性药物上具有特殊的优点。配制方法相对简单,通常采用临床可接受的试剂,并且制备的产品在储藏、稳定性与生物耐受性上均具有超过现有的方法和产品的优点。

[0039] 定义

[0040] 下面的术语具有如下的含义,而且下面没有特别指出的术语也具有本领域通常惯有的含义:

[0041] 术语“药学活性化合物”与“药物”具有相同含义,是指在体内或体外当施用于培养的细胞或生物时任何直接或间接发挥生物效应的化合物。药物优选能够包装于脂质体中和/或乳化,并且虽然不是必需,但是该药物通常是亲脂性的。

[0042] 术语“蒸发”和“冻干”并不意味着必须 100% 除去溶剂和溶液,可能只是除去较少的比例。但是,在冻干的实施方案中,优选基本上除去,优选除去大约 95% 或更多。

[0043] “惰性气体条件”是指与标准大气条件中的气体相比具有相对较低反应性的气体条件。这种惰性气体条件的一个例子是在配制过程中使用纯的或基本上纯的氮气。本领域的技术人员对于其他的情况也都是熟知的。

[0044] 术语“水合”或“再水合”是指加入水溶液,如水或生理上相容的缓冲液,例如汉克斯液、林格液、或生理盐水缓冲液。

[0045] 术语“约”是指涵盖所述值左右 20% 的偏差的范围。术语“包括”与“之间”或“之间约”连用时,意味着包括所述范围的端点值。

[0046] 术语“安沙霉素”是一个广义的术语,表征具有“𪔐”结构的化合物,所述“𪔐”结构包含通过长链桥接的苯醌、苯并氢醌、萘醌或萘并氢醌部分之一。萘醌或萘并氢醌类化合物的例子分别是在临床上重要的药物利福平和利福霉素。苯醌类化合物的实例是格尔德霉素(包括其合成衍生物,17-烯丙基氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素(17-AAG)和 17-N,N-二甲基氨基-乙氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素(DMAG))、二氢格尔德霉素及除莠霉素。苯并氢醌类的实例是麦克拉霉素。根据本发明的安沙霉素和苯醌安沙霉素可以是合成的、天然生成的、或者是二者的结合,即“半合成的”,并且可以包括二聚体和偶联变体及前药的形式。在本发

明中的一些典型苯醌安沙霉素及其制备方法包括但不限于如美国专利 3,595,955 (描述了安沙霉素的制备)、4,261,989、5,387,584 和 5,932,566 中所述。格尔德霉素也可购得,例如购自 CN Biosciences,它是 Merck KGaA, Darmstadt, Germany 的一家关联公司,总部位于 San Diego, California, USA (货号 345805)。格尔德霉素衍生物 4,5-二氢格尔德霉素及其氢醌从吸水链霉菌 (ATCC 55256) 培养物中的生物化学纯化在申请人为 Pfizer Inc, 发明人为 Cullen 等,公开于 1993 年 7 月 22 日,公开号为 W093/14215,国际申请号为 PCT/US92/10189 的申请中描述;由格尔德霉素的催化氢化来合成 4,5-二氢格尔德霉素的一种可选择的方法也是已知的。参见,例如,Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, Chemistry of the Ansamycin Antibiotics, 33:278 (1976)。在本发明的各种实施方案中有用的其他安沙霉素在上述“背景技术”部分所引用的文献中有描述。

[0047] “油”包括脂肪酸和含有脂肪酸的甘油酯,例如本领域已知的甘油一酯、甘油二酯和甘油三酯。在本发明中使用的脂肪酸和甘油酯可以是饱和的和 / 或不饱和的,天然的和 / 或合成的,荷电的或中性的。“合成”可以是完全合成或半合成,这些术语都是本领域已知的。油在组分和 / 或来源上也可以是均一的或不均一的。

[0048] 此处,“中链甘油三酯”是含有长度为 8-12 个直链碳原子,更优选长度为 8-10 个碳原子的脂肪酸的甘油三酯组合物。本发明的各种实施方案包括使用由 CONDEA (Cranford, NJ, USA) 提供的 Miglyol® 812。Miglyol® 812 大致包含 50-65% 辛酸 (8 个碳原子) 和 30-45% 癸酸 (10 个碳原子)。也可以存在己酸 (6 个碳原子),最高可达约 2%,月桂酸 (12 个碳原子) 同样如此。肉豆蔻酸 (14 个碳原子) 以更少的量 (最高 1%) 存在。Condea 也提供了 Miglyol® 810、818、829 及 840,可以预见一种或多种这些其它的 Miglyol® 溶液和其他的中链甘油三酯溶液也可以或多或少成功地用于本发明的各个方面和实施方案中。至于后者,本领域技术人员熟悉其性质、来源和 / 或制备方法,并且不经过太多研究或实验就能够获得或制备。Miglyol 812N 在欧洲药典中作为中链甘油三酯、在英国药典中作为分馏的椰子油、及在日本药典中作为辛酸 / 癸酸甘油三酯都有专题文章。中链甘油三酯的其他来源包括椰子油、棕榈仁油及黄油。

[0049] “短链甘油三酯”是含有长度少于 8 个直链碳原子的脂肪酸的甘油三酯组合物。

[0050] “长链甘油三酯”是含有长度大于 12 个直链碳原子的脂肪酸的甘油三酯组合物。它们的共同来源是植物油,例如大豆油,其通常含有 55-60% 亚油酸 (9,12-十八碳二烯酸),22% 油酸 (顺-9-十八碳烯酸),和少量棕榈酸和硬脂酸。

[0051] 术语“短”、“中”和“长”也可以用于单独的脂肪酸,在这种情况下,其定义分别包括少于 8 个直链碳原子,8-12 个直链碳原子和大于 12 个直链碳原子。

[0052] “乳化剂”与“表面活性剂”同义,包括但不限于磷脂,如卵磷脂。“卵磷脂”是连接到磷酸胆碱酯上的硬脂酸、棕榈酸和油酸的甘油二酯的天然存在的混合物。术语表面活性剂或乳化剂也包括磷脂酰胆碱,该类化合物是众所周知的。本发明中应用的优选乳化剂是大豆卵磷脂,如 American Lecithin Company (Oxford, CT, USA) 提供的 Phospholipon 90G。Phospholipon 90G 早前已经应用于非胃肠给药的营养产品中,如在 Intralipid® 中浓度约为 1.2%,在 Doxil® (多柔比星) 中约为 1%,在 Ambisome® (两性霉素 B) 中约为 2%,及在 Propofol® 中约为 1.2%。关于后者,可参见例如美国专利 6,140,374。以水和 / 或溶解表面活性剂的其他组分的量计,表面活性剂 / 乳化剂通常以大约 0.5-25% w/v 的浓度

存在。表面活性剂浓度优选约为 0.5-10% w/v, 最优选约为 1-8% w/v。

[0053] 阴离子表面活性剂的例子包括月桂基硫酸钠、三乙醇胺月桂基硫酸酯、聚氧乙烯十二烷基醚硫酸钠、聚氧乙烯壬基苯基醚硫酸钠、三乙醇胺聚氧乙烯十二烷基醚硫酸酯、椰油基肌氨酸钠、N-椰油酰甲基牛磺酸钠、聚氧乙烯(椰子)烷基醚硫酸钠、二醚己基磺基丁二酸钠、 α -烯烴磺酸钠、十二烷基磷酸钠、聚氧乙烯十二烷基醚磷酸钠、全氟代烷基羧酸盐(由 Daikin Industries Ltd. 制造, 商品名为 UNIDINE DS-101 和 102)。

[0054] 阳离子表面活性剂的例子包括二烷基(C_{12} - C_{22})二甲基氯化铵、烷基(椰子)二甲苳基氯化铵、十八胺醋酸盐、十四胺醋酸盐、牛油烷基丙二胺亚胺醋酸盐、十八烷基三甲基氯化铵、烷基(牛油)三甲基氯化铵、十二烷基三甲基氯化铵、烷基(椰子)三甲基氯化铵、十六烷基三甲基氯化铵、联苯三甲基氯化铵、烷基(牛油)-咪唑啉季盐、十四烷基甲苳基氯化铵十八烷基二甲苳基氯化铵、二油基二甲基氯化铵、聚氧乙烯十二烷基一甲基氯化铵、聚氧乙烯烷基(C_{12} - C_{22})苳基氯化铵、聚氧乙烯月桂基一甲基氯化铵、1-羟乙基-2-烷基(牛油)-咪唑啉季盐、及含有硅氧烷基团作为疏水基的硅酮阳离子表面活性剂、含有氟代烷基作为疏水基的含氟阳离子表面活性剂(由 Daikin Industries Ltd 制造, 商品名为 UNIDINE DS-202)。

[0055] 非离子表面活性剂的例子包括聚氧乙烯十二烷基醚、聚氧乙烯十三烷基醚、聚氧乙烯十六烷基醚、聚氧乙烯聚氧丙烯十六烷基醚、聚氧乙烯十八烷酰醚、聚氧乙烯油基醚、聚氧乙烯壬基苯基醚、聚氧乙烯辛基苯基醚、聚氧乙烯单月桂酸、聚氧乙烯单硬脂酸、聚氧乙烯单油酸、脱水山梨醇单月桂酸酯、脱水山梨醇单硬脂酸酯、脱水山梨醇单棕榈酸酯、脱水山梨醇单硬脂酸酯、脱水山梨醇单油酸酯、脱水山梨醇倍半油酸酯、脱水山梨醇三油酸酯、聚氧乙烯脱水山梨醇单月桂酸酯、聚氧乙烯脱水山梨醇单棕榈酸酯、聚氧乙烯脱水山梨醇单硬脂酸酯、聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯、聚氧乙烯聚氧丙烯嵌段聚合物、聚甘油脂肪酸酯、聚醚修饰的硅油(由 Toray DowCorning Silicone Co., Ltd. 制造, 商品名为 SH3746、SH3748、SH3749 和 SH3771)、全氟代烷基环氧乙烷加合物(由 Daikin Industries Ltd 制造, 商品名为 UNIDINE DS-401 和 DS-403)、氟代烷基环氧乙烷加合物(由 Daikin Industries Ltd 制造, 商品名为 UNIDINE DS-406)、及全氟代烷基低聚物(由 Daikin Industries Ltd 制造, 商品名为 UNIDINE DS-451)。

[0056] “生理可接受的载体”是指一种载体或稀释剂, 其不会对生物产生显著的刺激而且也不会使施用的化合物的生物活性和性质消失。

[0057] “赋形剂”是指加入到药学组合物中可以进一步促进化合物给药的物质。赋形剂的例子包括但不限于碳酸钙、磷酸钙、多种糖和不同类型的淀粉、纤维素及纤维素衍生物、明胶、植物油及聚乙二醇。这些也可以是生理可接受的载体, 如上所述, 例如蔗糖。进一步属于赋形剂定义范围内的是填充剂。“填充剂”一般通过使干燥制剂的基质保持其构象以给亲液性制剂提供机械支持。优选为糖。此处所用的糖包括但不限于单糖、二糖、寡糖及多糖。具体的例子包括但不限于果糖、葡萄糖、甘露糖、海藻糖、山梨糖、木糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖、右旋糖、及葡聚糖。糖也包括糖醇, 如甘露醇、山梨醇、肌醇、半乳糖醇、木糖醇及阿拉伯糖醇。根据本发明也可以使用糖的混合物。多种填充剂, 如甘油、糖、糖醇和单糖及二糖也可以发挥等渗剂的功能。优选填充剂对于药物是化学惰性的而且在使用条件下不具有或具有极其有限的有害的副作用或毒性。除填充剂载体外, 其他载体也可能达到或者可能达不到填充

剂的目的,包括,如本领域已知且容易获得的佐剂和稀释剂。

[0058] 本发明优选的一种填充剂是蔗糖。不受任何理论所束缚,认为蔗糖在冷冻及随后冻干时形成无定型的玻璃状物质,从而通过在硬的玻璃状物质中形成分散的包含活性成分的油滴而增强制剂的可能的稳定性。由于糖替代了在冻干时损失的水,因此也可以增强稳定性。不是水分子,而是糖分子通过氢键与界面上的磷脂键合。具有这些特征和能被取代的其他填充剂包括但不限于纤维素制品,例如,玉米淀粉、小麦淀粉、米淀粉、马铃薯淀粉、明胶、西黄蓍胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、和 / 或聚乙烯吡咯烷酮 (PVP)。如果需要,也可以加入崩解剂,如交联的聚乙烯吡咯烷酮、琼脂、或海藻酸或其盐如海藻酸钠。

[0059] 权利要求中的短语“减少或避免发生由中链甘油三酯介导的中枢神经系统作用的量”无需太多的实验即可以由普通技术人员利用此处所述的起点通过经验来确定。

[0060] 乳化作用

[0061] 本领域公知,包含油相和水相的乳剂作为治疗有效成分的载体或者作为肠胃外营养的来源。乳剂可以是水包油或油包水型。如当前的情况,如果治疗成分特别可溶于油相,则水包油型是优选的实施方案。简单的乳剂是热力学不稳定的系统,因为其中油相和水相分开(油滴会聚结)。将聚结过程减小到轻微水平的关键是在乳剂中加入乳化剂。

[0062] 为阻止或最小化氧化降解反应或脂质过氧化反应,除了去氧(例如将制剂置于惰性气体如氮气和氩气中,和 / 或使用耐光容器)以外,或者作为它的备选方法,还可以加入例如 α -生育酚和丁基化苄醇,及防腐剂如乙二胺四乙酸盐。

[0063] 可以通过本领域众所周知的多种技术实现乳化,如机械混合、匀化(如,采用 polytron 或 Gaulin 高能型设备)、涡旋及超声处理。超声处理可以采用水浴型或探针型设备进行。微流化器例如可购自 Microfluidics Corp., Newton, Mass., 在美国专利 4,533,254 中有进一步描述,并且利用压力辅助通过狭窄孔口。也可以使用压力辅助挤压来穿过多种可购得的聚碳酸酯膜。低压装置也是可以使用的。这些高压和低压装置可以用于选择和 / 或调整囊泡的大小。

[0064] 通过过滤法除菌。过滤可以包括通过较大直径滤器如 0.45 微米滤器的预过滤,以及然后再透过较小的滤器,如 0.2 微米的滤器。优选的过滤介质是醋酸纤维素 (Sartorius-Sartobran™)。

[0065] 冻干

[0066] 冻干是从一个样本中将液体除去或基本上除去,例如通过升华,如在上面标题为“溶剂的除去”的部分所述。

[0067] 物理和化学稳定性的表征和评估

[0068] 磷脂及其降解产物可以从乳剂中提取出来再测定。然后把液体混合物用二维薄层色谱 (TLC) 系统或高效液相色谱 (HPLC) 系统分离。在 TLC 中,可以取相应于单个组分的斑点测定磷的量。样品中磷的总量可以定量测定,如用分光光度计在 825nm 处测量形成的蓝色相对于水的强度。在 HPLC 中,可以分离磷脂酰胆碱 (PC) 和磷脂酰甘油 (PG) 并且精确定量。脂类可以在 203-205nm 的区域检测到。在紫外光谱的 200nm 波长区域,不饱和脂肪酸显示较高的吸光度,而饱和脂肪酸显示较低的吸光度。作为一个例子,Vemuri 和 Rhodes,同上,描述了蛋黄中 PC 和 PG 在 Licosorb Diol 和 LicosorbS1-60 中的分离。分离采用的

流动相是乙腈-甲醇,其含有 1%的己烷-水(74 : 16 : 10v/v/v)。8 分钟后,观察 PG 与 PC 的分离。保留时间分别大约为 1.1 和 3.2 分钟。

[0069] 乳剂的外观、平均小滴直径、及大小分布对于观察和保持而言是重要的参数。这些参数可以采用许多方法来评价。例如,可以采用动态光散射和电子显微镜技术。参见,例如, Szoka and Papahadjopoulos, *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.*, 9 :467-508(1980)。特别地,可以采用冷冻断裂电子显微镜检查进行形态学表征。也可以选用较低效能的光学显微镜。

[0070] 乳剂小滴大小分布例如可以采用粒径大小分布分析器来检测,例如 Horiba Limited(Ann Arbor, MI, USA) 制造的 CAPA-500、库尔特粒度仪(Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA),或 Zetasizer(Malvern Instruments, Southborough, MA, USA)。

[0071] 使用 HPLC 进行的稳定性检测

[0072] 与上述用于乳剂中脂类组分的方法相似,治疗活性成分如 17-AAG 的化学稳定性也可以在乳剂的提取后通过 HPLC 来进行评估。可以发展特别的测定方法,以将治疗活性的安沙霉素与它的降解产物分离。降解的程度可以根据与治疗活性安沙霉素有关的 HPLC 峰信号的减少和 / 或根据与降解产物有关的 HPLC 峰信号的增加来评估。与乳剂组分中的其他组分相比,安沙霉素在 345nm 处容易和很明显地检测到最大吸光度。

[0073] 配制和给药方式

[0074] 尽管在本发明的各个方面和实施方案中静脉内给药都是优选的,但是本领域技术人员可以理解这种方法也可以改变或很容易地适应其他给药方式,例如口服、气雾剂、非胃肠、皮下、肌肉内、腹膜内、直肠、阴道、瘤内、或瘤周给药。接下来讨论的大部分都是本领域技术人员已知的,但是仍然提供出来作为背景技术来说明本发明的其他可能性。可以理解,下面的内容与上面的讨论将会有重叠的部分。

[0075] 药物组合物可以通过常规的混合、溶解、粒化、做成糖衣片、磨细、乳化、装入胶囊、包裹或者冻干方法来制备。

[0076] 药学可接受的组合物可以采用常规方法利用一种或多种生理可接受的载体来配制,包括有助于将活性化合物加工成可药用制剂的赋形剂和助剂。适当的配制方法取决于选择的给药途径。一些赋形剂及其在制备制剂中的应用已有描述。其他一些是本领域已知的,如 PCT/US99/30631, Remington's Pharmaceutical Sciences, Meade Publishing Co., Easton, PA(最新版)和 Goodman and Gilman's The Pharmaceutical Basis of Therapeutics, Pergamon Press, New York, N. Y. (最新版)中所述。

[0077] 对于注射,药物可以在水溶液中配制,优选在生理相容的缓冲液,如本领域熟知的汉克斯溶液、林格液或生理盐水缓冲液中配制。对于经粘膜给药,在配制中使用适合于将要穿透的屏障的渗透剂。这些渗透剂是本领域众所周知的。

[0078] 本发明上述的制剂和其在冻干饼水合后,都非常适合于经注射如推注或连续输注进行胃肠外立即或接近立即给药。注射制剂可以是单位剂量形式,如容纳于安瓿或多剂量容器中,并加入防腐剂,如乙二胺四乙酸盐。如前面所讨论的,本发明的药物组合物可以储藏于惰性环境下,如安瓿或其他耐光或隔绝氧气的包装中。

[0079] 剂量范围

[0080] 在晚期实体瘤成人患者中进行的 17-AAG 的 I 期药理学研究,每三周通过每天输注 1 小时给药 5 天,确定了最大耐受剂量 (MTD) 为 40mg/m²。Wilson et al., *Am. Soc.*

Clin. Oncol., abstract, Phase I Pharmacologic Study of 17-(Allylamino)-17-Demethoxygeldanamycin(AAG) in Adult Patients with Advanced Solid Tumors(2001)。在这项研究中, 终末半衰期、清除率及稳态容量的平均值 $\pm$ SD 值测定为 2.5 ± 0.5 小时、 41.0 ± 13.5 L/小时和 86.6 ± 34.6 L/m²。当剂量为 40 和 56 mg/m² 时, 血浆的 C_{max} 水平分别测定为 1860 ± 660 nM 和 3170 ± 1310 nM。以这些值作为指导, 可以预期本发明的制剂中有效成分的有用患者剂量范围为约 0.40 mg/m² 至 4000 mg/m²。M² 表示体表面积。用标准算法把 mg/m² 转变为 mg 药物/kg 体重。

[0081] 下面的实施例仅仅是说明性的, 除非在权利要求中特别指出, 此处的组分和步骤并不是对本发明进行限制。实施例 1-5 和 9 借鉴了本申请要求优先权的, 2003 年 4 月 4 日申请的, 标题为“新型安沙霉素制剂及其制备和使用方法”的共同拥有的 PCT 申请 PCT/US03/10533。

实施例

[0082] 实施例 1: 17-AAG 的制备; 备选方案 1

[0083] 向置于 2L 干燥烧瓶中的溶于 1.45L 干燥 THF 的 45.0g (80.4mmol) 格尔德霉素中逐滴滴加溶于 50mL 干燥 THF 的 36.0mL (470mmol) 烯丙胺, 滴加超过 30 分钟。反应混合物在氮气下于室温搅拌 4 小时, 直至 TLC 分析表明反应已经完成 [GDM: 亮黄色; R_f = 0.40; (5% MeOH-95% CHCl₃); 17-AAG: 紫色; R_f = 0.42 (5% MeOH-95% CHCl₃)]。通过旋转蒸发除去溶剂, 粗产物在 25°C 下在 420mL H₂O : EtOH (90 : 10) 中形成浆液, 然后过滤, 并在 45°C 下干燥 8 小时, 得到 40.9g (66.4mmol) 紫色晶体 17-AAG (82.6% 的收率, 经 HPLC 在 254nm 处监测纯度 > 98%)。用差示扫描比色法 (DSC) 测得熔点为 206-212°C。¹H NMR 和 HPLC 得到的结果与需要的产物一致。

[0084] 实施例 2: 低熔点型 17-AAG 的制备

[0085] 一种备选纯化方法是在 800mL 2-丙醇 (异丙醇) 中于 80°C 溶解实施例 1 中的粗制 17-AAG, 然后冷却至室温。过滤, 然后在 45°C 下干燥 8 小时, 得到 44.6g (72.36mmol) 紫色晶体 17-AAG (90% 的收率, 经 HPLC 在 254nm 处监测纯度 > 99%)。用差示扫描比色法 (DSC) 测得熔点为 147-175°C。¹H NMR 和 HPLC 得到的结果与需要的产物一致。

[0086] 实施例 3: 低熔点型 17-AAG 的制备, 备选方案 1

[0087] 一种备选纯化方法是将实施例 2 的产物 17-AAG 在 400mL 的 H₂O : EtOH (90 : 10) 中于 25°C 形成浆液, 过滤, 并在 45°C 下干燥 8 小时, 得到 42.4g (68.6mmol) 紫色晶体 17-AAG (95% 的收率, 经 HPLC 在 254nm 处监测纯度 > 99%)。熔点为 147-175°C。¹H NMR 和 HPLC 得到的结果与需要的产物一致。

[0088] 实施例 4: 17-AAG 乳剂的制备

[0089] 将上述实施例 1-3 任一个中获得的 17-AAG 溶解于乙醇。下面的表格显示的是根据本发明的一个实施方案制备的 4000gm 的一批制品。本领域技术人员将会意识到该操作步骤可以放大或缩小, 各个组分的量也可以改变等等, 并且也可以加入没有列出的组分。

[0090]

组分	% w/w	在 4000g 批次中的克数
17-AAG	0.2	8
Miglyol812	15	600
Phospholipon90G	7.5	300
EDTA 二钠,二水合物, USP	0.005	0.2
蔗糖, NF	15	600
注射用水, USP	QS	QS
0.2N NaOH	调节 pH 到 6.0 ± 0.2	按所需要的量加入

[0091] 将 17-AAG (CNF-101) 称重置于 5L 的聚丙烯烧杯中。加入为药物重量大约 50 倍的乙醇,并将溶液置于水浴中进行超声处理,以分散药物。然后将 Miglyol 812 (Sasol North America Inc ;Houston, TX, USA) 和 Phospholipon 90G (American Lecithen Co., Oxford, CT, USA) 加入到分散体中,将混合物置于搅拌盘上进行搅拌直到固体被大致完全溶解。超声波仪水浴和 / 或加热到约 45℃ 可以帮助进行固体的溶解。可以用光学显微镜来检查溶液以确保希望的溶解水平。

[0092] 在剧烈搅拌下,使干燥空气或氮气 (美国国家药品集) 气体流通过液体表面,以蒸发乙醇直到乙醇含量减少,优选降至低于其最初含量的 50% w/w,更优选低于 10% w/w,最优选为约 5% w/w 或更低。溶液在装有偏振滤光片的光学显微镜下进行检查,以确保希望的溶解水平,优选完全溶解 (没有结晶或沉淀物)。

[0093] 将 EDTA (二钠,二水合物,USP)、蔗糖及注射用水 (WFI) 称重置于 5L 的聚丙烯烧杯中,搅拌直至固体溶解。然后将水相加入到油相中,用带有乳剂头的高速乳化器以 5000RPM 的速度进行充分混合直到粘着于表面上的油“剥落”。然后将切变速率增加到 10000RPM 2-5 分钟以获得均匀的初乳剂。激光散射 (LLS) 可以用于测量平均小滴直径,溶液可以进行进一步检测,如在光学显微镜下确定晶体和固体相对的存在或消失。

[0094] 用 0.2N 的 NaOH 将乳剂的 pH 调节到 6.0 ± 0.2 。让初乳剂在大约 110psi 的静压下 (操作压力 60-95psi) 通过具有 75 微米乳剂作用室 (F20Y) 的 110S 型微流化器 (Microfluidics Inc., Newton, MA, USA),通过 6-8 次,直至平均小滴直径 $\leq 190\text{nm}$ 。在每次通过后可以用 LLS 来对其进展进行评估。溶液可以进一步在光学显微镜下用偏振光来检测是否有晶体存在。

[0095] 然后在层流罩超静台中将乳剂通过 0.45 微米的 Gelman 微囊式过滤器 (Pall Corp., East Hills, NY, USA),接着通过 0.2 微米的无菌 Sartorius Sartobran P 囊式过滤器 (500cm²) (Sartorius AG, Goettingen, Germany)。用高达 60PSI 的压力来维持平滑且持续的流动。将过滤液收集到一个或多个聚丙烯瓶中并立即置于 -20℃ 冰箱中。可以留出 1ml

的等份以便使用激光散射 (LLS) 和 / 或高效液相色谱 (HPLC) 来检测。

[0096] 实施例 5 :备选的 17-AAG 乳化制剂的制备方法

[0097] 当用乙醇来促进 17-AAG 溶解到乳剂的油相中时,最常用的是首先利用超声处理将 17-AAG 溶解于乙醇中,接着再向该溶液中加入乳化剂和中链甘油三酯。然后利用超声处理和搅拌实现所有组分的溶解。

[0098] 可选择的,可以不使用乙醇将 17-AAG 加入到溶液的油相中,方法包括 :加热在甘油三酯溶液中预先形成的乳化剂,如Miglyol®812中的Phospholipon,,优选加热到65℃或更高,向其中加入药物,如 17-AAG,并且通过如搅拌和 / 或超声处理来混合。已经发现,在室温下,实施例 2 中通过在异丙醇中而不是在乙醇中结晶 17-AAG 较容易制备的低熔点型 17-AAG 能够溶解到 Miglyol 溶液中的 Phospholipon 中。参见在 2002 年 9 月 18 日申请的标题为“制备 [17-AAG] 和其他安沙霉素的方法”的共同拥有的 PCT/US01/29715。

[0099] 实施例 5 和 6 的产品都是浅紫色乳状的乳剂,油滴的平均直径约为 200nm 或更小。在 20℃、2-8℃或室温下保存 2 个月以上的时间,油滴大小是稳定的。总体达到高达 3mg/ml 的浓度,而仅在油相中,其浓度高达 20-30mg/ml。如果储藏在 40℃下,大约两周后可以观察到 17-AAG 的降解。

[0100] 药物的混合溶剂溶液经过真空蒸发乙醇组分以形成 17-AAG 的 Miglyol 溶液。乳化作用可以通过机械混合、超声照射处理、最后通过微流化器来实现,然而可以理解,术语“乳化”和“乳化作用”并不仅限于这些处理方法,还存在其他的乳化技术,并可以选择应用或与一种或多种上述技术联合应用。

[0101] 实施例 6 :加入长链甘油三酯

[0102] 上述方法的变化包括加入长链甘油三酯,如以大豆油的形式加入。如图 1 中关于 17-AGG 所示,长链甘油三酯的来源 (大豆油) 与 Miglyol 812N (中链甘油三酯的来源) 和乳化剂 (Phospholipon 90G (PL90G)) 混合,其 w/w 比例为 16.7% : 50.0% : 33.3%。进行匀化直到 PL90G 完全溶解 (约 20,000rpm 约 20 分钟)。然后加入 1% w/w 的 17-AAG,其在约 20,000rpm 下匀化 / 溶解约 5 分钟。上述物质构成了“油相”。然后将该油相 (1 份) 缓慢加入到 3.6 份以约 12,000-15,000rpm 匀化的水相中 (溶于无菌注射用水的 9.375% w/w 蔗糖,0.0063% w/w EDTA)。必要时将所得的混合物用氢氧化钠和 / 或盐酸调节 pH 值到 6.0±0.2。然后将该“初”乳剂通过 F12Y 作用室进行微流化,并用 0.2 μm 聚醚砜 (PES) 滤膜过滤除菌。

[0103] 采用上述方法,制备出下面两种制剂 :

[0104] 组分 (w/w) 制剂 1 制剂 2

[0105]

[0106]	17-AAG	2mg/ml	2mg/ml
[0107]	大豆油	3.3%	---
[0108]	Phospholipon 90G	6.6%	7.5%
[0109]	(大豆卵磷脂)		
[0110]	Miglyol 812N	9.9%	15%
[0111]	蔗糖	7.5%	10%
[0112]	乙二胺四乙酸钠	0.005%	0.005%

- [0113] 无菌水 72.5% 67.3%
- [0114] 实施例 7 :冻干
- [0115] 实施例 5 和 6 的乳剂的冻干可以根据类似下表中的方案来完成。
- [0116]

初始温度 ($^{\circ}\text{C}$)	结束温度 ($^{\circ}\text{C}$)	压力 (mTorr)	操作
25	-40	环境压力	以 $1^{\circ}\text{C}/\text{分钟}$ 变温
-40	-40	环境压力	保持 60 分钟
-40	-40	50	在 -60°C 到 -80°C 间冷凝
-40	-28	50	以 $1^{\circ}\text{C}/\text{分钟}$ 变温
-28	-28	50	保持 7200 分钟
-28	30	50	以 $1^{\circ}\text{C}/\text{分钟}$ 变温
30	30	50	保持 300 分钟
完成			
在大约 0.9atm 的 N_2 下塞住瓶子			

- [0117] 在储藏于 $2-8^{\circ}\text{C}$ 下并重建后,冻干 17-AAG 乳剂的稳定性谱如下。

[0118]

检测	时间 (周)			
	0	2	4	10
测定 (%初始)	100	98.5	97.7	97.0
纯度 (面积%)	98.8	97.2	97.8	97.8
小滴直径 (μm)	0.187	0.200	0.197	0.190

- [0119] 实施例 8 :长链甘油三酯抑制嗜睡

[0120] 当快速给药时,由于代谢释放辛酸酯,Miglyol 812N 会产生镇静作用。在对大鼠静脉内输注 17-AAG 乳剂 (Miglyol 812N 油) 的过程中,在输注速度大于 $1.1\text{gm 总脂}/\text{Kg/hr}$ 时观察到镇静作用。参见附图 2。在以大于 $1.13\text{gm 总脂}/\text{Kg/hr}$ 的速度静脉内输注 17-AAG 乳化制剂的狗中也观察到镇静作用。为了对抗这种作用,如上述那样加入大豆油以与 Miglyol 812N 的体内代谢竞争,以便减少在静脉内输注过程中产生的脂肪酸辛酸酯。对于大豆油 / Miglyol 812NCF237 乳剂,在输注速度高达约 $40\text{gm 总脂}/\text{kg/hr}$ 时,在大鼠中没有明显观测到镇静作用。因此,大豆油和 Miglyol 812N 的组合极大地改善了 CF237 乳化制剂对镇静作用的耐受性。类似地,在施用六倍剂量的 CF237 乳化制剂,即静脉内输注 $12\text{mL 制剂}/\text{kg/hr}$ 的猴子中没有观测到镇静作用,也没有观测到静脉刺激。

- [0121] 实施例 9 :用于类似制剂的其它安沙霉素的制备

[0122] 17-AAG 以外的安沙霉素

[0123] 基本上所有的安沙霉素都可以代替 17-AAG, 并按照上面实施例所述配制。多种这样的安沙霉素及它们的制备在 PCT/US03/04283 中详述。下面描述其中两种的制备。

[0124] 化合物 563: 17-(苯甲酰)-氨基格尔德霉素。将 17-氨基格尔德霉素 (1mmol) 的 EtOAc 溶液用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (0.1M, 300ml) 在室温下进行处理。2 小时后, 水层用 EtOAc 提取两次, 而混合的有机层在 Na_2SO_4 上干燥, 在低压下浓缩后获得黄色固体 18, 21-二氢-17-氨基格尔德霉素。将后者溶解于无水 THF, 再通过插管转移到苯甲酰氯 (1.1mmol) 和 **MS4Å** (1.2g) 的混合物中。2 小时后, 将 $\text{EtN}(\text{i-Pr})_2$ (2.5mmol) 加入到反应混合物中。搅拌过夜后, 过滤反应混合物并在低压下浓缩。然后向残余物中加水, 用 EtOAc 提取三次, 混合的有机层在 Na_2SO_4 上干燥并在低压下浓缩获得粗品, 粗品经快速色谱法纯化得到了 17-(苯甲酰)-氨基格尔德霉素。在 80 : 15 : 5 的 CH_2Cl_2 : EtOAc : MeOH 中, $R_f = 0.50$ 。Mp = 218-220°C。1H NMR (CDCl_3) 0.94 (t, 6H), 1.70 (br s, 2H), 1.79 (br s, 4H), 2.03 (s, 3H), 2.56 (dd, 1H), 2.64 (dd, 1H), 2.76-2.79 (m, 1H), 3.33 (br s, 7H), 3.44-3.46 (m, 1H), 4.325 (d, 1H), 5.16 (s, 1H), 5.77 (d, 1H), 5.91 (t, 1H), 6.57 (t, 1H), 6.94 (d, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.52 (t, 2H), 7.62 (t, 1H), 7.91 (d, 2H), 8.47 (s, 1H), 8.77 (s, 1H)。

[0125] 化合物 237: 一种二聚体。在 N_2 条件下把 3,3-二氨基-二丙胺 (1.32g, 9.1mmol) 逐滴加入到置于火焰干燥的烧瓶中的格尔德霉素 (10g, 17.83mmol) 的 DESO (200ml) 溶液中, 室温下搅拌。12 小时后用水稀释反应混合物。反应物形成沉淀, 并过滤以获得粗品。粗品经过硅色谱法 (5% $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) 层析, 获得为紫色固体的该二聚体。在快速色谱法 (硅胶) 纯化后得到紫色的纯产物; 收率: 93%; mp 165°C; 1H NMR (CDCl_3) 0.97 (d, J = 6.6Hz, 6H, 2CH₃), 1.0 (d, J = 6.6Hz, 6H, 2CH₃), 1.72 (m, 4H, 2CH₂), 1.78 (m, 4H, 2CH₂), 1.80 (s, 6H, 2CH₃), 1.85 (m, 2H, 2CH), 2.0 (s, 6H, 2CH₃), 2.4 (dd, J = 11Hz, 2H, 2CH), 2.67 (d, J = 15Hz, 2H, 2CH), 2.63 (t, J = 10Hz, 2H, 2CH), 2.78 (t, J = 6.5Hz, 4H, 2CH₂), 3.26 (s, 6H, 2OCH₃), 3.38 (s, 6H, 2OCH₃), 3.40 (m, 2H, 2CH), 3.60 (m, 4H, 2CH₂), 3.75 (m, 2H, 2CH), 4.60 (d, J = 10Hz, 2H, 2CH), 4.65 (Bs, 2H, 2OH), 4.80 (Bs, 4H, 2NH₂), 5.19 (s, 2H, 2CH), 5.83 (t, J = 15Hz, 2H, 2CH =), 5.89 (d, J = 10Hz, 2H, 2CH =), 6.58 (t, J = 15Hz, 2H, 2CH =), 6.94 (d, J = 10Hz, 2H, 2CH =), 7.17 (m, 2H, 2NH), 7.24 (s, 2H, 2CH =), 9.20 (s, 2H, 2NH); MS (m/z) 1189 (M+H)。

[0126] 相应的盐酸盐由如下方法制备: 室温下将 HCl 的 EtOH (5ml, 0.123N) 溶液加入到化合物 #237 (上述制备的 1gm) 的 THF (15ml) 和 EtOH (50ml) 溶液中。将反应混合物搅拌 10 分钟。盐沉淀出来, 再过滤并用大量的 EtOH 洗涤, 真空干燥。

[0127] * * *

[0128] 普通技术人员可以理解, 上述实施例和表格中的参数可以根据采用的条件进行调整, 并且根据配制方法和所用材料的量是否放大或缩小或彼此相对的改变以及程度如何来进行调整。

[0129] 上述实施例并非是非限制性的, 它们只是代表本发明的不同方面和实施方案。在此引用的所有文献代表了本发明所属领域的技术水平。尽管引用的文献没有一篇被认为是现有技术, 但是引用的每篇文献的内容在此都以同样的程度引用作为参考, 如同每篇文献都被完全独立地引用作为参考。如果此处的明确定义与出现在现有技术或在此引用的优先权

文本中的定义有冲突,则以本申请的明确定义为准。

[0130] 本领域技术人员将会很容易地体会到本发明可以很好地达到以上所述的目标并获得上述结果、优点、及其包含的固有特点。所述方法和组合物用来阐明优选实施方案,是示例性的而不是对本发明范围的限制。本领域技术人员将会想到某些改动和其它用途,这些改动和其它用途包含在由权利要求书范围所定义的本发明的范围内。

[0131] 所述的试剂既可以购得,如购自 Sigma-Aldrich,也可以通过本领域技术人员公知的常规方法无需过多试验就能容易地制备出来。

[0132] 对于本领域技术人员来说显而易见的是,在不偏离本发明精神和范围的情况下,可以对本发明进行多种替换和更改。因此,这类其他的实施方案均在本发明以及下述权利要求书的范围内。

[0133] 在缺乏在此未具体公开的任何要素、限制的情况下,也可适当地实施在此说明性描述的本发明。例如,在此处的所有情况下,术语“包括”、“基本由... 组成”以及“由... 组成”每个都可以用另外两个术语之一代替,而且每个术语在专利法上都有不同的含义。使用的术语及表述是用作描述性的术语而不是用其进行限制,这些术语及表述的使用并不排除本发明所述和所示的任何等同特征或其部分内容。同时本领域技术人员可以认识到,在本发明要求保护的范围内进行多种改动是完全可能的。因此可以理解,虽然本发明是通过优选实施例和可选的特征具体公开的,但是本领域技术人员可对此处公开的概念进行改动和变更,并且这些改动和变更被认为在说明书和权利要求所定义的本发明的范围内。

[0134] 此外,本发明的特征或方面用马库什 (Markush) 组或可替代的其它组描述的,本领域技术人员可以认为本发明也可用马库什组或其它组的各成员或成员的亚组加以描述,必要时通过各成员的限定条件进行排除。

[0135] 其它实施方案在下述权利要求的范围内。

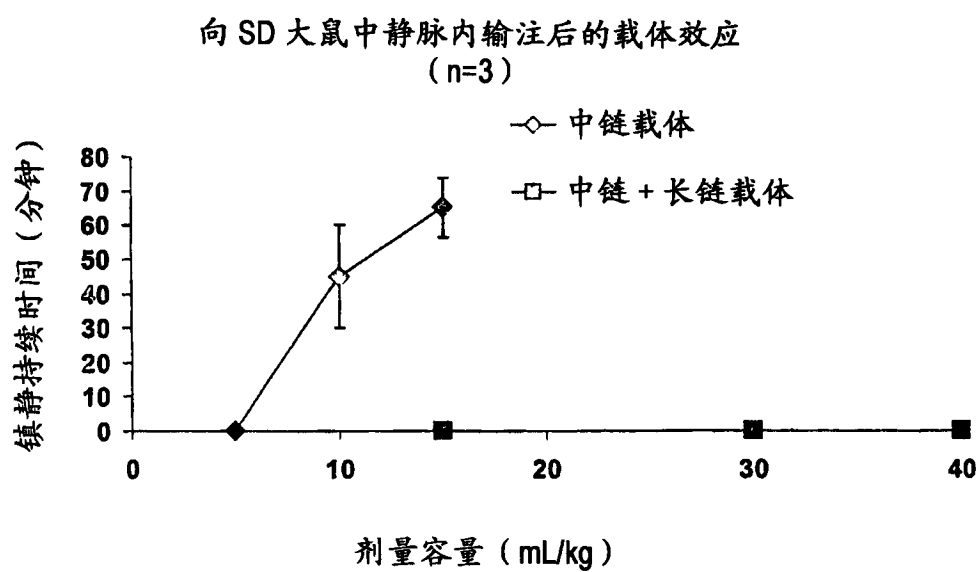


图 1