



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116966129 A

(43) 申请公布日 2023. 10. 31

(21) 申请号 202310774370.X	(51) Int. Cl.
(22) 申请日 2020.03.06	A61K 9/00 (2006.01)
(30) 优先权数据 62/815,893 2019.03.08 US	A61K 9/06 (2006.01)
(62) 分案原申请数据 202080019392.X 2020.03.06	A61K 9/08 (2006.01)
(71) 申请人 塔罗制药工业有限公司 地址 以色列海法湾	A61K 9/107 (2006.01)
(72) 发明人 H·谢弗林 A·莎拉费尔 V·罗森伯格 R·施林格 T·谢舍斯肯因 A·埃弗拉莫夫	A61K 31/55 (2006.01)
(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公 司 31100 专利代理师 项丹 杨昀	A61K 47/32 (2006.01)
	A61K 47/38 (2006.01)
	A61P 17/06 (2006.01)
	A61P 17/00 (2006.01)
	A61P 17/14 (2006.01)
	A61P 17/10 (2006.01)

权利要求书2页 说明书31页 附图1页

(54) 发明名称

稳定的局部用非诺多泮组合物

(57) 摘要

本公开涉及一种局部用组合物,例如,物理和化学稳定的局部用非诺多泮组合物,其包含约0.1重量%至约5重量%的非诺多泮或其药学上可接受的盐、至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂、至少一种纤维素型胶凝剂和至少一种溶剂,其中非诺多泮基本上溶解在所述组合物中,并且其中所述组合物在25°C和60%的相对湿度下稳定达至少十二个月。

1. 一种非诺多泮的局部用组合物,所述局部用组合物包含约0.1重量%至约5重量%的非诺多泮或其药学上可接受的盐、至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂和至少一种溶剂,其中所述非诺多泮基本上溶解在所述组合物中,并且其中所述组合物在25°C和60%的相对湿度下化学稳定达至少一个月。

2. 根据权利要求1所述的局部用组合物,其中所述非诺多泮的药学上可接受的盐为甲磺酸非诺多泮。

3. 根据权利要求1或权利要求2所述的局部用组合物,所述局部用组合物包含约1重量%至约3重量%的非诺多泮或其药学上可接受的盐。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的局部用组合物,其中所述组合物中所述至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂的量为所述组合物的约1重量%至约5重量%。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的局部用组合物,其中所述聚丙烯酰胺型胶凝剂选自丙烯酰胺/丙烯酰基二甲基牛磺酸钠共聚物/异十六烷/聚山梨酸酯80混合物(Sepineo™ P600)、聚丙烯酰胺/C13-14异链烷烃/月桂醇聚醚-7混合物(Sepigel™ 305)、丙烯酸羟乙酯/丙烯酰基二甲基牛磺酸钠共聚物混合物(Sepinov™ EMT 10)和丙烯酸羟乙酯/丙烯酰基二甲基牛磺酸钠共聚物(Sepineo™ DERM)。

6. 根据权利要求5所述的局部用组合物,其中所述聚丙烯酰胺型胶凝剂为丙烯酰胺/丙烯酰基二甲基牛磺酸钠共聚物/异十六烷/聚山梨酸酯80混合物(Sepineo™ P600)。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的局部用组合物,其中所述组合物还包含至少一种共溶剂。

8. 根据权利要求1至7中任一项所述的局部用组合物,其中所述溶剂选自丙二醇、二甲基异山梨醇、甘油、乙醇、聚乙二醇、己二醇、二乙二醇单乙基醚及其组合。

9. 根据权利要求8所述的局部用组合物,其中所述共溶剂选自丙二醇、二甲基异山梨醇、甘油、乙醇、聚乙二醇、己二醇、二乙二醇单乙基醚及其组合。

10. 根据权利要求1至9中任一项所述的局部用组合物,其中所述组合物还包含至少一种润肤剂。

11. 根据权利要求10所述的局部用组合物,其中所述润肤剂选自PPG-15硬脂基醚、PPG-12/SDMI共聚物、异硬脂酸、辛酸鲸蜡硬脂基酯、环甲基硅酮、丙二醇、辛基十二烷醇、甘油、己二酸二异丙酯及其组合。

12. 根据权利要求1至11中任一项所述的局部用组合物,其中至少80重量%的所述非诺多泮或其药学上可接受的盐是溶解的。

13. 根据权利要求1至12中任一项所述的局部用组合物,其中所述组合物中非诺多泮的重量%在25°C和60%的相对湿度下一个月后降低小于约10%。

14. 根据权利要求1至12中任一项所述的局部用组合物,其中所述组合物中非诺多泮的重量百分数在非诺多泮的标示量的90%-110%之间达至少一个月。

15. 根据权利要求1至14中任一项所述的局部用组合物,其中所述组合物在25°C和60%的相对湿度下至少一个月后包含小于约1重量%的杂质B。

16. 根据权利要求1至15中任一项所述的局部用组合物,其中所述组合物为半固体局部用剂型或液体局部用剂型。

17. 根据权利要求1至16中任一项所述的局部用组合物,其中所述剂型为软膏、乳膏、洗

剂、凝胶、喷雾剂、泡沫、布、贴片、擦拭物或垫。

18. 根据权利要求1至17中任一项所述的局部用组合物,其中所述组合物为无水组合物。

19. 根据权利要求18所述的局部用组合物,其中所述无水组合物为无水凝胶。

20. 根据权利要求1至17中任一项所述的局部用组合物,其中所述组合物还包含水。

21. 根据权利要求20所述的局部用组合物,其中所述组合物为O/W乳液。

22. 根据权利要求1至21中任一项所述的局部用组合物,其中所述组合物还包含pH调节剂。

23. 根据权利要求22所述的局部用组合物,其中所述pH调节剂选自氢氧化钠、三乙醇胺、柠檬酸、柠檬酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液和碳酸盐缓冲液。

24. 根据权利要求1至23中任一项所述的局部用组合物,其中所述组合物的pH在25°C和60%的相对湿度下至少一个月后为约4至约5。

25. 根据权利要求1至24中任一项所述的局部用组合物,其中所述组合物还包含至少一种防腐剂、至少一种渗透增强剂、至少一种稳定剂、至少一种增粘剂、至少一种增稠剂、至少一种发泡剂、至少一种螯合剂或至少一种抗氧化剂。

26. 根据权利要求1至25中任一项所述的局部用组合物,其中所述组合物用于皮肤病症的治疗中,其中所述皮肤病症为多巴胺D1受体介导的皮肤病症。

27. 根据权利要求26所述的局部用组合物,其中所述D1受体介导的皮肤病症选自银屑病、特应性皮炎、脱发、痤疮、玫瑰痤疮和白癜风。

28. 根据权利要求26所述的局部用组合物,其中所述D1受体介导的皮肤病症选自银屑病和特应性皮炎。

29. 一种在有此需要的受试者中治疗D1受体介导的皮肤病症的方法,所述方法包括向所述受试者的受影响的皮肤区域局部施用根据权利要求1至28中任一项所述的组合物,其中所述D1受体介导的皮肤病症选自银屑病或特应性皮炎。

稳定的局部用非诺多泮组合物

[0001] 本发明专利申请是国际申请号为PCT/IB2020/051967,国际申请日为2020年3月6日,进入中国国家阶段的申请号为202080019392.X,发明名称为“稳定的局部用非诺多泮组合物”的发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本公开涉及一种局部用非诺多泮组合物,例如,物理和化学稳定的局部用非诺多泮组合物,其包含约0.1重量%至约5重量%的非诺多泮或其药学上可接受的盐、至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂、至少一种纤维素型胶凝剂和至少一种溶剂,其中非诺多泮基本上溶解在所述组合物中,并且其中所述组合物在25℃和60%的相对湿度下稳定达至少12个月。

背景技术

[0003] 银屑病是一种影响全世界许多人的皮肤疾病。除了其皮肤病学表现外,银屑病可能对患者的生活质量产生重大影响。银屑病是一种慢性、免疫介导的炎性皮肤病症,特征在于角质细胞和内皮细胞的表皮过度增殖以及炎性细胞(例如,活化的T细胞)的积聚。慢性斑块型银屑病,称为寻常型银屑病,是该疾病的常见形式,特征在于界限清楚的红斑鳞状斑块,其可累及皮肤的任何部位,但通常累及伸肌表面(如肘部和膝盖)和头皮。

[0004] 银屑病的治疗包括局部用药剂、基于光的疗法、传统全身药物和生物药剂。治疗方法常取决于疾病的严重程度。呈现轻度银屑病的患者可用局部用抗炎皮质类固醇治疗。然而,据报道,长期使用皮质类固醇可能会导致全身或局部严重副作用。患有中度至重度形式的银屑病的患者可进行全身治疗,如甲氨蝶呤或环孢霉素与光疗的组合,而患有最重度形式的银屑病的患者可使用生物疗法治疗。

[0005] 化学上为6-氯-2,3,4,5-四氢-1-(4-羟基苯基)-1H-3-苯并氮杂草-7,8-二醇甲磺酸酯的甲磺酸非诺多泮是一种高度选择性的多巴胺D1受体(D1R)激动剂,由于其血管舒张作用,其已通过静脉内施用在临床中使用,主要用在重度高血压的治疗中。具有一定的全身血管舒张作用的非诺多泮最低血液水平在1至10ng/mL之间的范围内(FDA Clinical Pharmacology&Biopharmaceutics Review,DA 19922,Corlopan[®])。

[0006] 本文通过引用公开的PCT公开号W0 2018/042352涉及一种通过局部施用治疗上有效量的非诺多泮或其药学上可接受的盐来治疗皮肤病症、优选T-细胞介导的自身免疫性皮肤病炎性病的方法。PCT公开号W0 2018/042352中报道的病症包括D1受体介导的皮肤病症,例如银屑病、特应性皮炎、脱发和白癜风。

[0007] 非诺多泮呈现出溶解性和稳定性挑战,尤其是在水性制剂中。甲磺酸非诺多泮仅在水、乙醇和甲醇中微溶,并在丙二醇中可溶。而且,已知制剂的pH会影响其稳定性。

[0008] 用于静脉内注射的Corlopan[®]在无菌水溶液中含有甲磺酸非诺多泮、柠檬酸、丙二醇、柠檬酸钠二水合物和焦亚硫酸钠。为了使产品在存在水的情况下保持稳定,其pH在2.8-3.8的酸性范围内。而且,稀释后的溶液应在室温下4小时或冷藏条件下24小时后丢弃,这突出反映了非诺多泮在存在水的情况下的稳定性问题。

[0009] 美国专利号6,699,497和6,960,353涉及透皮施用非诺多泮以治疗高血压,公开了非诺多泮的稳定性问题并陈述在使用水性制剂时优选将pH维持在小于约5.5下,更优选约2-4.5之间,以提供稳定的非诺多泮制剂。PCT公开号W0 2018/042352以实验方式证实,将pH维持在4以下可保护非诺多泮免于降解。

发明内容

[0010] 本公开涉及一种非诺多泮的局部用组合物,其包含约0.1重量%至约5重量%的非诺多泮或其药学上可接受的盐、至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂、至少一种纤维素型胶凝剂和至少一种溶剂,其中非诺多泮基本上溶解在所述组合物中,并且其中所述组合物在25℃和60%的相对湿度下物理和化学稳定达至少一个月。

[0011] 本公开的申请人成功地开发了非诺多泮的局部用组合物,其表现出有效的局部用药物组合物所必需的重要特征。具体而言,为了获得局部有效的组合物,期望将活性药物成分(API)溶解在组合物中以增强向皮肤中的穿透,并且组合物的pH值应在4-6的范围内以避免皮肤刺激。此外,组合物在储存期间应是物理和化学稳定的。出乎意料的是,本公开的申请人能够克服作为活性成分的非诺多泮的溶解性和稳定性挑战并开发出包含治疗上有效量的非诺多泮的局部用组合物,其中具有至少0.1重量%的非诺多泮。

[0012] 本公开的申请人出乎意料地发现,包含治疗上有效量的非诺多泮的局部用组合物的物理和化学稳定性可通过使用至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂和至少一种纤维素型胶凝剂的组合来实现。出乎意料的是,这些胶凝剂的组合不仅改善了组合物的物理稳定性,而且在至少十二个月的时间内改善了非诺多泮的化学稳定性。

[0013] 而且,本公开的申请人出乎意料地发现,组合物中至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂和至少一种纤维素型胶凝剂的组合的存在将保持非诺多泮的物理和化学稳定性以及溶解性,即使在含水组合物中和在等于或高于4的pH值中,这在适合于局部施用的范围内。

[0014] 此外,本公开的局部用组合物使得非诺多泮能够穿透到皮肤中,从而使其在治疗上有效地治疗皮肤病症。

[0015] 根据本公开,局部用非诺多泮组合物包含治疗上有效量的非诺多泮或其盐和以下的组合:(a)至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂;(b)至少一种纤维素型胶凝剂和(c)至少一种溶剂。

[0016] 在一些实施方案中,组合物包含呈其碱形式的非诺多泮。

[0017] 在一些实施方案中,组合物包含非诺多泮盐。在一个优选的实施方案中,非诺多泮盐为甲磺酸非诺多泮。

[0018] 在一些实施方案中,组合物中非诺多泮的治疗上有效量为组合物的约0.1重量%至约5重量%。在一些实施方案中,组合物中非诺多泮的有效量为组合物的约0.5重量%至约4重量%。在一个优选的实施方案中,组合物中非诺多泮的有效量为组合物的约1重量%至约3重量%。

[0019] 根据本公开的一些实施方案,局部用组合物包含至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂。在一些实施方案中,聚丙烯酰胺型胶凝剂选自丙烯酰胺/丙烯酰基二甲基牛磺酸钠共聚物/异十六烷/聚山梨酸酯80混合物(Sepineo™ P600)、聚丙烯酰胺/C13-14异链烷烃/月桂醇聚醚-7混合物(Sepigel™ 305)、丙烯酸羟乙酯/丙烯酰基二甲基牛磺酸钠共聚物混合物

(Sepinov™ EMT 10) 和丙烯酸羟乙酯/丙烯酰基二甲基牛磺酸钠共聚物(Sepineo™ DERM)。在一个优选的实施方案中,聚丙烯酰胺型胶凝剂为丙烯酰胺/丙烯酰基二甲基牛磺酸钠共聚物/异十六烷/聚山梨酸酯80混合物(Sepineo™ P600)。

[0020] 根据本公开的各种实施方案,局部用组合物还包含纤维素型胶凝剂。在一个优选的实施方案中,纤维素型胶凝剂为羟丙基纤维素。在一些实施方案中,纤维素型胶凝剂选自乙基纤维素、甲基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素(Klucel™)、羟丙基甲基纤维素、羟丁基甲基纤维素、羧甲基纤维素及其组合。

[0021] 根据一个优选的实施方案,局部用组合物包含Sepineo™ P600与羟丙基纤维素的组合。

[0022] 根据本公开的一些实施方案,组合物中聚丙烯酰胺型胶凝剂的量为组合物的约1重量%至约5重量%。

[0023] 根据本公开的一些实施方案,组合物中纤维素型胶凝剂的量为组合物的约1重量%至约5重量%。

[0024] 根据本公开的一些实施方案,局部用组合物还包含至少一种共溶剂。根据另外的实施方案,组合物包含至少一种溶剂和至少一种共溶剂。在一些实施方案中,溶剂选自丙二醇、二甲基异山梨醇、甘油、乙醇、聚乙二醇、己二醇、二乙二醇单乙基醚及其组合。在一些实施方案中,共溶剂选自丙二醇、二甲基异山梨醇、甘油、乙醇、聚乙二醇、己二醇、二乙二醇单乙基醚及其组合。

[0025] 在另外的实施方案中,局部用组合物还包含至少一种润肤剂。在一些实施方案中,润肤剂选自PPG-15硬脂基醚、PPG-12/SDMI共聚物、异硬脂酸、辛酸鲸蜡硬脂基酯、环甲基硅酮、丙二醇、辛基十二烷醇、甘油、己二酸二异丙酯及其组合。

[0026] 根据本公开,非诺多泮基本上溶解在组合物中。在一些实施方案中,至少约80%的非诺多泮溶解在组合物中。在一些实施方案中,至少约90%的非诺多泮溶解在组合物中。在一些实施方案中,至少约95%的非诺多泮溶解在组合物中。在一些实施方案中,约100%的非诺多泮溶解在组合物中。

[0027] 在一些实施方案中,在25°C和60%的相对湿度下一个月后,组合物中非诺多泮的重量%降低小于约10%。在一些实施方案中,在25°C和60%的相对湿度下6个月后,组合物中非诺多泮的重量%降低小于约10%。在一些实施方案中,在25°C和60%的相对湿度下9个月后,组合物中非诺多泮的重量%降低小于约10%。在一些实施方案中,组合物中非诺多泮的重量百分数在非诺多泮的标示量的90%-110%之间达至少一个月。在一些实施方案中,组合物中非诺多泮的重量百分数在非诺多泮的标示量的90%-110%之间达至少六个月。在一些实施方案中,组合物中非诺多泮的重量百分数在非诺多泮的标示量的90%-110%之间达至少12个月、18个月、24个月、30个月或36个月。

[0028] 在一些实施方案中,组合物在25°C和60%的相对湿度下至少一个月后包含小于约0.2重量%的杂质B。在一些实施方案中,组合物在25°C和60%的相对湿度下至少六个月后包含小于约0.2重量%的杂质B。在一些实施方案中,组合物在25°C和60%的相对湿度下至少九个月、12个月、18个月、24个月、30个月或36个月后包含小于约0.2重量%的杂质B。在一些实施方案中,组合物在25°C和60%的相对湿度下将是均匀的达至少一个月。在一些实施方案中,组合物在25°C和60%的相对湿度下将是均匀的达至少六个月。在一些实施方案中,

组合物在25℃和60%的相对湿度下将是均匀的达至少九个月、12个月、18个月、24个月、30个月或36个月。

[0029] 在一些实施方案中,组合物为半固体局部用剂型或液体局部用剂型。在一些实施方案中,剂型为软膏、乳膏、洗剂、凝胶、喷雾剂、泡沫、布、贴片、擦拭物或垫。

[0030] 根据本公开的各种实施方案,局部用非诺多泮组合物可为无水组合物或含水组合物。

[0031] 在一些实施方案中,局部用组合物为无水组合物。根据一个优选的实施方案,无水组合物为无水凝胶。

[0032] 在一些实施方案中,局部用组合物还包含水。根据一个优选的实施方案,含水组合物为O/W乳液。在一些实施方案中,O/W乳液呈乳膏的形式。

[0033] 在一些实施方案中,含水组合物包含至少一种pH调节剂以维持适合于局部施用的pH水平。在一些实施方案中,pH调节剂选自氢氧化钠、三乙醇胺、柠檬酸、柠檬酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液和碳酸盐缓冲液。

[0034] 在一些实施方案中,含水组合物具有约3.5至约6.0、更优选地约4.0至约5.0的pH范围。在一些实施方案中,组合物的pH在25℃和60%的相对湿度下至少一个月后为约4至约5。在一些实施方案中,组合物的pH在25℃和60%的相对湿度下至少六个月后为约4至约5。

[0035] 在一些实施方案中,局部用组合物还包含另外的赋形剂,包括例如防腐剂、渗透增强剂、稳定剂、增粘剂、增稠剂、发泡剂、螯合剂或抗氧化剂。

[0036] 根据本公开,非诺多泮局部用组合物在室温条件(25℃和60%的相对湿度)下将既物理稳定又化学稳定长达12个月。

[0037] 根据本公开,非诺多泮局部用组合物在加速条件(40℃和75%的相对湿度)下将既物理稳定又化学稳定达至少三个月。

[0038] 根据另外的实施方案,当以非诺多泮的重量%表示的药物测定值在整个指定的时间段内减少最多10%并且杂质B的水平在整个时间段内小于约0.2%时,获得组合物的化学稳定性。在一些实施方案中,所述指定的时间段为一个月、三个月、六个月、九个月、12个月、18个月、24个月、30个月或36个月。

[0039] 根据另外的实施方案,当非诺多泮的重量百分数在非诺多泮的标示量的90%-110%之间达特定的时间段时,获得组合物的化学稳定性。在一些实施方案中,所述特定的时间段为一个月、三个月、六个月、九个月、12个月、18个月、24个月、30个月或36个月。

[0040] 根据一些实施方案,通过在至少一个月、三个月、六个月、九个月、12个月、18个月、24个月、30个月或36个月的整个时间段内维持组合物的一致的宏观和微观外观、pH水平和粘度来确定组合物的物理稳定性。

[0041] 根据另外的实施方案,通过实现均匀的外观和不存在相分离达至少一个月、三个月、六个月、九个月、12个月、18个月、24个月、30个月或36个月的时间段来确定组合物的物理稳定性。在又一个实施方案中,通过实现在约4至约5的范围内的稳定pH达至少一个月、三个月、六个月、九个月、12个月、18个月、24个月、30个月或36个月的时间段来确定组合物的稳定性。

[0042] 根据本公开的另外的实施方案,本公开的非诺多泮局部用组合物被用于皮肤病症的治疗。在一些实施方案中,皮肤病症为T-细胞介导的免疫炎性病症。在一些实施方案中,

皮肤病症为D1受体介导的皮肤病症。

[0043] 根据另外的实施方案,皮肤病症选自银屑病、特应性皮炎、脱发、痤疮、玫瑰痤疮和白癜风。在一个优选的实施方案中,皮肤病症为银屑病或特应性皮炎。更优选地,皮肤病症为银屑病。

[0044] 在一些实施方案中,本公开涉及一种在有此需要的受试者中治疗D1受体介导的皮肤病症的方法,所述方法包括向受试者的受影响的皮肤区域局部施用所述组合物,其中所述D1受体介导的皮肤病症选自银屑病或特应性皮炎。

附图说明

[0045] 图1示出了银屑病异种移植的炎性标志物。所有治疗组相对于媒介物治疗组- $p < 0.05$ 。

具体实施方式

[0046] 本公开涉及一种物理和化学稳定的局部用非诺多泮组合物,其包含约0.1重量%至约5重量%的非诺多泮或其药学上可接受的盐和以下的组合:(a)至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂;(b)至少一种纤维素型胶凝剂;和(c)至少一种溶剂,其中非诺多泮基本上溶解在所述组合物中并且其中所述组合物稳定达至少一个月并适合于局部施加来有效治疗皮肤病症。

[0047] 除非另有说明,否则如本文所用的术语“非诺多泮”可包括非诺多泮的碱形式以及非诺多泮的药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物。在一些实施方案中,组合物包含呈其碱形式的非诺多泮。在一些实施方案中,组合物包含非诺多泮的药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物。在一些实施方案中,组合物包含非诺多泮的药学上可接受的盐。

[0048] 在一些实施方案中,非诺多泮盐包括但不限于盐酸盐、氢溴酸盐或甲磺酸盐。在一些实施方案中,非诺多泮盐为甲磺酸非诺多泮。

[0049] 在一些实施方案中,组合物包含外消旋非诺多泮。在其他实施方案中,组合物包含R-非诺多泮。

[0050] 在一些实施方案中,组合物中非诺多泮为组合物的约0.1重量%至约5重量%。在一些实施方案中,组合物中非诺多泮为组合物的约0.5重量%至约5重量%。在一些实施方案中,组合物中非诺多泮为组合物的约0.5重量%至约4重量%。在一些实施方案中,组合物中非诺多泮为组合物的约1重量%至约3重量%。

[0051] 在一些实施方案中,组合物中非诺多泮盐为组合物的约0.1重量%至约5重量%。在一些实施方案中,组合物中非诺多泮盐为组合物的约0.5重量%至约5重量%。在一些实施方案中,组合物中非诺多泮盐为组合物的约0.5重量%至约4重量%。在一些实施方案中,组合物中非诺多泮盐为组合物的约1重量%至约3重量%。

[0052] 在一些实施方案中,组合物中甲磺酸非诺多泮为组合物的约0.1重量%至约5重量%。在一些实施方案中,组合物中甲磺酸非诺多泮为组合物的约0.5重量%至约5重量%。在一些实施方案中,组合物中甲磺酸非诺多泮为组合物的约0.5重量%至约4重量%。在一些实施方案中,组合物中甲磺酸非诺多泮为组合物的约1重量%至约3重量%。

[0053] 根据本公开的一个实施方案,非诺多泮局部用组合物在室温下物理稳定达至少一

个月的时间段。根据其他实施方案,非诺多泮局部用组合物在室温下物理稳定达至少3个月、至少6个月、至少12个月、至少18个月、至少24个月、至少30个月或至少36个月的时间段。

[0054] 根据本公开的一个实施方案,非诺多泮局部用组合物在室温下化学稳定达至少一个月的时间段。根据其他实施方案,非诺多泮局部用组合物在室温下化学稳定达至少3个月、至少6个月、至少12个月、至少18个月、至少24个月、至少30个月或至少36个月的时间段。

[0055] 根据本公开的一个实施方案,非诺多泮局部用组合物在室温下既物理稳定又化学稳定长达十二个月。根据其他实施方案,非诺多泮局部用组合物在室温下既物理稳定又化学稳定达至少3个月、至少6个月、至少12个月、至少18个月、至少24个月、至少30个月或至少36个月的时间段。

[0056] 根据本公开的另外的实施方案,非诺多泮局部用组合物在加速条件下物理稳定达至少一个月、至少3个月或至少6个月的时间段。根据本公开的另外的实施方案,非诺多泮局部用组合物在加速条件下化学稳定达至少一个月、至少3个月或至少6个月的时间段。根据本公开的另外的实施方案,非诺多泮局部用组合物在加速条件下既物理稳定又化学稳定达至少一个月、至少3个月、至少6个月或至少9个月的时间段。

[0057] 如本文所用,术语“稳定”是指局部用组合物中活性剂的化学稳定性和/或组合物在特定的时间段内的物理稳定性。

[0058] 如本文所用,术语“物理稳定性”是指保持宏观和微观外观的一致性,包括但不限于参数如颜色、均匀性、无相分离、无晶体和恒定的液滴大小等,以及包括组合物在整个特定的时间段内的pH和粘度或可铺展性在内的特性。

[0059] 如本文所用,术语“化学稳定的局部用组合物”可指这样的局部用组合物,其中所述组合物中非诺多泮的重量百分数在25℃和60%的湿度下一个月后降低小于约10%,或在25℃和60%的湿度下六个月后降低小于约10%,或在25℃和60%的湿度下九个月后降低小于约10%。在一些实施方案中,如本文所用,术语“化学稳定的局部用组合物”可指这样的局部用组合物,其中所述组合物中非诺多泮的重量百分数在25℃和60%的湿度下一个月后降低约0.01%至约10%、约0.1%至约5%、约1%至约5%。在一些实施方案中,如本文所用,术语“化学稳定的局部用组合物”可指这样的局部用组合物,其中所述组合物中非诺多泮的重量百分数在25℃和60%的湿度下一个月后降低小于约4.5%、小于约4%、小于约3.5%、小于约3%、小于约2%或小于约1%。在一些实施方案中,如本文所用,术语“化学稳定的局部用组合物”可指这样的局部用组合物,其中所述组合物中非诺多泮的重量百分数在25℃和60%的湿度下六个月后降低约0.01%至约10%、约0.1%至约5%、约1%至约5%。在一些实施方案中,如本文所用,术语“化学稳定的局部用组合物”可指这样的局部用组合物,其中所述组合物中非诺多泮的重量百分数在25℃和60%的湿度下六个月后降低小于约4.5%、小于约4%、小于约3.5%、小于约3%、小于约2%或小于约1%。

[0060] 在一些实施方案中,当非诺多泮的重量百分数在非诺多泮的标示量的90%-110%之间达特定的时间段时,获得组合物的化学稳定性。在一些实施方案中,所述特定的时间段为一个月。在一些实施方案中,所述特定的时间段为三个月、六个月或九个月。术语“标示量”为与包含本公开的组合物产品相关的活性成分例如非诺多泮的指示重量百分数。因此,例如,具有“2%非诺多泮组合物”的标示量的产品在T=0时和特定的时间段内应具有1.8重量%-2.2重量%(即90%-110%)的非诺多泮。在一些实施方案中,当在25℃和60%的

湿度下非诺多泮的重量百分数在非诺多泮的标示量的90%-110%之间达一个月时,获得组合物的化学稳定性。在一些实施方案中,当在40℃和75%的相对湿度下非诺多泮的重量百分数在非诺多泮的标示量的90%-110%之间达一个月时,获得组合物的化学稳定性。在一些实施方案中,当在25℃和60%的湿度下非诺多泮的重量百分数在非诺多泮的标示量的90%-110%之间达六个月时,获得组合物的化学稳定性。在一些实施方案中,当在40℃和75%的相对湿度下非诺多泮的重量百分数在非诺多泮的标示量的90%-110%之间达六个月时,获得组合物的化学稳定性。

[0061] 如本文所用,术语“化学稳定的局部用组合物”可指这样的局部用组合物,其中所述组合物在25℃和60%的湿度下一个月后包含小于约0.2重量%的杂质B。在一些实施方案中,如本文所用,术语“化学稳定的局部用组合物”可指这样的局部用组合物,其中所述组合物在25℃和60%的湿度下一个月后包含小于约1重量%、小于约0.1重量%、小于约0.05重量%或小于约0.02重量%的杂质B。在一些实施方案中,如本文所用,术语“化学稳定的局部用组合物”可指这样的局部用组合物,其中所述组合物在25℃和60%的湿度下六个月后包含小于约1重量%、小于约0.1重量%、小于约0.05重量%或小于约0.02重量%的杂质B。

[0062] 如本文所用,术语“化学稳定的局部用组合物”可指这样的局部用组合物,其中所述组合物在25℃和60%的湿度下一个月后包含小于约1%的任何单个未知杂质。如本文所用,术语“化学稳定的局部用组合物”可指这样的局部用组合物,其中所述组合物在25℃和60%的湿度下六个月后包含小于约1%的任何单个未知杂质。在一些实施方案中,术语“化学稳定的局部用组合物”可指这样的局部用组合物,其中所述组合物在25℃和60%的湿度下一个月后包含小于约0.5%的任何单个未知杂质。在一些实施方案中,术语“化学稳定的局部用组合物”可指这样的局部用组合物,其中所述组合物在25℃和60%的湿度下六个月后包含小于约0.5%的任何单个未知杂质。

[0063] 如本文所用,术语“无水组合物”可指含有小于1重量%的水的局部用组合物,例如小于0.5重量%、小于0.2重量%或小于0.1重量%的水。

[0064] 在一些实施方案中,如本文所用,术语“化学稳定的局部用组合物”可指这样的局部用组合物,其中所述组合物中非诺多泮的重量百分数在25℃和60%的湿度下一个月后降低小于约10%,例如小于约5%,并且所述组合物包含小于约0.2重量%的杂质B。化学和物理稳定性参数在25℃和60%的相对湿度(称为“RT条件”)下、中间(INT)条件(30℃,65%的湿度)下或40℃和75%的相对湿度(称为“加速(ACC)条件”)下评价达1个月、3个月、6个月、12个月、18个月或24个月的特定时间长度。

[0065] 术语“组合物”和“制剂”可互换使用。

[0066] 如本文所用,术语“测定”是指通过特定的分析程序如HPLC确定组合物中的药物含量(即,“药物测定”)。药物产品需要含有所需的量的原料药,并且测定以T=0时的药物含量的百分数呈现。药物测定是组合物稳定性的指标。

[0067] 术语“杂质”也可称为“相关化合物”(RC)。这些可以是原料药的已知或未知杂质。如本文所述,甲磺酸非诺多泮相关化合物B或杂质B(ImpB)为2,3,4,5-四氢-1-(4-羟基苯基)-1H-3-苯并氮杂草-7,8-二醇甲磺酸盐(脱氯-甲磺酸非诺多泮)并且是甲磺酸非诺多泮的一种已知的相关化合物。

[0068] 根据本公开的一些实施方案,组合物的化学稳定性由药物测定值相对于初始测定

值降低小于10%来确定。根据本公开的一些实施方案,组合物的化学稳定性由药物测定值相对于初始测定值降低小于5%来确定。

[0069] 根据另外的实施方案,化学稳定性还由杂质B水平在至少一个月的整个时间段内小于约1.0%、在至少一个月的整个时间段内小于约0.75%或在至少一个月的整个时间段内小于约0.5%来确定。在一些实施方案中,化学稳定性还由杂质B水平在至少六个月的整个时间段内小于约1.0%、在至少六个月的整个时间段内小于约0.75%或在至少六个月的整个时间段内小于约0.5%来确定。更优选地,化学稳定性还由杂质B水平在至少一个月的整个时间段内小于约0.2%来确定。

[0070] 根据其他实施方案,化学稳定性还由任何单个未知杂质水平在至少一个月的整个时间段内小于约1.0%、在至少一个月的整个时间段内小于约0.75%或在至少一个月的整个时间段内小于约0.5%来确定。在一些实施方案中,化学稳定性还由任何单个未知杂质水平在至少六个月的整个时间段内小于约1.0%、在至少六个月的整个时间段内小于约0.75%或在至少六个月的整个时间段内小于约0.5%来确定。更优选地,化学稳定性还由任何单个未知降解杂质水平在至少一个月的整个时间段内小于约0.2%来确定。

[0071] 根据还另外的实施方案,化学稳定性还由总杂质水平在至少一个月的整个时间段内小于约10%、小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2%或小于约1%来确定。在一些实施方案中,化学稳定性还由总杂质水平在至少六个月的整个时间段内小于约10%、小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2%或小于约1%来确定。

[0072] 在一些实施方案中,获得组合物的化学稳定性,其中所述组合物中非诺多泮的重量%在特定的时间段内降低小于约5%并且杂质B的水平小于约0.2%达特定的时间段。在一些实施方案中,所述特定的时间段为一个月。在一些实施方案中,所述特定的时间段为三个月、六个月、九个月、12个月、18个月、24个月、30个月或36个月。

[0073] 根据另外的实施方案,通过保持均匀的外观和/或不存在相分离达至少一个月来确定组合物的物理稳定性。在又一个实施方案中,组合物的pH为约4至约5达至少一个月。

[0074] 在一些实施方案中,本公开提供了局部用组合物,其包含治疗上有效量的非诺多泮或其药学上可接受的盐及(a)至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂;(b)至少一种纤维素型胶凝剂和(c)至少一种溶剂。

[0075] 根据本公开的各种实施方案,局部用组合物包含至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂。来自聚丙烯酰胺型的胶凝剂的实例包括但不限于丙烯酰胺/丙烯酰基二甲基牛磺酸钠共聚物/异十六烷/聚山梨酸酯80混合物(Sepineo™ P600或Simulgel™ 600)、聚丙烯酰胺/C13-14异链烷烃/月桂醇聚醚-7混合物(Sepigel™ 305)、丙烯酸羟乙酯/丙烯酰基二甲基牛磺酸钠共聚物混合物(Sepinov™ EMT 10)和丙烯酸羟乙酯/丙烯酰基二甲基牛磺酸钠共聚物(Sepineo™ DERM)。在一些实施方案中,胶凝剂为Sepineo™ P600。

[0076] 根据本公开的各种实施方案,局部用组合物还包含至少一种纤维素型胶凝剂。为纤维素的胶凝剂的实例包括但不限于烷基纤维素如乙基纤维素和甲基纤维素、羟烷基纤维素如羟乙基纤维素和羟丙基纤维素(Klucel™)、羟烷基纤维素如羟丙基甲基纤维素和羟丁基甲基纤维素以及羧烷基纤维素如羧甲基纤维素。在一些实施方案中,纤维素型胶凝剂为羟丙基纤维素。

[0077] 根据一个优选的实施方案,局部用组合物包含Sepineo™ P600和羟丙基纤维素。

[0078] 根据本公开的一些实施方案,组合物中聚丙烯酰胺型胶凝剂的量为组合物的约1重量%至约5重量%,或为组合物的约1重量%、约2重量%、约3重量%、约4重量%或约5重量%。

[0079] 根据本公开的一些实施方案,组合物中每一种纤维素型胶凝剂的量为组合物的约1重量%至约5重量%,或为组合物的约1重量%、约2重量%、约3重量%、约4重量%或约5重量%。

[0080] 本文提及的胶凝剂也可称为乳化剂、增稠剂或增粘剂。

[0081] Sepineo™ P600为丙烯酰胺/丙烯酰基二甲基牛磺酸钠共聚物在异十六烷和聚山梨酸酯80中的浓缩分散体。本公开中证实了聚丙烯酰胺型胶凝剂如Sepineo™ P600在本公开的局部用组合物中化学稳定非诺多泮的惊人能力。

[0082] 不受任何特定理论的束缚,据认为,与甲磺酸盐类似,丙烯酰基二甲基牛磺酸盐因分子的硫酸根基团而可与非诺多泮形成盐。在存在Sepineo™ P600的情况下,与非诺多泮形成盐可导致非诺多泮在组合物中的稳定化。

[0083] 根据本公开的一些实施方案,局部用组合物还包含至少一种共溶剂。

[0084] 合适的溶剂包括但不限于丙二醇、二甲基异山梨醇、甘油、乙醇、聚乙二醇(PEG)、己二醇、二乙二醇单乙基醚及其任何组合。

[0085] 合适的共溶剂包括但不限于丙二醇、二甲基异山梨醇、甘油、乙醇、聚乙二醇(PEG)、己二醇、二乙二醇单乙基醚及其任何组合。

[0086] 在一些实施方案中,溶剂和共溶剂是相同的。在一些实施方案中,溶剂和共溶剂是不同的。

[0087] 根据本公开的一些实施方案,非诺多泮基本上溶解在组合物中。在一些实施方案中,至少约80%的非诺多泮溶解在组合物中。在一些实施方案中,至少约90%的非诺多泮溶解在组合物中。在一些实施方案中,至少约95%的非诺多泮溶解在组合物中。在一些实施方案中,约100%的非诺多泮溶解在组合物中。

[0088] 在另外的实施方案中,局部用组合物还包含至少一种润肤剂。

[0089] 润肤剂的非限制性实例包括PPG-15硬脂基醚、PPG-12/SDMI共聚物、异硬脂酸、辛酸鲸蜡硬脂基酯、环甲基硅酮、丙二醇、辛基十二烷醇、甘油、己二酸二异丙酯及其混合物。在一些实施方案中,润肤剂为PPG-15硬脂基醚和异硬脂酸。

[0090] 在一些实施方案中,润肤剂占组合物的约10重量%至约35重量%、占组合物的约10重量%至约30重量%或占组合物的约10重量%至约25重量%。

[0091] 在一些实施方案中,组合物还包含至少一种防腐剂。

[0092] 合适的防腐剂包括但不限于苯甲酸及其盐和酯、苜醇、脲衍生物如重氮烷基脲、咪唑烷基脲和DMDM乙内酰脲、山梨酸及其盐等。仅出于该目的采用的防腐剂通常占最终的局部用制剂的1%(重量/重量)或更少。在一些实施方案中,防腐剂为山梨酸或苯甲酸。

[0093] 在一些实施方案中,局部用组合物还包含另外的赋形剂,包括例如渗透增强剂、稳定剂、增粘剂、增稠剂、发泡剂、螯合剂或抗氧化剂。

[0094] 合适的渗透增强剂包括但不限于多元醇和酯,包括聚乙二醇、聚乙二醇单月桂酸酯和丁二醇;醚,包括二乙二醇单乙基醚(例如,Transcutol.P)和二乙二醇单甲基醚;脂肪酸,包括月桂酸、油酸和戊酸;脂肪酸酯,包括肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、丙酸甲酯和

油酸乙酯;含氮化合物,包括脲、二甲基乙酰胺、二甲基甲酰胺2-吡咯烷酮、乙醇胺、甲基-2-吡咯烷酮、二乙醇胺和三乙醇胺;萜烯;链烷酮;有机酸,包括水杨酸、柠檬酸和琥珀酸;及其任何混合物。

[0095] 合适的增稠剂包括聚季铵盐-10、SepinoTM P600、PEG 120甲基葡萄糖二油酸酯、海藻酸钠、阿拉伯胶、纤维素衍生物(如甲基纤维素、羟甲基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素或羟丙基甲基纤维素)、瓜尔胶或其衍生物、黄原胶、或其组合。

[0096] 水溶性抗氧化剂的实例包括硫醇如硫代甘油、硫代山梨醇、硫脲、巯基乙酸和半胱氨酸等。油溶性抗氧化剂的实例包括BHT(丁基化羟基甲苯)、BHA(丁基化羟基苯甲醚)、生育酚(维生素E)、生育酚乙酸酯、棕榈酸抗坏血酸酯、对苯二酚、二丁基对苯二酚、没食子酸丙酯等。

[0097] 任选的螯合剂包括但不限于EDTA(乙二胺四乙酸)及其盐,例如EDTA二钠、NTA三钠、羟乙磷酸及其盐、二羟乙基甘氨酸钠、柠檬酸及其盐等。优选地,螯合剂为EDTA或其盐。

[0098] 合适的着色剂和芳香剂将是一个选择问题,条件仅是它们应与制剂相容。

[0099] 上述赋形剂物质中的一些在制剂中可具有不止一种功能。例如,一种物质可既是溶剂又是渗透增强剂,或者既是胶凝剂又是增稠剂。上述材料的分类不应理解为以任何方式限制或约束。

[0100] 在一些实施方案中,本公开的组合物为半固体局部用剂型或液体局部用剂型。在一些实施方案中,剂型为软膏、乳膏、洗剂、凝胶、喷雾剂或泡沫。

[0101] 在一些实施方案中,局部用组合物为无水组合物。根据一个优选的实施方案,无水组合物包含无水凝胶。

[0102] 在特定的实施方案中,无水凝胶组合物包含:(a)非诺多泮或其药学上可接受的盐,优选地以约1-3%的量;(b)至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂,优选地以约1-5%的量;(c)至少一种纤维素型胶凝剂,优选地以约1-5%的量;(d)至少一种溶剂,优选地以约30-50%的量;(e)至少一种填料,优选地以约20-40%的量;(f)至少一种润肤剂,优选地以约15-35%的量;和(g)至少一种防腐剂,优选地以小于约0.2%的量。

[0103] 在一些实施方案中,局部用组合物为含水组合物。根据一个优选的实施方案,含水组合物为水包油即O/W乳液。在一些实施方案中,O/W乳液呈乳膏的形式。

[0104] 在一些实施方案中,含水组合物还包含至少一种pH调节剂。

[0105] 合适的pH调节剂包括但不限于氢氧化钠、三乙醇胺、柠檬酸、柠檬酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液、碳酸盐缓冲液。在一些实施方案中,pH调节剂选自三乙醇胺或氢氧化钠。

[0106] 在一些实施方案中,含水组合物具有约3.5至约6.0、或约4.0至约5.0的pH范围。

[0107] 在特定的实施方案中,O/W乳液组合物包含:(a)非诺多泮或其药学上可接受的盐,优选地以约1-3%的量;(b)至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂,优选地以约1-5%的量;(c)至少一种纤维素型胶凝剂,优选地以约1-5%的量;(d)至少一种溶剂,优选地以约5-20%的量;(e)至少一种共溶剂,优选地以约5-15%的量;(f)至少一种润肤剂,优选地以约10-25%的量;(g)水,优选地以约50-70%的量;(g)至少一种防腐剂,优选地以小于约0.2%的量;和任选地(i)pH调节剂(根据需要)。

[0108] 局部用组合物的一个重要特征在于其穿透皮肤层的能力。本公开的局部用组合物提供了活性剂非诺多泮向皮肤中的穿透。

[0109] 根据本公开的实施方案,所施加非诺多泮剂量中的至少0.01%、至少0.1%、至少0.5%、至少1%、至少2%、至少3%、至少4%、至少5%、至少6%、至少7%、至少8%、至少9%或至少10%穿透到皮肤中。在一些实施方案中,剂量渗透如由实施例3所例示的那样确定。

[0110] 在还另一个实施方案中,局部用非诺多泮组合物的最大全身吸收在血液中小于约10ng/ml。在另一个实施方案中,局部用非诺多泮组合物的最大全身吸收小于约5ng/ml。在另一个实施方案中,局部用非诺多泮组合物的最大全身吸收小于约2.5ng/ml。在另一个实施方案中,局部用非诺多泮组合物的最大全身吸收小于约1ng/ml。在另一个实施方案中,局部用非诺多泮组合物的最大全身吸收小于约0.5ng/ml。在另一个实施方案中,局部用非诺多泮组合物的最大全身吸收小于约0.1ng/ml。

[0111] 根据另一个实施方案,在穿透/渗透人皮肤研究中,所施加非诺多泮剂量中不超过1%、不超过0.5%、不超过0.1%或不超过0.05%通过皮肤渗透到受体细胞中。

[0112] 根据本公开的另外的实施方案,非诺多泮局部用组合物用于皮肤病症的治疗。在一些实施方案中,皮肤病症为T-细胞介导的免疫炎性病症。在一些实施方案中,皮肤病症为D1受体介导的皮肤病症。

[0113] 根据另外的实施方案,皮肤病症选自银屑病、特应性皮炎、脱发、痤疮、玫瑰痤疮和白癜风。

[0114] 相应地,所述组合物适于向患有选自银屑病、特应性皮炎、脱发、痤疮、玫瑰痤疮和白癜风的皮肤病症的受试者施加。

[0115] 在一个优选的实施方案中,皮肤病症为银屑病或特应性皮炎。

[0116] 在一些实施方案中,本公开的组合物与至少一种可用于治疗D1受体介导的皮肤病症的另外的药剂组合施用。在一些实施方案中,非诺多泮治疗剂和所述至少一种另外的药剂在同一药物组合物中。在一些实施方案中,所述至少一种另外的药剂选自例如皮质类固醇、维生素A或D或类似物、他扎罗汀、水杨酸、煤焦油和抗瘙痒剂。

[0117] 在一些实施方案中,本公开的局部用组合物与已知在D1受体介导的皮肤病症中有效的另外的治疗处理组合施用。在一些实施方案中,所述另外的治疗处理选自光疗或全身性疗法,包括小分子药物和生物制剂。

[0118] 根据一个另外的方面,本公开提供了一种在有此需要的受试者中治疗D1受体介导的皮肤病症的方法,所述方法包括向受试者的受影响的皮肤区域局部施用治疗上有效量的非诺多泮局部用组合物,该组合物包含治疗上有效量的约0.1重量%至约5重量%的非诺多泮或其药学上可接受的盐、至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂、至少一种纤维素型胶凝剂和至少一种溶剂,其中非诺多泮基本上溶解在所述组合物中并且其中所述组合物稳定达至少一个月的时间段。

[0119] “治疗上有效量 (amount/amounts)”指的是当施用于受试者以治疗疾病时足以实现该疾病的治疗的量。

[0120] 如本文所用,术语疾病的“治疗 (treating/treatment)”包括防止该疾病在可能易患该疾病但尚未经历或表现出该疾病的症状的受试者中发生 (预防性治疗)、抑制疾病 (减缓或阻止其发展)、提供疾病症状或副作用的缓解 (包括姑息性治疗) 和缓解疾病 (导致疾病的消退)。

[0121] 在一些实施方案中,本公开提供了一种制备包含非诺多泮的物理和化学稳定的局

部用制剂的方法,其中所述局部用制剂为无水凝胶或O/W乳液。

[0122] 在一些实施方案中,制备O/W乳液的方法包括在与油相形成乳液之前将活性成分添加到水相中。

[0123] 在一些实施方案中,制备O/W乳液的方法包括通过混合水相与油相来形成乳液并将活性成分添加到乳液中。

[0124] 在一个优选的实施方案中,制备O/W乳液的方法包括通过混合水相与油相来形成乳液并将活性成分添加到乳液中。

[0125] 在一些实施方案中,制备O/W乳液的方法在室温(约15°C至约30°C)下进行。

[0126] 现已大体上描述了本发明,通过参考以下实施例,本发明将得到更好的理解,这些实施例仅出于示意的目的提供而非旨在限制本发明或其任何实施方案,如此指定除外。

[0127] 本文引用的所有参考文献,包括专利、专利申请、论文、教科书等,以及其中引用的参考文献,在其尚未被引用的程度上,在此通过引用整体并入本文。

[0128] 实施例

[0129] 实施例1:非诺多泮无水制剂

[0130] 制剂1:

#	成分	%
1	GELOT64	7.0
2	中链甘油三酯	20.0
3	氢化蓖麻油	2.0
4	矿物油USP	22.9
5	鲸蜡硬脂醇	11.0
6	牛油树脂	2.0
7	甘油	20.0
8	丙二醇	15.0
9	甲磺酸非诺多泮	0.1

[0132] 具有GELOT64的制剂在物理和化学上不稳定。其是非均匀的,在加速稳定性条件(ACC)下3M后,总杂质水平从T=0时的1.3%增至21.6%(表1)。更具体地,在加速条件下3个月后,与API的降解有关的未知杂质(表1中的UnK Imp1)以非常高的水平出现在组合物中(3M ACC下为21.6%)。

[0133] 表1

		T=0	2周, 50°C	1M, ACC	3M, ACC
% RC					
[0134]	UnK Imp 1	ND	ND	ND	21.6
	UnK Imp 2	1.3	3.6	12.95	ND
	总杂质%	1.3	3.6	12.95	21.6

[0135] *ND-未检测到

[0136] **UnK Imp-未知杂质。未知杂质在每个表格中任意编号。

[0137] 制剂2:

#	成分	%
1	PEG 400NF	48.0
2	丙二醇	19.9
3	甘油USP	20.0
4	聚山梨酸酯80	10.0
6	Sepineo™ P600	1.5
7	Carbopol 980	0.5
8	甲磺酸非诺多泮	0.1

[0139] 制剂2含有Sepineo和卡波姆(carbopol)作为胶凝剂并具有0.1%的非诺多泮。在低的甲磺酸非诺多泮浓度下,如在0.1%下,具有Sepineo和卡波姆的制剂既显示出化学稳定性又显示出物理稳定性。然而,在高的非诺多泮浓度下,如在1%或2%下,由于附聚物的形成,故制剂的物理稳定性受损。

[0140] 制剂3A-3F:制备具有Sepineo和羟丙基纤维素的组合及0.5%至3%之间的非诺多泮的制剂并评价其稳定性。

		3A	3B	3C	3D	3E	3F
	# 成分						
	1 丙二醇	30.0- 50.0	30.0- 50.0	30.0- 50.0	30.0- 50.0	30.0- 50.0	30.0- 50.0
	2 PEG 400 NF	20.0- 40.0	20.0- 40.0	20.0- 40.0	20.0- 40.0	20.0- 40.0	20.0- 40.0
	3 甘油 USP	10.0- 25.0	10.0- 25.0	10.0- 25.0	10.0- 25.0	10.0- 25.0	10.0- 25.0
	4 PPG-15 硬脂基醚	5.0- 10.0	5.0- 10.0	5.0- 10.0	5.0- 10.0	5.0- 10.0	5.0- 10.0
	5 羟丙基纤维素 (Klucel™)	1.0	1.5	2.5	2.5	4.0	5.0
	6 Sepineo™ P600	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
	7 山梨酸	0.0- 0.2	0.0- 0.2	0.0- 0.2	0.0- 0.2	0.0- 0.2	0.0- 0.2
	8 甲磺酸非诺多泮	0.5	1.0	1.0	2.0	2.0	3.0

[0142] 在Sepineo™ P600和羟丙基纤维素的存在下,没有形成附聚物,并且制剂在广泛的非诺多泮浓度下物理稳定。而且,Sepineo™ P600与羟丙基纤维素的组合令人惊奇地导致了组合物的物理稳定性和化学稳定性,其中在RT(室温)下3个月的稳定性条件后在非诺多泮测定中无显著的变化(T=0时为98%而在RT下3个月后为98.1%)并且总杂质水平小于0.2%(T=0时为0.16%而在RT下3个月后为0.11%)。重要的是,在羟丙基纤维素和Sepineo™ P600的存在下,即使在加速条件下3个月后,ImpB和任何单个未知杂质(UnK Imp)的水平仍小于0.2%(表2)。

[0143] 表2

[0144] **制剂 3 (基于原型 3D)**
(2%的甲磺酸非诺多泮)

	T=0	1M, RT	1M, ACC	3M, RT	3M, ACC
外观	均匀的透明凝胶	均匀的透明凝胶	均匀的透明凝胶	均匀的透明凝胶	均匀的透明凝胶
%非诺多泮测定	98	97.3	97.4	98.1	98.1
% RC					
ImpB	0.09	0.11	0.11	0.11	0.13
UnK Imp 1	ND	0.02	0.06	ND	0.18
UnK Imp 2	0.07	0.03	ND	ND	ND
UnK Imp 3	ND	ND	0.08	ND	ND
UnK Imp 4	ND	ND	0.06	ND	ND
UnK Imp 5	ND	ND	ND	ND	0.12
UnK Imp 6	ND	ND	ND	ND	0.15
总杂质	0.16	0.16	0.31	0.11	0.58
粘度 (cP)	4828	5569	6697	6033	6253

[0145] *ND-未检测到

[0146] **UnK Imp-未知杂质。未知杂质在每个表格中任意编号。

[0147] 下表呈现了不同的Sepineo浓度及其对稳定性的影响。增加Sepineo™ P600的水平并在1.0至5.0%的范围内变化(制剂4A-4F)。

[0148] 制剂4A-4F:

[0149]

		4A	4B	4C	4D	4E	4F
#	成分						
1	丙二醇	30.0- 50.0	30.0- 50.0	30.0- 50.0	30.0- 50.0	3550.0	30.0- 50.0
2	PEG 400 NF	20.0- 40.0	20.0- 40.0	20.0- 40.0	20.0- 40.0	20.0- 40.0	20.0- 40.0
3	甘油 USP	10.0- 25.0	10.0- 25.0	10.0- 25.0	10.0- 25.0	10.0- 25.0	10.0- 25.0
4	PPG-15 硬脂基醚	5.0- 10.0	5.0- 10.0	5.0- 10.0	5.0- 10.0	5.0- 10.0	5.0- 10.0
5	羟丙基纤维素 (Klucel™)	1.0- 5.0	1.0- 5.0	1.0- 5.0	1.0- 5.0	1.0- 5.0	1.0- 5.0
6	Sepineo™ P600	1.5	2.5	4.0	2.5	4.0	5.0
7	山梨酸	0.0- 0.2	0.0- 0.2	0.0- 0.2	0.0- 0.2	0.0- 0.2	0.0- 0.2
8	甲磺酸非诺多泮	1.0	1.0	1.0	2.0	2.0	3.0

[0150] 对基于原型4B(1%的非诺多泮)和4D(2%的非诺多泮)制备的代表性制剂的稳定

性进行了至少一个月的时间段的评价(表3和4)。在RT下1M后,非诺多泮测定中的降低小于5%(对于1%和2%的非诺多泮,分别地:T=0时为96%而在RT下1M时为93.9;T=0时为97.1%而在RT下1M时为95.3%)并且总杂质水平相同或甚至减小(对于1%和2%的非诺多泮,分别地:T=0时为0.9%而在RT下1M时为0.9%;T=0时为0.93%而在1M时为0.81)。重要的是,在RT和加速条件两者下,杂质B水平在整个稳定期中均未显著变化并小于0.2%,并且任何单个未知杂质均小于1%。而且,制剂的粘度没有明显变化,这进一步支持了组合物的稳定性。

[0151] 表3

制剂 4 (基于原型 4B) (1%的甲磺酸非诺多泮)		T=0	2 周, 50°C	1M, RT	1M, ACC
外观		均匀的凝胶	均匀的凝胶	均匀的凝胶	均匀的凝胶
%非诺多泮测定		96	95.3	93.9	93.2
% RC					
[0152]	ImpB	0.10	0.11	0.09	0.10
	UnK Imp 1	ND	ND	0.09	0.07
	UnK Imp 2	ND	ND	0.10	0.10
	UnK Imp 3	ND	ND	0.62	0.60
	UnK Imp 4	0.27	0.10	ND	ND
	UnK Imp 5	ND	ND	ND	0.07
	UnK Imp 6	0.47 ^a	0.64 ^a	ND	ND
	UnK Imp 7	ND	ND	ND	0.07
	UnK Imp 8	0.06	0.07	ND	ND
	UnK Imp 9	ND	0.06	ND	ND
总杂质		0.90	0.98	0.90	1.01
粘度 (cP)		18788	16882	19420	18686

[0153] *ND-未检测到

[0154] a-最初与API来源有关的未知杂质

[0155] **UnK Imp-未知杂质。未知杂质在每个表格中任意编号。***1M稳定性数据针对的是包装在铝管中的制剂。

[0156] 表4

制剂 4 (基于原型 4D) (2%的甲磺酸非诺多泮)					
		T=0	2 周, 50°C	1M, RT	1M, ACC
外观		均匀的凝胶	均匀的凝胶	均匀的凝胶	均匀的凝胶
%非诺多泮测定		97.1	97.1	95.3	95.6
% RC					
[0157]	ImpB	0.09	0.12	0.09	0.09
	UnK Imp 1	ND	ND	0.10	0.10
	UnK Imp 2	ND	ND	0.62	0.62
	UnK Imp 3	0.10	0.08	ND	ND
	UnK Imp 4	0.63 ^a	0.63 ^a	ND	ND
	UnK Imp 5	0.11	ND	ND	ND
	总杂质	0.93	0.83	0.81	0.81
粘度 (cP)		17170	15216	14228	15746

[0158] *ND-未检测到

[0159] a-最初与API来源有关的未知杂质

[0160] **UnK Imp-未知杂质。未知杂质在每个表格中任意编号。

[0161] ***1M稳定性数据针对的是包装在铝管中的制剂。

[0162] 结果出乎意料地证实,既包含Sepineo™ P600又包含纤维素衍生物的无水凝胶制剂既化学稳定又物理稳定。具体而言,在25°C和60%的相对湿度下一个月后,任何未知杂质的水平均小于1%,药物测定值相对于初始测定值降低不超过5%,并且杂质B的水平小于约0.2重量%。而且,本公开的这些制剂能够溶解高浓度的非诺多泮,从而使其适合于有效的局部施加。

[0163] 实施例2:非诺多泮O/W乳液制剂

[0164] 制剂5:

#	成分	%
1	PPG-15硬脂基醚	8.00
2	中链甘油三酯	10.00
3	硬脂醇聚醚-2	4.00
4	聚乙二醇硬脂基醚	4.00
5	丙二醇	8.00
6	甲磺酸非诺多泮	0.10
7	纯化水	65.9

[0166] 制剂6:

#	成分	%
1	PPG-15硬脂基醚	8.00
2	中链甘油三酯	10.00

3	Sepineo™ P600	3.00
4	丙二醇	8.00
5	甲磺酸非诺多泮	0.10
6	纯化水	70.90

[0168] Sepineo™ P600出乎意料地改善了O/W乳液制剂中非诺多泮的化学稳定性,这由甲磺酸非诺多泮的杂质水平在加速稳定性条件下6个月从38.56%的总杂质明显降低至6.36%反映。重要的是,在组合物中存在水的情况下其形成将被加速的未知杂质1的水平随着Sepineo™ P600的添加而显著降低(在加速稳定性条件下6个月从30.22%降低至4.48%) (表5)。然而,在具有更高浓度非诺多泮的组合物中需要进一步改善化学稳定性。

[0169] 表5

		6M, ACC 制剂 5 (无 Sepineo™ P600)	6M, ACC 制剂 6 (有 Sepineo™ P600)
[0170]	% RC		
	UnK Imp 1	30.22	4.48
	总杂质	38.56	6.36
	pH	4.17	4.6

[0171] **UnK Imp-未知杂质。未知杂质在每个表格中任意编号。

[0172] 制剂7:

#	成分	%
1	PPG-15硬脂基醚	8.00
2	中链甘油三酯	10.00
3	Sepineo™ P600	3.00
4	丙二醇	8.00
5	DMSO	5.00
6	甲磺酸非诺多泮	2.00
7	苯氧基乙醇	1.00
6	纯化水	63.00

[0174] 制剂7在物理上不稳定,具有相分离。制剂8:

#	成分	%
1	异硬脂酸	20.00
2	中链甘油三酯	12.00
3	Sepineo™ P600	3.00
4	甲磺酸非诺多泮	2.00
5	三乙醇胺	0.10
6	苯氧基乙醇	1.00
7	纯化水	61.90

[0176] 制剂8在物理上不稳定,具有许多聚集体。

[0177] 制剂9A-9I:

		9A	9B	9C	9D	9E	9F	9G	9H	9I
#	成分									
1	异硬脂酸	10.0 - 25.0	10.0 - 25.0	10.0- 25.0	10.0 - 25.0	10.0 - 25.0	10.0 - 25.0	10.0 - 25.0	10.0 - 25.0	10 .0 - 25 .0
2	丙二醇	5.0- 20.0	5.0- 20.0	5.0- 20.0	5.0- 20.0	5.0- 20.0	5.0- 20.0	5.0- 20.0	5.0- 20.0	5. 0- 20 .0
3	二甲基异山梨醇	5.0- 15.0	5.0- 15.0	5.0- 15.0	5.0- 15.0	5.0- 15.0	5.0- 15.0	5.0- 15.0	5.0- 15.0	5. 0- 15 .0
[0178] 4	Sepineo™ P600	1.5	2.5	4.0	4.0	2.5	4.0	4.0	4.0	5. 0
5	羟丙基纤维素 (Klucel™)	1.0	1.0	1.0	2.5	1.0	1.0	2.5	2.5	4. 0
6	山梨酸	0.0- 0.2	0.0- 0.2	0.0- 0.2	0.0- 0.2	0.0- 0.2	0.0- 0.2	0.0- 0.2	0.0- 0.2	0. 0- 0. 2
7	甲磺酸非诺多泮	0.5	1.0	1.0	1.0	2.0	2.0	2.0	3.0	3. 0
8	纯化水	50.0 - 70.0	50.0 - 70.0	50.0- 70.0	50.0 - 70.0	50.0 - 70.0	50.0 - 70.0	50.0 - 70.0	50.0 - 70.0	50 .0 - 70 .0
9	pH 调节剂	适量	适量	适量	适量	适量	适量	适量	适量	适 量

[0179] 制剂9A-9I用各种浓度的Sepineo和羟丙基纤维素的组合及0.5%至3%的非诺多泮制备。对代表性制剂的稳定性进行了至少1个月的时间段的评价(表6和7)。Sepineo与羟丙基纤维素的组合出乎意料地改善了组合物的稳定性。在RT下1M后,非诺多泮测定中的变化小于5%(对于1%和2%的非诺多泮,分别地:T=0时为97.8%而在RT下1M时为97.1;T=0时为98.8%而在RT下1M时为97.0%)并且每种杂质(包括ImpB和任何单个未知降解杂质)的水平小于0.2%。乳液是均匀的并且每一制剂内的粘度没有明显变化,这进一步支持了组合物的稳定性。最重要的是,在各种非诺多泮浓度下的制剂的pH在稳定性条件期间没有变化并保持在4.1-4.2的范围内。

[0180] 表6

制剂 9 (基于原型 9C) (1%的甲磺酸非诺多泮)					
		T=0	2W, 50°C	1M, RT	1M, ACC
外观		均匀的乳液	均匀的乳液	均匀的乳液	均匀的乳液
[0181] %非诺多泮测定		97.8	96.4	97.1	96.9
% RC					
	ImpB	0.11	0.15	0.10	0.12
	UnK Imp 1	ND	0.11	ND	ND
	UnK Imp 2	ND	0.02	ND	ND
	UnK Imp 3	ND	ND	ND	0.04
	总杂质	0.11	0.28	0.10	0.16
粘度 (cP)		99064	86102	未测试	88726
pH		4.18	4.11	4.2	4.1

[0182] *ND-未检测到

[0183] **UnK Imp-未知杂质。未知杂质在每个表格中任意编号。

[0184] ***1M稳定性数据针对的是包装在铝管中的制剂。

[0185] 表7

制剂 9 (基于原型 9F) (2%的甲磺酸非诺多泮)					
		T=0	2W, 50°C	1M, RT	1M, ACC
外观		均匀的乳液	均匀的乳液	均匀的乳液	均匀的乳液
[0186] %非诺多泮测定		98.8	96.5	97	96.4
% RC					
	ImpB	0.13	0.18	0.13	0.16
	UnK Imp 1	ND	0.12	ND	ND
	UnK Imp 2	ND	ND	ND	0.04
	UnK Imp 3	ND	ND	0.18	0.17
	UnK Imp 4	0.05	0.17	ND	ND
总杂质		0.18	0.47	0.31	0.37
粘度 (cP)		5483	3308	4690	3426
pH		4.18	4.11	4.2	4.1

[0187] *ND-未检测到

[0188] **UnK Imp-未知杂质。未知杂质在每个表格中任意编号。

[0189] ***1M稳定性数据针对的是包装在铝管中的制剂。

[0190] 结果出乎意料地证实,既包含Sepineo™ P600又包含纤维素衍生物的O/W乳液制剂既化学稳定又物理稳定。具体而言,在25°C和60%的相对湿度下一个月后,任何未知杂质的

水平平均小于1%，药物测定值相对于初始测定值降低不超过5%，并且杂质B的水平小于约0.2重量%。而且，本公开的制剂能够在维持4-5的pH的同时溶解高浓度的非诺多泮，从而使其适合于有效的局部施加。

[0191] 实施例3:皮肤穿透/渗透研究

[0192] 穿透/渗透模型是一种经过充分验证的工具，用于研究局部施加的药物的经皮吸收。该模型使用安装在专门设计的扩散腔室中的切除的人体皮肤，该扩散腔室允许皮肤保持在与实际使用条件相匹配的温度和湿度下。向皮肤的表面施加组合物并通过监测其在皮肤层中的出现速率以及在皮肤样品下方流动的受体溶液来测量化合物的穿透。此外，这种体外系统具有仔细控制局部施加中涉及的许多潜在变量如给药量、湿度、温度、药物稳定性、皮肤厚度等的潜力。

[0193] 将切下的皮肤安置在扩散单元的两个半部之间，其中角质层面向供体隔室，以允许药物施加。测量渗透过人体皮肤的药物浓度和不同皮肤层内的药物穿透。

[0194] 为了确定非诺多泮从代表性的局部用组合物向皮肤中的穿透，使用尸体皮肤进行体外穿透/渗透研究。分析了皮肤内(穿透)和受体细胞中(渗透)甲磺酸非诺多泮的总量。

[0195] 体外皮肤穿透/渗透研究使用垂直静态Franz细胞来测定。本研究中使用来自两个不同供体的两块切除的热分离人体皮肤。每种制剂共使用8个细胞，平均施加剂量为 $13.36 \pm 1.79 \text{mg/cm}^2$ 。使用0.1体积/体积%的磷酸(0.1%的PhA)作为受体溶液进行渗透研究。除 t_0 外，在7个时间点对受体溶液采样。48小时后，使用预先制定的洗涤程序洗涤皮肤表面，然后胶带剥离皮肤表面(≤ 10 次)。用5.0mL 0.1%的磷酸进行胶带和皮肤提取，并将样品于65°C下加热15分钟。分析洗涤、胶带、皮肤和渗透样品以确定质量平衡。用HPLC-UV分析所有样品。如通过在100Hz下进行的经皮电阻(TER)测量所确定，确认所有皮肤样品的电阻 $> 20 \text{k}\Omega$ 。

[0196] 4.1穿透/渗透结果

[0197] 表8汇总了在表皮内(表中定义为皮肤)和角质层内(表中定义为胶带)测得的甲磺酸非诺多泮相对于施加到皮肤样品的量的百分数。结果是从两个不同供体获得的两个皮肤样品的平均值。

[0198] 如表8所揭示，在无水凝胶和o/w制剂两者中，穿透到表皮中的非诺多泮的百分数均高于保留在角质层中的非诺多泮的百分数。此外，主要在o/w制剂中，与1%的非诺多泮相比，使用2%的非诺多泮时穿透到角质层和到表皮的非诺多泮的百分数较高。

[0199] 表8

	无水组合物(制剂4)		O/W组合物(制剂9)	
	1%的甲磺酸非诺多泮(基于原型4B)	2%的甲磺酸非诺多泮(基于原型4D)	1%的甲磺酸非诺多泮(基于原型9C)	2%的甲磺酸非诺多泮(基于原型9F)
[0200] 为施加到皮肤样品的量的%				
胶带	0.78%	1.33%	0.98%	3.08%
皮肤	3.34%	3.12%	2.32%	8.54%

[0201] 表9汇总了在24和48小时温育后在受体细胞中测得的甲磺酸非诺多泮相对于施加

到皮肤样品的量的累积百分数。结果是从两个不同供体获得的两个皮肤样品的平均值。

[0202] 如表9所揭示,在无水 and o/w 制剂两者中,施放到皮肤上的非诺多泮剂量中小于 0.03% 通过皮肤渗透到受体细胞。

[0203] 表9

	无水组合物 (制剂 4)		O/W 组合物 (制剂 9)	
	1% 的甲磺酸非诺多泮 (基于原型 4B)	2% 的甲磺酸非诺多泮 (基于原型 4D)	1% 的甲磺酸非诺多泮 (基于原型 9C)	2% 的甲磺酸非诺多泮 (基于原型 9F)
[0204] 为 施 加 到 皮 肤 样 品 的 量 的 %				
24 小时	0.000	0.000	0.007	0.027
48 小时	0.000	0.002	0.007	0.029

[0205] 结论是,在无水 and O/W 乳液制剂两者中均观察到非诺多泮显著穿透至表皮。此外,通过皮肤向受体细胞的渗透在两个制剂中均非常低,其中在 O/W 制剂中观察到更高的渗透百分数。

[0206] 实施例 4: 甲磺酸非诺多泮组合物用于治疗银屑病的功效

[0207] 在小鼠中的人皮肤异种移植模型中评价根据本公开开发的局部用稳定的非诺多泮组合物用于治疗银屑病的功效。人皮肤异种移植模型最适合于进行开始临床试验之前探索新型抗银屑病剂/治疗策略的临床前测定。这项研究的目的在于评价甲磺酸非诺多泮制剂在人 T 细胞驱动型银屑病模型中对银屑病的组织学参数的有效性。

[0208] 5.1 研究操作规程

[0209] 纳入研究的患者患有经典的斑块型银屑病,并且没有针对该疾病进行过治疗。从一名健康志愿者获得正常的皮肤用于移植。

[0210] 宽度为 0.4mm、表面积为 1.5×1.5 cm 的健康人皮肤块由来自以色列海法市 Rambam Health Care Campus 的整形外科部门的常规整形手术的残余皮肤提供。另外,从银屑病患者采集 20mL 血液样品。

[0211] 将正常的健康人供体皮肤移植到 Beige-严重联合免疫缺陷小鼠 (SCID) (重量 ~ 20g) 上。

[0212] 将小鼠分成若干治疗组。每组的小鼠均接受来自银屑病供体的表达高水平 NK 细胞受体的活化的同种异体 T 细胞。

[0213] 分离来自银屑病患者血液的外周血单核细胞 (PBMC) 并在高剂量 IL-2 (100U/mL 培养基) 的存在下培养 14 天以活化表达高水平 NK 细胞受体的同种异体 T 细胞。

[0214] 在植入后四周,对每只小鼠注射来自银屑病患者细胞的 1×10^7 个活化的同种异体 IL2 富集 PBMCs (每只小鼠注射 1×10^7 个细胞)。来自不同银屑病患者细胞的细胞在治疗组之间平均分配。每位患者在每个治疗组中代表。

[0215] 注射后两周,将小鼠随机分开并每天用不同的局部用制剂治疗 14 天。

[0216] 开始治疗后十四天(注射后四周),采集血样并收获皮肤。针对银屑病参数对移植物进行组织学和免疫组织化学分析。

[0217] 实施例5:甲磺酸非诺多泮组合物用于治疗特应性皮炎的功效

[0218] 在特应性皮炎的动物模型中评价根据本公开成功开发的局部用稳定的非诺多泮组合物的功效。反复的2,4-二硝基氯苯(DNCB)施加是特应性皮炎的常见动物模型,其具有再现性益处。

[0219] 6.1研究操作规程

[0220] 通过于第1天在经剃毛的背部皮肤上施加100 μ l 1%的DNCB/(丙酮:橄榄油(Figaro)3:1)并从第1天至第4天在右耳上施加10 μ l 1%的DNCB来对Balb/c小鼠致敏。在第6天,使用数字称重天平对动物称重。

[0221] 在治疗4小时后,通过在其背部皮肤上施加100 μ l 0.5%的DNCB/(丙酮:橄榄油(3:1))来攻击动物并于第8天、第10天、第12天、第14天在其右耳上施加20 μ l 0.5%的DNCB。正常对照动物仅用丙酮和橄榄油致敏和攻击,而治疗组中的动物用非诺多泮组合物治疗。从第6天到第14天,在小鼠背部皮肤上约5-6cm²的区域中施加组合物达9天。从第6天到第14天,在小鼠背部皮肤上约5-6cm²的区域中局部施加相应的安慰剂物品达9天。类似地使用戊酸倍他米松乳膏作为参考。

[0222] 进行临床评分以确定受试组合物与适宜的对照的功效。在第15天,根据以下标准评估背部皮肤严重度分数:1)红斑(0-3),2)表皮脱落/糜烂(0-3),3)疤痕/干燥,而在每个标准内,分数为:无病变,0;轻度,1;中度,2;重度,3。最大累积分数为9,其定义为这些单个得分的总和。

[0223] 在研究结束时,处死动物并收获背部皮肤组织以针对特应性皮炎参数进行进一步的组织学和免疫组织化学分析。

[0224] 实施例6:用甲磺酸非诺多泮治疗银屑病

[0225] 本研究集中在甲磺酸非诺多泮(FMT)对实验诱导的银屑病的作用上。在此模型中,通过皮内注射源自银屑病患者自然杀伤/T细胞来在移植到beige-严重联合免疫缺陷小鼠上的正常人皮肤中诱导银屑病样表型(Gilhar et al., J Invest Dermatol. 2002 Aug; 119(2):384-91.)。

[0226] 这些进一步的实验的目的在于验证FMT的治疗效果并比较两种不同制剂(乳膏对凝胶剂)的两种剂量(1%对2%)的治疗效果。

[0227] 为了达到实验目的,建立了银屑病源化小鼠。招募了10名银屑病患者(七名男性和三名女性)进行测试,平均年龄44岁,跨度为22至61岁。所有患者均患有经典的斑块型银屑病。没有患者接受过治疗。从一名健康志愿者获得正常的皮肤用于移植。

[0228] 实验包括分成八组的72只小鼠(表10)。根据操作规程,对所有小鼠都注射了自银屑病患者获得的表达NK受体的T细胞。此后,按以下方式分开小鼠:组1:未经治疗的对照;组2:地塞米松;组3:FMT凝胶1%;组4:FMT凝胶2%;组5:凝胶(媒介物);组6:FMT乳膏1%;组7:FMT乳膏2%;和组8:乳膏(媒介物)。所有组均从T细胞注射后第14天治疗到第28天。

[0229] 表10:FMT的治疗效果-治疗组

组	化合物	途径	频率	施加的剂量	小鼠数目
1	未经治疗的对照	局部	每日两次	NA	6
2	地塞米松 (D2915, Sigma)	局部	每日两次	40 μ l	6
[0230] 3	FMT 凝胶 1%	局部	每日两次	90mg	10
4	FMT 凝胶 2%	局部	每日两次	90mg	10
5	凝胶 (媒介物)	局部	每日两次	NA	10
6	FMT 乳膏 1%	局部	每日两次	90mg	10
7	FMT 乳膏 2%	局部	每日两次	90mg	10
8	乳膏 (媒介物)	局部	每日两次	NA	10

[0231] *从T细胞注射后第14天到第28天。

[0232] 正如预期的那样,用各种媒介物治疗的所有异种移植在组织学上都显示出典型的银屑病特征,包括表皮角化过度 and 角化不全、棘皮肥厚、网嵴延长和真皮中的致密单核浸润(表11、12)。所有这些特征在用地塞米松治疗的所有异种移植中均不存在(表11、12)。

[0233] 表11:治疗后人皮肤移植物的组织学评价。

组	化合物	施加的剂量	银屑病特征	部分恢复	完成恢复
1	未经治疗的对照	NA	5/6	1/6	0/6
2	地塞米松	40 μ l	0/6	1/6	5/6
3	FMT 凝胶 1%	90mg	5/10	1/10	4/10
4	FMT 凝胶 2%	90mg	4/10	1/10	5/10
[0234] 5	凝胶 (媒介物)	NA	9/10	0/10	1/10
6	FMT 乳膏 1%	90mg	5/10	1/10	4/10
7	FMT 乳膏 2%	90mg	5/10	0/10	5/10
8	乳膏 (媒介物)	NA	9/10	0/10	1/10

[0235] 表12:正常皮肤异种移植和银屑病患者T细胞注射beige-SCID小鼠的表皮厚度测量(μ m)。

[0236]

供体	未经治疗的对照	Dexa (2mg)	FMT 凝胶 1%	FMT 凝胶 2%	凝胶 (媒介物)	FMT 乳膏 1%	FMT 乳膏 2%	乳膏 (媒介物)
1	848	338	446	298	628	350	722	240
2	602	280	220	338	1250	258	259	643
3	540	290	762	212	657	550	643	880
4	620	300	765	760	756	709	218	513
5	850	305	720	787	682	134	459	532
6	780	260	322	206	405	536	134	694
7			642	554	721	279	536	640
8			594	438	471	536	640	624
9			376	699	768	280	714	712
10			250	220	460	594	280	707
平均值	706	295*	509	451**	680	422***	460	618
标准偏差	135	26	212	232	238	188	221	167

[0237] 比较测试-Kruskal-Wallis测试,然后是Mann-Whitney U测试。*地塞米松相对于未经治疗组和所有治疗组-分别为 $P < 0.002$ 和 $p < 0.03$ 。**FMT(凝胶)2%组4相对于未经治疗的对照和媒介物(凝胶)- $p < 0.02$ 。**FMT(乳膏)1%组6相对于未经治疗的对照和媒介物(乳膏)- $p < 0.04$ 。

[0238] 用FMT凝胶2%治疗的异种移植显示出6/10小鼠从银屑病样特征恢复,平均表皮厚度为 $451 \pm 232 \mu\text{m}$ (表11、12)。类似地,用FMT凝胶1%治疗的异种移植显示出5/10小鼠的恢复,平均表皮厚度为 $509 \pm 212 \mu\text{m}$ 。用媒介物(凝胶)治疗的异种移植在9个移植物(9/10)中显示出银屑病样特征,平均表皮厚度增加,= $680 \pm 238 \mu\text{m}$ (表11,12)。通过使用乳膏代替凝胶也观察到了治疗效果。用FMT乳膏1%治疗的异种移植在5/10异种移植中显示出银屑病特征的清除和 $422 \pm 188 \mu\text{m}$ 的表皮厚度。用乳膏2%的治疗在五个异种移植(5/10)中显示出完全恢复,平均表皮厚度为 460 ± 221 。然而,用媒介物(乳膏)治疗的异种移植在仅一个异种移植中显示出完全恢复,而9/10具有银屑病特征和高水平的平均表皮厚度 $167 \pm 618 \mu\text{m}$ (表11、12)。相反,用地塞米松治疗的异种移植显示出从银屑病特征的完全(5/6)或部分(1/6)恢复,平均表皮厚度为 $295 \pm 26 \mu\text{m}$ 。

[0239] 然后我们对源自各种人异种移植的皮肤切片染色以分析Ki-67和HLA-DR:第一个为细胞过度增殖的标志物,第二个为免疫刺激的标志物。在所有对照组和媒介物组中及在无反应者FMT异种移植中,沿表皮的下部分观察到Ki-67的强表达。在地塞米松组和FMT反应者异种移植中观察到较弱的表达(图1)。如图1及表13和14中所示,发现HLA-DR在用各种对照和媒介物处理的异种移植的整个表皮中及在大多数无反应者异种移植中强烈表达。然而,在用FMT治疗的反应者移植中沿表皮观察到弱的HLA-DR表达或这样的表达不存在。更具体而言,6/10的FMT凝胶2%治疗异种移植沿表皮显示出轻微或完全阴性的HLA-DR表达。在5/10的异种移植中,乳膏2%下调了表皮HLA-DR表达(图1和表13、14)。

[0240] 表13:表皮的HLA-DR诱导。

化合物	表皮 HLA-DR 表达			
	阴性	集中 ¹	扩散 ²	移植物总数
对照 (未经治疗)	0/6	1/6	6/5	6
地塞米松	5/6	1/6	0/6	6
[0241] 组 4, FMT 凝胶 2%	4/10	2/10	4/10	10
组 5, 媒介物 (凝胶)	1/10	1/10	8/10	10
组 7, FMT 乳膏 2%	4/10	1/10	5/10	10
组 8, 媒介物 (乳膏)	1/10	0/10	9/10	10

[0242] 集中-小于表皮面积的50%

[0243] ²扩散-大于表皮面积的50%

[0244] 表14:沿真皮的HLA-DR阳性细胞。

化合物	真皮 HLA-DR 表达			
	阴性	轻微	致密	移植物总数
对照 (未经治疗)	0/10	2/6	4/6	6
[0245] 地塞米松	4/6	2/6	0/6	6
组 4, FMT 凝胶 2%	4/10	3/10	3/10	10
组 5, 媒介物 (凝胶)	1/10	0/10	9/10	10
组 7, FMT 乳膏 2%	4/10	1/10	5/10	10
组 8, 媒介物 (乳膏)	1/10	1/10	8/10	10

[0246] 阴性表达-无染色

[0247] 轻微-沿真皮有较低的阳性细胞细胞浸润水平

[0248] 致密-沿真皮有密集的阳性细胞细胞浸润水平

[0249] 为了表征皮肤中的炎性浸润,我们检查了标志T淋巴细胞的CD8、CD4和IL-17+细胞的表达(图1和表15、16)。发现这些标志物在各种对照组和媒介物组的真皮上部分中及在用FMT治疗的无反应者异种移植中强烈表达,但在用地塞米松治疗的异种移植中或在FMT反应者移植物中弱表达,如果有的话。更确切地说,在用FMT凝胶2%治疗的6/10和7/10反应者异种移植中观察到HLA-DR和CD4+细胞的弱表达或不存在这样的表达(图1和表15、16)。

[0250] 表15:沿真皮的CD8、CD4和IL-17阳性细胞。

化合物	CD8			CD4			IL-17		
	阴性	轻微	致密	阴性	轻微	致密	阴性	轻微	致密
对照 (未经治疗)	0/10	1/6	5/6	0/10	1/6	5/6	0/10	1/6	5/6
[0251] 地塞米松	5/6	1/6	0/10	4/6	2/6	0/10	5/6	1/6	0/10
组 4, FMT 凝胶 2%	5/10	2/10	3/10	5/10	1/10	4/10	5/10	1/10	4/10
组 5, 媒介物 (凝胶)	1/10	0/10	9/10	1/10	1/10	8/10	1/10	1/10	8/10
组 7, FMT 乳膏 2%	4/10	1/10	5/10	4/10	1/10	5/10	4/10	2/10	4/10
组 8, 媒介物 (乳膏)	1/10	1/10	8/10	1/10	0/10	9/10	1/10	0/10	9/10

[0252] 阴性表达-无染色

[0253] 轻微-沿真皮有较低的阳性细胞细胞浸润水平致密-沿真皮有密集的CD8+、CD4+IL17+阳性细胞细胞浸润水平

[0254] 表16:反应者和无反应者移植物中的HLA-DR CD8、CD4和IL-17阳性细胞。

[0255]

化合物		真皮 HLA-DR 表达		CD8 表达		CD4 表达		IL-17 表达	
		阴性/轻微	致密	阴性/轻微	致密	阴性/轻微	致密	阴性/轻微	致密
对照 (未经治疗)	反应者 (0/6)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
	无反应者 (6/6)	1/6	5/6	1/6	5/6	1/6	5/6	1/6	5/6
地塞米松	反应者 (6/6)	6/6	0/6	6/6	0/6	6/6	0/6	6/6	0/6
	无反应者 (0/6)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
组 4, FMT 凝胶 2%	反应者 (5/10)	5/5	0/5	5/5	0/5	5/5	0/5	5/5	0/5
	无反应者 (5/10)	1/5	4/5	2/5	3/5	1/5	4/5	1/5	4/5
组 5, 媒介物 (凝胶)	反应者 (1/10)	1/1	0/1	1/1	0/1	1/1	0/1	1/1	0/1
	无反应者 (9/10)	1/9	8/9	0/9	9/9	1/9	8/9	1/9	8/9
组 7, FMT 乳膏 2%	反应者 (5/10)	5/5	0/5	5/5	0/5	5/5	0/5	5/5	0/5
	无反应者 (5/10)	0/5	5/5	0/5	5/5	0/5	5/5	1/5	4/5
组 8, 媒介物 (乳膏)	反应者 (1/10)	1/1	0/1	1/1	0/1	1/1	0/1	1/1	0/1
	无反应者 (9/10)	0/9	9/9	1/9	8/9	0/9	9/9	0/9	9/9

[0256] 用乳膏2%治疗的异种移植在5/10个移植物中沿上真皮显示出弱的或不存在的CD8+和CD4+细胞并在6/10个移植物中沿上真皮显示出弱的或不存在的IL-17+细胞(图1和表15、16)。如上所述,在所有对照组和媒介物组(未经治疗的对照、媒介物凝胶和媒介物乳膏)中均观察到炎症标志物的表达,这进一步支持了FMT的治疗干预。这些发现表明FMT可能对银屑病的免疫元素产生影响。

[0257] 综上所述,此研究证实了对于凝胶和乳膏制剂两者,FMT在银屑病的人源化小鼠模型中的可能治疗效果。

[0258] 实施例7:非诺多洋局部用组合物的长期稳定性

[0259] 为了评价组合物的长期稳定性,将组合物样品长时间保持在RT条件下、INT条件下

或ACC条件下。通过保持组合物的宏观和微观外观(包括参数如颜色、均匀性、无相分离、无晶体、乳液的液滴大小)及特性如pH(在水性组合物中)和触变性(包括例如可铺展性)的一致性来评价物理稳定性。通过使用HPLC技术在这些储存时间段期间测量非诺多泮的水平(测定结果)、已知和未知杂质的水平以及防腐剂水平的一致性来评价化学稳定性。

[0260] 本公开由如表17中所列的无水制剂(凝胶)例示。

[0261] 表17:无水制剂

	制剂					
	1	2	3	4	5	6
甲磺酸非诺多泮	1%	1%	1%	1%	2%	2%
丙二醇	40.00	40.00	20.00	0	40.00	40.00
己二醇	0	0	20.00	40.00	0	0
羟丙基纤维素 (Klucel LF)	2.50	0	2.50	2.50	2.50	0
[0262] 羟丙基甲基纤维素	0	2.50	0	0	0	2.50
山梨酸	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Sepineo P600	2.50	2.50	2.50	0	2.50	2.50
Sepigel 305	0	0	0	2.50	0	
甘油 USP	15.00	15.00	15.00	15.00	20.00	20.00
PPG-15 硬脂基醚	8.00	8.00	0	8.00	3.00	3.00
PPG-12/SDMI 共聚物	0	0	8.00	0	0	0
PEG 400 NF	30.95	30.95	30.95	30.95	29.95	29.95

[0263] 表17:续

	制剂							
	7	8	9	10	11	12	13	14
甲磺酸非诺多泮	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%
丙二醇	0	40.00	0	20.00	40.00	20.00	40.00	40.00
己二醇	40.00		40.00	20.00		20.00		
羟丙基纤维素 (Klucel LF)	2.50	2.50	2.50	0	2.50	0	2.50	2.50
[0264] 羟丙基甲基纤维素	0	0	0	2.50	0	2.50		
山梨酸	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Sepineo P600	2.50	2.50	0	2.50	2.50	0	2.50	2.50
Sepigel 305	0	0	2.50	0	0	4.50		
甘油 USP	15.00	15.00	15.00	20.00	20.00	10.00	15.00	23.00
PPG-15 硬脂基醚	0	8.00	0	3.00	0	8.00		
PPG-12/SDMI 共聚物	8.00	0	8.00	0	3.00	3.00		
辛基十二烷醇 NF							8.00	
PEG 400 NF	29.95	29.95	29.95	29.95	29.95	29.95	29.95	29.95

[0265] 本公开还由如表18中所列的水包油乳液制剂(乳膏)例示。

[0266] 表18:水包油乳液

	制剂						
	15	16	17	18	19	20	21
甲磺酸非诺多泮	1%	1%	1%	1%	1%	1%	1%
异硬脂酸	10.00	15.00	15.00	17.00	15.00	12.50	12.50
Sepineo P600	4.00	4.00	4.00	3.00	0	0	0
Sepigel 305	0	0	0	0	5.00	4.00	4.00
山梨酸	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
丙二醇	14.00	0	10.00	10.00	0	0	3.50
己二醇	0	10.00	0	0	0	12.50	10.00
二甲基异山梨醇	10.00	10.00	10.00	0	0	0	0
纯化水	58.90	58.90	58.90	58.90	58.90	58.90	58.90
羟丙基纤维素 (Klucel LF)	0	1.00	1.00	0	0	0	1.0
羟丙基甲基纤维素	2.00	0	0	0	0	0	1.0
乙基纤维素	0	0	0	1.0	1.0	2.0	0
NaOH 1N	适量	适量	适量	适量	适量	适量	适量

[0268] 表18(续)

	制剂						
	22	23	24	25	26	27	28
甲磺酸非诺多泮	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%
异硬脂酸	10.00	15.00	15.00	17.00	15.00	12.50	12.50
Sepineo P600	4.00	0	4.00	3.00	4.00	0	0
Sepigel 305	0	4.00	0	0	0	3.00	4.00
甲磺酸非诺多泮	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
山梨酸	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
丙二醇	10.00	10.00	0	0	10.00	0	10.00
己二醇	0	0	10.00	10.00	0	10.00	0
二甲基异山梨醇	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
纯化水	57.90	56.90	57.90	57.90	57.90	59.90	59.90
羟丙基纤维素 (Klucel LF)	1.00	0	0	0	1.00	0	0
羟丙基甲基纤维素	0	2.00	1.00	0	0	0	1.50
乙基纤维素	0	0	0	2.00	0	2.50	0
NaOH 1N	适量	适量	适量	适量	适量	适量	适量

[0270] 表19A中呈现了在T=0、2周时对无水制剂1的分析,表19B中呈现了在T=0、2周、1个月、2个月、3个月和9个月时对无水制剂8的分析:

[0271] 表19A:制剂1-无水凝胶

	制剂 1	
	T=0	2W 50C
[0272] %非诺多泮测定	96	95.3
%杂质 B	0.10	0.11
%总杂质	0.9	0.98
粘度 (cP)	18788	16882

[0273] 表19B: 制剂8无水凝胶

	T=0	2W	T=1m		T=2m	T=3m		T=9m
		50°C	RT	Acc	Acc	RT	Acc	RT
[0274] %非诺多泮测定	97.1	97.1	95.2	95.2	93.9	94.6	89.1	96.2
%杂质 B	0.09	0.12	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
%总杂质	0.93	0.83	0.81	0.81	0.76	0.90	0.91	0.79
粘度 (cP)	17170	15216	14228	15748	19,604	未测试	未测试	16310 cP

[0275] 表20、表20A和表20B中呈现了在T=0、2周、1个月和3个月时对制剂11、13和14的分析。

[0276] 表20: 制剂11无水凝胶

	T=0	2W 50°C	T=1m	T=3m	
			Acc	Int	Acc
[0277] %非诺多泮测定	103.4	105.5	99.8	102	102.2
%杂质 B	0.1	0, 11	0, 11	0.1	0.12
%总杂质	0.19	0.24	0.35	0.18	0.48
粘度	14560 cP	14274 cP	14680 cP	14444 cP	15806 cP

[0278] 表20A: 制剂13无水凝胶

		T=1m	T=3m	
		Acc	Int	Acc
[0279]	T=0			
	%非诺多泮测定	102.2	107.6	104.9
	%杂质 B	0.09	0.11	0.12
	%总杂质	0.16	0.18	0.55
	粘度	16150 cP	16648 cP	13474 cP
				14660 cP

[0280] 表20B: 制剂14无水凝胶

		T=1m	T=3m	
		Acc	Int	Acc
[0281]	T=0			
	%非诺多泮测定	101.7	101.6	99
	%杂质 B	0.10	0.11	0.12
	%总杂质	0.15	0.18	0.43
	粘度	12544 cP	12338 cP	14424 cP
				12182 cP

[0282] 表21和表22中呈现了在T=0、2周、1个月、2个月、3个月、6个月和9个月时对来自表18的代表性水包油制剂的分析:

[0283] 表21: 来自表18的代表性水包油制剂的稳定性

		T=1m				T=2m		
		T=0	2W 50C	RT	INT	ACC	INT	ACC
[0284]	%非诺多泮测定	97.8	96.4	96.9	96.8	96.4	97.4	96.9
	%杂质 B	0.11	0.15	0.10	0.10	0.12	0.11	0.15
	%总杂质	0.11	0.28	0.10	0.10	0.16	0.11	0.27
	pH	4.18	4.11	4.2	4.2	4.1	4.1	4.1
	粘度 (cP)	99064	86102	未测试	未测试	88,726	未测试	86,664

[0285] 表21: 来自表18的代表性水包油制剂的稳定性(续)

	T=3m			T=6m			T=9m		T=12m	
	RT	INT	ACC	RT	INT	ACC	RT	INT	RT	INT
[0286] %非诺多泮测定	98.6	98.6	98.2	97.9	97.5	96.1	98.2	97.7	101.9	100.9
%杂质 B	0.11	0.12	0.17	0.12	0.13	0.25	0.11	0.13	0.12	0.14
%总杂质	0.11	0.12	0.35	0.16	0.24	0.86	0.19	0.25	0.17	0.28
pH	4.1	4.1	4.2	4.1	4.07	4.1	4.16	4.13	4.13	4.12
粘度 (cP)	96,860	未测试	81,767	未测试	未测试	未测试	未测试	未测试	未测试	未测试

[0287] 表22: 来自表18的代表性水包油制剂

	T=1m			T=2m			
	T=0	2W 50C	RT	INT	ACC	RT	INT
[0288] %非诺多泮测定	98.8	96.5	96.5	96.3	96.2	97.4	96.8
%杂质 B	0.13	0.18	0.13	0.13	0.16	0.13	0.18
%总杂质	0.18	0.47	0.31	0.35	0.37	0.28	0.42
pH	4.18	4.1	4.2	4.2	4.1	4.1	4
粘度 (cP)	5483	3308	4690	4709	3426	4682	3273

[0289] 表22: 来自表18的代表性水包油制剂(续)

	T=3m			T=6m			T=9m		T=12m	
	RT	INT	ACC	RT	INT	ACC	RT	INT	RT	INT
[0290] %非诺多泮测定	98.8	98.5	97.9	97.9	97.3	95.8	97.8	97.1	101.8	101
%杂质 B	0.13	0.13	0.13	0.14	0.14	0.14	0.15	0.18	0.15	0.2
%总杂质	0.33	0.38	0.60	0.34	0.67	1.24	0.42	0.53	0.40	0.61
pH	4.1	4.1	4.05	4.12	4.05	4	4.16	4.06	4.08	4.13
粘度 (cP)	4816	4709	3469	4980	4165	3367	4869	4342	4278	5038

[0291] 稳定性研究表明, 包含至少一种聚丙烯酰胺型胶凝剂、至少一种纤维素型胶凝剂和至少一种溶剂的受试无水凝胶以及受试水包油乳液可稳定长达12个月。

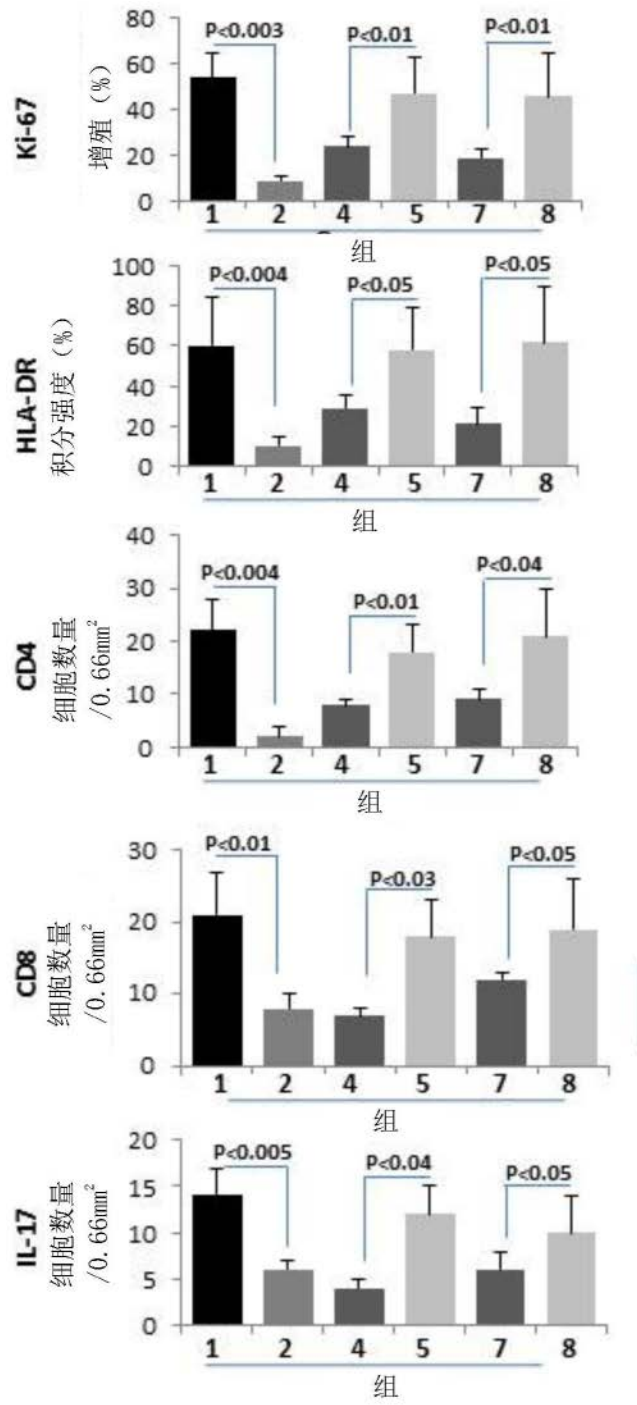


图1