



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102686111 A

(43) 申请公布日 2012. 09. 19

(21) 申请号 201080056898. 4

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2010. 10. 14

A01N 59/00 (2006. 01)

A61K 33/00 (2006. 01)

(30) 优先权数据

61/251, 483 2009. 10. 14 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 06. 14

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2010/052683 2010. 10. 14

(87) PCT申请的公布数据

W02011/047161 EN 2011. 04. 21

(71) 申请人 瑟阿瓦斯克有限公司

地址 美国俄亥俄州

(72) 发明人 克里斯托弗·凯维尔

安东尼·焦尔达诺

道格拉斯·R·弗拉纳根

帕纳约蒂斯·P·康斯坦丁尼德斯

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限

责任公司 11240

代理人 李丙林 张英

权利要求书 3 页 说明书 21 页 附图 12 页

(54) 发明名称

亚硝酸盐 / 酯的药物制剂以及其应用

(57) 摘要

本发明涉及亚硝酸盐 / 酯如无机亚硝酸盐 / 酯,或其任何药用盐、溶剂合物或前药的药物组合物,以及这些组合物的医药应用。可以被配制用于口服给药的药物组合物,可以提供亚硝酸根离子(NO_2^-)的即时释放或延长的释放。本发明的药物组合物可用于例如治疗慢性组织缺血。

1. 一种药物组合物, 包含有效量的无机亚硝酸盐 / 酯、或其药用盐、溶剂合物或前药, 以及药用赋形剂, 其中, 给予人所述药物组合物产生维持在 $0.05 \mu\text{M}$ 至 $10 \mu\text{M}$ 之间的亚硝酸根离子的血浆浓度可达 14 个小时。

2. 根据权利要求 1 所述的药物组合物, 其中, 所述血浆浓度维持在 $0.1 \mu\text{M}$ 至 $10 \mu\text{M}$ 之间。

3. 根据权利要求 1 所述的药物组合物, 其中, 所述血浆浓度维持在 $0.5 \mu\text{M}$ 至 $5 \mu\text{M}$ 之间。

4. 根据权利要求 1 所述的药物组合物, 其中, 所述血浆浓度维持在 $0.1 \mu\text{M}$ 至 $3 \mu\text{M}$ 之间。

5. 根据权利要求 1 所述的药物组合物, 其中, 所述血浆浓度维持在 $0.1 \mu\text{M}$ 至 $1 \mu\text{M}$ 之间。

6. 根据权利要求 1-5 所述的药物组合物, 其中, 所述血浆浓度维持 4-14 个小时。

7. 根据权利要求 6 所述的药物组合物, 其中, 所述血浆浓度维持 6-12 个小时。

8. 根据权利要求 6 所述的药物组合物, 其中, 所述血浆浓度维持 6-10 个小时。

9. 根据权利要求 1-8 所述的药物组合物, 其中, 维持的血浆浓度的期间发生在峰值血浆浓度的时间之后。

10. 根据权利要求 1 所述的药物组合物, 其中, 在第一小时内释放 30-50% 之间的所述亚硝酸根离子, 并且在之后的 2-14 个小时内释放剩余的所述硝酸根离子。

11. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的药物组合物, 其中, 以 0.05mg - $10\text{mg}/\text{kg}$ 人重量之间的剂量给予所述无机亚硝酸盐 / 酯。

12. 根据权利要求 11 所述的药物组合物, 其中, 所述剂量在 0.1mg - $5\text{mg}/\text{kg}$ 之间。

13. 根据权利要求 11 所述的药物组合物, 其中, 所述剂量在 0.5 - $5\text{mg}/\text{kg}$ 之间。

14. 根据权利要求 13 所述的药物组合物, 其中, 所述剂量在 0.5 - $3\text{mg}/\text{kg}$ 之间。

15. 根据权利要求 11 所述的药物组合物, 其中, 所述剂量在 0.1 - $1.5\text{mg}/\text{kg}$ 之间。

16. 根据权利要求 15 所述的药物组合物, 其中, 所述剂量在 0.1 - $0.35\text{mg}/\text{kg}$ 、 0.35 - $0.75\text{mg}/\text{kg}$ 或 0.75 - $1\text{mg}/\text{kg}$ 之间。

17. 根据权利要求 15 所述的药物组合物, 其中, 所述剂量是 $0.25\text{mg}/\text{kg}$ 、 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 或 $1\text{mg}/\text{kg}$ 。

18. 根据权利要求 1-17 中任一项所述的药物组合物, 其中, 所述药物组合物包含 0.5 - 5.0mmol 的亚硝酸根离子 (NO_2^-)。

19. 根据权利要求 18 所述的药物组合物, 其中, 所述药物组合物包含 1.0 - 4.0mmol 的亚硝酸根离子。

20. 根据权利要求 18 或 19 所述的药物组合物, 其中, 所述亚硝酸根离子作为 NaNO_2 、 KNO_2 或精氨酸亚硝酸盐 / 酯提供。

21. 根据权利要求 20 所述的药物组合物, 其中, 所述亚硝酸根离子作为 NaNO_2 提供。

22. 根据权利要求 1-21 中任一项所述的药物组合物, 其中, 所述药物组合物被配制用于口服给药。

23. 根据权利要求 22 所述的药物组合物, 其中, 所述药物组合物是片剂或胶囊剂。

24. 根据权利要求 22 或 23 所述的药物组合物, 其中, 所述药物组合物包括碱化剂, 助流

剂, 润滑剂, 填充剂, 包含纤维素、或聚乙二醇的聚合物, 或它们的任意组合。

25. 根据权利要求 22-24 中任一项所述的药物组合物, 其中, 所述药物组合物包含用于延时释放所述无机亚硝酸盐 / 酯的药用赋形剂, 使得在口服给予人类对象时, 所述无机亚硝酸盐 / 酯基本上不在所述对象的胃中释放。

26. 根据权利要求 25 所述的药物组合物, 其中, 所述药用赋形剂是 pH 敏感的聚合物或可生物降解的聚合物。

27. 根据权利要求 25 或 26 所述的药物组合物, 其中, 肠溶衣包含所述药用赋形剂。

28. 根据权利要求 25-27 中任一项所述的药物组合物, 其中, 所述药用赋形剂是乙基纤维素、乙酸纤维素、乙酸丁酸纤维素、三乙酸纤维素、乙酸邻苯二甲酸纤维素 (CAP)、偏苯三酸纤维素、羟丙基甲基纤维素乙酸琥珀酸酯、或 Eudragit® L 或 S。

29. 根据权利要求 28 所述的药物组合物, 其中, 所述药物组合物进一步包含聚乙二醇和 / 或增塑剂。

30. 根据权利要求 22-29 中任一项所述的药物组合物, 其中, 所述药物组合物是多颗粒剂型。

31. 根据权利要求 30 所述的药物组合物, 其中, 所述多颗粒剂型包括丸剂或颗粒剂。

32. 根据权利要求 31 所述的药物组合物, 其中, 所述丸剂或颗粒剂涂覆有包含可生物降解的聚合物的包衣层。

33. 根据权利要求 32 所述的药物组合物, 其中, 所述可生物降解的聚合物是多糖。

34. 根据权利要求 33 所述的药物组合物, 其中, 所述多糖是藻酸盐、果胶、角叉菜胶、壳聚糖、葡聚糖、紫胶或黄原胶、或它们的任意混合物。

35. 根据权利要求 34 所述的药物组合物, 其中, 所述多糖是果胶。

36. 一种配制用于口服给药的药物组合物, 包含有效量的无机亚硝酸盐 / 酯、或其药用盐、溶剂合物或前药, 以及用于延时释放所述无机亚硝酸盐 / 酯的药用赋形剂, 使得在口服给予人类对象时, 所述无机亚硝酸盐 / 酯基本上不在所述对象的胃中释放。

37. 根据权利要求 36 所述的药物组合物, 其中, 所述药物组合物是片剂或胶囊剂。

38. 一种用于在人中治疗或预防慢性组织缺血的方法, 其中, 所述方法包括给予人根据权利要求 1-37 中任一项所述的药物组合物。

39. 根据权利要求 38 所述的方法, 其中, 所述给予为口服。

40. 一种适于口服给药的药物组合物, 包括:

(a) 有效量的无机亚硝酸盐 / 酯、或其药用盐、溶剂合物、或前药, 以及

(b) 肠溶衣层,

其中, 配制所述药物组合物, 使得在给予人类对象时, 所述无机亚硝酸盐 / 酯基本上不在所述对象的胃中释放。

41. 根据权利要求 40 所述的药物组合物, 其中, 给予人所述药物组合物产生维持在 $0.05 \mu\text{M}$ 至 $10 \mu\text{M}$ 之间的亚硝酸根离子的血浆浓度可达 14 个小时。

42. 根据权利要求 41 所述的药物组合物, 其中, 所述血浆浓度维持在 $0.1 \mu\text{M}$ 至 $10 \mu\text{M}$ 之间。

43. 根据权利要求 41 所述的药物组合物, 其中, 所述血浆浓度维持在 $0.5 \mu\text{M}$ 至 $5 \mu\text{M}$ 之间。

44. 根据权利要求 41 所述的药物组合物,其中,所述血浆浓度维持在 $0.1\ \mu\text{M}$ 至 $3\ \mu\text{M}$ 之间。

45. 根据权利要求 41 所述的药物组合物,其中,所述血浆浓度维持在 $0.1\ \mu\text{M}$ 至 $1\ \mu\text{M}$ 之间。

46. 根据权利要求 41 所述的药物组合物,其中,所述血浆浓度维持 6-12 个小时。

47. 根据权利要求 41 所述的药物组合物,其中,所述血浆浓度维持 6-10 个小时。

48. 根据权利要求 41 所述的药物组合物,其中,维持的血浆浓度的期间发生在峰值血浆浓度的时间之后。

49. 根据权利要求 41-48 中任一项所述的药物组合物,其中,在第一小时内释放 30-50% 之间的所述亚硝酸根离子,并且在之后的 2-14 个小时内释放剩余的所述硝酸根离子。

50. 根据权利要求 40-49 中任一项所述的药物组合物,其中,以 $0.05\text{mg}-10\text{mg}/\text{kg}$ 人重量之间的剂量给予所述无机亚硝酸盐 / 酯。

51. 根据权利要求 50 所述的药物组合物,其中,所述剂量在 $0.1\text{mg}-5\text{mg}/\text{kg}$ 之间。

52. 根据权利要求 51 所述的药物组合物,其中,所述剂量在 $0.5-5\text{mg}/\text{kg}$ 之间。

53. 根据权利要求 51 所述的药物组合物,其中,所述剂量在 $0.5-3\text{mg}/\text{kg}$ 之间。

54. 根据权利要求 51 所述的药物组合物,其中,所述剂量在 $0.1-1.5\text{mg}/\text{kg}$ 之间。

55. 根据权利要求 54 所述的药物组合物,其中,所述剂量在 $0.1-0.35\text{mg}/\text{kg}$ 、 $0.35-0.75\text{mg}/\text{kg}$ 或 $0.75-1\text{mg}/\text{kg}$ 之间。

56. 根据权利要求 54 所述的药物组合物,其中,所述剂量是 $0.25\text{mg}/\text{kg}$ 、 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 或 $1\text{mg}/\text{kg}$ 。

57. 根据权利要求 40-56 中任一项所述的药物组合物,其中,所述药物组合物包含 $0.5-5.0\text{mmol}$ 的亚硝酸根离子(NO_2^-)。

58. 根据权利要求 57 所述的药物组合物,其中,所述药物组合物包含 $1.0-4.0\text{mmol}$ 的亚硝酸根离子。

59. 根据权利要求 57 或 58 所述的药物组合物,其中,所述亚硝酸根离子作为 NaNO_2 、 KNO_2 或精氨酸亚硝酸盐 / 酯提供。

60. 根据权利要求 59 所述的药物组合物,其中,所述亚硝酸根离子作为 NaNO_2 提供。

61. 根据权利要求 40-60 中任一项所述的药物组合物,其中,所述肠溶衣层包含作为 pH 敏感的聚合物或可生物降解的聚合物的药用赋形剂。

62. 根据权利要求 40-61 中任一项所述的药物组合物,其中,所述药物组合物是片剂或胶囊剂。

63. 一种用于在人中治疗或预防慢性组织缺血的方法,其中,所述方法包括给予所述人根据权利要求 40-62 中任一项所述的药物组合物。

64. 一种补充在人中发现的循环亚硝酸盐 / 酯缺乏的方法,其中,所述方法包括给予所述人根据权利要求 1-37 和 40-62 中任一项所述的药物组合物。

亚硝酸盐 / 酯的药物制剂以及其应用

[0001] 相关申请的引用

[0002] 本申请要求于 2009 年 10 月 14 日提交的美国临时申请号 61/251,483 的权益,由此将其通过参考并入本文。

背景技术

[0003] 本发明涉及亚硝酸盐 / 酯(nitrite)的药物组合物和这些组合物的医药应用。

[0004] 慢性组织缺血,即对组织供血的持续限制,能够削弱组织机能并导致组织和器官损伤,从而显著地推进人类发病率和死亡率。慢性组织缺血可以源自导致对组织供血持续或重复限制的任何宽范围的医学疾患,例如疾病,如外周动脉疾病、1 型或 2 型糖尿病、动脉粥样硬化性心血管疾病、间歇性跛行、急性肢体缺血疾病(critical limb ischemic disease)、卒中、心肌梗死、炎性肠病、以及周围神经病;跌打损伤,如创伤、烧伤、撕裂伤、挫伤、骨折、感染或手术过程;先天性畸形,如疝气、心脏缺陷和肠胃缺陷。因此,慢性组织缺血可以在各种组织类型中发生,包括,例如,骨骼肌、平滑肌、心肌、神经组织、皮肤、间质组织、结缔组织、肠胃组织以及骨。因此,对于恢复患部供血的治疗策略存在持续的需求。

发明内容

[0005] 一般而言,在第一方面,本发明的特征在于包含有效量的无机亚硝酸盐 / 酯,或其药用盐、溶剂合物或前药,以及药用赋形剂的药物组合物。期望地,给予人药物组合物,产生被维持在 $0.05\ \mu\text{M}$ 至 $10\ \mu\text{M}$ 之间(例如在 $0.1\ \mu\text{M}$ 至 $10\ \mu\text{M}$ 、 $0.5\ \mu\text{M}$ 至 $5\ \mu\text{M}$ 、 $0.1\ \mu\text{M}$ 至 $3\ \mu\text{M}$ 或 $0.1\ \mu\text{M}$ 至 $1\ \mu\text{M}$ 之间)的亚硝酸根离子血浆浓度可达 14 个小时。

[0006] 在其他实施方式中,无机亚硝酸盐 / 酯以 $0.1\ \mu\text{g}$ - 10mg/kg 人重量之间(例如 $1\ \mu\text{g}$ - 5mg/kg 、 0.05 - 10mg/kg 、 0.1 - 5mg/kg 、 0.5 - 5mg/kg 、 0.5 - 3mg/kg 、 0.1 - 1.5mg/kg 、 0.1 - 0.35mg/kg 、 0.35 - 0.75mg/kg 或 0.75 - 1mg/kg 之间)的剂量给予。还在其他实施方式中,剂量是 0.25mg/kg 、 0.5mg/kg 或 1mg/kg 。

[0007] 在一些实施方式中,药物组合物包含 0.5 - 5.0mmol (例如 1.0 - 4.0mmol) 的亚硝酸根离子(NO_2^-)。

[0008] 在其他实施方式中,亚硝酸根离子作为 NaNO_2 、 KNO_2 或精氨酸亚硝酸盐 / 酯(arginine nitrite)提供。在一些实施方式中,亚硝酸根离子作为 NaNO_2 提供。

[0009] 还在其他实施方式中,药物组合物被配制用于口服给药。在另外的实施方式中,药物组合物是片剂或胶囊剂。

[0010] 在其他实施方式中,药物组合物包括赋形剂,该赋形剂是碱化剂(碱性剂,alkalinizing agent),助流剂,润滑剂,填充剂,包含纤维素、或聚乙二醇的聚合物,或它们的任意组合。还在其他实施方式中,药物组合物包含用于延时释放无机亚硝酸盐 / 酯的药用赋形剂(如 pH 敏感的聚合物或可生物降解的聚合物),使得在口服给予人类对象时,无机亚硝酸盐 / 酯基本上不在该对象的胃中释放。在另外的实施方式中,肠溶衣包含用于延时释放无机亚硝酸盐 / 酯的药用赋形剂。在一些实施方式中,药用赋形剂是乙基纤维素、乙

酸纤维素、乙酸丁酸纤维素、三乙酸纤维素、乙酸邻苯二甲酸纤维素(cellulose acetate phthalate, CAP)、偏苯三酸纤维素(cellulose trimellitate)、羟丙基甲基纤维素乙酸琥珀酸酯(hydroxypropylmethylcellulose acetate succinate)、或 Eudragit® L 或 S。在另外的实施方式中,药物组合物进一步包含聚乙二醇和 / 或增塑剂。

[0011] 在一些实施方式中,药物组合物是多颗粒剂型。在一些实施方式中,多颗粒剂型包括丸剂或颗粒剂。在另外的实施方式中,丸剂或颗粒剂涂有包含可生物降解的聚合物(例如多糖,如藻酸盐、果胶、角叉菜胶、壳聚糖、葡聚糖、紫胶或黄原胶、或它们的任意混合物)的包衣层。

[0012] 在第二方面,本发明涉及配制用于口服给药的药物组合物,所述药物组合物包含有效量的无机亚硝酸盐 / 酯,或其药用盐、溶剂合物或前药,以及用于延时释放无机亚硝酸盐 / 酯的药用赋形剂,使得在口服给予人类对象时,无机亚硝酸盐 / 酯基本上不在该对象的胃中释放。在一些实施方式中,药物组合物是片剂或胶囊剂。

[0013] 在第三方面,本发明的特征在于适于口服给药的药物组合物,所述药物组合物包括:(a)有效量的无机亚硝酸盐 / 酯,或其药用盐、溶剂合物、或前药;以及(b)肠溶衣层。期望地,配制药物组合物使得在给予人类对象时,无机亚硝酸盐 / 酯基本上不在该对象的胃中释放。

[0014] 在一些实施方式中,给予人所述药物组合物产生维持在 $0.05 \mu\text{M}$ 至 $10 \mu\text{M}$ 之间(例如在 $0.1 \mu\text{M}$ 至 $10 \mu\text{M}$ 、 $0.5 \mu\text{M}$ 至 $5 \mu\text{M}$ 、 $0.1 \mu\text{M}$ 至 $3 \mu\text{M}$ 或 $0.1 \mu\text{M}$ 至 $1 \mu\text{M}$ 之间)的血浆浓度。

[0015] 在其他实施方式中,无机亚硝酸盐 / 酯以 $0.1 \mu\text{g}$ - 10mg/kg 人重量之间(例如 $1 \mu\text{g}$ - 5mg/kg 、 0.05 - 10mg/kg 、 0.1 - 5mg/kg 、 0.5 - 5mg/kg 、 0.5 - 3mg/kg 、 0.1 - 1.5mg/kg 、 0.1 - 0.35mg/kg 、 0.35 - 0.75mg/kg 或 0.75 - 1mg/kg 之间)的剂量给予。在另外的实施方式中,剂量是 0.25mg/kg 、 0.5mg/kg 或 1mg/kg 。

[0016] 还在其他实施方式中,药物组合物包含 0.5 - 5.0mmol (例如 1.0 - 4.0mmol) 的亚硝酸根离子(NO_2^-)。

[0017] 在一些实施方式中,亚硝酸根离子作为 NaNO_2 、 KNO_2 或精氨酸亚硝酸盐 / 酯提供。在另外的实施方式中,亚硝酸根离子是作为 NaNO_2 提供。

[0018] 在其他实施方式中,肠溶衣层包含作为 pH 敏感的聚合物或可生物降解的聚合物的药用赋形剂。

[0019] 还在其他实施方式中,药物组合物是片剂或胶囊剂。

[0020] 在前述的任何方面,亚硝酸根离子的血浆浓度被维持可达 14 个小时(例如 4-14 个小时、6-12 个小时或 6-10 个小时)的期间。所维持的血浆浓度的期间可以发生在例如峰值血浆浓度的时间过程中和 / 或之后。在一些实施方式中,在第一小时内释放 30-50% 的亚硝酸根离子,并且在之后的 2-14 小时内释放剩余的硝酸根离子(nitrate ion)。

[0021] 在另一个方面,本发明的特征在于一种用于在人中治疗或预防慢性组织缺血的方法。希望地,该方法包括给予人本文中所描述的任意药物组合物。在一些实施方式中,给予是口服。

[0022] 还在另一个方面,本发明的特征在于一种补充在患者中发现的循环亚硝酸盐 / 酯缺乏的方法,其中所述方法包括给予人本文中所描述的任意药物组合物。

[0023] 本发明涉及亚硝酸盐 / 酯(例如无机亚硝酸盐 / 酯)的药物组合物以及这些组合物在用于治疗慢性组织缺血,包括与疾病、创伤或先天性缺陷有关的慢性组织缺血中的应用。

[0024] 如本文中使用的,术语“延时释放”指的是药物制剂,例如口服给予的制剂,其基本上完整地通过胃,并在小肠和 / 或大肠(例如结肠)中溶解。在一些实施方式中,活性剂(例如如本文中所描述的亚硝酸盐 / 酯)的延时释放由使用口服法(例如口服剂型)的肠溶衣所产生。

[0025] 如本文中使用的术语药剂的“有效量”是足以实现有利的或期望的结果如临床结果的量,并且同样,“有效量”取决于应用它的上下文(context)。

[0026] 术语“延长的释放”或“持续释放”可互换地指与相同药物的即释制剂相比,提供在延长的时期(例如 6-12 个小时或更多)内逐渐释放药物的药物制剂。优选地,尽管不一定,产生在治疗水平之内并且落在例如在 0.05-10 μ M、0.1-10 μ M、0.1-5.0 μ M 或 0.1-1 μ M 之间的峰值血浆浓度范围内的在延长时期内药物的基本上恒定的血液水平。

[0027] 如本文中使用的,术语“被制剂用于肠释放”和“肠制剂”指的是能够避免在胃的高酸(低 pH)环境中溶解的用于口服给药的药物组合物,例如口服剂型。肠制剂可以通过例如将对在胃液中的溶解有抗性的聚合物加入到药物组合物中获得。在一些实施方式中,聚合物具有用于溶解的在大约 5.0 至 7.0 范围内的最适宜的 pH (“pH 敏感的聚合物”)。示例性聚合物包括已知商品名为 Eudragit®(例如 Eudragit®L100、Eudragit®S100、Eudragit®L-30D、Eudragit®FS 30D、和 Eudragit®L100-55)的甲基丙烯酸酸共聚物、乙酸邻苯二甲酸纤维素(cellulose acetate phthalate)、乙酸偏苯三酸纤维素(cellulose acetate trimellitate)、聚乙酸乙烯邻苯二甲酸酯(polyvinyl acetate phthalate)(例如 Coateric®)、羟乙基纤维素邻苯二甲酸酯(hydroxyethylcellulose phthalate)、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯(hydroxypropyl methylcellulose phthalate)、或紫胶、或它们的水分散体。这些聚合物的水分散体包括乙酸邻苯二甲酸纤维素(Aquateric®)或紫胶(例如 MarCoat 125 和 125N)的分散体。肠制剂与即释制剂相比,减少了释放到胃里的给药剂量的百分比至少 50%、60%、70%、80%、90%、95%、或甚至 98%。在这样的聚合物涂覆片剂或胶囊剂时,该包衣也称为“肠溶衣”。

[0028] 如本文中使用的,术语“药物组合物”,表示包含本文中所描述的化合物(例如无机亚硝酸盐 / 酯,或其任意药用盐、溶剂合物、或前药)、与药用赋形剂一起配制、并且典型地经政府管理机构批准作为用于治疗哺乳动物的疾病的部分治疗方案而制造或销售的组合物。药物组合物可以被制剂,例如,用于以单位剂型的口服给药(例如片剂、胶囊剂、囊片(caplet)、囊形片(gelcap)或糖浆剂);用于局部给药(例如作为乳剂、凝胶剂、洗剂或软膏剂);用于静脉内给药(例如作为不含颗粒栓塞物(particulate emboli)并在适于静脉内使用的溶剂系统中的灭菌溶液);或以本文中所描述的任何其它制剂来配制。

[0029] 如本文中使用的,“药用赋形剂”是指除本文中所描述的化合物之外的并且具有在患者中是无毒的和非炎性的性质的任意成分(例如,能够混悬或溶解活性化合物的载体)。赋形剂可包括,例如:抗粘着剂、抗氧化剂、粘合剂、包衣、助压剂(compression aid)、崩解剂、染料(颜料)、软化剂、乳化剂、填料(稀释剂)、成膜剂或包衣、香料、香气剂(fragrance)、助流剂(流动增强剂)、润滑剂、防腐剂、印刷油墨、吸附剂、混悬剂或分散剂、甜味剂或结合水。示例性赋形剂包括,但不限于:丁羟甲苯(BHT)、碳酸钙、磷酸钙(二元的)、硬脂酸钙、

交联羧甲基纤维素、交联聚乙烯吡咯烷酮、柠檬酸、交联维酮、半胱氨酸、乙基纤维素、明胶、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、乳糖、硬脂酸镁、麦芽糖醇、麦芽糖、甘露醇、甲硫氨酸、甲基纤维素、尼泊金甲酯、微晶纤维素、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚维酮、预胶化淀粉、尼泊金丙酯、棕榈酸视黄酯、紫胶、二氧化硅、羧甲基纤维素钠、柠檬酸钠、淀粉羟乙酸钠、山梨糖醇、淀粉(玉米)、硬脂酸、硬脂酸、蔗糖、滑石、二氧化钛、维生素 A、维生素 E、维生素 C、以及木糖醇。

[0030] 如本文中使用的,术语“药用前药”表示本发明的化合物的那些前药,其在合理的医学判断范围内,适用于与人和动物的组织接触,无异常毒性、刺激、过敏反应等,与合理的利益/风险比率相称,并且对于它们的预期应用是有效的,以及在可能的情况下作为本发明化合物的两性离子形式。

[0031] 如本文中使用的,术语“药用盐”表示在合理的医学判断范围内,适用于与人和动物的组织接触,没有异常毒性、刺激、过敏反应等,并且与合理的利益/风险比率相称的那些盐类。药用盐在本领域中是熟知的。例如,药用盐被描述在 Berge et al. J. Pharmaceutical Sciences 66:1-19, 1977 和在 Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, (Eds. P. H. Stahl and C. G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008 中。盐类可以在本发明化合物的最后分离和纯化期间以原位制备或单独地通过使游离碱基团与合适的有机或无机酸反应而制备。代表性酸加成盐包括乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、延胡索酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐(hemisulfate)、庚酸盐、己酸盐、氢溴酸盐、盐酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐(pectinate)、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐、十一酸盐、戊酸盐等。代表性碱或碱土金属盐类包括钠、锂、钾、钙、镁等的盐,以及无毒的铵、季铵和胍阳离子,包括但不限于铵、四甲铵、四乙铵、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺、乙胺等的盐。

[0032] 如本文中使用的,术语“药用溶剂合物”或“溶剂合物”是指本发明的化合物,其中晶格中并入有适合溶剂的分子。合适的溶剂在给药剂量下是生理容许的。例如,可以通过由包含有机溶剂、水或其混合物的溶液的结晶、重结晶或沉淀来制备溶剂合物。合适的溶剂的实例是乙醇、水(例如、一水合物、二水合物和三水合物)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、二甲亚砜(DMSO)、N,N'-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N'-二甲基乙酰胺(DMAC)、1,3-二甲基-2-咪唑啉酮(DMEU)、1,3-二甲基-3,4,5,6-四氢-2-(1H)-嘧啶酮(DMPU)、乙腈(ACN)、丙二醇、乙酸乙酯、苯甲醇、2-吡咯烷酮、苯甲酸苄酯等。在水是溶剂时,溶剂合物称为“水合物”。

[0033] 如本文使用的,术语“预防”是指防止本文中所描述的疾病、紊乱或疾患(例如慢性组织缺血)的一种或多种症状或病症(condition)的预防性治疗或治疗。可以例如在先于疾病、紊乱或疾患发作的事件之前(“预暴露预防”)或之后(“后暴露预防”)开始治疗。包括给予本发明化合物或其药物组合物的治疗可以是急性的、短期的或慢性的。所给药的剂量可以在预防治疗的过程中变化。

[0034] 如本文中使用的,术语“前药”代表在体内快速地转变为上式的母体化合物的化合

物。前药还包括生物等价的化合物,其在给予人时,导致体内形成亚硝酸根离子(NO_2^-)或氧化亚氮(NO)。在T.Higuchi and V.Stella,Pro-drugs as Novel Delivery Systems,Vol.14 of the A.C.S.Symposium Series 和 Edward B.Roche,ed.Bioreversible Carriers in Drug Design,American Pharmaceutical Association and Pergamon Press,1987 中提供了全面讨论,将其各自通过参考并入本文中。优选地,本发明化合物的前药是药用的,如在EP 1336602A1 中描述的那些的,将其通过参考并入本文中。

[0035] 如本文中使用的,并且在本领域中也理解的,“治疗”是用于获得有利的或期望的结果(如临床结果)的方法。有利的或期望的结果可以包括,但不限于,一种或多种的症状或病症的减轻或改善;疾病、紊乱或疾患的程度的减小;疾病、紊乱或疾患状态的稳定(即不恶化);预防疾病、紊乱或疾患的传播;推迟或减慢疾病、紊乱或疾患的发展;疾病、紊乱或疾患的改善或减轻;以及可检测的或无法检测的缓和(无论是部分的还是总的)。“治疗”还可以指与如果不接受治疗的预期生存期相比,生存期延长。如本文中使用的,术语“治疗”和“处理”还可以指推迟该术语所应用的疾病或疾患或这样的疾病或疾患的一种或多种症状的发作,延缓或逆转该术语所应用的疾病或疾患或这样的疾病或疾患的一种或多种症状的发展,或减轻该术语所应用的疾病或疾患或这样的疾病或疾患的一种或多种症状。

[0036] 术语“单位剂型”指的是适于作为用于人类对象和其他哺乳动物的单元剂量的物理分离的单位,每个单位包括计算以产生期望的治疗效果的预定量的活性物质,其与任何合适的一种或多种药物赋形剂联合。

[0037] 如本文中使用的,术语“血浆浓度”是指存在于治疗对象的血浆中的亚硝酸根离子的量(例如,在兔子中利用描述在下面的测试测量或在人中测量)。

[0038] 本发明的其他特点和优势将由于所附的具体实施方式、附图和权利要求而显而易见。

附图说明

[0039] 图1-10示出了由控释制剂1(图1)、制剂2(图2)、制剂5(图3)、制剂9(图4)、制剂9C(图5)、制剂10C(图6)、制剂12(图7)、制剂12C(图8)和制剂13(图9)、以及由对照即释制剂(图10)模拟亚硝酸盐/酯血浆水平的结果。

[0040] 图11示出了兔子中对于制剂100A、200A和300A的总 NO_x 的释放曲线。

[0041] 图12示出了兔子中对于制剂100A、200A和300A的硝酸盐/酯、亚硝基硫醇、亚硝基血红蛋白(nitrosoheme)、以及亚硝胺类的释放曲线。

[0042] 图13示出了兔子中对于制剂100A、200A和300A的游离亚硝酸盐的释放曲线。

具体实施方式

[0043] 本发明的特征在于亚硝酸盐/酯的生理可接受的组合物,如无机亚硝酸盐/酯,以及可以将组合物给予被诊断为患有例如慢性组织缺血病症的患者的方法。

[0044] 亚硝酸盐/酯

[0045] 无机亚硝酸盐/酯

[0046] 本发明的药用组合物包括无机亚硝酸盐/酯,例如亚硝酸(HNO_2)的盐或酯,或其药用盐。亚硝酸盐可以包括,而限于,碱金属如钠、钾的盐;碱土金属如钙、镁和钡的盐;以

及有机碱如胺碱和无机碱的盐。本发明的化合物还包括存在于中间体或最终化合物中的所有原子的同位素。同位素包括具有相同的原子序数但不同的质量数的那些原子。例如,氢的同位素包括氕和氘。如本文中使用的,术语“化合物”涉及到任何无机亚硝酸盐/酯或其药用盐、溶剂合物或前药。所有的化合物以及其药用盐,还旨在包括溶剂合物(例如水合)的形式。亚硝酸盐/酯具有化学式 NO_2^- , 并且可以作为离子在水中存在。亚硝酸钠具有化学式 NaNO_2 , 并典型地溶于水中以形成钠离子 Na^+ 和亚硝酸根离子 NO_2^- 。将进一步地理解,本发明包括亚硝酸盐/酯化合物的所有这样的溶剂合物形式(例如水合物)。示例性亚硝酸盐/酯化合物描述在 WO 2008/105730 中,由此将其通过参考并入本文中。

[0047] 除了亚硝酸钠之外,代表性无机亚硝酸盐/酯化合物包括:亚硝酸铵(NH_4NO_2)、亚硝酸钡($\text{Ba}(\text{NO}_2)_2$;例如无水亚硝酸钡或亚硝酸钡一水合物)、亚硝酸钙($\text{Ca}(\text{NO}_2)_2$;例如无水亚硝酸钙或亚硝酸钙一水合物)、亚硝酸铯(CsNO_2)、亚硝酸钴(II) ($\text{Co}(\text{NO}_2)_2$)、亚硝酸钴(III) 钾($\text{CoK}_3(\text{NO}_2)_6$;例如亚硝酸钴(III) 钾倍半氢氧化物(cobalt(III)potassium nitrite sesquihydrate)、亚硝酸锂(LiNO_2 ;例如无水亚硝酸锂或亚硝酸锂一水合物)、亚硝酸镁(MgNO_2 ;例如亚硝酸镁三水合物)、亚硝酸钾(KNO_2)、亚硝酸铷(RbNO_2)、亚硝酸银(I) (AgNO_2)、亚硝酸锶($\text{Sr}(\text{NO}_2)_2$) 和亚硝酸锌($\text{Zn}(\text{NO}_2)_2$)。

[0048] 本发明的化合物可以通过化学合成领域的普通技术人员已知的各种方式制备。用于制备亚硝酸盐的方法是本领域中熟知的,并且可容易地商业购买宽范围的前体和亚硝酸盐。碱和碱土金属的亚硝酸盐/酯可以通过将一氧化氮(NO)和二氧化氮(NO_2)的混合物与相应的金属氢氧化物溶液反应,以及通过相应的硝酸盐/酯的热分解来合成。其他的亚硝酸盐/酯可通过相应的硝酸盐/酯的还原而获得。

[0049] 可以利用在本领域中已知的方法和程序由容易获得的起始材料来制备本发明的化合物。应理解,除非另有说明,在提供典型的或优选的工艺条件(即,反应温度、时间、反应物的摩尔比、溶剂、压力等)时,也可以使用其他工艺条件。最佳反应条件可以随所使用的具体反应物或溶剂而变化,但是这样的条件可以由本领域普通技术人员通过常规优化程序而确定。

[0050] 适合的药用盐包括,例如,亚硝酸钠、亚硝酸钾或亚硝酸钙。还有的其他示例性盐在 Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed. Mack Publishing Company, Easton, Pa. 1985, p. 1418, Berge et al. J. Pharmaceutical Sciences 66:1-19, 1977 以及 Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, (Eds. P. H. Stahl and C. G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008 中找到,将其各自通过参考以其整体并入本文中。

[0051] 药物组合物

[0052] 本发明的药用组合物包括无机亚硝酸盐/酯,例如亚硝酸(HNO_2)的盐,如 NaNO_2 , 或其药用盐、溶剂合物、或前药。在被采用作为药物时,任何本发明的化合物可以药物组合物的形式给予。这些组合物可以在制药领域熟知的方式制备,并且可以经各种路径给予,这取决于是否要求局部还是全身治疗以及取决于待治疗的区域。给药可以是局部的、肠胃外的、静脉内的、动脉内的、皮下的、肌内的、颅内的、眶内的、眼部的(ophthalmic)、心室内的、囊内的、脊柱内的、脑池内的、腹膜内的、鼻内的、气雾剂、通过栓剂、或口服给药。

[0053] 本发明还包括可以包含一种或多种药用载体的药物组合物。在制作本发明的药物组合物中,活性组分典型地与赋形剂混合,经赋形剂稀释,或者封装入这样的以例如胶囊、

药囊、纸或其他容器的形式的载体内。在赋形剂充当稀释剂时，它可以是固体、半固体或液体材料(例如生理盐水)，其充当用于活性组分的媒介、载体或介质。因此，组合物可以是以片剂、粉剂、锭剂、囊剂、扁囊剂、酏剂、混悬剂、乳状剂、溶液、糖浆剂以及软明胶胶囊剂和硬明胶胶囊剂的形式。作为本领域已知的，稀释剂的类型可以取决于预期的给药途径而变化。制得的组合物可以包含另外的试剂，如防腐剂。

[0054] 本发明的治疗剂在药用赋形剂或载体存在的情况下可以单独给予或者以混合物给予。在给药模式和给药途径的基础上选择赋形剂或载体。用于药物制剂的适合的药物载体以及药物辅料描述在 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed. Gennaro, Ed. Lippencott Williams & Wilkins (2005) (本领域和 USP/NF 中(美国药典和国家处方集, United States Pharmacopeia and the National Formulary) 熟知的参考文献文本)中。在制备制剂中，活性化合物可以是被研磨的以在与其他组分组合之前提供适当的粒径。如果活性化合物基本不溶解，则可以将它研磨到小于 200 目的粒径。如果活性化合物基本是水溶性的，可以通过研磨调整粒径以在制剂中提供基本均匀的分布，例如约 40 目。

[0055] 适合的赋形剂的实例是乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露醇、淀粉、阿拉伯树胶、磷酸钙、藻酸盐、黄蓍胶、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、糖浆剂和甲基纤维素。制剂可以另外包括：润滑剂如滑石、硬脂酸镁和矿物油；湿润剂；乳化及混悬剂；防腐剂如甲基苯甲酸盐/酯和丙基羟基苯甲酸盐/酯；甜味剂；以及调味剂。其他示例性赋形剂描述在 Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th Edition, Rowe et al. Eds. Pharmaceutical Press (2009) 中。

[0056] 药物组合物可以包含硝酸盐，或其前药，或其他治疗剂。示例性硝酸盐描述在 WO 2008/105730 中。可以包含在本文中所描述的组合物中的示例性治疗剂是心血管治疗剂(例如抗血栓药(例如双嘧达莫、氯吡格雷等)、抗高血压药(例如 Ca⁺⁺ 通道阻滞剂、AT-2 阻滞剂、ACE 抑制剂等)、抗胆固醇药(anti-cholesterols) (例如他汀类药物(statins)、贝特类(fibrates) 等)、以及噻唑烷二酮治疗剂。

[0057] 可以配制药组合物以便在通过采用本领域已知的程序给予患者后提供活性组分的即时、延长或延时释放。

[0058] 组合物可以配制成单位剂型，每个剂量包含，例如 0.1-500mg 的活性组分。例如，剂量可以包含约 0.1mg 至约 50mg、约 0.1mg 至约 40mg、约 0.1mg 至约 20mg、约 0.1mg 至约 10mg、约 0.2mg 至约 20mg、约 0.3mg 至约 15mg、约 0.4mg 至约 10mg、约 0.5mg 至约 1mg；约 0.5mg 至约 100mg、约 0.5mg 至约 50mg、约 0.5mg 至约 30mg、约 0.5mg 至约 20mg、约 0.5mg 至约 10mg、约 0.5mg 至约 5mg；约 1mg 至约 50mg、约 1mg 至约 30mg、约 1mg 至约 20mg、约 1mg 至约 10mg、约 1mg 至约 5mg；约 5mg 至约 50mg、约 5mg 至约 20mg、约 5mg 至约 10mg；约 10mg 至约 100mg、约 20mg 至约 200mg、约 30mg 至约 150mg、约 40mg 至约 100mg、约 50mg 至约 100mg 的活性组分，约 50mg 至约 300mg、约 50mg 至约 250mg、约 100mg 至约 300mg、或约 100mg 至约 250mg 的活性组分。对于制备固体组合物如片剂，将主要活性组分与一种或多种药用赋形剂混合，以形成包含本发明化合物的均匀混合物的固体散装制剂组合物(solid bulk formulation composition)。在指出这些散装制剂组合物为均匀的时，活性组分典型地均匀分散在整个组合物中，使得组合物可以很容易地被再分成同等有效的单位剂型如片剂和

胶囊剂。然后,将该固体散装制剂再分成上面描述类型的单位剂型,其包含例如 0.1 至约 500mg 的本发明的活性组分。

[0059] 用于口服给药的组合物

[0060] 由本发明所预期的药物组合物包括配制用于口服给药(“口服剂型”)的那些药物组合物。口服剂型可以例如以片剂、胶囊剂、液体溶液或混悬剂、粉剂或液体或固体晶体的形式,其在与无毒的药用赋形剂的混合物中包含活性组分。这些赋形剂可以是例如惰性稀释剂或填料(例如蔗糖、山梨糖醇、糖、甘露醇、微晶纤维素、淀粉包括土豆淀粉、碳酸钙、氯化钠、乳糖、磷酸钙、硫酸钙或磷酸钠);粒化和崩解剂(例如,纤维素衍生物包括微晶纤维素、淀粉包括土豆淀粉、交联羧甲基纤维素钠、藻酸盐或海藻酸);粘合剂(例如,蔗糖、葡萄糖、山梨糖醇、阿拉伯胶、海藻酸、海藻酸钠、明胶、淀粉、预胶化淀粉、微晶纤维素、硅酸镁铝、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、乙基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、或聚乙二醇);以及润滑剂、助流剂和抗结剂(例如,硬脂酸镁、硬脂酸锌、硬脂酸、硅酸盐(silicas)、氢化植物油或滑石)。其他药用赋形剂可以是着色剂、调味剂、增塑剂、保湿剂、缓冲剂等。

[0061] 用于口服给药的制剂也可以提供作为咀嚼片,作为硬明胶胶囊剂,其中活性组分与惰性固体稀释剂(例如土豆淀粉、乳糖、微晶纤维素、碳酸钙、磷酸钙或高岭土)混合,或作为软明胶胶囊剂,其中活性组分与水或油载体例如,花生油、液体石蜡或橄榄油混合。可以利用上面所提及的在片剂和胶囊剂下的组分,以常规方式,利用例如混合器、流化床装置(fluid bed apparatus)或喷雾干燥设备来制备粉剂、粒剂、和丸剂。

[0062] 可以构造用于口服应用的控释组合物以通过控制活性药物物质的溶解和/或扩散来释放活性药物。可以尝试任何大量的策略,以便获得控释和靶向的血浆浓度相对于时间的分布。在一个实例中,通过适当选择各种制剂参数和组分,包括,例如各种类型的控释组合物和包衣来实现控释。因此,将药物与适当的赋形剂配制到药物组合物中,其在给药后,以控制方式释放药物。实例包括单或多单位片剂或胶囊剂组合物、油溶液、混悬剂、乳状剂、微胶囊剂、微球体、纳米颗粒、贴剂和脂质体。在一些实施方式中,组合物包括可生物降解的、pH、和/或温度-敏感的聚合物包衣。

[0063] 可以通过化合物的片剂、胶囊剂、丸剂、或颗粒制剂的适当包衣,或通过化合物并入到适合的基质中来实现溶解或扩散控释。控释包衣可以包含一种或多种上面提及的包衣物质和/或例如紫胶、蜂蜡、二醇蜡(glycowax)、蓖麻蜡(castor wax)、巴西棕榈蜡、硬脂醇、单硬脂酸甘油酯、二硬脂酸甘油酯、棕榈酸硬脂酸甘油酯(glycerol palmitostearate)、乙基纤维素、丙烯酸树脂、dl-聚乳酸(dl-polylactic acid)、乙酸丁酸纤维素、聚氯乙烯、聚乙酸乙烯酯、乙烯基吡咯烷酮、聚乙烯、聚甲基丙烯酸酯、甲基丙烯酸甲酯、2-羟甲基丙烯酸酯、甲基丙烯酸酯水凝胶(methacrylate hydrogels)、1,3-丁二醇、甲基丙烯酸乙二醇酯、和/或聚乙二醇。在控释基质制剂中,基质材料还可以包括例如水合甲基纤维素、巴西棕榈蜡和硬脂醇、卡波普 934(聚羧乙烯 934)、硅酮、三硬脂酸甘油酯、丙烯酸甲酯-甲基丙烯酸甲酯(methyl acrylate-methyl methacrylate)、聚氯乙烯、聚乙烯、和/或卤化碳氟化合物。

[0064] 可以并入本发明的化合物和组合物用于口服给药的液体形式包括水溶液、适当调味的糖浆剂、水或油混悬剂、以及含食用油如棉籽油、芝麻油、椰子油或花生油的调味的乳

状剂、以及酞剂和类似的药物载体。

[0065] 包衣

[0066] 配制用于口服递送的药物组合物,如本发明的片剂或胶囊剂,可以被包覆或以其他方式被混合,以提供能给予延时或延长释放的优势的剂型。可以改变包衣从而以预定模式释放活性药物物质(例如为了实现控释制剂),或者可以改变包衣,从而在经过胃后之前不释放活性药物物质,例如利用肠溶衣(例如 pH 敏感的聚合物(“pH 控释”),具有缓慢的或 pH 依赖性的膨胀、溶解或糜烂速率的聚合物(“时间-控释”),经酶降解的聚合物(“酶-控释”或“可生物降解的释放”)以及形成经增加压力破坏的稳固层的聚合物(“压力-控释”)。可以用于本文中所描述的药物组合物的示例性肠溶衣,包括糖衣、膜包衣(例如基于羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、甲基羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羧甲基纤维素、丙烯酸酯共聚物、聚乙二醇和 / 或聚乙烯吡咯烷酮)或基于甲基丙烯酸共聚物、乙酸邻苯二甲酸纤维素、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、羟丙基甲基纤维素乙酸琥珀酸酯、聚乙酸乙烯邻苯二甲酸酯、紫胶、和 / 或乙基纤维素的包衣。而且,可以采用时间延时材料如,例如,单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。

[0067] 例如,片剂或胶囊剂可以包括内部剂量和外部剂量成分,后者是以前者上的包膜的形式。可以通过作为抵抗在胃中的崩解的肠层(enteric layer)来分开两种成分,并允许内部成分完整地进入到十二指肠中,或者推迟释放。

[0068] 在使用肠溶衣时,期望地,在下胃肠道中释放大量药物。

[0069] 除了产生延时的或延长的释放的包衣之外,固体片剂组合物可以包括适于保护组合物免于不需要的化学变化的包衣(例如在活性药物物质的释放之前的化学降解)。包衣可以类似于在 Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, vols. 5 and 6, Eds. Swarbrick and Boyland, 2000 中所描述的方式施加于固体剂型。

[0070] 用于结肠药物释放的制剂

[0071] 在一些实施方式中,可以使用靶向结肠的药物递送系统。示例性方法包括,但不限于:

[0072] (a) 药物与载体的形成前药的共价连接在胃和小肠中是稳定的,并在大肠中通过肠微生物丛的酶转化后释放药物;这些前药的实例包括偶氮-结合物、环糊精-结合物,糖苷-结合物、葡糖醛酸盐结合物(glucuronate conjugates)、葡聚糖-结合物、多肽以及聚合结合物;

[0073] (b) 以将完整分子递送至结肠的方法,如涂有 pH 敏感的聚合物以在中性至碱性 pH 释放药物,或涂有可生物降解的聚合物,其在结肠中经细菌降解后释放药物;

[0074] (c) 将药物包埋入响应于 pH 或生物降解而释放药物的可生物降解基质和水凝胶中;

[0075] (d) 限时释放系统(time released systems),其中一旦多层制剂通过胃,药物在 3-5 小时延滞时间(相当于小肠的通过时间)后被释放;

[0076] (e) 利用氧化还原-敏感聚合物,其中偶氮和二硫化物聚合物的组合提供响应于结肠的氧化还原电位的药物释放;

[0077] (f) 利用缓慢释放药物的生物粘附聚合物,其选择性地附着结肠粘膜;以及

[0078] (g) 渗透控制的药物递送,其中由于渗透压而通过半透膜释放药物。

[0079] 非消化道给药

[0080] 在本发明范围内, 还有来自可生物降解的聚合物的非消化道储存系统 (parenteral depot systems)。这些系统被注射或植入到肌肉或皮下组织中, 并经延长的时期 (范围从几天至几个月) 内释放掺合的药物。聚合物的性质以及装置的结构两者都可以控制释放动力学, 其可以是连续或跳动的。基于聚合物的非消化道储存系统可以分为埋植剂或微粒。前者是注入皮下组织的圆柱状装置, 而后者被定义为范围在 10-100 μm 内的球体颗粒。使用挤压、压缩或注射成型用于制作埋植剂, 而对于颗粒, 常常采用相分离方法、喷雾干燥技术以及水包油包水乳化技术。最常用的形成微粒的可生物降解的聚合物是来自乳酸和 / 或羟乙酸的聚酯, 例如, 聚 (羟乙酸) 和聚 (L- 乳酸) (PLG/PLA 微球体)。特别令人感兴趣的是原位成型储存系统, 如由凝固、冷却、或由于溶胶 - 凝胶转换而形成的热塑性糊剂和凝胶系统, 由两亲脂类形成的交联系统和有机凝胶。用于上述系统的热敏聚合物的实例包括 N- 异丙基丙烯酰胺、泊洛沙姆 (环氧乙烷与环氧丙烷的嵌段共聚物, 如泊洛沙姆 188 和 407)、聚 (N- 乙烯基己内酰胺)、聚 (硅氧乙二醇) (poly(siloethylene glycol))、聚磷腈衍生物和 PLGA-PEG-PLGA。

[0081] 给药方案

[0082] 用于治疗慢性组织缺血的本发明的方法通过持续一段时间且以足以产生缺血组织的新血管生长的量给予无机亚硝酸盐 / 酯来实施。

[0083] 该组合物给予的量和频率可以取决于例如, 待给予的物质、患者的状态、以及给予方式而变化。在治疗应用中, 组合物可以足以减轻或最少部分减轻慢性组织缺血和它的并发症的症状的量给予患有慢性组织缺血的患者。剂量很可能取决于这样的变量, 如慢性组织缺血进展的类型和程度, 慢性组织缺血的严重性, 具体患者的年龄、重量和概况、所选组合物的相对生物效能, 赋形剂的配方, 给药途径以及主治临床医师的判断。可以由源于体外或动物模型试验系统的剂量 - 反应曲线推断有效剂量。有效剂量是通过例如改善慢性组织缺血的迹象或症状或减慢其进展而生产期望的临床结果的剂量。

[0084] 每剂量的无机亚硝酸盐 / 酯的量可以变化。例如, 一个对象可以接受约 0.1 $\mu\text{g/kg}$ 至约 10,000 $\mu\text{g/kg}$ 。通常, 以使得峰值血浆浓度在 150nM-250 μM 的范围内的量给予亚硝酸盐 / 酯。示例性剂量可以落在 0.1-5000 $\mu\text{g/kg}$ 、100-1500 $\mu\text{g/kg}$ 、100-350 $\mu\text{g/kg}$ 、340-750 $\mu\text{g/kg}$ 或 750-1000 $\mu\text{g/kg}$ 之间。示例性剂量可以是 0.25、0.5、0.75、或 1mg/kg。示例性峰值血浆浓度可以在 0.05-10 μM 、0.1-10 μM 、0.1-5.0 μM 或 0.1-1 μM 的范围内。峰值血浆浓度可以被维持 6-14 个小时, 例如 6-12 或 6-10 个小时。

[0085] 治疗的频率也可以变化。对象可以每天或每若干小时 (例如约每 2、4、6、8、12、或 24 小时) 治疗一次或多次 (例如一次、两次、三次、四次或更多次)。优选地, 药物组合物每 24 小时给予 1 次或 2 次。治疗的时间过程可以具有例如持续二、三、四、五、六、七、八、九、十或更多天的变化持续时间。例如, 治疗可以是每天两次持续三天、每天两次持续七天、每天两次持续十天。治疗周期可以间隔重复, 例如每周一次、两月一次或每月一次, 这由没有给予治疗的时期来分开。治疗可以是单一治疗, 或可以持续长达该对象的生存期 (例如许多年)。

[0086] 试剂盒

[0087] 本文中所描述的本发明的任何药物组合物可以与一套说明书一起使用, 即形成试剂盒。试剂盒可以包括用于使用作为本文中所描述的药物组合物作为治疗的说明书。例如,

该说明书可以提供用于使用本发明的化合物的剂量和治疗方案,以降低慢性组织缺血。

[0088] 治疗方法

[0089] 亚硝酸盐 / 酯作为营养补剂

[0090] 已显示血浆亚硝酸盐 / 酯水平与心血管风险因素是相反的关系,在对象具有最大数量的风险因素的情况下,具有最低的血浆亚硝酸盐 / 酯水平(Kleinbongard et al. Free Radical Biology & Medicine 40:295-302, 2006)。在正常的对象中,运动导致储存的亚硝酸盐 / 酯释放到血浆中,增加血浆亚硝酸盐 / 酯水平;然而,在糖尿病患者和 PAD 患者中,运动不增加血浆的亚硝酸盐 / 酯水平,且事实上,导致循环亚硝酸盐 / 酯水平的进一步降低(Allen et al. Nitric Oxide 20:231-237, 2009)。因此,亚硝酸盐 / 酯的营养补剂在克服心血管和血管疾病中的血浆亚硝酸盐 / 酯水平的这些缺乏可能是有效的,并给出亚硝酸盐 / 酯与一氧化氮、在这些疾病中或由于亚硝酸盐 / 酯的饮食缺陷所发现的一氧化氮缺乏的关系。

[0091] 本发明提供亚硝酸盐 / 酯的营养组合物,例如无机亚硝酸盐 / 酯或其药用前药,用于预防性和治疗性营养补剂两者,特别地用于心血管疾病、代谢疾病、炎性疾病或血管疾病。具体地,本发明涉及亚硝酸盐 / 酯的新组合物,例如无机亚硝酸盐 / 酯,或其药用前药,其可以用于补充在患有下述的患者中所观察到的营养缺乏:糖尿病、外周动脉疾病、慢性感染、急性感染、充血性心力衰竭、动脉粥样硬化性心血管疾病、间歇性跛行、急性肢体缺血疾病、缺陷伤口愈合(defective wound healing)、卒中、心肌梗死、炎性肠病、骨折、骨感染、或周围神经病变、干细胞疾病、和 / 或饮食限制。此外,该组合物可以用于治疗患有导致血浆亚硝酸盐 / 酯或一氧化氮水平降低的疾病状态的患者的缺乏营养。

[0092] 炎性疾病

[0093] 本文中所描述的药物组合物和方法可以用于治疗先天的和后天的炎性疾病。由本发明的方法所包括的炎性疾病可以源于引起炎症的宽范围的医学疾病。可以由本发明中所描述的组合物和方法治疗的一种炎性疾病类型是免疫炎性疾病。免疫 - 炎性疾病的实例包括类风湿性关节炎、幼年型类风湿性关节炎、骨关节炎、移植排斥、败血症、急性呼吸窘迫综合征、哮喘、和癌症。可以由本发明中所描述的组合物和方法治疗的另外一种炎性疾病类型是自身免疫疾病。自身免疫性疾病的实例包括这样的疾病,如多发性硬化、银屑病、炎性肠病、肾小球肾炎、狼疮、眼色素层炎和慢性肝炎。其他炎性疾病也可以由本发明中描述的组合物和方法治疗,包括由创伤、氧化性应激、细胞死亡、照射损伤、缺血、再灌注、癌症、移植排斥和病毒感染所引起的这样的疾病。

[0094] 组织再生

[0095] 本文中所描述的药物组合物和方法可以用于例如在由下述这样的疾病所引起的对组织或器官的损伤后刺激组织再生,所述疾病如导致对组织损伤的创伤、疤痕、异常蛋白沉积(abnormal protein deposition)、淀粉样变性、缺血或糖尿病、感染或手术操作;先天性畸形,如疝气、心脏缺陷和肠胃缺陷。

[0096] 慢性组织缺血

[0097] 慢性组织缺血与宽范围的导致对身体部分或包括身体部分的组织的血流的部分、基本上全部或全部减少的医学疾病有关,并可能由疾病、损伤、或未知原因所引起,且可以受个体的遗传组成影响。不考虑导致慢性组织缺血的医学疾病,患有慢性组织缺血的患者

是用包含本文中所描述的无机亚硝酸盐 / 酯的药用组合物治疗的候选。治疗可以完全或部分地消除慢性组织缺血的部分或全部的迹象和症状,减少症状的严重性,推迟它们的发作,或减轻随后发展的症状的进展或严重性。

[0098] 新血管生长

[0099] 如在下面进一步描述的,持续一段时间并以足以引起缺血组织中新血管生长的量给予本发明的组合物。我们可以互换使用术语“新血管生长”、“新血管形成”以及“新血管发展”。新血管生长涉及血管形成过程的所有阶段,包括最初的信号事件、内皮细胞的细胞募集、新血管以及新血管与预先存在血管的连接的形成和扩大。新血管生长可能源自引起缺血组织的血管再造或新生血管形成的任何过程,例如,血管生成、或动脉生成、或血管生成与动脉生成的组合。术语血管生成典型地用于描述血管从成血管细胞的胚胎发育。血管生成通常被理解为对于伤口治愈所需要的出生后生理过程。血管生成通常包括通过由预先存在的毛细血管萌发(sprouting)、发育(budding)、和血管套叠(intussusception)而形成新的毛细血管或毛细血管分支。动脉生成,即将预先存在的小动脉连接成真的侧支动脉的生长,通常被理解为,包括在动脉闭塞后由预先存在的互连小动脉而形成成熟的动脉。其与血管生成共享一些特征,但引起它的途径可以不同,最终的结果也不同:动脉生成潜在能够完全替换闭塞的动脉,然而血管生成典型地不能。在限制结构处于新毛细血管的上游时,增加缺血区中的毛细血管的数量不能增加血流;使血流转向的新侧副管的形成围绕在阻塞点周围。此外,由血管生成和动脉生成所生产的结构在它们的细胞组成方面不同。毛细血管是由被血管的周细胞支持的内皮细胞所形成的管。动脉和静脉是由多层所构成的管:内膜,其由内皮细胞、周细胞以及基底膜构成;中膜(media),其主要由平滑肌细胞和它们的细胞外基质构成;以及在最大的血管中的外膜,其主要由成纤维细胞和它们的细胞外基质构成。

[0100] 慢性组织缺血

[0101] 本发明的方法适用于任何的宽范围的医学疾病,这些医学疾病作为它们的特点具有血流对组织或器官的持久减少或部分或完全闭塞。因此,该方法适用于与疾病、创伤或环境应激有关的慢性组织缺血的治疗。对组织的血流减少可以是,例如,由于硬化导致的动脉渐进性闭锁和 / 或由于动脉粥样斑块或存在的凝块所导致的弹性损耗所引起的结果。例如,对组织的血流的减少还可以是由环境损害所引起,例如中断对组织或器官的血流的跌打损伤或手术操作。典型地,创伤的氧张力随着在整个损伤区中变化缺氧程度的发展而快速且渐进性地降低。诱导缺氧的环境条件也在本发明的范围内。

[0102] 被本发明所包括的疾病包括例如,心血管疾病、外周动脉疾病、动脉硬化、动脉粥样硬化性心血管疾病、心肌梗死、急性四肢缺血疾病、卒中、急性冠脉综合征、间歇性跛行、糖尿病(包括1型和2型糖尿病)、皮肤溃疡、周围神经病变、炎性肠病、溃疡性结肠炎、克罗恩病(Crohn's disease)、肠缺血和慢性肠系膜缺血。本发明的方法也适用于与创伤有关的慢性组织缺血,例如,跌打损伤如创伤、撕裂伤、烧伤、挫伤、骨折或慢性感染。本发明还包括的是持续作为任何手术操作的一部分的组织损伤,例如,动脉内膜切除术。涉及组织或器官移植的操作在本发明的范围内。实例包括血管旁路移植,心、肝、肺、胰岛细胞移植,以及用于在宿主中的移植离体产生的组织的移植。本发明的方法也可用于治疗由暴露于环境损害,例如,慢性暴露于低含氧量条件,例如高海拔、或持续的需氧用力所引起的慢性缺血疾病。

[0103] 本文中所提供的方法适用于任何宽范围的组织类型,包括例如,肌肉、平滑肌、骨骼肌、心肌、神经元组织、皮肤、间叶组织、结缔组织、胃肠组织或骨。软组织,如上皮组织,例如简单鳞状上皮、复层鳞状上皮、立方上皮、或柱状上皮、疏松结缔组织(也称为网形结缔组织)、纤维结缔组织如腱,其将肌肉连接至骨,以及韧带,其在关节处将骨连接在一起。

[0104] 因此,例如在外周动脉疾病(PAD)(存在动脉的部分或完全阻塞的外周血管疾病的形式,通常由于通向腿或臂的一个血管或多个血管的动脉粥样硬化而引起)中的慢性组织缺血的症状,可以包括间歇性跛行,即,在用力期间在髋部、臀部、大腿、膝盖、胫部或上足部(upper foot)中的疲劳、痛性痉挛和疼痛而在休息时消失,在休息期间的跛行,小腿或足中的麻木、麻刺感或冰冷,神经病,或缺陷组织伤口愈合。下肢的PAD常常与糖尿病有关,尤其是2型糖尿病。臂动脉疾病通常不是由于动脉硬化而是其他条件,如自身免疫性疾病、血凝块、放射治疗、雷诺病、重复运动和创伤所引起。臂在运动时的常见症状包括,不适、沉重、疲劳、痛性痉挛和指痛。PAD可以通过进行一种或多种诊断测试而诊断,包括,例如,踝臂指数(ABI)测试、血管造影术、超声或MRI分析。

[0105] 心肌缺血可以存在极少症状或没有症状,虽然典型地,它与诸如咽峡炎、疼痛、升高血压的疲乏的症状有关。用于心肌缺血的诊断测试包括:血管造影术、休息、运动或动态心电图;闪烁法研究(scintigraphic studies)(放射性心脏扫描);超声波心动描记法;冠血管造影术;以及很少用的正电子发射层描记术。

[0106] 本发明的方法也能与本领域已知的用于治疗慢性组织缺血的其他治疗共同使用,这些其他治疗包括药物治疗、手术、抗炎症药剂、抗体、训练或生活方式改变。具体治疗的选择可以变化并且将取决于慢性组织缺血的严重性、对象的一般健康状态以及主治临床医师的判断。

[0107] 本发明的组合物还可以与一种或多种另外的活性组分联合配制,这些活性组分可以包括任何药剂,如抗高血压药、抗糖尿病药、他汀类药物、抗血小板剂(氯吡格雷和西洛他唑)、抗体、免疫抑制剂、抗炎症药、抗生素、化疗药物等。在一些实施方式中,组合物还可以包含无机硝酸盐/酯;在其他实施方式中,组合物不含无机硝酸盐/酯。例如,本发明的组合物可以包含在1-5至1-100的亚硝酸盐/酯:硝酸盐/酯之间的比率的无机亚硝酸盐/酯和硝酸盐/酯,例如1-5、1-10、1-30、1-50、1-70、或1-100的亚硝酸盐/酯:硝酸盐/酯。

实施例

[0108] 控释药物制剂

[0109] 用于口服给药的示例性制剂包括片剂和胶囊剂制剂。例如,所描述的用于片剂制剂的粉末组分可以用于制备胶囊剂制剂,适合的胶囊剂尺寸取决于活性物质的剂量和填料的密度,如号码为1、0、或00的胶囊剂。在一些实施方式中,片剂或胶囊剂可以没有肠溶衣。在其他实施方式中,本发明的药物组合物可以被配制用于亚硝酸根离子的控释。如果胶囊剂被描述为包衣的,该包衣可以在填充之后施加于胶囊剂。为了在包衣工艺期间便于处理,胶囊剂制剂可以可选地采用自锁胶囊壳(例如Coni-Snap®、Posilok®、Snap-Fit®等)。

[0110] 示例性组合物包含在0.5-4.0mmol之间的总亚硝酸根离子;具体地,在1.8-3.6mmol之间的 NaNO_2 。组合物可以包含其亚硝酸盐/酯的任何前药,例如125-250mg的 NaNO_2 、154-308mg的 KNO_2 或201-402mg的精氨酸亚硝酸盐/酯。如本文所描述的,用于

药物组合物的亚硝酸根离子的量可以变化。例如,制剂还可以包括本文中所描述的任何赋形剂,优选碱化剂(例如碳酸氢钠或碳酸钙)、助流剂(例如烟雾硅胶)、润滑剂(脂肪酸盐(例如硬脂酸镁)、纯的固体脂肪酸或固体聚乙二醇)、或具有良好流动性的填充剂(例如硅化微晶纤维素(Prosolv®SMCC90))。组合物还可以包括所描述的用于配制用于肠释放的组合物例如肠制剂中的任何赋形剂。制剂还可以包括速度控制聚合物包衣(例如乙基纤维、乙酸纤维素、乙酸丁酸纤维素、三乙酸纤维素等,其可以与 PEG-4000 相组合)。如果期望,所使用的 PEG-4000 的量可以变化,以便在包衣层中产生亚硝酸钠可以扩散通过的水孔(aqueous pore)。还可以使用肠聚合物包衣,且示例性聚合物包括乙酸邻苯二甲酸纤维素(CAP)、偏苯三酸纤维素、羟丙基甲基纤维素乙酸琥珀酸酯、Eudragit® L 或 S 等,在使用聚合物包衣的情况下,制剂还可以包含增塑剂(例如柠檬酸三乙酯、三醋汀、单乙酸甘油酯(乙酰单酸甘油酯,acetyl monoglyceride)等)。例如,可以以例如导致增重 10% 的量加入总的肠溶衣(聚合物+增塑剂)。

[0111] 在下面描述了用于控释硝酸盐/酯的若干片剂和丸剂制剂的产品和测试。

[0112] 片剂制备程序

[0113] 称重包括亚硝酸钠的所有固体组分,以产生具有期望的组分重量比的片剂。制备足够的粉末混合物以制备 4-5 个片剂。在压缩成片剂之前,充分混合粉末组分。对于包含蜡质组分(即 Castorwax®)的片剂,将亚硝酸钠和其他组分分散在熔化的蜡中,并且在混合以保持均匀混合物的同时使混合物固化。在固化之后,如果需要,将混合物研磨成粉末用于进一步混合。所有的粉末组分的混合利用研钵和研棒实现。

[0114] 将片剂在具有 1/2" (1.27cm) 冲头和模具的 Carver®压力机上压制。施加 5000lbs 的力 30 秒以获得用于释放测试的片剂。

[0115] 片剂尺度是:

[0116] 580mg 片剂:1.27 厘米直径 × 0.38cm 厚度(1/2" × 1/7") 或

[0117] 480mg 片剂:1.27cm 直径 × 0.32cm 厚度(1/2" × 1/8")

[0118] 片剂的厚度取决于粉末组分的总重量以及所采用的赋形剂的性质。因此,显示的厚度在 10-15% 之间变化,取决于所压制的混合物。

[0119] 将片剂在压制之后从模具中小心推出,并存储于干燥器中,直到溶出测试。将一些片剂涂覆有控释或肠溶衣材料,以改变它们的释放曲线。

[0120] 丸剂制备程序

[0121] 根据以下程序制备用于动物测试(口服给予兔子)的包含 5mg 的亚硝酸钠的小丸剂。称重包括亚硝酸钠的所有固体组分,以产生具有期望的组分重量比的丸剂。制备足够的粉末混合物以制备 40-50 个丸剂。

[0122] 在被压制成丸剂之前,筛分粉末组分(150-250 微米)并利用几何稀释法(geometric dilution)充分混合。使用具有 3mm 冲头和模具的 Parr Model 2811 压丸机来压制丸剂。利用手动压制操作压丸机,且不允许控制所施加的力,但确实生产用于所有制剂的粘合丸剂。丸剂重 23-35mg,这取决于所采用的制剂。将一批丸剂手动涂覆有乙基纤维素/三醋汀包衣(4/1),其是丸剂重量的 11-15%。

[0123] 丸剂尺度是:3mm 直径 × 5-7mm 厚度。丸剂厚度取决于粉末组分的总重量以及所采用的赋形剂的性质。因此,显示的厚度变化约 50%,这取决于所压制的混合物。

[0124] 将丸剂在压缩之后从模具中小心推出,并存储于干燥器中,直到整装用于动物测试。将一批丸剂涂覆有控释包衣以改变其释放曲线。在下面分开描述了包衣程序。将 Castorwax 丸剂压制两次。第一次压制在环境温度下;第二次压制在烘箱中使模具加热到 50-60℃之后在 3mm 模具中进行。第二次压制引起围绕亚硝酸钠和乙酸钠颗粒的 Castorwax 的更好流动。

[0125] 片剂 / 丸剂包衣程序

[0126] 通过将测定体积的包衣溶液仔细滴在片剂上,并将其在片剂的表面和边缘上使它仔细铺展来手动使亚硝酸钠片剂包衣。在溶剂蒸发之后,将该过程重复多次,直到施加适当量的包衣。对于成批的丸剂和一些片剂,采用浸涂方法,其包括,将丸剂 / 片剂小心浸入到包衣溶液中并在用钳子持有它时将其空气干燥。重复浸涂过程,直到施加适当量的包衣。

[0127] 所采用的包衣是乙基纤维素(EC)与作为增塑剂的三醋汀和乙酸邻苯二甲酸纤维素(CAP,纤维醋法酯(Cellacefate),NF)。采用 EC 与三醋汀的各种比率以获得具有对于水和亚硝酸钠的不同脆性和不同通透性的包衣。将 EC/ 三醋汀由包含氯仿、二氯甲烷或 95% 乙醇的溶液施加于片剂或丸剂。采用 CAP 作为由二噁烷溶液的施加于片剂的肠溶衣材料。其他包衣溶剂产生这样的 CAP 包衣片剂,其在不分解的情况下不能经受住模拟胃液持续两个小时。

[0128] 片剂组分

[0129] ● 亚硝酸钠,认证的 ACS 试剂,晶体,Fisher Scientific,批次 #080939A

[0130] ● Polyox®促凝剂,混合 #C-289,500 万 MW,N.F. 级,Union Carbide,

[0131] ● Polyox®WSR 303,700 万 MW,N.F. 级,Colorcon

[0132] ● Avicel®PH-302,微晶纤维素,FMC 公司,批次 #Q939C

[0133] ● Ethocel®,乙基纤维素,标准 100 高级(Standard 100 premium),Colorcon

[0134] ● Castorwax®,NF,氢化蓖麻油,CASCHEM,批次 #00121431

[0135] ● Methocel®K100M,羟丙基甲基纤维素,高级 CR 级,Colorcon

[0136] ● Klucel®HXAF Pharm.,羟丙基纤维素,115 万 MW,Aqualon Division,Hercules, Inc.

[0137] ● Klucel®MF Pharm.,羟丙基纤维素,850,000MW,Aqualon Division,Hercules, Inc.

[0138] ● 氯化钠,认证的 ACS 试剂,Fisher Scientific

[0139] ● 三水合乙酸钠,ACS 试剂,Fisher Scientific

[0140] 对于片剂的释放测试程序

[0141] 在 50RPM 搅拌下,采用 USP 桨式方法,用于所有亚硝酸盐 / 酯释放测试。使用 Vankel®USP 6-站(station)溶出装置。使用 37℃的体积 500mL 的蒸馏水作为每一个释放管中的释放介质。对于每种所测试的制剂,一式两份或一式三份进行片剂释放研究。

[0142] 以规则的时间间隔(典型地 1/2、1、2、3、4 个小时(或更长))从每个管中获取释放介质的样品(35mL)。用 35mL 的蒸馏水补充介质。

[0143] 在释放运行的最后,将片剂压碎并允许完全释放它们所溶解的亚硝酸钠含量,以测定片剂中的总亚硝酸钠含量。

[0144] 亚硝酸钠释放测试

[0145] 利用 Hewlett-Packard®8453 二极管 - 阵列 UV- 可见光分光光度计在 10-cm 石英比色皿中测定每个释放样品在 355nm 下的 UV 吸光度。

[0146] 根据先前制备的校准曲线, 计算每个样品中的亚硝酸钠的浓度并且转变为对于每个片剂所释放的总含量以及百分比。计算对于同时运行的两个或三个片剂的释放平均百分比和标准偏差。对于每种制剂, 绘制释放平均百分比相对于时间的曲线。

[0147] 将通过上述方法所生产的片剂和丸剂的制剂(配方)以及释放曲线在表 1-7 中列出。

[0148] 表 1

[0149] Polyox 片剂组合物(mg/ 片剂)

[0150]

制剂号	Polyox 促凝剂	Polyox WSR 303	Avicel PH 302	亚硝酸钠	乙基纤维素/三醋汀包衣	总重量
1	200	200	100	80	-	580
9	100	300	100	80	-	580
9 C	100	300	100	80	87 (13% w/w)	667
14	0	400	0	80	-	480

[0151] 制剂 9C 与制剂 9 相同, 不同之处在于, 将乙基纤维素 100/ 三醋汀(1/10)的 13% 包衣由 95% 乙醇溶液施加于片剂。

[0152] 表 2

[0153] Polyox 片剂释放结果

[0154]

时间(小时)	制剂 1	%SD	制剂 9	%SD	制剂 9 C	%SD	制剂 14	%SD
1	41.9%	7.0%	29.1%	8.3%	8.2%	0.4%	33.6%	8.3%
2	54.1%	5.1%	47.9%	9.0%	20.7%	0.8%	59.7%	11.0%
3	66.2%	3.2%	64.2%	8.3%	34.0%	2.9%	75.5%	9.7%
4	76.9%	2.5%	75.2%	6.3%	48.4%	5.9%	86.4%	6.7%
6	91.0%	0.7%	91.7%	3.7%	74.6%	9.4%	93.5%	2.4%
8	100.0%	0.0%	100.0%	0.0%	100%	9.0%	100.0%	0.0%

[0155] 表 3

[0156] 用于动物研究的丸剂组合物(mg/ 丸剂)

[0157]

制剂号	Polyox WSR 303	Castorwax	乙酸钠	羟丙基纤维素	亚硝酸钠	乙基纤维素/三醋汀包衣	总重量
100A	25	-		-	5	-	30
200A	-	12	6	-	5	-	23
300A	-	-	-	25	5	4-5 (11-15% w/w)	34-35

[0158] 将制剂 200A 压制两次。第一次压制在环境温度下。第二次压制在烘箱中使模具加热到 50-60℃之后在 3mm 模具中进行。制剂 300A 利用使用 95% 乙醇作为溶剂的乙基纤维素 100/ 三醋汀 (4/1) 涂覆溶液来浸涂。

[0159] 表 4

[0160] Castorwax 片剂组合物 (mg/ 片剂)

[0161]

制剂号	Castorwax	HPMC (K100M)	氯化钠	乙酸钠	亚硝酸钠	乙基纤维素/三醋汀包衣	总重量
12	200	200	-	-	80	-	480
12 C	200	200		-	80	71 (14.8%)	551
13	300	-	100	-	80	-	480
15	200	-	-	100	80	-	380
15 C1	200	-	-	100	80	36.5 (9.6%)	416.5
15 C2	200	-	-	100	80	16 (4.15%)	396

[0162] 表 5

[0163] Castorwax 片剂释放结果

[0164]

时间 (小时)	制剂 12	%SD	制剂 12 C	%SD	制剂 13	%SD	制剂 15	%SD	制剂 15 C1	%SD	制剂 15 C2	%SD
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	0.8%	0.0%	-	-
1	36.0%	2.9%	29.1%	-	17.3%	1.6%	58.8%	0.7%	2.3%	0.4%	2.4%	0.4%
2	53.7%	3.8%	46.6%	-	22.0%	3.1%	81.7%	0.1%	5.8%	1.0%	4.5%	0.4%
3	69.5%	2.6%	67.3%	-	24.3%	4.0%	94.8%	0.8%	11.5%	0.3%	7.9%	0.6%
4	76.6%	8.6%	74.1%	-	27.3%	3.8%	100.8%	0.5%	-	-	11.8%	1.4%
6	95.8%	3.9%	99.5%	-	32.0%	4.5%	100.0%	0.0%	-	-	18.2%	2.2%
8	100.0%	0.0%	100.0%	-	35.5%	4.6%	-	-	31.9%	0.7%	27.5%	2.9%
24	-	-	-	-	-	-	-	-	75.5%	0.1%	71.0%	2.7%
26	-	-	-	-	57.1%	3.0%	-	-	-	-	-	-

[0165] 制剂 12C 与制剂 12 相同, 不同之处在于, 将乙基纤维素 100/ 三醋汀 (1/10) 的 14.8% 的包衣由 95% 乙醇溶液施加于片剂。制剂 13、15、15C1、以及 15C2 通过将亚硝酸钠与其他组分混入熔化的 Castorwax 中而制备。在压制成片剂之前, 混合熔化的物质同时固化, 然后用研钵和研棒研磨成粉末。制剂 15C1 和 15C2 与制剂 15 相同, 不同之处在于, 将乙基纤维素 100/ 三醋汀 (4/1) 的 9.6% (15C1) 或 4.15% (15C2) 的包衣由氯仿施加于片剂。

[0166] 表 6

[0167] 乙基纤维素和 HPMC 片剂组合物 (mg/ 片剂)

[0168]

制剂号	乙基纤维素	HPMC (K100M)	HPMC (K15M)	Avicel PH-302	HPC MF	亚硝酸钠	乙基纤维素/三醋汀包衣	总重量
2	400	-	-	-		80	-	480
5	200	200	-	-		80	-	480
10 C	-	200	-	200		80	76 (15.8%)	556
16	-	-	400	-		80	-	480
17 C	-	-	-	-	400	80	41.5 (8.65%)	521.5

[0169] 表 7

[0170] 乙基纤维素和 HPMC 片剂释放结果

[0171]

时间 (小时)	制剂 2	%SD	制剂 5	%SD	制剂 10 C	%SD	制剂 16	%SD	制剂 17 C	%SD
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	56.0%	1.4%	50.0%	2.3%	24.7%	-	38.2%	1.1%	0.8%	0.7%
2	73.8%	2.3%	68.8%	5.3%	60.6%	-	53.0%	1.3%	1.1%	1.0%
3	84.3%	2.1%	81.2%	5.1%	79.2%	-	78.9%	8.6%	2.9%	1.6%
4	91.1%	2.1%	89.2%	4.8%	87.7%	-	88.2%	5.4%	6.7%	0.9%
6	96.6%	0.2%	95.3%	2.2%	97.1%	-	96.3%	4.1%	18.0%	0.5%
8	100.0%	0.0%	100.0%	0.0%	100.0%	-	-	-	31.6%	2.4%
24	-	-	-	-	-	-	-	-	88.4%	7.5%

[0172] 制剂 10C 具有由 95% 乙醇溶液施加于片剂的乙基纤维素 100/ 三醋汀 (1/10) 的 15.8% 包衣。通过将亚硝酸钠与粉末状乙基纤维素 (Ethocel® 100) 混合并将混合物压制成片剂而制备制剂 2。通过将亚硝酸钠、粉末状乙基纤维素 (Ethocel® 100) 和 HPMC K100M 混合并将混合物压制成片剂而制备制剂 5。制剂 17C 含有羟丙基纤维素 (Klucel MF) 并且具有由氯仿溶液施加的乙基纤维素 100/ 三醋汀 (4/1) 的 8.65% 包衣。

[0173] 由控释制剂模拟亚硝酸盐 / 酯血浆水平

[0174] 模拟一些上面的制剂用于测定它们的亚硝酸盐 / 酯血浆水平。模拟假定中程数药代动力学常量 (mid-range pharmacokinetic constants) 和 80mg 剂量。假定对于 NaNO_2 的 PK 参数是：半衰期 = 45 分钟；清除率 = 60.375L/h；口服生物利用度 = 100% (除了制剂 27 (其为 27%) 之外)；在剂量给药和到达可以出现释放的 pH 之间的延滞时间 = 0.5 小时。模拟是在最初两天每日给药两次。69ng/mL 的浓度相当于 $1 \mu\text{M}$ ，而 138ng/mL 是 $2 \mu\text{M}$ 。结果在图 1-10 中示出。

[0175] 对于制剂 1、2、5、9、10C、12、和 12C，与曲线拟合的等式具有非零的 y 轴截距，即在 $t=0$ ，释放 % 为一些正数 (在所拟合的多项式中的常量)。对于模拟目的，这被看作即释组分，且假定该部分在延滞时间之后在最初的 10 分钟内均匀释放。因此，释放速率曲线显示在该 10 分钟内释放中的“峰值”，而“释放 %”曲线显示在最初 10 分钟和剩余的 8 个小时的释放之间在斜率上的显著差异。

[0176] 肠溶胶囊剂制剂

[0177] 在一些实施方式中，药物组合物可以被配制为肠溶胶囊剂。表 8 和表 9 提供了用于肠溶胶囊剂制剂的配方。

[0178] 表 8

[0179] 胶囊剂含量

[0180]

组分	量 (mg/胶囊剂)
胶囊剂含量	
亚硝酸钠, USP	80
微晶纤维素, NF (Avicel® PH 105)	106.5
蓝色食用色素	0.5
号码#1 胶囊 (Capsugel)	N/A (不能获得)

[0181] 表 13

[0182] 包衣溶液

[0183]

组分	含量
纤维醋法酯 (Cellulose acetate), NF (乙酸邻苯二甲酸纤维素)	10 g
三醋汀, USP	2.2 mL
95%乙醇/丙酮 (1:1 体积比)	87.8 mL

[0184] 在该过程中,通过使用用于粉末的标准混合方法来混合亚硝酸钠、微晶纤维素和蓝色食用色素而制备胶囊剂。利用小型的胶囊填充设备,将混合组分手动地填充到号码 #1 的胶囊壳中。测试完成的胶囊剂的重量变化和含量均匀性,以满足对于胶囊剂的药典需求 (compendia requirement)。

[0185] 将填充的胶囊放入 Procoater 固定器中,每个胶囊的帽侧向上。包衣托盘装满包衣溶液至距顶部在 1mm 之内。根据需要,在每次浸涂步骤之后,将更多的包衣溶液加入到托盘中。

[0186] 将胶囊的帽侧浸入,并从包衣溶液中缓慢地移出。从胶囊底部仔细擦掉过量的包衣溶液,使得在包衣帽上的干燥包衣是均匀的。将胶囊置于固定器中,在干燥托盘上持续 1 小时。将包衣步骤再重复四次,总共五次包衣。

[0187] 在包衣干燥后,将带有胶囊的固定器置于反转台上,且帽侧向下(体侧向上),并用包衣托盘盖将胶囊推到最低位置。将胶囊的体侧浸入包衣溶液中,并且从包衣溶液中缓慢地移去。从胶囊底部仔细擦掉过量的包衣溶液,使得在包衣体上的干燥包衣层是均匀的。然后将胶囊和固定器置于干燥托盘上 1 小时。将包衣步骤再重复四次,总共五次包衣。

[0188] 测试肠溶胶囊剂的硝酸钠释放。利用 USP 桨式方法以 50rpm 使未包衣的胶囊剂在 37°C 下在 0.1N HCl (1L) 中在 60 分钟内溶解超过 75%。在 750mL 的 0.1N HCl 中,利用 USP 桨式方法以 50rpm 使肠溶胶囊剂在 37°C 下在 120 分钟内溶解少于 1%。在向 750mL 0.1N HCl 溶液中加入 250mL 0.2M 磷酸三钠而将溶液的 pH 升至 6.8 之后,利用 USP 桨式方法以 50rpm 使肠溶胶囊剂在 37°C 下加入 15-16 胰酶制剂的条件下在 60 分钟内释放超过 75% 的亚硝酸钠。

[0189] 兔子药代动力学研究

[0190] 使用重 3.0-3.2kg 的纽西兰兔,用于持续释放亚硝酸钠制剂的药代动力学分析。

在六个小时期间内在 14 个时间点取一毫升血液。

[0191] 最初, 肌肉给予每只兔子在无菌生理盐水中稀释的 31mg/kg 的氯胺酮与 2mg/kg 的赛拉嗪。此时, 也给予 0.5mg/kg 的乙酰丙嗪的第二次肌肉注射。在兔子失去意识时, 用修剪工具剃刮一只耳朵。将待插入导管的区域用酒精擦拭清洁, 然后将 22 号(规格)的体外(iv)导管插进中耳动脉。加入连续注射口以封闭导管的末端。血液用 22 号(规格)的针抽出并即刻使 500 μ L 1 单位/mL 的肝素溶液冲洗导管。在每次血抽之后使用肝素冲洗。

[0192] 在首次抽血之后, 将 18Fr 灌食管(长 36cm)沿兔子的食管向下插入。在灌食管的末端, 插入亚硝酸盐/酯胶囊剂并用 15mL 的空气快速推到胃中。测试了三种制剂: 制剂 100A、200A 和 300A。然后去除灌食管, 并且在接下来的六个小时内抽取剩余的血液。

[0193] 将抽取的血液等份分至两个 1.5mL 的微型离心管中。将 100 μ L 的血浆亚硝酸盐/酯保存溶液立即加入到一个等份部分中, 而另一个等份部分以 5,000rpm 旋转 2 分钟以分离出血浆, 然后将其与 200 μ L 的血浆亚硝酸盐/酯保存溶液组合。将所有样品存储在液氮中, 直至处理。

[0194] 血浆亚硝酸盐/酯保存溶液包含:

[0195] 7.85 克 KFeCN+25mL PBS=1

[0196] 66mg NEM+3mL PBS=2

[0197] 1.5mL 乙基苯基聚乙二醇(nonidet P40)=3

[0198] 1 (21mL)+2 (2.5mL)+3= 亚硝酸盐/酯保存溶液

[0199] 如在下面所描述的, 计算血浆中的总 NO_x。对于各自三种所测试制剂的时间过程示出在图 11 中。另外, 通过将样品用 580mM 的在 1N HCl 中的磺胺处理 15 分钟来计算游离亚硝酸盐/酯的量。该处理清除游离亚硝酸盐/酯, 留下硝酸盐/酯、亚硝基硫醇、亚硝基血红素和亚硝胺。将利用下面描述的方法测得的这些剩余组分的量在图 12 中示出。在从总 NO_x 的量减去这个量时, 获得的数反映游离亚硝酸盐/酯的量(图 13)。对于制剂 200A 和 300A 的数据代表五只兔子的平均值, 而对于制剂 100A 的数据代表四只兔子的平均值, 因为在研究期间被给予后面的制剂的一只兔子经历其动脉导管堵塞。

[0200] 一氧化氮化学发光检测

[0201] 使用 Sievers 280i 一氧化氮分析仪(NO_A)用于构建亚硝酸盐/酯/NO 浓度的标准曲线, 以及测量样品的总的 NO_x、亚硝基硫醇(SNO)+亚硝基血红素+硝酸盐/酯、以及游离亚硝酸盐/酯。为了测量亚硝酸盐/酯, 使清除的血管容纳还原剂(在 7mL 冰乙酸中的 2mL 碘化钠), 以还原亚硝酸盐/酯、硝酸盐/酯和亚硝基化合物以释放游离一氧化氮。然后在 NO_A 中通过与臭氧反应从而发射由化学发光检测器检测的光的光子来检测 NO 气体。通过随着时间累计发射信号并用已知量的亚硝酸钠(0、0.1、0.5、1、10 和 100 μ M) 作为 NO 的源标准, 来测定所存在 NO 的量。通过将等份部分的血浆与在 1N HCl 中的 580nM 的磺胺反应 15 分钟以清除游离亚硝酸盐/酯来测定血浆亚硝酸盐/酯。通过从总 NO_x 值中减去磺胺值而测得游离亚硝酸盐/酯的总量。

[0202] 其他实施方式

[0203] 虽然已经结合其具体实施方式对本发明进行了描述, 但是应当理解, 能够对其进行另外的变化, 且本申请旨在涵盖总的来说遵循本发明的原理并包括本发明披露内容的这样的背离的本发明的任何变体、应用、或调整, 其在本发明所属领域已知或惯例范围内的并

且可以被施加于在上文中所列出的基本特征。

[0204] 本文中所引用的所有参考、专利、专利申请公开和专利申请由此通过参考并入本文,其参考程度如同这些参考、专利、专利申请公开和专利申请中的每一个单独通过参考并入本文中一样。

制剂#1 ($y = -0.0093x^2 + 0.1761x + 0.2879$)

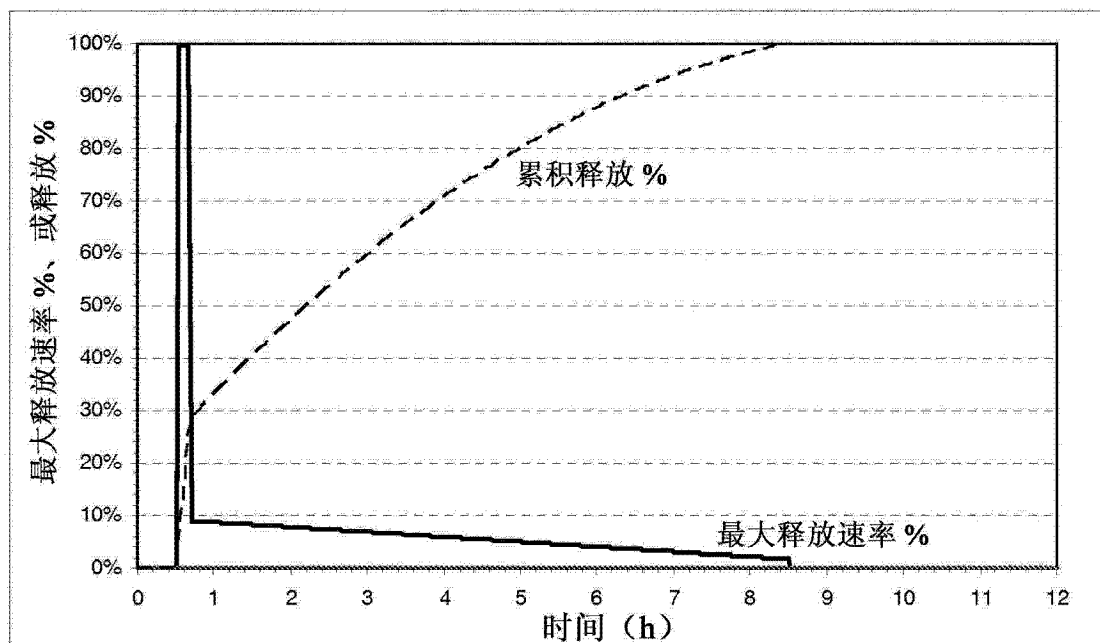
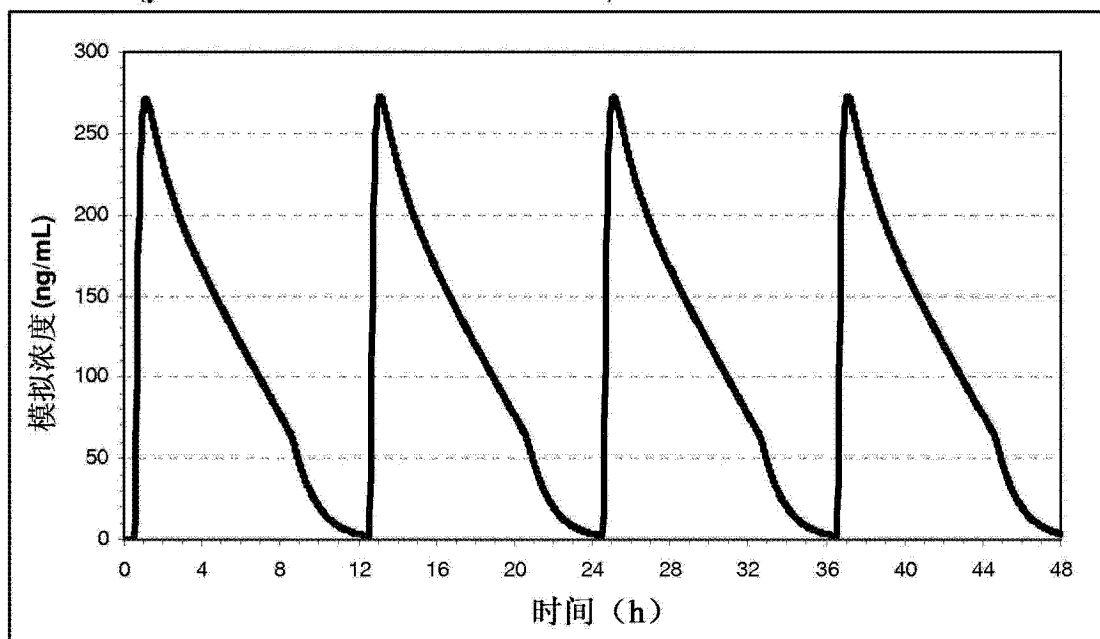


图 1

制剂#2 ($y = -0.0132x^2 + 0.1789x + 0.4361$)

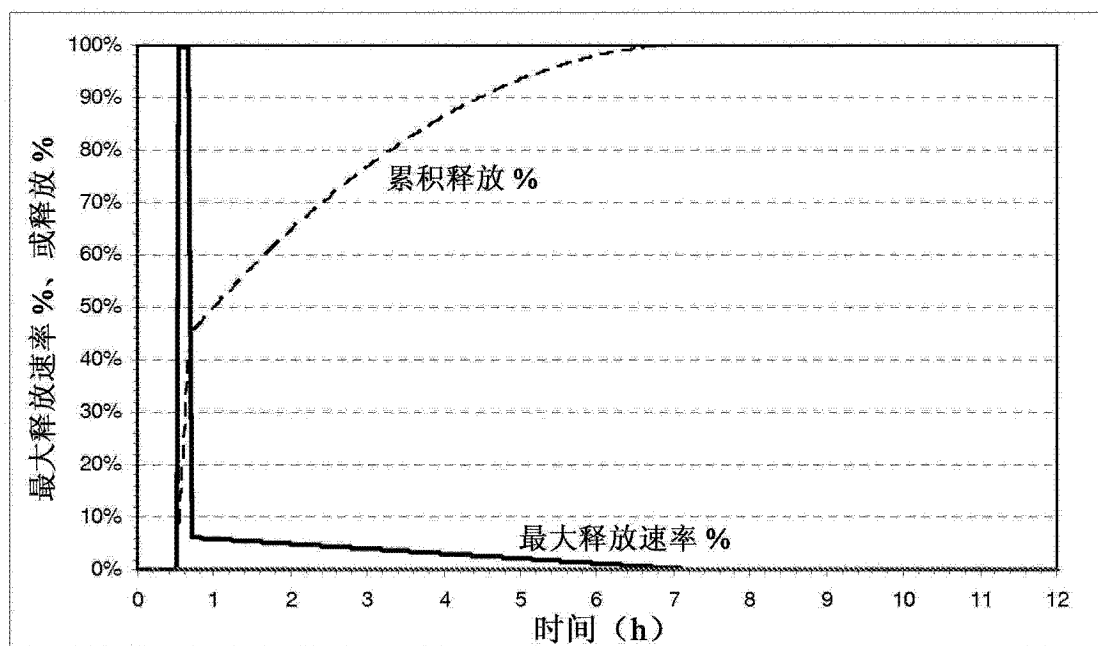
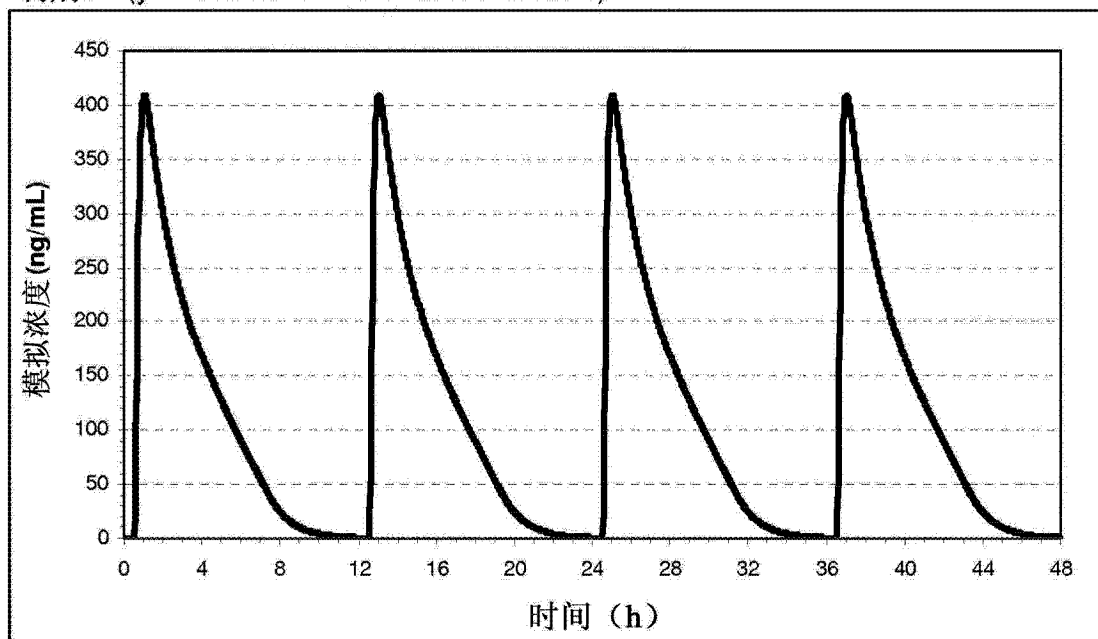


图 2

制剂#5 ($y = -0.0147x^2 + 0.203x + 0.3674$)

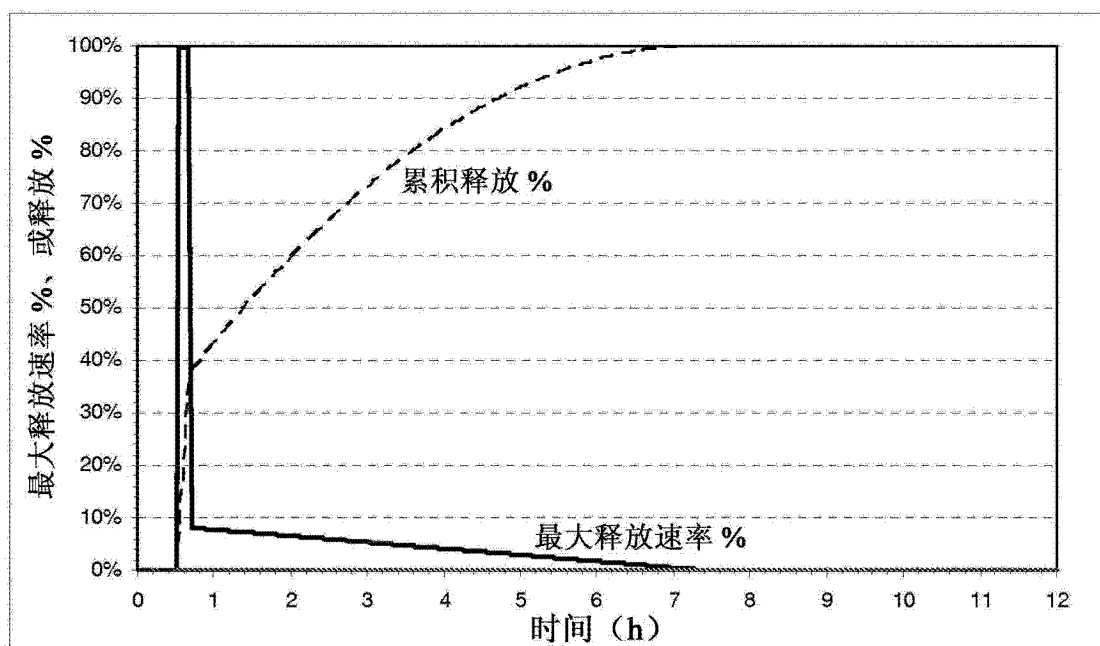
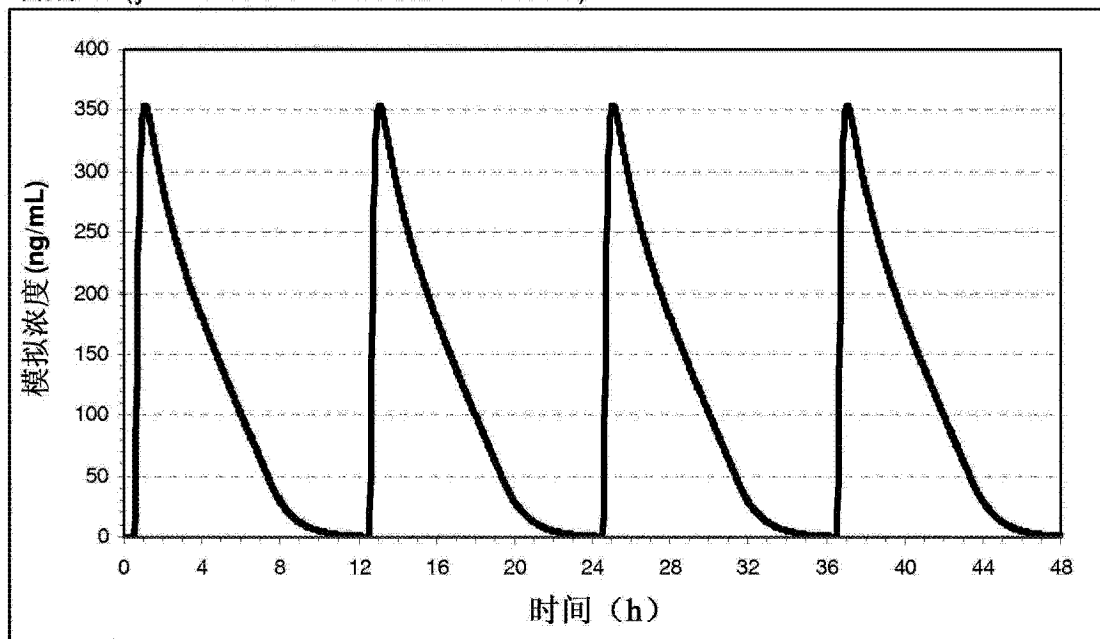


图 3

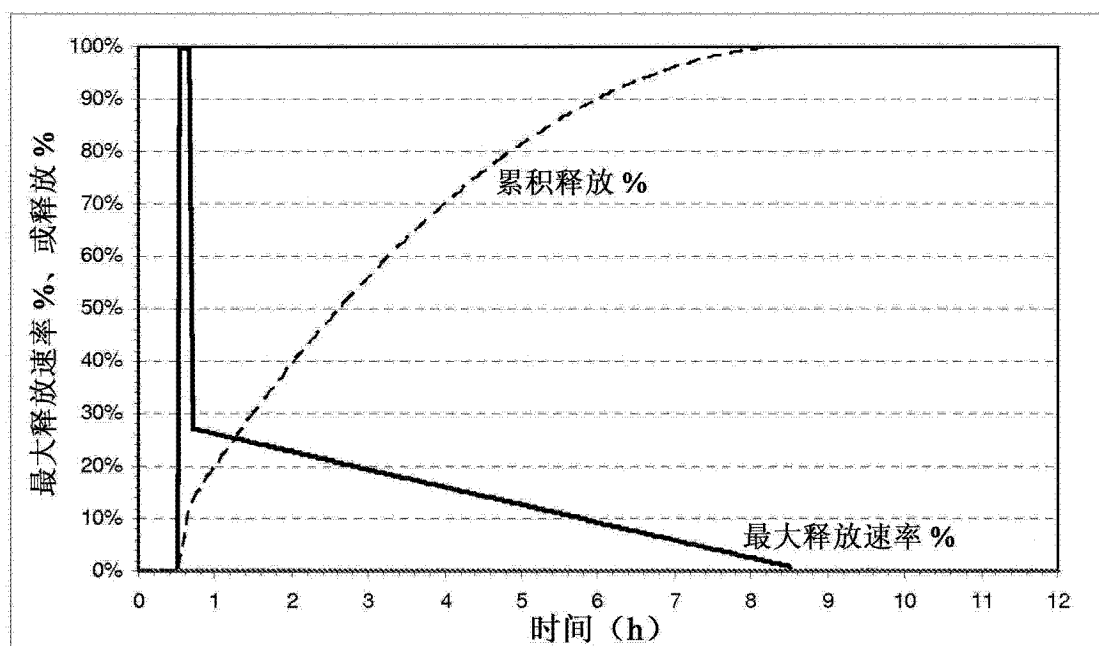
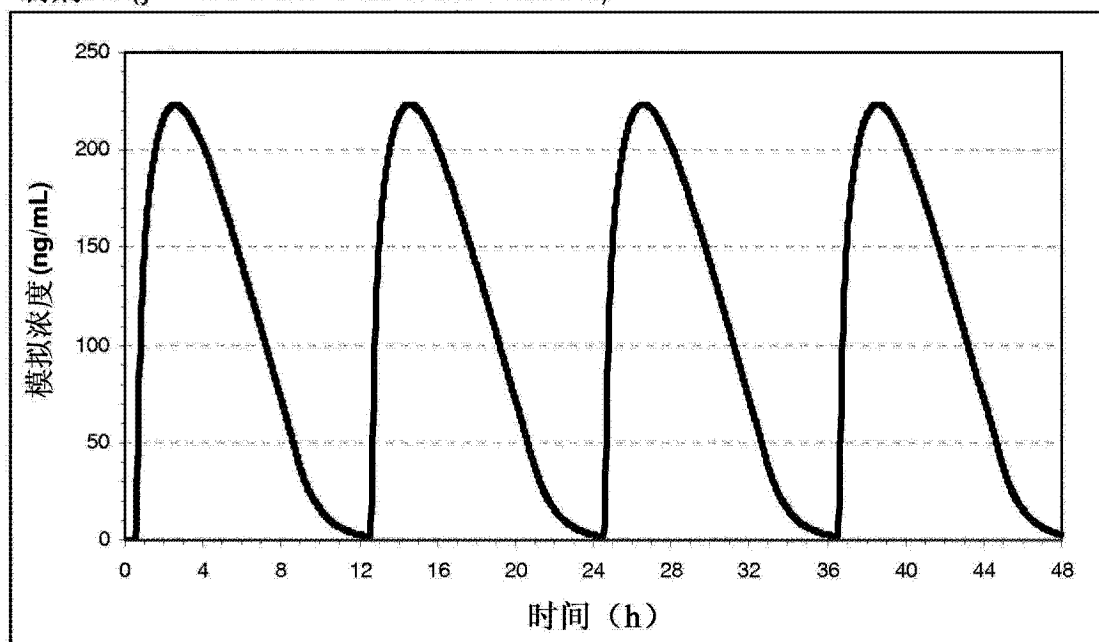
制剂#9 ($y = -0.0129x^2 + 0.2126x + 0.0921$)

图 4

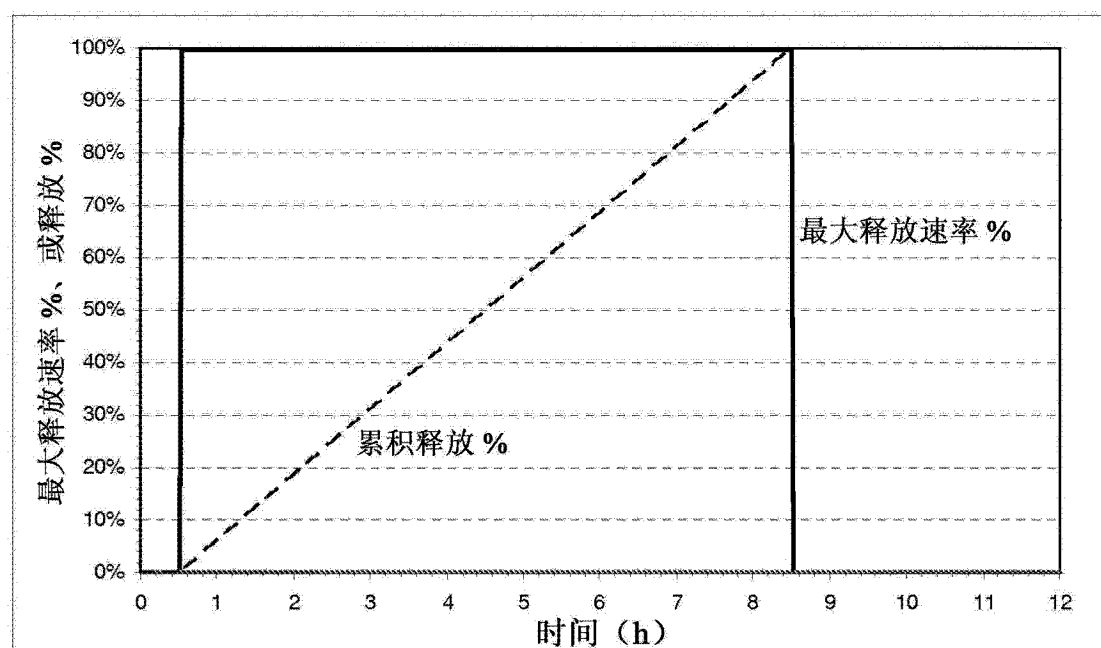
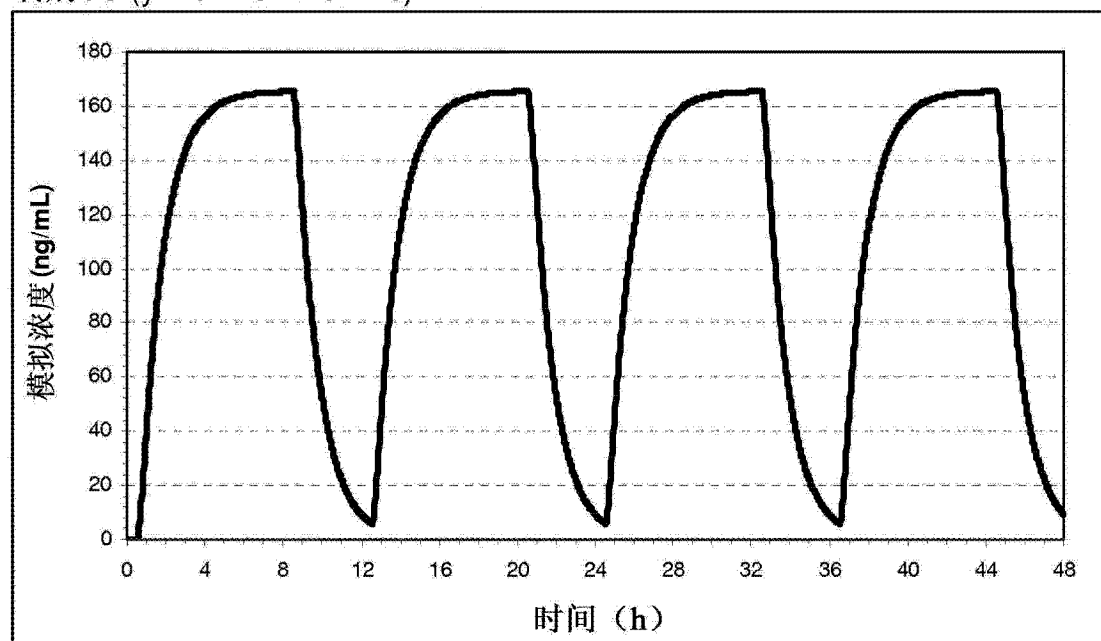
制剂9C ($y = 0.125x + 9E-16$)

图 5

制剂10C ($y = -0.0286x^2 + 0.3653x + 0.0041$):

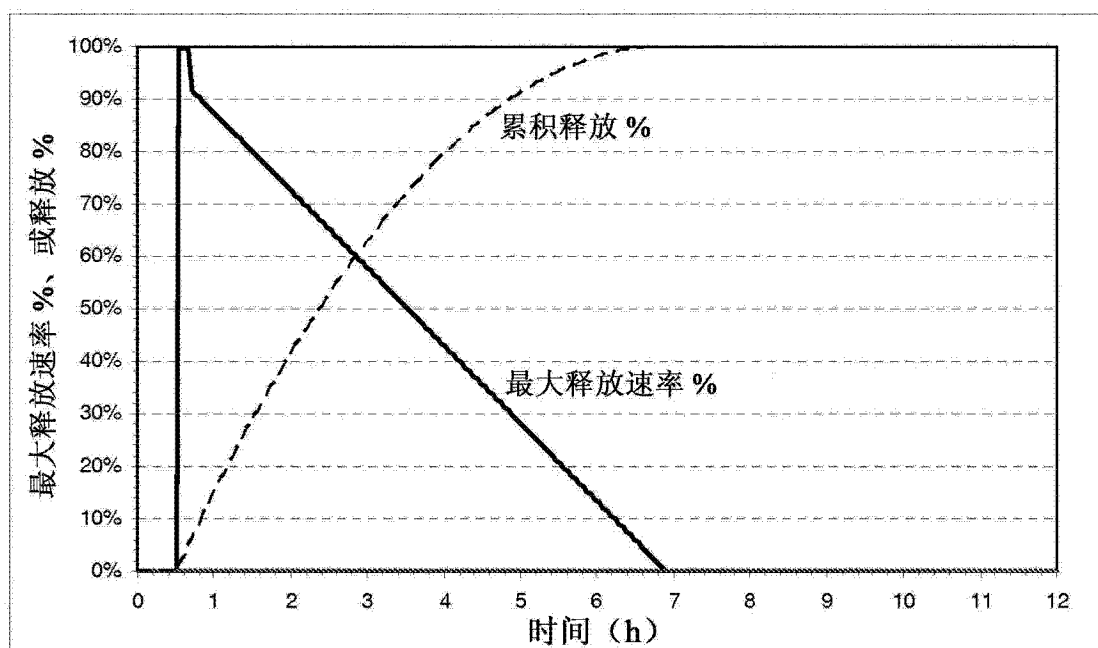
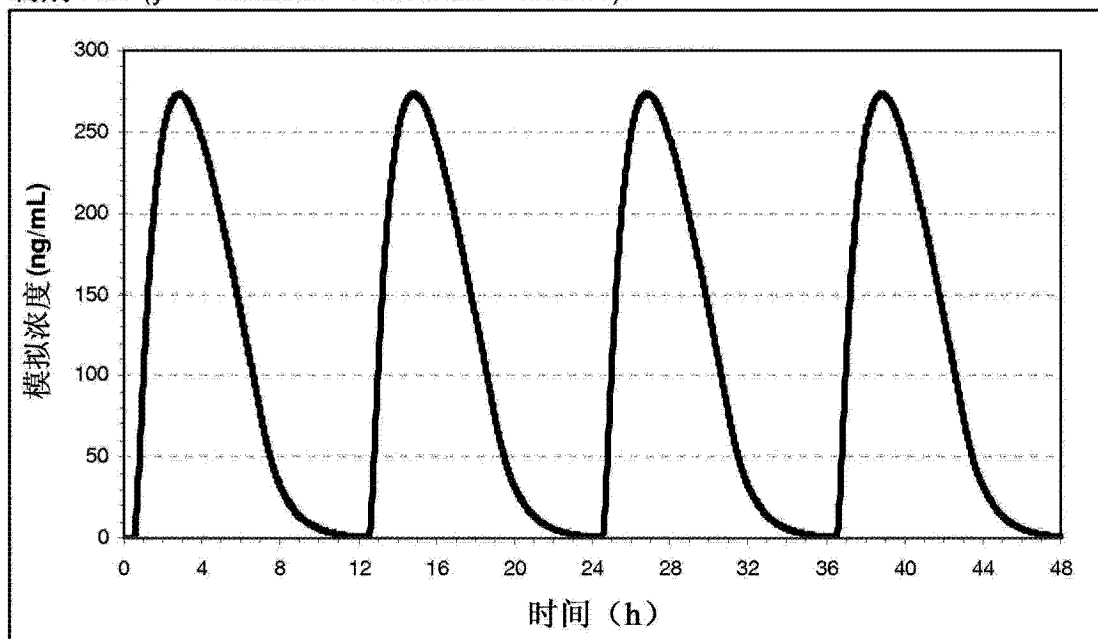


图 6

制剂12 ($y = -0.0158x^2 + 0.2536x + 0.2111$):

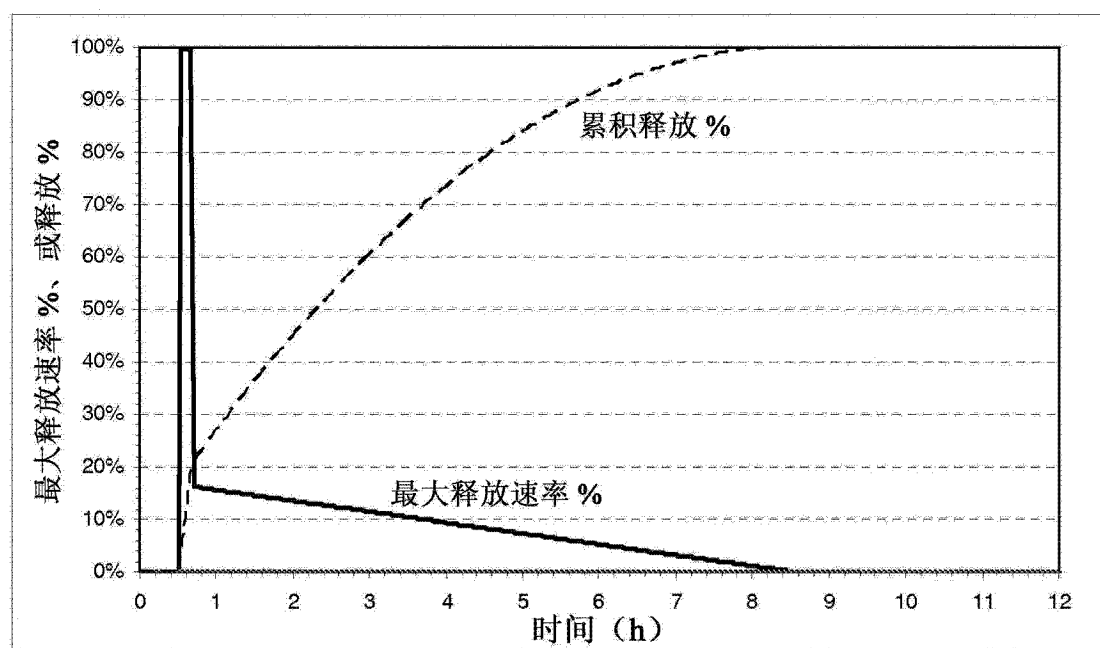
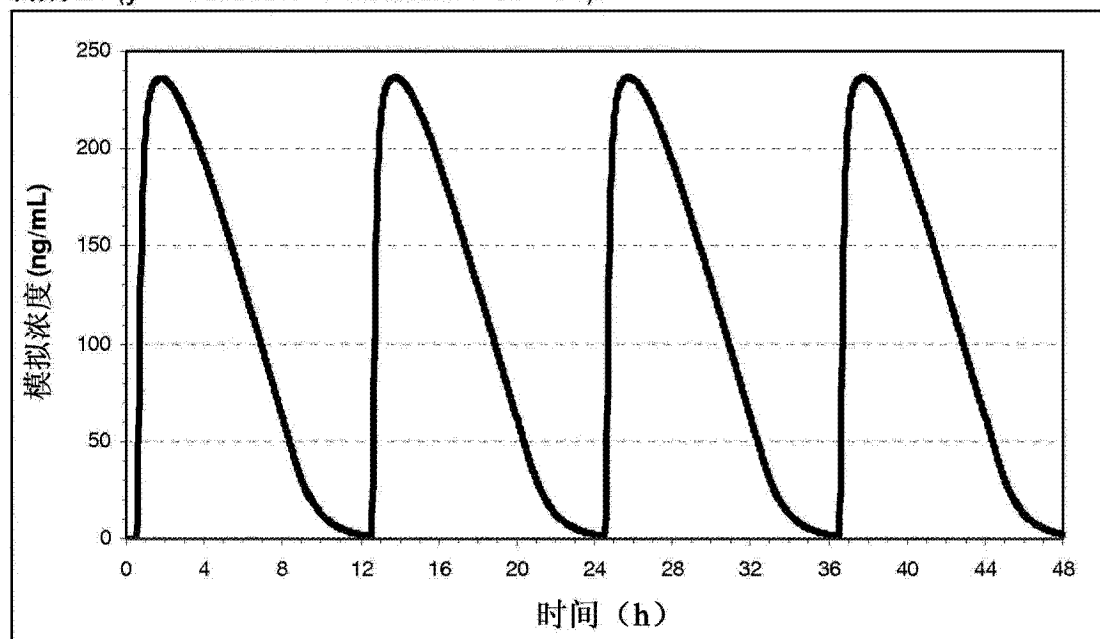


图 7

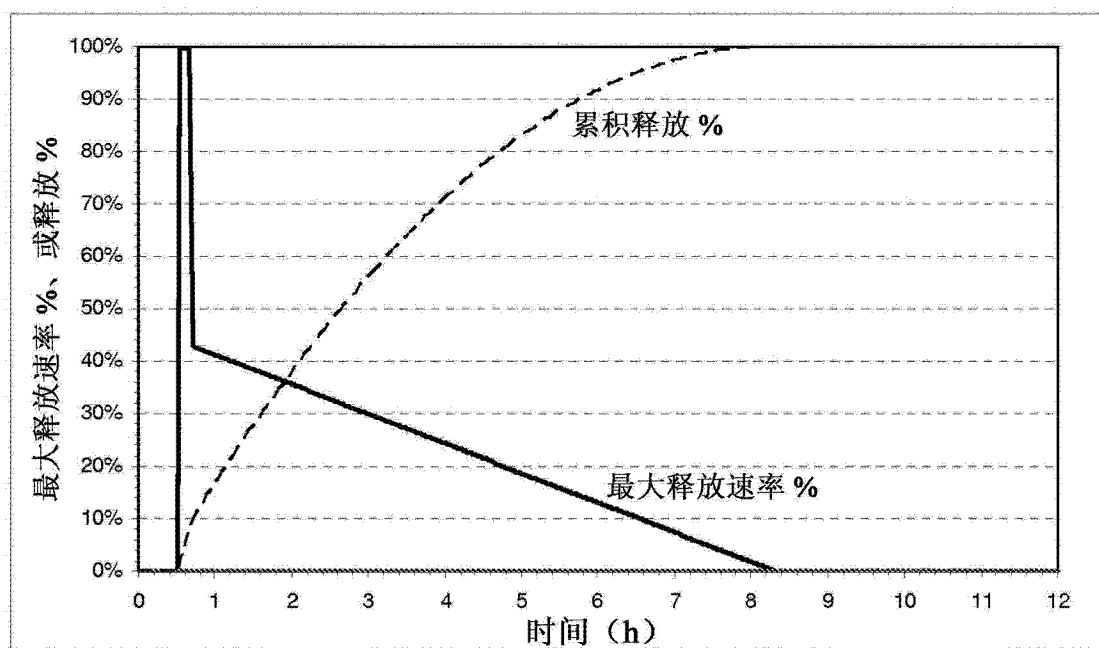
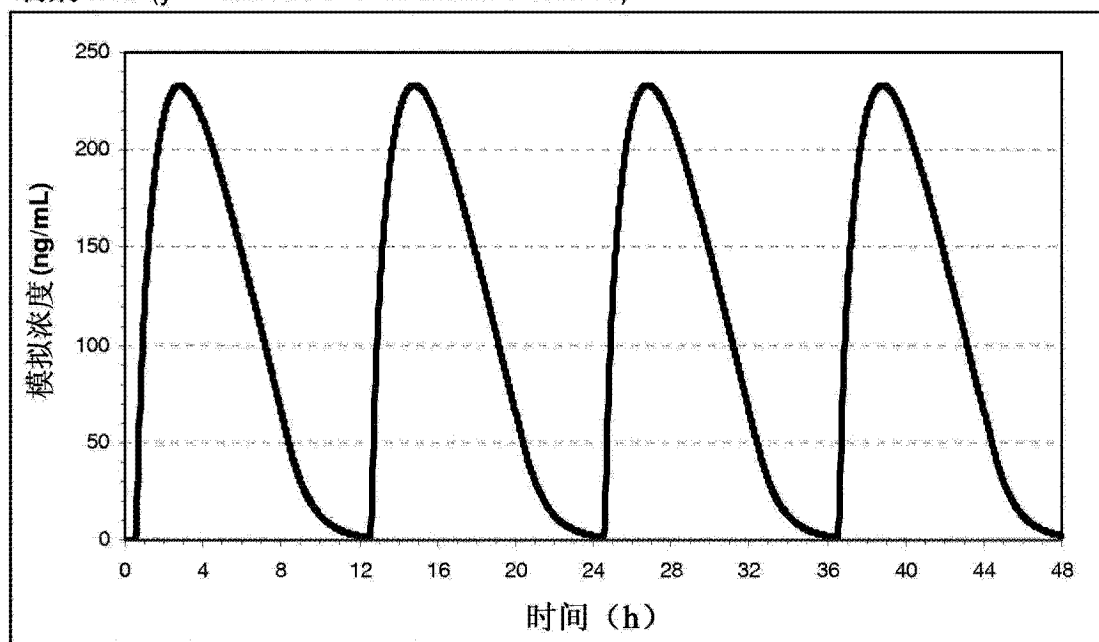
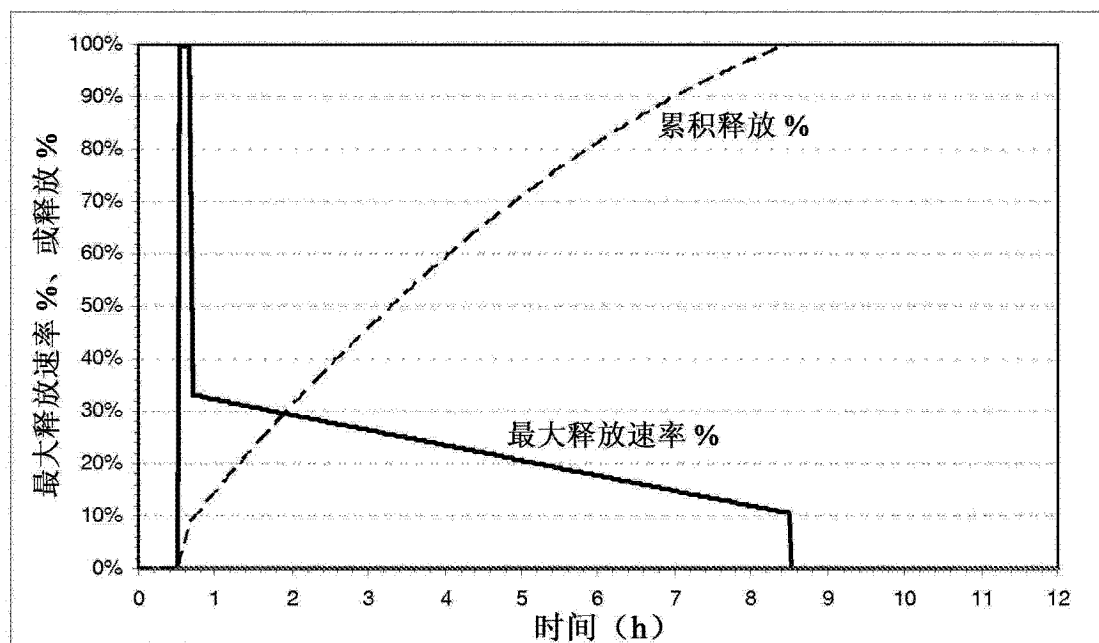
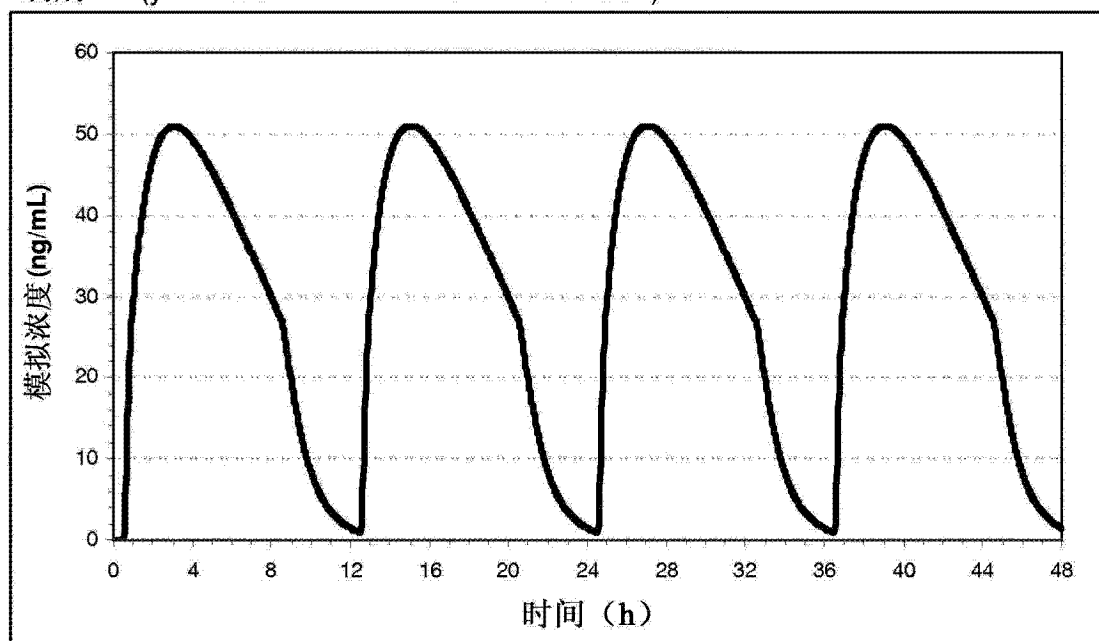
制剂12C ($y = -0.0185x^2 + 0.2886x + 0.0615$)

图 8

制剂13 ($y = -0.0021x^2 + 0.0487x + 0.01597$)



注：该多项式拟合预测仅 80 mg 片剂含量的 27% 在 8 小时期间内释放（释放了 21.6 mg）。该模拟假定，在 8 小时内仅释放了 80 mg 剂量的 27%，然后该片剂不再释放物质。由该多项式所预测的最大可能释放为约 29%，这需要约 11.5 小时。

图 9

制剂对照 (80 mg 即释; 在 30 分钟内 100% 释放)

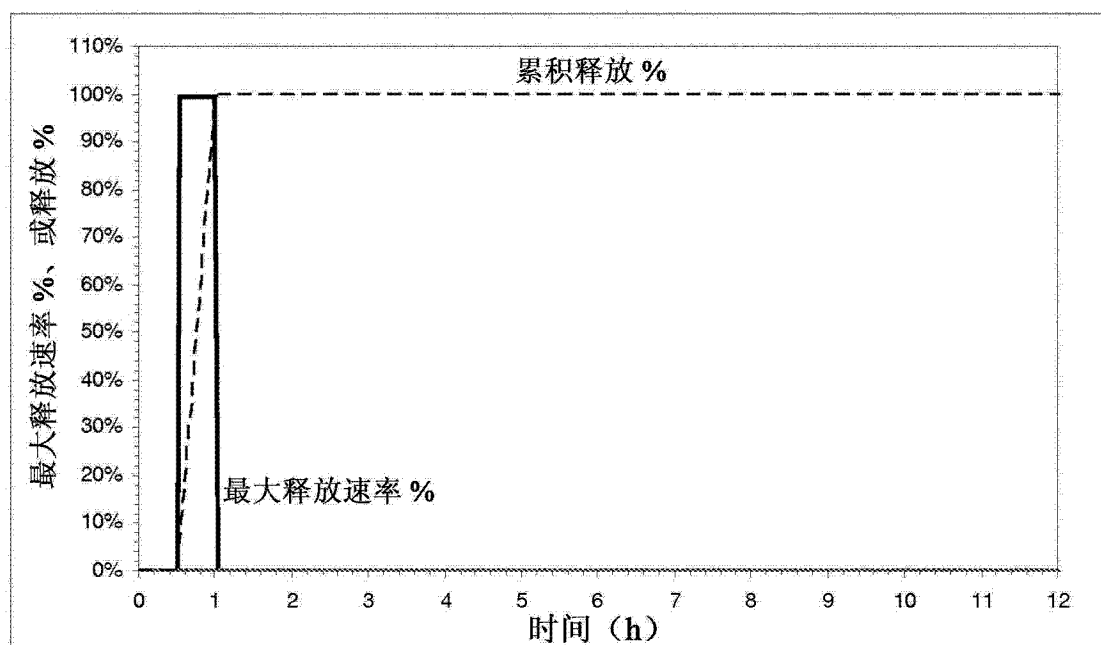
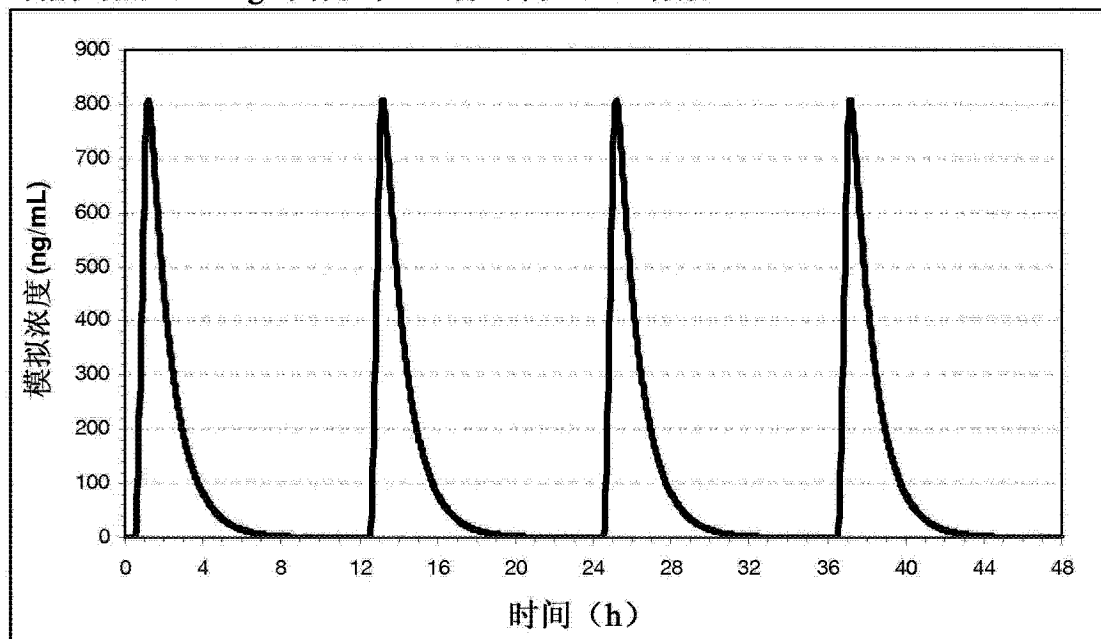


图 10

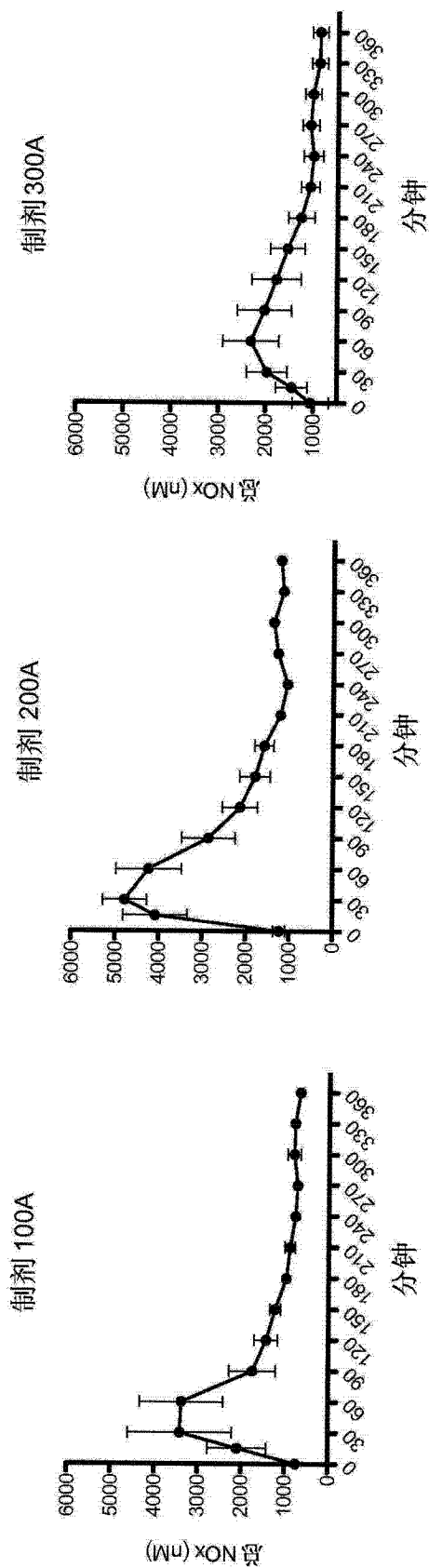


图 11

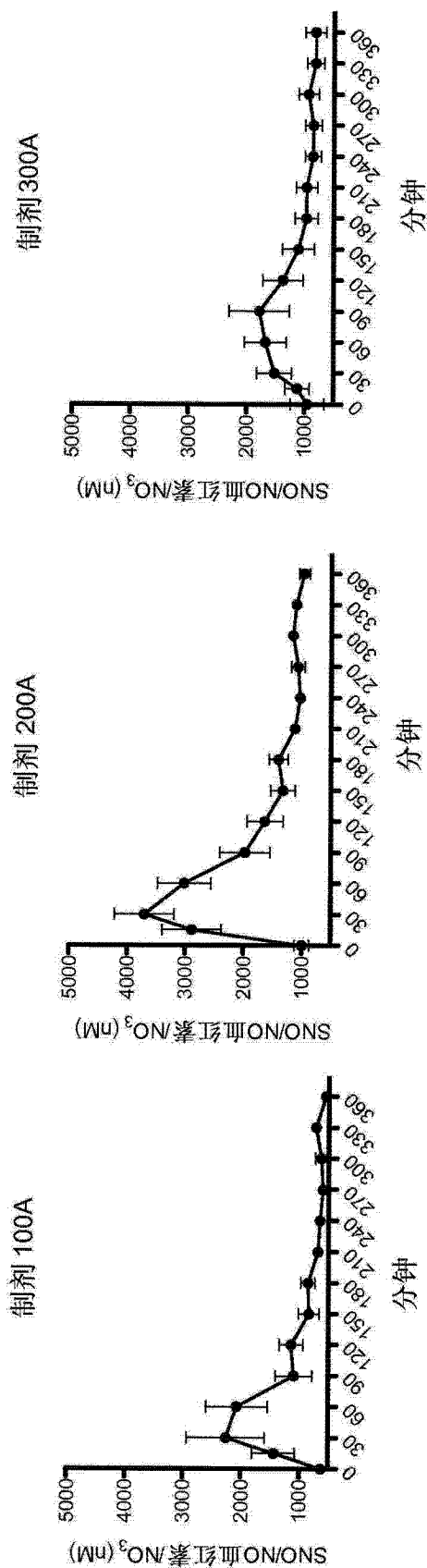


图 12

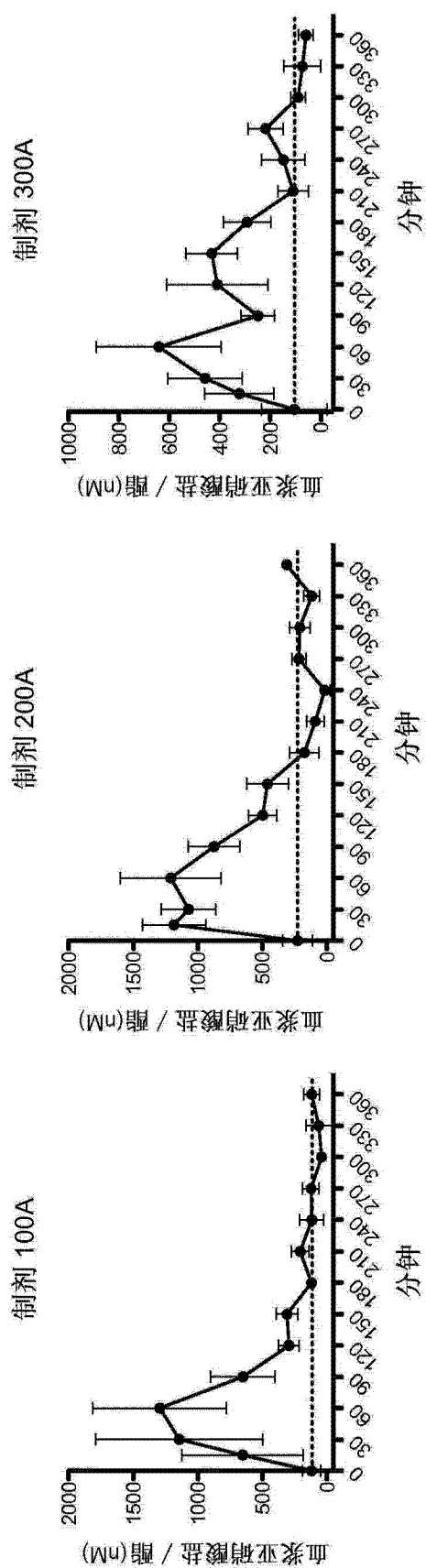


图 13