



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104587479 A

(43) 申请公布日 2015. 05. 06

(21) 申请号 201510045369. 9

A61K 47/18(2006. 01)

(22) 申请日 2003. 12. 09

A61P 35/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

A61P 9/00(2006. 01)

60/432, 317 2002. 12. 09 US

A61K 31/337(2006. 01)

60/526, 544 2003. 12. 03 US

A61K 31/436(2006. 01)

60/526, 773 2003. 12. 04 US

60/527, 177 2003. 12. 05 US

(62) 分案原申请数据

200380109606. 9 2003. 12. 09

(71) 申请人 阿布拉西斯生物科学有限责任公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 N·P·德赛 A·杨 S·X·司 T·德

V·德留 P·宋祥

B·比尔斯·格里姆 姚强

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任

公司 11021

代理人 纪晓峰

(51) Int. Cl.

A61K 47/42(2006. 01)

权利要求书1页 说明书29页

(54) 发明名称

组合物和传递药剂的方法

(57) 摘要

本发明涉及包含药剂和药用载体的药物组合物,所述载体包含蛋白质,例如人血清清蛋白和/或去铁胺。人血清清蛋白以有效降低一种或多种与给药药物组合物有关的副作用的量存在。本发明还提供降低一种或多种给药药物组合物的副作用的方法,抑制药物组合物中微生物生长和氧化的方法,和增强药剂转运至细胞和药剂与细胞结合的方法。

1. 一种包含药剂和药用载体的药物组合物,其中所述药用载体包含清蛋白,其中所述清蛋白与所述药剂的比率(重量/重量)为1:1到18:1,并且其中所述药物组合物包含纳米粒,所述纳米粒包含所述药剂和清蛋白。

2. 权利要求1的药物组合物,其中所述药剂选自由下述组成的组:紫杉醇,多西他赛,紫杉烷类,喜树碱,丙泊酚,胺碘酮,环孢菌素,雷帕霉素,两性霉素,碘塞罗宁,埃坡霉素,秋水仙碱,甲状腺激素类,血管活性肠肽,皮质甾类,褪黑激素,他克莫司,麦考酚酸,和它们的衍生物。

3. 权利要求2的药物组合物,其中所述药剂是紫杉醇。

4. 权利要求2的药物组合物,其中所述药剂是雷帕霉素。

5. 权利要求1-4中任一项的药物组合物,其中所述清蛋白与所述药剂的比率(重量/重量)为1:1到9:1。

6. 权利要求1的药物组合物,其中所述纳米粒具有小于200nm的粒径。

7. 权利要求1的药物组合物,其中所述清蛋白是人血清清蛋白。

8. 权利要求7的药物组合物,其中所述纳米粒具有小于200nm的粒径。

9. 权利要求3的药物组合物,其中在所述药物组合物中所述清蛋白与紫杉醇的比率(重量/重量)为1:1到5:1。

10. 权利要求3的药物组合物,其中在所述药物组合物中所述清蛋白与紫杉醇的比率(重量/重量)为9:1。

11. 权利要求10的药物组合物,其中所述纳米粒具有小于200nm的粒径。

12. 权利要求1的药物组合物,其中所述组合物包含0.1重量%至25重量%的清蛋白。

13. 权利要求12的药物组合物,其中所述药物组合物包含0.5重量%至5重量%的清蛋白。

14. 权利要求3的药物组合物,其中所述紫杉醇基本上不含聚氧乙烯蓖麻油®。

15. 权利要求1-13中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物被脱水。

16. 权利要求15的药物组合物,其中所述药物组合物被冻干。

17. 权利要求1-13中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物是液体。

18. 权利要求17的药物组合物,其中所述组合物具有5.0到8.0的pH。

19. 权利要求17的药物组合物,其中所述组合物包含盐水。

20. 权利要求1-13中任一项的药物组合物,其中所述组合物是无菌的。

21. 权利要求1-13中任一项的药物组合物,其中所述组合物为单位剂量。

22. 权利要求1-13中任一项的药物组合物,其中所述组合物为多剂量。

23. 权利要求1-13中任一项的药物组合物,其中所述组合物被容纳在密封容器中。

24. 权利要求1-13中任一项的药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的应用。

25. 权利要求24的应用,其中所述癌症是肺癌。

26. 权利要求24的应用,其中所述癌症是乳腺癌。

27. 权利要求24的应用,其中所述癌症是卵巢癌。

28. 权利要求24的应用,其中所述癌症是胰腺癌。

29. 权利要求1-13中任一项的药物组合物在制备用于治疗心血管疾病的药物中的应用。

组合物和传递药剂的方法

[0001] 本申请是于 2003 年 12 月 9 日提出的国际申请 PCT/US2003/038941 (国家申请号: 200380109606.9, 发明名称: 组合物和传递药剂的方法) 的分案申请。

[0002] 对相关专利申请的交叉引用

[0003] 本专利申请要求在 2002 年 12 月 9 日提出的美国临时专利申请 60/432,317、在 2003 年 12 月 3 日提出的美国临时专利申请 (律师备案号 225519)、在 2003 年 12 月 4 日提出的美国临时专利申请 (律师备案号 225549) 和在 2003 年 12 月 5 日提出的美国临时专利申请 (律师备案号 225585) 的利益。

发明领域

[0004] 本发明涉及用于肠胃外或其他内部使用、包含药物活性剂的药物组合物, 其与可获的类似药物制剂比较时具有降低在给药时某些不希望有的副作用的效果。

[0005] 发明背景

[0006] 公认许多用于肠胃外使用的药物, 特别是静脉内给药的那些, 导致不希望有的副作用如静脉刺激, 静脉炎, 注射时的烧灼感和疼痛, 静脉血栓形成, 外渗和其它给药相关的副作用。这些药物中的许多不溶于水, 因此与增溶剂、表面活性剂、溶剂和 / 或乳化剂配制, 当给药于患者时这些增溶剂、表面活性剂、溶剂和 / 或乳化剂是刺激性的、变应性的或有毒的 (参见例如, Briggs 等, *Anesthesia* 37, 1099 (1982), 和 Waugh 等, *Am. J. Hosp. Pharmacists*, 48, 1520 (1991))。经常, 存在于制剂中的游离药物在给药后诱导疼痛或刺激。例如, 在作为晚期非小细胞肺癌的一线化学疗法接受外周静脉给药异环磷酰胺和长春瑞滨的患者中, 患者中的 50% 观察到了静脉炎。 (参见例如 Vallejo 等, *Am. J. Clin. Oncol.*, 19(6), 584-8 (1996))。此外, 已经显示万古霉素诱导副作用如静脉炎 (参见例如, Lopes Rocha 等, *Braz. J. Infect. Dis.*, 6(4), 196-200 (2002))。在实体瘤患者中使用顺铂、吉西他滨和 SU5416 已经导致不利事件如深度静脉血栓形成和静脉炎 (参见例如, Kuenen 等, *J. Clin. Oncol.*, 20(6), 1657-67 (2002))。另外, 丙泊酚 (一种麻醉剂) 在注射时可以诱导疼痛, 烧灼感和静脉刺激, 特别是当作为卵磷脂稳定的脂肪乳剂给药时 (参见例如, Tan 等, *Anesthesia*, 53, 468-76, (1998))。其它显示给药相关副作用的药物包括例如泰素 (紫杉醇) (参见例如, 泰素的包装说明书 I. V.), codarone (盐酸胺碘酮) (参见例如, Codarone 的包装说明书), 甲状腺激素 T3 或碘塞罗宁 (可作为复方碘塞罗宁商购), 塞替派, 博来霉素, 和诊断放射造影剂。

[0007] 与制备注射用药物、特别是水不溶性药物相关的另一问题是确保无菌。通过在制备前将所有组分绝对消毒, 接着通过在所有制备阶段中的绝对无菌技术可以完成药物乳剂 / 分散体的无菌制备。然而, 这些方法耗时且昂贵。另外, 在制备或贮存期间通过暴露于空气而氧化药物制剂可以导致例如降低的 pH, 药物降解, 和变色, 由此使药物制剂不稳定和 / 或减小了贮藏寿命。

[0008] 为了避免药物制剂与给药相关的副作用有关的问题, 已经尝试代替的制剂。例如关于丙泊酚, 降低丙泊酚诱导的疼痛的方法包括增加溶剂的脂肪含量 (例如长链甘油

三酸酯 (LCT)), 术前用药法, 用非甾族药物预处理, 局部麻醉, 阿片样物质, 加入利多卡因, 加入环糊精, 和微量过滤法 (参见例如, Mayer 等, *Anaesthesist*, 45(11), 1082-4(1996), Davies, 等 *Anaesthesia*, 57, 557-61(2002), Doenicke, 等, *Anaesth. Analg.*, 82, 472-4(1996), Larsen 等, *Anaesthesitis*, 50, 842-5(2001), Lilley 等, *Anaesthesia*, 51, 815-8(1996), Bielen 等, *Anaesth. Analg.*, 82(5), 920-4(1996), 和 Knibbe 等, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 47(6), 653-60(1999))。然而, 这些制剂诱导其它副作用 (例如心血管并发症) 或导致丙泊酚制剂的不稳定。

[0009] 为了克服细菌污染的问题, 已经用抗菌剂如 EDTA 等价物 (如乙二胺四乙酸盐)、喷替酸盐或含亚硫酸盐的试剂开发丙泊酚制剂, 或者将它们用较低 pH 配制 (参见例如, 美国专利 5, 714, 520、5, 731, 355、5, 731, 356、6, 028, 108、6, 100, 302、6, 147, 122、6, 177, 477、6, 399, 087、6, 469, 069 和国际专利申请号 WO 99/39696)。然而, 由于乙二胺四乙酸盐和喷替酸盐是金属离子整合剂, 它们具有从身体细胞中清除必需金属离子的危险潜力。此外, 将亚硫酸盐加入药物制剂对儿科人群和对硫敏感的普通人群中的那些带来了潜在的不利作用。

[0010] 因此, 仍需要降低或消除与肠胃外或体内给药药物有关的副作用的组合物和方法。还需要无菌的药物组合物和制备这种组合物的方法。另外, 需要降低或消除药物制剂氧化以防止药物不稳定的药物组合物和方法。

[0011] 本发明提供这些组合物和方法。本发明的这些和其它优势以及另外的发明特征将从这里提供的本发明的描述中变得明显。

[0012] 发明概述

[0013] 本发明提供药物组合物的各种实施方案。各种实施方案中的一个, 一些或所有性能可以在本发明不同的实施方案中发现并且仍然属于后附权利要求的范围内。

[0014] 本发明提供一种包含药剂和药用载体的药物组合物, 其中所述药用载体包含蛋白质如清蛋白, 更优选人血清清蛋白, 其量有效降低一种或多种将药物组合物给药于人的副作用, 且其中所述药用载体包含去铁胺, 其量有效抑制药物组合物中的微生物生长。本发明还提供包含药剂和药用载体的药物组合物, 其中所述药用载体包含蛋白质如清蛋白, 其量有效降低一种或多种将药物组合物给药于人的副作用, 且其中所述药用载体包含去铁胺, 其量有效抑制药物组合物中的氧化。

[0015] 本发明提供降低一种或多种与将药物组合物给药于人相关的副作用的方法, 该方法包含 (a) 向人给药包含药剂和药用载体的药物组合物, 其中所述药用载体包含清蛋白和去铁胺。本发明还提供用于在药物组合物中抑制微生物生长, 或抑制氧化, 或抑制微生物生长和氧化的方法。这些方法包含制备包含药剂和药用载体的药物组合物, 其中所述药用载体以有效抑制药物组合物中微生物生长的量或以有效抑制药物组合物氧化的量包含去铁胺。

[0016] 本发明还提供用于增强药剂向虚弱部位转运的方法, 该方法包含向人给药包含药剂和药用载体的药物组合物, 其中所述药用载体包含清蛋白, 且其中清蛋白与药物组合物中的药剂的比率为约 18 : 1 或更小。本发明进一步提供用于增强药剂与体外或体内细胞结合的方法, 该方法包含向所述体外或体内细胞给药包含药剂和药用载体的药物组合物, 其中所述药用载体包含清蛋白, 且其中清蛋白与药物组合物中的药剂的比率为约 18 : 1 或

更小。

[0017] 本发明还提供包含药剂和药用载体的药物组合物,其中所述药用载体以有效增加药物向人虚弱部位转运的量包含清蛋白,且其中清蛋白与药剂的比率为约 18 : 1 或更小。

[0018] 本发明进一步提供通过将所述药剂与蛋白质组合来增加药剂向体外或体内细胞转运的方法,其中所述蛋白质结合所述细胞上的特异细胞表面受体,其中所述蛋白质-药剂组合与所述受体的结合导致转运发生,且其中清蛋白与药剂的比率为约 18 : 1 或更小。

[0019] 发明详述

[0020] 本发明提供一种包含药剂和药用载体的药物组合物,其中所述药用载体包含蛋白质如清蛋白,优选人血清清蛋白,其量有效降低一种或多种将药物组合物给药于人的副作用,且其中所述药用载体包含去铁胺,其量有效抑制药物组合物中的微生物生长。本发明还提供包含药剂和药用载体的药物组合物,其中所述药用载体包含蛋白质如清蛋白,其量有效降低一种或多种将药物组合物给药于人的副作用,且其中所述药用载体包含去铁胺,其量有效抑制药物组合物中的氧化。

[0021] 任何适当的药剂可以用于本发明的药物组合物中。适当的药剂包括但不限于抗癌剂或抗肿瘤药,抗微管剂,免疫抑制剂,麻醉剂,激素,用于心血管病症的药剂,抗心率失常药,抗生素,抗真菌剂,抗高血压药,抗喘药,镇痛药,抗炎药,抗关节炎剂,和血管活性剂。本发明还与许多其它药物类别有效。更具体地,适当的药剂包括但不限于紫杉烷类,(例如泰素[®](紫杉醇),和泰索帝[™](多西他赛)),埃坡霉素(epothilones),喜树碱,秋水仙碱,胺碘酮,甲状腺激素类,血管活性肽(例如血管活性肠肽),两性霉素,皮质甾类,丙泊酚,褪黑激素,环孢菌素,雷帕霉素(西罗莫司),他克莫司,麦考酚酸,异环磷酰胺,长春瑞滨,万古霉素,吉西他滨,SU5416,塞替派,博来霉素,诊断放射造影剂,及它们的衍生物。可以用于本发明组合物的其它药物描述于例如美国专利 5,916,596 和共同待审的美国专利申请号 09/446,783,优选地,药剂是丙泊酚,紫杉醇,或多西他赛。更优选地,药剂是丙泊酚或紫杉醇。最优选地,药剂是丙泊酚。

[0022] 泰素[®](紫杉醇)(Bristol-Myers Squibb)对卵巢癌、乳腺癌、肺癌、食管癌和头颈癌有活性。然而,泰素已经显示诱导与给药有关的毒性,以及显著的急性和累积毒性,如骨髓抑制,中性粒细胞减少性发热,过敏反应,和周围神经病。因为紫杉醇难溶于水,典型地将聚氧乙烯蓖麻油(cremophor)用作溶剂,需要大输注体积和特别的导管和滤器。聚氧乙烯蓖麻油与副作用相关,这些副作用可以是严重的,包括过敏症和其它过敏性反应,这可能要求用皮质甾类、抗组胺和H₂阻断剂预处理(参见例如,Gelderblom等,Eur. J of Cancer, 37,1590-1598,(2001))。泰索帝[™](多西他赛)用于治疗抗蒽环霉素的乳腺癌,但是也已经显示诱导过敏和体液潴留的副作用,这可能是严重的。埃坡霉素(及其衍生物)也典型地在聚氧乙烯蓖麻油中给药,并且已经显示诱导严重的中性粒细胞减少,过敏和神经病。

[0023] 丙泊酚(2,6-二异丙基苯酚)是疏水性的、水不溶性油,广泛用作静脉麻醉药来诱导和保持人和动物的全身麻醉和镇静。丙泊酚典型地直接给药于血流中并通过血脑屏障。包含丙泊酚的药物组合物必须具有足够的脂溶性以通过该屏障和抑制大脑的相关机制。丙泊酚在水中在 22.5°C 具有的最大溶解度为 1.0+/-0.02 μM(参见例如, Tonner 等, Anesthesiology, 77,926-931(1992))。因此,丙泊酚通常作为含有增溶剂、表面活性剂、溶

剂的乳剂配制,或作为水包油型乳剂配制(参见例如,U.S.专利6,150,423、6,326,406和6,362,234)。除了活性药剂以外,本发明的组合物还包括药物载体或赋形剂。载体的选择不一定是关键的,任何本领域已知的载体可以用于组合物中。载体的选择优选部分地通过药物组合物给药的具体部位和用于给药药物组合物的具体方法来确定。优选地,药用载体包含蛋白质。可以使用任何适当的蛋白质。适当蛋白质的实例包括但不限于清蛋白,包括IgA的免疫球蛋白,脂蛋白,载脂蛋白B, β -2-巨球蛋白,甲状腺球蛋白等。最优选地,药用载体包含清蛋白,最优选人血清清蛋白。适合于本发明的包括清蛋白的蛋白质可以是天然来源的或者合成制备的。

[0024] 人血清清蛋白(HSA)是 M_r 65K的高度可溶的球蛋白,由585个氨基酸组成。HSA是血浆中最丰富的蛋白质并且占人血浆胶体渗透压的70-80%。HSA的氨基酸序列包含总共17个二硫桥,一个自由硫醇(Cys 34),和单个色氨酸(Trp 214)。静脉使用HSA溶液已经显示用于预防和治疗低血容量性休克(参见例如,Tullis, JAMA, 237, 355-360, 460-463, (1977))和Houser等, Surgery, Gynecology and Obstetrics, 150, 811-816 (1980))和换血疗法一起用于治疗新生儿血胆红素过多(参见例如, Finlayson, Seminars in Thrombosis and Hemostasis, 6, 85-120, (1980))。

[0025] 人血清清蛋白(HSA)具有多个疏水结合位点(总共8个针对脂肪酸, HSA的内源性配体)和结合各种各样的药物,特别是中性或带负电的疏水化合物(Goodman等, The Pharmacological Basis of Therapeutics, 第9版, McGraw-Hill New York (1996))。在HSA的亚结构域IIA和IIIA已经提出了两个高亲和力结合位点,它们是高度延伸的疏水囊,在表面附近具有带电的赖氨酸和精氨酸残基,用作极性配体特征的连接点(参见例如, Fehske等, Biochem. Pharmacol., 30, 687-92 (1981), Vorum, Dan. Med. Bull., 46, 379-99 (1999), Kragh-Hansen, Dan. Med. Bull., 1441, 131-40 (1990), Curry等, Nat. Struct. Biol., 5, 827-35 (1998), Sugio等, Protein. Eng., 12, 439-46 (1999), He等, Nature, 358, 209-15 (1992), 和Carter等, Adv. Protein. Chem., 45, 153-203 (1994))。紫杉醇和丙泊酚已经显示结合HSA(参见例如, Paal等, Eur. J. Biochem., 268 (7), 2187-91 (2001), Purcell等, Biochim. Biophys. Acta, 1478 (1), 61-8 (2000), Altmayer等, Arzneimittelforschung, 45, 1053-6 (1995), 和Garrido等, Rev. Esp. Anestesiol. Reanim., 41, 308-12 (1994))。另外,多西他赛已经显示结合人血浆蛋白(参见例如, Urien等, Invest. New Drugs, 14 (2), 147-51 (1996))。因此,尽管不希望束缚于任何一种具体理论,但是认为将蛋白质如清蛋白包括在本发明的药物组合物中导致与给药药物组合物有关的副作用的降低,这至少部分是由于人血清清蛋白与存在于组合物中的任何游离药物的结合。

[0026] 包括在本发明药物组合物中的清蛋白的量将根据药物活性剂、其它赋形剂和预期给药的途径和位点而变化。理想地,包括在组合物中的清蛋白的量是由于向人给药本发明的药物组合物有效降低一种或多种活性药剂的副作用的量。典型地,将药物组合物制备成液体形式,然后将清蛋白加入至溶液中。优选地,液体形式的药物组合物包含约0.1重量%至约25重量%(例如约0.5重量%,约5重量%,约10重量%,约15重量%,或约20重量%)的清蛋白。最优选地,液体形式的药物组合物包含约0.5重量%至约5重量%的清蛋白。药物组合物可以例如通过冻干、喷雾干燥、流化床干燥、湿式制粒法和其它本领域已知的适当方法脱水。当以固体形式,如通过湿式制粒法、流化床干燥和本领域技术人员已知

的其它方法制备组合物时,优选将清蛋白作为溶液涂覆于活性药剂和其它赋形剂(如果存在)。HSA 溶液优选有约 0.1 重量%至约 25 重量%(约 0.5 重量%,约 5 重量%,约 10 重量%,约 15 重量%,或约 20 重量%)的清蛋白。

[0027] 除了清蛋白以外,本发明的组合物优选还包含去铁胺。去铁胺是分离自 *Streptomyces pilous* 的天然产物,能够形成铁络合物。例如用于注射 USP 的甲磺酸去铁胺被食品与药物管理局批准为铁螯合剂且可供用于肌内、皮下和静脉内给药。甲磺酸去铁胺 USP 是白色至灰白色的粉末。它易溶于水并且它的分子量是 656.79。甲磺酸去铁胺的化学名称是 N-[5-[3-[(5-氨基戊基)-羟基氨基甲酰基]-丙-酰氨基]戊基]-3[[5-((N-羟基乙酰氨基)戊基)-氨基甲酰基]丙酰异羟肟酸一甲磺酸盐(盐),它的结构式是 $C_{25}H_{48}N_6O_8 \cdot CH_3SO_3H$ 。如实施例所述,去铁胺或其类似物、衍生物或盐(例如甲磺酸盐)抑制药物组合物中的微生物生长和氧化,认为它结合组合物中的游离药物。去铁胺还显示结合酚类化合物(参见例如, Juven 等, *J. Appl. Bacteriol.*, 76(6), 626-31(1994))。紫杉醇,多西他赛,丙泊酚等或者类似酚或者具有酚或苯基取代基。因此,认为去铁胺可以结合本发明药物组合物中的游离药物或减少本发明药物组合物中的游离药物的量,由此还降低或减轻了注射时的刺激或疼痛。

[0028] 包括在组合物中的去铁胺或其优选盐(即去铁胺的甲磺酸盐)的量将取决于活性药剂和其它赋形剂。理想地,在组合物中去铁胺、其盐及其类似物的量是有效抑制微生物生长和/或抑制氧化的量。如上所述,典型地药物组合物以液体形式制备,然后将去铁胺及其类似物以溶液形式加入。优选地,液体形式的药物组合物包含约 0.0001 重量%至约 0.5 重量%(例如,约 0.005 重量%,约 0.1 重量%,或约 0.25 重量%)的去铁胺、其盐或其类似物。更优选地,液体形式的组合物包含类似量的优选的去铁胺盐,甲磺酸去铁胺。更优选地,液体形式的药物组合物包含约 0.1 重量%的甲磺酸去铁胺。当以固体形式,如上所述,如通过湿式制粒法、流化床干燥和本领域技术人员已知的其它方法制备组合物时,优选将甲磺酸去铁胺作为溶液加入活性药剂和其它赋形剂(如果存在)。甲磺酸去铁胺溶液优选有约 0.0001 重量%至约 0.5 重量%(例如,约 0.005 重量%,约 0.1 重量%,或约 0.25 重量%)的去铁胺。

[0029] 与本发明一致,药物组合物可以包括其它药剂,赋形剂或稳定剂以改善组合物的性能。例如,为了通过增加纳米粒或纳米滴的负 ζ 电位来增加稳定性,可以加入某些带负电组分。这些带负电组分包括但不限于胆汁酸的胆汁盐类,所述胆汁酸由下列各项组成:甘氨酸胆酸,胆酸,鹅脱氧胆酸,牛磺胆酸,甘鹅脱氧胆酸(glycochenodeoxycholic acid),牛磺鹅脱氧胆酸(taurochenodeoxycholic acid),石胆酸,乌索脱氧胆酸(ursodeoxycholic acid),脱氢胆酸和其它;磷脂,包括卵磷脂(蛋黄)基磷脂,该卵磷脂(蛋黄)基磷脂包括下列磷脂酰胆碱:棕榈酰油酰磷脂酰胆碱,棕榈酰亚油酰磷脂酰胆碱,硬脂酰亚油酰磷脂酰胆碱,硬脂酰油酰磷脂酰胆碱,硬脂酰花生四烯酰磷脂酰胆碱,和二棕榈酰磷脂酰胆碱。其它磷脂包括 L- α -二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(DMPC),二油酰磷脂酰胆碱(DOPC),二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC),氢化大豆磷脂酰胆碱(HSPC),D- α -磷脂酰胆碱, β -乙酰基- γ -0-十六烷基, L- α -磷脂酰胆碱, β -乙酰基- γ -0-十六烷基, DL- α -磷脂酰胆碱, β -乙酰基- γ -0-十六烷基, L- α -磷脂酰胆碱, β -乙酰基- γ -0-十八烷基, L- α -磷脂酰胆碱, β -花生四烯酰- γ -0-十六烷基, L- α -磷脂酰胆碱, β -乙酰基- γ -0-(十八碳-9-顺-烯

基), D- α -磷脂酰胆碱, β -花生四烯酰- γ -O-棕榈酰, 3-sn-磷脂酰胆碱, 2-花生四烯酰-1-硬脂酰, L- α -磷脂酰胆碱, β -花生四烯酰- γ -硬脂酰, L- α -磷脂酰胆碱, 二花生四烯酰, L- α -磷脂酰胆碱, 二(山萘炔酰), L- α -磷脂酰胆碱, β -(顺-8, 11, 14-二十碳三烯酰)- γ -O-十六烷基, L- α -磷脂酰胆碱, β -油酰- γ -肉豆蔻酰, L- α -磷脂酰胆碱, β -(苡-1-基)癸酰基- γ -棕榈酰, 3-sn-磷脂酰-N, N-二甲基乙醇胺, 1, 2-二棕榈酰, L- α -磷脂酰乙醇胺, 二(十七烷酰), 3-sn-磷脂酰乙醇胺, 1, 2-二月桂酰, 3-sn-磷脂酰乙醇胺, 1, 2-二肉豆蔻酰, 3-sn-磷脂酰乙醇胺, 1, 2-二油酰, 3-sn-磷脂酰乙醇胺, 1, 2-二棕榈酰, L- α -磷脂酰乙醇胺, 二棕榈酰, L- α -磷脂酰乙醇胺, 二棕榈酰, N-丹酰, L- α -磷脂酰乙醇胺, 二棕榈酰, N, N-二甲基, L- α -二肉豆蔻酰磷脂酰甘油(钠盐)(DMPG), 二棕榈酰磷脂酰甘油(钠盐)(DPPG), 二硬脂酰磷脂酰甘油(钠盐)(DSPG), N-(羰基-甲氧基聚乙二醇 2000)-1, 2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺钠(MPEG-DSPE), L- α -磷脂酸, 二癸酰基钠盐, L- α -磷脂酸, 二(十七碳酰)钠盐, 3-sn-磷脂酸, 1, 2-二肉豆蔻酰钠盐, L- α -磷脂酸, 二辛酰基钠盐, L- α -磷脂酸, 二油酰钠盐, L- α -磷脂酸, 二棕榈酰钠盐, L- α -磷脂酰-DL-甘油, 二肉豆蔻酰钠盐, L- α -磷脂酰-DL-甘油, 二油酰钠盐, L- α -磷脂酰-DL-甘油, 二棕榈酰铵盐, L- α -磷脂酰-DL-甘油, 二硬脂酰铵盐, L- α -磷脂酰-DL-甘油, β -油酰- γ -棕榈酰铵盐, L- α -磷脂酰肌醇铵盐, L- α -磷脂酰肌醇钠盐, L- α -磷脂酰-L-丝氨酸, 二油酰钠盐, L- α -磷脂酰-L-丝氨酸, 和二棕榈酰钠盐。带负电的乳化剂的表面活性剂也适合作为添加剂, 例如胆甾醇基硫酸钠等。

[0030] 药剂(例如丙泊酚)可以单独使用或溶解在水不混溶的溶剂中。可以使用各种各样的水不混溶的溶剂如大豆油, 红花油, 棉籽油, 玉米油, 向日葵油, 花生油, 蓖麻油, 橄榄油。优选的油是植物油, 其中最优选大豆油。大豆油可以在组合物重量的1%-10%范围内使用。优选大豆油以约3重量%的量存在于组合物中。

[0031] 本发明的药物组合物可以用药用表面活性剂稳定。这里使用的术语“表面活性剂”是指两性分子的表面活性基团。表面活性剂可以是阴离子型, 阳离子型, 非离子型和两性离子型。任何适当的表面活性剂可以包括在本发明的药物组合物中。适当的表面活性剂包括非离子型表面活性剂如磷脂, 聚氧乙烯失水山梨醇酯, 和生育酚聚氧乙烯琥珀酸酯(TPGS)。对于含有大豆油的制剂, 优选卵磷脂且对于含有3%大豆油的制剂不超过组合物的1.2重量%, 优选1.1重量%。对于不含大豆油的制剂, 吐温80或维生素E-TPGS是优选的表面活性剂。典型, 0.1-1.5重量%的吐温80或0.5-4重量%的维生素E-TPGS是适当的。优选地, 使用1.5重量%的吐温80或1重量%的维生素E-TPGS。其它适当表面活性剂的实例描述于例如Becher, Emulsions: Theory and Practice, Robert E. Krieger Publishing, Malabar, Fla. (1965)中。

[0032] 存在各种各样的本发明药物组合物的适当制剂(参见例如, U. S. 专利5, 916, 596)。下列制剂和方法仅仅是例举性的而绝非限制性的。适于口服给药的制剂可以由以下各项组成:(a) 液体溶液, 如有效量的溶于稀释剂中的化合物, 所述稀释剂如水, 盐水或橙汁, (b) 胶囊, 小药囊或片剂, 各自含有预定量的作为固体或颗粒的活性成分, (c) 在适当液体中的混悬剂, 和(d) 适当的乳剂。片剂形式可以包括一种或多种乳糖, 甘露糖醇, 玉米淀粉, 马铃薯淀粉, 微晶纤维素, 阿拉伯胶, 明胶, 胶体二氧化硅, 交联羧甲基纤维素钠,

滑石,硬脂酸镁,硬脂酸,和其它赋形剂,着色剂,稀释剂,缓冲剂,润湿剂,防腐剂,调味剂,和药理学上相容的赋形剂。锭剂形式可以在调味剂中包含活性成分,所述调味剂通常为蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍胶,以及在惰性基质中包含活性成分的锭剂,所述惰性基质如明胶和甘油,或蔗糖和阿拉伯胶,除了活性成分以外还含有诸如本领域已知的赋形剂的乳剂、凝胶等。

[0033] 适合于肠胃外给药的制剂包括水性和非水性的等渗无菌注射液,其可以含有抗氧化剂,缓冲剂,抑菌剂,和使得制剂与期望接受者的血液等渗的溶质,和可以包括悬浮剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂的水性和非水性的无菌混悬剂。制剂可以以单位剂量或多剂量密封的容器提供,如安剂和小瓶,并且可以贮存在冷冻干燥(冻干)条件下,这在即刻使用前只要求加入无菌液体赋形剂,例如水以便注射。临时注射液和混悬剂可以从前述种类的无菌粉末、颗粒和片剂制备。优选注射制剂。

[0034] 适于气溶胶给药的制剂包含本发明的药物组合物,其包括可以含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和溶质的水性和非水性的等渗无菌溶液,以及可以包括悬浮剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂的水性和非水性无菌混悬剂,这些组分单独或与其它适当组分组合,可以制备成气溶胶制剂以通过吸入给药。这些气溶胶制剂可以放入加压可接受的推进剂中,所述推进剂如二氯二氟甲烷,丙烷,氮气等。它们还可以配制成用于非加压制剂的药物,如在喷雾器或雾化器中。

[0035] 其它适当的制剂是可能的,例如可以通过使用各种基质(base)如乳化基质或水不溶性基质来制备栓剂。适于阴道给药的制剂可以提供为阴道栓剂,棉塞,乳膏剂,凝胶剂,糊剂,泡沫,或喷雾剂制剂,其除了活性成分以外还含有诸如本领域已知的适当载体。

[0036] 在本发明的优选实施方案中,将药物组合物配制成具有4.5-9.0的pH,更优选5.0-8.0的pH。还可以通过加入适当渗透调节剂如甘油使得药物组合物与血液等渗。此外,药用载体优选还含有不含热原的水或注射用水,USP。优选地,本发明的药物组合物被制备成无菌水性制剂,纳米粒,水包油型乳剂,或油包水型乳剂。最优选地,药物组合物是水包油型乳剂。

[0037] 按照本发明,对于包含丙泊酚的药物组合物,可以通过将丙泊酚单独溶解在水不混溶的溶剂中和制备含有清蛋白、去铁胺、表面活性剂和其它水溶性成分的水相,将油与水相混合来制备水包油型乳剂。粗制乳剂在10,000至25,000psi的压力下高压均化并再循环5-20个周期以形成理想的乳剂。优选的压力是15,000至20,000psi,更优选10,000psi。粗制乳剂可以再循环7-15个周期且优选再循环15个周期。备选地,可以使用通过均化器的分开通道。

[0038] 优选地,本发明的药物组合物可以含有尺寸小于约200纳米(nm)的颗粒或液滴。例如,在紫杉醇,多西他赛,雷帕霉素,环孢菌素,丙泊酚和其它的情形中,这些分散体的平均尺寸小于200nm。

[0039] 本发明另外提供降低一种或多种与向人给药药物组合物有关的副作用的方法。该方法包含向人给药包含药剂和药用载体的药物组合物,其中所述药用载体包含清蛋白和去铁胺。以上结合本发明药物组合物陈述的药物组合物、药剂和药用载体、及其成分的描述也适用于本发明方法的那些相同方面。

[0040] 在本发明上下文中,本发明药物组合物给药于人的剂量将随着具体的药物组合

物、给药方法和被治疗的具体部位而变化。该剂量应当足以在期望时间范围内实现期望反应，如对特定疾病的治疗或预防反应，或者当药剂是麻醉剂如丙泊酚时麻醉反应。

[0041] 尽管任何适当的向人给药药物组合物的方式可以用于本发明上下文中，优选将本发明的药物组合物通过静脉内给药、动脉内给药、肺内给药、口服给药、吸入、膀胱内给药、肌内给药、气管内给药、皮下给药、眼内给药、鞘内给药或透皮给药给药于人。例如，本发明的药物组合物可以通过吸入给药以治疗呼吸道病症。与吸入本发明药物组合物有关的副作用最小，因为清蛋白是呼吸道内层和分泌物的天然成分。本发明组合物可以用于治疗呼吸道病症如肺纤维化，闭塞性细支气管炎，肺癌，支气管肺泡癌等。

[0042] 本发明的方法导致与向人给药药物组合物有关的一种或多种副作用的减小。这些副作用包括例如，骨髓抑制，神经毒性，过敏，炎症，静脉刺激，静脉炎，疼痛，皮肤刺激，及其组合。然而这些副作用仅仅是例举性的，通过使用本发明的新组合物和方法可以减小或避免与各种药剂有关的其它副作用或副作用组合。

[0043] 本发明另外提供抑制药物组合物中微生物生长的方法。“抑制微生物生长”是指从药物组合物中完全消除微生物，或降低药物组合物中微生物生长的量或速率。该方法包含制备包含药剂和药用载体的药物组合物，其中所述药用载体包含去铁胺，其盐，其类似物，及其组合，它们的量有效抑制药物组合物中的微生物生长。另外，本发明提供抑制药物组合物氧化的方法。该方法包含制备包含药剂和药用载体的药物组合物，其中所述药用载体包含去铁胺，其盐，其类似物，及其组合，它们的量有效抑制药物组合物的氧化。以上结合本发明药物组合物阐明的药物组合物、药剂、和药用载体、及其组分的描述也适用于本发明方法的那些相同方面。

[0044] 包括在组合物中的去铁胺，或其优选盐（去铁胺的甲磺酸盐）的量将取决于活性药剂和其它赋形剂。理想地，组合物中去铁胺，其盐，其类似物的量是有效抑制微生物生长和 / 或抑制氧化的量。如上所述，典型地，药物组合物以液体形式制备，然后将去铁胺，其盐，和其类似物加入至溶液中。优选地，液体形式的药物组合物包含约 0.0001 重量% 至约 0.5 重量%（例如约 0.005 重量%，约 0.1 重量% 或约 0.25 重量%）的去铁胺，其盐，或其类似物。更优选地，液体形式的组合物包含类似量的优选去铁胺盐，甲磺酸去铁胺。最优选地，液体形式的药物组合物包含约 0.5 重量% 的甲磺酸去铁胺。当组合物以固体形式制备时，如上所述，如通过湿式制粒法、流化床干燥和本领域技术人员已知的其它方法制备组合物时，优选将甲磺酸去铁胺作为溶液涂覆至活性药剂，和其它赋形剂（如果存在）。甲磺酸去铁胺溶液优选具有约 0.0001 重量% 至约 0.5 重量%（例如约 0.005 重量%，约 0.1 重量% 或约 0.25 重量%）的去铁胺。

[0045] 本发明还提供用于增强药剂向虚弱部位转运的方法，该方法包含向人给药包含药剂和药用载体的药物组合物，其中所述药用载体包含清蛋白，且其中药物组合物中清蛋白与药剂的比率为约 18 : 1 或更小。本发明进一步提供用于增强药剂与体外或体内细胞结合的方法，该方法包含向所述体外或体内细胞给药包含药剂和药用载体的药物组合物，其中所述药用载体包含清蛋白，且其中药物组合物中清蛋白与药剂的比率为约 18 : 1 或更小。以上结合本发明药物组合物和本发明方法阐明的药物组合物、药剂、药用载体、给药途径、及其组分的描述也适用于转运和结合方法的那些相同方面。

[0046] 在用于将药剂转运给虚弱部位或用于增强药剂与细胞结合的方法中，药用载体优

选包含清蛋白,最优选人血清清蛋白。不束缚于任何一种具体理论,认为蛋白质例如人血清清蛋白与药物组合物中的药剂的比率影响药剂与细胞结合的能力和药剂向细胞的转运。在这点上,蛋白质与药剂的较高比率通常与差的药剂的细胞结合和转运有关,这可能是受体在细胞表面上竞争的结果。蛋白质例如清蛋白与活性药剂的比率必须是使得足量药剂药剂与细胞结合或转运至细胞。蛋白质-药物制剂的例举性范围是蛋白质与药物比率(w/w)为0.01:1至约100:1。更优选地,比率为0.02:1至约40:1。尽管蛋白质与药剂的比率必须对不同的蛋白质和药剂组合优化,但是通常蛋白质例如清蛋白与药剂的比率为约18:1或更小(例如约15:1,约10:1,约5:1,或约3:1)。更优选地,比率为约0.2:1至约12:1。最优选地,比率为约1:1至约9:1。优选地,制剂基本上不含聚氧乙烯蓖麻油,更优选地不含聚氧乙烯蓖麻油 EL[®] (BASF)。聚氧乙烯蓖麻油 EL[®] 是非离子型乳化剂,是作为蓖麻油和聚氧乙烯的聚醚。如上所述,聚氧乙烯蓖麻油被典型地用作紫杉醇的溶剂,且与可能是严重的副作用有关(参见例如, Gelderblom 等,上文)。

[0047] 药剂可以是本文描述的任何适当的药剂(例如,丙泊酚,紫杉醇,或多西他赛)。另外,药剂可以是核酸序列,最优选 DNA 序列。这方面,本发明的药物组合物可以通过受体介导/腔穴(caveolar)/囊转运将基因转运至细胞。为了将DNA序列如基因或其它遗传物质,包括但不限于质粒或 c-DNA,转运到细胞(例如内皮细胞或肿瘤细胞)中,可以制备包含清蛋白结合遗传物质的药物组合物。因为在炎症部位的肿瘤细胞和其它细胞具有对蛋白质的高摄取,优选将遗传物质吸入至这些细胞类型中并且可以整合到细胞的遗传物质中以达到有效的治疗效果。蛋白质如人血清清蛋白的使用起作传递遗传物质的非病毒载体的作用而没有与病毒相关的疾病或副作用的风险。例如,可以制备包含编码 β -半乳糖苷酶或绿色荧光蛋白(GFP)和清蛋白的核酸序列的药物组合物,并与来源于人脐静脉或人肺微脉管的内皮细胞接触,以促进核酸序列整合到内皮细胞中。核酸序列的整合可以使用本领域已知的方法检测,如例如荧光或染色。

[0048] 在本发明用于增强药剂向虚弱部位转运的方法中,虚弱可以是任何适当的疾病或病症。优选地,虚弱是癌症,心血管疾病,或关节炎。

[0049] 在本发明用于增强药剂与体外或体内细胞结合的方法中,将药物组合物给药于体外或体内细胞。理想地,细胞是动物细胞。更优选,细胞是哺乳动物细胞,最优选地,细胞是人细胞。优选将药物组合物给药于体内细胞。细胞可以是作为给药药物组合物的期望靶标的任何适当细胞。例如,细胞可以位于或来源于消化系统组织,包括例如食管,胃,小肠,结肠,直肠,肛门,肝,胆囊,和胰。细胞还可以位于或来源于呼吸系统组织,包括例如喉,肺,和支气管。细胞可以位于或来源于例如组成男性或女性生殖系统的子宫颈,子宫体,卵巢,阴道,前列腺,睾丸,和阴茎,和组成泌尿系统的膀胱,肾,肾盂,和输尿管。细胞可以位于或来源于心血管系统的组织,包括例如内皮细胞和心肌细胞。细胞还可以位于或来源于淋巴系统的组织(例如淋巴细胞),神经系统(例如神经元或神经胶质细胞),和内分泌系统(例如甲状腺细胞)。优选地,细胞位于或来源于心血管系统的组织。最优选地,细胞是内皮细胞。在本发明用于增强转运和药剂与细胞结合的方法的内容中,药物组合物理想地接触多于一种细胞。

[0050] 在本发明的另一方面,本发明用于增强转运和增强药剂与细胞结合的方法可以用于治疗肿瘤细胞。与正常细胞相比,肿瘤细胞显示增强的蛋白质摄取,该蛋白质包括清蛋白

和转铁蛋白。由于肿瘤细胞快速分裂,所以与正常细胞相比,它们要求更多的营养来源。本发明含有紫杉醇和人血清清蛋白的药物组合物的肿瘤研究表明肿瘤对清蛋白-紫杉醇的高摄取。已经发现这是由于以前未认识到的通过糖蛋白 60 (“gp60”) 受体的清蛋白-药物转运的现象,该糖蛋白 60 受体对于清蛋白是特异性的。

[0051] 因此,按照本发明的另一方面,清蛋白特异性的 gp60 受体和肿瘤细胞上存在的其它蛋白转运受体可以用作抑制肿瘤生长的靶标。通过使用抗 gp60 受体的抗体或结合、阻断或失活 gp60 的其它大或小分子化合物阻断 gp60 受体,和阻断在肿瘤细胞或肿瘤内皮细胞上的其它蛋白转运受体,可以阻断蛋白质向这些细胞的转运,由此降低它们的生长速率和导致细胞死亡。因此,该机制的阻断导致患有癌症或另外的疾病的患者(例如人)的治疗。鉴定特异蛋白受体的阻断/结合是通过筛选任何数量的针对分离的 gp60 或其它受体如 gp16 或 gp30 的化合物或通过使用全细胞制备来完成的。另外,适当的动物模型也可以用于该目的,如例如含有编码 gp60 或小窝蛋白-1 或对于转运特异的其它蛋白的基因“敲除”突变的小鼠。因此,鉴定阻断或结合 gp60, gp16, gp30 或其它蛋白受体的化合物的方法属于本发明的范围内。

[0052] 另外,阻断或结合 gp60 受体或其它蛋白受体的化合物可以用于治疗包括癌症的数种疾病。关于癌症的治疗,阻断或结合化合物可以用作单一药剂或与其它标准化疗或多种化疗结合。例如,它与常规化疗或与本发明的清蛋白-药物药物组合物(其在肿瘤中显示高累积)、接着与阻断蛋白质向肿瘤细胞转运的化合物用于治疗癌症。阻断化合物可以在其它化疗或抗癌剂之前或结合给药。因此,任何可以阻断或结合 gp60 受体或其它蛋白受体的化合物属于本发明的范围内。

[0053] 本发明清蛋白-药物组合物,如例如清蛋白-紫杉醇,清蛋白-多西他赛,清蛋白-埃坡霉素,清蛋白-喜树碱,或清蛋白-雷帕霉素以及其它,可以用于治疗疾病。认为这些药物组合物有效是因为增加的蛋白质-药物组合物向所需部位(例如肿瘤)的受体介导的转运。不希望束缚于任何具体理论,通过导致治疗效果的受体介导的转运的蛋白质-药物组合物的转运被认为是例如清蛋白-紫杉醇组合物向肿瘤、以及清蛋白-紫杉醇和清蛋白-雷帕霉素转运透过肺的转运机制。转运受这些组织中 gp60, gp16 或 gp30 的存在的影响。因此,向疾病例如炎症(例如关节炎)或肿瘤位点的转运与 gp60, gp16 或 gp30 受体相关和导致治疗效果的药物和蛋白质-药物组合物被考虑作为本发明的组合物。

[0054] 按照本发明的另一方面,内皮细胞可以与具有特定功能的细胞共培养。内皮细胞与其它细胞类型如胰岛细胞、肝细胞、神经内分泌细胞和其它细胞的温育允许所需的组分如蛋白质和其它有益组分向这些细胞的转移。内皮细胞提供这些组分向培养的细胞类型的转移以便模拟体内条件,即其中这些细胞类型通常与内皮细胞紧密接近和将依赖于内皮细胞转运营养,生长因子,激素信号等,而这些对于它们的正常功能是需要。当内皮细胞不存在时,先前不可能充分地培养这些不同细胞类型和获得生理性能。在具有期望细胞类型的培养物中内皮细胞的存在允许体外或来自体内的胰岛、肝细胞、或神经内分泌组织的分化和适当功能。因此发现与在缺少内皮细胞下培养的那些相比,内皮细胞和胰岛的共培养导致具有改善的生理性能(例如分泌胰岛素的能力)的胰岛。该组织然后可以在体外使用或移植到体内以治疗由于缺少适当细胞功能而导致的疾病(例如在胰岛细胞的情形中糖尿病,在肝细胞情形中的肝功能失常,和在神经内分泌细胞的情形中的神经内分泌紊乱或

疼痛减轻)。来源于其它组织和器官的细胞(如上所述)也可以与内皮细胞共培养以提供相同的益处。另外,共培养可以用于将遗传物质整合到靶细胞类型中。发现在这些培养物中清蛋白的存在非常有益。

[0055] 下列实施例进一步举例说明本发明,但是当然不应当被认为是以任何方式限制其范围。

[0056] 实施例 1

[0057] 本实施例举例说明了含有紫杉醇和清蛋白的药物组合物的制备。紫杉醇-清蛋白组合物的制备描述于美国专利 5,439,686 和 5,916,596 中,它们通过引用完整地结合于此。具体地,将 30mg 紫杉醇溶解在 3.0ml 二氯甲烷中。将该溶液加入至 27.0ml 人血清清蛋白溶液(2% w/v)中。根据需要加入去铁胺。将该混合物在低 RPM 下均化 5 分钟(Vitris 均化器,型号 Tempest I. Q.) 以便形成粗乳剂,然后转移到高压均化器(Avestin)中。在 9000-40,000psi 下进行乳化,同时将乳剂再循环至少 5 个周期。将获得的系统转移至旋转式蒸发器,在 40°C、减压(30mm Hg)下快速去除二氯甲烷 20-30 分钟。获得的分散体是半透明的,获得的紫杉醇颗粒的典型平均直径为 50-220nm(Z-平均值, Malvern Zetasizer)。将该分散体进一步冻干 48 小时。通过加入无菌水或盐水,获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。在重构后的粒径与冻干前相同。

[0058] 应当认识到用于本实施例的药物、溶剂、蛋白质的量、类型和比率不受任何方式的限制。当与溶于聚氧乙烯蓖麻油制剂中的紫杉醇的毒性相比时,本发明含有清蛋白的药物组合物显示显著更低的毒性。

[0059] 实施例 2

[0060] 本实施例举例说明了含有胺碘酮和清蛋白的药物组合物的制备。将 30mg 胺碘酮溶于 3.0ml 二氯甲烷中。将溶液加入至 27.0ml 人血清清蛋白溶液(1% w/v)中。根据需要加入去铁胺。将混合物在低 RPM 下均化 5 分钟(Vitris 均化器,型号 Tempest I. Q.) 以便形成粗乳剂,然后转移到高压均化器(Avestin)中。在 9000-40,000psi 下进行乳化,同时将乳剂再循环至少 5 个周期。将获得的系统转移至旋转式蒸发器,在 40°C、减压(30mm Hg)下快速去除二氯甲烷 20-30 分钟。获得的分散体是半透明的,获得的胺碘酮颗粒的典型平均直径为 50-220nm(Z-平均值, Malvern Zetasizer)。将该分散体进一步冻干 48 小时。通过加入无菌水或盐水,获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。在重构后的粒径与冻干前相同。

[0061] 应当认识到用于本实施例的药物、溶剂、蛋白质的量、类型和比率不受任何方式的限制。当与溶于吐温制剂中的胺碘酮的毒性相比时,本发明含有清蛋白的药物组合物显示显著更低的毒性。

[0062] 实施例 3

[0063] 本实施例举例说明了含有碘塞罗宁和清蛋白组合物的药物组合物的制备。将碘塞罗宁(或适当盐)以 0.5-50mg/ml 的浓度溶于水性醇溶液或碱性溶液中。将醇(或碱性)溶液加入至清蛋白溶液(0.1-25% w/v)中并搅拌。搅拌是使用搅拌器的低剪切或使用超声波仪或均化器的高剪切。在低浓度的碘塞罗宁下,获得(5-1000 μ g/ml)澄清溶液。当浓度增加时,获得稳定的乳状混悬剂。这些溶液或混悬剂通过无菌过滤器过滤。通过蒸发或其它适当方法去除有机溶剂。

[0064] 实施例 4

[0065] 本实施例举例说明了含有雷帕霉素和清蛋白的药物组合物的制备。将 30mg 雷帕霉素溶于 2ml 氯仿 / 乙醇中。将溶液加入至 27.0ml 人血清清蛋白溶液 (3% w/v) 中。将混合物在低 RPM 下均化 5 分钟 (Vitris 均化器, 型号 Tempest I. Q.) 以便形成粗乳剂, 然后转移到高压均化器 (Avestin) 中。在 9000-40,000psi 下进行乳化, 同时将乳剂再循环至少 5 个周期。将获得的系统转移至 Rotavap, 在 40°C、减压 (30mm Hg) 下快速去除溶剂 20-30 分钟。获得的分散体是半透明的, 获得的颗粒的典型平均直径为 50-220nm (Z- 平均值, Malvern Zetasizer)。将该分散体进一步冻干 48 小时。通过加入无菌水或盐水, 获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。在重构后的粒径与冻干前相同。应当认识到用于本实施例的药物、溶剂、蛋白质的量、类型和比率不受任何方式的限制。

[0066] 实施例 5

[0067] 本实施例举例说明了含有埃坡霉素 B 和清蛋白的药物组合物的制备。将 30mg 埃坡霉素 B 溶于 2ml 氯仿 / 乙醇中。将溶液加入至 27.0ml 人血清清蛋白溶液 (3% w/v) 中。根据需要加入去铁胺。将混合物在低 RPM 下均化 5 分钟 (Vitris 均化器, 型号 Tempest I. Q.) 以便形成粗乳剂, 然后转移到高压均化器 (Avestin) 中。在 9000-40,000psi 下进行乳化, 同时将乳剂再循环至少 5 个周期。将获得的系统转移至 Rotavap, 在 40°C、减压 (30mm Hg) 下快速去除溶剂 20-30 分钟。获得的分散体是半透明的, 获得的颗粒的典型平均直径为 50-220nm (Z- 平均值, Malvern Zetasizer)。将该分散体进一步冻干 48 小时。通过加入无菌水或盐水, 获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。在重构后的粒径与冻干前相同。应当认识到用于本实施例的药物、溶剂、蛋白质的量、类型和比率不受任何方式的限制。当与溶于聚氧乙烯蓖麻油制剂中的埃坡霉素 B 的毒性相比时, 本发明含有清蛋白的药物组合物显示显著更低的毒性。

[0068] 实施例 6

[0069] 本实施例举例说明了含有秋水仙碱二聚体和清蛋白的药物组合物的制备。将 30mg 秋水仙碱 - 二聚体溶于 2ml 氯仿 / 乙醇中。将溶液加入至 27.0ml 人血清清蛋白溶液 (3% w/v) 中。根据需要加入去铁胺。将混合物在低 RPM 下均化 5 分钟 (Vitris 均化器, 型号 Tempest I. Q.) 以便形成粗乳剂, 然后转移到高压均化器 (Avestin) 中。在 9000-40,000psi 下进行乳化, 同时将乳剂再循环至少 5 个周期。将获得的系统转移至 Rotavap, 在 40°C、减压 (30mm Hg) 下快速去除溶剂 20-30 分钟。获得的分散体是半透明的, 获得的颗粒的典型平均直径为 50-220nm (Z- 平均值, Malvern Zetasizer)。将该分散体进一步冻干 48 小时。通过加入无菌水或盐水, 获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。在重构后的粒径与冻干前相同。应当认识到用于本实施例的药物、溶剂、蛋白质的量、类型和比率不受任何方式的限制。当与溶于吐温中的秋水仙碱二聚体的毒性相比时, 本发明含有清蛋白的药物组合物显示显著更低的毒性。

[0070] 实施例 7

[0071] 本实施例举例说明了含有多西他赛和清蛋白的药物组合物的制备。将 30mg 多西他赛溶于 2ml 氯仿 / 乙醇中。将溶液加入至 27.0ml 人血清清蛋白溶液 (3% w/v) 中。根据需要加入去铁胺。将混合物在低 RPM 下均化 5 分钟 (Vitris 均化器, 型号 Tempest I. Q.) 以便形成粗乳剂, 然后转移到高压均化器 (Avestin) 中。在 9000-40,000psi 下进行乳化,

同时将乳剂再循环至少 5 个周期。将获得的系统转移至 Rotavap, 在 40°C、减压 (30mm Hg) 下快速去除溶剂 20-30 分钟。获得的分散体是半透明的, 获得的颗粒的典型平均直径为 50-220nm (Z- 平均值, Malvern Zetasizer)。将该分散体进一步冻干 48 小时。通过加入无菌水或盐水, 获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。在重构后的粒径与冻干前相同。应当认识到用于本实施例的药物、溶剂、蛋白质的量、类型和比率不受任何方式的限制。当与溶于该药物的标准溶剂——吐温 / 乙醇中的多西他赛的毒性相比时, 本发明含有清蛋白的药物组合物显示显著更低的毒性。

[0072] 实施例 8

[0073] 本实施例举例说明了含有多西他赛和清蛋白的药物组合物的制备。将 150mg 多西他赛溶于 1ml 乙酸乙酯 / 乙酸丁酯和 0.5ml 油例如大豆油或维生素 E 油中。使用其它比率的溶剂和油, 这些组合物也被考虑为本发明的一部分。还任选地加入将少量带负电组分, 例如苯甲酸 (0.001% -0.5%)。然后将溶液加入至 27.0ml 人血清清蛋白溶液 (5% w/v) 中。根据需要加入去铁胺。将混合物在低 RPM 下均化 5 分钟 (Vitris 均化器, 型号 Tempest I. Q.) 以便形成粗乳剂, 然后转移到高压均化器 (Avestin) 中。在 9000-40,000psi 下进行乳化, 同时将乳剂再循环至少 5 个周期。将获得的系统转移至 Rotavap, 在 40°C、减压 (30mm Hg) 下快速去除溶剂 20-30 分钟。获得的分散体是半透明的, 获得的颗粒的典型平均直径为 50-220nm (Z- 平均值, Malvern Zetasizer)。将该分散体进一步冻干 48 小时。通过加入无菌水或盐水, 获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。在重构后的粒径与冻干前相同。应当认识到用于本实施例的药物、溶剂、蛋白质的量、类型和比率不受任何方式的限制。当与溶于该药物的标准溶剂——吐温 / 乙醇中的多西他赛的毒性相比时, 本发明含有清蛋白的药物组合物显示显著更低的毒性。

[0074] 实施例 9

[0075] 本实施例举例说明了含有紫杉烷 IDN5390 和清蛋白的药物组合物的制备。将 150mg IDN5390 溶于 1ml 乙酸乙酯 / 乙酸丁酯和 0.5ml 油例如大豆油或维生素 E 油中。使用其它比率的溶剂和油, 这些组合物也被考虑为本发明的一部分。还任选地加入将少量带负电组分, 例如苯甲酸 (0.001% -0.5%)。然后将溶液加入至 27.0ml 人血清清蛋白溶液 (5% w/v) 中。根据需要加入去铁胺。将混合物在低 RPM 下均化 5 分钟 (Vitris 均化器, 型号 Tempest I. Q.) 以便形成粗乳剂, 然后转移到高压均化器 (Avestin) 中。在 9000-40,000psi 下进行乳化, 同时将乳剂再循环至少 5 个周期。将获得的系统转移至 Rotavap, 在 40°C、减压 (30mm Hg) 下快速去除溶剂 20-30 分钟。获得的分散体是半透明的, 获得的颗粒的典型平均直径为 50-220nm (Z- 平均值, Malvern Zetasizer)。将该分散体进一步冻干 48 小时。通过加入无菌水或盐水, 获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。在重构后的粒径与冻干前相同。应当认识到用于本实施例的药物、溶剂、蛋白质的量、类型和比率不受任何方式的限制。当与溶于吐温中的 IDN5390 的毒性相比时, 本发明含有清蛋白的药物组合物显示显著更低的毒性。

[0076] 实施例 10

[0077] 本实施例举例说明了含有紫杉烷 IDN5109 和清蛋白的药物组合物的制备。将 150mg IDN5109 溶于 2ml 氯仿 / 乙醇。使用其它比率的溶剂和油, 这些组合物也被考虑为本发明的一部分。还任选地加入将少量带负电组分, 例如苯甲酸 (0.001% -0.5%)。然后

将溶液加入至 27.0ml 人血清清蛋白溶液 (5% w/v) 中。根据需要加入去铁胺。将混合物在低 RPM 下均化 5 分钟 (Vitris 均化器, 型号 Tempest I. Q.) 以便形成粗乳剂, 然后转移到高压均化器 (Avestin) 中。在 9000-40,000psi 下进行乳化, 同时将乳剂再循环至少 5 个周期。将获得的系统转移至 Rotavap, 在 40°C、减压 (30mm Hg) 下快速去除溶剂 20-30 分钟。获得的分散体是半透明的, 获得的颗粒的典型平均直径为 50-220nm (Z- 平均值, Malvern Zetasizer)。将该分散体进一步冻干 48 小时。通过加入无菌水或盐水, 获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。在重构后的粒径与冻干前相同。应当认识到用于本实施例的药物、溶剂、蛋白质的量、类型和比率不受任何方式的限制。当与溶于吐温中的 IDN5109 的毒性相比时, 本发明含有清蛋白的药物组合物显示显著更低的毒性。

[0078] 实施例 11

[0079] 本实施例举例说明了含有 10- 羟基喜树碱 (10HC) 和清蛋白的药物组合物的制备。将 30mg 10HC 溶于 2.0ml DMF/ 二氯甲烷 / 大豆油。然后将溶液加入至 27.0ml 人血清清蛋白溶液 (3% w/v) 中。将混合物在低 RPM 下均化 5 分钟 (Vitris 均化器, 型号 Tempest I. Q.) 以便形成粗乳剂, 然后转移到高压均化器 (Avestin) 中。在 9000-40,000psi 下进行乳化, 同时将乳剂再循环至少 5 个周期。将获得的系统转移至 Rotavap, 在 40°C、减压 (30mm Hg) 下快速去除溶剂 20-30 分钟。获得的分散体是半透明的, 获得的颗粒的典型平均直径为 50-220nm (Z- 平均值, Malvern Zetasizer)。将该分散体进一步冻干 48 小时。通过加入无菌水或盐水, 获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。在重构后的粒径与冻干前相同。应当认识到用于本实施例的药物、溶剂、蛋白质的量、类型和比率不受任何方式的限制。

[0080] 实施例 12

[0081] 本实施例举例说明了含有环孢菌素和清蛋白的药物组合物的制备。将 30mg 环孢菌素溶于 3.0ml 二氯甲烷。然后将溶液加入至 27.0ml 人血清清蛋白溶液 (1% w/v) 中。将混合物在低 RPM 下均化 5 分钟 (Vitris 均化器, 型号 Tempest I. Q.) 以便形成粗乳剂, 然后转移到高压均化器 (Avestin) 中。在 9000-40,000psi 下进行乳化, 同时将乳剂再循环至少 5 个周期。将获得的系统转移至 Rotavap, 在 40°C 在减压 (30mm Hg) 下快速去除溶剂 20-30 分钟。获得的分散体是半透明的, 获得的颗粒的典型平均直径为 50-220nm (Z- 平均值, Malvern Zetasizer)。将该分散体进一步冻干 48 小时。通过加入无菌水或盐水, 获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。在重构后的粒径与冻干前相同。

[0082] 实施例 13

[0083] 本实施例举例说明了含有油和包含环孢菌素和清蛋白的药物组合物的制备。将 30mg 环孢菌素溶于 3.0ml 适当油 (含有 10% 橙油的芝麻油) 中。然后将溶液加入至 27.0ml 人血清清蛋白溶液 (1% w/v) 中。将混合物在低 RPM 下均化 5 分钟 (Vitris 均化器, 型号 Tempest I. Q.) 以便形成粗乳剂, 然后转移到高压均化器 (Avestin) 中。在 9000-40,000psi 下进行乳化, 同时将乳剂再循环至少 5 个周期。获得的颗粒的典型平均直径为 50-220nm (Z- 平均值, Malvern Zetasizer)。直接使用分散体或通过任选地加入适当防冻剂冻干 48 小时。通过加入无菌水或盐水, 获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。应当认识到用于本实施例的药物、溶剂、蛋白质的量、类型和比率不受任何方式的限制。

[0084] 实施例 14

[0085] 本实施例举例说明了含有两性霉素和清蛋白的药物组合物的制备。将 30mg 两性

霉素溶于 3.0ml 甲基吡咯烷酮 / 二氯甲烷。将溶液加入于 27.0ml 人血清清蛋白溶液 (1% w/v) 中。将混合物在低 RPM 下均化 5 分钟 (Vitris 均化器, 型号 Tempest I. Q.) 以便形成粗乳剂, 然后转移到高压均化器 (Avestin) 中。在 9000-40,000psi 下进行乳化, 同时将乳剂再循环至少 5 个周期。将获得的系统转移至旋转式蒸发器, 在 40°C、减压 (30mm Hg) 下快速去除溶剂 20-30 分钟。获得的分散体是半透明的, 获得的两性霉素颗粒的典型平均直径为 50-220nm (Z- 平均值, Malvern Zetasizer)。将该分散体进一步冻干 48 小时。通过加入无菌水或盐水, 获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。在重构后的粒径与冻干前相同。应当认识到用于本实施例的药物、溶剂、蛋白质的量、类型和比率不受任何方式的限制。加入其它组分如脂质、胆盐等也产生适当的制剂。

[0086] 实施例 15

[0087] 本实施例举例说明含有清蛋白和紫杉醇的药物组合物的临床前的药代动力学和药效学。

[0088] 进行小鼠和大鼠中的几个临床前药代动力学研究以评估清蛋白 - 紫杉醇药物组合物相对于聚氧乙烯蓖麻油 - 紫杉醇 (泰素) 药物组合物的可能优势。这些研究证明: (1) 在大鼠中清蛋白 - 紫杉醇的药代动力学是线性的, 而泰素的药代动力学相对于剂量是非线性的, (2) 包含清蛋白和紫杉醇的药物组合物显示更低的血浆 AUC 和 C_{max} , 提示与泰素相比清蛋白 - 紫杉醇组合物对组织的更快的分布 (排泄是类似的), (3) 包含清蛋白和紫杉醇的药物组合物显示更低的 C_{max} , 这可能解释了与泰素相比与血液峰值水平相关的降低的毒性, (4) 与泰素相比, 包含清蛋白和紫杉醇的药物组合物显示的半衰期在大鼠中高约 2- 倍和在携带肿瘤的小鼠中高 4- 倍, 和 (5) 包含清蛋白和紫杉醇的药物组合物中紫杉醇的代谢低于泰素药物组合物中的紫杉醇的代谢。在大鼠中注射后 24 小时, 对于包含清蛋白和紫杉醇的药物组合物, 44% 的总放射性仍与紫杉醇相关, 相比较下对于泰素仅 22%。对于含有清蛋白和紫杉醇的药物组合物显示的上述药代动力学的最终效果, 即增强的细胞内摄取, 延长的半衰期和更低的代谢导致与泰素相比在携带肿瘤的小鼠中肿瘤 AUC 高 1.7 倍, 肿瘤 C_{max} 高 1.2 倍, 和肿瘤半衰期长 1.7 倍。

[0089] 实施例 16

[0090] 本实施例举例说明了与包含紫杉醇和清蛋白的药物组合物相关的降低的副作用和降低的毒性。

[0091] 由于在没有聚氧乙烯蓖麻油下包含紫杉醇和清蛋白的药物组合物的独特性质, 包含紫杉醇和清蛋白的药物组合物的毒性显著低于泰素。在小鼠和大鼠中的临床前研究中, 在小鼠中的单一剂量急性毒性研究显示对于含有紫杉醇和清蛋白的药物组合物, 其 LD_{50} 剂量比泰素大约 59 倍。在小鼠中的多剂量毒性研究中, 对于含有紫杉醇和清蛋白的药物组合物, 其 LD_{50} 剂量比泰素大约 10 倍。进一步的研究评估在用含有紫杉醇和清蛋白的药物组合物和泰素处理的大鼠中骨髓抑制的程度。结果显示在等剂量下, 包含紫杉醇和清蛋白的药物组合物在大鼠中比泰素产生显著更小的骨髓抑制。在大鼠中的急性毒性研究中, 在接受 9mg/kg 泰素的动物中观察到脑皮层坏死或严重的神经毒性, 但在接受高达 120mg/kg 剂量的包含紫杉醇和清蛋白的药物组合物的动物中未观察到。因此, 与包含紫杉醇的常规药物组合物相比, 包含紫杉醇的药物组合物中清蛋白的存在导致副作用和毒性的显著减小。

[0092] 实施例 17

[0093] 本实施例举例说明了包含紫杉醇和清蛋白的药物组合物在人中的临床效果。

[0094] 迄今在超过 500 位人患者中的临床研究为含紫杉醇和清蛋白（“清蛋白-紫杉醇”）的药物组合物提供了支持与聚氧乙烯蓖麻油-紫杉醇组合物（泰素）相比降低的毒性和副作用的证据。在 19 位患者的 I 期研究中，每 3 周提供清蛋白-紫杉醇的最大耐受剂量为 $300\text{mg}/\text{m}^2$ 。这显著高于通常给药的聚氧乙烯蓖麻油-紫杉醇的剂量，即每 3 周提供一次 $175\text{mg}/\text{m}^2$ 。在这些患者中血液毒性是温和的，没有过敏，轻度神经病，和没有给药相关的副作用如静脉刺激等。

[0095] 在另一对 27 位患者的 I 期研究中，按照每周一次进度表提供的清蛋白-紫杉醇的最大耐受剂量为 $125\text{--}150\text{mg}/\text{m}^2$ 。这显著高于通常给药的聚氧乙烯蓖麻油-紫杉醇的剂量，即按照每周一次进度表提供的 $80\text{mg}/\text{m}^2$ 。在这些患者中血液毒性是温和的，没有过敏，轻度神经病，和没有给药相关的副作用如静脉刺激等。

[0096] 分别在 43 和 63 位患者中的每 3 周提供 175 或 $300\text{mg}/\text{m}^2$ 的清蛋白-紫杉醇的两个 II 期研究中，血液毒性低，在 $175\text{mg}/\text{m}^2$ 和 $300\text{mg}/\text{m}^2$ 下分别仅有 7% 和 24% 患者 $\text{ANC} < 500/\text{mm}^3$ 。在 $175\text{mg}/\text{m}^2$ 和 $300\text{mg}/\text{m}^2$ 下分别有 0% 和 14% 的患者发生严重的神经病。没有发生严重的过敏，没有发生给药相关的副作用如静脉刺激，注射疼痛等，这些副作用显著低于使用泰素所经历的。

[0097] 在将清蛋白-紫杉醇组合物 ABI-007 与泰素（含有聚氧乙烯蓖麻油-紫杉醇）比较的 III 期试验中，ABI-007 的剂量显著更高（ $260\text{mg}/\text{m}^2$ ，比较泰素的 $175\text{mg}/\text{m}^2$ ），表明它更好地被耐受。当与聚氧乙烯蓖麻油-紫杉醇相比时，清蛋白-紫杉醇组合物还显示显著减少的中性粒细胞减少症。

[0098] 实施例 18

[0099] 本实施例举例说明了使用含有清蛋白和紫杉醇的药物组合物的增强的临床前功效。

[0100] 比较清蛋白-紫杉醇和泰素对子宫颈鳞状细胞癌 A431 的作用的体外细胞毒性研究显示：清蛋白-紫杉醇细胞毒活性增加约 4 倍，清蛋白-紫杉醇和泰素的 IC_{50} 分别为 0.0038 和 $0.012\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 。

[0101] 在无胸腺小鼠中的五个不同人异种移植肿瘤模型（MX-1 乳房，NCI-H522 肺，SK-OV-3 卵巢，PC-3 前列腺，和 HT-29 结肠）中，ABI-007 的 MTD 或等毒剂量比泰素高 1.5-3.4 倍，在除了肺肿瘤（ $p = 0.15$ ）以外的所有肿瘤中导致肿瘤生长延迟方面统计学显著的改善（ $p < 0.05$ ）。

[0102] 在 MX 1 乳房模型中，百分之百（100%）的清蛋白-紫杉醇治疗的动物存活 103 天，相比较下在用等价剂量的泰素治疗的组中 20-40% 存活。

[0103] 实施例 19

[0104] 本实施例举例说明了使用动脉内给药的包含清蛋白和紫杉醇的药物组合物增强的临床功效。

[0105] 在动脉内给药包含清蛋白和紫杉醇的药物组合物的 I/II 期研究中，如本文所述，招募头颈癌患者（ $N = 31$ ）和肛管癌患者（ $N = 12$ ）。通过经皮超选择性动脉内输注，剂量在 30 分钟内给药的剂量从 $120\text{mg}/\text{m}^2$ 逐步增加到 $300\text{mg}/\text{m}^2$ ，q 3-4 周。头颈癌患者显示 76%（ $N = 29$ ）的应答率，而肛管癌患者显示 64%（ $N = 11$ ）的应答率。

[0106] 实施例 20

[0107] 本实施例举例说明了含有 3%油和包含丙泊酚和清蛋白的药物组合物的制备。

[0108] 如下制备含有 1 重量%的丙泊酚的水包油型乳剂。通过将甘油 (2.25 重量%) 和人血清清蛋白 (0.5 重量%) 加入至注射用水中并搅拌直至溶解来制备水相。将水相通过过滤器 (0.2 μ m 滤器)。通过在约 50°C -60°C 下,将卵磷脂 (0.4 重量%) 和丙泊酚 (1 重量%) 溶解在大豆油 (3 重量%) 中并搅拌直至溶解来制备油相。将油相加入至水相中并在 10,000RPM 均化 5 分钟。将粗乳剂在 20,000psi 下高压均化并在 5°C 再循环 15 个周期。备选地,使用通过均化器的分离通道。将最终乳剂过滤 (0.2 μ m 滤器) 并在氮下贮存。获得的药物组合物包含下列通常范围的组分 (按重量%计):丙泊酚 0.5-5%;人血清清蛋白 0.5-3%;大豆油 0.5-3.0%;卵磷脂 0.12-1.2%;甘油 2.25%;注射用水适量至 100;pH 5-8。任选地加入适当的螯合剂,例如去铁胺 (0.001-0.1%)。

[0109] 实施例 21

[0110] 本实施例举例说明了含有 5%油和包含丙泊酚和清蛋白的药物组合物的制备。

[0111] 如下制备含有 1 重量%的丙泊酚的水包油型乳剂。通过将甘油 (2.25 重量%) 和人血清清蛋白 (0.5 重量%) 加入至注射用水中并搅拌直至溶解来制备水相。将水相通过过滤器 (0.2 μ m 滤器)。通过在约 50°C -60°C 下,将卵磷脂 (0.8 重量%) 和丙泊酚 (1 重量%) 溶解在大豆油 (5 重量%) 中并搅拌直至溶解来制备油相。将油相加入至水相中并在 10,000RPM 均化 5 分钟。将粗乳剂在 20,000psi 下高压均化并在 5°C 再循环 15 个周期。备选地,使用通过均化器的分离通道。将最终乳剂过滤 (0.2 μ m 滤器) 并在氮下贮存。获得的药物组合物包含下列通常范围的组分 (按重量%计):丙泊酚 0.5-5%;人血清清蛋白 0.5-3%;大豆油 0.5-10.0%;卵磷脂 0.12-1.2%;甘油 2.25%;注射用水适量至 100;pH 5-8。任选地加入适当的螯合剂,例如去铁胺 (0.001-0.1%)。

[0112] 实施例 22

[0113] 本实施例举例说明了含有丙泊酚和清蛋白、不含油的药物组合物的制备。

[0114] 使用类似于实施例 18 所述方法,制备含有清蛋白和吐温 80 的丙泊酚组合物。通过将甘油 (2.25 重量%)、人血清清蛋白 (0.5 重量%),吐温 80(1.5 重量%) 和甲磺酸去铁胺 (0.1 重量%) 加入至注射用水中并搅拌直至溶解来制备水相。将水相通过过滤器 (0.2 μ m 滤器)。将丙泊酚 (1 重量%) 加入至水相中并在 10,000RPM 均化 5 分钟。将粗乳剂在 20,000psi 下高压均化并在 5°C 再循环 15 个周期。备选地,使用通过均化器的分离通道。将最终乳剂过滤 (0.2 μ m 滤器) 并在氮下贮存。获得的药物组合物包含下列通常范围的组分 (按重量%计):丙泊酚 0.5-5%;人血清清蛋白 0.5-3%;吐温 800.1-1.5%;甲磺酸去铁胺 0.0001-0.1%;甘油 2.25%;注射用水适量至 100;pH 5-8。

[0115] 实施例 23

[0116] 本实施例举例说明了含有丙泊酚、清蛋白和维生素 E-TPGS、不含油的药物组合物的制备。

[0117] 使用类似于实施例 19 所述方法,制备含有清蛋白和维生素 E-TPGS 的丙泊酚组合物。通过将甘油 (2.25 重量%)、人血清清蛋白 (0.5 重量%),维生素 E-TPGS(1 重量%) 和甲磺酸去铁胺 (0.1 重量%) 加入至注射用水中并搅拌直至溶解来制备水相。将水相通过过滤器 (0.2 μ m 滤器)。将丙泊酚 (1 重量%) 加入至水相中并在 10,000RPM 均化 5 分钟。将粗

乳剂在 20,000psi 下高压均化并在 5°C 再循环 15 个周期。备选地,使用通过均化器的分离通道。将最终乳剂过滤(0.2 μm 滤器)并在氮下贮存。获得的药物组合物包含下列通常范围的组分(按重量%计):丙泊酚 0.5-5%;人血清清蛋白 0.5-3%;维生素 E-TPGS 0.5-4.0%;任选地甲磺酸去铁胺 0.0001-0.1%;甘油 2.25%;注射用水适量至 100;pH 5-8。

[0118] 实施例 24

[0119] 本实施例举例说明了含有丙泊酚、清蛋白、维生素 E-TPGS 和 1% 油的药物组合物的制备。

[0120] 通过下列方法制备含有 1 重量%的丙泊酚的乳剂。通过将甘油(2.25 重量%)和人血清清蛋白(0.5 重量%)加入至注射用水中并搅拌直至溶解来制备水相。将水相通过滤器(0.2 μm 滤器)。将表面活性剂例如维生素 E-TPGS(0.5%)加入至水相中。油相由丙泊酚(1 重量%)和 1%大豆油组成。将油相加入至水相中并在 10,000RPM 均化 5 分钟。将粗乳剂在 20,000psi 下高压均化并在 5°C 再循环最多 15 个周期。备选地,使用通过均化器的分离通道。将最终乳剂过滤(0.2 μm 滤器)并在氮下贮存。

[0121] 获得的药物组合物包含下列通常范围的组分(按重量%计):丙泊酚 0.5-5%;人血清清蛋白 0.01-3%;维生素 E-TPGS 0.1-2%;大豆油或其它油(0.1%-5%);甘油 2.25%;注射用水适量至 100;pH 5-8。任选地加入去铁胺(0.001 重量%-0.1 重量%)。

[0122] 实施例 25

[0123] 本实施例举例说明了含有丙泊酚、清蛋白、维生素 E-TPGS、1%油和带负电组分的药物组合物的制备。

[0124] 通过下列方法制备含有 1 重量%的丙泊酚的乳剂。通过将甘油(2.25 重量%)和人血清清蛋白(0.5 重量%)加入至注射用水中并搅拌直至溶解来制备水相。将水相通过滤器(0.2 μm 滤器)。将表面活性剂例如维生素 E-TPGS(0.5%)加入至水相中。油相由丙泊酚(1 重量%)和 1%大豆油组成。加入少量带负电组分(0.001%-1%),例如磷脂或胆盐。将油相加入至水相中并在 10,000RPM 均化 5 分钟。将粗乳剂在 20,000psi 下高压均化并在 5°C 再循环最多 15 个周期。备选地,使用通过均化器的分离通道。将最终乳剂过滤(0.2 μm 滤器)并在氮下贮存。

[0125] 获得的药物组合物包含下列通常范围的组分(按重量%计):丙泊酚 0.5-5%;人血清清蛋白 0.01-3%;维生素 E-TPGS 0.1-2%;大豆油或其它油(0.1%-5%);甘油 2.25%;注射用水适量至 100;pH 5-8。任选地加入去铁胺(0.001 重量%-0.1 重量%)。

[0126] 实施例 26

[0127] 本实施例举例说明了含有丙泊酚、清蛋白、维生素 E-TPGS、1%油和带负电组分(脱氧胆酸钠)的药物组合物的制备。

[0128] 通过下列方法制备含有 1 重量%的丙泊酚的乳剂。通过将甘油(2.25 重量%)和人血清清蛋白(0.5 重量%)加入至注射用水中并搅拌直至溶解来制备水相。将水相通过滤器(0.2 μm 滤器)。将表面活性剂例如维生素 E-TPGS(0.5%)加入至水相中。油相由丙泊酚(1 重量%)和 1%大豆油组成。加入少量带负电组分(0.001%-1%),例如脱氧胆酸钠。将油相加入至水相中并在 10,000RPM 均化 5 分钟。将粗乳剂在 20,000psi 下高压均化并在 5°C 再循环最多 15 个周期。备选地,使用通过均化器的分离通道。将最终乳剂过滤(0.2 μm 滤器)并在氮下贮存。

[0129] 获得的药物组合物包含下列通常范围的组分（按重量%计）：丙泊酚 0.5-5%；人血清清蛋白 0.01-3%；维生素 E-TPGS 0.1-2%；大豆油或其它油（0.1%-5%）；甘油 2.25%；注射用水适量至 100；pH 5-8。任选地加入去铁胺（0.001 重量% -0.1 重量%）。

[0130] 实施例 27

[0131] 本实施例举例说明了含有丙泊酚、清蛋白、维生素 E-TPGS、1%油和带负电组分（磷脂，胆盐，聚氨基酸等）的药物组合物的制备。

[0132] 通过下列方法制备含有 1 重量%的丙泊酚的乳剂。通过将甘油（2.25 重量%）和人血清清蛋白（0.5 重量%）加入至注射用水中并搅拌直至溶解来制备水相。将水相通过过滤器（0.2 μm 滤器）。将表面活性剂例如维生素 E-TPGS（0.5%）加入至水相中。油相由丙泊酚（1 重量%）和 1%大豆油组成。加入少量带负电组分（0.001% -1%），例如磷脂酰胆碱。将油相加入至水相中并在 10,000RPM 均化 5 分钟。将粗乳剂在 20,000psi 下高压均化并在 5 $^{\circ}\text{C}$ 再循环最多 15 个周期。备选地，使用通过均化器的分离通道。将最终乳剂过滤（0.2 μm 滤器）并在氮下贮存。

[0133] 获得的药物组合物包含下列通常范围的组分（按重量%计）：丙泊酚 0.5-5%；人血清清蛋白 0.01-3%；维生素 E-TPGS 0.1-2%；大豆油或其它油（0.1%-5%）；甘油 2.25%；注射用水适量至 100；pH 5-8。任选地加入去铁胺（0.001 重量% -0.1 重量%）。

[0134] 实施例 28

[0135] 本实施例举例说明了丙泊酚与清蛋白的结合。

[0136] 如下测定丙泊酚与清蛋白的结合。在水中和在含有清蛋白的溶液中测试丙泊酚的溶解度。将 250 μL 丙泊酚加入至 10mL 水或清蛋白溶液中并在闪烁管中搅拌 2 小时。然后将溶液转移至 15mL 聚乙烯离心管中并保持在 40 $^{\circ}\text{C}$ 约 16 小时。测定水和清蛋白溶液样品中的丙泊酚。丙泊酚在水中的溶解度被测定为 0.12mg/ml。丙泊酚在清蛋白溶液中的溶解度取决于清蛋白的浓度，当清蛋白的浓度为 2%（20mg/ml）时增加至 0.44mg/ml。将溶液超滤通过 30kD MWCO 滤器并测定滤液中的丙泊酚。发现对于丙泊酚 / 水溶液，61%的丙泊酚可以在滤液中回收，而对于丙泊酚 / 清蛋白溶液，仅 14%被回收在滤液中，显示丙泊酚与清蛋白的相当大的结合。基于这些结果，由于清蛋白与丙泊酚结合，将清蛋白加入包含丙泊酚的药物组合物导致游离丙泊酚的量的减少。

[0137] 实施例 29

[0138] 本实施例举例说明了通过过滤 / 膜接触在药物组合物中游离丙泊酚的减少。

[0139] 如在实施例 28 中所述实验中观察到的，包含丙泊酚的药物组合物的过滤或超滤导致游离丙泊酚的量的减少。双异丙酚和按照本发明制备的含有清蛋白的药物组合物，各自含有 1%丙泊酚（10mg/ml），使用 30kD 膜超滤。使用 HPLC 测量在滤液中游离丙泊酚的量。对于双异丙酚在滤液中游离丙泊酚的浓度为约 17 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，而对于本发明的药物组合物在滤液中的游离丙泊酚的浓度为约 7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。结果对应于对于包含丙泊酚和清蛋白的药物组合物的游离丙泊酚的有效减少大于 2 倍。

[0140] 实施例 30

[0141] 本实施例举例说明了向人给药包含丙泊酚和清蛋白的药物组合物。

[0142] 进行随机的双盲临床试验，以比较包含丙泊酚和清蛋白的药物组合物与商购的丙泊酚制剂——双异丙酚的不利的皮肤感觉。按照良好临床实践（Good Clinical Practices）

进行试验并且从受试者获得知情同意书。任何性别的成人受试者都可以参加,前提是他们具有未破损的、表面正常的手背面皮肤。

[0143] 原来贮存在冰箱中的制剂被带到室温环境中,然后将 10 μ L 制剂同时缓慢放置在受试者两只手的手背。记录他们的手对于制剂的总体反应和感觉。该研究的结果在表 1 中列出。

[0144] 表 1

[0145]

对受试者的 试验顺序	使用 ABI-丙泊酚的受试者% 感觉		使用双异丙酚的受试者% 感觉	
	温热或刺感 或刺痛的	无感觉	温热或刺感 或刺痛的	无感觉
第 1 次发生率	0.0	100.0	75	25

[0146] 实施例 31

[0147] 本实施例举例说明了在包含丙泊酚的药物组合物中作为抗氧化剂的去铁胺的应用。

[0148] 包含丙泊酚和甲磺酸去铁胺,和含有吐温或 TPGS 的药物组合物被贮存在 4°C, 25°C 或 40°C, 以检测甲磺酸去铁胺在防止丙泊酚氧化中的作用。对于这些制剂随时间测量丙泊酚的浓度以,测定去铁胺的抗氧化活性。该数据在下表 2 和 3 中作为相对于时间零点的效力%报道。

[0149] 表 2. 清蛋白 / 吐温制剂

[0150]

温度	1 个月贮存		
	4°C	25°C	40°C
对照	100%	88%	48%
0.01%甲磺酸去铁胺	101%	89%	61%
0.1%甲磺酸去铁胺	103%	89%	64%

[0151] 表 3. 清蛋白 / TPGS 制剂

[0152]

温度	1 个月贮存		
	4°C	25°C	40°C
对照	99%	73%	42%
0.01%甲磺酸去铁胺	99%	87%	55%
0.1%甲磺酸去铁胺	99%	85%	58%

[0153] 在这些条件下,去铁胺足以降低丙泊酚的氧化水平。该效果在越高的温下越显著。在 4°C 未发生显著氧化。使用没有被惰性材料或聚四氟乙烯涂覆的塞子进行该研究。

[0154] 实施例 32

[0155] 本实施例举例说明了含有紫杉醇和清蛋白的药物组合物 (ABI-007) 的肺内传递。

[0156] 本研究的目的是测定 [³H]ABI-007 在血液中的时程和在向 Sprague Dawley 大鼠气管内滴注后选择组织。

[0157] 基于每 kg 体重 1.5mL 的剂量体积,计算向动物给药的气管内剂量制剂的目标体积。剂量给药装置由与 1-mL 气密的 luer- 锁型注射器连接的 Penn-Century 微型喷雾器 (型号 1A-1B ;Penn-Century, Inc., Philadelphia, PA ;购自 DeLong Distributors, Long Branch, NJ)。将适当体积的剂量制剂吸入剂量给药装置,称量填充的装置并记录重量。将导管放入被麻醉的动物的气管中,将剂量给药装置的微型喷雾器部分通过导管放置在气管内,给药剂量。在剂量给药后,重新称量空的剂量给药装置,作为剂量给药前后剂量给药装置的重量差计算给药的剂量。对于所有动物平均剂量为 4.7738±0.0060 (CV 1.5059)mg 紫杉醇 /kg 体重。

[0158] 在下列预定剂量给药后的时刻从 JVC 大鼠的留置的颈静脉套管中收集约 250 μL 的血样:1,5,10,15,30,和 45 分钟 (min),和 1,4,8,和 24 小时 (h)。24 小时血样,以及在 10 分钟、45 分钟和 2 小时从处死的动物中收集的血样是在处死时通过心穿刺从麻醉的大鼠中收集的。将用于总放射性分析的所有血样分散到预称重的样品管中,将样品管重新称重,通过减法计算每个样品的重量。测定从颈静脉收集的血样以及在处死时从每个动物收集的 250- μL 的血液等分试样的总氡含量。

[0159] 对于所有大鼠,血液中氡的最大浓度在剂量给药后 5 分钟 (0.0833 小时) 时观察到。在从 4h 至 24h 的时间间隔内测定的氡的消除半衰期为 19.73h 至 43.02h。应当注意该间隔仅包括三个数据点,其可以解释该参数的变异性。氡从血液中的表观清除率为约 0.04L/h。这些实验的结果在下表 4 中列出。

[0160] 表 4. 在气管内滴注 [³H]ABI-007 后在大鼠中血液氡浓度 (mg-eq/L) 对于时间曲线的非区室分析

[0161]

<u>参数</u>	<u>平均+/-SD</u>
C _{max} (mg-eq/L)	1.615+/-0.279
T _{max} (hr)	0.0833 +/-0.0
t _{1/2β} (hr)	33.02 +/-1.99
AUC 终(mg-eq x hr/L)	7.051+/-1.535
Cl/F(L/hr)	0.0442 +/-0.0070
Fa (生物利用度)	1.229 +/-0.268

[0162] 作为时间的函数分析在向大鼠静脉内给药后来源于 [³H]ABI-007 的放射性的平均血浓度,以便评估来源于气管内给药 [³H]ABI-007 的氡的生物利用度。该分析导致 6.1354mg-eq □ hr/L 的 24- 小时 AUC (AUC 终)。基于这些数据,来源于气管内给药 [³H]

ABI-007 的放射性是高生物利用度的。这些分析是基于总放射性。

[0163] 来源于 [³H]ABI-007 的氡在气管内滴注以后被快速吸收。在气管内给药 [³H]ABI-007 后在血液中氡的平均吸收和消除半衰期（分别为 k01 半衰期和 k10 半衰期）分别为 0.0155+/-0.0058 小时和 4.738+/-0.366 小时。氡从血液中的平均表观清除率为 0.1235+/-0.0180L/小时（参见以上表 4）。

[0164] 来源于 [³H]ABI-007 的氡在气管内给药后被吸收和分配。氡在血液中的时程很好地通过二区室模型描述，平均吸收和消除半衰期分别为 0.0155 和 4.738 小时。在气管内给药后 10 分钟在肺中回收约 28% 的给药剂量。除了胃肠道以外，在所有检查的时刻，在其它组织中回收到最大小于 1% 的剂量。

[0165] 基于来自先前使用 [³H]Capxo1™ 进行的静脉内剂量给药研究结果，对于该剂量组的三只动物，来源于气管内给药的氡的生物利用度为 1.229±0.268（平均值±SD）。然而，应当注意，这个对于生物利用度的估计是基于总放射性。令人惊奇的是，通过使用本发明含有清蛋白的组合物的肺途径传递的紫杉醇快速可生物利用，显示极好的跨过肺内皮的转运。在动物中未注意到毒性，这是令人惊奇的，因为已知肺传递细胞毒素类导致肺毒性。

[0166] 在剂量给药（27% 的气管内给药）后 24 小时，相当量的放射性存在于胃肠道（包括内含物）中。在胃肠道中氡的存在可能是由于胆汁排泄或氡从呼吸道通过粘膜纤毛清除和随后吞咽的清除。

[0167] 实施例 33

[0168] 本实施例举例说明了用于肺部传递包含紫杉醇和清蛋白的药物组合物的 Aerotech II 和 Pari 喷雾器。

[0169] 本研究是使用紫杉醇-清蛋白药物组合物 ABI-007 在下列条件下进行的：室温（20-23℃），相对湿度（48-54%），环境压力（629mmHg），喷雾器流率（对于 Aerotech II 为 10L/min；对于 Pari 为 7L/min），总流率（28.3L/min），喷雾器压力下降（对于 Aerotech II 为 23lb/in²；对于 Pari 为 32lb/in²），运行时间（15-60 秒），样品体积（1.5mL），ABI-007 紫杉醇浓度（5, 10, 15 和 20mg/mL）。

[0170] 当将 ABI-007 以 5-15mg/mL 的浓度重构时，Aerotech II 和 Pari 喷雾器都提供了可接受的总效率（30%-60%）。Pari 喷雾器效率具有比 Aerotech II 喷雾器更高的效率。Pari 喷雾器效率随着 ABI-007 浓度增加而有稍微下降。观察到极好的细粒部分（74%-96%）。Aerotech II 喷雾器具有比 Pari 喷雾器更高的细粒部分。细粒部分与浓度无关。

[0171] 使用 15mg/mL 的 ABI-007 溶液，在小于 30 分钟内 Pari 喷雾器传递 100mg 紫杉醇。使用 10mg/mL 或 15mg/mL 的 ABI-007 溶液，在约 65 分钟内 Aerotech II 喷雾器传递 100mg 紫杉醇。对于 Aerotech II 和 Pari 喷雾器检测性能稳定性。直至药物排尽，两种喷雾器的气溶胶浓度和效率是稳定的。在 15mg/mL，Pari 喷雾器消耗药物的速率是 Aerotech II 喷雾器的两倍，产生比 Aerotech II 喷雾器更高的气溶胶浓度。

[0172] 总之，当通过肺途径给药时，紫杉醇的纳米粒/清蛋白制剂（ABI-007）在大鼠中显示极好的生物利用度。在给药剂量下，没有早期毒性的明显标记。纳米粒紫杉醇（ABI-007）的肺传递可以使用常规喷雾器实现。

[0173] 实施例 34

[0174] 本实施例描述了包含清蛋白和雷帕霉素的药物组合物的肺内传递。本研究的目的是测定在向 Sprague Dawley 大鼠气管内滴注以后在血液中雷帕霉素的肺吸收,并与静脉内滴注比较。

[0175] 基于每 kg 体重 1mL 的剂量体积计算向动物给药的气管内剂量制剂的目标体积。剂量给药装置由与 1-mL 气密的 luer- 锁型注射器连接的 Penn-Century 微型喷雾器 (型号 1A-1B ;Penn-Century, Inc. , Philadelphia, PA ;购自 DeLong Distributors, Long Branch, NJ)。将适当体积的剂量制剂吸入剂量给药装置,称量填充的装置并记录重量。将导管放入被麻醉的动物的气管中,将剂量给药装置的微型喷雾器部分通过导管放置在气管内,给药剂量。在剂量给药后,重新称量空的剂量给药装置,作为剂量给药前后剂量给药装置的重量差计算给药的剂量。

[0176] 在下列预定剂量给药时刻从大鼠的留置的颈静脉套管中收集约 250 μ L 的血样: 1, 5, 10, 15, 30, 和 45 分钟 (min), 和 1, 4, 8, 和 24 小时 (h)。将所有分析的血样分配到预先称重的样品管中,将样品管重新称重,通过减法计算每个样品的重量。使用 LC/MS/MS 测定收集的血样的总雷帕霉素浓度。

[0177] 令人惊奇的是,结果显示在通过肺途径和通过静脉内传递的雷帕霉素的血浓度之间没有显著差异。使用包含清蛋白的药物组合物,通过肺途径传递的雷帕霉素的生物利用度被计算为 109%,显示极好的跨过肺内皮的转运。

[0178] 实施例 35

[0179] 本实施例举例说明在肺内给药按照本发明制备的包含雷帕霉素和清蛋白的药物组合物以后,清蛋白-雷帕霉素的组织分布。本研究的目的是测定在向 Sprague Dawley 大鼠气管内滴注以后雷帕霉素在组织中的肺吸收,并与静脉内滴注相比较。

[0180] 基于每 kg 体重 1mL 的剂量体积计算向动物给药的气管内剂量制剂的目标体积。剂量给药装置由与 1-mL 气密的 luer- 锁型注射器连接的 Penn-Century 微型喷雾器 (型号 1A-1B ;Penn-Century, Inc. , Philadelphia, PA ;购自 DeLong Distributors, Long Branch, NJ)。将适当体积的剂量制剂吸入剂量给药装置,称量填充的装置并记录重量。将导管放入被麻醉的动物的气管中,将剂量给药装置的微型喷雾器部分通过导管放置在气管内,给药剂量。在剂量给药后,重新称量空的剂量给药装置,作为剂量给药前后剂量给药装置的重量差计算给药的剂量。

[0181] 在 10 分钟、45 分钟、2 小时和 24 小时的每个时刻从每组 3 只大鼠的脑,肺和肝中收集样品。收集样品并使用 LC/MS/MS 分析总雷帕霉素浓度。结果显示当通过肺传递时与静脉内传递相比雷帕霉素浓度在肺组织中更大。然而,与静脉内 (IV) 传递相比,当通过气管内 (IT) 传递时雷帕霉素在脑中的总浓度较低。在肝中,无论 IT 或 IV 传递,雷帕霉素的浓度似乎没有差别。基于这些结果,肺内传递雷帕霉素可以适用于治疗病症 (即肺移植),其中高局部浓度的雷帕霉素将是有益的。

[0182] 实施例 36

[0183] 本实施例举例说明了口服传递含有紫杉醇和清蛋白的药物组合物 (ABI-007)。

[0184] 将氘化的 ABI-007 用于在大鼠中在口服管饲法后测定紫杉醇的口服生物利用度。在过夜禁食后,将 5 只大鼠给予 5.5mg/kg 在 ABI-007 中的紫杉醇 (组 A) 且另 5 只大鼠 (组 B) 用环孢菌素 (5.0mg/kg) 预处理,接着用 5.6mg/kg 在 ABI-007 中的紫杉醇处理。在通过

燃烧测定血样中的放射性以后,进行在 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 和 24 小时抽取的血样的药代动力学分析。通过与先前获得的静脉内数据相比较来测定口服生物利用度。结果在下表 5 中列出。

[0185] 表 5. 在口服给药后 ^3H -紫杉醇来源的放射性的平均 AUC 0-24, C_{\max} , T_{\max} 和 % 吸收
[0186]

组	处理	剂量/途径 mg/kg	AUC0-24 ($\mu\text{g eq x hr/mL}$)	吸收 (%)	$C_{\max}(\text{mg/kg})$ ($\mu\text{g x eq/mL}$)	T_{\max} (hr)
A	在生理盐水中的 ABI-007	5.5/PO(P)	2.92	44.3	0.245	1
B	在含有 CsA 的生 理盐水中的 ABI-007	5/PO (C), 5.6/PO (P)	8.02	121.1	0.565	0.5

[0187] 将 AUC 0-24IV ($6.06 \mu\text{g x hr. /mL}$) 和 IV 剂量 (5.1mg/kg) 用于计算吸收百分率 (基于 ABI-007 的 IV 剂量的数据)。

[0188] 对于单独 ABI-007 观察到 44% 的口服生物利用度。这显著高于对于其它紫杉醇制剂所观察到的。当用环孢菌素 (CsA) 处理动物时,生物利用度增加到 121%。这是预料到的,因为 CsA 是 p-糖蛋白泵的已知抑制剂,其通常将抑制化合物如紫杉醇从 GI 道吸收。大于 100% 的生物利用度可以通过在将紫杉醇胆汁排泄到 GI 道以后的再吸收来解释。其它已知的吸收抑制剂或增强剂也可以用于该目的。

[0189] 实施例 37

[0190] 本实施例举例说明了在给药包含紫杉醇和清蛋白的药物组合物后改善的紫杉醇向红细胞和肿瘤细胞的穿透。

[0191] 将人 MX-1 乳腺癌碎片皮下移植到无胸腺小鼠中。用 ^3H 紫杉醇紫杉醇制备如上所述的包含紫杉醇和清蛋白的药物组合物 (“紫杉醇 - 清蛋白”) 和泰素,比放射性为 $25 \mu\text{Ci/mg}$ 紫杉醇。当肿瘤体积达到约 500mm^3 时,将 20mg/kg 放射标记的紫杉醇 - 清蛋白或泰素在盐水中静脉内给药。将血浆、血液和肿瘤组织采样并在给药后 5, 15, 和 30 分钟和在 1, 3, 8, 和 24 小时显示分析放射性。使用 WinNonlin, Pharsight, USA 分析肿瘤药代动力学 (AUC 和吸收常数)。

[0192] 紫杉醇 - 清蛋白显示向红细胞 (RBC) 的快速分配,如在静脉内给药药物以后血浆 / 血液放射性比率快速降低至一致所示。向 RBC 中的完全分配早在给药紫杉醇 - 清蛋白后 1 小时就发生了。相比之下,配制为泰素的紫杉醇向 RBC 的分配要缓慢地多,并且直至超过 8 小时还未完成。

[0193] 紫杉醇 - 清蛋白显示向肿瘤组织的快速分配,吸收常数 (K_a) 比泰素大 3.3X。 K_a 对于紫杉醇 - 清蛋白和泰素分别为 0.43hr^{-1} 和 0.13hr^{-1} 。紫杉醇的快速摄取导致紫杉醇 - 清蛋白的肿瘤 AUC 比泰素高 33%。AUC 对于紫杉醇 - 清蛋白和泰素分别为 $3632\text{nCi}\cdot\text{hr/g}$ 和 $2739\text{nCi}\cdot\text{hr/g}$ 。

[0194] 实施例 38

[0195] 本实施例举例说明了向小鼠给药的含有紫杉醇和清蛋白的药物组合物的安全性。

[0196] 每天用逐渐增加剂量的紫杉醇-清蛋白或泰素处理无胸腺小鼠,连续 5 天。将存活率对剂量作图以测定 LD₅₀。与泰素相比,紫杉醇-清蛋白极大增加了存活率 ($p = 0.017$, ANOVA)。对于 q1dx5 进度表,紫杉醇-清蛋白和泰素的 LD₅₀ 分别计算为 47mg/kg/天和 30mg/kg/天。在 13.4mg/kg/天的剂量水平下,紫杉醇-清蛋白和泰素都被很好地耐受,死亡率分别为 1% (72 只小鼠中 1 只死亡) 和 4% (47 只小鼠中 2 只死亡)。在 20mg/kg/天的剂量水平下,紫杉醇-清蛋白的死亡率为 1% (72 只小鼠中 1 只死亡),泰素死亡率为 17% (47 只小鼠中 8 只死亡) ($p = 0.0025$)。在 30mg/kg/天的剂量水平下,紫杉醇-清蛋白的死亡率为 4% (72 只小鼠中 3 只死亡),泰素死亡率为 49% (47 只小鼠中 23 只死亡) ($p < 0.0001$)。

[0197] 实施例 39

[0198] 本实施例举例说明了对于紫杉醇-清蛋白组合物,跨过微脉管内皮细胞 (EC) 的新紫杉醇转运机制。

[0199] 由于肿瘤中“渗漏”脉管导致的 EPR 作用,纳米粒和清蛋白-紫杉醇组合物可以在肿瘤组织中累积。清蛋白特异的 gp60 受体 (albodin) 通过细胞表面处的细胞膜穴样内陷内的受体的胞转,将清蛋白转运通过 EC。该胞转机制允许清蛋白-紫杉醇转运至底层的胞间隙中。相反,泰素中的聚氧乙烯蓖麻油抑制紫杉醇与清蛋白的结合,极大地降低了紫杉醇向肿瘤的转运。另外, gp16 和 gp30 受体还涉及含有结合的紫杉醇的修饰的清蛋白的胞内转运,导致增加的紫杉醇与内皮细胞的结合,与泰素相比抗血管生成作用更大。

[0200] 实施例 40

[0201] 本实施例举例说明了与泰素相比,含有紫杉醇和清蛋白的药物组合物的内皮胞转的增加。

[0202] 将人肺微脉管内皮细胞 (HLMVEC) 在 transwell 上培养至汇合。将浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 本发明含有紫杉醇和清蛋白的药物组合物或泰素加入至上 transwell 室中。

[0203] 使用荧光计连续监视紫杉醇通过胞转从上室转运到下室中的转运。还使用仅含有 Flutax 而无清蛋白的对照。含有 Flutax 的对照未显示转运,证明汇合 HLMVEC 单层的完整性。在 5% HSA (生理浓度) 的存在下,来自清蛋白-紫杉醇组合物的紫杉醇的转运要比来自泰素的紫杉醇快得多。转运速率常数 (K_t) 对于清蛋白-紫杉醇组合物和泰素分别为 1.396hr⁻¹ 和 0.03hr⁻¹。清蛋白-紫杉醇组合物的转运跨过单层的紫杉醇的总量比泰素的转运跨过单层的紫杉醇的总量高 3 倍。

[0204] 实施例 41

[0205] 本实施例举例说明了与泰素相比,含有紫杉醇和清蛋白的药物组合物改善的内皮细胞 (EC) 结合。

[0206] 将人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 培养在 96-孔微量滴定板上。在一个实验中,在增加浓度的聚氧乙烯蓖麻油 EL/EtOH (泰素的载体) 的存在下,将 HUVEC 与紫杉醇 (Flutax-Oregon Green 标记的紫杉醇) 反应。在另一实验中,含有清蛋白和 Flutax 的药物组合物和泰素-Flutax 组合物在各种终浓度下与 HUVEC 反应。紫杉醇与细胞的结合受聚氧乙烯蓖麻油的抑制。通过聚氧乙烯蓖麻油 EL/EtOH 的 0.02% 的 IC₅₀ 显示抑制。该浓度的聚氧乙烯蓖麻油已经显示在泰素化疗期间持续至少 24 小时。因此,它是体内相关过程。在所有检测浓度下,显著量的来自清蛋白-紫杉醇组合物的紫杉醇与细胞结合。相比之下,对

于泰素观察到很少或未观察到结合。

[0207] 实施例 42

[0208] 本实施例举例说明了与泰素相比,含有紫杉醇和清蛋白的药物组合物的改善的清蛋白结合。

[0209] 将人血清清蛋白 (HSA) 固定在塑料 ELISA 板上。将紫杉醇 (Flutax-Oregon Green 标记的紫杉醇) 与固定的 HSA 在增加浓度的聚氧乙烯蓖麻油 EL/EtOH 的存在下反应。在另一实验中,清蛋白-紫杉醇-Flutax 组合物和泰素-Flutax 组合物与固定的 HSA 在 20 μ g 紫杉醇/mL 的终浓度下反应。紫杉醇与清蛋白的结合受聚氧乙烯蓖麻油的抑制。通过聚氧乙烯蓖麻油 EL/EtOH 的 0.003% 的 IC_{50} 显示抑制。该浓度的聚氧乙烯蓖麻油已经显示在泰素化疗期间持续至少 24 小时。因此,它是体内相关过程。在相关药物紫杉醇浓度 (20 μ g/mL) 下,显著量的来自清蛋白-紫杉醇组合物的紫杉醇与固定的 HSA 结合。相比之下,对于泰素未观察到结合。

[0210] 实施例 43

[0211] 本实施例举例说明了与泰素相比,对于含有紫杉醇和清蛋白的药物组合物增加的紫杉醇向清蛋白的转运。

[0212] 将泰素-Flutax 和清蛋白-紫杉醇-Flutax 组合物以 20 μ g/mL, 40 μ g/mL, 和 80 μ g/mL 与在 Hanks 缓冲液中的 5% HSA 或与血清混合。立即在天然 3-14% 聚丙烯酰胺凝胶上分离混合物,通过扫描荧光计测定与清蛋白结合的紫杉醇的量。与泰素相比,对于清蛋白-紫杉醇组合物,紫杉醇向 HSA 的转运更快。当将血清或 5% HSA 与清蛋白-紫杉醇-Flutax 组合物或泰素-Flutax 组合物温育时,更多的紫杉醇与 HSA 共电泳。与泰素-Flutax 组合物相比,20 μ g/mL, 40 μ g/mL, 和 80 μ g/mL 的清蛋白-紫杉醇-Flutax 组合物在接触 5% HSA 后,分别有 45%, 60%, 和 33% 更多的紫杉醇转运至 HSA。对于 260mg/m² 的 ABI-007, C_{max} 为约 20 μ g/mL, 因此这是重要的体内过程。

[0213] 实施例 44

[0214] 本实施例举例说明了糖蛋白受体 gp60 负责清蛋白-紫杉醇的结合和胞转。

[0215] 荧光标记的紫杉醇 (Flutax) 清蛋白组合物与培养物中的微管内皮细胞接触。在显微镜下观察到荧光染色,证据是斑点区域,这推测是与清蛋白-紫杉醇结合的 gp60 受体。这通过使用罗丹明标记的清蛋白证实,罗丹明标记的清蛋白与紫杉醇的斑点荧光位置相同。

[0216] 实施例 45

[0217] 本实施例举例说明了增加量的清蛋白可以与紫杉醇的结合竞争。

[0218] 将清蛋白固定在微量滴定板上。将荧光紫杉醇加入孔中,使用扫描荧光计测量紫杉醇的结合。将增加量的清蛋白加入孔中并测量与固定的清蛋白结合的紫杉醇的抑制水平。数据显示随着加入的清蛋白的量增加,观察到结合的相应降低。对于与内皮细胞的结合观察到类似效果。这显示更高的清蛋白浓度抑制紫杉醇的结合。优选本发明具有较低量的清蛋白的组合。

[0219] 实施例 46

[0220] 本实施例举例说明了在本发明药物组合中较低量的清蛋白导致稳定的组合物。

[0221] 为了研究组合物中较低量的清蛋白是否影响本发明药物组合物的稳定性,制备含

有低量清蛋白的清蛋白-紫杉醇组合物。当在不同温度(2-8°C, 25°C和40°C)下检查紫杉醇功效、杂质形成、粒径、pH和其它稳定性的典型参数时,发现这些组合物与具有更高量的清蛋白的组合物一样稳定。因此优选具有较低量的清蛋白的组合物,因为这可以极大地降低成本和允许增加的结合和向细胞的转运。

[0222] 实施例 47

[0223] 本实施例举例说明了含有清蛋白和紫杉醇的药物组合物,其具有高的清蛋白与紫杉醇比率。

[0224] 将30mg紫杉醇溶解在3.0ml二氯甲烷中。将溶液加入至27.0ml人血清清蛋白溶液(3% w/v)中(相当于清蛋白与紫杉醇的比率为27)。根据需要加入去铁胺。将该混合物在低RPM下均化5分钟(Vitris均化器,型号Tempest I. Q.)以便形成粗乳剂,然后转移到高压均化器(Avestin)中。在9000-40,000psi下进行乳化,同时将乳剂再循环至少5个周期。将获得的系统转移至旋转式蒸发器,在40°C、减压(30mm Hg)下快速去除二氯甲烷20-30分钟。获得的分散体是半透明的,获得的紫杉醇颗粒的典型平均直径为50-220nm(Z-平均值, Malvern Zetasizer)。将该分散体进一步冻干48小时。通过加入无菌水或盐水,获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。在重构后的粒径与冻干前相同。

[0225] 应当认识到用于本实施例的药物、溶剂、蛋白质的量、类型和比率不受任何方式的限制。当与溶于聚氧乙烯蓖麻油制剂中的紫杉醇的毒性相比时,本发明含有清蛋白的药物组合物显示显著更低的毒性。

[0226] 实施例 48

[0227] 本实施例举例说明了含有清蛋白和紫杉醇的药物组合物,其具有低的清蛋白与紫杉醇比率。

[0228] 具体地,将300mg紫杉醇溶解在3.0ml二氯甲烷中。将溶液加入至27ml人血清清蛋白溶液(5% w/v)中(相当于清蛋白与紫杉醇的比率为4.5)。根据需要加入去铁胺。将该混合物在低RPM下均化5分钟(Vitris均化器,型号Tempest I. Q.)以便形成粗乳剂,然后转移到高压均化器(Avestin)中。在9000-40,000psi下进行乳化,同时将乳剂再循环至少5个周期。将获得的系统转移至旋转式蒸发器,在40°C、减压(30mm Hg)下快速去除二氯甲烷20-30分钟。获得的分散体是半透明的,获得的紫杉醇颗粒的典型平均直径为50-220nm(Z-平均值, Malvern Zetasizer)。将该分散体进一步冻干48小时。通过加入无菌水或盐水,获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。在重构后的粒径与冻干前相同。

[0229] 应当认识到用于本实施例的药物、溶剂、蛋白质的量、类型和比率不受任何方式的限制。当与溶于聚氧乙烯蓖麻油制剂中的紫杉醇的毒性相比时,本发明含有清蛋白的药物组合物显示显著更低的毒性。

[0230] 实施例 49

[0231] 本实施例举例说明了含有清蛋白和紫杉醇的药物组合物,其具有中等的清蛋白与紫杉醇比率。

[0232] 具体地,将135mg紫杉醇溶解在3.0ml二氯甲烷中。将溶液加入至27ml人血清清蛋白溶液(5% w/v)中。根据需要加入去铁胺。将该混合物在低RPM下均化5分钟(Vitris均化器,型号Tempest I. Q.)以便形成粗乳剂,然后转移到高压均化器(Avestin)中。在9000-40,000psi下进行乳化,同时将乳剂再循环至少5个周期。将获得的系统转移至旋转

式蒸发器,在 40°C 在减压 (30mm Hg) 下快速去除二氯甲烷 20-30 分钟。获得的分散体是半透明的,获得的紫杉醇颗粒的典型平均直径为 50-220nm(Z- 平均值, Malvern Zetasizer)。将该分散体进一步冻干 48 小时。通过加入无菌水或盐水,获得的饼块可以容易地重构为原有分散体。在重构后的粒径与冻干前相同。在本发明组合中,清蛋白与紫杉醇的计算比率 (w/w) 为约 10。

[0233] 应当认识到用于本实施例的药物、溶剂、蛋白质的量、类型和比率不受任何方式的限制。当与溶于聚氧乙烯蓖麻油制剂中的紫杉醇的毒性相比时,本发明含有清蛋白的药物组合物显示显著更低的毒性。

[0234] 实施例 50

[0235] 本实施例举例说明了用清蛋白 - 紫杉醇组合物治疗动物模型中的类风湿性关节炎。

[0236] 将在 Louvain 大鼠中胶原蛋白诱导的关节炎模型用于检测清蛋白 - 紫杉醇组合物对关节炎的治疗效果。监视实验动物的爪尺寸以评估关节炎的严重性。

[0237] 在关节炎完全发展以后 (通常在胶原蛋白注射后约 9-10 天),将实验动物分成不同组以腹膜内接受清蛋白 - 紫杉醇 1mg/kg q. o. d, 或清蛋白 - 紫杉醇 0.5mg/kg+ 泼尼松 0.2mg/kg q. o. d. (联合治疗) 达 6 个剂量,然后每周一个剂量达三周。在治疗开始 (第 0 天) 和每次注射药物时测量爪尺寸。仅接受生理盐水的一组作为对照。在实验结束时,接受清蛋白 - 紫杉醇的组爪尺寸实现 42% 的减小,联合治疗组显示爪尺寸减小 33%,而对照组爪尺寸与治疗开始时相比增加约 20%。

[0238] 总之,清蛋白 - 紫杉醇组合物对关节炎显示治疗效果。清蛋白 - 紫杉醇的组合可能通过受体介导的机制如 gp60 的转运定位于关节炎损伤的部位。

[0239] 实施例 51

[0240] 本实施例举例说明了清蛋白 - 紫杉醇组合物在治疗心血管再狭窄中的应用。

[0241] 动物中紫杉醇流出支架 (Paclitaxel eluting stents) 导致不完全的愈合,在有些情形中,导致在动脉中缺少对新内膜生长的持续抑制。本研究检验了新的系统传递清蛋白 - 紫杉醇本发明组合物对于降低支架内再狭窄的功效。

[0242] 在接受双侧髂动脉支架的 38 只新西兰白兔中检测盐水重构的清蛋白 - 紫杉醇。将清蛋白 - 紫杉醇的剂量 (1.0-5.0mg/kg 紫杉醇剂量) 作为 10- 分钟的动脉内输注给药;对照动物接受载体 (0.9% 生理盐水)。

[0243] 在接下来的慢性实验中,将 5.0mg/kg 清蛋白 - 紫杉醇提供给支架,在第 28 天静脉内重复剂量给药 3.5-mg/kg 清蛋白 - 紫杉醇;这些研究在 3 个月终止。在第 28 天,通过剂量给药清蛋白 - 紫杉醇 ≥ 2.5 mg/kg 降低了平均新内膜厚度 ($p \leq 0.02$),证据为延长的愈合。然而,单剂量的 5.0mg/kg 清蛋白 - 紫杉醇的功效在 90 天前丧失。相反,在上支架后 28 天第二次重复给药 3.5mg/kg 清蛋白 - 紫杉醇导致在 90 天时新内膜厚度的持续抑制 (与单剂量 5.0mg/kg 清蛋白 - 紫杉醇和对照相比, $p \leq 0.009$),新内膜几乎完全愈合。

[0244] 尽管系统的清蛋白 - 紫杉醇在 28 天降低了新内膜生长,但是对于持续新内膜抑制要求单次重复剂量。因此,本发明组合物适用于治疗心血管疾病如再狭窄。本发明包含除了紫杉醇以外的药剂 (例如雷帕霉素,其它紫杉烷类,埃坡霉素等) 的组合物全都适用于治疗血管或人造血管移植植物如在需要血液透析的患者中用于动脉 - 静脉入口的那些中的再

狭窄。