



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03819625.5

[43] 公开日 2005 年 9 月 28 日

[11] 公开号 CN 1674870A

[22] 申请日 2003.6.19 [21] 申请号 03819625.5
[30] 优先权
[32] 2002. 6. 21 [33] US [31] 60/390,508
[32] 2003. 2. 12 [33] US [31] 10/366,584
[86] 国际申请 PCT/US2003/019719 2003.6.19
[87] 国际公布 WO2004/000226 英 2003.12.31
[85] 进入国家阶段日期 2005.2.18
[71] 申请人 皮埃蒙特医药品有限公司
地址 美国北卡罗来纳州
[72] 发明人 S·A·麦克莱恩 W·R·坎贝尔

[74] 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司
代理人 赵蓉民 路小龙

权利要求书 6 页 说明书 20 页

[54] 发明名称 含有生物活性化合物的脂质体
[57] 摘要

本发明提供了含有生物活性化合物的脂质体的组合物及其制备方法。本发明方法呈现出生产含有非甾体抗炎药 (NSAIDs) 和其他生物活性化合物的脂质体组合物的能力, 呈现出在一致、稳定的脂质体上实现非常高包封率的能力。本发明也提供了含有抗病毒剂和抗真菌剂的脂质体的组合物。本发明的脂质体组合物能用于治疗多种疾病状态, 包括, 例如, 疼痛和发炎, 细菌感染和病毒感染。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种用于制备含有一种生物活性化合物的脂质体的方法，所述方法包括：

提供一种含水组合物，

5 提供一种含有一种生物活性化合物的磷脂组合物，和
混合含水组合物和磷脂组合物，以便得到包封有该生物活性化合物的脂质体；

其中，当混合时，磷脂组合物的温度比含水组合物的温度高至少 2℃。

10

2. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述含水组合物含有一种水溶性防腐剂和所述磷脂组合物含有一种脂溶性抗氧化剂；和其中所述生物活性化合物包封在脂质体中，包封率至少 20%。

15 3. 根据权利要求 2 所述的方法，其中包封率是至少 50%。

4. 根据权利要求 3 所述的方法，其中包封率是至少 90%。

5. 根据权利要求 2 所述的方法，其中所述生物活性化合物是一种
20 非甾体抗炎化合物。

6. 根据权利要求 5 所述的方法，其中所述非甾体抗炎化合物选自塞内昔布、二氟苯水杨酸、菲诺洛芬、吲哚美辛、酮洛芬、甲氯芬那酸、萘普生、阿昔洛韦、保泰松、吡罗昔康、双水杨酯、苏灵大、甲
25 苯酰吡咯乙酸、罗非西布、伐地考昔、和其中任何两种或者多种的组合。

7. 根据权利要求 5 所述的方法，其中所述非甾体抗炎化合物选自塞内昔布，萘普生，吲哚美辛，酮洛芬，和其中任何两种或者多种的组
30 合。

8. 根据权利要求 2 所述的方法，其中所述生物活性化合物是抗病毒剂或抗真菌剂。

9. 根据权利要求 8 所述的方法，其中所述抗病毒剂为阿昔洛韦和
5 所述抗真菌剂为氟康唑或特比奈酚。

10. 根据权利要求 1 所述的方法，其中，当所述磷脂组合物和含水
组合物混合时，所述磷脂组合物的温度比所述含水组合物的温度高约 8
℃；且其中所述组合物还含有一种水溶性防腐剂和一种脂溶性抗氧化
10 剂。

11. 根据权利要求 10 所述的方法，其中所述含水组合物的温度是
约 50℃和所述磷脂组合物的温度是约 58℃。

12. 根据权利要求 11 所述的方法，进一步包括在至少 2 小时的时间
15 区间里冷却混合物。

13. 根据权利要求 11 所述的方法，其中混合物以每小时约 6℃的
速度冷却。
20

14. 根据权利要求 11 所述的方法，其中所述生物活性化合物是一种
非甾体抗炎化合物。

15. 根据权利要求 14 所述的方法，其中所述非甾体抗炎化合物选自
25 塞内昔布、二氟苯水杨酸、菲诺洛芬、吲哚美辛、酮洛芬、甲氯芬
那酸、萘普生、保泰松、吡罗昔康、双水杨酯、苏灵大、甲苯酰吡咯
乙酸、罗非西布、伐地考昔、和其中任何两种或者多种的组合。

16. 根据权利要求 11 所述的方法，其中所述生物活性化合物为一
30 种非甾体抗炎化合物；所述水溶性防腐剂是一种苯索铵盐
(benzethonium salt)；所述脂溶性抗氧化剂是维生素 E。

17. 根据权利要求 11 所述的方法, 其中非甾体抗炎化合物选自塞内昔布、萘普生、吲哚美辛、酮洛芬、和其中任何两种或者多种的组合。

5 18. 根据权利要求 11 所述的方法, 其中所述生物活性化合物是一种抗病毒剂或一种抗真菌剂。

19. 根据权利要求 18 所述的方法, 其中所述抗病毒剂是阿昔洛韦和所述抗真菌剂是氟康唑或特比奈酚。

10

20. 根据权利要求 11 所述的方法, 其中组合物冷却到约 28°C。

21. 根据权利要求 16 所述的方法, 其中所述非甾体抗炎化合物选自塞内昔布, 二氟苯水杨酸、菲诺洛芬、吲哚美辛、酮洛芬、甲氯芬
15 那酸、萘普生、保泰松、吡罗昔康、双水杨酯、苏灵大、甲苯酰吡咯乙酸、罗非西布、伐地考昔、和其中任何两种或者多种的组合。

22. 根据权利要求 16 所述的方法, 其中所述非甾体抗炎化合物选自塞内昔布、萘普生、吲哚美辛、酮洛芬、和其中任何两种或者多种
20 的组合。

23. 一种脂质体组合物, 包括:
一种生物活性化合物,
一种水溶性防腐剂, 和
25 一种脂溶性抗氧化剂;
其中至少 75% 的脂质体的直径为约 1 微米至约 10 微米; 和
其中该组合物的粘性至少为 10,000 厘泊和含有少于 2% 的增粘剂。

24. 根据权利要求 23 所述的组合物, 其中所述脂溶性抗氧化剂是
30 维生素 E; 和所述生物活性化合物是一种非甾体抗炎化合物。

25. 根据权利要求 24 所述的组合物, 其中所述非甾体抗炎化合物

选自塞内昔布、乙酰水杨酸、胆碱水杨酸盐、二氟苯水杨酸、菲诺洛芬、布洛芬制剂、吲哚美辛、酮洛芬、甲氯芬那酸、萘普生、保泰松、吡罗昔康、双水杨酯、苏灵大、甲苯酰吡咯乙酸、罗非西布、伐地考昔、和其中任何两种或者多种的组合。

5

26. 根据权利要求 23 所述的组合物，其中所述组合物的粘性至少为 30,000 厘泊。

27. 根据权利要求 24 所述的组合物，其中所述非甾体抗炎化合物
10 选自塞内昔布、萘普生、吲哚美辛、酮洛芬、和其中任何两种或者多种的组合；和所述水溶性防腐剂是一种苯索铵盐（benzethonium salt）。

28. 根据权利要求 23 所述的组合物，其中所述生物活性化合物是一种抗病毒剂或一种抗真菌剂。

15

29. 根据权利要求 28 所述的组合物，其中抗病毒剂是阿昔洛韦和抗真菌剂是氟康唑或特比奈酚。

30. 一种减少哺乳动物的疼痛或发炎的方法，所述方法包括：在要
20 减少疼痛或发炎的地方外用一种脂质体组合物，所述脂质体组合物含有：

一种非甾体抗炎化合物，

一种水溶性防腐剂，和

一种脂溶性抗氧化剂；

25 其中至少 75% 的脂质体的直径为约 1 微米至约 10 微米；和
其中该组合物的粘性至少 20,000 厘泊和含有少于 2%w/w 的增粘剂。

31. 根据权利要求 30 所述的方法，其中所述水溶性防腐剂是一种
30 苯索铵盐（benzethonium salt）和所述脂溶性抗氧化剂是维生素 E；和
其中所述非甾体抗炎化合物选自塞内昔布、乙酰水杨酸、胆碱水杨酸盐、二氟苯水杨酸、菲诺洛芬、布洛芬制剂、吲哚美辛、酮洛芬、

甲氯芬那酸、萘普生、保泰松、吡罗昔康、双水杨酯、苏灵大、甲苯酰吡咯乙酸、罗非西布、伐地考昔、和其中任何两种或者多种的组合。

32. 根据权利要求 30 所述的方法，其中所述非甾体抗炎化合物选自塞内昔布、萘普生、吲哚美辛、酮洛芬、和其中任何两种或者多种的组合；和

其中所述组合物的粘性至少 30,000 厘泊。

33. 一种减少哺乳动物的疼痛或发炎的方法，所述方法包括：在要减少疼痛或发炎的地方外用一种脂质体组合物，所述脂质体组合物含有：

一种生物活性化合物，
一种水溶性防腐剂，和
一种脂溶性抗氧化剂；

其中至少 75% 的脂质体的直径为约 1 微米至约 10 微米；和
其中该组合物的粘性至少 20,000 厘泊和含有少于 2%w/w 的增粘剂。

34. 根据权利要求 33 所述的方法，其中所述生物活性化合物选自葡糖胺、二甲基砒、孕烯醇酮、S-腺苷甲硫氨酸、和其中任何两种或者多种的组合。

35. 根据权利要求 34 所述的方法，其中所述水溶性防腐剂是一种苯索铵盐和其中所述脂溶性抗氧化剂是维生素 E。

25

36. 一种治疗眼睛中的病毒感染的方法，所述方法包括：

眼用一种脂质体组合物，所述脂质体组合物含有：

一种抗病毒剂，
一种水溶性防腐剂，和
一种脂溶性抗氧化剂；

30

其中该组合物的粘性至少 20,000 厘泊和含有少于 2%w/w 的

增粘剂。

37. 根据权利要求 36 所述的方法，其中所述病毒感染是疱疹和所述抗病毒剂是阿昔洛韦。

5

38. 一种治疗真菌感染的方法，所述方法包括：

在感染部位外用一种脂质体组合物，所述脂质体组合物含有：

一种抗真菌剂，

一种水溶性防腐剂，和

10

一种脂溶性抗氧化剂；

其中该组合物的粘性至少 20,000 厘泊和含有少于 2%w/w 的增粘剂。

39. 根据权利要求 38 所述的方法，其中所述抗真菌剂是氟康唑或
15 特比奈酚。

40. 一种治疗感染的方法，所述方法包括：

在感染部位外用一种脂质体组合物，所述脂质体组合物含有：

一种抗病毒剂或抗真菌剂，

20

一种水溶性防腐剂，和

一种脂溶性抗氧化剂；

其中该组合物的粘性至少 20,000 厘泊和含有少于 2%w/w 的增粘剂。

41. 根据权利要求 40 所述的方法，其中所述感染是一种病毒性皮肤感染和所述抗病毒剂是阿昔洛韦。
25

42. 根据权利要求 40 所述的方法，其中所述感染是真菌性皮肤感染和所述抗真菌剂是氟康唑或特比奈酚。

含有生物活性化合物的脂质体

发明领域

- 5 [0001] 本发明涉及脂质体组合物及其它们的制备和应用。

背景技术

- [0002] 脂质体 (liposomes) 提供了一种用于给药生物活性化合物 (biologically active compounds) 的有用方式。通过口服方式, 非甾体
10 抗炎药 (non-steroidal anti-inflammatory, NSAID) 已经广泛地用于治疗疼痛和发炎, 诸如那些由关节疾病引起的疼痛和发炎。发炎的治疗通常涉及口服甾体或非甾体药剂 (medications), 并以发红、发肿、发热、疼痛和功能丧失为特征。一些非甾体抗炎化合物可以以口服药物、外用乳膏、药膏和凝胶形式得到。但是, 最有效的非甾体抗炎化合物却
15 不能以有效的、外用给药组合物形式得到。而且, 口服给药非甾体抗炎药 (NSAIDs) 会引起副反应, 诸如肠胃不适, 甚至引起充血性心力衰竭, 肾衰竭, 以及对肠胃道的被覆层产生毒性。现有的生产和制备脂质体组合物的方法, 不能使该使用者 (user) 制备含有脂质体的组合物, 脂质体包封有 NSAIDs, 其能被外部应用, 具有最大的药学效果。

20

发明概述

- [0003] 本发明提供了脂质体的组合物及其制备方法, 脂质体含有一种生物活性化合物。优选地, 脂质体为多层脂质体 (multilamellar liposomes), 适用于局部给药。在优选的实施方案中, 脂质体组合物利
25 用了一种水溶性防腐剂 (water soluble preservative) 和一种脂溶性抗氧化剂 (lipid soluble anti-oxidant), 并且, 即使在存在少量增粘剂或不存在增粘剂 (viscosity enhancing agents) 的情况下, 表现出高粘性。该制备方法呈现出获得非常高的包封率的能力, 诸如包封率 (encapsulation efficiencies) 为 50%, 或 60% 或 70% 或 80% 或 90% 或
30 甚至 95%。本方法呈现出生产大批量的脂质体组合物 (liposome

compositions) 的能力, 在 10 升级或更大级。

[0004] 本发明的脂质体含有一种生物活性化合物和一种水溶性防腐剂。在优选的实施方案中, 脂质体组合物也含有一种脂溶性抗氧化剂, 其最优选是维生素 E。在另外的实施方案中, 至少 75% 的脂质体的直径是从大约 1 微米 (μm) 至大约 10 微米 (μm), 优选大约 3 微米 (μm) 至大约 5 微米 (μm), 且至多 1% 的脂质体直径大到 20 微米 (μm)。在更进一步的实施方案中, 本组合物含有少于约 1% w/w (重量比) 的一种增粘剂, 更优选地, 不含任何增粘剂。尽管如此, 该脂质体组合物, 优选地, 在 58°C 下具有至少 20,000 厘泊 (centipoise) 的粘性; 更优选地, 在 58°C 下粘性至少 30,000 厘泊。在一个优选的实施方案中, 生物活性化合物为一种非甾体抗炎化合物。在一个最优选的实施方案中, 该非甾体抗炎化合物为萘普生 (naproxen)、酮洛芬 (ketoprofen)、塞内昔布 (celecoxib)、或吲哚美辛 (indomethacin)。氟康唑 (fluconazole) 和阿昔洛韦 (acyclovir) 也是用于脂质体组合物的优选的生物活性化合物。但是在其他实施方案中, 任何活性化合物能被包含在脂质体中。

[0005] “脂质体 (liposome)” 是指一种球形囊泡, 以排列整齐的脂双层为界, 包裹有水相。脂质体的脂双层 (lipid bilayer) 通常由天然或合成的磷脂制成, 但是也可以由非磷脂制成。例如, 脂双层也可以含有胆固醇和其他类脂。脂质体能包含一部分固体微粒, 但是区别于微晶 (microcrystals), 诸如在授权给 Haynes 的美国专利 5,091,188 中所描述的微晶, 其含有包被有脂双层的固体晶体状微粒, 脂双层不是由磷脂的头和尾排列起来的规则双层, 而是一个无序的包衣。在本申请中, 脂质体的类脂囊泡内体积的少于 25% 为固体, 即任何形式的晶形。脂质体的脂双层是整齐排列的脂双层, 涵义在于, 类脂的分子 “头” 和 “尾” 结构相互整齐排列。

[0006] “药理活性” 的化合物是指, 当给药于人体或动物体时, 具有一些可测量的效应的化合物, 诸如疼痛、发炎的减轻, 抗病毒或抗真菌特性, 或其他可测量的生物学特性。“生物活性” 的化合物是指在体外或体内检测试验中具有一些可测量的效应的化合物, 检测试验被设计用来预测: 如果将该化合物给药于人体或者动物体, 该化合物所具

有的作用。本领域的普通技术人员将会认识到，现在有多种检测方法，可以用来测定广泛种类化合物的特定活性或性质。优选的检测方法是那些在预测所测定活性上显示出科学性和统计学意义的方法，优选地，是可以产生在三个标准方差范围内的结果的测定方法。因此，生物活性化合物（biologically active compounds）也可以具有体内药理学活性。适于在本发明中使用的生物活性化合物包括，但不限于，皮肤用药剂（dermatological agents）、抗细菌剂、抗病毒剂、抗真菌剂、镇痉药、抗高血压药、抗癌药剂、抗生素、anti-pseboria agents、抗牛皮癣剂、免疫调节剂、激素、蛋白质、多肽、和非甾体抗炎药（NSAIDs）。“防腐剂”是指一种添加到脂质体组合物中的成分，其防止微生物在制剂中实质性的生长和繁殖。当微生物的生长与繁殖改变了该组合物的粘性、稳定性或其他重要特性时，微生物的生长与繁殖是实质性的（substantial）。一些微生物的生长是允许的，只要其不会消极地影响该组合物的物理的、化学的或治疗性质，使其不能够适于应用。微生物可能是细菌、酵母或霉菌。“水溶性的”是指该成分在水中的水中溶解度超过 100 微克/毫升（或 0.01%）。在其他实施方案中，该成分在水中溶解度可能超过 1 毫克/毫升（0.1%）。

[0007] 本发明的脂质体可以是单层的（具有一个脂双层），或，更优选地，是多层的。“多层的”脂质体具有多个层或多个膜。这种类型的脂质体具有脂双层的复数个层，具有位于脂双层之间的含水液体。多层脂质体具有至少两层类脂。本发明的脂质体具有在宽范围变化的尺寸大小，但是，优选地，在每批制品中，是具有一致的尺寸的。脂质体可大至 20 微米，25 微米，或者甚至 30 微米。但在优选实施方案中，约 95% 的脂质体的直径约为 1 微米至 10 微米。在一个实施方案中，在依据本发明方法制造的组合物中，大部分的脂质体将在从约 3 微米至 5 微米。脂质体的实际直径将是随后的冷却曲线和搅拌或旋涡水合作用的长度和强度的函数，如果当那些操作被应用在制备脂质体中时。更在其他实施方案中，脂质体可以是一个单独较大脂质体包封一个或多个较小的脂质体的多层脂质体。

[0008] 本发明也提供了生产上述脂质体的方法。这些方法适于大规模制备脂质体组合物，诸如 2,000 升、5,000 升、10,000 升、20,000 升和

甚至高达 50,000 升。这些方法涉及提供一种水溶液, 和提供一种处于至少比所述水溶液的温度高 2℃ 的温度下的、含有一种生物活性化合物的磷脂组合物。含水组合物和磷脂组合物被混合, 以便制得包封有生物活性化合物的脂质体。当组合物被混合时, 磷脂组合物是处于一个

5 比含水组合物的温度高至少 2℃ 的温度下。在许多实施方案中, 生物活性化合物以至少 20%、或至少 50%、或至少 70%、或至少 90%、或甚至至少 95% 的包封率被包封在脂质体中。在一些实施方案中, 当两种组合物混和时, 磷脂组合物的温度比含水组合物的温度高约 6℃ 或约 10℃。在优选的实施方案中, 当两种组合物混合时, 磷脂组合物是约

10 58℃ 或更低, 含水组合物的温度是较磷脂组合物低约 8-10℃, 例如 60℃ 和 52℃ 或 50℃, 或者 60℃ 和 50℃, 或者 59℃ 和 51℃ 或 50℃, 或者 58℃ 和 50℃ 或 49℃ 或 48℃。所有温度都 $\pm 2^\circ\text{C}$ 。术语“约”是指 $\pm 5\%$ 。优选地, 磷脂组合物从来不被置于高于约 60℃-65℃ 的温度下, 以确保其中所含成分中的任何一个不被降解, 提供最佳的脂质体生成。

15 [0009] 在一个最优选的实施方案中, 含水组合物的温度是在约 50℃ $\pm 2^\circ\text{C}$, 磷脂组合物的温度是在约 58℃ $\pm 2^\circ\text{C}$ 。混合物可以在至少 2 小时的时间区段内被冷却, 优选地以每小时大约 6℃ 的速度被冷却。在一个优选实施方案中, 生物活性化合物为非甾体抗炎的, 更优选的是萘普生、酮洛芬、吲哚美辛、或塞内昔布。在另外的优选实施方案中, 生物活性化合物是阿昔洛韦或氟康唑。

20 在一个最优选的实施方案中, 以每小时大约 6℃ 的速度, 将混合物冷却到约 28℃。非甾体抗炎化合物, 包括, 但不限制于, 塞内昔布、罗非西布 (rofecoxib)、萘普生、酮洛芬、二氟苯水杨酸 (diflunisal)、菲诺洛芬 (fenoprofen)、吲哚美辛、甲氯芬那酸 (meclofenamin)、保泰松 (phenylbutazone)、吡罗昔康

25 (piroxicam)、双水杨酯 (salsalate)、苏灵大 (sulindac)、或甲苯酰吡咯乙酸、乙酰水杨酸、布洛芬 (ibuprofen)、和胆碱水杨酸盐。但在其他实施方案中, 生物活性化合物可以是一种除了非甾体抗炎药物 (NSAID) 之外的化合物, 诸如抗病毒或抗真菌化合物。

[0010] “包封率 (encapsulation efficiency)” 是指, 在用于包封的方法

30 中, 相对于在该包封方法中可以利用的活性化合物的量, 通过所述方法被封入脂质体中的活性化合物的数量。包封率通常用下述公式表示:

$E_c = (\text{被包封的药物总量} \times 100) / \text{药物总量}$, 其中 E_c 代表包封率。包封率受到下述各项的影响, 针对特定应用的合适种类的脂类的选择; 进行制备工艺所用的容器的形状和大小; 当蒸发和旋涡水合被应用在现有技术的脂质体制备工艺中时, 在蒸发和旋涡水合期间的固体接触物质的数量和大小, 以及真空度; 和, 在制备程序中所用的温度。本方法的一个优点是通过消除某些要求, 例如需要接触物质的存在或真空蒸发, 从而减少了潜在地影响包封率的变量的数目。

[0011] 在另外一个方面, 本发明还提供了减弱哺乳动物的发炎或疼痛的方法, 是通过将上述组合物之一局部应用到欲减弱发炎或疼痛的部位。在一个实施方案中, 生物活性物质在脂质体中被提供的浓度至少约 0.5% w/w (重量比)。“外部 (topical)” 应用是指组合物被施用于被治疗对象的外表皮。皮肤可以是破的或者不破的, 且外用包括应用到皮肤的损伤部位。外用涉及“眼用 (ocular application)”, 其应用到眼睛的角膜中。“内用 (internal application)” 包括应用于任何体腔内, 例如口、喉、耳、鼻、肺、支气管、阴道、或直肠。内用也指组合物被吸入 (例如, 目的在于治疗肺或支气管) 或施用到正处于被移植状态的过程中的器官上。

[0012] 在另外一个方面, 本发明提供了含有上面描述的组合物之一的药物组合物。该发明也提供了, 通过提供一种本发明的组合物, 制备一种药剂或药物组合物的方法。

[0013] 在另外一个方面, 本发明提供了治疗病毒、真菌、和细菌感染的方法。该方法涉及, 通过局部施用、外用、或内用方式, 将本发明的脂质体组合物施用于待治疗的部位。病毒感染可能是疱疹感染, 将组合物给药于疱疹病毒引起的损伤上。在另外的实施方案中, 感染可能是真菌感染, 通过施药于感染的部位来治疗。在更进一步的其他实施方案中, 皮肤、眼睛或体腔的细菌感染, 能通过局部或者外用本发明的组合物来治疗。

[0014] 在另外一个方面, 本发明提供了治疗眼睛病毒感染的方法。这些方法涉及在眼睛中施用含有抗病毒剂的本发明的脂质体组合物。在优选实施方案中, 病毒感染是疱疹, 抗病毒剂是阿昔洛韦。

[0015] 在另外一个方面, 本发明提供了治疗真菌感染的方法。这些方

法涉及将含有抗真菌剂的本发明组合物局部施用于感染区域。在优选实施方案中，抗真菌剂是氟康唑或特比奈酚（terbinafine）。

[0016] 上述的发明概述是非限制性的，通过下面优选实施方案和权利要求的详细描述，本发明的其他特性和优点将变得明晰起来。

5

发明详述

[0017] 本发明提供了含有生物活性化合物的脂质体的组合物，生物活性化合物的例子有非甾体抗炎药物（NSAIDs）、抗病毒化合物、和抗真菌化合物。发明人出乎意料地发现，NSAIDs 诸如萘普生、酮洛芬、
10 吲哚美辛、和塞内昔布，和，其他生物活性化合物如抗真菌化合物和抗病毒化合物，能被包封于脂质体中，从而得到一种能用于治疗疼痛和发炎的脂质体组合物，优选是治疗在肌肉或骨骼关节处的疼痛和发炎。该组合物也能用于治疗病毒和真菌感染。但是本领域普通技术人员将认识到，通过使用各种生物活性化合物，本发明组合物能用于治
15 疗多种多样的疾病。例如，当生物活性化合物是一种 NSAID 时，该组合物能用于治疗许多类型的疼痛，诸如肌肉扭伤或拉伤、背疼、牙疼、高烧、关节疼、或任何与肌肉骨骼系统相关的疼痛。该组合物优选以脂质体组合物本身作为载体的形式给药，但是在不同实施方案中，该脂质体可以以处在载体凝胶（carrier gel）或其他合适的载体中的形式
20 给药。本发明脂质体优选为多层的，其很适合施用于皮肤，对生物活性化合物进行外用经皮传递。本发明脂质体允许生物活性化合物的缓慢释放、经皮传送。在那些注射是理想的给药方式的实施方案中，本发明脂质体也能被制成单层脂质体。单层脂质体能通过过滤脂质体来制备，或通过使用一个弗氏压碎器（french press）或其他高剪切方法，
25 减小脂质体尺寸或筛选单层脂质体来制备。

[0018] 已经发现，利用本发明的组合物和方法能将生物活性化合物给药于施用了该组合物的局部部位。同时也已经发现，在治疗部位的生物活性化合物的浓度，在使用本发明方法中，大致等同于口服给药该化合物所达到的浓度。但是全身性的生物活性化合物浓度是该化合物
30 被口服给药时所达到的约 1/10（十分之一）。因此，本发明允许在治疗水平上施用生物活性化合物，而不会存在与口服给药相关而发生的不

期望的全身性效应。

[0019] 美国专利 4,761,288 和 4,897,269, 两个都授予 Mezei, 均在此被以其全部内容引用, 作为参考, 包括所有表和附图。本发明的脂质体不含有现有技术中的脂质体所存在的脂溶性防腐剂 (lipid soluble preservative)。相反, 本发明的脂质体利用了水溶性防腐剂 (water soluble preservative), 它能充当抗微生物剂, 其优选为苯索铵盐 (benzethonium salt), 诸如苯索氯铵。但是, 其他水溶性防腐剂也将在本发明中有应用, 例如苯甲酸, 和 benzylkonium salts 诸如 benzylkonium chloride。出人意料地发现, 防腐剂的选择对于获得稳定的脂质体是重要的, 鉴于微生物生长的原因, 脂溶性防腐剂能削弱和破坏脂质体的结构的稳定性, 导致具有低粘性的不稳定组合物。其他水溶性防腐剂也可使用, 且有利地, 选择在组合物的 pH 下具有活性的防腐剂。

[0020] 在一个优选实施方案中, 本组合物也可以含有维生素 E, 作为一种脂溶性抗氧化剂。抗氧化剂作为自由基清除剂而发挥作用, 有助于脂质体取得最大的稳定性。在将被涂覆到皮肤上的脂质体组合物中包含甲基纤维素或其他增粘剂 (viscosity enhancing agents), 以便获得足够的粘性并且避免形成流体组合物。在一个最优选的实施方案中, 本发明组合物含有维生素 E 作为抗氧化剂, 和含有少于 2% w/w (重量比) 或少于 1.5% 或少于 1.0%, 或少于 0.5%, 或少于 0.25% 的一种增粘剂。更优选地, 该组合物不含有任何甲基纤维素或任何其他增粘剂。这对于获得活性化合物的最大经皮渗透性是最期望的。在一个实施方案中, 至少 50% 的维生素 E 存在于脂质体的脂双层中。在另外一些实施方案中, 至少 70% 或 80% 或 90% 或 95% 的维生素 E 存在于脂质体的脂双层中。

[0021] “增粘剂 (viscosity enhancing agents)” 是指一种添加到组合物中以便增加粘性的物质。在 25°C 下, 增粘剂将增加组合物粘性至少 10,000 厘泊。增粘剂包括, 但不限于, 甲基纤维素、海藻酸、明胶、阿拉伯树胶 (金合欢胶)、卡波姆 (carbomer)、和十六醇十八醇混合物。在本定义范围内, 磷脂不考虑为增粘剂。比起不用增粘剂, 增粘剂将提高粘性至少 10,000 厘泊; 在另外一个实施方案中, 与在组合物中缺少增粘剂相比较, 增粘剂能提高粘性 20,000 或 30,000 厘泊 (可以高达

40,000 或 50,000 厘泊)。因此,在多个实施方案中,本发明的脂质体组合物含有少于 2% w/w(重量比)或少于 1%、少于 0.5%、或甚至 0% 的增粘剂。例如,在多个实施方案中,该组合物含有少于这些数量的有机或无机盐,诸如盐酸、硝酸、硫酸、磷酸、碳酸、氢溴酸、或氢碘酸的盐。该组合物也优选含有少于 2% w/w(重量比)、或少于 1%、或甚至 0% 的溴化钾、氯化钾、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、硫酸钾、碘化钾、硝酸钾、溴化锂、氯化锂、碘化锂、硝酸锂、硫酸锂、溴化铵、氯化铵、碳酸铵、碳酸氢铵、磷酸二氢铵、磷酸氢二铵、碘化铵、硝酸铵、硫酸铵、溴化钠、碳酸钠、氯化钠、碳酸氢钠、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、硝酸钠、磷酸钠、和硫酸钠。其他优选以少于 2% w/w(重量比)或少于 1% 或甚至 0% 的量存在于组合物中的盐,包括链烷醇胺氯(alkanolamine chloride)、硫酸盐、磷酸盐、苯甲酸盐、乙酸、水杨酸、草酸、苯二甲酸、葡萄糖酸、1-萘磺酸、2-萘磺酸、酒石酸、顺式丁烯二酸、丙二酸、琥珀酸、反丁烯二酸、丙酸、抗坏血酸、扁桃酸、苹果酸、柠檬酸、氯化三乙醇铵(triethanolammonium chloride)、磷酸二氢三乙醇铵(triethanolammonium dihydrogen phosphate)、硫酸三乙醇铵(triethanolammonium sulfate)、苯甲酸钠、苯甲酸钾、苯甲酸铵、醋酸钠、醋酸钾、醋酸铵、水杨酸钠、水杨酸钾、水杨酸铵、草酸钠、草酸钾、草酸铵、苯二甲酸钠、苯二甲酸钾、苯二甲酸氢铵、葡萄糖酸钠、葡萄糖酸钾、葡萄糖酸铵、1-萘磺酸铵、2-萘磺酸钾、2-萘磺酸铵、2-萘磺酸钠、酒石酸钾、酒石酸钠、马来酸钾、丙二酸钠、琥珀酸钠、反丁烯二酸盐钠、丙酸钠、丙酸三乙醇铵(triethanolammonium propionate)、水杨酸钠、抗坏血酸三乙醇铵(triethanolammonium ascorbate)、抗坏血酸钾、扁桃酸盐钠、苹果酸钠、柠檬酸钠、柠檬酸钾、和柠檬酸三乙醇铵(triethanolammonium citrate)。

[0022] 出人意料地发现,本发明的脂质体组合物产生一种具有高粘性的、稳定的脂质体组合物。在多个实施方案中,该组合物的粘性至少 10,000 厘泊、或至少 20,000 厘泊、或至少 30,000 厘泊、或至少 40,000 厘泊、或至少 50,000 厘泊、或至少 60,000 厘泊、或至少 70,000 厘泊,全都在 58℃ 下,不存在任何甲基纤维素或其他增粘剂。因为制剂

中不存在甲基纤维素或其他增粘剂，所以经皮渗透性得以实质性地提高。在一个实施方案中，可以加入油醇，以提高处于组合物中的、但处于脂质体之外的生物活性化合物的经皮渗透性。不想受到任何特定理论的限制，据认为正是水溶性防腐剂和脂溶性抗氧化剂的结合赋予脂质体的稳定性。这使得脂质体稳定，并具有高的粘性。即使脂质体组合物含有很少增粘剂或不含增粘剂，也可能获得高粘性。据认为，增粘剂削弱了活性化合物通过皮肤的运动。本发明组合物在给予活性化合物时，能提供最大程度的皮肤渗透性的出众特性，而同时保持足够的粘性。本组合物是“稳定的 (stable)”，意思是指它们能在组合物的化学或物理特性保持不变的情况下保存至少 6 个月、1 年、或 2 年。这意味着细菌生长不会达到影响组合物的药效、稳定性或安全性的程度。稳定组合物的生物学测试也将得到同样的结果，是在原始分值的 10% 之内或 5% 之内。在多个实施方案中，50-60% 的脂质体的直径在约 3 微米至约 5 微米的范围内，在剩下的脂质体中，约 20-25% 的脂质体的直径小于 3 微米，以及，其他 20-25% 的脂质体的直径大于约 5 微米。术语“约”是指加上或减去 5%。在另外的实施方案中，至少 95% 的脂质体直径小于 10 微米。

[0023] 本发明提供了制备本发明脂质体组合物的方法。本发明人出人意料地发现，用本方法能获得很高的包封率。本发明涉及独特工序，其导致高包封率，能够以商业规模大量生产脂质体组合物。本方法涉及温度跨的应用。“温度跨 (temperature straddle)”是指起始材料的水相和脂相在混合之时处于不同的温度下，脂相的温度通常高于水相的温度。在一个优选实施方案中，在两相混合的时刻，脂相的温度维持在高于水相至少 2°C，较优选地约 6°C，更优选地高于水相 7°C、8°C、9°C、或 10°C。在一个最优选的实施方案中，脂相温度维持在约 58°C $\pm$ 2°C，水相温度维持在约 50°C $\pm$ 2°C。在其他实施方案中，脂相温度维持在约 60°C $\pm$ 2°C，水相温度维持在约 52°C $\pm$ 2°C；或脂相温度可以维持在约 59°C、57°C、56°C、55°C、54°C、53°C，或 52 $\pm$ 2°C 的任何温度，水相维持在约 58°C、57°C、56°C、55°C、54°C、53°C、52°C、51°C、50°C、48°C、47°C、46°C、或 45°C 的任何温度，都 $\pm$ 2°C，只要满足上述标准就行。所采用的实际温度取决于所使用的特定配方。根

据所利用的类脂的精确组成，不同的类脂可以恰当地被供给，并与水相混合。如果温度太高（例如，高于大约 65℃），类脂成分会变性或者要不然会发生降解。因此，这将更难形成脂质体，且所得的组合物（如果能形成的话）可能是不稳定的。因而，取决于实际所使用的类脂组合物，不同的温度可能是期望的。

[0024] 该方法涉及通过旋涡水合(vortex hydration)和热震(temperature shock)快速地混合两相。这优选通过使用装配有一个管线内调控 T 形管(in-line regulating tee)的容器，和使用一个将两相吸到一起的分散泵(dispersing pump)进行。当脂相和水相合并时，形成脂质体。脂质体的形成几乎是瞬时的，例如，在 10 秒、或 15 秒、或 20 秒内、或 30 秒内，这取决于所使用的材料的体积。也可使该混合物通过一个筛网，以便去除脂质体的结块，从而增强水合作用和随后的脂质体形成。在脂相充分水合之后，组合物进入冷却阶段。冷却过程优选是一个缓慢过程，最大冷却速度优选每小时约 6℃。在其他实施方案中，冷却是在每小时约 4-8℃的速率下进行，优选每小时约 6℃，但也允许被放置、自然冷却一个数天的时段。在一个优选实施方案中，该过程在温度到达 28℃时完成。在多个实施方案中，改变冷却曲线或许是有期望的，例如依据所涉及的特定活性，通过较快地或较慢地冷却该组合物。

[0025] 本发明提供了通过将本组合物应用在疼痛或发炎存在或发展的部位来治疗疼痛和发炎的方法。业已发现，该组合物对于减小发炎和缓解疼痛高度有效。例如，关节疼痛是最常见的小疼痛病患，困扰数百万的患者。已经发现，含有 NSAIDs 的本发明组合物，当施用于关节处的皮肤上时，能显著地减缓关节疼痛和发炎。在特定的优选实施方案中，NSAID 为酮洛芬或萘普生。该组合物的优点是能使接受治疗的患者接受 NSAIDs 时，不会有与口服相关的风险。

[0026] NSAIDs 已经显示出对前列腺素和白三烯素合成的抑制效应，显示出具有抗缓激肽(antibradynin)活性，以及显示出具有稳定溶酶体膜的作用。象几种其他 NSAID 化合物一样，酮洛芬之前从未被成功地包封于脂质体中。但使用目前描述的方法，发明人令人惊讶地能够生产包封有萘普生，酮洛芬、吲哚美辛和塞内昔布的脂质体的组合物，用于治疗疼痛和发炎。萘普生是 NSAID 药物中的芳基乙酸(arylacetic

acid) 组的一个成员, 化学名称为(S) -6-甲氧基- α -甲基-2 亚萘基乙酸。酮洛芬的化学名称为 2-(3-苯甲酰苯基)丙酸。用本发明方法制得的酮洛芬脂质体组合物能用于治疗各种引起疼痛和发炎的障碍, 诸如类风湿性关节炎、骨关节炎、关节强硬性脊椎炎 (ankylosing spondylitis)、幼年型关节炎、腱炎、滑囊炎、和急性痛风。

[0027] COX-2 (环加氧酶-2) 抑制剂能抑制该酶, 即环加氧酶-2 的活性。这类药物包括塞内昔布和罗非西布, 并且具有明显超过较老的 NSAIDs 的独特优点, 这是因为它们能选择性地抑制 COX-2 (环加氧酶-2), 该酶涉及疼痛和发炎途径; 而不会抑制 COX-1 (环加氧酶-1), 其是涉及保护胃的酶。本发明提供了脂质体, 其中含有 COX-2 的抑制剂, 举例而言, 如塞内昔布、罗非西布和伐地考昔 (valdecoxib)。相比起较老的 COX-2 组合物, 这些脂质体表现出明显的优点, 因为它们能被外用于接受治疗的、局部的区域, 并消除了口服 COX-2 抑制剂所带来的有害效应。因此, 除了消除了有关给药的安全关注问题, 本发明呈现出这些新的药物的明显优点。利用本发明, 人能够吸收 NSAID, 并以一种新的、比此前所可能的更安全的方式给药, 因为本发明是外用给药的。这种给药方式绕过了肠胃系统, 将药物的作用定位于损伤和治疗部位。这是本发明的一个独特优点, 因为 COX-2 抑制剂的口服给药是与肠胃道的刺激 (irritation)、心力衰竭、肾衰竭、和脑膜炎相关的。

[0028] 其他生物活性化合物也可以用于本发明。例如, 阿昔洛韦、氟康唑或特比萘酚也可以用于本发明, 来治疗病毒感染和真菌感染。因此, 本发明提供治疗由疱疹感染引起的损伤的方法, 诸如由疱疹 I、疱疹 II、或带状疱疹引起的损伤。本发明方法能用于治疗皮肤的疱疹感染, 其中是将一种含有抗病毒剂的本发明组合物施用于损伤处。本发明也可以用于治疗眼睛的病毒感染, 其中是将组合物施用于眼睛的角膜。类似地, 本发明能用于治疗真菌感染, 是通过将一种含有抗真菌剂 (例如, 氟康唑或特比萘酚) 的本发明组合物施用于感染部位来进行。

[0029] 尽管在此描述了 NSAIDs 和抗真菌脂质体组合物的特定实施方案, 但是, 本发明可应用于任何有价值的生物活性化合物。尽管水溶

性化合物，或那些在类脂或者含水环境下均是可溶性的化合物可以在此使用；生物活性化合物优选是脂溶性的，以便在形成脂质体之前加入到类脂成分中。其他可以应用于本发明的有用化合物包括除虫菊素、除虫菊酯、氨基甲酸酯、水不溶性有机磷化合物、苯甲酰脲、甲脒、

5 三嗪、阿维菌素 (avermectins)、美比霉素 (milbemycins)、或其他标准杀外寄生虫剂 (ectoparasiticides)，以及它们的衍生物、类似物和混合物。氯氟氰菊酯 (cyhalothrin)、氯氰菊酯 (cypermethrin)、氟氯苯氰菊酯 (flumethrin)、顺式氯氰菊酯 (alphamethrin)、溴氰菊酯 (deltamethrin)、和氯菊酯 (permethrin) 为特别优选的拟除虫菊酯。

10 氨基甲酸酯诸如甲萘威 (carbaryl) 和蜚虱威 (promacyl) 也是可用的。一种有效的甲脒是双甲脒 (amitraz)，和一种有效的三嗪是 cryomazine。二嗪农、pirimphos methyl、和 pirimphos ethyl 是特别有效的水溶性有机磷化合物。利用本发明，水溶性杀内寄生虫剂 (endoparasiticides) 也能有效给药，如噻唑类和其他标准驱肠虫剂、衍生物、类似物、及其混合物。有效的噻唑类包括左旋咪唑 (levamisole)、右旋米唑

15 (dexamisole) 和四咪唑。

[0030] 在一些实施方案中，本发明脂质体组合物含有一种以上的生物活性化合物。对于可以合并的化合物的数目，不存在理论上的限制。例如，两种或更多的组分可以同时包封于同一囊泡中，或者如果这些

20 活性化合物是不相容的，那么这些化合物可以被分别包封，脂质体组合物可以被组合，以提供可以治疗两种或多种适应症 (适应症, indications) 的组合物，或以多种活性化合物治疗单一适应症 (适应症, indication)。可替换地，一种活性组分能被包封于一个囊泡中，其他组分以非包封的形式分散于周围的水相中。

25 [0031] 在一个优选实施方案中，用于本发明的脂质为 phospholipon 90H，其从大豆卵磷脂中得到并纯化而来，具有化学名称 1,2-二酰基-5N-甘油基-3-磷脂酰胆碱 (1,2-dia-cyl-5N-glycero-3-phosphatidyl choline)。它最少 90% 为磷脂酰胆碱，并且完全氢化。但是，本领域普通技术人员将认识到其他类脂也可以用于本发明。例如，磷脂酰胆碱可以是较

30 低纯度的，或可以含有其他类脂或载体材料，诸如，举例而言，丙二醇/乙醇、中链甘油三酯、油/乙醇、磷脂酸、胆固醇、和磷脂酰肌醇。

磷脂可以是任何天然或合成的磷脂，例如磷酸酯乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酰甘油、磷脂酸、溶血磷脂、蛋或大豆磷脂或它们的混合物。磷脂可以用盐处理的或者脱盐的、氢化的或者部分氢化的、天然的、合成的、或者半合成的。商业化可利用的磷脂的例子包括，但不限于，蛋磷脂 P123 (Pfanstiehl, Waukegan(沃基根), IL(伊里诺斯州))、Lipoid E80 (Lipoid, Ludwigshafen(路德维希港), Germany(德国))；和氢化的大豆磷脂 Phospholipon 80H[®]、80G[®]、90H[®] 和 100H[®] (Nattermann, 慕尼黑, 德国) 和纯度为 99% 的大豆磷脂酰胆碱(Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL)。

- 10 [0032] 无水乙醇和丙二醇可用作脂相的助溶剂，醋酸维生素 E 可作为一种抗氧化剂。在众多实施方案中，其他类脂或类脂类物质可用于本发明，诸如神经酰胺、卵磷脂、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、心脂质、三亚麻油酸甘油酯和类似化合物。非磷脂也可以用于本发明中。例如，可使用的非磷脂材料包括形成类脂囊泡的下列物质：聚氧乙烯脂肪酯、聚氧乙烯脂肪酸醚、二乙醇胺、长链酰胺、长链酰基氨基酸酰胺、聚氧乙烯山梨糖醇酐油酸酯、聚氧乙烯甘油单硬脂酸酯、甘油单硬脂酸酯，和它们的混合物、类似物和衍生物。囊泡也可以包括一种类固醇、和一种产电荷剂 (charge producing agent)。优选的类固醇包括胆固醇、氢化可的松、和它们的类似物、衍生物与混合物。优选的
- 15 负电荷产生物质是油酸、联十六烷基硫酸酯 (dicetyl phosphate)、棕榈酸、十六烷基硫酸酯 (cetyl sulphate)、视黄酸、磷脂酸、磷脂酰丝氨酸、和它们的混合物。为了在需要之时为容器提供净正电荷，可以使用长链胺如硬脂胺和油胺，长链吡啶化合物如十六烷基烷基氯化吡啶鎓，季铵化合物，或这些物质的混合物。一种优选的正电荷产生物质是
- 20 十六烷基三甲基溴化铵，是一种有效的消毒剂。在囊泡中使用这种消毒剂作为正电荷产生物质，在囊泡变坏的过程中，提供了第二个优势：它们充当持续释放的杀菌剂载体。但，可以使用任何一种能携带足够数量的水相的类脂囊泡。

- 30 [0033] 可替代地，在此提及的防腐剂也可以充当消毒剂，用作脂质体制剂中唯一的生物活性化合物。在这样的实施方案中，消毒剂（例如，苯索铵盐，诸如苯索氯铵）可以以约 0.01 % 至约 1%，更优选地在约

0.1-0.5%，更优选地在约 0.2%的含量被包含于类脂消毒剂制剂中，类脂消毒剂制剂将保留在它被应用的地方(如皮肤)的表面，以获得持续的效力。

5 实施例 1 – 示范性制剂 A

[0034] 这部分提供了一个关于原料的实施例，用于制备含有酮洛芬的本发明的一个脂质体组合物。该酮洛芬脂质体组合物含有下述成分，以重量百分比列出 (w/w)。

PHOSPHOLIPON® 90H	10.00
乙醇，脱水的，USP（美国药典）	5.00 或更少
丙二醇，USP（美国药典）	5.00
醋酸维生素 E	1.00
苯索氯铵	0.02
酮洛芬	1.00
纯化水	76.98

10

实施例 2 – 产品 A 的示范性方法

[0035] 这部分提供了一个如何制备本发明的含有酮洛芬的脂质体组合物的实施例。

[0036] 水相。这个过程优选通过使用两个套层不锈钢旋涡水合室 (jacketed stainless steel vortex hydration chambers) 进行实施。在两个室的较大室中，缓慢混合纯化水和苯索氯铵，以避免泡沫或者表面气泡的形成。施加热量，获得 $50^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 的温度，这是水相的目标温度。给室盖上盖子，以防止水分蒸发，并配上底部出口 (bottom port) 和阀门以调节物质流出容器。

20 [0037] 脂相。在紧靠第一个不锈钢套层混合容器的地方，使用第二个不锈钢套层混合容器。在第二个室中，缓慢混合脱水乙醇和丙二醇，以避免泡沫和表面气泡的形成。启动塔顶搅拌器 (overhead mixer)，并进行加热，使温度达到 $58 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，目标温度为 58°C 。当溶液达到目标温度时，加入酮洛芬并充分溶解。然后，加入 PHOSPHOLIPON® 90H

和醋酸维生素 E，并与脂相混合，直到溶解/融合。在室上使用一个盖子，以防止在整个过程中乙醇的蒸发。

[0038] 脂相的水合。打开室的底部出口上的阀门，调节从两个容器流出的液流。水相和油相流出，并在一个管线内调控 T 形管中汇合，用一个分散泵将两相拖在一起。使混合物循环通过一个 60 目的分散筛 (dispersing screen)，使脂相水合最适化。然后，混合物被导向室的顶部，整个过程通过泵进行循环，10 分钟里回到室中。

[0039] 冷却阶段。循环之后，伴随持续缓慢的混合作用，允许室套层 (chamber jacket) 冷却，直到产品的温度达到 28℃，工艺完成。材料的混合过程适宜足够快速地进行，以充分混和，同时不形成表面泡沫或者发泡。冷却过程适宜缓慢进行，最为适宜以每小时约 6℃进行冷却。

实施例 3 – 示范性制剂的治疗应用

[0040] 这个实施例提供使用本发明的各种脂质体来治疗各种问题的实际病例史。所有患者使用本发明的脂质体组合物对他们自己进行治疗，根据如下描述的方法进行。

[0041] 病例 1。患者是一位 48 岁的男性，患有左大脚趾处的急性痛风，过去的 25 年来时常急性发作。在这一时间区段中，患者曾经被用吲哚美辛片剂治疗疼痛（为期 5 天）。药丸为 75 毫克持续释放胶囊，一天两次。使用吲哚美辛片剂时，患者报告说，经过 3-5 天，疼痛由 5 级水平降到 0 级水平（在一个 1-5 等级中，5 为最高和 0 代表无疼痛）。

[0042] 该患者被用含有吲哚美辛(1%)的本发明脂质体组合物以 1 克量的制剂治疗脚趾，一天两次。患者报告，在 3 天内，疼痛由 5 级水平降低到 0 级水平。

[0043] 病例 2。患者是一位 30 岁男性，过去 3 年来遭受右大脚趾处的急性痛风的发作之苦。在这个时间里，患者被用吲哚美辛片剂治疗（75mg，持续释放胶囊，一天 2 次）。该患者用含有 1% 吲哚美辛的本发明的脂质体治疗。患者用 1 克的脂质体制剂施用于脚趾，一天两次，治疗 3 天。患者报告疼痛由 5 级水平降到 0 级水平。

[0044] 病例 3。患者为一位 49 岁的女性患者，两手腕患有发作性疼痛几年。除了 nutraceuticals (例如报春花)之外，患者先前没有用任何药

物治疗疼痛。患者使用含有 1 % 蔡普生的本发明脂质体制剂。以 1 克的剂量施药于每一个手腕，根据需要每天施药，通常每天 1 次。在 1-2 小时内，疼痛由 5 级水平降低到 0 级水平。

5 [0045] 病例 4. 患者为一位 48 岁男性，由于一次运动受伤，患有偶发性肘部疼痛和肌肉骨骼疼痛。患者使用 1 克的含有 1 % 蔡普生的本发明脂质体制剂，一天两次，用药 7 天。患者报告疼痛被减轻了。

10 [0046] 病例 5. 患者为一位 48 岁男性，脸部患有复发性皮肤感染，经医师诊断为酵母菌感染。患者曾使用非处方药的抗真菌药膏和 SPORANOX[®]（伊曲康唑）片剂。感染临时得到消除，但是最终又复发。患者使用含有 1 % 氟康唑的本发明脂质体制剂治疗，使用 0.5 克，一天一次，用药 14 天。患者报告感染消除，90 天后没有复发。

15 [0047] 病例 6. 患者为一位 48 岁女性，患有据认为由单纯疱疹病毒引起的嘴唇溃疡。患者未治疗过溃疡，并忍受着直到其自然消失，溃疡一般在出现约 8-9 天之后自然消失。患者使用含有 1 % 阿昔洛韦的本发明脂质体制剂治疗，使用 0.5 克的制剂，每天 2 次，用药 3 天。患者报告溃疡在 3 天后消失。

20 [0048] 病例 7. 患者为一位女性患者，右侧髋部疼痛，患病不到 2 个月。患者自己用含有 1.5% 蔡普生的本发明脂质体制剂治疗，在疼痛部位施用 1.5 克制剂，每天 3 次，用药 7 天。患者报告说，在 7 天疗程结束时，疼痛水平由 4 级水平或 5 级水平降到 0 级水平。

[0049] 病例 8. 患者为一位 16 岁男性，由于肌肉骨骼运动受伤的缘故，小腿、腓肠和大腿疼痛。患者自己用含有 1.0% 蔡普生的本发明脂质体制剂治疗，根据需要，在受伤部位施用 1 克制剂，每天 2 次。患者报告初始疼痛在 4 级或 5 级水平，治疗 1 天之后降到 0 级水平。

25 [0050] 病例 9. 患者为一位 41 岁男性，左手腕骨折，治疗前一刻去除石膏。患者自己用含有 1.0% 蔡普生的本发明脂质体制剂治疗，在他的手腕上部和下部，每天用制剂共 2 克，用药 14 天。在这 14 天期间，患者遗漏了一些涂覆用药，报告说：在未使用该制剂时疼痛为 4 级水平或 5 级水平。当使用该制剂时，病人报告疼痛以 5 等级而言是 2 级水平。

30 [0051] 病例 10. 患者为一位 53 岁的男性，医师诊断，过去 3 年里，他

的右脚大脚趾、右膝盖、和左肘部患有急性痛风。患者曾经每天 2-3 次接受吲哚美辛片剂的治疗。患者自己用含有 1.0% 吲哚美辛的本发明脂质体制剂作为吲哚美辛片剂的辅助性治疗。患者以 1-10 等级报告，10 代表最高疼痛。

5 [0052] 患者报告开始时脚趾疼痛为 10 级水平，由于服用吲哚美辛片剂疼痛降到 4 级水平。当增加脂质体制剂的外部涂敷时，疼痛进一步降到 2-3 级水平。

[0053] 患者报告膝盖疼痛开始时为 8 级水平，由于服用吲哚美辛片剂降到 2 级水平。在 3-4 小时后，疼痛又增至 7-8 级水平。当外用脂质体制剂时，患者报告疼痛降到 2-3 级水平。

10 [0054] 患者报告肘部开始时疼痛为 4 级水平并发肿。由于口服吲哚美辛片剂，疼痛降到 0 级水平。但 3-4 小时后，疼痛又增至 3 级水平。当使用本发明脂质体制剂时，患者报告疼痛降到 0 级水平。

15 实施例 4- 示范性制剂 B

% w/w (重量比)	组分
9.40	PHOSPHOLIPON [®] 80H
1.00	醋酸维生素 E, USP
5.00	丙二醇, USP
6.00	乙醇, (190 Proof), FCC
0.05	盐酸葡糖胺
0.30	甲磺酰甲烷 (MSM)
0.36	孕烯醇酮
0.05	S-腺苷甲硫氨酸
0.02	苯索氯铵, USP
0.10	TENOX [®] 4
77.72	水, 蒸馏的
100.00	

[0055] 这部分提供了一个如何制备含有各种生物活性组分的本发明脂

质体组合物的实施例。选择此处的特定组分，以便赋予脂质体制剂控制疼痛的最大治疗益处。

[0056] 甲磺酰甲烷(MSM)是一种体内发现的有机硫化合物，其显示出参与胶原质的形成。

- 5 [0057] 孕烯醇酮是一种胆固醇代谢的天然产物，发现其在大脑和神经系统的其他组织中浓度高。反过来，它是形成一系列甾体类激素的一种前体物质。

- 10 [0058] S-腺苷甲硫氨酸(SAM-e) 是氨基酸，即蛋氨酸代谢的一种天然产物。已知其显示出缓解僵硬、疼痛和发肿的有益效果，特别是在骨关节炎病例中。关节组织中的 SAM-e 缺乏导致软骨的凝胶样弹性能的丧失。

[0059] 葡糖胺发现在关节和结缔组织中浓度相对较高，并参与软骨修复和维护。葡糖胺已被批准治疗关节炎，且已经显示出能缓解疼痛和发炎，增加活动范围，帮助修复膝盖和髋部中的老化和破损的关节。

- 15 [0060] 维生素 E 主要功能在于以一种保护细胞免遭诸如毒性化合物和体内自由基代谢物破坏的抗氧化剂。因为它是亲脂性的，其容易进入细胞膜的脂部分和载体分子中。

- 20 [0061] TENOX[®]4 为一种含有丁基化羟基苯甲醚 (butylated hydroxyanisole, BHA) 和丁化羟基甲苯 (butylated hydroxytoluene, BHT) 的食品级抗氧化剂/防腐剂。

实施例 5- 制备 B 的示范性方法

[0062] 这部分提供了一个如何制备含有酮洛芬的本发明脂质体组合物的实施例。

- 25 [0063] 水相。将蒸馏水(21,761.60 g)转移到一个 32.00 升的铝容器中。慢慢地，向容器中加入下述组分：苯索氯铵，USP (5.60 g)；盐酸葡糖胺 (14.00 g)；和 S-腺苷甲硫氨酸(14.00 g)。分别加入每一个组分，直到溶解；然后将混合物持续搅拌 10 分钟。然后，用一个电炉子将混合物加热到约 52°C-54°C。保持容器密闭，以便防止水分蒸发。

- 30 [0064] 脂相。将乙醇(190) (1680.00 g)和丙二醇, USP (1400.00g)加入到一个 7.5 升的不锈钢容器中。然后加热混合物，使温度达到约 58°C-60

℃。保持容器密闭，防止乙醇蒸发。然后，用一个塔顶搅拌器和 4” 螺旋桨叶片搅拌经加热的混合物。然后缓慢加入孕烯醇酮 (100.80 g) 和 MSM (84.00 g)。一旦这些组分完全溶解后，过滤混合物。然后缓慢加入醋酸维生素 E, USP (280.00 g); PHOSPHOLIPON® 80H (2632.00 g); 5 和 TENOX® 4 (28.00 g)。搅拌器的速度进行必要的调整，以获得足够的混合，并将容器的热度维持在 58℃ 和 60℃ 之间，直到所有这些组分融合或者溶解，这个时间大约为 10 到 30 分钟。

[0065] 脂相的水合作用。用一个塔顶搅拌器和 5” 锚式叶片 (5” anchor blade) 搅拌水相。停止对水相和脂相供热，这时将脂相快速加入到水相的旋涡中。根据需要调整混合速度，以获得脂相的最佳水合作用。10

[0066] 冷却阶段。使用冰浴冷却产品，持续搅拌直到最终产品的温度到达约 30℃-35℃ 之间。如必要，在冷却阶段降低搅拌器的速度，以防止空气进入产品中。

15 实施例 6- 示范性制剂 B 的治疗应用

[0067] 这个实施例提供使用本发明的实施例 4 的脂质体制剂 B 来治疗疼痛的实际病例史。

[0068] 患者为一位 24 岁女性，左膝盖的软骨损伤，表现踝和膝盖疼痛。在每个踝和膝盖上施用脂质体制剂 B (约 1-2 克)，每天 2 次，治疗 1 周。20 患者报告疼痛大大缓解，运动更加灵活，已可以重新进行一定程度的慢跑而无治疗之前的疼痛水平。

[0069] 举例式描述在此的发明，可以在不存在任一要素和数个要素，不存在在此没有特定揭露的一个限制或者数个限制的情况下实施。已被使用的术语及表达，是用作说明性的术语，而不是用作限制。并且，25 没有这样的意图：在使用这些术语和表达时，排除任何显示和描述于此的特征或者它的一部分的等同物。而是，应该认识到，在所要求保护的发明的范围内，多种修改方式是可能的。因此，应该理解，尽管本发明被优选方案和任选的特征特定地公开，对公开于此的概念的修改和变化可以被本领域的技术人员所采用，所以这种修改和变化被考虑是在本发明的范围之内，如同所附权利要求书所定义的那样。30

[0070] 在此提到的或者引用的论文、专利和专利申请，和所有其他资

料和电子版可利用的信息，都通过引用其整体，并入本发明作为参考，所达到的程度就如同每一个个体公开物被特意地和单个地指出、而被并入本发明作为参考那样。申请人保留物理地将来自论文、专利、专利申请或其他资料的任何和所有材料和信息并入该申请的权利。

- 5 [0071] 举例式描述在此的发明可以，在不存在任一要素或者数个要素，和在此没有特定描述的一个限制或者数个限制的情况下，适宜地实施。因此，例如，术语“包括”、“包含”、“含有”等，应该被理解为可扩张的方式，和没有限制的。此外，已经使用的术语及表达被用作说明性术语，而不是用作限制。没有这样的意图：在使用这些术语和表达
- 10 时排除任何显示和描述或部分描述在此特征的任何等同特征。但应该认识到各种修改方式有可能落入请求保护的本发明的范围内。因此，应该理解尽管本发明被优选方案和任选的特征详细地公开，但是公开于此的概念的修改和变化可以被本领域的技术人员所采用，这种修改和变化被考虑在本发明的范围内。
- 15 [0072] 在此，本发明被广泛地和一般性地予以描述。每一个较窄的个例和亚组都落入总的公开范围内，也构成了本发明的一部分。这包括有限制性的或在从组中排除任何客体的条件下对本发明进行的总体性描述，而不考虑所剔除的内容是否特意描述于此。
- [0073] 除此之外，在依据马库什组来描述本发明特征或特点的地方，
- 20 本领域普通技术人员将认识到本发明在这里也是依据马库什组中任何单个成员或成员的亚组进行描述的。
- [0074] 其他实施方案描述于下面的权利要求书中。