

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03807463. X

[51] Int. Cl.

A61K 38/00 (2006.01)

C12P 21/06 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2008 年 4 月 30 日

[11] 授权公告号 CN 100384469C

[22] 申请日 2003. 3. 25 [21] 申请号 03807463. X

[30] 优先权

[32] 2002. 4. 1 [33] US [31] 60/368,997

[86] 国际申请 PCT/US2003/009053 2003. 3. 25

[87] 国际公布 WO2003/084476 英 2003. 10. 16

[85] 进入国家阶段日期 2004. 9. 29

[73] 专利权人 GTC 生物治疗学公司

地址 美国马萨诸塞州

[72] 发明人 村上和宪 P·恩克巴塔

L·D·特拉伯 D·S·普劳格

D·N·赫恩顿 D·L·特拉伯

[56] 参考文献

US6124257A 2000. 9. 26

WO9221332 1992. 12. 10

审查员 赵彦豪

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 赵艳华

权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 10 页

[54] 发明名称

肺病治疗药物

[57] 摘要

本发明特征在于通过吸入给予抗凝血酶 III 来治疗肺病例如肺炎症和损伤受试者的方法。

1. 治疗有效量的抗凝血酶 III 在制备通过吸入给予以治疗受试者急性肺损伤的药物中的用途，其中所述肺损伤是外部作用物引起的。
2. 权利要求 1 的用途，其中该肺损伤是脓毒性急性肺损伤。
3. 权利要求 1 的用途，其中该肺损伤是急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)。
4. 权利要求 1 的用途，其中该肺损伤是接触病毒剂引起的。
5. 权利要求 1 的用途，其中该病毒剂是肺炎假单胞菌 (*Pseudomonas pneumonia*)。
6. 权利要求 1 的用途，其中该肺损伤是一种或多种烟雾和石棉引起的。
7. 权利要求 1 的用途，其中使用超声雾化器给予该抗凝血酶 III。
8. 权利要求 1 的用途，其中该抗凝血酶 III 是血浆来源的抗凝血酶 III。
9. 权利要求 1 的用途，其中该抗凝血酶 III 是重组制备的抗凝血酶 III。
10. 权利要求 9 的用途，其中该重组制备的抗凝血酶 III 是转基因制备的抗凝血酶 III。
11. 权利要求 1 的用途，其中所述药物包含多于一剂量的抗凝血酶 III。
12. 权利要求 1 的用途，其中该药物包含 10-300 U/kg 体重的剂量的该抗凝血酶 III。
13. 权利要求 1 的用途，其中该药物包含 25-125 U/kg 体重的剂量的该抗凝血酶 III。
14. 权利要求 1 的用途，其中所述外部作用物是病毒剂、肺炎假单胞菌、绿脓假单胞菌、烟雾、石棉或其组合。

肺病治疗药物

发明概述

本发明部分基于雾化抗凝血酶 III (ATIII) 可有效治疗肺病例如肺炎症和损伤的发现。发现较低剂量的雾化 ATIII 比高剂量静脉内给予的 ATIII 更有效治疗急性脓毒性肺损伤。因此, 吸入给予 ATIII 比静脉内给药提供了更有效的肺病例如肺炎症和损伤的治疗。

因此, 本发明一方面特征在于治疗肺病例如肺炎症和/或损伤受试者的方法, 包括通过吸入给予治疗有效量的 ATIII。该肺病可以是急性或慢性肺病。在一个实施方案中, 该肺病是急性肺损伤, 例如脓毒性急性肺损伤或急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)。肺损伤和/或炎症可以是诸如接触外部作用物, 如病毒剂 (例如肺炎假单孢菌 (*Pseudomonas pneumonia*))、烟雾或石棉引起的。在其它实施方案中, 该肺病可以是肺或胸膜肿瘤、间质性肺病和/或机化性胸膜炎 (organizing pleuitis)。

在一个实施方案中, 使用喷射气溶胶或超声雾化器系统、或利用干粉吸入系统给予 ATIII。这类气溶胶给药系统为人所知。

在一个实施方案中, 该 ATIII 是人 ATIII。该 ATIII 可以是天然来源, 例如来自血浆, 或重组制备。血浆来源 ATIII 可商品化获得。在一个优选实施方案中, 抗凝血酶 III 由转基因制备, 例如 ATIII 得自转基因 dairy 动物诸如奶牛、山羊、兔子或小鼠的乳汁。在转基因动物乳汁中制备 ATIII 的方法如美国专利 5,843,705 所述, 其内容在此引入以供参考。

在一个优选实施方案中, 给予受试者包括 ATIII 和药物可接受载体的气溶胶组合物。药物可接受载体的例子包括水和盐溶液。

在一个实施方案中, 定期通过吸入给予受试者 ATIII, 例如每隔一定时间给予受试者 ATIII。例如, 在肺炎症和/或损伤发作时以及初次给

药后按设定时间给予受试者气溶胶 ATIII，例如每小时、2 小时、3 小时、4 小时、6 小时、每日 2 次或每日 3、4、5、6 次通过吸入给予 ATIII。给药周期可以是约 24、48、72、96、120、144 或 168 小时的一段时间。在另一实施方案中，按需要通过吸入给予受试者 ATIII，例如在肺炎症或损伤的一个或多个持续或复发症状指征时给予 ATIII。

ATIII 例如转基因制备的 ATIII 的有效剂量可以介于约 10-300 U/kg、25-125 U/kg、50-100 U/kg 或 60-75 U/kg 体重。另一方面，有效剂量可以大于约 1 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg，但小于约 150 mg/kg、100 mg/kg、70 mg/kg。

在一个优选实施方案中，所用气溶胶 ATIII 的剂量小于经静脉内给药治疗相同疾病(例如，对肺炎症或损伤的一个或多个症状具有相同效果)的 ATIII 剂量的 10%、20%、30%、40%、50%、60%。

在另一实施方案中，本发明特征在于治疗肺病的试剂盒。优选地，该试剂盒包括治疗有效量的气溶胶形式 ATIII 和使用说明。优选地，该气溶胶另外包括药物可接受的载体。药物可接受载体的例子包括水和盐溶液。

在一个实施方案中，ATIII 例如转基因制备的 ATIII 的有效剂量可以介于约 10-300 U/kg、25-125 U/kg、50-100 U/kg 或 60-75 U/kg 体重。另一方面，有效剂量可以大于约 1 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg，但小于约 150 mg/kg、100 mg/kg、70 mg/kg。

在一个优选实施方案中，该试剂盒是用于治疗急性或慢性肺病的试剂盒。优选地，该肺病是急性肺损伤，例如脓毒性急性肺损伤或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)。肺损伤和/或炎症可以是诸如接触外部作用物，如病毒剂(例如肺炎假单胞菌)、烟雾或石棉引起的。在其它实施方案中，该肺病可以是肺或胸膜肿瘤、间质性肺病和/或机化性胸膜炎。

在一个实施方案中，该试剂盒包括处于喷射气溶胶或超声雾化器系统、或干粉吸入系统中的 ATIII。

在一个实施方案中，该试剂盒包括气溶胶形式的人 ATIII。该 ATIII 可以是天然来源，例如来自血浆，或重组制备。在一个优选实施方案中，

抗凝血酶 III 由转基因制备, 例如 ATIII 得自转基因 dairy 动物诸如奶牛、山羊、兔子或小鼠的乳汁。

本发明一个或多个实施方案的细节如下文附图和说明所述。本发明的其它特征、目的和优点从说明和附图以及权利要求书中所显见。

附图描述

图 1 是描述因烟雾吸入而致脓毒病的绵羊模型中, 给予雾化 ATIII 对肺气体交换 (PaO_2/FiO_2 比值) 的影响。

图 2 是描述因烟雾吸入而致脓毒病的绵羊模型中, 给予雾化 ATIII 对肺分流系数 (shunt fraction) 的影响。

图 3 是描述因烟雾吸入而致脓毒病的绵羊模型中, 给予雾化 ATIII 对平均动脉压的影响。

图 4 是描述因烟雾吸入而致脓毒病的绵羊模型中, 给予雾化 ATIII 对左房压的影响。

图 5 是描述因烟雾吸入而致脓毒病的绵羊模型中, 给予雾化 ATIII 对肺动脉压的影响。

图 6 是描述因烟雾吸入而致脓毒病的绵羊模型中, 给予雾化 ATIII 对心脏指数的影响。

图 7 是描述因烟雾吸入而致脓毒病的绵羊模型中, 给予雾化 ATIII 对左室搏功指数 (left ventricular stroke work index, LVSWI) 的影响。

图 8 是描述因烟雾吸入而致脓毒病的绵羊模型中, 给予雾化 ATIII 对体温的影响。

图 9 是描述因烟雾吸入而致脓毒病的绵羊模型中, 给予雾化 ATIII 对左血浆 Nox 水平的影响。

图 10 是描述因烟雾吸入而致脓毒病的绵羊模型中, ATIII 活性的变化。

发明详述

发现相比静脉内给予 ATIII, 使用气溶胶形式 ATIII 可在较低剂量下减少急性脓毒性肺损伤。因此, 本发明特征在于包括 ATIII 的气溶胶

制剂以及使用该气溶胶形式 ATIII 治疗具有肺病例如肺损伤或炎症的的受试者的方法。

此处所用术语"治疗"是指减轻或减少肺病有关的一种或多种症状。例如,肺损伤和/或炎症的症状包括:1)降低的肺气体交换;2)降低的肺分流系数;3)细胞外纤维蛋白沉积;4)增加的血管通透性;5)降低的脂蛋白表面活化剂沉积;6)组织再造;7)凝血;和/或8)增加的肺泡张力。此处所用有效治疗肺病的气溶胶化形式 ATIII 的量、或"治疗有效量"是指单一或多个剂量给予受试者时,超出未经该治疗所预期之外,有效治愈、减轻、舒解或改善此处所述肺病受试者的 ATIII 气溶胶的量。

ATIII 可以单独给药,例如以干粉制剂,或连同药物可接受载体给药。药物可接受载体包括例如无菌的水、盐溶液和乙醇。药用 ATIII 气溶胶组合物可另外包括其它治疗剂(例如减轻或降低肺炎症或损伤的其它药物)或其它药用佐剂、稀释剂等。可以按脂质体复合物或在脂质体中胶囊化给予 ATIII。

对于吸入给药,可以从包含合适喷射剂(例如二氧化碳等气体)或雾化器的压力容器或分配器中喷射气溶胶的形式输送化合物。此处所用术语"气溶胶"是指在固体或液体颗粒气中的分散物,其颗粒大小足够细微,因而沉降速度低,具有相对的空气传播稳定性(参见 Knight, V., *Viral and Mycoplasmal Infections of the Respiratory Tract*. 1973, Lea and Febiger, Phila. Pa., 第2页)。

可利用气体压力或超声实现 ATIII 的雾化。一般而言,雾化器是一种允许气溶胶给药的装置。可能是任何类型雾化器,其结构为本领域技术人员已知,这些装置可商品化获得。可以利用各种已知的雾化技术,使包含 ATIII 的溶液雾化,来制备本发明的气溶胶。一种雾化系统是"二相(wo-phase)"系统,由处于液体喷射剂中的活性成分的溶液或悬浮液组成。在加压容器中存在液气两相,开启容器阀门时,释放出包含溶液或悬浮液的液体喷射剂。产生细小的气溶胶烟雾或气溶胶湿气喷雾。

可获得多种制备气溶胶的雾化器,包括小体积雾化器。压缩机驱动

的雾化器结合了喷射技术，并使用压缩空气或医用氧气产生气溶胶。

可商品化获得的装置可得自 Healthdyne Technologies Inc.; Invacare Inc.; Mountain Medical Equipment Inc.; Pari Respiratory Inc.; Mada Mediacal Inc.; Puritan-Bennet; Schuco Inc.; Omron Healthcare Inc.; DeVilbiss Health Care Inc. 和 Hospitak Inc.。也可以使用超声雾化器输送 ATIII，例如具备高频石英水晶振荡的超声类型雾化器。

可以利用标准药理学程序，例如测定 LD50 (50%群体的致死剂量)和 ED50 (50%群体的治疗有效剂量)，在细胞培养物或实验动物中测定这类 ATIII 气溶胶的毒性和疗效。毒性和疗效之间的剂量比值即为治疗指数，可以表示为 LD50/ED50 比值。优选显现高治疗指数的化合物。虽然可能使用显现毒副作用的化合物，但应小心设计靶向这类化合物到达患病组织的输送系统，以使对未患病细胞的可能损伤减至最小，从而降低副作用。

从细胞培养分析和动物研究中获得的数据可用于配制多种剂量，供人使用。这类化合物的剂量优选位于包含 ED50 而没有或几乎没有毒性的循环浓度范围内。根据所用剂型和给药途径，剂量可能在此范围内变动。对于本发明方法所用的任何化合物，最初都可以从细胞培养分析中评价治疗有效剂量。与细胞培养中的测定一样，可能在动物模型中配制剂量，以达到包括 IC50 (即，达到症状一半最大抑制的待测化合物浓度)的循环血浆浓度范围。可以使用此类信息更准确地确定人用剂量。例如通过高效液相层析，可测定血浆中水平。

测定 ATIII 剂量的其它方法包括在 ATIII 治疗之前测量受试者的循环 ATIII 水平。根据循环 ATIII 水平，可以调整 ATIII 剂量高出初始循环水平的 50%、100%、150%、250%、300%。

气溶胶制剂的给药量一般位于约 10 U/kg - 250 U/kg 体重的范围内，优选约 25 U/kg - 175 U/kg 体重。

熟练技术人员应当理解，某些因素可能影响有效治疗受试者所需的剂量和时间，包括但不限于疾病或紊乱的严重性、先前的治疗、受试者

的一般健康状况和/或年龄以及其它疾病存在。此外，利用治疗有效量的蛋白质、多肽或抗体治疗受试者可以包括单次治疗，或优选包括系列治疗。

实施例

将重组制备的 ATIII 溶于盐溶液中 (42 mg/ml)。手术准备 10 只美丽诺羊 (merino ewe) 供研究。5-7 天后，动物接受气管切开术并 48 次呼吸棉花烟雾 (< 40° C)。将绿脓假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 悬浮于 30 mL 盐溶液中，其中包含 $2-5 \times 10^{11}$ cfu，通过使用支气管镜注入气道。在细菌攻击之后，利用 100% O₂ 为动物机械换气。使用盐溶液作为对照。损伤后 1 小时、其后每隔 4 小时，直至 24 小时研究中，利用超声雾化器雾化盐溶液 (n=5) 或 ATIII (n=5) (每次 10 ml)。

如下表 I 所示，ATIII 雾化显著降低了肺气体交换 (PaO₂/FiO₂ 比值)、分流系数和肺湿/干重比值。

表 I

治疗	盐溶液	抗凝血酶 III
PaO ₂ /FiO ₂	94 ± 22	206 ± 41*
分流系数 (%)	45 ± 5	23 ± 4*
MAP (mmHg)	71.3 ± 9.0	84.6 ± 12.0
肺湿/干比	6.4 ± 0.	5.4 ± 0.1*

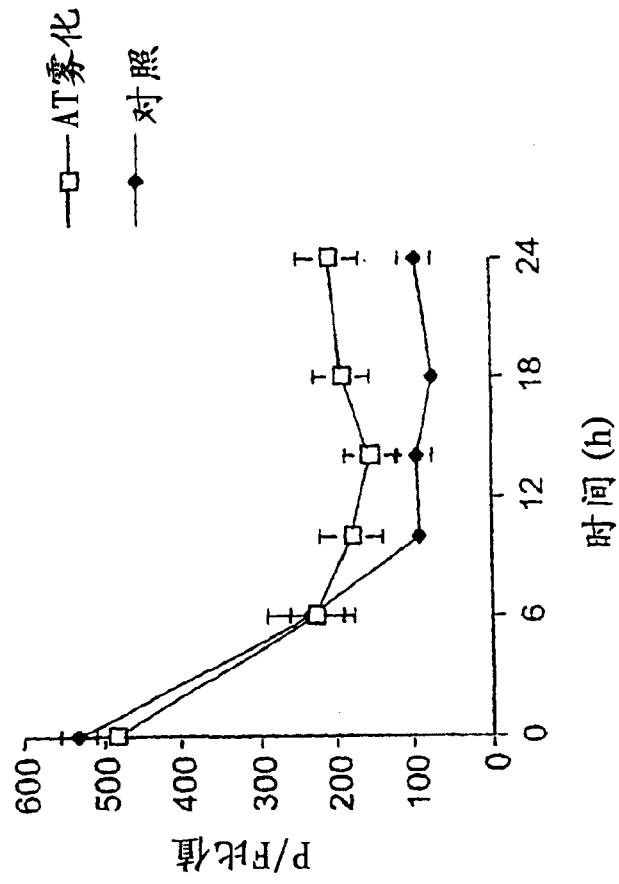
* 相比盐溶液 p < 0.05

即使 ATIII 的总剂量是先前静脉内研究所用的一半 (参见 Murakami (2001) Am. J. Resp. Crit. Care Med. 163: A553)，但结果比静脉内给药更为有效。未观察到副作用。因此，气溶胶化的 ATIII 对绵羊继烟雾吸入后的脓毒性急性肺损伤和肺炎有利。

已经描述了本发明多个实施方案。尽管如此，应当理解，可能不背离本发明的实质和范围而进行很多改变。因此，其它实施方案位于以下权利要求书的范围之内。

图1

PaO₂/FiO₂ 比值



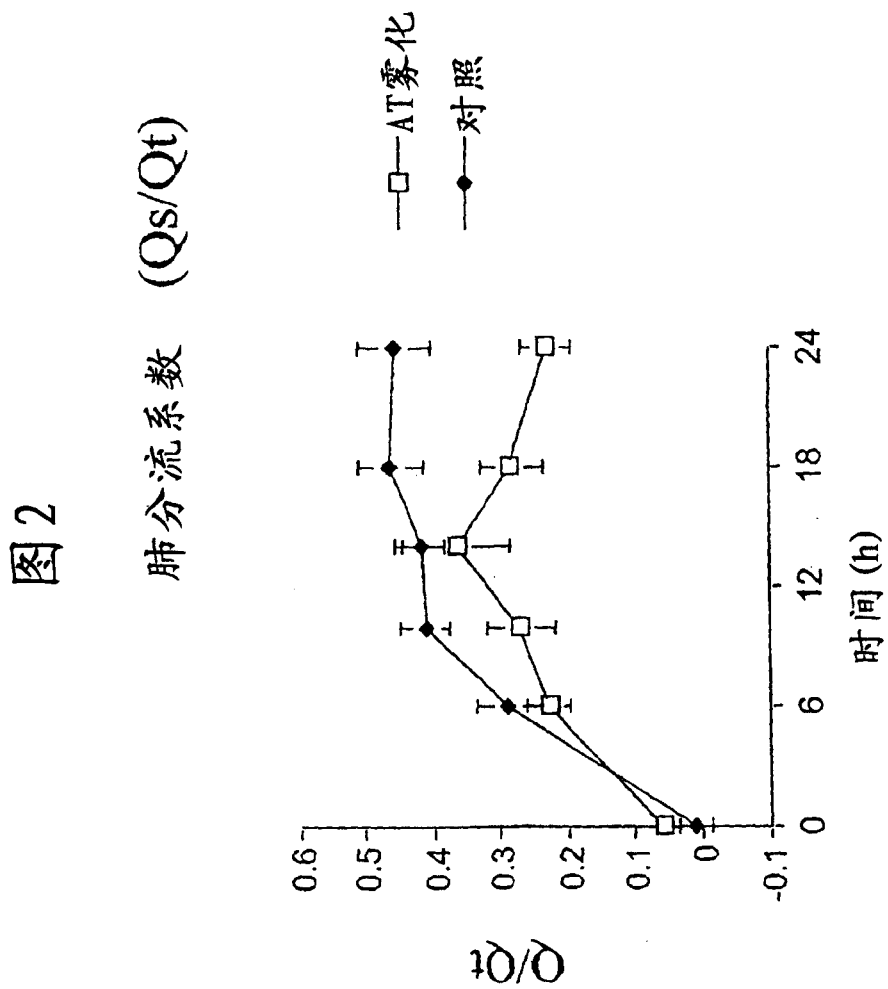


图3

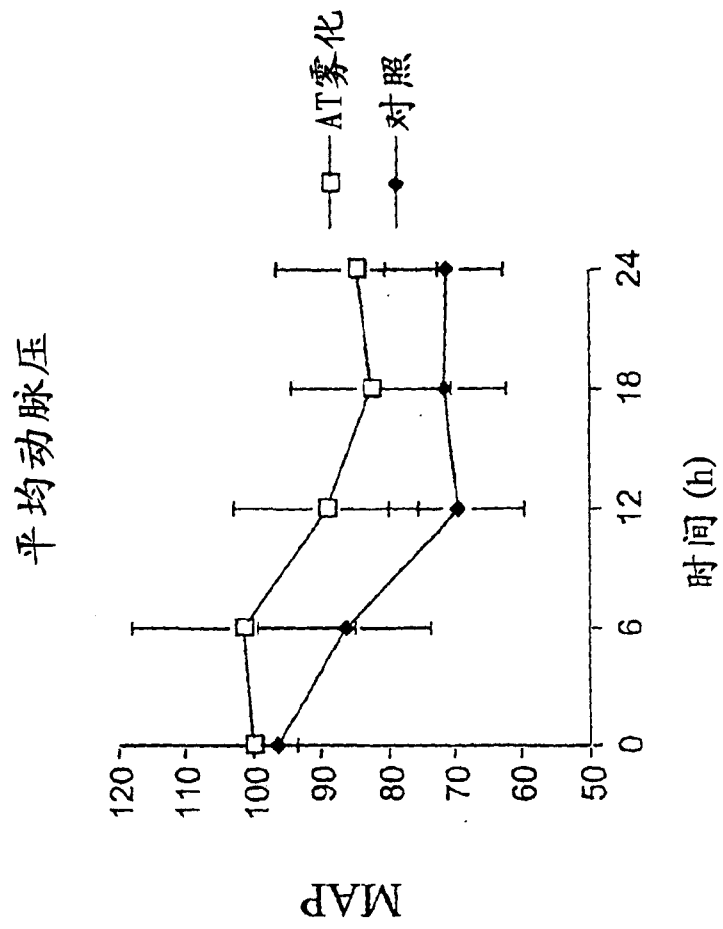
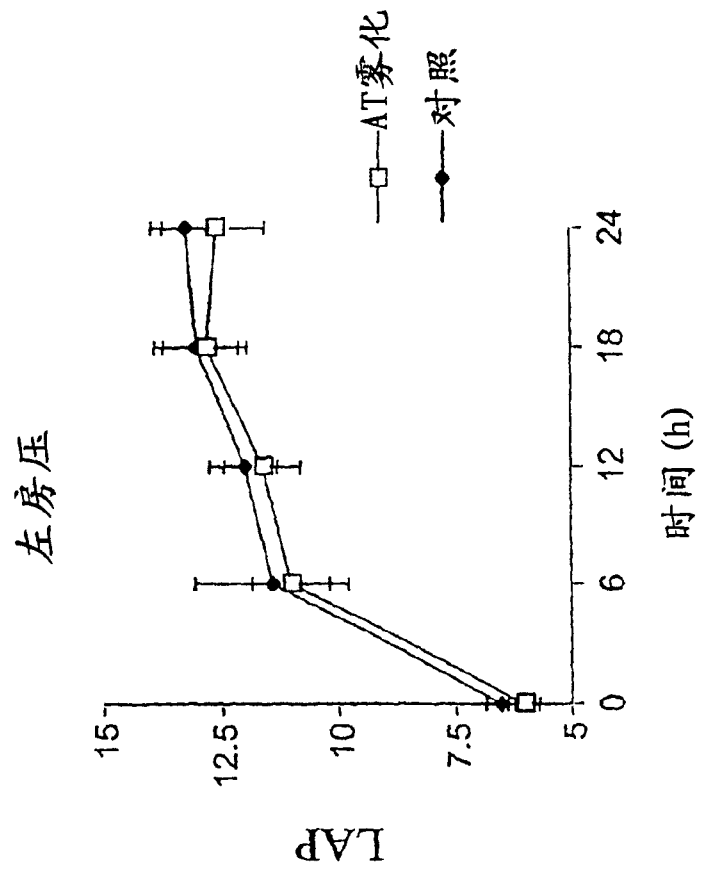


图4



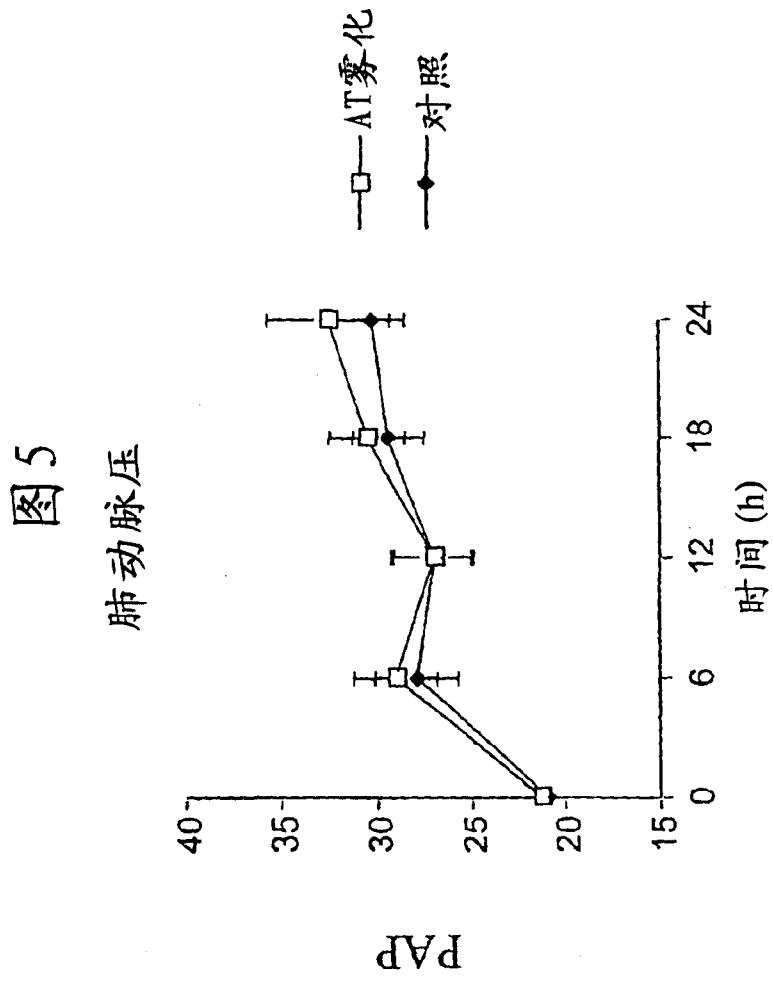
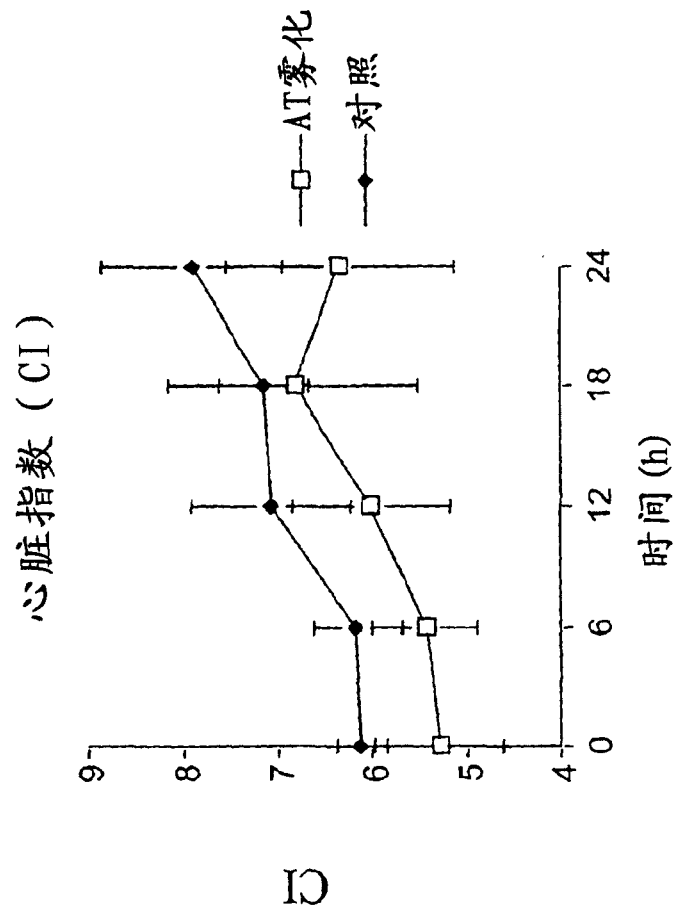


图6



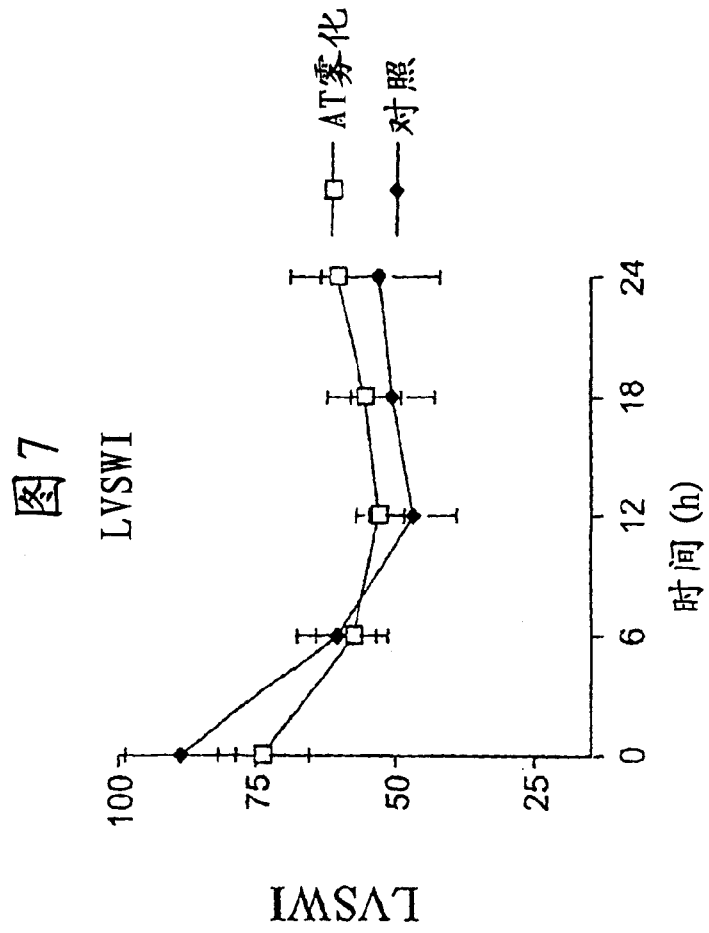


图8

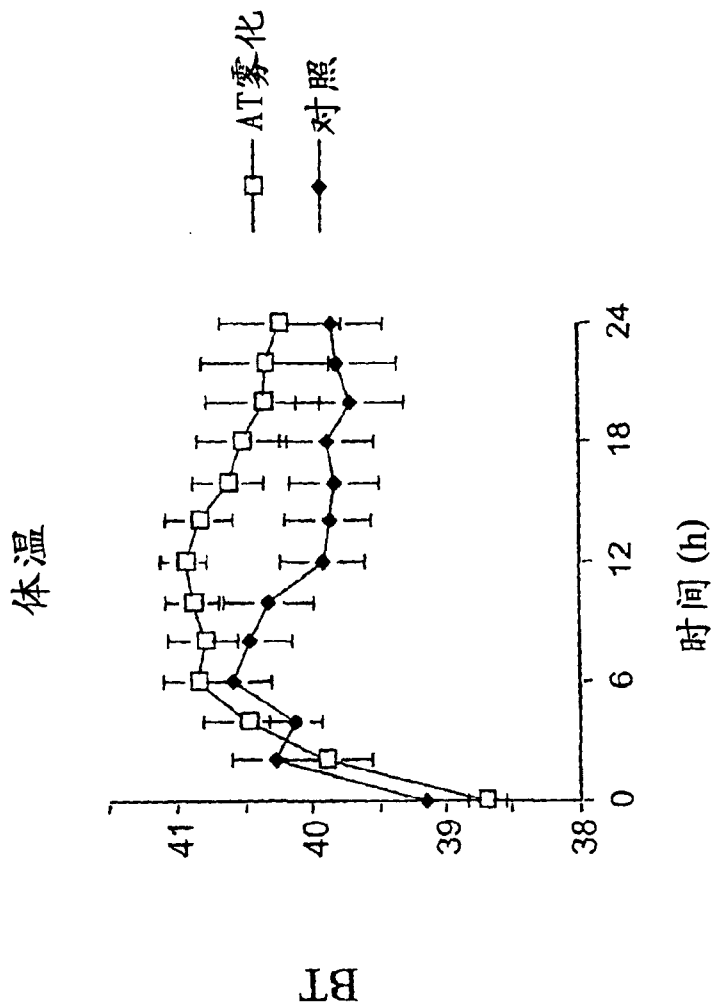


图9

