(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105147594 A
(43)申请公布日 2015.12.16

(21)申请号 201510385794.2
(22)申请日 2008.11.26
(30)优先权数据
60/991,596 2007.11.30 US
(62)分案原申请数据
200880125386.1 2008.11.26
(71)申请人 恩德制药解决方案公司
地址 美国宾夕法尼亚州
(72)发明人 约翰·沙贝 阿吉斯·基多尼尤斯 彼得·库慈玛
(74)专利代理机构 广州三环专利代理有限公司 44202
代理人 温旭 郝传鑫
(51)Int.Cl.
A61K 9/00(2006.01)
A61K 31/35(2006.01)
A61K 47/20(2006.01)
A61K 47/48(2006.01)
A61P 13/10(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书16页 附图2页

(54)发明名称

用于治疗膀胱癌的含戊柔比星的膀胱内剂型组合物

(57)摘要

用于治疗膀胱癌的组合物和方法包括肿瘤药剂和促渗剂的膀胱内剂型。所述肿瘤药剂可以是戊柔比星。药物组合物包括脂质体复合肿瘤药剂的膀胱内剂型。紧密连接开放剂可用于有效递送所述肿瘤药剂。

CN 105147594 A

1. 一种药物组合物，所述药物组合物包括 (i) 盐水，和 (ii) 膀胱内剂型的戊柔比星制剂，所述戊柔比星制剂包含 5mg/mL 至 100mg/mL 戊柔比星和二甲亚砜，其中，所述戊柔比星制剂与所述盐水的比例为 1:1 或 1:2.75。

2. 如权利要求 1 所述的药物组合物，所述药物组合物包括一种或一种以上附加的化学促渗剂，所述化学促渗剂选自：乙醇、异丙醇、二甲基乙酰胺、二甲基甲酰胺、癸甲基亚砜、2- 吡咯烷酮、N- 乙基 -2- 吡咯烷酮、癸酸、亚油酸、尿素、十二烷基硫酸钠、月桂基硫酸钠以及它们任何两种或两种以上的混合物。

3. 如权利要求 1 所述的药物组合物，所述药物组合物包括连接开放剂。

4. 如权利要求 3 所述的药物组合物，其中，所述连接开放剂选自：三甲基 - 壳聚糖、单 -N- 羧甲基壳聚糖、N- 二乙基甲基壳聚糖、癸酸钠、细胞松弛素 B、IL-1、聚卡波非、卡波普 934P、N- 硫酸 -N,O- 羧甲基壳聚糖、封闭带毒素、1- 棕榈酰基 -2- 戊二酰基 -sn- 丙三氧基 -3- 磷酸胆碱以及它们任何两种或两种以上的混合物。

5. 如权利要求 3 所述的药物组合物，其中，所述连接开放剂的量为按剂型的重量 / 体积计的约 1％至约 15％。

6. 如权利要求 1 所述的药物组合物，所述药物组合物包括聚乙氧基蓖麻油。

7. 如权利要求 6 所述的药物组合物，其中，所述聚乙氧基蓖麻油和二甲亚砜等量提供。

8. 如权利要求 1 所述的药物组合物，所述药物组合物还包括降解粘蛋白的化合物。

9. 如权利要求 8 所述的药物组合物，其中，所述降解粘蛋白的化合物选自：胰蛋白酶、透明质酸酶、硫酸鱼精蛋白和去甲肾上腺素。

10. 如权利要求 1 所述的药物组合物，所述药物组合物还包括生物粘附剂或粘膜粘附剂。

11. 如权利要求 10 所述的药物组合物，其中，所述粘膜粘附剂是聚丙烯酸。

12. 如权利要求 1 所述的药物组合物，所述药物组合物还包括离子型表面活性剂或非离子型表面活性剂、聚乙烯吡咯烷酮、海藻酸盐、聚丙烯酸或它们任何两种或两种以上的混合物。

13. 如权利要求 12 所述的药物组合物，其中，所述离子型表面活性剂和非离子型表面活性剂是聚氧乙烯蓖麻油衍生物、环氧乙烷和环氧丙烷的嵌段共聚物、山梨糖醇酐脂肪酸酯或它们任何两种或两种以上的混合物。

14. 如权利要求 13 所述的药物组合物，其中，所述聚丙烯酸是卡波姆 934P、卡波姆 940、卡波姆 941、卡波姆 974P、卡波姆 980、卡波姆 1342、聚卡波非、聚卡波非钙或它们任何两种或两种以上的混合物。

15. 权利要求 1 所述的药物组合物在制备用于治疗膀胱癌的药物中的应用。

16. 如权利要求 1 所述的药物组合物，其中，所述戊柔比星制剂与所述盐水的比例为 1:1。

17. 如权利要求 16 所述的药物组合物，其还包括聚乙氧基蓖麻油，其中，所述聚乙氧基蓖麻油和二甲亚砜等量提供。

用于治疗膀胱癌的含戊柔比星的膀胱内剂型组合物

[0001] 本申请为2010年7月22日进入中国国家阶段、申请号为200880125386.1、申请日为2008年11月26日、发明名称为“用于治疗膀胱癌的含戊柔比星的膀胱内剂型组合物”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2007年11月30日提交的美国临时专利申请第60/991,596号的权益，该临时专利申请的全部内容在此通过引用并入本文用于任何和全部目的。

技术领域

[0004] 本发明总体上涉及癌症治疗领域。具体而言，本发明提供在患者中空体结构内形成的癌症的疗法，所述中空体结构例如，膀胱、结肠、口腔和胃。

背景技术

[0005] 本发明提供以下描述以帮助读者理解。所提供的信息或引用的参考文献不被认作是本发明的现有技术。

[0006] 膀胱肿瘤通常起始为癌前病变并可发展为扩散性癌症。一些将继续转移生长。最常见的膀胱肿瘤是上皮来源的移形细胞癌。患有浅表性膀胱恶性肿瘤的患者预后良好，但是底层肌肉组织的深度侵入使五年生存率降低至约50％。

[0007] 手术是主要的治疗方法。手术范围取决于疾病的病理阶段。早期的疾病通常通过膀胱内化疗和经尿道切除术来治疗。局部侵袭性疾病通常可仅通过根治性膀胱切除术和尿流改道术来处理。手术通常与化疗药剂或免疫疗法药剂的辅助性膀胱内灌注相结合以降低膀胱壁上相同位置或另一位置的癌症复发的发生率和严重性。根治性（治愈性）放疗通常留作用于不适于手术的膀胱癌患者。对于浅表性低恶性度疾病而言，以膀胱内方式（直接灌注入膀胱）使用化疗以将药物集中在肿瘤位置并消除切除术之后任何残留的肿瘤块。全身化疗也可用于控制晚期膀胱癌。

[0008] 用于膀胱癌的一种这样的化疗药剂是Valstar®。Valstar®是乙醇中的戊柔比星(valrubicin)制剂，该制剂被灌注入膀胱以治疗膀胱癌。该制剂也可被用于替代膀胱的经尿道切除术以靶定癌细胞或在膀胱的经尿道切除术之后靶定癌细胞。然而，已知这种制剂对一些患者有刺激性并且所述制剂在达到充分起效之前从膀胱排出。因此，需要用于戊柔比星给药的载体以降低刺激性并且增加治疗功效。

发明内容

[0009] 在一个方面，用于治疗膀胱癌的组合物和方法包括肿瘤药剂的膀胱内剂型。在另一方面，本发明提供包括膀胱内剂型的有效量的肿瘤药剂和二甲亚砜的药物组合物。在一些实施方式中，戊柔比星的有效量为约5mg/mL至约100mg/mL、约10mg/mL至约90mg/mL、约15mg/mL至约80mg/mL、约20mg/mL至约70mg/mL、约25mg/mL至约70mg/mL、约30mg/mL至约60mg/mL、约35mg/mL至约50mg/mL或约35mg/mL至约45mg/mL。在一些实施方式中，

所述药物组合物包括一种或一种以上附加的化学促渗剂，所述化学促渗剂选自：乙醇、异丙醇、二甲基乙酰胺、二甲基甲酰胺、癸甲基亚砜、2-吡咯烷酮、N-乙基-2-吡咯烷酮、癸酸、亚油酸、尿素、十二烷基硫酸钠、月桂基硫酸钠以及它们任何两种或两种以上的混合物。在其他实施方式中，戊柔比星和二甲亚砜的所述有效量足以治疗膀胱癌。

[0010] 在一些实施方式中，所述药物组合物包括连接开放剂(junction opener)。在一些实施方式中，所述连接开放剂可以是三甲基-壳聚糖、单-N-羧甲基-壳聚糖、N-二乙基甲基壳聚糖、癸酸钠、细胞松弛素B、IL-1、聚卡波非、卡波普934P、N-硫酸-N,O-羧甲基壳聚糖、封闭带毒素(Zounla occludens toxin)、1-棕榈酰基-2-戊二酰基-sn-丙三氧基-3-磷酸胆碱(1-palmitoyl-2-glutaryl-sn-glycero-3-phosphocholine)或它们任何两种或两种以上的混合物。所述连接开放剂可以约1％至约15％存在于制剂中(按剂型的重量/体积计)。

[0011] 在一些实施方式中，所述药物组合物包括聚乙氧基蓖麻油。根据其他实施方式，所述聚乙氧基蓖麻油可以是克列莫佛(Cremophor)。在一些实施方式中，所述克列莫佛和二甲亚砜等量提供。在一些实施方式中，所述药物组合物包括连接开放剂。所述连接开放剂可以是三甲基-壳聚糖、单-N-羧甲基壳聚糖、N-二乙基甲基壳聚糖、癸酸钠、细胞松弛素B、IL-1、聚卡波非、卡波普934P、N-硫酸-N,O-羧甲基壳聚糖、封闭带毒素、1-棕榈酰基-2-戊二酰基-sn-丙三氧基-3-磷酸胆碱或它们任何两种或两种以上的混合物。

[0012] 在一些实施方式中，所述药物组合物包括降解粘蛋白的化合物。在一些实施方式中，所述降解粘蛋白的化合物选自：胰蛋白酶、透明质酸酶、硫酸鱼精蛋白和去甲肾上腺素。

[0013] 在一些实施方式中，所述药物组合物包括生物粘附剂或粘膜粘附剂。在一些实施方式中，所述粘膜粘附剂是聚丙烯酸。在一些实施方式中，所述药物组合物进一步包括离子型表面活性剂或非离子型表面活性剂、聚乙烯吡咯烷酮、海藻酸盐、聚丙烯酸或它们任何两种或两种以上的混合物。示例性的离子型表面活性剂和非离子型表面活性剂包括聚氧乙烯蓖麻油衍生物、环氧乙烷和环氧丙烷的嵌段共聚物、山梨糖醇酐脂肪酸酯或它们任何两种或两种以上的混合物。示例性的聚丙烯酸包括卡波姆934P、卡波姆940、卡波姆941、卡波姆974P、卡波姆980、卡波姆1342、聚卡波非、聚卡波非钙或它们任何两种或两种以上的混合物。

[0014] 在另一方面，本发明提供包括膀胱内剂型的有效量的戊柔比星和2-羟基-丙基-β-环糊精的药物组合物。在一些实施方式中，2-羟基-丙基-β-环糊精的量为按剂型的重量/体积计的约1％至约5％。在一些实施方式中，所述药物组合物还包括紧密连接开放剂。在一些实施方式中，所述连接开放剂是三甲基-壳聚糖、单-N-羧甲基-壳聚糖、N-二乙基甲基壳聚糖、癸酸钠、细胞松弛素B、IL-1、聚卡波非、卡波普934P、N-硫酸-N,O-羧甲基壳聚糖、封闭带毒素、1-棕榈酰基-2-戊二酰基-sn-丙三氧基-3-磷酸胆碱或它们任何两种或两种以上的混合物。在一些实施方式中，所述药物组合物还包括生物粘附剂或粘膜粘附剂。在一些实施方式中，所述粘膜粘附剂是聚丙烯酸。

[0015] 在另一方面，本发明提供包括脂质体剂型的药物组合物，所述脂质体剂型包括有效量的脂质体包埋的戊柔比星，其中，所述脂质体包括至少一种脂质体成型材料，所述脂质体成型材料选自：磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺。在一些实施方式中，所述脂质体成型材料含有按重量计的约4％至约8％的磷脂酰胆碱。在其他实施方式中，所述药物组合物包括按

重量计约0.5％至约2％的胆固醇。在一些实施方式中，所述药物组合物包括按重量计的约1％至约6％的一种或一种以上的神经鞘脂，所述神经鞘脂是D-葡糖基-β1-1’神经酰胺(C8)、D-葡糖基-β1-1’神经酰胺(C12)、D-葡糖基-β1,1’N-棕榈酰基-D-赤型-神经鞘氨醇、D-半乳糖基-β1-1’神经酰胺(C8)、D-半乳糖基-β1-1’神经酰胺(C12)、D-半乳糖基-β1-1’-N-神经苷脂基-D-赤型-神经鞘氨醇、D-半乳糖-β1-1’神经酰胺(C8)和D-半乳糖-β1-1’神经酰胺(C12)。在一些实施方式中，所述脂质体成型材料包括按重量计的约2％至约8％的磷脂酰乙醇胺。在其他实施方式中，所述药物组合物包括按重量计的约1％至约5％的磷脂酰肌醇。在其他实施方式中，所述药物组合物包括按重量计的约0.5％至约1％的油酸。在其他实施方式中，所述药物组合物包括按重量计的约0.5％至约2％的胆固醇。在其他实施方式中，所述药物组合物包括按重量计的约3％至约4％的甘油二酯-琥珀酸盐。在一些实施方式中，所述药物组合物包括油。这些油可包括，但不限于红花、三醋精和棉籽。在一些实施方式中，所述药物组合物包括促渗剂。在其他实施方式中，所述促渗剂包括油酸、癸酸、亚油酸、尿素、十二烷基硫酸钠、月桂基硫酸钠或它们任何两种或两种以上的混合物。

[0016] 在另一方面，本发明提供包括有效量的乳液包埋的戊柔比星的药物组合物；其中，所述乳液包括至少一种乳液成型材料，所述乳液成型材料选自：磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺和油。在一些实施方式中，所述油选自：红花、三醋精和棉籽。在其他实施方式中，所述药物组合物还包括促渗剂。在一些实施方式中，所述促渗剂是二甲亚砜、油酸、癸酸、亚油酸、尿素、十二烷基硫酸钠、月桂基硫酸钠或它们任何两种或两种以上的混合物。

[0017] 在另一方面，本发明提供治疗膀胱癌的方法，所述方法包括服用含有有效量的戊柔比星和二甲亚砜的组合物。在一些实施方式中，在膀胱的经尿道切除术之后，以膀胱内的形式施用所述组合物。

[0018] 在另一方面，本发明提供治疗膀胱癌的方法，所述方法包括施用含有有效量的脂质体包埋的戊柔比星的脂质体剂型，其中，所述脂质体包括至少一种脂质体成型材料，所述脂质体成型材料选自：磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺。

[0019] 在另一方面，本发明提供治疗膀胱癌的方法，所述方法包括施用包括有效量的乳液包埋的戊柔比星的乳液剂型；其中所述乳液包括至少一种乳液成型材料，所述乳液成型材料选自：磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺和油。在一些实施方式中，所述油选自：红花、三醋精和棉籽。在其他实施方式中，所述剂型还包括促渗剂。在一些实施方式中，所述促渗剂是二甲亚砜、油酸、癸酸、亚油酸、尿素、十二烷基硫酸钠、月桂基硫酸钠或它们任何两种或两种以上的混合物。

附图说明

[0020] 图1是根据一种实施方式，比较阴性对照盐水制剂、阳性对照Valstar制剂和戊柔比星/DMSO制剂的平均炎症分数的图。

[0021] 图2是根据一些实施方式，比较Valstar制剂、戊柔比星/DMSO制剂和戊柔比星/脂质体制剂的平均炎症分数的图。

[0022] 图3是根据一些实施方式，比较制剂4、9、11和12的平均炎症分数的图。

具体实施方式

[0023] 在描述本发明的组合物和方法之前，应理解本发明的组合物和方法不限定于所描述的特定过程、组合物或方法，这是由于本发明的组合物和方法可改变。还应被理解的是在说明书中使用的术语仅用于描述具体形式或实施方式，但无意限定。除非另有说明，本文所使用的所有的技术术语和科学术语具有的含义与本领域普通技术人员通常理解的含义相同。本说明书所涉及的所有出版物、专利申请、授权专利和其他文件在此通过引用并入本文，如同每一个单独的出版物、专利申请、授权专利或其他文件被具体地并单独地指明其全部内容通过引用并入本文。排除通过引用并入的文本中与本公开内容相矛盾的定义。本文没有任何内容被解释为承认本发明无权先于现有发明的这种公开。

[0024] 本文描述的化合物可含有非对称中心，因此所述化合物可作为对映异构体存在。当所述化合物具有两个或两个以上非对称中心时，所述化合物又可作为非对映异构体存在。所述化合物包括所有这些可能的立体异构体，例如基本上纯的拆分的对映异构体及其外消旋混合物以及非对映异构体的混合物。所显示的分子式在某些位置没有确定的立体化学结构 (stereochemistry)。所述化合物包括这些分子式的所有立体异构体和它们药学上可接受的盐。对映异构体的非对映异构体对可通过例如从合适溶剂中分步结晶来分离，因此获得的对映异构体对可通过常规手段被分离为单独的立体异构体，所述常规手段例如通过使用光学活性酸或碱作为拆分剂来分离或在手性 HPLC 柱上分离。此外，使用光学上纯的起始材料或已知结构的试剂通过立体特异性合成可获得所述通式的化合物的任何对映异构体或非对映异构体。

[0025] 在下面的说明书中，广泛地使用了大量术语。在此提供定义以利于理解各种实施方式。以下定义的术语通过参考说明书整体得以更加全面地限定。单位、前缀和符号可以它们接受的国际单位制 (SI) 形式来表示。

[0026] 本文使用的术语“约”意指使用的数字的数值的正负 10％。

[0027] 当与治疗剂结合使用时，本文使用的术语“给药”或“施用”是指将治疗剂直接地施加于靶组织之内或之上，或者是指将治疗剂施用于患者从而使所述治疗剂积极地影响被靶定的组织。因此，当与肿瘤药剂结合使用时，本文使用的术语“给药”可包括，但不限于，向靶组织之内或之上提供肿瘤药剂，或者通过例如膀胱内给药的方式向受治者提供肿瘤药剂。

[0028] 本文使用的术语“控制释放”是指旨在持续地释放预定的、治疗有效量的药物或其他活性剂（例如肿瘤药剂）一段延长的时间并使得达到所期望的疗效所必需的治疗次数减少的制剂或设备。就此而言，控制释放制剂将降低达到在治疗癌症或阻止癌症复发方面的期望效果所必需的治疗次数。所述控制释放制剂在受治者体内达到期望的药代动力学特性，优选地在置入递送环境之后基本上立即开始释放活性剂，随后持续、不间断地释放所述活性剂（优选地零级释放或接近零级释放）。控制释放包括以一定速度预定的、持续的释放剂量制剂中的活性剂，这样所述活性剂的治疗有益水平维持约一天至约一周、一周至约一个月或约一个月至约两个月的延长的时间。

[0029] 术语“抑制”包括服用化合物以阻止症状发作、减轻症状或消除疾病、病症或失调。

[0030] 术语“患者”和“受治者”意指包括人类在内的所有动物。患者或受治者的例子包括人类、奶牛、狗、猫、山羊、绵羊和猪。

[0031] “药学上可接受的”意指载体、稀释剂或赋形剂必须与制剂的其他成分相容并且对它们的接受者无害。

[0032] 本文使用的术语“药学上可接受的盐、酯、酰胺和前药”是指化合物的羧酸盐、氨基酸加成盐、酯、酰胺和前药，所述化合物的羧酸盐、氨基酸加成盐、酯、酰胺和前药在合理的医学判断范围内适用于与患者组织接触而无不适的毒性、刺激、过敏反应等，与合理的成效/风险比例相称，并且对于它们的预期用途是有效的。本文使用的术语“药学上可接受的盐、酯、酰胺和前药”也可能是所述化合物的两性离子形式。

[0033] 术语“前药”是指在体内迅速转化为产生上述分子式的母体化合物的化合物，例如通过血液中的水解转化。在“T.Higuchi 和 V.Stella, “Pro-drugs as Novel Delivery Systems,”the A.C.S.Symposium Series的第14卷，和Bioreversible Carriers in Drug Design,Edward B.Roche 编辑，American Pharmaceutical Association and Pergamon Press,1987”中提供详细的讨论，这两个文献通过引用并入本文。

[0034] 此外，所述化合物可与药学上可接受的溶剂（例如水、乙醇等）以非溶剂化形式或溶剂化形式存在。一般而言，所述溶剂化形式被认为等同于所述非溶剂化形式。

[0035] 术语“盐”是指化合物的相对无毒的、无机酸和有机酸加成盐。这些盐可在最终分离和化合物纯化的过程中原位制备，或通过纯化的化合物以它的游离碱形式与合适的有机酸或无机酸独立反应并且分离由此所形成的盐来制备。代表性的盐包括醋酸盐、氢溴酸盐、盐酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、硝酸盐、醋酸盐、草酸盐、戊酸盐、油酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、月桂酸盐、硼酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、磷酸盐、甲苯磺酸盐、柠檬酸盐、马来酸盐、延胡索酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、萘二酸盐 (naphthylate)、甲磺酸盐、葡庚糖酸盐、乳糖醛酸盐和月桂基磺酸盐等。这些盐可包括基于碱金属和碱土金属（例如钠、锂、钾、钙、镁等）的阳离子以及无毒的铵、四甲基铵、四乙基铵、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺、乙胺等。（参见，例如S.M.Berge 等人，“Pharmaceutical Salts,”J.Pharm.Sci.,1977,66:1-19, 其中的内容通过引用并入本文。）

[0036] 本文使用的术语“治疗剂”意指用于治疗、抗击、缓解、预防或改善患者不期望的病症或疾病的药剂。部分地，实施方式涉及膀胱癌的治疗或与没有服用治疗剂的受治者相比降低膀胱癌的复发。

[0037] 组合物的“治疗有效量”或“有效量”是为了达到期望的效果估算的预定量，所述期望的效果即减轻或预防膀胱癌或膀胱癌的复发。预期的活性视情形包括医学治疗性和/或预防性治疗。为了获得治疗性效果和/或预防性效果而服用的化合物的特定剂量当然将由围绕病例的具体情况来确定，所述具体情况包括，例如，所服用的化合物、给药途径、待治疗的病症。然而，应理解所服用的有效量将根据包括待治疗的病症、所选择的待服用的化合物以及所选择的给药途径在内的相关情况由医师来确定，因此上述剂量范围无意以任何方式限定范围。典型地，化合物的治疗有效量是当以生理学上可耐受的赋形剂组合物的形式服用所述化合物时，所述化合物足以达到有效全身浓度或组织中局部浓度的量。

[0038] 本文使用的术语“治疗 (treat，treated 或 treating)”是指治疗方法和预防或预防性的方法，其中目的是阻止或减慢（减轻）不期望的生理学上的病症、失调或疾病，或获得有益的或期望的临床结果。有益的或期望的临床结果包括，但不限于：症状的缓解；病症、失调或疾病范围的缩小；病症、失调或疾病状态的稳定（即，不恶化）；病症、失调或疾病

的发展减慢或发作延迟；病症、失调或疾病的缓解；以及病症、失调或疾病的减轻（无论部分或全部）、或好转（enhancement）或改善（无论可检测或不可检测）。治疗包括诱发临床上的显著反应而没有过高水平的副作用。治疗还包括与预期的存活（如果未接受治疗）相比延长存活时间。

[0039] 组合物和方法

[0040] 本发明提供作为抗癌药剂的具有活性的药物组合物并且本发明提供用于治疗患者膀胱癌的方法。在一方面，药物组合物包括肿瘤药剂（NA）和促渗剂。在一种实施方式中，组合物包括有效量的戊柔比星和促渗剂二甲亚砜（DMSO）。在其他的实施方式中，所述组合物包括有效量的戊柔比星、促渗剂DMSO以及添加剂。

[0041] 本发明还提供克服阻止肿瘤药剂有效递送至膀胱壁的一系列障碍的方法。具体而言，有效递送的障碍包括（a）围绕膀胱壁的粘蛋白层，（b）所述肿瘤药剂能够停留与所述壁接触的短时间间隔，以及（c）所述肿瘤药剂通过膀胱壁的渗透。所述组合物和方法适合治疗可能已经侵入底层肌肉组织的癌细胞。

[0042] 在各种实施方式中，所述肿瘤药剂或化疗药剂包括抗增殖药剂丝裂霉素C、戊柔比星和链霉素、紫杉醇以及BCG。在优选的实施方式中，所述肿瘤药剂是戊柔比星。戊柔比星（N-三氟乙酰阿霉素-14-戊酸酯，Valstar®）是用于治疗膀胱癌的化疗药物。戊柔比星是蒽环类抗生素多柔比星的半合成类似物，并且它是通过直接灌注入膀胱内的方式进行给药。

[0043] 在一种实施方式中，所述药物组合物包括肿瘤药剂和可接受的化学皮肤促渗剂。化学促渗剂破坏了细胞间脂质双层（亲脂通路）的有序结构和细胞内环境（亲水通路）的有序结构。化学促进剂的许多族包括醇类（乙醇、异丙醇）、胺类和酰胺类（二甲基乙酰胺、二甲基甲酰胺）、亚砜类（癸甲基亚砜、二甲亚砜（DMSO））、吡咯烷酮类（2-吡咯烷酮、N-乙基-2-吡咯烷酮）、脂肪酸（癸酸、亚油酸）、尿素类和不饱和环状尿素类、表面活性剂（十二烷基硫酸钠、月桂基硫酸钠）以及其他（参见Percutaneous Permeation Enhancers, CRC Press, 1995）。

[0044] 在具体的实施方式中，化学促渗剂与戊柔比星相容。在特定的实施方式中，DMSO是可接受的化学皮肤促渗剂。DMSO是优选的皮肤促渗剂，因为（a）它已被批准用于灌注入膀胱（Rimso 50, PDR, 第58版，2004, 第1215页），和（b）它可降低当前可提供的制剂中与乙醇迅速挥发有关的不适。此外，DMSO会携带一些戊柔比星进入底层肌肉组织而不影响达到体循环的量。由于膀胱组织的亲水本质，戊柔比星与膀胱接触之后会沉淀。因此，预期含有戊柔比星和DMSO的制剂杀灭已侵入底层肌肉的癌细胞。

[0045] 如上所述，所述组合物还可含有除戊柔比星和DMSO之外的添加剂。在一些实施方式中，这些添加剂包括离子型表面活性剂和非离子型表面活性剂，例如聚氧乙烯蓖麻油衍生物、环氧乙烷和环氧丙烷的嵌段共聚物、山梨糖醇酐脂肪酸酯、聚乙烯吡咯烷酮、海藻酸盐和聚丙烯酸。

[0046] 聚氧乙烯蓖麻油衍生物包括，但不限于，聚氧乙烯三蓖麻醇酸甘油酯或聚氧乙烯35蓖麻油（Cremophor® EL, BASF Corp.）、聚氧乙烯羟基硬脂酸甘油酯（polyoxyethyleneglycerol oxystearate）（Cremophor® RH 40（聚乙二醇40氢化蓖

麻油）和Cremophor® RH 60（聚乙二醇60氢化蓖麻油），BASF Corp.）。环氧乙烷和环氧丙烷的嵌段共聚物包括，但不限于，聚氧乙烯聚氧丙烯嵌段共聚物或聚氧乙烯聚丙二醇，例如Poloxamer® 124、Poloxamer® 188、Poloxamer® 237、Poloxamer® 388、Poloxamer® 407(BASF Wyandotte Corp.）等。山梨糖醇酐脂肪酸酯包括，但不限于，聚氧乙烯(20)山梨糖醇酐的单脂肪酸酯，例如，聚氧乙烯(20)山梨糖醇酐单油酸酯（Tween® 80，也称为Polysorbate® 80）、聚氧乙烯(20)山梨糖醇酐单硬脂酸酯（Tween® 60）、聚氧乙烯(20)山梨糖醇酐单棕榈酸酯（Tween® 40）、聚氧乙烯(20)山梨糖醇酐单月桂酸酯（Tween® 20）等。可选地，聚丙烯酸可以是已知的卡波姆934P、940、941、974P、980、1342、聚卡波非和聚卡波非钙(BF Goodrich)。

[0047] DMSO已用于促进药剂渗入膀胱壁，然而，本申请之前本领域的情况是：人们相信DMSO给药导致细胞死亡或细胞固定，这可降低通过DMSO所施用的任何化疗的治疗功效。例如，Borzelleca等人(Investigative Urology 6(1)，43-52(1968))描述了使用DMSO向家兔的膀胱施用水杨酸钠。然而，Borzelleca揭示了膀胱的上皮甚至对于5％的DMSO水溶液敏感，伴随诸如在20％ DMSO水溶液中上皮细胞损失之类的严重反应。同上，在100％ DMSO中细胞（虽然表现正常）被固定，就像将组织学上的固定剂应用于细胞。同上，因此，这时预期DMSO会产生与那些期望的效果相反的效果。

[0048] 在一种实施方式中，所述药物组合物包括肿瘤药剂和降解覆盖膀胱壁的粘蛋白层的酶或化合物。所述覆盖膀胱壁的粘蛋白层由在膀胱癌患者体内升高的粘多糖、透明质酸和硫酸软骨素组成。虽然不希望受限于任何特定的机理，但是预见到如果除去粘蛋白层，化疗药剂可到达膀胱壁的内腔层并且在治疗疾病方面变得更有效。酶和其他化合物可降解粘蛋白层。其例子包括胰蛋白酶以及动物源性透明质酸酶和重组的透明质酸酶。硫酸鱼精蛋白和去甲肾上腺素是也可被使用的其他化合物。

[0049] 在一种实施方式中，所述药物组合物包括肿瘤药剂和生物粘附剂或粘膜粘附剂，所述生物粘附剂或粘膜粘附剂将在膀胱壁上形成至少单分子层制剂一段延长的时间。生物粘附剂用于提高剂型停留时间以及改善与各种吸收性膜的接触亲密性，所述吸收性膜例如膀胱壁的粘膜组织。除了作为控制释放的平台，生物粘附剂聚合物其自身可对药物释放速率和量进行一些控制，因此生物粘附剂聚合物有助于这些系统的治疗优势(Bioadhesive Drug Delivery Systems,CRC Press, 第66页(1990))。代表性的天然聚合物包括诸如玉米蛋白、改性玉米蛋白、酪蛋白、明胶、谷蛋白、血清白蛋白和胶原蛋白之类的蛋白质，诸如纤维素、葡聚糖以及透明质酸(polyhyaluronic acid)之类的多糖。代表性的合成聚合物包括聚磷腈、聚（乙烯醇）、聚酰胺、聚碳酸酯、聚丙烯酸酯、聚烯烃、聚丙烯酰胺、聚亚烷基二醇、聚环氧烷(polyalkylene oxide)、聚对苯二甲酸亚烷基、聚乙烯醚、聚乙烯酯、聚乙烯卤化物、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙交酯、聚硅氧烷、聚氨酯以及它们的共聚物。合适的聚丙烯酸酯的例子包括聚（甲基丙烯酸甲酯）、聚（甲基丙烯酸乙酯）、聚（甲基丙烯酸丁酯）、聚（甲基丙烯酸异丁酯）、聚（甲基丙烯酸己酯）、聚（甲基丙烯酸异癸酯）、聚（甲基丙烯酸月桂酸酯）、聚（甲基丙烯酸苯酯）、聚（丙烯酸甲酯）、聚（丙烯酸异丙酯）、聚（丙烯酸异丁酯）和聚（丙烯酸十八烷基酯）。

[0050] 上述聚合物可单独地表征为可生物降解聚合物、非可生物降解聚合物以及生物粘附剂聚合物，下面予以更详细地讨论。代表性的合成的可降解聚合物包括诸如聚交酯、聚乙交酯以及它们的共聚物之类的多羟基酸、聚（对苯二甲酸乙二酯）、聚（丁酸）、聚（戊酸）、聚（乳酸 -co- 己内酯）、聚酐类、聚原酸酯以及它们的混合物和共聚物。代表性的天然可生物降解聚合物包括诸如海藻酸盐、葡聚糖、纤维素、胶原蛋白以及它们的化学衍生物（羟基化，氧化，化学基团（例如烷基、烯基）取代、加成，以及由本领域技术人员通常所做的其他修饰）之类的多糖和诸如白蛋白、玉米蛋白之类的蛋白质以及它们的共聚物和混合物，单独或与合成的聚合物结合。一般而言，这些材料通过酶水解或在体内暴露于水以表面腐蚀或本体腐蚀的方式被降解。非可生物降解聚合物的例子包括乙烯醋酸乙烯酯、聚（甲基）丙烯酸、聚酰胺、聚乙烯、聚丙烯、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚乙烯苯酚以及它们的共聚物和混合物。亲水聚合物和水凝胶倾向于具有生物粘附性质。含有羧基（例如聚 [丙烯酸]）的亲水聚合物倾向于表现最佳的生物粘附性质。当期望软组织上的生物粘附性时，优选羧基浓度最高的聚合物。诸如海藻酸钠、羧甲基纤维素、羟甲基纤维素和甲基纤维素之类的各种纤维素衍生物也具有生物粘附性质。这些生物粘附剂材料中的一些是水溶的，而其他是水凝胶。诸如醋酸琥珀酸羟丙基甲基纤维素 (HPMCAS)、乙酸苯三酸纤维素 (CAT)、邻苯二甲酸乙酸纤维素 (CAP)、邻苯二甲酸乙酸羟丙基纤维素 (HPCAP)、邻苯二甲酸乙酸羟丙基甲基纤维素 (HPMCAP) 和邻苯二甲酸乙酸甲基纤维素 (MCAP) 之类的聚合物可被用于提高与这些聚合物复合的药物的生物利用度。诸如聚（交酯 -co- 乙交酯）、聚酐类和聚原酸酯之类的快速可生物腐蚀聚合物也可用作递送肿瘤药剂的生物粘附剂，当这些聚合物的平滑表面受到腐蚀时，这些聚合物的羧基暴露于外表面。

[0051] 在一种实施方式中，所述药物组合物包括肿瘤药剂和一种或一种以上让所述肿瘤药剂渗入底层肌肉组织的打开紧密连接的化合物。打开紧密连接的化合物调节旁细胞药物运输，在上皮组织中提供短暂、快速并且可逆的紧密连接渗透性。所述改性剂的一个例子是 1- 棕榈酰基 -2- 戊二酰基 -sy- 丙三氧基 -3- 磷酸胆碱 (Nastech Pharmaceutical)。其他的例子包括 N- 二乙基甲基壳聚糖 (International Journal of Pharmaceutics 293:83,2005)、癸酸钠和细胞松弛素 B(Digestive Diseases and Sciences 43:1547,1998)、IL-1(J.Immunology 178:4641,2007)、聚卡波非、卡波普 934P、卡波姆和三甲基壳聚糖 (Biomaterials 23(1):153,2002 和 Pharm.Res 18(11):1638,2001)、单羧酸化壳聚糖 (Adv.Drug Delivery Reviews 52(2):117,2001)、N- 硫酸 -N,O- 羧甲基壳聚糖（美国专利第 7,265,097 号）以及封闭带毒素和片段 (Adv.Drug Delivery Reviews 58:15,2006)。因此，在一些实施方式中，影响上述三个障碍的、与化学促进剂和其他赋形剂结合的紧密连接调节剂也被包括在内。

[0052] 在一种实施方式中，所述药物组合物包括肿瘤药剂，所述肿瘤药剂与脂质体复合以稳定并溶解所述肿瘤药剂并让所述肿瘤药剂渗入膀胱壁。脂质体是已被设计为药物载体系统的磷脂载体以实现位点特异性的药理作用或药物的控制释放，因此提高功效并减小不良副作用。虽然不希望受理论限制，脂质体可以是用于递送肿瘤药剂的合适载体，因为 (a) 它们可包埋并控制释放所述肿瘤药剂，(b) 它们可保护肿瘤药剂不受生物环境影响直至所述肿瘤药剂释放，(c) 它们提供减小肿瘤药剂毒性直至所述肿瘤药剂释放的方法以及 (d) 基于所使用的脂质，它们具有靶定特定细胞的能力。

[0053] 脂质体可由许多两亲性的脂质和脂质混合物来制备，例如磷脂、胆固醇、神经鞘脂以及脂肪酸甘油三酯。例如，合适的脂质体制剂包括伴有胆固醇、油酸或琥珀酸甘油二酯之一的磷脂酰乙醇胺和磷脂酰肌醇的组合。另外的脂质体制剂包括伴有下列神经鞘脂中任一个的磷脂酰胆碱和胆固醇的组合，所述神经鞘脂是：D- 葡糖基 - β 1-1’神经酰胺 (C8)、D- 葡糖基 - β 1-1’神经酰胺 (C12)、D- 葡糖基 - β 1,1’N- 棕榈酰基 -D- 赤型 - 神经鞘氨醇、D- 半乳糖基 - β 1-1’神经酰胺 (C8)、D- 半乳糖基 - β 1-1’神经酰胺 (12)、D- 半乳糖基 - β 1-1’-N- 神经苷脂基 -D- 赤型 - 神经鞘氨醇或 D- 半乳糖 - β 1-1’神经酰胺 (C8)、D- 半乳糖 - β 1-1’神经酰胺 (C12)。

[0054] 水合作用之后，磷脂混合物将形成单片或多片双层结构。然而，包含伴有油酸或琥珀酸甘油二酯之一的磷脂酰乙醇胺的混合物将在中性 pH 下形成这些结构。在酸性 pH 下，这些结构将形成使膜融合的非双层结构。(Progress in Lipid Research 39(2000)409-460)。由神经鞘脂构成的片状结构将含有碳水化合物的表面层，预期所述碳水化合物表面层与膀胱的粘多糖层或粘蛋白层强烈地相互作用并且所述碳水化合物表面层粘合至膀胱的粘多糖层或粘蛋白层。这些脂质体与粘蛋白层的粘合将让戊柔比星靶向地、不间断地释放。虽然那些由磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇和油酸或琥珀酸甘油二酯之一构成的磷脂将粘合至粘蛋白层 (由于磷脂酰肌醇的戊羟基环己基部分)，但是可预见到随着膀胱的 pH 的降低，戊柔比星的释放更快。

[0055] 通过服用本文所包含的肿瘤药剂制剂在受治者体内可实现疾病或病症的治疗。基于例如接受者的生理状态和本领域技术人员公知的其他因素，所述组合物的服用可以是连续的或间断的。所述制剂的服用可基本上持续一段预选的时间段或可以是一系列间隔的剂量。

[0056] 在一些实施方式中，所述药物组合物联合一种或一种以上的治疗药剂可用于治疗癌症。在一种实施方式中，所述药物组合物与使用卡介苗 (BCG) 的免疫疗法结合。BCG 激活导致肿瘤坏死的局部 1 型 (Th1)DTH 样免疫反应。

[0057] 在一种实施方式中，将所述肿瘤药剂制剂直接施用于受治者以达到期望的反应。基于各种因素，所施用的量将不同，所述因素包括但不限于所选择的组合物、具体的疾病、受治者的重量、健康状态、年龄以及实现预防还是治疗。这些因素可由临床医师使用动物模型或本领域熟知的其他测试系统来容易地确定。

[0058] 典型地，足以达到治疗或预防效果的组合物的有效量的范围为每次经膀胱内给药约 1mg 至每次经膀胱内给药约 1,000mg。优选地，剂量范围为每次经膀胱内给药约 50mg 至每次经膀胱内给药约 500mg。

[0059] 本文所述的肿瘤药剂制剂的有效量 (例如剂量) 将提供治疗成效而不引起对受治者的显著毒性。本文所述的肿瘤药剂制剂的毒性可根据细胞培养物或实验动物中的标准药物规程来确定，例如，通过确定 LD_{50}(导致群体 50％致死的剂量) 或 LD_{100}(导致群体 100％致死的剂量)。毒性和疗效之间的剂量比值是治疗指数。从这些细胞培养检测和动物研究获得的数据可用于配制剂量范围，所述剂量范围在人体内使用是无毒的。确切的制剂、给药途径和剂量可由每个医师根据受治者的病症来选择。参见，例如，Fingl 等，In:The Pharmacological Basis of Therapeutics, 第 1 章 (1975)。

[0060] 当制备用于给药的药物组合物时，所述药物组合物优选地与药学上可接受的载

体、稀释剂或赋形剂组合以形成药物制剂或单位剂型。在这些制剂中总的活性成分为0.1%至99.9%（按制剂的重量计）。用于给药的活性成分以粉末或颗粒、溶液、悬浮液或乳液的形式存在。

[0061] 含有所述肿瘤药剂的药物制剂可由本领域公知的步骤使用熟知并易于获得的成分来制备。可配制所述肿瘤药剂为适于肠胃外给药的溶液，例如通过肌肉内、皮下或静脉途径给药。所述肿瘤药剂的药物制剂也可采用水溶液或无水溶液或分散体的形式，或可选地，采用乳液或悬浮液的形式。

[0062] 所述活性成分可采用如油性介质或水性介质中的悬浮液、溶液或乳液这些形式，并且可含有诸如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂之类的配方剂。可选地，所述活性成分可以是粉末形式，所述粉末形式通过无菌固体的无菌分离获得或者通过从溶液冷冻干燥来获得，所述粉末形式在使用前以合适的载体（例如无菌无热原水）溶解。

[0063] 所述药物制剂可包括作为任选的成分的药学上可接受的载体、稀释剂、增溶剂或乳化剂以及本领域熟知的类型的盐。具体而言，在药物制剂中有用的载体和/或稀释剂的非限定性的例子包括水和生理学上可接受的缓冲盐水溶液，例如磷酸盐缓冲盐水溶液，其pH为7.0至8.0。

[0064] 用于注射液的合适的载体包括水、合适的油、盐水、葡萄糖水溶液、相关糖溶液和/或诸如丙二醇或聚乙二醇之类的二醇类。用于肠胃外给药的溶液含有活性成分、合适的稳定剂和缓冲物质（如果需要的话）。诸如硫酸氢钠、亚硫酸钠或抗坏血酸（单独或组合）之类的抗氧化剂是合适的稳定剂。还使用柠檬酸及其盐和乙二胺四乙酸钠(EDTA)。此外，注射液可含有诸如氯化苯甲烃铵、甲基-对羟基苯甲酸酯或丙基-对羟基苯甲酸酯和氯代丁醇之类的防腐剂。合适药物载体在这个领域标准参考文献Remington's Pharmaceutical Sciences中有描述。

[0065] 此外，可使用标准制药方法控制作用的持续时间。标准制药方法是本领域熟知的且包括控制释放制剂并且可包括合适的大分子，例如聚合物、聚酯、聚氨基酸、聚乙烯吡咯烷酮、乙烯醋酸乙烯酯、甲基纤维素、羧甲基纤维素或硫酸鱼精蛋白。大分子的浓度以及掺入大分子的方法可被调节以控制释放。此外，药剂可被掺入聚合物材料的颗粒，所述聚合物材料例如聚酯、聚氨基酸、水凝胶、聚（乳酸）或乙烯醋酸乙烯酯共聚物。这些药剂除了被掺入之外，还可用于在微胶囊中截留化合物。

[0066] 因此，所述药物组合物可经过各种途径递送并且可被递送至哺乳动物体内的各个位置以达到特定的效果。本领域技术人员会意识到，虽然可使用一种以上的途径给药，但是特定途径比另外的途径可提供更直接并且更有效的反应。局部或全身递送可通过给药来完成，所述给药包括将所述制剂应用于或灌注入体腔、通过喷雾剂吸入或吹入所述制剂或者通过肠胃外引入所述制剂（包括肌肉内、静脉、腹膜、皮下、皮内）以及外部用药。在优选的实施方式中，以膀胱内（即，灌注入膀胱）形式向受治者提供所述制剂。

[0067] 这些载体或稀释剂的例子包括，但不限于，水、盐水、林格氏溶液、葡萄糖溶液以及5%人血清白蛋白。如上所述，也可使用脂质体和诸如不挥发性油之类的非水相载体。将这些介质和化合物用于药学上活性物质是本领域熟知的。除非常规介质或化合物与所述肿瘤药剂不相容，那么在组合物中它们的使用是预期的。也可将附加的活性化合物掺入所述组合物。

[0068] 因此，总体上描述的本发明的实施方式参考下列实施例将更易于理解，所述实施例以示例性的方式提供并无意以任何方式限定本发明的技术。

实施例

[0069] 下列表格进一步说明了各种实施方式并且不应以任何方式将其解释为限定本发明。表格是戊柔比星制剂的列表。

[0070] 表 1. 含有 DMSO 的戊柔比星制剂

[0071]

化合物	制剂						
	Valstar®	1	2	3	4	5	6
戊柔比星 (mg)	40	40	40	40	40	40	40
乙醇 (mL)	0.50						
DMSO (mL)		0.50	0.25	0.25	0.25	0.25	
克列莫佛EL (mL)	0.50	0.50					
聚山梨醇酯 80 (mL)			0.75	0.75	0.75	0.75	0.50
聚丙烯酸 (mg)				28			
聚乙烯吡咯烷酮K-17 (mg)					113		
海藻酸钠 (mg)						14	
聚乙二醇 400 (mL)							0.50
泊洛沙姆 407 (mg)							525
盐水 (mL)				2.75	2.75	2.75	2.75

[0072] 表 2. 选择的脂质制剂

[0073]

剂型 #	比例	AO[a]	PC[b] (mg/mL)	溶血-PC (mg/ml)[c]	DOTAP (mg/ml)[d]	糖脂类 (mg/ml)[e]	戊柔比星 (mg/mL)
7	DOPC/溶血-油酰基-PC(9/1 摩尔比)	否	79.7	6.44			10.0
8	大豆PC/溶血-大豆-PC (7/3摩尔比)	是	67.3	22.1			12.1
9	大豆PC/溶血-大豆	是	55.4	22.6	9.36		11.2

[0074]

	-PC/DOTAP (6/3/1摩尔比)						
10	大豆PC/溶血-大豆-PC/DOTAP(6/3/1摩尔比)	否	58.0	21.9	9.50		11.2
11	大豆PC/溶血-大豆-PC/糖脂 A (69/30/1摩尔比)	是	69.5	20.9		N/D	11.7
12	大豆PC/溶血-大豆-PC/糖脂B (69/30/1摩尔比)	是	70.0	21.0		N/D	11.5
13	大豆PC/溶血-大豆-PC/DOTAP/糖脂A (59/30/10/1摩尔比)	是	59.5	21.0	9.41	N/D	11.2

[0075] [a]抗氧化剂是生育酚和抗坏血酸盐-6-棕榈酸盐，各占总脂质的0.1wt％。

[0076] [b]PC ＝磷脂酰胆碱

[0077] DOPC ＝二油酰基磷脂酰胆碱

[0078] 大豆 PC ＝大豆磷脂酰胆碱

[0079] [c]溶血-PC ＝ 1-酰基-2-羟基-sn-丙三氧基-3-磷酸胆碱

[0080] [d]DOTAP ＝ 1,2-二酰基-3-二甲基铵-丙烷(DAP)

[0081] [e]糖脂类-糖脂 A ＝ D-葡糖基-β1-1’-N-十二烷酰基-D-赤型-神经鞘氨醇(C12 β-D-葡糖基神经酰胺）;糖脂B ＝ D-乳糖酰基-β1-1’-N-十二烷酰基-D-赤型-神经鞘氨醇（C12 β-D-乳糖酰基神经酰胺）

[0082] N/D 表示按照 mg/ml 未测定出糖脂类的量。

[0083] 实施例 1

[0084] 在这个实施例中，上述和下述表格中所标识出的各种制剂被灌注入大鼠的膀胱。然后，以预定的时间间隔宰杀大鼠，收集血液和膀胱。分析血液以获取戊柔比星的全身渗透情况。通过给每个膀胱在五个参数方面的打分分析了膀胱炎症，所述五个参数是静脉淤血、水肿、上皮损伤、出血以及细胞浸润，打分范围从 0 至 10，其中，0 至 10 之间的数字描述了所测量的参数的变化程度。对于水肿而言，0 对应于无水肿，而 10 对应于包括整个膀胱在内的显著的灶性水肿。对于静脉淤血而言，0 对应于无静脉淤血，而 10 对应于全部可见的静脉血管显著膨胀。对于细胞浸润而言，0 对应于无细胞浸润，而 10 对应于非常严重的细胞浸润，这表明感染（存在嗜中性粒细胞）。对于上皮损伤而言，0 对应于无上皮损伤，而 10 对应于上皮的主要区域显著损伤。对于出血而言，0 对应于无出血，而 10 对应于所有深入广泛出血。然后，将这五个单独的分数总计以提供每个动物的总的炎症分数。然后，用于任何特定制剂的动物的数量被包括在内以确定该制剂的平均炎症分数。相信较低的炎症分数与较低的膀胱刺激量有关。

[0085] 表 3 :炎症 / 刺激测试结果

[0086]

剂型. #[1]	Sal. Dil.[2]	测试动物	基于动物#每个参数的平均值					总炎症分数		
			VC	E	CI	ED	H	平均	Std. Dev.	SEM
盐水对照	无	7	1.9	4.0	2.0	2.0	0	9.9	4.7	1.9
Valstar®	1:1	7	8.0	8.6	8.7	8.0	6.7	40	12.8	5.7
Valstar®	1:2.75	6[5]	4.7	6.2	5.7	4.0	1.5	22.0	6.7	7.2
1	1:1	6	2.2	3.7	2.7	1.8	0.2	10.5	5.8	2.6
1	1:2.75	6[6]	2.7	5.0	2.0	1.3	0.5	11.5	3.7	1.6

[0087]

4	无	7	4.6	5.7	4.6	2.6	1.7	20.3	10.1	4.5
8	无	5	3.2	7.4	5.4	3.4	0.0	19.4	5.1	2.3
9	无	5	4.6	4.8	3.4	3.2	0.0	16.0	10.8	4.8
11	无	4[7]	6.0	6.5	3.3	2.8	0.8	19.0	8.3	4.1
12	无	3[8]	6.9	7.4	4.4	2.9	1.0	23.2	20.2	11.7

[0088] [1]参见表 1 和表 2 的制剂含量。

[0089] [2]Sal. Dil. 是指用盐水溶液稀释的制剂的盐水稀释度，基于体积比稀释，例如制剂体积 :盐水体积

[0090] [3]平均炎症分数是每个测试动物的总炎症分数的平均值。

[0091] Std.Dev. 是标准差的缩写。SEM 是平均标准误差的缩写。

[0092] [4]参数缩写 :VC 是指静脉淤血 ;E 是指水肿 ;CI 是指细胞浸润 ;ED 是指上皮损伤 ;以及 H 是指出血。

[0093] [5]待测试七只动物,但是一只有感染,将结果排除。

[0094] [6]待测试七只动物,但是一只在测试过程中死亡,没有测试膀胱。

[0095] [7]待测试七只动物,但是一只在测试过程中死亡,没有测试膀胱。所述动物比对照组和制剂 4、8 和 9 的那些动物小约 20g,因此,在灌注过程中使用的麻醉剂可能过多。

[0096] [8]待测试七只动物,但是两只在测试过程中死亡,没有测试膀胱。所述动物比对照组和制剂 4、8 和 9 的那些动物小约 20g,因此,在灌注过程中使用的麻醉剂可能过多。

[0097] 图 1 至图 3 图示了表 3 所说明的结果。图 1 图示了灌注所标注的制剂导致的大鼠(动物)膀胱炎症。单一盐溶液导致平均炎症分数约为10。盐水 1:1 稀释度的标准Valstar®制剂导致明显更高的大约为 40 的炎症分数。灌注 1:1 盐水稀释度的制剂 1 使得炎症分数大约等于灌注盐水的炎症分数。因此,制剂 1 对膀胱的刺激较目前标准商售戊柔比星制剂对膀胱的刺激明显较小。图 2 图示了灌注 1:2.75 盐水稀释度的Valstar®导致的大鼠(动物)膀胱炎症与灌注制剂 1(1:2.75 稀释度)和制剂 8(未稀释)导致的大鼠(动物)膀胱炎症的比较。虽然制剂 1 与标准Valstar®制剂、制剂 8 相比具有明显较弱的刺激($\rho = 0.007$)(虽然小于标准制剂),但是就炎症而言,制剂 1 在统计学上与标准Valstar®制剂无显著差异。图 3 显示了制剂 4、制剂 9、制剂 11 和制剂 12 之间的比较。虽然各样品的绝对值似乎互不相同,但是在统计学上看来区别并不显著。在图 2 和图 3 中,在灌注入膀胱的所有溶液中戊柔比星的浓度大约相同。例如,Valstar®制剂和以 1:2.75 稀释的制剂 1 以及未稀释的制剂 4、制剂 8、制剂 9、制剂 11 和制剂 12 均具有大约 11mg/ml 的理论戊柔比星浓度。

[0098] 本申请所公开的内容不被本申请中所描述的具体实施方式所限定。在不偏离本发明的实质和范围的情况下可作出许多修改和变更,这对于本领域技术人员来说是显而易见的。通过前面的描述,除了那些本文列举的方法和仪器之外,在本发明公开的内容范围内的功能上等同的方法和仪器对于本领域技术人员是显而易见的。这些修改和变更意在落入所附的权利要求书的范围内。本发明公开的内容仅由所附的权利要求书和赋予这些权利要求的全部等同范围来限定。应理解的是,本发明公开的内容不限于具体的方法、试剂、化合物组合物或生物系统,这些当然可改变。也应理解的是,本文使用的术语仅为了描述具体实施方式并无意限定。

[0099] 此外,如果以马库什群组来描述公开内容的特征或方面,本领域技术人员将意识到该公开内容也由此以马库什群组的任何单独成员或亚组成员来描述。

[0100] 对于任何以及所有目的(尤其是提供书面描述这一方面)而言,本领域技术人员将理解本文公开的所有范围也包括任何和所有可能的子范围和它们子范围的组合。任何所列的范围可容易地被认为是充分地描述并且能够使该范围被分为至少相等的两份、三份、四份、五份、十份等。作为非限定性实施例,本文讨论的每个范围可易于被分为下三分之一、中间的三分之一以及上三分之一,等等。本领域技术人员还将理解的是,诸如“高达”、“至

少”、“大于”、“小于”之类的所有语言包括所述的数字并且是指随后可被分为上述子范围的范围。最后，本领域技术人员将理解的是，范围包括每个单独的成员。因此，例如，具有 1 个至 3 个单元的组是指具有 1 个单元的组、具有 2 个单元的组或具有 3 个单元的组。类似地，具有 1 个至 5 个单元的组是指具有 1 个单元的组、具有 2 个单元的组、具有 3 个单元的组、具有 4 个单元的组或具有 5 个单元的组，等等。

[0101] 虽然本文已公开了各个方面和各种实施方式，但是其他方面和其他实施方式对本领域技术人员来说是显而易见的。本文公开的各个方面和各个实施方式是为了举例并无意限定本发明，本发明准确的范围和实质由下列权利要求来说明。

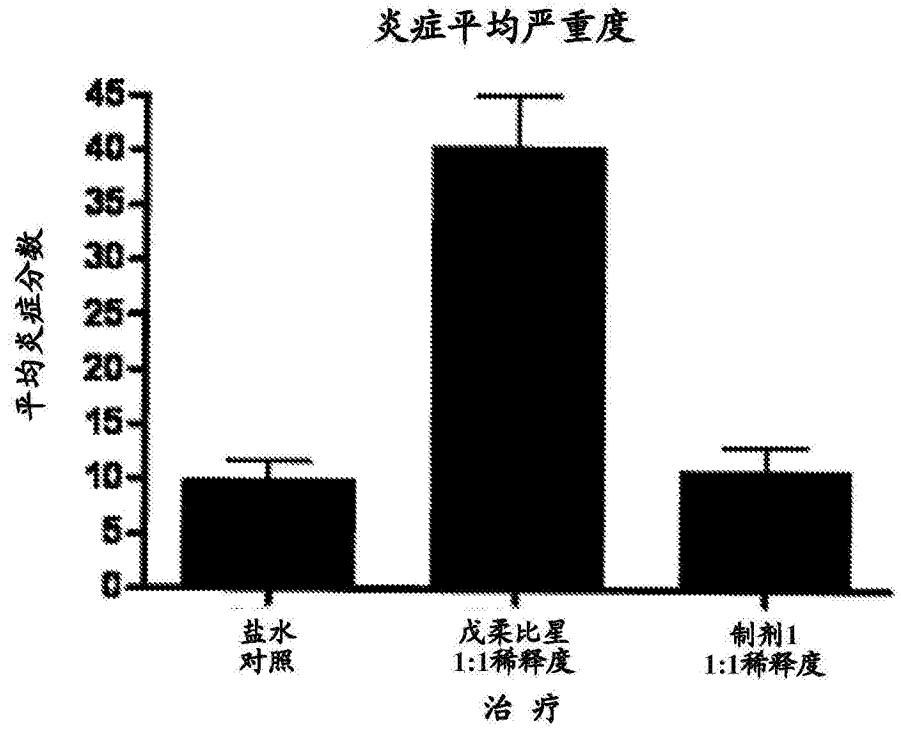

炎症平均严重度
平均炎症分数
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
盐水
对照
戊柔比星
1:1稀释度
制剂1
1:1稀释度
治 疗

图 1

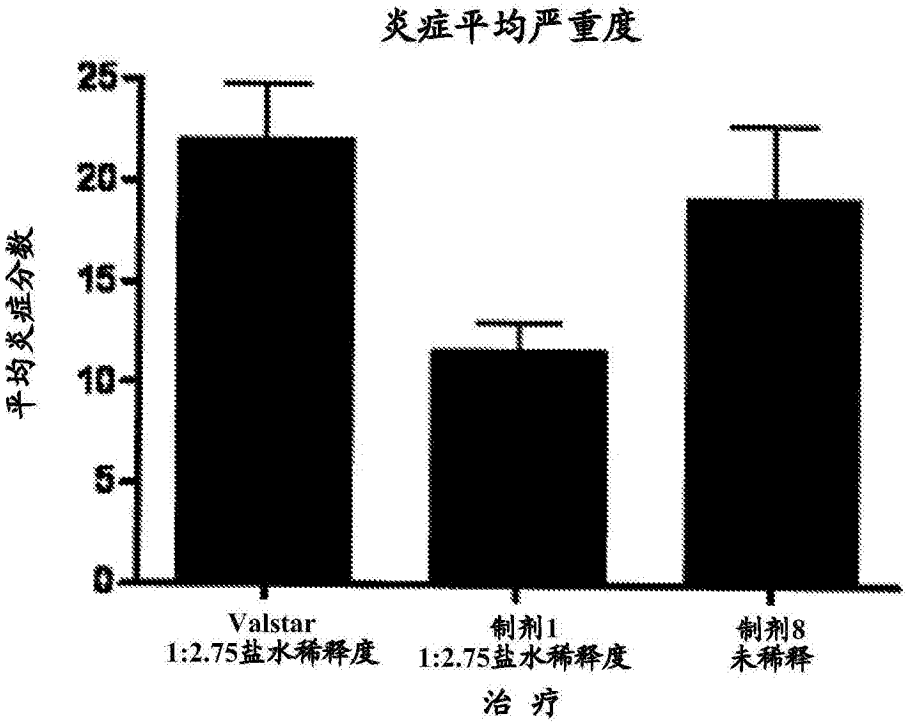

炎症平均严重度
平均炎症分数
25
20
15
10
5
0
Valstar
1:2.75盐水稀释度
制剂1
1:2.75盐水稀释度
制剂8
未稀释
治 疗

图 2

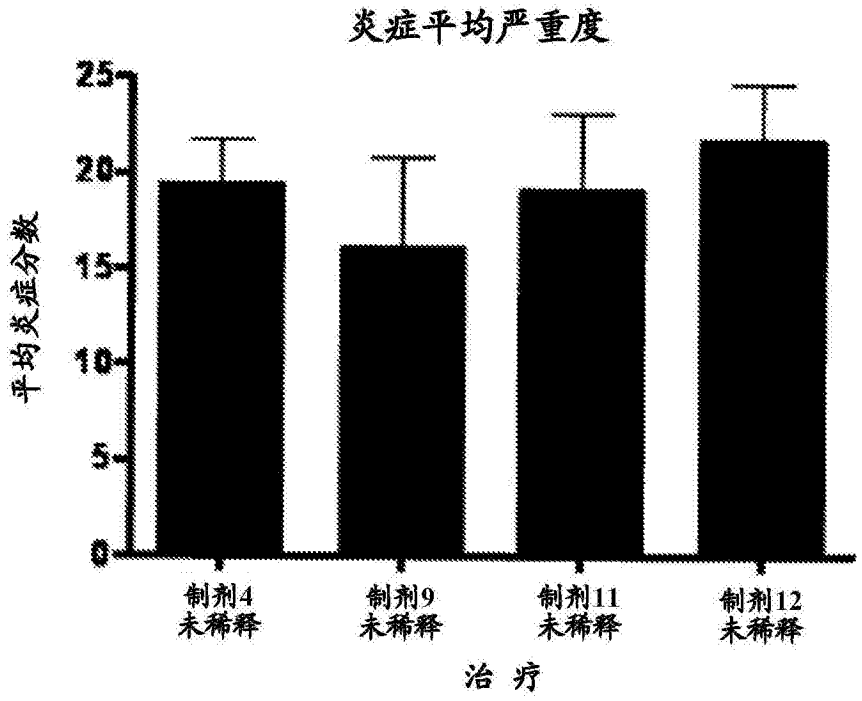

炎症平均严重度
平均炎症分数
25
20
15
10
5
0
制剂4
未稀释
制剂9
未稀释
制剂11
未稀释
制剂12
未稀释
治 疗

图 3