

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 38/13 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02820641.X

[45] 授权公告日 2006 年 9 月 13 日

[11] 授权公告号 CN 1274294C

[22] 申请日 2002.10.17 [21] 申请号 02820641.X

[30] 优先权

[32] 2001.10.19 [33] US [31] 60/346,201

[32] 2002. 4. 5 [33] US [31] 60/370,597

[86] 国际申请 PCT/CA2002/001561 2002.10.17

[87] 国际公布 WO2003/032949 英 2003.4.24

[85] 进入国家阶段日期 2004.4.19

[71] 专利权人 伊索泰克尼卡股份有限公司

地址 加拿大艾尔伯塔

[72] 发明人 S·奈克 R·T·福斯特

R·W·亚茨科夫

审查员 张恺佳

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

代理人 张宜红

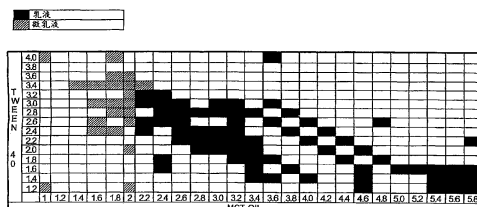
权利要求书 9 页 说明书 28 页 附图 5 页

[54] 发明名称

环孢菌素类似物微乳液预浓缩物

[57] 摘要

本发明涉及含结构与环孢菌素 A 相似的环孢菌素类似物的制剂，具体的是含在结构上与环孢菌素 A 相似的环孢菌素类似物的异构体混合物的制剂。该制剂形成稳定的微乳液预浓缩物，可提供优越的药物生物利用度和/或可降低一种或多种与使用环孢菌素相关联的不良反应。本发明还公开了应用和制备该制剂的方法。

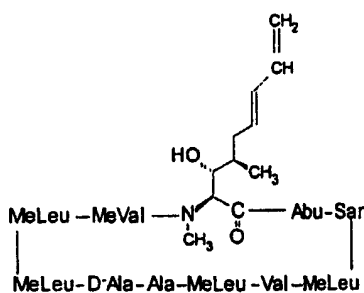


1. 一种微乳液或微乳液预浓缩物，其特征在于，包含：

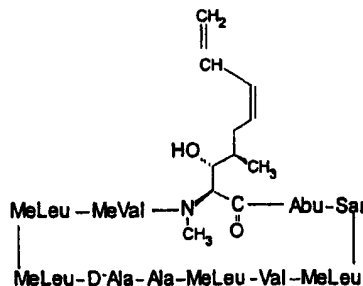
- (a) $\text{ISA}_{\text{TX}247}$;
- (b) 维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯;
- (c) 中链三甘油酯油;
- (d) 乳化剂，选自聚氧乙烯 (20) 脱水山梨糖醇单棕榈酸酯和聚氧乙烯 (20) 脱水山梨糖醇单油酸酯; 和
- (e) 乙醇;

其中所述的 $\text{ISA}_{\text{TX}247}$ 是式 (1) 的 E-异构体和 Z-异构体的混合物，该混合物中含 1-100% E 异构体和 100-1% Z 异构体;

式 (1):



E-异构体



Z-异构体

2. 如权利要求 1 所述的微乳液或微乳液预浓缩物，其特征在于，所述微乳液或微乳液预浓缩物是药物，包含 5-10 重量%的 $\text{ISA}_{\text{TX}247}$ ，大于 0-50 重量%的维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯，大于 0-50 重量%的中链三甘油酯油，大于 0-50 重量%的乳化剂，5-15 重量%的乙醇。

3. 如权利要求 2 所述的微乳液或微乳液预浓缩物，其特征在于，a:b:c:d:e 的重量比为 0.5-1:4:2:2:1。

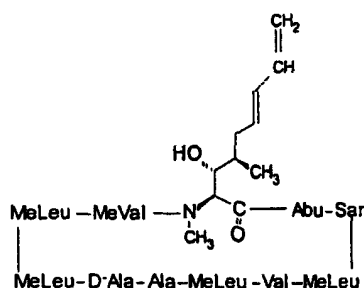
4. 制备权利要求 1 所述的微乳液或微乳液预浓缩物的方法，其特征在于，包括混合中链三甘油酯油、乳化剂、乙醇、维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯和 $\text{ISA}_{\text{TX}247}$ ，直到 $\text{ISA}_{\text{TX}247}$ 完全溶解，其中该制剂在室温是液体。

5. 一种药物制剂，其特征在于，包含：

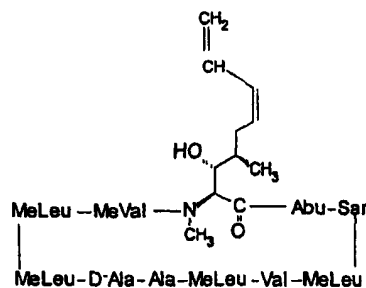
- (a) $\text{ISA}_{\text{TX}247}$;
- (b) 维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯;
- (c) 中链三甘油酯油;
- (d) 聚氧乙烯 (20) 脱水山梨糖醇单棕榈酸酯; 和
- (e) 乙醇;

其中 $\text{ISA}_{\text{TX}247}$ 是式 (1) 的 E-异构体和 Z-异构体的混合物，该混合物中含 1-100% E 异构体和 100-1% Z 异构体;

式 (1):



E-异构体



Z-异构体

;

其中所述的药物制剂是这样的微乳液或微乳液预浓缩物：它与水性介质混合时，形成澄清稳定的微乳液溶液，所述的水性介质选自水、不包括葡萄柚汁的果汁、茶、牛乳和可可。

6. 如权利要求 5 所述的药物制剂，其特征在于，所述药物制剂包含 5-10 重量%的 $\text{ISA}_{\text{TX}247}$ ，20-50 重量%的维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯，5-50 重量%的中链三甘油酯油，5-50 重量%的聚氧乙烯 (20) 脱水山梨糖醇单棕榈酸酯，5-15 重量%的乙醇。

7. 如权利要求 6 所述的药物制剂，其特征在于，a:b:c:d:e 的重量比为 0.5-1:4:2:2:1。

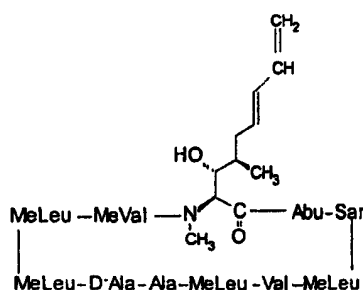
8. 制备权利要求 5 所述药物制剂的方法，其特征在于，包括混合中链三甘油酯油、聚氧乙烯 (20) 脱水山梨糖醇单棕榈酸酯、乙醇、维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯和 $\text{ISA}_{\text{TX}247}$ ，直到 $\text{ISA}_{\text{TX}247}$ 完全溶解。

9. 一种药物制剂，其特征在于，包含：

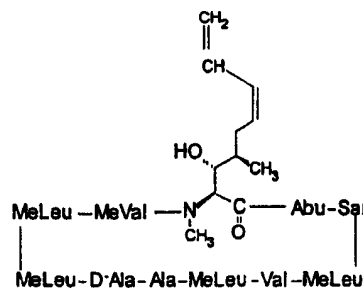
- (a) $\text{ISA}_{\text{TX}247}$;
- (b) 维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯;
- (c) 中链三甘油酯油;
- (d) 聚氧乙烯 (20) 脱水山梨糖醇单油酸酯; 和
- (e) 乙醇;

其中 $\text{ISA}_{\text{TX}247}$ 是式 (1) 的 E-异构体和 Z-异构体的混合物，该混合物中含 1-100%E 异构体和 100-1%Z 异构体;

式 (1):



E-异构体



Z-异构体

;

其中所述的药物制剂是这样的微乳液或微乳液预浓缩物：它与水性介质混合时，形成澄清稳定的微乳液溶液，所述的水性介质选自水、不包括葡萄柚汁的果汁、茶、牛乳和可可。

10. 如权利要求 9 所述的药物制剂，其特征在于，所述药物包含 5-10 重量%的 $\text{ISA}_{\text{TX}247}$ ，20-50 重量%的维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯，5-20 重量%的中链三甘油酯油，5-50 重量%的聚氧乙烯 (20) 脱水山梨糖醇单油酸酯，5-15 重量%的乙醇。

11. 如权利要求 10 所述的药物制剂，其特征在于，a:b:c:d:e 的重量比为 0.5-1:2:4:2:1。

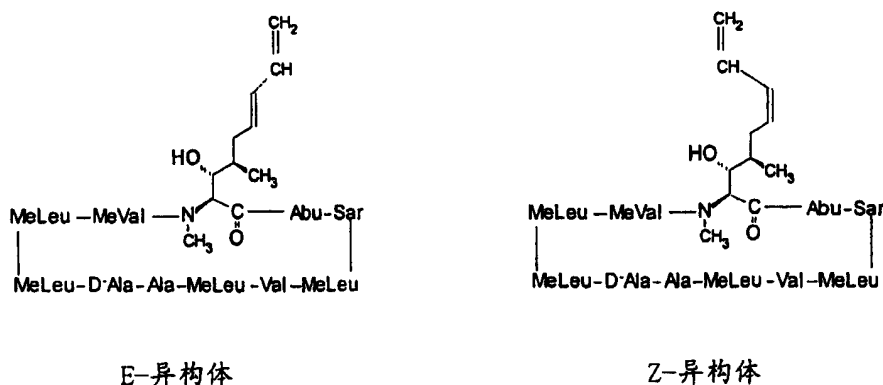
12. 制备权利要求 9 所述药物制剂的方法，其特征在于，包括混合中链三甘油酯油、聚氧乙烯 (20) 脱水山梨糖醇单油酸酯、乙醇、维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯和 $\text{ISA}_{\text{TX}247}$ ，直到 $\text{ISA}_{\text{TX}247}$ 完全溶解。

13. 一种药物制剂，其特征在于，包含：

- (a) ISA_{TX}247；
- (b) 中链三甘油酯油；
- (c) 聚氧乙烯（20）脱水山梨糖醇单油酸酯；
- (d) 三醋精；和
- (e) 乙醇；

其中 ISA_{TX}247 是式（1）的 E-异构体和 Z-异构体的混合物，该混合物中含 1-100% E 异构体和 100-1% Z 异构体；

式（1）：



其中所述的药物制剂是这样的微乳液或微乳液预浓缩物：它与水性介质混合时，形成澄清稳定的微乳液溶液，所述的水性介质选自水、不包括葡萄柚汁的果汁、茶、牛乳和可可。

14. 如权利要求 13 所述的药物制剂，其特征在于，所述药物制剂包含 5-10 重量%的 ISA_{TX}247，20-50 重量%的三醋精，5-50 重量%的中链三甘油酯油，5-50 重量%的聚氧乙烯（20）脱水山梨糖醇单油酸酯，5-15 重量%的乙醇。

15. 如权利要求 14 所述的药物制剂，其特征在于，a:b:c:d:e 的重量比为 0.5-1:5:3:1:1。

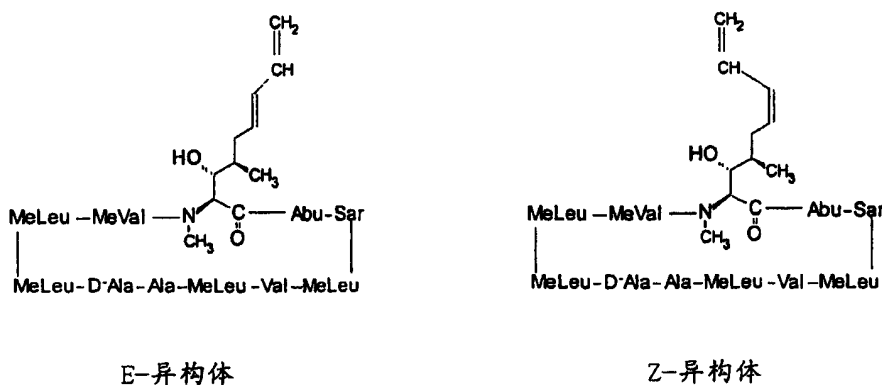
16. 制备权利要求 13 所述药物制剂的方法，其特征在于，包括混合中链三甘油酯油、聚氧乙烯（20）脱水山梨糖醇单油酸酯、乙醇、三醋精和 ISA_{TX}247，直到 ISA_{TX}247 完全溶解。

17. 一种药物制剂, 其特征在于, 包含:

- (a)ISA_{TX}247;
- (b)聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单油酸酯;
- (c)维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯;
- (d)乙醇; 和
- (e)肉豆蔻酸异丙酯;

其中 ISA_{TX}247 是式(1)的 E-异构体和 Z-异构体的混合物, 该混合物中含 1-100%E 异构体和 100-1%Z 异构体;

式(1):



;

其中所述的药物制剂是这样的微乳液或微乳液预浓缩物: 它与水性介质混合时, 形成澄清稳定的微乳液溶液, 所述的水性介质选自水、不包括葡萄柚汁的果汁、茶、牛乳和可可。

18. 如权利要求 17 所述的药物制剂, 其特征在于, 所述药物制剂包含 5-10 重量%的 ISA_{TX}247, 20-50 重量%的维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯, 5-55 重量%的肉豆蔻酸异丙酯, 5-50 重量%的聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单油酸酯, 5-15 重量%的乙醇。

19. 如权利要求 18 所述的药物制剂, 其特征在于, a:b:c:d:e 的重量比为 0.5-1:2:1:1:6。

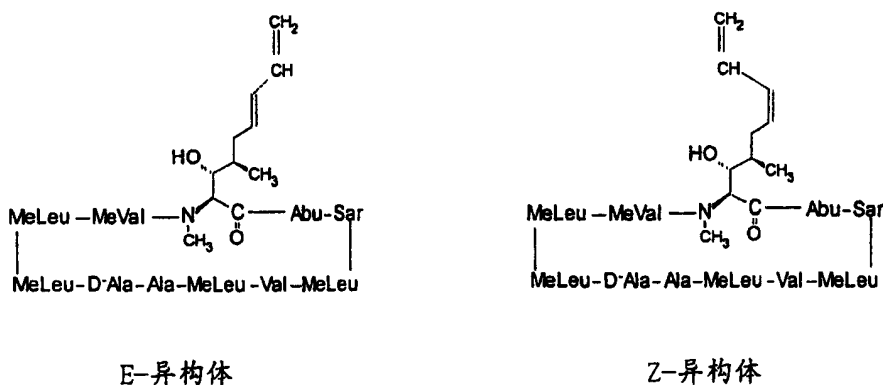
20. 制备权利要求 17 所述药物制剂的方法, 其特征在于, 包括混合肉豆蔻酸异丙酯、聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单油酸酯、乙醇、维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯和 ISA_{TX}247, 直到 ISA_{TX}247 完全溶解。

21. 一种药物制剂预浓缩物, 其特征在于, 包含:

- (a)ISA_{TX}247;
- (b)维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯;
- (c)中链三甘油酯油;
- (d)聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单棕榈酸酯; 和
- (e)乙醇;

其中 ISA_{TX}247 是式(1)的 E-异构体和 Z-异构体的混合物, 该混合物中含 1-100%E 异构体和 100-1%Z 异构体;

式(1):



其中所述的预浓缩物是这样的预浓缩物, 当其与水性介质混合时, 它形成澄清稳定的微乳液溶液, 所述的水性介质选自水、不包括葡萄柚汁的果汁、茶、牛乳和可可。

22. 如权利要求 21 所述的药物制剂预浓缩物, 其特征在于, 所述药物制剂包含 5-10 重量%的 ISA_{TX}247, 20-50 重量%的维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯, 5-20 重量%的中链三甘油酯油, 5-50 重量%的聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单棕榈酸酯, 5-15 重量%的乙醇。

23. 如权利要求 22 所述的药物制剂, 其特征在于, a:b:c:d:e 的重量比为 0.5-1:4:2:2:1。

24. 一种微乳液预浓缩物, 其特征在于, 包含:

- (a)ISA_{TX}247;
- (b)维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯;

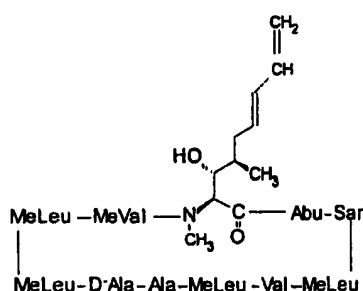
(c)中链三甘油酯油；

(d)聚氧乙烯（20）脱水山梨糖醇单棕榈酸酯；和

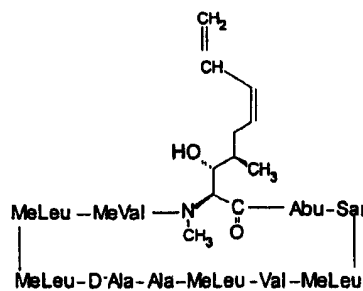
(e)乙醇；

其中 ISA_{TX247} 是式（1）的 E-异构体和 Z-异构体的混合物，该混合物中含 1-100%E 异构体和 100-1%Z 异构体；

式（1）：



E-异构体



Z-异构体

；

其中所述的微乳液预浓缩物是这样的预浓缩物，当其与水性介质以 1 份预浓缩物对 10-100 份水性介质混合时，它形成澄清稳定的微乳液溶液，所述的水性介质选自水、不包括葡萄柚汁的果汁、茶、牛乳和可可。

25. 如权利要求 21 所述的药物制剂，其特征在于，所述的果汁是苹果汁。

26. 制备如权利要求 21 所述的药物制剂的方法，其特征在于，包括混合中链三甘油酯油、聚氧乙烯（20）脱水山梨糖醇单棕榈酸酯、乙醇、维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯和 ISA_{TX247} ，直到 ISA_{TX247} 完全溶解，然后将该混合物混合入水性介质，直到形成微乳液溶液，所述的水性介质选自水、不包括葡萄柚汁的果汁、茶、牛乳和可可。

27. 一种药物制剂，其特征在于，包含：

(a) ISA_{TX247} ；

(b)维生素 E 生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯；

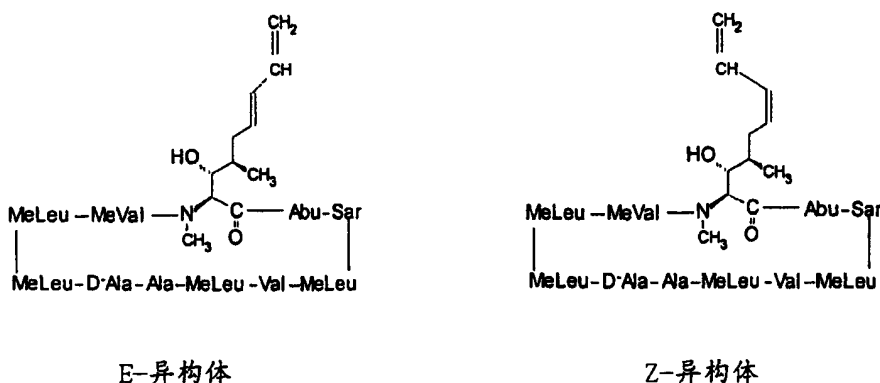
(c)中链三甘油酯油；

(d)聚氧乙烯（20）脱水山梨糖醇单棕榈酸酯；和

(e)乙醇;

其中 ISA_{TX}247 是式 (1) 的 E-异构体和 Z-异构体的混合物, 该混合物中含 1-100%E 异构体和 100-1%Z 异构体;

式 (1):



其中所述的药物制剂适合于皮下或肌肉内给药, 所述的药物制剂是微乳液。

28. 一种如权利要求 1、5、9、13、17、21 或 27 中任一项所述的微乳液或微乳液预浓缩物或药物制剂在制造给予对象时产生免疫抑制作用的药品中的用途。

29. 如权利要求 28 所述的应用, 其特征在于, 所述的药品是用来治疗所述对象的炎症或自身免疫疾病或病症。

30. 如权利要求 1 所述的微乳液或微乳液预浓缩物, 其特征在于, 所述微乳液或微乳液预浓缩物是口服的药物制剂。

31. 如权利要求 5 所述的药物制剂, 其特征在于, 所述药物制剂是口服的。

32. 如权利要求 9 所述的药物制剂, 其特征在于, 所述药物制剂是口服的。

33. 如权利要求 13 所述的药物制剂, 其特征在于, 所述药物制剂是口服的。

34. 如权利要求 17 所述的药物制剂, 其特征在于, 所述药物制剂是口服的。

35. 如权利要求 21 所述的药物制剂，其特征在于，所述药物制剂是口服的。

36. 如权利要求 30-35 中任一项所述的微乳液或微乳液预浓缩物或药物制剂，其中所述的微乳液或微乳液预浓缩物或药物制剂是口服制剂，封装在软明胶胶囊中。

37. 如权利要求 1 所述的微乳液或微乳液预浓缩物，其特征在于，当微乳液或微乳液预浓缩物与水性介质以 1 份预浓缩物：10-100 份水性介质的混合比例混合时，形成澄清稳定的微乳液溶液，所述的水性介质选自水、不包括葡萄柚汁的果汁、茶、牛乳和可可。

38. 如权利要求 5 所述的药物制剂，其特征在于，当药物制剂与水性介质以 1 份药物制剂：10-100 份水性介质的混合比例混合时，形成澄清稳定的微乳液溶液，所述的水性介质选自水、不包括葡萄柚汁的果汁、茶、牛乳和可可。

环孢菌素类似物微乳液预浓缩物

与本申请有关的交叉参考文献

本申请在 35 U.S.C. 119(e)之下主张以下专利申请的优先权：U.S. 临时申请系列号 60/370597（代理人登记号 031993-041），该申请于 2002 年 4 月 5 日提交，以及 U.S. 临时申请系列号 60/346201（代理人登记号 031993-125），该申请于 2001 年 10 月 19 日提交。它们的公开内容整体结合在本发明中。

技术领域

本发明涉及含环孢菌素类似物的制剂，该类似物在结构上与环孢菌素 A 相似。具体的是，该制剂含有环孢菌素类似物 ISA_{TX}247 的异构体混合物。这些制剂形成稳定的微乳液，提供高的药物稳定性、优越的药物生物利用度，并可降低与使用环孢菌素有关的一种或多种不良作用。本发明还公开应用和制备该制剂的方法。

背景技术

以下参考文献在本说明书的相关位置用括号中的数字编号标明。

1. Gupta and Robinson, Treatise on Oral Controlled-drug Delivery, Text Ed. 1992, edited by Aegis Cadence, Mandel Decker, Inc.
2. Traber *et al.*, *Helv. Chim. Acta*, 60: 1247-1255 (1977)
3. Kobel *et al.*, *Europ. J. Applied Microbiology and Biotechnology*, 14: 237-240 (1982)
4. von Wartburg *et al.*, *Progress in Allergy*, 38: 28-45 (1986)
5. Rich *et al.* (*J. Med. Chem.*, 29: 978 (1986)
6. U.S. Patent No. 4,384,996, issued on May 24, (1983)
7. U.S. Patent No. 4,771,122, issued on September 13, (1988)
8. U.S. Patent No. 5,284,826, issued on February 8, (1994)
9. U.S. Patent No. 5,525,590, issued on June 11, (1996)
10. Sketris *et al.*, *Clin. Biochem.*, 28: 195-211 (1995)
11. Bennett, *Renal Failure*, 20: 687-90 (1998)
12. Wang *et al.*, *Transplantation*, 58:940-946 (1994)

13. "Eastman Vitamin E TPGS", Eastman Brochure, Eastman Chemical Co., Kingsport, Tenn. (October 1996)
14. *Hawley's Condensed Chemical Dictionary*, (1987)
15. Ellis, *Progress in Medicinal Chemistry* 25, (1988) Elsevier, Amsterdam
16. Sokol, R.J., *Lancet*, 338(8761): 212, (1991)
17. Sokol, R.J., *Lancet*, 338(8768): 697, (1991)

以上每一出版物或专利的公开内容均整体结合在此引为参考，其程度就如各出版物和专利的语言被特定地和个别地结合引为参考一样。

环孢菌素作为治疗剂的应用：

尽管通过宿主-供体组织类型匹配努力避免移植排斥，但在大多数移植程序中，免疫抑制治疗仍是供体器官在宿主中的生存性的关键。许多免疫抑制剂已经在移植过程中使用，包括硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、环磷酰胺、FK-506、雷帕霉素、和皮质类固醇。由于其对 T-细胞介导的反应的优先作用 (1)，环孢菌素已越来越多地在免疫治疗中应用。

环孢菌素是一种强效的免疫抑制剂，已证明它能抑制体液的免疫性和细胞介导的免疫反应，如同种移植排斥、延迟的超敏性、实验性变态反应性脑脊髓炎、Freund 氏佐剂性关节炎、和移植物对抗宿主疾病(GVHD)。它被用来预防器官移植后的器官排斥，治疗类风湿性关节炎、牛皮癣和其它自身免疫性疾病（如 I 型糖尿病、Crohn 氏病和狼疮）。许多天然存在的环孢菌素在本领域是公知的。非天然环孢菌素已通过全合成或半合成方法或通过应用改良的培养技术加以制备。因此，可得到的环孢菌素的类型是丰富的，包括例如天然存在的环孢菌素 A (CsA)到 Z (CsZ)，以及其它非天然环孢菌素衍生物，如二氢-和异-环孢菌素 (2, 3, 4)。含有在 1-位修饰的氨基酸的 CsA 类似物已经由 Rich 等(5)报道。免疫抑制的，抗炎的，和抗寄生虫的 CsA 类似物已经在转让给 Sandoz 的美国专利 4384996 (6)，4771122 (7)，5284826 (8) 和 5525590 (9) 中叙述。

环孢菌素是亲脂分子，分子量为 1202 道尔顿。由于环孢菌素 A 在水中的溶解度差和高亲脂性，含有普通固体或液体药物载体的环孢菌素 A 的药物组合物常有许多缺点。例如，不能从这样的组合物中满意地吸收环孢菌素，

或组合物不能被良好耐受，或在储存时不是充分稳定。与日剂量有关的溶解浓度常常是低的。

环孢菌素治疗的不良作用：

与环孢菌素治疗相关的不良作用很多，包括肾毒性、肝毒性、致白内障性、多毛症、parathesis 和牙龈增生（10）。最严重的不良作用是肾毒性。

急性环孢菌素肾毒性在形态上伴有肾小管损伤，其特征是包含体、非等渗的空泡化和微钙化。这导致肾小球过滤速度降低，这可通过环孢菌素治疗的病人的血清肌酐的迅速增高得到鉴定（11）。

环孢菌素造成肾损伤的确切机理尚不知道。在大鼠研究中，慢性的 CsA 诱导的肾功能和结构退化伴随着肾脂质的过氧化。Wang 等已经报道，抗氧化剂与 CsA 共同使用可降低大鼠的肾损伤（12）。

早先，本领域降低与环孢菌素治疗相关的肾毒性风险的尝试包括该药物与能延迟环孢菌素代谢的药剂共用，有效地降低为维持血液治疗浓度而需要的剂量。但是，这个方法常不能解决环孢菌素生物利用度高度变化的问题（12）。因此，制备一种具有优异的生物利用度但不会产生不良作用的环孢菌素制剂的问题在本领域是众所周知的。

剂型：

为了使药物发挥其治疗活性，必须使该药物的治疗量是生物可利用的，即，它必须能达到病人的作用部位。由于服用方便，经口给药是本领域已知的并最广为使用。但是，口服剂型被以下的事实所复杂化：药物必须首先在胃肠中经给定的时间从剂型中释放出来，并必须在胃肠道中被溶解和吸收。因此，药物从剂型中合适的释放和药物在胃肠道(GI)的溶解是关键性的。

在 GI 道范围内良好释放和溶解的公知的口服剂型包括片剂、胶囊、凝胶胶囊、糖浆、悬浮液、乳液、微乳液和预乳液浓缩物。在口服剂型的开发中溶解度起着重大的作用，因为用来输送活性药物的制剂将影响该药物在给定的时间内达到活性部位的量和/或浓度。制剂的组成也直接影响药物化合物在胃肠道中的溶解作用，因此影响活性药物化合物进入血液的程度和吸收速度。此外，药物的治疗价值受药物从输送系统本身释放的速度的影响，它

又反过来影响活性化合物在吸收前在胃肠道中溶解的速度和程度(1)。

在本领域已知的常规系统中, 药物内容物在短时间内释放到胃肠道中, 血浆药物水平在给定时间, 通常在给药后几小时内达到峰值。已知的口服药物输送系统(包括环孢菌素制剂)的设计, 是基于得到药物溶解的最快的可能速度, 其风险是产生不希望有的与剂量相关的副作用。

因此, 存在着对环孢菌素制剂的迫切要求, 该制剂能降低毒性但保留高水平的生物利用度, 并且无需与其它药剂共同给药。

发明的公开

本发明是基于这样的发现: 某些制剂, 优选微乳液预浓缩物和微乳液制剂, 能提供环孢菌素类似物 ISA_{TX}247 的输送, 该制剂降低一种或多种与环孢菌素相关的不良作用, 同时保持药物的高生物利用度。而且, 本发明制剂通过提供充分的生物利用度还能提高 ISA_{TX}247 的免疫抑制作用。

本发明制剂都含有 ISA_{TX}247 作为活性成分以及(用合成的助乳化剂如具有聚羟氧基化的部分的非离子型表面活性剂乳化)合成油或植物油。因此, 本发明制剂含有 ISA_{TX}247、表面活性剂、乙醇、亲脂的和/或两性的溶剂。本发明制剂可按需要调节 pH 和等渗性, 按需要还可包括生物可相容的聚合物如保护性胶体、悬液稳定剂和构造剂、赋形剂、黏合剂和载体。

在一个优选的方面, 本发明涉及微乳液预浓缩物, 包含(a)药物有效量的 ISA_{TX}247, (b)维生素 E TPGS, (c)MCT 油, (d)选自 Tween 40 和 Tween 80 的乳化剂, 和(e)乙醇。优选地, 微乳液预浓缩物包含约 5-10 重量%的 ISA_{TX}247, 大于 0%到约 50 重量%的维生素 E TPGS, 大于 0%到约 50 重量%的 MCT 油, 大于 0%到约 50 重量%的乳化剂和约 5 重量%到 15 重量%的乙醇, 其中, 本制剂在室温是液体微乳液预浓缩物。更优选地, a:b:c:d:e 的重量比是约 0.5-1:4:2:2:1。

本发明还涉及制备微乳液预浓缩物的方法, 该方法包括混合 MCT 油、乳化剂、乙醇、维生素 E TPGS、以及适当量的 ISA_{TX}247, 直到 ISA_{TX}247 完全溶解, 其中, 该制剂在室温为液体。

在另一个方面, 本发明涉及一种药物制剂, 含有(a)药物有效量的 ISA_{TX}247, (b)维生素 E-生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯(维生素 E TPGS),

(c)中链三甘油酯(MCT)油, (d)Tween 40, (e)乙醇。优选的是, 该药物制剂是微乳液; 更优选的是, 该制剂是微乳液预浓缩物。制剂优选包含约 5-10 重量%的 ISA_{TX}247, 约 20-50 重量%的维生素 E TPGS, 约 5-20 重量%的 MCT 油, 约 5-50 重量%的 Tween 40, 和约 5-15 重量%的乙醇。更优选的是, a:b:c:d:e 的重量比为 0.5-1:4:2:2:1。

在另一个方面, 本发明涉及产生免疫抑制的方法, 包括向有此需要的对象给予有效量的药物制剂, 该制剂含有(a)药物有效量的 ISA_{TX}247, (b) 维生素 E TPGS, (c) MCT 油, (d)Tween 40, (e) 乙醇。

本发明还涉及制备本发明的药物制剂的方法, 包括混合 MCT 油、Tween 40、乙醇、维生素 E TPGS、以及适当量的 ISA_{TX}247, 直到 ISA_{TX}247 完全溶解。

在另一个方面, 本发明涉及药物制剂, 包含(a)药物有效量的 ISA_{TX}247, (b) 维生素 E TPGS, (c) MCT 油, (d)Tween 40, (e) 乙醇。优选的是, 该药物制剂是微乳液; 更优选的是, 该制剂是微乳液预浓缩物。制剂优选包含约 5-10 重量%的 ISA_{TX}247, 约 20-50 重量%的维生素 E TPGS; 约 5-20 重量%的 MCT 油; 约 5-50 重量%的 Tween 80; 和约 5-15 重量%的乙醇。更优选的是, a:b:c:d:e 的重量比为 0.5-1:4:2:2:1。

在另一个方面, 本发明涉及产生免疫抑制的方法, 包括向有此需要的对象给予有效量的药物制剂, 该制剂含有(a)药物有效量的 ISA_{TX}247, (b) 维生素 E TPGS, (c) MCT 油, (d)Tween 80, (e) 乙醇。

本发明还涉及制备本发明的药物制剂的方法, 包括混合 MCT 油、Tween 80、乙醇、维生素 E TPGS、以及适当量的 ISA_{TX}247, 直到 ISA_{TX}247 完全溶解。

在另一方面, 本发明涉及药物制剂, 包含(a)药物有效量的 ISA_{TX}247, (b) 维生素 E TPGS, (c)MCT 油, (d)Tween 80, (e)乙醇。优选的是, 该药物制剂是微乳液; 更优选的是, 该药物制剂是微乳液预浓缩物。该药物制剂优选包含 5-10 重量%的 ISA_{TX}247, 约 20-50 重量%的维生素 E TPGS, 约 5-20 重量%的 MCT 油, 约 5-50 重量%的 Tween 80 和约 5-15 重量%的乙醇。更优选的是, a:b:c:d:e 的重量比为 0.5-1:2:4:2:1。

在另一方面, 本发明涉及产生免疫抑制的方法, 包括向有此需要的对象

给予有效量的药物制剂，该制剂含有(a)药物有效量的 ISA_{TX}247，(b)维生素 E TPGS，(c)MCT 油，(d)Tween 80，(e)乙醇。

本发明还涉及制备本发明的药物制剂的方法，包括混合 MCT 油、Tween 80、乙醇、维生素 E TPGS，以及适当量的 ISA_{TX}247，直到 ISA_{TX}247 完全溶解。

在另一个方面，本发明涉及药物制剂，包含(a)药物有效量的 ISA_{TX}247，(b) MCT 油，(c)Tween 80，(d)三醋精，(e) 乙醇。优选的是，该药物制剂是微乳液；更优选的是，该制剂是微乳液预浓缩物。制剂优选包含约 5-10 重量%的 ISA_{TX}247，约 20-50 重量%的三醋精，约 5-50 重量%的 MCT 油，约 5-50 重量%的 Tween 80，和约 5-15 重量%的乙醇。更优选的是，a:b:c:d:e 的重量比为 0.5-1:5:3:1:1。

在另一个方面，本发明涉及产生免疫抑制的方法，包括向有此需要的对象给予有效量的药物制剂，该制剂含有(a)药物有效量的 ISA_{TX}247，(b) MCT 油，(c)Tween 80，(d)三醋精，(e) 乙醇。

本发明还涉及制备本发明的药物制剂的方法，包括混合 MCT 油、Tween 80、乙醇、三醋精、以及适当量的 ISA_{TX}247，直到 ISA_{TX}247 完全溶解。

在另一个方面，本发明涉及药物制剂，包含(a)药物有效量的 ISA_{TX}247，(b) Tween 80，(c)维生素 E TPGS，(d) 乙醇，(e)肉豆蔻酸异丙酯。优选的是，该药物制剂是微乳液；更优选的是，该制剂是微乳液预浓缩物。制剂优选包含约 5-10 重量%的 ISA_{TX}247，约 20-50 重量%的维生素 E TPGS；约 5-55 重量%的肉豆蔻酸异丙酯，约 5-50 重量%的 Tween 80，和约 5-15 重量%的乙醇。更优选的是，a:b:c:d:e 的重量比为 0.5-1:2:1:1:6。

在另一个方面，本发明涉及产生免疫抑制的方法，包括向有此需要的对象给予有效量的药物制剂，该制剂含有(a)ISA_{TX}247，(b)Tween 80，(c)维生素 E TPGS，(d) 乙醇，(e) 肉豆蔻酸异丙酯。

本发明还涉及制备本发明的药物制剂的方法，包括混合肉豆蔻酸异丙酯、Tween 80、乙醇、维生素 E TPGS n、以及适当量的 ISA_{TX}247，直到 ISA_{TX}247 完全溶解。

在另一个方面，本发明涉及药物制剂预浓缩物，包含(a)药物有效量的 ISA_{TX}247，(b) 维生素 E TPGS，(c) MCT 油，(d) Tween 40，(e)乙醇。制剂

优选包含约 5-10 重量%的 ISA_{TX}247, 约 20-50 重量%的维生素 E TPGS, 约 5-20 重量%的 MCT 油, 约 5-50 重量%的 Tween 40, 和约 5-15 重量%的乙醇。更优选的是, a:b:c:d:e 的重量比为 0.5:4:2:2:1。还要优选的是, 本制剂是微乳液预浓缩物, 其中, 当预浓缩物与水性介质混合时, 形成透明稳定的微乳液溶液。优选的是, 该水性介质是水或果汁, 但不包括葡萄柚汁。此外, 该预浓缩物优选与该水性介质以约 1 份预浓缩物对约 10-100 份水性介质的比例混合。

在另一个方面, 本发明涉及产生免疫抑制的方法, 包括向有此需要的对象给予有效量的药物制剂, 该制剂含有混合在水性介质中的(a)药物有效量的 ISA_{TX}247, (b) 维生素 E TPGS, (c) MCT 油, (d)Tween 40, 和(e) 乙醇。

本发明还涉及制备本发明的药物制剂的方法, 包括混合 MCT 油、Tween 40、乙醇、维生素 E TPGS n、以及适当量的 ISA_{TX}247, 直到 ISA_{TX}247 完全溶解。得到的预浓缩物再与水性介质混合, 优选的比例是约 1 份预浓缩物对约 10-100 份介质。

在另一个方面, 本发明涉及药物制剂, 该制剂含有(a)药物有效量的 ISA_{TX}247, (b) 维生素 E TPGS, (c) MCT 油, (d)Tween 40, (e) 乙醇。该药物制剂可肠胃外给药, 如皮下(SC)或肌肉内(IM), 并任选地是灭菌的。

在另一个方面, 本发明任何一种微乳液预浓缩物制剂可以与水性介质混合, 形成透明的热力学稳定的微乳液溶液。水性介质可以水或果汁, 但不包括葡萄柚汁, 它会与 ISA_{TX}247 发生不良的反应。此外, 该预浓缩物优选与该水性介质以约 1 份预浓缩物对约 10-100 份之间的水性介质的比例混合。

在本发明的还有一个方面, 任何一种微乳液预浓缩物制剂可以是口服制剂, 优选包封在软明胶胶囊中。

附图简述

图 1 是显示微乳液预浓缩物作为赋形剂 Tween 40 和 MCT 油比例的函数的图表;

图 2 是显示本发明的 ISA_{TX}247 微乳液与 Neoral®在 Beagle 狗体内的药物动力学(PK)特征的比较曲线图;

图 3 是可用来制备本发明环孢菌素类似物的示例性合成路线的概观, 其中立体选择性路线按照反应条件分组;

图 4 阐述它从溴前体产生 $\text{ISA}_{\text{TX}}247(\text{E})$ 和 (Z) 异构体的混合物的一个合成路线;

图 5 阐述从醛前体产生 $\text{ISA}_{\text{TX}}247(\text{E})$ 和 (Z) 异构体的混合物的另一个合成路线。

实施本发明的方式

一般, 本发明所用的术语以这些术语在本领域所理解的完全相同的方式使用。

术语“cyclosporin”和“cyclosporine”只是拼写的变化, 在此可交替使用, 表示相同的化合物, 例如 cyclosporin A 和 cyclosporine A 是相同的化合物或化合物的相同的类。

术语“微乳液预浓缩物”此意指一个在与水性介质接触时能够产生微乳液的体系。术语“微乳液”在此以其通常接受的意义使用, 为非不透明的(澄清的)或基本上非不透明的热力学稳定的胶体分散液, 包含水和有机组分(包括憎水(亲脂)的有机组分)。

术语“乳液”是非均相体系, 由至少一种不可混溶的液体以小滴的形式紧密分散在另一种液体中而组成, 小滴的直径一般超过 0.1mm。这样的体系具有最小的稳定性, 用添加剂如表面活性剂、细分的固体等等可增加其稳定性。常规的“乳液”与本发明的微乳液不同, 被认为是热力学不稳定的分散体。

A. 制剂的制备

本发明制剂均含有作为活性成分的 $\text{ISA}_{\text{TX}}247$ 和合成油或植物油, 用助乳化剂, 优选合成的助乳化剂(如具有聚烃氧基部分的非离子型表面活性剂)乳化。本发明制剂可按需要调节 pH 和等渗性。按需要, 本发明制剂还可包含生物相容的聚合物如保护性胶体、悬液稳定剂和构造剂、赋形剂、黏合剂和载体。某些优选的实施方案形成透明稳定的制剂, 提供相对高的药物溶解性和相对快的在水性介质中的溶解(搅拌下少于 5 分钟), 形成澄清的微乳液。

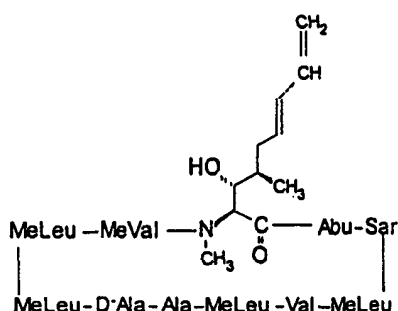
因此, 本发明制剂是微乳液, 或微乳液预浓缩物, 含有 $\text{ISA}_{\text{TX}}247$ 、表面活性剂、油、乙醇和乳化剂, 它是亲脂性的和/或两性的溶剂。在某些实施方案中, 制剂包含约 5-10 重量%的 $\text{ISA}_{\text{TX}}247$, 约 20-50 重量%的表面活性

剂（如生育酚基聚乙二醇羧酸酯（或任选地，乳液稳定剂如三醋精）），约 5-20 重量%的油组分（如 MCT 油或肉豆蔻酸异丙酯），约 5-15 重量%的乙醇，和约 20-40 重量%的亲脂性溶剂和/或约 10-55 重量%的两性溶剂。此外，制剂还可任选地含有约 10-20 重量%的另一种表面活性剂。

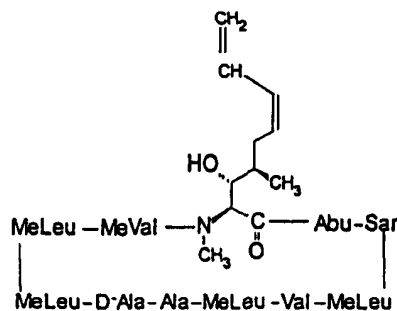
本发明的实施方案可有充分的药物生物利用度（见表 3、5 和图 2）和/或降低毒性（见表 5 和 7）。提高生物利用度和降低毒性的机理尚不知道。但是，不受理论的限制，维生素 E TPGS 可能对制剂的这些特征作出了贡献。例如，在儿童肝移植后，维生素 E TPGS 的共同给药已经显示能增加环孢菌素的生物利用度（见 Sokol et al.）。维生素 E TPGS 可通过抑制细胞色素 P450 在肠中的药物代谢而提高生物利用度。维生素 E TPGS 可抑制环孢菌素诱导的肾细胞色素 P450 的产生并随之降低氧化代谢物的形成。或者，维生素 E TPGS 可抑制 P-gp-控制的回运输，以增加药物通过肠的肠细胞层的净运输，造成共同给药的药物的生物利用度的提高。此外，维生素 E TPGS 是已知的抗氧化剂。并且，维生素 E TPGS 通过抑制花生四烯酸的释放和脂氧酶的活性影响前列腺素的形成而在花生四烯酸代谢中起作用。通过这个过程，维生素 E TPGS 可抑制血小板聚集，因此可降低 ISA_{TX247} 的肾毒性作用（15）。或者， ISA_{TX247} 本身比环孢菌素 A 和其它相关的化合物具有更高的生物利用度和更低的毒性。这些机理的任何一个，或这些机理的任何组合，或某一个未知的机理，可能对在此公开的制剂的生物利用度提高和毒性降低起作用。

活性成分

本发明制剂的优选的活性成分是环孢菌素的类似物 ISA_{TX247} 。在制剂中 ISA_{TX247} 可以 E-和 Z-异构体的混合物或单一的 E-或 Z-异构体形式存在。以下是 ISA_{TX247} 的异构体的结构式：



E-异构体



Z-异构体

本发明制剂由药物 ISA_{TX}247、合成油或植物油 [优选 MCT (中链三甘油酯) 油] 组成, 用合成的助乳化剂 (如具有聚氧乙基化部分的非离子型表面活性剂, 优选聚氧乙基化的维生素 E) 乳化。制剂的内容物可按需要调节 pH 和等渗性。这些制剂还可按需要包括生物相容性的聚合物, 如聚乙烯基吡咯烷酮(PVP)、聚乙烯醇 (PVA) 或聚乙二醇(PEG)和其它聚合物作为保护性胶体和悬液或增量剂、赋形剂、黏合剂和/或载体。

通过 Wittig 反应合成 ISA_{TX}247 的(E)和(Z)-异构体的混合物

在此举例的 Wittig 反应路线在图 3 中指定为标号 31。方法 1 通过溴中间体乙酰基-η-溴代环孢菌素 41 进行, 而方法 2 使用乙酰基环孢菌素 A 醛 51 作为起始。下面叙述的示例性方法使用 Wittig 反应以立体化学构型的混合物引入烯官能团。

在此披露的示例性实施方案中使用 Wittig 反应来合成 ISA_{TX}247 的(E)和(Z)-异构体的混合物, 可任选地在卤化锂存在下进行。在 Wittig 反应中卤化锂的存在已知对产生的几何异构体的比例有影响, 因此该化合物的加入对产生所需的 ISA_{TX}247 的(E)和(Z)-异构体的混合物会有帮助。

方法 1

在本发明的一个实施方案中, ISA_{TX}24 的 (E) 和(Z)-异构体的混合物如图 4 所示制备。图 4 中用波线 (见化合物 43 和 44) 表示该示例性的反应产生(E)和(Z)-异构体的混合物。在一个实施方案中, 产生的(E)和(Z)-异构体的

百分比的范围为 10-90%(E)-异构体和 90-10%(Z)-异构体,但这些范围只是示例性的,许多其他范围也是可能的。例如,混合物可含有约 15-85 重量%的(E)-异构体和约 85-15 重量%的(Z)-异构体。在其他实施方案中,混合物可含有约 25-75 重量%的(E)-异构体和 75-25 重量%的(Z)-异构体;约 35-65 重量%的(E)-异构体和约 65-35 重量%的(Z)-异构体;约 45-55 重量%的(E)-异构体和约 55-45 重量%的(Z)-异构体。在另一个实施方案中,异构体混合物是含有约 45-50 重量%的(E)-异构体和 50-55 重量%的(Z)-异构体的 ISA_{TX}247 混合物。这些重量百分数是基于组合物的总重量的,应该理解,(E)异构体和(Z)异构体的重量百分数之和是 100 重量%。换句话说,混合物可含有 65 重量%(E)-异构体和 35 重量%(Z)-异构体,反过来也可以。

参看图 4,乙酰基环孢菌素 A 的 1-氨基酸残基侧链的末端 η -碳在反应的下一步通过将乙酰基环孢菌素 A35 与 N-溴琥珀酰亚胺和偶氮二异丁腈在溶剂(如四氯化碳)中回流而被

溴化,形成中间体乙酰基- η -溴代环孢菌素 A41。N-溴琥珀酰亚胺是经常用来溴代烯丙基氢的试剂,相信它是经过自由基机理。中间体 41 的制备由 M.K.Eberle and F.Nuninger 在“Synthesis of the main metabolite (OL-17) of cyclosporin A”, *J. Org. Chem.*, Vol. 57, pp.2689-2691 (1992)中叙述。

乙酰基环孢菌素 A 42 的新中间体三苯基磷鎓溴化物可从乙酰基- η -溴代环孢菌素 A (41)通过后者与三苯磷在溶剂(如甲苯)中加热而制备。

新中间体 42,以及类似的其他中间体,设想在许多 1-氨基酸残基含共轭二烯体系的环孢菌素 A 类似物的合成中是关键中间体。例如,除了三苯磷外,如三芳基磷、三烷基磷、芳基烷基磷和三芳基砷之类化合物也可以与乙酰基- η -溴代环孢菌素 A41 反应,制备其他与 42 类似的活化的化合物。

参见图 4,乙酰基-1,3-二烯 43 的(E)和(Z)-异构体的混合物可通过将乙酰基环孢菌素 A 42 的三苯基磷鎓溴化物与过量的甲醛在甲苯中室温搅拌而制备。加入甲醛后,滴加碱,如氢氧化钠,用乙酸乙酯提取二烯的异构体混合物。

许多有机化学教科书都叙述 Wittig 反应。特别是 J. McMurry 的 *Organic chemistry*, 5th ed. (Brooks/Cole, Pacific Grove, 2000), pp. 780-783。Wittig 反应可用来将酮或醛转化为烯烃。在该过程中,磷内鎓盐,也称为正磷,可与

醛或酮反应，生成称为内铵盐的偶极中间体。通常不分离该内铵盐；它自发地通过四元环分解，产生烯烃和三苯膦氧化物。净结果是羰基氧原子被原来结合在磷上的 $R_2C=$ 基团取代。

本领域技术人员应该理解的是，许多试剂可用来代替上述 Wittig 反应试剂。例如，各种烷基、芳基、醛和酮化合物可代替甲醛，制备各种各样的环孢菌素衍生物。本申请人已经用甲醛、并用乙醛、氰化甲醛、氰化乙醛、2-氯苯甲醛、苯甲醛和丁醛之类化合物代替甲醛进行了上述合成。这样的 Wittig 反应可以用三苯基膦鎓衍生物以外的化合物进行，例如三芳基膦、三烷基膦、芳基烷基膦、和三芳基砷。各种其他碱可用来代替氢氧化钠，如碳酸钠、丁基锂、己基锂、氨基钠、锂的位阻碱（如二异丙基氨基锂）、和碱金属醇化物。除了改变这些试剂外，反应可在各种有机溶剂或有机溶剂和水的混合物中，在各种盐的存在下，特别是锂的卤化物存在下，在不同的温度进行。上述所有因素都可被本领域技术人员合理地选择，以便对所形成的双键的立体化学产生所需的影响；即，对顺式与反式的比例产生所需的影响。

在该合成的最后一步，用以下程序脱除 β -碳上的保护基。将乙酰基-(E)-1,3-二烯和乙酰基-(Z)-1,3-二烯的混合物溶解在甲醇中，加入水。加入碱（如碳酸钾），将反应混合物室温搅拌。除了碳酸钾以外可以使用的碱包括氢氧化钠、碳酸钠、醇钠和醇钾。通常用乙酸乙酯提取最后产物 ISA_{TX247} 的(E)和(Z)-异构体的混合物 44。

方法 2

通过 Wittig 反应策略合成 ISA_{TX247} 的(E)和(Z)-异构体的混合物的另一条反应路线，可应用如下的四步合成路线：（1）如方法 1 那样保护 β -醇；（2）氧化在第一步产生的乙酰基环孢菌素 A，产生醛；（3）Wittig 反应；（4）Wittig 反应产物脱除乙酰基，或者等价地，水解乙酸酯重新得到醇。该反应程序在图 5 中说明。

这个合成路线以与图 4 中的 Wittig 反应路线类似的方式开始进行，第一步用乙酸酯基保护 β -醇。但是，这两条路线从此开始不同，方法 2 的第二步将乙酰基环孢菌素 A 35 转化为醛，乙酰基环孢菌素 A 醛 51。该反应使用其强度足以断裂 $C=C$ 双键的氧化剂产生 2 个片段。烯烃的断裂在本领域

是已知的。臭氧大概是最常用的双键断裂试剂，但是其他氧化剂如高锰酸钾(KMnO_4)或四氧化锇也可引起双键断裂。

钌基氧化剂的应用已由 H.J.Carlsen et al., 在 “A greatly improved procedure for ruthenium tetroxide catalyzed oxidations of organic compounds”, *J. Org. Chem.*, Vol.46, No.19, pp. 3736-3738(1981)中讨论。Carlsen et al. 教导说，历史上，昂贵的钌金属为催化程序的开发提供了推动力，其中应用最广的是过碘酸盐和次氯酸盐用作化学计量的氧化剂。研究者发现了在常规使用钌的反应过程中催化活性丧失，提出是由于存在羧酸。并发现，将腈类（特别是乙腈）加入反应混合物中显著提高了烯烃在 $\text{CCl}_4/\text{H}_2\text{O}/\text{IO}_4^-$ 体系中的氧化断裂的速度和程度。

按照本发明的实施方案，乙酰基环孢菌素 A35 溶解于乙腈和水的混合物中，然后先加入过碘酸钠，再加入氯化钌水合物，可从乙酰基环孢菌素 A35 产生乙酰基环孢菌素 A 醛 51。醛 51 可用乙酸乙酯提取。应注意的是，通过该氧化断裂策略合成醛 51 对于许多立体选择性路线是重要的。

方法 2 的第三步包括通过 Wittig 反应将醛 51 转化为(E)和(Z)-二烯的混合物，所用方法与方法 1 类似。如在方法 1 中一样，磷内鎓盐加入醛或酮中，生成内铵盐（不分离），净结果是醛的羰基氧原子被原来结合在磷上的 $\text{R}_2\text{C}=\text{}$ 基团取代。还可以用三苯基磷鎓衍生物以外的含磷化合物（例如三芳基磷、三烷基磷、芳基烷基磷和三芳基砷）在不同的温度，用各种碱性溶液和溶剂进行这样的 Wittig 反应或可加入各种无机盐来影响新形成的双键的立体化学。

在另一个实施方案中，将乙酰基环孢菌素 A 醛 53 溶解在甲苯中，加入溶解在水中的碱（如氢氧化钠）。然后加入三苯基磷鎓溴化物 52，将反应搅拌一些时间。乙酰基(E)和(Z)-1,3-二烯 53 的产物混合物的后处理包括用己烷和/或乙酸乙酯提取，在此术语“后处理”意指从反应物、产物和溶剂等的混合物中提取和/或分离反应产物的过程。

方法 2 的最后一步，与方法 1 的最后一步类似，保护 β -碳位醇的乙酸酯基用碳酸钾脱除，产生 $\text{ISA}_{\text{Tx}247}$ 的(E)和(Z)-异构体的混合物。除了碳酸钾以外的碱也可用来脱除保护基，它们包括氢氧化钠、碳酸钠、醇钠、和醇钾。

微生物 E TPGS

生育酚在本制剂中用作抗氧化剂。D- -生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯（维生素 E TPGS）（Eastman Kodak, Rochester, NY）是水溶性的维生素 E 衍生物，并具有亲水性和亲脂性的双重性质，已在本领域已知的制剂中用作抗氧化剂或防腐剂。当用作抗氧化剂时，生育酚或维生素 E TPGS 的存在量约为 0.5-1 重量%，不超过 5 重量%。

维生素 E TPGS 能与水混溶，与水形成浓度小等于约 20 重量%的溶液，超过此限就会形成液晶相。维生素 E TPGS 具有高降解温度和良好的热稳定性。在 0.02 重量%形成胶束。当维生素 E TPGS 浓度高于 20 重量%时，形成高粘度的液晶相。随着维生素 E TPGS 浓度在水中升高，产生更复杂的液晶相，从各向同性的球状胶束到各向同性的柱状胶束和六边形、六边形、混合六边形和倒六边形、反转的球状胶束，及至层状相（13）。在这些制剂中，维生素 E TPGS 作为表面活性剂或乳化剂是有用的。它也可用于包含许多其它用作溶剂、黏合剂和填料的赋形剂的复合制剂。

此外，本发明中维生素 E TPGS 可不仅作为乳化剂和辅剂存在，而且还抑制油的变性、防止它们酸败。

油组分

本发明制剂的油组分可以是植物油、合成油、油代用品如三醋精、矿物油或中链三甘油酯(MCT)油，即其中烃链具有 8-10 个碳原子的甘油三酯油。油组分优选 MCT 油。

MCT 油比植物油有许多优点，包括（1）比较不容易氧化；（2）比密度为 0.94-0.95，比植物油的高，与水的接近，因此使得容易得到稳定的微乳液；（3）比植物油的憎水性小，因此能够使溶解在其中的药物达到较高的浓度；（4）粘度较低，在组合物中能得到较高的油相浓度而基本上不增高其粘度（15）。

MCT 油可以商购。本发明涉及的 MCT 油的例子包括但不限于 TCR™ (Societe Industrielle des Oleagineux, France 生产的三甘油酯的商品名，其中约 95%的脂肪酸具有 8 个或 10 个碳)和 MIGLYOL 812™ (Dynamit Nobel, Sweden 生产的甘油与辛酸和癸酸的混合三酯的商品名)。肉豆蔻酸异丙酯是可用于本发明制剂的另一种可商购的油。

本发明涉及的植物油包括但不限于大豆油、棉子油、橄榄油、芝麻油和蓖麻油。矿物油包括但不限于天然烃类或其合成的类似物。油性脂肪酸如油酸和亚油酸，脂肪醇如油醇，和脂肪酸酯如脱水山梨糖醇单油酸酯和憎水的蔗糖酯，也可用作油组分，虽然它们不如在此叙述的其它油那样优选。可用于本发明制剂的其它脂类包括但不限于合成的和半合成的单-、二-和/或三甘油酯；通过天然的、合成的或半合成的三甘油酯的溶剂或热分级而制备的三甘油酯；和通过酯交换和/或定向的或无序的重排而制备的三甘油酯。

乳化剂

本发明制剂含有至少一种乳化剂。优选地，乳化剂或表面活性剂是非离子性亲脂溶剂或非离子性两性溶剂。乳化剂可以是 Tween，如 Tween 40、Tween 80 等等。但是，可以使用任何能够形成微乳液预浓缩物的表面活性剂。以下给出一些例子。

表面活性剂组分可包括两性的、亲水的或亲脂的表面活性剂，或其混合物。特别优选的是非离子性的亲水或非离子性的亲脂表面活性剂。用作表面活性剂组分的合适的亲水表面活性剂的例子是天然的或氢化的植物油和乙二醇的反应产物。这样的产物可用已知的方式得到，如通过天然的或氢化的蓖麻油或其馏分与环氧乙烷反应，任选地从产物中除去游离的聚乙二醇组分而得到。可购得以 Cremophor™ 为商标的各种表面活性剂也是合适的。特别合适的是 Cremophor™ RH 40 和 Cremophor™ EL。该类产物中适用的还有商品名为 Nikkol™ 的各种表面活性剂。

其它例子包括聚氧乙烯-脱水山梨糖醇-脂肪酸酯，如单-和三月桂酸、棕榈酸、硬脂酸和油酸酯，如 Tweens，包括：

聚氧乙烯（20）脱水山梨糖醇单月桂酸酯 [Tween® 20]，

聚氧乙烯（20）脱水山梨糖醇单棕榈酸酯 [Tween® 40]，

聚氧乙烯（20）脱水山梨糖醇单硬脂酸酯 [Tween® 60]，

聚氧乙烯（20）脱水山梨糖醇单油酸酯 [Tween® 80]，

聚氧乙烯（20）脱水山梨糖醇三硬脂酸酯 [Tween® 65]，

聚氧乙烯（20）脱水山梨糖醇三油酸酯 [Tween® 85]，

聚氧乙烯（4）脱水山梨糖醇单月桂酸酯 [Tween® 21]，

聚氧乙烯（4）脱水山梨糖醇单硬脂酸酯 [Tween® 61], 和

聚氧乙烯（5）脱水山梨糖醇单油酸酯 [Tween® 81]。

用于本发明组合物的特别优选的产品是 Tween 40 和 Tween 80, 聚氧乙烯脂肪酸酯如聚氧乙烯硬脂酸酯, 聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物, 聚氧乙烯-聚氧丙烯嵌段共聚物, 如商品名为 Poloxamer™ 的已知的市售品, 琥珀酸二辛酯, 磺基琥珀酸钠二辛酯, 琥珀酸二-2-乙基己酯或月桂基硫酸钠和磷脂, 特别是卵磷脂。适合用于本发明组合物的卵磷脂包括但不限于大豆卵磷脂。其它合适的产品包括 Cremophor™, Nikkol™, 二醇化的天然或氢化的植物油, 和辛酸-癸酸二酯。丙二醇单-和二-脂肪酸酯如丙二醇二癸酯、丙二醇二月桂酸酯、丙二醇羟基硬脂酸酯、丙二醇异硬脂酸酯、丙二醇月桂酸酯、丙二醇蓖麻油酸酯、丙二醇硬脂酸酯也是合适的。

本发明制剂还可包含药学上可接受的表面活性剂、胶体、悬浮剂、增量剂、赋形剂、表面活性剂和助表面活性剂。

B. 本发明的优选制剂

本发明的实施方案优选是稳定的微乳液预浓缩物, 它提供充足的药物生物利用度和/或降低的毒性。这些制剂可具有优越的能力, 提高药物的生物利用度和降低与使用环孢菌素及其类似物相关的不良作用。微乳液制剂使得药物能以较小的颗粒传输。较小颗粒药物单位剂量的传输能提高表面面积并且可能有较高的吸收和较好的生物利用度。微乳液是本领域已知的。但是, 使用本发明制剂组分的微乳液是通过审慎选择乙醇、维生素 E TPGS、油组分、和乳化剂的比例而形成的, 它超出了过去已知的用于与 ISA_{TX}247 类似活性剂的制剂的范围。含有低于 5%乙醇, 或高于 50%维生素 E TPGS 的组合物在室温形成固体微乳液预浓缩物, 这是本发明制剂的次优选的实施方案。

本发明组合物中成分的相对比例当然将取决于涉及的组合物的具体类型而有相当变化, 如它是否是“微乳液预浓缩物”, 微乳液, 常规的乳液, 溶液, 等等。相对比例还取决于组合物成分的具体功能而变化, 例如, 就“微乳液预浓缩物”的表面活性剂组分来说, 取决于它只是作为表面活性剂或者既是表面活性剂又是助溶剂。相对比例还因使用的具体成分和所需要的产物

组合物物理特征而异。在任何具体例子中的可操作性比例的确定一般在熟练技术人员的能力范围内。所有下面指明的比例和描述的相对重量范围因此应该理解为只是优选的或单个的发明教导的说明,而不是在其最广泛的方面限制本发明。本发明的微乳液可以是微乳液预浓缩物。本发明优选的制剂如下:

制剂 1

- (a) 药物有效量的 $ISA_{TX}247$;
- (b) 维生素 E TPGS;
- (c) MCT 油;
- (d) Tween 40;
- (e) 乙醇

各成分的比例为 0.5-1:4:2:2:1。

制剂 2

- (a) 药物有效量的 $ISA_{TX}247$;
- (b) 维生素 E TPGS;
- (c) MCT 油;
- (d) Tween 80;
- (e) 乙醇

各成分的比例为 0.5-1:2:4:2:1。

制剂 3

- (a) 药物有效量的 $ISA_{TX}247$;
- (b) MCT 油;
- (c) Tween 80;
- (d) 三醋精;
- (e) 乙醇

各成分的比例为 0.5-1:5:3:1:1。

制剂 4

- (a) 药物有效量的 $ISA_{TX}247$;
- (b) Tween 80;
- (c) 维生素 E TPGS;
- (d) 乙醇;
- (e) 肉豆蔻酸异丙酯

各成分的比例为 0.5-1:2:1:1:6。

制剂 5

- (a) 药物有效量的 $ISA_{TX}247$;
- (b) 维生素 E TPGS;
- (c) MCT 油;
- (d) Tween 40;
- (e) 乙醇

各成分的比例为 0.5-1:4:2:2:1,该制剂进一步与水性介质混合,形成稳定的透明微乳液溶液。水性介质可包括,但不限于,水、果汁(如苹果汁)、茶、牛奶和可可。有用的果汁不包括葡萄柚汁,优选包括苹果汁。该制剂优选溶解于水性介质,其比例为约 1 份制剂对约 10-100 份水性介质。

本发明药物制剂优选地能有充分的生物利用度。优选的是, $ISA_{TX}247$ 的生物利用度等于或大于 30%,更优选大于 40%。药物制剂优选是口服形式,如微乳液,或微乳液预浓缩物。水性介质优选对病人是可口的,使得他们容易接受该口服制剂。

当以有效量给予有此需要的病人时,本发明制剂将产生免疫抑制。优选地,给予的药物制剂的量是约 0.1-10mg/kg 病人体重/天,更优选约 0.5-3mg/kg 病人体重/天。优选一天一次,或一天二次给予本制剂。

当恰当地给药时,本发明制剂可用于免疫抑制,例如预防器官排斥或移植物对抗宿主的疾病,以及治疗疾病和病症,特别是,自身免疫和炎性疾病和病症。此处所述自身免疫和炎性疾病和病症包括但不限于,Hashimoto 氏甲状腺炎、恶性贫血、Addison 氏病、牛皮癣、糖尿病、风湿性关节炎、全身性红斑狼疮、皮肤肌炎、Sjogren 氏综合征、皮肤肌炎、红斑狼疮、多发

性硬化症、重症肌无力、Reiter 氏综合征、关节炎（例如类风湿性关节炎、慢性进行性关节炎和变形性关节炎）和风湿性疾病、自身免疫血液疾病（包括，如溶血性贫血、再生障碍性贫血、纯红细胞性贫血和特发性血小板减少）、全身性红斑狼疮、多软骨炎、sclerodoma、Wengener 肉芽肿病、皮肤肌炎，慢性活动性肝炎、重症肌无力，牛皮癣、Steven-Johnson 综合征、特发性口炎性腹泻，自身免疫炎性肠病（包括如溃疡性结肠炎和 Crohn 氏病）、内分泌眼病、Graves 氏病、肉样瘤病、原发性胆汁性肝硬化、少年糖尿病（I 型糖尿病）、眼色素层炎（前和后）、干性角膜结膜炎和春季角膜结膜炎，间质肺纤维化、牛皮癣关节炎和肾小球性肾炎。

本发明制剂还可用来治疗寄生虫性或原虫性疾病如疟疾、球孢子菌病和血吸虫病。它们也可用作逆转或消除肿瘤对于抗癌药的抗性的药剂。

本发明也包括胃肠外给药的制剂（如皮下或肌肉内）。该制剂包含以下成分：

- (a) 药物有效量的 ISA_{TX}247；
- (b) 维生素 E TPGS；
- (c) MCT 油；
- (d) Tween 40；
- (e) 乙醇

优选这样的制剂在给药前是灭菌的。

C. 方法学

我们发现，能够制备环孢菌素类似物 ISA_{TX}247 的稳定制剂。本发明制剂可按下列方式制备。但是，本领域技术人员知道，这些步骤的任何顺序都是可能的。此外，以下所有各组分的量已详述如上，以下叙述的方法可容易地倒转一步或多步，或者将过程完全倒转。

虽然只有制剂 5 详细叙述了微乳液预浓缩物如何加到水性溶液中以形成微乳液，但通过与水性介质混合，可将任何微乳液预浓缩物转化为微乳液。优选的是，以 1 份预浓缩物对 10-100 份水性介质的比例将预浓缩物与水性介质混合。更优选的是，水性介质是苹果汁。

制剂 1

首先，将 MCT 油加入 Tween 40，在室温（20-25°C）形成混合物。再将乙醇加入 MCT 油和 Tween 40 的混合物中。然后，将维生素 E TPGS 加入混合物中。搅拌下将混合物在 30-35°C 温育，直到澄清。然后，加入适当量的 ISATX247。最后，将各成分在 30-35°C 混合，直到 ISATX247 完全溶解。

制剂 2

首先，将 MCT 油加入 Tween 80，在室温（20-25°C）形成混合物。再将乙醇加入 MCT 油和 Tween 80 的混合物中。然后，将维生素 E TPGS 加入混合物中。搅拌下将混合物在 30-35°C 温育，直到澄清。然后，加入适当量的 ISATX247。最后，将各成分在 30-35°C 混合，直到 ISATX247 完全溶解。

制剂 3

首先，将 MCT 油加入 Tween 80，在室温（20-25°C）形成混合物。再将乙醇加入 MCT 油和 Tween 80 的混合物中。然后，将三醋精加入混合物中。搅拌下将混合物在 30-35°C 温育，直到澄清。然后，加入适当量的 ISATX247。最后，将各成分在 30-35°C 混合，直到 ISATX247 完全溶解。

制剂 4

首先，将 MCT 油加入 Tween 80，在室温（20-25°C）混合。再将肉豆蔻酸异丙酯和乙醇加入，在室温（20-25°C）形成混合物。然后，加入适当量的 ISATX247。最后，将各成分在室温（20-25°C）混合，直到 ISATX247 完全溶解。

制剂 5

首先，将 MCT 油加入 Tween 40，在室温（20-25°C）形成混合物。再将乙醇加入 MCT 油和 Tween 40 的混合物中。然后，将维生素 E TPGS 加入混合物中。搅拌下将混合物在 30-35°C 温育，直到澄清。然后，加入适当量的 ISATX247。最后，将各成分在 30-35°C 混合，直到 ISATX247 完全溶解。然后将得到的预浓缩物与水性介质混合。优选的是，以 1 份预浓缩物对

10-100 份水性介质的比例将预浓缩物与水性介质混合。

在优选的方法学中，首先将 ISATX247 溶解在乙醇中而制备上述制剂的每一个。其余成分可按任何次序加入。

本发明实施例的公开

在以下实施例中，以下缩写具有以下的意义。如果有未加定义的缩写，则它们具有一般接受的意义。

W/w = 重量对重量

NF = 国家药方

NF/NP = 国家药方/国家药典

USP = 美国药典

mg = 毫克

mL = 毫升

kg = 千克

ng = 纳克

nm = 纳米

$T_{\max}$ = 达到最大浓度的时间

$C_{\max}$ = 最大浓度

AUC = 曲线下面积

LCMS = 液相色谱-质谱

MCT = 中链三甘油酯

PK = 药物动力学

PS = 猪皮肤

两种药物产品，一种口服溶液和一种软明胶胶囊，已经由 Isotechnika, Inc. 开发。这两种药物产品都含有表面活性剂、乙醇、亲脂的和/或两性的溶剂作为成分。每一种产品的制备如下所述。

实施例 1: ISA_{TX}247 口服溶液的制备

以下成分构成 ISA_{TX}247 药物产品——口服溶液：ISA_{TX}247、d- α -生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯（维生素 E TPGS）NF、中链三甘油酯（MCT）油 USP、Tween-40 NF、和 95%乙醇 USP。

表 1 ISA_{TX}247 口服溶液的组成

成分（和试验标准）	单位 和 / 或 百 分 制 剂 强 度 : 50mg/m L	每批的量		
		批号 #39120228	批号 #30010532	批号 #30040517
d-α-生育酚基聚乙二醇 1000 琥珀酸酯（维生素 E TPGS）NF	42.24%	0.16205kg	0.544kg	0.768kg
中链三甘油酯（MCT） 油 USP	21.12%	0.08102kg	0.272kg	0.384kg
Tween-40 NF	21.12%	0.08102kg	0.272kg	0.384kg
95%乙醇 USP	10.56%	0.04051kg	0.136kg	0.192kg
ISA _{TX} 247	4.95%	0.01900kg	0.0637kg	0.090kg
总量	99.99%	0.38360kg	1.286kg	1.818kg

将维生素 E TPGS 在热的盒子中融化并转移到液体分配器中。每一个 TPGS 容器的温热的内容物都至少混合 1 分钟，以保证它在视觉上是均匀的液体。当每个捅的内容物的温度不低于 35°C 时，准备一个要求温度为 37.5 ± 2.5°C 的 Groen 管。

将成分维生素 TPGS、MCT 油、Tween 40 和 95%乙醇分别称量在不同的容器中，贴上标签以便鉴别。将维生素 E TPGS 立刻转移到 Groen 管中。将 MCT 油、Tween 40 和乙醇分步定量转移到含有预先称好的维生素 E TPGS 中。将管子紧紧盖好减少乙醇蒸发，在加入乙醇后在 37.5 ± 2.5°C 混合 15-20 分钟。

用灭菌的玻璃吸管观察顶部和底部的样品。在观看时，吸管中的内容物应该是均匀且透明的。

设定混合器，使得能达到轻度的涡旋。在混合过程中盖好容器，以减少乙醇蒸发。将 ISA_{TX}247 加入继续混合的混合物中。然后密封容器。每半小

时检查混合物一次，直到粉末完全溶解。

实施例 2：ISA_{TX}247 明胶胶囊的制备

本发明也涉及软明胶胶囊。该胶囊含有 ISA_{TX}247 和与口服溶液相同的非药物成分，包封在含有明胶、甘油、水和山梨糖醇的 2D PS (NF/NP) 型明胶胶囊中。

将 ISA_{TX}247 口服溶液（50mg/mL）（由 ISA_{TX}247、维生素 E TPGS NF、中链三甘油酯 (MCT) 油 USP、Tween 40 NF、和 95%乙醇 USP 组成）包封入 2D PS (NF/NP) 型明胶胶囊中，制成 ISA_{TX}247 明胶胶囊。2D PS (NF/NP) 型明胶胶囊是用明胶 NF（猪皮肤）、甘油 USP、纯化水 USP 和 76%专用山梨糖醇制成的。

实施例 3：稳定性/货架寿命测定

下表示出制剂 1 的瓶装（储存在 30°C）和软凝胶胶囊（储存在室温）形式用公知的 LCMS 技术测定的稳定性数据。这些制剂在通常的储存条件下是稳定的。

表 2

ISA _{TX} 247 浓度（mg/mL）			
	0 个月	6 个月	24 个月
瓶装制剂	57.1 ± 0.5	56.7 ± 0.7	58.0 ± 0.6
软凝胶胶囊	41.1 ± 0.6	42.4 ± 1.0	41.4 ± 0.9 ^A

^A 软凝胶胶囊 18 个月测定。

实施例 4：药物动力学(PK)图象的比较

经口管饲给予 Sprague Dawley 大鼠下述制剂，以有规则的时间间隔监测 ISA_{TX}247 的血浓度，得到浓度对时间的曲线（即药物动力学图象）。以下是各种 ISA_{TX}247 制剂（包括在此公开的那些）的 PK 图象的比较。虽然如表 3 所示，2 号组在大鼠模型中显示出良好的生物利用度，但这些结果在狗或人模型中可能会有很大的变化（表 4）。

表 3 各种 ISA_{TX}247 制剂的 PK 图象

给药途径	组	T _{max}	C _{max}	半寿命	AUC	相对于第 1 组的生物可利用性
经口	1	2	49	7.3	559	+0
经口	2	4	75	6.1	1150	+106
经口	3	4	36	18.1	491	-12
经口	4	4	68	7.4	885	+58
经口	5	2	104	7.1	1298	+132
经口	6	4	57	7.7	750	+34

T_{max} = 达到最大 ISA_{TX}247 血浓度的时间

C_{max} = ISA_{TX}247 的最大血浓度 (ng/mL)

半衰期 = 达到 ISA_{TX}247 最大血浓度一半的时间 (小时)

AUC = 曲线下面积 (与药物的生物利用度有关)。

第 1 组:

维生素 E-TPGS/MCT 油/Tween 40/乙醇: 4/2/2/1 (w/w/w/w)。(在此公开为制剂 1)。

第 2 组:

维生素 E-TPGS/MCT 油/Tween 80/乙醇: 2/4/2/1 (w/w/w/w)。(在此公开为制剂 2)。

第 3 组:

MCT 油/Tween 80/三醋精/乙醇: 5/3/1/1 (w/w/w/w)。(在此公开为制剂 3)。

第 4 组:

Tween 80/维生素 E-TPGS/乙醇/肉豆蔻酸异丙酯: 2/1/1/6 (w/w/w/w)。(在此公开为制剂 4)。

第 5 组 (比较例):

维生素 E/丙二醇/Maisine/Chremophor RH 40/乙醇: 3/1.2/5/6.2/2 (w/w/w/w)。

第 6 组:

这是按 1: 65 用苹果汁稀释形成微乳液的制剂 (在此公开为制剂 5)。

实施例 5: 微乳液的制备

为了形成微乳液，试验了 100 种以上的制剂变化（微乳液定义为在 485 和 900nm 的吸收值分别小于 0.1 和 0.01）。试验的制剂包括以下比例的成分：

- 5-10% ISA_{TX}247
- 0-50%维生素 E-TPGS
- 0-50%Tween 40 和/或 Tween 80
- 0-50%MCT 油
- 5-15%乙醇

试验的制剂中低于 20%的制剂能形成微乳液。微乳液的形成相对地独立于维生素 E-TPGS 或乙醇的比例。但是，维生素 E-TPGS 的比例大于 50% 和乙醇小于 5%的比例的制剂，会产生在室温发生凝固的预浓缩物，这是不太好的。图 1 显示了微乳液预浓缩物的形成作为 Tween 40 和 MCT 油赋形剂比例的函数的一个图表。

实施例 6：狗的药物动力学(PK)图象的比较

图 2 显示一个我们的 ISA_{TX}247 微乳液与 Neoral® 在 Beagle 狗中的药物动力学 (PK) 图象的比较。数据也列表如下。各种制剂通过经口管饲给予 Beagle 狗 (n = 6)，ISA_{TX}247 的血浓度以有规则的时间间隔监测，得到浓度对时间的曲线（即药物动力学图象）。具体地，通过经口管饲将各种制剂 (100mg/mL)按 2mL 给予狗。在给药后 T = 0、0.5、1、2.5、5、7.5、12 和 24 小时抽取血样。用液相色谱-质谱(LCMS)进行分析。

表 4 结果的小结

给药途径	组	Tmax	Cmax	AUC
经口	1	2 小时	1439 ± 378	8290
经口	2	2 小时	2158 ± 677	11460

T_{max} =达到最大 ISA_{TX}247 血浓度的时间
C_{max} = ISA_{TX}247 的最大血浓度 (ng/mL)
AUC = 曲线下面积（与药物的生物利用度有关）。

- 第 1 组：
- 制剂 1：维生素 E-TPGS/MCT 油/Tween 40/乙醇： 4/2/2/1 (w/w/w/w)。
- 第 2 组：

虽然这些数据表示, 相对于 Neoral®, ISA_{TX}247 制剂的生物利用度稍低, 但比 Sandimmune®的生物利用度(数据未显示)要显著地高。一般报告的 Neoral®生物利用度为约 40%。如表 4 所说明的, 第 1 组的生物利用度与 Neoral®的生物利用度是可比的。

这些数据表明, 本发明制剂具有与环孢菌素的其它制剂可比的生物利用度, 并能够减轻与使用环孢菌素相关联的不良作用。

实施例 7: ISA_{TX}247 和环孢菌素 A 的药物动力学和毒物动力学

ISA_{TX}247 (45-50%E-异构体和 50-55%Z-异构体) 和环孢菌素 A 的药物动力学和毒物动力学参数在测试兔模型上家兔也已经作为模型用来研究环孢菌素 A 的肾毒性, 但比大鼠用得少得多。研究发现, 将环孢菌素 A 给予家兔导致结构和功能的改变, 所用的剂量不仅低于先前报道的用在其它动物模型上的剂量, 而且至少在人的治疗范围的上限之内 (Thliveris et al., 1991, 1994)。还有, 除了肾小管的细胞学改变之外, 间质纤维化和动脉病的发现也提示, 家兔是研究肾毒性的更合适的模型, 因为这些结构实体是在人类中观察到的肾毒性的标志。按照以下方案, 在头 7 天静脉内 (i.v.), 然后再 23 天皮下 (s.c.), 给予 ISA_{TX}247。

表 5 在家兔模型中研究 ISA_{TX}247 的药物动力学和毒物动力学的剂量给药方案

处理组	1-7 天: i.v. 剂 量 (mg/kg)	8-30 天: s.c. 剂 量 (mg/kg)	动物数 雄 雌
1. 载体对照	0	0	4 4
2. 环孢菌素 A 对照	10	10	6 6
3. 低剂量	5	5	0 2
4. 中剂量	10	10	4 4

5. 高剂量	15	15	4
			4

使用无病原体家兔(SPF)以确保所观察到的任何肾脏改变都是由于ISA_{TX}247的作用而不是由于病原体。在第一和第七天,在给药前和给药后0.5、1、2、4、8、12、18和24小时收集血样,作出药物动力学曲线。其它评价的参数包括临床观察、体重、饲料消耗、血液学、临床化学、大体病理学、和选择的组织/器官的组织病理学考察。

通过高效液相色谱联用质谱(LCMS)分析血样。表6总结了接受10mg/kg环孢菌素A或ISA_{TX}247的家兔的平均药物动力学参数。

表6 雄兔静脉内给药接受10mg/kg环孢菌素A和ISA_{TX}247的药物动力学参数。结果表示为平均值 ± SD

测得参数	环孢菌素 A		ISA _{TX} 247	
	第1天	第7天	第1天	第7天
t _{max} (小时)	0.5		0.5	
	0.5		0.5	
C _{max} (@g/L)	1954 ± 320	2171	1915 ± 149	1959 ± 470
	± 612			
t _{1/2} (小时)	7.4 ± 2.8		7.4 ± 1.7	9.2
	9.0 ± 4.0		± 1.1	
AUC(@g@hr/L)	6697 ± 1717	6685	5659 ± 1309	5697
	± 1247		± 1373	

在接受10mg/kg/天剂量的雄兔中,在环孢菌素A和ISA_{TX}247的药物动力学参数之间没有统计学上的显著差异。在接受相同剂量的雌兔中,ISA_{TX}247的药物动力学参数与雄兔也没有显著差异,但在第7天的最高浓度除外。

在接受载体对照、环孢菌素A或ISA_{TX}247的家兔的血液学参数中没有观察到显著的变化。如下表7所示,在整个研究过程中各组都观察到肌酸酐

水平的差异。这些差异表明，环孢菌素 A 对肾的负面作用要比载体对照或 ISA_{TX}247 显著更大。应该指出的是，即使在剂量提高 50%的情况下，即 15mg/kg/天（与 10mg/kg/天比较）环孢菌素 A、ISA_{TX}247 都没有造成血清肌酐水平的任何显著增高。

表 7 接受载体、环孢菌素 A 或 ISA_{TX}247 为期 30 天的雄兔中血清肌酐水平相对于基线的百分变化

处理组	第 15 天	第 30 天
载体	+6%	-3%
环孢菌素 A (10mg/kg)	+22%	+33%
ISA _{TX} 247 (10mg/kg)	+1%	+10%
ISA _{TX} 247 (15mg/kg)	-19%	-11%

对所有接受载体对照、10mg/kg 环孢菌素 A、5mg/kg ISA_{TX}247 或 10mg/kg ISA_{TX}247 的家兔进行器官观察，没有发现显著的异常，对肾脏尤其如此，没有发现间质纤维化的证据，而在环孢菌素 A 处理的动物中是常见的（Thliveris et al., 1991, 1994）。在接受 15mg/kg ISA_{TX}247 的雄兔中，观察到精子生成减少。在 3 只完成 15mg/kg ISA_{TX}247 剂量研究的雌兔中，没有发现改变。

虽然本发明已经用它的优选实施方案进行了叙述，但本领域技术人员应当理解，在不背离本发明精神和范围的情况下，可以作出形式和细节的各种改变，本发明的精神和范围由所附的权利要求书限定。

在上面和在此讨论的所有参考文献都全部结合在此引为参考。

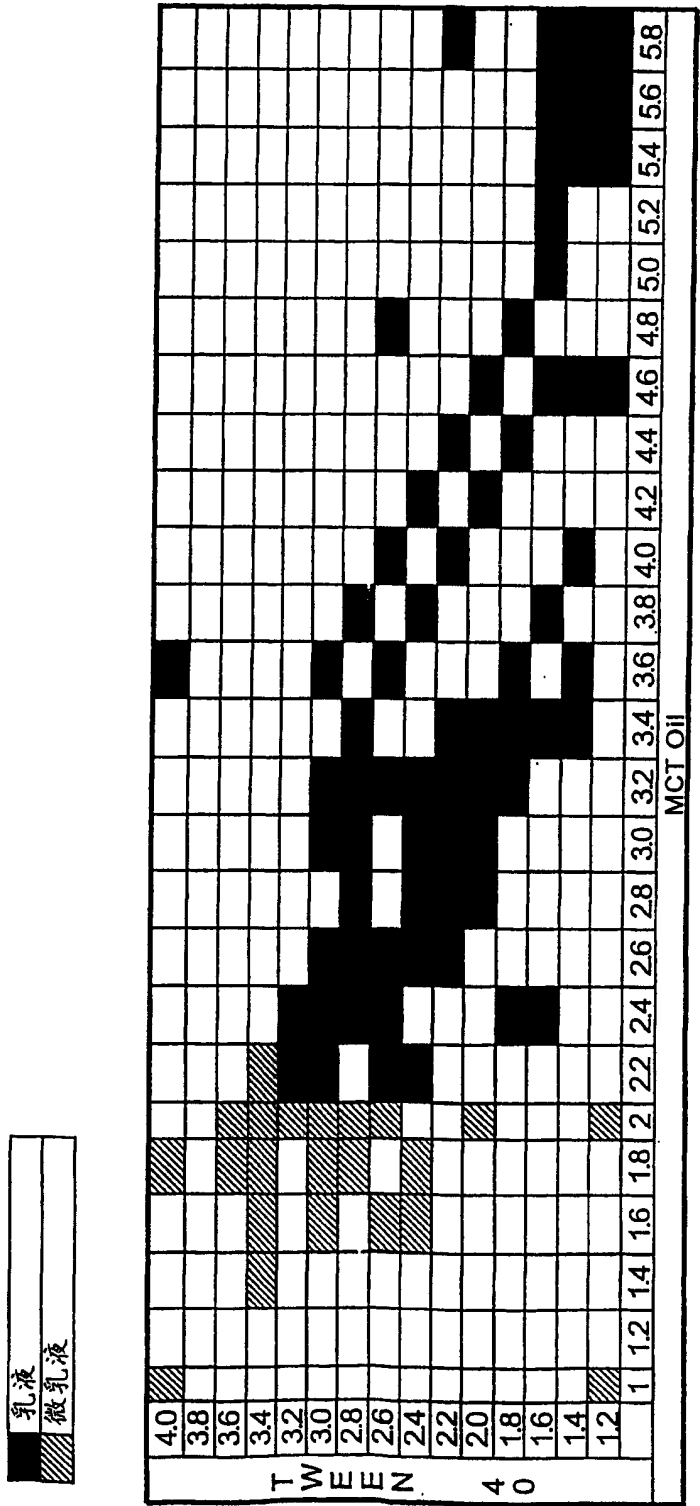


图 1

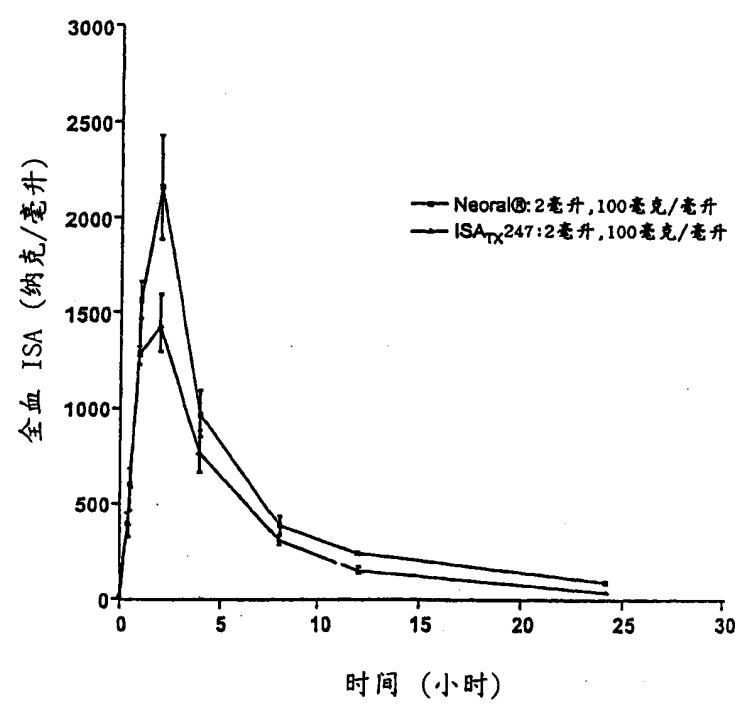


图 2

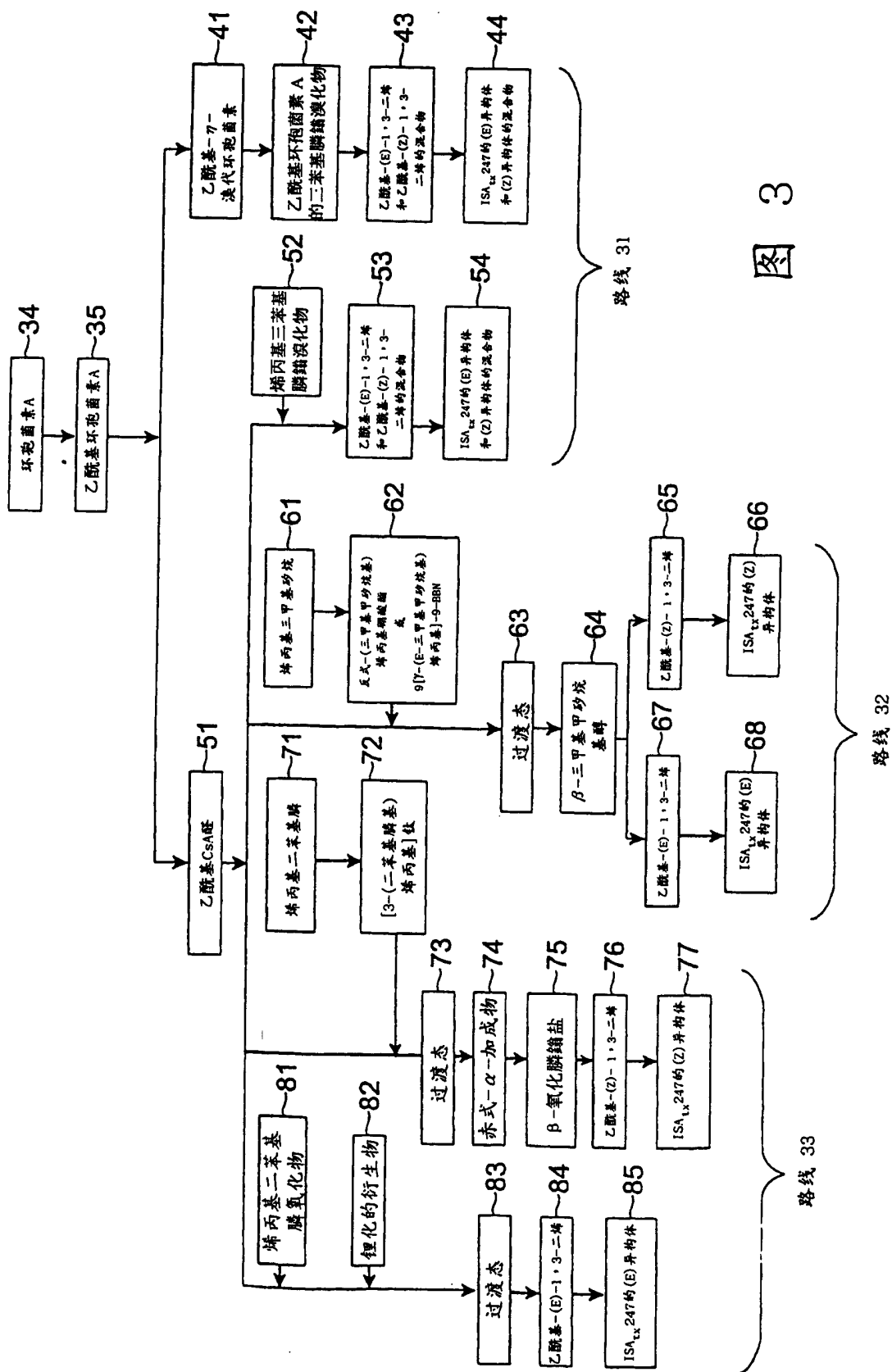
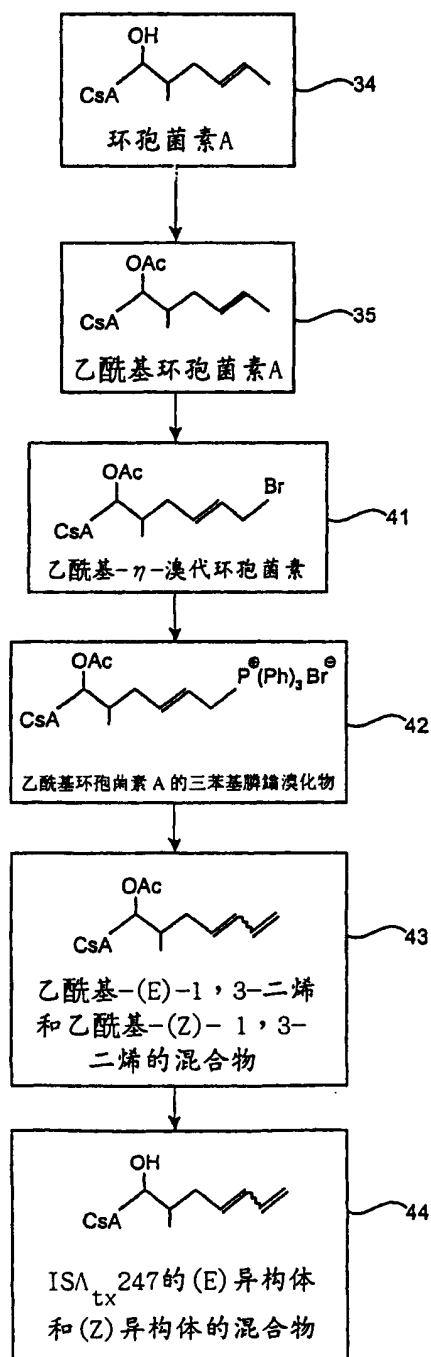


图 3



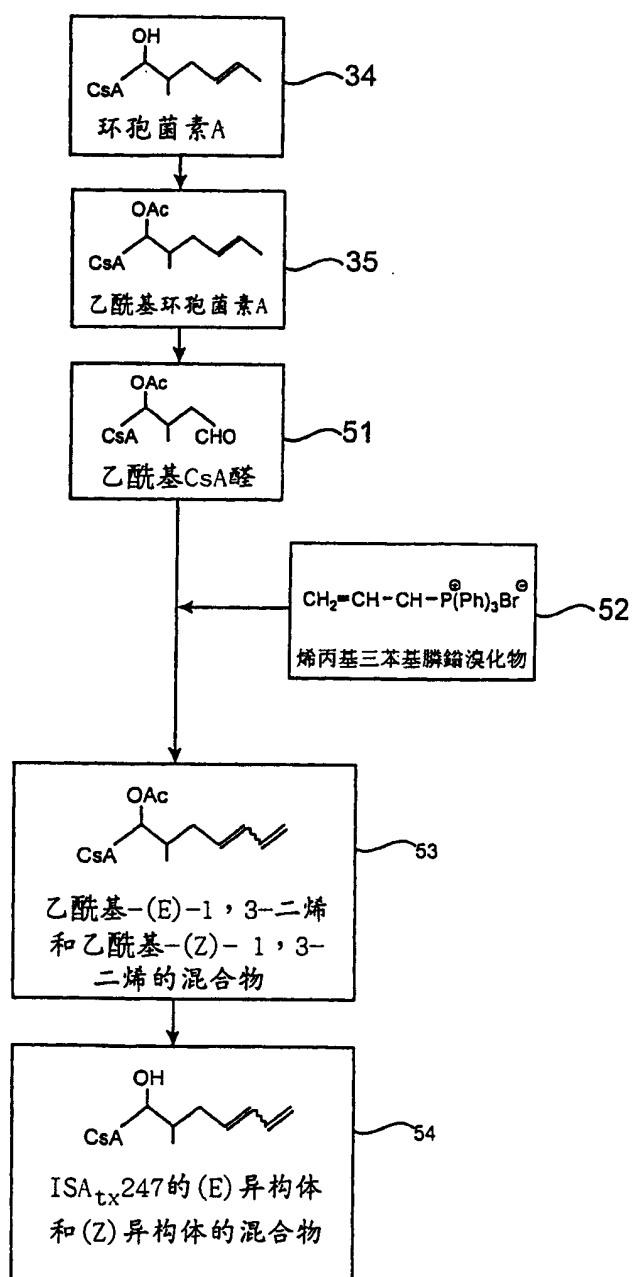


图 5