



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107496925 A

(43)申请公布日 2017.12.22

(21)申请号 201710850996.9

A61K 9/00(2006.01)

(22)申请日 2006.06.19

A61K 47/10(2006.01)

(30)优先权数据

A61K 31/137(2006.01)

60/691,571 2005.06.17 US

A61P 1/02(2006.01)

(62)分案原申请数据

200680021549.2 2006.06.19

(71)申请人 威斯康星校友研究基金会

地址 美国威斯康星州

(72)发明人 W·E·法赫 A·E·鲁霍

M·梅达

(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

司 31100

代理人 余颖

(51)Int.Cl.

A61K 45/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书26页 附图9页

(54)发明名称

在癌症化疗和放疗时保护细胞的局部血管  
收缩剂制品和方法

(57)摘要

局部施用血管收缩剂来提供抗副作用例如  
由化疗或放疗引起的脱发、粘膜炎或皮炎的保  
护。提供局部血管收缩剂的适当剂量和制剂。还  
提供了利用这类组合物的方法。

1. 血管收缩剂与药学上可接受的递送载体用于制造药物的用途,所述药物用于接受或将要接受化疗试剂、放疗或其组合治疗的患者缓解化疗或辐射引发的粘膜炎,所述药物于所述递送载体中包含缓解粘膜炎有效量的血管收缩剂。

2. 如权利要求1所述的用途,所述药物用于接受或将要接受化疗试剂治疗的患者缓解化疗引发的粘膜炎。

3. 如权利要求1-2中任一项所述的用途,所述药物用于接受或将要接受放疗的患者缓解辐射引发的粘膜炎。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的用途,所述血管收缩剂包含肾上腺素、去甲肾上腺素、苯福林、甲氧明、佐米曲坦、四氢唑林、蔡甲唑林、苏马曲坦、阿维曲坦、利扎曲坦、阿莫曲坦、夫罗曲坦,或其组合。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的用途,所述药物包含肾上腺素。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的用途,所述药物包含苯福林。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的用途,所述药物包含约1.5mM至约250mM苯福林。

8. 如权利要求1-7中任一项所述的用途,所述药物包含去甲肾上腺素。

9. 如权利要求1-8中任一项所述的用途,所述药学上可接受的递送载体包含醇。

10. 如权利要求1-9中任一项所述的用途,所述药学上可接受的递送载体包含水醇混合物。

11. 如权利要求1-10中任一项所述的用途,所述药学上可接受的递送载体包含至少10%的醇。

12. 如权利要求1-11中任一项所述的用途,所述药学上可接受的递送载体包含少于50%的醇。

13. 如权利要求1-12中任一项所述的用途,所述药学上可接受的递送载体包含乙醇。

14. 如权利要求1-13中任一项所述的用途,所述药学上可接受的递送载体包含丙二醇。

15. 如权利要求1-14中任一项所述的用途,所述药学上可接受的递送载体包含乙醇和丙二醇。

16. 如权利要求1-15中任一项所述的用途,所述药物还包含减轻、遮盖或消除血管收缩剂味道有效量的甜味剂或调味剂。

17. 如权利要求1-16中任一项所述的用途,所述药物还包含自由基清除剂。

18. 如权利要求1-17中任一项所述的用途,所述药物还包含粘膜粘着化合物。

19. 如权利要求18所述的用途,所述粘膜粘着化合物选自:羟丙基甲基纤维素、 $\alpha$ 氰基丙烯酸酯单体、聚丙烯酸、聚甲基丙烯酸酯衍生物、脱乙酰壳聚糖、透明质酸和黄原酸胶。

20. 如权利要求1-19中任一项所述的用途,所述粘膜炎是口腔粘膜炎。

21. 如权利要求1-20中任一项所述的用途,所述药物局部施用于患者口腔粘膜。

22. 如权利要求1-21中任一项所述的用途,所述血管收缩剂是所述药物中仅有的用于缓解化疗或辐射所引发粘膜炎的药学活性物质。

## 在癌症化疗和放疗时保护细胞的局部血管收缩剂制品和方法

[0001] 本申请是国际申请PCT/US2006/023708即中国国家阶段申请200680021549.2的分案申请。

[0002] 根据35U.S.C. §202 (c), 发明人承认美国政府对本文所述发明具有一定权益, 本发명의诞生有几分是美国国立卫生研究院的资助号为CA22484的基金的功劳。

[0003] 相关申请的交叉参考

[0004] 本发明要求于2005年6月17日提交的美国临时专利申请号60/691,571的优先权, 以其全文纳入本文作参考。

### 发明领域

[0005] 本发明涉及癌症治疗领域。具体而言, 本发明了提供利用血管收缩剂分子来保护非成瘤细胞免受放疗和癌症化疗药物的毒性副作用的药物制品和方法。

[0006] 发明背景

[0007] 用化疗和放疗来治疗癌症患者由于这类治疗对正常细胞具体是上皮细胞群落包括毛囊内、皮肤表皮内和胃肠粘膜内的干细胞有毒性而具有严重的副作用。

[0008] 目前, 能够避免癌症治疗的副作用的治疗方法即使有也是很少。由于这些药物具有与非特异性细胞毒性相关的不良作用, 因此尚无法完全利用化疗药物和放疗来治疗癌症。

[0009] 因为组织中大部分放射诱导细胞杀伤是由放射诱导氧自由基引起, 因此有效的治疗优选包括: i) 降低皮肤表皮、毛囊和胃肠粘膜的危险干细胞内的全身施用细胞毒性药物浓度的方法, 和ii) 临时降低皮肤表皮、毛囊和胃肠粘膜的危险干细胞内氧浓度的方法。

[0010] 癌症治疗对上皮细胞的毒性使经历化疗疗法或放疗疗法的患者通常要遭受许多副作用。这些包括胃肠不适、恶心、呕吐、腹泻、直肠炎、没有食欲、脱发、骨髓萎缩和皮疹或在放射位点发生溃疡。这些并发症令人难以忍受, 因此患者有可能为了避免这些副作用而放弃或中止上述癌症治疗。通常, 在化疗过程中, 化疗试剂以最适剂量以下施用从而将毒性降到最低, 保护正常的药物敏感性细胞。

[0011] 例如, 因为患者难以获得以完善其抗病能力的必需营养, 因此胃肠紊乱可能会破坏患者的康复机会。看起来化疗和放疗相关的胃肠腔内细胞脱落和凋亡使其释放进入分子血管从而与胃肠损坏相关。当在脑内位点检测到这些血液携带的分子时, 会引起接受化疗的患者中普遍会产生的恶心反应。目前的药物治疗, 例如奥坦西隆 (Ondansetron) 的作用是抑制这些脑中枢, 从而减轻恶心反应。然而, 其主要破坏胃肠内壁仍旧限制了对化疗的最有效利用。

[0012] 减轻这些患者恶心反应的较佳治疗机制是通过阻止损害相关的、引起恶心的分子释放而消除其对胃肠内局部的主要破坏作用, 而不是仅仅抑制这些分子对脑的作用。降低正常细胞对化疗试剂的敏感性有助于以较高药物剂量施用, 进行化疗的效率更高。

[0013] 放射引起的皮炎是另一种已经认识到的癌症治疗的副作用。放疗常用于主要或辅助治疗癌症患者, 然而大多数放疗患者所经历的常见和痛苦的副作用是放射区域内的皮炎

或灼伤。

[0014] 粘膜炎是另一种重要和费用不菲的癌症治疗副作用。作为粘膜表面发炎,粘膜炎是一种高发、有可能严重的化疗和/或放疗并发症。它可以表现为红斑、脱皮、形成溃疡、出血和流脓。通常认为粘膜炎由化疗或放疗对DNA复制和粘膜干细胞增殖的直接抑制作用所引起。这些事件引起基部上皮细胞传代能力下降,引发粘膜萎缩、胶原分解和溃疡。继发效应是在保护性粘膜屏障崩溃后的各种病原体感染。

[0015] 粘膜炎可以发生于整个胃肠和泌尿生殖道,从口腔到肠到直肠。这尤其会使人虚弱,因为它会引发营养(吸收)异常、全身感染(概率)增加、(需要)使用麻醉药来减轻痛苦和延缓癌症治疗(期)。已知的商品化药物均不能防止癌症治疗引发的粘膜炎。目前治疗口腔粘膜炎的方法包括应用口腔卫生的基本原理,和治疗方法例如局部麻醉和用全身镇痛来缓解疼痛可用于将这些症状减到最小。保护正常胃肠道细胞的辅助措施包括营养物刺激和最大化摄入生长因子。然而,那些治疗均不针对粘膜炎的根本成因。

[0016] 如果能成功进行在放疗或化疗试剂存在下促进正常细胞生长和增殖的保护性治疗,则能够使用更高剂量、更具攻击性的癌症治疗。因此,这些保护性治疗不仅可以解决癌症及其治疗的副作用,也可以保证比所采用的现有疗法所看到的更佳的抗癌治疗效果。

[0017] 研究保护性治疗的两个有用靶点是(1)上皮细胞,例如那些口腔内壁和整个胃肠或泌尿生殖道,和(2)其它上皮细胞,例如皮肤包括毛囊和表皮的那些(上皮细胞)。现有方法的有效性和可利用性有其局限性,因此需要新的有效疗法来减轻这些副作用。

[0018] 因此,需要能减轻癌症治疗副作用例如粘膜炎的安全有效的药物制品,和减轻或将这些副作用减到最轻的方法。尤其需要提供对处于危险中的、非成瘤组织局部施用血管收缩剂的方法,这么做来降低全身化疗的传递,引发临时性低氧从而在放疗过程中减少氧自由基的形成。

[0019] 还需要提供局部血管收缩剂制品,将其设计成(一)剂、递送载体制剂、血管收缩剂受体特异性、提供保护、特别是局部保护处于危险中的非成瘤细胞抵抗癌症治疗副作用,却减轻或甚至防止一种或多种不良应用血管收缩剂带来的全身影响。

[0020] 还需要提供能够以制剂形式局部、口服给予血管收缩剂的制品,其口味能够被癌症患者所忍受。

[0021] 还需要一种治疗方法,包括应用有效却无毒剂量,并结合有局部递送载体的血管收缩剂,帮助递送到人或动物癌症患者的皮肤或粘膜局部。

[0022] 发明简述

[0023] 本发明涉及局部应用药物制品和防止癌症治疗副作用的方法。本发明尤其涉及递送血管收缩剂分子来保护癌症患者的皮肤、毛囊和胃肠和泌尿生殖道粘膜内的非肿瘤性上皮细胞,以避免癌症化疗和/或放疗引发的副作用。

[0024] 本发明几个方面之一是提供了减轻患者治疗副作用引发的症状的方法。该方法包括施用在药学上可接受递送载体中包含有效缓解治疗(例如用一种或多种化疗试剂、放疗或其组合进行的治疗)副作用的量的血管收缩剂的制品。各种优选实施方式中,由副作用引起的病症包括脱发、皮炎、粘膜炎、胃肠不适或直肠炎中的一种或多种。

[0025] 一实施方式中,缓解了一种或多种皮肤、头皮、口、直肠、鼻食道系统、胃肠系统或泌尿生殖系统的非成瘤细胞中与副作用有关的症状。某些实施方式中,预防性施用所述制

品,例如在化疗、放疗或组合疗法开始前或在由副作用引发的损害发生前。目前某些优选的实施方式均针对粘膜炎症和直肠炎,这是两种此类治疗中普遍和疑难的副作用。某些实施方式中,所述制品由递送载体配制来将血管收缩剂最好地递送到目标粘膜细胞处,例如针对直肠炎时递送到结肠或直肠粘膜,针对粘膜炎症(例如口腔粘膜炎症)时递送到口腔粘膜。

[0026] 如下面更具体所述,目前优选的用于本发明方法和制品中的血管收缩剂包括但不限于:肾上腺素、苯福林(phenylephrine)、甲氧明(methoxamine)、去甲肾上腺素、佐米曲坦(zolmitriptan)、四氢唑林和萘甲唑林或其组合。本领域技术人员明白也可使用上述化合物的组合,因此它们同样属于本发明范围内。目前本发明各种实施例中优选的 $\alpha$ 肾上腺素能受体拮抗剂包括但不限于哌唑嗪、多沙唑嗪、特拉唑嗪、阿夫唑嗪、坦索洛新及其组合。

[0027] 另一实施方式中,所述方法还包括在治疗后给予有效量的包含药学上可接受的递送载体中的 $\alpha$ 肾上腺素能受体拮抗剂的制品,而将化合物递送到需要接受含血管收缩剂制品的细胞中。此类方法适用于缓解与将敏感的组织暴露于血管收缩剂有关的影响。优选此类拮抗剂与具有保湿或润滑性的组分例如递送载体一同施用而进一步缓解血管收缩剂带来的任何干燥影响。

[0028] 本发明的另一方面,提供了用于保护患者细胞免受治疗(例如用化疗试剂或辐射)毒性影响的药物制品。所述制品包含至少一种血管收缩剂和药学上可接受的适合递送血管收缩剂到服务于组织的血管的递送载体。其它实施方式中,所述制品还包含一种或多种添加剂,例如调味剂来改善用于口服给药到对象的制品的口感。优选实施方式中,所述血管收缩剂是肾上腺素、苯福林、甲氧明、去甲肾上腺素、佐米曲坦、四氢唑林或萘甲唑林或其组合。

[0029] 一些实施方式中,制品包含肾上腺素。优选浓度为约5-1500mM,更优选为约100-1500mM。同样优选的组合物的浓度为约5-100mM、约50-250mM,约100-1000mM或甚至1500nM。或者,某些实施方式采用约0.009-11%的肾上腺素。同样优选的是浓度为约0.009-0.9%、约0.1-0.5%、约0.5-11%和约1.1-11%的组合物。

[0030] 其它实施方式中,药物制品包含苯福林,其优选浓度为约10-5000mM,优选约250-5000mM。同样优选的是浓度为约10-100mM、50-250mM、100-500mM和250-2500mM或更高的组合物。本发明还可采用含有约0.03-25%苯福林的组合物。同样优选的是那些浓度为约0.03-0.22%、约0.20-1.5%、约1.5-5%和约5-25%的制品。

[0031] 其它实施方式中,药物制品包含去甲肾上腺素,其优选浓度为约4.5-1500mM,优选为约100-1500mM。其它优选范围包括约4.5-50mM、40-100mM、75-250mM、10-500mM、200-800mM或100-1500mM或更高。

[0032] 另一实施方式中,药物制品包含甲氧明,优选浓度为约10-5000mM,优选为约250-5000mM。其它优选范围包括约10-100mM、50-250mM、200-1000mM、250-2500mM或更高。或者,组合物包括约0.01-25%。同样优选的是浓度为约0.01-0.5%、约0.5-1%和约1-25%的制品。

[0033] 另一实施方式中,本发明的药物制品还包含自由基清除剂。这对由治疗时形成的自由基所带来的氧化损伤尤其有用。

[0034] 另一实施方式中,药物制品包含一种或多种药学上可接受的递送载体,其包括脂质体、脂滴乳剂、油脂、聚氧乙烯醚的水性乳剂、含水醇混合物、含丙二醇的含水乙醇混合

物、药学上可接受的凝胶的含水缓冲液、改性纤维素的含水缓冲液、改性纤维素的醇-水缓冲混合液、改性纤维素的醇-水缓冲-丙二醇混合液、或二甘醇单乙醚的含水缓冲液。目前优选的是含水醇混合物和含丙二醇的含水乙醇混合物。同样优选的是例如在醇-水缓冲丙二醇混合物中基于改性纤维素的递送载体,具体是羟丙基甲基纤维素。

[0035] 在本发明的其它方面,它提供用以有效量存在的血管收缩剂临时收缩表皮血管来减少到达细胞(优选为表皮或毛囊内的干细胞)的全身化疗剂量的方法。其它实施方式中,血管收缩剂的浓度足以临时收缩表皮血管来减少到达表皮或毛囊内干细胞的充氧血液的量。某些实施方式中,血管临时收缩从而减少位于这类干细胞附近的化疗剂量,还减少充氧血液的量。其它实施方式中,以有效量存在的血管收缩剂能够临时收缩表皮血管来减少表皮血管中存在的和到达口腔粘膜内干细胞的全身化疗剂量,或临时收缩表皮血管来减少表皮血管中存在的和到达口腔粘膜内干细胞的充氧血液量。

[0036] 另一实施方式中,皮肤的局部制品的配制可以提供预防性剂量的肾上腺素,能够有效预防放疗引发的皮炎或放疗或化疗引发的脱发,而剂量足够低到可以避免或将坏死性局部毒性或可能引发不希望的全身性或心脏副作用的肾上腺素透皮的概率降到最低。

[0037] 其它实施方式中,特别为皮肤配制局部递送载体,优选能够保证血管收缩剂穿透角质层到达服务于表皮和毛囊干细胞的基层真皮血管,却消除或限制血管收缩剂分布于皮肤和毛囊以外。血管收缩剂分布优选相对局限于施用部位。

[0038] 其它实施方式中,所选的血管收缩剂可以促使皮肤或粘膜血管收缩,而不会如二元 $\alpha$ 和 $\beta$ 肾上腺素能激动剂像肾上腺素那样引起任何不良心脏副作用的实质性风险。目前一优选实施方式中, $\alpha_1$ 肾上腺素能受体特异性激动剂用作局部施用的血管收缩剂。并非打算将本发明限于任何特定操作理论,然而由于这类血管收缩剂是高度选择性的激动剂,因此他们可以提供有用的特性。本领域技术人员会明白二元 $\alpha$ 和 $\beta$ 肾上腺素能激动剂像肾上腺素产生不良心脏副作用的原因是他们会干扰影响心率的 $\beta_2$ 受体。目前优选的用于本发明各种实施方式中的 $\alpha_1$ 肾上腺素能受体特异性激动剂的例子是苯福林和甲氧明。目前优选的较少选择性的 $\alpha_1$ 肾上腺素能受体特异性激动剂,同时又是 $\beta_1$ 肾上腺素能受体特异性激动剂但不是 $\beta_2$ 肾上腺素能受体特异性激动剂的例子是去甲肾上腺素。还考虑过将上述化合物的组合物用于本发明。

[0039] 本发明的另一实施方式中,配制的局部制品能够减少或优选能够预防接受放疗或全身化疗或组合治疗或连续治疗的癌症患者的口腔粘膜炎。配制的制品可以提供最小剂量的肾上腺素、苯福林、去甲肾上腺素或甲氧明或其组合,来减少或完全预防口腔粘膜炎。优选的制剂同样配制有一定剂量的肾上腺素、苯福林或甲氧明或其组合,却不会引起口腔粘膜的任何显著的坏死性毒性。

[0040] 在作为口腔粘膜炎预防药的其它实施方式中,为了使口腔施用药物为人类癌症患者所接受,采用低却具有保护性剂量的肾上腺素、苯福林、去甲肾上腺素或甲氧明或其组合来减少或将口服施用制品的任何不良感知特性降到最低。此类不良感知性质可以包括但不限于:由血管收缩剂分子所带来的“药物”口感或苦味。优选实施方式中,往制品中添加一种或多种化合物例如调味剂或添加剂来减少、掩盖或消除此类不良感知特性,从而增加癌症患者对制品的口腔接受度。

[0041] 口腔粘膜炎治疗的另一实施方式中,该方法包括在放疗或化疗治疗后用含水局部

递送载体中的局部 $\alpha$ 肾上腺素能受体拮抗剂(例如哌唑嗪)治疗口腔,来消除或使局部血管收缩剂治疗引发的口干燥降到最低的步骤。另一实施方式中,该方法通过施用含水润滑泡沫或在血管收缩剂治疗后用来重建直肠粘膜分泌物和功能的栓剂中的 $\alpha$ 肾上腺素能受体拮抗剂来预防直肠炎,并治疗直肠。

[0042] 本发明另一实施方式中,配制的局部制品用于减少或预防由化疗引起的口腔粘膜、胃肠不适,或在接受较低腹部放疗后在直肠内局部发生粘膜炎的患者的直肠炎。这些实施方式中,制品优选包含能够与药学上有效浓度的血管收缩剂一起有效覆盖例如口咽粘膜、胃或十二指肠粘膜、或直肠粘膜的粘膜粘连分子。

[0043] 本发明的另一方面,提供保护细胞,优选是非成瘤细胞免遭癌症化疗或放疗的破坏的方法。该方法包括通过以能保护非成瘤细胞免遭放疗或癌症化疗破坏的有效量将所述制品施用到上皮细胞群落一定时间来治疗患者。该方法也可以包括将 $\alpha$ 肾上腺素能受体拮抗剂施用到受感染粘膜局部来缓解血管收缩的步骤。优选此类治疗有助于重建湿润的具有功能的粘膜局部。优选实施方式中,通过将制品施用到头皮而将该方法用于预防癌症治疗期间的脱发。另一实施方式中,通过口服给予该制品而将该方法用于预防由癌症治疗引起的胃肠不适。另一实施方式中,通过对身体适当部位局部施用该制品而将该方法用于预防化疗或放疗引起的粘膜炎。还有另一实施方式中,通过将该制品用于皮肤而将该方法用于预防放射引发的放射部位处的皮炎、皮疹和溃疡。

[0044] 可以从以下具体描述、实施例和表格中更完整地理解本发明的这些和其它特征。

[0045] 附图简要说明

[0046] 图1为大鼠皮肤的组织截面图。它显示表皮和毛囊内的干细胞以及毛囊周围向真皮和重叠的皮肤结构提供血液的真皮血管的位置。

[0047] 图2为如何将乙醇递送载体中的染料(Nile Red,FW:318)分子局部施用到大鼠皮肤,使其通过角质层渗透表皮,通过囊球底部渗透整齐排列的毛囊。

[0048] 图3显示去甲肾上腺素在含有乙醇、丙二醇和水混合物的各种局部药物制剂中的溶解度。填充圆圈代表去甲肾上腺素可溶的点;空白圆圈代表去甲肾上腺素不可溶的点。

[0049] 图4显示单次局部施用所述药物制剂后,人胸部皮肤转白反应与时间关系的曲线图。

[0050] 图5显示单次局部施用所述药物制剂后,人上臂皮肤转白反应与时间关系的曲线图。

[0051] 图6嵌图A显示对人臂部单次局部施用肾上腺素后,皮肤转白反应与时间(以小时表示)关系的曲线图。

[0052] 嵌图B显示对人臂部局部一系列施用肾上腺素后,皮肤转白反应与时间(以首次局部施用肾上腺素后经过的小时表示)关系的曲线图。

[0053] 图7

[0054] 嵌图A:局部施用血管收缩剂引起人或大鼠皮肤转白;

[0055] 嵌图B:在静脉输注或口服给药一段时间后血液中的化疗试剂(例如环磷酰胺(Cytosan))被系统性地清除。环磷酰胺的清除半衰期约1小时;

[0056] 嵌图C说明局部施用血管收缩剂快速使皮肤转白,与递送到治疗区域的血液减少一致。“\*\*”符号表示局部血管收缩剂“提前”15-20分钟施用到皮肤。

[0057] 嵌图D:在给予单次i.p.剂量环磷酰胺(30 $\mu$ g/gm b.w.)前2小时内用950mM肾上腺素局部施用10天大幼鼠4次进行治疗的结果;

[0058] 嵌图E是人皮肤和大鼠皮肤(10天和22天大)转白反应对血管收缩剂浓度所作的图。

[0059] 图8显示大鼠中环磷酰胺引发的脱发的剂量依赖性。在环磷酰胺剂量为20 $\mu$ g/gm b.m.和更低时,治疗大鼠皮毛直到成年依旧完整。

[0060] 图9显示与放射后测定的放射性皮炎预防有关的放射前可见皮肤转白估测。

[0061] 嵌图A:用200mM去甲肾上腺素治疗

[0062] 嵌图B:用100mM肾上腺素治疗

[0063] 图10显示放射性皮炎严重性与放射前提供的血管收缩剂局部治疗的量和时间的关系。

[0064] 图11描述了用血管收缩剂局部治疗的叙利亚金仓鼠口腔粘膜内的转白反应。

[0065] 图12描述了增加放射剂量引起仓鼠颊囊模型中口腔粘膜炎症严重性增加。以合适剂量合适递送载体局部施用血管收缩剂可以预防放射引发的口腔粘膜炎症,而当与40Gy放射剂量结合时,高浓度可以对口腔粘膜产生严重毒性。

[0066] 图13显示局部施用(-)肾上腺素影响人口腔粘膜中观察到的粘膜转白程度。显示了口腔粘膜和嘴唇的最大转白反应(%)与局部治疗后经历时间的图。

[0067] 图14显示将去甲肾上腺素在乙醇:PG:水递送载体中施用于剃毛的大鼠后背后引起皮肤血管收缩,与递送到去甲肾上腺素治疗过的皮肤的全身性血液携带的色素分子显著减少相一致。

[0068] 发明详述

[0069] 本发明提供保护患者体内非成瘤快速分化细胞免受对患者施用的化疗试剂或放疗的毒性影响的药物制品和方法。具体地本发明的制品和方法被设计来保护上皮细胞。最具体的靶点是毛囊内壁上皮细胞和皮肤、口腔、直肠、胃肠和泌尿生殖道的上皮和/或粘膜细胞。一实施方式中,通过将所述制品局部施用到头皮而将制品用于减少或预防癌症治疗中的脱发。另一实施方式包括通过口服给予所述制品来减轻或预防癌症治疗引起的胃肠不适。另一实施方式包括通过将所述制品局部施用到身体合适部位来减轻或预防化疗或放疗引起的粘膜炎症。还有另一实施方式中,通过将所述制品施用到皮肤而将其用于预防放射引发的皮炎、皮疹和放射部位溃疡。

[0070] 本发明人已找到能够有效预防化疗和放疗引发的不良副作用的血管收缩剂分子。特别设计出配制在递送载体中的血管收缩剂来局部施用到口腔或直肠、胃肠或泌尿生殖道的皮肤或局部。这些局部制品可以保护正常的非成瘤细胞免受癌症治疗的伤害。通过最低程度渗透给定组织到达血管收缩剂的局部施用位点,它们可以在计划位点产生局部保护作用。局部血管临时收缩可减少递送到欲保护的有危险非成瘤细胞的全身化疗试剂以及氧气的量。而且,局部递送血管收缩剂将减少或完全避免任何全身性分布血管收缩剂,部分因为血管收缩剂作用于皮肤或粘膜的自限性,通过收缩本来会将其进行全身分布的血管,该药物自己积极促成它的自限性分布。

[0071] 本发明其它方面能够直接调控:i)血管收缩剂的浓度来达到效用却避免能引起粘膜表面坏死的毒性;ii)局部递送载体对待治疗皮肤和/或粘膜层的渗透性(例如,一实施方式中改变载体中醇、丙二醇、水的百分比),和对粘膜表面的粘连性;iii)制品的口味,保证



癌症患者能够最大程度忍受口服。在本发明的几个其它方面,它还提供局部使用的 $\alpha$ 肾上腺素能受体拮抗剂来缓解口服施用血管收缩剂后可能发生的口腔干燥,和避免由于血管收缩剂结合多个肾上腺素能受体位点而可能发生的副作用(例如, $\alpha$ 和 $\beta$ 肾上腺素能受体激动剂肾上腺素可能引发不良心血管副作用,而选择 $\alpha_1$ 肾上腺素能受体特异性激动剂苯福林和甲氧明则不会引发这些副作用)。

[0072] 尽管通过全身分布血管收缩剂也有可能远距离保护肿瘤细胞,但 $\alpha$ 和 $\beta$ 激动剂例如肾上腺素的全身性分布带来的不良心脏副作用是众所周知的。因此,本文教导的方法和组合物提供了皮肤或粘膜所需的局部血管收缩剂作用而避免全身给药带来的副作用。正常组织的预期保护包括恰当选择血管收缩剂与合适的递送载体结合,选择和优化特异性施用位点(例如,皮肤、口腔粘膜、直肠粘膜等)。通过选择可用的血管收缩剂和递送载体组分,局部配制的血管收缩剂可用于保护任何局部递送可以到达的对癌症治疗副作用敏感的正常细胞类型。

[0073] 本发明揭示了血管收缩剂分子可以被有效局部递送到有危险的非成瘤细胞位点,在那里结合血管壁细胞内的肾上腺素能受体,引起血管收缩,通过这么做,临时减少递送到局部有危险的非成瘤细胞处的血液携带的化疗药物或氧气的量。获得的好处是大大减少局部有危险的正常干细胞的凋亡,缓和化疗或放疗相关副作用。本方法的关联或代用的可见标记物可以在局部施用去甲肾上腺素或肾上腺素的皮肤中(例如,人和大鼠)真切地看到,或浓度高2-3倍的苯福林一般会引起可见的皮肤转白。当局部治疗时,放射照射可见转白的大鼠皮肤,在转白区域可以完全预防皮炎(实施例2)。同样的现象可以在针对粘膜炎(实施例4)和脱毛(实施例3)的啮齿动物模型中观察到。

[0074] 然后,在将本发明各种实施方式中找到的要素与现有技术进行的比较中,可以得到以下观察结果。首先,据我们所知,至今尚未有文献描述过局部施用血管收缩剂可以抵抗全身施用化疗药物而给予保护。第二,本发明通过用局部施用的血管收缩剂来保护有危险非成瘤干细胞的方法在本发明各个元素中并非显而易见。例如,尽管Vasin等描述了局部施用 $\alpha$ 肾上腺素受体激动剂(苯福林)能够对小鼠皮肤提供放射保护(Vasin, M等, Radiatsionnaia Biologiia, Radioecologiia 44(1):68-71, 2004),但他们没有教导过设计药物制品来将血管收缩剂递送到基部血管,却既不杀伤表面上皮细胞,也不会使血管收缩剂生物分布于全身。这些是整合方法实现局部放射保护而避免远距离全身影响的重要元素。的确,放射保护或化学保护性化合物的全身生物分布可能产生保护肿瘤本身不受治疗的不良作用或会引起毒性副作用(例如, $\beta_2$ 肾上腺素受体激动剂全身治疗的人体内可能产生的心脏毒性)。当前的文献没有或极少提供有关如何选择能将足够血管收缩剂递送到基部血管而既不会杀伤局部上皮细胞也不会使血管收缩剂分布到全身的局部递送载体的领悟。类似地,文献也没有提供随细胞毒性药物代谢和/或从血液中清除而发生在长时间暴露于血液携带的化疗试剂时提供保护所需的局部应用疗法。文献同样没有教导过高剂量肾上腺素或苯福林可引起口腔粘膜的坏死性组织损坏。根据本发明的某些实施方式,提供动物试验系统来证明肾上腺素、去甲肾上腺素和苯福林的效用和毒性、并确定无毒但有效的局部剂量以及毒性坏死性剂量。此外,尽管已报道口腔局部施用0.1%肾上腺素能降低小鼠口腔内放射损伤,并没有提示说人口腔使用血管收缩剂溶液时必需使用调味剂。而且,没有教导说化疗和放疗恐慌过去后,口腔局部递送 $\alpha$ 肾上腺素能受体拮抗剂能快速重建湿润、润

滑、有功能的粘膜局部。

[0075] 简单而言,当特异性地针对每种设想的局部应用配制血管收缩剂时,它能提供有效预防癌症患者中由化疗和放疗所引发的副作用的方法。

[0076] 局部递送载体。除了药学上有效浓度的血管收缩剂,本发明制品还包含局部递送载体。所述局部递送载体的作用是携带血管收缩剂到为靶定的细胞群或组织服务的局部血管,来保护这些细胞或组织免受癌症治疗副作用影响。

[0077] 术语“局部”指以局部而非全身作用方式进行给药。为了抑制癌症治疗的副作用,重要的是将血管收缩剂递送到计划位点而限制其全身分布。限制性血管收缩剂全身分布将有利于避免肾上腺素活性剂带来的已知心脏副作用同时限制远处成瘤细胞暴露于血管收缩剂。利用非侵袭性局部递送系统在皮肤或粘膜内局部递送血管收缩活性剂具有许多吸引人之处,包括:i) 由于该方法的非侵袭性,患者易于接受,ii) 避免胃肠消化药物,和iii) 避免胃肠递送分子的首次经肝脏代谢。许多用于本发明局部递送载体的组分如下所列。尽管局部递送载体由这些已知能充分递送有机小药物分子进入皮肤的元素组成,也已知局部递送对于递送相同药物进入全身效力非常低下。作为例子,已经证明2%米诺地尔局部制剂中的米诺地尔仅在浓度为1-3%时才能全身生物提供。对本发明各方面同样重要的是,因为血管收缩剂可有效收缩血管而使其无法分布到全身,因此它们能提供一种显著的、额外的留在局部的性质。

[0078] 皮肤递送系统。皮肤递送系统通常制备成溶液、乳液或乳霜、凝胶或脂质体悬液的药物组成。这些皮肤或真皮递送形式的主要类型的描述、组成、产品和适用性如下简要所述。

[0079] 皮肤是一种总厚度在2-3mm的复合多层器官。皮肤主要由两层组成,真皮层和表皮层。真皮层为表皮层提供生理支撑,由结缔组织、神经、血液和淋巴管、皮脂和汗腺组成。图1显示大鼠皮肤横截面中这些组织元素的结构。表皮约100um厚,有许多层组成。生发层是含有表皮干细胞的表皮的基底层。基底层上面是棘层、颗粒层、透明层,最后是角质层。每一层均处于不同的分化阶段;分化时细胞从基底层移动到表面角质化形成角质层。角质层由扁平的填充角蛋白形成器细胞组成。角质层内的脂阵列由胆固醇、游离脂肪酸和神经酰胺组成的双层脂膜构成。角质层和脂阵列层对大部分局部递送物质的低渗透率负主要责任。角质化的脂阵列是经皮吸收分子的主要屏障,但能使角质层脂阵列松动或流化的分子无疑会加强物质渗透皮肤的能力。为了这个目的而采用的一些普通渗透剂包括醇、磷脂酰胆碱和脂质体。

[0080] 皮肤真皮层内还包括其它一些结构,包括皮脂(油脂)腺、外分泌腺(汗腺)和毛囊。而大部分毛囊位于真皮层内,毛囊本身由专门的表皮细胞组成。毛囊由外基底层和包围毛干的内外根鞘组成。毛发底部,基质细胞和真皮乳头一起产生毛干。

[0081] 活性剂溶于溶剂中的溶液是最普遍的局部药物制剂。溶剂基系统是简单却可接受的局部递送载体。醇是最普遍采用的局部溶液溶剂。通常,药物会与水和醇混合物混合。醇含量在10-100%间变化。使用的醇包括乙醇、丙二醇、聚乙二醇、甲醇或丁二醇。高含醇量的溶液例如含70%醇的水溶液或那些含有例如60%乙醇、20%丙二醇和20%水的溶液尤其善于渗透表皮的角质层。局部米诺克星(minoxil)即毛发再生治疗剂采用后一配剂作为递送载体。

[0082] 溶液基递送系统适合递送有机小分子。本发明优选实施方式中,特别是针对将血管收缩剂施用到表皮干细胞时,含醇溶液则特别合适。已证明水醇基递送载体能有效局部递送血管收缩剂(实施例1、2、3、4)。该递送系统的其它优点包括易于制造、在皮肤上快速干燥和配制后易于分析活性药物化合物。

[0083] 本发明某些实施方式优选关注皮肤应用,优化乙醇、丙二醇和水的百分比使其足以将肾上腺素、苯福林、去甲肾上腺素或甲氧明递送到皮肤血管,来实现临时血管收缩,通过这样做,为表皮和毛囊干细胞提供保护。主要的皮肤血管位于真皮内,广泛形成包围毛囊球的血管网(如图1所示)。局部药物递送到该血管主要通过“横贯毛囊”递送完成,即局部施用的醇:水溶液从毛干通道传递到毛囊球,然后扩散通过包含毛囊球的干细胞到达包围球的真皮血管。为了局部溶液能够到达真皮血管,局部递送载体中含有的最少百分比的醇优选能够:i)溶解或软化人毛干通道内的皮脂油,和ii)渗透该油-角质层阵列。图2显示当将醇:水溶液应用于大鼠皮肤时,荧光染料(Nile Red,FW:320)渗透角质层和基部表皮以及它渗透每个毛囊通道一路通过囊球基底。

[0084] 当施用局部血管收缩剂时,如在实施例1和相关大鼠皮肤实验中,也获得表明局部施用血管收缩剂确实有效到达和收缩真皮血管的功能性结果(例如皮肤转白)。通过目测,例如转白等,可以提供“代用结束点”,从而能够快速估测治疗或推定治疗。利用这类代用结束点可以帮助研究新的或改良的局部制剂。如实施例中所述,期待的结果例如减轻或预防与全身使用化疗试剂或放疗的副作用有关的皮炎、脱发、粘膜炎和其它病症,与目测转白等结果高度相关。

[0085] 本发明一方面包括优化局部溶剂递送载体使得足以将血管收缩剂递送到目标血管而不损上其上面的上皮表面。表2-1、3-1和4-1给出了这个例子。表2-1中,血管收缩剂被以足够剂量递送到真皮血管来实现血管收缩和放射保护。所用载体的醇浓度范围为55(25:30;乙醇:丙二醇)-100(0:100;乙醇:丙二醇)%。表3-1中,55%的醇载体对照看似对皮肤无毒,对毛发生长没有影响。表4-1显示针对口腔粘膜表面的带有少到10%的醇(5:5;乙醇:丙二醇)和生理盐水溶液的足以递送到粘膜干细胞以给予放射保护而不损伤粘膜的局部载体(载体对照显示分数为“0”)。将针对皮肤的局部载体(含有50%醇)施用到仓鼠颊囊的早期试验必然导致颊囊“固化”和干燥。将0.87%磷酸缓冲盐水粘膜载体施用到皮肤失败了,因为载体“汇聚成小球”和从皮肤上滚落。

[0086] 凝胶是由浸渍有液体溶剂的胶凝剂组成的半固态物。胶凝剂的浓度和分子量影响载体制剂的稠度。胶凝剂通常是有机大分子或无机小分子的悬液。天然或合成聚合物组成的有机大分子存在随机卷曲的缠乱形成凝胶结构的链。一些这类普通聚合物是天然胶(例如黄原酸胶)和纤维素衍生物(例如羟丙基甲基纤维素[HPMC])。通常可通过运用剪力例如充分混合或通过温度增加来降低凝胶的粘度。用于粘膜表面的本发明优选实施方式(例如实施例4)包括配制包含作为胶凝剂的羟丙基甲基纤维素的水:醇凝胶中的血管收缩剂分子。凝胶由于其相对容易制备和在使用部位能保持很长时间而让活性剂在需要位点持续释放而具有适合局部递送载体的性质。

[0087] 脂质体是优良的用于皮肤应用的递送活性组分的载体。脂质体递送具有多个优点,包括:i)由于脂质体与角质层脂质的高度相容性而能显著加强递送物质在使用部位的积累,ii)轻易将各种各样的亲水和疏水分子递送进皮肤,iii)保护核心化合物不被代谢降

解;和iv)与细胞膜结构极其相似,因此具有相似的生物相容性和生物降解性。脂质体递送系统的缺点包括难以制备和长期稳定性差。

[0088] 粘膜递送系统。本文所述的粘膜递送是指局部递送血管收缩剂到口腔、直肠、胃肠或泌尿生殖道的粘膜。粘膜表面的渗透率非常高,达到皮肤渗透率的400倍。这个结论由表2-1和4-1中的数据清楚地支持,可以看到局部肾上腺素浓度低到50 $\mu$ M时对粘膜位点(仓鼠颊囊)具有足以区分的放射保护作用,而需要提供抗放射皮炎保护时所需的用于皮肤的肾上腺素浓度要 $>\sim 20$ mM。因为粘膜具有高渗透率,因此还需要有注意事项;皮肤上的放射保护性肾上腺素剂量(100mM,表2-1、3-1)当用于保护口腔粘膜时则具有高度坏死性(表4-1)。粘膜活性血管收缩剂可以制成溶液、凝胶或脂质体悬液。由于粘膜表面是发生不良癌症治疗副作用的普遍位点,因此将药物递送到粘膜表面是一条颇具诱惑力的给药路径。

[0089] 粘膜递送的限制是没有载体能够黏附到湿润的粘膜应用位点。往局部制剂中加入粘膜粘着剂可以大大改善递送载体性能。本发明另一优选实施方式中,特征是往血管收缩剂中加入粘膜粘着剂分子。实施例4提供血管收缩剂的两个例子,即将肾上腺素和苯福林配制于含有羟丙基甲基纤维素的粘膜载体中,其治疗粘膜上皮具有生物活性。粘膜粘着剂化合物主要是合成或天然的聚合物,可以粘着到湿润的粘膜表面,或增加对此类表面的粘着力。粘膜粘着剂化合物包括例如合成聚合物例如羟丙基甲基纤维素、 $\alpha$ 氰基丙烯酸酯单体、聚丙烯酸和聚甲基丙烯酸酯衍生物。天然存在的粘膜粘着剂包括例如脱乙酰壳聚糖、透明质酸和树胶,例如黄原酸胶。许多这类粘膜粘着剂化合物被获准可用于药物制品或食品,本文考虑过单独或组合使用一种或多种这类化合物。

[0090] 施用含血管收缩剂的药物制品。根据待保护的目标细胞群和组织,考虑了以下位点可局部施用本发明制品:口、鼻、眼、胃肠、直肠、泌尿生殖系统和皮肤(表皮)。本发明药物制品方便地用生物相容介质例如水、缓冲盐水、乙醇或多元醇(例如,甘油、丙二醇)配制,以便施用。所选介质中特定组合物的浓度取决于介质的疏水或亲水性质,以及配置于介质中的递送载体和活性剂的特性。本领域技术人员可轻易确定溶解度限制。

[0091] 施用药物制品的方法。所述包含本发明的药物制品可以在化疗和/或放疗之前、同时或之后以合适的间隔施用。具体病理中的合适的间隔通常取决于化疗或放疗和待保护的目标细胞群的性质。

[0092] 例如,为了预防化疗引发的脱发,可以配制含有血管收缩剂的溶剂、脂质体或其它递送载体,在化疗或颅部放疗规定施用时间之前预防性地用于患者头皮。通过保护沿毛囊暴露面排列的上皮细胞免受化疗药物损伤,可以预防通常与癌症化疗有关的脱发。同样,为了治疗放射引发的皮炎,或口腔/胃肠粘膜炎,也可以将局部制品预防性用于患者来预防各种副作用。

[0093] 提供以下实施例来说明本发明。它们并非用于以任何方式限制本发明。

[0094] 实施例表格名单

[0095] 表1-1.将乙醇:丙二醇:水递送载体中的肾上腺素或苯福林进行局部施用引起人皮肤血管收缩。

[0096] 表2-1.通过预防性局部施用乙醇:丙二醇:水递送载体中的肾上腺素或苯福林来预防放射引起的皮炎。

[0097] 表3-1.通过预防性局部施用乙醇:丙二醇:水递送载体中的肾上腺素来预防放射

引起的或环磷酸胺引起的脱发。

[0098] 表4-1.通过预防性局部施用乙醇:丙二醇:羟丙基甲基纤维素(HPMC):PBS(磷酸缓冲盐水)递送载体中的肾上腺素或苯福林来预防放射引起的口腔粘膜炎。

[0099] 表5-1.至少添加一种调味剂改良肾上腺素或苯福林溶液所需的口感。

[0100] 表6-1.各种局部制剂的溶解度和血管收缩作用(由对可见皮肤转白的观察所决定)。

[0101] 表7-1.3种局部血管收缩剂制剂对人胸部和臂部皮肤转白的特性。

[0102] 表8-1.多种局部血管收缩剂制剂的组分溶解性、皮肤转白作用和皮肤刺激性的结果。

[0103] 实施例1

[0104] 本实施例显示局部施用乙醇:丙二醇:水递送载体中的肾上腺素或苯福林可以使皮肤发生药物浓度和时间依赖性的转白(血管收缩)。肾上腺素-HCl的0.1%水溶液和苯福林的0.25%水溶液经过180分钟的实验观察期,不会使皮肤产生可察觉的转白。

[0105] 针对这些实验,肾上腺素-HCl(FW:220)溶于所述的50:25:25(乙醇:丙二醇:水)递送载体,苯福林-HCl(FW:204)溶于所述递送载体。将给定的局部血管收缩剂制剂(例如10mM肾上腺素)分成几份,分别(0分钟时30 $\mu$ l,15分钟、30分钟和45分钟时各15 $\mu$ l)施涂在同一块2cm<sup>2</sup>的人皮肤上(手臂上),在所述时间判断皮肤转白评分。结果如表1-1所示。

[0106] 表1-1

	局部血管收缩剂制剂	皮肤转白反应*(%)				
		0 分钟	45 分钟	60 分钟	150 分钟	180 分钟
[0107]	0mM(50:25:35 载体)	0	0	0	0	-
	2mM 肾上腺素	-	10	40	75	-
	10mM 肾上腺素	-	40	60	90	-
[0108]	50mM 肾上腺素	-	30	50	85	-
	100mM 肾上腺素	-	85	90	90	-
	1000mM 肾上腺素	-	85	90	95	-
	0.1%(4.55mM)肾上腺素(溶于水)	-	0	0	0	0
	0mM(60:30:10 载体)	0	-	-	-	0
	30mM 苯福林	-	-	-	-	0
	150mM 苯福林	-	-	-	-	35
	300mM 苯福林	-	-	-	-	50
	1000mM 苯福林	-	-	-	-	60
	2500mM 苯福林	-	-	-	-	70
	0.25%(12.3mM)苯福林(溶于水)	-				0

[0109] \*0%=有杂色的粉色皮肤,100%=白色皮肤,很少杂色

[0110] 实施例2

[0111] 本实施例显示局部施用乙醇:丙二醇:水递送载体中的肾上腺素或苯福林可以以浓度依赖的方式预防放射引发的大鼠皮炎。

[0112] 针对这些实验,肾上腺素-HCl(FW:220)或苯福林-HCl(FW:204)溶于所述局部制剂(见表2-1)。对大鼠(4-5周大,背部事先进行剃光)的背部在-2小时、-1小时、-30分钟和-10

分钟共局部施用4次,然后在0分钟对它们背部4.5cm<sup>2</sup>区域用Cs<sup>137</sup>源进行8.7戈瑞的 $\gamma$ 射线放射。13天后对皮炎严重性评分。

[0113] 表2-1

[0114]	笼#	局部治疗	局部载体配方*	放射皮炎评分 (4.5cm <sup>2</sup> 放射区域中未结痂部分百分比)
	751	载体	25:30:45	6
	753	100mM 肾上腺素	25:30:45	100
	754	100mM 苯福林	25:30:45	45
	756	300mM 苯福林	25:30:45	95
	715	20mM 肾上腺素	50:30:20	32
	716	1000mM 肾上腺素	50:30:20	100

[0115] \*载体用(乙醇%:丙二醇%:水%)表示

[0116] 实施例3

[0117] 本实施例显示局部施用乙醇:丙二醇:水递送载体中的肾上腺素可以以浓度依赖的方式预防由全身放射或环磷酰胺引发的脱毛。

[0118] 针对这些实验,肾上腺素-HCl (FW:220) 溶于所述局部制剂(见表3-1)。对乳鼠(11天大)背部在-2小时、-1小时、-30分钟和-10分钟共局部施用4次,然后对其进行全身放射( $\sim 7.5$ 戈瑞[3.65分钟]或用Cs<sup>137</sup>源进行 $\gamma$ 放射)或单次腹膜内注射环磷酰胺(32 $\mu$ g/gm b.w.)。9天后即在出生第20天对其脱毛严重性评分。

[0119] 表3-1

[0120]	笼#	局部治疗	局部载体配方*	脱毛诱剂	脱毛评分 (局部治疗区域正常覆盖密度百分比)
	751	载体	25:30:45	放射	0
	757	载体	25:30:45	环磷酰胺	0
	757	载体	25:30:45	无	100
	756	1000mM 肾上腺素	25:30:45	无	100
	753	1000mM 肾上腺素	25:30:45	环磷酰胺	40
	647	20mM 肾上腺素	50:25:25	放射	6
	648	100mM 肾上腺素	50:25:25	放射	33
	649	500mM 肾上腺素	50:25:25	放射	45
	650	1000mM 肾上腺素	50:25:25	放射	94
	564	1000mM 肾上腺素	0:100:0	放射	95

[0121] \*载体用(乙醇%:丙二醇%:水%)表示

[0122] 实施例4

[0123] 本实施例显示局部施用粘膜粘着性乙醇:丙二醇:羟丙基甲基纤维素:磷酸缓冲的盐水递送载体中的肾上腺素或苯福林可以浓度依赖性地预防放射引发的口腔粘膜炎。

[0124] 针对这些实验,肾上腺素-HCl (FW:220) 或苯福林-HCl (FW:204) 溶于所述局部制剂(见表4-1)。根据Alvarez等的试验(Clin.Cancer Res.9:3454-3461,2003),用戊巴比妥钠(60 $\mu$ g/gm b.w.)麻醉叙利亚金仓鼠(5周大),用镊子翻开它们左侧颊囊冲洗(用水)吸干,复原颊囊。用Q头棉拭子将 $\sim 0.3$ ml粘膜粘着性局部制剂用于左颊囊内侧(此刻用0分钟表示)。

12分钟后,将左侧颊囊外翻、拉长,用夹子固定在直径~2cm的塑料盘上。用Q头棉拭子再次施用局部制剂使其均匀覆盖颊囊外翻的内表面。20分钟后,将覆盖有载体的固定颊囊拖进并放到穿透2.5cm厚铅板的直径1.5cm的开窗上。将麻醉中的仓鼠固定于平板上的小架子上让其颊囊通过窗口接受放射。然后铅板即位于仓鼠和Cs<sup>137</sup>射线源之间,对颊囊完成定时放射。

[0125] 放射后,颊囊用水冲洗、吸干并复原。16天后按照以下标准对放射颊囊的粘膜炎严重性进行评分。

[0126]	评分标准:	红斑程度:	0(无) - 5(最坏)
		肿胀程度:	0(无) - 4(最坏)
		萎缩/硬化程度:	0(无) - 4(最坏)
		假膜出现:	0(无) - 4(最坏)

[0127] 粘膜炎严重性评分: 总数 = 0(无) - 17(最坏)

[0128] 表4-1

笼#	局部治疗	局部载体配方*	放射时间	粘膜炎严重性评分
实验 C				
774	载体	5:5:3:87	0 分钟	0
774	载体	5:5:3:87	14 分钟	3.0
774	载体	5:5:3:87	18 分钟	6.0
775	载体	5:5:3:87	20 分钟	8.3±0.3
775	载体	5:5:3:87	26 分钟	11.5
775	0.00mM 肾上腺素	5:5:3:87	20 分钟	8.3±0.3
777	0.05mM 肾上腺素	5:5:3:87	20 分钟	7.5
778	0.10mM 肾上腺素	5:5:3:87	20 分钟	5.0
778	0.20mM 肾上腺素	5:5:3:87	20 分钟	3.0
[0129] 778	0.40mM 肾上腺素	5:5:3:87	20 分钟	0
实验 B				
766	载体	0:0:3:97	24 分钟**	8.0±1.7
765	13.5mM 肾上腺素+ 12.3mM 苯福林	0:5:3:92	24 分钟	11.7±0.7
767	12.3mM 苯福林	0:5:3:92	24 分钟	5.0±0.1
实验 A				
759	载体	5:0:1:94	24 分钟**	8.9±0.1
760	100.00mM 肾上腺素	5:0:1:94	24 分钟	14.5±2.4
761	500.00mM 苯福林	5:0:1:94	24 分钟	9.0

[0130] \*载体用(乙醇%:丙二醇%:HPMC%:PBS%)表示

[0131] 0.10%肾上腺素-HCl=4.55mM

[0132] 0.25%苯福林-HCl=12.3mM

[0133] \*\*尽管暴露了24分钟,但由于正对Cs<sup>137</sup>源,这些动物接受到的戈瑞剂量与实验C中动物20分钟接受的量类似

[0134] 实施例5

[0135] 本实施例显示人对象对0.1%肾上腺素或0.25%苯福林水溶液具有“令人不快的”口感进行评分,加入调味剂遮盖口味可获得巨大、显著(2.7-3.1倍)改善,使口味描述者将其归到“令人非常愉悦的”范围内。高度优选采用此类改善以获得患者对使用这些口服局部溶液来预防放疗或化疗引发的口腔粘膜炎的最大耐受。用于部分或完全遮盖令人不快的口味的调味剂为本领域已知,技术人员明白甜味剂和其它调味剂可用于配制提高了口味或接受度的溶液。

[0136] 针对这个实验,如表5-1所述配制口味测试溶液。将每种溶液取1ml放入仅用字母标示的玻璃瓶中。要求对象品尝和在如表5-1所示评分表上记录对每种溶液的评分。一些对象表示瓶M和N“尝起来像药”或“苦”。

[0137] 表5-1



[0138]

样品	口味的令人愉悦程度评分 0-10 0=令人不快的 10=令人非常愉悦
M 0.1%肾上腺素 99%水	$3.3 \pm 0.7$
N 0.25%苯福林 99%水	$2.5 \pm 0.5$
O 0.1%肾上腺素 0.25%樱桃口味调味剂* 16%蔗糖 84%水	$8.3 \pm 0.5$
P 0.1%肾上腺素 0.25%留兰香油* 16%蔗糖 84%水	$8.8 \pm 0.6$
Q 0.1%肾上腺素 0.25%薄荷油 <sup>+</sup> 16%蔗糖 84%水	$8.3 \pm 0.5$
R 0.25%苯福林 0.25%樱桃口味调味剂* 16%蔗糖 84%水	$7.8 \pm 0.5$
S 5%NaCl 5%NaHCO <sub>3</sub> 90%水	$0.5 \pm 0.3$

[0139] \*S19樱桃口味调味剂;LorAnn Oils,Inc,Lansing,MI

[0140] \*\*S59留兰香油;LorAnn Oils,Inc.

[0141] +S48薄荷油;LorAnn Oils,Inc.

[0142] 实施例6

[0143] 本实施例涉及比较在含有不同比例的水、乙醇和PG的递送载体中的不同酒石酸去甲肾上腺素溶液、酒石酸肾上腺素和盐酸苯福林溶液。

[0144] 将等分的每种血管收缩剂盐称取分装进玻璃检测管中。然后加入获得所述药物终

浓度所需体积的液体。每种稀释溶液的组成(乙醇:丙二醇(PG):水)百分比(体积:体积:体积)如表6-1所示。

[0145] 表6-1

稀释组合 物 乙醇:PG: 水 体积:体积: 体积	血管收缩剂 浓度(mM)	完全溶解血管收 缩剂盐所需的热 (100℃时秒数)	皮肤转 白 <sup>1</sup>	~22℃24 小时 后样品状态	4℃24 小时 后样品状态
12:30:58	750 NEp <sup>2</sup>	0	++	清澈	清澈
12:30:58	450 NEp	0	+	清澈	清澈
12:30:58	600 NEp	0	++	清澈	清澈
15:30:55	1000 NEp	0	+++	清澈	清澈
40:30:30	300 NEp	2	++	清澈	清澈
45:25:30	600 NEp	2	++	清澈	清澈
15:30:55	600 NEp	0	++	清澈	清澈
44:18:33	600 NEp	2	+++	清澈	清澈
40:25:35	600 NEp	2	+++	清澈	清澈
45:25:30	600 NEp	2	+++	清澈	清澈
50:20:30	600 NEp	1	++++	清澈	清澈
50:25:25	600 NEp	1	++++	清澈	清澈
50:30:20	600 NEp	1	++++	清澈	清澈
55:20:25	600 NEp	1	+++++	沉淀	沉淀
60:20:20	600 NEp	2	+++++	清澈	清澈
33:33:33	1800 NEp	18	- <sup>7</sup>	沉淀	沉淀
0:50:50	1800 NEp	6	-	沉淀	沉淀
0:80:20	1800 NEp	24	-	沉淀	沉淀
50:30:20	750 Epi(±) <sup>3</sup>	0	+++	清澈	清澈
15:30:55	1000 Epi <sup>4</sup>	0	+++	清澈	清澈
20:30:50	1500 Epi	0	++++	清澈	清澈
60:0:40 <sup>6</sup>	1500 Epi	0	+	清澈	清澈
15:30:55	2500 PhE <sup>5</sup>	8	+	清澈	沉淀
12:30:58	3300 PhE	8	+	沉淀	沉淀
10:30:60	4000 PhE	12	<+	沉淀	沉淀
10:30:60	5000 PhE	12	<+	沉淀	沉淀
10:30:60	5500 PhE	16	<+	沉淀	沉淀

[0148] <sup>1</sup>局部施用20分钟后人皮肤转白程度(++++=90-100%转白)

[0149] <sup>2</sup>NEp:L(-) 酒石酸去甲肾上腺素

[0150] <sup>3</sup>Epi(±):(±) 肾上腺素-HCl

[0151] <sup>4</sup>Epi:L(-) 酒石酸肾上腺素

[0152] <sup>5</sup>PhE:R(-) 苯福林-HCl

[0153] <sup>6</sup>60:0:40: 异丙醇:PG:水

[0154] <sup>7</sup>未检测

[0155] 表明每种稀释液中溶解血管收缩剂盐所需的近似热量。一旦稀释,就将样品密封

和室温(～22℃)保存24小时,然后4℃24小时。首次混合后马上将新鲜配制的清澈制剂用于人皮肤上来评价局部制剂引起的皮肤转白。经过48小时观察期后监测药物溶液是否出现沉淀物。

#### [0156] 实施例7

[0157] 本实施例显示含有至少50%乙醇加比例变化的PG和水的检测溶液获得的效果。

[0158] 称取L-(-)-酒石酸去甲肾上腺素放入玻璃小瓶(1.5ml)。然后往每个小瓶中加入百分比(体积:体积:体积)如图3所述的由乙醇:丙二醇(PG):水组成的溶剂。如果需要,通过将小瓶与沸水浴接触1秒钟增量,然后漩涡搅拌直到清澈。将密封小瓶置于室温24小时,4℃24小时。在这两个24小时的培育期间,用放大镜观察每个小瓶中的液体来确定是否形成任何结晶物质。如果形成晶体,将该溶剂混合物中的去甲肾上腺素标示为“不溶”。图3中的数据显示去甲肾上腺素溶解度的不可预知的双模态模型。溶解区域(例如约50:30:20和约60:10:30)被无法溶解去甲肾上腺素的溶剂制剂(例如55:20:25)所隔开。

[0159] 选择3种制剂A、B和C来确定其它特征(表7-1)。每种制剂3等分也施用到人上臂和上胸部皮肤上。局部使用60分钟后,监测局部施用部位的皮肤转白并目测评分(以皮肤转白百分比表示)。在12分钟(胸部)或20分钟(手臂)时记录到皮肤转白。局部施药后1个小时,触碰这些部位来判断皮肤上残留了哪些可察觉的残留物,如果有的话。皮肤转白在溶液中含醇量较高时最为激烈,施用部位“残留物”的量直接反映了制剂中丙二醇的量。可以通过局部部位的“粘”性来检测残留物。胸部和手臂的结果如图4和5分别所示。

#### [0160] 表7-1:

	样品	制剂	制剂密度(gm/l)	皮肤转白 <sup>1</sup> %		局部部位的“粘性残留物”
				胸部	手臂	
[0161]	A	50:30:20	0.983	28	7	++++
	B	60:15:25	0.961	47	34	+++
	C	70:0:30	0.931	67 <sup>2</sup>	48 <sup>3</sup>	0

[0162] <sup>1</sup>将～80μl制剂用Q头施用于～1cm<sup>2</sup>人皮肤上;目测皮肤转白程度(1-100%),在局部施用12分钟(胸部)或20分钟(手臂)时评分

[0163] <sup>2</sup>p=0.001比A组

[0164] <sup>3</sup>p=0.001比A组

#### [0165] 实施例8

[0166] 本实施例显示在人皮肤中皮内递送去甲肾上腺素时人皮肤中已知增透剂具有的作用。

[0167] 为了得到最安全、最有效的局部递送去甲肾上腺素到正常角质化的人皮肤以下的真皮血管的方法,往由水和所述增透剂组成的局部递送制剂中加入L-(-)酒石酸去甲肾上腺素。

[0168] 在获得的清澈的含去甲肾上腺素的溶液样品中,取一等分(～100μl)用棉拭子施用于人前臂皮肤～1cm<sup>2</sup>区域。施用60分钟后目测评分施用部位下方皮肤转白(即真皮血管收缩)程度。

[0169] 结果如下表8-1所述。

#### [0170] 表8-1

300mM NBp <sup>1</sup>	液相	增透剂				共溶组分	皮肤放射	皮肤转白 <sup>2</sup>
		乙醇						
+	水	乙醇				有	无	0
+	水	乙醇		0.8%SLS <sup>3</sup>		有	无	0
+	水	乙醇		0.8%SLS		有	轻度	+
+	水	乙醇				有	无	+
+	水	乙醇			5%薄荷酮	有	轻度	++
+	水	乙醇			5%柠檬烯	无	- <sup>6</sup>	-
+	水	乙醇	Transcutol <sup>4</sup>			有	无	++++
+	水	乙醇	Transcutol	0.4%SLS		有	无	++++
[0171]	+	水	乙醇	PG <sup>5</sup>		有	无	++++
+	水	乙醇	PG	0.3%SLS		有	无	++++
+	水	乙醇	PG		5%薄荷酮	有	无	+++
+	水	乙醇	PG	0.2%SLS	5%鲸蜡醇	无	-	-
+	水	乙醇	PG	0.2%SLS	5%1-二十二醇	无	-	-
+	水	乙醇	PG	0.3%SLS	5%薄荷酮	有	有	+++++
-	水	乙醇	PG	0.3%SLS	5%薄荷酮	有	有	-
600mM NEp								
+	水	乙醇	PG			有	无	+++++
750mM NEp								
[0172]	+	水	乙醇	PG		有	无	+++++

[0173] <sup>1</sup>NEp:L(-) 酒石酸去甲肾上腺素

[0174] <sup>2</sup>局部施用20分钟后人皮肤转白程度(+++++=90-100%转白)

[0175] <sup>3</sup>SLS:十二烷基硫酸钠

[0176] <sup>4</sup>Transcutol:二甘醇单乙基醚

[0177] <sup>5</sup>PG:丙二醇

[0178] <sup>6</sup>-:未检测

[0179] 实施例9

[0180] 本实施例显示单次局部施用局部递送载体中的肾上腺素或去甲肾上腺素可以快速引发皮肤转白,包括在人头皮上,而且多次局部施用可以获得持续的皮肤转白反应,这可能与2-3小时持续提供抗全身化疗保护有关。

[0181] 通过将血管收缩剂盐晶体溶于50:30:20的乙醇:PG:水混合物中而制备750mM的L-(-)-酒石酸肾上腺素或L-(-)-酒石酸去甲肾上腺素溶液,并局部施用于人手臂皮肤(图6,嵌图A、B)或头皮上。局部施用后一定时间记录下数码图像来记录皮肤转白程度,证明皮肤转白限制在施用局部药物的部位。将一等分(40μl)药物制剂用于~1cm<sup>2</sup>皮肤上来获得~30微摩尔/平方厘米的局部剂量。在手臂和头皮施用部位,局部药物施用10分钟后可见到部分皮肤转白,15分钟后可见到完全皮肤转白(嵌图A和B)。头皮处的去甲肾上腺素施用部位包括无发的前额部位和覆盖头发的头皮部位,在这些连续区域转白反应的快速出现和消退相同,对皮肤或头发没有明显毒性。

[0182] “皮肤转白”区(人或大鼠中)的特征是在其峰值(100%)会出现皮肤边界非常明显的一块白色皮肤。这种转白随时间会自发消退变成无明显边界的具有周围皮肤颜色的皮肤。

[0183] 单次局部药物施用(参见例如图6的嵌图A)能使皮肤快速转白和相对快速地将转白消退。期望单次施用方案可适用于治疗每周5天每天放射2-3分钟的癌症放疗患者。

[0184] 多次局部药物施用(图6的嵌图B)能使皮肤持续转白。多次药物施用观察到的血管收缩放开更慢的特征使其可被期望适用于治疗每3-4周一次,每次1-2小时接受静脉化疗

的癌症化疗患者。

#### [0185] 实施例10

[0186] 本实施例显示局部施用适当递送载体中的肾上腺素到10天大幼鼠仅引起施用部位区域皮肤转白,在用 $\gamma$ 射线全身处理动物后,同一块区域仍保留完整正常的皮毛生长。

[0187] 在动物接受 $\text{Cs}^{137}$ 源发出的7.5戈瑞全身 $\gamma$ 射线之前,将950mM的溶于50:30:20的乙醇:PG:水中的(±)肾上腺素-HCl(epi)溶液,或仅载体施用于10天大乳鼠背部(在-120、-60、-30和-10分钟分别为40 $\mu\text{l}$ 、25 $\mu\text{l}$ 、25 $\mu\text{l}$ 、25 $\mu\text{l}$ )。在特定时间点,记录数码图像来显示肾上腺素-HCl处理大鼠中的皮肤转白区域。在仅用载体的大鼠身上未见皮肤转白。在30分钟和60分钟直到120分钟局部肾上腺素-HCl施用,肾上腺素处理过的皮肤区域内可见白色皮肤区域,通常是交叠的在120分钟时会聚成单个转白区域。对20天大的大鼠经局部肾上腺素-HCl处理和第10天的放射后仍保留皮毛的区域进行比较,表明放射前在那些动物中先看到一个皮肤转白区域,在20天大动物中看到一个个得到保护的皮毛区域。对大多数在出生第10天用肾上腺素局部处理,然后放射的大鼠而言,覆盖肾上腺素处理皮肤的皮肤转白汇合区域与第20天的受保护皮毛汇合区域有关。在放射前仅用载体局部处理的动物在放射前未显示出可察觉的皮肤转白,在第20天评分时皮毛已完全脱落。大鼠第20天时仍保留有受保护毛皮区域,其整合进动物的成熟皮毛中,在全身放射后会再次生长。

#### [0188] 实施例11

[0189] 本实施例说明了在本发明一个实施方式的动物模型中预防化疗引发的脱毛。

[0190] 局部施用血管收缩剂例如去甲肾上腺素或肾上腺素引起人或大鼠皮肤转白(参见例如图7的嵌图A)。多次施用可以使皮肤转白在自发消退前持续2-3小时或更久。当血管收缩时,流到真皮血管内和表皮、毛囊等中依赖性干细胞的血液大大减少。

[0191] 静脉输注化疗剂例如环磷酰胺后(如图7的嵌图B所示),一段时间后药物会从血浆中被全身性清除。环磷酰胺的清除半衰期约1小时(嵌图B)。

[0192] 嵌图C说明当将局部血管收缩剂例如肾上腺素施用于皮肤时,皮肤会快速转白。皮肤转白反应与递送到皮肤的血液减少一致。如果“提早”15-20分钟(参见\*\*图7的嵌图C的注释)将局部血管收缩剂施用到皮肤,例如头皮,递送到皮肤和其干细胞的血液会减少而化疗试剂例如环磷酰胺的全身血液水平处于其最高水平(例如0-2小时)。

[0193] 补充实施例中,我们显示了环磷酰胺剂量减少30%可以可见地完全保留大鼠皮毛,环磷酰胺剂量减少20%可以是癌症患者保留“美容上可接受的”头发。

[0194] 对嵌图D,在接受单次剂量的环磷酰胺(30 $\mu\text{g}/\text{gm b.w.}$ )腹膜内施用前2小时,用950mM肾上腺素局部处理10天大的乳鼠4次。经局部肾上腺素处理的区域在第20天仍保留有保护好的皮毛,而仅用局部载体处理的区域没有保护好的皮毛。在肾上腺素处理的10天大大鼠中看到的部分皮毛得到保护与相比更老的大鼠(或人),在10天大大鼠皮肤上看到的对血管收缩剂的反应较小(和相对短暂维持的适度皮肤转白)相一致(嵌图E)。

#### [0195] 实施例12

[0196] 本实施例有助于确定流到含有毛囊的皮肤中的血液的减少百分比,从而预防环磷酰胺引起的脱发。

[0197] 对10天大的Sprague-Dawley大鼠(每治疗组4只动物)腹膜内注射以所述剂量溶于水的环磷酰胺(环磷酰胺;Sigma#C0768)。出生第20天,对每只动物的后背皮毛密度进行目

测评分,以占未处理的20天大大鼠的正常皮毛密度的百分比表示。结果如图8所示。30 $\mu$ g/gm b.w.环磷酰胺和更高剂量时,大鼠在第20天毛就脱光了;20 $\mu$ g/gm b.w.环磷酰胺或更低剂量时,大鼠直到成年均稳定保留完整皮毛。

[0198] Davis,S.T.等 (Science 291:134-137,2001) 提到由于癌症化疗毛发密度会丧失高达50%,癌症患者仍然认为这是美容上可以接受的。根据图8数据,这个观察提示递送到毛囊干细胞的血液携带的环磷酰胺剂量减少20-30%就可以在化疗后获得美容上可接受的头发密度。

[0199] 实施例13

[0200] 本实施例显示用去甲肾上腺素或肾上腺素处理的大鼠皮肤中皮肤转白减少伴有抗 $\gamma$ 射线放射皮肤后常发生的2-4级皮炎的保护。

[0201] 夹去覆盖成年鼠(40-45g)后背的皮毛。将含有200mM去甲肾上腺素或100mM肾上腺素的等分(100 $\mu$ l)局部药物制剂施用一次到大鼠背部,在起始时间点之后,使局部治疗区域内的矩形(1.5cm x 3cm)区域接受来自Cs<sup>137</sup>源的8.8戈瑞剂量的 $\gamma$ 射线照射。临放射前,也对局部治疗区域内的皮肤转白程度进行目测评分(0-100转白%)。放射前,用30 $\mu$ g/gm b.w.戊巴比妥钠将动物麻醉。放射后,将大鼠放回笼中,13天后对放射矩形区域内放射性皮炎严重性目测评分和照相。结果如图9所示。“放射性皮炎严重性评分”在0到100之间表示放射后第13天由结痂物质所覆盖的放射区域百分比。用8.8戈瑞剂量的 $\gamma$ 射线的载体治疗动物在放射矩形发生3级-4级皮炎(即%结痂)。“放射性皮炎预防%”评分(如图9所示)等于[100-放射性皮炎严重性评分]。

[0202] 单次局部施用乙醇:PG:水递送载体中的去甲肾上腺素或肾上腺素对产生从检测的早期时间点(3分钟)到至少45分钟的“放射性保护窗”非常有效。放射开始时皮肤转白程度与放射性保护程度之间具有强的正相关。直到最早的时间点(例如3分钟),8.8戈瑞的 $\gamma$ 放射剂量(1.72Gy/分钟)花了5.1分钟才获得在放射期间本身可能发生的显著的额外转白。

[0203] 实施例14

[0204] 本实施例显示在去甲肾上腺素处理的大鼠皮肤中诱导皮肤转白会伴有完全的抗6MeV电子束放射皮肤后正常发生的2级皮炎的保护。

[0205] 夹去覆盖成年鼠(40-45g)后背的皮毛。将含有300mM去甲肾上腺素的等分(100 $\mu$ l)局部药物制剂施用一次到大鼠背部,在起始时间点之后,使局部治疗区域内的矩形(1.5cm x 3cm)区域接受来自线性加速器的27戈瑞剂量的6MeV电子照射。放射前,用30 $\mu$ g/gm b.w.戊巴比妥钠将动物麻醉。放射后,将大鼠放回笼中,13天后对放射矩形区域内放射性皮炎严重性目测评分和照相。“放射性皮炎严重性评分”在0到100之间表示放射后第13天由结痂物质所覆盖的放射区域百分比。

[0206] 结果如图10所示。单次局部施用乙醇:PG:水递送载体中的去甲肾上腺素对产生从检测的早期时间点(2分钟)到45分钟的“放射性保护窗”非常有效。直到最早的时间点(2分钟),27戈瑞的6MeV电子花了7分钟才获得在放射期间本身可能发生的显著的额外转白。

[0207] 实施例15

[0208] 本实施例显示局部施用适当递送载体中的肾上腺素可以引起快速的完全的口腔粘膜转白。

[0209] 为了确定局部施用血管收缩剂是否可以引起口腔粘膜转白反应,将含有肾上腺素

或苯福林的制剂局部施用到叙利亚金仓鼠口腔粘膜颊囊上。利用仓鼠颊囊来研究化疗或放疗引发的粘膜炎症已有报道(Alvarez,E等人Clin.Cancer Res.,9:3454-3461,2003)。用戊巴比妥钠麻醉仓鼠,用镊子将其颊囊外翻,用水冲洗,吸干,用无菌钢夹将其固定于直径2cm的惰性塑料盘上(参见图11的嵌图)。将在5:1:94(乙醇:羟丙基甲基纤维素:磷酸缓冲盐水[PBS])局部递送载体中含有10mM肾上腺素-HCl或10mM苯福林-HCl的局部制剂或仅递送载体施用于颊囊表面。记录数码图像。

[0210] 局部治疗30分钟后,仅施用载体的颊囊看起来与治疗前相比没有区别(参见图11的嵌图A和B)。用局部肾上腺素或苯福林治疗的颊囊变成白色和半透明状,没有在未治疗或载体治疗对照中见到的组织样“粉红”色(图11的嵌图C和D)。其它治疗组中,第30分钟的转白程度取决于用于局部制剂的肾上腺素或苯福林的浓度。当将局部肾上腺素或苯福林制剂施用到复位到麻醉仓鼠颊部的颊囊内,然后外翻和在30分钟后照相时,可观察到类似的转白反应。

[0211] 实施例16

[0212] 本实施例显示在所述仓鼠模型中, $\gamma$ 射线辐射剂量增加会使口腔粘膜炎症严重性增加,在合适递送载体中局部施用的肾上腺素剂量的增加可以完全预防所述辐射引发的口腔粘膜炎症,即将一剂量(10mM溶液) $\alpha 1$ 肾上腺素能受体特异性激动剂,苯福林施用到颊囊可以完全预防辐射引发的口腔粘膜炎症,而在40戈瑞剂量的 $\gamma$ 射线情况下,非常高剂量局部肾上腺素或苯福林施用会对口腔粘膜产生严重毒性,在不伴有40戈瑞 $\gamma$ 射线时这种情况完全不会发生。

[0213] 采用公开的仓鼠模型(Alvarez,E等,Clin Cancer Res.9:3454-3461,2003)来确定局部施用合适递送载体中的血管收缩剂是否可以预防粘膜辐射或全身化疗引起的口腔粘膜破损和粘膜炎症。

[0214] 在标准实验中,用镊子将麻醉动物的左侧颊囊外翻,洗净其内容物,吸干,然后将其复原或复位到仓鼠颊部内原来位置。仓鼠的口腔颊囊容积可以容纳200-300 $\mu$ l液体而完全不会流出。因此,可以通过将液体吸入颊囊“容器”中而轻易将药物“局部”施用到颊囊内粘膜表面。填充颊囊,短暂等待,然后在辐射前清空是模拟人采用的“漱口和吐掉”方法。对大多数实验而言,与其采用简单的液体制剂,还不如用含有胶凝剂例如1-3%羟丙基甲基纤维素(HPMC)的液体。将该含有感兴趣的血管收缩剂的室温下的松散凝胶利用棉拭子(Q头)施用到颊囊内部。处于该动物的体温下,它会变成软的流动性粘膜粘着性溶液,能有效覆盖其所施用到的整个表面。

[0215] 通常,5-20分钟治疗后,将局部“填充的”颊囊用镊子小心地外翻,吸干其内容物,然后将颊囊展开用夹子横跨固定在惰性塑料盘上(直径2cm,参见图11的嵌图B)。然后用棉拭子再次将局部药物制剂涂覆到固定的颊囊所暴露的“内”表面上。然后将固定的颊囊和仓鼠小心地放到铅板(2.5cm厚)上,当平板放进Cs<sup>137</sup> $\gamma$ 辐照器内时颊囊正好静置在正对Cs<sup>137</sup>源的小窗上。用其它铅板组装成仅当颊囊被辐射时动物可以躺的小外壳。

[0216] 用粘膜粘着性局部递送载体在20分钟辐射过程中帮助使粘囊表面保持湿润和覆盖有药物,当辐射时固定的颊囊表面呈垂直状态的情况下特别有帮助。

[0217] 在暴露时间达14-30分钟时观察到粘膜炎症严重性增加;暴露24分钟约等于Alvarez等(2003)采用的40戈瑞暴露。辐射结束时,用水冲洗颊囊,吸干,和将它复位到仓鼠颊部内

的正常位置。将麻醉动物唤醒,16天后(Alvarez等,2003)将动物再次麻醉,将颊囊外翻照相。

[0218] 辐射后16天进行“粘膜炎严重性评分”。总分结合了以下亚分:红斑(0-5)、水肿(0-4)、组织硬化(0-4)、假膜形成(0-4)。粘膜炎严重性评分在11-13范围内的严重性类似于人3级粘膜炎。11-13分时可以看到散块状假膜溃疡,和严重的红斑和水肿;囊也变得更硬而难以在塑料盘上展开。

[0219] 图12显示各种重要的结果:i)粘膜炎严重性评分随 $\gamma$ 射线辐射增强而增加;ii)局部施用到粘膜表面的(-)肾上腺素剂量增加可提供抗 $\gamma$ 辐射诱发的病状的保护,400 $\mu$ M即具有完全的保护性;iii)局部施用10mM苯福林(一种没有心脏相关副作用的 $\alpha$ 1肾上腺素能受体特异性激动剂)到粘膜表面具有完全的保护性;iv)大大过量的(-)肾上腺素或苯福林组合,在24分钟辐射( $\sim$ 40戈瑞)时会引起严重的粘膜病状;和v)大大过量的(-)肾上腺素或苯福林在没有辐射时不会引起可识别的粘膜病状。

[0220] 局部施用苯福林(10mM),一种没有心脏相关副作用的 $\alpha$ 1肾上腺素能受体特异性激动剂,同样能有效地完全预防 $\gamma$ 辐射引发的粘膜炎。

[0221] 实施例17

[0222] 本实施例显示将合适的局部递送载体中的肾上腺素施用到人口腔粘膜可以引发持续的粘膜转白,预期可提供抗全身化疗和外线束辐射的保护。

[0223] 本实验中,将(-)酒石酸肾上腺素溶于乙醇:磷酸缓冲的盐水:羟丙基甲基纤维素:调味剂:载体中,然后用载体稀释成浓度为1mM或10mM。将肾上腺素早期施用到舌头上显示它具有温和的“药物般的”口感,因此往递送载体中加入樱桃口味调味剂(LorAnn Oils, Inc)和一等分的浓缩蔗糖溶液。在第一个20分钟内,用1mM溶液将Q头打湿和擦拭下唇及下唇附近的口腔粘膜。观察轻微转白反应,然后用10mM溶液将Q头打湿然后用于在接下来50分钟内擦拭下唇及口腔粘膜4次。结果如图13所示。拍照然后记录观察到的粘膜转白程度。在10mM(-)肾上腺素局部治疗开始20分钟内,就看到清晰的嘴唇和粘膜转白,如图所示,持续 $1\frac{1}{2}$ -2小时后需要3小时才会自发消退恢复成正常唇色粘膜。

[0224] 这些结果原则性地证明,可以把血管收缩剂局部施用在人口腔粘膜,并可以在足够长的时间内使人口腔粘膜持续转白,从而避免把含有化学治疗剂的血浆递送到粘膜结构中,同时从循环的血管中逐渐清除掉化学治疗剂。

[0225] 实施例18

[0226] 确定能对放射性粘膜炎或辐射引起脱发提供100%保护的血流减少%。

[0227] 本实施例显示施用到大鼠后背的乙醇:PG:水递送载体中的去甲肾上腺素会引起真皮血管收缩。与此一致,去甲肾上腺素处理的大鼠皮肤内所皮肤递送的全身性血液携带的染料分子在显著减少。去甲肾上腺素浓度(300mM)和采用的递送载体(50:30:20)与平行实验中采用的那些相同,它们表明能例如对外线束辐射( $\gamma$ 或电子束)提供完全的保护。

[0228] 局部施用去甲肾上腺素后从皮肤中除去全身性染料:

[0229] 用300mM去甲肾上腺素或仅用载体局部处理10分钟后,给每只实验大鼠以腹膜内推注注射400 $\mu$ l黑色染料溶液。对患者皮肤颜色进行比色计测量,记录从0-30分钟的进展。在图5中绘制0分钟读数和所述时间点读数之间的色度计单位变化图。利用CR-400色度计(Minolta Corp.)进行皮肤颜色的色度计检测。



[0230] 色度计读数表明在30分钟时间点时,递送到经去甲肾上腺素处理皮肤上的全身性血液携带的染料分子减少了39%。两只大鼠补充处理获得同样的结果。观察到染料排除现象的发生和持续(图14)与0分钟时用300mM乙醇:PG:水递送载体中的去甲肾上腺素局部处理的大鼠获得的放射性粘膜炎“保护窗”相同。

[0231] 实施例19

[0232] 为了递送到角质化皮肤和头皮中真皮内血管的血管收缩剂加载体的示例性制剂。

[0233] 本文所述的许多应用优选提供血管收缩剂到达人和其它哺乳动物中角质化皮肤和头皮的角质层表面以下约1mm处的真皮内血管的递送。图1显示形成在毛囊基部包围“毛球角质化细胞”的小血管;这些细胞是暴露于辐射或全身性化疗的哺乳动物启动的细胞凋亡机制的主要目标。

[0234] 真皮血管为真皮乳头处的毛囊细胞提供营养,这些血管与毛球角质化细胞紧密联系。

[0235] 优选的使局部施用的血管收缩剂到达真皮血管的递送需要:

[0236] i) 如果要预防脱发,或者如果要预防放疗患者上胸部和腋窝的放射性粘膜炎,在目标皮肤区域,例如头皮表面上,涂布均匀的含药物溶液,

[0237] ii) 使其渗透含油脂的角质层直接弥散进真皮,和弥散通过皮脂腺挤到毛囊通道的油性皮脂。

[0238] 在“横贯毛囊”递送中,递送载体优选让皮脂软化和/或溶解,和将含有药物的载体扩散到毛球,扩散通过和包围毛球细胞到达真皮乳头内的血管。

[0239] 将肾上腺素水溶液直接施用到人皮肤上会使溶液“形成小珠”而从皮肤上滚落。实施例1显示与此一致的是经处理皮肤未出现可检测的转白。图2显示当将荧光染料尼罗红(分子量为320;为了比较,酒石酸去甲肾上腺素的总重为337)溶于乙醇载体,然后局部施用到大鼠皮肤上时,在第30分钟,表皮和上面覆盖的角质层均负载上染料分子。每一规律隔开的毛囊都被染色了,而且是等量地染色,而不考虑毛囊直径,这说明染料是等量分布到毛囊结构的所有方向。图2的左侧和右侧嵌图中,真皮内的荧光背景均显著高于组织截面外部的荧光背景,提示染料也以较低浓度发散到真皮连接组织。

[0240] 本文有关局部递送肾上腺素、苯福林和去甲肾上腺素的初步研究部分参考了Tata等(Relative Influence of Ethanol and Propylene Glycol Cosolvents on Deposition of Minoxidil into the Skin(乙醇和丙二醇共溶剂使米诺地尔沉积进皮肤的有关努力).J.Pharm.Sci.,83:1508-1510,1994)的工作,他证明了可以通过两组分乙醇:PG局部递送载体的变体来经皮肤递送米诺地尔。因为去甲肾上腺素和有关儿茶酚胺要么是伯胺要么是仲胺,本发明发现局部递送载体还需要第三种水性组分才能溶解尤其是经发现能对未破损的大鼠或人皮肤提供药物有效性的浓度的儿茶酚胺。尽管目前任何情况下均存在含有这些儿茶酚胺的药物制剂,这些制剂(药物浓度和递送载体)要么不具有实施本发明教导方法的功能,要么对局部施用到人皮肤上时如何实现效力没有用或没有指导性。

[0241] 因此,对施用于癌症患者的磷状(角质化)皮肤来预防脱发或放射性皮炎的有用的局部血管收缩制剂的需求促使本发明人确定几项用于研发优选制剂的标准,这些标准包括:

[0242] i) 快速吸收局部药物制剂,优选在皮肤上不会有不需要的残留;

[0243] ii) 局部施用药物后可快速出现皮肤转白；

[0244] iii) 局部应用药物溶液的pH约等于正常皮肤；

[0245] iv) 溶剂的特点是能溶解高浓度的儿茶酚胺、优选在室温或冷藏温度下长期保存时活性剂基本不会沉淀。

[0246] v) 所需的湿润性，例如，制剂密度(或粘性)足够低到能自发地湿润用来将药物溶液施用到皮肤或头皮的海绵涂拭棒(器)。

[0247] vi) 为了避免与 $\beta_2$ 激动剂有关的任何可能的心脏心动过速/心率失常副作用，血管收缩剂是能使外周血管收缩的 $\alpha_1$ 肾上腺素能受体激动剂，而不是 $\beta_2$ 肾上腺素能受体激动剂。

[0248] 如本文所述，上述要求中的每一个均被成功的达成了。

[0249] i) 描述于实施例7和图3中的实验包括制备和分析系统地改变3种溶剂(乙醇、PG和水)百分比的46种制剂中的600mM酒石酸去甲肾上腺素溶液。对去甲肾上腺素的持续溶解性以及46种制剂中3种的药理学表现评分。在这3种详细研究的制剂，即A(50:30:20;乙醇:PG:水)、B(60:15:25)和C(70:0:30)中，药物施用1小时后检测到A和B在局部处理部位留下不需要的“粘性”残留物。由70%乙醇和30%水组成的制剂C被完全吸收了，在施用后数分钟内未检测到残留物。

[0250] 去甲肾上腺素是一种有效力的药理学活性剂，处于管理的目的将其列为毒素。放疗患者例如6周内每周接受5次治疗。出于安全和对患者简单便利的考虑，局部施用药物应该可以快速吸收来保证每天都可以在治疗皮肤部位(例如，乳腺癌患者的肩部和腋窝)穿上衣服而不会让药物残留在皮肤上，或者例如不会产生不适当的安全隐患—例如积聚在衣物上而在抱小孩时他们会接触到。

[0251] ii) 实施例7和图4和5描述了发生在志愿者胸部和上臂部皮肤的皮肤转白反应的反应时间。对放疗患者而言，因为线性加速器费用昂贵和大部分患者必须在特定几天里进行辐射而不能选择重新安排时间，因此需要紧密控制辐射的时间安排。因此，给定的患者每次就诊时在诊所花费15-20分钟，辐射(例如2戈瑞/天)仅花去其中的1-3分钟。局部施用的血管收缩制剂需要能快速发起皮肤转白反应，使患者可以在预期的放射保护下进行辐射，而不会使辐射设备被无端耽搁。采用大鼠辐射模型的实施例13和14显示转白窗充分预示了放射保护窗。而且，如实施例13中所示，评分范围内，放射性保护略早于转白反应。实施例7中的制剂C，在70:0:30载体中含有600mM去甲肾上腺素，可以甚至在上臂部位快速引起转白反应。上臂看来角质化程度较高，相比测试过的臂部其它地方、胸部或脖子部位反应相对较慢。

[0252] iii) 皮肤正常pH在4-5.5之间，皮肤碱性较高与容纳有较多支持皮肤生长的病原体例如痤疮丙酸杆菌有关。溶解于70%乙醇:30%水载体中的600mM酒石酸去甲肾上腺素制剂(例如制剂C)的未调节pH是4.1。酒石酸上可电离质子的pKa值产生略微酸化的水-乙醇溶液，其与皮肤应用高度兼容而在多次应用后不会感觉到刺激。

[0253] iv) 优选设计的药物制剂的每种制剂元素在产品保质期内均维持可溶。实施例7和图3的数据显示3组分乙醇:PG:水载体中的600mM酒石酸去甲肾上腺素的溶解度的维持并非完全本能。在50:30:20制剂附近发现溶解度“岛”。有些出乎预料地发现酒石酸去甲肾上腺素在仅有乙醇:水的溶液中可稳定溶解。制剂C(70:0:30)提供一种一定浓度的酒石酸去甲

肾上腺素 (600mM) 的稳定溶液,其产生所需转白反应的活性尚可接受。苯福林-HCl,一种 $\alpha_1$ 肾上腺素能受体特异性激动剂,并不是优选的可局部施用到角质化皮肤的血管收缩剂,因为如实施例6所述,它以引起可接受的皮肤转白所需的浓度在局部载体中不能稳定可溶。

[0254] v) 湿润度是本文所述局部制剂的有用特性。制剂C 70:0:30酒石酸去甲肾上腺素溶液的密度(0.931克/升)显著比水小。当将50 $\mu$ l量的制剂C递送到商品化提供的海绵拭棒表面时,该液体可自发使海绵湿润。对癌症患者,这点对将去甲肾上腺素应用到所需部位例如头皮和眉毛来预防脱发而不会流进眼睛等而言很重要。因此,可用来将薄层液体涂到目标部位的海绵拭棒非常有用。这样的海绵拭棒中的一些通过重力来填充,其中裂开的储存瓶中的液体流到海绵顶部,然后用海绵的底部来将溶液施用到皮肤。因此非常有用和高度优选药物制剂可以自发地使拭棒例如海绵湿润而能够将药物施用到头皮或其它角质化皮肤。

[0255] vi) 为了诱发真皮血管收缩,本文采用的局部施用的血管收缩剂分子优选是在真皮管壁内平滑肌细胞质膜上发现的 $\alpha_1$ 肾上腺素能受体激动剂。但是,为了改善药物风险性、对速度调控认可和使医生接受该产品而高度优选的第二需求是该分子不能是 $\beta_2$ 肾上腺素能受体激动剂。 $\beta_2$ 肾上腺素能受体会引起通常与全身或心脏内注射肾上腺素有关的心动过速和/或心律不齐效应。

[0256] 苯福林和甲氧明也许是合理的选择,但如针对苯福林的实施例6所示(还针对甲氧明),当将其施用到未破损人皮肤上时,它缺乏引起皮肤转白的适当能力。应该注意,因为口腔和其它粘膜表面的吸收能力是未破损皮肤的约4000倍,苯福林作为引起粘膜转白和提供与转白表型有关的粘膜放射性保护和化疗保护的活性剂仍然是极好的选择。

[0257] 如表19-1所示,可接受的施用到角质化皮肤的血管收缩剂溶液是去甲肾上腺素。它结合 $\alpha_1$ 肾上腺素能受体的亲和力(效能)稍好于肾上腺素,而且它不是 $\beta_2$ 受体激动剂,所以它不会产生引起心动过速/心律不齐的影响。

[0258]	表 19-1	
	药物	肾上腺素能受体特异性*
	肾上腺素	$\alpha_1$ 、 $\beta_1$ 、 $\alpha_2$ 、 $\beta_2$
	去甲肾上腺素	$\alpha_1$ 、 $\beta_1$ 、 $\alpha_2$
	苯福林	$\alpha_1$
	甲氧明	$\alpha_1$
*Roth,Lefkowitz,Caron,Structure and function of the adrenergic receptor family(肾上腺素能受体家族的结构和功能).Adv.Exp.Med.Biol.308:223,1991.		

[0259] 去甲肾上腺素是一种 $\beta_1$ 肾上腺素能受体激动剂,因此,在血液中的药理学浓度时它可以增加血压。并非将本发明限制在任何特定操作模式,应该相信作为一种血管收缩剂,局部施用(topically applied)到皮肤和通过扩散递送到真皮血管的去甲肾上腺素,其分布受到自身的限制。局部施用去甲肾上腺素除了有其自身限制外,还有两种广泛分布于组织、血液和血液细胞中的有效的酶,COMT(儿茶酚O-甲基转移酶)和MAO(单胺氧化酶)能够降解儿茶酚胺包括去甲肾上腺素。因此,制剂C提供的70:0:30递送载体中的600mM去甲肾上腺素也满足上述标准。

[0260] 重要的是,经过长时间的连续深入筛选和实验,确定了满足上述标准i)到vi)中每个的可接受制剂。以70:30的比例包含EtOH和水的递送载体是有效的。包含约450-750mM去

甲肾上腺素的组合物也是有效的。优选制剂包含500–700mM去甲肾上腺素。还更优选制剂包含约550–650mM去甲肾上腺素。目前优选的实施方式中,发现溶于70%乙醇加30%水的600mM酒石酸去甲肾上腺素满足上述标准,可将血管收缩剂递送到角质化皮肤或头皮组织的真皮血管。

[0261] 技术人员明白本文提供的实施例和描述只是为了进一步描述本发明的各方面,这些方面可以变化和调整而仍然属于附上的权利要求书的范围内。

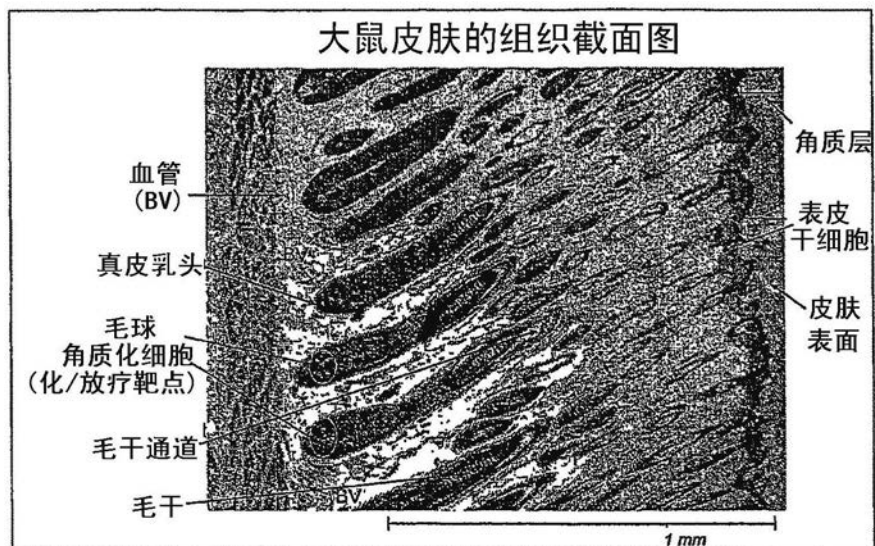
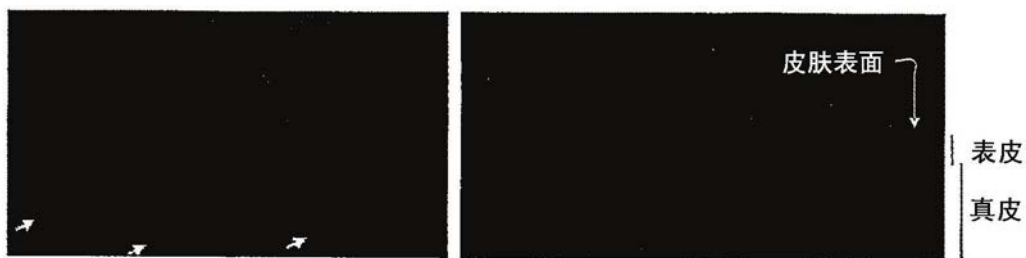


图1



箭头：显示毛囊中红色染料分布  
的毛囊横截面

图2

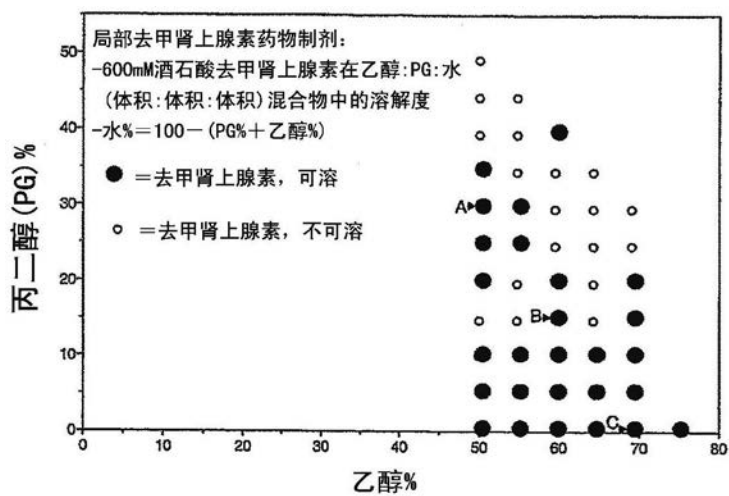


图3

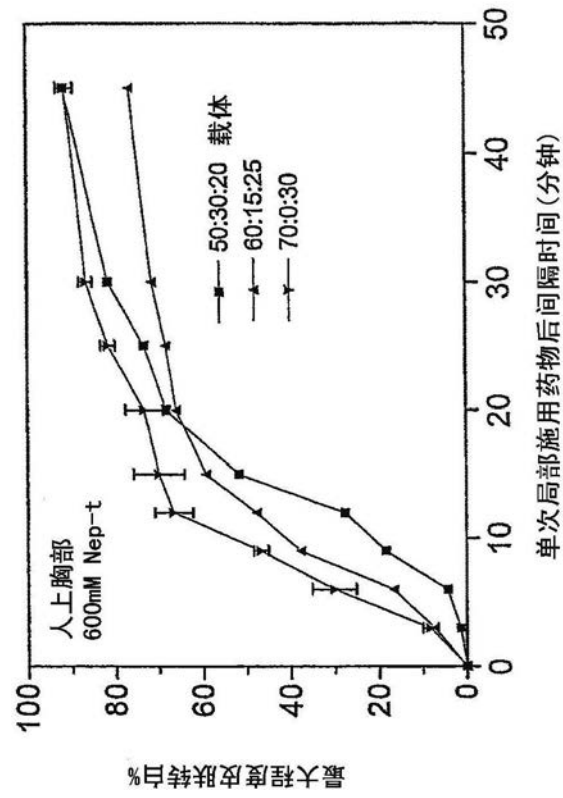


图4

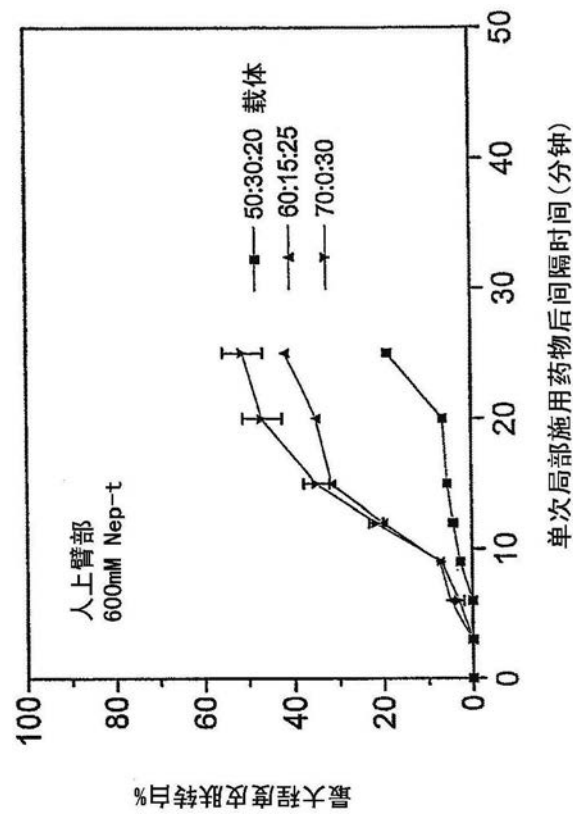


图5

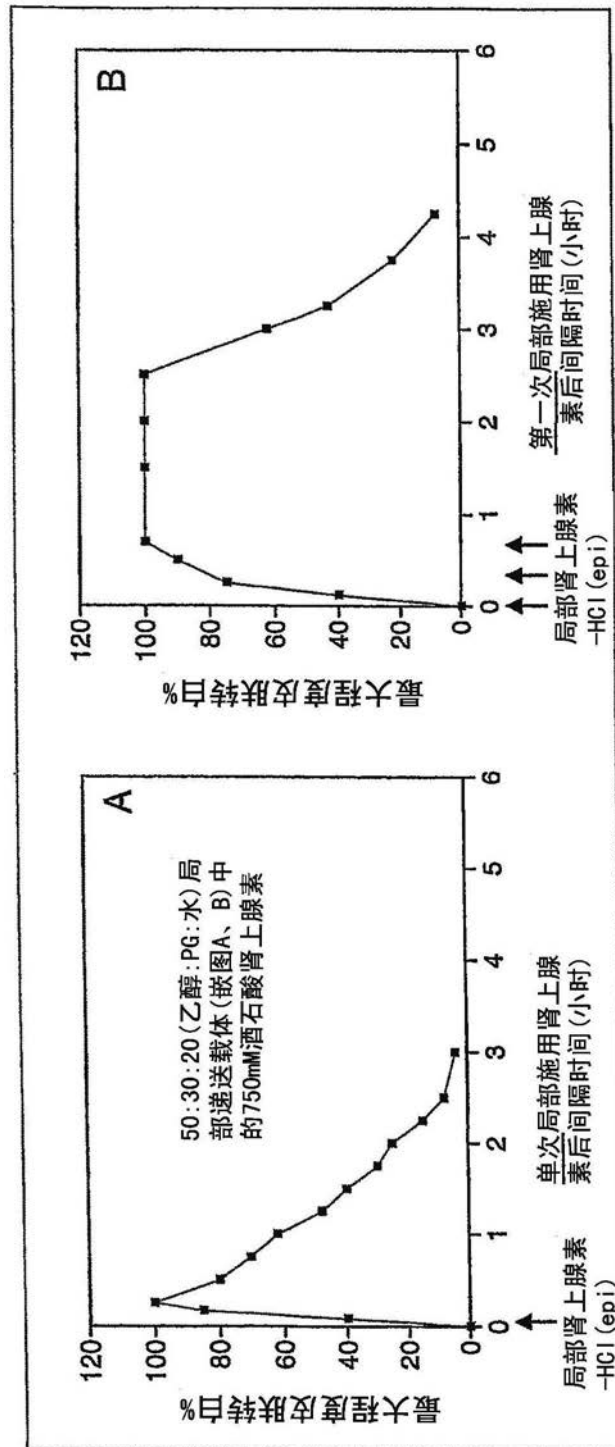


图6



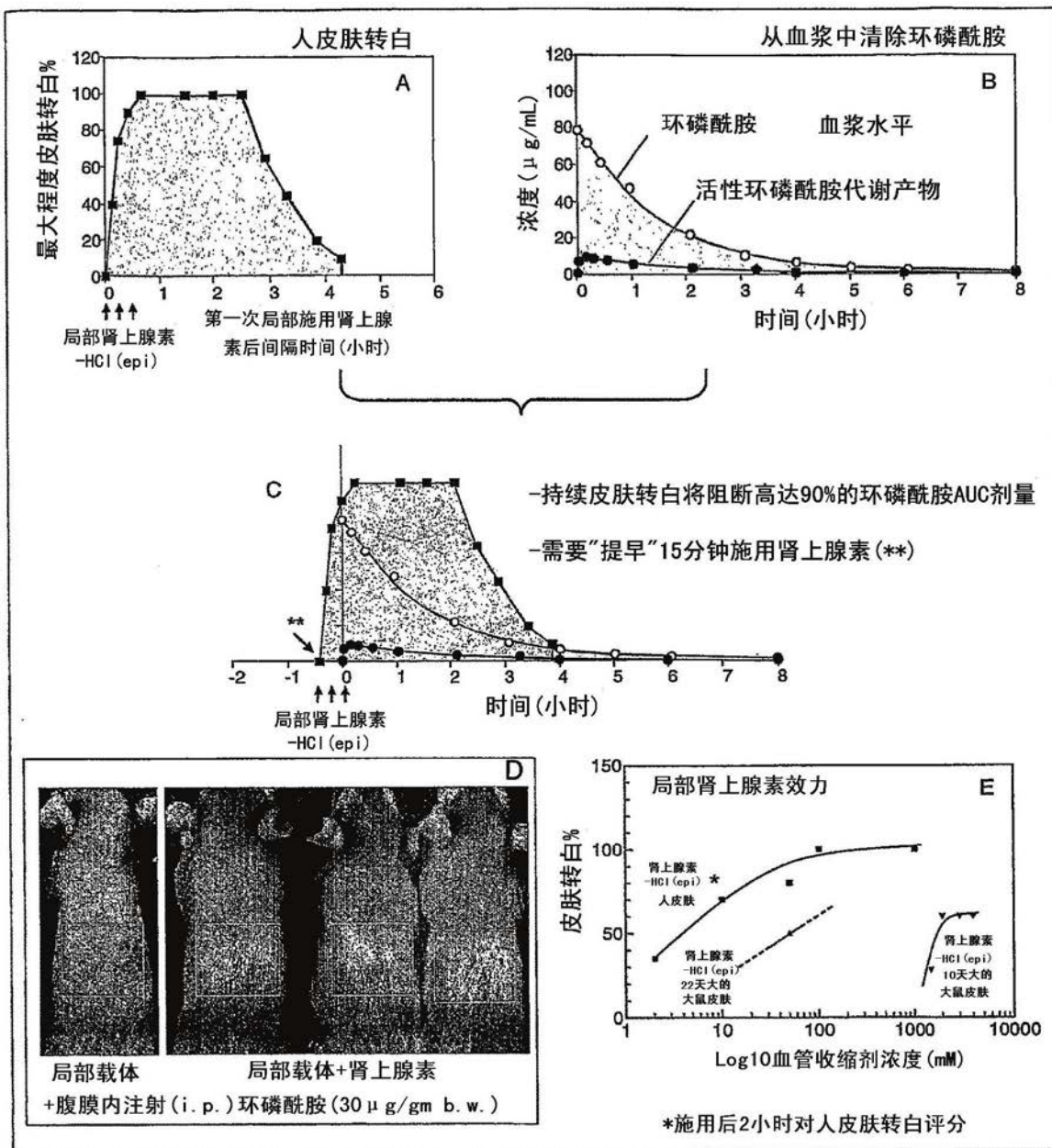


图7



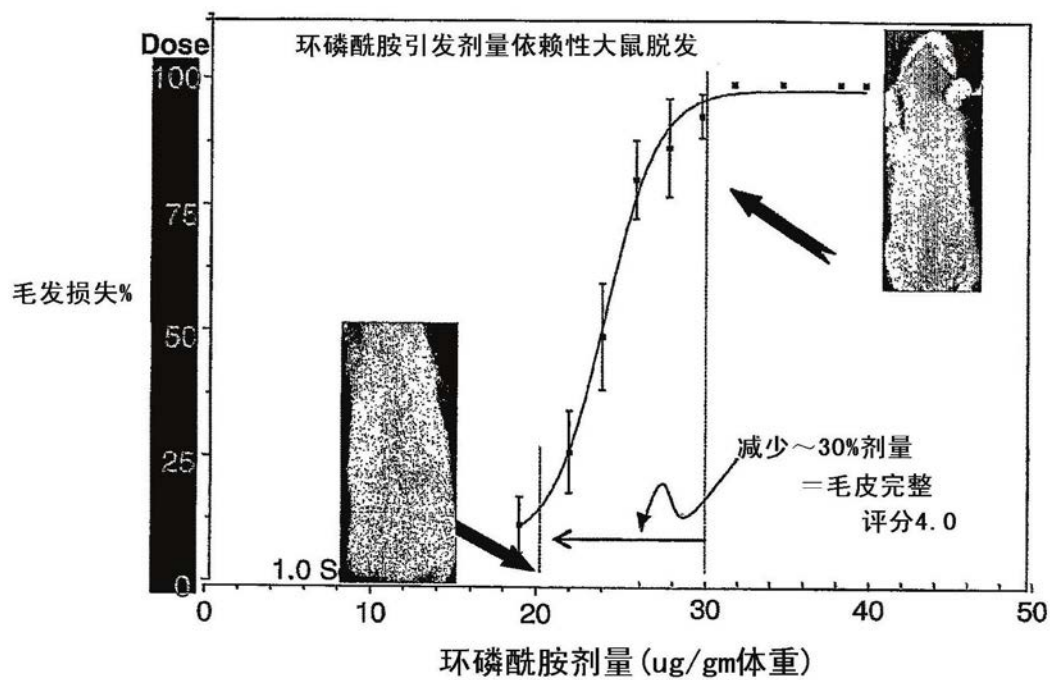


图8

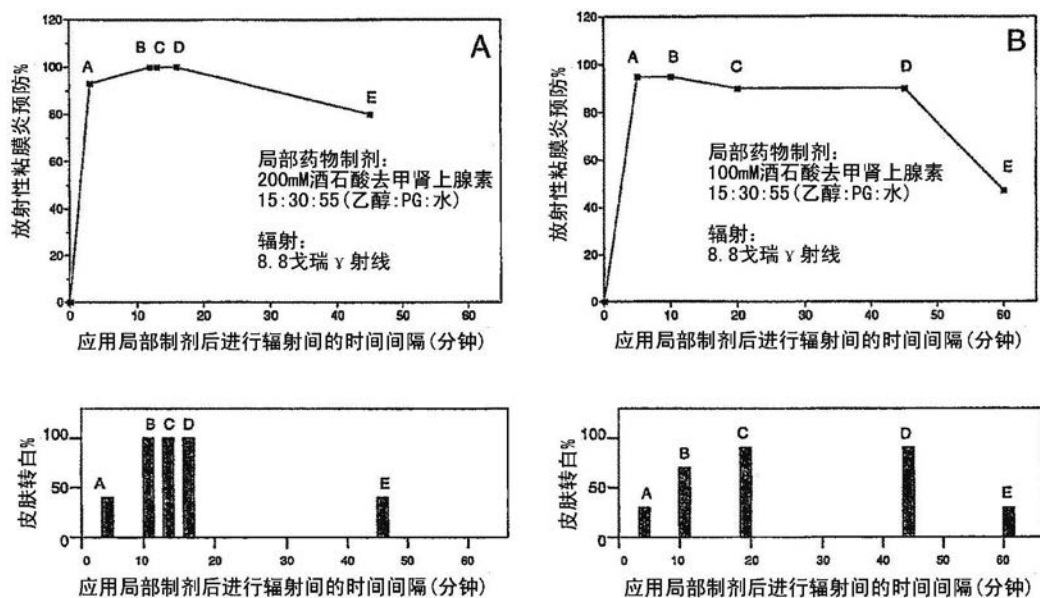


图9

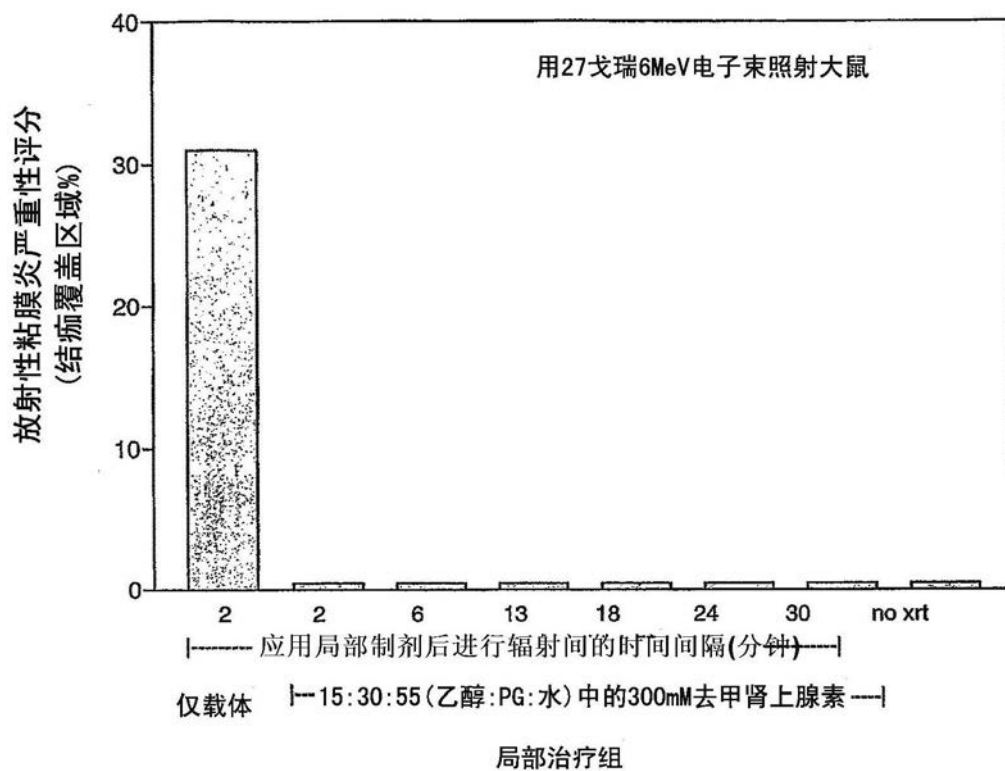


图10

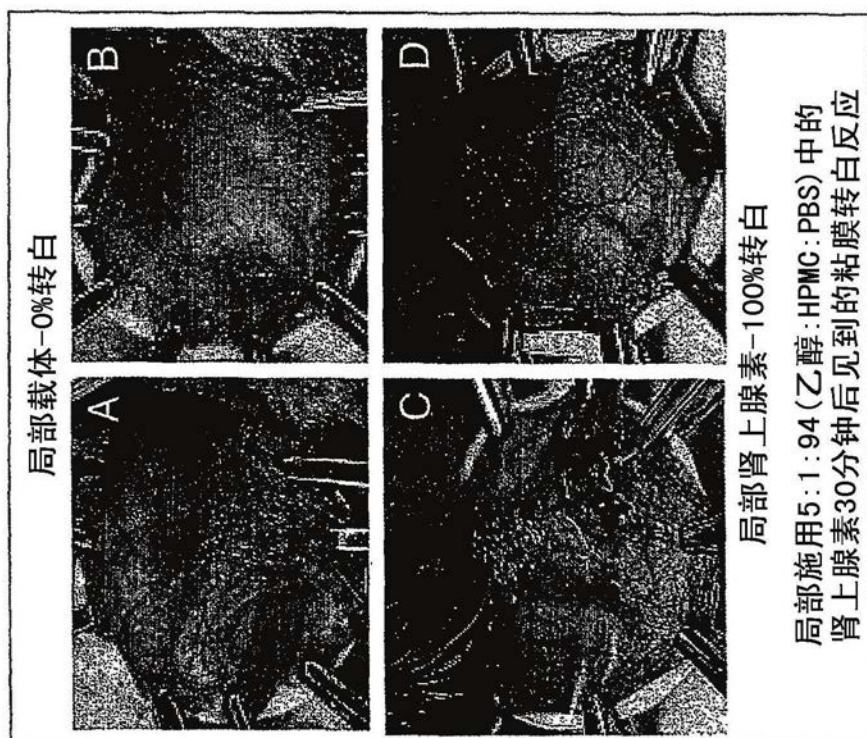
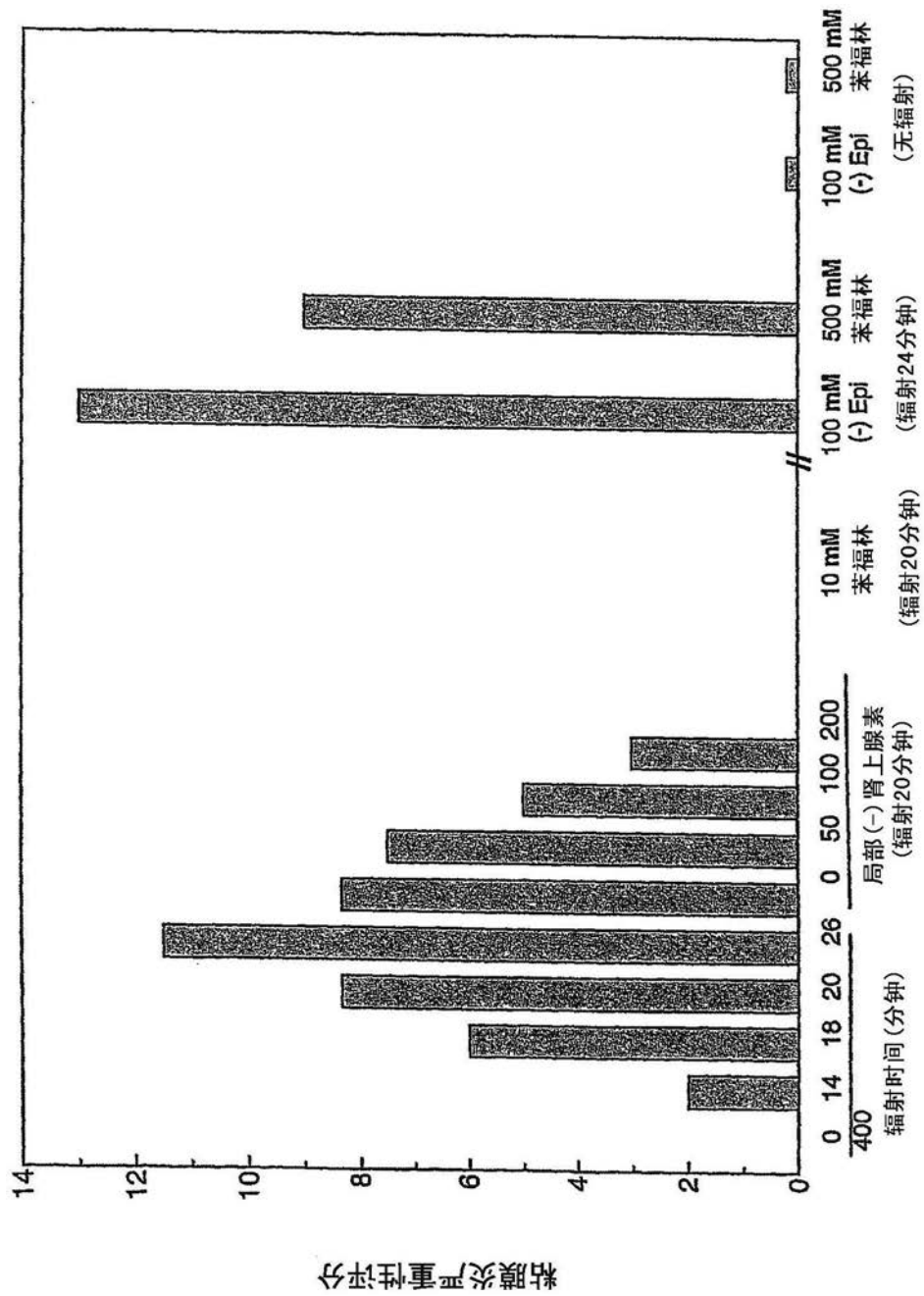


图11



局部治疗组

图12

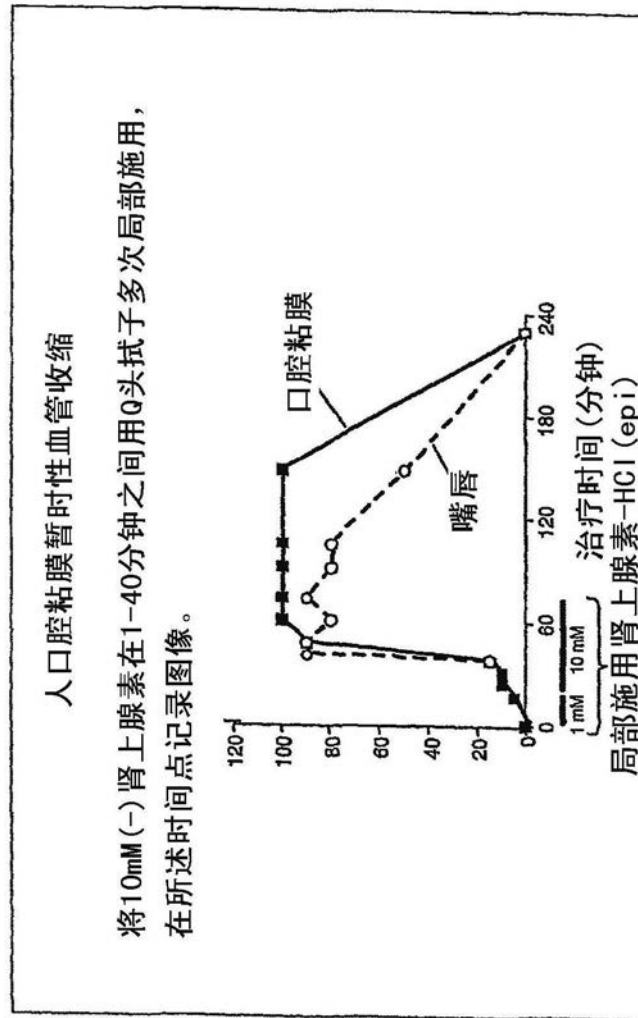


图13

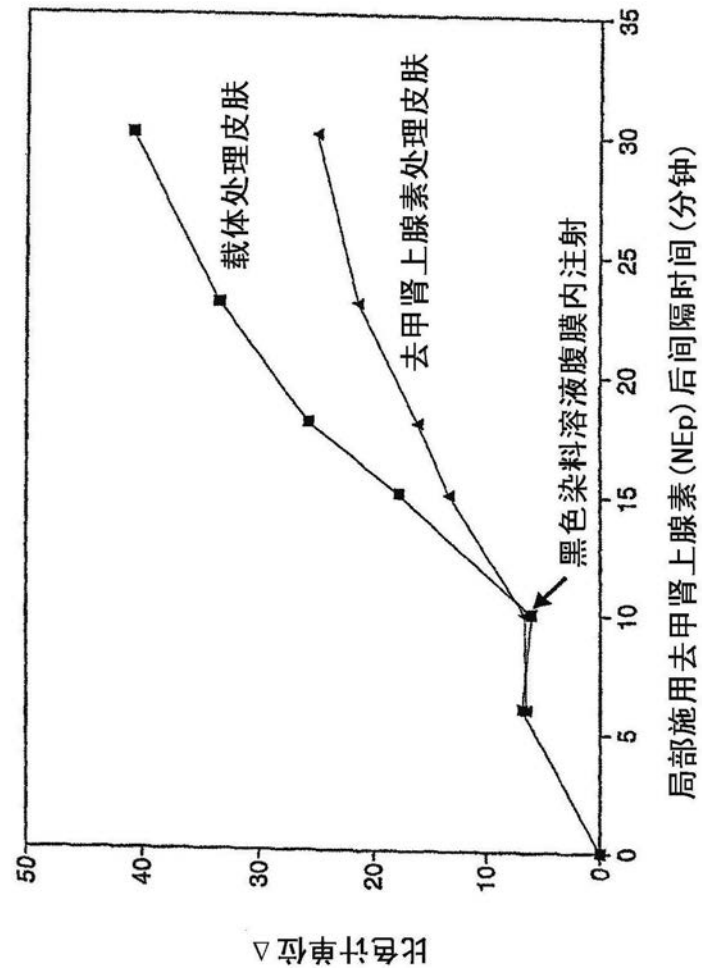


图14

## **Abstract**

Vasoconstrictors are administered topically to provide protection against the adverse effects, e.g., alopecia, mucositis or dermatitis, induced by chemotherapy or radiotherapy. Appropriate dosages and formulations of topical vasoconstrictors are provided. Methods for the use of such compositions are also provided.