



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103340899 A

(43) 申请公布日 2013. 10. 09

(21) 申请号 201310136319. 2

(22) 申请日 2003. 10. 08

(30) 优先权数据

60/417, 200 2002. 10. 09 US

60/483, 014 2003. 06. 25 US

(62) 分案原申请数据

200380105498. 8 2003. 10. 08

(71) 申请人 港大科桥有限公司

地址 中国香港薄扶林道

(72) 发明人 C·R·库马纳 Y·邝

(74) 专利代理机构 北京路浩知识产权代理有限公司

公司 11002

代理人 王朋飞 刘成春

(51) Int. Cl.

A61K 33/36 (2006. 01)

A61P 35/02 (2006. 01)

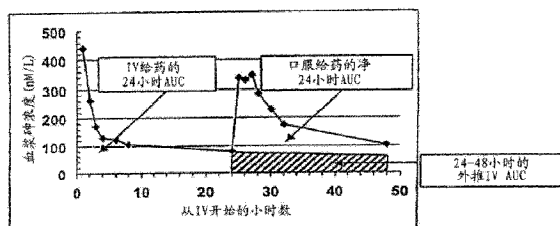
权利要求书1页 说明书20页 附图3页

(54) 发明名称

包括三氧化二砷的口服组合物的制剂及其使用方法

(57) 摘要

本发明提供了用于治疗各种血液学恶性肿瘤包括急性骨髓性白血病(AML)和急性早幼粒细胞性白血病(APL)的三氧化二砷(As_2O_3)口服制剂。本发明还提供了制备口服三氧化二砷制剂的方法。本发明还描述了口服三氧化二砷制剂的应用。



1. 一种包括三氧化二砷的口服液体制剂,其通过以下步骤的方法制备:
 - (a) 向无菌水中添加三氧化二砷形成第一溶液;
 - (b) 向所述第一溶液中添加氢氧化钠形成第二溶液;
 - (c) 向所述第二溶液中添加盐酸形成第三溶液;和
 - (d) 向第三溶液中添加稀盐酸和无菌水形成最终溶液,最终溶液的 pH 为 7.2,三氧化二砷浓度为 1 毫克 / 毫升。
2. 根据权利要求 1 所述的口服液体制剂,其中步骤(a)中的三氧化二砷是粉末。
3. 根据权利要求 2 所述的口服液体制剂,其中三氧化二砷粉末的纯度为至少 90%、95%、96%、97%、98%或 99%。
4. 根据权利要求 1 所述的口服液体制剂,其中氢氧化钠的摩尔浓度为 3M。
5. 根据权利要求 1 所述的口服液体制剂,其中盐酸的摩尔浓度为 6M。
6. 根据权利要求 5 所述的口服液体制剂,其中第三溶液的 pH 为 8.0。
7. 一种包括三氧化二砷的口服液体制剂,其通过以下步骤的方法制备:
 - (a) 向 150 毫升无菌水中添加 500 毫克三氧化二砷形成第一溶液的第一步骤;
 - (b) 向所述第一溶液中添加 3M 氢氧化钠形成第二溶液的第二步骤;
 - (c) 向所述第二溶液中添加 250 毫升无菌水形成第三溶液的第三步骤;
 - (d) 向所述第三溶液中添加 6M 盐酸形成第四溶液的第四步骤;和
 - (e) 向所述第四溶液中添加稀盐酸和无菌水形成最终溶液的第五步骤;最终体积为 500 毫升,最终溶液的 pH 为 7.2,三氧化二砷浓度为 1 毫克 / 毫升。
8. 根据权利要求 7 所述的口服液体制剂,其中步骤(a)中的三氧化二砷是粉末。
9. 根据权利要求 8 所述的口服液体制剂,其中三氧化二砷粉末的纯度为至少 90%、95%、96%、97%、98%或 99%。
10. 根据权利要求 7 所述的口服液体制剂,其中三氧化二砷完全溶解在第一溶液中。
11. 根据权利要求 7 所述的口服液体制剂,其中三氧化二砷在步骤(d)中添加盐酸之前完全溶解。
12. 根据权利要求 7 所述的口服液体制剂,其中第四溶液的 pH 为 8.0。

包括三氧化二砷的口服组合物的制剂及其使用方法

[0001] 本申请要求 2002 年 10 月 9 日提交的美国临时申请 US60/417, 200 以及 2003 年 6 月 25 日提交的美国临时申请 US60/483, 014 的优先权 ; 本申请是 2003 年 10 月 8 日提交的中国专利申请 No. 200380105498. 8 的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及用于治疗各种血液学恶性肿瘤包括急性骨髓性白血病(AML)和急性早幼粒细胞性白血病(APL)的三氧化二砷(As_2O_3)的口服制剂。该制剂提供了可与目前使用的三氧化二砷的静脉内(IV)给药相媲美的系统生物利用度。本发明的口服制剂具有多于三(3)个月的保存期限,并且相对于静脉内给药法,本发明的三氧化二砷给药法提供了更多的方便、更小的风险和更低的价格。本发明还涉及制备本发明的口服制剂的方法和使用该口服制剂治疗患有血液学恶性肿瘤的受试者的方法。

背景技术

[0003] 血液学恶性肿瘤

[0004] 血液学恶性肿瘤是体内血液形成和免疫系统的癌症。血液学恶性肿瘤包括白血病、淋巴瘤(包括何杰金氏病和非何杰金氏淋巴瘤)和骨髓瘤。异常的细胞生长干扰了体内健康血细胞的生成,从而使得身体没有能力保护自身来对抗这种影响。在美国,新的血液学恶性肿瘤病例占被诊断为是癌症的病例的百分之九,并且每年有约 59, 200 人死于这些疾病。这些疾病中的许多发生在儿童中间。

[0005] 白血病

[0006] 白血病是骨髓和血液的癌症。其特征不在于血细胞的不受控制的生长。据报告,在美国每年有约 30, 000 例白血病新病例。尽管白血病是幼年期癌症的最常见类型,但是大多病例发生在年长的成人中间。

[0007] 白血病分急性白血病或慢性白血病。在急性白血病中,异常血细胞是胚细胞,它们发育极不完全,不能执行其正常功能。胚细胞的数目迅速增加,所述疾病也迅速恶化。在慢性白血病中,存在一些胚细胞,但是大体上这些细胞更成熟,能执行其正常功能中的一些功能。另外,胚细胞数目的增加速度相对于急性白血病不那么迅速,因此,慢性白血病是逐渐恶化的。

[0008] 白血病以两种主要类型的白血细胞-淋巴样细胞(淋巴细胞性白血病)或骨髓细胞(髓细胞样或骨髓性白血病)中的任何一种出现。普通的白血病类型包括急性淋巴细胞性白血病(ALL);急性骨髓性白血病(AML)(有时称作急性非淋巴细胞白血病(ANLL))如成髓细胞白血病、早幼粒细胞白血病、骨髓单核细胞白血病、单核细胞白血病、红白血病和脊髓发育不良综合征;慢性淋巴细胞性白血病(CLL);慢性髓细胞样(粒细胞)白血病(CML);慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML);毛细胞白血病和真性红细胞增多症。

[0009] 淋巴瘤

[0010] 有两种主要类型的淋巴瘤:何杰金氏病和非何杰金氏淋巴瘤。何杰金氏病也称为

何杰金氏淋巴瘤,是特异型淋巴瘤,其中存在被称作 Reed Sternberg (R-S) 细胞的特定细胞。该细胞在其它淋巴瘤中通常未被发现。

[0011] 何杰金氏病的病因未知。何杰金氏病像其它癌症那样,其没有传染性,不传给其它人,是非遗传的。何杰金氏病的最初症状通常是颈、腋下或腹股沟处的无痛肿胀。其它症状可包括盗汗或无原因发热、体重减轻和疲倦、咳嗽或气喘、和全身持续发痒。

[0012] 约有 20 种不同类型的非何杰金氏病。根据它们在显微镜下的外观和细胞类型(B 细胞或 T 细胞)将非何杰金氏淋巴瘤分类。危险因素包括年长、雌性、免疫系统变弱、I 型人 T- 亲淋巴性病毒(HTLV-1)和爱 - 巴病毒感染、以及暴露在化学制品如杀虫剂、溶剂、和肥料等下。

[0013] 骨髓瘤

[0014] 骨髓瘤是由在骨髓中通常发现的类型的浆细胞构成的恶性肿瘤。骨髓瘤细胞倾向于集中在骨髓中和骨的坚硬外部内。有时它们仅集中在一个骨中并形成单一团或肿块,被称作浆细胞瘤。然而,在大多数情况下,骨髓瘤细胞集中在许多骨中,通常形成许多肿块并引发其它问题。当发生这种情况时,所述疾病被称作多发性骨髓瘤如,但不限于,巨细胞性骨髓瘤、进展缓慢性骨髓瘤、局部骨髓瘤、多发性骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤、硬化性骨髓瘤、孤立性骨髓瘤、郁积性多发性骨髓瘤、非分泌性骨髓瘤(nonsecretary myeloma)、骨硬化性骨髓瘤、浆细胞性白血病、孤立性浆细胞瘤和髓外浆细胞瘤。

[0015] 脊髓发育不良综合征是其中骨髓产生无效和异常的、呈现一种或多种类型的细胞(白血细胞、红血细胞或血小板)的病征。大多数患者是六十岁以上的人。继发性脊髓发育不良综合征在使用化疗和辐射以后发生。

[0016] 体征和症状取决于受影响的细胞的类型。异常白细胞使人对感染更敏感;异常血小板使人对碰伤和自发性出血更敏感;异常红血细胞引起贫血和疲劳。

[0017] 虽然化疗和放疗可用于血液学恶性肿瘤的治疗中,但是仍旧需要找到更有效和毒性更小的处置这些疾病的更好的治疗形式和方法,特别是当临床肿瘤学家越来越关注癌症患者的生命质量时。本发明通过使用包括三氧化二砷的口服组合物,提供了用于上述疾病的血液学恶性肿瘤的治疗和处置方法。

[0018] 砷

[0019] 砷的医药用史达 2,000 年以上。在 18 世纪,开发了三氧化二砷(实验式 As_2O_3) 的 1% w/v 碳酸氢钾的溶液(福勒氏溶液),用于治疗各种传染病和恶性病。其抑制白细胞的效力首次描述于 1878 年(Kwong Y. L. 等人, Delicious poison: arsenic trioxide for the treatment of leukemia, Blood, 1997; 89: 3487-8)。由此,三氧化二砷被用于治疗慢性骨髓性白血病,直到二十世纪四十年代,其被更有效的细胞毒药物取代。然而,当发现三氧化二砷诱导急性早幼粒细胞性白血病(APL) 细胞的细胞程序死亡和分化(Chen G. Q. 等人, Use of arsenic trioxide (As_2O_3) in the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL): I. As_2O_3 exerts dose-dependent dual effect on APL cells in vitro and in vivo, Blood 1997, 89: 3345-53; Soignet S. L. 等人, United States multicenter study of arsenic trioxide in relapsed acute promyelocytic leukemia. J Clin Oncol, 2001; 19: 3852-60) 时,重新产生了对这种治疗的兴趣。此后,由于三氧化二砷在 90% 以上的这些患者中诱导了症状缓解,证实了这些体外研究的临床涵义(Shen Z. X. 等人, Use of

arsenic trioxide (As_2O_3) in the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL): II. Clinical efficacy and pharmacokinetics in relapsed patients, *Blood* 1997; 89:3354-60; Soignet S.L. 等人, Complete remission after treatment of acute promyelocytic leukemia with arsenic trioxide, *N Engl J Med* 1998; 339:1341-8; Niu C. 等人, Studies on treatment of acute promyelocytic leukemia with arsenic trioxide: remission induction, follow-up and molecular monitoring in 11 newly diagnosed and 47 relapsed acute promyelocytic leukemia patients, *Blood* 1999; 94: 3315-24)。

[0020] 三氧化二砷的典型疗程包括每日静脉内(IV)给药 4-8 周,并且伴随着不便、风险和保持适当的血管进入和延长住院治疗的费用的代价。目前,尚无用于临床应用的口服三氧化二砷。福勒氏溶液在现代药典或处方集中有详尽描述和列举(1941, *Arsenum*. Martindale, *The Extra Pharmacopoeia* 22:209-15; 英国药典, 伦敦: Her Majesty's Stationery Office, 1988; Appendix 1A, p A12)。因此,口服三氧化二砷制剂可提供不同的优点。本发明人最近开发了可用于实现元素砷的全血细胞和血浆水平可与静脉内三氧化二砷的全血细胞和血浆水平相媲美的三氧化二砷口服制剂(Kumana C.R. 等人, Systemic availability of oral arsenic-trioxide used for treatment of patients with haematological malignancies, *Eur J Clin Pharmacol*, 2002; 58:521-526, 其以全文并入本文作为参考)。

[0021] 发明概述

[0022] 本发明提供了用于治疗患有血液学恶性肿瘤特别是复发急性骨髓性白血病(AML)如成髓细胞白血病、早幼粒细胞白血病、骨髓单核细胞白血病、单核细胞白血病、红白血病和脊髓发育不良综合征以及复发急性早幼粒细胞性白血病(APL)的患者的三氧化二砷(As_2O_3)口服制剂。本发明的主要目的是检测该口服制剂的系统生物利用度是否可与静脉内给药的三氧化二砷的系统生物利用度相媲美。本发明的次要目的是描述 As_2O_3 在血液细胞组分中的积聚程度并根据推理描述 As_2O_3 在骨髓细胞(假定的作用部位)的积聚程度。

[0023] 在某些实施方案中,本发明涉及可用于治疗血液学恶性肿瘤的包括三氧化二砷的口服组合物。在一个实施方案中,通过以下步骤制备口服三氧化二砷组合物:(1)向无菌水中添加三氧化二砷,形成第一溶液;(2)向第一溶液中添加氢氧化钠,形成第二溶液;(3)向第二溶液中添加无菌水,形成第三溶液;(4)向第三溶液中添加盐酸,形成第四溶液;和(5)向第四溶液中添加稀盐酸和无菌水,形成最终溶液。在具体实施方案中,三氧化二砷是纯度为至少 90%、95%、96%、97%、98%或 99%的粉末。优选地,三氧化二砷粉末在添加盐酸之前完全溶解。在另一个具体实施方案中,最终的三氧化二砷溶液的 pH 为约 6.0、6.5、7.0、7.5 或 8.0,优选为约 7.2。在另一个具体实施方案中,最终溶液的三氧化二砷浓度为 1 毫克/毫升。

[0024] 本发明还涉及制备口服三氧化二砷组合物的方法。在优选实施方案中,制备该三氧化二砷组合物的方法包括步骤:(1)向 150ml 无菌水中添加 500mg 的三氧化二砷,形成第一溶液;(2)向第一溶液中添加 3M 氢氧化钠,形成第二溶液;(3)向第二溶液中添加 250ml 的无菌水,形成第三溶液;(4)向第三溶液中添加 6M 盐酸,形成第四溶液;和(5)向第四溶液中添加稀盐酸和无菌水,形成最终溶液。

[0025] 本发明进一步涉及使用口服三氧化二砷组合物治疗受试者的血液学恶性肿瘤的方法。受试者选自：牛、猪、马、绵羊、狗、猫、鸡、鸭、猴子、大鼠、小鼠和人。受试者优选为哺乳动物，更优选为灵长类动物，最优选为人。

[0026] 在优选实施方案中，对患有血液学恶性肿瘤的受试者口服给药三氧化二砷组合物。可在血液学恶性肿瘤的常规治疗（如化疗、放疗）之前、期间或之后，对受试者给药三氧化二砷组合物。

附图说明

[0027] 图 1 表示对单个患者静脉内给药三氧化二砷和口服给药三氧化二砷的砷水平对时间曲线（AUC）的示例性评价。所有的 AUC 使用梯形法则求解。口服给药的净 24h AUC 计算为在第二天的总的 24-48h AUC 和对应于静脉内给药的 AUC 之间的差。后一 AUC 使用源自第一天的患者的消除药物动力学评价（见表 IV）的外推砷水平进行计算。图 1 采用自 Kumana 等人，Eur J Clin Pharmacol, 2002 ;58 :521-6，其被全文并入本文作为参考。

[0028] 图 2 表示所有九名（9）患者在第一天和第二天的血浆砷浓度和全血砷浓度。图 2 也采用自 Kumana 等人，如上文所述，其被全文并入作为参考。

[0029] 图 3 表示对患有复发急性早幼粒细胞性白血病（APL）的 12 名顺序患者（consecutive patient）口服 As_2O_3 治疗的临床病理特征和结果。图 3 采用自 Au 等人，Blood, 2003 ;102 :407-8，其被全文并入作为参考。

[0030] 发明详述

[0031] 口服三氧化二砷组合物的制备

[0032] 由于缺少可购自市场的药品级 As_2O_3 ，从 Sigma Chemical Company (St Louis, MO, USA) 获得具有良好化学质量（最小纯度 99%）的粉末。将 As_2O_3 粉末少量地和极缓慢地溶于冷水中；甚至在沸水中，其只以 1 : 15 的比例溶解（Arsenic Trioxide, In :Budavari S O' Neil MJ (Eds), 默克索引 (The MERCK Index)。化学品、药品和生物制品百科全书 (An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals)。NJ :Merck & Co., Inc. 11th Ed., Rahway, N. J., USA. 1989, Monograph 832, p 127)。其最后如下方式进行溶解。

[0033] 准确称量 500mg 等分量的 As_2O_3 粉末倒入含 150ml 无菌水的烧杯中，得到的悬浮液通过滴加 3M 氢氧化钠溶解，当粉末完全溶解时，进一步添加 250ml 的无菌水。使用 pH 计，通过用 6M 盐酸 (HCl) 慢慢滴定调节随后溶液的 pH 为 8.0。然后用稀 HCl 调整 pH 为 7.2 并添加无菌水使最终体积为 500ml。由于原料的极大毒性，并且已知该溶液很容易生长真菌，因此整个处理过程在药物隔离器中进行。与药典中的一般教导不同，未添加杀真菌剂。得到的透明溶液所含的 As_2O_3 浓度为 1 毫克 / 毫升。此外，提交到 Hong Kong Government Laboratory 的样品经过分析，确认每 ml 样品含有 1mg As_2O_3 ，并且在提交到 Department of Microbiology 的样品在培养 1 个月后，没有真菌生长。溶液的贮存期限超过 3 个月并用于本研究目的，没有患者接受储存周期更久的制剂。

[0034] 使用方法

[0035] 在患有血液学恶性肿瘤的受试者中的应用

[0036] 本发明进一步提供了使用本发明的口服三氧化二砷组合物的方法。在一个实施方案中，三氧化二砷组合物用作治疗血液学恶性肿瘤（如白血病、何杰金氏病、非何杰金氏淋

巴瘤和骨髓瘤)的药物。该方法包括对需要的受试者给药有效量的三氧化二砷组合物。三氧化二砷组合物可以以液体或固体形式口服给药,或通过饲料管进入的方式给药。如本文使用的,术语“有效量”是指在血液学恶性肿瘤的情况下提供治疗学上或健康上有益处的足够的量。

[0037] 在一个实施方案中,三氧化二砷组合物可在患有血液学恶性肿瘤的受试者中产生有益健康的益处。优选地,受试者是人。需要治疗的受试者是被诊断患有血液学恶性肿瘤(有或没有转移)、处在疾病的任何阶段的受试者。如本文所用,术语“血液学恶性肿瘤”包括但不限于白血病、淋巴瘤和骨髓瘤。如本文所用,术语“白血病”包括但不限于急性淋巴细胞性白血病(ALL);急性骨髓性白血病(AML)(有时称作急性非淋巴细胞性白血病(ANLL))如成髓细胞白血病、早幼粒细胞红白血病、骨髓单核细胞白血病、单核细胞白血病、红白血病和脊髓发育不良综合征;慢性淋巴细胞性白血病(CLL);慢性髓细胞样(粒细胞)白血病(CML);慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML);毛细胞白血病;和红细胞增多症。如本文所用,术语“淋巴瘤”包括但不限于何杰金氏病和非何杰金氏淋巴瘤。如本文所用,术语“骨髓瘤”包括但不限于巨细胞性骨髓瘤、进展缓慢性骨髓瘤、局部化骨髓瘤、多发性骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤、硬化性骨髓瘤、孤立性骨髓瘤、郁积性多发性骨髓瘤、非分泌性骨髓瘤、骨硬化骨髓瘤、浆细胞性白血病、孤立性浆细胞瘤、和髓外浆细胞瘤。

[0038] 受试者可以是正在接受其它抗血液学恶性肿瘤治疗形式的患者。受试者可以是患有血液学恶性肿瘤的患者,其已进行过治疗方案(如化疗和/或放疗)并且其癌症正在减弱。受试者可以是患有血液学恶性肿瘤的患者,其已进行过治疗方案并且其在临床上看似无血液学恶性肿瘤。本发明的三氧化二砷组合物可以与任何治疗形式(如不限于化疗和/或放疗)联合给药。例如,三氧化二砷组合物可与一种或多种化疗药剂或免疫治疗剂联合给药,所述药剂例如安吡啶(AMSA)、白消安(Myleran®)、苯丁酸氮芥(Leukeran®)、克拉利宾(2-氯脱氧腺苷;“2-CDA”;Leustatin®)、环磷酰胺(Cytosan®)、阿糖胞苷(ara-C;Cytosar-U®)、柔红霉素(Cerubidine®)、阿霉素(Adriamycin®)、依托泊苷(Vepesid®)、氟达拉滨磷酸酯(Fludara®)、羟脲(Hydrea®)、伊达比星(Idamycin®)、L-天冬酰胺酶(Elspar®)、氨甲喋呤钠+6-巯基嘌呤(6-MP;Purinethol®)、米托蒽醌(Novantrone®)、喷司他丁(2-脱氧助间型霉素;“DCF”;Nipent®)、泼尼松、视黄酸(ATRA)、硫酸长春新碱(Oncovin®)、6-巯基鸟嘌呤(Tabloid®)、环孢菌素A、Taxol®、Cisplatin®、Carboplatin®、Doxil®、Topotecan®、Methotrexate®、Bleomycin®、和Epirubicin®。三氧化二砷组合物也可在其它治疗方案结束后使用。

[0039] 受试者可以是尚未诊断患有血液学恶性肿瘤、但由于遗传因素和/或环境因素而倾向于或处于发展成血液学恶性肿瘤的高风险下的受试者。

[0040] 根据受试者的不同,治疗学和有益健康的益处包括抑制或延迟血液学恶性肿瘤的生长和/或血液学恶性肿瘤向其它体部位的传播(即转移)、缓解癌症症状、改善患有癌症的受试者的生存概率、延长受试者的预期寿命、改善受试者的生活质量、和/或降低成功疗

程(如化疗、放疗)后的复发概率。与血液学恶性肿瘤有关的症状包括但不限于免疫系统变弱、感染、发热、红血细胞和血小板减少、虚弱、疲劳、食欲不振、体重下降、淋巴结、肝脏或脾肿胀或柔软、易流血或碰伤、皮下微小红斑(称作淤点)、齿龈膨胀或流血、出汗(尤其是在晚上)、骨或关节疼痛、头痛、呕吐、意识模糊、肌肉控制丧失和癫痫发作。

[0041] 特别地、本发明提供了用于完全缓解受试者如人的血液学恶性肿瘤的方法,包括对受试者口服给药本发明的三氧化二砷组合物。在其它实施方案中,本发明提供的血液学恶性肿瘤的症状缓解为至少 10%、20%、40%、60%、80%和 95%。本发明也提供了用于延长患有血液学恶性肿瘤的受试者(优选为人)的生存期限的方法,包括对受试者口服给药本发明的三氧化二砷组合物。

[0042] 有效剂量将随着所治疗的受试者和给药途径的不同而不同。受试者的有效剂量也将随着治疗病症和治疗病症的严重程度的不同而不同。剂量或是剂量给药频率也将随着个别受试者的年龄、体重、和应答的不同而不同。大体上,用于患有血液学恶性肿瘤的受试者的三氧化二砷组合物的总的日剂量范围为每天约 1mg、2mg、3mg、4mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg、15mg、20mg、或 25mg;优选地,每天约 10mg,单一剂量给药或分开剂量给药。优选地,对受试者口服给药三氧化二砷组合物。

[0043] 疗程的持续时间应该为至少 1 天、至少 2 天、至少 3 天、至少 4 天、至少 5 天、至少 6 天、至少 1 星期、至少 2 星期、至少 3 星期、至少 4 星期、至少 5 星期、至少 7 星期、至少 10 星期、至少 13 星期、至少 15 星期、至少 20 星期、至少 6 个月、或至少 1 年。对于本领域的技术人员显而易见的是,在某些病例中使用超过上述计量范围以外的剂量也是必要的。在某些实施方案中,可给药一段时间的三氧化二砷组合物直到症状被控制、或当疾病部分或完全地缓解。另外,值得注意的是,临床医师或治疗医师结合个体患者的应答,将知道如何和何时中断、调整或终止三氧化二砷组合物作为药物的使用。

[0044] 本发明的三氧化二砷组合物对血液学恶性肿瘤的发展和进行的疗效可通过本领域技术人员已知的任何方法监控,包括但不限于测量:a)使用影像技术如计算机层析成像(CT)扫描或超声波扫描图测量肿块的尺寸和形态学的改变;和 b)血液学恶性肿瘤风险的生物标志物水平的改变。

[0045] 在某些实施方案中,本发明的预防和/或治疗学方案的毒性和效力可通过细胞培养或实验动物中的标准药物过程来确定,如用于确定 LD_{50} (50%群体的致死剂量)和 ED_{50} (在 50%群体中的治疗有效剂量)。毒性效果与治疗效果之间的剂量比为治疗指数并且其可表示为 LD_{50}/ED_{50} 的比。优选治疗指数大的预防药和/或治疗剂。当可能使用具有毒副作用的预防药和/或治疗剂时,应该小心设计递送系统,使对未感染细胞的潜在损害最小化,从而将这些药剂送达受影响组织的部位,减小副作用。

[0046] 在其它实施方案中,从细胞培养分析和动物研究获得的数据可用于制定人体所用的预防药和/或治疗剂的剂量范围。这种药剂的剂量优选位于包括几乎没有或无毒性的 ED_{50} 的循环浓度的范围内。剂量可以在这一范围内根据所用剂型和所用给药途径的改变而改变。对于本发明方法中使用的任何药剂,治疗有效剂量可以从细胞培养进行初步估计。在动物模型中可以制定剂量以实现包括细胞培养中所确定的 IC_{50} (即达到症状的半数最大抑制的试验化合物的浓度)的循环血浆浓度范围。这种信息可用于更准确地确定人体的有用剂量。例如可通过高效液相色谱测量血浆水平。

[0047] 本发明的疗法的抗癌活性也可通过使用各种用于癌症研究的实验动物模型来确定,如锡特小鼠模型或转基因小鼠。以下是作为实施例而非限制本发明而提供的分析。

[0048] 制剂

[0049] 本发明的组合物包括在上述第 5.1 节中制备的三氧化二砷作为活性成分,并任选地包含药学可接受的载体或赋形剂、和 / 或其它成分,前提是这些成分不损害(如降低)三氧化二砷组合物的效力。本发明的三氧化二砷组合物中可以引入其它成分,其可包括但不限于药草(包括中药制品)、药草提取物、维生素、氨基酸、金属盐、金属螯合物、着色剂、增香剂、防腐剂等。

[0050] 可使用任何剂型为受试者提供有效剂量的口服组合物。剂型包括片剂、胶囊、分散体、悬浮液、溶液等。在一个实施方案中,适用于口服给药的本发明的组合物可以作为离散单元如各自包含预定量的经活化和调整的酵母细胞的胶囊、泡剂(blister)、扁囊剂或片剂;作为粉末或颗粒;或作为水成液形式的溶液或悬浮液、非水液体、水包油型乳剂或油包水型乳剂被提供。在优选实施方案中,口服组合物为溶液形式。大体上,可通过将活性成分与液体载体或细碎固体载体或与两者均匀并紧密混合来制备组合物,然后,如有必要,使产品成型为所需外观。这些产品根据其使用剂量和环境的不同可用作药物或食物增补剂。

[0051] 本发明的口服组合物可额外包括粘结剂(如预胶化玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮或羟丙基甲基纤维素);粘合剂或填料(如乳糖、戊聚糖、微晶纤维素或磷酸氢钙);润滑剂(如硬脂酸镁、滑石或二氧化硅);崩解剂(如马铃薯淀粉或淀粉乙醇酸钠);或润湿剂(如十二烷基硫酸钠)。片剂或胶囊可通过本领域的已知方法包衣。

[0052] 口服液体剂型的形式可以是例如溶液、糖浆或悬浮液,或它们可以是在使用前与水或其它适当介质组合的无水产品形式。重新组合无水产品的液体的温度应该小于 65℃。这种液体药剂可通过常规方法与药学可接受的添加剂如悬浮剂(如山梨糖醇糖浆、纤维素衍生物或氢化食用脂肪);乳化剂(如卵磷脂或阿拉伯树胶);非水介质(如杏仁油、油性酯、乙醇或分馏植物油);和防腐剂(如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯或山梨酸)制备。如下所述,制剂也可制成类似食物或饮料产品,视情况而定包含缓冲盐、调味品、调色剂和甜味剂。

[0053] 在某些实施方案中,三氧化二砷组合物是每毫升包括约 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、10 或 15 毫克三氧化二砷的悬浮液。三氧化二砷组合物可以使用本领域技术人员已知的方法稀释或浓缩。在较不优选的实施方案中,三氧化二砷组合物是每毫升包含约 0.1 到 100 毫克三氧化二砷的悬浮液。在优选实施方案中,三氧化二砷组合物是每毫升包含约 0.5 到 10 毫克三氧化二砷的悬浮液。在更优选实施方案中,三氧化二砷组合物是每毫升包含约 1 毫克三氧化二砷的悬浮液。在最优选实施方案中,三氧化二砷组合物是每毫升包含 1 毫克三氧化二砷的悬浮液。三氧化二砷组合物可以配制成保健饮料并包装在液体容器中,各自含有预定量的液体酵母培养物。在本发明的一个实施方案中,应用质量控制和包装的标准方法来生产包装在液体容器中的三氧化二砷组合物,各自包括约 1 毫升、2 毫升、3 毫升、4 毫升、5 毫升、10 毫升、15 毫升、20 毫升、30 毫升、40 毫升、50 毫升、75 毫升、100 毫升、150 毫升、200 毫升、250 毫升、500 毫升、750 毫升或 1,000 毫升的三氧化二砷组合物。根据每个容器内所含的三氧化二砷组合物的浓度,每日获取一定数量的容器来获得受试者的总的日剂量。

[0054] 总地说,由于它们易于给药,片剂和胶囊表现了最有利的口服剂量单位形式,其

中使用了上述的固体药物载体。在优选实施方案中,组合物是胶囊。可通过任何市售方法配制胶囊。在某些实施方案中,组合物是包含 0.25 毫克、0.5 毫克、1 毫克、5 毫克、10 毫克、15 毫克、20 毫克、25 毫克、30 毫克、40 毫克、或 50 毫克粉末状三氧化二砷组合物的胶囊。

[0055] 可用于本发明的各实施方案的抗癌药物(包括本发明的药物组合物、剂型和试剂盒)的另外的实例包括但不限于:阿西维辛、阿克拉霉素、盐酸阿考达唑、阿克罗宁、阿多来新、阿地白介素、六甲蜜胺、安波霉素、醋酸阿美苄醌、氨鲁米特、安吡啶、阿纳托唑、氨茴霉素天冬酰胺酶、曲林菌素、阿扎胞苷、阿扎替派、阿佐霉素、巴马司他、苯佐替派、白卡罗他迈(bicaltamide)、盐酸比生群、二甲磺酸双奈法德、比折来新、硫酸博来霉素、布喹那钠、溴匹立明、白消安、放线菌素 C、二甲睾酮、卡醋酸、卡贝替姆、卡铂、卡莫司汀、盐酸卡柔比星、卡折来新、西地芬戈、苯丁酸氮芥、西罗霉素、顺铂、克拉利宾、甲磺酸 crisnatol、环磷酰胺、阿糖胞苷、氮烯咪胺、更生霉素、盐酸红必霉素、地西他滨(decitabine)、右奥马铂、地扎胍宁、甲磺酸地扎胍宁、地吡啶、多烯紫杉醇、多柔比星、盐酸多柔比星、屈落昔芬、柠檬酸屈落昔芬、丙酸屈他雄酮、达佐霉素、依达曲沙、盐酸依氟鸟氨酸、依沙芦星、恩络铂、恩普氨酯、依匹哌啶、盐酸表柔比星、厄布洛唑(erbulozole)、盐酸依索比星、雌莫司汀、雌莫司汀磷酸钠、依他硝唑、依托泊苷、磷酸依托泊苷、氯苯乙嘧啶、盐酸法倔唑、法扎拉滨、芬维 A 胺、氟尿苷、磷酸氟达拉滨、氟尿嘧啶、氟西他滨、磷唑酮、磷曲星钠、吉西他滨、盐酸吉西他滨、羟基脲、盐酸伊达比星、异环磷酰胺、伊莫福新、白介素 II (包括重组体白介素 II 或者 rIL2)、干扰素 α -2a、干扰素 α -2b、干扰素 α -n1、干扰素 α -n3、干扰素 β -1a、干扰素 γ -1b、异丙铂、盐酸伊立替康、醋酸兰瑞肽、来曲唑、醋酸亮丙瑞林、盐酸利阿唑、洛美曲索钠、洛莫司汀、盐酸洛索苄醌、马索罗酚、美坦生、盐酸甲二氯二乙胺、乙酸甲地孕酮、乙酸美伦孕酮、美法仑、美诺立尔、巯基嘌呤、氨甲喋呤、氨甲喋呤钠、氯苯氨啶、美妥替哌、米丁度胺、mitocarcin、丝裂红素、米托洁林、米托马星、丝裂霉素、米托司培、米托坦、盐酸米托苄醌、霉酚酸、噻氨酯达唑、诺加霉素、奥马铂、奥昔舒仑、紫杉醇、培加帕酶、培利霉素、蔡莫司汀、硫酸培洛霉素、派磷酰胺、哌泊溴烷、哌泊舒凡、盐酸吡罗苄醌、普卡霉素、普洛美坦、吡吩姆钠、泊非霉素、松龙苯芥、盐酸甲基苄肼、嘌呤霉素、盐酸嘌呤霉素、吡唑呋喃菌素、利波腺苷、罗格替胺、沙芬戈、盐酸沙芬戈、司莫司汀、辛曲秦、sparfosate 钠、稀疏霉素、盐酸锗螺胺、螺莫司汀、螺铂、链黑菌素、链脲霉素、磺氯苯脲、他利霉素、tecogalan 钠、替加氟、盐酸替洛苄醌、替莫泊芬、替尼泊苷、替罗昔隆、睾内酯、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤、塞替派、噻唑呋啉、替拉扎明、柠檬酸托瑞米芬、醋酸曲托龙、磷酸曲西立滨、三甲曲沙、三甲曲沙葡萄糖醛酸、曲普瑞林、盐酸妥布氯唑、尿嘧啶氮芥、乌瑞替派、伐普肽、维替泊芬、硫酸长春碱、硫酸长春新碱、去乙酰长春酰胺、硫酸去乙酰长春酰胺、硫酸长春匹定、硫酸长春甘酯、硫酸长春罗辛、酒石酸长春瑞宾、硫酸长春罗定、硫酸长春利定、伏罗唑、僧尼铂、净司他丁、盐酸佐柔比星。其他的抗癌药物包括但不限于 20- 表 -1, 25 二羟基维生素 D3、5- 乙炔尿嘧啶、阿比特龙、阿克拉霉素、酰基富烯、adecypenol、阿多来新、阿地白介素、全 -TK 拮抗剂、六甲蜜胺、氨莫司汀、amidox、阿米福汀、氨基 - γ - 酮戊酸、氨柔比星、安吡啶、阿那格雷、阿纳托唑、穿心莲内酯、血管新生抑制剂、拮抗剂 D、拮抗剂 G、antarelix、抗背部形态形成蛋白 -1 (anti-dorsalizing morphogenetic protein-1)、抗雄激素、前列腺癌、抗雌激素、antineoplaston、反义寡核苷酸、甘氨酸阿非迪霉素、凋亡基因调节剂、凋亡调节剂、无嘌呤核酸、ara-CDP-DL-PTBA、精氨酸脱氨基酶、asulacrine、阿他美坦、阿莫司汀、阿新

司它汀(axinastatin) 1、阿新司它汀 2、阿新司它汀 3、阿扎司琼、阿扎托新(azatoxin)、重氮酪氨酸、巴卡丁 III 衍生物、balanol、巴马司他、BCR/ABL 拮抗剂、benzochlorins、benzoylstauroporine、 β 内酰胺衍生物、 β alethine、 β 客来霉素(clamycin) B、桦木酸、bFGF 抑制剂、比卡鲁胺、比生群、bisaziridinylspermine、双奈法德、比生群 A、比折来新、breflate、溴匹立明、布度钛、buthionine 磺基肟(sulfoximine)、钙泊三醇、calphostin C、喜树碱衍生物、金丝雀痘 IL-2、卡培他滨、碳酰胺-氨基-三唑、羟基氨基咪唑、CaRest M3、CARN700、软骨衍生的抑制剂、卡折来新、酪蛋白激酶抑制剂(ICOS)、粟精胺、抗菌肽 B；西曲瑞克；chlorins；氯喹啉磺酰胺(chloroguinoxaline)；西卡前列素；顺式卟啉；克拉利宾；克罗米芬类似物；克霉唑；Collismycin A；Collismycin B；风车子素(combretastatin) A4；风车子素类似物；conagenin；甘蓝海绵(crambescidin) 816；crisnatol；隐藻素 8；隐藻素 A 衍生物；库拉素 A；环戊蒽醌(cyclopentantraquinone)；cycloplatan；cypemycin；阿糖胞苷 ocfosphate、溶细胞因子、cytostatin、达昔单抗、地西他滨、脱氢膜海鞘素 B、地洛瑞林、地塞米松、右异环磷酰胺、右雷佐生、右维拉帕米、地吡醌、didemnin B、didox、二乙基 norspermine、二氢-5-氮胞苷、9-二氢紫杉醇、dioxamycin、联苯螺莫司汀、多烯紫杉醇、二十二烷醇、多拉司琼、去氧氟尿苷、屈洛昔芬、屈大麻酚、duocarmycin SA、依布硒啉、依考莫司汀、依地福新、依决洛单抗(edrecolomab)、依氟鸟氨酸、榄香烯、依米替氟、表柔比星、爱普列特(epristeride)、雌氮芥类似物、雌激素激动剂、雌激素拮抗剂、依他硝唑、磷酸依托泊苷、依西美坦、法屈唑、法扎拉滨、芬维 A 胺、非格司亭、柔沛、flavopiridol、flezelastrine、fluasterone、氟达拉滨、盐酸 fluorodaunorubicin、福酚美克、福美斯坦、磷曲星、福莫司汀、texaphyrin 钆、硝酸镓、加洛他滨、加尼瑞克、明胶酶抑制剂、吉西他滨、谷胱甘肽抑制剂、hepsulfam、heregulin、六甲撑 bisacetamide、金丝桃蒽酮、伊班膦酸、伊达比星、艾多昔芬、伊决孟酮、伊莫福新、伊洛马司他、咪唑吡啶酮(imidazoacridone)、咪喹莫特、免疫刺激剂肽、胰岛素样生长因子-1 受体抑制物、干扰素激动剂、干扰素、白介素、碘苄胍、碘阿霉素、4- 蕃薯宁、伊罗普拉、伊索拉定、isobengazole、isohomohalicondrin B、伊他司琼、jasplakinolide、kahalalide F、层状素-N 三乙酸盐、兰瑞肽、leinamycin、来格司亭、香菇多糖硫酸盐、leptolstatin、来曲唑、白血病抑制因子、白血球阿尔法干扰素、亮丙瑞林+ 雌激素+ 黄体酮；亮丙瑞林；左旋咪唑、利阿唑、线聚胺类似物、亲脂性二糖肽、亲脂性铂化合物、lissoclinamide7、乐铂、蚯蚓磷脂、洛美曲索、氯尼达明、洛索蒽醌、洛伐他丁、洛索立宾、勒托替康、texaphyrin 钆、lysofylline、溶解性肽、美坦辛、mannostatin A、马马司他、马索罗酚、maspin、基质裂解素抑制剂、基质金属蛋白酶抑制剂、美诺立尔、麦尔巴隆、meterelin、methioninase、甲氧氯普胺、MIF 抑制剂、米非司酮、米替福新、米立司亭、失配双链 RNA、丙脒脎、二溴卫矛醇、丝裂霉素类似物、米托蒽胺、mitotoxin 成纤维细胞生长因子皂草素、米托蒽醌、莫法罗汀、莫拉司亭、单克隆抗体、人绒毛膜促性腺激素、单磷酸基脂质 A+ 结核分枝杆菌(myobacterium) 细胞壁 sk、莫哌达醇、多倍的耐药性基因抑制剂、多倍的肿瘤抑制剂 1- 基治疗、氮芥抗癌剂、印度洋海绵 B、分支杆菌细胞壁提取物、myriaporone、N- 乙酰基地那林、N- 取代苯甲那法瑞林、nagrestip、纳洛酮+ 潘他唑新、napavin、naphterpin、那托司亭、奈达泊汀、奈莫柔比星、奈立膦酸、中性肽链内切酶、尼鲁米特、nisamycin、一氧化氮调节剂、硝基氧抗氧化剂、nitrullyn、06- 苄基鸟嘌呤、奥曲肽、okicenone、低聚核苷酸、奥那司酮、恩丹西酮、恩丹西

酮、oracin ;口服细胞活素诱导剂、奥马铂、奥沙特隆、奥沙利铂、oxaunomycin、紫杉醇、紫杉醇类似物、紫杉醇衍生物、palauamine、palmitoylrhizoxin、帕米膦酸、人参炔三醇、帕诺米芬(panomifene)、parabactin、帕折普汀、培加帕酶、peldesine、戊聚糖(pentosan) 多聚硫酸钠、喷司他丁、pentrozole、潘氟隆、派磷酰胺、芥子醇、phenazinomycin、苯乙酸酯、磷酸酶抑制剂、溶链菌、盐酸毛果芸香碱、吡喃阿霉素、吡曲克辛、placetin A、placetinB、血纤蛋白溶酶原激活物抑制剂、铂络合物、铂化合物、铂-三胺络合物、吡吩姆钠、泊非霉素、强的松、丙基双吡啶酮、前列腺素 J2、蛋白酶体抑制剂、A 蛋白-基免疫调节剂、蛋白激酶 C 抑制剂、蛋白激酶 C 抑制剂类, microalgal、蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制剂、嘌呤核苷磷酸化酶抑制剂、紫红素、pyrazoloacridine、pyridoxylated 血色素聚氧化乙烯共轭物、raf 拮抗剂、雷替曲塞、雷莫司琼、ras 金合欢基蛋白质转移酶抑制剂、ras 抑制剂、ras-GAP 抑制剂、retelliptinedemethylated、Re186 依替膦酸铈、利索新、核酶、RII 维胺脂、罗格替胺、rohitukine、罗莫肽、罗喹美克、rubiginone B1、ruboxyl、沙芬戈、saintopin、sarCNU、sarcophytol A、沙莫司亭、Sdi1 类似物(mimetics)、司莫司汀、衰老起源抑制剂 1、正义寡核苷酸、信号转导抑制剂、信号转导调节剂、单链抗原结合蛋白、西佐喃、索布佐生、硼卡钠、苯乙酸钠、solverol、生长调节素结合蛋白、索纳明、斯帕福斯酸、spicamycin D、螺莫司汀、splenopentin、海绵素(spongistatin) 1、squalamine、干细胞抑制剂、干细胞分裂抑制剂、stipiamide、基质裂解素抑制剂、sulfmosine、超活性肠血管活性肽拮抗剂、suradista、苏拉明、苦马豆素、合成氨基多糖、他莫司汀、三苯氧胺解磷定(methiodide)、牛磺莫司汀、他扎罗汀、tecogalan 钠、替加氟、tellurapyrylium、端粒末端转移酶抑制剂、替莫唑胺、替莫唑胺、替尼泊苷、tetrachlorodecaoxide、tetrazomine、thaliblastine、thiocoraline、促血小板生成素、促血小板生成素仿制物、thymalfasin、促胸腺生成素受体激动剂、胸腺曲南(thymotrinan)、促甲状腺激素、乙基初吡啶锡、替拉扎明、二氯钛烯、topsentin、托瑞米芬、全能干细胞生长因子、翻译抑制剂、维 A 酸、triacyetyluridine、曲西立滨、三甲曲沙、曲普瑞林、托烷司琼、妥罗雄脲、酪氨酸激酶抑制剂、酪氨酸磷酸化抑制剂(tyrphostins)、UBC 抑制剂、乌苯美司、泌尿生殖窦起源生长抑制因子、尿激酶受体拮抗体、伐普肽、variolin B、vector 系统、红血球基因治疗、维拉雷琐、veramine、verdins、维替泊芬、长春瑞宾、vinxaltine、vitaxin、伏罗唑、扎诺特隆、折尼泊、亚苡维 C 和净司他丁斯酯。优选的其它抗癌药物是 5- 氟尿嘧啶、与甲酰四氢叶酸。当在使用沙利度胺与拓扑异构酶抑制剂的方法时,这两种药物特别有用。

[0056] 本发明进一步通过以下旨在研究本发明的三氧化二砷组合物的效力和安全性的实施例详细说明。

实施例

[0057] 以下实施例说明了本发明的三氧化二砷口服制剂和使用该制剂的临床研究结果。这些实施例不被认为是对本发明的限制。

[0058] 实施例 1

[0059] 进行了旨在测试本发明的口服制剂的系统生物利用度是否可与静脉内给药三氧化二砷的系统生物利用度相媲美,并且叙述了 As_2O_3 在血液细胞组分中积聚的程度以及通过推理叙述 As_2O_3 在作为假定作用部位的骨髓细胞中积聚的程度的临床研究。

[0060] 口服三氧化二砷(As_2O_3)制剂的制备

[0061] 根据上述 5.1 节的方法制备三氧化二砷的口服制剂。与药典中的一般教导不同,本发明未添加杀真菌剂。得到的透明溶液的浓度为每毫升含有 1 毫克 As_2O_3 。另外,提交到 Hong Kong Government Laboratory 的样品通过 Indicative Coupled Plasma (ICP) 和容积滴定进行分析,证实了每毫升含有 1 毫克的 As_2O_3 (参见表 1)。另外,在提交到 Department of Microbiology 的样品在培养 1 个月后没有真菌生长。溶液的贮存期限超过 3 个月并用于本研究的目的,没有患者接受储存周期更久的制剂。

表 1

[0062]	样品 (分析日期)	砷 (以三氧化二砷表示)
	A (8 月 16 日, 2000-8 月 18 日, 2000)	1.00 毫克/毫升
	B (1 月 21 日, 2002-2 月 2 日, 2002)	1.00 毫克/毫升
	C (1 月 21 日, 2002-2 月 2 日, 2002)	1.06 毫克/毫升

[0063] 患者

[0064] 同意参加研究的书面报表得自九名患有复发急性骨髓性白血病(AML)或复发急性早幼粒细胞性白血病(APL)的患者,所有这些患者未对至少两个标准抗白血病治疗方案有反应。在整个研究期间记录了与每名患者的病情包括实验室结果有关的人口统计学特征以及细节。还记录了他们的随后的临床发展和有关的实验室结果。香港大学的 Faculty of Medicine Ethics committee 批准了整个的方案。

[0065] 治疗方案和血液采集

[0066] 由于含海鲜的食物包含砷,优选在给药砷之前至少一个星期指导每个患者戒食海鲜。在第一天上午 10 点,将在 100 毫升 0.9% 的氯化钠溶液中稀释的 10 毫克标准市售 IV As_2O_3 制剂(得自 Ophthalmic Laboratories, 悉尼, 澳大利亚)在 60 分钟内进行 IV 注射。在第二天的上午 10 点(即在 IV 注射开始后 24 小时),每个患者吞咽 10 毫克剂量(10 毫升)的本发明的口服 As_2O_3 溶液,并且没有患者被要求在其治疗之前或期间禁食。

[0067] 在第一天给药 As_2O_3 之前抽取(11 毫升)静脉血样,然后在 IV 注射开始后的以下时间抽取静脉血样: 1, 2, 3, 4, 6, 8, 24, 25, 26, 27, 32 和 48 小时。将各血样的 5 毫升样品收集在非凝胶锂-肝素管中(用于确定血浆砷水平)和 3 毫升 $\times 2$ 收集在 EDTA 管中(用于确定全血水平)。得自锂-肝素管的血浆是新近分离的并且血浆和全血样品都储存在 4°C 下用于随后的分批分析。

[0068] 砷浓度的分析

[0069] 样品用 3%(w/v)三氯乙酸脱去蛋白质、然后与基质改性剂混合后分析血浆和全血砷浓度。基质改性剂在 0.5% Triton X100 中含有硝酸镁(10g/L),氯化钡(6g/L)和亚硫酸铵(20g/L)。所有化学制剂为分析纯并得自 Sigma(圣路易斯,密苏里州)。使用石墨熔炉原子吸收分光光度法(Simma6000, Perkin-Elmer, Norwalk, CT)分析处理过的样品的全血和血浆(其包括 As_2O_3 本身及其代谢物)的总砷浓度。从而将浓度表示为上述砷基础值的 nmol/L。这一方法的日间差异系数是 7.5-9.6%,对应于砷浓度的差异为 559 到 2169 nmol/L。通过向患者样品中添加示踪的已知量的砷评价这一方法的准确度;回收率是 97.3-101.3%,

浓度变化为 301 到 678nmol/L。

[0070] 口服砷生物利用度的测定

[0071] 对于各患者,比较了静脉内 As_2O_3 和口服 As_2O_3 的血浆和全血浓度对时间曲线图。使用了结合有梯形法则的标准计算机软件(**GRAPHPAD PRISM®Version 3**),各砷水平对时间曲线下的面积(AUC)源于 IV 给药(作为 100%)开始后的 0-24 小时周期和口服给药(即 IV 给药后的 24-48 小时)后的 0-24 小时周期并作为生物利用度的测量结果。

[0072] 为导出静脉内注射 24-48 小时的砷水平对时间曲线(AUC),假定砷的消除最后接近一级指数衰减。在此基础上,个体患者的 log 砷浓度对时间曲线(包括静脉内给药后 24 小时周期)进行回归分析,使用由香港大学计算机中心开发的定制型计算机软件。选择与负斜率有关的最高回归值(r^2) (表示衰退浓度)用于随后的计算;所有这些计算以最少 3 个点为基础。例如,如果静脉内给药后 1-24、2-24、3-24、4-24 和 6-24 小时的数据组 r^2 值分别为 0.53、0.62、0.80、0.95 和 0.94,则将采用 4-24 小时的数据用于计算,前提条件是其斜率是负的。然后从所选数据组生成了以下参数: β 消除相一阶消除速度常数(K_e),消除半衰期($T_{1/2}$),和外推零时间浓度(C_0)。对于每名患者,使用这些参数估算外推静脉内给药 24-48 小时的 AUC。后一 AUC 和真实(或总)的 24-48 小时 AUC 之间的差(参见图 1)被认为是口服给药的净 0-24 小时 AUC。

[0073] 推算血液细胞部分内的砷

[0074] 在最初静脉内给药后的 48 小时,血液细胞部分内的砷浓度(C_c)从相应的血浆(C_p)和全血(C_b)浓度以及所用血细胞比容(Hct)值计算如下:

[0075] 1 升血液的血浆中砷的纳摩尔浓度 = $C_p (1 - \text{Hct})$ 。

[0076] 因此,在 1 升血液的其余细胞部分内砷的量合计为 $C_b - [C_p (1 - \text{Hct})]$ 。

[0077] 因此,每升血液的细胞部分的砷浓度(重量 / 体积) $C_c = \{C_b - [C_p (1 - \text{Hct})]\} / \text{Hct}$ 。

[0078] 结果

[0079] 每名患者的人口统计学特征、基础砷浓度、疾病状态、和治疗结果如表 2 所示。在我们的实验室中,采纳的正常范围如下:尿素 3.2-7.5mM/L;肌酐 86-126 $\mu\text{m/L}$;谷丙转氨酶(ALT) 5-63U/L;和天冬氨酸转氨酶(AST) 13-33U/L。对所有接受 As_2O_3 的患者定期进行的 ECGs 表明没有异常的 QTc 延长的情况。

[0080]

表 2

	性别/ 年龄	Ht (cm) / Wt (Kg)	尿素 (mM/L) / 肌酸酐 (μM/L) †	ALT / AST (U/L) †	基础砷浓度		口服 As ₂ O ₃ 的诊断和应答
					血浆 (nM/L)	全血 (nM/L)	
1	男/29	163/45.5	3.0/57	7/6	74	150	顽固性 AML, 无应答
2	男/67	162/54	4.0/84	72/44	232	193	顽固性 AML, 无应答
3	男/69	162/52.8	8.6/89	50/55	33	108	顽固性 AML, 无应答
4	女/31	158/53	3.4/50	63/30	33	46	顽固性 AML, 无应答
5	女/17	158/45.1	3.2/49	5/23	33	33	复发 APL, 完全
6	男/33	174/69.7	3.2/77	35/38	33	33	复发 APL, 完全
7	男/34	154/70	3.9/101	11/12	68	66	复发 APL, 完全
8	男/33	166/63	3.9/93	37/35	33	33	复发 APL, 完全
9	女/47	163/73	5.0/74	28/18	46	125	复发 APL, 完全

[0081] 第二天口服给药的平均血浆砷水平和平均血液砷水平对时间曲线(AUC)分别是第一天的相应值的 99%和 87%。平均来说,48 小时的血细胞砷水平比血浆砷水平高 270%(p = 0.013)。没有患者经历意外的并发症。

[0082] 四名(4)患有复发/顽固性急性骨髓性白血病(AML), 五名(5)患者患有复发急性早幼粒细胞性白血病(APL)。患有顽固性 AML 的患者无血液学应答并且所有这些患者随后死于白血病。所有五名(5)患有复发 APL 具有完全的血液学症状缓解并且存活至 2002 年 4 月;自砷治疗开始时幸存者的平均生存期为 11 个月, 自诊断开始时的平均生存期为 36 个月(在 20-56 个月范围内变化)。对于患有复发 APL 的三名(3)患者(7, 8 和 9), 他们的白血病的快速进展迫使在其戒食海鲜一整周之前即进行治疗。图 2 说明了九名在研患者的血浆砷浓度和血液砷浓度对时间曲线。关于本发明的 As_2O_3 口服制剂的系统生物利用度, 表 3 总结了 IV 给药和口服给药的 AUC 结果。表 4 列举了在对这些患者进行研究时他们的血色素和血细胞比容值以及在 48 小时的血浆砷浓度和推算的细胞砷浓度。平均起来, 细胞浓度超过血浆浓度 270%。

[0083]

表 3

患者	种浓度的 AUC (纳摩尔·小时数)				
	第一天: IV 给药开始后 0-24 小时		第二天: IV 给药开始后 24-48 小时		
	AUC	推算的 β 斜率 回归 (点数)	总 AUC 0-24 小时 口服给药后	外推 AUC 得自第一天的 IV 给药	净 AUC 口服给药后 0-24 小时 (占第一天 AUC 的 %)
1 血浆	2923	0.95 (4)	4317	1466	2851 (98)
血液	2852	0.23 (7)	3794	1512	2282 (80)
2 血浆	3367	0.99 (6)	2661	20	2641 (78)
血液	2261	0.43 (6)	1538	926	632 (28)
3 血浆	2828	0.02 (7)	3146	1605	1541 (54)
血液	3120	0.09 (4)	5019	2800	2219 (71)
4 血浆	881	0.56 (7)	2192	0	2192 (249)
血液	2971	0.62 (3)	3355	1908	1447 (49)
5 血浆	4091	0.87 (7)	5411	1294	4117 (101)
血液	6235	0.99 (3)	8825	2636	6189 (99)
6 血浆	2173	0.41 (7)	2917	1181	1736 (80)
血液	2785	0.99 (3)	5565	402	5164 (185)
7 血浆	4047	0.45 (6)	5899	1685	4214 (104)
血液	5903	0.83 (3)	6713	4323	2390 (40)
8 血浆	1553	0.73 (5)	1641	180	1461 (94)
血液	2877	0.98 (3)	3808	130	3679 (128)

[0084]

9	血浆	2193	0.99 (3)	4079	1075	3004 (137)
	血液	4311	1.00 (3)	6594	1730	4864 (113)
平均±SE	血浆	2673±362	0.67±0.18 (5.8±0.5)	3585±481	945±229	2640±343 (111±19)
95% CI		1839 - 3507	0.40 - 0.91 (4.6 - 6.9)	2475 - 4695	417 - 1474	1850 - 3430 (67 - 154)
平均±SE	血液	3702±483	0.68±0.12 (3.9±0.5)	5026±725	1819±436	3207±623 (88±16)
95% CI		2587 - 4816	0.41 - 0.96 (2.7 - 5.1)	3354 - 6698	814 - 2823	1771 - 4643 (50 - 126)

表 4

患者 编号	Hgb g/dL	HCT (L)	血浆浓度 nM/L (Cp)	细胞浓度 nM/L (Cc)	差值 nM/L
1	7.9	0.23	102	50	-52
2	7.6	0.21	38	52	14
3	8.3	0.24	68	595	527
4	9.2	0.27	55	243	188
5	8.7	0.25	152	591	439
6	15.6	0.44	49	227	178
7	12.3	0.35	180	299	119
8	15.8	0.46	32	133	101
9	10.5	0.31	88	384	295
平均 (±SE)	10.7 (1)	0.31 (0.03)	85 (17)	286 (68)	201* (63)

[0085]

[0086] *P = 0.013 ;双尾对偶 T 检验。

[0087] 讨论

[0088] 生物利用度

[0089] 在研究中没有使用给药剂量的随机均衡序列,因为我们想知道当确信 100% 的系统可利用性(IV 给药后)时,每名患者在最初如何耐受 As₂O₃。基于各个时期对血浆和全血浓度曲线的 AUC (图 1 和表 3),显然本发明的口服制剂达到了可与 IV 给药相媲美的可接受的生物利用度。尽管存在显著的患者间变化,但是患者内(日间)的变化相对小。鉴于口服 As₂O₃ 后的 AUC 与 IV 给药后的 AUC 几乎相同,需要说明某些异常。因此,对于患者 6,8 和 9,他们的口服给药的全血 AUC 明显大于 IV 定量给药后的全血 AUC,患者 4 和 9 的血浆 AUC 也同样如此。可能的原因包括:i) 砷定量给药或药物水平测量问题;ii) 第一次(IV)定量给药后,As₂O₃ 在组织结合部位饱和,使得在第二次(口服)定量给药后可获得更多的 As₂O₃;和 iii) 个体患者第二天的饮食不慎重。

[0090] 虽然不确定是否它们应归于不同的疾病状态、患者生理学的差异或其它因数,但是在九名(9)患者的血浆和全血 AUC 内存在显著的个体间差异(表 3);分别高达约 5 和 10 倍。在剂量 / 药物水平对 As₂O₃ 的效力和毒性的关系方面的这种个体间差异的可能的重

性需要进一步调查。

[0091] 细胞内浓度

[0092] 普遍承认 As_2O_3 在体内某些组织内浓集(Yamauchi H. 等人,1985,口服三氧化二砷的代谢及排泄(Metabolism and excretion of orally administered arsenic trioxide), Toxicology, 34:113-21。Huang 等人,1998,与急性早幼粒细胞白血病治疗相关的急性和慢性砷中毒(Acute and chronic arsenic poisoning associated with treatment of acute promyelocytic leukemia), Brit. J. Haemat., 103:1092-5; Ni JH 等人,1998,在治疗急性早幼粒细胞白血病中静脉内三氧化二砷的药动学(Pharmacokinetics of intravenous arsenic trioxide in the treatment of acute promyelocytic leukemia), Chinese Medical J., 111:1107-10)。我们在血液细胞部分内的 48 小时浓度持续高于相应的血浆浓度(约 2-3 倍)的发现支持了上述观察结论,除了患者 1 是例外。患者 1 病得很重并且贫血(表 4),并且在 As_2O_3 治疗的第一天,接受了 2 个单位的压紧细胞,其可能稀释了全血砷水平。作为监控 As_2O_3 治疗的辅助手段,在血液细胞部分内实现的砷浓度(其大概平行于骨髓细胞分子内的砷浓度)可作为实现给定的应答和 / 或避免毒性的决定性因素。

[0093] 这一研究结果清楚地显示了本发明的口服制剂实现了可与 IV 定量给药相媲美的砷生物利用度。另外,持续接受本发明的口服制剂的重复疗程的五名(5)患者(他们都患有复发 APL)显著转好。因此,本发明的口服 As_2O_3 制剂的使用是为患者提供改进的便利性和成本效益的重要进步。本研究结果还表明了砷在血液细胞分子内浓集,监控血液中的砷特别是血液细胞部分内的砷是用于改善治疗效力和安全性的有用方法,使得可对患者实行更专用化的 As_2O_3 疗法。

[0094] 结论

[0095] 本发明的口服 As_2O_3 制剂比 IV 给药该化合物更方便和更省钱。另外,口服 As_2O_3 制剂的砷的系统生物利用度可与 IV 给药的砷的系统生物利用度相媲美,并且砷在 As_2O_3 治疗开始后的 48 小时浓集在血液的细胞部分内。

[0096] 实施例 2

[0097] 以下实施例说明了使用本发明的三氧化二砷口服制剂的益处和使用该制剂的临床研究结果。这些实施例将不构成对本发明的限制。

[0098] 口服三氧化二砷(As_2O_3)制剂的制备

[0099] 以与上述第 6.1.1 节相同的方式制备口服三氧化二砷(口服 As_2O_3)。

[0100] 患者

[0101] 用口服 As_2O_3 治疗十二名连续的未经选择的患有复发 APL 的患者(表 4)。在形态学上证实了复发(在髓内大于 30% 的胚细胞 + 异常早幼粒细胞)和在细胞遗传学上证实了复发(存在 t (15;17), 这些病例没有表现出额外的 karyotypic 畸变)或在分子学上证实了复发(存在 PML/RARA)。在事先同意的条件下对他们进行治疗,治疗方案通过了香港大学的 Faculty of Medicine Ethics Committee 的审定。

[0102] 所有患者的预治疗 Karnofsky 分值大于 80%。常规监控包括每日轮流监控血液计数和肾 / 肝功能试验,和在最初一周每日监控心电图,然后每周监控心电图。

[0103] 治疗方案

[0104] 处于第一次复发的(R1) 八名患者用口服 As_2O_3 (10 毫克 / 天) 治疗,直到症状完全缓解(CR,髓内小于 5%的异常早幼粒细胞 + 胚细胞),然后用伊达比星(6 毫克 / 平方米 / 天,第一个月 5 天,然后每个月 2 天,持续两个月)巩固(Kwong Y.L. 等人,三氧化二砷和伊达比星导致的急性早幼粒细胞白血病缓解:试验研究的临床病理学和分子学特征(Arsenic trioxide-and idarubicini-induced remissions in relapsed acute promyelocytic leukaemia:clinicopathological and molecular features of a pilot study)。Am J hematology. 2001 ;66 :274-9)。患者 1,2,3,5 和 7 接受了一天的静脉内 As_2O_3 作为最初的药动学研究的一部分(Kumana C.R. 等人,用于治疗患血液学恶性肿瘤的口服三氧化二砷的系统利用度(Systemic availability of oral arsenic-trioxide used for treatment of patients with haematological malignancies.),EUR J CLIN PHARMACOL.,2002 ;58 :521-526)。

[0105] 处于二次复发(R2)的五名患者(其中一名病例为 R2 后的复发)用口服 As_2O_3 (10 毫克 / 天)和全反式视黄酸(ATRA)(45 毫克 / 平方米 / 天)联合治疗,直到症状缓解(Au W.Y. 等人,三氧化二砷和全反式视黄醇联合治疗曾用三氧化二砷成功治疗的复发患者但又复发急性早幼粒细胞白血病的患者(Combined arsenic trioxide and all trans retinoic acid treatment for acute promyelocytic leukaemia recurring from previous relapses successfully treated using arsenic trioxide),Br Jhaematol,2002 ;117 :130-2),然后用 As_2O_3 和 ATRA (As_2O_3 :10 毫克 / 天,ATRA:45 毫克 / 平方米 / 天,每两个月给药两周)进行六次巩固疗程。

[0106] 结果

[0107] 处于第一次复发(R1)的所有患者用口服 As_2O_3 (10 毫克 / 天)治疗平均 37 (22-59) 天达到了第二次完全症状缓解(CR2)。在随后的平均 14 (6-18)个月内,七名患者处于连续的 CR2。

[0108] 处于二次复发(R2)的四名患者用口服 As_2O_3 /ATRA 治疗平均 31 (28-37)天达到了第三次完全症状缓解(CR3)。在随后的平均 17 (14-19)个月,所有患者保持在 CR3 阶段。患者 1 在治疗后 76 天死于脑出血,未达到 CR3。

[0109] 在 As_2O_3 诱导的 CR 后,所有患者中的早幼粒细胞性白血病 - 视黄酸受体 α (PML/RARA)水平保持阳性。然而,在症状缓解后 3-6 个月,11 名病例的 PML/RARA 变成阴性,并且直到最新的骨髓检查表明仍保持阴性。患者 1 的 PCR 在 R2 之前不就即变成阳性。

[0110] 四名患者(患者 1,4,10 和 12)发展为白血细胞增多(平均 $74 (62-120) \times 10^9/\text{L}$),需要伊达比星(6 毫克 / 平方米 / 天,当白细胞计数 $> 15 \times 10^9/\text{L}$ 时给予)用作对照。然而,未观察到类似于 ATRA 综合症的症状学(Camacho L.H. 等人,Leukocytosis and the retinoic acid syndrome in patients with acute promyelocytic leukemia treated with arsenic trioxide,J Clin Oncol,2000 ;18 :0-5)。

[0111] 在五名患者体内发生肝功能试验(LFT)损伤,在平均 11 (5-21)天时达到峰值。治疗暂时停止后 LFT 趋于正常,进一步的口服 As_2O_3 治疗不造成损害。在五名患者中发生中度皮疹(I 级)并使用对症疗法予以平息。在两名口服 As_2O_3 /ATRA 的患者中发生头痛并给子分开剂量的 ATRA 予以平息。这些患者没有表现出以前所报导类型的 ECG 异常(Ohnishi K. 等人,Prolongation of the QT interval and ventricular tachycardia in patients

treated with arsenic trioxide for acute promyelocytic leukemia, Ann Intern Med, 2000 ;133 :881-5)。

[0112] 讨论

[0113] 本发明的探索性研究的初步结果表明口服 As_2O_3 在复发 APL 中是高效的,其效力可与静脉内给药 As_2O_3 (Tallman M.S. 等人, Acute promyelocytic leukemia:evolving leucocytosis, LFT derangement and skin rashes, were also comparable with intravenous- As_2O_3 (Niu C. 等人,用三氧化二砷治疗急性早幼粒细胞白血病的研究:在 11 名新诊断的和 47 名复发急性早幼粒细胞白血病患者中的诱导缓解,跟踪和分子监控 (Studies on treatment of acute promyelocytic leukemia with arsenic trioxide: remission induction, follow-up, and molecular monitoring inllnewly diagnosed and47relapsed acute promyelocytic leukemia patients), Blood,1999 ;94 :3315-24 ; Soignet S.L. 等 人, United States multicenter study of arsenic trioxide in relapsed acute promyelocytic leukemia, J Clin Oncol, 2001 ;19 :3852-60))相媲美。未发现心脏心律不齐,这与先前在中国患者中进行的静脉内 As_2O_3 研究的结果相似,其中只发现 9/58 的患者有心律不齐(Niu C. 等人,见上文)。

[0114] 值得注意的是,只有四名患者接受了口服 As_2O_3 作为单一药剂用于 CR 诱导,其余的患者在达到 CR 之前接受了 ATRA 或伊达比星,由于这种限制本文的结果表明口服 As_2O_3 的短期效力和安全性类似于静脉内 As_2O_3 ,最近的研究也表明口服四砷四硫化物在 APL 中非常有效(Lu D.P. 等人, Tetra-arsenic tetra-sulfide for the treatment of acute promyelocytic leukemia:a pilot report, Blood, 2002 ;99 :3136-43)。然而,口服 As_2O_3 的长期效力和安全性与静脉内 As_2O_3 的比较将需要比较久的继续研究。

[0115] 最后,虽然口服或静脉内 As_2O_3 和造血干细胞移植是治疗患有复发 APL 患者的有效治疗形式,但是它们的相对优点是不明确的,并将需要进一步的随机试验来解决这一问题。

[0116] 等价变形例

[0117] 本领域的技术人员将承认或能够确定至多使用常规试验、本文所述的本发明具体实施方案的等价变形例。这些等价变形例将包括在以下的权利要求中。

[0118] 本说明书提及的所有公开、专利和专利申请被并入本文作为参考,达到与各公开自身公开的相同程度,明确地和分别地表明了专利或专利申请作为参考被并入本文。

[0119] 作为本文参考文献的引证或讨论将不被认为是对其的一种认可,他们只作为本发明的现有技术。

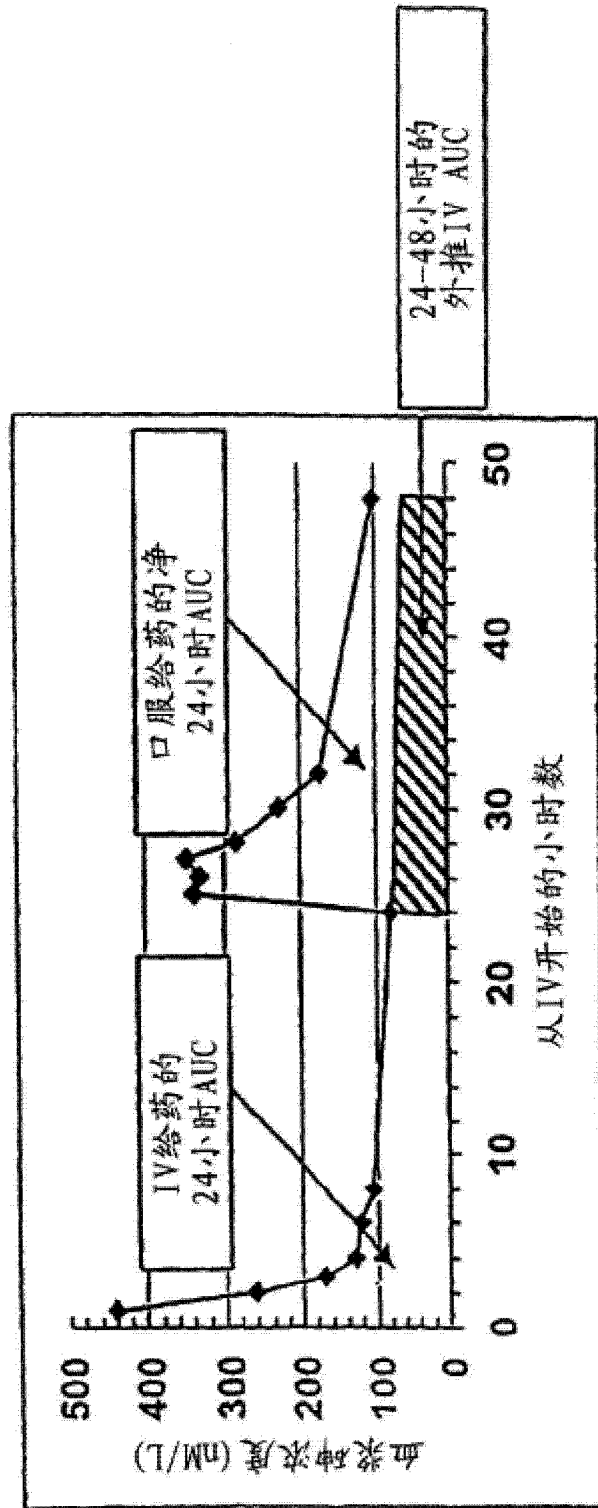


图 1

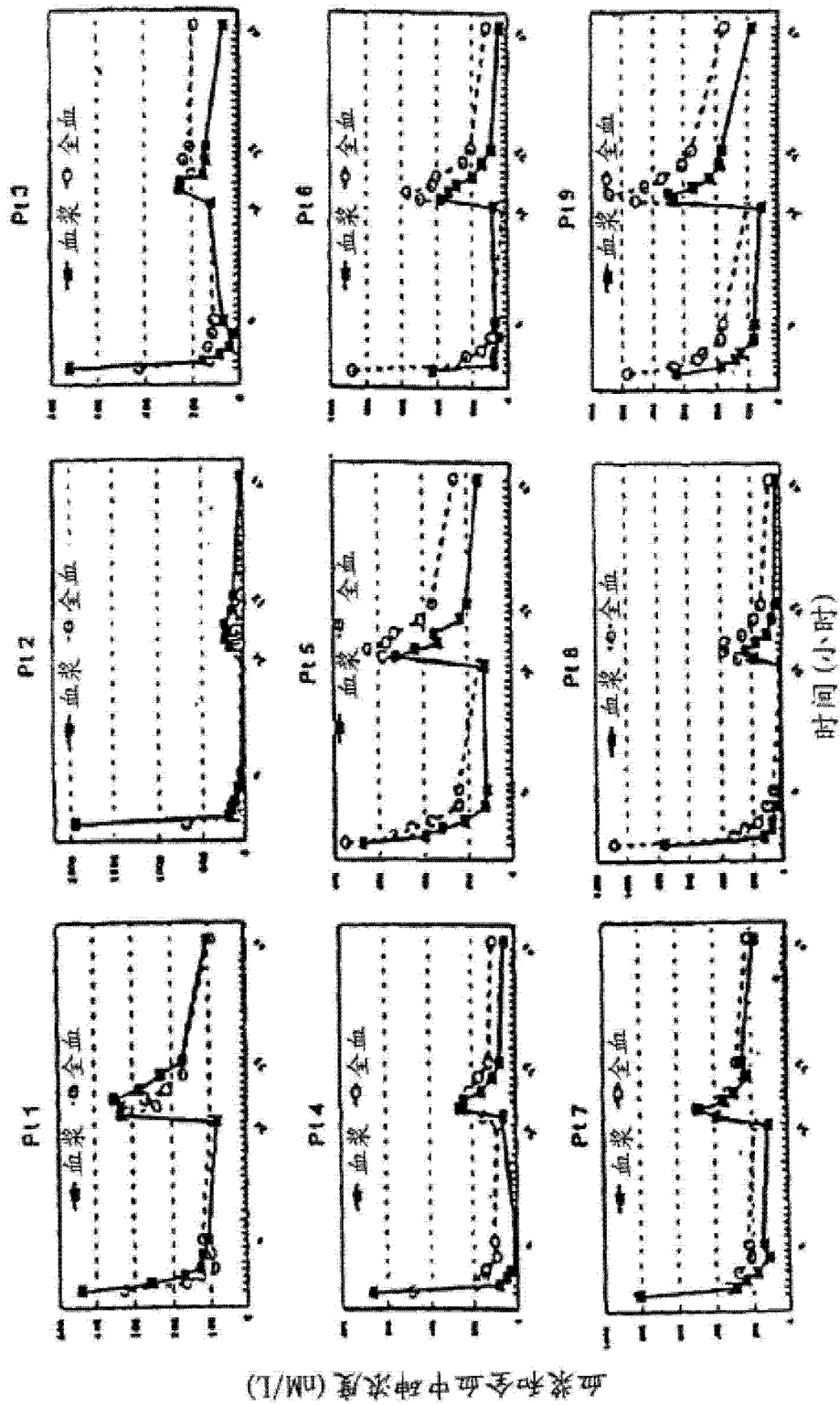


图 2

对患有复发急性早幼粒细胞性白血病的12名连续患者口服As₂O₃治疗的临床病理特征和结果

As₂O₃

性别/年龄状态	先前的诱导治疗	从最后CR起的时间	复发		口服As ₂ O ₃ 治疗		巩固	最近的PCR ¹	DFS	备注
			Hb	WBC	Plat	疗程	额外Rx			
1 ^o M/23	R1	11 m	15.6	2.1	87	59 d	Ida	CR	13 m	
	R2	10 m	14.0	2.5	25	76 d	Ida	NR	+	(dead)
2 ^o M/33	R2	25 m	13.4	2.1	20	32 d	ATRA	CR	19 m +	Ida consolidation omitted due to high cumulative doses of antineoplastic
3 ^o F/13	R2	12 m	8.6	1.2	15	30 d	ATRA	CR	19 m +	Ida consolidation omitted due to high cumulative doses of antineoplastic
4 ^o M/54	R1	100 m	8.5	34.8	81	40 d	Ida	CR	18 m +	Ida consolidation omitted due to high cumulative doses of antineoplastic
5 ^o M/32	R1	22 m	14.5	2.4	177	33 d	-	CR	18 m +	Ida consolidation omitted due to high cumulative doses of antineoplastic
6 ^o F/32	R1	12 m	12.2	0.8	84	51 d	-	CR	18 m +	Ida consolidation omitted due to high cumulative doses of antineoplastic
7 ^o F/45	R2	17 m	11.2	1.9	50	37 d	ATRA	CR	17 m +	Ida consolidation omitted due to high cumulative doses of antineoplastic
8 ^o F/65	R1	16 m	7.2	2.8	141	28 d	-	CR	15 m +	Ida consolidation omitted due to high cumulative doses of antineoplastic
9 ^o F/18	R2	12 m	10.1	1.9	180	28 d	ATRA	CR	14 m +	Ida consolidation omitted due to high cumulative doses of antineoplastic
10 ^o F/18	R1	12 m	8.2	12.6	54	44 d	Ida	CR	9 m +	Ida consolidation omitted due to high cumulative doses of antineoplastic
11 ^o M/45	R1	240 m	4.2	0.6	9	32 d	-	CR	7 m +	Ida consolidation omitted due to high cumulative doses of antineoplastic
12 ^o F/40	R1	23 m	8.5	6.5	39	28 d	Ida	CR	6 m +	Ida consolidation omitted due to high cumulative doses of antineoplastic

* 先前报导的口服As₂O₃的药代动力学数据⁶

1: PML/RARA的PCR, +: 阳性, -: 阴性 (从初始诊断起的时间)

M: 男; F: 女. CR: 完全症状缓解; NR: 无症状缓解; R1: 第一次复发; R2: 第二次复发

CBC: 全血计数; Hb: 血红蛋白 (g/dL); WBC: 白细胞计数 (X10⁹/L); P lat: 血小板计数 (X10⁹/L)

m: 月; d: 天; DFS: 无疾病的存活者

ATRA: 全反式视黄酸; Dauno: 柔红霉素; Ida: 伊达比星; Ara-c: 阿糖胞苷

CA: 癌症; AML: 急性骨髓性白血病; CRF: 慢性肾衰竭; DM: 糖尿病;

CAPD: 连续非卧床腹膜透析; CRHD: 慢性风湿性心脏病; rep: 替代疗法

图 3