(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 103702663 A
(43)申请公布日 2014.04.02

(21)申请号 201280033986.1
(22)申请日 2012.07.12
(30)优先权数据
61/572,225 2011.07.12 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2014.01.08
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2012/046559 2012.07.12
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2013/010041 EN 2013.01.17
(71)申请人 卡迪斯制药公司
地址 美国华盛顿州
(72)发明人 艾伦·布鲁斯·蒙哥马利
(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227
代理人 彭鲲鹏 卢蓓
(51)Int.Cl.
A61K 9/00(2006.01)
A61K 31/665(2006.01)
A61K 31/7036(2006.01)

权利要求书2页 说明书12页 附图1页
按照条约第19条修改的权利要求书2页
按照条约第19条修改的声明或说明1页

(54)发明名称

治疗呼吸机相关肺炎(VAP)和呼吸机相关气管(VAT)支气管炎的阿米卡星和磷霉素组合的制剂以及方法和系统

(57)摘要

本发明是涉及呼吸机相关性肺炎(VAP)和呼吸机相关性气管(VAT)-支气管炎的抗生素组合物、基于呼吸机的系统和方法。通过处于呼吸机气道内的串联雾化器施用磷霉素和氨基糖苷(优选阿米卡星)的抗生素组合。经增湿的条件产生了改进的气溶胶雾(aerosol mist)用于治疗VAP和VAT。

CN 103702663 A

1. 药物组合物，其包含：

杀菌浓度的阿米卡星和磷霉素，其以大于 1 ： 1 的阿米卡星：磷霉素比例在高渗溶液中组合并且具有至少约 30 当量 / L 的渗透性阴离子。

2. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中所述溶液的渗量浓度小于约 1,000mOsmol / L。

3. 根据权利要求 2 所述的组合物，其中阿米卡星的浓度为至少 50mg / ml。

4. 根据权利要求 2 所述的组合物，其中磷霉素的浓度为至少约 20mg / ml。

5. 根据权利要求 1 所述的组合物，其具有约 4.4 至约 7.5 的 pH。

6. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中渗透性阴离子的浓度为至少约 40mEq / L，并且渗量浓度为约 310mOsmol / L 至小于约 800mOsmol / L。

7. 根据权利要求 2 所述的组合物，其中所述溶液包含 100mg 至 300mg 磷霉素。

8. 根据权利要求 2 所述的组合物，其中所述溶液包含 150mg 至 600mg 阿米卡星。

9. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中磷霉素是其水溶性盐。

10. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中所述渗透性阴离子为氯离子。

11. 组合物，其包含：

第一组分，其包含独立部分的阿米卡星，所述独立部分的阿米卡星的浓度大于 100mg / ml 并且 pH 为约 4.5 至约 6.0，

第二组分，其包含独立部分的至少 40mg 磷霉素二钠。

12. 根据权利要求 11 所述的组合物，其中从粉末重构磷霉素以产生具有大于 110mg / ml 之浓度并且溶液 pH 为约 8.0 至 9.5 的溶液。

13. 根据权利要求 11 所述的组合物，其中将所述第一组分和所述第二组分组合以产生混合物，所述混合物具有 6.9 至 7.4 的 pH、至少 30 当量 / L 的氯阴离子和约 680mOsmol / L 至 780mOsmol / L 的渗量浓度。

14. 根据权利要求 11 所述的组合物，其中所述第一组分和所述第二组分密封于分开的容器中。

15. 根据权利要求 11 所述的组合物，其中所述第一组分和所述第二组分是合并的，并且阿米卡星：磷霉素的比例大于 1 ： 1。

16. 根据权利要求 11 所述的组合物，其中所述第一组分的浓度大于 110mg / ml，其溶液的 pH 为约 8.0 至 9.5。

17. 根据权利要求 11 所述的组合物，其中所述比例大于或等于 2.6 ： 1.0。

18. 经增湿的气溶胶雾，其包含：

由磷霉素和阿米卡星之高渗溶液形成的、具有大于 30 当量 / L 之渗透性离子浓度、小于 1000mOsmol/L 之渗量浓度、小于 5 微米之平均粒径、并且与经增湿的空气相混合的颗粒分布。

19. 根据权利要求 18 所述的雾，其中阿米卡星在所述高渗溶液中的浓度为至少约 50mg / ml。

20. 根据权利要求 19 所述的雾，其中磷霉素在所述高渗溶液中的浓度为至少约 20mg / ml。

21. 根据权利要求 18 所述的雾，其中所述 pH 为 4.5 至 7.5。

22. 根据权利要求 21 所述的雾，其中所述渗透性离子的浓度大于 40mEq / L，并且所述

气溶胶雾的渗量浓度小于 800mOsmol / L。

23. 根据权利要求 22 所述的雾，其中所述平均粒径小于 3.5 微米。

24. 根据权利要求 22 所述的雾，其中所述平均粒径大于 2.8 微米。

25. 根据权利要求 24 所述的雾，其中所述雾对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌及其组合具有杀菌作用。

26. 根据权利要求 25 所述的雾，其中所述革兰氏阳性菌为 MRSA。

27. 根据权利要求 26 所述的雾，其中所述细菌携带表达碳青霉烯酶的基因。

28. 根据权利要求 27 所述的雾，其中所述碳青霉烯酶为 NDM-1。

29. 根据权利要求 18 所述的雾，其中阿米卡星：磷霉素的比例大于 1 ： 1。

30. 根据权利要求 29 所述的雾，其中所述比例大于或等于 2.6 ： 1.0。

31. 系统，其包含 ：

机械呼吸机，所述机械呼吸机包含用于将由呼吸机所产生的正空气压力传送至患者的气道，

可操作地与所述气道相连接的用于增湿空气的源和气道入口固定器 ；以及

在所述气道入口固定器处可操作地与所述气道相连接的串联雾化器，其中所述雾化器包含 ：装有溶于具有至少约 30 当量 / L 之高渗盐水溶液中的阿米卡星与磷霉素之组合的储存器，以及具有直径小于 2.5 微米之多个开口的振动板膜。

32. 根据权利要求 31 所述的系统，其中所述雾化器具有入口和出口，其各自在所述气道入口固定器处可操作地连接并密封，使得所述雾化器不将额外的空气引入所述气道。

33. 根据权利要求 32 所述的系统，其中所述气道入口固定器配置在接近于呼吸机 Y 形器件处。

34. 根据权利要求 33 所述的系统，其中所述串联雾化器具有在所述振动膜周围的环状通风空间。

35. 根据权利要求 33 所述的系统，其中所述串联雾化器以连续的方式运行以产生气溶胶雾。

36. 根据权利要求 31 所述的系统，其还包含平均粒径小于 5 微米并且渗量浓度小于 800mOsmol / L 的所述高渗溶液的气溶胶雾。

37. 根据权利要求 31 所述的系统，其中所述储存器装有约 100mg 至约 300mg 的磷霉素和约 150mg 至 650mg 的阿米卡星。

38. 根据权利要求 32 所述的系统，其还包括处于所述气道内且远离所述串联雾化器处的经增湿空气与所述气溶胶雾的混合物。

39. 根据权利要求 31 所述的系统，其中阿米卡星：磷霉素的比例大于 1 ： 1。

40. 根据权利要求 39 所述的系统，其中所述比例大于或等于 2.6 ： 1.0。

41. 如本文中所述的高渗溶液，其包含在其气溶胶雾中具有提高之渗量浓度的一定浓度的药物，其中所述雾与经增湿的空气相混合以降低其渗量浓度。

42. 如本文中所述的呼吸机系统，其具有用于从高渗溶液产生雾的雾化器和用于产生增湿空气的设备，其中所述呼吸机配置成在所述呼吸机的气道内使所述雾与所述增湿空气相混合。

治疗呼吸机相关性肺炎(VAP)和呼吸机相关性气管(VAT)-支气管炎的阿米卡星和磷霉素组合的制剂以及方法和系统

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2011年7月12日提交的美国临时申请第61 / 572,225号的权益,该申请通过引用并入本文。

背景技术

[0003] 许多医学文献和临床经验表明,呼吸机相关性肺炎(ventilator associated pneumonia,VAP)是可怕的并且经常是致死的机械通气并发症。在美国,每年有超过250,000的患者罹患VAP,或者说每百万人口中有近800例患者。在墨尔本,据报道,2006年的发病率为每1,000个机械通气日有6.2例,与美国的比例相似。(Sogaard OS等,A binational cohort study of ventilator-associated pneumonia in Denmark and Australia.Scand J Infect Dis(2006);38:256-264)。VAP的死亡率平均为25%。因此,在预后不良的患者中,VAP的诊断是危及生命的并发症。VAP的起始和迅速进展通常发生于机械通气的3至5天之后,并且起始于病原菌对气道的初始定殖(colonization)。这之后迅速进展为VAP的化脓性的气管-支气管炎(也称为呼吸机相关性气管-支气管炎(ventilator associated tracheobronchitis,VAT))。VAT被认为是VAP的先兆。VAT是在胸透照片上没有新浸润物的气管-支气管炎(Nseir,Nosocomial tracheobronchitis Current Opinion in Infectious Diseases2009,22:148-153)。不是所有的VAT都会进展成VAP,并且不是所有的VAP都有VAT先兆。

[0004] VAP还延长ICU监护时间,并且需要使用静脉内给药的抗生素。但是,经静脉给药而在呼吸道中可达到的抗生素水平通常低于治疗该疾病所需的治疗浓度。此外,耐药生物体的持续出现(尤其在医院环境中)使得该方法的效果日益降低。特别地,多药物抗性细菌(例如,抗甲氧西林的金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)(MRSA)和革兰氏阴性病原体)的出现提高了VAP的发病率。

[0005] 在过去的二十年中,许多研究人员发起的试验试图研究用于治疗或预防VAP的雾化抗生素。(参见Palmer等,Critical Care Medicine2008;36(7):2008-2013,Wood等,Pharmacotherapy2002;22(8):972-982,以及Lu等,AJRCCM(Volume184:106-115,2011))。这些试验的荟萃分析(meta-analysis)示出了在减少呼吸机使用日和改进其他结局方面的益处。最近,Palmer及其同事(上文)进行了随机盲法安慰剂对照试验,以确定雾化抗生素对患VAT和/或VAP患者的结局的影响。四十三名患者随机地接受雾化抗生素或安慰剂14天。雾化抗生素的选择基于对气管内抽吸物(aspirate)的革兰氏染色。对携带革兰氏阳性微生物的患者和携带革兰氏阴性微生物的患者分别使用万古霉素或庆大霉素。如果同时存在革兰氏阳性微生物和革兰氏阴性微生物,那么这两种抗生素都使用。也用全身性抗生素对这43名患者中的大多数进行治疗。作者发现雾化抗生素与下述有关:治疗结束时VAP显著比例降低,系统性抗生素的使用减少以及患者更早脱离呼吸机从而导致其在ICU

的监护时间缩短。

[0006] Palmer 等还示出抗生素特别是庆大霉素和万古霉素之组合 (cocktail) 的优点，其在 VAP 和 VAT 的治疗中分别具有革兰氏阴性菌活性和革兰氏阳性菌活性，这是因为许多患者同时被革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌感染。有趣的是，在用雾化抗生素治疗的患者中还发现了较低的微生物抗性比例，这可能因为已知常见于静脉内给药的亚最佳水平促进细菌耐药性的产生。

[0007] 由 Palmer 及同事使用的递送系统是小型的特定尺寸喷射雾化器（不再制造），其将额外的 6L / m 气流引入气道。这种雾化器与许多现代呼吸机不相容，这是因为现代呼吸机具有精密监测并控制气流和压力的复杂控制和反馈系统。Lu 等的近期研究在对已建立的革兰氏阴性菌和 VAP 的小型 2 期试验中比较了头孢他啶 (ceftazidine) 和阿米卡星（气雾剂 (n = 23) 相对于 IV(n = 17))。在 8 天的抗生素给药之后，气雾剂组和静脉内组在治疗成功 (70％相对于 55％)、治疗失败 (15％相对于 30％) 以及被其他微生物重复感染 (15％相对于 15％) 的方面结果类似。抗生素抗性仅在静脉内组中观察到。作者得出结论，气雾剂抗生素具有与 IV 相似的疗效，并且很可能导致较低的细菌抗性比例。

[0008] 气雾剂辅助疗法或主要抗生素治疗在 VAP 中的疗效并不令人惊讶。静脉内抗生素很难渗透进痰中。气雾剂抗生素通常具有的痰浓度比最大剂量 IV 递送高 100 倍，而通常气雾剂抗生素全身暴露为最大剂量 IV 递送的十分之一。气雾剂抗生素从呼吸道中的迅速清除导致非常高浓度抗生素或不存在抗生素的情况，从而避免了导致发生抗性的长时间的亚 MIC 抗生素浓度。迄今为止，监管机构尚未批准用于 VAP 或 VAT 的雾化抗生素。

[0009] 用于 VAT 和 VAP 的革兰氏阴性菌抗生素和革兰氏阳性菌抗生素的有前景的组合是氨基糖苷和磷霉素的组合。(Baker，美国专利第 7,943,118 号和 MacCleod J Antimicrobial Chemotherapy2009 ;64 :829-836)。在患有囊性纤维症 (cystic fibrosis，CF) 和铜绿假单胞菌 (Pseudomonas aeruginosa)（革兰氏阴性菌）感染的患者中，通过振动板雾化器 (PARIeFlow) 每天两次递送气雾剂形式的 80mg 磷霉素 / 20mg 妥布霉素经 28 天的治疗期，有效降低了铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌 (Staphylococus aureus) 的细菌负载 (Trapnell 等，AJRCCM185 :171-178，2012)。另一些氨基糖苷也可以与磷霉素协同 ;Cai(J of Antimicrobial Chemotherapy64(2009)563-566) 报道了，在体外和经系统性治疗的大鼠假单胞菌感染模型二者中，磷霉素将阿米卡星的疗效增强至比妥布霉素更高的程度。

[0010] 气雾剂良好耐受的重要性在自主呼吸的患者中也是公知的。虽然在使用呼吸机的患者中可以耐受轻度的咳嗽，但是咳嗽增加了气道的压力，使患者处于气压伤 (barotrauma) 的风险之中。众所周知，用于雾化的高渗溶液可引起咳嗽。事实上，使用渗量浓度为 24110sm / kg 的 7％高渗盐水溶液以诱发咳嗽，从而在患有肺病的自主呼吸患者中获得痰样本或促进气道清除。较低渗量浓度的溶液仍引起咳嗽，当在 CF 患者中测试时，渗量浓度为约 1300osm / kg 的磷霉素 / 妥布霉素制剂可在 41 位患者中的 10 位之中引起明显的咳嗽，而生理盐水 (3100sm / kg) 的安慰剂仅在 40 位患者中的 3 个之中引起咳嗽。在 41 位患者的 5 个中发生气喘声 (wheezing)（支气管痉挛数种量度的另一种），与之对比，安慰剂组中没有发生。(AMJRespir Crit Car Med185 :171-178，2012)。

[0011] 因此，尽管已使用了抗生素的一些组合（包括磷霉素与氨基糖苷），但是尚未批准用于 VAP 和 VAT 的组合，并且一些问题尚待解决。首先，呼吸机回路几乎总是包括增湿器，以

在气体进入患者气道之前使用来自高压气体供给的无菌水来使干燥气体湿润。空气的增湿导致气雾剂颗粒吸水增大。许多颗粒增长至使得它们在气管内和呼吸机管道中滴落(rain out)的尺寸,或者,如果递送至患者,则在大的气道中沉积。参见Miller等AmJ Respir Crit Care Med168:1205-09(2003)。气管内导管的内径为平均7mm至8mm,比典型气管的直径小得多。较小的直径增加了>5微米的大颗粒的"滴落",使得那些气雾剂颗粒无法到达患者。保持增湿回路开启并且使用具有约5微米平均粒径(在雾化器处因增湿的增长之前)的喷射雾化器的效率损失估计为失去50%的气雾剂。(Palmer等Critical Care Medicine1998:26:31-38)。为了避免这个问题,一个明显的解决方案是在气雾剂抗生素治疗期间关闭增湿器,如上述治疗研究中进行的(Palmer,Wood,Lu,Miller,见上文)。这是成功的方法,但是承担着医护人员疏于重新打开增湿的有限风险。因此,医院、急救护理设备和监管机构可能需要特定的警报装置,这是因为未经增湿的气体引起分泌物干燥,使得肺炎痊愈甚至更加困难。允许连续增湿的方法是最佳的,并且增加患者安全和治疗的疗效。

[0012] 第二,对于患有VAT和VAP的患者需要改进的气道耐受。在Lu等的近期研究中,经常出现患者的呼吸与呼吸机失序(out of sequence),这很可能是由治疗性气雾剂的刺激造成的。Eschenbacher(Eschenbacher等,Am RevRespir Dis1984;129:211-215)发表了轻度哮喘患者在暴露于没有渗透性阴离子(permeant anion)(例如浓度大于20meq/升的氯离子)的气雾剂时会咳嗽,即使该气雾剂是等渗的亦是如此。Lu利用无菌水重构(reconstitute)粉末化的抗生素,并且未在他的制剂中使用提供渗透性阴离子的任何盐水。Lu的方法是给患者施用大量镇静剂,这不是最佳的方法。

[0013] 第三,Eschenbacher(见上文)测试了1232mOsm/升的高渗盐水溶液,并且表明在轻度哮喘患者中咳嗽和支气管痉挛是常见的。用支气管扩张剂进行预治疗可以预防支气管痉挛,但是不能预防咳嗽。如上所述,在呼吸机上咳嗽是不期望的,因为它可引起高气道压力从而导致气胸,或干扰充足换气的递送。当前在CF门诊患者的临床研究中使用的磷霉素/妥布霉素组合的渗量浓度为约1215mOsm/升,远高于约310mOsm/升的生理性气道渗量浓度。这种高的渗量浓度是由于磷霉素的低MW,并且由于其是二钠盐。磷霉素二钠盐的水溶解度为50mg/mL,其他盐(包括钙盐)是可用的,但是溶解度更小以至于无法实现浓缩的制剂。使用这种高渗量浓度制剂使得每个剂量可以在振动网喷雾器中以2mL溶液进行递送,因此对于CF门诊患者的治疗时间为约5分钟。更稀释的溶液需要更久的给药时间,这导致了差的顺应性和潜在的较低疗效。较高的渗透浓度具有较大的吸水性生长。因此,如果这种制剂用于呼吸机,将有大量>5微米的颗粒在管道中滴落,并且递送的剩余量很有可能刺激气道。在2期CF研究中报道了常见的咳嗽不良事件。事实上,虽然所有患者都用支气管扩张剂进行预治疗以防止支气管痉挛,但是在CF研究中对这种高剂量(160mg磷霉素/40mg妥布霉素,4mL溶液中相同的渗量浓度)耐受性很差。

[0014] 第四,与CF门诊患者相比,在VAP和VAT中抗性的流行病学和治疗的目标相差很大。但是,在医疗设备中,一旦细菌抗性出现,那么抗性细菌在患者之间的传播十分迅速,并且蔓延很常见。此外,累积性长期给药导致的氨基糖苷毒性的风险很严重,这是因为使用妥布霉素气雾剂对CF患者长期治疗多年。相反,在VAT和VAP中,患者有可能仅接受一周或两周的抗生素疗程。因此,当用于治疗VAP或VAT时,如果患者携有磷霉素抗性的细菌,那么在组合产品中限制氨基糖苷的剂量和依赖磷霉素以增加细菌杀伤有着使这两种药物

都丧失疗效的风险。例如，与在 Baker′ 118 中公开的磷霉素与妥布霉素的高比例相比，在 VAP 和 VAT 中最佳的制剂有足够的氨基糖苷剂量以作为独立有效的抗生素组合。但是，如果制剂的体积维持恒定，该方法将只能提高制剂的渗量浓度。磷霉素的优点是进一步增强革兰氏阴性菌杀伤（包括菌膜 (Cai，见上文)）并且也治疗革兰氏阳性菌（包括耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌 (MRSA)）。磷霉素的另一优点是其在一定程度上逆转限制氨基糖苷之生物利用度的痰拮抗作用 (MacCleod，见上文)，(Mendelman Am Rev Rispir Dis1985 ;132 : 761-5)。因此，即使细菌是磷霉素抗性的，对于组合而言通过提高氨基糖苷的生物活性浓度仍然可以有一些临床益处。

[0015] 一种解决方案是稀释制剂并增加置于用于治疗的喷雾器中所放置的体积。但是，在治疗期间对患者的观察可能是标准方案。ICU 专业护士或呼吸治疗师很可能需要在治疗期间观察患者，因延长的给药时间而增加治疗的额外成本。在气雾剂治疗期间可能发生严重的不良事件，例如，在 Lu 的研究中，患者由于呼吸机上堵塞的呼气过滤器而导致心肺骤停 (cardiopulmonary arrest)。最佳制剂应具有比稀释制剂更短的递送时间。在吸气期间触发递送虽然会延长治疗时间，但是时间损失可以通过对递送效率的改进来抵消。因此，存在对可以评价更低剂量之治疗方案的需要。

[0016] 因此，尽管有已知的挑战和意识到的风险，但是存在对用于缓解或预防 VAT 和 VAP 的抗生素组合物、设备以及治疗方法和系统的需要。

发明概要

[0017] 本发明是用于治疗、缓解和预防呼吸机相关性肺炎 (VAP) 和呼吸机相关性气管 (VAT)- 支气管炎的氨基糖苷和磷霉素之组合的改进制剂、系统和方法。本发明的抗生素组合物包含为促进本发明之治疗目的而设计的阿米卡星和磷霉素的组合，所述组合在具有特定比例、渗透性离子的浓度（特别包括氯离子）、pH 范围、气溶胶雾的粒径和渗量浓度水平的高渗溶液中组合。独特地选择这些物理和化学参数以增强所述组合在基于呼吸机方式和基于雾化器方式的给药中的杀菌性能。具体地，阿米卡星与磷霉素的比例大于 1 ： 1，优选大于 2.5 ～ 2.6 ： 1.0。pH 范围一般为约 4.4 至 7.5，并且优选 6.9 至 7.4。所述渗透性离子的浓度大于 30 当量 / 升，并且在一些制剂中大于 40 毫当量 / 升。所述渗量浓度大于 300 ～ 310 毫 osm / L 并小于约 800 毫 osm / L，并且一般小于 1,000 毫 osm / L。第一抗生素组分和第二抗生素组分的浓度二者（单独地且组合协同地）都是杀菌的，并且优选地具有大于目标生物体之 M1C90 的量。气雾剂可以由包含以下的溶液形成 :疗效所需要的高浓度的任何低分子量药物，或者渗量浓度高于在气雾剂给药之后耐受性所期望之渗量浓度的该药物的阳离子或阴离子。在下文描述的某些实施方案中，所述抗生素组分可以是液体、固体或者配制成的气雾剂或干粉，并且可以是本文所述组合物的任何生理可相容的盐。

[0018] 所述抗生素组合和组合物的第一组分是阿米卡星，其为众所周知并且广泛使用的具有抗革兰氏阴性生物体之活性的氨基糖苷。尽管阿米卡星未被批准用于气雾剂用途，但是其已经在多个 VAP 研究中用作包含标准 IV 药物或头孢他啶气雾剂的方案组分 (Niederman 等，NKTR-061(Inhaled Amikacin)Reduces Intravenous Antibioitc Use in Intubated Mechanically Ventilated Patients During Treatment of Gram-Negative Pneumonia.27th International Symposium on Intensive Care and Emergency

Medicine Brussels, Belgium. 27-30March2007Critical Care2007, 11(Suppl2) : P97, 5Lu Q 等, Nebulized ceftazidime and amikacin in ventilator-associated pneumonia caused by Pseudomonas aeruginosa in AJRCCM Articles in Press. 出版于 2011 年 4 月 7 日, doi :10.1164 / rccm.201011-1894OC)。采用雾化的阿米卡星,全身暴露低,因此在肾毒性方面比经静脉内给药安全。近期公开了超过 15,000 种医院病原体的数据库并且示出了使用一批阿米卡星之后当前的抗性数据 (Zhanel GG 等, Antimicrobial susceptibility of15,644pathogens from Canadian Hospitals : results of the CANWARD2007-2009study. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease69(2011)291-306)。假单胞菌的 MIC90(分离株的 90%最小抑菌浓度)为 32μg / mL。在除嗜麦芽寡养单胞菌 (Stenotrophomonas maltophilia) 之外的所有其他革兰氏阴性菌中,MIC90 更低。嗜麦芽寡养单胞菌的 MIC90 为 >64μg / mL。阿米卡星的限制在于其抗 MRSA 的活性是有限的,并且对于在菌膜中的革兰氏阴性菌的活性较差。

[0019] 药物制剂的所述第二抗生素组分是磷霉素,其为具有抗革兰氏阳性菌活性和抗革兰氏阴性菌活性二者的广谱膦酸抗生素。磷霉素口服单一疗法通常用于治疗无并发症的尿道感染。近期,磷霉素被证明与妥布霉素组合作为气雾剂在治疗经假单胞菌感染的 CF 患者中是安全且有效的 (Trapnell BC 等, Fosfomycin / Tobramycin for Inhalation(FTI) : Efficacy Results of a Phase2lacebo controlled Trial in Patients with Cystic Fibrosis and Pseudomonas aeruginosa. Poster23324th Annual North American CysticFibrosis Conference, October21-23, 2010, Baltimore MD, Trapnell BC 等, Fosfomycin / Tobramycin for Inhalation(FTI) :Safety Results of a Phase2lacebo controlled Trial in Patients with Cystic Fibrosis and Pseudomonas aeruginosa. Poster23424th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, October21-23, 2010, Baltimore MD)。此外,它在治疗 MRSA 中是有效的,在约 1 / 3 的受治疗患者中 MRSA 以共同感染的形式见到。使用阿米卡星的抗生素疗效优于使用妥布霉素所观察到的疗效。Cai 等报道了体外磷霉素将阿米卡星 (如果是 64) 的体外活性提高数倍,并且在大鼠菌膜假单胞菌感染模型中磷霉素和阿米卡星的组合与各组分单一治疗相比提高了疗效。(Cai Y, 等 Synergistic effects of aminoglycosides and fosfomycin on Pseudomonas aeruginosa in vitro and biofilm infections in a rat model. J of Antimicrobial Chemotherapy64(2009)563-566)。在北美,磷霉素没有用作 IV 抗生素,并且没有来自 MRSA 的关于磷霉素 MIC 的近期数据。但是,来自 1980 年的数据报道了 32μg / mL 的 MIC90(Alvarez S 等, In Vitro activity of Fosfomycin, Alone and in Combination. against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. Antimicrobial Agents and Chemotherapy28(1985)689-690)。由于没有普遍使用,所以现在技术人员应预期相似的值。

[0020] 在一个实施方案中,所述组合制剂为至少约 50mg / mL 阿米卡星和至少约 20mg / mL 磷霉素以及至少 30 当量 / L 氯离子的中性 pH 高渗溶液。该制剂的渗量浓度为约 700 毫 osm / L,由于来自呼吸机回路的增湿作用的稀释,最终渗量浓度为约 425 毫 osm / L。正常气道渗量浓度为 310 毫 osm / L,患者可以很好地耐受轻度高渗溶液。使用渗透性阴离子是为了在患有轻度哮喘的患者中预防咳嗽,并且用于经批准的气雾剂抗生素制剂,例如用于吸入的妥布霉素溶液和用于吸入的氨曲南 (aztreonam)(Eschenbacher WL. Alteration in

Osmolarity of Inhaled Aerosols Cause Bronchoconstriction and Cough,but Absence of a Permeant Anion Causes Cough Alone.Am Rev Respir Dis(1984) ;129 :211-215)。

[0021] 在痰中可达到的峰值浓度可以通过评估递送到下游气道之药物的质量（以mg计）并乘以30以获得评估的μg / mL浓度来进行预测。以TOBI为例，递送36mg至肺，痰浓度为约1,000μg / mL。对于Cayston，递送30mg，该浓度为约750μg / mL。

[0022] 如果在雾化器中使用10mL剂量并且期望递送效率为15％，那么将约75mg阿米卡星和约30mg磷霉素递送至肺。阿米卡星的预测浓度为约2250μg / mL，比大多数革兰氏阴性生物体MIC90高25倍。磷霉素的预测峰值浓度为约900μg / mL，也比金黄色葡萄球菌MIC90高25倍。该预测是基于使用妥布霉素和氨曲南气雾剂时观测到的沉积药物(mg)与痰浓度（μg / mL)的比值为30。除了由于药物结合在肺泡腔(alveolar space)的表面活性剂而导致在肺中具有延长之半衰期的戊烷脒(pentamidine)外，另外两种FDA批准的吸入性抗生素（妥布霉素和氨曲南）的气道半衰期为约2小时。因此，对于雾化抗生素的给药一般为一天两次(bid)或一天三次(tid)，这是因为没有治疗性药物能在5个半衰期或10小时后有剩余。沉积药物的全身吸收为约10％，因此，即使其平均痰浓度比静脉内药物所能达到高100倍，气雾剂抗生素的全身暴露也在治疗性静脉内剂量的10％以内。

[0023] 峰值浓度不是完美的疗效预测因子。在阿米卡星的情况下，已知痰拮抗阿米卡星的生物利用度，因此为了疗效，需要达到比MIC90高至少10倍的剂量(Mendelman等，Aminoglycoside penetration，in activation，and efficacy in cystic fibrosis sputum.Am Rev Respir Dis(1984) ;132 :761-765)。还已知疗效与氨基糖苷的峰值浓度有关，这使得以高浓度进行的气雾剂递送几乎是理想的。在磷霉素的情况下，处于MIC以上的时间比峰值浓度更重要。吸入性气雾剂的半衰期为平均约2小时，所以900μg / mL初始剂量在6个半衰期或约12小时后处于MRSA的MIC90。

[0024] 由于磷霉素的迅速清除以及来自氨基糖苷治疗的较早研究数据，因此每天两次给药是优选的。在比较一天一次与一天两次地将雾化阿米卡星作为IV抗生素的辅助治疗的2期VAP研究中，一天两次在降低对另外挽救抗生素的需要方面表现优秀(Niederman等，NKTR-061(Inhaled Amikacin)Reduces Intravenous Antibioitc Use in Intubated Mechanically Ventilated Patients During Treatment of Gram-Negative Pneumonia.27th International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine Brussels,Belgium.27-30March2007Critical Care2007,11(Suppl2) :P97)。用于以本发明组合物治疗的独特有挑战的细菌感染对象是有耐药性的生物体（例如，MRSA)以及携有赋予细菌抗性之基因的那些。特别是编码碳青霉烯酶(carbapenamase)的基因。这些β-内酰胺酶通过对碳青霉烯类的水解赋予对β-内酯抗生素的抗性。新德里金属-β-内酰胺酶(New Dehli metallo-beta-lactamase-1,NDM-1)是世界范围内传播的B级金属-β-内酰胺酶，并且由于其迅速的传播和由该酶所赋予的对抗生素的抗性导致其常与所谓的超级细菌(super bug)有关。编码NDM-1或其他碳青霉烯酶的基因可以通过许多方法（包括缀合、质粒交换、噬菌体转导等）在生物体之间进行交换。所述基因可以整合到染色体中或由质粒携带。通过本发明的方法和组合物的治疗可以在鉴定细菌分离物中的碳青霉烯酶之后进行，或在该治疗之后进行建立细菌抗性的任何标准方法。因此，本发明的方法包括根据对抗性生物体的识别施用组合物和使用本文所述的方法。

[0025] 用于现有的机械呼吸机的理想气雾剂递送系统应具有以下参数：该系统可与所有由一次性组件制得的呼吸机模块相容，能够产生小颗粒气雾剂尺寸以防止在气管内导管中滴落，能够迅速递送治疗量的抗生素而不产生触发呼吸机之警报或控制系统的额外气流。具有这些参数的雾化器（研究型 PARI e-Flow 串联雾化器）产生了本文中所公开的数据。通过振动激光钻孔的不锈钢薄膜，产生了用于药物递送的几乎均匀的小颗粒气雾剂。这种技术已经在最近批准的手持型Altera®装置中得到了证实，所述装置用于在患有囊胞性纤维症和慢性内支气管假单胞菌感染的患者中递送用于吸入的氨曲南。通过较小孔径修饰并定位于与呼吸机吸入管道串联安置的单元内的类似膜是优选的。该设计特殊之处在于所述膜位于管道的中间，吸入气流自由地在膜周围流动以携带其产生的气雾剂（见图 1）。所述雾化器将连续运转，并且估计的肺沉积为 15％。需要将偏流 (bias flow)（如果呼吸机有这个特征的话）调节到小于 5 升 / 分钟以防止在吸气期间药物的过度涌入。

[0026] 图 1 是本发明之系统的示意图，其包含用于可操作地使所述系统与患者相连接的完整的气道，所述气道包含呼吸机 1、吸气分支 2 和呼气分支 3、增湿器 4、串联雾化器 5 和固定器 6。增湿器 4 的位置优选地接近串联雾化器 5，雾化器 5 最接近于所述患者。增湿器 4 和雾化器 5 两者都通过这样的固定器连接至呼吸机气道，所述固定器在各自附接点密封至吸气分支 2，使得在患者吸气期间不会有额外空气引入吸气分支 2。将产生高渗溶液的抗菌组合物引入雾化器 5 用于向所述患者施用。与医学文献中提供的药物施用方案不同，在雾化器 5 的运行期间，必定会激活增湿器 4，以实现用于降低上述高渗溶液渗量浓度的方法。如上所述，可以通过程序、通过患者吸气来激活增湿器 4 和 / 或雾化器，或者在药物施用期间增湿器 4 和 / 或雾化器可以是连续运作的。

[0027] 因为无需在递送期间关掉增湿，所以在增湿之后小颗粒增大至平均粒径为约 3.2 微米，从而产生极佳的外周沉积 (peripheral deposition)。雾化器设计成串联用于整个疗程。用附接至雾化器的电绳 (cord) 将手机大小的电子控制单元插入壁装插座中。在靠近吸气管道的远端插入雾化器以与任何正压呼吸机一起运作。与喷射气雾剂装置不同，它不会引入任何额外空气，从而避免患者的充气过度 (hyperinflation) 或气压伤。一次性药物 / 装置组件消除了清洁成本并降低了雾化器之细菌污染（已知的医院内感染源）的风险。此外，单个患者的使用防止了患者至患者传播耐药菌的任何风险。药物递送时间可能为约 20 分钟，一天两次。

[0028] 在本发明的方法中，以大于 1.1、优选大于或等于 2.6 ： 1 的磷霉素与阿米卡星的比例施用阿米卡星与磷霉素的组合。将抗生素的组合溶于上述高渗溶液中，并用于产生平均粒径小于 5 微米且渗量浓度小于 1000 毫 osm / L 的气溶胶雾。优选地，组合优选通过将每种放在机械呼吸机气道内定位之串联雾化器中的储存器中来递送。或者，可以通过在这样的点上附接药物储存器（例如，干燥粉末容器）来递送任一组分，在所述点处通过患者吸气或呼吸机气道中空气的运动推动药物组合物递送至患者。优选地，在气道中密封雾化器以防止额外的气流被引入并且允许抗生素制剂之气溶胶雾与由呼吸机系统产生之增湿空气的组合。在本文所述的系统中，空气通过呼吸机通道的运动使经增湿的空气与包含抗生素制剂的气溶胶雾组合，并且可以通过患者吸气或者作为连续的或程序的递送方案的部分来触发，使得雾化器在抗生素组合给药期间间歇运行或连续运行。在每种情况下，气雾剂制剂维持的持续时间足以用于将杀菌量的抗生素组合递送至患者的肺。

[0029] 抗生素总递送的计算可通过抗生素的量、杀菌剂量（例如任何识别出的生物体的MIC90）来实现，或者通过对生物体的临床观察来确定。如结合下图1和图2所述，呼吸机系统通常具有气道，通过该气道从呼吸机的压力产生组件延伸并进入终止于患者的Y形固定器。串联雾化器可以安置于气道中产生正压力的机器与患者之间的任意点处，但是，优选的是雾化器的位置接近于患者，靠近呼吸机的Y形器件。呼吸机的雾化器和加湿设备应是定向的，使得经增湿的空气引起气溶胶雾中单个颗粒的吸水增大。如本文的其他处所述，由增湿对每个颗粒半径的作用所造成的气溶胶雾颗粒从初始粒径到放大粒径的有益膨胀会决定雾化器和增湿设备的位置。经增湿空气与抗生素溶液雾的组合也必须实现如本文所述的渗量浓度的降低。

[0030] 实践中，将患者连接至用于呼吸辅助的呼吸机，并且基于已知生理参数调整呼吸机系统以提供连续的和受控的气流。将本发明的抗生素组合物引入雾化器的储存器中，并储存于其中直到递送。为了施用本发明的抗生素组合，将串联雾化器连接至呼吸机的气道，并激活以产生气溶胶雾。递送后，雾化器从配置于其中的振动设备产生气溶胶雾，所述振动设备通常为具有多个形成于其中以从溶液产生限定尺寸之颗粒的多个开口的振动筛或膜。在每次递送从高渗溶液形成的气溶胶雾期间，激活增湿发生器并维持其运行，从而降低渗量浓度负荷。因此，本文所述串联雾化器的优点是允许通气气道中的增湿空气通过雾化器并与高渗抗生素组合溶液之雾化部分相组合。

[0031] 虽然在所进行治疗的上下文中描述了VAP和VAT之治疗的实施方案，同时患者与机械呼吸机系统相连接，但是本发明的组合物适用于向移除了机械呼吸机却继续遭受细菌感染（通常是因为被确诊的VAP或VAT条件的后果）的患者进行给药。在这样的情况下，可以通过普通雾化器来递送本发明的抗生素组合物，如向患有囊胞性纤维症的患者递送抗生素的情况一样。在这样的情形下，维持所施用抗生素的总组合物、制剂参数以及杀菌治疗方案的所有其他特征。

[0032] 附图简述

[0033] 图1是配置成递送本发明之组合物并进行本发明之方法的呼吸机和串联雾化器的示意图。

[0034] 发明详述

[0035] 估计的氨基糖苷和磷霉素的治疗剂量可以通过检查文献来确定。对于妥布霉素，在感染有假单胞菌的自主呼吸CF患者中药物TOBI具有300mg的雾化器剂量以及12％的估计肺递送率或约36mg的递送剂量。在使用具有喷射雾化器之呼吸机的患者中，Clark等(Evaluation of the Disposition and Safety of Tobramycin Solution for Inhalation in Ventilator-Associated Pneumonia or Tracheobronchitis Patients R.Clark，MD，L.Heslet，MD，PhD，K.Antonsen，MD 和 B.Donehower，Pharm D.ATS2003Seattle，Wa99th International Conference)示出了类似的递送率。痰浓度接近于750μg / gm痰，比64的MIC90高10倍，64是大多数假单胞菌分离株的MIC90（在研究来自患者的分离株中对于较低90％分离株所测试的抗生素最小抑菌浓度）。

[0036] 由于阿米卡星比妥布霉素对抗不动杆菌属(Acinetobacter)细菌具有更好的活性，因此阿米卡星是在ICU中和在呼吸机患者中优选的氨基糖苷。在气雾剂研究中，使用具有最高70％递送效率的400mg阿米卡星的雾化器剂量用于递送多至250mg的总剂量至

肺。痰浓度在6,000μg / mL的范围内(Niederman等,BAY41-6551(Inhaled Amikacin),在患有革兰氏阴性菌肺炎的机械通气患者中获得的杀菌气管抽吸物浓度(Intensive Care Medicine38:263-271,2012)A Pharmacokinetic Study ATS2010New Orleans,LA)。本研究中使用的振动板雾化器仅在吸气时触发,从而产生约70%的递送效率,如果连续运行,振动板雾化器具有约15%递送效率(Hahn等,In vitro assessment of a novel nebulizer for mechanically ventilated patients based on the eFlow technology,ISAM2009,Monterey CA)。在2期CF磷霉素/妥布霉素研究中,妥布霉素的雾化器剂量仅为20mg,估计5mg递送至肺。这说明了采用组合见到了协同效应,但是如前文所述,对该协同效应的依赖可能不适合于携带对磷霉素抵抗之细菌的患者所患的VAP(威胁生命的疾病)。

[0037] 在第一次检查时氨基糖苷的剂量似乎是过量的,但是众所周知,痰大分子结合氨基糖苷,所以结合多至90%的氨基糖苷并因此没有活性。因此,使用气雾剂氨基糖苷单一治疗时,比MIC90高至少10倍的痰浓度被认为是必须的,并且更高倍数的浓度(多至25倍)可以提供提高的细菌杀伤作用(Mendelman Am Rev Rispir Dis1985;132:761-5)。磷霉素干扰痰的拮抗作用(MacCleod,见上文),因此即使细菌有磷霉素抗性,通过提高氨基糖苷的生物活性浓度也可以对组合有一些临床益处。

[0038] 磷霉素的最佳有效剂量可能为递送至肺的至少20mg,根据雾化器效率,雾化器剂量为30mg至100mg。这基于成功的2期CF试验(Trapnell等,见上文),该试验示出,经递送至肺约20mg的情况下,假单胞菌和金黄色葡萄菌二者在共感染患者亚集合中的细菌密度降低。在该试验中,估计的40mg递送剂量的磷霉素在杀伤金黄色葡萄球菌方面比估计的20mg剂量更有效,这显示更高的剂量可能更好。最易溶的磷霉素盐为二钠盐,并且是优选的。另一种可溶盐为磷霉素氨丁三醇,其他盐例如钙盐也是可能的。

[0039] 最近开发的振动板雾化器,特别是PARI开发的振动板雾化器,能使粒径小于5微米。参见WO2005 / 048982A2。其中具有多个小开孔的膜可以产生小于5微米并且在3.5微米范围内的平均粒径。这通过在激光钻孔工艺中使多孔结构更小来完成。由PARI制造的其他振动板膜的平均粒径为4.5微米,与由Aerogen/Nektar引进的振动板膜一样。相似地,存在可以产生2微米至3微米粒径颗粒的小颗粒喷射雾化器。目前的超声雾化器使用2.7MHtz的驱动频率产生5微米的平均粒径。超声雾化器可以通过增加超声发生器的频率来产生更小的颗粒;目前在美国或欧洲没有市售的高频率(2.3Mhtz)超声雾化器,但是它们应该具有2微米至3微米的粒径。此外,超声雾化器加热雾化器溶液,这可能导致治疗期间药物降解,因此,它们的使用不受欢迎。

[0040] 本发明包括使用增湿作为技术手段来改进作为气雾剂递送的高渗溶液的耐受性。从高渗溶液产生的小粒径气雾剂可以产生带有期望治疗性剂量的小颗粒组合物,但是由于其是正常渗量浓度的近似三倍或更高的高渗量浓度(例如,≥930mOsm / kg),所以其耐受性较差。向气雾剂添加增湿产生了具有较低渗量浓度的气雾剂组合物,并且优选地接近于等渗或低于两倍正常渗量浓度(例如,<620mOsm / kg)。通过串联增湿器来产生增湿作用以优选地将渗量浓度从高于3倍正常渗量浓度的范围降低至低于两倍正常渗量浓度的范围,并且可以依赖于初始高渗溶液的性质而变化,非增湿气雾剂的粒径随着4微米颗粒之吸水增大而可以导致比3微米以下颗粒之增大大得多的稀释度。在这种状态的高渗溶液,溶液中的渗透性离子优选地大于40毫当量 / L。对于这种方法,可以将增湿应用于由多种高渗

溶液所形成的气雾剂，期望匹配的耐受性。实例包括为了疗效需要高浓度的任何小分子量药物，或者在溶液中具有产生高渗量浓度负荷之多个阴离子或阳离子的盐的化合物。

[0041] 在本发明的以下方面中，氨基糖苷 / 磷霉素组合在施用时是高渗的，但是在递送时受益于与环境大气相比的增湿而接近等渗。例如，如果粒径平均从 3.5 微米增大到 4.5 微米，那么内含物的稀释度是半径立方的函数或 4.91 / 11.3。因此，小颗粒气雾剂的使用和随后的由增湿作用导致的吸水增大将大幅降低对肺的渗透负荷。对于更大的初始粒径，该效果将会相似。例如，从 5 微米增大到 6 微米的颗粒导致 15.6 / 27 的稀释度。如果允许颗粒增大到远大于 5 微米，耐受性就不是主要问题了，因为在呼吸机和内气管导管中的滴落导致几乎没有颗粒在气道中沉积。这在 Palmer（见上文）对于增湿作用对总药物递送的有害效果的开创性研究中示出。这些研究主要使用喷射雾化器，其在因增湿作用导致增大之前具有平均为 4 微米至 5 微米的颗粒，吸水增大导致滴落及更少的药物递送至气道。以 4.91 / 11.3 的比例为例，如果使用高渗溶液和具有 3.5 微米平均颗粒的雾化器，那么高至 710 的渗量浓度变成等渗平均值。肺可以耐受稍微高渗的制剂，通过增湿技术，高至 800 的渗量浓度的制剂可能被良好地耐受。

[0042] 设计用于呼吸机用途的 PARI 串联雾化器可以配置小孔膜，并且具有 10mL 的当前体积容量以及 0.5ml / 分钟至 0.6ml / 分钟的递送速率。虽然当前未配置其用于吸气触发，但是在可操作地连接至呼吸机的控制系统时可以如此配置雾化器。可以估计粒径为 3.2 微米。具有 100mg 至 300mg 磷霉素和 300mg 至 600mg 阿米卡星，效率为 15％的 10mL 制剂将提供足以杀伤金黄色葡萄球菌和假单胞菌的作用。理想的制剂在稀释之后包含至少 20meq / 1 的氯离子。具有 50mg / mL 阿米卡星、20mg / mL 磷霉素以及氯离子的，pH 调节到 4.5 至 7.5 之间的溶液的估计渗量浓度为约 750osm / L 至 850osm / L。如果通过增湿作用稀释，那么当沉积在气道中时这将很可能接近等渗范围。为了改变递送剂量，可以使用更小的或更大的体积，或者替代地，或者与之组合，可以在呼吸的吸气期触发递送以增加沉积的量。

实施例

[0043] 实施例 #1-- 制备磷霉素 / 阿米卡星溶液用于气雾剂化。

[0044] 具有 2.6 ： 1 比例的磷霉素 / 阿米卡星溶液可以如下制备：将磷霉素二钠 (12.90g，10.00g 游离酸）溶于 250mL 水中，通过逐滴添加 4.5N HCl（估计 1mL）将 pH 调节至 7.41。向获得的溶液中添加 25gm 阿米卡星碱。通过添加 4.5N HCl(4.5N HCl 的总量为 1.7mL) 将溶液的 pH 调节至 7.60。将溶液用水稀释至 500mL，通过 0.2.mu.m Nalge Nunc167-0020 膜过滤器过滤进行除菌。可以通过使用在总共 50L 中的 1.7mL4.5N HCl 计算出总氯离子含量为 306mg。由于在 1L 中 1mEq Cl ＝ 35.5mg，则在 50mL 中 1mEq Cl ＝ 1.775mg。因此，306mg / 1.775mg ＝ 172.4mEq / L。测量该制剂的渗量浓度为 592mOsm / kg，其高于 310mOsm 的正常生理值。

[0045] 实施例 #2-- 通过增湿作用降低溶液的渗量浓度。

[0046] 如上文地制备 2 ： 5 的磷霉素 / 阿米卡星溶液。使用串联电子振动板雾化器 (PARI，Starnberg GR) 将该制剂在干燥条件（湿度 4％）和湿润条件（湿度 100％）下雾化。干燥条件下平均粒径（如 Malvern X 激光粒径分析仪所测量）为 2.9μm，在 100％湿度下增大到 3.2μm。

[0047] 由于球体的体积是半径的三次方的函数，所以通过以下方程获得稀释因数。

[0048] $1.45\times1.45\times1.45 = 0.75$

[0049] $1.6\times1.6\times1.6$

[0050] 因此，该制剂平均稀释的因数为 0.75，这表明，递送的制剂的渗量浓度为 $592\times0.75 = 444$mOsm / Kg。

[0051] 实施例 #3-- 在机械通气患者中通过 PARI Investigational eFlow® 串联雾化器系统所递送之雾化阿米卡星和磷霉素的随机双盲安慰剂对照的剂量扩大 1b 期研究。

[0052] 干燥粉末磷霉素、液体阿米卡星溶液可通过使用在玻璃小瓶或分体式液体注射器中填充的 200mg 净重的磷霉素二钠干燥粉末来制备。在任一单独的注射器、吹填密封容器或分体式注射器中，将 500mg 阿米卡星碱溶解于 10mL 无菌水中，用 HCl 将 pH 调节到 4.5 至 7.5 的范围。然后将两个组分混合到一起，产生 20mg / mL 磷霉素、50mg / ML 阿米卡星的溶液。该溶液的渗量浓度约为 600mOsm / Kg，但是根据用于调节阿米卡星溶液 pH 的 HCl 的量，渗量浓度可能有多至 10％的变化。

[0053] 设计治疗方法以包含安全、有效、耐受并在机械通气的患者中通过 PARI Investigational eFlow® 串联雾化器系统递送 2mL、4mL、6mL、8mL、10mL 和 12mL 剂量之后进一步阐明雾化的阿米卡星 / 磷霉素在临床诊断为 VAP 或 VAT 的患者中的全身及气管抽吸物的药代动力学。

[0054] 通过 PARI Investigational eFlow® 串联雾化器系统在经机械通气的患者中递送阿米卡星 / 磷霉素 (50mg / mL 阿米卡星和 20mg / mL 磷霉素）抗生素组合。通过 PARI Investigational eFlow® 串联雾化器系统在经机械通气的患者中递送安慰剂 (0.9％的生理盐水，具有与抗生素给药方案匹配的体积）。

[0055] eFlow® 串联雾化器系统安置于吸气管道中的 Puritan Bennett840 呼吸机与患者之间。就位之后，雾化器维持串联直至递送完所有的研究药物剂量。在制剂的雾化和所有剂量的递送期间，连续进行增湿作用。

[0056] 患者为年龄在 18 岁至 80 岁之间、临床诊断为 VAP 或 VAT 的男性或女性，气管抽吸物的革兰氏染色剂为革兰氏阳性菌或革兰氏阴性菌，并且期望进行至少三天的机械通气。

[0057] 研究持续时间 :采用一天的最大筛选期，三天的治疗期，使用 Investigational 产品给药之后跟踪 24 小时，最长研究持续时间为五天。

[0058] 药代动力学参数 :分析给药前、给药后 10 分钟、1 小时、2 小时、4 小时、6 小时和 24(±2) 小时的阿米卡星和磷霉素的全身浓度。

[0059] 一个患者完成了这个试验。在给药期间或之后未发现不良呼吸事件。气道压力的峰值和平台值未发生临床显著量的增加。未发现氧饱和度下降。呼吸机回路的增湿作用和高渗制剂的使用实现了对患者的安全给药。

[0060] 实施例 #4-- 对于 VAT / VAP 的临床研究

[0061] 使用 24 只比格犬 (beagle dog) 分成四个剂量组（每组三个雄性和三个雌性）进行 GLP（良好实验规范）研究，使用配备了嘴管的闭式面具 (closed-faced mask) 将它们暴露在 PARI Investigational eFlow 串联雾化器系统产生的气雾剂中。气雾剂或者在组 1 中包含对照（注射用水）或者在组 2 至 4 中包含经 HCl 调节 pH 的 50mg / mL 阿米卡

星和 20mg / mL 磷霉素的组合制剂。在第 1 天和第 7 天测定气雾剂浓度。治疗期持续 7 天，在第 8 天处死狗。每组每天达到的阿米卡星：磷霉素的平均剂量为 32.1 ： 12.4mg / kg / 天（比例 2.59 ： 1)（组 2)、63.0 ： 24.7mg / kg / 天（比例 92.55 ： 1)（组 3) 和 116.8 ： 47.5mg / kg / 天（比例 92.46 ： 1)（组 4)。估计的肺剂量最高为 29.2mg / kg / 天的阿米卡星和 11.9mg / kg / 天的磷霉素。基于分析方法的粒径分布 (MMAD[Mass Median Diameter]) 确定为阿米卡星 2.80μm(GSD ＝ 1.778) 的可呼吸平均值和磷霉素 2.75μm(GSD ＝ 1.670) 的可呼吸平均值。

[0062] 气雾剂被所有的狗良好耐受。基于临床观测、体重、食物消耗、检眼镜检查或心电图，没有治疗相关的不良反应。所观测到的任意的临床病理学值的改变归因于正常的动物变化。尸检未观测到治疗相关的异常。组织的组织学评价未观测到治疗相关的不良发现。

[0063] 使用 WinNonlin 药代动力学软件 5.2.1 版 (Pharsight Corp.) 估计毒性动力学参数。使用符合经血管外途径给药的不分区 (non-compartmental) 方法进行参数估计。所有参数产生自来自第 1 天和第 7 天的血浆中阿米卡星和磷霉素各自的浓度。阿米卡星的血浆浓度和磷霉素的血浆浓度对时间的曲线符合吸入剂量的途径，据此，血浆浓度在给药后吸收期之后双相下降 (bi-phasic decline)。对阿米卡星和磷霉素两者的全身暴露在雄性与雌性之间基本相当，并且在重复给药之后没有明显的累积迹象。第 7 天高剂量水平的峰值血浆水平 (C_{max}) 为阿米卡星 13.2μg / mL 至 39.3μg / mL，磷霉素 8.7μg / mL 至 28.7μg / mL。

[0064] 基于本研究的结果，气雾剂暴露于比格犬之后发生了显著暴露，而在 7 天的治疗期中没有观测到不良作用。NOAEL 被认为是作为组合抗生素气雾剂递送 116.8mg / kg / 天的阿米卡星和 47.5mg / kg / 天的磷霉素。这是估计的对人之暴露的约 30 倍。

[0065] 基于本研究的结果，气雾剂暴露于比格犬之后发生了显著暴露，而在 7 天的治疗期中没有观测到不良作用。NOAEL 被认为是作为组合抗生素气雾剂递送 116.8mg / kg / 天的阿米卡星和 47.5mg / kg / 天的磷霉素。这是估计的对人之暴露的约 30 倍。

[0066] 在完成了上文实施例 3 的毒性研究之后，重复剂量、安慰剂对照上升模式的临床研究在患有 VAT 或 VAP 的患者中提供 6 个 50mg 阿米卡星、20mg / mL 磷霉素剂量水平的制剂。初始剂量为 2mL，最终剂量为 12mL。由于每个对象都安全地完成了剂量扩大，因此下一个对象以更高的初始剂量开始。每天施予一个剂量水平，要求在三天内完成。只要患者没有不良反应（例如，显著的支气管痉挛（如通过峰值气道压力测量的）或氧饱和度下降，或任何其他中度至重度的不良事件），就进行剂量扩大。采集用于 pK 的系列气管抽吸物和血清水平。可以伴随 IV 施用除了阿米卡星之外的抗生素，在阿米卡星的情况下另一种 IV 氨基糖苷被替代。

[0067] 本文引用的所有文献都通过引用方式具体地并入本文。

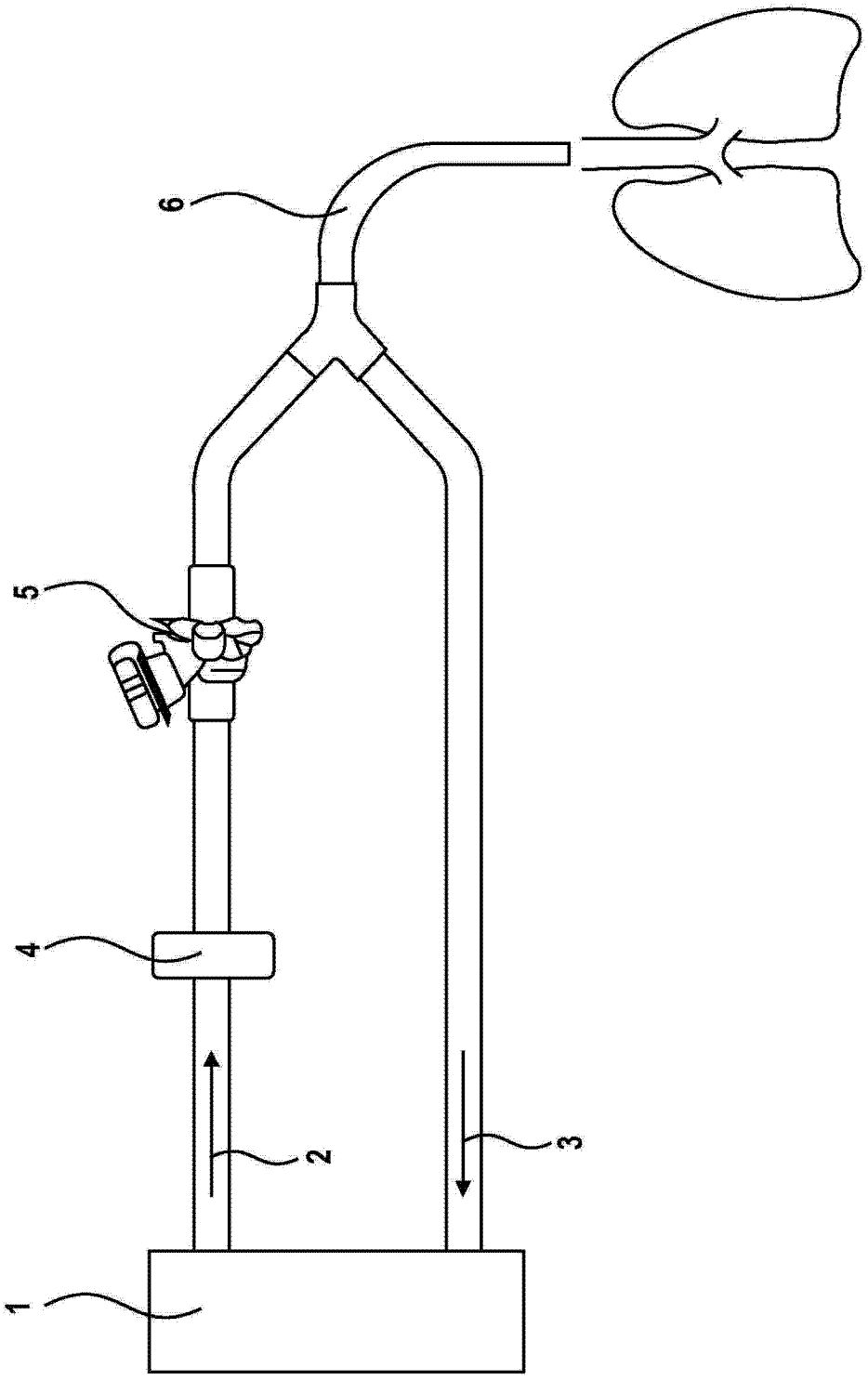

图 1

1. 药物组合物，其包含：

杀菌浓度的阿米卡星和磷霉素，其以大于 1 ： 1 的阿米卡星：磷霉素比例在高渗溶液中组合并且具有至少约 30 当量 / L 的渗透性阴离子。

2. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中所述溶液的渗量浓度小于约 1,000mOsmol / L。

3. 根据权利要求 2 所述的组合物，其中阿米卡星的浓度为至少 50mg / ml。

4. 根据权利要求 2 所述的组合物，其中磷霉素的浓度为至少约 20mg / ml。

5. 根据权利要求 1 所述的组合物，其具有约 4.4 至约 7.5 的 pH。

6. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中渗透性阴离子的浓度为至少约 40mEq / L，并且渗量浓度为约 310mOsmol / L 至小于约 800mOsmol / L。

7. 根据权利要求 2 所述的组合物，其中所述溶液包含 100mg 至 300mg 磷霉素。

8. 根据权利要求 2 所述的组合物，其中所述溶液包含 150mg 至 600mg 阿米卡星。

9. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中所述磷霉素是其水溶性盐。

10. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中所述渗透性阴离子为氯离子。

11. 组合物，其包含：

第一组分，其包含独立部分的阿米卡星，所述独立部分的阿米卡星的浓度大于 100mg / ml 并且 pH 为约 4.5 至约 6.0，

第二组分，其包含独立部分的至少 40mg 磷霉素二钠。

12. 根据权利要求 11 所述的组合物，其中从粉末重构磷霉素以产生具有大于 110mg / ml 之浓度并且溶液 pH 为约 8.0 至 9.5 的溶液。

13. 根据权利要求 11 所述的组合物，其中将所述第一组分和所述第二组分组合以产生混合物，所述混合物具有 6.9 至 7.4 的 pH、至少 30 当量 / L 的氯阴离子和约 680mOsmol / L 至 780mOsmol / L 的渗量浓度。

14. 根据权利要求 11 所述的组合物，其中所述第一组分和所述第二组分密封于分开的容器中。

15. 根据权利要求 11 所述的组合物，其中所述第一组分和所述第二组分是合并的，并且阿米卡星：磷霉素的比例大于 1 ： 1。

16. 根据权利要求 11 所述的组合物，其中所述第一组分的浓度大于 110mg / ml，其溶液的 pH 为约 8.0 至 9.5。

17. 根据权利要求 15 所述的组合物，其中所述比例大于或等于 2.6 ： 1.0。

18. 经增湿的气溶胶雾，其包含：

由磷霉素和阿米卡星之高渗溶液形成的、具有大于 30 当量 / L 之渗透性离子浓度、小于 1000mOsmol/L 之渗量浓度、小于 5 微米之平均粒径、并且与经增湿的空气相混合的颗粒分布。

19. 根据权利要求 18 所述的雾，其中阿米卡星在所述高渗溶液中的浓度为至少约 50mg / ml。

20. 根据权利要求 19 所述的雾，其中磷霉素在所述高渗溶液中的浓度为至少约 20mg / ml。

21. 根据权利要求 18 所述的雾，其中所述 pH 为 4.5 至 7.5。

22. 根据权利要求 21 所述的雾，其中所述渗透性离子的浓度大于 40mEq / L，并且所述

气溶胶雾的渗量浓度小于 800mOsmol / L。

23. 根据权利要求 22 所述的雾，其中所述平均粒径小于 3.5 微米。

24. 根据权利要求 22 所述的雾，其中所述平均粒径大于 2.8 微米。

25. 根据权利要求 24 所述的雾，其中所述雾对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌及其组合具有杀菌作用。

26. 根据权利要求 25 所述的雾，其中所述革兰氏阳性菌为 MRSA。

27. 根据权利要求 26 所述的雾，其中所述细菌携带表达碳青霉烯酶的基因。

28. 根据权利要求 27 所述的雾，其中所述碳青霉烯酶为 NDM-1。

29. 根据权利要求 18 所述的雾，其中阿米卡星：磷霉素的比例大于 1 ： 1。

30. 根据权利要求 29 所述的雾，其中所述比例大于或等于 2.6 ： 1.0。

31. 系统，其包含 ：

机械呼吸机，所述机械呼吸机包含用于将由呼吸机所产生的正空气压力传送至患者的气道，

可操作地与所述气道相连接的用于增湿空气的源和气道入口固定器 ；以及

在所述气道入口固定器处可操作地与所述气道相连接的串联雾化器，其中所述雾化器包含 ：装有溶于具有至少约 30 当量 / L 渗透性离子浓度之高渗盐水溶液中的阿米卡星与磷霉素之组合的储存器，以及具有直径小于 2.5 微米之多个开口的振动板膜。

32. 根据权利要求 31 所述的系统，其中所述雾化器具有入口和出口，其各自在所述气道入口固定器处可操作地连接并密封，使得所述雾化器不将额外的空气引入所述气道。

33. 根据权利要求 32 所述的系统，其中所述气道入口固定器配置在接近于呼吸机 Y 形器件处。

34. 根据权利要求 33 所述的系统，其中所述串联雾化器具有在所述振动膜周围的环状通风空间。

35. 根据权利要求 33 所述的系统，其中所述串联雾化器以连续的方式运行以产生气溶胶雾。

36. 根据权利要求 31 所述的系统，其还包含平均粒径小于 5 微米并且渗量浓度小于 800mOsmol / L 的所述高渗溶液的气溶胶雾。

37. 根据权利要求 31 所述的系统，其中所述储存器装有约 100mg 至约 300mg 的磷霉素和约 150mg 至 650mg 的阿米卡星。

38. 根据权利要求 32 所述的系统，其还包括处于所述气道内且远离所述串联雾化器处的经增湿空气与所述气溶胶雾的混合物。

39. 根据权利要求 31 所述的系统，其中阿米卡星：磷霉素的比例大于 1 ： 1。

40. 根据权利要求 39 所述的系统，其中所述比例大于或等于 2.6 ： 1.0。

41. 高渗溶液，其包含在其气溶胶雾中具有提高之渗量浓度的一定浓度的药物，其中所述雾与经增湿的空气相混合以降低其渗量浓度。

42. 呼吸机系统，其具有用于从高渗溶液产生雾的雾化器和用于产生增湿空气的设备，其中所述呼吸机配置成在所述呼吸机的气道内使所述雾与所述增湿空气相混合。

[0001] 根据 PCT19 条进行的修改说明

[0002] 尊敬的先生：

[0003] 这封信回应由国际检索机构 (ISA) 在 2012 年 9 月 17 日邮寄的检索报告和书面意见。根据《专利合作条约》第 19 条，申请人在此提交所附信件作为条款 46.5(b)(iii) 要求的修改基础。申请人还提交了替换页 31-36，其因本次修改而修改了所附信件和所附替换页中所示的权利要求。在本次修改中，申请人修改了权利要求 17、31、41 和 42。权利要求 1-16、18-30、32-40 未被修改。因此，本申请中权利要求 1-42 仍是未决的。如审查员可以确认的，申请人提交的权利要求 1-42 完全被说明书支持并且未添加新内容。