

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 31/663 (2006.01)



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480032930.X

[43] 公开日 2006 年 12 月 13 日

[11] 公开号 CN 1878559A

[22] 申请日 2004.11.5

[21] 申请号 200480032930.X

[30] 优先权

[32] 2003.11.7 [33] US [31] 60/518,405

[86] 国际申请 PCT/IB2004/003620 2004.11.5

[87] 国际公布 WO2005/044175 英 2005.5.19

[85] 进入国家阶段日期 2006.5.8

[71] 申请人 生物休眠有限公司

地址 以色列特拉维夫

[72] 发明人 格申·戈隆布 希拉·爱泼斯坦

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司
代理人 程金山

权利要求书 6 页 说明书 22 页

[54] 发明名称

使用单核细胞/巨噬细胞抑制性化合物的补体
活化脱敏

[57] 摘要

本发明涉及为预防、减弱、治疗、或治愈补体活化相关的急性过敏性反应而设计的方法与组合物, 该类病症也称为 C - 介导的假性过敏 (CAR-PA), 由施用药用组合物而引起, 所述组合物包括但不限于, 那些脂质体、微团、纳米颗粒、乳剂、胶体制剂中的组合物。本发明的方法包括施用有效剂量的一种或多种含有一种或多种活性化合物的治疗剂, 该化合物特异性地降低或抑制巨噬细胞和/或单核细胞的活性和/或清除或减少其数量。在优选实施方案中, 所述活性化合物是二膦酸盐。

1. 一种用于治疗或抑制过敏性反应的方法，其包括将有效剂量的治疗剂
5 给予需要其的患者，其中所述治疗剂包含一种或多种包被的或微粒化的活性化合物，其中所述治疗剂的大小在 30 nm 到 1 μ m 的范围之内。
2. 权利要求 1 的方法，其中所述过敏性反应是补体活化相关的假性过敏 (CARPA)
3. 权利要求 1 的方法，其中治疗剂以单剂量给药。
- 10 4. 权利要求 1 的方法，其中治疗剂以多剂量给药。
5. 权利要求 1 的方法，其中治疗剂经静脉内、肌内、动脉内、皮下或口服给药。
6. 权利要求 1 的方法，其中治疗剂直接施用于患者的患病部位。
7. 权利要求 1 的方法，其中所述的一种或多种活性化合物中至少一种是
15 二膦酸盐。
8. 权利要求 7 的方法，其中的二膦酸盐选自由阿伦膦酸盐、帕米膦酸盐、氯膦酸盐、依替膦酸盐和替鲁膦酸盐组成的组。
9. 权利要求 8 的方法，其中的二膦酸盐是阿伦膦酸盐。
10. 权利要求 1 的方法，其中治疗剂是脂质体二膦酸盐。
- 20 11. 权利要求 10 的方法，其中的二膦酸盐是阿伦膦酸盐。
12. 一种用补体活化药用组合物在不引起过敏性反应的情况下治疗其患者的方法，包括施用：i) 有效剂量的一种治疗剂，其中所述治疗剂包含一种或多种包被的或微粒化的活性化合物，其中所述治疗剂的大小在 30 nm 到 1 μ m 的范围之内，和 ii) 所述补体活化药用组合物。
- 25 13. 权利要求 12 的方法，其中治疗剂以单剂量给药。
14. 权利要求 12 的方法，其中治疗剂以多剂量给药。
15. 权利要求 12 的方法，其中治疗剂经静脉内、肌内、动脉内、皮下或口服给药。
16. 权利要求 12 的方法，其中治疗剂直接施用于患者的患病部位。
- 30 17. 权利要求 16 的方法，其中的治疗剂涂布在医用装置上。

18. 权利要求 17 的方法，其中的医用装置是斯滕特固定模。
19. 权利要求 12 的方法，其中的治疗剂作为浸剂在一小时内完成给予。
20. 权利要求 12 的方法，其中的治疗剂在给予所述补体活化药用组合物之前给予。
- 5 21. 权利要求 20 的方法，其中的治疗剂在给予所述补体活化药用组合物之前 2 到 3 天给予。
22. 权利要求 12 的方法，其中的治疗剂与所述补体活化药用组合物同时给予。
23. 权利要求 12 的方法，其中所述一种或多种活性化合物中的至少一种是
- 10 二膦酸盐。
24. 权利要求 23 的方法，其中的二膦酸盐选自由阿伦膦酸盐、帕米膦酸盐、氯膦酸盐、依替膦酸盐和替鲁膦酸盐组成的组。
25. 权利要求 24 的方法，其中的二膦酸盐是阿伦膦酸盐。
26. 权利要求 12 的方法，其中治疗剂是脂质体二膦酸盐。
- 15 27. 权利要求 26 的方法，其中的二膦酸盐是阿伦膦酸盐。
28. 权利要求 12 的方法，其中的补体活化药用组合物包括紫杉醇或其药用衍生物。
29. 权利要求 12 的方法，其中的补体活化药用组合物是脂质体制剂。
30. 权利要求 12 的方法，其中的补体活化药用组合物包括盐酸多柔比星脂
- 20 质体。
31. 一种药用组合物，包括 i) 一种活性化合物，其选自由二膦酸盐、金、镓、钆、和硒组成的组；ii) 一种包被剂和 iii) 一种药用赋形剂。
32. 权利要求 32 的组合物，其中的二膦酸盐包括成对的二膦酸盐。
33. 权利要求 31 的方法，其中的二膦酸盐选自由阿伦膦酸盐、帕米膦酸盐、
- 25 氯膦酸盐、依替膦酸盐和替鲁膦酸盐组成的组。
34. 权利要求 33 的方法，其中的二膦酸盐是阿伦膦酸盐。
35. 权利要求 31 的组合物，其中的包被剂是脂质体。
36. 权利要求 31 的组合物，其中的活性化合物被所述的包被剂所包被并且大小在 30 nm 到 1 μ m 的范围内。
- 30 37. 一种药用组合物，包括 i) 一种微粒活性化合物，其选自由二膦酸盐、

- 金、镓、钆、和硒组成的组；ii)一种药用赋形剂。
38. 权利要求 37 的组合物，其中的二膦酸盐包括成对的二膦酸盐。
39. 权利要求 37 的方法，其中的二膦酸盐选自由阿伦膦酸盐、帕米膦酸盐、氯膦酸盐、依替膦酸盐和替鲁膦酸盐组成的组。
- 5 40. 权利要求 39 的方法，其中的二膦酸盐是阿伦膦酸盐。
41. 权利要求 37 的组合物，其中的微粒活性化合物大小在 30 nm 到 1 μ m 的范围内。
42. 一种用于治疗或抑制过敏性反应的方法，其包括将有效剂量的治疗剂给予需要其的患者，其中所述治疗剂包含一种或多种包被的或微粒化的活性化合物，其中所述包被的或微粒化的活性化合物 i) 降低或抑制所述患者内巨噬细胞或单核细胞的活性或 ii) 减少所述患者内巨噬细胞或单核细胞的数量或清除所述患者内的巨噬细胞或单核细胞。
- 10 43. 权利要求 42 的方法，其中所述过敏性反应是补体活化相关的假性过敏（CARPA）。
- 15 44. 权利要求 42 的方法，其中治疗剂以单剂量给药。
45. 权利要求 42 的方法，其中治疗剂以多剂量给药。
46. 权利要求 42 的方法，其中治疗剂经静脉内、肌内、动脉内、皮下或口服给药。
47. 权利要求 42 的方法，其中治疗剂直接施用于患者的患病部位。
- 20 48. 权利要求 42 的方法，其中所述的一种或多种活性化合物中至少一种是二膦酸盐。
49. 权利要求 48 的方法，其中的二膦酸盐选自由阿伦膦酸盐、帕米膦酸盐、氯膦酸盐、依替膦酸盐和替鲁膦酸盐组成的组。
50. 权利要求 49 的方法，其中的二膦酸盐是阿伦膦酸盐。
- 25 51. 权利要求 42 的方法，其中治疗剂是脂质体二膦酸盐。
52. 权利要求 51 的方法，其中的二膦酸盐是阿伦膦酸盐。
53. 权利要求 42 的组合物，其中包被的或微粒化的活性化合物的大小在 30 nm 到 1 μ m 的范围内。
54. 一种用补体活化药用组合物在不引起过敏性反应的情况下治疗其患者的方法，包括给予：
- 30

- a) 有效剂量的一种治疗剂，其中所述治疗剂包含一种或多种包被的或微粒化的活性化合物，其中所述的活性化合物 i) 降低或抑制所述患者内巨噬细胞或单核细胞的活性或 ii) 减少所述患者内巨噬细胞或单核细胞的数量或清除所述患者内的巨噬细胞或单核细胞；和
- 5 b) 所述补体活化药用组合物。
55. 权利要求 54 的方法，其中治疗剂以单剂量给药。
56. 权利要求 54 的方法，其中治疗剂以多剂量给药。
57. 权利要求 54 的方法，其中治疗剂经静脉内、肌内、动脉内、皮下或口服给药。
- 10 58. 权利要求 54 的方法，其中治疗剂直接施用于患者的患病部位。
59. 权利要求 58 的方法，其中的治疗剂涂布在医用装置上。
60. 权利要求 59 的方法，其中的医用装置是斯滕特固定模。
61. 权利要求 54 的方法，其中的治疗剂作为浸剂在一小时内完成给予。
62. 权利要求 54 的方法，其中的治疗剂在给予补体活化药用组合物之前给
- 15 予。
63. 权利要求 62 的方法，其中的治疗剂在给予补体活化药用组合物之前 2 到 3 天给予。
64. 权利要求 54 的方法，其中的治疗剂与补体活化药用组合物同时给予。
65. 权利要求 54 的方法，其中一种或多种活性化合物中至少一种是二磷酸
- 20 盐。
66. 权利要求 65 的方法，其中的二磷酸盐选自由阿伦膦酸盐、帕米膦酸盐、氯膦酸盐、依替膦酸盐和替鲁膦酸盐组成的组。
67. 权利要求 66 的方法，其中的二磷酸盐是阿伦膦酸盐。
68. 权利要求 54 的方法，其中治疗剂是脂质体二磷酸盐。
- 25 69. 权利要求 68 的方法，其中的二磷酸盐是阿伦膦酸盐。
70. 权利要求 54 的方法，其中的补体活化药用组合物包括紫杉醇、盐酸多柔比星脂质体，或其药用衍生物。
71. 权利要求 54 的方法，其中的补体活化药用组合物是脂质体制剂。
72. 权利要求 54 的方法，其中所包被的或微粒化的活性化合物的大小在 30
- 30 nm 到 1 μ m 的范围内。

73. 一种用于治疗或抑制过敏性反应的方法，包括将有效剂量的一种治疗剂给予需要其的患者，其中所述治疗剂包含一种或多种包被的或微粒化的、大小在 30 nm 到 1 μ m 的活性化合物，其中所述活性化合物 i) 降低或抑制所述患者内巨噬细胞或单核细胞的活性或 ii) 减少所述患者内巨噬细胞或单核细胞的数量或清除所述患者内的巨噬细胞或单核细胞。
74. 权利要求 73 的方法，其中所述过敏性反应是补体活化相关的假性过敏 (CARPA)。
75. 权利要求 73 的方法，其中治疗剂以单剂量给药。
76. 权利要求 73 的方法，其中治疗剂以多剂量给药。
77. 权利要求 73 的方法，其中治疗剂经静脉内、肌内、动脉内、皮下或口服给药。
78. 权利要求 73 的方法，其中治疗剂直接施用于患者的患病部位。
79. 权利要求 73 的方法，其中所述一种或多种活性化合物中至少一种是二膦酸盐。
80. 权利要求 79 的方法，其中的二膦酸盐选自由阿伦膦酸盐、帕米膦酸盐、氯膦酸盐、依替膦酸盐和替鲁膦酸盐组成的组。
81. 权利要求 80 的方法，其中的二膦酸盐是阿伦膦酸盐。
82. 权利要求 73 的方法，其中的活性化合物是包被的或微粒化的。
83. 权利要求 82 的方法，其中治疗剂是脂质体二膦酸盐。
84. 权利要求 83 的方法，其中的二膦酸盐是阿伦膦酸盐。
85. 一种用补体活化药用组合物在不引起过敏性反应的情况下治疗其患者的方法，包括给予：
- a) 有效剂量的一种治疗剂，其中所述治疗剂包含一种或多种包被的或微粒化的、大小在 30 nm 到 1 μ m 的活性化合物，而且其中所述的活性化合物 i) 降低或抑制所述患者内巨噬细胞或单核细胞的活性或 ii) 减少所述患者内巨噬细胞或单核细胞的数量或清除所述患者内的巨噬细胞或单核细胞；和
- b) 所述补体活化药用组合物。
86. 权利要求 85 的方法，其中治疗剂以单剂量给药。
87. 权利要求 85 的方法，其中治疗剂以多剂量给药。

88. 权利要求 85 的方法，其中治疗剂经静脉内、肌内、动脉内、皮下或口服给药。
89. 权利要求 85 的方法，其中治疗剂直接施用于患者的患病部位。
90. 权利要求 89 的方法，其中的治疗剂涂布在医用装置上。
- 5 91. 权利要求 90 的方法，其中的医用装置是斯滕特固定模。
92. 权利要求 85 的方法，其中的治疗剂作为浸剂在一小时内完成给予。
93. 权利要求 85 的方法，其中的治疗剂在给予补体活化药用组合物之前给予。
94. 权利要求 93 的方法，其中的治疗剂在给予补体活化药用组合物之前 2
- 10 到 3 天给予。
95. 权利要求 85 的方法，其中的治疗剂与补体活化药用组合物同时给予。
96. 权利要求 85 的方法，其中所述的一种或多种活性化合物中至少一种是二膦酸盐。
97. 权利要求 96 的方法，其中的二膦酸盐选自由阿伦膦酸盐、帕米膦酸盐、
- 15 氯膦酸盐、依替膦酸盐和替鲁膦酸盐组成的组。
98. 权利要求 97 的方法，其中的二膦酸盐是阿伦膦酸盐。
99. 权利要求 85 的方法，其中的活性化合物是包被的或微粒化的。
100. 权利要求 99 的方法，其中治疗剂是脂质体二膦酸盐。
101. 权利要求 100 的方法，其中的二膦酸盐是阿伦膦酸盐。
- 20 102. 权利要求 85 的方法，其中的补体活化药用组合物包括紫杉醇、盐酸多柔比星脂质体，或其药用衍生物。
103. 权利要求 85 的方法，其中的补体活化药用组合物是脂质体制剂。
104. 权利要求 85 的方法，其中所包被的或微粒化的活性化合物的大小在 30 nm 到 1 μ m 的范围内。

25

使用单核细胞/巨噬细胞抑制性化合物的补体活化脱敏

5

发明领域

本发明涉及为预防、减弱、治疗、或治愈补体活化相关的急性过敏反应而设计的方法与组合物，该类病症也称为 C-介导的假性过敏 (CARPA)。在优选实施方案中，预防、减弱、治疗或治愈由施用药用组合物而引起的 CARPA，所述药用组合物包括但不限于，那些脂质体、微团、纳米颗粒、乳剂、胶体制剂中的组合物。本发明的方法包括施用有效剂量的的一种或多种含有一种或多种活性化合物的治疗剂，该化合物特异性地降低或抑制巨噬细胞和/或单核细胞的活性和/或清除或减少其数量。在一些实施方案中，所述的活性化合物是二膦酸盐。在更特定的实施方案中，所述活性化合物是阿伦膦酸盐。

15

背景技术

药用组合物在过去的几十年里改变了人类的存活率。然而，许多药用组合物当施用于哺乳动物时在一些患者身上导致副反应。在一些应用中，过敏性反应很严重并可能威胁生命。最近的强副反应相关药用组合物的例子是在脂质体、微团、纳米颗粒、乳剂、胶体制剂中的那些组合物。

20

在药用组合物中的使用脂质体、微团、纳米颗粒、乳剂、胶体制剂在医疗领域正得到广泛认同和应用。许多药物目前作为含表面活性剂以增强药物溶解度的溶液、乳剂、悬剂、以及脂质体药物制剂而出售，希望这些药物能更有效地转运到其靶器官或细胞类型中。例如，非离子乳化剂载体“Cremophor EL”以其与广泛的药剂共同使用而闻名，包括咪康唑（注射用药手册），棘霉素（注射用药手册），替尼泊苷（Rowinsky 等，1992，*Seminars in Oncology*, 19,646），安定（Lau 等，1989，*Int. J. Pharm.* 54,171），阿法双酮（althesin）（Dye 等，1980，*Br. Med. J.* 230,1353）和紫杉醇（Rowinsky 等，1992, *supra*）。然而，这些制剂中许多在病人中导致过敏性

25

30

反应使其必须停止用该制剂治疗，因此使病人不能得到该药物的有益疗效。另外，脂质体制剂如盐酸多柔比星脂质体和两性霉素 B 脂质体中的药用组合物或微团制剂如泰素中的药用组合物都可以类似地导致患者中的过敏反应（Chanan-Khan 等, 2003, Ann Oncol. 14: 1430-7; Cesaro 等, 1999, Support Care Cancer 7 : 284-6; Weiss 等, 1990, J. Clin Oncol. 8: 1263-8）。

对引起过敏性反应的药用组合物的临床研究表明反应通常在注入后立即发生并包括心肺不良应激症状如呼吸困难、呼吸急促、心动过速、低血压和高血压、胸痛、以及背痛等。这些反应被称为补体活化相关急性过敏性反应或 C-介导的假性过敏(pseudoallergy)（CARPA）与 IgE-介导的（I 类）过敏不同，CARPA 通常发生于先前无致敏作用的首次用药中，而症状通常在后续治疗中减轻或消失（快速耐受）。用脂质体药物治疗的病人中这种反应的发生频率，如盐酸多柔比星脂质体，是 6.8%，这与所报道的其它脂质体药物中的发生率相当（Dezube, B. J. , 1996 In : Doxil Clinical Series, Califon, N. J. Gardiner-Caldwell SynerMed, p. 1-8）。在约 0.9%的病人中，这些反应可能危及生命，因此妨碍了用脂质体制剂作进一步治疗。泰素的微团制剂也在 41%-44%的所有病人中引起轻微的反应（如脸红或疹）。然而，1.5%-3%泰素处理的病人具有严重得多的反应，包括类过敏反应、呼吸困难、高血压和脸红，需要中止药物以及适当的急救（Rowinsky 等, 1993, Semin. Oncol. 204: 1-15 and Weiss et al., 1990, J. ClinOncol. 8: 1263-8）。预防泰素心脏毒性和类过敏反应的措施包括用抗组胺剂或皮质类固醇预处理病人以及通过延长药物输注时间。而且，补体活化还与聚合纳米颗粒的静脉内注射/输注有关。

因此，本发明的目的是提供一种预防与给予补体活化药物组合物有关的过敏性反应的方法。

发明概述

本发明涉及为预防、降低、治疗、或治愈补体活化相关的急性过敏性反应而设计的方法与组合物，该类病症也称为 C-介导的假性过敏（CARPA）。在优选实施方案中，预防、减弱、治疗或治愈由施用药用组

合物而引起的 CARPA，所述药用组合物包括但不限于，那些脂质体、微团、纳米颗粒、乳剂、胶体制剂中的组合物。本发明的方法包括向其患者施用有效剂量的一种或多种含有活性化合物的治疗剂，该化合物特异性地降低或抑制巨噬细胞和/或单核细胞的活性和/或清除或减少其数量，从而抑制或削弱补体活化并因此不会导致过敏性反应。依本发明施用一种或多种治疗剂作为一种急性、短期的治疗，主要目的是抑制或改善由给予药用组合物导致的 CARPA 副反应。在给予/施用补体活化药用组合物之前、同时或之后向患者给予/施用一种或多种治疗剂。在一些实施方案中，被施用本发明组合物的病人已经有过响应于先前药用组合物施用的前 CARPA 发作（prior CARPA episode）。在其它实施方案中，被施用本发明组合物的病人没有经历过 CARPA 发作但是正在经受着已知的补体活化药用组合物的治疗。

在优选实施方案中，治疗剂特异性地靶向巨噬细胞和/或单核细胞。因为巨噬细胞和单核细胞是吞噬细胞，在这些实施方案中，制备治疗剂使其包含一种颗粒，这种颗粒具有主要地或专一地通过吞噬作用进入细胞的性质。所述治疗剂包含一种活性化合物制剂，从而制剂的生理化学性质，例如，大小或电荷，只被或主要被吞噬作用所内化。所述治疗剂可包括包被（encapsulated）的活性化合物或微粒的活性化合物。一旦被吞噬，该活性化合物从制剂中释放出来进入靶细胞，例如，巨噬细胞和单核细胞，并抑制这些细胞的功能和/或将其消灭。在优选实施方案中，治疗剂中的活性化合物是二膦酸盐。在更优选的实施方案中，所述二膦酸盐是阿伦膦酸盐。

在一个实施方案中，本发明涉及一种预防、减弱、治疗或治愈 CARPA 的方法，向其患者个体施用有效剂量的一种或多种包含一种包被的活性化合物的治疗剂。在另一个实施方案中，本发明涉及一种预防、减弱、治疗或治愈 CARPA 的方法，向其患者个体施用有效剂量的一种或多种包含一种微粒化的活性化合物的治疗剂。所述活性化合物被包被于适当的特定大小的载体中或被制成特定大小的微粒。治疗剂由于其制剂的特性，例如诸如大小和/或者电荷，而特异性地靶向巨噬细胞和/或单核细胞，这使得治疗剂主要或专一性地通过吞噬作用被摄入。一旦制剂被细胞摄入，活性化合物就从包被载体或微粒中释放出来，而该药物就能够抑制吞噬细胞的活

性和/或破坏吞噬细胞。

在进一步的实施方案中，本发明包括一种施用于需要治疗剂的患者
的药用组合物，该治疗剂包括选自自由被包被的活性化合物和微粒活性化合物
组成的组的制剂中的活性化合物以及药用赋形剂、载体、稳定剂或稀释剂，
5 以用于预防、减弱、治疗或治愈 CARPA。需要这种给药的患者是那些 i) 最
近经历了补体活化药用组合物治疗的患者， ii) 目前正经受补体活化药用
组合物治疗的患者，或 iii) 不久将要经受补体活化药用组合物治疗的患者。

本发明的治疗剂包括制剂中的一种活性化合物，其优选的大小范围是
0.03-1.0 μm 。然而，根据药物的种类和/或所用载体，更优选的范围包括，
10 但不限于， 0.07-0.5 μm ， 0.1-0.3 μm 和 0.1-0.18 μm 。

发明详述

本发明涉及为预防、降低、治疗、或治愈补体活化相关的急性过敏性
反应而设计的方法与组合物，该类病症也称为 C-介导的假性过敏
15 (CARPA)。一旦被激活，补体系统在巨噬细胞和单核细胞的帮助下导致
过敏性反应。在这些反应过程中，观测到患者血液中巨噬细胞/单核细胞分
泌产物的大量增加。因此，本发明的一个目的是通过抑制或减弱巨噬细胞
和/或单核细胞的活性来预防、减弱、治疗或治愈 CARPA，这间接或直接
地通过抑制或减弱循环细胞的活性或减少其数量实现。在优选实施方案
20 中，CARPA 是由施用补体活化药用化合物所引起，所述化合物包括但不
限于，在脂质体、微团、纳米颗粒、乳剂和胶体制剂中的那些组合物。因
此，本发明的方法可被用于降低或清除某些病人中与施用补体活化药用组
合物相关的严重的副反应。

本发明涉及为了在施用补体活化药用组合物之前、期间或之后急性、
25 短时期地减弱或抑制巨噬细胞和/或单核细胞活性和/或清除或减少其数量
而设计的方法与组合物，从而使患者可以对药用组合物产生耐受。本发明
的方法包括施用有效剂量的含一种或多种治疗剂的制剂，该治疗剂特异性
地降低或抑制患者体内巨噬细胞和/或单核细胞的活性和/或清除或减少其
数量。

30 本发明的方法所用治疗剂特异性地降低或抑制患者体内巨噬细胞和/或

单核细胞的活性和/或清除或减少其数量。治疗剂的特异性归因于其中活性化合物的制剂，从而使活性化合物只感染特定的细胞种类（例如，巨噬细胞和/或单核细胞）。在优选实施方案中，制剂对吞噬细胞的特异性归因于制剂的生理化学性质，例如，大小或电荷，从而使其能够只被或主要被吞噬作用摄入/内化。一旦被吞噬入胞内，该活性化合物抑制或降低吞噬细胞的活性和/或破坏吞噬细胞。不束缚于任何特定的作用机理，本发明活性化合物的治疗剂在失活和/或破坏吞噬细胞之前，当进入细胞内后被释放。

治疗剂中的活性化合物制剂，例如，包被的或微粒化的，通过暂时减少和/或失活触发过敏性反应的细胞，即巨噬细胞和/或单核细胞，而抑制由补体活化引起的过敏性反应。治疗剂通过吞噬作用被巨噬细胞和单核细胞摄入。相反，由于制剂巨大的体积和/或其它生理化学性质，非吞噬细胞不能摄入治疗剂。

如本文所用，术语“吞噬作用”指进入吞噬细胞的优选方式并被本领域所周知。然而，该术语应理解为还包括其它也可以完成相同效果的内吞作用形式，应当理解受体介导的内吞作用和其它从胞外吸收/内化物质的细胞方法也包括在本发明的方法和组合物之中。

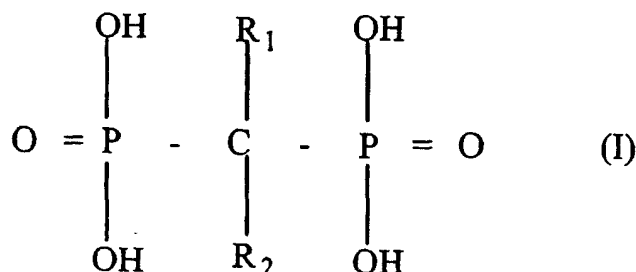
本发明还涉及预防、减弱、治疗或治愈哺乳动物体内过敏性反应的药用组合物，包括向所需哺乳动物施用一种或多种包含包被的或微粒化的活性化合物治疗剂，和药用赋形剂、稀释剂或载体。在优选实施方案中，至少一种活性化合物是二膦酸盐。在更优选的实施方案中，所述二膦酸盐被包被于脂质体中。

活性化合物

由于制剂的生理化学性质如大小或电荷，治疗剂和本发明的方法中所用的活性化合物特异性地减弱或抑制巨噬细胞和/或单核细胞的活性和/或清除和/或减少患者体内巨噬细胞和/或单核细胞的数量。该活性化合物可以是细胞内抑制剂、失活剂、毒素、阻止（arresting）物质和/或细胞生长抑制剂/细胞毒性物质，它们一旦进入巨噬细胞或单核细胞等吞噬细胞，就抑制、破坏、阻止、修饰和/或改变该吞噬细胞使其不能存活和/或正常行使功能。

如本文所用，术语“活性化合物”指包被的或微粒化的、用于制备治疗剂的全部或一部分的分子，其为制剂提供失活/毒性效应，例如，抑制或减弱巨噬细胞和/或单核细胞的活性和/或清除或减少巨噬细胞和/或单核细胞的数量。可作为活性化合物的化合物包括，但不限于，无机的或有机的化合物；或小分子（小于 500 D）或大分子，包括但不限于，无机的或有机的化合物；蛋白质分子，包括但不限于，肽、多肽、蛋白质、翻译后修饰的蛋白、抗体等；或核酸分子，包括但不限于，双链 DNA，单链 DNA，双链 RNA，单链 RNA，或三螺旋核酸分子。活性化合物可以由任何已知生物（包括但不限于动物、植物、细菌、真菌、原生生物或病毒）衍生的天然产物或来自人工合成分子库。活性化合物可以是单体和聚合物化合物。

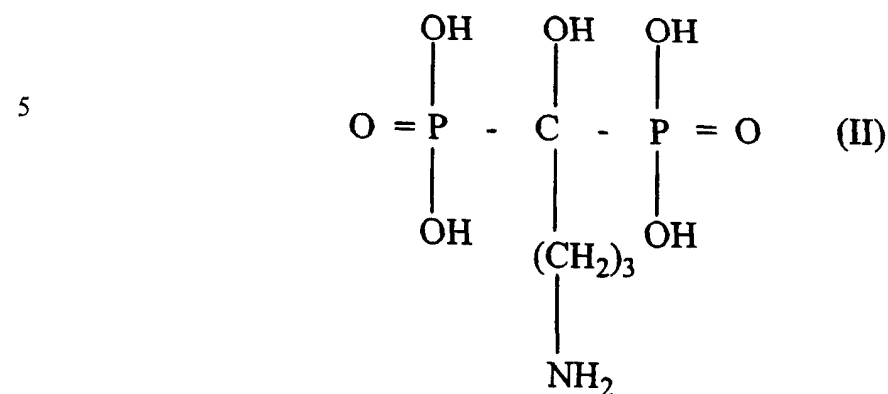
在优选实施方案中，活性化合物是二磷酸盐或其相似物。如本文所用，术语“二磷酸盐”表示成对的（geminal）和非成对的二磷酸盐。在一个特定的实施方案中，该二磷酸盐具有下式（I）：



其中 R_1 是 H、OH、或卤素原子；和 R_2 是卤素；线性或枝化的 C_1 - C_{10} 烷基或 C_2 - C_{10} 烯基任选地被杂芳基或 C_1 - C_{10} 烷基氨基或 C_3 - C_8 环烷基氨基取代，其中的氨基可以是伯、仲、叔的；-NHY 中 Y 是氢、 C_3 - C_8 环烷基、芳基或杂芳基；或者 R_2 是-SZ，其中 Z 是氯取代的苯基或吡啶基(pyridinyl)。

在更特定的实施方案中，二磷酸盐是一种阿伦磷酸盐或其相似物。阿伦磷酸盐包括其多种盐类，包括但不限于，钙、钠、和其它类似的盐和酯。阿伦磷酸盐还存在多种水合状态，这些也包括在本文内，包括但不限于，

阿伦膦酸盐一水合物、二水合物和三水合物，以及该化合物的无水形式。
在这样的实施方案中，阿伦膦酸盐具有下式 (II)：



阿伦膦酸盐、帕米膦酸盐、氯膦酸盐、依替膦酸盐和替鲁膦酸

在其它特定的实施方案中，其它的二膦酸盐可以在本发明的方法中被
15 用作活性化合物。其它二膦酸盐的例子包括但不限于，氯膦酸盐，替鲁膦
酸盐，3-(N,N-二甲氨基)-1-羟丙烷-1,1-双膦酸，例如，二甲基-APD；1-羟
基-乙叉-1,1-二膦酸，例如，依替膦酸盐；1-羟基-3(甲基戊基氨基)-亚丙基
-二膦酸，(伊班膦酸)，例如，伊班膦酸盐；6-氨基-1-羟己基-1,1-二膦酸，
例如氨基-己基-BP；3-(N-甲基-N-戊基氨基)-1-羟丙烷-1,1-二膦酸，例如，
20 甲基-戊基-APD；1-羟基-2-(咪唑-1-基)乙烷-1,1-二膦酸，例如，唑来膦酸；
1-羟基-2-(3-吡啶基)乙烷-1,1-二膦酸 (利塞膦酸)，例如，利塞膦酸盐；
3-[N-(2-苯基硫代乙基)-N-甲氨基]-1-羟丙烷-1,1-二膦酸；1-羟基-3-(吡咯烷
-1-基)丙烷-1,1-二膦酸，1-(N-苯基氨基硫代羰基)甲烷-1,1-二膦酸，例如 FR
78844 (Fujisawa)；5-苯甲基-3,4-二氢-2H-吡唑-3,3-二膦酸四乙酯，例如
25 U81581 (Upjohn)；和 1-羟基-2-(咪唑[1,2-a]嘧啶-3-基)乙烷-1,1-二膦酸，例
如 YM 529，2-(2-氨基吡啶基)乙叉-1,1-二膦酸甜菜碱(ISA-13-1)，或其相似
物。

本发明还包括含有其它活性化合物的治疗剂，包括但不限于，镓、金、
硒、钆、二氧化硅、光辉霉素、西罗莫司、依维莫司、和它们的其它相似
30 的类似物。通常，化学治疗剂，例如诸如 5-氟尿嘧啶、顺铂、烷化剂、和

其它抗增殖或消炎化合物，例如诸如类固醇、阿斯匹林、和非类固醇类消炎药等也可以用作活性化合物。

本发明意指包括施用一种或多种治疗剂以预防、减弱、治疗或治愈补体活化相关的急性过敏性反应，也称为 C-介导的假性过敏（CARPA）。可以向病人组合施用超过一种的治疗剂。组合施用的治疗剂可以在相同的或不同的制剂中含有不同的活性化合物（例如，包被的或微粒化的）或在不同制剂中含有相同的活性化合物。术语“组合”不限于在正好相同的时间施用治疗性药物，而是意味着所述治疗剂以一定顺序在一定时间间隔内施用于病人，从而使它们可以同时作用以提供比其它施用方式增强的效果。例如，每种治疗剂可同时施用或以任意顺序在不同时间点施用；然而，如果不是同时施用，它们应以足够接近的时间施用以提供所需的疗效。每种治疗剂可分别施用，以任何适当的形式以及通过任何适当的途径，使治疗剂能有效转运到适当的或所需的作用部位。

15 活性化合物鉴定

本发明提供可用作活性化合物的化合物筛选方法。不限于任何特定作用机理，用于本发明方法中的活性化合物的化合物一旦通过其制剂的生理化学性质靶向巨噬细胞和/或单核细胞，就 i) 抑制吞噬细胞活性，ii) 降低吞噬细胞活性，iii) 从循环中清除巨噬细胞/单核细胞，和/或 iv) 降低循环中巨噬细胞和/或单核细胞的数量。

鉴定活性化合物的方法通过包括将候选治疗剂与吞噬细胞（例如，巨噬细胞和/或单核细胞）在体外或体内共同温育然后分析吞噬细胞活性或寿命的变化，从而鉴定用于本发明的活性化合物。本领域内已知的任何方法都可以被用于分析吞噬细胞的活性或寿命。

25 在一个实施方案中，通过细胞对活化刺激的活化水平来分析吞噬细胞
的活性。例如，可通过定量巨噬细胞化学引诱蛋白-1 (MCP-1) 和巨噬
细胞炎症蛋白-1 α (MIP-1 α) 等趋化因子以及其它由巨噬细胞产生的物质
如白细胞介素 1 β (IL-1 β), 组织坏死因子 α (TNF- α), 组胺, 纤维蛋白
溶酶, PAF 和类花生酸类物质 (eicosanoids) 如 TXA₂、TXB₂、LTB₂、LTB₄、
30 LTC₄、LTD₄、LTE₄、PGD₂ 和 TXD₄ 等来分析巨噬细胞/单核细胞的活化。

本领域内已知的任何方法都可以被用于分析吞噬细胞分泌产物的水平，包括但不限于，ELISA，免疫沉淀作用和定量蛋白质印迹。

在另一个实施方案中，分析吞噬细胞的生命。例如，可通过测定 ^3H -胸腺嘧啶核苷摄入、直接细胞计数、检测原癌基因（例如，*fos*, *myc*）等已知基因的转录活性或细胞周期标记的变化、或通过锥虫蓝染色来分析细胞增殖。本领域内任何已知的方法都可被用于 mRNA 转录水平（例如，通过 RNA 印迹，RT-PCR，QPCR 等）或蛋白水平（例如，ELISA，蛋白质印迹）的分析。

在一个实施方案中，一种能降低吞噬细胞活性的制剂通过下述方法鉴定：

a) 将吞噬细胞与第一制剂和第二制剂接触，所述第一制剂是激活所述吞噬细胞的制剂而所述第二制剂是候选制剂；和

b) 测定所述被接触的吞噬细胞的活性，

其中与在没有所述第二制剂时和第一制剂接触的吞噬细胞（即，对照细胞）活性相比，所述被接触的吞噬细胞活性的降低表明所述第二制剂降低了吞噬细胞的活性。

在一个实施方案中，一种能降低吞噬细胞数量的制剂通过下述方法鉴定：

a) 将吞噬细胞与制剂接触；和

b) 测定所述被接触的吞噬细胞的生存力，

其中与未和所述制剂接触的吞噬细胞（即，对照细胞）的生存力相比所述被接触的吞噬细胞生存力的降低表明所述制剂减少了吞噬细胞。

在其它实施方案中，分析候选制剂以与已知以治疗所需方式改变吞噬细胞活性或寿命的制剂基本相似或更好的方式改变吞噬细胞活性或寿命的能力。如本文所用“基本相似”指一种制剂在吞噬细胞上具有与示例制剂相似的作用，即，一种抑制吞噬细胞活性、功能、活力、和/或衰竭的制剂。

另外，候选制剂可以被用于 CARPA 的动物模型以评价它们被用于本发明的方法中的能力。动物模型可被用作决定一种候选制剂是否可被用作活性制剂的第一检测法或被用作证实在体外分析中被发现有所需活性的制

剂的效用的第二检测法。

在一个实施方案中，所用动物模型是猪 CARPA 模型（见，例如，第 6 部分）。在猪体内静脉注射小剂量的某种脂质体立即导致显著的象征着过敏性或类过敏性休克的血液动力学和心肺的变化和皮肤变化。该反应与血液中巨噬细胞分泌产物（特别是 TXA_2 ）的大量增加相关。这些反应如果不用肾上腺素、心脏挤压、和/或电休克进行复苏的话则会致死。猪中的这种反应与输注了某种脂质体和抗癌药物后在相当高比例（2-45%）的人群中所观察到的过敏性症状十分相似。例如，在猪内导致心肺疼痛/难受的盐酸多柔比星脂质体推注剂量与在输注的最初 20-60 秒内到达人血液并导致过敏个体 CARPA 的剂量相符。与在人体内不同，猪体内脂质体诱导的 CARPA 表现出相对小的生物学变异（例如，基本上所有的猪对某种致反应脂质体制剂都产生相似的反应）因此该模型是高度可重现的。

活性化合物制剂

治疗剂包括制剂中的活性化合物，所述制剂使得活性化合物处于大到只通过或主要通过吞噬作用被摄入的颗粒中，从而将特异性“传递（impart）”给巨噬细胞和单核细胞。尽管活性化合物进入非吞噬细胞的细胞内后，非吞噬细胞可能会受其影响，但当被制成这种形式的制剂时（即，作为治疗剂），不存在非吞噬细胞纳入所述活性化合物的机制。治疗剂包括被制成优选地在 $0.03\text{-}1.0\ \mu\text{m}$ 大小范围的制剂的化合物，更优选 $0.07\text{-}0.5\ \mu\text{m}$ ，更优选 $0.1\text{-}0.3\ \mu\text{m}$ ，更优选 $0.1\text{-}0.18\ \mu\text{m}$ 。然而，这仅是一个示例，可以应用其它大小范围而不脱离本发明的精神和范围。

可以使用本领域内已知的任何方法将活性化合物整合入制剂中，从而使其只通过或主要通过吞噬作用被摄入/内化。活性化合物的制剂（即，治疗剂）可使活性化合物隔离足够的时间以增强该化合物向靶点的转运。另外，当其处于靶点的靶细胞（例如，巨噬细胞或单核细胞）内时，活性化合物制剂可以从颗粒中排出活性化合物。因此，当治疗剂在胞外时，只存在二磷酸盐的不溶形式（例如，包被的或微粒化的）。

在一个实施方案中，活性化合物被包被于具所需性质的载体中（即包胶剂）。术语“包被的活性化合物”包括被包被、包埋和/或吸收入颗粒内、

分散于颗粒基质中、吸附在或连接在颗粒表面、或这些形式的任意组合的活性化合物。所述颗粒包括，但不限于，惰性聚合物颗粒，如微囊、毫微囊、毫微球、微球、毫微粒、微粒和脂质体。

在一个特定的实施方案中，所述包胶剂是脂质体。可通过本领域内已知的任何方法制备脂质体（见，例如，Mönkkönen, J 等, 1994, *J. Drug Target*, 2:299-308; Mönkkönen, J 等, 1993, *Calcif. Tissue Int.*, 53:139-145; Lasic DD., Liposomes Technology Inc., Elsevier, 1993, 63-105. (第三章); Winterhalter M, Lasic DD, *Chem Phys Lipids*, 1993 Sep; 64(1-3):35-43)。所述脂质体可以是带正电的、中性的或更优选地，带负电的。脂质体可以是单脂层或可以是多脂层。按照本发明适合的脂质体优选是无毒脂质体，例如从磷脂酰胆碱甘油磷酸或胆固醇中制备的那些等。所用脂质体的直径范围优选从 0.03-1.0 μm ，更优选 100-300 nm。然而，也可以使用其它适合巨噬细胞和/或单核细胞吞噬作用的大小范围。

在另一处特定的实施方案中，所述包胶剂是一种包埋剂从而使活性化合物包埋于具所需性质的载体中。通过包埋而被包被的活性化合物包括那些被包埋、封装和/或吸收入颗粒内、分散于颗粒基质中、吸附在或连接在颗粒表面、或这些形式的任意组合的活性化合物。在特定的实施方案中，所述包埋剂（或载体）是一种微粒、毫微粒、毫微球、微球、微囊或毫微囊（见，例如，M. Donbrow 于：Microencapsulation and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy. CRC Press. Boca Raton, FL, 347, 1991）。术语载体包括聚合的和非聚合的制剂。在更特定的实施方案中，所述包胶剂是毫微粒。优选地，毫微粒化的直径是 0.03-1.0 μm 并可以是球形的、非球形的或聚合物颗粒。活性化合物可以被包埋于毫微粒中，均匀地或非均匀地分散于聚合物基质中，吸附于表面，或这些形式的任意组合。在优选实施方案中，用于制备毫微粒化的聚合物是生物相容和生物可降解的，如聚(DL-乳酸-共-乙交酯)聚合物 (PLGA)。然而，可以用于制备毫微粒化的其它聚合物包括但不限于，PLA(聚乳酸)及其共聚物，聚酞类，聚烷基氰丙烯酸盐/酯类（如聚异丁基氰丙烯酸盐/酯），聚乙烯二醇类，聚氧化乙烯类及其衍生物，壳聚糖，白蛋白，明胶等。

在另一个实施方案中，所述治疗剂是颗粒形式，所述颗粒均具有所需

性质。颗粒状活性化合物包括任何不可溶的悬浮或分散的活性化合物的颗粒形式，所述化合物未被包被、捕获或吸附于载体内。颗粒状活性化合物包括那些悬浮的或分散的胶体、聚集体、絮凝物、不溶性盐、不溶性复合物、和一种试剂的聚合链。这些颗粒不溶于其所储存/施用的液体（例如，5 盐水或水）以及它们提供其疗效的液体（例如血液或血清）中。典型地，“不溶的”指一（1）份的颗粒状活性化合物溶于多于一万（10,000）份溶剂中的溶解度。可以使用本领域内任何已知的制备颗粒或聚集物的方法。优选地，颗粒直径是 0.03-1.0 μm 并可以是任何特定形状。

10 颗粒大小测定

治疗剂包含制成优选制剂的活性化合物从而使活性化合物颗粒的大小（例如包被的或颗粒状的活性化合物）足够大到只被或主要被吞噬作用摄入，即，优选地大于 0.03 μm 。在优选实施方案中，这种制剂为 0.03-1.0 μm ，更优选地 0.07-0.5 μm ，更优选地 0.1-0.3 μm ，最优选地 0.1-0.18 μm 。在施用于所需患者之前可以采用本领域内任何已知方法测定治疗剂内颗粒的大小。例如，可以使用利用激光扫描的 Nicomp 亚微粒粒度仪（370 型，15 Nicomp, Santa Barbara, CA）或 Malvern Zetasizer Nano ZS（ZS-ZEN3600 型, Malvern, Worcestershire, 英国）。

可以采用能产生不同大小颗粒的方法来包被或颗粒化活性化合物，所述大小包括小于优选实施方案中的那些。可以采用本领域内已知的任何方法从所需大小范围以外的那些（例如，太小或太大）中分离所需大小的被包被的或颗粒化的活性化合物。治疗剂可以只包括或主要包括那些已被测定为在所需大小范围内的活性化合物颗粒。

25 补体活化药用组合物

在优选实施方案中，本发明的方法和组合物被用于预防、减弱、治疗或治愈由施用任何补体激活药用组合物而导致的 CARPA。如果施用有效剂量的组合物通过经典途径、备选途径、或其任意组合导致补体活化，则该药用组合物是补体活化的。作为由药用组合物引起的补体活化的结果，30 病人经历过敏性反应（例如，CARPA）。

在一个实施方案中，称一种药用组合物是补体活化的如果，向病人施用所述药用组合物之后，该病人经历了一种或多种下列症状：心肺不良应激（例如，呼吸困难、呼吸急促、心动过速、胸痛、以及背痛等），血压变化，肺动脉压增加，体循环脉压变化，心率增快，心输出量减少，呼出气体中 PCO_2 降低，毛细管中 PO_2 降低，肺及全身血管阻力增加，皮肤发亮（flare）或发红，以及 EKG 变化（例如，心动过速，心动过缓，心率不齐，ST 波降低，T 波倒置）等。在另一个实施方案中，称一种药用组合物是补体活化的如果，向病人施用所述药用组合物之后，病人血液中的巨噬细胞分泌产物（例如，组胺，纤维蛋白溶酶，PAF 和类花生酸类物质如 TXA_2 、 TXB_2 、 LTB_2 、 LTB_4 、 LTC_4 、 LTD_4 、 LTE_4 、 PGD_2 和 TXD_4 ）的量比施用前分泌产物的水平有所增高。

在一个实施方案中，所述补体活化药用组合物显示出快速耐受性（例如，增加药用组合物暴露后症状减轻）。在另一个实施方案中，所述补体活化药用组合物不显示快速耐受性。在其它实施方案中，所述补体活化药用组合物处于脂质体、微团、毫微粒、乳化剂或胶体制剂中。

补体活化药用合成物的例子包括，但不限于，盐酸多柔比星脂质体（及多柔比星的其它补体活化制剂），两性霉素 B 脂质体注射剂和 Abelect（及两性霉素 B 的其它补体活化制剂），枸橼酸柔红霉素脂质体（及柔红霉素的其它补体活化制剂），Neoral 和山地明（及环孢霉素 A 的其它补体活化制剂），威猛（及替尼泊苷的其它补体活化制剂），Amphocil（及两性霉素 B 的其它补体活化制剂），阿法双酮（及阿法沙龙的其它补体活化制剂），T-Quil，安定制剂，和地西泮（Stesolid）MR（及安定的其它补体活化制剂），爱庞妥（Epontol）（及丙泮尼地的其它补体活化制剂），泰素（及紫杉醇的其它补体活化制剂），泰索帝（及多西化赛的其它补体活化制剂），咪康唑和棘霉素。

制剂的施用

在产生对巨噬细胞和/或单核细胞的抑制/清除作用的单剂量治疗时期中向其所需患者施用有效剂量的治疗剂。一个治疗对巨噬细胞和/或单核细胞的效果优选地持续小于一个月的时期，优选地小于两周，更优选地小于

一周。在一些实施方案中，治疗剂作为短期、急性治疗而施用。在其它实施方案中，治疗剂作为慢性治疗而施用。根据经验，可以通过向其所需个体（或这种个体的动物模型）施用所述化合物并在不同的时间点监视抑制/清除水平而对此进行确定。还可以将抑制时间与适当的所需临床效果相关联，例如，施用补体活化药用组合物后的 CARPA 的降低。

在一个实施方案中，向病人施用 0.01-10 mg/kg 含有如阿伦膦酸盐的二膦酸盐的脂质体作为 CARPA 抑制剂。在更特定的实施方案中，向病人施用 0.3-4 mg/kg 含有如阿伦膦酸盐的二膦酸盐的脂质体作为 CARPA 抑制剂。在更特定的实施方案中，向病人施用 0.5-2 mg/kg 含有如阿伦膦酸盐的二膦酸盐的脂质体作为 CARPA 抑制剂。

在另一个实施方案中，向病人施用 0.001-1 mg/kg 含有如 clondronate (氯膦酸盐) 的二膦酸盐的脂质体作为 CARPA 抑制剂。在更特定的实施方案中，向病人施用 0.03-0.4 mg/kg 含有如氯膦酸盐的二膦酸盐的脂质体作为 CARPA 抑制剂。在更特定的实施方案中，向病人施用 0.05-0.2 mg/kg 含有如阿伦膦酸盐的二膦酸盐的脂质体作为 CARPA 抑制剂。

在使用其它二膦酸盐的其它实施方案中，本领域内技术人员可以采用，例如，体外或体内的前述鉴定活性化合物的分析方法经验性地确定施用于治疗的治疗剂量。治疗剂的活性可被比较，其中一种治疗剂包含已知施用剂量的二膦酸盐而一种包含未知施用剂量的二膦酸盐。通过这种方法，可以使含未知施用剂量二膦酸盐的活性水平近似于含已知施用剂量二膦酸盐的活性水平并据此调节将要施用的量。例如，使用所述分析方法，可以确定为了使含氨羟二磷酸的脂质体 (pamidronate) 近似于分析方法中含阿伦膦酸盐的脂质体的活性水平所必需服用的量，和如此相当于 0.01-10 mg/kg 含阿伦膦酸盐的脂质体的含氨羟二磷酸的指示量。

本发明的治疗剂（或包含本发明治疗剂的药用组合物）可以在施用补体活化药用组合物之前、同时或之后施用于病人。在一个实施方案中，治疗剂或其药用组合物在施用补体活化药用组合物之前施用于病人。优选在施用补体活化药用组合物之前 3 天、1-6 小时、1 小时以内、或数分钟施用治疗剂或其药用组合物。在一个实施方案中，被施用治疗剂或其药用组合物的病人响应之前的药用组合物而已有早期 CARPA 发作。在另一个实施

方案中，被施用治疗剂或其药用组合物的病人未产生 CARPA 发作但正在经历了已知补体活化药用组合物治疗。在另一个实施方案中，被施用治疗剂或其药用组合物的病人有发生 CARPA 的风险（由于施用补体活化药用组合物或其它原因）。

- 5 在一个实施方案中，治疗剂或其药用组合物在施用补体活化药用组合物的同时施用于病人。在这样的实施方案中，病人响应之前的药用组合物而已有早期 CARPA 发作和/或病人正经历已知补体激活药用组合物的治疗和/或病人有发生 CARPA 的风险。在特定的实施方案中，所述治疗剂或其药用组合物和所述药用组合物在相邻 10 分钟之内施用。在另一个特定的
- 10 实施方案中，所述治疗剂或其药用组合物和所述药用组合物混合在一起作为一个组合物施用。在另一个特定的实施方案中，当施用所述药用组合物的脂质体制剂时，所述治疗剂或其药用组合物和所述药用组合物混合在一起并包被于同一个脂质体中。

- 在另一个实施方案中，治疗剂或其药用组合物施用于显示出 CARPA 症
- 15 状的病人，所述 CARPA 症状包括，但不限于，心肺不良（例如，呼吸困难、呼吸急促、心动过速、胸痛、以及背痛等），血压变化，肺动脉压升高，体循环脉压变化，心率增快，心输出量减少，呼出气体中 PCO_2 降低，毛细管中 PO_2 降低，肺及全身血管阻力增加，皮肤发亮或发红，以及 EKG 变化，和/或血液中一种或多种巨噬细胞分泌产物（例如，组胺，纤维蛋白
- 20 溶酶，PAF 和类花生酸类物质如 TXA_2 、 TXB_2 、 LTB_2 、 LTB_4 、 LTC_4 、 LTD_4 、 LTE_4 、 PGD_2 和 TXD_4 ）增高。其它症状对于熟练技师和医生是显而易见的。

- 在治疗剂或其药用组合物与补体活化药用组合物被分开施用的实施方案中，所述施用可以发生在小于 1 小时的间隔内，约 1 小时的时间间隔内，
- 25 约 1 小时到约 2 小时的时间间隔内，约 2 小时到约 3 小时的时间间隔内，约 3 小时到约 4 小时的时间间隔内，约 4 小时到约 5 小时的时间间隔内，约 5 小时到约 6 小时的时间间隔内，约 6 小时到约 7 小时的时间间隔内，约 7 小时到约 8 小时的时间间隔内，约 8 小时到约 9 小时的时间间隔内，约 9 小时到约 10 小时的时间间隔内，约 10 小时到约 11 小时的时间间隔
- 30 内，约 11 小时到约 12 小时的时间间隔内，24 小时的间隔内或 48 小时的

间隔内。在一个特定的实施方案中，治疗剂或其药用组合物与补体活化药用组合物在同一次病人就诊中施用。在另一个特定的实施方案中，先施用治疗剂或其药用组合物。在另一个特定的实施方案中，先施用补体活化药用组合物。

5 技术人员可以根据特异于患者个体的多种生理化学因素（例如，重量，病史和遗传倾向等），影响预期 CARPA 风险的多种因素（如所施用药用合成物的种类），和所用制剂的种类（例如，包被的，包埋的，颗粒的等）容易地确定施用的合适剂量和时间。

10 疗效特征

术语“有效剂量”表示有效达到治疗效果的治疗剂的量，即抑制或降低巨噬细胞和/或单核细胞活性和/或清除或减少巨噬细胞和/或单核细胞的数量。在一个实施方案中，抑制或降低巨噬细胞和/或单核细胞活性和/或清除或减少巨噬细胞和/或单核细胞的数量所需治疗结果抑制了补体活化。在另一个实施方案中，抑制或降低巨噬细胞和/或单核细胞活性和/或清除或减少巨噬细胞和/或单核细胞的数量所需治疗结果抑制了由施用补体活化药用组合物引起的补体活化增强。在另一个实施方案中，抑制或降低巨噬细胞和/或单核细胞活性和/或清除或减少巨噬细胞和/或单核细胞的数量所需治疗结果抑制或减弱了由施用补体活化药用组合物引起的CARPA。

可以通过标准药理学方法在细胞培养中或实验动物中测定本发明的治疗方法的毒性和效力，例如，测定 LD₅₀（对 50% 的实验对象致死的剂量），不可测副反应水平（NOAEL）和 ED₅₀（对 50% 的实验对象有效的剂量）。毒性剂量和有疗效剂量间的剂量比是治疗指数，其可表示为比例 LD₅₀/ED₅₀ 或 NOAEL//ED₅₀。优选显示出大治疗指数的制剂。当使用显示毒副作用的制剂时，为了使对非作用细胞的潜在损伤最小化并从而减轻副反应，应小心设计使所述制剂的药物靶向于作用组织位点的转运系统。

从细胞培养分析和动物研究中得到的数据可以被用于确定人用的制剂剂量范围。这种制剂的剂量优选地处于包括 ED_{50} 的微毒或无毒循环浓度范围内。剂量可以在这个范围内根据所用剂量形式和所用施用途径而变

化。对于本发明的方法中所用的许多制剂，可以从细胞培养分析中初步估计有效剂量。可以在动物模型中配方剂量以获得包括如细胞培养中所测定的 IC_{50} （即，达到症状半最大抑制的所测化合物的浓度）的浓度范围。这些信息可以用于更精确地测定人类中的有效剂量。可以测量血浆中的水平，例如，通过高效液相色谱法。

本发明的方法和组合物优选地在应用于人类之前对所需治疗活性进行体外检测，然后体内检测。这种体外检测的一个例子是一种体外细胞培养分析，其中吞噬细胞（例如，巨噬细胞和/或单核细胞）在培养物中生长，并暴露于治疗剂或者以其它方式施用治疗剂，并观察这种测试对细胞的效应，例如，活性被抑制或降低和/或全部或部分细胞死亡。所述吞噬细胞可以取自己建的细胞系或新近从个体分离的原代细胞系。本领域内的许多标准分析法可以被用于测量制剂对吞噬细胞的活性；例如，巨噬细胞/单核细胞的活性可以通过定量趋化因子的水平而检测，所述趋化因子如巨噬细胞化学引诱蛋白-1（MCP-1），白细胞介素 1β （IL- 1β ），组织坏死因子 α （TNF- α ）和巨噬细胞炎症蛋白-1 α （MIP-1 α ）。本领域内的许多标准方法可以被用于分析吞噬细胞的存活和/或生长；例如，可通过测量 3H -胸腺嘧啶核苷整合，直接细胞计数，检测原癌基因（例如，fos, myc）等已知基因的转录活性或细胞周期标记的变化来分析细胞增殖；可通过锥虫蓝染色来分析细胞存活力。

熟练技师可根据本领域内的普通技术人员所知的几个因素来确定（例如，通过临床实验）优选的有效剂量的选择。这些因素包括过敏性反应的严重性和种类，所施用补体活化药用组合物的种类，治疗方案（例如，治疗剂的施用是否每天一次缓慢输注，快速推注，一天几次或几天一次），年龄，体重，受施病人的病史，和哮喘及其它免疫或自体免疫症等其它影响补体活化的临床因素，病人是否在治疗前有免疫妥协（immuno-compromised）以及其它熟练技师所知的反应所施用药用组合物的准确度的因素。

药用组合物和施用的途径

按照本发明所用的治疗剂可以通过本领域内已知的任何常规方法制成

药用组合物（见，例如，Alfonso, G.等, 1995, in: *The Science and Practice of Pharmacy*, Mack Publishing, Easton PA, 19th ed.）。含有一种或多种用于本发明的方法中的治疗剂的制剂可以是多种形式，根据每个病人特异性的多种因素（例如，过敏性反应的严重性和种类，所施用补体活化药用组合物的种类，年龄，体重，响应，病人的既往病史），治疗剂中活性化合物的数量5 和种类，制剂种类（例如，包被的，颗粒的等），组合物的形式（例如，液态，半液态，或固态），治疗方案（例如，治疗剂的施用是否每天一次缓慢输注，快速推注，一天几次或几天一次），和/或施用途径（例如，口服，静脉内，肌内，动脉内，髓内，鞘内，心室内，经皮，皮下，腹膜内，鼻内，肠内，局部的，舌下，阴道，或直肠途径）。在本发明的组合物中10 可以包括药用载体、介质、辅料或稀释剂，包括但不限于，水，盐水溶液，缓冲盐水溶液，油类（例如，石油，动物、植物或合成油类），淀粉，葡萄糖，乳糖，蔗糖，明胶，麦芽，大米，面粉，白垩，硅胶，硬脂酸钠，单硬脂酸甘油酯，滑石，氯化钠，脱脂奶粉，甘油，丙烯，乙二醇，乙醇，右旋糖等。所述组合物，如果需要，还可以含有微量的湿润或乳化剂，或15 pH 缓冲剂。这些组合物可以采取溶液、悬液、乳剂、片剂、丸剂、胶囊剂、粉剂、持续释放制剂等形式。

可以将适用于非消化道给药的药用制剂制成水溶液，优选地在生理相容性缓冲液如 Hanks' 溶液, Ringer's 溶液中, 或者生理性缓冲的盐水中。水性注射悬液可以含有增加悬液粘度的物质，如羧甲纤维素钠，山梨醇，或20 葡聚糖。此外，可以制备活性化合物的悬液作为合适的泛油注射悬液。适合的脂质体溶剂或介质（vehicle）包括麻油等脂肪油，或合成的脂肪酸酯，如油酸乙酯或甘油三酯，或脂质体。任选地，所述悬液还可以含有适合的稳定剂或增强化合物溶解度的制剂以能够制备高浓度的溶液。

25 所述药用组合物可以作为盐提供并可以与许多种酸成盐，包括但不限于，盐酸，硫酸，乙酸，乳酸，酒石酸，苹果酸，琥珀酸等。盐类倾向于比相应的游离碱形式在水溶剂或其它质子性溶剂中更易溶。

所述药用组合物可以全身施用或局部施用，例如，在补体活化药用组合物注射部位附近。此外，全身施用意指包括能够靶向于特定区域或目标30 组织类别的施用。

在某些实施方案中，可能需要将本发明的药物作为医用装置的涂层施用。这种涂层可以使药物组合物直接用于病人的特定部位。

本文所引用的所有已发表文献、书籍、参考手册和摘要的内容，在此处完整引入作为参考以更完全地说明本发明所属领域的现有技术。

- 5 由于可以在上述主旨内进行多种变化而不背离本发明的精神和范围，意味着包含于以上说明中，或在所附权利要求中所定义的所有主旨，被认为是本发明的说明和示例。按照以上说明本发明可能有修饰和变化。

实施例

- 10 如本文阐述的下列实施例意指说明和示例实现本发明的多种方面，并不意味着以任何方法限制本发明。

6.1 手术操作

- 用肌内注射氯胺酮（氯胺酮针剂）镇定两种性别的青春猪（20-40 公斤）Yorkshire 猪，然后用氟烷或异氟烷经鼻锥体将其麻醉。插入导管以用麻醉机进行机械通气，使用 1-2.5% 的氟烷或异氟烷。经右颈内静脉通过右心房将装有基于热稀释法心输出量检测仪的肺动脉导管接入肺动脉以测量肺动脉压（PAP）和心输出量（CO）。将另一个导管插入右股动脉和接入基部主动脉以采集血样并测量全身动脉压（SAP）。不断地得到血压值和心电图的 2-3 个前导（lead）。

20

6.2 CARPA-激活性化合物注射

- 下列实验所用的 CARPA 激活性化合物是 i) 含 2 mg/ml 多柔比星盐酸和 16 mg/ml 脂质（磷脂浓度：盐酸多柔比星脂质体 13.3 mM，150 μ g 多柔比星/ μ mol 磷脂）的盐酸多柔比星脂质体，ii) 由双肉豆蔻酰磷酸卵磷脂（DMPC），双豆蔻酰磷脂酰甘油（DMPG）和胆固醇以 45:5:50 的比例组成的多层脂囊（MLV），和 iii) 酵母聚糖。用 PBS 或生理盐水将致反应剂量的盐酸多柔比星脂质体、MLV 和酵母聚糖稀释到 1 ml 总体积，并用 1 ml 结核菌素注射器将其注射入颈静脉（经注射片）或肺动脉（经肺导管）。注射进行得相当快（在 10-20 秒内）并随后注射 10 ml PBS 或生理盐水以洗涤导管空隙间隔中残留的任何小囊泡。
- 25
- 30

6.3 实验分组和处理

将动物分成实验组并按照表 1 进行处理。通过每次注射之间 30 分钟间隔的静脉注射进行所有处理的施用。对所有实验组，激活处理是一系列三个相连的注射，由以下组成： i) 盐酸多柔比星脂质体 (0.01 mg 盐酸多柔比星/kg 或 0.08 mg 脂体/kg), ii) 0.25 mg 脂体/kg 的 MLV, 和 iii) 0.25 mg/kg 的酵母聚糖组成，以 30 分钟的间隔施用。所有动物在处理的最

5 后注射后 30 分钟处死。

表 1

组	处理	数量
介质对照	激活剂	2 雄性
	介质	2 雌性
	激活剂	
脂质体对照	激活剂	2 雄性
	空脂质体	2 雌性
	激活剂	
脱敏	激活剂	2 雄性
	含阿伦膦酸盐的脂质体	2 雌性
	激活剂	
预脱敏	含阿伦膦酸盐的脂质体	2 雄性
	激活剂	2 雌性
	激活剂	

给介质对照组动物在 0 分钟时注射盐酸多柔比星脂质体，30 分钟时注射 MLV，和 60 分钟时注射酵母聚糖作为 CARPA 激活剂处理。尽管这些注射的每一种都诱发显著（但非致死）的心肺反应，所有生理学和血液学测量在每次注射后约 30 分钟回到基线。作为对照，将含阿伦膦酸盐的脂质体组合物中的介质在 90 分钟时单独注射（不含脂质体）。然后通过

10 在 120 分钟时注射盐酸多柔比星脂质体，在 150 分钟时注射 MLV，和在 180 分钟时注射酵母聚糖而再次施用 CARPA 激活剂。第二系列 CARPA 激活剂注射诱发与第一次施用激活剂（例如，MLV，酵母聚糖）所得那些反应基本相同的反应或比第一次施用激活剂所得那些反应略轻但仍然显著（例如，盐酸多柔比星脂质体），因此证明介质单独不显示保护效应。

15 20

象处理介质对照组中那些动物一样处理脂质体对照组中的动物，除了在 90 分钟时注射空脂质体而不是介质。第二系列 CARPA 激活剂注射诱发

与第一次施用激活剂（例如，MLV，酵母聚糖）所得那些反应基本相同的反应或比第一次施用激活剂所得那些反应略轻但仍然显著（例如，盐酸多柔比星脂质体），因此证明空脂质体不显示保护效应。

象处理介质对照组中那些动物一样处理脱敏组中的动物，除了在 90 分钟时注射含阿伦膦酸盐的脂质体而不是介质。所施用的阿伦膦酸盐剂量符合约在人中 0.3-0.7 mg/kg 或为其它用途而建立的人类最大耐受剂量。第二系列的 CARPA 激活剂注射未诱发反应或诱发与第一次施用激活剂所得那些反应相比显著减轻的反应，因此证明含阿伦膦酸盐的脂质体的确显示保护效应。

在 0 分钟时给预脱敏组动物施用含阿伦膦酸盐的脂质体。所施用的阿伦膦酸盐剂量符合为其它用途而建立的人类最大耐受剂量。然后对所述动物进行两次连续激活剂处理（例如，30 分钟时盐酸多柔比星脂质体，60 分钟时 MLV，和 90 分钟时酵母聚糖，和 120 分钟时盐酸多柔比星，150 分钟时 MLV，和 180 分钟时酵母聚糖）。两个系列的激活剂注射未诱发反应或诱发与不预先施用含阿伦膦酸盐的脂质体所得那些反应相比显著减轻的反应，因此证明含阿伦膦酸盐的脂质体的确显示保护效应。

6.4 心血管变量测量

在处理（见 6.3 部分）之前、之间和之后测量实验动物中的几个生理参数。表 2 列出了所测试的血液动力学和生化标志。还显示了在 CARPA 期间（例如，激活剂注射时）每个标志中观测到的与基线相比的变化。

表 2

所测参数	CARPA 期间观测到的异常
肺动脉压 (PAP)	上升
全身动脉压 (SAP)	上升或下降（通常是双相的）
心输出量 (CO)	下降
EKG	心动过速或者心动过缓，心律不齐，ST 波降低，T 波倒置
呼出气体中 PCO ₂	下降

毛细管 PO ₂	下降
肺及全身血管阻力	上升
肤色	发亮, 变红 (持 续 10-20 分钟)
血液血栓素 A ₂ (TA ₂) 水平	上升
血液组胺水平	上升或下降