



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103347535 B

(45) 授权公告日 2015. 11. 25

(21) 申请号 201180066706. 2

A61K 9/08(2006. 01)

(22) 申请日 2011. 12. 02

A61P 31/12(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/419032 2010. 12. 02 US

(56) 对比文件

CN 1765181 A , 2006. 05. 03, 全文 .

US 20050186225 A1 , 2005. 08. 25,

US 20080241187 A1 , 2008. 10. 02, 全文 .

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 08. 02

审查员 张全红

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2011/063040 2011. 12. 02

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/075379 EN 2012. 06. 07

(73) 专利权人 昂科利蒂克斯生物科技公司

地址 加拿大艾伯塔省

(72) 发明人 M. C. 科菲 S. 塞尔 L. 帕夫利夫

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 罗文锋 庞立志

(51) Int. Cl.

A61K 39/15(2006. 01)

A61K 31/70(2006. 01)

A61K 48/00(2006. 01)

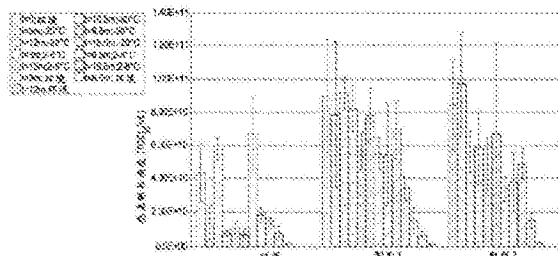
权利要求书4页 说明书17页 附图5页

(54) 发明名称

液体病毒制剂

(57) 摘要

本文提供适用于病毒稳定化及储存的液体病毒制剂和制备这些制剂的方法。本文描述的液体病毒制剂包括病毒(例如,纯化病毒)和包括赋形剂及液体载体在内的非病毒组合物。所述制剂可用以(例如)在储存期间保持病毒的感染力或免疫原性。



1. 一种病毒制剂,其包含:

(a) 纯化病毒;和

(b) 非病毒组合物,其包含:

(i) 甘露醇;

(ii) 基于所述非病毒组合物的重量,浓度小于 3% 的山梨醇;

(iii) 组氨酸;

(iv) Mg^{2+} ;和

(v) 液体载体,

其中所述非病毒组合物除所述液体载体外不含单价阳离子盐。

2. 如权利要求 1 所述的制剂,其中基于所述非病毒组合物的重量,甘露醇与山梨醇的组合浓度小于 10 重量%。

3. 如权利要求 1-2 中任一项所述的制剂,其中所述非病毒组合物还包含非离子表面活性剂。

4. 如权利要求 1-2 中任一项所述的制剂,其中所述病毒制剂不含 Zn^{2+} 。

5. 如权利要求 1-2 中任一项所述的制剂,其中所述病毒制剂不含海藻糖。

6. 一种病毒制剂,其包含:

(a) 纯化病毒;和

(b) 非病毒组合物,其包含:

(i) 基于所述非病毒组合物的重量,浓度小于 5% 的蔗糖;

(ii) Mg^{2+} ;

(iii) 非离子表面活性剂;和

(iv) 液体载体,

其中所述非病毒组合物除所述液体载体外不含单价阳离子盐、非蔗糖多元醇和羧酸盐。

7. 一种病毒制剂,其是由以下组成的:

(a) 纯化病毒;和

(b) 非病毒组合物,其包含:

(i) 基于所述非病毒组合物的重量,浓度小于 5% 的蔗糖;

(ii) Mg^{2+} ;

(iii) 非离子表面活性剂;和

(iv) 液体载体。

8. 如权利要求 1-2 和 6-7 中任一项所述的制剂,其中所述病毒为溶瘤病毒。

9. 如权利要求 1-2 和 6-7 中任一项所述的制剂,其中所述病毒为非包膜病毒。

10. 如权利要求 1-2 和 6-7 中任一项所述的制剂,其中所述病毒为呼肠孤病毒。

11. 如权利要求 10 所述的制剂,其中所述呼肠孤病毒为哺乳动物呼肠孤病毒。

12. 如权利要求 11 所述的制剂,其中所述哺乳动物呼肠孤病毒为人呼肠孤病毒。

13. 如权利要求 12 所述的制剂,其中所述人呼肠孤病毒为血清 3 型病毒。

14. 如权利要求 13 所述的制剂,其中所述血清 3 型病毒为 Dearing 株。

15. 如权利要求 10 所述的制剂,其中所述呼肠孤病毒为重组或重配型呼肠孤病毒。

16. 如权利要求 10 所述的制剂,其中所述呼肠孤病毒为 IDAC #190907-01。
17. 如权利要求 1-2、6-7 和 11-16 中任一项所述的制剂,其中 Mg^{2+} 以氯化镁形式存在。
18. 如权利要求 6 或 7 中任一项所述的制剂,其中所述非离子表面活性剂为聚山梨醇酯 80。
19. 如权利要求 1-2、6-7 和 11-16 中任一项所述的制剂,其中所述液体载体为水性载体。
20. 如权利要求 19 所述的制剂,其中所述水性载体为水。
21. 如权利要求 1-2、6-7、11-16 和 20 中任一项所述的制剂,其中所述病毒制剂在为环境温度的温度下是稳定的。
22. 如权利要求 1-2、6-7、11-16 和 20 中任一项所述的制剂,其中所述病毒制剂在为环境温度的温度下稳定至少一天。
23. 如权利要求 1-2、6-7、11-16 和 20 中任一项所述的制剂,其中所述病毒制剂在 4℃ 或更低的温度下稳定至少三个月。
24. 如权利要求 1-2、6-7、11-16 和 20 中任一项所述的制剂,其中所述病毒制剂在 4℃ 或更低的温度下稳定至少六个月。
25. 如权利要求 1-2、6-7、11-16 和 20 中任一项所述的制剂,其中所述病毒制剂在 4℃ 或更低的温度下稳定至少十二个月。
26. 如权利要求 1-2、6-7、11-16 和 20 中任一项所述的制剂,其中所述病毒制剂在 4℃ 或更低的温度下稳定至少十八个月。
27. 如权利要求 1-2、6-7、11-16 和 20 中任一项所述的制剂,其适合在施用之前稀释。
28. 一种制备病毒制剂的方法,其包括以下步骤:
 - (a) 提供病毒 ;及
 - (b) 组合所述病毒与非病毒组合物,所述非病毒组合物包含 :
 - (i) 甘露醇 ;
 - (ii) 基于所述非病毒组合物的重量,浓度小于 3% 的山梨醇 ;
 - (iii) 组氨酸 ;
 - (iv) Mg^{2+} ;和
 - (v) 液体载体,其中所述非病毒组合物除所述液体载体外不含单价阳离子盐,以形成病毒制剂。
29. 如权利要求 28 所述的方法,其中基于所述非病毒组合物的重量,所述非病毒组合物中的甘露醇和山梨醇的组合浓度小于 10 重量%。
30. 如权利要求 28 所述的方法,其中基于所述非病毒组合物的重量,所述非病毒组合物中的甘露醇和山梨醇的组合浓度小于 7 重量%。
31. 如权利要求 28-30 中任一项所述的方法,还包括对所述非病毒组合物添加非离子表面活性剂。
32. 如权利要求 28-30 中任一项所述的方法,其中所述病毒制剂不含 Zn^{2+} 。
33. 如权利要求 28-30 中任一项所述的方法,其中所述病毒制剂不含海藻糖。
34. 一种制备病毒制剂的方法,包括以下步骤 :

- (a) 提供病毒 ;及
- (b) 组合所述病毒与非病毒组合物,所述非病毒组合物包含 :
 - (i) 基于所述非病毒组合物的重量,浓度小于 5%的蔗糖 ;
 - (ii) Mg^{2+} ;
 - (iii) 非离子表面活性剂 ;和
 - (iv) 液体载体,

其中所述非病毒组合物除所述液体载体外不含单价阳离子盐、非蔗糖多元醇和羧酸盐,

以形成病毒制剂。

35. 一种制备病毒制剂的方法,包括以下步骤 :

- (a) 提供病毒 ;及
- (b) 组合所述病毒与非病毒组合物,所述非病毒组合物由以下组成 :
 - (i) 基于所述非病毒组合物的重量,浓度小于 5%的蔗糖 ;
 - (ii) Mg^{2+} ;
 - (iii) 非离子表面活性剂 ;和
 - (iv) 液体载体,

以形成病毒制剂。

36. 如权利要求 28-30 和 34-35 中任一项所述的方法,其进一步包括稀释所述病毒制剂以便输注。

37. 如权利要求 28-30 和 34-35 中任一项所述的方法,其中所述病毒为溶瘤病毒。

38. 如权利要求 28-30 和 34-35 中任一项所述的方法,其中所述病毒为非包膜病毒。

39. 如权利要求 28-30 和 34-35 中任一项所述的方法,其中所述病毒为呼肠孤病毒。

40. 如权利要求 39 所述的方法,其中所述呼肠孤病毒为哺乳动物呼肠孤病毒。

41. 如权利要求 40 所述的方法,其中所述哺乳动物呼肠孤病毒为人呼肠孤病毒。

42. 如权利要求 41 所述的方法,其中所述人呼肠孤病毒为血清 3 型病毒。

43. 如权利要求 42 所述的方法,其中所述血清 3 型病毒为 Dearing 株。

44. 如权利要求 39 所述的方法,其中所述呼肠孤病毒为重组或重配型呼肠孤病毒。

45. 如权利要求 39 所述的方法,其中所述呼肠孤病毒为 IDAC #190907-01。

46. 如权利要求 28-30、34-35 和 40-45 中任一项所述的方法,其中 Mg^{2+} 以氯化镁形式存在。

47. 如权利要求 34 或 35 所述的方法,其中所述非离子表面活性剂为聚山梨醇酯 80。

48. 如权利要求 28-30、34-35 和 40-45 中任一项所述的方法,其中所述液体载体为水性载体。

49. 如权利要求 48 所述的方法,其中所述水性载体为水。

50. 一种病毒制剂,其是根据权利要求 28-49 中任一项所述的方法制备的。

51. 一种保藏或稳定病毒的方法,包括 :

制备如权利要求 1-26 中任一项所述的病毒制剂 ;及

储存所述病毒制剂。

52. 如权利要求 51 所述的方法,其中将所述病毒储存在处于或低于环境温度的温度

下。

53. 如权利要求 52 所述的方法,其中所述温度为环境温度。

54. 如权利要求 52 所述的方法,其中所述温度为 2℃至 8℃。

55. 如权利要求 54 所述的方法,其中所述温度为 4℃。

56. 如权利要求 52 所述的方法,其中所述温度为 -20℃。

57. 如权利要求 52 所述的方法,其中所述温度为 -60℃至 -80℃。

58. 一种制备非聚集性病毒制剂的方法,包括制备如权利要求 1-27 中任一项所述的病毒制剂。

59. 如权利要求 58 所述的方法,其中所述制剂适合通过肠胃外输注或注射来施用。

液体病毒制剂

[0001] 优先权申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2010 年 12 月 2 日提交的美国临时申请第 61/419,032 号的优先权,该申请的内容以引用的方式全文并入本文。

[0003] 发明背景

[0004] 病毒在若干治疗应用(包括,例如,病毒疗法和疫苗产生)中具有重要意义。在这些治疗应用中,可取的是病毒保持其感染力或免疫原性。然而,由于达不到最佳制剂或不合适的储存条件,长时期过后病毒往往失去感染力或免疫原性。

发明概要

[0005] 本文提供适用于稳定和储存病毒的液体病毒制剂及制备这些制剂的方法。该制剂可用于(例如)在储存期间保藏病毒(即,保持病毒感染力或免疫原性)。该制剂也可用于(例如)制备具有较低颗粒水平的病毒制剂,并因此适合肠胃外输注或注射来施用。

[0006] 本文描述的液体病毒制剂包括病毒(例如,纯化病毒)和包括赋形剂及液体载体在内的非病毒组合物。在一些实施例中,病毒制剂包括纯化病毒和包含甘露醇、基于非病毒组合物重量的浓度小于 3% 的山梨醇、组氨酸、 Mg^{2+} 和液体载体的非病毒组合物。在这些实施例中,非病毒组合物除液体载体外可基本上不含单价阳离子盐。在一些实施例中,基于非病毒组合物的重量,甘露醇和山梨醇的组合浓度可小于 10 重量%。

[0007] 在一些实施例中,病毒制剂包含纯化病毒和包含甘露醇、山梨醇、组氨酸、 Mg^{2+} 和液体载体的非病毒组合物。在这些实施例中,基于非病毒组合物的重量,非病毒组合物中的糖的浓度可小于 7.5 重量%。在一些实施例中,基于非病毒组合物的重量,甘露醇和山梨醇的组合浓度可小于 7 重量%。

[0008] 在一些实施例中,病毒制剂基本上不含 Zn^{2+} 和 / 或海藻糖。任选地,非病毒组合物还包括非离子表面活性剂。

[0009] 本文描述的病毒制剂可包含纯化病毒和包含基于非病毒组合物重量的浓度小于 5% 的蔗糖、 Mg^{2+} 、非离子表面活性剂及液体载体的非病毒组合物。在这些实施例中,非病毒组合物除液体载体外可基本上不含单价阳离子盐、非蔗糖多元醇和羧酸盐。此外,本文所提供的病毒制剂可基本上由纯化病毒和包含基于非病毒组合物重量的浓度小于 5% 的蔗糖、 Mg^{2+} 、非离子表面活性剂及液体载体的非病毒组合物组成。

[0010] 任选地, Mg^{2+} 以氯化镁形式存在。非离子表面活性剂任选为聚山梨醇酯 80。液体载体可以为水性载体,如水。包括在本文描述的病毒制剂中的病毒可以为(例如)溶瘤病毒和 / 或非包膜病毒。本文提供一种制剂,其中病毒为呼肠孤病毒,如哺乳动物呼肠孤病毒。哺乳动物呼肠孤病毒的一个例子是人呼肠孤病毒,如血清 3 型病毒(例如 Dearing 株呼肠孤病毒)。呼肠孤病毒任选为重组呼肠孤病毒、重配型呼肠孤病毒或 IDAC#190907-01。

[0011] 任选地,病毒制剂在约环境温度的温度下稳定一段时间(例如至少一天)。任选地,病毒制剂在约 4°C 或更低的温度下稳定至少三个月(例如至少六个月、至少十二个月、至少十八个月或比三个月长的任何时间量)。任选地,病毒制剂适合在施用之前稀释。

[0012] 本文还提供制备病毒制剂的方法。所述方法包括提供病毒及组合该病毒与包括如本文所述的赋形剂和液体载体的非病毒组合物。所述方法任选还包括对组合物添加非离子表面活性剂。在一些实施例中,所述方法还包括稀释病毒制剂以便输注。本文还描述根据这些方法制备的病毒制剂。

[0013] 本文进一步描述保藏或稳定病毒的方法。所述方法包括制备如本文所述的病毒制剂并储存该病毒制剂。在一些实施例中,在处于或低于环境温度的温度下储存病毒。例如,所述温度可以为环境温度或 2℃ 至 8℃ (例如 4℃)。在一些实施例中,所述温度为 -20℃ 或 -60℃ 至 -80℃。

[0014] 另外,本文描述制备具有低颗粒水平的病毒制剂(例如非聚集性病毒制剂)的方法。任选地,每个容器的病毒制剂包含少于 6,000 个粒度为 10 微米或更大的颗粒(例如每个容器少于 3,000 个颗粒、少于 2,000 个颗粒、少于 1,000 个颗粒、少于 500 个颗粒、少于 300 个颗粒或少于 100 个 10 微米或更大的颗粒)。任选地,病毒制剂包含少于 600 个粒度为 25 微米或更大的颗粒(例如每个容器少于 500 个颗粒、少于 400 个颗粒、少于 300 个颗粒、少于 200 个颗粒、少于 100 个颗粒、少于 50 个颗粒或少于 10 个 25 微米或更大的颗粒)。这些病毒制剂可适合通过肠胃外输注或注射来施用。

[0015] 在下面的附图和描述中给出一个或多个方面的细节。由说明书和附图以及权利要求书可显而易见其它的特征、目标和优点。

附图说明

[0016] 图 1 为条形图,其显示液体呼肠孤病毒制剂在环境温度下储存之前 ($t = 0$) 以及在环境温度、2-8℃、-20℃ 和 -80℃ 下储存 3 个月 ($t = 3m$)、6.5 个月 ($t = 6.5m$)、12 个月 ($t = 12m$) 和 18.5 个月 ($t = 18.5m$) 之后的中位数组织培养感染剂量,以 $TCID_{50}/mL$ 表示。对于每种制剂,从左到右为: $t = 0$,在环境温度下; $t = 18.5m$,在 -80℃ 下; $t = 3m$,在 -20℃ 下; $t = 6.5m$,在 -20℃ 下; $t = 12m$,在 -20℃ 下; $t = 18.5m$,在 -20℃ 下; $t = 3m$,在 2-8℃ 下; $t = 6.5m$,在 2-8℃ 下; $t = 12m$,在 2-8℃ 下; $t = 18.5m$,在 2-8℃ 下; $t = 3m$,在环境温度下; $t = 6.5m$,在环境温度下; $t = 12m$,在环境温度下。对于对照,将磷酸盐缓冲盐水洗脱的呼肠孤病毒在磷酸盐缓冲盐水中稀释至病毒滴度为 $3 \times 10^{10} TCID_{50}/mL$ 。对于制剂 1,将磷酸盐缓冲盐水洗脱的呼肠孤病毒在 30mg/mL 甘露醇、20mg/mL 组氨酸、0.01% v/v 聚山梨醇酯 80、20mg/mL 山梨醇和 2mM $MgCl_2$ 中稀释至病毒滴度为 $3 \times 10^{10} TCID_{50}/mL$ 。对于制剂 2,将磷酸盐缓冲盐水洗脱的呼肠孤病毒在 40mg/mL 蔗糖、0.05% v/v 聚山梨醇酯 80 和 2mM $MgCl_2$ 中稀释至病毒滴度为 $3 \times 10^{10} TCID_{50}/mL$ 。

[0017] 图 2 为条形图,其显示液体呼肠孤病毒制剂在环境温度下储存之前 ($t = 0$) 以及在环境温度、2-8℃、-20℃ 和 -80℃ 下储存 3 个月 ($t = 3m$)、6.5 个月 ($t = 6.5m$)、12 个月 ($t = 12m$) 和 18.5 个月 ($t = 18.5m$) 之后基于中位数组织培养感染剂量(以 $TCID_{50}/mL$ 表示)的百分比的感染颗粒的回收率。对于每种制剂,从左到右为: $t = 0$,在环境温度下; $t = 18.5m$,在 -80℃ 下; $t = 3m$,在 -20℃ 下; $t = 6.5m$,在 -20℃ 下; $t = 12m$,在 -20℃ 下; $t = 18.5m$,在 -20℃ 下; $t = 3m$,在 2-8℃ 下; $t = 6.5m$,在 2-8℃ 下; $t = 12m$,在 2-8℃ 下; $t = 18.5m$,在 2-8℃ 下; $t = 3m$,在环境温度下; $t = 6.5m$,在环境温度下; $t = 12m$,在环境温度下。

[0018] 图3为条形图,其显示液体呼肠孤病毒对照制剂在环境温度下储存之前($t = 0$)以及在 37°C 、环境温度、 $2-8^{\circ}\text{C}$ 、 -20°C 和 -80°C 下储存2周(时间=2周)、1个月(时间=1m)、2个月(时间=2m)、3个月(时间=3m)、6.5个月(时间=6.5m)、12个月(时间=12m)和18.5个月(时间=18.5m)之后通过HPLC量测的标准化总病毒滴度(以每毫升的病毒颗粒表示)的发展。对于各温度,从左到右为:时间=0、时间=2周、时间=1m、时间=2m、时间=3m、时间=6.5m、时间=12m和时间=18.5m。

[0019] 图4为条形图,其显示液体呼肠孤病毒制剂1在环境温度下储存之前($t = 0$)以及在 37°C 、环境温度、 $2-8^{\circ}\text{C}$ 、 -20°C 和 -80°C 下储存2周(时间=2周)、1个月(时间=1m)、2个月(时间=2m)、3个月(时间=3m)、6.5个月(时间=6.5m)、12个月(时间=12m)和18.5个月(时间=18.5m)之后通过HPLC量测的标准化总病毒滴度(以每毫升的病毒颗粒表示)的发展。对于各温度,从左到右为:时间=0、时间=2周、时间=1m、时间=2m、时间=3m、时间=6.5m、时间=12m和时间=18.5m。

[0020] 图5为条形图,其显示液体呼肠孤病毒制剂2在环境温度下在储存之前($t = 0$)及在 37°C 、环境温度、 $2-8^{\circ}\text{C}$ 、 -20°C 和 -80°C 下储存2周(时间=2周)、1个月(时间=1m)、2个月(时间=2m)、3个月(时间=3m)、6.5个月(时间=6.5m)、12个月(时间=12m)及18.5个月(时间=18.5m)之后通过HPLC测量的标准化总病毒滴度(以每毫升的病毒颗粒表示)的发展。对于每一温度,从左到右为:时间=0、时间=2周、时间=1m、时间=2m、时间=3m、时间=6.5m、时间=12m和时间=18.5m。

[0021] 详细描述

[0022] 本文描述适用于储存病毒的病毒制剂和制备这些制剂的方法。所述制剂可用于(例如)在储存期间保持病毒的感染力或免疫原性。本文描述的病毒制剂包括病毒和包括赋形剂及液体载体在内的非病毒组合物。

[0023] 用于本文描述的制剂的病毒包括包膜病毒和非包膜病毒。包膜及非包膜病毒可以为DNA病毒、RNA病毒或逆转录病毒。任选地,用于本文描述的制剂的病毒为非包膜病毒。非包膜病毒包括(例如)属于以下家族的病毒:腺病毒科(例如腺病毒)、小核糖核酸病毒科(例如脊髓灰质炎病毒)、呼肠孤病毒科(例如呼肠孤病毒)、乳头瘤病毒科(例如乳头瘤病毒)、多瘤病毒科(例如多瘤病毒)、细小病毒科(例如基尔汉大鼠病毒)和虹彩病毒科(例如大蚊虹彩病毒)。

[0024] 任选地,所述病毒为溶瘤病毒。适用于本文描述的制剂和方法的病毒包括但不限于肌尾噬菌体科(myoviridae)、长尾噬菌体科(siphoviridae)、短尾噬菌体科(podoviridae)、复层噬菌体科(tectiviridae)、覆盖噬菌体科(corticoviridae)、芽生噬菌体科(plasmaviridae)、脂毛噬菌体科(lipothrixviridae)、微小纺锤形噬菌体科(fuselloviridae)、痘病毒科(poxviridae)、虹彩病毒科、藻类脱氧核糖核酸病毒科(phycodnaviridae)、杆状病毒科(baculoviridae)、疱疹病毒科(herpesviridae)、腺病毒科、乳多空病毒科(papovaviridae)、多脱氧核糖核酸病毒科(polydnaviridae)、丝杆噬菌体科(inoviridae)、微小噬菌体科(microviridae)、双生病毒科(geminiviridae)、环病毒科(circoviridae)、细小病毒科、嗜肝脱氧核糖核酸病毒科(hepadnaviridae)、逆转录病毒科(retroviridae)、囊状噬菌科(cystoviridae)、呼肠孤病毒科、双核糖核酸病毒科(birnaviridae)、副粘病毒科(paramyxoviridae)、弹状病毒科(rhabdoviridae)、丝状病

毒科 (filoviridae)、正粘病毒科 (orthomyxoviridae)、布尼亚病毒科 (bunyaviridae)、沙粒病毒科 (arenaviridae)、轻小噬菌体科 (leviviridae)、小核糖核酸病毒科、欧防风黄点病毒科 (sequiviridae)、豇豆花叶病毒科 (comoviridae)、马铃薯 Y 病毒科 (potyviridae)、杯状病毒科 (caliciviridae)、星状病毒科 (astroviridae)、罗达病毒科 (nodaviridae)、四病毒科 (tetraviridae)、蕃茄丛矮病毒科 (tombusviridae)、冠状病毒科 (coronaviridae)、黄病毒科 (flaviviridae)、披膜病毒科 (togaviridae)、杆状核糖核酸病毒科 (barnaviridae) 和博尔纳病毒科 (bornaviridae) 病毒。

[0025] 所述制剂任选包括呼肠孤病毒。如本文所用,呼肠孤病毒是指分类为呼肠孤病毒属的任何病毒,包括天然存在的和重组的呼肠孤病毒。呼肠孤病毒为具有双链的分段 RNA 基因组的病毒。病毒粒子经测量直径为 60-80nm,并具有两个二十面体同心衣壳。基因组由 10-12 个不连续片段中的双链 RNA 组成,总基因组大小为 16-27 千碱基对 (kbp)。单个 RNA 片段大小不同。已从许多物种中回收得到三种不同但相关的呼肠孤病毒类型。所有三种类型共享共同的补体结合抗原。人呼肠孤病毒由三种血清型组成:1 型 (Lang 株或 T1L)、2 型 (Jones 株, T2J) 和 3 型 (Dearing 株或 Abney 株, T3D 或 T3A)。

[0026] 如上所述,呼肠孤病毒可以为重组呼肠孤病毒,其可以是天然存在的或非天然存在的。当呼肠孤病毒可由自然来源中分离出来并且没有在实验室中经人类有意修饰时,将其描述为天然存在的。例如,呼肠孤病毒可来自野外来源 (即,来自自己感染呼肠孤病毒的人)。呼肠孤病毒也可经选择或诱变以增强活性 (例如溶瘤活性)。特定呼肠孤病毒的例子可见于 (例如) 美国专利申请公开第 2008/0226602 号和第 2008/0292594 号。

[0027] 呼肠孤病毒可经修饰,但仍能够以促使细胞溶解的方式感染具有活性 ras 途径的哺乳动物细胞。呼肠孤病毒在对增殖细胞施用之前可经化学或生化预处理 (例如,通过用诸如胰凝乳蛋白酶或胰蛋白酶的蛋白酶处理)。用蛋白酶预处理会去除病毒的外层或衣壳,并可提高病毒的感染力。呼肠孤病毒可包覆于脂质体或微团中 (Chandran and Nibert, Journal of Virology, 72(1):467-75 (1998))。例如,可在微团形成浓度的烷基硫酸盐表面活性剂存在下用胰凝乳蛋白酶处理病毒粒子以产生新的感染性亚病毒颗粒 (ISVP)。

[0028] 呼肠孤病毒可以为由来自两种或更多种遗传上不同的呼肠孤病毒的基因组片段的重组/重配产生的重组或重配呼肠孤病毒。呼肠孤病毒基因组片段的重组/重配可在自然界中经用至少两种遗传上不同的呼肠孤病毒感染宿主生物体之后发生。重组病毒粒子也可在细胞培养物中例如通过用遗传上不同的呼肠孤病毒共感染容许宿主细胞来产生。因此,用于本文描述的制剂的重组呼肠孤病毒可由来自两种或更多种遗传上不同的呼肠孤病毒的基因组片段的重组产生,所述遗传上不同的呼肠孤病毒包括但不限于人呼肠孤病毒,如 1 型 (例如 Lang 株)、2 型 (例如 Jones 株) 和 3 型 (例如 Dearing 株或 Abney 株)、非人类哺乳动物呼肠孤病毒或禽呼肠孤病毒。在一些实施例中,重组呼肠孤病毒可由来自两种或更多种遗传上不同的呼肠孤病毒的基因组片段的重组产生,其中至少一种亲本病毒经遗传工程改造,包含一个或多个化学合成的基因组片段,已用化学或物理诱变剂处理,或本身为重组事件的结果。重组呼肠孤病毒可 (例如) 在化学诱变剂 (包括但不限于硫酸二甲酯和溴化乙锭) 或物理诱变剂 (包括但不限于紫外光及其它形式的辐射) 存在下经历重组。

[0029] 合适的重组呼肠孤病毒的其它例子包括:在一个或多个基因组片段中包含缺失或

复制的重组呼肠孤病毒、包含作为与宿主细胞基因组重组结果的附加遗传信息的重组呼肠孤病毒或包含合成基因的重组呼肠孤病毒。也可通过将突变外壳蛋白（例如 $\sigma 1$ ）并入病毒粒子外衣壳当中来修饰呼肠孤病毒。蛋白质可通过置换、插入或缺失来突变。置换包括插入不同的氨基酸以取代天然氨基酸。插入包括在一个或多个位置处将另外的氨基酸残基插入蛋白质当中。缺失包括缺失蛋白质中的一个或多个氨基酸残基。这种突变可通过本领域中已知的方法产生。例如，编码外壳蛋白之一的基因的寡核苷酸定点诱变可导致产生所需的突变外壳蛋白。在一个实施方案中，呼肠孤病毒为 IDAC#190907-01。

[0030] 用于本文描述的制剂的病毒可以为纯化病毒。如本文所用，纯化病毒是指已与天然伴随的细胞组分分离的病毒。通常情况下，当病毒按干重计至少 70%（例如至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95% 或至少 99%）不含蛋白质及它们天然结合的其它细胞组分时，其被认为是纯化的。可例如根据美国专利申请公开第 2002/0168764 号；第 2004/0005693 号；第 2005/0095692 号；第 2006/0088869 号；和第 2007/0269856 号中描述的方法来纯化病毒，这些申请的内容以全文引用的方式并入本文。例如，可采用密度梯度离心、超滤、渗滤、离子交换色谱、尺寸排阻色谱、高效液相色谱技术或这些的组合使病毒与其它颗粒分离。

[0031] 如上所讨论，液体病毒制剂包括包含赋形剂和液体载体的非病毒组合物。任选地，至少两种赋形剂（例如两种、三种或更多种赋形剂）包括在非病毒组合物中。用于非病毒组合物的赋形剂包括但不限于糖、氨基酸、二价阳离子和表面活性剂。这些赋形剂可有助于病毒在液体载体中的稳定性。在一些实施例，在非病毒组合物中使用这些赋形剂并因此在液体病毒制剂中使用这些赋形剂使得能长期储存病毒（例如，储存十二个月或更久）而不损失病毒感染力。

[0032] 适用于本文描述的非病毒组合物的糖包括例如单糖和二糖。在一些实施例，非病毒组合物包括甘露醇、山梨醇、蔗糖或其组合。合适糖的进一步的例子包括乳糖、右旋糖、果糖、葡萄糖和麦芽糖。任选地，非病毒组合物和 / 或病毒制剂基本上不含海藻糖。基本上不含表示基于制剂的重量，非病毒组合物或病毒制剂可包括不到 0.1%、不到 0.01%、不到 0.001%、不到 0.0001% 或 0% 的海藻糖。在一些实施例，非病毒组合物和 / 或病毒制剂基本上不含蔗糖以外的糖（即，非病毒组合物和 / 或病毒制剂基本上不含非蔗糖多元醇）。

[0033] 用于非病毒组合物的糖可包括一种糖或两种或更多种糖的组合。例如，非病毒组合物可包括蔗糖作为制剂中存在的糖或可包括甘露醇和山梨醇的组合作为制剂中存在的糖。基于非病毒组合物的重量，非病毒组合物中存在的糖的总浓度可以为 10 重量% 或更少。例如，基于非病毒组合物的重量，糖的总浓度可小于 7.5 重量%（基于非病毒组合物的重量，例如小于 7.4 重量%、小于 7.3 重量%、小于 7.2 重量%、小于 7.1 重量%、小于 7 重量%、小于 6 重量%、小于 5 重量%、小于 4 重量%、小于 3 重量%、小于 2 重量% 或小于 1 重量%）。例如，基于制剂的重量，蔗糖可以按 0.1 重量% 至 5 重量%、1 重量% 至 4.5 重量% 或 2 重量% 至 4 重量% 范围内（例如 3 重量%）的浓度存在于非病毒组合物中。任选地，基于非病毒组合物的重量，甘露醇和山梨醇可以按小于 7.5%（例如 7%）的组合浓度包括在非病毒组合物中。例如，基于非病毒组合物的重量，包括的甘露醇的浓度可以在 0.01% 至 7.4%（例如 0.1% 至 7%、1% 至 6%、2% 至 5% 或 3% 至 4%）范围内，且包括的山梨醇的浓度可以在 0.01% 至 7.4%（例如 0.1% 至 7%、1% 至 6%、2% 至 5% 或 3% 至 4%）范围

内,使得糖的组合浓度小于 7.5%。

[0034] 氨基酸也可包括在本文描述的非病毒组合物中。合适的氨基酸包括例如组氨酸、精氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、谷氨酸或这些的混合物。基于非病毒组合物的重量,一种或多种氨基酸可以按 5%或更低的浓度存在于非病毒组合物中。例如,基于非病毒组合物的重量,氨基酸的浓度可以为 4.5%或更低、4.0%或更低、3.5%或更低、3.0%或更低、2.5%或更低、2.0%或更低、1.5%或更低、1.0%或更低或 0.5%或更低。

[0035] 二价阳离子也可包括在本文描述的非病毒组合物中。适用于非病毒组合物中的二价阳离子包括镁阳离子(即, Mg^{2+})。可将 Mg^{2+} 与阴离子组合作为盐(如 $MgCl_2$)引入非病毒组合物中。任选地,非病毒组合物和/或病毒制剂基本上不含 Zn^{2+} 。二价阳离子可以按 0.01mM 至 5mM 范围内的浓度存在于非病毒组合物中。例如, Mg^{2+} 可以按 $MgCl_2$ 形式以 0.1mM 至 4.5mM、0.5mM 至 4mM 或 1mM 至 3mM 范围内的浓度(例如 2mM)存在于病毒制剂中。任选地,非病毒制剂中存在的赋形剂除液体载体外可基本上不含单价阳离子盐,例如含 (Na^+) 、锂 (Li^+) 、钾 (K^+) 和铵 (NH_4^+) 的盐。

[0036] 用于本文描述的非病毒组合物的进一步的赋形剂可包括(例如)表面活性剂。表面活性剂是指具有亲水部分和疏水部分组合的物质。如本文所用,表面活性剂包括(例如)洗涤剂。适用于本文描述的非病毒组合物的表面活性剂包括离子表面活性剂和非离子表面活性剂。在一些实施例中,聚山梨醇酯 80 作为非离子表面活性剂任选包括在非病毒组合物中。一种或多种表面活性剂可存在于非病毒组合物中,基于非病毒组合物的重量,其量任选小于 1 重量%。例如,表面活性剂在非病毒组合物中的存在量可小于 0.5 重量%、小于 0.1 重量%或小于 0.05 重量%(例如 0.01 重量%)。

[0037] 任选地,非病毒组合物和/或病毒制剂基本上不含羧酸盐。羧酸盐的例子包括琥珀酸盐和柠檬酸盐。

[0038] 本文所述的非病毒组合物还包括液体载体。合适的液体载体可以是水性或非水性载体。合适非水性载体的例子包括丙二醇、聚乙二醇和油类,包括石油、动物、植物或合成来源的油,如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油、橄榄油等。有机酯如油酸乙酯也是合适的非水性载体。水性载体包括水、乙醇、甘油、醇/水溶液、乳液或悬浮液,包括盐水和缓冲介质。当静脉内施用药物组合物时,水或水性载体是优选的。盐水溶液及右旋糖和甘油水溶液也可用作液体载体,特别是用于注射用溶液。如果需要的话,组合物还可含有润湿剂或乳化剂、润滑剂、助流剂、润肤剂、保湿剂、增稠剂、调味剂、防腐剂或 pH 缓冲液。可包括 pH 缓冲液以控制非病毒组合物的 pH 值,并因此控制病毒制剂的 pH 值。在一些实施例中,包括缓冲液以维持病毒制剂的 pH 值在 5 与 8.5 之间。例如,可包括缓冲液以维持病毒制剂的 pH 值在 6.8 与 8.0 之间或在 7.0 与 7.8 之间(例如 7.4)。合适缓冲液的例子包括磷酸盐缓冲液(如磷酸盐缓冲盐水(PBS),例如 0.01-0.1M 且优选 0.05M 磷酸盐缓冲液)、乙酸盐缓冲液、苯甲酸盐缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、乳酸盐缓冲液、马来酸盐缓冲液和酒石酸盐缓冲液。可使用缓冲载体,如亨克氏溶液(Hanks' s solution)、林格氏溶液(Ringer' s solution)、右旋糖溶液、5%人血清白蛋白、林格氏右旋糖、右旋糖和氯化钠、乳酸化林格氏及不挥发性油、聚乙二醇、聚乙烯吡咯酮或卵磷脂。单乙醇胺、二乙醇胺、氨丁三醇和甘氨酸溶液也可用作合适的缓冲液。脂质体和非水性媒介物(如不挥发性油)也可用作载体。合适载体的进一步的例子描述在 E. W. Martin 的“Remington' s Pharmaceutical Sciences”中。制剂

应适合施用模式。

[0039] 用以形成病毒制剂的病毒和非病毒组合物（包括赋形剂和液体载体）的示例性组合包括纯化病毒、甘露醇、山梨醇、组氨酸、 Mg^{2+} 和液体载体。基于非病毒组合物的重量，山梨醇存在的浓度可小于 3%。例如，山梨醇的存在浓度可小于 2.9%、小于 2.8%、小于 2.7%、小于 2.6%、小于 2.5%、小于 2.4%、小于 2.3%、小于 2.2%、小于 2.1%、小于 2%、小于 1.9%、小于 1.8%、小于 1.7%、小于 1.6%、小于 1.5%、小于 1.4%、小于 1.3%、小于 1.2%、小于 1.1%或小于 1%。在一些实施例中，基于非病毒组合物的重量，甘露醇和山梨醇的组合浓度小于 10%。例如，甘露醇的浓度可以为 3%且组氨酸的浓度可以为 2%，以提供 5%的组合浓度。制剂还可包括非离子表面活性剂，如聚山梨醇酯 80，其量小于非病毒组合物重量的 0.1%（例如 0.01%）。此外，非病毒组合物和 / 或病毒制剂可基本上不含单价阳离子盐、 Zn^{2+} 和 / 或海藻糖。

[0040] 另一种合适的病毒制剂包括纯化病毒、基于非病毒组合物重量的浓度小于 5%的蔗糖、 Mg^{2+} 、非离子表面活性剂和液体载体。任选地，基于非病毒组合物的重量，蔗糖的存在浓度为 4.5%或更低、4%或更低、3.5%或更低、3%或更低、2.5%或更低或 2%或更低。此外，非病毒组合物和 / 或病毒制剂可基本上不含单价阳离子盐、非蔗糖多元醇和羧酸盐（例如琥珀酸盐和柠檬酸盐）。

[0041] 本文还描述制备液体病毒制剂的方法。所述方法包括提供病毒（例如纯化病毒）及组合病毒与在液体载体中包括赋形剂的非病毒组合物。在一些实施例中，提供适量病毒以制备滴度在每毫升 1×10^5 至 4×10^{12} 个病毒颗粒 (VP/mL) 范围内的病毒制剂。或者，可将在液体载体中含有赋形剂的非病毒组合物添加到感染病毒的细胞培养物中。如本文所用，细胞培养物是指见于其培养条件下所培养的细胞群体（例如感染病毒的细胞和培养基）。此外，可用在液体载体中含有赋形剂的非病毒组合物稀释感染病毒的细胞的溶液或悬浮液以产生液体病毒制剂。

[0042] 本文另外描述制备具有低颗粒水平的病毒制剂（例如低聚集性或非聚集性病毒制剂）的方法。根据这些方法制备的病毒制剂因此适合通过肠胃外输注或注射施用。在一些实施例中，根据 USP<788>（全文并入本文），采用光遮蔽颗粒计数测试和 / 或微观颗粒计数测试来确定所述方法中的颗粒水平。任选地，每个容器的病毒制剂包含少于 6,000 个粒度为 10 微米或更大的颗粒。例如，每个容器的病毒制剂可包含少于 5,000 个颗粒、少于 4,000 个颗粒、少于 3,000 个颗粒、少于 2,000 个颗粒、少于 1,000 个颗粒、少于 900 个颗粒、少于 800 个颗粒、少于 700 个颗粒、少于 600 个颗粒、少于 500 个颗粒、少于 400 个颗粒、少于 300 个颗粒、少于 200 个颗粒或少于 100 个 10 微米或更大的颗粒。任选地，病毒制剂包含少于 600 个粒度为 25 微米或更大的颗粒（例如，每个容器少于 500 个颗粒、少于 400 个颗粒、少于 300 个颗粒、少于 200 个颗粒、少于 100 个颗粒、少于 50 个颗粒或少于 10 个 25 微米或更大的颗粒）。

[0043] 本文描述的液体病毒制剂可用于保藏和稳定病毒达一段时间，包括较长的储存期。例如，根据本文描述的制剂制备的病毒可储存长达十二个月（例如一天、一周、一个月、三个月、六个月、九个月或十二个月）而不损失病毒感染力。本文描述的液体病毒制剂在约环境温度下是稳定的，并且在低于约环境温度的温度下可显示出稳定性提高。如本文所用，环境温度是指约 10℃与约 30℃之间的温度。病毒可在环境温度及低于环境温度的温度下

储存于病毒制剂中而不显著损失感染力。在一些实施例中,将液体病毒制剂储存在约环境温度下。在其它实施例中,将液体病毒制剂储存在 9℃和更低(例如 8℃和更低、7℃和更低、6℃和更低、5℃和更低、4℃和更低、3℃和更低、2℃和更低以及 1℃和更低)的温度下。例如,储存温度可在 2℃至 8℃范围内(例如 4℃)。此外,可将液体病毒制剂储存在低于 0℃(如 -20℃或 -60℃至 -80℃)的温度下,同时维持病毒感染力。

[0044] 病毒制剂例如在约环境温度的温度下稳定达一段时间(例如至少一天)。在一些实施例中,病毒制剂在约 4℃或更低的温度下稳定至少三个月(例如至少四个月、至少五个月、至少六个月、至少七个月、至少八个月、至少九个月、至少十个月、至少十一个月、至少十二个月、至少十三个月、至少十四个月、至少十五个月、至少十六个月、至少十七个月、至少十八个月或比三个月久的任何时间量)。

[0045] 本文进一步提供包括液体病毒制剂的药物组合物。本文提供的组合物可在药学上可接受的载体中体外或体内施用。药学上可接受的载体可以为能充当液体病毒制剂的媒介物、载体或介质的固体、半固体或液体物质。因此,液体病毒制剂的形式可以为软或硬明胶胶囊剂、混悬剂、乳剂、溶液剂、糖浆剂、气溶胶(在液体介质中)和无菌注射剂。任选地,液体病毒制剂适合输注。例如,如本文所述具有较低颗粒水平的非聚集性液体病毒制剂可适合通过肠胃外输注或注射施用。任选地,根据本文描述的方法制备的液体病毒制剂可在适当时经进一步稀释以用于输注。

[0046] 药物组合物另外可包括但不限于润滑剂,如滑石、硬脂酸镁和矿物油;润湿剂;乳化和悬浮剂;防腐剂,如苯甲酸甲酯和羟基苯甲酸丙酯;增甜剂;和调味剂。可将药物组合物配制成在通过采用本领域中已知的程序施用后快速、持续或延迟释放包括在液体病毒制剂中的病毒。除了下面描述的代表性制剂外,其它适用于药物组合物的制剂可见于 Remington: The Science and Practice of Pharmacy (21th ed.) ed. David B. Troy, Lippincott Williams & Wilkins, 2005。

[0047] 包括用于口服施用或用于注射的液体病毒制剂的液体制剂通常包括水溶液剂、适当调味的糖浆剂、水性或油状混悬剂和用食用油(如玉米油、棉籽油、芝麻油、椰子油或花生油)调味的乳剂以及酞剂和类似的药物媒介物。

[0048] 任选用在本发明方法中的另一种制剂包括透皮递送装置(例如贴片)。这种透皮递送可用于提供包括在本文描述的液体病毒制剂中的病毒的连续或不连续输注。用于递送药剂的透皮贴片的构造和使用是本领域中熟知的。参见例如美国专利第 5,023,252 号。可将这种贴片构造成用于连续、脉动或按需递送病毒。

[0049] 在所提供的方法中,以使病毒能最终接触靶细胞的方式施用(例如全身施用)液体病毒制剂。施用液体病毒制剂的途径取决于靶细胞的位置以及类型。可采用多种施用途径。对于疫苗,病毒可全身、皮内或皮下施用,以便靶向抗原呈递细胞,从而引发免疫反应。对于靶为可接近的实体肿瘤的溶瘤病毒,可通过直接对肿瘤注射或静脉内施用来施用液体病毒制剂。例如对于造血系统肿瘤,可静脉内或血管内施用液体病毒制剂。对于体内不容易接近的肿瘤,如转移的肿瘤,可以按这样的方式施用液体病毒制剂,使其可以通过哺乳动物的身体全身性输送,并从而到达肿瘤(例如静脉内或肌内)。或者,可直接对单一实体肿瘤施用液体病毒制剂,然后其通过身体全身性地运载至转移的肿瘤。对于疫苗或溶瘤疗法,液体病毒制剂也可皮下、腹膜内、鞘内(例如对于脑肿瘤)、局部(例如对于黑色素瘤)、

口服（例如对于口腔癌或食道癌）、经直肠（例如对于结肠直肠癌）、经阴道（例如对于宫颈癌或阴道癌）、经鼻、通过吸入喷雾或通过气溶胶制剂（例如对于肺癌）施用。

[0050] 任选地，每天至少一次对受试者连续施用液体病毒制剂，或多达连续多日整天施用一段时间。对于疫苗施用，通常首要施用和一次或多次加强施用是必要的。因此，经一段时间或断续地将在任何药理学上可接受的溶液中的液体病毒制剂施用给（例如）受试者（例如通过静脉内施用或输注）。例如，可通过注射（例如 IM 或皮下）全身性地施用制剂，或每天至少一次地每天口服，或以导致每天递送至受试者组织或血流中的方式输注施用。当经一段时间输注施用液体病毒制剂时，该时间段为例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12 或 24 小时，或在 1 小时与 24 小时之间的任何时间（包括 1 小时和 24 小时），或更长的时间。任选地，该时间段为 5、15、30、60、90、120、150 或 180 分钟，或在 5 分钟与 180 分钟之间的任何时间（包括 5 分钟和 180 分钟），或更长的时间。因此，例如，通过输注施用液体病毒制剂 60 分钟。可每天重复施用达 2、3、4、5、6、7、8、9、10、14、21、28 天，或 2 天与 28 天之间的任何天数（包括 2 天和 28 天），或更长时间。

[0051] 任选地，当用于引发免疫反应时，病毒制剂包括佐剂。佐剂包括（例如）铝盐、矿物油、颗粒、脂多糖、皂甙等。任选地，制剂适合在施用之前稀释。

[0052] 可以按足以治疗增生性病症或引发免疫反应的量（即，有效量）施用本文所公开的液体病毒制剂。任选地，制剂适合在施用之前稀释。当对增生细胞施用液体病毒制剂影响感染细胞的裂解（例如溶瘤），导致异常增生细胞数目减少、赘瘤尺寸减小和 / 或与增生性病症相关的症状（例如疼痛）减少或消除时，增生性病症得到治疗。如本文所用，术语溶瘤表示至少 10% 的增生细胞裂解（例如至少约 20%、30%、40%、50% 或 75% 的细胞裂解）。可例如通过测量哺乳动物中赘瘤尺寸的减小或增生细胞数目的减少或通过测量体外细胞裂解量（例如来自增生细胞的活组织检查）来确定裂解百分比。

[0053] 液体病毒制剂的有效量将以个体为基础进行确定，并且可至少部分地基于液体病毒制剂中所用的特定病毒；个体的身材、年龄、性别；治疗目标（例如治疗增生性疾病或引发免疫反应）；和异常增生性靶细胞的尺寸及其它特性。液体病毒制剂中的病毒浓度可通过在基于斑块的测定中确定斑块形成单位（PFU）的数目来测量。例如，为治疗患有增生性疾病的人，根据存在的增生性细胞或赘瘤的类型、尺寸和数目情况，使用包含在病毒制剂中的大约 10^3 至 10^{12} PFU 的病毒。有效量可以为例如约 1.0 PFU/kg 体重至约 10^{15} PFU/kg 体重（例如约 10^2 PFU/kg 体重至约 10^{13} PFU/kg 体重）。例如，每天施用病毒制剂的有效量可以为 1×10^{10} PFU，并且可经五天施用病毒制剂以产生 5×10^{10} 的总治疗量。任选地，液体病毒制剂中的病毒浓度可通过确定 50% 组织培养感染剂量（TCID₅₀）来测量，后者是在 50% 的感染病毒的细胞中产生细胞病变效应所需的病毒量。在一些实施例，TCID₅₀ 与 PFU 之间的比例约为 3 : 1。用于治疗患有增生性疾病的人的病毒制剂的有效量可以为每天约 1×10^8 至约 1×10^{15} TCID₅₀。可经一段时间施用有效量的病毒制剂，在本文中称为周期。一个周期可表示例如一天、两天、三天、四天、五天、六天、七天、八天、九天或十天，其中每天可施用等量或不同量的病毒制剂。例如，可经五天每天施用 3×10^{10} TCID₅₀ 以产生每个周期 1.5×10^{11} TCID₅₀ 的总量。任选地，有效量为每天约 3×10^{10} TCID₅₀。任选地，按一小时静脉内输注来施用液体病毒制剂。

[0054] 液体病毒制剂的最佳剂量取决于多种因素。所需的确切量随受试者而有所不同，

这取决于受试者的物种、年龄、体重和一般状况、所治疗疾病的严重程度、液体制剂中所用的特定病毒及其施用模式。因此，不可能对每一制剂指定确切的量。然而，考虑到本文提供的指导，本领域普通技术人员仅利用常规的实验便可以确定适当的量。

[0055] 施用制剂的剂量范围应大到足以产生所需效果（其中疾病的症状受到影响）或大到足以引发免疫反应。剂量不应大到引起不良的副作用，如不期望的交叉反应和过敏反应。在有任何禁忌症的情况下，可由个人医师调整剂量。

[0056] 剂量可变化，并且可每天分一次或多次剂量施用达一天或数天。所提供的液体病毒制剂可按单次剂量或按多次剂量（例如两剂、三剂、四剂、六剂或更多）施用。例如，在通过输注施用的情况下，输注可以为单次持续剂量，或者可通过多次输注来递送。治疗可持续数天至数月或直到实现疾病减弱为止。

[0057] 液体病毒制剂的组合可伴随施用（例如以混合物形式）、分开但同时施用（例如经由单独的静脉内管线进入同一受试者）或顺序施用（例如首先给予一种制剂，接着给予第二种）。因此，术语组合用于指伴随、同时或顺序施用两种或更多种药剂。

[0058] 预期所提供的病毒制剂可与其它肿瘤疗法相结合，如化学疗法、放射疗法、手术、激素疗法和 / 或免疫疗法。因此，可结合手术或赘瘤切除施用液体病毒制剂。因此，特此提供治疗实体赘瘤的方法，包括手术切除赘瘤并在赘瘤部位或其附近施用液体病毒制剂。

[0059] 进一步预期所提供的方法中的液体病毒制剂任选与已知的抗癌化合物或化学治疗剂组合施用，或附加于已知的抗癌化合物或化学治疗剂来施用。化学治疗剂是可抑制肿瘤生长的化合物。这种试剂包括但不限于抗肿瘤剂，如阿西维辛 (Acivicin)；阿柔比星 (Aclarubicin)；盐酸阿考达唑 (Acodazole Hydrochloride)；阿克罗宁 (AcrQnine)；阿多来新 (Adozelesin)；阿地介白素 (Aldesleukin)；六甲蜜胺 (Altretamine)；安波霉素 (Ambomycin)；乙酸阿美蒽醌 (Ametantrone Acetate)；氨鲁米特 (Aminoglutethimide)；安吡啶 (Amsacrine)；阿那曲唑 (Anastrozole)；胺茴霉素 (Anthramycin)；天冬酰胺酶 (Asparaginase)；曲林菌素 (Asperlin)；阿扎胞苷 (Azacitidine)；阿扎替派 (Azetepa)；阿佐霉素 (Azotomycin)；巴马司他 (Batimastat)；苯佐替派 (Benzodepa)；比卡鲁胺 (Bicalutamide)；盐酸比生群 (Bisantrene Hydrochloride)；二甲磺酸双奈法德 (Bisnafide Dimesylate)；比折来新 (Bizelesin)；硫酸博来霉素 (Bleomycin Sulfate)；布喹那钠 (Brequinar Sodium)；溴匹立明 (Bropirimine)；白消安 (Busulfan)；放线菌素 C (Cactinomycin)；卡普唑酮 (Calusterone)；卡醋胺 (Caracemide)；卡贝替姆 (Carbetimer)；卡铂 (Carboplatin)；卡莫司汀 (Carmustine)；盐酸卡柔比星 (Carubicin Hydrochloride)；卡折来新 (Carzelesin)；西地芬戈 (Cedefingol)；苯丁酸氮芥 (Chlorambucil)；西罗霉素 (Cirolemycin)；顺铂 (Cisplatin)；克拉屈滨 (Cladribine)；甲磺酸克里斯奈托 (Crisnatol Mesylate)；环磷酰胺 (Cyclophosphamide)；阿糖胞苷 (Cytarabine)；达卡巴嗪 (Dacarbazine)；更生霉素 (Dactinomycin)；盐酸道诺霉素 (Daunorubicin Hydrochloride)；地西他滨 (Decitabine)；右奥马铂 (Dexormaplatin)；地扎胍宁 (Dezaguanine)；甲磺酸地扎胍宁；地吡醌 (Diaziquone)；多西他赛 (Docetaxel)；多柔比星 (Doxorubicin)；盐酸多柔比星；屈洛昔芬 (Droloxifene)；柠檬酸屈洛昔芬；丙酸屈他雄酮 (Dromostanolone Propionate)；达佐霉素 (Duazomycin)；依达曲沙 (Edatrexate)；盐酸依氟鸟胺酸 (Eflomithine Hydrochloride)；依沙

芦星 (Elsamitrucin); 恩洛铂 (Enloplatin); 恩普胺酯 (Enpromate); 依匹哌啉 (Epiropidine); 表柔比星 (Epirubicin); 盐酸表柔比星; 厄布洛唑 (Erbulazole); 盐酸依索比星 (Esorubicin Hydrochloride); 雌莫司汀 (Estramustine); 雌莫司汀磷酸钠 (Estramustine Phosphate Sodium); 依他硝唑 (Etanidazole); 乙碘油 I131; 依托泊苷 (Etoposide); 磷酸依托泊苷; 埃托宁 (Etoprine); 盐酸法屈唑 (Fadrozole Hydrochloride); 法扎拉滨 (Fazarabine); 芬维 A 胺 (Fenretinide); 氟尿苷 (Floxuridine); 磷酸氟达拉滨 (Fludarabine Phosphate); 5- 氟尿嘧啶; 氟西他滨 (Fluorocitabine); 磷嗉酮 (Fosquidone); 福司曲星钠 (Fostriecin Sodium); 吉西他滨 (Gemcitabine); 盐酸吉西他滨; 金 Au198 (Gold Au198); 羟基脲; 盐酸伊达比星 (Idarubicin Hydrochloride); 异环磷酰胺 (Ifosfamide); 伊莫福新 (Ilmofofosine); 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 (Iproplatin); 盐酸伊立替康 (Irinotecan Hydrochloride); 乙酸兰瑞肽 (Lanreotide Acetate); 来曲唑 (Letrozole); 乙酸亮丙立德 (Leuprolide Acetate); 盐酸利阿唑 (Liarozole Hydrochloride); 洛美曲索钠 (Lometrexol Sodium); 洛莫司汀 (Lomustine); 盐酸洛索萘醌 (Losoxantrone Hydrochloride); 马索罗酚 (Masoprocol); 香美登素 (Maytansine); 盐酸甲二氯二乙胺 (Mechlorethamine Hydrochloride); 乙酸甲地孕酮 (Megestrol Acetate); 乙酸美仑孕酮 (Melengestrol Acetate); 美法仑 (Melfalan); 美诺立尔 (Menogaril); 巯基嘌呤 (Mercaptopurine); 甲氨蝶呤 (Methotrexate); 甲氨蝶呤钠; 蔓托宁 (Metoprine); 美妥替哌 (Meturedopa); 米丁度胺 (Mitindomide); 米托卡西 (Mitocarcin); 米托罗米 (Mitocromin); 米托洁林 (Mitogillin); 米托马星 (Mitomalcin); 丝裂霉素 C (Mitomycin C); 米托司培 (Mitosper); 米托坦 (Mitotane); 米托萘醌 (Mitoxantrone); 盐酸米托萘醌; 霉酚酸 (Mycophenolic Acid); 诺考达唑 (Nocodazole); 诺加霉素 (Nogalamycin); 奥马铂 (Ormaplatin); 奥昔舒仑 (Oxisuran); 紫杉醇 (Paclitaxel); 培门冬酶 (Pegaspargase); 培利霉素 (Peliomycin); 奈莫司汀 (Pentamustine); 硫酸培洛霉素 (Peplomycin Sulfate); 培磷酰胺 (Perfosfamide); 哌泊溴烷 (Pipobroman); 哌泊舒凡 (Piposulfan); 盐酸吡罗萘醌 (Piroxantrone Hydrochloride); 普卡霉素 (Plicamycin); 普洛美坦 (Plomestane); 吡吩姆钠 (Porfimer Sodium); 泊非霉素 (Porfiromycin); 泼尼莫司汀 (Prednimustine); 盐酸甲基苄肼 (Procarbazine Hydrochloride); 嘌呤霉素 (Puromycin); 盐酸嘌呤霉素; 吡唑呋喃菌素 (Pyrazofurin); 利波腺苷 (Riboprine); 罗谷亚胺 (Rogletimide); 沙芬戈 (Safmgol); 盐酸沙芬戈 (Safingol Hydrochloride); 司莫司汀 (Semustine); 辛曲秦 (Simtrazene); 司泊索非钠 (Sparfosate Sodium); 司帕霉素 (Sparsomycin); 盐酸锗螺胺 (Spirogermanium Hydrochloride); 螺莫司汀 (Spiromustine); 螺铂 (Spiroplatin); 链黑菌素 (Streptonigrin); 链脲霉素 (Streptozocin); 氯化锶 Sr89; 磺氯苯脲 (Sulofenur); 他利霉素 (Talisomycin); 紫杉烷 (Taxane); 紫杉烷 (Taxoid); 替康兰钠 (Tecogalan Sodium); 喃氟啉 (Tegafur); 盐酸替洛萘醌 (Teloxantrone Hydrochloride); 替莫泊芬 (Temoporfin); 替尼泊甙 (Teniposide); 替罗昔隆 (Teroxirone); 睾内酯 (Testolactone); 硫咪嘌呤 (Thiamiprine); 硫鸟嘌呤 (Thioguanine); 噻替派 (thiotepa); 噻唑呋啉 (Tiazofurin); 替拉扎明 (Tirapazamine); 盐酸拓朴替康 (Topotecan Hydrochloride);

柠檬酸托瑞米芬 (Toremifene Citrate); 乙酸曲托龙 (Trestolone Acetate); 磷酸曲西立滨 (Triciribine Phosphate); 三甲曲沙 (Trimetrexate); 葡萄糖醛酸三甲曲沙; 曲普瑞林 (Triptorelin); 盐酸妥布氯唑 (Tubulozole Hydrochloride); 尿嘧啶芥 (Uracil Mustard); 乌瑞替派 (Uredepa); 伐普肽 (Vapreotide); 维替泊芬 (Verteporfin); 硫酸长春碱 (Vinblastine Sulfate); 硫酸长春新碱 (Vincristine Sulfate); 长春地辛 (Vindesine); 硫酸长春地辛; 硫酸长春匹定 (Vinepidine Sulfate); 硫酸长春甘酯 (Vinglycinate Sulfate); 硫酸长春罗新 (Vinleurosine Sulfate); 酒石酸长春瑞宾 (Vinorelbine Tartrate); 硫酸长春罗定 (Vinrosidine Sulfate); 硫酸长春利定 (Vinzolidine Sulfate); 伏罗唑 (Vorozole); 折尼铂 (Zeniplatein); 净司他丁 (Zinostatin); 盐酸左柔比星 (Zorubicin Hydrochloride)。

[0060] 抗肿瘤化合物进一步的例子包括 20- 表 -1,25 二羟基维生素 D₃; 5- 乙炔基尿嘧啶; 阿比特龙 (abiraterone); 阿柔比星 (aclerubicin); 酰基富烯 (acylfulvene); 阿的培诺 (adecyphenol); 阿多来新 (adozelesin); 阿地介白素 (aldesleukin); ALL-TK 拮抗剂; 六甲蜜胺 (altretamine); 氨莫司汀 (ambamustine); 艾美多 (amidox); 氨磷汀 (amifostine); 氨基乙酰丙酸; 氨柔比星 (amrubicin); 阿曲萨克 (atrsacrine); 阿那格雷 (anagrelide); 阿那曲唑 (anastrozole); 穿心莲内酯 (andrographolide); 血管生成抑制剂; 拮抗剂 D; 拮抗剂 G; 安他利 (antarelix); 蒽环类 (anthracyclines); 抗背部化形态发生蛋白 -1 (anti-dorsalizing morphogenetic protein-1); 抗雄激素 (antiandrogen); 前列腺癌; 抗雌激素 (antiestrogen); 抗新普拉通 (antineoplaston); 反义寡核苷酸 (antisense oligonucleotide); 甘氨酸阿非迪霉素 (aphidicolin glycinate); 细胞凋亡基因调节剂; 细胞凋亡调节剂; 脱嘌呤核酸; ara-CDP-DL-PTBA; 精氨酸脱氨酶; 芳香酶抑制剂; 奥沙那宁 (asulacrine); 阿他美坦 (atamestane); 阿莫司汀 (atrimustine); 阿新司坦汀 1 (axinastatin1); 阿新司坦汀 2; 阿新司坦汀 3; 阿扎司琼 (azasetron); 阿扎托新 (azatoxin); 重氮酪氨酸 (azatyrosine); 巴卡亭 III (baccatin III) 衍生物; 班兰诺 (balanol); 巴马司他 (batimastat); BCR/ABL 拮抗剂; 苯并二氢卟吩 (benzochlorin); 苯甲酰基星形孢菌素 (benzoylstauroporine); β 内酰胺衍生物; β -阿立辛 (beta-alethine); β 可来霉素 B (betaclamycin B); 桦木酸 (betulinic acid); bFGF 抑制剂; 比卡鲁胺 (bicalutamide); 比生群 (bisantrene); 双氮丙啶基精胺 (bisaziridinylspermine); 双奈法德 (bisnafide); 双崔特 A (bistratene A); 比折来新; 比锐来特 (breflate); 溴匹立明; 布多替钛 (budotitane); 丁硫氨酸磺酰亚胺 (buthionine sulfoximine); 卡泊三醇 (calcipotriol); 钙磷酸蛋白 C (calphostin C); 喜树碱 (camptothecin) 衍生物; 丝雀痘病毒 IL-2 (canarypox IL-2); 卡培他滨 (capecitabine); 甲酰胺-氨基-三唑; 羧酰胺基三唑; CaRest M3; CARN700; 软骨源性抑制剂; 卡折来新; 酪蛋白激酶抑制剂 (ICOS); 栗树精胺 (castanospermine); 杀菌肽 B (cecropin B); 西曲瑞克 (cetorelix); 二氢卟吩 (chlorin); 氯喹啉磺酰胺; 西卡前列素 (cicaprost); 顺式卟啉 (cis-porphyrin); 克拉屈滨; 氯米芬类似物 (clomifene analogue); 克霉唑 (clotrimazole); 克立霉素 A (collismycin A); 克立霉素 B; 康柏斯达汀 A4 (combretastatin A4); 康柏斯达汀类似物; 康纳京尼 (conagenin); 卡那贝西汀 816 (crambescidin816); 克里斯奈托 (crisnatol); 念珠藻环肽 8 (cryptophycin8);

念珠藻环肽 A 衍生物;卡拉新 A(curacin A);环戊葱醌;环普兰姆(cycloplatam);西匹霉素(cypemycin);十八烷基磷酸阿糖胞苷(cytarabine ocfosfate);溶细胞因子;磷酸己烷雌酚(cytostatin);达昔单抗(dacliximab);地西他滨;去氢膜海鞘素 B(dehydroidemnin B);地洛瑞林(deslorelin);右异环磷酰胺(dexifosfamide);右雷佐生(dexrazoxane);右维拉帕米(dexverapamil);地吡醌(diaziquone);膜海鞘素 B(didemnin B);地多西(didox);二乙基降精胺(diethylnorspermine);二氢-5-氮杂胞嘧啶核苷;9-二氢紫杉醇(dihydrotaxol,9-);二恶霉素(dioxamycin);二苯基螺莫司汀(diphenyl spiromustine);多可沙诺(docosanol);多拉司琼(dolasetron);脱氧氟尿苷(doxifluridine);屈洛昔芬;屈大麻酚(dronabinol);度坎尼辛撒(duocannycin SA);依布硒啉(ebselen);依考莫司汀(ecomustine);依地福新(edelfosine);依决洛单抗(edrecolomab);依氟鸟氨酸(eflornithine);榄香烯(elemene);乙嘧替氟(emitofur);表柔比星;爱普列特(epristeride);雌莫司汀类似物;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(exemestane);法屈唑(fadrozole);法扎拉滨;芬维 A 胺;非格司亭(filgrastim);非那雄安(fmastertide);夫拉平度(flavopiridol);夫来折司汀(flezelastrine);夫斯特隆(flusterone);氟达拉滨(fludarabine);盐酸氟道诺霉素(fluorodaunorubicin hydrochloride);福酚美克(forfenimex);福美司坦(formestane);福司曲星(fostriecin);福莫司汀(fotemustine);钆德卟啉(gadolinium texaphyrin);硝酸镓;加洛他滨(galocitabine);加尼瑞克(ganirelix);明胶酶抑制剂;吉西他滨;谷胱甘肽抑制剂;和普苏姆(hepsulfam);和瑞古林(heregulin);六亚甲基双乙酰胺;激素治疗剂;金丝桃素(hypericin);伊班膦酸(ibandronic acid);伊达比星(idarubicin);艾多昔芬(idoxifene);伊决孟酮(idramantone);伊莫福新(ilmofosine);伊洛马司他(ilomastat);咪唑吡啶酮(imidazoacridone);咪喹莫特(imiquimod);免疫刺激剂肽;胰岛素样生长因子-1 受体抑制剂;干扰素激动剂;干扰素;介白素;碘苄胍(iobenguane);碘多柔比星(iododoxorubicin);4-甘薯醇(ipomeanol, 4-);伊立替康(irinotecan);伊罗普拉(iroplact);伊索拉定(irsogladine);异苯胍唑(isobengazole);异质哈立康定 B(isohomohalicondrin B);伊他司琼(itasetron);杰斯普拉克立德(jasplakinolide);卡哈拉立得 F(kahalalide F);三乙酸层状素-N(lamellarin-N triacetate);兰瑞肽(lanreotide);雷那霉素(leinamycin);来格司亭(lenograstim);硫酸香菇多糖(lentinan sulfate);立托斯坦汀(leptolstatin);来曲唑;白血病抑制因子;白血球 α 干扰素;亮丙立德+雌激素+孕酮;亮丙瑞林(leuprorelin);左旋咪唑(levamisole);LHRH 类似物;利阿唑(liarazole);直链聚胺类似物;亲脂性二糖肽;亲脂性铂化合物;立索克林酰胺 7(lissoclinamide7);洛铂(lobaplatin);蚯蚓磷脂(lombricine);洛美曲索(lometrexol);氯尼达明(lonidamine);洛索葱醌(losoxantrone);洛伐他汀(lovastatin);洛索立宾(loxoribine);勒托替康(lurtotecan);镱德卟啉(lutetium texaphyrin);立索茶碱(lysofylline);裂解肽;美坦新(maitansine);麦洛坦汀 A(mannostatin A);马立马斯他(marimastat);马索罗酚(masoprocol);马司非(maspin);基质溶素抑制剂(matrilysin inhibitor);基质金属蛋白酶抑制剂;美诺立尔(menogaril);麦尔巴隆(merbarone);美替瑞林(meterelin);甲硫氨酸酶(methioninase);甲氧氯普胺(metoclopramide);MIF 抑

制剂;美服培酮(mifepristone);米替福新(miltefosine);米立司亭(mirimostim);错配双链RNA;米托胍脲(mitoguazone);二溴卫矛醇(mitolactol);丝裂霉素类似物;米托蒾胺(mitonafide);刺尾鱼毒素纤维母细胞生长因子-皂草素(mitotoxin fibroblast growth factor-saporin);米托蒾醌;莫法罗汀(mofarotene);莫拉司亭(molgramostim);单克隆抗体、人绒毛膜促性腺激素;单磷酸基脂质 A+ 分枝杆菌细胞壁 sk(monophosphoryl lipid A+myobacterium cell wall sk);莫哌达醇(mopidamol);多重抗药性基因抑制剂;基于多肿瘤抑制因子 1 的治疗剂;芥末抗癌剂;美卡普罗 B(mycaperoxide B);分枝杆菌细胞壁提取物;美瑞泡仁(myriaporone);N-乙酰基地那林(N-acetyldinaline);N-取代苯甲酰胺;那法瑞林(nafarelin);纳格瑞替(nagrestip);纳洛酮(naloxone)+戊唑星(pentazocine);纳普维(napavin);萘特非(naphterpin);那托司亭(nartograstim);奈达铂(nedaplatin);奈莫柔比星(nemorubicin);奈立膦酸(neridronic acid);中性内肽酶;尼鲁米特(nilutamide);丽沙霉素(nisamycin);一氧化氮调节剂;氮氧化物抗氧化剂;里挫林(nitrullyn);06-苯甲基鸟嘌呤;奥曲肽(octreotide);奥克恩(okicenone);寡核苷酸;奥那司酮(onapristone);昂丹司琼(ondansetron);昂丹司琼;奥拉新(oracin);口服细胞因子诱导剂;奥马铂(ormaplatin);奥沙特隆(osaterone);奥赛力铂(oxaliplatin);厄诺霉素(oxaunomycin);紫杉醇类似物;紫杉醇衍生物;帕诺明(palauamine);十六酰基根霉素(palmitoylrhizoxin);帕米膦酸(pamidronic acid);人参三醇(panaxytriol);帕诺米芬(panomifene);帕拉贝新(parabactin);帕折普汀(pazelliptine);培门冬酶(pegaspargase);皮地新(peldesine);戊聚糖聚硫酸钠(pentosan polysulfate sodium);喷司他汀(pentostatin);喷唑(pentozole);潘氟隆;培磷酰胺(perfosfamide);紫苏子醇(perillyl alcohol);苯连氮霉素(phenazinomycin);乙酸苯酯;磷酸酶抑制剂;皮西板尼(picibanil);盐酸毛果芸香碱(pilocarpine hydrochloride);吡柔比星(pirarubicin);吡曲克辛(piritrexim);普来司汀 A(placetin A);普来司汀 B;血纤维蛋白溶酶原活化剂抑制剂;铂络合物;铂化合物;铂-三胺络合物;吡吩姆钠;泊非霉素(porfiromycin);泼尼松(prednisone);促孕剂(progestational agent);丙基双吡啶酮;前列腺素 J2(prostaglandin J2);蛋白酶抑制剂;基于蛋白 A 的免疫调节剂;蛋白激酶 C 抑制剂;蛋白激酶 C 抑制剂、微藻;蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂;嘌呤核苷磷酸化酶抑制剂;紫红素(purpurin);吡唑并吡啶;吡哆醛化血色素聚氧乙烯结合物;raf 拮抗剂;雷替曲赛(raltitrexed);雷莫司琼(ramosetron);ras 法呢基蛋白转移酶抑制剂(ras farnesyl protein transferase inhibitor);ras 抑制剂;ras-GAP 抑制剂;去甲基化瑞替立汀(retelliptine demethylated);依替膦酸铼 Re186(rhenium Re186etidronate);根霉素(rhizoxin);核酶;RII 视黄酰胺(RII retinamide);罗谷亚胺(roglitimide);罗希吐碱(rohitukine);罗莫肽(romurtide);罗喹美克(roquinimex);鲁滨吉隆 B1(rubiginone B1);鲁泊塞(ruboxyl);沙芬戈;圣特平(saintopin);SarCNU;沙卡弗托 A(sarcophytol A);沙格司亭(sargramostim);Sdi1 模拟物;司莫司汀;衰老源性抑制剂 1;有义寡核苷酸;信号转导抑制剂;信号转导调节剂;单链抗原结合蛋白;西佐糖(sizofiran);索布佐生(sobuzoxane);硼卡钠(sodium borocaptate);苯基乙酸钠;索佛罗(solverol);生长调节素(somatomedin)结合蛋白;索纳明(sonermin);斯帕福斯酸(sparfosic acid);斯皮卡霉素 D(spicamycin)

D);螺莫司汀;斯兰罗皮汀(splenopentin);海绵抑制素1(spongistatin1);角鲨胺(squalamine);干细胞抑制剂;干细胞细胞分裂抑制剂;斯替皮米德(stipiamide);基质溶素抑制剂;索非罗新(sulfmosine);超活性激脉肠肽拮抗剂(superactive vasoactive intestinal peptide antagonist);磺化偏端霉素(suradista);苏拉明(suramin);苦马豆素(swainsonine);合成糖胺;他莫司汀(tallimustine);他莫昔芬(tamoxifen);甲碘化他莫昔芬;牛磺莫司汀(tauromustine);他扎罗汀(tazarotene);替康兰钠;喃氟啉;碲吡喃鎓(tellurapyrylium);端粒酶抑制剂;替莫泊芬;替莫唑胺(temozolomide);替尼泊甙;四氯十氧化物;替唑明(tetrazomine);噻立拉斯汀(thaliblastine);沙力度胺(thalidomide);噻考瑞林(thiocoraline);血小板生成素;血小板生成素模拟物;胸腺法新(thymalfasin);促胸腺生成素受体激动剂;胸腺曲南(thymotrinan);促甲状腺激素;锡乙基初卟啉(tin ethyl etiopurpurin);替拉扎明;二氯化二茂钛(titanocene dichloride);拓朴替康(topotecan);托普升替(topsentin);托瑞米芬(toremifene);全能干细胞因子(totipotent stem cell factor);转译抑制剂;维甲酸(tretinoin);三乙酰基尿苷;曲西立滨(triciribine);三甲曲沙;曲普瑞林;托烷司琼(tropisetron);妥罗雄脲(turosteride);酪氨酸激酶抑制剂;酪氨酸磷酸化抑制剂;UBC抑制剂;乌苯美司(ubenimex);泌尿生殖窦源性生长抑制因子;尿激酶受体拮抗剂;伐普肽;凡瑞林B(variolin B);载体系统、红细胞基因治疗剂;维拉雷琐(velaresol);凡拉明(veramine);凡啉(verdins);维替泊芬;长春瑞宾(vinorelbine);维萨汀(vinxaltine);维他欣(vitaxin);伏罗唑;扎诺特隆(zanoterone);折尼铂;亚苺维C(zilascorb);净司他丁斯酯(zinostatin stimalamer)。

[0061] 适用于本文描述的病毒制剂的化学治疗剂的进一步例子包括抗癌补充增效剂,包括三环抗抑郁药物(例如丙咪嗪(imipramine)、地昔帕明(desipramine)、阿米替林(amitriptyline)、氯米帕明(clomipramine)、曲米帕明(trimipramine)、多塞平(doxepin)、去甲替林(nortriptyline)、普罗替林(protriptyline)、阿莫沙平(amoxapine)和麦普替林(maprotiline));非三环抗抑郁药物(例如舍曲林(sertraline)、曲唑酮(trazodone)和西酞普兰(citalopram));识别或阻断VEGF的药剂(例如阿瓦斯汀(Avastin));Ca²⁺拮抗剂(例如维拉帕米(verapamil)、硝苯地平(nifedipine)、尼群地平(nitrendipine)和卡罗维林(caroverine));钙调蛋白抑制剂(例如普尼拉明(prenylamine)、三氟甲哌丙嗪(trifluoroperazine)和氯米帕明);两性霉素B(Amphotericin B);曲帕拉醇(Triparanol)类似物(例如他莫昔芬);抗心律不齐药物(例如奎尼丁(quinidine));抗高血压药物(例如利血平(reserpine));受体的抗体,如赫赛汀(herceptin);硫醇消耗剂(thiol depleter)(例如丁硫氨酸和砒亚胺);和多重抗药性还原剂,如Cremaphor EL。本文描述的病毒制剂也可与细胞因子(如粒细胞集落刺激因子)一起施用。

[0062] 如本文所用,术语增生性病症是指细胞增生比正常组织生长快的任何细胞病症。增生性病症包括但不限于赘瘤,也称为肿瘤。赘瘤可包括但不限于胰腺癌、乳腺癌、脑癌(例如胶质母细胞瘤)、肺癌、前列腺癌、结肠直肠癌、甲状腺癌、肾癌、肾上腺癌、肝癌、神经纤维瘤1和白血病。赘瘤可以为实体赘瘤(例如肉瘤或癌)或影响造血系统的癌细胞生长(例如淋巴瘤或白血病)。其它增生性病症包括但不限于神经纤维瘤。

[0063] 如本文所用,术语治疗 (treatment, treating, treat) 或改善是指降低疾病或病状或疾病或病状的症状的影响的方法。因此,在所公开的方法中,治疗可指已确定的疾病或病状或疾病或病状的症状的严重程度降低或改善 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 或 100%。例如,与对照相比,如果受试者疾病的一种或多种症状减少 10%,则将治疗癌症的方法视为治疗。因此,与原始或对照水平相比,减少可以为 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%,或 10 与 100 之间的任何减少百分比。要理解的是,治疗不一定指治愈或完全消除疾病、病状或疾病或病状的症状。

[0064] 如本文所用,术语受试者可以为脊椎动物,更具体为哺乳动物(例如人、马、猪、兔、狗、绵羊、山羊、非人类灵长类动物、奶牛、猫、豚鼠或啮齿动物)、鱼、鸟或爬行动物或两栖动物。该术语不表示特定的年龄或性别。因此,旨在涵盖成年受试者和新生受试者,而无论是雄性还是雌性。如本文所用,患者或受试者可互换使用,指的是患有疾病或病症的受试者。术语患者或受试者包括人受试者和兽医学受试者。

[0065] 在本申请通篇中引用了各种出版物。这些出版物的公开内容以引用的方式并入本申请。

[0066] 已描述了许多方面。然而要理解的是,可以进行各种修改。此外,当描述一个特征或步骤时,可以将其与本文中的任何其它特征或步骤相组合,即使并未明确陈述这种组合。因此,其它各方面属于权利要求的范围内。

实施例

[0067] 实施例 1:非病毒组合物制备

[0068] 通过混合表 1 中所示的组分来制备组合物 1 和 2。

[0069] 表 1:

[0070]

	组合物1		组合物2	
	组分	量	组分	量
糖	甘露醇	30 mg/mL	蔗糖	40 mg/mL
	山梨醇	20 mg/mL		
氨基酸	组氨酸	20 mg/mL	N/A	N/A
二价阳离子	MgCl ₂ (2mM)	2 mM	MgCl ₂	2 mM
表面活性剂	聚山梨醇酯80	0.01 %	聚山梨醇酯80	0.05 %
载体	磷酸盐缓冲盐水 (PBS)		磷酸盐缓冲盐水 (PBS)	

[0071] 所用的 PBS 含有 0.20mg/mL 氯化钾、8.00mg/mL 氯化钠、0.24mg/mL 磷酸二氢钾和 2.71mg/mL 七水合磷酸氢二钠。

[0072] 实施例 2:液体病毒制剂制备

[0073] 如下制备对照呼肠孤病毒制剂(对照制剂):在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中提供呼肠孤病毒,并用另外的 PBS 进一步稀释混合物以获得 3×10^{10} TCID₅₀/mL 的目标总病毒颗粒滴度。如下制备制剂 1:在 PBS 中提供呼肠孤病毒,并用组合物 1 稀释混合物以获得 3×10^{10} TCID₅₀/mL 的目标总病毒颗粒滴度。如下制备制剂 2:在 PBS 中提供呼肠孤病毒,并用组合物 2 稀释混合物以获得 3×10^{10} TCID₅₀/mL 的目标总病毒颗粒滴度。通过分析 HPLC 确定

每一制剂的稀释比。

[0074] 实施例 3 :液体病毒制剂储存

[0075] 环境温度下测定在如实施例 2 中制备的对照制剂、制剂 1 和制剂 2 的感染颗粒滴度 (TCID₅₀/mL)。在不同温度 (包括 37℃、环境温度、2℃至 8℃范围内的温度、-20℃和 -80℃) 下将制剂储存 0、3、6.5、12 和 18.5 个月。在储存期后,平行测定三次在不同温度下每一制剂的 TCID₅₀数据。对照制剂、制剂 1 和制剂 2 的平均数据示于图 1。对照制剂、制剂 1 和制剂 2 的感染颗粒滴度回收率示于图 2。将病毒滴度标准化以解决对照滴度中的测定间偏差 (interassay variation)。对于对照制剂,通过 HPLC 测量的标准化总病毒滴度示于图 3,对于制剂 1,示于图 4,对于制剂 2,示于图 5。

[0076] 在 6.5、12 及 18.5 个月之后,与对照制剂相比,在 2-8℃下储存的制剂 1 和 2 一致地显示出较小的感染力损失。在 -20℃下,在 6.5、12 及 18.5 个月之后,与对照制剂相比,在 -20℃下储存的制剂 1 和 2 也一致地显示出较小的感染力损失。在 -80℃下,在 18.5 个月之后,对照制剂显示出感染滴度的显著损失,而制剂 1 和 2 保持稳定,在 18.5 个月之后基本上没有损失。

[0077] 实施例 4 :非聚集性病毒制剂

[0078] 采用 USP<788> 光遮蔽颗粒计数测试来测试如上所述的对照制剂和组合物 1 的样本的颗粒物。表 2 中所示的结果表明用组合物 1 制备的病毒制剂比使用对照制剂的病毒制剂的颗粒少得多。

[0079] 表 2 :

[0080]

#	最终填充 批号#	主体批号#	制剂	平均粒径 (nm)	颗粒物≥ 10 微米 #/容器	颗粒物≥ 25微米 #/容器
1	122-08002	160-08001	对照	122.3	2349	32
2	122-08003	160-08001	对照	114.3	2490	53
3	160-10006	160-10004	组合物1	121.8	50	4
4	160-10011	160-10008	组合物1	124.9	20	1

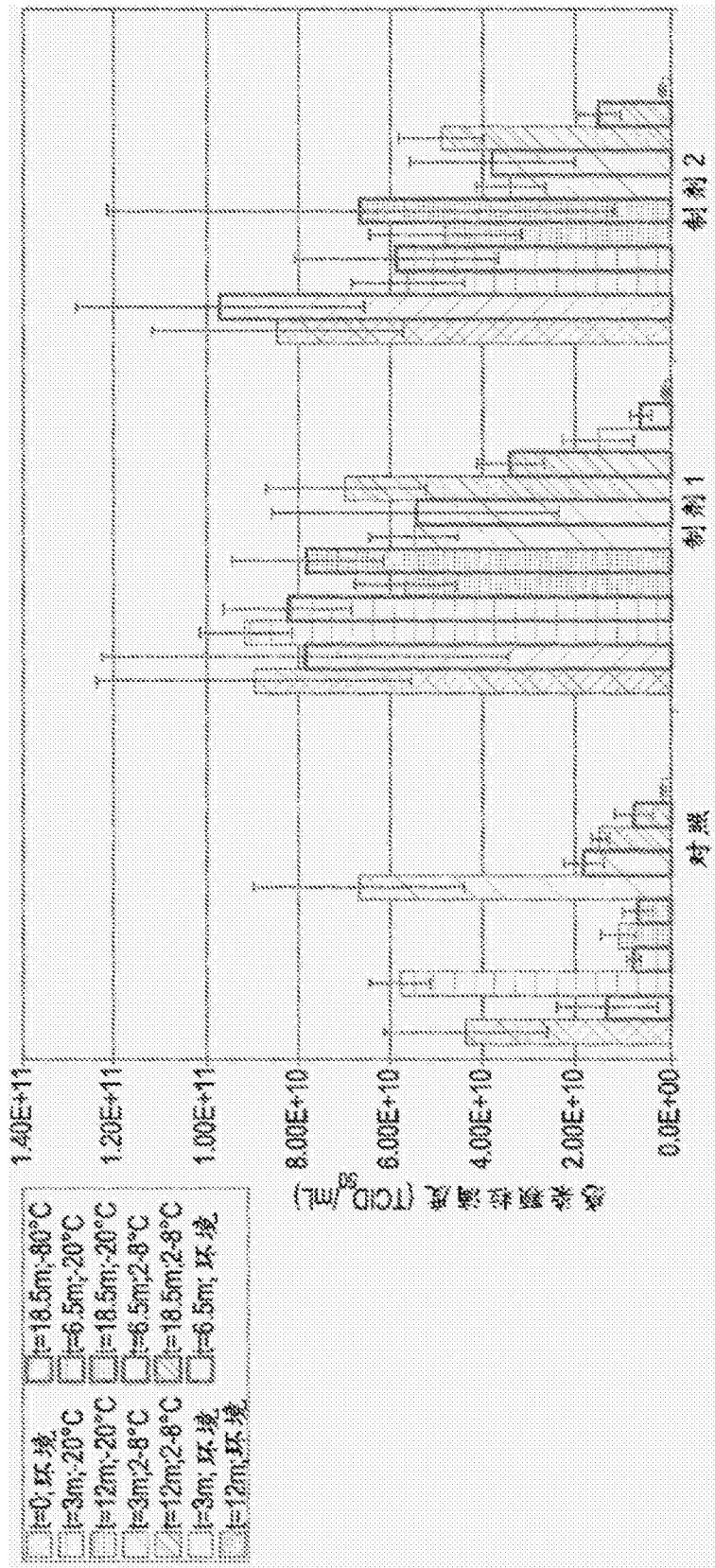


图 1

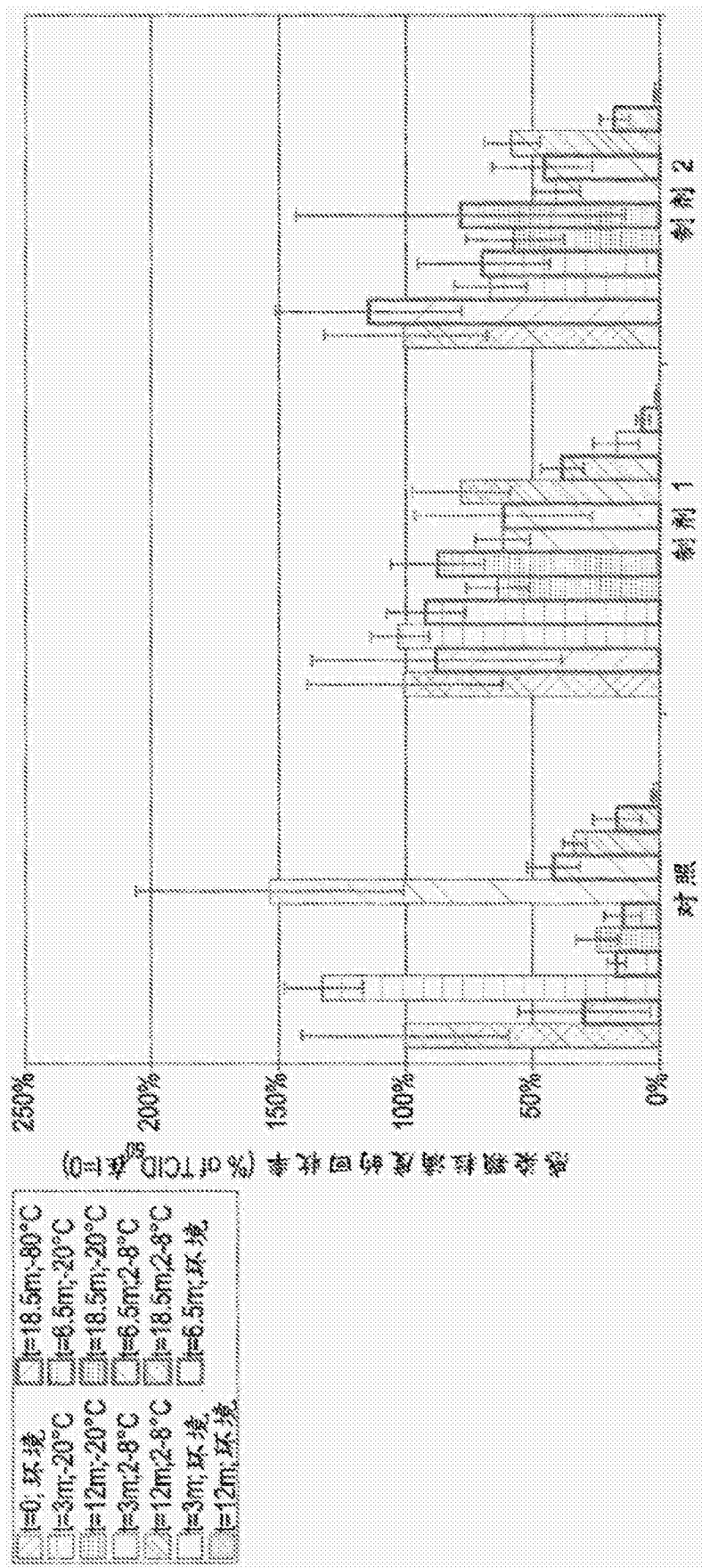


图 2

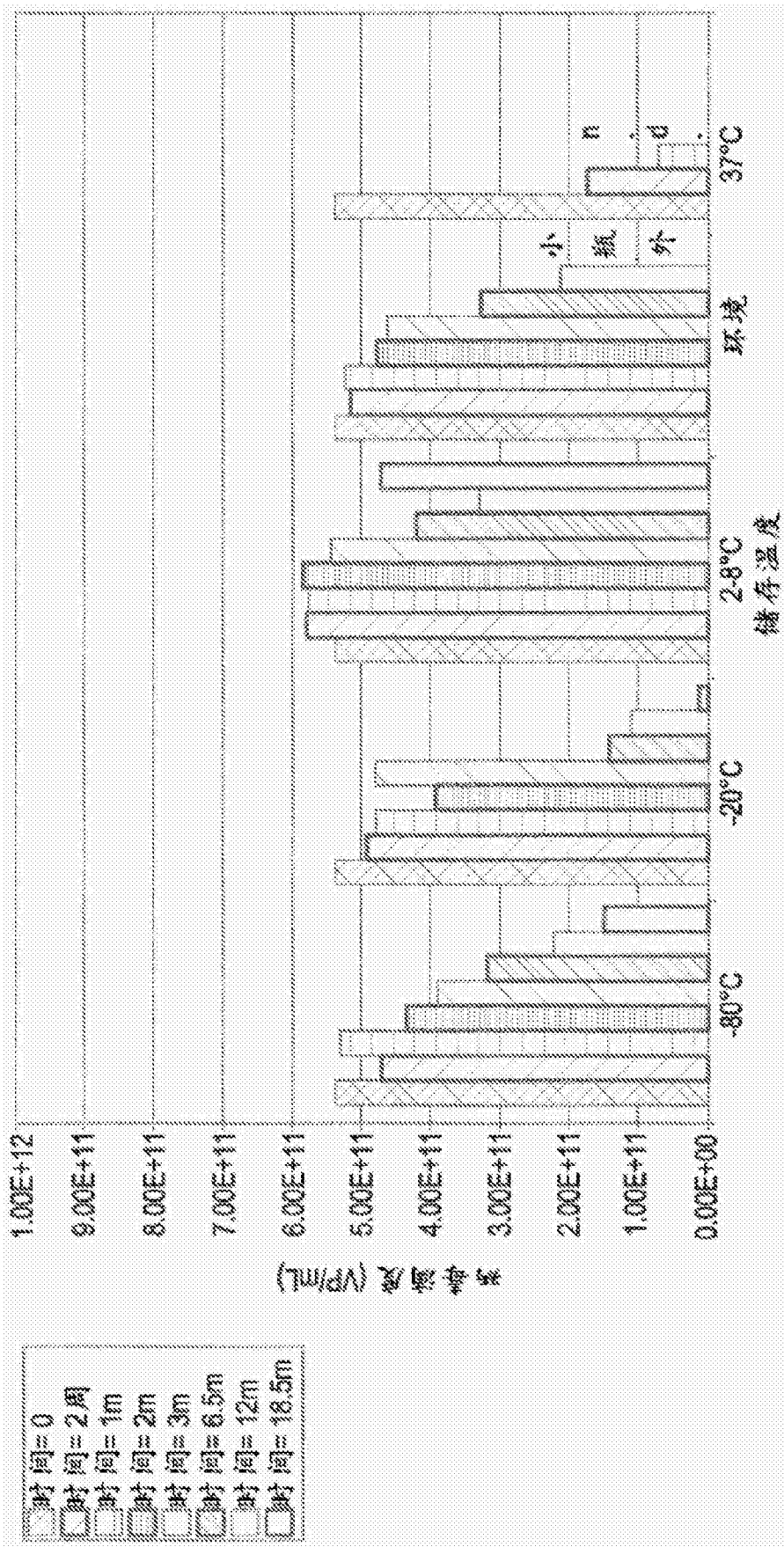


图 3

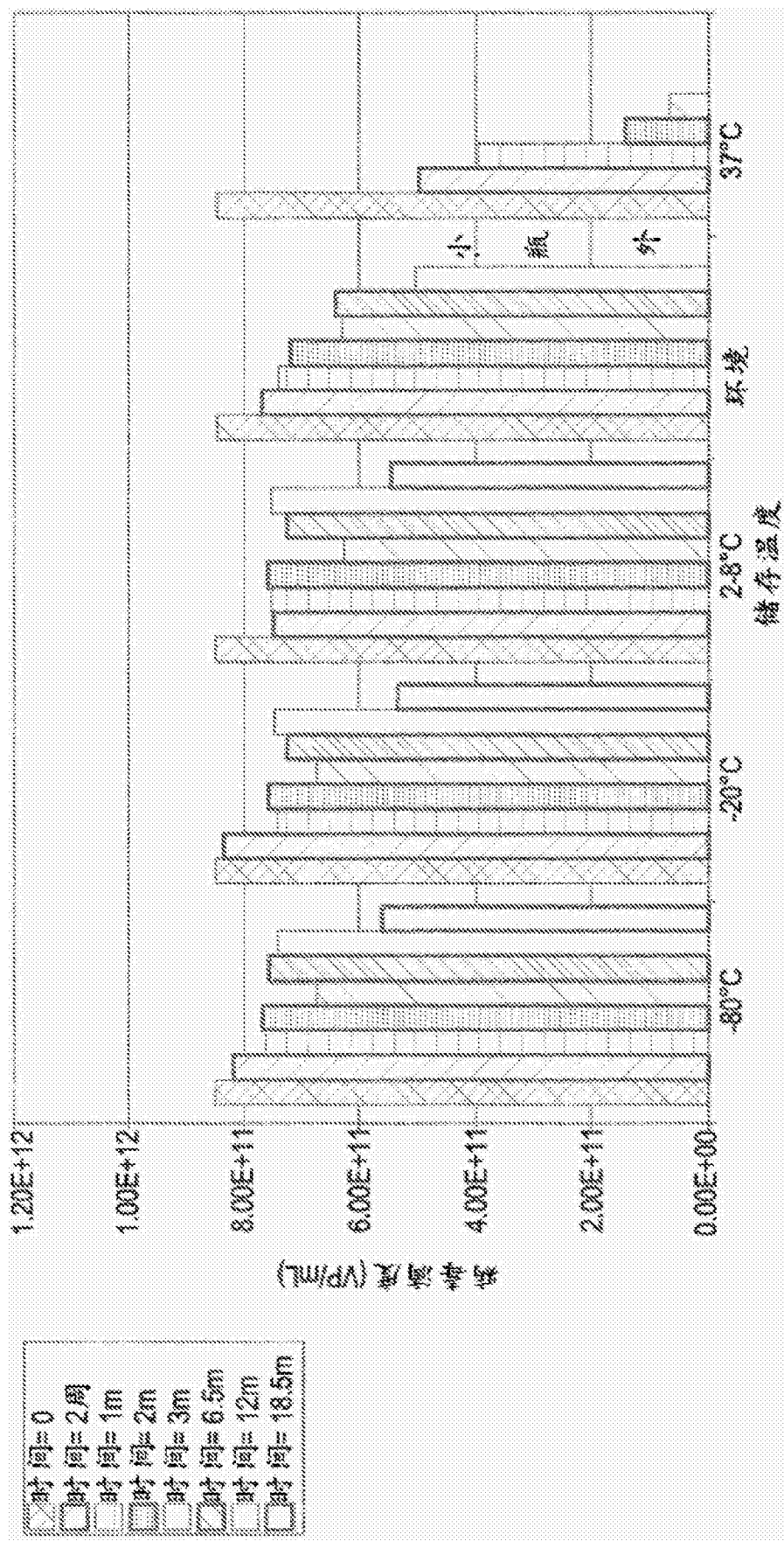


图 4

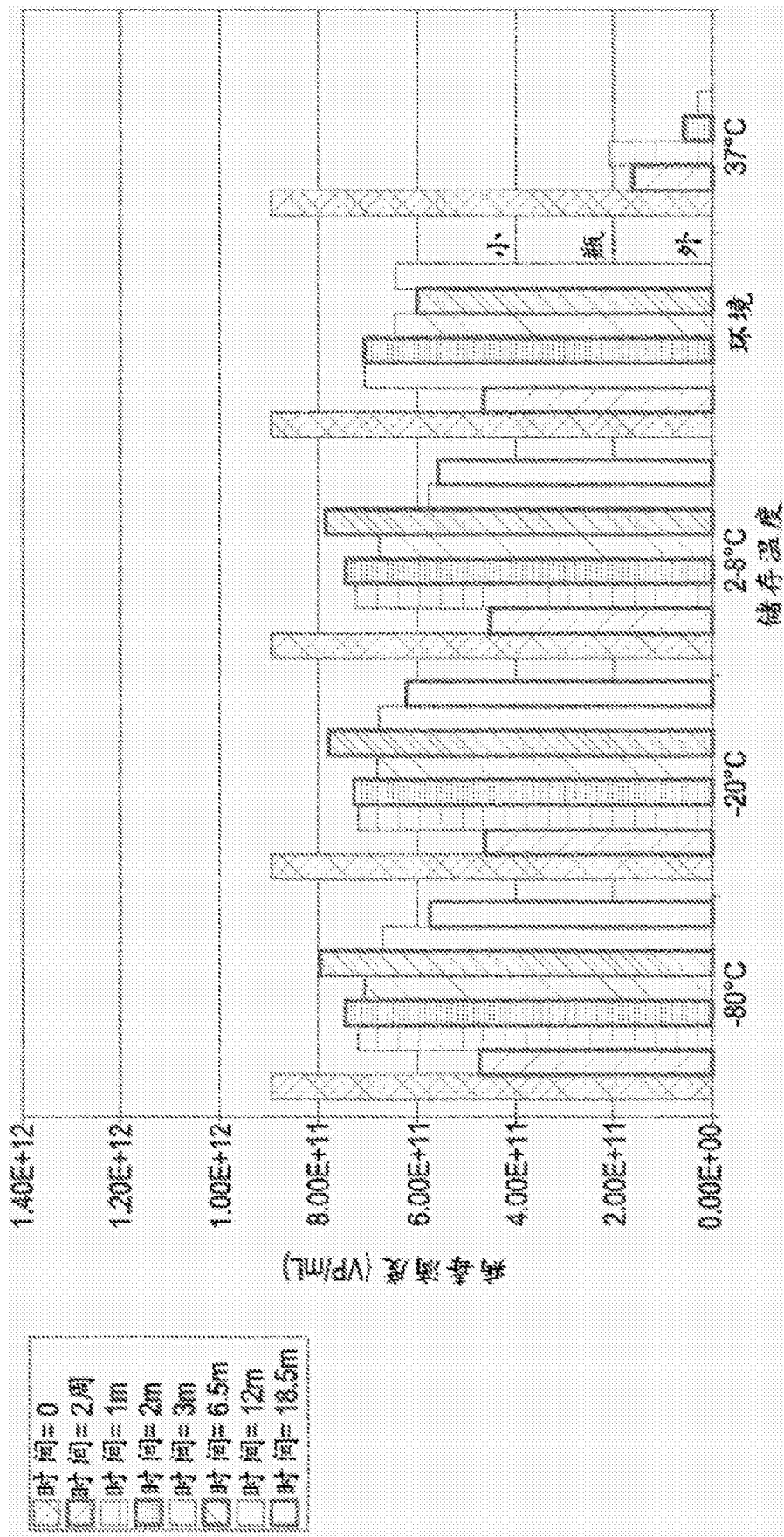


图 5