



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109172809 A

(43)申请公布日 2019.01.11

(21)申请号 201810882369.8

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2012.04.27

A61K 38/38(2006.01)

(30)优先权数据

A61K 31/436(2006.01)

61/518,084 2011.04.28 US

A61K 47/64(2017.01)

61/557,851 2011.11.09 US

A61K 47/69(2017.01)

(62)分案原申请数据

A61P 9/10(2006.01)

201280032010.2 2012.04.27

A61P 9/14(2006.01)

(71)申请人 阿布拉科斯生物科学有限公司

A61M 25/00(2006.01)

地址 美国加利福尼亚州

A61M 25/10(2013.01)

申请人 美卡特医疗系统公司

(72)发明人 K·斯瓦德 N·P·德塞

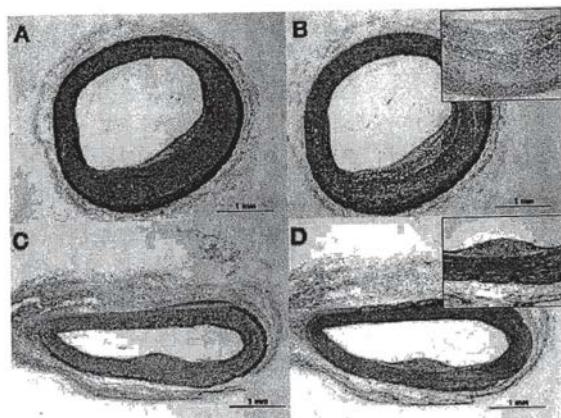
权利要求书1页 说明书21页 附图8页

(54)发明名称

纳米颗粒组合物的血管内递送及其应用

(57)摘要

本发明的名称为纳米颗粒组合物的血管内递送及其应用。本发明提供通过直接将纳米颗粒组合物注射到血管壁或血管壁周围组织中而递送包括纳米颗粒的组合物的方法，该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。方法可用于抑制血管中的负重塑或血管纤维化并且可用于治疗多种疾病。



1. 抑制对其有需要的个体的血管负再塑的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,所述纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。
2. 抑制对其有需要的个体的血管的血管纤维化的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,所述纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。
3. 权利要求2所述的方法,其中所述血管纤维化是内侧血管纤维化或外膜纤维化。
4. 促进对其有需要的个体的血管正再塑的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,所述纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。
5. 权利要求1-4中任一项所述的方法,其中所述血管是动脉。
6. 权利要求5所述的方法,其中所述动脉是冠状动脉或外周动脉。
7. 权利要求6所述的方法,其中所述动脉选自肾动脉、脑动脉、肺动脉和腿部动脉。
8. 权利要求1-4中任一项所述的方法,其中所述血管是静脉。
9. 权利要求1-8中任一项所述的方法,其中所述纳米颗粒组合物被注入所述血管壁。
10. 权利要求1-8中任一项所述的方法,其中所述纳米颗粒组合物被注入所述血管壁周围组织。

## 纳米颗粒组合物的血管内递送及其应用

[0001] 本申请是分案申请，原申请的申请日为2012年4月27日、申请号为201280032010.2、发明名称为“纳米颗粒组合物的血管内递送及其应用”。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求2011年4月28日提交的美国临时申请序号61/518,084和2011年11月9日提交的美国临时申请序号61/557,851的优先权权益，其全部内容均被引入本文。

### 技术领域

[0004] 本发明涉及通过直接将纳米颗粒组合物注入血管壁或血管壁周围组织来递送和应用包括纳米颗粒的组合物的方法，该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。

[0005] 发明背景

[0006] 冠状动脉疾病是世界范围内死亡的主要原因之一。虽然冠状动脉搭桥手术是动脉粥样硬化及其他原因导致的动脉狭窄的有效治疗手段，但其是高侵入性手术，并且需要大量住院和恢复时间。经皮穿刺冠状动脉成形术(PTCA)——常被称为气囊血管成形术，相对于搭桥手术侵入性更小、创伤性更小并且成本明显更低。气囊血管成形术的效力通过引入支架植入术已经显著提高，该支架植入术包括在已经过气囊血管成形术治疗的动脉中布置支架结构。支架抑制动脉骤然再闭合并且在减少随后由增生导致的再狭窄方面具有一定益处。尽管存在这样的提高，但已经过血管成形术手术和随后的支架植入术的患者仍遭遇高发生率的由增生导致的再狭窄。植入涂覆有抗增殖药物的支架可显著减少增生的发生。

[0007] 基于白蛋白的纳米颗粒组合物已被开发，作为药物递送系统，用于递送基本上水不溶性药物，如紫杉烷。参见，例如，美国专利号5,916,596;6,506,405;6,749,868以及6,537,579、7,820,788和7,923,536。通常认为，基于白蛋白的纳米颗粒如Abraxane®，在被引入血液流时，会溶解形成白蛋白-药物复合物。此种复合物利用蛋白质——白蛋白——的天然性质将基本上水不溶性药物运输和递送至疾病部位，如肿瘤部位。此外，基于白蛋白的纳米颗粒技术提供提高药物溶解性的能力——通过在给药过程中避免需要毒性化学剂，如溶剂，因此通过消除溶剂相关副作用而潜在地提高安全性。

[0008] 本文引用的全部出版物、专利、专利申请和公开专利申请的公开内容以其整体均被引入本文作为参考。

[0009] 发明概述

[0010] 本申请在一些实施方式中提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法，该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯，其中方法包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物，该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。在一些实施方式中，提供抑制对其有需要的个体的血管中负再塑(negative remodeling)的方法，包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物，该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。在一些实施方式中，提供抑制对其有需要的个体的血管中血管纤维化(如内侧纤维化或外膜纤维化)的方法，包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物，该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。在一些实施方式中，提供降低对其有需要的个体的血管的增

殖指数的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。在一些实施方式中,提供促进对其有需要的个体的血管中正再塑(positive remodeling)的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。

[0011] 在一些实施方式中,血管是动脉,如冠状动脉或外周动脉。在一些实施方式中,动脉选自肾动脉、脑动脉、肺动脉和腿部动脉。在一些实施方式中,血管是静脉。

[0012] 在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注入血管壁。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注入血管壁周围组织。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注入血管外膜组织。

[0013] 在一些实施方式中,纳米颗粒组合物的注射剂量为约0.001mg至约100mg,包括例如约0.05mg至约5mg。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物的注射体积为约0.01ml至约50ml,包括例如,约0.5ml至约5ml。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物通过带针导管被注射,如可展开针。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物一年被注射至少一次。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物仅被注射一次。

[0014] 在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在疾病部位远处。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在疾病部位近处。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在疾病部位或邻近疾病部位。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被远离疾病部位注射。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在距疾病部位至少约2cm(包括例如3、4、5、6、7、8、9或10cm中至少任一种)。

[0015] 在根据上述实施方式中任一种的一些实施方式中,个体患有如下中任一种:心绞痛、心肌梗塞、充血性心脏衰竭、心律失常、外周动脉疾病、跛行或慢性肢体缺血。在一些实施方式中,个体是人。在一些实施方式中,方法在血管介入手术期间实施,该血管介入手术包括但不限于,血管成形术(如经皮穿刺冠状动脉血管成形术)、支架植入术或旋切术(atherectomy)。在一些实施方式中,方法在血管介入手术后实施,该血管介入手术包括但不限于,血管成形术、支架植入术或旋切术。

[0016] 在根据上述实施方式中任一种的一些实施方式中,大环内酯是雷帕霉素或其衍生物。在一些实施方式中,大环内酯是雷帕霉素。在根据上述实施方式中任一种的一些实施方式中,组合物中纳米颗粒的平均直径不大于约200nm,如不大于约100nm。在一些实施方式中,组合物中纳米颗粒的平均直径不小于约70nm。在一些实施方式中,纳米颗粒中的大环内酯涂覆有白蛋白。

[0017] 还提供用于本文所述任一种方法的试剂盒和装置。例如,在一些实施方式中,提供带针(如可展开针)导管,其中针包含包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。在一些实施方式中,大环内酯是雷帕霉素。在一些实施方式中,纳米颗粒包括涂覆有白蛋白的大环内酯。在一些实施方式中,组合物中纳米颗粒的平均直径不大于约200nm,如不大于约100nm。在一些实施方式中,组合物中纳米颗粒的平均直径不小于约70nm。

[0018] 本发明的这些及其他方面和优势将通过随后的详细描述和所附权利要求而变得明显。要理解,本文描述的各种实施方式中的一种、一些或全部性质可组合以形成本发明的其他实施方式。

[0019] 附图简述

[0020] 图1提供用于股动脉的Nab-雷帕霉素外膜周注射的微输注导管的图像。图1A显示

收缩气囊,其包覆针。图1B显示膨胀气囊,其中针向外突出。

[0021] 图2提供两个涉及猪股动脉气囊血管成形术损伤模型的Nab-雷帕霉素外膜周注射的研究设计流程图。图2A显示药代动力学研究流程图。图2B显示组织病理学研究流程图。

[0022] 图3A-F显示股动脉的Nab-雷帕霉素外膜周注射的代表性血管造影照片系列。

[0023] 图4A-4D显示外膜周递送Nab-雷帕霉素后的腔狭窄减少,如通过平均腔横截面面积(4A)、平均动脉横截面面积(4B)、平均腔狭窄百分比(4C)和平均内侧纤维化(4D)所测。

[0024] 图5A和5B显示股动脉中外膜周递送后Nab-雷帕霉素的药代动力学,如通过血清雷帕霉素浓度(5A)和组织雷帕霉素浓度(5B)所测。

[0025] 图6A-6D显示通过外膜周递送用(6C和6D)或(6A和6B)用Nab-雷帕霉素治疗的股动脉的组织病理学染色。图6A和6C显示用H&E染色。图6B和6D显示用三色法染色。

[0026] 图7A显示外膜周递送Nab-雷帕霉素或对照后的增殖指数。图7B显示外膜周递送Nab-雷帕霉素或对照后的内皮化。

[0027] 图8A显示外膜周递送Nab-雷帕霉素后第3、8和28天的增殖指数。图8B显示外膜周递送Nab-雷帕霉素后第3、8和28天的内皮化。

[0028] 图9A显示外膜周递送Nab-雷帕霉素或对照后第3、8和28天的外膜白细胞浸润。图9B显示外膜周递送Nab-雷帕霉素或对照后第28天的外膜血管平均数量。

[0029] 图10显示外膜周递送Nab-雷帕霉素或对照后第3、8和28天的目标动脉的再内皮化。

#### [0030] 发明详述

[0031] 本申请提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(“纳米颗粒组合物”),其中方法包括向血管壁或血管壁周围的组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。此方法可用于,例如,抑制血管的负再塑和/或抑制血管的血管纤维化,因此可用于治疗与负再塑和/或血管纤维化有关的多种疾病。

[0032] 利用猪股动脉气囊损伤模型,显示包括大环内酯和白蛋白的纳米颗粒组合物,即纳米颗粒白蛋白结合的(Nab)雷帕霉素(Nab-雷帕霉素),在被注入血管外膜周组织时,显著减少气囊损伤血管的负再塑和血管内侧纤维化。在注射后一小时内,血管周组织中的雷帕霉素水平比一小时内血液中的雷帕霉素水平高约1500倍,雷帕霉素保持在血管周组织中至少8天。因此,纳米颗粒组合物的外膜周注射可以是抑制负再塑、抑制血管纤维化以及治疗与负再塑和/或血管纤维化有关的多种疾病的有效方法。

[0033] 因此,本申请一方面提供抑制对其有需要的个体的血管负再塑或血管纤维化的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。

[0034] 另一方面,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白,其中方法包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。

[0035] 进一步提供可用于本文所述方法的试剂盒和装置(如带针导管)。

[0036] 定义

[0037] 术语“个体”是指哺乳动物,包括但不限于,人、牛,马、猫、狗、啮齿动物或灵长类动

物。

[0038] 要理解,本文所述的本发明方面和实施方式包括“由方面和实施方式组成”和/或“基本上由方面和实施方式组成”。

[0039] 本文中“约”的数值或参数指代包括(和描述)针对该数值或参数本身的变量。例如,关于“约X”的描述包括“X”的描述。

[0040] 如本文和所附权利要求所用,单数形式“一(a)”、“一(an)”和“该(the)”包括复数指代,除非上下文明确另外指定。

#### [0041] 本发明的方法

[0042] 本申请在一些实施方式中提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素或其衍生物,例如雷帕霉素),其中方法包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。在一些实施方式中,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素),其中方法包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的大环内酯涂覆有白蛋白。在一些实施方式中,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素),其中方法包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素),其中方法包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括雷帕霉素和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的雷帕霉素涂覆有白蛋白,并且其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供向血管递送Nab-雷帕霉素的方法,其中方法包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的Nab-雷帕霉素。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在疾病部位或邻近疾病部位(或损伤部位),如距疾病部位(或损伤部位)不大于约2,1或0.5cm)。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被远离疾病部位注射(例如,至少约为以下任一种:距疾病部位1、2、3、4、5、6、7、8、9或10cm)。

[0043] 一般的血管壁具有内皮,内皮是暴露于血管腔的壁层。内皮之下是基底膜,基底膜进而被内膜包围。内膜进而被内弹性层包围,中间层位于内弹性层上。进而,中间层被外弹性层覆盖,外弹性层充当外部屏障,分隔血管壁与包围血管壁的外膜组织。本文所述方法包括将纳米颗粒组合物注入血管壁的这些层的任一层。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注入内皮。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注入基底膜。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注入内膜。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注入内弹性层。在一些实施方式中,纳米颗粒被注入中间层。在一些实施方式中,纳米颗粒被注入外弹性层。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注入任一以下血管区域中:内膜(包含内皮、基底膜、内弹性层)、中膜(包含光滑肌细胞)和外膜(包含外弹性膜、胶原蛋白纤维)。

[0044] “血管壁周围组织”——在本文中与术语“血管周”或“外膜周”互换使用,是指血管壁外表面上的区域。其包括血管外膜组织,以及超过外膜组织的区域。通过控制纳米颗粒组

合物的注射部位,纳米颗粒组合物可被注射到具体的预期位置。

[0045] 目的在于将治疗剂注入血管壁和血管壁周围组织的方法和装置已被开发。例如,携带能够将治疗剂及其他剂递送到包围血管腔的外膜层深处的针的导管已被述及于美国专利号6,547,303,6,860,867和美国专利申请公开号2007/0106257、2010/0305546和2009/0142306,这些文献的全部内容均被具体引入本文作为参考。本发明的方法在一些实施方式中利用具有用于纳米颗粒组合物注射的针的导管。在一些实施方式中,针可展开。导管可在血管内被推进至血管中的目标注射部位(其可以是或可以不是疾病区域)。导管中的针被推进穿过血管壁,使得针上的孔定位在期望区域(例如血管周区域)中,并且纳米颗粒组合物可通过针孔被注射到期望区域中。

[0046] 例如,在一些实施方式中,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素或其衍生物,例如雷帕霉素),其中方法包括将有效量的包括纳米颗粒的组合物注入(例如通过带针导管)血管壁周围组织,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。在一些实施方式中,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素),其中方法包括将有效量的包括纳米颗粒的组合物注入(例如通过带针导管)血管壁周围组织,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的大环内酯涂覆有白蛋白。在一些实施方式中,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素),其中方法包括将有效量的包括纳米颗粒的组合物注入(例如通过带针导管)血管壁周围组织,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素),其中方法包括将有效量的包括纳米颗粒的组合物注入(例如通过带针导管)血管壁周围组织,该纳米颗粒包括雷帕霉素和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的雷帕霉素涂覆有白蛋白,并且其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供向血管递送Nab-雷帕霉素的方法,其中方法包括将有效量的Nab-雷帕霉素注入(例如通过带针导管)血管壁周围组织。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在疾病部位。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在疾病部位远处(例如,至少约为以下任一种:距疾病部位1、2、3、4、5、6、7、8、9或10cm)。

[0047] 在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注入血管外膜组织。外膜组织是血管周围组织,例如在动脉外弹性层之外的组织或在静脉中膜之外的组织。外膜具有高浓度的脂质。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注入外膜的血管滋养管区域。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物,在注射后,可从注射部位穿过外膜、相对于注射纳米颗粒组合物的血管的轴线沿圆周方向、纵向地和/或透壁地分散(下文中被称为“体积分布”)。在一些实施方式中,经过不大于60分钟的时间段,药物(白蛋白结合形式或纳米颗粒形式)从注射部位起分布的距离为纵向至少约1cm(例如,至少约为以下任一种:2cm、3cm、4cm、5cm、6cm、7cm或更多)和/或径向至少1cm(例如至少约为以下任一种:2cm、3cm、4cm、5cm、6cm、7cm或更多)。在一些实施方式中,在距递送部位至少2cm的所有位置测量的药物浓度为递送部位浓度的至少10%(如至少约为以下任一种:20%、30%、40%或50%)——例如在60分钟的时间段后。在一些实施方式中,药物(白蛋白结合形式或纳米颗粒形式)透壁地分布遍及血管内皮和内膜层、

中间层和肌肉层。虽然曾经已报道药剂的外膜周给药允许药剂的体积分布,但认为较大的物质没有有效地分布,因为体积分布是通过血管周围的淋巴微循环系统实现的。纳米颗粒组合物在外膜组织中的行为是未知的。因此本发明在这些方面不同于曾经报道的方法。

[0048] 因此,在一些实施方式中,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素),其中方法包括将有效量的包括纳米颗粒的组合物注入(例如通过带针导管)血管壁的外膜组织,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。在一些实施方式中,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素),其中方法包括将有效量的包括纳米颗粒的组合物注入(例如通过带针导管)血管的外膜组织,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的大环内酯涂覆有白蛋白。在一些实施方式中,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素),其中方法包括将有效量的包括纳米颗粒的组合物注入(例如通过带针导管)血管的外膜组织,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素),其中方法包括将有效量的包括纳米颗粒的组合物注入(例如通过带针导管)血管的外膜组织,该纳米颗粒包括雷帕霉素和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的雷帕霉素涂覆有白蛋白,并且其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供向血管递送Nab-雷帕霉素的方法,其中方法包括将有效量的Nab-雷帕霉素注入(例如通过带针导管)血管壁的外膜组织。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在疾病部位或邻近疾病部位(如距疾病部位不大于约2、1或0.5cm)。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被远离疾病部位(例如,至少约为以下任一种:距疾病部位1、2、3、4、5、6、7、8、9或10cm)注射。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物,在注射后,实现体积分布。

[0049] 在一些实施方式中所述血管是动脉,如冠状动脉或外周动脉。在一些实施方式中,动脉选自肾动脉、脑动脉、肺动脉和腿部动脉。在一些实施方式中,血管是膝盖上方的动脉或静脉。在一些实施方式中,血管是膝盖下方的动脉或静脉。在一些实施方式中,血管是股动脉。在一些实施方式中,血管是气囊损伤动脉。

[0050] 在一些实施方式中,血管是选自下列中任一种的动脉:腹主动脉、胫前动脉、主动脉弓、弓状动脉、腋动脉、肱动脉、颈动脉、腹动脉、旋腓骨动脉、肝总动脉、髂总动脉、股深动脉、掌深动脉弓、指/趾背动脉、跖背动脉、颈外动脉、髂外动脉、面动脉、股动脉、肠系膜下动脉、髂内动脉、肠动脉、膝下外侧动脉、膝上外侧动脉、指/趾掌动脉、腓动脉、腘动脉、胫后动脉、股深动脉、肺动脉、桡动脉、肾动脉、脾动脉、锁骨下动脉、掌浅动脉弓、肠系膜上动脉、尺侧上副动脉和尺动脉。

[0051] 在一些实施方式中,血管是静脉。在一些实施方式中,血管是选自下列中任一种的静脉:副头静脉、腋静脉、贵要静脉、肱静脉、头静脉、髂总静脉、指/趾背静脉、跖背静脉、髂外静脉、面静脉、股静脉、大隐静脉、肝静脉、肠系膜下静脉、下腔静脉、中间前臂静脉、髂内静脉、肠静脉、颈静脉、旋股外侧静脉、左下肺静脉、左上肺静脉、指/趾掌静脉、门静脉、胫后静脉、肾静脉、下颌后静脉、隐静脉、小隐静脉、脾静脉、锁骨下静脉、肠系膜上静脉和上腔静脉。

[0052] 在一些实施方式中,血管是冠状血管系统(包括动脉和静脉血管系统)、脑血管系统、肝血管系统、外周血管系统和其他器官和组织分区血管系统的部分。

[0053] 在一些实施方式中,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素或其衍生物,例如雷帕霉素),其中方法包括向股动脉外膜周地注射(例如,通过带针导管)(即,注入外膜周组织)有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白。在一些实施方式中,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素或其衍生物,例如雷帕霉素),其中方法包括向股动脉外膜周地注射(例如,通过带针导管)有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的大环内酯涂覆有白蛋白。在一些实施方式中,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素或其衍生物,例如雷帕霉素),其中方法包括向股动脉外膜周地注射(例如,通过带针导管)有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供向血管递送包括纳米颗粒的组合物的方法,该纳米颗粒包括白蛋白和大环内酯(如雷帕霉素或其衍生物,例如雷帕霉素),其中方法包括向股动脉外膜周地注射(例如,通过带针导管)有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括雷帕霉素和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的雷帕霉素涂覆有白蛋白,并且其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供向血管递送Nab-雷帕霉素的方法,其中方法包括向股动脉外膜周地注射(例如,通过带针导管)有效量的Nab-雷帕霉素。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在疾病部位或邻近疾病部位(如距疾病部位不大于约2,1或0.5cm)。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被远离疾病部位注射(例如,至少约为以下任一种:距疾病部位1、2、3、4、5、6、7、8、9或10cm)。

[0054] 本文所述的递送方法有效抑制血管异常的一个或多个方面,包括例如,负再塑、血管纤维化、再狭窄、血管中的细胞增殖和细胞迁移、和伤口愈合。在一些实施方式中,方法有效促进血管正再塑。

[0055] 因此本申请在一些实施方式中提供抑制对其有需要的个体的血管负再塑的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯(如雷帕霉素)和白蛋白。在一些实施方式中,提供抑制对其有需要的个体的血管负再塑的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的大环内酯涂覆有白蛋白。在一些实施方式中,提供抑制对其有需要的个体的血管负再塑的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供抑制对其有需要的个体的血管负再塑的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括雷帕霉素和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的雷帕霉素涂覆有白蛋白,并且其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供抑制对其有需要的个体的血管负再塑的方法,包括向

血管壁或血管壁周围组织注入有效量的Nab-雷帕霉素。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在负再塑部位或邻近负再塑部位(如距负再塑部位不大于约2、1或0.5cm)。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被远离负再塑部位注射(例如,至少约为以下任一种:距负再塑部位1、2、3、4、5、6、7、8、9或10cm)。在一些实施方式中,通过带针导管注射。

[0056] 负再塑包括血管对刺激的生理或病理响应,导致血管直径和腔直径减少。这种刺激可通过例如血流变化或血管成形术手术提供。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物的注射导致血管直径与未注射血管的直径相比增加约如下中任一种:10%、20%、30%、40%、60%、70%、80%、95%或更多。负再塑可被定量,例如通过血管造影定量为损伤部位(或疾病部位)处的直径狭窄百分比。另一确定再塑程度的方法涉及利用血管内超声(IVUS)测量损伤内的外弹性层面积。IVUS是可使外弹性层以及血管腔成像的技术。在一些实施方式中,负再塑与血管介入手术如血管成形术、支架植入术或旋切术有关。因此纳米颗粒组合物可在血管介入手术期间或之后被注射。

[0057] 在一些实施方式中,提供促进对其有需要的个体的血管正再塑的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯(如雷帕霉素)和白蛋白。在一些实施方式中,提供促进对其有需要的个体的血管正再塑的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的大环内酯涂覆有白蛋白。在一些实施方式中,提供促进对其有需要的个体的血管正再塑的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供促进对其有需要的个体的血管正再塑的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括雷帕霉素和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的雷帕霉素涂覆有白蛋白,并且其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供促进对其有需要的个体的血管正再塑的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的Nab-雷帕霉素。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在负再塑部位或邻近负再塑部位(如距负再塑部位不大于约2、1或0.5cm)。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被远离负再塑部位注射(例如,至少约为以下任一种:距负再塑部位1、2、3、4、5、6、7、8、9或10cm)。在一些实施方式中,通过带针导管注射。

[0058] 本文所用的正再塑是指与没有注射的血管的直径相比血管直径增加。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物的注射导致血管直径与没有注射血管的直径相比增加约如下中任一种:10%、20%、30%、40%、60%、70%、80%、95%或更多。

[0059] 在一些实施方式中,提供抑制对其有需要的个体的血管的血管纤维化(如内侧血管纤维化)的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯(如雷帕霉素)和白蛋白。在一些实施方式中,提供抑制对其有需要的个体的血管的血管纤维化(如内侧血管纤维化)的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的大环内酯涂覆有白蛋白。在一些实施方式中,提供抑制对其有需要的个体的血管的血管纤维化(如内侧血管纤维化)的方法,包括向血管壁或血管壁周围组

织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供抑制对其有需要的个体的血管的血管纤维化(如内侧血管纤维化)的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括雷帕霉素和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的雷帕霉素涂覆有白蛋白,并且其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供抑制对其有需要的个体的血管的血管纤维化(如内侧血管纤维化)的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的Nab-雷帕霉素。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在血管纤维化部位或邻近血管纤维化部位(例如距血管纤维化部位不大于约2、1、0.5cm中的任一个)。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被远离血管纤维化部位注射(例如,至少约为以下任一种:距血管纤维化部位2、3、4、5、6、7、8、9或10cm)。在一些实施方式中,通过带针导管注射。

[0060] 如本文所用血管纤维化是指血管中广泛的纤维(结缔)组织形成,包括,例如,内侧纤维化或外膜纤维化。血管纤维化通常与胞外基质大量沉积和肌纤维母细胞和成纤维细胞增殖有关。因此,本文所述方法在一些实施方式中抑制血管中纤维组织形成,例如与未注射血管相比抑制约如下中任一种:10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的纤维组织形成。在一些实施方式中,方法抑制血管中的胞外基质沉积,例如与未注射血管相比抑制约如下中任一种:10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的胞外基质沉积。在一些实施方式中,方法抑制血管中的肌纤维母细胞增殖,例如与未注射血管相比抑制约如下中任一种:10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的肌纤维母细胞增殖。在一些实施方式中,方法抑制血管中的成纤维细胞的增殖,例如与未注射血管相比抑制约如下中任一种:10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的成纤维细胞增殖。在一些实施方式中,血管纤维化与血管介入手术如血管成形术、支架植入术或旋切术有关。因此纳米颗粒组合物可在血管介入手术期间或之后被注射。

[0061] 因此在一些实施方式中,本文所述方法抑制腔狭窄,例如与未注射血管相比抑制约如下中任一种:10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的腔狭窄。在一些实施方式中,腔狭窄与血管介入手术如血管成形术、支架植入术或旋切术有关。因此纳米颗粒组合物可在血管介入手术期间或之后被注射。

[0062] 在一些实施方式中,提供治疗对其有需要的个体的血管再狭窄的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯(如雷帕霉素)和白蛋白。在一些实施方式中,提供治疗对其有需要的个体的血管再狭窄的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的大环内酯涂覆有白蛋白。在一些实施方式中,提供治疗对其有需要的个体的血管再狭窄的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供治疗对其有需要的个体的血管再狭窄的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括雷帕霉素和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的雷帕霉素涂覆有白蛋白,并且

其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供治疗对其有需要的个体的血管再狭窄的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的Nab-雷帕霉素。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在疾病部位或邻近疾病部位(例如距疾病部位不大于约2、1或0.5cm)。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被远离疾病部位注射(例如,至少约为以下任一种:距疾病部位1、2、3、4、5、6、7、8、9或10cm)。在一些实施方式中,通过带针导管注射。

[0063] 在一些实施方式中,提供减少对其有需要的个体的血管外膜白细胞的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯(如雷帕霉素)和白蛋白。在一些实施方式中,提供减少对其有需要的个体的血管外膜白细胞的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的大环内酯涂覆有白蛋白。在一些实施方式中,提供减少对其有需要的个体的血管外膜白细胞的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供减少对其有需要的个体的血管外膜白细胞的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括雷帕霉素和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的雷帕霉素涂覆有白蛋白,并且其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供减少对其有需要的个体的血管外膜白细胞的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的Nab-雷帕霉素。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注入外膜组织。

[0064] 在一些实施方式中,提供减少对其有需要的个体的血管的外膜血管的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯(如雷帕霉素)和白蛋白。在一些实施方式中,提供减少对其有需要的个体的血管的外膜血管的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的大环内酯涂覆有白蛋白。在一些实施方式中,提供减少对其有需要的个体的血管的外膜血管的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供减少对其有需要的个体的血管的外膜血管的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括雷帕霉素和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的雷帕霉素涂覆有白蛋白,并且其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供减少对其有需要的个体的血管的外膜血管的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的Nab-雷帕霉素。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注入外膜组织。

[0065] 在一些实施方式中,个体是人。在一些实施方式中,个体至少约为以下任一种:35、40、45、50、55、60、65、70、75、80或85岁龄。在一些实施方式中,个体具有亚洲血统。在一些实施方式中,个体是男性。在一些实施方式中,个体是女性。在一些实施方式中,个体患有下述

疾病。

[0066] 本文所述方法可用于治疗多种疾病。这些包括,例如,心绞痛、主动脉狭窄、闭塞性动脉硬化、颈动脉狭窄、脑血管动脉疾病、脑血管闭塞症、冠状动脉疾病、扩张性心肌病、心肌病、缺血性心肌病、间歇性跛行、外周动脉狭窄、肾动脉疾病、再狭窄、小血管疾病、狭窄、主动脉狭窄、主动脉瓣狭窄、透明性动脉硬化、增生性动脉硬化、二尖瓣狭窄、肺动脉瓣狭窄、三尖瓣狭窄、深静脉血栓症、外周静脉疾病和血栓性静脉炎。本文所述方法可包括治疗这些疾病中的任意一种或多种。

[0067] 在一些实施方式中,疾病选自心绞痛、心肌梗塞、充血性心脏衰竭、心律失常、外周动脉疾病、跛行或慢性肢体缺血。因此,例如,在一些实施方式中,提供治疗对其有需要的个体的心绞痛(或心肌梗塞或充血性心脏衰竭或心律失常或外周动脉疾病或跛行或慢性肢体缺血)的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯(如雷帕霉素)和白蛋白。在一些实施方式中,提供治疗对其有需要的个体的心绞痛(或心肌梗塞或充血性心脏衰竭或心律失常或外周动脉疾病或跛行或慢性肢体缺血)的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的大环内酯涂覆有白蛋白。在一些实施方式中,提供治疗对其有需要的个体的心绞痛(或心肌梗塞或充血性心脏衰竭或心律失常或外周动脉疾病或跛行或慢性肢体缺血)的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯和白蛋白(如人血清白蛋白),其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供治疗对其有需要的个体的心绞痛(或心肌梗塞或充血性心脏衰竭或心律失常或外周动脉疾病或跛行或慢性肢体缺血)的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括雷帕霉素和白蛋白(如人血清白蛋白),其中纳米颗粒中的雷帕霉素涂覆有白蛋白,并且其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供治疗对其有需要的个体的心绞痛(或心肌梗塞或充血性心脏衰竭或心律失常或外周动脉疾病或跛行或慢性肢体缺血)的方法,包括向血管壁或血管壁周围组织注入有效量的Nab-雷帕霉素。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在疾病部位或邻近疾病部位(例如距疾病部位不大于约2、1或0.5cm)。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被远离疾病部位注射(例如,至少约为以下任一种:距疾病部位1、2、3、4、5、6、7、8、9或10cm)。在一些实施方式中,通过带针导管注射。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被在血管介入手术如血管成形术、支架植入术或旋切术期间或之后被注射。

[0068] 在一些实施方式中,本文所述方法包括将纳米颗粒组合物注射在疾病部位远处。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在疾病部位近处。递送部位可与疾病治疗区域处于同一血管中,其位置与该区域纵向间隔,或可位于不同血管中。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被注射在疾病部位或邻近疾病部位(例如距(例如纵向距)疾病部位不大于约2、1或0.5cm中的任一个)。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物被远离疾病部位注射(例如距(例如纵向距)疾病部位约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10cm中的任一个)。在一些实施方式中,疾病治疗区域可在前已被植入支架,其中递送部位与支架有间隔——在同一冠状动脉中纵向远离支架或在另一冠状动脉或静脉中远离支架。

[0069] 在一些实施方式中,本文所述方法包括用针(如可展开针)注射纳米颗粒组合物。针可被定位,使得纳米颗粒组合物被递送至预期部位。因此,在一些实施方式中,方法包括定位针,穿过血管壁,和将有效量的纳米颗粒组合物递送到血管壁或血管壁周围组织中。例如,在一些实施方式中,针孔位于血管外弹性层之外,使得纳米颗粒组合物被递送至血管周围的外膜组织。在一些实施方式中,针孔被定位在血管外弹性层之外不大于约0.1mm、约0.2mm、0.5mm、0.8mm、1cm、2cm、3cm、4cm、5cm、6cm、7cm或8cm的距离处。

[0070] 在一些实施方式中,孔被定位在距血管内壁一定距离,该距离至少约为注射部位处血管的平均腔直径的10% (包括例如至少约20%、30%、40%、60%、70%、80%、90%)。在一些实施方式中,孔被定位在距血管内壁一定距离,该距离为注射部位处血管的平均腔直径的约10%至约75% (包括例如约20%至约60%、约30%至约50%)。

[0071] 针孔的位置确定可通过多种方式实现。例如,在实现针的最初定位后,可通过针注射造影剂或其他可视介质的丸剂。通过观察介质分布,例如通过荧光透视法,可估测孔位置。在一些实施方式中,多种传感器可附着或以其他方式耦联于针——通常在递送孔附近,从而检测针的位置。示例性传感器包括温度传感器、pH传感器、电阻抗传感器及类似物。还可以测量对于注射悬浮液的反压力,从而确定针位置。注射到血管壁中一般将比注射到外膜空间中产生更大的反压力。还可以监测针的插入力,例如,通过在针一部分上提供挠度计。

[0072] 给予纳米颗粒组合物的给药和方法

[0073] 注射于个体(如人)的大环内酯纳米颗粒组合物剂量可随注射血管类型、方法目的和治疗疾病类型而不同。在一些实施方式中,大环内酯纳米颗粒组合物的注射量足以抑制负再塑大于约如下任一个:5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、64%、65%、70%、75%、80%、85%或90%。负再塑的抑制可被估测,例如,通过测量血管的管或腔直径。在一些实施方式中,大环内酯纳米颗粒组合物的注射量足以促进正再塑大于约如下任一个:5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、64%、65%、70%、75%、80%、85%或90%。

[0074] 在一些实施方式中,大环内酯纳米颗粒组合物的注射量足以抑制血管纤维化大于约如下任一个:5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、64%、65%、70%、75%、80%、85%或90%。在一些实施方式中,血管纤维化是内侧纤维化。在一些实施方式中,血管纤维化是外膜纤维化。血管纤维化的抑制可被估测,例如,通过评价胞外基质沉积量和/或肌纤维母细胞和成纤维细胞的增殖量。在一些实施方式中,通过组织病理学分析评价血管纤维化,例如通过用H&E或三色法染色。

[0075] 在一些实施方式中,大环内酯纳米颗粒组合物的注射量足以使增殖指数降低大于约如下任一个:5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、64%、65%、70%、75%、80%、85%或90%。在一些实施方式中,大环内酯纳米颗粒组合物的注射量足以使腔狭窄减少大于约如下任一个:5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、64%、65%、70%、75%、80%、85%或90%。在一些实施方式中,大环内酯纳米颗粒组合物的注射量足以使外膜白细胞减少大于约如下任一个:5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、64%、65%、70%、75%、80%、85%或90%。在一些实施方式中,大环内酯纳米颗粒组合物的注射量足以使外膜血管减少大于约

如下任一个:5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、64%、65%、70%、75%、80%、85%或90%。

[0076] 在一些实施方式中,当组合物被注射至个体时,组合物中的大环内酯(例如,雷帕霉素)量在诱发毒理作用(即,临床可接受的毒性水平以上的作用)的水平以下或处于潜在副作用可被控制或耐受的水平。

[0077] 在一些实施方式中,大环内酯(例如,雷帕霉素或其衍生物,例如雷帕霉素)单位注射量在下列范围中任一种内:约0.001至约100mg,包括例如约0.001至约0.005mg、约0.005至约0.025mg、约0.025至约0.1mg、约0.1至约0.5mg、约0.5至约1mg、约1至约2mg、约2至约3mg、约3至约4mg、约4至约5mg、约5至约6mg、约6至约7mg、约7至约8mg、约8至约9mg、约9至约10mg、约10至约15mg、约15至约20mg、约20至约25mg、约20至约50mg、约25至约50mg、约50至约75mg或约50至约100mg。在一些实施方式中,大环内酯(例如,雷帕霉素)的单位注射量在如下范围内:约0.001至约100mg,如约0.005至约80mg、约0.05至约50mg、约0.1至约10mg、约0.1至约5mg、约0.5至约5mg、约0.05至约5mg或约0.5至约2mg。

[0078] 在一些实施方式中,纳米颗粒组合物中的大环内酯(例如,雷帕霉素)浓度是稀释的(约0.1mg/ml)或浓缩的(约100mg/ml),包括例如以下的任一种:约0.1至约50mg/ml、约0.1至约20mg/ml、约1至约10mg/ml、约2mg/ml至约8mg/ml、约4至约6mg/ml或约5mg/ml。在一些实施方式中,大环内酯(例如,雷帕霉素)的浓度至少约为以下任一种:0.5mg/ml、1.3mg/ml、1.5mg/ml、2mg/ml、3mg/ml、4mg/ml、5mg/ml、6mg/ml、7mg/ml、8mg/ml、9mg/ml、10mg/ml、15mg/ml、20mg/ml、25mg/ml、30mg/ml、40mg/ml或50mg/ml。在一些实施方式中,大环内酯(例如,雷帕霉素)的浓度不大于约以下的任一种:100mg/ml、90mg/ml、80mg/ml、70mg/ml、60mg/ml、50mg/ml、40mg/ml、30mg/ml、20mg/ml、10mg/ml或5mg/ml。

[0079] 纳米颗粒组合物的单位注射体积可随注射血管类型、方法目的和治疗疾病类型而不同。在一些实施方式中,单位注射体积为约0.01至约50ml,包括例如约0.01至约0.05ml、约0.05至约0.1ml、约0.1至约0.5ml、约0.5至约1ml、约1至约2ml、约2至约3ml、约3至约5ml、约5至约10ml、约10至约20ml、约20至约30ml、约30至约40ml、约40至约50ml。在一些实施方式中,单位注射体积为约0.05至约2ml、约0.1至1ml、约0.25至约0.5ml或约0.5至约1ml或约1至约5ml。

[0080] 给予纳米颗粒组合物的示例性给药频率包括但不限于,约每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月一次。在一些实施方式中,各次给药之间的间隔大于约以下的任一种:1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、8个月或12个月。在一些实施方式中,给药每3、6、9、12、15、18、21或24个月被给予。在一些实施方式中,给药至多被每3、6、9、12、15、18、21或24个月给予。在一些实施方式中,给药被至少每3、6、9、12、15、18、21或24个月给予。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物仅被注射一次。

[0081] 纳米颗粒组合物可在血管介入手术期间被注射。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物在血管介入手术期间被注射一次。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物在血管介入手术之后被注射。示例性血管介入手术包括但不限于,血管成形术、支架植入术和旋切术。

[0082] 纳米颗粒组合物

[0083] 本文所述纳米颗粒组合物包括纳米颗粒,其包括(在多个实施方式中主要由以下构成或由以下构成)大环内酯(如雷帕霉素)和白蛋白(如人血清白蛋白)。水难溶性药物(如

大环内酯)的纳米颗粒已被公开于,例如,美国专利号5,916,596;6,506,405;6,749,868、6,537,579、7,820,788,以及美国专利公开号2006/0263434,和2007/0082838;PCT专利申请W008/137148,其全部内容均被引入作为参考。

[0084] 在一些实施方式中,组合物包括纳米颗粒,其平均(average或mean)直径不大于约1000纳米(nm),如不大于约以下的任一种:900、800、700、600、500、400、300、200和100nm。在一些实施方式中,纳米颗粒的平均直径不大于约200nm。在一些实施方式中,纳米颗粒的平均直径不大于约150nm。在一些实施方式中,纳米颗粒的平均直径不大于约100nm。在一些实施方式中,纳米颗粒的平均直径为约20至约400nm。在一些实施方式中,纳米颗粒的平均直径为约40至约200nm。在一些实施方式中,纳米颗粒的平均直径为约50至约100nm。在一些实施方式中,纳米颗粒不小于约50nm。在一些实施方式中,纳米颗粒可被灭菌过滤。

[0085] 在一些实施方式中,本文所述组合物中的纳米颗粒的平均直径不大于约200nm,包括例如不大于约190、180、170、160、150、140、130、120、110、100、90、80、70或60nm中任一种。在一些实施方式中,组合物中至少约50% (例如至少约60%、70%、80%、90%、95%或99%中任一种)的纳米颗粒的直径不大于约200nm,包括例如不大于约190、180、170、160、150、140、130、120、110、100、90、80、70或60nm中任一种。

[0086] 在一些实施方式中,本文所述组合物中的纳米颗粒的平均直径不小于约50nm,包括例如不小于约50、60、70、80、90或100nm中任一种。在一些实施方式中,组合物中至少约50% (例如至少约60%、70%、80%、90%、95%或99%中任一种)的纳米颗粒的直径不小于约50nm,包括例如不小于约50、60、70、80、90或100nm中任一种。

[0087] 在一些实施方式中,组合物中至少约50% (例如至少60%、70%、80%、90%、95%或99%中任一种)的纳米颗粒落入如下范围内:约20至约400nm,包括例如约20至约200nm、约40至约200nm、约30至约180nm,和约40至约150、约50至约120、和约60至约100nm中任一种。

[0088] 在一些实施方式中,白蛋白具有可形成二硫键的巯基。在一些实施方式中,组合物的纳米颗粒部分中至少约5% (包括例如至少约10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%中任一种)的白蛋白是交联的(例如通过一个或多个二硫键交联)。

[0089] 在一些实施方式中,纳米颗粒包括涂覆有白蛋白(例如,人血清白蛋白)的大环内酯(如雷帕霉素)。在一些实施方式中,组合物包括纳米颗粒和非纳米颗粒形式的大环内酯(例如,雷帕霉素溶液的形式或可溶性白蛋白/纳米颗粒复合物的形式),其中组合物中至少约50%、60%、70%、80%、90%、95%或99%中任一种的大环内酯是纳米颗粒形式。在一些实施方式中,纳米颗粒中的大环内酯构成按重量计大于约50%、60%、70%、80%、90%、95%或99%中任一种的纳米颗粒。在一些实施方式中,纳米颗粒具有非聚合基质。在一些实施方式中,纳米颗粒包括大环内酯核心,其基本上不含聚合物(如聚合基质)。

[0090] 在一些实施方式中,组合物包括在组合物的纳米颗粒和非纳米颗粒部分中的白蛋白,其中组合物中至少约50%、60%、70%、80%、90%、95%或99%中任一种的白蛋白在组合物的非纳米颗粒部分中。

[0091] 在一些实施方式中,纳米颗粒组合物中白蛋白(如人血清白蛋白)与大环内酯的重量比为约18:1或更少,如约15:1或更少,例如约10:1或更少。在一些实施方式中,组合物中白蛋白(如人血清白蛋白)与大环内酯的重量比落入如下任一种范围内:约1:1至约18:1、约

2:1至约15:1、约3:1至约13:1、约4:1至约12:1、约5:1至约10:1。在一些实施方式中,组合物纳米颗粒部分中白蛋白与大环内酯重量比为约以下中任一种:1:2、1:3、1:4、1:5、1:10、1:15或更少。在一些实施方式中,组合物中白蛋白(如人血清白蛋白)与大环内酯的重量比为下列中任一种:约1:1至约18:1、约1:1至约15:1、约1:1至约12:1、约1:1至约10:1、约1:1至约9:1、约1:1至约8:1、约1:1至约7:1、约1:1至约6:1、约1:1至约5:1、约1:1至约4:1、约1:1至约3:1、约1:1至约2:1或约1:1。

[0092] 在一些实施方式中,纳米颗粒组合物包括一个或多个上述特征。

[0093] 本文所述纳米颗粒可以干制剂(如冻干组合物)存在,或悬浮在生物相容性介质中。适当的生物相容性介质包括但不限于,水、含水缓冲介质、盐水、缓冲盐水、任选地氨基酸缓冲溶液、任选地蛋白质缓冲溶液、任选地糖缓冲溶液、任选地维生素缓冲溶液、任选地合成聚合物缓冲溶液、含脂质乳液及类似物。

[0094] 在一些实施方式中,药学上可接受的载体包括人血清白蛋白。人血清白蛋白(HSA)是M<sub>r</sub> 65K的高度可溶性球状蛋白质,由585个氨基酸组成。HAS是血浆中数量最多的蛋白质,占据70-80%的人血浆胶体渗透压。HAS的氨基酸序列包含共17个二硫桥、1个自由巯基(Cys 34)和1个色氨酸(Trp 214)。HSA溶液的静脉内应用已被提出用于预防和治疗低血容量休克(参见,例如,Tullis,JAMA,237,355-360,460-463,(1977))和Houser et al.,Surgery, Gynecology and Obstetrics,150,811-816(1980)),并且在新生儿胆红素过多症的治疗中配合交换输血(参见,例如,Finlayson,Seminars in Thrombosis and Hemostasis,6,85-120,(1980))。考虑其他白蛋白,如牛血清白蛋白。这种非人白蛋白的使用可以是适当的,例如,在这些组合物用于非人哺乳动物的情况下,如兽医(包括宠物和农业方面)。

[0095] 人血清白蛋白(HSA)具有多个疏水结合位点(共8个,对于脂肪酸,HSA内源配体),并结合多种大环内酯,特别是中性和带负电荷的疏水化合物(Goodman et al.,The Pharmacological Basis of therapeutics,9<sup>th</sup> ed,McGraw-Hill New York (1996))。已经提出HAS的子结构域IIA和IIIA中两个高亲和力结合位点,其是高度细长的疏水袋(pockets),表面附近具有带电的赖氨酸和精氨酸残基,充当极性配体部分的连接点(参见,例如,Fehske et al.,Biochem.Pharmacol.,30,687-92(198a),Vorum,Dan.Med.Bull.,46,379-99(1999)、Kragh-Hansen,Dan.Med.Bull.,1441,131-40(1990)、Curry et al.,Nat.Struct.Biol.,5,827-35(1998)、Sugio et al.,Protein.Eng.,12,439-46(1999)、He et al.,Nature,358,209-15(199b)和Carter et al.,Adv.Protein.Chem.,45,153-203(1994))。雷帕霉素和异丙酚(propofol)已被显示结合HSA(参见,例如,Paal et al.,Eur.J.Biochem.,268(7),2187-91(200a)、Purcell et al.,Biochim.Biophys.Acta,1478(a),61-8(2000)、Altmayer et al.,Arzneimittelforschung,45,1053-6(1995)和Garrido et al.,Rev.Esp.Anestesiol.Reanim.,41,308-12(1994))。此外,多西紫杉醇(docetaxel)已被显示结合人血浆蛋白质(参见,例如,Urien et al.,Invest.New Drugs,14(b),147-51(1996))。

[0096] 组合物中的白蛋白(如人血清白蛋白)通常充当大环内酯的载体,即,与不包含白蛋白的组合物相比,组合物中的白蛋白使大环内酯可更容易悬浮于含水介质中或有助于保持悬浮。这可避免使用用于溶解大环内酯的毒性溶剂(或表面活性剂),从而可减少向个体(如人)给予大环内酯的一种或多种副作用。因此,在一些实施方式中,本文所述组合物基本

上不含(如不含)表面活性剂,如克列莫佛(包括Cremophor EL<sup>®</sup> (BASF))。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物基本上不含(如不含)表面活性剂。当纳米颗粒组合物被注射至个体时,如果组合物中的克列莫佛或表面活性剂量不足在个体中产生一种或多种副作用,则组合物“基本上不含克列莫佛”或“基本上不含表面活性剂”。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物包含小于约20%、15%、10%、7.5%、5%、2.5%或1%中任一种的有机溶剂或表面活性剂。

[0097] 本文所述组合物中的白蛋白量将取决于组合物中其它组分而不同。在一些实施方式中,组合物包括的白蛋白的量足以稳定化含水悬浮液——例如,稳定胶体悬浮液的形式(如稳定的纳米颗粒悬浮液)——中的大环内酯。在一些实施方式中,白蛋白的量使得大环内酯在含水介质中的沉降率降低。对于含颗粒组合物,白蛋白的量还取决于大环内酯纳米颗粒的尺寸和密度。

[0098] 大环内酯在含水悬浮液中被“稳定化”——如果其长时间保持悬浮在含水介质中(如无可视沉淀或沉降),长时间如至少约为以下任一种:0.1、0.2、0.25、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、24、36、48、60或72小时。悬浮液通常但非一定适于给予个体(如人)。悬浮液的稳定性通常(但非一定)在储存温度(如室温(如20-25°C)或冷藏条件(如4°C))下评价。例如,悬浮液在储存温度下稳定——如果其在悬浮液制备后约15分钟不呈现裸眼或在1000倍光学显微镜下观察时可见的絮凝或颗粒凝聚。稳定性也可在加速测试条件下评价,如在高于约40°C的温度下。

[0099] 在一些实施方式中,白蛋白存在的量足以稳定含水悬浮液中特定浓度的大环内酯。例如,组合物中的大环内酯浓度为约0.1至约100mg/ml,包括例如以下中任一种:约0.1至约50mg/ml、约0.1至约20mg/ml、约1至约10mg/ml、约2mg/ml至约8mg/ml、约4至约6mg/ml、约5mg/ml。在一些实施方式中,大环内酯浓度为至少约以下任一种:1.3mg/ml、1.5mg/ml、2mg/ml、3mg/ml、4mg/ml、5mg/ml、6mg/ml、7mg/ml、8mg/ml、9mg/ml、10mg/ml、15mg/ml、20mg/ml、25mg/ml、30mg/ml、40mg/ml、和50mg/ml。在一些实施方式中,白蛋白以避免使用表面活性剂(如克列莫佛)的量存在,使得组合物不含或基本上不含表面活性剂(如克列莫佛)。

[0100] 在一些实施方式中,处于液体形式的组合物包括约0.1%至约50% (w/v) (例如,约0.5% (w/v)、约5% (w/v)、约10% (w/v)、约15% (w/v)、约20% (w/v)、约30% (w/v)、约40% (w/v)或约50% (w/v))的白蛋白。在一些实施方式中,处于液体形式的组合物包括约0.5%至约5% (w/v)的白蛋白。

[0101] 在一些实施方式中,纳米颗粒组合物中白蛋白——例如,白蛋白——与大环内酯的重量比使得足量大环内酯结合于细胞或被细胞运输。虽然对于不同白蛋白和大环内酯组合而言白蛋白与大环内酯的重量比必须被优化,但通常白蛋白——例如,白蛋白——与大环内酯的重量比 (w/w) 为约0.01:1至约100:1、约0.02:1至约50:1、约0.05:1至约20:1、约0.1:1至约20:1、约1:1至约18:1、约2:1至约15:1、约3:1至约12:1、约4:1至约10:1、约5:1至约9:1或约9:1。在一些实施方式中,白蛋白与大环内酯的重量比为约以下中任一种:18:1或更少、15:1或更少、14:1或更少、13:1或更少、12:1或更少、11:1或更少、10:1或更少、9:1或更少、8:1或更少、7:1或更少、6:1或更少、5:1或更少、4:1或更少和3:1或更少。在一些实施方式中,组合物中白蛋白(如人血清白蛋白)与大环内酯的重量比为下列中任一种:约1:1至约18:1、约1:1至约15:1、约1:1至约12:1、约1:1至约10:1、约1:1至约9:1、约1:1至约8:1、约1:1至约7:1、约1:1至约6:1、约1:1至约5:1、约1:1至约4:1、约1:1至约3:1、约1:1至约2:1或

约1:1。

[0102] 在一些实施方式中,白蛋白使组合物能够被注射于个体(如人)而无明显副作用。在一些实施方式中,白蛋白(如人血清白蛋白)的量有效减少对人给予大环内酯的一种或多种副作用。术语“减少给予大环内酯的一种或多种副作用”是指减少、缓和、消除或避免大环内酯引起的一种或多种不需要的作用以及用于递送大环内酯的递送媒介(如使大环内酯适于注射的溶剂)引起的副作用。这种副作用包括,例如,骨髓抑制、神经毒性、过敏、发炎、静脉刺激、静脉炎、疼痛、皮肤刺激、外周神经病、粒细胞减少性发热(neutropenic fever)、过敏性反应、静脉血栓、外渗、及其组合。但是,这些副作用仅具有示例性,其他与大环内酯有关的副作用或副作用组合可被减少。

[0103] 在一些实施方式中,纳米颗粒组合物包括Nab-雷帕霉素(Celgene Corp.)。在一些实施方式中,纳米颗粒组合物是Nab-雷帕霉素。Nab-雷帕霉素是通过人白蛋白USP稳定的雷帕霉素制剂,其可被分散在可直接注射的生理溶液中。当分散在适当的含水介质如0.9%氯化钠注射液或5%葡萄糖注射液中时,Nab-雷帕霉素形成雷帕霉素的稳定胶体悬浮液。胶体悬浮液中纳米颗粒的平均颗粒尺寸为约90纳米。由于HSA可自由地溶于水中,Nab-雷帕霉素可以稀(0.1mg/ml雷帕霉素)至浓(20mg/ml雷帕霉素)的宽范围浓度重新构成,包括例如约2mg/ml至约8mg/ml或约5mg/ml。

[0104] 制备纳米颗粒组合物的方法在本领域已知。例如,包含大环内酯(如雷帕霉素)和白蛋白(如人血清白蛋白)的纳米颗粒可在高剪切力(例如,超声,高压均质或类似形式)条件下制备。这些方法被公开于,例如,美国专利号5,916,596;6,506,405;6,749,868,6,537,579和7,820,788以及美国专利公开号2007/0082838、2006/0263434和PCT申请W008/137148。

[0105] 简而言之,将大环内酯(如雷帕霉素)溶解在有机溶剂中,可将溶液加入白蛋白溶液。混合物进行高压均质。然后可通过蒸发将有机溶剂去除。可进一步冻干获得的分散液。适当的有机溶剂包括,例如,酮、酯、醚、含氯溶剂及本领域已知其他溶剂。例如,有机溶剂可以是二氯甲烷或氯仿/乙醇(例如,其比例为1:9、1:8、1:7、1:6、1:5、1:4、1:3、1:2、1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1或9:1)。

[0106] 纳米颗粒组合物中的其他组分

[0107] 本文所述纳米颗粒可存在于组合物中,该组合物包括其它试剂、赋形剂或稳定剂。例如,为通过增加纳米颗粒的负电位增加稳定性,可添加一种或多种带负电荷的组分。这种带负电荷的组分包括但不限于,胆汁酸的胆汁盐,该胆汁酸由以下构成——甘氨胆酸、胆酸、鹅脱氧胆酸、牛磺胆酸、甘氨鹅脱氧胆酸、牛磺鹅脱氧胆酸、石胆酸、熊脱氧胆酸、脱氢胆酸及其它;磷脂,包括卵磷脂(蛋黄)型磷脂,包括下列磷脂酰胆碱:棕榈酰油酰磷脂酰胆碱、棕榈酰亚油酰磷脂酰胆碱、硬脂酰亚油酰磷脂酰胆碱、硬脂酰油酰磷脂酰胆碱、硬脂酰花生四烯酰磷脂酰胆碱和二棕榈酰磷脂酰胆碱。其它磷脂包括L- $\alpha$ -二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(DMPC)、二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、氢化大豆磷脂酰胆碱(HSPC)及其它相关化合物。带负电荷的表面活性剂或乳化剂也适于作为添加剂,例如,胆固醇硫酸钠及类似物。

[0108] 在一些实施方式中,组合物适于给予人。在一些实施方式中,组合物适于给予哺乳动物,如,在兽医情况下,宠物和农业动物。存在多种适当的纳米颗粒组合物制剂(参见,例

如,美国专利号5,916,596,6,096,331和7,820,788)。下列制剂和方法仅具有示例性,而绝不具有限制性。适于口服给予的制剂可由以下组成:(a)液体溶液,如有效量的化合物——溶解在稀释剂如水、盐水或橙汁中;(b)胶囊、囊剂或片剂,均包含作为固体或颗粒的预定量活性成分;(c)在适当液体中的悬浮液;和(d)适当的乳液。片剂形式可包括乳糖、甘露醇、玉米淀粉、马铃薯淀粉、微晶纤维素、阿拉伯胶、明胶、胶体二氧化硅、交联甲羧纤维素钠、滑石、硬脂酸镁、硬脂酸及其他赋形剂、着色剂、稀释剂、缓冲剂、增湿剂、防腐剂、调味剂和药理上相容的赋形剂中的一种或多种。锭剂形式可包括处于调味剂中的活性成分,该调味剂通常是蔗糖和阿拉伯胶或西黄蓍胶,以及包括在惰性基质如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶中的活性成分的软锭剂、除包含活性成分外还包含这种赋形剂的乳液、凝胶及类似物,如本领域已知的。

[0109] 适当的载体、赋形剂和稀释剂的实例包括但不限于,乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、海藻酸盐、西黄蓍胶、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、盐水溶液、糖浆、甲基纤维素、甲基-和丙基羟基苯甲酸酯、滑石、硬脂酸镁、和矿物油。制剂可另外包括润滑剂、润湿剂、乳化剂和悬浮剂、防腐剂、增甜剂或调味剂。

[0110] 适于胃肠外给予如注射的制剂包括含水和非含水、无菌等渗注射液,其可包含抗氧化剂、缓冲剂、抑细菌剂和使制剂可与目标接受者的血液相容的溶质;和含水和非含水无菌悬浮液,其可包括悬浮剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂。制剂可存在于单位剂量或多剂量密封容器如安瓿瓶和小瓶中,并且可储存在冻干条件下,仅需在使用前刻添加无菌液体赋形剂,例如水,以进行注射。即用注射液和悬浮液可由前述种类的无菌粉末、颗粒、和片剂制备。优选可注射的制剂。

[0111] 在一些实施方式中,组合物被配制成具有约4.5至约9.0的pH范围,包括例如以下中任一种pH范围:约5.0至约8.0、约6.5至约7.5和约6.5至约7.0。在一些实施方式中,组合物的pH被配制成不小于约6,包括例如不小于约以下中任一种:6.5、7或8(如约8)。组合物也可通过添加适当的渗透压调节剂如甘油被制成与血液等渗。

[0112] 试剂盒和装置

[0113] 本发明还提供用于本文所述任一种方法的试剂盒和装置。

[0114] 例如,在一些实施方式中,提供带针(如可展开针)导管,其中针包含包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯(如雷帕霉素)和白蛋白。在一些实施方式中,提供带针(如可展开针)导管,其中针包含包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括涂覆有白蛋白的大环内酯(如雷帕霉素)。在一些实施方式中,提供带针(如可展开针)导管,其中针包含包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括大环内酯(如雷帕霉素)和白蛋白,其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供带针(如可展开针)导管,其中针包含包括纳米颗粒的组合物,该纳米颗粒包括涂覆有白蛋白的大环内酯(如雷帕霉素),其中组合物中纳米颗粒的平均颗粒尺寸不大于约200nm(如小于约200nm,例如不大于约100nm)。在一些实施方式中,提供带针(如可展开针)导管,其中针包含Nab-雷帕霉素。在一些实施方式中,针被包覆在气囊中。在一些实施方式中,针直径为约0.1至约3mm,包括例如约0.2至约2mm、约0.5至约1mm、约0.6至约0.9mm或约0.9mm。针长度一般在约20和3000微米之间,包括例如约20-50、约50-100、约100-200、约200-300、约300-400、约400-500、约500-600、约600-700、约700-800、约800-900、约1-2,和

约2-3微米之间。在一些实施方式中,导管包含大于1(如2、3、4、5、6、7或更多)根针。

[0115] 还提供试剂盒,其包括一个或多个容器,该容器包括含大环内酯的纳米颗粒组合物(或单位剂量型和/或生产制品),并且在一些实施方式中,进一步包括按照本文所述任一种方法使用的说明书。在一些实施方式中,试剂盒包括带有针的导管,该针可从血管腔被推进,穿过血管壁(例如从而使针孔在壁的外弹性层外定位);和纳米颗粒组合物,其包括大环内酯和白蛋白,其中纳米颗粒组合物可通过针注射。在一些实施方式中,试剂盒进一步包括注射器。在一些实施方式中,注射器填充有效量的纳米颗粒组合物。

[0116] 试剂盒可进一步包括适于治疗的个体选择说明。本发明试剂盒中提供的说明书一般是在标签或包装插入物(例如,试剂盒中包括的纸片)上书写的说明书,但机读说明书(例如,存储磁盘或光盘上携载的说明书)也是可接受的。

[0117] 本发明的试剂盒处于适当的包装。适当的包装包括,但不限于,小瓶、瓶、罐、柔性包装(例如,密封Mylar或塑料袋)及类似物。试剂盒可任选地提供另外的组分,如缓冲剂和解释性信息。因此本申请还提供生产制品,其包括小瓶(如密封小瓶)、瓶、罐、软包装及类似物。

[0118] 关于纳米颗粒组合物使用的说明书通常包括关于剂量、给药时间计划的信息和关于递送纳米颗粒组合物的具体说明。容器可以是单位剂量、散装(例如,多剂量包装)或亚单位剂量。试剂盒还可包括大环内酯和药物组合物的多单位剂量和使用说明书,并且以足以在药房例如医院药房和复合药房中储存和使用的数量包装。

[0119] 本领域技术人员会理解,本发明的范围和精神内可以有多种实施方式。现将参考下列非限制性实施例对本发明进行更详细的描述。下列实施例进一步示例本发明,但当然不应以任何方式被解释为限制其范围。

## 实施例

[0120] 实施例1.用微灌注导管外膜周注射的方法

[0121] 本实施例证实Nab-雷帕霉素注射在外膜周组织中。在注射前,将Nab-雷帕霉素(Celgene Corporation)在盐水中重新构成5mg/ml。

[0122] 为将Nab-雷帕霉素注射到外膜周组织中,将Bullfrog®微灌注导管(Mercator Medsystems, San Leandro CA)引入动脉,此时其处于收缩状态并且0.9mm针被包覆在气囊中(图1A)。当膨胀气囊时,针被垂直于导管轴线向外突出,此时背衬(backing)气囊提供相反的力以使针滑入动脉壁(图1B)。然后通过针将Nab-雷帕霉素递送到外膜周组织中。

[0123] 实施例2.在猪股动脉气囊损伤模型中外膜周递送Nab-雷帕霉素

[0124] 进行本实验以确定外膜周递送Nab-雷帕霉素是否可减少猪股动脉气囊血管成形术损伤模型的腔狭窄。

[0125] 在2个研究组中使用十六只幼年雄性Yorkshire杂交猪(平均重量34.9±2.3kg)(图2)。在进行全身麻醉后,通过颈动脉实现经皮进入。给予动物静脉内肝素(5000单位)。全部猪在手术后保持每日81mg阿司匹林。在处死后,用1升乳酸化Ringer溶液冲洗股动脉。然后获取动脉(药代动力学组),或随后在120mmHg下用10%缓冲福尔马林灌注固定(perfusion fixed)10分钟,然后获取(组织病理学组)。

[0126] 通过外膜周注射来注射Nab-雷帕霉素。最初诊断血管造影显示目标股动脉直径为

4mm (图3A)。将微灌注导管布置在中股动脉,并膨胀气囊(图3B)。Nab-雷帕霉素溶液和20%碘化造影剂(IsoVue 370)的外膜周注射显示血管的圆周覆盖(图3C-3E)。完成血管造影显示无阻碍的股动脉(图3F)。32个注射部位100%手术成功。平均注射时间为90秒(1ml/min)。无剥离、早期或晚期血栓,出血或动静脉瘘。

[0127] 分析Nab-雷帕霉素在股动脉中外膜周注射后的组织形态计量学结果。在治疗后第28天,用外膜周Nab-雷帕霉素治疗的股动脉具有显著增加的腔横截面面积 $p=0.01$  (ANOVA) (图4A),以及显著增加的总血管横截面面积(图4B), $p=0.005$  (ANOVA)。通过Nab-雷帕霉素治疗,在第28天腔狭窄百分比具有减少的趋势。用外膜周Nab-雷帕霉素(500 $\mu$ g)治疗的股动脉的腔狭窄在第28天减少42% (19.5+3% vs 11.4+0.8%、 $p=0.01$ t-检验) (图4C)。在第28天,Nab-雷帕霉素治疗的动脉的平均内侧纤维化核心与仅用媒介治疗的对照动脉相比显著减少(图4D), $p<0.0001$  (ANOVA)。

[0128] 分析在股动脉中外膜周注射Nab-雷帕霉素后的药代动力学结果。血液(血清)雷帕霉素水平在以500 $\mu$ g单次外膜周注射Nab-雷帕霉素后第一个小时内升高,但到第1天下降,并且到第28天不可被检测到(图5A)。在股动脉和周围血管周组织中,雷帕霉素浓度在第1小时超过血清浓度的1500-倍。雷帕霉素持续8天,并且到第28天不可被检测到(图5B)。

[0129] 分析在股动脉中外膜周注射Nab-雷帕霉素后的组织病理学结果。用媒介(图6A和6B)或Nab-雷帕霉素500 $\mu$ g(图6C和6D)治疗后28天的代表性股动脉区段显示在图6中。Nab-雷帕霉素治疗与具有类似程度的内弹性层损伤的内侧纤维化显著减少相关(插图,100 $\times$ )。将血管用H&E(图6A和6C)和三色法(图6B和6D)染色,并在25 $\times$ 下成像。

[0130] 进一步的组织形态计量学分析显示,Nab-雷帕霉素治疗与显著降低的增殖指数相关(图7A)。另一方面,对照和Nab-雷帕霉素治疗的股动脉的内皮化在第28天无差异(图7B)。

[0131] 进一步药代动力学分析显示,用500 $\mu$ g Nab-雷帕霉素治疗的气囊损伤动脉的增殖指数在第3和28天之间明显下降, $p=0.004$  (ANOVA) (图8A)。再内皮化到第8天发生(图8B)。

[0132] 此外,在第3天,用外膜周Nab-雷帕霉素治疗的动脉的外膜白细胞显著减少(图9A)。到第28天,Nab-雷帕霉素治疗的动脉具有显著减少的外膜血管(图9B)。

[0133] 本文报告的结果证明,外膜周递送Nab-雷帕霉素与血清雷帕霉素水平暂时增加和迅速下降相关。在治疗后第1小时,血管周组织中的雷帕霉素水平超过血液雷帕霉素水平的1500倍,并且雷帕霉素保留在血管周组织至少8天(图5B)。用Nab-雷帕霉素治疗的气囊损伤股动脉明显大于媒介治疗的动脉,表明负再塑较少。此外,外膜周递送Nab-雷帕霉素导致内侧纤维化显著减少。

[0134] Nab-雷帕霉素治疗的动脉证实明显减少的早期(第3天)外膜白细胞浸润。Nab-雷帕霉素治疗的动脉的Ki-67增殖指数在第28天显著降低(图8A)。

[0135] 对照和Nab-雷帕霉素治疗的股动脉的内皮化在第28天无差异,并且气囊损伤的Nab-雷帕霉素治疗后的血管的再内皮化呈现出发生在第一周内,并且呈现出到第8天完成(图10)。Nab-雷帕霉素治疗导致增殖显著降低和内侧纤维化评分显著降低,揭示雷帕霉素可影响气囊损伤股动脉再塑的机制。

[0136] 早期外膜白细胞浸润减少和随后内侧纤维化和Ki-67增殖指数在第28天减少,揭示外膜周Nab-雷帕霉素可产生效果的机制。

[0137] 虽然前述发明的一些细节已以便于理解为目的通过示例和实例得到描述,但对于

本领域技术人员而言显而易见的是，某些次要改变和改动将会被实践。因此，描述和实例不应被解释为限制本发明的范围。

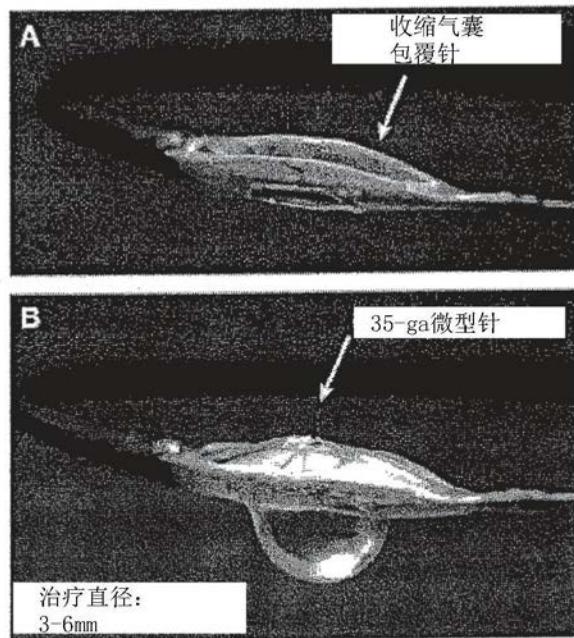


图1

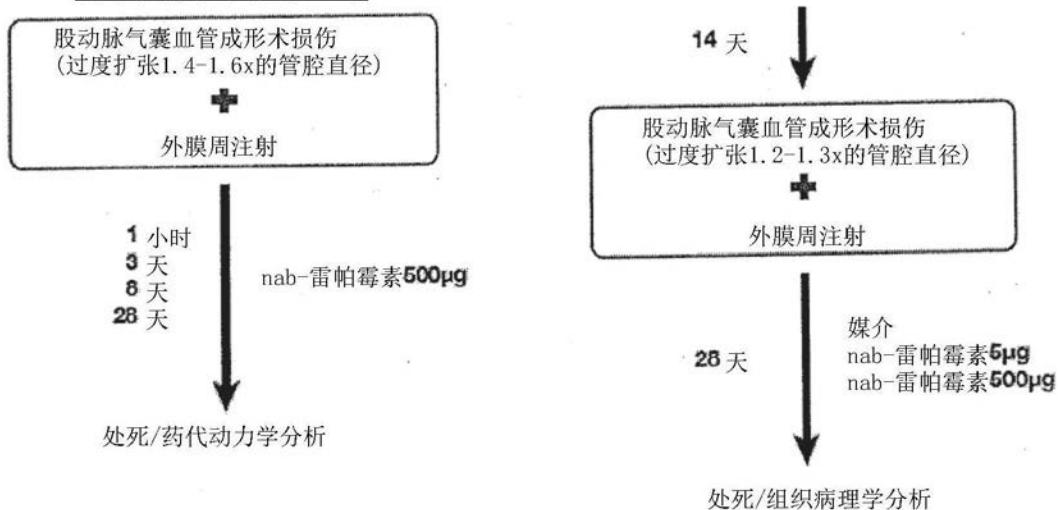
组织病理学组 (n=8)药代动力学组 (n=8)

图2A

图2B

图2

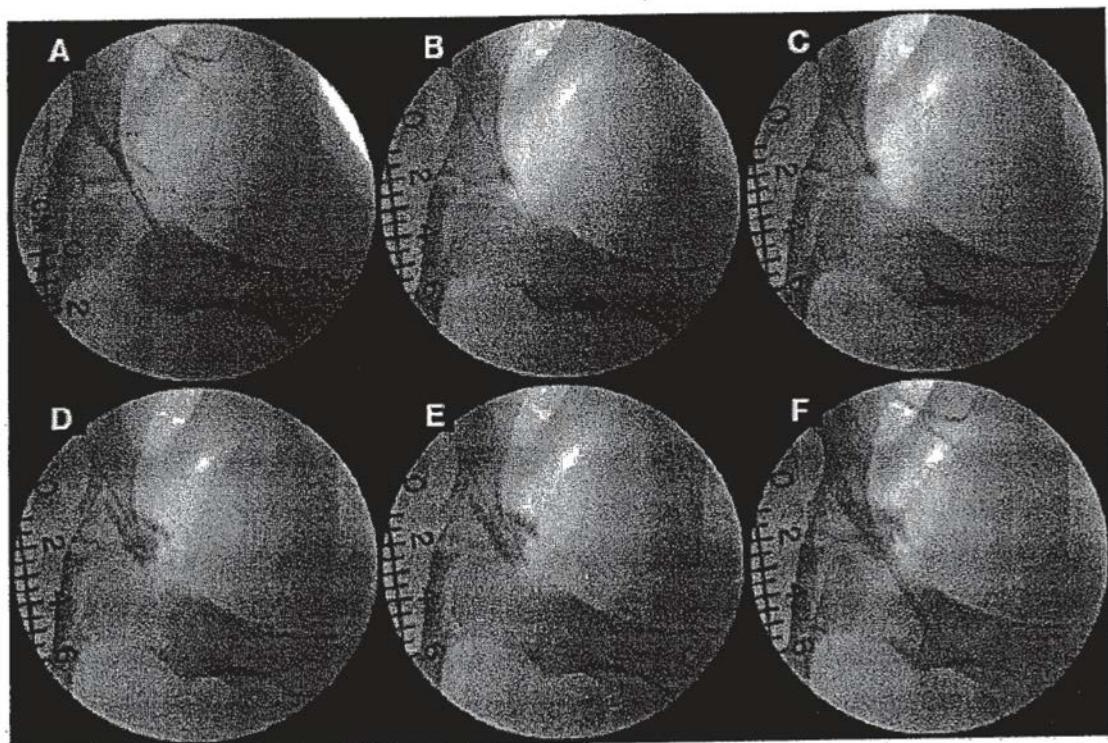


图3

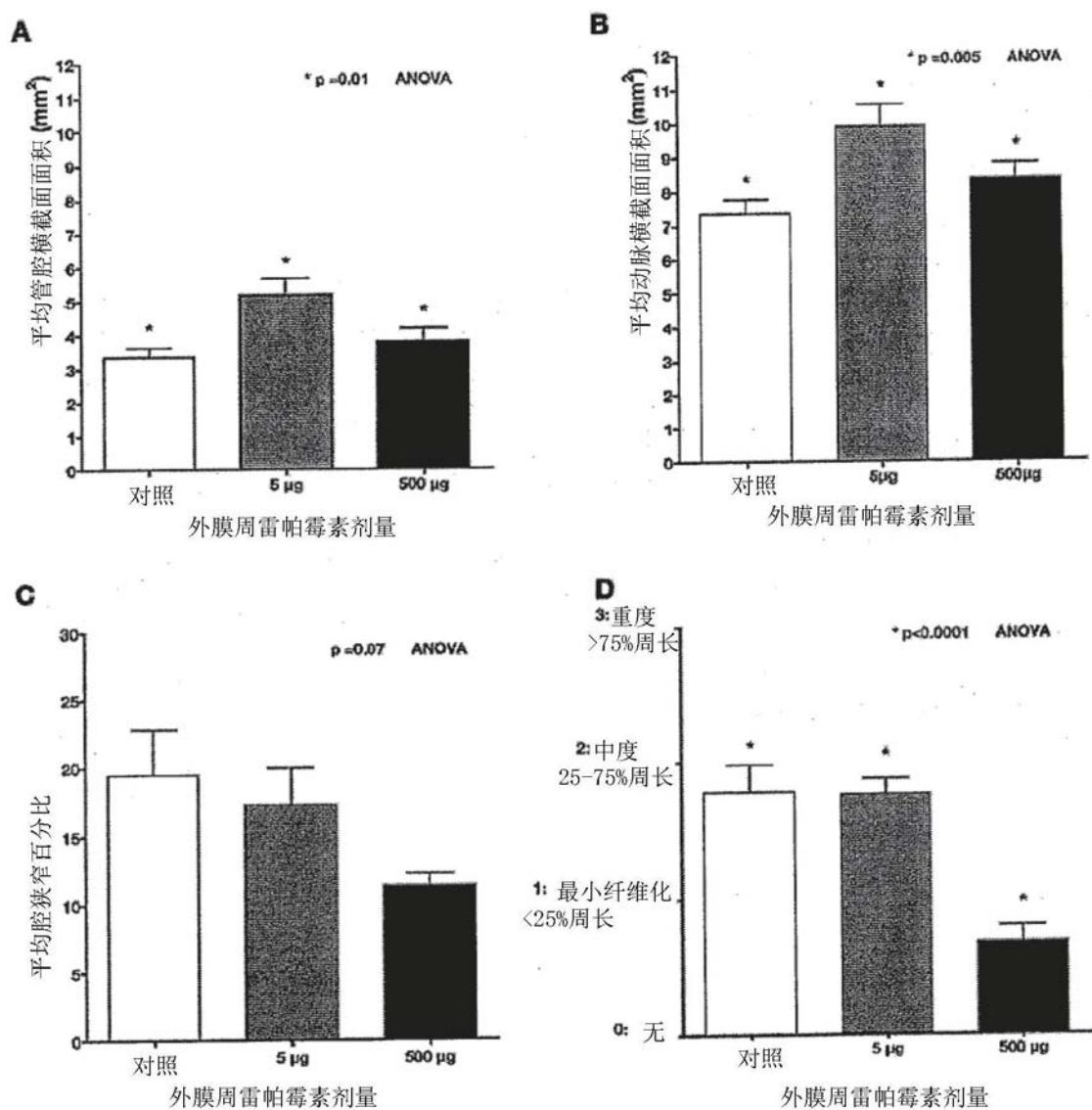


图4

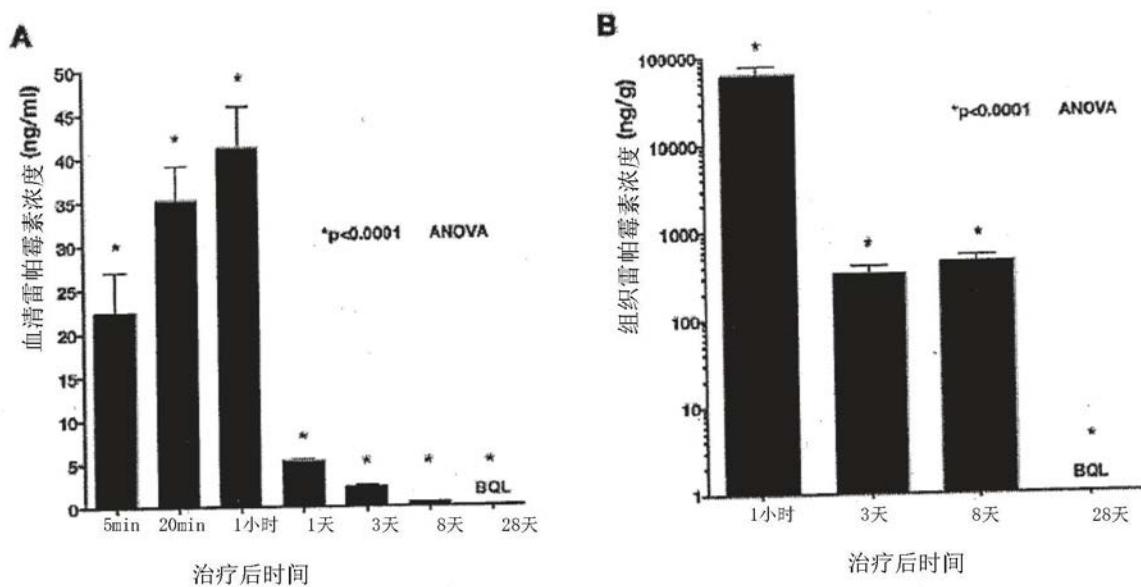


图5

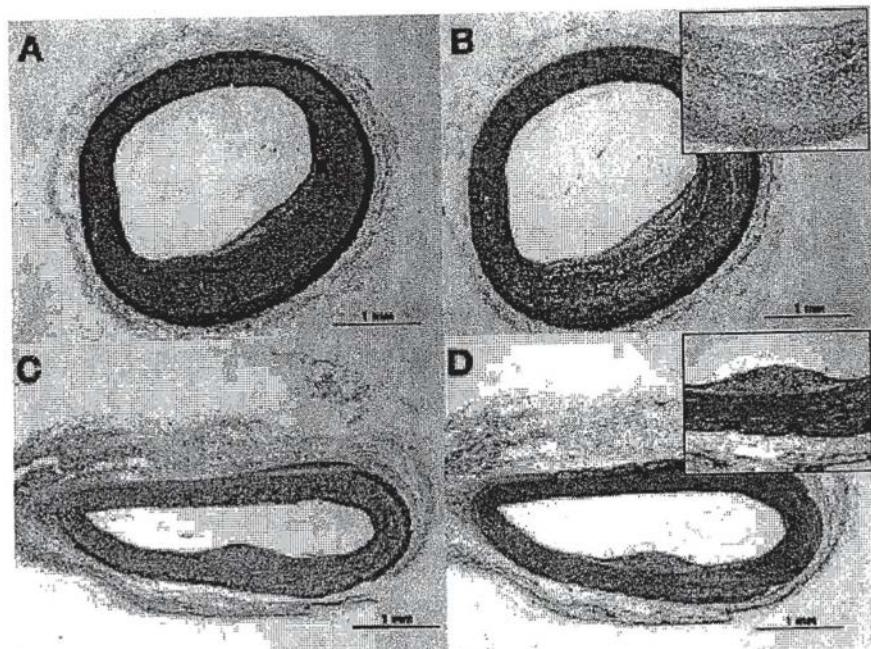


图6

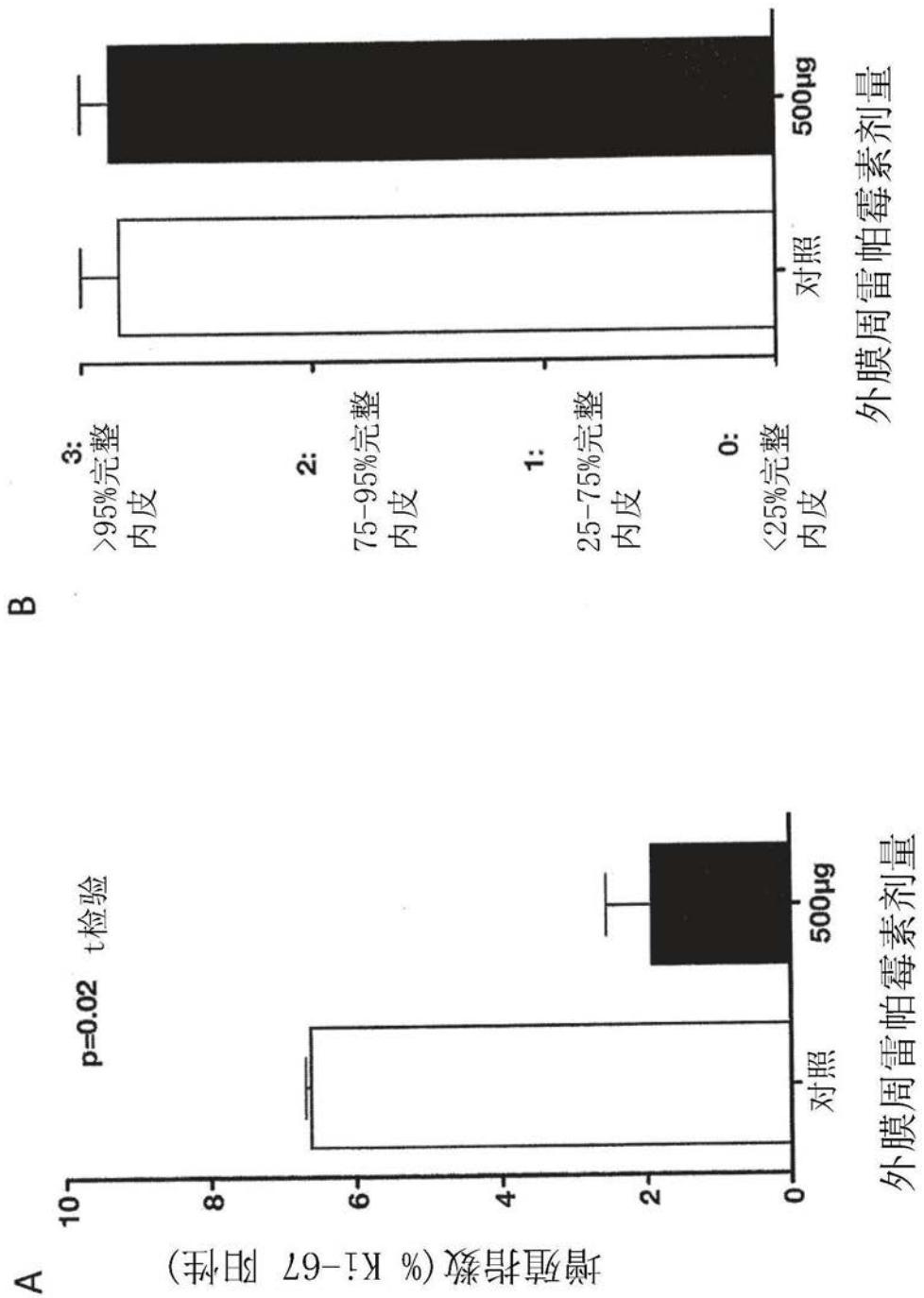


图7

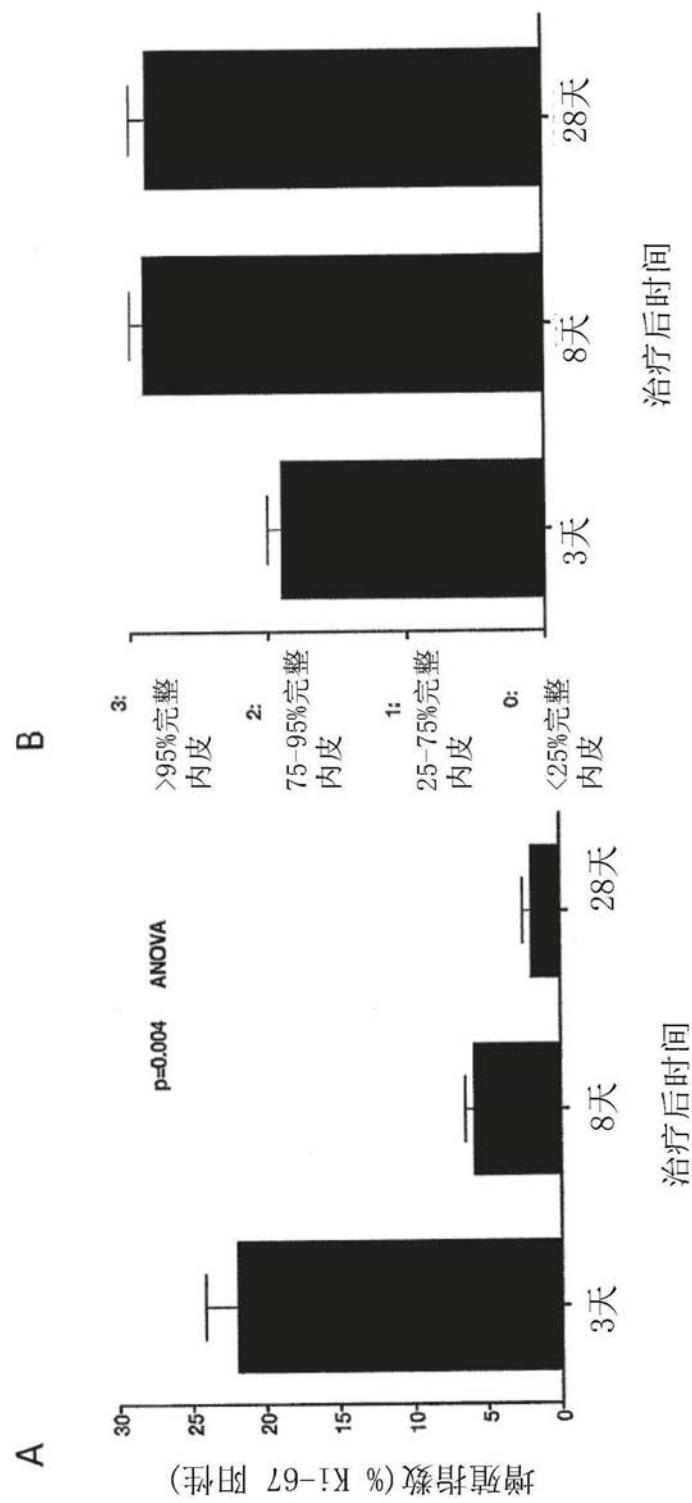
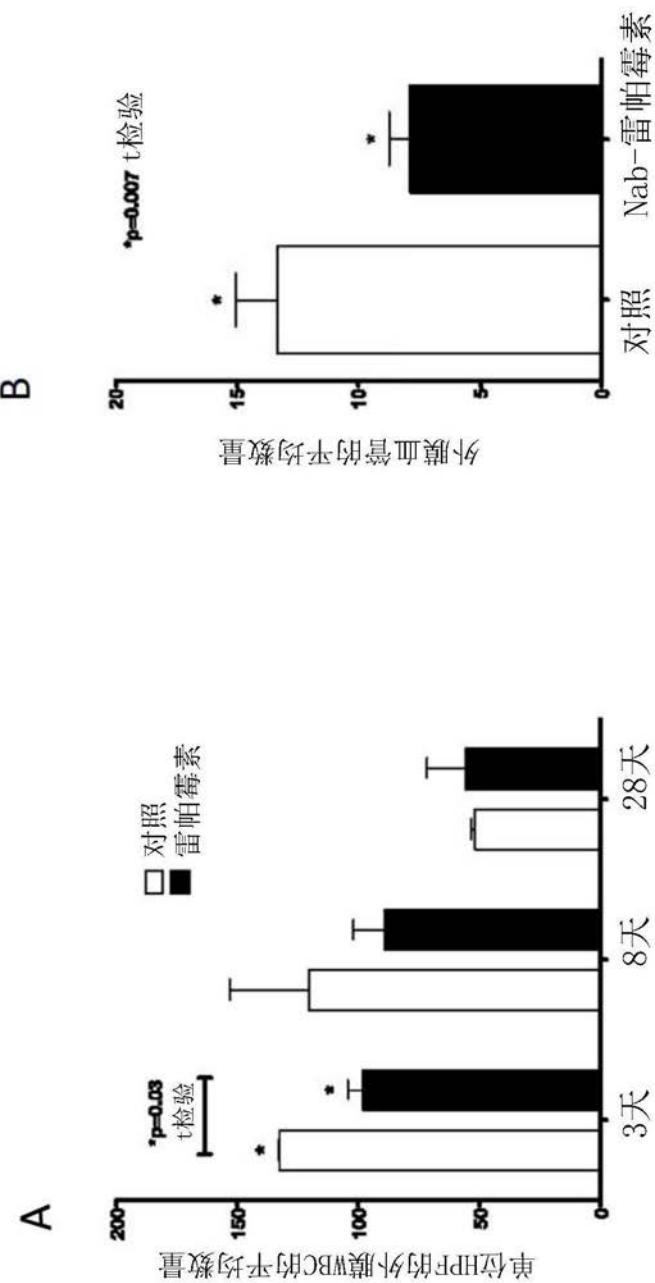


图8



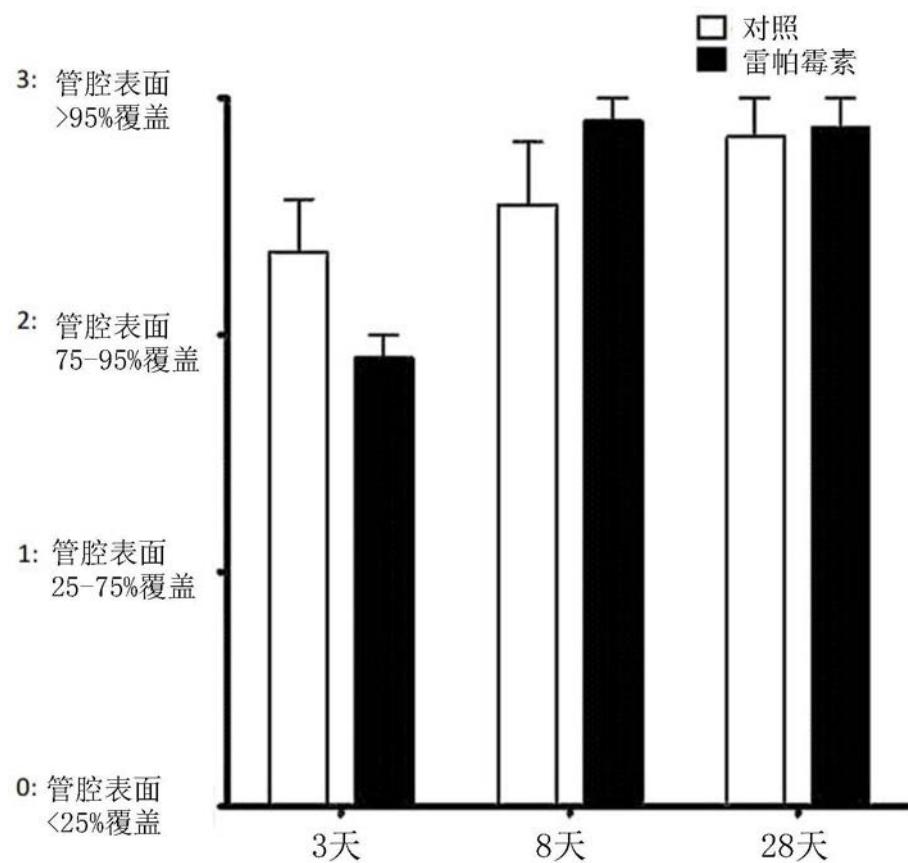


图10