



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103402543 B

(45) 授权公告日 2015. 09. 16

(21) 申请号 201180067824. 5

(22) 申请日 2011. 12. 16

(30) 优先权数据

61/423, 937 2010. 12. 16 US

61/509, 154 2011. 07. 19 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 08. 16

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2011/065422 2011. 12. 16

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/083138 EN 2012. 06. 21

(73) 专利权人 德克萨斯州立大学董事会

地址 美国德克萨斯州奥斯汀

(72) 发明人 伯耶·S·安德森 杰弗里·塔兰德

贝尼尼奥·C·瓦尔德斯

(74) 专利代理机构 北京品源专利代理有限公司

11332

代理人 巩克栋 杨生平

(51) Int. Cl.

A61K 47/48(2006. 01)

A61K 9/10(2006. 01)

A61K 9/107(2006. 01)

A61K 31/4164(2006. 01)

A61K 31/4192(2006. 01)

A61K 31/4196(2006. 01)

A61P 31/04(2006. 01)

审查员 关巍

权利要求书2页 说明书37页 附图10页

(54) 发明名称

用于胃肠外施用的吡咯药物制剂及其制备方法和治疗对吡咯化合物敏感的疾病的使用方法

(57) 摘要

一种胃肠外吡咯组合物包含由苯甲醇和 / 或酸化的醇例如乙醇和亲脂性组分例如 PEG400 构成的第一溶剂和溶解于基本上不含表面活性剂尤其是非离子型表面活性剂并具有低水平的水优选地少于 5% 的水的这一第一复合溶剂载体的吡咯或三吡咯例如伊曲康唑或泊沙康唑。所述组合物在输注至免疫受损的哺乳动物优选地人类之前可用输注液例如生理盐水或者 5% 或 10% 溶解于水的葡萄糖进一步稀释。所述组合物对于由对吡咯类敏感的微生物例如酵母和霉菌导致的感染的治疗和抑制有用,但是其可被扩展至溶解可用于治疗其他类型的感染性疾病或其他疾病例如恶性的和自身免疫性的疾病的其他药理学活性剂。

1. 一种适于胃肠外施用的药物组合物,其包含吡咯药剂和第一溶剂,所述第一溶剂包含 a) 选自苯甲醇和 / 或酸化的乙醇的醇组分和 b) 聚乙二醇 (PEG), 其中所述吡咯剂溶解于所述第一溶剂中, 其中所述组合物基本不含非离子型表面活性剂并且包含少于 5% 的水。

2. 如权利要求 1 所述的组合物, 其中所述第一溶剂包含酸化的乙醇和苯甲醇两者。

3. 如权利要求 1 所述的组合物, 其中所述第一溶剂包含酸化的乙醇。

4. 如权利要求 3 所述的组合物, 其中所述酸化的乙醇被进一步定义为乙醇和酸的组合, 并且所述第一溶剂具有 1 至 5 的 pH。

5. 如权利要求 4 所述的组合物, 其中所述第一溶剂具有 3 至 4 的 pH。

6. 如权利要求 4 所述的组合物, 其中所述酸是 HCl、柠檬酸、乙酸或谷氨酸。

7. 如权利要求 1 所述的组合物, 其中 PEG 与醇的比例为从 27 至 2。

8. 如权利要求 7 所述的组合物, 其中 PEG 与醇的比例为从 12 至 8。

9. 如权利要求 1 所述的组合物, 其中所述 PEG 选自由 PEG-100、PEG-200、PEG-300、Peg-400 和 PEG-800 组成的组。

10. 如权利要求 9 所述的组合物, 其中所述聚乙二醇是 PEG-400。

11. 如权利要求 1 所述的组合物, 其中所述第一溶剂包含 10% 至 90% (v/v) 的 PEG。

12. 如权利要求 11 所述的组合物, 其中所述第一溶剂包含 30% 至 90% (v/v) 的 PEG。

13. 如权利要求 1 所述的组合物, 其中所述第一溶剂包含 40% 至 80% (v/v) 的 PEG。

14. 如权利要求 1 所述的组合物, 其中所述醇组分是所述第一溶剂的 1% 至 99%。

15. 如权利要求 14 所述的组合物, 其中所述醇组分是所述第一溶剂的 5% 至 60%。

16. 如权利要求 15 所述的组合物, 其中所述醇组分是所述第一溶剂的 10% 至 40%。

17. 如权利要求 1 所述的组合物, 其中所述吡咯药剂是咪唑、三吡唑或噻唑。

18. 如权利要求 17 所述的组合物, 其中所述吡咯药剂是咪康唑、酮康唑、克霉唑、益康唑、奥莫康唑、联苯苄唑、布康唑、芬替康唑、异康唑、奥昔康唑、舍他康唑、硫康唑、噻康唑、氟康唑、伊曲康唑、艾沙康唑、雷夫康唑、泊沙康唑、伏立康唑、特康唑或阿巴芬净。

19. 如权利要求 18 所述的组合物, 其中所述吡咯剂是伊曲康唑。

20. 如权利要求 18 所述的组合物, 其中所述吡咯剂是泊沙康唑。

21. 如权利要求 1 所述的组合物, 其中所述组合物包含 3mg/ml 至 25mg/ml 之间的所述吡咯药剂。

22. 如权利要求 1 至 21 中任一项所述的组合物, 其中所述第一溶剂用选自由生理盐水、溶于水的葡萄糖和基于脂质的输注乳液组成的组的输注液稀释。

23. 如权利要求 22 所述的组合物, 其中所述输注液是溶于水的葡萄糖。

24. 如权利要求 22 所述的组合物, 其中稀释于所述输注液之后所述组合物包含 1mg/ml 和 5mg/ml 之间的所述吡咯剂。

25. 如权利要求 22 所述的组合物, 其中所述组合物于室温稳定至少 12 小时。

26. 如权利要求 1 所述的组合物, 其进一步限定为包含少于 3% 的水。

27. 如权利要求 26 所述的组合物, 其进一步限定为包含少于 1% 的水。

28. 如权利要求 27 所述的组合物, 其进一步限定为基本上不含水。

29. 制备如权利要求 1 至 28 中任一项所述的组合物的方法, 其包括将 a) 选自苯甲醇和 / 或酸化的乙醇的醇组分和 b) 聚乙二醇 (PEG) 混合以形成第一溶剂并且将所述吡咯剂

溶于所述第一溶剂。

30. 如权利要求 29 所述的方法,其进一步包括将所述第一溶剂用选自由生理盐水、溶于水的葡萄糖和基于脂质的输注乳液组成的组的输注液稀释。

31. 如权利要求 22 至 25 中任一项所述的组合物在制备用于治疗患有对吡咯药剂敏感的疾病的患者的药物中的用途。

32. 如权利要求 31 所述的用途,其中所述患者是人类。

33. 如权利要求 31 所述的用途,其中所述疾病是真菌、酵母或霉菌疾病。

34. 如权利要求 33 所述的用途,其中所述疾病是念珠菌、曲霉或毛霉菌感染。

35. 如权利要求 31 所述的用途,其中所述组合物被血管内、鞘内、皮下、肌肉内或局部施用。

36. 根据如权利要求 1 至 28 中任一项所述的组合物或根据如权利要求 29-30 中任一项所述的方法制备的组合物在用于真菌、酵母或霉菌疾病的治疗的药物的制备中的用途。

用于胃肠外施用的吡咯药物制剂及其制备方法和治疗对吡咯化合物敏感的疾病的使用方法

[0001] 本申请要求 2010 年 12 月 16 日提交的美国临时专利申请第 61/423,937 号和 2011 年 7 月 9 日提交的美国临时专利申请第 61/509,154 号的权益,其全文通过引用并入本文。

技术领域

[0002] 本发明一般涉及用于酵母和霉菌生物的系统感染的治疗以及更具体地涉及用于通常称为吡咯类并且包含伊曲康唑、泊沙康唑、伏立康唑、氟康唑、酮康唑以及相关化合物(包括但不限于甲苯咪唑)的一大类抗增殖(抗真菌)剂在对这一大类抗感染剂敏感的这些感染(包括但不限于真菌感染)的治疗中胃肠外施用的组合物和方法。

背景技术

[0003] 属于通常称为三吡咯化合物的一大类剂的抗真菌吡咯剂伊曲康唑(ITZA)和泊沙康唑(POSA)因它们抗酵母和各种霉菌的功效已经赢得了令人印象深刻的声誉(Ref1-28)。将这些吡咯类引入临床药物已经大大改善了 HIV 和非 HIV 感染的免疫受损个体中系统真菌感染的控制。这些化合物具有抗多种真菌感染例如曲霉病、芽生菌病、组织细胞浆菌病和念珠菌病以及局限于脚趾甲和指甲的真菌感染(甲癣)以及抗皮肤和生殖道感染(最初称为“阴道酵母菌感染”)的活性。它们同样用于经验性并超前地治疗具有发烧和低白细胞计数的可能在恶性疾病的放疗或化疗后发展真菌感染的免疫受损的患者。为了本发明的目的,所展示和讨论的大部分数据将仅属于该家族中的两个成员,即伊曲康唑(ITZA)和泊沙康唑(POSA),因为它们具有相似的临床缺点。若非特别指明,它们将以 ITZA 的标示统称。

[0004] 剂量:单次剂量或两至三次的分开的每日剂量的通常所建议的剂量在吡咯家族的不同成员间有所不同。胶囊通常随正餐服用,因为含脂质的实物改善吸收。

[0005] 假定 ITZA 和 POSA 迅速从肠道吸收。ITZA 具有约 50% 的平均生物利用率而 POSA 具有取决于营养状态和影响肠吸收的许多其他因素的“可变的”生物利用率(Ref24, 29)。因此,肠吸收是高度可变的,其取决于肠道微环境、pH、摄入食物的脂肪含量和目前仅部分了解的各种其他因素(Ref30)。不幸的是,关于肠吸收的详细的精确数据以及对决定这一可吸收的因素的彻底了解还不可得,关于进一步影响整体生物利用率的可能的肝的首过代谢的个体之间的变化也同样。这些因素的影响不能被评估,归因于缺少 IV 参比制剂。

[0006] ITZA 在水溶液中的不良溶解度和物理不稳定性已经妨碍了可用于常规临床施用以及详细的药理学研究的有用的胃肠外 ITZA 制剂的开发。增溶的 IV 制品的这一缺乏破坏了对最佳施用方案的开发并且其因此阻碍了 ITZA 和其相关类似物的最佳临床使用。相似地,可获得的 POSA 制剂限于具有借鉴 ITZA 的那些的流通问题(logistical problem)(即不规则的和不可预知的肠吸收)的相关谱图的口服悬浮液,其取决于允许最佳吸收的肠 pH 和肠脂质含量,这因不同程度的肝首过摄取而进一步恶化(24、29、30)。

[0007] 临床挫折在于这些在其他方面优秀的抗真菌剂相关的实用性问题;在一个方面,它们广泛的抗真菌谱促使对免疫受损的患者中已经确立的霉菌感染的控制越来越好和当

化合物以超前或预防性方式使用时高风险患者群中临床证实的霉菌感染的降低,而另一方面口服剂量递送后系统暴露上缺乏一致性是麻烦的,尤其是在系统真菌(特别地霉菌)感染的早期治疗阶段,当其对迅速建立的感染控制至关重要时。

[0008] 由于不可靠的肠吸收,口服抗真菌剂的使用在许多类型的免疫缺陷的患者,包括患有 HIV 感染的那些,正经历对恶性疾病的化疗和移植抗宿主病的发生可进一步损害肠道功能并且因此妨碍药物生物利用率时造血干细胞移植后的患者中明显欠佳。在这些患者中,导致胃酸过少(hypochlorhydria)或胃酸缺乏症和/或腹泻的并行药物治疗的递送同样可影响口服药物的肠吸收。此外,在患有获得性机会性真菌感染的患者中迅速获得抗真菌剂的治疗性血液和组织浓度的能力至关重要。由于所有这些原因,对 ITZA、POSA 和以后的吡咯物质的胃肠外制剂的开发是高度期待的(Ref31)。

[0009] 基于从接受单次 IV ITZA 输注以及之后的口服药物剂量的健康志愿者中的数据开发的以及随后在患有机会性真菌感染的感染 HIV 患者中验证的药物动力学模型,结论是在两天每天两次的 200mg 的“加载阶段”以及之后另外 5 天相同剂量的每天一次给药中给出的 ITZA 的 IV 给药方案将产生与采用作为胶囊 28 天或口服溶液 14 天给出的口服 ITZA 所获得那些相似的 ITZA 浓度,(Ref32)。这些考虑导致对被引进临床医学和被美国 FDA 批准在具有系统真菌感染的患者中使用的 IV 施用的微晶 ITZA 悬浮液的开发。然而,由于稳定性问题,这一制剂早在 2009 年就被来自 US 市场的供应者主动撤出了。

[0010] 与 ITZA 和 POSA 的口服施用有关的问题仍未改变,而对这些吡咯类的胃肠外施用形式的需要成为临床上高度期望的尚未满足的需要。溶解度问题迄今仍阻碍对这两种吡咯类似物的胃肠外可接受制剂的开发。而且,用 ITZA 和 POSA 两者获得的最新的药代动力学数据显示伴随对血浆浓度的仔细监测的(口服)施用将改善对已确定的真菌感染的控制。这样的发现将进一步激发对用于溶解和增溶所述药物以使它们可具有高精度度和完全的剂量保证地在高风险患者中施用而没有对肝首过消除的担忧和为了促进确保可获得的系统药物生物利用率的必要的可再现的肠吸收而对已确立的患者的最佳营养状态和完好的肠道功能的持续需要的胃肠外溶剂体系技术的开发(Ref31)。这些胃肠外施用形式将同样允许对各种施用计划的更彻底的研究以进一步改善感染控制。

[0011] 之前增加不良溶解药物的溶解度的方法包括加入表面活性剂。美国专利申请第 2009/0118354 号描述了使用一种或多种非离子型表面活性剂(更优选地聚山梨酯 80)增溶多西他赛的制剂。相似地,美国专利申请第 2009/0253712 号公开了用于吡咯抗真菌剂的需要表面活性剂(更优选地聚山梨酯 80)的水性溶剂系统。已经确立表面活性剂对人类有毒性作用(Ref. 33、34、35)。非离子型表面活性剂可改变酶活性、刺激皮肤并更改血细胞的渗透性(33)。Cremophor EL™(聚氧乙烯蓖麻油),一种非离子型表面活性剂,被发现导致过敏性超敏反应、高脂血症和神经毒性(36)。聚山梨酯 80 同样诱导严重的过敏性反应(37)。因此,不需要使用非离子型表面活性剂的溶剂体系的制剂是有益的。

[0012] 由于增溶剂例如非离子型表面活性剂的毒性,之前增加不良溶解药物的溶解度的方法还包括加入水作为稀释有毒的表面活性剂的方式。参见例如美国专利申请第 2009/0253712 号,其描述了用于吡咯抗真菌剂的溶剂系统,在所述溶剂系统中使用水(在更优选的实施方案中体积计 60-80% 的水),其被表明是为了将与表面活性剂相关的毒性稀释掉(参见例如第 [0034] 段)。然而,吡咯类是高度亲脂的而水的存在可导致热力学上不稳定

的脂质乳液并且明显降低了药物的稳定性。而且脂质乳液容易聚集、絮凝和聚结(38)。如果乳液的同质性被显著破坏,那么药物递送受损。更重要的是,被破坏的乳液导致严重的有害反应,包括血浆来源的脂肪栓塞(39)。因此,为了保留和优化对危重患者的治疗安全性,有提供基本上不含非离子型表面活性剂并具有最小水含量的胃肠外药物递送系统的需要。

发明内容

[0013] 本发明涉及药物制剂,以及更具体的实施方案,涉及含有药剂例如伊曲康唑(ITZA)和相关抗感染剂的吡咯的胃肠外制剂。本发明的胃肠外制剂对治疗和/或抑制酵母、霉菌和对属于这一大类药物的化合物敏感的其他生物的系统感染有用。胃肠外制剂避免了口服制品的不期望的不确定的生物利用率和不可预知的肝首过摄取以及就实际溶解而言所述剂现在摆脱了随药物活性剂的不溶性微粒,更经常地称为胶体,或微粒悬浮液,或微晶悬浮液的血管内递送所经历的缺点。

[0014] 本发明提供药学上稳定的并且胃肠外可接受的吡咯化合物的新型制剂,其可被用于人类和家畜动物中由酵母、霉菌和其他感染剂导致的感染的血管内或其他系统(或局部)治疗。本发明的制剂基于潜溶的原则。本发明的优选的潜溶剂组合物是药学上可接受的、非毒性的并且在室温下稳定多个小时。

[0015] 根据本发明的优选的制剂可与临床上可接受的水性胃肠外输注液例如生理盐水或溶于水的葡萄糖混合,作为最终稀释物。使用不同株的持续生长的霉菌和酵母作为靶,根据本发明的优选的制剂在组织培养中保留全部体外活性,证实我们的根据本发明的制剂在溶解时没有失去它们的活性。本发明的制剂可以使用静脉内途径作为原型施用形式血管内使用并且在小鼠模型中已经成功用于血管内施用以证实基于与公开文献中所反映的在口服有效的制剂的临床常规施用中获得的血浆浓度的比较在临床相关剂量所获得的血浆浓度在活性范围内。在使用本发明的优选制剂的小鼠模型中获得的初级药代动力学已经在施用吡咯家族的不同成员之后至少一小时产生了可检测的(抑制真菌)浓度。

[0016] 因此,本发明的一个实施方案涉及用于胃肠外使用的含有伊曲康唑的组合物,其包含伊曲康唑(ITZA)和包含醇例如苯甲醇和/或乙醇(EtOH)和用以获得低的稳定的pH(优选地在1至5的范围内)的酸例如HCl或有机酸和用以提供/模拟非极性/亲脂性环境的最后的聚乙二醇(PEG)优选地聚乙二醇-400(PEG-400)的第一溶剂,其中组合物基本上不含非离子型表面活性剂或其中以无毒的非常低的量包含这些表面活性剂,并且此外其中所述组合物含有少于5%的水,优选少于3%的水以及还要更优选少于1%的水或最优选基本上不含水。由于它们的毒性作用而尤其不期望的非离子型表面活性剂包括但不限于 Cremophor EL™、聚山梨酯 80、聚山梨酯 20、聚山梨酯 40、聚山梨酯 60、聚山梨酯 65、Brij35、Brij58、Brij78、Brij99、linear primary alcohol 直链伯醇乙氧基化物(例如NEODOL)、Lubrol PX、Emulgen913、壬苯醇醚-9、Triton X-100、聚氧乙烯-10-油基醚、聚氧乙烯-10-十二烷基醚、N,N-二甲基-十二烷基-N-氧化物和类似物

[0017] 药学活性的吡咯剂在所述复合溶剂载体中溶解。在施用前,所述组合物优选包含容易获得的水性灌注液例如0.9%氯化钠(NS)或者5%或10%的溶于水的葡萄糖(分别为D5W和D10W)的二级稀释液稀释。所获得的稳定的最终使用制剂含有溶解的药学活性剂,其在室温(RT)溶解,多个小时保持稳定,有利于常规处理和对患者的施用。

[0018] 本发明的新型溶剂载体不限于 ITZA 和 POSA,而是可用于促进其他非水溶性药物,优选扩展的吡咯家族成员,的胃肠外施用。因此,本发明的另一个实施方案包括用于胃肠外使用的组合物,其包含:非水溶的或不良水溶/亲脂性的药学活性剂;和第一溶剂,所述第一溶剂包含醇(例如苯甲醇和/或酸化 EtOH)和用以提供酸性环境的酸和用以提供非蛋白性的亲脂性环境的 PEG,优选 PEG400。所述剂溶于所述第一溶剂。所述组合物任选进一步包含第二稀释液,其包含用于促进随后对哺乳动物优选人类或(大型)家畜动物的系统施用的水性输注液。

[0019] 本发明同样包括制备用于胃肠外使用的不良水溶的/亲脂性的药学活性剂的方法,其包括提供自身实际上是非水溶的药学活性剂在初级溶剂中的溶液(“储存液”)并将所述药学活性剂在二级的临床上可接受的输注液中稀释以提供最终临床使用制剂的步骤。根据本发明的一个实施方案,初级溶剂通过将 PEG 与酸化的醇例如 EtOH 和/或苯甲醇混合来制备而所述剂例如 ITZA 或 POSA 溶于其中。将药学活性剂溶于复合第一溶剂之后,所述方法还可包括将初级储存制剂与二级稀释液例如水性输注液混合的步骤,以促进其作为用于预期对吡咯治疗敏感的系统疾病(例如真菌感染)的临床治疗方法的临床施用。在特别优选的实施方案中,PEG 与醇的比例在 27 至 2 的范围内,且更优选的在 12 和 8 之间,并且将具有约 1 至 5 更优选 3 至 4 的 pH。

[0020] 本发明还包括治疗对吡咯类敏感或响应的疾病的方法,包括向患者胃肠外施用含有治疗上有效的溶解量的 ITZA、POSA 或其他吡咯的药物组合物,所述组合物包含:药学活性吡咯衍生物;第一溶剂,所述第一溶剂含有醇和用以提供稳定的低于生理的(低的) pH 的酸和用以提供亲脂性环境的 PEG,其中吡咯溶解于所述第一溶剂;和第二溶剂,所述第二溶剂包含临床上可接受的且通常可得的水性输注液。

[0021] 本发明的还有另一个实施方案涉及向哺乳动物胃肠外施用吡咯的方法,包括:提供水性制剂,其中自身具有非常有限的水溶解度的药学活性剂。通过利用潜溶途径,药学活性剂以稳定方式在临床相关浓度溶解以产生初级复合溶剂;将吡咯溶解于初级稀释液以产生储存制剂;将储存制剂与第二稀释液混合形成临床上可接受的输注液;并且将所述输注液施用于哺乳动物。优选地,醇是 EtOH 或苯甲醇而酸是 HCl 和柠檬酸、乙酸或谷氨酸,同时通过 PEG 例如 PEG-100、-200、-300、-400、-800 和类似物构建亲脂性环境。

[0022] 本发明的其他目标和优点部分展示于其后的说明中,并且,部分地,从这一说明来看是显而易见的,或可从本发明的实行获知的。

附图说明

[0023] 下列图形成本发明说明书的一部分并且被包括以进一步说明本发明的某些方面。可以参照这些附图中的一个或多个与本文所示的具体实施方案的详细描写相结合而更好地理解本发明

[0024] 图 1A-1E 是显示室温(图 1A)和 40°C (图 1B)时含有 4mg/mL ITZA 的优选的苯甲醇-酸化的 EtOH/PEG-400 的初级溶剂制剂(即原型初级溶剂载体 H3)中伊曲康唑的稳定性的图表。图 1C 显示室温时溶于溶剂 H3/生理盐水(1:1)中室温时伊曲康唑的稳定性(终浓度约 2.0mg/mL)。适当时在重复试验中增溶和测试不同批次的伊曲康唑。X 轴代表各图中的以天或小时计的时间,Y 轴代表 mg/mL 计的实际药物浓度。图 1D 和 1E 显示具有 11.7%EtOH

且缺少苯甲醇的 H3 变体 H3D 和 H3G 中的 ITZA 稳定性。图 1D 和 1E 分别显示在作为最终稀释液的 NS 或 D5W 或 D10W 不存在或存在时 H3 变体溶剂 H3D 和 H3G 中 ITZA 的稳定性。

[0025] 图 2 是伊曲康唑浓度对曲线下面积(AUC)的标准曲线的实例(曲线下面积,用于表示色谱图中峰的实际测量面积的术语并且也用于向动物或人类施用药物后经过若干小时后血浆浓度对时间曲线下面积,用于在稳定性研究中使用的高压液相色谱(HPLC)测定。X 轴显示以 mg/mL 计的浓度而 Y 轴显示 AUC。为药理学研究准备类似的标准曲线。

[0026] 图 3A-3D 描绘从实施例 1 描述的溶解度 / 稳定性研究中的 HPLC 测定获得的色谱图。所注射的样品体积为 10 μ l。图 3A 空白样品,仅溶剂,无药物。图 3B 含有 ITZA 的样品,表明在所使用的条件下具有约 4.7-5.5 分滞留时间的 ITZA 特异性峰。图 3C 和 3D 显示用 POSA 获得的类似的色谱图数据,POSA 的滞留时间为 2.5-3 分钟。

[0027] 图 4 是显示 NS 中最终使用溶剂制剂的溶血潜能(原型 H3 酸化的 EtOH $\pm$ 苯甲醇 / PEG-400 溶剂载体)的图表。分析了溶剂:血液的各种组合。

[0028] 图 5 是描绘最终使用制剂中 ITZA 抗烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)分离株的抗真菌活性的图片且随附的表格表明在这一溶剂载体系统中增溶时吡咯家族不同成员之间抗不同酵母和霉菌菌株的差异。

[0029] 图 6A-6F 显示如实施例 3 中描述所提取并之后经历 HPLC 分析的血浆样品的色谱图。图 6A 显示空白血浆样品,图 6B 显示混有溶于新的原型制剂的 ITZA 的血浆样品而图 6C 显示来自药理学的色谱图,其中小鼠以估计 5mg/kg IV 注射总体积约 100 μ l 的伊曲康唑 3-4 分钟,施用药物后 20 分钟抽取样品。图 6D-6F 显示来自用 POSA 作为可替换吡咯进行的体外稳定性和体内实验的色谱图。

[0030] 图 7A 和 7B 是显示当以 3-4 分钟分别将 5mg/kg ITZA (7A) 和 5mg/kg POSA (7B) 注射至小鼠中时血浆浓度随时间变化的图表。X 轴显示以分钟计的给药之后的时间。Y 轴显示以 μ g/mL 血浆计算的 ITZA 或 POSA 的浓度。所述图表表明当以所描述的设置胃肠外注射时可用这些制剂获得临床适合的血浆浓度。

具体实施方式

[0031] 本发明涉及含有抗感染剂(优选地属于描述为吡咯类的一大类化合物)的可胃肠外施用的新型制剂。本发明提供在复合的药学上可接受的载体中真正增溶的药物以使所溶解的药物于室温(RT)保持物理和化学上的稳定超过 24 小时。本发明允许药物以在人类和动物中获得显著的临床相关作用所必需的剂量胃肠外施用而没有来自所提议的复合溶剂载体的过度毒性。本发明的优选的实施方案允许 ITZA 和相关吡咯剂的血管内或腔内的或鞘膜内的施用,其在可替换的制剂中增溶以增加药物施用的临床安全性和效用,并允许探索另外的可替换的施用计划。作为结果,可获得对这些剂敏感的感染的改善的控制。

[0032] ITZA,作为口服施用抗真菌剂的代表性实例,(三)-吡咯类,之前在人类和家畜动物中已经被广泛研究(Ref1-29, 32, 4042);这一或这些药物已经在临床和实验设置中很好地证明了抗感染特性。然而,在本发明之前,增溶的 ITZA, POSA 和称为三吡咯类或简单地吡咯化合物的这一不同化学品家族的其他成员的可接受的胃肠外制剂,并非一贯可得,但是已经通过允许这些吡咯类的微晶悬浮液的使用实现了胃肠外施用。这些制剂的可变且某种程度上不可靠的稳定性已经产生了变化的不可预知的结果。因此,伏立康唑是目前商业上

可得的这样的制剂,而 ITZA 则被其制造商从美国市场上主动撤回,而 POSA 尽管制造商反复尝试提供临床上可用的胃肠外制剂但仍不可得。

[0033] ITZA 和 POSA 的真正增溶的胃肠外制剂在因为多种原因而不能持续摄取口服制品(例如诸如在对急性白血病和其他恶性疾病的(密集)常规化疗之后和(同种异体)造血干细胞移植之后通常经历的)的免疫受损的患者中作为对系统感染病症的治疗是有用的,其中移植后早期药物相关的恶心、呕吐、腹泻和胃肠道粘膜炎以及并行药物的施用可损害口服药物的生物利用率,而之后当肠的移植物抗宿主病和其治疗发生时可导致相似的状况。在这些患者中,胃肠外药物施用提供了对所递送的剂的系统药物递送 / 药代动力学的完全控制以及用口服制剂不可简单获得的精确性(Ref31)。不幸的是,ITZA 是不良水溶剂,在可与人类施用相容的生理上可接受的水性溶剂 / 输注液中具有极其低的溶解度。在本发明之前,目前仅可获得的施用形式是口服制品(胶囊和口服悬浮液),而之前可获得的用于 IV 施用的微晶悬浮液在 FDA 批注后由于其不可预知的药学表现被其供应者立即撤回。就发明人所知,从未获得真正增溶形式的 ITZA,而仅有胶体或溶于羟丙基- β -环糊精的微晶悬浮液(Ref42)。

[0034] 本发明基于潜溶原则使用新的一系列复合稀释载体增溶 ITZA 和 POSA 而不影响它们的抗感染活性。而且,优选的溶剂在建议的浓度和所使用的总剂量对人类和哺乳动物最优选地人类和家畜动物中的其他血管内施用是无毒和安全的。

[0035] 如下文实施例中讨论的,已经开发了获得临床活性吡咯类的稳定的药学上可接受的增溶由此使其对血管内施用这些药物来说是安全的新型载体。最初进行了敏感并且特异性的 HPLC 分析,其允许浓度低至 5-10ng/ml 的 ITZA 的可再现的定量。同时,开发提取技术以在 IV 施用后从血浆回收 ITZA 和 POSA。开始对新配制的载体中药物稳定性的研究以帮助鉴定对溶血潜能和抗感染活性的体外研究来说的最佳制剂。最后,稳定的新的最终使用制剂中的两种(ITZA 和 POSA 被溶解在原型溶剂载体并用 NS 或溶于水的葡萄糖稀释)以 5.0mg/kg 体重 (BW) IV 注射至小鼠中。可再现的结果说明在这些动物中 IV 施用这些新型药物制剂之后可获得临床相关的抗真菌浓度。而且,新的制剂产生明显在抗感染范围内的血浆药物浓度,证明本发明的优选的制剂可被用于人类和家畜动物中感染性疾病的血管内治疗。

[0036] 如实施例中所示,利用无毒的复合溶剂系统,几种吡咯类被成功配制用于血管内使用。使用与临床上可接受的输注液生理盐水(NS)、分别 5% 和 10% 的溶于水的葡萄糖(D5W 和 D10W)混合的非毒性初级溶剂载体,生产了室温下稳定超过 24 小时的制剂。ITZA 制剂(例如在加入二级 / 最终水性稀释液之前)在室温稳定几天,易于处理并且提供可靠并且容易控制的始终如一的系统剂量施用,并且根据定义保留 100% 生物利用率(Ref31)。

[0037] 在本发明的优选的实施方案中,使用苯甲醇与酸化的乙醇和 PEG400 组合作为初级载体或溶剂溶解 ITZA。这些溶剂可进一步与次级 / 最终水性稀释液例如常规可获得的水性输注液 0.9% 氯化钠(NS)、D5W 和 D10W 混合。这些终端稀释液 / 输注液是任何医院中常规可获得的载体的实例。在 IV 施用之前,ITZA 和 POSA 以约 3-6mg/mL 的浓度溶解并且之后与次级 / 最终稀释液混合至约 1.5-3mg/mL 的使用浓度。

[0038] 尽管 ITZA 是非常亲脂性的,但是酸化的醇 / PEG400 溶剂载体的使用将其迅速溶解并且立即将所述剂稳定以便在二级水性稀释液中进一步稀释,以便以相似的体积使用。制

剂的稳定性允许延长的输注而没有由于物理沉淀或化学降解的药物活性的可观损失,以及提供了连续一整天对患者施用重复剂量的机会,不用考虑“药房营业时间”所带来的限制,之前在系统机会性真菌感染的治疗中并未考虑的某些事情。这允许非常开明的对新的施用计划的研究以将患者从使用这些剂的治疗的获益最大化并且其允许迅速“装载”以达到有助于迅速优化感染控制的稳态组织药物浓度。

[0039] 如实施例中所示,各种所描述的复合溶剂载体被成功用于以从少于 2mg/mL 至至少 30mg/mL 的浓度范围溶解 ITZA。这一广泛的范围涵盖体内产生以治疗这些药物敏感的感染的抗真菌浓度所必须的剂量的施用。而且,这一范围足以在患有系统霉菌和其他感染的患者中获得有效血浆浓度,如之前利用口服可获得的各个药物的相似物的研究所表明的。

[0040] 在实验性动物中获得的数据证明稳定的 ITZA 和 POSA 制剂将允许系统真菌感染的胃肠外治疗。根据定义这些制品持续提供 100% 的药物生物利用率(Ref31)并且其使得可以规避不可预知的并且高度可变的肠吸收和促成不可预知的生物利用率和次佳的治疗效用的可能的肝首过摄取。缓慢的 IV 注射后,血浆 ITZA 浓度明显达到并且在延长的时间内保留在通过其抗各种来自人类患者的酵母和霉菌分离株的活性的体外研究以及基于对正用口服相似剂治疗这些感染并且已经经历了 ITZA 和 POSA 的药代动力学研究的患者的研究所建立的有效范围内(Ref32、42、45)。

[0041] 各种生物和化学方法被用于证实优选的吡咯药物制剂在约 4mg/mL 于 RT 稳定几天。如实施例中所示,一种这样的制剂在约 4mg/mL 的“储存配方”浓度稳定至少 7 天,而另一种制剂稳定至少 4 天,如体外抗几种不同的酵母和霉菌菌株所测定的它们均保留完好的抗真菌活性。在这些生物学测定中,将商业上可获得的 ITZA 溶解于 DMSO 中并且用作体外分析的阳性参照。而且,优选的溶剂载体在于溶血测定中测定时是无毒的。这些新型 ITZA 制剂中的两种被用于证实小鼠模型中 IV 注射 5mg/kg 体重后血浆中临床相关抗真菌浓度保持至少一小时,与已知的分别 ITZA 的约 10-11 小时和 POSA 的约 25-35 小时的血浆半衰期(Ref24、32、42、45)相结合时,应当确保了使用这些剂的对感染的安全并有效的治疗。

[0042] 尽管本发明的优选的实施方案使用酸化乙醇和 / 或苯甲醇和 PEG,随后在系统施用前用水性二级稀释液例如输注溶液稀释,但也可使用对人类施用来说安全的其他无毒溶剂载体。一种优选的溶剂, EtOH, 其期之前被用于增溶各种药理学活性剂以便在人中施用,被常规用作甲醇中毒的解毒剂(Ref46)。以预期获得剂量和浓度在人类中使用这样的溶剂并没有经历严重的临床副作用。作为用作酸化剂的 HCl 的替换方案,也可以使用有机酸例如乙酸剧烈改变 pH 并由此使得所述药理学活性剂可以增溶。生理盐水(NS)和溶于水中的葡萄糖(5-10%, w/v),以及水性脂质乳液是校正流体和电解质平衡并且补充胃肠外营养的已经确立的常规方式。生理盐水和溶于水的葡萄糖同样被广泛作用 IV 使用之前各种水溶性药物的(最终)稀释液因为已经关注了关于将苯甲醇用作可能用于婴儿的任何溶剂载体的一部分(Ref47-51),我们设计了缺少苯甲醇的替换的复合溶剂载体。我们的扩展的溶解度-稳定性和体内动物实验以及体外抗真菌活性测定证实这些替换的无苯甲醇的溶剂载体的功用。

[0043] 本发明的组合物具有许多用途。如所示的,本发明的优选的制剂在哺乳动物中的真菌、酵母和霉菌感染尤其是念珠菌、曲霉或毛霉菌感染的治疗中特别有用。某些感染,最显著的是由组织胞浆菌属(*Histoplasma* Spp.)和曲霉属(*Aspergillus* Spp.)导致的那

些可以被 ITZA 成功控制并且此外 POSA 在免疫受损的患者中的毛霉菌病的治疗上具有特殊价值。本发明优选的无毒的药理学上可接受的可与水混合的血管内 ITZA 制剂消除了来自不同程度表征口服标准制品的施用的不可预知且无规则的肠吸收和首过肝消除 / 代谢的治疗失败的风险。使用血管内施用途径 / 制剂的潜在益处在于具有受损的吞咽能力并且因此不能从口服营养获益的病人例如诸如在存在相似的临床难题的对肿瘤性疾病的放疗或化疗之后患有口腔和胃肠黏膜炎的患者和在同种异体干细胞移植后患有胃肠道移植抗宿主病的那些中最明显。同样预期包括比使用相应口服药物制剂所经历的更少临床副作用的益处, 因为血管内施用以药物的最佳药代动力学获得了对生物利用率的完全控制并且因此将归因于不期望的药物 - 药物相互作用的副作用和不完全的肠吸收继发的治疗失败以及具有出乎意料高的肠吸收以及低的代谢药物清除率的患者中偶然的药物过量的风险最小化。

[0044] 本发明的新型的溶剂载体也可用于研究不同施用计划(例如延长的 IV 输注和重复的 IV 给药)以优化基于吡咯药物的治疗结果。而且, 本发明使得可以研究吡咯药物抗各种系统(感染)疾病的不同给药计划的益处而没有来自以随机方式影响口服吡咯类的代谢的不可预知的肠药物吸收和肝首过作用的混乱的副作用。最终, 其消除了与已经被报道在患有不同潜在疾病以及不同年龄段的患者之间高度变化的肠吸收以及患者是否进食或禁食(Ref30、42、45)做斗争的需要并且其最终同样消除了担忧在 POSA 施用之后已经描述的“饱和的”肠药物吸收(Ref29)的需要。当考虑剂量更加密集的计划以控制严重免疫受损患者中压倒性感染例如造血干细胞移植后早期的 sino-pulmonary Aspergillosis 和毛霉菌病时胃肠外制品的利用率是特别令人感兴趣的。在这一特定的情况下, 药物生物利用率和药代动力学两者的牢固控制对通过控制药物临床副作用确保患者安全性同时在非常复杂的药物环境中将控制明显致命的迅速进行的感染性并发症的机会最大化来说最为重要, 其中其对迅速建立对感染的控制来说最为重要。

[0045] 而且新制剂的稳定性使得它们特别适于评估不同施用计划, 包括延长输注和多重给药的计划的那些, 进一步实现吡咯药物尤其是 ITZA 和 POSA 的突出的治疗潜能。稳定的溶解同样可使得吡咯药物的腔内和 / 或膜内应用可以作为感染的腹膜、胸膜和柔脑膜扩展的治疗, 尽管已经对注入液的低 pH 以及可促成可改变患者的癫痫发作阈值的脑膜炎的(可能的)苯甲醇的含量给出了一些警告。

[0046] 最后, 如本领域技术人员所清楚的, 本发明的溶剂载体不限于与 ITZA 和 POSA 一起使用并且可以类似的方式使用以制得用于其它不良水溶的生物活性剂的胃肠外溶剂体系, 并特别强调吡咯化合物这一大类的的所有其他成员。示例性的抗真菌吡咯类包括 a) 咪唑类, 如酮康唑、咪康唑、克霉唑、益康唑、奥莫康唑、联苯苄唑、布康唑、芬替康唑、异康唑、奥昔康、舍他康唑、硫康唑和噻康唑, b) 三吡咯类如氟康唑、伊曲康唑、艾沙康唑、雷夫康唑、泊沙康唑、伏立康唑、特康唑和 c) 噻唑类例如阿巴芬净。有可用这一技术增溶的不限于包含吡咯的抗生素中的一些的实施例。用这一方法增溶的其它药物包括但不限于甲状腺机能亢进药物例如卡比马唑、细胞毒性剂例如鬼臼乙叉甙衍生物、紫杉烷类、博来霉素、萘环类抗生素以及铂化合物和喜树碱类似物。它们还可包括其他抗真菌抗生素, 例如不良水溶性棘球白素、多烯类(例如, 两性霉素 B 和纳他霉素)以及抗细菌剂(例如多粘菌素 B 和粘菌素)、抗病毒药物和镇静 / 麻醉剂例如地西洋和抗精神药。因此从广义上说, 除了作为称为吡咯类或三吡咯化合物的药理学活性化学品的组的各种成员的实例的 ITZA 和 POSA, 本发明提供了

安全增溶并施用许多不良水溶解的药物活性剂的方法。

[0047] 因此,本发明的一个实施方案涉及用于胃肠外使用的含吡咯的组合物,包括吡咯药用的和包含酸化 EtOH 和或苯甲醇以及 PEG 例如 PEG-400 的第一溶剂,其中组合物基本上不含非离子活性剂且包含少于 5% 的水。在还有更优选的实施方案中,吡咯组合物将包含少于 3% 或少于 1% 的水或更优选地将是基本上不含水。吡咯药物溶于第一复合溶剂,并且在施用之前,组合物优选与包含水性输注液的第二稀释液混合以允许对哺乳动物优选地家畜大型动物和最优选的人类的常规临床施用。

[0048] 优选地,醇例如 EtOH 或苯甲醇占第一溶剂的 1 和 25% 之间并且酸占第一溶剂的 1 和 10% 之间,以使在溶剂中获得生理之下的 pH,优选地少于 4 的 pH;最终 PEG 更优选地占第一复合溶剂的 10 和 90%(v/v) 之间。

[0049] 本发明不限于与酸化的 EtOH 和 / 或苯甲醇以及 PEG。其他溶剂例如有机酸可被用于随后改变 pH。有用的输注液包括但不限于生理盐水和溶于水的葡萄糖。可替换地,输注液可以是基于脂质的输注乳液例如胃肠外营养所使用的那些。

[0050] 用输注液稀释之前,组合物优选地包含 1 和 30mg/mL 之间的吡咯药物且更优选地包含 2mg/mL 和 6mg/mL 之间的所述剂。优选地,未稀释的组合物于室温(RT)稳定至少 24 小时且甚至更优选地稳定超过 3 天。

[0051] 在特别优选的实施方案中,二级稀释液是水性输注液,例如生理盐水且在二级、终端稀释液中混合之后最终组合物含有 1mg/mL 和 5mg/mL 之间的 ITZA。这一稀释的组合物于 RT 稳定至少 12 小时,而优选地超过 24 小时。

[0052] 本发明的新型溶剂载体不限于 ITZA,而也可用于促进具有不良水溶解的其他药物的胃肠外施用,包括优选通常称为吡咯类或三吡咯化合物的一大家族化合物的其他成员,尽管它们将同样包括其他药物活性的、不良水溶性的剂。如所述的,这些药物包括但不限于细胞毒性剂如鬼臼乙叉甙衍生物、紫杉烷类、博莱霉素、蒽环类抗生素以及铂化合物。它们还包括抗生素,如不良水溶解的多烯类(例如,两性霉素 B 和纳他霉素)和其它抗真菌剂例如通常称为棘球白素的组的成员以及抗菌剂(例如多粘菌素 B 和粘菌素)、抗病毒剂包括但不限于通常用于治疗感染例如肝炎和逆转录病毒感染的核苷类似物。而且它们包括镇静的和安眠或麻醉药物例如地西洋、丙泊酚和精神抑制剂。因此,本发明的另一个实施方案包括用于胃肠外使用的组合物,其包含:水不溶的或不良水溶 / 亲脂性药学活性剂和第一溶剂,所述第一溶剂包含酸化的醇、降低 pH 的剂(酸)以及聚乙二醇(PEG,优选地具有 400 道尔顿的平均分子量),其将构成亲脂性微环境。药物活性剂溶解于第一复合溶剂载体中。所述组合物任选地进一步包含二级稀释液例如水性输注液,将使得其适合通过留置导管对哺乳动物(优选地人类或家畜动物)的施用

[0053] 本发明同样包括制备用于胃肠外使用的不良水溶性 / 亲脂性药物活性剂的方法,其包括下列步骤:1) 基于潜溶原则提供复合溶剂系统;2) 将药学活性剂溶于初级溶剂载体以产生储存制剂。优选地,伯醇是 EtOH,而降低 pH 的组分是酸,例如盐酸和 / 或柠檬酸,其进一步与 PEG 混合且药学活性剂是 ITZA、POSA 或可替代地,以后的代表(三)吡咯家族的物质。所述方法还可包括将储存制剂与第二水性稀释液例如水性输注液混合的步骤以促进安全并且方便的临床药物施用。除了 EtOH 和苯甲醇之外,可使用其他醇和较弱的(例如有机)酸诸如乙酸形成初级溶剂而不违背本发明的精神和范围。

[0054] 本发明还包括治疗对含有吡咯的抗真菌(例如 ITZA/POSA)治疗敏感或响应的疾病的方法,其包括系统地向哺乳动物胃肠外施用治疗上有效的量的充分增溶的吡咯药物组合物,所述组合物包含:吡咯药物例如 ITZA 或 POSA;第一溶剂,所述第一溶剂包含酸化的醇和 PEG,其中所述药物溶解于这一复合溶剂载体;和第二稀释液,所述第二稀释液包含临床上可接受的水性输注液,其使得其能够系统地向哺乳动物安全施用所述溶解的药物。可被治疗的疾病包括但不限于包括由酵母或霉菌物种、组织细胞浆菌属和肿瘤性疾病例如白血病、淋巴瘤、霍金奇病、骨髓增生或骨髓增生异常病症或自身免疫性疾病和器官移植排斥导致的那些的真菌感染。优选地,组合物被血管内施用,然而,可想到的是除了其他途径之外所述剂同样可鞘内、脑膜内或腹膜内施用。与适合的松膏基质混合或悬浮于其中后,组合物可被局部应用,例如在(局部)真皮或阴道感染的治疗中。患者可以是任何动物。更优选地,所述动物是哺乳动物,且更优选地人类。

[0055] 如本申请中所用的术语“治疗上有效的量”意指加入足够量的组合物以获得优选随第一剂量开始的所期望的治疗效果,或可选择地使得可在适当时间段的重复(系统)施用后获得治疗上期望的效果。所使用的精确的量基于多种因素变化,例如患者的疾病类型、年龄、性别、健康、物种和体重,和用途和使用的长度以及本领域技术人员已知的其他因素。

[0056] 本发明的还有另一个实施方案涉及向患者胃肠外施用吡咯药物例如 ITZA 或 POSA 的方法,其包括:1)提供基于潜溶原则的复合第一溶剂;2)将 ITZA 或 POSA 溶于初级溶剂载体以产生储存制剂;3)将储存制剂与第二稀释液混合以形成输注液;和 4)将输注液施用于患者。优选地,所述复合第一溶剂载体由酸化的醇组成,更优选地其为与 HCl 和 / 或柠檬酸混合的 EtOH 且第二组份为 PEG400。然而,除了 EtOH,苯甲醇和 HCL 之外,可使用其他醇和酸,且具有除了我们的实验中描述的 PEG 之外的可替换的分子量的 PEG 可被取代以形成初级稀释液而不背离本发明的精神和范围。

[0057] 包括下列实施例以示范本发明的优选的实施方案。本领域技术人员应当理解的是随后的实施例中公开的技术代表发明人发现的技术在本发明的实行中很好地起作用并且因此可被认为构成了其实行的优选模式。然而,本领域技术人员根据本发明应当理解的是可在所公开的特定实施方案中进行许多改变并仍获得类似或相似的结果而不背离本发明的精神和范围。

[0058] 实施例

[0059] 实施例 1- 胃肠外施用可接受的伊曲康唑制剂。

[0060] 这一实施例证实使用无毒并且适于胃肠外施用的溶剂载体成功设计了 ITZA 的稳定制剂。计算必需的溶解度 / 稳定性并且用高压液相色谱(HPLC)技术评估制品。定义了用于人类和家畜动物中血管内或腔内或鞘膜内施用相关的各种溶剂中所期望的 ITZA 的溶解度和稳定性并且使用潜溶的合理原则增强了生理上可接受的载体中 ITZA 的溶解度。

[0061] 材料和方法

[0062] 化学品

[0063] 聚乙二醇、cremophor EL、Tween80、6N 盐酸、2M 柠檬酸和苯甲醇是从 Sigma(St. Louis, MO)获得的。聚乙二醇 400、2-羟丙基- β -环糊精、葡萄糖和乙酸是从 Fisher(Pittsburgh, PA)购得。乙醇来自 Decon Labs. Inc. (King of Prussia, PA) 而英脱利匹特来自 Fresenius Kabi(Uppsala, Sweden)。

[0064] HPLC 测定

[0065] HPLC 系统包括：分析柱(具有 4- μm 小珠的 Nova-pak C18;150mm x3.9mm; Waters Corp., Milford, MA)、自动采样器(型号 Waters717plus autosampler)、设置为递送 1mL/min 的泵(型号 Waters600E system controller)和设置为用于 ITZA 和 POSA 的 261nm、用于 MBZSA 的 273nm、用于 KZSA 的 230nm 和用于 FZSA 的 259nm 的 UV 探测器(型号 WatersTM486Tunable Absorbance detector)。用于 ITZA、KZSA 和 MBZSA 的流动相是溶于 H_2O 的 60% 乙腈加上 0.05% 二乙胺的混合物,用氮气作为脱气剂以 60% 喷雾。FZSA 的流动相是溶于 H_2O 的 30% 乙腈加上 0.05% 二乙胺。将 10-30 μL 注射到 HPLC 中用于 ITZA 及其类似物的定量。

[0066] 溶解度研究

[0067] 将 ITZA 及其类似物溶解于不同溶剂中在 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 分钟,冷却至室温,在 14,000rpm 离心 1 分钟。使用 HPLC 分析上清液以确定 ITZA 及其吡咯类似物的最大溶解度。

[0068] 稳定性研究

[0069] 为了确定其长期稳定性,将溶解于溶剂 H3 (2.36mg/ml 柠檬酸、3.42% 苯甲醇、68.5%PEG400, 26.55% 乙醇和 0.059N 盐酸)的 ITZA(4mg/ml) 于室温储存 2 个月或于 40 $^{\circ}\text{C}$ 储存 1 个月。将溶于溶剂 H3 中的 ITZA 在密封的管中孵育。

[0070] 为了确定其短期稳定性,将溶解于溶剂 H3 或溶剂 H3/ 盐水 (1:1) 的 ITZA 及其类似物于室温孵育并且在 0, 2, 4, 6, 8 和 24 小时之后分析。

[0071] 对于短期和长期稳定性研究,在适当稀释之后通过 HPLC 定量分析不同时间点的一式三份样品。

[0072] pH 测定

[0073] 确定具有或不具有 2mg/ml ITZA 或其类似物的溶剂 H3/ 盐水的 pH。分析来自单独的溶剂或具有不同药物的溶剂的一式三份的样品。

[0074] 动物实验

[0075] 将 Swiss Webster 小鼠用于 ITZA 及其类似物的药代动力学研究。通过使用热灯加热小鼠完成静脉扩张。扩张之后将小鼠放入小鼠控制器中,将 1.5mg/ml ITZA 或其类似物的溶液(约 100 μL)经 3-4min 缓慢静脉内注射至小鼠侧面尾部静脉中。使小鼠恢复并且在不同时间点通过蒸发器采用异氟烷/氧气的全身麻醉下心脏穿刺获得血液样品。通过将血液样品于 4 $^{\circ}\text{C}$ 在 3,200rpm 离心 5 分钟获得血浆。通过加入乙腈(两倍于血浆体积)沉淀血浆蛋白。将混合物振荡 30 秒并且于 14,000rpm 离心 5 分钟。保留上清液并且注射至 HPLC 中以确定各个药物浓度。

[0076] 原型溶剂载体和初级储存液的制备

[0077] 如下制备如这些实施例中所提及的复合苯甲醇/EtOH/HCl/PEG/ITZA 溶液(“初级储存液”)

[0078] 在第一步中,确定不同单一溶剂中的最大 ITZA 溶解度。为了这一目的,将 ITZA 及其类似物溶解于不同溶剂中,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 分钟冷却至室温,于 14,000rpm 离心 1 分钟。使用 HPLC 分析上清液确定各种剂的最大溶解度。结果示于下文表 1 中。

[0079] 表 1- 伊曲康唑在各个不同溶剂中的最大溶解度。

[0080]

	mg/mL
乙酸	144.34
50 % 乙酸	12.92
25 % 乙酸	0.30
10 % 乙酸	0.86
生理盐水	0.48
聚氧乙烯蓖麻油	0.89
聚乙二醇	0.14
2 M 柠檬酸	3.22
乙醇	0.41
6 N HCl	7.41
PEG 400	2.51
PEG 300	1.81
PEG 200	1.45
英脱利匹特	0.15
苯甲醇	>128.26

[0081] 在第二步中,确定复合溶剂载体(H3)中 ITZA 的溶解度

[0082]

溶剂 H3

组分	终浓度
柠檬酸	2.36 mg/mL
苯甲醇	3.42 %
PEG 400	68.5 %
EtOH	26.55 %

[0083]

HCl 0.059 N

[0084] 于室温确定含有苯甲醇的溶剂 H3 中 ITZA 的最大溶解度为约 31.4mg/mL。

[0085] 在这一阶段的扩展中,根据潜溶原则确定几种复合溶剂中 ITZA 的最大溶解度。

[0086] 溶剂 B

[0087]

组分	最终浓度

柠檬酸	2mg/mL
苯甲醇	2.9%
Tween80	8%
PEG400	58%
EtOH	30.5%
HCl	0.05N

[0088] 溶剂 B 中伊曲康唑的最大溶解度为 29mg/mL。

[0089] 溶剂 J

[0090]

组分

终浓度	J1	J2	J3	J4	J5
柠檬酸	2 mg/mL				
苯甲醇	2.9 %				
10% 羟丙基-β-	7%	10%	15%	20%	25%
环糊精	10%环糊精, v/v, 被定为 100%				
PEG 400	58 %				
EtOH	30.5 %	27.5%	22.5%	17.5%	12.5%
HCl	0.05 N				

[0091] 伊曲康唑在溶剂 J 中的溶解度为：

[0092]

溶剂	ITZA (mg/mL)
J1	18.13
J2	15.99
J3	10.11
J4	6.09

[0093]

J5	3.54
----	------

[0094] 溶剂 K

[0095]

组分	终浓度
苯甲醇	1.9 %
英脱利匹特	4.9 %
PEG 400	39.2 %
EtOH	20.6 %
乙酸	33.3 %

[0096] RT 下伊曲康唑在溶剂 K 中的最大溶解度是 11.1mg/mL。

[0097] 溶剂 L

[0098]

组分	终浓度
HP- β -环糊精	32 %
PEG 400	60 %
H ₂ O	8 %
HCl	0.05 N

[0099] ITZA 在溶剂 L 中的最大溶解度是 5mg/mL。

[0100] 进行没有苯甲醇的 H3 变体载体 (H3D 和 H3G) 中的吡咯溶解度而结果汇总于表 2 中。H3D 和 H3G 配方如下：

[0101] 溶剂 H3D 和 H3G

[0102]

溶剂组分	H3D	H3G
柠檬酸 (mg/mL)	2.36	2.36
乙醇 (%)	17.7	11.8
HCl	0.059	0.059
PEG-400	80.7	86.6

[0103] 表 2

[0104] HPLC 条件

[0105] 流速 mL/min, 60% 喷雾。

[0106] 10 μ l 注射至 HPLC 中

[0107]

溶剂	药物	λ	RT	AUC	[药物] mg/mL	平均值 mg/mL
H3D	ITZA	261 nm	4.737	9580865	19.1	19.0
			4.737	9472072	18.9	
H3G			4.738	9631929	19.2	19.3
			4.739	9718954	19.4	
H3D	KZSA	230 nm	2.627	5138394	15.4	15.3
			2.631	5082173	15.2	
H3G			2.634	4954869	14.8	14.9
			2.632	5034867	15.1	
H3D	MBZSA	273 nm	1.286	3368622	6.4	6.4
			1.287	3381501	6.5	
H3G			1.287	3105982	5.9	5.9
			1.286	3110974	5.9	
H3D	FZSA	259 nm	1.842	774441	38.6	36.1
			1.846	673647	33.5	
H3G			1.846	569780	28.4	30.3
			1.849	647381	32.2	
H3D	POSA	261 nm	2.489	3399423	33.8	35.34
			2.491	3527182	35.08	
			2.493	3733502	37.14	
H3G			2.494	3080892	30.62	32.17
			2.496	3405758	33.86	
			2.496	3222914	32.04	

[0108] FZSA ; 氟康唑 , ITZA ; 伊曲康唑 , MBZSA ; 甲苯咪唑 ,

[0109] KZSA ; 酮康唑 , POSA ; 泊沙康唑。

[0110] 结论 :

[0111] 基于标准条件下的这些实验, 结论是 :

[0112] 1) 在系统 H3 变体中获得 RT 时 ITZA 的最高持续溶解度和稳定性, 其中

[0113] 2) 伊曲康唑优选地溶解于处于低的生理之下的 pH 的复合溶剂, 需要在溶剂载体中包括酸性醇成分。

[0114] 3) 高达 100%v/v 的平衡将从包括生理上可接受的醇例如 EtOH 获益, 和

[0115] 4) 载体中包括苯甲醇时, 获得更稳定的溶解度。

[0116] 5) 之后, 溶剂载体将从包括 PEG400 获益以作为载体模拟亲脂性环境,

[0117] 6) 最后, 优选的复合溶剂载体将允许使用临床上可接受的输注液包括但不限于生

理盐水或溶于水的葡萄糖的最终稀释步骤。

[0118] 稳定性研究

[0119] 在接下来的步骤中,于室温确定以独自的和用相似体积的临床可接受的输注液稀释之后的临床相关储存浓度溶于优选的复合溶剂的 ITZA (大约 4mg/mL) 的稳定性。

[0120] 下文表 3A 展示室温的稳定性研究的结果而表 3B 列出了 40℃ 的稳定性结果。

[0121] 表 3A

[0122] 室温下原始溶剂 H3 中 ITZA (大约 4mg/mL) 的稳定性。

[0123]

时间	ITZA (mg/mL)	稳定性 (%)
0	3.84	100
24 小时	3.81	99
48 小时	3.69	96
72 小时	3.66	95
96 小时	3.38	88
7 天 (1w)	3.48	91
9 天	3.22	84
11 天	2.97	77
14 (2w)	3.18	83
18 天	3.05	80
21(3w)	3.05	79
28(4w)	2.89	75
35(5w)	2.96	77
49(7w)	3.02	79
63(9w)	2.89	75

[0124] 表 3B

[0125] 40℃ 溶剂 H3 中 ITZA (大约 4mg/mL) 加速的稳定性。

[0126]

时间	ITZA (mg/mL)	稳定性 (%)
0	3.84	100
3 小时	3.98	104
6 小时	3.76	98
24 小时	3.52	92
30 小时	3.43	89
48 小时	3.23	84
54 小时	3.04	79
72 小时	2.91	76
78 小时	3.05	80
4 天	2.99	78
7 天	2.68	70
8 天	2.68	70
9 天	2.23	58
10 天	2.28	59
11 天	2.21	58
14 天	2.16	56
16 天	2.10	55
18 天	2.09	54
21 天	1.74	45
25 天	1.43	37
28 天	1.15	30
32 天	0.93	24

[0127] 上述数据被分别汇总并图表显示于图 1A 和 1B 中

[0128] 下文表 4 显示从室温下溶于溶剂 H3/ 生理盐水 (1:1) 伊曲康唑 (终浓度约 2.0mg/mL) 的稳定性获得的结果, 并且同样, 数据图表显示于图 1C 中。

[0129] 表 4

[0130]

时间(小时)	ITZA (2.0 mg/mL)	稳定性 (%)
--------	------------------	---------

[0131]

0	2.04	100
2	1.97	97
4	1.97	97
6	2.06	101
8	2.07	102
14	2.25	109
24	1.92	93

[0132] 结论：使用生理盐水作为最终稀释溶液，2mg/mL 的 ITZA 于 RT 稳定超过 90% 至少 24 小时。

[0133] 表 5 显示不同溶剂 H3 变体的组分。

[0134] 表 5

[0135]

H3 溶剂	H3	H3A	H3B	H3C	H3D	H3G
柠檬酸(mg/mL)	2.36	2.36	2.36	2.36	2.36	2.36
苯甲醇(%)	3.42	0	0	0	0	0
PEG400 (%)	68.50	71.8	74.8	77.7	80.7	86.6
EtOH (%)	26.55	26.55	23.6	20.6	17.7	11.8
HCl (N)	0.059	0.059	0.059	0.059	0.059	0.059

[0136] 表 6 显示不同 H3 溶剂载体中 ITZA 的稳定性研究和结果。

[0137] 表 6

[0138]

H3D		RT	AUC	mg/mL	平均值	稳定性%
4 mg/mL	0 小时	4.479	449672	3.67	3.53	100
		4.785	402066	3.29		
		4.79	445398	3.64		
	2 小时	4.796	456125	3.72	3.62	102
		4.795	438574	3.58		
		4.793	434752	3.55		
	4 小时	4.826	425075	3.47	3.55	101
		4.827	443570	3.62		
		4.836	436146	3.56		
	6 小时	4.855	420642	3.44	3.50	99
		4.855	448469	3.66		
		4.883	414950	3.39		

[0139]

8 小时	4.904	431148	3.52	3.49	99
	4.899	410046	3.35		
	4.906	439278	3.59		
24 小时	5.025	421172	3.44	3.44	97
	5.028	428925	3.50		
	5.031	412739	3.37		

[0140] 溶剂 H3G [ITZA] 平均值稳定性 (%)

[0141]

时 间 , 小时	RT* , 分钟	AUC	[ITZA]		
			mg/mL	mg/mL	
0	4.934	436392	3.56	3.50	100
	4.926	427328	3.49		
	4.928	422232	3.45		
2	4.955	469614	3.83	3.77	108
	4.957	451645	3.69		
	4.959	463700	3.78		
4	4.974	449754	3.67	3.65	104
	4.975	442904	3.62		
	4.982	446950	3.65		
6	5.008	428473	3.50	3.52	101
	5.007	421334	3.44		
	5.014	443857	3.62		
8	5.061	441077	3.60	3.42	98
	5.06	398111	3.26		
	5.065	416459	3.40		
24	4.754	450275	3.68	3.59	103
	4.755	427042	3.49		
	4.761	443023	3.62		

[0142] RT*, 滞留时间

[0143] 可替换的最终稀释液(NS、D5W、D10W)的溶液中 ITZA 的稳定性的检测。下文表 7A 展示苯甲醇不存在时 H3 变体,即具有不同量的 EtOH 的不同复合溶剂载体,中的吡咯溶解度和稳定性。图 7A 显示苯甲醇不存在时具有 17.7%EtOH 的 H3D 中 ITZA 的稳定性而表 7B 显

示具有 11.7%EtOH 且不含苯甲醇时的 H3 变体 H3G 中的 ITZA 稳定性。表 7A 和 7B 显示图表汇总于图 1D 和 1E 的数据。

[0144] 表 7A

[0145] ITZA

[0146]

时间 天数	H3D	H3D/盐水	H3D/5%葡萄糖	H3D/10%葡萄糖
0	100	100	100	100
1	94	107	100	98
2	95	107	103	98
3	93	110	108	102
4	94	102	99	99
5	98	90	93	105

[0147] 表 7B

[0148] ITZA

[0149]

时间 天数	H3G	H3G/盐水	H3G/5%葡萄糖	H3G/10%葡萄糖
0	100	100	100	100
1	103	95	102	102
2	100	94	109	102
3	89	80	94	98
4	103	70	99	107
5	106	38	42	31

[0150] 下文表 8 显示上文稳定性试验的 ITZA 标准曲线的分析而数据图表显示于图 2 中。

[0151] 表 8

[0152] 11.8.2010

[0153]

标准	[ITZA]			
		RT	AUC	平均值

[0154]

20 mg/mL	4.879	2577682	2504326
	4.883	2551820	
	4.886	2383477	
10 mg/mL	4.883	1356911	1285407
	4.888	1197158	
	4.886	1302151	
5 mg/mL	4.839	598440	589708
	4.846	619476	
	4.846	551207	
1 mg/mL	4.853	118515	125813
	4.857	116128	
	4.892	142795	

[0155] 最终期望溶解度的计算

[0156] 通过来自已知在人中具有显著抗真菌功效的剂量外推计算 ITZA 的临床和药学相关溶解度范围。已经使用 FDA 批准的口服制剂进行了这样的临床研究。所使用的 ITZA 治疗计划通常开具每天一次或两次 200–500mg 范围内的口服剂量直到获得所期望的抗真菌作用。通常较高剂量的初始装载剂量或脉冲可以每天两到三次施用几天，之后是较低的每日维持剂量(Ref29、42)。临床最有效 / 优化的 ITZA 剂量计划是未知的，但是基于显而易见的约 10–12 小时的终末半衰期，通常假定每日一次或两次(维持)剂量施用足以获得期望的抗真菌作用。有可能的是根据与其他抗微生物剂以及尤其是与 POSA 的相似性，1) 有获得最佳抗真菌(抗感染)活性的剂量 / 血浆 / 组织浓度 – 作用关系，和 2) 将有与副作用和抗感染功效均相关的剂量计划依赖性。参照 POSA 和对用以获得治疗剂量范围的 2–3 天(或约 60 小时)的重复“装载剂量”的需要在涉及到需要快速控制免疫受损患者中的系统性霉菌感染和其强调了对可靠的增溶的剂量制剂的需要(Ref10、32)时是令人烦恼的。而且，通过增加剂量密度加速 POSA 的组织水平饱和的任何企图都仅获得部分成功，归因于其在 50–60% 范围内的不可预知的生物利用率以及随着逐渐增加的剂量密度肠药物吸收的明显的饱和(Ref29)。

[0157] 发现了提供 2–6mg/mL 的储存制剂的溶剂系统于 RT 稳定($\geq 90\%$)至少三天(72 小时)并且当用等量的第二水性稀释液例如生理盐水(NS)或溶于水的葡萄糖作为优选的最终稀释液稀释时，所获得的使用制剂于室温以 2mg/mL 稳定至少 24 小时。

[0158] 上文的图表明分别在基于含有约 4mg/mL 的 ITZA 的优选的复合溶剂系统 H3 和当用 NS 或溶于水的葡萄糖稀释至约 2mg/mL 的储存制剂的最终使用制剂中，RT 下增溶的 ITZA 的稳定性。特别地，ITZA 溶解于不同的 H3 复合溶剂载体并且之后用 NS 或 5% 和 10% 溶解于水的葡萄糖稀释至合适的浓度。这样的复合溶剂系统不仅适于延长的(12 小时)输注时间的扩展，同样允许当期望反复输注时方便的药学操作。这样的延长的稳定性留下实际患者施用之前药学上和医疗队的广阔限度的制备和操作时间。特别地，如果 2–5mg/kg 体重的治疗剂量是所期望的，那么溶于我们优选的复合溶剂载体 H3 (描述了其变体)的 2–10mg/mL

范围内的 ITZA 储存制剂可以用适当稀释至相似体积的 NS 或其他常规可获得的输注液中以获得所期望的最终使用制剂。之后临床医师可选择输注 ITZA 短或延长的时间段而不必更换输注袋,这在制剂具有更有限的物理稳定性和 / 或经历化学降解时可能是需要的。而且,应当不再有对药房“营业时间”是否限于规则的白天服务的担心,因为最终使用制剂可在日间期间制备,并且归因于在溶液中的延长的稳定性,其仍将方便地允许夜间施用。

[0159] 生理学上可接受的溶剂中增强的溶解度

[0160] 在几个不同载体中测定 ITZA 的溶解度。简言之,配制为粉末(Sigma Inc., StLouis, MO)的已知量的 ITZA 药物在各个溶剂中于 RT 平衡 1-4 小时。移出、过滤并且制备等份用于 HPLC 以确定室温时的最大溶解度。基于每种载体中的 ITZA 溶解度,根据潜溶原则将不同溶剂混合以试图获得增强的稳定的溶解度。部分基于各个溶剂增溶药物的能力,之后相对评价评估不同的复合溶剂以获得可得到可与常规可得的输注液例如生理盐水(NS; 0.9%NaCl 或 5-10% 溶解于水的葡萄糖)混合并且其在临床表现中有用的稳定的储存制剂。我们做了假设,间断性施用,或在很少的实例中延长的输注,将是施用的优选方式,即选择将需要溶剂载体以接受可以临床上可接受的体积(优选地少于 1,000mL 的总体积或大约 500mL/m² 的体表面积 [BSA]) 输注并且在 RT 稳定至少 (8-) 12 小时的溶解的药物浓度的输注计划。之后用最终稀释液,即 NS 或 D5W 或 D10W, 稀释储存制剂以产生稳定的使用制剂。所期望的最终使用制剂的范围在 1 和 5mg/mL 之间,因为其将产生可血管内安全并且方便地输注的最终体积。

[0161] 检测与人类施用相容的几种水可混合的生理上可接受的载体(表 1)。候选溶剂包括乙酸、生理盐水、溶解于水的葡萄糖、聚氧乙烯蓖麻油、聚乙二醇、柠檬酸、乙醇、HCl、PEG400、苯甲醇以及最后的 DMSO。苯甲醇和乙酸是最好的初级溶剂然而 ITZA 在水性溶剂中是非常难溶的。然而最终,将有对使用第二 / 终端水性稀释液以制得与常规临床处理相容的注入液的需要。设计并检测几种复合溶剂载体。基于酸化的醇和 PEG400 构成优选的溶剂载体,共同称为“H3”。加入酸化的醇意图获得显著降低至正常生理水平之下的 pH,促使药物在酸化的亲脂性注入液中被增溶(之后通过加入 PEG400 进一步说明)。这些复合溶剂载体允许对之前当在人类和家畜动物中施用重复剂量时显示具有显著抗真菌 / 抗微生物活性的剂量的输注来说容易接受的浓度的 ITZA 的稳定溶解度(Ref10, 27, 29, 40-42, 45)并且表明药物于 RT 在溶液中保持稳定至少 24 小时(图 1)。

[0162] HPLC 测定

[0163] HPLC 系统是修改过的形式 Woestenberghs et al(Ref52)。简言之,其使用具有 4- μ m 小珠尺寸的 C18Nova-Pak 分析柱;150mm x3.9mm(Waters, Milford, MA), 装备 Waters717plus autosampler、型号 600E system controller(Waters) 设置 1.0ml/min 的流速的泵。检测器是 Waters model486Tunable Fluorescence Detector,与用于 HPLC 的 Millennium™软件包(Waters, Milford, MA) 相连。其被设置为用于伊曲康唑 (ITZA) 的 261nm、用于甲苯咪唑 (MBZA) 的 273nm, 用于酮康唑 (KZSA) 的 230nm 和用于氟康唑 (FZSA) 的 259nm。ITZA、KZSA 和 MBZSA 的等度流动相是 H₂O 中 60% 乙腈加上 0.05% 二乙胺的混合物。FZSA 的等度流动相是 H₂O 中 30% 乙腈加上 0.05% 二乙胺的混合物。将 10-30 μ L 的标准体积注入 HPLC 柱中以定量各种吡咯类似物。下文表 9 概括用于 HPLC 的参数。

[0164] 表 9. HPLC 参数

[0165]

药物	流动相 *	流速 (ml/ 分钟)	波长 (nm)
伊曲康唑	A	1.0	261
泊沙康唑	A	1.0	261
氟康唑	B	1.0	259
甲苯咪唑	A	1.0	273
酮康唑	A	1.0	230

[0166] A*-60:40 乙腈 : 水 +0.05% 二乙胺

[0167] B-30:70 乙腈 : 水 +0.05% 二乙胺

[0168] ITZA 的预期滞留时间是 4.7-5.5 分钟并且如所期望的就如表 8 中所示测定特定吡咯化合物而言变化一些。POSA 的滞留时间是 2.5-3 分钟。

[0169] HPLC 测定利用 UV 光谱中的荧光检测为溶液(无蛋白混合物和含有蛋白的液体(例如临床上获得的样品,诸如血液样品))中低浓度的 ITZA (吡咯化合物) 提供准确且敏感的检测系统。对于 ITZA 和 POSA 的检测,基于 ITZA 分子的固有吸收和发射最大值选择了 261 的波长。其可随着检测具体吡咯类似物而变化(表 9)。

[0170] 除非另外说明,所有化学品都是 HPLC 级的。流动相流速是 1.0ml/min。分析系统基于之前建立的如 (Ref52) 所描述的对 ITZA 的提取和 HPLC 经验。

[0171] 检测血浆样品中的 ITZA 时为了避免色谱中来自内源血浆蛋白的干扰,利用了使用乙腈的蛋白材料沉淀进行了提取 / 纯化步骤。简言之,血浆蛋白通过加入乙腈至血浆 : 乙腈的 1:2 的最终体积比而沉淀。将混合物涡旋 30 秒并在 Eppendorff 微量离心机中以 14,000rpm 离心 5 分钟。脱蛋白的上清液,含有 ITZA,被注射至 HPLC 中以确定药物浓度。

[0172] 来自 HPLC 测定的原始 ITZA 色谱图的实例示于图 3A 和 3B 中。图 3 描绘了在(无蛋白)稳定性研究中从 HPLC 测定获得的两张色谱图。注射样品体积为 10 μ L。HPLC 条件如上文所述。在这些图板中,所分析的药物来自稳定性研究,其中 ITZA 溶于原型 H3 溶剂载体 (a) 并用 NS 作为最终稀释液进一步稀释(b)。上文条件下使用 C18Nova Pak 柱的 HPLC 滞留时间是 4.7-5.5 分钟。测定在无蛋白溶液中,即在制剂可行性和稳定性研究汇总使用的不同溶剂系统中,从 0.1 μ g/mL 至 100 μ g/mL 是线性的(图 2)。图 2 是在稳定性研究中使用的高压液相色谱(HPLC)测定的 ITZA 浓度对曲线下面积(AUC) (曲线下面积,用于表示色谱图中峰的实际测量面积的术语并且也用于向动物或人类施用药物后经过若干小时后血浆浓度对时间曲线下面积)的标准曲线。X 轴显示以 mg/mL 计的浓度而 Y 轴显示 AUC。为药理学研究准备类似的标准曲线,同样参见下文。使用复合 H3G 溶剂载体时稳定性研究中使用 POSA 获得的相应的色谱图示于图 3d 中。

[0173] 这一 HPLC 测定始终如一产生高回收率和准确度并且具有 10-20ng/mL 的较低的检测极限,对计划的实验来说足够。除非测定不同吡咯类物所需要(表 9),这一 HPLC 技术被标准化并且用于所有的稳定性研究而没有另外的修改。对于体内血浆药理学研究来说,基于

使用乙腈的蛋白沉淀,色谱图中来自内源血浆蛋白的峰的出现使得必须加入所描述的提取/纯化步骤。对血浆(“含蛋白的溶液”)中 ITZA 和 POSA 浓度的分析参见下文实施例 3。

[0174] 实施例 2- 证明新型复合溶剂载体中的一些的体外稳定性和其他特性

[0175] 在这一实施例中,评价了适于人类施用的稳定的 ITZA 和 POSA 制剂。确定了复合溶剂载体中 ITZA 的化学和物理稳定性。而且,当最终使用水性稀释液是 NS 或 5% 和 10% 溶解于水的葡萄糖时,作为临床可容易获得的输注溶液的代表,确定了这些复合溶剂载体中 ITZA 的溶解度。这一实施例同样研究这些制剂中的一种的延展的体外特性,包括其 pH、溶血潜能和对已知在免疫受损的人类和家畜动物中是致病的多种酵母和其他霉菌/真菌的细胞毒性活性,以确定这些原型溶剂系统适于作为在人类和其他哺乳动物中对吡咯化合物敏感的感染的治疗的系统(例如血管内)施用。

[0176] 溶解度研究

[0177] 于 RT 将作为粉末的过量的 ITZA 加至多种化学溶剂中(表 1)。每种混合物间歇涡旋,放置在黑暗环境并且为了证明增溶肉眼检查多达 4 小时。离心之后除去固体颗粒,在一致的时间间隔之后抽取小量样品并且如所描述的通过 HPLC 确定 ITZA 浓度。

[0178] 于室温在 1 小时内在纯的乙酸和苯甲醇中获得 >100mg/mL 的最大平衡 ITZA 溶解度。

[0179] ITZA 在稀释的乙酸、H₂O、生理盐水、5% 葡萄糖、聚氧乙烯蓖麻油、聚乙二醇、2M 柠檬酸,乙醇、HCl、PEG400 以及在 20% 大豆类脂乳液(英脱利匹特™)中有不显著的溶解度。这些后面的各个溶剂未考虑进行另外的研究。

[0180] 在第二步中,基于潜溶原则,研究了复合溶剂载体中的溶解度。基于这些实验,我们得出结论溶剂基优选地可含有高达 5% 的苯甲醇并且酸化的非水性、亲脂性环境可使用与用以产生当加入二级水性稀释液时维持溶液中的 ITZA 所必需的低的生理之下的 pH 的柠檬酸和 HCl 混合(临床上可获得的)的潜溶剂 EtOH 和 PEG(-400) 最佳生成。因此,用于继续研究的优选的初级溶剂载体由 EtOH(6-27%, v/v), HCl(0.059N) 和柠檬酸(1-5%) ± 苯甲醇(0-5%, v/v) 以及 PEG400(10-90%, v/v) 组成。

[0181] 以上文描述的复合溶剂载体(原型溶剂载体)中 2-6mg/mL 的 ITZA 浓度,ITZA 于 RT 稳定(高于 90%)超过三天或 72 小时。当溶剂/ITZA 的初级储存溶液用 NS 或溶解于水的葡萄糖分别稀释至 1-3mg/mL 时,ITZA 保持具有 >95% 的稳定超过 12 小时(图 1、图 3)。基于这些发现,确定的是增溶的 ITZA 是足够稳定以允许临床常规处理和以这些原型溶剂载体施用。为了本发明的目的,使用 10% 溶解于水的葡萄糖作为优选的二级稀释液,进一步考虑和研究了两种优选的溶剂载体;首先,一种基于约 2-4%(v/v) 苯甲醇,以及其次,因为考虑到所报道的与人类早产婴儿中与苯甲醇暴露有关的毒性,不含苯甲醇而是完全基于 PEG400 中酸化的 EtOH 混合物的制剂。

[0182] 不同吡咯制剂的稳定性

[0183] 下文使用作为实例的上文描述的优选制剂中的一些研究各种制剂的物理和化学稳定性:

[0184] 将 ITZA 以 2-6mg/mL 的最终储存浓度溶于苯甲醇以及酸化的 EtOH/PEG-400(原型 ITZA 储存溶剂)并且于室温和 40℃ 孵育。取决于各个溶剂系统中增溶/降解的初始速率,在增溶后立即、之后每小时一共 8 小时和之后随逐渐增加的时间间隔多达几天(星期)内采

集的样品中通过 HPLC 测量所获得 ITZA 浓度。

[0185] ITZA 溶解度在不同初级溶剂之间显著不同。使用苯甲醇和冰乙酸得到超过 100mg/mL 的溶解度。酸化的乙醇 /PEG400, 其有助于随后在末端水性稀释液 NS 中的稀释, 使得药物可以在临床条件下安全并且方便地施用而当它们被施用于系统血液循环中时不立即沉淀(原型 ITZA/ 酸化的 EtOH-PEG 溶剂)。在扩展的研究中进一步研究这些有利的初级储存溶剂载体, 因为这些制剂在 RT 不具有任何所记载的显著的 ITZA 降解, 甚至是在延长的时间(至少三天或 72 小时)内。相反, 尽管冰乙酸和 HCl 提供 ITZA 良好的溶解度, 但是一旦使用二级水性潜溶剂 / 稀释液药物就开始沉淀。假设因为 ITZA 是亲脂性的, 与酸化的 EtOH/PEG400 一起的苯甲醇将使得随后可以在纯的水性载体(NS 或 5% 葡萄糖)中稀释而没有显著地沉淀或迅速的化学品降解。这些复合溶剂中 ITZA “储存”浓度将保持在 2-6mg/mL 的最小值, 具有维持的稳定性并且允许使用临床活性药物剂量而稀释为所期望的 1.5-3mg/mL 的最终使用浓度后不导致高剂量的 EtOH、PEG-400 或苯甲醇(图 1、图 3)。最终使用制剂的溶血潜能将是最小的, 其还应当向受者提供微量的 EtOH。因此, 甚至是在每 8-12 小时 200-500mg 的假设临床 ITZA 剂量, 患者的各种潜溶剂的总剂量将清楚地可在可接受的极限内。

[0186] 总之, 优选的酸化的 EtOH± 苯甲醇-PEG400 溶剂系统中 ITZA 的稳定性是良好的, 在于室温超过 3 天之后至少 90% 的药物是完好的, 仍在溶液中, 当通过 HPLC 测定的。

[0187] 体外溶血研究

[0188] 来自 Parthasarathy et al. 的简化的程序被用于检测少数所选制剂的溶血潜能并且如之前所描述的构建这些最优化的制剂的 LD₅₀值(Ref53)。简言之, 将肝素化的血液与等体积的 Alsever 溶液混合。这一混合物在 PBS 中清洗两次并且之后制备 10%(体积每体积, v/v) 红细胞 /PBS 溶液并与不含 ITZA 的逐渐增加量的优选的溶剂(酸化 EtOH± 苯甲醇以及 PEG400±NS 的原型溶剂载体)混合。这些所获得的混合物于 37°C 孵育 4 小时。在孵育结束时, 将细胞在 Eppendorf 微量离心机中以 10,000x g 成团, 并且在 NS 中清洗两次之后, 将团用无菌水重悬并且裂解。在 550nm 波长光谱测定上清液中血红蛋白的释放(即溶血)。对照已经用低渗电击裂解的参考红细胞溶液测量最大裂解。之后如所描述的评价优选的储存和最终使用制剂的溶血潜能。将结果作为溶剂载体的完整红细胞部分对溶剂载体的浓度(总体积百分比)。将总体积百分比定义为加入红细胞悬浮液后混合物中溶剂系统的体积百分比。已经完成了模拟胃肠外施用之后药物制剂在血流中的稀释。完整的健康的红细胞被定义为在与溶剂载体混合后能够细胞内保留它们的血红蛋白的那些(Ref53)。

[0189] 如图 4 中所示的, 当以对于临床施用相关的部分使用完整的载体时优选的储存制剂显示非常低的诱导溶血的潜能。

[0190] 从使用完整载体(原型酸化的 EtOH/PEG400 溶剂载体和 NS)的重复的实验获得的数据概括于图 4 中。图 4 是显示最终使用制剂的溶血潜能的图表(- ■ -)。X 轴显示作为所测试的总体积的一部分的溶剂系统。Y 轴显示百分比溶血。总之, 使用酸化的 EtOH± 苯甲醇以及 PEG400/NS 的完整(最终使用)载体的优选的 H3 溶剂具有非常低的溶血潜能并且对于哺乳动物(优选地人类)的血管内(以及腔内, 例如腹膜内或胸膜内和鞘膜内)施用是完全安全的。

[0191] ITZA 的体外细胞毒性

[0192] 测定了所选择的具有和不具有 ITZA 的溶剂对酵母和不同霉菌物种两者的几个分离株的抗微生物 / 抗真菌潜能。结果证实 ITZA、POSA、KTZA 和 FZSA 保留抗真菌活性, 而如预期的 MBZSA 不具有这种活性(下文表)。变体溶剂系统自身对霉菌和酵母增殖不具有任何影响。

[0193] 表 10

[0194] A. 酵母

[0195] 所测试的药物稀释范围 38 μ g/mL 至 0.03 μ g/mL

[0196] 克鲁斯假丝酵母(*Candida cruzei*)近平滑念珠菌(*Candida parapsilosis*)(ATCC 株 6258)

[0197]

药物	MIC	药物	MIC
ITZA	0.07	ITZA	0.03
MBZSA	全部生长 (无药物作用)	MBZSA	全部生长
FZSA	全部生长	FZSA	1.2
ITZA(ref 2)	0.3	ITZA(ref 2)	0.15
KZSA	0.15	KZSA	0.03
ITZA* 0.15		ITZA* 0.07	

[0198] ITZA(ref2) 是溶于基本测试载体中的第二批 ITZA,

[0199] ITZA* 是作为阳性对照的溶于 DMSO 的对照批次的 ITZA。

[0200] 生长对照(阴性对照, 在仅培养基中生长的真菌)表现出非常好的生长。在具有不含药物的溶剂载体的培养基中生长的念珠菌同样显示非常好的生长

[0201] B. 霉菌

[0202] 在 48 小时用标准读取测试两种透明霉菌:

[0203] 测试药物范围 75 μ g/mL 至 0.07 μ g/mL

[0204]

烟曲霉 (<i>Aspergillus fumigatus</i>) (ATCC 株 90906)	烟曲霉 (临床试验分离株)
--	------------------

药物	MIC	药物	MIC
ITZA	1.2	ITZA	0.6
MBZSA	全部生长 (无药物作用)	MBZSA	5

[0205]

FZSA	全部生长	FZSA	全部生长
ITZA(Ref 2)	0.6	ITZA(Ref 2)	0.3
KZSA	20	KZSA	20
ITZA*	0.6	ITZA*	0.3

[0206] ITZA(Ref2) 和 ITZA* 的说明参见上文。

[0207] A. 扩展的霉菌测试

[0208] 为了进一步确定化合物在新的制剂系统中的抗真菌活性,我们研究了不同剂抗毛霉和曲霉的另外的菌株的功效(9/-16-9/20/2010)(根毛霉是来自患者分离株的临床分离株)并且烟曲霉(ATCC 株 90906)被用作来自之前描述的实验的重复。再次,使用标准测试方法设置敏感试验(CLSI M38A)。所使用的药物在之前已经描述过的所描述的 H3 最终使用制剂中提供。所有药物在 RPMI Mops 培养基(YeastOne, Sensititer Lot151416SA,有效期 2011 年 1 月)中稀释。

[0209] 如上文在 48 小时用标准读取测试两种透明霉菌

[0210] 药物稀释范围 75 μ g/mL 至 0.07 μ g/mL

[0211]

烟曲霉 (<i>Aspergillus fumigatus</i>) (ATCC 株 90906)		接合菌 (临床试验分离株)	
药物	MIC	药物	MIC
ITZA	1.2	ITZA	2.5
MBZSA	全部生长(无药物作用)	MBZSA	全部生长
FZSA	全部生长	FZSA	全部生长
ITZA(Ref 2)	0.3	ITZA(Ref 2)	2.5
KZSA	10	KZSA	38
ITZA*	0.3	ITZA*	2.5

[0212] 如上文所描述的所有霉菌生长对照,包括采用未加入吡咯药物的溶剂载体的对照,都无抑制的生长。

[0213] ITZA(Ref2) 和 ITZA* 的说明参见上文。

[0214] 简言之,使用标准测试方法设置敏感试验(CLSI M38A)将药物在 RPMI-Mops 培养基(Yeast One Broth(Sensititer, 产品 Y3462, Trek Diagnostic Systems, Cleveland, OH) Sensititer Lot151416SA,有效期 2011 年 1 月)中稀释。测试了酵母的两个不同菌株,在每个培养开始后 24 小时进行标准化的评估/读取。重复测试两次并且将所有 MIC(最小抑制浓度)值报告为三个实验的平均值

[0215] 表 11. POSA 在变体 H3 溶剂中的稳定性

[0216]

溶于 H3d 的POSA	溶于 H3d/5%葡萄糖的POSA		平均 mg/mL	0小时 的%	溶于 H3G/5%葡萄糖的POSA	0小时的%	0小时的%
	RT	AUC			RT	AUC	
0小时	2.554	400826	3.82	100	2.564	193985	1.75
	2.554	393993	3.75		2.565	196323	1.77
	2.558	397597	3.78		2.564	199974	1.81
2小时	2.571	385911	3.67	100	2.58	196729	1.77
	2.571	400438	3.81		2.581	192890	1.74
	2.575	408252	3.89		2.583	201970	1.83
4小时	2.608	419180	4.00	112	2.618	207424	1.88
	2.609	433947	4.15		2.62	200171	1.81
	2.613	475363	4.56		2.621	238841	2.20
6小时	2.631	438783	4.20	118	2.643	213853	1.95
	2.632	451738	4.32		2.645	212355	1.93
	2.635	501635	4.82		2.648	213037	1.94
8小时	2.678	437332	4.18	106	2.696	205638	1.86
	2.682	395893	3.77		2.701	187614	1.68
	2.687	421950	4.03		2.703	209511	1.90
24小时	2.932	400269	3.81	101	2.909	196815	1.78
	2.932	393804	3.75		2.912	198214	1.79
	2.934	411463	3.92		2.92	211982	1.93
溶于 H3G 的POSA			平均值	% of 0 小时	溶于 H3G/5%葡萄糖的POSA		
	RT	AUC	mg/mL		RT	AUC	% of 0小时
0小时	2.558	395039	3.76	100	2.564	195301	1.76
	2.558	388090	3.69		2.567	194992	1.76
	2.558	385218	3.66		2.565	187523	1.68
2小时	2.574	412117	3.93	102	2.583	202858	1.84
	2.578	392475	3.73		2.584	200590	1.81

[0217]

	2.577	386425	3.67				2.586	220873	2.02	
4小时	2.613	416905	3.98	4.23	114	4小时	2.622	211448	1.92	113
	2.612	452197	4.33				2.625	210197	1.91	
	2.616	456664	4.37				2.627	222523	2.03	
6小时	2.637	430900	3.98	4.23	114	6小时	2.65	194434	1.75	109
	2.638	418489	4.33				2.654	212007	1.93	
	2.641	459396	4.37				2.653	220443	2.01	
8小时	2.688	387222	3.68	3.57	97	8小时	2.706	189940	1.71	106
	2.691	365952	3.47				2.711	208630	1.89	
	2.691	376511	3.57				2.715	211696	1.92	
24小时	2.929	392249	3.73	3.65	99	24小时	2.919	197453	1.78	105
	2.929	371428	3.52				2.924	199459	1.80	
	2.933	388985	3.70				2.927	205780	1.87	

[0218] 实施例 3-IV 施用后血浆中和药理上的定量 ITZA 和 POSA 分析

[0219] 这一实施例证明溶于 H3 的优选的变体复合溶剂载体中并且和血液或血浆混合的 ITZA 可作为天然药物使用定量提取技术和 HPLC 测定回收, 并且 ITZA 和 POSA 浓度在 IV 施用 5mg/kg 剂量之后保持在真菌毒性范围内超过一小时。其进一步表明小鼠中胃肠外施用溶于优选制剂的 ITZA 和 POSA 之后的血浆药代动力学证实了基于公开的口服 ITZA 和 POSA 的药理学可以预期的。在我们的初步体内实验中 ITZA 的约 30 分钟的估算的半衰期似乎显著短于施用口服 ITZA 所报道的 10+ 个小时 (Ref42、45)。然而, 非常可能的是单次 IV 给药

后的 30 分钟的半衰期反映了初始的血液至组织的分布半衰期,其显著短于所预期的终端消除半衰期(Ref52)。而且,口服药物施用可导致经过多个小时后缓慢的肠吸收以使得所获得的观察到的血浆浓度消除曲线 / 半衰期反映从肠到血液的吸收的净作用以及从血液到组织的分布和最终的代谢降解,其所有都另外地被在药物到达系统循环之前经过门静脉到肝脏的首过消除打乱。

[0220] 因此,这些不同的数据组不能直接比较但是短的 IV 注射之后 30 分钟的消除半衰期与相同方式施用的许多其他亲脂性药物是一致的。有趣的是, POSA 显示不同的模式,在 IV 注射 5mg/kg 超过 4 分钟后,所达到的峰值浓度为约 3.2-3.3 $\mu\text{g/mL}$,具有 6-7 小时的半衰期,其与口服施用后估算的 15-30 个小时的半衰期相反。再者,人类中重复的口服给药和小鼠中给予的单次胃肠外给药之间没有直接比较,但是数据清楚地证明单次注射后所获得的血浆浓度达到并在延长的时间保持在之前已经被证明为抑制真菌的浓度范围内。

[0221] 血浆中 ITZA 的定量提取

[0222] 将一毫升的人类血浆和全血与不同量的再配制的 ITZA 混合(最终使用制剂即 1:1 与生理盐水混合的储存制剂)以及人类血浆或血液,以及重新配制的包含少于 3% 的总的最终体积,产生 0.2-3.0 $\mu\text{g/mL}$ 的药物浓度的药物。之后从血浆样品提取药物并且如实施例 1 中所述的通过 HPLC 分析。简言之,将 1mL 血浆与 1-2 体积的乙腈混合以沉淀富含的血浆蛋白并且离心之后除去蛋白,之后通过 HPLC 分析药物并且以上文描述的各个波长分光光度检测 ITZA(对比可替换的吡咯化合物)。加标至 9 $\mu\text{g/mL}$ 的从人类血浆回收的 ITZA/POSA 计算为约 90%,如上文所表明的,HPLC 测定在从约 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 至 100 $\mu\text{g/mL}$ 的间隔中是线性的。

[0223] 胃肠外的 ITZA 和 POSA :Swiss Webster 小鼠中的实验流程。

[0224] 除非特别说明,使用 POSA 作为 ITZA 的替代方案进行类似的实验;两种性别的具有 25-30g 体重的 Swiss Webster 小鼠被用于体外药理学实验(Harlan-Sprague-Dawley, Houston, TX)。动物在到达后留置最少 7 天以适应新的环境并且在实验之前和其间允许自由获得商业饲料和自来水。在符合 USDA、NIH 和 DHHS 的要求的 Association for the Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International(AAALAC)批准的设备中饲养动物。

[0225] 确定 5mg/kg BW 的 ITZA 剂量是可以作为缓慢(3-4 分钟)IV 推注施用于小鼠而不需要镇静作用的适合的测试剂量,但是可以采用标准漏斗形笼中仅最小身体限制的动物进行。

[0226] 将 ITZA 在作为优选的溶剂的如上文描述的 H3 溶剂系统中配制为 4-5mg/mL 的储存浓度并且之后用 NS 稀释(比例 1:1),因此可以约 100 μL 的总体积在尾部静脉中注射所期望的剂量(5.0mg/kg BW)。最终使用制剂的 ITZA 浓度在所有药物施用前通过 HPLC 确认。在这一实验中没有将麻醉前镇静剂用于小鼠以避免对可改变 ITZA 代谢的微粒体肝酶的可能的诱导。因此,在药物注射期间和之后立即,动物都是没有被麻醉的,仅身体受限。

[0227] 在药物输注前(“空白的”)和从药物注射之后从 5 分钟至 1 小时的所选择的的时间点通过心脏穿刺将血液样品(0.5-1.0mL)收集在肝素化管中以确定 ITZA 浓度,而在 POSA 实验中从 5 分钟至约 7 小时。将小鼠暴露于 2%-4% 异氟烷进行全身麻醉。通过心脏穿刺获得血液样品并且立即放置于肝素化的微量离心管中。将血液于室温以 2,000x g 离心 10 分

钟,如上文描述的分离血浆并且储存于 -80°C ,直到之后在24小时内通过HPLC提取并且测定。

[0228] 血浆中的 ITZA 和 IV 药物药理学结果

[0229] 使用血浆蛋白的乙腈沉淀从血浆提取药物对于避免来自内源血浆蛋白组分的干扰并回收最大量的药物来说是必需的。来自空白血浆(a)、混有 ITZA 的血浆(b)和从现有的药代动力学研究获得的一个血浆样品(c)的原始色谱图示于图6中。这一图显示了如实施例3所描述的提取的并之后经历HPLC的血浆样品的色谱图。图6a显示空白血浆样品,图6b显示混有溶于优选的复合溶剂制剂(H3)至 $9\mu\text{g/mL}$ 的 ITZA 的血浆样品,而图6c显示来自药理学研究的色谱图,其中用 ITZA 以 5mg/kg 注射小鼠。色谱图来自药物注射后20分钟抽取的样品。此外,图6d显示空白小鼠血浆样品,图6e显示混有溶于优选的复合溶剂载体 H3G 至 $5\mu\text{g/mL}$ 的 POSA 的血浆样品,而图6f显示来自在上文描述的体内实验中在以 5mg/kg 注射 POSA 之后20分钟抽取的小鼠血浆样品的真实的色谱图。

[0230] 当使用 C18Nova-Pak 柱(参见实施例1)时,这一系统中的 ITZA 滞留时间是4.7-5.5分而 POSA 滞留时间是2.4-3分。使用所描述的技术的 ITZA 回收是体外与 $9\mu\text{g/mL}$ 药物混合的人类血浆的90%。测定在从以 $0.1\mu\text{g/mL}$ 至 $100\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围加标的人类血浆样品提取药物后是线性的。是当10-30 μL 被注射至色谱中时有限的灵敏度为约10-20 ng/mL 。应当理解的是此时的限制因素是起始样品大小,因为技术上非常难以从个体小鼠获得超过500 μL 血液。发明人记录的数据意在证明 IV 注射增溶的 ITZA 产生与当药理学活性药物被胃肠外施用时所期望的相似的血浆清除模式并且可从药物施用后至少一小时获得的血液样品回收完好的 ITZA 的事实。如果期望在人类或家畜动物中治疗感染时将临床情况下的吡咯治疗优化,那么相当可能的是 HPLC 方法的精密度和可再现的准确性可通过提取并分析更大体积的样品并且通过在 HPLC 系统中利用2mL注射回路的更大部分来显著改善。最终,可能的是在注射至 HPLC 中之前通过蒸发/以较小的体积重构洗脱的样品获得所注射的样品中更加真实的 ITZA 浓度。以从10 ng/mL to 50 $\mu\text{g/mL}$ 的范围内制备标准曲线用于药理学实验(未显示)并且在真实的血浆 ITZA 浓度和所测量的色谱峰 AUC 值之间获得良好的线性相关($r=.9999$)。

[0231] 所获得的数据说明所使用的新的 ITZA(吡咯)制剂在于小鼠中注射 5mg/kgBW 的 ITZA 或 POSA 之后给出可检测的抑制真菌的 ITZA(吡咯)血浆浓度(图7A和7B)。图7A和7B是显示当在小鼠中注射 5mg/kg 的 ITZA 和 POSA 时血浆浓度随时间变化的图表,直到一小时。X轴显示给药后的时间,以分钟计。Y轴显示每 $\mu\text{g/mL}$ 血浆的吡咯浓度。在使用这一制剂的情况下,ITZA 和 POSA 的表观体内半衰期分别在30分钟和6-7小时的范围内。

[0232] 注射被良好耐受,经3-4分钟缓慢注射吡咯类以避免可能的副作用例如心律失常或显著的急性溶血事件,其均未记录在这些实验中。

[0233] 总之,数据证明 ITZA、POSA 和其他化学相关的吡咯化合物的药学上可接受的新的稳定的制剂可被用于对这些剂敏感的微生物导致的感染的治疗中的血管内施用。重新配制的吡咯类保留了它们的抗微生物活性,其通过用于体外实验并且证明在暴露于在新的原型溶剂载体中配制的 ITZA(吡咯)时它们的生长被抑制的酵母和各种霉菌的菌株示例。优选的溶剂载体是生理学上与血管内施用相容的并且被用作说明以证明在小鼠模型中注射溶于这一溶剂系统的 ITZA 和 POSA 被良好接受并且给予不显著的急性溶剂系统毒性。从注射

后第一小时的清除曲线的斜率推知,小鼠中注射这一制剂(5.0mg/kg BW)产生很好地保持在抑制真菌范围内超过一小时的 ITZA/POSA 血浆浓度。

[0234] 优选的 H3 的变体最终使用制剂的数据,最终证实重新引入 ITZA 和引入 POSA 用于对这些剂敏感的感染的临床治疗中的胃肠外施用现在是可行的并且证明 POSA 同样可以被安全并且完全地溶解并通过血管内施用引入系统循环。可以预期导致可预知并且可再现的获得大大改善的抗真菌活性。这些结果也给予了来自复合溶剂载体的不显著的正常器官毒性的合理预期。特别地,严重的超敏反应可使用这些制剂彻底避免是可能的并且如果这些复合载体 H3D 和 H3G 是有益的,那么即使药物被施用于早产婴儿或患有可能损害成年人充分代谢苯甲醇的能力的欠佳的肝代谢活性的病重的成年人也无需担心。

[0235] 新型溶剂系统不仅改善基于吡咯的抗微生物(-感染)治疗的临床安全性而且使得可以进一步优化可能具有归因于肠受损和伴随的无力保持适当的口服营养的欠佳的口服施用药物的生物利用率的免疫受损的患者中真菌和其他感染的治疗中这些重要的药物的使用。当用抗癌化疗治疗处于增加的系统真菌感染的风险的患者例如经历造血干细胞移植之前的预处理治疗那些时同样可使用本发明的实施方案。

[0236] 根据本公开内容可制备并执行本文公开和要求的组合物和/或方法而无需过度的实验。当以优选实施方案的方式描述本发明的组合物和方法时,对本领域技术人员来说显而易见的是可对组合物和/或方法以及在本文描述的方法的这一步骤或一系列步骤中进行变化而不背离本发明的概念、精神和范围。更具体地,显而易见的是化学和生理学都相关的某些剂可取代本文描述的剂同时获得相同或相似的结果。对本领域技术人员来说显而易见的所有这些相似的取代和修改被认为在本发明的精神、范围和概念中。

[0237] 参考文献

[0238] 下列参考文献以它们为本文所展示的那些提供示例性的、程序性的或其他细节补充的程度通过引用特别并入本文。

[0239] 1. Baddley JW, Marr KA, Andes DR, Walsh TJ, Kauffman CA, Kontoyiannis DP, Ito JI, Balajee SA, Pappas PG, Moser SA. Patterns of susceptibility of *Aspergillus* isolates recovered from patients enrolled in the Transplant-Associated Infection Surveillance Network. *J Clin Microbiol.* 2009;47(10):3271-3275.

[0240] 2. Campo M, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Invasive fusariosis in patients with hematologic malignancies at a cancer center:1998-2009. *J Infect. Dis* 2010;60(5):331-337.

[0241] 3. Chen SC, Playford EG, Sorrell TC. Antifungal therapy in invasive fungal infections. *Curr Opin Pharmacol.* 2010;10(5):522-530.

[0242] 4. Dutkiewicz R, Hage CA. *Aspergillus* infections in the critically ill. *Proc Am Thorac Soc.* 2010;7(3):204-209.

[0243] 5. Evans SE. Coping with *Candida* infections. *Proc Am Thorac Soc.* 2010;7(3):197-203.

[0244] 6. Glockner A, Karthaus M. Current aspects of invasive candidiasis and aspergillosis in adult intensive care patients. *Mycoses.* 2010;e-pub.

[0245] 7. Hicheri Y, Toma A, Maury S, Pautas C, Mallek-Kaci H, Cordonnier C. Updated

guidelines for managing fungal diseases in hematology patients. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010;8(9):1049-1060.

[0246] 8. Hsu LY, Ng ES, Koh LP. Common and emerging fungal pulmonary infections. *Infect Dis Clin North Am.* 2010;24(3):557-577.

[0247] 9. Ito JI, Kriengkauykiat J, Dadwal SS, Arfons LM, Lazarus HM. Approaches to the early treatment of invasive fungal infection. *Leuk Lymphoma.* 2010;51(9):1623-1631.

[0248] 10. Jang SH, Colangelo PM, Gobburu JV. Exposure-response of posaconazole used for prophylaxis against invasive fungal infections: evaluating the need to adjust doses based on drug concentrations in plasma. *Clin Pharmacol Ther.* 2010;88(1):115-119.

[0249] 11. Kim A, Nicolau DP, Kuti JL. Hospital costs and outcomes among intravenous antifungal therapies for patients with invasive aspergillosis in the United States. *Mycoses.* 2010;e-pub.

[0250] 12. Lehrnbecher T, Attarbaschi A, Duerken M, Garbino J, Gruhn B, Kontny U, Luer S, Phillips R, Scholz J, Wagner HJ, Wiesel T, Groll AH. Posaconazole salvage treatment in paediatric patients: a multicentre survey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2010;29:1043-1045.

[0251] 13. Lewis RE, Kontoyiannis DP. Invasive aspergillosis in glucocorticoid-treated patients. *Med Mycol.* 2009;47Suppl1:S271-281.

[0252] 14. Lortholary O, Obenga G, Biswas P, Cailliot D, Chachaty E, Bienvenu AL, Cornet M, Greene J, Herbrecht R, Lacroix C, Grenouillet F, Raad I, Sitbon K, Troke P. International retrospective analysis of 73 cases of invasive fusariosis treated with voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(10):4446-4450.

[0253] 15. Pappas PG, Alexander BD, Andes DR, Hadley S, Kauffman CA, Freifeld A, Anaissie EJ, Brumble LM, Herwaldt L, Ito J, Kontoyiannis DP, Lyon GM, Marr KA, Morrison VA, Park BJ, Patterson TF, Perl TM, Oster RA, Schuster MG, Walker R, Walsh TJ, Wannemuehler KA, Chiller TM. Invasive fungal infections among organ transplant recipients: results of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET). *Clin Infect Dis.* 2010;50(8):1101-1111.

[0254] 16. Person AK, Kontoyiannis DP, Alexander BD. Fungal infections in transplant and oncology patients. *Infect Dis Clin North Am.* 2010;24(2):439-459.

[0255] 17. Singh N, Limaye AP, Forrest G, Safdar N, Munoz P, Pursell K, Houston S, Rosso F, Montoya JG, Patton P, Del Busto R, Aguado JM, Fisher RA, Klintmalm GB, Miller R, Wagener MM, Lewis RE, Kontoyiannis DP, Husain S. Combination of voriconazole and caspofungin as primary therapy for invasive aspergillosis in solid organ transplant recipients: a prospective, multicenter, observational study. *Transplantation.* 2006;81(3):320-326.

[0256] 18. Torres HA, Hachem RY, Chemaly RF, Kontoyiannis DP, Raad, II.

Posaconazole:a broad-spectrum triazole antifungal.Lancet Infect Dis.Dec 2005;5(12):775-785.

[0257] 19.Ullmann AJ,Lipton JH,Vesole DH,Chandrasekar P,Langston A,Tarantolo SR,Greinix H,Morais de Azevedo W,Reddy V,Boparai N,Pedicone L,Patino H,Durrant S.Posaconazole or Fluconazole for prophylaxis in severe graft-versus-host disease N Engl J Med. 2007;356(4):335-347.

[0258] 20.Vehreschild JJ,Ruping MJ,Wisplinghoff H,Farowski F,Steinbach A,Sims R,Stollorz A,Kreuzer KA,Hallek M,Bangard C,Cornely OA.Clinical effectiveness of posaconazole prophylaxis in patients with acute myelogenous leukaemia(AML):a 6 year experience of the Cologne AML cohort.J Antimicrob Chemother. 2010;65(7):1466-1471.

[0259] 21.Walsh TJ,Driscoll T,Milligan PA,Wood ND,Schlamm H,Groll AH,Jafri H,Arrieta AC,Klein NJ,Lutsar I.Pharmacokinetics,safety,and tolerability of voriconazole in immunocompromised children.Antimicrob Agents Chemother. 2010;54(10):4116-4123.

[0260] 22.Wingard JR,Carter SL,Walsh TJ,et al.Randomized double-blind trial of fluconazole versus voriconazole for prevention of invasive fungal infection(IFI)after allo hematopoietic cell transplantation(HCT).Blood. Sep8.

[0261] 23.Winston DJ,Bartoni K,Territo MC,Schiller GJ.Efficacy,Safety,and Breakthrough Infections Associated with Standard Long-Term Posaconazole Antifungal Prophylaxis in Allogeneic Stem-Cell Transplant Recipients.Biol Blood Marrow Transplant. 2010,e-pub.

[0262] 24.Greer ND.Posaconazole(Noxafil):a new triazole antifungal agent.Baylor Univ Med Center Proc. 2007;20:188-196.

[0263] 25.Carrillo-Munoz AJ,Quindos G,Ruesga M,et al.Antifungal activity of posaconazole compared with fluconazole and amphotericin B against yeasts from oropharyngeal candidiasis and other infections.The Journal of antimicrobial chemotherapy2005;55(3):317-9.

[0264] 26.Dodds Ashley ES,Alexander BD Posaconazole.Drugs of today 2005;41(6):393-400.

[0265] 27.Groll AH,Walsh TJ Antifungal efficacy and pharmacodynamics of posaconazole in experimental models of invasive fungal infections.Mycoses2006;49 Suppl1:7-16.

[0266] 28.Notheis G,Tarani L,Costantino F,et al.Posaconazole for treatment of refractory invasive fungal disease.Mycoses2006;49Suppl1:37-41.

[0267] 29.Courtney R,Pai S,Laughlin M,Lim J,Batra V.Pharmacokinetics,safety,and tolerability of oral posaconazole administered in single and multiple doses in healthy adults.Antimicrobial Agents and Chemotherapy2003;47(9):2788-95.

- [0268] 30. Dodds-Ashley E. Management of drug and food interactions with azole antifungal agents in transplant recipients. *Pharmacotherapy*. 2010;30(8):842-854.
- [0269] 31. Benet LZ, Sheiner LB. Pharmacokinetics: The dynamics of drug absorption, distribution, and elimination. In: Goodman Gilman A, Goodman LS, Rall TW, Murad F. (Eds.). *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 7th Edition. MacMillan Publishing Co. New York, NY. 1985;P. 8.
- [0270] 32. Zhou H, Goldman M, Wu J, Woestenborghs R, Hassell AE, Lee P, Baruch A, Pesco-Koplowitz L, Borum J, Wheat LJ. A pharmacokinetic study of intravenous itraconazole followed by oral administration of itraconazole capsules in patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *Clin Pharmacol*. 1998;38(7):593-602.
- [0271] 33. Cserhádi T. Alkyl ethoxylated and alkylphenol ethoxylated nonionic surfactants: interaction with bioactive compounds and biological effects. *Environ Health Perspec*. 1995;103(4):358-364.
- [0272] 34. Dimitrijevic D, Shaw AJ, Florence AT. Effects of some non-ionic surfactants on transepithelial permeability in Caco-2 cells. *J Pharm Pharmacol*. 2000;52(5):157-162.
- [0273] 35. Warisnoicharoen W, Lansley AB, Lawrence MJ. Toxicological evaluation of mixtures of nonionic surfactants, alone and in combination with oil. *J Pharm Sci*. 2003;92(4):850-868.
- [0274] 36. Gelderblom H, Verweij J, Nooter K, Sparreboom A. Cremophor EL: the drawbacks and advantages of vehicle selection for drug formulation. *Eur J Cancer*. 2001;37(13):1590-1598.
- [0275] 37. Coors EA, Seybold H, Merk HF, Mahler V. Polysorbate 80 in medical products and nonimmunologic anaphylactic reactions. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2005;95(6):593-599.
- [0276] 38. Tamilvanan, S. Oil-in-water lipid emulsions: implications for parenteral and ocular delivering systems. *Prog Lipid Res*. 2004;43(6):489-533.
- [0277] 39. Driscoll, D. Safety of parenteral infusions in the critical care setting. *Advanced Studies in Medicine*. 2002;2(9):338-342.
- [0278] 40. Boothe DM, Herring I, Calvin J, Way N, Dvorak J. Itraconazole disposition after single oral and intravenous and multiple oral dosing in healthy cats. *Am J Vet Res*. 1997;58(8):872-77.
- [0279] 41. Davis JL, Salmon JH, Papich MG. Pharmacokinetics and tissue distribution of itraconazole after oral and intravenous administration to horses. *Am J Vet Res* 2005;66(10):1694-1701.
- [0280] 42. Willems L, Van der Geest R, de Beule K. Itraconazole oral solutions and intravenous formulations; a review of pharmacokinetics and pharmacodynamics. *J Clin Pharm Ther*. 2001;26(3):159-169.

- [0281] 43. Spiegel A. J. Noseworthy M. N. Use of nonaqueous solvents in parenteral products. J. Pharm. Sci. 1963;52:917-927.
- [0282] 44. Yalkowsky S. H., Roseman T. J. Solubilization of drugs by cosolvents. In: Yalkowsky S. H. (Ed.): Techniques of solubilization of drugs. 1981; Pp. 91-134. Marcel Dekker Inc., New York, NY.
- [0283] 45. Van de Velde VJ, Van Peer AP, Heykants JJ, Woestenborghs RJ, Van Rooy P, De Beule KL, Cauwenbergh GF. Effect of food on the pharmacokinetics of a new hydroxypropyl-beta-cyclodextrin formulation of itraconazole. Pharmacotherapy 1996;16(3):424-428.
- [0284] 46. Robertson R: Common poisonings. In: Wyngarden JB, and Smith LH (Eds.) Cecil. Textbook of Medicine. WB Saunders Company, Philadelphia, PA. 1988. Pp. 140-145.
- [0285] 47. Neonatal deaths associated with use of benzyl alcohol. MMWR Weekly Report 1982;31:290-91.
- [0286] 48. American Academy of Pediatrics Committee on Fetus and Newborn. Benzyl alcohol: toxic agent in neonatal units. Pediatrics 1983;72:356-58.
- [0287] 49. Brown WJ, Bulst NR, Gipson H, Huston RK, Kennaway NG. Fatal benzyl alcohol poisoning in a neonatal intensive care unit. Lancet 1982;1(8283):1250.
- [0288] 50. Menon PA, Thach BT, Smith CH, Landt M, Roberts JL, Hillman RE, Hillman LS. Benzyl alcohol toxicity in a neonatal intensive care unit. Am J Perinatol 1984;1(4):288-92.
- [0289] 51. LeBel M, Ferron L, Masson M, Pichette J, Carrier C. Benzyl alcohol metabolism and elimination in neonates. Dev Pharmacol Ther. 1988;11(6):347-56.
- [0290] 52. Woestenborghs R, Lorreyne W, Heykants J. Determination of itraconazole in plasma and animal tissues by high-performance liquid chromatography. J Chromatogr. 1987;413:332-337.
- [0291] 53. Parthasarathy R, Sacks PG, Harris D, Brock H, Mehta K. Interaction of liposome-associated all-trans-retinoic acid with squamous carcinoma cells. Cancer Chemother. Pharmacol. 1994;34(3):527-34.
- [0292] 54. Gibaldi M, Perrier D. Noncompartmental Analysis based on statistical moment theory. In: Pharmacokinetics, 2d Ed, Rev. and expanded, New York, NY, Marcel Dekker, 1982; 409-416.
- [0293] 本申请中所用的缩写
- [0294] AAALAC- 国际实验动物管理评鉴及认证协会。
- [0295] ATCC- 美国的组织细胞收藏中心, Rockville, MD。
- [0296] AUC- 曲线下面积, 用于表示色谱图中峰的实际测量面积的术语, 并且也作为总体系药物暴露的度量用于向动物或人类施用药物后经过若干小时后血浆浓度对时间曲线下面积。
- [0297] BSA- 体表面积。

- [0298] BW- 体重。
- [0299] CLSI- 临床和实验室标准协会（本文，提供实验室微生物敏感试验的标准）。
- [0300] D₅W-5% 溶解于水的葡萄糖。
- [0301] D₁₀W-10% 溶解于水的葡萄糖。
- [0302] DMSO- 二甲基亚砷。
- [0303] DNA- 脱氧核糖核酸。
- [0304] DHHS- 卫生与人类服务部。
- [0305] EtOH- 乙醇。
- [0306] FDA- 美国食品和药物管理局。
- [0307] FZSA- 氟康唑。
- [0308] HCl- 盐酸。
- [0309] HPLC- 高压液相色谱。
- [0310] Intralipid™- 主要从豆油制备并且推广用于可获得的胃肠外营养的水性脂质乳液的商品名。大豆脂质乳液在作为溶剂用于随后的研究之前被冻干并且在本文中被成为“脂质”。
- [0311] ITZA- 伊曲康唑。
- [0312] KZSA- 酮康唑。
- [0313] Liposyn™- 主要从豆油制备并且推广用于可从 Abbott (Abbott Park, IL) 获得的胃肠外营养的水性脂质乳液的商品名。大豆脂质乳液在作为溶剂用于随后的研究之前被冻干并且在本文中被成为“脂质”。
- [0314] MBZA- 甲苯咪唑。
- [0315] MIC- 最小抑制浓度。
- [0316] NCI- 国立癌症研究所。
- [0317] NIH- 国立卫生研究院。
- [0318] nm- 纳米。
- [0319] NS- 生理盐水（溶于水中的 150mM NaCl）。
- [0320] PBS- 磷酸盐缓冲盐水（Dulbecco 制剂，pH7.4）。
- [0321] PEG- 和 PEG-400/PEG400- 聚乙二醇 -400（即具有 400 道尔顿的平均分子量）
- [0322] PG- 聚乙二醇。
- [0323] POSA- 泊沙康唑。
- [0324] RPMI-Mops-Mops 缓冲液（3(N- 吗啉代）丙磺酸，pH7.2）缓冲的标准化组织培养基。
- [0325] RT- 室温（22℃）。
- [0326] RT-HPLC 测定中的滞留时间；标明时分别使用。
- [0327] USDA- 美国农业部。

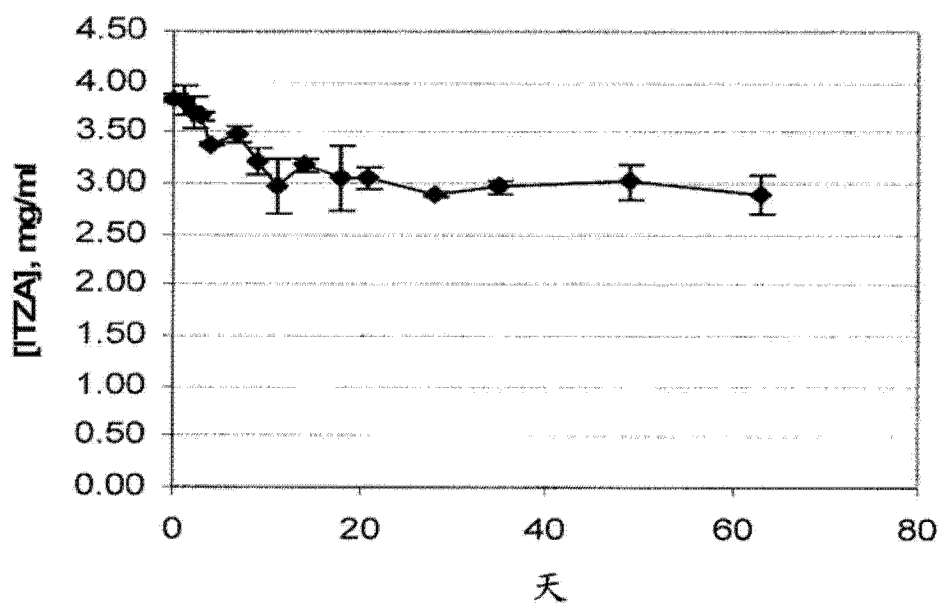


图 1A. 室温下 4mg/ml ITZA 的稳定性研究

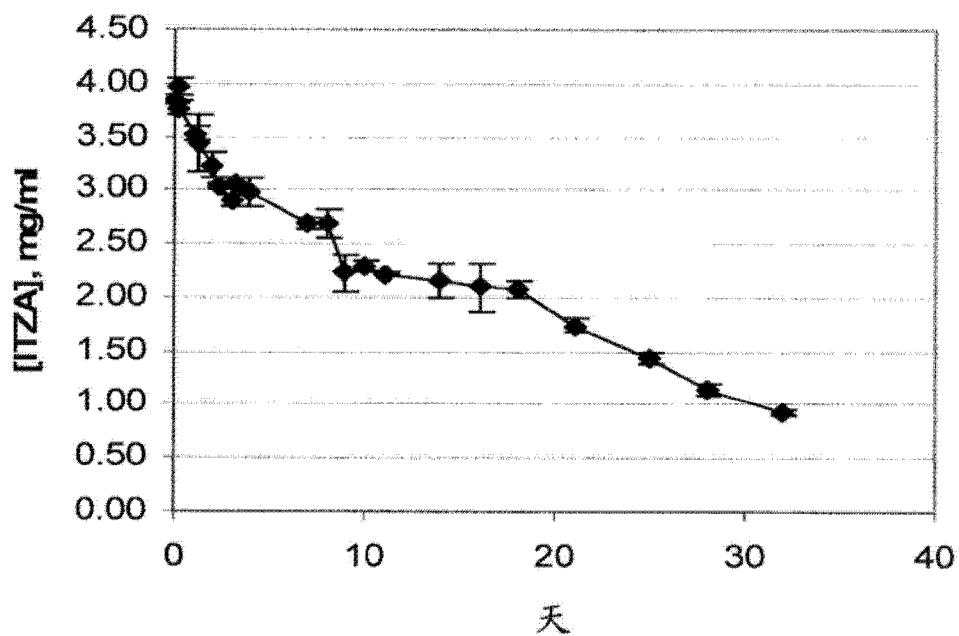


图 1B. 40°C 4mg/ml ITZA 的稳定性研究

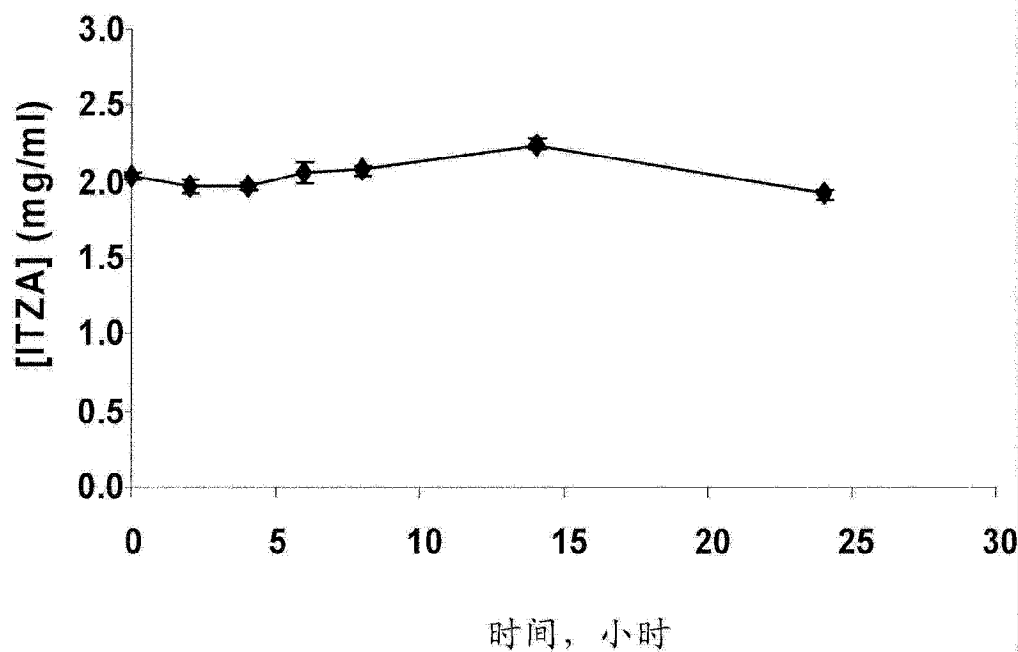


图 1C. 室温下 ITZA (2mg/ml) 的稳定性

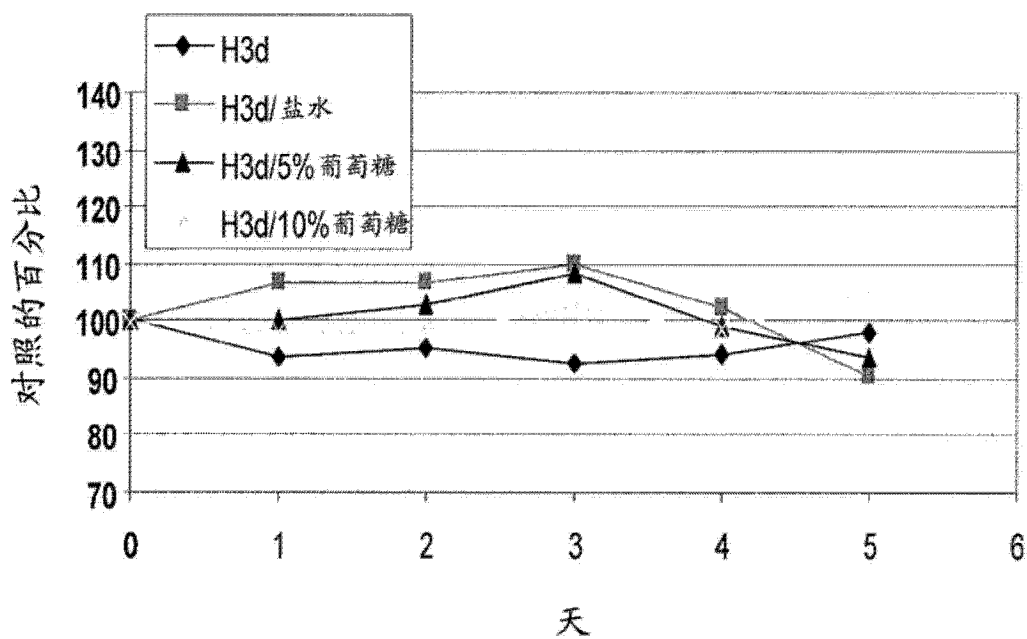


图 1D. TTZA 在不同溶剂中的稳定性

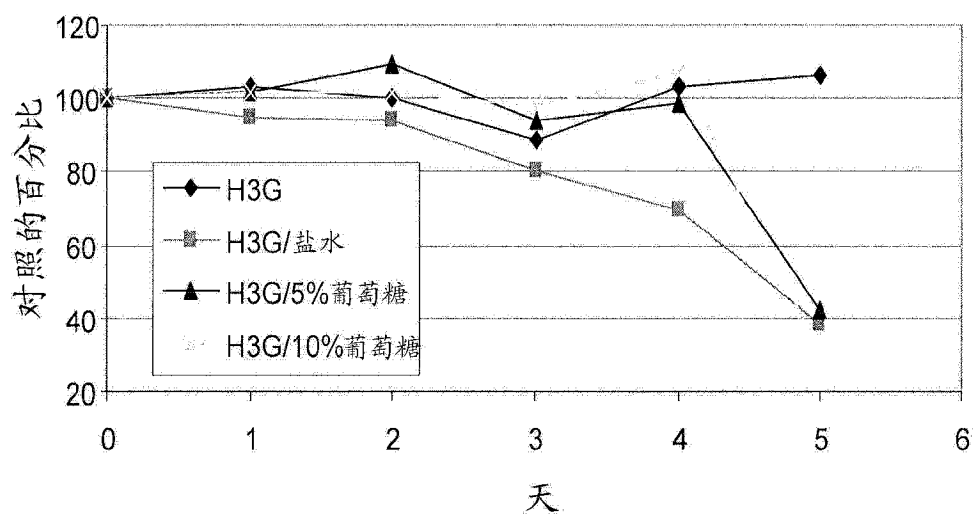


图 1E. ITZA 在不同溶剂中的稳定性

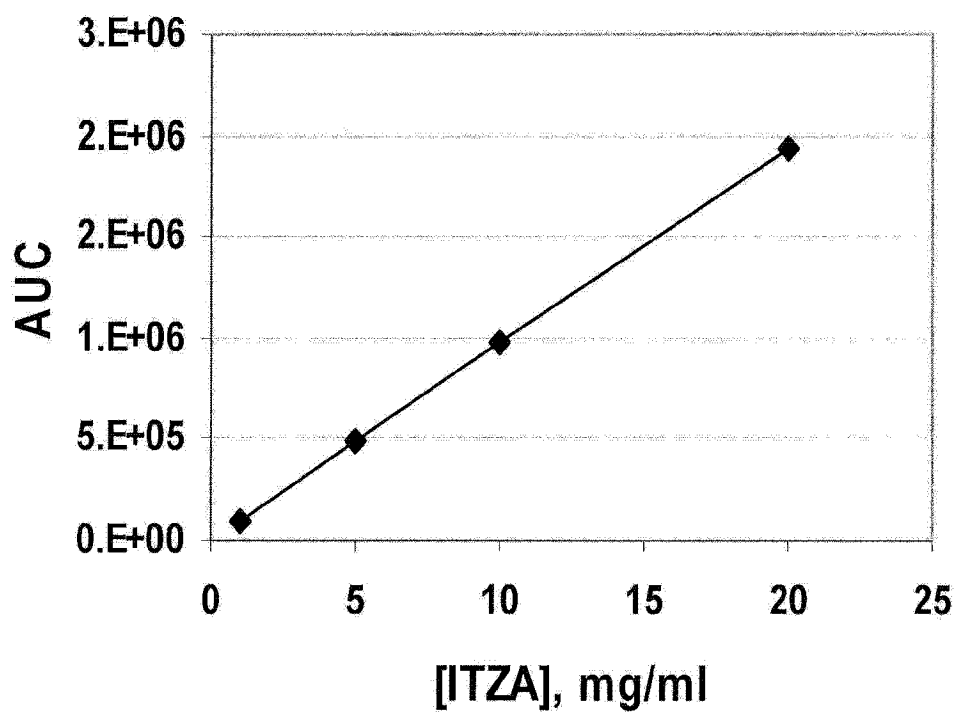


图 2. 标准曲线

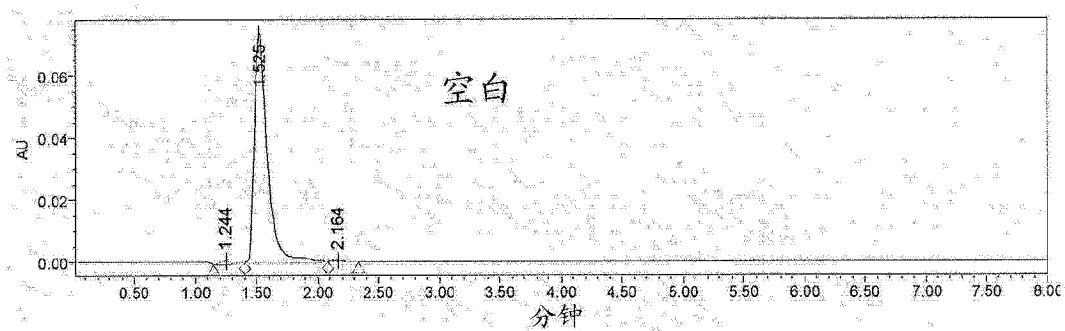


图 3a

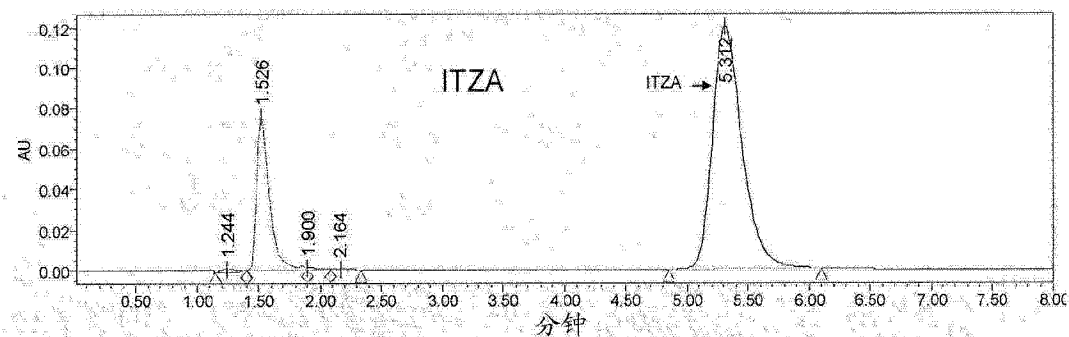


图 3b

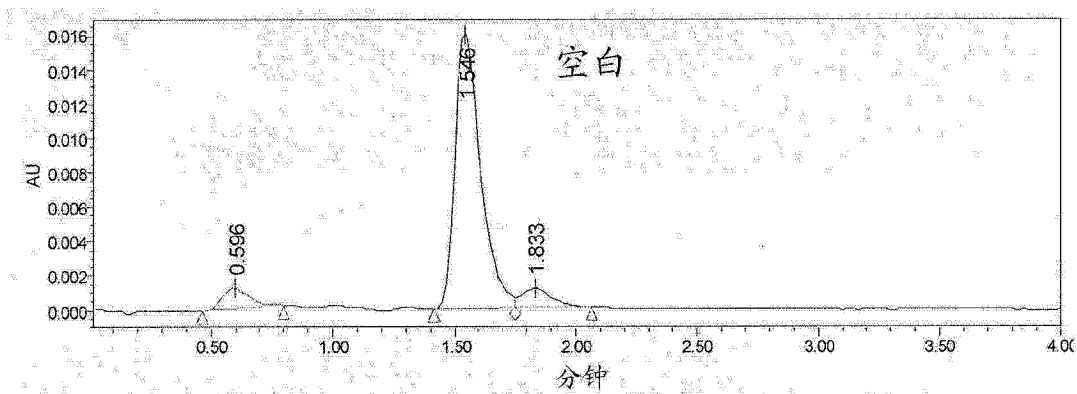


图 3c

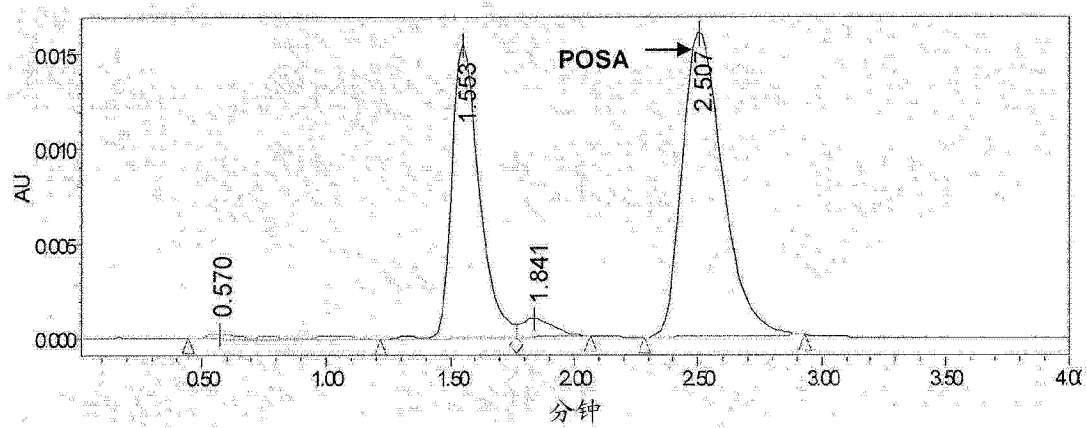


图 3d

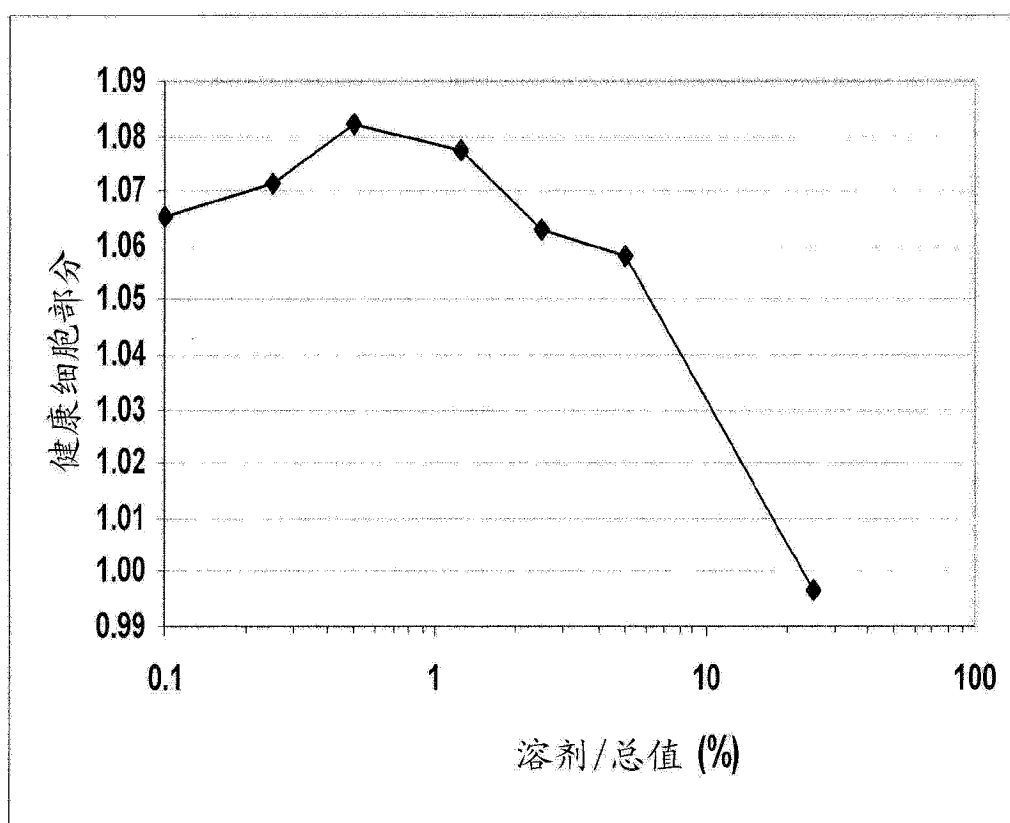
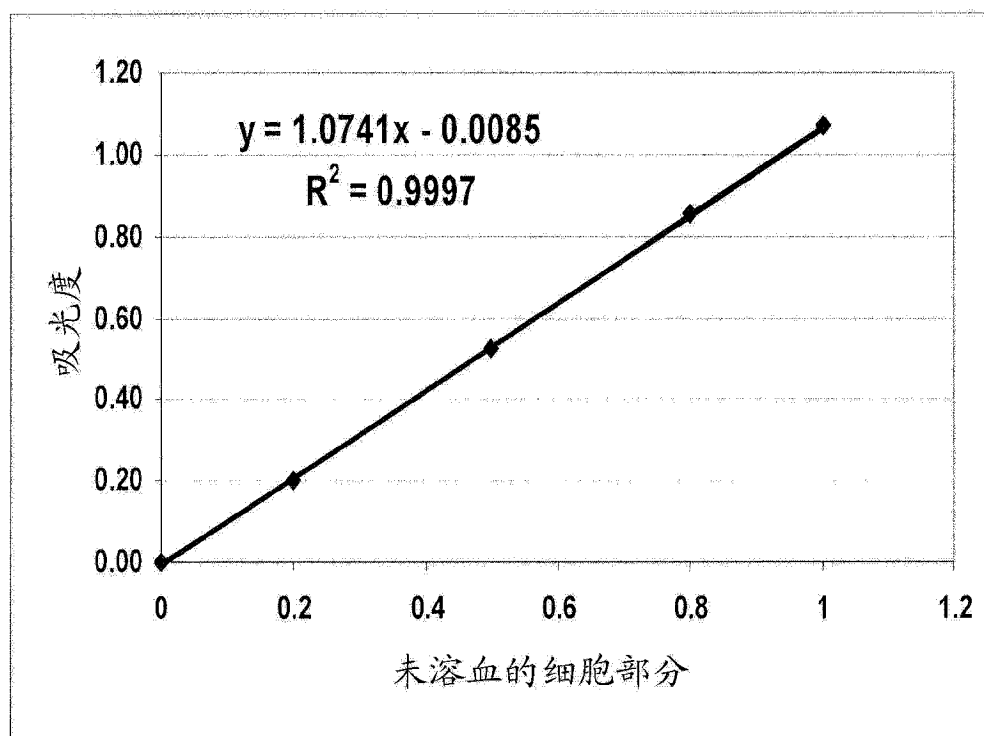
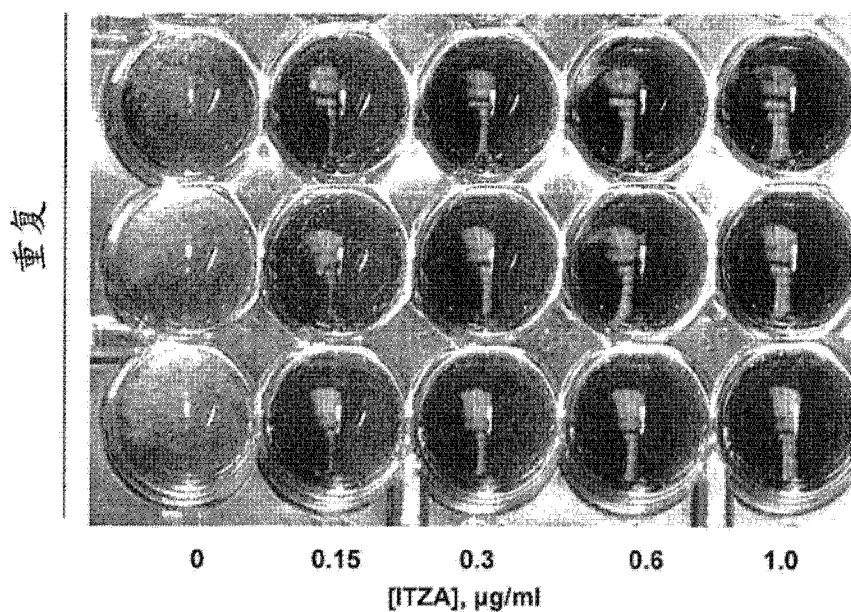


图 4A 和 B



酵母

所测试药物的稀释范围: 38 µg/ml 至 0.03 µg/ml

克鲁斯假丝酵母(ATCC 株 6258)		近平滑念珠菌	
药物	MIC	药物	MIC
ITZA	0.07	ITZA	0.03
MBZSA	全部生长	MBZSA	全部生长
FZSA	全部生长	FZSA	1.2
KZSA	0.15	KZSA	0.03
ITZA*	0.15	ITZA*	0.07

ITZA*是作为阳性对照溶解于DMSO的ITZA对照批次

生长对照(阴性对照, 在仅培养基中生长的真菌)表现出非常好的生长

在具有不含药物的溶剂载体的培养基中生长的念珠菌同样显示非常好的生长

霉菌

所测试药物的稀释范围: 75 µg/ml 至 0.07 µg/ml

烟曲霉(ATCC 株 90906)		烟曲霉(临床实验室分离株)	
药物	MIC	药物	MIC
ITZA	1.2	ITZA	0.6
MBZSA	全部生长	MBZSA	5
FZSA	全部生长	FZSA	全部生长
KZSA	20	KZSA	20
ITZA*	0.6	ITZA*	0.3

ITZA*是作为阳性对照溶解于DMSO的ITZA对照批次

图 5.72 小时孵育后 ITZA 对烟曲霉的生长的影响。

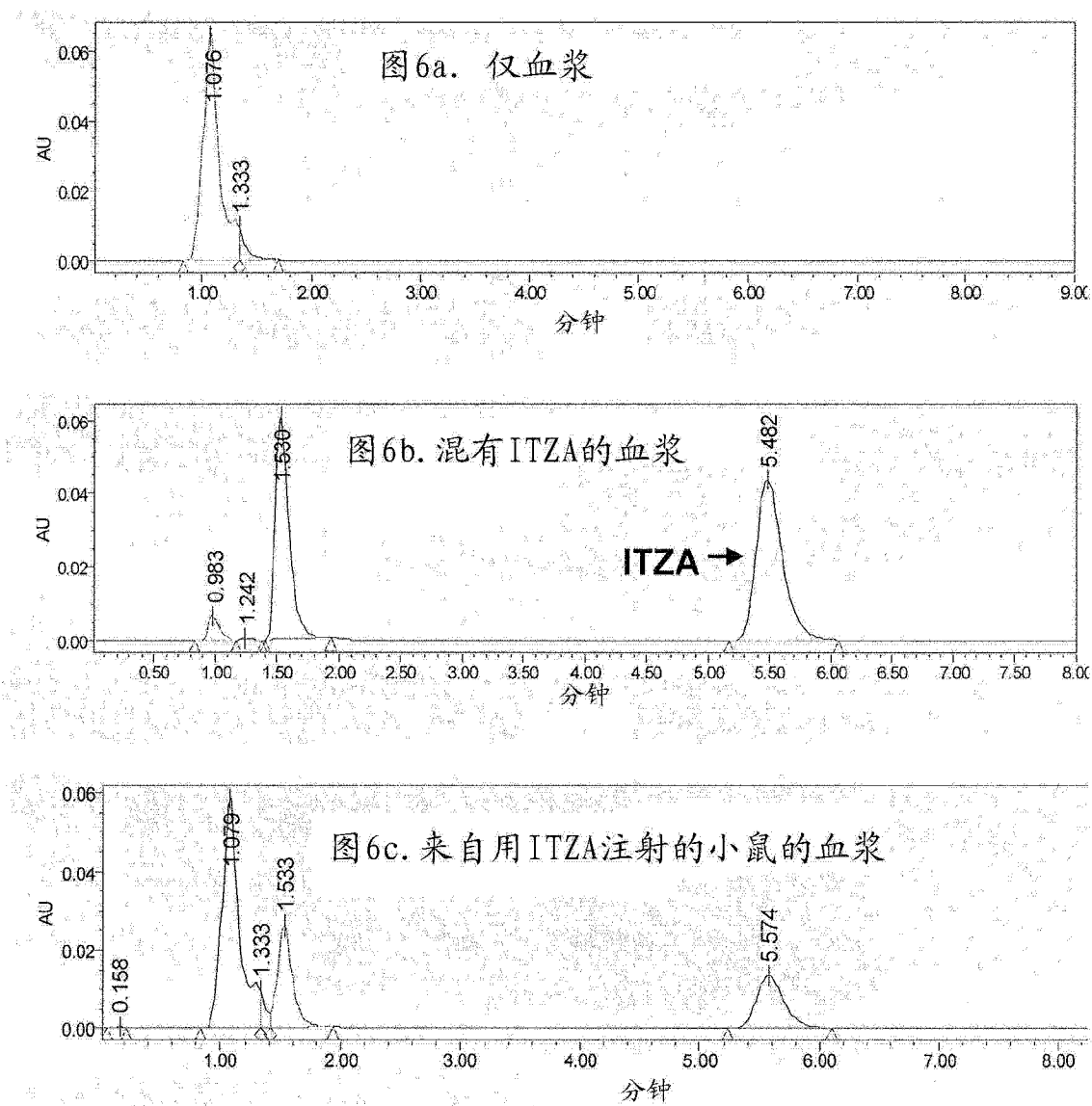


图 6.

分别来自含有 ITZA (6B、C) 和 POSA (6E、F) 的血浆的色谱图

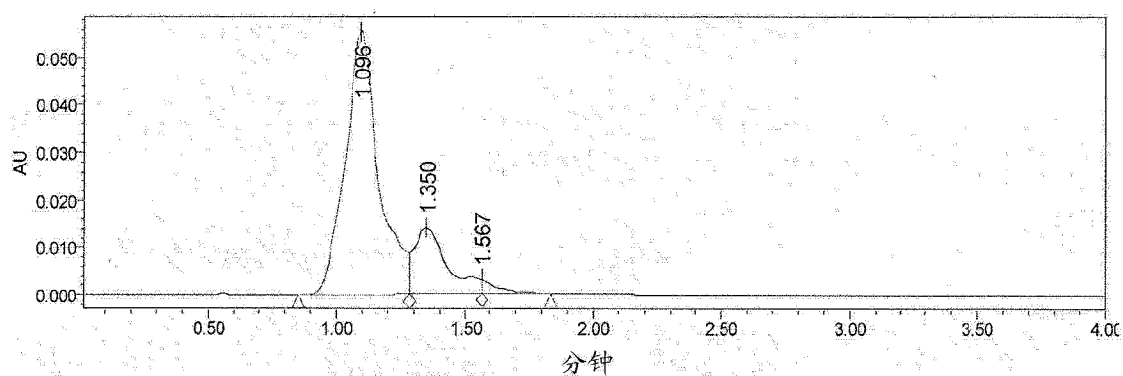


图 6D. 仅血浆

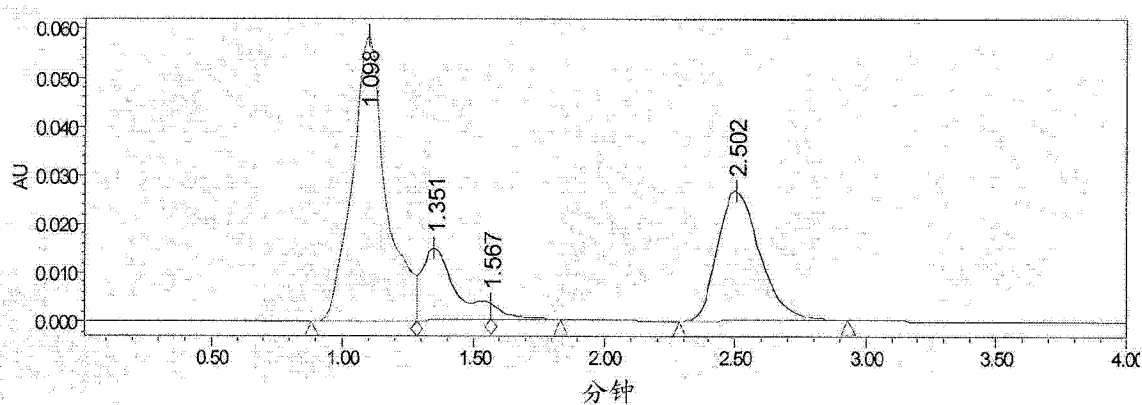


图 6E. 混有 POZA 的血浆 (在 2.502 分的 POSA 尖峰)

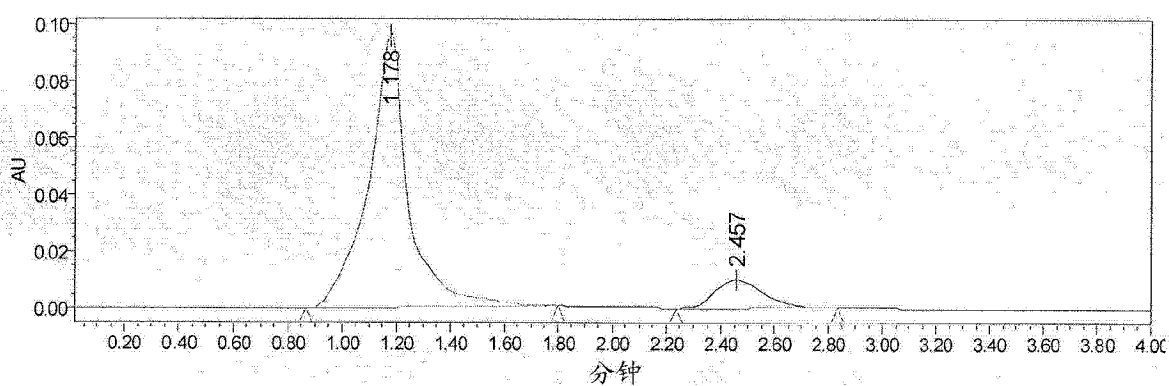


图 6F. 来自用 POSA 以 5mg/kg 注射的小鼠的血浆 (在 2.457 分的 POSA)

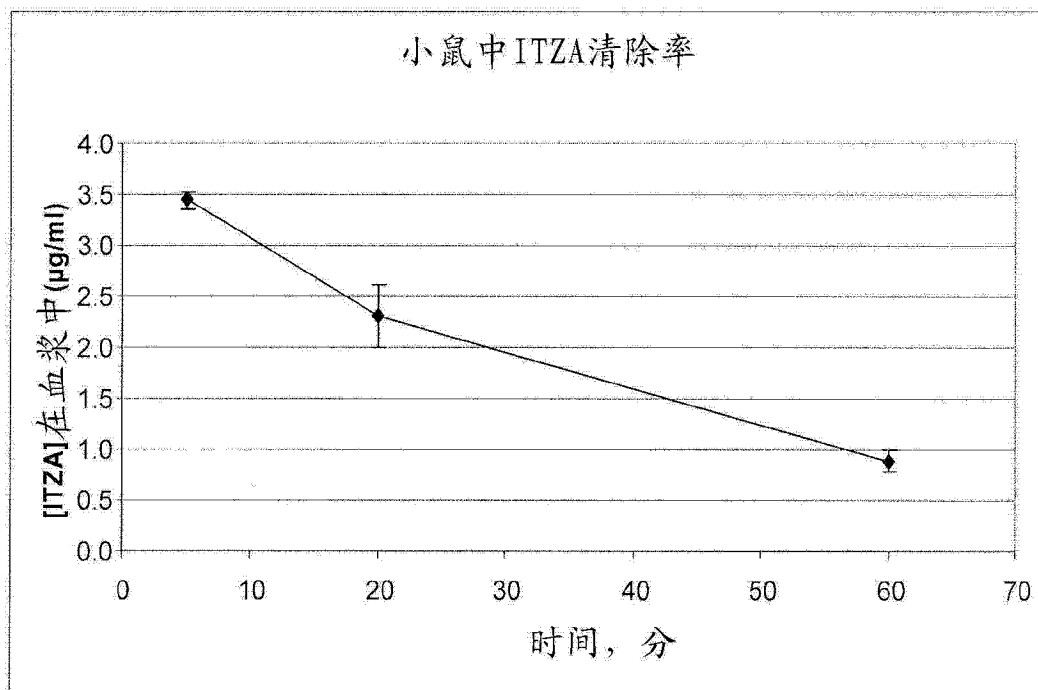


图 7A H3G 溶剂中的 ITZA, 以 5mg/kg 在 小鼠中注射后的清除率

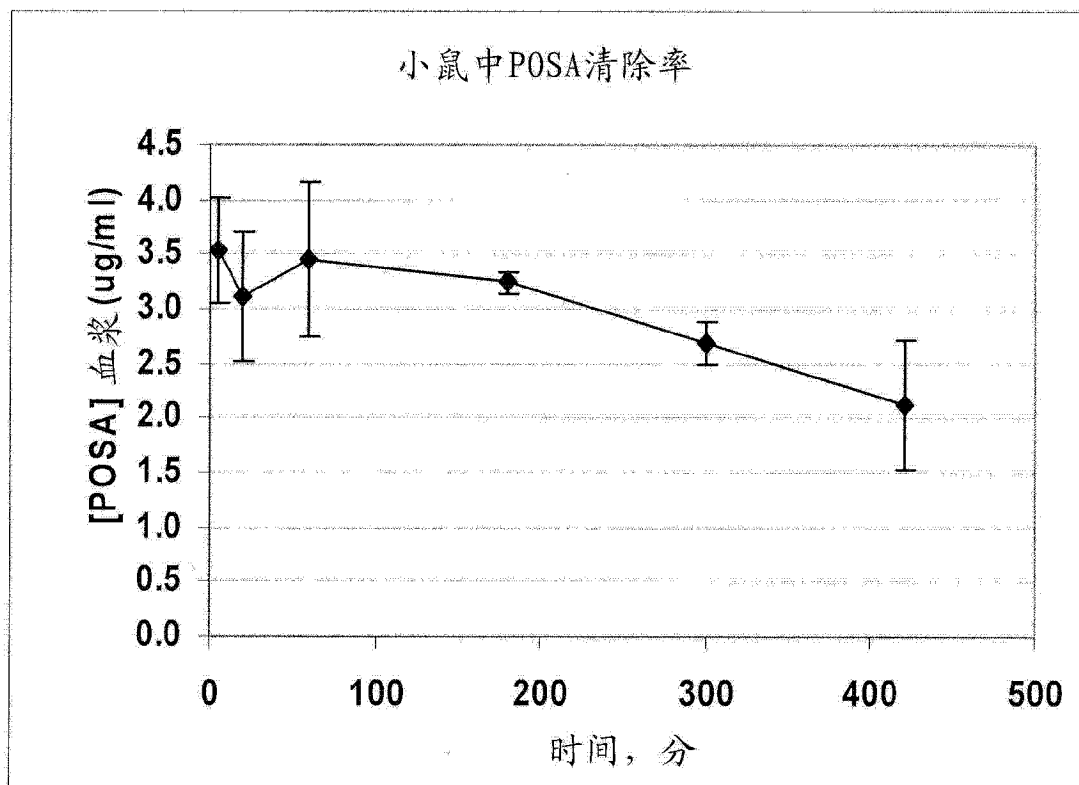


图 7B 以 5mg/kgIV 注射后小鼠中的 POSA 清除率