



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101528261 B

(45) 授权公告日 2012. 07. 18

(21) 申请号 200780039946. 7

(22) 申请日 2007. 08. 27

(30) 优先权数据
60/840, 568 2006. 08. 28 US

(85) PCT申请进入国家阶段日
2009. 04. 27

(86) PCT申请的申请数据
PCT/US2007/018877 2007. 08. 27

(87) PCT申请的公布数据
W02008/027357 EN 2008. 03. 06

(73) 专利权人 爵士制药有限公司
地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 G·贾米森 M·德贾丁 C·奥菲恩
S·奥拉夫斯多蒂

(74) 专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司 11285
代理人 张广育 姜建成

(51) Int. Cl.
A61K 47/10 (2006. 01)
A61K 47/14 (2006. 01)
A61K 47/22 (2006. 01)
A61K 31/5513 (2006. 01)
A61P 25/08 (2006. 01)

(56) 对比文件
US 2006153905 A1, 2006. 07. 13, 第 1 页第 2 段
第 4 页第 31-3439 段; 第 6 页第 69-70 段; 第 6 页第 73 段至第 7 页第 73 段; 第 8 页第 81 段.

CN 1056812 A, 1991. 12. 11, 说明书第 13 页第 5-12 行
实施例 11
说明书第 12 页第 2-6 行
说明书第 11 页第 17-21 行
说明书第 28 页第 1-3 行
实施例 8、9
权利要求 1

·
WO 0106987 A2, 2001. 02. 01, 第 5 页第 6-29 行; 第 10 页; 实施例 10、11; 第 16 页至第 18 页; .
PUGLIA C ET AL.: "Evaluation of in vitro percutaneous absorption of lorazepam and clonazepam from hydro-alcoholic gel formulations". 《INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS, 》. 2001, 第 228 卷 (第 1-2 期), 79-87.
MURA P ET AL.: "Evaluation of transcutol as a clonazepam transdermal permeation enhancer from hydrophilic gel formulations". 《EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES ELSEVIER, AMSTERDAM, NL》. 2000, 第 9 卷 (第 4 期), 365-372.
VYAS T K ET AL.: "Intranasal mucoadhesive microemulsions of clonazepam: Preliminary studies on brain targeting". 《" JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES》. 2006, 第 95 卷 (第 3 期), 570-580.

审查员 田丽丽

权利要求书 1 页 说明书 48 页 附图 4 页

(54) 发明名称
氯硝西洋药物组合物及其使用方法

(57) 摘要
本发明包括被配制用于鼻内给药的苯二氮杂䓬类组合物, 它包含一个含有第一溶剂和第二溶剂的二元溶剂系统, 其中苯二氮杂䓬类可溶于所述第一溶剂且所述第一溶剂能够穿透鼻黏膜组织, 而苯二氮杂䓬类在所述第二溶剂中的溶解度

较低。本发明的组合物可用于治疗多种障碍包括但不限于惊恐发作、肌肉痉挛、焦虑和癫痫。本发明的一个方面涉及经鼻给药的快速起效的氯硝西洋组合物, 所述组合物可用于治疗癫痫成组发作。

CN 101528261 B

1. 一种用于对哺乳动物经黏膜给药的药物组合物,包括:
一个含有第一溶剂和第二溶剂的溶剂系统,氯硝西洋可溶于所述第一溶剂,其中所述第一溶剂包含一种或者多种选自二甘醇单乙醚和四氢糠醇聚乙二醇醚的组分,所述第一溶剂能穿透鼻黏膜组织,并且氯硝西洋在所述第二溶剂中的溶解度小于在所述第一溶剂中的溶解度,其中所述第二溶剂包含一种或者多种选自三乙酸甘油酯和丙二醇的组分,其中所述溶剂系统含有 10%或更少(重量/重量)的缓冲水溶液,并要求所述溶剂系统不含游离的聚乙二醇聚合物;和治疗有效量的氯硝西洋。
2. 一种用于对哺乳动物经黏膜给药的药物组合物,包括
一个含有一种烷基醚溶剂的溶剂系统,其中氯硝西洋可溶于所述溶剂,其中所述烷基醚溶剂选自 1,2-二甲氧基乙烷、二(乙二醇)甲醚、二甘醇单乙醚和二(乙二醇)二乙醚,所述溶剂能穿透鼻黏膜组织,和治疗有效量的氯硝西洋,
其中所述组合物是单相和均一的。
3. 权利要求 1 的组合物,其中所述第一溶剂的重量百分比在约 30%至约 70%之间。
4. 权利要求 1 或 2 的组合物,其中所述氯硝西洋的重量百分比在 0.1% -20%之间。
5. 权利要求 1 或 2 的组合物,还含有一种或多种选自表面活性剂、抗氧化剂、药学可接受的聚合物、多元醇、脂质、黏膜渗透促进剂、着色剂、调味剂、麻醉剂、助溶剂和渗透压调节剂的组分。
6. 权利要求 1 或 2 的组合物,其中所述组合物被制成在 -15°C 和 30°C 之间可喷雾的形式。
7. 权利要求 2 的药物组合物,其中所述烷基醚溶剂是二甘醇单乙醚。
8. 权利要求 5 的药物组合物,其中所述抗氧化剂是浓度为 100 到 3000ppm 的丁基羟甲苯。
9. 权利要求 1 或 2 的组合物,其中所述组合物可使用的单位治疗剂量为约 25 μ L 到 50 μ L 或约 50 μ L 到 300 μ L。
10. 权利要求 1 或 2 的组合物,其中氯硝西洋的所述治疗有效量为每单位剂量 0.1mg 至 5.0mg。
11. 权利要求 1-10 任一项的组合物在制备用于治疗癫痫成组发作或选自惊恐发作、社交恐怖症、社会焦虑和作业焦虑的焦虑状态的药剂中的用途。
12. 权利要求 11 的用途,其中所述药剂在癫痫症状发作时被递送。
13. 一种生产氯硝西洋组合物的方法,包括混合权利要求 1-10 任一项的所述溶剂系统和氯硝西洋,以提供适于氯硝西洋鼻内给药的单相、均一的溶液。
14. 权利要求 1 的药物组合物,其中所述缓冲水溶液包括磷酸盐缓冲液、碳酸盐缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、醋酸盐缓冲液、氢氧化钠、盐酸、乳酸、酒石酸、二乙胺、三乙胺、二异丙胺或氨基甲胺,或者其任意组合。
15. 权利要求 1 的药物组合物,还包括依地酸钠或依地酸,或其组合。

氯硝西洋药物组合物及其使用方法

技术领域

[0001] 本发明涉及苯二氮杂 䓬类 (benzodiazepines) 如氯硝西洋 (clonazepam) 的制剂,包括组合物和剂型。本文描述了对经黏膜送递包括鼻内送递有用和有效的组合物,以及这些组合物的使用方法和生产方法。

背景技术

[0002] 苯二氮杂 䓬类是一类抗抑郁药、抗惊恐剂和肌肉松弛剂,用于减轻焦虑、治疗惊恐症、促进睡眠、放松肌肉以及缓解癫痫发作和肌肉痉挛。苯二氮杂 䓬类药物通过抑制中枢神经系统来起到这些作用。氯硝西洋、阿普唑仑 (alprazolam)、氯氮 䓬 (chlordiazepoxide)、地西洋 (diazepam)、劳拉西洋 (lorazepam)、奥沙西洋 (oxazepam)、艾司唑仑 (estazolam)、咪达唑仑 (midazolam) 和三唑仑 (triazolam) 是苯二氮杂 䓬类药物的实例。

[0003] 氯硝西洋是 Hoffman-La Roche 的销售产品,其商标名称在美国为 **KLONOPIN**® (Hoffmann-La Roche Inc., New Jersey),在加拿大、南美和欧洲为 **RIVOTRIL**® (Hoffmann-La Roche Inc., New Jersey)。氯硝西洋的药物谱与其他抗焦虑 / 镇静的苯二氮杂 䓬类药物的药物谱相似,其抗惊厥特点类似于其他二氮 䓬类药物。氯硝西洋可抑制伴随失神发作 (即癫痫小发作) 的棘徐波放电 (spike and wave discharge),并减少小规模运动抽搐的幅度、频率、持续时间和放电扩散。

[0004] 口服氯硝西洋吸收良好;最大血药浓度通常出现在服药后 1 到 2 个小时。它由肝脏代谢,并被降解为主要由尿液排出的无活性代谢产物。尿液中未发生改变的排出量小于剂量的 0.5%。此外,9%至 27%的剂量的氯硝西洋由粪便排出。氯硝西洋的半衰期在大约 18 小时至 50 小时之间变动。

[0005] 氯硝西洋具有强抗焦虑特性和欣快的副作用;因此被认为是一种“非常强效的”苯二氮杂 䓬。具体地,0.25mg 的氯硝西洋大致相当于 5.0mg 的地西洋。氯硝西洋的镇静效果与其强抗惊厥和抗焦虑作用相比相对较弱。氯硝西洋的镇静效果也弱于其他苯二氮杂 䓬类药物的镇静效果。氯硝西洋似乎是通过模拟 GABA 的中枢神经系统作用而起作用,如其他苯二氮杂 䓬类一样。

[0006] 氯硝西洋常用来治疗癫痫症、焦虑症、惊恐、多动腿综合征 (RLS)、慢性疲劳综合征、快速眼动 (REM) 睡眠行为障碍、夜惊症和秽语综合征 (Tourette's syndrome)。对于焦虑症的治疗,由于焦虑症的慢性性质,可能需要低剂量、长期的氯硝西洋治疗。虽然苯二氮杂 䓬类有可能被滥用,但使用氯硝西洋对焦虑症进行长期治疗是治疗性的,不应与依赖性 or 毒瘾混为一谈。氯硝西洋也用于结合药物如锂、利培酮 (risperidone) 或氟哌啶醇 (haloperidol) 对躁狂症进行初步治疗。此外,氯硝西洋还用于治疗帕金森氏病和精神分裂症的症状,以及颤搐和疼痛控制。氯硝西洋也被用来减少和控制秽语综合征运动抽搐。在另一个申请中,氯硝西洋已被用来治疗致幻剂引起的持久性知觉障碍 (HPPD)。氯硝西洋通

常不用来治疗失眠,因为其镇静效果相对较弱。

[0007] 对于癫痫患者,氯硝西洋可单独地或作为辅助治疗剂和主要治疗剂针对顽固患者使用。癫痫的疾病特征是:脑功能短暂但经常性地受到干扰,这可能与意识的损伤或丧失以及异常动作或行为有关,也可能与之无关。治疗癫痫病人的首要目标是最大限度地恢复其功能性能力。为此,医生会使用一种抗癫痫药物(AED)的可靠疗法。有大约30%的患者对于AED治疗仍然效果不佳,经常反复发作,并可能成组发作。其中一些患者也可能会发生持续的发作活动,更长时间没有恢复意识,这种病情被称为癫痫持续状态。除了危及生命,反复发作和癫痫持续状态还会影响认知并永久损害其他脑功能。

[0008] 顽固癫痫患者,包括癫痫成组发作和癫痫持续状态的患者,经常出现在急诊室中,并在这里使用IV苯二氮杂䓬类、phenytoin和巴比妥类治疗。在急诊室的治疗目的是迅速停止癫痫发作活动。到急诊室之前,这些患者和看护可使用的治疗方法很有限。

[0009] 癫痫发作通常分为两类:原发性全面性发作(涉及大脑两侧的大范围放电的发作)和部分性发作(只涉及脑的一部分区域的发作)。原发性全面性发作包括:失神发作(也称为小发作)、肌阵挛发作、失张力和强直发作、阵挛和强直痉挛发作(也称为大发作)。部分性发作包括简单发作和复杂发作以及继发性全面性发作。

[0010] 氯硝西洋已经用于治疗许多不同的癫痫综合征和不同类型的癫痫发作,包括Lennox-Gastaut综合征(小发作变化形式)、无动性和肌阵挛发作。氯硝西洋也可用于失神发作的患者。在欧洲,氯硝西洋(以IV制剂形式供应)也用于急诊室中的癫痫发作的快速治疗。通常急诊室中会出现具有癫痫成组发作和癫痫持续状态病史的患者。

[0011] 用于对癫痫发作活动增加且使用稳定的抗癫痫药物疗法的患者进行门诊治疗的氯硝西洋直肠凝胶制剂是可通过商业途径获得的(**Diastat®**)。**Diastat®**由看护给予患者,可有效停止癫痫发作活动并从而减少到急诊室的次数。然而,由于给药方式,**Diastat®**主要用于父母可以对他们的孩子进行直肠给药的儿童患者群体。理想地,对这些癫痫患者的门诊援救治疗应迅速地发挥终止正在进行的发作的作用,并在足够长的有效期内防止癫痫发作活动反复发作。所述治疗也应易于由看护以文化上可接受且方便的给药方式给药。

[0012] 用于对癫痫发作活动增加且使用稳定抗癫痫药物疗法的患者进行门诊治疗的氯硝西洋直肠凝胶制剂是可通过商业途径获得的(**Diastat®**)。**Diastat®**由看护给予患者,可有效停止癫痫发作活动并从而减少到急诊室的次数。然而,由于给药方式,**Diastat®**主要用于父母可以对他们的孩子进行直肠给药的儿童患者群体。理想地,对这些癫痫患者的门诊援救治疗应迅速地发挥终止正在进行的发作的作用,并在足够长的有效期内防止癫痫发作活动反复发作。所述治疗也应易于由看护以文化上可接受且方便的给药方式给药。

[0013] 鼻黏膜为口服和胃肠外给药提供了一种替代方式;鼻内给药是一种可实现许多药物治疗效果的实用方式。这种方法的优点是药品可被简单容易地给药,而且可实现对局部或全身的作用。然而,鼻内给药存在一个重大的问题:大多数药物分子通过鼻黏膜扩散很慢且扩散效果很差。因此,不能或不会随病情发展及时达到药剂的治疗水平。另一个限制是,给药体积必须很小;通常最大限度约为每鼻孔150 μ L。如果给予更大体积的药品,就可能流到咽部而被吞食。

[0014] 多种鼻内苯二氮杂 䇇 的组合物已经被开发。然而,其中某些组合物表现出达到峰值血浆浓度的时间延迟、吸收不良或生物利用度差。这对于治疗或预防某些障碍、疾病和症状是不能接受的。例如,某些鼻内咪达唑仑制剂产生时的 pH 值会对许多患者造成鼻腔刺激和烧伤。

[0015] 因此,需要特性(如快速吸收、达到峰值浓度的时间和生物利用度)得到改善的鼻内苯二氮杂 䇇 组合物。此外,还需要对药物有高溶解度且不伤害鼻黏膜的载体。此外,还需要可改善患者顺应性的鼻内组合物。

[0016] 发明内容

[0017] 本发明的一个方面涉及一种用于对哺乳动物经黏膜给药的药物组合物,包含一个溶剂系统 and 治疗有效量的氯硝西洋,所述溶剂系统含有第一溶剂和第二溶剂,其中氯硝西洋可溶于所述第一溶剂且所述第一溶剂能穿透鼻黏膜组织,并且氯硝西洋在所述第二溶剂中的溶解度小于在所述第一溶剂中的溶解度,其中所述溶剂系统含有 10% (重量/重量) 或更少的缓冲水溶液,并要求所述溶剂系统不含游离的聚乙二醇聚合物。

[0018] 在其他实施方案中,所述药用溶剂系统可以是基本单相和基本均一的,可基本不含缓冲水溶液,所述第一溶剂可以是二甘醇单乙醚 (DEGEE) 或四氢糠醇聚乙二醇醚 (乙氧基化四氢糠醇 (glycofurol)), 所述第一溶剂的重量百分比可在约 30% 至约 70% 之间,所述第二溶剂可以是三乙酸甘油酯或丙二醇,且所述氯硝西洋的重量百分比可在约 0.1% 至约 10% 之间。

[0019] 在其他实施方案中,所述第一和第二溶剂可以以相等的重量百分比存在,所述缓冲水溶液的 pH 可在约 4 至约 7 之间,所述组合物还可含有一种或多种选自表面活性剂、抗氧化剂、药学可接受的聚合物、多元醇、脂质、黏膜渗透促进剂、着色剂、调味剂、麻醉剂、助溶剂和渗透压调节剂的组分,所述组合物可被制成可喷雾形式且在 -15°C 至 30°C 之间的温度下可喷雾。

[0020] 本发明的另一方面涉及一种用于对哺乳动物经鼻黏膜给药的药物组合物,所述药物组合物包含一个溶剂系统 and 治疗有效量的氯硝西洋,所述溶剂系统含有第一溶剂和第二溶剂,其中所述第一溶剂包括一种或多种选自二甘醇单乙醚或四氢糠醇聚乙二醇醚的组分,所述第二溶剂包括一种或多种选自三乙酸甘油酯或丙二醇的组分,其中所述溶剂系统含有 10% (重量/重量) 或更少的缓冲水溶液,并要求所述溶剂系统不含游离的聚乙二醇聚合物,且所述组合物是单相和均一的。

[0021] 在其他实施方案中,所述组合物可使用的单位治疗剂量约在 $50\ \mu\text{L}$ 到 $300\ \mu\text{L}$ 之间,或 25 到 $150\ \mu\text{L}$ 之间,且每单位剂量的治疗有效量的氯硝西洋可在 0.1mg 到 5.0mg 之间,或 1.0mg 到 4.0mg 之间。

[0022] 在另一个实施方案中,本发明的用于对哺乳动物经鼻黏膜给药的含氯硝西洋的药物组合物含有乙醚溶剂 and 治疗有效量的氯硝西洋,其中所述组合物是单相和均一的。

[0023] 在又一方面,本发明的用于对哺乳动物经鼻黏膜给药的药物组合物含有氯硝西洋,其特征为 (i) 在单次鼻内给药后氯硝西洋的 T_{max} 不超过 2 小时,及 (ii) 在单次鼻内给药后氯硝西洋的生物利用度不低于同等剂量氯硝西洋口服的生物利用度的 30%。

[0024] 在又一方面,本发明的用于对哺乳动物经鼻黏膜给药的药物组合物含有氯硝西洋,其特征为 (i) 在单次鼻内给药后氯硝西洋的 C_{max} 至少为口服同等剂量氯硝西洋的 C_{max} 的

约 75%，及 (ii) 在单次鼻内给药后氯硝西洋的生物利用度不低于同等剂量氯硝西洋口服的生物利用度的 30%。

[0025] 在又一方面，本发明的用于对哺乳动物经鼻黏膜给药的药物组合物含有氯硝西洋，其特征为 (i) 在单次鼻内给药后氯硝西洋的 AUC(AUC_{in}) 与同等剂量氯硝西洋口服的 AUC(AUC_{oral}) 的比值至少为约 AUC_{in} : AUC_{oral} = 1 : 3.3，其中所述 AUC 值是经过相同时间段测得的。

[0026] 本发明的其他方面涉及将活性药剂给予需要所述药剂的哺乳动物的方法，所述方法包括将含有上述组合物的剂型中的氯硝西洋通过所述哺乳动物鼻黏膜送递到所述哺乳动物的血流中，本发明还涉及治疗患癫痫的哺乳动物的方法，所述方法包括将含有上述组合物的剂型中的氯硝西洋通过所述哺乳动物鼻黏膜送递到所述哺乳动物的血流中。

[0027] 在其他实施方案中，活性药剂在发作症状发生时送递，并且可以给予一个或多个单位剂量。

[0028] 本发明的又一方面涉及生产氯硝西洋组合物的方法，所述方法包括混合溶剂系统和氯硝西洋以得到适于氯硝西洋鼻内给药的单相、均一的溶液。

[0029] 本发明的又一方面涉及一种将活性药剂给予需要所述药剂的哺乳动物的方法，其中将一种上述组合物给予处于选自惊恐发作、社交恐怖症、社会焦虑和作业焦虑的焦虑发作的哺乳动物。

[0030] 根据本申请公开的内容，普通技术人员容易实现本发明的上述实施方案和其他实施方案。

附图说明

[0031] 图 1 表示 7 小时 (h) 内每单位面积上渗透的氯硝西洋的平均累计量的图示。图中，横轴是时间，以小时为单位给出，纵轴是每单位面积上渗透的药物的平均渗透量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)。

[0032] 图 2 表示氯硝西洋在三乙酸甘油酯或丙二醇和乙氧基化四氢糠醇的混合物中的溶解度。图中，纵轴是以 mg/mL 为单位的 CL0(氯硝西洋) 溶解度，横轴是三乙酸甘油酯 (TA) 或丙二醇 (PG) 和乙氧基化四氢糠醇 (GF) 的百分比 (%)。图中，PG/GF 的线性回归是 $y = -0.6539x + 66.185$ ，相关系数 $R^2 = 0.9904$ ；TA/GF 的线性回归是 $y = -0.6229x + 67.597$ ，相关系数 $R^2 = 0.999$ 。

[0033] 图 3 表示 5 种氯硝西洋制剂的刺激性数据。刺激性值的比较是相对乙酸溶液和 Setron 制剂进行的。图中，纵轴是时间阈上的血压积分 (积分)，横轴是 50 μL 剂量的测试制剂，包括：CLZ2080-10 毫克 / 毫升氯硝西洋、20% **Transcutol®** (TC)、80% 聚乙二醇 (PEG)；CLZ5050-10 毫克 / 毫升氯硝西洋、50% TC、50% PEG；CLZ70G30T-10 毫克 / 毫升氯硝西洋、70% GF、30% TA；CLZ20T80P02T-10 毫克 / 毫升氯硝西洋、10% TC、90% PEG200 和 0.2% 吐温 20；盐水 (阴性对照)；乙酸 (HOAc) 0.3% (阳性对照)；乙酸 (HOAc) 1.5% (阳性对照)；Setron (阳性对照)。

[0034] 图 4 表示 8 种氯硝西洋制剂和对照制剂基于平均血压变化的刺激性评分数据。盐水、乙酸溶液和 Setron 制剂的条柱 (即最右侧的四个条柱) 代表先前的试验数据，并在此列入用于比较。图中，纵轴是时间阈上的血压积分 (积分)，横轴对应测试制剂 (所述制剂

列于表 11)。盐水是阴性对照 ;0.3% 乙酸 (HOAc) 和 0.9% HOAc 是阳性刺激对照 ;Setron 是阳性刺激对照。

[0035] 图 5 表示兔研究中的药物动力学数据。图中,纵轴是氯硝西洋浓度 (CLZ 浓度 (ng/mL)),横轴是以分钟为单位表示的时间 (时间 (分钟))。所述数据图的图例如下:制剂 I,封闭环状;制剂 II,封闭方块;制剂 III,正三角;及制剂 IV,浅 x。深 x 标识的顶部数据线对应静脉内给药的数据。

[0036] 图 6 总结了被给予本发明的氯硝西洋组合物的实验动物鼻腔的组织病理学结果。图中,纵轴是感染动物的数目,横轴是按三个条形图组别组织的各实验组。在每个条形图中,竖条顺序如下:评分 0;评分 1;评分 2。

[0037] 图 7 显示出在 3cm 处的气缕面积和非水溶剂基质的粘度之间的关系。示出了水的数据以用于比较 (□)。溶剂基质的组成示于表 19 中。图中纵轴是以 cm 为单位的气缕面积,横轴是粘度 (cP)。

[0038] 图 8 显示出喷雾角度和非水溶剂基质的粘度之间的关系。示出了水的数据以用于比较 (□)。溶剂基质的组成示于表 19 中。图中纵轴是喷雾角度 (单位为度),横轴是粘度 (cP)。

[0039] 图 9 显示出气缕不对称性 (D_{\max}/D_{\min}) 和非水溶剂基质的粘度之间的关系。示出了水的数据以用于比较 (□)。溶剂基质的组成示于表 19 中。图中纵轴是 (D_{\max}/D_{\min}),横轴是粘度 (cP)。

具体实施方式

[0040] 本说明书引用的所有专利、出版物和专利申请都以引用的方式纳入本文中,相当于每个单独的专利、出版物或专利申请基于任何目的都特别地且分别地全文纳入本文中。

[0041] 1.0.0 定义

[0042] 应理解,本文所用术语只是出于描述具体的实施方案的目的,而非意在限制。除非上下文中另外明确指出,在本说明书和所附权利要求书中使用的单数形式的“a(一)”、“an(一种)”和“the(该)”包括复数指代对象。因此,例如,提到“a solvent(一种溶剂)”时,包括两种或更多种这类溶剂的组合;提到“a compound(一种化合物)”时,包括一种或多种化合物、化合物的混合物等等。

[0043] 除非另外定义,本文所用的所有技术术语和科学术语都具有本发明所属技术领域的普通技术人员通常理解的含义。尽管与本文所述方法和材料类似或相当的其他方法和材料可用于实施本发明,但本文描述了优选的材料和方法。

[0044] 在描述和要求保护本发明时,下列术语将根据下面的定义使用。

[0045] 本文所用的术语“剂型”是指含有活性药剂如氯硝西洋并任选含有非活性成分的药物组合物,所述非活性成分例如为可用于制造和送递活性药剂的药学可接受的赋形剂如助悬剂、表面活性剂、溶剂、助溶剂、渗透促进剂、结合剂、稀释剂、润滑剂、稳定剂、抗氧化剂、渗透剂、着色剂、增塑剂、包衣等。

[0046] 本文所用术语“凝胶”是指一种含有溶于例如水、醇或水醇 (hydroalcoholic) 载体中的胶凝剂的半固体剂型,且所述胶凝剂赋予所述载体一种三维交联基质 (凝胶化的)。本文所用的术语“半固体”是指一种非均相系统,其中一种固相分散于另一液相。在本发明

优选的实施方案中,为鼻内给药配制的苯二氮杂 䓬(如氯硝西洋)组合物未被凝胶化。

[0047] 对不具有优势水环境的本文所述制剂和组合物的 pH 量度更适合被描述为“表观 pH”值,因为在优势水环境中的 pH 值未被测定。在这种情况下,例如,有机溶剂对 pH 量度的影响可导致 pH 相对真水环境(trueaqueous environment)的改变。

[0048] 本文所用的术语“黏膜粘附性”是指与被粘液被覆的黏膜例如鼻腔内的黏膜的粘附。

[0049] 本文所用的术语“载体”或“运载体”是指适于药物活性成分给药(例如经鼻黏膜的经黏膜给药)的运载材料(非药物活性成分)。运载体可包括例如溶剂、助溶剂、渗透促进剂、pH 缓冲剂、抗氧化剂、添加剂等,其中所述运载体的成分是无毒的且不与整个组合物的其他成分以有害方式相互作用。

[0050] 本文所用的术语“经皮”送递既指经皮给药(或经皮肤给药)又指经黏膜给药,即通过使药物穿过皮肤或黏膜表面最终进入血流的送递。经黏膜给药包括但不限于为将活性药物(如氯硝西洋)送递到被给药受试者的血流中而进行的组合物的鼻、口、直肠和阴道给药。

[0051] 本文所用的短语“治疗有效量”是指药物、药剂或化合物足以提供理想治疗效果但无毒的量,例如,一个或多个剂量的氯硝西洋可有效治疗如下病症:包括成组发作和癫痫持续状态在内的癫痫发作,或包括但不限于惊恐发作、社交恐怖症、社会焦虑和作业焦虑的焦虑状态,急性躁狂症,精神病以及包括但不限于尼古丁戒除、鸦片戒除和酒精戒除的药物戒除。

[0052] 本文所用的短语“成组发作”是指在某些癫痫患者中密切相关的发作群组。通常成组发作的患者以独特的模式经历这种频率增加的发作。对于某些这类患者,在 24-48 小时内经历 3 次或更多次的发作并不少见。

[0053] 本文所用的术语“苯二氮杂 䓬类”是指具有镇静、催眠、抗焦虑、抗惊厥、遗忘和/或肌肉松弛性质的一类药物。通常,苯二氮杂 䓬类具有一个由一个苯环和一个七元二氮杂 䓬(diazepine)环稠合形成的结构。大多数重要的苯二氮杂 䓬类含有一个芳基取代环和一个 1,4-二氮杂 䓬环。通常,苯二氮杂 䓬类是指芳基-1,4-苯二氮杂 䓬类。苯二氮杂 䓬类作用的结果通常是通过 γ -氨基丁酸(GABA)增加对受体的激活。术语苯二氮杂 䓬包括苯二氮杂 䓬类及其药学可接受的盐。

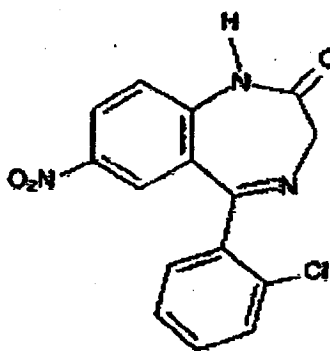
[0054] 苯二氮杂 䓬类通常根据该药物有明显作用的时间被分为三组:短效苯二氮杂 䓬类作用时间通常小于 6 小时;中效苯二氮杂 䓬类作用时间通常在 6-10 小时之间;长效苯二氮杂 䓬类具有持久的强镇静作用。下面是部分苯二氮杂 䓬类的列表。此列表大致是按最短效作用到最长效作用的苯二氮杂 䓬的顺序排列的:阿普唑仑(alprazolam)、溴西洋(bromazepam)、氯氮 䓬(chlordiazepoxide)、氯巴占(clobazam)、氯硝西洋(clonazepam)、氯 䓬酸钾(clorazepate)、地西洋(diazepam)、艾司唑仑(estazolam)、氟硝西洋(flunitrazepam)、氟西洋(flurazepam)、哈拉西洋(halazepam)、凯他唑仑(ketazolam)、氯普唑仑(lopazolam)、劳拉西洋(lorazepam)、氯甲西洋(lormetazepam)、美达西洋(medazepam)、咪唑唑仑(midazolam)、硝西洋(nitrazepam)、去甲西洋(nordazepam)、奥沙

西洋 (oxazepam)、普拉西洋 (prazepam)、夸西洋 (quazepam)、替马西洋 (temazepam)、四氢西洋 (tetrazepam) 和三唑仑 (triazolam)。

[0055] 尽管某些苯二氮杂 䇇类的抗焦虑作用相对较强,而其他的遗忘作用相对较强,但是它们通常具有下列作用:抗焦虑(减少焦虑,如治疗惊恐发作);抗惊厥(如治疗癫痫发作);解痉(如肌肉松弛剂);镇静/催眠;抗抑郁药和遗忘(产生顺行性遗忘)。

[0056] 本文所用的术语“氯硝西洋”包括氯硝西洋及其药学可接受的活性衍生物和代谢物及其药学可接受的盐。氯硝西洋的药物谱与其他抗焦虑/镇静的苯二氮杂 䇇类的药物谱类似。另外,氯硝西洋基本的抗惊厥性质与其他苯二氮杂 䇇类的类似。氯硝西洋能抑制失神发作(即小发作)中的棘徐波放电,并降低小规模运动发作放电的频率、幅度、持续时间和扩散。氯硝西洋可用于治疗与癫痫有关的成组发作。化学上,氯硝西洋是 5-2- 氯苯基)-1,3- 二氢 -7- 硝基 -2H-1,4- 苯并二氮 䇇 -2- 酮。它是一种浅黄色结晶粉末。氯硝西洋的分子量为 315.72,分子式为 $C_{15}H_{10}ClN_3O_3$ 。氯硝西洋的结构如下

[0057]



[0058] 本文所用的术语“烷基溶剂”包括长度为 2-5 个碳原子的烷基醚,包括但不限于 1,2-二甲氧基乙烷、二(乙二醇)甲醚、二甘醇单乙醚和二(乙二醇)二乙醚。

[0059] 本文所用的短语“渗透促进剂”或“穿透促进剂”是指一种提高药物活性剂(如氯硝西洋)穿过黏膜或皮肤表面的转运速率的药剂。通常,渗透促进剂会增加黏膜组织或皮肤对药物活性剂的渗透性。例如,渗透促进剂会增加药物活性剂透过黏膜组织并进入血流的速率。使用渗透促进剂所实现的渗透作用的加强可例如通过如下面的实施例所述的测量药物活性剂透过动物或人类组织的流量来进行观察。本文使用的“有效”量的渗透促进剂是指该量的渗透促进剂可理想地增加鼻腔黏膜组织的渗透性,从而提供例如所需的选定化合物的穿透深度、所述化合物的给药速率和被送递的化合物的量。

[0060] 本文所用的术语“受试者”是指任何温血动物,特别包括哺乳动物纲成员例如但不限于人类和除人外的灵长类(如黑猩猩)以及其他猿类和猴类物种;家畜如牛、绵羊、猪、山羊和马;家养哺乳动物如狗和猫;实验室动物包括兔和啮齿类(如小鼠、大鼠和豚鼠),等等。此术语不表示特定年龄或性别。

[0061] 本文所用的术语“送递速率”是指在每单位时间内通常被送递到血浆的药物量,例如,体内每小时释放的药物的纳克数 (ng/hr)。

[0062] 活性药剂的血浆浓度的上下文中,本文所用的术语“C”是指受试者血浆中的药物浓度,通常以每单位体积的质量(一般为 ng/ml)表示(此浓度在本文中可被称为“血浆

药物浓度”或“血浆浓度”，意图包括在任何适当的体液或组织中测得的药物浓度)。给药后任何时间的血浆药物浓度通常被称作 $C_{\text{时间}}$ ，如 $C_{10\text{h}}$ 或 $C_{20\text{h}}$ 等。术语“ C_{max} ”是指药剂给药后的实测最大血浆药物浓度，通常在第一剂给药后和 / 或药物送递达到稳定状态后进行监测。下列术语在本文中的用法如下：“ C_{avg} ”通常是指在稳定状态下的实测平均血浆浓度，稳定状态时的 C_{avg} 在本文中也称为“ C_{ss} ”；“ C_{min} ”通常是指在稳定状态下的实测最低血浆浓度。

[0063] 本文所用的术语“AUC”或曲线下面积是指身体吸收的药物总量，即血浆中药物浓度对时间的图中的曲线下面积，在这种情况下，计算人类口服给药 (AUC_{oral})、鼻内给药 (AUC_{in}) 或静脉内给药 (AUC_{iv}) 后的 24 小时的 AUC。

[0064] 本文所用的术语“ T_{max} ”是指达到最大血浆浓度的时间，表示从制剂给药到达到最大血浆药物浓度间隔的时间（即血浆浓度 - 时间图中的峰点，例如参见图 5）。 T_{max} 值可在初始时间段内被测定（例如，涉及药物单剂给药）或可指从剂型给药到稳定状态时观测到最大血浆药物浓度的时间段。

[0065] 本文所用的术语“稳定状态”是指按预定间隔连续给予恒定剂量的活性药剂后血浆浓度相对于时间的模式。在“稳定状态”期间，每个给药间隔中的血浆浓度的峰值和血浆浓度的谷值基本相同。

[0066] 本文所用的术语“喷雾剂”是指在压力下从一个设备中喷出的形式为气溶胶、细雾、液滴、细流或其组合的液体组合物。所述液体组合物的确切形式取决于粘度和其他物理性质，以及将力施加在含有所述液体组合物的设备上以释放液体组合物的方式（手动方式或其他方式）。液体组合物喷雾剂的一些性质描述于“Guidance for Industry :Nasal Spray and Inhalation Solution, Suspension, and Spray Drug Products—Chemistry”和“Manufacturing, and Controls Documentation”(July 2002) 以及本说明书下面的实施例中，并且包括但不限于喷雾模式、液滴大小和气缕几何形状 (plume geometry)。通常，所述喷雾剂是均一的，然而只要被喷雾体积能有效地被鼻黏膜吸收，那么非均一喷雾剂也是可以接受的。

[0067] 本文所用的短语“并要求溶剂系统不含有游离聚乙二醇聚合物”是指一种含有一种或多种溶剂的组合物，其中所述溶剂不含游离于该溶剂系统的溶液中的聚乙二醇 (PEG) 聚合物，即所述组合物不含不是更大化学实体固有组分的 PEG 聚合物。因此，游离的聚乙二醇聚合物（如 PEG 200、PEG 300、PEG 400）不作为单独的组分添加到溶剂系统中。然而，不含游离聚乙二醇聚合物的组合物可包含以取代的聚乙二醇聚合物作为其固有分子结构的一部分的分子（如包含 PEG 聚合物作为取代基的乙氧基化四氢糠醇和单 / 双甘油酯（例如参见公开的 P. C. T. 国际申请 WO 03/070273、WO 03/070280 以及美国专利 6, 855, 332 和 5, 942, 237)）。

[0068] 术语“不含缓冲水溶液”意指基本不含缓冲水溶液的组合物，原因在于未将缓冲水溶液加入该组合物中。

[0069] 本文所用的术语“均一的”是指组合物在视觉和宏观上基本一致，基本不含颗粒物，且不随时间沉淀或分离。

[0070] 本文所用的术语“单相”是指组合物基本只具有一种热力学状态，并且在化学和物理学上全部一致。

[0071] 术语“生物利用度”或“F”是指相对生物利用度，对于人类受试者，意指 AUC_{in} 与

AUC_{oral} 的比值,对于兔,意指 AUC_{in} 与 AUC_{iv} 的比值。

[0072] 本文所用的术语“单位剂量”是指治疗有效剂量所需的经黏膜氯硝西洋的量。单位剂量可在一次或多次喷雾中给予,对于鼻内给药,可在一或两个鼻孔中给予。

[0073] 本领域普通技术人员理解个体受试者中获得的血浆药物浓度会由于受试者之间许多影响例如药物吸收、分配、代谢和排泄的参数的可变性而变动。因此,从各组受试者得到的平均值一般用于比较血浆药物浓度数据和用于分析体外给药试验与体内血浆药物浓度之间的关系。

[0074] 2.0.0 本发明总概

[0075] 成组发作可被描述为一种突发模式,其中在短时期内(通常在数日内)发生数次发作。该段发作活动期之后通常是更长的无发作间隔(数周至数月)。根据流行病学研究,大约50%的癫痫患者经历过成组发作。成组发作频率可接近每周或每月一次(Tauboll, E., et al., “Temporal distribution of seizures in epilepsy,” *Epilepsy Res.* 8(2), pages 153-165(1991); Bauer, J., et al., “Course of chronic focal epilepsy resistant to anticonvulsant treatment,” *Seizure* 10(4), pages 239-246(2001))。

[0076] 对成组发作的优选治疗可具有快速作用和长效作用。而且,所述治疗应该相对不具有镇静作用。此外,自行给药治疗能力经常在发作时受到损害,以致于口服不太可能实现。在美国一种常见的治疗是直肠用地西洋凝胶(Dreifuss, F. E., et al., “A comparison of rectal diazepam gel and placebo for acute repetitive seizures,” *N. Engl. J. Med.* 338(26), pages 1869-1875(1998))。非口服给药途径是理想的,因为经常是家庭成员、重要他人或其他第二关系人可能发现急性复发性癫痫发作。某些苯二氮杂䓬类的口服给药已被用于治疗成组发作(如给予5mg至10mg剂量的地西洋、1mg至2mg剂量的劳拉西洋、0.5mg至2mg剂量的氯硝西洋)。已经有文献描述了某些用于含服(如美国专利6,699,849)、经皮(如Mura, P., et al., “Evaluation of **Transcutol®** as a clonazepam Transdermal Permeation Enhancer,” *Eur. J. Pharma. Sci.* 9, pages 365-372(2000))和黏膜给药(如美国专利6,488,953)的苯二氮杂䓬类制剂。而且,还有文献描述了某些用于鼻内给药的苯二氮杂䓬类制剂(例如参见Hou, H., et al., “Enhanced Permeation of Diazepam through Artificial Membranes from Supersaturated Solutions,” *J. Pharma. Sciences* 95(4), pages 896-905(2001); Schols-Hendriks, M. W. G., et al., *J. Clin. Pharmac.* 39, pages 449-451(1995); 美国专利6,193,985、6,610,271、6,627,211; 美国公开专利申请2004/0176359; 公开的P. C. T. 国际申请WO 2004/110403和W003/070208); 然而,本发明之前的鼻用制剂有许多缺点,例如所述制剂含有镇静性质相当强的苯二氮杂䓬类,制剂依赖于不易储存并可能结晶的过饱和溶液,给药后的血清药物浓度太低而不能有效治疗,制剂含有非均一系统而难以喷雾送递,某些制剂不具有可接受的耐受性或刺激性,或它们含有导致苯二氮杂䓬类降解的成分。

[0077] 某些治疗——例如口服劳拉西洋或地西洋的治疗——经常导致嗜睡以及延迟被治疗的受试者恢复其正常活动的的能力。

[0078] 因为本文所述治疗会相对较快地起作用且相对无镇静作用,因此鼻内氯硝西洋也被考虑可用于治疗其他需要快速见效和副作用尽可能小的病症。这些病症包括焦虑状态,

包括但不限于惊恐发作、社交恐怖症、社会焦虑和作业焦虑；急性躁狂症；精神病；和药物戒除，包括但不限于尼古丁戒除、鸦片戒除和酒精戒除。所述治疗也可用于失去意识、部分失去意识和 / 或不能吞咽的患者。

[0079] 苯二氮杂 䇇类鼻内递送的一些优点包括以下这些。鼻内给药方便、简单、容易、非侵入性且几乎无疼痛。它既不产生生物有害废物也无针刺意外损伤的危险。鼻内制剂可按精确的定量剂量递送。而且，例如，可进行更小剂量的连续给药，以获得比片剂递送形式的药物副作用（如肠内副作用）更小的所需临床效果。鼻内给药可提供快速、高效的吸收和更持久的生物利用度。还为医疗工作者、患者及其看护提供了灵活性。例如，单位剂量可减少滥用的可能。另外，鼻内给药避免了苯二氮杂 䇇类的首过代谢。

[0080] 在详细描述本发明之前，应理解本发明不限于本文所述的具体实施方案，例如，具体的苯二氮杂 䇇类（包括氯硝西洋）、溶剂、助溶剂、亲水聚合物、表面活性剂（包括离子型和非离子型表面活性剂）、多元醇、增溶剂、抗氧化剂、渗透促进剂和 / 或缓冲剂等，本领域普通技术人员可根据本说明书的教导选择使用这些具体试剂。还应理解本文所用的术语只是出于描述本发明具体实施方案的目的，而非意欲作出限制。

[0081] 2.1.0 本发明的示例制剂及其组分

[0082] 2.1.1 经黏膜制剂及使用方法

[0083] 本发明的一个方面包括用于对哺乳动物经黏膜给药的苯二氮杂 䇇类（如氯硝西洋）的药物组合物。实施例 1 给出了获得的、支持本发明的数据，证明了作为示例苯二氮杂 䇇类的氯硝西洋穿透鼻黏膜的能力。此实施例描述了氯硝西洋饱和溶液在体外穿过绵羊鼻黏膜的渗透作用，及初步稳定数据。图 1 表示在实施例 1 的时间段内每单位面积上渗透的氯硝西洋的平均累计量的图示。显示出氯硝西洋在采用经黏膜给药时具有可接受的稳定性，以及可接受的穿过鼻黏膜的渗透性。

[0084] 氯硝西洋在多种纯溶剂中的溶解度被测定（实施例 2），作为确定适合本发明用于鼻内给药的苯二氮杂 䇇类制剂使用的溶剂的一部分。可用于使氯硝西洋的目标溶解度达到约 10 至约 20mg/mL 的良好溶剂被鉴定出来。另外，评估了氯硝西洋在二甘醇单乙醚、三乙酸甘油酯、乙氧基化四氢糠醇和丙二醇的二元溶剂混合物中的溶解度。例如，图 2 给出的数据说明了溶解度和三乙酸甘油酯或丙二醇和乙氧基化四氢糠醇的二元混合物组成百分比之间的线性关系。图 2 给出的数据证明了包含二元溶剂混合物的溶剂溶液溶解氯硝西洋以用于制备鼻内药物组合物的应用。

[0085] 实施例 2 所述的溶剂系统提供了系统中溶剂组分种类最少的制剂实例，这有助于减少可能的相互作用。这些溶剂组合也增加了化学势和系统热动力学，帮助确保所述药物（如氯硝西洋）更倾向离开溶剂系统并透过鼻黏膜而非被吞咽，特别是当与鼻黏膜上的水混合时（即黏膜纤毛清除）。实施例 2 所述的溶剂系统也提供了避免可造成热力学下沉的组分（如聚乙二醇聚合物和环糊精）的指导。

[0086] 氯硝西洋在示例溶剂系统中的稳定性被进一步测定（实施例 3）。数据表明含有聚乙二醇聚合物的制剂提供最低的药物（氯硝西洋）稳定性。另外，含水但不含缓冲剂的制剂也显示有颜色改变，这表明氯硝西洋出现降解。其他溶剂系统（例如，包括二甘醇单乙醚、四氢糠醇聚乙二醇醚、三乙酸甘油酯、丙二醇和缓冲水溶液）为氯硝西洋提供良好的稳

定性。

[0087] 实施例 3 给出的数据还表明在本发明用于鼻内苯二氮杂 䇇类送递的制剂中添加抗氧化剂可对该制剂提供需要的有利药物保护。另外,所示数据说明当使用水性溶剂时,含 pH 调节剂可对药物起到保护作用。

[0088] 为了使苯二氮杂 䇇类(如氯硝西洋)制剂可用于黏膜给药,所述制剂应具有可接受的刺激性和耐受性。人类药物代谢动力学研究的初步鼻部刺激数据(实施例 4)和鼻部不适报告(实施例 14)表明本发明的氯硝西洋制剂适于鼻内送递。图 3 和图 4 所示的数据说明试验动物有轻微、短暂的鼻部刺激。在对大鼠滴注组合物之后,通常刺激持续不到约两分钟。刺激一般大于盐水,与耐受浓度下的乙酸的刺激相似。对数据的兽医疾病评价得出的结论是这些制剂对鼻部的刺激并不明显。另外,实施例 4 给出的数据表明非离子型表面活性剂可用于减轻某些制剂的鼻部刺激性。

[0089] 大量氯硝西洋制剂的药物动力学被评价(实施例 5,例如参见表 12A 和 12B)。该实施例给出的药物动力学数据说明为鼻内给药配制的氯硝西洋组合物对将临床相关量的氯硝西洋在相对较短的时间段内送递到血流中是药物学有效的,从而使这种鼻内制剂可在临床上可用于例如治疗成组发作。不同制剂之间的药物动力学参数值会有所不同,本领域普通技术人员根据本说明书的指导可选择适于不同治疗目的的制剂,例如,用于成人(通常需要较高的 C_{max} 和 AUC),用于儿童(与用于成人的制剂相比需要较低的 C_{max} 和 AUC)、不同剂型和系列给药(如开始于快速见效的给药,较早 T_{max} ;并继以较慢见效的制剂的后续给药,较晚 T_{max})等。

[0090] 为支持本发明进行的实验表明本发明的组合物可含有两种溶剂例如 第一溶剂(例如 **Transcutol®**(二甘醇单乙醚)以及类似的单乙醚、乙氧基化四氢糠醇(乙氧基咪喃醇或四氢糠醇聚乙二醇醚)以及类似的乙氧基四氢糠醇)和第二溶剂(例如三乙酸甘油酯、丙二醇等)的溶剂基质,所述第一溶剂可提供高的氯硝西洋溶解度,且在施用到鼻黏膜后,所述第一溶剂会被鼻黏膜吸收从而导致氯硝西洋在鼻腔中过饱和,相对于所述第一溶剂,氯硝西洋在所述第二溶剂中的溶解度相对较低。

[0091] 四种含有二元溶剂系统的氯硝西洋组合物的药物动力学和耐受性被更详细地评价(实施例 5,表 13)。所述制剂的鼻内 PK 分析(图 5)表明了氯硝西洋被快速吸收,从而使得临床相关量的氯硝西洋在短时间内到达血流。某些制剂较低的生物利用度可通过例如使用较高的初始剂量所补偿。较高剂量和低短期生物利用度的优点可能是不被鼻内吸收的药物进入胃肠道,导致剩余药物经历常规的 GI 吸收从而持续释放。

[0092] 另外,为支持本发明进行的实验评估了四种本发明氯硝西洋组合物在上下呼吸道中的局部耐受性。耐受性使用兔模型进行评估(实施例 5)。图 6 给出的数据汇总了动物鼻腔的组织病理学结果。验尸和组织病理检查的结果(包括对严重程度评分的比较)表明了本发明的氯硝西洋组合物具有可接受的用于鼻黏膜组织给药的药物使用耐受性。

[0093] 预计人类的药物动力学和耐受性类似地理想,并这一预期在 15 名人类志愿者中得到证实。实施例 8、9 和 10 预测性描述了评价人类药物动力学和耐受性的实验。实施例 14、15 和 16 描述了实际实验和它们的结果。

[0094] 因为本发明制剂的一个预定用途是用于鼻内给药,因此评价了本发明示例制剂的喷雾性(包括气缕几何形状、喷雾角度和气缕对称性)和粘度(实施例 6,图 7、图 8 和图

9)。所得结果表明在 20-25°C,所有测试溶剂基质都在手动触发的单位剂量装置(如获自 Pfeiffer,由 America,Princeton,N. J. 生产)上喷雾良好。所得结果还表明本发明制剂的粘度是良好的喷雾性预测指标,且所述制剂在 40°C 以下,以及在 -15°C 和 30°C 之间保持有它们的喷雾性。

[0095] 根据本文讨论的实验发现,本发明用于对哺乳动物经黏膜给药的苯二氮杂 䇇类(如氯硝西洋)的组合物可含有一个溶剂系统和治疗有效剂量的苯二氮杂 䇇类(如氯硝西洋)。在一个实施方案中,所述溶剂系统包含第一溶剂和第二溶剂,其中苯二氮杂 䇇类(如氯硝西洋)可溶于所述第一溶剂,所述第一溶剂能够穿透鼻黏膜组织,苯二氮杂 䇇类(如氯硝西洋)在所述第二溶剂中的溶解度小于在所述第一溶剂中的溶解度。所述溶剂系统可包含的水溶剂为约 40%或更少、约 30%或更少、优选为约 20%或更少、更优选为约 10%或更少、约 8%或更少、约 5%或更少或约 2%或更少。水溶剂优选为缓冲水溶液,例如, pH 为约 pH 4 至约 7 之间、更优选为约 pH 4 至约 5.5 之间的缓冲水溶液。在优选的实施方案中,溶剂系统不包含游离的聚乙二醇聚合物。优选的组合物是单相和均一的。

[0096] 在一个实施方案中,所述溶剂系统基本不含缓冲水溶液。

[0097] 在另一个实施方案中,所述溶剂系统可含有单种烷基醚溶剂。该溶剂可选自 1,2-二甲氧基乙烷、二(乙二醇)甲醚、二甘醇单乙醚和二(乙二醇)二乙醚。在一个具体实施方案中,所述单种烷基醚溶剂是二甘醇单乙醚。

[0098] 所述溶剂系统的第一二元溶剂的实例包括但不限于二甘醇单乙醚或四氢糠醇聚乙二醇醚。第一溶剂的重量百分比例如可在约 30%至约 70%之间。所述溶剂系统的第二溶剂的实例包括但不限于三乙酸甘油酯或丙二醇。第二溶剂的重量百分比例如可在约 70%至约 30%之间。在某些实施方案中,所述第二溶剂穿透鼻黏膜的能力小于所述第一溶剂。

[0099] 所述溶剂系统例如可基本由第一溶剂和第二溶剂组成。在另一实施方案中,所述溶剂系统可基本由第一溶剂、第二溶剂和缓冲水溶液(如重量比为 10%或更低)组成,且可还含有其他组分(如抗氧化剂)。

[0100] 活性药物(如氯硝西洋)的重量百分比通常在约 0.1%到约 20%之间,通常在 0.1%和 10%之间,通常在 0.25%到 6%之间。

[0101] 在一个实施方案中,所述第一和第二溶剂以相等的重量百分比存在。

[0102] 除了刚刚描述的组分,例如用于对哺乳动物鼻内给药的本发明的含有苯二氮杂 䇇类(如氯硝西洋)的药物组合物可还含有一种或多种组分,包括但不限于表面活性剂、抗氧化剂、药学上可接受的聚合物、多元醇、脂质、黏膜渗透促进剂、着色剂、调味剂或嗅剂、麻醉剂、助溶剂和渗透压调节剂。

[0103] 在本发明优选的实施方案中,苯二氮杂 䇇类(如氯硝西洋)的药物组合物被制成可在例如手动控制的喷雾装置上、在 -15°C 和 30°C 之间喷雾。

[0104]] 本发明的另一方面包括用于对哺乳动物(如人类)鼻内给予氯硝西洋

[0105] 的药物组合物。在这一方面,所述溶剂系统可含有单种烷基醚溶剂或含有第一溶剂和第二溶剂,所述第一溶剂包括一种或多种选自二甘醇单乙醚和四氢糠醇聚乙二醇醚的组分,所述第二溶剂包括一种或两种选自三乙酸甘油酯或丙二醇的组分。所述溶剂系统可还含有缓冲水溶液(如重量比为 10%或更少,其中所述缓冲水溶液的 pH 在约 4 至约 7 之

间,更优选的 pH 在约 4 至约 6.5 之间)。在优选的实施方案中,要求所述溶剂系统不含游离的聚乙二醇聚合物。本发明用于氯硝西洋的经黏膜给药的药物组合物还含有治疗有效量的氯硝西洋。通常,所述组合物是单相和均一的。

[0106] 在一个实施方案中,所述溶剂系统是一个二元溶剂系统,即基本由两种溶剂组成的溶剂系统。这类二元溶剂系统例如可基本不含水组分。在本发明的某些实施方案中,所述第一溶剂基本由二甘醇单乙醚或四氢糠醇聚乙二醇醚组成。所述第一溶剂的重量百分比例如可在约 30% 至约 70% 之间。在某些实施方案中,所述第二溶剂基本由三乙酸甘油酯或丙二醇组成。所述第二溶剂的重量百分比例如可在约 70% 至约 30% 之间。在另一实施方案中,所述药物组合物可包含单种烷基醚溶剂,例如二甘醇单乙醚。通常,氯硝西洋的重量百分比在约 0.1% 至约 20% 之间,更优选地,重量百分比例如在约 30% 至约 70% 之间。在某些实施方案中,所述第二溶剂基本由三乙酸甘油酯或丙二醇组成。第二溶剂的重量百分比例如可在约 70% 至约 30% 之间。在另一实施方案中,所述药物组合物可包含单种烷基醚溶剂,例如二甘醇单乙醚。通常,氯硝西洋的重量百分比在约 0.1% 至约 20% 之间,更优选地重量百分比在约 0.1% 至约 10% 之间,更优选地重量百分比在约 0.25% 至约 6% 之间。在又一实施方案中,所述溶剂系统基本由第一溶剂和第二溶剂组成。在另一实施方案中,所述溶剂系统基本由第一溶剂、第二溶剂和缓冲水溶液(如重量比为 10% 或更低)组成。所述缓冲水溶液可还含一种或多种其他组分,如抗氧化剂和 / 或表面活性剂。

[0107] 在本发明这一方面的某些实施方案中,第一和第二溶剂以相等的重量百分比存在。

[0108] 用于对哺乳动物鼻内给予氯硝西洋的本发明的药物组合物可含其他组分,例如重量比小于约 10% 的一种或多种组分,包括但不限于:表面活性剂、抗氧化剂、药学上可接受的聚合物、多元醇、脂质、黏膜渗透促进剂、着色剂、调味剂、麻醉剂、助溶剂和渗透压调节剂。

[0109] 合适的药学可接受的聚合物的实例包括但不限于羟丙基甲基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、羧甲基纤维素、聚乙烯醇、海藻酸钠、黄原胶、西黄蓍胶、瓜尔胶、金合欢胶(acacia gum)、阿拉伯胶、聚丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯共聚物、丙烯酸共聚物和它们的组合。

[0110] 可用于实施本发明的表面活性剂通常是非离子型,但并不只限于非离子型。合适的表面活性剂的实例包括但不限于吐温(即聚氧乙烯山梨醇酐脂肪酸酯), α -氢- ω -羟基-聚(氧乙烯)聚(氧丙烯)聚(氧乙烯)嵌段共聚物。

[0111] 合适的增溶剂的实例包括但不限于脂质(如脂肪、油脂、蜡、甾醇、甘油三酯和它们的组合)。

[0112] 本发明的组合物还可含有黏膜渗透促进剂。黏膜渗透促进剂的实例包括但不限于 N-甲基-2-吡咯烷酮、2-吡咯烷酮、丙二醇、二甲基甲酰胺、二甲亚砜、己内酰胺、油酸、癸甲亚砜、1-十二烷基氮杂环庚-2-酮、肉豆蔻酸异丙酯、六甲撑棕榈酰胺(Hexamethylene palmitamide)、六甲撑十二酰胺、脂肪酸、酯类和它们的组合。

[0113] 抗氧化剂通常会使得所述组合物整体稳定性增强,并且 / 或者特别有利于活性药剂(例如氯硝西洋)的稳定性。在本发明的某些实施方案中,添加抗氧化剂可用于保护氯硝西洋免受氧化破坏。因此,本发明的组合物可还含有抗氧化剂(如依地酸或依地酸钠、丁基羟

甲苯、没食子酸丙酯、偏亚硫酸氢钠、丁基羟基茴香醚、生育酚和它们的组合),特别地,所述抗氧化剂可以是浓度为 100-300ppm 更常为 500-2000ppm 的丁基羟甲苯 (BHT)。

[0114] 另外,一种或多种其他组分也可被添加到本发明的组合物中。根据本说明书的教导,这些其他组分对于本领域普通技术人员而言是显而易见的。这些其他组分包括但不限于着色剂、调味剂和麻醉剂。

[0115] 在优选的实施方案中,本发明的氯硝西洋组合物被制成可喷雾的形式,例如采用手动或电动控制喷雾装置或由患者的吸气动作控制的被动装置实现。旨在用于送递到哺乳动物鼻腔的可喷雾组合物可使用的单位治疗剂量为约 50 μ L 至约 300 μ L,通常为 25 μ L-150 μ L,更优选单位治疗剂为约 100 μ L。

[0116] 本发明组合物中氯硝西洋的治疗有效量可例如为每单位剂量约 0.1mg 至约 0.5mg,更优选地,每单位剂量约 1.0mg 至约 4.0mg。

[0117] 实施例 7 的表 20 给出了某些本发明的氯硝西洋组合物的示例制剂。在该实施例中,还描述了制备所述组合物的方法。

[0118] 本发明的第三方面涉及用于对哺乳动物经黏膜给药的含有氯硝西洋的药物组合物,其中所述组合物以单次鼻内给药后氯硝西洋的 T_{max} 和氯硝西洋的生物利用度表征。在一个实施方案中,所述组合物的特征为 (i) 在单次鼻内给药后氯硝西洋的 T_{max} 不超过 2 小时,及 (ii) 在单次鼻内给药后氯硝西洋的生物利用度不低于同等剂量氯硝西洋口服的生物利用度的约 30%。在其他实施方案中, T_{max} 小于或等于 30 分钟且生物利用度大于或等于氯硝西洋口服的生物利用度的 55%。本发明的某些实施方案的示例 T_{max} 和生物利用度数据在下文的实施例 5 的表 12A 和 12B 和图 5 以及实施例 14 中给出。 T_{max} 可小于或等于 2 小时,或小于或等于 1 小时,或小于或等于 30 分钟,或小于 15 分钟。

[0119] 本发明的第四方面涉及用于对哺乳动物经黏膜给药的含有氯硝西洋的药物组合物,其中所述组合物以单次鼻内给药后氯硝西洋的 C_{max} 和氯硝西洋的生物利用度表征。在一个实施方案中,所述组合物的特征为 (i) 在单次鼻内给药后氯硝西洋的 C_{max} 至少为同等剂量氯硝西洋口服的 C_{max} 的约 75%,及 (ii) 在单次鼻内给药后氯硝西洋的生物利用度不低于同等剂量氯硝西洋口服的生物利用度的约 30%。本发明的某些实施方案的示例 C_{max} 和生物利用度的数据在下文实施例 5 的表 12A 和 12B 和图 5 中给出。在其他实施方案中,鼻内送递氯硝西洋的 C_{max} 大于或等于口服氯硝西洋的 C_{max} 的 75%,或者大于或等于口服氯硝西洋的 C_{max} 的 80%,或大于或等于口服氯硝西洋的 C_{max} 的 90%。在其他实施方案中,所述生物利用度大于或等于氯硝西洋口服的生物利用度的 30%,或者大于或等于氯硝西洋口服的生物利用度的 40%,或者大于氯硝西洋口服的生物利用度的 55%。

[0120] 本发明的第五方面涉及用于对哺乳动物鼻内给药的含有氯硝西洋的药物组合物,其中所述组合物以单次鼻内给药后氯硝西洋的 AUC(AUC_{in}) 与口服等剂量氯硝西洋的 AUC(AUC_{oral}) 的比值表征,所述比值在给药后 24 小时计算得到。在一个实施方案中,所述组合物的特征为 (i) 在单次鼻内给药后氯硝西洋的 AUC(AUC_{in}) 与口服同等剂量氯硝西洋的 AUC(AUC_{oral}) 的比值至少约为 $AUC_{in} : AUC_{oral} = 1 : 3.3$,其中所述 AUC 值是经过相同时间段测得的(如对于人类受试者经过 24 小时)。本发明的某些实施方案的示例 AUC 数据在下文实施例 5 的表 12A 和 12B 和图 5 以及实施例 14 中给出。 $AUC_{in} : AUC_{oral}$ 可以为 1 : 3.3 或常为 1 : 2.5 或 1 : 1.8。

[0121] 除用于对哺乳动物经黏膜给药的含有氯硝西洋的药物组合物之外,本发明还包括将活性药剂(如氯硝西洋)给予需要所述活性药剂的哺乳动物的方法。在所述方法中,氯硝西洋跨过哺乳动物的鼻黏膜进入血流从而被递送到该哺乳动物的血流中。可使用本文所述的剂型将氯硝西洋经黏膜递送。氯硝西洋可被给予哺乳动物以治疗多种病症,包括但不限于抑郁症、惊恐障碍(包括急性惊恐发作);肌肉痉挛、失眠和癫痫发作(包括成组发作)。本发明的氯硝西洋组合物可被自行给药或由第二方例如医护专业人员、家庭成员或重要他人给药。

[0122] 在一个实施方案中,通过例如经患有癫痫成组发作的哺乳动物的鼻黏膜将氯硝西洋递送到该哺乳动物血流中,可将本发明的组合物用于治疗该哺乳动物,其中氯硝西洋以本发明的鼻内剂型递送。本发明的组合物的给药可在例如发作症状出现时进行。可对哺乳动物给予一个或多个单位剂量。在优选的实施方案中,所述哺乳动物是人类。

[0123] 本发明还包括生产用于氯硝西洋鼻内递送的氯硝西洋组合物的方法。下文的实施例 7 描述了制备本发明示例组合物的一般方法。通常,所述方法包括混合溶剂系统和氯硝西洋,混合条件使得可得到适于氯硝西洋鼻内给药的单相、均一的溶液。可将氯硝西洋首先溶解在对其溶解度较高的溶剂如第一溶剂中。第二溶剂可随搅拌加入。本发明溶液组合物的混合可在减少氯硝西洋暴露于氧化条件的条件下进行,例如,在氮气或低氧环境下混合。

[0124] 制备本发明的溶液组合物之后,可将所述溶液分装在一或多个容器中(如单位剂量容器或多剂量容器)。所述容器可以是手动控制的喷雾装置,或其中内容物处于压力下并通过压下驱动器释放的喷雾装置,或由患者的吸气动作驱动的装置。

[0125] 由这些用于鼻内递送的喷雾装置递送的一般单位剂量体积在约 50 μL 到约 300 μL 之间,常为 25 μL 到约 150 μL 之间,优选为约 100 μL ,但对于某些装置可最多至 5mL。从喷雾装置递送的所述组合物的喷雾模式和气缕几何形状适于对哺乳动物(如人类)鼻内递送。实施例 6 描述了涉及与实施本发明有关的溶剂基质(溶剂系统)的喷雾性和粘度的参数。

[0126] 2.1.2 生产和包装

[0127] 例如为鼻内给药制成的本发明氯硝西洋组合物的制备可根据本说明书的教导结合本领域普通技术人员已知的教导进行。例如,根据本发明,氯硝西洋组合物通常可如下制备。选择一种选定的苯并二氮 䓬可溶于其中的溶剂,例如,氯硝西洋在二甘醇单乙醚和/或四氢糠醇聚乙二醇醚中的溶解性很好。随搅拌加入需要量的氯硝西洋以获得基本单相、基本均一的溶液。然后可将第二溶剂(如三乙酸甘油酯和/或丙二醇和/或缓冲水溶液)加入到含第一溶剂和氯硝西洋的溶液中。搅拌混合物以获得基本单相、基本均一的溶液。通常将其他组分首先溶于对其溶解度最高的溶剂中。

[0128] 作为另一实例,可将需要量的氯硝西洋溶解于一种溶剂(如二甘醇单乙醚和/或四氢糠醇聚乙二醇醚)中并搅拌以获得基本单相、基本均一的溶液。第二溶剂例如缓冲水溶液可与其他组分一起配制。这些其他组分可包括但不限于抗氧化剂(如偏亚硫酸氢钠)和/或表面活性剂(如吐温)。所述缓冲剂(或缓冲系统)应能将制剂的 pH 保持在目的范围中。加入某些缓冲试剂后,可能需要通过加入另一种试剂进一步调节 pH 以使 pH 值达到目的范围。根据本发明组合物旨在药学应用的事实,所述缓冲试剂或系统基本不对被施加所述组合物的黏膜组织有刺激性。缓冲试剂包括有机和非有机缓冲试剂。示例的缓冲试

剂包括但不限于磷酸盐缓冲溶液、碳酸盐缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液、醋酸盐缓冲液、氢氧化钠、盐酸、乳酸、酒石酸、二乙胺、三乙胺、二异丙胺和氨基甲胺。最终所使用的缓冲试剂浓度使得可达到目的 pH 范围；因此，缓冲试剂的重量百分比量可有所不同，并可由本领域普通技术人员根据本说明书的教导确定。

[0129] 搅拌所述缓冲水溶液（可能含有其他组分）以获得基本单相、基本均一的溶液。水溶液可进行脱气；但通常脱气不是必须的。然后将所述缓冲水溶液缓慢加入溶解有氯硝西洋的第一溶剂中以获得基本单相、基本均一的溶液。

[0130] 作为另一实例，氯硝西洋可被溶解于第一溶剂（如二甘醇单乙醚和 / 或四氢糠醇聚乙二醇醚）中。然后可加入第二溶剂（如三乙酸甘油酯和 / 或丙二醇），并可再加入例如含或不含其他组分的缓冲水溶液。

[0131] 混合可在正常条件下或在低真空和 / 或氮封的条件下进行。

[0132] 本发明的生产方法还可包括将本发明的组合物分装到合适的容器中。本发明的组合物可被包装到例如单位剂量或多剂量容器中。所述容器通常限定出一个容纳所述组合物的内表面。任何合适的容器都可使用。所述容器的内表面还可包含内衬或被处理以保护容器表面和 / 或保护所述组合物免于与所述容器内表面接触可能引起的有害作用。内衬或涂层材料通常对所述组合物以及所述组合物的各个组分基本都是不可渗透的。

[0133] 多种类型的合适容器可从商业途径获得且为本领域所知，例如，由 Pfeiffer of America, Princeton, N. J.（如美国专利 5,584,417、6,705,493、6,446,839、6,478,196）和 Valois of America Inc., Greenwich, CN.（如美国专利 5,328,099、6,742,677、7,080,759）生产的容器。

[0134] 本发明的组合物的容器 / 递送系统可包括单位剂量或多剂量容器，所述容器提供例如固定剂量或可变剂量的施用量。多剂量容器包括但不限于定量喷雾器、储能定量泵或手动定量泵。在优选的实施方案中，所述容器 / 递送系统用于递送指定剂量的本发明组合物以施用于受试者的鼻腔。定量容器可包含例如精确控制使用剂量和 / 或均匀性的驱动喷嘴。所述递送系统可由例如泵组推动或使用推进剂（烃类、氢氟烃、氮、氧化亚氮或二氧化碳）推动。可使用诸如 **Kurve®** Technology 销售的称为 ViaNase™ 喷雾器的装置，这些装置可实现电子给药和鼻腔饱和。另外，诸如由 OptiNose (Oslo, Norway) 销售的被动装置等设备可由患者的吸气动作驱动。在本发明优选的实施方案中，所述容器是一次性使用、单位剂量、手动控制的喷雾装置。

[0135] 实施例 6 描述了评价本发明的氯硝西洋制剂的喷雾性和粘度的方法。从为支持本发明进行的实验中得到的结果表明本文所述的氯硝西洋制剂适于鼻内递送。

[0136] 鼻组织包含单层上皮且适于鼻内递送药物吸收的面积有限。通常成人的鼻组织面积约为 20cm²。每单位剂量鼻内递送组合物的体积通常限制在每鼻孔约 25 μl 到约 150 μl，如果对两个鼻孔给药，则单位剂量体积可为 50 μl 到 300 μl。约 100 μl 的单位剂量适用于许多应用，其中可递送给每个鼻孔 50 μL 或只递送给一个鼻孔 100 μL。优选的鼻内递送的液滴大小通常分布在约 10 μm 到约 50 μm 的范围内，但只要活性药物能够被充分经鼻吸收，此范围也可变动。

[0137] 在一个优选的实施方案中，具有优秀屏障性能的非空气包装（如无空气单剂量手动控制喷雾装置）被用于防止氯硝西洋被氧化。用这种泵进行精确按剂量给药确保了剂量

的重复性。

[0138] 2.1.3 其他剂型

[0139] 在本发明的另一方面,使用干粉制剂经鼻内将苯二氮杂 䇇类递送至黏膜组织。这类干粉制剂可含有选定苯二氮杂 䇇类(如氯硝西洋)的微粒化颗粒。

[0140] 例如,如本文所述,苯二氮杂 䇇类的鼻内给药可通过在合适的溶剂系统中溶解选定的苯二氮杂 䇇类、然后使用为液体形式准备的鼻内喷雾装置来完成。可用于这类应用的液体形式的实例包括但不限于乳液、悬液或真溶液。由于苯二氮杂 䇇类的高亲脂性质,表面活性剂、强效增溶剂和载体溶液经常结合使用。这些液体形式的一种替代形式是可作为干粉或混合物鼻内给药的苯二氮杂 䇇类(例如地西洋、劳拉西洋、咪达唑仑、氯硝西洋等)的干粉制剂。

[0141] 苯二氮杂 䇇类微粒的鼻内递送可能会导致苯二氮杂 䇇类的可接受的递送行为,这是由于该物质的固有渗透性质所致。苯二氮杂 䇇类往往具有高亲脂性,因此与黏膜组织的吸附和吸收相容。大小在约 5 μm 到约 20 μm 之间的颗粒可使干粉给药装置递送出足够量的选定苯二氮杂 䇇类以在短时间内起到药理作用。制备大小分布合适的苯二氮杂 䇇类干粉(如微粒化粉末)的方法包括但不限于抗溶剂沉淀、流化床干燥、喷雾干燥、粒度分选以及它们的组合。

[0142] 苯二氮杂 䇇类(如氯硝西洋)干粉也可与用于鼻部给药的合适载体混合以提高润湿性、黏膜粘附性和渗透性(这些载体的实例参见如欧洲专利申请 EP1587514A1、EP1652518A1、EP 0324725B1)。在这一方面,苯二氮杂 䇇类可被制成一种有序混合物,其核心是一种惰性载体如糖,其表面是黏膜粘附剂和药物的结合物。

[0143] 这一干粉药物递送方法的优点包括优异的稳定性和可能更长的鼻内残留时间,从而提高了药物摄入。可使用合适的干粉鼻内递送系统。

[0144] 本发明的干粉制剂可应用的氯硝西洋微粒小于约 15-20 微米,更优选地约 5 至约 10 微米。如上所述,氯硝西洋微粒可与载体颗粒相结合。优选地,向载体颗粒中加入黏膜粘附促进剂。黏膜粘附促进剂可有效使氯硝西洋黏附于鼻黏膜。黏膜粘附促进剂通常存在于载体颗粒的表面,但也可存在于颗粒内部。

[0145] 在一个实施方案中,基于干燥组合物的总重量百分比组成,所述载体颗粒含约 0.1 重量%至约 30 重量%、优选约 1 重量%至约 20 重量%的黏膜粘附剂。优选的黏膜粘附剂通常为一种聚合物,优选其平均分子量大于 5000(重均分子量)。黏膜粘附剂的水合作用也可使其用作本发明的吸收促进剂。

[0146] 载体颗粒大小一般为 50 μm 到约 800 μm ,优选为约 50 μm 到约 500 μm 。示例的载体颗粒物质包括但不限于碳水化合物,如糖、甘露醇、乳糖,或药学可接受的无机盐,如氯化钠或磷酸钙,或者它们的混合物。

[0147] 本发明的干粉组合物可包括药学可接受的表面活性剂(例如上述那些)。所述组合物中表面活性剂润湿效果的增加可增强所述载体颗粒的水合作用。这种增强的水合作用可导致黏膜粘附更快地开始。通常,所述表面活性剂是细微分散的形式并与氯硝西洋直接混合。表面活性剂的量可例如为干燥组合物的约 0.5%至约 5%(重量比),优选为约 0.5%至约 3%(重量比)。

[0148] 多种本领域已知的聚合物可用作黏膜粘附剂,实例如上所列,包括在药学可接受的聚合物的列表中。黏膜粘附性聚合物通常是亲水的、水分散性的或亲水且水分散性的。有时需要所述聚合物在水存在下有溶胀的能力。物质的黏膜粘附性可被体外测定,例如,如 Sala, G., et al., Proceed. Int. Symp. Contr. Release. Bioact. Mat. 16 :420 (1989) 所述。

[0149] 用于细粉末组合物的鼻内递送的装置为本领域所知(如美国专利 6,948,492、6,824,080、6,752,147、6,715,485、6,488,648、5,901,703、4,227,522、4,192,309、4,105,027)并可用于本发明含有氯硝西洋的粉末组合物的递送。

[0150] 这些剂型可用于与上述方法类似的使用/治疗方法。

[0151] 上述各方面将以氯硝西洋作为一种示例苯二氮杂 䇇类在下文进行描述。这些实例不欲造成限制。普通技术人员在阅读本说明书的教导和本文所述的本发明的优选实施方案后可清楚本发明的其他目的。

[0152] 实验部分

[0153] 如本领域技术人员所显而易见的:在不背离本发明精神和范围的情况下可对上述实施方案进行多种修正和改变。这些修正和改变都在本发明的范围之内。本发明的上述的某些方面将以氯硝西洋作为一种示例苯二氮杂 䇇类在下文进行描述。

[0154] 给出下面的实施例是为了向本领域普通技术人员提供关于如何制造和使用本发明的装置、方法和制剂的完整公开内容和描述,而不意欲限制本发明人所认为的本发明的范围。本发明尽力保证所使用数字(如量、温度等)的精确性,但某些实验误差和偏差应允许存在。除非另外指出,份为重量份,分子量为重均分子量,温度为摄氏温度,压力处于或接近大气压。

[0155] 根据本发明生产的组合物满足对药物商品所要求的含量和纯度的严格规范。

[0156] 材料和方法

[0157] A. 药品和试剂:下面实施例所用的药品和试剂可从商业途径获得,例如如下:活性药物,如口服的氯硝西洋(来自 Lake Chemicals, India 或 F. I. S. -Fabbrica Italiana Sintetici SpA, Vicenza, Italy), 该片剂是 **Rivotril®** 2mg 刻痕片剂(Hoffman-La Roche, New Jersey)的一半;渗透促进剂和溶剂(如二甘醇单乙醚,也称为 **TRANSCUTOL®** (Gattefosse Corporation, Paramus, N. J.));抗氧化剂(如丁基羟甲苯(BHT)、丁基羟基茴香醚(BHA)、偏亚硫酸氢钠(Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, Mo.));药学可接受的聚合物(如羟丙基纤维素(Hercules, Inc., Wilmington, DE.));赋形剂、增溶剂和溶剂如三乙酸甘油酯(也称为三醋精或 1,2,3-丙三醇、三醋酸酯, Mallinckrodt Baker, Inc., Phillipsburg N. J.);丙二醇(Apotekproduksjon, Norway);乙氧基化四氢糠醇(GLYCOFUROL™)(也称为乙氧基咪喃醇或四氢糠醇聚乙二醇醚)和类似的乙氧基四氢糠醇(Agrar, Italy);和标准药物和化学试剂(如着色剂、溶剂和表面活性剂(Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, Mo.、Fisher Scientific, UK 和 Merck, Germany):例如丙二醇、PEG200(ICI Americas Inc., Bridgewater N. J.)和吐温 20(**TWEEN®** 20)(Merck, Germany);柠檬酸(Riedel-de-Haen, Germany);三乙酸甘油酯(Abitec, USA);和水(WFI, Fresenius Kabi, Norway)。分析试剂也可从多个商业来源获得,如柠檬酸获自 Acros Organics, UK;盐酸、乙腈(HPLC级)、甲醇(HPLC级)、正磷酸、氯化钾、邻苯二甲酸氢钾、正磷酸二氢钾、乙醇获自 Fisher Scientific, UK;以及二水合磷酸氢二钠、磷酸二氢钠

获自 Merck, Germany。

[0158] B. HPLC 分析方法:用于检测氯硝西洋的 HPLC 系统如下:Waters2487 双 λ 吸收检测仪、Waters 600 控制器、Waters 717plus 自动进样器、Waters Millennium 色谱仪管理软件 (Waters Corporation, Milford, Mass.);色谱柱 Chromolith Performance RP-18e 100 \times 4.6mm 和保护柱 Chromolith Guard Cartridge RP-18e 5 \times 4.6mm(Merck KgaA, Frankfurt, Germany);检测, $\lambda = 220\text{nm}$;样品温度, $20 \pm 2^\circ\text{C}$;色谱柱温度, 室温;流速, 2.0mL/min;流动相, 等梯度, 流动相, 35mM 的 KH_2PO_4 去离子水溶液(用正磷酸调节 pH 到 2.1):乙睛 = 70 : 30;注射体积, 100 μL ;运行时间, 10-20 分钟;洗针液, 90 : 10(甲醇:水)。

[0159] 检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ) 根据公式 1 和 2 计算:

[0160] $\text{LOD} = (3.3 * \text{STEYX})/S$ (公式 1)

[0161] $\text{LOQ} = (10 * \text{STEYX})/S$ (公式 2)

[0162] 其中, STEYX = 从各个校准曲线获得的 y 轴与回归线的截距的标准差, 且 S = 校准曲线斜率。

[0163] 药物标准溶液的初始稳定性研究在含有 10% 乙醇的磷酸盐缓冲液 (PBS) 中进行。还平行研究了药物在各种 pH 值 (pH 2-8) 的缓冲液中的稳定性。由于氯硝西洋难溶于水, 因此在每种缓冲液系统中加入 10% 乙醇以增加溶解度。在 37°C 和 $2-8^\circ\text{C}$ 下对药物在每种缓冲液系统中的稳定性进行了 72 小时的测定。

[0164] 缓冲液的制备如下。pH 2-4 的缓冲液制备汇总于表 1。

[0165] 表 1. pH2-4 的缓冲液的组成

[0166]

缓冲液	氯化钾	邻苯二甲酸氢钾	1M 盐酸	去离子水	实际记录的
-----	-----	---------	-------	------	-------

[0167] [0164]

pH	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)	pH
2	50	0	7.8	142.2	2.11
3	0	50	15.7	134.3	3.17
4	0	50	0.1	149.9	3.98

[0168] 通过在 1L 容量瓶中加入 14.9g 固体氯化钾并加入去离子水至标定体积制备氯化钾溶液。通过在 1L 容量瓶中加入 40.8g 固体邻苯二甲酸氢钾并加入去离子水至标定体积制备邻苯二甲酸氢钾溶液。

[0169] pH 5-7 的缓冲液的制备汇总于表 2。

[0170] 表 2. pH5-7 的缓冲液的组成

[0171]

缓冲液 pH	柠檬酸 (mL)	磷酸二氢钠 (mL)	去离子水 (mL)	实际记录的 pH
5	24.3	25.7	r 50	5.2
6	16.9	33.1	50	6.09
7	6.5	43.6	49.9	6.98

[0172] 通过在 1L 容量瓶中加入 21.01g 柠檬酸固体并加入去离子水至标定体积制备柠檬酸溶液。通过在 1L 容量瓶中加入 13.8g 磷酸二氢钠固体并加入去离子水至标定体积制备磷酸二氢钠溶液。

[0173] pH 8 的缓冲液的制备汇总于表 3。

[0174] 表 3. pH8 的缓冲液的组成

[0175]

缓冲液 pH	磷酸二氢钠 (mL)	磷酸氢二钠 (mL)	去离子水 (mL)	实际记录的 pH
8	94.7	5.3	100	8.13

[0176] 通过在 1L 容量瓶中加入 35.6g 磷酸氢二钠固体并加入去离子水至标定体积制备磷酸氢二钠溶液。通过在 1L 容量瓶中加入 13.8g 磷酸二氢钠 固体并加入去离子水至标定体积制备磷酸二氢钠溶液。

[0177] 回收药物百分比用公式 3 计算：

[0178] $\text{回收药物}\% = (t = X \text{ 的药物浓度} / t = 0 \text{ 的药物浓度}) \times 100$ (公式 3)

[0179] 其中, X = 特定时间点和温度。

[0180] 稳定性研究之后,建立了一种合适的接收流体 (receiver fluid) 以确保测试药物的渗入条件 (sink condition) 能使得药物释放受所述药物在所述接收流体中的溶解度的限制。在 3 种溶剂 / 助溶剂系统 (即 pH 6 的缓冲液、加有 10% 乙醇的 pH 6 的缓冲液和加有 20% 乙醇的 pH 6 的缓冲液) 中进行了药物的饱和和溶解度 (37°C 下) 试验。简言之,通过加入过量药物并在 37°C 用磁转子搅拌 2 小时来使药物在不同接收流体系统中饱和。然后使用 0.2 μm 针筒过滤器过滤每种饱和溶液,再用 HPLC 检测所得溶液。

[0181] C. 体外渗透方法学:用标准方法进行体外渗透 (如 Franz, T. J., "Percutaneous absorption: on the relevance of in vitro data," J. Invest Dermatol 64: 190-195 (1975); Franz, T. J., "The finite dose technique as a valid in vitro model for the study of percutaneous absorption in man," In: Skin: Drug Application and Evaluation of Environmental Hazards, Current Problems in Dermatology, vol. 7, G. Simon, Z. Paster, M. Klingberg, M. Kaye (Eds), Basel, Switzerland, S. Karger, pages 58-68 (1978))。

[0182] 根据标准方法使用和制备新鲜切取的绵羊鼻黏膜。用去离子水漂洗以清洁切取的绵羊鼻黏膜,随即使用或平摊于滤纸上并冷冻保藏直至使用。

[0183] (i) 药物回收、降解和与绵羊鼻黏膜的结合:测定了药物回收、降解和与绵羊鼻黏膜的结合的作用。简言之,将已知表面积的 (约 1cm^2) 绵羊鼻黏膜加入装有已知浓度 ($10\mu\text{g/mL}$) 的在接收流体 (含有 10% 乙醇的 pH 6 缓冲液) 中制备的每种药物的玻璃小瓶中。将所述小瓶的内容物在 37°C 平衡 48 小时。以 24 小时的间隔取样品并用 HPLC 检测。回收药物百分比用公式 4 计算:

[0184] $\text{回收药物}\% = (t = Y \text{ 的药物浓度} / t = Z \text{ 的药物浓度}) \times 100$ (公式 4)

[0185] 其中, Y = 37°C 的特定时间点 (绵羊鼻黏膜存在时); Z = 37°C 的特定时间点 (绵羊鼻黏膜不存在时)。

[0186] (ii) 给药和样品收集——Franz Cell 研究:采用被分别校正的平均表面积和体积分别为约 0.6cm^2 和约 2mL 的 Franz Cell 检测药物的渗透性。将绵羊鼻黏膜放置在 Franz Cell 的两个部件之间,并将黏膜侧朝向供体室 (donor compartment)。受体室 (receptor compartment) 充满接收流体,用可浸没于水中的磁搅拌器所驱动的 PTFE 包被磁转子匀速搅拌,并在水浴中维持于 37°C。在整个研究中,大约 1mL (极大剂量) 的饱和药物溶液被置于供体室中,并被 **PARAFILM®** (Pechiney Plastic Packaging, Inc., Chicago, IL.)

封闭。施用所述药物溶液后,在取样时间 ($t = 1, 2, 3, 4, 5, 6$ 和 $7h$) 后用取样臂将所述接收流体 ($200 \mu L$) 从受体室中取出并用 HPLC 分析。用等体积的新鲜预热 ($37^{\circ}C$) 的接收流体置换取出的每份样品。总共对药物溶液进行 8 次重复实验 ($n = 8$); 并进行一次供体室中无药物存在的对照实验。

[0187] D. 神经认知检测: 认知药物研究 (CDR) 计算机检测系统专门设计用于评价化合物在受试者和患者的临床进展的所有阶段对其认知功能性质的影响。所述 CDR 系统是一种广泛使用的计算机化认知检测系统 (参见如 Ebert U, et al., "Pharmacokinetics and pharmacodynamics of scopolamine after subcutaneous administration," *Journal of Clinical Pharmacology* 38:720-726 (1998); Harrington F, et al., "Cognitive Performance in Hypertensive and Normotensive Older Subjects," *Hypertension* 36:1079-1082 (2000); Preece A W, et al., "Effect of a 915-MHz simulated mobile phone signal on cognitive function in man," *International Journal of Radiation Biology* 75:447-456 (1999); 和 Walker M P, et al., "Quantifying fluctuation in Dementia with Lewy Bodies, Alzheimer's disease and vascular dementia," *Neurology* 54:1616-1625 (2000)), 并已被用于评价不同范围的药物化合物。

[0188] E. 脑电图法 (EEG): 给予药物和安慰剂, 如通过 5 分钟静脉 (i. v.) 内输注。在给药开始后的 15 分钟期间记录 EEG。在 30、60、90、120 和 180 分钟再次记录 EEG。受试者通常在一个安静的实验室中 (隔音和电子屏蔽的房间)。进行 EEG 检测时, 受试者斜倚在扶手椅上。一般使用 28 个 EEG 导联 (例如由一个 10-20 系统传出; Jasper, H. H., et al., "Studies of clinical and electrical responses to deep temporal stimulation in men with some considerations of functional anatomy," *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis.* 36:316-34 (1958); Jasper, H. H., "Progress and problems in brain research," *J Mt Sinai Hosp N Y.* 25(3):244-53 (1958)) 进行记录。可使用一个耳联对照以及四个人工通道 (artifact channel) (检测眼运动、肌肉活动和其他人工电位)。将镀银圆盘电极附于受试者的头皮, 例如用快干火棉胶。在每个记录时间之前检查阻抗 (如, 2000-5000 欧姆)。在每个受试者被检测之前, 使用校准信号来校正全部被记录导联从而建立 EEG 或事件相关电位 (ERP) 图。EEG 在休息记录条件下 (即患者被要求闭眼放松) 记录。所用数据分析的一个实例是 Dago 等人的方法 (Dago, K T, et al., "Statistical Decision Tree: a tool for studying pharmacological effects of CNS-active drugs," *Neuropsychobiology*, 29(2):91-6 (1994)), 该法涉及将活性治疗和安慰剂治疗期间获得的数据进行统计学比较。通常, 平均 EEG 参数的图形测绘和治疗效果的统计评价在选定数目的健康志愿者中进行。

[0189] 实施例 1

[0190] 氯硝西洋通过体外鼻黏膜的吸收

[0191] 下面进行的用于支持本发明的实验证明了氯硝西洋透过鼻黏膜的能力。饱和氯硝西洋溶液体外透过绵羊鼻黏膜的渗透作用描述如下。

[0192] HPLC 法测定氯硝西洋显示主洗脱峰的保留时间为 7.5 分钟。氯硝西洋的校准曲线在 0.2 至 $10 \mu g/ml$ 之间建立 (设有适当的重复以确保该曲线的可重复性和线性)。接收液 (含 10% 乙醇的 pH6 缓冲液, 见材料与与方法部分) 中氯硝西洋的饱和溶解度为 $29.32 \mu g/$

ml。在 pH6 的缓冲液中，氯硝西洋的饱和溶解度为 13.66 $\mu\text{g/mL}$ ，在含 20% 乙醇的 pH6 缓冲液中，氯硝西洋的饱和溶解度为 82.28 $\mu\text{g/mL}$ 。

[0193] 在接收流体（含 10% 乙醇的 pH6 缓冲液）中配制标准品。虽然药物在 10% 乙醇 / pH6 的缓冲液中的溶解度不是非常高，但是选中的是该 10% 乙醇 / pH6 的缓冲液而非 20% 乙醇 / pH6 的缓冲液，是因为有人认为 20% 乙醇 / pH6 的缓冲液可能干扰鼻黏膜。还应当注意，虽然饱和溶解度是在 37°C 下测定的，但饱和系统的过滤在室温下进行。在室温下进行过滤应该尽可能快以便将在过滤期间温度从 37°C 下降时产生的任何药物沉淀降至最少。

[0194] 校准的线性关系被发现极好 (r^2 大于或等于 0.999)。氯硝西洋的检测限 (LOD 值) 和定量限 (LOQ) 显示为 LOD 值 ($\mu\text{g/mL}$) 为 0.269 和 LOQ ($\mu\text{g/mL}$) 为 0.898。

[0195] 在 10% 乙醇的磷酸盐缓冲液 (PBS) 中进行初步稳定性研究。在 2-8°C 和 37°C 绵羊鼻黏膜存在下的药物稳定性研究数据总结于表 4。

[0196] 表 4. 在 10% 乙醇 / PBS 液中配制的标准品的初步稳定性数据

[0197]

药物	浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	2-8°C 的平均回收率%			37°C 的平均回收率%		
		T=24 h	T=48 h	T=72 h	T=24 h	T=48 h	T=72 h
氯硝西洋	9.96	100.21±0.01	100.64±0.17	105.16±7.32	101.07±7.32	101.86±1.13	100.55±0.77

[0198] 该数据清楚地表明氯硝西洋在两种温度下 72 小时内均是稳定的。

[0199] 继初步稳定性研究后，在一系列缓冲 pH 值下再次进行制备的药物溶液的稳定性研究。由于药物稳定性或者降解引起的药物回收率%总结在表 5。

[0200] 表 5. 稳定性研究中药物回收的百分比 (%)

[0201]

药物	缓冲 pH*	2-8°C 的回收率%			37°C 的回收率%		
		T = 24 h	T = 48 h	T = 72 h	T = 24 h	T = 48 h	T = 72 h
氯硝西洋	2	90.08	73.18	55.30	57.97	55.51	53.07
	3	97.87	91.94	85.55	88.73	88.37	85.50
	4	99.54	98.88	99.37	98.72	100.09	101.91
	5	99.85	99.91	99.91	100.59	100.98	103.29
	6	100.41	100.32	100.43	100.34	100.59	103.14
	7	100.66	99.98	100.19	99.81	100.05	100.54
	8	99.59	99.30	99.40	96.76	96.42	91.47

[0202] *用 10% 乙醇制备

[0203] 获得的数据证实，氯硝西洋在 pH 值 4-7 之间在较高的温度下 72 小时内似乎是稳定的。鉴于计划进行的渗透研究持续时间可能不到 24 小时且鼻黏膜的生理 pH 值可能会在 pH 5-6.5 之间变化，因而选取 pH6 缓冲液作为渗透研究的选定缓冲液。

[0204] 除了抗热降解稳定性外,还测定了绵羊鼻黏膜存在下药物的结合或降解(表6)。

[0205] 表 6. 37°C 下绵羊鼻黏膜存在时的药物回收百分比(%)

[0206]

药物	回收百分比%					
	缓冲液 pH5*		缓冲液 pH6*		缓冲液 pH7*	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
氯硝西洋	97.78	96.45	97.47	97.14	99.30	97.78

[0207] *用 10%乙醇制备

[0208] 公式 2(材料和方法部分)所述示出的数据表明,任何回收的损失应是由于绵羊鼻黏膜存在所致,而不是热降解所致。该数据通常表明在绵羊鼻黏膜存在下药物很显然存在某种程度的结合或者降解(< 10%)。

[0209] 按照材料和方法部分所述进行初步渗透研究。渗透达到稳定状态,这表明药物渗透不受药物在接收流体(10%乙醇的 pH6 缓冲液)中的溶解度的影响。这些数据清楚地示出在 24 小时期间药物的稳定状态流量。

[0210] 最后的渗透研究进行了 7 小时测试期。在初步研究中药物的渗透特性似乎非常类似于最后的渗透研究。图 1 为 7 小时阶段每单位面积渗透的氯硝西洋的平均累计量的图示。这些数据表明,氯硝西洋的渗透如药物线性渗透率所证明的处于稳定状态。

[0211] HPLC 法被证明是“切合目的”的,在相同的保留时间没有干扰峰作为药物峰出现。尽管溶解度研究证明,虽然在两个渗透研究全程中均没有应用渗入条件,但是氯硝西洋渗透达到稳定状态表明在接收流体(10%乙醇的 pH6 缓冲液)中的药物的溶解度没有受到速率限制。

[0212] 上述初步稳定性数据表明氯硝西洋在 37°C 下在接收流体(10%乙醇的 pH6 缓冲液)中于 24 小时内是稳定的。此外,大于 95%的药物在 37°C,在绵羊鼻黏膜存在下于 48 小时内被回收,这表明只发生轻度结合或者降解。

[0213] 发现氯硝西洋的渗透特性在观察到稳定状态流量的初步研究中和最后研究中很相似。综上所述,数据表明,氯硝西洋在鼻内给药情况下具有可接受的稳定性,以及可接受的鼻黏膜渗透性。

[0214] 实施例 2

[0215] 在溶剂基质中的溶解度

[0216] 使用标准方法测定了氯硝西洋在多种纯溶剂中的溶解度。结果列于表 7。

[0217] 表 7. 氯硝西洋在纯溶剂中的溶解度

[0218]

基质	溶解度 (mg/mL)
PEG 300	37.0
PEG 200	30.3
丙二醇	3.4
三乙酸甘油酯	5.8
乙氧基化四氢糠醇	67.3
Transcutol®	38.7
水	<0.1

[0219] 从表 7 可以看出,乙氧基化四氢糠醇是氯硝西洋的一种很好的溶剂,因此可用于实现目标溶解度,例如,10-20mg/mL。此外,乙氧基化四氢糠醇的存在有助于增加在低氯硝西洋溶解度的制剂溶剂(如三乙酸甘油酯或丙二醇)中的溶解度。**Transcutol®**和 PEG(聚乙二醇)基质也被证明具有高溶解度。

[0220] 此外,还评估了氯硝西洋在 **Transcutol®** (TC)、三乙酸甘油酯 (TA)、乙氧基化四氢糠醇 (GF) 和丙二醇 (PG) 的二元混合物中的溶解度。测定了下列制剂的氯硝西洋的溶解限:

[0221] 表 8. 二元混合制剂

[0222]

制剂	组成
K	70% GF+30% TA
R	30% GF+60% PG+10% 柠檬酸盐 / 吐温 / 偏亚硫酸盐
T	30% GF+70% PG

[0223] [0220]

i	30% GF+70% TA
ii	50% TC+50% TA
iii	50% TC+50% PG

[0224] 在 1.5mL 微量离心管中用 500 μ L 的溶剂基质加盖过量的药物 (50 毫克),并将该溶液在涡旋震荡器上混合几分钟。此后,将溶液安放在 25°C 的超声浴中达 45 分钟。根据温度计调节温度,并通过向水浴中加冰控制温度。经过 15min 静置,溶液以 3,000 \times g 离心 30 分钟。然后将溶液在 25°C 下在 ICH 舱避光储藏 16 个小时。

[0225] 氯硝西洋在纯溶剂中的溶解度如表 7 所示。根据表 7 数据计算氯硝西洋在混合物中的理论溶解度。溶解度试验结果和理论值分别示于表 9 中。

[0226] 表 9. 氯硝西洋在二元基质混合物中的溶解度

[0227]

制剂	实测溶解度 (mg/mL)	理论溶解度 (mg/mL)	实测溶解度 / 理论溶解度 (%)
K-70% GF+30% TA	49.8	48.8	102.0
R-30% GF+60% PG+10% c/t/m(aq)	11.5	22.2	51.9
T-30GF+70% PG	16.7	22.6	74.0

i-30% GF+70% TA	22.9	24.2	94.4
ii-50% TC+50% TA	27.6	22.2	123.9
iii-50% TC+50% PG	21.7	21.0	103.0

[0228] 此外,图 2 列出的数据证明了三乙酸甘油酯和乙氧基化四氢糠醇以及丙二醇和乙氧基化四氢糠醇的二元混合物的溶解度和组成(基于百分比)之间的线性关系,从图中数据可以推断,在 50 : 50 混合物中的溶解度为约 36.4mg/mL。基于氯硝西洋在 GF 和 PG 的二元混合物中的溶解度数据,溶解度和组成之间的关系似乎不像在 GF 和 TA 的混合物中那样呈线性。

[0229] 这些数据证实了含有二元溶剂混合物的溶剂溶液可用于溶解例如用于制备鼻内药物组合物的氯硝西洋。

[0230] 表 8 和表 9 中所示的溶剂系统提供了系统中溶剂组分种类最少的制剂实例,这有助于减少可能的相互作用。这些溶剂组合也增加了化学势和系统的热力学,这有助于确保所述药物(如氯硝西洋)更倾向于由于溶解度降低而穿过鼻膜。表 8 和表 9 中所示的溶剂系统也避免了可造成热力学下沉的组分(如聚乙二醇和环糊精),在热力学下沉的情况下,氯硝西洋将更倾向与一个非渗透性赋形剂一起留在鼻腔。

[0231] 实施例 3

[0232] 进一步的稳定性研究

[0233] 为加快稳定性研究,制备 18 个 20mg/mL 的氯硝西洋制剂:在顶部空间暴露的情况下在 60°C 放置 6 周。在 0、1、2、4 和 6 周取样并在 20,000 倍稀条件下测定氯硝西洋以及在 20 倍稀释条件下检测降解产物。在 6 周时通过视觉检测来评估颜色。氯硝西洋进行氧化(颜色)和水解(化学)双重降解。使用 1(最浅=降解最少)-5(最深=降解最多)范围的相对颜色标度对氧化性降解评分。通过采样和 HPLC 样品分析以及氯硝西洋参比标准品分析来评价水解性降解。这些分析结果列于表 10。

[0234] 表 10. 60°C 时的稳定性筛选

[0235]

#	制剂	化学降解 氯硝西洋保留%					氧化 颜色/6 周
		0 周	1 周	2 周	4 周	6 周	
1	100% 乙氧基化四氢糠醇	96%	101%	96%	90%	81%	1
2	95% 乙氧基化四氢糠醇+ 5% 水	94%	105%	99%	82%	68%	4
3	100% Transcutol®	100%	111%	103%	94%	88%	1
4	90% Transcutol®+10%水	98%	100%	94%	79%	67%	4
5	80% 乙氧基化四氢糠醇+ 20% Transcutol®	84%	99%	99%	93%	82%	2
6	70% 乙氧基化四氢糠醇+20% Transcutol®+10%水	113%	99%	93%	72%	63%	5

[0236]

7	70%乙氧基化四氢糠醇+ 30%三乙酸甘油酯	104%	108%	105%	91%	82%	2
8	30% GF + 70% PEG 200	105%	93%	79%	67%	60%	4
9	50%乙氧基化四氢糠醇+ 50% Transcutol®	108%	107%	97%	86%	73%	3
10	50% Transcutol®+ 50% PEG 200	96%	93%	79%	76%	68%	4
11	70% Transcutol®+ 30%三乙酸甘油酯	106%	110%	101%	99%	92%	1
12	60% Transcutol®+ 30%三乙酸甘油酯+ 10%水	104%	108%	101%	86%	78%	3
13	60% Transcutol®+ 30%三乙酸甘油酯+ 10%10mM 柠檬酸盐 pH4	107%	105%	104%	96%	91%	2
14	60% Transcutol®+30%三乙酸甘油酯+ 10%10mM 磷酸盐 pH4	102%	108%	109%	101%	92%	2
15	60% Transcutol®+40%丙二醇	105%	110%	104%	95%	89%	2
16	5%GF+95%PEG200	106%	89%	74%	61%	53%	5
17	10%GF+90%PEG200	99%	85%	77%	62%	55%	5
18	10%TC+90%PEG200	102%	88%	77%	64%	54%	5

[0237] 60℃孵育 2 周后,从试验结果明显地看出,含有聚乙二醇的制剂是最不稳定的制剂。这些结果在 4 周和 6 周后的氯硝西洋(氯硝西洋保留%)的试验中被证实。两周后,在所有含有 PEG 的制剂中氯硝西洋的百分比下降至 80%以下,在含有 70-95%的 PEG 的制剂中下降至 50-60%,在含有 50% PEG 的制剂中下降至 68%。

[0238] 含有 5-10%水的制剂也证明了氯硝西洋一定程度的不稳定。因此,在 60℃下 6 周后氯硝西洋的百分比下降到 63-78%。与含有 5-10%水的制剂相反,含有 pH4 的 10%缓冲水溶液的制剂显示出相对高的稳定性。因此,在 60℃储藏 6 周后这些制剂的测定量在 90%范围内。

[0239] 伴随氯硝西洋百分比的下降,还观察到这些制剂的颜色变深,因为在 6 周时所有含有 PEG 的制剂颜色程度评分为 4 或者 5。含有不带缓冲剂的水的制剂也显示颜色变化,且在 6 周的储藏后评分为 3-5。这可通过制剂 1 和 2、3 和 4,以及 5 和 6 来充分例证。这些观察结果表明颜色变化可能与水解事件有关。

[0240] 将含有水的制剂与暴露于 HCl、NaOH 和 H₂O₂ 进行强制降解的样品两者降解产物的 HPLC 色谱图比较,结果显示其与 HCl 孵育得到的降解产物的相似度是最大的,这进一步支持水解理论。相反,含水的缓冲为 pH4 的制剂(#13 和 14) 只显示较弱的颜色变化,评分为 2。这表明水解可以通过将 pH 保持在低水平上来阻止(例如,pH 为 4.5-5.5 时苯二氮杂革的稳定性增加,如,见 P. C. T 国际公布 WO 91/16929 和 Pharmazie, 1974 Oct-Nov, 29(10-11),

pages 700-707)。

[0241] 从表 10 列出的结果可以看出,在没有游离 PEG 聚合物时一般会获得更好的稳定性。以上数据表明,PEG 导致氯硝西洋的降解增加。同样,水似乎也有助于促进氯硝西洋的降解。鉴于上述结果,优选无水的氯硝西洋溶剂基质。此外,为了提高氯硝西洋的稳定性,似乎优选不含 PEG 的制剂。

[0242] 添加抗氧化剂到本发明用于苯二氮杂 革鼻内递送的制剂中可向该制剂提供所需的保护益处。合适的抗氧化剂的实例包括但不限于:生育酚及其衍生物、抗坏血酸及其衍生物、丁基羟茴香醚、丁基羟甲苯、富马酸、苹果酸、没食子酸丙酯、亚硫酸钠、偏亚硫酸氢盐(包括偏亚硫酸氢钠)及其衍生物,以及 EDTA 二钠、三钠和四钠盐。优选可溶的、有机抗氧化剂,例如丁基羟甲苯。

[0243] 此外,当使用含水溶剂时,数据表明保护作用来自 pH 调节剂。用 5 种生物体(金黄色葡萄球菌(staphylococcus aureas),绿脓假单胞菌(pseudomonas aeruginosa),大肠埃希氏菌(escherichia coli),白念珠菌(candida albicans)和黑曲霉(aspergillus niger))进行微生物攻击,结果显示在 28 天后实测 log 平板计数低于 1/mL,这表明液体制剂本身是杀菌的,因此非无菌产品是可以接受的。

[0244] 实施例 4

[0245] 利用大鼠模型针对鼻刺激性筛选制剂

[0246] 在大鼠刺激模型中测试了大量制剂。首要目标是确定 **Transcutol®** 的刺激阈值。测试含有 20%和 50% **Transcutol®** (溶于 PEG 200 中)的两个制剂。时间阈上的血压信号积分如图 3 所示。

[0247] 在图 3 中,标号如下:CLZ2080——10mg/mL 氯硝西洋,20% **Transcutol®** (TC),80% 聚乙二醇 (PEG);CLZ5050——10mg/mL 氯硝西洋,50% TC,50% PEG;CLZ70G30T——10mg/mL 氯硝西洋,70% GF,30% TA;CLZ20T80P02T——10mg/mL 氯硝西洋,10% TC,90% PEG 200 和 0.2%吐温 20;盐水(阴性对照);乙酸(HOAc)0.3%(阳性刺激对照);乙酸(HOAc)1.5%(阳性刺激对照);Setron(阳性刺激对照)。

[0248] 图 3 所示数据表明在受试动物上有轻微、短暂的刺激表现。滴注组合物后,对大鼠的刺激通常持续不到 1.5min(0.7-2.2min 的范围)。刺激性普遍大于盐水,类似于 1.5%乙酸的刺激。所得数据的兽医评估得出结论:这些制剂对鼻刺激不明显。

[0249] 还测试了两个其他氯硝西洋制剂(70% PEG 和 30% GF;和 10% TC、90% PEG 200 和 0.2%吐温 -20),并获得了类似的结果。吐温 -20(聚乙二醇山梨醇酐单月桂酸酯)用作一种可能的刺激缓解剂。

[0250] 一种制剂 CLZ5050 似乎比其他制剂产生更强的刺激,因为其滴注与血压下降有关。该下降使基线图发生偏离,并因此使信号积分发生偏离。

[0251] 在第二个大鼠鼻刺激试验中,在刺激模型中测试了 8 个氯硝西洋制剂和一个不含氯硝西洋的制剂基质(K:30% TA,70% GF),并将刺激结果与使用 0.9%的乙酸获得的刺激结果进行比较。大鼠鼻刺激研究使用的制剂和结果列于表 11。在表中,Iden.——制剂名称;MBP——在刺激反应持续期间的平均血压积分;T- 刺激反应持续时间(min);TC——**Transcutol®**;PEG——聚乙二醇;TA——三乙酸甘油酯;GF——乙氧基化四氢糠醇;PG——丙二醇;H₂O——水;Tw——吐温 20;w/o clz——不含氯硝西洋。给予每只动物 50 μL 每种含

20mg/mL 氯硝西洋的制剂。

[0252] 表 11. 大鼠鼻刺激研究

[0253]

名称	制剂							N	MBP		T (min)	
	TC	PEG	TA	GF	PG	水	Tw		均值	标准差 ^c	均值	误差 ^c

[0254]

I	20	80						3	26	8	1.8	0.2
H	50	50						4 ^a	25	4	1.9	0.2
K			30	70				3	8	3	0.7	0.1
M		70		30				3	21	9	1.7	0.1
I + Tw	20	80					0.2	3	22	11	1.2	0.2
T				30	70			2 ^b	27	(8)	1.2	(0.1)
R _{wa}				30	60	10		3	42	10	1.8	0.5
R				30	60	10 _d	0.2	3	25	1	2.2	0.2
K w/o clz			30	70				3	22	4	1.3	0.2
0.9%HOAc								3	26	11	1.6	(0.3)

[0255] ^a = 血压下降必定是由于强烈的刺激所致。该下降使基线图发生偏离并因此使信号积分发生偏离。

[0256] ^b = 该组中的第三只动物对给药反应强烈, 并接受了心脏复苏。由该动物获得的结果不包含在处理数据中。

[0257] ^c = 当 $n < 3$ 时使用括号中的数字。

[0258] ^d = 包括 pH4 的柠檬酸盐缓冲液, 以及偏亚硫酸氢钠。

[0259] 偏亚硫酸氢钠和柠檬酸在上述制剂中的含量均低于 1% (w/w)。

[0260] 在人类试验中已经发现志愿者耐受 0.9% 的乙酸。本试验的目的是对各种制剂进行一个初步测试, 并比较这些制剂的刺激性。因为治疗癫痫成组发作和其他急性适应症如惊恐发作的鼻内制剂的轻微刺激性是可被耐受的, 所以主要关注的是参与临床 I 期试验的志愿者将不会遭受不必要的痛苦。基于血压测量值的刺激评分列于图 4 和表 11。在图 4 中, 盐水、乙酸溶液和 setron 制剂的条柱 (即最右侧的 4 个条柱) 表示之前的试验数据, 在此列入用于比较。表 11 还列出了几分钟内刺激反应的持续期。结果表明所有测试制剂都有相对短暂的刺激反应, 范围为 0.7-2.2min。

[0261] 为了测试 **Transcutol®** 的刺激性, 测试了含有 20% 和 50% 的 **Transcutol®**

(PEG200 作为助溶剂) 的两种制剂。20% (I) 或 50% (H) 的 **Transcutol®** 表现类似的刺激评分, 这表明 **Transcutol®** 不比 PEG 刺激性更强。含有 **Transcutol®** 的第三种制剂与 I 相同但是添加有 0.2% 的吐温。将添加 0.2% 吐温的 I 与 I 进行比较表明在该制剂中吐温没有显著减少刺激性。

[0262] 表现出良好的药物动力学谱 (见实施例 5) 的制剂 K (30% TA, 70% GF) 在本试验的被测制剂中具有最低的刺激评分。

[0263] 还测试了不含氯硝西洋的 K 制剂以获得有关氯硝西洋的刺激作用的信息。比较 K 和不含氯硝西洋的 K 的刺激评分, 表明氯硝西洋似乎具有减轻刺激的作用。

[0264] 制剂 M 和 T 含有等量的乙氧基化四氢糠醇但是 M 含有 70% 的 PEG 而 T 含有丙二醇作为助溶剂。这两个制剂的刺激评分没有明显差异, 这表明 PG 和 PEG 有类似的刺激程度。

[0265] 含 10% 缓冲剂 (柠檬酸盐 / 吐温 / 亚硫酸氢盐) 或者含 10% 水的制剂 R 是唯一含水的受测制剂。只含水的制剂似乎比含缓冲剂 / 吐温 / 亚硫酸氢盐的制剂刺激性明显更强。含缓冲剂的制剂 R 被证实具有与不含水的制剂 I、H、M 和 T 类似的刺激性。

[0266] 在人类试验中测试了 0.9% 乙酸的刺激性, 发现具有刺激性但可耐受。除了含水的 R 外所有受测制剂表现出刺激性与该参比制剂相同或者低于该参比制剂 (图 4), 这表明它们具有很小的刺激性, 可以耐受。

[0267] 这些鼻刺激数据表明本发明的氯硝西洋制剂适合鼻内递送。

[0268] 实施例 5

[0269] 药动学和耐受性

[0270] 将不同的氯硝西洋制剂经鼻内和静脉内递送给兔。许多给药制剂证实鼻内生物利用度比静脉内制剂的生物利用度高 70%。含有 20-100% 浓度的 **Transcutol®** 的制剂证明 **Transcutol®** 是有用的氯硝西洋吸收促进剂和溶剂。

[0271] 此外, 含有浓度范围为 20-100% 的 **Transcutol®** 的氯硝西洋鼻内制剂得到 t_{max} 低于 4min 的药物动力学 (PK) 谱。 **Transcutol®** 的吸收促进作用也通过该特性指标证实。

[0272] 氯硝西洋制剂的一些示例药动学数据列于表 12A (每个制剂 N = 1)。在该表中, Tw 即吐温为吐温 20, EtOH 为乙醇, Triac 或 TA 为三乙酸甘油酯, phosph 是磷酸盐缓冲液, metabisulph 为偏亚硫酸氢钠, citr 是柠檬酸盐缓冲液, AUC 为曲线下面积, T_{max} 的单位是分钟, C_{max} 的单位为 ng/ml, 且 F% 是鼻内制剂相对于静脉内制剂的生物利用度 - 其他缩略语如上文所用。

[0273]

表 12A. 实施例氯硝西洋制剂和药效学数据

制剂	PEG	TA	TC	GF	PG	Tw	EtOH	水	剂量(mg)	T _{max}	C _{max}	AUC	F %
100% Transcutol®			100						0.191	1.4	26	1048	125%
30% 三乙酸甘油酯 + 70% Transcutol®		30	70						0.201	1.1	50	1039	118%
30% 三乙酸甘油酯 + 60% TC + 10% H ₂ O		30	60					10	0.190	1.1	29	1165	111%
40% PG + 60% TC			60		40				0.195	2.9	45	1182	110%
30% TA + 60% TC + 10% 柠檬酸盐		30	60					10	0.187	1.9	31	1130	110%
30% 三乙酸甘油酯 + 70% Transcutol®		30	70						0.201	3.0	39	902	102%
90% TC + 10% H ₂ O			90					10	0.192	3.0	39	1157	109%
30% TA + 60% TC + 10% 柠檬酸盐		30	60					10	0.187	3.0	26	938	91%
30% TA + 60% TC + 0.2% tween + 10% 柠檬酸盐 pH 4		30	60					10	0.191	1.4	23	758	91%
100% Transcutol®			100						0.191	1.6	39	789	94%
80% GF + 20% TC			20	80					0.212	2.7	29	963	83%
80% GF + 20% TC			20	80					0.212	3.3	34	980	84%
30% 三乙酸甘油酯 + 60% TC + 10% H ₂ O		30	60					10	0.190	1.5	24	978	94%
50% PEG200 + 50% TC	50		50						0.196	1.6	44	1105	102%
40% PG + 60% TC			60		40				0.195	3.3	24	1021	95%

[0274]

制剂	PEG	TA	TC	GF	PG	Tw	EtOH	水	剂量(mg)	T _{max}	C _{max}	AUC	F %
30% TA + 60% TC + 10% phosph.		30	60					10	0.187	1.8	18	826	80%
100% 乙氧基化四氢糠醇				100					0.191	15.6	18	876	105%
50% GF + 50% TC			50	50					0.218	2.2	38	1185	99%
30% TA + 70% GF		30		70					0.191	3.4	20	811	77%
90% TC + 10% H ₂ O			90					10	0.192	1.5	21	826	78%
95% GF + 5% 吐温-20				95		5			0.190	1.4	26	759	73%
30% TA + 60% TC + 10% phosph.		30	60					10	0.187	1.4	23	679	66%
50% PEG200 + 50% TC	50		50						0.196	3.4	30	839	78%
10% GF + 0.2% tween + 90% PEG 200	90			10					0.182	5.7	13	642	81%
100% GF				100					0.212	3.1	18	682	58%
100% GF				100					0.212	1.6	20	647	55%
30% TA + 70% GF		30		70					0.191	5.4	15	707	67%
10% GF + 0.2% tween + 90% PEG 200	90			10					0.182	3.7	10	414	52%
10% TC + 0.2% tween + 90% PEG 200	90		10						0.193	9.9	18	650	77%
50% PG + 20% TC + 20% EtOH + 10% citr / Tween / metabisulph			20		50		20	10	0.200	15.6	33	1332	84%
50% PG + 20% TC + 20% EtOH + 10% citr / Tween / metabisulph			20		50		20	10	0.200	1.3	52	1133	72%

[0275]

制剂	PEG	TA	TC	GF	PG	Tw	EtOH	水	剂量(mg)	T _{max}	C _{max}	AUC	F %
30% GF + 60% PEG200 + 10% citr/Tween/metabisulph	60			30				10	0.200	3.0	16	728	46%
30% GF + 60% PEG200 + 10% citr/Tween/metabisulph	60			30				10	0.200	3.5	42	773	49%
100% PEG 300	100								0.201	20.9	17	690	79%
100% PEG 200	100								0.195	3.3	15	475	56%
10% GF + 90% PEG 200	90			10					0.211	3.0	13	589	64%
10% GF + 90% PEG 200	90			10					0.211	5.6	16	678	73%
30% TA + 60% TC + 0.2% tween + 10% 柠檬酸盐 pH 4		30	60					10	0.191	1.4	23	482	58%
10% TC + 0.2% tween + 90% PEG 200	90		10						0.193	46.4	13	640	76%
80% PEG200 + 20% TC	80		20						0.198	3.0	17	750	69%
10% GF + 80% PEG + 10% citr/Tween/metabisulph	80			10				10	0.200	3.8	25	840	53%
30% GF + 70% PG				30	70				0.200	4.7	28	956	60%
5% GF + 95% PEG 200	95			5					0.200	15.1	14	622	71%
50% GF + 50% TC			50	50					0.218	3.0	10	298	25%
70% GF + 20% TC + 10% H ₂ O			20	70				10	0.214	5.3	20	655	56%
30% GF + 70% PEG200	70			30					0.189	5.8	9	445	43%
30% GF + 70% PEG200	70			30					0.189	15.0	14	653	63%

[0276]

制剂	PEG	TA	TC	GF	PG	Tw	EtOH	水	剂量(mg)	T _{max}	C _{max}	AUC	F %
10% GF+50% PEG+30% PG+10% citr/Tween/metabisulph	50			10	30			10	0.200	3.4	25	748	47%
30% GF + 70% PG				30	70				0.200	2.9	14	585	37%
30% GF + 70% PG				30	70				0.200	3.4	15	332	21%
10% GF + 80% PEG + 10% citr/Tween/metabisulph	80			10				10	0.200	3.1	23	459	29%
10% GF+50% PEG+30% PG+10% citr/Tween/metabisulph	50			10	30			10	0.200	3.3	17	588	37%
100% PEG 200	100								0.195	21.3	9	400	47%
80% PEG200 + 20% TC	80		20						0.198	10.4	12	593	54%
100% PEG 300	100								0.201	30.4	9	427	49%
5% GF + 95% PEG 200	95			5					0.200	5.4	10	297	34%
95% GF + 5% tween -20				95		5			0.190	44.8	10	518	50%
10% GF + 80% PEG + 10% citr/Tween/metabisulph	80			10				10	0.200	30.4	14	636	40%
70% GF + 20% TC + 10% H ₂ O			20	70				10	0.214	60.0	6	270	23%

偏亚磷酸氢钠和柠檬酸在上述制剂中分别占不到1% (w/w)。

[0277] 有些不含 **Transcutol®** 的氯硝西洋制剂也导致鼻内给药后在血液内的水平迅速上升, 所述制剂包括例如 95% GF、5% 吐温 -20、100% GF、10% GF、90% PEG、100% PEG 和

30% TA、70% GF。

[0278] 上述列出的药动学数据说明配制的用于鼻内给药的氯硝西洋组合物可在药学上有效地在短时间内将临床相关量的氯硝西洋送递到血流中——这使得这类鼻内制剂可在临床上用于例如治疗癫痫成组发作。这类氯硝西洋组合物含有例如一种或者多种选自下组的溶剂,该组溶剂包括但不限于:**Transcutol®**(二甘醇单乙醚)和类似的烷基醚、丙二醇、三乙酸甘油酯、乙氧基化四氢糠醇(乙氧基呋喃基醇或四氢糠醇聚乙二醇醚)和类似的乙氧基四氢糠醇,以及聚乙二醇(如 PEG200, PEG300 等)。但是,如上所看到的那样,游离 PEG 聚合物导致氯硝西洋制剂的稳定性降低。

[0279] 将上述表 12 所示数据再次进行分析。兔先导 PK 试验在每组各 10 只的两组动物上进行,JC01(第 1 组)和 JC02(第 2 组)。JC01 实验在一组年龄和体重比 JC02 组兔大和重的兔上进行。每一组兔有自己的一组静脉内氯硝西洋 PK 数据用于计算生物利用度。

[0280] 鼻内制剂为 4mg/mL。用 Eppendorf 给药吸量管向动物每个鼻孔给予 25 μ L 制剂,总计 50 μ L。当动物被给药时以及随后约 10 秒,将其以仰卧姿势固定。500 μ L 静脉内制剂——**Rivotril®**注射剂——在 30 秒内通过注射被给予到采血耳对侧耳耳缘静脉的对应位点中。所有兔均接受 0.2mg 的氯硝西洋。

[0281] 每个试验日检测 5 种制剂,每种制剂被给予两只兔。先分析数据,再决定将制剂组合物给予下一组动物。

[0282] 由于两组兔的体重不同,这两个组的 C_{max} 和 60min AUC 结果都没有直接可比性。基于对每组进行 IV 给药的结果,根据两组间的体重差异校正相对生物利用度。两组间的 C_{max} 没有直接可比性,但是仍列在表中作为每组内峰水平的相对指标。

[0283] 表 12B. 氯硝西洋制剂实例及其药动学数据

[0284]

第一组兔					
------	--	--	--	--	--

[0285]

名称	制剂	兔编号	剂量 (mg)	t_{max}	C_{max}	相对 BA
IV	静脉内注射	21-25	0.214			100%
1	100% PEG 300	21	0.201	20.9	27.3	62%
		26	0.201	30.4	14.5	38%
2	100% PEG 200	22	0.195	3.3	26.0	44%
		27	0.195	21.3	14.6	37%
3	100% 乙氧基化四氢糠醇	23	0.191	—	—	—
		28	0.191	15.6	30.4	83%
4	100% Transcutol	24	0.191	1.4	44.6	99%
		29	0.191	1.6	64.9	74%
5	30% 三乙酸甘油酯 + 70% Transcutol	25	0.201	3.0	64.6	81%
		30	0.201	1.1	81.5	93%
6	10% GF + 90% PEG 200	21	0.211	5.6	27.4	61%
		26	0.211	3.0	25.8	58%
7	5% GF + 95% PEG 200	22	0.200	5.4	20.2	32%
		27	0.200	15.1	27.1	65%
8	10% GF + 0.2%吐温 + 90% PEG 200	23	0.182	3.7	23.9	59%
		28	0.182	5.7	20.1	55%
9	30% TA + 60% TC + 0.2% 吐温 + 10% 柠檬酸盐 pH 4	24	0.191	3.0	48.5	90%
		29	0.191	1.4	43.5	53%
10	10% TC + 0.2% 吐温 + 90% PEG 200	25	0.193	46.4	24.0	67%
		30	0.193	9.9	32.8	66%
第二组免						
名称	制剂	兔编号	剂量 (mg)	t_{max}	C_{max}	相对 BA

[0286]

A	静脉内注射	33+35	0.214			100%
B	100% GF	31	0.212	3.1	19.9	53%
		32	0.212	1.6	23.2	54%
C	80% GF + 20% TC	34	0.212	2.7	31.2	73%
		36	0.212	3.3	39.7	78%
D	50% GF + 50% TC	37	0.218	2.2	41.1	79%
		38	0.218	3.0	14.4	25%
E	70% GF + 20% TC + 10% H ₂ O	39	0.214	5.3	25.2	51%
		40	0.214	3.2	9.5	20%
F	90% TC + 10% H ₂ O	31	0.192	3.0	43.5	105%
		32	0.192	1.5	24.6	76%
G	30% Triac. + 60% TC + 10% H ₂ O	33	0.190	1.5	30.5	84%
		34	0.190	1.1	31.1	103%
H	50% PEG200 + 50% TC	35	0.196	1.6	47.2	94%
		36	0.196	3.4	34.6	78%
I	80% PEG200 + 20% TC	37	0.198	3.0	17.9	59%
		38	0.198	10.4	14.1	53%
J	95% GF + 5% 吐温-20	39	0.190	44.8	10.9	47%
		40	0.190	1.4	29.6	73%
K	30%三乙酸甘油酯+ 70% 乙氧基四氢康醇	31	0.191	5.4	17.0	69%
		36	0.191	3.4	24.9	84%
L	40% PG + 60% TC	32	0.195	2.9	51.3	111%
		37	0.195	3.3	24.2	85%
M	30% GF + 70% PEG200	33	0.189	15.0	17.3	69%
		38	0.189	5.8	12.0	48%
N	30% TA + 60% TC + 10% 柠檬酸盐	34	0.187	1.9	33.7	105%

[0287]

		39	0.187	3.0	30.9	94%
O	30% TA + 60% TC + 10% phosph	35	0.187	1.8	19.8	76%
		40	0.187	1.4	27.9	72%
P	10% GF + 80% PEG200 + 10% citr/ tween /metab	36	0.200	3.8	25	25%
		32	0.200	3.1	23	37%
		31	0.200	30.4	14	49%
Q	10% GF + 50% PEG200 + 30% PG + 10% citr /tween/metab	37	0.200	3.4	25	39%
		33	0.200	3.3	17	39%
R	30% GF + 60% PG + 10% citr / tween /metab	34	0.200	3.0	16	51%
		38	0.200	3.5	42	43%
T	30% GF + 70% PG	35	0.200	4.7	28	49%
		39	0.200	2.9	14	35%
		40	0.200	3.4	15	22%
U	50% PG + 20% EtOH + 20% TC + 10% citr /tween/metab	32	0.200	15.6	33	69%
			0.200	1.3	52	72%

[0288] 注：

[0289] Tw 或 Tween 为吐温 -20, EtOH 为乙醇, Triac 或 TA 为三乙酸甘油酯, phosph 为磷酸盐缓冲液, metabisulph 为偏亚硫酸氢钠, citr 为柠檬酸盐缓冲液

[0290] 如上述表 12A 和 12B 例证, 该组合物可包含两种溶剂如第一溶剂 (例如 TC 或 GF) 和第二溶剂 (例如 TA 或 PG) 的溶剂基质, 所述第一溶剂可提供高的氯硝西洋溶解度, 且在施用到鼻黏膜后, 所述第一溶剂会被鼻黏膜吸收从而导致氯硝西洋过饱和, 相对于所述第一溶剂, 氯硝西洋在所述第二溶剂中的溶解度相对较低。在优选的实施方案中, 该组合物基本上非水的或无水的; 但是, 该组合物可进一步包含水组分 (例如, 低于约 10% 水含量, 优选低于约 5% 水含量, 更优选不到约 2% 水含量, 其中所述水含量优选使用生理上可接受的缓冲剂缓冲以获得约 4 到约 7、优选地 约 4 到约 6.5 的 pH 范围)。本发明的氯硝西洋组合物也可包括其他组分, 例如, 抗氧化剂 (如偏亚硫酸氢钠或丁基甲苯 (BHT))。优选的实施方案通常不包括作为溶剂的聚乙二醇聚合物, 但可包括如四氢糠醇聚乙二醇醚 (乙氧基化四氢糠醇) 的溶剂, 其中溶剂分子含有聚乙二醇聚合物作为其分子结构的固有组成部分, 也就是说, 聚乙二醇聚合物作为一个更大的化学结构的取代基 (同样参见, 例如, 公开的 P. C. T 国际专利申请 W003/070273 和 WO 03/070280)。

[0291] 四种含有二元溶剂系统的氯硝西洋组合物的药动学和耐受性被进一步评估。四种制剂如表 13 所示。

[0292] 表 13. 二元溶剂系统的组成 (10mg/mL 氯硝西洋)

[0293]

组成	溶剂系统
I	50% 二甘醇单乙醚 + 50% 三乙酸甘油酯
II	50% 二甘醇单乙醚 + 50% 丙二醇
III	50% 乙氧基化四氢糠醇 + 50% 三乙酸甘油酯
IV	50% 乙氧基化四氢糠醇 + 50% 丙二醇

[0294] 通过向兔鼻内给药来评估表 13 中的制剂的药动学, 并将之与向兔静脉 (i. v.) 给予氯硝西洋进行比较。每个制剂的样本大小为 $N = 10$, 并以 10mg/mL 进行滴注, 氯硝西洋剂量根据体重调整。数据总结列于图 5。

[0295] 数据进一步总结在表 14。

[0296] 表 14. 所选制剂的 PK 数据

[0297]

制剂		剂量(mg)	T_{max}	C_{max}	AUC	生物利用度
I	50% TC + 50% TA	0.214	20.3	9.02	462	43%
II	50% TC + 50% PG	0.214	3.51	24.31	704	66%
III	50% GF + 50% TA	0.214	3.24	10.14	454	43%
IV	50% GF + 50% PG	0.214	3.26	19.34	604	57%
静脉内	注射的 Rivotril	0.214	1.70	49.70	1061	100%

[0298] 上面列出的制剂的鼻内 PK 谱证实了氯硝西洋的快速吸收性, 这样临床相关量的氯硝西洋可在短时间内到达血流。短期生物利用度不一定要高; 在尽可能短的时间内血液水平变高这更重要。较低的生物利用度可使用例如较高的剂量平衡。较高剂量和低的短期生物利用度的一个优点可能是未被鼻内吸收的药物进入胃肠道, 导致剩余的药物进行常规的胃肠道吸收, 从而导致缓释现象。

[0299] 从兔子的 PK 数据可以看出, 本发明配制的用于鼻内递送的氯硝西洋组合物的特征在于: 例如在单次鼻内给药 (在一个鼻孔或两个鼻孔中) 后氯硝西洋的 T_{max} 为 2 小时, 通常不到 1 小时, 可能不到 30 分钟或不到 15 分钟。此外, 本文所述的鼻内递送的氯硝西洋药物组合物可例如以如下所述为特征: 当鼻内给予单剂量的组合物以递送剂量至少约 0.2mg 的氯硝西洋时, 可提供范围如下的氯硝西洋平均最高血浆浓度 (C_{max}) 以及氯硝西洋 60 分钟的平均血浆曲线下面积 (AUC) 值两者中的至少一者: 其中所述 C_{max} 至少约 3.0ng/mL 或至少为静脉内递送剂量浓度的约 15%, 通常为静脉内递送剂量的 30% 或静脉内递送剂量的 50%, 所述氯硝西洋 60 分钟的 AUC 值至少约为 400ng-hr/mL。此外, 本发明的氯硝西洋组合物在鼻内给药后的生物利用度一般比静脉内给药的生物利用度高出 30%, 通常高出 40% 并常常高出 50%。

[0300] 除了上面探讨的 PK 参数, 为了支持本发明所进行的试验评估了含有作为活性药物的氯硝西洋的 I-IV 制剂的上下呼吸道的局部耐受性。这种耐受性以免为模型进行评估。连续进行 7 天处理后, 对所选组织进行组织病理学评估。

[0301] 这些试验使用的兔子如下：品种，新西兰白兔；性别，30 只雄性和 30 只雌性；体重，公兔平均体重 2.466 ± 0.093 (SD) kg，母兔平均体重 2.465 ± 0.114 (SD) kg。在处理时表现任何并发疾病的动物不包括在内。兔子购自法国 L' Arbresle Cedex 的 Charles River 实验室。

[0302] 动物在分配适应阶段即在处理前 3 天里和要屠宰时称重。选择 10mg/mL (1mg 氯硝西洋的 100 μ L 溶液) 剂量水平，该水平相当于待给人类服用的预测剂量。

[0303] 处理组详列于表 15。制剂 5 是载体对照——50%乙氧基化四氢糠醇；50%丙二醇（不含氯硝西洋）。制剂 6 是盐水对照（0.9% NaCl 水溶液）。

[0304] 表 15. 处理分组

[0305]

组次	处理	动物数量	氯硝西洋浓度 (mg/mL)	处理数量
1	制剂 I TC/TA+	5 雄 5 雌	10	7
2	制剂 II TC/PG+	5 雄 5 雌	10	7
3	制剂 III GF/TA+	5 雄 5 雌	10	7
4	制剂 IV GF/PG+	5 雄 5 雌	10	7
5	制剂 5 GF/PG-	5 雄 5 雌	0	7
6	制剂 6 S-	5 雄 5 雌	0	7

[0306] 选择的给药途径是最终产品的给药途径。

[0307] 不管哪种制剂，连续 7 天每天对所有动物滴鼻给予 0.1mL 制剂。

[0308] 所有给药都在右鼻孔进行，使用一个安装塑料枪头的 1mL 吸管 (B13, Gilson 公司的可调整移液器 Pipetman P200) 给药。各制剂所需要体积使用吸管测量并置于动物鼻孔内部。

[0309] 处理细节记录在原始数据中，包括给药剂量、制剂名称、给药日期和时间。

[0310] 在第 8 天将每组的 6 只动物（三只雄性和三只雌性）并在第 15 天将剩余的动物（经过 7 天的恢复期后）经异氟烷麻醉后腹部动脉放血处死。

[0311] 在安乐死后，对喉、气管、支气管、肺和食管进行肉眼检查。

[0312] 尸检时摘取动物头部，连同喉管以及气管、支气管、肺和食管的样本，并用福尔马林固定用于组织病理学分析。

[0313] 经过详细准备后，除了喉和气管外，还从头部、鼻黏膜、鼻甲取样并检查。对于任何观察到的宏观异常或损伤都要采集带有周围组织相邻边界的样本并固定用于组织病理学分析。

[0314] 对与鼻腔近端 (nasal cavities proximal)、鼻腔鼻甲骨 (nasal cavitiesturbinates) 和鼻腔嗅部 (nasal cavities olfactory) 相对应的三个头部切片上鼻腔内的鼻黏膜和鼻甲骨进行了检测。

[0315] 进行组织病理学检查，其结果由病理学家进行评估。所有结果按组列表，分别计算各器官均值和标准偏差。组间统计数据比较使用方差分析 (ANOVA)。各组之间的生长无明显的差异。

[0316] 在组织学标本中观察到的最终变化的严重度，由病理学家进行如下评分：0，无损伤；1，轻微；2，中度；3，严重。

[0317] 图 6 总结了动物鼻腔组织病理学结果。第 3 组的严重度评分在统计学上高于第 4、5 和 6 组的评分 ($p = 0.003$)。如鼻甲内腔内的糜烂和纤维白细胞物质等刺激性变化主要

在第 3 组 (2/3 雌性和 1/3 雄性) 观察到, 在第 1 组 (1/3 雌性) 和第 5 组 (2/3 雄性) 也观察到, 但是在其他处理组或者对照组没有观察到。这些变化在第 15 天尸检时没有观察到。鼻甲轻度上皮萎缩在第 8 天尸检时明显且在第 15 天尸检时也很明显, 主要在处理组 1, 其他处理组轻微些。对照组 6 显示没有上皮萎缩。有时在处理组和对照组的喉以及鼻腔的气腔 (aerian lumen) 中观察到有血液, 这可能是由于外伤所致。观察到最好的局部耐受性的组是第 2 和 4 处理组。这些结果表明被测制剂通常具有良好的鼻腔耐受性。

[0318] 尸检时在 15 只动物的喉管发现血液或者瘀斑 (第 1 组 2 只, 第 2 组 4 只, 第 3 组 3 只, 第 4 组 2 只, 第 5 组 4 只), 以及在组织病理学检查时在 6 只动物 (第 2 组 1 只, 第 4 组 2 只, 第 5 组 4 只) 中发现血液或者瘀斑。表 16 列出了每组严重度评分的均值和 SD。

[0319] 表 16. 各组喉严重度评分均值和标准偏差

[0320]

	第 1 组	第 2 组	第 3 组	第 4 组	第 5 组	第 6 组
平均评分	0.0	0.1	0.0	0.2	0.3	0.0
SD	0.0	0.3	0.0	0.4	0.5	0.0

[0321] [0318] 在第 4 组两只动物中观察到食管出现轻微的上皮脱落。表 17 列出了每组严重度评分的均值和 SD。

[0322] 表 17. 各组食管严重度评分均值和标准偏差

[0323]

	第 1 组	第 2 组	第 3 组	第 4 组	第 5 组	第 6 组
平均评分	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0
SD	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0

[0324] 尸检时, 在 17 只动物中观察到瘀斑或血液 (第 1 组 4 只, 第 2 组 3 只, 第 3 组 5 只, 第 4 组 1 只, 第 5 组 4 只)。支气管和气管上没有观察到组织病理损伤。

[0325] 在尸检时在 17 只动物中观察到肺变化 (第 1 组 1 只, 第 2 组 3 只, 第 3 组 3 只, 第 6 组 1 只)。在第 15 天从组织学上记录到第 2 组的两只动物出现充血性病灶。表 18 列出了每组严重度均值和 SD。

[0326] 表 18. 各组肺严重度评分均值和标准偏差

[0327]

	第 1 组	第 2 组	第 3 组	第 4 组	第 5 组	第 6 组
平均评分	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0
SD	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0

[0328] 对于整个呼吸道而言, 主要是在最上端即鼻腔观察到显微损伤。由于对照组没有记录到损伤, 很可能所有的损伤都与处理有关。尸检时记录到的瘀斑和在组织病理学检查期间观察到的血的存在可能是因处理导致的外伤引起。在大多动物 (在尸检时 26 只动物中有 20 只出现瘀斑或血) 中, 尸检时记录到的损伤均与组织病理结果有关。处理后随即观察到刺激性损伤, 但在 1 周恢复后刺激性损伤消失。在一周恢复后观察到轻度上皮萎缩。就严重度评分而言, 制剂 3 明显引发最严重的损伤。其他制剂的局部耐受性几乎相似。

[0329] 总之, 尸检和组织病理学检查结果 (包括严重度评分比较), 表明本 发明含有鼻内给药制剂的氯硝西洋组合物作为药物使用具有可接受的耐受性。

[0330] 实施例 6. 溶剂基质的喷雾性和粘度

[0331] 测试了 14 种用于氯硝西洋制剂的代表性的溶剂基质的喷雾模式并与水比较。制

备溶剂混合物,掺入少量考马斯亮蓝染料,并随后加入 100 μ L 到 Pfeiffer 单位剂量装置 (Pfeiffer of America, Princeton, N. J.)。为了测量喷雾模式,装置在位于喷雾喷嘴上方 3cm 的纸下被驱动。所有测量都在室温 (20-25 $^{\circ}$ C) 下进行。测量在纸上形成的蓝色图形的最小 (D_{\min}) 和最大 (D_{\max}) 直径,结果用于计算 D_{\max}/D_{\min} 比例、图形面积和平均喷雾角度。在 3cm 处的气缕面积使用椭圆面积公式计算,用两个直径的一半作为椭圆半径。所有制剂的粘度均使用 Brookfield DV-I 粘度计 (Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Middleboro, Massachusetts) 测量。测量结果见表 19。表 19 列出与氯硝西洋制剂使用的溶剂混合物的喷雾性和粘度相关数据。列出了粘度、3cm 处的气缕面积、喷雾角度和反映喷雾气缕对称性的 D_{\max}/D_{\min} 比例。

[0332] 表 19. 喷雾性和粘度

[0333]

组成	平均粘度 (cP)	在 3cm 处的气缕面 积(cm^2)	喷雾角 度($^{\circ}$)	D_{\max}/D_{\min} 比例
80% 乙氧基化四氢糠醇 + 20% Transcutol®	11.5	5.93	49.2	1.07
50% 乙氧基化四氢糠醇 + 50% Transcutol®	7.4	8.45	57.3	1.04
95% 乙氧基化四氢糠醇 + 5% H_2O	16.7	5.73	48.6	1.22
70% 乙氧基化四氢糠醇 + 30% 三乙 酸甘油酯	14.6	5.78	48.7	1.12
60% Transcutol® + 30% 三乙酸甘油 酯 + 10% H_2O	5.8	8.71	58.1	1.03
60% Transcutol® + 40% 丙二醇	8.8	6.42	51.0	1.11

[0334]

70% PEG200 + 30% H₂O	20.6	4.07	41.6	1.14
80% PEG200 + 20% H₂O	30.0	4.10	43.3	2.04
90% PEG200 + 10% H₂O	41.7	2.46	33.6	1.79
80% PEG200 + 10% GF + 10% H₂O	42.8	3.21	39.2	2.07
50% PEG200 + 30% PG + 10% GF + 10% H₂O	35.4	4.55	44.9	1.54
60% PG + 30% GF + 10% H₂O	23.3	4.92	46.3	1.79
70% PG + 30% GF	31.7	4.32	43.1	1.22
水	1.0	15.52	73.1	1.10

[0335] 虽然水粘度为 1.0cP, 但被测溶剂混合物的粘度范围为 5.8(60% Transcutol®+30% 三乙酸甘油酯+10% H₂O) 到 42.8cP(80% PEG200+10% GF+10% H₂O)。如图 7、图 8 和图 9 所示的溶剂混合物的粘度与气缕面积和喷雾角度以及气缕不对称性具有负相关性。

[0336] 从表 19、图 7 和图 8 所示数据看, 很明显喷雾角随着标准 Pfeiffer 单位剂量装置中溶剂基质粘度的增加而变小。图 9 表明在溶液粘度最高达约 20cP 时气缕不对称性保持在 1.0-1.2 范围内, 粘度高于此时气缕形状的不规则性增加。对粘度范围为 5.8-41.7 的三个溶液的喷雾气缕形状的视觉检查表明气缕形成且没有气缕“呈水针状 (squirted)”。

[0337] 这些结果证实在 20-25°C 时, 所有被测溶剂基质均从 Pfeiffer 单位剂量装置中喷射很好。结果也表明粘度是本发明制剂的一个良好的喷雾性预测指标。因为天气基本上可指示不同使用的条件, 因此测定了温度对粘度的影响。用二甘醇单乙醚充满 Gilmont 落球式粘度计并在各个温度下校正几个小时。在 -17°C、8°C、23°C 和 40°C 测量的粘度分别为 6.6cP、5.4cP、3.8cP 和 3.1cP。因此, 由于温度对粘度相对低的依赖性, 据预计模拟用 100% 的 Transcutol 制剂在低于 40°C 的宽范围内——至少在 -15°C 到 30°C——表现出良好的喷雾特性。

[0338] 实施例 7

[0339] 实例组合物、制剂和制备方法

[0340] 一方面, 本发明涉及配制用于鼻内给药的氯硝西洋组合物。单位剂量一般具有约 25 μL-150 μL、优选约 100 μL 的体积。例如用于治疗癫痫成组发作的单位剂量的氯硝西洋约为 0.1mg-5mg, 优选地约 1mg 至约 4mg。表 20 列出了用于鼻内给药剂型的制剂实例。这些制剂实例提供 10mg/mL 的氯硝西洋。

[0341] 表 20. 溶液制剂的组成 (% w/w)

[0342]

通用成分	特殊成分	制剂 I	制剂 II	制剂 III	制剂 IV
溶剂 1 (氯硝西洋溶解度高)	二甘醇单乙醚	49.5	49.5	—	—
	乙氧基化四氢糠醇	—	—	49.5	49.5
溶剂 2 (氯硝西洋溶解度低)	丙二醇	—	49.5	—	49.5
	三乙酸甘油酯	49.5	—	49.5	—
药物	氯硝西洋	1.0	1.0	1.0	1.0
合计		100	100	100	100

[0343] 下列制备本发明实例组合物的方法都被概括列出,且可以由本领域普通技术人员根据本说明书的教导进行修改。一般性地描述了示例剂型和制备方法。

[0344] 将所需量的氯硝西洋在室温下溶解在溶剂 1 中并搅拌直到溶液澄清均一。接着添加溶剂 2 并搅拌溶液直至均一。

[0345] 本发明的示例性的制剂包括但不限于,终浓度为约 1w/w% 至约 20w/w% 的氯硝西洋,约 30w/w% 至约 70w/w% 的溶剂 1,以及约 70w/w% 至约 30w/w% 的溶剂 2。如上所述可加入其他成分,并相应地改变各成分的 w/w% 组成。

[0346] 鼻内氯硝西洋的常规目标剂量为 1 至 2mg/ 单位剂量。一般来说,在急性癫痫发作时由专业医务人员静脉内给予 1mg 氯硝西洋 (Rivotril i. v.)。这可以通过鼻内给予例如以下的制剂实现:100 μ L 10mg/mL 生物利用度为 100% 的溶液,13.3mg/mL 生物利用度为 75% 的溶液,或 20mg/mL 生物利用度为 50% 的制剂。

[0347] 单位剂量或多剂量可分装到合适的送递装置中,例如,固定体积的定量剂量装置。用于鼻内给药的装置在本领域是已知的(例如,美国新泽西州普林斯顿的 Pfeiffer 和康涅狄格州格林威治美国瓦罗亚 (Valois) 公司生产的装置)。优选能稳定送递本发明的药物组合物的装置。这种装置可由患者或者第二方例如医疗人员操作。此外,这些装置在使用后几乎没有留下残余氯硝西洋。因此,该装置可以很容易丢弃。

[0348] 鼻内给药装置可通过例如增加该用药装置喷嘴上喷口的尺寸被调整,其目的是为了实现在合适的喷雾气缕和鼻渗透性。例如,一个约 0.07mm 的喷口可用于容纳粘度更高的组合物。鼻内送递装置的组件也可以通过本领域内已知的方法消毒。但是,因为本发明的组合物是无水的,因此干热、无菌过滤或者终末消毒可能是有必要的。但是,如果制剂是杀菌的,则可能不需要消毒或者无菌灌装(见上面实施例 3)。

[0349] 鼻内送递装置可装单剂量或者多剂量的氯硝西洋。可使用本领域已知的方法和技术对含一个或者多个单位剂量的装置消毒。装有本发明的氯硝西洋组合物的鼻内送递装置可进一步用保护性封口物密封。此外,适当的儿童安全控制工具也可添加到该装置上。

[0350] 本发明的氯硝西洋组合物可在氮气下包装,以减少对氯硝西洋或赋形剂的氧化损害。同样,生产过程也可在有限的氧气条件下进行。

[0351] 实施例 8

[0352] 人类药物动力学研究

[0353] 使用标准临床方法评估用于治疗应用的本发明配制用于鼻内送递的氯硝西洋组合物的药物动力学、安全性和耐受性。配制用于鼻内送递的氯硝西洋组合物由例如参与者向鼻内黏膜施用提供。

[0354] 在人类中进行的初步研究的主要目的是测量和比较三种氯硝西洋剂型（口服、静脉内和鼻内）单次给药后的药物动力学概况。在人类中进行的这种研究的一个实例是在 12 名健康男性志愿者中进行的交叉研究。例如使用 HPLC 和 UV 检测来测定血浆和尿液中氯硝西洋和 7-氨基氯硝西洋的水平。该研究的第二个目标包括测定本发明的鼻内氯硝西洋制剂的安全性和耐受性并使用 qEEG 制图评估他们的药效学作用（见例如下面实施例 9）。此外，人类初步研究还使用问卷和视觉模拟量表（VAS）来测定鼻内制剂的局部耐受性。VAS 是一种有效的工具，已被用于多种研究以量化鼻道的主体开放性（subjective opening）。此外，还使用问卷和量表评估了认知、嗜睡度和情绪影响（见例如下面实施例 10）。另外，可使用例如 LEEDS 心理多重选择反应时间（MCRT）测试来评估注意力和警觉性。

[0355] 实施例 9

[0356] qEEG 制图

[0357] 测量使用本发明的氯硝西洋组合物鼻内给药的患者的 EEG 图。不含氯硝西洋的运载体对照也被给予。EEG 带的标准频率如下： δ (0.5-305Hz)； θ (4-7.5Hz)； α (8-12.5Hz) 以及 β (13-32Hz)。后两个被分成如下两个亚带： $\alpha 1$ (8-9.5Hz) 和 $\alpha 2$ (10-12.5Hz)；和 $\beta 1$ (13-17.5Hz)， $\beta 2$ (18-20.5Hz)，以及 $\beta 3$ (21-32Hz)。

[0358] EEG 带的功能相关指标如下： δ ，镇静潜力； θ ，认知； α ，警觉性/注意力；以及 β ，唤醒/焦虑。 β 带的增加已被证明与抗主观焦虑相关（(Ansseau, M., et al., "Self-reports of anxiety level and EEG changes after a single dose of benzodiazepines. Double-blind comparison of two forms of oxazepam," *Neuropsychobiology* 12(4):255-9(1984)）。

[0359] 作为对照，氯硝西洋可以选定剂量静脉内给药。安慰剂也静脉内给药。

[0360] 获得了氯硝西洋以及安慰剂给药后 EEG 参数相对时间的相互动力图（绝对能量）。

[0361] 例如还使用斯坦福嗜睡度量表评估镇静作用。

[0362] 这些结果有望支持药用的配制用于鼻内给药的氯硝西洋组合物的使用，所述药用例如用于治疗癫痫成组发作，其中观察到抗惊厥作用快速起效，且不良作用极小（例如镇静作用上的最小升幅）。

[0363] 实施例 10

[0364] 氯硝西洋的认知效果

[0365] 本实施例通过神经认知测试描述了配制用于鼻内给药的氯硝西洋组合物的药效学作用。使用认知药物研究（CDR, Reading, 英国）的计算机化测试评估系统的一系列测试。这项研究通常为双盲、随机、安慰剂-对照交叉设计。作为一个对照，该组可接受选定剂量通过静脉内注射（i. v.）的氯硝西洋和安慰剂。

[0366] 认知功能通常使用一套用于评估注意力的注意力任务以及用于评估次级记忆的文字识别任务来评估。在筛选时和第 1 天针对认知测试过程进行训练后，CDR 评估一般在每个阶段的第 1 天的给药前以及给药后 30、60、90、120 和 180min 完成。执行 CDR 计算机化

认知评估体系中的注意力任务系列和文字识别任务。在每次评估时以平行形式列出任务以便能够通过使用不同但是相当的刺激进行重复评估。

[0367] 例如按照下列顺序执行测试：文字说明；简单反应时间；数字警觉性；选择反应时间；和文字识别。从收集到的数据生成两个复合评分：注意力度（获自全都严格基于单一因素的三项注意力任务的速度量度）和注意力连续性（获自注意力任务选择反应时间和数字警觉性的准确性量度），两者都反映出受试者保持注意和避免错误的能力。通常对每个给药时间点的每个测量值进行统计汇总计算（n, 数量；均值；sem, 标准误；sd, 标准差；中位数；min, 最小值；max, 最大值；和遗缺值）。对于每一个测量值，从给药后每个时间点的数据减去给药前（基线）数据得到“相对于基线的差异”评分。使用未经调整的评分和得到的“相对于基线的差异”评分绘图（均值 ± 标准误）。

[0368] 使用例如 SAS PROC MIXE 对数据进行重复测量方差分析 (ANCOVA)。将固定项与模型的顺序、剂量、时间段、时间和剂量 * 时间相互作用拟合。将顺序上的受试者随机影响拟合到模型上。给药前（基线）评分用作协变量。通常在 0.05 水平上检验显著性。

[0369] 对于大多数测量值，所选择的治疗剂量的氯硝西洋预计在统计学上几乎不会造成重大损害。氯硝西洋预计显示出认知（注意力和次级记忆）的剂量依赖性损害模式。随着氯硝西洋剂量增加测定损害范围和持续时间。

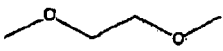
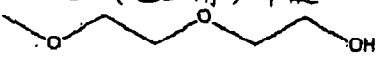
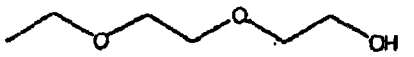
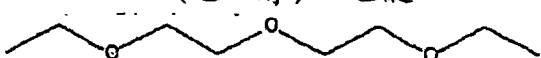
[0370] 实施例 11

[0371] 25°C 时氯硝西洋在乙二醇醚中的溶解度

[0372] 大量乙二醇醚溶剂确信可被接受用于鼻内施用增溶苯二氮杂革。比较了四种乙二醇醚，如下表所示。

[0373] 表 21. 乙二醇醚

[0374]

#	名称	CAS	通用名	密度
1	1,2-二甲氧基乙烷 	110-71-4	乙二醇二甲醚 (monoglyme)	0.867
2	二(乙二醇)甲醚 	111-77-3	甲基卡必醇	1.023
3	二甘醇单乙醚 	111-90-0	卡必醇 DEGEE	0.999
4	二(乙二醇)二乙醚 	112-36-7	二乙基卡必醇	0.909

[0375] 称取 10mg 氯硝西洋置于 Pfeiffer 单剂量喷雾系统 (Pfeiffer of America, Princeton, N. J.) 使用的玻璃小瓶中。四种溶剂每一种的四个样本如下制备。吸取 130-μL 每个溶剂到该小瓶中，然后将该小瓶用一个黑色氯丁基橡皮塞塞住。接着将样本声处理 10min，每种溶剂的两个样本在 25°C 下保存至少 12h。

[0376] 从室内取出小瓶,置于聚乙烯离心管内并在 5000rpm 下离心 2min。接着从每个小瓶中取 10 μ L 液体的样品,精确称重,并用 1mL 乙腈稀释。用一个不带柱的安捷伦 HPLC 系统通过 UV 分析药物浓度,10 μ L 注射体积,乙腈流动相,0.3mL/min,在 350nm 处 UV 检测。基于使用空白和标准溶液的校正,从峰面积计算溶解度,结果如下表所示。

[0377] 表 22. 氯硝西洋在乙二醇醚中的溶解度

[0378]

溶剂	溶解度 25°C, mg/mL
1,2-二甲氧基乙烷	39.3
二(乙二醇)甲醚	56.4
二甘醇单乙醚 (DEGEE)	41.8
二(乙二醇)二乙醚	19.0

[0379] [0376] 实施例 12

[0380] 在 3°C 时氯硝西洋在乙二醇醚中的溶解度

[0381] 使用实施例 11 的方法制备样本 (25°C 时的溶解度,包括在下表中作为参考)。样本储藏在冰箱或者冰柜中至少 12 小时,且沉淀基本上沉降。接着在 -5°C 和 5°C 以 5000rpm 分别离心 -15°C 和 5°C 样本小瓶 2min。下面显示的溶解度表明:氯硝西洋在这些乙二醇醚中在 25°C 和 -15°C 之间的溶解度基本上无温度依赖性。这些组合物可在最高 30°C 和最低 -15°C 下储藏并维持它们的稳定性。

[0382] 表 23. 氯硝西洋在乙二醇醚中的溶解度 (mg/mL)

[0383]

溶剂	-15°C	5°C	25°C
1,2-二甲氧基乙烷	35.2	35.7	39.3
二(乙二醇)甲醚	58.1	53.9	56.4
二甘醇单乙醚	43.3	37.7	41.8
二(乙二醇)二乙醚	19.5	18.5	19.0

[0384] 实施例 13

[0385] 含水溶剂中氯硝西洋的溶解度

[0386] 实施例 11 的样本,在 100% 溶剂中完成溶解度测量后,吸取部分到另一组玻璃瓶中 (Pfeiffer 单剂量管) 并与 pH6.8 缓冲水按不同比例混合以形成 120 μ L 20% -80% 乙二醇醚的水混合物。所有样本立即出现沉淀。将管在 25°C 下储藏约 1 天。在采样前,将管在 23°C 下以 5000rpm 离心 2min。结果如下所示;实施例 11 的纯溶剂溶解度被包括其中以供参考。水含量增加实际上降低了溶解度。

[0387] 表 24. 氯硝西洋在溶剂 / 水溶液中的溶解度 (mg/mL)

[0388]

溶剂%	100	80	60	40	20
溶剂					
水%	0	20	40	60	80

[0389]

1,2-二甲氧基乙烷	39.3	29.6	9.2	0.64	0.18
二(乙二醇)甲醚	56.4	18.9	2.8	1.00	0.26
二甘醇单乙醚	41.8	21.8	4.5	0.52	0.30
二(乙二醇)二乙醚	19.0	38.8	8.5	1.23	0.31

[0390] 实施例 14

[0391] 人类药物动力学研究结果

[0392] 按照实施例 8 所述进行人类药物动力学研究。

[0393] 15 名年轻健康的男性志愿者在三阶段交叉设计中通过口服、静脉内途径和鼻内途径接受了 1mg 氯硝西洋单一剂量。氯硝西洋的鼻内制剂在给药后 0.200 小时(约 12min) 出现 T_{max} , 而在口服给药后中值 T_{max} 为 2 小时以及静脉内给药后中值 T_{max} 为 0.10 小时。在通过口服、鼻内途径给予 1mg 氯硝西洋后均值 C_{max} 值相当(鼻内途径:均值 \pm SD, 7.12 ± 3.81 ng/mL 以及口服途径:均值 \pm SD, 7.64 ± 1.74 ng/mL; 以及静脉内途径:均值 \pm SD, 42.5 ± 10.8)。由此,鼻内途径的 C_{max} 是口服途径的 C_{max} 的 93%, 是静脉内途径的 C_{max} 的 17%。

[0394] 静脉内途径和口服途径在给予 1mg 氯硝西洋后 24 小时的 AUC 相当(分别约为 106 和 95ng·h/mL), 而鼻内给药后 24 小时的 AUC(约 58ng·h/mL) 大约是静脉内给药所观察到的一半。由此, $AUC_{in} : AUC_{iv} = 1 : 1.83$, $AUC_{in} : AUC_{oral} = 1 : 1.64$, 并且,生物利用度是静脉内给药的 55%, 是口服给药的 61%。

[0395] 嗜睡和鼻不适是本研究中被报道的最常见的副作用(分别为 75.6%和 26.7%)。在鼻内给药后,15 名受试者中有 10 名(约 67%) 被报道嗜睡,口服给药后,15 名受试者中有 13 名(约 87%) 嗜睡。静脉内给药后大约 93%的受试者被报道嗜睡或者镇定(嗜睡为 11/15, 并且镇定为 3/15)。鼻内给药后 15 名受试者中有 12 名(约 80%) 被报道鼻不适。在实验室参数中没有临床有关的变化。

[0396] 给予 1mg 氯硝西洋后,在 24 小时血样收集阶段所有三种给药途径中 7-氨基-氯硝西洋浓度均持续增加。鼻内途径的平均 C_{max} (1.17ng/mL) 低于静脉内和口服途径观察到的值。静脉内途径和口服途径的平均 C_{max} 近似(约 2ng/mL)。鼻内途径的平均 AUC_t (16.9ng·h/mL) 低于静脉内途径和口服途径观察到的值。静脉内途径和口服途径的平均 AUC_t 近似(约 30ng·h/mL)。

[0397] 实施例 15

[0398] qEEG 绘图结果

[0399] 按照实施例 9 所述测定实施例 14 中的 15 名志愿者的 EEG 图。基于相对于基线的变化,氯硝西洋产生了苯二氮杂 䓬类的 EEG 变化特征。静脉内给药后影响最大,其次为鼻内和口服途径给药。给药途径间显著的统计学差异出现在在不同时间点,间接证实了不同时间段,作用效果不同。一般来说,三种氯硝西洋给药途径都增加了 EEG 的 δ 和 β 活动,降低了 α 和 θ 活动。这种活动模式在鼻内和静脉内途径给予氯硝西洋后很快就明显(即在给药后的前 3-6min),并在口服给药后晚些时候出现(大约给药后 2 小时)。

[0400] 集中在时间过程对 β -1 相对功率的影响上的事后分析确证了鼻内给予氯硝西洋是有效的,作用效果大小类似口服给药,且静脉内和口服途径的中间作用时间延迟。连同图谱分析中 δ 、 θ 和 α 带的 EEG 图,这些结果与以往报道的各种苯二氮杂 䓬药物的药效学变化一致。

[0401] 实施例 16

[0402] 氯硝西洋对认知的影响

[0403] 按照实施例 10 所述获得实施例 14 中的 15 名志愿者的心理运动和主观测试结果。在客观测试(Leeds 心理运动测试)和主观测试(Bond and Lader VAS 以及 Karolinska 嗜睡量表)中,氯硝西洋鼻内喷雾表现出起效快,与静脉内制剂相当。通过静脉内和喷鼻给药的作用效果在约 30min 时首次出现,而通过口服给药的作用效果在约 2 小时时首次出现。

[0404] 本领域技术人员显而易见的是,在不违背本发明精神和范围的条件下可以对上述实施方案进行各种修改和变化。这些修改和变化在本发明范围之内。

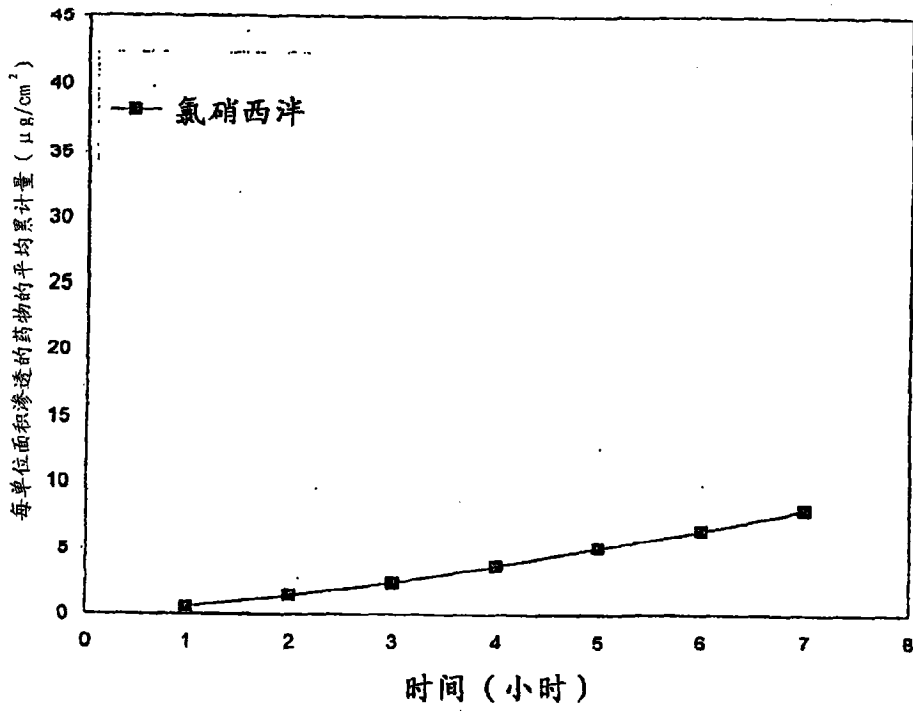


图 1

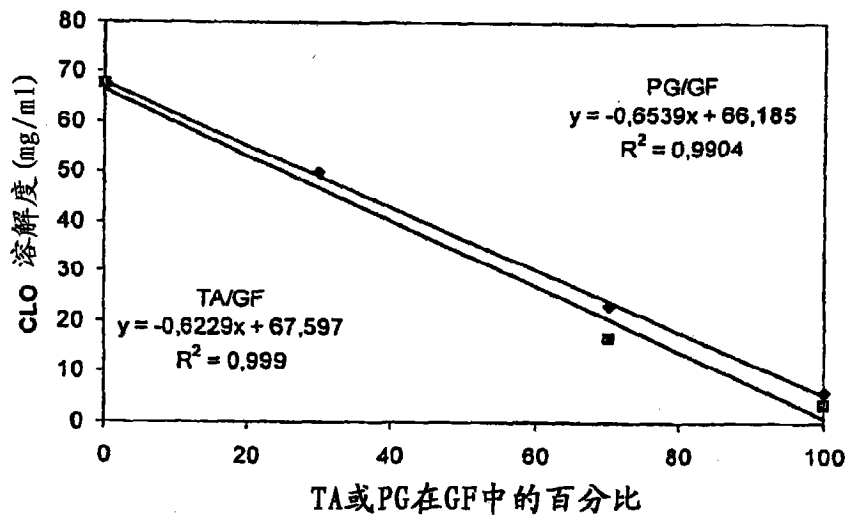


图 2

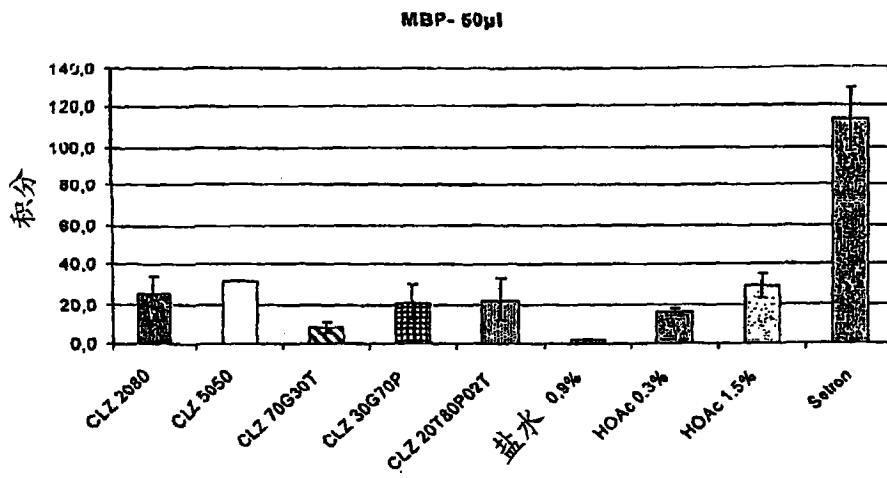


图 3

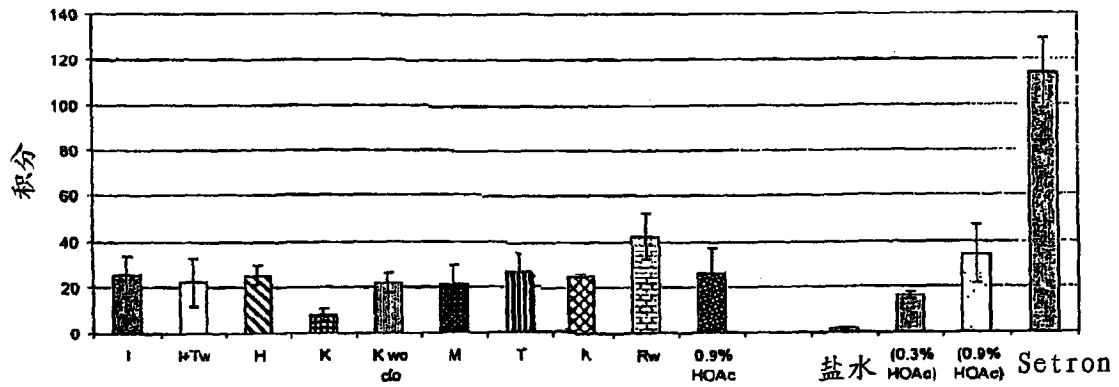


图 4

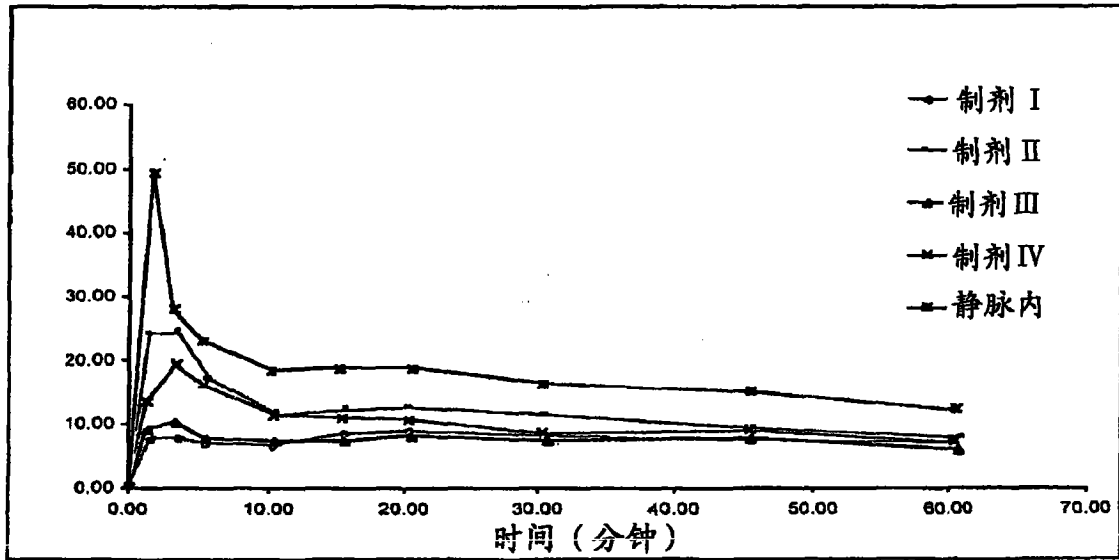


图 5

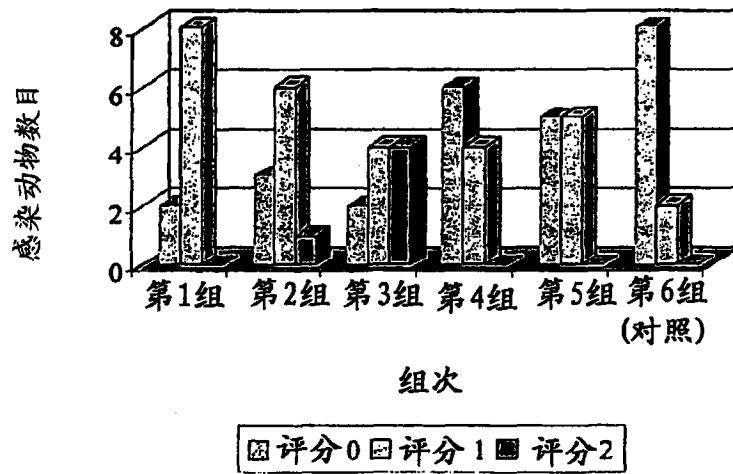


图 6

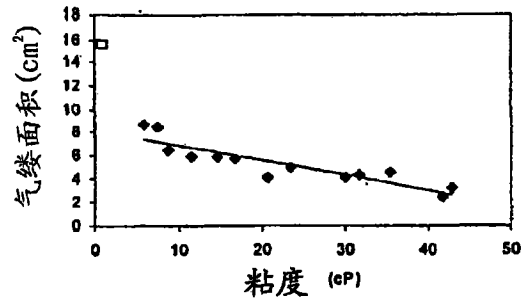


图 7

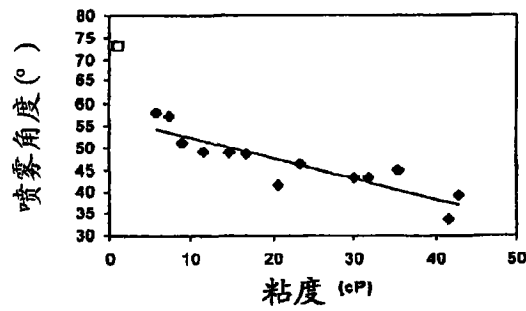


图 8

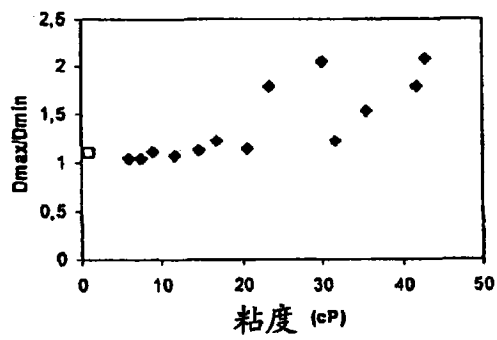


图 9