



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 201628656 A

(43) 公開日：中華民國 105 (2016) 年 08 月 16 日

(21) 申請案號：104139006 (22) 申請日：中華民國 104 (2015) 年 11 月 24 日

(51) Int. Cl. : *A61K47/02 (2006.01)* *A61K47/44 (2006.01)*  
*A61K45/06 (2006.01)* *B82Y5/00 (2011.01)*

(30) 優先權：2014/11/25 歐洲專利局 14306875.7

(71) 申請人：奈諾生技公司 (法國) NANOBLOTIX (FR)  
 法國

(72) 發明人：傑曼 馬修 GERMAIN, MATTHIEU (FR)；梅爾 瑪莉 艾迪斯 MEYRE, MARIE-  
 EDITH (FR)；波提爾 安妮斯 (FR)；拉維 洛倫特 LEVY, LAURENT (FR)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：20 項 圖式數：3 共 32 頁

## (54) 名稱

醫藥組合物、其製備與用途

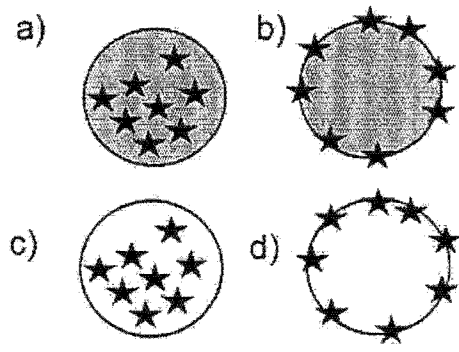
PHARMACEUTICAL COMPOSITION, PREPARATION AND USES THEREOF

## (57) 摘要

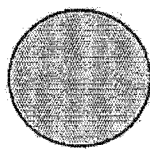
本發明係關於包括(i)至少一種生物相容奈米粒子及(ii)至少一種包括至少一種醫藥化合物之載劑之組合之醫藥組合物，其欲投與需要此一醫藥化合物之個體，其中該至少一種生物相容奈米粒子與該至少一種包括該(等)醫藥化合物之載劑之該組合加強該(等)所關注化合物之效率。該生物相容奈米粒子之最長尺寸通常介於約 4nm 與約 500nm 之間，且其絕對表面電荷值係至少 10mV(|10mV|)。另外，該載劑缺乏任何表面空間穩定劑。本發明亦係關於用於在有需要之個體中投與該(等)醫藥化合物之此一組合物，其中該至少一種生物相容奈米粒子及該至少一種包括該至少一種醫藥化合物之載劑欲在需要該醫藥化合物之個體中分開投與，彼此通常間隔介於超過 5 分鐘與約 72 小時之間。

The present invention relates to a pharmaceutical composition comprising the combination of (i) at least one biocompatible nanoparticle and of (ii) at least one carrier comprising at least one pharmaceutical compound, to be administered to a subject in need of such a pharmaceutical compound, wherein the combination of the at least one biocompatible nanoparticle and of the at least one carrier comprising the pharmaceutical compound(s) potentiates the compound(s) of interest efficiency. The longest dimension of the biocompatible nanoparticle is typically between about 4 and about 500 nm and its absolute surface charge value is of at least 10 mV (|10 mV|). The carrier is in addition devoid of any surface sterically stabilizing agent. The invention also relates to such a composition for use for administering the pharmaceutical compound(s) in a subject in need thereof, wherein the at least one biocompatible nanoparticle and the at least one carrier comprising the at least one pharmaceutical compound are to be administered separately in a subject in need of said pharmaceutical compound, typically between more than 5 minutes and about 72 hours one from each other.

指定代表圖：



★ 所關注化合物

 普通載劑

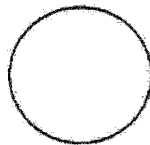
 中空載劑

圖 1

## 發明摘要

※ 申請案號：104139006

※ 申請日：104 11 24

※IPC 分類：A61K  $\frac{47}{62}$   $\frac{47}{44}$  (2006.01)

A61K  $\frac{45}{66}$  (2006.01)

B82Y  $\frac{5}{60}$  (2011.01)

## 【發明名稱】

醫藥組合物、其製備與用途

PHARMACEUTICAL COMPOSITION, PREPARATION AND USES  
THEREOF

## ● 【中文】

本發明係關於包括(i)至少一種生物相容奈米粒子及(ii)至少一種包括至少一種醫藥化合物之載劑之組合之醫藥組合物，其欲投與需要此一醫藥化合物之個體，其中該至少一種生物相容奈米粒子與該至少一種包括該(等)醫藥化合物之載劑之該組合加強該(等)所關注化合物之效率。該生物相容奈米粒子之最長尺寸通常介於約4 nm與約500 nm之間，且其絕對表面電荷值係至少10 mV ( $|10 \text{ mV}|$ )。另外，該載劑缺乏任何表面空間穩定劑。本發明亦係關於用於在有需要之個體中投與該(等)醫藥化合物之此一組合物，其中該至少一種生物相容奈米粒子及該至少一種包括該至少一種醫藥化合物之載劑欲在需要該醫藥化合物之個體中分開投與，彼此通常間隔介於超過5分鐘與約72小時之間。

**【英文】**

The present invention relates to a pharmaceutical composition comprising the combination of (i) at least one biocompatible nanoparticle and of (ii) at least one carrier comprising at least one pharmaceutical compound, to be administered to a subject in need of such a pharmaceutical compound, wherein the combination of the at least one biocompatible nanoparticle and of the at least one carrier comprising the pharmaceutical compound(s) potentiates the compound(s) of interest efficiency. The longest dimension of the biocompatible nanoparticle is typically between about 4 and about 500 nm and its absolute surface charge value is of at least 10 mV ( $|10 \text{ mV}|$ ). The carrier is in addition devoid of any surface sterically stabilizing agent. The invention also relates to such a composition for use for administering the pharmaceutical compound(s) in a subject in need thereof, wherein the at least one biocompatible nanoparticle and the at least one carrier comprising the at least one pharmaceutical compound are to be administered separately in a subject in need of said pharmaceutical compound, typically between more than 5 minutes and about 72 hours one from each other.

**【代表圖】**

**【本案指定代表圖】**：第（1）圖。

**【本代表圖之符號簡單說明】**：

無

**【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】**：

無

# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

## 【發明名稱】

醫藥組合物、其製備與用途

PHARMACEUTICAL COMPOSITION, PREPARATION AND USES  
THEREOF

## 【技術領域】

本發明係關於包括(i)至少一種生物相容奈米粒子及(ii)至少一種包括至少一種所關注化合物(通常至少一種醫藥化合物)之載劑之組合的醫藥組合物，其係投與需要該至少一種所關注化合物之個體，其中至少一種生物相容奈米粒子與至少一種包括至少一種所關注化合物之載劑之組合可加強該所關注化合物之效率。生物相容奈米粒子之最長尺寸通常介於約4 nm與約500 nm之間，且其絕對表面電荷值係至少10 mV (|10 mV|)。該載劑缺乏任何表面空間穩定劑。

本發明亦係關於用於為有此需要之個體投與所關注化合物之此等組合物，其中一方面之至少一種奈米粒子及另一方面之至少一種包括所關注化合物之載劑較佳係依序投與該個體，通常彼此間隔介於超過5分鐘與約72小時之間。

當與通常沒有任一生物相容奈米粒子及/或載劑存在下，以標準醫藥劑量投與之該(等)化合物誘導之醫藥效益及毒性相比時，將至少一種生物相容奈米粒子及至少一種包括所關注化合物之載劑組合(且通常依序)投與個體在該(等)所關注化合物在該個體中之減小毒性下維持其醫藥(即治療性、預防性或診斷性)效益，或在等效或減小毒性下增加其醫藥效益。

本發明醫藥組合物通常容許在對個體之等效毒性(較佳減小毒性)

下維持相同醫藥效益的同時，或在對個體之等效或減小毒性下增加醫藥效益的同時，所投與化合物之醫藥劑量與通常沒有任何生物相容奈米粒子及或載劑存在下該(等)化合物之標準醫藥劑量相比減少至少10%。

### 【先前技術】

在過去數十年間，使用奈米技術將治療劑及診斷劑以更安全且更有效之方式遞送至患者已使該領域愈發受到關注。已出現意欲藉由控制藥物之生物分佈概況來使其治療功效最大化之藥物遞送系統(通常係載劑，例如脂質體、乳液或微膠粒)。彼等系統提供囊封微溶性藥物以防止藥物被破壞或消除及/或改變藥物之血液循環及分佈之可能性。

所觀察到第一代藥物遞送系統(DDS)之快速血液清除(由於其被單核吞噬系統(MPS)捕獲)已促進研發展現藉由空間穩定劑改質之表面的第二代DDS，該等空間穩定劑經選擇以在連接至DDS表面時帶給該DDS「隱形」性質。該等試劑通常係撓性及/或親水聚合物，例如聚乙二醇(PEG)聚合物，且通常可帶來係微弱負或正電荷之表面電荷。空間穩定防止DDS表面非特異性結合至血液組份且減少活體內單核吞噬系統(MPS)細胞對其之快速吸收及清除，從而延長DDS血液循環時間 [Jain K.R. 及 Stylianopoulos T. Delivering nanomedicine to solid tumors. Nature Reviews. Clinical Oncology 2010, 7, 653-664]。脂質體長期循環奈米顆粒醫藥藥物遞送系統(NDDS)係最常研究之NDDS類型；然而，合成兩親性聚合物已用於空間穩定其他NDDS類型以改變其生物分佈 [Torchilin V.P. Multifunctional, stimuli-sensitive nanoparticulate systems for drug delivery. Nature Reviews. Drug Discovery 2014, 13, 813-827]。

儘管認為此增加之血液循環時間(即增強之血液運輸)對於將治療

化合物遞送至其靶位點有益，但發現撓性及/或親水聚合物塗層(通常PEG塗層)會損害醫藥化合物之細胞內遞送(即在化合物之靶位點將其釋放)，此最終導致遞送系統之活性損失。一種克服此限制之方式係使用可裂解PEG系統。然而，該等載劑之設計的複雜性增加可在載劑表面性質之複現性中造成困難，從而產生不可接受之批次間變異性。此外，彼等「隱形」DDS之暴露之延長與更多不良事件相關。例如，發現包括多柔比星(doxorubicin)之聚乙二醇化脂質體調配物DOXIL會產生嚴重不良事件，例如手足症候群或黏膜炎。人們質疑脂質體之親水塗層可能促進其在手掌及足底之外分泌汗腺中累積[Pegylated liposomal doxorubicin-related palmar-plantar erythrodysesthesia ('hand-foot' syndrome). D. Lorusso等人 *Annals of Oncology*. 2007 ; 18, 1159-1164]。

WO2005/063305係關於包括充氣微泡(通常具有至少0.5  $\mu\text{m}$ 之大小)及與該微泡相結合之組份(具有約低於100 nm之大小)之組裝。所得組裝欲用作診斷性及/或治療性活性調配物中之醫藥活性組份。該兩種組份，即充氣微泡及微泡結合組份通常同時投與以供增強超音波對比成像視場中之成像，包含靶向超音波成像、超音波介導之藥物遞送及其他成像技術。

如自先前技術顯而易見且儘管長期醫學需要，將醫藥化合物(包含治療、預防以及診斷化合物)安全且有效地遞送至其靶位點仍係問題。業內明確需要改良化合物之功效及安全性，或換言之改良醫藥化合物之運輸及釋放，以使該化合物以獲得期望診斷、治療或預防效應所需之足量到達其在個體中之靶位點。

### 【圖式簡單說明】

圖1：缺乏任一空間穩定劑且包括至少一種所關注化合物之載劑之示意圖。載劑可為普通載劑(a、b)或中空載劑(c、d)。所關注化合



物通常捕集或浸漬於載劑中(a、c)或在連接體之幫助下或在沒有任何連接體存在下接枝(結合)至載劑(b、d)。

**圖2：a)**包括至少一種所關注化合物之載劑之示意圖。載劑表面經空間穩定劑改質。

**b)**包括(i)至少一種生物相容奈米粒子及(ii)至少一種包括至少一種所關注化合物之載劑之組合之本發明醫藥組合物之示意圖，該載劑缺乏任何空間穩定劑。

**圖3：**L-麩胺酸N-(3-羧基-1-側氧基丙基)-1,5-雙十六烷基酯(SA-脂質)之化學式。

### 【實施方式】

本發明現容許使所關注化合物(本文中亦簡稱為「化合物」)之效率最佳化，無論其既定用於治療、預防或診斷情況中。本文所述組合物係(i)至少一種生物相容奈米粒子及(ii)至少一種包括至少一種所關注化合物之載劑之組合，其最佳化至少一種所關注化合物之藥物動力學參數，且因此現在使得可能研發原本由於(例如)其不可接受之毒性而不可研發之醫藥化合物。通常，不使用生物相容奈米粒子作為(例如)醫藥化合物，即作為治療、預防或診斷化合物。

本發明之典型組合物(本文中一般稱為「醫藥組合物」)係包括(i)至少一種生物相容奈米粒子及(ii)至少一種包括至少一種化合物(「所關注化合物」)之載劑之組合之組合物，其中生物相容奈米粒子之最長或最大尺寸通常介於約4 nm與約500 nm之間，且生物相容奈米粒子之絕對表面電荷值為至少10 mV，且其中載劑缺乏任何表面空間穩定劑，即缺乏撓性及/或親水聚合物，較佳缺乏將微弱負或正電荷帶到載劑表面上之親水聚合物，例如PEG。

當與一值(例如奈米粒子之大小或時間間隔)相關時，術語「約」及「左右」指示，所指示值之熟習此項技術者會識別為小變化之變化

實質上不影響與其相關之標的物之性質且該標的物仍在本發明之精神中。

本發明之較佳目標係包括(i)至少一種生物相容奈米粒子及(ii)至少一種包括至少一種所關注化合物(通常至少一種醫藥化合物)之載劑之組合之醫藥組合物，其中生物相容奈米粒子之最長或最大尺寸介於約4 nm與約500 nm之間，且生物相容奈米粒子之絕對表面電荷值為至少10 mV ( $|10 \text{ mV}|$ )，且其中載劑缺乏任何表面空間穩定劑，該醫藥組合物用於在有需要之個體中投與至少一種所關注化合物，其中一方面之至少一種生物相容奈米粒子及另一方面之至少一種包括至少一種所關注化合物之載劑較佳在需要該至少一種所關注化合物之個體中分開投與，通常彼此間隔介於超過5分鐘與約72小時之間，且其中生物相容奈米粒子不用作例如醫藥化合物。

當與通常沒有任一生物相容奈米粒子及/或載劑存在下之標準醫藥劑量之該(等)化合物誘導之醫藥效益及毒性相比時，藉助本發明組合物將至少一種生物相容奈米粒子及至少一種包括所關注化合物之載劑組合(且通常依序)投與個體通常在化合物對個體之減小毒性下容許(維持)其相同醫藥(即治療性、預防性或診斷性)效益，或在化合物對個體之等效或減小毒性(較佳減小毒性)下增加其醫藥效益。

本發明醫藥組合物通常容許(i)在對個體之等效毒性、較佳減小毒性下維持相同醫藥效益的同時，或(ii)在對個體之等效或減小毒性下增加醫藥效益的同時，所投與醫藥(即治療、預防或診斷)化合物之劑量與通常沒有任一生物相容奈米粒子及/或載劑存在下之該(等)化合物之標準醫藥劑量相比減少至少10%、較佳至少15%。

### 生物相容奈米粒子

由於粒子形狀可影響其「生物相容性」，因此具有完全均一形狀之粒子在本文中較佳。出於藥物動力學原因，因此基本上球形/圓形

或卵形形狀之奈米粒子較佳。此形狀亦有利於奈米粒子與細胞之相互作用或細胞對奈米粒子之吸收。球形/圓形形狀尤佳。

在本發明精神中，術語「奈米粒子」係指產物，尤其合成產物，其大小在奈米範圍內，通常介於約1 nm與約500 nm之間、較佳介於約4 nm與約500 nm之間、介於約4 nm與約400 nm之間、約30 nm與約300 nm之間、約20 nm與約300 nm之間、約10 nm與約300 nm之間，例如介於約4 nm與約100 nm之間，例如介於約10 nm、15 nm或20 nm與約100 nm之間，或介於約100 nm與約500 nm之間，通常介於約100 nm與約300 nm之間。

術語「奈米粒子之大小」、「奈米粒子之最大大小」及「奈米粒子之最長大小」在本文中通常係指當形狀為球形/圓形或卵形時「奈米粒子之最長或最大尺寸」或「奈米粒子之直徑」。可使用透射電子顯微鏡(TEM)或低溫-TEM來量測奈米粒子之大小。亦可使用動態光散射(DLS)來量測溶液中奈米粒子之水動力學直徑。此兩種方法可另外相繼使用以比較藉由DLS量測之奈米粒子之水動力學直徑與藉由TEM或低溫-TEM量測之該奈米粒子之大小，以確認該大小。較佳方法係DLS (參考國際標準ISO22412粒子大小分析-動態光散射，國際標準化組織(ISO) 2008)。

為了可用於本發明情況中，生物相容奈米粒子之絕對靜電表面電荷(本文中亦稱為「電荷」或「表面電荷」)欲高於 $|10 \text{ mV}|$  (絕對值)。奈米粒子之表面電荷通常係藉由 $\zeta$ 電勢量測在介於0.2 g/L與10 g/L之間之奈米粒子濃度下，在介於6與8之間之pH下，在水性介質中，且通常在水性介質中介於0.001 M與0.2 M之間(例如0.01 M或0.15 M)之電解質濃度下測定。

通常，本發明生物相容奈米粒子之靜電表面電荷為至少 $|10 \text{ mV}|$ ，即低於 $-10 \text{ mV}$ 或高於 $+10 \text{ mV}$ ，例如低於介於 $-12 \text{ mV}$ 或 $-15$

mV與- 20 mV之間或高於介於+ 12 mV或+ 15 mV與+ 20 mV之間，通常低於- 15 mV或高於+ 15 mV。較佳地，本發明生物相容奈米粒子之絕對電子錶面電荷值(「絕對表面電荷值」)大於10 mV，該電荷甚至更佳為負電荷。

奈米粒子之組合性質(大小及表面電荷)容許奈米粒子之短血液循環及外滲至肝臟器官中。因此，藉由依序投與本發明生物相容奈米粒子與包括所關注化合物之載劑，達成兩種化合物(即生物相容奈米粒子及包括所關注化合物之載劑)不共循環或共循環受限。因此，當與通常沒有任一生物相容奈米粒子及/或載劑存在下之標準醫藥劑量之該(等)化合物誘導之醫藥效益及毒性相比時，生物相容奈米粒子之組合性質(大小及表面電荷)允許在化合物對個體之減小毒性下容許(維持)其相同醫藥(即治療性、預防性或診斷性)效益的同時，或換言之在化合物對個體之等效或減小毒性(較佳減小毒性)下增加其醫藥效益的同時，安全使用所關注化合物。

只要奈米粒子帶電荷，可用於本發明情況中之奈米粒子可為有機或無機奈米粒子。另外可使用有機及無機奈米粒子之混合物。

在為有機奈米粒子時，奈米粒子可為基於脂質之奈米粒子(甘油脂質、磷脂、固醇脂質等，例如固體脂質奈米粒子)、基於蛋白質之奈米粒子(在本文中亦稱為「蛋白質-奈米粒子」，例如白蛋白)、基於聚合物之奈米粒子(「聚合奈米粒子」)、基於共聚物之奈米粒子(「共聚奈米粒子」)、基於碳之奈米粒子、類病毒奈米粒子(例如病毒載體)。

有機奈米粒子可進一步係奈米球(普通奈米粒子)或奈米囊(中空奈米粒子)，例如脂質體、凝膠、水凝膠、微膠粒、樹枝狀聚合物等。亦可使用本文所述有機奈米粒子之混合物。

聚合物或共聚物可具有天然或合成來源。

可在本發明情況中用於製備有機奈米粒子之合成(人造)及天然聚合物或共聚物之實例可選自聚乳酸(PLA)、聚(丙交酯-共-羥乙)酸(PLGA)、聚乙二醇(PEG)、羥乙酸乳酸聚酯、聚乳酸、聚氧乙炔脂肪酸酯、聚丙二醇、聚山梨醇酯、聚乙烯醇、聚丙烯醯胺、聚甲基丙烯酸甲酯、聚氰基丙烯酸烷基酯、聚乳酸酯-共-羥乙酸酯、聚(醯胺-胺)、聚(伸乙基亞胺)、海藻酸鹽、纖維素及纖維素衍生物聚合物、膠原、玻尿酸、聚麩胺酸(PGA)、肌動蛋白、多糖及明膠。

在為無機離子時且在其最長尺寸通常低於約10 nm，例如低於約8 nm、低於約7 nm，通常包括於約7 nm與約4 nm之間，例如低於約6 nm、低於約5 nm或低於約4 nm時，奈米粒子可由任何無機材料製成。無機材料可例如包括門捷列夫週期表(Mendeleev's periodic table)第3、4、5、6週期之金屬元素，包含鑰系元素。在奈米粒子之最長尺寸通常低於約10 nm時，奈米粒子可以較大結構組裝。以較大結構組裝奈米粒子通常可藉由奈米粒子與生物相容聚合物、蛋白質等之間之相互作用來觸發。較大結構亦可藉由將奈米粒子捕集於載劑(通常普通載劑，例如明膠結構(本文中亦稱為「明膠奈米粒子」)，或中空載劑，例如脂質體)中來獲得。在活體內投與後，熟習此項技術者可進一步設計彼等較大結構以釋放奈米粒子。

在為無機離子時且在該奈米粒子之最長尺寸通常為至少10 nm、通常介於10 nm與500 nm之間時，奈米粒子可包括以下中之至少一者或存於以下之中：(i)一或多種選自例如Mg、Ca、Ba及Sr之二價金屬元素，(ii)一或多種選自例如Fe及Al之三價金屬元素，及(iii)一或多種包括Si之四價金屬元素。

在特定實施例中，奈米粒子之無機材料選自(i)一或多種選自例如Mg、Ca、Ba及Sr之二價金屬元素，(ii)一或多種選自例如Fe及Al之三價金屬元素及(iii)一或多種包括Si之四價金屬元素。

在另一特定實施例中，奈米粒子之無機材料選自碳酸鈣 ( $\text{CaCO}_3$ )、碳酸鎂 ( $\text{MgCO}_3$ )、氫氧化鎂 ( $\text{Mg(OH)}_2$ )、氫氧化鐵 ( $\text{Fe(OH)}_2$ )、氧(氫氧)化鐵 ( $\text{FeOOH}$ )、氧化鐵 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  或  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ )、氧化鋁 ( $\text{Al}_3\text{O}_4$ )、氫氧化鋁 ( $\text{Al(OH)}_3$ )、氧(氫氧)化鋁 ( $\text{AlOOH}$ ) 及氧化矽 ( $\text{SiO}_2$ )。

用於本文所述組合物中之奈米粒子係生物相容的，即與活組織相容。當其組合物需要時，奈米粒子因此經生物相容材料塗佈以變成可用的。在本發明之特定實施例中，本文所提及奈米粒子因此塗佈生物相容性塗層。

生物相容材料可係容許與生物靶相互作用之試劑。當奈米粒子之絕對電荷係至少 10 mV 時，此試劑通常將在奈米粒子之表面上產生正或負電荷。

在奈米粒子之表面上形成正電荷之試劑可(例如)選自胺基丙基三乙氧基矽烷或聚離胺酸。在奈米粒子表面上形成負電荷之試劑可(例如)選自磷酸鹽(例如聚磷酸鹽、偏磷酸鹽、焦磷酸鹽等)、羧酸鹽(例如檸檬酸鹽或二羧酸、尤其琥珀酸)或硫酸鹽。

在特定實施例中，只要奈米粒子之絕對電荷係至少 10 mV (|10 mV|)，奈米粒子即可經包括顯示空間基團之試劑(例如本文中亦稱為「表面空間穩定劑」之試劑)之生物相容材料塗佈。

此一顯示空間基團之試劑可選自(例如)聚乙二醇(PEG)；聚氧化乙烯；聚乙烯醇；聚丙烯酸酯；聚丙烯醯胺(聚(N-異丙基丙烯醯胺))；聚脲；生物聚合物；多糖(例如聚葡萄糖、木聚糖及纖維素)；膠原；兩性離子化合物(例如聚磺基甜菜鹼)等。

生物相容塗層可有利地係「全塗層」(完整單層)。此意味著存在極高密度之生物相容分子，其在奈米粒子之全部表面上產生適當電荷。

生物相容塗層可進一步包括標記劑，其通常為容許使用標準成像設備使顏色可視化之試劑。

當與通常沒有任一生物相容奈米粒子及/或載劑存在下之標準醫藥(通常治療)劑量之該(等)化合物誘導之醫藥效益及毒性相比時，通常在需要所關注化合物之個體中彼此間隔介於超過5分鐘與約72小時之間投與時，至少一種生物相容奈米粒子連同至少一種包括至少一種所關注化合物之載劑一起之組合投與在對個體之減小毒性下維持所關注化合物之醫藥(即治療性、預防性或診斷性，通常治療性)效益，或在對個體之等效或減小毒性下增加所關注化合物之醫藥效益。

在特定實施例中，至少一種生物相容奈米粒子與至少一種包括至少一種所關注化合物之載劑之組合投與容許在化合物對個體之等效毒性或減小毒性(較佳減小毒性)下維持相同治療效益的同時，或在化合物對個體之等效或減小毒性下增加治療效益的同時，通常在需要至少一種所關注化合物之個體中彼此間隔介於超過5分鐘與約72小時之間投與時，所投與化合物之治療劑量與通常沒有任一生物相容奈米粒子及/或載劑存在下之該(等)化合物之標準治療劑量相比減少至少10%、較佳至少15%。

在特定實施例中，至少一種奈米粒子係與若干種載劑、通常至少兩種載劑一起投與，每一該載劑包括至少一種所關注化合物。存於第一載劑中之所關注化合物可與彼等存於第二或另一相異載劑中者相同或不同。

奈米粒子通常較佳在其投與需要所關注化合物之個體後1小時及6周(例如1個月(4周))內、在1小時及1個月內(例如介於1小時與3周之間，或介於1小時與2周之間，或介於1小時與1周之間)自其所投與之個體清除。

構成奈米粒子之材料(包含其生物相容塗層(當存在時))對確定奈

米粒子之生物持久性(即在個體體內之持久性)係重要的。可將奈米粒子視為生物可降解(在例如由生物可降解聚合物、例如PLGA或PLA構成時)及/或可溶解(例如氧化鐵)或生物不可降解且不可溶的。生物可降解且可溶解的奈米粒子較生物不可降解及/或不可溶奈米粒子更快地自個體清除。

### 所關注化合物

根據本教示，可使用不同分子或試劑作為至少一種所關注化合物，通常作為至少一種所關注醫藥化合物。此化合物可係如先前解釋之治療、預防或診斷化合物。其可係有機化合物或無機化合物。

可用作「所關注化合物」之化合物的實例通常選自小分子、細胞毒性化合物及過渡金屬配位錯合物。

在本發明情況中，小分子係大小為約 $10^{-9}$  m之低分子量(<900道耳頓)有機化合物。大多數藥物為小分子。

在特定實施例中，用於本發明情況中之所關注化合物係靶向小分子。靶向小分子通常抑制惡性細胞內之突變、過表現或其他關鍵蛋白質(癌症治療情況中之潛在靶)上之酶結構域。靶向小分子包含彼等靶向細胞分裂(例如極光激酶抑制劑或週期蛋白依賴性激酶抑制劑)以及其他生物機制(例如蛋白質轉換及染色質修飾(例如組織蛋白去乙醯酶抑制劑))者。靶向小分子之實例係伊馬替尼(imatinib)、雷帕黴素(rapamycin)、吉非替尼(gefitinib)、厄洛替尼(erlotinib)、索拉非尼(sorafenib)、舒尼替尼(sunitinib)、尼羅替尼(nilotinib)、達沙替尼(dasatinib)、拉帕替尼(lapatinib)、硼替佐米(bortezomib)、阿托伐他汀(atorvastatin)等。

在另一特定實施例中，用於本發明情況中之所關注化合物係細胞毒性化合物，例如化學治療劑。細胞毒性化合物可選自(例如) DNA修飾劑，例如蔥環(例如多柔比星(doxorubicine)、道諾黴素



(daunorubicine)等)；烷化劑(例如美法侖(melphalan)或替莫唑胺(temozolomide))；以及極精確地干擾確定生理機制(例如微管聚合)(例如紫杉醇)或代謝產物合成(例如胺甲喋呤(methotrexate))之藥物。在特定實施例中，細胞毒性化合物係可活化細胞毒性化合物。光卟啉(photofrin)係此一可活化細胞毒性化合物之實例，通常用於光動力療法中。光卟啉係藉由雷射源活化以產生其治療效應。

在另一特定實施例中，用於本發明情況中之所關注化合物係過渡金屬配位錯合物。過渡金屬配位錯合物提供優於更常見有機藥物之潛在優勢，包含寬範圍之配位數及幾何學、可採用之氧化還原態、配體取代之熱力學及動力學之「可調性」以及寬廣之結構多樣性。基於金屬之物質與細胞分子靶相互作用，影響生物化學功能，使得破壞惡性細胞。過渡金屬配位錯合物通常係作用於DNA結構之細胞毒性劑(例如，鉑配位錯合物：順鉑、卡鉑、奧沙利鉑(oxaloplatin)，或鈺或金配位錯合物)。

## 載劑

根據熟習此項技術者已知之方法將至少一種所關注化合物囊封或浸漬於載劑中，或接枝(結合)至此一載劑。包括至少一種所關注化合物之載劑之示意圖呈現於圖1中。

載劑可為有機載劑。有機載劑通常選自脂質載劑(例如甘油脂質、磷脂、固醇等)；聚合載劑；共聚載劑；含碳載劑；及類病毒載劑(例如病毒載體)。

構成載劑之聚合物或共聚物可具有天然或合成來源。

可在本發明情況中用於製備載劑之合成(人造)及天然聚合物或共聚物之實例可選自聚乳酸(PLA)、聚(丙交酯-共-羥乙酸)(PLGA)、聚(麩胺酸)(PGA)、聚(己內酯)(PCL)、聚(胺基酸)、羥乙酸乳酸聚酯(polyglactin)、聚乳酸(Polylactide)、聚氧乙烯脂肪酸酯、聚山梨醇

酯、聚乙烯醇、聚丙烯醯胺、聚甲基丙烯酸甲酯、聚氰基丙烯酸烷基酯、聚乳酸酯-共-羥乙酸酯、聚(醯胺-胺)、聚(伸乙基亞胺)、海藻酸鹽、纖維素及纖維素衍生物聚合物、膠原、玻尿酸、肌動蛋白、多糖及明膠。

載劑可為無機載劑。無機載劑通常係奈米粒子。奈米粒子通常選自金屬奈米粒子、金屬氧化物奈米粒子及其混合物。

載劑可為普通載劑，例如奈米球(普通奈米粒子)；或中空載劑，例如奈米膠囊(中空奈米粒子)。

較佳載劑例如選自脂質體、微膠粒、聚合(或「聚合物」)載劑、水凝膠、樹枝狀聚合物、凝膠、共聚合載劑、蛋白質載劑及例如本文所定義之無機載劑。

本發明載劑之表面通常且較佳缺乏(或換言之缺少或不暴露)任何表面空間穩定劑，即任何親水及/或撓性聚合物。例如，本發明載劑缺乏或不暴露選自以下之聚合物：聚葡萄糖、聚唾液酸(PSA)、玻尿酸、幾丁聚糖、肝素、聚乙烯吡咯啶酮(PVP)、聚乙烯醇(PVA)、聚丙烯醯胺、聚(乙二醇)(PEG)及基於PEG之共聚物，例如泊洛沙姆(poloxamer)、泊洛沙胺(poloxamine)或聚山梨醇酯。較佳地，本發明載劑缺乏將微弱負或正表面電荷帶給載劑表面之任何親水聚合物，例如聚(乙二醇)(PEG)或基於PEG之共聚物、聚乙烯醇(PVA)或聚乙烯吡咯啶酮(PVP)。

本發明醫藥組合物(參照圖2b)可有利地取代包括或暴露表面空間穩定劑之現有載劑(或藥物遞送系統)(圖2a)，該表面空間穩定劑通常係例如親水撓性聚合物，更具體而言將微弱負或正表面電荷帶給載劑表面(例如聚乙二醇聚合物)之親水聚合物，熟習此項技術者將此一負或正表面電荷視為中性。

當與通常沒有任一奈米粒子及/或載劑存在下以標準醫藥劑量投

與之該化合物誘導之醫藥效益及毒性相比時，本發明醫藥組合物在所關注化合物在該個體中之減小毒性下維持其醫藥(即治療性、預防性或診斷性)效益，或在等效或減小毒性下增加其醫藥效益。

本發明醫藥組合物通常容許在對個體之等效毒性(較佳減小毒性)下維持相同醫藥效益的同時，或在對個體之等效或減小毒性下增加醫藥效益的同時，所投與化合物之醫藥劑量與該化合物之標準醫藥劑量相比減少至少10%。

載劑容許較佳以受控方式釋放所關注化合物。載劑通常可經改造以按預定或可調諧速率或因應外部刺激釋放所關注化合物。

在特定實施例中，載劑通常容許藉由時間控制釋放、藉由所關注化合物自載劑擴散、藉由腐蝕及/或藉由載劑降解來釋放所關注化合物。

在另一特定實施例中，載劑容許由於細胞內或細胞外活化(即因應細胞內或細胞外刺激，例如pH變化或酶之作用)而釋放所關注化合物。

在另一特定實施例中，載劑容許因應外部刺激釋放所關注化合物。外部刺激之實例係電磁輻射(例如電離輻射，例如X-射線、 $\gamma$ -射線或非電離輻射，例如UV、可見光或紅外光)、超音波及磁場。醫藥化合物係例如在載劑暴露於選自電磁輻射、超音波及磁場之外部刺激時自該載劑釋放。

缺乏任何表面空間穩定劑之載劑可為例如膜相變溫度包括在37°C與45°C之間之脂質體，包括二棕櫚醯磷脂醯膽鹼(DPPC) 62% mol、氫化大豆磷酯醯膽鹼(HSPC) 22% mol及膽固醇(Chol) 16% mol或二棕櫚醯磷脂醯膽鹼(DPPC) 90% mol及單棕櫚醯磷酯醯膽鹼(MPPC) 10% mol。

缺乏任何表面空間穩定劑之載劑亦可係例如包括對剪切應力敏

感之合成磷脂(例如1,3-二醯胺基磷脂)之脂質體。

缺乏任何表面空間穩定劑之載劑亦可係例如包括在pH或溫度刺激後改變其構象( $\alpha$ -螺旋至 $\beta$ -褶板)之肽之脂質體。

缺乏任何表面空間穩定劑之載劑亦可係例如兩性脂質體，其包括莫耳比為3:1之1-棕櫚醯基-2油醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(POPC)及1,2-二油醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)以及等量之弱陽離子及弱陰離子兩親化合物 $\alpha$ -(3'-O-膽固醇基氧基羰基)- $\delta$ -(N-乙基嗎啉)-琥珀醯胺(MoChol)及膽固醇基半琥珀酸酯(CHEMS) (二者皆衍生自膽固醇)。

本發明醫藥組合物(藉由至少一種生物相容奈米粒子與至少一種包括至少一種所關注化合物之載劑之組合來定義)可用於多個領域中，尤其人類或獸醫醫學中。此組合物通常用於動物、較佳哺乳動物、甚至更令人類中，無論其年齡或性別如何。

本發明醫藥組合物可用於預防或治療選自以下之疾病或病症：心血管疾病、中樞神經系統(CNS)疾病、胃腸疾病、遺傳病症、血液病症、激素病症、免疫病症、傳染性疾病、代謝病症、肌骨骼病症、癌症、呼吸疾病及中毒等。在較佳實施例中，醫藥組合物用於預防或治療選自以下之疾病或病症：心血管疾病、CNS疾病、癌症、傳染性疾病及代謝病症。

在本發明之情況中，至少一種奈米粒子及至少一種包括所關注化合物之載劑有利地欲在需要該(等)所關注化合物之個體中投與，彼此間隔介於超過5分鐘與約72小時之間，通常介於超過5分鐘與約24小時之間，較佳介於超過5分鐘或30分鐘與約12小時之間，以最佳化合物之醫藥功效。

在本發明中，當有利地在需要該化合物之個體中彼此間隔介於超過5分鐘與約72小時之間投與至少一種奈米粒子及至少一種包括所

關注化合物之載劑時，至少一種生物相容奈米粒子之絕對表面電荷值係至少10 mV ( $|10 \text{ mV}|$ )。

在本發明之特定實施例中，當有利地在需要該化合物之個體中彼此間隔介於超過5分鐘與約24小時之間投與至少一種奈米粒子及至少一種包括所關注化合物之載劑時，至少一種生物相容奈米粒子之絕對表面電荷值有利地係至少15 mV ( $|15 \text{ mV}|$ )。

在本發明之另一特定實施例中，當有利地在需要該化合物之個體中彼此間隔介於超過5分鐘與約12小時之間投與至少一種奈米粒子及至少一種包括所關注化合物之載劑時，至少一種生物相容奈米粒子之絕對表面電荷值有利地係至少20 mV ( $|20 \text{ mV}|$ )。

本文亦闡述預防或治療懷疑易患疾病或患有疾病(例如本文所提及之彼等)之個體之方法，其中該方法包括將本發明醫藥組合物(通常如本文所述之至少一種生物相容奈米粒子及至少一種包括至少一種所關注化合物之載劑)投與該個體。可首先將至少一種奈米粒子或至少一種包括所關注化合物之載劑中之任一者投與個體，只要至少一種生物相容奈米粒子及至少一種包括化合物之載劑係通常以介於超過5分鐘與約72小時之間之間隔分開投與即可。投與該至少一種奈米粒子或至少一種包括所關注化合物之載劑可係每一者之單一投與，每一者之重複投與，例如每一者之若干次連續投與。生物相容奈米粒子可投與一次且至少一種包括所關注化合物之載劑可投與一次以上，且反之亦然。

在特定實施例中，至少在包括至少一種包括所關注化合物之載劑之若干次投與之方案開始時，即至少在第一次投與該至少一種載劑時及在其投與之前或之後投與至少一種生物相容奈米粒子。

在另一特定實施例中，在包括至少一種包括所關注化合物之載劑之若干次投與之方案開始時不投與生物相容奈米粒子，且在該至少

一種載劑之第二次或第三次投與之前及在其投與之前或之後不投與生物相容奈米粒子。

在此等最後兩個實施例之情況中，至少一種生物相容奈米粒子亦可在至少一種包括所關注化合物之載劑之部分或全部後續投與期間與該至少一種載劑一起(如先前所解釋在之前或之後)投與。

本發明醫藥組合物之生物相容奈米粒子可藉由任一途徑投與，例如靜脈內(IV)、動脈內、腹膜內途徑、真皮內途徑、氣道(吸入)、肌內途徑及/或經口途徑(口服)。較佳投與途徑係靜脈內途徑。

本發明醫藥組合物之包括所關注化合物之載劑可藉由選自以下之任一途徑投與：皮下途徑、靜脈內(IV)途徑、真皮內途徑、動脈內途徑、氣道(吸入)、腹膜內途徑、肌內途徑、經口途徑(口服)及彼等先前所提及者之間之若干種不同途徑。適當途徑將由開業醫師端視欲檢測預防或治療之疾病或病症來選擇。

以下實例說明本發明，而不限制其範圍。

## 實例

### 實例1：作為生物相容奈米粒子之脂質體之合成n°1

使用脂質膜再水化方法製備脂質體：

a)將脂質溶解於氯仿中。最後在氮氣流下使氯仿蒸發。在pH 7.4下用20 mM HEPES及140 mM NaCl再水化脂質膜係在50°C下實施，以使得脂質濃度係5 mM。

使用以下脂質組成來製備帶電荷脂質體：DPPC (二棕櫚醯磷脂醯膽鹼)：86% mol；MPPC (單棕櫚醯磷脂醯膽鹼)：10% mol；DSPE-PEG (二硬脂醯磷脂醯乙醇胺-[甲氧基(聚乙二醇)-2000])：4% mol。

b)然後藉由將樣本接連投入液氮及調控在50°C下之水浴中實施6次冷凍-解凍循環。

c)使用熱桶擠壓機(LIPEX™擠壓機，Northern Lipids)在控制溫度

及壓力下校準脂質體之大小。在所有情形中，在50°C及10巴壓力下實施擠壓。

使用 Zetasizer NanoZS (Malvern instrument) 及 90° 角之 633 nm HeNe雷射藉由動態光散射(DLS)來測定所製備原樣之脂質體之大小分佈。在pH 7.4下在20 mM HEPES及140 mM NaCl中將脂質體懸浮液稀釋100倍。脂質體大小(即水動力學直徑)等於約170 nm (按強度分佈)，分子量分佈指數(PDI)等於約0.1。

如熟習此項技術者可理解，由於所選擇脂質組成而獲得期望表面電荷，且其值係使用 Zetasizer NanoZS (Malvern instrument) 藉由 $\zeta$ 電勢量測來確認。

將脂質體在水中稀釋100倍且將所得懸浮液之pH調整至pH 7.4。在pH 7.4下脂質體表面電荷等於約-14 mV。

## 實例2：作為生物相容奈米粒子之脂質體之合成<sup>n°2</sup>

使用脂質膜再水化方法製備脂質體。

a)將脂質溶解於氯仿中。最後在氮氣流下使氯仿蒸發。在pH 7.4下用20 mM HEPES及140 mM NaCl再水化脂質膜係在65°C下實施，以使得脂質濃度係25 mM。

使用以下脂質組成來製備脂質體：DSPC (二硬脂醯基磷酯醯膽鹼): DSPG (二硬脂醯基磷酯醯甘油): CHOL (膽固醇)，莫耳比為7:2:1。

b)然後藉由將樣本接連投入液氮及調控在65°C下之水浴中實施6次冷凍-解凍循環。

c)使用熱桶擠壓機(LIPEX<sup>TM</sup>擠壓機，Northern Lipids)在控制溫度及壓力下校準脂質體之大小。首先，在5巴下通過聚醚砜(PES) 0.45 $\mu$ m孔徑膜5次，然後在10巴下通過PES 0.22 $\mu$ m孔徑膜10次，且最後在15巴下通過聚二氟亞乙烯(PVDF) 0.1 $\mu$ m孔徑膜10次。

使用 Zetasizer NanoZS (Malvern instrument) 及 90° 角之 633 nm HeNe 雷射藉由動態光散射(DLS)來測定所製備原樣之脂質體之大小分佈。脂質體懸浮液在 pH 7.4 下在 20 mM HEPES 及 140 mM NaCl 中稀釋 100 倍。脂質體大小(即水動力學直徑)等於約 145 nm (按強度分佈)，分子量分佈指數(PDI)等於約 0.1。

由於所選脂質組成而獲得通常低於 -10 mV 之期望表面電荷，且使用 Zetasizer NanoZS (Malvern instrument) 藉由  $\zeta$  電勢量測來確認其數值。

**實例 3：**與相同劑量之單獨的所關注化合物相比，可在向個體投與包含在本發明醫藥組合物中之所關注化合物後改良功效及/或減小毒性之方法

按以下方式在帶有 MDA-MB-231-lucD3H2LN 異種移植腫瘤之裸小鼠中投與如技術方案 1 之包括 (i) 至少一種生物相容奈米粒子及 (ii) 至少一種包括多柔比星之載劑之組合之醫藥組合物：

a)- 向第一組裸小鼠投與(藉由靜脈內注射) Dox-NP® (多柔比星之聚乙二醇化脂質體調配物)；

- 向第二組裸小鼠投與(藉由靜脈內注射)多柔比星；

- 向第三組裸小鼠投與(藉由靜脈內注射)生物相容奈米粒子；

- 向第四組裸小鼠投與(藉由靜脈內注射)生物相容奈米粒子，且在向第四組裸小鼠投與生物相容奈米粒子後介於超過 5 分鐘與 72 小時之間向該第四組裸小鼠投與(藉由靜脈內注射)包括多柔比星之載劑，其中該載劑缺乏任何空間穩定劑；

b) 在投與 Dox-NP® (第一組)、多柔比星(第二組)、生物相容奈米粒子(第三組)及醫藥組合物(第四組)後評價裸小鼠中之任何臨床毒性體徵；且

c) 在投與 Dox-NP® (第一組)、多柔比星(第二組)、生物相容奈米



粒子(第三組)及醫藥組合物(第四組)後量測腫瘤再生長延遲。

#### 實例4：作為生物相容奈米粒子之脂質體之合成<sup>n°3</sup>

使用脂質膜再水化方法製備脂質體。

a)將脂質溶解於氯仿中。最後在氮氣流下使氯仿蒸發以在派熱司玻璃管壁上形成脂質膜。在pH 7.4下用25 mM HEPES及150 mM NaCl再水化脂質膜係在60°C下實施，以使得脂質濃度係50 mM。

使用以下脂質組成來製備帶電荷脂質體：DPPC (二棕櫚醯磷脂醯膽鹼) 58% mol；HSPC (氫化大豆磷脂醯膽鹼) 21% mol；CHOL (膽固醇) 16% mol；POPS (1-棕櫚醯基-2-油醯基磷脂醯絲胺酸) 5% mol。

b)然後藉由將樣本接連投入液氮及調控在60°C下之水浴中實施6次冷凍-解凍循環。每3次冷凍-解凍循環及在即將擠壓之前在30 s期間對脂質體溶液實施超音處理。

c)使用熱桶擠壓機(LIPEX<sup>TM</sup>擠壓機，Northern Lipids)在控制溫度及壓力下來校準脂質體之大小。擠壓係在60°C下實施。在10巴壓力下穿過0.1 μm孔徑聚二氟亞乙烯(PVDF)膜施加10次通過。

使用Zetasizer NanoZS (Malvern instrument)及173°角之633 nm HeNe雷射藉由動態光散射(DLS)來測定所製備原樣之脂質體之大小分佈。在pH 7.4下在25 mM HEPES及150 mM NaCl中將脂質體溶液稀釋200倍。脂質體大小(即水動力學直徑)等於約170 nm (按強度分佈)，分子量分佈指數(PdI)等於約0.2。

如熟習此項技術者可理解，由於所選擇脂質組成而獲得期望表面電荷，且其值係使用Zetasizer NanoZS (Malvern instrument)藉由ζ電勢量測來確認。將脂質體在1mM氯化鈉溶液中稀釋200倍且將溶液之pH調整至pH 7。在pH 7及1mM NaCl下，脂質體表面電荷等於約- 40 mV。

脂質體溶液之最終脂質濃度係藉由比色檢定(巴列特方法)來量

測。該方法基於藉助酸消化磷脂之總磷測定。釋放之無機磷酸鹽與鉬酸銨反應，錯合物產生強藍色。脂質濃度等於約50 mM。

#### 實例5：作為生物相容奈米粒子之脂質體之合成<sup>n°4</sup>

使用脂質膜再水化方法製備脂質體。

a)將脂質溶解於氯仿中。最後在氮氣流下使氯仿蒸發以在派熱司玻璃管壁上形成脂質膜。在pH 7.4下用25 mM HEPES及150 mM NaCl再水化脂質膜係在60°C下實施，以使得脂質濃度係50 mM。

使用以下脂質組成來製備帶電荷脂質體：DPPC (二棕櫚醯磷脂醯膽鹼) 45.15% mol；CHOL (膽固醇) 45.15% mol；DSPE-PEG (二硬脂醯磷脂醯乙醇胺-[甲氧基(聚乙二醇)-2000]) 0.60% mol；L-麩胺酸N-(3-羧基-1-側氧基丙基)-1,5-雙十六烷基酯(SA-脂質) 9.10% mol。SA-脂質在脂質體表面上帶來COOH基團。

b)然後藉由將樣本接連投入液氮及調控在60°C下之水浴中實施6次冷凍-解凍循環。

c)使用熱桶擠壓機(LIPEX<sup>TM</sup>擠壓機，Northern Lipids)在控制溫度及壓力下來校準脂質體之大小。擠壓係在60°C下實施。在3巴壓力下穿過0.45 μm孔徑聚二氟亞乙烯(PVDF)膜施加7次通過，且在10巴壓力下穿過0.22 μm孔徑聚二氟亞乙烯(PVDF)膜施加10次通過。使用Zetasizer NanoZS (Malvern instrument)及173°角之633 nm HeNe雷射藉由動態光散射(DLS)來測定所製備原樣之脂質體之大小分佈。在pH 7.4下在25 mM HEPES及150 mM NaCl中將脂質體溶液稀釋200倍。脂質體大小(即水動力學直徑)等於約230 nm (按強度分佈)，分子量分佈指數(PdI)等於約0.2。

如熟習此項技術者可理解，由於所選擇脂質組成而獲得期望表面電荷，且其值係使用Zetasizer NanoZS (Malvern instrument)藉由ζ電勢量測來確認。將脂質體溶液在1 mM氯化鈉溶液中稀釋200倍且將溶

液之pH調整至pH 7。在pH 7及1mM NaCl下，脂質體表面電荷等於約-60 mV。

脂質體溶液之最終脂質濃度係藉由比色檢定(巴列特方法)來量測。該方法基於藉助酸消化磷脂之總磷測定。釋放之無機磷酸鹽與鉬酸鉍反應且錯合物產生強藍色。脂質濃度等於約50 mM。

#### 實例6：作為生物相容奈米粒子之脂質體之合成n°5

使用脂質膜再水化方法製備脂質體。

a)將脂質溶解於氯仿中。最後在氮氣流下使氯仿蒸發以在派熱司玻璃管壁上形成脂質膜。在pH 7.4下用25 mM HEPES及150 mM NaCl再水化脂質膜係在60°C下實施且脂質濃度係50 mM。使用以下脂質組成來製備電荷脂質體：DSPC (1,2-二硬脂醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼) 60% mol、CHOL (膽固醇) 35% mol；及琥珀醯PE (1,2-二油醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-琥珀醯基) 5% mol。

b)然後藉由將樣本接連投入液氮及調控在60°C下之水浴中實施6次冷凍-解凍循環。每3次冷凍-解凍循環及在即將擠壓之前，在30 s期間對脂質體溶液實施超音處理。

c)使用熱桶擠壓機(LIPEX™擠壓機，Northern Lipids)在控制溫度及壓力下來校準脂質體之大小。擠壓係在60°C下實施。在12巴壓力下穿過0.22 μm孔徑聚二氟亞乙烯(PVDF)膜施加12次通過。

d)將對胺基苯基- $\alpha$ -D-吡喃甘露糖苷(MAN)偶聯至琥珀醯PE脂質體：使用碳二亞胺偶合用甘露糖衍生之配體對胺基苯基- $\alpha$ -D-吡喃甘露糖苷(MAN)修飾琥珀醯PE脂質體表面，以研發甘露糖偶聯脂質體。MAN藉由其胺基共價偶合至存在於預形成琥珀醯PE脂質體表面上之琥珀醯PE之羧酸基團。簡言之，向預形成之琥珀醯PE脂質體溶液中添加EDC (1-乙基-3-[3-二甲基胺基丙基]碳二亞胺鹽酸鹽) (琥珀醯PE/EDC莫耳比率為1:10)及N-羥基琥珀醯亞胺(NHS) (NHS/EDC莫耳比

率為1:2.5)。然後將懸浮液之pH用1M NaOH調整至6且在室溫下將所得懸浮液攪拌15分鐘。隨後，將溶液之pH用1M NaOH調整至7且將MAN水溶液添加至溶液中(琥珀醯PE/MAN莫耳比率為1:2)。使用1M NaOH將pH再調整至7且在室溫下將懸浮液再攪拌2小時。使用50 KDa纖維素膜藉由3個具有稀釋因子(x500；x500；x500)之透析步驟去除過量未結合MAN、EDC及NHS分子。

應注意，由於透析時可能之稀釋，可在具有聚乙烯砜(PES)膜及300 KDa截止值之Vivaspin濃縮器上使用膜超濾藉由離心(通常使用Sigma 3-15K離心機，5°C；1,200 rpm)來濃縮脂質體溶液。

使用Zetasizer NanoZS (Malvern instrument)及173°角之633 nm HeNe雷射藉由動態光散射(DLS)來測定所製備原樣之脂質體之大小分佈。在pH 7.4下在25 mM HEPES及150 mM NaCl中將脂質體溶液稀釋200倍。脂質體大小(即水動力學直徑)係約230 nm (按強度分佈)，分子量分佈指數(PDI)為約0.2。如熟習此項技術者可理解，由於所選擇脂質組成而獲得期望表面電荷，且其值係使用Zetasizer NanoZS (Malvern instrument)藉由 $\zeta$ 電勢量測來確認。在pH 7.4下在1 mM 氯化鈉溶液中將脂質體溶液稀釋200倍。在pH 7及1 mM NaCl下，脂質體表面電荷約為-70 mV。脂質體溶液之最終脂質濃度係藉由比色檢定(巴列特方法)來量測。該方法基於藉助酸消化磷脂之總磷測定。釋放之無機磷酸鹽與鉬酸銨反應且錯合物產生強藍色。脂質濃度等於約50 mM。

#### 【符號說明】

無

## 申請專利範圍

1. 一種包括(i)至少一種生物相容奈米粒子及(ii)至少一種包括至少一種醫藥化合物之載劑之組合之醫藥組合物，其中該生物相容奈米粒子之最長尺寸介於約4 nm與約500 nm之間，且該生物相容奈米粒子之絕對表面電荷值為至少 $|10 \text{ mV}|$ ，且其中該載劑缺乏任何表面空間穩定劑，該醫藥組合物用於需要該至少一種醫藥化合物之個體之治療、預防或診斷方法中，該治療、預防或診斷方法包括將該至少一種包括至少一種醫藥化合物之載劑投與該個體之步驟及投與該至少一種生物相容奈米粒子之不同步驟，該至少一種生物相容奈米粒子係在該至少一種包括至少一種醫藥化合物之載劑之前或之後介於超過5分鐘與約72小時之間投與該個體，且其中該生物相容奈米粒子不用作例如醫藥化合物。
2. 如請求項1之醫藥組合物，其中該奈米粒子之絕對表面電荷值大於 $|10 \text{ mV}|$ ，該電荷為負電荷。
3. 如請求項1或2之醫藥組合物，其中該奈米粒子係有機奈米粒子。
4. 如請求項3之醫藥組合物，其中該奈米粒子選自基於脂質之奈米粒子、基於蛋白質之奈米粒子、基於聚合物之奈米粒子、基於共聚物之奈米粒子、基於碳之奈米粒子及類病毒奈米粒子。
5. 如請求項1或2之醫藥組合物，其中該奈米粒子係無機奈米粒子且該奈米粒子之最長尺寸低於約7 nm。
6. 如請求項1或2之醫藥組合物，其中該奈米粒子係無機奈米粒子，該奈米粒子之最長尺寸為至少10 nm，且該奈米粒子之無機材料選自(i)一或多種選自例如Mg、Ca、Ba及Sr之二價金屬元

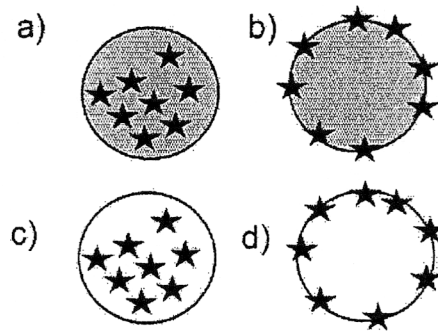
素，(ii)一或多種選自例如Fe及Al之三價金屬元素，及(iii)一或多種包括Si之四價金屬元素。

7. 如請求項6之醫藥組合物，其中該無機材料選自碳酸鈣( $\text{CaCO}_3$ )、碳酸鎂( $\text{MgCO}_3$ )、氫氧化鎂( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ )、氫氧化鐵( $\text{Fe}(\text{OH})_2$ )、氧(氫氧)化鐵( $\text{FeOOH}$ )、氧化鐵( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 或 $\text{Fe}_2\text{O}_3$ )、氧化鋁( $\text{Al}_3\text{O}_4$ )、氫氧化鋁( $\text{Al}(\text{OH})_3$ )、氧(氫氧)化鋁( $\text{AlOOH}$ )及氧化矽( $\text{SiO}_2$ )。
8. 如請求項1或2之醫藥組合物，其中該奈米粒子進一步塗佈生物相容性塗層。
9. 如請求項1之醫藥組合物，其中該載劑係普通載劑。
10. 如請求項1之醫藥組合物，其中該載劑係中空載劑。
11. 如請求項1或2之醫藥組合物，其中該載劑表面缺乏任何親水聚合物。
12. 如請求項1或2之醫藥組合物，其中該載劑表面缺乏任何聚乙二醇(PEG)聚合物。
13. 如請求項1或2之醫藥組合物，其中當與沒有任一生物相容奈米粒子及/或載劑存在下之標準治療劑量之該(等)醫藥化合物誘導之治療效益及毒性相比時，該至少一種生物相容奈米粒子及該至少一種包括該(等)醫藥化合物之載劑之該組合投藥在對該個體之減小毒性下，仍可維持該(等)醫藥化合物之治療效益，或在對該個體之等效或減小毒性下，可增加該(等)醫藥化合物之治療效益。
14. 如請求項1或2之醫藥組合物，其中該至少一種生物相容奈米粒子與該至少一種包括該(等)醫藥化合物之載劑之該組合投與容許在對該個體之等效毒性或減小毒性下維持相同醫藥效益的同時，或在對該個體之等效或減小毒性下增加醫藥效益的同時，所投與醫藥化合物之治療劑量比沒有任一生物相容奈米粒子及/

或載劑存在下之該(等)化合物之標準醫藥劑量減少至少10%。

15. 如請求項1或2之醫藥組合物，其中該奈米粒子在投與該需要如請求項1中所提及之該至少一種醫藥化合物之個體後1小時至6週內自該接受投與之個體中清除。
16. 如請求項1或2之醫藥組合物，其中該醫藥化合物選自小分子、尤其靶向小分子、細胞毒性化合物及過渡金屬配位錯合物。
17. 如請求項1或2之醫藥組合物，其中該醫藥化合物囊封於該載劑中，浸漬於該載劑中或結合至該載劑。
18. 如請求項1或2之醫藥組合物，其中該醫藥化合物係藉由時間控制擴散、載劑腐蝕及/或載劑降解而自該載劑釋放。
19. 如請求項1或2之醫藥組合物，其中該醫藥化合物係因應細胞內或細胞外刺激自該載劑釋放。
20. 如請求項1或2之醫藥組合物，其中該醫藥化合物係在該載劑暴露於電磁輻射、超音波及磁場時自該載劑釋放。

# 圖式



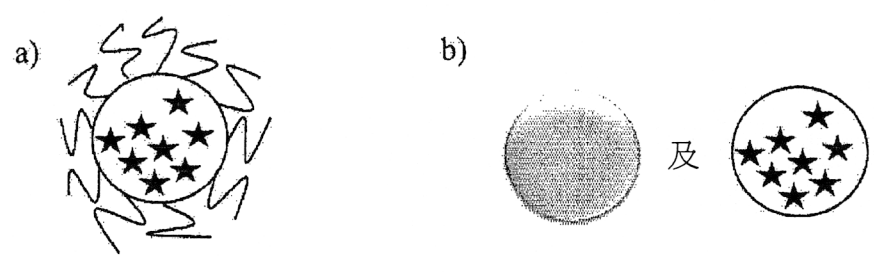
★ 所關注化合物

 普通載劑

 中空載劑

圖 1





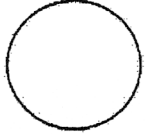

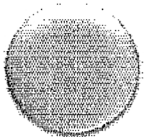
- ★ 所關注化合物
-  缺少空間穩定劑之載劑
-  空間穩定劑
-  最長尺寸介於約 4 nm 與約 500 nm 之間且絕對表面電荷值為至少|10 mV|之生物相容奈米粒子

圖 2

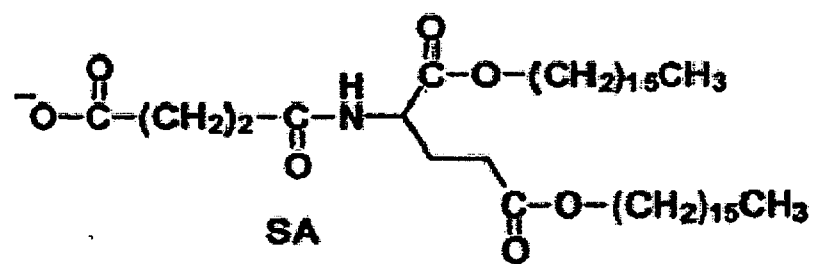


圖 3