

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl<sup>6</sup>

A61K 9/72

A61K 38/29 A61K 47/12



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 95196954.4

[43]公开日 1998年1月14日

[11] 公开号 CN 1170361A

[22]申请日 95.12.8

[30]优先权

[32]94.12.22 [33]SE [31]9404449-2

[32]95.7.12 [33]SE [31]9502576-3

[86]国际申请 PCT/SE95/01475 95.12.8

[87]国际公布 WO96/19206 英 96.6.27

[85]进入国家阶段日期 97.6.20

[71]申请人 阿斯特拉公司

地址 瑞典南泰利耶

[72]发明人 K·贝克斯特兰 B·威尔马克

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

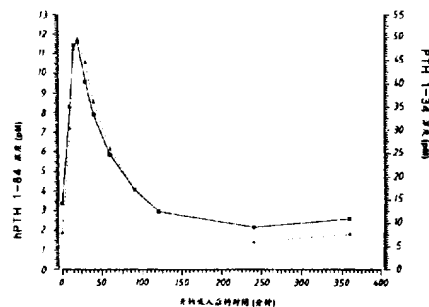
代理人 卢新华 罗才希

权利要求书 2 页 说明书 11 页 附图页数 1 页

[54]发明名称 含有甲状旁腺激素(PTH)的吸入用治疗剂

[57]摘要

本发明涉及给哺乳动物宿主肺部使用全长甲状旁腺激素以治疗骨质疏松的组合物和方法。因此,本发明提供了含有以适于吸入的干粉形式存在的人全长甲状旁腺激素或其类似物的治疗剂,其中所述干粉的至少50%由(a)直径不大于10微米的颗粒;或(b)这种颗粒的聚集物组成。



## 权 利 要 求 书

1. 一种治疗剂，其中含有一种或多种活性物质 (i) 具有全长甲状旁腺激素的基本生物活性的甲状旁腺激素，及可任选地 (ii) 促进 PTH 在下消化道吸收的一种物质，所述一种或多种活性物质以适于吸入的干粉形式存在，其中所述干粉的至少 50 % 由 (a) 直径不大于 10 微米的颗粒；或 (b) 这种颗粒的聚集物组成。

2. 权利要求 1 所述的治疗剂，其特征在于除活性物质外所述干粉含有一种药用载体。

3. 权利要求 2 所述的治疗剂，其特征在于所述载体由直径不大于 10 微米的颗粒组成，以便使得到干粉的至少 50 % 由 (a) 直径不大于 10 微米的颗粒；或 (b) 这种颗粒的聚集物组成。

4. 权利要求 3 所述的治疗剂，其中干粉的至少 50 % 由 (a) 直径在 1 至 6 微米之间的颗粒；或 (b) 这种颗粒的聚集物组成。

5. 权利要求 2 所述的治疗剂，其特征在于所述载体由粗颗粒组成，以便在所述活性物质和载体之间形成规则混合物。

6. 权利要求 1 至 5 所述的治疗剂，其中甲状旁腺激素的总质量的至少 50 % 由直径在 1 至 6 微米之间的颗粒组成。

7. 权利要求 1 至 6 任意一项所述的治疗剂，其特征是甲状旁腺激素具有与序列表中 SEQ ID NO: 1 所示序列至少 90 % 同源的氨基酸序列。

8. 权利要求 1 至 6 任意一项所述的治疗剂，其特征是甲状旁腺激素是含有序列表中 SEQ ID NO: 1 所示序列的至少氨基酸 1 至 34 的人甲状旁腺激素。

9. 权利要求 7 或 8 所述的治疗剂，其特征在于所述甲状旁腺激素是含有序列表中 SEQ ID NO: 1 所示序列的氨基酸 1 - 84 的人甲状旁腺激素。

10. 权利要求 2 所述的治疗剂，其特征在于所述载体选自单、二及多糖、糖醇及其它多元醇。

11. 权利要求 2 所述的治疗剂，其特征在于所述载体是乳糖。

12. 权利要求 1 所述的治疗剂在一种吸入装置中的用途。

13. 权利要求 12 所述的用途，其特征在于所述吸入装置为吸入用粉末提供防潮保护，并且过量的危险性最小。

14. 权利要求 13 所述的用途，其特征在于所述吸入装置是单剂量的、

呼吸 ( breath ) 启动的、一次性的干粉吸入器。

15. 权利要求 13 所述的用途, 其特征在于所述吸入装置是多剂量的、呼吸 ( breath ) 启动的、多次使用的干粉吸入器。

16. 一种含有权利要求 1 所述的治疗剂的干粉吸入器。

5 17. 一种制备权利要求 1 所述治疗剂的方法, 其中包括形成一种甲状旁腺激素溶液, 通过蒸发或其它方法除去溶剂得到一种固体并将所述固体可任选地研磨。

18. 权利要求 17 所述的方法, 其中所述溶液是甲状旁腺激素与至少一种药用载体一起形成的。

10 19. 一种制备权利要求 2 所述的治疗剂的方法, 包括将 PTH 与一种药用载体干混, 并可任选地研磨和/或混合所述固体。

20. 权利要求 17 至 19 任意一项所述的方法, 包括将制剂微粒化的附加步骤。

15 21. 权利要求 18 或 19 所述的方法, 包括用所述甲状旁腺激素和所述药用载体制剂制备规则混合物的附加步骤。

22. 一种治疗骨质疏松的方法, 包括给需要此治疗的患者使用有效剂量的权利要求 1 所述的制剂。

# 说明书

## 含有甲状旁腺激素 (PTH) 的吸入用治疗剂

### 5 技术领域

本发明涉及为治疗骨质疏松病给哺乳动物患者肺部施用甲状旁腺激素 (甲状旁腺激素, PTH) 的组合物和方法。

### 10 背景技术

人甲状旁腺激素是含 84 个氨基酸的蛋白质 (SEQ ID NO: 1), 它参与钙和磷的体内平衡并控制骨生长和密度。可以通过肽合成或由基因工程的酵母、细菌或哺乳动物细胞宿主得到人 PTH。人 PTH 也可购自 Bachem Inc., Bubendorf, Switzerland。重组人甲状旁腺激素的制备公开于 EP - B - 0383751。

在哺乳动物中, 一方面与成骨细胞活性有关的骨形成和另一方面与破骨细胞有关的骨损失之间的平衡在几种受骨影响的疾病 (如骨质疏松) 中被打破。甲状旁腺激素对骨质疏松具有潜在的治疗作用。Dempster 等 (1993) 内分泌学综述, vol. 14, 690-709 综述了甲状旁腺激素对骨的合成代谢作用。

Reeve 等 (1980) 英国医学杂志, vol. 280, 1340-1344 说明人 PTH 的 N 末端片断 (PTH 1 - 34) 在更年期 (involutional) 骨质疏松中对骨小梁有合成代谢作用。但是, 如果可能, 优选使用野生型蛋白, 因为这样通过所用化合物就能保证产生天然蛋白的所有生物效用。

多肽药物如 PTH 不能以有效剂量口服, 因为在到达血流前, 它们会被胃肠道中的酶及胃中的低 pH 降解。PTH 的给药一般通过皮下注射来完成。但是, 每天注射对病人来说是不方便的。由于这些不利因素, 需要除注射以外给药形式的 PTH。

WO94/07514 中公开了对鼠进行甲状旁腺激素及其 N 末端片断的肺部给药。当给大鼠气管内 (IT) 使用含氨基酸 1 - 34 (PTH34) 的 N - 末端片断时, 15 分钟后, 血清中出现峰值, 此后活性迅速消失。相

反，IT使用完整PTH（PTH84）后，血清中出现平台现象，在90分钟的实验中未显著消失。由于已知PTH以脉冲形式（即给药后血清浓度应迅速上升而到达峰值后迅速下降）能最有效地给病人使用，文献W094/07514推断就肺部给药来说PTH的N末端片断优于全长蛋白。

5

## 发明概述

按照本发明，表明当全长PTH作为干燥粉末气雾剂通过气管内插管被狗吸入时得到脉冲的血浆图。因此，令人惊奇是，与公开专利申请W094/07514的结论相反，全长PTH的肺部给药可有效地刺激骨形成并能有效治疗骨质疏松。

## 附图简述

15 图1

分别吸入PTH 1 - 34和PTH 1 - 84后狗的血浆浓度。（-■-）PTH 1 - 84（吸入剂量 $14 \mu\text{g}/\text{kg}$ ），（...▲...）PTH 1 - 34（吸入剂量 $4.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ ）。

20 发明公开

首先，本发明提供了含有PTH的治疗物质，优选是一种治疗剂，它具有全长甲状旁腺激素的基本的生物活性。所述治疗物质是适于吸入的干粉形式，其中活性化合物PTH总量的至少50%由（a）直径小于约25 10微米，例如在0.01至10微米之间，优选1至6微米间的基本颗粒，或（b）所述颗粒的聚集物组成。

本发明的治疗剂可只含有所述的活性化合物PTH，或者可以含有其它物质，如一种药用载体。此载体可主要由直径小于约10微米的颗粒组成，以便作为整体的所得粉末至少50%由直径小于约10微米，例如30 在0.01至10微米之间，优选1至6微米间的任意聚集的基本颗粒，或（b）所述颗粒的聚集物组成。

或者，此载体可主要由较大颗粒（“粗颗粒”）组成，以便在该活

性化合物和所述载体间形成一种“规则 ( ordered ) 的混合物”。在一种规则的混合物 ( 也被称为一种相互作用或粘着混合物 ) 中, 细药物颗粒 ( 在本发明中, 活性化合物 ) 完全均匀地分布于粗赋形剂颗粒 ( 在本发明中, 药用载体 ) 的表面。在此情况下, 优选在形成规则混合物前该  
5 活性化合物不是聚集物的形式。粗颗粒的直径可超过 20 微米, 例如大于 60 微米。对于这些下限, 粗颗粒的直径并不十分重要, 故按照特定制剂的实践需要, 如果需要可使用多种粗颗粒粒度。在规则混合物中不需要粗颗粒具有相同的粒度, 但在规则混合物中粗颗粒具有相近的粒度是有利的。优选粗颗粒直径为 60 - 800 微米。

10 优选活性化合物 PTH 总量的至少 60 % , 如至少 70 % 或至少 80 % , 并更优选 90 % 由直径小于约 10 微米的颗粒, 或这种颗粒的聚集物组成。除非需要一种规则的混合物, 当干粉制剂含有载体时, 优选干粉的至少 60 % , 如至少 70 % 或至少 80 % , 并更优选至少 90 % ( 质量 ) 由直径小于约 10 微米的颗粒或这种颗粒的聚集物组成。

15 如上所述, 作为吸入用干粉, 不论含或不含药用载体, 其中可含有颗粒的聚集物, 而当吸入时任何聚集物应基本解聚为至少 50 % 由直径不大于 10 微米的颗粒组成的一种粉末。该聚集物可以是受控聚集的产物或它们可以只是粉末颗粒紧密接触的产物。在每种情况中, 此聚集物可以解聚 ( 如在吸入器中通过机械手段或其它手段 ) 成上述颗粒是必要的。  
20 一般来说, 在规则混合物中优选不形成聚集物。在一种规则混合物的情况下, 优选吸入时在吸入器中通过机械手段或只是通过吸入作用或通过其它手段, 由大颗粒上释放活性化合物, 该活性化合物再沉积在下呼吸道而载体留在口中。

当需要时, 可以在制剂中含有一种在下呼吸道提高 PTH 吸收的物质。该物质可以是能提高通过肺泡内上皮细胞层吸收并促进进入邻近的肺脉管系统的若干种化合物中的任意一种。促进剂的例子为脂肪酸盐, 如癸酸钠, 胆汁酸盐及其衍生物、磷脂、螯合剂及环糊精及其衍生物。适宜的促进剂的其它实例可见国际专利申请 W095/00127 和  
25 W095/00128。

30 按照本发明所使用的甲状旁腺激素, 虽然可使用具有全长甲状旁腺激素基本生物活性的 PTH 的任何生物活性形式或衍生物, 但是优选人甲状旁腺激素。

按照本发明，所用 PTH 优选是至少含有序列表中如 SEQ ID NO: 1 所示序列的氨基酸 1 至 34，更优选氨基酸 1 至 84。但是，本发明所用的 PTH 并不严格限制于具有序列表所示序列的 PTH。本发明还包括了使用 PTH 多肽进行修饰，如进行取代、小缺失、插入或倒位，不过该多肽还具有氨基酸序列公开于序列表中的全长 PTH 的基本生物活性。于是，本发明也包括其氨基酸序列至少 90% 类似，优选至少 95% 类似的多肽的用途，其中氨基酸序列见序列表。对全长 PTH 进行修饰以改善多种性质，如改善稳定性或得到改进的药物动力学性质（即改进的通过上皮细胞膜吸收的性质）。

10 如上所述，在治疗剂中通常包括其它物质，如药用载体可包含于本发明的治疗剂中。其它物质可以包括如为将粉末稀释至适于由特定粉末吸入器给药的量、为便于制剂制备、为改进制剂的粉末性质、为改进制剂的稳定性（即通过抗氧化剂或 pH 调节化合物）、或为了向制剂中加入某种味道而加入的物质。任何添加剂不能对 PTH 的稳定性有副作用，或对 PTH 的吸收有不利干扰。它也应稳定、不吸湿、具有好的粉末性质并对导气管无副作用。

可能的添加剂的例子可以是单、二和多糖、糖醇及其它多元醇，例如乳糖、葡萄糖、棉子糖、松三糖、乳糖醇、麦芽糖醇（maltitol）、海藻糖、蔗糖、甘露糖醇和淀粉。根据所用吸入剂，这种添加剂的总量可以在很宽的范围内变化。

在某些情况中，需要很少或不需要添加剂，而例如对于需要操作大粉末体积的吸入器，添加剂可以占治疗剂的很高百分比。根据特定的情况本领域技术人员可以容易地确定需要的添加剂的量。

按照本发明，将粉末给药至患者肺部的一种可利用的机理是通过适于干粉吸入的便携式吸入器装置。市场上有很多这样的装置，一般设计为向呼吸系统转运抗哮喘或抗炎制剂。优选该装置是某种设计的干粉吸入器，它使粉末不受潮并且无过量的危险，即偶然的大剂量。此外，尽可能多地需要如下特性：粉末要避光；在宽的流速范围内具有高的适宜呼吸的部分及高的肺沉积；低偏差的剂量和适宜呼吸的部分；粉末在口中滞留少；吸入器表面吸收低；药物剂量灵活；及低吸入阻力。

30 虽然也可以使用多剂量吸入器（优选如多剂量、呼吸（breath）启动的、干粉吸入器（多次使用）），但吸入器优选是单剂量的。一种

适宜的多剂量吸入器描述于 EP - B - 0069715 和 EP - B - 0237507。优选所用的吸入器是单剂量的、呼吸 ( breath ) 启动的、干粉吸入器 ( 一次性 )。优选的单剂量吸入器描述于 EP - A - 0548166 和 EP - A - 0558879。

5 于是, 本发明的另一方面是本发明的治疗剂在一种吸入装置中的用途。优选所述吸入装置为吸入粉末提供了抗潮湿保护、并且其过量的危险最小。所述吸入装置可以是如单剂量的、呼吸启动的、干粉吸入器 ( 一次性 ), 或多剂量的、呼吸启动的、干粉吸入器 ( 多次使用 )。

本发明的另一个方面是含有上述治疗剂的干粉吸入装置。

10 本发明的另一个重要方面是制备上述治疗剂的方法。所述粉末治疗剂可以用常规技术用几种方法制备。可能需要将活性化合物和合适的情况下 ( 即不考虑规则混合物 ) 载体在适宜的磨 ( 如喷射磨 ) 中在此过程中的适当时候微粒化, 以便制备适于在下呼吸道最大沉积的粒度范围 ( 即  $10\ \mu\text{m}$  以下 ) 的基本颗粒。例如, 适当的话可以将 PTH 和载体干混, 然后将该物质一起微粒化; 或者, 可以将该物质分别微粒化, 然后混合。当所混合的化合物具有不同物理性质如硬度和脆度时, 对微粒化作用的阻力随之变化, 于是需要不同的压力将其粉碎至适当的粒度。因此, 当一起微粒化时, 其中某种组份的所得粒度可能不令人满意。在此情况下, 将不同组份分别微粒化然后将其混合将是有益的。

20 也可能先将活性组份包括任何载体 ( 当不考虑规则混合物时 ) 溶解于适宜的溶剂如水中, 得到分子水平的混合。此方法也有可能将 pH 值调节至所需的水平。必需考虑吸入产品的 pH 的药用极限: 3.0 至 8.5, 因为具有此极限以外 pH 的产品可能引起刺激和气道狭窄。为了得到一种粉末, 必须通过能保持 PTH 生物活性的方法除去溶剂。适宜的干燥方法包括真空浓缩、露天干燥、喷雾干燥、冻干及使用超临界流体。一般  
25 应避免在  $40\ ^\circ\text{C}$  以上超过几分钟, 因为可能发生某种程度的 PTH 降解。干燥后, 如果需要, 可以将固体物质研磨得到一种粗粉末, 然后如果需要进行微粒化。

30 如果需要, 在掺混入所用吸入装置前可以通过, 例如, 干制粒形成具有优异处理特性的球形聚集物来处理微粒化的粉末以改善流动性。此时, 该装置的构造应保证在流出装置前聚集物基本解聚, 以便进入患者呼吸道的颗粒大部分在所需的粒度范围。



当需要规则混合物时，可以通过如微粒化作用处理活性化合物以得到（如果需要）特定粒度范围内的颗粒。载体也被处理，例如得到所需粒度和所需表面性质，如特定的表面积与重量比，或特定的高强度，从而保证规则混合物中的最佳粘着力。规则混合物的这种物理要求是熟知的，获得满足所述要求的规则混合物的方法是多种多样的，根据特定条件本领域技术人员可以容易地确定。

本发明的最后一个方面是治疗骨质疏松的方法，包括给需要此治疗的患者使用有效量的上述治疗剂。适宜的剂量在 1 至 100  $\mu\text{g}$  全长 PTH/kg，例如，30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  左右。

10 现在，通过实施例的形式描述本发明，这只是要举例说明而不是限制本发明的范围。

## 实施例

### 15 实施例 1

#### 1.1 吸入用 PTH 1 - 84 的治疗剂

制备如下组份的水溶液：

人 PTH 1 - 84	41mg
枸橼酸，一水合物	57mg
枸橼酸钠	113mg
乳糖	3888mg
水	约 53ml

20

将 pH 调节至 5.0。在 37  $^{\circ}\text{C}$ ，将溶液通过蒸发浓缩约一天。所得固体饼状物被粉碎并过 0.5mm 筛，通过喷射磨将所得粉末微粒化为直径为 2 微米的颗粒。

#### 25 1.2 吸入用 PTH 1 - 34 的治疗剂

制备组份如下的水溶液：

人 PTH 1 - 34	11.2mg
枸橼酸, 一水合物	66mg
枸橼酸钠	131mg
乳糖	4589mg
水	约 52ml

将此溶液按照上述实施例 1.1 的描述处理。

### 1.3 含有增强剂的治疗用 PTH 制剂

5

制备如下组份的水溶液:

人 PTH 1 - 84	50mg
枸橼酸, 一水合物	69mg
枸橼酸钠	138mg
牛黄胆酸钠	17mg
乳糖	4726mg
水	约 60ml

10 将 pH 调节至 5.0。在 37 °C，将溶液通过蒸发浓缩约一天。所得固体饼状物被粉碎并过 0.5mm 筛，通过喷射磨将所得粉末微粒化为直径为 2 微米的颗粒。

## 实施例 2

### 药物动力学实验

15

#### 2.1 粉末制剂和吸入系统

20 分别按照实施例 1.1 和 1.3 制备人 PTH 1 - 84 或 PTH 1 - 34。在集尘器 (dust container) 中粉末制剂被压制并通过赖特粉尘供应器 (Wright Dust Feed (WDF)) 以干粉气溶胶形式连续产生。此气溶胶在集尘器中通过刮拭片剂产生。物质流过 WDF 的速度为 8.0 升/分钟。



通过检测吸入峰 (tidal) 体积 (ITV) 和在吸入期间 PTH 浓度来测定吸入剂量 (ID)。

## 2.2 治疗

5

在吸入前英国种小猎兔犬 (n=5, 每种制剂) 禁食 16 小时, 实验在早晨进行。用 Plegecil<sup>®</sup> 和 Pentotal<sup>®</sup> 将狗麻醉, 插管并接触 PTH1 - 34 或 PTH1 - 84 约 10 分钟。

10 测定由颈静脉采集至肝素抗凝的抽真空 (Vacutainer) 管 (2ml) 中的静脉血样的 PTH 浓度。在给药前和吸入开始 (t=0) 后 10、15、20、30、40、60、90、120、240 和 360 分钟采集样品。将全血样品立即离心, 或在离心前在冰水中保存最多 20 分钟, 用血浆 (1ml) 进行 PTH 分析。用放射免疫实验 (RIA) 试剂盒分析血浆中 PTH。

15 结果 (表 1 和图 1) 清楚地表明 PTH 1 - 34 和 PTH 1 - 84 的吸入与 PTH 皮下给药相似产生脉冲血浆特性, 证明全长 PTH 或具有全长 PTH 基本生物活性的 PTH 片断的肺部给药, 对刺激骨形成和治疗骨质疏松是有效的。

### 实施例 3

20

#### 骨效应

25 给药 4 周 (卵巢切除 6 周后开始给药) 后, 在卵巢切除的骨质疏松 (osteopenic) 大鼠中以远侧股骨的矿物质密度 (重量/体积) 来衡量骨效应。所得结果表明全长 PTH 的吸入对股骨形成具有显著作用。

#### 表 1

吸入 PTH 1 - 34 或 PTH 1 - 84 后, 狗 PTH 的血浆浓度

30



时间 (min)	PTH 1-34		PTH 1-84	
	浓度 (pM)	S.E.	浓度 (pM)	S.E.
0	8.0	1.82	3.4	1.02
10	30.4	4.99	8.3	1.04
15	47.4	5.20	11.4	1.01
20	49.6	6.81	11.6	1.11
30	44.6	8.55	9.6	1.15
40	36.2	6.84	7.9	1.21
60	26.0	4.90	5.8	0.84
90	17.0	2.05	4.1	0.60
120	12.6	2.06	3.0	0.36
240	6.0	1.76	2.2	0.40
360	7.6	2.93	2.6	0.85

20 S. E. = 平均值的标准误差

25

30



## 序列表

### ( 1 ) 总信息

- 5 (i) 申请人:  
(A) 名称: ASTRA AKTIEVOLAG  
(B) 街区: Vastra malarehamnen 9  
(C) 城市: Sodertalje  
(E) 国家: 瑞典
- 10 (F) 邮编 ( ZIP ): S - 15185  
(G) 电话: + 46 - 853326000  
(H) 传真: + 46 - 853328800  
(I) 电传: 19237 astra s  
(ii) 发明题目: 吸入用治疗剂
- 15 (iii) 序列数量: 1  
(iv) 计算机可读形式:  
(A) 介质类型: 软盘  
(B) 计算机: IBM PC 兼容机  
(C) 操作系统: PC - DOS/MS - DOS
- 20 (D) 软件: PatentIn Release # 1.0, version # 1.30 ( EPO )  
( 2 ) SEQ ID NO: 1 信息:
- (i) 序列特性:  
(A) 长度: 84 氨基酸  
(B) 类型: 氨基酸
- 25 (C) 链型: 单链  
(D) 拓扑结构: 线性  
(ii) 分子类型: 蛋白质  
(vi) 来源:  
(A) 有机体: 人
- 30 (x) 公开信息:  
(H) 文献号: EP0383751B  
(I) 申请日: 1987 年 10 月 7 日



(J)公告日: 1994年3月9日

(K)SEQ ID NO: 1 相关残基: 由1至84

(xi)序列描述: SEQ ID NO: 1:

5           Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu Gly Lys His Leu Asn  
               1                           5                           10                           15

          Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His  
                           20                           25                           30

          Asn Phe Val Ala Leu Gly Ala Pro Leu Ala Pro Arg Asp Ala Gly Ser  
                           35                           40                           45

          Gln Arg Pro Arg Lys Lys Glu Asp Asn Val Leu Val Glu Ser His Glu  
                           50                           55                           60

10           Lys Ser Leu Gly Glu Ala Asp Lys Ala Asp Val Asn Val Leu Thr Lys  
                           65                           70                           75                           80

          Ala Lys Ser Gln

# 说明书附图

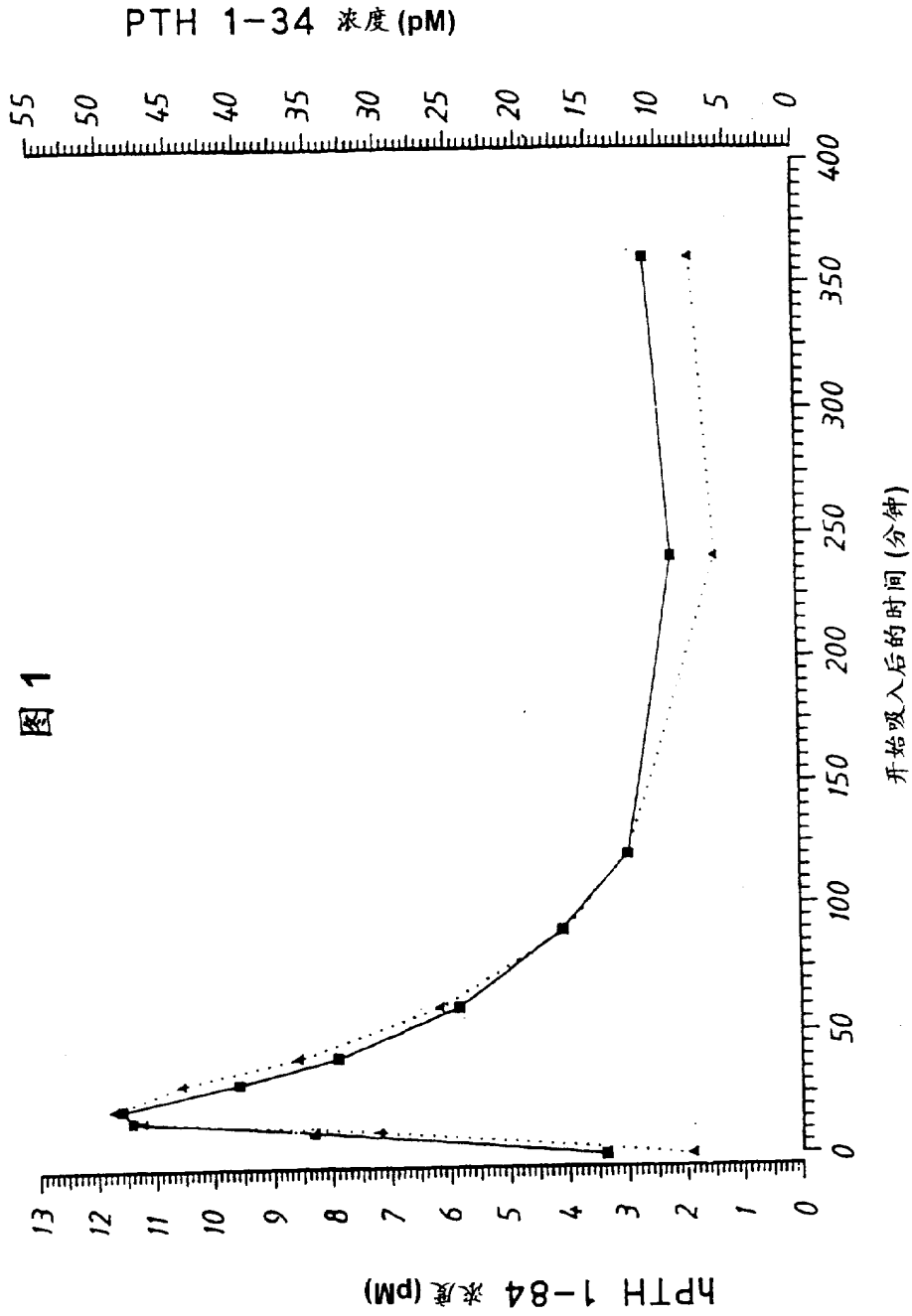


图 1