



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ(21)(22) Заявка: **2010120672/15**, **24.10.2008**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
24.10.2008

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

24.10.2007 US 60/982,368**05.11.2007 US 60/985,620****18.01.2008 US 61/022,274****04.03.2008 US 61/033,740****09.05.2008 US 61/052,127**

(см. прод.)

(43) Дата публикации заявки: **27.11.2011** Бюл. № 33(45) Опубликовано: **27.11.2012** Бюл. № 33(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **US 2006040953 A1**, **23.02.2006**. **US 6428771 B1**, **06.08.2002**. **US 6444226 B1**, **03.09.2002**. **US 2007207958 A1**, **06.09.2007**. **RU 2333014 C2**, **27.08.2005**.(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: **24.05.2010**(86) Заявка РСТ:
US 2008/081221 (24.10.2008)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2009/055742 (30.04.2009)

Адрес для переписки:

**129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", пат.пов. Е.Е.Назиной, рег.№ 517**

(72) Автор(ы):

**БОУМЕН Роберт А. (US),
РИЧАРДСОН Питер (US),
КОСТЕЛЛО Дональд (US),
ЛЕОНЕ-БЭЙ Андреа (US)**

(73) Патентообладатель(и):

МАННКАЙНД КОРПОРЕЙШН (US)**(54) ДОСТАВКА АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности и представляет собой способ доставки активного вещества пациенту, нуждающемуся в этом, включающий выбор активного вещества, где это активное вещество подвергается деградации в организме указанного пациента

при пероральном, подкожном или внутривенном введении и где эффективность указанного активного вещества уменьшается в результате указанной деградации; причем указанное активное вещество не является GLP-1; объединение указанного активного вещества с дикетопиперазином для получения фармацевтической композиции, подходящей

для пульмональной ингаляции; и введение указанной фармацевтической композиции указанному пациенту. Изобретение обеспечивает предоставление системы доставки лекарственного средства, которая

предотвращает дезактивацию или деградацию активного вещества, вводимого пациенту, испытывающему потребность в лечении. 2 н. и 17 з.п. ф-лы, 8 пр., 6 табл., 20 ил.

(30) (продолжение): 05.09.2008 US 61/094,823;

RU 2 4 6 7 7 4 1 C 2

RU 2 4 6 7 7 4 1 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

A61K 9/14 (2006.01)**A61K 31/495** (2006.01)**A61K 38/26** (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2010120672/15, 24.10.2008**(24) Effective date for property rights:
24.10.2008

Priority:

(30) Convention priority:

24.10.2007 US 60/982,368**05.11.2007 US 60/985,620****18.01.2008 US 61/022,274****04.03.2008 US 61/033,740****09.05.2008 US 61/052,127**

(to be continued)

(43) Application published: **27.11.2011 Bull. 33**(45) Date of publication: **27.11.2012 Bull. 33**(85) Commencement of national phase: **24.05.2010**

(86) PCT application:

US 2008/081221 (24.10.2008)

(87) PCT publication:

WO 2009/055742 (30.04.2009)

Mail address:

129090, Moskva, ul. B.Spasskaja, 25, str.3, OOO
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery",
pat.pov. E.E.Nazinoj, reg.№ 517

(72) Inventor(s):

BOUMEN Robert A. (US),**RICHARDSON Piter (US),****KOSTELLO Donal'd (US),****LEONE-BEHJ Andrea (US)**

(73) Proprietor(s):

MANNKAJND KORPOREJShN (US)**(54) ACTIVE SUBSTANCE DELIVERY**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention refers to chemical-pharmaceutical industry, and represents a method for active substance delivery to a patient in need thereof, involving: active substance selection, wherein the active substance is degraded in a body of said patients in the oral, subcutaneous or intravenous introduction and wherein the efficacy of said active substance is reduced as a result of said degradation; said active substance is not GLP-1;

combination of said active substance and diketopiperazine to prepare a pharmaceutical composition applicable for pulmonary inhalation; and introduction of said pharmaceutical composition into said patient.

EFFECT: invention presents the drug delivery system which prevents deactivation or degradation of the active substance introduced into the patient in need thereof.

19 cl, 8 ex, 6 tbl, 19 dwg

(30) Priority: **05.09.2008 US 61/094,823;**

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно §119(e) 35 U.S.C. предварительных заявок на патент США: 60/982368, поданной 24 октября 2007 года; 60/985620, поданной 5 ноября 2007 года; 61/033740, поданной 4 марта 2008 года; 5 61/052127, поданной 9 мая 2008 года; 61/022274, поданной 18 января 2008 года; и 61/094823, поданной 5 сентября 2008 года. Все содержание каждой из перечисленных заявок включено в настоящую заявку путем отсылки.

Область техники

10 В настоящей заявке раскрыт способ введения физиологически активного компонента в кровеносную систему млекопитающего. Способ включает систему быстрой доставки лекарственного средства, которая предотвращает или уменьшает дезактивацию или деградацию активного вещества, вводимого пациенту, 15 испытывающему потребность в лечении. В частности, система доставки лекарственного средства разработана для пульмональной доставки лекарственного средства, например, путем ингаляции, для доставки активного вещества в легочное кровообращение терапевтически эффективным образом. Система доставки лекарственного средства обладает преимуществами по сравнению с другими 20 способами доставки лекарственных средств, например пероральным, подкожным и внутривенным введением активных веществ, таких как белки и пептиды, которые являются чувствительными к ферментативной дезактивации или деградации в локальной периферической и сосудистой ткани перед достижением целевого сайта.

Уровень техники

25 Системы доставки лекарственного средства для лечения заболевания, которые позволяют вводить активные компоненты в кровоток, являются многочисленными и включают пероральное, трансдермальное, подкожное и внутривенное введение. Хотя указанные системы применяли в течение достаточно долгого времени и они 30 позволяют доставлять достаточное количество лекарственного средства для лечения многих заболеваний, существуют многочисленные сложности, связанные с данными механизмами доставки лекарственного средства. В частности, доставка эффективных количеств белков и пептидов для лечения целевого заболевания являлась проблематичной. Многие факторы задействованы при введении необходимого 35 количества активного вещества, например приготовление надлежащей лекарственной формы для доставки лекарственного средства, чтобы лекарственная форма содержала такое количество активного вещества, которое может достигать своего целевого сайта (сайтов) действия в эффективном количестве.

40 Активное вещество должно быть устойчивым в лекарственной форме для доставки лекарственного средства, при этом лекарственная форма должна обеспечивать абсорбцию активного вещества в кровоток и оставаться активной, чтобы она могла достигать места (мест) действия в эффективных терапевтических уровнях. Таким образом, в фармакологии системы доставки лекарственного средства, которые могут 45 доставлять устойчивое активное вещество, имеют первостепенное значение.

Создание лекарственных форм для доставки лекарственного средства, терапевтически подходящих для лечения заболевания, зависит от свойств активного компонента или вещества, вводимого пациенту. Такие свойства могут включать, в 50 неограничивающем порядке, растворимость, pH, устойчивость, токсичность, скорость высвобождения и легкость выведения из организма посредством нормальных физиологических процессов. Например, в случае перорального введения, если вещество чувствительно к кислоте, разработаны энтеросолюбильные покрытия, в

которых применяются фармацевтически приемлемые материалы, которые могут препятствовать высвобождению активного вещества при низком (кислом) pH желудка. Таким образом, полимеры, которые не растворимы при кислом pH, применяются для приготовления и доставки дозы, содержащей

5 кислоточувствительные вещества, в тонкую кишку, где pH нейтрален. При нейтральном pH полимерное покрытие может растворяться, высвобождая активное вещество, которое затем абсорбируется в энтеральный системный кровоток. Активные вещества, вводимые перорально, поступают в системный кровоток и

10 проходят через печень. В определенных случаях некоторая часть дозы метаболизируется и/или дезактивируется в печени до того, как она достигает целевых тканей. В некоторых случаях метаболиты могут быть токсичными для пациента или могут приводить к нежелательным побочным эффектам.

Точно также при подкожном и внутривенном введении фармацевтически активные

15 вещества не избегают деградации и инактивации. При внутривенном введении лекарственных средств лекарственные соединения или активные компоненты также могут метаболизироваться, например, в печени, перед достижением целевой ткани. При подкожном введении некоторых активных веществ, включающих различные

20 белки и пептиды, происходит дополнительная деградация и дезактивация под действием ферментов периферических и сосудистых тканей в участке доставки лекарственного средства, а также в процессе движения через венозный кровоток. Для доставки дозы, которая обеспечивает приемлемое количество для лечения заболевания при подкожном и внутривенном введении активного вещества, схемы дозирования

25 всегда должны учитывать инактивацию активного вещества периферической и сосудистой венозной тканью и в конечном счете печенью.

Сущность изобретения

В настоящей заявке описан способ введения активного вещества в кровеносную

30 систему млекопитающего. Способ включает систему доставки лекарственного средства, которая предотвращает дезактивацию или деградацию активного вещества, вводимого пациенту, испытывающему потребность в лечении. В частности, система доставки лекарственного средства разработана для пульмональной доставки лекарственного средства, например, путем ингаляции, для доставки активных веществ

35 в легочное кровообращение терапевтически эффективным образом. Система доставки лекарственного средства обладает преимуществами по сравнению с другими способами доставки лекарственного средства, например пероральным, подкожным и внутривенным введением лекарственных препаратов, таких как белки и пептиды,

40 которые являются чувствительными к ферментативной дезактивации или деградации в локальной периферической и сосудистой ткани перед достижением целевого сайта.

В одном варианте осуществления, раскрытом в настоящей заявке, описан способ доставки активного вещества пациенту, испытывающему в этом потребность, включающий отбор активного вещества, которое подвергается деградации в

45 организме пациента, причем эффективность активного вещества при деградации уменьшается; соединение активного вещества с дикетопиперазином, с получением фармацевтической композиции, подходящей для пульмональной ингаляции; и доставку фармацевтической композиции пациенту.

В другом варианте осуществления деградация происходит в венозном кровотоке, в периферической ткани, в желудочно-кишечной системе или в печени.

Также в настоящей заявке раскрыт способ лечения заболевания, включающий отбор пациента, подвергаемого лечению, или пациента с патологическим состоянием,

поддающимся лечению лабильным активным веществом; предоставление композиции, включающей лабильное активное вещество в комбинации с дикетопиперазином; и введение композиции пациенту посредством пульмональной ингаляции, с проведением таким образом лечения заболевания или патологического состояния.

В другом варианте осуществления дикетопиперазин является 2,5-дикето-3,6-ди(4-Х-аминобутил)пиперазином, где Х выбран из группы, состоящей из сукцинила, глутарила, малеила и фумарила; или его фармацевтически приемлемой солью. В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция представляет собой сухую порошковую лекарственную форму для ингаляции. В еще одном варианте осуществления сухая порошковая лекарственная форма для ингаляции дополнительно включает фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель.

В одном варианте осуществления сухую порошковую лекарственную форму для ингаляции вводят пациенту путем пульмональной ингаляции с применением системы для ингаляции сухим порошком.

В еще одном варианте осуществления активное вещество является белком, пептидом или аналогом перечисленного. В другом варианте осуществления активное вещество является эндокринным гормоном или его аналогом. Эндокринный гормон представляет собой гормон, ассоциированный с диабетом, гипергликемией и/или ожирением. В другом варианте осуществления диабет является сахарным диабетом II типа.

В другом варианте осуществления раскрытого способа стадия введения композиции пациенту включает пульмональное введение композиции с применением ингалятора сухого порошка, включающего картридж, такой как картридж разового дозирования.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

На Фиг. 1 показана средняя концентрация в плазме активного глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1) у субъектов, получивших сухую порошковую лекарственную форму для ингаляции, содержащую дозу GLP-1 в количестве 1,5 мг, измеренная в различные моменты времени после ингаляции.

На Фиг. 2А показана средняя концентрация в плазме инсулина у субъектов, получивших сухую порошковую лекарственную форму для ингаляции, содержащую дозу GLP-1 в количестве 1,5 мг, измеренная в различные моменты времени после ингаляции.

На Фиг. 2В показана концентрация в плазме GLP-1 у субъектов, получивших сухую порошковую лекарственную форму для ингаляции, содержащую дозу GLP-1 в количестве 1,5 мг, измеренная в различные моменты времени после ингаляции, в сравнении с субъектами, подвергнутыми подкожному введению GLP-1.

На Фиг. 2С показана концентрация в плазме инсулина у субъектов, получивших сухую порошковую лекарственную форму для ингаляции, содержащую дозу GLP-1 в количестве 1,5 мг, измеренная в различные моменты времени после ингаляции, в сравнении с субъектами, получившими дозу GLP-1 внутривенно в количестве 50 мкг, и субъектами, получившими дозу GLP-1 подкожно.

На Фиг. 3 показана средняя концентрация в плазме С-пептида у субъектов, получивших сухую порошковую лекарственную форму для ингаляции, содержащую дозу GLP-1 в количестве 1,5 мг, измеренная в различные моменты времени после ингаляции.

На Фиг. 4 показана средняя концентрация глюкозы в плазме субъектов, получивших сухую порошковую лекарственную форму для ингаляции, содержащую дозы GLP-1 в количестве 0,05 мг, 0,45 мг, 0,75 мг, 1,05 мг и 1,5 мг, измеренная в

различные моменты времени после ингаляции.

На Фиг. 5 показаны средние концентрации инсулина в плазме пациентов, получивших сухую порошковую лекарственную форму для ингаляции, содержащую дозы GLP-1 в количестве 0,05 мг, 0,45 мг, 0,75 мг, 1,05 мг и 1,5 мг. Данные показывают, что секреция инсулина в ответ на пульмональное введение GLP-1 является дозозависимой.

На Фиг. 6 показаны средние концентрации глюкагона в плазме пациентов, получивших сухую порошковую лекарственную форму для ингаляции, содержащую дозы GLP-1 в количестве 0,05 мг, 0,45 мг, 0,75 мг, 1,05 мг и 1,5 мг.

На Фиг. 7 показаны средние концентрации эксендина в плазме у самцов крыс линии Zucker Diabetic Fat (ZDF), получавших эксендин-4/FDKP (фумарилдикетопиперазин) в форме порошка путем пульмональной инсuffляции, в сравнении с подкожно (п/к) введенным эксендином-4. Закрашенные квадраты обозначают ответ после пульмональной инсuffляции порошка эксендина-4/FDKP. Белые квадраты обозначают ответ после п/к введения эксендина-4. Данные представлены как средние $\pm$ SD.

На Фиг. 8 показаны изменения в концентрации глюкозы в крови от базовой линии в самцах крыс линии ZDF, получающих контрольный воздух, либо порошок эксендина-4/FDKP, либо порошок GLP-1/FDKP путем пульмональной инсuffляции, в сравнении с подкожно вводимым эксендином-4. На графике также показан комбинированный эксперимент, в котором крысам путем пульмональной инсuffляции вводили порошок для ингаляции, включающий GLP-1/FDKP, с последующим введением порошка для ингаляции, включающего эксендин-4/FDKP. На графике ромбы обозначают ответ после пульмональной инсuffляции порошка эксендина-4/FDKP. Круги обозначают ответ после подкожного введения эксендина-4. Треугольники обозначают ответ после введения порошка GLP-1/FDKP. Квадраты обозначают ответ после пульмональной инсuffляции чистого воздуха. Звездочки обозначают ответ, полученный при введении инсuffляцией 2 мг GLP-1/FDKP крысам, с последующим введением 2 мг порошка эксендина-4/FDKP, который также вводили инсuffляцией.

На Фиг. 9А показаны средние концентрации окситомодулина в плазме самцов крыс линии ZDF, получающих окситомодулин/FDKP в форме порошка путем пульмональной инсuffляции, в сравнении с внутривенным (в/в) введением окситомодулина. Квадраты обозначают ответ после в/в введения одного окситомодулина. Треугольники обозначают ответ после пульмональной инсuffляции 5% порошка окситомодулина/FDKP (0,15 мг окситомодулина). Круги обозначают ответ после пульмональной инсuffляции 15% порошка окситомодулина/FDKP (0,45 мг окситомодулина). Треугольники, перевернутые вершиной вниз, обозначают ответ после пульмональной инсuffляции 30% порошка окситомодулина/FDKP (0,9 мг окситомодулина). Данные представлены как средние $\pm$ SD.

На Фиг. 9В показано совокупное потребление пищи у самцов крыс линии ZDF, получавших 30% порошок окситомодулина/FDKP (0,9 мг окситомодулина) путем пульмональной инсuffляции (1); один окситомодулин (1 мг окситомодулина) путем в/в инъекции (2); или воздух в качестве контроля (3).

На Фиг. 10А показаны средние концентрации окситомодулина в плазме самцов крыс линии ZDF, получавших порошок окситомодулина/FDKP путем пульмональной инсuffляции, в сравнении с воздухом в качестве контроля. Квадраты обозначают

ответ после введения контрольного воздуха. Круги обозначают ответ после пульмональной инсуффляции порошка оксинтомодулина/FDKP (0,15 мг оксинтомодулина). Треугольники обозначают ответ после пульмональной

инсуффляции порошка оксинтомодулина/FDKP (0,45 мг оксинтомодулина). Треугольники, перевернутые вершиной вниз, обозначают ответ после пульмональной инсуффляции порошка оксинтомодулина/FDKP (0,9 мг оксинтомодулина). Данные представлены как средние $\pm$ SD.

На Фиг. 10В показаны данные экспериментов, отражающие совокупное потребление пищи у самцов крыс линии ZDF, получающих 30% порошок оксинтомодулина/FDKP в различных дозах, включающих 0,15 мг оксинтомодулина (1), 0,45 мг оксинтомодулина (2) или 0,9 мг оксинтомодулина (3) путем пульмональной инсуффляции, в сравнении с контрольным воздухом (4). Данные представлены как средние $\pm$ SD. Звездочка (*) обозначает статистическую значимость.

На Фиг. 11 показаны значения глюкозы, полученные у шести воздерживавшихся от приема пищи пациентов с диабетом II типа после введения разовой дозы сухой порошковой лекарственной формы для ингаляции, содержащей GLP-1, в различные моменты времени.

На Фиг. 12 показаны средние значения глюкозы в группе из шести воздерживавшихся от приема пищи пациентов с диабетом II типа (Фиг. 11), выраженные как изменение уровней глюкозы с нулевого момента (введение дозы) для всех шести пациентов.

На Фиг. 13 показаны данные, полученные из экспериментов, в которых крысам линии ZDF вводили эксендин-4 в лекарственной форме, включающей дикетопиперазин или соль дикетопиперазина, где эксендин-4 вводили различными путями введения (инстилляцией жидкости (LIS), SC, пульмональной инсуффляцией (INS)) в тесте на толерантность к глюкозе при внутрибрюшинном введении (IPGTT). В одной группе крысы получали эксендин-4 в комбинации с GLP-1, вводимые пульмональной инсуффляцией.

На Фиг. 14 показано совокупное потребление пищи у самцов крыс линии ZDF, получающих в качестве контроля воздух путем пульмональной инсуффляции, только белок YY (3-36) (PYY) в/в инъекцией, только PYY пульмональной инстилляцией, 10% порошок PYY/FDKP (0,3 мг PYY) пульмональной инсуффляцией, 20% порошок PYY/FDKP (0,6 мг PYY) пульмональной инсуффляцией. В каждой группе потребление пищи измеряли через 30 минут после введения дозы, через 1 час после введения дозы, через 2 часа после введения дозы и через 4 часа после введения дозы. Данные представлены как средние $\pm$ SD.

На Фиг. 15 показана концентрация глюкозы в крови у самок крыс линии ZDF, которым вводили порошок PYY/FDKP путем пульмональной инсуффляции, в сравнении с внутривенным введением PYY, в различные моменты времени после введения дозы.

На Фиг. 16 показаны средние концентрации PYY в плазме самок крыс линии ZDF, получавших порошок PYY/FDKP путем пульмональной инсуффляции, в сравнении с внутривенно введенным PYY. Квадраты обозначают ответ после внутривенного введения одного PYY (0,6 мг). Круги обозначают ответ после инстилляцией только жидкого PYY (1 мг). Треугольники, перевернутые вершиной вниз, обозначают ответ после пульмональной инсуффляции 20% порошка PYY/FDKP (0,6 мг PYY). Треугольники обозначают ответ после пульмональной инсуффляции 10% порошка PYY/FDKP (0,3 мг PYY). Треугольники, повернутые вершиной влево,

обозначают ответ после пульмональной инсуффляции только воздуха. Данные представлены как $\pm SD$.

На Фиг. 17 показано относительное воздействие препарата и относительный биоэффект существующих лекарственных форм, вводимых путем пульмональной ингаляции и содержащих инсулин, эксендин, оксинтомодулин или РУУ, в сравнении с подкожным и внутривенным введением.

На Фиг. 18 показаны средние уровни GLP-1 в плазме у пациентов, которым вводили различные ингаляционные формы GLP-1 и контрольные лекарственные формы.

На Фиг. 19 показаны уровни инсулина в плазме у пациентов, которым вводили различные ингаляционные формы GLP-1 и контрольные лекарственные формы.

На Фиг. 20 показана эвакуация желудочного содержимого в ответ на вдыхание ингаляционной формы GLP-1 у пациентов, которым вводили различные ингаляционные формы GLP-1 и контрольные лекарственные формы.

Определение терминов

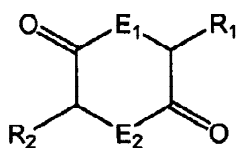
Перед изложением изобретения может быть целесообразным обеспечить понимание определенных терминов, которые будут применяться в дальнейшем:

Активные вещества: Используемое в настоящей заявке "активное вещество"

относится к лекарственным средствам, фармацевтическим веществам и биологически активным соединениям. Активные вещества могут представлять собой органические макромолекулы, включая нуклеиновые кислоты, синтетические органические соединения, полипептиды, пептиды, белки, полисахариды и другие сахара, а также липиды. Пептиды, белки и полипептиды являются цепями аминокислот, связанных пептидными связями. Пептиды, как обычно считают, состоят менее чем из 40 аминокислотных остатков, но могут включать и больше. Белки представляют собой полимеры, которые могут содержать более 40 аминокислотных остатков. Термин "полипептид", известный в уровне техники и используемый в настоящей заявке, может относиться к пептиду, белку или любой другой цепи аминокислот любой длины, содержащей множественные пептидные связи, хотя обычно содержащей, по меньшей мере, 10 аминокислот. Активные вещества могут относиться к различным классам биологически активных веществ, таким как вазоактивные средства, нейроактивные средства, гормоны, антикоагулянты, иммуномодулирующие средства, цитотоксические средства, антибиотики, противовирусные средства, антигены и антитела. Более конкретно активные вещества могут включать, в неограничивающем порядке, инсулин и его аналоги, гормон роста, паратиреоидный гормон (PTH), грелин, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМКСФ), глюкагоноподобный пептид 1 (GLP-1) и аналоги подобных пептидов, Техасский красный, алкины, циклоспорины, клопидогрел и РРАСК (D-фенилаланил-L-пролил-L-аргинин хлорметилкетон), антитела и их фрагменты, включая, помимо прочего, гуманизированные или химерные антитела; F(ab), F(ab)₂ или одноцепочечное антитело, по отдельности или слитое с другими полипептидами; терапевтические или диагностические моноклональные антитела к раковым антигенам, цитокинам, возбудителям инфекций, медиаторам воспаления, гормонам и поверхностным антигенам клеток. В некоторых случаях термины "лекарственное средство" и "активное вещество" используются попеременно.

Дикетопиперазин: Используемый в настоящей заявке "дикетопиперазин" или "DKP" включает дикетопиперазины, а также их соли, производные, аналоги и модификации, охватываемые общей Формулой 1, в которой атомы кольца E₁ и E₂ в положениях 1 и 4 являются либо O, либо N, и, по меньшей мере, одна из боковых цепей, R₁ и R₂,

расположенных в положениях 3 и 6, соответственно, содержит карбоксильную (карбоксилатную) группу. Соединения Формулы 1 включают, помимо прочих, дикетопиперазины, дикетоморфолины и дикетодиоксаны, а также их замещенные аналоги.



Формула 1

Дикетопиперазины в дополнение к созданию аэродинамически подходящих микрочастиц также облегчают доставку лекарственных соединений, быстро растворяясь при физиологическом pH с высвобождением, в результате, активного вещества и ускорением его абсорбции в кровотока. Дикетопиперазины могут быть сформированы в частицы, которые включают лекарственное средство, или частицы, на которых может адсорбироваться лекарственное соединение. Комбинация препарата и дикетопиперазина может придавать лекарственному средству повышенную стабильность. Указанные частицы можно вводить различными путями введения. В виде сухих порошков указанные частицы можно доставлять посредством ингаляции в определенные области дыхательной системы, в зависимости от размера частицы. Кроме того, могут быть приготовлены частицы, имеющие достаточно малый размер для включения в суспензионную лекарственную форму для внутривенного введения. Пероральная доставка также возможна в случае частиц, включенных в суспензию, таблетки или капсулы.

В одном варианте осуществления дикетопиперазином является 3,6-ди(фумарил-4-аминобутил)-2,5-дикетопиперазин (фумарил-дикетопиперазин, FDKP). FDKP может образовывать микрочастицы в своей кислотной форме или в форме солей, которые могут быть введены в форме аэрозоля или суспензии.

В другом варианте осуществления DKP является производным 3,6-ди(4-аминобутил)-2,5-дикетопиперазина, которое может быть получено путем (термической) конденсации аминокислоты лизина. Примеры производных включают 3,6-ди(сукцинил-4-аминобутил)-, 3,6-ди(малеил-4-аминобутил)-, 3,6-ди(глутарил-4-аминобутил)-, 3,6-ди(малонил-4-аминобутил)-, 3,6-ди(оксалил-4-аминобутил)- и 3,6-ди(фумарил-4-аминобутил)-2,5-дикетопиперазин. Применение различных DKP для доставки лекарственных средств известно в уровне техники (см., например, патенты США 5352461, 5503852, 6071497 и 6331318, которые включены в настоящую заявку путем отсылки в отношении всего, что касается дикетопиперазинов и дикетопиперазин-опосредованной доставки лекарственных средств). Применение солей DKP описано в одновременно находящейся на рассмотрении заявке на патент США 11/210710, поданной 23 августа 2005 года, которая настоящим включена путем отсылки в отношении всего, что касается солей дикетопиперазинов. Пульмональная доставка лекарственных средств с применением микрочастиц DKP раскрыта в патенте США 6428771, который настоящим полностью включен путем отсылки.

Дополнительные детали, связанные с адсорбцией активных веществ на кристаллических частицах DKP, можно найти в одновременно находящихся на рассмотрении заявках на патент США 11/532063 и 11/532065, которые настоящим полностью включены путем отсылки.

Система доставки лекарственного средства: Используемая в настоящей заявке "система доставки лекарственного средства" относится к системе для доставки одного

или нескольких активных веществ.

Сухой порошок: Используемый в настоящей заявке "сухой порошок" относится к композиции из тонкодисперсных частиц, которая не суспендирована или растворена в пропелленте, носителе или другой жидкости. Это не означает, что обязательно

Ранняя фаза: Используемая в настоящей заявке "ранняя фаза" относится к быстрому повышению концентрации инсулина в крови, индуцированному в ответ на прием пищи. Указанное раннее повышение инсулина в ответ на прием пищи иногда называют первой фазой. В более поздних источниках первую фазу иногда используют для обозначения более быстрого повышения концентрации инсулина в крови кинетического профиля, достигаемого при болюсной в/в инъекции глюкозы, в отличие от ответа, связанного с приемом пищи.

Эндокринное заболевание: Эндокринная система является информационной сигнальной системой, которая выделяет гормоны из желез, обеспечивая специфических химических посредников, которые регулируют многие и различные функции организма, например настроение, рост и развитие, функцию ткани и метаболизм, а также посылку сигналов и ответное действие на них. Болезни эндокринной системы включают, помимо прочих, сахарный диабет, заболевание щитовидной железы и ожирение. Эндокринное заболевание характеризуется нарушением выработки гормонов (продуктивная аденома гипофиза), неадекватной реакцией на сигналы (гипотиреоз), недостаточностью или разрушением железы (сахарный диабет I типа, дефицитный эритропоэз при хронической почечной недостаточности), пониженной восприимчивостью к сигналам (резистентность к инсулину при сахарном диабете II типа) или структурной гипертрофией в критическом участке, например в шее (токсический многоузловой зоб). Гипофункция эндокринных желез может развиваться в результате снижения резерва, пониженной секреции, агенеза, атрофии или активного разрушения. Гиперфункция может развиваться в результате гиперсекреции, снижения супрессии, гиперпластического или неопластического перерождения, или гиперстимуляции. Термин "эндокринное нарушение" охватывает метаболические нарушения.

Отклонение: Используемое в настоящей заявке "отклонение" может относиться к концентрациям глюкозы в крови, которые повышаются или падают относительно базовой линии до приема пищи или другой исходной точки. Отклонения обычно выражают как площадь под кривой (AUC) на графике уровня глюкозы в крови с течением времени. AUC может быть выражен разнообразными способами. В некоторых случаях присутствует как падение ниже, так и превышение относительно базовой линии, создающие положительную и отрицательную область. Некоторые вычисления вычитают отрицательную AUC из положительной, тогда как другие прибавляют их абсолютные значения. Положительную и отрицательную AUC также можно учитывать отдельно. Также могут использоваться более сложные статистические анализы. В некоторых случаях это также может относиться к концентрациям глюкозы в крови, которые повышаются или падают, выходя за пределы нормального диапазона. Нормальная концентрация глюкозы в крови обычно составляет 70 - 110 мг/дл у человека, длительное время не принимавшего пищу, менее чем 120 мг/дл через два часа после приема пищи и менее чем 180 мг/дл после приема пищи. Хотя отклонение описано в настоящей заявке применительно к глюкозе в крови, в других контекстах данный термин может аналогичным образом применяться к другим анализам.

Скорость выведения глюкозы: Используемая в настоящей заявке "скорость выведения глюкозы" представляет собой скорость, с которой глюкоза уходит из крови. Обычно она определяется количеством глюкозы, вводимым при инфузии, которое требуется для поддержания устойчивого уровня глюкозы крови, обычно
 5 приблизительно 120 мг/дл в ходе исследования. Указанная скорость выведения глюкозы равна скорости инфузии глюкозы (сокращенно GIR).

Гипергликемия: Используемая в настоящей заявке "гипергликемия" является превышением нормальной концентрации глюкозы в крови, взятой натощак,
 10 обычно 126 мг/дл или выше. В некоторых исследованиях приступы гипергликемии определяли как концентрации глюкозы в крови, превышающие 280 мг/дл (15,6 мМ).

Гипогликемия: Используемая в настоящей заявке "гипогликемия" является снижением относительно нормальной концентрации глюкозы в крови, обычно
 15 менее 63 мг/дл (3,5 мМ). Клинически значимую гипогликемию определяют как концентрацию глюкозы в крови ниже 63 мг/дл или проявление у пациента таких симптомов, как гипотония, внезапное покраснение лица и слабость, которые являются признанными симптомами гипогликемии и которые исчезают при достаточном потреблении калорий. Тяжелую гипогликемию определяют как приступ
 20 гипогликемии, который требует инъекции глюкагона, вливания глюкозы или помощи каким-либо иным путем.

В близости: Используемый в настоящей заявке термин "в близости", применительно к пищи, относится к периоду, близкому к моменту начала потребления пищи или легкой закуски.

Микрочастицы: Используемый в настоящей заявке термин "микрочастицы" обычно включает частицы диаметром 0,5-100 микронов, и в особенности частицы диаметром менее 10 микронов. Различные варианты осуществления включают более конкретные диапазоны размеров. Микрочастицы могут представлять собой агрегаты
 30 кристаллических пластинок с неровными поверхностями и внутренними пустотами, что является обычным для частиц, получаемых путем pH-регулируемого осаждения DKP кислот. В таких вариантах осуществления активные вещества могут включаться в частицы в процессе осаждения или абсорбироваться на поверхности кристаллических микрочастиц. Микрочастицы также могут являться пустотелыми
 35 сферами или сжатыми пустотелыми сферами, состоящими из солей DKP и активного вещества, распределенного в них. Обычно такие частицы могут быть получены путем сушки при распылении раствора, содержащего DKP и активное вещество. Соль DKP в таких частицах может быть аморфной. Приведенные выше описания следует
 40 рассматривать как примеры. Данный термин предусматривает и охватывает также другие формы микрочастиц.

Ожирение: является патологическим состоянием, при котором в организме накапливается излишний жир до такой степени, что это может отрицательно повлиять на здоровье. Ожирение обычно оценивают по значению BMI (индекс массы тела),
 45 которое превышает 30 кг/м².

Периферическая ткань: Используемая в настоящей заявке "периферическая ткань" относится к любой соединительной или промежуточной ткани, которая связана с органом или сосудом.

Перипрандиальный: Используемый в настоящей заявке "перипрандиальный" относится к промежутку времени, который начинается незадолго до, и заканчивается вскоре после потребления пищи или легкой закуски.

Постпрандиальный: Используемый в настоящей заявке "постпрандиальный"

относится к промежутку времени после потребления пищи или легкой закуски. Используемый в настоящей заявке поздний постпрандиальный относится к промежутку времени через 3, 4 часа или более после потребления пищи или легкой закуски.

5 Потенцирование: В целом потенцирование относится к состоянию или действию, которое повышает эффективность или активность некоторого агента выше уровня, которого агент мог бы достичь в иных условиях. Аналогично он может относиться непосредственно к повышенному эффекту или активности. Используемое в настоящей
10 заявке "потенцирование", в частности, относится к способности повышенных концентраций инсулина в крови повышать эффективность последующих уровней инсулина, например, при повышении скорости выведения глюкозы.

Прандиальный: Используемый в настоящей заявке "прандиальный" относится к
15 потреблению пищи или закуски.

Преппрандиальный: Используемый в настоящей заявке "преппрандиальный" относится к промежутку времени перед потреблением пищи или закуски.

Пульмональная ингаляция: Используемая в настоящей заявке "пульмональная ингаляция" относится к введению фармацевтических препаратов посредством
20 ингаляции, при которой они достигают легких и в конкретных вариантах осуществления альвеолярных областей легкого. Обычно ингаляцию выполняют через рот, однако в альтернативных вариантах осуществления она может включать ингаляцию через нос.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

25 Раскрыт способ лечения заболевания или нарушения с применением системы доставки лекарственного средства, которая обеспечивает эффективную доставку активного вещества в легочное кровообращение, при этом активное вещество попадает в легочное кровообращение и может доставляться в терапевтическом
30 количестве в место (места) действия. Способы лечения заболевания или нарушений включают введение пациенту, испытывающему потребность в лечении, лекарственной формы, которая обеспечивает доставку активного вещества непосредственно в легочное кровообращение и таким образом в артериальное кровообращение, и может избегать деградации активного вещества, такого как пептиды, при воздействии
35 ферментов или других механизмов в локальных периферических и/или сосудистых тканях легких. В одном варианте осуществления способ включает эффективную терапевтическую доставку активных веществ с помощью системы доставки лекарственного средства, которая обеспечивает очень быструю абсорбцию активного
40 вещества в легочное кровообращение и повышает его эффективную биодоступность. В данном варианте осуществления с помощью указанного способа введения можно доставлять более низкие дозы активного вещества. В подобных вариантах осуществления можно достичь эффективных доз, которые невозможно было достичь
45 другими способами введения.

В вариантах осуществления в настоящей заявке описан способ лечения заболевания, включая эндокринные заболевания, такие как диабет, гипергликемию и ожирение. Авторы настоящего изобретения определили потребность в доставке лекарственных
50 средств непосредственно в системный кровоток, в частности артериальное русло, неинвазивным способом, чтобы лекарственное средство достигало целевого органа (органов) до возврата через венозную систему. Данный подход, как это ни парадоксально, может приводить к более высокому пиковому воздействию активных веществ на целевой орган, чем воздействие, обеспечиваемое при сопоставимом

введении внутривенным, подкожным или другим парентеральным путем. Подобное преимущество может быть получено и в сравнении с пероральным введением даже в случае лекарственных форм, обеспечивающих защиту от расщепления в пищеварительном тракте, поскольку после абсорбции активное вещество попадает в венозное кровообращение.

В одном варианте осуществления система доставки лекарственного средства может применяться с любым типом активного вещества, которое быстро метаболизируется и/или расщепляется при непосредственном контакте с локальными деструктивными ферментами или воздействию других деструктивных механизмов, например окисления, фосфорилирования или любой модификации белка или пептида, в периферической или сосудистой венозной ткани, которые встречаются при других путях введения, таких как пероральное, внутривенное, трансдермальное и подкожное введение. В данном варианте осуществления способ может включать стадию идентификации и отбора активного вещества, активность которого теряется вследствие метаболизации или расщепления при пероральном, подкожном или внутривенном введении. Например, из-за неустойчивости подкожная инъекция GLP-1 не приводит к накоплению эффективных уровней GLP-1 в крови. Это отличается от пептидов, таких как инсулин, который можно эффективно доставлять такими способами введения.

В определенных вариантах осуществления способ лечения заболевания или нарушения включает стадию подбора подходящего носителя для ингаляции и доставки активного вещества в альвеолы легких. В данном варианте осуществления носитель может быть связан с одним или несколькими активными веществами с формированием комплекса лекарственного соединения/носителя, который можно вводить в форме композиции, которая не подвергается быстрой деградации активного вещества в периферической и сосудистой венозной ткани легкого. В одном варианте осуществления носителем является дикетопиперазин.

Способ, описанный в настоящей заявке, может применяться для доставки многих типов активных веществ, включая биологические препараты. В конкретных вариантах осуществления в способе применяется система доставки лекарственного средства, которая эффективно и быстро доставляет терапевтическое количество активного вещества, включая пептидные гормоны, в артериальное русло. В одном варианте осуществления одно или более активных веществ включают, помимо прочих, пептиды, такие как глюкагоноподобный пептид 1 (GLP-1), белки, липокины, низкомолекулярные фармацевтические препараты, нуклеиновые кислоты и т.п., которые чувствительны к деградации или дезактивации; включение активного вещества в сухую порошковую композицию, включающую дикетопиперазин, и доставку активного вещества (веществ) в системный кровоток посредством пульмональной ингаляции с применением картриджа и ингалятора сухого порошка. В одном варианте осуществления способ включает отбор пептида, чувствительного к ферментам в локальной сосудистой или периферической ткани, например коже и легких. Настоящий способ позволяет активному веществу избегать или в меньшей степени подвергаться контакту с периферической тканью, венозным или печеночным метаболизмом/деградацией. В другом варианте осуществления для системной доставки активное вещество не должно иметь специфичных рецепторов в легких.

В дополнительных вариантах осуществления система доставки лекарственного средства также может применяться для доставки терапевтических пептидов или белков природного, рекомбинантного или синтетического происхождения, для лечения нарушений или заболеваний, включающих, помимо прочих, адипонектин,

холецистокинин (ССК), секретин, гастрин, глюкагон, мотилин, соматостатин, мозговой натрийуретический пептид (BNP), атриальный натрийуретический пептид (ANP), паратиреоидный гормон, родственный паратиреоидному гормону пептид (PTHrP), IGF-1, фактор, высвобождающий гормон роста (GHRF),
 5 гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМКСФ), антитела против IL-8, антагонисты IL-8, включая ABX-IL-8; антагонист рецептора предшественника бета-интегрина-4 (ITB4), энкефалины, ноцицептин, ноцистатин, орфанин FQ2, кальцитонин, CGRP, ангиотензин, вещество P, нейрокинин A,
 10 панкреатический полипептид, нейропептид Y, пептид дельта-сна, простагландины, включая PG-12, блокаторы рецептора LTB, включая LY29311, BPL 284, CP105696; вазоактивный интестинальный пептид; триптаны, такие как суматриптан, а также липокины, такие как C16:1n7 или пальмитолеат, или их аналоги. В еще одном варианте осуществления активное вещество является низкомолекулярным лекарственным
 15 соединением.

В одном варианте осуществления способ лечения направлен на лечение диабета, гипергликемии и/или ожирения с применением, например, лекарственных форм, включающих глюкагоноподобный пептид 1 (GLP-1), оксинтомодулин (OXN) или
 20 пептид YY (3-36) (PYY), по отдельности или в комбинации друг с другом, или в комбинации с одним или несколькими активными веществами. В одном варианте осуществления способ лечения включает введение лекарственной формы, которая не содержит GLP-1.

Инкретиновые гормоны GLP-1 и желудочный ингибиторный полипептид (GIP)
 25 вырабатываются эндокринными клетками кишечника после приема пищи. GLP-1 и GIP стимулируют секрецию инсулина в бета-клетках островков Лангерганса в поджелудочной железе. Только GLP-1 вызывает секрецию инсулина при диабете, однако сам по себе белок GLP-1 был неэффективен в качестве клинической терапии
 30 диабета при введении путем инъекции, поскольку он обладает крайне коротким временем полужизни *in vivo*. Эксенатид (БАЕТА®) представляет собой пептид длиной 39 аминокислот, является стимулятором секреции инсулина, вызывающим глюкорегуляторные эффекты, а также обладает 50% гомологии с аминокислотной
 35 последовательностью GLP-1 и более продолжительным временем полужизни *in vivo*. Эксенатид является синтетическим вариантом эксендина-4, гормона, обнаруженного в слюне ядозуба.

В примере осуществления способ лечения ожирения, диабета и/или гипергликемию включает введение пациенту, испытывающему потребность в лечении, сухой
 40 порошковой композиции или лекарственной формы, включающей GLP-1, который стимулирует быструю секрецию эндогенного инсулина из β -клеток поджелудочной железы, не вызывая нежелательных побочных эффектов, таких как повышенное потоотделение, тошнота и рвота. В одном варианте осуществления способ лечения заболевания может быть применен к пациенту, включающему млекопитающее,
 45 страдающее ожирением, сахарным диабетом II типа и/или гипергликемией, при дозировках GLP-1 в лекарственной форме в пределах от приблизительно 0,02 до приблизительно 3 мг в разовой дозе. Способ лечения гипергликемии, диабета и/или ожирения может быть разработан таким образом, чтобы пациент мог получать, по
 50 меньшей мере, одну дозу лекарственной формы GLP-1 в близости приема пищи. В данном варианте осуществления доза GLP-1 может быть выбрана в зависимости от потребностей пациента. В одном варианте осуществления пульмональное введение GLP-1 может включать дозу GLP-1 более 3 мг, например, при лечении

пациентов с диабетом II типа.

В вариантах осуществления изобретения лекарственную форму GLP-1 вводят с помощью ингаляции, например, пульмонального введения. В данном варианте осуществления пульмональное введение может осуществляться посредством

5 предоставления GLP-1 в сухой порошковой лекарственной форме для ингаляции. Сухая порошковая лекарственная форма представляет собой стабильную композицию и может включать микрочастицы, которые подходят для ингаляции и которые быстро распадаются в легком и быстро доставляют GLP-1 в легочное кровообращение.

10 Подходящие размеры частиц для пульмонального введения могут составлять менее 10 мкм в диаметре, и предпочтительно меньше 5 мкм. Примерные размеры частиц, которые могут достигать легочных альвеол, находятся в диапазоне от приблизительно 0,5 мкм до приблизительно 5,8 мкм в диаметре. Такие размеры относятся, в частности, к аэродинамическому диаметру, но часто также соответствуют

15 фактически физическому диаметру. Такие частицы могут достигать легочных капилляров и могут избегать существенного контакта с периферической тканью в легком. В данном варианте осуществления лекарственное средство может быть быстро доставлено в артериальное кровообращение, не подвергаясь деградации

20 активного компонента ферментами или другими механизмами до достижения его цели или участка действия в организме. В одном варианте осуществления сухие порошковые композиции для пульмональной ингаляции, включающие GLP-1 и FDKP, могут включать микрочастицы, где от приблизительно 35% до приблизительно 75% микрочастиц имеют аэродинамический диаметр меньше 5,8 мкм.

25 Способы доставки, представленные в различных вариантах осуществления настоящего изобретения, могут обеспечивать более прямой путь к месту действия активного вещества. Таким образом, в дополнение к предотвращению деградации, хотя в некоторых случаях все же отчасти из-за нее, биораспределение активного

30 вещества может отличаться от достигаемого при режимах доставки, которые включают абсорбцию и движение в системе венозного кровообращения перед достижением мест приложения действия в организме. Таким образом, при заборе проб венозной крови для анализа активной концентрации вещества может быть занижена концентрация активного вещества в месте приложения действия, при использовании

35 вариантов осуществления настоящего описания, и завышена, в сравнении, когда используются другие пути введения. Чем меньшей устойчивостью обладает активное вещество, тем сильнее проявляется указанный эффект. Для активных веществ, таких как GLP-1, с множеством эффектов и мест действия можно наблюдать другой

40 комплекс эффектов, поскольку относительные концентрации в различных местах действия будут отличаться от концентраций, достигаемых в случае применения других путей введения. Это может вносить дополнительный вклад в более высокую эффективную биодоступность, предотвращение побочных эффектов и т.п.

45 В одном варианте осуществления сухая порошковая лекарственная форма, предназначенная для применения в способах, включает частицы, включающие молекулу GLP-1 и дикетопиперазин или его фармацевтически приемлемую соль. В данном и других вариантах осуществления сухая порошковая композиция настоящего изобретения включает одну или более молекул GLP-1, выбранных из группы,

50 состоящей из нативного GLP-1, метаболита GLP-1, GLP-1 пролонгированного действия, производного GLP-1, миметика GLP-1, эксендина или их аналога. Аналоги GLP-1 включают, помимо прочего, GLP-1 слитые белки, например альбумин, связанный с GLP-1.

В примере осуществления способ включает введение пептидного гормона GLP-1 пациенту для лечения гипергликемии и/или диабета, а также ожирения. Способ включает введение пациенту, испытывающему потребность в лечении, эффективного количества ингаляционной композиции или лекарственной формы, включающей

5 сухую порошковую лекарственную форму, включающую GLP-1, который стимулирует быструю секрецию эндогенного инсулина из β -клеток поджелудочной железы, не вызывая нежелательных побочных эффектов, включающих повышенное потоотделение, тошноту и рвоту. В одном варианте осуществления способ лечения

10 заболевания может быть применен к пациенту, включая вскармливающее, страдающее сахарным диабетом II типа и/или гипергликемией, при дозировках GLP-1 в сухой порошковой лекарственной форме в пределах от приблизительно 0,01 мг до приблизительно 3 мг, или от приблизительно 0,2 мг до приблизительно 2 мг. В одном

15 варианте осуществления пациент или субъект, подвергаемый лечению, является человеком. GLP-1 можно вводить непосредственно перед приемом пищи (препрандиально), во время приема пищи (прандиально) и/или приблизительно через 15, 30 или 45 минут после приема пищи (постпрандиально). В одном варианте осуществления одна доза GLP-1 может быть введена непосредственно перед приемом

20 пищи, а другая доза может быть введена после приема пищи. В конкретном варианте осуществления от приблизительно 0,5 мг до приблизительно 1,5 мг GLP-1 может быть введено непосредственно перед приемом пищи, с последующим введением от 0,5 мг до приблизительно 1,5 мг приблизительно через 30 минут после приема пищи. В данном

25 варианте осуществления GLP-1 может быть включен в ингаляционные частицы, такие как дикетопиперазины, с или без фармацевтических носителей и наполнителей. В одном варианте осуществления пульмональное введение лекарственной формы GLP-1 может обеспечивать концентрации GLP-1 в плазме выше 100 пмоль/л, не вызывая у пациента нежелательных побочных эффектов, таких как повышенное потоотделение,

30 тошнота и рвота.

В другом варианте осуществления предлагается способ лечения пациента, включая человека с диабетом II типа и гипергликемией, включающий введение пациенту лекарственной формы GLP-1 для ингаляции, включающей GLP-1 в концентрации от

35 приблизительно 0,5 мг до приблизительно 3 мг в микрочастицах FDKP, где уровни глюкозы в крови пациента уменьшаются до основных концентраций глюкозы в плазме от 85 до 70 мг/дл в течение приблизительно 20 минут после введения указанной дозы, при этом у пациента не возникает тошнота или рвота. В одном варианте осуществления при пульмональном введении GLP-1 при концентрации более 0,5 мг в

40 лекарственной форме, включающей микрочастицы FDKP, не ингибируется эвакуация желудочного содержимого.

В одном варианте осуществления GLP-1 может быть введен либо самостоятельно, как активный компонент в композиции, либо вместе с ингибитором

45 дипептидилпептидазы (DPP-IV), таким как ситаглиптин или вилдаглиптин, или с одним или несколькими другими активными веществами. DPP-IV является повсеместно экспрессируемой сериновой протеазой, которая обладает постпролин или аланин пептидазной активностью, таким образом производя биологически неактивные пептиды в результате расщепления в N-концевой области после X-пролина или X-

50 аланина, где X обозначает любую аминокислоту. Поскольку и GLP-1 и GIP (глюкозозависимый инсулиотропный пептид) содержат остаток аланина в положении 2, они являются субстратами для DPP-IV. Ингибиторы DPP-IV представляют собой перорально вводимые лекарственные средства, которые

улучшают гликемический контроль, предотвращая быструю деградацию инкретиновых гормонов, что приводит таким образом к повышению постпрандиальных уровней биологически активных, интактных GLP-1 и GIP.

В данном варианте осуществления действие GLP-1 может быть дополнительно пролонгировано или усилено *in vivo*, если необходимо, с применением ингибиторов DPP-IV. Комбинированная терапия с применением GLP-1 и ингибитора DPP-IV для лечения гипергликемии и/или диабета учитывает снижение количества активного GLP-1, который может быть необходим, чтобы вызывать достаточный инсулиновый ответ в β -клетках пациента. В другом варианте осуществления GLP-1 можно объединить, например, с другими непептидными молекулами, такими как, например, метформин. В одном варианте осуществления ингибитор DPP-IV или другие молекулы, включая метформин, можно вводить посредством ингаляции в сухой порошковой лекарственной форме вместе с GLP-1, в единой лекарственной форме, или отдельно, в его собственной сухой порошковой лекарственной форме, которая может быть введена одновременно или перед введением GLP-1. В одном варианте осуществления ингибитор DPP-IV или другие молекулы, включая метформин, можно вводить другими путями введения, включая пероральный. В одном варианте осуществления ингибитор DPP-IV можно вводить пациенту в дозах в пределах от приблизительно 1 мг до приблизительно 100 мг, в зависимости от потребности пациента. Меньшая концентрация ингибитора DPP-IV может использоваться при совместном введении с GLP-1, или в случае присутствия в единой лекарственной форме. В данном варианте осуществления эффективность терапии GLP-1 может быть повышена при уменьшенных диапазонах дозы по сравнению с существующими лекарственными формами.

В вариантах осуществления, описанных в настоящей заявке, GLP-1 может быть введен во время еды (в близости к моменту приема пищи). В данном варианте осуществления воздействие GLP-1 может быть ограничено постпрандиальным периодом, таким образом, он не вызывает длительно действующие эффекты существующих терапий. В вариантах осуществления, в которых совместно вводят ингибитор DPP-IV, ингибитор DPP-IV можно вводить пациенту перед введением GLP-1 во время приема пищи. Количества вводимого ингибитора DPP-IV могут варьировать в пределах, например, от приблизительно 0,10 мг до приблизительно 100 мг, в зависимости от выбранного пути введения. В другом варианте осуществления одна или несколько доз GLP-1 могут быть введены после начала приема пищи, вместо или в дополнение к дозе, введенной в близости к моменту приема пищи. Например, одна или более доз могут быть введены через 15-120 минут после начала приема пищи, например через 30, 45, 60 или 90 минут.

В одном варианте осуществления система доставки лекарственного средства может применяться в способе лечения ожирения, с целью регуляции или уменьшения потребления пищи у животного, такого как млекопитающее. В данном варианте осуществления пациентам, испытывающим потребность в лечении или страдающим ожирением, вводят терапевтически эффективное количество композиции или лекарственной формы для ингаляции, включающей GLP-1, эксендин, оксинтомодулин, пептид YY (3-36) или их комбинации, или их аналоги, с или без дополнительных средств, подавляющих аппетит, известных в уровне техники. В данном варианте осуществления способ направлен на уменьшение потребления пищи, ингибирование приема пищи у пациента, снижение или подавление аппетита и/или регуляцию массы тела. В другом варианте осуществления композиция не включает GLP-1.

В одном варианте осуществления лекарственная форма для ингаляции включает сухую порошковую лекарственную форму, включающую вышеуказанный активный компонент и дикетопиперазин, включающий 2,5-дикето-3,6-ди(4-Х-аминобутил)пиперазин, в котором Х выбран из группы, состоящей из сукцинила, глутарила, малеила и фумарила, или соль дикетопиперазина. В данном варианте осуществления лекарственная форма для ингаляции может включать микрочастицы для ингаляции, включающие активный компонент и обладающие аэродинамическими свойствами, описанными выше. В одном варианте осуществления количество активного компонента может быть определено средним специалистом в данной области, впрочем, настоящие микрочастицы могут быть загружены различными количествами активного компонента, в зависимости от потребности пациента. Например, в случае оксинтомодулина микрочастицы могут включать от приблизительно 1% (масс/масс) до приблизительно 75% (масс/масс) активного компонента в лекарственной форме. В определенных вариантах осуществления лекарственные формы для ингаляции могут включать от приблизительно 10% (масс/масс) до приблизительно 30% (масс/масс) фармацевтической композиции, а также могут включать фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель, такой как поверхностно-активное вещество, например полисорбат 80. В данном варианте осуществления оксинтомодулин можно вводить пациенту от одного до приблизительно четырех раз в день или как необходимо пациенту, в дозах, находящихся в пределах от приблизительно 0,05 мг до приблизительно 5 мг в лекарственной форме. В конкретных вариантах осуществления доза, вводимая субъекту, может варьировать в пределах от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 3,0 мг оксинтомодулина. В одном варианте осуществления лекарственная форма для ингаляции может включать от приблизительно 50 пмоль до приблизительно 700 пмоль оксинтомодулина.

В вариантах осуществления, раскрытых в настоящей заявке, в которых в качестве активного компонента применяется РYУ, может быть приготовлена сухая порошковая лекарственная форма для пульмональной доставки, включающая от приблизительно 0,10 мг до приблизительно 3,0 мг РYУ в дозе. В определенных вариантах осуществления лекарственная форма может включать сухой порошок, включающий РYУ в количестве от приблизительно 1% до приблизительно 75% (масс/масс) пептида. В конкретных вариантах осуществления количество РYУ в лекарственной форме может составлять 5%, 10%, 15% или 20% (масс/масс), при этом дополнительно может быть включен дикетопиперазин. В одном варианте осуществления РYУ вводят в лекарственной форме, включающей дикетопиперазин, например FDKP или его соль, включая натриевые соли. В определенных вариантах осуществления РYУ можно вводить субъекту в дозированных формах, чтобы концентрации РYУ в плазме после введения составляли от приблизительно 4 пмоль/л до приблизительно 100 пмоль/л или от приблизительно 10 пмоль/л до приблизительно 50 пмоль/л. В другом варианте осуществления количество РYУ можно вводить, например, в количествах от приблизительно 0,01 мг до приблизительно 30 мг, или от приблизительно 5 мг до приблизительно 25 мг в лекарственной форме. Другие количества РYУ могут быть определены как описано, например, в статье Savage et al. Gut 1987 Feb;28(2):166-70; которая включена в настоящую заявку путем отсылки. Лекарственную форму, содержащую РYУ и/или аналог, или оксинтомодулин и/или аналог, можно вводить субъекту препрандиально, прандиально, перипрандиально или постпрандиально, или как необходимо, и в

зависимости от физиологического состояния пациента.

В одном варианте осуществления лекарственную форму, включающую активный компонент, можно вводить пациенту в сухой порошковой лекарственной форме посредством ингаляции, с применением ингалятора сухого порошка, такого как ингалятор, раскрытый, например, в патенте США 7305986 и заявке на патент США 10/655153 (US 2004/0182387), описания которых включены в настоящую заявку путем отсылки. Повторная ингаляция сухой порошковой лекарственной формы, включающей активный компонент, также может быть введена между приемами пищи и ежедневно, в соответствии с необходимостью. В некоторых вариантах осуществления лекарственную форму можно вводить один, два, три или четыре раза в день.

В еще одном варианте осуществления способ лечения гипергликемии и/или диабета включает введение сухой порошковой композиции для ингаляции, включающей дикетопиперазин, имеющий формулу 2,5-дикето-3,6-ди(4-Х-аминобутил)пиперазин, в которой Х выбран из группы, состоящей из сукцинила, глутарила, малеила и фумарила. В данном варианте осуществления сухая порошковая композиция может включать соль дикетопиперазина. В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения предложена сухая порошковая композиция, в которой дикетопиперазин является 2,5-дикето-3,6-ди-(4-фумарил-аминобутил)пиперазином, с или без фармацевтически приемлемого носителя или наполнителя.

В определенных вариантах осуществления способ лечения может включать сухую порошковую лекарственную форму для ингаляции, включающую GLP-1, в которой молекула GLP-1 представляет собой молекулу нативного GLP-1 или амидированного GLP-1, где молекула амидированного GLP-1 является GLP-1(7-36) амидом, или их комбинации. В одном варианте осуществления GLP-1 может являться аналогом, таким как эксенатид.

В одном варианте осуществления пациенту вводят лекарственную форму GLP-1 для ингаляции в некотором диапазоне доз, где количество GLP-1 составляет от приблизительно 0,01 мг до приблизительно 3 мг, или от приблизительно 0,02 мг до приблизительно 2,5 мг, или от приблизительно 0,2 мг до приблизительно 2 мг лекарственной формы. В одном варианте осуществления пациенту с диабетом II типа может быть введена доза GLP-1, которая превышает 3 мг. В данном варианте осуществления GLP-1 может быть включен в лекарственную форму с ингаляционными частицами, такими как дикетопиперазины, с или без фармацевтических носителей и наполнителей. В одном варианте осуществления пульмональное введение лекарственной формы GLP-1 может создавать концентрации GLP-1 в плазме выше 100 пмоль/л, не вызывая у пациента нежелательных, неблагоприятных побочных эффектов, таких как повышенное потоотделение, тошнота и рвота.

В другом варианте осуществления GLP-1 можно вводить вместе с инсулином в качестве комбинированной терапии и прандиально, с целью лечения гипергликемии и/или диабета, например сахарного диабета II типа. В данном варианте осуществления GLP-1 и инсулин могут быть включены в единую сухую порошковую лекарственную форму или введены пациенту по отдельности, в отдельных лекарственных формах. В одном варианте осуществления, в котором совместно вводят GLP-1 и инсулином, оба активных компонента могут быть включены в единую лекарственную форму, например GLP-1 и инсулин могут быть приготовлены в виде сухой порошковой лекарственной формы для ингаляции с применением дикетопиперазиновых частиц, как описано выше. В альтернативе GLP-1 и инсулин

могут быть включены в разные лекарственные формы, где каждая лекарственная форма предназначена для ингаляции и включает дикетопиперазиновую частицу. В одном варианте осуществления лекарственные формы GLP-1 и инсулина можно смешать вместе в виде их индивидуальных порошковых форм с целью требуемого дозирования перед введением. В данном варианте осуществления инсулин может представлять собой инсулин кратковременного, среднепродолжительного или пролонгированного действия и может быть введен прандиально.

В одном варианте осуществления для лечения диабета II типа с применением совместного введения GLP-1 и инсулина лекарственную форму GLP-1 для ингаляции можно вводить пациенту прандиально, одновременно или после введения ингаляционной лекарственной формы инсулина, например инсулина/FDKP. В данном варианте осуществления, при диабете II типа, GLP-1 может стимулировать секрецию инсулина из поджелудочной железы пациента, что может задерживать прогрессию заболевания, сохраняя функцию β -клеток (например, посредством стимуляции роста β -клеток), тогда как прандиально вводимый инсулин может использоваться в качестве заместительной инсулиновой терапии, которая воспроизводит нормальный ответ организма на пищу. В определенных вариантах осуществления комбинированной терапии лекарственную форму инсулина можно вводить другими путями введения. В данном варианте осуществления комбинированная терапия может эффективно снижать потребность в инсулине у пациента, поддерживая эугликемическое состояние. В одном варианте осуществления комбинированная терапия может быть применена у пациентов, страдающих ожирением и/или диабетом II типа, имеющих диабет в течение менее чем 10 лет и не достаточно хорошо контролирующую диету и физическую нагрузку или стимуляторы секреции. В одном варианте осуществления популяция пациентов, которым надлежит получать комбинированную терапию GLP-1 и инсулина, может характеризоваться наличием функции β -клеток, приблизительно на 25% превышающей функцию β -клеток у нормального, здорового человека, и/или резистентностью к инсулину менее чем приблизительно 8%, и/или может иметь нормальное опорожнение желудка. В одном варианте осуществления комбинированная терапия ингаляционными GLP-1 и инсулином может включать быстродействующий инсулин или инсулин пролонгированного действия, такой как инсулин глулизин (APIDRA[®]), инсулин лизпро (HUMALOG[®]) или инсулин аспарт (NOVOLOG[®]), или инсулин пролонгированного действия, такой как инсулин детемир (LEVEMIR[®]) или инсулин гларгин (LANTUS[®]), которые можно вводить в форме порошка для ингаляции, также включающего FDKP, или другими путями введения.

В другом варианте осуществления комбинированная терапия для лечения диабета II типа может включать введение пациенту, испытывающему потребность в лечении, эффективного количества лекарственной формы инсулина для ингаляции, включающей инсулин и дикетопиперазин, в которой инсулин может являться нативным пептидом инсулина, рекомбинантным пептидом инсулина, и дополнительное введение пациенту аналога инсулина пролонгированного действия, который можно вводить ингаляцией в лекарственной форме, включающей дикетопиперазин, или другим путем введения, например подкожной инъекцией. Способ может дополнительно включать стадию введения пациенту эффективного количества ингибитора DPP-IV. В одном варианте осуществления способ может включать введение пациенту, испытывающему потребность в лечении, лекарственной формы, включающей молекулу инсулина быстрого действия или пролонгированного

действия, а также дикетопиперазин, в комбинации с лекарственной формой, включающей GLP-1 пролонгированного действия, которые можно вводить отдельно и/или последовательно. Терапия GLP-1 для лечения диабета, в частности диабета II типа, может являться эффективной, поскольку введение одного GLP-1 в сухой

5 порошковой лекарственной форме для ингаляции, или в комбинации с инсулиновой или неинсулиновой терапией, могут снизить риск гипогликемии.

В другом варианте осуществления для лечения диабета лекарственную форму, содержащую GLP-1 быстрого действия и дикетопиперазин, можно вводить в

10 комбинации с GLP-1 пролонгированного действия, таким как эксендин, которые могут быть введены пульмональной ингаляцией. В данном варианте осуществления пациенту, страдающему диабетом, например диабетом II типа, прандиально можно вводить эффективное количество лекарственной формы для ингаляции, включающей GLP-1, с целью стимуляции секреции инсулина, при этом

15 последовательно или через некоторое время после приема пищи, например через приблизительно 45 минут после этого, вводят дозу эксендина-4. Введение GLP-1 для ингаляции может предотвратить прогрессию заболевания, сохраняя функцию β -клеток, тогда как эксендин-4 можно вводить два раза в день, с интервалом

20 приблизительно 10 часов, что может обеспечить базальные уровни GLP-1, которые могут воспроизводить нормальную физиологию инкретиновой системы у пациента. Как быстродействующий GLP-1, так и GLP-1 пролонгированного действия могут быть введены в отдельных лекарственных формах для ингаляции. В альтернативе GLP-1 пролонгированного действия можно вводить другими путями введения, включая,

25 например, трансдермальный, внутривенный или подкожный пути. В одном варианте осуществления прандиальное введение комбинации GLP-1 кратковременного действия и пролонгированного действия может привести к повышению секреции инсулина, более интенсивной супрессии глюкагона и более длительной задержке эвакуации

30 желудочного содержимого по сравнению с введением одного GLP-1 пролонгированного действия. Вводимое количество GLP-1 пролонгированного действия может изменяться в зависимости от пути введения. Например, в случае пульмональной доставки GLP-1 пролонгированного действия можно вводить в дозах от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 1 мг на введение, непосредственно перед

35 приемом пищи или во время приема пищи, в зависимости от формы GLP-1, вводимой пациенту.

В одном варианте осуществления настоящий способ может быть применен для лечения ожирения. Терапевтически эффективное количество лекарственной

40 формы GLP-1 для ингаляции можно вводить пациенту, испытывающему потребность в лечении, где сухая порошковая лекарственная форма GLP-1 для ингаляции включает GLP-1 и дикетопиперазин, как описано выше. В данном варианте осуществления для лечения ожирения лекарственную форму GLP-1 для ингаляции можно вводить одну или в комбинации с одним или несколькими эндокринными

45 гормонами и/или средствами против ожирения. Примеры эндокринных гормонов и/или средств против ожирения включают, помимо прочего, пептид YY, оксинтомодулин, амилин, аналоги амилина, такие как прамлинтида ацетат, и т.п. В одном варианте осуществления средства против ожирения можно вводить в единой

50 лекарственной форме, в сухой порошковой композиции для ингаляции, отдельно или в комбинации с GLP-1, или в отдельных сухих порошковых композициях для ингаляции. В альтернативе, в комбинации GLP-1 с одним или несколькими средствами против ожирения, или средствами, которые могут вызывать насыщение,

лекарственную форму GLP-1 можно вводить в сухой порошковой лекарственной форме, а средство против ожирения можно вводить альтернативным путем введения. В данном варианте осуществления ингибитор DPP-IV можно вводить с целью увеличения или стабилизации доставки GLP-1 в легочное артериальное кровообращение. В другом варианте осуществления ингибитор DPP-IV можно вводить в комбинации с лекарственной формой инсулина, включающей дикетопиперазин. В данном варианте осуществления ингибитор DPP-IV может быть включен в лекарственную форму в дикетопиперазине для ингаляции, или он может быть введен в другой лекарственной форме, предназначенной для других путей введения, таких как подкожная инъекция или пероральное введение.

В варианте осуществления предлагается набор для лечения диабета и/или гипергликемии, который включает картридж с лекарственным средством для ингаляции, включающий лекарственную форму GLP-1, а также устройство для ингаляции, которое служит для установки или надежной фиксации картриджа. В данном варианте осуществления набор может дополнительно включать ингибитор DPP-IV, включенный в единую лекарственную форму с GLP-1 или в отдельную лекарственную форму для ингаляции или перорального введения, как описано выше. В модификации данного варианта осуществления набор не включает устройство для ингаляции, которое может предоставляться отдельно.

В одном варианте осуществления настоящая комбинированная терапия с применением системы доставки лекарственного средства может применяться для лечения метаболических нарушений или синдромов. В данном варианте осуществления лекарственная форма, предназначенная для доставки лекарственного средства, может включать лекарственную форму, включающую дикетопиперазин и активное вещество, включающее GLP-1 и/или GLP-1 пролонгированного действия, отдельно или в комбинации с одним или несколькими активными веществами, такими как ингибитор DPP-IV и эксендин, направленную на лечение метаболического синдрома. В данном варианте осуществления, по меньшей мере, одно из активных веществ, вводимых субъекту, испытывающему потребность в лечении, который может проявлять резистентность к инсулину, можно вводить посредством пульмональной ингаляции.

В другом варианте осуществления пульмональное введение сухой порошковой лекарственной формы для ингаляции, включающей GLP-1 и дикетопиперазин, может применяться в качестве средства диагностики для диагностики уровня или степени прогрессии диабета II типа у пациента, пораженного диабетом, с целью определения конкретной схемы лечения, подходящей для пациента, подвергаемого лечению. В данном варианте осуществления способ диагностики уровня прогрессии диабета у пациента с выявленным диабетом включает введение пациенту установленного количества сухой порошковой лекарственной формы для ингаляции, включающей GLP-1 и дикетопиперазин, и измерение эндогенной продукции инсулина или ответа. Введение сухой порошковой лекарственной формы для ингаляции, включающей GLP-1, может повторяться с заданными количествами GLP-1 до тех пор, пока для данного пациента не будут получены соответствующие уровни инсулинового ответа, с целью определения необходимой схемы лечения, требуемой для пациента. В данном варианте осуществления, если инсулиновый ответ пациента недостаточен, пациенту может потребоваться альтернативная терапия. Пациенты, чувствительные или восприимчивые к инсулину, в качестве терапии могут получать лекарственную форму GLP-1, включающую дикетопиперазин. Таким путем установленное

количество GLP-1 можно вводить пациенту с целью достижения приемлемого ответа инсулина, чтобы избежать гипогликемии. В данном и других вариантах осуществления GLP-1 может вызывать быстрое выделение эндогенного инсулина, которое воспроизводит нормальную физиологию выделения инсулина.

В одном варианте осуществления настоящая система доставки лекарственного средства может применяться для лечения метаболических нарушений или синдромов. В данном варианте осуществления лекарственная форма для доставки лекарственного средства может включать лекарственную форму, включающую дикетопиперазин и активное вещество, включающее GLP-1 и/или GLP-1 пролонгированного действия, отдельно или в комбинации с одним или несколькими активными веществами, такими как ингибитор DPP-IV и эксендин, направленную на лечение метаболического синдрома. В данном варианте осуществления, по меньшей мере, одно из активных веществ, вводимых субъекту, испытывающему потребность в лечении, который может проявлять резистентность к инсулину, можно вводить посредством пульмональной ингаляции. В другом варианте осуществления лекарственная форма не включает GLP-1.

ПРИМЕРЫ

Следующие примеры включены с целью демонстрации некоторых вариантов осуществления изобретения. Специалистам, квалифицированным в данной области, должно быть очевидным, что методики, раскрытые в примерах, проясняют репрезентативные методики, которые достаточно эффективны при осуществлении настоящего изобретения. Впрочем, специалистам в данной области, с учетом настоящего описания следует понимать, что множество изменений может быть внесено в определенные варианты осуществления, которые раскрыты и все же обеспечивают подобный или аналогичный результат, без отступления от сущности и объема изобретения.

ПРИМЕР 1

Введение здоровым взрослым мужчинам GLP-1 в форме сухого порошка для ингаляции

GLP-1, как было показано, регулирует повышенный уровень глюкозы в крови в людей при внутривенной (iv) или подкожной (sc) инфузии или множественных подкожных инъекциях. Из-за чрезвычайно короткого времени полужизни гормона для достижения клинической эффективности потребовалась бы непрерывная подкожная инфузия или множественные ежедневные подкожные инъекции. Ни один из указанных путей не пригоден для длительного клинического применения. Заявители в экспериментах на животных обнаружили, что при введении GLP-1 посредством ингаляции могут быть достигнуты терапевтические уровни. Результаты указанных исследований можно найти, например, в заявке на патент США 11/735,957, описание которой включено в настоящую заявку путем отсылки.

У здоровых людей некоторые из функций GLP-1, включая снижение опорожнения желудка, повышение насыщения и подавление неадекватной секреции глюкагона, по-видимому, связаны с импульсом выделения GLP-1 в начале приема пищи. Дополняя указанный ранний выброс GLP-1 лекарственной формой GLP-1 и 2,5-дикето-3,6-ди(4-фумарил-аминобутил)пиперазином (FDKP) в форме порошка для ингаляции, у животных с диабетом может быть индуцирован фармакодинамический ответ, включающий выработку эндогенного инсулина, снижение уровней глюкагона и глюкозы. Кроме того, поздний выброс нативного GLP-1, связанный с увеличенной секрецией инсулина, можно воспроизвести посредством постприандального введения

порошка GLP-1/FDKP для ингаляции.

I фазу клинических испытаний порошка GLP-1/FDKP для ингаляции разработали с целью оценки безопасности и переносимости выбранных доз нового, ингаляционного терапевтического продукта для гликемического контроля, впервые вводимого субъектам - людям. Порошок GLP-1/FDKP для ингаляции вводили с применением ингаляционного устройства MedTone[®], протестированного ранее. Эксперименты были разработаны с целью определения безопасности и переносимости различных доз порошка GLP-1/FDKP для ингаляции при пульмональной ингаляции. Дозы были отобраны для применения человеком на основе результатов исследований безопасности на животных, полученных в неклинических исследованиях на крысах и приматах, с использованием GLP-1/FDKP, вводимого ингаляцией, как описано в заявке на патент США 11/735957, которая включена в настоящую заявку путем отсылки.

Двадцать шесть субъектов включили в 5 групп, получив до 4 оцениваемых субъектов в каждой из групп 1 и 2, и до 6 оцениваемых субъектов в каждой из групп 3-5, которые удовлетворяли квалификационным критериям и составляли исследование. Каждый субъект получал разовую дозу GLP-1 в форме порошка GLP-1/FDKP для ингаляции при следующих уровнях дозы: группа 1: 0,05 мг; группа 2: 0,45 мг; группа 3: 0,75 мг; группа 4: 1,05 мг и группа 5: 1,5 мг GLP-1. Лиц, прекративших наблюдение, не заменяли. Указанные дозировки приведены в расчете на массу тела 70 кг. Средние специалисты в данной области могут определить дополнительные уровни дозировки на основе исследований, описанных в настоящей заявке.

В данных экспериментах определяли безопасность и переносимость возрастающих доз порошка GLP-1/FDKP для ингаляции у здоровых взрослых субъектов мужчин. Переносимость возрастающих доз порошка GLP-1/FDKP для ингаляции определяли посредством контроля фармакологических или побочных эффектов в отношении переменных параметров, включающих зарегистрированные нежелательные явления (АЕ), основные показатели жизнедеятельности, физикальные исследования, клинические лабораторные тесты и электрокардиограммы (ЭКГ).

Также оценивали дополнительную безопасность при пульмональном введении и фармакокинетические параметры. Безопасность при пульмональном введении изучали по частоте проявления пульмональных и других нежелательных явлений и изменений в работе легких между Посещением 1 (скрининг) и Посещением 3 (Продолжение наблюдения). Фармакокинетические параметры (ПК) GLP-1 в плазме и фумарилдикетопиперазина (FDKP) в сыворотке после введения дозы порошка GLP-1/FDKP для ингаляции измеряли как $AUC_{0-120 \text{ мин}}$ GLP-1 плазмы и $AUC_{0-480 \text{ мин}}$ FDKP сыворотки. Дополнительные параметры ПК GLP-1 плазмы включали время достижения максимальной концентрации GLP-1 в плазме, $T_{\max}$ GLP-1 в плазме; максимальную концентрацию GLP-1 в плазме, $C_{\max}$ GLP-1 в плазме, и полупериод достижения максимальной концентрации GLP-1 в плазме, $T_{1/2}$ GLP-1 в плазме. Дополнительные параметры ПК FDKP сыворотки включали $T_{\max}$ FDKP в сыворотке, $C_{\max}$ FDKP в сыворотке и $T_{1/2}$ FDKP в сыворотке. Ожидаемые результаты клинического испытания были основаны на сравнении следующих фармакологических параметров и параметров безопасности, определенных в популяции испытуемых субъектов.

Первичные результаты включали частоту проявления и тяжесть зарегистрированных АЕ, включающих кашель и одышку, тошноту и/или рвоту, а также изменения в скрининге основных показателей жизнедеятельности, клинических лабораторных тестов и физикальных исследований. Вторичные результаты включали фармакокинетическое распределение GLP-1 плазмы и FDKP сыворотки (AUC_{0-120}

мин GLP-1 плазмы и $AUC_{0-480 \text{ мин}}$ FDKP сыворотки), GLP-1 в плазме ($T_{\max}$ GLP-1 плазмы, $C_{\max}$ GLP-1 плазмы, $T_{1/2}$ GLP-1 плазмы); FDKP в сыворотке ($T_{\max}$ FDKP сыворотки, $C_{\max}$ FDKP сыворотки); тесты работы легких (PFT) и ЭКГ.

Клиническое испытание состояло из 3 посещений клиники: 1) Одного посещения для скрининга (Посещение 1); 2) Одного посещения для лечения (Посещение 2) и 3) Одного последующего контрольного визита (Посещение 3), через 8-14 дней после Посещения 2. При Посещении 2 вводили разовую дозу порошка GLP-1/FDKP для ингаляции.

Оценивали пять доз порошка GLP-1/FDKP для ингаляции (0,05, 0,45, 0,75, 1,05 и 1,5 мг GLP-1). Для регулирования всех доз лекарственную форму GLP-1/FDKP смешивали с ингаляционным порошком FDKP, содержащим частицы без активного вещества. Картриджи разовой дозы, содержащие 10 мг сухого порошка, состоящего из ингаляционного порошка GLP-1/FDKP (15% масс/масс GLP-1/FDKP) как такового, или смешанного с необходимым количеством ингаляционного порошка FDKP, использовали для получения требуемой дозы GLP-1 (0,05 мг, 0,45 мг, 0,75 мг, 1,05 мг и 1,5 мг). Первые 2 наиболее низких уровня дозы оценивали в 2 группах по 4 субъекта в каждой, а 3 более высоких уровня дозы оценивали в 3 группах по 6 субъектов в каждой. Каждый субъект получал только 1 дозу в 1 из 5 оцениваемых уровней дозы. В дополнение к забору крови на анализ GLP-1 (активный и общий) и FDKP забирали образцы на анализ глюкагона, глюкозы, инсулина и С-пептида.

Результаты данных экспериментов описаны со ссылкой на следующие фигуры и таблицы.

На Фиг. 1 показана концентрация в плазме активного GLP-1 в группе 5 после пульмонального введения дозы 1,5 мг GLP-1. Данные показали, что пиковая концентрация GLP-1 наблюдалась перед первой точкой отбора пробы через 3 мин, что весьма сходно с внутривенным (IV) болюсным введением. Концентрации GLP-1 в плазме у некоторых субъектов превышали 500 пмоль/л - предел анализа. Пиковые концентрации активного GLP-1 в плазме варьировали в пределах от приблизительно 150 пмоль/л до приблизительно 500 пмоль/л. Внутривенное болюсное введение GLP-1, как описано в литературе (Vilsboll et al. 2000), приводит к отношениям общего:активного GLP-1 порядка 3,0-5,0 по сравнению с отношением 1,5 в группе 5 данного исследования. При сопоставимых активных концентрациях пики метаболита после внутривенного введения в 8-9 раз превышали пики при пульмональном введении, что указывает на то, что пульмональная доставка приводит к быстрой доставке и меньшей деградации GLP-1.

Таблица 1

Параметр*	Терапия				
	0,05 мг (n=4)	0,45 мг (n=4)	0,75 мг (n=6)	1,05 мг (n=6)	1,5 мг (n=6)
GLP-1 ^a					
AUC_{0-120} (мин*пмоль/л)	НД	n=1 355,33	n=6 880,12 (195,656)	n=4 1377,88 (634,054)	n=4 AULQ
$C_{\max}$ (пмоль/л)	n=4 2,828 (2,4507)	n=4 24,630 (8,7291)	n=6 81,172 (63,3601)	n=6 147,613 (122,7014)	n=6 310,700 (54,2431)
$t_{\max}$ (мин)	n=4 3,00 (3,00, 3,00)	n=4 3,00 (3,00, 4,02)	n=6 3,00 (3,00, 6,00)	n=6 3,00 (3,00, 4,98)	n=6 3,00 (3,00, 3,00)

	$T_{1/2}$ (мин)	n=1 6,1507	n=3 3,0018 (0,83511)	n=6 5,5000 (2,96928)	n=4 3,6489 (1,88281)	n=6 3,9410 (1,79028)
	FDKP					
5	AUC_{0-120} (мин*пмоль/л)				n=6 22169,2 (4766,858)	n=6 25594,7 (5923,689)
	C_{max} (пмоль/л)				n=6 184,21 (56,893)	n=6 210,36 (53,832)
10	t_{max} (мин)				n=6 4,50 (3,00, 25,02)	n=6 6,00 (3,00, 19,98)
	$T_{1/2}$ (мин)				n=6 126,71 (11,578)	n=6 123,82 (15,640)
15	* все параметры являются средними (SD), за исключением t_{max} , которое является средним (диапазон); AULQ - два или более субъекта в группе дозирования имели концентрации аналита в плазме, которые являлись AULQ; NA= фармакокинетический профиль не соответствовал требованиям для данного профиля из-за короткого времени отбора проб (20 мин); НД=параметр не мог быть вычислен из-за недостаточных данных для некоторых субъектов.					

У здоровых людей физиологические постпрандиальные венозные концентрации GLP-1 в плазме обычно варьируют в пределах 10-20 пмоль/л (Viltsboll et al. J. Clin. Endocr. & Metabolism. 88(6):2706-13, June 2003). Указанные уровни были достигнуты у некоторых субъектов в группе 2, которые получали 0,45 мг GLP-1. Более высокие дозы GLP-1 привели к существенно более высоким пиковым концентрациям GLP-1 в плазме, чем физиологические пиковые венозные концентрации. Однако поскольку время полужизни GLP-1 является коротким (приблизительно 1-2 мин), концентрации активного GLP-1 в плазме упали до физиологического диапазона через 9 мин после введения. Хотя пиковые концентрации намного превышали физиологические в венозном кровотоке, имеется свидетельство, что локальные концентрации GLP-1 могут быть намного выше, чем регистрируемые систематически.

В таблице 1 показан фармакокинетический профиль GLP-1 в лекарственной форме, включающей FDKP, данного исследования.

Фармакокинетические параметры FDKP также представлены в таблице 1 для групп 4 и 5. Другие группы не анализировали. Данные также показывают, что средняя концентрация FDKP в плазме для субъектов, получавших 1,05 мг и 1,5 мг GLP-1, составляла приблизительно 184 и 211 пмоль/л соответственно. Максимальные концентрации FDKP в плазме были достигнуты приблизительно через 4,5 и 6 мин после введения соответствующей дозы со временем полужизни, составившим приблизительно 2 часа (127 и 123 мин).

На Фиг. 2А показаны средние концентрации инсулина у субъектов, получавших сухую порошковую лекарственную форму GLP-1 для ингаляции в дозе 1,5 мг. Данные показывают, что 1,5 мг доза GLP-1 вызывала эндогенную секрецию инсулина в β -клетках, так как концентрации инсулина были обнаружены у всех субъектов, при этом средние пиковые концентрации инсулина порядка 380 пмоль/л наблюдали через 6 мин после введения дозы или раньше. Высвобождение инсулина было быстрым, но не длительным, так как концентрация инсулина в плазме быстро упала после начального ответа на GLP-1. На Фиг. 2В показана концентрация в плазме GLP-1 у субъектов, получавших GLP в дозе 1,5 мг, вводимый пульмональной ингаляцией, в сравнении с подкожным введением дозы GLP-1. Данные показывают, что пульмональное введение GLP-1 происходит относительно быстро, а пиковая концентрация GLP-1 в плазме появляется быстрее, чем при подкожном введении. Кроме того, пульмональная

ингаляция GLP-1 приводит к концентрациям GLP-1 в плазме, которые возвращаются к базальным уровням намного быстрее, чем при подкожном введении. Таким образом, время воздействия на пациента GLP-1, вводимого посредством пульмональной ингаляции с применением настоящей системы доставки лекарственного средства, является более коротким, чем при подкожном введении, а общее воздействие GLP-1, при измерении по AUC, для ингаляционного инсулина - меньше. На Фиг. 2С показано, что пульмональное введение сухой порошковой лекарственной формы GLP-1 вызывает ответ инсулина, который подобен ответу, полученному после внутривенного введения GLP-1, но при этом отличается по времени пика и количеству вырабатываемого эндогенного инсулина от соответствующих показателей при подкожном введении GLP-1, что указывает на то, что пульмональное введение GLP-1 с применением настоящей лекарственной формы более эффективно при стимулировании инсулинового ответа.

На Фиг. 3 показаны концентрации С-пептида в плазме у субъектов, получавших сухую порошковую лекарственную форму для ингаляции, содержащую GLP-1 в дозе 1,5 мг, измеренные в различные моменты времени после ингаляции. Данные демонстрируют, что С-пептид секретируется после ингаляции GLP-1, что подтверждало эндогенное выделение инсулина.

На Фиг. 4 показаны основные концентрации глюкозы в плазме у субъектов (натошак), получавших лекарственную форму GLP-1, содержащую GLP-1. Средние основные концентрации глюкозы (FPG) в плазме составляли приблизительно 4,7 ммоль/л для субъектов, получавших 1,5 мг GLP-1. Опосредованная GLP-1 секреция инсулина является глюкозозависимой. Гипогликемию у субъектов с эугликемией никогда не регистрировали. В настоящем эксперименте данные четко показывают, что концентрации глюкозы у указанных здоровых субъектов с эугликемией падали после пульмонального введения GLP-1. При дозе GLP-1 1,5 мг у двух из шести субъектов GLP-1 понижал концентрации глюкозы до уровня ниже 3,5 ммоль/л, лабораторного значения, которое определяет гипогликемию. Глюкоза в плазме уменьшалась больше чем на 1,5 ммоль/л у двух из шести субъектов, которые получали GLP-1 в дозе 1,5 мг. Кроме того, уменьшения глюкозы в плазме коррелировали с дозой GLP-1. Наименьшее уменьшение концентрации глюкозы отмечали при дозе 0,05 мг, а наибольшее уменьшение отмечали при дозе 1,5 мг. Три промежуточные дозы GLP-1 вызвали примерно равное уменьшение глюкозы в плазме. Данные указывают, что глюкозозависимость GLP-1 была преодолена при концентрациях GLP-1 выше физиологического диапазона. Физиологические диапазоны для GLP-1(7-36)амида у нормальных людей, как сообщалось, находились в диапазоне 5-10 пмоль/л натощак и быстро увеличивались после еды до 15-50 пмоль/л (Drucker, D. and Nauck, M. The Lancet 368:1696-1705, 2006).

На Фиг. 5 также показаны концентрации инсулина в плазме после пульмонального введения GLP-1, которые являются дозозависимыми. У большинства субъектов секреция инсулина не была продолжительной, так как концентрация инсулина в плазме быстро упала после начального ответа на введение GLP-1. У большинства субъектов пиковый ответ инсулина в плазме варьировал от 200-400 пмоль/л, а у одного субъекта наблюдали пиковый уровень инсулина в плазме, превысивший 700 пмоль/л. Таким образом, данные указывают, что ответ инсулина зависит от дозы GLP-1.

На Фиг. 6 показаны концентрации глюкагона в плазме после пульмонального введения GLP-1 в различных группах дозирования. Базовые уровни глюкагона

варьировали от 13,2 пмоль/л до 18,2 пмоль/л в различных группах дозирования. Максимальное изменение в глюкагоне плазмы отмечали через 12 мин после введения доз. Наибольшее уменьшение глюкагона в плазме составило приблизительно 2,5 пмоль/л, и было отмечено в группе дозирования при 1,5 мг. Максимальное подавление секреции глюкагона возможно было недооценено, поскольку минимумы не всегда наблюдали при 12 мин.

В таблицах 2 и 3 описаны симптомы нежелательных явлений или побочных эффектов, зарегистрированных для популяции пациентов в исследовании. Список нежелательных явлений, о которых сообщалось в литературе для GLP-1, вводимого инъекцией, не велик, а подтвержденные явления описывали как мягкие или умеренные и переносимые. Первичные описанные нежелательные явления включали повышенное потоотделение, тошноту и рвоту, когда концентрации активного GLP-1 превышали 100 пмоль/л. Как показано в таблицах 1 и 3, а также на Фиг. 1, пульмональное введение в дозах 1,05 мг и 1,5 мг приводило к активным концентрациям GLP-1, которые значительно превышали 100 пмоль/л, без побочных эффектов, обычно наблюдаемых при парентеральном введении (подкожном, внутривенном [болюсном или инфузионном]) GLP-1. Ни один из субъектов в данном исследовании не сообщал о симптомах тошноты, повышенного потоотделения или рвоты. Субъекты в Группе 5 достигали C_{max} , сопоставимой с наблюдаемой при в/в болюсном введении в дозе 50 мкг/кг (по данным Vilsboll et al. 2000), при которой большинство субъектов сообщили о существенных нежелательных явлениях.

Таблица 2 Нежелательные явления					
Нежелательное явление	0,05 мг (n=4)	0,45 мг (n=4)	0,75 мг (n=6)	1,05 мг (n=6)	1,5 мг (n=6)
Кашель	3	1	3	5	5
Дисфория	2	-	2	3	3
Влажный кашель	-	-	1	-	-
Раздражение горла	-	-	-	1	-
Головная боль	1	1	-	1	1
Головокружение	-	-	-	-	2
Дисгевзия	-	-	1	-	-
Усталость	-	-	1	1	1
Сезонная аллергия	-	-	-	1	-
Ринит	-	-	-	1	-
Повышенный аппетит	-	-	-	-	1

Таблица 3 Сравнительные нежелательные явления GLP-1: в/в в сравнении с пульмональным введением			
Нежелательные явления	В/В [†] (16,7 мкг)	В/В ^{†*} (50 мкг)	Пульмональное [*] (1,5 мг)
Плохое самочувствие	42%	100%	17%
Тошнота	33%	83%	0%
Повышенное потоотделение	17%	67%	0%
*Vilsboll et al. Diabetes Care, June 2000; *Сопоставимая C_{max}			

В таблицах 2 и 3 показано, что каких-либо серьезных или тяжелых нежелательных явлений, о которых сообщали какие-либо субъекты в исследовании, которые получали GLP-1 путем пульмональной ингаляции, отмечено не было. Нежелательные явления, о которых обычно сообщали, были связаны с ингаляцией сухого порошка и включали кашель и раздражение горла. Неожиданно, у пациентов, подвергавшихся

пульмональной ингаляции, ни один субъект не сообщил о тошноте или дисфории, и ни у одного субъекта не отмечали рвоты. Авторы изобретения также обнаружили, что

пульмональное введение GLP-1 в сухой порошковой лекарственной форме не ингибирует опорожнение желудка у вышеуказанных субъектов (данные не показаны).

Ингибирование опорожнения желудка представляет собой распространенный

нежелательный побочный эффект, связанный со стандартными лекарственными формами GLP-1, вводимыми инъекцией.

В итоге клинический порошок GLP-1/FDKP содержал до 15% по весу GLP-1, обеспечивая максимальную дозу GLP-1 1,5 мг в 10 мг порошка. Измерения размера частиц с помощью каскадного импактора Андерсена показали, что 35-70% частиц имели аэродинамические диаметры <5,8 мкм. Доза GLP-1 1,5 мг давала средние пиковые концентрации >300 пмоль/л активного GLP-1 в первой точке отбора проб (3 мин), приводя к средним пиковым концентрациям инсулина 375 пмоль/л в первой

точке измерения (6 мин), уменьшенному среднему основному уровню глюкоза в плазме от 85 до 70 мг/дл через 20 мин после введения дозы, а также хорошо переносилась и не вызывала тошноту или рвоту.

ПРИМЕР 2

Сравнение пульмонального введения GLP-1 и эксенатида, и подкожного введения эксенатида самцам крыс с диабетом и ожирением (крысы линии Zucker Diabetic Fatty)

Много усилий было затрачено на разработку аналогов GLP-1 с более продолжительным временем полужизни в кровотоке с целью обеспечения клинически пригодной терапии. Как показано в настоящей заявке, пульмональное введение GLP-1 также обеспечивает клинически значимую активность. Таким образом, интерес представляло сравнение двух указанных подходов.

Получение частиц FDKP

Фумарилдикетопиперазин (FDKP) и полисорбат 80 растворяли в водном растворе аммиака с получением раствора, содержащего 2,5% по весу FDKP и 0,05% по весу полисорбата 80. Затем раствор FDKP смешивали с раствором уксусной кислоты, содержащей полисорбат 80, с образованием частиц. Частицы промывали и концентрировали с помощью проточной фильтрации вдоль потока, получив приблизительно 11% твердых частиц по весу.

Приготовление стокового раствора GLP-1

10%-ный (по весу) стоковый раствор GLP-1 приготавливали на деионизованной воде, смешивая твердые частицы 60 мг GLP-1 (86,6% пептида) с 451 мг деионизованной воды. Затем добавляли приблизительно 8 мкл ледяной уксусной кислоты для растворения пептида.

Получение частиц GLP-1/FDKP

Порцию стоковой суспензии FDKP (1 г) (108 мг частиц) переносили в полипропиленовую пробирку объемом 2 мл. Нужное количество стокового раствора GLP-1 (таблица 1) добавляли к суспензии и осторожно смешивали.

Уровень pH суспензии доводили до pH 3,5-4,5, добавляя аликвоту по 1 мкл 50% (об/об) гидроксида аммония. Затем суспензию частиц GLP-1/FDKP гранулировали в жидком азоте и лиофилизировали. Сухие порошки анализировали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и нашли соответствующими теоретическим значениям.

Приготовление стокового раствора эксенатида

10%-ный (по весу) стоковый раствор эксендина приготавливали в 2%-ной (по весу) уксусной кислоте, смешивая 281 мг сухого эксендина (88,9% пептида) с 2219 мг 2%-

ной (по весу) уксусной кислоты.

Получение частиц эксенатида/FDKP

Часть стоковой суспензии частиц FDKP (1533 мг) (171 мг частиц) переносили в
 5 стеклянный флакон объемом 4 мл. Часть стокового раствора (304 мг) эксендина
 добавляли к суспензии и осторожно перемешивали. Уровень pH суспензии доводили
 до pH 3,7-4,5, добавляя аликвоты по 3-5 мкл 25% (об/об) гидроксида аммония. Затем
 суспензию частиц эксенатида/FDKP гранулировали в жидком азоте и
 лиофилизировали. Сухие порошки анализировали с помощью высокоэффективной
 10 жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и нашли соответствующими теоретическим
 значениям.

Оценка фармакокинетики и фармакодинамики на крысах

Самцов крыс линии Zucker Diabetic Fatty (ZDF) (5/группа) распределяли в одну из
 15 четырех тестируемых групп. Животным, не получавшим корм в течение ночи, вводили
 глюкозу (1 г/кг) внутривентриальной инъекцией непосредственно перед введением дозы
 тестируемого изделия. Животные в контрольной группе получали воздух путем
 пульмональной инсuffляции. Животные в Группе 1 получали эксенатид (0,3 мг) в
 растворе хлорида натрия (0,1 мл) подкожными инъекциями (п/к). Животные в
 20 Группе 2 получали 15% по весу эксенатид/FDKP (2 мг) путем пульмональной
 инсuffляции. Животные в Группе 3 получали 15% по весу GLP-1/FDKP (2 мг) путем
 пульмональной инсuffляции. Образцы крови забирали из хвоста перед введением
 дозы и через 15, 30, 45, 60, 90, 120, 240 и 480 мин после введения дозы. Собирали
 плазму. Определяли концентрации глюкозы в крови и GLP-1 в плазме или эксенатида в
 25 плазме.

Фармакокинетика эксенатида приведена на Фиг. 7А. Приведенные данные
 показали, что эксенатид быстро абсорбировался после вдвухания порошка
 эксенатида/FDKP. Биодоступность эксенатида при ингаляции составила 94% в
 30 сравнении с подкожной инъекцией. Это может указывать на то, что пульмональное
 введение особенно подходит для эксенатида. Время до максимального пика
 концентрации эксенатида в кровотоке (T_{max}) составило 30 мин у крыс, получавших
 эксенатид подкожно, в сравнении с <15 мин у крыс, получавших эксенатид
 ингаляцией. Указанное значение T_{max} было подобно T_{max} GLP-1/FDKP, вводимого
 35 инсuffляцией (данные не показаны).

Сравнительная фармакодинамика показана на Фиг. 8. Приведенные данные
 показали изменения уровня глюкозы в крови во всех четырех тестируемых группах.
 Отклонения глюкозы после теста на переносимость глюкозы были ниже у животных,
 40 получавших эксенатид/FDKP ингаляцией, чем у животных, получавших эксенатид п/к.
 Поскольку воздействие эксенатида был сопоставимо в обеих группах (Фиг. 7),
 полученные данные позволяют предположить, что более короткое время достижения
 максимума концентрации эксенатида в группе, получавшей эксенатид/FDKP,
 обеспечивало более эффективное регулирование глюкозы. Кроме того, отклонения
 45 глюкозы были сопоставимы у животных, получавших GLP-1/FDKP или
 эксенатид/FDKP. Полученные данные неожиданны, поскольку время полужизни
 эксенатида в кровотоке (89 мин) значительно превышает соответствующий
 показатель GLP-1 (15 мин). Действительно, эксенатид был разработан для
 50 максимального увеличения времени полужизни в кровотоке с целью повышения
 эффективности. Полученные данные позволяют предположить, что более длительное
 время полужизни эксенатида в кровотоке не дает какого-либо преимущества при
 устранении гипергликемии с помощью пульмонального введения. Кроме того,

пульмональное введение любой молекулы обеспечивает более эффективную регуляцию уровня глюкозы в крови, чем п/к эксенатид.

На Фиг. 7 показаны средние концентрации эксендина в плазме самцов крыс ZDF, получавших порошковую лекарственную форму эксендина-4/FDKP, вводимую
 5 пульмональной инсуффляцией, в сравнении с подкожно вводимым эксендином-4. Закрашенные квадраты обозначают ответ после пульмональной инсуффляции порошка эксендина-4/FDKP. Белые квадраты обозначают ответ после подкожного введения эксендина-4. Данные представлены как средние значения $\pm$ стандартное
 10 отклонение. Данные показывают, что у крыс, инсуфлированных порошками, обеспечивающими дозы GLP-1 0,12, 0,17 и 0,36 мг, максимальные концентрации GLP-1 в плазме (C_{max}) составили 2,3, 4,9 и 10,2 нМ, а воздействие (AUC) 57,1 нМ·мин, 92,6 нМ·мин и 227,9 нМ·мин соответственно (t_{max} =10 мин, $t_{1/2}$ =10 мин). В тесте на
 15 переносимость глюкозы, вводимой внутрибрюшинно, который проводили после ежедневного введения GLP-1 в дозе 0,3 мг в течение 4 дней, обработанные животные показали значительно более низкие концентрации глюкозы, чем в контрольной группе ($p<0,05$). Через 30 мин после провокации глюкоза выросла на 47% у
 20 контрольных животных, и лишь на 17% у обработанных животных.

На Фиг. 8 показано изменение уровня глюкозы в крови от базовой у самцов крыс ZDF, получавших воздушный контроль, либо порошок эксендина-4/FDKP, либо порошок GLP-1/FDKP, посредством пульмональной инсуффляции, в сравнении с
 25 подкожным вводимым эксендином-4 и эксендином-4, вводимым пульмональной инсуффляцией. Закрашенные ромбы обозначают ответ после пульмональной инсуффляции порошка эксендина-4/FDKP. Закрашенные круги обозначают ответ после подкожного введения эксендина-4. Закрашенные треугольники обозначают
 30 ответ после введения порошка GLP-1/FDKP. Закрашенные квадраты обозначают ответ после пульмональной инсуффляции воздуха. Белые квадраты обозначают ответ, полученный после инсуффляции крысам 2 мг GLP-1/FDKP, с последующим введением 2 мг порошка эксендина-4/FDKP, также инсуффляцией.

ПРИМЕР 3

Приготовление порошка оксинтомодулина/FDKP

Оксинтомодулин, также известный как глюкагон-37, представляет собой пептид,
 35 состоящий из 37 аминокислотных остатков. Пептид был произведен и получен от American Peptide Company, Inc. of Sunnyvale, CA. Частицы FDKP в суспензии смешивали с раствором оксинтомодулина, а затем мгновенно замораживали в виде гранул в жидком азоте и лиофилизировали с получением образцов порошков.

Приготовили шесть порошков с содержанием целевого пептида 5-30%. Фактическое
 40 содержание пептида, определенное с помощью ВЭЖХ, составило 4,4-28,5%. Аэродинамические свойства порошка с 10%-ным содержанием пептида анализировали с использованием каскадного столкновения.

Затем раствор FDKP смешивали с раствором уксусной кислоты, содержащим
 45 полисорбат 80, чтобы сформировать частицы. Частицы промывали и концентрировали с помощью проточной фильтрации вдоль потока, получив приблизительно 11% твердых частиц по весу.

Навеску суспензии частиц FDKP ($1885 \text{ мг} \times 11,14\% \text{ твердых частиц} = 210 \text{ мг}$
 50 частиц FDKP) переносили в прозрачный стеклянный флакон емкостью 4 мл. Флакон закрывали и перемешивали содержимое с использованием магнитной мешалки, чтобы предотвратить осаждение. Раствор оксинтомодулина (909 мг 10% пептида в 2%-ной по весу уксусной кислоте) добавляли во флакон и оставляли для перемешивания.

Конечное соотношение композиции составило приблизительно 30:70 оксинтомодулина:частиц FDKP. Суспензия оксинтомодулина/FDKP имела начальный pH 4,00, который доводили до pH 4,48, добавляя гидроксид аммония/воду 1:4 (об/об) порциями по 2-10 мкл. Суспензию по каплям добавляли в небольшую кристаллизационную чашку, содержащую жидкий азот. Чашку помещали в лиофилизатор и проводили лиофилизацию при 200 мТорр. Температуру полки поднимали с -45°C до 25°C с шагом 0,2°C/мин и затем поддерживали на уровне 25°C в течение приблизительно 10 часов. Полученный в результате порошок переносили в прозрачный стеклянный флакон емкостью 4 мл. Полный выход порошка после переноса во флакон составил 309 мг (103%). Образцы анализировали на содержание оксинтомодулина путем растворения препарата оксинтомодулина в растворе бикарбоната натрия и анализа с помощью жидкостной хроматографии высокого давления на хроматографической системе Waters 2695 с использованием в качестве подвижных фаз деионизованной воды с 0,1% трифторуксусной кислотой (ТФК) и ацетонитрила с 0,1% ТФК, с детекцией при длине волны 220 и 280 нм. Данные анализировали с использованием программы Waters Empower™.

Оценка фармакокинетики и фармакодинамики на крысах

Самцов крыс линии ZDF (10/группа) распределяли в одну из четырех групп. Животные в одной группе получали оксинтомодулин внутривенной инъекцией. Животные в других трех группах получали 5% порошок оксинтомодулина/FDKP (содержащий 0,15 мг оксинтомодулина), 15% порошок оксинтомодулина/FDKP (содержащий 0,45 мг оксинтомодулина) или 30% порошок оксинтомодулина/FDKP (содержащий 0,9 мг оксинтомодулина) путем пульмональной инсuffляции. Пробы крови забирали из хвоста перед введением дозы и в различные промежутки времени после введения дозы для измерения концентраций оксинтомодулина в плазме (Фиг. 9А). Потребление пищи также контролировали в различные промежутки времени после введения дозы оксинтомодулина (Фиг. 9В).

Фиг. 9А представляет собой сравнительный график концентраций оксинтомодулина в плазме после введения сухой порошковой лекарственной формы для ингаляции в различных количествах у самцов крыс линии ZDF и контрольных крыс, получавших оксинтомодулин внутривенной инъекцией. Приведенные данные показывают, что оксинтомодулин быстро абсорбировался после инсuffляции порошка оксинтомодулина/FDKP. Время до максимального пика концентрации оксинтомодулина в кровотоке (T_{max}) составило менее чем 15 мин у крыс, получавших оксинтомодулин ингаляцией. Данное исследование показывает, что после пульмонального введения время полужизни оксинтомодулина составляет от приблизительно 22 до приблизительно 25 мин.

Фиг. 9В представляет собой гистограмму, на которой показано общее потребление пищи у самцов крыс линии ZDF, получавших оксинтомодулин внутривенно или порошок оксинтомодулина/FDKP, вводимый пульмональной инсuffляцией, в сравнении с контрольными животными, получавшими поток воздуха. Данные показывают, что пульмональное введение оксинтомодулина/FDKP уменьшало потребление пищи в большей степени, чем внутривенное введение оксинтомодулина или воздушный контроль при разовом введении дозы.

В аналогичной серии экспериментов крысы получали поток воздуха в качестве контроля (Группа 1) или 30% порошок оксинтомодулина/FDKP путем пульмональной инсuffляции. Крысы, которым вводили ингаляционный порошок оксинтомодулина/FDKP, получали дозы 0,15 мг оксинтомодулина (в виде 0,5 мг

порошка оксинтомодулина/FDKP; Группа 2), либо 0,45 мг оксинтомодулина (в виде 1,5 мг порошка оксинтомодулина/FDKP, Группа 3), либо 0,9 мг оксинтомодулина (в виде 3 мг порошка оксинтомодулина/FDKP, Группа 4),
 5 приготовленного, как описано выше. Исследования проводили на крысах ZDF, не получавших корм в течение 24 часов перед началом эксперимента. Крысам давали корм после получения экспериментальной дозы. Крысам давали заданное количество корма, при этом количество корма, потребляемое крысами, регистрировали в различные промежутки времени после начала эксперимента. Сухую порошковую
 10 лекарственную форму оксинтомодулина/FDKP вводили крысам путем пульмональной инсуффляции, и после введения дозы регистрировали потребление пищи и производили забор образцов крови в различные моменты.

На Фиг. 10А и 10В показаны концентрации оксинтомодулина в кровотоке для всех тестируемых животных, а также изменения в потреблении пищи по сравнению с
 15 контролем соответственно. Крысы, получавшие оксинтомодулин, потребляли значительно меньше пищи, чем контрольные крысы, в течение 6 часов после введения дозы. Более высокие дозы оксинтомодулина, по-видимому, подавляли аппетит более существенно, чем более низкие дозы, что указывает на то, что подавление аппетита
 20 является дозозависимым, поскольку крысы, получавшие более высокую дозу, потребляли наименьшее количество пищи в течение всего времени измерения после введения дозы.

Максимальные концентрации оксинтомодулина в крови были обнаружены через 10-30 мин, при этом максимальная концентрация оксинтомодулина являлась
 25 дозозависимой, поскольку крысы, получавшие 1,5 мг оксинтомодулина, имели максимальную концентрацию в плазме 311 мкг/мл, а крысы, получавшие 3 мг оксинтомодулина, имели максимальную концентрацию в плазме 660 мкг/мл. Время полужизни ($t_{1/2}$) оксинтомодулина у крыс линии Спраг-Дули после введения путем
 30 пульмональной инсуффляции варьировало в пределах приблизительно 25-51 мин.

ПРИМЕР 4

Введение GLP-1 в форме сухого порошка для ингаляции пациентам с диабетом II типа

I фазу клинических испытаний порошка GLP-1/FDKP для ингаляции проводили на
 35 пациентах, страдающих сахарным диабетом II типа, с целью оценки уровней глюкозы у пациентов до и после введения сухой порошковой лекарственной формы GLP-1 посредством пульмональной ингаляции. Данные исследования проводили согласно Примеру 1 и как описано в настоящей заявке. Порошок GLP-1 для ингаляции
 40 приготовили, как описано в заявке на патент США 11/735,957, описание которой включено в настоящую заявку путем отсылки. Сухой порошок для ингаляции содержал 1,5 мг человеческого GLP-1(7-36)амида в картридже разовой дозы, содержащем в общей сложности 10 мг сухой порошковой лекарственной формы, содержащей FDKP. Для данного исследования 20 пациентов с диабетом II типа,
 45 включая взрослых мужчин и женщин в постменопаузе, воздерживались от приема пищи в течение ночи, а затем еще 4 часа после введения порошка GLP-1 для ингаляции. Сухую порошковую лекарственную форму вводили с применением ингалятора сухого порошка Medtone[®] (MannKind Corporation), описанного в заявке на патент
 50 США 10/655,153, описание которой полностью включено в настоящую заявку путем отсылки.

Пробы крови для анализа уровней глюкозы в сыворотке пациентов, получавших препарат, забирали за 30 мин до введения дозы, в момент введения дозы (время 0), и

приблизительно через 2, 4, 9, 15, 30, 45, 60, 90, 120 и 240 мин после введения GLP-1. Уровни глюкозы в сыворотке анализировали в каждом образце.

Фиг. 11 представляет собой график, на котором показаны результаты данных исследований и приведены значения глюкозы, полученные у шести пациентов (натошак) с диабетом II типа, после введения одной дозы сухой порошковой лекарственной формы для ингаляции, содержащей GLP-1, в различные промежутки времени. Значения глюкозы для всех шести пациентов снизились после введения GLP-1 и оставались пониженными, по меньшей мере, в течение 4 часов после введения, т.е. до завершения исследования.

Фиг. 12 представляет собой график, на котором показаны средние значения глюкозы в группе из шести пациентов с диабетом II типа, воздерживавшихся от приема пищи, значения глюкозы у которых показаны на Фиг. 11. На Фиг. 12 значения глюкозы выражены как среднее изменение уровней глюкозы с нулевого времени (момент введения дозы) для всех шести пациентов. На Фиг. 12 показано среднее снижение глюкозы приблизительно на 1 ммоль/л, что приблизительно эквивалентно от приблизительно 18 мг/дл до приблизительно 20 мг/дл, полученное через 30 мин. Данное среднее снижение уровней глюкозы длилось в течение 120 мин. Изменения были более существенными и более длительными у пациентов с более высоким базовым уровнем глюкозы, тогда как у 2 из 6 пациентов, у которых были наиболее низкие базовые уровни глюкозы в крови натошак, наблюдали только кратковременное снижение уровней глюкозы в течение указанного периода (данные не показаны). Было отмечено, что у пациентов с более высоким основным уровнем (натошак) глюкозы обычно не наблюдается такой же ответ инсулина, как у пациентов с более низкими значениями, при этом после стимуляции у пациентов с более высоким основным уровнем глюкозы обычно наблюдается более сильный ответ, чем у пациентов, значение глюкозы у которых ближе к нормальному.

ПРИМЕР 5

Модель пресистемного распределения интактного GLP-1 в мозге и печени

Пресистемное распределение GLP-1 в системном кровотоке после пульмональной доставки и внутривенного болюсного введения рассчитывали с целью определения эффективности доставки для обоих способов введения GLP-1. Модель разрабатывали на основе следующих допущений: (1) абсорбция GLP-1 из легких и в легочные вены демонстрирует кинетику нулевого порядка; (2) распределение GLP-1 в мозг и внутри мозга происходит мгновенно, и (3) выведение GLP-1 из мозга и печени регулируется только базальным кровотоком. Основанный на указанных допущениях анализ для определения количества GLP-1 в мозге и печени был также основан на опубликованных данных по выведению GLP-1 некоторыми тканями и органами (Deacon, CF. et al., "Glucagon-like peptide 1 undergoes differential tissue-specific metabolism in the anesthetized pig". American Physiological Society, 1996, стр. E458-E464), и распределению кровотока в теле, а также скорости, обусловленной сердечным выбросом, из исследований на человеке (Guyton Textbook of Physiology, 10th Edition; W. B. Saunders, 2000, стр. 176). У нормального субъекта (70 кг), имеющего нормальные физиологические параметры, такие как кровяное давление в покое, базальный кровоток в мозг и печень, составляющий 700 мл/мин и 1350 мл/мин, соответственно. На основе сердечного выброса вычисленное распределение кровотока в теле составило 14% в мозге, 27% в печени и 59% в остальных тканях тела (Guyton).

Используя вышеупомянутые параметры, определяли относительные количества GLP-1, которые распределяются в мозге и печени при дозе 1 мг, введенной

пульмонально и внутривенно. Один мг GLP-1 делили на 60 сек и полученное число умножали на 14% (распределение кровотока в мозге). Таким образом, каждую секунду часть дозы появляется в мозге. Из доступных данных, указывающих, что объем крови в мозге равен 150 мл, а клиренс составляет 700 мл/мин, вычисленное значение клиренса GLP-1 составило приблизительно 12 мл/сек, что равно приблизительно 8% объема крови, выводимой из мозга в секунду. В исследованиях внутривенного введения на свиньях, описанного Deason с сотр., 40% GLP-1 мгновенно метаболизировалось в вене, а 10% также метаболизировалось в деоксигенированной крови в легком. Таким образом, 40%, а затем еще 10% суммарного GLP-1 вычитали из общего введенного количества в вычислениях с учетом данных внутривенного анализа.

Относительно количеств GLP-1 в печени те же допущения по деградации делали для внутривенного и пульмонального путей введения, с потерей 40%, а затем еще 10% общего количества для в/в доз. Двадцать семь процентов (27%) оставшегося GLP-1, как предполагали, были распределены в печени, при этом сначала 75% крови проходило через портальную сеть. Распределение крови в печени приняли как мгновенное. Делали следующие вычисления: один мг GLP-1 делили на 60 секунд, 40%, а затем еще 10% от общего GLP-1 вычитали из общего введенного количества, с учетом данных внутривенного анализа. Для пульмонального введения не устанавливали какой-либо деградации. Полученные значения умножали на 27% распределение потока в печени, для обоих путей введения, причем 75% указанного количества вначале проходило через портальную сеть. Во внутривенных исследованиях на свиньях, описанных Deason с сотр., сообщалось о 20% выведении в портальной сети, следовательно, 75% количества GLP-1 сокращалось на 20% перед попаданием в печень. Таким образом, общее количество GLP-1, попадающее в печень каждую секунду, состоит из фракции, которая подверглась метаболизму в портальной сети. Из доступных данных, указывающих, что объем крови в печени равен 750 мл, а скорость выведения составляет 1350 мл/мин, при вычислении клиренса GLP-1 получили значение приблизительно 22,5 мл/сек, что равно приблизительно 3% объема крови, выводимого из печени в секунду. Deason и сотр. сообщали о 45% деградации в печени, соответственно, 45% общего количества GLP-1 вычитали из общего количества, попадающего в печень, а разность прибавляли к общему оставшемуся количеству.

Результаты вычислений, описанных выше, представлены в таблицах 4 и 5. Расчетное распределение GLP-1 в мозге и печени после пульмонального введения (таблица 4) показано ниже:

Таблица 4 Пульмональное введение GLP-1 в дозе 1 мг		
Время в секундах	Мозг (мкг)	Печень (мкг)
1	2,3	2,10
5	9,94	9,91
60	29,0	58,9

Результаты, демонстрирующие распределение GLP-1 после внутривенного болюсного введения, приведены в таблице 5 ниже:

Таблица 5 Внутривенное болюсное введение 1 мг GLP-1 в течение 1 минуты		
Время в секундах	Мозг (мкг)	Печень (мкг)
1	1,26	1,14

5	5,37	5,35
60	15,6	31,7

Данные, приведенные выше, являются характерным примером распределения GLP-1 в определенных тканях тела после деградации GLP-1 эндогенными ферментами. Исходя из вышеуказанных определений, количества GLP-1 в мозге и печени после пульмонального введения приблизительно в 1,82-1,86 раза превышают количества GLP-1 после внутривенного болюсного введения. Таким образом, данные указывают, что пульмональная доставка GLP-1 может являться более эффективным путем доставки по сравнению с внутривенным введением GLP-1, так как количество GLP-1 в различные промежутки времени после введения приблизительно в два раза превышает количество, достигаемое при внутривенном введении. Таким образом, лечение заболевания или нарушения, включающее пульмональное введение GLP-1, требует меньшего общего количества, или почти в два раза меньшее количество по сравнению с внутривенной дозой GLP-1, которая требуется для достижения таких же или подобных эффектов.

ПРИМЕР 6

Исследования в данном примере проводили с целью определения фармакокинетических параметров различных активных веществ при подкожном введении и введении лекарственных форм, включающих FDKP, динатриевую соль FDKP, сукцинизированный DKP (SDKP, также обозначенный в настоящей заявке как Соединение 1) или асимметричный (фумарил-монозамещенный)-DKP (также обозначенный в настоящей заявке как Соединение 2) крысам линии ZDF путем пульмональной инсуффляции. Крыс распределяли в 8 групп, по пять крыс в каждой группе. Каждая крыса в Группе 1 получала эксендин-4 в дозе 0,3 мг в фосфатно-соляном буфере путем пульмональной инстиляции; Группа 2 получала 0,3 мг эксендина-4 в фосфатно-соляном буфере подкожной инъекцией.

Крысы в Группе 3 получали дозы активного вещества или эксендина-4 путем пульмональной инсуффляции по следующей схеме: крысы в Группе 3 получала 2 мг лекарственной формы GLP-1/FDKP путем пульмональной инсуффляции, с последующим введением эксендина-4 в дозе 2 мг; Группа 4 получала лекарственную форму эксендина-4/FDKP; крысы в Группе 5 получали эксендин-4 в дозе 3 мг, включенный в количестве 9,2% в динатриевую соль FDKP; крысы в Группе 6 получали эксендин-4 в дозе 2 мг, включенный в количестве 13,4% в динатриевую соль FDKP; крысы в Группе 7 получали эксендин-4 в дозе 2 мг, включенный в количестве 14,5% в SDKP, и крысы в Группе 8 получали эксендин-4 в дозе 2 мг, включенный в количестве 13,1% в асимметричный (фумарил-монозамещенный) DKP.

Введение доз животным проводили в течение двух дней с целью подготовки большого числа субъектов. Животным вводили различные тестируемые изделия, и забирали образцы крови в различные промежутки времени после введения дозы.

Концентрации эксендина-4 измеряли в выделенных образцах плазмы, соответствующие результаты представлены на Фиг. 13. Как показано на графике, в Группе 4 обработанных крыс, которые получали эксендин-4 в лекарственной форме, содержащей FDKP, регистрировали высокие уровни эксендина-4 в крови менее чем через 30 мин и в более высоких уровнях, чем у крыс в Группе 2, которые получали эксендин-4 подкожным введением. Во всех группах уровни эксендина-4 резко снижались приблизительно через час после введения.

Введение эксендина-4/FDKP путем пульмональной инсуффляции крысам линии ZDF имеет аналогичные, нормализованные в зависимости от дозы показатели C_{max} , AUC и

биодоступности, как при введении эксендина-4 подкожной инъекцией.

Эксендин-4/FDKP, введенный путем пульмональной инсуффляции, показывал более чем двукратное увеличение времени полужизни по сравнению с подкожной инъекцией эксендина-4. Эксендин-4, введенный в лекарственной форме с фумарил(монозамещенным) DKP или SDKP, показал более низкие, нормализованные в зависимости от дозы показатели C_{max} , AUC и биодоступности, по сравнению с подкожной инъекцией (приблизительно на 50% меньше), но все же более высокие, чем при пульмональной инстилляцией.

После ночного голодания крысам линии ZDF делали глюкозную провокацию путем внутрибрюшинной инъекции (IPGTT). Терапия эксендином-4/FDKP показала более существенное понижение уровней глюкозы в крови после IPGTT по сравнению с введением эксендина-4 подкожным путем. По сравнению с контрольными животными, получавшими воздух, уровни глюкозы в крови значительно понижены после IPGTT в течение 30 и 60 мин у животных, получавших эксендин-4 подкожной инъекцией и порошок эксендина-4/FDKP путем пульмонального введения, соответственно. Крысы ZDF в Группе 3, получавшие эксендин-4/FDKP и GLP-1 путем пульмональной инсуффляции после внутрибрюшинного введения глюкозы (IPGTT), показали неожиданно более низкие уровни глюкозы в крови после IPGTT по сравнению с любой терапией в отдельности через 30 мин после введения дозы (-28% по сравнению с -24%).

ПРИМЕР 7

Исследования в данном примере проводили с целью определения фармакокинетического и фармакодинамического профиля лекарственных форм пептида YY (3-36), вводимых пульмонально крысам линии ZDF, по сравнению с внутривенными инъекциями.

Приготовление лекарственной формы PYY/FDKP для пульмональной доставки:

Пептид YY (3-36) (PYY), используемый в данных экспериментах, получили от American Peptide и адсорбировали на частицах FDKP в зависимости от pH. Приготавливали 10%-ный стоковый раствор пептида, для чего навеску 85,15 мг PYY переносили в прозрачный флакон емкостью 8 мл и добавляли 2%-ную водную уксусную кислоту до конечного веса 762 мг. Пептид осторожно перемешивали, получив прозрачный раствор. Суспензию FDKP (4968 мг, содержащую 424 мг ранее сформированных частиц FDKP) добавляли во флакон, содержащий раствор PYY, получив суспензию частиц PYY/FDKP. Образец помещали на магнитную мешалку и тщательно перемешивали в течение эксперимента. Микроэлектрод для измерения pH использовали для контроля pH смеси. Аликвоты по 2-3 мкл 14-15%-ного водного раствора аммиака использовали для доведения pH образца. Объемы образца (75 мкл для анализа супернатанта, 10 мкл для суспензии) отбирали в каждой точке pH. Образцы для анализа супернатанта переносили в 1,5 мл пробирки с фильтром на 0,22 мкм и центрифугировали. Образцы суспензии и отфильтрованных супернатантов переносили в автосэмплерные флаконы для ВЭЖХ, содержащие 990 мкл 50 мМ раствора бикарбоната натрия. Растворенные образцы анализировали с помощью ВЭЖХ с целью определения характеристик препаратов. Эксперименты показали, что, например, 10,2% раствор PYY может адсорбироваться на частицах FDKP при pH 4,5. В данном конкретном препарате, например, содержание PYY в полученном порошке, по результатам ВЭЖХ, составило 14,5% (масс/масс). Каскадные измерения аэродинамических свойств порошка выявили пригодную для вдыхания фракцию 52% при 98%-ном опорожнении картриджа при выпуске из ингалятора сухого

порошка MedTone® (MannKind Corporation). Исходя из вышеприведенных результатов, приготовили несколько пробных препаратов порошка РУУ/FDKP, содержащих 5%, 10%, 15% и 20% РУУ.

Фармакокинетические и фармакодинамические исследования: Самок крыс линии ZDF, используемых в данных экспериментах, распределяли в 7 групп, по пять крыс в каждой группе, за исключением Группы 1, в которую включили 3 крысы. Крысы не получали корм в течение 24 часов, после чего им вводили их назначенную дозу и немедленно предоставляли пищу без ограничения в течение периода эксперимента. Каждая крыса в Группе 1 получала в/в РУУ в дозе 0,6 мг в фосфатно-соляном буфере; крысы в Группе 2 получали 1,0 мг РУУ путем пульмональной инстилляцией; крысы в Группе 3, определенные в качестве контроля, получали поток воздуха; крысы в Группе 4-7 получали сухую порошковую лекарственную форму для ингаляции, вводимую пульмональной инсуффляцией по следующей схеме: крысы в Группе 4 получали 0,15 мг РУУ в 3 мг порошковой лекарственной формы РУУ/FDKP с 5%-ным содержанием РУУ (масс/масс); крысы в Группе 5 получали 0,3 мг РУУ в 3 мг порошковой лекарственной формы РУУ/FDKP с 10%-ным содержанием РУУ (масс/масс); крысы в Группе 6 получали 0,45 мг РУУ в 3 мг порошковой лекарственной формы РУУ/FDKP с 15%-ным содержанием РУУ (масс/масс); крысы в Группе 7 получали 0,6 мг РУУ в 3 мг порошковой лекарственной формы РУУ/FDKP с 20%-ным содержанием РУУ (масс/масс).

Потребление пищи измеряли для каждой крысы через 30, 60, 90, 120, 240 мин и 24 часа после введения дозы. Концентрации РУУ в плазме и концентрации глюкозы определяли у каждой крысы в пробах крови, взятых у крыс перед введением дозы и через 5, 10, 20, 30, 45, 60 и 90 мин после введения дозы. Результаты данных экспериментов представлены на Фиг. 14-16 и в таблице 6 ниже. Фиг. 14 представляет собой гистограмму репрезентативных данных, полученных из экспериментов, в которых измеряли потребление пищи у самок крыс линии ZDF, получавших лекарственные формы РУУ путем внутривенного введения и пульмонального введения в лекарственной форме, включающей фумарил-дикетопиперазин в различных дозах. Данные показывают, что потребление пищи у всех крыс, получавших РУУ, уменьшалось по сравнению с контролем, за исключением Группы 2, в которой крысы получали РУУ инстилляцией. Снижение потребления пищи было статистически значимым у крыс, получавших пульмональную инсуффляцию, через 30, 60, 90 и 120 мин после введения дозы РУУ, по сравнению с контролем. Данные на Фиг. 14 также показывают, что хотя в/в введение (Группа 1) относительно эффективно снижало потребление пищи у крыс, такое же количество РУУ (0,6 мг), вводимое пульмональным путем в лекарственной форме FDKP (Группа 7), более эффективно снижало количество потребляемой пищи или подавляло аппетит в течение более длительного промежутка времени. Все крысы, которым вводили РУУ, получавшие пульмонально порошки РУУ-FDKP, потребляли меньше пищи по сравнению с контролем.

На Фиг. 15 показаны измеренные уровни глюкозы в крови у самок крыс ZDF, получавших лекарственные формы РУУ в/в введением, пульмональным введением в различных лекарственных формах, включающих фумарил-дикетопиперазин, и у контрольных крыс, которым вводили воздух. Данные показывают, что уровни глюкозы в крови крыс, получавших РУУ путем пульмональной инсуффляции, оставались относительно равными уровням глюкозы у контрольных крыс, за исключением крыс Группы 1, которым РУУ вводили в/в. У крыс в Группе 1

наблюдали более низкий начальный уровень глюкозы в крови по сравнению с другими крысами, в течение до приблизительно 15 мин после введения дозы.

На Фиг. 16 показаны репрезентативные данные, полученные из экспериментов, в которых измеряли концентрацию РУУ в плазме самок крыс ZDF, получавших лекарственные формы РУУ в/в введением, пульмональным введением в различных лекарственных формах, включающих фумарил-дикетопиперазин, и у контрольных крыс, которым вводили воздух, полученные в различные промежутки времени после введения. Указанные данные измерений также представлены в таблице 6. Данные показывают, что у крыс в Группе 1, которым вводили РУУ в/в, обнаруживали более высокие концентрации РУУ в плазме (30,7 мкг/мл), чем у крыс, которым РУУ вводили путем пульмональной инсuffляции. Пиковая концентрация РУУ в плазме (T_{max}) достигалась приблизительно через 5 мин в Группе крыс 1, 6 и 7, и через 10 мин в Группе крыс 2, 4 и 5. Данные показывают, что в образцах плазмы у всех крыс, получавших лекарственную форму РУУ/FDKP путем пульмональной инсuffляции, содержались измеримые количества РУУ, однако у крыс в Группе 7 концентрация РУУ в плазме была самой высокой (4,9 мкг/мл), причем значения оставались более высокими, чем в других группах в течение приблизительно до 35 мин после введения дозы. Данные также показывают, что концентрация в плазме РУУ, вводимого путем пульмональной инсuffляции, является дозозависимой. Хотя введение путем в/в инъекции приводило к более высокой концентрации РУУ в венозной плазме по сравнению с концентрацией, достигаемой при пульмональном введении РУУ/FDKP в применяемых дозировках, большее подавление потребления пищи все же было достигнуто при пульмональном введении РУУ/FDKP.

Таблица 6					
Номер группы крыс	$T_{1/2}$ (мин)	T_{max} (мин)	C_{max} (мкг/мл)	AUCall/D (мин/мл)	БД(%)
1	13	5	30,7	0,61	100%
2	22	10	1,7	0,06	11
4	23	10	0,51	0,10	16
5	30	10	1,33	0,15	25
6	26	5	2,79	0,20	33
7	22	5	4,90	0,22	36

На Фиг. 17 показана эффективность настоящей системы доставки лекарственного средства, измеренная для нескольких активных веществ, включающих инсулин, эксендин, оксинтомодулин и РУУ, и настоящим представленными в качестве примера. В частности, на Фиг. 17 показано соотношение между воздействием лекарственного средства и биоэффективностью системы пульмональной доставки лекарственного средства в сравнении с в/в и п/к введением вышеуказанных активных веществ. Данные на Фиг. 17 показывают, что настоящая система пульмональной доставки лекарственного средства обеспечивает более высокую биоэффективность при меньшей величине воздействия лекарственного средства, чем при внутривенном или подкожном введении. Таким образом, меньшая величина воздействия препарата может потребоваться для достижения подобного или большего эффекта желаемого лекарственного средства по сравнению со стандартными терапиями. Таким образом, в одном варианте осуществления предложен способ доставки активного вещества, включающего пептиды, такие как GLP-1, оксинтомодулин, РУУ, для лечения заболевания, включающего диабет, гипергликемию и ожирение, который включает введение субъекту, испытывающему потребность в лечении, лекарственной формы для

ингаляции, включающей одно или несколько активных веществ и дикетопиперазин, при котором наблюдается терапевтический эффект при более низком воздействии активного вещества по сравнению с воздействием, необходимым для достижения подобного эффекта при других способах введения. В одном варианте осуществления

ПРИМЕР 8

Оценка активности GLP-1 в постпрандиальный период при сахарном диабете II типа

Цель данного исследования состояла в оценке эффекта сухой порошковой лекарственной формы GLP-1 в отношении постпрандиальной концентрации глюкозы, а также в оценке ее безопасности, включая нежелательные явления, активность GLP-1, ответ инсулина и опорожнение желудка.

Схема эксперимента: исследование разделили на два периода, при этом в него включили 20 пациентов с подтвержденным диабетом II типа, в возрасте от 20 до 64 лет. Период 1 представлял собой открытое испытание с разовой дозой, в котором 15 пациентов получали сухую порошковую лекарственную форму, содержащую 1,5 мг GLP-1 в FDKP, вводимую после воздержания от приема пищи в течение ночи. В качестве контроля 5 пациентов получали ингаляционный порошок FDKP после воздержания от приема пищи в течение ночи. Период 2 проводили после завершения Периода 1. В данной части исследования пациенты получали 4 последовательные терапии, каждая с пищевой провокацией, состоящей из 475 ккал и меченой ¹³C-октаноатом в качестве маркера. Исследование разработали как двойное слепое, контролируемое с помощью двух плацебо перекрестное исследование с пищевой провокацией, в котором раствор хлорида натрия в качестве контроля и эксенатид вводили инъекцией за 15 мин до приема пищи, а сухие порошковые лекарственные формы GLP-1 для ингаляции или плацебо, состоящие из сухой порошковой лекарственной формы без GLP-1, вводили непосредственно перед приемом пищи и повторно, через 30 мин после приема пищи. Указанные четыре терапии проводили следующим образом: Терапия 1 состояла из всех пациентов, получавших плацебо - 1,5 мг сухой порошковой лекарственной формы без GLP-1. В Терапии 2 все пациенты получали одну дозу 1,5 мг GLP-1 в сухой порошковой лекарственной форме, включающей FDKP. В Терапии 3 все пациенты получали две дозы 1,5 мг GLP-1 в сухой порошковой лекарственной форме, включающей FDKP, одну дозу непосредственно перед приемом пищи и одну дозу через 30 мин после приема пищи. В Терапии 4 пациенты получали 10 мкг эксенатида подкожной инъекцией. Образцы крови у каждого пациента забирали в различные промежутки времени, до и после введения доз, и анализировали по нескольким параметрам, включающим концентрацию GLP-1, ответ инсулина, концентрацию глюкозы и опорожнение желудка. Результаты данного исследования представлены на Фиг. 18-20.

На Фиг. 18 показаны средние уровни GLP-1 в крови в группе терапии, как описано выше. Данные демонстрируют, что у пациентов, получавших сухую порошковую лекарственную форму, включающую 1,5 мг GLP-1 в FDKP, регистрировали значительно более высокие уровни GLP-1 в крови вскоре после введения, как показано на панелях А, В и С, и что уровни GLP-1 резко уменьшались после введения пациентам после приема пищи и натошак. В группе, получавшей эксенатид (панель D), или в контрольной группе (панель E), получавшей сухую порошковую лекарственную форму, не регистрировали каких-либо измеримых уровней GLP-1.

На Фиг. 19 показаны уровни инсулина у пациентов в исследовании до или после терапии. Данные показывают, что эндогенный инсулин вырабатывался у всех

пациентов после терапии, включая пациентов, получавших плацебо, в исследованиях с пищевой провокацией (Группа В), за исключением контрольных пациентов (Группа С), получавших плацебо натошак. Однако ответ инсулина был более существенным у пациентов, получавших GLP-1 в сухой порошковой композиции, включающей FDKP, у которых выделение инсулина наблюдали непосредственно после терапии, как в группах, принимавших пищу, так и в группах, воздерживавшихся от приема пищи (Группы D-F). Результаты также показали, что уровни глюкозы снижались у пациентов, получавших сухую порошковую лекарственную форму GLP-1. Введение сухой порошковой лекарственной формы GLP-1 приводило к замедленному повышению уровня глюкозы в крови и уменьшало полное воздействие (AUC) глюкозы. И замедленное повышение, и уменьшенное воздействие более четко наблюдалось у пациентов, получавших второе введение ингаляционного порошка GLP-1 (данные не показаны). Интенсивность секреции инсулина варьировала среди пациентов, причем у некоторых пациентов наблюдали низкие, но физиологически значимые уровни инсулина, тогда как у других наблюдали намного более интенсивное выделение инсулина. Несмотря на различие в ответе инсулина у пациентов, ответ глюкозы был аналогичным. Указанное различие в ответе инсулина может отражать изменения в степени резистентности к инсулину и прогрессии заболевания. Оценка данного ответа может применяться в качестве диагностического индикатора прогрессии заболевания, причем более интенсивные ответы (с недостаточно высокой эффективностью регуляции уровней глюкозы в крови) указывают более высокую резистентность к инсулину и прогрессию заболевания.

На Фиг. 20 показан процент опорожнения желудка в группах терапии. У пациентов в панели А (пациенты в Терапии 3) и панели В (пациенты в Терапии 2) наблюдали аналогичные показатели или проценты опорожнения желудка, как и у контрольных пациентов, показанных в панели D (пациенты, получавшие плацебо - сухую порошковую лекарственную форму, включающую FDKP без GLP-1). Данные также показывают, что у пациентов, получавших эксенатид даже в дозах 10 мкг, наблюдали существенную задержку или ингибирование опорожнения желудка по сравнению с контролем. Данные также демонстрируют, что настоящая система доставки активных веществ, включающих FDKP и GLP-1, не ингибирует опорожнение желудка, вызывает быстрый выброс инсулина после доставки GLP-1, а также вызывает снижение уровней AUC глюкозы.

Хотя настоящее изобретение было, в частности, представлено и описано применительно к конкретным вариантам осуществления, следует понимать, что варианты раскрытых выше и других признаков и функций или их альтернатив могут быть по желанию включены во многие другие системы или применения. При этом указанные другие, непредусмотренные или неожиданные на настоящий момент альтернативы, модификации, изменения или усовершенствования в данном отношении, которые могут быть впоследствии сделаны специалистами в данной области, также включены в следующую формулу.

Если не указано иное, все числа, выражающие количества компонентов, свойства, такие как молекулярная масса, условия реакции и т.д., используемые в описании и формуле, следует рассматривать как модифицированные во всех случаях термином "приблизительно". Таким образом, если не указано обратное, числовые параметры, приведенные в описании и прилагаемой формуле, являются приблизительными величинами, которые могут изменяться в зависимости от требуемых свойств, которые, как предполагается, обеспечивает настоящее изобретение. Самое меньшее и не в

качестве попытки ограничить применение доктрины эквивалентов к объему формулы каждый числовой параметр следует рассматривать, по меньшей мере, с учетом ряда приведенных значащих цифр и с применением стандартных методов округления.

5 Невзирая на то, что числовые диапазоны и параметры, формулирующие широкий объем изобретения, являются приблизительными величинами, числовые значения, приведенные в конкретных примерах, указаны с максимально возможной точностью. Любое числовое значение, впрочем, неизменно содержит некоторые погрешности, обязательно следующие из стандартного отклонения, присутствующего в
10 соответствующих аналитических измерениях.

Указание на единственное число следует рассматривать как охватывающее и единственное, и множественное число, если в настоящей заявке не указано иное, или однозначно не противоречит контексту. Изложение диапазонов значений в настоящем описании служит лишь способом краткого указания каждого отдельного значения,
15 входящего в пределы диапазона. Если в настоящей заявке не указано иное, каждое отдельное значение включено в описание так, как будто оно было индивидуально изложено в настоящей заявке. Все способы, описанные в настоящей заявке, могут быть выполнены в любом подходящем порядке, если в настоящей заявке не указано
20 иное или иное однозначно не противоречит контексту. Применение какого-либо и всех примеров или характерного выражения (например, "такой как"), приведенных в настоящей заявке, служит лишь в целях более совершенного разъяснения изобретения и не налагает ограничений на объем изобретения, заявленного иным путем. Ни одно выражение в описании не следует рассматривать как указание какого-либо
25 незаявленного элемента, необходимого для осуществления изобретения.

Группы альтернативных элементов или вариантов осуществления изобретения, описанные в настоящей заявке, не следует рассматривать как ограничения. Каждый элемент группы может быть указан и заявлен отдельно или в любой комбинации с
30 другими элементами группы, или другими элементами, присутствующими в настоящей заявке. Предполагается, что один или более элементов группы могут быть включены или удалены из группы по причинам удобства и/или патентоспособности. Когда происходит любое такое включение или удаление, описание, как предполагают, содержит группу, измененную таким образом, соответствующую письменному
35 описанию всех групп Маркуша, используемых в прилагаемой формуле.

Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения, описанные в настоящей заявке, включают лучший, известный авторам изобретения способ осуществления изобретения. Конечно, изменения в описанных вариантах
40 осуществления будут очевидны средним специалистам в данной области после прочтения вышеизложенного описания. Автор изобретения ожидает, что квалифицированные специалисты используют такие изменения как подходящие, при этом авторы изобретения предусматривают для изобретения возможность осуществления иным способом, нежели конкретно описано в настоящей заявке. Таким
45 образом, настоящее изобретение включает все модификации и эквиваленты объекта, изложенного в формуле, прилагаемой к настоящему описанию в соответствии с регулирующими правовыми нормами. Кроме того, любая комбинация вышеописанных элементов во всех возможных вариациях охвачена изобретением, если
50 в настоящей заявке не указано иное или иное однозначно не противоречит контексту.

Кроме того, по всему тексту настоящего описания сделаны многочисленные ссылки на патенты и печатные публикации. Каждая из вышеназванных ссылок и печатных публикаций отдельно включена в настоящую заявку в полном объеме путем отсылки.

В завершении необходимо понимать, что варианты осуществления изобретения, раскрытого в настоящей заявке, иллюстрируют основные положения настоящего изобретения. Другие модификации, которые могут применяться, включены в объем изобретения. Таким образом, в качестве неограничивающего примера альтернативные конфигурации настоящего изобретения могут применяться в соответствии с идеями, изложенными в настоящей заявке. Соответственно настоящее изобретение не ограничивается в точности тем, что показано и описано.

Формула изобретения

1. Способ доставки активного вещества пациенту, нуждающемуся в этом, включающий:

выбор активного вещества, где это активное вещество подвергается деградации в организме указанного пациента при пероральном, подкожном или внутривенном введении, и где эффективность указанного активного вещества уменьшается в результате указанной деградации;

причем указанное активное вещество не является GLP-1;

объединение указанного активного вещества с дикетопиперазином для получения фармацевтической композиции, подходящей для пульмональной ингаляции; и введение указанной фармацевтической композиции указанному пациенту.

2. Способ по п.1, в котором указанная деградация происходит в венозном кровотоке, в периферической ткани, в желудочно-кишечной системе или в печени.

3. Способ по п.1, в котором указанный дикетопиперазин является 2,5-дикето-3,6-ди(4-Х-аминобутил) пиперазином, где Х выбран из группы, состоящей из сукцинила, глутарила, малеила и фумарила, или его фармацевтически приемлемой солью.

4. Способ по п.1, в котором фармацевтическая композиция является сухой порошковой лекарственной формой для ингаляции.

5. Способ по п.4, в котором указанная сухая порошковая лекарственная форма для ингаляции дополнительно включает фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель.

6. Способ по п.4, в котором сухую порошковую лекарственную форму для ингаляции вводят указанному пациенту путем пульмональной ингаляции с применением системы для ингаляции сухим порошком.

7. Способ по п.1, в котором активное вещество является белком, пептидом или их аналогом.

8. Способ по п.1, в котором активное вещество является эндокринным гормоном или его аналогом.

9. Способ по п.8, в котором эндокринный гормон является гормоном, ассоциированным с диабетом, гипергликемией и/или ожирением.

10. Способ по п.9, в котором диабет является сахарным диабетом II типа.

11. Способ лечения эндокринного заболевания, включающий:

выбор пациента, подвергаемого лечению, или пациента с патологическим состоянием, поддающимся лечению лабильным активным веществом, где это активное вещество подвергается деградации в организме указанного пациента при пероральном, подкожном или внутривенном введении, и где эффективность указанного активного вещества снижается за счет указанной деградации;

причем указанное активное вещество не является GLP-1;

предоставление композиции, включающей лабильное активное вещество в комбинации с дикетопиперазином; и

введение композиции пациенту посредством пульмональной ингаляции с проведением, таким образом, лечения эндокринного заболевания или патологического состояния.

5 12. Способ по п.11, в котором указанный дикетопиперазин является 2,5-дикето-3,6-ди(4-Х-аминобутил)пиперазином, где Х выбран из группы, состоящей из сукцинила, глутарила, малеила и фумарила, или его фармацевтически приемлемой солью.

13. Способ по п.11, в котором указанная композиция является сухой порошковой лекарственной формой для ингаляции.

10 14. Способ по п.13, в котором указанная сухая порошковая лекарственная форма для ингаляции дополнительно включает фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель.

15 15. Способ по п.11, в котором активное вещество является пептидом, или белком, или их аналогом.

16. Способ по п.11, в котором активное вещество является эндокринным гормоном или его аналогом.

17. Способ по п.16, в котором эндокринный гормон является гормоном, ассоциированным с диабетом, гипергликемией и/или ожирением.

20 18. Способ по п.17, в котором диабет является сахарным диабетом II типа.

19. Способ по п.11, в котором стадия введения указанной композиции указанному пациенту включает пульмональное введение указанной композиции с применением ингалятора сухого порошка, включающего картридж.

25

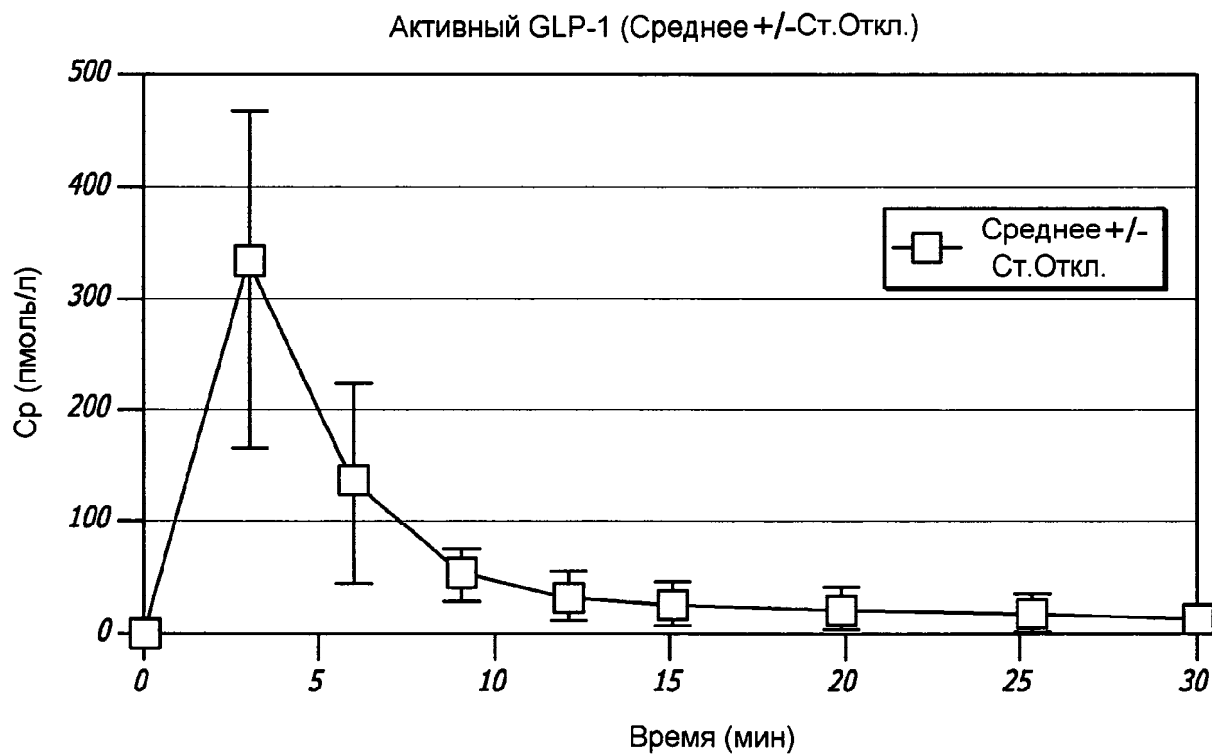
30

35

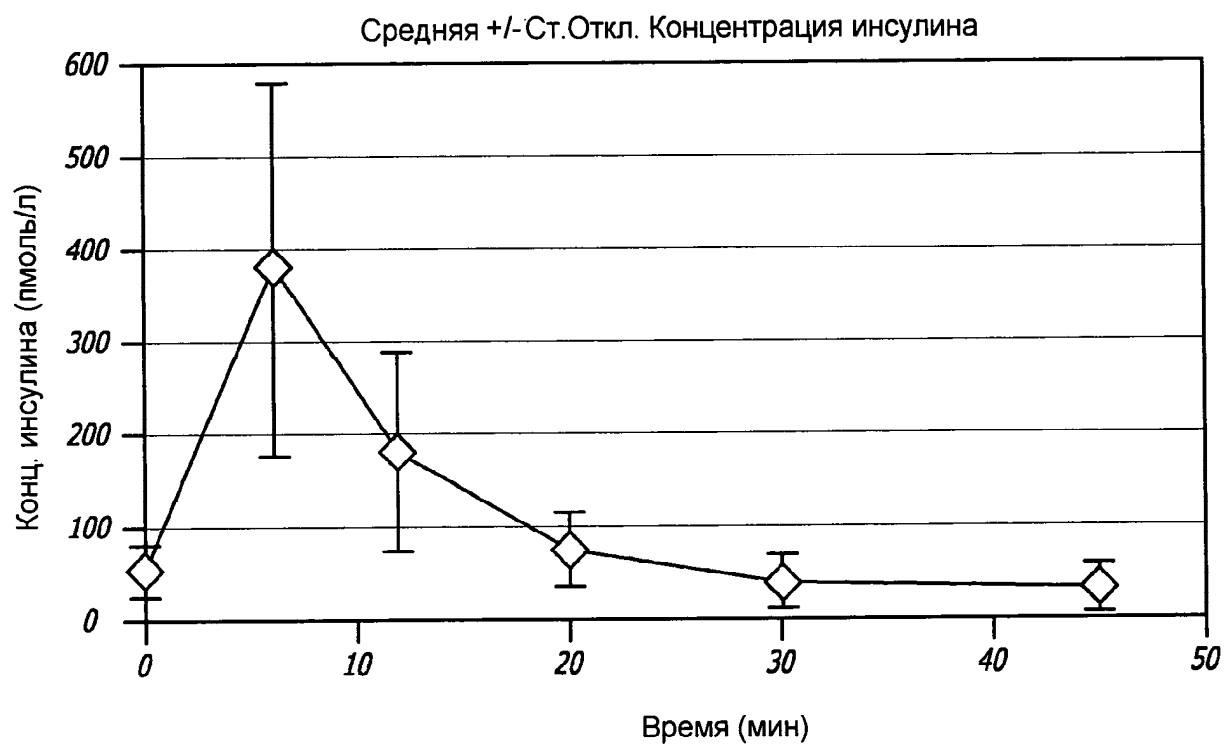
40

45

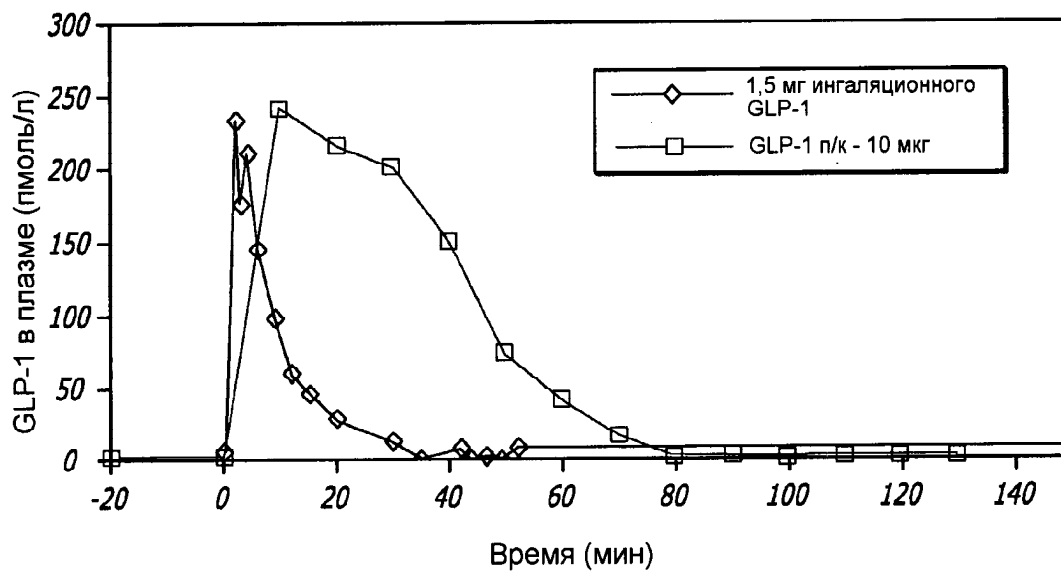
50



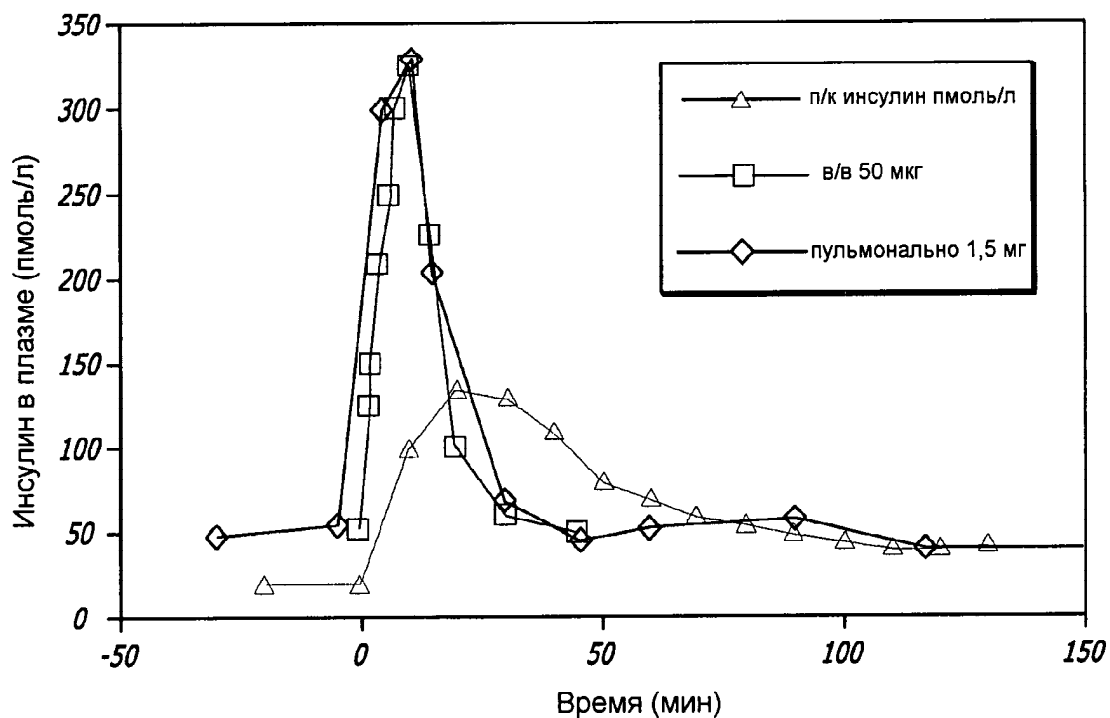
Фиг. 1



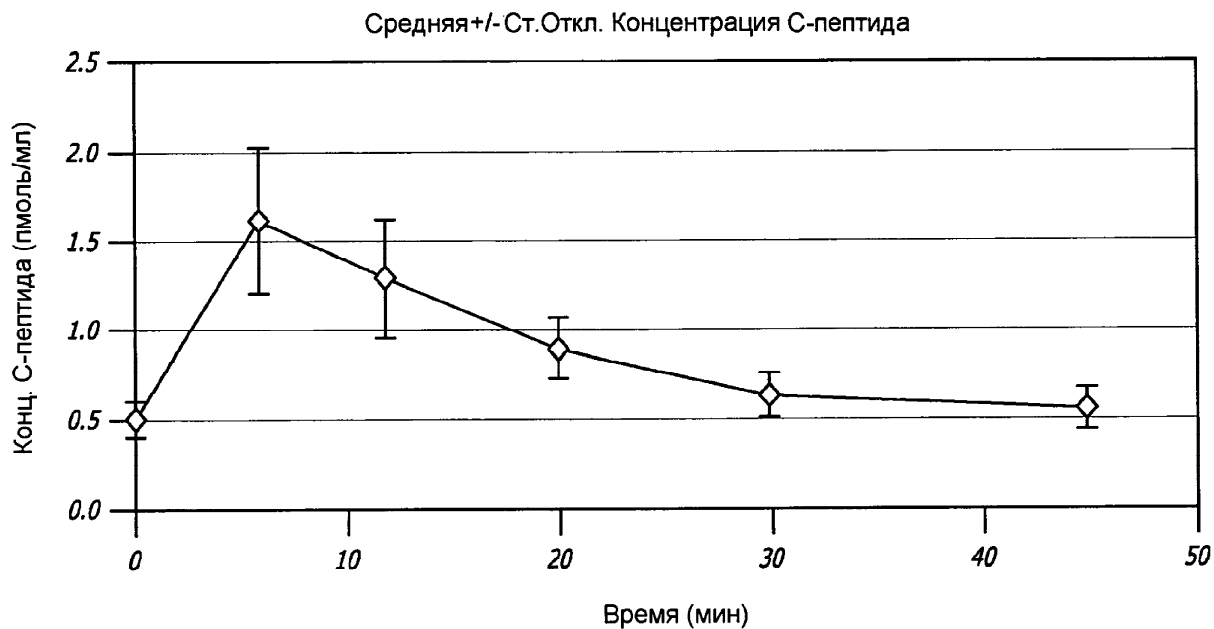
Фиг. 2А



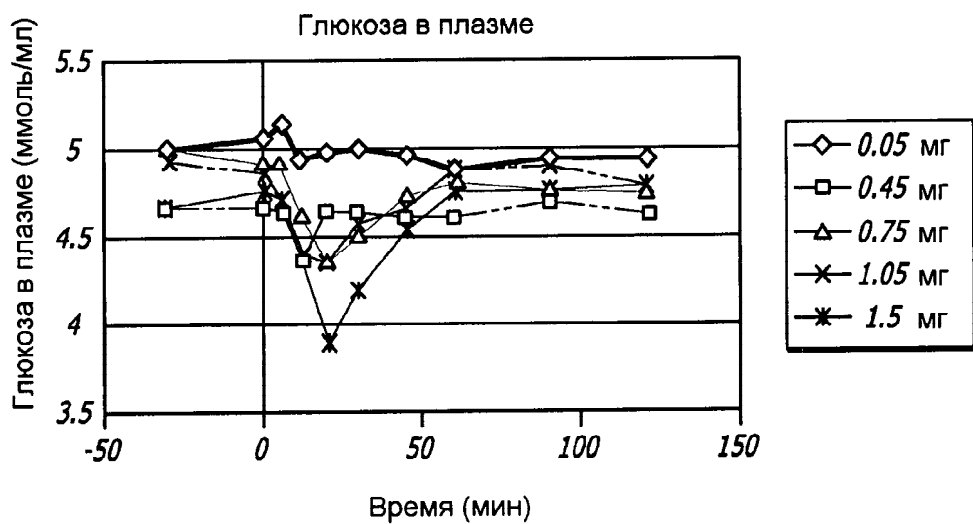
Фиг. 2В



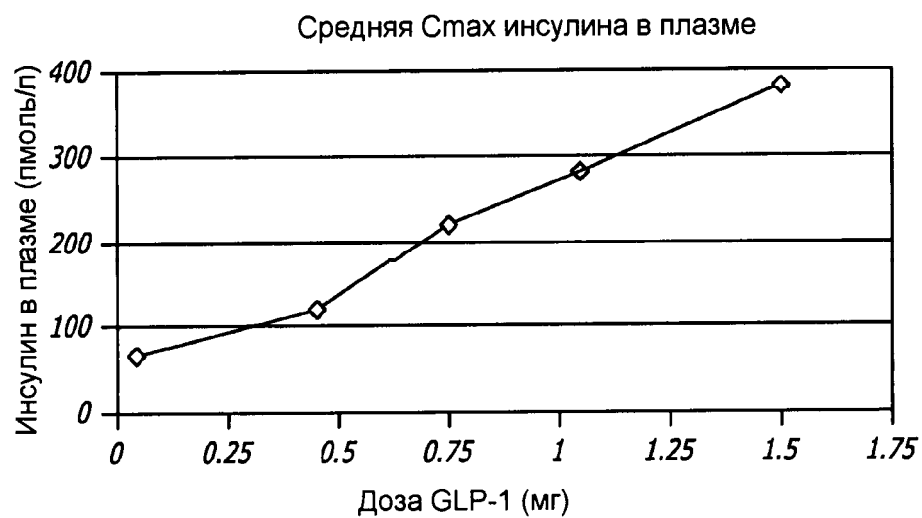
Фиг. 2С



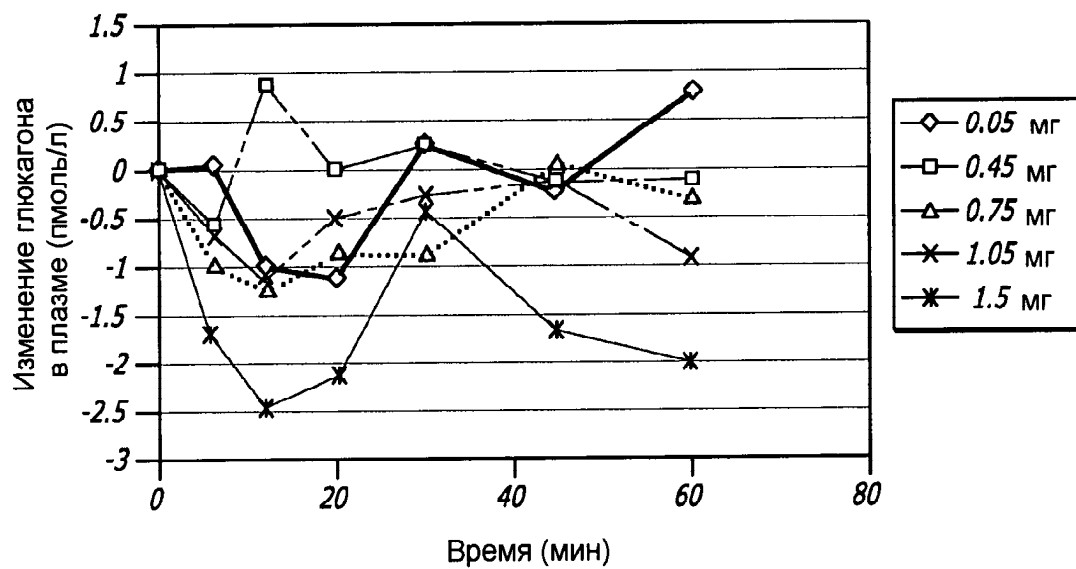
Фиг. 3



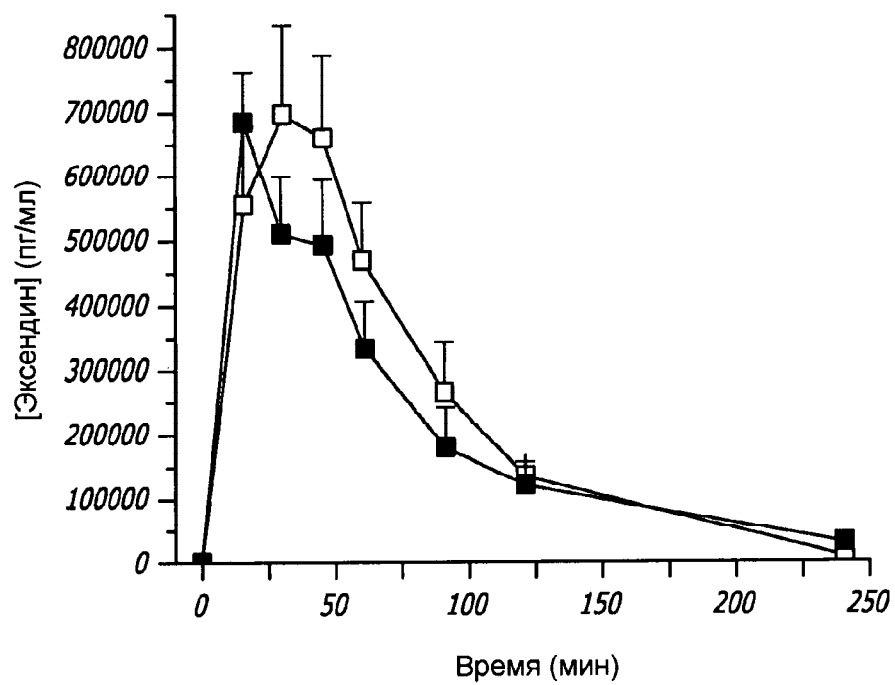
Фиг. 4



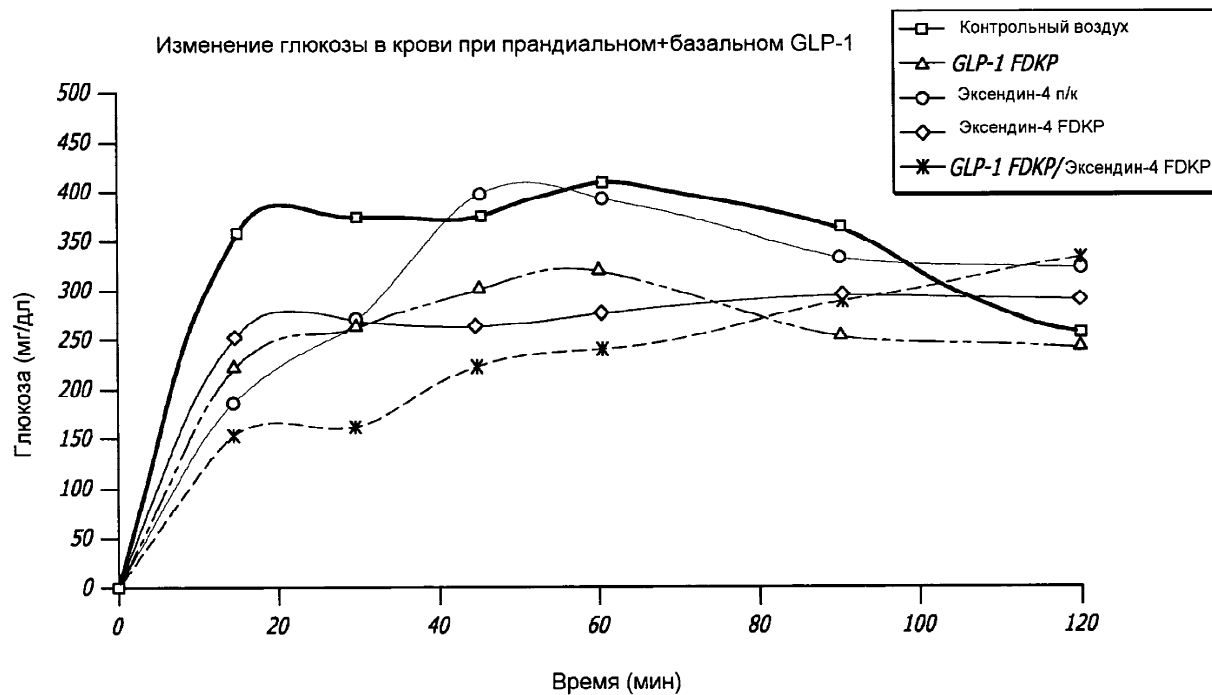
Фиг. 5



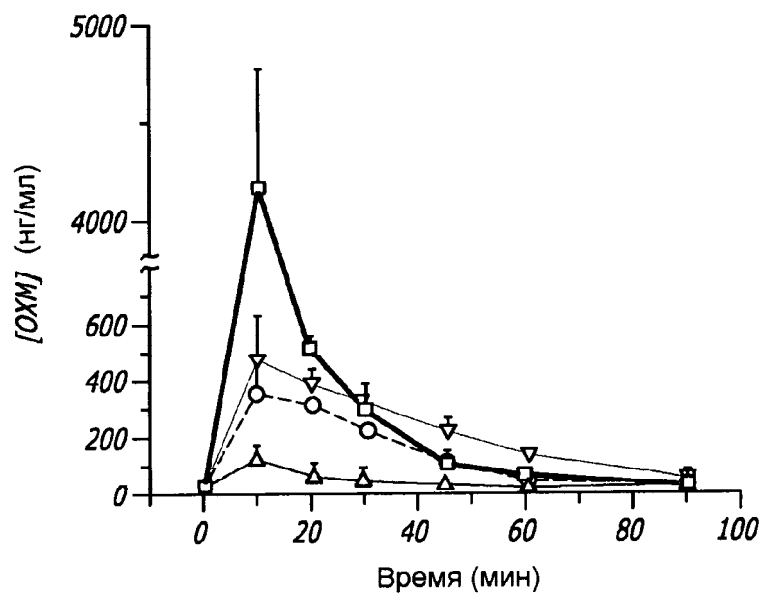
Фиг. 6



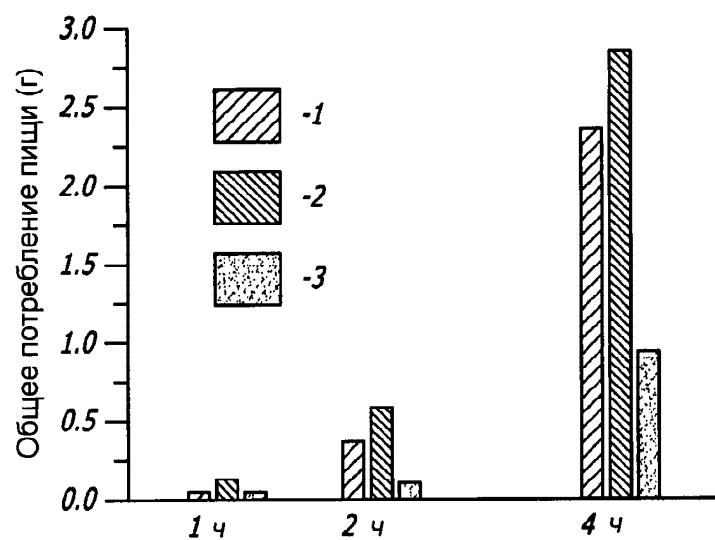
Фиг. 7



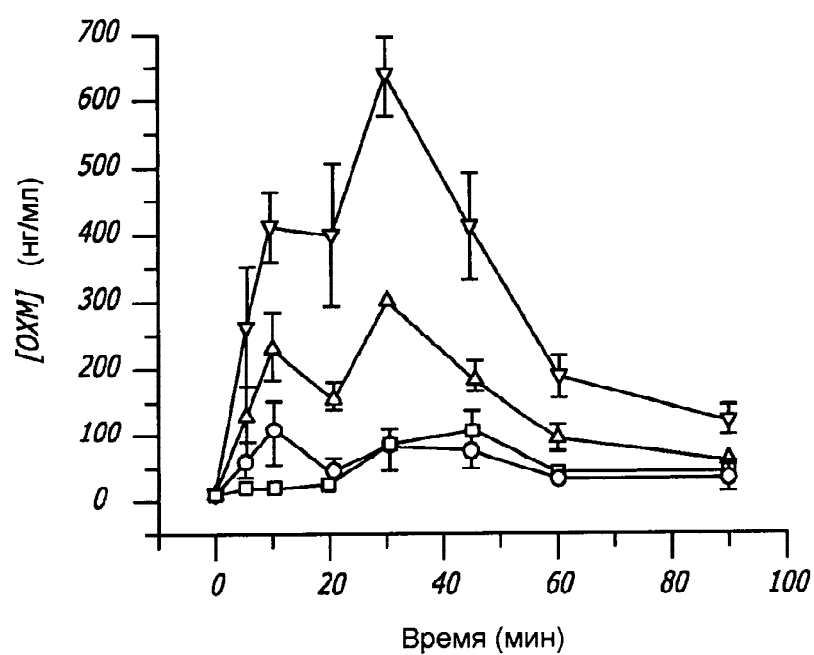
Фиг. 8



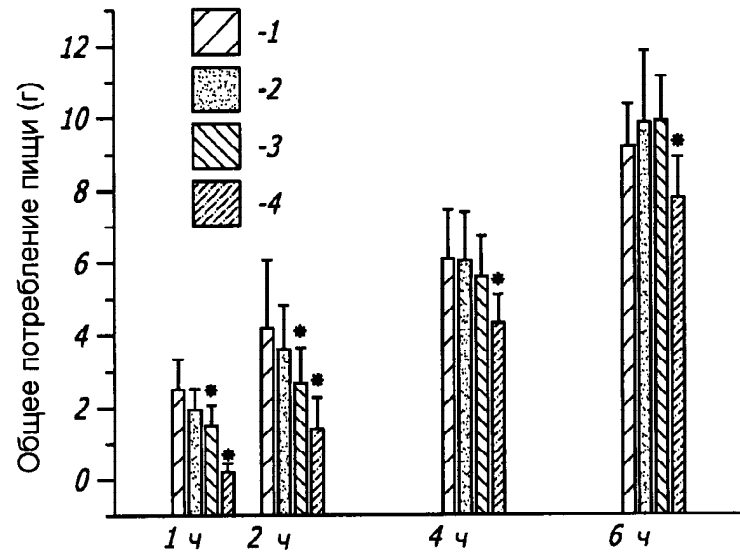
Фиг. 9А



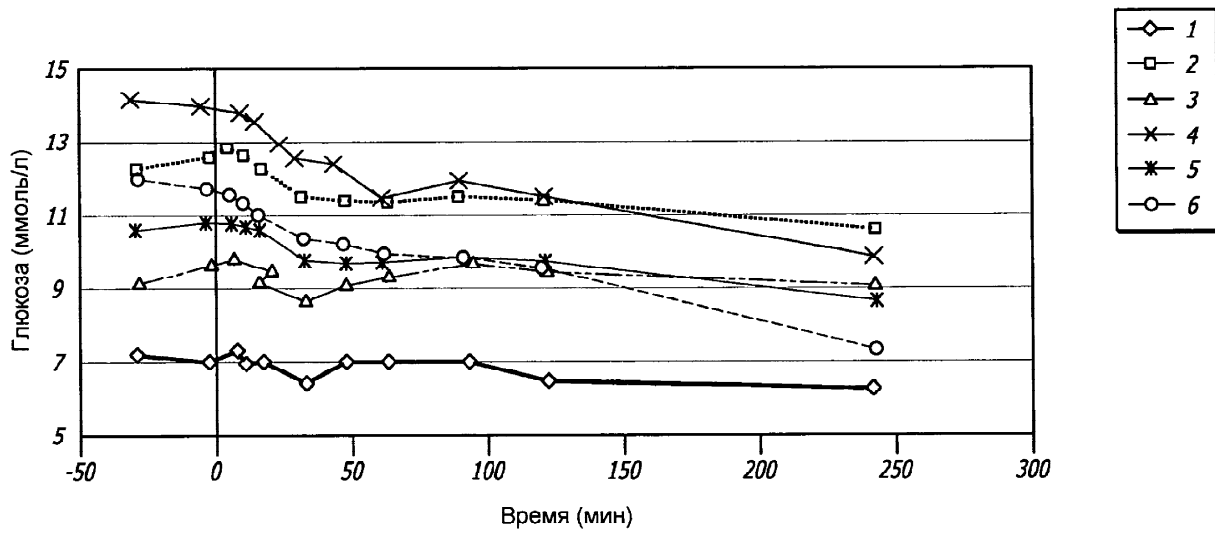
Фиг. 9В



Фиг. 10А

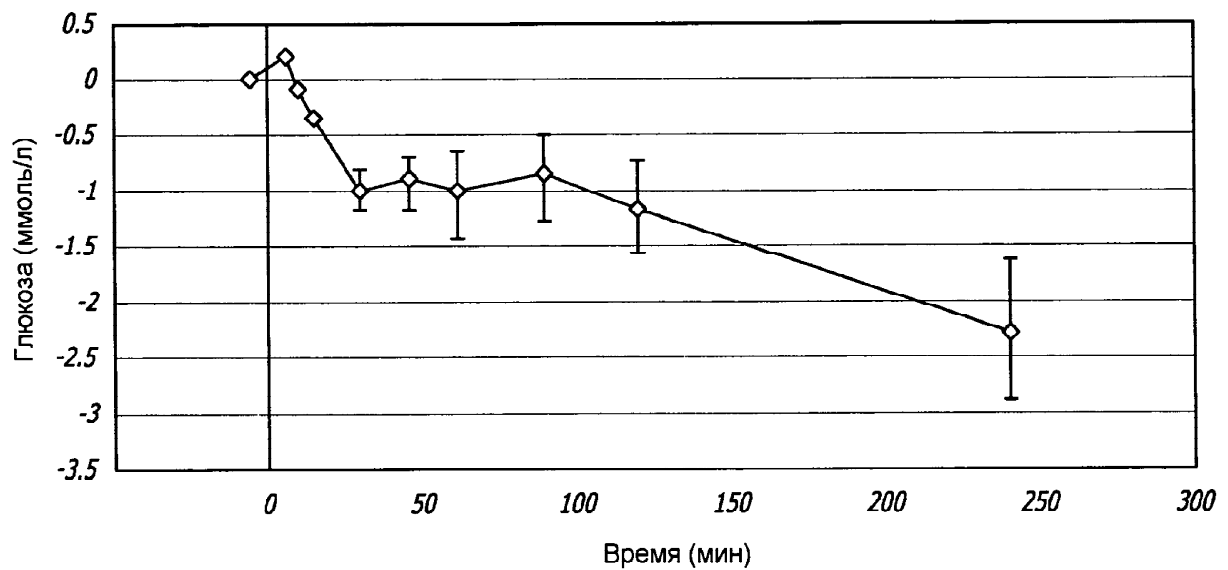


Фиг. 10В

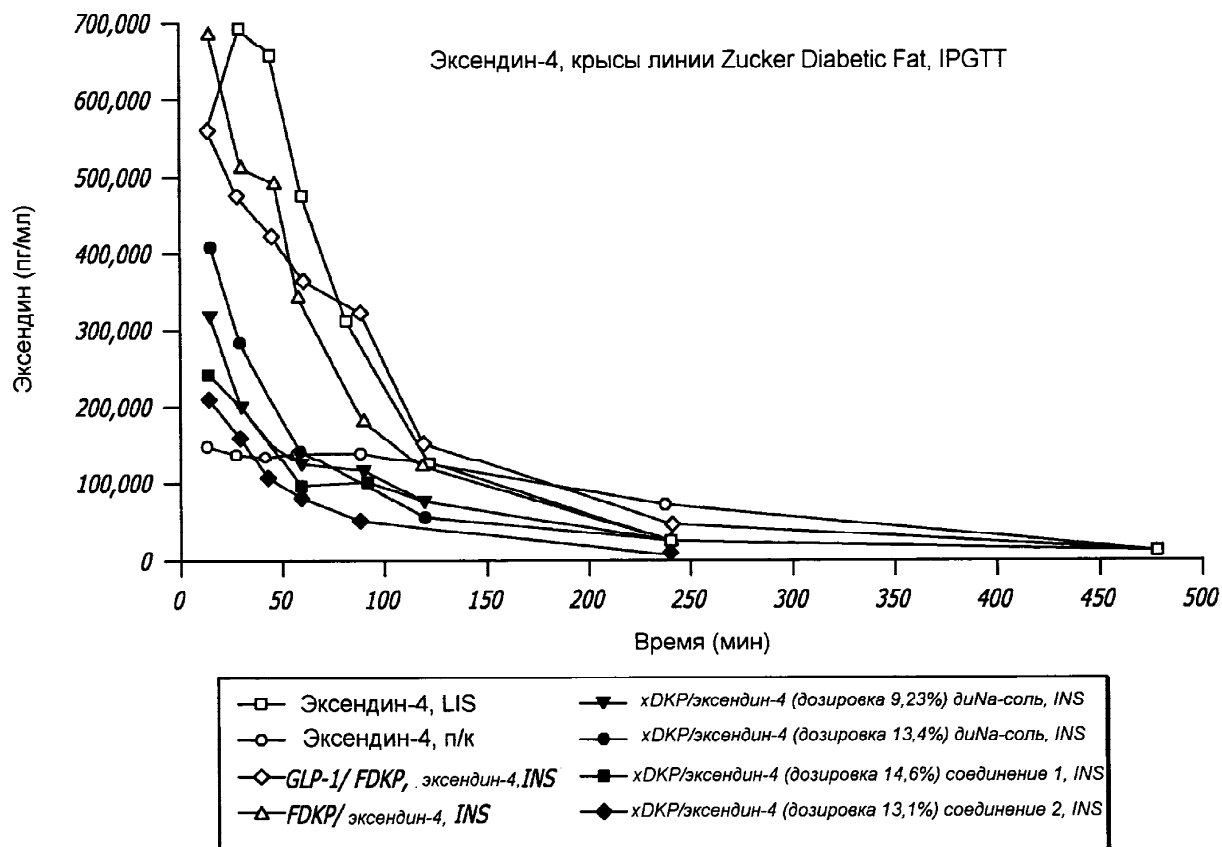


Фиг. 11

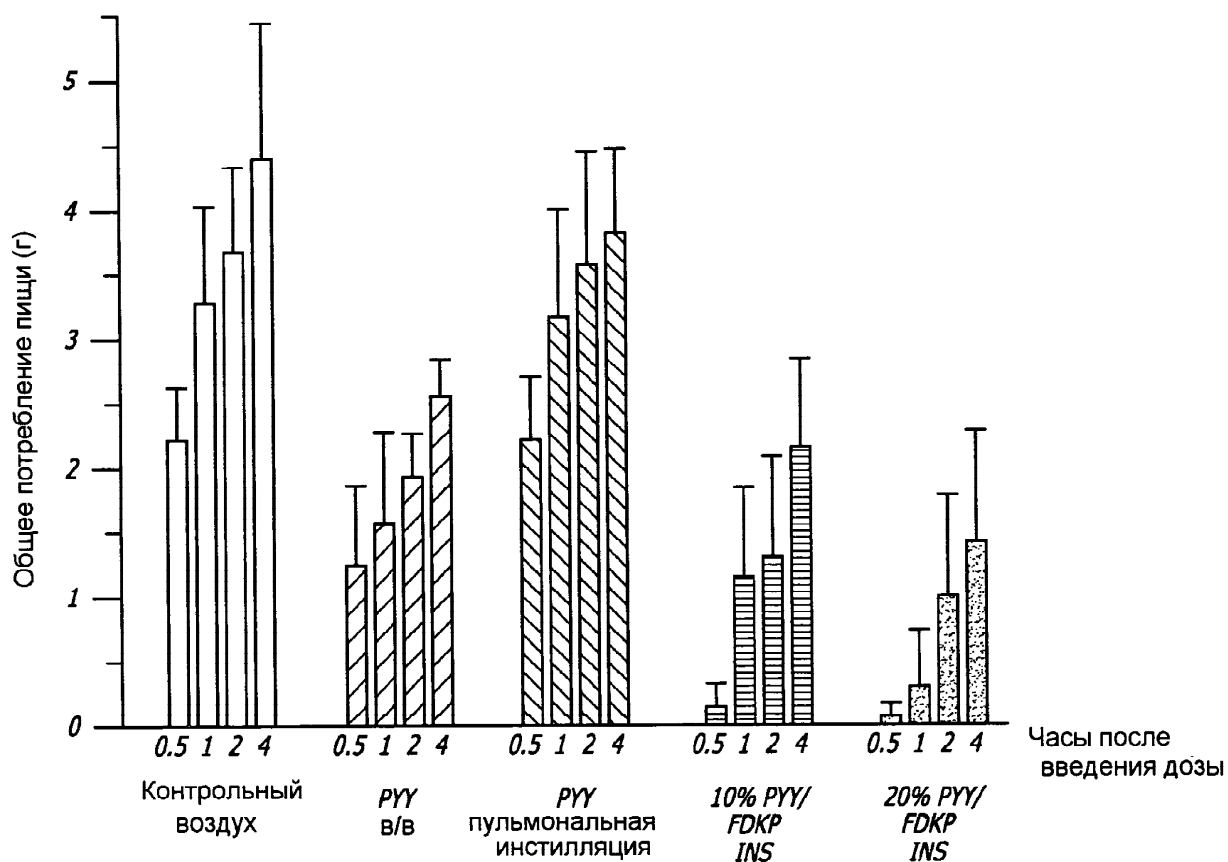
Средняя глюкоза



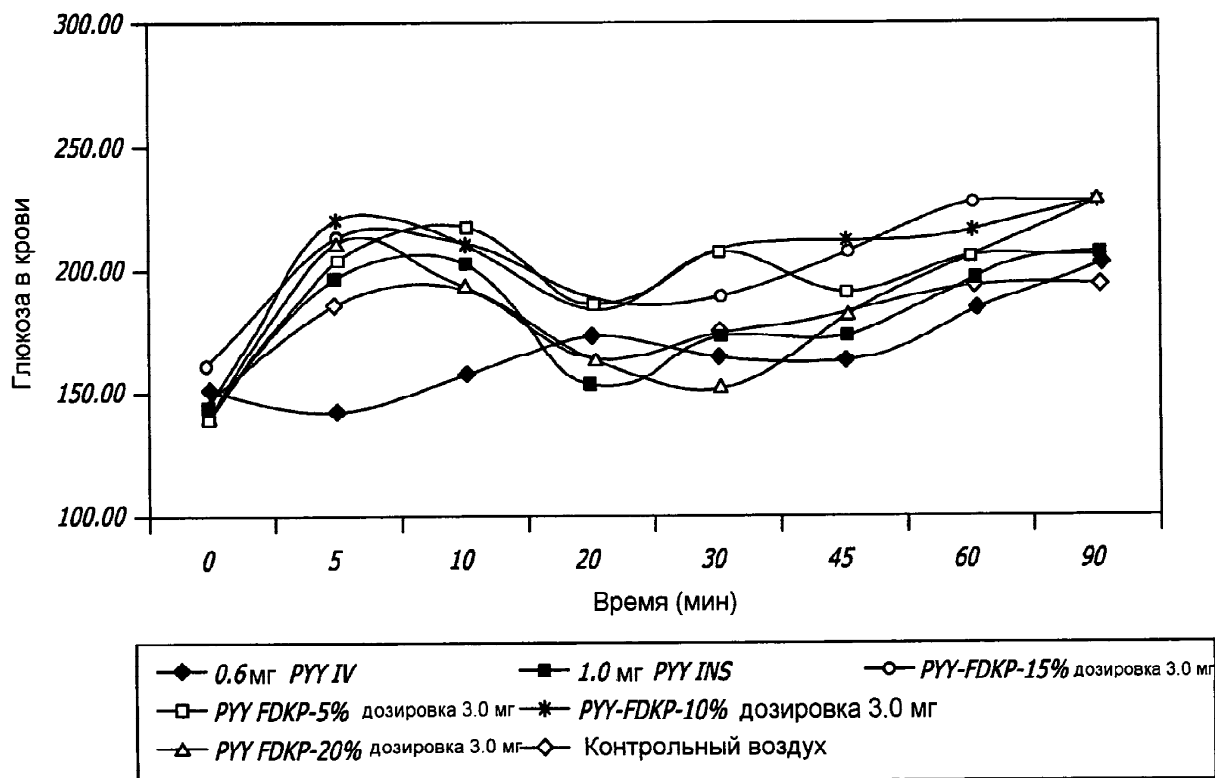
Фиг. 12



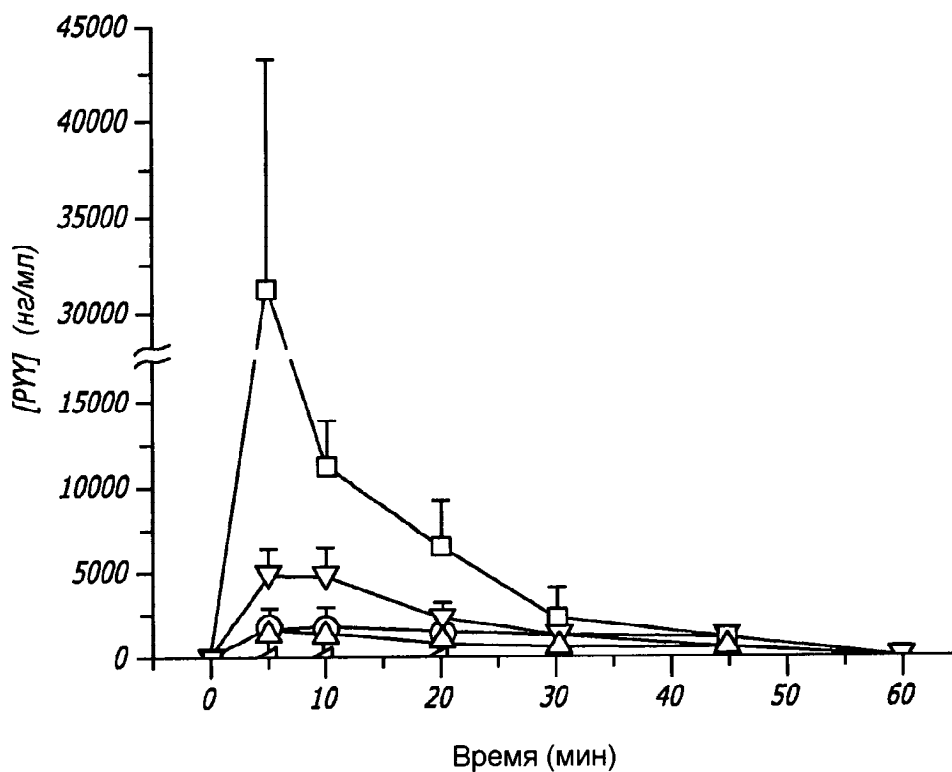
Фиг. 13



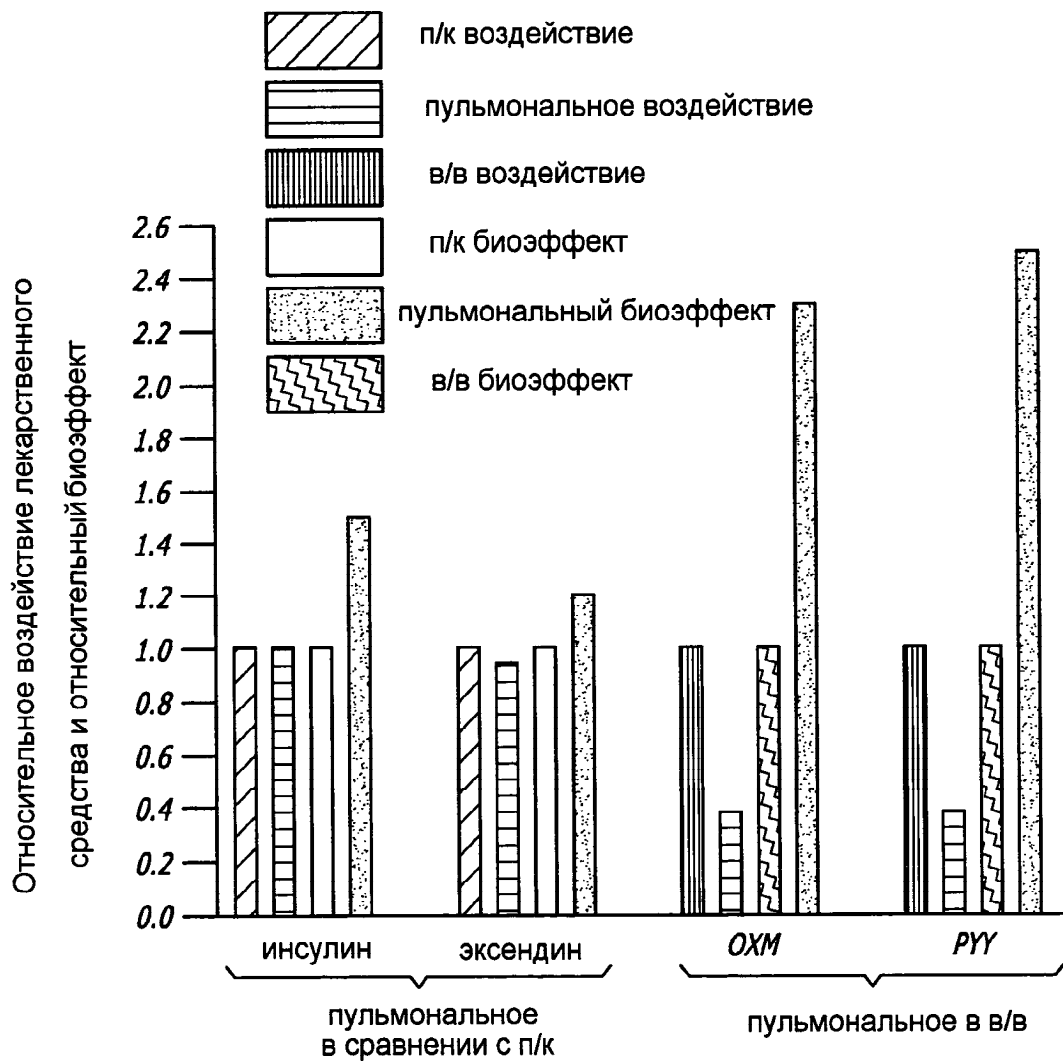
Фиг. 14



Фиг. 15

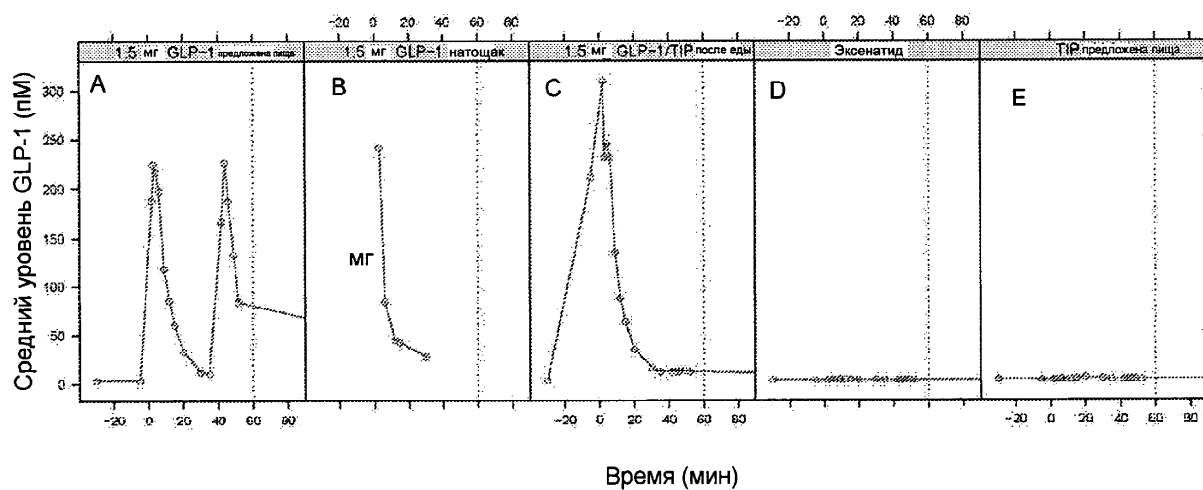


Фиг. 16



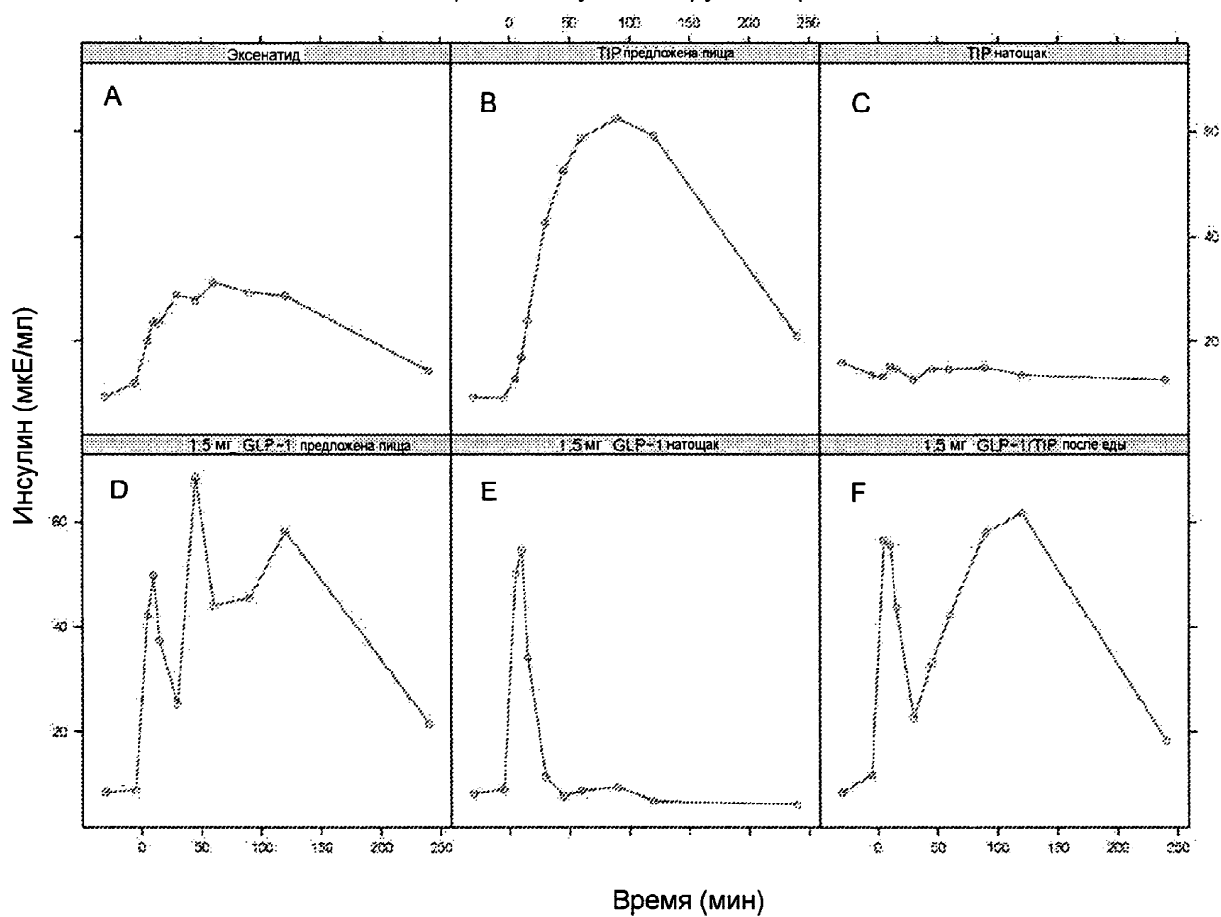
Фиг. 17

Средние уровни GLP-1 в группе обработки



Фиг. 18

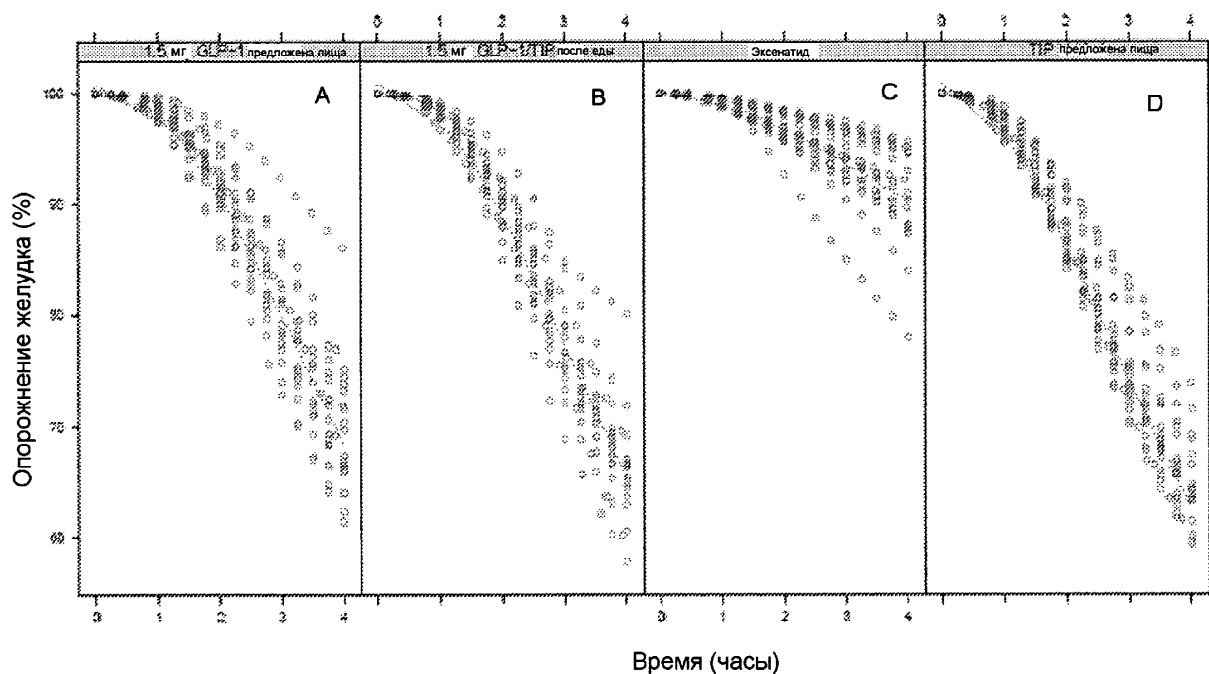
Уровни инсулина в группе обработки



Время (мин)

Фиг. 19

Опорожнение желудка в группе обработки



Время (часы)

Фиг. 20