(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 104666246 A
(43)申请公布日 2015.06.03

(21)申请号 201410486601.8

(22)申请日 2008.09.26

(30)优先权数据
11/904,937 2007.09.28 US

(62)分案原申请数据
200880117641.8 2008.09.26

(71)申请人 SDG 公司
地址 美国俄亥俄州

(72)发明人 J·R·劳 W·B·格尔

(74)专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245
代理人 赵蓉民

(51)Int.Cl.
*A61K 9/127*(2006.01)
*A61K 47/42*(2006.01)
*A61K 38/28*(2006.01)
*A61P 3/10*(2006.01)
*A61P 5/48*(2006.01)

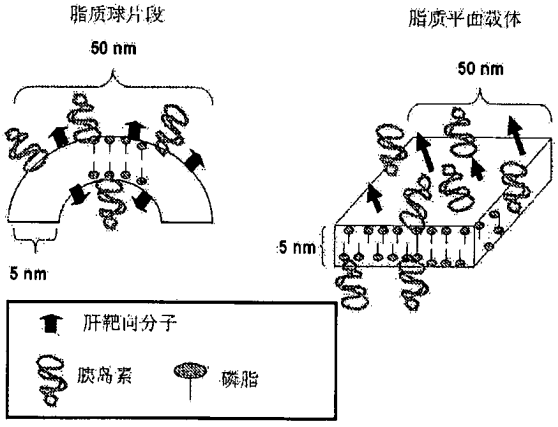
权利要求书5页 说明书45页 附图9页

(54)发明名称

口服生物利用的基于脂质的结构

(57)摘要

本发明包括组合物，其能陪伴一般非口服利用的治疗剂或诊断剂穿过消化道环境，以使所述治疗剂或诊断剂可生物利用。该组合物可以或可以不靶向特定细胞受体，诸如肝细胞。治疗剂包括但不限于胰岛素、降钙素、血清素和其它蛋白。用基于生物素或金属的靶向试剂实现靶向。




CN 104666246 A

1. 一种口服生物利用组合物，其包括明胶和另外的组分，所述组分包括动态分级的脂质体、脂质体片段和脂质颗粒，其中所述脂质颗粒包括至少一种脂质成分并且所述脂质体或脂质体片段包括至少两种脂质成分，所述组合物还包括至少一种治疗剂或诊断剂以及至少一种生物素衍生的靶向试剂，其中所述明胶与一种或多种所述组分积极可逆地相互作用，其中从大约5％至大约50％百分比范围的所述另外的组分呈现出等于或低于大约20纳米的平均直径，其中所述脂质成分的至少一种是磷酸双十六烷基酯，以及其中所述组合物在哺乳动物中口服生物利用。

2. 权利要求1所述的组合物，其中所述脂质成分选自MPB-PE、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、胆固醇、胆固醇油酸酯、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸酯、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸酯、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-磷酸酯、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-(琥珀酰)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-[磷酸-rac-(1-甘油)](钠盐)和2,3-二乙酰氧基丙基2-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)五酰胺)乙基磷酸三乙铵。

3. 权利要求2所述的组合物，其中所述治疗剂选自胰岛素、干扰素、促红细胞生成素、甲状旁腺激素、降钙素、血清素、利妥普单抗、曲妥珠单抗、尿酸酶、组织纤溶酶原激活物、抗胸腺细胞球蛋白、疫苗、肝素或肝素类似物、抗凝血酶III、非格司亭、醋酸普兰林肽、艾塞那肽、埃替非巴肽、抗蛇毒素、IgG、IgM、HGH、甲状腺素、GLP-1、凝血因子VII和VIII、单克隆抗体和作为治疗剂的糖脂。

4. 权利要求3所述的组合物，其中所述治疗剂是胰岛素。

5. 权利要求1所述的组合物，其中所述生物素衍生的靶向试剂选自N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)生物素；硫代-NHS-生物素；N-羟基琥珀酰亚胺长链生物素；硫代-N-羟基琥珀酰亚胺长链生物素；D-生物素；生物胞素；硫代-N-羟基琥珀酰亚胺-S-S-生物素；生物素-BMCC；生物素-HPDP；碘代乙酰基-LC-生物素；生物素-酰肼；生物素-LC-酰肼；生物胞素酰肼；生物素尸胺；羧基生物素；光生物素；对氨基苯甲酰生物胞素三氟醋酸盐；对重氮基苯甲酰生物胞素；生物素DHPE；生物素-X-DHPE；12-((生物素基)氨基)十二酸；12-((生物素基)氨基)十二酸珀酰亚胺酯；S-生物素基高半胱氨酸；生物胞素-X；生物胞素x-酰肼；生物素乙二胺；生物素-XL；生物素-X-乙二胺；生物素-XX酰肼；生物素-XX-SE；生物素-XX,SSE；生物素-X-尸胺；α-(t-BOC)生物胞素；N-(生物素基)-N'-(碘代乙酰基)乙二胺；DNP-X-生物胞素-X-SE；生物素-X-酰肼；盐酸降生物素胺；3-(N-马来酰亚胺基丙酰基)生物胞素；ARP；生物素-1-亚砜；生物素甲酯；生物素-马来酰亚胺；生物素-聚(乙二醇)胺；(+)生物素4-酰氨基苯甲酸钠盐；生物素2-N-乙酰氨基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖苷；生物素-α-D-N-乙酰基神经氨酸苷；生物素-α-L-岩藻糖苷；生物素乳-N-二糖苷；生物素-Lewis-A三糖苷；生物素-Lewis-Y四糖苷；生物素-α-D-吡喃甘露糖苷；生物素6-O-磷酰-α-D-吡喃甘露糖苷；和1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-(生物素基)、前述化合物的亚胺基生物素衍生物及其混合物。

6. 权利要求5所述的组合物，其中所述靶向试剂是生物素DHPE或生物素-X-DHPE并且

所述治疗剂是胰岛素。

7. 一种制备口服生物利用组合物的方法，所述口服生物利用组合物包括明胶和另外的组分，所述组分包括动态分级的脂质体、脂质体片段和颗粒，其中所述脂质体、脂质体片段和颗粒产生自脂质成分的混合物，所述组合物还包括至少一种治疗剂或诊断剂以及至少一种生物素衍生的靶向试剂，其中所述明胶与一种或多种所述组分积极可逆地相互作用，其中从大约 5％至大约 50％百分比范围的所述另外的组分呈现出等于或低于大约 20 纳米的平均直径，其中所述脂质成分的至少一种是磷酸双十六烷基酯，以及其中所述组合物在哺乳动物中口服生物利用，所述方法包括下列步骤：

a. 在含水介质中混合所述脂质成分和任选地所述至少一种靶向试剂以形成第一混合物，其中所述脂质成分的至少一种是磷酸双十六烷基酯；

b. 向所述第一混合物中加入所述治疗剂或诊断剂以形成第二混合物；

c. 向明胶中加入所述第二混合物以形成明胶缔合的混合物；和

d. 干燥所述明胶缔合的混合物，

其中所述脂质成分选自 MPB-PE、1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、1,2- 二肉豆蔻酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、胆固醇、胆固醇油酸酯、1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸酯、1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸酯、1,2- 二肉豆蔻酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸酯、1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸乙醇胺、1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸乙醇胺 -N-( 琥珀酰 )、1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3-[ 磷酸 -rac-(1- 甘油 )]( 钠盐 ) 和 2,3- 二乙酰氧基丙基 2-(5-((3aS,6aR)-2- 氧代六氢 -1H- 噻吩并 [3,4-d] 咪唑 -4- 基 ) 五酰胺 ) 乙基磷酸三乙铵，

其中所述治疗剂选自胰岛素、干扰素、促红细胞生成素、甲状旁腺激素、降钙素、血清素、利妥普单抗、曲妥珠单抗、尿酸酶、组织纤溶酶原激活物、抗胸腺细胞球蛋白、疫苗、肝素或肝素类似物、抗凝血酶 III、非格司亭、醋酸普兰林肽、艾塞那肽、埃替非巴肽、抗蛇毒素、IgG、IgM、HGH、甲状腺素、GLP-1、凝血因子 VII 和 VIII、单克隆抗体和作为治疗剂的糖脂，以及

其中所述生物素衍生的靶向试剂选自 N- 羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 生物素；硫代 -NHS- 生物素；N- 羟基琥珀酰亚胺长链生物素；硫代 -N- 羟基琥珀酰亚胺长链生物素；D- 生物素；生物胞素；硫代 -N- 羟基琥珀酰亚胺 -S-S- 生物素；生物素 -BMCC；生物素 -HPDP；碘代乙酰基 -LC- 生物素；生物素 - 酰肼；生物素 -LC- 酰肼；生物胞素酰肼；生物素尸胺；羧基生物素；光生物素；对氨基苯甲酰生物胞素三氟醋酸盐；对重氮基苯甲酰生物胞素；生物素 DHPE；生物素 -X-DHPE；12-(( 生物素基 ) 氨基 ) 十二酸；12-(( 生物素基 ) 氨基 ) 十二酸琥珀酰亚胺酯；S- 生物素基高半胱氨酸；生物胞素 -X；生物胞素 x- 酰肼；生物素乙二胺；生物素 -XL；生物素 -X- 乙二胺；生物素 -XX 酰肼；生物素 -XX-SE；生物素 -XX,SSE；生物素 -X- 尸胺；α -(t-BOC) 生物胞素；N-( 生物素基 )-N'-( 碘代乙酰基 ) 乙二胺；DNP-X- 生物胞素 -X-SE；生物素 -X- 酰肼；盐酸降生物素胺；3-(N- 马来酰亚胺基丙酰基 ) 生物胞素；ARP；生物素 -1- 亚砜；生物素甲酯；生物素 - 马来酰亚胺；生物素 - 聚 ( 乙二醇 ) 胺；(+) 生物素 4- 酰氨基苯甲酸钠盐；生物素 2-N- 乙酰氨基 -2- 脱氧 -β -D- 吡喃葡萄糖苷；生物素 -α -D-N- 乙酰基神经氨酸苷；生物素 -α -L- 岩藻糖苷；生物素乳 -N- 二糖苷；生物素 - Lewis-A 三糖苷；生物素 - Lewis-Y 四糖苷；生物素 -α -D- 吡喃甘露糖苷；生物素 6-O- 磷

酰-α-D-吡喃甘露糖苷;和1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-(生物素基)、前述化合物的亚胺基生物素衍生物及其混合物。

8.权利要求7所述的方法,其中所述生物素衍生的靶向试剂选自生物素DHPE和生物素-X-DHPE。

9.权利要求7的方法,其中所述治疗剂是胰岛素。

10.口服生物利用组合物在制备用于治疗人糖尿病的药物中的应用,所述口服生物利用组合物包括明胶和另外的组分,所述组分包括动态分级的脂质体、脂质体片段和脂质颗粒,并且其中所述脂质颗粒包括至少一种脂质成分并且所述脂质体或脂质体片段包括至少两种脂质成分,所述组合物还包括至少一种治疗剂以及至少一种生物素衍生的靶向试剂,其中所述明胶与一种或多种所述组分积极可逆地相互作用,其中从大约5%至大约50%百分比范围的所述另外的组分呈现出等于或低于大约20纳米的平均直径,其中所述脂质成分的至少一种是磷酸双十六烷基酯,以及其中所述组合物在哺乳动物中口服生物利用。

11.权利要求10所述的应用,其中所述疾病是糖尿病。

12.权利要求11的应用,其中所述脂质成分选自MPB-PE、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、胆固醇、胆固醇油酸酯、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸酯、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸酯、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-磷酸酯、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-(琥珀酰)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-[磷酸-rac-(1-甘油)](钠盐)和2,3-二乙酰氧基丙基2-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)五酰胺)乙基磷酸三乙铵;所述至少一种或多种治疗剂是胰岛素。

13.权利要求12所述的应用,其中所述靶向试剂是生物素DHPE或生物素-X-DHPE。

14.权利要求1所述的组合物,其中所述脂质成分是1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、磷酸双十六烷基酯和胆固醇;所述靶向试剂是生物素-X-DHPE或生物素DHPE;并且所述治疗剂是胰岛素。

15.权利要求10的应用,其中所述脂质成分是1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、磷酸双十六烷基酯和胆固醇;所述靶向试剂是生物素-X-DHPE或生物素DHPE;并且所述治疗剂是胰岛素。

16.组合物,其通过权利要求7所述的方法制备。

17.权利要求10的应用,其中所述药物与胰岛素共同施用给所述人。

18.一种用于治疗人糖尿病的试剂盒,所述试剂盒包括:

a.口服生物利用组合物,所述口服生物利用组合物包括明胶和另外的组分,所述组分包括动态分级的脂质体、脂质体片段和脂质颗粒,其中所述脂质颗粒包括至少一种脂质成分并且所述脂质体或脂质体片段包括至少两种脂质成分,所述组合物还包括至少一种治疗剂或诊断剂以及任选地至少一种靶向试剂,其中所述明胶与一种或多种所述组分积极可逆地相互作用,其中从大约5%至大约50%百分比范围的所述另外的组分呈现出等于或低于大约20纳米的平均直径,其中所述脂质成分的至少一种是磷酸双十六烷基酯以及其中所述组合物在哺乳动物中口服生物利用;和

b.给人施用所述组合物的指导材料,

c. 用于与所述组合物共同施用给所述人的胰岛素。

19. 口服生物利用组合物，其包括包含脂质体、脂质体片段和脂质颗粒的组分，其中所述组分包含大约 61 摩尔百分数的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 22 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯和大约 16 摩尔百分数的胆固醇，其中所述组合物进一步包括至少一种治疗剂或诊断剂，以及其中所述组合物在哺乳动物中口服生物利用。

20. 权利要求 19 所述的组合物，其中所述治疗剂是至少一种选自胰岛素、干扰素、促红细胞生成素、甲状旁腺激素、血清素、D- 甲状腺素、L- 甲状腺素、降钙素、单克隆抗体及其任意组合的蛋白质。

21. 权利要求 19 所述的组合物，其中所述组分进一步包含大约 1％的靶向试剂，所述靶向试剂选自金属衍生的靶向试剂、生物素衍生的靶向试剂、其盐及其任意组合。

22. 权利要求 21 所述的组合物，其中所述金属衍生的靶向试剂包括金属和至少一种络合剂，其中所述金属选自过渡金属、内过渡金属和所述过渡金属的邻近金属；并且其中所述至少一种络合剂选自：

N-(2,6- 二异丙基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(2,6- 二乙基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(2,6- 二甲基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(4- 异丙基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(4- 丁基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(2,3- 二甲基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(2,4- 二甲基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(2,5- 二甲基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(3,4- 二甲基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(3,5- 二甲基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(3- 丁基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(2- 丁基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(4- 叔丁基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(3- 丁氧基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(2- 己氧基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(4- 己氧基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

氨基吡咯基亚氨基二乙酸；

N-(3- 溴 -2,4,6- 三甲基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

苯并咪唑甲基亚氨基二乙酸；

N-(3- 氰基 -4,5- 二甲基 -2- 吡咯基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

N-(3- 氰基 -4- 甲基 -5- 苄基 -2- 吡咯基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；和

N-(3- 氰基 -4- 甲基 -2- 吡咯基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸。

23. 权利要求 21 所述的组合物，其中所述生物素衍生的靶向试剂选自 N- 羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 生物素；硫代 -NHS- 生物素；N- 羟基琥珀酰亚胺长链生物素；硫代 -N- 羟基琥珀酰亚胺长链生物素；D- 生物素；生物胞素；硫代 -N- 羟基琥珀酰亚胺 -S-S- 生物素；生物素 -BMCC；生物素 -HPDP；碘代乙酰基 -LC- 生物素；生物素 - 酰肼；生物素 -LC- 酰

肼；生物胞素酰肼；生物素尸胺；羧基生物素；光生物素；对氨基苯甲酰生物胞素三氟醋酸盐；对重氮基苯甲酰生物胞素；生物素 DHPE；生物素 -X-DHPE；12-((生物素基)氨基)十二酸；12-((生物素基)氨基)十二酸珀酰亚胺酯；S- 生物素基高半胱氨酸；生物胞素 -X；生物胞素 x- 酰肼；生物素乙二胺；生物素 -XL；生物素 -X- 乙二胺；生物素 -XX 酰肼；生物素 -XX-SE；生物素 -XX, SSE；生物素 -X- 尸胺；α-(t-BOC) 生物胞素；N-(生物素基)-N'-(碘代乙酰基)乙二胺；DNP-X- 生物胞素 -X-SE；生物素 -X- 酰肼；盐酸降生物素胺；3-(N- 马来酰亚胺基丙酰基)生物胞素；ARP；生物素 -l- 亚砜；生物素甲酯；生物素 - 马来酰亚胺；生物素 - 聚(乙二醇)胺；(+) 生物素 4- 酰氨基苯甲酸钠盐；生物素 2-N- 乙酰氨基 -2- 脱氧 -β-D- 吡喃葡萄糖苷；生物素 -α-D-N- 乙酰基神经氨酸苷；生物素 -α-L- 岩藻糖苷；生物素乳 -N- 二糖苷；生物素 - Lewis-A 三糖苷；生物素 - Lewis-Y 四糖苷；生物素 -α-D- 吡喃甘露糖苷；生物素 6-O- 磷酰 -α-D- 吡喃甘露糖苷；和 1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸乙醇胺 -N-(生物素基)、前述化合物的亚胺基生物素衍生物及其混合物。

24. 权利要求 23 所述的组合物，其中所述生物素衍生的靶向试剂选自生物素 -DHPE、生物素 -X-DHPE、其盐及其任意组合。

# 口服生物利用的基于脂质的结构

[0001] 本申请为分案申请，原申请的申请日为2008年09月26日，申请号为200880117641.8(PCT/US2008/077990)，发明名称为“口服生物利用的基于脂质的结构”。

## 背景技术

[0002] 输送药物至对象的最优选方式之一是以口服制剂的方式。然而，许多药物化合物的口服制剂经常不可用，这是由于药物与消化道苛刻环境的不相容性。这对于药物化合物如肽、蛋白、某些小分子和核酸尤其如此。

[0003] 蛋白如胰岛素的口服制剂将是非常期望的。目前使I型和II型糖尿病患者中血液葡萄糖水平正常化的策略利用了各种延时释放制剂中胰岛素的皮下给药，诸如超长效胰岛素和蛇麻素NPH胰岛素。这些制剂的应用通过调节药物向组织的释放延迟并随后控制胰岛素的生物分布。胰岛素的持续操纵导致疾病过程中较好的葡萄糖控制和较少的注入需要。不幸地，仍需要多次疼痛注入，因为这些制剂不能在患有糖尿病的对象中提供持续不变的胰岛素水平。

[0004] 其它许多重要药物目前以口服制剂的方式也不可用。实例包括降钙素、血清素、甲状旁腺激素、GLP-1、促红细胞生成素、各种类型的干扰素、人生长激素、单克隆抗体等，其效用已经在文献中进行广泛地评论。

[0005] 口服药物输送领域需要的是能口服输送宽范围的药物产品和其它治疗剂的组合物。本发明满足且解决了这种需要。

## 发明内容

[0006] 本发明包括组合物，其促进和/或能够吸收一般口服不可生物利用的治疗剂。在一种实施方式中，本发明组合物通过与治疗剂缔合并且陪伴治疗剂通过肠腔进入门脉血流最后进入系统循环而发挥作用。在某些实施方式中，本发明组合物具有许多独特且有利的性质。这些性质之一是插入细胞间隙并且穿过哺乳动物肠进入门脉循环的能力。在某些实施方式中，本发明组合物可通过一种或多种靶向试剂靶向特定细胞或细胞外受体。

[0007] 在典型的实施方式中，本发明的口服生物利用组合物包括明胶和另外的组分。另外的组分包括动态分级的(sized)脂质体、脂质体片段和脂质颗粒，其中所述脂质颗粒包括至少一种脂质成分并且所述脂质体或脂质体片段包括至少两种脂质成分。组合物还包括至少一种治疗剂或诊断剂以及任选地至少一种靶向试剂。明胶与本发明组合物中一种或多种组分积极可逆地相互作用。

[0008] 在某些实施方式中，脂质成分选自MPB-PE、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、胆固醇、胆固醇油酸酯、磷酸双十六烷基酯、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸酯、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸酯、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-磷酸酯、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-(琥珀酰)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-[磷酸-rac-(1-甘油)](钠盐)和

2,3-二乙酰氧基丙基 2-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢 -1H-噻吩并 [3,4-d] 咪唑 -4-基) 五酰胺) 已基磷酸三乙铵。

[0009] 在某些实施方式中，治疗剂选自胰岛素、干扰素、促红细胞生成素、甲状旁腺激素、降钙素、血清素、利妥普单抗 (rituximab)、曲妥珠单抗 (trastuzumab)、尿酸酶、组织纤溶酶原激活物、抗胸腺细胞球蛋白 (Thymoglobulin)、疫苗、肝素或肝素类似物、抗凝血酶 III、非格司亭 (filgrastin)、醋酸普兰林肽 (pramilitide acetate)、艾塞那肽 (exanatide)、埃替非巴肽 (epifibatide)、抗蛇毒素、IgG、IgM、HGH、甲状腺素、GLP-1、凝血因子 VII 和 VIII、单克隆抗体和作为治疗剂的糖脂。

[0010] 在优选的实施方式中，治疗剂是胰岛素。

[0011] 在某些实施方式中，靶向试剂包括金属衍生的靶向试剂或生物素衍生的靶向试剂。

[0012] 在一子实施方式中，金属衍生的靶向试剂包括金属和至少一种络合剂。优选地，金属衍生的靶向试剂中的金属选自过渡金属、内过渡金属和该过渡金的邻近金属，并且所述至少一种络合剂选自：

[0013] N-(2,6-二异丙基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0014] N-(2,6-二乙基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0015] N-(2,6-二甲基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0016] N-(4-异丙基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0017] N-(4-丁基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0018] N-(2,3-二甲基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0019] N-(2,4-二甲基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0020] N-(2,5-二甲基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0021] N-(3,4-二甲基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0022] N-(3,5-二甲基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0023] N-(3-丁基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0024] N-(2-丁基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0025] N-(4-叔丁基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0026] N-(3-丁氧基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0027] N-(2-己氧基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0028] N-(4-己氧基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0029] 氨基吡咯基亚氨基二乙酸；

[0030] N-(3-溴 -2,4,6-三甲基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0031] 苯并咪唑甲基亚氨基二乙酸；

[0032] N-(3-氰基 -4,5-二甲基 -2-吡咯基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；

[0033] N-(3-氰基 -4-甲基 -5-苄基 -2-吡咯基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸；和

[0034] N-(3-氰基 -4-甲基 -2-吡咯基苯氨基甲酰甲基) 亚氨基二乙酸。

[0035] 在一实施方式中，金属是铬。

[0036] 在本发明的另一实施方式中，金属衍生的靶向试剂是聚 [Cr-双 (N-2,6-二异丙基苯氨基甲酰甲基亚氨基二乙酸)]。

[0037] 在又一实施方式中，靶向试剂是生物素衍生的靶向试剂，其选自：N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)生物素；硫代-NHS-生物素；N-羟基琥珀酰亚胺长链生物素；硫代-N-羟基琥珀酰亚胺长链生物素；D-生物素；生物胞素；硫代-N-羟基琥珀酰亚胺-S-S-生物素；生物素-BMCC；生物素-HPDP；碘代乙酰基-LC-生物素；生物素-酰肼；生物素-LC-酰肼；生物胞素酰肼；生物素尸胺；羧基生物素；光生物素；对氨基苯甲酰生物胞素三氟醋酸盐；对重氮基苯甲酰生物胞素；生物素DHPE；生物素-X-DHPE；12-((生物素基)氨基)十二酸；12-((生物素基)氨基)十二酸珀酰亚胺酯；S-生物素基高半胱氨酸；生物胞素-X；生物胞素x-酰肼；生物素乙二胺；生物素-XL；生物素-X-乙二胺；生物素-XX酰肼；生物素-XX-SE；生物素-XX,SSE；生物素-X-尸胺；α-(t-BOC)生物胞素；N-(生物素基)-N'-(碘代乙酰基)乙二胺；DNP-X-生物胞素-X-SE；生物素-X-酰肼；盐酸降生物素；3-(N-马来酰亚胺基丙酰基)生物胞素；ARP；生物素-1-亚砜；生物素甲酯；生物素-马来酰亚胺；生物素-聚(乙二醇)胺；(+)生物素4-酰氨基苯甲酸钠盐；生物素2-N-乙酰氨基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖苷；生物素-α-D-N-乙酰基神经氨酸苷(acetylneuraminide)；生物素-α-L-岩藻糖苷；生物素乳-N-二糖苷；生物素-Lewis-A三糖；生物素-Lewis-Y四糖；生物素-α-D-吡喃甘露糖苷；生物素6-O-磷酰-α-D-吡喃甘露糖苷；和1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-(生物素基)、前述化合物的亚胺基生物素衍生及其混合物。

[0038] 在本发明的另一子实施方式中，靶向试剂是聚[Cr-双(N-2,6-二异丙基苯氨基甲酰甲基亚氨基二乙酸)]并且治疗剂是胰岛素。

[0039] 在又一子实施方式中，靶向试剂是生物素DHPE或生物素-X-DHPE并且治疗剂是胰岛素。

[0040] 本发明还描述一种制备口服生物利用组合物的方法，所述口服生物利用组合物包括明胶和另外的组分，其中所述组分包括动态分级的脂质体、脂质体片段和颗粒，其中所述脂质体、脂质体片段和颗粒产生自脂质成分的混合物，所述组合物还包括至少一种治疗剂或诊断剂以及任选地至少一种靶向试剂，其中所述明胶与一种或多种组分积极可逆地相互作用。所述方法包括下列步骤：在含水介质中混合脂质成分和任选地至少一种靶向试剂以形成第一混合物；向所述第一混合物中加入所述治疗剂或诊断剂以形成第二混合物；向明胶中加入所述第二混合物以形成明胶缔合的混合物；和干燥所述明胶缔合的混合物。

[0041] 在所述方法的子实施方式中，所述脂质成分选自MPB-PE、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、胆固醇、胆固醇油酸酯、磷酸双十六烷基酯、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸酯、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸酯、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-磷酸酯、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-(琥珀酰)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-[磷酸-rac-(1-甘油)](钠盐)和2,3-二乙酰氧基丙基2-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)五酰胺)已基磷酸三乙铵；并且当存在时，任选的靶向试剂是金属衍生的靶向试剂或生物素衍生的靶向试剂；并且所述治疗剂选自胰岛素、干扰素、促红细胞生成素、甲状旁腺激素、降钙素、血清素、利妥普单抗、曲妥珠单抗、尿酸酶、组织纤溶酶原激活物、抗胸腺细胞球蛋白、疫苗、肝素或肝素类似物、抗凝血酶III、非格司亭、醋酸普兰林肽、艾塞那肽、

埃替非巴肽、抗蛇毒素、IgG、IgM、HGH、甲状腺素、GLP-1、凝血因子 VII 和 VIII、单克隆抗体和作为治疗剂的糖脂。

[0042] 在所述制备本发明的口服生物利用组合物的方法的另一子实施方式中，所述金属衍生的靶向试剂是聚 [Cr- 双 (N-2,6- 二异丙基苯氨基甲酰甲基亚氨基二乙酸 )]。

[0043] 在所述制备本发明的口服生物利用组合物的方法的另一子实施方式中，所述生物素衍生的靶向试剂选自生物素 DHPE 和生物素 -X-DHPE。

[0044] 根据本发明的另一子实施方式，所述治疗剂是胰岛素。

[0045] 本发明还预期一种治疗人疾病的方法，所述方法包括给人施用口服生物利用组合物，所述口服生物利用组合物包括明胶和另外的组分，其中所述组分包括动态分级的脂质体、脂质体片段和脂质颗粒，并且其中所述脂质颗粒包括至少一种脂质成分并且所述脂质体或脂质体片段包括至少两种脂质成分，并且其中所述组合物还包括至少一种治疗剂或诊断剂以及任选地至少一种靶向试剂，其中所述明胶与一种或多种组分积极可逆地相互作用。

[0046] 在所述治疗疾病的方法的子实施方式中，所述疾病是糖尿病。

[0047] 在另外的子实施方式中，所述脂质成分选自 MPB-PE、1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、1,2- 二肉豆蔻酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、胆固醇、胆固醇油酸酯、磷酸双十六烷基酯、1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸酯、1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸酯、1,2- 二肉豆蔻酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸酯、1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸乙醇胺、1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸乙醇胺 -N-( 琥珀酰 )、1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3-[ 磷酸 -rac-(1- 甘油 )] ( 钠盐 ) 和 2,3- 二乙酰氧基丙基 2-(5-((3aS,6aR)-2- 氧代六氢 -1H- 噻吩并 [3,4-d] 咪唑 -4- 基 ) 五酰胺 ) 己基磷酸三乙铵；所述至少一种或多种治疗剂是胰岛素；并且当存在时，任选的靶向试剂是金属衍生的靶向试剂或生物素衍生的靶向试剂。

[0048] 在又一子实施方式中，其中所述靶向试剂不是任选的，所述靶向试剂是聚 [Cr- 双 (N-2,6- 二异丙基苯氨基甲酰甲基亚氨基二乙酸 )]、生物素 DHPE 或生物素 -X-DHPE。

[0049] 在所述组合物的优选实施方式中，所述脂质成分是 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、磷酸双十六烷基酯和胆固醇；所述靶向试剂不是任选的并且是聚 [Cr- 双 (N-2,6- 二异丙基苯氨基甲酰甲基亚氨基二乙酸 )]；并且所述治疗剂是胰岛素。

[0050] 在另一优选实施方式中，所述脂质成分是 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、磷酸双十六烷基酯和胆固醇；所述靶向试剂不是任选的并且是生物素 -X-DHPE 或生物素 DHPE；并且所述治疗剂是胰岛素。

[0051] 在本发明方法的优选实施方式中，所述脂质成分是 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、磷酸双十六烷基酯和胆固醇；所述靶向试剂不是任选的并且是聚 [Cr- 双 (N-2,6- 二异丙基苯氨基甲酰甲基亚氨基二乙酸 )]；并且所述治疗剂是胰岛素。

[0052] 在本发明方法的另一优选实施方式中，所述脂质成分是 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、磷酸双十六烷基酯和胆固醇；所述靶向试剂不是任选的并且是生物素 -X-DHPE 或生物素 DHPE；并且所述治疗剂是胰岛素。

[0053] 在本发明的另一方面，本发明组合物可通过包括下列步骤的方法制备：a) 在含水介质中混合至少三种脂质成分和任选地至少一种靶向试剂以形成第一混合物，其中所述脂

质成分选自 MPB-PE、1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、1,2- 二肉豆蔻酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、胆固醇、胆固醇油酸酯、磷酸双十六烷基酯、1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸酯、1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸酯、1,2- 二肉豆蔻酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸酯、1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸乙醇胺、1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸乙醇胺 -N-( 琥珀酰 )、1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3-[ 磷酸 -rac-(1- 甘油 )]( 钠盐 ) 和 2,3- 二乙酰氧基丙基 2-(5-((3aS,6aR)-2- 氧代六氢 -1H- 噻吩并 [3,4-d] 咪唑 -4- 基 ) 五酰胺 ) 己基磷酸三乙铵 ;b) 使所述混合物均匀化以形成脂质体、脂质体片段和颗粒的混合物 ;c) 向所述脂质体、脂质体片段和颗粒的混合物中加入治疗剂或诊断剂以形成第二混合物 ;c) 向明胶中加入所述第二混合物以形成明胶缔合的混合物 ;d) 干燥所述明胶缔合的混合物。

[0054] 本发明还包括一种治疗人糖尿病的方法。该方法包括给所述人施用口服生物利用组合物,所述口服生物利用组合物包括明胶和另外的组分,所述组分包括动态分级的脂质体、脂质体片段和脂质颗粒,其中所述脂质颗粒包括至少一种脂质成分并且所述脂质体或脂质体片段包括至少两种脂质成分,所述组合物还包括胰岛素以及任选地至少一种靶向试剂,其中所述明胶与一种或多种组分积极可逆地相互作用。该方法进一步包括给所述人共同施用胰岛素。

[0055] 本发明还包括试剂盒,其包括口服生物利用组合物,所述口服生物利用组合物包括明胶和另外的组分,其中所述组分包括动态分级的脂质体、脂质体片段和脂质颗粒,并且其中所述脂质颗粒包括至少一种脂质成分并且所述脂质体或脂质体片段包括至少两种脂质成分,所述组合物还包括至少一种治疗剂或诊断剂以及任选地至少一种靶向试剂,其中所述明胶与一种或多种组分积极可逆地相互作用。试剂盒还包括给人施用所述组合物的指导材料。

[0056] 在本发明试剂盒的子实施方式中,试剂盒还包括胰岛素,用于与所述组合物共同施用给所述人。

## 附图说明

[0057] 前面的概述以及下面对本发明优选实施方式的详细描述当与附图一起阅读时将被更好地理解。为了阐明本发明的目的,在图中显示的是目前优选的实施方式。然而应当理解,本发明不限于所示的准确的布置和手段。

[0058] 图 1 是本发明组合物的示意图。

[0059] 图 2 是一张图,其描绘在向禁食且麻醉的 230 克大鼠的十二指肠中注入放射性标记的组合物后 15 和 30 分钟在股静脉和门静脉中发现的 $^{14}C$ 放射性标记的磷脂的计数。

[0060] 图 3 是一张柱状图,其描绘杀死后图 2 大鼠的血液、肝脏和脾中 $^{14}C$ 放射性标记的磷脂的分布。

[0061] 图 4 是一张图,其描绘在剂量给药后 15、30 和 45 分钟放射性标记的组合物从饮用水中的吸收。

[0062] 图 5 是一张柱状图,其描绘杀死后图 4 大鼠的血液、肝脏和脾中标记的组合物的分布。

[0063] 图 6 是一张图,其描绘以本发明组合物的形式口服给药的胰岛素的效力。

[0064] 图 7 是一张柱状图，其描绘本发明组合物（低剂量下）在门脉葡萄糖负载期间将 2 型糖尿病狗从肝葡萄糖输出转换成摄取方面的效力。

[0065] 图 8 是降钙素与非靶向的本发明组合物一起给药后血液钙水平曲线。

[0066] 图 9 是本发明组合物的组分的大小分布图。

[0067] 图 10 是包含生物素靶向试剂和胰岛素的本发明组合物在减轻人 2 型糖尿病的效果上的效力图。

[0068] 图 11 是本发明组合物的色谱图，其显示胰岛素负载的效力。

[0069] 图 12 是一张图，其描绘共价连接到本发明组合物的 IgG 抗体口服传递相对于非缔合（游离）IgG 抗体口服吸收的效力。

[0070] 图 13 是一张图，其描绘与本发明组合物缔合的甲状腺素的口服给药对小鼠中血清胆固醇和甘油三酸酯（“TG”）的效果。

[0071] 图 14 是一张图，其描绘与本发明组合物缔合的干扰素的口服给药对减轻患有丙型肝炎的人病毒负载的效果。

## 具体实施方式

[0072] 本发明包括组合物，其促进和 / 或能够吸收一般口服不可生物利用的治疗剂。在一种实施方式中，本发明组合物通过与治疗剂缔合并且陪伴治疗剂通过肠腔进入门脉血流最后进入系统循环而发挥作用。在某些实施方式中，本发明组合物具有许多独特且有利的性质。这些性质之一是插入细胞间隙并且穿过哺乳动物肠进入门脉循环的能力。在某些实施方式中，本发明组合物可通过一种或多种靶向试剂靶向特定细胞或细胞外受体。

[0073] 在典型的实施方式中，本发明的口服生物利用组合物包括明胶和另外的组分。另外的组分包括动态分级的脂质体、脂质体片段和脂质颗粒，其中所述脂质颗粒包括至少一种脂质成分并且所述脂质体或脂质体片段包括至少两种脂质成分。组合物还包括至少一种治疗剂或诊断剂以及任选地至少一种靶向试剂。明胶与本发明组合物中一种或多种组分积极可逆地相互作用。

[0074] 定义

[0075] 除非另外定义，本文所用的所有技术和科学术语一般具有与本发明所属领域普通技术人员所通常理解的相同的含义。一般地，本文所用的命名法以及有机化学和蛋白质化学中的实验规程都是本领域熟知且通常使用的那些。

[0076] 冠词“一 (a)”和“一 (an)”在本文被用于指一个或一个以上（即至少一个）的该冠词的语法对象。例如“一元素”是指一种元素或一种以上的元素。

[0077] 如本文所用，氨基酸被显示为其全称、三字母代码以及与其对应的一字母代码，如下表所示：

[0078]

| 全称 | 3 字母代码 | 1 字母代码 | 全称 | 3 字母代码 | 1 字母代码 |
|---|---|---|---|---|---|
| 丙氨酸 | Ala | A | 亮氨酸 | Leu | L |
| 精氨酸 | Arg | R | 赖氨酸 | Lys | K |
| 天冬酰胺 | Asn | N | 甲硫氨酸 | Met | M |
| 天冬氨酸 | Asp | D | 苯丙氨酸 | Phe | F |
| 半胱氨酸 | Cys | C | 脯氨酸 | Pro | P |
| 胱氨酸 | Cys-Cys | C-C | 丝氨酸 | Ser | S |
| 谷氨酸 | Glu | E | 苏氨酸 | Thr | T |
| 谷氨酰胺 | Gln | Q | 色氨酸 | Trp | W |
| 甘氨酸 | Gly | G | 酪氨酸 | Tyr | Y |
| 组氨酸 | His | H | 缬氨酸 | Val | V |
| 异亮氨酸 | Ile | I | | | |

[0079] 术语“低级 (lower)”在提及化学结构中使用时描述了包含 1 至 6 个碳原子的基团。

[0080] 除非另外表明，术语“烷基”本身或作为另一取代基的部分是指碳原子数指定的直链、支链或环状烃（即 $C_1$-$C_6$是指 1 至 6 个碳）。实例包括：甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、新戊基、己基、环己基和环丙基甲基。最优选的是 ($C_1$-$C_3$) 烷基，尤其乙基、甲基和异丙基。

[0081] 除非另外表明，术语“亚烷基”本身或作为另一取代基的部分是指具有两个取代位点的直链、支链或环状链烃，如亚甲基 (-$CH_2$-)、亚乙基 (-$CH_2CH_2$-)、亚异丙基 (-C($CH_3$) = CH-) 等。

[0082] 除非另外表明，术语“芳基”单独使用或与其它术语联合使用时是指包含一个或多个环（一般地一个、两个或三个环）、饱和或不饱和的碳环结构，其中所述环可以以旁侧的方式连接在一起，诸如联苯或者可以是稠合的，诸如萘。实例包括苯基、蒽基和萘基。该结构可任选地被一个或多个取代基取代，所述取代基独立地选自卤素；($C_1$-$C_6$) 烷基；($C_1$-$C_6$) 链烯基；($C_1$-$C_6$) 烷氧基；OH；$NO_2$；C ≡ N；C( = O)O($C_1$-$C_3$) 烷基；($C_2$-$C_6$) 亚烷基 -$OR^2$；膦酸基 (phosphonato)；$NR^2_2$；NHC( = O) ($C_1$-$C_6$) 烷基；氨磺酰；氨基甲酰；OC( = O) ($C_1$-$C_3$) 烷基；O($C_2$-$C_6$) 亚烷基 -N(($C_1$-$C_6$) 烷基)$_2$；和 ($C_1$-$C_3$) 全氟烃基。

[0083] 术语“芳基低级烷基”是指这样的官能团，其中芳基被连接到低级亚烷基，如 -$CH_2CH_2$- 苯基。

[0084] 除非另外表明，术语“烷氧基”单独使用或与其它术语联合使用时是指通过氧原子连接到分子的其余部分、具有指定数目的碳原子的烷基或包含取代基诸如羟基的烷基，诸如举例来说 -OCH(OH)-、-$OCH_2$OH、甲氧基 (-$OCH_3$)、乙氧基 (-$OCH_2CH_3$)、1- 丙氧基 (-$OCH_2CH_2CH_3$)、2- 丙氧基（异丙氧基）、丁氧基 (-$OCH_2CH_2CH_2CH_3$)、戊氧基 (-$OCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$) 和高级同系物和同分异构体。

[0085] 术语“酰基”是指通式 -C( = O)-R 的官能团，其中 -R 是氢、烷基、氨基或烷氧基。实例包括乙酰基 (-C( = O)$CH_3$)、丙酰基 (-C( = O)$CH_2CH_3$)、苯甲酰基 (-C( = O)$C_6H_5$)、苯乙酰基 (C( = O)$CH_2C_6H_5$)、乙氧甲酰基 (-$CO_2CH_2CH_3$) 和二甲基氨基甲酰基 (C( = O)N($CH_3$)$_2$)。

[0086] 除非另外表明，术语“卤”或“卤素”本身或作为另一取代基的部分是指氟、氯、溴或碘原子。

[0087] 除非另外表明，术语“杂环”或“杂环基”或“杂环的”本身或作为另一取代基的部分是指包含碳原子和至少一个选自N、O和S的杂原子的饱和或不饱和的、稳定的、单环或多环的环系统，并且其中氮和硫杂原子可任选地被氧化，并且氮原子可任选地被季铵化。实例包括吡啶、吡咯、咪唑、苯并咪唑、酞、吡啶基 (pyridenyl)、吡喃基、呋喃基、噻唑、噻吩、噁唑、吡唑、3-吡咯啉、吡咯烷 (pyrrolidene)、嘧啶、嘌呤、喹啉、异喹啉、咔唑等。在取代将产生稳定化合物的情况下，结构可任选地被一个或多个取代基取代，所述取代基独立地选自卤素；$(C_1-C_6)$ 烷基；$(C_1-C_6)$ 链烯基；$(C_1-C_6)$ 烷氧基；OH；$NO_2$；C≡N；C(=O)O$(C_1-C_3)$ 烷基；$(C_2-C_6)$ 亚烷基 $-OR^2$；膦酸基 (phosphonato)；$NR^2_2$；NHC(=O)$(C_1-C_6)$ 烷基；氨磺酰；氨基甲酰；OC(=O)$(C_1-C_3)$ 烷基；O$(C_2-C_6)$ 亚烷基 $-N((C_1-C_6)$ 烷基$)_2$；和 $(C_1-C_3)$ 全氟烃基。

[0088] 术语“两亲脂质”是指具有极性末端和非极性末端的脂质分子。

[0089] “络合剂”是这样的化合物，所述化合物能与金属形成水不溶性配位络合物，例如铬、锆等的盐，其在水中基本上不溶并且可溶于有机溶剂。

[0090] “含水介质”是指包括水的介质或包括含至少一种缓冲液或盐的水的介质。

[0091] 术语“缔合的 (associated)”或“与……缔合的 (associated with)”当提及组合物或本发明组合物的组分使用时是指所提及的物质被合并（或插入）到组合物或本发明组合物的组分之中、表面上或之内。

[0092] 术语“胰岛素”是指天然或重组形式的胰岛素、合成胰岛素以及前述胰岛素的衍生物。胰岛素的实例包括但不限于赖脯胰岛素 (insulin lispro)、门冬胰岛素 (insulin aspart)、普通胰岛素 (regular insulin)、甘精胰岛素 (insulin glargine)、锌胰岛素 (insulin zinc)、长效锌人胰岛素 (human insulin zinc extended)、低精蛋白锌胰岛素、人缓冲普通胰岛素 (human buffered regular insulin)、格鲁辛胰岛素 (insulin glulisine)、重组人普通胰岛素 (recombinant human regular insulin)、超长效胰岛素 (ultralente insulin)、人体单组分胰岛素 (humulin)、NPH胰岛素、Levemir、Novolog和低精蛋白锌重组人胰岛素 (recombinant human insulin isophane)。还包括动物胰岛素，诸如牛或猪胰岛素。

[0093] 术语“甘精 (glargine)”和“甘精胰岛素 (insulin glargine)”两者都是指重组人胰岛素类似物，其区别于人胰岛素的地方在于位置A21上的氨基酸天冬酰胺被甘氨酸取代并且两个精氨酸加入到B-链的C-端。化学上，它是21A-Gly-30Ba-L-Arg-30Bb-L-Arg-人胰岛素并且具有经验式 $C_{267}H_{404}N_{72}O_{78}S_6$ 以及6063的分子量。

[0094] 术语“低精蛋白锌重组人胰岛素 (recombinant human insulin isophane)”是指已经用鱼精蛋白处理的人胰岛素。

[0095] 术语“生物利用率”是指药物试剂诸如但不限于胰岛素到达系统循环并且在其作用位点可利用的速度和程度的度量。

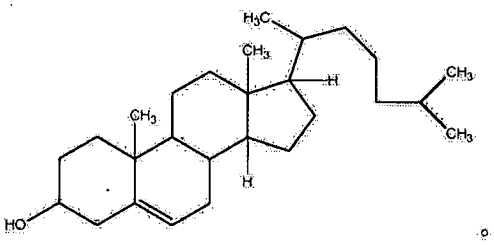
[0096] 如本文所用，“治疗 (treat)”是指减少患者所经历的疾病、病症或不利状况等的症状的频率。

[0097] 如本文所用，术语“药学上可接受的载体”是指活性成分可与之组合并且组合后可被用于将活性成分施加给对象的化学组合物。

[0098] 术语“脂质 (lipid)”或“脂质 (lipids)”是指这样的有机化合物，其特征在于对于非极性无质子有机溶剂是优选的。脂质可以或可以不具有烷基链端。根据本发明的脂质包括但不限于本领域中已知的化合物种类，诸如磷脂、胆固醇和磷酸二烷基酯。

[0099] 如本文所用，“胆固醇”是指下列化合物以及该化合物的所有衍生物和类似物：

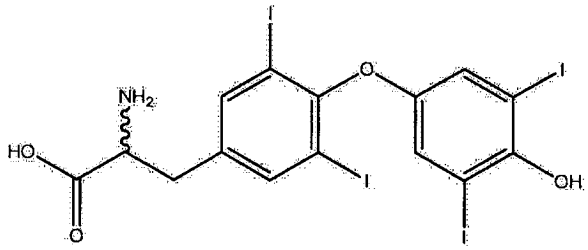
[0100]



[0101] 如本文所用，“颗粒”包括一个或多个脂质的多个单元的结块。

[0102] 如本文所用，“甲状腺素”是指下列化合物：

[0103]



[0104] 其中氨基可以处于“D”或“L”构型。

[0105] 如本文所用，“共同施加 (co-administration)”或“共同施加 (co-administering)”以及其变化是指在施加第一治疗剂之前、期间或之后施加第二治疗剂。第一或第二治疗剂可以是相同的或不同的。

[0106] 如本文所用，“干扰素”是指所有形式的干扰素，其包括但不限于干扰素 -α、干扰素 -β、干扰素 -γ 以及其子单元。

[0107] 描述

[0108] 本发明的组合物由明胶和一种或多种组分组成，其中所述组分包括脂质体、脂质体片段和脂质颗粒。

[0109] 传统上，由两性物质组成的脂质体、脂质体片段和脂质颗粒已经局限于大约 40 纳米的较小尺寸分布。这种限制被认为是构成膜结构的组分脂质（磷脂、胆固醇、磷酸二烷基酯等）的总 (collective) 尺寸的函数。

[0110] 然而，本发明组合物的组分论证了至今没有观察到的动态尺寸分级（尺寸调整，sizing) 和尺寸弹性。具体地，本发明组合物的组分在含水介质中存在动态平衡，其中所述组分的尺寸平均地在直径上从大约 6 纳米至大约 60 纳米之间波动。在任何给定的时间，从大约 5%至大约 50%的组分的任何地方呈现出大约 20 纳米或更少的平均直径。由于尺寸上几乎恒定的波动，本发明组合物的组分不可能通过传统的分级方法物理分离以形成不同尺寸结构的离散群。本发明组合物的组分可以是但不限于脂质体、脂质体片段和脂质颗粒。

[0111] 本发明组合物的组分可与一种或多种治疗剂和 / 或诊断剂缔合。不希望被任何特定理论束缚，应当认为直径 20 纳米或以下的组分足够小以穿过细胞间隙，因此能使缔合的

治疗剂或诊断剂从肠腔转运至门脉血液。

[0112] 缔合的治疗剂和/或诊断剂可被共价或非共价地结合到本发明组合物的一种或多种组分。在本发明的实施方式中——其中缔合的治疗剂或诊断剂被共价结合，缔合的治疗剂或诊断剂可被结合到可官能化的化学基团。可官能化的基团的实例包括但不限于羟基、氨基、羧基和酰氨基团。

[0113] 可与本发明组合物的组分共价结合的治疗剂的实例包括多肽和/或蛋白，诸如但不限于 GLP-1、胰岛素、降钙素、干扰素、尿酸酶、组织纤溶酶原激活物、抗胸腺细胞球蛋白(Thymoglobulin)、各种疫苗、肝素、肝素类似物、抗凝血酶 III、非格司亭、醋酸普兰林肽、艾塞那肽、埃替非巴肽和抗蛇毒素，凝血因子——其包括但不限于因子 VII 和 VIII，各种小分子诸如，举例来说，D 或 L 甲状腺素或血清素、核酸、DNA 或 RNA 序列，免疫球蛋白，诸如但不限于 IgG 和 IgM，和各种单克隆抗体，诸如但不限于利妥普单抗、曲妥珠单抗和充当治疗剂的糖脂，以及此外，其它较大的蛋白，诸如举例来说人生长激素（“HGH”）、促红细胞生成素和甲状旁腺激素。

[0114] 可与本发明组合物的组分共价结合的诊断剂的实例包括诊断造影剂诸如，但不限于金和钆。其它诊断剂包括放射性物质诸如普通原子的放射性同位素，其包括但不限于 $^{13}C$、$^{68}Ge$、$^{18}F$ 和 $^{125}I$。这些造影试剂和放射性试剂可直接通过共价连接到脂质成分或靶向试剂而与组合物的组分共价连接。可选地并且在化学上适当的情况下，诊断剂可被结合到配体诸如 DADO(2’-脱氧腺苷)，其本身被共价连接到脂质成分或靶向试剂。

[0115] 可选地并且在化学上适当的情况下，本发明组合物的组分可通过非共价相互作用与前述诊断剂或治疗剂缔合。非共价相互作用能使本发明组合物的组分与各种各样的诊断剂和治疗剂相容。

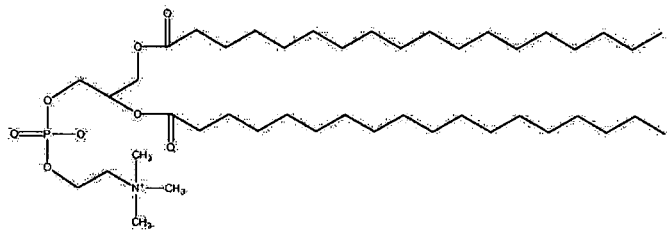
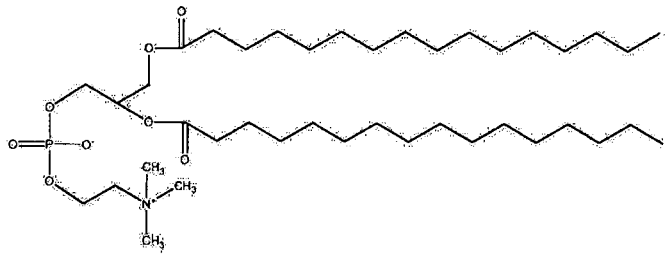
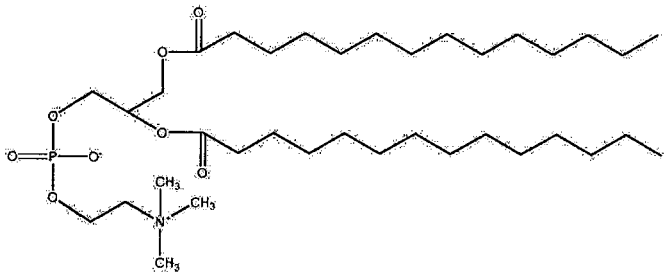
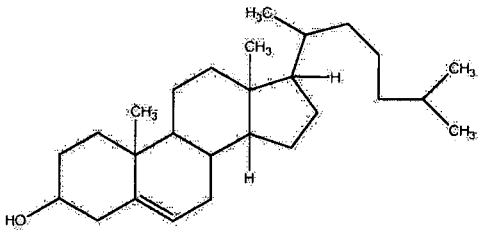
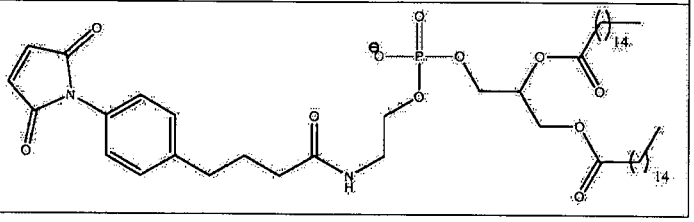
[0116] 脂质

[0117] 本发明组合物的组分包括一种或多种脂质成分和任选的靶向试剂。包括单一脂质成分的单个单元或多个单元的实施方式在本文被称为“脂质颗粒”。根据所得结构的特性，包括两种或多种不同脂质成分和任选的靶向试剂的实施方式被分为脂质体或脂质体片段。

[0118] 本发明的脂质成分选自 1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱、胆固醇、胆固醇油酸酯、磷酸双十六烷基酯、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸酯、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸酯、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-磷酸酯、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-(琥珀酰)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-[磷酸-rac-(1-甘油)](钠盐)、2,3-二乙酰氧基丙基 2-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)五酰胺)已基磷酸三乙铵、MPB-PE 及其衍生物。代表性结构显示在表 1 中。

[0119] 表 1

[0120]

| 通用名称 | 化学名称 | 结构 |
|---|---|---|
| 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱 | 2,3- 双(硬脂酰氧基)丙基 2-(三甲铵基)乙基磷酸酯 |  |
| 1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱 | 2,3- 双(棕榈酰氧基)丙基 2-(三甲铵基) 乙基磷酸酯 |  |
| 1,2- 二肉豆蔻酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱 | 2,3- 双(十四烷酰氧基)丙基 2-(三甲铵基) 乙基磷酸酯 |  |
| 胆固醇 | 10,13- 二甲基 -17-(6- 甲基庚 -2- 基)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17- 十四氢 -1H- 环戊二烯并 [a] 菲 -3- 酚 |  |
| MPB-PE | |  |

[0121] 作为非限制性实例，本发明组合物的组分可由按照下列混合的脂质成分制成：大约 61 摩尔百分数的 1, 2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 22 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯和大约 16 摩尔百分数的胆固醇。在组分结合靶向试剂的实施方式中，上面提到的混合物可进一步包括大约 1 至大约 2 摩尔百分数的至少一种靶向试剂，其中其它脂质成分的量减少以保持上述成分的比例。

[0122] 在另一实施方式中，本发明的组合物可由按照下列混合的脂质成分制成：大约 68 摩尔百分数的 1, 2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 18 摩尔百分数的磷酸双

十六烷基酯、大约 9 摩尔百分数的胆固醇和大约 3 百分数的 MPB-PE。在组分结合靶向试剂的实施方式中，上面提到的混合物可进一步包括大约 1 至大约 2 摩尔百分数的至少一种靶向试剂，其中其它脂质成分的量减少以保持上述成分的比例。

[0123] 制备

[0124] 一般地，当至少一种脂质成分和任选的靶向试剂在含水介质中经由微流化或其它涉及空化的方法被均匀化时，形成了本发明组合物的组分。

[0125] 在本发明的实施方式中，脂质成分（或多种）和任选的靶向试剂（或多种）可在 pH 大约 6.0 至 pH 大约 8.0 的 18mM 磷酸盐缓冲液中被均匀化。磷酸盐缓冲液中脂质成分浓度可在大约 10 至大约 200mg/ml 的范围内以及其中的任何整数和所有的全部整数以及部分整数。在一种实施方式中，脂质成分浓度为大约 30 至大约 150mg/ml。在更优选的实施方式中，脂质成分浓度为大约 15 至大约 50mg/ml。在最优选的实施方式中，脂质成分浓度为大约 28-30mg/ml。

[0126] 含水介质、脂质成分（或多种）和任选的靶向试剂的均匀化可在适于均匀化的设备中通过处理而实现。合适的设备的实例包括但不限于Polytron® System PT 6100、M-110-EH微流化床、超声破碎仪 (ultrasonic sonicator)、高压膜过滤装置和均化挤出机。

[0127] 在使用微流化床的情况中，微流化床优选地在高于脂质成分的最高转化温度的温度下进行操作，并且最优选地在高于大约 75℃的温度下操作。因此，高温使得脂质成分（或多种）中存在的任何酰基和烷基链向流体一样地移动以及符合邻近的烃部分并且与之缔合。这些非共价缔合直接导致本发明组合物的组分的形成。

[0128] 对于微流化方法，为了实现动态组分分级——其中一些组分具有小于 20 纳米的半径，需要在 9000psig 下高达大约五次独立的过辊压炼。通过 Coulter N-4Plus Sub-Micron Particle Size Analyzer 产生的组分分析数据显示在图 9 中并且表现出对同一样品当它在 Coulter N-4Plus Sub-Micron Particle Size Analyzer 中保持不动时 10 次重复的尺寸分析。该数据证实了组分分级的动态特性以及在含水介质中本发明组合物的组分之间相互作用的流体特性。

[0129] 微流化后，所得组分可通过 0.8 微米至 0.2 微米一套 Supor™膜进行无菌过滤。

[0130] 在亚微米颗粒形成过程期间，氢键结合、离子键结合、范德华相互作用、偶极相互作用、离子 - 偶极相互作用和疏水性缔合指示了本发明组合物的组分组合的方式。虽然不希望受任何特定理论束缚，但是应当认为所有这些力的相互作用在上面所示的条件下不同程度地变化，产生本发明动态分级的组分。

[0131] 靶向试剂的结合

[0132] 在某些实施方式中，本发明的成分可任选地包括靶向试剂。靶向试剂改变组分的生物分布并且进一步提高了缔合的治疗剂的效力。例如，本发明组合物的组分可结合一种或多种靶向试剂，其起到将所述组分靶向特定细胞或细胞外受体的作用。可选地，作为非限制性实例，靶向试剂可掩蔽组分免于网状内皮组织（巨噬细胞）的识别。

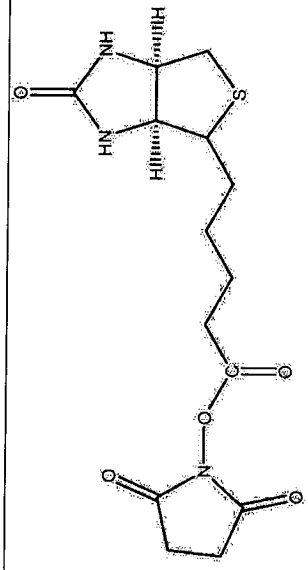
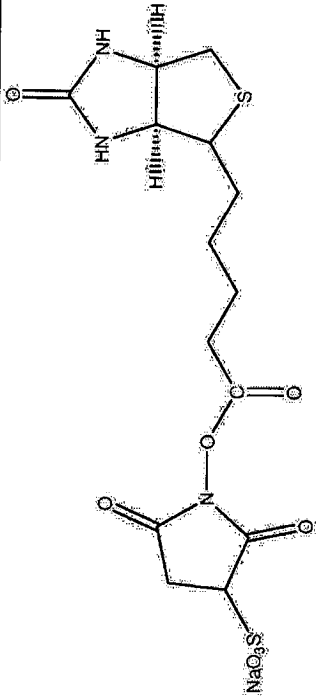
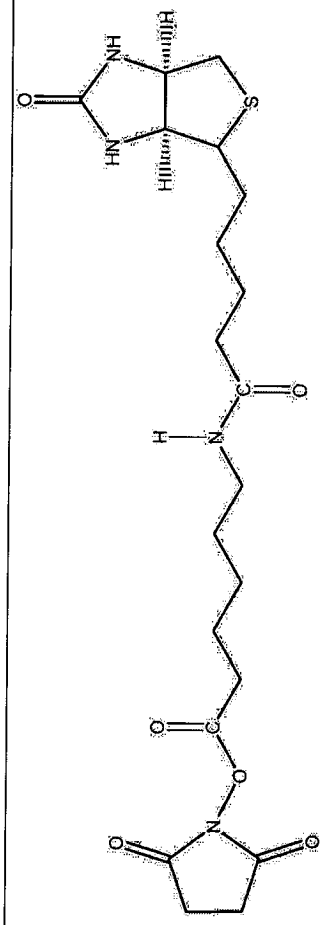
[0133] 在一种实施方式中，靶向试剂促使胰岛素递送至肝脏以控制饭后糖原储存并且包括一类被称为“肝细胞靶向分子”(HTM) 的分子。HTM 实例包括生物素衍生的靶向试剂诸如 1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸乙醇胺 -N-（生物素基）以及金属衍生的靶向试剂诸如聚 [Cr- 双 (N-2,6- 二异丙基苯氨基甲酰甲基亚氨基二乙酸)]。金属衍生的靶向

试剂和生物素衍生的靶向试剂在下面进行讨论并且充分地描述在美国专利 7,169,410 和 4,603,044 ;PCT 申请 PCT/US06/19119 ;和美国专利申请 11/384,728 和 11/384,659 中。生物素衍生的靶向试剂的另外的实例被公开在表 2 中。

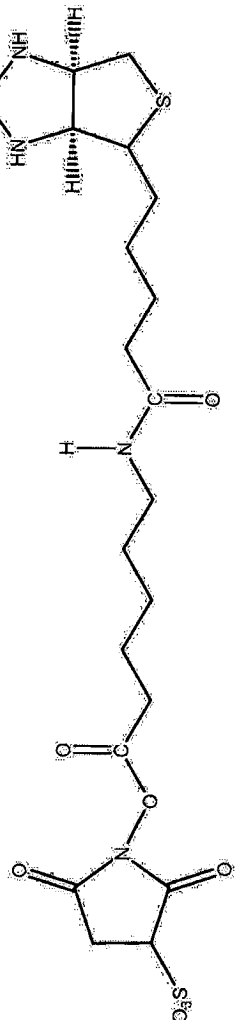
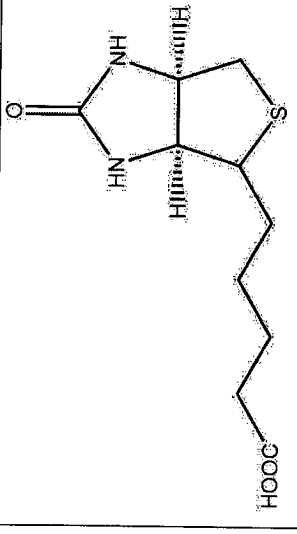
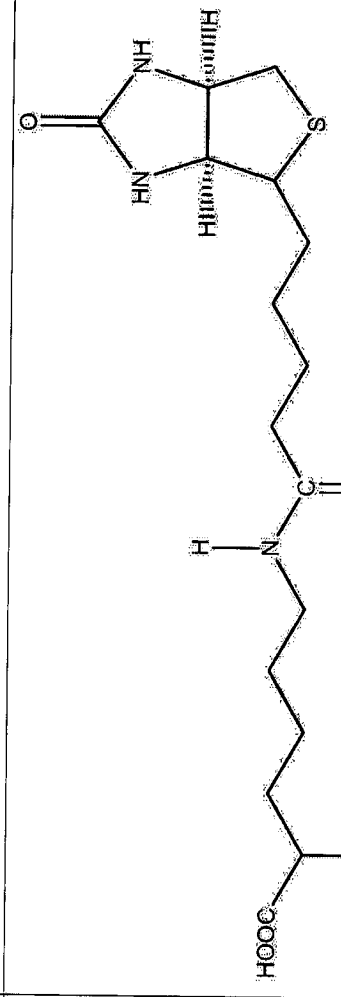
[0134] 当靶向试剂包括生物素、亚氨基生物素、羧基生物素、生物胞素或亚氨基生物胞素时，生物素、亚氨基生物素、羧基生物素、生物胞素或亚氨基生物胞素分子可经由酰胺键结合到磷脂分子诸如 1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸乙醇胺的氮上。化合物也可通过酯键结合到分子诸如胆固醇。在生物胞素和亚氨基生物胞素的情况中，化合物可经由亚氨基生物胞素的末端氮和苯甲酰硫代乙酰三甘氨酸的末端羰基之间的酰胺键结合到苯甲酰硫代乙酰三甘氨酸。上述那些的可选键连接是可能的并且被认为在本发明的范围内。

[0135]

表 2

| | | |
|---|---|---|
| 1 | N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)生物素<br>2,5-二氧代吡咯烷-1-基5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酸酯 |  |
| 2 | 硫代-NHS-生物素<br>2,5-二氧代-3-(三氧化硫代(trioxidanylthio))吡咯烷-1-基5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酸酯钠 |  |
| 3 | N-羟基琥珀酰亚胺长链生物素<br>2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)己酸酯 |  |

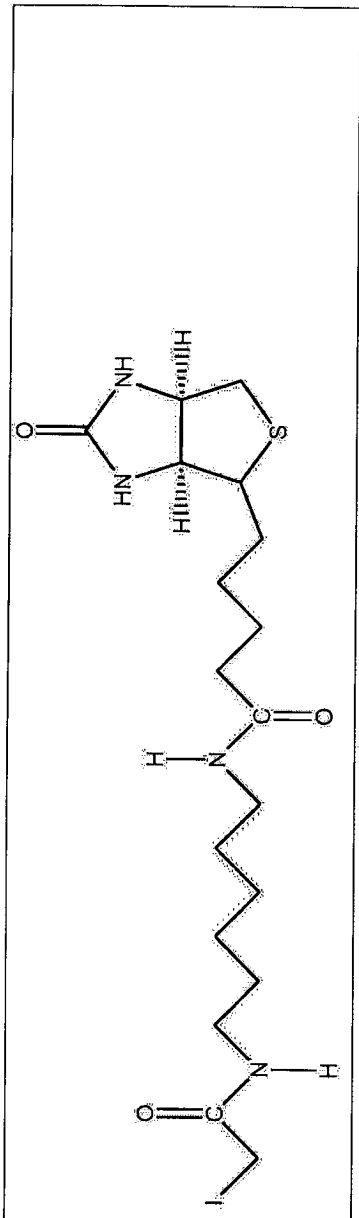
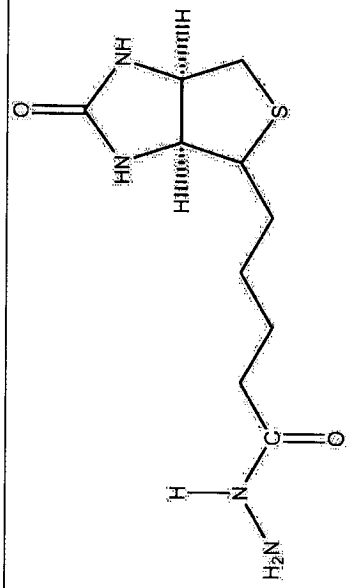
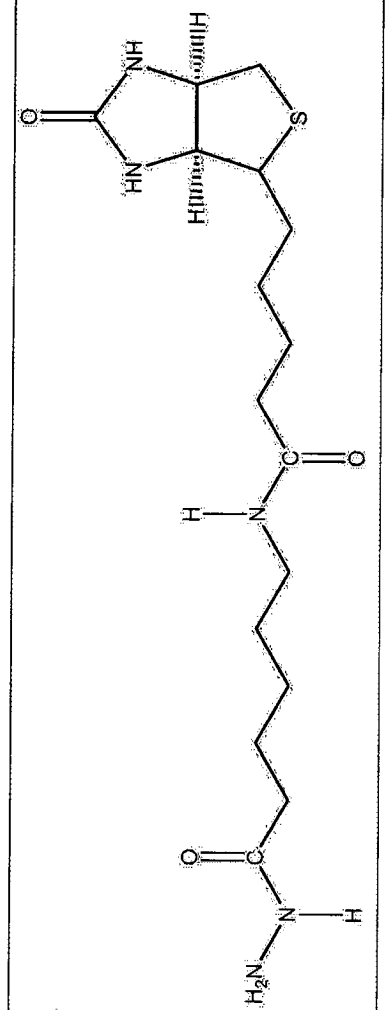
[0136]

| | | |
|---|---|---|
| 4 | 硫代-N-羟基琥珀酰亚胺长链生物素<br>2,5-二氧代-3-(三氧化硫代)吡咯烷-1-基 6-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)己酸酯钠 |  |
| 5 | D-生物素<br>5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酸 |  |
| 6 | 生物胞素<br>2-氨基-6-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)己酸 |  |

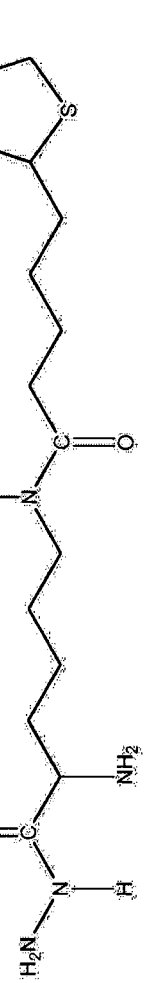
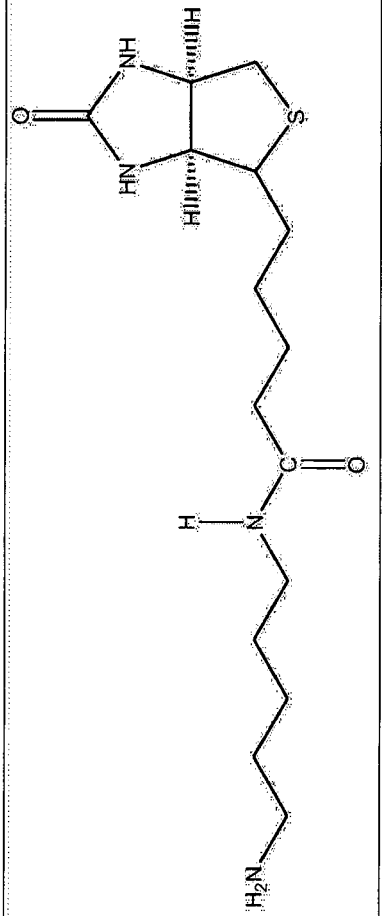
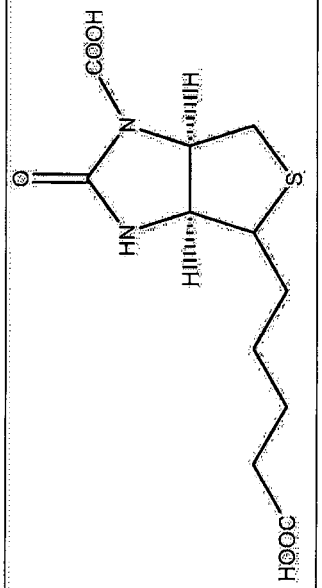
[0137]

| | | |
|---|---|---|
| 7 | 硫代-N-羟基琥珀酰亚胺-S-S-生物素<br>2,5-二氧代-3-(三氧化硫代)吡咯烷-1-基 3-(((2-(4-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)丁氨基)乙基)二硫烷基)丙酸酯钠 |  |
| 8 | 生物素-BMCC<br>4-((2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基甲基)-N-(4-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)丁基)环己烷甲酰胺 |  |
| 9 | 生物素-HPDP<br>5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)-N-(6-(3-(吡啶-2-基二硫烷基)丙酰氨基)己基)戊酰胺 |  |

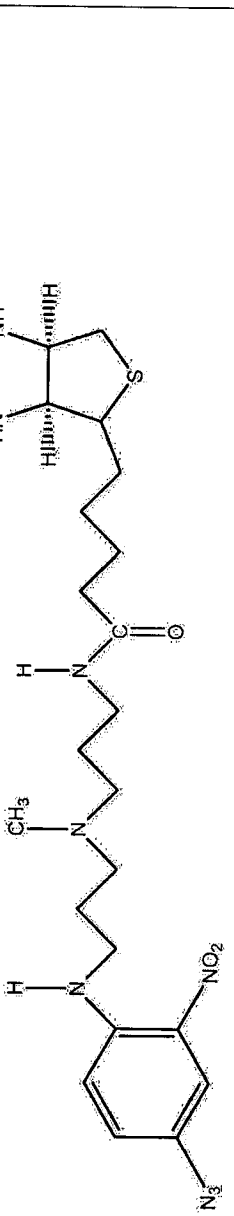
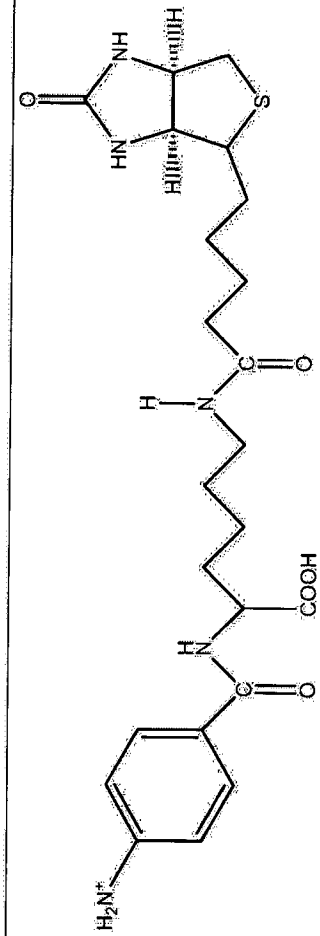
[0138]

| | | |
|---|---|---|
| 10 | 碘代乙酰基-LC-生物素<br>N-(6-(2-碘代乙酰氨基)己基)-5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰胺 |  |
| 11 | 生物素-酰肼<br>5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊烷酰肼 |  |
| 12 | 生物素-LC-酰肼<br>N-(6-肼基-6-氧代己基)-5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰胺 |  |

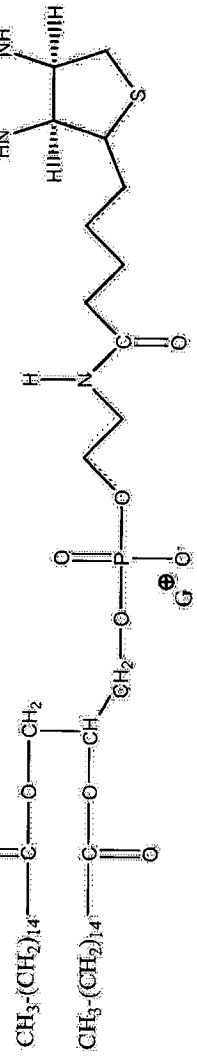
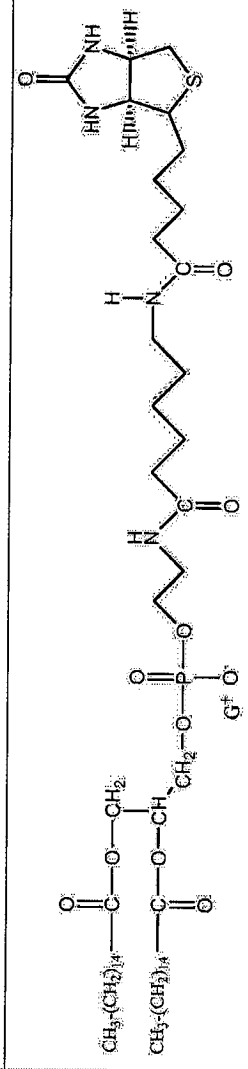
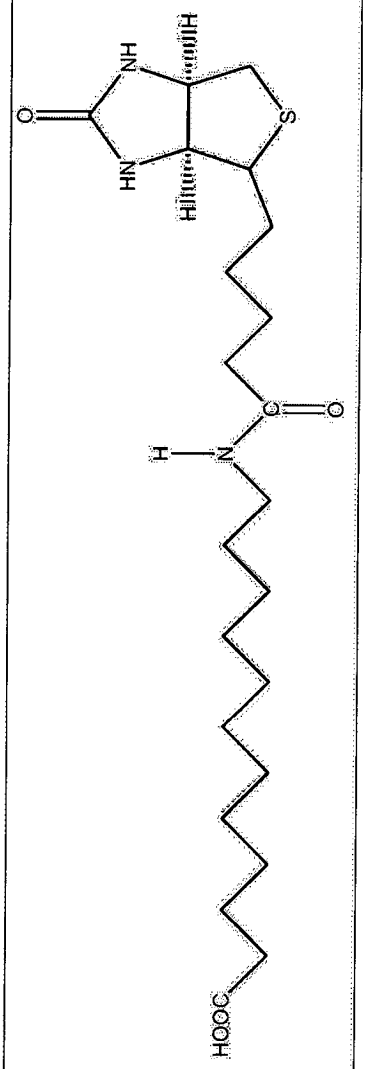
[0139]

| | | |
|---|---|---|
| 13 | 生物胞素酰肼<br><br>N-(5-氨基-6-肼基-6-氧代己基)-5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰胺 |  |
| 14 | 生物素尸胺<br><br>N-(5-氨基戊基)-5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰胺 |  |
| 15 | 羧基生物素<br><br>(3aS,6aR)-4-(4-羧丁基)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-1-羧酸 |  |

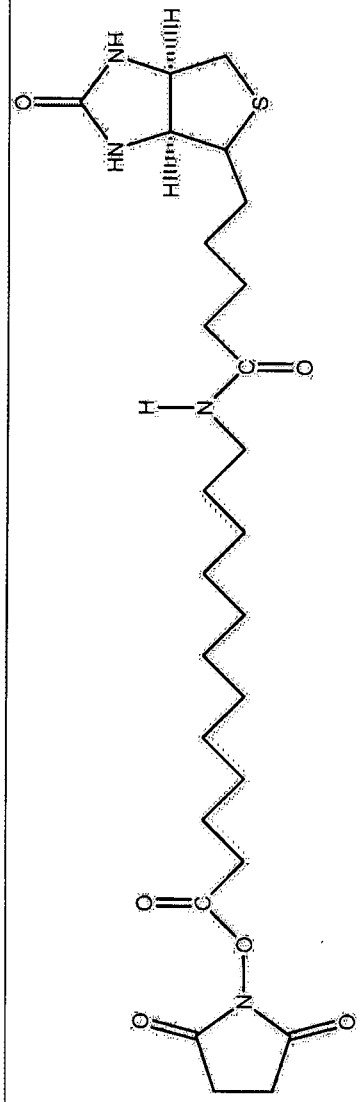
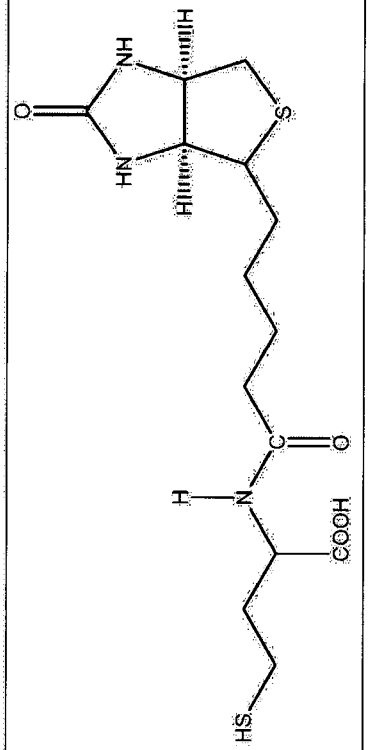
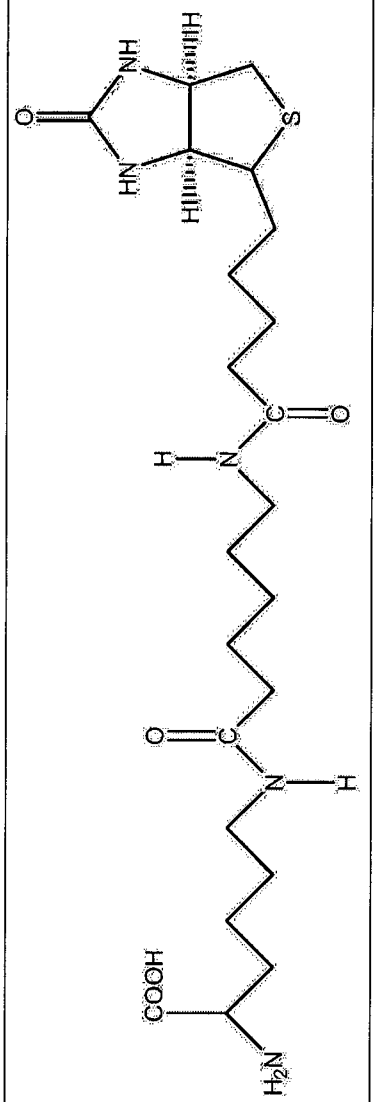
[0140]

| | | |
|---|---|---|
| 16 | 光生物素<br>N-(3-((3-(4-叠氮基-2-硝基苯基氨基)丙基)(甲基)氨基)丙基)-5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰胺 |  |
| 17 | 对氨基苯甲酰生物胞素三氟醋酸酯<br>2-(4-氨基苯甲酰氨基)-6-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)己酸 2,2,2-三氟醋酸酯 |  |
| 18 | 对重氮基苯甲酰生物胞素<br>4-((1-羧基-5-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)戊基甲氨酰)氯化重氮苯 |  |

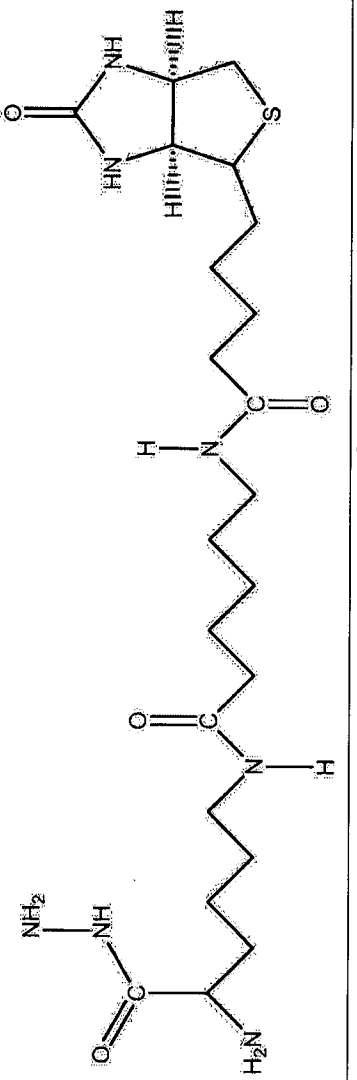
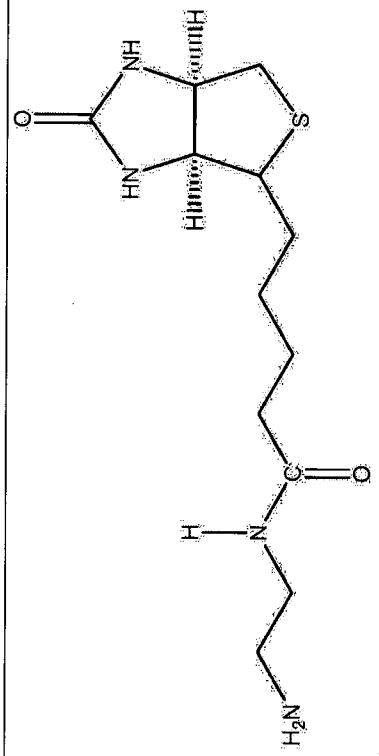
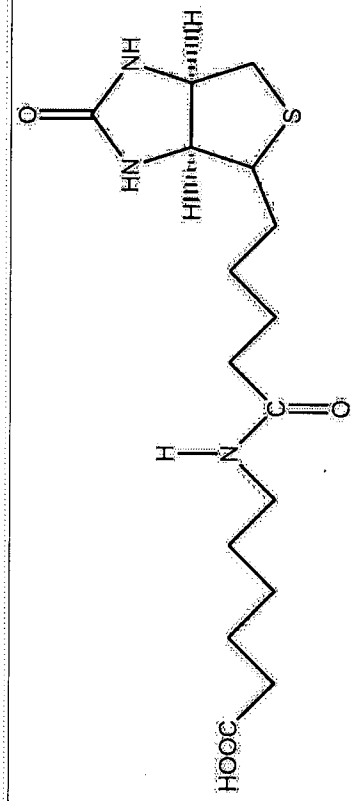
[0141]

| | | |
|---|---|---|
| 19 | 生物素 DHPE<br>$G^+ = Li^+, Na^+, K^+, (Et_3NH)^+$<br>2,3- 二 乙 酰 氧 基 丙 基 2-(5-((3aS,6aR)-2- 氧 代 六 氢 -1H- 噻吩并 [3,4-d] 咪 唑 -4- 基) 戊酰氨基)乙基磷酸酯 |  |
| 20 | 生物素-X-DHPE<br>$G^+ = Li^+, Na^+, K^+, (Et_3NH)^+$<br>2,3- 二 乙 酰 氧 基 丙 基 2-(6-(5-((3aS,6aR)-2- 氧 代 六 氢 -1H- 噻吩并 [3,4-d] 咪 唑 -4- 基) 戊酰氨基) 己酰氨基)乙基磷酸酯 |  |
| 21 | 12-((生物素基)氨基)十二酸<br>12-(5-((3aS,6aR)-2- 氧 代 六 氢 -1H- 噻吩并 [3,4-d] 咪 唑 -4- 基) 戊酰氨基)十二酸 |  |

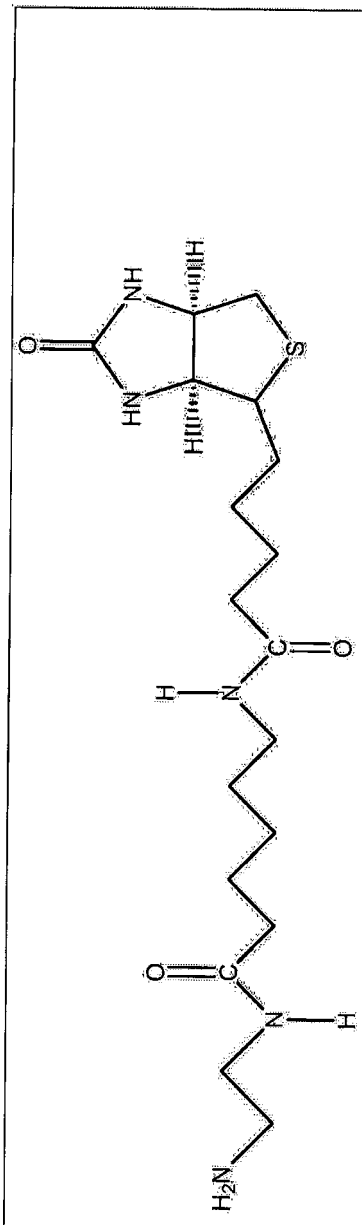
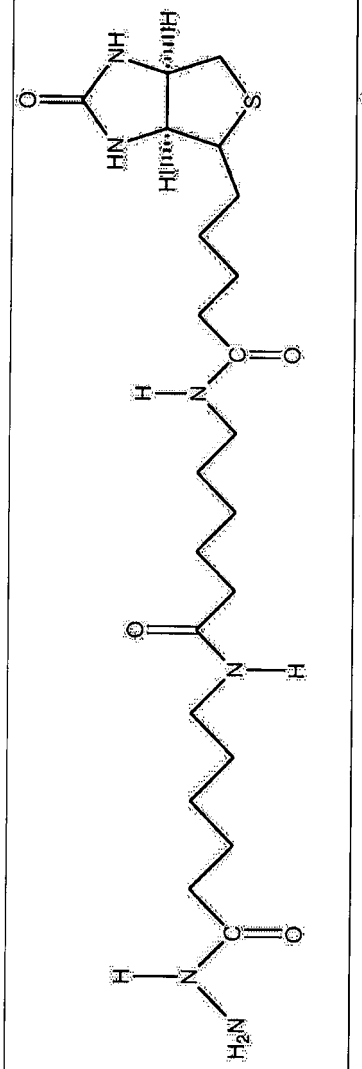
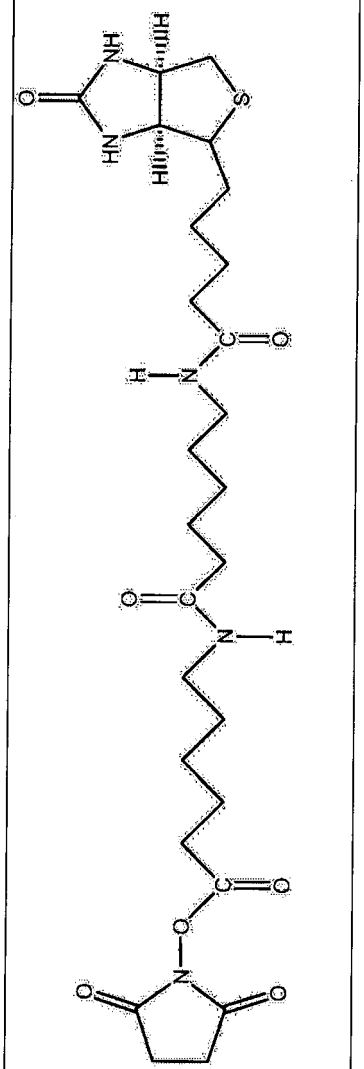
[0142]

| | | |
|---|---|---|
| 22 | 12-((生物素基)氨基)十二酸琥珀酰亚胺酯<br><br>2,5-二氧代吡咯烷-1-基12-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)十二酸酯 |  |
| 23 | S-生物素基高半胱氨酸<br><br>4-巯基-2-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)丁酸 |  |
| 24 | 生物胞素-X<br><br>2-氨基-6-((6-((5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)己酰)氨基)己酸 |  |

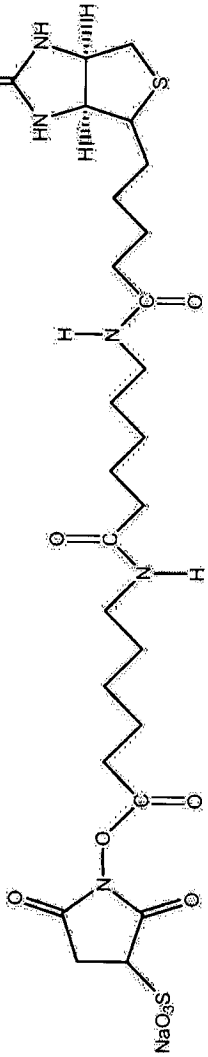
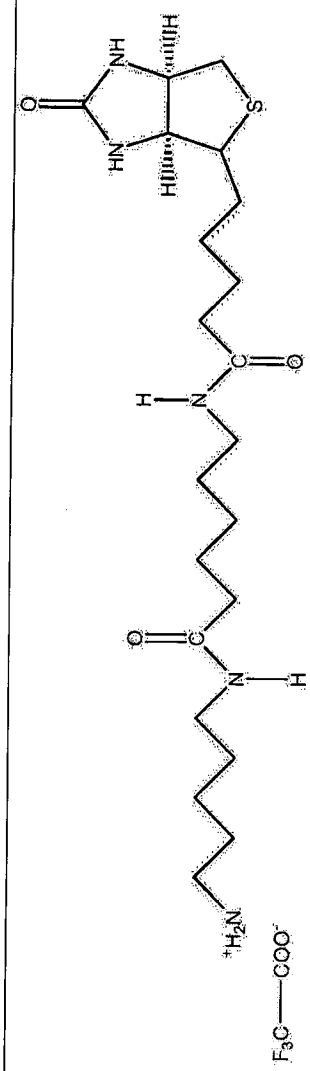
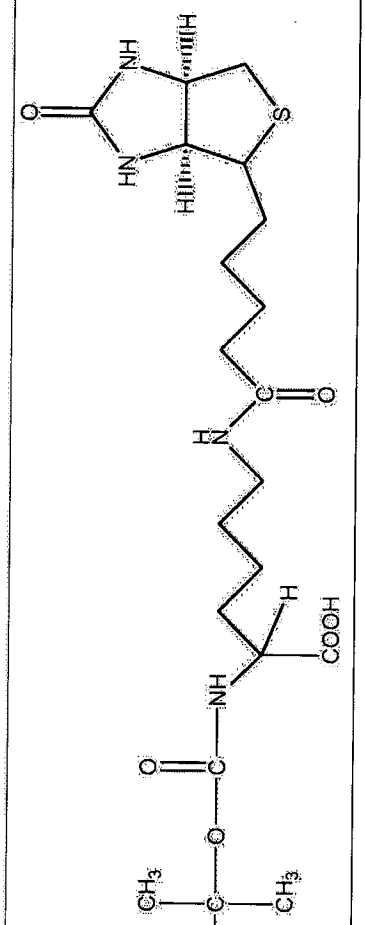
[0143]

| | | |
|---|---|---|
| 25 | 生物胞素 x-酰肼<br>N-(5-氨基-6-肼基-6-氧代己基)-6-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)己酰肼 |  |
| 26 | 生物素乙二胺<br>N-(2-氨基乙基)-5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰胺 |  |
| 27 | 生物素-X<br>6-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)己酸 |  |

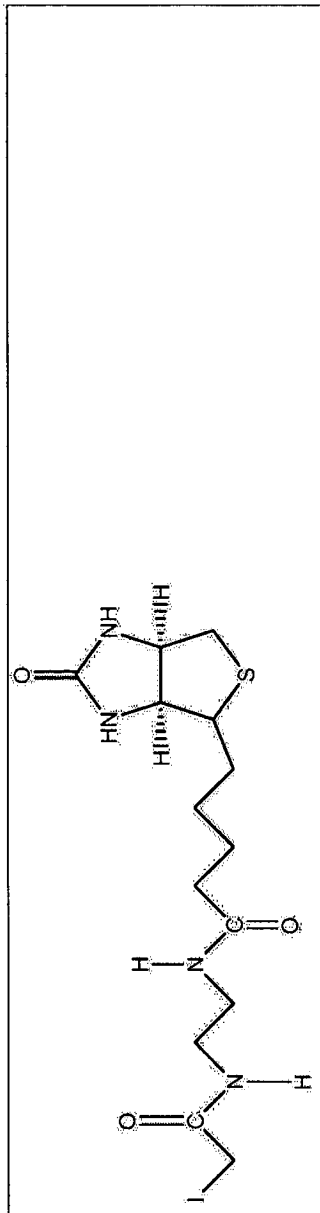
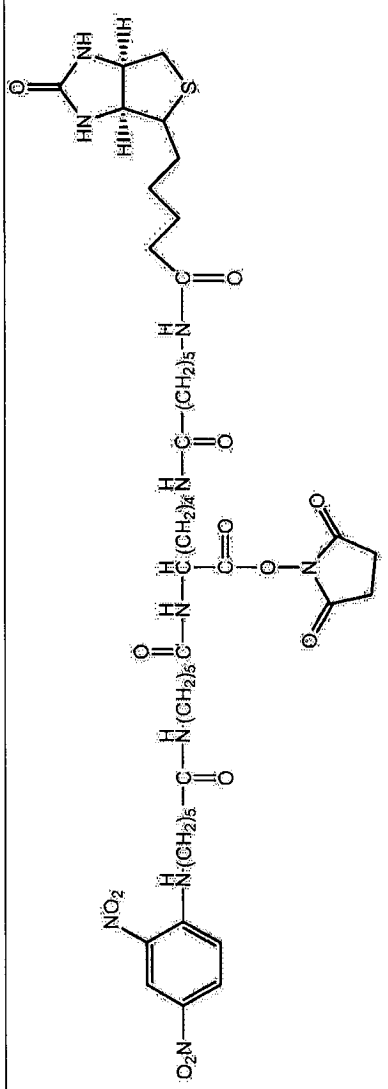
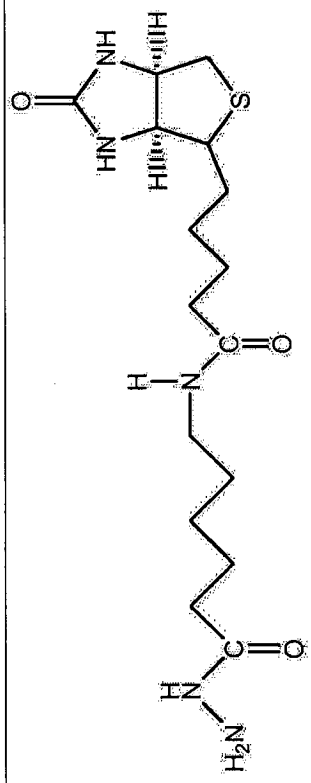
[0144]

| | | |
|---|---|---|
| 28 | 生物素-X-乙二胺<br>N-(2-氨基乙基)-6-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)己酰胺 |  |
| 29 | 生物素-XX酰肼<br>N-(6-肼基-6-氧代己基)-6-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)己酰胺 |  |
| 30 | 生物素-XX-SE<br>2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(6-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)己酰氨基)己酸酯 |  |

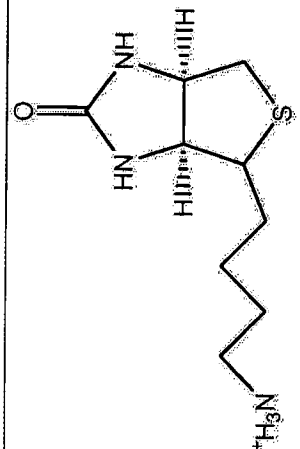
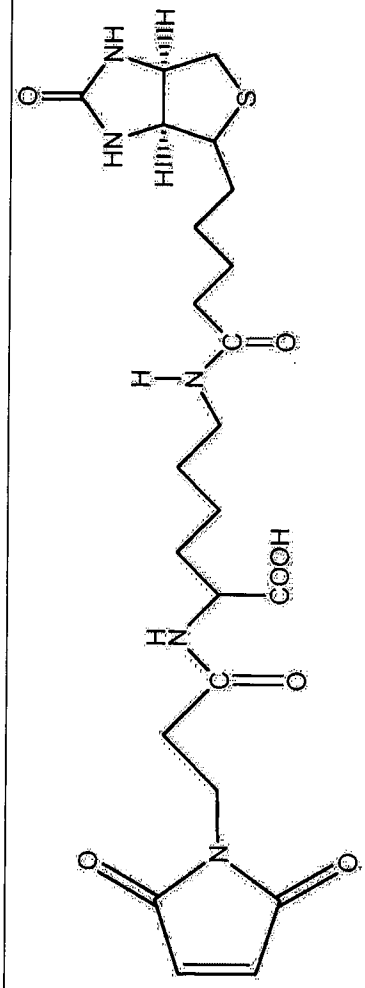
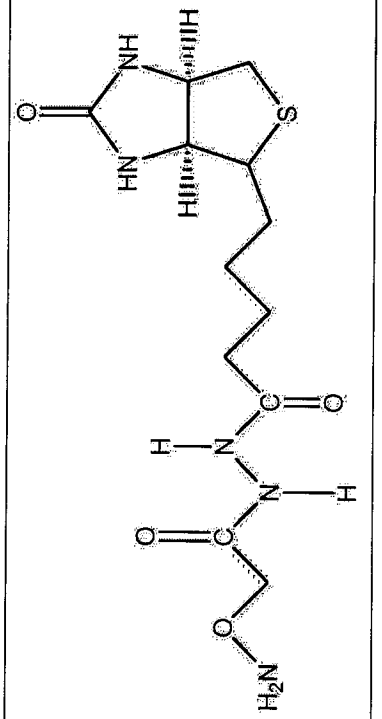
[0145]

| | | |
|---|---|---|
| 31 | 生物素-XX,SSE<br>2,5-二氧代-1-(6-(6-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)己酰氨基)己酰基氧基)吡咯烷-3-磺酸钠 |  |
| 32 | 生物素-X-尸胺<br>5-(6-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)己酰氨基)-1-2,2,2-三氟醋酸铵 |  |
| 33 | α-(t-BOC)生物胞素<br>2-(叔丁氧基羰基氨基)-6-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)己酸 |  |

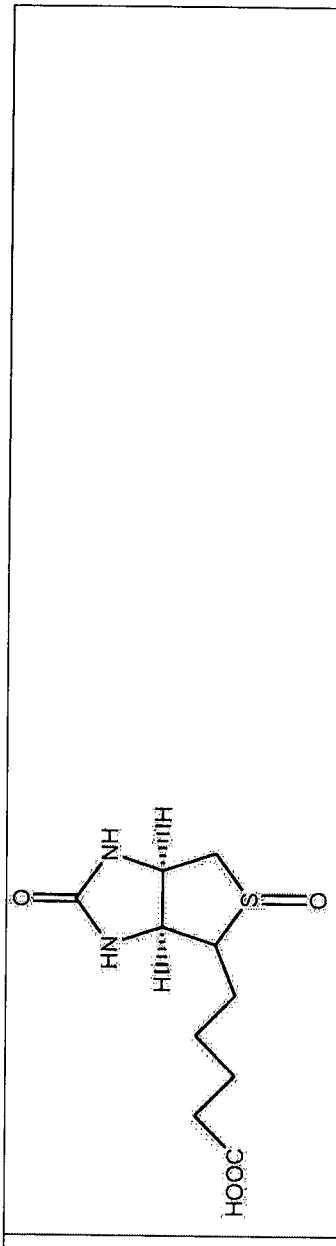
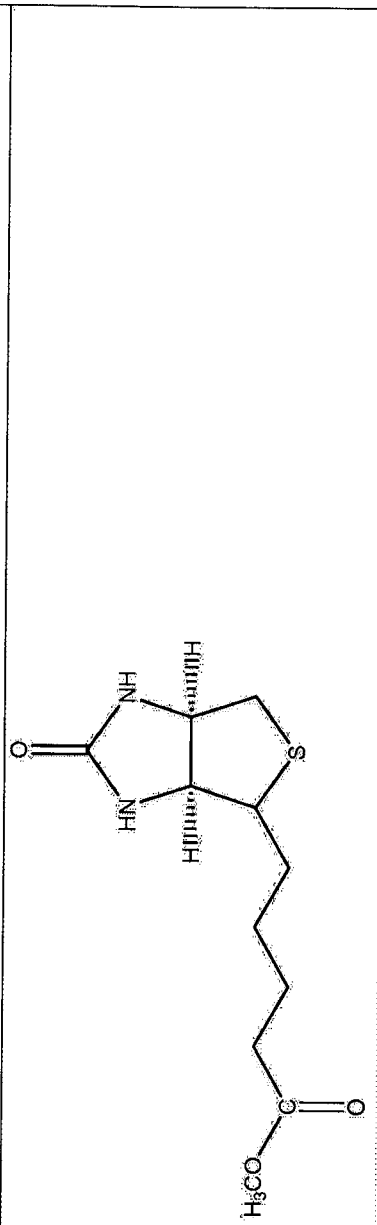
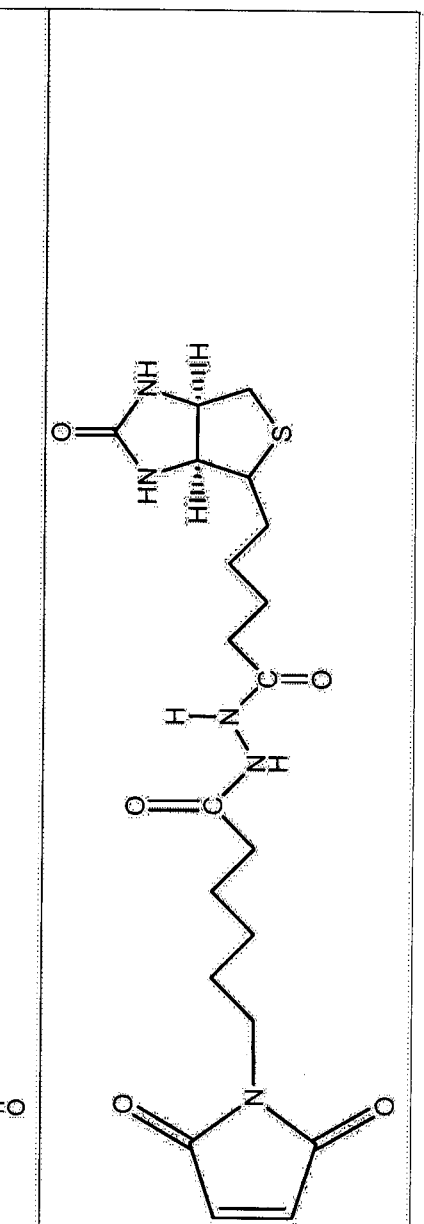
[0146]

| | | |
|---|---|---|
| 34 | N-(生物素基)-N'-(碘代乙酰基)乙二胺<br><br>N-(2-(2- 碘代乙酰氨基)乙基)-5-((3aS,6aR)-2- 氧代六氢-1H- 噻吩并[3,4-d]咪唑-4- 基)戊酰胺 |  |
| 35 | DNP-X-生物胞素-X-SE<br><br>2,5- 二氧代吡咯烷-1- 基2-(6-(6-(2,4-二硝基苯基氨基)己酰氨基)-6-(6-(5-((3aS,6aR)-2- 氧代六氢-1H- 噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)己酰氨基)己酸酯 |  |
| 36 | 生物素-X-酰肼<br><br>N-(6- 肼基-6- 氧代己基)-5-((3aS,6aR)-2- 氧代六氢-1H- 噻吩并[3,4-d]咪唑-4- 基)戊酰胺 |  |

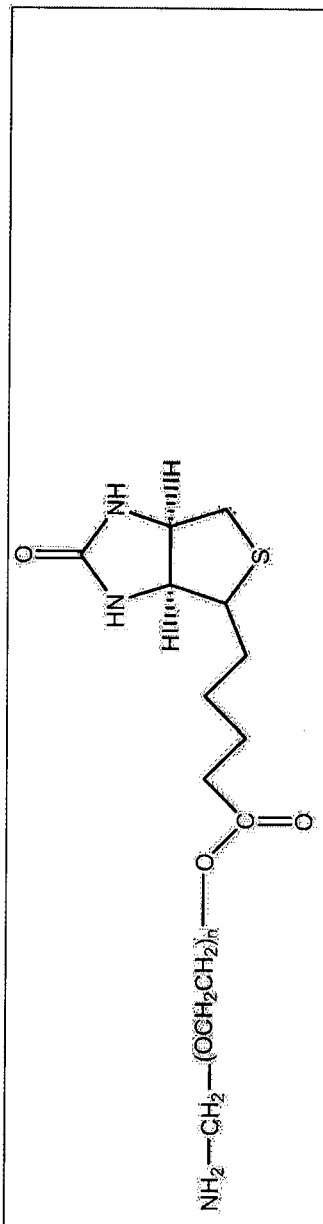
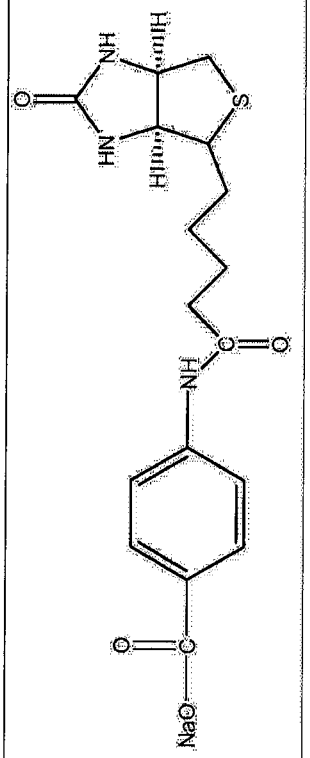
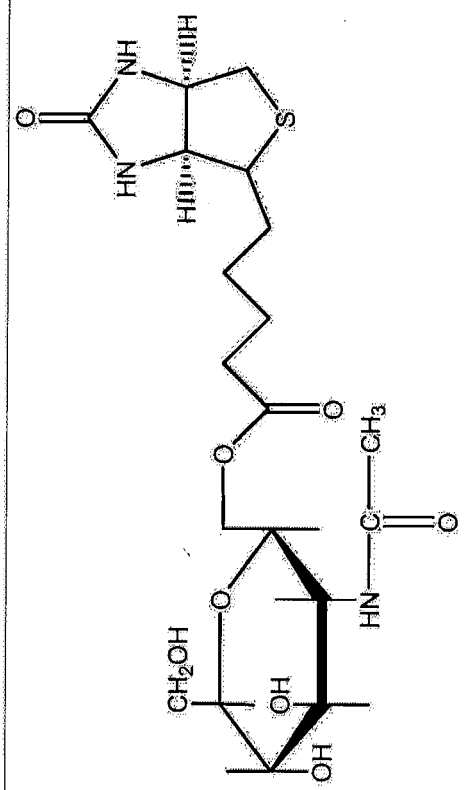
[0147]

| | | |
|---|---|---|
| 37 | 降生物素氯化铵<br>4-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)丁烷-1-氯化铵 |  |
| 38 | 3-(N-马来酰亚氨基丙酰基)生物胞素<br>2-(3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰氨基)-6-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)己酸 |  |
| 39 | ARP:<br>N'-(2-(氨基氧基)乙酰基)-5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊烷酰肼 |  |

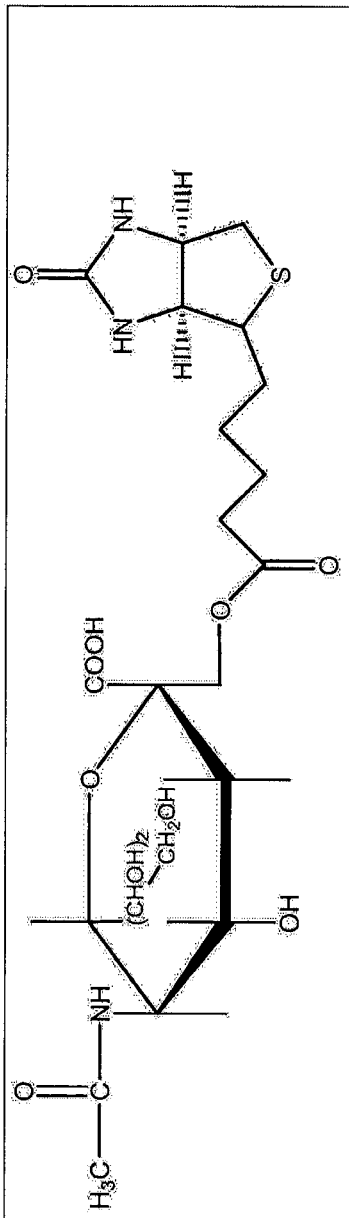
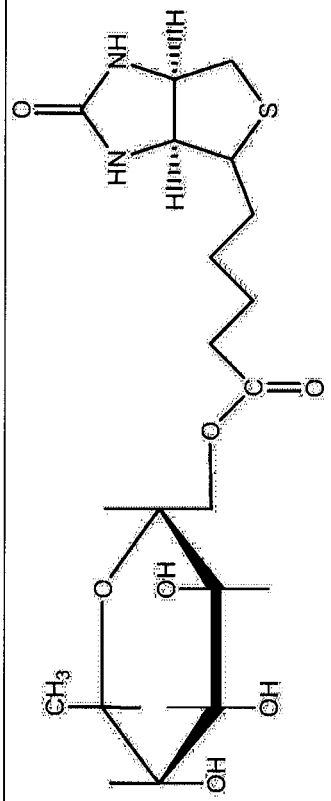
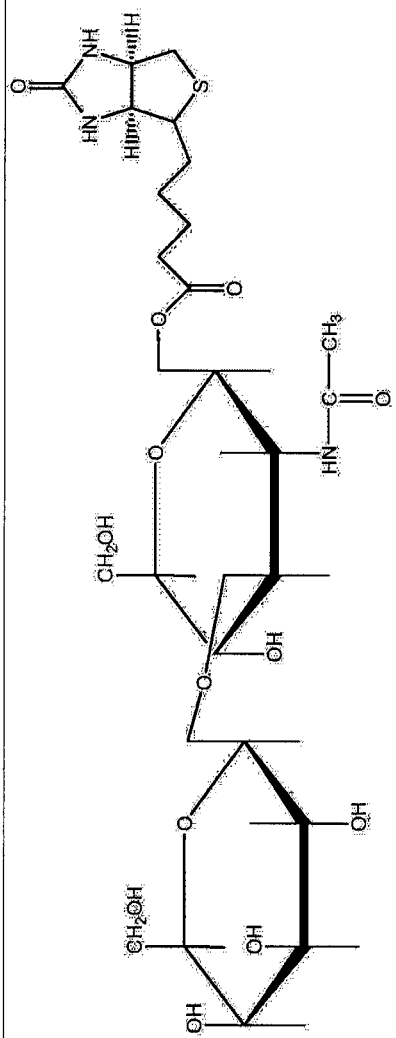
[0148]

| | | |
|---|---|---|
| 40 | 生物素-1-亚砜<br>5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酸亚砜 |  |
| 41 | 生物素甲酯<br>5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酸甲酯 |  |
| 42 | 生物素-马来酰亚胺<br>6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-N'-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰基)己烷酰肼 |  |

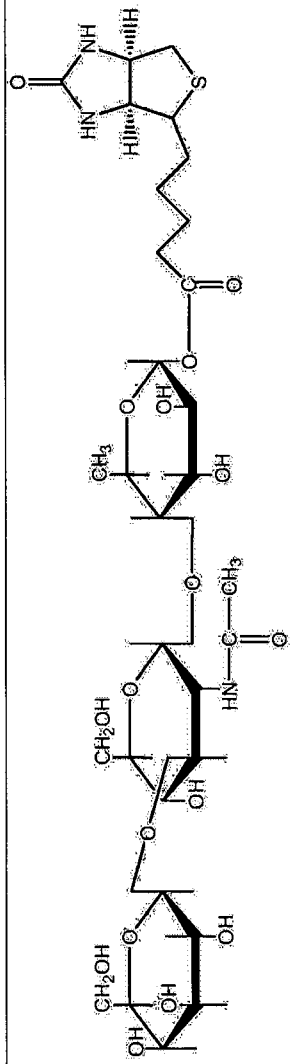
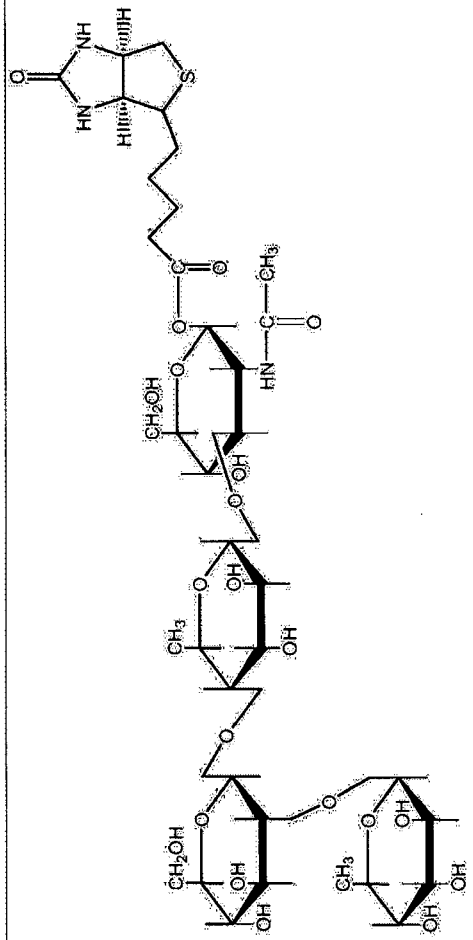
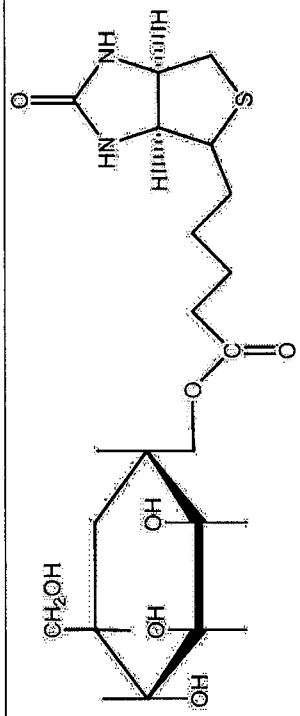
[0149]

| | | |
|---|---|---|
| 43 | 生物素-聚(乙二醇)胺<br>聚乙烯 5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酸氨基甲酯 |  |
| 44 | (+)生物素 4-酰胺基苯甲酸钠盐<br>4-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰氨基)苯甲酸钠 |  |
| 45 | 生物素 2-N-乙酰基氨基-2-脱氧-β-D-吡喃葡糖苷<br>((2R,5S)-3-乙酰氨基-4,5-二羟基-6-(羟甲基)-2,3,4,5,6-五甲基四氢-2H-吡喃-2-基)甲基 5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酸酯 |  |

[0150]

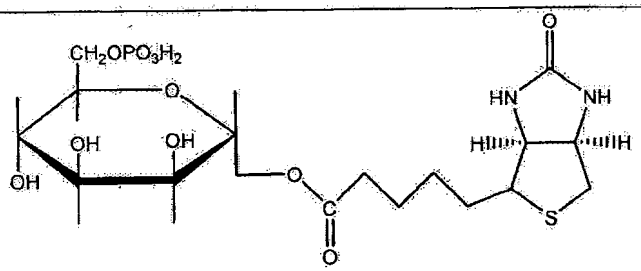
| | | |
|---|---|---|
| 46 | 生物素-α-D-N-乙酰基神经氨酸苷<br>(2S,5R)-5- 乙 酰 氨 基 -4- 羟 基 -3,3,4,5,5,6- 五 甲 基 -2-((5-((3aS,6aR)-2- 氧 代 六 氢 -1H- 噻 吩 并 [3,4-d] 咪 唑 -4- 基) 戊酰基氧基)甲基)-6-(1,2,3- 三羟丙基)四氢-2H-吡喃-2-羧酸 |  |
| 47 | 生物素-α-L-岩藻糖苷<br>((2R,5S)-3,4,5- 三 羟 基 -2,3,4,5,6,6-六甲基四氢-2H-吡喃-2-基)甲基 5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酸酯 |  |
| 48 | 生物素乳-N-二糖苷<br>名称参见表的底部 |  |

[0151]

| | | |
|---|---|---|
| 49 | 生物素-Lewis-A 三糖苷<br>名称参见表的底部 |  |
| 50 | 生物素-Lewis-Y 四糖苷<br>名称参见表的底部 |  |
| 51 | 生物素-α-D-吡喃甘露糖苷<br>((1R,4R)-2,3,4-三羟基-5-(羟基甲基)-1,2,3,4,5-五甲基环己基)甲基 5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酸酯 |  |

[0152]

[0153]

| | | |
|---|---|---|
| 52 | 生物素 6-O-磷酰-α-D-吡喃甘露糖苷<br><br>((2R,5S)-3,4,5-三羟基-2,3,4,5,6-五甲基-6-(膦酰基氧基甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基 5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酸酯 |  |

化合物 48-50 的名称：

48. ((2R,5S)-3-乙酰氨基-5-羟基-6-(羟基甲基)-2,3,4,6-四甲基-4-((((2S,5R)-3,4,5-三羟基-6-(羟基甲基)-2,3,4,5,6-戊甲基四氢-2H-吡喃-2-基)甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基 5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酸酯((2R,5S)-3-乙酰氨基-5-羟基-6-(羟基甲基)-2,3,4,6-四甲基-4-((((2S,5R)-3,4,5-三羟基-6-(羟基甲基)-2,3,4,5,6-五甲基四氢-2H-吡喃-2-基)甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基 5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酸酯

49. (2R,3R,5S)-5-((((2S,3S,5S)-3-乙酰氨基-5-羟基-6-(羟基甲基)-2,4,6-三甲基-4-((((2S,5R)-3,4,5-三羟基-6-(羟基甲基)-2,3,4,5,6-五甲基四氢-2H-吡喃-2-基)甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲氧基)甲基)-3,4-二羟基-2,4,5,6,6-五甲基四氢-2H-吡喃-2-基 5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酸酯

50. (2S,5S)-3-乙酰氨基-4-((((2R,5S)-5-((((2R,5S)-4,5-二羟基-6-(羟基甲基)-2,3,4,5,6-五甲基-3-((((2S,5S)-3,4,5-三羟基-2,3,4,5,6,6-六甲基四氢-2H-吡喃-2-基)甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲氧基)甲基)-3,4-二羟基-2,3,4,5,6,6-六甲基四氢-2H-吡喃-2-基)甲氧基)甲基)-5-羟基-6-(羟基甲基)-2,3,4,5,6-五甲基四氢-2H-吡喃-2-基 5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑

-4-基)戊酸酯

亚氨基生物素化合物的结构没有显示在表 2 中。然而，亚氨基生物素结构是所述生物素结构的类似物，其中生物素基团被亚氨基生物素基团取代。实例显示在下面。



N-羟基琥珀酰亚胺生物素



N-羟基琥珀酰亚胺亚氨基生物素

[0154] 在本发明的一个实施方式中，金属衍生的靶向试剂可以是聚合的或单体的。聚合金属衍生的靶向试剂被充分描述在 U. S. 7, 169, 410 中。单体金属衍生的靶向试剂被描述在

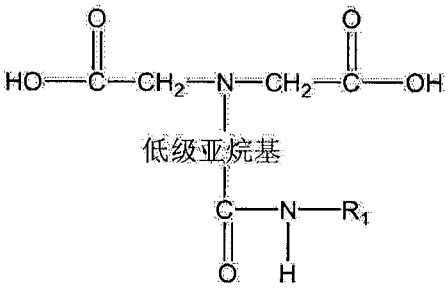
U.S.4,603,044 中。无论是聚合的或者单体的，化合物一般包括金属（一般地作为无机盐购买），其可选自过渡或内过渡金属或所述过渡金属的相邻金属。所述金属选自其中的过渡和内过渡金属包括：Sc（钪）、Y（钇）、La（镧）、Ac（锕）、锕系元素；Ti（钛）、Zr（锆）、Hf（铪）、V（钒）、Nb（铌）、Ta（钽）、Cr（铬）、Mo（钼）、W（钨）、Mn（锰）、Tc（锝）、Re（铼）、Fe（铁）、Co（钴）、Ni（镍）、Ru（钌）、Rh（铑）、Pd（钯）、Os（锇）、Ir（铱）和 Pt（铂）。所述金属选自其中的过渡金属的相邻金属是：Cu（铜）、Ag（银）、Au（金）、Zn（锌）、Cd（镉）、Hg（汞）、Al（铝）、Ga（镓）、In（铟）、Tl（铊）、Ge（锗）、Sn（锡）、Pb（铅）、Sb（锑）和 Bi（铋）、和 Po（钋）。优选地，所述金属是铬。

[0155] 有用盐的非限制性实例包括氯化铬（III）六水合物；氟化铬（III）四水合物；溴化铬（III）六水合物；柠檬酸锆（IV）铵络合物；氯化锆（IV）；氟化锆（IV）水合物；碘化锆（IV）；溴化钼（III）；氯化钼（III）；硫化钼（IV）；铁（III）水合物；磷酸铁（III）四水合物、硫酸铁（III）五水合物等。

[0156] 除了金属外，金属衍生的靶向试剂包括一种或多种络合剂。络合剂是能与优选的金属形成水不溶性配位络合物的化合物。有几类合适的络合剂。

[0157] 络合剂可选自式（1）的亚氨基二乙酸类，其中 R1 是低级烷基、芳基、芳基低级烷基或杂环取代基。

[0158]




(I)

[0159] 合适的式（1）化合物包括：

[0160] N-(2,6-二异丙基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0161] N-(2,6-二乙基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0162] N-(2,6-二甲基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0163] N-(4-异丙基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0164] N-(4-丁基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0165] N-(2,3-二甲基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0166] N-(2,4-二甲基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0167] N-(2,5-二甲基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0168] N-(3,4-二甲基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0169] N-(3,5-二甲基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0170] N-(3-丁基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0171] N-(2-丁基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0172] N-(4-叔丁基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0173] N-(3-丁氧基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0174] N-(2- 己氧基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0175] N-(4- 己氧基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0176] 氨基吡咯基亚氨基二乙酸；

[0177] N-(3- 溴 -2,4,6- 三甲基苯氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

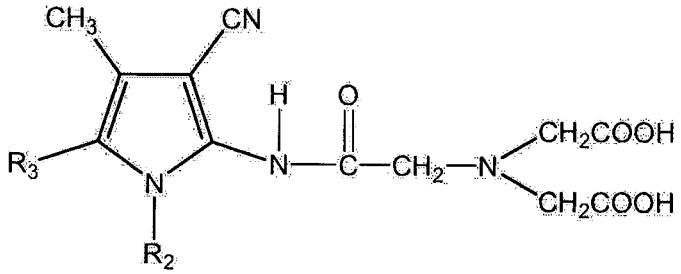
[0178] 苯并咪唑甲基亚氨基二乙酸；

[0179] N-(3- 氰基 -4,5- 二甲基 -2- 吡咯基氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；

[0180] N-(3- 氰基 -4- 甲基 -5- 苄基 -2- 吡咯基氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸；和

[0181] N-(3- 氰基 -4- 甲基 -2- 吡咯基氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸以及式 (2) 的 N-(3- 氰基 -4- 甲基 -2- 吡咯基氨基甲酰甲基）亚氨基二乙酸的其它衍生物，

[0182]




(2)

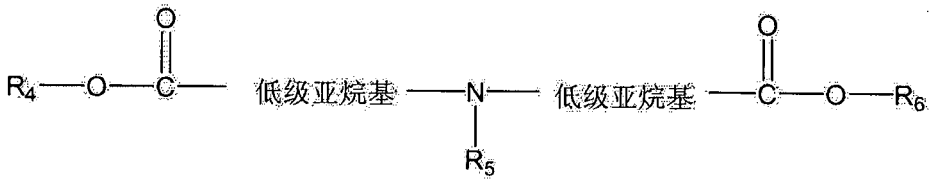
[0183] 其中 $R_2$ 和 $R_3$ 为下列：

[0184]

| $R_2$ | $R_3$ |
|---|---|
| H | 异-$C_4H_9$ |
| H | $CH_2CH_2SCH_3$ |
| H | $CH_2C_6H_4$-p-OH |
| $CH_3$ | $CH_3$ |
| $CH_3$ | 异-$C_4H_9$ |
| $CH_3$ | $CH_2CH_2SCH_3$ |
| $CH_3$ | $C_6H_5$ |
| $CH_3$ | $CH_2C_6H_5$ |
| $CH_3$ | $CH_2C_6H_4$-对-$OCH_3$ |

[0185] 可选地，络合剂可选自式 (3) 的亚氨基二酸衍生物类，其中 $R_4$、$R_5$ 和 $R_6$ 在每个情况下都独立地进行选择并且可以是氢、低级烷基、芳基、芳基低级烷基、烷氧基低级烷基和杂环的。

[0186]



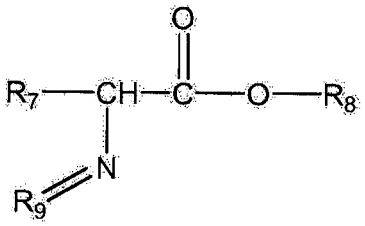

(3)

[0187] 合适的式 (3) 化合物包括：N'-(2- 乙酰基萘基）亚氨基二乙酸 (NAIDA)；N'-(2- 萘基甲基）亚氨基二乙酸 (NMIDA)；亚氨基二羧甲基 -2- 萘基酮酞络合剂；3(3:7a:12a: 三羟基 -24- 降胆烷基 -23- 亚氨基二乙酸；苯并咪唑甲基亚氨基二乙酸；和 N-(5, 娠烯 -3- 对

醇 -2- 酰甲氨酰甲基）亚氨基二乙酸。

[0188] 络合剂可选自式 (4) 的氨基酸类，

[0189]



(4)

[0190] 其中 $R_7$是氨基酸侧链；其中 $R_8$可以是低级烷基、芳基和芳基低级烷基；并且其中 $R_9$是吡哆醛基 (pyridoxylidene)。

[0191] 合适的式 (4) 氨基酸是脂肪族氨基酸，其包括但不限于甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸；羟基氨基酸，其包括丝氨酸和苏氨酸；二羧基氨基酸及其酰胺，其包括天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺；具有碱性官能团的氨基酸，其包括赖氨酸、羟基赖氨酸、组氨酸、精氨酸；芳族氨基酸，其包括苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、甲状腺素；和含硫氨基酸，其包括胱氨酸和蛋氨酸。

[0192] 络合剂也可选自氨基酸衍生物，其包括但不限于 (3- 丙氨酸 -y- 氨基）丁酸、O- 重氮基乙酰基丝氨酸（氮杂丝氨酸）、高丝氨酸、鸟氨酸、瓜氨酸、青霉胺及吡哆醛类化合物的成员。吡哆醛类化合物包括但不限于：吡哆醛谷氨酸；吡哆醛异亮氨酸；吡哆醛苯丙氨酸；吡哆醛色氨酸；吡哆醛 -5- 甲基色氨酸；吡哆醛 -5- 羟基色胺；和吡哆醛 -5- 丁基色胺。

[0193] 络合剂也可选自式 (6) 的二胺类：

[0194]



(6)

[0195] 其中 $R_{10}$是氢、低级烷基或芳基；$R_{11}$是低级亚烷基或芳基低级烷基；$R_{12}$和 $R_{13}$在各个情况下都独立地进行选择并且可以是氢、低级烷基、烷基、芳基、芳基低级烷基、酰基杂环的、甲苯、磺酰基或甲苯磺酸酯。

[0196] 合适的式 (6) 二胺类的实例包括但不限于乙二胺 -N,N 二乙酸；乙二胺 -N,N- 双 (-2- 羟基 -5- 溴代苯基）乙酸酯；N' - 乙酰基乙二胺 -N,N 二乙酸；N' - 苯甲酰乙二胺 -N,N 二乙酸；N' -（对甲苯磺酰基）乙二胺 -N,N 二乙酸；N' -（对叔丁基苯甲酰）乙二胺 -N,N 二乙酸；N' -（苯磺酰基）乙二胺 -N,N 二乙酸；N' -（对氯苯磺酰基）乙二胺 -N,N 二乙酸；N' -（对乙基苯磺酰基乙二胺 -N,N 二乙酸；N' - 酰基和 N' - 磺酰基乙二胺 -N,N 二乙酸；N' -（对正丙基苯磺酰基）乙二胺 -N,N 二乙酸；N' -（萘 -2- 磺酰基）乙二胺 -N,N 二乙酸；和 N' -(2,5- 二甲基苯磺酰基）乙二胺 -N,N 二乙酸。

[0197] 络合化合物或试剂的其它非限制性实例包括青霉胺；对巯基异丁酸；二氢硫辛酸；6- 巯基嘌呤；已酯草酸 - 双（缩氨基硫脲）；肝胆胺复合物，1- 肼基酞嗪（肼苯哒嗪）；磺酰基脲；肝胆氨基酸席夫碱复合物 (Hepatobiliary Amino Acid Schiff Base Complexes)；吡哆醛谷氨酸；吡哆醛异亮氨酸；吡哆醛苯丙氨酸；吡哆醛色氨酸；吡哆醛

5- 甲基色氨酸 ;吡哆醛 -5- 羟基色胺 ;吡哆醛 -5- 丁基色胺 ;四环素 ;7- 羧基 - 对羟基喹啉 ;酚酞 ;曙红 I 蓝 ;曙红 I 黄 ;verographin ;3- 羟基 -4- 甲酰 - 非那吡啶 (pyridene) 谷氨酸 ;偶氮基取代的亚氨基二乙酸 ;肝胆染料复合物诸如孟加拉玫瑰红 ;刚果红 ;磺溴酞钠 ;溴苯酚蓝 ;甲苯胺蓝 ;和吲哚菁绿 ;肝胆造影剂,诸如胆影酸 ;和甘氨碘苯酸 ;胆汁盐,诸如胆红素 ;cholgycyliodohistamine ;和甲状腺素 ;肝胆硫代复合物,诸如青霉胺 ;对巯基异丁酸 ;二氢硫辛酸 ;6- 巯基嘌呤 ;和已酯草酸 - 双 ( 缩氨基硫脲 ) ;肝胆胺复合物,诸如 1- 肼基酞嗪 ( 肼苯哒嗪 ) ;和磺酰基脲 ;肝胆氨基酸席夫碱复合物,其包括吡哆醛 -5- 羟基色胺 ;和吡哆醛 -5- 丁基色胺 ;肝胆蛋白复合物,诸如鱼精蛋白 ;铁蛋白 ;和脱唾液酸血清类粘蛋白 ;以及脱唾液酸复合物,诸如乳糖胺化白蛋白 (lactosaminated albumin) ;免疫球蛋白、G、IgG ;和血红蛋白。

[0198] 治疗剂的添加

[0199] 如前所示,在某些实施方式中,一种或多种治疗剂可与本发明组合物的组分缔合。治疗剂的实例包括但不限于胰岛素、干扰素、利妥普单抗、曲妥珠单抗、尿酸酶、组织纤溶酶原激活物、抗胸腺细胞球蛋白、各种疫苗、肝素、肝素类似物、抗凝血酶 III、非格司亭、醋酸普兰林肽、艾塞那肽、埃替非巴肽、抗蛇毒素、IgG、IgM、凝血因子 VII 和 VIII、HGH、GLP-1、促红细胞生成素、甲状旁腺激素、血清素、D- 或 L- 甲状腺素、降钙素、单克隆抗体以及其它治疗肽。

[0200] 在某些实施方式中,治疗剂诸如胰岛素与本发明组合物的组分缔合。在一种实施方式中,缔合是通过将低摩尔浓度的胰岛素溶液加入组分的含水悬浮液中而实现的。在该实施方式中,参与组分组装的脂质分子的数目远超过交织和 / 或结合在组分基质之上或之内的胰岛素分子的数目。组分与胰岛素的这种高比例使得胰岛素和组分之间分子相互作用最小化,确保了本发明组合物的组分的自组装和自组织过程不受干扰。该高比例促使形成了稳定的组分 / 胰岛素缔合。

[0201] 不希望受特定何理论束缚,应当认为与本发明组合物的组分缔合的治疗剂 ( 或多种 ) 的量似乎是加载时间和脂质浓度的函数。随着含水介质中脂质成分浓度增加,另外的治疗剂与本发明组合物的组分缔合。加载治疗剂所需的时间可以是从几小时至大约一周的任何时间。

[0202] 相对于本发明组合物的组分的浓度,治疗剂的低浓度在脂质颗粒输送系统中是独特的。一般地,脂质体或脂质体样输送系统已经使用了更大量的治疗剂。本组合的这种实施方式的效力表明 :利用较少的治疗剂而仍能在患者中获得药理学上期望的结果是可能的。本发明的这种实施方式因此提供有利的治疗选择。

[0203] 在其它实施方式中,较高浓度治疗剂的加入可能是期望的且有利的。本发明组合物的组分成员能与较高摩尔浓度的任何给定治疗剂溶液缔合并且耐受 (tolerate)。

[0204] 本发明组合物的组分的实施方式的图示实例被描绘在图 1 中。图 1 图解了组分 /HTM/ 胰岛素结构。胰岛素分子经由非共价静电相互作用结合到组分表面。

[0205] 血清素象胰岛素一样也可利用根据本发明的组分 /HTM 复合物被输送至肝脏。在门脉 ( 口服 ) 葡萄糖装载期间,血清素在肝脏水平上与胰岛素共同作用以激活肝的葡萄糖贮存。为了达到期望的效果,血清素必须被输送至肝脏。以药学上可接受的剂量经由注射或口服输送导入的非靶向血清素不能有效地诱导期望的活性。因此,包括组分 /HTM/ 血清

素结构的本发明的实施方式为这种重要的葡萄糖调节激素提供了高度期望的输送机理。在为血清素输送设计的本发明的实施方式中，选择以形成组合物组分的脂质成分包括大约 62 摩尔百分数的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 22 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯、大约 16 摩尔百分数的胆固醇和大约 1 摩尔百分数的靶向试剂。

[0206] 降钙素是调节骨新陈代谢的激素。由于疾病诸如骨质疏松症的高度流行性，这种激素的口服制剂是非常期望的。目前降钙素仅仅是通过注射可输送的。在为降钙素输送设计的本发明实施方式中，选择的以形成包括在降钙素内的组合物组分的脂质成分包括大约 62 摩尔百分数的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 22 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯和大约 16 摩尔百分数的胆固醇。

[0207] GLP-1 是在肝脏和胰脏都起作用的肽。在肝脏中，GLP-1 在进餐期间起到刺激糖原积累的作用。然而，其中 GLP-1 口服施用的现有技术给药方法证明差的生物利用率并且口服剂量给药后降低的效力。在本发明的实施方式中，GLP-1 与本发明组合物的组分缔合形成组分 /GLP-1 结构。组分 /GLP-1 结构可进一步包括靶向试剂。优选地，选择的以形成包括 GLP-1 在内的组合物组分的脂质成分包括大约 62 摩尔百分数的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 22 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯和大约 16 摩尔百分数的胆固醇。

[0208] 甲状腺素象胰岛素一样一般也是不可口服生物利用的。然而，在本发明的实施方式中，甲状腺素可与本发明组合物的组分缔合，形成组分 / 甲状腺素结构。优选地，选择的以形成包括在甲状腺素内的组合物组分的脂质成分包括大约 62 摩尔百分数的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 22 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯、大约 16 摩尔百分数的胆固醇和大约 1 摩尔百分数的生物素 DHPE。

[0209] 尽管本发明已经依据特定的治疗剂 / 组分结构进行了描述，但是本文描述的任何治疗剂可与本发明的组分缔合以形成治疗剂 / 组分结构。

[0210] 共价连接的治疗剂

[0211] 在本发明的某些实施方式中，治疗剂可被共价连接到本发明的脂质成分。然而，一般地，治疗剂与脂质成分的共价连接不是直接的，而是通过形式 $-C(O)(CH_2)_nSR$ 的连接体介导的，其中酰胺、酯或硫代酰胺键在治疗剂和连接体之间形成。优选地，n 是 1 和 10 之间的整数。甚至更优选地，n 是 1、2 或 3。当连接体被连接到治疗剂时，R 一般是保护基团诸如 $-C(O)CH_3$。其它合适的硫醇保护基团可在 Green's Protective Groups in Organic Synthesis, Wuts 等人，4th edition, 2007 中找到。

[0212] 在连接体被结合到治疗剂之后，保护基团 R 从连接体上去除以暴露游离的硫醇基团。优选地，保护基团在不干扰目前连接的治疗剂的条件下被去除。该硫醇然后可与脂质成分诸如 MPB-PE 经历迈克尔加成反应以形成硫醚。优选地，脂质成分 MPB-PE 已经被结合到本发明化合物的组分中，然而连接体可在其结合本发明组分之前被结合到 MPB-PE。反应顺序将取决于治疗剂耐受某些反应条件的能力。在高温下可能变性的络合蛋白的情况下，优选的是在 MPB-PE 已经结合至本发明化合物的组分后进行迈克尔加成反应。

[0213] 在共价相互作用的实例中，IgG 被共价连接到本发明组分的脂质成分以形成组分 /IgG 结构。IgG 是通常不可口服生物利用的抗体。在本发明的这种实施方式中，选择的以形成组分 /IgG 结构的组分的脂质成分包括大约 68 摩尔百分数的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 18 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯、大约 9 摩尔百分数的胆固醇

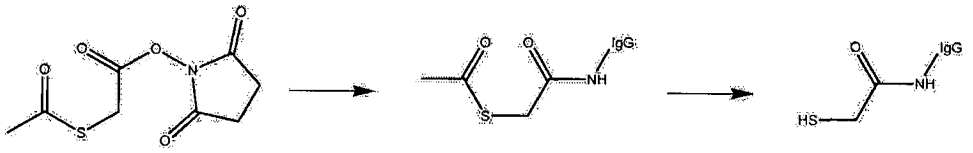
和大约 3 摩尔百分数的 MPB-PE。

[0214] 为了形成本发明的组分，1,2- 二棕榈酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、磷酸双十六烷基酯和胆固醇如本文前述被微流化以形成尺寸限制在 50 与 60 纳米之间的组分。然后，这种组分的悬浮液被转移到已经涂布有 MPB-PE 薄膜的圆底烧瓶。该悬浮液被加热至大约 62℃，其中温度没有降至 60℃以下或者超过 65℃。加热的悬浮液随后被搅拌 15 分钟直至所有的 MPB-PE 已经被结合到本发明的组分中。

[0215] 独立地，IgG 与 10 倍过量的下面的连接体前体 I(R = $CH_3C(O)$, n = 1) 反应以形成 II。然后，利用 2.5×25cm Sephadex G-25 柱——用 pH 7.4 下的 18mM 磷酸盐缓冲液加上 1.0mM EDTA 缓冲液平衡——进行化合物 II 纯化。

[0216] 其次，化合物 II 上的乙酰基保护基团通过在环境温度下于含有 1.0mM EDTA 的 18mM 磷酸钠缓冲液 (pH 7.4) 中将化合物 II 与 50mM 盐酸羟胺搅拌 2 小时而去除。所得游离硫醇 III 如化合物 II 所述在 2.5×25cm Sephadex G-25 柱中进行纯化。

[0217]




I II III

[0218] 提纯后，200 微摩尔的化合物 III 立即与早先制备的 10ml 组分溶液混合。反应混合物被搅拌 15 分钟，在这期间化合物 III 经历迈克尔加成反应，其中 MBP-PE 的马来酰亚胺官能度被结合到本发明组分中。通过加入 50 倍摩尔过量的 N- 乙基马来酰亚胺，结合反应停止，并且过量的 III 被去除。

[0219] 尽管上述实施例关于 IgG 进行描述，但是它同样适用于任何具有碱性氮或游离羟基或者其它能与连接体或连接体前体结合的官能团的治疗剂。

[0220] 稳定性

[0221] 尽管本发明组合物的组分成员在含水介质中配制，但是组合物的组分没有在水中显示出长期的稳定性。具体地，水有助于组合物组分的任何脂质成分中存在的任何酰基链的水解。水环境也允许任何脂质成分中存在的任何不饱和酰基链迅速氧化。在本发明的优选实施方式中，本发明组合物的组分可通过与蛋白聚糖诸如改性胶原——一般被称为干的粒状明胶——的相互作用被保护以进行长期贮存。干的粒状明胶当与组分的含水悬浮液接触时稳定了组分并且形成本发明的组合物。

[0222] 干的粒状明胶与本发明组合物的组分的含水悬浮液的反应产生半固体胶状凝胶，其屏蔽组分免于与水直接接触。未与明胶缔合的任何水通过在大约 2℃至大约 8℃下冷冻储存而慢慢蒸发。然而，水可以通过包括但不限于冷冻干燥和喷雾干燥的技术进行去除。

[0223] 这产生小球样“干的”组分 / 明胶复合物，其是本发明组合物。在组合物中，组分以元素以可逆的方式被部分脱水并且被干的明胶的蛋白质网格螯合。该螯合被通过氢键结合、离子键结合、范德华相互作用以及脂质成分、水和蛋白质结构即胰岛素之间的疏水性结合而相互作用的结构水、结构脂质和结构明胶所激活。这证实了明胶没有起到乳化剂或悬浮剂的作用。因此，“干”的小球适于长期储存，因为水的活性已经被减轻。这些小球可被进一步加工成粒状或自由流动的粉末以进行最终的胶囊填充或压片，同时保持其稳定性。

[0224] 在给患者口服给药后，“干”的小球变得水合并且再一次呈现半固体胶状凝胶状态。在进一步暴露于胃环境后，随着明胶的溶解，凝胶变成液体。明胶完全溶解后，本发明组合物的组分成员再水合，导致在胃环境内形成成分的新悬浮液。重构的组分然后可被吸收入门脉血流中。

[0225] 重要的是认识到明胶在本发明这方面的作用是作为组合物的活性稳定剂，而不是作为在许多其它药物组合物的口服制剂中通常发现的惰性填料。即是，除了上述应用之外，还预期了明胶作为惰性填料的另外应用。

[0226] 尽管明胶被用于本发明的优选实施方式，其他类似明胶的化合物也可以使用。将充当活性稳定剂的试剂的实例包括但不限于阿拉伯树胶 (gum arabic)、琼脂（冻琼脂 (agar-agar)；植物明胶；琼脂糖 (gelosa)；中国或日本明胶）、褐藻酸、藻酸钠（褐藻酸；钠盐；褐藻胶；藻酸盐 (Manucol)；藻蛋白酸 (Norgine)；Kelgin)、卡伯姆（羧聚乙烯）、角叉菜胶、羧甲基纤维素钠 (carbose D；carboxymethocel S；CMC；纤维素树胶）、粉末状纤维素 (Degussa)、羟乙基纤维素（纤维素；2- 羟基乙基醚；Cellosize；纤维素羧乙基醚 (Natrosol))、羟丙基纤维素（纤维素；2- 羟丙基醚；Klucel)、羟丙基甲基纤维素（纤维素；2- 羟丙基甲基醚）、甲基纤维素（纤维素；甲基醚 Methocel)、聚维酮 (2- 吡咯烷酮；1- 乙烯基 -；均聚物；聚乙烯吡咯烷酮）、黄芪胶（黄芪胶；Hog Gum；Goat’s Thorn) 和黄原胶 (Keltrol)。象明胶一样，并且适当的情况下，这些化合物也可被用作惰性填料。

[0227] 制剂

[0228] 用于口服给药的本发明组合物和治疗剂（在靶向试剂存在或不存在下）的制剂——下文称“组合物”——可以以分离的固体剂量单位的形式制备、包装或销售，其包括但不限于药片、硬或软的胶囊、扁囊药剂、片剂或锭剂，每个都包含预定量的活性成分。其它适于口服给药的制剂包括但不限于粉状或粒状制剂、含水悬浮液或乳剂。

[0229] 包括本发明组合物的药片例如通过将组合物任选地与一种或多种另外的组分压缩或成型而制备。压缩的药片可通过在合适的装置中将任选地与粘合剂、润滑剂、赋形剂、表面活性剂和分散剂中一种或多种混合的自由流动形式的组合物诸如粉末状或粒状制备物压缩而制备。成型的药片可通过在合适的装置中将组合物、药学上可接受的载体和至少足以润湿该混合物的液体成型而制备。

[0230] 用于药片制备的药学上可接受的赋形剂包括但不限于惰性稀释剂、粒化和崩解剂、粘合剂和润滑剂。已知的分散剂包括但不限于土豆淀粉和羧甲淀粉钠。已知的表面活性剂包括但不限于十二烷基硫酸钠。已知的稀释剂包括但不限于碳酸钙、碳酸钠、乳糖、微晶纤维素、磷酸钙、磷酸氢钙和磷酸钠。已知的粒化和崩解剂包括但不限于玉米淀粉和褐藻酸。已知的粘合剂包括但不限于明胶、阿拉伯树胶、预糊化玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮和羟丙基甲基纤维素。已知的润滑剂包括但不限于硬脂酸镁、硬脂酸、硅石和滑石。

[0231] 药片可以是未包被的或者它们采用已知方法进行包被以实现在对象胃肠道的延时崩解，由此提供组合物的持续释放和吸收。例如，物质诸如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯可被用于包被药片。另外例如，药片可采用美国专利号 4,256,108；4,160,452；和 4,265,874 中描述的方法进行包被以形成渗透控制释放药片。药片还可包括甜味剂、调味剂、着色剂、防腐剂或这些的一些组合，以便提供药学上美观且可口的制备物。

[0232] 包含组合物的硬胶囊可用生理学可降解的组合物诸如明胶制成。这样的硬胶囊包

括活性成分，并且还可包括另外的组分，其包括例如惰性固体稀释剂诸如碳酸钙、磷酸钙、高岭土或纤维醋法酯 (cellulose acetate hydrogen phthalate)。

[0233] 包含组合物的软明胶胶囊可用生理学可降解的组合物诸如明胶制成。

[0234] 适于口服给药的组合物的液体制剂可以液体形式或干产物的形式制备、包装或销售，所述干产物意欲在使用前用水或另一合适的载体重构，其经受早先公开的稳定性限制。

[0235] 液体悬浮液可用常规方法进行制备以实现组分在含水载体中的悬浮。含水载体包括例如水和等渗压盐水。含油载体仅可在这样的溶剂与本发明组合物的组分不是不相容的范围内被使用。在含油悬浮液与本发明组合物的组分不是不相容的范围内，含油悬浮液还可包括增稠剂。

[0236] 液体悬浮液还可包括一种或多种另外的组分达到这样的程度，以致所述组分不干扰本发明组合物的组分的结构。另外的组分的实例包括但不限于悬浮剂、分散或润湿剂、乳化剂、缓和剂、防腐剂、缓冲剂、盐、调味剂、着色剂和甜味剂。

[0237] 已知的悬浮剂包括但不限于山梨醇糖浆、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、黄芪胶、阿拉伯树胶和纤维素衍生物诸如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素。

[0238] 已知的乳化剂包括但不限于阿拉伯树胶。已知的防腐剂包括但不限于甲基、乙基、或正丙基 - 对羟基苯甲酸酯、抗坏血酸和山梨酸。已知的甜味剂包括例如甘油、丙二醇、山梨醇、蔗糖和糖精。

[0239] 本发明药物制剂的粉末状和粒状制剂可采用已知的方法制备。这样的制剂可直接施加给对象，例如用于形成药片、填充胶囊或者通过向其中加入含水载体制备含水悬浮液或溶液。这些制剂中每一种还可包括分散剂或润湿剂、悬浮剂和防腐剂中一种或多种。另外的赋形剂诸如填料和甜味剂、调味剂或着色剂也可被包括在这些制剂中。

[0240] 治疗疾病的方法

[0241] 疾病诸如糖尿病可通过口服施用本发明的化合物进行治疗，其中胰岛素是缔合的治疗剂。类似地，糖尿病可通过口服施用本发明的化合物进行治疗，其中胰岛素是缔合的治疗剂，并且其中另一形式的胰岛素被共同给药。共同给药的途径包括但不限于口服给药、肌肉内注射、吸入、静脉内注射、动脉内注射以及任何其它形式的给药。

[0242] 尽管医生将能对于给定患者选择合适的剂量，但是可在本发明化合物给定制剂中输送的剂量范围为大约 1 至大约 40 单位，但可以是 5、10、15、20、25、30 或 35 单位。然而给定制剂可包含其中任何全部或部分的整数并且可超过 40 单位。

[0243] 试剂盒

[0244] 本发明还包括试剂盒，其包括本发明组合物和指导材料，指导材料描述了将组合物施用给哺乳动物。在另一实施方式中，该试剂盒包括本发明组合物、共同给药的胰岛素，以及指导材料，指导材料描述了共同给药方法。

[0245] 如本文所用，“指导材料”包括出版物、唱片、图表或任何其它表达介质，其可被用于表达试剂盒中本发明组合物用于引起本文所述各种疾病或病症的减轻的益处。

[0246] 任选或者可选地，指导材料可描述一种或多种减轻哺乳动物细胞或组织中疾病或病症的方法。试剂盒的指导材料可例如添加到包含本发明的容器中或者与包含本发明的容器一起运送。可选地，指导材料可与容器分别运送，意图指导材料和化合物可被接受者协作地使用。

[0247] 实验实施例

[0248] 现在将参考下列实施例描述本发明。这些实施例仅仅是为了例证的目的提供的并且本发明绝没有被解释为限于这些实施例而应当解释为包括由于本文提供的教导而变得显而易见的任何和全部变化形式。

[0249] 实验 1 - 不包含靶向试剂的组合物的给药

[0250] 组合物——其组分成员产生自包括大约 62 摩尔百分数的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 22 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯、大约 16 摩尔百分数的胆固醇和无靶向试剂的脂质成分混合物——按照本文一般描述的微流化方法进行制备。已知部分的脂质成分包括 $^{14}C$ 标记的磷脂。通过 0.2 微米过滤器的过滤后，平均组分尺寸小于 100nm，如 Coulter 亚微米粒度分析仪所测量。

[0251] 10mg/kg 体重的组合物样品（包含 85,000cpm $^{14}C$ 放射性标记）然后被注射到麻醉的 230 克禁食的但其它正常的大鼠的十二指肠中。剂量给药后 15 和 30 分钟从门静脉和股静脉中取血液用于计数（图 2）。在剂量给药 30 分钟时，大鼠被处死并且取出血液、肝脏和脾脏的代表性样品进行分析（图 3）。

[0252] 如 $^{14}C$ 所测量，在大鼠的门脉血液和股脉血液中发现标记的组分。$^{14}C$ 标记的组分的门脉血液水平高于股脉血液水平（图 2）。在剂量给药后 30 分钟时，注射到肠的组分的大约 15% 在血液中发现。总数的大约 4% 在肝脏中发现并且大约 1% 在脾脏中发现。就肝脏和脾脏的相对大小而论，按重量计，脾脏吸收大大高于肝脏吸收。

[0253] 实验 2- 肝细胞靶向

[0254] 为了证实从肠中吸收组合物，组合物——其包括胰岛素和产生自包括大约 61 摩尔百分数的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 22 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯、大约 16 摩尔百分数的胆固醇和大约 1 摩尔百分数的聚 [Cr- 双 (N-2,6- 二异丙基苯氨基甲酰甲基亚氨基二乙酸)]（其中已知部分的膦脂成分包括 $^{14}C$ 标记的膦脂）的脂质成分混合物的组分——如本文所公开的一般制备方法所述而制备。在将标记的组合物剂量施用给大鼠之前，大鼠禁食 24 小时并且禁水 4 小时。禁食的大鼠然后允许从包含组合物的标有刻度的水瓶中饮水。15 分钟后从笼子中取出饮水瓶，测量从饮水瓶中摄取的水量，并且计算摄取的组合物量。在 15、30 和 45 分钟对大鼠的血液进行取样，并且计数每种样品中的放射性标记（图 4）。在 45 分钟大鼠被处死并且计数肝脏的放射性标记（图 5）。

[0255] 如图 4 所示，在水从笼子中取出后 15 分钟，大约 8% 摄取的剂量在大鼠的血液中发现。在 15 与 45 分钟之间大鼠血液中组分的量保持恒定。在 45 分钟时肝脏吸收为大约 8%。在 45 分钟时脾脏吸收为摄取剂量的大约 1%（图 5）。总吸收为大约 17%（包括血液、肝脏和脾脏）。

[0256] 实验 3 - 在阿脲 - 链脲霉素处理的小鼠中组合物的肝细胞靶向

[0257] 通过施加链脲霉素和阿脲使本试验中使用的小鼠患上糖尿病。然后将糖尿病动物分成两组。对照组 (11 只小鼠）口服剂量给药普通胰岛素。实验组 (7 只小鼠）口服剂量给药这样的组合物，其包括胰岛素和产生自包括大约 61 摩尔百分数的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 22 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯、大约 16 摩尔百分数的胆固醇和大约 1 摩尔百分数的聚 [Cr- 双 (N-2,6- 二异丙基苯氨基甲酰甲基亚氨基二乙酸)]（其中已知部分的膦脂成分包括 $^{14}C$ 标记的膦脂）的脂质成分混合物的组分。剂量

给药利用实验 2 中描述的水瓶剂量给药方法完成。

[0258] 患上糖尿病后，两组中的大鼠在 7 天同等处理，并且进食普通食物和普通水。这 7 天后，对照组的大鼠用食物和可得的饮用水中 0.1U/ml 的普通胰岛素处理另外的 7 天实验期间。在相同的 7 天实验期间后，实验组被进食普通食物与可在饮用水中以 0.1U/ml 得到的本发明组合物。在各个 7 天期间结束时，通过 Beckman 血液葡萄糖分析仪在血液的尾部静脉样品中测量血液葡萄糖。

[0259] 在用上述组合物剂量给药的组中口服给药的胰岛素的药理学效力显示在图 6 中。在7天时，与接受普通胰岛素的鼠——其血液葡萄糖基本上没有变化——相比，接受所述组合物的小鼠血液葡萄糖具有统计学上显著的降低 ($p<0.01$)。

[0260] 实施例 4- 血清素的体内给药

[0261] 组合物——其包括血清素和产生自包括大约 61 摩尔百分数的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 22 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯、大约 16 摩尔百分数的胆固醇和大约 1 摩尔百分数的聚 [Cr- 双 (N-2,6- 二异丙基苯氨基甲酰甲基亚氨基二乙酸)] 的脂质成分混合物的组分——的肝脏作用在患 2 型糖尿病的狗（迷走神经干切断术）中得到证实。狗被禁食，然后被麻醉。将采血管置于肝静脉和门静脉中以能够同时采血。将葡萄糖以 0.5g/kg/ 小时的速度输注到门脉系统。接着，上述组合物以 30μg/kg 体重的单剂量十二指肠内给药。结果描绘在图 7 中并且证实作为本发明组合物十二指肠内给药的血清素（也被称为 5- 羟基色氨或 5-HT）以低剂量在门脉葡萄糖加载期间将 2 型糖尿病狗从肝脏葡萄糖输出转化成吸收方面是有效的。

[0262] 实施例 5- 降钙素的体内给药

[0263] 正常禁食的对照大鼠经由皮下注射给予这样的鲑鱼降钙素剂量，以致于观察到初始 10％的血液钙降低。然后注射后测量血液钙水平六小时。实验组的大鼠通过口服填喂法以组合物的形式给予相同有效剂量的降钙素，所述组合物包括降钙素和产生自包括大约 61 摩尔百分数的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 22 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯和大约 16 摩尔百分数的胆固醇的脂质成分混合物的组分。接着测量血液钙水平六小时（图 8）。在非对照大鼠中观察到高达 20％的血液钙降低。这个差值在统计学意义上是显著的（图 8）。

[0264] 实施例 6 - 在 2 型糖尿病对象中靶向胰岛素的临床试验

[0265] 制备了包含本发明组合物的胶囊。组合物包括作为治疗剂的胰岛素、明胶和产生自包括大约 61 摩尔百分数的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 22 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯、大约 16 摩尔百分数的胆固醇和大约 1 摩尔百分数的生物素 -HDPE 钠盐的脂质成分混合物的组分。每个胶囊含有 2U 的胰岛素。

[0266] 六个充分表征的 2 型糖尿病患者参与了对照研究。患者被保持其惯常的 2 型口服抗糖尿病治疗。在早饭、午饭和晚饭的 60 克碳水化合物进餐前 30 分钟，研究参与者也被给予安慰剂胶囊或上述胶囊。对于每个对象，在 13 小时期间在常见的间隔时间取出血液样品，并且计算曲线下的增量面积以得到血液葡萄糖值。

[0267] 以 0.1U/kg 体重 / 餐——在给定进餐时胰岛素皮下注射所经常使用的相同剂量，对于三餐中每一餐都观察到统计学意义上显著的 AUC 降低。图 10 描绘了图示形式的实验结果。

[0268] 实施例 7 - 胰岛素浓度

[0269] 胰岛素 U-500 包含 500 单位胰岛素 /ml = 0.5 单位 /1μl

[0270] - 向 70ml pH 7.01 的 18mM 磷酸盐缓冲液中的组分悬浮液中加入 3.36mlU-500 胰岛素。

[0271] -(3,360μl)×(0.5 单位胰岛素 /μl) = 73.36ml 中 1,680 单位胰岛素总量

[0272] -(1,680 单位胰岛素 )/(73.36ml) = 22.9 单位胰岛素 /ml 或 34.35 单位胰岛素 /1.5ml

[0273] - 加载胰岛素 21 小时 ;

[0274] - 加载后,在带有用 pH 7.01 的 18mM 磷酸盐缓冲液平衡的 Sepharose CL-6B 凝胶的 1.5cm×25cm 柱上色谱层析 1.5ml 样品

[0275] - 从柱中回收 0%游离胰岛素 ;总加载胰岛素的 0%回收暗示着 100%总“加载”胰岛素与组合物的组分缔合。

[0276] 34.35 单位胰岛素 ×100% = 34.35 单位与本发明的组分结合或缔合的胰岛素。

[0277] 图 11 描绘了上述色谱层析。显示游离胰岛素洗脱时间的踪迹是为了比较目的而被包括在内。从色谱层析图可以看出,胰岛素与本发明的组分缔合并且在溶液中没有游离的胰岛素。包括有胰岛素的防腐剂没有与本发明组合物的组分缔合并且在色谱层析图中可以看到。

[0278] 实施例 8 - GLP-1 的口服输送

[0279] 大鼠被禁食过夜。随后,各为 800mg 的阿脲和链脲霉素被溶解在 40mL PBS(pH 7,0.01M) 中。然后立刻用 0.5mL IP 剂量进行处理禁食的大鼠以引起胰岛素不足。然后用水和食物稳定动物过夜。稳定后,大鼠被禁食过夜以耗尽肝脏糖原。

[0280] 接着,1.5g 葡萄糖 /kg 体重以及 GLP-1/ 组分结构形式的 GLP-1 经由口服填喂法同时给药。组分由包括大约 61 摩尔百分数的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 22 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯和大约 16 摩尔百分数的胆固醇 (“缔合的 GLP-1”) 的脂质成分混合物制备。在独立的实验中,缔合的 GLP-1 的量各不相同。在剂量给药后 2 小时经化学法测量肝脏糖原。

[0281] 作为对照,填喂的是未缔合的 GLP-1,代替缔合的 GLP-1。在独立对照中,GLP-1 以类似于口服填喂的剂量被腹膜内注射。如下面的表 3 所示,相对于未缔合的 GLP-1,观察到缔合的 GLP-1 具有大大增强的口服效力。

[0282] 表 3

[0283]

| 治疗 | 剂量 GLP-1mg/ 大鼠 | 肝脏糖原 mg/g 肝脏 |
|---|---|---|
| 对照口服 GLP-1 | 0.01 | 40±22 |
| 腹膜内 GLP-1 | 0.01 | 59±44 |
| 口服缔合的 GLP-1 | 0.005 | 73±56* |
| 口服缔合的 GLP-1 | 0.01 | 90±75* |

[0284] *p = 0.05，相比对照口服 GLP-1

[0285] 实施例 9 - 口服 IgG

[0286] 人 IgG 抗体被共价连接到本发明的组分，如本文前面所述（“共价 IgG”）。接着，准备了八个 250 克带有十二指肠内导管的实验大鼠，以便施加共价 IgG。过夜禁食后，5ug 的共价 IgG 被输注入十二指肠导管。导管随后用 0.5ml 缓冲液进行洗涤。在 15、30、60 和 120 分钟取出血样以通过 ELISA 反应分析人 IgG 抗体的血浆浓度。

[0287] 在对照实验中，5ug 游离 IgG 被输注到十二指肠导管。导管随后用 0.5ml 缓冲液进行洗涤。在 15、30、60 和 120 分钟取出血样以通过 ELISA 反应分析人 IgG 抗体的血浆浓度。两项研究的结果显示在图 12 中。

[0288] 从图 12 可以看出，与游离 IgG 相比，共价 IgG 提供增加的人 IgG 抗体的血浆浓度 (AUC)。同样，共价 IgG 增加了 Tmax - 最大浓度的时间，以及 Cmax - 剂量给药后观察到的最大血浆浓度。与游离 IgG 相比，共价 IgG 增加的效力因此证实了本发明化合物增强非常大的蛋白口服吸收进入系统循环的能力。

[0289] 实施例 10 - 口服甲状腺素

[0290] 已知甲状腺素降低血液胆固醇和甘油三酸酯水平。然而，在治疗高胆固醇和甘油三酸酯所必需的剂量下，甲状腺素引起了不希望的副作用甲状腺机能亢进。本研究的目标是证实口服给药的与本发明化合物缔合的靶向甲状腺素将在肝脏内起作用，产生降低血液脂质的结果，而没有引起不希望的甲状腺机能亢进。

[0291] 正常实验小鼠在高热量进食后被给予低口服剂量 (0.2 至 1.0μg) 的组合物形式的甲状腺素，所述组合物包括甲状腺素和产生自包括大约 61 摩尔百分数的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 22 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯、大约 16 摩尔百分数的胆固醇和大约 1 摩尔百分数的生物素 -HDPE 的钠盐——肝脏靶向试剂——的脂质成分混合物的组分。

[0292] 分成 4 组的小鼠在剂量应答研究中通过口服填喂法每天服药一周。一周治疗后测量血液胆固醇和甘油三酸酯。对于所有组胆固醇和甘油三酸酯的基线值是相似的。图 13 中显示的剂量应答证实了口服给药的、与本发明组合物缔合的肝靶向甲状腺素的效力。甲状腺激素的血液水平没有随着肝靶向口服甲状腺素的给予剂量而增加，从而证实了该产品的安全性。

[0293] 对肝靶向甲状腺素类似物的其它发表的研究 (Erion, M. 等，PNAS Sept 25, 2007vol 104, #39, pp 15490-15495) 需要比本文所述剂量高至少 10 倍的剂量，以便引起类似的血液胆固醇和甘油三酸酯降低。

[0294] 实施例 11 - 口服干扰素

[0295] 制备了组合物，其包括作为治疗剂的干扰素 -α 以及产生自包括大约 61 摩尔百分数的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油基 -3- 磷酸胆碱、大约 22 摩尔百分数的磷酸双十六烷基酯、大约 16 摩尔百分数的胆固醇和大约 1 摩尔百分数的生物素 -HDPE 的钠盐的脂质成分混合物的组分。

[0296] 六名带有丙型肝炎——基因 3 型——的患者用上述组合物和三氮唑核苷 (Ribivirin) 的含水悬浮液每天治疗进行 8 周。在该组合物的含水悬浮液中干扰素 -α 剂量为 60,000 单位 / 天。

[0297] 在研究开始时然后在第1、2、4和8周时测量丙型肝炎病毒载量。参见图14。数据证实本发明组合物的含水悬浮液在最小剂量的干扰素下降低病毒载量的能力。副作用被类似地减至最小。

[0298] 本文所引用的各个和每个专利、专利申请和出版物的公开内容在此以其全部内容通过引用并入本文。

[0299] 尽管本发明已经参考具体实施方式被公开，但是明显的是本领域其他技术人员可以在没有背离本发明实质精神和范围下设计出本发明的其它实施方式和变化形式。所附权利要求意图被解释为包括所有这样的实施方式以及等价的变化形式。

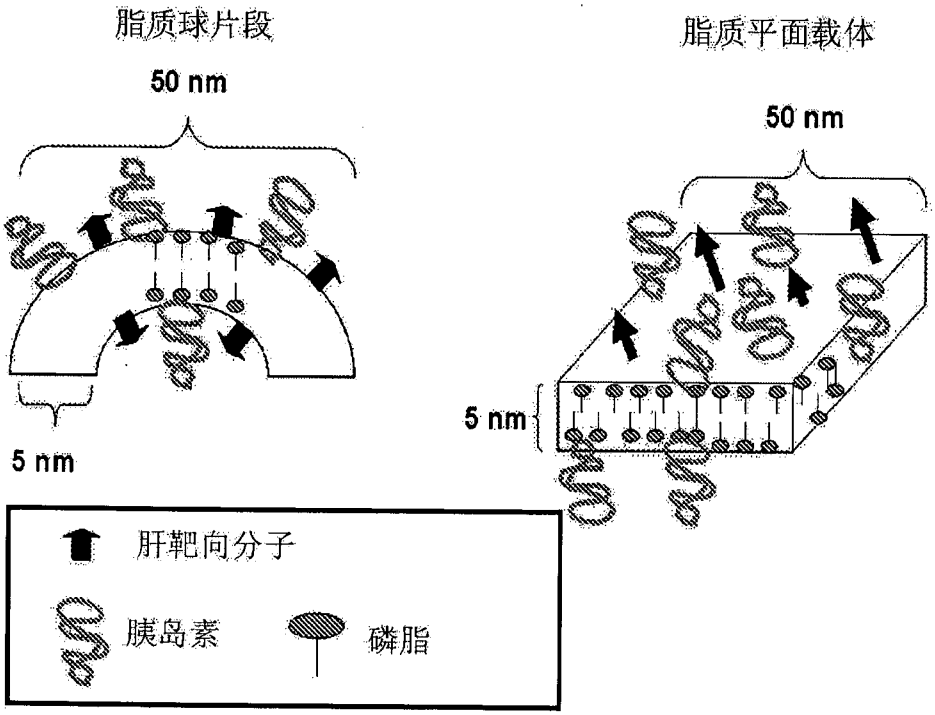

脂质球片段
50 nm
5 nm
脂质平面载体
50 nm
5 nm
肝靶向分子
胰岛素
磷脂

图 1

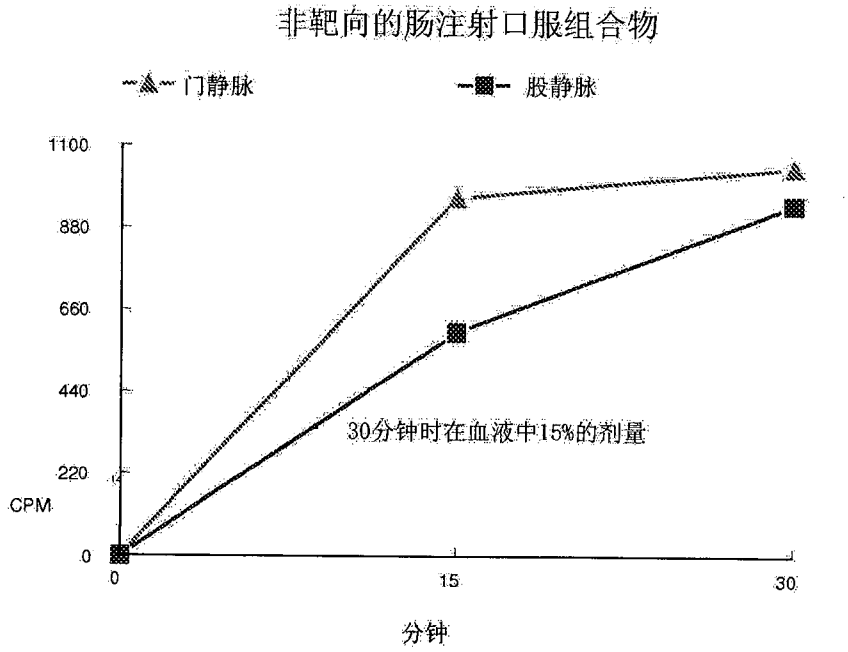

非靶向的肠注射口服组合物
门静脉
股静脉
1100
880
660
440
220
0
CPM
30分钟时在血液中15%的剂量
0
15
30
分钟

图 2

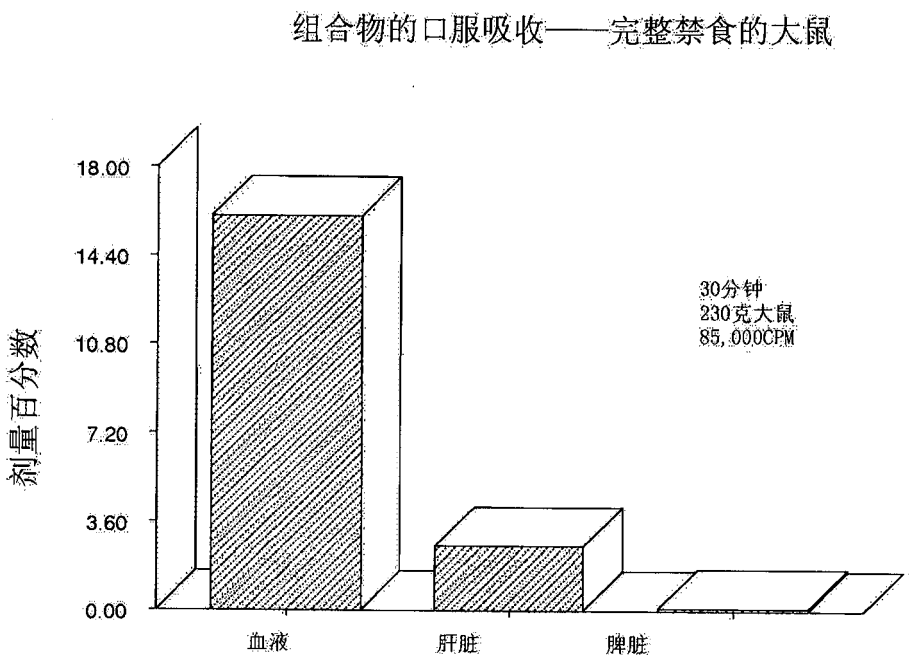

组合物的口服吸收——完整禁食的大鼠
剂量百分数
18.00
14.40
10.80
7.20
3.60
0.00
30分钟
230克大鼠
85,000CPM
血液
肝脏
脾脏

图 3

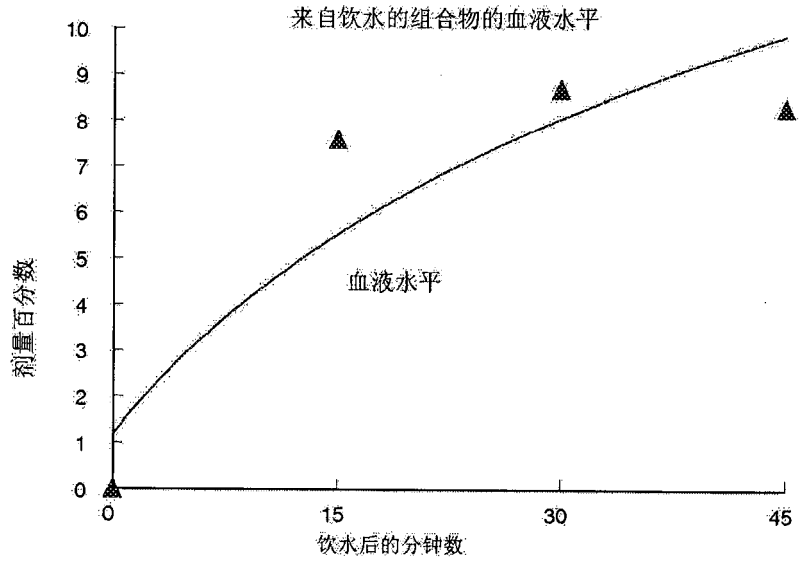

来自饮水的组合物的血液水平
剂量百分数
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
血液水平
0
15
30
45
饮水后的分钟数

图 4

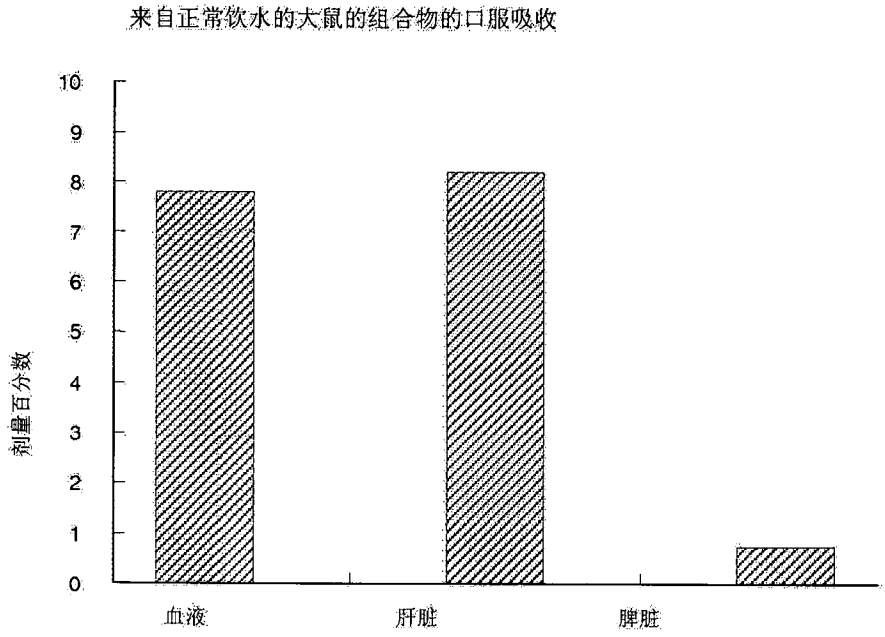

来自正常饮水的大鼠的组合物的口服吸收
剂量百分数
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
血液
肝脏
脾脏

图 5

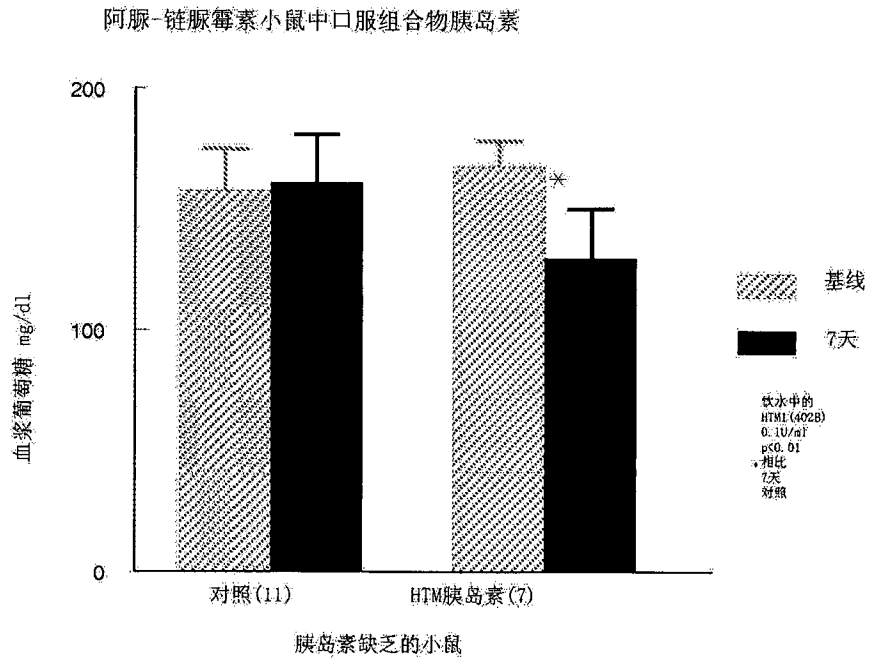

阿脲-链脲霉素小鼠中口服组合物胰岛素
血浆葡萄糖 mg/dl
200
100
0
对照(11)
HTM胰岛素(7)
胰岛素缺乏的小鼠
基线
7天
饮水中的
HTMI(402B)
0.1U/ml
p<0.01
相比
7天
对照

图 6

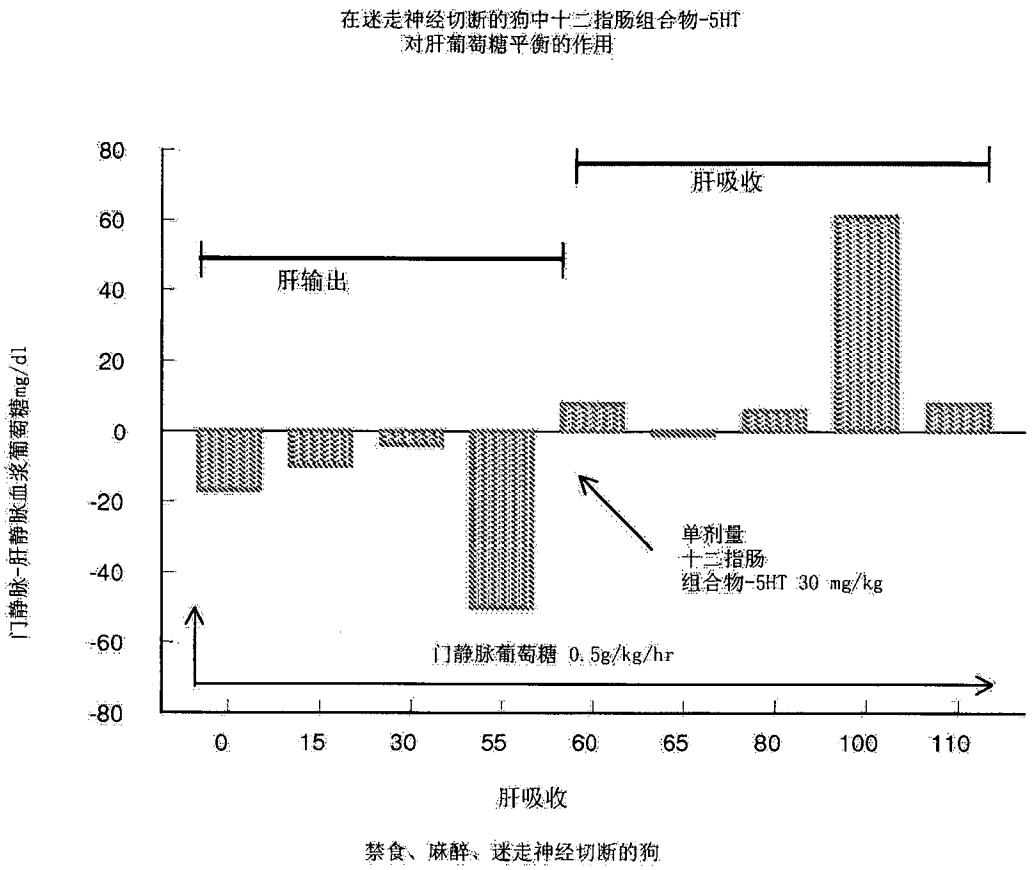

在迷走神经切断的狗中十二指肠组合物-5HT
对肝葡萄糖平衡的作用
门静脉-肝静脉血浆葡萄糖mg/dl
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
肝吸收
肝输出
单剂量
十二指肠
组合物-5HT 30 mg/kg
门静脉葡萄糖 0.5g/kg/hr
0
15
30
55
60
65
80
100
110
肝吸收
禁食、麻醉、迷走神经切断的狗

图 7

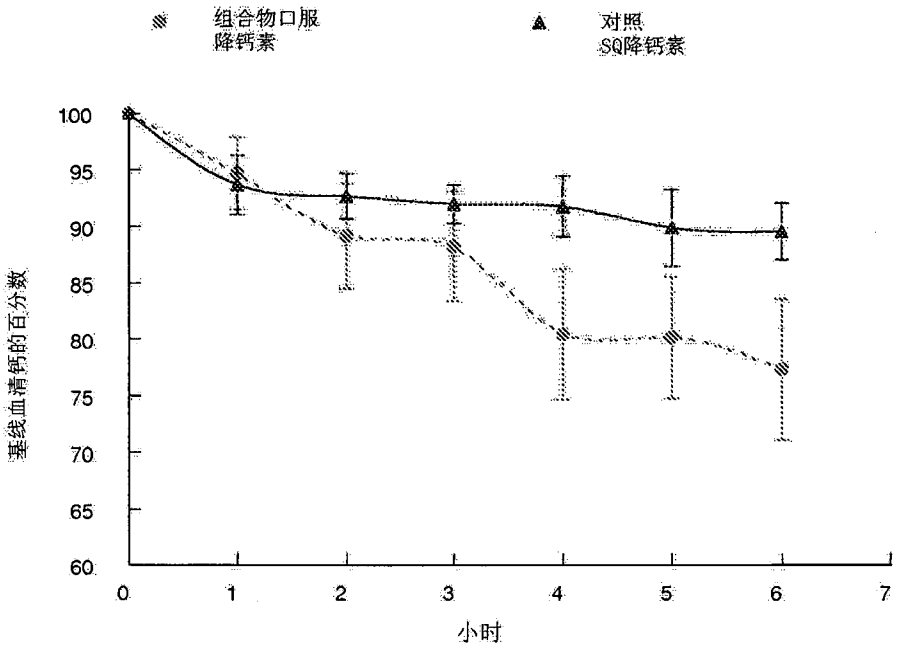

大鼠中口服降钙素的低血钙性作用
组合物口服降钙素
对照SQ降钙素
基线血清钙的百分数
100
95
90
85
80
75
70
65
60
0
1
2
3
4
5
6
7
小时

图 8

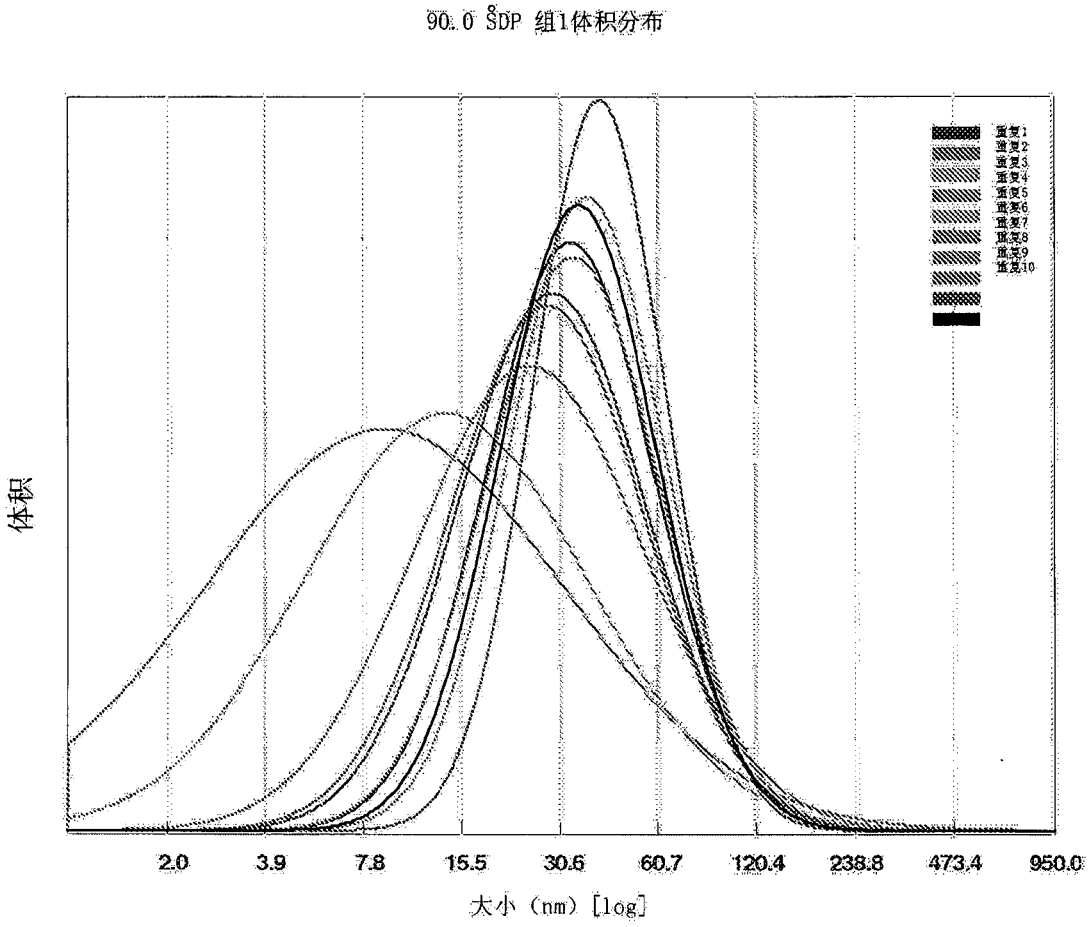

90.0 SDP 组1体积分布
体积
2.0
3.9
7.8
15.5
30.6
60.7
120.4
238.8
473.4
950.0
大小（nm）[log]

图 9

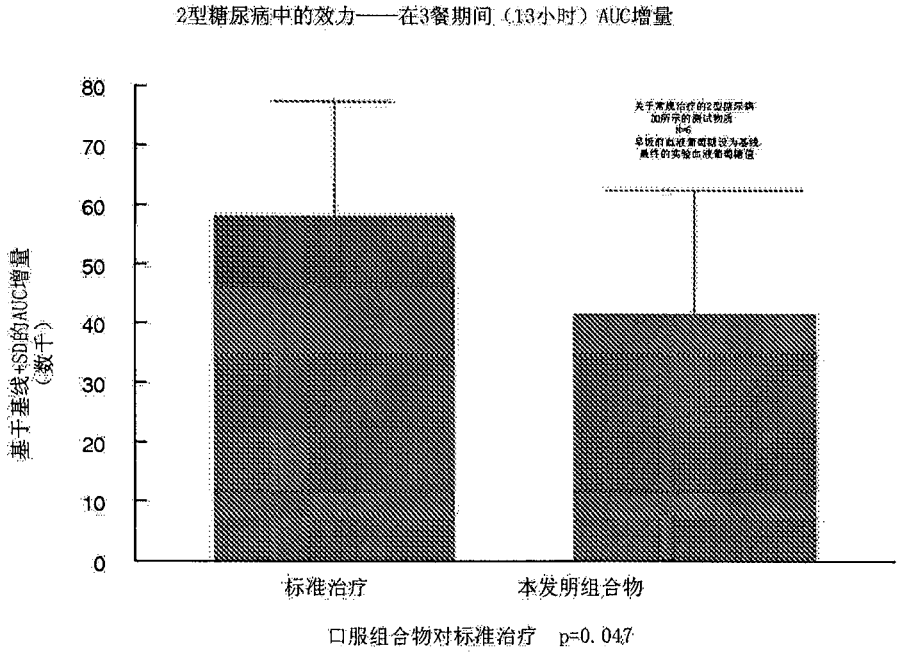

2型糖尿病中的效力——在3餐期间（13小时）AUC增量
基于基线+SD的AUC增量（数千）
80
70
60
50
40
30
20
10
0
标准治疗
本发明组合物
口服组合物对标准治疗 p=0.047

图 10

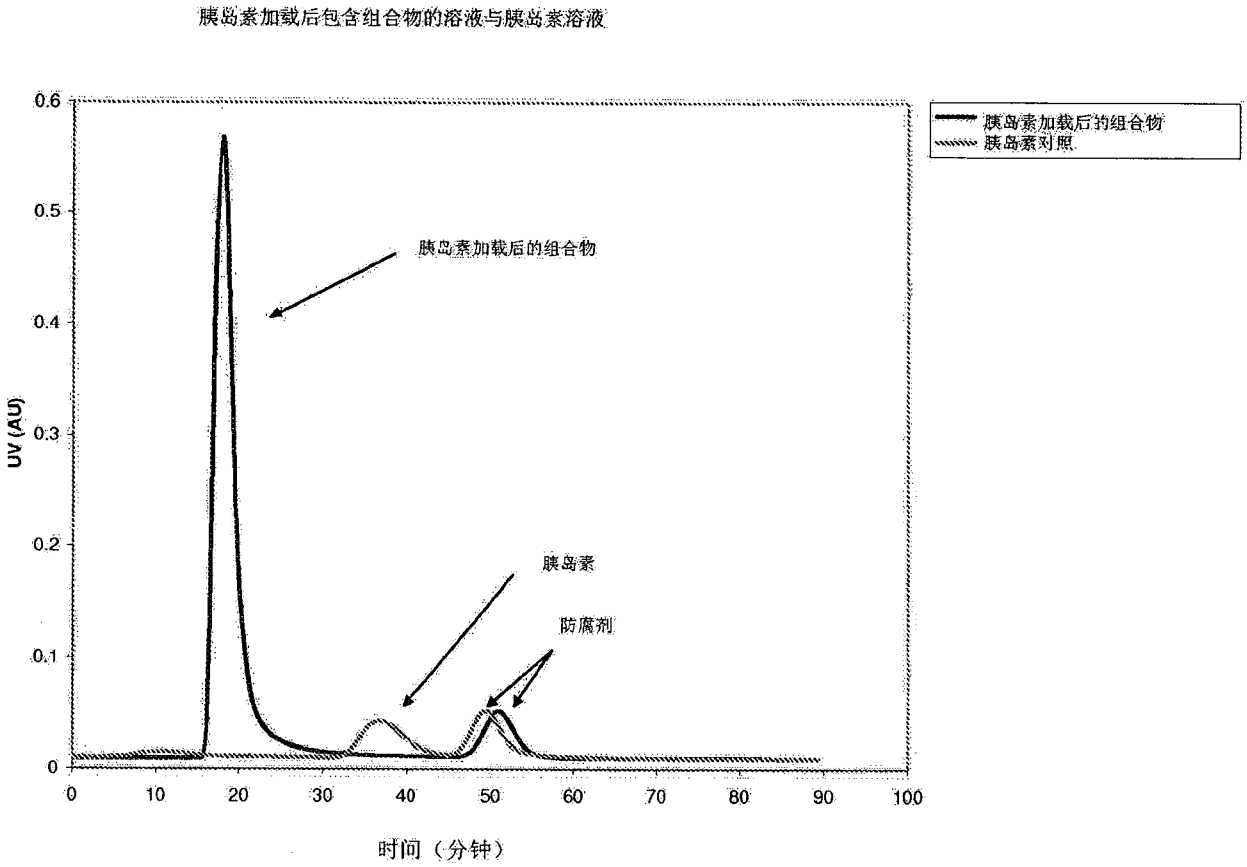

胰岛素加载后包含组合物的溶液与胰岛素溶液
胰岛素加载后的组合物
胰岛素对照
UV (AU)
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
胰岛素加载后的组合物
胰岛素
防腐剂
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
时间（分钟）

图 11

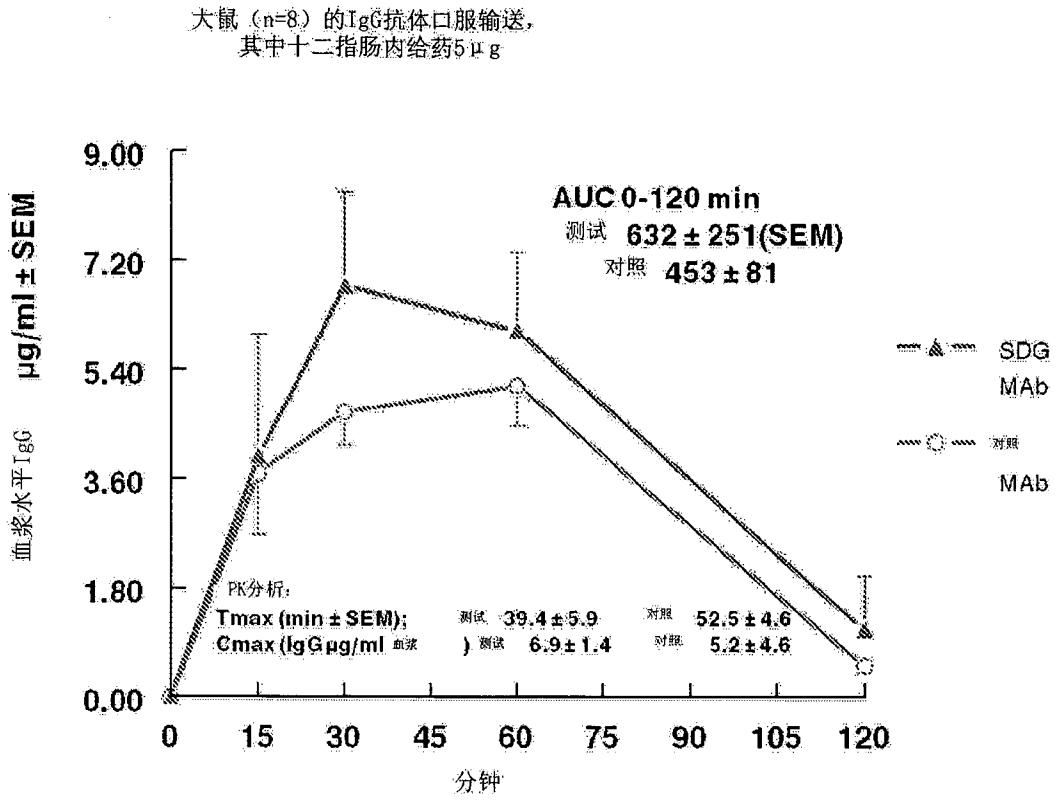

大鼠（n=8）的IgG抗体口服输送，
其中十二指肠内给药5μg
血浆水平IgG μg/ml ± SEM
9.00
7.20
5.40
3.60
1.80
0.00
AUC 0-120 min
测试 632 ± 251(SEM)
对照 453 ± 81
SDG MAb
对照 MAb
PK分析：
Tmax (min ± SEM); 测试 39.4 ± 5.9 对照 52.5 ± 4.6
Cmax (IgG μg/ml 血浆) 测试 6.9 ± 1.4 对照 5.2 ± 4.6
0 15 30 45 60 75 90 105 120
分钟

图 12

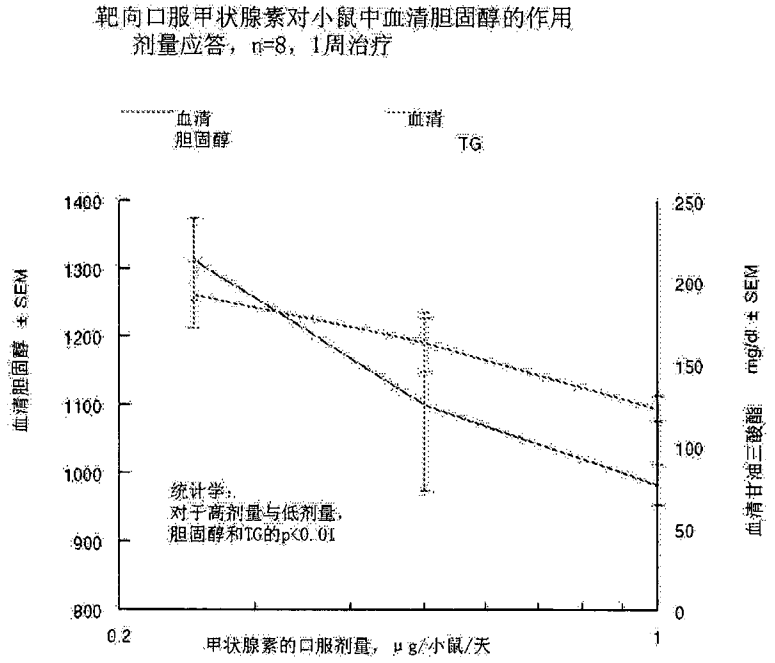

靶向口服甲状腺素对小鼠中血清胆固醇的作用
剂量应答，n=8，1周治疗
血清胆固醇
血清TG
血清胆固醇 ± SEM
1400
1300
1200
1100
1000
900
800
250
200
150
100
50
0
血清甘油三酸酯 mg/dl ± SEM
统计学：
对于高剂量与低剂量，
胆固醇和TG的p<0.01
0.2
1
甲状腺素的口服剂量，μg/小鼠/天

图 13

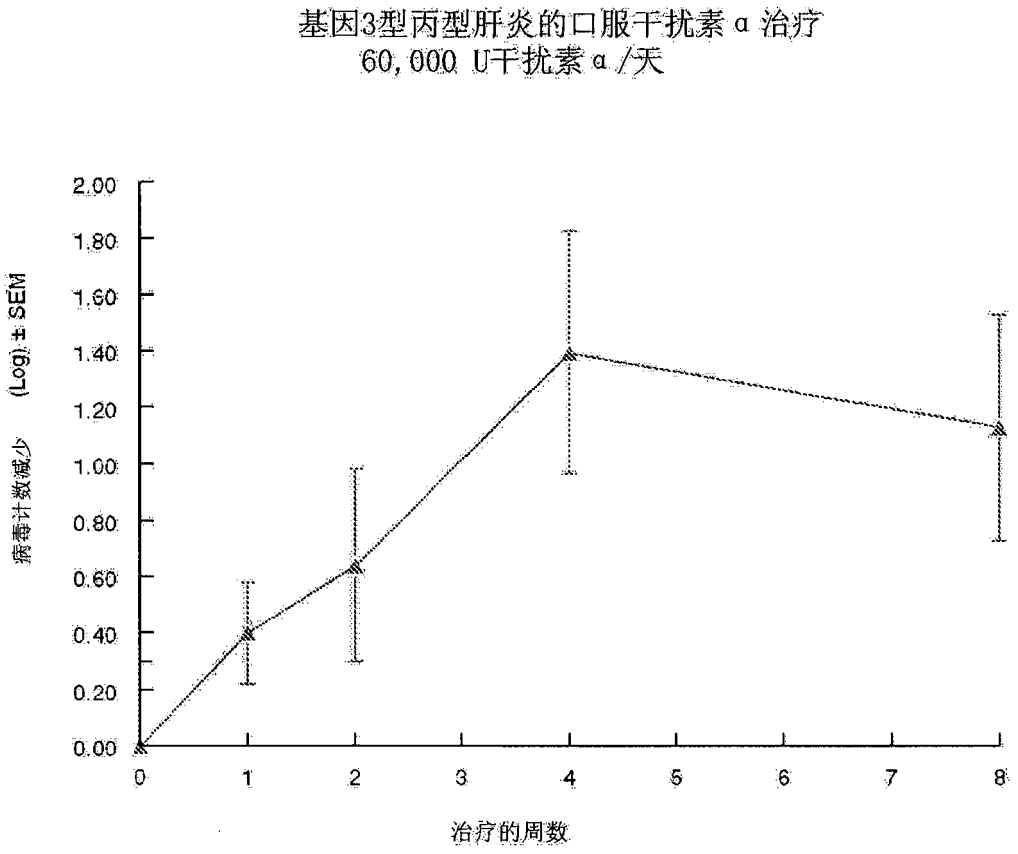

基因3型丙型肝炎的口服干扰素α治疗
60,000 U干扰素α/天
病毒计数减少 (Log) ± SEM
2.00
1.80
1.60
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
0
1
2
3
4
5
6
7
8
治疗的周数

图 14

# Orally Bioavailable Lipid-based Constructs

## ABSTRACT

The present invention is embodied by a composition capable of chaperoning a typically non-orally available therapeutic or diagnostic agent through the environment of the digestive tract such that the therapetucic or diagnostic agent is bioavailable. The composition may or may not be targeted to specific cellular receptors, such as hepatocytes. Therapeutic agents include, but are not limited to, insulin, calcitonin, serotonin, and other proteins. Targeting is accomplished with biotin or metal based targeting agents.

# 口服生物利用的基于脂质的结构

## 摘要

本发明包括组合物，其能陪伴一般非口服利用的治疗剂或诊断剂穿过消化道环境，以使所述治疗剂或诊断剂可生物利用。该组合物可以或可以不靶向特定细胞受体，诸如肝细胞。治疗剂包括但不限于胰岛素、降钙素、血清素和其它蛋白。用基于生物素或金属的靶向试剂实现靶向。