

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2012 年 8 月 30 日 (30.08.2012)



(10) 国际公布号
WO 2012/113117 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 9/107 (2006.01) A61K 38/29 (2006.01)
A61K 38/28 (2006.01) A61K 47/14 (2006.01)
A61K 38/27 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)
A61K 38/23 (2006.01) A61P 19/10 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2011/000815

(22) 国际申请日: 2011 年 5 月 10 日 (10.05.2011)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201110044145.8 2011 年 2 月 24 日 (24.02.2011) CN

(71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 美迪思生物科技 (北京) 有限公司 (MADE IT BIOTECH (BEIJING) LIMITED) [CN/CN]; 中国北京市海淀区上地十街辉煌国际中心六号楼 338 室, Beijing 100085 (CN)。

(72) 发明人: 及

(75) 发明人/申请人 (仅对美国): 马二利 (MA, Erli) [CN/CN]; 中国北京市海淀区上地十街辉煌国际中心六号楼 338 室, Beijing 100085 (CN)。 郑昌学 (ZHENG, Changxue) [CN/CN]; 中国北京市海淀区上地十街辉煌国际中心六号楼 338 室, Beijing 100085 (CN)。

(74) 代理人: 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所 (CCPIT PATENT AND TRADEMARK LAW OFFICE); 中国北京市西城区阜成门外大街 2 号万通新世界广场 8 层, Beijing 100037 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告 (条约第 21 条 (3))。

(54) Title: ORAL PREPARATION COMPRISING PROTEIN OR POLYPEPTIDE, PREPARATION METHOD THEREOF, AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种含有蛋白质或多肽的口服制剂、其制备方法及其用途

(57) Abstract: An emulsion for oral administration comprising protein or polypeptide, a preparation method thereof, and the use thereof are disclosed. The emulsion comprises protein or polypeptide, water phase, oil phase and emulsifier, wherein the oil phase comprises medium-chain aliphatic ester, the emulsifier includes emulsifier with HLB value greater than 12. The emulsion can improve bioavailability. The emulsion can be uniformly dispersed and generates emulsion drops with uniform grain size when it is diluted with water.

(57) 摘要:

一种用于口服给药的含蛋白质或多肽的乳剂、及其制备方法和用途。所述乳剂包含蛋白质或多肽、水相、油相和乳化剂, 其中油相含有中链脂肪酸酯、乳化剂包括 HLB 值大于 12 的乳化剂。该乳剂能提高生物利用度, 在被水稀释时, 能均匀分散、生成粒径均匀的乳滴。

WO 2012/113117 A1

一种含有蛋白质或多肽的口服制剂、其制备方法及其用途

技术领域

本发明属于药物学和制剂学领域，涉及一种含有蛋白质或多肽的口服制剂、其制备方法及其用途。

背景技术

胰岛素 (insulin)，甲状旁腺激素 (parathyroid hormone)，降钙素 (calcitonin)，生长激素 (growth hormone)，肠促胰岛素样肽-1 (GLP-1) 等蛋白质或多肽药物，是临床治疗中的重要药物。但这类药物的共同特点是口服给药几乎无效，需要频繁的注射给药。

蛋白质多肽类药物由于在临床中缺乏口服给药途径而限制了它们的应用，胃肠道中蛋白酶的降解以及肠上皮细胞屏障作用等多种因素限制了这类药物的口服生物利用度。几十年来，研究人员采用共价修饰、酶抑制剂、吸收促进剂、微囊微球包裹、W/O (油包水) 乳剂等策略，以期解决蛋白质多肽类药物口服生物利用度低的问题。Carino G.P. et al (2000) J. Control. Release. 65: 261-269; Kathryn Wehitehead, et al (2004) J. Control. Release. 98: 37-45; Yan Pan, et al (2002) Int. J. Pharm 249: 139-147; Nerurkar M.M. et al (1996) Pharm. Res. 13: 528-534; Marschutz M.K. et al (2000) Biomaterials 21: 1499-1507; Christopher J.H. et al (1997) Adv. Drug. Deliver. Rev. 25: 71-89; Jeff Wang, et al (2003) J. Control. Release. 88: 369-380; Roger R.C. New, et al (1997) Adv. Drug. Deliver. Rev. 25: 59-69; Anja Graf, et al (2008) Int. J. Pharm. 350: 351-360; R. Neslihan Gursoy

et al (2004) Biomed. Pharmacother. 58: 173-182; CN01115327. X, US4849405, US5824638.

上述策略存在明显的不足,如共价修饰会降低药物活性,并可能改变药物分子的药理、毒理,带来高昂的制备成本和严重的安全隐患;酶抑止剂能有效避免蛋白酶的水解作用,但酶抑制剂同时也影响了食物蛋白的消化,长期服用将造成消化吸收紊乱甚至胰脏的肿大或增生;吸收促进剂在增加肠道通透性的同时,有可能对细胞膜造成不可逆的破坏,长期服用会导致膜中毒;微囊微球制备工程中常需要有机溶剂的参与,并需要高速离心等步骤,增加了工艺的复杂性。

另外有研究表明,中链脂肪酸可以作为底物引发级联反应并最终打开细胞间紧密连接,从而增加肠道的渗透性(Masahiro Hayashi, et al (1997) ADV. DRUG. DELIVER. REV. 28: 191-204.)。Panayiostis 等人以中链脂肪酸甘油酯作为吸收促进剂,研究了W/O型微乳制剂对亲水性小分子药物的吸收效果(Panayiostis P. Constantinides, et al (1994) PHARM RES 11: 1385-90; Panayiostis P. Constantinides, et al (1996) PHARM RES 13: 210-215.),但其所用药物分子量不足 700 道尔顿,并且该类药物直接口服后生物利用度可达 2%,与蛋白质多肽类药物存在本质差别。经过进一步的研究,P. Constantinides 通过联合应用高 HLB 值(亲水亲油平衡值)表面活性剂和低 HLB 值表面活性剂,获得了能够包含 RGD、降钙素、胰岛素等不同亲水分子的自乳化 W/O 制剂,但其口服生物利用度效果却没有公开的报道。Mao-Bo Cheng 等人制备了含蚓激酶的口服 W/O 型微乳制剂(Mao-Bo Cheng, et al (2008) J. Control. Release. 129: 41 - 48)。

上述文献以微乳为载体,实现了对蛋白质或多肽药物的包裹,

但存在一个最大的问题就是这些制剂乳化效果差，粒径大小悬殊很大，并且乳化后（稀释后）乳液出现了分层；或者清亮区域狭小，稀释后不能均匀分散，从而会限制其口服生物利用度效果。甚至可能导致乳滴破乳，包裹于内层水相中的蛋白质多肽类分子会被快速释放出来，被胃肠道中的蛋白酶降解，或与中链脂肪酸酯等物质由于不相容性的问题，蛋白质多肽类分子发生絮集、沉淀，造成药物活性丢失且难以被机体吸收。并且这些产品口服给药后药物起效慢，通常需要4个小时，甚至8个小时以后才能达到血药浓度峰值，与现有药物作用方式差别巨大，为临床应用带来诸多不便（G. Sharma, et al (2010) EUR. J. PHARM. BIOPHARM. 76:159-169; Amani Elsayed, et al (2009) EUR. J. PHARM. BIOPHARM. 73: 269 - 279）。

发明内容

本发明人通过大量的试验和创造性的劳动，惊奇地发现，通过选用高 HLB 值表面活性剂和中链脂肪酸酯（特别再添加磷脂时），得到的含有蛋白质或多肽的乳剂的相容性和稳定性很好，乳剂在保持较高的生物利用度的同时，保持优异的乳化性能。并且乳剂在被水稀释时，能均匀分散，生成的乳滴粒径分布比较均匀，不会导致乳液不清。并且本发明的乳剂经口服给药后，能被快速吸收，有着与同类注射药物相近的血药浓度或药效达峰时间，这将为临床应用带来极大便利。由此提供了下述发明：

本发明的一个方面涉及一种乳剂，包含蛋白质或多肽、水相、油相、乳化剂，其特征在于，所述油相含有中链脂肪酸酯（例如中链脂肪酸甘油酯），并且所述乳化剂包括 HLB 值大于 12 的乳化剂；

具体地，所述油相为中链脂肪酸酯(例如中链脂肪酸甘油酯)，所述乳化剂为 HLB 值大于 12 的乳化剂。

所述蛋白质或多肽为乳剂的有效成分(药效成分)或者活性成分。所述蛋白质或多肽可以从生物机体中分离获得，也可以通过基因工程手段(例如基因重组)或化学合成的方式获得。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其中，所述蛋白质或多肽为降钙素、胰岛素、GLP-1、甲状旁腺激素、甲状旁腺激素 1-84、甲状旁腺激素 1-34、或生长激素。在一些实施方案中，所述降钙素，包括鲑鱼、鳗鱼和人的降钙素；所述胰岛素，包括猪、牛、人和重组的胰岛素；所述 GLP-1，包括重组和合成的 GLP-1；所述甲状旁腺激素，包括人体甲状旁腺激素 1-84、重组和/或合成的甲状旁腺激素 1-34；所述长激素，包括猪、牛、人体和重组的生长激素。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其中，所述中链脂肪酸酯为中链脂肪酸甘油酯、聚乙二醇化的中链脂肪酸甘油酯、乙酰化中链脂肪酸甘油酯、中链脂肪酸丙二醇酯、中链脂肪酸丁二醇酯、或中链脂肪酸聚乙二醇酯。所述中链脂肪酸甘油酯可以为中链脂肪酸甘油一酯、中链脂肪酸甘油二酯、以及中链脂肪酸甘油三酯中的一种或多种。所述中链脂肪酸甘油酯中的中链脂肪酸可以结合在甘油分子中的任何一个或多个羟基位置，当形成中链脂肪酸甘油二酯或中链脂肪酸甘油三酯时，甘油分子中的羟基上结合的中链脂肪酸分子可以相同或者不同。在本发明中，中链脂肪酸是指碳原子数 6-12 的脂肪酸，其可以是饱和的，也可以是不饱和的，可以是直链的，也可以是支链的。具体地，所述中链脂肪酸为辛酸和/或癸酸。

在本发明的一个实施方案中，所述中链脂肪酸酯为碳原子数

6-12 的脂肪酸的甘油一酯、甘油二酯、和/或甘油三酯；更具体地，为选自辛酸癸酸甘油酯、聚乙二醇辛酸/癸酸甘油酯、辛酸甘油酯、癸酸甘油酯中的一种或多种。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其中，所述 HLB 值大于 12 的乳化剂为选自泊洛沙姆 188、泊洛沙姆 407、吐温 20、吐温 80、聚乙二醇十二羟基硬脂酸酯、聚氧乙烯醚 (35) 蓖麻油、聚氧乙烯醚 (40) 氢化蓖麻油、生育酚琥珀酸聚乙二醇酯、聚乙二醇-32-月桂酸甘油酯、聚乙二醇-32-硬脂酸甘油酯中的一种或多种。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其中，所述蛋白质或多肽为 0.01-1 重量份，所述中链脂肪酸酯(例如中链脂肪酸甘油酯)为 50-1000 重量份，所述 HLB 值大于 12 的乳化剂为 20-2000 重量份；具体地，所述蛋白质或多肽为 0.01-0.5 重量份，所述中链脂肪酸酯(例如中链脂肪酸甘油酯)为 100-500 重量份，所述 HLB 值大于 12 的乳化剂为 50-1000 重量份；更具体地，所述蛋白质或多肽为 0.01-0.3 重量份，所述中链脂肪酸酯(例如中链脂肪酸甘油酯)为 100-300 重量份，所述 HLB 值大于 12 的乳化剂为 50-500 重量份。

根据本发明的任一项所述的乳剂，优选地，所述乳剂还含有磷脂，并且磷脂与蛋白质或者多肽的摩尔比为 10:1 至 1000:1。所述磷脂与蛋白质或者多肽的摩尔比优选为 20:1 至 500:1，更优选为 60:1 至 200:1。所述磷脂优选为大豆卵磷脂和/或蛋黄卵磷脂。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其还包含药学上可接受的辅料，例如分散介质、等渗剂、抗氧化剂、冻干保护剂、或 pH 调节剂。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其中，所述分散介质选自

壳聚糖、二氧化硅、硅酸铝镁、羧甲基纤维素钠、交联纤维素钠、交联羧甲基纤维素钠、硫酸镁、硬脂酸镁、聚乙二醇 400、和甘油中的一种或多种。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其中，所述等渗剂选自木糖醇、氯化钠、果糖、山梨醇、和葡萄糖中的一种或多种。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其中，所述抗氧化剂选自 L-半胱氨酸盐酸盐、亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、没食子酸丙酯、谷胱甘肽、焦亚硫酸钠、焦亚硫酸钾、和维生素 E 中的一种或多种。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其中，所述的冻干保护剂选自蔗糖、乳糖、海藻糖、葡萄糖、甘氨酸、精氨酸、和木糖醇中的一种或多种。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其中，所述的 pH 值调节剂选自盐酸、硫酸、乳酸、苹果酸、醋酸、枸橼酸、磷酸、氢氧化钠、碳酸钠、碳酸氢钠、磷酸氢二钠、和磷酸二氢钠中的一种或多种。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其为微乳剂。微乳是指由水、油、乳化剂组成的，各向同性、透明、热力学稳定的分散体系，通常粒径小于 500nm。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其通过口服给药。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其各组分及含量如下：

重组人胰岛素	0.008 - 0.012 重量份
盐酸	适量
壳聚糖	0.04 - 0.06 重量份
生理盐水	0.4 - 0.6 重量份
中链脂肪酸甘油三酯（例如 Crodamol GTCC）	0.8 - 1.2 重量份

聚乙二醇十二羟基硬脂酸酯 (例如 Solutol HS 15, BASF)	0.8 - 1.2 重量份
吐温 80	1.2 - 1.8 重量份
维生素 E	0.08 - 0.12 重量份;

本发明还涉及该乳剂在制备治疗或预防糖尿病、或者降低血糖的药物中的用途。本发明还涉及一种治疗或预防糖尿病、或者降低血糖的方法，包括给予有效量的该乳剂的步骤。在本发明的一个实施方案中，所述乳剂的组分及含量如下：

重组人胰岛素	0.01 重量份
盐酸	适量
壳聚糖	0.05 重量份
生理盐水	0.5 重量份
中链脂肪酸甘油三酯 (例如 Crodamol GTCC)	1 重量份

聚乙二醇十二羟基硬脂酸酯 (例如 Solutol HS 15, BASF)	1 重量份
吐温 80	1.5 重量份
维生素 E	0.1 重量份。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其各组分及含量如下：

猪胰岛素	0.004 - 0.006 重量份
氢氧化钠	适量
PBS 缓冲液	0.8 - 1.2 重量份
聚乙二醇辛酸/癸酸甘油酯 (例如 Sofitgen® 767, SASOL)	1.8 - 2.2 重量份

泊洛沙姆 188 (例如 Lutrol F68, BASF)	0.15 - 0.25 重量份
大豆卵磷脂 (例如 Epikuron 170, Degussa)	0.4 - 0.6 重量份
二氧化硅 (例如 SYLOID®, GRACE DAVISON)	0.8 - 1.2 重量份
交联纤维素钠	0.1 - 0.14 重量份
硬脂酸镁	0.013 - 0.017 重量份
甘氨酸	0.25 - 0.35 重量份;

本发明还涉及该乳剂在制备治疗或预防糖尿病、或者降低血糖的药物中的用途。本发明还涉及一种治疗或预防糖尿病、或者降低血糖的方法，包括给予有效量的该乳剂的步骤。在本发明的一个实施方案中，所述乳剂的组分及含量如下：

猪胰岛素	0.005 重量份
氢氧化钠	适量
PBS 缓冲液	1 重量份
聚乙二醇辛酸/癸酸甘油酯 (例如 Sofitgen® 767, SASOL)	2 重量份
泊洛沙姆 188 (例如 Lutrol F68, BASF)	0.2 重量份
大豆卵磷脂 (例如 Epikuron 170, Degussa)	0.5 重量份
二氧化硅 (例如 SYLOID®, GRACE DAVISON)	1 重量份
交联纤维素钠	0.12 重量份
硬脂酸镁	0.015 重量份
甘氨酸	0.3 重量份。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其各组分及含量如下：

PTH 1-34	0.0008-0.0012 重量份
PBS 缓冲液	0.4 - 0.6 重量份
辛酸癸酸甘油酯 (例如 Miglyol ®812, SASOL)	0.6 - 0.8 重量份
聚乙二醇十二羟基硬脂酸酯 (例如 Solutol HS 15, BASF)	1.8 - 2.2 重量份
生育酚琥珀酸聚乙二醇酯 (例如 TPGS, Eastman)	0.4 - 0.6 重量份
吐温 20	0.4 - 0.6 重量份
维生素 E	0.08 - 0.12 重量份;

本发明还涉及该乳剂在制备治疗或预防骨质疏松的药物中的用途。本发明还涉及一种治疗或预防骨质疏松的方法，包括给予有效量的该乳剂的步骤。在本发明的一个实施方案中，所述乳剂的组分及含量如下：

PTH 1-34	0.001 重量份
PBS 缓冲液	0.5 重量份
辛酸癸酸甘油酯 (例如 Miglyol ®812, SASOL)	0.7 重量份
聚乙二醇十二羟基硬脂酸酯 (例如 Solutol HS 15, BASF)	2 重量份
生育酚琥珀酸聚乙二醇酯 (例如 TPGS, Eastman)	0.5 重量份
吐温 20	0.5 重量份
维生素 E	0.1 重量份。

根据本发明的任一项所述的乳剂，其各组分及含量如下：

GLP-1	0.08 - 0.12 重量份
去离子水	55 - 65 重量份
辛酸癸酸甘油酯 (例如 Miglyol ®812, SASOL)	12 - 18 重量份
泊洛沙姆 188 (例如 Lutrol F68, BASF)	1.3 - 1.7 重量份
大豆卵磷脂 (例如 Epikuron 170, Degussa)	6 - 8 重量份
甘油	8 - 12 重量份
聚乙二醇 400	6 - 8 重量份
维生素 E	0.25 - 0.35 重量份；

本发明还涉及该乳剂在制备治疗或预防糖尿病、或者降低血糖的药物中的用途。本发明还涉及一种治疗或预防糖尿病、或者降低血糖的方法，包括给予有效量的该乳剂的步骤。在本发明的一个实施方案中，所述乳剂的组分及含量如下：

GLP-1	0.1 重量份
去离子水	60 重量份
辛酸癸酸甘油酯 (例如 Miglyol ®812, SASOL)	15 重量份
泊洛沙姆 188 (例如 Lutrol F68, BASF)	1.5 重量份
大豆卵磷脂 (例如 Epikuron 170, Degussa)	7 重量份
甘油	10 重量份
聚乙二醇 400	7 重量份
维生素 E	0.3 重量份。

根据本发明的任一项所述的乳剂,其为冻干乳剂(冻干制剂)。对本领域技术人员而言,能够制得上述乳剂的冻干制剂,例如在上述乳剂中加入适量的冻干保护剂,然后通过冷冻干燥(例如温度 -40°C ,工作真空度 30pa)后去除水分,从而得到干燥的蛋白质或多肽冻干乳剂。冻干后乳剂不含水相,可以做成片剂、胶囊剂等终剂型。

本发明所的乳剂的制备方法,例如可以采用下面的步骤:

1) 如下的步骤 A 或 B:

A. 在 $4-25^{\circ}\text{C}$ 条件下,将蛋白质或多肽分子溶于水相;

B. 制备蛋白质或多肽的磷脂复合物;

2) 在 $20-70^{\circ}\text{C}$ 条件下,将中链脂肪酸酯、HLB 值大于 12 的乳化剂相混合,并在 200-800rpm 搅拌条件下持续搅拌,直至整个体系呈透明清亮状;

3) 在 $4-37^{\circ}\text{C}$ 条件下,将步骤 1) 产物加入到步骤 2) 产物中,并在 200-800rpm 条件下继续搅拌,直至形成透明清亮的均匀制剂,最终获得含蛋白质或多肽药物的乳剂。

关于步骤 A,可选地,溶于水相的成分还包括 pH 调节剂和/或等渗剂。

关于步骤 B,为对本领域技术人员而言,能够制备所述的磷脂复合物。例如采用下面的方法:分别将磷脂和蛋白溶于有机相和水相,混合后,冷冻干燥(-40 至 -150°C ,甚至更低;压力为低于-100 帕,低于-200 帕,或者低于-300 帕;冻干时间为 12 小时以上,例如 12-24 小时,或者为 24 小时以上,例如 24-48 小时),获得蛋白磷脂复合物。在优选的实施方案中,磷脂与蛋

白质或者多肽的摩尔比为 10: 1 至 1000: 1。所述磷脂与蛋白质或者多肽的摩尔比更优选为 20: 1 至 500: 1, 进一步优选为 60: 1 至 200: 1。所述磷脂优选为大豆卵磷脂和/或蛋黄卵磷脂。有机相为二氯甲烷、丙酮、或二甲基亚砷, 优选二甲基亚砷。

关于步骤 2), 可选地, 相混和的还包括去离子水; 可选地, 还包括分散介质和/或抗氧化剂。

在本发明的一个实施方案中, 所述制备方法还包括步骤 4): 将步骤 3) 中制得的乳剂进行冻干, 得到冻干乳剂。步骤 B) 和步骤 4) 中涉及的冻干步骤可以使用本发明描述的冻干保护剂。

在本发明中, 术语“胶束 (micelles)”是指在溶液中由若干溶质分子或离子缔合形成的以疏水基团为内核、亲水基团为外壳的分子有序聚集体。胶束是一种胶体分散体系, 属于一类缔合胶体。两亲性高分子物质在溶液中分散达到临界胶束浓度 (CMC) 时, 分子缔合自组装形成胶束。

发明的有益效果

在本发明中通过选用 HLB 值 (亲水亲油平衡值) 为 12 以上的非离子表面活性剂为乳化剂, 中链脂肪酸酯为油相, 含蛋白质多肽药物的水溶液为水相, 制备出分散性好, 粒径均匀, 乳化性能良好的蛋白质多肽的乳剂。本发明的显著特点, 是解决了蛋白质多肽类乳剂乳化性能的问题, 能显著增加蛋白质或多肽药物的口服生物利用度, 极具应用前景, 并且制备工艺简单, 适于工业化生产, 该产品的剂型, 可以是乳剂、胶束溶液、自乳化给药体系、膏状物质或固体粉末。

附图说明

Fig. 1: 回肠给药后大鼠血糖化时相图。

Fig. 2: PTH1-34 血药浓度。

Fig. 3: PTH1-34 药效试验。对于胫骨近端 BMD、胫骨近端 BMC、胫骨 BMD、胫骨 BMD 四组中的每一组，从左至右的四个柱状图形分别表示口服组、注射组、对照组、假手术组。

具体实施方式

下面将结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述，但是本领域技术人员将会理解，下列实施例仅用于说明本发明，而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体条件者，按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市购获得的常规产品。

实施例 1: 口服胰岛素制剂（样品 1）的制备

其组成如下：

猪胰岛素	0.005 克
5 摩尔氢氧化钠	适量
PBS 缓冲液(北京索莱宝科技有限公司)	1 克
聚乙二醇辛酸 / 癸酸甘油酯 (Sofitgen® 767, SASOL)	2 克
泊洛沙姆 188 (Lutrol F68, BASF)	0.2 克
大豆卵磷脂 (Epikuron 170, Degussa)	0.5 克
二氧化硅 (SYLOID®, GRACE DAVISON)	1 克
交联纤维素钠	0.12 克
硬脂酸镁	0.015 克

甘氨酸

0.3 克

该制剂的制备方法如下:

1) 室温下, 将上述重量的猪胰岛素溶解于 0.2 克 PBS 缓冲液, 加入适量氢氧化钠, 所得溶液搅拌至澄清, 得 A 溶液;

2) 室温下, 将上述重量的大豆卵磷脂溶解于 60ml 的二甲基亚砜, 搅拌至澄清后, 加入步骤 1) 中的 A 溶液, 在 300r/min 条件下搅拌 5min, 随后放置到液氮中 30min, 所得产物经冷冻干燥后, 得到猪胰岛素大豆卵磷脂复合物;

3) 70℃ 下, 将上述重量的甘氨酸、泊洛萨姆 188 溶于剩余 PBS 缓冲液, 与上述重量的聚乙二醇辛酸/癸酸甘油酯, 混合并搅拌至透明清亮;

4) 室温下, 猪胰岛素大豆卵磷脂复合物, 加入到步骤 3) 中的产物中, 在 200r/min 转速下将混合物搅拌 15min;

5) 室温下, 将上述重量的二氧化硅、交联纤维素钠、硬脂酸混合后, 在 200r/min 转速下, 逐滴加入步骤 4) 的产物, 随后提高转速至 300r/min, 并保持 30min; 所得产物经冷冻干燥 (温度 -40℃, 工作真空度 30pa) 后, 最终获得胰岛素口服制剂, 为样品 1。

样品 1 可以做成片剂、胶囊剂等终剂型。

本领域技术人员可以理解, 尽管实施例 1 中的各组分的重量单位是克, 但是也可以理解为重量份, 即各组分之间满足上面的实施例 1 中的重量比例就可以。

实施例 2: 胰岛素口服制剂 (样品 2) 的制备

其组成如下:

重组人胰岛素

0.01 克

1 摩尔盐酸	适量
壳聚糖	0.05 克
生理盐水	0.5 克
中链脂肪酸甘油三酯 (Crodamol GTCC)	1 克
聚乙二醇十二羟基硬脂酸酯 (Solutol HS 15, BASF)	1 克
吐温 80	1.5 克
维生素 E	0.1 克

该制剂的制备方法如下:

1) 室温下, 将重组胰岛素、壳聚糖溶于生理盐水, 加入适量盐酸、搅拌至澄清, 得 A 溶液;

2) 40℃ 下, 将上述重量的中链脂肪酸甘油三酯、聚乙二醇十二羟基硬脂酸酯、吐温 80 和维生素 E, 混合并搅拌至透明清亮;

3) 室温下, 将 A 溶液, 逐滴加入到步骤 2) 的产物中, 在 200r/min 转速下将混合物搅拌至透明清亮, 最终获得胰岛素口服制剂, 为样品 2。

本领域技术人员可以理解, 尽管实施例 2 中的各组分的重量单位是克, 但是也可以理解为重量份, 即各组分之间满足上面的实施例 2 中的重量比例就可以。

实施例 3: 重组人甲状旁腺激素 1-34 口服制剂 (样品 3) 的制备

其组成如下:

PTH 1-34	0.001 克
PBS 缓冲液 (北京索莱宝科技有限公司)	0.5 克
辛酸癸酸甘油酯 (Miglyol ®812,	0.7 克

SASOL)

聚乙二醇十二羟基硬脂酸酯 (Solutol HS 15, BASF)	2 克
生育酚琥珀酸聚乙二醇酯 (TPGS, Eastman)	0.5 克
吐温 20	0.5 克
维生素 E	0.1 克

该制剂的制备方法如下:

1) 室温下, 将上述重量的 PTH1-34 溶于 PBS 缓冲液, 搅拌至澄清, 得 A 溶液;

2) 60℃ 下, 将上述重量的辛酸癸酸甘油酯、聚乙二醇十二羟基硬脂酸酯、生育酚琥珀酸聚乙二醇酯、吐温 20、维生素 E, 混合并搅拌至透明清亮;

3) 室温下, 将 A 溶液, 逐滴加入到步骤 2) 的产物中, 在 100r/min 转速下将混合物搅拌 15min, 最终获得 PTH 1-34 口服制剂, 为样品 3。

本领域技术人员可以理解, 尽管实施例 3 中的各组分的重量单位是克, 但是也可以理解为重量份, 即各组分之间满足上面的实施例 3 中的重量比例就可以。

实施例 4: GLP-1 口服制剂 (样品 4) 的制备

其组成如下

GLP-1	0.1 克
去离子水	60 克
辛酸癸酸甘油酯 (Miglyol ®812, SASOL)	15 克

泊洛沙姆 188 (Lutrol F68, BASF)	1.5 克
大豆卵磷脂 (Epikuron 170, Degussa)	7 克
甘油	10 克
聚乙二醇 400	7 克
维生素 E	0.3 克

该制剂的制备方法如下:

1) 室温下, 将上述重量的 GLP-1 溶于 5 克去离子水, 将上述重量的大豆卵磷脂溶于 30ml 的二氯甲烷中, 两相混合后, 置于液氮 30min, 冷冻干燥, 所得产物为 GLP-1 大豆磷脂复合物;

2) 70℃下, 将上述重量的辛酸癸酸甘油酯、泊洛萨姆 188、5 克去离子水, 混合并搅拌至透明清亮;

3) 室温下, 在 500r/min 转速下, 将 GLP-1 大豆卵磷脂复合物加入步骤 2) 的产物中, 继续搅拌 5min, 得初乳 B;

4) 室温下, 将上述重量的甘油、聚乙二醇、维生素 E, 和剩余的 50 克水混合, 在 500r/min 转速下, 逐滴加入初乳 B, 继续搅拌 5min 后, 经高压均质机(意大利 Niro Soavi)处理(450bar, 循环 5 次), 最终获得的透明清亮的胶束溶液, 即为 GLP-1 口服制剂, 为样品 4。

本领域技术人员可以理解, 尽管实施例 4 中的各组分的重量单位是克, 但是也可以理解为重量份, 即各组分之间满足上面的实施例 4 中的重量比例就可以。

实施例 5: 样品 2、3、4 的稳定性研究

口服制剂样品 2、3、4 的稳定性, 通过肉眼观察制剂是否出现絮状物质或产生“油—水”界面而判定。

样品 1、2 中胰岛素的稳定性, 采用高效液相色谱进行研究,

所用色谱仪为 Agilent 1200。

色谱洗脱条件:

流动相为线性梯度洗脱, 其中流动相 A 为乙腈, 流动相 B 为 0.05 mol/L 磷酸二氢钠 (pH3.0): 0-10min 流动相 A 从 20% 升至 50%, 流动相 B 从 80% 变至 50%; 11-15min 流动相 A 从 50% 变至 80%, 流动相 B 从 50% 变至 20%; 21-25min 流动相 A 从 80% 变至 20%, 流动相 B 从 20% 变至 80%。流速 1.0mL/min, 检测波长为 214nm, 柱温 40℃。

在 6 个月的考察期内, 放置于 4℃ 的样品 2 制剂、样品 3 制剂、样品 4 制剂没有产生肉眼可见的絮状物质, 也没有产生“油—水”界面。

另外对照高效液相色谱图, 我们发现样品 1、2 在不同时间(0、3m、6m) 其药效成分胰岛素的保留时间、峰面积, 均没有发生显著变化, 这就表明, 在 4℃ 条件下, 所得样品至少能保持 6 个月的稳定性。

实施例 6: 样品 1-4 的药物成分的含量变化试验

所得制剂至于 4℃ 冰箱, 并在放置后的 0 天、第三个月、第六个月测定药物含量。采用 HPLC 法进行药物活性成分含量的测定, 结果如表 1 所示。

表 1: 样品 1-4 药物成分含量的变化

样品	含量 (%)		
	0 天	三个月	六个月
样品 1	100.4	99.2	101.1
样品 2	99.6	97.6	96.2
样品 3	102.8	104.4	103.2

样品 4	95.0	93.8	94.6
------	------	------	------

实施例 7: 乳剂稀释液粒径及外观研究

实施例 2、实施例 3 制备的样品 2、3, 放置 4℃ 冰箱, 并于 0 天、第三个月、第六个月测定乳剂粒径及外观清亮情况。用 Malvern Zetasizer 3000HSA 粒度分析仪检测的粒径, 测定前, 样品 2、3 用 Millipore 超纯水分别稀释 5、30、100 倍, 并肉眼测定各稀释液外观是否清亮。结果如下面的表 2 所示。

表 2: 乳剂稀释液粒径及外观的结果

样品	0 天			三个月			六个月		
	不同稀释倍数粒径 (nm) / 外观			不同稀释倍数粒径 (nm) / 外观			不同稀释倍数粒径 (nm) / 外观		
	5 倍	30 倍	100 倍	5 倍	30 倍	100 倍	5 倍	30 倍	100 倍
样品 2	157/ 清亮、 微蓝、 无分 层	164/ 清亮、 微蓝、 无分 层	153/ 清亮、 微蓝、 无分 层	149/ 清亮、 微蓝、 无分 层	169/ 清亮、 微蓝、 无分 层	146/ 清亮、 微蓝、 无分 层	167/ 清亮、 微蓝、 无分 层	153/ 清亮、 微蓝、 无分 层	155/ 清亮、 微蓝、 无分 层
样品 3	261/ 透明、 无色、 无分 层	273/ 透明、 无色、 无分 层	266/ 透明、 无色、 无分 层	278/ 透明、 无色、 无分 层	263/ 透明、 无色、 无分 层	282/ 透明、 无色、 无分 层	247/ 透明、 无色、 无分 层	270/ 透明、 无色、 无分 层	266/ 透明、 无色、 无分 层

实施例 8: 胰岛素口服制剂药效研究

试验组 1: 体重为 180-220 克范围的雄性 SD 大鼠, 6 只, 给药为实施例 1 制备的样品 1。

试验组 2: 体重为 180-220 克范围的雄性 SD 大鼠, 6 只, 给药为实施例 2 制备的样品 2。

对照组: 体重为 180-220 克范围的雄性 SD 大鼠, 6 只, 给药

为胰岛素水溶液，皮下注射。

试验方法：

将体重为 180-220 克范围的雄性 SD 大鼠禁食 12h 后开始试验；实验前用剂量为 50mg 的戊巴比妥钠对动物进行麻醉。待动物麻醉后，按仰位方式将其捆绑，并在腹部切一小口，用给药器对回肠给药。给药后，缝合切口，并在 0.5、1、2、3、4h 时刻点，由尾静脉取血，使用罗氏血糖测定仪测定血糖并计算每组内 6 只大鼠的平均血糖值。其中试验组 1 中给药为样品 1，按胰岛素计，给药剂量为 0.3mg/kg；试验组 2 中给药为样品 2，按胰岛素计，给药剂量为 1mg/kg；对照组为皮下注射对照药物，给药剂量按胰岛素计为 0.02mg/kg。给药后，大鼠血糖变化如图 1 所示。图 1 显示样品 1 和样品 2 均能够有效地降低大鼠的血糖。其中样品 1 与对照组在给药后 1 小时，血糖浓度均降至最低值。

实施例 9：PTH1-34 口服制剂的灌胃吸收试验

试验组：体重为 180-220 克范围的雄性 SD 大鼠，12 只，给药为实施例 3 制备的样品 3，胃部给药。

对照组：体重为 180-220 克范围的雄性 SD 大鼠，10 只，给药为 PTH1-34 PBS 溶液，皮下注射。

试验方法：

所有大鼠在禁食 12h 后开始试验。试验组采用胃部给药方式，对照组选用 PTH1-34 注射液。胃部给药：采用给药器，以 PTH1-34 计，按 50 μ g/kg 剂量对大鼠胃部灌注 PTH1-34 口服制剂；注射给药：以 PTH1-34 计，按 10 μ g/kg 剂量，皮下注射 PTH1-34 注射液。

给药后 15、30、45、60、75、90、105min 时刻点，由尾静脉取血，分离出血清备测。血清中 PTH 1-34 浓度用 PTH 1-34 高灵

敏度 EIA 试剂盒 (美国 Alpc Diagnostic, 货号 31-IPTHUU-E01) 检测, 该试剂盒仅与外源 PTH1-34 特异性反应, 而不与大鼠本身 PTH 反应, 因而所能检测到的 PTH1-34, 即为给药后进入大鼠血液中的 PTH1-34。灌胃组动物为 12 只, 注射组动物为 10 只。给药后, PTH1-34 血药浓度变化如图 2 所示。图 2 显示, 灌胃给药后, PTH1-34 能够迅速进入大鼠体内, 两者血药浓度达峰时间极其相近 (试验组血药浓度达峰时间为 18.3 ± 1.2 分钟, 对照组达峰时间为 17.4 ± 0.9 分钟) 按血药浓度计, 灌胃给药组相对于注射组的生物利用度为 6.73%。

实施例 10: PTH1-34 口服制剂的药效试验

通过建立去势雌鼠模型, 研究口服 PTH1-34 制剂对动物骨密度、骨矿含量的影响。

口服组: 选取 2 月龄的雌性大鼠 6 只, 切除雌鼠双侧卵巢, 给药为实施例 3 制备的样品 3, 口服灌胃方式给药。

注射组: 选取 2 月龄的雌性大鼠 6 只, 切除雌鼠双侧卵巢, 给药为实施例 3 制备的样品 3, PTH1-34 PBS 注射液, 皮下注射。

对照组: 选取 2 月龄的雌性大鼠 6 只, 切除雌鼠双侧卵巢, 给药为实施例 3 制备的样品 3, 不给药。

假手术组: 选取 2 月龄的雌性大鼠 5 只, 保留卵巢, 切除卵巢附近同等大小的脂肪, 不给药。

试验方法:

选取 2 月龄的雌性大鼠, 随机分为去势组 (去势动物, 通过手术切除大鼠双侧卵巢, 包括口服组、注射组、对照组) 与假手术组, 饲养 6 周, 随后口服组和注射组连续给药 8 周, 每周给药 6 天, 每天一次, 给药前对大鼠禁食 10 小时。其中口服组剂量

100 μ g/kg (n=6), 注射组给药剂量 10 μ g/kg (n=6), 对照组 (n=6)、假手术组 (n=5) 不给药。然后测定左侧胫骨的骨密度 (BMD)、骨矿含量 (BMC) (双能 X 射线吸收法检测, dual X-ray absorptimetry), *P<0.01, **P<0.05。结果如图 3 所示。

由图 3 可知, 与对照组相比, 经过治疗, 骨质疏松模型大鼠的胫骨及胫骨近端 BMD (单位 g/cm²)、BMC (单位 g) 均有显著增加, 这就表明, PTH1-34 注射液及 PTH1-34 口服制剂, 均能促进骨骼生成, 对骨质疏松有着显著的疗效。

尽管本发明的具体实施方式已经得到详细的描述, 本领域技术人员将会理解。根据已经公开的所有教导, 可以对那些细节进行各种修改和替换, 这些改变均在本发明的保护范围之内。本发明的全部范围由所附权利要求及其任何等同物给出。

权利要求

1. 一种乳剂，包含蛋白质或多肽、水相、油相、乳化剂，其特征在于，所述油相含有中链脂肪酸酯，并且所述乳化剂包括 HLB 值大于 12 的乳化剂。
2. 根据权利要求 1 所述的乳剂，其中，所述蛋白质或多肽为降钙素、胰岛素、GLP-1、甲状旁腺激素、甲状旁腺激素 1-84、甲状旁腺激素 1-34、或生长激素。
3. 根据权利要求 1 所述的乳剂，其中，所述中链脂肪酸酯为中链脂肪酸甘油酯、聚乙二醇化的中链脂肪酸甘油酯、乙酰化中链脂肪酸甘油酯、中链脂肪酸丙二醇酯、中链脂肪酸丁二醇酯、中链脂肪酸聚乙二醇酯；具体地，为碳原子数 6-12 的脂肪酸的甘油一酯、甘油二酯、和/或甘油三酯；更具体地，为选自辛酸癸酸甘油酯、聚乙二醇辛酸/癸酸甘油酯、辛酸甘油酯、癸酸甘油酯中的一种或多种。
4. 根据权利要求 1 所述的乳剂，其中，所述 HLB 值大于 12 的乳化剂为选自泊洛沙姆 188、泊洛沙姆 407、吐温 20、吐温 80、聚乙二醇十二羟基硬脂酸酯、聚氧乙烯醚(35)蓖麻油、聚氧乙烯醚(40)氢化蓖麻油、生育酚琥珀酸聚乙二醇酯、聚乙二醇-32-月桂酸甘油酯、聚乙二醇-32-硬脂酸甘油酯中的一种或多种。
5. 根据权利要求 1 所述的乳剂，其中，所述蛋白质或多肽为 0.01-1 重量份，所述中链脂肪酸酯为 50-1000 重量份，所述 HLB 值大于 12 的乳化剂为 20-2000 重量份；具体地，所述蛋白质或多肽为 0.01-0.5 重量份，所述中链脂肪酸酯为 100-500 重量份，所述 HLB 值大于 12 的乳化剂为 50-1000 重量份；更具体地，所述蛋白质或多肽为 0.01-0.3 重量份，所述中链脂肪酸酯为 100

- 300 重量份, 所述 HLB 值大于 12 的乳化剂为 50 - 500 重量份。

6. 根据权利要求 1 所述的乳剂, 其中, 所述乳化剂还含有磷脂。

7. 根据权利要求 6 所述的乳剂, 其中, 磷脂与蛋白质或者多肽的摩尔比为 10: 1 至 1000: 1, 优选为 20: 1 至 500: 1, 更优选为 60: 1 至 200: 1。

8. 根据权利要求 6 所述的乳剂, 其中, 所述磷脂为大豆卵磷脂和/或蛋黄卵磷脂。

9. 根据权利要求 1 至 8 中任一项所述的乳剂, 其还包含药学上可接受的辅料, 例如分散介质、等渗剂、抗氧化剂、冻干保护剂、或 pH 调节剂。

10. 根据权利要求 2 所述的乳剂, 其各组分及含量如下面的 (1) - (6) 组中的任一组所示:

(1)

重组人胰岛素	0.008 - 0.012 重量份
盐酸	适量
壳聚糖	0.04 - 0.06 重量份
生理盐水	0.4 - 0.6 重量份
中链脂肪酸甘油三酯	0.8 - 1.2 重量份
聚乙二醇十二羟基硬脂酸酯	0.8 - 1.2 重量份
吐温 80	1.2 - 1.8 重量份
维生素 E	0.08 - 0.12 重量份;

(2)

重组人胰岛素	0.01 重量份
盐酸	适量
壳聚糖	0.05 重量份

生理盐水	0.5 重量份
中链脂肪酸甘油三酯	1 重量份
聚乙二醇十二羟基硬脂酸酯	1 重量份
吐温 80	1.5 重量份
维生素 E	0.1 重量份;
(3)	
猪胰岛素	0.004 - 0.006 重量份
氢氧化钠	适量
PBS 缓冲液	0.8 - 1.2 重量份
聚乙二醇辛酸/癸酸甘油酯	1.8 - 2.2 重量份
泊洛沙姆 188	0.15 - 0.25 重量份
大豆卵磷脂	0.4 - 0.6 重量份
二氧化硅	0.8 - 1.2 重量份
交联纤维素钠	0.1 - 0.14 重量份
硬脂酸镁	0.013 - 0.017 重量份
甘氨酸	0.25 - 0.35 重量份;
(4)	
猪胰岛素	0.005 重量份
氢氧化钠	适量
PBS 缓冲液	1 重量份
聚乙二醇辛酸/癸酸甘油酯	2 重量份
泊洛沙姆 188	0.2 重量份
大豆卵磷脂	0.5 重量份
二氧化硅	1 重量份

交联纤维素钠	0.12 重量份
硬脂酸镁	0.015 重量份
甘氨酸	0.3 重量份;
(5)	
GLP-1	0.08 - 0.12 重量份
去离子水	55 - 65 重量份
辛酸癸酸甘油酯	12 - 18 重量份
泊洛沙姆 188	1.3 - 1.7 重量份
大豆卵磷脂	6 - 8 重量份
甘油	8 - 12 重量份
聚乙二醇 400	6 - 8 重量份
维生素 E	0.25 - 0.35 重量份;

(6)

GLP-1	0.1 重量份
去离子水	60 重量份
辛酸癸酸甘油酯	15 重量份
泊洛沙姆 188	1.5 重量份
大豆卵磷脂	7 重量份
甘油	10 重量份
聚乙二醇 400	7 重量份
维生素 E	0.3 重量份。

11. 根据权利要求 2 所述的乳剂, 其各组分及含量如下:

PTH 1-34	0.0008-0.0012 重量份
PBS 缓冲液	0.4 - 0.6 重量份
辛酸癸酸甘油酯	0.6 - 0.8 重量份

聚乙二醇十二羟基硬脂酸酯	1.8 - 2.2 重量份
生育酚琥珀酸聚乙二醇酯	0.4 - 0.6 重量份
吐温 20	0.4 - 0.6 重量份
维生素 E	0.08 - 0.12 重量份;

具体地, 所述乳剂的组分及含量如下:

PTH 1-34	0.001 重量份
PBS 缓冲液	0.5 重量份
辛酸癸酸甘油酯	0.7 重量份
聚乙二醇十二羟基硬脂酸酯	2 重量份
生育酚琥珀酸聚乙二醇酯	0.5 重量份
吐温 20	0.5 重量份
维生素 E	0.1 重量份。

12. 根据权利要求 1 至 11 中任一项所述的乳剂, 其为微乳剂或冻干乳剂。

13. 权利要求 1-12 项任一项所述的乳剂的制备方法, 包括下述步骤:

1) 如下的步骤 A 或 B:

A. 在 4-25℃ 条件下, 将蛋白质或多肽分子溶于水相;

B. 制备蛋白质或多肽的磷脂复合物;

2) 在 20-70℃ 条件下, 将中链脂肪酸酯、HLB 值大于 12 的乳化剂相混合, 并在 200-800rpm 搅拌条件下持续搅拌, 直至整个体系呈透明清亮状;

3) 在 4-37℃ 条件下, 将步骤 1) 产物加入到步骤 2) 产物中, 并在 200-800rpm 条件下继续搅拌, 直至形成透明清亮的均匀制剂, 最终获得含蛋白质或多肽药物的乳剂。

14. 权利要求 10 所述的乳剂在制备治疗或预防糖尿病、或者

降低血糖的药物中的用途。

15. 权利要求 11 所述的乳剂在制备治疗或预防骨质疏松的药物中的用途。

16. 一种治疗或预防糖尿病、或者降低血糖的方法，包括给予有效量的权利要求 10 所述的乳剂的步骤。

17. 一种治疗或预防骨质疏松的方法，包括给予有效量的权利要求 11 所述的乳剂的步骤。

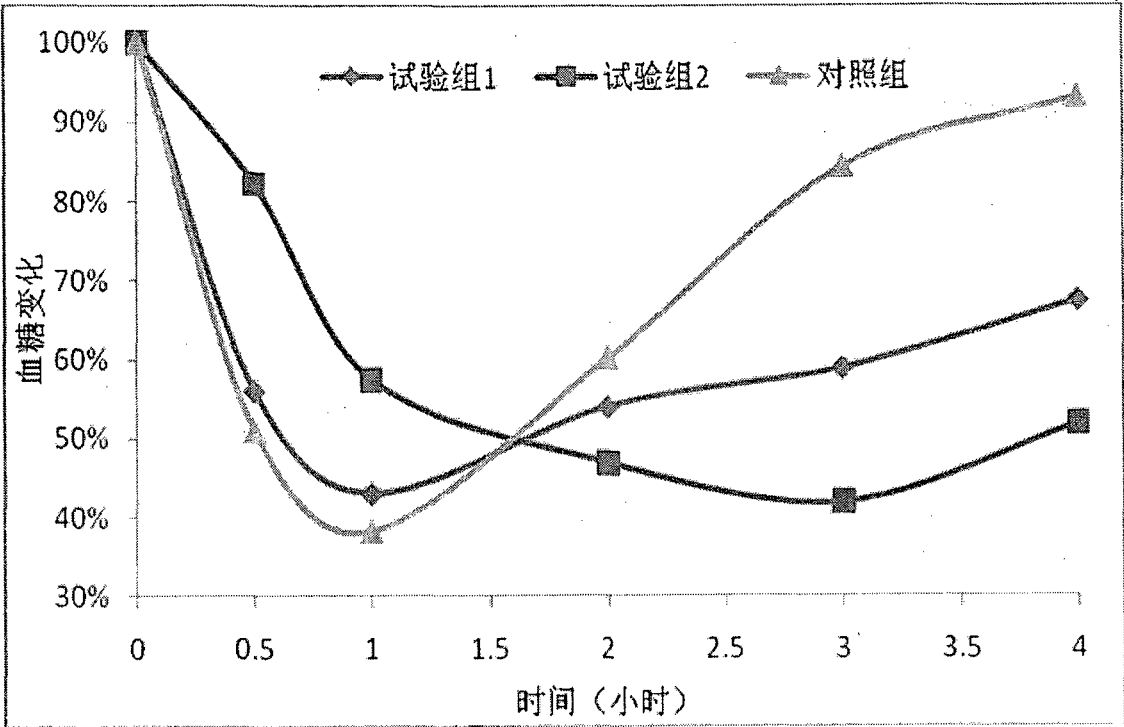


Fig. 1

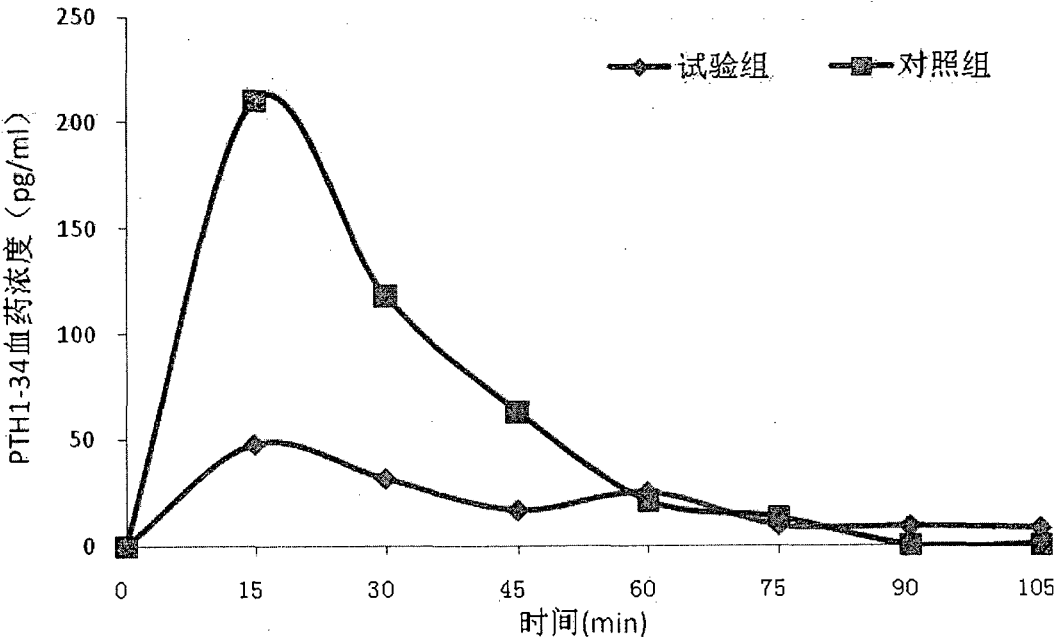


Fig. 2

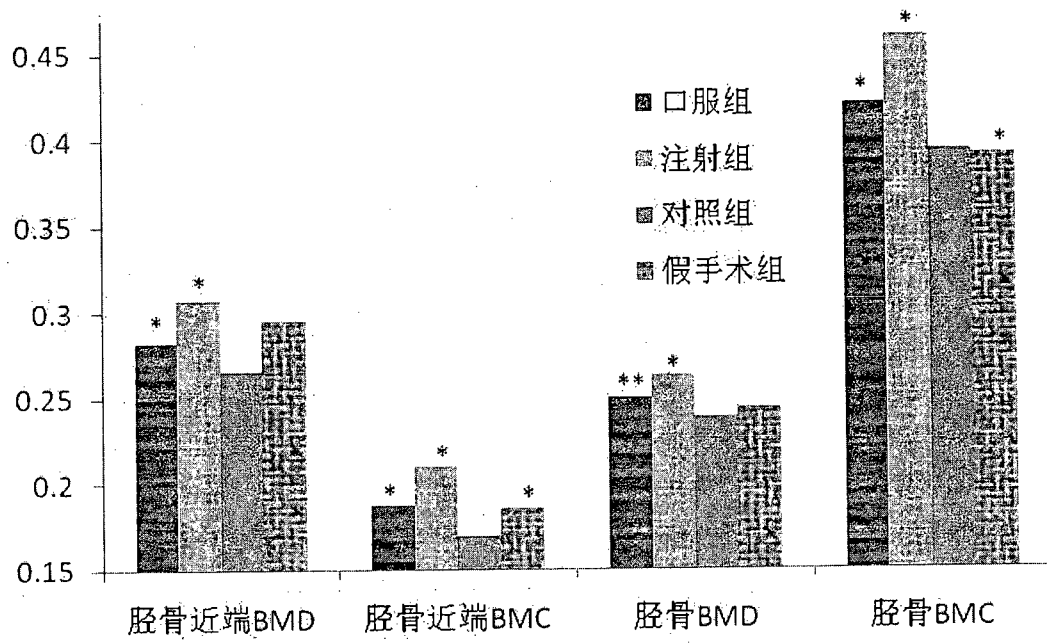


Fig. 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2011/000815

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, CNKI, DWPI, SIPOABS, CA, MEDLINE, EMBASE: emulsion, protein, polypeptide, Insulin, Calcitonin, PTH, parathormone, GLP, medium-chain aliphatic ester, Caprylic, capric triglyceride, Poloxamer, tween, Polysorbate, Ethoxylated hydrogenated castor oil

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN1456351A (SHANGHAI INST PHARM IND), 19 Nov. 2003 (19.11.2003), see examples 1, 4	1-4, 9, 12-13
A		5-8, 10-11, 14-15
X	CN101422431A (SHANGHAI INST PHARM IND), 6 May 2009 (06.05.2009), see examples 3, 6 7, 9, 10	1-4, 6, 8-9, 12-13
A		5, 7, 10-11, 14-15

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“L” document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“&” document member of the same patent family
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 18 Nov. 2011 (18.11.2011)	Date of mailing of the international search report 08 Dec. 2011 (08.12.2011)
Name and mailing address of the ISA/CN The State Intellectual Property Office, the P.R.China 6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China 100088 Facsimile No. 86-10-62019451	Authorized officer LIU, Qiming Telephone No. (86-10)62412173

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2011/000815

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
the subject-matter of claims 16 and 17 is directed to a method of therapeutical treatment, which is not required to carry out international search (Rule 39.1 (iv) PCT).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2011/000815

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN1456351A	19.11.2003	None	
CN101422431A	06.05.2009	WO2009094846A1	06.08.2009
		EP2243490A1	27.10.2010
		US2010292141A1	18.11.2010
		CN101422431B	23.03.2011

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2011/000815

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 9/107 (2006.01) i
A61K 38/28 (2006.01) i
A61K 38/27 (2006.01) i
A61K 38/23 (2006.01) i
A61K 38/29 (2006.01) i
A61K 47/14 (2006.01) i
A61P 3/10 (2006.01) i
A61P 19/10 (2006.01) i

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2011/000815

A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: A61K, A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS, CNKI: 乳剂, 蛋白质, 多肽, 胰岛素, 降钙素, 甲状旁腺激素, GLP-1, 中链脂肪酸酯, 辛酸癸酸甘油酯, 乳化剂, 泊洛沙姆, 吐温, 聚山梨醇酯, 聚氧乙烯醚氢化蓖麻油, 壳聚糖, 卵磷脂

DWPI, SIPOABS, CA, MEDLINE, EMBASE: emulsion, protein, polypeptide, Insulin, Calcitonin, PTH, parathormone, GLP, medium-chain aliphatic ester, Caprylic, capric triglyceride, Poloxamer, Tween, Polysorbate, Ethoxylated hydrogenated castor oil

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN1456351A (上海医药工业研究院), 19.11 月 2003 (19.11.2003), 参见实施例 1, 4	1—4, 9, 12—13
A		5—8, 10—11, 14—15
X	CN101422431A (上海医药工业研究院), 6.5 月 2009 (06.05.2009), 参见实施例 3, 6, 7, 9, 10	1—4, 6, 8—9, 12—13
A		5, 7, 10—11, 14—15

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期
18.11 月 2011 (18.11.2011)

国际检索报告邮寄日期
08.12 月 2011 (08.12.2011)

ISA/CN 的名称和邮寄地址:
中华人民共和国国家知识产权局
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088
传真号: (86-10)62019451

受权官员

刘启明
电话号码: (86-10) 62412173

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. ☒ 权利要求：

因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：

权利要求16和17涉及疾病的治疗方法（专利合作条约第17条(2)(a)(i)和细则第39条(iv)）。

2. ☐ 权利要求：

因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：

3. ☐ 权利要求：

因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明，即：

1. ☐ 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费，本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。

2. ☐ 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索，本单位未通知缴纳任何附加费。

3. ☐ 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费，本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求。具体地说，是权利要求：

4. ☐ 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此，本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明；包含该发明的权利要求是：

关于异议的说明：☐ 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，适用时，缴纳了异议费。

☐ 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。

☐ 缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2011/000815

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN1456351A	19.11.2003	无	
CN101422431A	06.05.2009	WO2009094846A1	06.08.2009
		EP2243490A1	27.10.2010
		US2010292141A1	18.11.2010
		CN101422431B	23.03.2011

主题的分类

A61K 9/107 (2006.01) i

A61K 38/28 (2006.01) i

A61K 38/27 (2006.01) i

A61K 38/23 (2006.01) i

A61K 38/29 (2006.01) i

A61K 47/14 (2006.01) i

A61P 3/10 (2006.01) i

A61P 19/10 (2006.01) i