



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113015520 A

(43) 申请公布日 2021.06.22

(21) 申请号 201980061938.5

(22) 申请日 2019.10.15

(30) 优先权数据

62/746,810 2018.10.17 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.03.22

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/056186 2019.10.15

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2020/081485 EN 2020.04.23

(71) 申请人 台湾微脂体股份有限公司

地址 中国台湾台北

申请人 TLC生物医药公司

(72) 发明人 洪基隆 沃尔特·高特尼 方元成

高颢文 林宜谕

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
11105

代理人 秦剑

(51) Int.Cl.

A61K 9/127 (2006.01)

A61K 31/137 (2006.01)

A61K 47/24 (2006.01)

A61K 47/28 (2006.01)

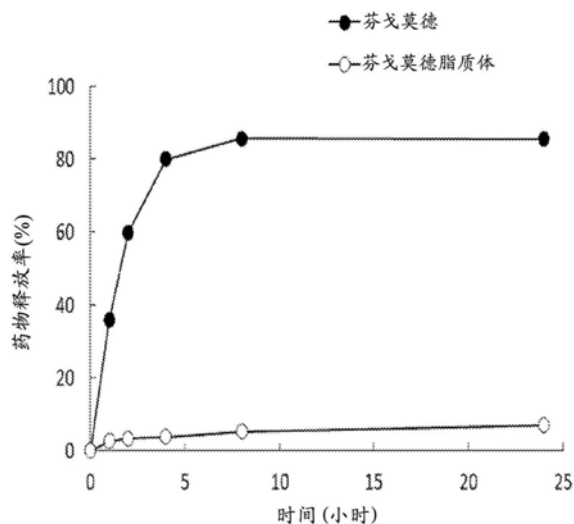
权利要求书2页 说明书10页 附图2页

(54) 发明名称

含有免疫调节剂的缓释药物组合物及其用途

(57) 摘要

本发明关于一种具有高药物脂质比及高包埋效率的药物组合物,所述药物组合物包含至少一脂质体及用于治疗自体免疫疾病的治疗剂。所述药物组合物改善药物动力学图谱及维持治疗剂的释放。本发明亦提供使用本文所揭露的药物组合物用于治疗自体免疫疾病的方法。



1. 一种药物组合物,其包含:
 - (a) 至少一脂质体,其包含双层膜,其中该双层膜包含至少一脂质;
 - (b) 捕获剂;以及
 - (c) 免疫调节剂,其中该免疫调节剂对该脂质的摩尔比值大于大约0.2。
2. 如权利要求1所述的药物组合物,其中该脂质体的平均粒径系从大约50nm至20 μ m。
3. 如权利要求1所述的药物组合物,其中该双层膜进一步包含胆固醇。
4. 如权利要求3所述的药物组合物,其中在该双层膜中,该胆固醇的摩尔百分比为大约20%至大约55%。
5. 如权利要求1所述的药物组合物,其中该脂质为第一脂质以及第二脂质的混合物。
6. 如权利要求5所述的药物组合物,其中该第一脂质系选自基本上由PC、HSPC、DSPC、DPPC、DMPC、PSPC及其组合所组成的群组,且该第二脂质系选自基本上由磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine)、磷脂酰甘油(phosphatidylglycerol)、PEG-DSPE、DPPG及其组合所组成的群组。
7. 如权利要求5所述的药物组合物,其中在该双层膜中,该第一脂质的摩尔百分比为大约40-79.9%,且在该双层膜中,该第二脂质的摩尔百分比为大约0.1-10%。
8. 如权利要求1所述的药物组合物,其中该捕获剂系选自由蔗糖八硫酸酯三乙铵(triethylammonium sucrose octasulfate)、硫酸铵(ammonium sulfate)、磷酸铵(ammonium phosphate)、硫酸葡聚糖(dextran sulfate)及其组合物所组成的群组。
9. 如权利要求8所述的药物组合物,其中蔗糖八硫酸酯三乙铵的浓度为大约为10至200mM。
10. 如权利要求8所述的药物组合物,其中硫酸铵的浓度为大约100至600mM。
11. 如权利要求8所述的药物组合物,其中磷酸铵的浓度为大约100至600mM。
12. 如权利要求8所述的药物组合物,其中硫酸葡聚糖的浓度为大约0.1至20mM。
13. 如权利要求1所述的药物组合物,其中该免疫调节剂为1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)受体激动剂。
14. 如权利要求13所述的药物组合物,其中该1-磷酸鞘氨醇(S1P)受体激动剂系选自基本上由依特拉西莫德(etrasimod)、芬戈莫德(fingolimod)、拉喹莫德(laquinimod)、奥扎莫德(ozanimod)、珀奈莫德(ponesimod)、西普尼莫德(siponimod)及其组合物所组成的群组。
15. 如权利要求1所述的药物组合物,其中该免疫调节剂是包埋在该脂质体中,其包埋效率大于50%。
16. 一种用于治疗自体免疫疾病的方法,其包含:

对所需的个体施予药物组合物,该药物组合物包含:

 - (a) 至少一脂质体,其包含双层膜,其中该双层膜包含至少一脂质;
 - (b) 捕获剂;以及
 - (c) 免疫调节剂,其中该免疫调节剂对该脂质的摩尔比值大于大约0.2。
17. 如权利要求16所述的方法,其中相较于用于治疗自体免疫疾病的游离治疗剂,该免

疫调节剂的半衰期延长至少两倍。

18. 如权利要求16所述的方法,其中该药物组合物至少每周一次、每两周一次或每月一次给药。

19. 如权利要求16所述的方法,其中该药物组合物通过皮肤注射来给药。

20. 如权利要求19所述的方法,其中该皮肤注射包含皮内 (intracutaneous)、皮下 (subcutaneous)、表皮下 (subdermal)、皮内 (intradermal) 或肌内 (intramuscular) 途径。

含有免疫调节剂的缓释药物组合物及其用途

[0001] 本申请案主张2018年10月17日提交的美国专利申请号62/746,810的效益,其全部内容通过引用并入本文。

技术领域

[0002] 本发明是针对一种包含免疫调节剂并使用至少一捕获剂的具有高药物脂质比(drug to lipid ratio)及高包埋效率(encapsulation efficiency)的缓释药物组合物。此药物组合物的高药物脂质比、高包埋效率及药物组合物持续的释放图谱(release profile)减少施予的频率、增加患者遵从性(patient compliance)并改善治疗效果(therapeutic outcome)。

背景技术

[0003] 1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)受体激动剂,例如芬戈莫德(fingolimod),已被核准用于治疗自体免疫疾病,例如多发性硬化症(multiple sclerosis),包含多发性硬化症的复发性形式(relapsing forms of multiple sclerosis, RMS), S1P受体激动剂经口服投予,而其最主要的顾虑为S1P受体的促效作用可能导致心搏徐缓(bradycardia)。考虑到这种潜在的致命心脏事件,接受芬戈莫德第一剂的病患,在给药后至少6小时内需要受健康管理专业人员的监控(需事审(GILENYA)[®](芬戈莫德)包装说明书)。因而开发使心脏副作用最小化、增进药物耐受性和减轻剂量调整的需求的剂型是有所助益的。此外,延长释放的配方以减少S1P受体激动剂的剂量或给药频率也将有利。

[0004] 脂质体已被广泛地用于各种药物的缓释配方的开发。药物装载至脂质体中可经被动地(passively)(在脂质体形成的期间包埋药物)或远端地(remotely)/主动地(actively)(在脂质体形成的期间制造跨膜(transmembrane) pH-或离子梯度,而后药物在脂质体形成后通过因梯度产生的驱动力装载)达成(美国专利号5,192,549及5,939,096)。尽管文献中详细记载药物装载至脂质体的一般方法,仅有极少数的治疗剂得以高药物脂质比或高包埋效率的装载至脂质体中。各种因子能够影响脂质体的包埋效率,其包含但不限于治疗剂的物理及化学特性,例如亲水性/疏水性特征、解离常数、溶解度及分配系数,脂质组成、捕获剂或反应溶剂的选择及粒径(Proc Natl Acad Sci U S A.2014;111(6):2283-2288以及Drug Metab Dispos.2015;43(8):1236-45)。

[0005] Mao等人使用被动装载法及溶剂注射方法揭示包含蛋卵磷脂、胆固醇以及DSPE-PEG2000(Nanomed.2014;10(2):393-400)的脂质体芬戈莫德配方。此脂质体的直径为157.5nm,具85.2%的包埋效率,且最终药物脂质比(D/L)为0.11。然而,被动装载限制了可包埋进脂质体的药量。

[0006] 对于具有高药物脂质比及高药物包埋效率以降低免疫调节剂的给药频率并改善治疗效果的缓释配方仍存在未被满足的需求。本发明解决此需求以及其他需求。

发明内容

[0007] 在一实施例中,提供一缓释药物组合物,包含(a)至少一脂质体,其包含双层膜;(b)捕获剂;以及(c)免疫调节剂,其中该双层膜包含至少一脂质,且该免疫调节剂对该脂质的摩尔比值大于或等于大约0.2。

[0008] 根据本发明的另一实施例,提供用以治疗自体免疫疾病的方法,所述方法包含对所需的个体施予本文所描述的药物组合物的步骤。

[0009] 亦提供本文所描述的药物组合物在制造用于治疗自体免疫疾病的药物的用途。

[0010] 进一步提供于个体中用于治疗自体免疫疾病的药物,其包含本文所描述的药物组合物的治疗有效剂量。

[0011] 在本专利中所使用的用语“发明(invention)”、“该发明(the invention)”、“此发明(this invention)”以及“本发明(the present invention)”意于广泛指的是本专利及下列的权利要求的所有申请标的。包含这些用语的叙述应理解为不限制本文所描述的申请标的、或不限制下列权利要求的含义或范畴。通过本专利涵盖的本发明的实施例系通过下列权利要求定义,而非此发明内容。此发明内容为本发明各种态样的高层次概述(high-level overview),并引导进一步描述于下列实施方式的段落中的部分概念。此发明内容不意于定义所请申请标的的关键或必要特征,亦非意于用在单独使用而定义所请申请标的的范畴。申请标的应通过参考说明书全文、任何或所有图式及各权利要求合适的部分而理解。

[0012] 可通过参照说明书的其余部分及图式进一步理解本发明的本质及优点。

[0013] 附图简述

[0014] 第1图显示实例1的芬戈莫德脂质体及游离芬戈莫德的体外释放曲线的折线图。

[0015] 第2图显示于大鼠经静脉内注射游离芬戈莫德或芬戈莫德脂质体配方及皮下注射芬戈莫德脂质体配方后的血浆芬戈莫德浓度折线图。

[0016] 实施方式

[0017] 除非本文中另行明确地表示,否则如上及本揭露全文所采用的下列用语,“一(a)”、“一(an)”以及“该(the)”等单数型式包含复数型式。

[0018] 本文的所有数字可被理解成通过“大约(about)”修饰。如本文所用,用语“大约(about)”指的是特定值 $\pm 10\%$ 的范围。

[0019] 如本文所用,用语“有效剂量(effective amount)”指的是引起免疫调节作用(例如减轻自体免疫疾病的症状及/或病征)的药物组合物的剂量。用语“有效剂量(effective amount)”及“治疗有效剂量(therapeutically effective amount)”可互换使用。

[0020] 用语“免疫调节剂”以及“用以治疗自体免疫疾病的一治疗剂”可互换使用,且均指可引起免疫调节作用以减轻自体免疫疾病的症状及/或病征的治疗剂。

[0021] 如本文所用,用语“治疗(treating)”、“治疗(treated)”或“治疗(treatment)”包含预防(preventative)(例如,预防(prophylactic))、舒缓(palliative)及治疗方法(curative methods)、用途或结果。用语“治疗(treatment)”或“治疗(treatments)”亦可指的是组合物或药物。本申请案全文中,治疗(by treating)意指如通过所属领域已知技术侦测的减轻或延缓一种或多种自体免疫疾病的症状或病征、或完全改善(amelioration)自体免疫疾病的方法。所属领域已知技术可用于评估自体免疫疾病及其症状,其包含但不限于:红血球沉淀率、C反应蛋白浓度、抗环瓜胺酸肽抗体(anti-cyclic citrullinated peptide

antibody)、抗核抗体以及X光。因此,可以为减少大约1、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100%,或是任何在其之间减少的数值。

[0022] 本文所用的“自体免疫疾病(auto-immune disease)”是一群包含但不限于桥本氏甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis)、全身性及皮肤形式的红斑狼疮(systemic and cutaneous forms of lupus erythematosus)、溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)以及多发性硬化症(multiple sclerosis)的疾病,其个体的免疫系统将自身识别为外来物,并通过对人体自身组织成分的体液或细胞免疫反应而导致功能丧失或破坏正常组织。在一个实施例中,自体免疫疾病是系统性的,像是全身性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus)。在另一实施例中,自体免疫疾病是局部或特定器官的,例如甲状腺炎(thyroiditis)。

[0023] 如本文所用,用语“个体(subject)”可指患有或怀疑患有自体免疫疾病的脊椎动物。个体包含所有恒温动物,如哺乳动物、如灵长类动物且更佳为人类。非人类灵长类动物亦为个体。用语个体包含如猫、狗等的驯养动物、家畜(例如,牛、马、猪、羊、山羊等)及实验动物(例如,小鼠、兔、大鼠、沙鼠(gerbil)、豚鼠(guinea pig)等)。因此,本文涵盖兽医用途及医药剂型。

[0024] 脂质体

[0025] 如本文所用,用语“脂质体(liposome)”、“脂质体(liposomal)”及相关用语的特征为通过一或多层双层膜形成的囊泡,将内部水性空间(interior aqueous space)与外部介质(outer medium)隔离。在某些实施例中,脂质体的内部水性空间实质上不含中性脂质,如甘油三酯(triglyceride)、非水(non-aqueous)相(油相)、水-油乳液或其它含有非水相的混合物。脂质体的非限制性实例包含小单层囊泡(small unilamellar vesicles,SUV)、大单层囊泡(large unilamellar vesicles,LUV)及多层囊泡(multilamellar vesicle,MLV),其具有平均直径范围从50nm-20 μ m、50-450nm、50-400nm、50-350nm、50-300nm、50-250nm、50-200nm、100-500nm、100-450nm、100-400nm、100-350nm、100-300nm、100-250nm或100-200nm。

[0026] 脂质体的双层膜通常通过至少一脂质形成,即,包含空间上分离的疏水域及亲水域的合成或天然的两性分子(amphiphilic molecules)。脂质的实例包含但不限于,如磷脂(phospholipids)、甘油二酯(diglycerides)、二脂肪基糖脂(dialiphatic glycolipids)的双脂链脂质(dialiphatic chain lipids),如鞘磷脂(sphingomyelin)及鞘糖脂(glycosphingolipid)的单脂质及其组合物。根据本发明的磷脂的实例包含但不限于1,2-二月桂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(1,2-dilauroyl-sn-glycero-3-phosphocholine,DLPC)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine,DMPC)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine,DPPC)、1-棕榈酰基-2-硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(1-palmitoyl-2-stearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine,PSPC)、1-棕榈酰基-2-油酰基-sn-甘油-3-磷脂酰胆碱(1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphatidylcholine,POPC)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine,DSPC)、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine,DOPC)、氢化大豆磷脂酰胆碱(hydrogenated soy

phosphatidylcholine, HSPC)、1,2-二肉豆蔻酰-sn-甘油-3-磷酸-(1'-rac-甘油)(钠盐)(1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phospho-(1'-rac-glycerol)(sodium salt), DMPG)、1,2-二棕榈酰-sn-甘油-3-磷酸-(1'-rac-甘油)(钠盐)(1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phospho-(1'-rac-glycerol)(sodium salt), DPPG)、1-棕榈酰基-2-硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸-(1'-rac-甘油)(钠盐)(1-palmitoyl-2-stearoyl-sn-glycero-3-phospho-(1'-rac-glycerol)(sodium salt), PSPG)、1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸-(1'-rac-甘油)(钠盐)(1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phospho-(1'-rac-glycerol)(sodium salt), DSPG)、1,2-二油酰-sn-甘油-3-磷酸-(1'-rac-甘油)(1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phospho-(1'-rac-glycerol), DOPG)、1,2-二肉豆蔻酰-sn-甘油-3-磷酸-L-丝氨酸(钠盐)(1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phospho-L-serine(sodium salt), DMPS)、1,2-二棕榈酰-sn-甘油-3-磷酸-L-丝氨酸(钠盐)(1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phospho-L-serine(sodium salt), DPPS)、1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸-L-丝氨酸(钠盐)(1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phospho-L-serine(sodium salt), DSPS)、1,2-二油酰-sn-甘油-3-磷酸-L-丝氨酸(1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phospho-L-serine, DOPS)、1,2-二肉豆蔻酰-sn-甘油-3-磷酸(钠盐)(1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphate(sodium salt), DMPA)、1,2-二棕榈酰-sn-甘油-3-磷酸(钠盐)(1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphate(sodium salt), DPPA)、1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸(钠盐)(1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphate(sodium salt), DSPA)、1,2-二油酰-sn-甘油-3-磷酸(钠盐)(1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphate(sodium salt), DOPA)、1,2-二棕榈酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, DPPE)、N-(羰基-甲氧基聚乙二醇)-1,2-二棕榈酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(N-(carbonyl-methoxypolyethyleneglycol)-1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, PEG-DPPE)、1-棕榈酰基-2-油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, POPE)、1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, DSPE)、N-(羰基-甲氧基聚乙二醇)-1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(N-(carbonyl-methoxypolyethyleneglycol)-1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, PEG-DSPE)、1,2-二油酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, DOPE)、1,2-二棕榈酰-sn-甘油-3-磷酸-(1'-肌醇)(铵盐)(1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phospho-(1'-myo-inositol)(ammonium salt), DPPI)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸肌醇(铵盐)(1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoinositol)(ammonium salt), DSPI)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸-(1'-肌醇)(铵盐)(1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phospho-(1'-myo-inositol)(ammonium salt), DOPI)、心磷脂(cardiolipin)、L- α -磷脂酰胆碱(L- α -phosphatidylcholine, EPC)及L- α -磷脂酰乙醇胺(L- α -phosphatidylethanolamine, EPE)。在一些实施例中,脂质为一种或多种前述脂质的脂质混合物,或一种或多种前述脂质与一种或多种未列出的脂质、薄膜稳定剂(membrane stabilizer)或抗氧化剂的混合物。

[0027] 在一些实施例中,在脂质体双层膜中的脂质的摩尔百分比系为大约80、79、78、77、76、75、74、73、72、71、70、69、68、67、66、65、64、63、62、61、60、59、58、57、56、55、54、53、52、51、50、49、48、47、46、45或在其之间的任何值或范围(例如,大约45-80%、大约45-75%、大

约45-70%、大约45-65%、大约50-80%、大约50-75%、大约50-70%或大约50-65%)。

[0028] 在一些实施例中,脂质包含第一脂质及第二脂质的混合物。在一些实施例中,第一脂质选自基本上由磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine,PC)、HSPC、DSPC、DPPC、DMPC、PSPC及其组合所组成的群组,而第二脂质选自基本上由磷脂酰乙醇胺

(phosphatidylethanolamine)、磷脂酰甘油(phosphatidylglycerol)、PEG-DSPE、DPPG及其组合所组成的群组。在另一实施例中,在脂质体中第一脂质的摩尔百分比为等于或小于大约79.9、79.5、79.1、78、77、76、75、74、73、72、71、70、69、68、67、66、65、64、63、62、61、60、59、58、57、56、55、54、53、52、51、50、49、48、47、46、45、44、43、42、41、40或在其之间的任何值或范围(例如,大约40-79.9%、大约40-79.5%、大约40-79.1%、大约40-75%、大约40-70%、大约40-65%、大约45-79.9%、大约45-79.5%、大约45-79.1%、大约45-75%、大约45-70%、大约45-65%、大约45-60%、大约50-79.9%、大约50-79.5%、大约50-79.1%、大约50-75%、大约50-70%、大约50-65%或大约50-60%),而脂质体中的第二脂质的摩尔百分比为等于或小于大约10、9、8、7、6、5、4、3、2、1、0.5、0.1或在其之间的任何值或范围(例如,大约0.1-10%、大约0.1-9%、大约0.1-8%、大约0.1-7%、大约0.1-6%、大约0.1-5%、大约0.5-10%、大约0.5-9%、大约0.5-8%、大约0.5-7%、大约0.5-6%或大约0.5-5%)。

[0029] 脂质体的双层膜进一步包含小于大约55摩尔百分比的类固醇,较佳为胆固醇。在某些实施例中,双层膜中的类固醇(如胆固醇)的摩尔%为大约20-55%、大约20-50%、大约20-45%、大约20-40%、大约25-55%、大约25-50%、大约25-45%或大约25-40%。

[0030] 在一例示性实施例中,脂质体双层膜的脂质比胆固醇的摩尔百分比为大约45-80%:20-55%或是50-75%:25-50%。在另一例示性实施例中,双层膜中第一脂质、第二脂质与胆固醇的摩尔百分比是大约40-79.5%:0.5-10%:20-55%、40-79.9%:0.1%-10%:20-55%、40-75%:0.1-10%:20-50%或是45-70%:0.1-10%:25-45%,且第一脂质是HSPC、DMPC、DPPC、DSPC或其组合,而第二脂质是DSPE-PEG2000、DPPG或其组合。

[0031] 远端装载

[0032] 如本文所用,用语“远端装载(remote loading)”为涉及通过多原子离子梯度(polyatomic ion-gradient)将治疗剂从外部介质跨越脂质体的双层膜传输至内部水性空间的程序的药物装载法。这些梯度通过在脂质体的内部水性空间中包埋至少一多原子离子作为捕获剂,并以例如,纯水、蔗糖溶液(sucrose solution)或生理食盐水等具有较低多原子离子浓度的额外介质通过如管柱分离(column separation)、透析(dialysis)或离心(centrifugation)等已知技术置换脂质体的外部介质而产生。在脂质体的内部水性空间及外部介质之间制造多原子离子梯度以将治疗剂捕获于脂质体的内部水性空间。作为捕获剂的例示性多原子离子包含但不限于硫酸盐(sulfate)、亚硫酸盐(sulfite)、磷酸盐(phosphate)、磷酸氢盐(hydrogen phosphate)、钼酸盐(molybdate)、碳酸盐(carbonate)及硝酸盐(nitrate)。例示性的捕获剂包含但不限于硫酸铵(ammonium sulfate)、磷酸铵(ammonium phosphate)、钼酸铵(ammonium molybdate)、蔗糖八硫酸酯铵(ammonium sucrose octasulfate)、蔗糖八硫酸酯三乙铵(triethylammonium sucrose octasulfate)及硫酸葡聚糖(dextran sulfate)。

[0033] 在一实施例中,硫酸铵的浓度为大约100至大约600mM、大约150至大约500mM或大约200至大约400mM。在另一实施例中,蔗糖八硫酸酯三乙铵的浓度为大约10至大约200mM或

大约50至大约150mM。在又一实施例中,磷酸铵的浓度为大约100至大约600mM、大约150至大约500mM或大约200至大约400mM。在又一实施例中,硫酸葡聚糖的浓度为大约0.1至20mM或大约1至10mM。

[0034] 根据本发明,包埋捕获剂的脂质体可通过任何已知或后来开发的技术制备。例如,可通过将经选择的脂质组成物与捕获剂通过水合脂膜 (hydrated lipid film)、喷雾干燥粉末或冻干饼 (lyophilized cake) 直接形成MLV脂质体;通过音振处理 (sonication)、均质化 (homogenization)、微射流作用 (microfluidization) 或挤压 (extrusion) 将MLV脂质体依尺寸制作为SUV脂质体及LUV脂质体。

[0035] 药物组合物

[0036] 本发明针对缓释药物组合物,缓释药物组合物包含:(a) 至少一包含双层膜的脂质体,所述双层膜包含至少一脂质;(b) 捕获剂;及(c) 免疫调节剂,其中双层膜由至少一脂质组成且免疫调节剂对该脂质的摩尔比值系大于或等于大约0.2。在一些实施例中,治疗剂对脂质的摩尔比值为大于或等于0.2至小于大约20、小于大约15、小于大约10、小于大约5、小于大约4、小于大约3或小于大约2。

[0037] 在一个实施例中,缓释药物组合物进一步包含至少一药学上可接受的赋形剂、稀释剂、载具 (vehicle)、载体、用于活性成分的介质、防腐剂、冷冻保护剂或其组合。在一个例示性实施例中,药物组合物中的双层膜的重量百分比为大约0.1-12%;药物组合物中的捕获剂的重量百分比为大约0.1-10%;以及药物组合物中的药学上可接受的赋形剂(如蔗糖、组氨酸 (histidine)、氯化钠及超纯水)、稀释剂、载具、载体、用于活性成分的介质、防腐剂、冷冻保护剂或其组合的重量百分比为大约80.0-99.9%。

[0038] 在特定实施例中,用于治疗一自体免疫疾病的治疗剂或是免疫调节剂是1-磷酸鞘氨醇 (S1P) 受体激动剂。在特定实施例中,该免疫调节剂是依特拉西莫德 (etrasimod)、芬戈莫德 (fingolimod)、拉喹莫德 (laquinimod)、奥扎莫德 (ozanimod)、珀奈莫德 (ponesimod)、西普尼莫德 (siponimod) 以及其组合。药物组合物的缓释曲线延长免疫调节剂的半衰期、治疗浓度及作用持续时间,也因此,维持了治疗功效并减少免疫调节剂的剂量及/或给药频率。

[0039] 在一方面,药物组合物的缓释曲线是由于高的药物包埋效率。这些配方的包埋效率为至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。

[0040] 在另一方面,药物组合物的缓释曲线是由于较高的药物对脂质摩尔比值。在一例示性实施例中,免疫调节剂对一种或多种脂质的摩尔比值为大于或等于大约0.20、0.21、0.22、0.23、0.24、0.25、0.26、0.27、0.28、0.29、0.3、0.31、0.32、0.33、0.34或0.35至少于大约20、15、10或2,选择性地从0.2至20、从0.2至15、从0.2至10、从0.2至5、从0.2至2、从0.3至20、从0.3至15、从0.3至10、从0.3至5或从0.2至2。

[0041] 在又一方面,相较于游离免疫调节剂,该免疫调节剂的半衰期延长至少2倍。

[0042] 药物组合物系被配制成为适合注射,如皮下 (subcutaneous)、表皮下 (subdermal)、皮内 (intradermal) 或肌内 (intramuscular) 途径。

[0043] 本发明的药物组合物剂量可由所属技术领域具有专业知识者根据实施例决定。涵盖各在某些临床环境中提供优势的单剂量或多剂量形式。根据本发明,被施予的药物组合物的实际量可根据被治疗的个体的年龄、体重、条件、任何存在的医疗条件,并取决于医学

专家的判断。

[0044] 在一实施例中,本揭示内容的药物组合物展现出免疫调节剂显著的延长释放曲线。举例来说,相较于FDA批准较佳为口服给药的芬戈莫德配方(于大鼠体内半衰期为21小时, GILENYA[®] New Drug Application submitted package, Novartis Pharmaceuticals, Application No.:22-527),本发明的药物组合物将芬戈莫德在大鼠体内的半衰期延长至95.5小时,较佳为经皮下给药路径(如本发明实例5所揭示)。这些药物组合物是为了降低芬戈莫德的给药频率而开发。

[0045] 本发明还提供治疗自体免疫系统疾病的方法,其包含对需要的个体施予本文描述药物组合物的有效量的步骤。

[0046] 实例

[0047] 本发明的实施例通过下列实例说明,其不应以任何方式解释为对其范围强加限制。相反地,应被清楚理解的是在不脱离本发明的精神下,所属技术领域具有专业知识者在阅读本文说明书之后,可采取各种其它实施例、修改及其等效物。除非另有指出,在下列实例中描述的研究中,将遵循习知程序。

[0048] 实例1:芬戈莫德脂质体配方的制备

[0049] 空脂质体通过脂质膜水合挤压法(lipid film hydration-extrusion method)制备。将HSPC、胆固醇及DSPE-PEG2000(摩尔百分比59.5/39.6/0.9)溶解于氯仿(chloroform)中,通过旋转蒸发器(rotary evaporator)于真空下移除有机溶剂以形成一薄脂质膜。此干燥脂质膜以300mM硫酸铵于60°C水合30分钟,而形成水性中心(aqueous core)包埋硫酸铵的空脂质体。在液态氮与60°C水间六次冷冻-解冻循环后,接着将空脂质体以孔径0.2 μ m的聚碳酸酯过滤器挤压10次。未包埋的硫酸铵以9.4%蔗糖溶液透析移除。

[0050] 将一含有7.8mg/mL芬戈莫德盐酸盐(MedChem Express)、脂质浓度20.7mM的空脂质体及50mM的组氨酸缓冲液(pH 7)的反应混合物于60°C下反应15分钟。通过Sephadex[™] G-50细胶粒(fine gel)(GE Healthcare)或透析袋(Spectrum Labs)以9.4%蔗糖溶液分离未包埋的芬戈莫德盐酸盐,而得到芬戈莫德脂质体配方。芬戈莫德脂质体中包埋的芬戈莫德浓度及脂质浓度使用紫外线/可见光(UV/Vis)分光光谱仪测量,以计算芬戈莫德脂质体配方的药物对脂质摩尔比值(D/L)。

[0051] 包埋效率由包埋芬戈莫德盐酸盐脂质体的药物对脂质摩尔比值(D/L)与反应混合物的标称(nominal)D/L比较计算而得,标称D/L系将芬戈莫德盐酸盐的浓度除以空脂质体的脂质浓度而得。粒径分布通过动态光散射仪(Zetasizer Nano-ZS90, Malvern)测量。

[0052] 使用300mM的硫酸铵作为捕获剂,芬戈莫德脂质体配方的最终D/L为1.1,且包埋效率为100%。脂质体的平均粒径为162nm。

[0053] 实施例2:奥扎莫德脂质体配方的制备

[0054] 空脂质体通过脂质膜水合挤压法(lipid film hydration-extrusion method)制备。将HSPC、胆固醇及DPPG(摩尔百分比59.5/39.6/0.9)溶解于氯仿(chloroform)中,通过旋转蒸发器(rotary evaporator)于真空下移除有机溶剂以形成一薄脂质膜。此干燥脂质膜以300mM硫酸铵于60°C水合30分钟,而形成水性中心(aqueous core)包埋硫酸铵的空脂质体。在液态氮与60°C水间六次冷冻-解冻循环之后,接着将空脂质体以孔径0.2 μ m的聚碳酸酯过滤器挤压10次。未包埋的硫酸铵以9.4%蔗糖溶液透析移除。

[0055] 将一含有7.2mg/mL奥扎莫德(DC Chemicals)、脂质浓度20.6mM的空脂质体及50mM的组氨酸缓冲液(pH 6.5)的反应混合物于60°C下反应15分钟。通过Sephadex™ G-50细胶粒(fine gel)(GE Healthcare)或透析袋(Spectrum Labs)以9.4%蔗糖溶液分离未包埋的奥扎莫德以得到奥扎莫德脂质体配方。奥扎莫德脂质体配方中包埋的奥扎莫德浓度及脂质浓度使用紫外线/可见光(UV/Vis)分光光谱仪测量,以计算奥扎莫德脂质体配方的药物对脂质摩尔比值(D/L)。

[0056] 包埋效率由包埋奥扎莫德脂质体的药物对脂质摩尔比值(D/L)与反应混合物的标称(nominal)D/L比较计算而得,标称D/L系将奥扎莫德的浓度除以空脂质体的脂质浓度而得。粒径分布通过动态光散射仪(Zetasizer Nano-ZS90,Malvern)测量。

[0057] 使用300mM的硫酸铵作为捕获剂,奥扎莫德脂质体配方最终D/L为0.87,且包埋效率为100%。脂质体的平均粒径为186.7nm。

[0058] 实施例3:不同捕获剂对药物装载曲线的影响

[0059] 根据实例1制备具有下列捕获剂的脂质体配方:(1)75mM的蔗糖八硫酸酯三乙铵、(2)300mM的硫酸铵、(3)200mM的磷酸铵、及(4)7.0mM的硫酸葡聚糖。表1显示不同捕获剂对药物装载曲线的影响。

[0060] 表1、不同捕获剂的药物装载曲线

[0061]	双层膜(摩尔百分比)	化合物	捕获剂	经纯化的 D/L (摩尔/摩尔)	包埋效率 (%)	平均粒径 (nm)
	HSPC/胆固醇/DSPE-PEG2000 (59.5/39.6/0.9)	芬戈莫德盐酸盐	1	1.28	100	288.0
	HSPC/胆固醇/DSPE-PEG2000 (59.5/39.6/0.9)	芬戈莫德盐酸盐	2	1.11	100	162.1
	DMPC/胆固醇/DSPE-PEG2000 (59.5/40/0.5)	芬戈莫德盐酸盐	2	1.13	100	154.5
[0062]	HSPC/胆固醇/DPPG (59.5/39.6/0.9)	芬戈莫德盐酸盐	2	1.01	100	191.4
	DPPC/胆固醇/DSPE-PEG2000 (55.9/38.7/5.4)	芬戈莫德盐酸盐	3	0.88	99	143.1
	HSPC/胆固醇(60/40)	奥扎莫德	1	0.49	100	215.2
	HSPC/胆固醇/DPPG (59.5/39.6/0.9)	奥扎莫德	2	0.87	100	186.7
	DSPC/胆固醇/DSPE-PEG2000 (59.5/39.6/0.9)	奥扎莫德	4	0.35	79	364.2

[0063] 实施例4:芬戈莫德脂质体的延长释放曲线

[0064] 为了设置体外释放系统,分别将0.5mL根据实例1制备的芬戈莫德脂质体配方及0.5mL游离芬戈莫德盐酸盐与0.5mL胎牛血清混合。将游离芬戈莫德/血清混合物及芬戈莫德脂质体/血清混合物分别放入透析袋中(Spectra/Pro®6透析膜,MWCO 50kDa,Spectrum Labs),并密封透析袋的两端。将每个透析袋分别浸入含有15mL PBS(pH 7.4并含有0.06N盐酸)的50mL离心管中,并于37±1°C水浴中培养。培养后于选定的时间点(1、2、4、6及24小时)从15mL的PBS取样0.5mL等分试样(aliquot),并于每次加入0.5mL新鲜PBS替代取样的等分试样。每个时间点所取样的等分试样的药物浓度经高效液相色谱仪(high performance liquid chromatography,HPLC)分析,以建立该受测配方的体外释放曲线(in vitro release profile)。

[0065] 参照第1图,接近百分之80的游离芬戈莫德在四小时内经由透析袋释放。相反地,

在超过24小时的期间,芬戈莫德脂质体配方经由透析袋的释放速率(<10%)低于游离药物的释放速率(>80%)。本发明的芬戈莫德脂质体配方的延长释放曲线证明该芬戈莫德脂质体配方做为缓释药物传递系统的潜力。

[0066] 实施例5:芬戈莫德脂质体的药物动力学(PK)研究

[0067] 使用颈静脉插管(Jugular vein cannulated, JVC)雌性SD(Sprague-Dawley)大鼠执行芬戈莫德脂质体配方的体内PK评估。大鼠圈养于12小时光照/12小时黑暗的昼夜循环操作且不限制饮水及摄食的系留室(holding room)中。

[0068] 将大鼠分成三组(每组n=4),一组接受5mg/kg游离芬戈莫德盐酸盐静脉内(IV)注射,所述游离盐酸芬戈莫德以含有5%二甲亚砜(dimethyl sulfoxide)的9.4%蔗糖溶液溶解芬戈莫德盐酸盐制备,最终浓度为2.00mg/mL。第二组接受5mg/kg芬戈莫德脂质体配方静脉内(IV)注射,所述芬戈莫德脂质体配方系根据实例1制备而得。第三组接受5mg/kg芬戈莫德脂质体配方皮下(SC)注射,所述芬戈莫德脂质体配方系根据实例1制备而得。注射后5分钟、15分钟、1小时、2小时、4小时、8小时、24小时、48小时、72小时及96小时收集血液样品。通过离心取得血浆样品,在-80℃下保持冷冻并使用在PKSolver中的非区室模型分析模组(noncompartmental analysis model)分析(Comput Methods Programs Biomed.2010;99(3):306-314)。三种芬戈莫德配方的PK参数总结于表2中。

[0069] 表2显示以IV注射芬戈莫德脂质体组别的芬戈莫德半衰期($t_{1/2}$)与IV注射游离芬戈莫德组别的半衰期相似。静脉注射约70小时后,静脉给予的游离芬戈莫德及芬戈莫德脂质体从体循环中清除,对于两种芬戈莫德形式均有大约5个半衰期。SC芬戈莫德脂质体组的 C_{max} 低于IV给药的游离芬戈莫德及芬戈莫德脂质体所观察到的 C_{max} ,且相较于静脉内给予游离芬戈莫德及芬戈莫德脂质体,皮下施予芬戈莫德脂质体的半衰期($t_{1/2}$)显著地较长。测量的曲线下面积(AUC_{0-t})与外推而得的曲线下面积(AUC_{0-inf})的比值指出皮下注射96小时后,39.9%的芬戈莫德从芬戈莫德脂质体配方释放;然而,注射后96小时,静脉内注射游离芬戈莫德的 AUC_{0-t}/AUC_{0-inf} 比值则大约为100%。

[0070] 表2进一步阐明相较于FDA核准口服给药的芬戈莫德(从20.4至30 (ng/mL) / (mg/Kg)),经SC注射本发明芬戈莫德脂质体配方的剂量标准化 C_{max} (C_{max}/D)是4.8 (ng/mL) / (mg/Kg)明显较低。同样地,相较于FDA核准的口服芬戈莫德(于大鼠 $t_{1/2}$ 为13.6至25.1小时),SC注射本发明芬戈莫德脂质体配方的 $t_{1/2}$ 是95.5小时明显更长。本发明的皮下给药芬戈莫德脂质体配方的 C_{max}/D 是FDA核准芬戈莫德配方的六分之一(1/6)至四分之一(1/4),而其 $t_{1/2}$ 则比FDA批准芬戈莫德配方的长3.8倍至7.0倍。

[0071] 表2、单次SC注射芬戈莫德脂质体配方后或单次口服FDA批准芬戈莫德配方后衍生的PK参数。

参数	单位	芬戈莫德 脂质体配 方	芬戈莫德配方 [†]		
		SC	口服		
剂量	mg/Kg	5	0.1	1.0	3.0
$t_{1/2}$	h	95.5	13.6	25.1	15.6
C_{max}	ng/mL	24.0	3	20	70.8
C_{max}/D	(ng/mL)/(mg/Kg)	4.8	30	20.4	23.6
AUC_{0-t}	h × ng/mL	1220	63	627	573
AUC_{0-t}/D	(h × ng/mL)/(mg/Kg)	244	631	627	191
AUC_{0-inf}	h × ng/mL	3060	-	-	-

[0073] C_{max}/D , 剂量标准化 C_{max} ; AUC_{0-t}/D , 剂量标准化 AUC_{0-t} 。

[0074] [†]数据源自于 GILENYA[®] 新药申请包装 (Novartis Pharmaceuticals, Application No.:22-527)。

[0075] 表3说明IV注射本发明的芬戈莫德脂质体配方及来自Mao等人 (Nanomed.2014;10 (2) :393-400) 的IV注射芬戈莫德脂质体配方的PK参数。本发明的 C_{max} 及 AUC_{0-inf} 值(脂质体药物对游离药物的比值)比Mao等人的 C_{max} 及 AUC_{0-inf} 值大约高四倍。此外,本发明的拟分布体积(V_d)及清除率(clearance, CL)值(脂质体药物对游离药物的比值)是显著低于Mao等人发表的数值。这些结果证实,相较于Mao等人的脂质体配方,本发明的芬戈莫德脂质体配方可在循环中维持药物释放。

[0076] 表3、分别从本发明及Mao等人的单次IV注射芬戈莫德脂质体配方后于大鼠与小鼠所衍生的PK参数。

参数	本发明 IV 芬戈莫德脂质体配方	Mao 等人 [§] 发表的 IV 芬戈莫德脂质体
剂量(mg/Kg)	5	5
芬戈莫德脂质体 C_{max} 对芬戈莫德 C_{max} 的比值	8.4	2.2
芬戈莫德脂质体 AUC_{0-inf} 对芬戈莫德 AUC_{0-inf} 的比值	12.9	3.3
芬戈莫德脂质体 V_d 对芬戈莫德 V_d 的比值	0.05	0.44
芬戈莫德脂质体 CL 对芬戈莫德 CL 的比值	0.08	0.30

[0078] [§]数据推导自Nanomed.2014;10 (2) :393-400。

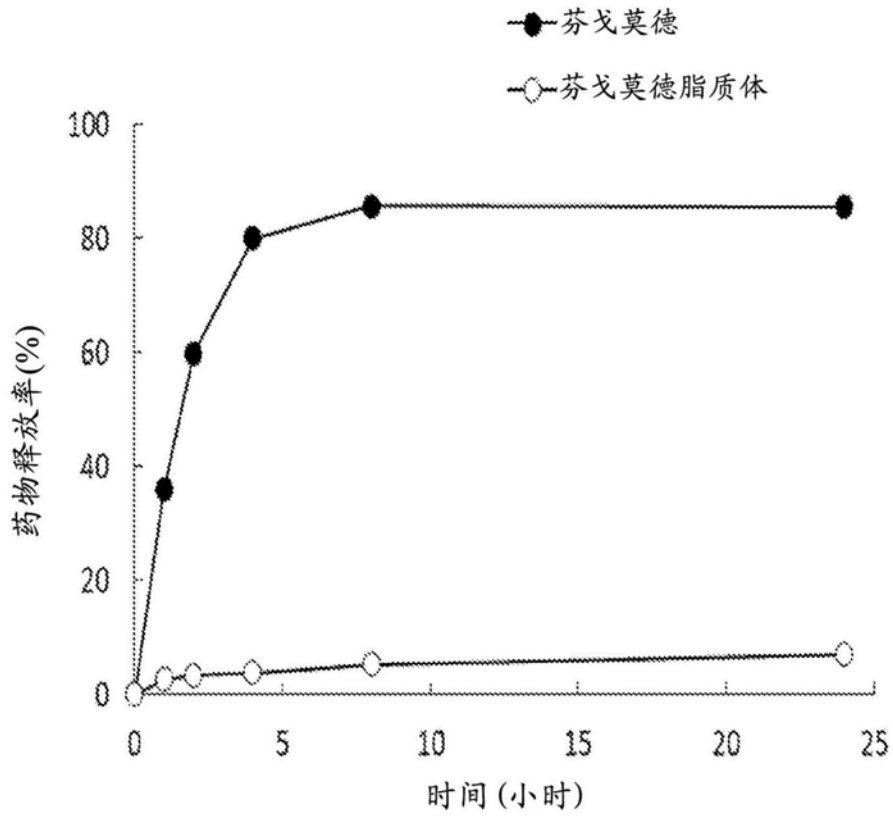


图1

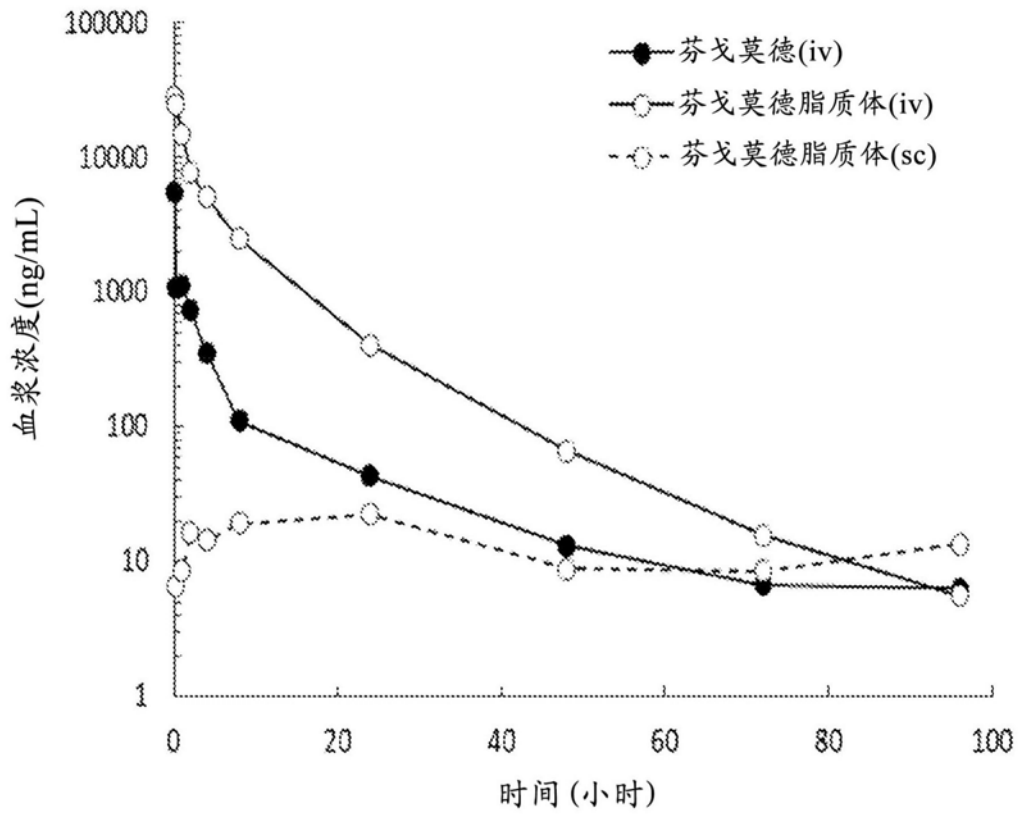


图2