

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发 明 专 利 说 明 书

专利号 ZL 01815262.7

[51] Int. Cl.

C07C 255/00 (2006.01)

C07C 65/03 (2006.01)

A61K 38/28 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 5 月 2 日

[11] 授权公告号 CN 1313441C

[22] 申请日 2001.9.5 [21] 申请号 01815262.7

[30] 优先权

[32] 2000. 9. 6 [33] US [31] 60/230,331

[32] 2000.10. 2 [33] US [31] 60/237,235

[86] 国际申请 PCT/US2001/041984 2001. 9. 5

[87] 国际公布 WO2002/020466 英 2002. 3. 14

[85] 进入国家阶段日期 2003. 3. 6

[73] 专利权人 艾米斯菲尔技术有限公司

地址 美国纽约州

[72] 发明人 D·莫伊－舍曼 D·施奈德

[56] 参考文献

WO00/40203A 2000. 7. 13

审查员 刘广南

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 李 瑛

权利要求书 6 页 说明书 27 页

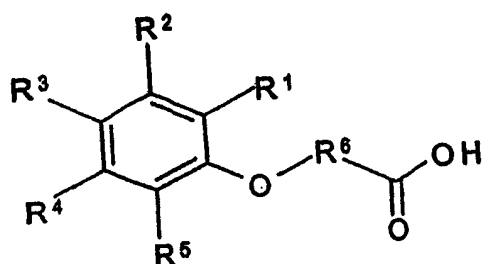
[54] 发明名称

用于递送活性剂的氰基苯氧基羧酸化合物及其组合物

[57] 摘要

提供了用于递送活性剂的氰基苯氧基羧酸化合物及其组合物。 还提供了给药方法，疾病的治疗方法和制备方法。

1. 一种选自下列一组化合物的化合物:



化合物 A

及其盐,

其中:

R¹, R², R³, R⁴和 R⁵独立地是 H, -CN, -OH, -OCH₃或卤原子,前提是当 R⁴为 CN, 且 R², R³和 R⁵是 H 时, R¹不是-OCH₃,

R¹, R², R³, R⁴和 R⁵ 中的至少一个是-CN; 和

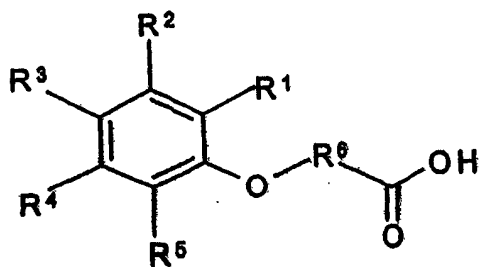
R⁶ 是 C₁-C₁₂ 直链或支链亚烷基, 亚烯基, 亚芳基, 烷基(亚芳基)或芳基(亚烷基),

条件是当 R¹ 是-CN, R⁴是 H 或-CN, 以及 R², R³和 R⁵是 H 时, 或当 R¹是 H 或-CN, R³是 CN, 且 R², R⁴和 R⁵是-H 时, R⁶不是 (CH₂)₁.

2. 一种组合物, 其含有:

(A) 一种生物活性剂, 和

(B) 至少一种选自如下的化合物:



化合物 A

及其盐,

其中:

R^1, R^2, R^3, R^4 和 R^5 独立地是 H, -CN, -OH, -OCH₃ 或卤原子,

R^1, R^2, R^3, R^4 和 R^5 中的至少一个是 -CN; 和

R^6 是 C₁-C₁₂ 直链或支链亚烷基, 亚烯基, 亚芳基, 烷基(亚芳基)或芳基(亚烷基),

条件是当 R^1 是 -CN, R^4 是 H 或 -CN, 以及 R^2, R^3 和 R^5 是 H 时, 或当 R^1 是 H 或 -CN, R^3 是 CN, 且 R^2, R^4 和 R^5 是 -H 时, R^6 不是 (CH₂)₁.

3. 如权利要求 2 所述的组合物, 其中所述生物活性剂包括至少一种蛋白质, 多肽, 肽, 激素, 多糖, 粘多糖, 碳水化合物或脂质。

4. 如权利要求 3 所述的组合物, 其中所述生物活性剂选自: 生长激素、人生长激素、重组人生长激素、牛生长激素和猪生长激素、生长激素释放激素、干扰素、 α -干扰素、 β -干扰素、 γ -干扰素、白介素-1、白介素-2、胰岛素、猪胰岛素、牛胰岛素、人胰岛素和重组人胰岛素、胰岛素样生长因子、胰岛素样生长因子-1、肝素、未经分级分离的肝素、磺酸脂粘多糖、皮肤素、软骨素、低分子量的肝素、分子量非常低的肝素和超低分子量的肝素、降钙素、鲑鱼降钙素、人降钙素、红细胞生成素、心房钠尿肽、抗原、单克隆抗体、促生长素抑制素、蛋白酶抑制剂、促皮质素、促性腺素释放激素、催产素、促黄体生成激素释放激素、促卵泡激素、葡糖脑苷脂酶、血小板生成素、非尔司啉、前列腺素、环孢菌素、后叶加压素、色甘酸钠、色甘酸钠、色甘酸二钠、万古霉素、去铁敏、甲状旁腺素, 甲状旁腺素的片段、抗微生物剂、抗生素、抗菌剂、抗真菌剂、潜霉素、维生素; 这些化合物的类似物、片段、模拟物或经聚乙二醇-修饰的衍生物; 及其任意组合。

5. 如权利要求 2 所述的组合物, 其中所述生物活性剂包括人生长因子、色甘酸钠、色甘酸钠、色甘酸二钠、胰岛素、猪胰岛素、牛胰岛素、人胰岛素、重组人胰岛素、胰岛素样生长因子、胰岛素样生长因子-1、抗微生物剂、抗生素、抗菌剂、抗真菌剂、潜霉素、这些化合物的类似物、片段、模拟物和经聚乙二醇-修饰的衍生物或其任意

组合。

6. 如权利要求 3 所述的组合物, 其中所述生物活性剂包括色甘酸钠。

7. 如权利要求 3 所述的组合物, 其中所述生物活性剂包括肝素。

8. 如权利要求 3 所述的组合物, 其中所述生物活性剂包括胰岛素。

9. 如权利要求 3 所述的组合物, 其中所述生物活性剂包括人生长激素。

10. 一种单位剂型, 其含有:

(A) 权利要求 2 所述的组合物; 和

(B) (a) 一种赋形剂,

(b) 一种稀释剂,

(c) 一种崩解剂

(d) 一种润滑剂,

(e) 一种成形剂,

(f) 一种着色剂,

(g) 一种药剂载体, 或

(h) 其任意组合。

11. 如权利要求 10 所述的单位剂型, 其中所述生物活性剂包括至少一种蛋白质, 多肽, 肽, 激素, 多糖, 粘多糖, 碳水化合物或脂质。

12. 如权利要求 10 所述的单位剂型, 其中所述生物活性剂选自: 生长激素、人生长激素、重组人生长激素、牛生长激素和猪生长激素、生长激素释放激素、干扰素、 α -干扰素、 β -干扰素、 γ -干扰素、白介素-1、白介素-2、胰岛素、猪胰岛素、牛胰岛素、人胰岛素和重组人胰岛素、胰岛素样生长因子、胰岛素样生长因子-1、肝素、未经分级分离的肝素、磺酸脂粘多糖、皮肤素、软骨素、低分子量的肝素、分子量非常低的肝素和超低分子量的肝素、降钙素、鲑鱼降钙素、人降钙素、红细胞生成素、心房钠尿肽、抗原、单克隆抗体、促生长素抑制素、蛋白酶抑制剂、促皮质素、促性腺素释放激素、催产素、促黄体生成激素释放激素、促卵泡激素、葡糖脑苷脂酶、血小板生成素、

非尔司啉、前列腺素、环孢菌素、后叶加压素、色甘酸钠、色甘酸钠、色甘酸二钠、万古霉素、去铁敏、甲状旁腺素，甲状旁腺素的片段、抗微生物剂、抗生素、抗细菌剂、抗真菌剂、潜霉素、维生素；这些化合物的类似物、片段、模拟物或经聚乙二醇-修饰的衍生物；及其任意组合。

13. 如权利要求 10 所述的单位剂型，其中所述生物活性剂包括 hGH、色甘酸钠、色甘酸钠、色甘酸二钠、胰岛素、猪胰岛素、牛胰岛素、人胰岛素、重组人胰岛素、胰岛素样生长因子、胰岛素样生长因子-1、抗微生物剂、抗生素、抗细菌剂、抗真菌剂、潜霉素、这些化合物的类似物、片段、模拟物和经聚乙二醇-修饰的衍生物或其任意组合。

14. 如权利要求 10 所述的单位剂型，其中所述单位剂型是片剂、胶囊、粒剂、粉剂、小药囊或液体剂型。

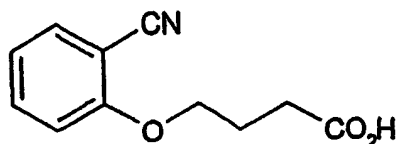
15. 如权利要求 10 所述的单位剂型，其中所述药剂载体是一种选自水、25%的聚乙二醇水溶液、磷酸盐缓冲液、1,2-丙二醇、乙醇，及其任意组合的液体。

16. 一种对需要活性剂的动物施用活性剂的方法，该方法包括对动物经口施用权利要求 2 所述的组合物。

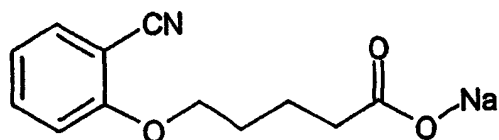
17. 一种制备组合物的方法，其包括混合：

- (A) 至少一种生物活性剂；
- (B) 权利要求 1 所述的化合物；和
- (C) 任选地，一种药剂载体。

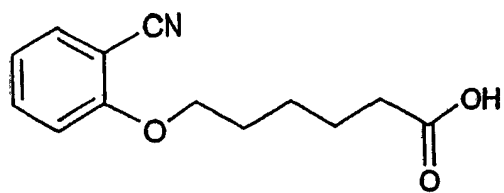
18. 一种选自下列一组化合物的化合物：



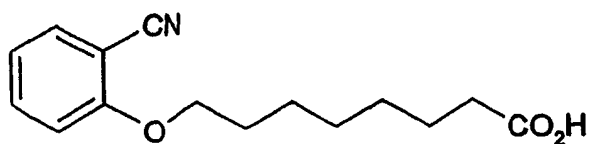
化合物 2



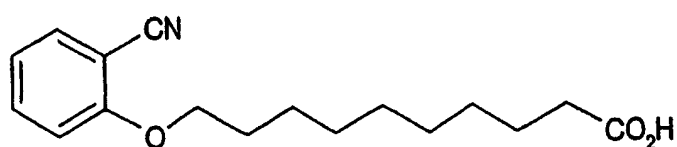
化合物 3



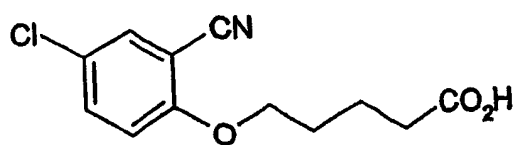
化合物 4



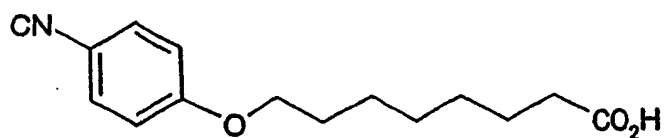
化合物 5



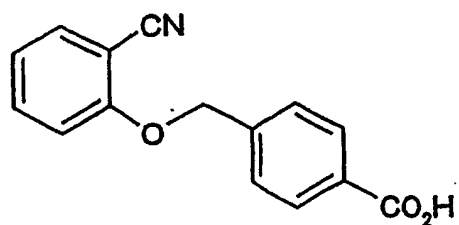
化合物 6



化合物 7



化合物 8



化合物 9

及其盐。

19. 一种组合物，其含有：

(A) 一种生物活性剂，和

(B) 一种选自权利要求 18 所述的化合物，其盐，及其混合物

的递送剂。

20. 如权利要求 19 所述的组合物，其中所述生物活性剂包括至少一种蛋白质，多肽，肽，激素，多糖，粘多糖，碳水化合物或脂质。

21. 一种制备组合物的方法，其包括混合：

(A) 至少生物一种活性剂；

(B) 一种选自权利要求 18 所述的化合物，及其盐；和

(C) 任选地，一种给药载体。

22. 权利要求 1 的化合物，其中 R^6 为 C_2-C_9 亚烷基。

23. 权利要求 1 的化合物，其中 R^6 为 C_4-C_7 亚烷基。

用于递送活性剂的氟基苯氧基羧酸 化合物及其组合物

本申请要求了申请号为 60/230,331 和 60/237,235 的美国临时专利申请的优先权,该两项申请分别是在 2000 年 9 月 6 日和 2000 年 10 月 2 日提交的,该两项申请被本文引入作为参考。

技术领域

本发明涉及用于向靶向目标递送活性剂如生物或化学活性剂的氟基苯氧基羧酸化合物。这些化合物非常适合与用于对动物进行口服给药、结肠内给药、肺部给药和其它途径给药的活性剂形成非共价混合物。还公开了用于制备和施用这种组合物的方法。

背景技术

用于递送活性剂的传统方法通常受到生物学、化学和物理屏障的限制。典型地,这些屏障受到递送发生的环境、靶向目标的环境和/或靶向目标本身的影响。生物或化学活性剂尤其易受这些屏障的影响。

在向动物递送生物活性和化学活性药物和治疗剂的过程中,屏障受到机体的影响。物理屏障的实例是皮肤、脂质双层和各种器官膜,某些活性剂相对不容易透过这些物理屏障但又必须穿过这些屏障从而到达靶向目标如循环系统。化学屏障包括,但不限于胃肠(GI)道内的 pH 变化和降解酶。

这些屏障对于经口给药系统的设计尤其重要。如果不是由于存在生物、化学和物理屏障,许多生物或化学活性剂的经口给药是动物用药所选择的途径。在众多的活性剂中,典型不适合口服给药的活性剂是生物或化学活性肽,如降钙素和胰岛素;多糖,尤其是粘多糖,所述粘多糖包括,但不限于,肝素、磺酸脂粘多糖;抗生素;和其它有机物质。这些活性剂在胃肠道内会因酸解、酶等的作用而迅速失效或

被破坏。另外，大分子药物的大小和结构也可能阻碍吸收。

早期用于易损药物口服给药的方法依赖于辅料(例如雷琐辛和非离子表面活性剂如聚氧乙烯油醚和正-十六烷基聚乙醚)的共同用药从而人为地增加肠壁的透过性，以及酶抑制剂(例如胰腺的胰蛋白酶抑制剂、二异丙基氟磷酸酯(DFP)和抑肽酶)的共同给药从而抑制酶促降解。脂质体也曾被记载为用于胰岛素和肝素的药物递送系统。然而，由于下列原因妨碍了这类药物递送系统的广泛使用：(1) 该系统需要毒性量的辅料或抑制剂；(2) 不能利用低分子量的适当货物，即活性剂；(3) 该系统的稳定性差以及保存期短；(4) 该系统不易于生产；(5) 该系统不能保护活性剂(货物)；(6) 该系统对活性剂起反作用；或(7) 该系统不能使活性剂被吸收或不能促进活性剂的吸收。

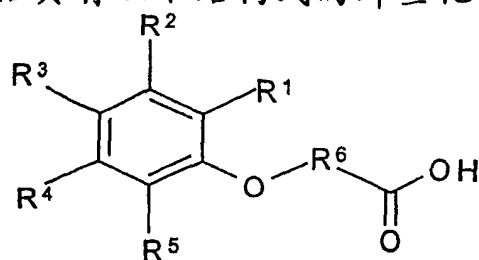
类蛋白微球体已被用于递送药物。参见，例如专利号为 US5,401,516; 5,443,841; 和 Re. 35,862 的美国专利。另外，某些被修饰的氨基酸也已被用于递送药物。参见，例如专利号为 5,629,020; 5,643,957; 5,766,633; 5,776,888; 和 5,866,536 的美国专利。

最近，通过一组键将聚合物与被修饰的氨基酸或其衍生物连接起来从而制备出聚合递送剂。被修饰的聚合物可以是任何聚合物，但优选的聚合物包括，但不限于，聚乙二醇(PEG)及其衍生物。参见，例如公开号为 WO 00/40203 的国际专利申请。

然而，仍然需要结构简单的廉价递送系统，该递送系统容易被制备并且能够通过多种途径递送多种活性剂。

发明内容

本发明提供了便于递送活性剂的化合物和组合物。本发明的活性剂递送化合物包括具有以下结构式的那些化合物：



化合物 A

及其盐,

其中:

R^1, R^2, R^3, R^4 和 R^5 分别是 H, -CN, -OH, -OCH₃ 或卤原子, R^1, R^2, R^3, R^4 和 R^5 中的至少一个是 -CN; 和

R^6 是 C₁-C₁₂ 直链或支链亚烷基, 亚烯基, 亚芳基, 烷基(亚芳基)或芳基(亚烷基),

条件是当 R^1 是 -CN, R^4 是 H 或 -CN, 以及 R^2, R^3 和 R^5 是 H 时, R^6 不是亚甲基 ((CH₂)₁)。

在一个优选的实施方案中, R^1 是 H 或 -CN。在另一个优选的实施方案中, R^4 是 H, -CN 或卤原子。在另一个优选的实施方案中, 所述卤原子是 Cl。

优选地, R^6 是 C₁-C₉ 亚烷基。更优选地 R 是 C₂-C₉ 亚烷基。根据本发明的一个更优选的实施方案, R^6 是 C₄-C₇ 亚烷基。根据本发明的另一个优选的实施方案, R^6 是 (CH₂)₁, (CH₂)₃, (CH₂)₄, (CH₂)₅, (CH₂)₇ 或 (CH₂)₉。

在一个优选的实施方案中, R^1 是 -CN。优选地, R^2, R^3, R^4 和 R^5 是 H 或卤原子, 优选地是 Cl。优选地, R^6 是 (CH₂)_n, 其中 n 是 1-12, 优选地是 2-9, 更优选地是 3-7, 以及更优选地是 7 或 R^6 是 -(CH₂)-对-亚苯基。

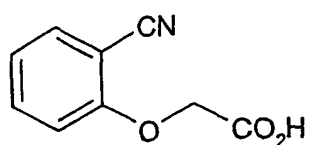
在另一个优选的实施方案中, R^3 是 -CN。优选地, R^1, R^2, R^4 和 R^5 是 H 或卤原子, 优选地是 Cl。优选地 R^6 是 (CH₂)_n 以及 n 是 1-12, 优选地是 2-9, 更优选地是 3-7, 以及更优选地是 7。

在另一个优选的实施方案中, 所述化合物包括表 1 中的化合物或其盐或其混合物:

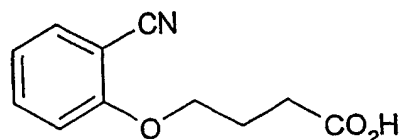
表 1-活性剂递送化合物

化合物号	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6
1	CN	H	H	H	H	$(CH_2)_1$
2	CN	H	H	H	H	$(CH_2)_3$
3	CN	H	H	H	H	$(CH_2)_4$
4	CN	H	H	H	H	$(CH_2)_5$
5	CN	H	H	H	H	$(CH_2)_7$
6	CN	H	H	H	H	$(CH_2)_9$
7	CN	H	Cl	H	H	$(CH_2)_4$
8	H	H	CN	H	H	$(CH_2)_7$
9	CN	H	H	H	H	$(CH_2)_1$ -对-苯基

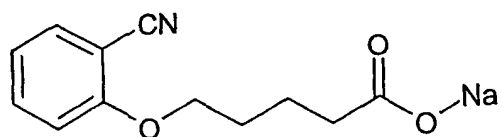
化合物 1-9 的化学结构如下所示:



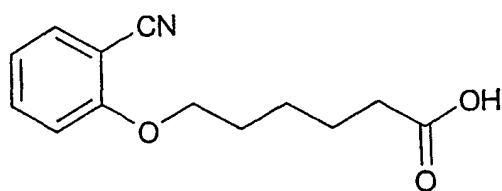
化合物 1



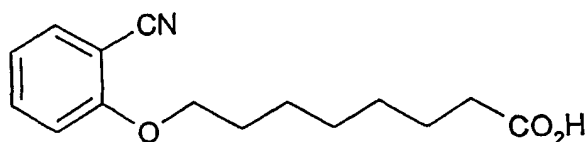
化合物 2



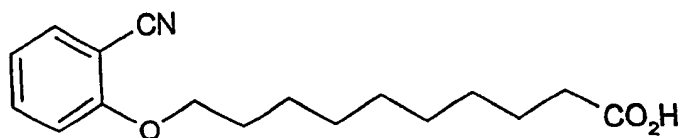
化合物 3



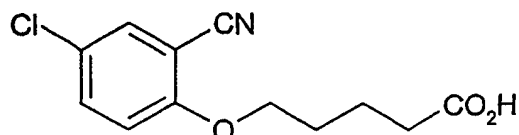
化合物 4



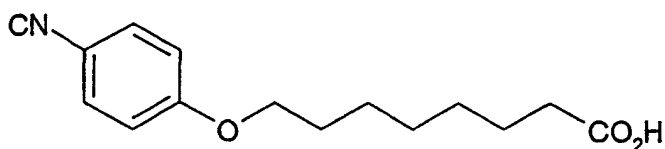
化合物 5



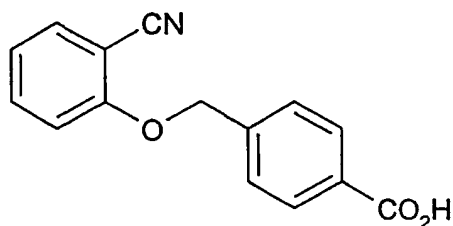
化合物 6



化合物 7



化合物 8



化合物 9

及其盐或其混合物。

本发明还提供了含有至少一种上述结构式的活性剂递送化合物和至少一种活性剂的组合物。这些组合物将活性剂递送到被选定的生物系统从而使得对活性剂的生物利用率与在没有活性剂递送化合物存在的条件下施用活性剂的生物利用率相比得到了提高或改善。

还提供了含有所述组合物的单位剂型。该单位剂型可以是液体或固体剂型，该固体剂型例如是片剂、胶囊或包括粉剂或小药囊在内的粒剂。

另一个实施方案是一种对需要所述活性剂的动物施用活性剂的方法，该方法是对所述动物施用一种含有至少一种上述活性剂递送化合物和所述活性剂的组合物。优选的给药途径包括口服、结肠内和肺部

给药途径。

另一个实施方案是一种通过施用有效量的本发明组合物对需要治疗的动物进行疾病治疗或使所述动物获得所需生理学效应的方法。

另一个实施方案是一种通过将至少一种上述活性剂递送化合物与至少一种活性剂进行混合来制备本发明组合物的方法。

本发明的详述

活性剂递送化合物

本文中使用的术语“烷基”和“链烯基”分别包括直链和支链烷基和链烯基取代基。

活性剂递送化合物可以是羧酸或其盐的形式。合适的盐包括，但不限于，有机盐 and 无机盐，例如碱金属盐如钠、钾和锂盐；碱土金属盐如镁、钙或钡盐；铵盐；碱性氨基酸，如赖氨酸或精氨酸；和有机胺，如二甲胺或吡啶。优选地，所述盐是钠盐。所述盐可以是单-或多价盐，如单钠盐和二钠盐。所述盐还可以是包括乙醇溶剂化物在内的溶剂化物和水合物。

本发明活性剂递送化合物的盐可以通过本技术领域已知的方法来制备。例如，钠盐可以通过将活性剂递送化合物溶解在乙醇中并加入氢氧化钠水溶液来制备。

此外，可以使用含有一种或多种所述活性剂递送化合物的聚氨基酸和肽。

氨基酸是任何含有至少一个游离氨基的羧酸而且包括天然氨基酸和合成氨基酸。聚氨基酸既可以是肽(通过肽键连接的两个或多个氨基酸)也可以是通过其它基团所形成的键连接的两个或多个氨基酸，所述其它基团可以通过例如酯键或酞键进行连接。肽的长度变化范围是由具有两个氨基酸的二肽到具有几百个氨基酸的多肽。可以对一个或多个氨基酸或肽单位进行酰化或磺化。

本文所记载的化合物可以来源于氨基酸并且可以方便地由氨基酸

来制备，制备是通过本申请公开内容所涉及技术领域中的技术人员所掌握的方法和公开号为 WO 96/30036 和 WO 97/36480 的国际专利申请和专利号为 US5,643,957 和 US5,650,386 的美国专利中记载的方法来进行的。例如，所述活性剂递送化合物可以通过使单个氨基酸与适当的酰化剂或胺改性剂发生反应来制备，所述酰化剂或胺改性剂与氨基酸中的游离氨基部分发生反应从而生成酰胺。可以采用保护基团来避免不希望有的副反应，这是本技术领域技术人员已知的。对于所使用的保护基团，可以参考 T. W. Greene, 有机合成中的保护基团(Protecting Groups in Organic Synthesis), Wiley, 纽约(1981), 该文献所公开的内容被本文引入作为参考。

可以通过重结晶或通过利用一种或多种固相色谱载体（单独的或串联连接的进行的分级分离来纯化所述的活性剂递送化合物。合适的重结晶溶剂系统包括，但不限于乙醇、水、庚烷、乙酸乙酯、乙腈、甲醇、四氢呋喃及其混合物。分级分离可以通过以下方式进行：采用一种合适的色谱载体如氧化铝，以甲醇/正-丙醇混合物作为流动相；以三氟乙酸/乙腈混合物作为流动相的反相色谱；和以水或合适的缓冲液作为流动相的离子交换色谱。当进行阴离子交换色谱时，优选地采用一种 0-500mM 的氯化钠梯度溶液。

所述活性剂递送化合物可以含有一种通过选自 -NHC(O)NH-, -C(O)NH-, -NHC(O), -OOC-, -COO-, -NHC(O)O-, -OC(O)NH-, -CH₂NH-NHCH₂-, -CH₂NHC(O)O-, -OC(O)NHCH₂-, -CH₂NHCOCH₂O-, -OCH₂C(O)NHCH₂-, -NHC(O)CH₂O-, -OCH₂C(O)NH-, -NH-, -O- 的一个键合基团和碳-碳键与其连接的聚合物。在一个优选的实施方案中，所述聚合递送剂不是多肽也不是聚氨基酸。所述聚合物可以是包括能够安全用于哺乳动物的交替共聚物、嵌段共聚物和无规共聚物在内的任何聚合物，但所述聚合物不限于这些共聚物。优选的聚合物包括，但不限于聚乙烯；聚丙烯酸酯；聚甲基丙烯酸酯；聚(氧乙烯)；聚丙烯；聚丙二醇；聚乙二醇(PEG)及其衍生物和其组合。所述聚合物的分子量范围通常是约 100 至约 200,000

道尔顿。所述聚合物的优选分子量范围通常是约 200 至约 10,000 道尔顿。在一个实施方案中，所述聚合物的分子量范围是约 200 至约 600 道尔顿以及更优选的范围是约 300 至约 550 道尔顿。

活性剂

适用于本发明的活性剂包括生物活性剂和化学活性剂，该活性剂包括但不限于农药、药剂和治疗剂。合适的活性剂包括那些在胃肠道内因酸解、酶等的作用而变得不太有效、无效或被破坏的活性剂。作为合适的活性剂还包括那些大分子活性剂，该大分子活性剂的生化特性如大小、结构或带电性阻止或阻碍口服给药时的吸收。

例如，适用于本发明的生物或化学活性剂包括，但不限于蛋白质；多肽；肽；激素；多糖，而且特别是粘多糖的混合物；碳水化合物；脂质；极性有机小分子(即分子量为 500 道尔顿或低于 500 道尔顿的极性有机分子)；其它有机化合物；以及尤其是本身不能透过(或只能透过一部分给药剂量)胃肠道粘膜和/或易被胃肠道中的酸和酶化学裂解的化合物；或其任意组合。

其它实例包括，但不限于下列包括合成、天然或重组来源在内的物质：包括人生长激素(hGH)、重组人生长激素(rhGH)、牛生长激素和猪生长激素在内的生长激素；生长激素释放激素；生长激素释放因子，即包括 α 、 β 和 γ 在内的干扰素；白介素-1；白介素-2；胰岛素，包括猪、牛、人和人重组在内的，任选地带带有包括锌、钠、钙和铵在内的反荷离子的胰岛素；包括 IGF-1 在内的胰岛素样生长因子；肝素，包括未经分级分离的肝素、磺酸脂粘多糖、皮肤素、软骨素、低分子量的肝素、分子量非常低的肝素和超低分子量的肝素；包括鲑鱼、鳎鱼、猪和人降钙素在内的降钙素；红细胞生成素；心房钠尿肽；抗原；单克隆抗体；促生长素抑制素；蛋白酶抑制剂；促皮质素、促性腺素释放激素；催产素；促黄体生成激素释放激素；促卵泡激素；葡糖脑苷脂酶；血小板生成素；非尔司啉；前列腺素；环孢菌素；后叶加压素；色甘酸钠(色甘酸钠或二钠)；万古霉素；去铁敏(DFO)；双膦酸盐，

包括阿仑特罗、替鲁膦酸盐(tiludronate)、依替膦酸盐(etidronate)、氯屈膦酸盐、氨羟二磷酸二钠、奥帕膦酸盐(olpadronate)和英卡膦酸盐;甲状旁腺素(PTH), 包括其片段; 包括抗生素、抗细菌剂和抗真菌剂在内的抗微生物剂; 维生素; 这些化合物的类似物、片段、模拟物或经聚乙二醇(PEG)-修饰的衍生物; 或其任意组合。抗生素的非限制性实例包括革兰氏阳性作用的、杀菌的、脂肽的和环肽的抗生素, 如达托霉素及其类似物。

递送系统

本发明的组合物含有一种或多种本发明的活性剂递送化合物(包括它们的盐和聚合衍生物)和一种或多种活性剂。在一个实施方案中, 一种或多种活性剂递送化合物、或这些化合物的盐、或由这些化合物或其盐形成一个或多个单元的聚氨基酸或肽通过给药前与所述活性剂进行混合从而形成一种药物组合物而被用作递送剂。

所述药物组合物可以是液体形式的。该溶液的介质可以是水(例如, 用于鲑降钙素、甲状旁腺素和红细胞生成素), 25%的聚乙二醇水溶液(例如用于肝素)和磷酸盐缓冲液(例如用于 rhGH)。其它给药载体包括聚乙二醇。即将给药之前通过混合活性剂递送化合物溶液与活性剂溶液来制备给药溶液。或者, 可以将活性剂递送化合物(或活性剂)的溶液与固体形式的活性剂(或活性剂递送化合物)混合。所述活性剂递送化合物和所述活性剂还可以以干粉的形式进行混合。所述活性剂递送化合物和所述活性剂还可以在制备过程中进行混合。

所述给药溶液可以任选地含有添加剂如磷酸盐缓冲盐水、柠檬酸、二醇类或其它分散剂。可以将稳定剂添加到所述的溶液中, 优选地以约 0.1 至 20% (w/v) 的浓度范围进行添加。

所述药物组合物可以任选地是固体剂型如片剂、胶囊或粒剂如粉剂或小药囊。固体剂型可以通过混合固体形式的活性剂递送化合物和固体形式的活性剂来进行制备。或者, 通过本技术领域已知的方法如冻干(冷冻干燥)、沉淀、结晶和固态分散来从活性剂递送化合物和活

性剂的溶液中获得固体。

本发明的药物组合物还可以包括一种或多种酶抑制剂。该酶抑制剂包括，但不限于化合物如放线酰胺素或表放线酰胺素(epiactinonin)及其衍生物。其它的酶抑制剂包括，但不限于抑肽素(抑肽酶)和Bowman-Birk抑制剂。

本发明的药物组合物中的活性剂用量是一种能够实现特定活性剂用于防治适应症目的的有效量。所述组合物中的活性剂的用量通常是药理学有效量、生物学有效量、治疗有效量或化学有效量。然而，所述用量可以低于所述组合物以单位剂型使用时的用量，这是由于所述单位剂型可以含有多种活性剂递送化合物/活性剂组合物或者可以含有分开的药理学有效量、生物学有效量、治疗有效量或化学有效量。然后可以以累积单位进行总有效量的给药，所述累积单位总体上含有有效量的活性剂。

所用活性剂的总量可以通过本领域技术人员已知的方法来确定。然而，由于本发明的组合物能比只含活性剂的组合物更有效地递送活性剂，所以对受治疗者施用生物或化学活性剂的量可以低于现有技术中使用的单位剂型或递送系统中的量，而仍然能够达到相同的血药浓度和/或疗效。

本发明公开的活性剂递送化合物有利于生物和化学活性剂的递送，尤其有利于生物和化学活性剂在口服、鼻内、舌下、十二指肠内的、皮下、颊部、结肠内、直肠、阴道、粘膜、肺部、经皮的、皮内的、肠胃外、静脉内、肌内和眼睛系统中的递送，以及有利于生物和化学活性剂透过血脑屏障。

单位剂型还可包括赋形剂、稀释剂、崩解剂、润滑剂、成形剂、着色剂、矫味剂、掩味剂、糖、甜味剂、盐和药剂载体中的任何一种或其任意组合，其中所述药剂载体包括，但不限于水、1,2-丙二醇、乙醇、橄榄油，或其任意组合。

本发明的化合物和组合物可用于对任何动物施用生物或化学活性剂，所述动物包括，但不限于鸟类如小鸡；哺乳动物如啮齿动物、牛、

猪、狗、猫、灵长类并且尤其是人；和昆虫。

所述系统特别有利于递送化学或生物活性剂，否则化学或生物活性剂在其被施用的动物体内在该活性剂到达其目标区域(即所述递送组合物中的活性剂有待释放的区域)之前就会遭受到所遇环境的破坏或者被降低了效力。尤其是，本发明的所述活性剂递送化合物和组合物适用于活性剂的口服给药，尤其是适用于那些通常不能进行口服给药的活性剂的口服给药，或者适用于那些需要改善其药用效果的活性剂的口服给药。

含有活性剂递送化合物和活性剂的组合物适用于将活性剂递送到被选择的生物系统中，而且与施用没有递送剂的活性剂相比，所述活性剂的生物利用率得到了提高或改善。可以通过在一段时间内递送更多的活性剂，或在特定时间段内递送活性剂(例如进行快速或延迟递送)，或者在特定时间或在一段时间内递送活性剂(例如持续递送)来提高递送效果。

本发明的另一个实施方案是一种通过在动物体内施用本发明的组合物来治疗或预防疾病或获得所需生理学效应的方法，所述疾病或生理学效应如下表所示。活性剂的特定适应症可以在 Physicians' Desk Reference(第 54 版，2000，Medical Economics Company, Inc., Montvale, NJ)中找到，该参考资料被引入本文作为参考。下表中所列的活性剂包括它们的类似物、片段、模拟物和被聚乙二醇修饰的衍生物。

活性剂	疾病和生理学效应
生长激素	生长障碍
干扰素, 包括 α 、 β 和 γ	病毒感染, 包括慢性癌症和多发性硬化症
白介素-1; 白介素-2	病毒感染; 癌症
胰岛素; 胰岛素样生长因子 IGF-1	糖尿病
肝素	血栓形成; 血液凝固的预防
降钙素	骨质疏松; 骨疾病
红细胞生成素	贫血
心房钠尿肽	血管舒张
抗原	感染
单克隆抗体	防止移植排斥; 癌症
促生长素抑制素	出血性溃疡; 侵蚀性胃炎
蛋白酶抑制剂	AIDS
促皮质素	高胆固醇(降低胆固醇)
促性腺素释放激素	排卵功能紊乱(刺激排卵)
催产素	分娩功能障碍(刺激宫缩)
促黄体生成激素释放激素; 促卵泡激素	调节生殖机能
葡糖脑苷脂酶	高歇氏病(代谢脂蛋白)
血小板生成素	血小板减少症
非尔司啉	减少化疗患者的感染
前列腺素	高血压
环孢菌素	移植排斥
后叶加压素	遗尿; 抗利尿药
色甘酸钠; 万古霉素	哮喘; 过敏反应
去铁敏(DFO)	铁超负荷
甲状旁腺素(PTH), 包括其片段	骨质疏松症; 骨疾病
抗微生物剂	包括革兰氏阳性菌感染在内的感染
维生素	维生素缺乏
双膦酸盐	骨质疏松症; 佩吉特氏病; 抑制破骨细胞

例如，本发明的一个实施方案是一种通过施用胰岛素和至少一种本发明的活性剂递送化合物来对患有或易患糖尿病的患者进行治疗的方法。

给药后，存在于所述组合物或单位剂型中的活性剂被吸收进入循环系统中。通过测定血液中的一种已知药理学活性来迅速评估所述活性剂的生物利用率，所述药理学活性例如是由肝素引起的血液凝固时间的延长，或由降钙素引起的循环钙水平的降低。或者，可以直接测定所述活性剂本身的循环水平。

具体实施方式

下列实施例非限制性地阐明了本发明。除另有说明外，所有成分以重量表示。

除了另有说明外，针对下列化合物的质子核磁共振(^1H NMR)分析是通过利用 300 MHz Bruker 光谱计以二甲亚砜(DMSO-d_6)作为溶剂来进行的。

实施例 1-化合物的制备

1a: 化合物 1 的制备

向一个装配了一个回流冷凝器，磁力搅拌棒和一个氮气进口的 3-颈 300 mL 圆底烧瓶中加入 5 g (1 当量)的 2-羟基苄腈、150 mL 的纯乙醇和 15.7 mL (1 当量)的乙醇钠。将该混合物在 25°C 下搅拌 15 分钟。然后在 10 分钟内滴加溴乙酸乙酯(4.6 mL, 1 当量)。将所得到的混合物加热至回流(75°C)并持续 72 小时。

将所述反应混合物冷却并滤出固体。利用旋转蒸发器将溶剂除去。将粗制剩余物溶解在二氯甲烷(250 mL)中并用饱和 NaHCO_3 (3 x 100 mL)、 H_2O (1 x 100 mL)和盐水(1 x 50 mL)冲洗。将有机相进行干燥从而产生粗制酯。将该粗制物质溶解在乙醇(150 mL)和水(10 mL)中。加入 LiOH (4 g)并将所得到的混合物加热至回流(75°C)并持续 3 小时。冷

却该溶液并除去溶剂。加入 100 mL 的 H_2O 并用浓盐酸将该水溶液酸化到 pH 2 左右。在 4℃ 的冰箱中冷却该溶液。沉淀出一种黄褐色固体。通过真空过滤收集所述固体物质并在高真空度下干燥过夜从而产生 6.71 g 的产物, 3-(2-氰基苯氧基)乙酸(90 %的产率)。熔点: 179-181℃。分子式: $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}_3$ 。燃烧分析: % C : 61.02 (计算值), 60.69 (实测值); % H : 3.98 (计算值), 3.98 (实测值); % N : 7.91 (计算值), 7.66 (实测值)。

1b: 化合物 2 的制备

向一个装配了一个回流冷凝器, 磁力搅拌棒和一个氮气进口的 3-颈 300 mL 圆底烧瓶中加入 5 g (1 当量)的 2-羟基苄腈、150 mL 的纯乙醇和 15.7 mL (1 当量)的乙醇钠。将该混合物在 25℃ 下搅拌 15 分钟。然后在 10 分钟内滴加 4-溴丁酸乙酯(6.0 mL, 1 当量)。将所得到的混合物加热至回流(75℃)并持续 72 小时。

将所述反应混合物冷却并滤出固体。利用旋转蒸发器将溶剂除去。将粗制剩余物溶解在二氯甲烷(300 mL)中并用饱和 NaHCO_3 (2 x 100 mL)、 H_2O (1 x 100 mL)和盐水(1 x 50 mL)冲洗。将有机相进行干燥从而产生粗制酯。将该粗制物质溶解在乙醇(150 mL)和水(10 mL)中。加入 LiOH (5 g)并将所得到的混合物加热至回流(75℃)并持续 3 小时。冷却该溶液并除去溶剂。加入 75 mL 的 H_2O 并用浓盐酸将该水溶液酸化到 pH 2 左右。在 4℃ 的冰箱中冷却该溶液。沉淀出一种黄褐色固体。通过真空过滤收集所述固体物质并在高真空度下干燥过夜从而得到产物, 4-(2-氰基苯氧基)丁酸(71 %的产率)。熔点: 127-128℃。分子式: $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{NO}_3$ 。燃烧分析: % C : 64.38 (计算值), 64.01 (实测值); % H : 5.4 (计算值), 5.2 (实测值); % N : 6.83 (计算值), 6.74 (实测值)。

1c: 化合物 3 的制备

向一个装配了一个回流冷凝器, 磁力搅拌棒和一个氮气进口的 3-颈 300 mL 圆底烧瓶中加入 4 g (1 当量)的 2-羟基苄腈、150 mL 的纯乙醇和 12.5 mL (1 当量)的乙醇钠。将该混合物在 25℃ 下搅拌 15 分钟。

然后在 10 分钟内滴加 5-溴戊酸乙酯(5.3 mL, 1 当量)。将所得到的混合物加热至回流(80℃)并持续 72 小时。

将所述反应混合物冷却并滤出固体。利用旋转蒸发器将溶剂除去。将粗制剩余物溶解在二氯甲烷(200 mL)中并用饱和 NaHCO₃ (2 x 100 mL)、H₂O(1 x 50 mL)和盐水(1 x 50 mL)冲洗。将有机相进行干燥从而产生粗制酯。将该粗制物质溶解在乙醇(150 mL)和水(10 mL)中。加入 LiOH (3.5 g)并将所得到的混合物加热至回流(80℃)并持续 3 小时。冷却该溶液并除去溶剂。加入 75 mL 的 H₂O 并用浓盐酸将该水溶液酸化到 pH 2 左右。将烧瓶在 4℃ 的冰箱中放置 4 小时进行冷却。沉淀出一种黄褐色固体。通过真空过滤收集所述固体物质并在高真空度下干燥过夜从而产生 6.2 g 的物质(84 %的产率)。通过利用乙酸乙酯/己烷(约 95/5)进行重结晶使得该物质得到进一步的纯化从而产生 5.3 g 的 5-(2-氰基苯氧基)戊酸。熔点: 87-89℃。燃烧分析: % C : 65.74 (计算值), 65.52 (实测值); % H : 5.98 (计算值), 5.86 (实测值); % N : 6.39 (计算值), 6.38 (实测值)。¹H NMR 分析: (d₆-DMSO) : δ 12.0, s, 1H (COOH); δ 7.73-7.62, m, 2H (与 CN 邻位和对位的芳香 CH); δ 7.25, d, 1H, J = 8.5 Hz (与 OR 对位的芳香 CH); δ 7.10, dt, 1H, J = 0.7 和 6.8 Hz (与 OR 对位的芳香 CH); δ 4.16, t, 2H, J = 7.5 Hz (相对 O 在 α 位上的 CH₂); δ 2.33, t, 2H, J = 7.2 Hz (相对 COOH 在 α 位上的 CH₂); δ 1.80-1.64, m, 4H (剩余脂族 CH₂)。

1d: 化合物 4 的制备

向一个装配了一个回流冷凝器, 磁力搅拌棒和一个氮气进口的 3-颈 300 mL 圆底烧瓶中加入 5 g (1 当量)的 2-羟基苄腈、150 mL 的纯乙醇和 15.7 mL (1 当量)的乙醇钠。将该混合物在 25℃ 下搅拌 15 分钟。然后在 10 分钟内滴加 6-溴己酸乙酯(7.5 mL, 1 当量)。将所得到的混合物加热至回流(75℃)并持续 72 小时。

将所述反应混合物冷却并滤出固体。利用旋转蒸发器将溶剂除去。将粗制剩余物溶解在二氯甲烷(300 mL)中并用饱和 NaHCO₃ (3 x 100

mL)、H₂O(1 x 100 mL)和盐水(1 x 100 mL)冲洗。将有机相进行干燥从而产生粗制酯。将该粗制物质溶解在乙醇(150 mL)和水(15 mL)中。加入 LiOH (7 g)并将所得到的混合物加热至回流(75℃)并持续 2 小时。冷却该溶液并除去溶剂。加入 125 mL 的 H₂O 并用浓盐酸将该水溶液酸化到 pH 2 左右。在 4℃ 的冰箱中冷却该溶液。沉淀出一种黄褐色固体。通过真空过滤收集所述固体物质并在高真空度下干燥过夜从而产生粗制酸。通过利用乙酸乙酯/己烷(约 95/5)进行重结晶使得该物质得到进一步的纯化从而产生 6.81 g 的 6-(2-氰基苯氧基)己酸 (70% 的产率)。熔点: 77-80℃。卡尔·费歇: 1.26% H₂O。含有 H₂O 的分子式: C₁₃H₁₅NO₃*0.1652。燃烧分析: % C : 66.09 (计算值), 66.19 (实测值); % H : 6.54 (计算值), 6.36 (实测值); % N : 5.93 (计算值), 5.9 (实测值)。¹H NMR 分析: (d₆-DMSO) : δ 12.0, s, 1H; δ 7.72-7.61, m, 2H; 7.25, d, 1H; 7.10, dt, 1H; 4.14, t, 2H; 2.26, t, 2H; 1.80-1.41, m, 6H。

1e: 化合物 5 的制备

向一个装配了一个回流冷凝器, 磁力搅拌棒和一个氮气进口的 3-颈 300 mL 圆底烧瓶中加入 10 g (1 当量)的 2-羟基苄腈、400 mL 的纯乙醇和 31.3 mL (1 当量)的乙醇钠。将该混合物在 25℃ 下搅拌 15 分钟。然后在 15 分钟内滴加 8-溴辛酸乙酯(21 g, 1 当量)。将所得到的混合物加热至回流(80℃)并持续 72 小时。

将所述反应混合物冷却并滤出固体。利用旋转蒸发器将溶剂除去。将粗制剩余物溶解在二氯甲烷(400 mL)中并用饱和 NaHCO₃ (3 x 100 mL)、漂白剂(1 x 100 mL)、H₂O(1 x 50 mL)和盐水(1 x 50 mL)冲洗。将有机相进行干燥从而产生粗制酯。将该粗制物质溶解在乙醇(200 mL)和水(20 mL)中。加入 LiOH (8.6 g)并将所得到的混合物加热至回流(80℃)并持续 3 小时。冷却该溶液并除去溶剂。加入 150 mL 的 H₂O 并用浓盐酸将该水溶液酸化到 pH 2 左右。将烧瓶在 4℃ 的冰箱中放置 4 小时进行冷却。沉淀出一种黄褐色固体。通过真空过滤收集所述固体物质并在高真空度下干燥过夜从而产生 18 g 的物质(74%的产率)。通过

利用乙酸乙酯/己烷(约 95/5)进行重结晶使得该物质得到进一步的纯化从而产生 15 g 的 8-(2-氟基苯氧基)辛酸。熔点: 83-85℃。卡尔·费歇: 1.1% H_2O 。分子式(含有 H_2O 的): $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_3 \cdot 0.1613 \text{H}_2\text{O}$ 。燃烧分析(包括 H_2O): % C : 68.19 (计算值), 68.53 (实测值); % H : 7.37 (计算值), 7.33 (实测值); % N : 5.30 (计算值), 5.34 (实测值)。 ^1H NMR 分析: (d_6 -DMSO) : δ 12.0, s, 1H (COOH); δ 7.71-7.60, m, 2H (与 CN 邻位和对位的芳香 CH); δ 7.23, d, 1H, $J = 8.4 \text{ Hz}$ (与 OR 邻位的芳香 CH); δ 7.10, dt, 1H, $J = 0.7$ 和 6.7 Hz (与 OR 邻位的芳香 CH); δ 4.13, t, 2H, $J = 6.4 \text{ Hz}$ (相对 O 在 α 位上的 CH_2); δ 2.22, t, 2H, $J = 7.3 \text{ Hz}$ (相对 COOH 在 α 位上的 CH_2); δ 1.73, m, 2H, (相对 O 在 α 位上的 CH_2); δ 1.52-1.28, m, 8H(剩余脂族 CH_2)。

1f. 化合物 6 的制备

向一个装配了一个回流冷凝器, 磁力搅拌棒和一个氮气进口的 3-颈 300 mL 圆底烧瓶中加入 4 g (1 当量)的 2-羟基苄腈、140 mL 的纯乙醇和 12.54 mL (1 当量)的乙醇钠。将该混合物在 25℃下搅拌 15 分钟。然后在 10 分钟内滴加 10-溴癸酸乙酯(9.4 g, 1 当量)。将所得到的混合物加热至回流(75℃)并持续 72 小时。

将所述反应混合物冷却并滤出固体。利用旋转蒸发器将溶剂除去。将粗制剩余物溶解在二氯甲烷(300 mL)中并用 1/2 饱和 NaHCO_3 (2 x 100 mL)、 H_2O (1 x 100 mL)和盐水(1 x 50 mL)冲洗。将有机相进行干燥从而产生 10 g 的粗制酯。将该粗制物质溶解在乙醇(100 mL)和水(20 mL)中。加入 LiOH (3.3 g)并将所得到的混合物加热至回流(75℃)并持续 3 小时。冷却该溶液并除去溶剂。加入 20 mL 的 H_2O 并用浓盐酸将该水溶液酸化到 pH 3 左右。将该溶液转移到 4℃的冰箱中进行冷却。沉淀出一种黄褐色固体。通过真空过滤收集所述固体物质并在高真空中干燥过夜从而产生粗制酸。通过利用乙酸乙酯/己烷(95/5)进行重结晶使得该固体物质得到进一步的纯化从而产生 7.1 g 的产物, 10-(2-氟基苯氧基)癸酸(78%的产率)。熔点: 82-84℃。含有水的分子式:

$C_{17}H_{23}NO_3 \cdot 0.0532$ 。燃烧分析：% C : 70.33 (计算值), 69.82 (实测值); % H : 8.02 (计算值), 7.89 (实测值); % N : 4.82 (计算值), 4.82(实测值)。

1g: 化合物 7 的制备

向一个装配了一个回流冷凝器, 磁力搅拌棒和一个氮气进口的 3-颈 300 mL 圆底烧瓶中加入 5 g (1 当量)的 2-羟基-5 氯苄腈、125 mL 的纯乙醇和 12.16 mL (1 当量)的乙醇钠。将该混合物在 25℃下搅拌 15 分钟。然后在 10 分钟内滴加 5-溴戊酸乙酯(5.2 mL, 1 当量)。将所得到的混合物加热至回流(75℃)并持续 72 小时。

将所述反应混合物冷却并滤出固体。利用旋转蒸发器将溶剂除去。将粗制剩余物溶解在二氯甲烷(200 mL)中并用饱和 $NaHCO_3$ (2 x 75 mL)、 H_2O (1 x 100 mL)和盐水(1 x 100 mL)冲洗。将该粗制物质溶解在乙醇(120 mL)和水(10 mL)中。加入 $LiOH$ (4 g)并将所得到的混合物加热至回流(75℃)并持续 1 小时, 然后在室温下搅拌过夜。蒸发掉溶剂并加入 75 mL 的 H_2O 。用浓盐酸将该水溶液酸化到 pH 3 左右并将烧瓶冷却到 4℃。沉淀出一种黄褐色固体。通过真空过滤收集该固体物质并在高真空度下干燥过夜从而产生粗制酸。通过利用乙酸乙酯/己烷(95/5)进行重结晶(重复三次)使得该固体物质得到进一步的纯化从而产生 2.88 g 的产物, 5-(4-氯-2-氰基苯氧基)戊酸(35%的产率)。熔点: 87-90℃。分子式: $C_{12}H_{12}ClNO_3$ 。燃烧分析：% C : 56.82 (计算值), 57.03 (实测值); % H : 4.77 (计算值), 4.71 (实测值); % N : 5.52 (计算值), 5.45(实测值); Cl 13.98 (计算值), 13.93 (实测值)。

1h: 化合物 8 的制备

向一个装配了一个回流冷凝器, 磁力搅拌棒和一个氮气进口的 3-颈 300 mL 圆底烧瓶中加入 5 g (1 当量)的 4-羟基苄腈、150 mL 的纯乙醇和 15.7 mL (1 当量)的乙醇钠。将该混合物在 25℃下搅拌 15 分钟。然后在 10 分钟内滴加 8-溴辛酸乙酯(10.5 g, 1 当量)。将所得到的混合

物加热至回流(75℃)并持续 72 小时。

将所述反应混合物冷却并滤出固体。利用旋转蒸发器将溶剂除去。将粗制剩余物溶解在二氯甲烷(200 mL)中并用饱和 NaHCO_3 (2 x 75 mL)、 H_2O (1 x 100 mL)和盐水(1 x 100 mL)冲洗。将该粗制物质溶解在乙醇(125 mL)和水(10 mL)中。加入 LiOH (5 g)并将所得到的混合物加热至回流(75℃)并持续 1 小时,然后在室温下搅拌过夜。蒸发掉溶剂并加入 75 mL 的 H_2O 。用浓盐酸将该水溶液酸化到 pH 3 左右并将烧瓶冷却到 4℃。沉淀出一种米色固体。通过真空过滤收集该固体物质并在高真空度下干燥过夜从而产生粗制酸。通过利用乙酸乙酯/己烷(95/5)然后再用氯仿进行重结晶使得该固体物质得到进一步的纯化从而产生 4.5 g 的产物, 8-(4-氟基苯氧基)辛酸(41%的产率)。熔点: 137-140℃。分子式: $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_3$ 。燃烧分析: % C : 68.94 (计算值), 68.57 (实测值); % H : 7.33 (计算值), 7.13 (实测值); % N : 5.36 (计算值), 5.28(实测值)。

1i: 化合物 9 的制备

在研钵中研磨氢氧化钾(15.02 g, 268.4 mmol)直至呈粉末状, 然后将其加到 125 mL 的锥形瓶中, 该锥形瓶装有 50 mL 的二甲亚砜(DMSO), 8 g (6.71 mmol)的 2 羟基苄腈和 12.59 g (7.38 mmol)的 4-(氯甲基)苯甲酸。在室温下搅拌反应 6 天。将蒸馏水(200 mL)加到褐色反应混合物中, 将得到的溶液冷却到 4℃。一旦冷却, 立即用浓 HCl 对该溶液进行酸化。通过利用 Buchner 漏斗进行真空过滤来收集产生的固体物质。利用乙酸乙酯重复进行重结晶来纯化所述固体物质从而产生 5.71 g 的产物, 4-(2-氟基苯氧甲基)苯甲酸。熔点: 199-203℃。燃烧分析: % C : 71.14 (计算值), 70.89 (实测值); % H : 4.38 (计算值), 4.35 (实测值); % N : 5.53 (计算值), 5.25 (实测值); ^1H NMR 分析: ($\text{d}_6\text{-DMSO}$): δ 8.0, d, 2H; δ 7.8, d, 1H ; δ 7.75, t, 1H ; δ 7.65, d, 2H; δ 7.4, d, 1H ; δ 7.2, t, 1H ; δ 5.44, s, 2H。

实施例 2

实施例 2A 肝素的口服和结肠内给药

在 25% 的含水丙二醇中制备含有活性剂递送化合物和肝素钠 USP 的经口管饲法(PO)和结肠内(IC)给药的溶液。既可以使用活性剂递送化合物的钠盐也可以用一当量的氢氧化钠将游离酸转化为钠盐。通常,通过涡动搅拌将干粉形式的活性剂递送化合物和肝素(约 166-182 IU/mg)混合起来。该干燥混合物被溶解在 25% v/v 的含水丙二醇中,进行涡动搅拌后被放置在超声波仪(约 37℃)中。用 NaOH 水溶液(2N)将 pH 调到约 7(6.5 至 8.5)。给药溶液被超声处理成一种清澈的溶液。将最终体积调到 3.0 mL。最终的活性剂递送化合物剂量、肝素剂量和体积剂量见下面的表 2。

以下给出了典型的给药和取样方案。体重为 275-350g 的 Sprague-Dawley 雄性大鼠被禁食 24 小时并在临给药前肌肉注射盐酸氯胺酮(88 mg/kg)进行麻醉。给用药组的五只大鼠施用一种给药溶液。为了进行经口管饲法(PO)给药,将一根 11 cm 的 Rusch 8 French 导管装配到一只带有吸管头的 1 mL 注射器上。通过导管抽吸所述溶液使注射器内充满给药溶液,然后擦干导管。将导管插到食管下同时使大鼠的切牙外留有 1 cm 的管长。通过推压所述注射器的活塞来施用溶液。为了进行结肠内(IC)给药,将一根 7.5 cm 的 8 fr Rusch 导管装配到一只带有吸管头的 1 mL 注射器上。将给药导管通过肛门插入结肠直到看不到管子为止。将给药溶液缓慢压送进结肠。

在施用了氯胺酮(88 mg/kg)以后,通常是在 0.25, 0.5, 临床诊断和处理 1.0 和 1.5 小时,通过心脏穿刺采集柠檬酸化血样。按照 Henry, J. B., 用实验室方法进行的临床诊断和处理(Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods), 费城, PA, W. B. Saunders (1979)中的方法通过利用部分凝血致活酶活化时间(APTT)来测定肝素活性。前面的研究表明基线值约为 20 秒。在每个时间点取由每组五只大鼠得到的结果的平均值。最大值见下表 2。

表 2. 肝素的口服和结肠内给药

化合物	给药方法	体积剂量 (ml/kg)	化合物剂 量(mg/kg)	肝素剂量 (mg/kg)	平均峰值 APTT(秒) ± SD
3	IC	200	25	1	16.23±1.23
3	经口	300	100	1	203.59±72.97
5	IC	50	25	1	80.22±45.70
5	经口	300	100	1	176.25±175.01

实施例 2B 重组人生长激素(rhGH)的经口给药

制备活性剂递送化合物和 rhGH 在磷酸盐缓冲液中的经口管饲法(PO)给药溶液。利用所述化合物的钠盐或通过将游离酸转化它的钠盐来制备所述活性剂递送化合物的溶液。通常,在磷酸盐缓冲液中制备所述活性剂递送化合物的溶液,然后进行搅拌,加入一当量的氢氧化钠(1.0 N)来制备钠盐。最终的给药溶液是通过将活性剂递送化合物与 rhGH 储液(15 mg rhGH/ml)混合并且稀释到所需的体积(通常为 3.0 ml)来制备的。所述活性剂递送化合物和 rhGH 的剂量见下表 3。

以下给出了典型的给药和取样方案。体重为 200-250g 的 Sprague-Dawley 雄性大鼠被禁食 24 小时并在给药前 15 分钟被施用了氯胺酮(44 mg/kg)和氯丙嗪(1.5 mg/kg)。给用药组的五只大鼠施用一种给药溶液。为了进行经口管饲法(PO)给药,将一根 11 cm 的 Rusch 8 French 导管装配到一只带有吸管头的 1 mL 注射器上。通过导管抽吸所述溶液使注射器内充满溶液,然后擦干导管。将导管插到食管下同时使大鼠的切牙外留有 1 cm 的管长。通过推压所述注射器的活塞来施用溶液。

在经口给药后,通常是在 0, 15, 30, 45, 60 和 90 分钟,从尾动脉连续采集血样。合并每一时间段采集的五个血样。血清 rhGH 浓度利用 rhGH 免疫测定试验试剂盒(购自 Genzyme Corporation Inc., 剑

桥, MA 的试剂盒 #K1F4015)来进行定量分析. 前面的研究表明基线值约为 0. 每组的最大浓度值见下表 3.

表 3. 对大鼠进行 rhGH 的经口给药

化合物	化合物剂量(mg/kg)	rhGH 剂量 (mg/kg)	体积剂量(ml/kg)	峰值 血清[rhGH] (ng/ml) $\pm$ SD(SE)
1	200	3	1	0
3	200	3	1	57.51 $\pm$ 60.97 (26.97)
4	200	3	1	11.52 $\pm$ 12.23
4	200	3	1	73.13 $\pm$ 73.69
9	200	3	1	57.53 $\pm$ 45.27 (20.24)

实施例 2c 色甘酸的经口给药

在去离子水中制备含有活性剂递送化合物和色甘酸、二钠盐(色甘酸)(购自圣路易斯的 Sigma 化学品公司(Sigma Chemicals of St. Louis, MO))的给药溶液。用一当量的氢氧化钠将游离酸形式的活性剂递送化合物转化为钠盐。对该混合物进行涡动搅拌后放置在超声波仪(约 37 °C)中。用 NaOH 水溶液将 pH 调到约 7 至 7.5。如果需要, 另外加入 NaOH 以便达到均一的溶解度和对 pH 进行再调节。对该混合物进行涡动搅拌从而得到均匀的溶液, 如果需要还可以进行超声波处理和加热。所述活性剂递送化合物溶液与来源于储液的色甘酸进行混合(去离子水中的色甘酸浓度为 175mg/ml, 如果需要, 用 NaOH 或 HCl 将 pH 调到约 7.0, 将用箔包裹的储液进行冷冻贮存, 在使用前进行解冻并加热到约 30 °C)。对该混合溶液进行涡动搅拌从而得到一种均匀的溶液, 如果需要, 还可以进行超声波处理和加热。用 NaOH 水溶液将 pH 调

到约 7 至 7.5。然后用水将该溶液稀释到所需的体积(通常是 2.0 ml)和浓度,而且在使用前用箔包裹好进行贮存。最终的活性剂递送化合物和色甘酸剂量和体积剂量见下表 4。

以下给出了典型的给药和取样方案。体重为 200-250g 的 Sprague-Dawley 雄性大鼠被禁食 24 小时并在给药前 15 分钟用氯胺酮(44 mg/kg)和氯丙嗪(1.5 mg/kg)进行麻醉并且当需要时再施用氯胺酮和氯丙嗪使大鼠一直保持麻醉状态。给用药组的五只大鼠施用一种给药溶液。将一根 11 cm 的 Rusch 8 French 导管装配到一只带有吸管头的 1 mL 注射器上。通过导管抽吸所述溶液使注射器内充满溶液,然后擦干导管。将导管插到食管下同时使大鼠的切牙外留有 1 cm 的管长。通过推压所述注射器的活塞来施用溶液。

在经口给药后,通常是在 0.25, 0.5, 1.0 和 1.5 小时,从尾动脉采集血样。通过 HPLC 测量血清中的色甘酸浓度。按照以下方式制备样品:在一个微量离心管中将 100 μ l 的血清与 100 μ l 的 3N HCl 和 300 μ l 的乙酸乙酯混合起来。将该管涡动搅拌 10 分钟然后以 10000 rpm 离心 10 分钟。将 200 μ l 的乙酸乙酯相转移到一个装有 67 μ l 0.1M 的磷酸盐缓冲液的微量离心管中。将该管涡动搅拌 10 分钟然后以 10000 rpm 离心 10 分钟。然后将磷酸盐缓冲液相转移到一个 HPLC 小瓶中然后进样进行 HPLC 分析(柱=Keystone Exsil Amino 150x2 mm i. d., 5 μ m, 100Å; 流动相= 35% 缓冲液(用 85% H₃PO₄ 将 pH 调节到 3.0 的 68 mM KH₂PO₄)/65%乙腈;进样体积= 10 μ l;流速= 0.30 ml/分钟;色甘酸滞留时间= 5.5 分钟;在 240 nm 处进行吸光度检测)。前面的研究表明基线值约为 0。在每个时间点取由每组五只大鼠得到的结果的平均值以及这些平均值的最大值(即血清色甘酸浓度的平均峰值)见下表 4。

表 4. 色甘酸的经口给药

化合物	化合物剂量 (mg/kg)	色甘酸剂量 (mg/kg)	体积剂量 (ml/kg)	峰值 血清[色甘酸] ($\mu\text{g/ml}$) $\pm$ SD(SE)
3	200	25	1	0.62 ± 0.29 (0.13)
4	200	25	1	0.82 ± 0.65 (0.29)
5	200	25	1	0.46 ± 0.22 (0.10)
9	200	25	1	0.40 ± 0.21 (0.10)

胰岛素-经口给药

在去离子水中制备活性剂递送化合物和人锌胰岛素(最小 26 IU/mg, 购自于 Calbiochem-Novabiochem Corp, La Jolla, CA)经口给药 (PO)的组合物。通常, 将 500 mg 的活性剂递送化合物加到 1.5 ml 的水中。通过向所得到的溶液中搅拌加入一当量的氢氧化钠将游离酸形式的活性剂递送化合物转化为钠盐。对所述溶液进行涡动搅拌, 然后进行加热(约 37°C)并进行超声处理。用 NaOH 或 HCl 将 pH 调节到约 7 至 8.5。如果需要, 另外加入 NaOH 从而达到均匀的溶解度以及将 pH 再调节到约 7 至 8.5。然后加入水使得总体剂达到约 2.4 ml 并进行涡动搅拌。将来源于胰岛素储液(由 0.5409 g 的胰岛素和 18 ml 的去离子水配制成 15 mg/ml 的储液, 用 HCl 和 NaOH 将 pH 调到 8.15 以及利用 40 ml 浓盐酸、25 ml 10N NaOH 和 50 ml 1N NaOH 得到澄清溶液)的约 1.25 mg 胰岛素加到溶液中并经倒置进行混合。该溶液可以被直接用于给药方案, 或者在给药前可以将该溶液放置到 37°C 的水浴中维持 1 小时。下表 5 中列出了最终活性剂递送化合物的剂量、胰岛

素的剂量和体积剂量。

以下给出了典型的给药和取样方案。体重为 200-250g 的 Sprague-Dawley 雄性大鼠被禁食 24 小时并在给药前 15 分钟被施用了氯胺酮(44 mg/kg)和氯丙嗪(1.5 mg/kg)并且当需要时再施用氯胺酮和氯丙嗪使大鼠一直保持麻醉状态。给用药组的五只大鼠施用一种给药溶液。为了经口给药, 将一根 11 cm 的 Rusch 8 French 导管装配到一只带有吸管头的 1 mL 注射器上。通过导管抽吸所述溶液使注射器内充满溶液, 然后擦干导管。将导管插到食管下同时使大鼠的切牙外留有 1 cm 的管长。通过推压所述注射器的活塞来施用溶液。

通常是在 15, 30, 60, 120 和 180 分钟, 从尾动脉连续采集血样。利用一种胰岛素 ELISA 试验试剂盒(购自 Diagnostic System Laboratories, Inc., Webster, TX 的试剂盒 #DSL-10-1600)测定血清中胰岛素的水平。为了优化灵敏度以及优化本方案所用样品的体积和浓度的标准曲线的线性范围而对标准方案进行改动。在每个时间点分别测定每个给药组中的五只动物各自的血清人胰岛素浓度($\mu\text{U}/\text{ml}$)。将每个时间点的五个值平均化并将结果绘制成血清胰岛素浓度相对时间的曲线。(前面的实验表明仅仅利用人胰岛素进行经口给药无可检测水平的人胰岛素存在)。最大值(峰值)和曲线下的面积(AUC)见下表 5。

表 5. 胰岛素的经口给药

活性剂递送 化合物号	活性剂递送 化合物剂量 (mg/kg)	胰岛素 剂量 (mg/kg)	体积剂量 (ml/kg)	平均峰值 血清人胰岛素
1	200	0.5	1.0	218.74 ± 361.02 (IU/ml ± SD)
2	200	0.5	1.0	595.45 ± 1123.42 (IU/ml ± SD)
2	200	0.5	1.0	22.88 ± 34.87 (μU/ml ± SD)
3	200	0.5	1.0	1.57 ± 3.44 (μU/ml ± SD)
3	200	0.5	1.0	338.67 ± 456.61 (μU/ml ± SD)
3	200	0.5	1.0	0.23 ± .60 (μU/ml ± SD)
3	200	0.5	1.0	267.53 ± 586.97 (μU/ml ± SD)
3	200	0.5	1.0	0.48 ± 1.18 (μU/ml ± SD)
3	200	0.5	1.0	89.53 ± 60.14 (μU/ml ± SD)
3	200	0.5	1.0	5.70 ± 4.04 (μU/ml ± SD)
3	200	0.5	1.0	18.24 ± 21.24 (μU/ml ± SD)
3	200	0.5	1.0	5.81 ± 6.96 (μU/ml ± SD)
3	200	0.5	1.0	222.74 ± 135.16 (μU/ml ± SD)
3	200	0.5	1.0	101.75 ± 79.39 (μU/ml ± SD)
4	200	0.5	1.0	559 ± 410 (μU/ml ± SD)
5	100	3	0.5	695.13 ± 921.15 (μU/ml ± SD)
5	200	0.5	0.5	669.40 ± 847.88 (μU/ml ± SD)
5	200	0.5	1.0	109.37 ± 119.44 (μU/ml ± SD)
5	200	0.5	1.0	185.76 ± 94.24 (μU/ml ± SD)
5	200	0.5	1.0	153.19 ± 114.61 (μU/ml ± SD)
5	200	0.5	1.0	323.76 ± 177.89 (μU/ml ± SD)
5	200	0.5	1.0	53.44 ± 39.90 (μU/ml ± SD)
5	200	0.5	1.0	99.83 ± 76.37 (μU/ml ± SD)
6	200	0.5	1.0	0.33 ± 0.69 (μU/ml ± SD)
6	200	0.5	1.0	1.99 ± 3.29 (μU/ml ± SD)
7	200	0.5	1.0	62.15 ± 56.42 (μU/ml ± SD)
7	200	0.5	1.0	91.22 ± 44.59 (μU/ml ± SD)
8	200	0.5	1.0	8.18 ± 5.01 (μU/ml ± SD)
9	200	0.5	1.0	443.31 ± 632.53 (μU/ml ± SD)

上文中提到的专利、专利申请、试验方法和出版物被本文全文引入作为参考。

根据以上的详细描述，本技术领域的技术人员可以对本发明进行多种改变。所有这些显而易见的改变全部被包括在后附的权利要求书的范围之内。