



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110612114 A

(43)申请公布日 2019.12.24

(21)申请号 201880028804.9

(22)申请日 2018.03.13

(30)优先权数据

62/470,478 2017.03.13 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.10.31

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/022182 2018.03.13

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/169954 EN 2018.09.20

(71)申请人 SDG公司

地址 美国俄亥俄州

(72)发明人 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 尚晓芹

(51)Int.Cl.

A61K 38/28(2006.01)

A61K 47/24(2006.01)

A61K 47/28(2006.01)

A61K 9/127(2006.01)

权利要求书4页 说明书26页 附图4页

(54)发明名称

具有增强的稳定性的基于脂质的纳米颗粒

(57)摘要

本发明提供了改善的基于脂质的纳米颗粒，其可以用于将治疗剂递送至患者，比如但不限于哺乳动物，比如但不限于人。在某些实施方式中，与现有技术教导的那些相比，本发明的纳米颗粒具有减小的聚集性质。

1. 一种包括基于脂质的纳米颗粒的组合物，

其中所述纳米颗粒被双极脂质膜包封，所述双极脂质膜包括胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (DSPC) 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)戊酰胺基)磷酸乙酯(生物素DHPE)，

其中所述膜进一步包括选自硬脂酰溶血磷脂酰胆碱和间甲酚的至少一种试剂；

其中所述膜包括选自以下% (w/w) 比率的胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱、间甲酚和生物素DHPE：

(a) 大约9.4:18.1:56.8:14.1:0.0:1.5；

(b) 大约7.7:15.0:58.6:0.0:17.4:1.3；和

(c) 大约8.4:16.2:47.5:7.6:19.0:1.3；

其中所述生物素-DHPE从所述纳米颗粒向外延伸；并且

其中所述纳米颗粒的尺寸在大约10nm至大约150nm范围内。

2. 根据权利要求1所述的组合物，其中治疗剂分散在所述纳米颗粒内。

3. 根据权利要求2所述的组合物，其中所述治疗剂共价结合至所述纳米颗粒。

4. 根据权利要求2所述的组合物，其中所述治疗剂未共价结合至所述纳米颗粒。

5. 根据权利要求2所述的组合物，其中所述治疗剂包括选自以下的至少一种：胰岛素、胰岛素类似物、干扰素、甲状旁腺激素、降钙素、5-羟色胺、5-羟色胺激动剂、5-羟色胺再摄取抑制剂、人体生长激素、GIP、抗GIP单克隆抗体、二甲双胍、溴隐亭、多巴胺、胰高血糖素、胰淀素和GLP-1。

6. 根据权利要求2所述的组合物，其中所述纳米颗粒悬浮在包括未分散在所述纳米颗粒内的游离溶解的治疗剂的水性溶液中。

7. 根据权利要求2所述的组合物，其中所述治疗剂是胰岛素。

8. 根据权利要求7所述的组合物，其中所述纳米颗粒分散的胰岛素和所述游离溶解的胰岛素独立地选自赖脯胰岛素、门冬胰岛素、常规胰岛素、甘精胰岛素、锌胰岛素、稀释锌人胰岛素悬浮液、低精蛋白胰岛素、缓冲常规人胰岛素、赖谷胰岛素、常规重组人胰岛素、重组低精蛋白人胰岛素、及其任意组合。

9. 根据权利要求2所述的组合物，进一步包括醋酸纤维素邻苯二甲酸酯，其至少部分地结合至分散在所述纳米颗粒内的所述治疗剂。

10. 根据权利要求2所述的组合物，进一步包括与分散在所述纳米颗粒内的所述治疗剂缔合的至少一种带电的有机分子，其中所述带电的有机分子是选自以下的至少一种：鱼精蛋白、聚赖氨酸、摩尔比为1:1:1的聚(arg-pro-thr)<sub>n</sub>、摩尔比为6:1的聚(DL-Ala-聚-L-lys)<sub>n</sub>、组蛋白、包含伯氨基的糖聚合物、具有伯氨基的多核苷酸、包含具有羧基(COO<sup>-</sup>)或巯基(S<sup>-</sup>)官能团的氨基酸残基的蛋白质、和酸性聚合物。

11. 一种制备权利要求1所述的基于脂质的纳米颗粒的方法，所述方法包括在水性系统中使胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、生物素-DHPE和所述至少一种试剂接触。

12. 根据权利要求11所述的方法，其中所述至少一种试剂是间甲酚，并且其在所述胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱——如果存在、和生物素-DHPE已在所述水性系统中接触之后被添加至所述水性系统。

13. 根据权利要求11所述的方法，其中所述纳米颗粒包括分散在其中的治疗剂。

14. 根据权利要求13所述的方法, 其中在所述水性系统中所述治疗剂、胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、至少一种试剂和生物素-DHPE同时接触。

15. 根据权利要求13所述的方法, 其中所述纳米颗粒在不存在所述治疗剂的情况下形成, 其中任选地所述纳米颗粒至少部分地被浓缩、纯化或分离, 并且其中所述治疗剂与所述纳米颗粒接触, 由此所述治疗剂的至少一部分分散在所述纳米颗粒内。

16. 一种用于治疗哺乳动物的疾病的方法, 所述方法包括将治疗有效量的权利要求2所述的组合物给药至需要其的哺乳动物。

17. 根据权利要求16所述的方法, 其中所述疾病是糖尿病并且所述治疗剂包括胰岛素。

18. 一种活化哺乳动物中肝糖原合酶的方法, 所述方法包括将治疗有效量的权利要求2所述的组合物给药至需要其的哺乳动物, 其中所述治疗剂包括胰岛素。

19. 根据权利要求18所述的方法, 其中所述哺乳动物患有糖尿病。

20. 一种包括基于脂质的纳米颗粒的组合物,

其中所述纳米颗粒被包含胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、两亲性脂质和肝细胞受体结合分子的双极脂质膜封装;

其中所述两亲性脂质包括选自以下的至少一种: 1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-[3-磷酸-rac-(1-甘油)]、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺-N-(琥珀酰)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸酯、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸酯、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸酯和1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱;

其中所述膜包括选自稳定剂和硬脂酰溶血磷脂酰胆碱的至少一种试剂;

其中所述稳定剂选自间甲酚、苯甲醇、4-羟基苯甲酸甲酯、硫柳汞和丁基化羟基甲苯(2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚), 并且其中, 如果存在, 所述膜中所述稳定剂在大约10%至大约25% (w/w) 范围内;

其中, 如果存在, 所述膜中所述硬脂酰溶血磷脂酰胆碱在大约5%至大约30% (w/w) 范围内;

其中所述至少一个肝细胞受体结合分子从所述纳米颗粒向外延伸; 并且

其中所述纳米颗粒的尺寸在大约10nm至大约150nm范围内。

21. 根据权利要求20所述的组合物, 其中治疗剂分散在所述纳米颗粒内。

22. 根据权利要求21所述的组合物, 其中所述治疗剂共价结合至所述纳米颗粒。

23. 根据权利要求21所述的组合物, 其中所述治疗剂未共价结合至所述纳米颗粒。

24. 根据权利要求21所述的组合物, 其中所述治疗剂包括选自以下的至少一种: 胰岛素、干扰素、甲状旁腺激素、降钙素、5-羟色胺、5-羟色胺激动剂、5-羟色胺再摄取抑制剂、人体生长激素、GIP、抗GIP单克隆抗体、二甲双胍、溴隐亭、多巴胺、胰高血糖素和GLP-1。

25. 根据权利要求21所述的组合物, 其中所述纳米颗粒悬浮在包括未分散在所述纳米颗粒内的游离溶解的治疗剂的水性溶液中。

26. 根据权利要求21所述的组合物, 其中所述治疗剂是胰岛素。

27. 根据权利要求26所述的组合物, 其中所述纳米颗粒分散的胰岛素和所述游离溶解的胰岛素独立地选自赖脯胰岛素、门冬胰岛素、常规胰岛素、甘精胰岛素、锌胰岛素、稀释锌人胰岛素悬浮液、低精蛋白胰岛素、缓冲常规人胰岛素、赖谷胰岛素、常规重组人胰岛素、重

组低精蛋白人胰岛素及其任意组合。

28. 根据权利要求20所述的组合物,其中所述两亲性脂质包括选自以下的至少一种:1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-[磷酸-rac-(1-甘油)]、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺和1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺-N-(琥珀酰)。

29. 根据权利要求20所述的组合物,其中所述肝细胞受体结合分子包括生物素。

30. 根据权利要求29所述的组合物,其中所述含生物素的肝细胞受体结合分子包括选自以下的至少一种:N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)生物素;磺酸基-NHS-生物素;N-羟基琥珀酰亚胺长链生物素;磺酸基-N-羟基琥珀酰亚胺长链生物素;D-生物素;生物胞素;磺酸基-N-羟基琥珀酰亚胺-S-S-生物素;生物素-BMCC;生物素-HPDP;碘乙酰基-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;p-氨基苯甲酰生物胞素三氟乙酸酯;p-重氮苯甲酰基生物胞素;生物素DHPE(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)戊酰胺基)磷酸乙酯);生物素-X-DHPE(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)戊酰胺基)六氨基)磷酸乙酯);12-((生物素基)胺基)十二烷酸;12-((生物素基)胺基)十二烷酸琥珀酰亚胺酯;S-生物素基同型半胱氨酸;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; $\alpha$ -(t-BOC)生物胞素;N-(生物素基)-N'-(碘乙酰基)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-亚砷;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-氨基苯甲酸钠盐;生物素2-N-乙酰基胺基-2-脱氧- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷;生物素- $\alpha$ -D-N-乙酰神经氨酸苷;生物素- $\alpha$ -L-岩藻糖苷;生物素乳酰-N-乙糖苷;生物素-路易斯A三糖;生物素-路易斯Y四糖;生物素- $\alpha$ -D-吡喃甘露糖苷;和生物素6-O-磷酸- $\alpha$ -D-吡喃甘露糖苷。

31. 根据权利要求29所述的组合物,其中所述含生物素的肝细胞受体结合分子包括选自生物素DHPE和生物素-X-DHPE的至少一种。

32. 根据权利要求20所述的组合物,进一步包括醋酸纤维素邻苯二甲酸酯,其至少部分地结合至分散在所述纳米颗粒内的所述治疗剂。

33. 根据权利要求21所述的组合物,进一步包括结合至分散在所述纳米颗粒内的所述治疗剂的至少一种带电的有机分子,其中所述带电的有机分子是选自以下的至少一种:鱼精蛋白、聚赖氨酸、摩尔比为1:1:1的聚(arg-pro-thr)<sub>n</sub>、摩尔比为6:1的聚(DL-Ala-聚-L-lys)<sub>n</sub>、组蛋白、包含伯氨基的糖聚合物、具有伯氨基的多核苷酸、包含具有羧基(COO-)或巯基(S-)官能团的氨基酸残基的蛋白质、和酸性聚合物。

34. 根据权利要求20所述的组合物,其中所述膜中所述胆固醇在大约5%至大约15%(w/w)的范围内。

35. 根据权利要求20所述的组合物,其中所述膜中所述磷酸二鲸蜡酯在大约10%至大约25%(w/w)的范围内。

36. 根据权利要求20所述的组合物,其中所述膜中所述DSPC在大约40%至大约75%(w/w)的范围内。

37. 根据权利要求20所述的组合物,其中所述膜中所述肝细胞受体结合分子在大约

0.5%至大约4% (w/w) 的范围内。

38. 根据权利要求20所述的组合物,其中所述膜中所述硬脂酰溶血磷脂酰胆碱的量是所述膜中所述DSPC的量的大约5%-30% (w/w)。

39. 根据权利要求20所述的组合物,其中所述膜包括以下的一种:

(a) 胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱、间甲酚和选自生物素DHPE和生物素-X-DHPE的至少一种;

(b) 胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、间甲酚、和选自生物素DHPE和生物素-X-DHPE的至少一种;以及

(c) 胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱和选自生物素DHPE和生物素-X-DHPE的至少一种。

40. 一种制备权利要求20所述的基于脂质的纳米颗粒的方法,所述方法包括在水性系统使胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、两亲性脂质、肝细胞受体结合分子和所述至少一种试剂接触。

41. 根据权利要求40所述的方法,其中所述至少一种试剂包括稳定剂,其在所述胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、两亲性脂质、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱——如果存在、和肝细胞受体结合分子已在所述水性系统中接触之后被添加至所述水性系统。

42. 根据权利要求40所述的方法,其中所述纳米颗粒包括分散在其中的治疗剂。

43. 根据权利要求42所述的方法,其中所述治疗剂、胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、两亲性脂质、肝细胞受体结合分子和所述至少一种试剂在所述水性系统中同时接触。

44. 根据权利要求42所述的方法,其中所述纳米颗粒在不存在所述治疗剂的情况下形成,其中任选地所述纳米颗粒至少部分地被浓缩、纯化或分离,并且其中所述治疗剂与所述纳米颗粒接触,由此所述治疗剂的至少一部分分散在所述纳米颗粒内。

45. 一种治疗哺乳动物的疾病的方法,所述方法包括将治疗有效量的权利要求21所述的组合物给药至需要其的哺乳动物。

46. 根据权利要求45所述的方法,其中所述疾病是糖尿病并且所述治疗剂包括胰岛素。

47. 一种活化哺乳动物中的肝糖原合酶的方法,所述方法包括将治疗有效量的权利要求21所述的组合物给药至需要其的哺乳动物,其中所述治疗剂包括胰岛素。

48. 根据权利要求47所述的方法,其中所述哺乳动物患有糖尿病。

## 具有增强的稳定性的基于脂质的纳米颗粒

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 根据35U.S.C. §119(e), 本申请要求2017年3月13日提交的美国临时专利申请号62/470,478的优先权, 在此通过引用以其全部并入本文。

### 背景技术

[0003] 直径小于大约100nm的磷脂纳米颗粒通常用作载体以改善活性药物成分(API), 比如肽和生物胺的体内递送。纳米颗粒的小颗粒尺寸(其与小型病毒的尺寸相当)使它们容易跨越膜屏障。进一步地, 纳米颗粒可以提供API至期望的细胞表面受体的快速且特异性的递送, 产生改善的药理作用和更低的API剂量需求。由于减少了向人体中不需要的组织递送API, 有针对性的API递送也导致较低的毒性。

[0004] 这种纳米颗粒的实例是肝递送囊泡(HDV), 其包括肝细胞靶向成分并且将API递送至肝受体。相反, 不含肝细胞靶向成分的纳米颗粒通常会在被称为Kupffer细胞的肝巨噬细胞中, 连同人体中其他巨噬细胞中积聚。

[0005] 包含I型和II型的糖尿病是影响全世界大量人群的病症。糖尿病管理包括使患者的血糖水平正常化, 并且可能需要每天多次注射基于胰岛素的产品。尽管市场上存在各种基于胰岛素的产品, 但是仍然需要可以在较宽的时间段内控制患者的血糖水平的新型含胰岛素的制剂。

[0006] 批准用于糖尿病治疗的大多数药物均包括胰岛素类似物, 该胰岛素类似物通常作为定时释放制剂经皮下给药。这种给药将胰岛素类似物释放至周围组织, 但通常不释放至肝脏。一方面, 适当的糖尿病治疗需要这样的基于胰岛素的制剂: 其中一部分剂量的胰岛素被在一天中释放至周围组织并且另一部分剂量的胰岛素被靶向用于肝递送。这种需求也扩展至其他治疗剂, 这些治疗剂的靶向肝递送具有有利的药理和/或治疗性质。

[0007] 因而, 在本领域中存在对于将治疗剂给药至患者使得治疗剂被递送至周围组织以及患者的肝脏的组合物和方法的未满足的需求。在非限制性实例中, 这种治疗剂包括胰岛素或其任何类似物, 其可以用于管理I型和II型糖尿病患者的血糖水平。本发明满足了该需求。

### 发明内容

[0008] 本发明提供了包括基于脂质的纳米颗粒的组合物。本发明进一步包括制备本发明的基于脂质的纳米颗粒的方法。本发明进一步提供了治疗哺乳动物的疾病的方法。本发明进一步提供了活化哺乳动物中的肝糖原合酶的方法。

[0009] 在某些实施方式中, 纳米颗粒被双极脂质膜包封。在其他实施方式中, 该膜包括胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、两亲性脂质和肝细胞受体结合分子。在又其他实施方式中, 两亲性脂质包括选自以下的至少一种: 1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-[3-磷酸-rac-(1-甘油)]、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺-N-(琥珀酰)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸酯、1,2-二

肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸酯、1,2-二棕榈酰-sn-甘油-3-磷酸酯和1,2-二棕榈酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱。在又其他实施方式中,膜包括选自稳定剂和硬脂酰溶血磷脂酰胆碱的至少一种试剂。在又其他实施方式中,稳定剂选自间甲酚、苯甲醇、4-羟基苯甲酸甲酯、硫柳汞和丁基化羟基甲苯(2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚)。在又其他实施方式中,膜中稳定剂在大约10%至大约25%(w/w)范围内。在又其他实施方式中,膜中硬脂酰溶血磷脂酰胆碱在大约5%至大约30%(w/w)的范围内。在又其他实施方式中,至少一个肝细胞受体结合分子从纳米颗粒向外延伸。在又其他实施方式中,纳米颗粒的尺寸在大约10nm至大约150nm的范围内。

[0010] 在某些实施方式中,纳米颗粒被双极脂质膜包封。在其他实施方式中,膜包括胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)、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)戊酰胺基)磷酸乙酯(生物素DHPE)。在又其他实施方式中,膜进一步包括选自硬脂酰溶血磷脂酰胆碱和间甲酚的至少一种试剂。在又其他实施方式中,膜包括选自以下%(w/w)比率的胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱、间甲酚和生物素DHPE:(a)大约9.4:18.1:56.8:14.1:0.0:1.5;(b)大约7.7:15.0:58.6:0.0:17.4:1.3;和(c)大约8.4:16.2:47.5:7.6:19.0:1.3。在又其他实施方式中,生物素-DHPE从纳米颗粒向外延伸。在又其他实施方式中,纳米颗粒的尺寸在大约10nm至大约150nm的范围内。

[0011] 在某些实施方式中,治疗剂分散在纳米颗粒内。在其他实施方式中,治疗剂共价结合至纳米颗粒。在又其他实施方式中,治疗剂不共价结合至纳米颗粒。在又其他实施方式中,纳米颗粒悬浮在包括未分散在纳米颗粒内的游离溶解的治疗剂的水性溶液中。在又其他实施方式中,治疗剂包括选自以下的至少一种:胰岛素、胰岛素类似物、干扰素、甲状旁腺激素、降钙素、5-羟色胺、5-羟色胺激动剂、5-羟色胺再摄取抑制剂、人体生长激素、GIP、抗GIP单克隆抗体、二甲双胍、溴隐亭、多巴胺、胰高血糖素、胰淀素和GLP-1。在又其他实施方式中,治疗剂是胰岛素。在又其他实施方式中,纳米颗粒-分散的胰岛素和游离溶解的胰岛素独立地选自赖脯胰岛素、门冬胰岛素、常规胰岛素、甘精胰岛素、锌胰岛素、稀释锌胰岛素悬浮液、低精蛋白胰岛素、常规人胰岛素缓冲液、赖谷胰岛素、常规重组人胰岛素、重组低精蛋白人胰岛素、及其任意组合。

[0012] 在某些实施方式中,两亲性脂质包括选自以下的至少一种:1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰-sn-甘油-3-[磷酸-rac-(1-甘油)]、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺和1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺-N-(琥珀酰)。

[0013] 在某些实施方式中,肝细胞受体结合分子包括生物素。

[0014] 在某些实施方式中,含生物素的肝细胞受体结合分子包括选自以下的至少一种:N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)生物素;磺酸基-NHS-生物素;N-羟基琥珀酰亚胺长链生物素;磺酸基-N-羟基琥珀酰亚胺长链生物素;D-生物素;生物胞素;磺酸基-N-羟基琥珀酰亚胺-S-S-生物素;生物素-BMCC;生物素-HPDP;碘乙酰基-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;p-氨基苯甲酰基生物胞素三氟乙酸酯;p-重氮苯甲酰基生物胞素;生物素DHPE(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)戊酰胺基)磷酸乙酯);生物素-X-DHPE(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)戊酰胺基)六氨基磷酸乙酯);12-((生物素基)氨基)十二烷酸;12-((生物素基)氨基)十二烷酸琥珀酰亚胺酯;S-生物素基同型半胱氨酸;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; $\alpha$ -(t-BOC)生物胞素;N-(生物素基)-N'-(碘乙酰基)乙二胺;DNP-X-生物胞素-X-SE;生物素-X-酰肼;盐酸降生物素胺(norbiotin amine hydrochloride);3-(N-马来酰亚胺基丙酰基)生物胞素;ARP;生物素-1-亚砷;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-氨基苯甲酸钠盐;生物素2-N-乙酰氨基-2-脱氧- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷;生物素- $\alpha$ -D-N-乙酰神经氨酸苷;生物素- $\alpha$ -L-岩藻糖苷;生物素乳酰-N-乙糖苷;生物素-路易斯A三糖;生物素-路易斯Y四糖;生物素- $\alpha$ -D-吡喃甘露糖苷;和生物素6-O-磷酸- $\alpha$ -D-吡喃甘露糖苷。在其他实施方式中,含生物素的肝细胞受体结合分子是生物素DHPE。在又其他实施方式中,含生物素的肝细胞受体结合分子是生物素-X-DHPE。在又其他实施方式中,含生物素的肝细胞受体结合分子包括选自生物素DHPE和生物素-X-DHPE的至少一种。

[0015] 在某些实施方式中,组合物进一步包括醋酸纤维素邻苯二甲酸酯,其至少部分地结合至分散在纳米颗粒内的治疗剂。

[0016] 在某些实施方式中,组合物进一步包括与分散在纳米颗粒内的治疗剂缔合的至少一种带电的有机分子,其中该带电的有机分子是选自以下的至少一种:鱼精蛋白、聚赖氨酸、摩尔比为1:1:1的聚(arg-pro-thr)<sub>n</sub>、摩尔比为6:1的聚(DL-Ala-聚-L-lys)<sub>n</sub>、组蛋白、包括伯氨基的糖聚合物、具有伯氨基的多核苷酸、包括具有羧基(COO<sup>-</sup>)或巯基(S<sup>-</sup>)官能团的氨基酸残基的蛋白质、和酸性聚合物。

[0017] 在某些实施方式中,膜中胆固醇在大约5%至大约15% (w/w) 的范围内。

[0018] 在某些实施方式中,膜中磷酸二鲸蜡酯在大约10%至大约25% (w/w) 的范围内。

[0019] 在某些实施方式中,膜中DSPC在大约40%至大约75% (w/w) 的范围内。

[0020] 在某些实施方式中,膜中肝细胞受体结合分子在大约0.5%至大约4% (w/w) 的范围内。

[0021] 在某些实施方式中,膜中硬脂酰溶血磷脂酰胆碱的量是膜中DSPC的量的大约5%-30% (w/w)。

[0022] 在某些实施方式中,膜包括胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱、间甲酚、和选自生物素DHPE和生物素-X-DHPE的至少一种。

[0023] 在某些实施方式中,膜包括胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、间甲酚、和选自生物素DHPE和生物素-X-DHPE的至少一种。

[0024] 在某些实施方式中,膜包括胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱、和选自生物素DHPE和生物素-X-DHPE的至少一种。

[0025] 在某些实施方式中,方法包括在水性系统中使胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、两亲性脂质、肝细胞受体结合分子和至少一种试剂接触。在其他实施方式中,方法包括在水性系统中使胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、生物素-DHPE和至少一种试剂接触。在又其他实施方式中,至少一种试剂包括稳定剂,其在胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、两亲性脂质、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱(如果存在)和肝细胞受体结合分子已在水性系统中接触之后被添加至水性系统。在又其他实施方式中,至少一种试剂是间甲酚并且在胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷



脂酰胆碱(如果存在)和生物素-DHPE已在水性系统中接触之后被添加至水性系统。在又其他实施方式中,纳米颗粒包括分散在其中的治疗剂。在又其他实施方式中,治疗剂、胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、两亲性脂质、肝细胞受体结合分子和至少一种试剂同时在水性系统中接触。在又其他实施方式中,治疗剂、胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、至少一种试剂和生物素-DHPE同时在水性系统中接触。在又其他实施方式中,纳米颗粒在不存在治疗剂的情况下形成,其中任选地将纳米颗粒至少部分地浓缩、纯化或分离,并且其中使治疗剂与纳米颗粒接触,由此至少一部分的治疗剂分散在纳米颗粒内。在又其他实施方式中,纳米颗粒包括分散在其中的治疗剂。

[0026] 在某些实施方式中,方法包括将治疗有效量的本发明的组合物给药至需要其的哺乳动物。在其他实施方式中,疾病是糖尿病并且治疗剂包括胰岛素。

[0027] 在某些实施方式中,方法包括将治疗有效量的本发明的组合物给药至需要其的哺乳动物,其中治疗剂包括胰岛素。在其他实施方式中,哺乳动物患有糖尿病。

## 附图说明

[0028] 为了说明本发明的目的,在附图中描绘了本发明的某些实施方式。然而,本发明不限于附图中描绘的实施方式的精确布置和工具。

[0029] 图1A-1B示出了包括本发明的非限制性的基于脂质的纳米颗粒的玻璃瓶的图像。图1A:绝大多数纳米颗粒由于其较小的尺寸(<100nm)在图像中是不可见的。可以被破坏的可见的纳米颗粒聚集体为大约1-3mm。图1B是图1A的选定部分的放大图。

[0030] 图2包括示出来自胰岛素缺乏症狗口服葡萄糖耐量测试的所选择的结果的图。将制剂A(-▲-)和B(-●-)与对照赖脯胰岛素(-■-) (0.125U/kg)进行比较。

[0031] 图3包括示出作为初始组合物中溶血卵磷脂(或溶血磷脂酰胆碱)%的函数的本发明的组合物中各种成分浓度(以mg/mL计)的图。该图示出了初始溶血卵磷脂浓度对组合物稳定性的影响。

[0032] 图4包括示出了作为总卵磷脂浓度的溶血卵磷脂%的函数的所形成的溶血卵磷脂(以mg/mL体积HDV计)的减少的图。该图示出了随着时间推移初始溶血卵磷脂浓度对溶血卵磷脂的产生的影响。

## 具体实施方式

[0033] 本发明部分地涉及改善的基于脂质的纳米颗粒,其可以用于将治疗剂递送至患者,比如但不限于哺乳动物,比如但不限于人类。在某些实施方式中,与现有技术教导的那些——比如但不限于美国专利申请号US20110135725和US20090087479中所描述的那些,其所有通过引起以其全部并入本文——相比,本发明的纳米颗粒具有降低的或最小的聚集性质。在其他实施方式中,与现有技术的纳米颗粒相比,本发明的纳米颗粒的降低的或最小的聚集性质改善了其稳定性和药物可开发性。

[0034] 在某些实施方式中,本发明的基于脂质的纳米颗粒被双极脂质膜限定和/或包封。在其他实施方式中,本发明的纳米颗粒包括肝细胞靶向化合物,其帮助将与纳米颗粒缔合的治疗剂和/或分散在纳米颗粒内的治疗剂递送至肝细胞。在又其他实施方式中,本发明的纳米颗粒是进一步包括“游离”治疗剂的组合物的一部分,该“游离”治疗剂不与纳米颗粒缔

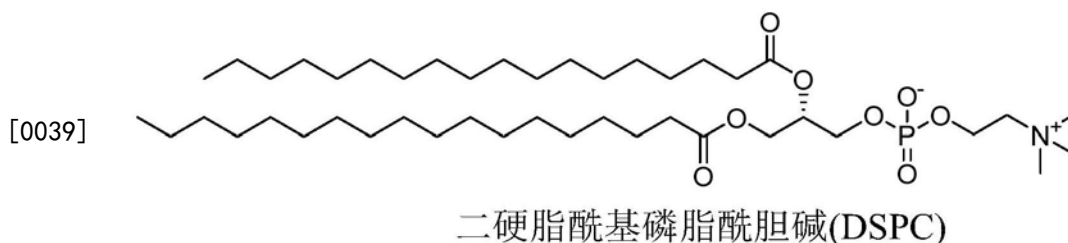
合,和/或不分散在纳米颗粒内。可以通过任何可兼容的和/或可行的途径,比如但不限于通过注射(比如,例如,皮下和/或经皮)、吸入、经颊和/或口服给药纳米颗粒和包括其的任何组合物,以便治疗从与纳米颗粒缔合和/或分散在纳米颗粒内的治疗剂,和/或不与纳米颗粒缔合和/或不分散在纳米颗粒内的“游离”治疗剂的给药而受益的患者。

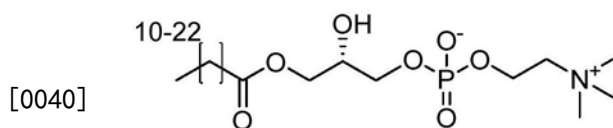
[0035] 脂质体通常包括形成限定和/或包封脂质体的双层膜的两亲性磷脂材料。它们可以具有单个膜(单层),或者具有微观洋葱状外观的多个双层。脂质体可能会很大,测量直径为若干微米。脂质体通常具有球形的(或接近球形的)形状,其中完整表面没有可用的“开放”边缘并且因而不能与其他可用的“开放”边缘脂质体(一种或多种)相互作用以经历颗粒聚集。

[0036] 相反,具有等于或小于大约200nm直径的磷脂纳米颗粒具有受限的弯曲成球形构型的能力,这原则上是其热力学稳定的结构。结果,这些低直径纳米颗粒不形成完美的球形颗粒,而是接近平面的片。不希望受任何理论的限制,那些接近平面的片可以描述为“纳米盘(nanodisc)”或“纳米飞盘(nanoFrisbee)”或“双细胞(bicell)”。这种纳米颗粒在其膜中具有“开放的”边缘,并且这些“边缘”充当可以促进纳米颗粒聚集的粘性点。结果,在许多情况下,纳米颗粒生成为离散颗粒,其然后继续聚集成更大的、易于看见的(细小的或羽毛状的)漂浮颗粒。这种现象可能阻碍低直径纳米颗粒作为药物递送剂的可开发性。在某些实施方式中,与脂质体的情况不同,API不携带在双细胞(或其内)的核心体积中。在其他实施方式中,API通过纯物理相互作用或共价键附连和/或结合至双细胞的膜表面。一方面,本发明解决了这个问题,提供了允许封闭接近平面的片(纳米盘和/或纳米飞盘)的“开放的”边缘并且因而最小化或抑制它们的自聚集的趋势的组合物和方法。

[0037] 如本文所描述,本发明的基于脂质的纳米颗粒可用作药物载体,并且不形成本文其他各处描述的细小的、羽毛状的结构。在某些实施方式中,本发明的纳米颗粒包括某些两亲性脂质和/或某些有机分子,其能够以防止纳米颗粒聚集的方式改变平面纳米颗粒膜的“开放的”边缘。

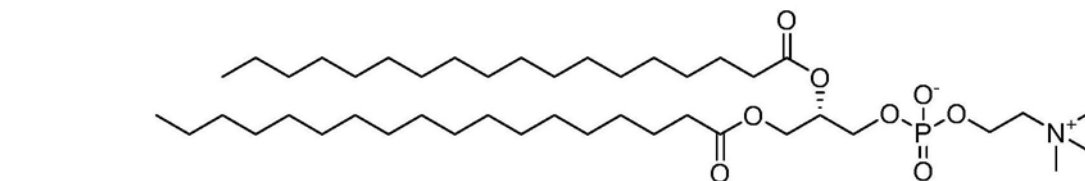
[0038] 在某些实施方式中,通过用C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>酰基溶血磷脂酰胆碱[也被称为C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>酰基溶血卵磷脂、或1-(C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>酰基)-sn-甘油-3-磷酸胆碱、或(S)-2-羟基-3-(C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>酰氧基)丙基(2-(三甲基铵基)乙基)磷酸酯,其包括共价键合至甘油主链的单个C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>酰基]取代二硬脂酰基磷脂酰胆碱[也被称为(S)-2,3-双(硬脂酰氧基)丙基(2-(三甲基铵基)乙基)磷酸酯或DSPC,其包括共价键合至甘油主链的两个C<sub>18</sub>酰基]的一部分促进基于脂质的纳米颗粒的“开放的”边缘的适当封闭:



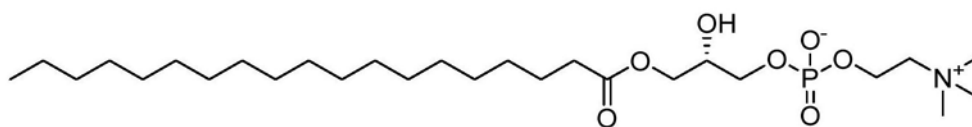


### C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub> 酰基溶血磷脂酰胆碱

[0041] 在某些实施方式中,通过用硬脂酰溶血磷脂酰胆碱[也被称为1-硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱、或(S)-2-羟基-3-(硬脂酰氧基)丙基(2-(三甲基铵基)乙基)磷酸酯,其包括共价键合至甘油主链的单个C<sub>18</sub>酰基]取代二硬脂酰基磷脂酰胆碱[也被称为(S)-2,3-双(硬脂酰氧基)丙基(2-(三甲基铵基)乙基)磷酸酯或DSPC,其包括共价键合至甘油主链的两个C<sub>18</sub>酰基]的一部分促进基于脂质的纳米颗粒的“开放的”边缘的适当封闭:



### 二硬脂酰基磷脂酰胆碱(DSPC)



### 硬脂酰溶血磷脂酰胆碱(SLPC)

[0043] 在某些实施方式中,当并入到膜中时,C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>酰基溶血磷脂酰胆碱(比如但不限于硬脂酰溶血磷脂酰胆碱)防止和/或最小化当该化合物从膜中省略时发生的聚集。在其他实施方式中,具有其单个脂族链的C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>酰基溶血磷脂酰胆碱(比如但不限于硬脂酰溶血磷脂酰胆碱)能够封闭纳米颗粒中任何现有的膜“边缘”。

[0044] 在某些实施方式中,当并入到膜中时,某些小分子稳定剂或其任何盐和/或溶剂化物的任一种,比如但不限于间甲酚、苯甲醇、4-羟基苯甲酸甲酯、硫柳汞和丁基化羟基甲苯(也被称为2,6-二-叔丁基-4-甲基苯酚),防止和/或最小化当该化合物从膜中省略时发生的聚集。在其他实施方式中,小分子稳定剂或其任意盐和/或溶剂化物能够封闭纳米颗粒中任何现有的膜“边缘”。

[0045] 在某些实施方式中,当并入到膜中时,某些小分子稳定剂的任一种或其任意盐和/或溶剂化物与C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>酰基溶血磷脂酰胆碱的任意组合,防止和/或最小化当该化合物从膜省略时发生的聚集。

### [0046] 组合物

[0047] 本发明提供基于脂质的纳米颗粒,和包括其的组合物。在某些实施方式中,纳米颗粒包括双极脂质膜和/或由其限定。

[0048] 在某些实施方式中,膜包括胆固醇。在其他实施方式中,膜包括磷酸二鲸蜡酯。在又其他实施方式中,膜包括两亲性脂质。在又其他实施方式中,膜包括1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)。在又其他实施方式中,膜包括胆固醇、磷酸二鲸蜡酯和DSPC。在又其他实施方式中,膜包括肝细胞受体结合分子。

[0049] 在某些实施方式中,两亲性脂质包括选自以下的至少一种:1,2-二硬脂酰基-sn-

甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-[3-磷酸-rac-(1-甘油)]、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺-N-(琥珀酰)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸酯、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸酯、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸酯和1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱。在其他实施方式中,两亲性脂质包括选自以下的至少一种:1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-[磷酸-rac-(1-甘油)]、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺和1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺-N-(琥珀酰)。

[0050] 在某些实施方式中,肝细胞受体结合分子包括生物素。在其他实施方式中,含生物素的肝细胞受体结合分子包括选自以下的至少一种:N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)生物素;磺酸基-NHS-生物素;N-羟基琥珀酰亚胺长链生物素;磺酸基-N-羟基琥珀酰亚胺长链生物素;D-生物素;生物胞素;磺酸基-N-羟基琥珀酰亚胺-S-S-生物素;生物素-BMCC;生物素-HPDP;碘乙酰基-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;p-氨基苯甲酰生物胞素三氟乙酸酯;p-重氮苯甲酰基生物胞素;生物素DHPE(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)戊酰胺基)磷酸乙酯);生物素-X-DHPE(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)戊酰胺基)六氨基)磷酸乙酯);12-((生物素基)氨基)十二烷酸;12-((生物素基)氨基)十二烷酸琥珀酰亚胺酯;S-生物素基同型半胱氨酸;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; $\alpha$ -(t-BOC)生物胞素;N-(生物素基)-N'-(碘乙酰基)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-亚砷;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-氨基苯甲酸钠盐;生物素2-N-乙酰基氨基-2-脱氧- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷;生物素- $\alpha$ -D-N-乙酰神经氨酸苷;生物素- $\alpha$ -L-岩藻糖苷;生物素乳酰-N-乙糖苷;生物素-路易斯A三糖;生物素-路易斯Y四糖;生物素- $\alpha$ -D-吡喃甘露糖苷;和生物素6-O-磷酸- $\alpha$ -D-吡喃甘露糖苷。

[0051] 在某些实施方式中,肝细胞受体结合分子选自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)戊酰胺基)磷酸乙酯(生物素DHPE)和生物素-X-DHPE(2,3-双乙酰氧基丙基2-(6-(5-((3aS,6aR)-2-氧代六氢-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰胺基)六氨基)磷酸乙酯)。

[0052] 在某些实施方式中,膜中胆固醇在大约5%至大约15%(w/w)的范围内。在其他实施方式中,胆固醇以以下浓度存在于膜中:大约5%、5.5%、6%、6.5%、7%、7.5%、8%、8.5%、9%、9.5%、10%、10.5%、11%、11.5%、12%、12.5%、13%、13.5%、14%、14.5%或15%(w/w)。

[0053] 在某些实施方式中,膜中磷酸二鲸蜡酯在大约10%至大约25%(w/w)的范围内。在其他实施方式中,磷酸二鲸蜡酯以以下浓度存在于膜中:大约10%、10.5%、11%、11.5%、12%、12.5%、13%、13.5%、14%、14.5%、15%、15.5%、16%、16.5%、17%、17.5%、18%、18.5%、19%、19.5%、20%、20.5%、21%、21.5%、22%、22.5%、23%、23.5%、24%、24.5%或25%(w/w)。

[0054] 在某些实施方式中,膜中DSPC在大约40%至大约75% (w/w) 的范围内。在其他实施方式中,DSPC以以下浓度存在于膜中:大约40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%或75% (w/w)。

[0055] 在某些实施方式中,膜中肝细胞受体结合分子在大约0.5%至大约4% (w/w) 的范围内。在其他实施方式中,肝细胞受体结合分子以以下浓度存在于膜中:大约0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1.0%、1.1%、1.2%、1.3%、1.4%、1.5%、1.6%、1.7%、1.8%、1.9%、2.0%、2.1%、2.2%、2.3%、2.4%、2.5%、2.6%、2.7%、2.8%、2.9%、3.0%、3.1%、3.2%、3.3%、3.4%、3.5%、3.6%、3.7%、3.8%、3.9%或4.0% (w/w)。

[0056] 在某些实施方式中,膜包括选自稳定剂和C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>酰基溶血磷脂酰胆碱的至少一种化合物。

[0057] 在某些实施方式中,膜进一步包括C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>酰基溶血磷脂酰胆碱。在其他实施方式中,膜进一步包括硬脂酰溶血磷脂酰胆碱。

[0058] 在某些实施方式中,膜进一步包括间甲酚。

[0059] 在某些实施方式中,稳定剂选自间甲酚、苯甲醇、4-羟基苯甲酸甲酯、硫柳汞和丁基化羟基甲苯(2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚)。

[0060] 在某些实施方式中,膜中稳定剂在大约10%至大约25% (w/w) 的范围内。在其他实施方式中,稳定剂以以下浓度存在于膜中:大约10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%或25% (w/w)。

[0061] 在某些实施方式中,膜中间甲酚在大约10%至大约25% (w/w) 的范围内。在其他实施方式中,间甲酚以以下浓度存在于膜中:大约10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%或25% (w/w)。

[0062] 在某些实施方式中,膜中C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱在大约5%至大约30% (w/w) 的范围内。在其他实施方式中,膜中C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱在大约1%至大约30% (w/w) 的范围内。在又其他实施方式中,C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱以以下浓度存在于膜中:大约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%或30% (w/w)。

[0063] 在某些实施方式中,膜中硬脂酰溶血磷脂酰胆碱在大约5%至大约30% (w/w) 的范围内。在其他实施方式中,膜中硬脂酰溶血磷脂酰胆碱在大约1%至大约30% (w/w) 的范围内。在又其他实施方式中,硬脂酰溶血磷脂酰胆碱以以下浓度存在于膜中:大约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%或30% (w/w)。

[0064] 在某些实施方式中,膜中C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱的量是膜中DSPC的量的大约1%至大约30% (w/w)。在又其他实施方式中,膜中C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱的量是膜中DSPC的量的大约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29% (w/w) 或30% (w/w)。

[0065] 在某些实施方式中,膜中C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱的量是膜中DSPC的量的大约1摩尔%至大约50摩尔%。在又其他实施方式中,膜中C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱的量是膜中DSPC

的量的大约1、2、3、4、5、6、7、8、9、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50摩尔%。

[0066] 在某些实施方式中,膜中硬脂酰溶血磷脂酰胆碱的量是膜中DSPC的量的大约1%至大约30% (w/w)。在又其他实施方式中,膜中硬脂酰溶血磷脂酰胆碱的量是膜中DSPC的量的大约1%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%或30% (w/w)。

[0067] 在某些实施方式中,膜中硬脂酰溶血磷脂酰胆碱的量是膜中DSPC的量的大约1摩尔%至大约50摩尔%。在又其他实施方式中,膜中硬脂酰溶血磷脂酰胆碱的量是膜中DSPC的量的大约1、2、3、4、5、6、7、8、9、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50摩尔%。

[0068] 在某些实施方式中,膜包括胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱、间甲酚以及选自生物素DHPE和生物素-X-DHPE的至少一种。在其他实施方式中,膜包括胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱、间甲酚和生物素DHPE。

[0069] 在某些实施方式中,膜包括胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、间甲酚以及选自生物素DHPE和生物素-X-DHPE的至少一种。在其他实施方式中,膜包括胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、间甲酚和生物素DHPE。

[0070] 在某些实施方式中,膜包括胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱以及选自生物素DHPE和生物素-X-DHPE的至少一种。在其他实施方式中,膜包括胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱和生物素DHPE。

[0071] 在某些实施方式中,使稳定剂与膜和/或组装以形成膜的脂质组分(比如,但不限于,胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱(如果存在)和生物素DHPE)以在大约1:1至大约1:30范围内的膜与稳定剂的(w/w)比率接触。在其他实施方式中,使稳定剂与膜和/或组装以形成膜的脂质组分以以下膜与稳定剂的(w/w)比率接触:大约1:1、1:1.5、1:2、1:2.5、1:3、1:3.5、1:4、1:4.5、1:5、1:5.5、1:6、1:6.5、1:7、1:7.5、1:8、1:8.5、1:9、1:9.5、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:21、1:22、1:23、1:24、1:25、1:26、1:27、1:28、1:29或1:30。

[0072] 在某些实施方式中,使间甲酚与膜和/或组装以形成膜脂质组分(比如,但不限于,胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱(如果存在)和生物素DHPE)以在大约1:1至大约1:30范围内的膜与稳定剂的(w/w)比率接触。在其他实施方式中,使间甲酚与膜和/或组装以形成膜的脂质组分以以下膜与稳定剂的(w/w)比率接触:大约1:1、1:1.5、1:2、1:2.5、1:3、1:3.5、1:4、1:4.5、1:5、1:5.5、1:6、1:6.5、1:7、1:7.5、1:8、1:8.5、1:9、1:9.5、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:21、1:22、1:23、1:24、1:25、1:26、1:27、1:28、1:29或1:30。

[0073] 在某些实施方式中,膜包括% (w/w) 比率为大约9.4:18.1:56.8:14.1:0.0:1.5的胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱、间甲酚和生物素DHPE。

[0074] 在某些实施方式中,膜包括% (w/w) 比率为大约9.4:18.1:56.8:14.1:1.5的胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱和生物素DHPE。

[0075] 在某些实施方式中,膜包括% (w/w) 比率为大约7.7:15.0:58.6:0.0:17.4:1.3的胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱、间甲酚和生物素DHPE。

[0076] 在某些实施方式中,膜包括% (w/w) 比率为大约9.3:18.2:71.0:1.5的胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC和生物素DHPE。

[0077] 在某些实施方式中,膜包括% (w/w) 比率为大约8.4:16.2:47.5:7.6:19.0:1.3的胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱、间甲酚和生物素DHPE。

[0078] 在某些实施方式中,膜包括% (w/w) 比率为大约10.4:20:58.6:9.4:1.6的胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱和生物素DHPE。

[0079] 在某些实施方式中,至少一个肝细胞受体结合分子从纳米颗粒向外延伸。

[0080] 本发明不应当被解释为限于本文所描述和/或举例说明的构建体。相反,本发明提供了稳定和/或防止脂质体和其他基于脂质的纳米颗粒聚集的方法,其中膜与选自稳定剂和C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>酰基溶血磷脂酰胆碱的至少一种接触。在某些实施方式中,接触去除或最小化了导致脂质体和其他基于脂质的纳米颗粒聚集的膜中的任何“自由”边缘。

[0081] 在某些实施方式中,稳定剂选自间甲酚、苯甲醇、4-羟基苯甲酸甲酯、硫柳汞和丁基化羟基甲苯。在其他实施方式中,膜中稳定剂,比如但不限于间甲酚,在大约10%至大约25% (w/w) 的范围内。在又其他实施方式中,稳定剂,比如但不限于间甲酚,以大约10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%或25% (w/w) 的浓度存在于膜中。

[0082] 在某些实施方式中,膜中C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱,比如但不限于硬脂酰溶血磷脂酰胆碱,在大约5%至大约30% (w/w) 的范围内。在其他实施方式中,膜中C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱,比如但不限于硬脂酰溶血磷脂酰胆碱,在大约1%至大约30% (w/w) 的范围内。在又其他实施方式中,C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱,比如但不限于硬脂酰溶血磷脂酰胆碱,以大约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%或30% (w/w) 的浓度存在于膜中。

[0083] 在某些实施方式中,膜包括选自以下的至少一种两亲性脂质:1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-[3-磷酸-rac-(1-甘油)]、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺-N-(琥珀酰)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸酯、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸酯、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸酯和1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱。在其他实施方式中,两亲性脂质是选自以下的至少一种:1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-[磷酸-rac-(1-甘油)]、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺和1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺-N-(琥珀酰)。

[0084] 在某些实施方式中,膜中C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱的量是膜中至少一种两亲性脂质的量的大约1%-30% (w/w)。在又其他实施方式中,膜中C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱的量是膜中至少一种两亲性脂质的量的大约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%或30% (w/w)。

[0085] 在某些实施方式中,膜中C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱的量是膜中至少一种两亲性脂质的量的大约1摩尔%至大约50摩尔%。在又其他实施方式中,膜中C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub>溶血磷脂酰胆碱的量是膜中至少一种两亲性脂质的量的大约1、2、3、4、5、6、7、8、9、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50摩尔%。

[0086] 在某些实施方式中,使稳定剂比如但不限于间甲酚与膜和/或组装以形成膜的脂质组分以在大约1:1至大约1:30范围内的(w/w)比率接触。在其他实施方式中,使稳定剂比如但不限于间甲酚与膜和/或组装以形成膜的脂质组分以以下(w/w)比率接触:大约1:1、1:1.5、1:2、1:2.5、1:3、1:3.5、1:4、1:4.5、1:5、1:5.5、1:6、1:6.5、1:7、1:7.5、1:8、1:8.5、1:9、1:9.5、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:21、1:22、1:23、1:24、1:25、1:26、1:27、1:28、1:29或1:30。

[0087] 在某些实施方式中,纳米颗粒的尺寸在大约10nm至大约150nm范围内。在其他实施方式中,纳米颗粒的尺寸为大约10nm、20nm、30nm、40nm、50nm、60nm、70nm、80nm、90nm、100nm、110nm、120nm、130nm、140nm或150nm。

[0088] 在某些实施方式中,治疗剂分散在纳米颗粒内和/或吸附在纳米颗粒上。在其他实施方式中,治疗剂共价结合至纳米颗粒。在又其他实施方式中,治疗剂不共价结合至纳米颗粒。

[0089] 在某些实施方式中,治疗剂包括选自以下的至少一种:胰岛素、胰岛素类似物、胰淀素、干扰素、甲状旁腺激素、降钙素、5-羟色胺、5-羟色胺激动剂、5-羟色胺再摄取抑制剂、人体生长激素、GIP、抗GIP单克隆抗体、二甲双胍、溴隐亭、多巴胺、胰高血糖素和GLP-1。在其他实施方式中,治疗剂是胰岛素。

[0090] 在某些实施方式中,纳米颗粒悬浮在包括未分散在纳米颗粒内的游离溶解的治疗剂的水性溶液中。

[0091] 在某些实施方式中,纳米颗粒分散的胰岛素和游离溶解的胰岛素独立地选自赖脯胰岛素、门冬胰岛素、常规胰岛素、甘精胰岛素、锌胰岛素、稀释锌人胰岛素悬浮液、低精蛋白胰岛素、缓冲常规人胰岛素、赖谷胰岛素、常规重组人胰岛素和重组低精蛋白人胰岛素。

[0092] 在某些实施方式中,脂质进一步包括醋酸纤维素邻苯二甲酸酯。在其他实施方式中,醋酸纤维素邻苯二甲酸酯至少部分地结合至分散在纳米颗粒内的治疗剂。

[0093] 在某些实施方式中,至少一种带电的有机分子结合至分散在纳米颗粒内的治疗剂。在其他实施方式中,带电的有机分子是选自以下的至少一种:鱼精蛋白、聚赖氨酸、摩尔比为1:1:1的聚(arg-pro-thr)<sub>n</sub>、摩尔比为6:1的聚(DL-Ala-聚-L-lys)<sub>n</sub>、组蛋白、包括伯氨基的糖聚合物、具有伯氨基的多核苷、包括具有羧基(COO<sup>-</sup>)或巯基(S<sup>-</sup>)官能团的氨基酸残基的蛋白质,和酸性聚合物(比如含有羧基的糖聚合物)。

[0094] 在某些实施方式中,本发明的纳米颗粒和包括其的组合物有助于将分散在其中的治疗剂递送至肝脏中的肝细胞。

[0095] 在某些实施方式中,本发明的组合物包括有效剂量的肝细胞靶向药物组合物,其将游离治疗药物(比如,但不限于,胰岛素)和与本发明的基于脂质的纳米颗粒缔合的治疗药物组合。游离治疗药物和与基于脂质的纳米颗粒缔合治疗药物的组合创建了体内发生的两种形式的治疗药物之间的动态平衡过程以帮助控制游离治疗药物向激素作用的受体



位点的移动。在胰岛素作为治疗药物的情况下,那些受体位点是糖尿病患者的肌肉和脂肪组织。还以与游离治疗药物不同的指定时间段将肝细胞靶向的治疗药物递送至患者的肝脏,从而在治疗药物保持与纳米颗粒缔合时和/或在游离治疗药物从纳米颗粒释放时引入治疗药物的新的药效动力学分布。另外,与纳米颗粒缔合的治疗药物的一部分靶向至肝脏。在胰岛素作为治疗药物的情况下,产品的新的药效动力学分布不仅为周围组织提供了基础胰岛素,而且还提供了进餐时肝脏治疗药物的刺激以便管理进餐期间的肝脏葡萄糖存储。游离胰岛素从给药位点释放并且遍及全身分散。与基于脂质的纳米颗粒缔合的胰岛素被递送至肝脏。与纳米颗粒缔合的胰岛素的释放速率不同于游离胰岛素从给药位点的释放速率。和与纳米颗粒缔合的胰岛素至肝脏的靶向递送组合,胰岛素递送的这些不同的释放速率,为I型和II型糖尿病患者提供了正常化的葡萄糖浓度。在某些实施方式中,肝细胞靶向的组合物包括任何治疗有效的胰岛素或胰岛素衍生物或类似物,或两种或多种类型的胰岛素或胰岛素衍生物或类似物的任何组合。

[0096] 本文描述的化合物还包括同位素标记的化合物,其中一个或多个原子被具有相同原子序数但原子质量或质量数不同于自然界中通常发现的原子质量或质量数的原子取代。适合于包括在本文描述的化合物中的同位素的实例包括但不限于 $^2\text{H}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{36}\text{Cl}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{17}\text{O}$ 、 $^{18}\text{O}$ 、 $^{32}\text{P}$ 和 $^{35}\text{S}$ 。在某些实施方式中,同位素标记的化合物可用于药物和/或底物组织分布研究。在其他实施方式中,用更重的同位素比如氘取代提供了更大的代谢稳定性(例如,增大的体内半衰期或减小的剂量需要)。在又其他实施方式中,用正电子发射同位素比如 $^{11}\text{C}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{15}\text{O}$ 和 $^{13}\text{N}$ 取代可用于正电子发射断层扫描(PET)研究以便检查底物受体的占用。通过任何合适的方法或者通过使用适当的同位素标记的试剂代替以其他方式使用的未标记的试剂的工艺制备同位素标记的化合物。

[0097] 在某些实施方式中,本文所描述的化合物通过其他方式标记,其包括但不限于,使用发色团或荧光部分、生物发光标记或化学发光标记。

[0098] 在某些实施方式中,本发明的化合物可以形成酸或碱。在某些实施方式中,本发明考虑了酸加成盐。在其他实施方式中,本发明考虑了碱加成盐。在又其他实施方式中,本发明考虑了药学上可接受的酸加成盐。在又其他实施方式中,本发明考虑了药学上可接受的碱加成盐。药学上可接受的盐是指不是毒性的或者不是其他生物学上不期望的那些碱或酸的盐。

[0099] 合适的药学上可接受的酸加成盐可以由无机酸或有机酸制备。无机酸的实例包括盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硝酸、碳酸、硫酸(包括硫酸盐和硫酸氢盐)和磷酸(包括磷酸氢盐和磷酸二氢盐)。适当的有机酸可选自脂族、脂环族、芳族、芳脂族、杂环、羧酸和磺酸类的有机酸,其实例包括甲酸、乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、葡萄糖酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、葡萄糖醛酸、马来酸、丙二酸、糖精、富马酸、丙酮酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯甲酸、邻氨基苯甲酸、4-羟基苯甲酸、苯乙酸、扁桃酸(mandelic)、扑酸(embonic)(帕莫酸)、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、泛酸、三氟甲磺酸、2-羟基乙磺酸、对甲苯磺酸、磺胺酸、环己基氨基磺酸、硬脂酸、藻酸、 $\beta$ -羟基丁酸、水杨酸、半乳糖酸和半乳糖醛酸。

[0100] 本发明的化合物的合适的药学上可接受的碱加成盐包括,例如,金属盐——其包括碱金属、碱土金属和过渡金属盐比如,例如,钙、镁、钾、钠、锂以及铜、铁和锌盐。药学上可接受的碱加成盐还包括由碱性胺比如,例如, $\text{N,N}'$ -二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、胆碱、二乙

醇胺、乙二胺、葡甲胺(N-甲基葡糖胺)和普鲁卡因制成的有机盐。所有这些盐可以由相应的化合物通过例如,使合适的酸或碱与该化合物反应而制备。

[0101] 公开了试剂盒,其包括本发明的任何组合物和描述将该组合物给药至患者比如哺乳动物的组织的说明材料。该试剂盒可以包括在将组合物给药至患者比如哺乳动物之前适合于溶解或悬浮本发明的组合物的(优选无菌的)溶剂。

[0102] 方法

[0103] 本发明提供了制备本发明的基于脂质的纳米颗粒的方法。在某些实施方式中,方法包括在水性系统中使胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、两亲性脂质、肝细胞受体结合分子与选自稳定剂和硬脂酰溶血磷脂酰胆碱的至少一种化合物接触。在其他实施方式中,方法包括在水性系统中使胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱、间甲酚和生物素-DHPE接触。

[0104] 在某些实施方式中,在胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、两亲性脂质、任选地硬脂酰溶血磷脂酰胆碱和肝细胞受体结合分子已经在水性系统中接触之后,将稳定剂添加至水性系统。

[0105] 在某些实施方式中,在胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱和肝细胞受体结合分子已经在水性系统中接触之后,将间甲酚添加至水性系统。

[0106] 在某些实施方式中,纳米颗粒包括分散在其内的治疗剂。

[0107] 在某些实施方式中,治疗剂、胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、两亲性脂质、肝细胞受体结合分子和至少一种化合物同时在水性系统中接触。

[0108] 在某些实施方式中,治疗剂、胆固醇、磷酸二鲸蜡酯、DSPC、硬脂酰溶血磷脂酰胆碱、间甲酚和生物素-DHPE同时在水性系统中接触。

[0109] 在某些实施方式中,在不存在治疗剂的情况下形成纳米颗粒,其中任选地将纳米颗粒至少部分地浓缩、纯化或分离,并且其中使治疗剂与纳米颗粒接触,由此将至少一部分治疗剂分散在纳米颗粒内。

[0110] 在某些实施方式中,用醋酸纤维素邻苯二甲酸酯处理组合物,该醋酸纤维素邻苯二甲酸酯可以非共价结合至分散在纳米颗粒内的治疗剂的至少一部分并且保护治疗剂免受代谢降解。在其他实施方式中,醋酸纤维素邻苯二甲酸酯共价结合至治疗剂和/或构成纳米颗粒的任何脂质。

[0111] 例如,在美国专利申请号US20110135725和US20090087479中可以发现限定的涉及用于制备和/或处理和/或纯化纳米颗粒的某些方法的进一步的实施方式,其全部内容通过引用以其整体并入本文。

[0112] 本发明进一步提供了治疗哺乳动物的疾病的方法。在某些实施方式中,方法包括将本发明的治疗有效量的纳米颗粒和/或组合物给药至需要其的哺乳动物。

[0113] 在某些实施方式中,疾病是糖尿病并且治疗剂包括胰岛素。

[0114] 本发明进一步提供了活化哺乳动物中肝糖原合酶的方法。在某些实施方式中,方法包括将本发明的治疗有效量的纳米颗粒和/或组合物给药至需要其的哺乳动物,其中治疗剂包括胰岛素。在其他实施方式中,哺乳动物患有糖尿病。

[0115] 给药/剂量/制剂

[0116] 本发明还包括药物组合物及其使用方法。这些药物组合物可以包括任选地与一种或多种药学上可接受的试剂组合的活性成分(其可以是本发明的一种或多种组合物或其药

学上可接受的盐)。本文阐述的组合物可以单独使用或者与另外的化合物组合使用以产生加成、互补或协同作用。

[0117] 给药方案可能影响有效量的构成。可以在本文考虑的疾病或病症发作之前或之后将治疗制剂给药至患者。进一步地,可以每天或顺序地给药若干个分开的剂量以及错开的剂量,或者可以连续输注该剂量,或者可以大剂量注射,或者可以经吸入、经颊和/或口服给药。进一步地,治疗制剂的剂量可以根据治疗或预防情况的紧急程度成比例地增加或减少。

[0118] 可以使用已知的步骤将本发明的组合物以治疗本文考虑的疾病或病症有效的剂量和时间段给药至患者,优选地哺乳动物,更优选地人类。实现治疗效果所必需的治疗化合物的有效量可以根据比如患者的疾病或病症的状态;患者的年龄、性别和体重;以及治疗化合物治疗本文所考虑的疾病或病症的能力等因素变化。可以调整剂量方案以提供最佳治疗响应。例如,如治疗情况的紧急程度所指示,可以每天给药数个分开的剂量或者可以成比例地减少剂量。本发明的治疗化合物的有效剂量范围的非限制性实例是大约1至5,000mg/kg体重/每天。本领域普通技术人员将能够研究相关因素并且无需过多的实验就可以确定治疗化合物的有效量。

[0119] 可以改变本发明的药物组合物中活性成分的实际剂量水平以便获得对实现特定患者的期望的治疗响应有效的活性成分的量、组合物和给药方式,而不会对患者有毒。

[0120] 特别地,所选择的剂量水平取决于多种因素,其包括所采用的特定化合物的活性,给药时间,化合物的排泄速率,治疗的持续时间,与该化合物组合使用的其他药物、化合物或材料,被治疗的患者的年龄、性别、体重、状况、一般健康状况和既往病史,以及医疗领域熟知的类似因素。

[0121] 具有本领域普通技术的医生,例如,医师或兽医,可以容易确定所需要的药物组合物的有效量并将其开处方。例如,医师或兽医可以以低于获得期望的治疗效果所需要的水平的水平开始药物组合物中采用的本发明化合物的剂量,并且逐渐增加剂量直到实现期望的效果。

[0122] 在特定实施方式中,特别有利的是,以剂量单位形式配制化合物以便易于给药和剂量均匀。如本文所使用的剂量单位形式是指适合作为待治疗的患者的单位剂量的物理上离散的单位;每个单位含有预定量的治疗化合物,该治疗化合物经计算与所需要的药物载体缔合以产生期望的治疗效果。本发明的剂量单位形式决定于和直接取决于(a)治疗化合物的独特特征和要实现的特定治疗效果,和(b)在复合/配制用于治疗本文所考虑的疾病或病症的这种治疗化合物的领域中的固有的限制性。

[0123] 在某些实施方式中,使用一种或多种药学上可接受的赋形剂或载体配制本发明的组合物。在某些实施方式中,本发明的药物组合物包括治疗有效量的本发明的化合物和药学上可接受的载体。

[0124] 载体可以是含有例如,水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液态聚乙二醇等)、其合适的混合物和植物油的溶剂或分散介质,只要溶剂或分散介质不会显著地破坏纳米颗粒。可以通过各种抗菌剂和抗真菌剂,例如,对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等防止微生物的作用。在许多情况下,优选的是,在组合物中包括等渗剂,例如,糖、氯化钠或多元醇,比如甘露醇和山梨糖醇。可以通过在组合物包括延迟吸收的试剂,例如,单硬脂酸铝或明胶来实现可注射组合物的延长吸收。

[0125] 在某些实施方式中,本发明的组合物以每天一次至5次或更多次范围内的剂量给药至患者。在其他实施方式中,本发明的组合物在包括,但不限于,每天一次、每两天一次、每三天一次至每周一次和每两周一次范围内的剂量给药至患者。对本领域技术人员显而易见的是,本发明的各种组合组合物的给药频率取决于许多因素因个体而变化,该因素包括,但不限于,年龄、待治疗的疾病或病症、性别、整体健康状况和其他因素。因而,本发明不应当被解释为限于任何特定的剂量方案,并且待给药至任何患者的精确剂量和组合物由将关于患者的所有其他因素考虑在内的主治医生确定。

[0126] 用于给药的本发明的化合物可以在以下范围内:大约1 $\mu$ g至大约10,000mg、大约20 $\mu$ g至大约9,500mg、大约40 $\mu$ g至大约9,000mg、大约75 $\mu$ g至大约8,500mg、大约150 $\mu$ g至大约7,500mg、大约200 $\mu$ g至大约7,000mg、大约350 $\mu$ g至大约6,000mg、大约500 $\mu$ g至大约5,000mg、大约750 $\mu$ g至大约4,000mg、大约1mg至大约3,000mg、大约10mg至大约2,500mg、大约20mg至大约2,000mg、大约25mg至大约1,500mg、大约30mg至大约1,000mg、大约40mg至大约900mg、大约50mg至大约800mg、大约60mg至大约750mg、大约70mg至大约600mg、大约80mg至大约500mg以及它们之间的任何和所有全部或部分增量。

[0127] 在某些实施方式中,本发明的化合物和/或组合物的剂量是大约1mg至大约2,500mg。在其他实施方式中,本文所描述的组合物中所使用的本发明的化合物的剂量是小于大约10,000mg、或小于大约8,000mg、或小于大约6,000mg、或小于大约5,000mg、或小于大约3,000mg、或小于大约2,000mg、或小于大约1,000mg、或小于大约500mg、或小于大约200mg、或小于大约50mg。类似地,在其他实施方式中,如本文所描述的第二化合物的剂量是小于大约1,000mg、或小于大约800mg、或小于大约600mg、或小于大约500mg、或小于大约400mg、或小于大约300mg、或小于大约200mg、或小于大约100mg、或小于大约50mg、或小于大约40mg、或小于大约30mg、或小于大约25mg、或小于大约20mg、或小于大约15mg、或小于大约10mg、或小于大约5mg、或小于大约2mg、或小于大约1mg、或小于大约0.5mg以及其任何和所有全部或部分增量。

[0128] 在某些实施方式中,本发明涉及包装的药物组合物,其包括容纳单独的或与第二治疗剂组合的治疗有效量的本发明的化合物和/或组合物的容器;和用于使用该化合物以治疗、预防或减轻本文所考虑的疾病或病症的一种或多种症状的说明。

[0129] 在某些实施方式中,容器容纳基于脂质的纳米颗粒,其不包括感兴趣的治疗剂,比如但不限于胰岛素或其衍生物或类似物。在其他实施方式中,容器容纳基于脂质的纳米颗粒,其包括感兴趣的治疗剂,比如但不限于胰岛素或其衍生物或类似物。在又其他实施方式中,容器进一步容纳感兴趣的治疗剂,比如但不限于胰岛素或其衍生物或类似物。

[0130] 说明性的非限制性的治疗糖尿病的方法

[0131] 可以将有效量的包括胰岛素的本发明的纳米颗粒给药至患有I型或II型糖尿病的患者。当皮下给药该组合物时,组合物的一部分进入循环系统,在循环系统中该组合物被输送至肝脏和其中扩展的两亲性脂质将脂质构建体结合至肝细胞受体的其他区域。所给药的组合物的一部分在体内暴露于外部梯度,其中胰岛素可以被溶解并且然后从脂质构建体移动从而将胰岛素供应至肌肉和脂肪组织。与脂质构建体一起保留的胰岛素保持了被引导至肝脏中肝细胞上的肝细胞结合受体的能力。因此,从该特定脂质构建体产生了两种形式的胰岛素。在体内环境中,游离胰岛素和脂质缔合胰岛素以时间依赖方式产生。

[0132] 纳米颗粒和包括其的组合物的给药可以通过期望给药的胰岛素的任何可接受的给药方式进行。这些方法包括口服、肠胃外、经鼻和其他全身或气雾形式。这些方法进一步包括泵递送系统。

[0133] 在口服给药本发明的纳米颗粒之后,是将与本发明的纳米颗粒缔合的胰岛素肠内吸收到人体的循环系统中,在该循环系统中其也暴露于血液的生理pH。纳米颗粒被靶向递送至肝脏,并且可以通过本发明的纳米颗粒内的醋酸纤维素邻苯二甲酸酯的存在被屏蔽。在口服给药的情况下,被屏蔽的纳米颗粒横穿口腔,迁移通过胃并且移动到小肠,其中小肠的碱性pH降解了醋酸纤维素邻苯二甲酸酯屏蔽。去屏蔽的纳米颗粒被吸收到循环系统。这使得纳米颗粒能够被递送至肝脏的窦状隙。受体结合分子,比如1,2-二棕榈酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-(帽生物素基)或任何其他肝细胞特异性分子,提供脂质构建体结合至受体并且然后被吞噬或被肝细胞内吞的方式。胰岛素然后从纳米颗粒释放,其中,在进入细胞环境之后,其作为控制糖尿病的试剂,进行其指定的功能。

[0134] 可以将包括游离甘精胰岛素和与纳米颗粒缔合的甘精胰岛素的混合物的有效量的纳米颗粒给药至患有I型或II型糖尿病的患者。甘精胰岛素可以与其他形式的胰岛素组合,比如赖脯胰岛素、门冬胰岛素、常规胰岛素、锌胰岛素、稀释锌人胰岛素、低精蛋白胰岛素、缓冲常规人胰岛素、赖谷胰岛素、常规重组人胰岛素、重组低精蛋白人胰岛素或任何上述胰岛素的预混合组合、其衍生物、和任何上述胰岛素的组合。组合物可以通过皮下或口服途径给药。

[0135] 在通过皮下注射将组合物给药至患者之后,注射区域中的原位生理环境、游离胰岛素和与纳米颗粒缔合的胰岛素的形态和化学结构开始改变。例如,随着游离甘精胰岛素和与纳米颗粒缔合的甘精胰岛素周围环境的pH在用生理介质稀释后增加,pH达到甘精胰岛素的等电点,在该点,游离甘精胰岛素和与纳米颗粒缔合的甘精胰岛素二者都会发生絮凝、聚集和沉淀反应。在某些实施方式中,游离甘精胰岛素从注射时的可溶形式变为接近其pH 5.8-6.2的等电点的pH下的不溶形式,并且然后在生理pH下变为可溶形式。这些过程发生的速率在甘精胰岛素和与纳米颗粒缔合的甘精胰岛素之间不同。游离甘精胰岛素被直接暴露于pH和稀释度的改变。由于生理流体或介质通过纳米颗粒中的脂质双层扩散所需要的时间,与纳米颗粒缔合的甘精胰岛素暴露于pH和在生理pH下的稀释度的较小改变被延迟。从脂质构建体释放胰岛素的延迟以及与纳米颗粒缔合的胰岛素的释放的延迟是本发明的特征,因为它影响并增强了体内的生物学和药理学响应。

[0136] 口服给药组合了游离甘精胰岛素和与纳米颗粒缔合的甘精胰岛素的药物组合物,随后与纳米颗粒缔合的甘精胰岛素被肠内吸收到人体的循环系统,在该循环系统中其也暴露于血液的生理pH。在某些实施方式中,组合物包括延迟释放基质,其在延长的时间段内释放HDV甘精胰岛素,以便实现24小时剂量方案。全部或部分纳米颗粒被递送至肝脏。

[0137] 可以向患有I型或II型糖尿病的患者给药有效量的肝细胞靶向的组合物,其包括游离重组低精蛋白人胰岛素(NPH)加游离常规重组人胰岛素的混合物,连同重组低精蛋白人胰岛素和常规重组人胰岛素,二者均与纳米颗粒缔合。重组低精蛋白人胰岛素可以与其他形式的胰岛素组合,比如赖脯胰岛素、门冬胰岛素、常规胰岛素、甘精胰岛素、锌胰岛素、稀释锌人胰岛素、低精蛋白胰岛素、缓冲常规人胰岛素、赖谷胰岛素、常规重组人胰岛素、重组低精蛋白人胰岛素、或其任意(预混的)组合。

[0138] 在某些实施方式中,组合物包括延迟释放基质,其在延长的时间段内释放HDV NPH,以便实现24-小时剂量方案。

[0139] 口服给药组合了游离重组低精蛋白人胰岛素和与纳米颗粒缔合的重组低精蛋白人胰岛素的药物组合物,随后与纳米颗粒缔合的重组低精蛋白人胰岛素被肠内吸收到人体的循环系统,在该循环系统中其也暴露于血液的生理pH。全部或部分纳米颗粒被递送至肝脏,而非-HDV低精蛋白被从缓慢释放基质缓慢吸收以释放到全身循环。

[0140] 随着在皮下空间或进入循环系统时生理稀释度原位增加,游离重组低精蛋白人胰岛素和与纳米颗粒缔合的重组低精蛋白人胰岛素遇到pH 7.4的正常的生理pH环境。由于稀释,游离重组低精蛋白人胰岛素从注射时的不溶形式改变为生理pH下的可溶形式。在可溶形式中,重组低精蛋白人胰岛素迁移通过人体至其能够引起药理响应的部位。与纳米颗粒缔合的重组低精蛋白人胰岛素以比游离重组低精蛋白人胰岛素的速率更慢的不同速率被溶解并从纳米颗粒释放。这是因为在它接触体相介质之前与纳米颗粒缔合的重组低精蛋白人胰岛素必须横穿纳米颗粒的核心体积和脂质结构域。

[0141] 给药的胰岛素的量将取决于所治疗的患者、病痛的类型和严重程度、给药方式和处方医师的判断。虽然感兴趣的特定生物活性物质的有效剂量范围取决于多种因素,并且通常是本领域普通技术人员已知的,但是通常可以限定一些剂量指南。对于大多数的给药形式,纳米颗粒将悬浮在水性溶液中并且通常不超过总制剂的4.0% (w/v)。在某些实施方式中,制剂的药物组分将小于制剂的20% (w/v) 并且通常大于0.01% (w/v)。

[0142] 在某些实施方式中,药物组合物包括HDV胰岛素,并且不包括游离胰岛素,在这种情况下,组合物内的所有胰岛素均靶向肝脏。在其他实施方式中,药物组合物包括HDV胰岛素和游离胰岛素(非-HDV胰岛素)。在非限制性实例中,HDV胰岛素和游离胰岛素之间的比率可以是大约0.1:99.9、0.2:99.8、0.3:99.7、0.4:99.6、0.5:99.5、0.6:99.4、0.7:99.3、0.8:99.2、0.9:99.1、1:99、2:98、3:97、4:96、5:95、6:94、7:93、8:92、9:91、10:90、12:88、14:86、16:84、18:82、20:80、22:78、24:76、25:75、26:74、28:72、30:70、32:68、34:66、36:64、38:62、40:60、42:58、44:56、46:54、48:52和/或50:50。

[0143] 可以制备含有0.005%至5%范围内的活性成分且余量由无毒载体组成的组合物或剂型。

[0144] 这些制剂的精确组成可以根据所讨论的药物的特定性质而变化很大。在某些实施方式中,它们包括0.01%至5%的活性成分,并且优选地对于高效药物包括0.05%至1%的活性成分,并且对于中等活性药物包括2%-4%的活性成分。

[0145] 这种肠胃外组合物中含有的活性成分的百分比高度取决于其特定性质,以及活性成分的活性和患者的需求。然而,可以采用溶液中0.01%至5%的活性成分的百分比,并且如果该组合物是随后将稀释至以上百分比的固体,其将更高。在某些实施方式中,组合物包括溶液中0.2%-2.0%的活性剂。

[0146] 给药

[0147] 制剂可以与常规赋形剂,即,适合于口服、肠胃外、经鼻、静脉内、皮下、经肠或本领域已知的任何其他合适的给药方式的药学上可接受的有机或无机载体物质混合使用。可以对药物制剂进行灭菌并且如果期望,可以与辅助剂,例如,润滑剂、防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂、用于影响渗透压缓冲剂的盐、着色剂、调味剂和/或芳族物质等混合。在期望时,它

们还可以与其他活性剂,例如,其他止痛剂组合。

[0148] 本发明的任何组合物的给药途径包括口服、经鼻、经直肠、阴道内、肠胃外、经颊、舌下或局部。可以将本发明中使用的化合物和/或组合物配制成为用于通过任何合适的途径给药,比如用于口服或肠胃外给药,例如,透皮、透粘膜(例如,舌下、舌、(经)颊、(经)尿道、阴道(例如,经阴道和阴道周)、经鼻(内)和(经)直肠)、膀胱内、肺内、十二指肠内、胃内、鞘内、皮下、肌内、真皮内、动脉内、静脉内、支气管内、吸入和局部给药。

[0149] 合适的组合物和剂型包括,例如,片剂、胶囊剂、胶囊形片剂(caplet)、丸剂(pill)、软胶囊、糖锭剂、分散剂、悬浮剂、溶液、糖浆、颗粒剂、小球(bead)、透皮贴剂、凝胶剂、粉末、丸剂(pellet)、乳剂(magma)、锭剂、乳膏、糊剂、膏药、洗剂、盘片、栓剂、经鼻或口服给药的液体喷雾剂、用于吸入的干粉或气雾制剂、用于膀胱内给药的组合物和制剂等。应当理解,可用于本发明的制剂和组合物不限于本文描述的特定制剂和组合物。

[0150] 口服给药

[0151] 对于口服应用,特别合适的是片剂、糖衣丸、液体、滴剂、栓剂、或胶囊剂、胶囊形片剂和软胶囊。旨在用于口服用途的组合物可以根据本领域已知的任何方法制备并且这种组合物可以含有选自适合用于制造片剂的惰性、无毒的药理学上的赋形剂的一种或多种试剂。这种赋形剂包括,例如惰性稀释剂比如乳糖;制粒剂和崩解剂比如玉米淀粉;粘合剂比如淀粉;和润滑剂比如硬脂酸镁。片剂可以是未包衣的或者为了美观或者为了延迟活性成分的释放,可以通过已知技术将它们包衣。用于口服用途的制剂也可以作为硬明胶胶囊剂存在,其中活性成分与惰性稀释剂混合。

[0152] 对于口服给药,本发明的化合物和/或组合物可以通过常规方式与药学上可接受的赋形剂比如粘合剂(例如,聚乙烯吡咯烷酮、羟丙基纤维素或羟丙基甲基纤维素);填充剂(例如,玉米淀粉、乳糖、微晶纤维素或磷酸钙);润滑剂(例如,硬脂酸镁、滑石粉或二氧化硅);崩解剂(例如,羟乙酸淀粉钠);或润湿剂(例如,月桂基硫酸钠)一起制备的片剂或胶囊剂的形式。如果期望,可以使用合适的方法和包衣材料比如从Colorcon, West Point, Pa. 可获得的OPADRY™膜包衣系统(例如,OPADRY™OY型、OYC型、有机肠溶OY-P型、水性肠溶型OY-A型、OY-PM型和OPADRY™白、32K18400)对片剂进行包衣。用于口服给药的液体制剂可以是溶液、糖浆或悬浮液的形式。可以通过常规方式与药学上可接受的添加剂比如助悬剂(例如,山梨糖醇糖浆、甲基纤维素或氢化食用脂肪);乳化剂(例如,卵磷脂或阿拉伯胶);非水载体(例如,杏仁油、油性酯或乙醇);和防腐剂(例如,对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯或山梨酸)一起制备液体制剂。

[0153] 制粒技术在制药领域周所周知的是用于改性活性成分的起始粉末或其他颗粒材料。通常将粉末与粘合剂材料混合成较大的永久性的自由流动的附聚物或颗粒,其被称为“制粒”。例如,使用溶剂的“湿法”制粒工艺的特征通常在于将粉末与粘合剂材料混合并且在导致形成湿的颗粒状物质的条件下用水或有机溶剂润湿,然后必须从其中蒸发溶剂。

[0154] 熔融制粒通常包括在基本上没有添加的水或其他液体溶剂的情况下使用在室温下是固体或半固体的材料(即,具有相对低的软化点或熔点范围)从而促进粉末化的其他材料的制粒。当加热至熔点范围内的温度时,低熔点固体液化以用作粘合剂或制粒介质。液化的固体将自身散布在与其接触的粉末化的材料的表面上并且在冷却后形成固体颗粒状物质,其中初始材料被粘合在一起。然后将所熔融制粒提供至压片机或将其封装以便制



备口服剂型。熔融制粒通过形成固体分散体或固溶体改善了活性物质(即,药物)的溶解速率和生物利用度。

[0155] 美国专利号5,169,645公开了具有改善的流动性质的可直接压缩的含蜡颗粒。当在熔体中将蜡与某些流动改善添加剂混合,接着将混合物冷却并制粒时,获得颗粒。在某些实施方式中,在蜡(一种或多种)和添加剂(一种或多种)的熔体组合中仅蜡本身熔融,并且在其他情况下,蜡(一种或多种)和添加剂(一种或多种)二者均熔融。

[0156] 本发明还包括多层片剂,其包括提供用于延迟释放本发明的一种或多种化合物和/或组合物的层,和提供用于立即释放药物以便治疗疾病或病症的进一步的层。使用蜡/pH-敏感的聚合物混合物可以获得胃不溶性组合物,其中包埋了活性成分,从而确保其延迟释放。

[0157] 肠胃外给药

[0158] 对于肠胃外给药,可以将本发明的化合物和/或组合物配制用于注射或输注,例如,静脉内、肌内或皮下注射或输注,或者用于大剂量给药和/或连续输注。可以使用油性或水性载体中的悬浮液、溶液或乳剂,其任选地含有其他配方剂比如助悬剂、稳定剂和/或分散剂。

[0159] 肺部给药

[0160] 可以以适于经口腔肺部给药的制剂制备、包装或销售本发明的药物组合物。这种制剂可以包括干燥的颗粒,其包括活性成分并且其具有大约0.5至大约7微米,并且优选地大约1至大约6微米范围内的直径。这种组合物方便地为干粉形式,其用于使用包括干粉贮存器的装置给药,可将推进剂流引导至干粉贮存器以分散粉末,或者使用自推进溶剂/粉末分配容器比如包括溶解或悬浮在密封容器中的低沸点推进剂中的活性成分的装置。优选地,这种粉末包括其中按重量计至少98%的颗粒具有大于0.5微米的直径并且按数量计至少95%的颗粒具有小于7微米的直径的颗粒。更优选地,按重量计至少95%的颗粒具有大于1纳米的直径并且按数量计至少90%的颗粒具有小于6微米的直径。干燥粉末组合物优选地包括固体细粉稀释剂比如糖并且以单位剂型方便地提供。

[0161] 低沸点推进剂通常包括在大气压下具有低于65°F的沸点的液体推进剂。通常,推进剂可以构成组合物的50至99.9% (w/w),并且活性成分可以构成组合物的0.1至20% (w/w)。推进剂可以进一步包括另外的成分比如液体非离子或固体阴离子表面活性剂或固体稀释剂(优选地具有与包括活性成分的颗粒相同数量级的颗粒尺寸)。

[0162] 配制用于肺部递送的本发明的药物组合物还可以以溶液或悬浮液的液滴形式提供活性成分。这种制剂可以作为包括活性成分的水性或稀释的醇溶液或悬浮液制备、包装或销售,其任选地无菌以便通过注射给药,并且可以使用任何雾化或气雾化装置方便地给药。在某些实施方式中,本发明的化合物和/或组合物在给药至患者之前被无菌过滤。这种制剂可以进一步包括一种或多种另外的成分,其包括,但不限于,调味剂比如糖精钠、挥发油、缓冲剂、表面活性试剂或防腐剂比如羟基苯甲酸甲酯。通过该给药途径提供的液滴优选地具有大约0.1至大约200微米范围内的平均直径。

[0163] 鼻内递送

[0164] 本文描述的可用于肺部递送的制剂还可用于本发明的药物组合物的鼻内递送。

[0165] 适于鼻内给药的另外的制剂是包括活性成分并且具有大约0.2至500微米的平均



颗粒的粗粉末。这种制剂以其中采取鼻吸药的形式给药,即,从鼻子附近的粉末的容器通过鼻道快速吸入。

[0166] 适于经鼻给药的制剂,例如,可以包括大约低至0.1% (w/w) 和高达75% (w/w) 的活性成分,并且可以进一步包括本文所述的一种或多种另外的成分。

[0167] 经颊递送

[0168] 可以以适于经颊给药的制剂制备、包装或销售本发明的药物组合物。这种制剂,例如,可以是使用常规方法制造的片剂或锭剂形式,并且可以是,例如,0.1至20% (w/w) 的活性成分,余量包括口腔可溶解或可降解的组合物,以及任选地,本文描述的一种或多种另外的成分。可选地,适于经颊给药的制剂可以包括包含活性成分的粉末或雾化或气雾化的溶液或悬浮液。当分散时,这种粉末化、雾化、气雾化的制剂,优选地具有大约0.1至大约200微米范围内的平均颗粒或液滴尺寸,并且可以进一步包括本文所述的一种或多种另外的成分。

[0169] 经眼给药

[0170] 可以以适于经眼给药的制剂制备、包装或销售本发明的药物组合物。这种制剂,例如,可以是滴眼剂的形式,其包括,例如,水性或油性液体载体中活性成分的0.1%-1.0% (w/w) 溶液或悬浮液。这种滴剂可以进一步包括缓冲剂、盐、或本文所述的一种或多种另外的成分。其他有用的可经眼给药的制剂包括包含微晶形式或脂质构建体制剂中的活性成分的那些。

[0171] 另外的给药形式

[0172] 本发明的另外的剂型包括美国专利号6,340,475;6,488,962;6,451,808;5,972,389;5,582,837和5,007,790中所描述的剂型。本发明的另外的剂型还包括美国专利申请号20030147952;20030104062;20030104053;20030044466;20030039688和20020051820中描述的剂型。本发明的另外的剂型还包括PCT申请号WO 03/35041;WO 03/35040;WO 03/35029;WO 03/35177;W003/35039;WO 02/96404;WO 02/32416;WO 01/97783;WO 01/56544;W001/32217;WO 98/55107;WO 98/11879;WO 97/47285;WO 93/18755和W090/11757中描述的剂型。

[0173] 控制释放制剂和药物递送系统

[0174] 在某些实施方式中,本发明的制剂可以是,但不限于,短期,快速偏移,以及控制的,例如,持续释放、延迟释放和脉冲释放制剂。

[0175] 术语持续释放以其常规意义使用,是指在延长的时间段内提供药物的逐渐释放以及,尽管不一定,在延长的时间段内可导致基本恒定的药物血液水平的药物制剂。该时间段可以是长达一个月或更长并且释放时间应比以药丸形式给药相同量的试剂的时间更长。

[0176] 为了持续释放,可以用向化合物和/或组合物提供持续的释放性质的合适的聚合物或疏水材料配制该组合物。因此,用于本发明的方法的组合物和/或组合物可以以微粒形式,例如,通过注射或者通过植入以晶片或盘片形式给药。

[0177] 在某些实施方式中,使用持续释放制剂,将本发明化合物和/或组合物单独或与另外的药剂组合给药至患者。

[0178] 术语延迟释放在本文中以其常规含义使用,是指在药物给药后的一些延迟之后提供药物的初始释放以及,尽管不一定,包括大约10分钟至高达大约12小时的延迟的药物制

剂。

[0179] 术语脉冲释放在本文中以其常规含义使用,是指在药物给药后以产生药物的脉冲血浆分布的方式提供药物释放的药物制剂。

[0180] 术语立即释放以其常规含义使用,是指在药物给药后立即提供药物释放的药物制剂。

[0181] 如本文所使用,短期是指在药物给药后至多并包括大约8小时、大约7小时、大约6小时、大约5小时、大约4小时、大约3小时、大约2小时、大约1小时、大约40分钟、大约20分钟或大约10分钟以及其全部或部分增量的任何时间段。

[0182] 如本文所使用,快速偏移是指在药物给药后至多并包括大约8小时、大约7小时、大约6小时、大约5小时、大约4小时、大约3小时、大约2小时、大约1小时、大约40分钟、大约20分钟或大约10分钟以及其全部或部分增量的任何时间段。

[0183] 剂量

[0184] 本发明的化合物和/或组合物的治疗有效量或剂量取决于患者的年龄、性别和体重、患者当前的医疗状况和被治疗的患者的本文所考虑的疾病或病症的进展。技术人员能够根据这些和其他因素确定适当的剂量。

[0185] 本发明的化合物和/或组合物的合适剂量可以在每天大约0.01mg至大约5,000mg,比如大约0.1mg至大约1,000mg,例如,大约1mg至大约500mg,比如每天大约5mg至大约250mg范围内。该剂量可以以单个剂量或多个剂量给药,例如每天1至4或更多次。当使用多个剂量时,每个剂量的量可以相同或不同。例如,每天1mg的剂量可以以两个0.5mg剂量给药,其中两次剂量之间间隔大约12小时。

[0186] 应当理解,在非限制性实例中,每天给药的化合物和/或组合物的量可以每天、每隔一天、每2天、每3天、每4天或每5天给药。例如,对于每隔一天给药,可以在星期一开始每天5mg的剂量,在星期三给药随后的第一个每天5mg剂量,在星期五给药随后的第二个每天5mg剂量,等等。

[0187] 在其中患者的状况的确改善的情况下,根据医生的判断,任选地连续给药本发明的抑制剂;可选地,所给药的药物剂量暂时减少或暂时中止一定时间长度(即,“药物假期”)。药物假期的长度任选地在2天和1年之间变化,其仅以实例的方式包括:2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、12天、15天、20天、28天、35天、50天、70天、100天、120天、150天、180天、200天、250天、280天、300天、320天、350天或365天。在药物假期期间的剂量减少包括10%–100%,其仅以实例的方式包括:10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。

[0188] 一旦患者的状况已经发生改善,如果必要,给药维持剂量。随后,根据病毒载量,将给药剂量或频率减少至维持改善的疾病的水平。在某些实施方式中,在症状和/或感染的任何复发之后,患者需要长期间歇治疗。

[0189] 用于本发明的方法的化合物和/或组合物可以以单位剂型配制。术语“单位剂型”是指适合作为用于正在进行治疗的患者的物理上离散的单位,其中每个单位含有经计算产生期望的治疗效果的预定量的活性材料,其任选地与合适的药物载体缔合。单位剂型可以是单个每日剂量或多个每日剂量的一个(例如,每天大约1至4或更多次)。当使用多个每日剂量时,对于每个剂量,单位剂型可以相同或不同。

[0190] 在细胞培养或实验动物中任选地确定这种治疗方案的毒性和治疗效果,包括,但不限于,确定LD<sub>50</sub> (致死50%动物数量的剂量) 和ED<sub>50</sub> (对50%动物数量治疗有效的剂量)。毒性和治疗效果之间的剂量比是治疗指数,其表示为LD<sub>50</sub>和ED<sub>50</sub>之间的比例。从细胞培养测定和动物研究获得的数据任选地用于配制用于人的剂量范围。这种化合物和/或组合物的剂量优选地在循环浓度范围内,该循环浓度包括具有最小毒性的ED<sub>50</sub>。取决于所采用的剂型和所利用的给药途径,剂量任选地在该范围内变化。

[0191] 定义

[0192] 除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语通常具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的相同含义。通常,本文所用的命名法以及有机化学和蛋白质化学中的实验室步骤是本领域所公知的和常用的那些。

[0193] 冠词“一个(a,an)”在本文中用于指代该冠词的语法对象的一个或多个(即,至少一个)。通过实例的方式,“一个元件”意思是了一个元件或多于一个元件。

[0194] 如本文所用,术语“大约”是本领域普通技术人员所理解的,并且在其使用的上下文中在一定程度上变化。如本文所使用,当涉及比如量、时间持续等可测量值时,术语“大约”意思是包括与规定值相差,±20%或±10%,更优选地±5%,甚至更优选地±1%,仍更优选±0.1%的变化,因为这种变化适合进行所公开的方法。

[0195] 如本文所使用,术语“活性成分”是指将被递送至患者在患者中产生治疗效果的治疗剂。本发明所考虑的活性成分的非限制性实例是胰岛素、干扰素、甲状旁腺激素、降钙素、5-羟色胺、5-羟色胺激动剂、5-羟色胺再摄取抑制剂、人体生长激素、GIP、抗GIP单克隆抗体、二甲双胍、溴隐亭、多巴胺、胰高血糖素和/或GLP-1。

[0196] 术语“两亲性脂质”意思是具有极性端和非极性端的脂质分子。

[0197] “水性介质”意思是水或含水的缓冲液或盐。

[0198] 术语“生物利用度”是指胰岛素达到体循环并在作用位点可利用的速率和程度的测量。

[0199] 一方面,与患者有关的术语“共同给药(“co-administrated”和“co-administration”)”是指将本发明的化合物或其盐连同还可以治疗本文考虑的任何疾病或病症的化合物和/或与可用于治疗其他医学病症但其本身可能引起或促进本文考虑的任何疾病或病症的化合物一起给药至患者。在某些实施方式中,作为单个治疗方法的一部分,共同给药的化合物被分开给药或以任何类型的组合给药。可以以任何类型的组合将共同给药的化合物配制为在各种固体、凝胶和液体制剂下的固体和液体的混合物,以及溶液。

[0200] 如本文所使用,“疾病”是其中患者不能维持体内稳态,并且其中如果疾病没有改善,那么患者的健康继续恶化的患者的健康状态。

[0201] 如本文所使用,患者的“病症”是其中患者能够维持体内稳态,但其中患者的健康状态比没有该病症的情况下更不利的健康状态。如果不治疗,病症不一定会导致患者健康状态的进一步下降。

[0202] 如本文所使用,术语“ED<sub>50</sub>”是指在给药该制剂的患者中产生50%的最大作用的制剂的有效剂量。

[0203] 如本文所使用,化合物的“有效量”、“治疗有效量”或“药学有效量”是足以向给药该化合物的患者提供有益效果的化合物的量。

[0204] 术语“游离活性成分”或“游离治疗剂”是指未分散在脂质颗粒内(即,定位在脂质颗粒膜内,吸附在脂质颗粒膜上和/或结合至脂质颗粒膜)的活性成分或治疗剂。

[0205] 术语“甘精”和“甘精胰岛素”二者是指重组人胰岛素类似物,其与人胰岛素的不同之处在于A21位的氨基酸天冬氨酸被甘氨酸取代并且两个精氨酸被添加至B-链的C-末端。化学上,它是 $21^A\text{-Gly-}30^B\text{-L-Arg-}30^B\text{-L-Arg-}$ 人胰岛素并且具有 $\text{C}_{267}\text{H}_{404}\text{N}_{72}\text{O}_{78}\text{S}_6$ 的经验式和6063的分子量。

[0206] 本文所使用的术语“说明材料”包括出版物、记录、图表、或可以用于传达试剂盒中本发明的组合物和/或化合物的有用性的任何其他表达介质。试剂盒的说明材料,例如,可以固定至含有本发的明化合物和/或组合物的容器或者可以与含有化合物和/或组合物的容器一起运输。可选地,说明材料可以与容器分开运输,旨在使接收者配合地使用说明材料和化合物。说明材料的递送可以是,例如,通过出版物或传达试剂盒的有用性的其他表达介质的物理递送,或者可以可选地通过电子传输,例如通过计算机的方式,比如通过电子邮件,或者从网页下载实现。

[0207] 术语“胰岛素”是指天然或重组形式的胰岛素,以及上述胰岛素的衍生物。胰岛素的实例包括,但不限于赖脯胰岛素、门冬胰岛素(比如,例如,FIASP®, Novo Nordisk)、常规胰岛素、甘精胰岛素、锌胰岛素、稀释锌人胰岛素、低精蛋白胰岛素、缓冲常规人胰岛素、赖谷胰岛素、常规重组人胰岛素和重组低精蛋白人胰岛素。还包括动物胰岛素,比如牛或猪胰岛素。

[0208] 术语“等电点”是指蛋白质上正电荷和负电荷的浓度相等,并且因此,蛋白质将表达净零电荷时的pH。在等电点,蛋白质将几乎完全以两性离子的形式或蛋白质形式之间的混合存在。蛋白质在其等电点最不稳定,并且在该pH下更容易凝结或沉淀。然而,蛋白质在等电沉淀后不会变性,因为该过程基本上是可逆的。

[0209] 术语“脂质构建体”是指脂质和/或磷脂颗粒,其中各个脂质分子相互作用以创建限定脂质构建体的边界的双极脂质膜。

[0210] 如本文所使用的术语,“调节”(“to modulate”或“modulation of”)生物或化学过程或状态是指改变生物或化学过程的正常过程,或者将生物或化学过程的状态改变为不同于当前状态的新的状态。例如,调节多肽的等电点可涉及增大多肽的等电点的改变。可选地,调节多肽的等电点可涉及减小多肽的等电点的改变。

[0211] 术语“非甘精胰岛素”是指所有不是甘精胰岛素的天然或重组胰岛素。该术语包括具有胰岛素生物活性的胰岛素样部分,其包括胰岛素分子的片段。

[0212] 如本文所使用,术语“药物组合物”或“组合物”是指具有药学上可接受的载体的在本发明内有用的至少一种化合物的混合物。该药物组合物促进将化合物给药至患者。

[0213] 如本文所使用,术语“药学上可接受的”是指不废除本发明中有用的化合物的生物活性或性质并且相对无毒的材料,比如载体或稀释剂,即,可以给药至患者而不引起不期望的生物效果或不与含有其的组合物的任何组分以有害的方式相互作用的材料。

[0214] 如本文所使用,术语“药学上可接受的载体”意思是药学上可接受的材料、组合物或载体,比如液体或固体填充剂、稳定剂、分散剂、助悬剂、稀释剂、赋形剂、增稠剂、溶剂或封装材料,其涉及携带或输送本发明中有用的化合物在患者内或至患者使得其可以进行其预期的功能。通常,将这种构建体从身体的一个器官或一部分携带或输送至身体的另一个

器官或一部分。在与包括本发明中有用的化合物的制剂的其他成分相容的意义上,每种载体必须是“可接受的”并且对患者无害。可以用作药学上可接受的载体的材料的一些实例包括:糖,比如乳糖、葡萄糖和蔗糖;淀粉,比如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素,及其衍生物,比如羧甲基纤维素钠,乙基纤维素和乙酸纤维素;黄芪粉;麦芽;明胶;滑石;赋形剂,比如可可脂和栓剂蜡;油,比如花生油,棉籽油,红花油,芝麻油,橄榄油,玉米油和大豆油;二醇,比如丙二醇;多元醇,比如甘油,山梨醇,甘露醇和聚乙二醇;酯,比如油酸乙酯和月桂酸乙酯;琼脂;缓冲剂,比如氢氧化镁和氢氧化铝;表面活性剂;海藻酸;无热原水;等渗盐水;林格溶液;乙醇;磷酸盐缓冲溶液;以及药物制剂中采用的其他无毒相容性物质。如本文所使用,“药学上可接受的载体”还包括与本发明中有用的化合物的活性相容的并且患者生理上可接受的任何和所有包衣、抗菌剂和抗真菌剂、和吸收延迟剂等。补充活性化合物还可以掺入到组合物中。“药学上可接受的载体”可以进一步包括本发明中有用的化合物的药学上可接受的盐。在本发明的实践中使用的药物组合物中可能包含的其他另外的成分在本领域中是已知的,并且在例如Remington的Pharmaceutical Sciences (Genaro, Ed., Mack Publishing Co., 1985, Easton, PA) 中描述,其通过引用并入本文。

[0215] 如本文所使用,语言“药学上可接受的盐”是指由药学上可接受的无毒酸和碱制备的所给药的化合物的盐,该无毒酸和碱包括无机酸、无机碱、有机酸、无机碱、溶剂化物、水合物和其包合物。

[0216] 如本文所使用的术语“预防(“prevent”、“preventing”或“prevention”)”意思是避免或延迟在给药试剂或化合物时未发展出这种症状的患者中与疾病或病状相关的症状的发作。疾病、病状和病症在本文可互换地使用。

[0217] 如本文所使用的术语“特异性结合”(“specifically bind”或“specifically binds”)意思是第一分子优先地结合至第二分子(例如,特定受体或酶),但不一定仅结合至该第二分子。

[0218] 如本文所使用,“患者”可以是人或非人哺乳动物或鸟类。非人哺乳动物包括,例如,牲畜和宠物,比如绵羊、牛、猪、犬、猫和鼠类哺乳动物。在某些实施方式中,患者是人。

[0219] 如本文所使用的术语“治疗”(“treat”、“treating”或“treatment”)意思是通过将试剂或化合物给药至患者降低患者所经历的疾病或病状的症状的频率或严重性。

[0220] 在整个本公开内容中,可以以范围格式呈现本发明的各个方面。应当理解,范围格式的描述仅仅是为了方便和简洁,并且不应当被解释为对本发明的范围的僵化的限制。因此,范围的描述应当被认为公开了所有可能的子范围以及该范围内的单个数值,以及在适当时,公开了范围内的数值的部分整数。例如,比如对范围1至6的描述应当视为已具体公开了比如1至3、1至4、1至5、2至4、2至6、3至6等子范围,以及该范围的单个数,例如,1、2、2.7、3、4、5、5.3和6。无论范围的广度如何,这都适用。

[0221] 仅使用常规实验,本领域技术人员将认识到或者能够确定本文描述的具体步骤、实施方式、权利要求和实例的许多等同方案。这些等同方案被认为在本发明的范围内并且由所附的权利要求涵盖。例如,应当理解,使用本领域公知的替代方案和使用常规实验的反应条件的更改,反应条件包括但不限于反应时间,反应尺寸/体积,实验试剂,比如溶剂,催化剂,压力,大气条件,例如,氮气氛围,和还原剂/氧化剂,在本申请的范围内。

[0222] 应当理解,本文中无论在何处提供值和范围,这些值和范围所涵盖的所有值和范

围旨在包括在本发明的范围内。此外,本发明还考虑了落入这些范围内的所有值以及该值范围的上限和下限。

[0223] 以下实施例进一步说明了本发明的方面。然而,它们绝不是对本文阐述的本发明的教导或公开内容的限制。

[0224] 实验实施例

[0225] 现在将参考以下实施例描述本发明。提供这些实施例仅为了说明的目的并且本发明绝不当被解释为限于这些实施例,而是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所有变型。

[0226] 无需进一步描述,相信本领域普通技术人员可以使用先前的描述和以下说明性实施例来制造并利用本发明的化合物并且实践所要求保护的方法。因此,以下工作实施例指出了本发明的具体实施方式,并且不应解释为以任何方式限制本公开内容的其余部分。

[0227] 现在描述该实验实施例中所呈现的实验中所使用的材料和方法。

[0228] 实施例1:

[0229] 制备并表征表1所述的组合物:

[0230] 表1

[0231] 制剂 (mg/mL)

[0232]	组分	A	B	C	D
	二硬脂酰基磷脂酰胆碱 (DSPC)	10.075	8.063	10.075	7.53
	磷酸二鲸蜡酯 (DCP)	2.575	2.575	2.575	2.57
	胆固醇	1.330	1.330	1.330	1.33
	生物素PE	0.220	0.220	0.220	0.21
	硬脂酰溶血磷脂酰胆碱	0	2.0	0	1.21
	间甲酚	0	0	3.000	3.00

[0233] 将两亲性化合物溶解在氯仿/甲醇 (2:1) 混合物中,接着在旋转蒸发和真空下去除有机溶剂。然后将干燥的材料与磷酸盐缓冲液水合并均质化至小于100nm的颗粒尺寸。

[0234] 表1中示出了三种制剂。制剂A是对照纳米颗粒制剂,其提供了特性小颗粒尺寸。制剂A的颗粒尺寸确定为<100nm。有趣地,在其制备的2周内,发现制剂A形成了细小的漂浮物结构,其是单个纳米颗粒的可破坏的聚集体 (图1A-1B)。在几个月的时间段内,纳米颗粒聚集体经历小的尺寸增加。

[0235] 在制剂B中,用硬脂酰溶血磷脂酰胆碱代替25%的DSPC。制剂B的颗粒尺寸确定为<100nm。制剂B中形成的颗粒的尺寸与制剂A中那些的尺寸相当,但制剂B没有形成细小的结构,比如制剂A中观察到的那些。

[0236] 制剂C具有与制剂A相同量的DSPC,但进一步包括3% (wt) 的间甲酚。间甲酚以防止纳米颗粒聚集的方式掺入,并且制剂C的确不会形成细小结构,比如制剂A中的那些。具有与间甲酚相似结构的其他酚结构可以用于稳定纳米颗粒。

[0237] 在某些实施方式中,在均质化之前,可以将硬脂酰溶血磷脂酰胆碱和/或至少一种酚化合物添加至初始两亲性混合物。在其他实施方式中,可以在均质化之后添加至少一种酚化合物。不希望受任何理论的限制,至少一种酚化合物吸附到膜边缘以稳定颗粒。

[0238] 实施例2:具有稳定边缘的纳米颗粒的生物功效

[0239] 在胰岛素缺乏的狗中测试了包括赖脯胰岛素的两种形式的肝细胞靶向的纳米颗粒以确定其作为降糖剂的功效。将制剂A与本发明的制剂(制剂B)的非限制性实例进行比较。作为对照研究,使用了缺乏任何肝细胞靶向的商用赖脯胰岛素。将狗饲养在认可的动物研究设施中,并且采取了所有适当的管理控制。在该交叉研究中,纳米颗粒的浓度、赖脯胰岛素的剂量、食物消耗和研究时间均是可比较的。

[0240] 在该开放标签交叉研究中,使用链脲佐菌素治疗治疗了体重5-10kg的小猎犬公狗的胰岛素缺乏。在肠胃外胰岛素注射稳定和对照饮食的标准化喂养之后,使狗进食过夜。该狗的血糖水平是 $<200\text{mg/dL/kg}$ 体重,其将用于该研究。

[0241] 在皮下注射各种制剂的赖脯胰岛素30分钟后,给狗喂入规定量的标准狗粮,各种制剂的赖脯胰岛素为:肝细胞靶向的赖脯胰岛素(制剂A)、肝细胞靶向的赖脯胰岛素(制剂B)、或缺乏任何肝细胞靶向的商用赖脯胰岛素(对照)。制剂A和B在口服葡萄糖耐量测试中具有类似的效果(图2),与使用对照赖脯胰岛素的相同胰岛素剂量相比,狗在测试餐之后显示了血糖水平的明显降低。进一步地,制剂B在该耐受性测试中显示出比制剂A更好的整体性能。总之,当材料如硬脂酰溶血磷脂酰胆碱或酚化合物(比如间甲酚)被添加至膜时,不是完美或完整的球的磷脂膜具有改善的颗粒稳定性。与缺乏这种稳定组分的制剂相比,这些制剂提供了更期望的稳定性并且防止颗粒聚集。

[0242] 实施例3:

[0243] 图3-4示出了在将增加量的溶血卵磷脂添加至本发明的HDV组合物之后所观察到的增加的化学稳定性和颗粒稳定性。

[0244] 添加溶血卵磷脂,代替例如二硬脂酰基卵磷脂(DSPC)的一部分,防止了在制造后的一周期间HDV形成白色薄片的趋势。不希望受任何理论的限制,剥落可能由HDV结构的片段化的边缘引起,其允许HDV单元粘附至彼此。在某些实施方式中,剥落可能是制造过程的问题,需要另外的过滤步骤。

[0245] 进一步地,如图4中所证明,通过初始添加溶血卵磷脂至组合物抑制了来自DSPC的溶血卵磷脂形成。进一步地,这发生时,没有产生可测量的硬脂酸增加。

[0246] 综上所述,所呈现的数据证明,使用溶血卵磷脂代替本发明的组合物中DSPC的一部分提供有利于HDV组合物的生产,至少因为它允许更可靠的制造过程,减少了过程步骤总数,并且还改善本发明的组合物的稳定性。

[0247] 本文引用的每个和每一个专利、专利申请和出版物的公开内容在此通过引用以其全部并入本文。虽然应参考具体实施方式公开了本发明,但显而易见的是,本领域的其他技术人员可以设计本发明的其他实施方式和变型,而不脱离本发明的精神和范围。所附的权利要求旨在被解释为包括所有这些实施方式和等同变型。



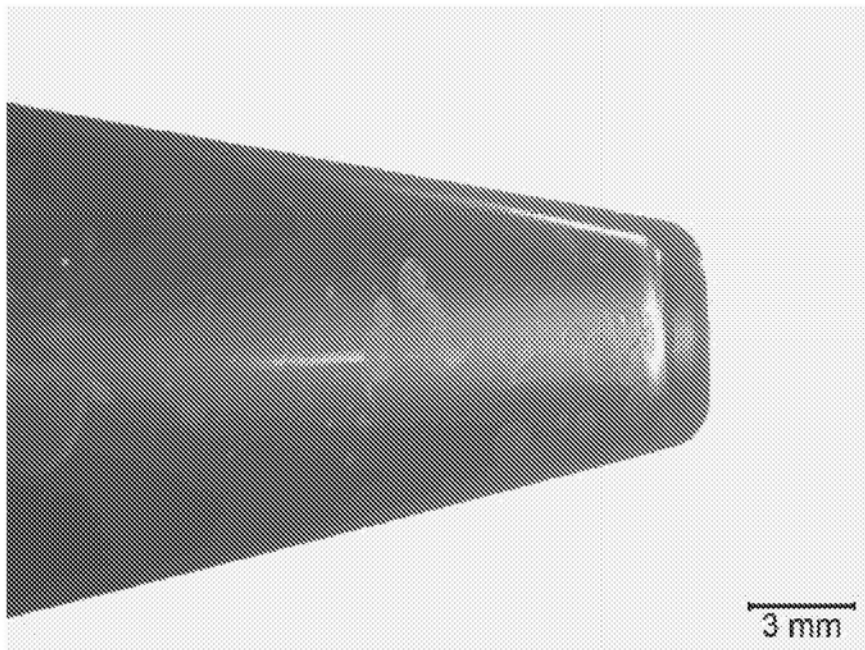


图1A

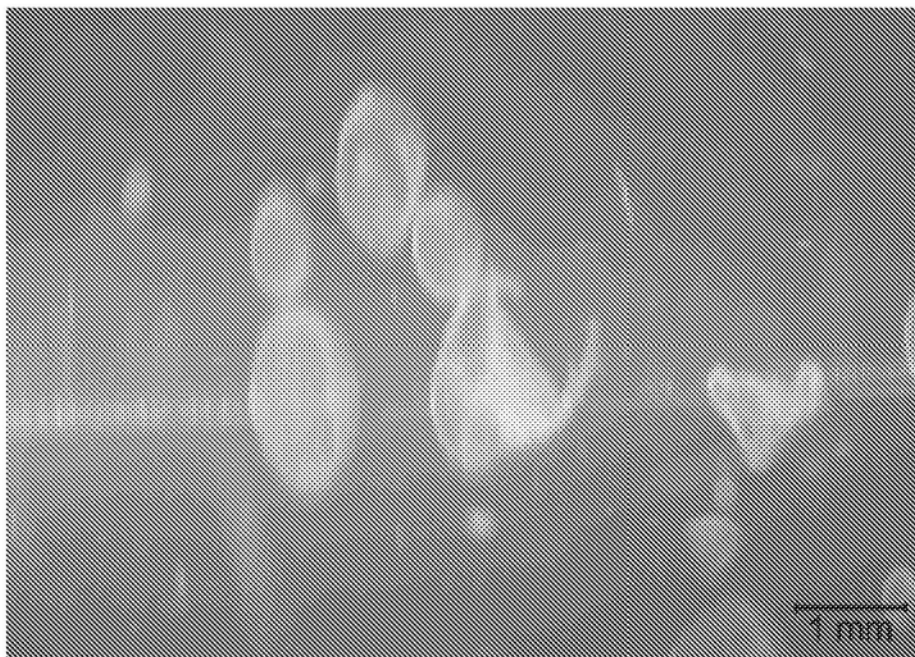


图1B



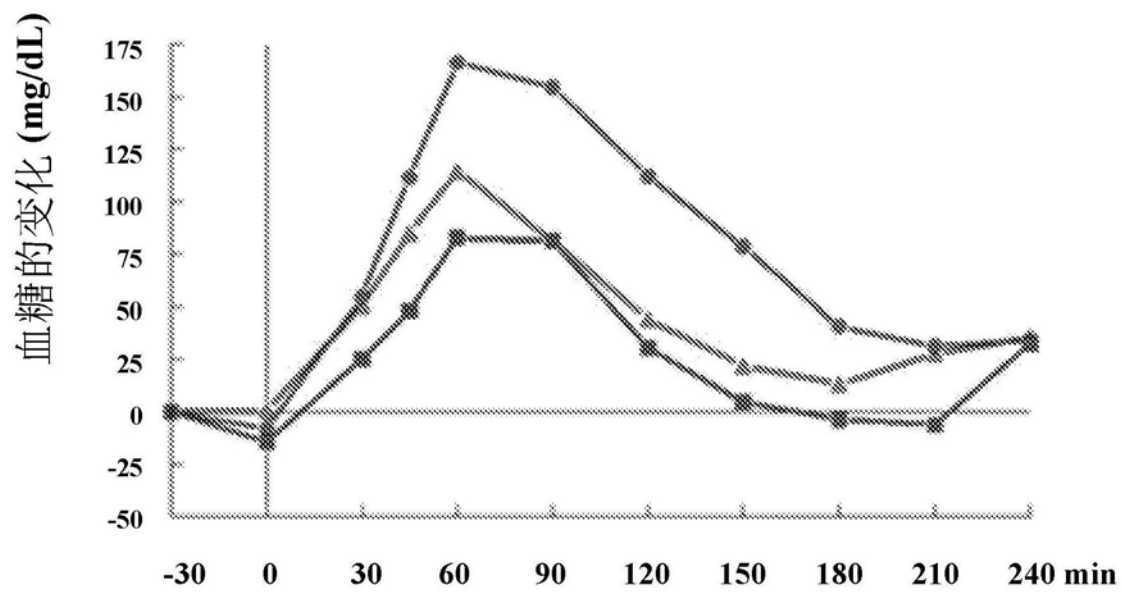


图2

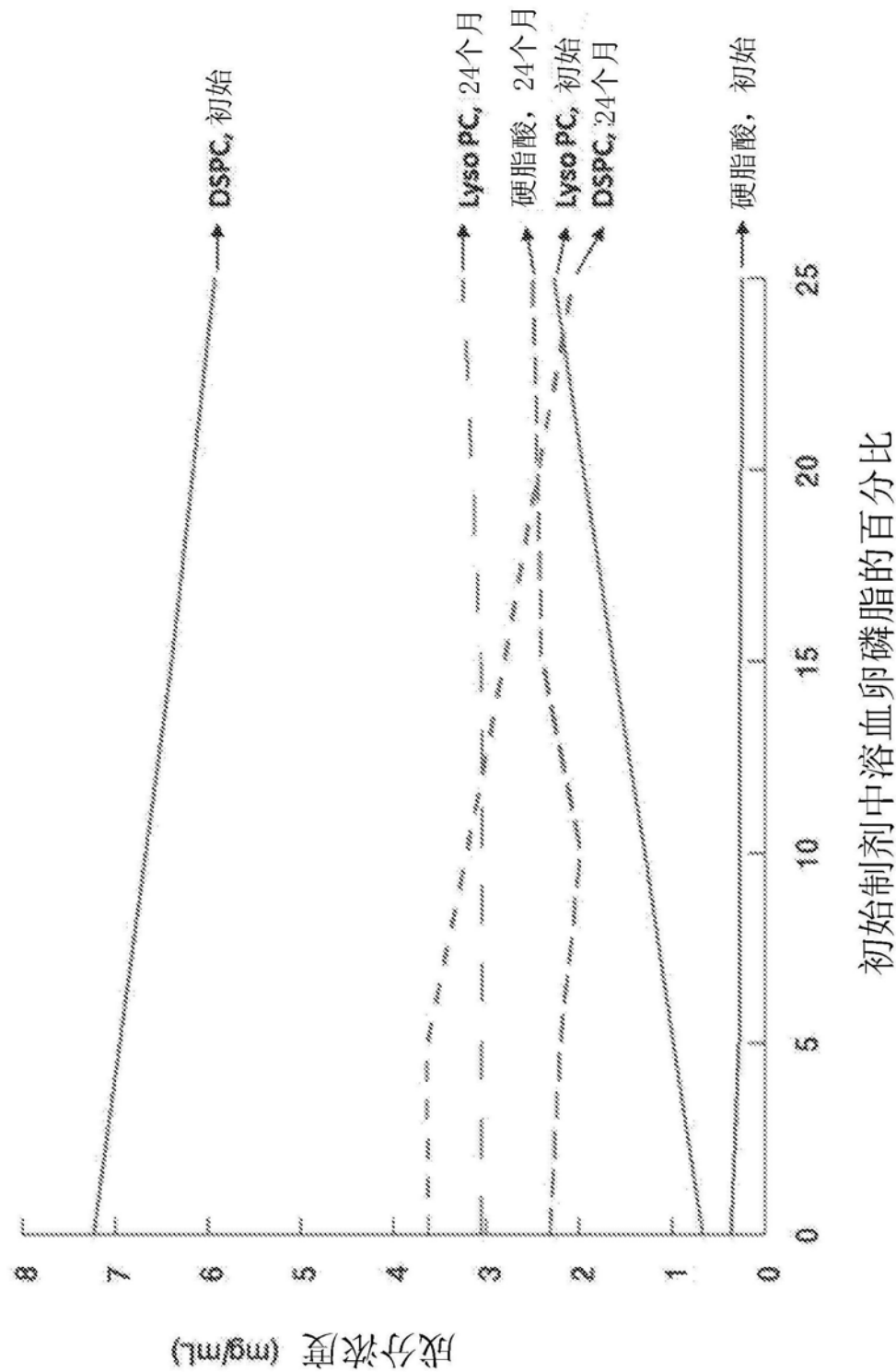


图3

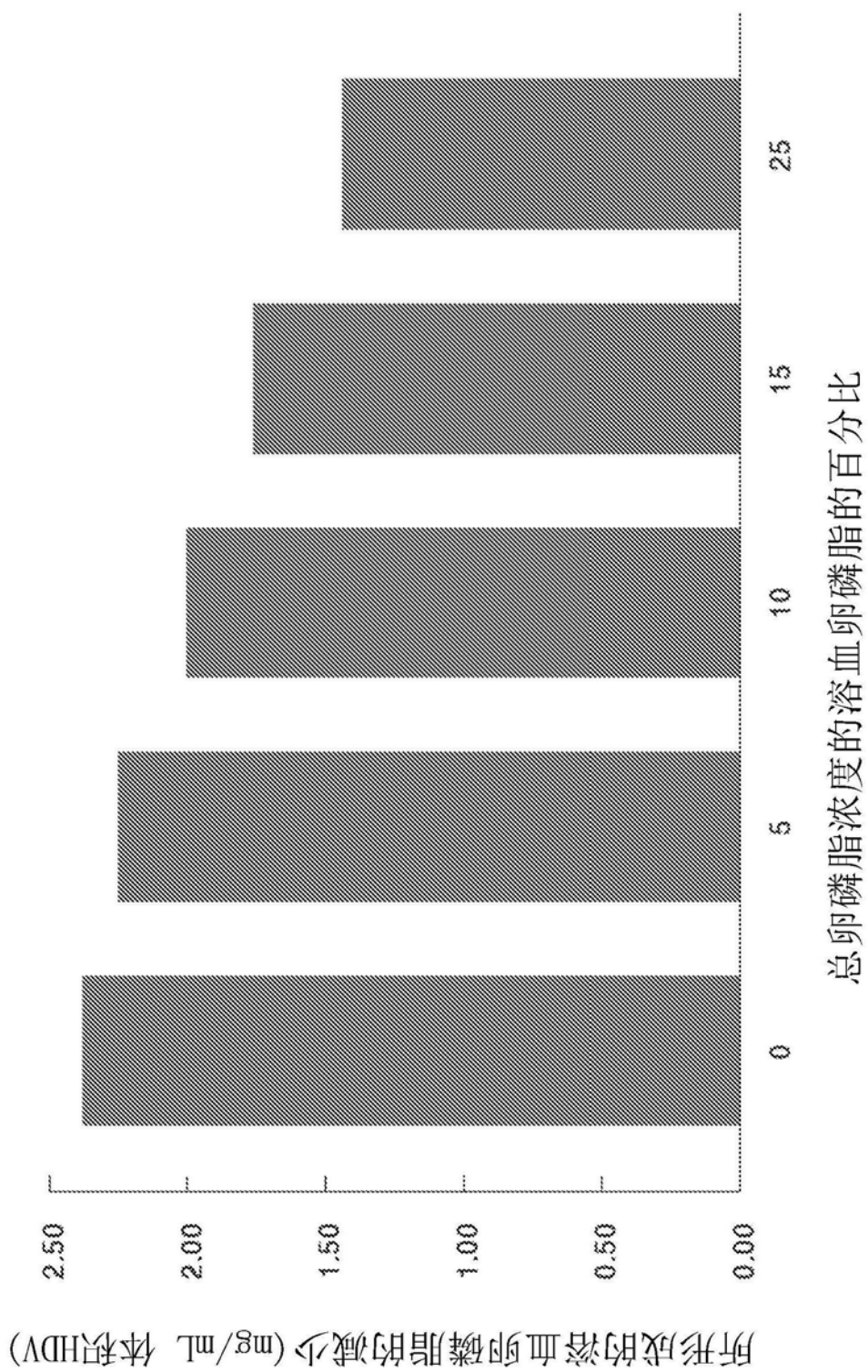


图4