



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110151979 A

(43)申请公布日 2019.08.23

(21)申请号 201910287860.0

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2014.01.02

A61K 38/22(2006.01)

(30)优先权数据

A61K 38/28(2006.01)

PCT/IL2013/050007 2013.01.03 IL  
61/763,996 2013.02.13 US

A61K 38/55(2006.01)

(62)分案原申请数据

A61K 38/56(2006.01)

201480003919.4 2014.01.02

A61K 9/48(2006.01)

(71)申请人 奥拉姆德有限公司

A61K 47/44(2017.01)

地址 以色列耶路撒冷

(72)发明人 米丽娅姆·基德隆

A61P 1/16(2006.01)

埃胡德·阿比特

(74)专利代理机构 隆天知识产权代理有限公司

权利要求书2页 说明书40页

72003

序列表3页

代理人 吴小瑛 付文川

(54)发明名称

用于治疗NAFLD、肝性脂肪变性及其后遗症  
的方法和组合物

(57)摘要

本文中提供含有GLP-1类似物和/或胰岛素  
的治疗非酒精性脂肪肝病(NAFLD)、肝性脂肪变  
性及其后遗症和降低其发生率的口服药物组合  
物,和利用这些组合物的方法。

1. 一种用于抑制非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 形成或对其治疗的口服药物组合物，所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物或其组合，蛋白酶抑制物，和二价阳离子的螯合物。
2. 根据权利要求1所述的口服药物组合物，其中所述药物组合物施用多于一个月。
3. 根据权利要求1所述的口服药物组合物，其中所述药物组合物每日一次或每日二次施用。
4. 根据权利要求1所述的口服药物组合物，其中所述药物组合物包含液态制剂，其中所述胰岛素、GLP-1类似物或其组合，所述蛋白酶抑制物和所述二价阳离子的螯合物处于所述液态制剂中。
5. 根据权利要求4所述的口服药物组合物，其中所述液态制剂处于胶囊内部。
6. 根据权利要求5所述的口服药物组合物，其中所述胶囊被抵抗胃中降解的包衣包围。
7. 根据权利要求4所述的口服药物组合物，其中所述液态制剂是基于油的液态制剂。
8. 根据权利要求1所述的口服药物组合物，其中所述药物组合物是固态制剂。
9. 根据权利要求1-8中任一项所述的口服药物组合物，其中所述GLP-1类似物以成年患者的每剂量100-600微克之间的量(包含端值)存在或以儿科患者的相应的量/体重存在。
10. 根据权利要求9所述的口服药物组合物，其中所述GLP-1类似物以成年患者的每剂量100-300微克之间的量(包含端值)存在或以儿科患者的相应量/体重存在。
11. 根据权利要求9或10所述的口服药物组合物，其中所述GLP-1类似物是艾塞那肽。
12. 根据权利要求1-8中任一项所述的口服药物组合物，其中所述胰岛素以成年患者的每剂量8-32mg/之间的量(包含端值)存在或以儿科患者的相应量/体重存在。
13. 根据权利要求1-8中任一项所述的口服药物组合物，其中所述胰岛素以成年患者的每剂量4-12mg/之间的量(包含端值)存在或以儿科患者的相应量/体重存在。
14. 根据权利要求13所述的口服药物组合物，其中除所述胰岛素之外，所述GLP-1类似物以成年患者的每剂量100-300微克之间的量(包含端值)存在或以儿科患者的相应量/体重存在。
15. 根据权利要求14所述的口服药物组合物，其中所述GLP-1类似物是艾塞那肽。
16. 根据权利要求1-15中任一项所述的口服药物组合物，其中所述蛋白酶抑制物选自大豆胰蛋白酶抑制物 (SB)、Bowman-Birk抑制物 (BBI)、Kunitz胰蛋白酶抑制物3 (KTI3) 和抑蛋白酶肽，其中每一者可以单独存在或与另一种蛋白酶抑制物组合。
17. 根据权利要求1-15中任一项所述的口服药物组合物，其中存在一种或多种大蛋白酶抑制物，并且所述蛋白酶抑制物整体上抑制胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶两者。
18. 根据权利要求1-15任一项所述的口服药物组合物，其中所述组合物中存在两种蛋白酶抑制物，并且所述两种蛋白酶抑制物是SBTI和抑蛋白酶肽。
19. 根据权利要求1-15任一项所述的口服药物组合物，其中所述组合物中存在两种蛋白酶抑制物，并且所述两种蛋白酶抑制物是分离的KTI3和分离的BBI。
20. 根据权利要求1-15任一项所述的口服药物组合物，其中所述组合物中存在两种蛋白酶抑制物，并且所述两种蛋白酶抑制物是(i) 分离的KTI3和(ii) 抑蛋白酶肽。
21. 根据权利要求1-15任一项所述的口服药物组合物，其中所述组合物中存在一种蛋白酶抑制物，并且所述蛋白酶抑制物是分离的BBI。
22. 根据权利要求1-21中任一项所述的口服药物组合物，其中所述螯合物是EDTA。

23. 根据权利要求7-22中任一项所述的口服药物组合物，其中所述油选自橄榄油、亚麻籽油、芝麻油、鳄梨油、胡桃油、卡诺拉油菜油和鱼油。
24. 根据权利要求23所述的口服药物组合物，其中所述油是鱼油。
25. 根据权利要求7-24中任一项所述的口服药物组合物，其中所述基于油的液态制剂是无水的。
26. 根据权利要求1-10、12-14和16-25中任一项所述的口服药物组合物，其中所述GLP-1类似物是艾塞那肽。
27. 一种抑制人类受试者中NAFLD的形成或对其治疗的方法，所述方法包括步骤：向所述受试者施用权利要求1-26中任一项所述的口服药物组合物，由此抑制NAFLD的形成或对其治疗。
28. 根据权利要求27所述的方法，其中所述药物组合物施用多于一个月。
29. 一种抑制非人类受试者中NAFLD的形成或对其治疗的方法，所述方法包括步骤：向所述非人动物施用权利要求1-26中任一项所述的口服药物组合物，由此抑制NAFLD的形成或对其治疗。
30. 根据权利要求29所述的方法，其中所述药物组合物施用多于一个月。

## 用于治疗NAFLD、肝性脂肪变性及其后遗症的方法和组合物

[0001] 本申请为申请号为2014800039194,申请日为2014年1月2日,发明名称为“用于治疗NAFLD、肝性脂肪变性及其后遗症的方法和组合物”的分案申请。

### 技术领域

[0002] 本文中提供含有GLP-1类似物和/或胰岛素的口服药物组合物,用于治疗非酒精性脂肪肝病(NAFLD)、肝性脂肪变性及其后遗症和降低其发生率。

### 背景技术

[0003] 在食物摄取的数分钟内分泌的肠促胰岛素激素胰高血糖素样肽1(GLP-1)与胰岛素释放的诱导相关。GLP-1用于2型糖尿病(T2DM)的疗法中。

[0004] 天然GLP-1的临床用途受限,原因在于其快速酶促失活,形成2-3分钟的半衰期。为了克服这种障碍,已经设计并正在使用天然和合成的长效抗降解肽,称作GLP-1模拟剂或类似物。

[0005] 非酒精性脂肪病(NAFLD)是一系列慢性疾病,包括肝性脂肪变性或温和的脂肪变性(bland steatosis)和温和的脂肪变性的后遗症,如非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、小叶坏死性炎症伴纤维化(lobular necroinflammation with fibrosis)和肝硬变(Sharma等人,2011;Puri等人,2008)。NAFLD相关的肝硬变可导致终末期肝病和肝细胞癌(HCC)。如同其他慢性终末期肝病,受累人员的主要选择是肝移植。NAFLD似乎与某些血脂异常(dyslipidemia)相关(Malhi等人,2008;Retnakaran R等人,2012;Sung等人,2012)。西方饮食的重要组分包括饱和脂肪酸和反式饱和脂肪酸。最近的证据表明,这类脂肪酸部分负责诱导皮脂腺病并促进了肝细胞胰岛素抗性(Centis等人,2010)。

[0006] 一些研究已经提出,GLP-1降低肝细胞中的脂肪负荷并可以用于治疗NAFLD,不过其他研究已经显示GLP-1增加肝糖原合酶活性,预计这加重NAFLD。实际上,甚至肝脏细胞中GLP-1受体是否存在仍有争论(Nielsen等人,2008,Redondo等人,2003;Lopez-Delgado等人,1998;Sharma等人,2011;Ben-Shlomo等人,2011)。认为需要更严格地评估与GLP-1对应的炎症和纤维化,以更充分地理解肝脏细胞对这些物质的反应(Kim等人,2012)。

[0007] 阿尔茨海默病(AD),还称作阿尔茨海默症,是最常见形式的痴呆。该疾病无法治愈,随着疾病进展加重并且最终导致死亡。在超过65岁的人中更经常诊断出AD,虽然流行率较低的早发性阿尔茨海默病可以更早地出现。在2006年,全世界存在二千六百六十万罹患者。AD的起因还没有被深入理解,不过它一般与淀粉样β肽和tau蛋白在脑中的积累相关,并且许多科学家认为这些物质在因果关系中发挥作用。

[0008] 帕金森病(PD;还称作特发性或原发性帕金森症、运动功能减退强直综合征/HRS或震颤性麻痹)是一种中央神经系统退行性疾病。帕金森病的运动症状因黑质(中脑区域)中产多巴胺细胞死亡所致,死亡原因未知。病程通常表现为运动相关的症状,伴随稍晚出现的思维问题和行为问题和晚期疾病中出现的痴呆。帕金森病在老人中更常见,大多数病例在50岁后出现。

[0009] 亨廷顿病 (HD) 是一种影响肌肉协调并导致认知能力下降和精神病问题 的神经退行性遗传病。它常在中年生活中变得明显。亨廷顿基因为还称作”亨廷顿蛋白”的蛋白质提供遗传信息。CAG三联体重复片段在亨廷顿蛋白内 部的扩展产生该蛋白质的突变体形式，通过尚未充分理解的机制，它逐渐地 损伤脑中的细胞。

[0010] 肌萎缩侧索硬化 (ALS)，又称作Lou Gehrig病和运动神经元疾病，是自 主运动系统的一种不可治愈性神经退行性障碍。以脑和脊髓内部运动神经元 的选择性和渐进死亡为特征，它导致随意肌麻痹并在临床发作5年内死亡。大多数ALS病例零星发生，病因学未知 (Li等人)。

[0011] 外伤性脑损伤 (TBI) 每年侵袭一百七十万美国人并且是美国全部损伤相 关死亡的主要促进因素 (30.5%)。老年人尤其易出现TBI并且面临较低初始损 伤严重程度时出现死亡率增加和功能性结果恶化。许多幸存者出现长期或甚 至永久性神经认知功能障碍，同时认知、运动功能和人格持久改变 (Eakin等 人)。

[0012] 情感障碍 (例如躁郁症 (BD) 和重度抑郁症 (MDD)) 高度流行，10-15%的人 群在其生活中的某个时间受影响。情感障碍还与治疗过和未治疗过的个体在 愉快状态期间经常持续存在的一系列认知缺陷相关。认知缺陷在大多数功能 领域中有文献记载，包括但不限于学习、记忆 (例如，工作记忆、情景记忆和 语义记忆)、注意力、执行功能、处理速度和社会认知方面的缺陷。然而，尚 未证明针对情感障碍的常规药理学物质在治疗客观和/或主观测量的认知缺 陷方面充分有效 (McIntyre等人)。

[0013] 脑卒中由血管堵塞或破裂引起，这造成血液向周围组织的流动遭到破坏。卒中区内的组织可能不可逆地受损并最终变坏死并死亡。尽管这种细胞死亡 和所产生的脑损伤可能是不可预防的，但是在包围受损卒中梗死区的区域内 存在可以接受治疗性操作的组织区域 (Salcedo等人)。

[0014] 糖尿病性视网膜病变 (一种形式的视网膜变性) 是由糖尿病并发症引起的 视网膜损伤，它最终可以导致失明。它是糖尿病的眼部表现，一种系统性疾病，侵袭糖尿病患病10 年或更长时间的全部患者中的达80%的患者 (Kertes 等人)。

[0015] 周围神经病 (PN) 是外周神经系统的神经损伤或疾病。它可以影响感觉、运动、腺体或器官功能和其他健康方面，这取决于受累神经的类型。PN可 由系统性疾病如糖尿病或 麻疯病、维生素缺乏、药物 (例如，化疗)、创伤性 损伤，过度消费酒精、免疫系统疾病或感染引起，或可以是遗传的 (Hughes)。

[0016] 迄今，GLP-1类似物仅可获取注射剂型。发明人正在开发一种用于治疗 糖尿病的 口服艾塞那肽 (exenatide，是一种GLP-1类似物) 制剂。

[0017] 在健康人中检验其安全的首次人体试验 (n=4) 证明了经口递送的艾塞那 肽的生物学功能 (Eldor等人，2010)。

[0018] 发明简述

[0019] 本文中提供了含有GLP-1类似物和/或胰岛素的口服药物组合物和利用 这些组合物的方法，所述口服药物组合物用于治疗和预防非酒精性脂肪肝病 (NAFLD)、肝性脂肪变性及其后遗症。来自皮下、全身性和其他施用途径的 结果不能外推至口服施用，因为口服剂型倾向于利用入口吸收途径。就发明 人迄今所知，从未测试口服施用GLP-1类似物用于治疗NAFLD、其后遗症 或神经退行性疾病。

[0020] 本文描述了所述组合物能够治疗并预防NAFLD后遗症,以及由胰外部的GLP-1受体介导的其他治疗作用。因此,所描述的组合物能够治疗并预防 肥胖症、总胆固醇升高、高甘油三酯血症、血清ApoB水平升高、总胆固醇 /HDL比升高和ApoB/ApoA1比升高、动脉粥样硬化、亚临床炎症、促血栓状态,血小板活化、内皮功能障碍、心源性状态和受损的胰岛素所致血管舒张 反应增强(Sung等人,2012;Chatrath等人,2012;Nseir等人,2011;Salcedo等人,2012)。还描述了所述组合物能够治疗各种神经退行性病症。

[0021] 本文中还提供了用于向受试者施用治疗性蛋白质的固态药物组合物。

[0022] 术语“蛋白质”和“肽”在本文中互换使用。除非明确指出限制,否则这两 种术语的任一个不意对存在的氨基酸的数目加以限制。

[0023] 除非另外指明,否则本文中提到的全部范围均是包含性的。

#### [0024] 实施方案详述

[0025] 本文中提供了治疗人类中非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 或降低其发生率的 药物组合物,所述药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制剂和 二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,药物组合物包含GLP-1类似物、胰岛素、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。

[0026] 在另外的实施方案中,药物组合物包含胰岛素、至少一种蛋白酶抑制物 和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用延 长的时间。

[0027] 在一些实施方案中,本文描述的药物组合物是固态制剂。在其他实施方 案中,所述的药物组合物包含液态制剂,其中所述制剂在某些实施方案中被 胶囊和/或在胃中抗降解的包衣包围。在一些实施方案中,该液态制剂是基于 油的液态制剂。液态制剂的一些实施方案包含GLP-1类似物、胰岛素、至少 一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物,所述蛋白酶抑制物的例子是胰蛋白酶抑制物和胰凝乳蛋白酶抑制物。在其他实施方案中,液态制剂包含GLP-1 类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在其他实施方案中,液态制剂包含胰岛素、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。关于 GLP-1类似物及其量、胰岛素及其量、蛋白酶抑制物、螯合物、包衣等的每 个所述实施方案也意在被认为是整体上在液态制剂背景下并尤其是在基于油 的液态制剂背景下以及还在本文所述的固态制剂背景下的具体实施方案。根 据本公开,本领域技术人员将领会固态剂型可以包含与 所述液态制剂不同的一系列无活性赋形剂。

[0028] 在一些实施方案中,接受所述药物组合物的受试者已经患有NAFLD。在其他实施方案中,受试者面临形成NAFLD的风险。

[0029] 在又一个方面,提供了本文所述成分的组合在制备用于治疗人类中 NAFLD的药物 中的用途。

[0030] 另一个方面提供了一种用于治疗人类中NAFLD或降低其发生率的方法, 所述方法包括通过诊断NAFLD选择受试者的任选步骤,接着是以下步骤: 向需要这种治疗的受试者施用本文所述药物组合物,由此治疗人类中NAFLD 或降低其发生率。

[0031] 在某些实施方案中,治疗的病症选自温和的脂肪变性、非酒精性脂肪性 肝炎 (NASH) 和小叶坏死性炎症伴纤维化。

[0032] 在其他实施方案中,病症是温和的脂肪变性;在其他实施方案中,它是 非酒精性脂肪性肝炎 (NASH);并且仍在其他实施方案中,它是小叶坏死性炎 症伴纤维化。

[0033] 根据本公开,本领域技术人员将理解,NAFLD及其后遗症可存在于糖 尿病受试者、未患有显性糖尿病的显示胰岛素抗性的受试者和不显示胰岛素 抗性的受试者中。在一些实施方案中,用所述方法和组合物治疗的受试者显 示胰岛素抗性,但是不患有明显糖尿病 (frank diabetes)。在其他实施方案中, 受试者不显示胰岛素抗性。在其他实施方案中,受试者肥胖,但是血糖水平 控制良好。在其他实施方案中,治疗的受试者不肥胖 (Younossi 等人,2012)。

[0034] 诊断和测量非酒精性脂肪性肝炎的方法是本领域熟知的并且包括,例如 超声法,例如腹部超声检查下的肝肾回声对比 (hepatorenal echo contrast)、肝 亮度和血管模糊 (Saverymuttu等人);测量肝酶水平例如天冬氨酸转氨酶 (AST)、丙氨酸转氨酶 (ALT)、碱性 磷酸酶和  $\gamma$ -谷氨酰基转肽酶 (GGT);参与脂肪生成 的基因的肝mRNA水平;和肝二酰甘油酰 基转移酶-2 (DGAT2) 水平 (Miyashita T等人,2012; Sung等人,2012; 和 Juurinen等人, 2007);磁共振成像 (Mazhar 等人,2009);和测量脂连蛋白水平。

[0035] 本领域技术人员理解,本文中公开的各种病症是NAFLD的后遗症(参见, 例如, Sung等人,2012; Chatrath等人,2012; Nseir等人,2011; Salcedo 等人,2012)。在其他情况 下,本领域技术人员还理解,GLP-1可以具有与其 影响NAFLD无关的治疗作用。

[0036] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗患有肝性脂肪变性的人 中的总胆固醇升高或在另一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组 合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯 合物。在另一个实施方案中,药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白 酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在又一个实施 方案中,药物组合物包含胰 岛素、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些 实施方案中, 药物组合包括本文所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中, 药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中, 药物组合 物包括本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合 物向受试者施用的时间 延长。

[0037] 在又一个方面,提供了本文所述成分的组合在制备药物中的用途,所述 药物用于治疗患有肝性脂肪变性的人中的总胆固醇升高或在另一个方面降低 其发生率。

[0038] 又一个方面提供了一种治疗肝性脂肪变性受试者中总胆固醇升高或在另 一个方面降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向肝性脂肪变性受试者 施用上文所述的药物 组合物,由此治疗总胆固醇升高或降低其发生率。

[0039] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗患有肝性脂肪变性的人 中的高 甘油三酯血症或在另一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物 组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的 融合物。在另一个实施方案中,药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白 酶抑制物和二价阳离子的融合物。在又一个实施 方案中,药物组合物包含 胰岛素、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的融合物。在某些 实施方案中, 药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中, 药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中, 药物组合 物包括本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合 物向受试者施用的时间 延长。

[0040] 在又一个方面,提供了本文所述成分的组合在制备下述药物中的用途, 所述药物

用于治疗患有肝性脂肪变性的人中的高甘油三酯血症或在另一个方面降低其发生率。

[0041] 又一个方面提供了一种治疗肝性脂肪变性受试者中高甘油三酯血症或在另一个方面降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向肝性脂肪变性受试者施用上文所述的药物组合物,由此治疗高甘油三酯血症或降低其发生率。

[0042] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗患有肝性脂肪变性的人中血清载脂蛋白B(ApoB)水平升高或在另一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在又一个实施方案中,药物组合物包含胰岛素、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0043] 在又一个方面,提供了本文所述成分的组合在制备下述药物中的用途,所述药物用于治疗患有肝性脂肪变性的人中的血清ApoB水平升高或在另一个方面降低其发生率。

[0044] 又一个方面提供了一种治疗肝性脂肪变性受试者中血清ApoB水平升高或在另一个方面降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向肝性脂肪变性受试者施用上文所述的药物组合物,由此治疗血清ApoB水平升高或降低其发生率。

[0045] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗患有肝性脂肪变性的人中的总胆固醇/HDL比升高或在另一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在又一个实施方案中,药物组合物包含胰岛素、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0046] 在又一个方面,提供了本文所述成分的组合在制备下述药物中的用途,所述药物用于治疗患有肝性脂肪变性的人中的总胆固醇/HDL比升高或在另一个方面降低其发生率。

[0047] 又一个方面提供了一种治疗肝性脂肪变性受试者中总胆固醇/HDL比升高或在另一个方面降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向肝性脂肪变性受试者施用上文所述的药物组合物,由此治疗总胆固醇/HDL比升高或降低其发生率。

[0048] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗患有肝性脂肪变性的人中的载脂蛋白B(ApoB)/载脂蛋白A1(ApoA1)比升高或在另一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在又一个实施方案中,药物组合物包含胰岛素、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂。

剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中 抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂 之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0049] 在又一个方面,提供了本文所述成分的组合在制备下述药物中的用途, 所述药物用于治疗患有肝性脂肪变性的人中的ApoB/ApoA1比升高或在另一个方面降低其发生率。

[0050] 又一个方面提供了一种治疗肝性脂肪变性受试者中ApoB/ApoA1比升高 或在另一个方面降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向肝性脂肪变性 受试者施用上文所述的药物组合物,由此治疗ApoB/ApoA1比升高或降低其 发生率。

[0051] 用于测量前述每种脂质参数的方法是本领域技术人员熟知的。示例性方 法尤其在Chiquette E等人和Martinez-Colubi M等人中描述。

[0052] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗受试者中受损的胰岛素 所致血管舒张反应增强或在另一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药 物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子 的螯合物。在另一个实施方案中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一 种蛋白酶抑制物和二价阳离子螯合物。在又一个实施方案中,该药物组合物 包含胰岛素、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子螯合物。在某些实施方案 中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施 方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将 药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0053] 在又一个方面,提供了本文所述成分的组合在制备下述药物中的用途, 所述药物用于治疗受试者中受损的胰岛素所致血管舒张反应增强或在另一个 方面降低其发生率。

[0054] 又一个方面提供了一种治疗受试者中受损的胰岛素所致血管舒张反应增 强或在另一个方面降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向受试者施用 上文所述的药物组合物,由此治疗受损的胰岛素所致血管舒张反应增强或降 低其发生率。

[0055] 另一个方面提供了一种治疗NAFLD受试者中受损的胰岛素所致血管舒 张反应增强的方法,所述方法包括步骤:向需要这种治疗的受试者施用上文 所述的药物组合物,由此治疗NAFLD受试者中受损的胰岛素所致血管舒张 反应增强。用于测量胰岛素所致血管舒张反应的方法是本领域已知的,并且 例如包括,测量对乙酰胆碱(Ach) 和硝普钠(SNP) 的血 流量反应(例如前臂中的) (Tesauro等人)。

[0056] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于减少肝脏中脂肪沉积或在另 一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1 类似物、至少一种蛋白 酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案 中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白 酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在又一个实施方案中,该药物组合物包含胰岛素、至少一种蛋白 酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物 包含本文 所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以 包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含 本文所述的固 态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用 的时间延长。

[0057] 在又一个方面,提供了本文所述成分的组合在制备下述药物中的用途, 所述药物用于减少肝脏中的脂肪沉积或在另一个方面降低其发生率。

[0058] 又一个方面提供了一种减少肝脏中脂肪沉积或在另一个方面降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向受试者施用上文所述的药物组合物,由此减少肝脏中脂肪沉积或降低其发生率。

[0059] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于预防心源性栓塞 (cardioembolism) 或降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在又一个实施方案中,该药物组合物包含胰岛素、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0060] 在又一个方面,提供了本文所述成分的组合在制备用于预防心源性栓塞 或降低其发生率的药物中的用途。

[0061] 又一个方面提供了一种预防心源性栓塞或降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向受试者施用上文所述的药物组合物,由此预防心源性栓塞或降低其发生率。

[0062] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于逆转内皮功能障碍或在另一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在又一个实施方案中,该药物组合物包含胰岛素、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0063] 在又一个方面,提供了本文所述成分的组合在制备下述药物中的用途,所述药物用于逆转内皮功能障碍或在另一个方面降低其发生率。

[0064] 又一个方面提供了一种逆转内皮功能障碍或在另一个方面降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向受试者施用上文所述的药物组合物,由此逆转内皮功能障碍或降低其发生率。

[0065] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于逆转选自促血栓状态和血小板活化状态的病症或在另一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在又一个实施方案中,该药物组合物包含胰岛素、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0066] 在又一个方面,提供了本文所述成分的组合在制备下述药物中的用途,所述药物用于逆转选自促血栓状态和血小板活化状态的病症或在另一个方面降低其发生率。

[0067] 又一个方面提供了一种逆转选自促血栓状态和血小板活化状态的病症或 在另一个方面降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向受试者施用上文 所述的药物组合物,由此逆转选自促血栓状态和血小板活化状态的病症逆转 或降低其发生率。

[0068] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于逆转亚临床全身性炎症或在 另一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1 类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案 中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子 的螯合物。在又一个实施方案中,该药物组合物包含胰岛素、至少一种蛋白 酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文 所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含 本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用 的时间延长。

[0069] 在又一个方面,提供了本文所述成分的组合在制备下述药物中的用途, 所述药物用于逆转亚临床全身性炎症或在另一个方面降低其发生率。

[0070] 又一个方面提供了一种逆转亚临床全身性炎症或在另一个方面降低其发 生率的方法,所述方法包括步骤:向受试者施用上文所述的药物组合物,由 此逆转亚临床全身性 炎症或降低其发生率。

[0071] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于降低动脉粥样硬化发生率或 在另一个方面逆转动脉粥样硬化的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实 施方案中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价 阳离子的螯合物。在又一个实施方案中,该药物组合物包含胰岛素、至少一 种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合 物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试 者施用的时间延长。

[0072] 在又一个方面,提供了本文所述成分的组合在制备下述药物中的用途, 所述药物用于降低动脉粥样硬化发生率或在另一个方面逆转动脉粥样硬化。

[0073] 又一个方面提供了一种降低动脉粥样硬化发生率或在另一个方面逆转动 脉粥样硬化的办法,所述方法包括步骤:向受试者施用上文所述的药物组合 物,由此降低动脉粥 样硬化的发生率或逆转动脉粥样硬化。

[0074] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于降低肥胖症(在一个实施方案 中其为 中心型肥胖)发生率或在另一个方面预防肥胖症的药物组合物,所述药 物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子 的螯合物。在另一个实施方案中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一 种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在又一个实施方案中,该药物组合 物包含胰岛素、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施 方案中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些 实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他 实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中, 将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0075] 在又一个方面,提供了本文所述成分的组合在制备下述药物中的用途, 所述药物

用于降低肥胖症的发生率或在另一个方面预防肥胖症。

[0076] 又一个方面提供了一种减少肝性脂肪变性受试者中肥胖症的方法,所述 方法包括步骤:向肝性脂肪变性受试者施用上文所述的药物组合物,由此减 少肥胖症。

[0077] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于减少肝性脂肪变性受试者中 肝胰岛素抗性的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,该药 物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在又一个实施方案中,该药物组合物包含胰岛素、至少一种蛋白酶抑制物和 二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的基于 油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/ 或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含本文所述的 固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0078] 在又一个方面,提供了本文所述成分的组合在制备用于减少肝性脂肪变 性受试者中肝脏胰岛素抗性的药物中的用途。

[0079] 又一个方面提供了一种减少肝性脂肪变性受试者中肝脏胰岛素抗性的方 法,所述方法包括步骤:向肝性脂肪变性受试者施用上文所述的药物组合物, 由此减少肝性脂肪变性受试者中的肝脏胰岛素抗性。

[0080] 所述方法和组合物的油、胰岛素、GLP-1类似物、蛋白酶抑制物、螯合 物、包衣和其他任选的成分可以是本文所述的那些物质的任一种;每种替代 物可以自由组合以形成本 文中公开的本发明独立实施方案。

[0081] 本文所用的“液态”指在环境条件下自由流动并具有恒定体积的相。鱼油 例如在 环境条件下是液体。该术语包括基于油的溶液、悬液及其组合。在可 选实施方案中,该术语 可以指在20℃具有1-1000(包含1和1000)毫帕秒范 围内粘度的组合物。

[0082] 在存在GLP-1类似物和胰岛素两者的实施方案中,指这两种组分一起共 施用或者 处于同一剂型或独立的剂型中。在独立的剂型的情况下,“共施用” 在这个方面可以指同时 施用或在另一个实施方案中指彼此间隔30分钟内施 用。在另外的实施方案中,不同组分显 示以特定顺序施用,相隔一般为30 分钟或更短时间的固定时间区间。例如,含有胰岛素的 剂型可以显示在含有 艾塞那肽的剂型后2-10分钟施用;在其他实施方案中,在含有艾塞那 肽的剂 型后10-20分钟施用;在其他实施方案中,在含有艾塞那肽的剂型后20-30 分钟施 用;和在其他实施方案中,在含有艾塞那肽的剂型后30-60分钟施用。口服剂型如本文提 供的 那些导致其比注射剂型更多地依次施用,因为需要反 复注射的方案可能与依从率低相 关。

[0083] 在多种实施方案中,本文中“延长”可以指施用超过1个月、超过6周、超过2个月、 超过3个月、超过4个月、超过5个月、超过6个月、超过7 个月、超过8个月、超过9个月、超过10 个月、超过12个月、超过15个月、超过18个月、超过24个月、超过30月或超过36个月、超过48 个月、超过 60个月、超过72个月、超过96个月、超过10年、超过15年或超过20年。在其他实 施方案中,该术语可以指施用1-60个月、2-60个月、3-60个月、4-60 个月、5-60个月、6-60个 月、8-60个月、10-60个月、12-60个月、1-36个月、2-36个月、3-36个月、4-36个月、5-36个 月、6-36个月、8-36个月、10-36 个月、12-36个月、1-36个月、2-24个月、3-24个月、4-24个 月、5-24个月、6-24个月、8-24个月、10-24个月、12-24个月、1-120个月、2-120个月、3-120

个月、4-120个月、5-120个月、6-120个月、8-120个月、10-120个月、12-120 个月、1-240个月、2-240个月、3-240个月、4-240个月、5-240个月、6-240 个月、8-240个月、10-240个月或12-240个月。

[0084] 在更具体的实施方案中,将8-16mg之间的胰岛素以每日一次施用超过 1个月、超过6周、超过2个月、超过3个月、超过4个月、超过5个月、超过6个月、超过7个月、超过8个月、超过9个月、超过10个月、超过 12个月、超过15个月、超过18个月、超过24个月、超过30月或超过36 个月、超过48个月、超过60个月、超过72个月、超过96个月、超过10 年、超过15年或超过20年。在其他实施方案中,该术语可以指施用1-60个 月、2-60个月、3-60个月、4-60个月、5-60个月、6-60个月、8-60个月、10-60 个月、12-60个月、1-36个月、2-36个月、3-36个月、4-36个月、5-36个月、6-36个月、8-36个月、10-36个月、12-36个月、1-36个月、2-24个月、3-24 个月、4-24个月、5-24个月、6-24个月、8-24个月、10-24个月、12-24个月、1-120个月、2-120个月、3-120个月、4-120个月、5-120个月、6-120个月、8-120个月、10-120个月、12-120个月、1-240个月、2-240个月、3-240个月、4-240个月、5-240个月、6-240个月、8-240个月、10-240个月或12-240个 月。

[0085] 在另外的实施方案中,将8-16mg之间的胰岛素以每日2次施用超过1 个月、超过6周、超过2个月、超过3个月、超过4个月、超过5个月、超 过6个月、超过7个月、超过8个月、超过9个月、超过10个月、超过12 个月、超过15个月、超过18个月、超过24个月、超过30月或超过36个月、超过48个月、超过60个月、超过72个月、超过96个月、超过10年、超过 15年或超过20年。在其他实施方案中,该术语可以指施用1-60个月、2-60 个月、3-60个月、4-60个月、5-60个月、6-60个月、8-60个月、10-60个月、12-60个月、1-36个月、2-36个月、3-36个月、4-36个月、5-36个月、6-36 个月、8-36个月、10-36个月、12-36个月、1-36个月、2-24个月、3-24 个月、4-24个月、5-24个月、6-24个月、8-24个月、10-24个月、12-24个月、1-120 个月、2-120个月、3-120个月、4-120个月、5-120个月、6-120个月、8-120 个月、10-120个月、12-120个月、1-240个月、2-240个月、3-240个月、4-240 个月、5-240个月、6-240个月、8-240个月、10-240个月或12-240个月。

[0086] 在另外的其他实施方案中,将300-600mcg之间的艾塞那肽以每日一次 施用超过1 个月、超过6周、超过2个月、超过3个月、超过4个月、超过 5个月、超过6个月、超过7个月、超过8个月、超过9个月、超过10个月、超过12个月、超过15个月、超过18个月、超过24个月、超过30月或超过 36个月、超过48个月、超过60个月、超过72个月、超过96个月、超过10 年、超过15年或超过20年。在其他实施方案中,该术语可以指施用1-60个 月、2-60个月、3-60个月、4-60个月、5-60个月、6-60个月、8-60个月、10-60 个月、12-60个月、1-36个月、2-36个月、3-36个月、4-36个月、5-36个月、6-36 个月、8-36个月、10-36个月、12-36个月、1-36个月、2-24个月、3-24 个月、4-24个月、5-24个月、6-24个月、8-24个月、10-24个月、12-24个月、1-120 个月、2-120个月、3-120个月、4-120个月、5-120个月、6-120个月、8-120 个月、10-120个月、12-120个月、1-240个月、2-240个月、3-240个月、4-240个月、5-240个月、6-240个月、8-240个月、10-240个月或12-240个 月。

[0087] 在另外的其他实施方案中,将300-600mcg之间的艾塞那肽以每日二次 施用超过1 个月、超过6周、超过2个月、超过3个月、超过4个月、超过 5个月、超过6个月、超过7个月、超过8个月、超过9个月、超过10个月、超过12个月、超过15个月、超过18个月、超过24个月、超

过30月或超过 36个月、超过48个月、超过60个月、超过72个月、超过96个月、超过10 年、超过15年或超过20年。在其他实施方案中,该术语可以指施用1-60个 月、2-60个月、3-60个月、4-60个月、5-60个月、6-60个月、8-60个月、10-60 个月、12-60个月、1-36个月、2-36个月、3-36个月、4-36个月、5-36个月、6-36个月、8-36个月、10-36个月、12-36个月、1-36个月、2-24个月、3-24 个月、4-24个月、5-24个月、6-24个月、8-24个月、10-24个月、12-24个月、1-120个月、2-120个月、3-120个月、4-120个月、5-120个月、6-120个月、8-120个月、10-120个月、12-120个月、1-240个月、2-240个月、3-240个月、4-240个月、5-240个月、6-240个月、8-240个月、10-240个月或12-240个 月。

[0088] 在另外的其他实施方案中,将300-600mcg之间的艾塞那肽以每日三次 或在其他实施方案中以每日至多3次施用超过1个月、超过6周、超过2个 月、超过3个月、超过4个月、超过5个月、超过6个月、超过7个月、超 过8个月、超过9个月、超过10个月、超过12个月、超过15个月、超过 18个月、超过24个月、超过30月或超过36个月、超过48个月、超过60 个月、超过72个月、超过96个月、超过10年、超过15年或超过20年。在 其他实施方案中,该术语可以指施用1-60个月、2-60个月、3-60个月、4-60 个月、5-60个月、6-60个月、8-60个月、10-60个月、12-60个月、1-36个月、2-36个月、3-36个月、4-36个月、5-36个月、6-36个月、8-36个月、10-36 个月、12-36个月、1-36个月、2-24个月、3-24个月、4-24个月、5-24个月、6-24个月、8-24个月、10-24个月、12-24个月、1-120个月、2-120个月、3-120 个月、4-120个月、5-120个月、6-120个月、8-120个月、10-120个月、12-120 个月、1-240个月、2-240个月、3-240个月、4-240个月、5-240个月、6-240个月、8-240个月、10-240个月或12-240个月。

[0089] 如本文所用,每日一次可以指在白天的任何时间期间施用,或在其他实 施方案中,可以指每天在白天特定时间施用。在某些实施方案中,每日一次 给药可以是在就寝时间前。

[0090] 胰岛素蛋白和GLP-1类似物

[0091] 在一些实施方案中,如本文中所述使用的胰岛素蛋白和GLP-1类似物在 引入所描述的药物组合物之前是分离的。在这个方面,“分离”排除了将胰岛 素和/或GLP-1类似物作为含有大量掺杂性蛋白质的均化组织制备物或其他 形式提供。分离的蛋白质或肽的例子是重组蛋白或肽。可选的实施方案是合 成性蛋白质或肽。

[0092] 本领域技术人员通过本公开理解,多种类型的胰岛素适用于所描述的方法和组合物。示例性胰岛素蛋白质包括但不限于野生型和突变的胰岛素蛋白, 包括合成人胰岛素、合成牛胰岛素、合成猪胰岛素、合成鲸胰岛素和胰岛素 的金属复合物,如胰岛素的锌复合物、鱼精蛋白锌胰岛素(protamine zinc insulin) 和珠蛋白锌(globin zinc)。

[0093] 也可以利用多种类别的胰岛素,例如速效胰岛素、慢胰岛素、半慢胰岛 素、特慢胰岛素、NPH胰岛素、甘精胰岛素、赖脯胰岛素、门冬胰岛素或 以上类型胰岛素的两种或更多种的组合。

[0094] 在某些实施方案中,所描述的方法和组合物的胰岛素是野生型人胰岛素 (Uniprot ID P01308)。在一些实施方案中,人胰岛素作为重组蛋白在细菌细胞 中产生。在其他实施方案中,合成产生人胰岛素。

[0095] GLP-1类似物在本领域中也称作GLP-1模拟物。本领域技术人员理解, 所描述的组合物可以包含至少一个以下GLP-1类似物:艾塞那肽(Byetta<sup>TM</sup>; CAS编号141732-76-5; SEQ

ID NO:4)、利西拉来(lixisenatide) (CAS编号 320367-13-3)、利拉鲁肽(CAS编号204656-20-2)、exendin-9 (CAS编号 133514-43-9)、AC3174 ([Leu(14)]exendin-4,Amylin Pharmaceuticals, Inc.)、他司鲁泰(CAS编号275371-94-3)、阿必鲁肽(albiglutide) (CAS编号 782500-75-8)、索马鲁肽(semaglutide) (CAS编号910463-68-2)、LY2189265 (dulaglutide<sup>TM</sup>; CAS编号923950-08-7) 和CJC-1134-PC (ConjuChem<sup>TM</sup>制造的与重组人白蛋白结合的修饰exendin-4类似物)。全部 CAS记录均在2011年12月19日访问。因此,在某些实施方案中,所描述 的方法或组合物利用任一种上文列出的GLP-1类似物。在其他实施方案中,选择上文列出的GLP-1类似物之一。根据本文中描述的研究结果,本领域技术 人员理解,也可以使用其他GLP-1类似物。

[0096] 适用于本发明中的治疗性胰岛素和GLP-1蛋白包括修饰(即,通过非氨基酸残基与蛋白质共价连接)的衍生物。例如,但不限于,该蛋白质包括已经 例如通过用已知保护基团/封闭基团糖基化、乙酰化、PEG化、磷酸化、酰胺化或衍生化所修饰的蛋白质。高分子量PEG可以在采用或不采用多功能接头 的情况下,通过PEG与其N末端或C末端的位点特异性结合或通过赖氨酸 残基上存在的ε-氨基,而与治疗性蛋白连接。另外,衍生物可以含有一个或 多个非经典氨基酸,例如常见氨基酸的D-异构体、2,4-二氨基丁酸、α-氨基 异丁酸、A-氨基丁酸、Abu、2-氨基丁酸、γ-Abu、s-Ahx、6-氨基己酸、Aib、2-氨基异丁酸、3-氨基丙酸、鸟氨酸、正亮氨酸、正缬氨酸、羟脯氨酸、肌 氨酸、瓜氨酸、高瓜氨酸、碘基丙氨酸(cysteic acid)、叔丁基甘氨酸、叔丁基 丙氨酸、苯基甘氨酸、环己基丙氨酸、β-丙氨酸、氟氨基酸、设计的氨基酸 如β-甲基氨基酸、C-α-甲基氨基酸、和N-α-甲基氨基酸。

[0097] 乳化剂

[0098] 在某些实施方案中,在所描述的方法和药物组合物中利用的基于油的液 态制剂还包含乳化剂。根据本公开,本领域技术人员将理解可以使用多种药 物相容的乳化剂。

[0099] 在某些实施方案中,将乳化剂是作为(a) 单酰甘油(单甘油酯)、二酰甘油 (甘油二酯)、三酰甘油(甘油三酯) 或其混合物;和(b) 脂肪酸的聚乙二醇(PEG) 酯的混合物的组分提供。在这个方面,术语“单酰甘油”、“二酰甘油”和“三酰 甘油”均不需要指单个化合物,而可以包括化合物的混合物,例如具有长度不 同的脂肪酸的单酰甘油、二酰甘油或三酰甘油的混合物。在某些优选的实施 方案中,在所描述的方法和组合物中利用的单酰甘油,二酰甘油或三酰甘油, 例如用来生成PEG酯的那些,来自通常视为安全 (GRAS) 的油源。GRAS油源的例子是椰油、玉米油、花生油、大豆油、Myvacet 9-45 (C-18脂肪酸的二 乙酰化单甘油酯)。

[0100] 用于所述组合物和方法的某些实施方案中的PEG部分的更具体长度含 有5-100个之间的单体。在更具体的实施方案中,PEG可以含有15-50个之 间的单体。在仍更具体的实施方案中,PEG可以含有25-40个之间的单体。在更具体的实施方案中,PEG可以含有32个单体。

[0101] 符合上述规定的组分的例子是Gelucire<sup>TM</sup>44/14、Gelucire<sup>TM</sup>53/10 和Gelucire<sup>TM</sup>50/13。一个更具体例子是Gelucire<sup>TM</sup>44/14。后缀44和14分别指 其熔点和其亲水/亲油平衡值 (HLB)。通过氢化椰油的聚乙二醇解(具有 PEG-32的中链和长链三酰甘油) 获得Gelucire<sup>TM</sup>44/14 (Gattefosse SAS, Saint-Priest, 法国)。它具有亲水/亲油平衡值 14。它由C<sub>8</sub>-C<sub>18</sub>单酰甘油、二 酰甘油和三酰甘油 (20% w/w);PEG-32单酯和二酯和游离PEG-

32(80% w/w) 的明确混合物组成。存在的主要脂肪酸是月桂酸, 平均占总脂肪酸含量的 45%。它是固态分散体, 由具有螺旋构象处于 120 Å 层状相的PEG酯部分和处于六 方堆积的酰基甘油部分组成。Gelucire<sup>TM</sup>44/14的模拟胃肠道脂解作用的主产 物是PEG-32单酯和二酯。

[0102] 在一些实施方案中, 在所描述的方法和组合物中利用的自乳化组分的 HLB是10或更大。在其他实施方案中, 它在11-19之间。在其他实施方案 中, 它在12-18之间。在其他实施方案中, 它在12-17之间。在其他实施方案中, 它在12-16之间(包括端值), 表示水包油 (O/W) 乳化剂。在其他实施方案中, 它在13-15之间。在其他实施方案中, 它是14。自乳化组分的仍更具 体的实施方案具有12-16(包括端值)的HLB并且包含与PEG、游离三酰甘油 和游离PEG结合的中等链和长链三酰甘油。在其他实施方案中, 自乳化组分 具有12-16(包括端值)的HLB并且由与PEG、游离三酰甘油和游离PEG结合 的中等链和长链三酰甘油组成。在其他实施方案中, 自乳化组分具有14的 HLB并且包含与PEG、游离三酰甘油和游离PEG结合的中等链和长链三酰 甘油。在其他实施方案中, 自乳化组分具有14的HLB并且由与PEG、游离 三酰甘油和游离PEG结合的中等链和长链三酰甘油组成。

[0103] 在某些实施方案中,前述的乳化剂(在某些实施方案中为自乳化组分)构 成8-16%重量/重量(包括端值)的基于油的液态制剂。在更具体的实施方案中, 该量是9-15% (包括端值)。在更具体的实施方案中,该量是10-14% (包括端值)。在更具体的实施方案中,该量是11-13% (包括端值)。在更具体的实施方案中, 该量是12%。

[0104] 非离子型去垢剂 之间。在其他实施方案中,该量在10-40mg之间。在其他实施方案中,该量 在10-36mg之间。在其他实施方案中,该量在10-32mg之间。在其他实施 方案中,该量在10-28mg之间。在其他实施方案中,该量在16-64mg之间。在其他实施方案中,该量在 16-56mg之间。在其他实施方案中,该量在16-48 mg之间。在其他实施方案中,该量在16-40mg之间。在其他实施方案中, 该量在16-36mg之间。在其他实施方案中,该量在16-32mg之 间。在其他 实施方案中,该量在16-28mg之间。在某些实施方案中,以上剂量是每日剂 量。

[0105] 在其他实施方案中,该量是8mg。在其他实施方案中,该量是12mg。在其他实施方案中,该量是16mg。在其他实施方案中,该量是20mg。在 其他实施方案中,该量是24mg。在其他实施方案中,该量是32mg。在其他实施方案中,该量是40mg。在其他 实施方案中,该量是56mg。在其他实施方案中,该量是64mg。在其他实 施方案中,该量在8-16mg之间。在其他实施方案中,该量在8-14mg之间。在其他实施方案中,该量 在8-12mg之间。在其他实施方案中,该量在8-10mg 之间。在其他实施方案中,该量是16mg。在其他实施方案中,该量在10-16 mg之间。在其他实施方案中,该量在10-14mg之间。在其他实施方案中, 该量在10-18mg之间。在某些实施方案中,以上剂量是每日剂量。

[0106] 在其他实施方案中,胰岛素在所述方法和组合物的剂型中的量在 0.06-0.64mg/kg (毫克/千克体重)之间。在其他实施方案中,该量在0.06-0.56 mg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.06-0.48mg/kg之间。在其他实施 方案中,该量在0.06-0.40mg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.06-0.32 mg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.06-0.28mg/kg 之间。在其他实施 方案中,该量在0.06-0.24mg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.06-0.20 mg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.10-0.16mg/kg之间。在其他实施 方案中,该量在0.10-0.64mg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.10-0.56 mg/kg之间。在其他实施

方案中,该量在0.10–0.48mg/kg之间。在其他实施 方案中,该量在0.10–0.40mg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.10–0.32 mg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.10–0.28mg/kg之间。在其他实施 方案中,该量在0.10–0.24mg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.10–0.20 mg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.06–0.14mg/kg之间。在其他实施 方案中,该量在0.06–0.12mg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.06–0.10 mg/kg之间。在其他实施方案中,该量是0.08mg/kg。在其他实施方案中, 该量是0.12mg/kg。在其他实施方案中,该量是0.16mg/kg。在其他实施方案中,该量在0.08–0.16mg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.08–0.14 mg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.08–0.12mg/kg之间。在其他实施 方案中,该量在0.08–0.10mg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.10–0.16 mg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.10–0.18mg/kg之间。在其他实施 方案中,该量在0.10–0.14mg/kg之间。在某些实施方案中,以上剂量是每日 剂量。

[0107] 在另外的实施方案中,胰岛素在剂型中的量是与用于成人的以上量或范 围之一相对应的量,针对儿科患者每体重调整。本文中提到的这类调整利用 62千克作为成人重量。在其他实施方案中,胰岛素以针对儿科患调整者的量 存在,并且GLP-1类似物也以针对儿科患者调整的量存在。在某些实施方案 中,以上剂量是每日剂量。

[0108] 本文对胰岛素所述的剂量可以用于野生型人胰岛素,或在另一个实施方 案中,用于本领域已知的其他类型胰岛素之一。

[0109] 在其他实施方案中,GLP-1类似物在所述方法和组合物的剂型中的量是 150微克 (mcg),200mcg、250mcg、300mcg、350mcg、400mcg、500mcg 或600mcg。在其他实施方案中,对于成人患者,GLP-1类似物的量在100–1600 mcg (包括端值) 之间。在其他实施方案中,该量在100–1400mcg之间。在其 他实施方案中,该量在100–1200mcg之间。在其他实施方案中,该量在 100–1000mcg之间。在其他实施方案中,该量在100–800mcg之间。在其他 实施方案中,该量在100–700mcg之间。在其他实施方案中,该量在100–600 mcg之间。在其他实施方案中,该量在100–500mcg之间。在其他实施方案 中,该量在100–400mcg之间。在其他实施方案中,该量在200–1400mcg之 间。在其他实施方案中,该量在200–1200mcg之间。在其他实施方案中,该量在200–1000mcg之间。在其他实施方案中,该量在200–800mcg之间。在其他实施方案中,该量在 200–700mcg之间。在其他实施方案中,该量在200–600mcg之间。在其他实 施方案中,该量在200–500mcg之间。在其他实施方案中,该量在200–400mcg 之间。在其他实施方案中,该量在100–300mcg之间。在其他实施方案中, 该量在100–250mcg之间。在其他实施方案中,该量在100–200mcg之间。在其他实 施方案中,该量在100–150mcg之间。在其他实施方案中,该量是 100mcg。在其他实施方案中,该量是150mcg。在其他实施方案中,该量是 200mcg。在其他实施方案中,该量是250mcg。在其他实施方案中,该量是 300mcg。在其他实施方案中,该量在150–400mcg之间。在其他实 施方案中, 该量在150–300mcg之间。在其他实施方案中,该量在150–250mcg之间。在其他实 施方案中,该量在150–200mcg之间。在某些实施方案中,以上剂 量是每日剂量。在另外的 实施方案中,GLP-1类似物是艾塞那肽,按以上量 之一存在。

[0110] 在其他实施方案中,对于成人患者,GLP-1类似物在所述方法和组合物 的剂型中的量在0.100–1.60mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在 0.100–1.40mcg/kg之间。在其 他实施方案中,该量在0.100–1.20mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.100–1.0mcg/

kg之间。在其他实施方案中,该量在0.100-0.800mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.100-0.700mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.100-0.600mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.100-0.500mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.100-0.400 mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.200-1.40mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.200-1.40mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.200-1.20mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.200-1.0mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.200-0.800mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.200-0.700mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.200-0.600 mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.200-0.500mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.200-0.400mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.100-0.300mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.100-0.250mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.100-0.200mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.100-0.150mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量是0.100mcg/kg。在其他实施方案中,该量是0.150mcg/kg。在其他实施方案中,该量是0.200 mcg/kg。在其他实施方案中,该量是0.250mcg/kg。在其他实施方案中,该量是0.300mcg/kg。在其他实施方案中,该量在0.150-0.400mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.150-0.300mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.150-0.250mcg/kg之间。在其他实施方案中,该量在0.100-0.200mcg/kg之间。在某些实施方案中,以上剂量是每日剂量。在另外的实施方案中,GLP-1类似物是艾塞那肽,按以上量之一存在。

[0111] 在其他实施方案中,GLP-1类似物在剂型中的量是与用于成人的以上量或范围之一相对应的量,针对儿科患者每体重调整。在其他实施方案中, GLP-1类似物以针对儿科患者调整的量存在,并且胰岛素也以针对儿科患者 调整的量存在,例如针对儿科患者体重调整的与用于成年患者的4-12mg(包括端值)相对应的量。在某些实施方案中,以上剂量是每日剂量。在另外的实施方案中,GLP-1类似物是艾塞那肽,按以上量之一存在。

[0112] 在多种实施方案中,所描述的剂型以100-600mcg、100-500mcg、100-400 mcg、100-300mcg、200-600mcg、200-500mcg、200-400mcg、200-300mcg、150-300mcg、或150-250mcg之间的量含有艾塞那肽;以及8-16mg胰岛素。在其他实施方案中,所描述的剂型以100-600mcg、100-500mcg、100-400mcg、100-300mcg、200-600mcg、200-500mcg、200-400mcg、200-300mcg、150-300 mcg、或150-250mcg之间的量含有艾塞那肽;以及8-12mg胰岛素。在其他实施方案中,所描述的剂型以100-600mcg、100-500mcg、100-400mcg、100-300mcg、200-600mcg、200-500mcg、200-400mcg、200-300mcg、150-300 mcg、或150-250mcg之间的量含有艾塞那肽;以及12-16mg胰岛素。在其他实施方案中,所描述的剂型以100-600mcg、100-500mcg、100-400mcg、100-300mcg、200-600mcg、200-500mcg、200-400mcg、200-300mcg、150-300 mcg、或150-250mcg之间的量含有艾塞那肽;以及16-24mg胰岛素。在其他实施方案中,所描述的剂型以100-600mcg、100-500mcg、100-400mcg、100-300mcg、200-600mcg、200-500mcg、200-400mcg、200-300mcg、150-300 mcg、或150-250mcg之间的量含有艾塞那肽;以及24-32mg胰岛素。在其他实施方案中,所描述的剂型以100-600mcg、100-500mcg、100-400mcg、100-300mcg、200-600mcg、200-500mcg、200-400mcg、200-300mcg、150-300 mcg、或150-250mcg之间的量含有艾塞那肽;以及12-16mg胰岛素。在其他实施方案中,所描述的剂型以100-600mcg、100-500mcg、100-400mcg、100-300mcg、200-600mcg、200-500mcg、200-400mcg、200-300mcg、150-300 mcg、或150-250mcg之间的量含有艾塞那肽;以及8mg胰

岛素。在其他实施方案中,所描述的剂型以100-600mcg、100-500mcg、100-400mcg、100-300mcg、200-600mcg、200-500mcg、200-400mcg、200-300mcg、150-300mcg、或150-250mcg之间的量含有艾塞那肽;以及12mg胰岛素。在其他实施方案中,所描述的剂型以100-600mcg、100-500mcg、100-400mcg、100-300mcg、200-600mcg、200-500mcg、200-400mcg、200-300mcg、150-300mcg、或150-250mcg之间的量含有艾塞那肽;以及16mg胰岛素。在其他实施方案中,所描述的剂型以100-600mcg、100-500mcg、100-400mcg、100-300mcg、200-600mcg、200-500mcg、200-400mcg、200-300mcg、150-300mcg、或150-250mcg之间的量含有艾塞那肽;以及20mg胰岛素。在其他实施方案中,所描述的剂型以100-600mcg、100-500mcg、100-400mcg、100-300mcg、200-600mcg、200-500mcg、200-400mcg、200-300mcg、150-300mcg、或150-250mcg之间的量含有艾塞那肽;以及24mg胰岛素。在其他实施方案中,所描述的剂型以100-600mcg、100-500mcg、100-400mcg、100-300mcg、200-600mcg、200-500mcg、200-400mcg、200-300mcg、150-300mcg、或150-250mcg之间的量含有艾塞那肽;以及28mg胰岛素。在其他实施方案中,所描述的剂型以100-600mcg、100-500mcg、100-400mcg、100-300mcg、200-600mcg、200-500mcg、200-400mcg、200-300mcg、150-300mcg、或150-250mcg之间的量含有艾塞那肽;以及32mg胰岛素。在某些实施方案中,以上剂量是每日剂量。

[0113] 在其他实施方案中,所描述的剂型以8-32mg、8-28mg、8-24mg、8-20mg、8-16mg、8-12mg、12-32mg、16-32mg、20-32mg、24-32mg、12-24mg、16-24mg、12-20mg或16-20mg的量含有胰岛素;以及150-300mcg艾塞那肽。在其他实施方案中,所描述的剂型以8-32mg、8-28mg、8-24mg、8-20mg、8-16mg、8-12mg、12-32mg、16-32mg、20-32mg、24-32mg、12-24mg、16-24mg、12-20mg或16-20mg的量含有胰岛素;以及300-450mcg艾塞那肽。在其他实施方案中,所描述的剂型以8-32mg、8-28mg、8-24mg、8-20mg、8-16mg、8-12mg、12-32mg、16-32mg、20-32mg、24-32mg、12-24mg、16-24mg、12-20mg或16-20mg的量含有胰岛素;以及450-600mcg艾塞那肽。在其他实施方案中,所描述的剂型以8-32mg、8-28mg、8-24mg、8-20mg、8-16mg、8-12mg、12-32mg、16-32mg、20-32mg、24-32mg、12-24mg、16-24mg、12-20mg或16-20mg的量含有胰岛素;以及100-150mcg艾塞那肽。在其他实施方案中,所描述的剂型以8-32mg、8-28mg、8-24mg、8-20mg、8-16mg、8-12mg、12-32mg、16-32mg、20-32mg、24-32mg、12-24mg、16-24mg、12-20mg或16-20mg的量含有胰岛素;以及150-200mcg艾塞那肽。在其他实施方案中,所描述的剂型以8-32mg、8-28mg、8-24mg、8-20mg、8-16mg、8-12mg、12-32mg、16-32mg、20-32mg、24-32mg、12-24mg、16-24mg、12-20mg或16-20mg的量含有胰岛素;以及200-250mcg艾塞那肽。在其他实施方案中,所描述的剂型以8-32mg、8-28mg、8-24mg、8-20mg、8-16mg、8-12mg、12-32mg、16-32mg、20-32mg、24-32mg、12-24mg、16-24mg、12-20mg或16-20mg的量含有胰岛素;以及250-300mcg艾塞那肽。在某些实施方案中,以上剂量是每日剂量。

[0114] 在其他实施方案中,所描述的剂型以8-32mg、8-28mg、8-24mg、8-20mg、8-16mg、8-12mg、12-32mg、16-32mg、20-32mg、24-32mg、12-24mg、16-24mg、12-20mg或16-20mg的量含有胰岛素;以及100mcg艾塞那肽。在其他实施方案中,所描述的剂型以8-32mg、8-28mg、8-24mg、8-20mg、8-16mg、8-12mg、12-32mg、16-32mg、20-32mg、24-32mg、12-24mg、16-24mg、12-20mg或16-20mg的量含有胰岛素;以及200mcg艾塞那肽。在其他实施方案中,所描述的

剂型以8-32mg、8-28mg、8-24mg、8-20mg、8-16mg、8-12mg、12-32mg、16-32mg、20-32mg、24-32mg、12-24mg、16-24mg、12-20mg或16-20mg的量含有胰岛素；以及250mcg艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型以8-32mg、8-28mg、8-24mg、8-20mg、8-16mg、8-12mg、12-32mg、16-32mg、20-32mg、24-32mg、12-24mg、16-24mg、12-20mg或16-20mg的量含有胰岛素；以及300mcg艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型以8-32mg、8-28mg、8-24mg、8-20mg、8-16mg、8-12mg、12-32mg、16-32mg、20-32mg、24-32mg、12-24mg、16-24mg、12-20mg或16-20mg的量含有胰岛素；以及400mcg艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型以8-32mg、8-28mg、8-24mg、8-20mg、8-16mg、8-12mg、12-32mg、16-32mg、20-32mg、24-32mg、12-24mg、16-24mg、12-20mg或16-20mg的量含有胰岛素；以及500mcg艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型以8-32mg、8-28mg、8-24mg、8-20mg、8-16mg、8-12mg、12-32mg、16-32mg、20-32mg、24-32mg、12-24mg、16-24mg、12-20mg或16-20mg的量含有胰岛素；以及600mcg艾塞那肽。在某些实施方案中，以上剂量是每日剂量。

[0115] 在其他实施方案中，所描述的剂型含有8-16mg胰岛素和150-300mcg 艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型含有8-12mg胰岛素和150-300 mcg艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型含有12-16mg胰岛素和 150-300mcg艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型含有6-16mg胰岛 素和150-300mcg艾塞那肽。在某些实施方案中，以上剂量是每日剂量。

[0116] 在其他实施方案中，所描述的剂型含有8-16mg胰岛素和100-400mcg 艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型含有8-12mg胰岛素和100-400 mcg艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型含有12-16mg胰岛素和 100-400mcg艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型含有6-16mg胰岛 素和100-400mcg艾塞那肽。在某些实施方案中，以上剂量是每日剂量。

[0117] 在其他实施方案中，所描述的剂型含有8-16mg胰岛素和100-200mcg 艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型含有8-12mg胰岛素和100-200 mcg艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型含有12-16mg胰岛素和 100-200mcg艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型含有6-16mg胰岛 素和100-200mcg艾塞那肽。在某些实施方案中，以上剂量是每日剂量。

[0118] 在其他实施方案中，所描述的剂型含有8-16mg胰岛素和200-400mcg 艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型含有8-12mg胰岛素和200-400 mcg艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型含有12-16mg胰岛素和 200-400mcg艾塞那肽。在其他实施方案中，所描述的剂型含有6-16mg胰岛 素和200-400mcg艾塞那肽。在某些实施方案中，以上剂量是每日剂量。

[0119] 在其他实施方案中，所描述的剂型含有8-16mg胰岛素和150-300mcg 艾塞那肽。在某些实施方案中，以上剂量是每日剂量。

[0120] 蛋白酶抑制物

[0121] 根据本公开，本领域技术人员理解，可以利用多种蛋白酶抑制物保护所述制剂中的GLP-1类似物和/或胰岛素。在某些实施方案中，所描述的组合物 中存在的蛋白酶抑制物选自胰蛋白酶抑制物和胰凝乳蛋白酶抑制物。在更具体的实施方案中，该抑制物是胰蛋白酶抑制物或，在其他实施方案中，是胰 凝乳蛋白酶抑制物。在另外的实施方案中，药物组合

物含有整体上抑制胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶二者的一种或多种抑制物。在更具体的实施方案中，胰蛋白酶抑制物和胰凝乳蛋白酶抑制物均存在；或其他实施方案中，蛋白酶抑制物是抑制胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶二者的单个抑制物。不作为限制，抑制胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶二者的单个抑制物的例子是（本文所述的）BBI。

[0122] 如本文所用，术语“胰凝乳蛋白酶抑制物”指能够抑制胰凝乳蛋白酶作用于底物的任何物质。可以使用本领域熟知的测定法测量某物质抑制胰凝乳蛋白酶的能力。例如，在常见的测定法中，一单位对应于将胰蛋白酶活性减少一个苯甲酰基-L-精氨酸乙酯单位(BAEE-U)的抑制物的量。一个BAEE-U是在pH 7.6和25°C将253nm处吸光度增加0.001/分钟的酶量。见，例如，K.Ozawa, M.Laskowski, 1966, J.Biol.Chem. 241:3955; 和Y.Birk, 1976, Meth. Enzymol. 45:700。

[0123] 除非另外指明，否则本文中提及的抗胰凝乳蛋白酶活性是利用具有活性 40BTEE 单位/mg胰凝乳蛋白酶的胰凝乳蛋白酶测量，并且以mg抑制的胰凝乳蛋白酶/mg测试的蛋白质表示。BTEE指N-苯甲酰基-L-酪氨酸乙酯（见 Sigma-Aldrich产品目录第B6125号）。

[0124] 如本文所用，术语“胰蛋白酶抑制物”指能够抑制胰蛋白酶作用于底物的任何物质。可以使用本领域熟知的测定法测量某物质抑制胰蛋白酶的能力。例如，在常见的测定法中，一单位对应于将胰蛋白酶活性减少一个苯甲酰基-L-精氨酸乙酯单位(BAEE-U)的抑制物的量。一个BAEE-U是在pH 7.6和 25°C将253nm处吸光度增加0.001/分钟的酶量。见，例如，K.Ozawa, M. Laskowski, 1966, J.Biol.Chem. 241:3955; 和Y.Birk, 1976, Meth. Enzymol. 45:700. 不作为限制，抑制胰蛋白酶的抑制物的例子是（本文所述的）KT13。

[0125] 除非另外指明，否则将本文中提及的抗胰蛋白酶活性是利用具有活性 10,000BAEE 单位/mg胰蛋白酶的胰蛋白酶测量，并且以mg抑制的胰蛋白酶 /mg测试的蛋白质表示。BAEE指Na-苯甲酰基-L-酪氨酸乙酯溶液（见 Sigma-Aldrich产品目录第B4500号）。例如，在常见的测定法中，一单位对应于将胰蛋白酶活性减少一个苯甲酰基-L-精氨酸乙酯单位(BAEE-U)的抑制物的量。一个BAEE-U是在pH 7.6和25°C将253nm处吸光度增加0.001/分钟的酶量。见，例如，K.Ozawa, M.Laskowski, 1966, J.Biol.Chem. 241:3955; 和Y.Birk, 1976, Meth. Enzymol. 45:700。

[0126] 本领域已知的一些胰蛋白酶抑制物对胰蛋白酶特异，而其他抑制胰蛋白酶和其他蛋白酶如胰凝乳蛋白酶。胰蛋白酶抑制物可以源自动物来源或蔬菜来源：例如大豆、玉米、利马豆和其他豆类、南瓜、向日葵、牛和其他动物的胰和肺、鸡和火鸡的卵清、基于大豆的婴儿配方食品和哺乳动物血液。胰蛋白酶抑制物也可以是微生物来源的：例如，抗痛素；见，例如，H.Umezawa, 1976, Meth. Enzymol. 45, 678。胰蛋白酶抑制物也可以是精氨酸模拟物或赖氨酸模拟物或其他合成性化合物，例如芳基胍、苯甲脒、3,4-二氯异香豆素、二异丙基氟磷酸盐、甲磺酸加贝酯或苯基甲磺酰氟。如本文所用，精氨酸模拟物或赖氨酸模拟物是能够与胰蛋白酶的P<sup>1</sup>袋结合和/或干扰胰蛋白酶活性部位功能的化合物。

[0127] 在某些实施方案中，在本发明的方法和组合物中利用胰蛋白酶抑制物的情况下，胰蛋白酶抑制物选自利马豆胰蛋白酶抑制物、抑蛋白酶肽(aprotinin, 又称作胰腺胰蛋白酶抑制物或碱性胰腺胰蛋白酶抑制物[BPTI]; Uniprot 编号 P00974[在2013年1月2日访问数据库])、Kazal抑制物(胰分泌性胰蛋白酶抑制物)、卵类粘蛋白、α1抗胰蛋白酶、皮质醇结合球蛋白、中心素([SERPINA9/GCET1(生发中心B细胞表达的转录物1)]、PI-6 (Sun等人,

1995)、PI-8(Sprecher等人,1995)、Bomapin、进化枝A的serpin[例如Serpina3(NCBI Gene ID:12;在2012年12月27日访问数据库)、Serpina6(NCBI Gene ID:866;在2012年12月27日访问数据库)、Serpina12(NCBI Gene ID:145264;在2012年12月27日访问数据库);Serpina10(NCBI Gene ID:51156;在2012年12月27日访问数据库);Serpina7(NCBI Gene ID:6906;在2012年12月27日访问数据库);Serpina9(NCBI Gene ID:327657;在2012年12月27日访问数据库);Serpina11(NCBI Gene ID:256394;在2012年12月27日访问数据库);Serpina13(NCBI Gene ID:388007;在2012年12月27日访问数据库);Serpina2(NCBI Gene ID:390502;在2012年12月27日访问数据库);和Serpina4(NCBI Gene ID:5104;在2012年12月27日访问数据库)]、Yukopin(SerpinB12;Gene ID:89777;在2012年12月27日访问数据库)、抗痛素、苯甲脒、3,4-二氯异香豆素、二异丙基氟磷酸和甲磺酸加贝酯。在其他实施方案中,选择多于一种例如2种、3种或4种上述抑制物。

[0128] 抑蛋白酶肽的代表性前体序列是:

[0129] MKMSRLCSV ALLVLLGTLA ASTPGCDTSN QAKAQRPDFC LEPPYTGPCK ARIIRYFYNA KAGLCQTFVY GGCRAKRNNF KSAEDCMRTC GGAIGPWENL (SEQ ID NO:1)。

[0130] 这100个残基当中,残基1-21是信号肽,22-35和94-100是前肽并且成熟链抑蛋白酶肽链由残基36-93(58个AA)组成。

[0131] 在某些实施方案中,在本发明的方法和组合物中利用胰凝乳蛋白酶抑制物的情况下,胰凝乳蛋白酶抑制物选自大豆胰蛋白酶抑制蛋白、Bowman-Birk抑制物、抑蛋白酶肽、来自水蛭的N-乙酰基-eglin C(Sigma-Aldrich目录号E7888)、糜蛋白酶抑素(Sigma-Aldrich目录号C7268)、 $\alpha$ 1-抗胰蛋白酶(Sigma-Aldrich目录号A9024)、 $\alpha$ 1-抗胰凝乳蛋白酶(Sigma-Aldrich目录号A9285)、马铃薯I型蛋白酶抑制物和马铃薯II型蛋白酶抑制物。

[0132] 在其他实施方案中,胰凝乳蛋白酶抑制物和/或胰蛋白酶抑制物衍生自大豆。衍生自大豆(Glycine max)的胰凝乳蛋白酶抑制物和胰蛋白酶抑制物可容易获得并且认为它们对人类消费是安全的。它们包括在其天然形式下由抑制胰蛋白酶的KTI3(Kunitz胰蛋白酶抑制物3)和抑制胰凝乳蛋白酶和胰蛋白酶的BBI(Bowman-Birk抑制物;Uniprot编号P01055[在2013年1月3日访问数据库])组成的SBTI(大豆胰蛋白酶抑制蛋白)。除非另外指明,否则,如本文所用,术语“SBTI”指KTI3和BBI的组合,该组合可以是KTI3和BBI的天然存在组合或人工组合。根据本领域接受的用途,SBTI有时在本文中指单个蛋白酶抑制物,尽管事实是它具有两种独立的蛋白酶组分。

[0133] 胰凝乳蛋白酶抑制物和胰蛋白酶抑制物例如从美国Sigma-Aldrich,St. Louis, Mo可获得。

[0134] 在某些实施方案中,与胰凝乳蛋白酶和/或胰蛋白酶的另一种抑制物一起存在时,SBTI以每剂量单位25-125mg之间的量存在,并且在作为唯一的胰凝乳蛋白酶和/或胰蛋白酶的抑制物存在时,以每剂量单位75-200mg之间的量存在。在多种实施方案中,SBTI以每剂量单位30-180mg、35-170mg、40-160mg、45-150mg、50-140mg、50-130mg、50-120mg、50-100mg、55-95mg、60-90mg、65-85mg、70-80mg、50-150mg、60-140mg、70-130mg、80-120mg、90-100mg、100-150mg、110-140mg、120-130mg、100-200mg、110-190mg、120-180mg、130-170mg或140-160mg的量存在。前述的范围均包括端值。在另外的实施方案中,SBTI以每剂量单位25mg、30mg、40mg、50mg、60mg、75mg、90mg、100mg、110mg、125mg、150mg、175mg或

200mg的量存在。

[0135] 用于制备BBI的方法例如在US 7,404,973和在2013年1月31提交的 Avraham Hershko的PCT国际申请公开号WO 2013/10289中描述,所述文献 的内容通过引用的方式并入本文。

[0136] BBI的代表性前体序列是:

[0137] MVVLKVCLVL LFLVGGTTSA NLRLSKLGLL MKSDHQHSND DESSKPCCDQ CACTKSNNPPQ CRCSDMRLNS CHSACKSCIC ALSYPAQCFC VDITDFCYEP CKPSEDDKEN (SEQ ID NO:2)。

[0138] 这110个残基当中,残基1-19是信号肽,20-39是前肽并且成熟链BBI 链由残基40-110(71个AA)组成。

[0139] 在某些实施方案中,与胰凝乳蛋白酶和/或胰蛋白酶的另一种抑制物一起 存在时,BBI以每剂量单位25-125mg之间的量存在,并且作为唯一的胰凝 乳蛋白酶和/或胰蛋白酶的抑制物存在时,以每剂量单位75-200mg之间的量 存在。在多种实施方案中,BBI以每剂量单位30-180mg、35-170mg、40-160 mg、45-150mg、50-140mg、50-130mg、50-120mg、50-100mg、55-95mg、60-90mg、65-85mg、70-80mg、50-150mg、60-140mg、70-130mg、80-120 mg、90-100mg、100-150mg、110-140mg、120-130mg、100-200mg、110-190 mg、120-180mg、130-170mg或140-160mg的量存在。前述的范围均包括 端值。在另外的实施方案中,BBI以每剂量单位25mg、30mg、40mg、50mg、 60mg、75mg、90mg、100mg、110mg、125mg、150mg、175mg或200mg 的量存在。

[0140] 在一个方面,在所描述的方法和组合物中利用的BBI是至少85%纯的, 如在多种实施方案中,通过十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 、亮蓝染色或成像仪定量法所测量。在某些实施方案中,大豆产物是大豆粉。

[0141] 在又一个方面,通过BCA (双喹啉-4-羧酸) 测定法,BBI的蛋白质含量大 于95%。

[0142] 在又一个方面,在所描述的方法和组合物中利用的BBI含有小于0.1% 高分子量杂质,例如,通过SDS-PAGE和成像仪定量法所评估。

[0143] 在其他实施方案中,分离的BBI具有每毫克抑制物抑制至少0.8、0.9、 1.0、1.1、1.2、1.3或1.4mg胰凝乳蛋白酶的抗胰凝乳蛋白酶活性。在其他 实施方案中,抗胰凝乳蛋白酶活性范围是每毫克抑制物抑制0.8-1.8、0.9-1.8、 1.0-1.8、1.1-1.8、1.2-1.8、1.3-1.8 或1.4-1.8mg胰凝乳蛋白酶。在更具体的实 施方案中,该活性是每毫克抑制物抑制0.8-1.8mg的胰凝乳蛋白酶。在其他 实施方案中,该活性范围是0.8-1.5mg抑制的胰凝乳蛋白酶/mg抑制物。在 药物组合物的情况下,该值涉及在BBI与药物组合物的一种或多种其他组分 混合之前BBI的特征。

[0144] 本领域技术人员将理解,在BBI与药物组合物其他组分中的任一种混合 之前,针对其蛋白质含量、杂质水平或效力,通常对上述每种纯度要求进行 评估。多种纯化类型的 BBI在2013年1月31提交的Avraham Hershko的PCT 国际申请公开号WO 2013/10289中公开, 所述文献的内容通过引用的方式并 入本文。

[0145] 在其他实施方案中,在所描述的方法和组合物中的分离的BBI是重组 BBI,例如已经工程化以表达BBI的微生物(如细菌)产生并随后分离的BBI。在另外的实施方案中,BBI 是合成性BBI。合成性BBI的例子是已经在无细 胞装置如肽合成仪中产生的BBI。肽合成仪, 例如自动肽合成仪,是本领域 熟知的并且是商业可获得的。本文还提供包含重组BBI的药

物组合物。本文 还提供包含合成性BBI的药物组合物。

[0146] 在某些实施方案中,描述的BBI是所描述的方法和组合物中的唯一蛋白 酶抑制物。尽管较低效力的SBTI需要额外的蛋白酶抑制物,例如抑蛋白酶 肽,以有效地在人消化道中保护某些治疗性蛋白,所描述的分离的BBI在一 些实施方案中能够减少在这个方面对额外蛋白酶抑制物的需求。

[0147] 用于制备KTI3的方法例如在2013年1月31提交的Avraham Hershko 的PCT国际申请公开号WO 2013/102899中描述,所述文献的内容通过引用 的方式并入本文。

[0148] KTI3具有Uniprot编号P01070 (2013年1月3日访问数据库)。KTI3的 代表性前体序列是:

[0149] MKSTIFFLFL FCAF TTSYLP SAIADFVL DN EGNPLENGGT YYILSDITAF GGIRAA PTGN ERCPLTVVQS RNELDKGIGT IISSPYRIRF IAE GHPLSLK FDSFAVIMLC VGI PTEWSVV EDLPEGPAVK IGENKDAMD G WFR LER VSDD EFNNYKLVFC PQQAEDDKCG DIGISIDHDD GTRRLVVS KN KPLVVQFQKL DKESLAKKNH GLSRSE (SEQ ID NO:3)。

[0150] 以上序列当中,残基1-24是信号肽,206-216是前肽并且成熟链KTI3 链由残基25-205(181个AA)组成。

[0151] 在某些实施方案中,KTI3以每剂量单位25-125mg之间的量存在并且与 胰凝乳蛋白酶抑制物一起存在。在多种实施方案中,KTI3以每剂量单位 30-120mg、35-115mg、40-110mg、45-105mg、50-100mg、55-95mg、60-90 mg、65-85mg、70-80mg、25-100mg、30-90mg、35-80mg、35-70mg、40-60 mg、45-55mg、80-120mg、85-115mg、90-100mg或95-105mg的量存在。前述的范围均包括端值。在另外的实施方案中,KTI3以每剂量单位25mg、 30mg、40mg、50mg、60mg、75mg、90mg、100mg、110mg或120mg 的量存在。

[0152] 在一个方面,在所描述的方法和组合物中利用的KTI3是至少85%纯的, 如在多种实施方案中,通过SDS-PAGE、亮蓝染色或成像仪定量法测量。

[0153] 在又一个方面,KTI3的蛋白质含量大于95%,如通过BCA测定法测量。

[0154] 在又一个方面,KTI3含有小于0.1%高分子量杂质,例如,如通过 SDS-PAGE和成像仪定量法所评估。

[0155] 在其他实施方案中,分离的KTI3具有每毫克抑制物抑制至少0.8、0.9、1.0、1.1、1.2或1.3mg胰蛋白酶的抗胰蛋白酶活性。在其他实施方案中,KTI3 的活性处于每毫克抑制物抑制0.8-1.8、0.9-1.8、1.0-1.8、1.1-1.8、1.2-1.8或 1.3-1.8mg胰蛋白酶的范围内。在更具体的实施方案中,KTI3的活性是每毫 克抑制物抑制0.8-1.7mg胰蛋白酶。在其他实施方案中,该活性是每毫克抑 制物抑制0.8-1.4mg胰蛋白酶。

[0156] 在其他优选实施方案中,分离的KTI是重组KTI,例如由已经工程化以 表达KTI的微生物(如细菌)产生的KTI。在其他仍优选的实施方案中,KTI 是合成性KTI。合成性KTI的例子是已经在无细胞装置如肽合成仪中产生的KTI。

[0157] 本领域技术人员将理解,在KTI3与药物组合物的一种或多种其他组分 混合之前,对于其蛋白质含量、杂质水平或效力,一般对上述每种纯度要求 进行评估。多种纯化类型的KTI在2013年1月31提交的Avraham Hershko 的PCT国际申请公开号WO 2013/10289中公开,所述文献的内容通过引用 的方式并入本文。

[0158] 其他实施方案涉及所述药物组合物中存在的抗胰凝乳蛋白酶活性对组合 物的抗

胰蛋白酶活性的比率。在一些实施方案中,这个参数在1.5:1和1:1之间。在更具体的实施方案中,该比率可以在1.4:1-1.1:1之间。在更具体的实施方案中,该比率可以在1.35:1-1.2:1之间。

[0159] 仍在其他实施方案中,所描述的纯化SBTI、BB和/或KTI与至少一种所描述的乳化剂一起存在,在一些实施方案中与至少一种所描述的非离子型去垢剂组合存在。纯化的SBTI、BB和/或KTI的每种所述实施方案可以自由地与所描述的乳化剂和/或非离子型去垢剂实施方案组合。

[0160] 蛋白酶抑制物的组合

[0161] 在某些实施方案中,在所描述的方法和组合物中利用的药物组合物包含分离的BBI和另一种蛋白酶抑制物(例如胰蛋白酶抑制物)的组合。在其他实施方案中,药物组合物包含分离的KTI3和另一种蛋白酶抑制物的组合。根据本公开,本领域技术人员理解,可以利用多种蛋白酶抑制物,包括本文中提到的那些。在蛋白酶抑制物是蛋白质的情况下,大小一般将达100kDa。

[0162] 在其他实施方案中,在所描述的方法和组合物中利用的药物组合物包含分离的BBI和分离的KTI两者,在更具体的实施方案中包含分离的BBI和分离的KTI3两者。本文所用的术语“分离的KTI3”和“分离的BBI”指相对于SBTI的其他组分富含所指组分(即分别是BBI或KTI3)的制备物。在多种实施方案中,在所述的方法和组合物中利用的KTI制备物是至少85%纯的,如通过SDS-PAGE、亮蓝染色或成像仪定量法(例如根据本文所述的方案)评估。在其他实施方案中,通过BCA测定法,KTI制备物的蛋白质含量大于95%。在药物组合物的情况下,这些值是指在KTI与药物组合物的一种或多种其他组分混合之前KTI的特征。在其他实施方案中,KTI制备物含有5%或更少的BBI,如通过SDS-PAGE所评估。在其他实施方案中,KTI制备物含有小于0.1%高分子量杂质(换而言之,具有大于30,000分子量的物质)。

[0163] 在另外的其他实施方案中,药物组合物中BBI对KTI3的重量/重量(w/w)比是在1.5:1和2.5:1之间,在其他实施方案中是在1.6:1和2.4:1之间,在其他实施方案中是在1.7:1和2.3:1之间,在其他实施方案中是在1.8:1和2.2:1之间,在其他实施方案中是在1.9:1和2.1:1之间,在其他实施方案中是在1.95:1和2.05:1之间,在其他实施方案中是2:1。

[0164] 在仍更具体的实施方案中,所描述的方法和组合物包含所描述的BBI和KTI,在更具体的实施方案中包含BBI和KTI3,作为仅有的蛋白酶抑制物。在其他实施方案中,所描述的方法和组合物包含KTI和抑蛋白酶肽,在更具体的实施方案中包含KTI3和抑蛋白酶肽,作为仅有的蛋白酶抑制物。在其他实施方案中,分离的BBI、分离的KTI和抑蛋白酶肽均存在于药物组合物中。

[0165] 在另外的其他实施方案中,BBI和KTI3分别以每剂型50-100mg和25-50mg的量存在并且是组合物中的仅有的蛋白酶抑制物。在其他实施方案中,所述量是分别是55-90mg和25-45mg,分别是60-90mg和25-45mg,分别是60-85mg和25-45mg,分别是60-80mg和25-45mg,分别是65-75mg和30-40mg,分别是68-72mg和33-37mg,或分别是70mg和35mg。在另外的实施方案中,前述量的BBI和KTI3与另一种胰蛋白酶抑制物例如抑蛋白酶肽一起存在。

[0166] 在另外的实施方案中,所描述的蛋白酶抑制物组合与所描述的乳化剂一起存在,

在一些实施方案中与所描述的非离子型去垢剂组合存在。每种所述 的蛋白酶抑制物组合可以自由地与所描述的乳化剂和/或非离子型去垢剂实 施方案组合。

[0167] 二价阳离子的螯合物

[0168] 在所描述的方法和组合物中利用的二价阳离子的螯合物在一个实施方案 中是对钙离子、镁离子和锰离子至少之一具有高亲和力的任何生理可接受的 化合物。在另一个实施方案中,螯合物选自柠檬酸酯或其盐;乙二胺四乙酸 (EDTA) 或其盐(例如EDTA二钠和EDTA二钠钙);EGTA(乙二醇四乙酸)或 其盐;二乙三胺五乙酸(DTPA) 或其盐;和BAPTA(1,2-双(邻氨基苯氧基)乙烷 -N,N,N',N'-四乙酸)或其盐。在其他实施方案中,选择上文列出的螯合物之一。在更具体的实施方案中,螯合物是EDTA。

[0169] 油

[0170] 本文所述的药物组合物和方法的某些实施方案包含液相,其中利用一种 或多种油作为液相的基础。在某些实施方案中,油可以是在环境温度为液态 的任何生理可接受的油。

[0171] 本文对“处于油中”或“处于液体中”的组分的称谓意指每种所指的组分在 油或油相中溶解、悬浮和/或乳化。对“基于油的”组合物的称谓意指组合物的 全部固态组分(即在造片工艺中通常作为固体提供的组分)在油或油相中溶解、悬浮和/或乳化。在一些实施方案中,油相是药物组合物的唯一液态组分。在 更具体的实施方案中,除胶囊和任选的其他包衣之外,油相是药物组合物的 唯一组分。

[0172] 在其他实施方案中,药物组合物的基于油的液相是无水的,或在其他实 施方案中是无酒精的,或在其他实施方案中同时是无酒精和无水的。在其他 实施方案中,除一种或多种任选的乳化剂或表面活性剂之外,油或油混合物 是油相的唯一液态组分。仍在其他实施方案中,油或油混合物是油相的唯一 液态组分。在另外的其他实施方案中,油相由油或油混合物组成并且固态组 分溶解、悬浮和/或乳化于其中。在另外的其他实施方案中,油相由油或油混 合物和全部溶解、悬浮和/或乳化于其中的一种或多种治疗性蛋白、一种或多种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物组成。在另外的其他实施方案中,油 相由油或油混合物;全部溶解、悬浮和/或乳化于其中的一种或多种治疗性蛋 白、一种或多种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物;和一种或多种任选的 乳化剂或表面活性剂组成。出于将组合物划分为“无水”、以油或油混合物作 为“唯一液态组分”等目的,将痕量液态组分(如从空气吸收的水)视为不存在。

[0173] 在更具体的实施方案中,油包含  $\omega$ -3脂肪酸。在其他实施方案中,  $\omega$ -3 脂肪酸是  $\omega$ -3多不饱和脂肪酸。在另一个实施方案中,  $\omega$ -3脂肪酸是DHA, 一种又称作4,7,10,13, 16,19-二十二碳六烯酸的  $\omega$ -3多不饱和22-碳脂肪酸。在 另一个实施方案中,  $\omega$ -3脂肪酸是亚麻酸(9,12,15-十八碳三烯酸)。在另一个 实施方案中,  $\omega$ -3脂肪酸是硬脂艾杜糖酸(6,9,12,15-十八碳四烯酸)。在另一个 实施方案中,  $\omega$ -3脂肪酸是二十碳三烯酸(ETA;11, 14,17-二十碳三烯酸)。在 另一个实施方案中,  $\omega$ -3脂肪酸是二十碳四烯酸(8,11,14,17-二十碳四烯酸)。在一个实施方案中,  $\omega$ -3脂肪酸是二十碳五烯酸(EPA;5,8,11,14,17-二十碳五 烯酸)。在另一个实施方案中,  $\omega$ -3脂肪酸是二十二碳六烯酸(也称作 5,7,9,11, 14,17-二十二碳六烯酸)。在另一个实施方案中,  $\omega$ -3脂肪酸是二十二 碳五烯酸(DPA;7, 10,13,16,19-二十二碳五烯酸)。在另一个实施方案中,  $\omega$ -3 脂肪酸是二十四碳六烯酸(6,

9,12,15,18,21二十四碳六烯酸)。

[0174] 在其他实施方案中,油是包含 $\omega$ -3脂肪酸的天然存在油。在其他实施方案中,油是通常认可为安全(GRA)的天然存在油。在其他实施方案中,油是天然存在的GRAS植物油。在某些实施方案中,油可以选自小豆蔻油、胡萝卜种子油、罗马春黄菊油、芫荽油、黑小茴香油、秋麒麟草油、橘油、柠檬蜜蜂花油、檀木油、荷兰薄荷油、橄榄油、亚麻籽油、芝麻油、鳄梨油、胡桃油、卡诺拉油菜油、棉籽油、玉米油、红花油、向日葵油、大豆油、葡萄籽油、杏仁油和鱼油,其非限制性例子是鲑鱼油和金枪鱼油。在更具体的实施方案中,油可以选自橄榄油、亚麻籽油、芝麻油、鳄梨油、胡桃油、卡诺拉油菜油和鱼油。在仍更具体的实施方案中,油选自鱼油、卡诺拉油菜油和亚麻籽油。可选地,油选自鱼油、卡诺拉油菜油、亚麻籽油、藻油和大麻籽油。在更具体的实施方案中,油是鱼油。已经在本文描述的组合物中测试几个类型的鱼油并且已经发现它们均同等良好地发挥作用。

[0175] 神经退行性疾病

[0176] 本领域技术人员理解,GLP-1可以对神经退行性疾病具有治疗作用,与影响NAFLD无关。本领域技术人员将理解,可以通过许多已知的方法,包括中枢神经系统的MRI(磁共振成像),诊断神经退行性疾病。

[0177] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗阿尔茨海默病或在另一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0178] 又一个方面提供了一种治疗阿尔茨海默病或在另一个方面降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向受试者施用上文所述的药物组合物,由此治疗阿尔茨海默病或降低其发生率。

[0179] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗帕金森病或在另一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0180] 又一个方面提供了一种治疗帕金森病或在另一个方面降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向受试者施用上文所述的药物组合物,由此治疗帕金森病或降低其发生率。

[0181] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗亨廷顿病或在另一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的

基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0182] 又一个方面提供了一种治疗亨廷顿病或在另一个方面降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向受试者施用上文所述的药物组合物,由此治疗亨廷顿病或降低其发生率。

[0183] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗ALS或在另一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0184] 又一个方面提供了一种治疗ALS或在另一个方面降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向受试者施用上文所述的药物组合物,由此治疗ALS或降低其发生率。

[0185] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗外伤性脑损伤(TBI)或在另一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0186] 又一个方面提供了一种治疗TBI或在另一个方面降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向受试者施用上文所述的药物组合物,由此治疗TBI或降低其发生率。

[0187] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗情感障碍或在另一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0188] 又一个方面提供了一种治疗情感障碍或在另一个方面降低其发生率的方法,所述方法包括步骤:向受试者施用上文所述的药物组合物,由此治疗情感障碍或降低其发生率。

[0189] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于减少来自脑卒中的组织损伤的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降解的包

衣。在其他 实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0190] 又一个方面提供了一种减少来自脑卒中的组织损伤的方法,所述方法包 括步骤:向受试者施用上文所述的药物组合物,由此减少来自脑卒中的组织 损伤。

[0191] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗视网膜变性或在另一个 方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1类似 物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子的螯 合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制剂之 一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/或在胃中抵抗降 解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0192] 又一个方面提供了一种治疗视网膜变性或在另一个方面降低其发生率的 方法,所述方法包括步骤:向受试者施用上文所述的药物组合物,由此治疗 视网膜变性或降低其发生率。

[0193] 在另一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗外周神经病 (PN) 或在另 一个方面降低其发生率的药物组合物,所述药物组合物包含胰岛素、GLP-1 类似物、至少一种蛋白 酶抑制物和二价阳离子的螯合物。在另一个实施方案 中,该药物组合物包含GLP-1类似物、至少一种蛋白酶抑制物和二价阳离子 的螯合物。在某些实施方案中,药物组合物包含本文所述的基于油的液态制 剂之一,其中在一些实施方案中,药物组合物还可以包含胶囊和/ 或在胃中抵 抗降解的包衣。在其他实施方案中,药物组合物包含本文所述的固态制剂之一。在某些实施方案中,将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0194] 又一个方面提供了一种治疗PN或在另一个方面降低其发生率的方法, 所述方法包括步骤:向受试者施用上文所述的药物组合物,由此治疗PN或 降低其发生率。

#### [0195] 代表性具体制剂

[0196] 在某些实施方案中,在所描述的方法和组合物中利用的制剂是一种液态 制剂,其 包含均处于油中例如在油中溶解、悬浮和/或乳化的胰岛素、GLP-1 类似物和至少一种胰蛋白酶抑制物。在更具体的实施方案中,GLP-1类似物 可以是艾塞那肽。在其他实施方案中,所描述的液态制剂包含胰岛素、GLP-1 类似物和至少一种胰凝乳蛋白酶抑制物。在另外的 实施方案中,所描述的液 态制剂包含胰岛素、GLP-1类似物、至少一种胰蛋白酶抑制物和至 少一种胰 凝乳蛋白酶抑制物。在另外的实施方案中,所描述的液态制剂包含胰岛素、GLP-1类似物、一种胰蛋白酶抑制物和一种胰凝乳蛋白酶抑制物。在更具体 的实施方案中,蛋白 酶抑制物是SBTI和抑蛋白酶肽。可选地,利用纯化的 KT13和抑蛋白酶肽。在另外的实施方案中,纯化的BBI是存在的唯一蛋白 酶抑制物。在其他实施方案中,二价阳离子的螯合物也 存在于液态制剂中,在更具体的实施方案中,其为EDTA。可选地或额外地,液态制剂处于明胶 胶囊中。在更具体的实施方案中,明胶胶囊用肠衣包覆。

[0197] 本文对与胰凝乳蛋白酶抑制物组合的胰蛋白酶抑制物的称谓包括以下情 况,其中胰蛋白酶抑制物如KT13与胰凝乳蛋白酶和胰蛋白酶二者的抑制物 一起存在。

[0198] 在某些实施方案中,在所描述的方法和组合物中利用的制剂是一种包含 二者/所有均处于油中例如在油中溶解、悬浮和/或乳化的胰岛素和至少一种 胰蛋白酶抑制物的液

态制剂。在其他实施方案中,所描述的液态制剂包含胰岛素和至少一种胰凝乳蛋白酶抑制物。在另外的实施方案中,所描述的液态制剂包含胰岛素、至少一种胰蛋白酶抑制物和至少一种胰凝乳蛋白酶抑制物。在另外的实施方案中,所描述的液态制剂包含胰岛素、一种胰蛋白酶抑制物和一种胰凝乳蛋白酶抑制物。在更具体的实施方案中,蛋白酶抑制物是SBTI和抑蛋白酶肽。可选地,利用纯化的KTI3和抑蛋白酶肽。在另外的实施方案中,纯化的BBI是存在的唯一蛋白酶抑制物。在其他实施方案中,二价阳离子的螯合物也存在于液态制剂中,在更具体的实施方案中,其为EDTA。可选地或额外地,液态制剂处于明胶胶囊中。在更具体的实施方案中,明胶胶囊用肠衣包覆。

[0199] 在某些实施方案中,在所描述的方法和组合物中利用的制剂是一种包含二者全部/均处于油中例如在油中溶解、悬浮和/或乳化的GLP-1类似物和至少一种胰蛋白酶抑制物的液态制剂。在更具体的实施方案中,GLP-1类似物可以是艾塞那肽。在其他实施方案中,所描述的液态制剂包含GLP-1类似物和至少一种胰凝乳蛋白酶抑制物。在另外的实施方案中,所描述的液态制剂包含GLP-1类似物、至少一种胰蛋白酶抑制物和至少一种胰凝乳蛋白酶抑制物。在另外的实施方案中,所描述的液态制剂包含GLP-1类似物、一种胰蛋白酶抑制物和一种胰凝乳蛋白酶抑制物。在更具体的实施方案中,蛋白酶抑制物是SBTI和抑蛋白酶肽。可选地,利用纯化的KTI3和抑蛋白酶肽。在另外的实施方案中,纯化的BBI是存在的唯一蛋白酶抑制物。在其他实施方案中,二价阳离子的螯合物也存在于液态制剂中,在更具体的实施方案中,其为EDTA。可选地或额外地,液态制剂处于明胶胶囊中。在更具体的实施方案中,明胶胶囊用肠衣包覆。

[0200] 在其他实施方案中,在描述的方法或组合物中利用的液态制剂包含胰岛素、艾塞那肽、表面活性剂、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油。在一些实施方案中,这个段落中提到的表面活性剂可以Gelucire 44/14。在其他实施方案中,该液态制剂基本上由胰岛素、艾塞那肽、表面活性剂、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油组成。“基本上由……组成”在这个段落和以下段落中表示液态制剂不含有明显影响其生理特征的任何其他组分。在其他实施方案中,该液态制剂由胰岛素、艾塞那肽、表面活性剂、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油组成。在其他的甚至更具体的实施方案中,每剂型的胰岛素、艾塞那肽、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油的量分别是8-16mg、150-300mcg、100-200mg、50-100mg、20-30mg和0.4-0.7ml,并且表面活性剂例如Gelucire 44/14的量是8-16%。在仍更具体的实施方案中,每剂型的胰岛素、艾塞那肽、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油的量分别是8-16mg、150-300mcg、150mg、65-85mg、22-26mg和0.5-0.7ml,并且表面活性剂例如Gelucire 44/14的量是8-16%。甚至更具体的实施方案包含75mg SBTI和24mg抑蛋白酶肽。在其他实施方案中,以上组合物还包含聚山梨醇酯80。在一些实施方案中,聚山梨醇酯80构成3-10%重量/重量(包括端值)的基于油的液态制剂。在某些实施方案中,前述全部成分(除油之外)均在油中提供,例如溶解或悬浮于油中,在一些实施方案中,所述油是本文中提到的油之一。可选地或额外地,以上组合物由抵抗胃中降解的包衣包覆。可选地或额外地,纯化的KTI3以上文提到的量之一替代SBTI存在。在多种实施方案中,纯化BBI是存在的唯一蛋白酶抑制物并且是以50-200mg的量、在其他实施方案中以75-200mg的量、在其他实施方案中以75-180mg的量、在其他实施方案中以75-150mg的量、在其他实施方案中以75-125mg的量、在其他实施方案中以90-110mg的量、在其他实施方案中以100-150mg的量、在其他实施方案中以110-140mg的量、

在其他实施方案中以120–130mg的量、在其他实施方案中以120–160mg 的量、在其他实施方案中以130–150mg的量、在其他实施方案中以75mg 的量、在其他实施方案中以100mg的量、在其他实施方案中以125mg的量、在其他实施方案中以150mg的量、在其他实施方案中以175mg的量、在其他实施方案中以200mg的量存在。

[0201] 在更具体的实施方案中，在描述的方法或组合物中利用的液态制剂包含 胰岛素；艾塞那肽；自乳化组分，例如作为(a) 单酰甘油、二酰甘油、三酰甘油或其混合物和(b) 脂肪酸的PEG酯；EDTA；SBTI；抑蛋白酶肽；和油的混合物中的组分提供。在其他实施方案中，该液态制剂基本上由胰岛素、艾塞那肽、自乳化组分、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油组成。在其他实施方案 中，该液态制剂由胰岛素、艾塞那肽、自乳化组分、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油组成。在其他的甚至更具体的实施方案中，每剂型中胰岛素、艾塞那肽、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油的量分别是8–16mg、150–300mcg、100–200mg、50–100mg、20–30mg和0.4–0.7ml，并且自乳化组分的量是8–16%。在仍更具体的实施方案中，每剂型中胰岛素、艾塞那肽、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油的量分别是8–16mg、150–300mcg、150mg、65–85mg、22–26 mg和0.5–0.7ml，并且自乳化组分的量是8–16%。甚至更具体的实施方案包含75mg SBTI和24mg 抑蛋白酶肽。在其他实施方案中，以上组合物还包含 聚山梨醇酯80。在一些实施方案中，聚山梨醇酯80构成3–10% (包括端值) 重量/重量的基于油的液态制剂。在某些实施方案中，除油之外的前述成分均 在油中提供，例如溶解或悬浮于油中，在一些实施方案中，所述油是本文中 提到的油之一。可选地或额外地，以上组合物由抵抗胃中降解的包衣包覆。可选地或额外地，纯化的KTI3以上文提到的量之一替代SBTI存在。在其他 实施方案中，纯化的BBI以上文对SBTI提到的量之一存在并且是存在的唯一蛋白酶抑制物。

[0202] 在其他实施方案中，在描述的方法或组合物中利用的液态制剂包含艾塞那肽、表面活性剂、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油。在一些实施方案中，这个段落中提到的表面活性剂可以是Gelucire 44/14。在其他实施方案中，该 液态制剂基本上由艾塞那肽、表面活性剂、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油 组成。在其他实施方案中，该液态制剂由艾塞那肽、表面活性剂、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油组成。在其他的甚至更具体的实施方案中，每剂型中 艾塞那肽、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油的量分别是150–300mcg、100–200 mg、50–100mg、20–30mg和0.4–0.7ml，并且表面活性剂例如Gelucire 44/14 的量是8–16%。在仍更具体的实施方案中，每剂型的艾塞那肽、EDTA、SBTI、 抑蛋白酶肽和油的量分别是150–300mcg、150mg、65–85mg、22–26mg 和 0.5–0.7ml，并且表面活性剂例如Gelucire 44/14的量是8–16%。甚至更具体 的实施方案包含75mg SBTI和24mg 抑蛋白酶肽。在其他实施方案中，以上组合物还包含聚山梨醇酯80。在一些实施方案中，聚山梨醇酯80构成3–10% 重量/重量(包括端值)的基于油的液态制剂。在某些实施方案中，除油之外的 前述成分均在油中提供，例如溶解或悬浮于油中，在一些实施方案中，所述 油是本文中提到的油之一。可选地或额外地，以上组合物由抵抗胃中降解的 包衣包覆。可选地或额外地，纯化的KTI3以上文提到的量之一替代SBTI 存在。在多种实施方案中，纯化的BBI是存在的唯一蛋白酶抑制物并且是以 50–200mg的量、在其他实施方案中以75–200mg的量、在其他实施方案中以 75–180mg的量、在其他实施方案中以75–150mg的量、在其他实施方案中以 75–125mg的量、在其他实施方案中以90–110mg的量、在其他实施方案中以 100–150mg的量、在其他实施方案中以110–140mg的量、在其他实施方案中 以120–130mg的量、在其他实施方案中以120–160mg的量、在

其他实施方案中以130–150mg的量、在其他实施方案中以75mg的量、在其他实施方案中以100mg的量、在其他实施方案中以125mg的量、在其他实施方案中以150mg的量、在其他实施方案中以175mg的量、在其他实施方案中以200mg的量存在。

[0203] 在仍更具体的实施方案中，在描述的方法或组合物中利用的液态制剂包含艾塞那肽、自乳化组分、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽(aprotinin)和油。在其他实施方案中，该液态制剂基本上由艾塞那肽、自乳化组分、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油组成。在其他实施方案中，该液态制剂由艾塞那肽、自乳化组分、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油组成。在其他的甚至更具体的实施方案中，每剂型的艾塞那肽、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油的量分别是150–300mcg、100–200mg、50–100mg、20–30mg和0.4–0.7ml，并且自乳化组分的量是8–16%。在仍更具体的实施方案中，每剂型的艾塞那肽、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油的量分别是150–300mcg、150mg、65–85mg、22–26mg和0.5–0.7ml，并且自乳化组分的量是8–16%。甚至更具体的实施方案包含75mg SBTI和24mg抑蛋白酶肽。在其他实施方案中，以上组合物还包含聚山梨醇酯80。在某些实施方案中，聚山梨醇酯80构成3–10%重量/重量(包括端值)的基于油的液态制剂。在某些实施方案中，除油之外的前述成分均在油中提供，例如溶解或悬浮于油中，在一些实施方案中，所述油是本文中提到的油之一。可选地或额外地，以上组合物由抵抗胃中降解的包衣包覆。可选地或额外地，纯化的KTI3以上文提到的量之一替代SBTI存在。在多种实施方案中，纯化的BBI是存在的唯一蛋白酶抑制物并且是以50–200mg的量、在其他实施方案中以75–200mg的量、在其他实施方案中以75–180mg的量、在其他实施方案中以75–150mg的量、在其他实施方案中以75–125mg的量、在其他实施方案中以90–110mg的量、在其他实施方案中以100–150mg的量、在其他实施方案中以110–140mg的量、在其他实施方案中以120–130mg的量、在其他实施方案中以120–160mg的量、在其他实施方案中以130–150mg的量、在其他实施方案中以75mg的量、在其他实施方案中以100mg的量、在其他实施方案中以125mg的量、在其他实施方案中以150mg的量、在其他实施方案中以175mg的量、在其他实施方案中以200mg的量存在。

[0204] 在其他实施方案中，在描述的方法或组合物中利用的液态制剂包含胰岛素、Gelucire44/14、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油。在其他实施方案中，该液态制剂基本上由胰岛素、Gelucire 44/14、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油组成。在其他实施方案中，该液态制剂由胰岛素、Gelucire 44/14、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油组成。在其他的甚至更具体的实施方案中，每剂型的胰岛素、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油的量分别是8–16mg、100–200mg、50–100mg、20–30mg和0.4–0.7ml，并且Gelucire 44/14的量是8–16%。在仍更具体的实施方案中，每剂型的胰岛素、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油的量分别是8–16mg、150mg、65–85mg、22–26mg和0.5–0.7ml，并且Gelucire 44/14的量是8–16%。甚至更具体的实施方案包含75mg SBTI和24mg抑蛋白酶肽。在其他实施方案中，以上组合物还包含聚山梨醇酯80。在一些实施方案中，聚山梨醇酯80构成3–10%重量/重量(包括端值)的基于油的液态制剂。在某些实施方案中，除油之外的前述成分均在油中提供，例如溶解或悬浮于油中，在一些实施方案中，所述油是本文中提到的油之一。可选地或额外地，以上组合物由抵抗胃中降解的包衣包覆。可选地或额外地，纯化的KTI3以上文提到的量之一替代SBTI存在。在多种实施方案中，纯化的BBI是存在的唯一蛋白酶抑制物并且是以50–200mg的量、在其他实施方案中以75–200mg的量、在其他实施方案中以75–180mg的量、在其他实施方案中以75–150

mg的量、在其他实施方案中以75–125mg的量、在其他实施方案中以90–110 mg的量、在其他实施方案中以100–150mg的量、在其他实施方案中以110–140 mg的量、在其他实施方案中以120–130mg的量、在其他实施方案中以120–160 mg的量、在其他实施方案中以130–150mg的量、在其他实施方案中以75mg 的量、在其他实施方案中以100mg的量、在其他实施方案中以125mg的量、在其他实施方案中以150mg的量、在其他实施方案中以175mg的量、在其 他实施方案中以200mg的量存在。

[0205] 在仍更具体的实施方案中，在描述的方法或组合物中利用的液态制剂包 含胰岛素、自乳化组分、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油。在其他实施方案 中，该液态制剂基本上由胰岛素、自乳化组分、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽 和油组成。在其他实施方案中，该液态制剂由胰岛素、自乳化组分、EDTA、 SBTI、抑蛋白酶肽和油组成。在其他的甚至更具体的实施方案中，每剂型的 胰岛素、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油的量分别是8–16mg、100–200mg、 50–100mg、20–30mg和0.4–0.7ml，并且自乳化组分的量是8–16%。在仍更 具体的实施方案中，每剂型的胰岛素、EDTA、SBTI、抑蛋白酶肽和油的量 分别是8–16mg、150mg、65–85mg、22–26mg和 0.5–0.7ml，并且自乳化组 分的量是8–16%。甚至更具体的实施方案包含75mg SBTI和24mg 抑蛋白酶 肽。在其他实施方案中，以上组合物还包含聚山梨醇酯80。在某些实施方案 中，聚山梨醇酯80构成3–10%重量/重量(包括端值)的基于油的液态制剂。在 某些实施方案中，除油之外的前述成分均在油中提供，例如溶解或悬浮于油 中，在一些实施方案中，所述油是本文中提到的油之一。可选地或额外地，以上组合物由抵抗胃中降解的包衣包覆。可选地或额外地，纯化的KTI3以 上文提到的量之一替代SBTI存在。在多种实施方案中，纯化 BBI是存在的 唯一蛋白酶抑制物并且是以50–200mg的量、在其他实施方案中以75–200mg 的量、在其他实施方案中以75–180mg的量、在其他实施方案中以75–150mg 的量、在其他实施方案中以75–125mg的量、在其他实施方案中以90–110mg 的量、在其他实施方案中以100–150mg的量、在其他实施方案中以110–140 mg的量、在其他实施方案中以120–130mg的量、在其他实施方案中以120–160 mg的量、在其他实施方案中以130–150mg的量、在其他实施方案中以75mg 的量、在其他实施方案中以100mg的量、在其他实施方案中以125mg的量、在其他实施方案中以150mg的量、在其他实施方案中以175mg的量、在其 他实施方案中以200mg的量存在。

[0206] 本文中在乳化剂和去垢剂背景下提及的“重量/重量”百分比利用制剂中 油基(例如鱼油)的量作为分母；因此，将500mg油中的60mg Gelucir(例如) 视为12%w/w，无论其他组分的重量是多少。类似地，将与500mg油混合 的50mg Tween-80视为10% Tween-80。

[0207] 在其他实施方案中，在描述的方法或组合物中利用的液态制剂是无水的。如果多于一种液态制剂存在，例如在多组分组合物中，则每种液态制剂可以 是无水的。在某些实施方案中，“无水”指没有向其中有意添加水质组分的制 剂。不排除存在已经从空气吸收至其组分中的痕量水。在另一个实施方案中，液态制剂不含水性组分。如果多于一种液态制剂存在，例如在多组分组合物 中，则每种液态制剂可以不含水质组分。在另外的其他实施方案中，选自橄 榄油、亚麻籽油、芝麻油、鳄梨油、胡桃油、卡诺拉油菜油和鱼油的一种或多种油是一种或多种液态制剂中每种制剂的唯一液态组分。在又一个实施方 案中，鱼油是一种或多种液态制剂中每种制剂的唯一液态组分。在又一个实 施方案中，一种或多种液态制剂的唯一液态组分选自鱼油、卡诺拉油菜油和 亚麻籽油。

[0208] 在某些实施方案中,在所描述的方法和组合物中利用的制剂是一种包含 胰岛素、GLP-1类似物、EDTA和至少一种胰蛋白酶抑制物的固态制剂。在 更具体的实施方案中, GLP-1类似物可以是艾塞那肽。在其他实施方案中, 该制剂包含胰岛素、GLP-1类似物、EDTA和至少一种胰凝乳蛋白酶抑制物。在其他实施方案中,该制剂包含胰岛素、GLP-1类似物、EDTA、至少一种 胰蛋白酶抑制物和至少一种胰凝乳蛋白酶抑制物。在其他实施方案中,该制 剂包含胰岛素、GLP-1类似物、EDTA、一种胰蛋白酶抑制物和一种胰凝乳 蛋白酶抑制物。在更具体的实施方案中,蛋白酶抑制物是SBTI和抑蛋白酶 肽。可选地,利用纯化的KTI3和抑蛋白酶肽。在多种实施方案中,纯化的 BBI是存在的唯一蛋白酶抑制物并且是以50–200mg的量、在其他实施方案 中以75–200mg的量、在其他实施方案中以75–180mg的量、在其他实施方 案中以75–150mg的量、在其他实施方案中以75–125mg的量、在其他实施 方案中以90–110mg的量、在其他实施方案中以100–150mg的量、在其他实 施方案中以110–140mg的量、在其他实施方案中以120–130mg的量、在其 他实施方案中以120–160mg的量、在其他实施方案中以130–150mg的量、在其他实施方案中以75mg的量、在其他实施方案中以100mg的量、在其 他实施方案中以125mg的量、在其他实施方案中以150mg的量、在其他实 施方案中以175mg的量、在其他实施方案中以200mg的量存在。可选地或 额外地,固态制剂是用肠衣包覆。

[0209] 本文所用的术语“固态制剂”指遍及整个剂型不具有液态结构的片剂、胶 囊剂和其他剂型。将某些非限制性实施方案中均处于晶态形式或其他实施方 案中处于非晶态形式的治疗性肽、EDTA和蛋白酶抑制物合并并经历本领域 已知的造片工艺。

[0210] 在某些实施方案中,在所描述的方法和组合物中利用的制剂是一种包含 GLP-1类 似物、EDTA和至少一种胰蛋白酶抑制物的固态制剂。在更具体的 实施方案中, GLP-1类似物可以是艾塞那肽。在其他实施方案中,该制剂包 含GLP-1类似物、EDTA和至少一种胰凝乳蛋白酶抑制物。在其他实施方案 中,该制剂包含GLP-1类似物、EDTA、至少一种胰蛋白酶抑制 物和至少一 种胰凝乳蛋白酶抑制物。在其他实施方案中,该制剂包含GLP-1类似物、EDTA、一种胰蛋白酶抑制物和一种胰凝乳蛋白酶抑制物。在更具体的实施 方案中,蛋白酶抑制物是SBTI和抑蛋白酶肽。可选地,利用纯化的KTI3和 抑蛋白酶肽。在另外的实施方案中,纯化的BBI是存在的唯一蛋白酶抑制物。可选地或额外地,液态制剂处于明胶胶囊中。在更具体的实施方案中,明胶 胶囊用肠衣包覆。

[0211] 在某些实施方案中,在所描述的方法和组合物中利用的制剂是一种包含 胰岛素、EDTA和至少一种胰蛋白酶抑制物的固态制剂。在其他实施方案中, 该制剂包含胰岛素、EDTA、至少 一种胰蛋白酶抑制物和至少一种胰 凝乳蛋白酶抑制物。在其他实施方案中,该制剂包含胰岛素、EDTA、一种 胰蛋白酶抑制物和一种胰凝乳蛋白酶抑制物。在更具体的实施方案中,蛋白 酶抑制物是SBTI和抑蛋白酶肽。可选地,利用纯化的KTI3和抑蛋白酶肽。在另外的实施方案中,纯化的BBI是存在的唯一蛋白酶抑制物。可选地或额 外地,液态制剂处于明胶胶囊中。在更具体的实施方案中,明胶胶囊用肠衣 包覆。

[0212] 糖尿病和其他代谢紊乱

[0213] 本文中还提供了本文所述的固态药物制剂,用于治疗糖尿病,所述糖尿 病在一些 实施方案中I型DM并且在其他实施方案中是II型DM。还提供通 过向受试者施用本文所述的

固态药物制剂治疗糖尿病的方法。在某些实施方案中，根据血糖水平，将药物组合物每日一次或多次施用至受试者。在其他实施方案中，将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0214] 在其他实施方案中提供了本文所述的固态药物制剂，所述固态药物制剂在多种实施方案中包含胰岛素、GLP-1类似物或其组合作为有效成分，用于抑制或减少II型糖尿病(T2DM)在具有该风险的受试者中形成。在某些实施方案中，具有风险的受试者被认为处于“糖尿病前期”和/或显示出糖耐量受损(IGT)。当空腹血糖(FPG)水平在100–126毫克/分升(mg/dl)之间和/或口服糖耐量试验(OGTT)中的2小时值在140–200mg/dl之间时，一般认为存在IGT；而基于FPG值>126或2小时OGTT值>200mg/dl，认为存在T2DM。然而，本领域技术人员理解，确定IGT和T2DM的确切标准不是关键的，并且可以使用其他试验，例如经常采样的静脉内糖耐量试验(FSIVGTT)和HbA1C水平。在其他实施方案中，具有风险的受试者显示胰岛素抗性、肥胖症，和/或糖尿病家族史。在某些实施方案中，将药物组合物施用的时间延长。在更具体的实施方案中，可以将药物组合物每天施用的时间延长，例如每日一次或每日二次。每日施用的非限制性例子是就寝时间之前单次给药。

[0215] 本文中还提供了本文所述的固态药物制剂，用于减少食物摄入。还提供了通过向受试者施用本文所述的固态药物制剂，减少受试者摄入食物的方法。

[0216] 本文中还提供了本文所述的固态药物制剂，用于增强胰岛素分泌。还提供了通过向受试者施用本文所述的固态药物制剂，增强胰岛素分泌的方法。在某些实施方案中，根据血糖水平，将药物组合物每日一次或多次施用至受试者。在其他实施方案中，将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0217] 本文中还提供了本文所述的固态药物制剂，用于预防性降低高血糖发生率。还提供了通过向受试者施用本文所述的固态药物制剂，预防性减少高血糖的方法。在某些实施方案中，根据血糖水平，将药物组合物每日一次或多次施用至受试者。在其他实施方案中，将药物组合物向受试者施用的时间延长。

[0218] 本文中还提供了本文所述的固态药物制剂用于预防性减少胰高血糖素分泌。还提供了通过向受试者施用本文所述的固态药物制剂，预防性减少胰高血糖素分泌的方法。

[0219] 本文中还提供在药物组合物中具有BBI对KTI特定w/w比的药物制剂，所述药物制剂在多种实施方案中包含胰岛素、GLP-1类似物或其组合作为有效成分，用于治疗糖尿病(DM)，所述糖尿病在一些实施方案中是I型DM，并且在其他实施方案中是II型DM。还提供了通过向受试者施用具有特定BBI:KTI的w/w比率的药物制剂，治疗DM的方法。在某些实施方案中，根据血糖水平，将药物组合物每日一次或多次施用至受试者。在其他实施方案中，将药物组合物向受试者施用的时间延长。在多种实施方案中，药物组合物是本文所述的液体药物制剂或本文所述的固态药物制剂。前述的BBI对KTI的w/w比在一些实施方案中是在1.5:1和2.5:1之间，在其他实施方案中是在1.6:1和2.4:1之间，在其他实施方案中是在1.7:1和2.3:1之间，在其他实施方案中是在1.8:1和2.2:1之间，在其他实施方案中是在1.9:1和2.1:1之间，在其他实施方案中是在1.95:1和2.05:1之间，在其他实施方案中是2:1。

[0220] 在其他实施方案中提供了具有特定BBI:KTI w/w比的药物制剂，所述药物制剂在多种实施方案中包含胰岛素、GLP-1类似物或其组合作为有效成分，用于抑制或减少T2DM在具有该风险的受试者中形成。在某些实施方案中，具有风险的受试者被认为处于“糖尿

病前期”，显示出IGT、显示出肥胖和/或 具有糖尿病家族史。在某些实施方案中，将药物组合物施用的时间延长。在 更具体的实施方案中，可以将药物组合物每天施用的时间延长，例如每日一 次或每日二次。每日施用的非限制性例子是就寝时间之前单次给药。前述的BBI对KTI的w/w比在一些实施方案中是在1.5:1和2.5:1之间，在其他实施 方案中是在1.6:1和2.4:1之间，在其他实施方案中是在1.7:1和2.3:1之间， 在其他实施方案中是在1.8:1和2.2:1之间，在其他实施方案中是在1.9:1和 2.1:1之间，在其他实施方案中是在1.95:1和2.05:1之间，在其他实施方案中 是2:1。

[0221] 包衣

[0222] 在某些实施方案中，所描述的液态制剂含于胶囊例如明胶胶囊内部，所述胶囊在更具体的实施方案本身用pH敏感性包衣包覆。在其他实施方案中，固态制剂可以例如直接用pH敏感性包衣包覆。根据本公开，本领域技术人员理解，各种pH敏感性包衣都可以用于所描述的方法和组合物中。在某些 实施方案中，可以利用抑制组合物在受试者的胃中消化的任何包衣。一般，这类包衣将在人胃液中2小时以内不溶解，并且将在十二指液中30分钟以内 溶解。

[0223] 在其他实施方案中，包衣包含生物可降解多糖。在其他实施方案中，利 用水凝胶。在其他实施方案中，包衣包含以下赋形剂之一：壳聚糖、乙基纤 维素水分散体ECD包衣 (aquacoat ECD coating)、偶氮-交联型聚合物、醋酸纤 维素邻苯二甲酸酯、乙酸纤维素偏 苯三酸酯(CAT)、醋酸纤维素丁酯、羟丙 基甲基纤维素邻苯二甲酸酯或聚醋酸乙烯邻苯二 甲酸酯。

[0224] 在其他实施方案中，利用定时释放系统如Pulsincap<sup>TM</sup>。

[0225] 在优选的实施方案中，当pH达到肠中存在的范围(其相对于胃中pH呈 碱性)时，本文描述的包衣剂型释放核芯(含有基于油的制剂)。在更具体的实 施方案中，包衣包含pH敏 感性聚合物。在多种实施方案中，可以利用单层 或多层包衣。

[0226] 在一个实施方案中，包衣是肠衣。用于肠包衣的方法是本领域熟知的(见，例如， Siepmann F等人，2005)。在更具体的实施方案中，利用Eudragit<sup>TM</sup>包 衣作为肠衣。Eudragit<sup>TM</sup>包衣是丙烯酸聚合物，其用途是本领域熟知的。

[0227] 在另一个实施方案中，使用微包囊化作为本文描述的组合物中的抗胃酸 包衣。用于微包囊化的方法是本领域熟知的并且尤其在美国专利申请专利公 开号2011/0305768中 描述，所述专利通过引用的方式并入本文。

[0228] 在其他实施方案中，所述的药物组合物处于胶囊形式。最选用明胶胶囊， 所述明 胶胶囊可以是软明胶胶囊，或在其他实施方案中是硬明胶胶囊。用于 将基于油的制剂引入 明胶胶囊的方法是本领域熟知的。在更具体的实施方案 中，明胶胶囊本身被肠衣包覆。

[0229] 多种口服剂型，如片剂、胶囊剂、丸剂、散剂和颗粒剂，可以用于所描 述的固态组 合物中。合适的赋形剂可以选自但不限于：固体粉状载体，例如 美国药典和药物赋形剂手 册中所述，例如甘露醇、微晶纤维素、磷酸氢钙、硫酸钙和淀粉；粘合剂，例如聚乙 烯吡咯烷 酮、淀粉和羟丙基甲基纤维素；崩解剂，例如交联羧甲基纤维素钠、淀粉乙醇酸钠和聚乙 烯吡咯烷酮以及润 滑剂，例如硬脂酸镁、硬脂富马酸钠、滑石和氢化植物油如SterotexNF。在 一些实施方案中，无乳糖组合物以相容性量含有有效成分、粘合剂/填料和润 滑剂。无乳糖 剂型的更具体实施方案含有有效成分、微晶纤维素、预糊化淀 粉和硬脂酸镁。在某些实施

方案中，混合物是随后加工成片剂或胶囊用颗粒。在某些实施方案中，利用快速崩解片剂，其在一些实施方案中可用于具有困难吞咽的年老或病弱个体。在其他实施方案中，口服剂型包有肠溶衣。

[0230] 在本文中将单个可分离特征例如胰岛素蛋白或其剂量、GLP-1类似物或其剂量、蛋白酶抑制物或其量、螯合物或其量、乳化剂或其量、非离子型去垢剂或其量或胶囊和/或包衣的替代形式描述为“实施方案”的情况下，应当理解这类替代形式可以自由地组合以形成本文公开的本发明的独立实施方案。

[0231] 就容许它的管辖权而言，本文中（无论上文还是下文）援引的全部专利、专利申请和出版物均通过引用方式并入本文。

[0232] 本发明由以下实施例进一步说明，从中可以引出其他实施方案和优点。这些实施例意在说明本发明而非限制其范围。

### [0233] 实验详述部分

[0234] 在本文所述的全部动物实验中，在肠包衣胶囊剂中向人施用的液体剂型可以例如借助插管直接施用至动物的消化系统。从总体上看，液态剂型和固态剂型可以通过管饲法输送至动物。

#### [0235] 实施例1：检验用于治疗NAFLD的口服GLP-1类似物和/或胰岛素制剂

[0236] 向患有NAFLD的志愿者施用一种或多种具有pH敏感性包衣的剂型和/或胶囊，其在前述基础上含有一种或多种蛋白酶抑制物、EDTA和GLP-1类似物，施用例如1-24个月之间的时间。在其他实验中，该剂型含有胰岛素和GLP-1类似物。仍然在其他实验中，用该组合物治疗具有形成NAFLD的风险的受试者。在整个实验期间追踪受试者的NAFLD状态，以检查组合物的有效性。

#### [0237] 实施例2：检验用于其他代谢适应症的口服GLP-1类似物和/或胰岛素制剂

[0238] 向患有代谢紊乱的志愿者（Grundy等人，2004）施用一种或多种具有pH敏感性包衣的剂型和/或胶囊，其在前述基础上含有一种或多种蛋白酶抑制物、EDTA和GLP-1类似物，并且施用例如1-24个月时间。在其他实验中，该剂型含有胰岛素和GLP-1类似物。仍然在其他实验中，用该组合物治疗具有形成代谢紊乱的风险的受试者。在整个实验期间追踪受试者的肥胖症（例如通过测量腰围）、总胆固醇水平、高甘油三酯血、血清ApoB水平、总胆固醇/HDL比、ApoB/ApoA1比、动脉粥样硬化、亚临床炎症（如尤其可以通过测量C-反应蛋白水平度量）、促血栓状态的存在（如尤其可以通过测量纤溶酶原激活物抑制物-1[PAI-1]水平度量）、血小板激活的存在、内皮功能障碍的存在、心源性栓塞状态（cardioembolic state）的存在和/或胰岛素诱导的血管舒张反应增强（Sung等人，2012；Chatrath等人，2012；Nseiretal, 2011）。

#### [0239] 实施例3：在动物模型中检验用于治疗和预防阿尔茨海默病的口服GLP-1类似物制剂

[0240] 在前述基础上，向阿尔茨海默病动物模型背景下的实验动物施用含有一种或多种蛋白酶抑制物、EDTA和GLP-1类似物的一种或多种剂型，例如持续1-24个周之间的时间。在其他实验中，制剂含有胰岛素和GLP-1类似物作为活性药物。在一些实验中，动物模型是链脲霉素（ST）诱导的AD大鼠模型。STZ的脑内注射导致tau蛋白过度磷酸化并造成类似AD的状况。一些实验利用其中使用CSF而非STZ的假性注射动物作为对照组。

[0241] 由所述操作完全恢复后(一般在诱导后几个月),将动物分组并用口服 GLP-1或空载体(例如生理盐水)处理几天时间,在一些实验中处理至少30天。

[0242] 在处理期间测量口服GLP-1对记忆保留的剂量依赖影响和时程影响。在 处理之后,处死动物,并且将脑组织用来评价海马和皮质GLP-1水平、淀粉 样蛋白 $\beta$ (AP) 负荷、tau 磷酸化和炎性标志物。

[0243] 在一些实验中,在实验期间追踪受试者的认知状态,或根据Salcedo等 人或其中引用的参考文件评估神经退行性疾病状态,以检验组合物的有效性。下文是可以使用的一些代表性方案:

[0244] 放射状臂迷宫(RAM)任务

[0245] 用RAM装置(Alamed)并使用描述的测试方法(包括训练)测试动物的工作记忆。该试验一般在STZ诱导后几个月进行。

[0246] 洞-板(HB)任务

[0247] 在食物激励的复杂HB装置中测试动物的学习缺陷。该装置由含有由 Plexiglass 壁围绕的一系列洞的开阔场地组成。每洞含有一个带孔底部的金属 杯,底下放置食物团。该试验记录前往设有食物诱饵的洞(命中)的次数、前 往无食物诱饵的洞(失误)次数和完成该试验的时间。

[0248] 生物化学研究

[0249] 在完成行为研究时将动物安乐死,并且对固定的脑实施生物化学研究和 组织学。在一些实验中,从一个半球剖取海马和额叶皮层并用于生物化学研 究,如下文列出的那些。

[0250] 估计活性GLP-1水平

[0251] 将分离的海马样品和皮质样品随10倍体积冰冷的50mM磷酸盐缓冲盐 水(pH 7.8)一起匀浆。将匀浆液分成四等份并用于估计GLP-1、A $\beta$ 42、tau 和炎性标志物。可以使用市售 ELISA试剂盒检验活性GLP-1和A $\beta$ 42水平。

[0252] 测量磷酸化tau(p-tau)

[0253] 收获海马组织和皮层组织并进行蛋白质印迹分析。

[0254] 测量TNF- $\alpha$ 水平和IL-1 $\beta$ 水平

[0255] 可以使用可获得的ELISA试剂盒,测量海马和皮层匀浆液中的TNF- $\alpha$  水平和IL-1 $\beta$  水平。

[0256] 组织学和神经元计数

[0257] 将海马和皮质切片并用醋酸甲酚紫甲苯(CV)染色,并且使用图像分析 仪分析染色的神经元。CV阳性神经元数与假性对照组比较,并且从每只动 物获得切片的平均细胞计数。

[0258] 实施例4:在动物模型中检验用于治疗和预防卒中的口服GLP-1类似物 制剂

[0259] 在动物卒中模型中检验口服GLP-1类似物的预防和治疗作用。这样一个 模型是大鼠的再灌注损伤模型,其中大鼠接受大脑中动脉短暂闭塞90分钟。再灌注之前和/或之后几日向大鼠施用GLP-1类似物或载体。进行神经学结果、生物化学变化和/或梗死大小的评估。可以使用改良Bederson试验在闭塞后 的一个或几个时间点确定神经学功能,此后,可以安乐死大鼠以便组织学研 究。在一些实验中,获得外周血用于测量血糖水平和评价氧化

应激和/或采集 脑组织以测量血管内皮生长因子(VEGF)水平(Sato等人)。

[0260] 实施例5:在动物模型中检验用于治疗和预防帕金森病的口服GLP-1类似物制剂

[0261] 将温和帕金森病(PD)患者随机分配以接受口服GLP-1类似物或安慰剂12个月。测量PD进展,在一些情况下在停用常规PD药物后测量。例如,运动障碍协会统一帕金森病评定量表(MDS-UPDRS)可以在一些情况下在治疗期间的几个时间点并且在一些情况下在进一步清洗期后与一种或多种非运动试验联合使用(Aviles-Olmos等人)。

[0262] 实施例6:在动物模型中检验用于治疗和预防外伤性脑损伤(TBI)的口服GLP-1类似物制剂

[0263] 评价口服GLP-1类似物制剂保护免受TBI或促进从TBI康复的能力。在一些实验中,将GLP-1类似物在损伤后施用几日。可以使用的一个模型是体内液压冲击损伤模型(Eakin等人)。可以利用细胞死亡的标志物和认知功能的测量。认知功能测量的例子是Morris水迷宫和本文所述的其他认知试验。

[0264] 实施例7:在动物模型中检验用于治疗和预防外周神经损伤的口服GLP-1类似物制剂

[0265] 评价口服GLP-1类似物制剂保护免受外周神经疾病或促进从外周神经疾病康复的能力。可以使用的一个模型是坐骨神经挤压神经损伤。GLP-1类似物或空载体在挤压损伤后不久施用并且继续接下来的数日或数周。遭受坐骨神经挤压的大鼠可显示出明显的功能丧失、电生理功能障碍和胫前肌(TA)萎缩。可通过神经挤压后数日或数周测量神经学功能、电生理功能、肌肉萎缩和/或形态参数,监测康复(Yamamoto等人)。

[0266] 实施例8:检验用于治疗和预防认知和情感障碍的口服GLP-1类似物制剂

[0267] 在其他实验中,评价口服GLP-1类似物制剂治疗双相型障碍、重度抑郁症、精神分裂症和/或感情分裂性精神病病症的能力。存在这些疾病状况或面临形成这些疾病状况风险的个体在前述基础上用GLP-1类似物治疗,例如持续1-24个月之间的时间,并且测量精神病症状和/或狂躁、抑郁或精神分裂症状的临床总体改善。在其他实验中,使用本领域技术人员已知的试验,确定认知功能(McIntyre等人)。

[0268] 实施例9:在动物模型中检验用于治疗和预防肌萎缩侧索硬化(ALS)的口服GLP-1类似物制剂

[0269] 在其他实验中,评价口服GLP-1类似物制剂治疗或预防ALS的能力。在前述基础上施用GLP-1类似物,例如持续1-18周之间。在一些实验中,利用动物模型如SOD1G93A突变小鼠(Li等人)。可以通过测量活动水平,例如奔跑行为、腰脊髓结构,并使用脑组织、神经元密度和特异性病情进展标志物如胶质原纤维酸性蛋白(GFAP)、胱天蛋白酶-3、胆碱乙酰转移酶(ChAT)和神经元细胞神经微丝蛋白SMI-32(Li等人),监测病情进展。

[0270] 实施例10:在动物模型中检验用于治疗和预防亨廷顿病的口服GLP-1类似物制剂

[0271] 在其他实验中,评价口服GLP-1类似物制剂治疗或预防亨廷顿病的能力。在前述基础上施用GLP-1类似物,例如持续1-18周之间。在一些实验中,利用动物模型,如在Brooks和Dunnett及其中引用的参考文献中描述的那些。

[0272] 实施例11:在动物模型中检验用于治疗和预防糖尿病性神经病的口服GLP-1类似物制剂

[0273] 在其他实验中,评价口服GLP-1类似物制剂治疗或预防糖尿病性神经病的能力。

在前述基础上施用GLP-1类似物,例如持续1-18周之间。在一些 实验中,利用动物模型,如在Lai和Lo及其中引用的参考文献中描述的那些。

[0274] 实施例12:在人类中检验用于治疗和预防阿尔茨海默病、亨廷顿病病、卒中、TBI、外周神经损伤、AL和糖尿病性神经病的口服GLP-1类似物制剂

[0275] 向面临形成阿尔茨海默病、亨廷顿病、卒中、TBI、外周神经损伤、ALS 或糖尿病性神经病的风险的受试者施用含有一种或多种蛋白酶抑制剂、EDTA和GLP-1类似物的一种或多种剂型,例如持续1-48个月之间的时间。在其他实验中,制剂含有胰岛素和GLP-1类似物。

[0276] 为了检验组合物的有效性,在整个实验期间追踪受试者的疾病状态,在 一些病例中联合脑成像法进行追踪。可以根据Salcedo等人或本文中援引的 参考文献或本领域技术人员已知的其他试验,例如通过进行生理检验和/或确 定认知状态或神经学功能,追踪疾病状态。

[0277] 实施例13:在动物模型中检验用于治疗和预防糖尿病性神经病的口服 GLP-1类似物制剂

[0278] 在其他实验中,评价含有胰岛素、GLP-1类似物或其组合的固态药物制 剂抑制或预防糖耐量受损(IGT)的受试者中II型糖尿病(T2DM)形成的能力。将药物组合物在前述基础上施用,例如持续1-240周之间,在一些实验中每 日在就寝时间施用。按本领域已知的DM 指标如空腹血糖(FPG)水平、经常 采样的静脉内糖耐量试验(FSIVGTT)、口服糖耐量试验(OGTT) 和HbA1C水平 追踪患者,以监测T2DM的形成。可选地或额外地,测量胰岛素敏感性和 $\beta$ - 细胞功能。

[0279] 在权利要求中,词“包含”及其变体如“包含了”、“包括”等表示包括列出 的组分,但是通常不排除其他组分。

#### [0280] 参考文献

[0281] Alamed等人,Two-day radial-arm water maze learning and memory task; robust resolution of amyloid-related memory deficits in transgenic mice.Nat Protoc.2006;1 (4) :1671-9.

[0282] Aviles-Olmos等人,Exenatide and the treatment of patients with Parkinson's disease.J Clin Invest.2013;123 (6) :2730-2736.

[0283] Ben-Shlomo等人,Glucagon-like peptide-1reduces hepatic lipogenesis via activation of AMP-activated protein kinase.J Hepatol.2011Jun;54 (6) :1214-23.

[0284] Brooks and Dunnett.Mouse Models of Huntington's Disease.Curr Top Behav Neurosci.2013 Dec 20.[电子版先于印刷版发表].

[0285] Centis E,Marzocchi R,Di Domizio S,Ciaravella MF,Marchesini G(2010) The effect of lifestyle changes in non-alcoholic fatty liver disease.Dig Dis 28: 267-273.

[0286] Chatrath等人,Dyslipidemia in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Semin Liver Dis.2012 Feb;32 (1) :22-9.doi:10.1055/s-0032-1306423.

[0287] Chiquette E等人,Treatment with exenatide once weekly or twice daily for 30 weeks is associated with changes in several cardiovascular risk

- markers. *Vase Health Risk Manag.* 2012;8:621-9.
- [0288] Eakin等人, Exendin-4 ameliorates traumatic brain injury-induced cognitive impairment in rats. *PLoS One.* 2013 Dec 2;8(12):e82016.
- [0289] Eldor R, Kidron M, Arbit E. A single-blind, two-period study to assess the safety and pharmacodynamics of an orally delivered GLP-1 analog (exenatide) in healthy subjects. *American Diabetes Association 70<sup>th</sup> Annual Scientific Sessions*, June 25-29, 2010.
- [0290] Grundy等人, Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Arterioscler Thromb Vase Biol.* 2004 Feb;24(2):e13-8.
- [0291] Richard A C Hughes (2002年2月23日). "Clinical review: Peripheral neuropathy". *British Medical Journal* 324:466.
- [0292] Juurinen等人, Effects of insulin therapy on liver fat content and hepatic insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007 Mar;292(3):E829-35
- [0293] Kertes PJ, Johnson TM编著 (2007). *Evidence Based Eye Care*. Philadelphia, PA:Lippincott Williams&Wilkins.
- [0294] Kim等人, When GLP-1 hits the liver: a novel approach for insulin resistance and NASH. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2012 Apr 15;302(8):G759-61.
- [0295] Lai and Lo. Animal models of diabetic retinopathy: summary and comparison. *J Diabetes Res.* 2013;2013:106594.
- [0296] Li等人, Exendin-4 ameliorates motor neuron degeneration in cellular and animal models of amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One.* 2012;7(2):e32008.
- [0297] Lopez-Delgado等人, Effects of glucagon-like peptide 1 on the kinetics of glycogen synthase a in hepatocytes from normal and diabetic rats. *Endocrinology* 1998;139:2811-2817.
- [0298] Malhi H, Gores GJ (2008) Molecular mechanisms of lipotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis* 28:360-369.
- [0299] Martinez-Colubi M等人, Switching to darunavir/ritonavir monotherapy (DRV/r mx): effect on kidney function and lipid profile. *J Int AIDS Soc.* 2012 Nov 11;15(6):18348. doi:10.7448/IAS.15.6.18348.
- [0300] Mazhar等人, Noninvasive assessment of hepatic steatosis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2009 Feb;7(2):135-40. doi:10.1016/j.cgh.2008.11.023.
- [0301] McIntyre等人, The neuroprotective effects of GLP-1: possible treatments for cognitive deficits in individuals with mood disorders. *Behav Brain Res.* 2013 Jan 15;237:164-71.
- [0302] Miyashita T等人, Hepatoprotective effect of tamoxifen on steatosis and

- non-alcoholic steatohepatitis in mouse models.J Toxicol Sci.2012;37(5):931-42
- [0303] Nielsen等人,Effects of exenatide on diabetes,obesity,cardiovascular risk factors,and hepatic biomarkers in patients with type 2 diabetes.J Diabetes Sci Technol.2008 Mar;2(2):255-60.
- [0304] Nseir等人,Mechanisms linking nonalcoholic fatty liver disease with coronary artery disease.Dig Dis Sci.2011 Dec;56(12):3439-49.
- [0305] Puri P,Mirshahi F,Cheung O,Natarajan R,Maher JW等人,(2008) Activation and dysregulation of the unfolded protein response in nonalcoholic fatty liver disease.Gastroenterology 134:568-576.
- [0306] Redondo等人,Cell signalling of the GLP-1 action in rat liver.Mol Cell Endocrinol 2003;204:43-50.
- [0307] Retnakaran R等人,Discordant effects on central obesity,hepatic insulin resistance, and alanine aminotransferase of low-dose metformin and thiazolidinedione combination therapy in patients with impaired glucose tolerance. Diabetes Obes Metab.2012 Jan;14(1):91-3.
- [0308] Salcedo等人,Neuroprotective and neurotrophic actions of glucagon-like peptide-1:an emerging opportunity to treat neurodegenerative and cerebrovascular disorders.Br J Pharmacol.2012 Jul;166(5):1586-99.
- [0309] Sato等人,Neuroprotective Effects of Liraglutide for Stroke Model of Rats. Int.J.Mol.Sei.2013,14,21513-21524.
- [0310] Saverymuttu SH,Joseph AE,Maxwell JD.Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis.Br Med J(Clin Res Ed) 1986;292:13-15.
- [0311] Sharma等人,GLP-1 Analogs Reduce Hepatocyte Steatosis and Improve Survival by Enhancing the Unfolded Protein Response and Promoting Macroautophagy.PLoS ONE 2011;6(9):e25269.
- [0312] Siepmann F,Siepmann J等人,Blends of aqueous polymer dispersions used for pellet coating:importance of the particle size.J Control Release 2005;105(3): 226-39.
- [0313] Sprecher CA,Morgenstern KA,Mathewes S,Dahlen JR,**Schräder** SK, Foster DC,Kisiel W.J Biol Chem.1995 Dec 15;270(50):29854-61.
- [0314] Sun J.,Rose J.B.,Bird P.(1995) J.Biol.Chem.270,16089-16096.
- [0315] Sung等人,Combined influence of insulin resistance,overweight/obesity, and fatty liver as risk factors for type 2 diabetes.Diabetes Care.2012 Apr;35(4):717-22
- [0316] Tesauro等人,Effects of GLP-1 on Forearm Vasodilator Function and Glucose Disposal During Hyperinsulinemia in the Metabolic Syndrome.Diabetes Care.2012 Oct 15.
- [0317] Yamamoto等人,Therapeutic Effect of Exendin-4,a Long-Acting Analogue

of Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonist, on Nerve Regeneration after the Crush Nerve Injury. BioMed Research International Volume 2013 (2013), Article ID 315848.

[0318] Younossi等人, Nonalcoholic fatty liver disease in lean individuals in the United States. Medicine (Baltimore). 2012 Nov; 91(6):319-27.

## 序列表

<110> 奥拉姆德有限公司(Oramed Ltd.)

<120> 用于治疗NAFLD、肝性脂肪变性及其后遗症的方法和组合物

<130> ORAM 2093/8.2

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 100

<212> PRT

<213> 牛(Bos taurus)

<400> 1

Met Lys Met Ser Arg Leu Cys Leu Ser Val Ala Leu Leu Val Leu Leu

1 5 10 15

Gly Thr Leu Ala Ala Ser Thr Pro Gly Cys Asp Thr Ser Asn Gln Ala

20 25 30

Lys Ala Gln Arg Pro Asp Phe Cys Leu Glu Pro Pro Tyr Thr Gly Pro

35 40 45

Cys Lys Ala Arg Ile Ile Arg Tyr Phe Tyr Asn Ala Lys Ala Gly Leu

50 55 60

Cys Gln Thr Phe Val Tyr Gly Gly Cys Arg Ala Lys Arg Asn Asn Phe

65 70 75 80

Lys Ser Ala Glu Asp Cys Met Arg Thr Cys Gly Gly Ala Ile Gly Pro

85 90 95

Trp Glu Asn Leu

100

<210> 2

<211> 110

<212> PRT

<213> 大豆(Glycine max)

<400> 2

Met Val Val Leu Lys Val Cys Leu Val Leu Leu Phe Leu Val Gly Gly

1 5 10 15

Thr Thr Ser Ala Asn Leu Arg Leu Ser Lys Leu Gly Leu Leu Met Lys

20 25 30

Ser Asp His Gln His Ser Asn Asp Asp Glu Ser Ser Lys Pro Cys Cys

35 40 45

Asp Gln Cys Ala Cys Thr Lys Ser Asn Pro Pro Gln Cys Arg Cys Ser

50 55 60

Asp Met Arg Leu Asn Ser Cys His Ser Ala Cys Lys Ser Cys Ile Cys  
 65 70 75 80  
 Ala Leu Ser Tyr Pro Ala Gln Cys Phe Cys Val Asp Ile Thr Asp Phe  
 85 90 95  
 Cys Tyr Glu Pro Cys Lys Pro Ser Glu Asp Asp Lys Glu Asn  
 100 105 110  
 <210> 3  
 <211> 216  
 <212> PRT  
 <213> 大豆(Glycine max)  
 <400> 3  
 Met Lys Ser Thr Ile Phe Phe Leu Phe Leu Phe Cys Ala Phe Thr Thr  
 1 5 10 15  
 Ser Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Ala Asp Phe Val Leu Asp Asn Glu Gly  
 20 25 30  
 Asn Pro Leu Glu Asn Gly Gly Thr Tyr Tyr Ile Leu Ser Asp Ile Thr  
 35 40 45  
 Ala Phe Gly Gly Ile Arg Ala Ala Pro Thr Gly Asn Glu Arg Cys Pro  
 50 55 60  
 Leu Thr Val Val Gln Ser Arg Asn Glu Leu Asp Lys Gly Ile Gly Thr  
 65 70 75 80  
 Ile Ile Ser Ser Pro Tyr Arg Ile Arg Phe Ile Ala Glu Gly His Pro  
 85 90 95  
 Leu Ser Leu Lys Phe Asp Ser Phe Ala Val Ile Met Leu Cys Val Gly  
 100 105 110  
 Ile Pro Thr Glu Trp Ser Val Val Glu Asp Leu Pro Glu Gly Pro Ala  
 115 120 125  
 Val Lys Ile Gly Glu Asn Lys Asp Ala Met Asp Gly Trp Phe Arg Leu  
 130 135 140  
 Glu Arg Val Ser Asp Asp Glu Phe Asn Asn Tyr Lys Leu Val Phe Cys  
 145 150 155 160  
 Pro Gln Gln Ala Glu Asp Asp Lys Cys Gly Asp Ile Gly Ile Ser Ile  
 165 170 175  
 Asp His Asp Asp Gly Thr Arg Arg Leu Val Val Ser Lys Asn Lys Pro  
 180 185 190  
 Leu Val Val Gln Phe Gln Lys Leu Asp Lys Glu Ser Leu Ala Lys Lys  
 195 200 205  
 Asn His Gly Leu Ser Arg Ser Glu  
 210 215

<210> 4

<211> 39

<212> PRT

<213> 毒蜥(Heloderma suspectum)

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (39) .. (39)

<223> C-末端的残基被酰氨化

<400> 4

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35