

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 38/28 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580002306.X

[43] 公开日 2007 年 8 月 29 日

[11] 公开号 CN 101027082A

[22] 申请日 2005.1.10

[21] 申请号 200580002306.X

[30] 优先权

[32] 2004.1.12 [33] US [31] 60/535,945

[86] 国际申请 PCT/US2005/000596 2005.1.10

[87] 国际公布 WO2005/067964 英 2005.7.28

[85] 进入国家阶段日期 2006.7.12

[71] 申请人 曼恩坎德公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 韦曼·温德尔·奇塔姆

安德烈亚斯·普菲茨纳

安德斯·哈萨格尔·博斯

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任
公司

代理人 刘 慧 杨 青

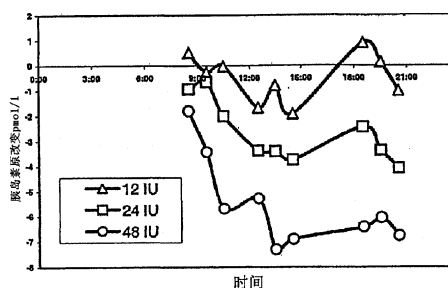
权利要求书 3 页 说明书 8 页 附图 1 页

[54] 发明名称

降低 2 型糖尿病患者血清胰岛素原水平的方法

[57] 摘要

本发明提供了在患有 2 型糖尿病的主体中降低血清胰岛素原水平、减弱餐后胰腺应激、和减少动脉粥样硬化的危险因素的方法。该方法包括使用足以降低血清胰岛素原水平的剂量、以模仿与进食有关的第一相胰岛素应答的方式给药胰岛素。在该方法的一些实施方案中，胰岛素给药在病程的早期开始。模仿第一相动力学，血清胰岛素水平可以在给药的约 18 分钟内达峰。在更加优选的实施方案中，血清胰岛素水平可以在给药的约 15、12、或 10 分钟之内达峰。血清胰岛素水平在给药的约二小时内返回基线水平。



1. 在 2 型糖尿病患者中模仿生理学上与进食有关的第一相胰岛素应答的方法，该方法包括：

选择要治疗的 2 型糖尿病患者，和

以模仿生理学上与进食有关的第一相胰岛素应答的方式给药胰岛素。

2. 权利要求 1 的方法，其中给药剂量足以控制血糖水平和降低血清胰岛素原水平。

3. 权利要求 1 的方法，包括给药有效量的胰岛素以降低血清胰岛素原水平。

4. 权利要求 1 的方法，包括以足以控制血糖水平和降低血清胰岛素原水平的剂量、以模仿生理学上与进食有关的第一相胰岛素应答的方式给药胰岛素从而减弱胰腺应激。

5. 权利要求 1 的方法，包括以足以控制血糖水平和降低血清胰岛素原水平的剂量、以模仿生理学上与进食有关的第一相胰岛素应答的方式给药胰岛素。

6. 权利要求 1 的方法，包括给药胰岛素以减少动脉粥样硬化的危险因素。

7. 权利要求 6 的方法，其中危险因素为 LDL 粒径，从而使 LDL 粒径增加。

8. 权利要求 6 的方法，其中危险因素为纤维蛋白溶酶原激活剂抑制剂 1 型(PAI-1)，从而使 PAI-1 表达降低。

9. 权利要求 1 的方法，包括以足以中断葡萄糖异生的剂量、以模仿生理学上与进食有关的第一相胰岛素应答的方式给药胰岛素。

10. 权利要求 1 的方法，其中胰岛素在开始进食之后的约 10 分钟内给药。

11. 权利要求 1 的方法，其中胰岛素作为经肺制剂或干粉制剂给药。

12. 权利要求 11 的方法，其中制剂为二酮哌嗪微粒药物递送系统。

13. 权利要求 12 的方法，其中二酮哌嗪为富马酰二酮哌嗪。

14. 权利要求 11 的方法，其中胰岛素作为结合有胰岛素的可生物降解型聚合物微粒或表面活性剂微粒通过经肺递送给药。

15. 权利要求 1 的方法，其中胰岛素为二聚体或单体形式。

16. 权利要求 1 的方法，其中胰岛素的剂量为约 15 IU 到 90 IU。

17. 权利要求 16 的方法，其中剂量为约 24 IU 到 48 IU。

18. 权利要求 1 的方法，其中血清胰岛素水平在给药的约 18 分钟内达峰。

19. 权利要求 1 的方法，其中血清胰岛素水平在给药的约 2 小时内返回基线水平。

20. 权利要求 1-15 中任一项的方法，其中胰岛素给药在病程的早

期开始。

21. 权利要求 1 的方法，其中胰岛素在开始进食之后的约一小时内给药。

降低 2 型糖尿病患者血清胰岛素原水平的方法

本申请要求 2004 年 1 月 12 日提交到 the U.S. Patent and Trademark Office(美国专利和商标局)的美国专利申请 60/535,945 的优先权。

技术领域

本发明总地涉及使用模仿与进食有关的第一相胰岛素应答的膳食胰岛素替代疗法治疗 2 型糖尿病和相关后遗症的领域。具体地，本发明涉及降低 2 型糖尿病患者中的血清胰岛素原水平、减弱胰腺应激、和减少致粥样化因素。

背景技术

糖尿病存在于 1 千 7 百万美国人中。其发病率以每年 4.5% 的速度增长，特别是 2 型糖尿病，其也称为成年型糖尿病和非胰岛素依赖性糖尿病。糖尿病的典型缺陷在于血清葡萄糖水平失调。除了高血糖的有害作用之外，不能适当地对高血清葡萄糖水平作出反应而对胰腺造成应激，这可以促进 2 型糖尿病中疾病的进展。另外，糖尿病的诊断在患病个体中具有 2 到 4 倍的更大的中风和心脏病发作危险。在没有已知心脏病的个体中，糖尿病的存在使其患有新的心肌梗塞的危险与已经患有心肌梗塞但是没有糖尿病的人处在同一水平上。因此，在 2 型糖尿病的治疗中，除了没有被目前所采用的治疗充分解决的高血糖症本身之外，仍然存在重要的治疗目标。

因此，本发明的目的是提供替代性治疗，特别是对于 2 型糖尿病的治疗。

发明内容

提供了在患有 2 型糖尿病的主体中降低血清胰岛素原水平、减弱

餐后胰腺应激、和减少动脉粥样硬化的危险因素的方法。该方法包括使用足以降低胰岛素原血清水平的剂量、以模仿与进食有关的第一相胰岛素应答的方式进行胰岛素给药。在该方法的一些实施方案中，胰岛素给药在病程的早期开始。模仿第一相动力学，血清胰岛素水平可以在给药的约 18 分钟内达峰。在更加优选的实施方案中，血清胰岛素水平可以在给药的约 15、12、或 10 分钟之内达峰。血清胰岛素水平在给药的约二小时内返回基线水平。在一个实施方案中，胰岛素在开始进食后的约 1 小时内给用。在优选实施方案中，胰岛素在开始进食后的约 10 分钟内给药。

在该方法的不同实施方案中，使用二酮哌嗪微粒药物递送系统。在该方法另外的实施方案中，使用结合胰岛素的合成的可生物降解型聚合物微粒或二酮哌嗪微粒通过经肺递送进行胰岛素给药。在优选实施方案中，通过吸入干粉实现递送。在利用二酮哌嗪微粒的方法的方面中，富马酰二酮哌嗪为优选类型的二酮哌嗪，胰岛素为二聚体或单体形式，并且优选的剂量为约 15 到 90 IU 或大于 24 IU 的胰岛素。在优选实施方案中，干粉的吸入通过使用单位剂量吸入器变得更加方便。减少动脉粥样硬化危险因素的方法的实施方案包括其中危险因素为 LDL 粒径；以及其中危险因素为纤维蛋白溶酶原激活剂抑制剂 1 型 (PAI-1) 的那些，使用本文中所述的给药方法和制剂使 LDL 粒径增加和使 PAI-1 的表达减少。

附图说明

图 1 为在经肺给药二酮哌嗪/胰岛素粒子之后胰岛素原水平随时间改变的图。

发明的详细说明

经肺给用胰岛素制剂的开发经过设计以提供新型的和有效的备选方案，用于糖尿病患者中与进食有关的(膳食)胰岛素替代。用于膳食替代的胰岛素制剂的理想动力学包括快速和及早起效、和作用持续时间

足够久从而弥补与进食有关的葡萄糖吸收。现有的皮下(s.c.)注射用胰岛素制剂的一个问题在于吸收的不可预测的变化性,在某些情况中超过 50%;和在生理学上与进食有关的第一相胰岛素应答相比相对缓慢的血清胰岛素水平升高,其中血清胰岛素水平达峰需约 6 分钟。

与进食有关的第一相胰岛素来源于胰腺胰岛 β -细胞中的储存泡囊,其中胰岛素原经历酶促裂解为胰岛素和 C-肽。2 型糖尿病与 1 型糖尿病的不同之处在于 2 型糖尿病以与进食有关的第一相胰岛素应答消失为特征。这种消失在疾病进程的早期发生。2 型糖尿病与 1 型糖尿病的不同之处还在于 2 型糖尿病另外以血清胰岛素原水平升高为特征。这种循环完整的胰岛素原(iPi)很可能意味着胰岛素需求超过 β -细胞的能力,导致胰腺应激,引起储存泡囊的提前释放。

已经使用 2 型糖尿病的大鼠模型观察如果将胰岛素给药与假拟注射给药相比较会发生什么,以测定个体形成 2 型糖尿病有多快。在那些用小剂量胰岛素注射处理的动物中,已经表明形成糖尿病发病率所需时间比用假拟处理的动物长两倍。另外,当将它们处死时,接受胰岛素注射液的那些大鼠在其胰腺中具有更多的存活 β -细胞。可接受的解释是胰岛素注射减弱了胰腺的应激,而关于胰腺应激的某些东西使得 β -细胞更快相继死亡。因此,血清胰岛素原为胰腺应激的有用指示剂,并且可以观察血清胰岛素原水平的降低作为这种应激的减轻。

2 型糖尿病的典型性在于在疾病进展早期具有升高的胰岛素原血清水平。除了意味着胰腺应激之外,血清胰岛素原本身可以是有害的。血清胰岛素原与增加的人动脉粥样硬化心血管疾病的危险正相关(Haffner 等人, Stroke., 29: 1498-1503, 1998; Hanley 等人, Diabetes Care, 24: 1240-1247, 2001; Zethelius 等人, Circulation., 105: 2153, 2002)。血清胰岛素原还与已知的致粥样化危险因素如降低的 LDL 粒径(Festa 等人, Diabetes Care, 22: 1688-1693, 1999)和增加的纤维蛋白溶酶原激活剂抑制剂 1 型(PAI-1)表达(Schneider 等人, Diabetes, 41: 890-895, 1992)

有关。在二十世纪八十年代，在临床试验中对人给药胰岛素原导致接收该药物的主体的心肌梗塞发病率增加和死亡。因此，降低血清胰岛素原水平是另外的治疗目标，并且是通过目前在疾病前期中使用的集中于血清葡萄糖水平的治疗所不能解决的一个目标。

胰岛素制剂

胰岛素为市售的，作为单体或者二聚体的形式。

有用的载体也可是市售的，或者可使用公开方法生产。使用二酮哌嗪微粒递送的经肺胰岛素被迅速地吸收，在约 10 到 15 分钟达到峰血清水平。其足够快速，用于模仿生理学上与进食有关的第一相胰岛素应答的动力学，如通过观察到的葡糖异生的中断所证明的。这种治疗还引起血清胰岛素原的水平降低，这在起效较慢的胰岛素制剂中未观察到过。借助这种治疗模式的相对容易的给药也促进在病程中比传统实践早得多的对 2 型糖尿病的治疗。因此，通过使用模仿第一相动力学的胰岛素递送，血清胰岛素原水平可以降低，并且文献显示这会伴随类似的致粥样化危险因素减少。通过在病程的早期开始胰岛素治疗，胰腺应激的减弱本身可以延缓疾病的进展。

二酮哌嗪微粒药物递送系统和相关方法在标题分别为 Self Assembling Diketopiperazine Drug Delivery System 和 Method for Making Self Assembling Diketopiperazine Drug Delivery System 的美国专利 5,352,461 和 5,503,852 中描述。二酮哌嗪和可生物降解型聚合物微粒在经肺递送方面的应用在标题分别为 Method for Drug Delivery to the Pulmonary System 和 Microparticles for Lung Delivery Comprising Diketopiperazine 的美国专利 6,428,771 和 6,071,497 中描述。关于可能的制剂和生产方法的不同方面的细节可以在标题都是 Purification and Stabilization of Peptide and Protein Pharmaceutical Agents 的美国专利 6,444,226 和 6,652,885、和在标题为 Methods for Fine Powder Formation 的美国专利 6,440,463 中找到。优选的通过呼吸驱动的干粉吸入器系统

的性能和设计在 PCT/US00/40454 和 PCT/US2004/028699 中公开。

其它制剂可以仅包括药物粒子、药物加上表面活性剂粒子、和聚合物药物粒子，如封装待给药药物的聚(乳酸-共聚-羟基乙酸)粒子。

给药方法

使用足以降低胰岛素原血清水平的剂量，通过以模仿与进食有关的第一相胰岛素应答的方式给药胰岛素，提供了在患有 2 型糖尿病的主体中降低血清胰岛素原水平、减弱餐后胰腺应激、和减少动脉粥样硬化危险因素的方法。在优选实施方案中，胰岛素给药在病程的早期开始。模仿第一相动力学，可以在给药的约 18 分钟内达到峰血清胰岛素水平。选择给药的制剂和方法，优选通过经肺给药，使得可以在给药的约 15、12、或 10 分钟内达到峰血清胰岛素水平。血清胰岛素水平在给药的约二小时内返回基线水平。在一个实施方案中，胰岛素在开始进食后的一小时内给药。在优选实施方案中，胰岛素在开始进食之后的约 10 分钟内给药。减少动脉粥样硬化危险因素的方法的实施方案包括其中危险因素为 LDL 粒径和其中危险因素为纤维蛋白溶酶原激活剂抑制剂 1 型(PAI-1)的那些，使用本文中所述的给药方法和制剂使 LDL 粒径增加和使 PAI-1 表达减少。

在利用二酮哌嗪微粒的方法的方面中，富马酰二酮哌嗪为优选类型的二酮哌嗪，胰岛素为二聚体或单体形式，并且优选剂量为约 15 到 90 IU 的或大于 24 IU 的胰岛素。在优选实施方案中，干粉吸入通过使用单位剂量吸入器变得更为方便。

通过参考以下非限制性实施例进一步理解本发明 以下实施例使用 Technosphere®/胰岛素，其是由胰岛素与富马酰二酮哌嗪微粒组成的复合体的专利产品，作为干粉气雾剂通过吸入给药。

实施例 1. 对大鼠经肺递送 Technosphere®/胰岛素产生快速的吸收

大鼠中将以干粉气雾剂形式给药的经肺 Technosphere®/胰岛素粒子的药代动力学(PK)分布图与通过皮下(s.c.)注射递送的人胰岛素的 PK 分布图相比较。使用测流鼻吸式(flow-past, nose-only)吸入接触系统给药气雾剂。在第一个实验中,所有的动物接受相同的制剂(9.1%的胰岛素)但是调节剂量给药的持续时间,使得对每只大鼠(200 g 体重)递送约 1 IU 和 3 IU 的剂量。观察到线性剂量依赖性应答:最大血清胰岛素浓度(C_{MAX})为 0.9 IU 剂量的 Technosphere®/胰岛素之后为 $76 \pm 12 \mu\text{IU/ml}$ 和在 2.7 IU 剂量之后为 $240 \pm 49 \mu\text{IU/ml}$ 。在剂量给药完成后立即取得的样本中得到最大血清胰岛素水平,显示 Technosphere®/胰岛素被快速吸收到系统循环中。在吸入 0.9 IU Technosphere®/胰岛素之后达到 C_{MAX} 的时间(T_{MAX})短于 14.5 分钟的平均接触时间,而 s.c.注射 1.5 IU 的 T_{MAX} 为 20 分钟。另外,吸入 Technosphere®/胰岛素与 s. c.胰岛素相比表现出 50-70%的高的相对生物利用度。

在另一个实验中,接触时间保持不变但 Technosphere®/胰岛素的胰岛素含量从 2.9%到 11.4%之间变化,用于递送约 0.8 IU、1.5 IU、和 3 IU 的胰岛素剂量。再次,在所有的组中观察到血清胰岛素的剂量依赖性增加,显示吸收速率对该范围内的 Technosphere®/胰岛素粉末的确切组成不敏感。

概括地说,在 Technosphere 富马酰二酮哌嗪粒子上精确负载胰岛素和胰岛素的精确经肺递送使得 Technosphere®/胰岛素在治疗糖尿病中成为非侵入性治疗的选择。

实施例 2. 在肺泡上皮的原代细胞培养模型中,Technosphere®富马酰二酮哌嗪粒子促进胰岛素的吸收而没有细胞毒性的迹象

为了研究 Technosphere®/胰岛素产物通过肺深处上皮屏障的机制,使用原代培养的大鼠肺泡上皮的单层细胞进行实验。将肺泡 II 型细胞分离并在半透性聚碳酸酯膜上培养,直到形成具有高的跨上皮电阻(TEER)的紧密单层细胞。然后在 37°C 下使用 Technosphere®/胰岛素产

品和未经配制的胰岛素对照以顶端到基层方向进行穿过这些单层细胞的胰岛素转运实验。胰岛素表现出 $1.90 \pm 0.34 \times 10^{-8}$ cm/s 的表观渗透率 (P_{app})，而 Technosphere®/胰岛素产品表现出 $2.08 \pm 0.82 \times 10^{-7}$ cm/s 的十倍的更高 P_{app} 。在这两个组、或自然的(未经处理的)对照之间 TEER 没有可测量的改变，显示 Technosphere®粒子没有象钙螯合剂那样通过破坏细胞间的紧密结合而促进胰岛素的吸收。还分析了顶端(供体)孔样本的乳酸脱氢酶(LDH)释放，其为用于细胞毒性的公认试验。在所有组中，顶端介质中的 LDH 活性低于自然的对照(自发性 LDH 释放)的 LDH 活性，显示 Technosphere®粒子没有象非离子型表面活性剂和胆汁盐那样通过透化细胞膜而促进胰岛素的吸收。这些数据显示，Technosphere®/胰岛素产品大大地增加胰岛素穿过肺泡上皮的吸收而没有表现出对细胞间的紧密结合或细胞膜完整性的任何有害影响。

实施例 3. 使用经肺胰岛素降低血清胰岛素原水平对人进行治疗

Technosphere®/胰岛素(TI)的吸入提供可与第一相应答相媲美的血清胰岛素升高。这项研究研究 TI 的药效学及其对自然的胰岛素原释放(iPi 释放)的影响。24 名 2 型糖尿病患者每隔的研究天数在开始标准化进食后五分钟接受具有 4 个不同负载量的胰岛素(即, 0、12 IU、24 IU、或 48 IU 的重组常规人胰岛素)的 Technosphere®基质的剂量。在每次进食开始前(0 分钟)、进食开始后的 60 分钟和 120 分钟测量血糖(BG)、血清胰岛素和血清 iPi。

TI 以剂量依赖性的方式降低膳食的 BG 水平。午餐后六十分钟的 BG(mg/dl)($\pm$ SD)为: 安慰剂, $183.2(\pm 44.4)$; 12 IU, $170.8(\pm 30.5)$ ($p = 0.266$); 24 IU, $156.3(\pm 31.9)$ ($p = 0.020$); 和 48 IU, $132.6(29.1)$ ($p < 0.001$)。所有剂量都在吸入后 60 分钟引起血清胰岛素增加($p < 0.05$)，但是在吸入后 120 分钟不是这样。给药具有 24 IU 和 48 IU 胰岛素负载剂量的 TI 在一天中的所有时间点都抑制 iPi 水平($p < 0.05$, 图 1)。

因此，使用吸入的 TI 以模仿第一相胰岛素应答的迅速起效和短的

持续时间应当降低对 β -细胞群的餐后应激。这可以改善总的 β -细胞功能和内源性葡萄糖动态平衡。

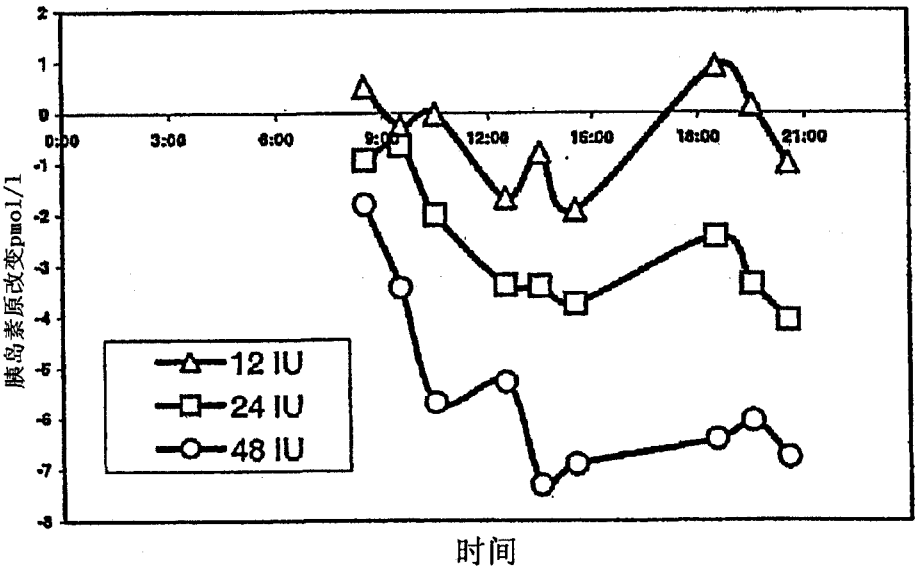


图1