



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118382429 A

(43) 申请公布日 2024. 07. 23

(21) 申请号 202280081486.9

(22) 申请日 2022.10.07

(30) 优先权数据

63/253,623 2021.10.08 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.06.07

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/045977 2022.10.07

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/059846 EN 2023.04.13

(71) 申请人 哈佛大学校长及研究员协会

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 萨米尔·米特拉戈特里 金杰永

亚历山大·M·柯里

(74) 专利代理机构 北京信慧永光知识产权代理

有限责任公司 11290

专利代理师 董世豪 杨国强

(51) Int.Cl.

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/12 (2006.01)

A61K 47/18 (2006.01)

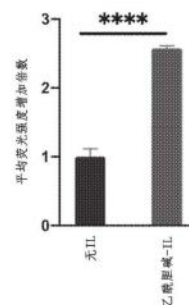
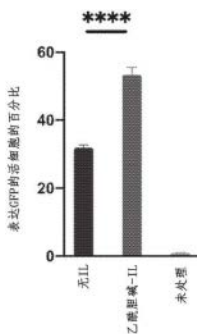
权利要求书3页 说明书80页 附图37页

(54) 发明名称

用于药物递送的离子液体

(57) 摘要

本文描述的技术涉及离子液体和药物递送的方法。



1. 一种包含至少一种离子液体的组合物,所述离子液体包含:
阴离子,所述阴离子为以下中的至少一种:
 - a) 非脂肪酸的羧酸,以及
 - b) 包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,阳离子,所述阳离子为包含酯基的季铵。
2. 如权利要求1所述的组合物,其中,所述阳离子是乙酰胆碱。
3. 如权利要求1-2中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为非脂肪酸的羧酸。
4. 如权利要求3所述的组合物,其中,所述阴离子具有小于1.0的LogP。
5. 如权利要求3-4中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子包含不多于3个碳的脂肪族链。
6. 如权利要求3-5中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子包含仅一个羧酸基团,例如,R-COOH基团。
7. 如权利要求3-6中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子选自于由以下所组成的组:
乳酸、乙醇酸、丙二酸、马来酸、戊二酸、柠檬酸、葡萄糖酸、丙酸和己二酸。
8. 如权利要求3-7中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为马来酸。
9. 如权利要求3-8中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为丙酸。
10. 如权利要求1-2中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为包含羧酸的疏水性阴离子,并且具有至少4.5的pKa,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP。
11. 如权利要求10所述的组合物,其中,所述阴离子具有至少5.0的pKa。
12. 如权利要求10-11中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子包含至少8个碳的碳链。
13. 如权利要求10-12中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子包含具有8碳骨架的碳链。
14. 如权利要求10-13中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为香叶酸、辛烯酸、辛酸、香茅酸、癸烯酸、(9Z)-十八碳-9-烯酸、癸酸、(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸、(R)-5-(1,2-二硫戊环-3-基)戊酸或己烯酸。
15. 如权利要求10-14中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为己烯酸。
16. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体包含约2:1至约1:1的阳离子与阴离子的比。
17. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体包含约2:1的阳离子与阴离子的比。
18. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体具有小于1:1的阳离子:阴离子比。
19. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体具有阳离子过量的阳离子:阴离子比。
20. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,所述组合物包含第一离子液体和至少第二离子液体。
21. 如权利要求20所述的组合物,其中,所述第一离子液体和所述第二离子液体各自包

含不同的阴离子。

22. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,所述组合物进一步包含与所述至少一种离子液体组合的至少一种活性化合物。

23. 如权利要求22所述的组合物,其中,所述活性化合物包含多肽。

24. 如权利要求23所述的组合物,其中,所述多肽是抗体或抗体试剂。

25. 如权利要求22-24中任一项所述的组合物,其中,所述活性化合物具有大于450的分子量。

26. 如权利要求22-25中任一项所述的组合物,其中,所述活性化合物具有大于500的分子量。

27. 如权利要求22-26中任一项所述的组合物,其中,所述活性化合物包含胰岛素、阿卡波糖、芦可替尼或GLP-1多肽或其模拟物或类似物。

28. 如权利要求22-27中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,并且所述活性化合物包含抗体或抗体试剂。

29. 如权利要求22-28中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为己烯酸,并且所述活性化合物包含抗体或抗体试剂。

30. 如权利要求22-29中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,所述离子液体以小于10%w/v的浓度存在,并且所述活性化合物包含抗体或抗体试剂。

31. 如权利要求22-30中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为己烯酸,所述离子液体以小于10%w/v的浓度存在,并且所述活性化合物包含抗体或抗体试剂。

32. 如权利要求22所述的组合物,其中,所述活性化合物包含核酸。

33. 如权利要求32所述的组合物,其中,所述核酸是抑制性核酸。

34. 如权利要求32或33所述的组合物,其中,所述核酸是siRNA、pDNA或mRNA。

35. 如权利要求32-34中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,并且所述活性化合物包含核酸。

36. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体的浓度为至少0.1%w/v。

37. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体的浓度为约10%w/v至约70%w/v。

38. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体的浓度为约30%w/v至约50%w/v。

39. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体的浓度为约30%w/v至约40%w/v。

40. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体的浓度小于10%w/v。

41. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述组合物被配制用于经皮给予、给予至黏膜、口服给予、皮下给予、皮内给予、肠胃外给予、瘤内给予或静脉内给予。

42. 如权利要求41所述的组合物,其中,所述组合物被配制用于皮下给予。

43. 如权利要求41所述的组合物,其中,所述组合物被配制用于经皮给予。

44. 如权利要求41的组合物,其中,所述黏膜为鼻黏膜、口腔黏膜或阴道黏膜。
45. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述活性化合物以1mg/kg-40mg/kg的剂量提供。
46. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,所述组合物进一步包含至少一种非离子表面活性剂。
47. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,所述组合物进一步包含药学上可接受的载体。
48. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述组合物以可降解胶囊提供。
49. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述组合物是掺和物。
50. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述组合物以一种或多种纳米颗粒提供。
51. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,所述组合物包含含有所述活性化合物的一种或多种纳米颗粒,所述纳米颗粒在包含所述离子液体的组合物的溶液或悬浮液中。
52. 一种向受试者给予至少一种活性化合物的方法,所述方法包括给予权利要求1-51中任一项所述的组合物。
53. 如权利要求52所述的方法,其中,将所述组合物给予一次。
54. 如权利要求52-53中任一项所述的方法,其中,所述组合物以多剂量给予。
55. 如权利要求52-54中任一项所述的方法,其中,所述给予为经皮给予、给予至黏膜、口服给予、皮下给予、皮内给予、肠胃外给予、瘤内给予或静脉内给予。
56. 如权利要求52-55中任一项所述的方法,其中,所述给予为皮下给予。
57. 如权利要求1-51中任一项所述的组合物,所述组合物用于将至少一种活性化合物给予至受试者的方法中。
58. 如权利要求57所述的组合物,其中,将所述组合物给予一次。
59. 如权利要求57-58中任一项所述的组合物,其中,所述组合物以多剂量给予。
60. 如权利要求57-59中任一项所述的组合物,其中,所述给予为经皮给予、给予至黏膜、口服给予、皮下给予、皮内给予、肠胃外给予、瘤内给予或静脉内给予。
61. 如权利要求57-60中任一项所述的组合物,其中,所述给予为皮下给予。

用于药物递送的离子液体

对相关申请的交叉引用

[0001] 本申请要求2021年10月8日提交的美国临时专利申请第63/253623号的根据35U.S.C. §119(e)的权益,其内容通过引用以其整体并入本文中。

技术领域

[0002] 本文描述的技术涉及用于稳定和递送活性化合物的离子液体。

背景技术

[0003] 许多活性化合物(例如药物活性化合物)的吸收可以通过在溶剂中递送化合物来提高。然而,这样的方法通常不适合体内使用,因为大多数这样的溶剂表现出毒性副作用和/或充当递送点的刺激物。这些毒性和刺激性作用严重到足以减轻活性化合物的性能或吸收的任何增加。

发明内容

[0004] 离子液体是药物递送障碍的潜在解决方案。本文描述了例如与“第一代”离子液体(例如胆碱:香叶酸(CAGE))相比,具有惊人的改进的药物递送动力学的新离子液体。如本文所证明的,本发明人已经鉴定了离子液体的特性,这些特性为特定类型的活性化合物提供了惊人的优异的活性化合物摄取动力学。因此,本文描述了涉及这些具有出乎意料的高功效的离子液体(IL)的组合物和方法。

[0005] 在任何实施方式的一个方面中,本文描述了包含至少一种离子液体的组合物,所述离子液体包含:

阴离子,所述阴离子为以下中的至少一种:

- a) 非脂肪酸的羧酸,以及
- b) 包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,阳离子,所述阳离子为包含酯基的季铵,例如乙酰胆碱。

[0006] 在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子为非脂肪酸的羧酸。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有小于1.0的LogP。在任何方面的一些实施方式中,所述脂肪酸包含不多于3个碳的脂肪族链。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子包含仅一个羧酸基团(例如,R-COOH基团)。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自于由以下所组成的组:乳酸、乙醇酸、丙二酸、马来酸、戊二酸、柠檬酸、葡萄糖酸和己二酸。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自于由以下所组成的组:丙酸、乳酸、乙醇酸、丙二酸、马来酸、戊二酸、柠檬酸、葡萄糖酸和己二酸。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子为马来酸。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子为丙酸。

[0007] 在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子为疏水性阴离子,并且具有至少4.5的pKa,所述疏水性阴离子包含具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP的羧酸。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有至少5.0的pKa。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子

包含至少8个碳的碳链。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子包含具有8碳骨架的碳链。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子为香叶酸、辛烯酸、辛酸、香茅酸、癸烯酸、(9Z)-十八碳-9-烯酸、癸酸、(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸、(R)-5-(1,2-二硫戊环-3-基)戊酸或己烯酸。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子为己烯酸。

[0008] 在任何方面的一些实施方式中,所述离子液体包含的阳离子与阴离子的比为约2:1至约1:1。在任何方面的一些实施方式中,所述离子液体包含的阳离子与阴离子的比为约2:1。在任何方面的一些实施方式中,所述离子液体具有小于1:1的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述离子液体具有阳离子过量的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物包含第一离子液体和至少第二离子液体。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物包含第一离子液体和至少第二离子液体,所述第一离子液体包含阴离子以及阳离子,所述阴离子为以下中的至少一种:a) 非脂肪酸的羧酸,以及b) 包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP;所述阳离子为包含酯基的季铵(例如,乙酰胆碱)。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物包含第一离子液体和至少第二离子液体,所述第一离子液体和第二离子液体各自包含阴离子以及阳离子,所述阴离子为以下中的至少一种:a) 非脂肪酸的羧酸,以及b) 包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP;所述阳离子为包含酯基的季铵(例如,乙酰胆碱)。在任何方面的一些实施方式中,所述第一离子液体和所述第二离子液体各自包含不同的阴离子。

[0009] 在任何方面的一些实施方式中,所述组合物进一步包含与所述至少一种离子液体组合的至少一种活性化合物。在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物包含多肽。在任何方面的一些实施方式中,所述多肽为抗体或抗体试剂。在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物具有大于450的分子量。在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物具有大于500的分子量。在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物包含胰岛素、阿卡波糖、芦可替尼、或GLP-1多肽或其模拟物或类似物。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子为包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,并且所述活性化合物包含抗体或抗体试剂。在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物包含核酸。在任何方面的一些实施方式中,所述核酸为抑制性核酸。在任何方面的一些实施方式中,所述核酸为siRNA、pDNA或mRNA。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子为包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,并且所述活性剂是核酸。

[0010] 在任何方面的一些实施方式中,所述离子液体的浓度为至少0.1%w/v。在任何方面的一些实施方式中,所述离子液体的浓度为约10%w/v至约70%w/v。在任何方面的一些实施方式中,所述离子液体的浓度为约30%w/v至约50%w/v。在任何方面的一些实施方式中,所述离子液体的浓度为约30%w/v至约40%w/v。在任何方面的一些实施方式中,所述离子液体的浓度为小于10%w/v。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物被配制用于经皮给予、给予至黏膜、口服给予、皮下给予、皮内给予、肠胃外给予、瘤内给予或静脉内给予。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物被配制用于经皮给予。在任何方面的一些实施方式中,所述粘膜是鼻粘膜、口腔粘膜或阴道粘膜。在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物以1mg/kg-40mg/kg的剂量提供。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物进一步包含至少一种非离子表面活性剂。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物进一步包含

药学上可接受的载体。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物以可降解胶囊提供。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物是掺和物。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物以一种或多种纳米颗粒提供。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物包含一种或多种包含活性化合物的纳米颗粒,所述纳米颗粒在包含离子液体的组合物中溶解或悬浮。

[0011] 在任何实施方式的一个方面中,本文描述了向受试者给予至少一种活性化合物的方法,所述方法包括给予本文所述的组合物。在任何实施方式的一个方面中,本文描述了如本文所述的用于向受试者给予至少一种活性化合物的方法中的组合物。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物给予一次。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物以多剂量给予。在任何方面的一些实施方式中,所述给予为经皮给予、给予至黏膜、口服给予、皮下给予、皮内给予、肠胃外给予、瘤内给予或静脉内给予。

附图说明

[0012] 图1A-图1B描述了散射数据,证明IL中的胰岛素的稳定性。

[0013] 图2描述了圆二色光谱,证明IL中的胰岛素的二级结构。

[0014] 图3描述了IL中的胰岛素的体内递送。

[0015] 图4A-图4B描述了IL中的抗体的体内递送。

[0016] 图5描述了IL中的抗体的稳定性。

[0017] 图6描述了mRNA的体外转染。

[0018] 图7A-图7D描述了SPADE制剂的测定。(图7A)在37°C下连续振荡50小时储存的胰岛素DES制剂的透光率的平均降低。灰色阴影代表在其中制剂被认为不稳定的区域。(n=3)(图7B)在4°C下储存28天稳定的(图7A)胰岛素-DES制剂的透光率的平均降低。灰色阴影代表在其中制剂被认为不稳定的区域。(n=3)(图7C)与对照(n=5)相比,在(B)中稳定的胰岛素DES制剂的圆二色光谱。(图7D)在transwell细胞培养插入物上跨过HUVEC单层的胰岛素转运(n=3)。通过t检验确定统计显著性。 $*p<0.05$, $**p<0.01$ 。

[0019] 图8A-图8C描述了SPADE的作用机制。(图8A)在皮下间隙给予时,SPADE-胰岛素(右侧)与不含DES的对照(左侧)相比的示意图。(图8B)在与胶原混合时,对照和SPADE-胰岛素的荧光偏振(对照n=6,SPADE-胰岛素n=5)。(图8C)当与胶原(n=3)混合时,优泌乐(Humalog)和SPADE-胰岛素的用DLS测定的平均直径与时间的关系。通过t检验确定统计显著性。 $*p<0.05$ 。

[0020] 图9A-图9E描述了SPADE-胰岛素的药代动力学。(图9A)SPADE-胰岛素相比于优泌乐的PK研究设计,包括皮下注射1U/kg胰岛素(红色箭头)和采血计划(紫色箭头)。(图9B)PK研究的前60分钟的胰岛素血清浓度与时间的关系。(图9C)注射后5分钟的AUC。(图9D)注射后10分钟的AUC。(图9E)240分钟后每种制剂的吸收的注射剂量百分比。(优泌乐n=6,SPADE-胰岛素n=5)通过t检验确定统计显著性。 $*p<0.05$ 。

[0021] 图10A-图10M描述了SPADE安全评估。(图10A)SPADE相比于盐水对照的安全性研究设计,包括注射部位毒性(左侧)和重复给药研究(右侧)。所述研究包括皮下注射(红色箭头)、注射部位组织采集(黄色箭头)、血液和重要器官采集(绿色箭头)以及安乐死(黑色箭头)。(图10B-图10E)所指出的制剂和时间点的注射部位H&E图像。比例尺,200 μ m。(图10F)天冬氨酸转氨酶血清浓度,(图10G)丙氨酸转氨酶血清浓度组,(图10H)血尿素氮血清浓度。

(图10I)肌酸酐血清浓度, (图10J)白细胞计数, (图10K)红细胞计数, (图10L)血小板计数, (图10M)对照组 (n=4) 和SPADE (n=5) 处理组的淋巴细胞计数。虚线表示感兴趣的度量标准的预期范围³⁸。通过t检验确定统计显著性。 $*p < 0.05$ 。

[0022] 图11A-图11E描述了SPADE-mAb的稳定性、药代动力学和生物利用度。(图11A)用于评估对于所指出的DES浓度和37 °C 孵育时间而言的SPADE-mAb稳定性的SDS-PAGE凝胶电泳。用相应的分子量 (kDa) 标记蛋白质ladder。红色箭头指示抗体聚集体。(图11B)相对于对照的稳定的抗体制剂, 来自 (A) 的孵育24小时的制剂的圆二色光谱。(图11C) SPADE-mAb相对于对照的PK研究设计, 包括皮下注射10mg/kg利妥昔单抗 (红色箭头) 和采血计划 (紫色箭头)。对于对照 (n=6) 和SPADE-mAb (n=5直至第21天, n=4直至第28天至第49天) 的49天抗体PK研究而言的利妥昔单抗血清浓度与时间的关系 (图11D) 和AUC与时间的关系 (图11E)。通过t检验确定统计显著性。 $*p < 0.05$ 。

[0023] 图12A-图12B描述了自2007年以来FDA批准的新分子实体 (NME)、生物制剂许可申请 (BLA) 和抗体的总结。(图12A) 自2007年以来NME和BLA (包括标记为紫色的抗体) 批准的趋势。(图12B) 自2007年以来累积批准的BLA和抗体 (BLA的子类)。该数据来自B. Hughes和A. Mullard的多份报告¹⁻¹⁵。

[0024] 图13描述了胰岛素-DES制剂和相关对照的透光率 (%)。虚线标记80%的透光率, 该透光率被用作进行下一项研究的最小阈值。

[0025] 图14描述了在CD实验期间对样品测定的高压电压 (V) 与波长的关系。将500V的最大阈值 (用虚线标记) 用作检查物, 以确认CD光谱完整性。

[0026] 图15描述了细胞活力 (%) 与DES浓度 (mM) 的对数的关系。虚线表示最大活力浓度 (0.15%)。

[0027] 图16描述了在15分钟和240分钟之间的时间点的胰岛素药代动力学的曲线下面积 (AUC) 值。

[0028] 图17-图18描述了额外的全血分析结果, 包括各种白细胞水平、红细胞压积 (HCT)、平均红细胞体积 (MCV)、平均红细胞血红蛋白含量 (MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度 (MCHC) 和血红蛋白 (HGB)。通过t检验确定统计显著性。 $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$, $****p < 0.0001$ 。

[0029] 图19-图21描述了额外的血清分析结果, 包括各种血清蛋白、酶、碱性磷酸酶 (ALP)、离子和其它生物标志物。SPADE组中只有肌酸激酶水平显著更高, 然而这可能是由于对该组中一些小鼠进行心脏穿刺而引起的释放。通过t检验确定统计显著性。 $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$, $****p < 0.0001$ 。

[0030] 图22描述了来自毒性研究的对重要器官的H&E染色, 其中小鼠用SPADE多次给药。比例尺, 200 μ m。

[0031] 图23描述了利妥昔单抗研究的前14天的AUC (AUC-SPADE-mAb/AUC对照) 的倍数变化。

具体实施方式

[0032] 本文提供的数据表明, 例如与胆碱阳离子相比, 当特定阴离子与包含酯基 (例如, 乙酰胆碱) 的季铵的阳离子结合时, 该阴离子提供优异的药物递送特性。特别的, 许多药物

与细胞外基质相互作用的事实阻碍了药物的皮下给予。例如,在皮下给予后胰岛素会与胶原和细胞外基质的其它元素相互作用,降低药物递送到血流的量和速度。这减少了皮下给予的动力学和剂量。本发明人在此发现,特定离子液体起到基质相互作用还原剂的作用。也就是说,当药物与本文所述的特定离子液体组合而皮下给予时,药物与细胞外基质的相互作用减少,并且药物更快且更有效地进入血流。因此,在任何实施方式的一个方面中,本文所述的组合物包含至少一种离子液体,所述离子液体包含1)阴离子,所述阴离子为以下中的至少一种:

- a) 非脂肪酸的羧酸,以及
 - b) 包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,以及
- 2) 阳离子,所述阳离子为包含酯基的季铵(例如,乙酰胆碱)。

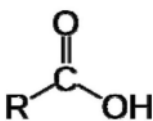
[0033] 如本文所用,术语“离子液体(IL)”是指在室温下呈液态的有机盐或有机盐的混合物。此类溶剂已被证明在各种领域(包括在工业加工、催化、制药和电化学)中 useful。所述离子液体含有至少一种阴离子和至少一种阳离子组分。离子液体可包含额外的氢键供体(即可提供-OH或-NH基团的任何分子),实例包括但不限于醇类、脂肪酸类和胺类。至少一种阴离子和至少一种阳离子组分可以任何摩尔比存在。示例性摩尔比(阳离子:阴离子)包括但不限于1:1、1:2、2:1、1:3、3:1、2:3、3:2,以及这些比之间的范围。对于离子液体的进一步讨论,参见例如Hough等,“The third evolution of ionic liquids: active pharmaceutical ingredients”, *New Journal of Chemistry*, 31:1429 (2007)、以及Xu等,“Ionic Liquids: Ion Mobilities, Glass Temperatures, and Fragilities”, *Journal of Physical Chemistry B*, 107(25):6170-6178 (2003), 通过引用的方式将其各自以其整体并入本文。在任何方面的一些实施方式中,所述离子液体或溶剂在低于100°C以液体存在。在任何方面的一些实施方式中,所述离子液体或溶剂在室温以液体存在。

[0034] 如本文所证明的,例如与包含相同阴离子和胆碱阳离子的离子液体相比,将包含酯基(例如,乙酰胆碱)的季铵的阳离子与具有特定物理特性的阴离子结合的离子液体提供优异的或改进的药物递送特性。在一些实施方式中,改进的药物递送特性包括减少载荷(cargo)分子的变性或降解。在一些实施方式中,改进的药物递送特性包括增强的穿过生物屏障的能力(例如,增强的渗透性)。在任何方面的一些实施方式中,所述改进的药物递送特性是针对胰岛素的。在任何方面的一些实施方式中,所述改进的药物递送特性是针对大的多肽(例如,抗体)载荷分子的。在任何方面的一些实施方式中,所述改进的药物递送特性是针对核酸载荷分子的。

[0035] 在任何方面的一些实施方式中,本文所述的IL的阴离子为疏水性的。

[0036] 在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子包含羧酸、由羧酸组成或基本上由羧酸组成。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子包含非脂肪酸的羧酸、由非脂肪酸的羧酸组成或基本上由非脂肪酸的羧酸组成。

[0037] 羧酸为具有式I结构的化合物,其中,R可为任何基团。



式I

[0038] 通常,所述阴离子为 $R-X^-$,其中, X 为 CO_2^- 、 SO_3^- 、 OSO_3^{2-} 或 OPO_3^{2-} ,并且 R 为任选取代的 C_1-C_{10} 烷基、任选取代的 C_2-C_{10} 烯基或任选取代的 C_2-C_{10} 炔基、任选取代的芳基或任选取代的杂芳基。

[0039] 在一些实施方式中, R 为任选取代的直链或支链 C_1-C_9 烷基。例如, R 为任选地被独立地选自于由如下所组成的组中的1个、2个、3个、4个、5个或6个取代基取代的 C_1-C_9 烷基: C_1-C_3 烷基、羟基(OH)、卤素、氧代(=O)、羧基(CO_2)、氰基(CN)和芳基。在一些实施方式中, R 为任选地被独立地选自于由如下所组成的组中的1个、2个、3个、4个或5个取代基取代的 C_1-C_6 烷基: C_1-C_3 烷基、羟基、羧基和苯基。优选地, R 为任选地被独立地选自于由如下所组成的组中的1个、2个、3个、4个或5个取代基取代的 C_1-C_5 烷基:甲基、乙基、羟基、羧基和苯基。 R 的示例性烷基包括但不限于甲基、羧甲基、羟甲基、乙基、1-羟乙基、2-苯乙基、丙基、丙-2-基、1-甲基丙基、2-甲基丙基、3-羧丙基、2,3-二羧甲基-2-羟丙基、丁基、戊基、1,2,3,4,5-五羟基戊基、己基、2-乙基己基和壬基。

[0040] 在一些实施方式中, R 为任选取代的直链或支链 C_2-C_8 烯基。例如, R 为任选地被独立地选自于由如下所组成的组中的1个、2个、3个、4个、5个或6个取代基取代的 C_2-C_9 烯基: C_1-C_3 烷基、羟基、卤素、氧代、羧基、氰基和芳基。在一些实施方式中, R 为任选地被独立地选自于由如下所组成的组中的1个、2个、3个、4个或5个取代基取代的 C_2-C_6 烯基: C_1-C_3 烷基、羟基、羧基和苯基。优选地, R 为任选地被独立地选自于由如下所组成的组中的1个、2个、3个、4个或5个取代基取代的 C_1-C_5 烯基:甲基、乙基、羟基、羧基和苯基。 R 的示例性烯基包括但不限于乙烯基、2-羧乙烯基、1-甲基丙烯基和2-甲基丙烯基。

[0041] 在一些实施方式中, R 为任选取代的芳基或杂芳基。例如, R 为任选地被独立地选自于由如下所组成的组中的1个、2个、3个、4个、5个或6个取代基取代的芳基或杂芳基: C_1-C_3 烷基、羟基、卤素、氧代、羧基、氰基和芳基。在一些实施方式中, R 为任选地被独立地选自于由如下所组成的组中的1个、2个、3个、4个或5个取代基取代的芳基: C_1-C_3 烷基、羟基、羧基和苯基。优选地, R 为被独立地选自于由如下所组成的组中的1个、2个或3个取代基取代的苯基:甲基、乙基、羟基、羧基和苯基。 R 的示例性芳基包括但不限于苯基、2-羟苯基、3-羟苯基、4-羟苯基、二羟苯基、三羟苯基、3,4,5-三羟苯基和1,1-联苯-4-基。

[0042] 在一些实施方式中, X 为 CO_2^- ,并且 R 为甲基、羧甲基、羟甲基、乙基、1-羟乙基、2-苯基乙基、丙基、丙-2-基、1-甲基丙基、2-甲基丙基、3-羧丙基、2,3-二羧甲基-2-羟丙基、丁基、戊基、1,2,3,4,5-五羟基戊基、己基、2-乙基己基、壬基、乙烯基、2-羧乙烯基、1-甲基丙烯基、2-甲基丙烯基、3,4,5-三羟苯基或1,1-联苯-4-基。在一些其它实施方式中, X 为 OSO_3^- ,并且 R 为甲基、羧甲基、羟甲基、乙基、1-羟乙基、2-苯基乙基、丙基、丙-2-基、1-甲基丙基、2-甲基丙基、3-羧丙基、2,3-二羧甲基-2-羟丙基、丁基、戊基、1,2,3,4,5-五羟基戊基、己基、2-乙基己基、壬基、乙烯基、2-羧乙烯基、1-甲基丙烯基、2-甲基丙烯基、3,4,5-三羟苯基或1,1-联苯-4-基。在又一些其它实施方式中, X 为 OPO_3^{2-} 或 SO_3^- ,并且 R 为2-羟苯基、3-羟苯基或4-羟苯基。

[0043] 除非另有说明,术语“烷基”本身或作为另一取代基的一部分时意指具有指定的碳原子数(即, C_1-C_{10} 表示1个至10个碳)的直的(即未分支)或分支的碳链(或碳)或其组合,其可为完全饱和的、单或多不饱和的,并且可包括单价、二价和多价自由基。烷基为未环化的链。饱和烃基的实例包括但不限于例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁

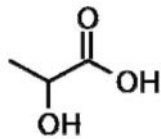
基、仲丁基、(环己基)甲基,例如正戊基、正己基、正庚基、正辛基等的同系物和异构体的基团。“烯基”为具有一个或多个双键的不饱和烷基。不饱和烷基基团的实例包括但不限于乙烯基、2-丙烯基、巴豆基、2-异戊烯基、2-(丁二烯基)、2,4-戊二烯基、3-(1,4-戊二烯基)以及高同系物和异构体。

[0044] 除非另有说明,术语“芳基”意指多不饱和的、芳香族的、烃取代基,可为单环、或稠合在一起(即稠环芳基)或共价连接的多个环(优选1个-3个环)。稠环芳基是指稠合在一起的多个环,其中所述稠环的至少一个是芳环。术语“杂芳基”是指包含至少一个杂原子(例如N、O或S)的芳基基团(或环),其中,氮和硫原子任选地被氧化,并且氮原子任选地被季铵化。因此,术语“杂芳基”包括稠环杂芳基(即稠合在一起的多个环,其中稠环中的至少一个为杂芳环)。5,6-稠环杂亚芳基是指稠合在一起的两个环,其中一个环为5元,且另一个环为6元,并且其中至少一个环为杂芳环。同样地,6,6-稠环杂亚芳基是指稠合在一起的两个环,其中一个环为6元,且另一个环为6元,并且其中至少一个环为杂芳环。并且,6,5-稠环杂亚芳基是指稠合在一起的两个环,其中一个环为6元,且另一个环为5元,并且其中至少一个环为杂芳环。可通过碳或杂原子将杂芳基基团连接到分子的剩余部分。示例性芳基和杂芳基包括但不限于苯基、4-硝基苯基、1-萘基、2-萘基、联苯基、4-联苯基、吡咯、1-吡咯基、2-吡咯基、3-吡咯基、吡唑、3-吡唑基、咪唑、咪唑基、2-咪唑基、4-咪唑基、苯并咪唑基、吡嗪基、2-噁唑基、4-噁唑基、2-苯基-4-噁唑基、5-噁唑基、3-异噁唑基、4-异噁唑基、5-异噁唑基、噻唑基、2-噻唑基、4-噻唑基、5-噻唑基、2-呋喃基、3-呋喃基、2-噻吩基、3-噻吩基、吡啶、2-吡啶基、萘啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、二苯甲酮吡啶基、哒嗪基、吡嗪基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、嘧啶基、5-苯并噻唑基、嘌呤基、2-苯并咪唑基、吲哚基、5-吲哚基、喹啉、喹啉基、1-异喹啉基、5-异喹啉基、2-喹喔啉基、5-喹喔啉基、3-喹啉基、6-喹啉基、呋喃、呋喃基(furyl)或呋喃基(furanyl)、噻吩、噻吩基(thiophenyl)或噻吩基(thienyl)、二苯醚、二苯胺等。

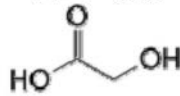
[0045] 术语“任选取代的”意味着指定的基团或部分未被取代、或被独立地选自于下面的“取代基”定义中所列的取代基的组或其它方式指定的取代基的组中的一个或多个(通常1个、2个、3个、4个、5个或6个取代基)取代。术语“取代基”是指在被取代基团的任何原子处在被取代基团上进行“取代”的基团。合适的取代基不受限地包括卤素、羟基、羧基(carboxy)、氧代、硝基、卤代烷基、烷基、烯基、炔基、烷芳基、芳基、杂芳基、环基、杂环基、芳烷基、烷氧基、芳氧基、氨基、酰氨基、烷基羰基(alkylcarbanoyl)、芳基羰基、氨基烷基、烷氧基羰基、羧基、羟烷基、烷磺酰基、芳烃磺酰基、烷磺酰胺基、芳烃磺酰胺基、芳烷基磺酰胺基、烷基羰基、酰氧基、氰基或脲基。在一些情况下,两个取代基连同它们所连接的碳可形成环。

[0046] 如本文所用,“脂肪酸”是指其中R包含饱和或不饱和脂肪链的羧酸,例如,R具有式 C_nH_{2n+1} 。在任何方面的一些实施方式中,所述脂肪酸为一元羧酸。所述脂肪酸可为天然的或合成的。所述脂肪酸的脂肪链可为饱和的、不饱和的、支链的、直链的和/或环状的。在任何方面的一些实施方式中,所述脂肪链不包含芳香族基团。在任何方面的一些实施方式中,所述脂肪链包含烷基链或烯炔链,由烷基链或烯炔链组成或基本上由烷基链或烯炔链组成。

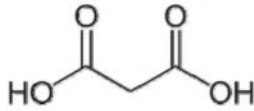
[0047] 非脂肪酸的示例性羧酸可包括但不限于丙酸、乳酸、乙醇酸、丙二酸、马来酸、戊二酸、柠檬酸、葡萄糖酸、和己二酸。



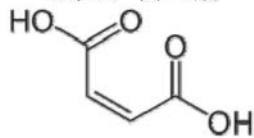
式II: 乳酸



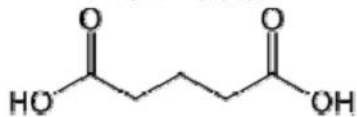
式III: 乙醇酸



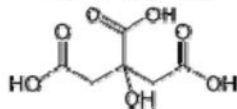
式IV: 丙二酸



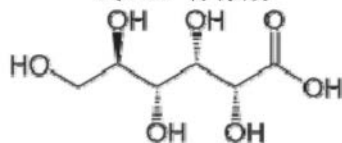
式V: 马来酸



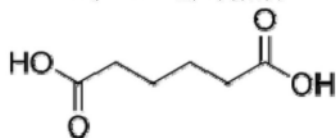
式VI: 戊二酸



式VII: 柠檬酸



式VIII: 葡萄糖酸



式IX: 己二酸

[0048] 在任何方面的一些实施方式中,非脂肪酸的羧酸为乳酸、乙醇酸、丙二酸、马来酸、戊二酸、柠檬酸、葡萄糖酸或己二酸。在任何方面的一些实施方式中,非脂肪酸的羧酸为马来酸。在任何方面的一些实施方式中,非脂肪酸的羧酸为丙酸、乳酸、乙醇酸、丙二酸、马来酸、戊二酸、柠檬酸、葡萄糖酸或己二酸。在任何方面的一些实施方式中,非脂肪酸的羧酸为丙酸。

[0049] 在一些实施方式中,所述非脂肪酸的羧酸在R基团中包含不超过5个碳,无论是直链构型还是支链构型。在一些实施方式中,所述非脂肪酸的羧酸在R基团中包含不超过3个碳,无论是直链构型还是支链构型。在一些实施方式中,所述非脂肪酸的羧酸在R基团中包含羟基基团。在一些实施方式中,所述非脂肪酸的羧酸在R基团中包含一种或多种羧酸。

[0050] 在一些实施方式中,所述非脂肪酸的羧酸在R基团中包含不超过5个碳(无论是直

链构型还是支链构型),并且在R基团中包含羟基基团。在一些实施方式中,所述非脂肪酸的羧酸在R基团中包含不超过3个碳(无论是直链构型还是支链构型),并且在R基团中包含一个或多个羟基基团。在一些实施方式中,所述非脂肪酸的羧酸在R基团中包含1个-5个碳(无论是直链构型还是支链构型),并且在R基团中包含羟基基团。

[0051] 在一些实施方式中,所述非脂肪酸的羧酸在R基团中包含不超过5个碳(无论是直链构型还是支链构型),并且在R基团中包含一个或多个羧酸基团。在一些实施方式中,所述非脂肪酸的羧酸在R基团中包含不超过3个碳(无论是直链构型还是支链构型),并且在R基团中包含一个或多个羧酸基团。在一些实施方式中,所述非脂肪酸的羧酸在R基团中包含1个-5个碳(无论是直链构型还是支链构型),并且在R基团中包含一个或多个羧酸基团。

[0052] 在一些实施方式中,所述非脂肪酸的羧酸在R基团中包含1个-5个碳(无论是直链构型还是支链构型),并且在R基团中包含一个羧酸基团。在一些实施方式中,所述非脂肪酸的羧酸在R基团中包含1个-3个碳(无论是直链构型还是支链构型),并且在R基团中包含一个羧酸基团。

[0053] 当在本文中提及链中的碳数时,预期提及的是链(包括支链)中的全部碳数。在直链的情况下,这与碳链长度相同。在支链的情况下,“链长度”是指支链中最长的碳链支链。

[0054] 在一些实施方式中,所述阴离子包含一个羧酸基团。

[0055] 可通过logP的分析来评估疏水性。“LogP”是指P的对数(分配系数)。P为衡量物质在脂质(油)和水之间的分配程度的量度。P本身为一个常数。作为中性分子,其被定义为化合物在水相中的浓度与化合物在不互溶溶剂中的浓度之比。

分配系数, $P = [\text{有机}]/[\text{水性}]$,其中[] = 浓度

$\text{Log } P = \log_{10}(\text{分配系数}) = \log_{10} P$

在实践中,LogP值将根据进行测定的条件和分配溶剂的选择而变化。LogP值为1意味着该化合物在有机相中的浓度是水相中的十倍。logP值增加1表明与水相相比,有机相中的化合物浓度增加了十倍。

[0056] 在任何方面的一些实施方式中,作为非脂肪酸的羧酸的阴离子具有小于1.0的LogP。在任何方面的一些实施方式中,作为非脂肪酸的羧酸的阴离子具有小于0.80的LogP。在任何方面的一些实施方式中,作为非脂肪酸的羧酸的阴离子具有小于0.75的LogP。在任何方面的一些实施方式中,作为非脂肪酸的羧酸的阴离子具有小于0.50的LogP。在任何方面的一些实施方式中,作为非脂肪酸的羧酸的阴离子具有小于0.25的LogP。在任何方面的一些实施方式中,作为非脂肪酸的羧酸的阴离子具有小于0的LogP。

[0057] 在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有小于4.0的pKa。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有小于4.0的pKa和小于1.0的LogP。示例性阴离子在下面的表1中提供。

[0058] 表1

| | LogP | pKa |
|--------|-------|------|
| 乙醇酸 | -1.11 | 3.8 |
| 丙酸(丙酸) | 0.33 | 4.88 |
| 异丁酸 | 0.94 | 4.84 |
| 丁酸 | 0.79 | 4.82 |

| | | |
|-------------|-------|------|
| 没食子酸 | 0.70 | 4.40 |
| 乳酸 | -0.72 | 3.86 |
| 丙二酸 | -0.81 | 2.8 |
| 癸酸 | 4.09 | 4.9 |
| 马来酸 | -0.48 | 1.83 |
| 戊二酸 | -0.29 | 4.34 |
| 柠檬酸 | -1.64 | 2.79 |
| 3,3-二甲基丙烯酸 | 1.2 | 5.02 |
| 葡萄糖酸 | -3.4 | 3.39 |
| 己二酸 | 0.08 | 4.4 |
| 2-乙基己基硫酸盐/酯 | 3.10 | |
| 4-羟基苯磺酸 | 0.2 | 9.11 |
| 异戊酸 | 1.16 | 4.77 |
| 氢化肉桂酸 | 1.84 | 4.66 |
| 苯基磷酸 | 1.05 | 9.99 |
| 联苯-3-甲酸 | 3.5 | 4.14 |

[0059] 在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子为烷烃。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子为烯烃。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子包含单个羧基基团。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链包含一个或多个取代基。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链骨架包含一个或多个取代基基团,其中,每个取代基基团包含至少一个碳原子。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链骨架包含一个或多个取代基基团,其中,所述至少一个取代基基团包含甲基基团。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链骨架包含两个取代基基团,其中,每个取代基基团包含至少一个碳原子。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链骨架包含两个取代基基团,其中,一个取代基基团包含甲基基团。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链骨架包含两个取代基基团,其中,每个取代基基团包含甲基基团。

[0060] 在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子为未取代的烷烃。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子为未取代的烯烃。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链骨架包含一个或多个取代基基团。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链包含一个或多个取代基基团,其中,每个取代基基团包含至少一个碳原子。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链包含一个或多个取代基基团,其中,每个取代基基团为烷基、芳基、杂烷基、杂芳基、烷烃或烯烃。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链包含一个或多个取代基基团,其中,每个取代基基团为未取代的烷基、未取代的芳基、未取代的杂烷基、未取代的杂芳基、未取代的烷烃或未取代的烯烃。

[0061] 在任一实施方式的一个方面中,本文所述的组合物包含至少一种离子液体,所述离子液体包含以下、由以下组成或基本上由以下组成:1)阴离子,所述阴离子为非脂肪酸的羧酸,以及2)阳离子,所述阳离子为包含酯基的季铵(例如,乙酰胆碱)。在任一实施方式的一个方面中,本文所述的组合物包含至少一种离子液体,所述离子液体包含以下、由以下组成或基本上由以下组成:1)LogP小于1.0的阴离子,并且所述阴离子为非脂肪酸的羧酸,以

及2) 阳离子,所述阳离子为包含酯基的季铵(例如,乙酰胆碱)。

[0062] 在任一实施方式的一个方面中,本文所述的组合物包含至少一种离子液体,所述离子液体包含以下、由以下组成或基本上由以下组成:1) 包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,以及2) 阳离子,所述阳离子为包含酯基的季铵(例如,乙酰胆碱)。在任一实施方式的一个方面中,本文所述的组合物包含至少一种离子液体,所述离子液体包含以下、由以下组成或基本上由以下组成:1) 包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,以及2) 阳离子,所述阳离子为包含酯基的季铵(例如,乙酰胆碱)。

[0063] 在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子为疏水性的。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子包含羧酸。

[0064] 在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少4.0(例如4.0或更大)的pKa。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少4.5(例如4.5或更大)的pKa。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少5.0(例如5.0或更大)的pKa。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少约4.0(例如约4.0或更大)的pKa。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少约4.5(例如约4.5或更大)的pKa。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少约5.0(例如约5.0或更大)的pKa。

[0065] 在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有至少4.895的pKa。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有4.5-5.5的pKa。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有4.895-5.19的pKa。

[0066] 在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有至少约4.895的pKa。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有约4.5至约5.5的pKa。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有约4.895至约5.19的pKa。

[0067] 在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少1.0(例如1.0或更大)的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少2.0(例如2.0或更大)的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少2.5(例如2.5或更大)的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少2.75(例如2.75或更大)的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少约1.0(例如约1.0或更大)的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少约2.0(例如约2.0或更大)的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少约2.5(例如约2.5或更大)的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少约2.75(例如约2.75或更大)的LogP。

[0068] 在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少4.0的pKa和至少2.0的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少4.0的pKa和至少2.5的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少4.0的pKa和至少2.75的LogP。

[0069] 在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少4.5的pKa和至少1.0的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少4.5的pKa

和至少2.0的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少4.5的pKa和至少2.5的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少4.5的pKa和至少2.75的LogP。

[0070] 在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少5.0的pKa和至少1.0的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少5.0的pKa和至少2.0的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少5.0的pKa和至少2.5的LogP。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的IL的阴离子具有至少5.0的pKa和至少2.75的LogP。

[0071] 在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有至少2.75的LogP。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有至少2.8的LogP。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有2.5-3.5的LogP。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有2.8-3.01的LogP。

[0072] 在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有至少约2.75的LogP。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有至少约2.8的LogP。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有约2.5至约3.5的LogP。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子具有约2.8至约3.01的LogP。

[0073] 在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸包含具有8个碳的碳主链,并且具有大于或等于2.8的LogP和介于4.8与5.2之间的pKa。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸具有大于或等于2.9的LogP和介于4.8与5.1之间的pKa。

[0074] 阴离子的pKa值和LogP值是本领域已知的和/或可由本领域技术人员计算。例如, PubChem和SpiderChem为各种阴离子提供这些值,并且化学品制造商通常将它们作为其产品的目录列表的一部分提供。在本文的表3中提供了示例性阴离子的pKa值和LogP值。

[0075] 在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸包含至少6个碳的碳链。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸包含至少7个碳的碳链。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸包含至少8个碳的碳链。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸包含至少9个碳的碳链。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸包含至少10个碳的碳链。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸包含至少11个碳的碳链。

[0076] 在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子包含烷烃。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子包含烯烃。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子包含单个羧基。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链包含一个或多个取代基。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链骨架包含一个或多个取代基,其中每个取代基包含至少一个碳原子。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链骨架包含一个或多个取代基,其中至少一个取代基包含甲基。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链骨架包含两个取代基,其中每个取代基包含至少一个碳原子。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链骨架包含两个取代基,其中一个取代基包含甲基。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链骨架包含两个取代基,其中每个取代基包含甲基。

[0077] 在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子基于未取代的烷烃。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子为未取代的烯烃。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链骨架包含一个或多个取代基。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链包含一个

或多个取代基,其中每个取代基包含至少一个碳原子。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链包含一个或多个取代基,其中每个取代基是烷基、芳基、杂烷基、杂芳基、烷烃或烯烃。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳链包含一个或多个取代基,其中每个取代基是未取代的烷基、未取代的芳基、未取代的杂烷基、未取代的杂芳基、未取代的烷烃或未取代的烯烃。

[0078] 在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸包含具有8个碳的碳主链,任选地为单烯烃,并且任选地具有两个取代基。在任何方面的一些实施方式中,至少一个取代基是甲基。在任何方面的一些实施方式中,两个取代基都是甲基。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸选自由以下所组成的组:辛酸、2-辛烯酸、3-辛烯酸、4-辛烯酸、5-辛烯酸、6-辛烯酸、7-辛烯酸、2,2-二甲基辛酸、2,3-二甲基辛酸、2,4-二甲基辛酸、2,5-二甲基辛酸、2,6-二甲基辛酸、2,7-二甲基辛酸、3,3-二甲基辛酸、3,4-二甲基辛酸、3,5-二甲基辛酸、3,6-二甲基辛酸、3,7-二甲基辛酸、4,4-二甲基辛酸、4,5-二甲基辛酸、4,6-二甲基辛酸、4,7-二甲基辛酸、5,5-二甲基辛酸、5,6-二甲基辛酸、5,7-二甲基辛酸、6,6-二甲基辛酸、6,7-二甲基辛酸、7,7-二甲基辛酸、2,3-二甲基-2-辛烯酸、2,4-二甲基-2-辛烯酸、2,5-二甲基-2-辛烯酸、2,6-二甲基-2-辛烯酸、2,7-二甲基-2-辛烯酸、3,4-二甲基-2-辛烯酸、3,5-二甲基-2-辛烯酸、3,6-二甲基-2-辛烯酸、3,7-二甲基-2-辛烯酸、4,4-二甲基-2-辛烯酸、4,5-二甲基-2-辛烯酸、4,6-二甲基-2-辛烯酸、4,7-二甲基-2-辛烯酸、5,5-二甲基-2-辛烯酸、5,6-二甲基-2-辛烯酸、5,7-二甲基-2-辛烯酸、6,6-二甲基-2-辛烯酸、6,7-二甲基-2-辛烯酸、7,7-二甲基-2-辛烯酸、2,2-二甲基-3-辛烯酸、2,3-二甲基-3-辛烯酸、2,4-二甲基-3-辛烯酸、2,5-二甲基-3-辛烯酸、2,6-二甲基-3-辛烯酸、2,7-二甲基-3-辛烯酸、3,4-二甲基-3-辛烯酸、3,5-二甲基-3-辛烯酸、3,6-二甲基-3-辛烯酸、3,7-二甲基-3-辛烯酸、4,5-二甲基-3-辛烯酸、4,6-二甲基-3-辛烯酸、4,7-二甲基-3-辛烯酸、5,5-二甲基-3-辛烯酸、5,6-二甲基-3-辛烯酸、5,7-二甲基-3-辛烯酸、6,6-二甲基-3-辛烯酸、6,7-二甲基-3-辛烯酸、7,7-二甲基-3-辛烯酸、2,2-二甲基-4-辛烯酸、2,3-二甲基-4-辛烯酸、2,4-二甲基-4-辛烯酸、2,5-二甲基-4-辛烯酸、2,6-二甲基-4-辛烯酸、2,7-二甲基-4-辛烯酸、3,3-二甲基-4-辛烯酸、3,4-二甲基-4-辛烯酸、3,5-二甲基-4-辛烯酸、3,6-二甲基-4-辛烯酸、3,7-二甲基-4-辛烯酸、4,5-二甲基-4-辛烯酸、4,6-二甲基-4-辛烯酸、4,7-二甲基-4-辛烯酸、5,6-二甲基-4-辛烯酸、5,7-二甲基-4-辛烯酸、6,6-二甲基-4-辛烯酸、6,7-二甲基-4-辛烯酸、7,7-二甲基-4-辛烯酸、2,2-二甲基-5-辛烯酸、2,3-二甲基-5-辛烯酸、2,4-二甲基-5-辛烯酸、2,5-二甲基-5-辛烯酸、2,6-二甲基-5-辛烯酸、2,7-二甲基-5-辛烯酸、3,3-二甲基-5-辛烯酸、3,4-二甲基-5-辛烯酸、3,5-二甲基-5-辛烯酸、3,6-二甲基-5-辛烯酸、3,7-二甲基-5-辛烯酸、4,4-二甲基-5-辛烯酸、4,5-二甲基-5-辛烯酸、4,6-二甲基-5-辛烯酸、4,7-二甲基-5-辛烯酸、5,6-二甲基-5-辛烯酸、5,7-二甲基-5-辛烯酸、6,7-二甲基-5-辛烯酸、7,7-二甲基-5-辛烯酸、2,2-二甲基-6-辛烯酸、2,3-二甲基-6-辛烯酸、2,4-二甲基-6-辛烯酸、2,5-二甲基-6-辛烯酸、2,6-二甲基-6-辛烯酸、2,7-二甲基-6-辛烯酸、3,3-二甲基-6-辛烯酸、3,4-二甲基-6-辛烯酸、3,5-二甲基-6-辛烯酸、3,6-二甲基-6-辛烯酸、3,7-二甲基-6-辛烯酸(香茅酸)、4,4-二甲基-6-辛烯酸、4,5-二甲基-6-辛烯酸、4,6-二甲基-6-辛烯酸、4,7-二甲基-6-辛烯酸、5,5-二甲基-6-辛烯酸、5,6-二甲基-6-辛烯酸、5,7-二甲基-6-辛烯酸、6,7-二甲基-6-辛烯酸、2,2-二甲基-7-辛烯酸、2,3-二甲基-7-辛烯酸、2,4-二甲

基-7-辛烯酸、2,5-二甲基-7-辛烯酸、2,6-二甲基-7-辛烯酸、2,7-二甲基-7-辛烯酸、4,4-二甲基-7-辛烯酸、3,4-二甲基-7-辛烯酸、3,5-二甲基-7-辛烯酸、3,6-二甲基-7-辛烯酸、3,7-二甲基-7-辛烯酸、4,4-二甲基-7-辛烯酸、4,5-二甲基-7-辛烯酸、4,6-二甲基-7-辛烯酸、4,7-二甲基-7-辛烯酸、5,5-二甲基-7-辛烯酸、5,6-二甲基-7-辛烯酸、5,7-二甲基-7-辛烯酸、6,6-二甲基-7-辛烯酸、6,7-二甲基-7-辛烯酸及其异构体。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸选自于由以下所组成的组:辛酸、2-辛烯酸、3-辛烯酸、4-辛烯酸、5-辛烯酸、6-辛烯酸、7-辛烯酸、2,2-二甲基辛酸、2,4-二甲基辛酸、2,5-二甲基辛酸、2,6-二甲基辛酸、2,7-二甲基辛酸、3,3-二甲基辛酸、3,5-二甲基辛酸、3,6-二甲基辛酸、3,7-二甲基辛酸、4,4-二甲基辛酸、4,5-二甲基辛酸、4,6-二甲基辛酸、5,5-二甲基辛酸、5,6-二甲基辛酸、5,7-二甲基辛酸、6,6-二甲基辛酸、7,7-二甲基辛酸、3,7-二甲基-2-辛烯酸、3,7-二甲基-3-辛烯酸、3,7-二甲基-4-辛烯酸、2,7-二甲基-6-辛烯酸、3,7-二甲基-6-辛烯酸(香茅酸)、2,2-二甲基-7-辛烯酸、2,3-二甲基-7-辛烯酸及其异构体。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸选自于由香茅酸、辛酸、2-辛烯酸及其异构体所组成的组。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸选自香茅酸、辛酸或反式-2-辛烯酸所组成的组。在任何方面的一些实施方式中,本文所用的辛烯酸(例如在表3中)是指反式-2-辛烯酸。

[0079] 在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸包含具有8个碳的碳主链,并且任选地为单烯烃。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸的碳主链不被取代。在任何方面的一些实施方式中,所述羧酸选自于由辛酸、2-辛烯酸、3-辛烯酸、4-辛烯酸、5-辛烯酸、6-辛烯酸、7-辛烯酸及其异构体所组成的组。在一些选择中,所述羧酸是辛酸或反式-2-辛烯酸(辛烯酸)。

[0080] 以下表3中提供了示例性的非限制性阴离子。

表3

| | LogP | pKa |
|-----------------------------|-------|-------|
| 组1 | | |
| 香叶酸 | 2.72 | 5.26 |
| 香茅酸 | 2.8 | 5.19 |
| 辛烯酸 | 2.9 | 5.05 |
| 癸烯酸 | 4.02 | 5.03 |
| (9Z)-十八碳-9-烯酸 | 6.5 | 5.02 |
| 组2 | | |
| 辛酸 | 3.01 | 4.895 |
| 癸酸 | 4.09 | 4.9 |
| (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸 | 7.05 | 4.77 |
| (R)-5-(1,2-二硫戊环-3-基)戊酸 | 2.1 | 5.10 |
| 组3 | | |
| 己烯酸 | 1.8 | 5.13 |
| 组4 | | |
| 己酸 | 1.92 | 4.88 |
| 3-甲基丁酸 | 1.2 | 4.77 |
| 壬二酸 | 1.57 | 4.55 |
| 戊酸 | 1.39 | 4.84 |
| 组5 | | |
| 2-羟基辛酸 | 1.8 | 4.42 |
| (E)-3-(4-羟基-3-甲氧基-苯基)丙-2-烯酸 | 1.51 | 4.42 |
| 组6 | | |
| 2-乙基己基硫酸盐/酯 | 3.10 | |
| 2-(二甲氨基)乙醇 | -0.55 | 9.3 |
| 组7 | | |
| 8-羟基癸酸 | 2.2 | |
| 2-甲基丙酸 | 0.73 | 4.84 |
| 抗坏血酸 | -1.85 | 4.7 |
| 丁酸 | 0.79 | 4.82 |
| 水杨酸 | 2.2 | 2.97 |
| 组8 | | |
| 羟基(苯基)乙酸 | 1.2 | 3.41 |
| 戊二酸 | -0.29 | 4.34 |
| 己二酸 | 0.08 | 4.4 |
| 组9 | | |
| 辛酸 | 3.01 | 4.895 |
| 香茅酸 | 2.8 | 5.19 |
| 辛烯酸 | 2.9 | 5.05 |
| 组10 | | |
| 辛酸 | 3.01 | 4.895 |
| 辛烯酸 | 2.9 | 5.05 |

[0081] 在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组1。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组2。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组3。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组4。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组5。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组6。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组7。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组8。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组1-组2。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组1-组3。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组1-组4。

在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组1-组5。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组1-组6。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组1-组7。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组9。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组10。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子选自表3的组9-组10。

[0082] 在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子为香叶酸、辛烯酸、辛酸、香茅酸、癸烯酸、(9Z)-十八碳-9-烯酸、癸酸、(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸、(R)-5-(1,2-二硫戊环-3-基)戊酸或己烯酸。在任何方面的一些实施方式中,所述阴离子为己烯酸。

[0083] 季铵是结构为 NR_4^+ 的带正电荷的多原子离子,每个R独立地为烷基或芳基。通用术语“季铵”是指可被视为通过有机基团取代 NH_4^+ 离子的所有四个氢原子而衍生自氢氧化铵或铵盐的任何化合物。例如,季铵具有 NR_4^+ 的结构,其中每个R独立地选自羟基、任选取代的 C_1 - C_{10} 烷基、任选取代的 C_2 - C_{10} 烯基、任选取代的 C_2 - C_{10} 炔基、任选取代的芳基或任选取代的杂芳基。

[0084] 在任何方面的一些实施方式中,所述阳离子的摩尔质量等于或大于胆碱,例如,摩尔质量等于或大于104.1708g/mol。在任何方面的一些实施方式中,所述阳离子的摩尔质量大于胆碱,例如,摩尔质量等于、大于104.1708g/mol。

[0085] 在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含烷基、烷烃、烯烃或芳基,至少一个R基团包含酯。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含烷基、烷烃或烯烃,至少一个R基团包含酯。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含烷烃或烯烃,至少一个R基团包含酯。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含烷基、烷烃、烯烃或芳基,R基团中的一个包含酯。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含烷基、烷烃或烯烃,R基团中的一个包含酯。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含烷烃或烯烃,R基团中的一个包含酯。

[0086] 在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含长度不多于10个碳原子的碳链,例如,长度不多于10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、25个或30个碳原子。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含长度不多于12个碳原子的碳链。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含长度不多于15个碳原子的碳链。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含长度不多于20个碳原子的碳链。

[0087] 在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含不多于10个碳原子的碳链,例如,不多于10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、25个或30个碳原子。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含不多于12个碳原子的碳链。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含不多于15个碳原子的碳链。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含不多于20个碳原子的碳链。

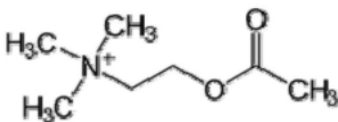
[0088] 在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含不多于10个碳原子的烷基,例如不多于10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、25个或30个碳原子,至少一个R基团包含酯。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独

立地包含不多于12个碳原子的烷基。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含不多于15个碳原子的烷基。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含不多于20个碳原子的烷基,至少一个R基团包含酯。

[0089] 在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含烷烃、烯烃、芳基、杂芳基、烷基或杂烷基,至少一个R基团包含酯。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含未取代的烷烃、未取代的烯烃、未取代的芳基、未取代的杂芳基、未取代的烷基或未取代的杂烷基,至少一个R基团包含酯。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含未取代的烷烃,至少一个R基团包含酯。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含未取代的烯烃,至少一个R基团包含酯。在任何方面的一些实施方式中,季铵的每个R基团独立地包含一个或多个取代基,至少一个R基团包含酯。

[0090] 在任何方面的一些实施方式中,季铵的至少一个R基团包含羟基,至少一个R基团包含酯。在任何方面的一些实施方式中,季铵的一个R基团包含羟基,至少一个R基团包含酯。在任何方面的一些实施方式中,季铵中只有一个R基团包含羟基,至少一个R基团包含酯。

[0091] 在任何方面的一些实施方式中,三个R基团是甲基,并且季铵的一个R基团包含酯,例如乙酰胆碱。在任何方面的一些实施方式中,所述阳离子包含乙酰胆碱、由乙酰胆碱组成或基本上由乙酰胆碱组成。



式 X: 乙酰胆碱

[0092] 在任何方面的一些实施方式中,所述阳离子不是胆碱。

[0093] 阳离子和阴离子的非限制性示例性组合在下表2中提供。

[0094] 表2

| | 含有酯基的季铵盐 | 乙酰胆碱 |
|------------------------|----------|------|
| 乙醇酸 | X | x |
| 香叶酸 | X | X |
| 辛烯酸 | X | X |
| 辛酸 | X | X |
| 香茅酸 | X | X |
| 乳酸 | X | X |
| 丙二酸 | X | X |
| 癸烯酸 | X | X |
| 马来酸 | X | X |
| 戊二酸 | X | X |
| 柠檬酸 | X | X |
| 癸酸 | X | X |
| 葡萄糖酸 | X | X |
| 己二酸 | X | X |
| (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸 | X | X |
| (R)-5-(1,2-二硫戊环-3-基)戊酸 | X | X |
| 己烯酸 | X | x |
| 丙酸 | X | x |

[0095] 在任何方面的一些实施方式中,所述离子液体不是CAGE(胆碱和香叶酸根)。在任何方面的一些实施方式中,所述离子液体的阳离子不是胆碱。在任何方面的一些实施方式中,所述离子液体的阴离子不是香叶酸盐/酯或香叶酸。

[0096] 在任何方面的一些实施方式中,所述组合物包含第一离子液体和至少第二离子液体。本文所述的任何离子液体中的两种、三种、四种、五种或更多种的组合都在考虑之列。

[0097] 在任何方面的一些实施方式中,其中所述组合物包含两种以上的离子液体,第一离子液体和第二离子液体具有相同的阳离子,例如乙酰胆碱。在任何方面的一些实施方式中,其中所述组合物包含两种以上的离子液体,第一离子液体和第二离子液体具有不同的阴离子。例如,第一离子液体和第二离子液体可以各自包含不同的阴离子,所述阴离子选自:乳酸、乙醇酸、丙二酸、马来酸、戊二酸、柠檬酸、葡萄糖酸、己二酸、香叶酸、辛烯酸、辛酸、香茅酸、癸烯酸、(9Z)-十八碳-9-烯酸、癸酸、(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸、(R)-5-(1,2-二硫戊环-3-基)戊酸和己烯酸。在一些实施方式中,第一离子液体和第二离子液体可各自包含不同的阴离子,所述阴离子选自:丙酸、乳酸、乙醇酸、丙二酸、马来酸、戊二酸、柠檬酸、葡萄糖酸、己二酸、香叶酸、辛烯酸、辛酸、香茅酸、癸烯酸、(9Z)-十八碳-9-烯酸、癸酸、(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸、(R)-5-(1,2-二硫戊环-3-基)戊酸和己烯酸。在任何方面的一些实施方式中,其中所述组合物包含两种以上的离子液体,第一离子液体具有马来酸阴离子,且第二离子液体具有己烯酸阴离子。在任何方面的一些实施方式中,其中所述组合物包含两种以上的离子液体,第一离子液体具有丙酸阴离子,且第二离子液体具有己烯

酸阴离子。在任何方面的一些实施方式中,其中所述组合物包含两种以上的离子液体,第一离子液体具有马来酸阴离子,且第二离子液体具有丙酸阴离子。

[0098] 作为非限制性实例,在本文考虑之列的是包含己烯酸阴离子的离子液体和包含马来酸阴离子的离子液体的组合。作为进一步的非限制性实例,在本文考虑之列的是包含丙酸阴离子的离子液体和包含马来酸阴离子的离子液体的组合。作为进一步的非限制性实例,在本文考虑之列的是包含丙酸阴离子的离子液体和包含丙酸阴离子的离子液体的组合。

[0099] 作为非限制性实例,在本文考虑之列的是乙酰胆碱己烯酸和乙酰胆碱马来酸的组合。作为进一步的非限制性实例,在本文考虑之列的是乙酰胆碱丙酸和乙酰胆碱马来酸的组合。作为进一步的非限制性实例,在本文考虑之列的是乙酰胆碱丙酸和乙酰胆碱丙酸的组合。

[0100] 在任何方面的一些实施方式中包含两种以上的离子液体,第一离子液体不是CAGE(胆碱和香叶酸根)。在任何方面的一些实施方式中包含两种以上的离子液体,第一离子液体的阳离子不是胆碱。在任何方面的一些实施方式中包含两种以上的离子液体,第一离子液体的阴离子不是香叶酸根或香叶酸。

[0101] 在任何方面的一些实施方式中,其中所述组合物包含两种以上的离子液体,所述第二离子液体是胆碱和香叶酸(CAGE)。在任何方面的一些实施方式中,其中所述组合物包含两种以上的离子液体,所述第一离子液体是乙酰胆碱和己烯酸,且所述第二离子液体是CAGE。在任何方面的一些实施方式中,其中所述组合物包含两种以上的离子液体,所述第一离子液体是乙酰胆碱和马来酸,且所述第二离子液体是CAGE。在任何方面的一些实施方式中,其中所述组合物包含两种以上的离子液体,所述第一离子液体是乙酰胆碱和丙酸,且所述第二离子液体是CAGE。

[0102] 在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少0.01%w/v。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少0.05%w/v。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少0.1%w/v。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少0.2%w/v、至少0.3%w/v、至少0.4%w/v、至少0.5%w/v、至少1%w/v或更高。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为约0.01%w/v至约1%w/v。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为0.01%w/v至1%w/v。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为约0.05%w/v至约0.5%w/v。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为0.05%w/v至0.5%w/v。

[0103] 在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度小于10%w/v。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为0.01%w/v至10%w/v。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为0.05%w/v至10%w/v。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为0.5%w/v至10%w/v。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为1%w/v至10%w/v。

[0104] 在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少25%w/w。在任何方面的一些实施方式中,所述IL在水中的浓度为至少25%w/w。在任何方面的一些实施方式中,所述IL在盐水或生理学上相容的缓冲液中的浓度为至少25%w/w。

[0105] 在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为约5%w/w至约75%w/w。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为5%w/w至75%w/w。在任何方面的一些实施方式中,所述IL在水、盐水或生理学上相容的缓冲液中的浓度为约5%w/w至约75%w/w。在任何方面

的一些实施方式中,所述IL在水、盐水或生理学上相容的缓冲液中的浓度为5%w/w至75%w/w。

[0106] 在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少约0.1%w/w。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少0.1%w/w。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为约10%w/w至约70%w/w。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为10%w/w至70%w/w。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为约30%w/w至约50%w/w。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为30%w/w至40%w/w。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为约30%w/w至约50%w/w。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为30%w/w至40%w/w。

[0107] 在任何方面的一些实施方式中,IL的%w/w浓度是在水、盐水或生理学上相容的缓冲液中的%w/w浓度。

[0108] 在任何方面的一些实施方式中,所述IL为100%w/w或100%w/v。

[0109] 在一些实施方式中,所述IL为无水盐,例如,不稀释或未溶于水的离子液体。在一些实施方式中,所述IL作为水性溶液提供。

[0110] 在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少25%w/w,并且具有至少1:3的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL在水中的浓度为至少25%w/w,并且具有至少1:3的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少25%w/w,并且具有1:3或1:4的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL在水中的浓度为至少25%w/w,并且具有1:3或1:4的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL为凝胶或剪切稀化牛顿凝胶。

[0111] 在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有约10:1至约1:10的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有10:1至1:10的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有约5:1至约1:5的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有5:1至1:5的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有约2:1至约1:4的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有2:1至1:4的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有约2:1至约1:10的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有约2:1至约1:1的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有2:1至1:10的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有2:1至1:1的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有使得存在更大量的阴离子的阳离子:阴离子比,例如小于1:1的比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有使得存在过量的阴离子的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有约1:1至约1:10的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有1:1至1:10的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有约1:1至约1:4的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有1:1至1:4的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有约1:1至约1:3的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有1:1至1:3的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有约1:1至约1:2的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有1:1至1:2的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有约1:1、1:2、1:3或1:4的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,

所述IL具有1:1、1:2、1:3或1:4的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有小于约1:1的阳离子:阴离子比。在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有小于1:1的阳离子:阴离子比。不希望受限于理论,相对于阳离子具有更高量的阴离子的组合物显示出更大的疏水性。

[0112] 在任何方面的一些实施方式中,所述IL具有阳离子过量的阳离子:阴离子比。

[0113] 在任何方面的一些实施方式中,例如,当提供一种或多种核酸分子与IL组合时,阳离子:阴离子比大于1:1,例如大于1:2,约1:2至约1:4,或1:2至1:4。

[0114] 在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少20mM。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少约20mM。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少25mM。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少约25mM。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少50mM。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少约50mM。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少100mM、500mM、1M、2M、3M或更高。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为至少约100mM、500mM、1M、2M、3M或更高。

[0115] 在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为约50mM至约4M。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为50mM至4M。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为约500mM至约4M。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为500mM至4M。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为约1M至约4M。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为1M至4M。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为约2M至约4M。在任何方面的一些实施方式中,所述IL的浓度为2M至4M。

[0116] 在任何方面的一些实施方式中,所述组合物或制剂中的IL浓度为约0.1mM至20mM。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物或制剂中的IL浓度为约0.5mM至20mM、0.5mM至18mM、0.5mM至16mM、0.5mM至14mM、0.5mM至12mM、0.5mM至10mM、0.5mM至8mM、1mM至20mM、1mM至18mM、1mM至16mM、1mM至14mM、1mM至12mM、1mM至10mM、1mM至8mM、2mM至20mM、2mM至18mM、2mM至16mM、2mM至14mM、2mM至12mM、2mM至10mM、2mM至8mM、4mM至20mM、4mM至18mM、4mM至16mM、4mM至14mM、4mM至12mM、4mM至10mM、4mM至8mM、6mM至20mM、6mM至18mM、6mM至14mM、6mM至12mM、6mM至10mM、6mM至8mM、8mM至20mM、8mM至18mM、8mM至16mM、8mM至14mM、8mM至12mM、8mM至10mM、10mM至20mM、10mM至18mM、10mM至16mM、10mM至14mM、10mM至12mM、12mM至20mM、12mM至18mM、12mM至16mM、12mM至14mM、14mM至20mM、14mM至18mM、14mM至16mM、16mM至20mM、16mM至18mM、或18mM至20mM。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物或制剂中的IL浓度为约1mM、约2mM、约3mM、约4mM、约5mM、约6mM、约7mM、约8mM、约9mM、约10mM、约11mM、约12mM、约13mM、约14mM、约15mM、约16mM、约17mM、约18mM、约19mM或约20mM。

[0117] 特别考虑本文所述的组合物或组合可包含本文所述的任何类型的组分中的一种、两种、三种以上。例如,组合物可包含两种以上不同离子液体(例如本文所述的不同离子液体)的混合物、溶液、组合或乳化液、和/或两种以上不同的非离子表面活性剂的混合物、溶液、组合或乳化液、和/或两种以上不同活性化合物的混合物、溶液、组合或乳化液。

[0118] 在任何方面的一些实施方式中,所述一种或多种IL可与至少一种化合物组合。如本文所用,“与...组合”是指两种以上物质以任何分子或物理排列(例如,在掺合物中、在溶液中、在混合物中、在悬浮液中、在胶体中、在乳化液中)存在于同一制剂中。所述制剂可为均质或异质混合物。在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物可被超结构包含,例如

纳米颗粒、脂质体、载体、细胞、支架等,所述超结构与所述IL在溶液、混合物、掺和物、悬浮液等中。

[0119] 如本文所用,“活性化合物”或“活性剂”是将会对靶细胞或生物体发挥作用的任何试剂。术语“化合物”和“药剂”是指通常不存在或不以给予和/或提供给细胞、组织或受试者的水平存在的任何实体。药剂可选自包含如下的组:化学品、小的有机或无机分子、信号传导分子、核酸序列、核酸类似物、蛋白质、肽、酶、适体、肽模拟物(peptidomimetic)、肽衍生物、肽类似物、抗体、胞内抗体(intrabodies)、生物大分子、由生物材料(如细菌、植物、真菌或动物细胞或组织)制成的提取物、天然存在的或合成的组合物或其功能片段。在一些实施方式中,所述药剂为任何化学品、实体或部分,包括但不限于合成和天然存在的非蛋白实体。药剂可已知具有所需的活性和/或性质,或者可选自多种化合物的库。预期用于本文所述方法的活性化合物的非限制性实例包括小分子、多肽、核酸、化学治疗剂/化疗化合物、抗体、抗体试剂、疫苗、GLP-1多肽或其模拟物/类似物、胰岛素、阿卡波糖、利妥昔单抗或芦可替尼。

[0120] 如本文所述,核酸分子可为载体、表达载体、抑制性核酸、适体、模板分子或盒(例如用于基因编辑)、或靶向分子(例如用于CRISPR-Cas技术)、或任何其它希望递送至细胞的核酸分子。所述核酸分子可为RNA、DNA、或其合成或修饰版本。在任何方面的一些实施方式中,所述核酸为抑制性核酸,例如siRNA。在任何方面的一些实施方式中,所述核酸为siRNA、pDNA或mRNA。在任何方面的一些实施方式中,所述核酸为robed核酸。

[0121] 在任何实施方式的一个方面,本文描述了将核酸分子递送至细胞的方法,所述方法包括使所述细胞与本文描述的一种或多种IL组合的核酸分子接触。在任何方面的一些实施方式中,所述细胞为受试者中的细胞,并且接触步骤包括将与一种或多种IL组合的核酸分子给予所述受试者。在任何方面的一些实施方式中,所述细胞为体外的、体内的或离体的(ex vivo)。在任何方面的一些实施方式中,所述细胞为真核细胞。在任何方面的一些实施方式中,所述细胞为哺乳动物细胞。在任何方面的一些实施方式中,所述细胞为上皮细胞,例如肠上皮细胞。在任何方面的一些实施方式中,所述细胞为表皮细胞。

[0122] 如本文所用,术语“小分子”是指化学试剂,其可包括但不限于肽、肽模拟物、氨基酸、氨基酸类似物、多核苷酸、多核苷酸类似物、适体、核苷酸、核苷酸类似物、分子量小于约10000克每摩尔的有机或无机化合物(即包括杂有机化合物和有机金属化合物)、分子量小于约5000克每摩尔的有机或无机化合物、分子量小于约1000克每摩尔的有机或无机化合物、分子量小于约500克每摩尔的有机或无机化合物,以及此类化合物的盐、酯和其它药学上可接受的形式。

[0123] 在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物可为治疗性化合物或药物,例如,对治疗受试者中的至少一种病症在治疗上有效的药剂或化合物。在本领域中,已知治疗性化合物用于多种病症,参见例如可在万维网drugs.com上获得的数据库或可在万维网catalog.data.gov/dataset/drugsfda-database上获得的FDA批准的化合物目录、通过引用的方式将其各自以其整体并入本文。

[0124] 作为非限制性实例,适合用作本文活性化合物/治疗性化合物的示例性抗体和/或抗体试剂包括:阿昔单抗、阿达木单抗、adlimumab-atto、ado-trastuzumab、曲妥珠单抗-美坦新偶联物、阿仑单抗、alirocumab、阿特珠单抗、avelumab、巴利昔单抗、belimumab、贝伐

单抗、bezlotoxumab、blinatumomab、brentuximab、维布妥昔单抗 (brentuximab vedotin)、brodalumab、canakinumab、capromab、capromab pendetide、赛妥珠单抗 (certolizumab)、certolizumab pegol、西妥昔单抗 (cetuximab)、daclizumab、daratumumab)、地诺单抗、dinutuximab、度普利尤单抗、durvalumab、eculizumab、elotuzumab、依洛尤单抗 (evolocumab)、etanercept、etanercept-szszs、golimumab、ibritumomab、ibritumomab tiuxetan、idarucizumab、英夫利昔单抗、infliximab-abda、infliximab-dyyb、伊匹木单抗 (ipilimumab)、ixekizumab、mepolizumab、那他珠单抗 (natalizumab)、necitumumab、纳武利尤单抗、obiltoxaximab、obinutuzumab、ocrelizumab、奥法妥木单抗、olaratumab、奥马珠单抗、帕利珠单抗、帕尼单抗、帕博利珠单抗、帕妥珠单抗、ramucriumab、兰尼单抗、raxibacumab、瑞利珠单抗 (reslizumab)、利妥昔单抗、苏金单抗、司妥昔单抗、托珠单抗 (tocilizumab)、曲妥珠单抗、乌司奴单抗 (ustekinumab)、维多珠单抗 (vedolizumab)、sarilumab、guselkumab、inotuzumab ozogamicin、奥妥珠单抗 (inotuzumab)、adalimumab-adbm、吉妥珠单抗-奥唑米星 (gemtuzumab ozogamicin)、吉妥珠单抗 (gemtuzumab)、bevacizumab-awwb、贝那利珠单抗、emicizumab、emicizumab-kxwh、trastuzumab-dkst、infliximab-qbtx、ibalizumab、ibalizumab-uiyk、tildrakizumab、tildrakizumab-asmn、布罗索尤单抗 (burosumab)、burosumab-twza、erenumab、erenumab-aooe、托西莫单抗 (tositumomab)、莫格利珠单抗、moxetumomab、moxetumomab pasudotox、cemiplimab、polatuzumab、catumaxomab、polatuzumab vedotin及其组合,包括通过组合前述部分制备的双特异性抗体。

[0125] 作为非限制性实例,适合用作本文的活性化合物/治疗性化合物的示例性抑制性核酸包括:patisiran及其组合,包括通过组合前述部分制备的双特异性抗体。

[0126] 如本文所用,术语“化疗剂”是指在治疗以异常细胞生长为特征的疾病中具有治疗用途的任何化学或生物药剂。此类疾病包括肿瘤、赘生物和癌症以及以增生性生长为特征的疾病。这些药剂可起到抑制癌细胞持续增殖所依赖的细胞活性的作用。在所有实施方式的一些方面,化疗剂为细胞周期抑制剂或细胞分裂抑制剂。在本发明的方法中有用的化疗剂类别包括烷化剂/生物碱剂、抗代谢物、激素或激素类似物、以及各种抗赘生物药物。这些药剂中的大多数对癌细胞具有直接或间接毒性。在一个实施方式中,化疗剂为放射性分子。

[0127] 在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物是疏水性分子,例如雌二醇、睾酮、皮质酮、紫杉醇、阿霉素、顺铂和/或喜树碱。在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物是亲水性分子。

[0128] 在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物为多肽。在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物为抗体或抗体试剂。如本文所用,术语“抗体试剂”是指包含至少一个免疫球蛋白可变结构域或免疫球蛋白可变结构域序列并且特异性结合给定抗原的多肽。抗体试剂可包括抗体或包含抗体的抗原结合结构域的多肽。在一些实施方式中,抗体试剂可包括单克隆抗体或包含单克隆抗体的抗原结合结构域的多肽。例如,抗体可包含重(H)链可变区(本文中缩写为VH)和轻(L)链可变区(本文中缩写为VL)。在另一实例中,抗体包含两个重(H)链可变区和两个轻(L)链可变区。术语“抗体试剂”包括抗体的抗原结合片段(例如,单链抗体、Fab和sFab片段、F(ab')₂、Fd片段、Fv片段、scFv和结构域抗体(dAb)片段)以及完整的抗体。

[0129] 在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物具有大于约450的分子量。在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物具有大于约500的分子量。在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物的分子量大于450,例如大于450、大于500、大于550、大于600、大于1000或更高。在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物为极性的。

[0130] 在一些实施方式中,所述抑制性核酸为NFKBIZ抑制性核酸,例如,它与NFKBIZ mRNA结合并抑制NFKBIZ的表达。如本文所用,“NFKBIZ”或“NFKB抑制剂zeta”是指核因子 κ B (I κ B)蛋白的抑制剂I κ B ζ ,其在调节NF- κ B复合体中起关键作用。它是TNF- α 、IL-17A以及IL-36诱导型银屑病相关基因产物的直接转录激活剂,这些基因产物参与炎症信号转导、中性粒细胞趋化性和白细胞活化。因此,本文提供了治疗银屑病的方法,例如通过给予本文所述的包含作为NFKBIZ抑制剂(例如NFKBIZ抑制性核酸)的活性剂的组合物。来自许多物种的NFKBIZ序列为本领域已知的,例如,人NFKBIZ序列可在NCBI数据库中根据Gene ID 64332(例如,mRNAs NM_001005474.3(SEQ ID NO:5)和NM_031419.4(SEQ ID NO:6))获得。本领域技术人员可例如使用本文上述的自动化工具容易地设计NFKBIZ抑制性核酸。NFKBIZ抑制性核酸也可商购,例如,来自Dharmacon(Lafayette,CO)的目录号J-040680-06-0050。

[0131] 在一些实施方式中,抑制性核酸为TNF- α 抑制性核酸,例如,抑制性核酸结合TNF- α mRNA,并抑制TNF- α 的表达。如本文所用,“肿瘤坏死因子 α ”或“TNF- α ”是指牵涉入自身免疫性疾病、银屑病和其它病症中的促炎细胞因子。因此,本文提供了治疗炎症病症(例如银屑病)和/或减少或抑制炎症的方法,例如通过给予本文所述的包含作为TNF- α 抑制剂的活性剂(例如TNF- α 抑制性核酸)的组合物。来自许多物种的TNF- α 序列为本领域已知的,例如,人TNF- α 序列可在NCBI数据库中根据Gene ID 7124(例如,mRNA NM_000594.4(SEQ ID NO:7))获得。本领域技术人员可例如使用本文上述的自动化工具容易地设计TNF- α 抑制性核酸。TNF- α 抑制性核酸也可商购,例如来自Dharmacon(Lafayette,CO)的目录号J-010546-09-0002、J-010546-10-0002、J-010546-11-0002以及J-010546-12-0002。

[0132] 在一些实施方式中,所述抑制性核酸为IL-17抑制性核酸,例如,所述IL-17抑制性核酸结合IL-17mRNA,并抑制IL-17的表达。如本文所用,“白介素17”或“IL-17”是指通过激活牵涉入自身免疫性疾病、银屑病、类风湿性关节炎、多发性硬化症和其它病症中的T细胞而产生的促炎细胞因子。因此,本文提供了治疗炎症病症(例如银屑病)和/或减少或抑制炎症的方法,例如通过给予本文所述的包含作为IL-17抑制剂的活性剂(例如IL-17抑制性核酸)的组合物。来自许多物种的IL-17序列为本领域已知的,例如人IL-17序列可在NCBI数据库中根据Gene ID 3605(例如,mRNA NM_002190.3(SEQ ID NO:8))获得。本领域技术人员可例如使用本文上述的自动化工具容易地设计IL-17抑制性核酸。IL-17抑制性核酸也可商购获得,例如,来自Dharmacon(Lafayette,CO)的目录号J-007937-05-0002、J-007937-06-0002、J-007937-07-0002以及J-007937-08-0002。

| | | | | | | |
|--------------|-------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|
| SEQ ID NO: 5 | ctcctcttgc | cacgaggtca | gacggcaggt | tcttagagaa | aaaggctgct | tagctgctgc |
| | ttatcatgta | acctcaaaag | gaaactgac | gtctttctca | tgctgtcag | tacttgggtt |
| | attatcgctg | attacagctg | gaaacaattg | atttgcctct | acgtatttgt | gtgacttgac |
| | tcttcaaaaca | caaagggttaa | caggaagatc | tcgagggccc | tggtggaact | tcaccttttg |
| | gctttcttgg | cctgatgctg | aactctcgag | gttgagcccc | atatgggggt | tggcaggcag |
| | cagagagggc | cctttcaagg | tggtcgggta | aagaactcag | tgaaggaact | cctgttgac |
| | atccgaagtc | ataaacagaa | ggcttctggc | caagctgtgg | atgattttaa | gacacaaggt |
| | gtgaacatag | aacagttcag | agaattgaag | aacacagtat | catcacagtg | gaaaagggaa |
| | gggcccgat | cgttgcttga | tggacctgct | tgcaaaaggc | cagctctgtt | gcattcccaa |
| | tttttgacac | cacctcaaac | accaacgccc | ggggagagca | tggaaagtgt | tcatttcaat |
| | gaacccaac | aggagagcag | tgctgatctg | cttcagaaca | ttatcaacat | taagaatgaa |
| | tgacgcccgg | tttccctgaa | cacagttcaa | gttagctggc | tgaaccccgt | ggtggtccct |
| | cagagctccc | ccgcagagca | gtgtcaggac | ttccatggag | ggcaggtcct | ttctccacct |
| | cagaaatgcc | aaccattcca | agtcaggggc | tcccaacaaa | tgatagacca | ggcttccctg |
| | taccagtatt | ctccacagaa | ccagcatgta | gagcagcagc | cacactcac | ccacaacca |
| | actctggaat | acagtccctt | tcccatacct | ccccagtccc | ccgcttatga | accaaacctc |
| | tttgatggtc | cagaatcaca | gttttgccca | aaccaaagct | tagtttccct | tcttgggtgat |
| | caaagggaa | ctgagaatat | tgctaatccc | atgcagactt | cctccagtgt | tcagcagcaa |
| | aatgatgctc | acttgcacag | cttcagcatg | atgccacgca | gcgcctgtga | ggccatgggtg |
| | gggcacgaga | tggcctctga | ctttcaaac | acttactgc | cattctcaaa | catgggaaat |
| | ccaatgaaca | ccacacagtt | agggaaatca | cttttctcagt | ggcaggtgga | gcaggaagaa |
| | agcaaatgg | caaatatttc | ccaagaccag | tttctttcaa | aggatgcaga | tggtgacacg |
| | ttccttcata | ttgctgttgc | ccaagggaga | agggcacttt | cctatgttct | tgcaagaaag |
| | atgaatgcac | ttcacatgct | ggatattaaa | gagcacaatg | gacagagtgc | ctttcaggtg |
| | gcagtggctg | ccaatcagca | tctcattgtg | caggatctgg | tgaacatcgg | ggcacaggtg |
| | aacccacag | actgctgggg | aagaacacct | ctgcatgtgt | gtgctgagaa | gggccactcc |
| | caggtgcttc | aggcgattca | gaagggagca | gtgggaagta | atcagtttgt | ggatcttgag |
| | gcaactaact | atgatggcct | gactcccctt | cactgtgcag | tcatagccca | caatgctgtg |
| | gtccatgaac | tccagagaaa | tcaacagcct | cattcacctg | aagttcagga | gcttttactg |
| | aagaataaga | gtctggttga | taccattaag | tgccataatc | aaatgggagc | agcgggtgaa |
| | gcgaaggatc | gcaaaaagtg | ccgcacagcc | ctgcatttgg | cagctgaaga | agcaaatctg |
| | gaactcattc | gcctcttttt | ggagctgccc | agttgctgt | cttttgtgaa | tgcaaggct |
| | tacaatggca | acactgccct | ccatgttgct | gccagcttgc | agtatcgggt | gacacaatta |
| | gatgctgtcc | gcctgttgat | gaggaagggg | gcagacccaa | gtactcgga | cttgagaaac |
| | gaacagccag | tgcatttggt | tcccgatggc | cctgtgggag | aacagatccg | acgtatcctg |
| | aagggaaagt | ccattcagca | gagagctcca | ccgtattagc | tccattagct | tggagcctgg |
| | ctagcaacac | tcaactgtcag | ttaggcagtc | ctgatgtatc | tgtacataga | ccatttgcct |
| | tatattggca | aatgtaagtt | gtttctatga | aacaaacata | tttagttcac | tattatatag |

| | | | | | | |
|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|
| | tgggttatat | taaaagaaa | gaagaaaaat | atctaatttc | tcttggcaga | tttgcataat |
| | tcataccag | gtatctggga | tctagacatc | tgaattgat | ctcaatggta | acatgcctt |
| | caattaacag | tagcttttga | gtaggaaaag | actttgat | gtggcacaaa | acattattaa |
| | tatagctatt | gacagtcca | aagcaggtaa | attgtaaatg | tttctttaag | aaaaagcatg |
| | tgaaggaaa | aaggtaaata | cagcattgag | gcttcatttg | gccttagtcc | ctgggagtta |
| | ctggcgttg | acaggcttca | gtcattggac | tagatgaaag | gtgtccatgg | ttagaatttg |
| | atcctttgcaa | actgtatata | attgttattt | ttgtccttaa | aaatattgta | catacttgg |
| | tgtaaacatg | gtcatatttg | aaatgtataa | gtccataaaa | tagaaaagaa | caagtgaatt |
| | gttgctattt | aaaaaaattt | tacaattcct | actaaggagt | ttttattgtg | taatcactaa |
| | gtcctttgtag | ataaagcaga | tggggagtta | cggagtgtt | cctttactgg | ctgaaagata |
| | tattcgaatt | gtaaaagatg | tttttctcat | gcattgaaat | tatacattat | ttgtaggaaa |
| | ttgcatgctt | ttttttttt | ttctcccag | acagggtcct | gctctggcgc | ccaggctgga |
| | gtacagtggc | atgatcttgg | ctcactcag | ccttgacttg | ggctcaagt | atcctcctac |
| | ctgagccttc | tgagtaactg | gaactacagg | tgtgcaactc | tcgcctggct | aattttttat |
| | ttttgttaca | ggcaggatct | tgccaccttg | cccaggctgg | tcttgaactc | ctgagctcat |
| | gccatctgcc | tgcccttagtc | tcccaaaatg | ctgggattac | aggagtgagc | caccatgccc |
| | ggctggcagt | tgcatggaag | agaacacctc | tttatggctt | accctctaga | atctctaatt |
| | tatgtgttct | gttgaatttt | ttgtttttt | acctttatg | aaacaaacaa | aagtcatgat |
| | tgaacatat | cttctctgtt | tctgttgta | aatgatgata | atgtgccatg | atgtttata |
| | tatacattc | agaaaaagt | ttatttttt | ataacattct | attaacatta | ttttgcttgc |
| | cgctggcatg | ctgaggaat | gtatttgct | ttgattacac | actaagtttt | tgtaataaat |
| | ttgactcatt | aaaaacctt | tttttttaa | aaaaaaaaa | aagaaaatct | cattagttaa |
| | cttatctttg | cagctgagta | cttaaatct | ttttaaag | atacccttg | gattgatcac |
| | attgtttgac | ccagtatgtc | ttgtagacac | gttagttata | atcacctgt | atctctaatt |
| | atggtgtgat | atgaaccagt | ccattccat | tggaaaaact | gatggtttta | aataaactaa |
| | ttcactaata | | | | | |
| SEQ ID NO: 6 | gtactggccc | gcgccgtccg | cccgccgaca | gtccctgag | ccagcccggg | aggcagccgc |
| | gcgagcagag | ccggtggcgc | aggtgtcggg | gtcctcgagc | gcccagcctg | ggagcatgat |
| | tgtagcaaac | ctgctggacg | acagcccgcg | cggagagggg | ctgcccggacg | cgccggccgg |
| | ctcggccctc | atgaccagcc | cgctcaacct | gagctacttc | taaggccgct | cgcccccgcg |
| | cgccgccccg | ggcgctcg | acgcccagctg | ctcggctctg | ggccccctgg | cgccccgctc |
| | gcccggctcc | gactcctccg | acttctcctc | tgccctcgtc | gtgtcctcct | cgccgcccgt |
| | ggagtcccgg | tcgagagcgc | gcgcccgcgc | cgagcgcag | ccagttgagc | cccatatggg |
| | ggttggcagg | cagcagagag | gcccctttca | aggtgttcgg | gtaaaagaact | cagtgaagga |
| | actcctgttg | cacatccgaa | gtcataaaca | gaaggcttct | ggccaagctg | tgtagtattt |
| | taagacacaa | ggtgtgaaca | tagaacagtt | cagagaattg | aagaacacag | tatcatcacg |
| | tgggaaaagg | aaagggcccg | attcgttgtc | tgatggacct | gcttgcaaaa | ggccagctct |
| | gttgcattcc | caatttttga | caccacctca | aacaccaacg | cccggggaga | gcatggaaga |
| | tgttcatctc | aatgaacca | aacaggagag | cagtgtctgat | ctgcttcaga | acattatcaa |
| | cattaagaat | gaatgcagcc | ccgtttccct | gaacacagtt | caagttagct | ggctgaaccc |
| | cggtgtggtc | cctcagagct | ccccgcgaga | gcagtgtcag | gaactccatg | gaggcaggt |
| | cttttctcca | cctcagaaat | gccaaaccatt | ccaagtcagg | ggctcccaac | aaatgataga |
| | ccaggcttcc | ctgtaccagt | attctccaca | gaaccagcat | gtagagcagc | agccacacta |
| | caccacacaa | ccaactctgg | aatacagtcc | ttttcccata | cctcccagct | ccccgctta |
| | tgaaccaaac | ctctttgatg | gtccagaatc | acagttttgc | ccaaacacaa | gcttagtttc |
| | ccttcttggt | gatcaaaagg | aatctgagaa | tattgtcaat | cccagtcaga | cttctccag |
| | tgttcagcag | caaaatgatg | ctcacttgca | cagcttcagc | atgatgcca | gcagcgcctg |
| | tgaggccatg | gtggggcagc | agatggcctc | tgactcttca | aacacttcac | tgccattctc |
| | aaacatggga | aatccaatga | acaccacaca | gttagggaaa | tcactttttc | agtgccaggt |
| | ggagcaggaa | gaaagcaaat | tggcaaatat | ttcccaagac | cagtttcttt | caaggatgc |
| | agatggtgac | acgttccctc | atattgtctg | tgcccaaggg | agaagggcac | ttctctatgt |
| | tcttgcaaga | aaagatgaatg | cacttcacat | gctggatatt | aaagagcaca | atggacagag |
| | tgcccttcag | gtggcagtg | ctgccaatca | gcattctcatt | gtgcaggatc | tggtgaacat |
| | cggggcacag | gtgaacacca | cagactgctg | gggaagaaca | cctctgcatg | tggtgctga |
| | gaagggccac | tcccaggtgc | ttcaggcgat | tcagaagggg | gcagtgggaa | gtaatcagtt |
| | tgtaggctct | gaggcaacta | actatgatgg | cctgactccc | cttactgtg | cagtcatagc |
| | ccacaatgct | gtggtccatg | aactccagag | aaatcaacag | cctcattcac | ctgaagtcca |
| | ggagctttta | ctgaagaata | agagtctggt | tgataccatt | aagtgcctaa | ttcaaatggg |
| | agcagcgggtg | gaagcgaagg | atcgcaaaag | tggccgcaca | gccctgcatt | tggcagctga |

| | |
|--------------|---|
| | agaagcaaat ctggaactca ttgcctcctt tttggagctg cccagttgcc tgtcttttgt gaatgcaaa gcttacaatg gcaacactgc cctccatggt gctgccagct tgcagtatcg gttgacacaa ttatagctgtg tccgcctggt gatgaggaag ggagcagacc caagtactcg gaacttggag aacgaacagc cagtgcattt gtttccgat ggccctgtgg gagaacagat ccgacgtatc ctgaagggaa agtccattca gcagagagct ccaccgtatt agctccatta gcttggagcc tggtagcaa cactcactgt cagttaggca gtcctgatgt atctgtacat agaccatttg ccttatattg gcaaatgtaa gttgtttcta tgaacaaac atatttagtt cactattata tagtgggtta tattaaaaga aaagaagaaa aatatctaata ttctctggc agatttgc atttcatacc caggtatctg ggatctagac atctgaattt gatctcaatg gtaacattgc cttcaattaa cagtagcttt tgagtaggaa aggacttga tttgtggcac aaaacattat taatatagct attgacagtt tcaaagcagg taaattgtaa atgtttcttt aagaaaaagc atgtgaaagg aaaaaggtaa atacagcatt gaggcttcat ttggccttag tccctgggag ttaactggcg tggacaggct tcagtcatg gactagatga aaggtgtcca tggttagaat ttgatccttg caaactgtat ataattgtta tttttgtcct taaaaatatt gtacatactt gttgtttaa atggtcatat ttgaaatgta taagtccata aatagaaaa gaacaagtga attgttgcta tttaaaaaaa ttttacaatt ctactaagg agtttttatt gtgtaatcac taagtcttg tagataaagc agatggggag ttacggagt gttcctttac tggctgaaag atataatcga attgtaaaga tgctttttct catgcattga aattatacat tatttttagg gaattgcatg cttttttttt tttttctccc gagacagggt ctgtctctgg cgccaggct ggagtacagt ggcatgatct tggctcaact cagccttgac ttgggctcaa gtgatcctcc tacctgagcc ttctgagtaa ctggaactac aggtgtgcac tcctgcctg gctaattttt tttttttgt acagggcagga tcttgccacc ttgcccagge tggcttgaa ctcctgagct catgccatct gcctgcctta gtctccaaa atgctgggat tacagagtg agccaccatg cccggctggc agttgcatgg aagagaacac ctctttatgg cttaacctc agaatttcta atttatgtg tctgttgaaa tttttgttt tttaccttta ttgaaacaac aaaaagtcoag tattgaaaca tatcttctgt tttctgttg tcaaagtatg ataattgtcc atgatgtttt atatatatca ttcagaaaaa gttttatttt ttaataacat tctattaaga ttattttgct tgccgtggc atgctgagg aatgtatttg gctttgatta cacactaac ttttgtaata aatttgactc attaaaaacc ttttttttt aaaaaaaaa aaaaagaaaa tctcattagt gaacttatct ttgcagctga gtaactaaat tctttttaa aagatccct ttggattgat cacattgttt gaccagtat gtctgtaga cagtttagtt ataaccact tgtatctcta aatatggtg gatatgaacc agtccattca cattgaaaa actgatggtt ttaataaac taattcaacta ata |
| SEQ ID NO: 7 | agcagacgct ccctcagcaa ggacagcaga ggaccagcta agagggagag aagcaactac agacccccct tgaaaaaaac cctcagacgc cacatcccct gacaagctgc caggcaggtt ctcttctctc cacatactga cccacggctc caccctctct cccctggaaa ggacacctag agcaactgaaa gcatgatccg ggacgtggag ctggccgagg aggcgctccc caagaagaca ggggggcccc agggctccag gcggtgcttg ttctcagcc tcttctcctt cctgatcgtg gcagggccca ccacgctctt ctgctgctg cactttggag tgatcggccc ccagagggaa gagttcccga gggacctctc tctaatacgc cctctggccc aggcagtcag atcatctct cgaaccccga gtgacaagcc ttagcccat gttgtagcaa accctcaagc tgaggggag ctccagtgcc tgaaccgccc ggccaatgcc ctccctggcca atggcgtgga gctgagagat aaccagctgg tggtgccatc agagggcctg tacctcatct actcccaggt cctcttcaag ggccaaggct gccctccac ccatgtgctc ctcaaccaca ccatcagccg catcgccgtc tcctaccaga ccaaggtcaa cctcctctct gccatcaaga gccctgcca gaggagacc ccagaggggg ctgagggcaa gcctctggtat gagcccatct atctgggagg ggtcttccag ctggagaagg gtgaccgact cagcgtgag atcaatcggc ccgactatct cgaactttgcc gagttctggc aggtctactt tgggatcatt gccctgtgag gaggacgaac atccaacct cccaaacgcc tcccctgccc caatcccctt attaccccct ccttcagaca ccctcaacct cttctggctc aaaaagagaa ttgggggctt agggctggaa cccaagctta gaactttaag caacaagacc accacttoga aacctgggat tcaggaatgt gtggcctgca cagtgaagt ctggcaacca ctaagaattc aaactggggc ctccagaact cactggggcc tacagcttg atccctgaca tctggaatct ggagaccagg gaggcctttg tctggccag aatgctgcag gacttgagaa gacctcactc agaaattgac acaagtggac cttaggcctt cctctctcca gatgtttcca gacttcttg agacacggag cccagccctc ccatgggagc cagctccctc tatttatggt tgcaactgtg attatttatt atttatttat tattattta ttacagatg aatgtattta tttgggagac cggggatacc tgggggacc aatgtaggag ctgccttggc tcagacatgt tttccgtgaa aacggagctg aacaataggc tgttcccag tagcccctg gcctctgtgc cttcttttga ttatgttttt taaaatattt atctgattaa gttgtctaaa |

| | |
|--------------|--|
| | caatgctgat ttggtagacca actgtcactc attgtcgagc ctctgctccc caggggagtt gtgtctgtaa tcgccctact attcagtgcc gagaataaaa gtttgcttag aaaagaaa |
| SEQ ID NO: 8 | gtccatctca tagcaggcac aaactcatcc atccccagtt gattggaaga aacaacgatg actcctggga agacctcatt ggtgtcactg ctactgctgc tgagcctgga ggccatagtg aaggcaggaa tcacaatccc acgaaatcca ggatgcccaa attctgagga caagaacttc ccccggactg tgatggtaaa cctgaacatc cataaccgga ataccaatac caatcccaaa aggctcctcag attactacaa ccgatccacc tcaccttggga atctccaccg caatgaggac cctgagagat atcccctctgt gatctgggag gcaaagtgcc gccacttggg ctgcatcaac gctgatggga acgtggacta ccacatgaac tctgtcccca tccagcaaga gatcctggtc ctgcgaggg agcctccaca ctgccccaac tccttccggc tgagaagat actggtgtcc gtgggctgca cctgtgtcac cccgattgtc caccatgtgg cctaagagct ctggggagcc cacactcccc aaagcagtta gactatggag agccgaccca gccctcagg aacctcatc cttcaaagac agcctcattt cggactaaac tcattagagt tcttaaggca gtttgtccaa ttaaagcttc agaggaaca cttggccaag atatgagatc tgaattacct ttccctcttt ccaagaagga aggtttgact gagtaccaat ttgcttcttg tttacttttt taagggttt aagtatttta tgtatttaat atgcccctgag ataactttgg ggtataagat tccattttaa tgaattacct actttatttt gtttgtcttt ttaaagaaga taagattctg ggcttgggaa ttttattatt taaaaggtaa aacctgtatt tatttgagct atttaaggat ctatttatgt ttaagtattt agaaaaaggt gaaaaagcac tattatcagt tctgcctagg taaatgtaag atagaattaa atggcagtcg aaaatttctg agtctttaca acatacggat atagatttct ctcctctttg tttttaaag ttataacatg gctgaaaaga aagattaaac ctactttcat atgtattaat ttaaattttg caatttgttg aggttttaca agagatacag caagtctaac tctctgttcc attaaaccct tataataaaa tccttctgta ataataaagt tcaaaagaa aatgtttatt tgttctcatt aaatgtattt tagcaaacct agctcttccc tattgggag agttatgcaa attctcctat aagcaaaaaca aagcatgtct ttgagtaaca atgacctgga aatacccaaa attccaagt ctcgatttca catgccttca agactgaaca ccgactaagg ttttcatact attagccaat gctgtagaca gaagcatttt gataggaata gagcaataa gataatggcc ctgaggaatg gcatgtcatt attaagatc ataggggaa aatgaaacc tccccaaat acaagaagt ctgggaggag acattgtctt cagactacaa tgtccagttt ctcccctaga ctccaggctc ctttggagat taaggcccct cagagatcaa cagaccaaca tttttctctt cctcaagcaa cactcctag gctggcttc tgtctgatca aggcaccaca caaccagaa aggagctgat ggggcagaac gaactttaag tatgagaaaa gttcagccca agtaaaataa aaactcaatc acattcaatt ccagagtagt ttaagtttc acatcgtaac cattttcggc c |

[0133] 在任何实施方式的一个方面,本文提供了在需要其的受试者中治疗炎症病症的方法和/或减少炎症的方法,所述方法包括向所述受试者给予本文所述的组合物,所述组合物包含至少一种IL和至少一种抗炎剂。在任何方面的一些实施方式中,所述抗炎剂为靶向一种或多种促炎基因产物(例如IL-17、TNF- α 和/或NFKBIZ)的抑制性核酸。

[0134] 如本文所用,“炎症”是指对有害刺激(例如病原体、受损细胞或刺激物)的复杂生物反应。炎症是生物体去除伤害性刺激以及启动组织愈合过程的保护性尝试。因此,术语“炎症”包括导致产生促炎细胞因子、炎症介质和/或由因此产生的细胞因子的作用引起的相关的下游细胞事件(例如发烧、积液、肿胀、脓肿形成以及细胞死亡)的任何细胞过程。炎症可包括急性反应(即炎症过程活跃的反应)和慢性反应(即以缓慢进展和新结缔组织形成特征的反应)。可通过所涉及的细胞类型来区分急性炎症和慢性炎症。急性炎症通常涉及多形核中性粒细胞,而慢性炎症通常以淋巴组织细胞和/或肉芽肿反应为特征。

[0135] 炎症病症是以炎症组织(例如,白细胞(例如淋巴细胞、中性粒细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、嗜碱性粒细胞和树突状细胞)浸润)或炎症过程为特征的任何疾病状态,所述炎症过程引起或促成疾病状态的异常临床和组织学特征。炎症病症包括但不限于皮肤的炎症病症、肺的炎症病症、关节的炎症病症、肠道的炎症病症、眼的炎症病症、内分泌系统的炎症病症、心血管系统的炎症病症、肾的炎症病症、肝的炎症病症、中枢神经系统的炎症病症或脓毒症相关病症。在一些实施方式中,炎症病症与创伤愈合有关。在一些实施方式中,根据本文所述的方法治疗的炎症可为皮肤炎症、药物滥用或药物成瘾引起的炎症、与感染相关的炎症、角膜炎、视网膜炎、脊髓炎症、与器官再生相关的炎症、以及肺部炎症。

[0136] 在一些实施方式中,所述炎症病症为皮肤的炎症病症。在该方面的一些实施方式中,所述炎症病症为自身免疫性疾病。

[0137] 皮肤的炎症病症的非限制性实例可包括银屑病(例如Sweet综合征),坏疽性脓皮

病,角膜下脓疱性皮肤病,持久性隆起红斑,白塞病或急性泛发性发疹性脓疱病,大疱性疾病,银屑病,导致脓疱病变的病症、痤疮、寻常痤疮、皮炎(例如接触性皮炎、特应性皮炎、脂溢性皮炎、湿疹性皮炎、裂隙性湿疹(eczema craquelée)、光变应性皮炎、光毒性皮炎、植物光性皮炎、放射性皮炎、淤积性皮炎或变应性接触性皮炎),湿疹,由外伤、烧伤、皮肤或黏膜缺血导致的溃疡和糜烂,多种形式的鱼鳞病,大疱性表皮松解症(epidermolysis bullosae),增生性瘢痕,瘢痕疙瘩(keloids),自然老化的皮肤变化,光老化,皮肤机械剪切引起的摩擦起泡,由局部使用皮质类固醇导致的皮肤萎缩以及黏膜炎症(例如唇炎、嘴唇干裂、鼻刺激、黏膜炎和外阴阴道炎)。

[0138] 在一些实施方式中,炎性病症可为自身免疫性疾病。自身免疫性疾病的非限制性实例可包括:1型糖尿病、系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、银屑病、炎性肠病、克罗恩病、以及自身免疫性甲状腺炎。

[0139] 作为非限制性实例,炎性病症可为肺的炎性病症,例如哮喘、支气管炎、慢性支气管炎、细支气管炎、肺炎、鼻窦炎、肺气肿、成人呼吸窘迫综合征、肺部炎症、肺纤维化以及囊性纤维化(其可能额外或替代地涉及胃肠道或其它组织)。作为非限制性实例,炎性病症可为关节的炎性病症,例如类风湿性关节炎、类风湿性脊柱炎、幼年类风湿性关节炎、骨关节炎、痛风性关节炎、感染性关节炎、银屑病关节炎和其它关节炎病症。作为非限制性实例,炎性病症可为肠道或肠的炎性病症,例如炎性肠病、克罗恩病、溃疡性结肠炎以及远端直肠炎。作为非限制性实例,炎性病症可为眼部炎性病症,例如干眼症、葡萄膜炎(包括虹膜炎)、结膜炎、巩膜炎以及干燥性角膜结膜炎。作为非限制性实例,炎性病症可为内分泌系统的炎性病症,例如自身免疫性甲状腺炎(桥本病)、Graves病、I型糖尿病以及肾上腺皮质的急性和慢性炎症。作为非限制性实例,炎性病症可为心血管系统的炎性病症,例如冠状动脉梗塞损伤、外周血管疾病、心肌炎、血管炎、狭窄再血管化、动脉粥样硬化和与II型糖尿病相关的血管疾病。作为非限制性实例,炎性病症可为肾的炎性病症,例如肾小球肾炎、间质性肾炎、狼疮性肾炎和继发于Wegener病的肾炎、继发于急性肾炎的急性肾衰竭、梗阻后综合征以及肾小管缺血。作为非限制性实例,炎性病症可为肝的炎性病症,例如肝炎(由病毒感染、自身免疫反应、药物治疗、毒素、环境因素引起,或作为原发性紊乱的继发性后果)、胆道闭锁、原发性胆汁性肝硬化以及原发性硬化性胆管炎。作为非限制性实例,炎性病症可为中枢神经系统的炎性病症,例如多发性硬化症和神经退行性疾病(例如阿尔茨海默病或与HIV感染相关的痴呆)。作为非限制性实例,炎性病症可为中枢神经系统的炎性病症,例如MS、所有类型的脑炎和脑膜炎、急性播散性脑脊髓炎、急性横贯性脊髓炎、视神经脊髓炎、局灶性脱髓鞘综合征(例如,Balo同心性硬化和MS的马尔堡变体)、进行性多灶性白质脑病、亚急性硬化性全脑炎、急性出血性白质脑炎(赫斯特病)、人类嗜T淋巴细胞病毒1型相关脊髓病/热带痉挛性轻瘫、德维克病、人免疫缺陷病毒脑病、人免疫缺陷病毒空泡性脊髓病、周围神经病、格林-巴利综合征以及其它免疫介导的神经病、和重症肌无力。作为非限制性实例,炎性病症可为脓毒症相关病症,例如系统性炎症反应综合征(SIRS)、脓毒性休克或多器官功能障碍综合征(MODS)。炎性病症的其它非限制性实例包括内毒素休克、牙周病、多软骨炎、关节周围紊乱、胰腺炎、系统性红斑狼疮、干燥综合征、血管炎结节病淀粉样变性、过敏、过敏反应、系统性肥大细胞增多症、盆腔炎、多发性硬化症、多发性硬化症(MS)、乳糜泻、格林-巴利综合征、硬化性胆管炎、自身免疫性肝炎、雷诺现象、Goodpasture综合征、韦格纳肉芽肿、风湿

性多肌痛、颞动脉炎/巨细胞动脉炎、慢性疲劳综合征(CFS)、自身免疫性艾迪生病、强直性脊柱炎、急性播散性脑脊髓炎、抗磷脂抗体综合征、再生障碍性贫血、特发性血小板减少性紫癜、重症肌无力、眼阵挛性肌阵挛综合征、视神经炎、Orb甲状腺炎、天疱疮、恶性贫血、犬多关节炎、Reiter综合征、多发性大动脉炎、温性自身免疫性溶血性贫血、纤维肌痛(FM)、自身炎症PAPA综合征、家族性地中海热、风湿性多肌痛、结节性多动脉炎、churg strauss综合征、纤维化肺泡炎、过敏性肺炎、过敏性曲霉病、隐源性肺嗜酸性粒细胞增多症、闭塞性细支气管炎机化性肺炎、荨麻疹、狼疮性肝炎、家族性感冒自身炎症综合征、Muckle-Wells综合征、新生儿多系统炎症性疾病、移植排斥(包括同种异体移植物排斥和移植物抗宿主病)、中耳炎、慢性阻塞性肺病、鼻窦炎、慢性前列腺炎、再灌注损伤、矽肺、炎症性肌病、超敏反应以及偏头痛。在一些实施方式中,炎性病症与感染相关,例如病毒、细菌、真菌、寄生虫或朊病毒感染。在一些实施方式中,炎性病症与变态反应相关。在一些实施方式中,炎性病症与污染物(例如,石棉沉着病、矽肺病或铍病)相关。

[0140] 在一些实施方式中,所述炎性病症可为局部病症,例如皮疹或变态反应。在一些实施方式中,所述炎症与创伤有关。

[0001] 抗炎剂为本领域已知的,并且作为非限制性实例可包括非甾体类抗炎药(NSAID,例如阿司匹林、布洛芬或萘普生)、皮质类固醇,包括糖皮质激素(例如皮质醇、强的松、泼尼松龙、甲基泼尼松龙、地塞米松、倍他米松、曲安奈德和倍氯米松)、甲氨蝶呤、柳氮磺胺吡啶、来氟米特、抗TNF药物、环磷酰胺、促消退药物(pro-resolving drugs)、霉酚酸酯、或阿片类药物(例如内啡肽、脑啡肽和强啡肽)、类固醇、镇痛剂、巴比妥类药、羟考酮、吗啡、利多卡因、和促炎基因产物的抑制剂(例如,如本文上文所述的抑制性核酸)。促炎基因在本领域中是已知的,并且作为非限制性实例包括NKFBIZ、TNF- α 、IL-17、IL-36 (IL-37 α 、IL-36 β 和IL-36 γ)、IL-22、IL-17C、CXCL8、CCL20、IL23A、DEFB4和LCN2。

[0141] 如本文所用,除非进一步指明,“组合物”是指任何IL、IL的组合或一种或多种IL与一种或多种本文所述的活性剂的组合。

[0142] 在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的包含至少一种IL和任选的活性化合物的组合物或组合可被配制为口服、皮下、经皮、瘤内、静脉内、皮内或肠胃外剂型。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物或组合可被配制用于递送至黏膜,例如递送至鼻、口腔或阴道黏膜。在任何方面的一些实施方式中,口服剂型可为包含含有至少一种IL和任选的活性化合物的组合物可降解胶囊。

[0143] 在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物或组合包含至少一种IL和任选的活性化合物,可被配制为皮下、经皮或局部剂型。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物或组合包含至少一种IL和核酸,可被配制为皮下、经皮或局部剂型。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物或组合包含至少一种IL和核酸,可被配制为用于治疗皮肤病(例如银屑病、基底细胞癌、鳞状细胞癌、特应性皮炎、脱发或老化)的方法中的皮下、经皮或局部剂型。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物或组合包含至少一种IL和任选的活性化合物,可被配制为局部剂型。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物或组合包含至少一种IL和核酸,可被配制为用于治疗皮肤病(例如银屑病、基底细胞癌、鳞状细胞癌、特应性皮炎、脱发或老化)的方法中的局

部剂型。

[0144] 在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物或组合包含至少一种IL和siRNA,可被配制为皮下、经皮或局部剂型。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物或组合包含至少一种IL和siRNA,可被配制为用于治疗皮肤病(例如银屑病、基底细胞癌、鳞状细胞癌、特应性皮炎、脱发或老化)的方法中的皮下、经皮或局部剂型。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物或组合包含至少一种IL和siRNA,可被配制为局部剂型。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物或组合包含至少一种IL和siRNA,可被配制为用于治疗皮肤病(例如银屑病、基底细胞癌、鳞状细胞癌、特应性皮炎、脱发或老化)的方法中的局部剂型。

[0145] 在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物或组合包含至少一种IL和pDNA,可被配制为皮下、经皮或局部剂型。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物或组合包含至少一种IL和pDNA,可被配制为用于治疗皮肤病(例如银屑病、基底细胞癌、鳞状细胞癌、特应性皮炎、脱发或老化)的方法中的皮下、经皮或局部剂型。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物或组合包含至少一种IL和pDNA,可被配制为局部剂型。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物或组合包含至少一种IL和pDNA,可被配制为用于治疗皮肤病(例如银屑病、基底细胞癌、鳞状细胞癌、特应性皮炎、脱发或老化)的方法中的局部剂型。

[0146] 在任何方面的一些实施方式中,本文所述的为包含至少一种如本文所述的IL和至少一种活性化合物的组合物。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的为基本上由至少一种如本文所述的IL和至少一种活性化合物组成的组合物。在任何方面的一些实施方式中,本文所述的为由至少一种如本文所述的IL和至少一种活性化合物组成的组合物。在任何方面的一些实施方式中,所述组合物包含至少一种如本文所述的IL和至少一种活性化合物,作为单一疗法(例如,不向受试者给予针对该病症的另一种治疗)给予。

[0147] 在任何实施方式的一个方面中,本文所述的为药物组合物,所述药物组合物包含至少一种如本文所述的IL与至少一种活性化合物的组合。在一些实施方式中,所述药物组合物包含至少一种IL和一种或多种如本文所述的活性化合物。在一些实施方式中,所述药物组合物基本上由如本文所述的一种或多种活性化合物和至少一种IL组成。在一些实施方式中,所述药物组合物由如本文所述的一种或多种活性化合物和至少一种IL组成。在一些实施方式中,所述药物组合物基本上由如本文所述的一种或多种活性化合物和至少一种IL的水溶液组成。在一些实施方式中,所述药物组合物由如本文所述的一种或多种活性化合物和至少一种IL的水溶液组成。

[0148] 本文所述的组合物、制剂和组合可包含至少一种如本文所述的IL,例如一种IL、两种IL、三种IL或更多种。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物、制剂或组合可包含至少一种如本文所述的IL和CAGE(胆碱和香叶根)。

[0149] 在任何方面的一些实施方式中,所述至少一种活性化合物和所述至少一种离子液体进一步与至少一种非离子表面活性剂组合。如本文所用,“非离子表面活性剂”是指缺乏净离子电荷并且在水性介质中不离解到明显程度的表面活性剂。非离子表面活性剂的性质很大程度上取决于分子中亲水基团和疏水基团的比。亲水基团包括氧基亚乙基(-OCH₂CH₂-)和羟基基团。通过改变疏水分子(例如脂肪酸)中这些基团的数量,获得范围从强疏水性和

水不溶性化合物(例如单硬脂酸甘油酯)到强亲水性和水溶性化合物(例如聚乙二醇)的物质。介于这两个极端之间的类型包括亲水基团和疏水基团的比更均衡的物质,例如聚乙二醇酯和醚以及脱水山梨糖醇衍生物。合适的非离子表面活性剂可在Martindale, The Extra Pharmacopoeia, 第28版, 1982, The Pharmaceutical Press, London, Great Britain, pp. 370-379中找到。非离子表面活性剂的非限制性实例包括聚山梨醇酯、TweenTM、环氧乙烷和环氧丙烷的嵌段共聚物、脂肪酸的乙二醇和甘油酯及其衍生物、脂肪酸的聚氧乙烯酯(聚乙二醇酯)、脂肪酸的聚氧乙烯醚及其衍生物(聚乙二醇醚)、聚乙烯醇、以及脱水山梨糖醇酯、脱水山梨糖醇单酯、由脂肪醇和聚乙二醇形成的醚、聚氧乙烯-聚丙二醇、烷基多糖苷、聚西托醇1000、鲸蜡硬脂醇、鲸蜡醇、椰油酰胺DEA、椰油酰胺MEA、癸基葡萄糖苷、癸基聚葡萄糖、单硬脂酸甘油酯、IGEPAL CA-630、isoceteth-20、月桂基葡萄糖苷、麦芽糖苷、月桂酸甘油酯、抗霉枯草菌素、Nonidet P-40、壬苯醇醚-9、壬苯醇醚、NP-40、八乙二醇单十二烷基醚、N-辛基 β -D-硫代吡喃葡萄糖苷、辛基葡萄糖苷、油醇、PEG-10向日葵甘油酯、五乙二醇单十二烷基醚、聚多卡醇、泊洛沙姆、泊洛沙姆407、聚乙氧基化牛油胺、聚甘油聚蓖麻油酸酯、脱水山梨糖醇、脱水山梨糖醇单月桂酸酯、脱水山梨糖醇单硬脂酸酯、脱水山梨糖醇三硬脂酸酯、硬脂醇、表面活性素(surfactin)、Triton X-100等。在任何方面的一些实施方式中,至少一种非离子表面活性剂具有中性亲水性头部基团。

[0150] 如本文所用,“聚山梨醇酯”是指衍生自用脂肪酸酯化的乙氧基化脱水山梨糖醇(山梨糖醇的衍生物)的表面活性剂。聚山梨醇酯的常见品牌名称包括ScatticsTM、AlkestTM、CanarcelTM和TweenTM。示例性的聚山梨醇酯包括聚山梨醇酯20(聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单月桂酸酯)、聚山梨醇酯40(聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单棕榈酸酯)、聚山梨醇酯60(聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单硬脂酸酯)以及聚山梨醇酯80(聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单油酸酯)。

[0151] 在任何方面的一些实施方式中,所述至少一种非离子表面活性剂(例如,至少一种聚山梨醇酯)以约0.1%w/v至约50%w/v的浓度存在。在任何方面的一些实施方式中,所述至少一种非离子表面活性剂(例如,至少一种聚山梨醇酯)以0.1%w/v至50%w/v的浓度存在。在任何方面的一些实施方式中,所述至少一种非离子表面活性剂(例如,至少一种聚山梨醇酯)以约1%w/v至约5%w/v的浓度存在。在任何方面的一些实施方式中,所述至少一种非离子表面活性剂(例如,至少一种聚山梨醇酯)以1%w/v至5%w/v的浓度存在。在任何方面的一些实施方式中,所述至少一种非离子表面活性剂(例如,至少一种聚山梨醇酯)以约3%w/v至约10%w/v的浓度存在。在任何方面的一些实施方式中,所述至少一种非离子表面活性剂(例如,至少一种聚山梨醇酯)以3%w/v至10%w/v的浓度存在。在任何方面的一些实施方式中,所述至少一种非离子表面活性剂(例如,至少一种聚山梨醇酯)以小于约5%w/v的浓度存在。在任何方面的一些实施方式中,所述至少一种非离子表面活性剂(例如,至少一种聚山梨醇酯)以小于5%w/v的浓度存在。

[0152] 在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的至少一种活性化合物和至少一种IL的组合以一种或多种纳米颗粒提供。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的至少一种活性化合物和至少一种IL的组合包含含有活性化合物的纳米颗粒,所述纳米颗粒在包含如本文所述的至少一种IL的组合物的溶液或悬浮液中。

[0153] 在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物(例如包含至少一种IL和活

性化合物的组合物)可进一步包含药学上可接受的载体。如本文所用,当其涉及组合物、载体、稀释剂和试剂时,术语“药学上可接受的”、“生理上可耐受的”及其语法变体可互换使用,并表示所述材料能够给予至哺乳动物或给予到哺乳动物上而不产生不期望的生理效应(如恶心、头晕、胃部不适等)。除非有此需要,药学上可接受的载体将不促进针对与其掺合的药剂的免疫应答的提高。包含溶解或分散于其中的活性成分的药理组合物的制备为本领域所熟知,且无需基于剂型进行限制。通常,此类组合物被制备为可注射的液体溶液或悬浮液,然而,也可制备适合在使用前在液体中溶解或悬浮的固体形式。所述制剂也可乳化或作为脂质体组合物存在。可将所述活性成分与药学上可接受且与所述活性成分兼容的赋形剂混合,并处于适合用于本文所述的治疗方法的量。例如,合适的赋形剂包括水、盐水、右旋糖、甘油、乙醇等,及其组合。此外,如果需要,所述组合物可包含增强活性成分的效果的少量的辅助物质,例如润湿剂或乳化剂、pH缓冲剂等。本公开的治疗性组合物可包含其组分的药学上可接受的盐。药学上可接受的盐包括例如与诸如盐酸或磷酸的无机酸或诸如醋酸、酒石酸、扁桃酸的有机酸形成的酸加成盐(与多肽的游离氨基基团形成)。与游离羧基基团形成的盐也可例如衍生自诸如氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、氢氧化钙或氢氧化铁的无机碱,以及诸如异丙胺、三甲胺、2-乙氨基乙醇、组氨酸、普鲁卡因等的有机碱。生理上可耐受的载体在本领域中是众所周知的。示例性的液体载体为除活性成分和水之外不包含物质的无菌水性溶液,或包含缓冲剂(例如处于生理pH值的磷酸钠、生理盐水或两者皆有,如磷酸盐缓冲盐水)的无菌水性溶液。更进一步,水性载体可包含多于一种的缓冲盐,以及盐(例如氯化钠和氯化钾)、右旋糖、聚乙二醇和其它溶质。除了水之外,液体组合物还可包含液相,液相组合物还可包含排除水之外的液相。此类额外的液相的示例为甘油、植物油(如棉籽油)以及水-油乳液。在治疗特定紊乱或病症中将有效的如本文所述方法中使用的活性剂的量将取决于紊乱或病症的性质,并且可通过标准临床技术确定。在本领域的标准参考文本 Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol 中描述了合适的药物载体。例如,通过将 1.5 重量%的活性成分溶解在 0.9% 氯化钠溶液中来制备适合通过注射给予的肠胃外组合物。

[0154] 在药物载体的上下文中,术语“载体”是指与治疗剂一起给予的稀释剂、辅助剂、赋形剂或媒介。此类药物载体可为无菌液体,例如水和油,包括石油、动物、植物或合成来源的油,例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。当药物组合物静脉内给予时,水为优选的载体。盐水溶液以及右旋糖和甘油水性溶液也可用作液体载体,特别是用于可注射溶液。合适的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇等。如果需要,所述组合物还可含有少量的润湿剂或乳化剂、或pH缓冲剂。这些组合物可采取溶液、悬浮剂、乳剂、片剂、丸剂、胶囊、散剂、缓释剂型等形式。可用传统的粘合剂和载体(例如甘油三酯)将所述组合物配制成栓剂。口服剂型可包含标准载体,例如药物级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。Remington's Pharmaceutical Sciences, 第18版, Gennaro 编著 (Mack Publishing Co., 1990年) 中描述了合适的药物载体的实例。剂型应适合给予方式。

[0155] 药学上可接受的载体和稀释剂包括盐水、水性缓冲溶液、溶剂和/或分散介质。此类载体和稀释剂的使用在本领域中是众所周知的。可用作药学上可接受的载体的材料的一

些非限制性实例包括：(1) 糖类，例如乳糖、葡萄糖和蔗糖，(2) 淀粉，例如玉米淀粉和马铃薯淀粉，(3) 纤维素及其衍生物，如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、乙基纤维素、微晶纤维素和醋酸纤维素，(4) 黄耆胶粉，(5) 麦芽，(6) 明胶，(7) 润滑剂，如硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠和滑石，(8) 赋形剂，例如可可脂和栓剂蜡，(9) 油类，如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油，(10) 二醇类，例如丙二醇，(11) 多元醇，如甘油、山梨糖醇、甘露醇和聚乙二醇 (PEG)，(12) 酯类，例如油酸乙酯和月桂酸乙酯，(13) 琼脂，(14) 缓冲剂，例如氢氧化镁和氢氧化铝，(15) 海藻酸，(16) 无热原水，(17) 等渗盐水，(18) 林格氏溶液，(19) 乙醇，(20) pH缓冲溶液，(21) 聚酯、聚碳酸酯和/或聚酸酐，(22) 填充剂，例如多肽和氨基酸，(23) 血清成分，例如血清白蛋白、HDL和LDL，(22) C₂-C₁₂醇，例如乙醇，以及(23) 药物制剂中采用的其它无毒相容物质。润湿剂、着色剂、脱模剂、包衣剂、甜味剂、调味剂、芳香剂、防腐剂以及抗氧化剂也可存在于制剂中。诸如“赋形剂”、“载体”、“药学上可接受的载体”等术语在本文中可互换使用。在一些实施方式中，载体抑制活性化合物的降解。术语“药学上可接受的载体”不包括组织培养基。

[0156] 在任何方面的一些实施方式中，如本文所述的组合物(例如包含如本文所述的至少一种IL和活性化合物的组合物)可配制成口服、皮下、静脉内、皮内或肠胃外剂型。在任何方面的一些实施方式中，口服剂型可为包含本文所述组合物的可降解胶囊，例如，包含如本文所述的至少一种IL和活性化合物的组合物。

[0157] 在本文所述的任何方面的一些实施方式中，活性化合物的生物活性与不存在所述至少一种IL的情况下的活性相比得到改善或稳定。在本文所述的任何方面的一些实施方式中，与不存在所述至少一种IL的对照相比，IL极大地增强了活性化合物穿过皮肤的渗透。

[0158] 在任何实施方式的一个方面，本文描述了使用导管向受试者给予至少一种活性化合物的方法，其中，所述导管涂有如本文所述的至少一种IL。在任何实施方式的一个方面，本文描述了通过将导管放入体内来收集体液的方法，其中，所述导管涂有如本文所述的至少一种IL。

[0159] 在任何实施方式的一个方面，本文所述的组合物或组合用于给予或递送至少一种活性化合物的方法，例如，用于治疗疾病。在任何实施方式的一个方面，本文描述了给予至少一种活性化合物的方法，所述方法包括与如本文所述的至少一种IL组合给予上述活性化合物。在任何实施方式的一个方面，本文描述了通过给予至少一种活性化合物来治疗疾病的方法，所述方法包括与如本文所述的至少一种IL组合给予所述活性化合物。

[0160] 例如，通过本文所述的方法治疗的疾病可为癌症(乳腺癌、白血病、淋巴瘤、B细胞慢性淋巴细胞白血病、胶质母细胞瘤、癌、尿路上皮癌、肺癌、结肠直肠癌、淋巴母细胞性白血病、淋巴细胞白血病、肉瘤、黑色素瘤、前列腺癌、骨髓瘤、多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤)、神经母细胞瘤、糖尿病、感染、炎症、炎性疾病(例如，类风湿性关节炎、幼年特发性关节炎、银屑病关节炎、强直性脊柱炎、克罗恩病、溃疡性结肠炎、斑块型银屑病)、自身免疫性疾病、特应性皮炎、胃肠道炎症、炎性肠病(IBD)、胆固醇血症、冠状动脉疾病、哮喘、移植/器官排斥、系统性红斑狼疮、多发性硬化、骨质疏松等。

[0161] 在一些实施方式中，本文所述的方法涉及用本文所述的组合物(例如，包含至少一种IL和活性化合物的组合物)治疗患有或被诊断为患有病症的受试者。患有病症(例如糖尿病)的受试者可由医师使用当前诊断糖尿病的方法来鉴别。表征这些病症并有助于诊断的

糖尿病的症状和/或并发症在本领域中是众所周知的,并且包括但不限于重量减轻、愈合缓慢、多尿、烦渴、多食性头痛、皮肤发痒和疲劳。可能有助于诊断例如糖尿病的测试包括但不限于血液测试(例如空腹血糖水平)。糖尿病家族史或暴露于糖尿病风险因素(例如超重)也有助于确定受试者是否可能患有糖尿病或诊断糖尿病。

[0162] 可将本文所述的组合物和方法给予患有或被诊断为患有本文所述病症的受试者。在一些实施方式中,本文所述的方法包括给予受试者有效量的本文所述的组合物(例如包含如本文所述的至少一种IL和活性化合物的组合物),以减轻本文所述的病症的症状。如本文所用,“减轻症状”是改善与病症相关的任何标志物或症状。如通过任何标准技术测定的,与同等的未处理对照相比,此类减少为至少5%、10%、20%、40%、50%、60%、80%、90%、95%、99%或更多。将本文所述的组合物给予受试者的多种方式是本领域技术人员已知的。此类方法可包括但不限于口服、肠胃外、静脉内、肌内、皮下、经皮、气道(气溶胶)、肺部、皮肤、注射或瘤内给予。给予可为局部给予或系统性给予。

[0163] 在任何方面的一些实施方式中,给予为经皮给予。在任何方面的一些实施方式中,给予为经皮给予、向黏膜(例如鼻、口腔或阴道黏膜)给予、口服给予、皮下给予、皮内给予、肠胃外给予、瘤内给予或静脉内给予。

[0164] 口服给予可包括提供片剂(包括但不限于刻痕或包衣片剂)、丸剂、囊片(caplets)、胶囊、咀嚼片剂、粉剂包、扁囊剂、锭剂、糯米纸囊剂、气溶胶喷雾剂或液体剂(例如但不限于,处于水性液体、非水性液体、水包油乳液或油包水乳液中的溶液或悬浮液、糖浆剂、酞剂)。口服剂型可包括分散剂型,例如但不限于片剂(包括但不限于刻痕或包衣片剂)、丸剂、囊片、胶囊、咀嚼片剂、粉剂包、扁囊剂、锭剂、糯米纸囊剂、气溶胶喷雾剂或液体剂(例如但不限于,处于水性液体、非水性液体、水包油乳液或油包水乳液中的水溶液或悬浮液、糖浆剂、酞剂)。此类组合物含有预定量的CAGE和至少一种活性化合物,并且可通过本领域技术人员熟知的药学方法制备。通常参见Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第21版, Lippincott, Williams和Wilkins, Philadelphia PA (2005)。

[0165] 在任何实施方式的一个方面,本文描述了通过皮下、皮内或静脉内给予递送至少一种活性化合物的方法,所述方法包括将所述活性化合物与本文所述的至少一种IL组合给予。在任何方面的一些实施方式中,皮下、皮内或静脉内给予包括通过注射、导管、输液港等给予。

[0166] 在任何实施方式的一个方面,本文描述了至少一种活性化合物的肠胃外递送方法,所述方法包括肠胃外给予所述活性化合物与如本文所述的至少一种IL的组合。在一些实施方式中,所述肠胃外给予包括递送至肿瘤,例如癌症肿瘤。在任何方面的一些实施方式中,本文所述的组合物或组合可为肠胃外剂型。由于肠胃外剂型的给予通常绕过患者对污染物的天然防御,因此肠胃外剂型优选为无菌的或能够在给予患者之前被灭菌。肠胃外剂型的实例包括但不限于准备好用于注射的溶液、准备好用于溶解或悬浮在药学上可接受的注射媒介中的干燥产品、准备好用于注射的悬浮剂、以及乳剂。此外,可制备用于给予患者的控释肠胃外剂型,包括但不限于DUROS®型剂型和剂量倾卸。

[0167] 可用于提供如本文所公开的组合物的肠胃外剂型的合适媒介为本领域技术人员熟知的,所述组合物包含至少一种IL(例如,CAGE)与至少一种活性化合物的组合。实例包括但不限于:无菌水、注射用水USP、盐水溶液、葡萄糖溶液、水性媒介(例如但不限于氯化钠注

注射液、林格氏注射液、右旋糖注射液、右旋糖和氯化钠注射液、以及乳酸林格氏注射液)、与水混溶的媒介(例如但不限于乙醇、聚乙二醇和丙二醇)、以及非水性媒介(例如但不限于玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯和苯甲酸苄酯)。改变或改进本文所公开的组合物中的成分的溶解度的化合物也可掺入本公开的肠胃外剂型(包括常规和控释肠胃外剂型)。

[0168] 常规剂型通常提供从剂型中快速或立即的药物释放。根据药物的药理学和药代动力学,使用常规剂型可导致患者血液和其他组织中药物浓度的大幅波动。这些波动可影响许多参数,例如给药频率、起效、功效持续时间、治疗性血液水平的维持、毒性、副作用等。尽管如上文所述,包含至少一种IL与至少一种活性化合物的组合的组合物可排除使用控释剂型的某些原因,但在本文考虑之列的是在一些实施方式中所述方法和组合物可用于控释剂型。例如,控释剂型可用于控制药物的起效、作用持续时间、治疗窗内的血浆水平和峰值血液水平。特别是,控释或缓释剂型或制剂可用于确保实现药物的最大有效性,同时使潜在的不良反应和安全问题最小化,这些问题可能出现在药物剂量不足(即低于最低治疗性水平)以及超过药物的毒性水平时。在一些实施方式中,包含至少一种IL与至少一种活性化合物的组合的组合物可以以持续释放剂型进行给予。

[0169] 控释药物产品具有如下共同目标,改善药物治疗超过其非控释对应物所达到的治疗。理想情况下,在医学治疗中使用优化设计的控释制剂的特征在于在最少量的时间内使用最少的药物物质来治愈或控制病症。控释剂型的优点包括:1) 延长药物的活性、2) 减少给药频率、3) 增加患者依从性、4) 药物总用量少、5) 减少局部或系统性的副作用、6) 药物积累最小化、7) 血药水平波动减少、8) 治疗效力改善、9) 药物活性增强或丧失的减少、以及10) 控制疾病或病症的速度改善。Kim,Cherng-ju,Controlled Release Dosage Form Design,2 (Technomic Publishing,Lancaster,Pa.:2000)。

[0170] 大多数控释剂型被设计成最初释放一定量的药物(活性成分)以迅速产生所期望的治疗效果,并逐渐和持续释放其它量的药物以在延长的时间段内保持这种水平的治疗性或预防性效果。为了在体内维持这种恒定的药物水平,药物必须以一定的速度从剂型中释放出来,以替代正在代谢并从体内排出的药物的量。可通过各种条件刺激活性成分的控释,包括但不限于pH、离子强度、渗透压、温度、酶、水、以及其它生理条件或化合物。

[0171] 多种已知的控释或缓释剂型、制剂和装置可适用于与本公开的盐和组合物一起使用。实例包括但不限于如下中描述的那些:U.S.Pat.No.:3,845,770、3,916,899、3,536,809、3,598,123、4,008,719、5674,533、5,059,595、5,591,767、5,120,548、5,073,543、5,639,476、5,354,556、5,733,566、以及6,365,185B1,以引用的方式将其各自并入本文。例如使用羟丙基甲基纤维素、其它聚合物基质、凝胶、渗透膜、渗透系统(例如OROS®(Alza Corporation,Mountain View,Calif.,USA))或它们的组合,这些剂型可用于提供一种或多种活性成分的缓慢或控制释放,从而提供不同比例的期望的释放曲线。

[0172] 如本文所用,术语“有效量”是指减轻疾病或紊乱的至少一种或多种症状所需的组合物的量,并且涉及足以提供期望效果的药理学组合物的量。因此,术语“治疗有效量”是指当给予典型受试者时足以提供特定效果的组合物的量。在各种背景下,如本文所用的有效量将还包括足以延迟疾病症状的进展、改变疾病症状的病程(例如但不限于减缓疾病症状的进程)、或逆转疾病症状的量。因此,指明确切的“有效量”通常是不可行的。然而,对于任

何给定的情况,合适的“有效量”可由本领域普通技术人员仅使用常规实验确定。

[0173] 可通过例如用于确定LD50 (50%的群体致死的剂量)和ED50 (50%的群体治疗有效的剂量)的细胞培养物或实验动物中的标准药理学程序来确定有效量、毒性和治疗效力。剂量可根据采用的剂型和使用的给予途径而变化。毒性和治疗作用之间的剂量比为治疗指数,并且可表示为LD50/ED50之比。优选表现出大的治疗指数的组合物和方法。最初可通过细胞培养测定来评价治疗有效剂量。同时,可在动物模型中制定剂量以达到循环血浆浓度范围,所述浓度范围包括在细胞培养中或在合适的动物模型中测定的IC50 (即,达到症状的半最大抑制的活性化合物的浓度)。例如,可通过高效液相色谱法测定血浆中的水平。可通过合适的生物测定 (例如血糖测定等) 来监测任何特定剂量的效果。剂量可由医生确定并根据需要进行调整,以适应观测到的治疗效果。

[0174] 如本文所用,“糖尿病(diabetes)”是指糖尿病(diabetes mellitus),其为特征在于胰腺分泌胰岛素不足或缺乏的代谢性疾病。如通篇所用,除非本文另有说明,“糖尿病”包括1型、2型、3型和4型糖尿病。糖尿病的发病通常是由于遗传和环境原因的结合,导致异常高的血糖水平(高血糖症)。两种最常见的糖尿病形式归因于胰岛素产生减少(1型糖尿病),或身体对胰岛素的反应减弱(2型糖尿病和妊娠期糖尿病)。两者都会导致高血糖症,这在很大程度上会导致糖尿病的急性体症:尿液产生过多,产生代偿性口渴和增高的流体摄取,视力模糊,无法解释的体重减轻,嗜睡和能量代谢变化。糖尿病可导致许多并发症。如果疾病没有得到适当控制,可能会出现急性并发症(低血糖症、酮症酸中毒或非酮症高渗性昏迷)。严重的长期并发症(即慢性副作用)包括心血管疾病(风险加倍)、慢性肾衰竭、视网膜损伤(可能导致失明)、神经损伤(多种类型)和微脉管损伤(可能导致阳痿和创伤愈合不良)。创伤愈合不良(尤其是足部)可导致坏疽,并可能导致截肢。在一些实施方式中,糖尿病可为2型糖尿病。2型糖尿病(非胰岛素依赖型糖尿病(NIDDM)或成人型糖尿病)是主要以胰岛素抵抗(身体对胰岛素的反应减弱)、相对的胰岛素缺乏和高血糖症为特征的代谢紊乱。在一些实施方式中,受试者可为糖尿病前期的,其可表征为例如具有升高的空腹血糖或升高的餐后血糖。

[0175] 胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 已知减少人的食物摄取和饥饿感,并且是源自胰高血糖素原基因的转录产物的肠促胰岛素,其有助于葡萄糖稳态。GLP-1模拟物目前用于治疗2型糖尿病。最近的临床试验表明,这些治疗不仅改善葡萄糖稳态,还成功地诱导体重减轻。如本文所用,“GLP-1多肽”是指GLP-1的各种前肽和原肽以及切割产物,例如对于人而言的:GLP-1 (1-37) (SEQ ID NO:2)、GLP-1 (7-36) (SEQ ID NO:3),以及GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:4)。在一些实施方式中,GLP-1多肽可为GLP-1 (7-36) 和/或GLP-1 (7-37) 或来自非人物种的相关多肽。许多物种的GLP-1多肽的序列在本领域中是已知的,例如,人GLP-1 (NCBI Gene ID:2641) 多肽(例如,NCBI Ref Seq:NP_002045.1、SEQ ID NO:1)以及SEQ ID NO:2-SEQ ID NO:4。在一些实施方式中,GLP-1的前肽或原肽可用于本文所述的方法或组合物中,例如胰高血糖素前原蛋白(例如,SEQ ID NO:1)。本文所述的任何多肽的天然存在的等位基因或变体也特别考虑用于本文所述的方法和组合物。

[0176] SEQ ID NO:1

```
1 mksiyfvagl fvmlvqgswq rslqdteeks rsfsasqadp lsdpdqmned krhsqgtfts
61 dyskyldsrq aqdfvqwlmn tkrnrnniak rhdeferhae gtftsdvssy legqaakefi
```

121 awlvkgrgrr dfpeevaive elgrrhadgs fsdemntild nlaardfinw liqtkitdrk

[0177] SEQ ID NO:2

hdeferhae gtftsdvssy legqaakefi awlvkgrg

[0178] SEQ ID NO:3

hae gtftsdvssy legqaakefi awlvkgr

[0179] SEQ ID NO:4

hae gtftsdvssy legqaakefi awlvkgrg

[0180] 各种GLP-1模拟物是本领域已知的,并且用于糖尿病的治疗。GLP-1模拟物(或类似物)可包括exendin-4(与人GLP-1同源的Heloderma蜥蜴多肽)及其衍生物、修饰为抗DPP-IV的GLP-1类似物、或缀合至各种进一步的试剂(例如用以延长半衰期)的人GLP-1多肽。例如, GLP-1模拟物/类似物可包括艾塞那肽、利西拉来、杜拉鲁肽、索马鲁肽、阿必鲁肽、LY2189265、利拉鲁肽以及tasoglutide。此类分子的实例以及对其制造和活性的进一步讨论可在本领域中找到,例如Gupta.Indian J.Endocrinol Metab 17:413-421(2013)、Garber.Diabetes Treatments 41:S279-S284(2018)、美国专利公开US2009/0181912、以及国际专利公开W02011/080103,通过引用的方式将其各自以其整体并入本文。

[0181] 在任何方面的一些实施方式中,活性化合物可为化疗剂或对治疗癌症有效的药剂。如本文所用,术语“癌症”通常涉及异常细胞不受控制地分裂并且可侵入附近组织的一类疾病或病症。癌细胞还可通过血液和淋巴系统扩散到身体的其它部位。存在几种主要类型的癌症。癌是始于内衬于或覆盖内脏器官的组织或者皮肤中的癌症。肉瘤是始于骨骼、软骨、脂肪、肌肉、血管或其它结缔或支持组织的癌症。白血病是始于造血组织(如骨髓)、且导致大量异常血细胞产生并进入血液的癌症。淋巴瘤和多发性骨髓瘤是始于免疫系统细胞的癌症。中枢神经系统癌症是始于脑和脊髓的组织的癌症。

[0182] 在任何方面的一些实施方式中,所述癌症为原发性癌症。在任何方面的一些实施方式中,所述癌症为恶性癌症。如本文所用,术语“恶性”是指其中一组肿瘤细胞表现出一种或多种不受控制的生长(即超出正常限度的分裂)、侵袭(即侵入和破坏邻近组织)和转移(即通过淋巴或血液扩散到身体的其他位置)。如本文所用,术语“转移”是指癌症从身体的一个部分扩散到另一个部分。由已扩散的细胞形成的肿瘤称为“转移性肿瘤”或“转移瘤”。转移性肿瘤包含与原始(原发性)肿瘤中的细胞相似的细胞。如本文所用,术语“良性”或“非恶性”是指可能长得更大、但不会扩散到身体其他部分的肿瘤。良性肿瘤为自限性的,并且通常不会侵袭或转移。

[0183] “癌细胞”或“肿瘤细胞”是指癌性生长物或组织的单个细胞。肿瘤通常是指由细胞异常生长形成的肿胀或病变,其可为良性的、恶变前的或恶性的。大多数癌细胞形成肿瘤,但有些癌细胞(例如白血病)不一定形成肿瘤。对于那些形成肿瘤的癌细胞,术语癌症(细胞)和肿瘤(细胞)可互换使用。

[0184] 如本文所用,术语“赘生物”是指组织的任何新的和异常的生长,例如组织的异常团块,其生长超过并且与正常组织的生长不协调。因此,赘生物可为良性赘生物、恶变前赘生物或恶性赘生物。

[0185] 患有癌症或肿瘤的受试者是在受试者体内存在客观可测定的癌细胞的受试者。该定义包括恶性的、活跃增殖的癌症,以及潜在的休眠肿瘤或微转移瘤。从其原始位置迁移并

定植其他重要器官的癌症最终可通过受影响器官的功能恶化而导致受试者死亡。

[0186] 癌症的实例包括但不限于癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤、白血病、基底细胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脑癌和CNS癌、乳腺癌、腹膜癌、宫颈癌、绒毛膜癌、结肠和直肠癌、结缔组织癌、消化系统癌症、子宫内膜癌、食管癌、眼癌、头颈癌、胃癌(包括胃肠癌)、胶质母细胞瘤(GBM)、肝癌、肝细胞瘤、上皮内赘生物、肾脏癌或肾癌、喉癌、白血病、肝癌、肺癌(例如,小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞癌)、淋巴瘤(包括霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤)、黑色素瘤、骨髓瘤、神经母细胞瘤、口腔癌(例如唇、舌、口和咽)、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、直肠癌、呼吸系统癌症、唾液腺癌、肉瘤、皮肤癌、鳞状细胞癌、胃癌、睾丸癌、甲状腺癌、子宫或子宫内膜癌、泌尿系统癌症、外阴癌,以及其它癌症和肉瘤,以及B细胞淋巴瘤(包括低度/滤泡性非霍奇金淋巴瘤(NHL)、小淋巴细胞(SL)NHL、中度/滤泡性NHL、中度弥漫性NHL、高度免疫母细胞性NHL、高度淋巴母细胞性NHL、高度小非分裂细胞NHL、大包块疾病NHL(bulky disease NHL)、套细胞淋巴瘤、AIDS相关淋巴瘤、和华氏巨球蛋白血症)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、毛细胞白血病、慢性髓细胞性白血病,和移植后淋巴增生性疾病(PTLD),以及与癩痣病、水肿(如与脑肿瘤相关的水肿)和Meigs综合征相关的异常血管增生。

[0187] “癌细胞”是体内、离体或组织培养中的癌变细胞、癌前细胞或转化细胞,其具有不一定涉及新遗传物质摄取的自发或诱导的表型变化。尽管转化可由转化病毒的感染和新基因组核酸的掺入或外源核酸的摄取引起,但其也可自发或在暴露至致癌物后发生,从而使内源基因发生突变。转化/癌症与如下有关:例如形态变化、细胞永生性、异常生长控制、病灶形成、锚定非依赖性、恶性、丧失接触抑制和生长密度限制、生长因子或血清非依赖性、肿瘤特异性标志物、侵袭性或转移性、以及在合适的动物宿主(如裸鼠)中的肿瘤生长。

[0188] 在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的组合物(例如包含与至少一种活性化合物组合的如本文所述的至少一种IL的组合物)作为单一疗法给予,例如不给予受试者针对该病症的另一治疗。

[0189] 在任何方面的一些实施方式中,本文所述的方法可进一步包括给予受试者第二药剂和/或治疗例如作为组合疗法的一部分,所述第二药剂和/或治疗或者在本文所述的组合物(例如,包含与至少一种活性化合物组合的本文所述的至少一种IL的组合物)中,或者作为单独的剂型。例如,用于治疗癌症的第二药剂和/或治疗的非限制性实例可包括放射疗法、手术、吉西他滨、顺铂、紫杉醇、卡铂、硼替佐米、AMG479、伏立诺他、利妥昔单抗、替莫唑胺、雷帕霉素、ABT-737、PI-103、烷化剂(例如噻替派和CYTOXAN®环磷酰胺)、烷基磺酸酯(例如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡)、氮丙啶类(例如苯并多巴、卡波醌、美妥替哌和uredopa)、亚乙基亚胺(ethylenimines)和甲基蜜胺(包括六甲蜜胺、三乙撑蜜胺、三乙撑磷酰胺、三乙撑硫代磷酰胺和三羟甲基蜜胺)、多聚乙酰(尤其是bulatacin和bulatacinone)、喜树碱(包括合成类似物拓扑替康)、苔藓抑素、callystatin、CC-1065(包括其阿多来新、卡折来新和比折来新合成类似物)、隐藻素(特别是隐藻素1和隐藻素8)、多拉司他汀、倍癌霉素(包括合成类似物KW-2189和CB1-TM1)、eleutherobin、水鬼蕉碱、sarcodictyin、海绵抑制素(spongistatin)、氮芥(例如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷酰胺(cholophosphamide)、雌氮芥、异环磷酰胺、二氯甲基二乙胺、盐酸氧氮芥、美法仑、新氮芥、苯芥胆甾醇(phenesterine)、松龙苯芥、曲磷胺、尿嘧啶氮芥)、亚硝基脲类(如卡莫司汀、氯脲菌素、福

莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀和雷莫司汀 (ranimustine)、抗生素 (例如烯二炔抗生素 (例如卡奇霉素, 尤其是卡奇霉素 γ 11 和卡奇霉素 ω 11 (参见例如 Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33:183-186 (1994))、dymemicin (包括 dymemicin A)、双膦酸盐 (例如氯膦酸盐)、埃斯培拉霉素 (esperamicin)、以及新制癌菌素发色团和相关的色蛋白烯二炔抗生素发色团)、aclacinomysins、放线菌素、安曲霉素 (authramycin)、重氮丝氨酸、博来霉素、放线菌素 C、carabycin、洋红霉素 (caminomycin)、carzinophilin、色霉素、放线菌素 D、柔红霉素、detorubicin、6-重氮-5-氧代-L-正亮氨酸、ADRIAMYCIN[®]阿霉素 (包括吗啉代阿霉素、氰基吗啉代阿霉素、2-吡咯啉代阿霉素和脱氧阿霉素)、表柔比星、依索比星、伊达比星、马赛霉素 (marcellomycin)、丝裂霉素如丝裂霉素 C、霉酚酸、诺加霉素、橄榄霉素、培洛霉素、potfiromycin、嘌呤霉素、quelamycin、罗多比星 (rodorubicin)、链黑霉素 (streptonigrin)、链脲佐菌素 (streptozocin)、杀结核菌素 (tubercidin)、乌苯美司 (ubenimex)、净司他丁 (zinostatin)、佐柔比星 (zorubicin)、抗代谢物 (例如甲氨蝶呤和 5-氟尿嘧啶 (5-FU))、叶酸类似物 (例如二甲叶酸、甲氨蝶呤、蝶罗呤、三甲曲沙)、嘌呤类似物 (例如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤)、嘧啶类似物 (例如安西他滨、阿扎胞苷、6-氮尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、二脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他宾、氟尿苷)、雄激素 (例如卡普睾酮、丙酸屈他雄酮 (dromostanolone propionate)、环硫雄醇、美雄烷睾内酯 (testolactone))、抗肾上腺素 (如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦)、叶酸补充剂 (如亚叶酸 (frolinic acid))、醋葡萄糖内酯 (aceglatone)、醛磷酰胺糖苷、氨基酮戊酸、恩尿嘧啶、安吡啶、bestrabucil、比生群、edatraxate、defofamine、地美可辛、diaziquone、elformithine、elliptinium acetate、埃坡霉素、依托格鲁、硝酸镓、羟基脲、香菇多糖、lonidainine、美登木素 (例如美登素和安丝菌素)、米托胍脞、米托蒽醌、莫哌达醇 (mopidanmol)、二胺硝吡啶 (nitraerine)、喷司他丁、phenamet、吡柔比星、洛索蒽醌、鬼臼酸、2-乙基胍、丙卡巴胍、PSK[®]多糖复合体 (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.)、雷佐生、根霉素、sizofuran、锗螺胺、细交链孢菌酮酸、三亚胺醌、2,2',2''-三氯三乙胺、单端孢霉烯 (trichothecenes) (尤其是 T-2 毒素、verracurin A、roridin A 和 anguidine)、氨基甲酸酯、长春地辛、达卡巴嗪、甘露莫司汀、二溴甘露醇、二溴卫矛醇、哌泊溴烷 (pipobroman)、gacytosine、阿糖胞苷 ("Ara-C")、环磷酰胺、噻替哌、紫杉烷类 (例如 TAXOL[®]紫杉醇 (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、ABRAXANE[®]无氢化蓖麻油的白蛋白工程化的紫杉醇纳米颗粒制剂 (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.) 以及 TAXOTERE[®]多西他赛 (doxorubicin) (Rhone-Poulenc Rorer, Antony, 法国))、苯丁酸氮芥、GEMZAR[®]吉西他滨、6-硫鸟嘌呤、巯基嘌呤、甲氨蝶呤、铂类似物 (例如顺铂、奥沙利铂和卡铂)、长春碱、铂、依托泊苷 (VP-16)、异环磷酰胺、米托蒽醌、长春新碱、NAVELBINE.RTM、长春瑞滨、盐酸米托蒽醌、替尼泊苷、依达曲沙、道诺霉素、氨基蝶呤、希罗达、伊班膦酸盐、伊立替康 (Camptosar, CPT-11) (包括伊立替康与 5-FU 和甲酰四氢叶酸的治疗方案)、拓扑异构酶抑制剂 RFS2000、二氟甲基鸟氨酸 (DMFO)、维甲酸类 (如维甲酸)、卡培他滨、康普瑞汀、甲酰四氢叶酸 (LV)、奥沙利铂 (包括奥沙利铂治疗方案 (FOLFOX))、拉帕替尼 (Tykerb.RTM.)、减少细胞增殖的 PKC- α 、Raf、H-Ras、EGFR (例如, 厄洛替尼 (Tarceva[®])) 和 VEGF-A 抑制剂, 以及上述任何一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物。此外, 治疗方法还可包括使用放射或放射疗法。此外, 治疗方法还可包括使用手术治疗。

[0190] 在某些实施方式中,可向患者一次给予有效剂量的如本文所述的组合物(例如包含如本文所述的至少一种IL与至少一种活性化合物的组合的组合物)。在某些实施方式中,可向患者重复给予有效剂量的本文所述的组合物(例如包含如本文所述的至少一种IL与至少一种活性化合物的组合的组合物)。对于系统性给予,可向受试者给予治疗量的本文所述的组合物(例如,包含如本文所述的至少一种IL与至少一种活性化合物的组合的组合物),例如,如0.1mg/kg、0.5mg/kg、1.0mg/kg、2.0mg/kg、2.5mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、40mg/kg、50mg/kg或更多。在任何方面的一些实施方式中,所述至少一种活性化合物以约1.0mg/kg-40.0mg/kg的剂量存在于组合中。在任何方面的一些实施方式中,所述至少一种活性化合物以1.0mg/kg-40.0mg/kg的剂量存在于组合中。在任何方面的一些实施方式中,所述至少一种活性化合物以约1.0mg/kg-20.0mg/kg的剂量存在于组合中。在任何方面的一些实施方式中,所述至少一种活性化合物以1.0mg/kg-20.0mg/kg的剂量存在于组合中。

[0191] 在一些实施方式中,所述活性化合物为胰岛素,并且胰岛素的浓度或剂量可为约1U/kg至约20U/kg。在一些实施方式中,所述活性化合物为胰岛素,并且胰岛素的浓度或剂量可为1U/kg至20U/kg。在一些实施方式中,所述活性化合物为胰岛素,并且胰岛素的浓度或剂量可小于20U/kg。在一些实施方式中,所述活性化合物为胰岛素,并且胰岛素的浓度或剂量可为约2U/kg至约10U/kg。在一些实施方式中,所述活性化合物为胰岛素,并且胰岛素的浓度或剂量可为2U/kg至10U/kg。在一些实施方式中,所述活性化合物为胰岛素,并且胰岛素的浓度或剂量可为约2U/kg至约5U/kg。在一些实施方式中,所述活性化合物为胰岛素,并且胰岛素的浓度或剂量可为2U/kg至5U/kg。在一些实施方式中,所述活性化合物为胰岛素,并且胰岛素的浓度或剂量可为约5U/kg至约10U/kg。在一些实施方式中,所述活性化合物为胰岛素,并且胰岛素的浓度或剂量可为5U/kg至10U/kg。在一些实施方式中,所述活性化合物为胰岛素,并且胰岛素的浓度或剂量可为2U/kg、5U/kg或10U/kg。

[0192] 在任何实施方式的一个方面,本文描述了治疗有需要的受试者中的疾病的方法,所述方法通过注射将活性化合物与本文所述的至少一种IL组合给予受试者进入至受影响的组织中。在一些实施方式中,受影响的组织为包含患病细胞的组织。在一些实施方式中,受影响的组织为表现出疾病症状的组织。合适的受影响组织的非限制性实例包括肿瘤组织、脂肪组织(fat tissue)、脂肪组织(adipose tissue)等。在任何方面的一些实施方式中,合适的受影响组织包括肿瘤组织、脂肪组织(fat tissue)、脂肪组织(adipose tissue)等。在任何方面的一些实施方式中,所述疾病是由组织生长(例如,不希望的、异常的或病理性组织生长)引起的疾病。由组织生长引起的疾病可为由与健康受试者中该组织类型的正常情况不同的组织生长速率、组织生长位置或组织生长模式/结构引起或表征的任何疾病。此类疾病的非限制性实例为肿瘤、癌症、肥胖/肥胖症、和/或增生。在任何方面的一些实施方式中,此类疾病为肿瘤、癌症、肥胖/肥胖症、和/或增生。

[0193] 酶抑制剂是多种病症(包括糖尿病)的治疗选项,其中,例如胰岛素降解酶抑制剂、ACE抑制剂和 α -葡萄糖苷酶抑制剂都已被开发作为治疗方法。因此,安全、有效的酶抑制剂在许多病症的治疗中是令人感兴趣的。在不希望受理论约束的情况下,在本文考虑之列的是本文所述的IL可表现出酶抑制活性。因此,在任何实施方式的一个方面中,本文所述的是治疗有需要的受试者中的糖尿病、溃疡、癌症或纤维化的方法,所述方法包括向所述受试者

给予包含至少一种如本文所述的IL的组合物。在一些实施方式中,所述组合物不包含进一步的治疗活性剂。

[0194] 纤维化病症得益于细胞外基质的产生和/或维持,通过减少瘢痕组织的积聚而有利于细胞外基质。如本文所用,“纤维化”是指作为修复或反应过程、而不是作为器官或组织的正常组成部分的纤维组织的形成。纤维化的特征在于超过任何特定组织中的正常沉积的成纤维细胞积聚和胶原沉积。纤维化可作为炎症、刺激或愈合的结果出现。需要治疗纤维化病症的受试者是患有纤维化病症、被诊断为患有纤维化病症或处于患纤维化病症风险的任何受试者。纤维化病症的非限制性实例包括但不限于肺纤维化、瘢痕、皮肤瘢痕、损伤、创伤、慢性创伤(例如糖尿病患者中的)、角膜缺损、角膜溃疡、角膜创伤、糖尿病溃疡、溃疡、败血症、关节炎、特发性肺纤维化、囊性纤维化、肝硬化、心内膜心肌纤维化、纵隔纤维化、骨髓纤维化、腹膜后纤维化、进行性大块纤维化、肾源性系统性纤维化、克罗恩病、瘢痕疙瘩、硬皮病、系统性硬化、关节纤维化、粘连性关节囊炎、肺纤维化、肝纤维化、肾纤维化、心脏纤维化、血管纤维化、皮肤纤维化、眼纤维化、骨髓纤维化、哮喘、结节病、COPD、肺气肿、血吸虫病(schistosomiasis)、胆管炎、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、血管成形术后动脉再狭窄(postangioplasty arterial restenosis)、动脉粥样硬化、烧伤瘢痕、增生性瘢痕、肾源性纤维化皮肤病、白内障手术(postcataract surgery)、增殖性玻璃体视网膜病变、Peyronie病、Duputren挛缩、皮炎以及移植物抗宿主疾病。

[0195] 如本文所用,“溃疡”是指体膜的破裂或破坏。在一些实施方式中,所述溃疡可由受影响的组织的炎症和/或坏死引起。溃疡可以是皮肤溃疡(例如,压力性溃疡、糖尿病性溃疡、溃疡性皮炎等)、角膜溃疡、口腔溃疡、消化性溃疡、静脉溃疡、应激性溃疡或溃疡性结肠炎。

[0196] 在一些实施方式中,在初始治疗方案之后,可以以较低频率给予治疗。例如,在每两周一次治疗三个月后,可每月重复一次治疗,持续六个月或一年或更长时间。根据本文所述的方法的治疗可将病症的标志物或症状的水平降低至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%或更多。

[0197] 如本文所述的组合物的剂量可由医师确定并在必要时进行调整以适应观测的治疗效果。关于治疗的持续时间和频率,熟练的临床医生通常监测受试者以确定治疗何时提供治疗益处,并确定是否增加或减少剂量、增加或减少给予频率、停止治疗、恢复治疗、或对治疗方案进行其它更改。给药时间表可从每周一次变化至每天一次,这取决于许多临床因素,例如受试者对活性化合物的敏感性。所需的活化剂量或量可一次给予、或分成亚剂量(例如2个-4个亚剂量)并在一段时间内给予,例如在一天中以适当的间隔或其它适当的时间表给予。在一些实施方式中,给予可为长期的,例如,在数周或数月的时间段内每天一次或多次给药和/或治疗。给药和/或治疗方案的实例为在1周、2周、3周、4周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、或6个月或更长的时间内每天1次、每天2次、每天3次或每天4次以上进行给予。可在一段时间内(例如5分钟、10分钟、15分钟、20分钟或25分钟期间)给予本文所述的组合物(例如包含至少一种IL与至少一种活性化合物的组合的组合物)。

[0198] 根据本文所述的方法,给予本文所述的组合物的剂量范围取决于例如活性化合物的形式,其效力,以及期望降低的如本文所述的病症的症状、标志物或指标的程度(例如症状或标志物期望降低的百分比)。剂量不应太大,以免引起不良副作用。通常,剂量将随着患

者的年龄、状况和性别而变化,并且可由本领域技术人员确定。如果出现任何并发症,剂量也可以由个体医生调整。

[0199] 在例如本文所述的病症的治疗中所描述的或诱导本文所述反应的组合物的功效可由熟练的临床医生确定。然而,在根据本文所述的方法治疗后,如果本文描述的病症的一种或多种体征或症状以有益的方式改变,其它临床可接受的症状得到改善或甚至缓解,或诱导期望的反应例如至少10%,则如本文所用的术语,治疗被认为是“有效治疗”。功效可例如通过测定根据本文所述的方法治疗的病症的标志物、指标、症状和/或发生率或任何其它适当的可测定参数来评估。也可通过住院治疗来评估个体未恶化或对医疗干预的需要(即疾病的进展停止)来测定功效。测定这些指标的方法是本领域技术人员已知的和/或在本文中描述。治疗包括对个体或动物(一些非限制性实例包括人或动物)的疾病的任何治疗,并且包括:(1)抑制疾病,例如防止症状(例如疼痛或炎症)恶化、或(2)减轻疾病的严重程度,例如引起症状消退。用于治疗疾病的有效量是指,当给予有需要的受试者时对于该疾病足以引起如本文所定义的术语的有效治疗的量。可通过评估病症的物理指标或所期望反应来确定药剂的功效。通过测定这些参数中的任何一个或参数的任意组合来监测给予和/或治疗的功效完全在本领域技术人员的能力范围内。可在本文所述病症的动物模型中评估功效,例如糖尿病或癌症的治疗。当使用实验动物模型时,当观测到标志物的统计学上显著的变化时,就证明了治疗的功效。

[0200] 本文提供了体外和动物模型测定,其允许评估本文所述组合物(例如,包含至少一种IL与至少一种活性化合物的组合的组合物)的给定剂量。

[0201] 在任何方面的一些实施方式中,给予包含如本文所述的至少一种IL(例如与活性化合物组合)的组合物的受试者为患有、被诊断为患有或需要治疗肥胖症、超重、或防止体重增加的受试者。在一些实施方式中,受试者超重。本文所述的方法包括治疗肥胖症、减少体重增加、防止体重增加、促进体重减轻等的方法。例如,此类方法可促进代谢健康,出于美的原因而追求、和/或让患者为手术干预做好准备,所述手术干预对于具有高BMI或体重的患者而言是不利的。在一些实施方式中,例如当受试者超重和/或肥胖时,减轻体重可为医学上必要的和/或医嘱。在一些实施方式中,减轻体重可为出于美容目的,例如当受试者希望减肥时,无论减肥是否在医学上必要和/或医嘱。

[0202] 术语“肥胖症”是指体内脂肪过多。可通过本领域技术人员接受和使用的任何测定来确定肥胖症。目前,公认的肥胖症测定为体重指数(BMI),其为体重(以千克计)相对于身高(以米计)的平方的计量。一般来说,对于20岁以上的成年人,BMI介于约18.5和24.9之间被认为是正常的,介于约25.0和29.9之间的BMI被认为是超重,等于或高于约30.0的BMI被认为是肥胖,并且等于或高于约40的BMI被认为是病态肥胖。(参见例如Gallagher等(2000) *Am J Clin Nutr* 72:694-701。)这些BMI范围基于体重对疾病风险增加的影响。一些与高BMI和肥胖症相关的常见病症包括心血管疾病、高血压(即血压过高)、骨关节炎、癌症和糖尿病。尽管BMI与体脂相关,但BMI与实际体脂之间的关系因年龄和性别而异。例如,对于相同的BMI,女性比男性更有可能具有更高的体脂百分比。此外,区分正常、超重和肥胖的BMI阈值可因例如年龄、性别、种族、健康状况和体型等因素而有所不同。在一些实施方式中,患有肥胖症的受试者可为在给予如本文所述的治疗之前体重指数为至少约25kg/m²的受试者。在一些实施方式中,患有肥胖症的受试者可为在给予如本文所述的治疗之前体重指数

为至少约30kg/m²的受试者。

[0203] 在任何方面的一些实施方式中,给予包含如本文所述的至少一种IL(例如与至少一种活性化合物组合)的组合物的受试者为患有、被诊断为患有或需要治疗代谢紊乱或代谢综合征的受试者。术语“代谢紊乱”是指与葡萄糖调节或血糖控制受损或改变有关或因葡萄糖调节或血糖控制受损或改变而加重的任何紊乱,例如胰岛素抵抗。此类紊乱包括但不限于肥胖症、脂肪组织过多、糖尿病、脂肪肝疾病、非酒精性脂肪肝疾病、代谢综合征、血脂异常、血压过高、高血糖、以及心血管疾病。“代谢综合征”不同于代谢紊乱,是指当它们一起发生时增加发展出心血管疾病和糖尿病的风险的医学紊乱的组合。例如,美国心脏协会和国际糖尿病基金会已经建立了许多代谢综合征的定义。仅举一个例子,WHO将代谢综合征定义为存在糖尿病、糖耐量受损、空腹血糖受损或胰岛素抵抗中的任何一种,以及以下中的两种:血压等于或大于140/90mmHg、血脂异常、中心性肥胖症和微量白蛋白尿。在一些实施方式中,代谢紊乱可选自于由以下所组成的组:肥胖症、脂肪组织过多、糖尿病以及心血管疾病。

[0204] 可通过在溶剂中递送化合物而改善许多活性化合物(例如药学活性化合物)的摄取。然而,此类方法通常不适合体内使用,因为大多数此类溶剂表现出毒副作用和/或充当递送点的刺激物。本文描述了可提供低毒性和改善的递送动力学的方法和组合物。

[0205] 为方便起见,在下面提供了说明书、实施例以及所附权利要求中使用的一些术语和短语的含义。除非另有说明或从上下文中有所暗示,否则以下术语和短语包括下面提供的含义。提供这些定义以帮助描述特定的实施方式,并不旨在限制要求保护的发明,因为本发明的范围仅由权利要求书限定。除非另有定义,本文使用的所有技术术语和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。如果本领域术语的使用与本文提供的其定义存在明显矛盾,应以本说明书中提供的定义为准。

[0206] 为方便起见,将本说明书、实施例以及所附权利要求中的本文使用的某些术语收集在此。

[0207] 羧酸为具有式RCOOH的带有羧基的官能团,其中R为脂肪族、杂脂肪族、烷基或杂烷基。

[0208] 在优选的实施方式中,直链或支链烷基在其骨架中具有30个或更少的碳原子(例如,对于直链为C₁-C₃₀,对于支链为C₃-C₃₀),更优选为20个或更少。同样,优选的环烷基在其环结构中具有3个-10个碳原子,并且更优选地在环结构中具有5个、6个或7个碳原子。在整个说明书、实施例以及权利要求书中使用的术语“烷基”(或“低级烷基”)旨在包括“未取代的烷基”和“取代的烷基”,后者是指具有取代烃骨架的一个或多个碳上的氢的一个或多个取代基的烷基部分。

[0209] 除非另外指定碳数,否则本文所用的“低级烷基”是指如上定义的烷基基团,但在其骨架结构中具有1个-10个碳原子、更优选1个-6个碳原子。同样,“低级烯基”和“低级炔基”具有相似的链长度。在整个申请中,优选的烷基基团为低级烷基。在优选的实施方式中,本文指定为烷基的取代基为低级烷基。

[0210] 取代的烷基的取代基可包括卤素、羟基、硝基、硫醇、氨基、叠氨基、亚氨基、酰胺基、磷酸基(包括磷酸盐和次磷酸盐)、磺酰基(包括硫酸盐/酯、亚磺酰氨基、氨磺酰基和磺酸盐/酯)和甲硅烷基基团,以及醚、烷硫基、羰基(包括酮、醛、羧酸盐和酯)、-CF₃、-CN等。

[0211] 如本文所用,术语“烯基”是指具有至少一个碳-碳双键的不饱和直链、支链或环状烃基。通常使用 C_x 烯基和 C_x-C_y 烯基,其中X和Y表示链中的碳原子数。例如, C_2-C_6 烯基包括具有1个-6个碳的链和至少一个双键的烯基,例如乙烯基、烯丙基、丙烯基、异丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、2-甲基烯丙基、1-己烯基、2-己烯基、3-己烯基等。与另一个自由基一起表示的烯基(例如,如在芳基烯基中)是指具有所示原子数的直链或支链的烯基二价自由基。烯基的骨架可任选地插入有一个或多个杂原子,例如N、O或S。

[0212] 如本文所用,术语“炔基”是指具有至少一个碳-碳三键的不饱和烃基。通常使用 C_x 炔基和 C_x-C_y 炔基,其中X和Y表示链中的碳原子数。例如, C_2-C_6 炔基包括具有1个-6个碳的链和至少一个三键的炔基,例如乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基、异戊炔基、1,3-六-二炔-基、正己炔基、3-戊炔基、1-己炔-3-炔基等。与另一个自由基一起表示的炔基(例如在芳基炔基中)是指具有所示原子数的直链或支链的炔基二价自由基。炔基的骨架可任选地插入有一个或多个杂原子,例如N、O或S。

[0213] 如本文所用,术语“卤素”或“卤代”是指选自氟、氯、溴和碘的原子。术语“卤素放射性同位素”或“卤代同位素”是指选自氟、氯、溴和碘的原子的放射性核素。“卤素取代的部分”或“卤素取代的部分”,作为分离的基团或较大基团的一部分,是指如本文所述的被一个或多个“卤素”原子取代的脂肪族、脂环族或芳香族部分,如同此类术语在本申请中被定义一样。例如,卤素取代的烷基包括卤代烷基、二卤代烷基、三卤代烷基、全卤代烷基等(例如卤素取代的(C_1-C_3)烷基包括氯甲基、二氯甲基、二氟甲基、三氟甲基($-CF_3$)、2,2,2-三氟乙基、全氟乙基、2,2,2-三氟-1,1-二氯乙基等)。

[0214] 术语“环基”或“环烷基”是指具有3个-12个碳(例如3个-8个碳,和例如3个-6个碳)的饱和以及部分不饱和环状烃基。通常使用 C_x 环基和 C_x-C_y 环基,其中X和Y表示环系统中的碳原子数。环烷基还可任选地被取代,例如被1个、2个、3个或4个取代基取代。环基基团的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、2,5-环己二烯基、环庚基、环辛基、双环[2.2.2]辛基、金刚烷-1-基、十氢萘基、氧代环己基、二氧化环己基、硫代环己基、2-氧代双环[2.2.1]庚-1-基等。

[0215] 术语“杂环基”是指非芳香族的5元-8元单环、8元-12元双环或11元-14元三环环系统,如果是单环具有1个-3个杂原子,如果是双环具有1个-6个杂原子,或者如果是三环具有1个-9个杂原子,所述杂原子选自O、N或S(例如,如果是单环、双环或三环,分别为碳原子和1个-3个、1个-6个或1个-9个N、O或S中的杂原子)。通常使用 C_x 杂环基和 C_x-C_y 杂环基,其中X和Y表示环系统中的碳原子数。在一些实施方式中,每个环的1个、2个或3个氢原子可被取代基取代。示例性杂环基基团包括但不限于哌嗪基、吡咯烷基、二噁烷基、吗啉基、四氢呋喃基、哌啶基、4-吗啉基、4-哌嗪基、吡咯烷基、全氢吡咯基、1,4-二氮杂全氢萘基(1,4-diazaperhydroepinyl)、1,3-二噁烷基、1,4-二噁烷基等。

[0216] 术语“双环”和“三环”是指通过单键多环环组件稠合、桥接或连接。如本文所用,术语“稠环”是指当两个环共有的环原子彼此直接键合时与另一个环键合以形成具有双环结构的化合物的环。常见稠环的非排他性实例包括萘烷、萘、蒽、菲、吲哚、呋喃、苯并呋喃、喹啉等。具有稠环系统的化合物可为饱和的、部分饱和的环基、杂环基、芳香族化合物、杂芳族化合物等。

[0217] 术语“杂芳基”是指芳香族5元-8元单环、8元-12元稠合双环或11元-14元稠合三环

环系统,如果是单环,具有1个-3个杂原子,如果是双环,具有1个-6个杂原子,如果是三环,具有1个-9个杂原子,所述杂原子选自O、N或S(例如,如果是单环、双环或三环,分别为碳原子和1个-3个、1个-6个或1个-9个N、O或S中的杂原子)。通常使用C_x杂芳基和C_x-C_y杂芳基,其中,X和Y表示环系统中的碳原子数。杂芳基包括但不限于衍生自如下的那些:苯并[b]呋喃、苯并[b]噻吩、苯并咪唑、咪唑并[4,5-c]吡啶、喹唑啉、噻吩并[2,3-c]吡啶、噻吩并[3,2-b]吡啶、噻吩并[2,3-b]吡啶、吡嗪、咪唑并[1,2a]吡啶、喹啉、异喹啉、酞嗪、喹喔啉、萘啶、喹啉、吡啶、异吡啶、吡啶、二氢吡啶、苯并噁唑、苯并吡唑、苯并噻唑、咪唑并[1,5-a]吡啶、吡唑并[1,5-a]吡啶、咪唑并[1,2-a]嘧啶、咪唑并[1,2-c]嘧啶、咪唑并[1,5-a]嘧啶、咪唑并[1,5-c]嘧啶、吡咯并[2,3-b]吡啶、吡咯并[2,3-c]吡啶、吡咯并[3,2-c]吡啶、吡咯并[3,2-b]吡啶、吡咯并[2,3-d]嘧啶、吡咯并[3,2-d]嘧啶、吡咯并[2,3-b]吡嗪、吡唑并[1,5-a]吡啶、吡咯并[1,2-b]哒嗪、吡咯并[1,2-c]嘧啶、吡咯并[1,2-a]嘧啶、吡咯并[1,2-a]吡嗪、三唑并[1,5-a]吡啶、蝶啶、嘌呤、呋唑、吡啶、吩嗪、吩噻嗪、吩噁嗪、1,2-二氢吡咯并[3,2,1-hi]吡啶、吡啶并[1,2-a]吡啶、2(1H)-吡啶酮、苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并硫代呋喃基、苯并苯硫基、苯并噁唑基、苯并噁唑啉基、苯并噻唑基、苯并三唑基、苯并四唑基、苯并异噁唑基、苯并异噻唑基、苯并咪唑啉基、呋唑基、4aH-呋唑基、呋啉基(carbolinylyl)、色烷基(chromanylyl)、色烯基(chromenylyl)、曾嗪基(cinnolinylyl)、十氢喹啉基、2H,6H-1,5,2-二噻嗪基、二氢呋喃并[2,3-b]四氢呋喃、呋喃基、呋喃基(furazanylyl)、咪唑烷基、咪唑啉基、咪唑基、1H-吡唑基、吡唑烯基(indolenylyl)、吡唑啉基、吡嗪基、吡啶基、3H-吡啶基、isatinoylyl、异苯并呋喃基、异色烷基、异吡唑基、异吡唑啉基、异吡啶基、异喹啉基、异噻唑基、异噁唑基、亚甲基二氧基苯基、吗啉基、萘啶基、八氢异喹啉基、噁二唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、噁唑烷基、噁唑基、oxepanylyl、oxetanylyl、氧代吡啶基(oxindolylyl)、嘧啶基、菲啶基、菲咯啉基、吩嗪基、吩噻嗪基、苯氧吩噻基、吩噁嗪基、酞嗪基、哌嗪基、哌啶基、哌啶酮基(piperidonylyl)、4-哌啶酮基、胡椒基(piperonylyl)、蝶啶基(pteridinylyl)、嘌呤基、吡喃基、吡嗪基、吡唑烷基、吡唑啉基、吡唑基、哒嗪基、吡啶并噁唑、吡啶并咪唑、吡啶并噻唑、吡啶基(pyridinylyl)、吡啶基(pyridylyl)、嘧啶基、吡咯烷基、吡咯啉基、2H-吡咯基、吡咯基、喹唑啉基、喹啉基、4H-喹啉基、喹喔啉基、奎宁啶基(quinuclidinylyl)、四氢呋喃基、四氢异喹啉基、四氢吡喃基、四氢喹啉基、四唑基、6H-1,2,5-噻二嗪基、1,2,3-噻二唑基、1,2,4-噻二唑基、1,2,5-噻二唑基、1,3,4-噻二唑基、二硫杂蒽基(thianthrenylyl)、噻唑基、噻吩基、噻吩并噻唑基、噻吩并噁唑基、噻吩并咪唑基、噻吩基以及咕吨基(xanthylylyl)。一些示例性杂芳基包括但不限于吡啶基、呋喃基或呋喃基、咪唑基、苯并咪唑基、嘧啶基、噻吩基或噻吩基、哒嗪基、吡嗪基、喹啉基、吡啶基、噻唑基、萘啶基、2-氨基-4-氧代-3,4-二氢蝶啶-6-基、四氢异喹啉基等。在一些实施方式中,每个环的1个、2个、3个或4个氢原子可被取代基取代。

[0218] 如本文所用,术语“取代的”是指用独立地选自但不限于如下的取代基独立替换取代部分上的一个或多个氢原子:烷基、烯基、杂环烷基、烷氧基、芳氧基、羟基、氨基、酰胺基、烷基氨基、芳基氨基、氰基、卤代、巯基、硝基、羰基、酰基、芳基和杂芳基基团。

[0219] 如本文所用,术语“取代的”是指取代部分上的一个或多个(通常为1个、2个、3个、4个或5个)氢原子被独立地选自在下面的“取代基”定义中列出或以其它方式指定的取代基替换。通常,非氢取代基可为可与指定被取代的给定部分的原子结合的任何取代基。取代基

的实例包括但不限于酰基、酰基氨基、酰基氧基、醛、脂环族、脂肪族、烷磺酰氨基、烷磺酰基、烷芳基、烯基、烷氧基、烷氧基羰基、烷基、烷氨基、烷羰基、亚烷基、次烷基、烷硫基、炔基、酰胺、酰胺基、氨基、氨基、氨基烷基、芳基烷基、芳基烷基磺酰氨基、芳炔磺酰氨基、芳炔磺酰基、芳香族、芳基、芳基氨基、芳基甲酰基(arylcarbanoyl)、芳基氧基、叠氮基、氨基甲酰基、羰基、羰基类(包括酮、羧基、羧酸盐/酯)、 CF_3 、氰基(CN)、环烷基、亚环烷基、酯、醚、卤代烷基、卤素、卤素、杂芳基、杂环基、羟基、羟基、羟烷基、亚氨基、亚氨基酮、酮、巯基、硝基、氧杂烷基、氧代、氧代烷基、磷酰基(包括膦酸酯/盐和次膦酸酯/盐)、甲硅烷基团、磺酰胺基、磺酰基(包括硫酸盐/酯、氨磺酰基和磺酸盐/酯)、硫醇和脲基部分,它们中的每一个也可任选地被取代或未被取代。在一些情况下,两个取代基连同它们所连接的碳可形成环。

[0220] 芳基和杂芳基可任选地在一个或多个位置被一个或多个取代基取代,例如卤素、烷基、芳基烷基、烯基、炔基、环烷基、羟基、氨基、硝基、硫氢基、亚氨基、酰胺基、磷酸盐/酯、膦酸盐/酯、次膦酸盐/酯、羰基、羧基、甲硅烷基、醚基、烷硫基、磺酰基、酮、醛、酯、杂环基、芳香族或杂芳族部分、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CN}$ 等。

[0221] 如本文所用,术语“烷氧基”或“烷氧基的”是指如上定义的烷基基团具有与其连接的氧自由基。代表性的烷氧基基团包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、叔丁氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基等。“醚”是由氧共价连接的两个烃。因此,使烷基成为醚的烷基的取代基是或类似于烷氧基,例如可由-O-烷基、-O-烯基和-O-炔基之一表示。芳氧基(Aroxy)可由-O-芳基或O-杂芳基表示,其中芳基和杂芳基定义如下。烷氧基和芳氧基基团可如上文对烷基所述那样被取代。

[0222] 如本文所用,术语“芳烷基”是指被芳基基团(例如芳香族或杂芳族基团)取代的烷基。

[0223] 术语“烷硫基”是指如上定义的烷基具有与其连接的硫自由基。在优选的实施方式中,“烷硫基”部分由-S-烷基、-S-烯基和-S-炔基之一表示。代表性的烷硫基基团包括甲硫基、乙硫基等。术语“烷硫基”还包括环烷基基团、烯炔和环烯炔基团、以及炔基基团。“芳硫基”是指芳基或杂芳基基团。

[0224] 术语“亚磺酰基”是指-SO-自由基。值得注意的是,亚磺酰基自由基可进一步被多种取代基取代以形成不同的亚磺酰基基团,包括亚磺酸、亚磺酰胺、亚磺酰基酯、亚磺等。

[0225] 术语“磺酰基”是指-SO₂-自由基。值得注意的是,磺酰基自由基可进一步被多种取代基取代以形成不同的磺酰基基团,包括磺酸(-SO₃H)、磺酰胺、磺酸酯、磺等。

[0226] 术语“硫代羰基”是指-C(S)-自由基。值得注意的是,硫代羰基自由基可进一步被多种取代基取代以形成不同的硫代羰基基团,包括硫代酸、硫代酰胺、硫代酯、硫代酮等。

[0227] 如本文所用,术语“氨基”是指-NH₂。术语“烷基氨基”是指具有至少一个与氮相连的直链或支链不饱和脂肪族、环基或杂环基自由基的氮部分。例如,代表性的氨基基团包括-NH₂、-NHCH₃、-N(CH₃)₂、-NH(C₁-C₁₀烷基)、-N(C₁-C₁₀烷基)₂等。术语“烷基氨基”包括“烯基氨基”、“炔基氨基”、“环基氨基”以及“杂环基氨基”。术语“芳基氨基”是指具有至少一个与氮相连的芳基自由基的氮部分。例如-NH芳基和-N(芳基)₂。术语“杂芳基氨基”是指具有至少一个与氮连接的杂芳基自由基的氮部分。例如-NH杂芳基和-N(杂芳基)₂。任选地,两个取代基与氮一起也可形成环。除非另有说明,本文所述的含有氨基部分的化合物可包括其受保护的衍生物。氨基部分的合适保护基团包括乙酰基、叔丁氧羰基、苄氧羰基等。

[0228] 术语“氨基烷基”是指如上定义的烷基、烯基和炔基,只是一个或多个取代或未取代的氮原子(-N-)位于所述烷基、烯基或炔基的碳原子之间。例如,(C₂-C₆)氨基烷基是指包含2个-6个碳和一个或多个位于碳原子之间的氮原子的链。

[0229] 术语“烷氧基烷氧基”是指-O-(烷基)-O-(烷基),例如-OCH₂CH₂OCH₃等。术语“烷氧基羰基”是指-C(O)O-(烷基),例如-C(=O)OCH₃、-C(=O)OCH₂CH₃等。术语“烷氧基烷基”是指-(烷基)-O-(烷基),例如-CH₂OCH₃、-CH₂OCH₂CH₃等。术语“芳基氧基”是指-O-(芳基),例如-O-苯基、-O-吡啶基等。术语“芳基烷基”是指-(烷基)-(芳基),例如苄基(即-CH₂苯基)、-CH₂-吡啶基等。术语“芳基烷氧基”是指-O-(烷基)-(芳基),例如-O-苄基、-O-CH₂-吡啶基等。术语“环烷氧基”是指-O-(环烷基),例如-O-环己基等。术语“环烷基烷氧基”是指-O-(烷基)-(环烷基),例如-OCH₂环己基等。术语“氨基烷氧基”是指-O-(烷基)-NH₂,例如-OCH₂NH₂、-OCH₂CH₂NH₂等。术语“单或二烷基氨基”分别是指-NH(烷基)或-N(烷基)(烷基),例如-NHCH₃、-N(CH₃)₂等。术语“单或二烷基氨基烷氧基”分别是指-O-(烷基)-NH(烷基)或-O-(烷基)-N(烷基)(烷基),例如-OCH₂NHCH₃、-OCH₂CH₂N(CH₃)₂等。术语“芳基氨基”是指-NH(芳基),例如-NH-苯基、-NH-吡啶基等。术语“芳基烷基氨基”是指-NH-(烷基)-(芳基),例如-NH-苄基、-NHCH₂-吡啶基等。术语“烷基氨基”是指-NH(烷基),例如-NHCH₃、-NHCH₂CH₃等。术语“环烷基氨基”是指-NH-(环烷基),例如-NH-环己基等。术语“环烷基烷基氨基”是指-NH-(烷基)-(环烷基),例如-NHCH₂-环己基等。

[0230] 关于本文提供的所有定义,应注意定义应解释为开放式的,意思是可包括超出规定的其它取代基。因此,C₁烷基表示存在一个碳原子,但不表示碳原子上的取代基是什么。因此,C₁烷基包括甲基(即-CH₃)以及-CR_aR_bR_c,其中R_a、R_b和R_c可各自独立地为氢或其中碳的 α 原子为杂原子或氰基的任何其它取代基。因此,CF₃、CH₂OH和CH₂CN都为C₁烷基。

[0231] 除非另有说明,否则本文描述的结构旨在包括仅在一种或多种同位素富集原子的存在下而不同的化合物。例如,除了氢原子被氘或氚替换或碳原子被富集¹³C或¹⁴C的碳替换之外,具有本结构的化合物在本发明的范围内。

[0232] 如本文所用,术语“异构体”是指具有相同分子式但结构不同的化合物。仅在构型和/或构象上不同的异构体称为“立体异构体”。术语“异构体”也用于指对映异构体。

[0233] 术语“对映异构体”用于描述作为彼此的镜像并且不可重叠的一对分子异构体中的一个。用于指定或指代对映异构体的其它术语包括“立体异构体”(因为手性中心周围的排列或立体化学不同,尽管所有对映异构体都是立体异构体,但并非所有立体异构体都是对映异构体)或“旋光异构体”(因为纯对映异构体的光学活性,即不同纯对映异构体在不同方向上旋转平面偏振光的能力)。对映异构体通常具有相同的物理性质,例如熔点和沸点,并且还具有相同的光谱性质。对映异构体在它们与平面偏振光的相互作用和生物活性方面可彼此不同。

[0234] 术语“外消旋混合物”、“外消旋化合物”或“外消旋体”是指一种化合物的两种对映异构体的混合物。理想的外消旋混合物是其中化合物的两种对映异构体的50:50混合物,使得(+)对映异构体的旋光度抵消(-)对映异构体的旋光度。

[0235] 当用于提及外消旋混合物时,术语“拆分(resolving/resolution)”是指将外消旋体分离为其两种对映体形式(即(+)和(-)、或(R)和(S)形式)。该术语还可指外消旋体的一种异构体向产物的对映选择性转化。

[0236] 术语“对映体过量”或“ee”是指其中一种对映异构体的产生多于另一种的反应产物,并且定义为具有以摩尔或重量或体积分数 $F_{(+)}$ 和 $F_{(-)}$ (其中 $F_{(+)}$ 和 $F_{(-)}$ 之和=1)给出的组成的(+)-和(-)-对映异构体的混合物。对映体过量定义为 $*F_{(+)}-F_{(-)}*$,并且对映体过量百分比定义为 $100x*F_{(+)}-F_{(-)}*$ 。对映异构体的“纯度”由其ee或百分比ee值(%ee)描述。

[0237] 无论表达为“纯化的对映异构体”或“纯对映异构体”或“拆分的对映异构体”或“对映体过量的化合物”,这些术语均旨在表示一种对映异构体的量超过另一种对映异构体的量。因此,当提及对映异构体制剂时,主要对映异构体的百分比(例如按摩尔或重量或体积)和(或)主要对映异构体的对映体过量百分比两者(或其中之一)可用于确定是否该制剂代表纯化的对映异构体制剂。

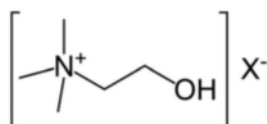
[0238] 术语异构体的“对映体的纯度”或“对映异构体纯度”是指对纯化的对映异构体的定性或定量测定,通常,测定值基于ee或对映体过量来表示。

[0239] 术语“基本上纯化的对映异构体”、“基本拆分的对映异构体”、“基本上纯化的对映异构体制剂”旨在表示其中一种对映异构体相对于另一种已被富集的制剂(例如衍生自非光学活性起始材料、底物或中间体),并且更优选地,其中另一种对映异构体占对映异构体或对映异构体制剂的小于20%、更优选小于10%、更优选小于5%、还更优选小于2%。

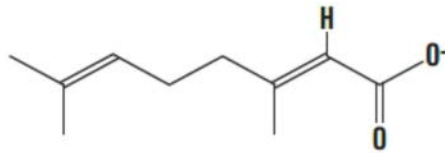
[0240] 术语“纯化的对映异构体”、“拆分的对映异构体”和“纯化的对映异构体制剂”旨在说明其中一种对映异构体(例如R-对映异构体)相对于另一种而言被富集的制剂(例如衍生自非光学活性起始材料、底物或中间体),并且更优选地,其中另一种对映异构体(例如S-对映异构体)占所述制剂的小于30%、优选小于20%、更优选小于10%(例如在这种特定情况下,R-对映异构体基本上不含有S-对映异构体)、更优选小于5%、还更优选小于2%。纯化的对映异构体可在基本上不含其它对映异构体的情况下被合成、或者纯化的对映异构体可在立体优选的程序中合成,然后进行分离步骤、或者纯化的对映异构体可衍生自外消旋混合物。

[0241] 术语“对映选择性”,也称为对映体比(由符号“E”表示),是指酶从外消旋底物生成在产物外消旋化合物中相对于另一对映异构体的一种对映异构体的选择能力,换句话说,它是酶区分不同对映异构体的能力的量度。非选择性反应的E为1,而E大于20的拆分通常被认为对合成或拆分有用。对映选择性在于所讨论的对映异构体之间的转化率差异。得到对映异构体中的一种被富集的反应产物;相反,剩余的底物在另一种对映异构体方面被富集。出于实践目的,通常希望以大大过量来获得对映异构体中的一种。这是通过在一定程度的转化处终止转化过程来实现的。

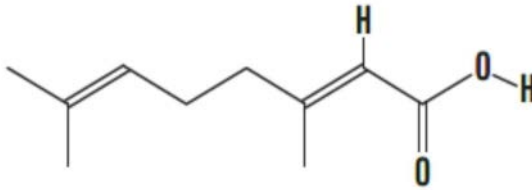
[0242] CAGE(胆碱和香叶根)是包含阳离子胆碱(参见例如式XI)和阴离子香叶根或香叶酸(参见例如式XII和式XIII)的离子液体。例如,CAGE的制备可如国际专利公开WO 2015/066647中所述(通过引用的方式将其整体并入本文),或如本文实施例中所述。



式XI



式XII



式XIII

[0243] 在本文中,术语“降低”、“减少/减小”或“抑制”均用于表示统计学显著量的降低。在一些实施方式中,“减少/减小”、“降低”、或“抑制”通常是指与参比水平(例如不存在给定治疗或药剂)相比,降低至少10%,并且可包括例如降低至少约10%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或更多。如本文所用,“减少/减小”或“抑制”不包括与参比水平相比的完全抑制或减少/减小。“完全抑制”是与参比水平相比100%抑制。降低可优选地下降到没有给定紊乱的个体的正常范围内的可接受的水平。

[0244] 术语“增加”、“增强”或“激活/活化”在本文中均用于表示统计显著量的增加。在一些实施方式中,术语“增加”、“增强”或“激活/活化”可意指与参比水平相比增加至少10%,例如增加至少约20%、或至少约30%、或至少约40%、或至少约50%、或至少约60%、或至少约70%、或至少约80%、或至少约90%或更多,并且包括与参比水平相比100%增加或10%-100%之间的任何增加,或与参比水平相比,至少约2倍、或至少约3倍、或至少约4倍、或至少约5倍或至少约10倍的增加,或2倍至10倍之间的任何增加或更多。在标志物或症状的上下文中,“增加”是此类水平的统计学显著增加。

[0245] 如本文所用,“受试者”是指人或动物。通常,动物为脊椎动物,例如灵长类动物、啮齿动物、家畜或狩猎动物。灵长类动物包括黑猩猩、食蟹猴、蜘蛛猴和猕猴(例如恒河猴)。啮齿动物包括小鼠、大鼠、土拨鼠、雪貂、兔和仓鼠。家畜和狩猎动物包括奶牛、马、猪、鹿、野牛、水牛、猫科物种(例如家猫)、犬科物种(例如狗、狐狸、狼)、鸟类物种(例如鸡、鹌鹑、鸵鸟)以及鱼类(例如鳟鱼、鲑鱼和鲑鱼)。在一些实施方式中,受试者为哺乳动物,例如灵长类动物(例如人)。术语“个体”、“患者”和“受试者”在本文中可互换使用。

[0246] 优选地,受试者为哺乳动物。哺乳动物可为人、非人灵长类动物、小鼠、大鼠、狗、猫、马或奶牛,但不限于这些实例。除了人之外的哺乳动物可有利地用作代表本文所述病症的动物模型的受试者。受试者可为雄性或雌性。

[0247] 受试者可为先前已被诊断具有或被鉴定为遭受或患有需要治疗的病症或与此类病症相关的一种或多种并发症的人,并且任选地,已经经历了针对所述病症或与所述病症相关的一种或多种并发症的治疗。或者,受试者也可为先前未被诊断为患有该病症或与该病症相关的一种或多种并发症的人。例如,受试者可为表现出关于该病症或与该病症相关的一种或多种并发症的一种或多种风险因素的人,或者是不表现出风险因素的受试者。

[0248] “需要”治疗特定病症的“受试者”可为患有该病症、被诊断为患有该病症或处于发

展出该病症的风险中的受试者。

[0249] 如本文所用,术语“蛋白质”和“多肽”在本文中可互换使用来表示通过相邻残基的 α -氨基和羧基基团之间的肽键彼此连接的一连串的氨基酸残基。术语“蛋白质”和“多肽”是指氨基酸的聚合物,包括修饰的氨基酸(例如,磷酸化、糖化、糖基化等)和氨基酸类似物,无论其大小或功能如何。“蛋白质”和“多肽”通常用于指代相对较大的多肽,而术语“肽”通常用于指代小的多肽,但这些术语在本领域中的使用重叠。当涉及基因产物及其片段时,术语“蛋白质”和“多肽”在本文中可互换使用。因此,示例性的多肽或蛋白质包括基因产物、天然存在的蛋白质、同源物、直系同源物、旁系同源物、片段以及前述的其它等同物、变体、片段和类似物。

[0250] 在本文所述的各种实施方式中,在进一步考虑之列的是包括所述任何特定多肽的变体(天然存在的或以其它方式)、等位基因、同源物、保守修饰变体和/或保守置换变体。关于氨基酸序列,本领域技术人员将认识到,对核酸、肽、多肽或蛋白序列的单独置换、删除或添加(其改变编码序列中的单个氨基酸或小百分比的氨基酸)为“保守修饰变体”,其中所述改变引起氨基酸被置换为化学上相似的氨基酸并保留多肽的期望活性。此类保守修饰变体是对与本公开一致的等位基因、多态变体和种间同源物的补充,并且不排除与本公开一致的等位基因、多态变体和种间同源物。

[0251] 给定的氨基酸可被具有相似物理化学特征的残基替换,例如,用一个脂肪族残基置换另一个(例如Ile、Val、Leu或Ala彼此置换),或用一个极性残基置换另一个(例如在Lys和Arg、Glu和Asp、或Gln和Asn之间)。其它此类保守置换(例如具有相似疏水性特征的整个区域的置换)是众所周知的。可以以本文所述的任何一种测定来测试包含保守氨基酸置换的多肽,以确认所期望的活性(例如天然或参比多肽的活性和特异性)得以保留。

[0252] 可根据其侧链性质的相似性对氨基酸进行分组(在A.L. Lehninger, in Biochemistry, 第二版, pp. 73-75, Worth Publishers, 纽约(1975)中): (1) 非极性的: Ala (A)、Val (V)、Leu (L)、Ile (I)、Pro (P)、Phe (F)、Trp (W)、Met (M), (2) 不带电的极性的: Gly (G)、Ser (S)、Thr (T)、Cys (C)、Tyr (Y)、Asn (N)、Gln (Q), (3) 酸性的: Asp (D)、Glu (E), (4) 碱性的: Lys (K)、Arg (R)、His (H)。或者,可根据共同的侧链特性将天然存在的残基分组: (1) 疏水性的: 正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile, (2) 中性亲水性的: Cys、Ser、Thr、Asn、Gln, (3) 酸性的: Asp、Glu, (4) 碱性的: His、Lys、Arg, (5) 影响链取向的残基: Gly、Pro, (6) 芳香族的: Trp、Tyr、Phe。非保守置换牵涉到将这些类别中的一个成员替换为另一个类别。具体的保守置换包括例如: Ala置换为Gly或Ser, Arg置换为Lys, Asn置换为Gln或His, Asp置换为Glu, Cys置换为Ser, Gln置换为Asn, Glu置换为Asp, Gly置换为Ala或Pro, His置换为Asn或Gln, Ile置换为Leu或Val, Leu置换为Ile或Val, Lys置换为Arg、Gln或Glu, Met置换为Leu、Tyr或Ile, Phe置换为Met、Leu或Tyr, Ser置换为Thr, Thr置换为Ser, Trp置换为Tyr, Tyr置换为Trp, 和/或Phe置换为Val、Ile或Leu。

[0253] 在一些实施方式中,本文所述的多肽(或编码此类多肽的核酸)可为本文所述的氨基酸序列之一的功能片段。如本文所用,“功能片段”是根据本文下文描述的测定保留至少50%的野生型参比多肽活性的肽的片段或区段。功能片段可包含本文公开的序列的保守置换。

[0254] 在一些实施方式中,本文所述的多肽可为本文所述序列的变体。在一些实施方式

中,变体为保守修饰的变体。例如,可通过天然核苷酸序列的突变获得保守置换变体。如本文所指的“变体”是与天然或参比多肽基本上同源的多肽,但由于一个或多个删除、插入或置换而具有与所述天然或参比多肽的氨基酸序列不同的氨基酸序列。当与天然或参比DNA序列相比时,编码变体多肽的DNA序列包括含有一个或多个核苷酸的添加、删除或置换但编码保留活性的变体蛋白或其片段的序列。多种基于PCR的位点特异性诱变方法是本领域已知的,并且可由普通技术人员应用。

[0255] 变体氨基酸或DNA序列可与天然或参比序列具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更高同一性。例如,通过使用在万维网上普遍用于此目的的免费可用的计算机程序(例如具有默认设置的BLASTp或BLASTn)比较两个序列,可确定天然序列和突变序列之间的同源性程度(同一性百分比)。

[0256] 在任何方面的一些实施方式中,变体可为与本文提供的参比序列之一具有至少90%、至少95%、至少98%或更高序列同源性并保留该参比序列的野生型活性(例如肠促胰岛素活性)的多肽。在任何方面的一些实施方式中,变体可为与本文提供的天然存在的参比序列之一具有至少90%、至少95%、至少98%或更高序列同源性并保留该参比序列的野生型活性(例如肠促胰岛素活性)的多肽。在任何方面的一些实施方式中,变体可为与本文提供的参比序列之一具有至少90%、至少95%、至少98%或更高的序列同源性并保留该参比序列的野生型活性(例如肠促胰岛素活性)的天然存在的多肽。

[0257] 可通过本领域技术人员已知的多种技术中的任一种来完成天然氨基酸序列的改变。例如,可通过合成含有突变序列的寡核苷酸而在特定基因座引入突变,其侧接有使得能够与天然序列的片段连接的限制性位点。连接后,所得重构序列编码具有所需氨基酸插入、置换或删除的类似物。或者,可使用寡核苷酸定向的位点特异性诱变程序来提供具有特定密码子的改变的核苷酸序列,所述特定密码子根据所需的置换、删除或插入而改变。进行此类改变的技术非常成熟,包括例如由Walder等(Gene, 42:133, 1986)、Bauer等(Gene, 37:73, 1985)、Craik(BioTechniques, 1985年1月, 12-19)、Smith等(Genetic Engineering: Principles and Methods, Plenum Press, 1981)、以及U.S. Pat. No: 4,518,584和4,737,462公开的技术,通过引用的方式将其整体并入本文。也可将不参与维持多肽正确构象的任何半胱氨酸残基置换掉(通常置换为丝氨酸),以改善分子的氧化稳定性并防止异常交联。相反,可将半胱氨酸键添加至多肽,以改善其稳定性或促进寡聚化。

[0258] 如本文所用,术语“抗体”是指免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫活性部分,即含有免疫特异性结合抗原的抗原结合位点的分子。该术语还指由两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链组成的抗体以及包括全长抗体及其抗原结合部分在内的多种形式:包括例如免疫球蛋白分子、单克隆抗体、嵌合抗体、CDR移植抗体、人源化抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、二硫键连接的Fv、scFv、单域抗体(dAb)、双价抗体(diabody)、多特异性抗体、双重特异性抗体(dual specific antibody)、抗独特型抗体、双特异性抗体、其功能活性表位结合部分、和/或双功能杂合抗体。每条重链由所述重链的可变区(本文缩写为HCVR或VH)和所述重链的恒定区组成。重链恒定区由三个结构域CH1、CH2和CH3组成。每条轻链由所述轻链的可变区(本文缩写为LCVR或VL)和所述轻链的恒定区组成。轻链恒定区由CL结构域组成。VH和VL区可进一步分为称为互补决定区(CDR)的高变区、并散布有称为框架区

(FR)的保守区。因此,每个VH和VL区由三个CDR和四个FR组成,它们从N末端到C末端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。这种结构对于本领域技术人员来说是众所周知的。

[0259] 如本文所用,术语“抗体试剂”是指包含至少一个免疫球蛋白可变结构域或免疫球蛋白可变结构域序列、并且特异性结合给定抗原的多肽。抗体试剂可包括抗体或包含抗体的抗原结合结构域的多肽。在一些实施方式中,抗体试剂可包括单克隆抗体或包含单克隆抗体的抗原结合结构域的多肽。例如,抗体可包含重(H)链可变区(在本文中缩写为VH)和轻(L)链可变区(在本文中缩写为VL)。在另一实例中,抗体包含两个重(H)链可变区和两个轻(L)链可变区。术语“抗体试剂”包括抗体的抗原结合片段(例如,单链抗体、Fab和sFab片段、F(ab')₂、Fd片段、Fv片段、scFv和结构域抗体(dAb)片段)、以及完整的抗体。

[0260] 抗体和/或抗体试剂可包括免疫球蛋白分子、单克隆抗体、嵌合抗体、CDR移植抗体、人源化抗体、全长人抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、二硫键连接的Fv、scFv、单域抗体、双价抗体、多特异性抗体、双重特异性抗体、抗独特型抗体、双特异性抗体、及其功能活性表位结合部分。

[0261] 如本文所用,术语“纳米抗体”或单域抗体(sdAb)是指包含从骆驼科动物和单峰骆驼获得的抗体的小的单可变域(VHH)的抗体。从骆驼和单峰骆驼(*Camelus bactrianus*和*Camelus dromedarius*)家族成员(包括世界新成员,例如美洲驼物种(*Lama pacos*、*Lama glama*和*Lama vicugna*))获得的抗体蛋白已在大小、结构复杂性以及关于人受试者的抗原性方面进行了表征。在自然界中发现的来自该哺乳动物家族的某些IgG抗体缺乏轻链,因此在结构上与来自其它动物的抗体的具有两条重链和两条轻链的典型四链四级结构不同。参见PCT/EP93/02214(WO 94/04678,1994年3月3日公开;通过引用将其整体并入本文)。

[0262] 可通过基因工程获得骆驼抗体的区域(其是被识别为VHH的小的单可变结构域),以产生对靶标具有高亲和力的小蛋白质,从而产生低分子量的抗体衍生蛋白,称为“骆驼纳米抗体”。参见U.S.Pat.No.5,759,808,1998年6月2日公布;另见Stijlemans,B.等,2004J Biol Chem279:1256-1261;Dumoulin,M.等,2003Nature 424:783-788;Pleschberger,M.等,2003Bioconjugate Chem 14:440-448;Cortez-Retamozo,V.等,2002Int J Cancer 89:456-62;以及Lauwereys,M.等,1998EMBO J.17:3512-3520;通过引用的方式将各自以其整体并入本文。可从例如来自Ablynx(Ghent,Belgium)商购骆驼抗体和抗体片段的工程化文库。与其它非人来源的抗体一样,可重组改变骆驼抗体的氨基酸序列,以获得更接近人序列的序列,即可使纳米抗体“人源化”。因此,骆驼抗体对人的天然低抗原性可进一步降低。

[0263] 骆驼纳米抗体的分子量约为人IgG分子的十分之一,并且该蛋白的物理直径仅为几纳米。小尺寸的一个结果是骆驼纳米抗体能够与对于较大的抗体蛋白在功能上不可见的抗原位点结合,即骆驼纳米抗体可用作试剂检测使用经典免疫学技术难测的抗原,也可用作可能的治疗剂。因此,小尺寸的另一个结果是,骆驼纳米抗体可以通过与靶标蛋白凹槽或狭窄裂缝中的特定位点结合来进行抑制,因此其可以发挥更接近于经典的低分子量药物功能而不是经典的抗体的能力。低分子量和紧凑的尺寸进一步使得骆驼纳米抗体极度热稳定,对极端pH值和蛋白水解消化稳定,并且抗原性差。参见美国专利申请20040161738,2004年8月19日公布。以引用方式将其整体并入本文。这些特征结合对人的低抗原性显示出巨大的治疗潜力。

[0264] 在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物包含抗体或抗体试剂,并且所述阴离子为包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP。在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物包含抗体或抗体试剂,并且所述阴离子为已烯酸。

[0265] 在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物包含核酸,并且所述阴离子为包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP。在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物包含核酸,并且所述阴离子为已烯酸。

[0266] 在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物包含抑制性核酸、siRNA、pDNA或mRNA,并且所述阴离子为包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP。在任何方面的一些实施方式中,所述活性化合物包含抑制性核酸、siRNA、pDNA或mRNA,并且所述阴离子为已烯酸。

[0267] 如本文所用,术语“核酸”或“核酸序列”是指并入了核糖核酸、脱氧核糖核酸或其类似物的单元的任何分子,优选聚合分子。核酸可为单链的或双链的。单链核酸可为变性双链DNA的一条核酸链。或者,其可为不来源于任何双链DNA的单链核酸。一方面,核酸可为DNA。在另一方面,核酸可为RNA。例如,合适的DNA可包括cDNA。例如,合适的RNA可包括mRNA。

[0268] 如本文所用,“抑制性核酸”是指可抑制靶标表达的核酸分子,例如双链RNA(dsRNA)、抑制性RNA(iRNA)等。在任何方面的一些实施方式中,抑制性核酸可为沉默RNA(siRNA)、微小RNA(miRNA)或短发夹RNA(shRNA)。抑制性核酸还可包括引导序列分子(例如,引导RNA),其例如与酶组合起作用以诱导靶标的插入、删除、插入缺失和/或突变,从而抑制靶标的表达。

[0269] 已证明双链RNA分子(dsRNA)在称为RNA干扰(RNAi)的高度保守调节机制中阻断基因表达。本文所述的抑制性核酸可包括RNA链(反义链),所述RNA链具有长度为30个核苷酸以下(即长度为15个-30个核苷酸,通常长度为19个-24个核苷酸)的区域,所述区域基本上与所靶向的mRNA转录物的至少部分互补。使用这些iRNA可实现mRNA转录物的靶向降解,从而降低靶标的表达和/或活性。

[0270] 如本文所用,术语“iRNA”是指包含RNA(或如下文所述的修饰核酸)并通过RNA诱导的沉默复合体(RISC)通路介导RNA转录物的靶向切割的药剂。在任何方面的一些实施方式中,如本文所述的iRNA引起对靶标的表达和/或活性的抑制。在任何方面的一些实施方式中,与不存在iRNA的细胞中发现的靶标mRNA水平相比,使细胞与抑制剂(例如iRNA)接触引起细胞中靶标mRNA水平降低至少约5%、约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%、约99%,上至并包括100%。在任何方面的一些实施方式中,与不存在iRNA的受试者中发现的靶标mRNA水平相比,给予受试者抑制剂(例如iRNA)引起受试者中靶标mRNA水平降低至少约5%、约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%、约99%,上至并包括100%。

[0271] 在任何方面的一些实施方式中,iRNA可为dsRNA。dsRNA包括足够互补以在将使用该dsRNA的条件下杂交形成双链体结构的两条RNA链。dsRNA的一条链(反义链)包括与靶标序列具有互补性(基本上互补并且通常完全互补)的区域。所述靶标序列可衍生自在靶标表达期间形成的mRNA序列,例如,它可跨越一个或多个内含子边界。另一条链(有义链)包括与反义链具有互补性的区域,使得两条链在合适条件下结合时杂交并形成双链体结构。通常,所述双链体结构的长度在15个和30个碱基对之间,包含端值;更通常长度在18个和25个碱

基对之间,包含端值;更通常长度在19个和21个碱基对之间,包含端值;并且最通常长度在19个和21个碱基对之间,包含端值。类似地,与靶标序列具有互补性的区域的长度在15个和30个碱基对之间,包含端值;更通常长度在18个和25个碱基对之间,包含端值;更通常长度在19个和24个碱基对之间,包含端值;并且最通常长度在19个和21个碱基对之间,包含端值。在任何方面的一些实施方式中,所述dsRNA的长度在15个和20个核苷酸之间,包含端值,并且在其它实施方式中,所述dsRNA的长度在25个和30个核苷酸之间,包含端值。正如普通技术人员将认识到的,靶向切割的RNA的靶向区域最经常是较大RNA分子(通常为mRNA分子)的一部分。在相关的情况下,mRNA靶标的“部分”是mRNA靶标的连续序列,其长度足以成为RNAi定向切割(即通过RISC途径的切割)的底物。在某些情况下,具有短至9个碱基对的双链体的dsRNA介导RNAi定向的RNA切割。大多数情况下,靶标的长度为至少15个核苷酸,优选长度为15个-30个核苷酸。

[0272] 抑制性核酸类型的示例性实施方式可包括例如siRNA、shRNA、miRNA和/或amiRNA,其均为本领域公知的。本领域技术人员将能够例如使用可公开获得的设计工具,设计进一步的siRNA、shRNA或miRNA以靶向靶标基因或基因产物(例如mRNA)的核酸序列。siRNA、shRNA或miRNA通常使用公司(如Dharmacon(Layfayette,CO)或Sigma Aldrich(St.Louis,MO))来制造。

[0273] 在任何方面的一些实施方式中,iRNA的RNA(例如dsRNA)被化学修饰以增强稳定性或其它有益特性。可通过本领域中良好建立的方法合成和/或修饰本文所述的核酸,例如在“Current protocols in nucleic acid chemistry”,Beaucage,S.L.等(编著),John Wiley&Sons,Inc.,New York,NY,USA(通过引用的方式将其并入本文)中描述的那些方法。修饰包括例如:(a)末端修饰,例如5'端修饰(磷酸化、缀合、反向连接等)、3'端修饰(缀合、DNA核苷酸、反向连接等);(b)碱基修饰,例如替换为稳定碱基、去稳定碱基或与扩展的伴侣库碱基配对的碱基,碱基移除(无碱基核苷酸),或缀合的碱基;(c)糖修饰(例如,在2'位或4'位)或糖替换;以及(d)骨架修饰,包括磷酸二酯键的修饰或替换。用于本文所述实施方式中的RNA化合物的具体实例包括但不限于含有修饰的骨架或不含天然核苷间连接键的RNA。具有修饰骨架的RNA尤其包括在骨架中没有磷原子的RNA。出于本说明书的目的,并且如本领域中有时提到的,在其核苷间骨架中不具有磷原子的修饰RNA也可被认为是寡核苷。在任何方面的一些实施方式中,修饰的RNA将在其核苷间骨架中具有磷原子。

[0274] 例如,修饰的RNA骨架可包括具有正常3'-5'连接键的硼磷酸酯、硫代磷酸酯、手性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基磷酸三酯、甲基和其它烷基磷酸酯(包括3'-亚烷基磷酸酯和手性磷酸酯)、次磷酸酯、氨基磷酸酯(包括3'-氨基磷酸氨基酯和氨基烷基氨基磷酸酯)、硫羰氨基磷酸酯、硫羰烷基磷酸酯(thionoalkylphosphonates)和硫羰烷基磷酸三酯(thionoalkylphosphotriesters),它们的2'-5'连接类似物,以及具有反极性的那些(其中,相邻的核苷单元对以3'-5'至5'-3'或2'-5'至5'-2'连接)。还包括各种盐、混合盐和游离酸形式。其中不包含磷原子的修饰的RNA骨架具有通过如下形成的骨架:短链烷基或环烷基核苷间连接键、混合杂原子和烷基或环烷基核苷间连接键、或一个或多个短链杂原子或杂环核苷间连接键。这些骨架包括:具有吗啉代连接键(部分由核苷的糖部分形成)的骨架、硅氧烷骨架、硫化物骨架、亚砷和砷骨架、甲酰基(formacetyl)和硫代甲酰基(thioformacetyl)骨架、亚甲基甲酰基和硫代甲酰基骨架、含有烯炔的骨架、氨基磺酸酯骨

架、亚甲基亚氨基和亚甲基胍基骨架、磺酸酯和磺胺骨架、酰胺骨架,具有混合的N、O、S和 CH_2 组成部分的其它骨架,以及具有杂原子骨架的寡核苷,特别是 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{O}-\text{CH}_2-$ [称为亚甲基(甲基亚氨基)或MMI骨架], $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ 和 $-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ [其中天然磷酸二酯骨架表示为 $-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-$]。

[0275] 在适合或考虑用于iRNA的其它RNA模拟物中,核苷酸单元的糖和核苷间连接键(即骨架)都被新基团替换。保持碱基单元用于与合适的核酸靶化合物杂交。一种这样的寡聚化合物(已被证明具有优异杂交特性的RNA模拟物)被称为肽核酸(PNA)。在PNA化合物中,RNA的糖骨架被替换为含有酰胺的骨架,特别是氨基乙基甘氨酸骨架。核碱基被保留并直接或间接结合到骨架的酰胺部分的氮杂氮原子。

[0276] iRNA的RNA也可被修饰以包含一种或多种锁核酸(LNA)。锁核酸是具有修饰的核糖部分的核苷酸,其中,所述核糖部分包含连接2'和4'碳的额外的桥。这种结构有效地将核糖“锁定”在3'-内结构构象中。已显示出向siRNA添加锁核酸使血清中siRNA的稳定性增加,并减少脱靶效应(Elmen, J.等, (2005) *Nucleic Acids Research* 33(1):439-447; Mook, OR.等, (2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843; Grunweller, A.等, (2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193)。

[0277] 修饰的RNA也可包含一个或多个取代的糖部分。本文所述的iRNA(例如dsRNA)可在2'位置包含以下之一:OH、F、O-烷基、S-烷基或N-烷基、O-烯基、S-烯基或N-烯基、O-炔基、S-炔基或N-炔基、或O-烷基-O-烷基,其中,所述烷基、烯基和炔基可为取代或未取代的 C_1 至 C_{10} 烷基或 C_2 至 C_{10} 烯基和炔基。示例性的合适的修饰包括 $\text{O}[(\text{CH}_2)_n\text{O}]_m\text{CH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{OCH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{ONH}_2$ 和 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{ON}[(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3]_2$,其中n和m为1至约10。在任何方面的一些实施方式中,dsRNA在2'位置包含以下之一: C_1 至 C_{10} 低级烷基,取代的低级烷基、烷芳基、芳烷基、O-烷芳基或O-芳烷基,SH、 SCH_3 、OCN、Cl、Br、CN、 CF_3 、 OCF_3 、 SOCH_3 、 SO_2CH_3 、 ONO_2 、 NO_2 、 N_3 、 NH_2 、杂环烷基、杂环烷芳基、氨基烷基氨基、多烷基氨基、取代的甲硅烷基、RNA切割基团、报告基团、嵌入剂、改善iRNA药代动力学性质的基团、或改善iRNA药效学性质的基团,以及具有相似性质的其它取代基。在任何方面的一些实施方式中,修饰包括2'甲氧基乙氧基($2'-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$,也称为2'-(2-甲氧基乙基)或2'-MOE)(Martin等, *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78:486-504),即烷氧基-烷氧基基团。另一示例性修饰为如下文的实施例所述的2'-二甲氨基氧基乙氧基,即 $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 基团,也称为2'-DMAOE;以及如下文实施例中所述的2'-二甲氨基乙氧基乙氧基(在本领域中也称为2'-O-二甲氨基乙氧基乙基或2'-DMAEOE),即 $2'-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 。

[0278] 其它修饰包括2'-甲氧基($2'-\text{OCH}_3$)、2'-氨基丙氧基($2'-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$)和2'-氟($2'-\text{F}$)。也可在iRNA的RNA上的其它位置、特别是3'末端核苷酸上或2'-5'连接的dsRNA中的糖的3'位和5'末端核苷酸的5'位进行类似的修饰。iRNA也可具有糖模拟物,例如环丁基部分来代替戊呋喃糖。

[0279] 抑制性核酸还可包含核碱基(在本领域中通常简称为“碱基”)修饰或置换。如本文所用,“未修饰”或“天然”核碱基包括嘌呤碱基腺嘌呤(A)和鸟嘌呤(G),以及嘧啶碱基胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)和尿嘧啶(U)。修饰的核碱基包括其它合成和天然核碱基,例如5-甲基胞嘧啶(5-me-C),5-羟甲基胞嘧啶,黄嘌呤,次黄嘌呤,2-氨基腺嘌呤,腺嘌呤和鸟嘌呤的6-

甲基和其它烷基衍生物,腺嘌呤和鸟嘌呤的2-丙基和其它烷基衍生物,2-硫脲嘧啶,2-硫胸腺嘧啶和2-硫胞嘧啶,5-卤代尿嘧啶和胞嘧啶,5-丙炔基尿嘧啶和胞嘧啶,6-偶氮尿嘧啶、胞嘧啶和胸腺嘧啶,5-尿嘧啶(假尿嘧啶),4-硫脲嘧啶,8-卤代、8-氨基、8-硫醇、8-硫代烷基、8-羟基和其它8-取代的腺嘌呤和鸟嘌呤,5-卤代(特别是5-溴代)、5-三氟甲基和其它5-取代的尿嘧啶和胞嘧啶,7-甲基鸟嘌呤和7-甲基腺嘌呤,8-氮杂鸟嘌呤和8-氮杂腺嘌呤,7-脱氮鸟嘌呤和7-脱氮腺嘌呤(7-daazaadenine),以及3-脱氮鸟嘌呤和3-脱氮腺嘌呤。这些核碱基中的某些特别可用于增加本发明特征性的抑制性核酸的结合亲和力。这些核碱基包括5-取代的嘧啶,6-氮杂嘧啶,和N-2、N-6和O-6取代的嘌呤(包括2-氨基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶和5-丙炔基胞嘧啶)。已证实5-甲基胞嘧啶置换可将核酸双链体稳定性提高0.6°C-1.2°C(Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. 和 Lebleu, B., Eds., *dsRNA Research and Applications*, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278), 并且是示例性碱基置换, 甚至更特别是当与2'-O-甲氧基乙基糖修饰组合时。

[0280] 上述所述的修饰的核酸、骨架和核碱基的制备在本领域中是众所周知的。

[0281] 在本发明中特征性的抑制性核酸的另一修饰涉及将抑制性核酸与一个或多个配体、部分或缀合物化学连接,所述配体、部分或缀合物增强iRNA的活性、细胞分布、药代动力学性质或细胞摄取。此类部分包括但不限于:脂质部分,例如胆固醇部分(Letsinger等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86: 6553-6556);胆酸(Manoharan等, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4: 1053-1060);硫醚,例如bery1-S-三苯甲基硫醇(Manoharan等, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1992, 660: 306-309; Manoharan等, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3: 2765-2770);硫代胆固醇(Oberhauser等, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20: 533-538);脂肪链,例如,十二烷二醇或十一烷基残基(Saison-Behmoaras等, *EMBO J*, 1991, 10: 1111-1118; Kabanov等, *FEBS Lett.*, 1990, 259: 327-330; Svinarchuk等, *Biochimie*, 1993, 75: 49-54);磷脂,例如二-十六烷基-外消旋甘油或三乙基-铵1,2-二-O-十六烷基-外消旋-甘油-3-磷酸酯(Manoharan等, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36: 3651-3654; Shea等, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18: 3777-3783);聚胺或聚乙二醇链(Manoharan等, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14: 969-973);或金刚烷乙酸(Manoharan等, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36: 3651-3654);棕榈基部分(Mishra等, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264: 229-237);或十八烷基胺或己氨基-羰基氧基胆固醇部分(Crooke等, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277: 923-937)。

[0282] 在本文所述的各个方面的一些实施方式中,抑制性核酸为引导核酸(gNA)。如本文所用,术语“引导核酸”、“引导序列”、“crRNA”、“引导RNA”、“单引导RNA”、“gRNA”或“CRISPR引导序列”是指包含确定酶(例如CRISPR/Cas系统的Cas DNA结合蛋白)对多核苷酸靶标的特异性的序列的核酸。gNA可包含与靶标核酸序列至少部分互补的多核苷酸序列,其足以与靶标核酸序列杂交,并指导酶(例如核酸酶)与靶标核酸序列的序列特异性结合。

[0283] 在一些实施方式中,由gNA指导的酶为基因编辑蛋白,例如在所期望的识别位点中诱导缺口或双链断裂的任何核酸酶。此类酶可为天然的或工程化的。然后这些断裂可由细胞通过以下两种方式之一修复:非同源末端连接和同源定向修复(同源重组)。在非同源末端连接(NHEJ)中,双链断裂通过将断裂末端彼此直接连接来修复。因此,尽管一些核酸材料可能丢失,导致缺失,但没有新的核酸材料插入该位点。在同源定向修复中,与切割的靶标DNA序列具有同源性的供体多核苷酸可用作修复切割的靶标DNA序列的模板,从而导致遗传

信息从供体多核苷酸转移到靶标DNA。因此,可将新的核酸材料插入/拷贝到该位点。归因于NHEJ和/或同源定向修复的对靶标DNA的修饰可用于基因校正、基因替换、基因标记、转基因插入、核苷酸删除、基因破坏、基因突变等。

[0284] 在一个实施方式中,基因编辑蛋白为CRISPR相关核酸酶。天然原核CRISPR相关核酸酶系统包含一系列具有恒定长度的插入可变序列的短重复(即成簇的规律间隔的短回文重复),和CRISPR相关(“Cas”)核酸酶蛋白。转录的CRISPR阵列的RNA被Cas蛋白的子集加工成小引导RNA,其通常具有如下所讨论的两个组分。至少有三种不同的系统:I型、II型和III型。在这3个系统中,参与将RNA加工为成熟crRNA的酶是不同的。在天然原核系统中,引导RNA(“gRNA”)包含两种短的非编码RNA种类,称为CRISPR RNA(“crRNA”)和反式作用RNA(“tracrRNA”)。在示例性系统中,gRNA与核酸酶(例如Cas核酸酶)形成复合体。gRNA:核酸酶复合体结合具有前间隔序列邻近基序(“PAM”)和前间隔区的靶多核苷酸序列,所述前间隔区为与gRNA的一部分互补的序列。gRNA:核酸酶复合体对靶多核苷酸的识别和结合诱导靶标的切割。

[0285] 任何CRISPR相关核酸酶均可用于本发明的系统和方法中。CRISPR核酸酶系统是本领域技术人员已知的,例如Cas9、Cas12、Cas12a等,参见专利/申请8,993,233、US2015/0291965、US2016/0175462、US 2015/0020223、US2014/0179770、8,697,359、8,771,945、8,795,965、WO 2015/191693、US 8,889,418、WO 2015/089351、WO 2015/089486、WO 2016/028682、WO 2016/049258、WO 2016/094867、WO 2016/094872、WO 2016/094874、WO 2016/112242、US 2016/0153004、US 2015/0056705、US 2016/0090607、US 2016/0029604、8,865,406、8,871,445,通过引用的方式将其各自以其整体并入。核酸酶还可为噬菌体Cas核酸酶,例如Cas Φ (例如,Pausch等,Science 369:333-7(2020),通过引用的方式将其整体并入本文)。

[0286] 全长引导核酸链可为任何长度。例如,引导核酸链的长度可为约或大于约5个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、21个、22个、23个、24个、25个、26个、27个、28个、29个、30个、35个、40个、45个、50个、75个或更多个核苷酸。在本文所述的各个方面的一些实施方式中,核酸链的长度小于约75个、50个、45个、40个、35个、30个、25个、20个、15个、12个或更少的核苷酸。例如,引导核酸序列长为10个-30个核苷酸。

[0287] 除了与靶标核酸互补的序列之外,在一些实施方式中,gNA还包含支架序列。编码与靶标核酸互补的序列和支架序列两者的gNA的表达具有与靶标核酸结合(杂交)以及将核酸内切酶募集到靶标核酸的双重功能,这可能引起位点特异性CRISPR活性。在一些实施方式中,此类的嵌合gNA可被称为单引导RNA(sgRNA)。

[0288] 在本文所述的各个方面的一些实施方式中,使用引导设计工具(例如,BenchlingTM、Broad Institute GPPTM、CasOFFinderTM、CHOPCHOPTM、CRISPORTM、DeskgenTM、E-CRISPTM、GeneiousTM、GenHubTM、GUIDESTM(例如用于文库设计)、Horizon DiscoveryTM、IDTTM、Off-SpotterTM,以及SynthegoTM,其可在万维网上获得)来设计引导核酸。

[0289] 如本文所用,术语“载体”是指设计用于递送至宿主细胞或用于在不同宿主细胞之间转移的核酸构建体。如本文所用,载体可为病毒载体或非病毒载体。术语“载体”包括当与适当的控制元件结合时能够复制并且可将基因序列转移至细胞的任何遗传元件。载体可包括但不限于克隆载体、表达载体、重组载体、质粒、噬菌体、转座子、粘粒、染色体、病毒、病毒

粒子等。

[0290] 如本文所用,术语“表达载体”是指指导从与载体上的转录调控序列连接的序列表达RNA或多肽的载体。表达的序列将通常(但不必须)对细胞而言是异源的。表达载体可包含额外的元件,例如,表达载体可具有两个复制系统,因此允许其在两种生物体中维持,例如在人细胞中用于表达和在原核宿主中用于克隆和扩增。术语“表达”是指涉及产生RNA和蛋白质以及适当分泌蛋白质的细胞过程,在适用的情况下,包括但不限于例如转录、转录物加工、翻译和蛋白折叠、修饰和加工。“表达产物”包括从基因转录的RNA,以及通过翻译从基因转录的mRNA获得的多肽。术语“基因”是指当可操作地连接到适当的调控序列时,在体外或体内转录(DNA)为RNA的核酸序列。基因可包含也可不包含编码区之前和之后的区域(例如5'非翻译(5'UTR)或“前导”序列和3'UTR或“尾随”序列),以及各个编码区段(外显子)之间的插入序列(内含子)。

[0291] 如本文所用,术语“病毒载体”是指包含病毒来源的至少一个元件并且具有被包装到病毒载体颗粒中的能力的核酸载体构建体。病毒载体可含有编码如本文所述的多肽的核酸来代替非必需的病毒基因。载体和/或颗粒可用于在体外或体内将任何核酸转移到细胞中的目的。许多形式的病毒载体在本领域是已知的。

[0292] “重组载体”是指包含异源核酸序列或能够在体内表达的“转基因”的载体。应当理解,在一些实施方式中,本文所述的载体可与其它合适的组合物和疗法组合。在一些实施方式中,所述载体为游离的。使用合适的游离型载体提供了在受试者中将感兴趣的核苷酸维持在高拷贝数染色体外DNA中的方法,从而消除了染色体整合的潜在影响。

[0293] 如本文所用,术语“治疗/处理(treat/treatment/treating)”或“改善(amelioration)”是指治疗性处理,其目的是逆转、减轻、改善、抑制、减缓或停止与疾病或紊乱(例如本文所述的病症或疾病)相关的病症的进展或严重程度。术语“治疗”包括减少或减轻病症、疾病或紊乱的至少一种不利影响或症状。如果一种或多种症状或临床标志物减少,则治疗通常是“有效的”。或者,如果疾病的进展减少或停止,则治疗是“有效的”。也就是说,与没有治疗时的预期情况相比,“治疗”不仅包括改善症状或标志物,还包括停止或至少减缓症状的进展或恶化。有益或期望的临床结果包括但不限于减轻一种或多种症状、疾病程度缩减、稳定(即不恶化)疾病状态、延迟或减缓疾病进展、改善或缓和疾病状态、缓解(无论是部分还是全部)和/或降低死亡率,无论是可检测的还是不可检测的。术语疾病的“治疗”还包括提供缓解疾病的症状或副作用(包括姑息治疗)。

[0294] 如本文所用,术语“药物组合物”是指与药学上可接受的载体(例如医药工业中常用的载体)组合的活性剂。本文使用了短语“药学上可接受的”来指在合理的医学判断范围内,适合与人和动物的组织接触,而不产生过量毒性、刺激、变态反应或其它问题或并发症的那些化合物、材料、组合物和/或剂型,与合理的收益/风险比相称。在任何方面的一些实施方式中,药学上可接受的载体可为水以外的载体。在任何方面的一些实施方式中,药学上可接受的载体可为乳膏、乳液、凝胶、脂质体、纳米颗粒和/或软膏。在任何方面的一些实施方式中,药学上可接受的载体可为人工的或工程化的载体,例如,在自然界中不会发现活性成分在其中存在的载体。

[0295] 如本文所用,术语“给予/给药”是指通过引起在所需部位至少部分递送药剂的方法或途径将本文公开的化合物置于受试者内。可通过引起受试者中的有效治疗的任何合适

的途径给予包含本文公开的化合物的药物组合物。

[0296] 如本文所用,“接触”是指用于将药剂递送或暴露于至少一个细胞的任何合适的方式。示例性递送方法包括但不限于直接递送至细胞培养基、灌注、注射或本领域技术人员熟知的其它递送方法。在一些实施方式中,接触包括人体活动,例如注射、分配、混合和/或倾析的动作、和/或递送装置或机器的操作。

[0297] 术语“有效量”是指足以提供与病症相关的症状的至少一些改善的组合物的量。在一个实施方式中,“有效量”是指将减少患有病症的受试者的所述病症的标志物或症状的组合物的量。

[0298] 术语“统计学显著”或“显著”是指统计学显著性,并且通常是指两个标准偏差(2SD)或更大的差异。

[0299] 除了在操作实施例或另有说明的情况下,本文使用的表示成分的量或反应条件的所有数字应理解为在所有情况下均被术语“约”修饰。当与百分比结合使用时,术语“约”可表示 $\pm 1\%$ 。

[0300] 如本文所用,术语“包括/包含/含有”用于指对本发明而言必要的方法和组合物、以及其各自的组分,但对于包括未指定的要素(无论必要与否)而言也是开放性的。如本文所用,术语“包括/包含/含有”是指除了呈现的指定的要素之外还可存在其他要素。使用“包括/包含/含有”表示包括而不是限制。

[0301] 术语“由……组成”是指如本文所述的组合物、方法及其各自的组分不包括在实施方式的描述中未列举的任何要素。

[0302] 如本文所用,术语“基本上由……组成”是指给定实施方式所需的那些要素。该术语允许存在不实质影响本发明的实施方式的基本和新颖或功能特征的额外要素。

[0303] 如本文所用,术语“特异性结合”是指两个分子、化合物、细胞和/或颗粒之间的化学相互作用,其中,第一实体与第二靶实体结合的特异性和亲和力大于其与非靶标的第三实体的结合。在一些实施方式中,特异性结合可指第一实体与第二靶实体的亲和力为与所述第三非靶实体的亲和力的至少10倍、至少50倍、至少100倍、至少500倍、至少1000倍或更大。对给定靶标特异的试剂是在所使用的测定条件下表现出对该靶标的特异性结合的试剂。

[0304] 除非上下文另有明确指示,单数术语“一个/种(a/an)”和“所述/该(the)”包括复数指示物。类似地,除非上下文另有明确指示,否则词语“或”旨在包括“和”。尽管与本文所述的方法和材料类似或等效的方法和材料可用于本公开的实践或测试,但合适的方法和材料在下文中予以描述。缩写“例如(e.g.)”源自拉丁语exempli gratia,在本文用于表示非限制性示例。因此,缩写“例如(e.g.)”与术语“例如(for example)”同义。

[0305] 本文公开的本发明的替代要素或实施方式的分组不应被解释为限制。每个组成员可单独或与该组的其它成员或本文中发现的其它要素以任何组合的方式被提及和要求保护。出于方便和/或可专利性的原因,可将组的一个或多个成员包含在组中或从组中删除。当任何这样的包含或删除发生时,本说明书在此被认为包含修改的组,从而满足在所附权利要求中使用的所有马库什组的书面描述。

[0306] 除非本文另有定义,否则与本申请结合使用的科学和技术术语应具有本公开所属领域的普通技术人员通常理解的含义。应当理解,本发明不限于本文所述的特定方法、方案

和试剂等,因此可变化。本文使用的术语仅用于描述特定实施方式的目的,并不旨在限制本发明的范围,本发明的范围仅由权利要求限定。免疫学和分子生物学中常用术语的定义可见于:The Merck Manual of Diagnosis and Therapy,第19版,由Merck Sharp&Dohme Corp.出版,2011 (ISBN 978-0-911910-19-3);Robert S.Porter等(编著),The Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine,由Blackwell Science Ltd.出版,1999-2012 (ISBN 9783527600908);以及Robert A.Meyers(编著),Molecular Biology and Biotechnology:a Comprehensive Desk Reference,由VCH Publishers,Inc.出版,1995 (ISBN 1-56081-569-8);Immunology by Werner Luttmann,由Elsevier出版,2006;Janeway's Immunobiology,Kenneth Murphy,Allan Mowat,Casey Weaver(编著),Taylor&Francis Limited,2014 (ISBN 0815345305,9780815345305);Lewin's Genes XI,由Jones&Bartlett Publishers出版,2014 (ISBN-1449659055);Michael Richard Green和Joseph Sambrook,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第4版,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.,USA(2012) (ISBN 1936113414);Davis等,Basic Methods in Molecular Biology,Elsevier Science Publishing,Inc.,New York,USA(2012) (ISBN 044460149X);Laboratory Methods in Enzymology:DNA,Jon Lorsch(编著),Elsevier,2013 (ISBN 0124199542);Current Protocols in Molecular Biology(CPMB),Frederick M.Ausubel(编著),John Wiley and Sons,2014 (ISBN 047150338X,9780471503385);Current Protocols in Protein Science (CPPS),John E.Coligan(编著),John Wiley and Sons,Inc.,2005;以及Current Protocols in Immunology (CPI) (John E.Coligan,ADA M Kruisbeek,David H Margulies,Ethan M Shevach,Warren Strobe(编著) John Wiley and Sons,Inc.,2003 (ISBN 0471142735,9780471142737),通过引用的方式将其内容全部并入本文。

[0307] 本领域技术人员可容易地识别有用的化疗剂(例如,参见Physicians' Cancer Chemotherapy Drug Manual 2014,Edward Chu,Vincent T.DeVita Jr.,Jones&Bartlett Learning;Principles of Cancer Therapy,Harrison's Principles of Internal Medicine,第18版,第85章;Therapeutic Targeting of Cancers Cells:Era of Molecularly Targeted Agents and Cancer Pharmacology,Chs.28-29in Abeloff's Clinical Oncology,2013Elsevier;以及Fischer D S(编著),The Cancer Chemotherapy Handbook,第4版,St.Louis,Mosby-Year Book,2003)。

[0308] 其它术语在本发明的各个方面的描述中定义。

[0309] 出于描述和公开的目的,在本申请全文中引用的包括参考文献、已授权专利、已公开专利申请和共同未决专利申请在内的所有专利和其它出版物均通过引用明确并入本文,例如,在此类出版物中描述的方法学可与本文描述的技术结合使用。这些出版物仅因为其公开早于本申请提交日而提供。这方面的任何内容都不应被解释为承认发明人没有权利借助于在前的发明或任何其它原因而将该公开的内容提前。所有关于这些文件的日期的声明或这些文件的内容的表述都是基于申请人可得的信息,并且不构成任何关于这些文件的日期或这些文件的内容的正确性的承认。

[0310] 本公开的実施方式的描述并非旨在穷举或将本公开限制为所公开的精确形式。尽管本文出于说明性目的描述了本公开的特定实施方式和实例,但是相关领域的技术人员将

认识到,在本公开的范围内可进行各种等效修改。例如,虽然方法步骤或功能以给定顺序呈现,但替代实施方式可以以不同顺序执行功能,或者所述功能可基本上同时执行。本文提供的本公开的教导可适当地应用于其它程序或方法。可组合本文描述的各种实施方式以提供进一步的实施方式。如有必要,可修改本公开的各方面,以采用上述参考文献和申请的组成、功能和概念来提供本公开的更进一步的实施方式。此外,由于生物功能等效性的考虑,可在不影响生物或化学作用(在种类或量方面)的情况下对蛋白结构进行一些改变。可根据详细描述对本公开进行这些和其它改变。所有此类修改都旨在包括在所附权利要求的范围内。

[0311] 任何前述实施方式的特定要素可组合或替代其它实施方式中的要素。此外,虽然已经在这些实施方式的上下文中描述了与本公开的某些实施方式相关联的优点,但其它实施方式也可表现出这样的优点,并且并非所有实施方式都必须表现出此类优点以落入本公开的范围。

[0312] 在一些实施方式中,本文的技术可以被以下编号段落中的任何段落定义:

1. 一种包含至少一种离子液体的组合物,所述离子液体包含:
阴离子,所述阴离子为以下中的至少一种:
 - a) 非脂肪酸的羧酸,以及
 - b) 包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,阳离子,所述阳离子为乙酰胆碱。
2. 如段落1所述的组合物,其中,所述阴离子为非脂肪酸的羧酸。
3. 如段落2所述的组合物,其中,所述阴离子具有小于1.0的LogP。
如段落2-3中任一项所述的组合物,其中,所述脂肪酸包含不多于3个碳的脂肪族链。
4. 如段落2-3中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子包含仅一个羧酸基团(例如,R-COOH基团)。
5. 如段落2-4中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子选自于由以下所组成的组:
乳酸、乙醇酸、丙二酸、马来酸、戊二酸、柠檬酸、葡萄糖酸和己二酸。
6. 如段落2-5中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为马来酸。
7. 如段落1所述的组合物,其中,所述阴离子为包含羧酸的疏水性阴离子,并且具有至少4.5的pKa,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP。
8. 如段落7所述的组合物,其中,所述阴离子具有至少5.0的pKa。
9. 如段落7-8中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子包含至少8个碳的碳链。
10. 如段落7-9中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子包含具有8碳骨架的碳链。
11. 如段落7-10中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为香叶酸、辛烯酸、辛酸、香茅酸、癸烯酸、(9Z)-十八碳-9-烯酸、癸酸、(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸、(R)-5-(1,2-二硫戊环-3-基)戊酸或己烯酸。
12. 如段落7-10中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为己烯酸。
13. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体包含约2:1至约1:1的

阳离子与阴离子的比。

14. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体包含约2:1的阳离子与阴离子的比。

15. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体具有小于1:1的阳离子:阴离子比。

16. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体具有阳离子过量的阳离子:阴离子比。

17. 如前述段落中任一项所述的组合物,所述组合物包含第一离子液体和至少第二离子液体。

18. 如段落17所述的组合物,其中,所述第一离子液体和所述第二离子液体各自包含不同的阴离子。

19. 如前述段落中任一项所述的组合物,所述组合物进一步包含与所述至少一种离子液体组合的至少一种活性化合物。

20. 如段落19所述的组合物,其中,所述活性化合物包含多肽。

21. 如段落20所述的组合物,其中,所述多肽是抗体或抗体试剂。

22. 如段落19-21中任一项所述的组合物,其中,所述活性化合物具有大于450的分子量。

23. 如段落19-22中任一项所述的组合物,其中,所述活性化合物具有大于500的分子量。

24. 如段落19-23中任一项所述的组合物,其中,所述活性化合物包含胰岛素、阿卡波糖、芦可替尼或GLP-1多肽或其模拟物或类似物。

25. 如段落19-23中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,并且所述活性化合物包含抗体或抗体试剂。

26. 如段落19所述的组合物,其中,所述活性化合物包含核酸。

27. 如段落26所述的组合物,其中,所述核酸是抑制性核酸。

28. 如段落27所述的组合物,其中,所述核酸是siRNA、pDNA或mRNA。

29. 如段落26-28中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,并且所述活性化合物包含核酸。

30. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体的浓度为至少0.1% w/v。

31. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体的浓度为约10% w/v 至约70% w/v。

32. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体的浓度为约30% w/v 至约50% w/v。

33. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体的浓度为约30% w/v 至约40% w/v。

34. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述组合物被配制用于经皮给予、给予至黏膜、口服给予、皮下给予、皮内给予、肠胃外给予、瘤内给予或静脉内给予。

35. 如段落34所述的组合物,其中,所述组合物被配制用于经皮给予。
36. 如段落34所述的组合物,其中,所述黏膜为鼻黏膜、口腔黏膜或阴道黏膜。
37. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述活性化合物以1mg/kg-40mg/kg的剂量提供。
38. 如前述段落中任一项所述的组合物,所述组合物进一步包含至少一种非离子表面活性剂。
39. 如前述段落中任一项所述的组合物,所述组合物进一步包含药学上可接受的载体。
40. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述组合物以可降解胶囊提供。
41. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述组合物是掺和物。
42. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述组合物以一种或多种纳米颗粒提供。
43. 如前述段落中任一项所述的组合物,所述组合物包含含有所述活性化合物的一种或多种纳米颗粒,所述纳米颗粒在包含所述离子液体的组合物的溶液或悬浮液中。
44. 一种向受试者给予至少一种活性化合物的方法,所述方法包括给予段落1-43中任一项所述的组合物。
45. 如段落44所述的方法,其中,将所述组合物给予一次。
46. 如段落44-45中任一项所述的方法,其中,所述组合物以多剂量给予。
47. 如段落44-46中任一项所述的方法,其中,所述给予为经皮给予、给予至黏膜、口服给予、皮下给予、皮内给予、肠胃外给予、瘤内给予或静脉内给予。
48. 如段落1-43中任一项所述的组合物,所述组合物用于将至少一种活性化合物给予至受试者的方法中。
49. 如段落48所述的组合物,其中,将所述组合物给予一次。
50. 如段落48-49中任一项所述的组合物,其中,所述组合物以多剂量给予。
51. 如段落48-50中任一项所述的组合物,其中,所述给予为经皮给予、给予至黏膜、口服给予、皮下给予、皮内给予、肠胃外给予、瘤内给予或静脉内给予。
- [0313] 在一些实施方式中,本文的技术可以被以下编号段落中的任何段落定义:
1. 一种包含至少一种离子液体的组合物,所述离子液体包含:
阴离子,所述阴离子为以下中的至少一种:
 - a) 非脂肪酸的羧酸,以及
 - b) 包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,阳离子,所述阳离子为包含酯基的季铵。
 2. 如段落1所述的组合物,其中,所述阳离子是乙酰胆碱。
 3. 如段落1-2中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为非脂肪酸的羧酸。
 4. 如段落3所述的组合物,其中,所述阴离子具有小于1.0的LogP。
 5. 如段落3-4中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子包含不多于3个碳的脂肪族链。
 6. 如段落3-5中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子包含仅一个羧酸基团(例如,R-COOH基团)。

7. 如段落3-6中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子选自于由以下所组成的组:

乳酸、乙醇酸、丙二酸、马来酸、戊二酸、柠檬酸、葡萄糖酸、丙酸和己二酸。

8. 如段落3-7中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为马来酸。

9. 如段落3-8中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为丙酸。

10. 如段落1-2中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为包含羧酸的疏水性阴离子,并且具有至少4.5的pKa,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP。

11. 如段落10所述的组合物,其中,所述阴离子具有至少5.0的pKa。

12. 如段落10-11中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子包含至少8个碳的碳链。

13. 如段落10-12中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子包含具有8碳骨架的碳链。

14. 如段落10-13中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为香叶酸、辛烯酸、辛酸、香茅酸、癸烯酸、(9Z)-十八碳-9-烯酸、癸酸、(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸、(R)-5-(1,2-二硫戊环-3-基)戊酸或己烯酸。

15. 如段落10-14中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为己烯酸。

16. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体包含约2:1至约1:1的阳离子与阴离子的比。

17. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体包含约2:1的阳离子与阴离子的比。

18. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体具有小于1:1的阳离子:阴离子比。

19. 如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体具有阳离子过量的阳离子:阴离子比。

20. 如前述段落中任一项所述的组合物,所述组合物包含第一离子液体和至少第二离子液体。

21. 如段落20所述的组合物,其中,所述第一离子液体和所述第二离子液体各自包含不同的阴离子。

22. 如前述段落中任一项所述的组合物,所述组合物进一步包含与所述至少一种离子液体组合的至少一种活性化合物。

23. 如段落22所述的组合物,其中,所述活性化合物包含多肽。

24. 如段落23所述的组合物,其中,所述多肽是抗体或抗体试剂。

25. 如段落22-24中任一项所述的组合物,其中,所述活性化合物具有大于450的分子量。

26. 如段落22-25中任一项所述的组合物,其中,所述活性化合物具有大于500的分子量。

27. 如段落22-26中任一项所述的组合物,其中,所述活性化合物包含胰岛素、阿卡波糖、芦可替尼或GLP-1多肽或其模拟物或类似物。

28. 如段落22-27中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为包含羧酸的疏水性

阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,并且所述活性化合物包含抗体或抗体试剂。

29.如段落22-28中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为己烯酸,并且所述活性化合物包含抗体或抗体试剂。

30.如段落22-29中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,所述离子液体以小于10%w/v的浓度存在,并且所述活性化合物包含抗体或抗体试剂。

31.如段落22-30中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为己烯酸,所述离子液体以小于10%w/v的浓度存在,并且所述活性化合物包含抗体或抗体试剂。

32.如段落22所述的组合物,其中,所述活性化合物包含核酸。

33.如段落32所述的组合物,其中,所述核酸是抑制性核酸。

34.如段落32或33所述的组合物,其中,所述核酸是siRNA、pDNA或mRNA。

35.如段落32-34中任一项所述的组合物,其中,所述阴离子为包含羧酸的疏水性阴离子,所述羧酸具有至少4.0的pKa和至少1.0的LogP,并且所述活性化合物包含核酸。

36.如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体的浓度为至少0.1%w/v。

37.如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体的浓度为约10%w/v至约70%w/v。

38.如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体的浓度为约30%w/v至约50%w/v。

39.如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体的浓度为约30%w/v至约40%w/v。

40.如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述离子液体的浓度小于10%w/v。

41.如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述组合物被配制用于经皮给予、给予至黏膜、口服给予、皮下给予、皮内给予、肠胃外给予、瘤内给予或静脉内给予。

42.如段落41所述的组合物,其中,所述组合物被配制用于皮下给予。

43.如段落41所述的组合物,其中,所述组合物被配制用于经皮给予。

44.如段落41的组合物,其中,所述黏膜为鼻黏膜、口腔黏膜或阴道黏膜。

45.如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述活性化合物以1mg/kg-40mg/kg的剂量提供。

46.如前述段落中任一项所述的组合物,所述组合物进一步包含至少一种非离子表面活性剂。

47.如前述段落中任一项所述的组合物,所述组合物进一步包含药学上可接受的载体。

48.如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述组合物以可降解胶囊提供。

49.如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述组合物是掺和物。

50.如前述段落中任一项所述的组合物,其中,所述组合物以一种或多种纳米颗粒提供。

51.如前述段落中任一项所述的组合物,所述组合物包含含有所述活性化合物的

一种或多种纳米颗粒,所述纳米颗粒在包含所述离子液体的组合物的溶液或悬浮液中。

52. 一种向受试者给予至少一种活性化合物的方法,所述方法包括给予段落1-51中任一项所述的组合物。

53. 如段落52所述的方法,其中,将所述组合物给予一次。

54. 如段落52-53中任一项所述的方法,其中,所述组合物以多剂量给予。

55. 如段落52-54中任一项所述的方法,其中,所述给予为经皮给予、给予至黏膜、口服给予、皮下给予、皮内给予、肠胃外给予、瘤内给予或静脉内给予。

56. 如段落52-55中任一项所述的方法,其中,所述给予为皮下给予。

57. 如段落1-51中任一项所述的组合物,所述组合物用于将至少一种活性化合物给予至受试者的方法中。

58. 如段落57所述的组合物,其中,将所述组合物给予一次。

59. 如段落57-58中任一项所述的组合物,其中,所述组合物以多剂量给予。

60. 如段落57-59中任一项所述的组合物,其中,所述给予为经皮给予、给予至黏膜、口服给予、皮下给予、皮内给予、肠胃外给予、瘤内给予或静脉内给予。

61. 如段落57-60中任一项所述的组合物,其中,所述给予为皮下给予。

[0314] 通过以下实施例进一步说明了本文描述的技术,这些实施例决不应被解释为进一步限制。

实施例

实施例1

[0315] 离子液体在本文中用如下符号表示: $x\%CA y:z$,其中, x 是制剂中离子液体的体积百分比(例如,水中的体积百分比), C 是阳离子, A 是阴离子,并且 $y:z$ 的比是阳离子与阴离子的比。

[0316] 将胰岛素在胆碱-乙醇酸和乙酰胆碱-乙醇酸中以100U/mL (3.4mg/mL) 进行配制,并检查稳定性(图1)。通过量化散射的光对制剂进行长期评估。通过测定540nm处的吸光度,评估胰岛素单体是否随时间聚集。以两种方式分析数据,以评估散射如何随时间变化(上子图),以及与盐水相比,制剂澄清度如何变化(下子图和理想制剂澄清度)。与不含胰岛素的盐水(吸光度为0.036)相比,在理想制剂中观察到几乎没有至没有归一化的散射的变化,并且小于0.1、等于10%的散射的变化。数据显示,在相关储存条件下,低共熔溶剂的乙酰胆碱版本在较长时间(28天)内提供更好的胰岛素稳定性。

[0317] 使用圆二色光谱来评估胰岛素二级结构(图2)。实验在室温和37°C(生理温度)下孵育1小时后进行。这样做是为了评估与皮下注射相关的热变化是否会影响胰岛素结构。如果二级结构没有显著变化,则实验性低共熔溶剂组的曲线应与盐水阴性对照组相匹配,它们确实如此。“aCG”是指乙酰胆碱乙醇酸,而“aCH”是指乙酰胆碱己烯酸。胰岛素浓度为~6U/mL (0.2mg/mL)。

[0318] 体内PK数据表明,乙酰胆碱低共熔溶剂提供了比具有胆碱阳离子的IL更快的胰岛素递送方法(图3)。大鼠接受皮下注射,并使用ELISA在0分钟、15分钟、30分钟、60分钟、120分钟、180分钟和240分钟的时间点测定血清胰岛素水平。在图3的数据表中记录了平均最大血清浓度(C_{max})和平均最大血清浓度的时间(T_{max})。乙酰胆碱己烯酸组的 C_{max} 比胆碱变体的 C_{max} 高20%。而比起胆碱变体,乙酰胆碱-乙醇酸组具有在 C_{max} 方面的50%的增加和早15

分钟的T_{max}。这两个数据都表明乙酰胆碱有助于在皮下注射后不久增加血清胰岛素吸收。非禁食大鼠的胰岛素浓度为1U/kg。

[0319] 接下来测试抗体递送。将10U/kg剂量的抗体以盐水溶液或乙酰胆碱己烯酸给予至Wister大鼠。体内PK数据表明,乙酰胆碱低共熔溶剂使得能够提高单克隆抗体的生物利用度(图4)。大鼠接受皮下注射,并使用ELISA在0小时、1小时、2小时、5小时、8小时、11小时和1天、2天、3天、4天、7天、10天、14天、21天的时间点测定血清利妥昔单抗(抗CD20抗体)水平。如图4的左子图所示,盐水对照和乙酰胆碱DES制剂的平均血清浓度的峰值分别为6,415ng/mL和10,893ng/mL。这种增加的峰值浓度使得在血液中单克隆抗体有更大的积累,如第4天及以后更高的AUC所示。乙酰胆碱DES组在第21天的AUC比盐水对照高103%。

[0320] 接下来测试抗体稳定性。使用圆二色光谱和SDS-PAGE来评估抗体的稳定性(图5)。圆二色光谱(图5,左)表明,与“新鲜”抗体对照相比,抗体的二级结构不受乙酰胆碱己烯酸DES制剂的影响。此外,使用SDS-PAGE评估乙酰胆碱是否引起聚集(对于大的 β -折叠生物制剂样抗体特别重要)。再次,乙酰胆碱DES制剂看起来与对照相同。CD和SDS-PAGE均在室温下孵育1小时后进行。

[0321] 评估了体外IL对mRNA的递送。用mRNA纳米颗粒在树突状细胞系中进行体外转染实验,并表明乙酰胆碱己烯酸DES可以增强mRNA处理。将颗粒与乙酰胆碱DES溶液一起孵育以“包覆”颗粒。将细胞与颗粒一起孵育4小时,然后用流式细胞术分析。表达GFP的细胞增加的百分比表明乙酰胆碱DES增加了向细胞的递送。更高的平均荧光强度表明乙酰胆碱DES有助于增加GFP的表达。

实施例2

[0322] 蛋白质是用于治疗糖尿病、自身免疫性疾病、癌症和代谢性疾病等的最常见的治疗药物之一。尽管它们很常用,但目前的蛋白质疗法中大多数是注射疗法,具有多种局限性。大的蛋白质(如单克隆抗体(mAb))受到皮下注射后吸收不良的影响,因此不得通过静脉内注射给予。即使是小的蛋白质(例如胰岛素)也受到缓慢的药代动力学的影响,这对糖尿病的有效管控造成了限制。本文描述了基于低共熔的制剂,所述制剂提供了用于改善皮下注射后蛋白质吸收的普遍策略。这种先导制剂将mAb皮下注射后的吸收增强了~200%。同样的成分也使皮下注射的胰岛素的全身吸收比优泌乐更快,优泌乐是目前速效胰岛素的金标准。机制研究表明,低共熔对皮下吸收的有益作用是通过它们减少蛋白质与皮下基质(尤其是胶原蛋白)的相互作用的能力介导的。研究还证实,我们的低共熔制剂对皮下注射是安全的。本文所述的基于低共熔的制剂为皮下注射治疗性蛋白质开辟了新的可能性。

[0323] 重组蛋白生物制剂是过去40年来临床上使用最广泛的治疗药物之一。仅在过去15年中,就批准了127种治疗蛋白(包括86种单克隆抗体(mAb)或抗体偶联物),它们占FDA批准的治疗药物总数的近25%(图12A)。在过去几年中,生物制剂的批准速率进一步加快(图12B)¹。另一方面,生物制剂的递送物流创新有限。许多mAb是通过静脉(IV)给予递送的,尽管它们有明显的局限性。皮下给予(SC)提供了相对于IV递送更好的替代方案,因为它将长达数小时的基于临床的IV输液转化为在家快速注射。这降低了治疗成本,并减轻了医疗资源的压力^{2,3}。与IV给予相比,SC注射还能减轻疼痛,并且其降低感染的可能性(尤其是败血症)⁴。这些益处加上自我给予的潜力,有利于使用SC给予而非IV给予,从而提高患者的依从性和更好的疾病管理⁵⁻⁷。尽管有这些优势,但皮下注射mAb的使用受到皮下注射后其生物利

用度差的限制。皮下给予的生物制剂必须穿过皮下组织,损害细胞环境(包括脂肪细胞、成纤维细胞和免疫细胞),以及细胞外基质(ECM)蛋白(包括胶原蛋白、弹性蛋白和纤连蛋白)⁸,然后通过内侵进入局部血液或毛细淋巴管到达系统循环。较小的生物制剂(如胰岛素(MW ~ 6kDa))流入毛细血管,而较大的蛋白质(如mAb(MW ~ 150kDa))流入毛细淋巴管⁹。

[0324] 胰岛素和mAb已成为开发改善其皮下注射后的吸收的方法的关注中心。这些努力可被分为两类:蛋白质修饰和制剂工程。大量的工作集中在开发新的胰岛素类似物上,以控制其在长、中、短或快速时间尺度上的作用持续时间。许多学术研究工作都集中在开发持续的胰岛素释放的策略上,然而,速效胰岛素制剂的研究仍相对不足¹⁰。速效胰岛素对糖尿病管理尤其重要,因为它可以通过缩短血糖测定和胰岛素全身作用之间的时间来缓解高血糖发作。这对具有闭合反馈响应的连续输注泵特别有益¹¹。优泌乐(赖脯胰岛素)是经过临床批准的胰岛素类似物,它利用胰岛素序列的工程化来维持其单体结构并诱导快速吸收¹²。靶向氨基酸突变降低了胰岛素低聚体(即二聚体和六聚体)的稳定性,从而将平衡转移到其可易于吸收到全身性循环中的单体¹³。还尝试了基于蛋白质工程化的方法来改善mAb药代动力学。例如,已经尝试对Fc区域进行修饰以增加mAb的皮下吸收^{14,15}。

[0325] 虽然基于蛋白质工程化的策略提供了将药代动力学构建到蛋白质设计中的优势,但它们也受到设计限制,并且它们通常需要在蛋白质的生物活性和药代动力学之间折衷。另一方面,制剂工程化提供了控制蛋白质药代动力学的替代方法。这些努力基于两个原则:减少蛋白质聚集和皮下区室中的酶促基质降解。Mann等¹⁶开发了聚合物赋形剂,所述赋形剂减少了胰岛素聚集,并缩短了皮下注射后体内达到胰岛素峰值的时间。这些研究报告了,与优泌乐相比,胰岛素吸收快64%。聚乙二醇(PEG)¹⁷⁻¹⁹和海藻糖糖聚合物²⁰的偶联也已用于稳定胰岛素单体,用于速效剂型,但可能对药代动力学产生负面影响。

[0326] 虽然文献中已经描述了许多抗体递送系统,但许多系统侧重于持续释放,并且也在皮下空间以外的地方²¹。因此,对改善皮下注射后mAb的全身吸收的努力较少关注提高生物利用度,而更多关注于提高制剂浓度和注射体积限制²²。少数例外之一是使用重组透明质酸酶(其是ECM降解酶)与mAb共同配制以提高生物利用率²³。五种基于透明质酸蛋白酶的mAb产品已获得FDA批准:Rituxan HYCELA、Herceptin HYLECTA、DARZALEX Faspro、PHESGO。

[0327] 本文描述了使用生物相容性低共熔物通过新的作用机制改善皮下药代动力学,这为改善生物制剂的皮下剂型增加了新工具。与许多其它生物屏障不同,对皮下空间中的运输屏障知之甚少。细胞外空间中的皮下ECM蛋白中的I型胶原最丰富²⁴,由于与注射的生物制剂的非特异性结合相互作用,对吸收构成障碍²⁴。皮下注射的蛋白质制剂与ECM蛋白相互作用,并且这种相互作用产生减少或延迟的向全身性循环中的吸收。我们之前已经表明离子液体(IL)和低共熔溶剂(DES)具有减少多种血清蛋白与底物的相互作用的潜力²⁵。利用这种独特的能力,发明人假设离子液体和低共熔物也可以减轻注射的蛋白质与皮下ECM基质中的蛋白质的相互作用。这种方法在本文中被称为使用低共熔的皮下蛋白质给予(SPADE)。本文描述了SPADE制剂的筛选和它们分别提高胰岛素和利妥昔单抗皮下注射速度和生物利用度的能力。目前的研究还表明先导SPADE制剂减少了蛋白质与胶原的相互作用,并且重复剂量给予证明注射是安全的。

[0328] 结果

[0329] 使用DES的胰岛素稳定性

[0330] 如前所述,使用盐复分解反应以1:2的阳离子与阴离子比合成了十个DES²⁶。(另参见国际专利公开WO 2019/099837、WO 2020/180534、WO 2020/205409和WO 2021/102084,通过引用的方式将其各自以其整体并入本文)。具有阳离子:阴离子比为1的组合物被称为IL,而具有不对称比的组合物被称作DES。这些DES被设计为表现出一系列化学性质,特别是疏水性,因为该参数预期将是它们影响皮下组织中转运和随后吸收的能力的关键决定性因素。胆碱和乙酰胆碱被作为两种阳离子研究,因为在之前的离子液体的研究中,胆碱是常用的阳离子²⁵⁻³²。乙酰胆碱是疏水性更强的阳离子。随后,将这些阳离子与五种阴离子(乙醇酸根、乳酸根、丙酸根、己烯酸根和香叶酸根)配对,所述阴离子涵盖了一系列分子量、碳链长度和疏水性(表4)。合成了十个DES(表5中的缩写)的文库后,使用1D质子核磁共振(NMR)来确认它们的结构(数据未显示)。然后将十个DES配制为0.5%的无菌盐水溶液,该溶液在中性pH下易于溶解100U/mL常规胰岛素(临床制剂中常用的浓度)

[0331] 通过制剂的浊度来确定胰岛素的成功溶解,通过将540nm处的吸光度转换为透光率进行评估¹⁶。将成功的制剂的百分比透光率阈值设定为80%,因为这是临床对照品(优泌乐)的平均透光率。低透光率值指示了不溶性胰岛素聚集体。除两种制剂外,所有制剂都符合这一标准(图13)。为了进一步筛选剩余的DES制剂,进行了应力老化试验,以确定其在37°C下持续振荡50小时的稳定性。对于CG、aCG、CL和aCL,在50小时时间段内的任何时间点的透光率下降都多于10%(图7A),并且这些制剂被排除在进一步的实验之外,留下四种可行的制剂以用于进一步的实验(CP、aCP、CH和aCH)。

[0332] 进行最终筛选以评估冷链稳定性并确认单体构象稳定性。冷链(即在2°C和8°C之间的冷藏)对蛋白质的生物稳定性至关重要,以防止去折叠、聚集,并被广泛用于延长保质期³³。在4°C下孵育28天的CP、aCP、CH和aCH制剂中,根据透光率下降多于10%,基于丙酸根的两DES制剂在第14天和第21天之间都经历了聚集,而基于己烯酸根的两DES到第28天都是稳定的(图7B)。通过圆二色光谱(CD)评估蛋白质的二级结构,进一步证实了基于己烯酸根的制剂的稳定性。将用两种先导制剂(CH和aCH)在37°C下孵育两小时的胰岛素的CD光谱与溶解在磷酸钠缓冲液中的对照胰岛素的CD光谱进行匹配,表明DES制剂在生理温度和药理学相关的时间尺度下都没有诱导显著的蛋白质去折叠(图7C)。通过测定高压电压也证实了CD光谱的完整性,对于相关的胰岛素CD波长,高压电压保持在500V以下(图14)。

[0333] 为了进一步从两种先导物(CH和aCH)中选择制剂,在体外测定了它们对胰岛素跨内皮转运的影响。毛细血管的内皮细胞为血管引流提供了屏障,并且DES对跨内皮转运的有益效果可以进一步改善药代动力学。为了评估这种可能性,使用transwell渗透性实验测定了胰岛素通过人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的体外转运。基于体外耐受性研究,在这些研究中使用0.15%v/v DES或约4.3mM DES(图15)。在明胶包被的transwell上形成HUVEC单层,并通过Hoescht 33342(细胞核)和Actin 488(细胞骨架)的荧光成像来证实(数据未显示)。与CH相比,aCH表现出增强的血管通透性(图7D)。稳定性和转运实验的结合使得选择aCH作为后续研究的先导组合物。

[0334] SPADE防止治疗蛋白和ECM胶原之间的相互作用

[0335] 使用先导DES(aCH)评估SPADE减轻蛋白质与ECM相互作用的能力。假设机制的示意图如图8A所示。SPADE(右)被假设为减少给予的治疗蛋白和皮下细胞外蛋白(如胶原蛋白)之间的非特异性结合,以允许更快且更强的蛋白质生物制剂的吸收。为了验证这一假设,进

行了荧光偏振 (FP) 并利用动态光散射 (DLS) 来确定胶原-胰岛素的结合程度。FP通常用作配体结合测定,以分析小分子或与其蛋白质靶标结合的肽有效载荷之间的相互作用^{34,35},基于蛋白质结合的荧光标记分子旋转更慢并沿平行方向发射的原理,从而产生更高的偏振值³⁶。将Cy5.5标记的胰岛素(在aCH或盐水(对照)中配制)与I型人胶原混合后立即进行FP。所得极化值显示出,与对照相比,aCH抑制非特异性胰岛素-胶原结合(图8B)。对照组的平均极化是SPADE组的1.5倍。为了进一步证实FP结果并与优泌乐进行比较,使用DLS来测定将胰岛素制剂与胶原混合后的平均粒径(z-avg),因为随着剩余未结合胰岛素分子的减少,且仅检测胶原蛋白或胶原蛋白-胰岛素复合物,胰岛素结合的胶原蛋白的z-avg会增加。优泌乐-胰岛素-胶原混合物和SPADE-胰岛素-胶原混合物的初始平均z-avg均为约100nm。优泌乐组在整个时间过程中表现出z-avg的增加,在60分钟内达到超过5000nm的值。相比之下,SPADE-胰岛素组在相同的时间段内保持在大约100nm(图8C)。FP和DLS的结果有力地支持了SPADE减少胰岛素分子和胶原之间的非特异性结合,并且胶原作为ECM的一部分普遍存在于皮下空间中。

[0336] SPADE增强胰岛素药代动力学

[0337] 将1U/kg SPADE-胰岛素在大鼠中的药代动力学与等剂量的优泌乐(速效胰岛素类似物的临床金标准)进行比较。研究设计在图9A中详示。与优泌乐相比,SPADE-胰岛素显著加速了胰岛素从皮下组织的吸收(图9B),如通过注射SPADE-胰岛素后5分钟的血清胰岛素水平比优泌乐高1.6倍所示出的。此外,在每个时间点计算曲线下面积(AUC),以量化血流中的胰岛素的积累。与注射优泌乐的大鼠相比,在SPADE-胰岛素处理的大鼠中在5分钟时的累积AUC也显著增加了1.6倍(图9C)。虽然SPADE-胰岛素处理组的累积AUC在10分钟时仍高于优泌乐处理组(图9D),并且就研究范围而言(图16),在5min的早期时间点时的胰岛素的吸收在统计学上显著增加表明,SPADE-胰岛素中的aCH在给予后立即发挥重要作用,并可使需要超快胰岛素的患者受益,从而确保治疗效果的延迟时间更短。还发现,SPADE-胰岛素组的生物利用度(以注射剂量的百分比表示)高于优泌乐组,尽管没有统计学差异(图9E)。

[0338] SPADE在重复给药后无毒且安全

[0339] 使用盐水(对照)和SPADE单独给药的BALB/c小鼠进行了两项不同的研究,以检查局部(注射部位)和全身毒性。第一项研究使用了四个队列,以在使用苏木精和伊红染色(H&E)于皮下给药后24小时和7天检查注射部位毒性(图10A)。两种制剂的注射部位在任何一个时间点都没有显著差异(图10B-图10E)。当比较SPADE和对照注射部位切片时,苏木精染色或细胞核模式之间没有明显差异³⁷。此外,组织病理学家对组织样本的盲分析证实,在炎症、水肿、坏死、纤维化或变性方面没有毒性迹象。

[0340] 发明人随后检查了SPADE重复给药的全身毒性。在每天四次皮下注射盐水(对照)和单独的SPADE制剂的最后一次后24小时分析血液和主要器官。两个关键的肝功能标志物(天冬氨酸转氨酶(AST)和丙氨酸转氨酶(ALT))在可接受的范围内(图10F-图10G)³⁸。AST和ALT都是在肝细胞细胞质中发现的转移酶,在肝细胞损伤时释放到血清中,因此水平升高超过预期范围表明肝功能不正常³⁹。此外,两个关键肾功能标志物(血尿素氮(BUN)和肌酐)也在雌性BALB/c小鼠的可接受范围内(图10H-图10I)³⁸。尿素和肌酐都被肾脏的肾小球从血清中过滤出来,因此BUN和肌酐血清水平是肾小球滤过率的标志物,并且水平升高表明肾功能障碍⁴⁰。SPADE处理的小鼠的其它生化标志物在可接受的范围内,或与盐水对照没有统计学

差异(图17-图18)。全血分析显示SPADE耐受性良好,并且重复给药后未发生显著的全身免疫反应。白细胞、红细胞、血小板和淋巴细胞计数均在可接受的范围内,或在可接受范围外的计数与盐水对照无统计学差异(图10J-图10M)。本研究中测定的其它外周细胞在可接受的范围内,或与盐水对照没有统计学差异(图19-图21)。还通过接受重复SPADE给药的小鼠的组织病理学来评估全身性毒性。H&E染色显示出SPADE和对照小鼠在重要器官(包括脾脏、肺脏、肾脏、肝脏和心脏)方面没有显著差异(图22)。组织病理学家的盲分析也证实了这些发现。

[0341] SPADE提高利妥昔单抗的生物利用度

[0342] 本文描述了对SPADE是否也能增强大的蛋白生物制剂(即单克隆抗体利妥昔单抗(SPADE-mAb))的吸收的探索,其将受益于皮下给予的更大吸收。由于与胰岛素相比,皮下抗体制剂的临床需要更高的剂量,我们首先使用SDS-PAGE和CD评估了用于稳定的具有利妥昔单抗的SPADE制剂的DES浓度。用不同的DES浓度和一致的利妥昔单抗浓度制备制剂,并在37℃下孵育2小时和24小时。孵育后,用磷酸钠透析样品以去除DES,并通过UV-Vis分光光度法将所得样品稀释至相同浓度,然后进行SDS-PAGE和CD分析。除了10%(v/v)DES外,我们确定所有DES制剂浓度都是稳定的,因为凝胶上方有微弱的带,表明潜在聚集的高阶分子量物种(图11A)。为了进一步证实该CD用于评估孵育24小时的样品的二级结构。CD结果与SDS-PAGE结果一致,因为当与对照相比时,10%(v/v)DES制剂的平均椭圆率发生了变化,而其它DES浓度都没有经历这种变化(图11B)。这种变化表明错误折叠可能导致SDS-PAGE凝胶中见到的聚集。这些稳定性研究表明5%(v/v)aCH是SPADE-mAb制剂的合适浓度。

[0343] 按照图11C所示的实验设计,进行了药代动力学研究,并通过ELISA定量血清利妥昔单抗水平。SPADE的血清利妥昔单抗水平在给予后1小时显著升高,并一直保持到第14天(除11小时和7天以外)(图11D)。SPADE-mAb组的利妥昔单抗血清浓度平均峰值高于对照(分别为10.89 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和6.41 $\mu\text{g}/\text{mL}$),且发生时间早于对照(分别为第3天和第7天)。在研究的所有时间点,AUC也在统计学上更高(图11E)。每个时间点的显著性值可见于表6。在研究终点,SPADE处理组的AUC为217.11 $\text{mg}/\text{mL}*\text{天}$,其比对照高2.12倍。与后期时间点相比,早期时间点的AUC也比对照具有更高倍数的增加,这表明SPADE-mAb也在改善抗体的早期吸收动力学,就像SPADE-胰岛素的情况一样(图23)。

[0344] 讨论

[0345] 本文描述了基于低共熔溶剂的制剂策略(SPADE)的开发,以改善治疗性蛋白质生物制剂的皮下递送。已经证明,SPADE:i)可以与胰岛素和抗体稳定配制,ii)是安全、无毒的制剂策略,以及iii)通过防止治疗性蛋白和胶原ECM蛋白之间的非特异性结合相互作用,改善胰岛素的药代动力学和单克隆抗体的生物利用度。SPADE利用了可以简单合成的低共熔溶剂,从而实现简单且可扩展的制剂。SPADE是由具有已知人类暴露史的生物相容性离子制备的,从而提高了其安全性。

[0346] 速效胰岛素缩短了血糖测定和胰岛素的全身作用之间的时间,并提高了维持血糖正常的能力。尤其是对于使用连续的皮下胰岛素输注(胰岛素泵)的患者来说这可能造成显著的差异,这种输注可以使一天中更高比例的血糖水平处于目标范围内¹¹。虽然胰岛素类似物在临床上已被用于改善吸收动力学,但学术界的重要研究仍关注聚合物¹⁶和多肽⁴¹赋形剂、聚合物偶联物¹⁹和蛋白质联合制剂⁴²。虽然这些策略在体内取得了成功,但DES和IL提供

了具有吸引力的替代品,因为它们可以很容易地大规模生产、步骤更少且成本更低,从而实现更简单的速效胰岛素制剂。

[0347] 除了减少蛋白质-胶原相互作用外,SPADE制剂还具有减少制剂内蛋白质-蛋白质相互作用的潜力。这对于治疗性蛋白质(如胰岛素)来说可能不那么关键,其中临床制剂相对稀释(例如3.47mg/mL或100U/mL)。然而,这种相互作用可以在mAb制剂中发挥关键作用,mAb制剂具有更高的浓度,例如大于或等于100mg/mL。SPADE可以提供新的工具来减少mAb-mAb相互作用并提高mAb制剂的稳定性。

[0348] 与盐水配制的利妥昔单抗相比,SPADE使利妥昔单抗吸收(以AUC测定)增加了112%。在Kagan等²³进行的研究中,用10mg/kg的利妥昔单抗对大鼠进行背部给药,使用透明质酸酶将利妥昔单抗吸收增加91%。SPADE的这种高效性支持其潜在的临床应用,因为类似的透明质酸酶已经在多种mAb的临床应用中。此外,SPADE证明了在大范围蛋白质生物尺寸(5.8kDa至150kDa)内增加吸收的能力,并因此可以为其它蛋白质生物制剂、肽和核酸提供皮下剂型策略。

[0349] 材料和方法

[0350] 材料

[0351] 胆碱碳酸氢盐、氯化乙酰胆碱、乳酸、乙醇酸、丙酸、反式-2-己酸、香叶酸、常规冻干胰岛素、明胶粉、Millicell Transwell插入物、盐酸和氢氧化钠均购自Sigma Aldrich (St.Louis,MO)。0.2M磷酸钠缓冲液购自Boston BioProducts, Inc. (Milford,MA)。HUVEC细胞、生长培养基和添加剂购自ATCC (Manassas,VA)。CellTiter 96®水性单溶液细胞增殖测定(CellTiter 96®Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay) (MTS) 购自Promoega (Madison,WI)。I型人胶原蛋白购自Advanced BioMatrix (Carlsbad,CA)。Cy 5.5荧光标记胰岛素购自Nanocs Inc. (纽约,NY)。SDS-PAGE Ladder (Precision Plus Protein™ All Blue Prestained Protein Standards#1610373)、lamelli缓冲液、Tris/甘氨酸/SDS运行缓冲液、考马斯蓝染色剂、Mini-PROTEAN Tetra垂直电泳槽和电源均购自Bio-Rad Life Sciences (Hercules,CA)。利妥昔单抗生物类似物购自BioXCell (Lebanon,NH)。胰岛素ELISA和赖脯胰岛素NL-ELISA购自Mercodia Inc. (Winston Salem,NC)。利妥昔单抗ELISA购自Eagle Biosciences (Amherst,NH)。

[0352] 方法

[0353] 低共熔溶剂合成和制剂制备。如前所述合成了低共熔溶剂^{26,32}。简单地说,在圆底烧瓶中将所需阴离子的弱酸溶解在最低限度的超纯水中。随着搅拌使用油浴将溶液加热至40°C(对于基于胆碱的DES的情况)和65°C(对于基于乙酰胆碱的DES的情况)。为了防止圆底烧瓶过流,以阳离子:阴离子为1:2的比缓慢加入阳离子前体。使混合物完全反应过夜。首先通过旋转蒸发器去除多余的水3小时,然后通过设置为60°C的真空烘箱去除2天。然后使用核磁共振(Bruker AVANCE NEO 400)确认结构^{25,32,43}。为了制备胰岛素制剂,将冻干的胰岛素悬浮在盐水中。加入足够的DES,并且如果这种添加不能溶解胰岛素,加入1M盐酸将pH调节到2.5-3,并且溶液变得澄清。为了将pH调节到7.0-7.5之间,加入1M氢氧化钠。通过添加盐水来调制剂剂,以分别得到100U/mL的最终胰岛素浓度和0.5%(v/v)的最终DES浓度。为了制备抗体制剂,使用10M氢氧化钠将在0.9%盐水中~40%(v/v)的DES溶液的pH调节至7.0-7.5。然后用利妥昔单抗生物类似物原液(9.3mg/mL)和/或盐水配制DES溶液,得到

7.9mg/mL抗体的最终浓度和所指明浓度的DES。

[0354] 使用透光率对胰岛素-DES制剂进行稳定性评估。使用透光率来评估胰岛素-DES制剂的稳定性。使用BioTek Synergy neo2酶标仪在540nm波长处进行的吸光度测定,以方程式1转换为透光率百分比。

$$T(\%) = 10^{(2-A_{540})}$$

该方程式将吸光度与透光率百分比联系起来,源自比尔-朗伯定律。

[0355] 首先分析胰岛素-DES制剂的初始透光率,以确认制剂制备后立即没有胰岛素聚集。随后,将通过初步筛选的制剂接种在黑壁96孔板中(三个重复),并进行应力老化试验,其中,在37°C下孵育培养板并不断振荡。每15分钟读取一次吸光度读数,持续50小时,以评估透光率随时间的变化。对于冷链稳定性,制剂以类似的方式在4°C下测试28天,无需持续振荡。

[0356] 使用圆二色光谱和SDS-PAGE进行的蛋白质稳定性评估。将胰岛素和抗体制剂在37°C下孵育1小时,并随后用pH 7.4的10mM磷酸钠透析。在准备圆二色光谱(CD)和SDS-PAGE时,用UV分光光度法(Thermo Scientific NanoDrop One)测定透析后的浓度,并将其调节至200µg/mL。通过将石英比色皿(Starna Cells Spectrosil Quartz 1-Q-1)(具有200µL样品)装入CD分光光度计(Jasco J-815)中进行CD。从190nm至250nm测定平均椭圆率。

[0357] 为了评估抗体聚集,根据制造商方案,使用装载有预制聚丙烯酰胺凝胶(BioRad TGX 4-15%)的垂直凝胶电泳(BioRad Mini-PROTEAN Tetra Cell)进行SDS-PAGE。为了形成SDS复合物,将样品在1X Lammeli缓冲液中在70°C下孵育10分钟,然后加载到凝胶中。电泳30分钟后,除去凝胶并用考马斯染料对蛋白质条带进行染色。

[0358] Transwell血管通透性研究。为了计算没有细胞死亡的最大浓度,进行MTS细胞活力测定。根据供应商方案培养HUVEC,传代培养,并以10000个细胞/孔的密度接种在96孔板中。在使细胞粘附过夜后,用溶解在新鲜HUVEC培养基中的一系列稀释的DES处理细胞。将培养板孵育4小时,然后吸取培养基并更换为包含20% MTS试剂的新鲜培养基。1小时后,在490nm处测定吸光度(BioTek Synergy neo2)。

[0359] 为了评估血管通透性,使用跨transwell转运的细胞培养实验。首先,在无菌条件下用0.1%明胶包被足够的24孔板transwell插入物,并在4°C下储存过夜。通过倒置transwell去除多余的明胶,并用无菌PBS洗涤。根据供应商的方案培养HUVEC,传代培养,并以400µL的250000个细胞/mL培养基接种在transwell插入物上。然后用600µL新鲜培养基填充外侧孔,并在实验进行前生长48小时。单层形成后,将培养基从顶部小室中取出,并用包含0.15% IL和0.9U/mL胰岛素的培养基替换,这是为未来体内研究中使用的浓度和胰岛素与IL的比做准备。将培养板在不合适的细胞培养条件下孵育,并从培养板孔中取出300µL样品,且每10分钟替换新鲜培养基,持续1小时。然后将样品储存在4°C下,直到适当稀释并使用ELISA进行定量。

[0360] 在细胞外基质蛋白存在下的制剂稳定性。为了评估制剂的物理稳定性,在存在人I/III型胶原(Advanced BioMatrix, Carlsbad, CA)的情况下,使用动态光散射(DLS, Malvern)测定胰岛素和抗体的流体动力学尺寸。将具有DES的胰岛素和美罗华制剂、以及它们各自的临床对照优泌乐和美罗华-盐水以预定的胶原与胰岛素或胶原与抗体的w/w比添加到胶原的中性pH溶液中,并在不同时间点测定尺寸。

[0361] 使用荧光偏振 (FP) 进一步评估在胶原存在下的制剂的物理稳定性。原则上,由于感兴趣的分子(在这种情况下为5.8kDa左右的胰岛素)的布朗旋转和较小的分子半径,其在未结合状态下比在结合状态下旋转得更快,在这种情形下与约300kDa的胶原结合。当胰岛素被荧光标记并用偏振光激发时,可以测定垂直的和平行的偏振光发射。为FP设计的酶标仪可以测定垂直的和平行的偏振光以产生偏振,单位为mP,该值指示荧光标记蛋白质的结合状态。旋转更慢的结合的胰岛素将在平行方向上发射,并具有更高的极化值,因为复合物没有足够的时间旋转。未结合的胰岛素或结合抑制表现为更垂直的结合和更低的极化值³⁶。用Cy 5.5标记的胰岛素制备制剂。将制剂与胶原溶液以预定的w/w比混合,并使用Molecular Devices Flexstation 3酶标仪检测荧光偏振。

[0362] 体内药代动力学和生物利用度实验。所有实验都是在哈佛大学根据机构批准的方案进行的。在体重为350g和550g之间的成年雄性Wistar非禁食大鼠中进行研究。将大鼠麻醉,并在t=0时间点将血液收集到K2 EDTA收集管中。在最初的血液采集后,大鼠接受颈背皮下注射。对于胰岛素研究,对大鼠给药1U/kg优泌乐或SPADE-胰岛素制剂(均为3U/mL的浓度)。然后在注射后5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、30分钟、45分钟、60分钟、150分钟和240分钟采集血液。然后用相关ELISA试剂盒对胰岛素浓度进行定量。

[0063] 对于抗体研究,大鼠接受10mg/kg的右侧皮下注射。在第一天在注射后1小时、3小时、5小时、8小时和11小时采集血样。继续进行研究,并在注射后第1天、第2天、第3天、第4天、第7天、第10天、第14天、第21天、第28天、第35天、第42天和第49天每天采集一次血样。然后用ELISA对利妥昔单抗生物类似物的浓度进行定量。

[0364] 体内毒性。健康雌性BALB/c小鼠(7周龄-8周龄)在后颈接受DES溶液或空白盐水的单次皮下注射。在注射后1天和7天对小鼠实施安乐死,并且收获局部皮肤组织(从角质层到肌肉),在多聚甲醛中固定,并切片以用于H&E染色。另一队列的小鼠接受DES溶液或空白盐水的每天四次皮下注射,在最后一次治疗后24小时实施安乐死,并收获血液和主要器官。将血液收集到K2 EDTA包被管(用于全血分析)和促凝剂包被管(用于血清分析)中。将促凝剂管在2600rcf下离心10分钟,以从凝结的血液中分离血清。将样品保存在冰上,直到进行血液学分析。采血后,对小鼠实施安乐死,并收集重要器官,用PBS洗涤,并用10%福尔马林固定。对全血和血清进行分析以进行全面的血细胞计数和血液化学分析(IDEXX BioAnalytics, North Grafton, MA),同时将器官固定并进行切片以用于H&E染色。所有组织学切片都用AxioScan成像,并由哈佛医学院啮齿动物组织病理学中心的专业的组织病理学家进行解释。

[0365] 统计分析

[0366] 除非另有说明,否则使用GraphPad Prism 8将数据绘制为平均值±平均值标准误差(SEM)。使用Tukey多重比较的方差分析(ANOVA)来评估具有多于两个的队列的实验结果的统计学显著性,将每组的平均值与其它各组的平均值进行比较。使用双尾t检验评估正好两个队列的实验结果的统计学显著性。显著性标记按以下的p值分类:*p<0.05,**p<0.01,***p<0.001,****p<0.0001。

[0367] 参考文献

1. Mullard A. 2021 FDA approvals. Nat Rev Drug Discov. 2022.
2. Jin JF, Zhu LL, Chen M, et al. The optimal choice of medication

administration route regarding intravenous, intramuscular, and subcutaneous injection. *Patient Prefer Adherence*. 2015;9. doi:10.2147/PPA.S87271

3. de Cock E, Kritikou P, Sandoval M, et al. Time Savings with Rituximab Subcutaneous Injection versus Rituximab Intravenous Infusion: A time and motion study in eight countries. *PLoS One*. 2016;11(6). doi:10.1371/journal.pone.0157957

4. Usach I, Martinez R, Festini T, Peris JE. Subcutaneous Injection of Drugs: Literature Review of Factors Influencing Pain Sensation at the Injection Site. *Adv Ther*. 2019;36(11). doi:10.1007/s12325-019-01101-6

5. Overton PM, Shalet N, Somers F, Allen JA. Patient preferences for subcutaneous versus intravenous administration of treatment for chronic immune system disorders: A systematic review. *Patient Prefer Adherence*. 2021;15. doi:10.2147/PPA.S303279

6. Stoner KL, Harder H, Fallowfield LJ, Jenkins VA. Intravenous versus Subcutaneous Drug Administration. Which Do Patients Prefer? A Systematic Review. *Patient*. 2015;8(2). doi:10.1007/s40271-014-0075-y

7. Gandhi MD, Shapouri S, Ravelo A, Sudharshan L, Beeks A, Dawson KL. NHL Patients and Nurses in the US Prefer Subcutaneous Rituximab Injection Versus Intravenous Rituximab Infusion: A Real-World Study. *Blood*. 2020;136(Supplement 1). doi:10.1182/blood-2020-136543

8. Frantz C, Stewart KM, Weaver VM. The extracellular matrix at a glance. *J Cell Sci*. 2010;123(24). doi:10.1242/jcs.023820

9. Jones GB, Collins DS, Harrison MW, Thyagarajapuram NR, Wright JM. Subcutaneous drug delivery: An evolving enterprise. *Sci Transl Med*. 2017;9(405). doi:10.1126/scitranslmed.aaf9166

10. Li C, Wan L, Luo J, Jiang M, Wang K. Advances in subcutaneous delivery systems of biomacromolecular agents for diabetes treatment. *Int J Nanomedicine*. 2021;16. doi:10.2147/IJN.S283416

11. Brown SA, Kovatchev BP, Raghinaru D, et al. Six-Month Randomized, Multicenter Trial of Closed-Loop Control in Type 1 Diabetes. *N Engl J Med*. 2019;381(18). doi:10.1056/nejmoa1907863

12. Rege NK, Liu M, Yang Y, et al. Evolution of insulin at the edge of foldability and its medical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(47). doi:10.1073/pnas.2010908117

13. Sanlioglu AD, Altunbas HA, Balci MK, Griffith TS, Sanlioglu S. Clinical utility of insulin and insulin analogs. *Islets*. 2013;5(2). doi:10.4161/isl.24590

14. Datta-Mannan A, Witcher DR, Lu J, Wroblewski VJ. Influence of improved FcRn binding on the subcutaneous bioavailability of monoclonal antibodies in cynomolgus monkeys. *MAbs*. 2012;4(2). doi:10.4161/mabs.4.2.19364

15. Deng R, Meng YG, Hoyte K, et al. Subcutaneous bioavailability of therapeutic antibodies as a function of FcRn binding affinity in mice. *MAbs*. 2012;4(1). doi:10.4161/mabs.4.1.18543
16. Mann JL, Maikawa CL, Smith AAA, et al. An ultrafast insulin formulation enabled by high-throughput screening of engineered polymeric excipients. *Sci Transl Med*. 2020;12(550). doi:10.1126/SCITRANSLMED.ABA6676
17. Webber MJ, Appel EA, Vinciguerra B, et al. Supramolecular PEGylation of biopharmaceuticals. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(50). doi:10.1073/pnas.1616639113
18. Yang C, Lu D, Liu Z. How PEGylation enhances the stability and potency of insulin: A molecular dynamics simulation. *Biochemistry*. 2011;50(13). doi:10.1021/bi101926u
19. Maikawa CL, Smith AAA, Zou L, et al. Stable Monomeric Insulin Formulations Enabled by Supramolecular PEGylation of Insulin Analogues. *Adv Ther*. 2020;3(1). doi:10.1002/adtp.201900094
20. Liu Y, Lee J, Mansfield KM, et al. Trehalose Glycopolymer Enhances Both Solution Stability and Pharmacokinetics of a Therapeutic Protein. *Bioconj Chem*. 2017;28(3). doi:10.1021/acs.bioconjchem.6b00659
21. Awwad S, Angkawinitwong U. Overview of antibody drug delivery. *Pharmaceutics*. 2018;10(3). doi:10.3390/pharmaceutics10030083
22. Jiskoot W, Hawe A, Menzen T, Volkin DB, Crommelin DJA. Ongoing Challenges to Develop High Concentration Monoclonal Antibody-based Formulations for Subcutaneous Administration: Quo Vadis? *J Pharm Sci*. 2022;111(4). doi:10.1016/j.xphs.2021.11.008
23. Kagan L, Mager DE. Mechanisms of subcutaneous absorption of rituximab in rats. *Drug Metab Dispos*. 2013;41(1). doi:10.1124/dmd.112.048496
24. Turner MR, Balu-Iyer S V. Challenges and Opportunities for the Subcutaneous Delivery of Therapeutic Proteins. *J Pharm Sci*. 2018;107(5). doi:10.1016/j.xphs.2018.01.007
25. Hamadani CM, Goetz MJ, Mitragotri S, Tanner EEL. Protein-avoidant ionic liquid (pail)-coated nanoparticles to increase bloodstream circulation and drive biodistribution. *Sci Adv*. 2020;6(48). doi:10.1126/sciadv.abd7563
26. Tanner EEL, Curreri AM, Balkaran JPR, et al. Design Principles of Ionic Liquids for Transdermal Drug Delivery. *Adv Mater*. 2019;31(27). doi:10.1002/adma.201901103
27. Banerjee A, Ibsen K, Brown T, Chen R, Agatemor C, Mitragotri S. Ionic liquids for oral insulin delivery. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(28). doi:10.1073/pnas.1722338115
28. Angsantikul P, Peng K, Curreri AM, et al. Ionic Liquids and Deep

Eutectic Solvents for Enhanced Delivery of Antibodies in the Gastrointestinal Tract. *Adv Funct Mater.* 2021;31(44) .doi:10.1002/adfm.202002912

29.Vaidya A,Mitragotri S.Ionic liquid-mediated delivery of insulin to buccal mucosa. *J Control Release.* 2020;327.doi:10.1016/j.jconrel.2020.07.037

30.Tanner EEL,Ibsen KN,Mitragotri S.Transdermal insulin delivery using choline-based ionic liquids (CAGE). *J Control Release.* 2018;286.doi:10.1016/j.jconrel.2018.07.029

31.Banerjee A,Ibsen K,Iwao Y,Zakrewsky M,Mitragotri S.Transdermal Protein Delivery Using Choline and Geranate (CAGE) Deep Eutectic Solvent. *Adv Healthc Mater.* 2017;6(15) .doi:10.1002/adhm.201601411

32.Kim J,Gao Y,Zhao Z,et al.A deep eutectic-based,self-emulsifying subcutaneous depot system for apomorphine therapy in Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci.* 2022;119(9) .doi:10.1073/pnas.2110450119

33.Yu YB,Briggs KT,Taraban MB,Brinson RG,Marino JP.Grand Challenges in Pharmaceutical Research Series:Ridding the Cold Chain for Biologics. *Pharm Res.* 2021;38(1) .doi:10.1007/s11095-021-03008-w

34.Rossi AM,Taylor CW.Analysis of protein-ligand interactions by fluorescence polarization. *Nat Protoc.* 2011;6(3) .doi:10.1038/nprot.2011.305

35.Lea WA,Simeonov A.Fluorescence polarization assays in small molecule screening. *Expert Opin Drug Discov.* 2011;6(1) .doi:10.1517/17460441.2011.537322

36.Moerke NJ.Fluorescence Polarization (FP) Assays for Monitoring Peptide-Protein or Nucleic Acid-Protein Binding. *Curr Protoc Chem Biol.* 2009;1(1) .doi:10.1002/9780470559277.ch090102

37.Fischer AH,Jacobson KA,Rose J,Zeller R.Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *Cold Spring Harb Protoc.* 2008;3(5) .doi:10.1101/pdb.prot4986

38.BALB/C Mouse Hematology. Charles River.

39.Aulbach AD,Amuzie CJ. *A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development.* Second.;2017.

40.Walls RM. *Emergency Medicine: Concepts and Clinical Practice.* Ronsen; 2018.

41.Maikawa CL,Chen PC,Vuong ET,et al.Ultra-Fast Insulin-Pramlintide Co-Formulation for Improved Glucose Management in Diabetic Rats. *Adv Sci.* 2021;8(21) .doi:10.1002/advs.202101575

42.Vaughn D,Muchmore D. Use of recombinant human hyaluronidase to accelerate rapid insulin analogue absorption: Experience with subcutaneous injection and continuous infusion. *Endocr Pract.* 2011;17(6) .doi:10.4158/EP11297.RA

43.Tannous E,Kanaya E,Kanaya S.Role of RNase H1 in DNA repair:Removal of single ribonucleotide misincorporated into DNA in collaboration with RNase H2.Sci Rep.2015;5.doi:10.1038/srep09969

[0368] 表4:DES阴离子性质的表

| 酸名称 | pKa | log(P) | MW(g/mol) | 碳链 |
|-----|------|--------|-----------|----|
| 乙醇酸 | 3.83 | -1.11 | 76.06 | 2 |
| 乳酸 | 3.86 | -0.72 | 90.08 | 3 |
| 丙酸 | 4.33 | 0.33 | 74.08 | 3 |
| 己烯酸 | 4.74 | 1.81 | 114.14 | 6 |
| 香叶酸 | 5.26 | 2.82 | 168.23 | 8 |

[0369] 表5:低共熔溶剂缩写的表

| 缩写 | 全称 |
|-------|------------|
| CG | 乙醇酸胆碱DES |
| aCG | 乙醇酸乙酰胆碱DES |
| CL | 乳酸胆碱DES |
| aCL | 乳酸乙酰胆碱DES |
| CP | 丙酸胆碱DES |
| aCP | 丙酸乙酰胆碱DES |
| CH | 己烯酸胆碱DES |
| aCH | 己烯酸乙酰胆碱DES |
| CAGE | 香叶酸胆碱DES |
| aCAGE | 香叶酸乙酰胆碱DES |

[0370] 表6:对SPADE-mAb生物利用度研究中所有时间点的血清浓度和曲线下面积(AUC)值进行t检验的统计学显著性值(p值)的表。显著性标记按照以下p值进行分类:* $p < 0.05$,** $p < 0.01$,*** $p < 0.001$,**** $p < 0.0001$ 。

| | 时间 | 血清浓度 | AUC |
|----|----|-------------|-------------|
| 小时 | 1 | <0.0001**** | <0.0001**** |
| | 2 | 0.0029*** | 0.0003*** |
| | 5 | 0.0074** | 0.0025** |
| | 8 | 0.0261* | 0.0062** |
| | 11 | 0.0512 | 0.0109* |
| 天 | 1 | 0.0263* | 0.0205* |
| | 2 | 0.022* | 0.02* |
| | 3 | 0.0164* | 0.0152* |
| | 4 | 0.0498* | 0.0162* |
| | 7 | 0.0826* | 0.0288* |
| | 10 | 0.0193* | 0.0279* |
| | 14 | 0.0288* | 0.0215* |

| | | | |
|--|----|-----|---------|
| | 21 | N/A | 0.0159* |
| | 28 | N/A | 0.027* |
| | 35 | N/A | 0.0335* |
| | 42 | N/A | 0.0368* |
| | 49 | N/A | 0.0397* |

[0371] 参考文献

- 1.Hughes B.2007 FDA drug approvals;a year of flux.Nat Rev Drug Discov.2008;7(2) .doi:10.1038/nrd2514
- 2.Hughes B.2008 FDA drug approvals.Nat Rev Drug Discov.2009;8(2) .doi:10.1038/nrd2813
- 3.Hughes B.2009 FDA drug approvals.Nat Rev Drug Discov.2010;9(2) .doi:10.1038/nrd3101
- 4.Mullard A.2010 FDA drug approvals.Nat Rev Drug Discov.2011;10(2) .doi:10.1038/nrd3370
- 5.Mullard A.2011 FDA drug approvals.Nat Rev Drug Discov.2012;11(2) .doi:10.1038/nrd3657
- 6.Mullard A.2012 FDA drug approvals.Nat Rev Drug Discov.2013;12(2) .doi:10.1038/nrd3946
- 7.Mullard A.2013 FDA drug approvals.Nat Rev Drug Discov.2014;13(2) .doi:10.1038/nrd4239
- 8.Mullard A.2014 FDA drug approvals.Nat Rev Drug Discov.2015;14(2) .doi:10.1038/nrd4545
- 9.Mullard A.2015 FDA drug approvals.Nat Rev Drug Discov.2016;15(2) .doi:10.1038/nrd.2016.15
- 10.Mullard A.2016 FDA drug approvals.Nat Rev Drug Discov.2017;16(2) .doi:10.1038/nrd.2017.14
- 11.Mullard A.2017 FDA drug approvals.Nat Rev Drug Discov.2018;17(2) .doi:10.1038/nrd.2018.4
- 12.Mullard A.2018 FDA drug approvals.Nat Rev Drug Discov.2019;18(2) .doi:10.1038/d41573-019-00014-x
- 13.Mullard A.2019 FDA drug approvals.Nat Rev Drug Discov.2020;19(2) .doi:10.1038/d41573-020-00001-7
- 14.Mullard A.2020 FDA drug approvals.Nat Rev Drug Discov.2021;20(2) .doi:10.1038/d41573-021-00002-0
- 15.Mullard A.2021 FDA approvals.Nat Rev Drug Discov.2022.

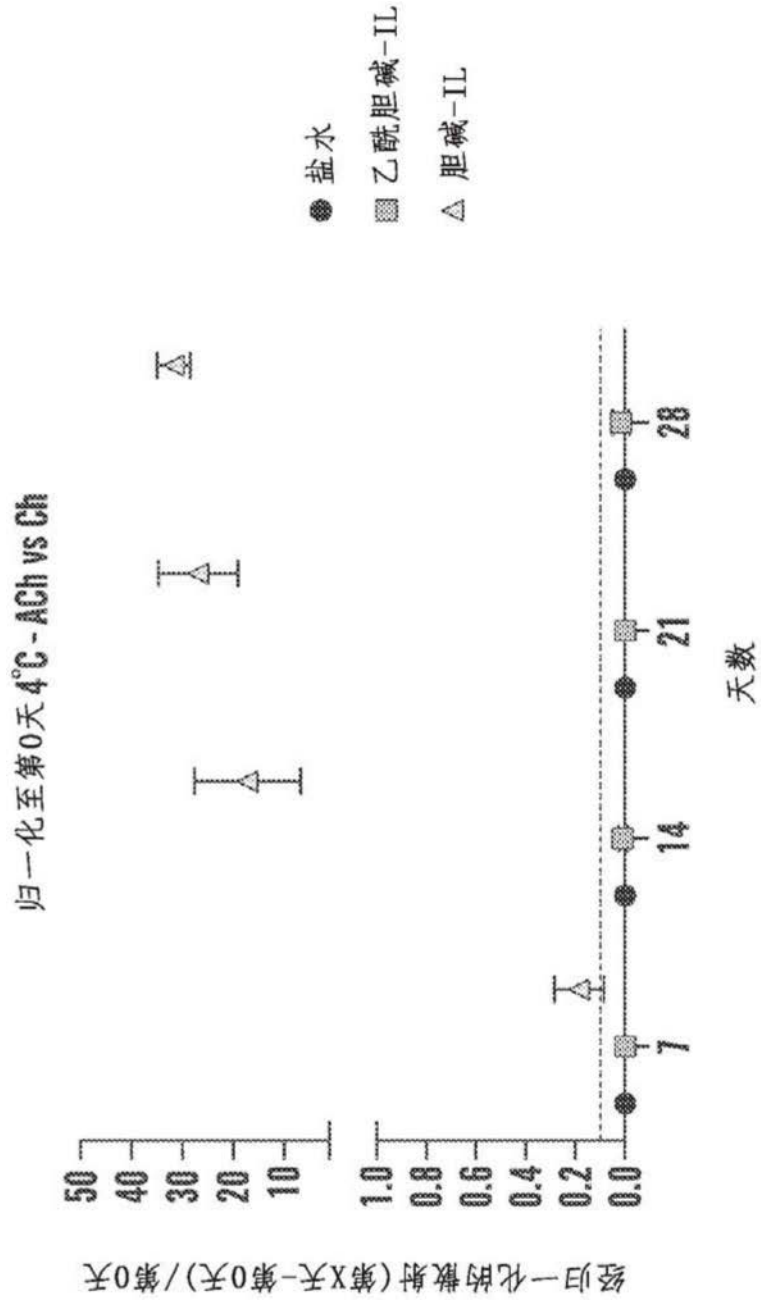


图1A

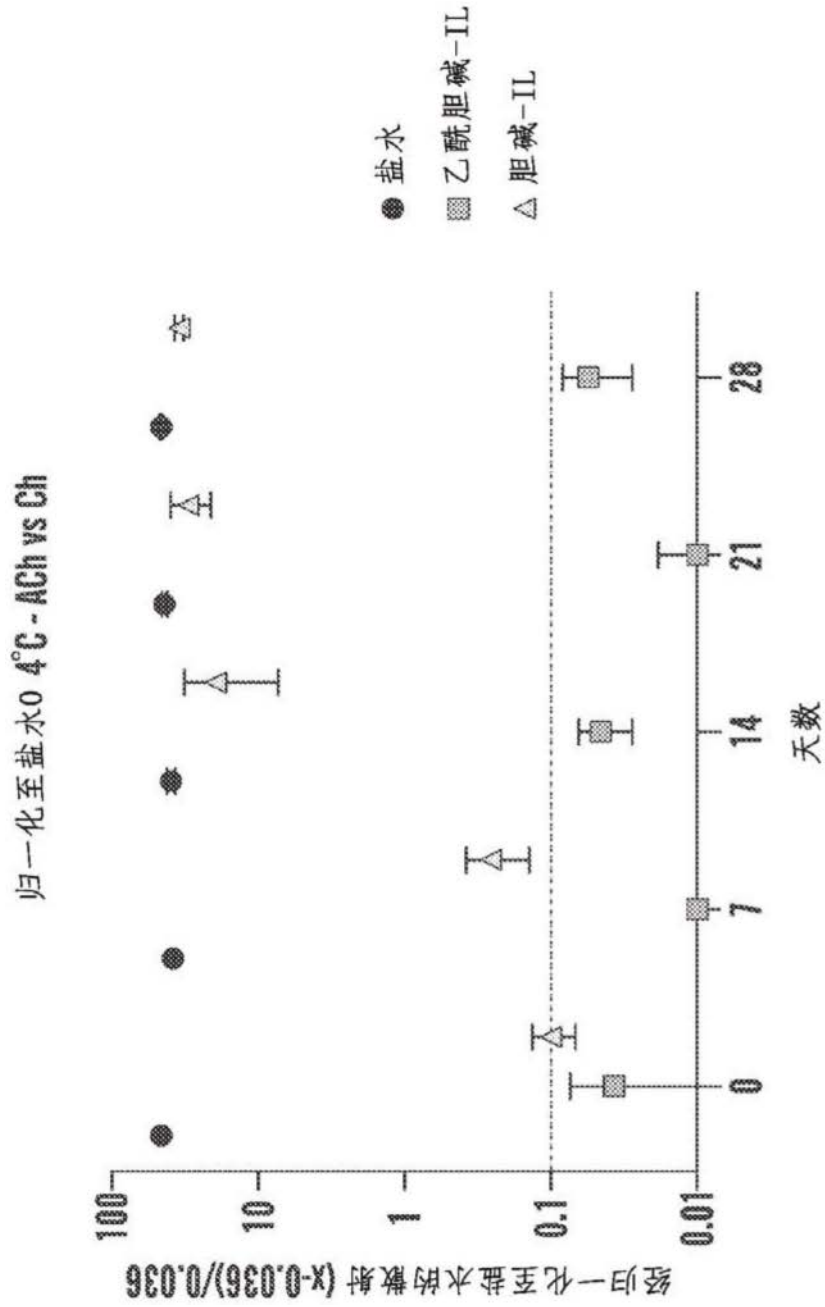


图1B

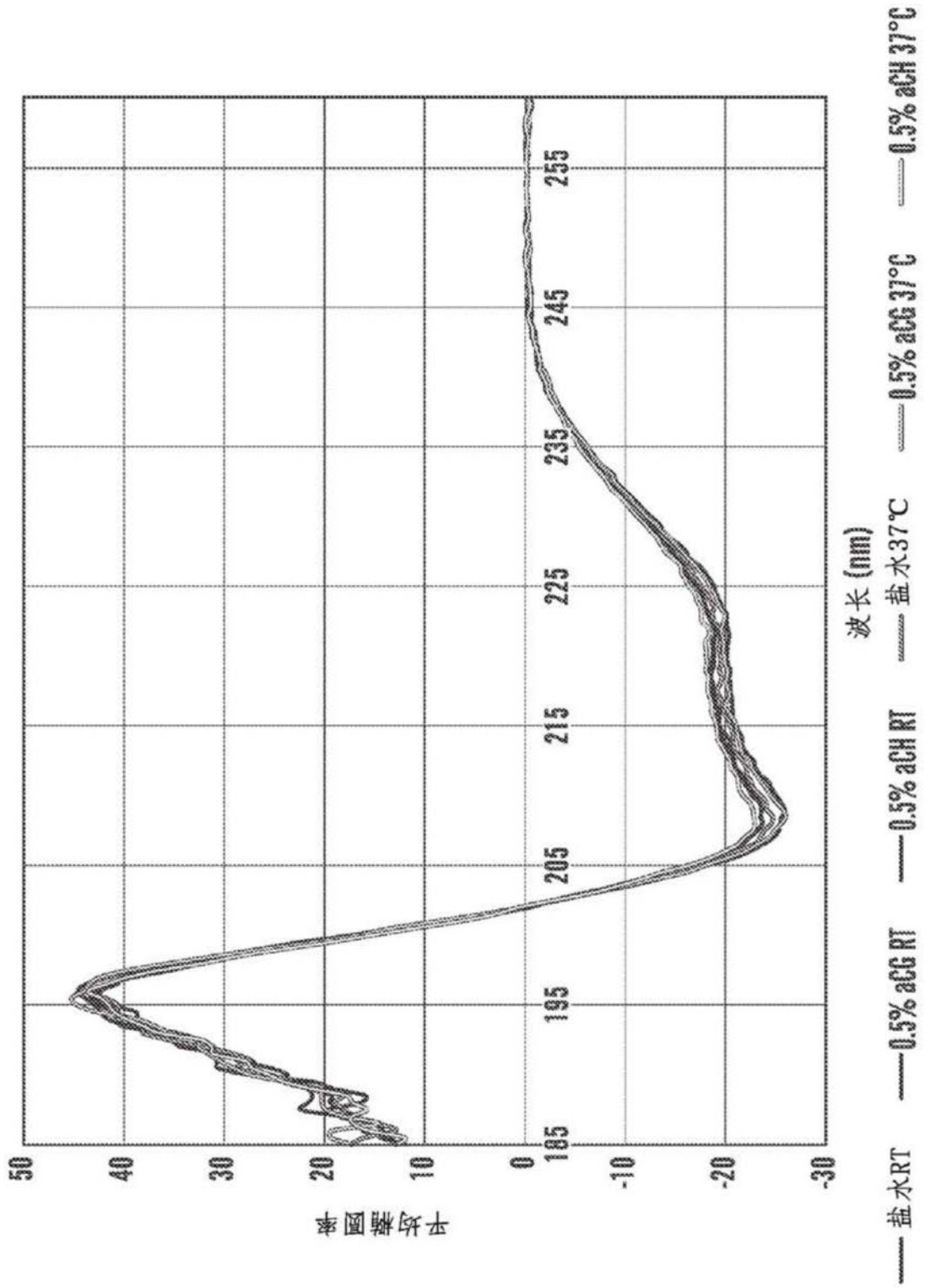


图2

体内胰岛素水平-Ach vs Ch比较

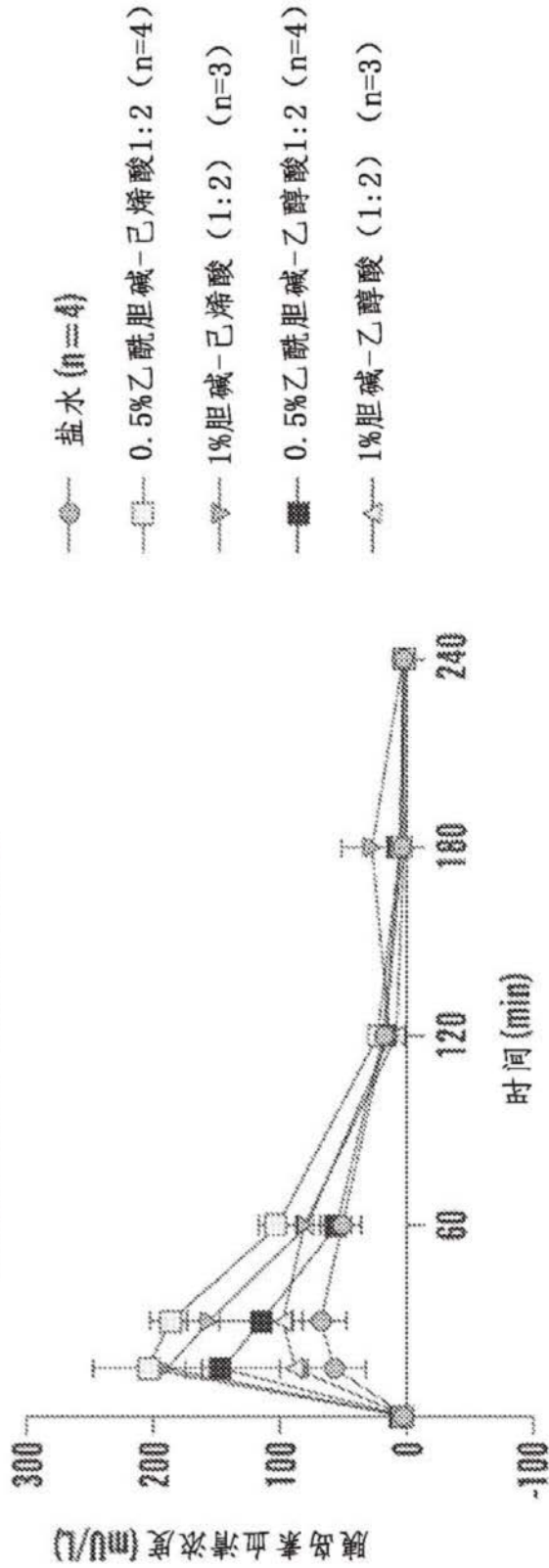


图3

| | | | | | |
|-------------------------|----------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| | 盐水 (n=3) | 0.5%乙酰胆碱-乙醇酸1:2 (n=4) | 0.5%乙酰胆碱-己烯酸1:2 (n=4) | 1%胆碱-乙醇酸 (1:2) (n=3) | 1%胆碱-己烯酸 (1:2) (n=3) |
| C _{max} (mU/L) | 88 | 147 | 205 | 97 | 189 |
| T _{max} (min) | 30 | 15 | 15 | 30 | 15 |

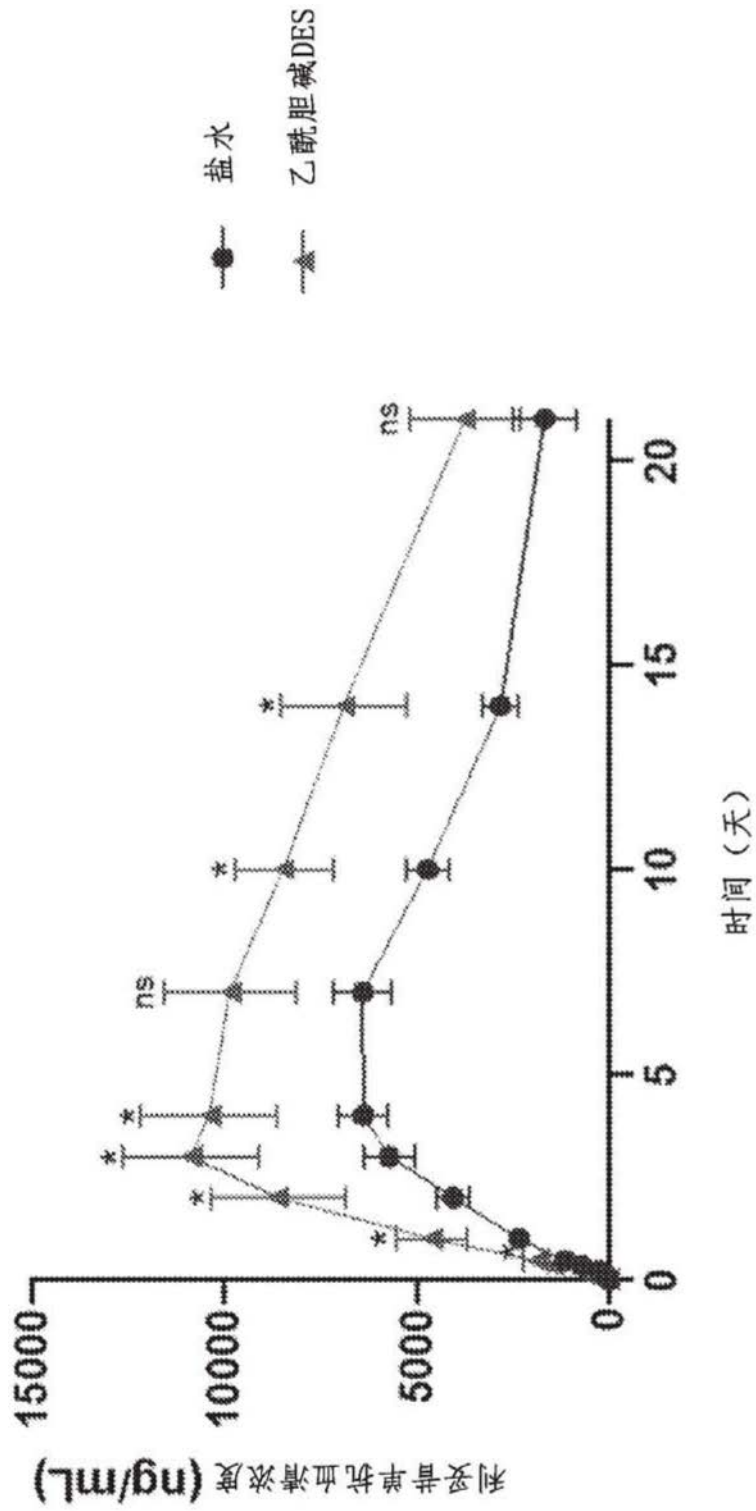


图4A

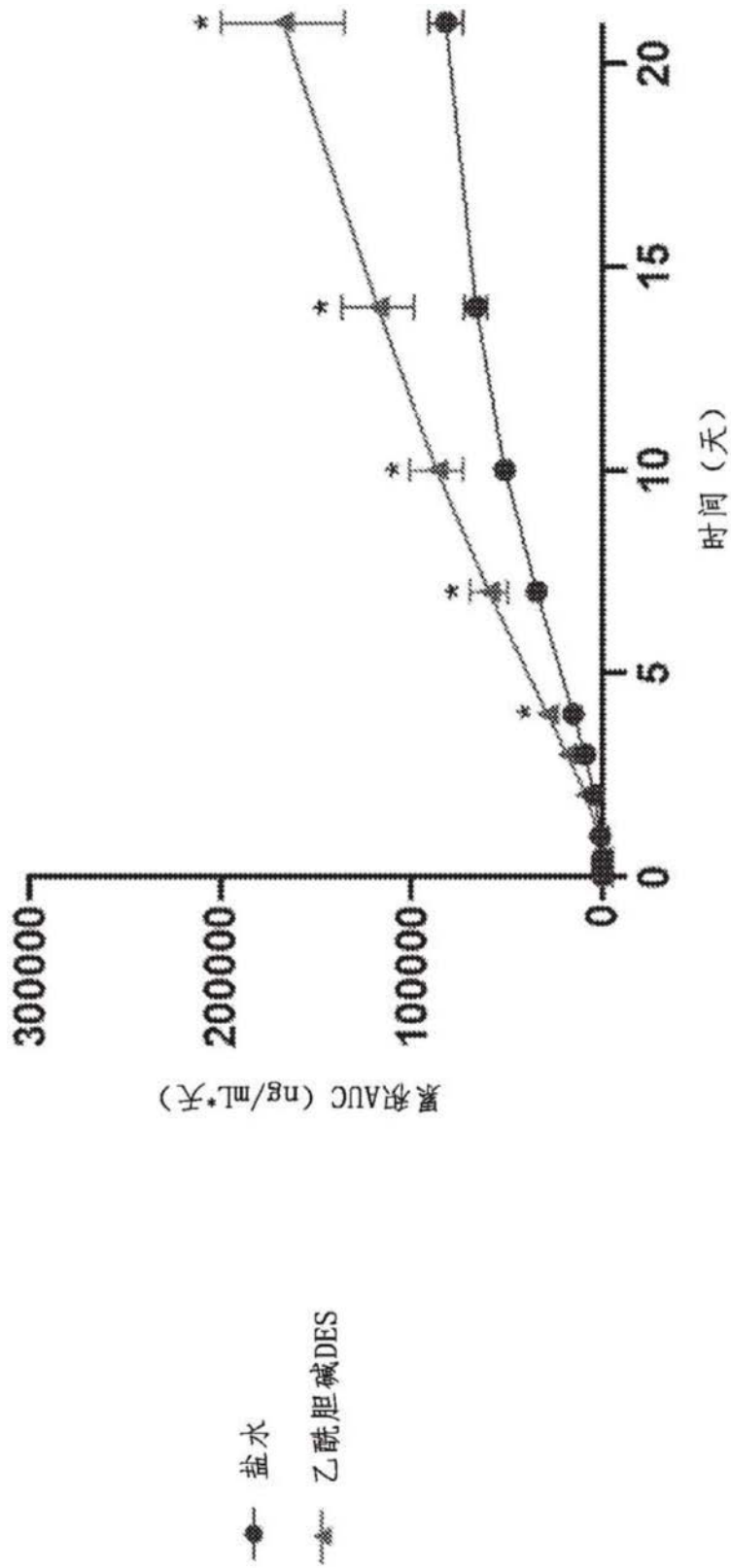


图4B

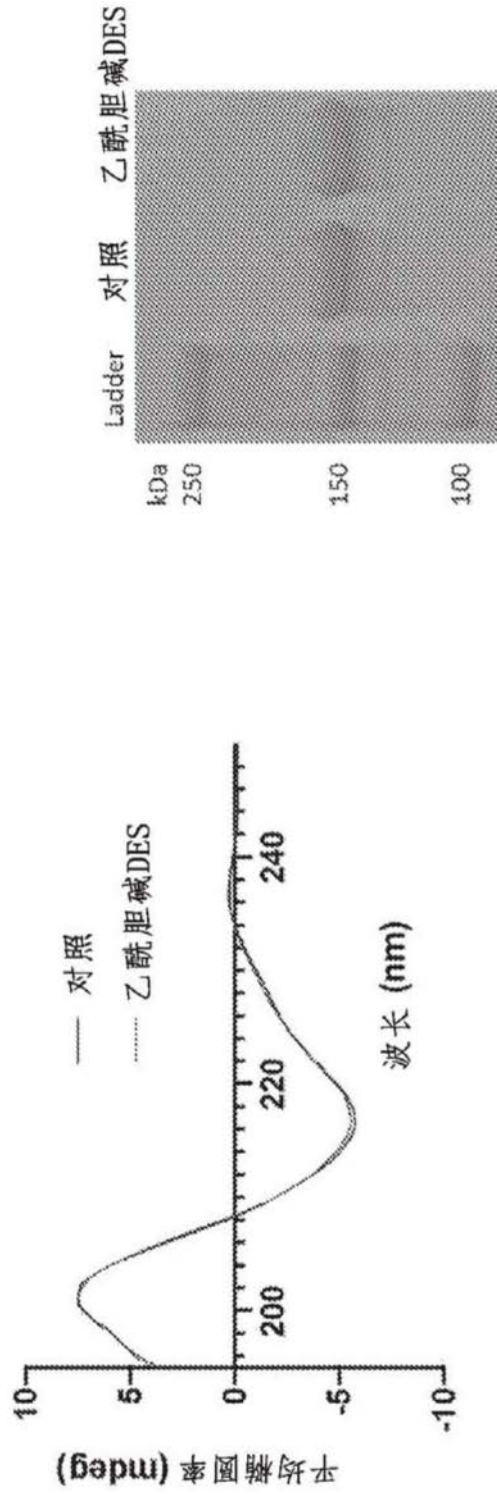


图5

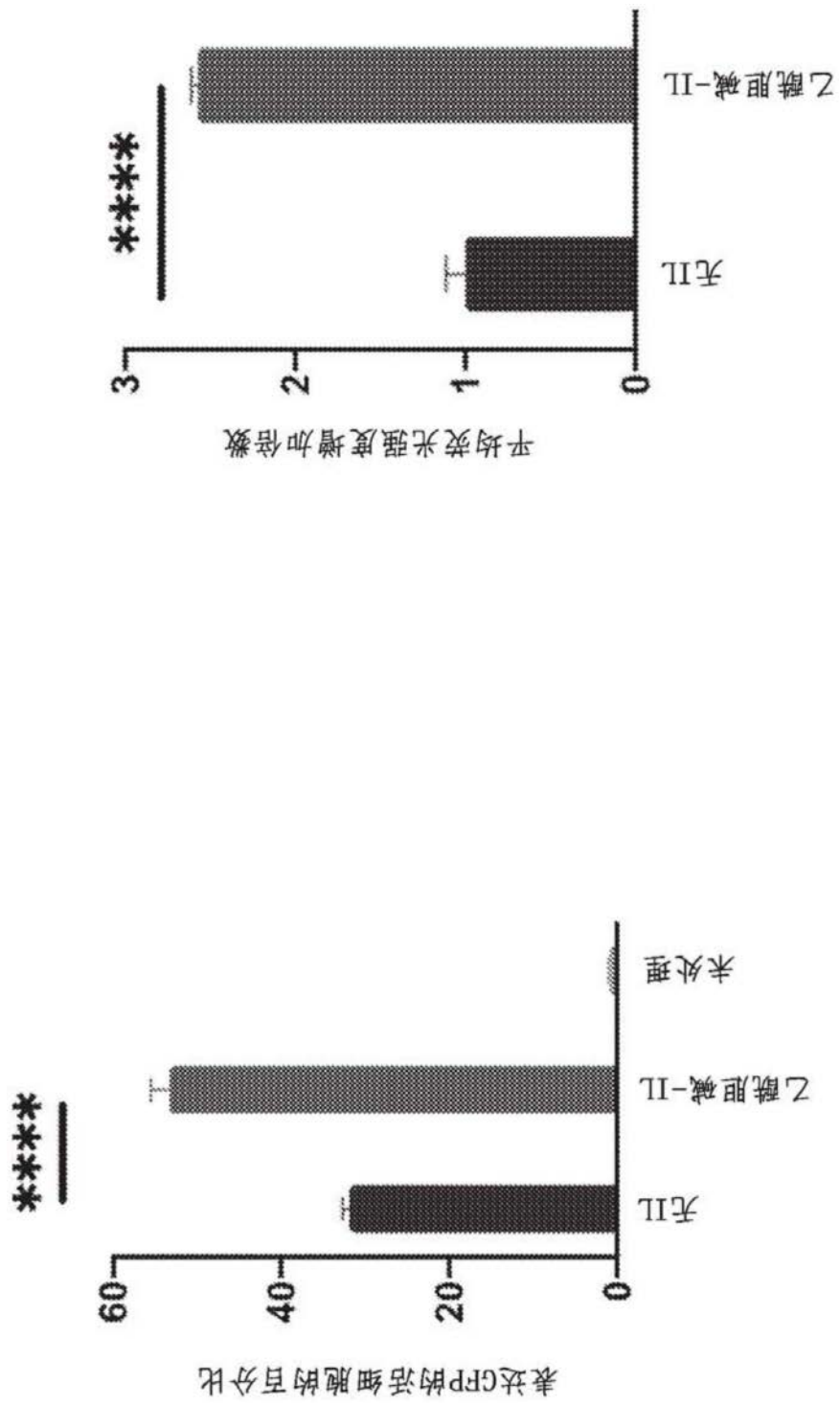


图6

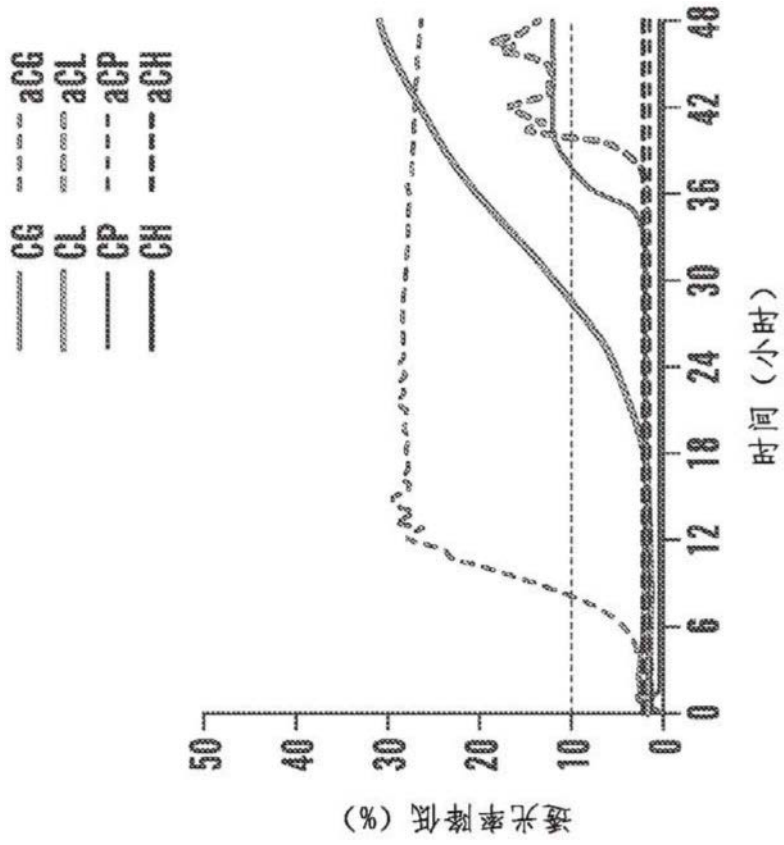


图7A

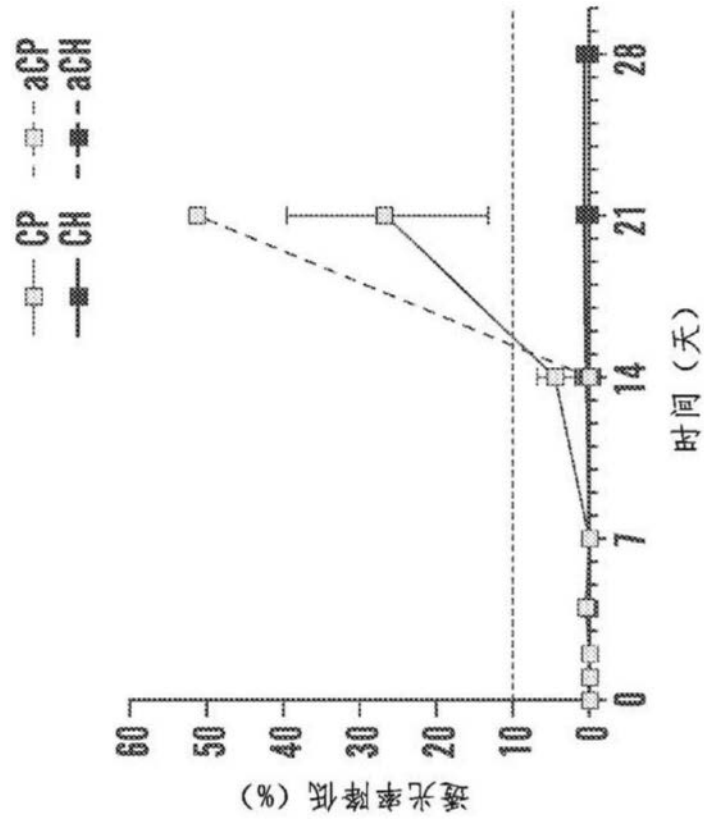


图7B

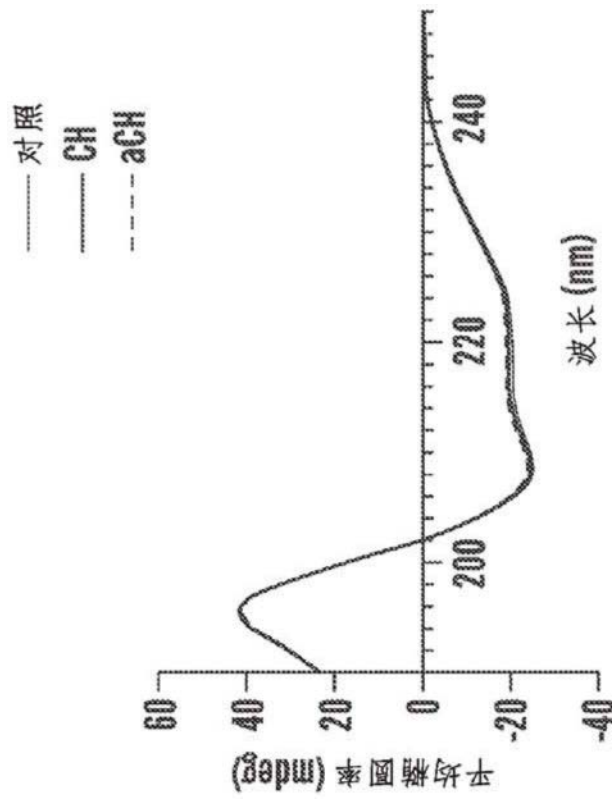


图7C

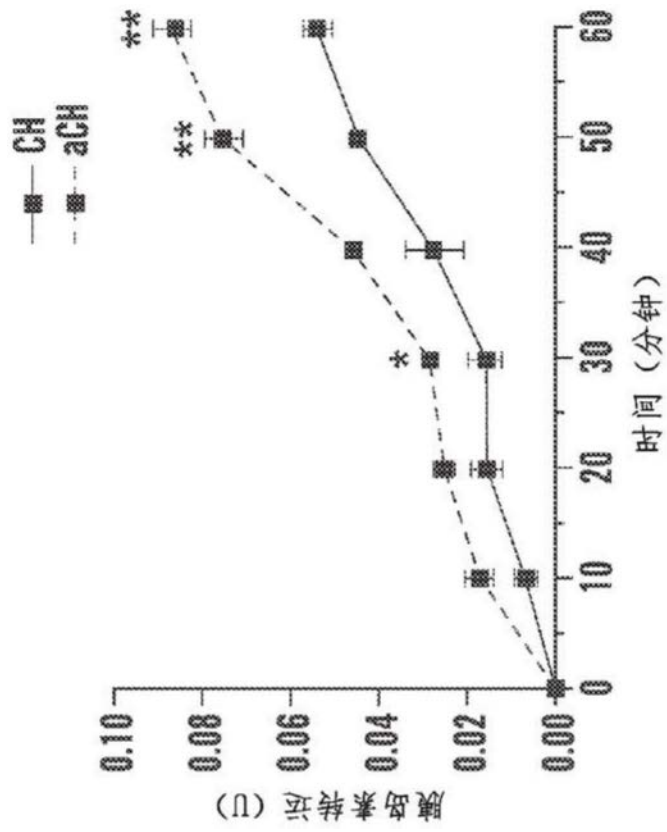


图7D

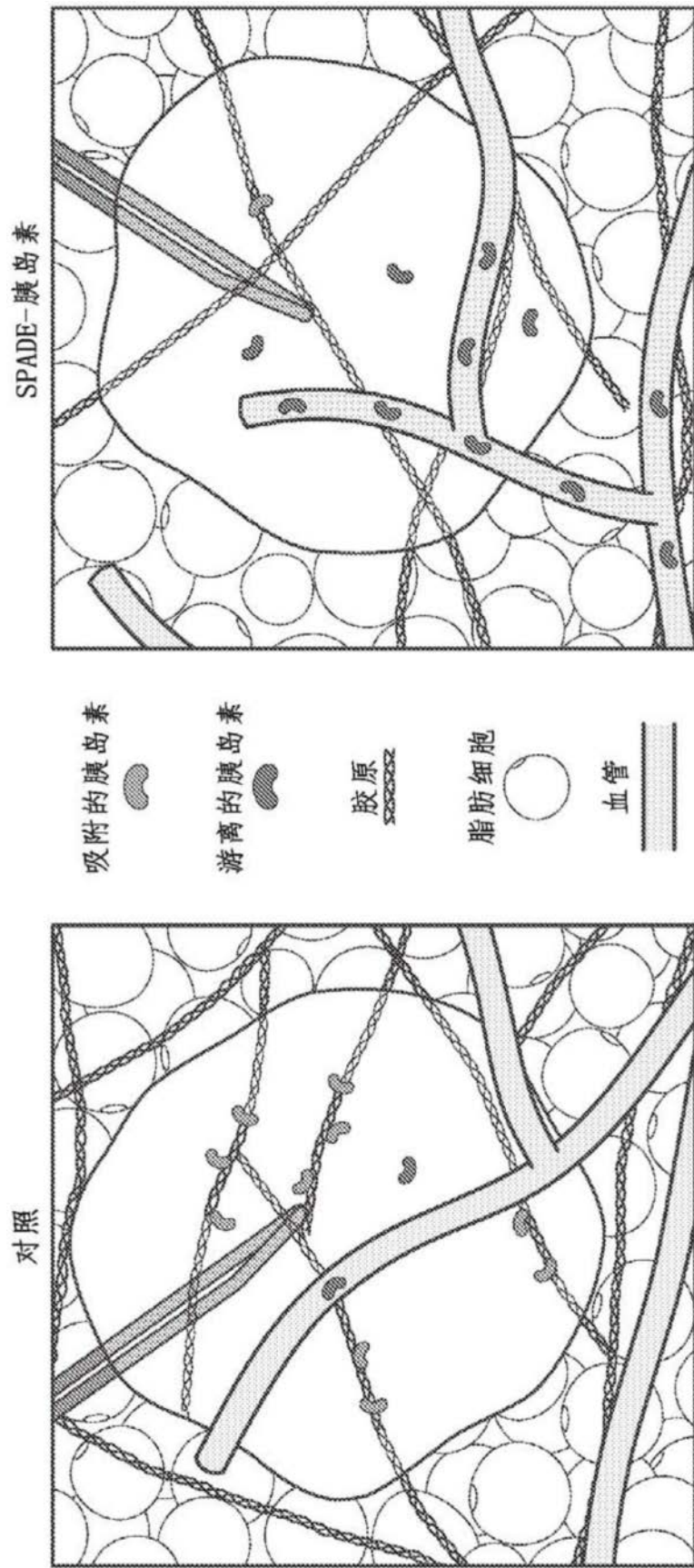


图8A

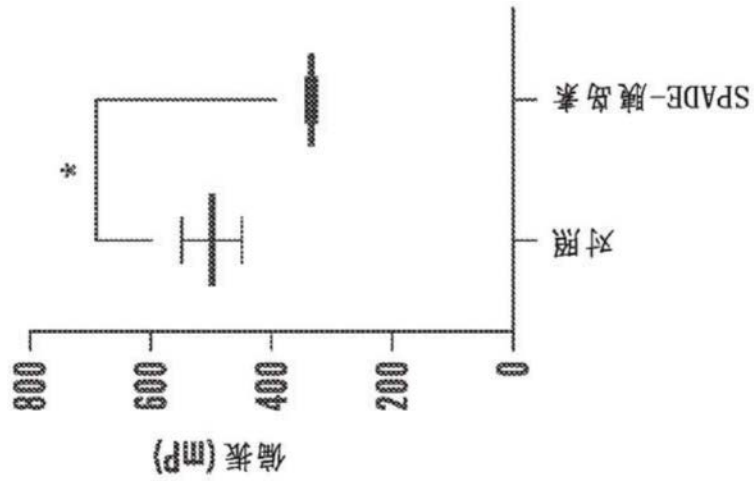


图8B

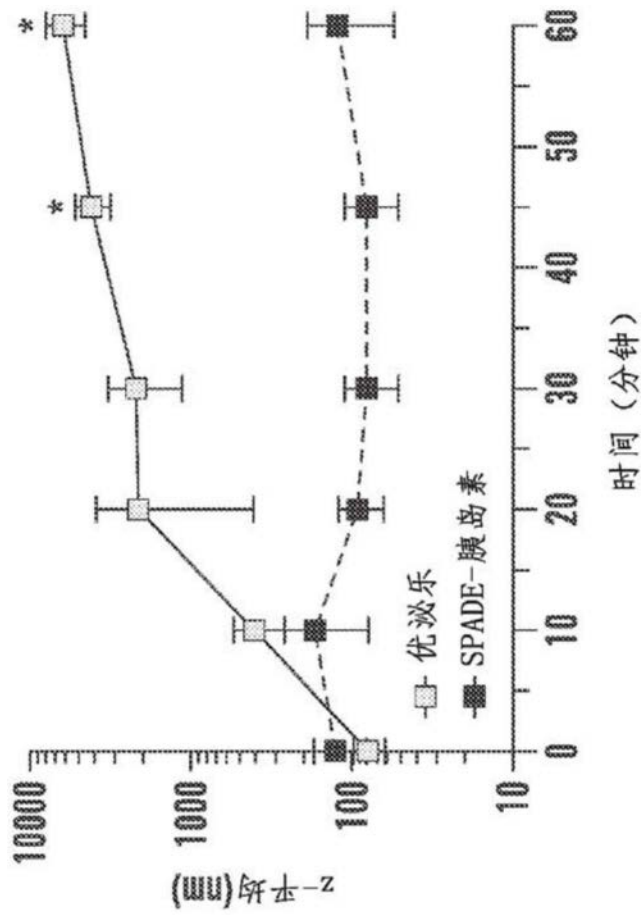


图8C

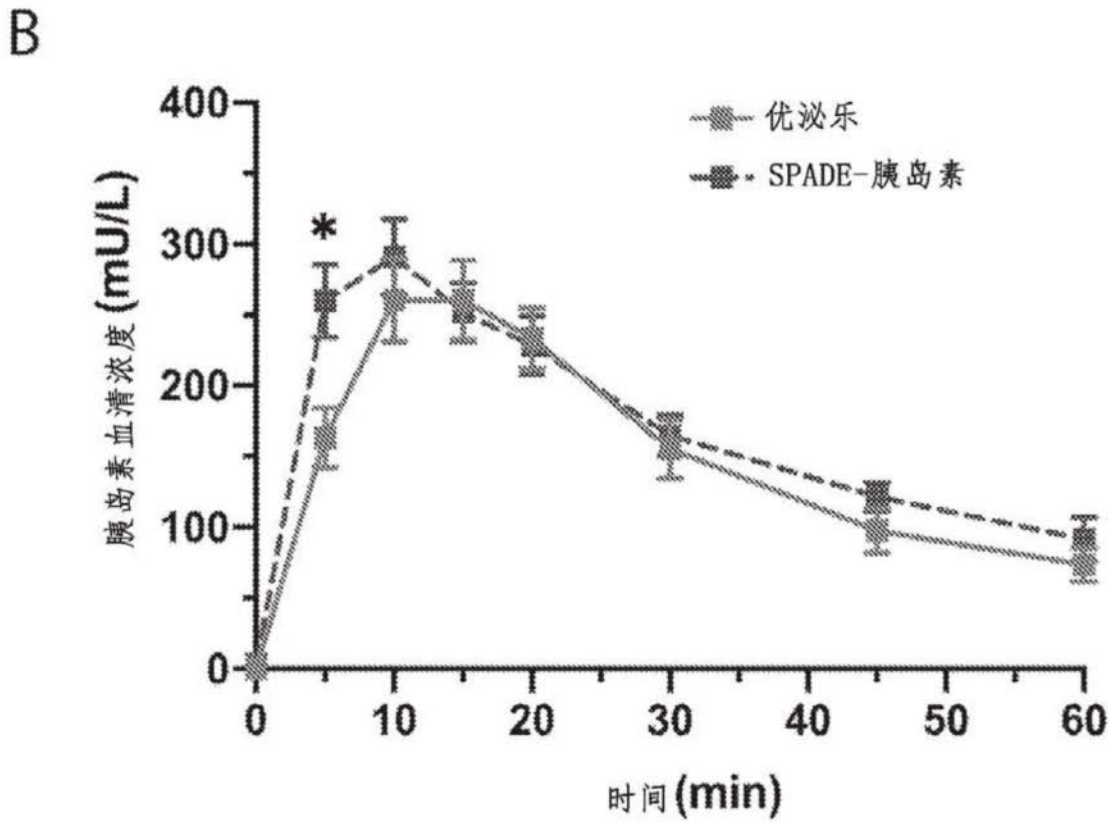
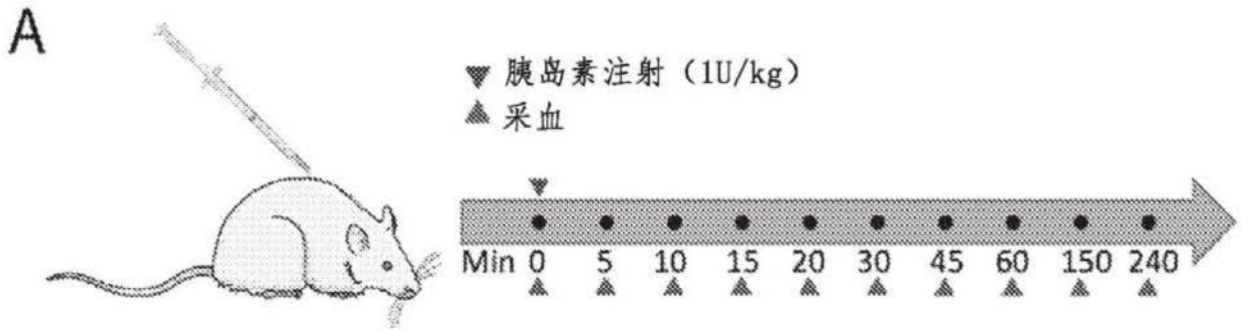


图9A-9B

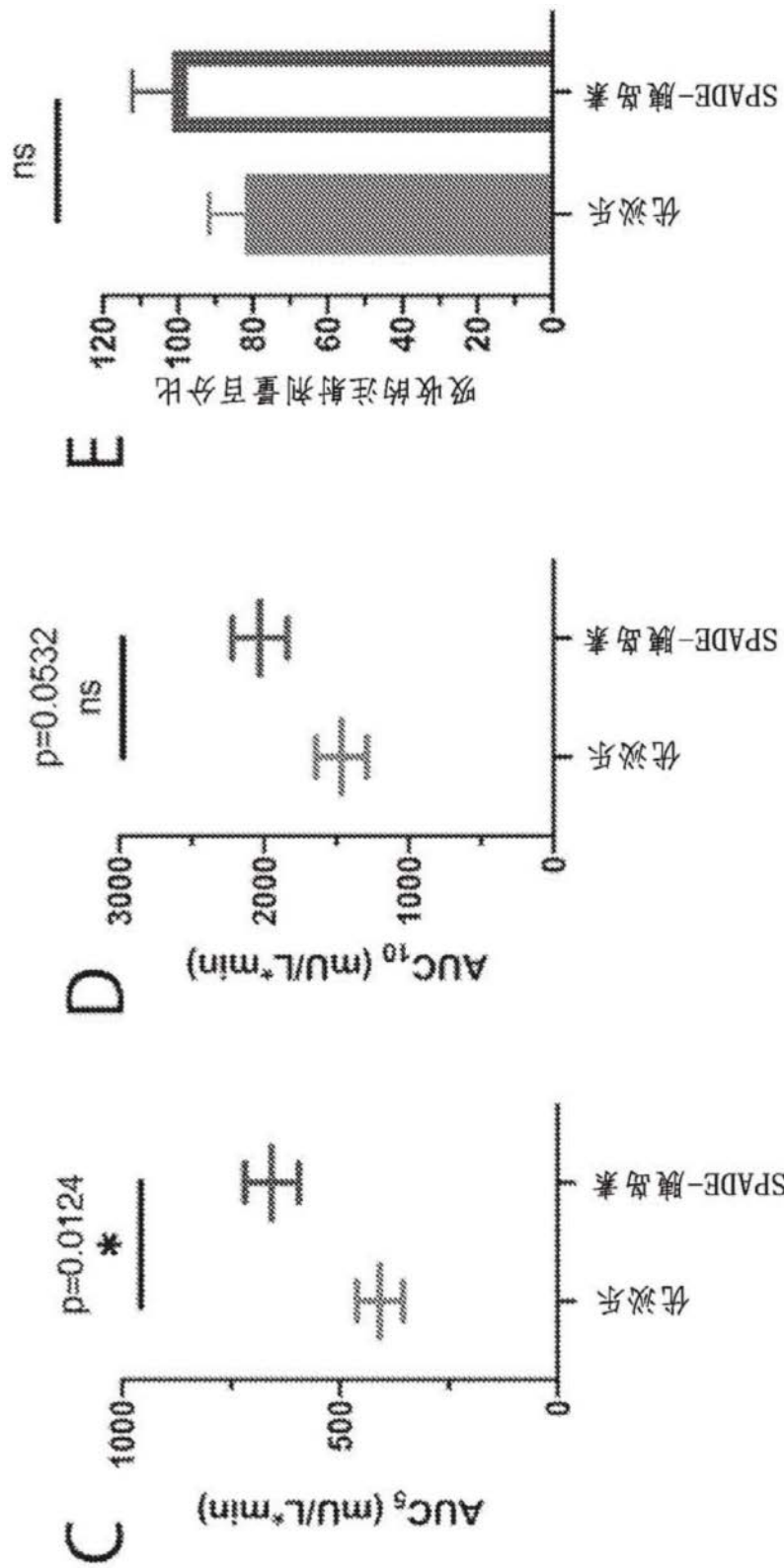


图9C-9E

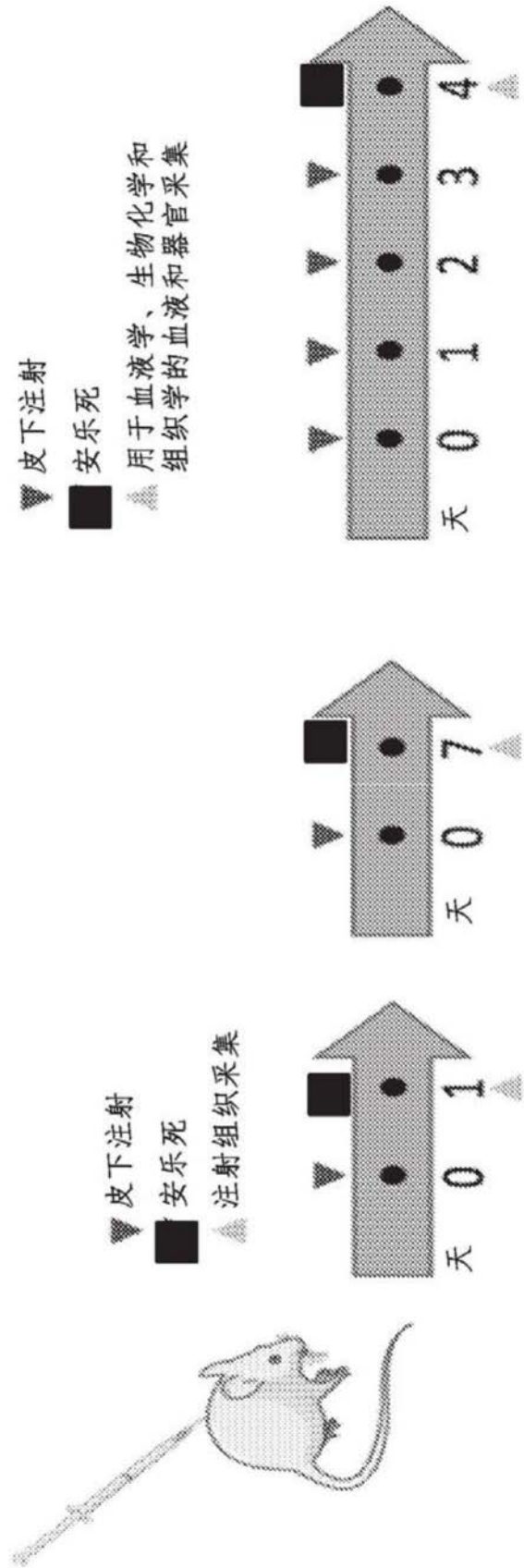


图10A

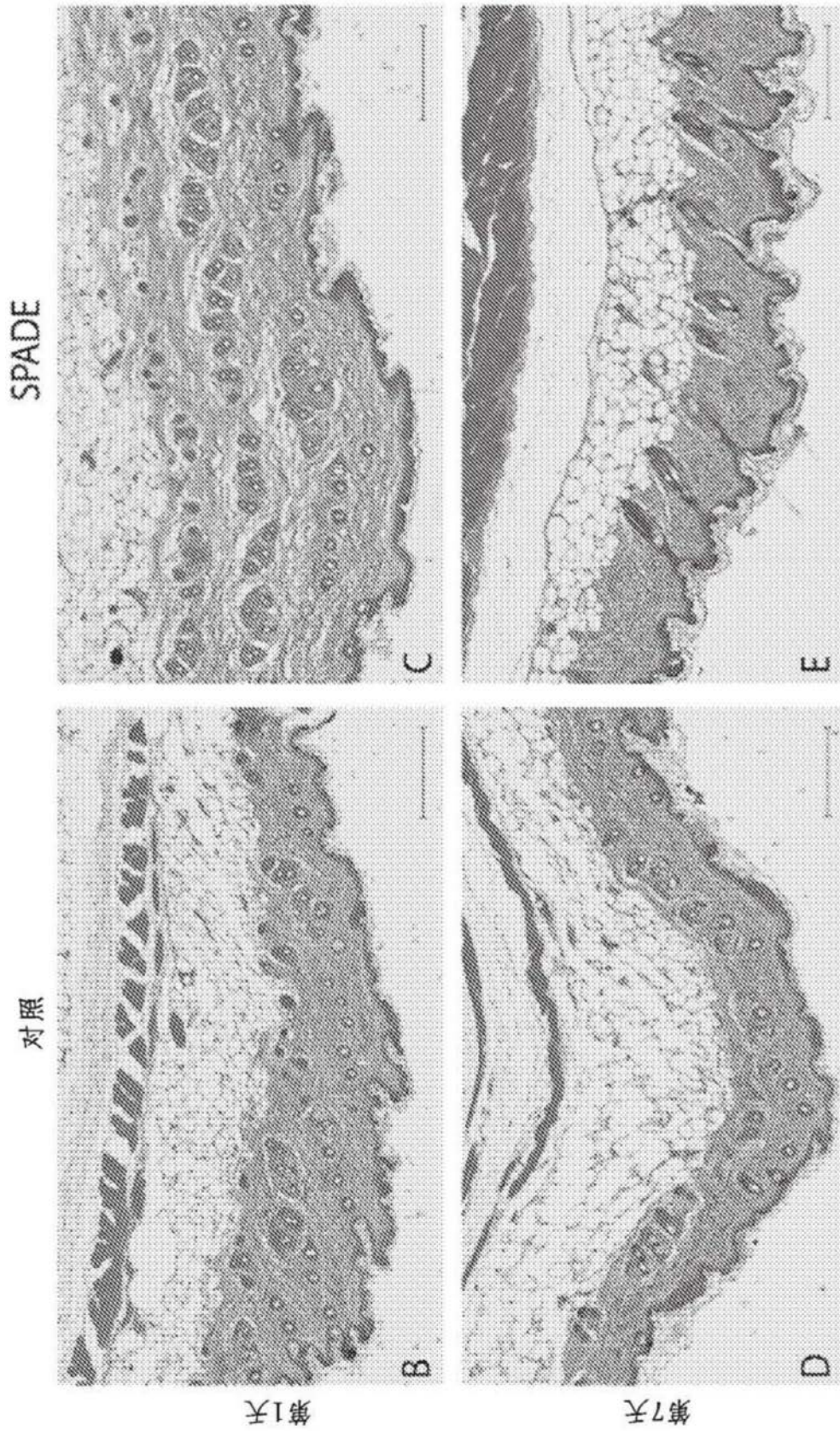


图10B-10E

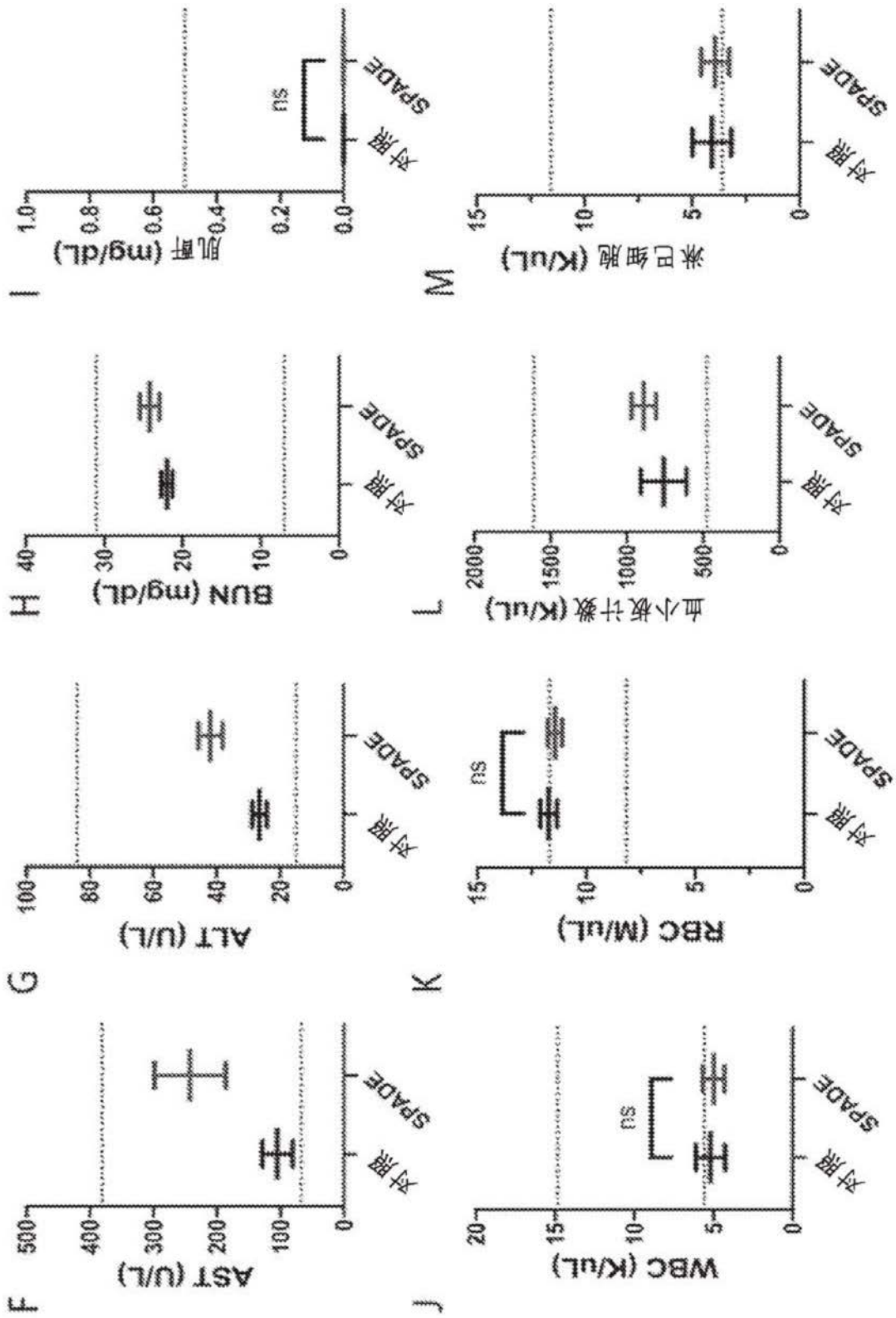


图10F-10M

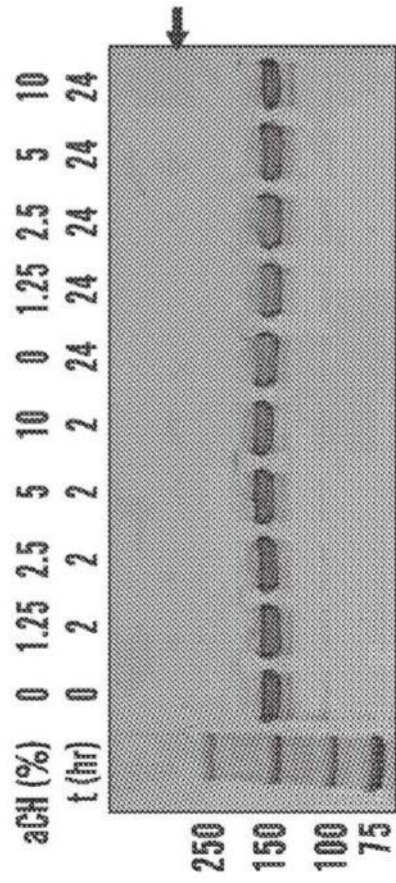


图11A

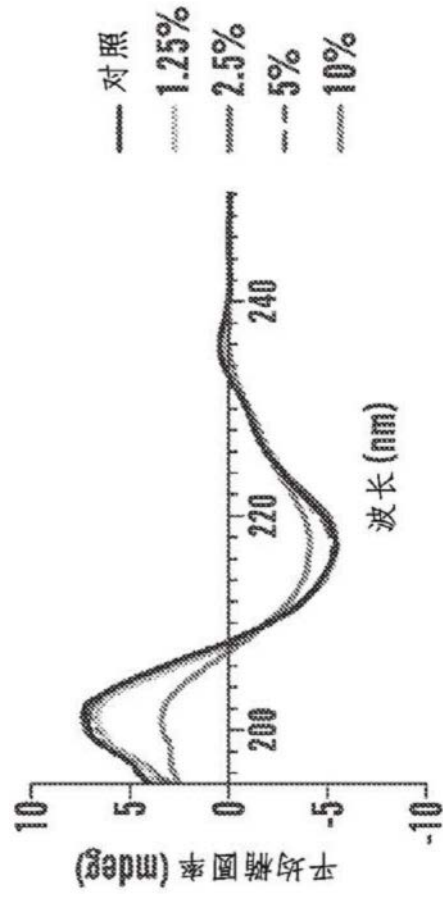


图11B

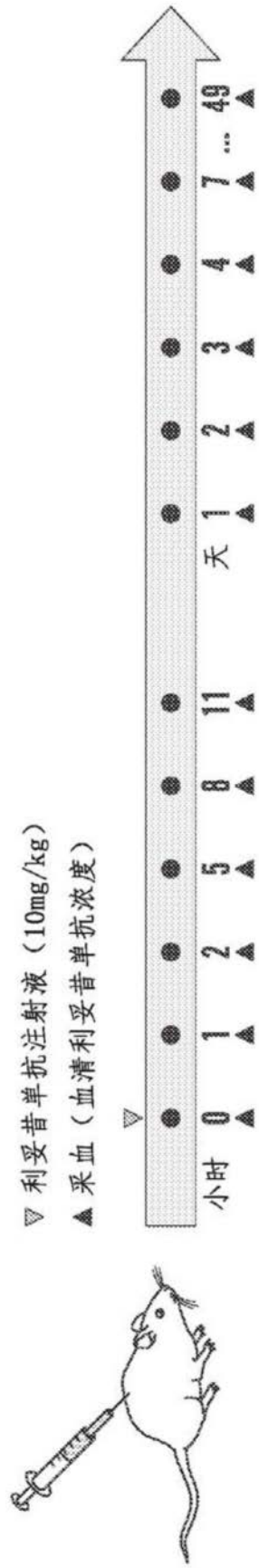


图11C

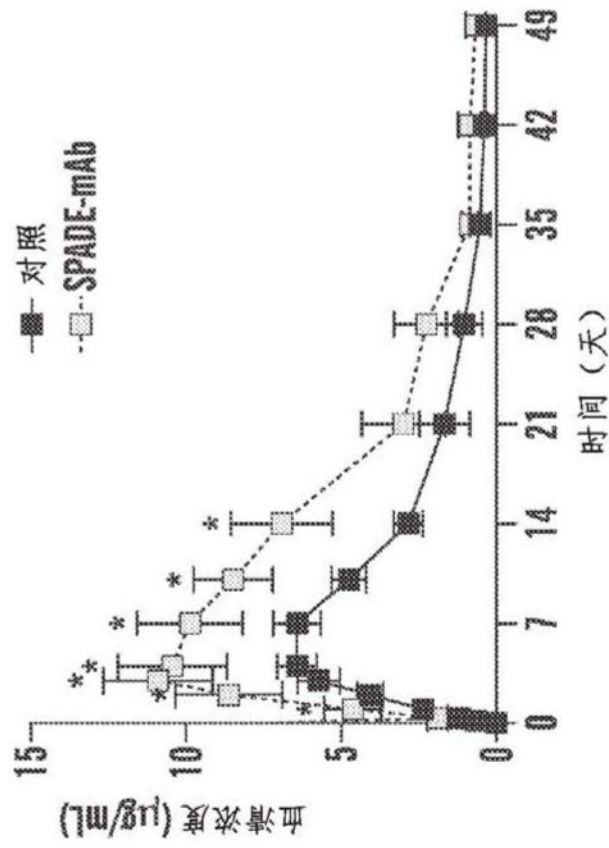


图11D

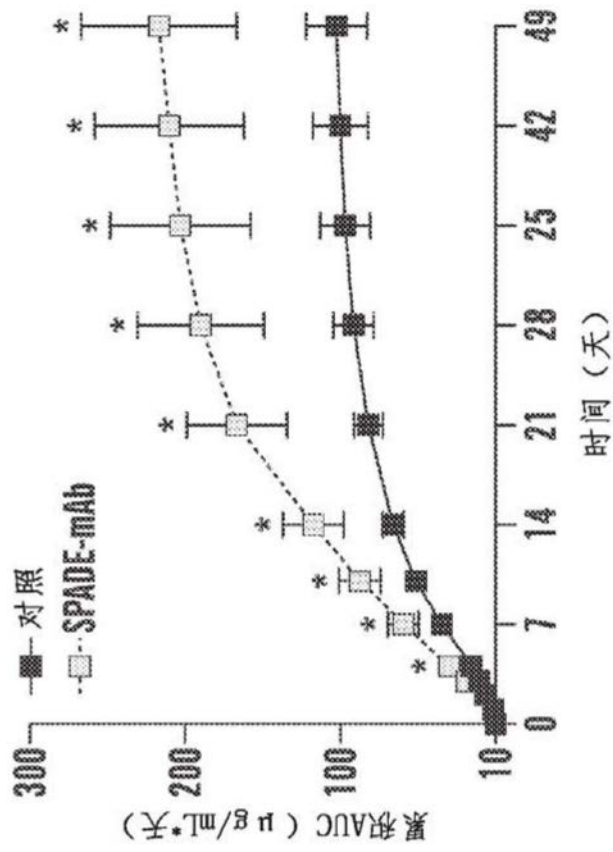


图11E

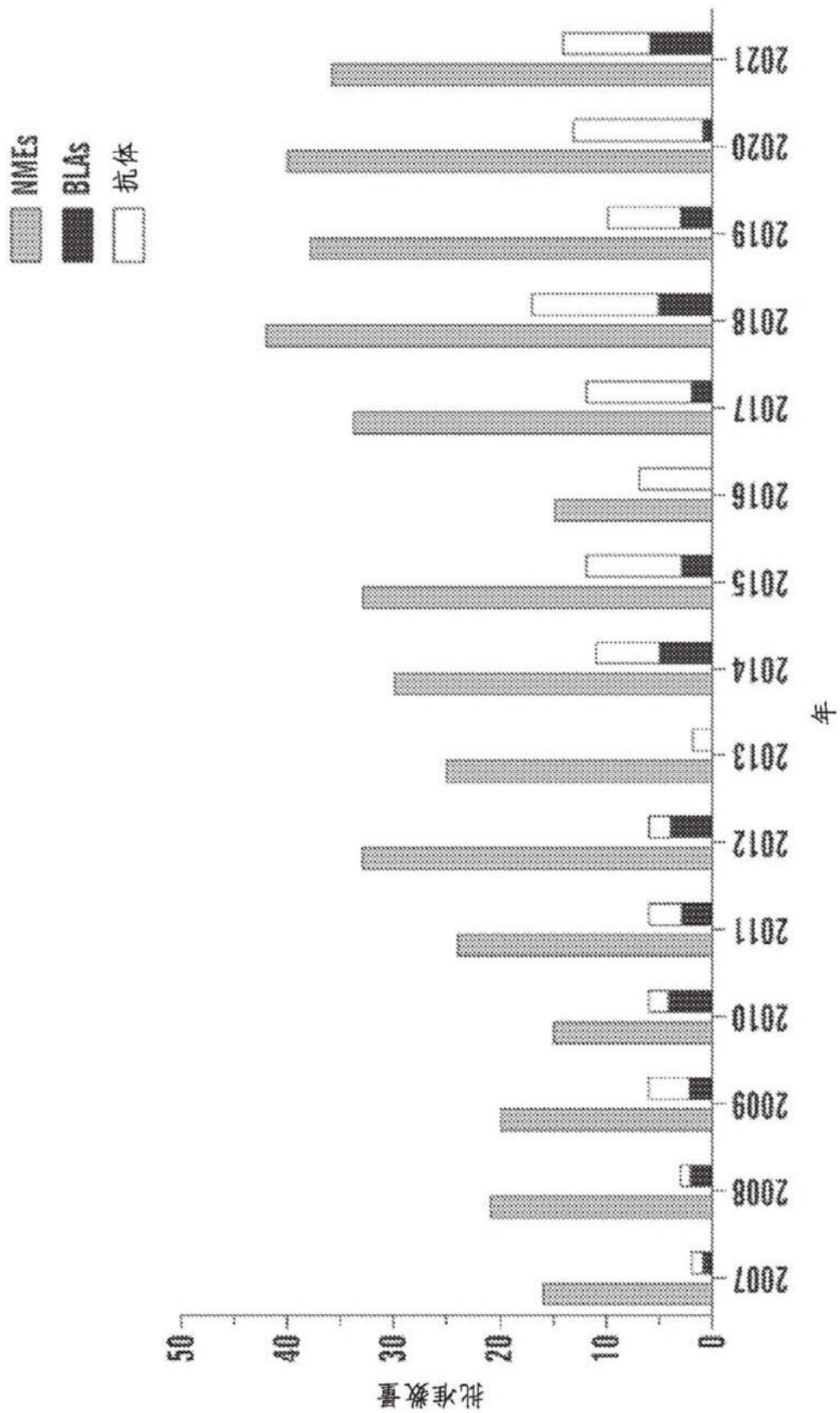


图12A

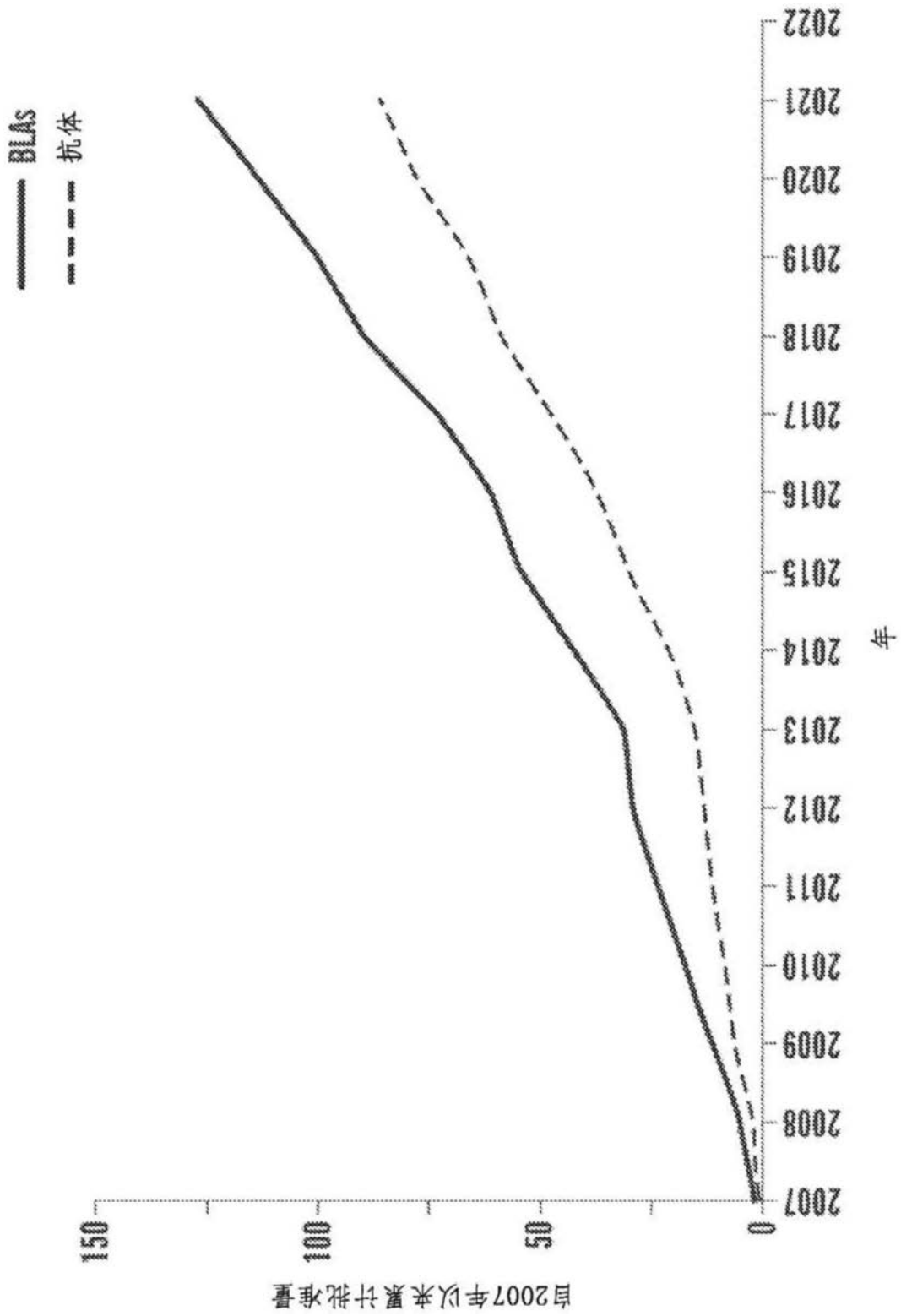


图12B

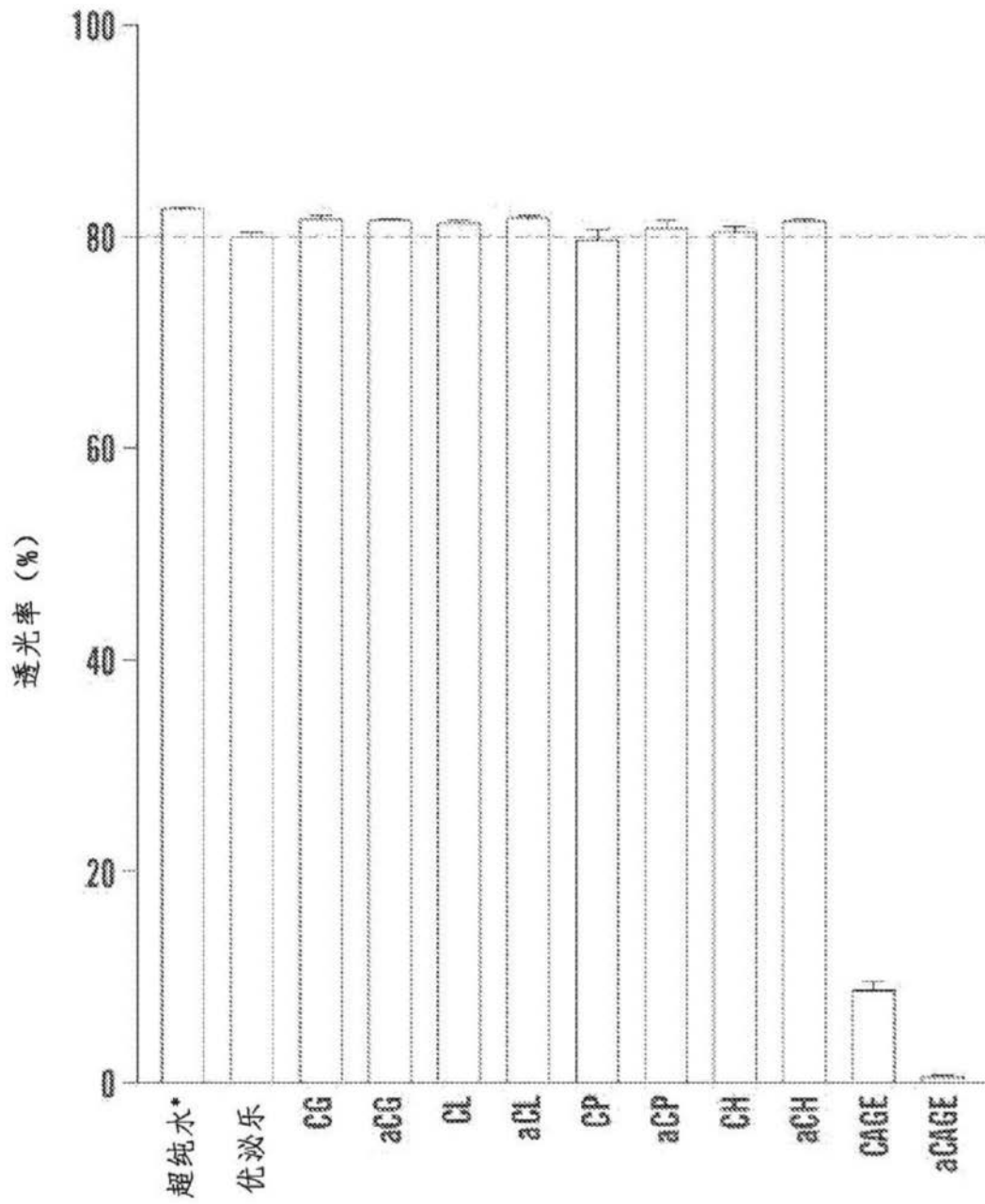


图13

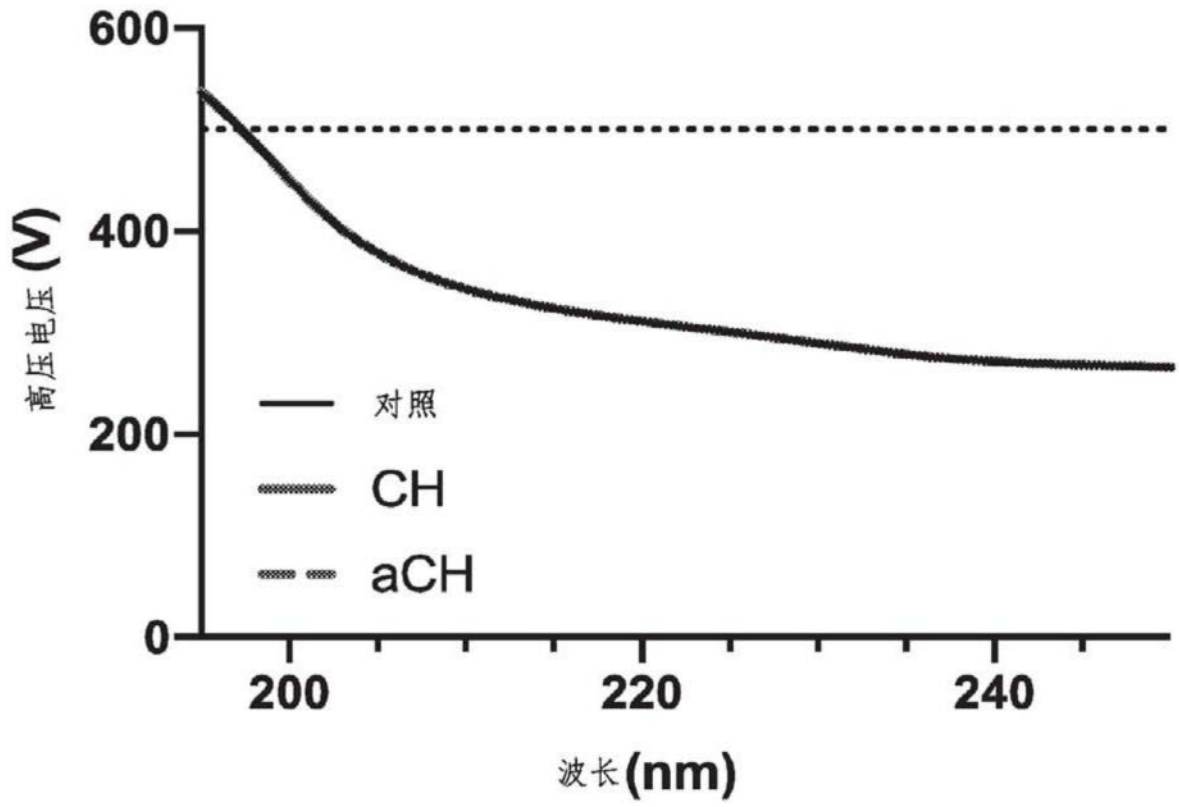


图14

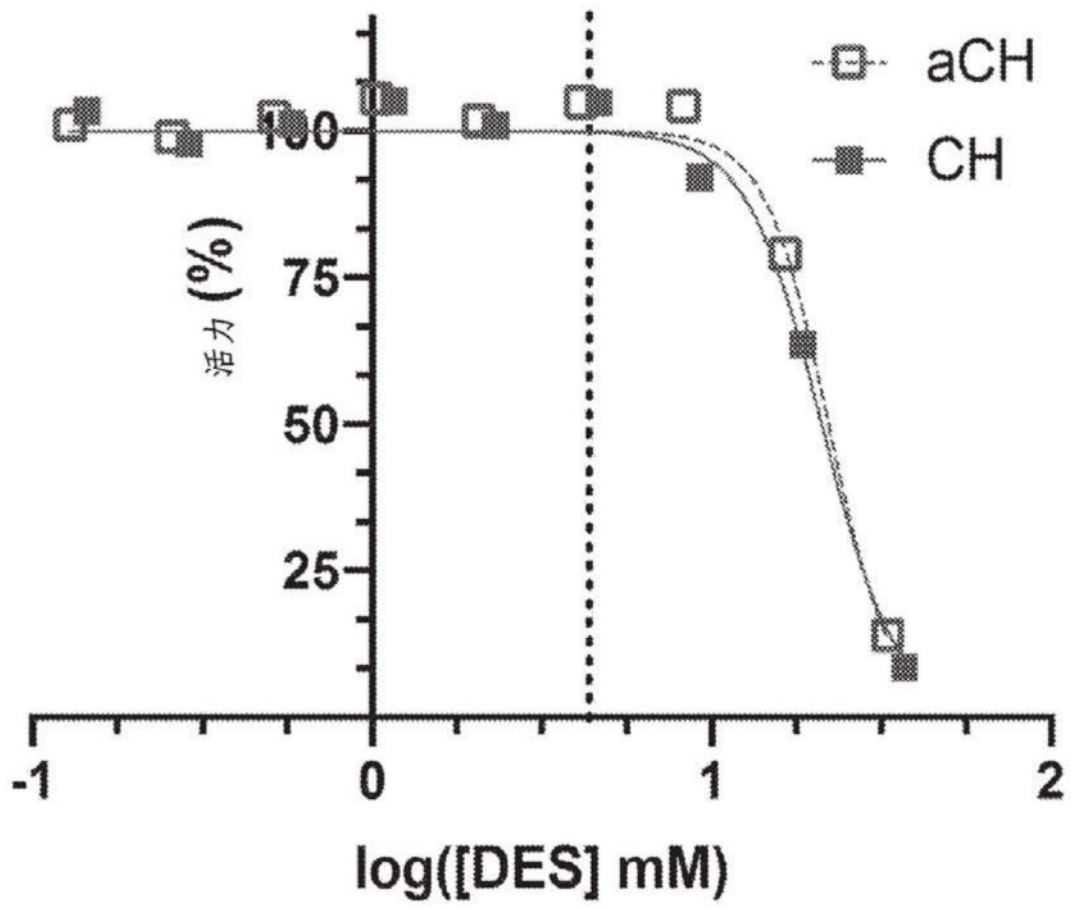


图15

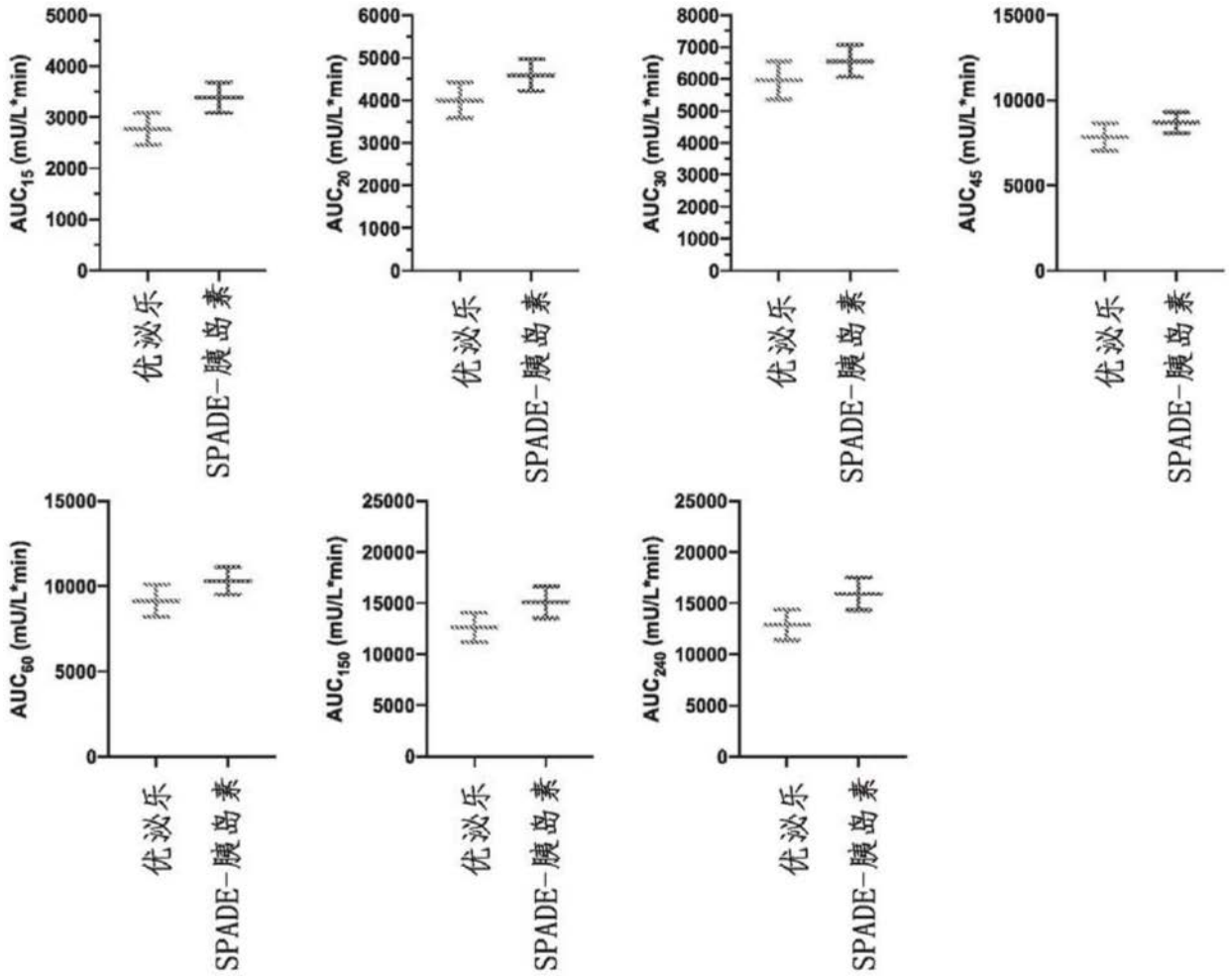


图16

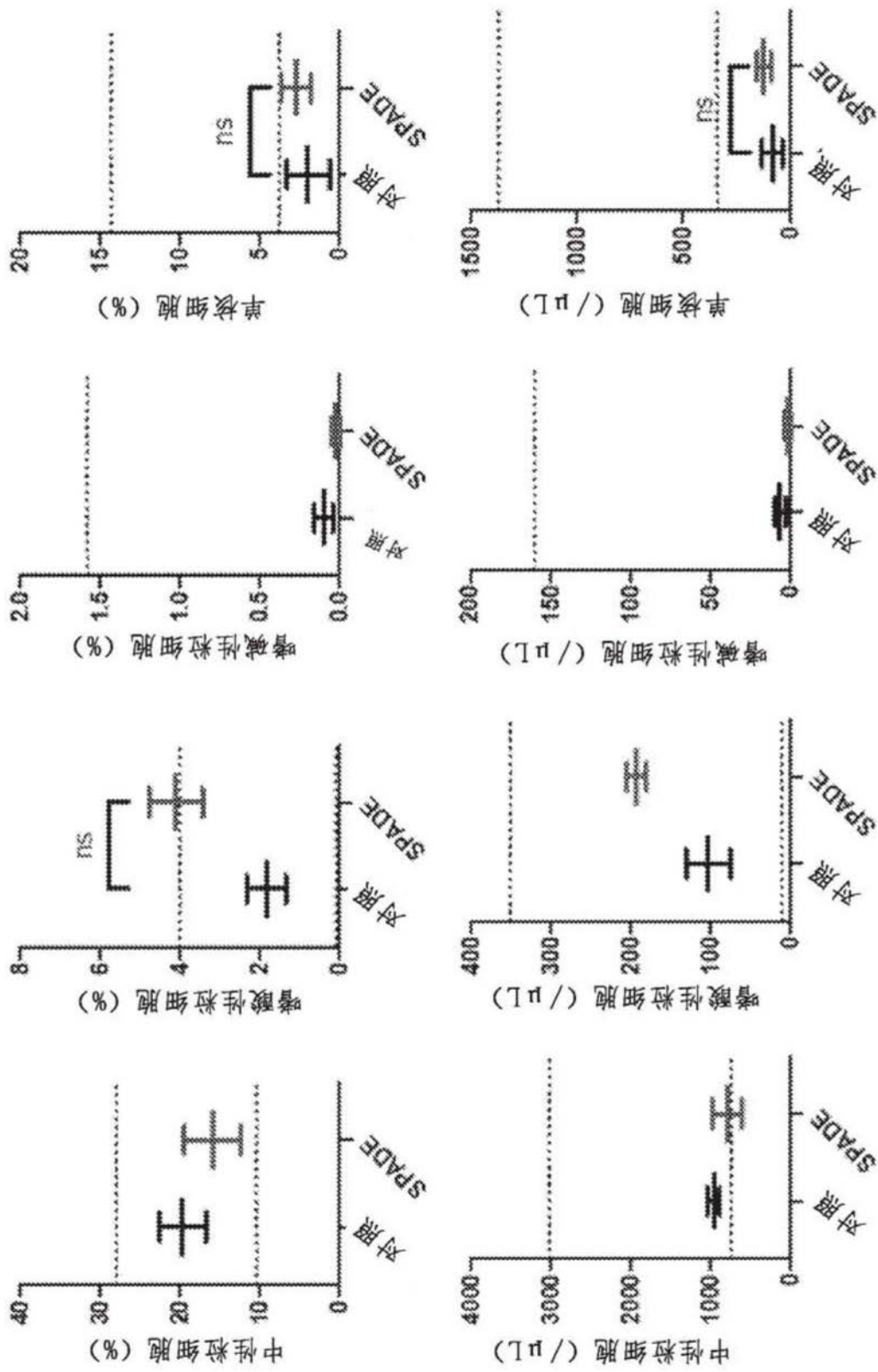


图17

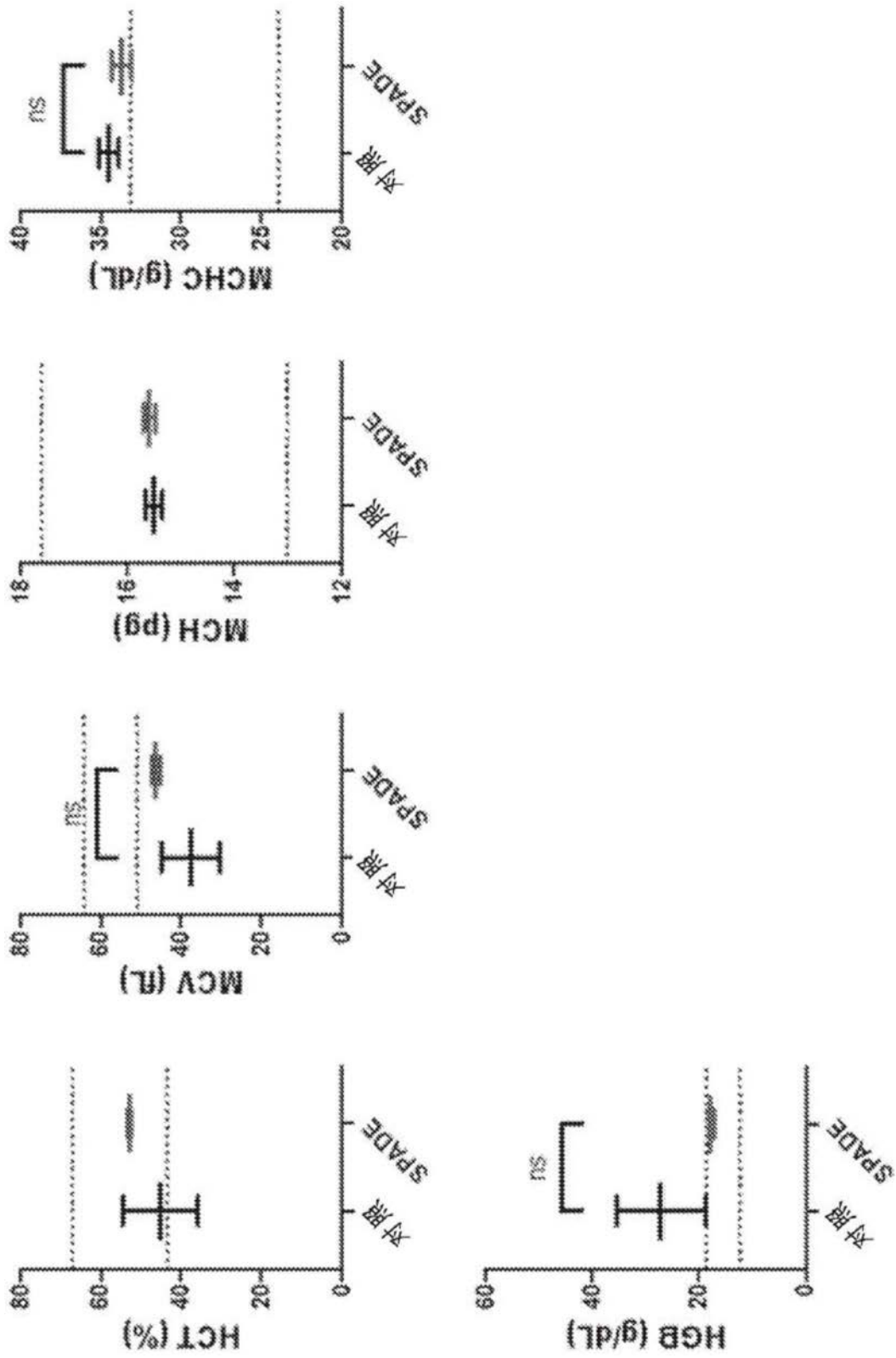


图18

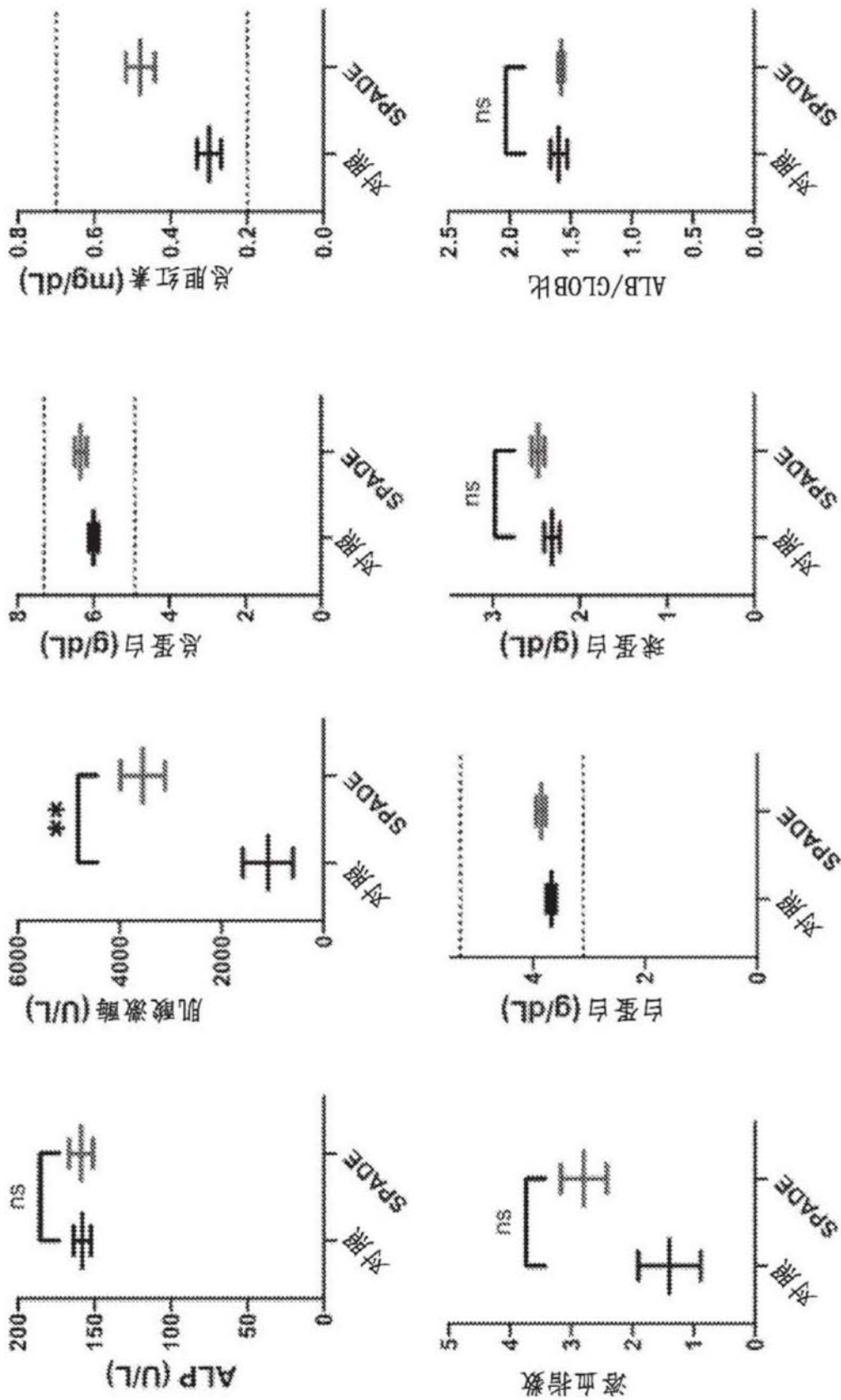


图19

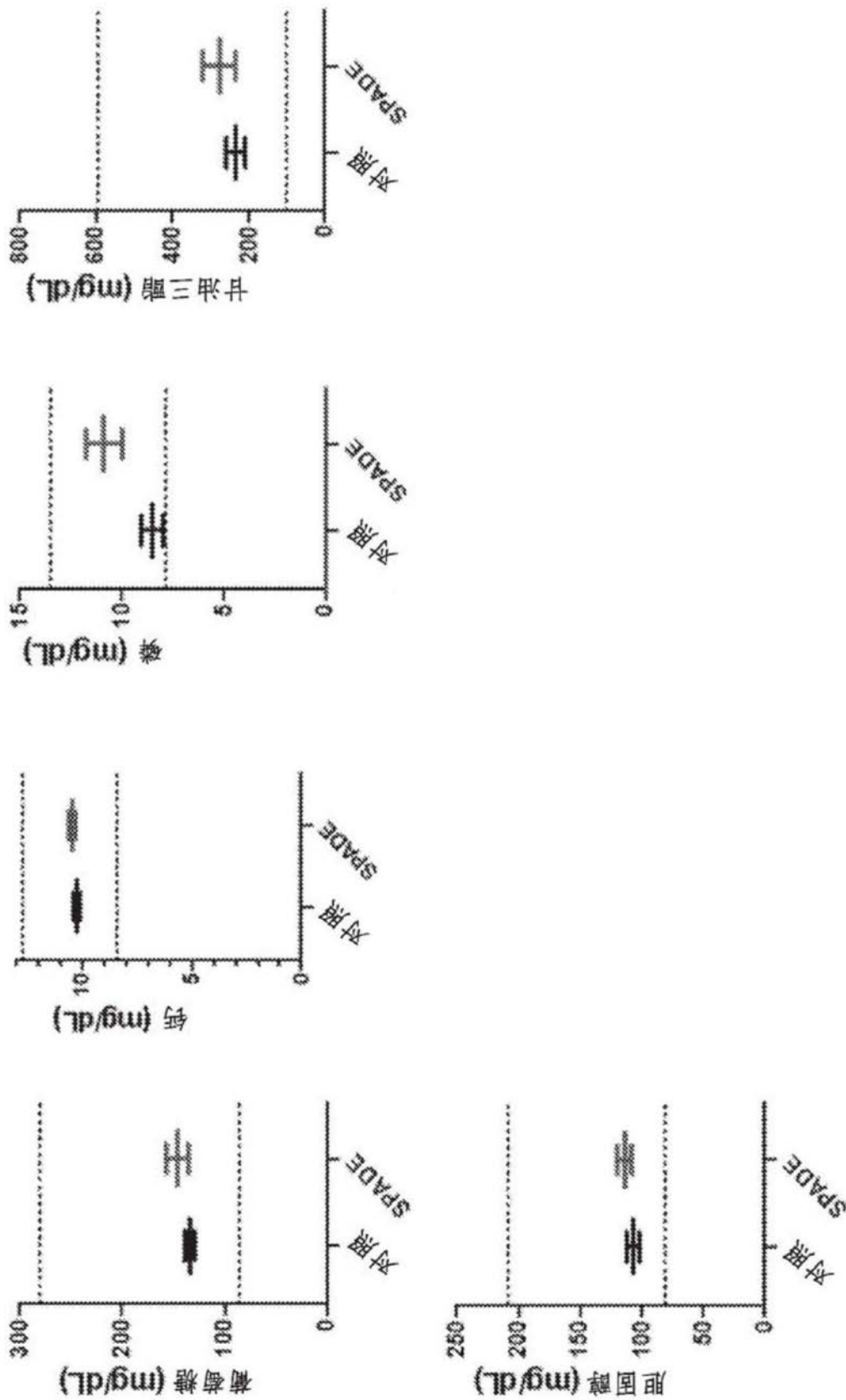


图20

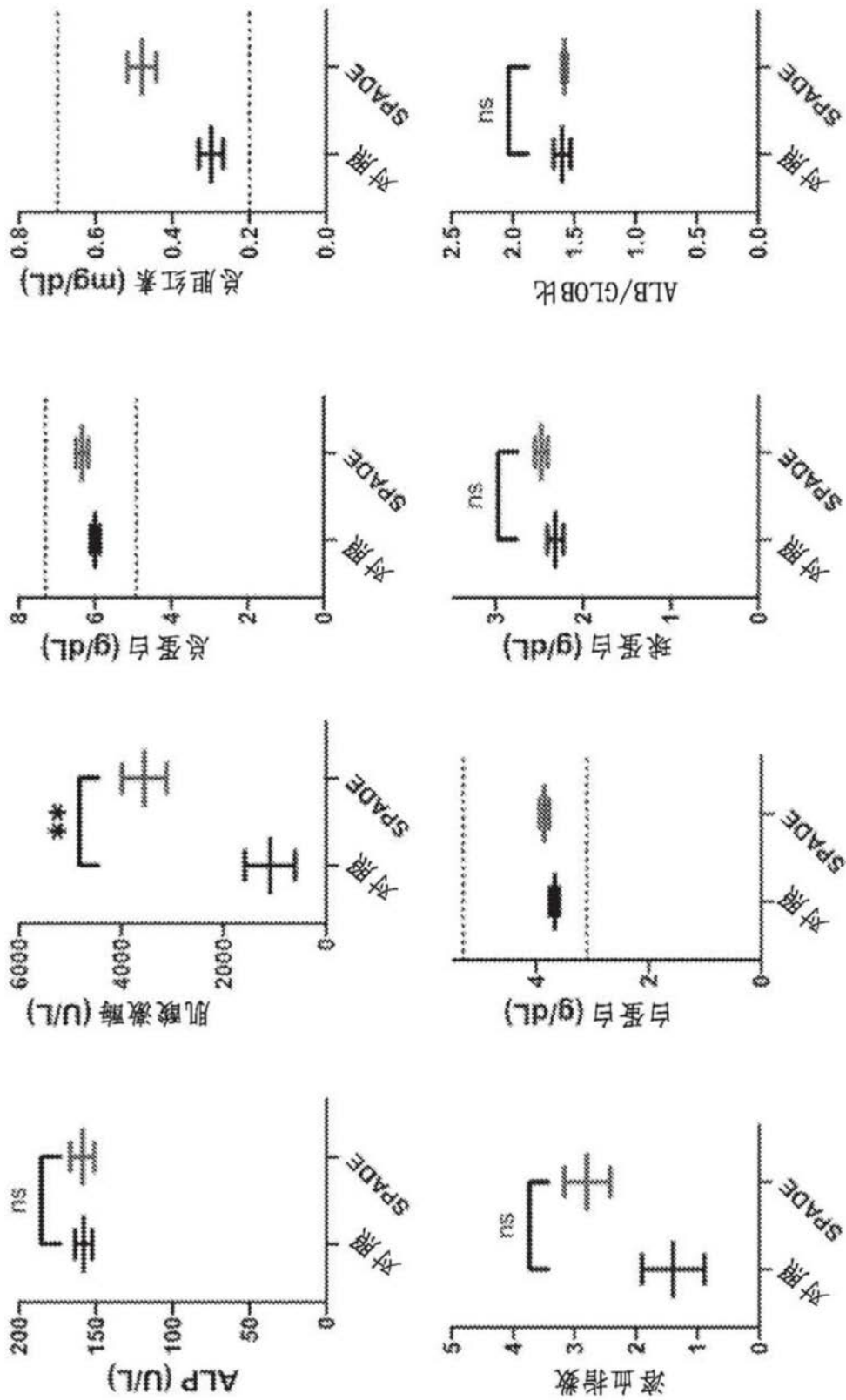


图21

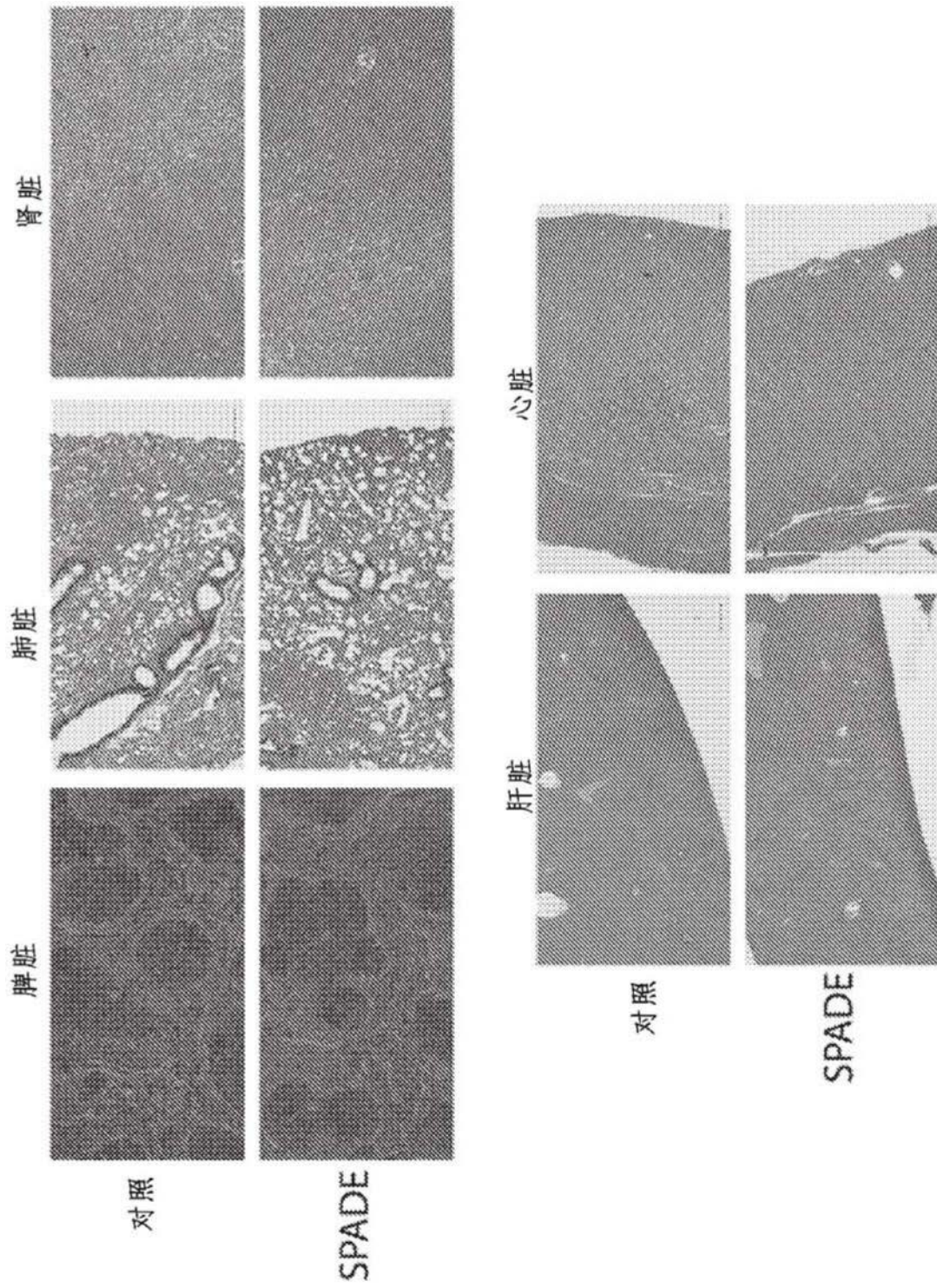


图22

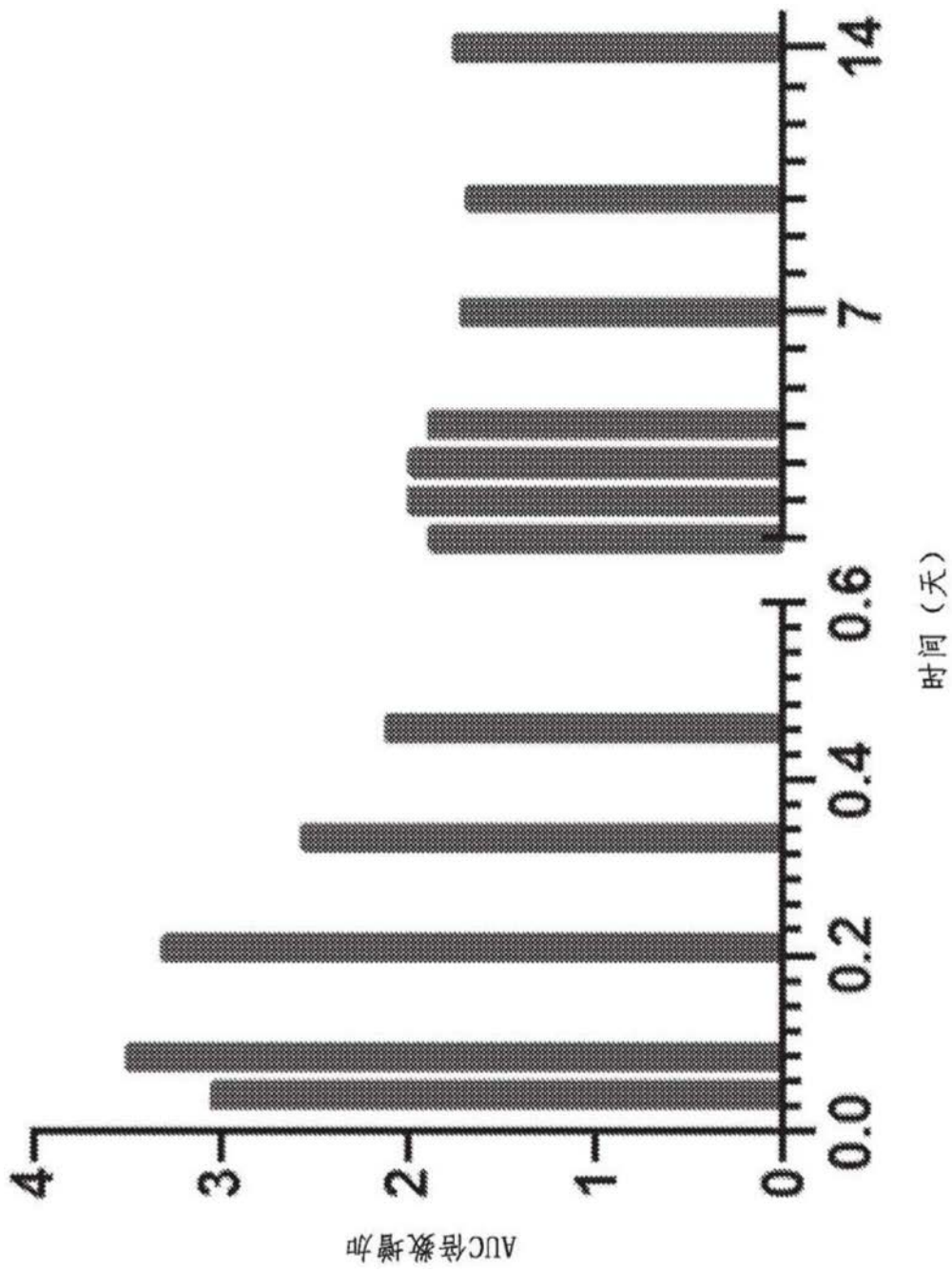


图23