



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117243904 A

(43) 申请公布日 2023.12.19

(21) 申请号 202311230166.8

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

(22) 申请日 2017.04.03

专利代理人 张朔 黄革生

(30) 优先权数据

16163178.3 2016.03.31 EP

(51) Int.Cl.

PCT/EP2017/057775 2017.03.31 EP

A61K 9/20 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

A61K 9/28 (2006.01)

201780020634.5 2017.04.03

A61K 9/52 (2006.01)

(71) 申请人 索里索制药公司

A61K 39/395 (2006.01)

地址 美国加利福尼亚州

A61P 1/00 (2006.01)

(72) 发明人 S·克罗 M·韦斯特 K·罗伯茨

T·卡尔顿 L·马焦雷

M·丘比特 G·惠尔 J·沃里奇

M·弗罗德舍姆

权利要求书5页 说明书31页

序列表(电子公布) 附图12页

(54) 发明名称

组合物

(57) 摘要

本发明提供了用于通过口服施用将药物活性结合多肽递送至肠道区域的固体药物组合物，其包含压制芯，其中所述压制芯包含药物活性结合多肽，且其中压制芯用pH敏感型肠溶包衣进行了包衣。

1. 用于通过口服施用将药物活性结合多肽递送至肠道区域的固体药物组合物，其包含压制芯，其中所述压制芯包含药物活性结合多肽，且其中所述压制芯用pH敏感型肠溶包衣进行了包衣。

2. 用于通过口服施用至肠道区域来治疗肠道疾病的固体药物组合物，其包含压制芯，其中所述压制芯包含药物活性结合多肽，且其中所述压制芯用pH敏感型肠溶包衣进行了包衣。

3. 用于通过口服施用至肠道区域来治疗肠道疾病的固体药物组合物，其包含压制芯，其中所述压制芯包含：

(i) 药物活性结合多肽，其中所述药物活性结合多肽以相对于芯重量而言40-75%重量存在，

(ii) 一种或多种压制助剂，

(iii) 一种或多种崩解剂，

且其中所述压制芯用pH敏感型肠溶包衣进行了包衣。

4. 用于通过口服施用至肠道区域来治疗肠道疾病的固体药物组合物，其包含压制芯，其中所述压制芯包含：

(i) 药物活性结合多肽，其中所述药物活性结合多肽以相对于芯重量而言40-75%重量存在，

(ii) 一种或多种压制助剂，其中所述一种或多种压制助剂以相对于芯重量而言20-55%重量存在，

(iii) 一种或多种崩解剂，其中所述一种或多种崩解剂以相对于芯重量而言2-6%重量存在，

且其中所述压制芯用pH敏感型肠溶包衣进行了包衣。

5. 用于通过口服施用将药物活性结合多肽递送至肠道区域的包含一个或多个小片的胶囊，其中所述小片包含压制芯，其中所述压制芯包含药物活性结合多肽，且其中所述压制芯用pH敏感型肠溶包衣进行了包衣。

6. 将药物活性结合多肽递送至肠道区域的方法，该方法包括口服施用包含压制芯的固体药物组合物，其中所述压制芯包含药物活性结合多肽，且其中压制芯用pH敏感型肠溶包衣进行了包衣。

7. 根据权利要求1至6中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其中所述pH敏感型肠溶包衣当暴露于肠道区域时释放药物活性结合多肽。

8. 根据权利要求1至7中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其中所述肠道区域是小肠和/或大肠的区域，例如选自十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结肠、直肠和肛管中至少一个的区域。

9. 根据权利要求1至8中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其在压制芯和pH敏感型肠溶包衣之间另外包含亚包衣。

10. 根据权利要求9的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其中所述亚包衣包含羟丙基甲基纤维素或由其组成。

11. 根据权利要求1、2或5至10中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其中所述压制芯包含至少一种赋形剂。

12. 根据权利要求11的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其中所述至少一种赋形剂选自如下的一种或多种：

- (i) 一种或多种压制助剂，
- (ii) 一种或多种崩解剂，
- (iii) 一种或多种润滑剂，
- (iv) 一种或多种助流剂，
- (v) 一种或多种稀释剂，和
- (vi) 一种或多种粘合剂。

13. 根据权利要求12的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其包含一种或多种压制助剂，其中所述一种或多种压制助剂选自合成聚合物如交聚维酮、糖如蔗糖、葡萄糖、乳糖和果糖、糖醇如甘露醇、木糖醇、麦芽糖醇、赤藓糖醇、山梨糖醇、水溶性多糖如纤维素如结晶纤维素、微晶纤维素、粉末纤维素、羟丙基纤维素和甲基纤维素、淀粉、合成聚合物如聚乙烯吡咯烷酮、淀粉羟乙酸钠、交聚维酮和无机化合物如碳酸钙。

14. 根据权利要求12或13的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其包含一种或多种压制助剂，其中所述一种或多种压制助剂以相对于芯重量而言20-55%重量、例如30-40%重量存在。

15. 根据权利要求12至14中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其包含一种或多种压制助剂，其中所述一种或多种压制助剂为颗粒内或颗粒外的。

16. 根据权利要求12至15中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其包含一种或多种崩解剂，其中所述一种或多种崩解剂选自羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、交联羧甲基纤维素钠、纤维素如低取代度羟丙基纤维素、淀粉如羧甲基淀粉钠、羟丙基淀粉、米淀粉、小麦淀粉、土豆淀粉、玉米淀粉、部分预胶化淀粉。

17. 根据权利要求12至16中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其包含一种或多种崩解剂，其中所述一种或多种崩解剂以相对于芯重量而言2-6%重量、例如约4%重量存在。

18. 根据权利要求12至17中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其包含一种或多种崩解剂，其中所述一种或多种崩解剂为颗粒内或颗粒外的。

19. 根据权利要求12至18中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其包含一种或多种润滑剂，其中所述一种或多种润滑剂选自甘油二十二烷酸酯；硬脂酸盐如硬脂酸钙、硬脂酸镁、硬脂酸锌；矿物油；聚乙二醇；月桂硫酸钠；硬脂酰醇富马酸钠；淀粉如玉米淀粉、土豆淀粉、预胶化淀粉、木薯淀粉、小麦淀粉；硬脂酸；滑石粉；植物油；和硬脂酸锌。

20. 根据权利要求12至19中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其包含一种或多种润滑剂，其中所述一种或多种润滑剂以相对于芯重量而言0.1-2%重量、例如约1%重量存在。

21. 根据权利要求12至20中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其包含一种或多种润滑剂，其中所述一种或多种润滑剂为颗粒外的。

22. 根据权利要求1、2或5至21中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其中所述药物活性结合多肽以相对于芯重量而言30-80%重量、例如40-75%重

量、例如约50%-60%重量存在。

23. 根据权利要求1、2或5至22中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其中所述压制芯包含以下组分、基本上由以下组分组成或者由以下组分组成：

20-55%的一种或多种压制助剂；

2-6%的一种或多种崩解剂；

0.1-2%的一种或多种润滑剂；和

40-75%的药物活性结合多肽；

均相对于芯重量而言以重量计。

24. 根据权利要求12至23中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其包含一种或多种助流剂，其中所述一种或多种助流剂选自硅酸钙、硅酸镁、胶态二氧化硅和滑石粉。

25. 根据权利要求12至24中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其包含一种或多种稀释剂，其中所述一种或多种稀释剂选自碳酸钙；二代磷酸钙；三代磷酸钙；硫酸钙；微晶纤维素；粉末纤维素；葡萄糖结合剂；糊精；葡萄糖赋形剂；果糖；白陶土；拉克替醇；无水乳糖；乳糖一水合物；麦芽糖醇；麦芽糖糊精；麦芽糖；甘露醇；山梨糖醇；淀粉如玉米淀粉、土豆淀粉、预胶化淀粉、木薯淀粉、小麦淀粉；和蔗糖。

26. 根据权利要求12至25中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其包含一种或多种粘合剂，其中所述一种或多种粘合剂选自阿拉伯胶；海藻酸；异丁烯酸铵共聚物；异丁烯酸铵共聚物分散体；卡波姆共聚物；卡波姆均聚物；卡波姆互聚物；羧甲基纤维素钠；微晶纤维素；共聚维酮；蔗糖；糊精；乙基纤维素；明胶；葡萄糖；瓜尔胶；低取代羟丙基纤维素；羟丙甲纤维素；醋酸羟丙甲纤维素琥珀酸酯；麦芽糖糊精；麦芽糖；甲基纤维素；聚环氧乙烷；聚维酮；淀粉如玉米淀粉、土豆淀粉、预胶化淀粉、木薯淀粉、小麦淀粉。

27. 根据权利要求1至26中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其中所述pH敏感型肠溶包衣具有10-300μm的厚度。

28. 根据权利要求1至27中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其中所述pH敏感型肠溶包衣包含pH敏感型肠溶聚合物包衣料以及任选的一种或多种增塑剂、抗粘剂和表面活性剂，或由其组成。

29. 根据权利要求28的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其中所述pH敏感型肠溶聚合物包衣料包含如下的一种或多种：丙烯酸甲酯-甲基丙烯酸共聚物、醋酸纤维素琥珀酸酯、羟丙基甲基纤维素酞酸酯、醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(醋酸羟丙甲纤维素琥珀酸酯)、聚醋酸乙烯酞酸酯(PVAP)、甲基丙烯酸甲酯-甲基丙烯酸共聚物、海藻酸钠和硬脂酸。

30. 根据权利要求29的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其中所述pH敏感型肠溶聚合物包衣料包含基于甲基丙烯酸和甲基丙烯酸甲酯的阴离子共聚物，或由其组成。

31. 根据权利要求30的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法，其中所述pH敏感型肠溶聚合物包衣料包含(甲基丙烯酸-共-甲基丙烯酸甲酯)1:1共聚物或(甲基丙烯酸-共-丙烯酸乙酯)1:1共聚物，或由其组成。

32. 根据权利要求28至31中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或

方法,其中所述pH敏感型肠溶聚合物包衣料相对于pH敏感型肠溶包衣而言以40-70%重量存在。

33.根据权利要求28至32中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法,其中所述pH敏感型肠溶聚合物包衣料直到2小时或更长时间地暴露于0.5至3.5的pH后才溶解。

34.根据权利要求28至33中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法,其中所述pH敏感型肠溶包衣包含增塑剂,其中所述增塑剂是柠檬酸三乙酯,抗粘剂是滑石粉,和/或表面活性剂是月桂硫酸钠。

35.根据权利要求28至34中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物或方法,其中所述增塑剂相对于pH敏感型肠溶包衣而言以5-20%重量存在和/或抗粘剂相对于pH敏感型肠溶包衣而言以20-40%重量存在和/或表面活性剂相对于pH敏感型肠溶包衣而言以0.05-0.5%重量存在。

36.根据权利要求1至35中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法,其中所述药物活性结合多肽的分子量为5-200kD。

37.根据权利要求1至36中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物或方法,其中所述药物活性结合多肽具有大于10mg/mL、例如大于30mg/mL的水溶解度。

38.根据权利要求1至37中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法,其中所述药物活性结合多肽的剂量为100-500mg,每天三次。

39.根据权利要求1至4或6至38中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物或方法,其中所述组合物以小片形式呈现。

40.根据权利要求1至4或6至39中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物或方法,其中所述组合物包含在胶囊中。

41.根据权利要求1至40中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法,其中所述组合物包含通过一个或多个连接基连接的两种或更多种药物活性结合多肽。

42.根据权利要求41的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法,其中所述一个或多个连接基对一种或多种蛋白酶而言是不稳定的。

43.根据权利要求41的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法,其中所述连接基对一种或多种蛋白酶是非不稳定的。

44.根据权利要求1至43中任一项的药物组合物、胶囊或方法,其中所述药物活性结合多肽是免疫球蛋白、优选结构域抗体。

45.根据权利要求44的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法,其中所述药物活性结合多肽是ICVD,例如VH或VHH。

46.根据权利要求1至45中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法,其中所述药物活性结合多肽用于局部治疗作用。

47.根据权利要求1至46中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法,其中所述药物组合物当在药典肠溶包衣试验中测定时在2小时后释放小于10%重量的药物活性结合多肽。

48.根据权利要求47的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法,其中所

述pH敏感型肠溶包衣在至少6小时后是完整的。

49. 根据权利要求1至48中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法,其中所述药物组合物当在药典溶出试验中测定时:

- (i) 在30分钟后释放10-40%重量的药物活性结合多肽,
- (ii) 在60分钟后释放30-60%重量的药物活性结合多肽,和
- (iii) 在120分钟后释放60%重量或更高的药物活性结合多肽。

50. 根据权利要求1至49中任一项的药物组合物、用于所述用途的药物组合物、胶囊或方法,其中当在动态溶出试验中测定时:

药物组合物的释放起始发生在90至210分钟之间,

药物组合物:

- (i) 在释放起始的60分钟后释放10-30%重量的药物活性结合多肽,
- (ii) 在释放起始的120分钟后释放40-70%重量的药物活性结合多肽,和(iii) 在释放起始的180分钟后释放60%重量或更高的药物活性结合多肽。

51. 用于通过口服施用至肠道区域来治疗肠道疾病的固体药物组合物,其包含压制芯,其中所述压制芯包含药物活性结合多肽,且其中所述压制芯用pH敏感型肠溶包衣进行了包衣;

其中所述药物活性结合多肽用于局部治疗作用;

其中所述药物活性结合多肽是ICVD;

其中所述药物组合物当在药典肠溶包衣试验中测定时在2小时后释放小于10%重量的药物活性结合多肽;

其中所述药物组合物当在药典溶出试验中测定时:

- (i) 在30分钟后释放10-40%重量的药物活性结合多肽,
- (ii) 在60分钟后释放30-60%重量的药物活性结合多肽,和
- (iii) 在120分钟后释放60%重量或更高的药物活性结合多肽。

52. 制备权利要求1至51中任一项的药物组合物的方法,该方法包括压制药物活性结合多肽形成压制芯,然后将所述芯用pH敏感型肠溶包衣进行包衣。

53. 权利要求52的方法,其中将药物活性结合多肽(例如免疫球蛋白链可变结构域)与一种或多种赋形剂混合并制粒形成颗粒,然后任选地将颗粒与一种或多种赋形剂混合,然后压制颗粒形成压制芯,随后将所述芯用pH敏感型肠溶包衣进行包衣。

54. 权利要求53的方法,其中制粒步骤的赋形剂选自一种或多种压制助剂(例如甘露醇)和一种或多种润滑剂(例如硬脂酸镁)。

55. 权利要求53或54的方法,其中在制粒后和在压制形成压制芯之前将颗粒与一种或多种赋形剂混合,所述赋形剂选自一种或多种压制助剂(例如微晶纤维素)、一种或多种崩解剂(例如交联羧甲基纤维素钠)和一种或多种润滑剂(例如硬脂酸镁)。

56. 可通过权利要求52至55中任一项的方法获得的药物组合物。

57. 用于固体药物组合物的压制芯,其中所述组合物用于通过口服施用将药物活性结合多肽递送至肠道区域,且其中所述压制芯包含用于局部治疗作用的药物活性结合多肽。

组合物

[0001] 本申请是申请日为2017年4月3日、优先权日为2016年3月31日、发明名称为“组合物”的中国专利申请201780020634.5的分案申请。

发明领域

[0002] 本发明涉及用于通过口服施用将药物活性结合多肽递送至肠道区域的目的固体药物组合物。这些组合物得益于有利的释放特性，并可用于治疗肠道疾病。本发明还涉及通过口服施用将药物活性结合多肽递送至肠道区域的方法。

[0003] 发明背景

[0004] 疾病如炎性肠病表现在肠道的各个区域，例如小肠区域。存在当全身施用时有效治疗炎性肠病的药物活性结合多肽。例如，抗TNF- α 抗体已经证明在治疗炎性肠病中有效。然而，因为这些抗体通常通过注射（即静脉内、皮下或肌内）递送并全身中和TNF- α ，所以它们的使用可能伴有严重的副作用，包括结核病的复发和恶性的长期风险。而且，胃肠外施用途径和所需的大剂量使得这些抗体疗法昂贵和对患者而言难以获得。

[0005] 口服施用这些多肽用于在肠道靶区域中局部作用是优选的，这是因为例如成本降低和该剂型方便。另外，口服施用与胃肠外施用形式相比可以提供降低的免疫原性，并且可以减少或消除不必要的多肽全身暴露。

[0006] 为了实现该目标，必须达到合适的释放特性。即，多肽的活性在通过上肠道、包括胃和适宜地包括十二指肠后必须被保持，并且必须将预期剂量的活性多肽递送到肠道的预期位置。

[0007] 在至少一些实施方案中，本发明的药物组合物与现有技术的那些相比可具有一个或多个以下优点：

[0008] (i) 持续释放特性，

[0009] (ii) 延迟释放特性，

[0010] (iii) 靶向释放到肠道的一个或多个区域，

[0011] (iv) 基本恒定释放至从十二指肠到肛管的所有肠道区域（即避免‘剂量倾泻（dose dumping）’），

[0012] (v) 与胃肠外施用相比对所递送多肽的宿主免疫应答降低，

[0013] (vi) 药物活性剂的全身暴露减少，

[0014] (vii) 治疗效果所需的剂量减少，

[0015] (viii) 生产成本降低，

[0016] (ix) 维持或改善多肽的热稳定性。

现有技术

[0017] WO2014/030049 (D1) 公开了包含单可变结构域和卡莫司他甲磺酸盐的组合物，所述卡莫司他甲磺酸盐作为稳定单可变结构域的手段，特别是在富含蛋白酶的环境如胃和肠中。D1举例说明了液体组合物，其被直接注射到小鼠的胃肠道中。

[0018] US2010/260857 (D2) 公开了包衣的消化酶制剂。D2举例说明了包涂有脂质并包装在小药囊或胶囊中的自由流动的消化酶颗粒。

[0019] WO2008/122965 (D3) 公开了溶解的液体形式的环孢菌素组合物。

[0020] US2006/057197 (D4) 公开了用于非多肽小分子的药物剂型。D4中的所有例证涉及巴氯芬的递送和随后的血浆性质监测。

[0021] Hussan等人, 2012 IOSR Journal of Pharmacy 2 (6) :5-11 (D5) 是肠溶包衣的最新进展的综述。

[0022] Harmsen等人, 2006 Applied Microbiology and Biotechnology 72 (3) :544-551 (D6) 公开了用于口服免疫疗法的蛋白水解稳定的美洲驼单结构域抗体片段的选择和优化。D6未提供固体剂型的信息。

[0023] Hussack等人, 2011 PLOS ONE 6 (11) :e28218 (D7) 公开了具有高蛋白酶抗性和热稳定性的工程化单结构域抗体。D7未提供固体剂型的信息。

[0024] 以上均未公开包含能够持续肠内递送药物活性结合多肽的压制芯的固体组合物。

[0025] 发明概述

[0026] 本发明人已经制备了出人意料地有利的固体药物制剂,其适于通过口服施用将药物活性结合多肽递送至肠道区域。这些药物制剂由于它们的延迟和/或持续释放特性而是特别有利的。可以预期:这些药物制剂在预防或治疗肠道疾病如自身免疫和/或炎性疾病如炎性肠病中或在预防或治疗肠道驻留致病性微生物的感染中具有特定用途。

[0027] 本发明提供了用于通过口服施用将药物活性结合多肽递送至肠道区域的固体药物组合物,其包含压制芯,其中所述压制芯包含药物活性结合多肽,且其中所述压制芯用pH敏感型肠溶包衣进行了包衣。

[0028] 还提供了用于通过口服施用至肠道区域来治疗肠道疾病的固体药物组合物,其包含压制芯,其中所述压制芯包含药物活性结合多肽,且其中所述压制芯用pH敏感型肠溶包衣进行了包衣。

[0029] 还提供了将药物活性结合多肽递送至肠道区域的方法,该方法包括口服施用包含压制芯的固体药物组合物,其中所述压制芯包含药物活性结合多肽,且其中所述压制芯用pH敏感型肠溶包衣进行了包衣。

[0030] 还提供了用于固体药物组合物的压制芯,其中所述组合物用于通过口服施用将药物活性结合多肽递送至肠道区域,且其中所述压制芯包含用于局部治疗作用的药物活性结合多肽。

附图说明

[0031] 图1-在药典溶出试验中药物活性结合多肽的%溶出(个体数据点)

[0032] 图2-在药典溶出试验中药物活性结合多肽的%溶出(数据点平均值)

[0033] 图3-在动态溶出试验中所用的禁食条件的模拟胃和肠pH值曲线

[0034] 图4-在动态溶出度试验中药物活性结合多肽的%溶出(A批次)

[0035] 图5-在动态溶出度试验中药物活性结合多肽的%溶出(B批次)

[0036] 图6-证明赋形剂对药物活性结合多肽的Tm的影响的热迁移分析

[0037] 图7-在食蟹猴胃肠道部分中的计算的管腔[抗-TNF ICVD]

- [0038] 图8-来自食蟹猴胃肠道的抗-TNF ICVD的总%回收
[0039] 图9-Humira竞争ELISA OD450数据
[0040] 图10-在汇集的食蟹猴粪便中的抗-TNF ICVD浓度
[0041] 图11-从汇集的食蟹猴粪便回收的计算抗-TNF ICVD
[0042] 图12-比较喷雾干燥和冷冻干燥原料的动态溶出试验
[0043] 序列描述
[0044] SEQ ID NO:1-Q62E10的多肽序列
[0045] SEQ ID NO:2-Q65F2的多肽序列
[0046] SEQ ID NO:3-Q65F3的多肽序列
[0047] SEQ ID NO:4-Q62F2的多肽序列
[0048] SEQ ID NO:5-Q65G1的多肽序列
[0049] SEQ ID NO:6-Q65H6的多肽序列
[0050] SEQ ID NO:7-Q65F1的多肽序列
[0051] SEQ ID NO:8-Q65D1的多肽序列
[0052] SEQ ID NO:9-Q65C7的多肽序列
[0053] SEQ ID NO:10-Q65D3的多肽序列
[0054] SEQ ID NO:11-Q65B1的多肽序列
[0055] SEQ ID NO:12-Q65F6的多肽序列
[0056] SEQ ID NO:13-Q65F11的多肽序列
[0057] SEQ ID NO:14-Q65E12的多肽序列
[0058] SEQ ID NO:15-Q65C12的多肽序列
[0059] SEQ ID NO:16-Q65A6的多肽序列
[0060] SEQ ID NO:17-Q65A3的多肽序列
[0061] SEQ ID NO:18-Q62F10的多肽序列
[0062] SEQ ID NO:19-ID7F-EV的多肽序列
[0063] SEQ ID NO:20-ID8F-EV的多肽序列
[0064] SEQ ID NO:21-ID9F-EV的多肽序列
[0065] SEQ ID NO:22-ID13F-EV的多肽序列
[0066] SEQ ID NO:23-ID14F-EV的多肽序列
[0067] SEQ ID NO:24-ID15F-EV的多肽序列
[0068] SEQ ID NO:25-Q62E10-DVQLV的多肽序列
[0069] SEQ ID NO:26-ID34F的多肽序列
[0070] SEQ ID NO:27-ID37F的多肽序列
[0071] SEQ ID NO:28-ID38F的多肽序列
[0072] 发明详述
[0073] 释放特性
[0074] 包含药物活性结合多肽的组合物的释放特性是随时间推移从组合物释放的药物活性结合多肽的量，因此自由结合其靶标。本申请涉及从胃到直肠的肠道中固体药物组合物的释放特性。释放特性可以指在从胃到直肠的输送期间在体内完成的释放特性，或者指

在从胃到直肠的体外输送模型中完成的释放特性。释放特性可以通过采用适宜的溶出装置、例如如下文所述的溶出装置的溶出试验在体外进行测试。更适宜地，本申请涉及固体药物组合物在从十二指肠到直肠、更适宜地从空肠到直肠的肠道中的释放特性。

[0075] 欧洲医药管理局的“释放改变的口服产品的质量指南”在“3.2. 设定规范”一节中规定：在抗胃酸产品的体外溶出的规范中应当包括至少两个点：排除在酸性介质中的释放（2小时后溶解少于10%）的早期点和确保大部分活性物质已经在（接近）中性介质中释放的点。

[0076] “延迟释放”指包含药物活性结合多肽的组合物(a)保护药物活性结合多肽免于外部环境(例如酸性pH)和(b)直到组合物到达预期肠道区域才释放药物活性结合多肽至外部环境的能力。通过pH敏感型肠溶包衣实现了延迟释放。pH敏感型肠溶包衣保持完整性的时间越长，延迟释放的时间就越长。可以调整pH敏感型肠溶包衣的性质，以便释放可以额外被延迟(例如确保药物活性结合多肽直到组合物已经通过十二指肠并进入空肠中才释放)。或者，可以调整pH敏感型肠溶包衣的性质，以便释放可以提前(例如确保药物活性结合多肽仅在离开胃但仍然在十二指肠内时释放)。

[0077] “持续释放”指包含药物活性结合多肽的组合物在通过肠道的一个或多个预期区域的输送期间以期望的、理想地基本恒定的速率将药物活性结合多肽释放到外部环境中的能力。

[0078] 适宜地，本发明的组合物将实现延迟释放和持续释放。

[0079] 存在官方的延迟和持续释放体外试验，它们在药典中有全面定义。片剂溶出是用于测量药物从剂型中释放速率的标准化方法。体外溶出试验可用于预测体内药物溶出。下文详述了适宜的体外溶出试验。

[0080] 延迟释放：肠溶包衣释放特性

[0081] 延迟释放的测量：药典肠溶包衣试验

[0082] 适宜的和广泛使用的肠溶包衣试验标准方法是欧洲药典8.0“2.9.3固体剂型溶出试验”(与美国药典和日本药典的相应文本相一致)提供的方法，其在本文中称为“药典肠溶包衣试验”。该肠溶包衣试验如下进行。

[0083] 1. 将待测组合物加入到USP2装置中的900mL 0.1M HC1中(如果存在于胶囊中，则具有带式(band)沉降器)。

[0084] 2. 将组合物和酸以100rpm搅拌2小时。

[0085] 在2小时对溶出介质取样并分析。适宜地，药物组合物在2小时后释放少于10%重量的药物活性结合多肽。更适宜地，药物组合物在2小时后释放少于5%重量的药物活性结合多肽。更适宜地，药物组合物在2小时后释放少于1%重量的药物活性结合多肽。更适宜地，药物组合物在2小时后没有释放药物活性结合多肽。

[0086] 在2小时后释放少于10%重量的药物活性结合多肽表明肠溶包衣在递送至预期肠道区域之前为多肽提供了足够的保护。具有该释放特性的组合物实现了延迟释放。

[0087] 如果需要，可以修改药典肠溶包衣试验以继续运行超过2小时。这将允许分析pH敏感型肠溶包衣保持完整性的最大时间。当使用少量组合物时，可以通过减少所用HC1体积来提高试验的准确性。

[0088] 当组合物基于目视检查没有显示出崩解或允许内容物逸出的裂缝的迹象时，pH敏

感型肠溶包衣被称为是“完整”的(如欧洲药典8.0 2.9.3中所概述)。或者,当在组合物存在的溶出介质中可以检测到1%或更少、更适宜地0.5%或更少或者更适宜地未检测到药物活性结合多肽时,pH敏感型肠溶包衣可以被称为是“完整”的。适宜地,pH敏感型肠溶包衣在药典肠溶包衣试验期间保持完整至少2小时、更适宜地至少3小时、更适宜地至少4小时、更适宜地至少5小时、更适宜地至少6小时。

[0089] 持续释放:芯释放特性

[0090] 在组合物已经经历采用上文详述的药典肠溶包衣试验进行的延迟释放特性试验后,立即适宜地进行持续释放特性试验。如果确实如此,则组合物应当在延迟释放试验完成后从0.1M HC1中筛出并用新鲜0.1M HC1洗涤,最后将组合物转移到下述持续释放试验中描述的溶出介质(磷酸盐缓冲液)中。

[0091] 持续释放的测量:药典溶出试验

[0092] 适宜的和广泛使用的溶出试验标准方法是欧洲药典8.0“2.9.3固体剂型溶出试验”(与美国药典和日本药典的相应文本相一致)提供的方法。该溶出试验在本文中称为“药典溶出试验”。该溶出试验如下进行。

[0093] 1. 将待测组合物加入到USP2装置中的900mL 0.05M pH 7.4磷酸盐缓冲液中(如果存在于胶囊中,则具有带式沉降器)。

[0094] 2. 将组合物和缓冲液以100rpm搅拌2小时。

[0095] 3. 然后将组合物和缓冲液以200rpm搅拌30分钟。

[0096] 可以在5、10、15、30、45、60、90和120分钟(在100rpm搅拌期间)和150分钟(在200rpm搅拌期间)处对溶出介质进行取样和分析。

[0097] 适宜地,当在药典溶出试验中测定时,本发明的药物组合物:

[0098] (i) 在30分钟后释放10-40%重量的药物活性结合多肽,

[0099] (ii) 在60分钟后释放30-60%重量的药物活性结合多肽,和

[0100] (iii) 在120分钟后释放60%重量或更高的药物活性结合多肽。

[0101] 图2说明了实施例1的组合物在药典溶出试验中获得的%溶出特性。上述溶出范围在图2中用箭头表示。

[0102] 更适宜地,当在药典溶出试验中测定时,本发明的药物组合物:

[0103] (i) 在30分钟后释放10-25%重量的药物活性结合多肽,

[0104] (ii) 在60分钟后释放30-50%重量的药物活性结合多肽,和

[0105] (iii) 在120分钟后释放60%重量或更高的药物活性结合多肽。

[0106] 更适宜地,当在药典溶出试验中测定时,本发明的药物组合物:

[0107] (i) 在30分钟后释放13-20%重量的药物活性结合多肽,

[0108] (ii) 在60分钟后释放35-45%重量的药物活性结合多肽,和

[0109] (iii) 在120分钟后释放65%重量或更高的药物活性结合多肽。

[0110] 延迟和持续释放:联合肠溶包衣和芯释放特性

[0111] 动态溶出试验

[0112] 或者或除上述药典试验之外,一种联合测试肠溶包衣和芯释放特性的适宜方法在本文中称为“动态溶出试验”。

[0113] 图3说明了在动态溶出试验中使用的禁食条件的模拟pH曲线。关于该试验的进一

步信息可以主要在Garbacz等人,2014以及Fadda等人,2009、Merchant等人,2014和Goyanes等人,2015中获得。该试验如下进行。

[0114] 1. 将待测组合物加入USP2装置中的900mL 0.1M HCl中。

[0115] 2. 将组合物和酸以50rpm搅拌2小时。

[0116] 在0.1M HCl中的这2小时时期由图3虚线前的区域表示。

[0117] 在2小时对溶出介质取样并分析。适宜地,药物组合物在2小时后释放小于10%重量的药物活性结合多肽。更适宜地,药物组合物在2小时后释放小于5%重量的药物活性结合多肽。更适宜地,药物组合物在2小时后释放小于1%重量的药物活性结合多肽。更适宜地,药物组合物在2小时后没有释放药物活性结合多肽。

[0118] 在2小时后释放小于10%重量的药物活性结合多肽表明肠溶包衣在递送至预期肠道区域之前为多肽提供了足够的保护。具有该释放特性的组合物实现了延迟释放。

[0119] 该试验的下一阶段确定组合物在输送通过沿着胃肠道存在的不同pH特性的期间的溶出。图3(虚线后面的曲线)说明了所用的禁食条件的模拟pH特性。试验的该阶段如下进行。

[0120] 1. 将待测组合物转移到USP2装置中的900mL pH 5.79Hanks碳酸氢盐缓冲液(下表1中的细节)中(转移到Hanks缓冲液的时刻在图3中用虚线表示)。

[0121] 2. 将组合物和缓冲液以50rpm搅拌16小时,在此期间溶出介质的pH根据图3变化。溶出介质pH的变化可通过暴露于二氧化碳气体(降低pH)或氮气(提高pH)而变化。pH曲线模拟了禁食期间小肠通道的中值pH特性以及结肠运输的模型pH特性。

[0122] 3. 然后将组合物和缓冲液以200rpm搅拌2小时。

[0123] 表1

[0124]	对1L而言的量(g)	化合物	CAS编号
0.06	磷酸二氢钾	7778-77-0	
8.00	氯化钠	7647-14-5	
0.03	磷酸二氢钠二水合物	13472-35-0	
0.04	氯化钙	10035-04-8	
0.40	氯化钾	7447-40-7	
0.20	硫酸镁	10034-99-8	
0.35	碳酸氢钠	144-55-8	

[0125] 在试验期间可以每10分钟取样,用于分析所释放的药物活性结合多肽的量。

[0126] 适宜地,药物活性结合多肽的释放起始发生在从组合物加入Hanks缓冲液的90至210分钟之间。如本文所用的“释放起始”指在添加至Hanks缓冲液后在动态溶出试验中的第一个从芯中释放出大于1%的药物活性结合多肽的点。

[0127] 适宜地,当在动态溶出试验中测定时,药物组合物:

[0128] (i) 在释放起始的60分钟后,释放10-30%重量的药物活性结合多肽,

[0129] (ii) 在释放起始的120分钟后,释放40-70%重量的药物活性结合多肽,和

[0130] (iii) 在释放起始的180分钟后,释放60%重量或更高的药物活性结合多肽。

[0131] 适宜地,当在动态溶出试验中测定时,药物组合物:

[0132] (i) 在释放起始的60分钟后,释放10-30%重量的药物活性结合多肽,

- [0133] (ii) 在释放起始的120分钟后,释放40-60%重量的药物活性结合多肽,
- [0134] (iii) 在释放起始的180分钟后,释放60%重量或更多的药物活性结合多肽。
- [0135] 更适宜地,当在动态溶出试验中测定时,药物组合物:
- [0136] (i) 在释放起始的60分钟后,释放12-25%重量的药物活性结合多肽,
- [0137] (ii) 在释放起始的120分钟后,释放45-58%重量的药物活性结合多肽,
- [0138] (iii) 在释放起始的180分钟后,释放65%重量或更高的药物活性结合多肽。
- [0139] 有时,在添加到Hanks缓冲液中时可以立即发生多肽的小的过早释放,然后在不久之后发生实质释放。因此,“实质释放起始”可定义为已经释放大于1%的药物活性结合多肽并且其中在此后10、20和30分钟的每个时间点药物活性结合多肽释放量逐渐增加的点。
- [0140] 适宜地,当在动态溶出试验中测定时,药物组合物:
- [0141] (i) 在实质释放起始的60分钟后,释放10-30%重量的药物活性结合多肽,
- [0142] (ii) 在实质释放起始的120分钟后,释放40-70%重量的药物活性结合多肽,
- [0143] (iii) 在实质释放起始的180分钟后,释放60%重量或更高的药物活性结合多肽。
- [0144] 药物活性结合多肽的释放量(%溶出)的测量
- [0145] 在上述试验中药物活性结合多肽的%溶出的测量可以例如通过溶出介质的UV或HPLC分析来进行。适宜地,在上述试验中,药物活性结合多肽的%溶出的测量通过溶出介质的UV分析来进行。适当地,使用10mm的UV光程长度和279nm的光谱仪波长。测定含有已知量多肽的标准溶液的吸光度以产生标准曲线,然后从其确定所释放的药物活性结合多肽的百分比(%)。或者,可以假定该曲线是线性的并且可以进行标准品的单点测定。
- [0146] 不受理论束缚,据信药物组合物与水性环境接触引起的胶凝现象有助于掺入到本发明的组合物中的药物活性结合多肽的持续释放特性,从而多肽以与高水溶性化合物所预期的速率相比更慢和更恒定的速率被释放至溶出介质或体内环境中。
- [0147] 肠道输送时间
- [0148] 在禁食状态下通过小肠的每个区域的近似人肠道输送时间(小时)如下:
- [0149] 通过十二指肠 0.3
- [0150] 通过空肠 1.7
- [0151] 通过回肠 1.3
- [0152] 在进食状态下的输送时间与上述相似。鉴于这些输送时间,可以预期,配制进入较高pH缓冲液体外环境大约18分钟后开始释放多肽的具有pH敏感型肠溶包衣的组合物首先在空肠中体内释放多肽。类似地,可以预期,配制进入较高pH缓冲液体外环境大约120分钟后开始释放多肽的具有pH敏感型肠溶包衣的组合物首先在回肠中体内释放多肽。释放将继续,然后平稳,同时组合物通过肠道的剩余较下区域。
- [0153] 片剂组分
- [0154] 药物活性结合多肽
- [0155] 多肽是由在链中键合在一起的许多氨基酸残基组成的有机聚合物。如本文所用的‘多肽’与‘蛋白质’和‘肽’互换使用。当多肽含有形成抗原结合位点的一串或多串氨基酸残基时被称为结合多肽,其能够以亲和力(适宜地表示为Kd值、Ka值、kon-速率和/或koff-速率,如本文进一步所述)结合靶抗原上的表位。“结合多肽”和“抗原结合多肽”在本文中作为同义词使用。如果结合多肽在施用于对象时能够发挥有益的药理学作用,则结合多肽是具

有药物活性的。适宜地，多肽是药物活性结合多肽，从而多肽结合、更适宜地拮抗或中和生物靶标(通常是蛋白质，如受体、离子通道、酶、结构蛋白或细胞因子)。在一些实施方案中，药物活性结合多肽可以激动(agonise)生物靶标(例如受体)。药物活性结合多肽可以包括诸如抗体(下文进一步描述)、经修饰以包含另外结合区的抗体、抗体模拟物和抗原结合抗体片段(下文进一步描述)的多肽。其它药物活性结合多肽可以包括DARPins(Binz等人, *Journal of Molecular Biology* 332(2):489-503)、AffimersTM、FynomersTM、Centyrins、Nanofitins®和环肽。

[0156] 常规抗体或免疫球蛋白(Ig)是包含四条多肽链的蛋白质：两条重(H)链和两条轻(L)链。每条链分为恒定区和可变结构域。重链可变结构域在本文中缩写为VHC，轻(L)链可变结构域在本文中缩写为VLC。这些结构域、与其相关的结构域和由其衍生的结构域在本文中称为免疫球蛋白链可变结构域(“ICVD”)。VHC和VLC结构域可以进一步细分为称为“互补决定区”(“CDR”)高可变区，散布有称为“框架区”(“FRs”)的更保守的区。框架区和互补决定区已经被精确地定义(Kabat等人, 1991, 其整体引入本文作为参考)。在常规抗体中，每个VHC和VLC由三个CDR和四个FR组成，从氨基末端到羧基末端按照以下顺序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。两条重免疫球蛋白链和两条轻免疫球蛋白链的常规抗体四聚体用通过例如二硫键相互连接的重和轻免疫球蛋白链和类似连接的重链形成。重链恒定区包括三个结构域：CH1、CH2和CH3。轻链恒定区由一个结构域CL组成。重链的可变结构域和轻链的可变结构域是与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区通常介导抗体与宿主组织或因子的结合，包括免疫系统的各种细胞(例如效应细胞)和经典补体系统的第一组分(C1q)。术语抗体包括IgA、IgG、IgE、IgD、IgM类型(及其亚型)的免疫球蛋白，其中免疫球蛋白的轻链可以是κ或λ型。由两条相同重(H)链和两条相同轻(L)链多肽组装的免疫球蛋白-γ(IgG)抗体的总体结构在哺乳动物中已经良好建立并高度保守(Padlan 1994)。

[0157] 在骆驼科(Camelidae)的血清中发现了常规抗体结构的例外。除了常规抗体外，这些血清还具有特异性IgG抗体。这些已知为重链抗体(HCAbs)的IgG抗体没有L链多肽和缺乏第一恒定结构域(CH1)。同源二聚蛋白质的H链在其N-末端区含有专用的免疫球蛋白链可变结构域，称为VHH，其用于与其同源抗原结合(Muyldermans 2013, Hamers-Casterman等人, 1993, Muyldermans等人, 1994, 整体引入本文作为参考)。

[0158] 如本文所用的抗原结合抗体片段(或“抗体片段”、“免疫球蛋白片段”或“抗原结合片段”)指抗体的一部分，其特异性结合靶标(例如，其中一条或多条免疫球蛋白链不是全长的、但是与靶标特异性结合的分子)。术语抗原结合抗体片段所涵盖的片段的实例包括：

- [0159] (i) Fab片段(由VLC、VHC、CL和CH1结构域组成的单价片段)；
- [0160] (ii) F(ab')2片段(包含在铰链区通过二硫桥连接的两个Fab片段的二价片段)；
(iii) Fd片段(由VHC和CH1结构域组成)；
- [0161] (iv) Fv片段(由抗体单臂的VLC和VHC结构域组成)；
- [0162] (v) scFv片段(由采用重组方法通过合成连接基连接的VLC和VHC结构域组成，所述合成连接基能够使它们作为单蛋白质链制备，其中VLC和VHC区配对形成单价分子)；
- [0163] (vi) VH(由VHC结构域组成的免疫球蛋白链可变结构域(Ward等人, 1989))；(vii) VL(由VLC结构域组成的免疫球蛋白链可变结构域)；
- [0164] (viii) V-NAR(由来自软骨鱼纲(chondrichthyes) IgNAR的VHC结构域组成的免疫

球蛋白链可变结构域(Roux等人,1998和Griffiths等人,2013,整体引入本文作为参考))

[0165] (ix) VHH。

[0166] 药物活性结合多肽中氨基酸残基的总数可以为50-3000,更适宜地为100-1500,更适宜地为100-1000,更适宜地为100-500,更适宜地为100-200。VHH或VH中氨基酸残基的总数可以为110-140的范围,适宜地为112-130,更适宜地为115-125。

[0167] 本文提供的实施例涉及包含免疫球蛋白链可变结构域本身的组合物。然而,本文公开的本发明的原则同样适用于包含任意药物活性结合多肽的本发明的组合物。例如,本文公开的实施例中所述的抗TNF- α 免疫球蛋白链可变结构域可以并入多肽如全长抗体中。McCoy等人,2014证明了这类方法,他们提供了作为具有人Fc区(包括铰链区、CH2和CH3结构域)的融合物工程化的抗HIV VHH,其表达为二聚构建体。

[0168] 适宜地,药物活性结合多肽由免疫球蛋白链可变结构域组成。适宜地,药物活性结合多肽是抗体或抗体片段。适宜地,抗体片段是VHH、VH、VL、V-NAR、Fab片段、VL或F(ab')2片段(例如VHH或VH,最适宜地是VHH)。

[0169] 适宜地,药物活性结合多肽的分子量为1-200kD。更适宜地为5-200kDa,更适宜地为10-200kDa,更适宜地为10-180kDa,更适宜地为10-150kDa,更适宜地为10-100kDa,更适宜地为10-50kDa,更适宜地为10-20kDa,更适宜地为12-15kDa,更适宜地为约13kDa。

[0170] 适宜地,药物活性结合多肽的水溶解度大于1mg/mL,更适宜地大于5mg/mL,更适宜地大于10mg/mL,更适宜地大于15mg/mL,更适宜地大于20mg/mL,更适宜地大于25mg/mL,更适宜地大于30mg/mL。

[0171] 适宜地,药物活性结合多肽的等电点为6-8,更适宜地为6.5-7.5,更适宜地为6.7-6.9,更适宜地为约6.8。

[0172] SEQ ID Nos:1至28是特定ICVD的多肽序列,它们是本发明的示例性药物活性结合多肽。适宜地,药物活性结合多肽包含SEQ ID Nos:1至28中的任意一个或多个,或者更适宜地由SEQ ID Nos:1至28中的任意一个或多个组成。

[0173] 适宜地,药物活性结合多肽用于局部递送至肠道区域。适宜地,药物活性结合多肽用于局部治疗作用。“局部治疗作用”定义为仅在药物活性结合多肽首先被递送的区域中发生或可被察觉的有益生物作用。局部治疗作用不包括全身作用(有益的或其它的)。例如,靶向于TNF- α 的药物活性结合多肽当在本发明的组合物中递送时适宜地结合并中和在其首先被释放的肠道区域中存在的TNF- α 的作用。然而,该药物活性结合多肽不显著地结合在身体其它区域中的显著量的TNF- α ,因此不具有显著的全身影响。

[0174] 本发明的药物组合物在通过胃和适宜地还有十二指肠的输送期间给药物活性结合多肽提供了保护,直到药物活性结合多肽在肠道的靶区域被释放。因此,特别适宜的药物活性结合多肽是当暴露于胃和/或十二指肠时基本上失活和因此通过本发明的组合物的pH敏感型肠溶包衣保护免于失活的那些。

[0175] 可能的是,多肽的粗样品可含有杂质(例如无活性多肽),从而仅一部分多肽样品是药物活性结合多肽。

[0176] 药物活性结合多肽可以是可药用盐的形式。适宜地,药物活性结合多肽不是胰岛素。适宜地,药物活性结合多肽是颗粒内的。

[0177] 药物活性结合多肽可以采用例如Green和Sambrook 2012中公开的技术来获得和

操作。例如，免疫球蛋白链可变结构域可以通过采用核酸合成技术制备编码免疫球蛋白链可变结构域的核酸、随后表达如此获得的核酸来获得。

[0178] 特异性和亲和力

[0179] 特异性指特定抗原结合多肽可以结合的抗原或抗原决定簇的不同类型的量度。抗原结合多肽的特异性是抗原结合多肽将特定抗原识别为独特分子实体并将其与其它分子实体区分开的能力。

[0180] 亲和力，由抗原与抗原结合多肽解离的平衡常数 (Kd) 表示，是抗原决定簇与抗原结合多肽上的抗原结合位点之间结合强度的量度：Kd值越小，则抗原决定簇与抗原结合多肽之间的结合强度就越强（或者，亲和力也可以表示为亲和常数 (Ka)，其为 $1/Kd$ ）。亲和力可以通过已知方法确定，这取决于感兴趣的特定抗原。

[0181] 适宜地，药物活性结合多肽将以至少 1×10^{-6} M、更适宜地至少 1×10^{-7} M、更适宜地至少 1×10^{-8} M、更适宜地至少 1×10^{-9} M的解离常数 (Kd) 结合。

[0182] 任何小于 10^{-6} 的Kd值都被认为表示结合。药物活性结合多肽与抗原或抗原决定簇的特异性结合可以以任何适宜的已知方式来确定，包括例如Scatchard分析和/或竞争性结合测定，例如放射免疫测定 (RIA)、酶免疫测定 (EIA) 和夹心竞争测定，以及本领域已知的其不同变通方法。

[0183] 抗靶标多肽、与靶标相互作用的多肽或对抗靶标的多肽均是与靶结合的有效多肽。多肽可以结合线性或构象表位。

[0184] 适宜地，药物活性抗原结合多肽与肠道中的靶标结合，所述靶标例如是肠道的一个或多个区域中的靶标，例如白细胞介素 (例如IL-1、IL-1ra、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-15、IL-17、IL-18和IL-23)、白细胞介素受体 (如IL-6R 和IL-7R)、转录因子 (如NF- κ B)、细胞因子 (如TNF- α 、IFN- γ 、TGF- β 和TSLP)、跨膜蛋白 (如gp130和CD3)、表面糖蛋白 (如CD4、CD20、CD40)、可溶性蛋白 (如CD40L)、整联蛋白 (如a4b7和AlphaEbeta7)、粘附分子 (如MAdCAM)、趋化因子 (如IP10和CCL20)、趋化因子受体 (如CCR2和CCR9)、抑制性蛋白质 (如SMAD7)、激酶 (如JAK3)、G蛋白偶联受体 (如鞘氨醇-1-P受体) 和胃肠道病原体的产物。

[0185] 连接基和多聚体

[0186] 药物活性结合多肽可以是包含多个多肽的构建体，因此可以适宜地是多价的。这种构建体可以包含至少两个相同的多肽。或者，构建体可以包含至少两个不同的多肽。构建体可以是多价的和/或多特异性的。多价构建体 (例如二价构建体) 包含两个或更多个结合多肽，因此存在两个或更多个可以与一个或多个抗原连接的位点。多特异性构建体 (例如双特异性构建体) 包含两个或更多个不同的结合多肽，其具有两个或更多个位点，在所述位点处 (a) 可以发生与两种或更多种不同抗原的连接或 (b) 可以发生与相同抗原上的两种或更多种不同表位的结合。多特异性构建体是多价的。

[0187] 构建体中的多肽可以直接 (即不使用连接基) 或通过连接基彼此连接。适宜地，连接基是蛋白酶不稳定连接基或非蛋白酶不稳定连接基。连接基适宜地是多肽，并且将进行选择以允许多肽与其表位结合。如果用于治疗目的，则连接基在施用多肽的对象中适宜地是非免疫原性的。适宜地，多肽全部通过非蛋白酶不稳定连接基连接。适宜地，非蛋白酶不稳定连接基具有 $(G_4S)_x$ 的模式。适宜地，x为1至10，最适宜地x为6。适宜地，蛋白酶不稳定连

接基具有 $[-(G_aS)_x-B-(G_bS)_y]_z$ 的模式,其中a为1至10;b为1至10;x为1至10;y为1至10,z为1至10且B为K或R。适宜地,a为2至5;更适宜地,a为4。适宜地,b为2至5;更适宜地,b为4。适宜地,x为1至5;更适宜地,x是1。适宜地,y是1至5;更适宜地,y是1。适宜地,z是1至3;更适宜地,z是1。适宜地,B是K。上面段落中的大写字母指单字母氨基酸代码。

[0188] pH敏感型肠溶包衣

[0189] 本发明的药物组合物具有pH敏感型肠溶包衣。用于肠溶包衣的材料包括脂肪酸、蜡、虫胶、塑料和植物纤维。适宜地,当暴露于肠道区域时,pH敏感型肠溶包衣释放药物活性结合多肽。适宜地,肠道区域是小肠和/或大肠的区域,例如选自十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结肠、直肠和肛管中的至少一个的区域。更适宜地,区域选自十二指肠、空肠和回肠中的至少一个。

[0190] 选择pH敏感型肠溶包衣的厚度,使得包衣在通过胃肠道的输送期间保持完整达所需的时间,特别是在暴露于导致包衣溶解的pH后保持完整达所需的时间。适宜地,pH敏感型肠溶包衣(例如包含甲基丙烯酸-共-甲基丙烯酸甲酯1:1共聚物的pH敏感型肠溶包衣)的厚度为10-300μm,例如50-200μm,例如70-170μm,例如100-170μm。

[0191] 适宜地,本发明的组合物中所用的pH敏感型肠溶包衣的量以组合物整体的10-30%、更适宜地15-26%、更适宜地17-23%、更适宜地18-22%、更适宜地约20%w/w存在。适宜地,这些量是在3mm直径的压制芯的情况下的量。

[0192] 适宜地,本发明的组合物中所用的pH敏感型肠溶包衣的量以芯的15-35%、更适宜地20-30%、更适宜地22-28%、更适宜地24-26%、更适宜地约25%w/w存在。适宜地,这些量是在3mm直径的压制芯的情况下的量。

[0193] 或者,本发明的组合物中所用的pH敏感型肠溶包衣的量可以通过在加入pH敏感型肠溶包衣后压制芯(或适宜地是亚包衣的压制芯)增加的%重量来确定。在实施例中证明了25%w/w的pH敏感型肠溶包衣增重导致在动态溶出试验期间在大约2小时后包衣脱落和17%w/w的pH敏感型肠溶包衣增重导致在动态溶出试验期间在大约90分钟后包衣脱落。因此,14%-30%或更适宜地17%-27%或更适宜地20-27%范围的用pH敏感型肠溶包衣进行包衣获得的增重应当提供用于在小肠中溶出的最佳包衣。而且,更特别地和如果期望的话,17%-20%的用pH敏感型肠溶包衣进行包衣获得的增重应当提供用于在十二指肠中溶出的最佳包衣,或者20%-27%的用pH敏感型肠溶包衣进行包衣获得的增重应当提供用于在回肠中溶出的最佳包衣。适宜地,这些量是在3mm直径的压制芯的情况下的量。

[0194] 如果压制芯具有圆柱形轮廓(如圆柱形小片),则通过沿轴向和径向切割小片来适宜地获得厚度测量值(忽略片剂拐角处的包衣厚度)。

[0195] pH敏感型肠溶聚合物包衣料

[0196] pH敏感型肠溶包衣可以包含pH敏感型肠溶聚合物包衣料。pH敏感型肠溶聚合物包衣料是包含在pH敏感型肠溶包衣中并作为屏障保护多肽免于胃和适宜地还有十二指肠的低pH的聚合物。pH敏感型肠溶聚合物包衣料在胃中发现的高酸性pH下不溶,但是在酸性较弱的pH下迅速溶解。因此,适宜地,pH敏感型肠溶聚合物包衣料在酸性胃液(pH 1.5-4)中不溶解,但是在小肠(pH高于6)中或在结肠(pH高于7.0)中存在的较高pH环境中将溶解。对pH敏感型肠溶聚合物包衣料进行选择,以便大约在剂型到达小肠、特别是十二指肠、空肠和回肠时开始释放多肽;更适宜地,当剂型到达空肠时开始释放多肽。适宜地,pH敏感型肠溶聚

合物包衣料直到暴露于0.5-3.5、更适宜地0.6-3.0、更适宜地0.7-2.5、更适宜地0.8-2.0、更适宜地0.9-1.5、更适宜地约1或精确为1的pH达2小时或更长时间(适宜地至少6小时、更适宜地2-4小时、更适宜地2-3小时)后才溶解。本领域技术人员将理解:质子泵抑制剂、H2抑制剂和酸中和剂可以将胃pH升高至约4或甚至更高,因此如果与质子泵抑制剂同时服用,则在较高pH下溶解的pH敏感型肠溶聚合物包衣料可以适当地用于本发明的组合物中。类似地,技术人员将理解:患有例如胃酸缺乏的对象将具有升高的胃pH(大于5),因此如果施用于患有这类病症的对象,则在较高pH下溶解的pH敏感型肠溶聚合物包衣料可以适当地用于本发明的组合物中。

[0197] 适宜的pH敏感型肠溶聚合物包衣料包括以下的一种或多种:丙烯酸甲酯-甲基丙烯酸共聚物、醋酸纤维素琥珀酸酯、羟丙基甲基纤维素酞酸酯、醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(醋酸羟丙甲纤维素琥珀酸酯)、聚醋酸乙烯酞酸酯(PVAP)、甲基丙烯酸甲酯-甲基丙烯酸共聚物、海藻酸钠和硬脂酸。更适宜地,pH敏感型肠溶聚合物包衣料包含基于甲基丙烯酸和甲基丙烯酸甲酯的阴离子共聚物或由其组成。更适宜地,pH敏感型肠溶聚合物包衣料包含(甲基丙烯酸-共-甲基丙烯酸甲酯)1:1共聚物(例如Eudragit L100/L12.5)或(甲基丙烯酸-共-丙烯酸乙酯)1:1共聚物(例如Eudragit L100-55/L30-D55)或由其组成;最适宜地,包含(甲基丙烯酸-共-甲基丙烯酸甲酯)1:1共聚物或由其组成。

[0198] 本发明的组合物中所用的pH敏感型肠溶聚合物包衣料的量可以表示为pH敏感型肠溶包衣(即pH敏感型肠溶包衣的总固体)的w/w百分比。适宜地,pH敏感型肠溶聚合物包衣料相对于pH敏感型肠溶包衣而言以40-70%重量、更适宜地55-65%重量存在。

[0199] 本发明的组合物中所用的pH敏感型肠溶聚合物包衣料的量也可以表示为组合物整体的w/w百分比。适宜地,本发明的组合物中所用的pH敏感型肠溶聚合物包衣料的量以组合物整体的10-30%w/w、更适宜地约12%w/w存在。

[0200] 如果使用完全水性包衣方法而不是混合的水性和有机溶剂方法来制备本发明的组合物,那么为了获得等同的释放特性,pH敏感型肠溶聚合物包衣料的量相对于水性和有机溶剂方法中所用的量有所增加。

[0201] pH敏感型肠溶包衣的其它可能组分

[0202] 适宜地,pH敏感型肠溶包衣包含pH敏感型肠溶聚合物包衣料以及任选的一种或多种增塑剂、抗粘剂和表面活性剂,或由其组成。更适宜地,pH敏感型肠溶包衣由pH敏感型肠溶聚合物包衣料、增塑剂、抗粘剂和表面活性剂组成。

[0203] 适宜地,pH敏感型肠溶包衣包含增塑剂,其中增塑剂是柠檬酸三乙酯,抗粘剂是滑石粉,和/或表面活性剂是月桂硫酸钠。适宜地,增塑剂以相对于pH敏感型肠溶包衣而言5-20%重量存在,和/或抗粘剂以相对于pH敏感型肠溶包衣而言20-40%重量存在,和/或表面活性剂以相对于pH敏感型肠溶包衣而言0.05-0.5%重量存在。

[0204] 适宜地,pH敏感型肠溶包衣包含以下组分、基本上由以下组分组成或者由以下组分组成:50-70%的一种或多种pH敏感型肠溶聚合物包衣料,7-17%的一种或多种增塑剂,20-40%的一种或多种抗粘剂,和0.05-0.2%的表面活性剂;均相对于pH敏感型肠溶包衣的重量而言以重量计。

[0205] 适宜地,本发明的组合物可以包含在压制芯和pH敏感型肠溶包衣之间的亚包衣。这种亚包衣可以改善pH敏感型肠溶包衣与芯的粘附。适宜地,亚包衣包含羟丙基甲基纤维

素或由其组成。

[0206] 赋形剂

[0207] 本发明的药物组合物适宜地包含至少一种赋形剂。适宜地，所述至少一种赋形剂选自以下的一种或多种：(i)一种或多种压制助剂，(ii)一种或多种崩解剂，(iii)一种或多种润滑剂，(iv)一种或多种助流剂，(v)一种或多种稀释剂，和(vi)一种或多种粘合剂。下文详述了这些赋形剂。下文表示的%值表示为压制芯的%重量。

[0208] 压制助剂

[0209] 压制助剂用于将芯的组分结合在一起给出形状和机械强度。适宜地，一种或多种压制助剂是颗粒内和颗粒外的。

[0210] 适宜地，本发明的组合物包含一种或多种压制助剂。适宜地，所述一种或多种压制助剂选自合成聚合物如交聚维酮、糖如蔗糖、葡萄糖、乳糖和果糖、糖醇如甘露醇、木糖醇、麦芽糖醇、赤藓糖醇、山梨糖醇、水溶性多糖如纤维素如结晶纤维素、微晶纤维素、粉末纤维素、羟丙基纤维素和甲基纤维素、淀粉、合成聚合物如聚乙烯吡咯烷酮、淀粉羟乙酸钠、交聚维酮和无机化合物如碳酸钙。

[0211] 适宜地，所述一种或多种压制助剂以相对于芯重量而言20-55%重量、例如30-40%重量存在。

[0212] 已经发现：甘露醇出人意料地改善了实施例1中详述的药物活性结合多肽的热稳定性(参见实施例6)。因此，适宜地，所述一种或多种压制助剂是甘露醇。

[0213] 粘合剂

[0214] 粘合剂在功能上与压制助剂类似。适宜地，本发明的组合物的芯包含一种或多种粘合剂。适宜地，所述一种或多种粘合剂是颗粒内和颗粒外的。适宜地，所述一种或多种粘合剂选自阿拉伯胶；海藻酸；异丁烯酸铵共聚物；异丁烯酸铵共聚物分散体；卡波姆共聚物；卡波姆均聚物；卡波姆互聚物；羧甲基纤维素钠；微晶纤维素；共聚维酮；蔗糖；糊精；乙基纤维素；明胶；葡萄糖；瓜尔胶；低取代羟丙基纤维素；羟丙甲纤维素；醋酸羟丙甲纤维素琥珀酸酯；麦芽糖糊精；麦芽糖；甲基纤维素；聚环氧乙烷；聚维酮；淀粉如玉米淀粉、土豆淀粉、预胶化淀粉、木薯淀粉、小麦淀粉。

[0215] 适宜地，所述一种或多种粘合剂以相对于芯重量而言20-55%重量、例如30-40%重量存在。适宜地，所述一种或多种粘合剂和压制助剂以相对于芯重量而言20-55%重量、例如30-40%重量存在。

[0216] 崩解剂

[0217] 崩解剂用于帮助芯在胃肠道中的分散，有助于释放药物活性结合多肽和增加溶出的表面积。崩解剂包括超崩解剂。适宜地，本发明的组合物的芯包含一种或多种崩解剂。适宜地，所述一种或多种崩解剂是颗粒外的。

[0218] 可能的是，崩解剂能抵消多肽胶凝的影响，照此崩解剂可用于精细调节本发明的组合物的释放特性。

[0219] 适宜地，所述一种或多种崩解剂选自羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、交联羧甲基纤维素钠、纤维素如低取代度羟丙基纤维素、淀粉如羧甲基淀粉钠、羟丙基淀粉、米淀粉、小麦淀粉、土豆淀粉、玉米淀粉、部分预胶化淀粉。适宜地，崩解剂是交联羧甲基纤维素钠。适宜地，所述一种或多种崩解剂以相对于芯重量而言2-6%重量、例如约4%重量存在。

[0220] 已经发现：交联羧甲基纤维素钠出人意料地改善了实施例1中详述的药物活性结合多肽的热稳定性(参见实施例6，‘D’)。因此，适宜地，所述一种或多种崩解剂是交联羧甲基纤维素钠。

[0221] 助流剂

[0222] 助流剂通过减少颗粒之间的摩擦和粘附改善了片剂生产期间粉末的流动。本发明的组合物的芯可以包含一种或多种助流剂。如果存在的话，助流剂可以是颗粒内或颗粒外的。适宜地，所述一种或多种助流剂(如果存在)选自硅酸钙、硅酸镁、胶态二氧化硅和滑石粉。最适宜地，所述一种或多种助流剂(如果存在)是胶态二氧化硅。适宜地，所述一种或多种助流剂(如果存在)以相对于芯重量而言0.1-1.0%重量、更适宜地约0.5%重量存在。

[0223] 润滑剂

[0224] 润滑剂与助流剂具有相似的作用。添加润滑剂主要是防止压片期间冲头在冲模中粘连。它们还可以减缓崩解和溶出。适宜地，本发明的组合物的芯包含一种或多种润滑剂。适宜地，润滑剂是颗粒内和颗粒外的。适宜地，所述一种或多种润滑剂选自甘油二十二烷酸酯；硬脂酸盐如硬脂酸钙、硬脂酸镁、硬脂酸锌；矿物油；聚乙二醇；月桂硫酸钠；硬脂酰醇富马酸钠；淀粉如玉米淀粉、土豆淀粉、预胶化淀粉、木薯淀粉、小麦淀粉；硬脂酸；滑石粉；植物油；和硬脂酸锌。

[0225] 适宜地，芯包含一种或多种润滑剂，其中所述一种或多种润滑剂以相对于芯重量而言0.1-2%重量、例如约1%重量存在。

[0226] 已经发现：硬脂酸镁出人意料地改善了实施例1中详述的药物活性结合多肽的热稳定性(参见实施例6，‘E’)。因此，适宜地，所述一种或多种润滑剂是硬脂酸镁。

[0227] 其它组分

[0228] 本发明的组合物的有利释放特性可以在不添加常规地延迟药物活性结合多肽释放或保护药物活性结合多肽的物质如水凝胶的情况下实现。水凝胶是含有亲水聚合物的三维网状网络，所述亲水聚合物吸收大量的水并由于个体聚合物链的物理或化学交联而形成凝胶样基质。适宜地，本发明的组合物包含小于1%、更适宜地小于0.5%、更适宜地小于0.1%重量的水凝胶，更适宜地，本发明的组合物不包含水凝胶。此外，可以在组合物的压制芯中不包括海藻酸盐、羟丙基甲基纤维素(HPMC)和/或基于甲基丙烯酸和甲基丙烯酸甲酯的共聚物的情况下实现本发明的组合物的有利释放特性。本发明的组合物的有利释放特性还适宜地在不添加持续释放包衣(例如允许活性剂扩散的包衣，其可位于pH敏感型肠溶包衣和压制芯之间)的情况下实现。类似地，本发明的组合物适宜地不包含任意一种或多种可以加入到制剂中以实现活性成分的吸收的以下组分：穿透/渗透增强剂(包括细胞穿透性肽或膜修饰物质)；载体系统(包括纳米粒、环糊精、聚合物载体或基于脂质的系统)；粘液改性、粘合或穿透赋形剂；或糖微针。

[0229] 呈现形式和结构

[0230] 本发明的药物组合物可以以多种形式存在。这些包括包含pH敏感型肠溶包衣和压制芯的固体口服剂型，例如片剂或小片。

[0231] 小片可以是圆形、圆柱形片剂或碟状形状。小片的直径适宜地为1至5mm，更适宜地直径为1-4mm，更适宜地直径为1-3mm，更适宜地直径为2-3mm，更适宜地直径为约3mm，更适宜地直径为约2mm。小片通常通过压制产生。它们为采用例如常规的多孔包衣锅或流化床设

备的肠溶包衣提供了光滑的底物。小片提供了精制的剂型灵活性,因为它们可以在胶囊或小药囊中递送。

[0232] 这类小片可以存在于胶囊中。胶囊可以是硬壳胶囊,其通常采用明胶或HPMC(最适宜为HPMC)制成,并含有干燥粉末状成分或通过例如挤出或滚圆方法制成的微型小片。它们分为两个部分:一个直径较小的“主体”,将其填充和然后采用直径较大的“盖”密封。或者,胶囊可以是软壳胶囊。这两类胶囊均由胶凝剂如动物蛋白(主要是明胶)或植物多糖或它们的衍生物(如淀粉和纤维素的改性形式和角叉菜胶)的水溶液制成。

[0233] 本发明的药物组合物包含压制芯和pH敏感型肠溶包衣,其中压制芯包含药物活性结合多肽。

[0234] 如本文所用的“压制”指经历压制、即挤压或按压的物质。

[0235] 适宜地,压制芯基本上由一种或多种压制助剂、一种或多种崩解剂、一种或多种润滑剂和药物活性结合多肽组成,或者由它们组成。

[0236] 适宜地,压制芯的硬度为20-110N,更适宜地为40-100N,最适宜地为60-90N。

[0237] 适宜地,压制芯包含以下组分、基本上由以下组分组成或者由以下组分组成:20-55%的一种或多种压制助剂(例如甘露醇和微晶纤维素);2-6%的一种或多种崩解剂(例如交联羧甲基纤维素钠);0.1-2%的一种或多种润滑剂(例如硬脂酸镁);和40-80%的药物活性结合多肽(例如免疫球蛋白链可变结构域);均相对于芯重量以重量计。更适宜地,压制芯包含以下组分、基本上由以下组分组成或者由以下组分组成:30-40%的一种或多种压制助剂(例如甘露醇和微晶纤维素);3-5%的一种或多种崩解剂(例如交联羧甲基纤维素钠);0.5-1.5%的一种或多种润滑剂(例如硬脂酸镁);和50-70%的药物活性结合多肽(例如免疫球蛋白链可变结构域);均相对于芯重量以重量计。

[0238] 适宜地,药物活性结合多肽以相对于芯重量而言30-80%、例如40-75%、例如约50%-60%重量存在。

[0239] 治疗应用和递送

[0240] 本发明的药物组合物适合对人施用。本发明的药物组合物的治疗有效量是当单或多剂量施用于对象时有效治疗或预防对象的疾病的量。治疗有效量可根据诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重以及药物组合物在个体中引起预期响应的能力的因素而变化。治疗有效量也是其中药物组合物的治疗有益效果超过任何毒性或有害作用的量。

[0241] 本发明的药物组合物被配制成用于口服递送。口服递送的关键问题是确保足够的药物活性结合多肽到达需要它的肠道区域。阻止多肽到达需要它的肠道区域的因素包括在消化分泌物中存在可降解多肽的蛋白酶。适宜地,多肽在一种或多种此类蛋白酶的存在下由于多肽本身的固有特性而是基本上稳定的。适宜地,多肽当暴露于肠道区域时是基本上稳定的。或者,可以施用大剂量的多肽以补偿在肠道中降解的多肽的量。

[0242] 已知直接递送至回肠的蛋白质可以是免疫原性的,而口服递送并经受胃和十二指肠消化的相同蛋白质诱导免疫耐受(参见Michael 1989)。本发明的组合物是肠溶包衣的,导致在口服施用时药物活性结合多肽在肠道区域如回肠中释放时才首次暴露于对象的免疫系统。技术人员可以将这种递送方法视为免疫学上等同于直接递送至回肠。因此,令人惊奇的和非常有利的是,对于口服施用的本发明的组合物已经观察到免疫耐受反应。

[0243] 还可以将表面活性剂添加到药物组合物中以减少多肽的聚集和/或使制剂中的颗

粒形成最少化和/或减少吸附。示例性的表面活性剂包括聚氧乙烯山梨坦脂肪酸酯(吐温)、聚氧乙烯烷基醚(苄泽)、烷基苯基聚氧乙烯醚(Triton-X)、聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物(泊洛沙姆,普流罗尼克)和十二烷基硫酸钠(SDS)。适宜的聚氧乙烯山梨坦脂肪酸酯的实例是聚山梨酯20和聚山梨酯80。表面活性剂的示例性浓度可以为约0.001%至约10%w/v。

[0244] 药物活性结合多肽可以是冷冻干燥的。可以加入冻干保护剂以在冷冻干燥过程中保护多肽免受不稳定条件的影响。例如,已知的冻干保护剂包括糖(包括葡萄糖、蔗糖、甘露糖和海藻糖);多元醇(包括甘露醇、山梨醇和甘油);和氨基酸(包括丙氨酸、甘氨酸和谷氨酸)。可以以约10mM至500mM的量包含冻干保护剂。

[0245] 或者,药物活性结合多肽可以是喷雾干燥的。

[0246] 本发明的药物组合物的施用剂量范围是产生预期治疗作用的那些。所需剂量范围取决于药物组合物的确切性质、患者的年龄、患者病症的性质、程度或严重度、禁忌症(如果有的话)以及参与医师的判断。可以使用标准的经验优化程序调整这些剂量水平的变化。

[0247] 药物活性结合多肽的适宜人剂量的范围为10mg-5000mg,例如50mg-1500mg,例如100mg-500mg。就每kg体重而言的药物活性结合多肽的适宜剂量为1mg-500mg,例如5mg-150mg,例如10mg-50mg。人剂量或就每kg体重而言的剂量可以每天或更频繁地(例如每天2、3或4次)或更不频繁地(例如每隔一天一次或每周一次,每两周一次或每月一次)施用。更适宜地,剂量每天施用3次。

[0248] 在本发明的一个方面,提供了药物组合物在制备用于治疗自身免疫疾病和/或肠道的炎性疾病中的用途。在本发明的另一方面,提供了治疗自身免疫疾病和/或肠道的炎性疾病的方法,该方法包括给需要其的人施用治疗有效量的药物组合物。

[0249] “治疗”一词旨在包括预防和治疗性治疗。疾病的治疗还包括治疗其恶化以及还包括治疗从疾病症状缓解的患者以预防疾病症状的复发。

[0250] 肠道疾病

[0251] 适宜地,本发明的药物组合物用于治疗或预防肠道疾病。肠道疾病涉及影响小肠和大肠的疾病。小肠和大肠可能受传染性、自身免疫性和其它类型疾病的影响。

[0252] 自身免疫疾病和/或肠道(I) 的炎性疾病

[0253] 侵袭儿童和成人的慢性炎性肠病(IBD)、克罗恩病和溃疡性结肠炎是自身免疫疾病和IT的炎性疾病的实例(Hendrickson等人,2002,整体引入本文作为参考)。溃疡性结肠炎定义为其中炎性应答和形态变化保持限于结肠的病症。95%的患者涉及直肠。炎症主要限于粘膜,由持续累及的不同严重度的沿着结肠长度的溃疡、水肿和出血组成(Hendrickson等人,2002,其整体引入本文作为参考)。溃疡性结肠炎通常表现为存在与粪便混合的血液和粘液以及下腹部痉挛(其在肠运动通过期间最严重)。临幊上,腹泻伴血液和粘液的存在将溃疡性结肠炎与肠易激惹综合征区分开,肠易激惹综合征中不存在血液。与溃疡性结肠炎不同,克罗恩病的表现通常是精细的,这导致了稍后的诊断。诸如牵涉的部位、程度和严重度等因素决定了胃肠症状的程度。有回肠结肠牵涉的患者通常出现餐后腹痛,右下部有压痛,偶有炎性肿块。与胃十二指肠克罗恩病相关的症状包括早期饱腹感、恶心、呕吐、上腹痛或吞咽困难。肛周疾病是常见的,伴有肛门赘、深肛裂和瘘管(Hendrickson等人,2002,整体引入本文作为参考)。

[0254] 适宜地,本发明的多肽、药物组合物或构建体用于治疗自身免疫疾病和/或IT的炎

性疾病,所述疾病选自克罗恩病、溃疡性结肠炎、肠易激惹综合征、II型糖尿病、肾小球肾炎、自身免疫性肝炎、舍格伦综合征、乳糜泻和药物或放射引起的粘膜炎;更适宜地选自克罗恩病、溃疡性结肠炎、肠易激惹综合征、乳糜泻和药物或放射引起的粘膜炎;更适宜地选自克罗恩病、溃疡性结肠炎和肠易激惹综合征;最适宜地是克罗恩病。

[0255] 联合治疗

[0256] 在本发明范围内的是,本发明的药物组合物作为其它已经建立的常用于治疗自身免疫疾病的疗法的附加或联合在用于治疗自身免疫疾病的治疗性方法中的用途。

[0257] 对于IBD(例如克罗恩病或溃疡性结肠炎)的治疗,可能的联合包括与例如选自如下的一种或多种活性剂的联合:5-氨基水杨酸或其前药(如柳氮磺吡啶、奥沙拉嗪或bisalazide);皮质类固醇(例如泼尼松龙、甲泼尼龙或布地奈德);免疫抑制剂(例如环孢菌素、他克莫司、甲氨蝶呤、硫唑嘌呤或6-巯嘌呤);抗IL-6R抗体(例如托珠单抗)、抗IL-6抗体,抗TNF- α 抗体(例如英夫利昔单抗、阿达木单抗、赛妥珠单抗pegol或戈利木单抗);抗IL12/IL23抗体(例如ustekinumab);抗IL6R抗体或小分子IL12/IL23抑制剂(例如阿匹莫德(apilimod));抗 α -4- β -7抗体(例如维多珠单抗(vedolizumab));MAdCAM-1阻断剂(例如PF-00547659);抗细胞粘附分子 α -4-整联蛋白的抗体(例如那他珠单抗);抗IL2受体 α 亚基的抗体(例如达珠单抗或巴利昔单抗);JAK3抑制剂(例如托法替尼或R348);Syk抑制剂及其前药(例如fostamatinib和R-406);磷酸二酯酶-4抑制剂(例如替托司特(tetomilast));HMPL-004;益生菌;德沙拉秦(Dersalazine);塞马莫德/CPSI-2364;和蛋白激酶C抑制剂(例如AEB-071)。最适宜的联合药剂是托珠单抗,英夫利昔单抗,阿达木单抗,赛妥珠单抗pegol或戈利木单抗。

[0258] 因此,本发明的另一方面提供了与一种或多种其它活性剂、例如一种或多种上述活性剂联合的本发明的药物组合物。

[0259] 在本发明的另一方面,药物组合物与至少一种选自上文名单的活性剂依次、同时或分开施用。

[0260] 类似地,本发明的另一方面提供了联合产品,其包含:

[0261] (A) 本发明的药物组合物;和

[0262] (B) 一种或多种其它活性剂,

[0263] 其中组分(A)和(B)各自被配制成与可药用佐剂、稀释剂或载体混合。在本发明的该方面,联合产品可以是单(联合)制剂或成套药盒。因此,本发明的该方面包括如下的联合制剂:其包含与可药用佐剂、稀释剂或载体混合的本发明的药物组合物和其它治疗剂。

[0264] 本发明还包括包含如下组分的成套药盒:

[0265] (i) 与可药用佐剂、稀释剂或载体混合的本发明的药物组合物;和

[0266] (ii) 与可药用佐剂、稀释剂或载体混合的包含一种或多种其它活性剂的制剂,组分(i)和(ii)各自以适于与另一者组合施用的形式被提供。

[0267] 因此,成套药盒的组分(i)是与可药用佐剂、稀释剂或载体混合的上述组分(A)。类似地,组分(ii)是与可药用佐剂、稀释剂或载体混合的上述组分(B)。所述一种或多种其它活性剂(即上述组分(B))可以例如是上文有关治疗自身免疫疾病如IBD(例如克罗恩病和/或溃疡性结肠炎)提及的任何药剂。如果组分(B)是多于一种的其它活性剂,则这些其它活性剂可以彼此配制或与组分(A)一起配制,或者它们可以单独配制。在一个实施方案中,组

分(B)是一种其它治疗剂。在另一个实施方案中,组分(B)是两种其它治疗剂。本发明的该方面的联合产品(联合制剂或成套药盒)可用于治疗或预防自身免疫疾病(例如本文提及的自身免疫疾病)。

[0268] 适宜地,本发明的药物组合物用作药物,更适宜地用于治疗自身免疫疾病和/或炎性疾病。

[0269] 制备方法

[0270] 干法制粒然后压制或者直接压制可用于制造压制芯。可以良好混合的粉末不需要制粒,可以通过直接压制来压制成片剂。如果本发明的组合物将作为片剂如小片进行递送,则这些方法是特别适当的。

[0271] 制粒方法通过在低压下轻微压实粉末混合物而产生了颗粒。将如此形成的压块轻轻地破碎以产生颗粒(团聚物)。当要进行制粒的产品对湿气和热敏感时,经常使用该方法。干法制粒可以使用压制工具在压片机上进行,或者在称为辊压机的滚筒式压片机上进行。可以改变压力以获得适当的致密性和颗粒形成。

[0272] 可以在生产期间将组分添加到药物组合物中,从而组分变成颗粒外或颗粒内的。如果组分在制粒(制粒还在压片形成芯之前)前与其它组分混合,则该组分将被掺入到颗粒中,因此是颗粒内的。如果组合在压片形成芯之前与形成的干颗粒混合,则该组分将是颗粒外的。

[0273] 压制芯可以如下制造:通过安装至压片机的冲和模进行直接压制,喷射或压制模塑,制粒然后压制,或者形成糊并将糊挤压至模具中或将挤出物切成短段以及任选地采用滚圆机使如此形成的段的边缘变圆。适宜地,用于制备压制芯的方法是将组分混合物干法制粒、然后压制,优选制成小片。适宜地,采用压片机如单冲压片机(例如Manesty F3)或旋转式压片机(例如Manesty Technipress,适宜地采用29的顶凸轮压制力设置)进行压制。

[0274] 在制备本发明的药物组合物时,适宜地将药物活性结合多肽进行干法制粒以形成颗粒。更适宜地,将药物活性结合多肽(例如免疫球蛋白链可变结构域)和一种或多种压制助剂(例如甘露醇)一起制粒。更适宜地,将药物活性结合多肽(例如免疫球蛋白链可变结构域)、一种或多种压制助剂(例如甘露醇)和一种或多种润滑剂(例如硬脂酸镁)一起制粒。因此,这些组分称为颗粒内的。然后,可以将如此产生的颗粒适宜地进行压制以形成压制芯。

[0275] 或者,在制粒后,适宜地将一种或多种压制助剂(例如微晶纤维素)、一种或多种崩解剂(例如交联羧甲基纤维素钠)和一种或多种润滑剂(例如硬脂酸镁)与颗粒混合,然后压制形成压制芯。

[0276] 如本文所用的“颗粒内”指存在于颗粒内部(压制前),“颗粒外”指存在于颗粒之间(压制后)。

[0277] 在本发明的一个方面,提供了制备本发明的药物组合物的方法,其中(i)将药物活性结合多肽、一种或多种压制助剂和一种或多种润滑剂一起干法制粒以形成颗粒,其中所述药物活性结合多肽是免疫球蛋白链可变结构域,所述一种或多种压制助剂是甘露醇,和所述一种或多种润滑剂是硬脂酸镁,然后(ii)将颗粒与一种或多种压制助剂、一种或多种崩解剂和一种或多种润滑剂混合,其中所述一种或多种压制助剂是微晶纤维素,所述一种或多种崩解剂是交联羧甲基纤维素钠,和所述一种或多种润滑剂是硬脂酸镁,然后(iii)将混合物压制形成压制芯;其中压制芯由20-55%的甘露醇和微晶纤维素、2-6%的交联羧甲

基纤维素钠、0.1-2%的硬脂酸镁和40-75%的免疫球蛋白链可变结构域组成,均相对于芯重量以重量计,然后(iv)用pH敏感型肠溶包衣将压制芯进行包衣。在另一方面,本发明提供了可通过前述方法获得的药物组合物。

[0278] pH敏感型肠溶包衣可以使用有机溶剂、使用水溶液或使用有机溶剂与水的混合物来应用。当使用完全水溶液包衣工艺时,应包括更大量的pH敏感型肠溶聚合物包衣料。

[0279] 根据本发明的一个方面,提供了制备本发明的药物组合物的方法,该方法包括将药物活性结合多肽和一种或多种赋形剂的混合物压制形成芯,然后用pH敏感型肠溶包衣对芯进行包衣。适宜地,在用pH敏感型肠溶包衣进行包衣之前,将芯在亚包衣中进行包衣。

[0280] 现在将通过以下非限制性实施例进一步描述本发明。

实施例

[0281] 实施例1:制剂

[0282] 通过干法制粒和压制制备了小片形式的本发明的固体药物组合物。然后将小片以不同呈现形式进行呈现,其中每个呈现形式含有在不同尺寸的胶囊中的不同量的小片。下文详述的实施例中使用的主要呈现形式是00号HPMC胶囊,含有15个肠溶包衣小片(总共185mg药物活性结合多肽)。小片芯的直径为3mm(涂层厚度除外),硬度为约90N。

[0283] 下表2列出了包含在每个小片中和因此包含在胶囊所含的15个小片中的组分。

[0284] 表2

小片组分名称	功能	在组合物中的% w/w	量(mg/胶囊) 185 mg 剂量 (15个小片)	量(mg) 12mg 剂量 (1个小片)
小片芯				
总的多肽	活性药物成分(API)	45.7	225	15
甘露醇	压制助剂	12.0	59.25	3.95
微晶纤维素	压制助剂	14.6	72	4.8
交联羧甲基纤维素钠	超崩解剂	3.1	15	1
硬脂酸镁	润滑剂	0.8	3.75	0.25

亚包衣				
羟丙基甲基纤维素	聚合物包衣料	3.8	18.75	1.25
pH 敏感型肠溶包衣				
Eudragit® L100	肠溶聚合物包衣料	11.7	57.76	3.85
柠檬酸三乙酯	增塑剂	2.3	11.51	0.77
滑石粉	抗粘剂	5.9	28.93	1.93
月桂硫酸钠	表面活性剂	0.04	0.20	0.01

[0287] 组合物中的总的多肽具有约70-90%的纯度,从而225mg多肽含有185mg药物活性

结合多肽。

[0288] 在实施例通篇中使用的药物活性结合多肽是SEQ ID Nos:1-28中所述的ICVD之一。它是115个氨基酸12.6kDa多肽。多肽的pI为6.8, 多肽的水溶解度大于30mg/mL。ICVD以高亲和力结合人和食蟹猴TNF- α , 并具有对抗其的有效中和活性。

[0289] 小片通过以下方法制备。

[0290] 将冷冻干燥的多肽与甘露醇和一部分硬脂酸镁混合, 干压以增加其密度。然后将该材料通过筛网, 与其它小片赋形剂(微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠和剩余的硬脂酸镁)混合并压制产生小片。然后将小片用羟丙基甲基纤维素在80:20乙醇:水中的5%溶液进行包衣, 干燥和除去溶剂, 产生亚包衣和更光滑的表面。然后将小片用Eudragit® L100聚合物以及柠檬酸三乙酯、滑石粉和月桂硫酸钠在异丙醇和水中的有机溶液进行包衣, 干燥, 产生pH敏感型肠溶包衣, 使得每个小片增重25%。然后将所得的约3mm直径的小片装入胶囊中, 给出上述剂量。

[0291] 在不同的时机生产了两批独立的小片。这些批次在本文中称为A批次和B批次。两个批次均含有与表1所列相同量的组分。A批次上的pH敏感型肠溶包衣具有100-170 μm 的厚度, 而B批次上的pH敏感型肠溶包衣的厚度为70-170 μm 。

[0292] 实施例2:药典肠溶包衣试验

[0293] 先前的研究(未显示)证实, 在添加最佳释放时间的pH敏感型肠溶包衣时, 亚包衣的压制芯需要增加大于17%的额外重量。

[0294] 将来自A批次的含有小片的实施例1的六个胶囊进行药典肠溶包衣试验, 每个容器一个胶囊。

[0295] 制备含有0.0206mg/mL和0.206mg/mL ICVD的参比标准品。

[0296] 胶囊如预期那样迅速溶解, 将小片释放到酸性环境中。

[0297] 发现小片在试验的两小时期间释放小于10%的ICVD(数据未显示)。因此, 该组合物符合欧洲药典8.0, 2.9.3“固体剂型的溶出试验”中所制定的关于口服施用的延迟释放固体剂型的溶出要求。

[0298] 在重复试验期间, 当组合物在测试介质中持续搅拌超过2小时时, 目测检查(和通过UV280 nm中没有增加)确定肠溶包衣保持完整达大于或等于6个小时。

[0299] 实施例3:药典溶出试验

[0300] 在测试来自如实施例2详述的药典肠溶包衣试验的6个容器中的每一个的小片后, 然后将来自所述6个容器的每一个的小片采用如上文详述的药典溶出试验进行测试。表3、图1(容器1-6个体的数据点)和图2(容器1-6的平均值, 上文“持续释放的测量:药典溶出试验”中所述的溶出范围用箭头表示)显示了试验结果。

[0301] 表3

时间(分钟)	%溶出
5	0.6
10	1.5
15	2.3
30	16.6
45	29.0

60	41.6
90	63.1
120	71.3
150	73.5

[0303] 总之,可以看出实现了药物活性结合多肽的持续释放。历经约2至2.5小时的过程达到了持续释放。预计该释放特性转化为理想的体内持续释放特性。通过下文详述的体内实验证实了这种预期。

[0304] 实施例4:动态溶出试验

[0305] 使用动态溶出试验测试了上文实施例1中详述的固体药物组合物。测试了各自含有来自A批次的15个小片的6份样品和各自含有来自B批次的11个小片的6份样品。用于15个A批次小片的每个样品的条件与上文详述的动态溶出试验一致。用于11个B批次小片的每个样品的条件与动态溶出试验的不同之处在于对于样品使用800mL的0.1M HC1。

[0306] 对于A批次(图4,2小时点前的曲线)或B批次(图5,2小时点前的曲线)的任何样品,在酸性阶段期间没有发生ICVD从小片中溶出。

[0307] 然后,根据动态溶出试验将这些相同小片转移到Hanks缓冲液中。转移到Hanks缓冲液(2小时点)在图3、4和5中用竖直的虚线表示。

[0308] 制备了储备溶液和工作溶液。储备溶液通过在装有798.5mL预先调节的pH5.79的Hanks碳酸氢盐缓冲溶液的溶出容器中添加1.50mL ICVD标准溶液(ICVD的量和浓度已知)进行了制备。经1μm Poroplast-滤器(PES,Dissolution Accessories,Amsterdam,荷兰)在取样期间过滤了溶出介质样品,未经进一步预处理进行测量。通过UV-Vis光谱法(Agilent 8453,Agilent Technologies,Santa Clara,USA)以闭环模式测定了药物的溶出量。使用具有10mm光程的石英流动比色皿(Hellma,Müllheim,德国)以差示模式在279(信号)和450-550nm(超出范围减去背景)处测量了吸光度。

[0309] 根据下文给出的方程,基于平均标准吸光度单独计算了溶出的ICVD的量:

[0310] 溶出的ICVD=A*V*F

[0311] 其中:

[0312] A-样品的测定吸光度

[0313] V-校正体积

[0314] F-基于标准溶液的吸光度获得的校准因子

[0315] 分别进行样品和标准溶液的体积校正。在试验结束时测量标准溶液和测试溶液的溶出介质的体积。假设由于蒸发引起的体积减少随时间呈线性,对于每个取样点单独计算样品和标准溶液的体积并在计算中相应地考虑。

[0316] 当测试A批次小片样品时发现:在首次转移至Hanks缓冲液的1.67小时后,超过1%的多肽首次开始释放(参见图4,在2小时转移至Hanks缓冲液后的区域)。当测试B批次时发现:在首次转移到Hanks缓冲液的3.17小时后,超过1%的多肽首次开始释放(参见图5,在2小时转移到Hanks缓冲液后的区域)。

[0317] 该时间点是“释放起始”,在此时超过1%的药物活性结合多肽首次开始释放。释放起始在图4和5中用箭头指示。两个批次的这些时间段对于延迟释放产品是适宜的。

[0318] 然后记录释放起始后的ICVD的%溶出。A批次的结果显示在图4中(在2小时首次转

移到Hanks缓冲液后的1.67小时释放起始后的区域),B批次的结果显示在图5中(在2小时首次转移到Hanks缓冲液的3.17小时释放起始后的区域)。

[0319] 下表4给出了在释放起始后60、120和180分钟时间点的ICVD的%溶出的总结。

[0320] 表4

[0321]	释放起始后释放的ICVD的%	A批次的平均结果	B批次的平均结果
	释放起始后60分钟释放的%	14.3	23.1
	释放起始后120分钟释放的%	47.1	57.7
	释放起始后180分钟释放的%	67.6	68.4

[0322] 在离开胃后,通过十二指肠和空肠的输送需要大约2小时(参见上文“肠道输送时间”)。因此,预期上述体外释放特性将转化为如下的体内持续释放特性:其中释放在远端空肠附近开始发生,在结肠中实现基本完全释放。然后,预期所有释放的ICVD将输送通过肠道的其余较低区域。通过下文的体内实施例证实了这种期望。

[0323] 实施例5:赋形剂相容性

[0324] 研究了组合物中使用的赋形剂对ICVD的熔化温度(T_m)的影响。

[0325] 热迁移分析(TSA)是蛋白质生物化学中用于检测溶质对蛋白质结构的影响的常用方法。某些溶质(盐、赋形剂等)可能与蛋白质相互作用并导致蛋白质的稳定化或不稳定化。这种作用可以通过比较有或无所考察化合物的情况下蛋白质的熔化温度(T_m)来评估。 T_m 增加表明稳定,即,保持蛋白质形状的力增强。 T_m 减少表明相反。

[0326] 在该测定中,将蛋白质与疏水性染料宝石橙(sypro orange)混合并从25°C逐渐加热至98°C。当蛋白质熔化(去折叠,a.k.a.变性)时,它们的疏水核被暴露,宝石橙通过疏水相互作用与这些残基结合。宝石橙仅在与蛋白质结合时发荧光,以这种方式通过qPCR设备中的激光实时测量了蛋白质的去折叠。采用Boltzmann曲线拟合在Graphpad Prism中加工来自设备的数据。 T_m 取自Boltzmann曲线的拐点。将赋形剂通过涡旋在1xPBS,pH7.4或水中混合。离心除去任何不溶物质,取上清液进行测定。

[0327] 测试了以下赋形剂(标签参见图6中的图例)。

[0328] A-(-0.1°C) 8.88uM ICVD;对照在1(1xPBS pH 7.4)中

[0329] B-(0.1°C) 8.88uM ICVD;17mg/ml Avicel PH102在1(1xPBS pH 7.4)中

[0330] C-(0.5°C) 8.88uM ICVD;17mg/ml 甘露醇在1(1xPBS pH 7.4)中

[0331] D-(0.6°C) 8.88uM ICVD;8mg/ml AcDiSol在1(1xPBS pH 7.4)中

[0332] E-(1.2°C) 8.88uM ICVD;2mg/ml 硬脂酸镁在1(1xPBS pH 7.4)中

[0333] F-(0.2°C) 8.88uM ICVD;17mg/ml Avicel PH112在1(1xPBS pH 7.4)中

[0334] Avicel PH102和Avicel PH112是微晶纤维素类型,AcDiSol是交联羧甲基纤维素钠类型。

[0335] 图6显示了结果。总之,发现这些赋形剂对蛋白质的 T_m 没有影响(有害或其它),因为赋形剂暴露产生的大多数 T_m 曲线保持与对照基本相同(对照显示为 T_m 曲线‘A’)。令人惊讶的是,注意到蛋白质热稳定性在暴露于甘露醇(+0.5°C)、AcDiSol(+0.6°C)和硬脂酸镁(+1.2°C)时获得了小的改善。

[0336] 实施例6:施用于食蟹猴:不同肠道隔室和粪便中的多肽浓度

[0337] 6.1不同肠道隔室中的多肽浓度

[0338] 进行研究以评估当口服施用于食蟹猴时类似于实施例1的A批次的组合物通过肠道区域的释放特性。通过分析不同肠道隔室中的多肽浓度评估了释放特性。

[0339] 将含有11个小片的单个胶囊口服施用于三只食蟹猴中的每一只(猴子称为M234、M236和M238)。小片组成与实施例1的不同之处在于每个小片含有另外的1mg亚甲蓝(染料)和141mg剂量的ICVD。其中8个小片还含有0.7mg异丙肾上腺素。亚甲蓝染料用于通过胃肠(GI)道的溶解小片的分布的目视检查(本文未讨论),异丙肾上腺素用于监测心率的研究(本文未讨论)。

[0340] 口服给药4小时后,将动物宰杀。小心移出胃肠道,然后切割连接的不同GI隔室,收集腔内容物和洗涤液。记录未溶解和部分溶解的小片的数量,移出这些小片。然后将样品均化并冷冻至分析。将浆液于10°C以5000rpm初始离心5分钟后,从每个样品中取1ml上清液,在微量离心机中在相同温度下以13300rpm离心5分钟。然后将上清液在相同条件下再次离心,但是进行20分钟;之后,采用标准Humira竞争ELISA(Humira是抗TNF- α 抗体,也称为阿达木单抗)对它们进行分析。在含有1% BSA、0.6M NaCl、1%人AB血清、0.05%吐温20和2x蛋白酶抑制剂的PBS中制备样品和Humira和ICVD标准品的所有稀释。在GraphPad Prism中采用4参数非线性曲线拟合方程从标准曲线内插ICVD浓度。通过将最佳插值数据均值乘以上清液稀释因子得到了未稀释GI道样品和0-4h粪便上清液中的ICVD浓度。

[0341] 在M236或M238的胃、十二指肠、空肠或回肠中未发现完整的小片。在M234中,在胃中发现4个完整的小片,在十二指肠中发现1个,在空肠中发现1个。在任何猴子的任何GI道区域都没有发现部分溶解的小片。

[0342] 浆液上清液的制备需要加入大量缓冲液,这不可避免地稀释了ICVD。在图7中给出了ICVD的预期管腔浓度。假设管腔GI道内容物的比重为1,通过将上清液ICVD浓度乘以加入缓冲液的稀释倍数计算了这些。如所示那样,在一些猴GI道隔室的腔中可能存在非常高的ICVD(0.1->1mM)。

[0343] 仅在一只食蟹猴胃(M234)的内容物中检测到ICVD。在所有猴子的回肠、盲肠和上结肠的内容物中还发现了高浓度的ICVD。此外,在M234和M238的空肠内容物中也检测到高浓度(见图7)。

[0344] 最后,计算回收的%ICVD,假设4小时的实际剂量仅由已溶解的小片递送。如图8所示,占51.5%至74.9%的ICVD剂量。

[0345] 该研究已经表明,药物活性结合多肽可以以高浓度递送至食蟹猴的较下胃肠道。发现一些小片在给药后4小时保持完整表明剂量将历经一段时间递送,提供了延长暴露的可能性。如果这些发现当采用抗TNF- α 结合多肽时在IBD患者的治疗中得到反映,那么可以合理地预期,暴露于较下胃肠道的抗TNF- α 多肽的浓度将足以有效地中和TNF- α 。

[0346] 6.2 粪便中的多肽浓度

[0347] 将含有11个小片的单个胶囊口服施用于三只食蟹猴中的每一只。小片组成与实施例1的不同之处在于每个小片含有另外的1mg亚甲蓝(染料),其中8个小片还含有0.7mg异丙肾上腺素。亚甲蓝染料用于目视检查粪便中小片的溶出,异丙肾上腺素用于监测心率的研究(本文未讨论)。

[0348] 在8、12、20、24和36h收集汇集的来自猴子的粪便(在16h没有收集样品)。在任何粪便样品中均未发现小片。将它们与提取缓冲液(0.1% BSA、0.6M NaCl、0.05%吐温20、1x蛋

白酶抑制剂、5mM EDTA, 在PBS中)以1g粪便/4ml缓冲液混合, 然后均化, 在分析前将浆液在-80°C冷冻保存。目视检查显示12h、20h、24h和36h浆液有蓝色着色。先前的体外实验(未显示)已经证明, 小片溶解后亚甲蓝浓度的增加与ICVD浓度密切相关。

[0349] 将浆液解冻, 以4,000rpm(3,200g)离心5分钟以除去大部分颗粒物质。将约1ml各上清液转移至Eppendorf管中, 在微量离心机中在13.5K、10°C离心5分钟, 然后将上清液置于新管中, 在10°C离心20分钟。然后将上清液立即用于采用Humira竞争ELISA进行的ICVD测量。

[0350] 图9显示了不同粪便上清液的ELISAOD450读数。数据清楚地显示: ICVD在所有时间点均存在于粪便上清液样品中, 36h上清液可能除外(尽管在最低稀释度可能看见轻微的活性)。

[0351] 使用GraphPad Prism将这些数据对ICVD标准曲线内插并乘以所添加缓冲液的稀释因子, 得到每个粪便样品中的ICVD浓度, 假设1g粪便相当于1mL液体体积且多肽均匀分布于粪便中。这些显示于图10中。

[0352] 采用浆液体积(基于1g粪便=1ml+用于提取的缓冲液的体积来计算)测定了每个样品中的ICVD的μg量(图11)。

[0353] 总之, 实现了超过8小时的通过食蟹猴肠道的持续实质浓度的药物活性结合多肽。

[0354] 实施例7: 施用于人: 在回肠-盲肠连接处和粪便中的多肽浓度

[0355] 7.1回肠-盲肠连接处的多肽浓度

[0356] 该研究的目的是证明掺入实施例1的组合物中的药物活性结合多肽以高浓度递送至人的回肠-盲肠连接处, 回肠-盲肠连接处是克罗恩病的主要部位和许多患者肠道的克罗恩损伤的近端部位。

[0357] 四名配有末端回肠造口袋的人志愿者各自接受1665mg ICVD的单次口服剂量, 所述ICVD被配制成00号胶囊中的小片(总共9个胶囊)。在这些其它方面健康的个体中, 回肠末端的全部内容物排入可拆卸的外袋中。在给药后的每个小时时间点, 移除含有总回肠流出物的配备袋, 冷冻, 并配备新的袋子。在施用后12小时的时间期, 每小时以这种方式收集回肠造口样品。此后, 每4小时收集回肠造口样品直至给药后24小时。给药前样品(第-1天)也作为对照。在分析之前除去在袋中观察到的任何部分溶解的小片, 以便仅分析完全溶解的ICVD。从回肠液中提取ICVD, 通过功能性ELISA测定活性ICVD的浓度, 假设1g回肠液相当于1mL液体体积。

[0358] 数据显示回肠造口袋中存在高浓度的活性ICVD, 范围为200nM至1mM。此外, 对于每个对象, 历经数小时的袋变化观察到了高浓度(参见表5)。

[0359] 表5

对象	施用后的小时	回肠液中的 ICVD 浓度(nM)
31001	2	406350

[0361]	31001	3	305560
	31001	4	791
	31002	2	32780
	31002	3	1130000
	31002	4	792060
	31002	5	81750
	31002	6	12780
	31002	7	1300
	31002	8	422
	31002	9	1410
	31002	10	7520
	31002	11	10080
	31002	12	9210
	31002	16	6980
	31003	3	1060000
	31003	4	496030
	31003	5	7080
	31003	8	46110
	31003	9	75480
	31003	10	16030
	31003	11	72940
	31003	12	15870
	31003	16	881
	31004	2	126190
	31004	3	235
	31004	4	11110
	31004	5	3770
	31004	6	6730

[0362] 在来自任何对象的任何给药前(第-1天)样品中未检测到ICVD。

[0363] 总之,在这些人志愿者的回肠-盲肠连接处实现了持续和高浓度的药物活性结合多肽。

[0364] 7.2粪便中的多肽浓度

[0365] 采用实施例1中详述的组合物,给18-45岁的健康男性对象口服给予单次剂量的62、555、1665或4995mg ICVD。每个对象的每个单次剂量在第1天的8:30至12:00之间施用。在给药前(在第-1天,或在第1天给药之前)和在给药后直至第4天早晨(研究结束)的所有可

用时间收集粪便样品。从粪便中提取ICVD，通过功能性ELISA测定活性ICVD的浓度，假设1g粪便相当于1mL液体体积。

[0366] 在对象的粪便中获得了180nM至724μM范围的高浓度(参见表6)。

[0367] 表6

对象 ID	ICVD 剂量 mg	粪便样品采集日	给药前或后	粪便中的[ICVD] (nM)
11001	62	-1	给药前	0
11001		1	给药后	1013
13001	555	-1	给药前	0
13001		2	给药后	1052
13003	555	-1	给药前	0
13003		1	给药后	1938
13003		2	给药后	1511
14002	1665	-1	给药前	0
14002		1	给药后	5491
14002		2	给药后	558
14004	1665	-1	给药前	0
14004		2	给药后	27532
14006	1665	-1	给药前	0
14006		2	给药后	62579
15001	4995	-1	给药前	0
15001		1	给药后	10047
15001		2	给药后	135285
15001		3	给药后	330
15004	4995	-1	给药前	0
15004		3	给药后	273
15005	4995	1	给药前	0
15005		1	给药后	724684
15005		2	给药后	258703
15005		3	给药后	3536
15006	4995	-1	给药前	0

[0368]

15006		1	给药后	57120
15006		2	给药后	358
15006		2	给药后	186

[0369]

[0370] 通过静脉内输注或皮下注射施用临幊上用于治疗克罗恩病的抗TNF药物如阿达木单抗(Humira)和英夫利昔单抗(Remicade)。Ungar等人(2016) Clin Gastroenterol Hepatol. 14 (4) :550-557指出:在80%-90%的IBD患者中获得粘膜愈合要求阿达木单抗的

血浆谷水平为56-83nM(8-12 μ g/mL)和英夫利昔单抗的血浆谷水平为42-70nM(6-10 μ g/mL)，这可以被视为是“治疗窗口”。这些血清谷水平还显示在图7中，图7涉及上文6.1点下建立的食蟹猴胃肠道部分中的计算的管腔抗-TNF- α ICVD浓度。

[0371] 在7.1和7.2中详述的临床工作期间递送到回肠-盲肠连接处和在人志愿者的粪便中回收的抗TNF- α ICVD的浓度显著高于这些水平，因此预测作为克罗恩病的治疗是有效的。这推测，就进入/渗透肠道粘膜和粘膜下层而言，抗TNF- α ICVD的肠腔浓度与市售抗TNF药物的血清浓度相当。然而，在进一步的实验工作(未示出)中已经证明：本发明的这种抗TNF- α ICVD在DSS结肠炎小鼠中口服给药时能够渗透至固有层(lamina propria)，在此其驻留数小时，尽管在小鼠中缺乏靶标(TNF)参与。

[0372] 与上文7.1中提供的数据一起，这些结果证明了从回肠-盲肠连接处到肛门的ICVD治疗水平的成功递送。

[0373] 实施例8：施用于人：免疫原性研究

[0374] 蛋白质药物、包括治疗性抗体可以在患者中引发抗体应答。在患者中产生的识别蛋白质药物表位的抗体(多Ig类)被称为抗药物抗体(ADA)。ADA的存在可导致药物功效/效力丧失或者患者的不良反应(van Schie等人，2015)。

[0375] 进行研究以评估人持续口服施用本发明的组合物是否引起ADA应答。给18至45岁的健康男性对象每天三次口服施用含1665mg(每天总共4995mg)ICVD或安慰剂(按照实施例1配制而成小片)的胶囊，持续14天。在给药前、给药后第7天和第14天、最后在第28天(治疗停止后14天)取来自对象的血清样品。通过夹心ELISA分析这些样品中ICVD抗药物抗体(ADA)的存在。该分析显示来自4名志愿者的血清是ADA阳性，但是是低滴度的，其中两名接受的是安慰剂。在所有这些个体中，在ICVD给药之前存在一定水平的ADA(预先存在的ADA)。

[0376] 在TNF-TNFR2 ELISA中ICVD效力的分析显示，ICVD对抗TNF- α 的活性不受处于5%的所有ADA阳性人血清样品的影响。因此，在任何时间点在任何志愿者的血清中均没有发现ICVD中和ADA的证据(见表7)。

[0377] 表7

[0378]

对象 ID	活性剂或安慰剂	样品	ADA 夹心 ELISA 筛选	ADA 滴度 / 血清稀释	ICVD 中和
21001	活性剂	给药前	阴性		
21001	活性剂	第 7 天	阴性		
21001	活性剂	第 14 天	阴性		
21001	活性剂	第 28 天	阴性		
21002	活性剂	给药前	阴性		
21002	活性剂	第 7 天	阴性		
21002	活性剂	第 14 天	阴性		
21002	活性剂	第 28 天	阴性		
21003	活性剂	给药前	阴性		
21003	活性剂	第 7 天	阴性		
21003	活性剂	第 14 天	阴性		
21003	活性剂	第 28 天	阴性		
21004	安慰剂	给药前	阳性	64	无
21004	安慰剂	第 7 天	阳性	64	无
21004	安慰剂	第 14 天	阳性	64	无
21004	安慰剂	第 28 天	阳性	64	无
21005	活性剂	给药前	阳性	64	无
21005	活性剂	第 7 天	阳性	32	无
21005	活性剂	第 14 天	阳性	32	无
21005	活性剂	第 28 天	阳性	32	无
21006	活性剂	给药前	阴性		
21006	活性剂	第 7 天	阴性		
21006	活性剂	第 14 天	阴性		
21006	活性剂	第 28 天	阴性		
21007	活性剂	给药前	阴性		
21007	活性剂	第 7 天	阴性		

[0379]	21007	活性剂	第 14 天	阴性		
	21007	活性剂	第 28 天	阴性		
	21008	活性剂	给药前	阳性	4	无
	21008	活性剂	第 7 天	阳性	4	无
	21008	活性剂	第 14 天	阳性	8	无
	21008	活性剂	第 28 天	阳性	128	无
	21009	安慰剂	给药前	阳性	8	无
	21009	安慰剂	第 7 天	阳性	8	无
	21009	安慰剂	第 14 天	阳性	16	无
	21009	安慰剂	第 28 天	阳性	8	无
	21010	活性剂	给药前	阴性		
	21010	活性剂	第 7 天	阴性		
	21010	活性剂	第 14 天	阴性		
	21010	活性剂	第 28 天	阴性		

[0380] 实施例9:作为冷冻干燥的替代方案的喷雾干燥

[0381] 进行了工作以确认:在掺入本发明的组合物之前,示例性组合物中使用的ICVD可以通过喷雾干燥代替冷冻干燥来初始制备。

[0382] 为了进行喷雾干燥,将含有ICVD的溶液通过雾化器进料以产生喷雾,将其暴露于适宜的气流以促进快速蒸发。当足够的液体物质已经蒸发时,液滴中剩余的固体物质形成个体颗粒,然后使用过滤器或气旋将其与气流分离。

[0383] 将3,000mL ICVD溶液样品用于喷雾干燥过程。其由约22mg/mL ICVD在20mM乙酸钠中的溶液组成(3,000mL 20mM乙酸钠(MWt 82.0)相当于4.92g固体,在3000mL中的22mg/mL ICVD相当于66g,因此总固体=70.92g,其中93.1%为ICVD)。这种少量的缓冲组分被认为不影响喷雾干燥过程或药物物质特性。

[0384] 下表8提供了所用加工条件的细节。收集80.4g喷雾干燥物质,含水量为4.4%。因此,其含有76.86g干物质(由约66g ICVD、4.92g乙酸钠+痕量盐、碳水化合物和宿主细胞蛋白组成)。

[0385] 表8

批量(mL)	3,000
喷嘴类型	2-液体

[0387]	雾化压力(psig)	10
	液体流量(g/min)	10
	干燥气体流量(g/min)	500
	入口温度(°C)	145
	出口温度(°C)	60
	出口相对湿度(%)	15.8
	收集的干燥粉末(g)	80.4

[0388] 喷嘴细节:喷雾系统1/4J系列,1650/64液体帽/空气帽。

[0389] 由喷雾干燥的材料制造小片遵循上文讨论的关于冷冻干燥材料的标准方法。由于可用的喷雾干燥材料的量少,因此生产的小片的数量必须用相似尺寸的安慰剂小片扩大。将安慰剂小片着棕色,以区别于喷雾干燥的片剂。在首先用HPMC基底包衣、然后用Eudragit肠溶包衣进行包衣时,安慰剂的棕色着色显示对比不足,变得难以将安慰剂与活性物区分开。因此,在达到约18%的增重(相对于25%增重的目标)后,停止肠溶包衣以确保它们没有“过度包衣”。

[0390] 将由喷雾干燥材料制备的15个小片与用于增量的安慰剂小片一起填充到00号不透明粉红色HPMC胶囊中,得到185mg ICVD的标称剂量。

[0391] 对这些小片进行测试,结果详述于下表9中。

[0392] 表9

[0393]	测试	结果
	崩解(在酸中)	小片在2小时后保持完整
	崩解(在磷酸盐缓冲液中)	1小时后完全崩解
	通过RP-HPLC测定的含量	99%
	通过RP-HPLC测定的纯度	92%
	通过ELISA测定的ICVD定量	125.1%
	通过SDS-PAGE测定的ICVD纯度	100%

[0394] 另外,进行动态溶出试验。将使用喷雾干燥材料生产的小片的溶出特性与之前使用冷冻干燥材料生产的小片的溶出特性进行比较(图12)。

[0395] 在介质的pH升高导致包衣脱落之前,预期的喷雾干燥材料的溶出数据不满足最佳延期期。这是由于比这些小片上的目标包衣薄。由于该原因,图12中冷冻干燥和喷雾干燥样品的曲线已经进行了偏移,从而在两种情况下T=0都是释放起始。一旦包衣脱落,则通过喷雾干燥制备的小片芯的ICVD释放特性与通过冷冻干燥制备的小片芯的ICVD释放特性基本上相当。

[0396] 总之,可以得出结论:喷雾干燥材料在制备小片的冲压和压制步骤中处理良好,特别是所得的干燥粒状材料具有良好的流动特性。此外,由喷雾干燥材料制备的小片的动态溶出特性的药物释放部分与由冷冻干燥材料制备的小片基本上相当。

[0397] 在说明书通篇和随后的权利要求书中,除非上下文另有要求,否则用词“包含”及

其变通形式如“包括”和“含有”将被理解为暗示包括所述整数、步骤、整数集合或步骤集合，但是不排除任意其它整数、步骤、整数集合或步骤集合。在本发明的说明书通篇中提及的所有专利和专利申请均整体引入本文作为参考。本发明包括优选和更优选的组以及适宜的和更适宜的组以及上述组的实施方案的所有组合。

[0398] 参考文献

- [0399] Binz等人Journal of Molecular Biology 332(2):489-503
- [0400] Fadda H M等人Int J Pharm 2009 382(1-2):56-60
- [0401] Garbacz等人European journal of pharmaceutical sciences 2014 51:224-231
- [0402] Green和Sambrook Molecular Cloning:A Laboratory Manual 2012第4版,Cold Spring Harbour Laboratory Press
- [0403] Goyanes等人Int J Pharm 2015 484(1-2):103-108
- [0404] Griffiths等人Antibodies 2013 2:66-81
- [0405] Hamers-Casterman等人Nature 1993 363(6428):446-448
- [0406] Harmsen等人2006Applied Microbiology and Biotechnology 72(3):544-551
- [0407] Hendrickson等人Clin Microbiol Rev 2002 15(1):79-94
- [0408] Hussack等人2011PLOS ONE 6(11):e28218
- [0409] Hussan等人2012IOSR Journal of Pharmacy 2(6):2319-4219
- [0410] Kabat等人Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版U.S.Department of Health and Human Services,1991NIH出版号91-3242
- [0411] McCoy等人Retrovirology 2014 11:83
- [0412] Merchant等人Int J Pharm 2014 475(1-2):585-591
- [0413] Michael Immunol Invest 1989 18(9-10):1049-54
- [0414] Muyldermans等人Protein Eng 1994 7(9):1129-1135
- [0415] Muyldermans Annu Rev Biochem 2013 82:775-797
- [0416] Padlan Mol Immunol 1994 31:169-217
- [0417] Roux等人Proc Natl Acad Sci USA 1998 95:11804-11809
- [0418] Ungar等人Clin Gastroenterol Hepatol.2016 14(4):550-557
- [0419] van Schie等人,Ann Rheum Dis 2015 74:311-314
- [0420] Ward等人,Nature 1989 341(6242):544-546
- [0421] Ordas等人.Clin Pharmacol Ther.91(4).635-46
- [0422] Guerra和Bermejo 2014Clin Exp Gastroenterol.7:359-367

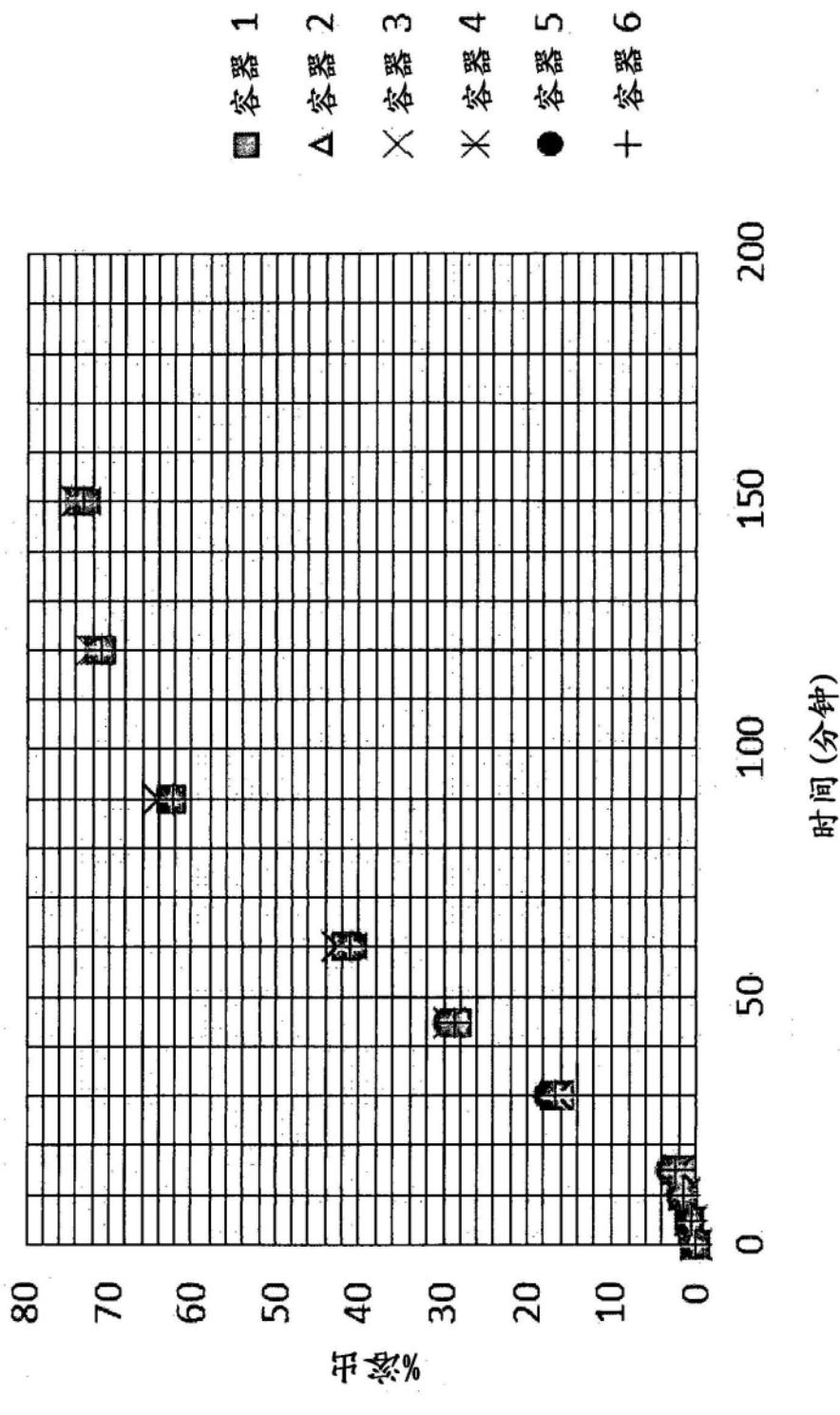


图1

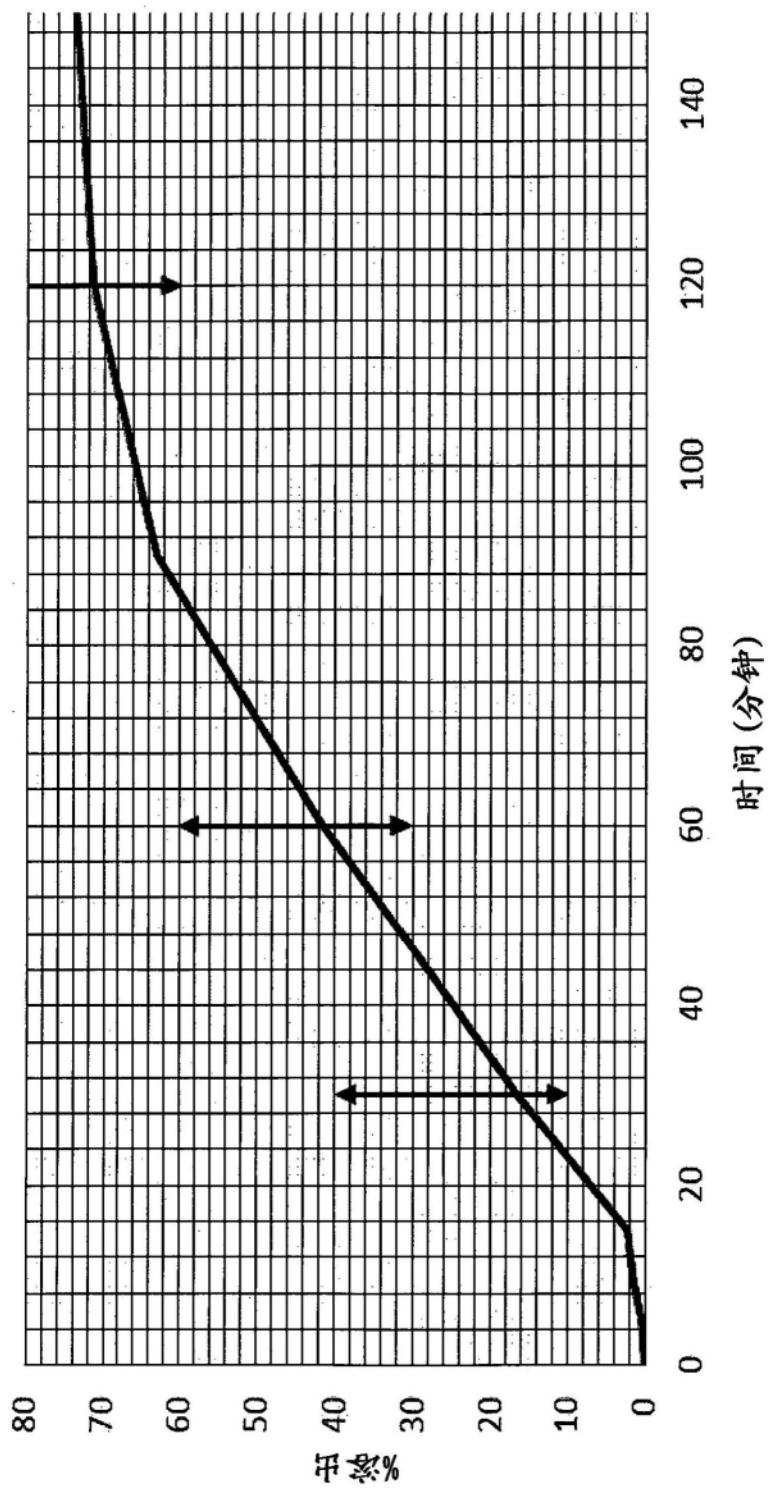


图2

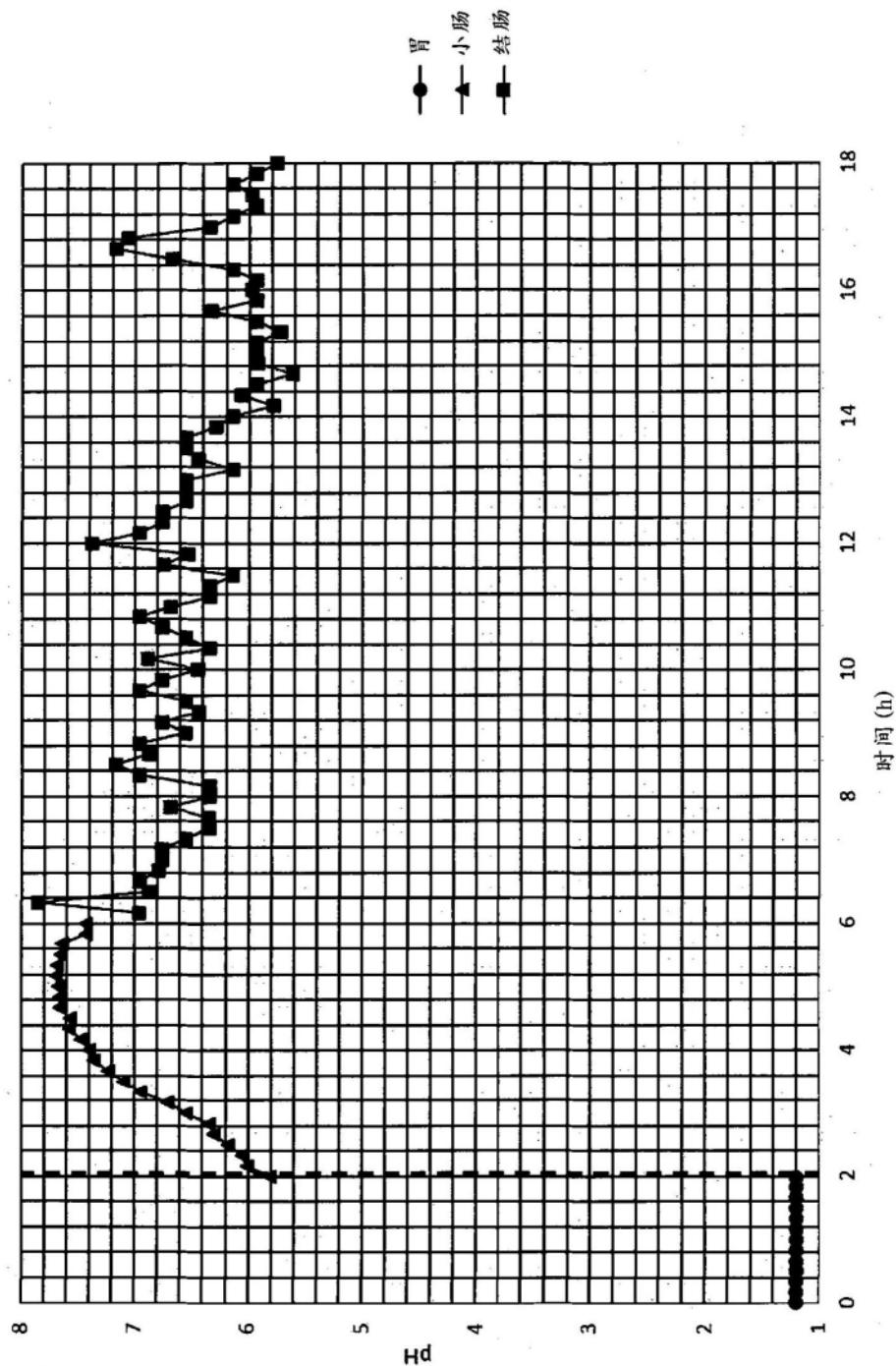


图3

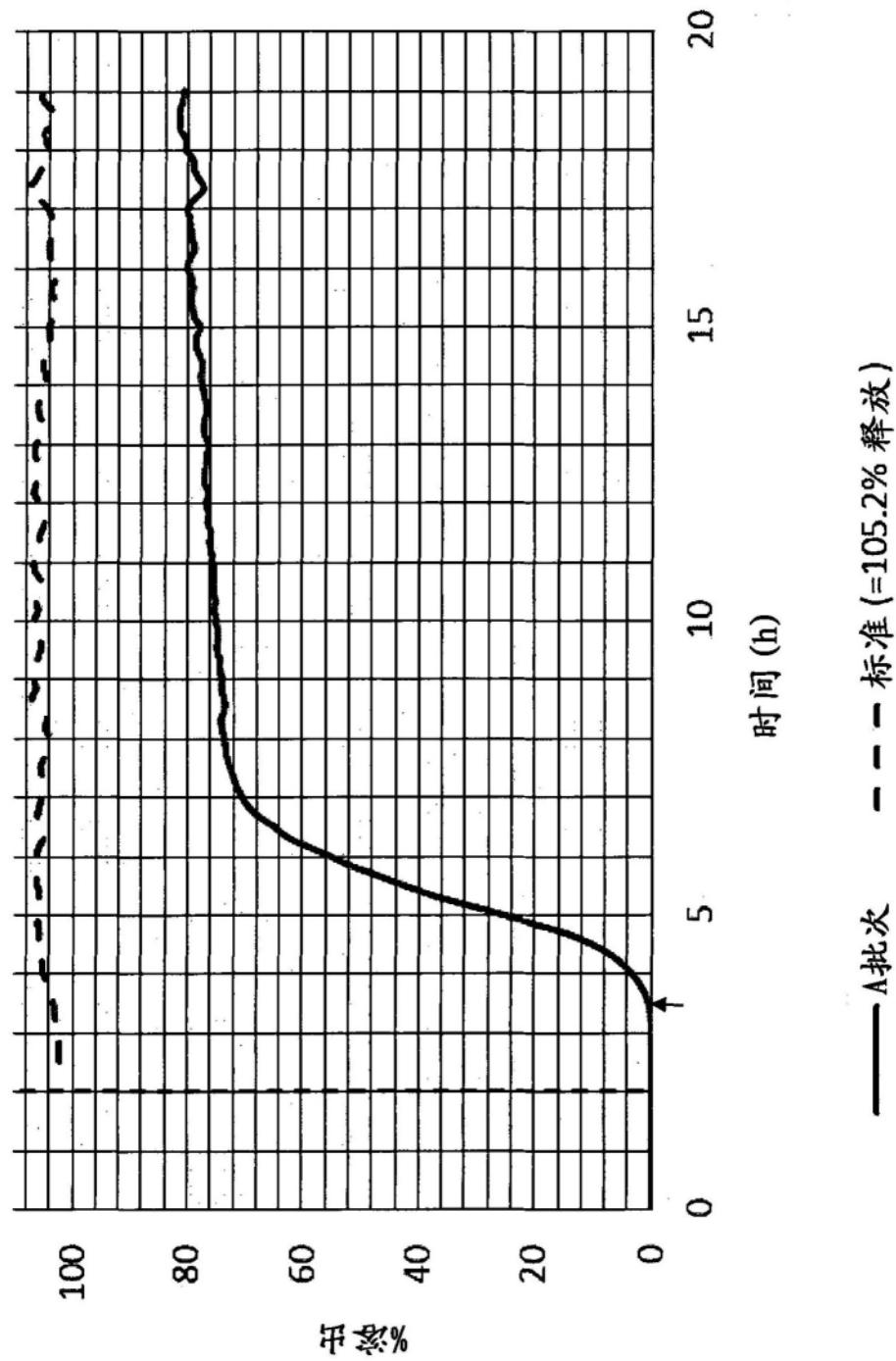


图4

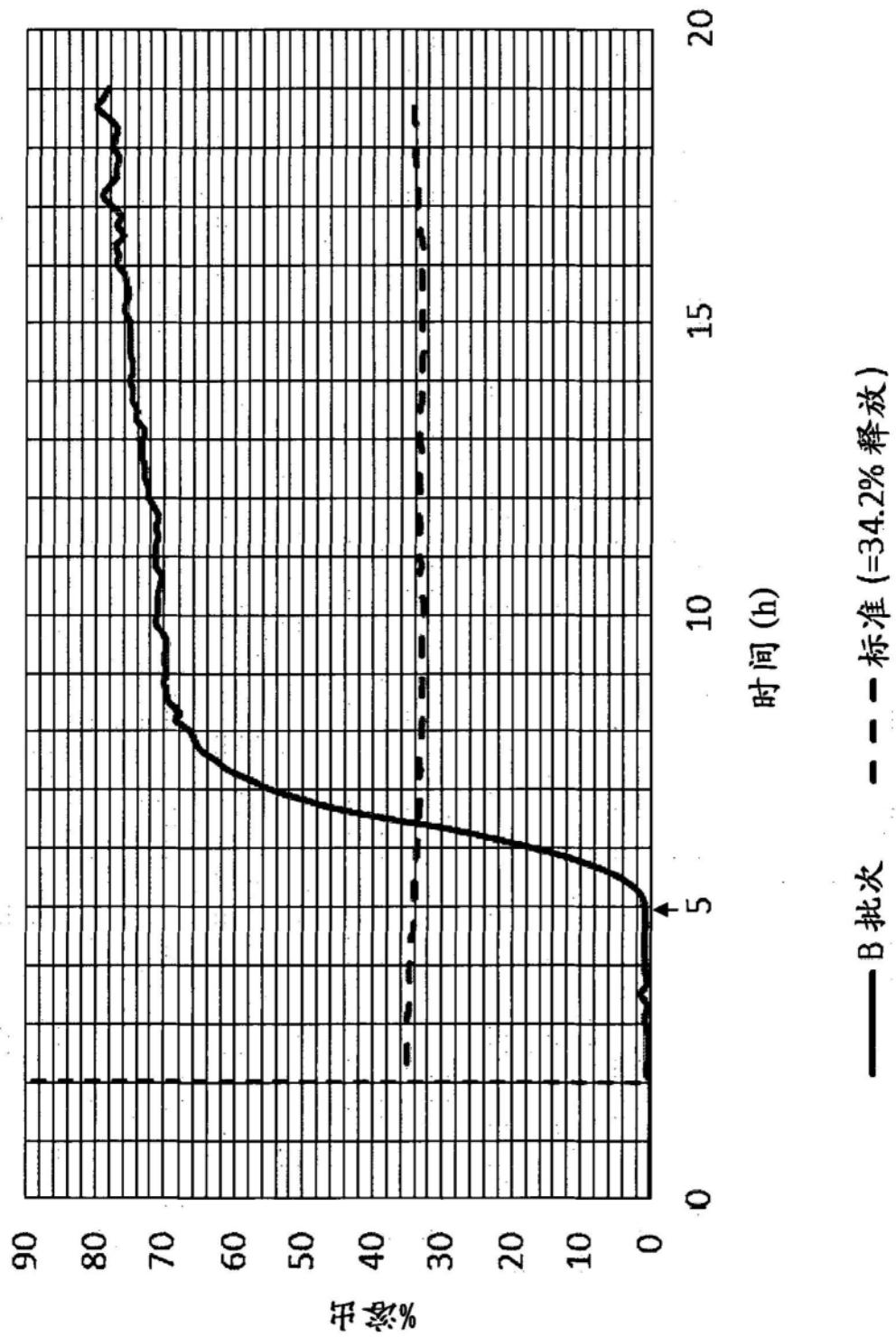


图5

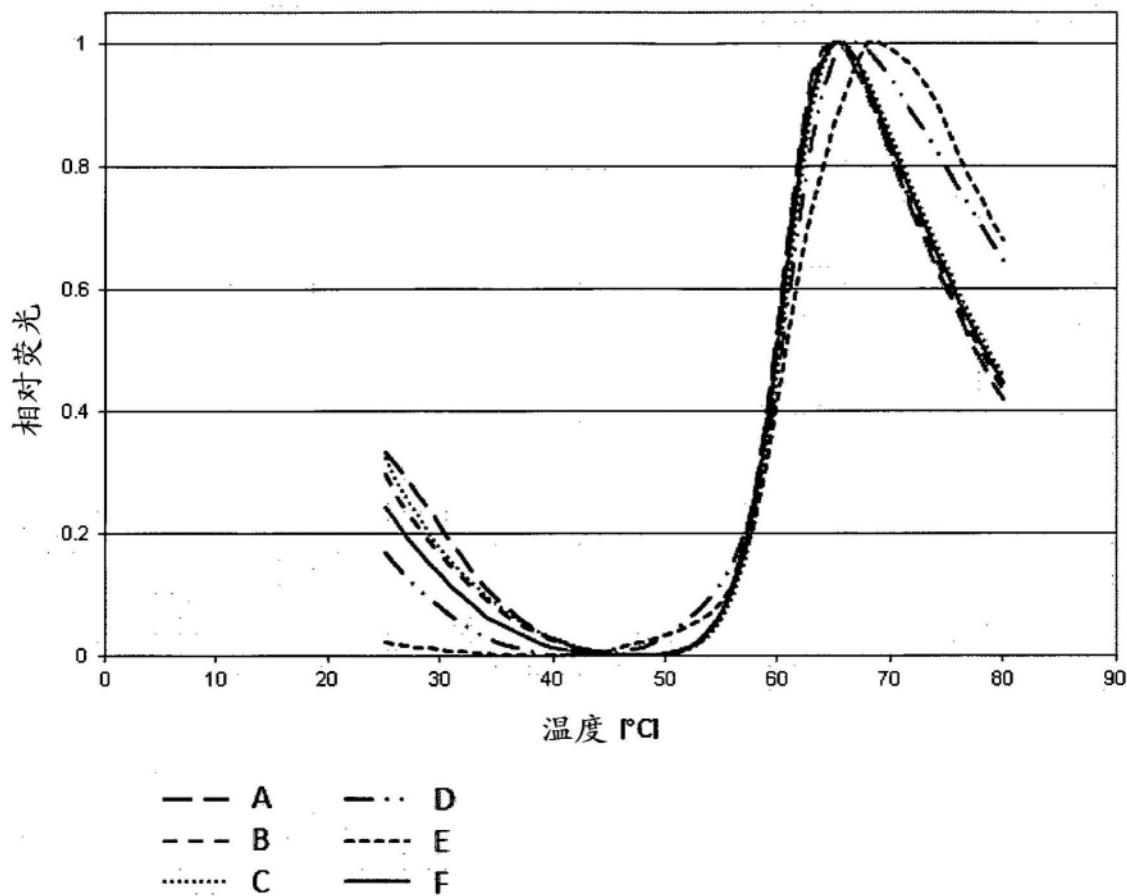


图6

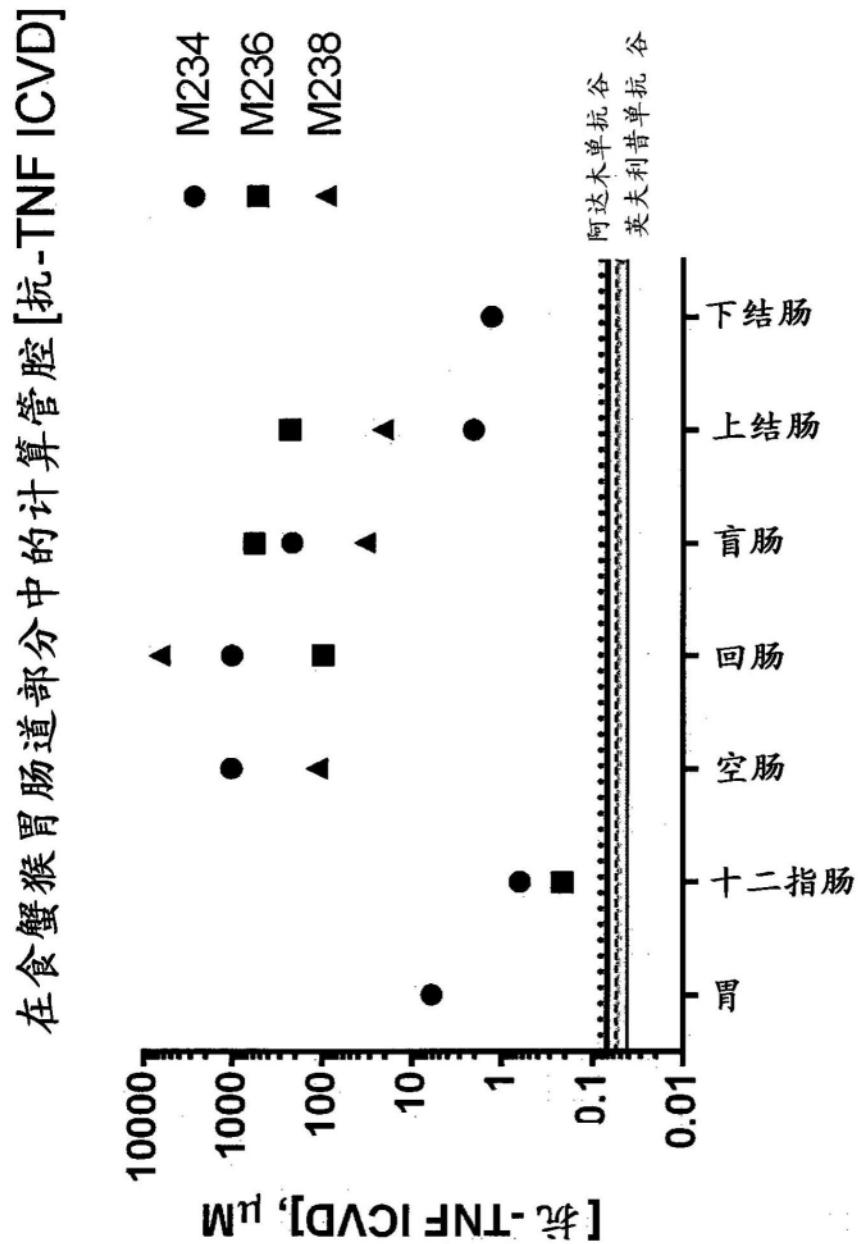


图7

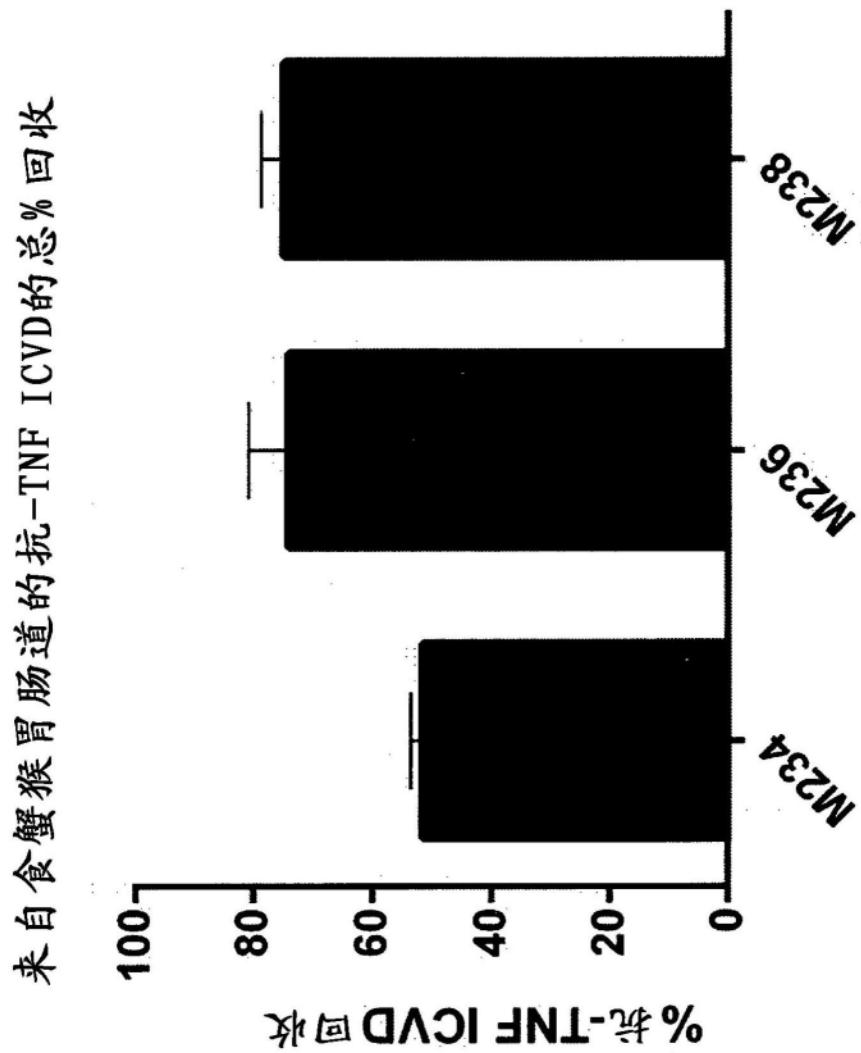


图8

Humira 竞争 ELISA OD450 数据

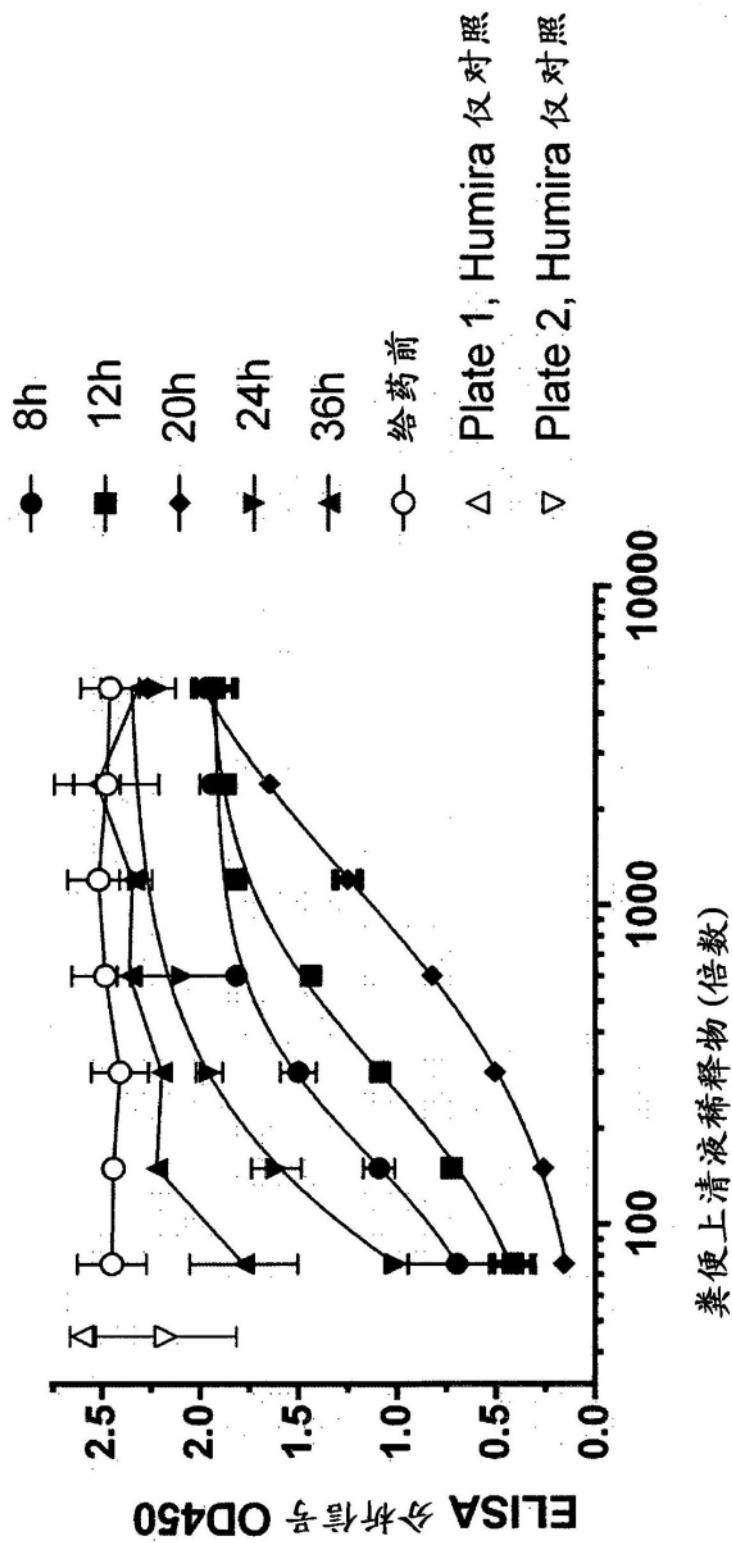


图9

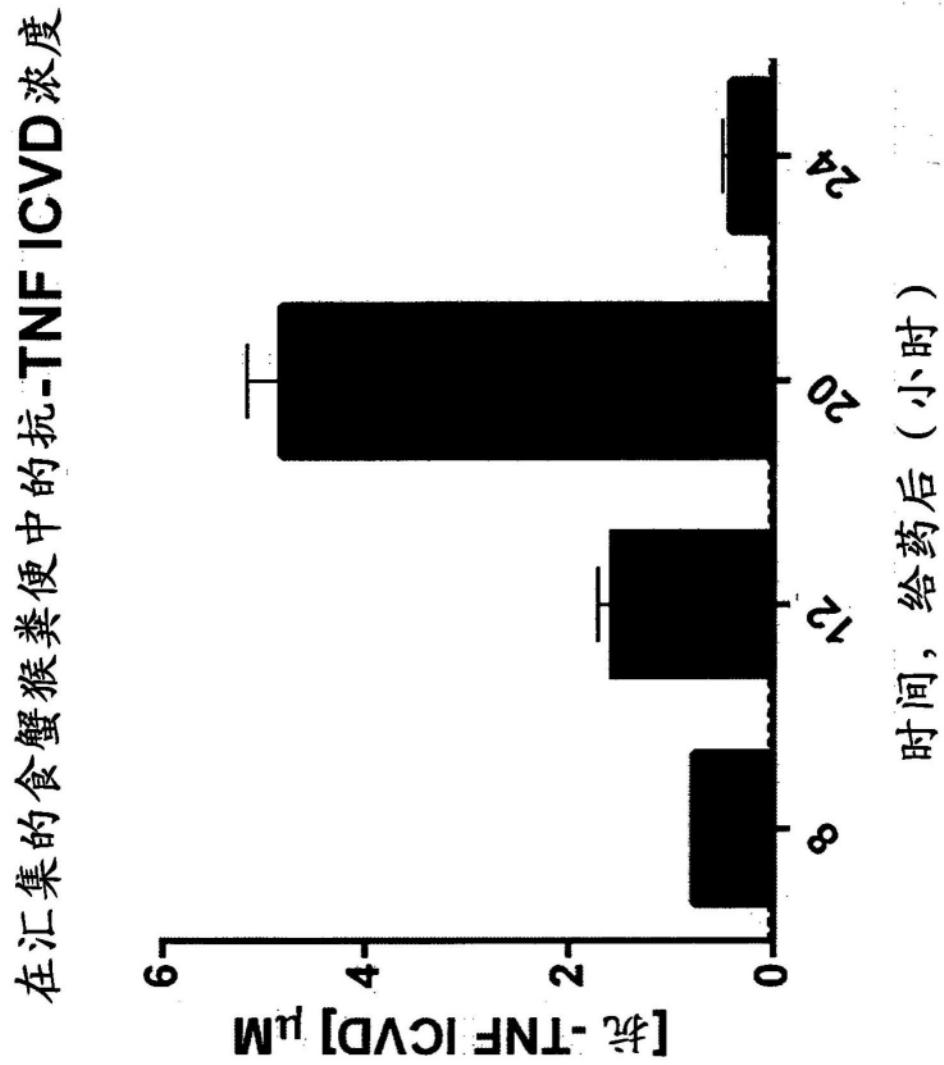


图10

从汇集的食蟹猴粪便回收的
计算 抗-TNF ICVD

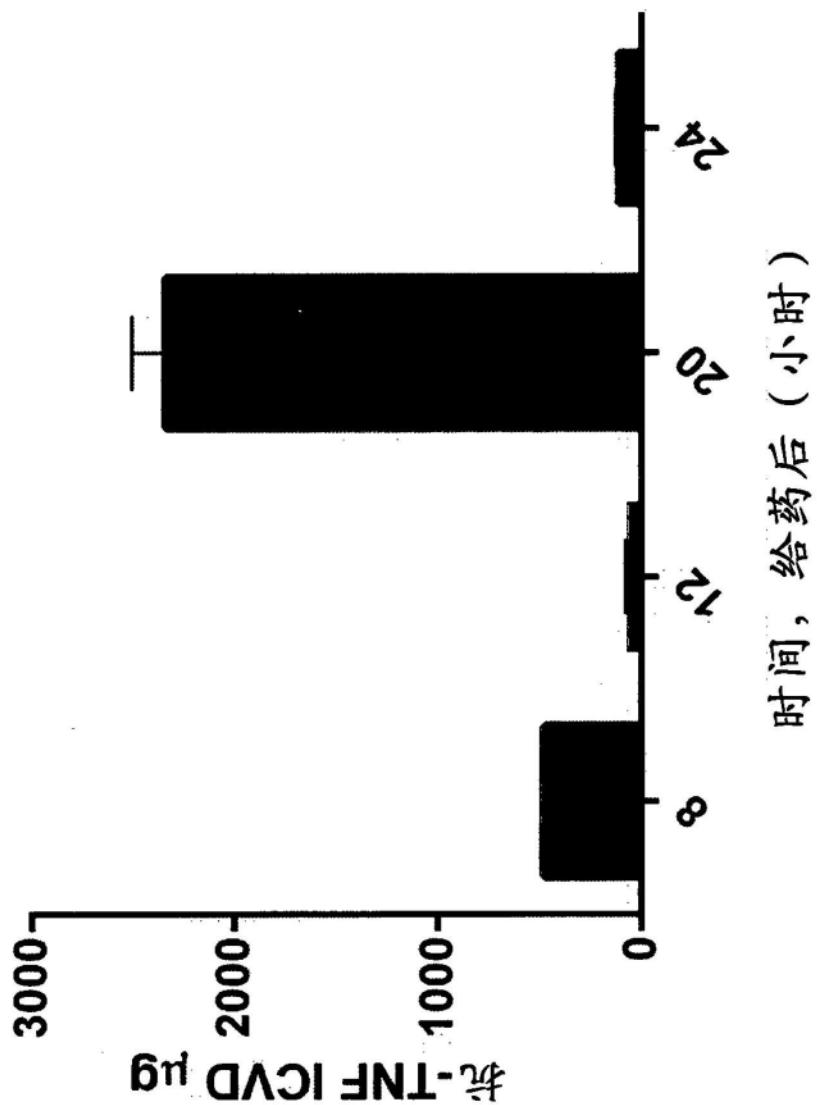


图11

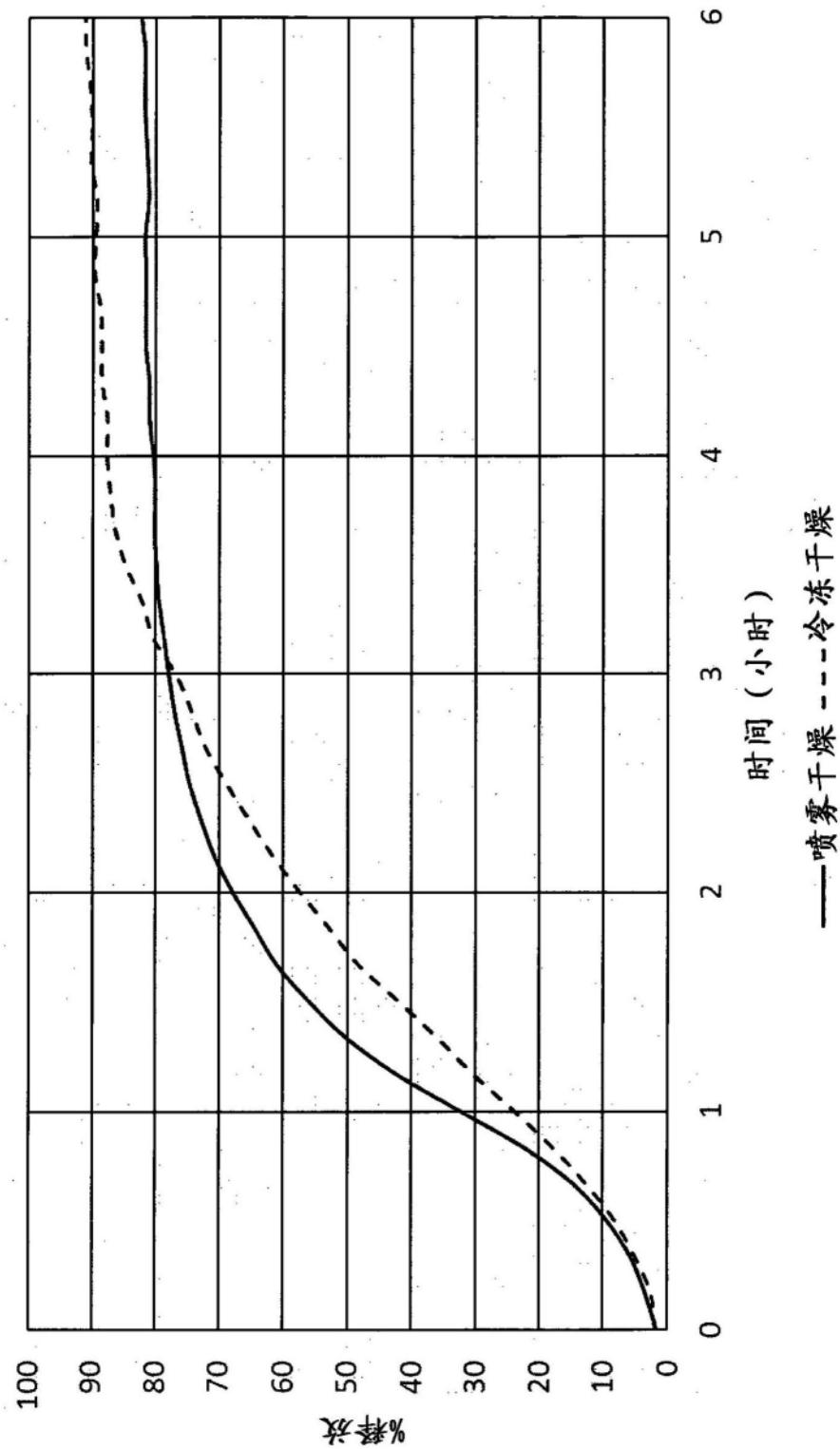


图12