



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101969928 B

(45) 授权公告日 2014. 05. 07

(21) 申请号 200880122681. 1

(22) 申请日 2008. 10. 24

(30) 优先权数据

60/982, 368 2007. 10. 24 US

60/985, 620 2007. 11. 05 US

61/022, 274 2008. 01. 18 US

61/033, 740 2008. 03. 04 US

61/052, 127 2008. 05. 09 US

61/094, 823 2008. 09. 05 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2010. 06. 24

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2008/081221 2008. 10. 24

(87) PCT国际申请的公布数据

W02009/055742 EN 2009. 04. 30

(73) 专利权人 曼金德公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 罗伯特·A·鲍格曼 彼得·理查森

唐纳德·科斯特洛

安德里亚·勒龙-贝

(74) 专利代理机构 北京东方亿思知识产权代理
有限责任公司 11258

代理人 李剑 南霆

(51) Int. Cl.

A61K 9/14 (2006. 01)

A61K 31/495 (2006. 01)

A61K 38/26 (2006. 01)

(56) 对比文件

US 6444226 B1, 2002. 09. 03, 权利要求
11-18.

W0 2006023943 A, 2006. 03. 02, 权利要求
23, 24, 26, 29, 实施例 6, 7, 13.

W0 2007033316 A, 2007. 03. 22, 权利要求
1-32.

审查员 刘启明

权利要求书1页 说明书29页 附图19页

(54) 发明名称

活性剂的递送

(57) 摘要

本文公开了向哺乳动物循环系统中引入生理学活性剂的方法。所述方法利用快速药物递送系统,所述系统防止被施用给需要治疗的患者的活性剂失活或降解。具体地,所述药物递送系统针对肺药物递送(例如通过吸入)而设计,用于将活性剂例如蛋白质和肽以治疗有效的方式递送至肺循环,避免活性剂在达到目标位点之前在外周系统和血管系统中降解。

1. 适用于肺吸入的药物组合物, 包含:
在有需要的患者中会降解的活性剂, 其中所述活性剂的有效性被所述降解降低, 并且其中所述活性剂不是胰岛素; 以及
二酮哌嗪。
2. 权利要求 1 的药物组合物, 其中所述降解发生在静脉血循环中、外周组织中、胃肠系统中或肝中。
3. 权利要求 1 的药物组合物, 其中所述二酮哌嗪是 2, 5- 二酮 -3, 6- 二 (4-X- 氨基丁基) 哌嗪或其可药用盐; 其中 X 选自琥珀酰基、戊二酰基、马来酰基和延胡索酰基。
4. 权利要求 1 的药物组合物, 其中所述药物组合物是可吸入的干粉配制物。
5. 权利要求 4 的药物组合物, 其中所述可吸入的干粉配制物还包含可药用载剂或赋形剂。
6. 权利要求 4 的药物组合物, 其中所述可吸入的干粉配制物使用干粉吸入系统通过肺吸入向所述患者提供。
7. 权利要求 1 的药物组合物, 其中所述活性剂是蛋白质或肽。
8. 权利要求 1 的药物组合物, 其中所述活性剂是内分泌激素。
9. 权利要求 8 的药物组合物, 其中所述内分泌激素是与糖尿病、高血糖和 / 或肥胖症相关的激素。
10. 权利要求 9 的药物组合物, 其中所述糖尿病是 2 型糖尿病。
11. 权利要求 1 的药物组合物, 其中所述活性剂包括 GLP-1、OXN、PYY 或其组合。
12. 在有需要的患者中会降解的活性剂和二酮哌嗪的组合在制备适用于肺吸入的药物组合物中的用途, 其中所述活性剂的有效性被所述降解降低, 并且其中所述活性剂不是胰岛素。
13. 权利要求 12 的用途, 其中所述降解发生在静脉血循环中、外周组织中、胃肠系统中或肝中。
14. 权利要求 12 的用途, 其中所述二酮哌嗪是 2, 5- 二酮 -3, 6- 二 (4-X- 氨基丁基) 哌嗪或其可药用盐; 其中 X 选自琥珀酰基、戊二酰基、马来酰基和延胡索酰基。
15. 权利要求 12 的用途, 其中所述药物组合物是可吸入的干粉配制物。
16. 权利要求 15 的用途, 其中所述可吸入的干粉配制物还包含可药用的载剂或赋形剂。
17. 权利要求 15 的用途, 其中所述可吸入的干粉配制物使用干粉吸入系统通过肺吸入向所述患者提供。
18. 权利要求 12 的用途, 其中所述活性剂是肽或蛋白质。
19. 权利要求 12 的用途, 其中所述活性剂是内分泌激素。
20. 权利要求 19 的用途, 其中所述内分泌激素是与糖尿病、高血糖和 / 或肥胖症相关的激素。
21. 权利要求 20 的用途, 其中所述糖尿病是 2 型糖尿病。
22. 权利要求 12 的用途, 其中所述活性剂包括 GLP-1、OXN、PYY 或其组合。

活性剂的递送

[0001] 与相关申请的交叉引用

[0002] 本申请基于 35U. S. C. § 119(e) 要求于 2007 年 10 月 24 日提交的美国临时申请 No. 60/982, 368 ;2007 年 11 月 5 日提交的美国临时申请 No. 60/985, 620 ;2008 年 3 月 4 日提交的美国临时申请 No. 61/033, 740 ;2008 年 5 月 9 日提交的美国临时申请 No. 61/052, 127 ;2008 年 1 月 18 日提交的美国临时申请 No. 61/022, 274 ;和 2008 年 9 月 5 日提交的美国临时申请 61/094, 823 的优先权。这些申请中每一份的整体内容都通过引用并入本文。

技术领域

[0003] 本文公开了向哺乳动物循环系统中引入生理活性成分的方法。所述方法包括下述快速药物递送系统,所述快速药物递送系统预防或减弱对患者施用的活性剂的失活或降解。具体地,所述药物递送系统针对肺药物递送(例如通过吸入)而设计,用于将活性剂以治疗有效的方式递送至肺循环。所述药物递送系统具有优于其他药物递送方法的优点,所述其他药物递送方法例如为活性剂例如蛋白质和肽的口、皮下和静脉施用,所述活性剂在达到目标位点之前对局部外周组织和血管组织中的酶促失活或降解敏感。

[0004] 发明背景

[0005] 用于治疗疾病的将活性成分引入循环中的药物递送系统是大量的,并且包括口、经皮、皮下和静脉内施用。尽管这些系统已使用了相当长的时间,并且能够递送用于治疗许多疾病的足够的药物,但是存在与这些药物递送机制相关的大量挑战。具体地,递送有效量蛋白质和肽来治疗目标疾病是有问题的。许多因素与引入正确量的活性剂有关,例如,制备适当的药物递送配制物,使得配制物含有的活性剂的量能够以有效量达到其作用位点。

[0006] 活性剂必须在药物递送配制物中稳定,并且所述配制物应当允许活性剂被吸收进循环中并保持有活性,使其能够以有效的治疗水平达到作用位点。因此,在药理学领域,能够递送稳定活性剂的药物递送系统是最为重要的。

[0007] 制造治疗上适用于治疗疾病的药物递送配制物取决于要递送给患者的活性成分或药剂的特性。这类特性可以包括但不限于溶解度、pH、稳定性、毒性、释放率、和通过正常的生理过程从体内去除的容易性。例如在口施用中,如果药剂对酸敏感,使用可药用材料开发了肠溶衣(entericcoating),所述肠溶衣能够预防活性剂在胃的低 pH(酸)中被释放。因此,使用在酸性 pH 下不溶的聚合物配制含有酸-敏感药剂的剂量,并将其递送至有中性 pH 的小肠。在中性 pH 下,聚合物涂层能够溶解释放活性剂,随后所述活性剂被吸收进肠系统循环中。口施用的活性剂进入系统循环并经过肝。在某些情况下,剂量的一些部分在达到目标组织之前在肝中被代谢和/或失活。在一些情况下,代谢产物可对患者有毒,或者可产生不想要的副作用。

[0008] 类似地,药物活性剂的皮下和静脉内施用不是没有降解和失活的。使用药物的静脉内施用时,药物或活性成分在达到目标组织之前也可以在例如肝中被代谢。使用某些活性剂(包括多种蛋白质和肽)的皮下施用时,在药物递送位点和经过静脉血流运行期间,还存在外周和血管组织酶造成的降解和失活。为了用活性剂的皮下和静脉内施用来递送能够

产生用于治疗疾病的可接受量的剂量,给药方案总是必须考虑外周和血管组织和最终肝对活性剂的失活。

发明内容

[0009] 本文公开了将活性剂引入哺乳动物循环系统的方法。所述方法包括下述药物递送系统,所述药物递送系统预防被施用给有需要的患者的活性剂的失活或降解。具体地,所述药物递送系统针对肺药物递送(例如通过吸入)而设计,用于将活性剂以治疗有效的的方式递送至肺循环。所述药物递送系统具有优于其他药物递送方法的优点,所述其他药物递送方法例如为药物制品(例如蛋白质和肽)的口、皮下和静脉施用,所述药物制品在达到目标位点之前对局部外周组织和血管组织中的酶促失活或降解敏感。

[0010] 在本文公开的一个实施方式中,公开了对有需要的患者提供活性剂的方法,所述方法包括选择会在所述患者中降解的活性剂,其中所述活性剂的有效性被所述降解降低;将所述活性剂与二酮哌嗪结合,产生适用于肺吸入的药物组合物;和对所述患者提供所述药物组合物。

[0011] 在另一实施方式中,降解发生于静脉血循环中、外周组织中、胃肠系统中或肝中。

[0012] 本文还公开了治疗疾病的方法,所述方法包括选择正在治疗下述病症的患者或患有下述病症的患者,所述病症可以通过不稳定的活性剂治疗;提供下述组合物,所述组合物包含与二酮哌嗪结合的所述不稳定的活性剂;和通过肺吸入将所述组合物施用给所述患者;从而治疗所述疾病或病症。

[0013] 在另一实施方式中,二酮哌嗪是 2,5-二酮-3,6-二(4-X-氨基丁基)哌嗪或其可药用盐;其中 X 选自琥珀酰基、戊二酰基、马来酰基和延胡索酰基。在另一实施方式中,药物组合物是可吸入的干粉配制物。还在另一实施方式中,可吸入的干粉配制物还包含可药用的载剂或赋形剂。

[0014] 在一个实施方式中,使用干粉吸入系统,通过肺吸入对患者提供可吸入的干粉配制物。

[0015] 还在另一实施方式中,活性剂是蛋白质、肽或其类似物。在另一实施方式中,活性剂是内分泌激素或其类似物。内分泌激素是与糖尿病、高血糖和/或肥胖症相关的激素。在另一实施方式中,糖尿病是 2 型糖尿病。

[0016] 在公开的方法的另一个实施方式中,对患者施用组合物的步骤包括使用包含药筒(例如单位给药药筒)的干粉吸入器对组合物进行肺施用。

附图说明

[0017] 图 1 描绘了在吸入后多个时间测量的,用含 1.5mg 胰高血糖素样肽 1 (GLP-1) 剂量的可吸入干粉配制物处理的受试者中,活性 GLP-1 的平均血浆浓度。

[0018] 图 2A 描绘了在吸入后多个时间测量的,用含 1.5mg GLP-1 剂量的可吸入干粉配制物处理的受试者中,胰岛素的平均血浆浓度。

[0019] 图 2B 描绘了与用 GLP-1 皮下施用处理的受试者相比,在吸入后多个时间测量的,用含 1.5mg GLP-1 剂量的可吸入干粉配制物处理的受试者中 GLP-1 的血浆浓度。

[0020] 图 2C 描绘了与用 50 μ g 静脉内 GLP-1 剂量处理的受试者和用皮下 GLP-1 剂量处

理的受试者相比,在吸入后多个时间测量的,用含 1.5mgGLP-1 剂量的可吸入干粉配制物处理的受试者中的血浆胰岛素浓度。

[0021] 图 3 描绘了在吸入后多个时间测量的,用含 1.5mg GLP-1 剂量的可吸入干粉配制物处理的受试者中 C-肽的平均血浆浓度。

[0022] 图 4 描绘了在吸入后多个时间测量的,用含 0.05mg、0.45mg、0.75mg、1.05mg 和 1.5mg GLP-1 剂量的可吸入干粉配制物处理的受试者中葡萄糖的平均血浆浓度。

[0023] 图 5 描绘了用含 0.05mg、0.45mg、0.75mg、1.05mg 和 1.5mg GLP-1 剂量的可吸入干粉配制物处理的患者中的平均血浆胰岛素浓度。数据显示应答肺 GLP-1 施用的胰岛素分泌是剂量依赖型的。

[0024] 图 6 描绘了用含 0.05mg、0.45mg、0.75mg、1.05mg 和 1.5mg GLP-1 剂量的可吸入干粉配制物处理的患者中的平均血浆胰高血糖素浓度。

[0025] 图 7 描绘了与皮下 (SC) 施用毒蜥外泌肽 -4 相比,通过肺吹入接受毒蜥外泌肽 (exendin)-4/FDKP (延胡索酰基二酮哌嗪) 粉末的雄性 Zucker 糖尿病肥胖 (ZDF) 大鼠中的平均血浆毒蜥外泌肽浓度。实心方块代表肺吹入毒蜥外泌肽 -4/FDKP 粉末后的应答。空心方块代表施用 SC 毒蜥外泌肽 -4 以后的应答。数据被绘制为均值 $\pm$ SD。

[0026] 图 8 描绘了与皮下施用毒蜥外泌肽 -4 相比,通过肺吹入接受空气对照、毒蜥外泌肽 -4/FDKP 粉末或 GLP-1/FDKP 粉末的雄性 ZDF 大鼠中,血葡萄糖浓度相对于基线的改变。该图还示出了组合实验,其中通过肺吹入对大鼠施用包含 GLP-1/FDKP 的吸入粉末,之后是包含毒蜥外泌肽 -4/FDKP 的吸入粉末。在该图中,闭合的菱形代表肺吹入毒蜥外泌肽 -4/FDKP 粉末后的应答。闭合的圆形代表皮下毒蜥外泌肽 -4 施用后的应答。三角形代表施用 GLP-1/FDKP 粉末后的应答。方块代表单独肺吹入空气后的应答。星形代表通过吹入给予大鼠 2mg GLP-1/FDKP 后再通过吹入施用 2mg 毒蜥外泌肽 -4/FDKP 粉末得到的应答。

[0027] 图 9A 描绘了与静脉内 (IV) 胃泌酸调节素 (oxyntomodulin) 相比,通过肺吹入接受胃泌酸调节素 /FDKP 粉末的雄性 ZDF 大鼠中的平均血浆胃泌酸调节素浓度。方块代表单独 IV 施用胃泌酸调节素后的应答。上三角形代表肺吹入 5% 胃泌酸调节素 /FDKP 粉末 (0.15mg 胃泌酸调节素) 后的应答。圆形代表肺吹入 15% 胃泌酸调节素 /FDKP 粉末 (0.45mg 胃泌酸调节素) 后的应答。下三角形代表肺吹入 30% 胃泌酸调节素 /FDKP 粉末 (0.9mg 胃泌酸调节素) 后的应答。数据被绘制为均值 $\pm$ SD。

[0028] 图 9B 描绘了通过肺吹入接受 30% 胃泌酸调节素 /FDKP 粉末 (0.9mg 胃泌酸调节素) (1)、接受 IV 注射单独的胃泌酸调节素 (1mg 胃泌酸调节素) (2);或接受空气对照 (3) 的雄性 ZDF 大鼠中累计的食物消耗。

[0029] 图 10A 描绘了与空气对照相比,通过肺吹入接受胃泌酸调节素 /FDKP 粉末的雄性 ZDF 大鼠中的平均血浆胃泌酸调节素浓度。方块代表施用空气对照后的应答。圆形代表肺吹入胃泌酸调节素 /FDKP 粉末 (0.15mg 胃泌酸调节素) 后的应答。上三角形代表肺吹入胃泌酸调节素 /FDKP 粉末 (0.45mg 胃泌酸调节素) 后的应答。下三角形代表肺吹入胃泌酸调节素 /FDKP 粉末 (0.9mg 胃泌酸调节素) 后的应答。数据被绘制为均值 $\pm$ SD。

[0030] 图 10B 描绘了来自实验的数据,所述数据示出了与空气对照 (4) 相比,通过肺吹入以不同剂量接受 30% 胃泌酸调节素 /FDKP 粉末的雄性 ZDF 大鼠中累计的食物消耗,所述不同剂量包括 0.15mg 胃泌酸调节素 (1);0.45mg 胃泌酸调节素 (2);或 0.9mg 胃泌酸调节素

(3)。数据被绘制为均值 $\pm$ SD。星号 (*) 表示统计学显著性。

[0031] 图 11 描绘了在施用单一剂量含 GLP-1 的可吸入干粉配制物后不同的时间点从六位禁食的 2 型糖尿病患者中获得的葡萄糖数值。

[0032] 图 12 描绘了图 11 的六位禁食的 2 型糖尿病患者组的平均葡萄糖数值,其中葡萄糖数值被表述为对所有六位患者而言,相对于零时间(给药)葡萄糖水平的改变。

[0033] 图 13 描绘了得自下述实验的数据,在该实验中,以包含二酮哌嗪或二酮哌嗪盐的配制物对 ZDF 大鼠施用毒蜥外泌肽 -4,其中在腹腔葡萄糖耐受测试 (IPGTT) 中通过多种施入途径(液体滴注 (LIS)、SC、肺吹入 (INS)) 提供所述毒蜥外泌肽 -4。在一组中,通过肺吹入用与 GLP-1 组合的毒蜥外泌肽 -4 处理大鼠。

[0034] 图 14 描绘了通过肺吹入接受空气对照、通过 IV 注射接受单独的肽 YY(3-36) (PYY)、通过肺滴注接受单独的 PYY、通过肺吹入接受 10% PYY/FDKP 粉末 (0.3mg PYY)、通过肺吹入接受 20% PYY/FDKP 粉末 (0.6mg PYY) 的雄性 ZDF 大鼠中的累计食物消耗。对每组而言,在给药后 30 分钟、给药后 1 小时、给药后 2 小时和给药后 4 小时测量食物消耗。数据被绘制为均值 $\pm$ SD。

[0035] 图 15 描绘了在剂量施用后多个时间处与静脉内施用的 PYY 相比,通过肺吹入施用 PYY/FDKP 粉末的雌性 ZDF 大鼠中的血葡萄糖浓度。

[0036] 图 16 描绘了与静脉内施用的 PYY 相比,通过肺吹入接受 PYY/FDKP 粉末的雌性 ZDF 大鼠中 PYY 的平均血浆浓度。方块代表静脉内施用单独的 PYY (0.6mg) 之后的应答。圆形代表液体滴注单独的 PYY (1mg) 之后的应答。下三角形代表肺吹入 20% PYY/FDKP 粉末 (0.6mg PYY) 之后的应答。上三角形代表肺吹入 10% PYY/FDKP 粉末 (0.3mg PYY) 之后的应答。指向左侧的三角形代表肺吹入单独的空气之后的应答。数据被绘制为 $\pm$ SD。

[0037] 图 17 描绘了与皮下和静脉内施用相比,通过肺吸入施用并且含有胰岛素、毒蜥外泌肽、胃泌酸调节素或 PYY 的本发明配制物的相对药物暴露 (relative drug exposure) 和相对生物效应 (relative bioeffect)。

[0038] 图 18 描绘了施用多种吸入的 GLP-1 和对照配制物的患者中的平均 GLP-1 血浆水平。

[0039] 图 19 描绘了施用多种吸入的 GLP-1 和对照配制物的患者中的血浆胰岛素水平。

[0040] 图 20 描绘了在施用多种吸入的 GLP-1 和对照配制物的患者中,应答吸入的 GLP-1 配制物的胃排空。

[0041] 术语定义

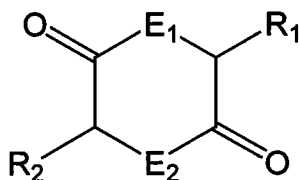
[0042] 在阐述本发明之前,提供下文中将使用的某些术语的理解可能是有帮助的:

[0043] 活性剂:在本文中使用时,“活性剂”是指药物、药物物质和生物活性剂。活性剂可以是有机大分子,包括核酸、合成的有机化合物、多肽、肽、蛋白质、多糖和其他糖,和脂质。肽、蛋白质和多肽均为通过肽键连接的氨基酸链。肽通常被认为少于 40 个氨基酸残基,但是可以包含更多。蛋白质是典型地含有多于 40 个氨基酸残基的多聚体。如本领域已知和本文中所使用的术语“多肽”可以表示肽、蛋白质或任意长度的含有多个肽键的任何其他氨基酸链,但是通常含有至少 10 个氨基酸。活性剂可属于大量生物活性类别,例如血管活性剂、神经活性试剂、激素、抗凝血剂、免疫调节剂、细胞毒素剂、抗生素、抗病毒剂、抗原和抗体。更具体地,活性剂可以包括但不限于胰岛素及其类似物、生长激素、甲状旁腺素 (PTH)、

生长素释放肽、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、高血糖素样肽 1 (GLP-1) 和这些肽的类似物, 得克萨斯红 (Texas Red), 炔, 环孢菌素, 氯吡格雷和 PPACK (D- 苯丙氨酰基-L- 脯氨酰-L- 精氨酸氯甲基酮), 抗体及其片段, 包括但不限于: 人源化的或嵌合的抗体; F(ab)、F(ab)2 或单链抗体 (单独的或与其他多肽融合); 针对癌症抗原的治疗或诊断性单克隆抗体、细胞因子、传染剂、炎症介质、激素和细胞表面抗原。在一些情况下, 术语“药物”和“活性剂”可互换使用。

[0044] 二酮哌嗪: 本文使用的“二酮哌嗪”或“DKP”包括落入通式 1 范围内的二酮哌嗪及其盐、衍生物、类似物和经修饰物, 其中在位置 1 和 4 上的环原子 E₁ 和 E₂ 为 O 或 N, 并且分别位于位置 3 和 6 的侧链 R₁ 和 R₂ 中至少一个包含羧酸 (羧化物) 基团。根据式 1 的化合物包括, 但不仅限于二酮哌嗪、吗啉二酮和二氧六环二酮 (diketodioxane) 及其取代类似物。

[0045]



[0046] 式 1

[0047] 除了可用于制造空气动力学合适的微粒外, 二酮哌嗪还通过在生理 pH 下快速溶解从而释放活性剂并加速其进入循环的吸收来有助于活性剂的递送。二酮哌嗪可形成包含药物的颗粒, 或药物可被吸附在其上的颗粒。药物和二酮哌嗪的组合可赋予经改善的药物稳定性。这些颗粒可通过多种施用途径施用。作为干粉, 这些颗粒可根据颗粒大小通过吸入呼吸系统的特定区域而被递送。另外, 所述颗粒可做得足够小, 以用于掺入静脉的悬浮液剂型中。也可用被掺入悬浮液、药片或胶囊的颗粒口服递送。

[0048] 在一个实施方式中, 二酮哌嗪是 3,6-二(富马酰-4-氨基丁基)-2,5-二酮哌嗪(富马酰二酮哌嗪, FDKP)。FDKP 可包含以其酸形式或盐形式的微粒, 所述微粒可以在悬浮液中被雾化或施用。

[0049] 在另一实施方式中, DKP 是 3,6-二(4-氨基丁基)-2,5-哌嗪二酮(其可通过(热)缩合氨基酸赖氨酸形成)的衍生物。示例性的衍生物包括 3,6-二(琥珀酰-4-氨基丁基)-、3,6-二(马来酰-4-氨基丁基)-、3,6-二(戊二酰-4-氨基丁基)-、3,6-二(丙二酰-4-氨基丁基)-、3,6-二(乙二酰-4-氨基丁基)-和 3,6-二(延胡索酰-4-氨基丁基)-2,5-哌嗪二酮。DKP 用于药物递送的用途为本领域已知(参阅例如 U. S. 专利 Nos. 5, 352, 461、5, 503, 852、6, 071, 497 和 6, 331, 318, 其中每份资料的有关哌嗪二酮和哌嗪二酮介导的药物递送所教导的全部内容, 通过引用并入本文)。DKP 盐的用途描述于 2005 年八月 23 日提交的共同未决的 U. S. 专利申请 No. 11/210, 710 中, 其关于哌嗪二酮盐所教导的全部内容通过引用并入本文。使用 DKP 微粒的肺药物递送公开于 U. S. 专利 No. 6, 428, 771, 其通过引用整体并入本文。与结晶 DKP 颗粒上活性剂吸附相关的其他细节可参阅共同未决的美国专利申请 Nos. 11/532, 063 和 11/532, 065 中, 所述资料通过引用整体并入本文。

[0050] 药物递送系统: 本文使用“药物递送系统”表示用于递送一种或多种活性剂的系

统。

[0051] 干粉：本文使用“干粉”是指未悬浮于或溶解于推进剂、载体或其它液体中的精细微粒组合物。其并非旨在表示必须完全不含任何水分子。

[0052] 早期：本文使用“早期”是指应答于进餐而被诱导的血胰岛素浓度的迅速上升。应答于进餐的该早期胰岛素上升有时被称为第一期。在更近期的来源中，第一期有时被用于表示与进餐相关的应答相区别的，可用推注 IV 注射葡萄糖实现的血胰岛素浓度动态曲线的更迅速上升。

[0053] 内分泌疾病：内分泌系统是从腺体释放激素来提供特异性化学信使以及传递消息并作用于所述消息的信息信号系统，所述信使调节生物的许多不同功能，例如情绪、生长和发育、组织功能和代谢。内分泌系统的疾病包括但不限于糖尿病、甲状腺疾病和肥胖症。内分泌疾病的特征是失调的激素释放（增生性垂体腺瘤 (productive pituitary adenoma)）、对信号转导的不适当应答（甲状腺功能减退症）、腺体缺乏或破坏（1 型糖尿病、慢性肾衰竭中减少的红细胞生成）、对信号转导的降低的应答性（2 型糖尿病的胰岛素抗性）、或关键位点例如颈的结构扩大（毒性多结节甲状腺肿 (toxic multinodular goiter)）。内分泌腺体的机能减退可由于储量损失、分泌过少、发育不全、萎缩或活性破坏引起。机能亢进可由分泌过多、阻抑损失、增生或新生物改变或过度刺激 (hyperstimulation) 引起。术语内分泌紊乱 (endocrine disorder) 包括代谢紊乱。

[0054] 偏移：本文使用“偏移”可以表示变成高于或低于餐前基线或其它起点的血葡萄糖浓度。偏移通常被表示为血葡萄糖随时间进展图曲线下的面积 (AUC)。AUC 可以以多种方式表示。在一些情况下，会存在高于或低于基线的改变，产生正的或负的面积。一些计算会从正的 AUC 中减去负的 AUC，而另一些计算会将它们的绝对值相加。正的 AUC 和负的 AUC 还可单独考虑。也可使用更高级的统计学评估。在一些情况下，其还可以指上升或下降至正常范围外的血葡萄糖浓度。正常的血葡萄糖浓度通常为禁食个体在 70 和 110mg/dL 之间，进餐后两小时少于 120mg/dL 和进餐后小于 180mg/dL。尽管在本文中偏移在血葡萄糖方面描述，在其他语境中该术语可类似地应用于其他代谢物。

[0055] 葡萄糖消除速率：本文使用“葡萄糖消除速率”是葡萄糖从血中消失的速率。其通常由维持稳定血葡萄糖（研究周期中通常在 120mg/dL 左右）所需的葡萄糖输注量确定。该葡萄糖消除速率等于缩写为 GIR 的葡萄糖输注速率。

[0056] 高血糖：本文使用的“高血糖”是高于正常禁食的血葡萄糖浓度，通常为 126mg/dL 或更高。在一些研究中，高血糖发作定义为超过 280mg/dL (15.6mM) 的血葡萄糖浓度。

[0057] 低血糖：本文使用的“低血糖”是低于正常血葡萄糖的浓度，通常低于 63mg/dL (3.5mM)。临床相关低血糖定义为低于 63mg/dL 或引起患者例如张力过低、潮红或虚弱的症状（其被识别为低血糖的症状并在适当的能量摄入后消失）的血葡萄糖浓度。严重的低血糖定义为需要胰高血糖素注射、葡萄糖输注或他人帮助的低血糖发作。

[0058] 接近：本文与进餐相关时使用的“接近”是指接近开始进餐或点心时间的时间段。

[0059] 微粒：本文使用术语“微粒”包括直径通常为 0.5 到 100 微米的颗粒，尤其是直径小于 10 微米的微粒。多种实施方式会需要更特定的尺寸范围。微粒可以是如通过 DKP 酸的 pH 受控沉淀所制造的典型的具有不规则表面和内部空隙的晶片 (crystalline plate) 的集合。在这类实施方式中，可以通过沉淀步骤将活性剂捕获或涂布在微粒的晶体表面上。

微粒也可以是由 DKP 盐组成的球形壳或塌陷的 (collapsed) 球形壳, 活性剂分散于其中各处。典型地, 这类颗粒可以通过喷雾干燥 DKP 与活性剂的共溶液来获得。这类颗粒中的 DKP 盐可以是无定形的。前文的描述应当被理解为示范性的。该术语还考虑和包括了其他形式的微粒。

[0060] 肥胖症: 是一种病症, 其中过量的身体体脂累积至可不利影响健康的程度。肥胖症典型地通过 BMI (体重指数) 评价, 其具有大于 30kg/m^2 的 BMI。

[0061] 外周组织: 本文使用“外周组织”表示与器官或血管相连的任何结缔组织或间质组织 (interstitial tissue)。

[0062] 近餐的 (periprandial): 本文使用“近餐的”是指摄入膳食或点心之前不久开始和之后不久结束的时间段。

[0063] 餐后的: 本文使用“餐后的”是指摄入膳食或点心之后的时间段。本文使用晚期餐后是指摄入膳食或点心后 3、4 或更多小时的时间段。

[0064] 增强 (potentiation): 通常, 增强是将一些药剂的效力或活性提高至其所能到达的水平上的条件或作用。相似地, 其可直接指经提高的状态或活性。本文使用“增强”尤其是指经提高的血胰岛素浓度扩大随后的胰岛素水平例如提高葡萄糖消除速率的效率的能力。

[0065] 餐食的 (prandial): 本文使用的“餐食的”是指膳食或点心。

[0066] 餐前的 (preprandial): 本文使用“餐前的”是指摄入膳食或点心之前的时间段。

[0067] 肺吸入 (pulmonary inhalation): 本文使用“肺吸入”用于表示通过吸入施用药物制剂, 使得它们到达肺, 尤其是到达肺的肺泡区的具体实施方式。典型地, 吸入通过口进行, 但是在替代性的实施方式中其可表示通过鼻吸入。

[0068] 发明详述

[0069] 本文公开了治疗疾病或病症的方法, 所述方法利用下述药物递送系统, 所述药物递送系统有效地将活性剂递送至肺循环, 使得活性剂进入肺循环并且可以治疗量被递送至作用位点。治疗疾病或病症的方法包括对需要治疗的患者施用下述配制物, 所述配制物能够将活性剂直接递送进肺循环并从而达到动脉循环, 并且可以避免活性剂 (例如肽) 被肺的局部外周和 / 或脉管组织中的酶或其他机制降解。在一个实施方式中, 所述方法包括使用下述药物递送系统进行活性剂的有效治疗递送, 所述药物递送系统允许非常快速地将活性剂吸收进循环中并提高其有效的生物利用率。在这一实施方式中, 可以通过所述施用方法递送更低剂量的活性剂。在类似的实施方式中, 可以在通过其他施用方式不可行的情况下达到有效剂量。

[0070] 在本文的实施方式中公开了用于治疗疾病的方法, 所述疾病包括内分泌疾病, 例如糖尿病、高血糖和肥胖症。本发明人认识到以非侵入性方式将药物直接递送至全身循环 (尤其是动脉循环) 使得药物在通过静脉系统返回之前达到目标器官的需要。与通过静脉内、皮下或其他肠胃外途径的可比较的施用的结果相比, 该途径可反常地导致更高的对活性剂的峰值目标器官暴露。与口施用相比可以获得类似的优点, 因为即使使用在消化道中提供降解保护的配制物时, 吸收后活性剂也会进入静脉循环。

[0071] 在一个实施方式中, 药物递送系统可以与任何类型的下述活性剂一起使用, 所述活性剂在与任何其他施用途径 (例如口、静脉内、经皮和皮下施用) 所遭遇的外周或血管静

脉组织中的局部降解酶或其他降解机制（例如蛋白质或肽的氧化、磷酸化或任何修饰）直接接触时被迅速地代谢和 / 或降解。在该实施方式中，所述方法可包含鉴定和选择下述活性剂的步骤，所述活性剂的活性通过口、皮下或静脉内施用被代谢或降解。例如，由于不稳定性，GLP-1 的皮下注射未在血中导致有效水平的 GLP-1。这与可以通过这类施用方式有效递送的肽（例如胰岛素）不同。

[0072] 在某些实施方式中，治疗疾病或病症的方法包括下述步骤：选择用于吸入的合适载剂并将活性物质递送至肺泡。在这一实施方式中，载剂可与一种或多种活性剂结合形成药物 / 载剂复合物，其可以作为避免活性剂在肺外周和血管静脉组织中快速降解的组合物来施用。在一个实施方式中，载剂是二酮哌嗪。

[0073] 本文所述方法可以被用于递送许多类型的活性剂，包括生物制品 (biologicals)。在具体的实施方式中，所述方法利用有效地将治疗量的活性剂（包括肽激素）快速递送进动脉循环中的药物递送系统。在一个实施方式中，一种或多种活性剂包括但不限于对降解或失活敏感的肽，例如胰高血糖素样肽 1 (GLP-1)、蛋白质、lipokines、小分子药物制剂、核酸等等；将活性剂配制成包含二酮哌嗪的干粉组合物，并使用药筒和干粉吸入器通过肺吸入将活性剂递送进全身性循环中。在一个实施方式中，所述方法包括选择对例如真皮或肺的局部血管或外周组织中的酶敏感的肽。本发明的方法允许活性剂避免或减少与外周组织、静脉或肝代谢 / 降解的接触。在另一实施方式中，对全身性递送而言，活性剂应当在肺里没有特异性受体。

[0074] 在替代性的实施方式中，药物递送系统也可以被用于递送天然存在的、重组或合成来源的用于治疗病症或疾病的治疗性肽或蛋白质，包括但不限于脂联蛋白、胆囊收缩素 (cholecystokinin, CCK)、胰泌素 (secretin)、胃泌素 (gastrin)、胰高血糖素、促胃动素、生长抑素 (somatostatin)、脑利钠肽 (brain natriuretic peptide, BNP)、心房利钠肽 (atrial natriuretic peptide, ANP)、甲状旁腺激素 (parathyroid hormone)、甲状旁腺激素相关肽 (PTHrP)、IGF-1、生长激素释放因子 (GHRF)、粒细胞 - 巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、抗 -IL-8 抗体、IL-8 拮抗剂（包括 ABX-IL-8）；整联蛋白 β -4 前体 (ITB4) 受体拮抗剂、脑啡肽、痛敏肽 (nociceptin)、痛稳素 (nocistatin)、孤啡肽 FQ2、降钙素、CGRP、血管紧张素、P 物质、神经激肽 A、胰多肽、神经肽 Y、 δ -睡眠 - 诱导肽、前列腺素 (prostaglandins)（包括 PG12）、LTB 受体阻滞剂（包括 LY29311、BIIL 284、CP105696）；血管活性肠肽 (vasoactive intestinal peptide)；普坦类 (triptans)（如舒马普坦）和 lipokines（如 C16 : 1n7）或棕榈油酸酯 (palmitoleate) 或其类似物。还在另一实施方式中，活性剂是小分子药物。

[0075] 在一个实施方式中，治疗方法涉及使用例如下述配制物治疗糖尿病、高血糖和 / 或肥胖症，所述配制物包含单独或彼此组合或与一种或多种其他活性剂组合的胰高血糖素样肽 1 (GLP-1)、胃酸调节素 (OXA) 或肽 YY(3-36) (PYY)。在一个实施方式中，治疗方法包括施用不含有 GLP-1 的配制物。

[0076] 肠降血糖素 (incretin) 激素 GLP-1 和胃抑制性多肽 (GIP) 由肠的内分泌细胞在摄入食物后生产。GLP-1 和 GIP 刺激胰腺中胰岛 β 细胞分泌胰岛素。在糖尿病状态下只有 GLP-1 引起胰岛素分泌；然而，通过注射递送时 GLP-1 蛋白质自身作为糖尿病的临床治疗是无效的，因为其具有非常短的体内半衰期。依森泰德 (exenatide) (**BYETTA[®]**) 是一种 39

个氨基酸的肽,是具有葡萄糖调节作用的胰岛素促分泌剂,其与 GLP-1 具有 50% 的氨基酸同源性并且具有更长的体内半衰期。依森泰德是在 Gila monster 毒蜥的唾液中发现的毒蜥外泌肽 -4 的合成版本。

[0077] 在一个示范性的实施方式中,用于治疗肥胖症、糖尿病和 / 或高血糖的方法包括对需要治疗的患者施用包含 GLP-1 的干粉组合物或配制物,所述干粉组合物或配制物刺激胰腺 β - 细胞快速分泌内源胰岛素而不引起想要的副作用例如大量出汗、恶心和呕吐。在一个实施方式中,治疗疾病的方法可以在单一剂量的配制物中以范围从约 0.02 到约 3mg 的剂量应用于患有肥胖症、2 型糖尿病和 / 或高血压的患者 (包括哺乳动物)。可以设计治疗高血糖、糖尿病和 / 或肥胖症的方法,使得患者能够在接近膳食或点心时接受至少一剂的 GLP-1 配制物。在这一实施方式中,可以根据患者的需求选择 GLP-1 的剂量。在一个实施方式中,在治疗患有 2 型糖尿病的患者时,GLP-1 的肺施用可包含例如大于 3mg 的 GLP-1 剂量。

[0078] 在本发明的实施方式中,GLP-1 配制物通过吸入 (例如通过肺施用) 施用。在这一实施方式中,肺施用可以通过在用于吸入的干粉配制物中提供 GLP-1 来完成。干粉配制物是稳定的组合物,并且可以包含下述微粒,所述微粒适用于吸入并且在肺中快速溶解并将 GLP-1 快速递送至肺循环。用于肺施用的合适颗粒尺寸可以是直径小于 $10\text{ }\mu\text{m}$, 优选地小于 $5\text{ }\mu\text{m}$ 。能够达到肺泡的示范性的颗粒尺寸是直径范围从约 $0.5\text{ }\mu\text{m}$ 到约 $5.8\text{ }\mu\text{m}$ 。这样的尺寸特别表示空气动力学直径,但是通常也同样对应于实际的物理直径。这类颗粒能够达到肺毛细管,并且可以避免与肺中的外周组织广泛接触。在这一实施方式中,药物可以以快速方式被递送至动脉循环,并且避免活性成分在体内达到目标或作用位点之前被酶或其他机制降解。在一个实施方式中,包含 GLP-1 和 FDKP 的用于肺吸入的干粉组合物可包含微粒,其中从约 35% 到约 75% 的微粒具有小于 $5.8\text{ }\mu\text{m}$ 的空气动力学直径。

[0079] 本发明多个实施方式中描述的递送方法可以提供到达活性剂作用位点的更直接的路径。因此,除了避免降解以外 (尽管在一些情况下仍然部分归因于此),活性剂的生物分布 (biodistribution) 可区别于用下述递送模式所实现的生物分布,所述递送模式使得在到达体内作用位点之前必须吸收进静脉循环并通过静脉循环移动。因此,使用本公开的实施方式时,进行静脉血取样来测定活性剂浓度可能低估作用位点处活性剂的浓度,而作为比较,使用其他施用模式时可能高估。活性剂越不稳定,该效应越显著。对于具有多种效应和作用位点的活性剂例如 GLP-1 而言,可以观察到不同的一系列效应,因为不同作用位点的相对浓度会与使用其他施用模式所达到的浓度不同。这可进一步有助于更大的有效生物利用率、避免不想要的效应等等。

[0080] 在一个实施方式中,所述方法使用的干粉配制物包含下述颗粒,所述颗粒包含 GLP-1 分子和二酮哌嗪或其可药用盐。在这一实施方式和其他实施方式中,本发明的干粉组合物包含选自以下的一种或多种 GLP-1 分子:天然 GLP-1、GLP-1 代谢产物、长效 GLP-1、GLP-1 衍生物、GLP-1 模拟物、毒蜥外泌肽或其类似物。GLP-1 类似物包括但不限于 GLP-1 融合蛋白,例如与 GLP-1 连接的白蛋白。

[0081] 在一个示范性的实施方式中,所述方法包括对患者施用肽激素 GLP-1 来治疗高血糖和 / 或糖尿病和肥胖症。所述方法包括对需要治疗的患者施用有效量的包含含有 GLP-1 的干粉配制物的可吸入组合物或配制物,所述可吸入组合物或配制物刺激胰腺 β - 细胞快

速分泌内源胰岛素而不引起不想要的副作用,包括大量出汗、恶心和呕吐。在一个实施方式中,治疗疾病的方法可以在干粉配制物中以范围从约 0.01mg 到约 3mg 或从约 0.2mg 到约 2mg GLP-1 的剂量应用于患有 2 型糖尿病和 / 或高血压的患者 (包括哺乳动物)。在一个实施方式中,要被治疗的患者或受试者是人。GLP-1 可以紧邻膳食前 (餐前)、进餐时 (餐食中) 和 / 或膳食后约 15、30 或 45 分钟 (餐后) 施用。在一个实施方式中,可以紧邻在膳食前施用单一剂量的 GLP-1,并可在膳食后施用另一剂量。在一个具体的实施方式中,可以紧邻膳食前施用约 0.5mg 到约 1.5mg 的 GLP-1,之后在膳食后约 30 分钟施用 0.5mg 到约 1.5mg。在这一实施方式中,可以将 GLP-1 与吸入颗粒例如二酮哌嗪 (含或不含药物载剂和赋形剂) 配制在一起。在一个实施方式中, GLP-1 配制物的肺施用能够提供大于 100pmol/L 的 GLP-1 血浆浓度而不对患者诱导不想要的不良副作用,例如大量出汗、恶心和呕吐。

[0082] 在另一实施方式中,提供了用于治疗患有 2 型糖尿病和高血糖的患者 (包括人) 的方法,所述方法包括对患者施用可吸入的 GLP-1 配制物,所述可吸入的 GLP-1 配制物在 FDKP 微粒中以从约 0.5mg 到约 3mg 的浓度包含 GLP-1,其中在给药后约 20 分钟内,患者血中的葡萄糖水平被降低至从约 85 到 70mg/dL 的禁食血浆葡萄糖浓度,而不在患者中引起恶心或呕吐。在一个实施方式中,在包含 FDKP 微粒的配制物中以大于 0.5mg 的浓度肺施用 GLP-1 缺乏对胃排空的抑制。

[0083] 在一个实施方式中, GLP-1 可以作为组合物中的活性成分单独施用,或者与二肽基肽酶 (DPP-IV) 抑制剂例如 sitagliptin 或 vildagliptin 或与一种或多种其他活性剂一起施用。DPP-IV 是一种组成型表达的丝氨酸蛋白酶,其显示脯氨酸后 (postproline) 或丙氨酸后肽酶活性,从而通过在 X-脯氨酸或 X-丙氨酸后的 N-端区域切割产生生物学失活的肽,其中 X 表示任何氨基酸。因为 GLP-1 和 GIP (葡萄糖依赖型促胰岛素肽) 在 2 位上具有丙氨酸残基,所以它们是 DPP-IV 的底物。DPP-IV 抑制剂是口服施用的药物,其通过预防肠降血糖素激素的快速降解改善血糖控制,从而导致有生物活性的完整 GLP-1 和 GIP 水平的餐后提高。

[0084] 在这一实施方式中,需要时可以使用 DPP-IV 抑制剂将 GLP-1 的体内作用进一步延长或增强。用于治疗高血糖和 / 或糖尿病的 GLP-1 和 DPP-IV 抑制剂疗法的组合允许降低可以在患者中诱导 β -细胞的适当胰岛素应答所需要的活性 GLP-1 的量。在另一实施方式中, GLP-1 可例如与除肽以外的其他分子 (例如二甲双胍) 组合。在一个实施方式中, DPP-IV 抑制剂或其他分子 (包括二甲双胍) 可以在共同配制物中与 GLP-1 一起在干粉配制物中通过吸入被施用,或者独立地在其自身的干粉配制物中通过吸入被施用,所述自身的干粉配制物可与 GLP-1 施用同时或在 GLP-1 施用之前被施用。在一个实施方式中,可以通过其他施用途径 (包括口服) 施用 DPP-IV 抑制剂或其他分子,包括二甲双胍。在一个实施方式中,可以根据患者的需要,以范围从约 1mg 到约 100mg 的剂量,对患者施用 DPP-IV 抑制剂。与 GLP-1 共同施用或共同配制时可以使用更小的 DPP-IV 浓度。在该实施方式中,与目前的剂型相比时,在降低的剂量范围下可以改善 GLP-1 疗法的效力。

[0085] 在本文所述的实施方式中,可以在进餐时 (时间接近膳食或点心时) 施用 GLP-1。在该实施方式中, GLP-1 暴露可被限制为餐后时间段,因此这不引起目前疗法的长效作用。在共同施用 DPP-IV 抑制剂的实施方式中,可以在进餐时施用 GLP-1 之前对患者给予 DPP-IV 抑制剂。要施用的 DPP-IV 抑制剂的用量范围可以从约 0.10mg 到约 100mg,取决于所选择的

施用途。在其他实施方式中,可以在开始进餐后施用一剂或更多剂的 GLP-1,来代替或者补充在接近开始膳食或点心时施用的剂量。例如,可以在开始膳食后 15 到 120 分钟(例如 30、45、60 或 90 分钟)施用一剂或多剂。

[0086] 在一个实施方式中,可以在用于治疗肥胖症的方法中利用所述药物递送系统,从而在动物(例如哺乳动物)中控制或降低食物消耗。在这一实施方式中,需要治疗或者遭受肥胖症的患者被施用治疗有效量的可吸入组合物或配制物,所述可吸入组合物或配制物包含 GLP-1、毒蜥外泌肽、胃泌酸调节素、肽 YY(3-36) 或其组合或其类似物,含有或不含有本领域已知的食欲抑制剂。在这一实施方式中,所述方法的目标是降低食物消耗,抑制患者中的食物摄入,降低或阻抑食欲,和 / 或控制体重。在另一实施方式中,组合物不含有 GLP-1。

[0087] 在一个实施方式中,可吸入的配制物包括下述干粉配制物,所述干粉配制物包含上述活性成分与二酮哌嗪或二酮哌嗪的盐,所述二酮哌嗪包括 2,5-二酮-3,6-二(4-X-氨基丁基)哌嗪;其中 X 选自琥珀酰基、戊二酰基、马来酰基和延胡索酰基。在这一实施方式中,可吸入的配制物可包含具有上文所述空气动力学特性的、包含活性成分的、用于吸入的微粒。在一个实施方式中,活性成分的用量可以由本领域常规技术人员确定,然而,本发明的微粒可根据患者的需要载有多种用量的活性成分。例如,对胃泌酸调节素而言,配制物中微粒可包含从约 1% (w/w) 到约 75% (w/w) 的活性成分。在某些实施方式中,可吸入的配制物可包含从约 10% (w/w) 到约 30% (w/w) 的药物组合物,并且也可包含可药用载剂或赋形剂,例如表面活性剂,例如聚山梨酯 80。在这一实施方式中,可以一天一次到约一天四次或者根据患者需要对患者施用胃泌酸调节素,配制物中的剂量范围从约 0.05mg 直至约 5mg。在具体的实施方式中,要施用给受试者的剂量范围可以从约 0.1mg 到约 3.0mg 的胃泌酸调节素。在一个实施方式中,可吸入的配制物可在配制物中包含从约 50pmol 到约 700pmol 的胃泌酸调节素。

[0088] 在本文所公开的其中使用 PYY 作为活性成分的实施方式中,可以制造用于肺递送的干粉配制物,其包含每剂从约 0.10mg 到约 3.0mg 的 PYY。在某些实施方式中,配制物可包括干粉,所述干粉以配制物中从约 1% 到约 75% (w/w) 范围内的肽用量包含 PYY。在具体的实施方式中,配制物中 PYY 的用量可以是 5%、10%、15% 或 20% (w/w),并且还包含二酮哌嗪。在一个实施方式中,以在包含二酮哌嗪例如 FDKP 或其盐(包括钠盐)的配制物中的形式施用 PYY。在某些实施方式中,可以以下述剂型对受试者施用 PYY,所述剂型使得施用后的 PYY 血浆浓度为从约 4pmol/L 到约 100pmol/L 或从约 10pmol/L 到约 50pmol/L。在另一实施方式中,可以以配制物的形式以从约 0.01mg 到约 30mg 或从约 5mg 到约 25mg 范围内的 PYY 的用量施用 PYY。可以如例如 Savage 等 Gut 1987Feb ;28(2):166-70 中所述施用其他用量的 PYY;所述公开通过引用并入本文。PYY 和 / 或类似物或胃泌酸调节素和 / 或类似物的配制物可以餐前、餐食中、进餐或餐后施用给受试者,或者根据需要施用并取决于患者的生理学状况。

[0089] 在一个实施方式中,可以使用干粉吸入器,通过吸入以干粉配制物形式对患者施用包含活性成分的配制物,所述干粉吸入器例如为例如美国专利 No. 7,305,986 和美国专利申请系列 No. 10/655,153(US 2004/0182387) 中公开的吸入器,所述公开内容通过引用并入本文。也可以根据需要,在膳食之间施用和日常施用包含活性成分的干粉配制物的重复吸入。在一些实施方式中,配制物可以每天施用一次、两次、三次或四次。

[0090] 还在另一个实施方式中,治疗高血糖和 / 或糖尿病的方法包括施用包含下述二酮哌嗪的可吸入干粉组合物,所述二酮哌嗪具有式 2,5-二酮-3,6-二(4-X-氨基丁基)哌嗪,其中 X 选自琥珀酰基、戊二酰基、马来酰基和延胡索酰基。在这一实施方式中,干粉组合物可包含二酮哌嗪盐。还在本发明的另一实施方式中,提供了含有或不含有可药用载剂或赋形剂的干粉组合物,其中二酮哌嗪是 2,5-二酮-3,6-二-(4-延胡索酰基-氨基丁基)哌嗪。

[0091] 在某些实施方式中,治疗方法可包括包含 GLP-1 的用于吸入的干粉配制物,其中所述 GLP-1 分子是天然 GLP-1 分子或酰胺化的 GLP-1 分子,其中所述酰胺化的 GLP-1 分子是 GLP-1 (7-36) 酰胺,或其组合。在一个实施方式中,GLP-1 可以是例如依森泰德的类似物。

[0092] 在一个实施方式中,以下述剂量范围对患者施用可吸入的 GLP-1 配制物,其中配制物的 GLP-1 的用量为从约 0.01mg 到约 3mg,或从约 0.02mg 到约 2.5mg,或从约 0.2mg 到约 2mg。在一个实施方式中,可以给予患有 2 型糖尿病的患者大于 3mg 的 GLP-1 剂量。在这一实施方式中,GLP-1 可以与可吸入的颗粒例如二酮哌嗪一起配制,含有或不含药用载剂和赋形剂。在一个实施方式中,GLP-1 配制物的肺施用能够提供大于 100pmol/L 的 GLP-1 血浆浓度,而不对患者诱导不想要的副作用,例如大量出汗、恶心和呕吐。

[0093] 在另一实施方式中,GLP-1 可以与胰岛素一起作为组合疗法施用并且在餐食中给予,用于治疗高血糖和 / 或糖尿病,例如 2 型糖尿病。在这一实施方式中,GLP-1 和胰岛素可以被共同配制为干粉配制物,或者在它们各自的配制物中独立地施用给患者。在其中 GLP-1 和胰岛素共同施用的一个实施方式中,两种活性成分可以共同配制,例如可以使用如上所述的二酮哌嗪颗粒将 GLP-1 和胰岛素配制成用于吸入的干粉配制物。或者,GLP-1 和胰岛素可以单独配制,其中每种配制物用于吸入并且包含二酮哌嗪颗粒。在一个实施方式中,可以在施用前将 GLP-1 和胰岛素配制物以其各自的粉末形式混合在一起进行适当的给药。在这一实施方式中,胰岛素可以是短效、中效或长效胰岛素,并且可以餐食中施用。

[0094] 在使用 GLP-1 和胰岛素的共同施用治疗 2 型糖尿病的一个实施方式中,可以对患者餐食中、相对于胰岛素的吸入配制物(例如胰岛素 /FDKP)同时或先后施用 GLP-1 的吸入配制物。在这一实施方式中,在 2 型糖尿病中,GLP-1 能够刺激患者胰腺的胰岛素分泌,这可通过保持 β -细胞功能(例如通过促进 β -细胞生长)延迟疾病发展,同时可以使用餐食中施用的胰岛素作为胰岛素替代物,这模拟身体对膳食的正常应答。在组合疗法的某些实施方式中,可以通过其他施用途径施用胰岛素配制物。在这一实施方式中,组合疗法可有效降低患者中维持血糖正常状态所需要的胰岛素。在一个实施方式中,组合疗法可被应用于患有肥胖症和 / 或 2 型糖尿病的患者,所述患者患有糖尿病少于 10 年并且在饮食和锻炼或促分泌剂方面未被良好控制。在一个实施方式中,接受 GLP-1 和胰岛素组合疗法的患者群体的特征是其 β -细胞功能大于正常健康个体 β -细胞功能的约 25%,和 / 或胰岛素抗性少于约 8%,和 / 或能够具有正常的胃排空。在一个实施方式中,可吸入的 GLP-1 和胰岛素组合疗法可包括速效胰岛素例如胰岛素 glulisine (APIDRA[®])、胰岛素 lispro (HUMALOG[®])或胰岛素 aspart (NOVOLOG[®]),或长效胰岛素例如胰岛素 detemir (LEVEMIR[®])或胰岛素 glargine (LANTUS[®]),其可以通过吸入还包含 FDKP 的粉末或者通过其他施用途径来施用。

[0095] 在另一实施方式中,用于治疗 2 型糖尿病的组合疗法可包括对需要治疗的患者施用有效量的包含胰岛素和二酮哌嗪的可吸入胰岛素配制物,其中所述胰岛素可以是天然的胰岛素肽、重组的胰岛素肽,并且还对患者施用长效胰岛素类似物,所述长效胰岛素类似物可以通过在包含二酮哌嗪的配制物中吸入来提供,或者通过另一施用途例如通过皮下注射来提供。所述方法还可包括对患者施用有效量 DPP-IV 抑制剂的步骤。在一个实施方式中,所述方法可包括对需要治疗的患者施用与包含长效 GLP-1 的配制物组合的、包含速效或长效胰岛素分子和二酮哌嗪的配制物,所述配制物可以单独和 / 或先后施用。用于治疗糖尿病 (尤其是 2 型糖尿病) 的 GLP-1 疗法可以是有利的,因为以在干粉可吸入配制物中的形式单独施用 GLP-1 或与胰岛素或非胰岛素疗法组合施用 GLP-1 能够降低低血糖的风险。

[0096] 在另一实施方式中,速效 GLP-1 和二酮哌嗪配制物可以与长效 GLP-1 (例如毒蜥外泌肽) 组合施用,用于治疗糖尿病,其均可通过肺吸入施用。在这一实施方式中,可以在餐食中对患有例如 2 型糖尿病的糖尿病患者施用有效量的包含 GLP-1 的可吸入配制物从而刺激胰岛素分泌,同时连续地或有时例如在从进餐时直至约 45 分钟后,施用一剂毒蜥外泌肽-4。可吸入的 GLP-1 的施用能够通过保持 β - 细胞功能来预防疾病发展,而毒蜥外泌肽-4 可以每日两次间隔约 10 小时地施用,所述施用可提供基底水平的 GLP-1,这能够在患者中模拟肠降血糖素系统的正常生理学。速效 GLP-1 和长效 GLP-1 二者均可以单独的、可吸入的配制物的形式施用。或者,长效 GLP-1 可以通过其他施用方法 (包括例如经皮、静脉内或皮下) 来施用。在一个实施方式中,短效和长效 GLP-1 组合的餐食中施用可导致与单独施用的长效 GLP-1 相比提高的胰岛素分泌,更强的胰高血糖素抑制和更长的胃排空延迟。施用的长效 GLP-1 的用量可根据施用的途径而变化。例如,对肺递送而言,可在紧邻膳食之前或在进餐时 (取决于施用给患者的 GLP-1 的形式),以每次施用从约 0.1mg 到约 1mg 的剂量施用长效 GLP-1。

[0097] 在一个实施方式中,本方法可应用于肥胖症的治疗。可以对需要治疗的患者施用治疗有效量的可吸入的 GLP-1 配制物,其中可吸入的干粉 GLP-1 配制物包含如上文所述的 GLP-1 和二酮哌嗪。在这一实施方式中,可吸入的 GLP-1 配制物可以单独施用,或者与一种或多种内分泌激素和 / 或抗肥胖症活性剂组合施用,用于治疗肥胖症。示范性的内分泌激素和 / 或抗肥胖症活性剂包括但不限于肽 YY、胃泌酸调节素、胰淀粉样多肽 (amylin)、胰淀粉样多肽类似物例如普兰林肽乙酸酯 (pramlintide acetate) 等等。在一个实施方式中,抗肥胖症药剂可以在共同配制物中以干粉可吸入组合物形式单独施用或与 GLP-1 组合在一起施用,或者以用于吸入的分离的可吸入干粉组合物形式施用。或者,在 GLP-1 与一种或多种抗肥胖症药剂或能够引起饱满感的组合中,可以以干粉配制物形式施用 GLP-1 配制物,并且可以通过替代性的施用途施用抗肥胖症药剂。在这一实施方式中,可以施用 DPP-IV 抑制剂来增强或稳定进入肺动脉循环的 GLP-1 递送。在另一实施方式中,可以与包含二酮哌嗪的胰岛素配制物组合提供 DPP-IV 抑制剂。在这一实施方式中,可以将 DPP-IV 抑制剂配制进二酮哌嗪中用于吸入,或者其可以以用于其他施用途 (例如通过皮下注射或口施用) 的其他配制物形式施用。

[0098] 在一个实施方式中,提供了用于治疗糖尿病和 / 或高血糖的试剂盒,所述试剂盒包含用于吸入的药筒和吸入装置,所述药筒包含 GLP-1 配制物,所述吸入装置被配置为适配或牢固地配合所述药筒。在这一实施方式中,所述试剂盒还可包含 DPP-IV 抑制剂,所述

DPP-IV 抑制剂与 GLP-1 共同配制,或者是在如上文所述用于吸入或口施用的单独配制物中的形式。在这一实施方式的变例中,所述试剂盒不包含吸入装置,所述吸入装置可以独立地提供。

[0099] 在一个实施方式中,使用药物递送系统的本组合疗法可以应用于治疗代谢紊乱或综合征。在这一实施方式中,药物递送配制物可包含含有二酮哌嗪和活性剂的配制物,所述活性剂包括单独的或者与一种或多种活性剂(例如 DPP-IV 抑制剂和毒蜥外泌肽)组合的 GLP-1 和 / 或长效 GLP-1,其目标是治疗代谢综合征。在这一实施方式中,要提供给需要治疗并可能表现出胰岛素抗性的受试者的至少一种活性剂可以通过肺吸入施用。

[0100] 在另一实施方式中,包含 GLP-1 和二酮哌嗪的可吸入干粉配制物的肺施用可以被用作在受糖尿病折磨的患者中诊断 2 型糖尿病发展程度水平的诊断工具,从而鉴定适合要治疗的患者具体治疗方案。在这一实施方式中,提供了在被鉴定为患有糖尿病的患者中诊断糖尿病发展水平的方法,所述方法包括对患者施用预定量的包含 GLP-1 和二酮哌嗪的可吸入干粉配制物,并测量内源胰岛素生产或应答。可以用预定量的 GLP-1 重复包含 GLP-1 的可吸入干粉配制物的施用,直至对该患者而言获得了适当的胰岛素应答水平,从而测定患者所需要的所需治疗方案。在这一实施方式中,如果患者的胰岛素应答不足,则患者可能需要替代性的疗法。可以用包含二酮哌嗪的 GLP-1 配制物作为疗法来治疗敏感或对胰岛素应答的患者。通过这种方式,可以对患者施用特定量的 GLP-1,从而实现适当的胰岛素应答以避免低血糖。在这一实施方式和其他实施方式中, GLP-1 能够诱导快速的内源胰岛素释放,这模拟了胰岛素释放的正常生理学。

[0101] 在一个实施方式中,本发明的药物递送系统可以应用于治疗代谢紊乱或综合征。在这一实施方式中,药物递送配制物可包含含有二酮哌嗪和活性剂的配制物,所述活性剂包括单独的或者与一种或多种活性剂(例如 DPP-IV 抑制剂和毒蜥外泌肽)组合的 GLP-1 和 / 或长效 GLP-1,其目标是治疗代谢综合征。在这一实施方式中,要提供给需要治疗并可能表现出胰岛素抗性的受试者的至少一种活性剂可以通过肺吸入施用。在另一实施方式中,药物配制物不包含 GLP-1。

实施例

[0102] 提供以下实施例用于说明本发明的某些实施方式。本领域技术人员应当理解,实施例中公开的技术阐述了可以有效地用于实施本发明的代表性技术。然而,根据本公开,本领域技术人员应当认识到,在不脱离本发明的精神和范围的前提下,还可以对公开的具体实施方式进行许多改变,并且仍然获得相同或类似的效果。

[0103] 实施例 1

[0104] 以在可吸入干粉中的形式对健康的成年雄性施用 GLP-1

[0105] 已显示在人中通过静脉内(iv)或皮下(sc)输注或通过多次皮下注射给予时, GLP-1 控制提高的血葡萄糖。由于激素极短的半衰期,要实现临床效力需要连续的皮下输注或多次日常皮下注射。对于延长的临床使用而言,这些途径均不实际。申请人在动物实验中发现,通过吸入施用 GLP-1 时,能够达到治疗水平。这些研究的结果可参阅例如美国专利申请 No. 11/735,957,其公开内容通过引用并入本文。

[0106] 在健康个体中, GLP-1 的若干作用(包括胃排空的降低、提高的饱满感和不适当胰

高血糖素分泌的阻抑)似乎与开始进食时释放的 GLP-1 爆发有关。通过用作为吸入粉末的 GLP-1 和 2,5-二酮-3,6-二(4-延胡索酰基-氨基丁基)哌嗪(FDKP)的配制物补充 GLP-1 的该早期波动,可以在糖尿病动物中引发药效学应答,包括内源胰岛素生产、胰高血糖素和葡萄糖水平的降低。另外,可以通过 GLP-1/FDKP 吸入粉末的餐后施用来模拟与提高的胰岛素分泌相关的天然 GLP-1 的晚期波动。

[0107] GLP-1/FDKP 吸入粉末的 1a 期临床试验被设计为在人受试者中第一次测试选定剂量的新颖的吸入型血糖控制治疗制品的安全性和耐受性。使用经预先测试的 MedTone[®] Inhaler 装置,施用 GLP-1/FDKP 吸入粉末。该实验被设计为鉴定通过肺吸入的多种剂量的 GLP-1/FDKP 吸入粉末的安全性和耐受性。如美国申请系列 No. 11/735,957(其通过引用并入本文)所述,以来自使用通过吸入施用的 GLP-1/FDKP 在大鼠和灵长类中进行的非临床研究的动物安全性研究结果为基础,选择用于人使用的剂量。

[0108] 将 26 个受试者招募进 5 组中,在第 1 和 2 组中每组提供至多 4 个有价值的受试者,在第 3 到 5 组中每组提供至多 6 个有价值的受试者,所述有价值的受试者满足合格标准并且完成了研究。按照以下的剂量水平,用作为 GLP-1/FDKP 粉末的 GLP-1 对每个受试者给药一次:第 1 组:0.05mg GLP-1;第 2 组:0.45mg GLP-1;第 3 组:0.75mg GLP-1;第 4 组:1.05mg GLP-1 和第 5 组:1.5mg GLP-1。对中途退出(Dropouts)不进行替换。这些剂量假定 70kg 的体重。本领域常规技术人员能够基于本文公开的研究测定其他剂量水平。

[0109] 在这些实验中,在健康成年雄性受试者中测定递增剂量 GLP-1/FDKP 吸入粉末的安全性和耐受性。通过监测对下述变量的药理学或不良影响来测定递增剂量的 GLP-1/FDKP 吸入粉末的耐受性,所述变量包括报道的不良事件(AE)、致命征兆、体格检查、临床实验室测试和心电图(ECG)。

[0110] 还评价了额外的肺安全性和药物代谢动力学参数。研究了肺安全性,所述肺安全性被表述为肺和其他不良事件的发生率和第 1 次就诊(筛选)和第 3 次就诊(随访)之间肺功能的改变。用 GLP-1/FDKP 吸入粉末给药后血浆 GLP-1 和血清延胡索酰基二酮哌嗪(FDKP)的药物代谢动力学(PK)参数被测量为 $AUC_{0-120 \text{ 分钟}}$ 血浆 GLP-1 和 $AUC_{0-480 \text{ 分钟}}$ 血清 FDKP。血浆 GLP-1 的其他 PK 参数包括达到最大血浆 GLP-1 浓度的时间, $T_{\max}$ 血浆 GLP-1;血浆中的最大 GLP-1 浓度, $C_{\max}$ 血浆 GLP-1,和达到血浆中最大 GLP-1 浓度的总时间的一半, $T_{1/2}$ 血浆 GLP-1。血清 FDKP 的其他 PK 参数包括 $T_{\max}$ 血清 FDKP、 $C_{\max}$ 血清 FDKP 和 $T_{1/2}$ 血清 FDKP。临床试验终点基于试验受试者群体中测定的以下药理学和安全性参数的比较。一级端点包括报道的 AE(包括咳嗽和呼吸困难、恶心和/或呕吐)的发生率和严重性,以及来自致命征兆筛选、临床实验室测试和体格检查的改变。二级端点包括血浆 GLP-1 和血清 FDKP ($AUC_{0-120 \text{ 分钟}}$ 血浆 GLP-1 和 $AUC_{0-480 \text{ 分钟}}$ 血清 FDKP)、血浆 GLP-1 ($T_{\max}$ 血浆 GLP-1、 $C_{\max}$ 血浆 GLP-1、 $T_{1/2}$ 血浆 GLP-1);血清 FDKP ($T_{\max}$ 血清 FDKP、 $C_{\max}$ 血清 FDKP) 的药物代谢动力学分布;肺功能测试(PFTs)和 ECG。

[0111] 临床试验由 3 次临床就诊组成:1)一次筛选就诊(第 1 次就诊);2)一次治疗就诊(第 2 次就诊);和 3)第 2 次就诊后 8-14 天的一次随访就诊(第 3 次就诊)。在第 2 次就诊时施用单一剂量的 GLP-1/FDKP 吸入粉末。

[0112] 评价五剂 GLP-1/FDKP 吸入粉末(0.05、0.45、0.75、1.05 和 1.5mg 的 GLP-1)。为了适应所有剂量,将配制好的 GLP-1/FDKP 与含有颗粒不含活性剂的 FDKP 吸入粉末混合。

将含有 10mg 由 GLP-1/FDKP 吸入粉末 (15% 重量比重量的 GLP-1/FDKP) 组成的干粉的单剂药筒原样使用或与适量 FDKP 吸入粉末混合, 用于获得期望的 GLP-1 剂量 (0.05mg、0.45mg、0.75mg、1.05mg 和 1.5mg)。在每组 4 个受试者的 2 组中评价前 2 个较低剂量水平, 并在每组 6 个受试者的 3 组中评价后 3 个较高剂量水平。每个受试者仅接受评价的 5 个剂量水平之一的 1 个剂量。除了用于 GLP-1 (活性和总体) 和 FDKP 测量的采血以外, 还采样用于胰高血糖素、葡萄糖、胰岛素和 C-肽测定。来自这些实验的结果参照以下的图和表描述。

[0113] 图 1 描绘了肺施用 1.5mg 的 GLP-1 剂量后第 5 组中的活性 GLP-1 血浆浓度。数据显示, GLP-1 峰浓度发生于 3 分钟处的第一取样点之前, 与静脉内 (IV) 推注施用非常相似。一些受试者中的 GLP-1 血浆浓度大于测定限度 500pmol/L。活性 GLP-1 的峰浓度范围从约 150pmol/L 到约 500pmol/L。如文献 (Vilsohl 等 2000) 中报道的 GLP-1 的静脉内推注施用导致 3.0-5.0 的总 GLP-1: 活性 GLP-1 比例, 与之相比, 该研究第 5 组中为 1.5 的比例。在可比较的活性浓度下, 静脉内施用后代谢产物峰值与肺施用相比为 8-9 倍, 表明肺递送导致快速递送和更少的 GLP-1 降解。

[0114] 表 1.

[0115]

参数 ^a	处理				
	0.05 mg (n = 4)	0.45 mg (n = 4)	0.75 mg (n = 6)	1.05 mg (n = 6)	1.5 mg (n = 6)
GLP-1^a					
AUC ₀₋₁₂₀ (min*pmol/L)	ND	n = 1 355.33	n = 6 880.12 (195.656)	n = 4 1377.88 (634.054)	n = 4 AULQ
C _{max} (pmol/L)	n = 4 2.828 (2.4507)	n = 4 24.630 (8.7291)	n = 6 81.172 (63.3601)	n = 6 147.613 (122.7014)	n = 6 310.700 (54.2431)
t _{max} (min)	n = 4 3.00 (3.00, 3.00)	n = 4 3.00 (3.00, 4.02)	n = 6 3.00 (3.00, 6.00)	n = 6 3.00 (3.00, 4.98)	n = 6 3.00 (3.00, 3.00)
T _{1/2} (min)	n = 1 6.1507	n = 3 3.0018 (0.83511)	n = 6 5.5000 (2.96928)	n = 4 3.6489 (1.88281)	n = 6 3.9410 (1.79028)

[0116]

FDKP					
AUC ₀₋₁₂₀ (min*pmol/L)				n = 6 22169.2 (4766.858)	n = 6 25594.7 (5923.689)
C _{max} (pmol/L)				n = 6 184.21 (56.893)	n = 6 210.36 (53.832)
t _{max} (min)				n = 6 4.50 (3.00, 25.02)	n = 6 6.00 (3.00, 19.98)
T _{1/2} (min)				n = 6 126.71 (11.578)	n = 6 123.82 (15.640)

[0117] ^a 除 t_{max} 是中位数 (范围) 之外, 所有其他参数为均值 (SD)

[0118] AULQ- 所述剂量组中两个或更多受试者具有 AULQ 的分析物血浆浓度; NA = 由于短的取样时间 (20 分钟), 药物代谢动力学模式未满足该模式的规范; ND = 由于一些受试者中数据不足, 不能计算参数。

[0119] 在健康个体中, GLP-1 的生理学餐后静脉血浆浓度典型地范围为 10-20pmol/L (Vilsboll 等 J. Clin. Endocr. & Metabolism. 88 (6):2706-13, June 2003)。第 2 组中接受 0.45mg GLP-1 的一些受试者达到了这些水平。更高剂量的 GLP-1 产生比生理学峰静脉浓度显著更高的峰血浆 GLP-1 浓度。然而, 因为 GLP-1 的半衰期短 (约 1-2 分钟), 施用后 9 分钟时活性 GLP-1 的血浆浓度落入生理学范围中。尽管峰浓度比在静脉循环中生理学观察到的浓度高得多, 但是有证据表明, GLP-1 的局部浓度可以比全身性观察到的浓度高得多。

[0120] 表 1 展示了来自该研究的包含 FDKP 的配制物中 GLP-1 的药物代谢动力学模式。

[0121] 第 4 组和第 5 组的 FDKP 药物代谢动力学参数也展示于表 1 中。其他组未分析。数据还显示了用 1.05mg 和 1.5mg GLP-1 处理的受试者的平均血浆 FDKP 浓度分别为 184 和 211pmol/L。对半衰期约为 2 小时 (127 和 123 分钟) 的各自剂量而言, 最大血浆 FDKP 浓度分别保持在施用后约 4.5 和 6 分钟。

[0122] 图 2A 描绘了以 1.5mg 的剂量用 GLP-1 的可吸入干粉配制物处理的受试者中的平均胰岛素浓度。数据显示 1.5mg GLP-1 诱导来自 β -细胞的内源胰岛素释放, 因为在所有受试者中检测到胰岛素浓度, 并且在给药后 6 分钟或更早时发生约 380pmol/L 的平均峰胰岛素浓度。胰岛素释放是迅速但是持久的, 因为血浆胰岛素浓度在对 GLP-1 的初始应答后迅速下降。图 2B 描绘了与皮下施用 GLP-1 剂量相比, 通过肺吸入施用 1.5mg 剂量 GLP 处理的受试者的 GLP-1 血浆浓度。数据示明了与皮下施用相比, GLP-1 的肺施用发生得相对快并且 GLP-1 的峰血浆浓度发生得更快。另外, GLP-1 的肺吸入导致 GLP-1 血浆浓度恢复至基底水平比皮下施用快得多。因此, 使用本发明的药物递送系统通过肺吸入提供的患者对 GLP-1 的暴露在时间上比通过皮下施用更短, 并且对吸入的胰岛素而言通过 AUC 测量的对 GLP-1 的总暴露更少。图 2C 阐述了与静脉施用 GLP-1 后获得的应答相比, GLP-1 的干粉配制物的肺施用诱导相似的胰岛素应答, 但是峰时间和产生的内源胰岛素量与皮下 GLP-1 施用不同, 这表明使用本发明的配制物进行 GLP-1 的肺施用在诱导胰岛素应答上更加有效。

[0123] 图 3 描绘了在吸入后多个时间处测量的,用含 1.5mg GLP-1 剂量的可吸入干粉配制物处理的受试者中的血浆 C-肽浓度。数据证明 C-肽在 GLP-1 吸入后被释放,证实内源胰岛素释放。

[0124] 图 4 描绘了用含 GLP-1 的 GLP-1 配制物处理的受试者中的禁食血浆葡萄糖浓度。对 1.5mg GLP-1 处理的受试者而言,平均禁食血浆葡萄糖 (FPG) 浓度约为 4.7mmol/L。GLP-1 介导的胰岛素释放是葡萄糖依赖型的。在血糖正常的受试者中历史上没有观察到低血糖。在这一实验中,数据清楚地显示这些血糖正常的健康受试者中的葡萄糖浓度在肺施用 GLP-1 后被降低。在 1.5mg GLP-1 剂量下,六个受试者中的两个具有被 GLP-1 降低至低于 3.5mmol/L 的浓度,这是定义低血糖的实验室数值。在接受 1.5mgGLP-1 剂量的六个受试者中的两个中,血浆葡萄糖降低了多于 1.5mol/L。另外,血浆葡萄糖的降低与 GLP-1 剂量相关。在使用 0.05mg 剂量时观察到最小的葡萄糖浓度降低,在使用 1.5mg 剂量时观察到最大的降低。三个中间的 GLP-1 剂量产生大致相等的血浆葡萄糖降低。数据表明 GLP-1 葡萄糖-依赖型基于高于生理学范围的 GLP-1 浓度被克服。正常个体中 GLP-1 (7-36) 酰胺的生理学范围已被报道为在禁食期间在 5-10pmol/L 的范围内,并且在进食后迅速提高至 15 到 50pmol/L (Drucker, D. and Nauck, M. TheLancet 368 :1696-1705, 2006)。

[0125] 图 5 进一步描绘了 GLP-1 肺施用后血浆中的胰岛素浓度是剂量依赖型的。在大部分受试者中,胰岛素释放不是持久的,因为在对 GLP-1 施用的初始应答后血浆胰岛素浓度迅速下降。在大部分受试者中,峰血浆胰岛素应答范围从 200-400pmol/L,其中一个受试者显示超过 700pmol/L 的峰血浆胰岛素水平。因此,数据表明胰岛素应答是 GLP-1 剂量依赖型的。

[0126] 图 6 描绘了在多个给药组中 GLP-1 肺施用后血浆中的胰高血糖素浓度。在多个剂量组中,基线胰高血糖素水平范围从 13.2pmol/L 到 18.2pmol/L。在给药后第 12 分钟观察到血浆胰高血糖素的最大改变。血浆胰高血糖素的最大降低约为 2.5pmol/L,并且在 1.5mg 剂量组中观察到。胰高血糖素分泌的最大抑制可能被低估,因为最小值不总是在第 12 分钟发生。

[0127] 表 2 和表 3 报道了针对研究中患者群体记录的不良事件或副作用症状。文献中针对通过注射施用的 GLP-1 报道的不良事件列表不是详尽的;并且报道的这些不良事件被描述为温和或适中,和可耐受的。报道的主要不良事件是在 GLP-1 浓度超过 100pmol/L 时的大量出汗、恶心和呕吐。如表 1 和 3 和图 1 中所示,1.05mg 和 1.5mg 剂量下的肺施用导致大幅超过 100pmol/L 的活性 GLP-1 浓度,而不具有使用肠胃外(皮下、静脉内[推注或输注任一])GLP-1 时通常观察到的副作用。该研究中的受试者均未报告恶心、大量出汗或呕吐的症状。第 5 组中的受试者达到可与使用 50 μ g/kg IV 推注观察到的数据(由 Vilsbøll 等 2000 报道)相当的 C_{max} ,所述数据中大部分受试者报告显著的不良事件。

[0128] 表 2. 不良事件

[0129]

不良事件	0.05mg (n = 4)	0.45mg (n = 4)	0.75mg (n = 6)	1.05mg (n = 6)	1.5mg (n = 6)

咳嗽	3	1	3	5	5
发声困难	2	—	2	3	3
咳嗽有痰	—	—	1	—	—
咽喉刺激	—	—	—	1	—
头痛	1	1	—	1	1
头晕	—	—	—	—	2
味觉障碍	—	—	1	—	—
疲劳	—	—	1	1	1
季节性变态反应	—	—	—	1	—
鼻炎	—	—	—	1	—
增强的食欲	—	—	—	—	1

[0130] 表 3. GLP-1 :IV 相对于肺施用的比较性不良事件

[0131]

不良事件	IV [†] (16.7 µg)	IV ^{†*} (50 µg)	肺施用* (1.5 mg)
降低的健康	42%	100%	17%
恶心	33%	83%	0%
大量出汗	17%	67%	0%

† Vilsboll 等 Diabetes Care, June 2000 ;* 可比较的 C_{max}

[0132] 表 2 和表 3 显示,该研究中通过肺吸入接受 GLP-1 的任何受试者未报道任何严重或剧烈的不良事件。最普遍报道的不良事件是与干粉吸入相关的不良事件、咳嗽和咽喉刺激。令人惊讶的是,在通过肺吸入处理的患者中,没有受试者报道恶心或病理性心境恶劣 (dysphoria),并且不存在与任何这些受试者相关的呕吐。本发明人还发现在干粉配制物中肺施用 GLP-1 在上述受试者中缺乏胃排空的抑制 (数据未显示)。胃排空的抑制是与注射的标准 GLP-1 配制物相关的普遍遭遇的不想要的副作用。

[0133] 总之,临床 GLP-1/FDKP 粉末含有多达 15wt% GLP-1,其在 10mg 粉末中提供 1.5mg GLP-1 的最大剂量。Andersen 级联测量表明,35-70%的颗粒具有 < 5.8 µm 的空气动力学直径。1.5mg GLP-1 的剂量在第一次取样时间 (3 分钟) 处产生 > 300pmol/L 活性 GLP-1 的平均峰浓度;导致在第一测量时间点 (6 分钟) 处 375pmol/L 的平均胰岛素峰浓度;给药后 20 分钟将平均禁食血浆葡萄糖从 85 降低至 70mg/dL;并且被良好地耐受和不引起恶心或呕吐。

[0134] 实施例 2

[0135] 比较对雄性 Zucker 糖尿病肥胖大鼠进行的 GLP-1 和依森泰德的肺施用以及依森泰德的皮下施用

[0136] 在开发具有更长循环半衰期的 GLP-1 类似物从而得到临床有用的治疗方面已耗费了大量努力。如本文所证实的, GLP-1 的肺施用也提供了临床有意义的活性。因此比较这两种途径是感兴趣的。

[0137] 制备 FDKP 颗粒

[0138] 将延胡索酰基二酮哌嗪 (FDKP) 和聚山梨酯 80 溶于稀释的氨水中, 获得含有 2.5wt% FDKP 和 0.05wt% 聚山梨酯 80 的溶液。然后将 FDKP 溶液与含有聚山梨酯 80 的乙酸溶液混合, 形成颗粒。将颗粒洗涤并通过切向流过滤 (tangential flow filtration) 浓缩, 实现按重量计约 11% 的固体。

[0139] 制备 GLP-1 储存溶液。

[0140] 通过将 60mg GLP-1 固体 (86.6% 肽) 与 451mg 去离子水组合, 制备去离子水中的 10wt% GLP-1 储存溶液。添加约 8 μ L 冰醋酸来溶解肽。

[0141] 制备 GLP-1/FDKP 颗粒。

[0142] 将储存 FDKP 悬浮液的 1g 部分 (108mg 颗粒) 转移至 2mL 聚丙烯管中。向悬浮液中添加适量的 GLP-1 储存溶液 (表 1) 并柔和地混合。通过添加 1 μ L 小份的 50% (v/v) 氢氧化铵将悬浮液的 pH 从 pH $\sim$ 3.5 调节至 pH $\sim$ 4.5。然后将 GLP-1/FDKP 颗粒悬浮液在液氮中制粒并冻干。通过高效液相色谱 (HPLC) 分析干粉, 并发现与理论值相当。

[0143] 制备依森泰德储存溶液。

[0144] 通过将 281mg 毒蜥外泌肽固体 (88.9% 肽) 与 2219mg 2% wt 乙酸混合, 在 2% wt 乙酸中制备 10wt% 毒蜥外泌肽储存溶液。

[0145] 制备依森泰德 /FDKP 颗粒。

[0146] 将 1533mg 部分的储存 FDKP 颗粒悬浮液 (171mg 颗粒) 转移至 4mL 玻璃管中。向悬浮液中添加 304mg 部分的毒蜥外泌肽储存溶液并柔和地混合。通过添加 3-5 μ L 小份的 25% (v/v) 氢氧化铵将悬浮液的 pH 从 pH $\sim$ 3.7 调节至 pH $\sim$ 4.5。然后将依森泰德 /FDKP 颗粒悬浮液在液氮中制粒并冻干。通过高效液相色谱 (HPLC) 分析干粉, 并发现与理论值相当。

[0147] 在大鼠中进行药物代谢动力学和药物效应动力学评价。

[0148] 将雄性 Zucker 糖尿病肥胖 (ZDF) 大鼠 (5/ 组) 指定为四个测试组之一。使动物禁食过夜, 然后就在测试项目给药之前通过腹膜内注射施用葡萄糖 (1g/kg)。对照组中的动物通过肺吹入接受空气。第 1 组中的动物通过皮下 (SC) 注射接受盐水 (0.1mL) 中的依森泰德 (0.3mg)。第 2 组中的动物通过肺吹入接受按重量计 15% 的依森泰德 /FDKP (2mg)。第 3 组中的动物通过肺吹入接受按重量计 15% 的 GLP-1/FDKP (2mg)。在给药之前和给药后 15、30、45、60、90、120、240 和 480 分钟时从尾部收集血样。收获血浆。测定血葡萄糖和血浆 GLP-1 或血浆依森泰德浓度。

[0149] 图 7A 中报道了依森泰德药物代谢动力学。这些数据显示, 在吹入依森泰德 /FDKP 粉末后依森泰德被迅速吸收。与皮下注射相比, 吸入的依森泰德的生物利用率为 94%。这可表明肺施用对依森泰德而言尤其有利。在接受皮下依森泰德的大鼠中, 达到最大峰循环依森泰德浓度的时间 (T_{max}) 为 30 分钟, 相比而言, 接受吸入的依森泰德的大鼠中 < 15 分钟。

这一 $T_{\max}$ 与吸入的 GLP-1/FDKP 相似（数据未显示）。

[0150] 图 8 中报道了比较性药物效应动力学。数据显示所有四个测试组的血葡萄糖改变。与接受 SC 依森泰德的动物相比，接受吸入的依森泰德 /FDKP 的动物中，葡萄糖耐性测试后的葡萄糖偏移更低。因此在两组中的依森泰德暴露是可比较的（图 7），所以这些数据表明在依森泰德 /FDKP 组中达到峰依森泰德浓度的更短时间提供了更好的葡萄糖控制。另外，在接受 GLP-1/FDKP 或依森泰德 /FDKP 任一动物中，葡萄糖偏移是可比较的。这些数据是令人惊讶的，因为依森泰德的循环半衰期（89 分钟）可观地长于 GLP-1 的循环半衰期（15 分钟）。事实上，依森泰德被开发为最大化循环半衰期来实现提高效率的目的。这些数据表明，使用肺施用，依森泰德更长的循环半衰期在控制高血糖方面不提供优点。另外，任一分子的肺施用提供了优于 SC 依森泰德的血葡萄糖控制。

[0151] 图 7 描绘了相对于接受皮下毒蜥外泌肽 -4，接受通过肺吹入施用的毒蜥外泌肽 -4/FDKP 的雄性 ZDF 大鼠中的平均血浆毒蜥外泌肽浓度。实心方块代表肺吹入毒蜥外泌肽 -4/FDKP 粉末后的应答。空心方块代表施用皮下施用的毒蜥外泌肽 -4 以后的应答。数据被绘制为均值 $\pm$ 标准偏差。数据显示，吸入提供 0.12、0.17 和 0.36mg GLP-1 剂量的粉末的大鼠分别产生 2.3、4.9 和 10.2nM 的最大血浆 GLP-1 浓度 ($C_{\max}$) 和 57.1nM $\cdot$ 分钟、92.6nM $\cdot$ 分钟和 227.9nM $\cdot$ 分钟的暴露 (AUC) ($t_{\max} = 10$ 分钟, $t_{1/2} = 10$ 分钟)。在连续 4 天每天 0.3mg GLP-1 给药后进行的腹腔葡萄糖耐受测试中，经处理的动物显示比对照组显著更低的葡萄糖浓度 ($p < 0.05$)。在激发后 30 分钟时，对照动物中葡萄糖提高 47%，在经处理的动物中仅提高 17%。

[0152] 图 8 描绘了与皮下毒蜥外泌肽 -4 和通过肺吹入施用的毒蜥外泌肽 -4 相比，通过肺吹入接受空气对照、毒蜥外泌肽 -4/FDKP 粉末或 GLP-1/FDKP 粉末的雄性 ZDF 大鼠中相对于基线的血葡萄糖改变。闭合的菱形代表肺吹入毒蜥外泌肽 -4/FDKP 粉末后的应答。闭合的圆形代表皮下毒蜥外泌肽 -4 施用后的应答。闭合的三角形代表施用 GLP-1/FDKP 粉末后的应答。闭合的方块代表单独肺吹入空气后的应答。开放的方块代表通过吹入给予大鼠 2mg GLP-1/FDKP 后再通过吹入施用 2mg 毒蜥外泌肽 -4/FDKP 粉末得到的应答。

[0153] 实施例 3

[0154] 胃泌酸调节素 /FDKP 粉末制剂

[0155] 胃泌酸调节素（也称作胰高血糖素 -37）是由 37 个氨基酸残基组成的肽。该肽由 CA, Sunnyvale 的 American Peptide Company, Inc. 制造并从所述公司获得。将悬浮液中的 FDKP 颗粒与胃泌酸调节素溶液混合，然后在液氮中速冻成为丸粒，并冻干产生样品粉末。

[0156] 制备目标肽含量在 5% 和 30% 之间的六种粉末。通过 HPLC 测定的实际肽含量在 4.4% 和 28.5% 之间。使用级联阻断 (cascade impaction) 来分析含 10% 肽的粉末的空气动力学特性。

[0157] 然后将 FDKP 溶液与含聚山梨酯 80 的乙酸溶液混合形成颗粒。将颗粒洗涤并通过切向流过滤浓缩，实现按重量计约 11% 的固体。

[0158] 将 FDKP 颗粒悬浮液 ($1885\text{mg} \times 11.14\% \text{ 固体} = 210\text{mg}$ FDKP 颗粒) 称重到 4mL 干净的玻璃管中。将管盖上，并使用磁力搅拌器混合，以预防沉降。向管中添加胃泌酸调节素溶液 (909mg 的在 2wt% 乙酸中的 10% 的肽) 并允许其混合。最终组合物的比例约为 30 : 70 胃泌酸调节素 : FDKP 颗粒。胃泌酸调节素 /FDKP 悬浮液具有 4.00 的初始 pH，通过

添加 2–10 μL 小份的 1 : 4(v/v) 氢氧化铵 / 水将其调节至 pH 4.48。将悬浮液在含液氮的小结晶盘中制粒。将盘置于冷冻干燥器中并在 200mTorr 下冻干。架子温度以 0.2°C / 分钟的速度从 -45°C 缓慢上升至 25°C, 然后在 25°C 下保持约 10 小时。将得到的粉末转移至 4mL 干净的玻璃管中。转移至管后粉末的总产量为 309mg (103%)。如下测试样品的胃泌酸调节素含量: 将胃泌酸调节素制剂稀释于碳酸氢钠中, 并在 Waters 2695 分离系统中通过高压液相色谱测定, 所述高压液相色谱使用含 0.1% 三氟乙酸 (TFA) 的去离子水和含 0.1% TFA 乙腈作为流动相, 检测波长设定为 220nm 和 280nm。使用 Waters Empower™ 软件程序分析数据。

[0159] 大鼠中的药物代谢动力学和药物效应动力学评价。

[0160] 雄性 ZDF 大鼠 (10/ 组) 被指定为四组之一。一组中的动物通过静脉注射接受胃泌酸调节素。其他三组中的动物通过肺吹入接受 5% 胃泌酸调节素 / FDKP 粉末 (含 0.15mg 胃泌酸调节素)、15% 胃泌酸调节素 / FDKP 粉末 (含 0.45mg 胃泌酸调节素) 或 30% 胃泌酸调节素 / FDKP 粉末 (含 0.9mg 胃泌酸调节素)。在给药之前和给药后多个时间处从尾部收集血样, 用于测量血浆胃泌酸调节素浓度 (图 9A)。还在用胃泌酸调节素给药后多个时间处监测食物消耗 (图 9B)。

[0161] 图 9A 比较了通过静脉注射接受胃泌酸调节素的对照大鼠中和以不同量施用可吸入干粉配制物后雄性 ZDF 大鼠中胃泌酸调节素的血浆浓度。这些数据显示吸入胃泌酸调节素 / FDKP 粉末后胃泌酸调节素被迅速吸收。在接受吸入的胃泌酸调节素的大鼠中, 到达最大峰循环胃泌酸调节素浓度的时间 ($T_{\max}$) 少于 15 分钟。该研究显示肺施用后胃泌酸调节素的半衰期从约 22 到约 25 分钟。

[0162] 图 9B 是柱状图, 其显示与接受空气流的对照动物相比, 用静脉内胃泌酸调节素或通过肺吹入施用的胃泌酸调节素 / FDKP 粉末处理的雄性 ZDF 大鼠中累计的食物消耗。数据显示与单一剂量的静脉内胃泌酸调节素或空气对照相比, 胃泌酸调节素 / FDKP 的肺施用将食物消耗降低至更大的程度。

[0163] 在类似的一组实验中, 大鼠接受空气流作为对照 (第 1 组) 或通过肺吹入接受 30% 胃泌酸调节素 / FDKP 粉末。施用胃泌酸调节素 / FDKP 吸入粉末的大鼠接受如上文所述制备的 0.15mg 胃泌酸调节素 (作为 0.5mg 的胃泌酸调节素 / FDKP 粉末; 第 2 组)、0.45mg 胃泌酸调节素 (作为 1.5mg 的胃泌酸调节素 / FDKP 粉末, 第 3 组) 或 0.9mg 胃泌酸调节素 (作为 3mg 的胃泌酸调节素 / FDKP 粉末, 第 4 组) 任一剂量。研究在开始实验前禁食 24 小时的 ZDF 大鼠中进行。接受实验剂量后允许大鼠进食。给予大鼠预定量的食物, 并且在开始实验后多个时间处测量大鼠消耗的食物量。通过肺吹入对大鼠施用胃泌酸调节素 / FDKP 干粉配制物, 并且在给药后多个点进行食物测量和采取血样。

[0164] 图 10A 和 10B 分别显示针对所有测试动物的循环胃泌酸调节素浓度, 和相对于对照的食物消耗的改变。直至给药后 6 小时, 给予胃泌酸调节素的大鼠消耗比对照大鼠显著更少的食物。更高剂量的胃泌酸调节素显示比更低的剂量更显著地抑制食欲, 表明食欲抑制是剂量依赖型的, 因为给予更高剂量的大鼠在给药后测量的所有时间点都消耗最小量的食物。

[0165] 在 10 到 30 分钟时在血中检测到最大的胃泌酸调节素浓度, 并且胃泌酸调节素的最大浓度是剂量依赖型的, 因为接受 1.5mg 胃泌酸调节素的大鼠具有 311 $\mu\text{g/mL}$ 的最大血浆浓度, 而接受 3mg 胃泌酸调节素的大鼠具有 660 $\mu\text{g/mL}$ 的最大血浆浓度。通过肺吹入施

用后 Sprague Dawley 大鼠中胃泌酸调节素的半衰期 ($t_{1/2}$) 的范围从约 25 分钟到 51 分钟。

[0166] 实施例 4

[0167] 以在可吸入干粉中的形式对 2 型糖尿病患者施用 GLP-1

[0168] 在患有 2 型糖尿病的患者中进行 GLP-1/FDKP 吸入粉末的 1 期临床试验,来评价通过肺吸入用 GLP-1 干粉配制物处理之前和之后患者的葡萄糖水平。这些研究根据实施例并如本文所述进行。如美国专利申请 No. 11/735,957 中所述制备 GLP-1 吸入粉末,所述公开通过引用并入本文。所述干燥的吸入粉末在单一剂量药筒中总计 10mg 含 FDKP 的干粉配制物中含有 1.5mg 人 GLP-1 (7-36) 酰胺。对这一研究而言,使 20 位患有 2 型糖尿病的患者(包括成年男性和绝经后的女性)禁食过夜,并在 GLP-1 吸入粉末施用后 4 小时的时间段内保持禁食。使用 **Medtone**[®] 干粉吸入器 (MannKind Corporation) 并如美国专利申请 No. 10/655,153 中所述施用干粉配制物,所述专利申请的公开内容通过引用整体并入本文。

[0169] 在给药前 30 分钟时,给药时 (0 时间) 和 GLP-1 施用后约 2、4、9、15、30、45、60、90、120 和 240 分钟时,获得来自经处理的患者的血样,用于评价血清葡萄糖水平。针对每个样品分析血清葡萄糖水平。

[0170] 图 11 显示这些研究的结果,并且示出了施用单一剂量含 GLP-1 的可吸入干粉配制物后多个时间点处来自患有 2 型糖尿病的六个禁食患者的葡萄糖数值。施用 GLP-1 后所有六个患者的葡萄糖数值降低,并且在施用后至少 4 小时在研究结束时保持为降低的。

[0171] 图 12 是示出了其葡萄糖数值示于图 11 的六位患有 2 型糖尿病的禁食患者的平均葡萄糖数值的图线。在图 12 中,葡萄糖数值被表述为对所有六位患者而言,相对于零时间(给药)葡萄糖水平的改变。图 12 显示到 30 分钟的时间点为止获得约 1mmol/L 的平均葡萄糖降低,这大约等于从约 18mg/dL 到约 20mg/dL。葡萄糖水平的该平均降低持续 120 分钟。在具有更高基线葡萄糖的受试者中改变更大并且更久,其中在 6 个受试者中的 2 个中,具有最低基线禁食血葡萄糖的这些受试者在这一时间框中仅显示葡萄糖水平的瞬时降低(数据未显示)。注意具有更高禁食葡萄糖的受试者一般不具有与具有更低值的受试者相同的胰岛素应答,因此在被刺激时,具有更高禁食葡萄糖的这些受试者一般显示比葡萄糖数值接近正常的受试者更大的应答。

[0172] 实施例 5

[0173] 完整 GLP-1 到脑和肝的第一轮分布模型 (First Pass Distribution Model)

[0174] 计算肺递送和静脉内推注施用后 GLP-1 通过全身性循环的第一轮分布,来测定两种 GLP-1 施用方法的递送效力。基于下述假设开发这一模型:(1) 从肺进入肺静脉的 GLP-1 吸收显示零级 (zero-order) 动力学;(2) GLP-1 达到脑和在脑内的分布同时发生;和 (3) GLP-1 从脑和肝分布中的清除仅由基础血流驱动。基于这些假设,测定脑和肝中 GLP-1 量的分析以涉及以下的公开数据为基础:某些组织和器官对 GLP-1 的提取 (Deacon, C. F. 等 "Glucagon-like peptide 1 undergoes differential tissue-specific metabolism in the anesthetized pig." American Physiological Society, 1996, pages E458-E46), 和来自人研究的由心脏输出引起的达到身体的血流分布和血流速率 (Guyton Textbook of Physiology, 第 10 版; W. B. Saunders, 2000, page 176)。在具有正常生理学参数(例如静止血压)的正常受试者 (70kg) 中,达到脑和肝的基础流速分别为 700mL/分钟和 1350mL/分钟。基于心脏输出,到达身体的血流分布被计算为 14% 到达脑, 27% 到达肝, 和 59% 达到剩

余的身体组织 (Guyton)。

[0175] 使用上述参数,测定对通过肺施用和静脉内施用给予的 1mg 剂量而言,应当被分布至脑和肝的相对 GLP-1 量。将 1mg GLP-1 除以 60 秒。并将得到的数字乘以到达脑的 14% 血流分布。因此,每秒中剂量的一部分出现在脑中。根据可获得的数据 (表明脑中的血等于 150mL 并且清除速率为 700mL/ 分钟),计算出 GLP-1 的清除率约为 12mL/ 秒,这等于每秒从脑中清除约 8% 的血体积。在 Deacon 等报道的在猪中进行的静脉研究中,40% 的 GLP-1 在静脉中被瞬时代谢,10% 也在肺中的脱氧血 (deoxygenated blood) 中被代谢。因此,在与静脉内数据分析相关的计算中,从施用的总量中减去 40% 随后再减去 10% 的总 GLP-1。

[0176] 对在肝中评价的 GLP-1 量而言,对静脉内和肺施用途径进行相同的降解假设,对 IV 剂量而言损失 40% 和随后再损失 10% 的总量。推测剩余 GLP-1 的 27% 应被分布至肝,其中 75% 的血首先经过肝门床 (portal bed)。假设血在肝中同时分布。如下进行计算: 将 1mg GLP-1 除以 60 秒,对静脉数据分析而言从施用的总量中减去 40% 再减去 10% 的总 GLP-1。对肺施用而言假设无降解。将得到的数值乘以达到肝的 27% 血流分布,其中 75% 的所述量首先经过肝门床。在 Deacon 等报道的在猪中进行的静脉内研究中,报道了肝门床的 20% 提取;因此,在引入肝之前 75% 的 GLP-1 量被降低 20%。因此,每秒中出现在肝中的 GLP-1 的总量由在肝门床中经历过代谢的级分组成。根据可获得的数据 (表明肝中的血体积等于 750mL 并且清除速率为 13500mL/ 分钟),计算出 GLP-1 的清除率约为 22.5mL/ 秒,这等于每秒从肝中清除约 3% 的血体积。Deacon 等报道了肝中 45% 的降解,因此,从肝中出现的总量中减去 45% 的总 GLP-1,并将剩余部分加在总剩余量上。

[0177] 上述结果展示于表 4 和表 5。下面示出了在肺施用后脑和肝中计算的 GLP-1 分布 (表 4)。

[0178] 表 4. 肺施用 1mg GLP-1

[0179]

以秒计的时间	脑 (μg)	肝 (μg)
1	2.3	2.10
5	9.94	9.91
60	29.0	58.9

[0180] 表明静脉内推注施用后 GLP-1 分布的结果示于下表 5 中:

[0181] 表 5. 1 分钟内静脉内推注施用 1mg GLP-1

[0182]

以秒计的时间	脑 (μg)	肝 (μg)
1	1.26	1.14
5	5.37	5.35
60	15.6	31.7

[0183] 上述数据代表性阐述了内源酶降解 GLP-1 后身体特定组织的 GLP-1 分布。根据上述测定,肺施用后脑和肝中的 GLP-1 量约为静脉内推注施用后 GLP-1 量的约 1.82 到约 1.86 倍。因此,数据表明 GLP-1 的肺递送与 GLP-1 的静脉内施用相比时可以是更有效的递送途径,因为施用后多个时间处的 GLP-1 量约为用静脉内施用获得的量的两倍。因此,通过包含 GLP-1 的肺施用治疗疾病或病症会需要更小的总量,或者几乎是为了得到相同或相似效果所需的静脉内 GLP-1 剂量的一半。

[0184] 实施例 6

[0185] 进行这一实施例中的研究来测量通过皮下施用或以下述配制物通过肺吹入施用给 ZDF 大鼠的多种活性剂的的药物代谢动力学参数,所述配制物包含 FDKP、FDKP 二钠盐、琥珀酰基-取代的-DKP(SDKP,也称作化合物 1)或不对称的(延胡索酰基-单取代的)-DKP(也称作化合物 2)。将大鼠分成 8 组,每组指定五只大鼠。第 1 组中的每只大鼠通过肺液体滴注接受磷酸盐缓冲的盐水溶液中的 0.3mg 剂量的毒蜥外泌肽-4;第 2 组通过皮下注射接受磷酸盐缓冲的盐水中的 0.3mg 的毒蜥外泌肽-4。

[0186] 第 3-8 组的大鼠如下通过肺吹入接受它们的活性剂或毒蜥外泌肽-4 给药:第 3 组大鼠通过肺吹入接受 2mg 的 GLP-1/FDKP 配制物,之后是 2mg 剂量的毒蜥外泌肽-4;第 4 组接受毒蜥外泌肽-4/FDKP 配制物;第 5 组接受被配制为 FDKP 二钠盐中 9.2%含量的 3mg 剂量的毒蜥外泌肽-4;第 6 组接受被配制为 FDKP 二钠盐中 13.4%含量的 2mg 剂量的毒蜥外泌肽-4;第 7 组大鼠接受被配制为 SDKP 中 14.5%含量的 2mg 剂量的毒蜥外泌肽-4;第 8 组大鼠接受被配制为不对称的(延胡索酰基-单-取代的)DKP 中 13.1%含量的 2mg 剂量的毒蜥外泌肽-4。

[0187] 动物的给药在两天的过程中进行,以适应更高数量的受试者。对动物施用多个测试项目,并在给药后多个时间处采取血样。在血浆分离物中测量毒蜥外泌肽-4 浓度;其结果在图 13 中提供。如该图中所示,以含 FDKP 的配制物形式接受毒蜥外泌肽-4 的第 4 组经处理的大鼠在比 30 分钟更早时在血中显示高水平的毒蜥外泌肽-4,并且与通过皮下施用接受毒蜥外泌肽-4 的第 2 组中的大鼠相比显示更高的水平。在所有组中,毒蜥外泌肽-4 的水平在施用后约 1 小时急剧降低。

[0188] 与作为皮下注射施用的毒蜥外泌肽-4 相比,在 ZDF 大鼠中通过非吹入施用毒蜥外泌肽-4/FDKP 具有相似的经剂量标准化的 C_{max} 、AUC 和生物利用率。与通过皮下注射施用的毒蜥外泌肽-4 相比,通过肺吹入施用的毒蜥外泌肽-4/FDKP 显示超过两倍的半衰期。与皮下注射相比,作为延胡索酰基(单-取代的)DKP 或 SDKP 配制物施用的毒蜥外泌肽-4 显示更低的经剂量标准化的 C_{max} 、AUC 和生物利用率(低约 50%),但是具有比肺滴注更高的水平。

[0189] 禁食过夜后,通过腹膜内注射(IPGTT)给予 ZDF 大鼠葡萄糖激发。与通过皮下途径施用的毒蜥外泌肽-4 相比,用毒蜥外泌肽-4/FDKP 处理显示在 IPGTT 后更大的血葡萄糖水平降低。与空气对照动物相比,在通过皮下注射施用毒蜥外泌肽-4 和通过肺施用毒蜥外泌肽-4/FDKP 粉末的动物中,血葡萄糖水平分别在 IPGTT 后 30 和 60 分钟显著降低。在给药后 30 分钟时,与进行任一单独处理相比,通过肺吹入用毒蜥外泌肽-4/FDKP 和 GLP-1 处理的第 3 组 ZDF 大鼠在用腹膜内葡萄糖施用(IPGTT)处理后显示令人惊讶的更低的 IPGTT 后血葡萄糖水平(-28%对-24%)。

[0190] 实施例 7

[0191] 进行这一实施例中的研究来测量与静脉内注射相比,通过肺施用的肽 YY(3-36)配制物的药物代谢动力学和药物效应动力学模式。

[0192] 制备用于肺递送的 PYY/FDKP 配制物:这些实验中使用的肽 YY(3-36) (PYY) 得自 American Peptide,并且作为 pH 的函数被吸附在 FDKP 颗粒上。通过将 85.15mg 的 PYY 称重进 8ml 干净管中并添加 2%水性乙酸至 762mg 的终重量来制备 10%的肽储存溶液。将肽柔和地混合,获得澄清溶液。向含有 PYY 溶液的管中添加 FDKP 悬浮液 (4968mg, 含 424mg 预形成的 FDKP 颗粒),这形成了 PYY/FDKP 颗粒悬浮液。将样品置于磁力搅拌台上,并在整个实验中充分混合。使用微 pH 电极监测混合物的 pH。使用多份 2-3 μ L 14-15%氨水溶液,逐步提高样品的 pH。在每个 pH 点处取出样品体积 (75 μ L 用于分析上清液;10 μ L 用于悬浮液)。将用于上清液分析的样品转移至 1.5ml、0.22 μ m 过滤管中并离心。将悬浮液和经过滤的上清液样品转移进含 990 μ L 50mM 碳酸氢钠溶液的 HPLC 自动采样器管中。通过 HPLC 分析经稀释的样品,来评价制剂的特性。实验表明,例如在 pH4.5 时 10.2%的 PYY 溶液可以被吸附在 FDKP 颗粒上。在这一具体制剂中,通过 HPLC 测定得到的粉末的 PYY 含量为 14.5% (w/w)。粉末空气动力学特性的级联测量显示通过 **MedTone[®]** 干粉吸入器 (MannKindCorporation) 排放时,可呼吸级分为 52%,具有 98%的药筒排空。基于上述结果,制造包含 5%、10%、15%和 20% PYY 的多种 PYY/FDKP 粉末样品制剂。

[0193] 药物代谢动力学和药物效应动力学研究:在这些实验中使用雌性 ZDF 大鼠并将其分成 7 组;除了第 1 组指定 3 只大鼠之外每组指定五只大鼠。在给予它们指定剂量之前使大鼠禁食 24 小时,并且在给药后立即提供食物并允许它们在实验期间根据需要进食。第 1 组中的每只大鼠接受磷酸盐缓冲的盐水溶液中 0.6mg IV 剂量的 PYY;第 2 组大鼠接受 1.0mg 的 PYY 肺液体滴注;第 3 组大鼠被设计为对照并且接受空气流;第 4-7 组大鼠如下接受通过肺吹入施用的用于吸入的干粉配制物:第 4 组大鼠以具有 5% PYY(w/w) 含量的 3mg PYY/FDKP 粉末配制物的形式接受 0.15mg PYY;第 5 组大鼠以具有 10% PYY(w/w) 含量的 3mg PYY/FDKP 粉末配制物的形式接受 0.3mg PYY;第 6 组大鼠以具有 15% PYY(w/w) 含量的 3mg PYY/FDKP 粉末配制物的形式接受 0.45mg PYY;第 7 组大鼠以具有 20% PYY(w/w) 含量的 3mg PYY/FDKP 粉末配制物的形式接受 0.6mg PYY。

[0194] 在给药后 30、60、90、120、240 分钟和 24 小时针对每只大鼠测量食物消耗。针对每只大鼠,从给药前和给药后 5、10、20、30、45、60 和 90 分钟从大鼠采取的血样中测定 PYY 血浆浓度和葡萄糖浓度。这些实验的结果示于图 14-16 和下表 6 中。图 14 是来自下述实验的代表性数据的柱状图,所述实验测量以多种剂量以包含延胡索酰基-二酮哌嗪的配制物的形式通过静脉内施用和通过肺施用接受 PYY 配制物的雌性 ZDF 大鼠中的食物消耗。数据显示除了通过滴注接受 PYY 的第 2 组之外,与对照相比时所有经 PYY 处理的大鼠的食物消耗均降低。与对照相比时,在 PYY- 给药后 30、60、90 和 120 分钟处,对通过肺吹入处理的大鼠而言大鼠食物消耗的降低是统计学显著的。图 14 中的数据还显示尽管 IV 施用 (第 1 组) 在降低大鼠中食物消耗时相对有效,但是以 FDKP 配制物的形式通过肺途径施用的相同量的 PYY (0.6mg) (第 7 组) 在更长的时间段中对于降低食物消耗量或抑制食欲更加有效。所有接受肺 PYY-FDKP 粉末的经 PYY 处理的大鼠与对照相比时消耗更少的食物。

[0195] 图 15 示出了在通过 IV 给予 PYY 配制物、通过肺施用包含延胡索酰基-二酮哌嗪的

多种配制物的雌性 ZDF 大鼠和空气对照大鼠中测量的血葡萄糖水平。数据表明除了用 PYY IV 处理的第 1 组大鼠之外,通过肺吹入用 PYY- 处理的大鼠的血葡萄糖水平保持与对照相对类似。直至给药后约 15 分钟,第 1 组大鼠与其他大鼠相比时显示初始更低的血葡萄糖水平。

[0196] 图 16 示出了来自下述实验的代表性数据,所述实验在施用后多个时间处测量通过 IV 施用、通过用包含延胡索酰基-二酮哌嗪的多种配制物肺施用来给予 PYY 配制物的雌性 ZDF 大鼠和空气对照大鼠中 PYY 的血浆浓度。这些测量结果也示于表 6 中。数据显示与通过肺吹入处理的大鼠相比,施用 PYY IV 的第 1 组大鼠保持更高的血浆 PYY 浓度 (30.7 μ g/mL)。PYY 的峰血浆浓度 (T_{max}) 对第 1、6 和 7 组大鼠而言约为 5 分钟,对第 2、4 和 5 组大鼠而言为 10 分钟。数据显示用 PYY/FDKP 通过肺吹入处理的所有大鼠在其血浆样品中具有可测量的 PYY 量,然而,第 7 组大鼠具有最高的血浆 PYY 浓度 (4.9 μ g/mL),并且该数值保持高于其他组直至给药后约 35 分钟。数据还表明通过肺吹入施用的 PYY 的血浆浓度是剂量依赖型的。尽管在使用的剂量下通过 IV 注射的施用导致比肺施用 PYY/FDKP 更高的 PYY 静脉血浆浓度,但是用 PYY/FDKP 的肺施用实现了食物消耗的更大抑制。

[0197] 表 6

[0198]

大鼠组编号	T1/2 (分钟)	Tmax (分钟)	Cmax (μ g/mL)	AUC _{0-11/D} (分钟/mL)	BA(%)
1	13	5	30.7	0.61	100%
2	22	10	1.7	0.06	11
4	23	10	0.51	0.10	16
5	30	10	1.33	0.15	25
6	26	5	2.79	0.20	33
7	22	5	4.90	0.22	36

[0199] 图 17 示出了针对若干活性剂 (包括胰岛素、毒蜥外泌肽、胃酸调节素和 PYY 和本文列举的活性剂) 测量的本发明的药物递送系统的有效性。具体地,图 17 示明了与上述活性剂的 IV 和 SC 施用相比,肺药物递送系统的药物暴露和生物效应之间的关系。图 17 中的数据表明,本发明的肺药物递送系统与静脉或皮下施用相比,以更小量的药物暴露提供了更大的生物效应。因此,与标准疗法相比时,获得期望药物的相似或更大效应可能需要更小量的药物暴露。因此,在一个实施方式中,提供了递送活性剂 (包括肽例如 GLP-1、胃酸调节素、PYY) 来治疗疾病 (包括糖尿病、高血糖和肥胖症) 的方法,所述方法包括对需要治疗的受试者施用包含一种或多种活性剂和二酮哌嗪的可吸入配制物,从而与使用其他施用模式达到相似效果所需的暴露相比,以更低的对活性剂的暴露观察到治疗效果。在一个实施方式中,活性剂包括肽、蛋白质、lipokines。

[0200] 实施例 8

[0201] 评价 GLP-1 在餐后 2 型糖尿病中的活性。

[0202] 该研究的目的是评价 GLP-1 干粉配制物对餐后葡萄糖浓度的影响,并评价其安全性(包括不良事件)、GLP-1 活性、胰岛素应答和胃排空。

[0203] 实验设计:该研究分为两个阶段并且召集了诊断为 2 型糖尿病的 20 个患者,他们的年龄范围从 20 到 64 岁。第一阶段是开放标签、单一剂量的试验,其中 15 位患者接受在禁食过夜后施用的包含在 FDKP 中的 1.5mg GLP-1 的干粉配制物。作为对照,5 位受试者在禁食过夜后接受 FDKP 吸入粉末。第二阶段在第一阶段完成后进行。在该研究的这一部分中,给予患者四次相继的处理,每次使用由 475Kcal 组成并用 ^{13}C -辛酸酯/盐作为标记物标记的进食激发(meal challenge)。所述研究被设计为双盲、双模拟(double dummy)、交叉(cross-over)的进食激发研究,其中在进食前 15 分钟通过注射给予盐水作为对照和依森泰德,并在进食前立即施用可吸入 GLP-1 的干粉配制物或由不含 GLP-1 的干粉配制物组成的安慰剂并在进餐后 30 分钟重复。四种处理如下:处理 1 由接受 1.5mg 不含 GLP-1 的干粉配制物安慰剂的所有患者组成。在处理 2 中,所有患者以包含 FDKP 的干粉配制物形式接受一剂 1.5mg 的 GLP-1。在处理 3 中,所有患者以包含 FDKP 的干粉配制物形式接受两剂 1.5mg 的 GLP-1,一剂就在进餐前立即接受,一剂在进餐后 30 分钟接受。在处理 4 中,患者通过皮下注射接受 10 μg 的依森泰德。在给药之前和之后的多个时间处采取来自每个患者的血样并针对若干参数(包括 GLP-1 浓度、胰岛素应答、葡萄糖浓度和胃排空)进行分析。该研究的结果示于图 18-20 中。

[0204] 图 18 示出了如上所述处理组中血中的平均 GLP-1 水平。数据表明在饲喂和禁食的个体中,接受干粉配制物(在 FDKP 中包含 1.5mg GLP-1)的患者在施用后立即具有显著更高的血中 GLP-1 水平,如图 A、B 和 C 中所示,并且施用后 GLP-1 水平急剧地下降。在依森泰德-处理组(图 D)或者接受干粉配制物的对照(图 E)中,没有可测量的 GLP-1 水平。

[0205] 图 19 示出了处理之前或之后研究中患者的胰岛素水平。数据显示除了接受安慰剂的禁食对照患者(图 C)之外,处理后的所有其他患者(包括进食激发研究中用安慰剂处理的患者(图 B))中产生内源胰岛素。然而,在以包含 FDKP 的干粉组合物的形式接受 GLP-1 的患者中该胰岛素应答更加显著,其中在饲喂和禁食组中均在处理后立即观察到胰岛素应答(图 D-F)。结果还显示在用 GLP-1 干粉配制物处理的患者中,葡萄糖水平降低。GLP-1 干粉配制物的施用导致延迟的血葡萄糖提高和降低的对葡萄糖的总体暴露(AUC)。在接受 GLP-1 吸入粉末二次施用的受试者中,延迟的提高和减弱的暴露二者均更加显著(数据未显示)。胰岛素释放的大小在患者间变化,一些患者显示小但是生理学相关的胰岛素水平,而其他患者显示大得多的胰岛素释放。尽管患者之间存在胰岛素应答的差异,但是葡萄糖应答是相似的。该胰岛素应答的差异可反映胰岛素抗性和疾病发展程度的变化。该应答的评价可以被用作疾病发展的诊断指示器,更大的释放(在控制血葡萄糖水平方面缺乏更大的有效性)表明更大的胰岛素抗性和疾病发展。

[0206] 图 20 示出了处理组的胃排空百分比。图 A(处理 3 中的患者)和图 B(处理 2 中的患者)的患者具有与图 D 中对照患者(用包含无 GLP-1 的 FDKP 的干粉配制物作为安慰剂处理的患者)相似的胃排空特性或百分比。数据还显示甚至用 10 μg 剂量的依森泰德处理的患者与对照相比时显示胃排空的显著延迟或抑制。数据还示明用于递送包含 FDKP 和 GLP-1 的活性剂的该系统缺乏胃排空的抑制,在 GLP-1 递送后诱导快速的胰岛素释放,并且

引起葡萄糖 AUC 水平的降低。

[0207] 尽管本发明根据具体的实施方式被具体地展示和描述,但是应当明白,上文公开内容和其他特征和功能的变化或者其替代方式可以根据期望被组合成其他不同的系统或应用。而且,本领域技术人员随后可进行多种目前无法预期或不曾预料到的替代方式、修饰、变化或改进,它们也意图被以下的权利要求书包括。

[0208] 除非另有说明,用于说明书和权利要求书中的表达成分数量、如分子量的性质、反应条件的所有数字等应理解为在所有情况下由术语“约”修饰。因此,除非指出反例,以下说明书和附加的权利要求书中公开的数量参数是近似值,其可根据本发明想要获得的所需性质而变化。至少,并不企图限制将等同原则应用于权利要求书的范围,每个数量参数至少应按照经报导的有效数字的位数并通过应用常规约数技术解释。不反对公开本发明广大范围的数量范围和参数为约数,而特定实施例中公开的数量值则是尽可能精确地报导的。然而,任何数量值固有地包含误差,这是从它们各自检测测量中发现的标准差必然地产生的。

[0209] 除非在本文另有说明或同上下文明显抵触,描述本发明的上下文中(特别是在以下的权利要求书上下文中)使用的术语“一个”(“ a ”, “ an ”)和“这个”(“ the ”)和类似的指代被解释为包括单数和复数。对本文数值范围的叙述仅意图用作为引用落入该范围的每个单独的值的速记方法(shorthand method)。除非本文另有说明,每个单独的值都被并入说明书,就像其被单独地并入本文一样。除非在本文另有说明或与上下文明显抵触,本文所述的所有方法可以以任何合适的顺序进行。本文所提供的任何和所有实例或举例文字(例如“例如”)的使用仅意欲用来更好地阐述本发明,而非对本发明所要求保护的范围设定限制。申请文件中的文字不应被理解为表示任何不要求保护的元素对本发明的实践而言是必需的。

[0210] 本文公开的备选元素或实施方式的分组不应解释为限制。各组成员可被单独提到或要求保护,或与本文发现的组的其它成员或其它元素任意组合。应当理解,由于便利和/或专利的原因,一组的一个或多个成员可以被包括进一组中或从该组删除。当任何这类包括或删除发生时,本申请文件被认为含有经改写的组,以满足对附加的权利要求书中所用的所有马库什组的书面描述。

[0211] 本文描述了本发明的某些实施方式,包括本发明的发明人己知的实现本发明的最佳模式。当然,本领域常规技术人员阅读上述描述后会明白这些所述实施方式的变更。本发明人预期熟练的技术人员能适当地采用这类变更,且本发明者意欲使得本发明以与本文特定描述不同的方式应用。因此,至少可适用的法律允许,本发明包括附加的权利要求书中所述的主体内容的所有修饰和等价物。另外,除非本文另有说明或与上下文明显抵触,在其所有可能变化中,上述元件的任何组合由本发明所包括。

[0212] 另外,在本申请文件中,引用了大量专利和印刷出版物作为参考文献。上述各参考文献和印刷出版物通过引用其整体并入本文。

[0213] 最后,应理解本文公开的本发明的实施方案仅用于阐述本发明的原则。其它可使用的修饰也在本发明的范围内。因此,通过示例而非限制的方式,可根据本文的教导利用本发明的备选形式。因此,本发明并非被限制为如精确地所示和所述的。

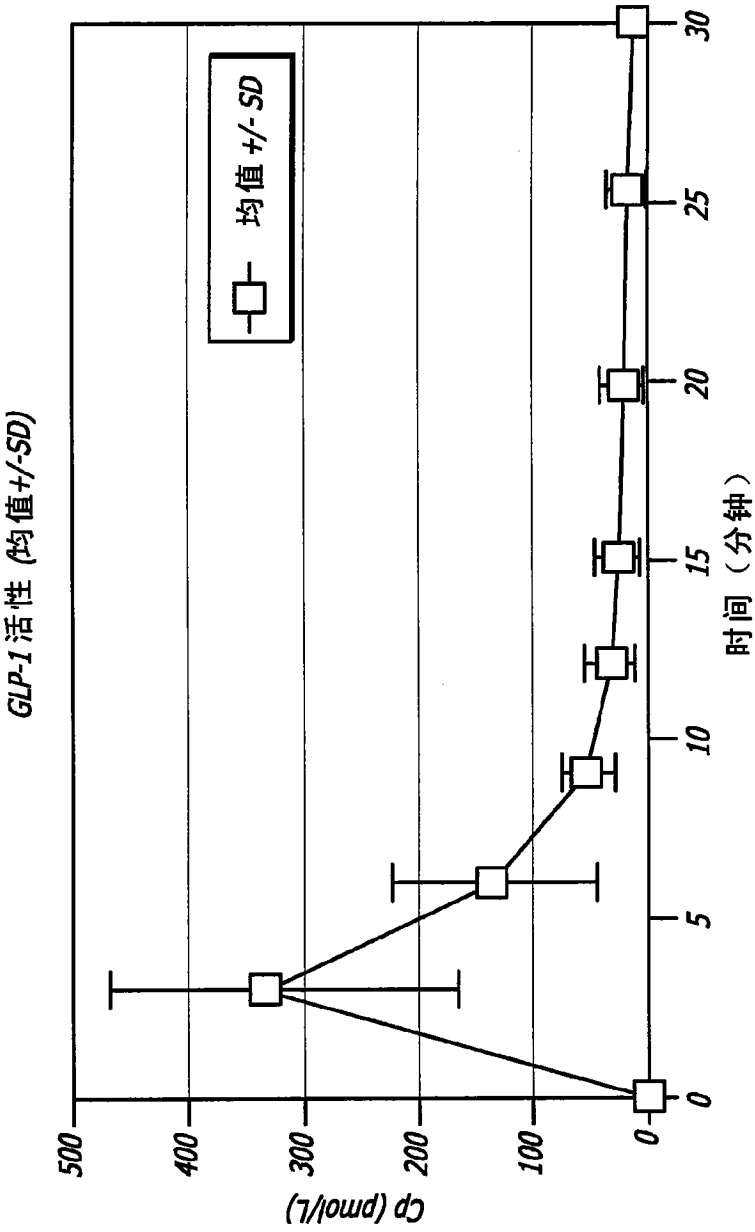


图 1

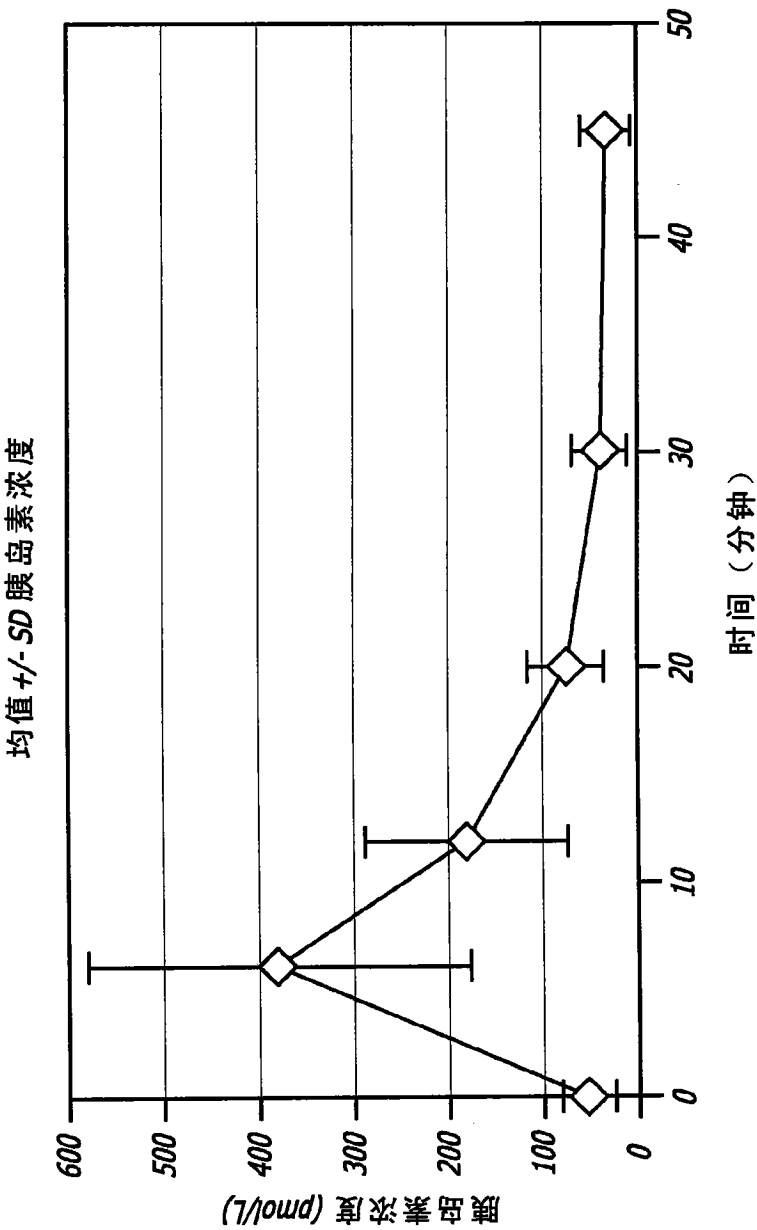


图 2A

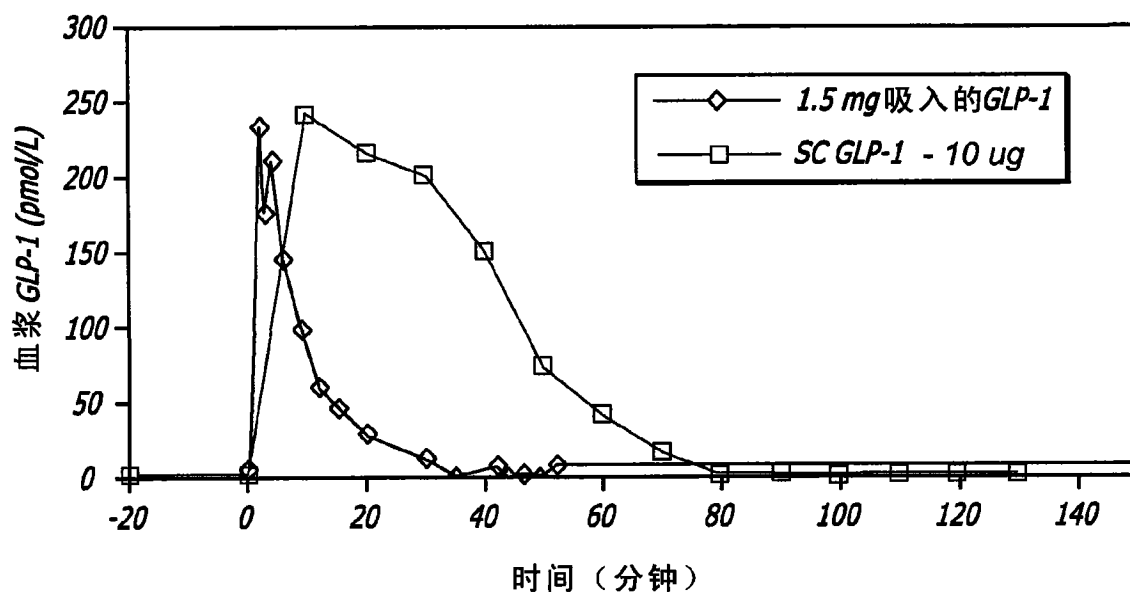


图 2B

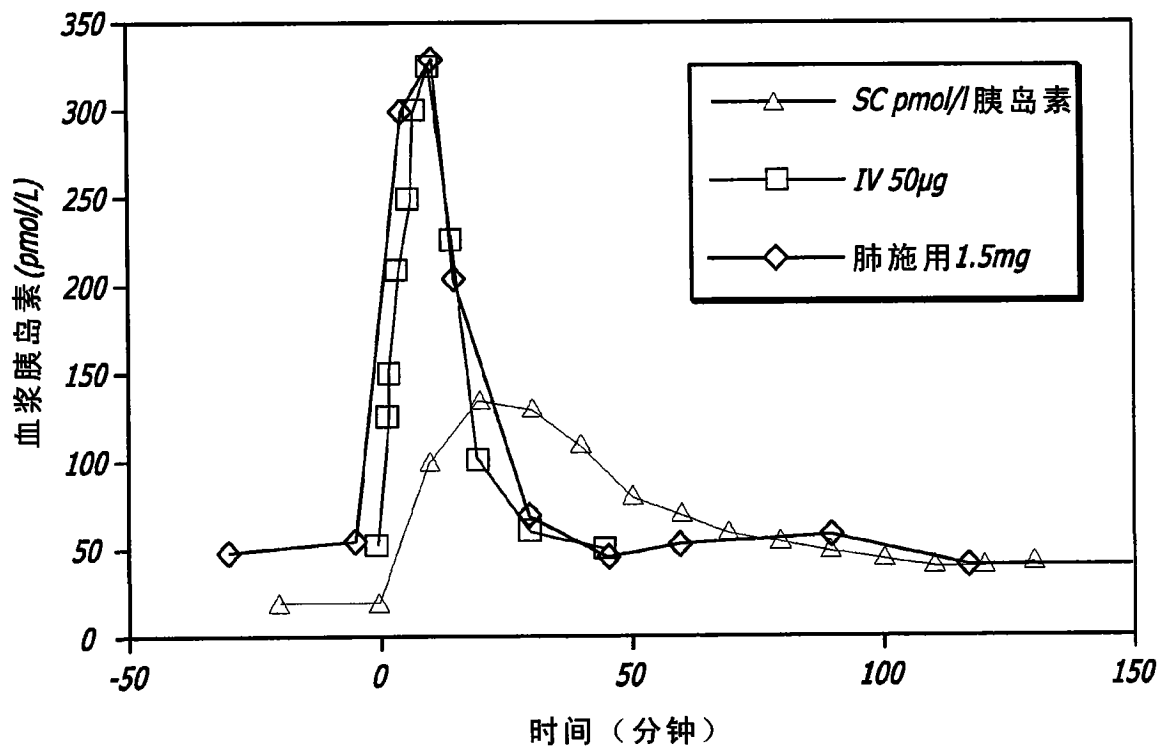


图 2C

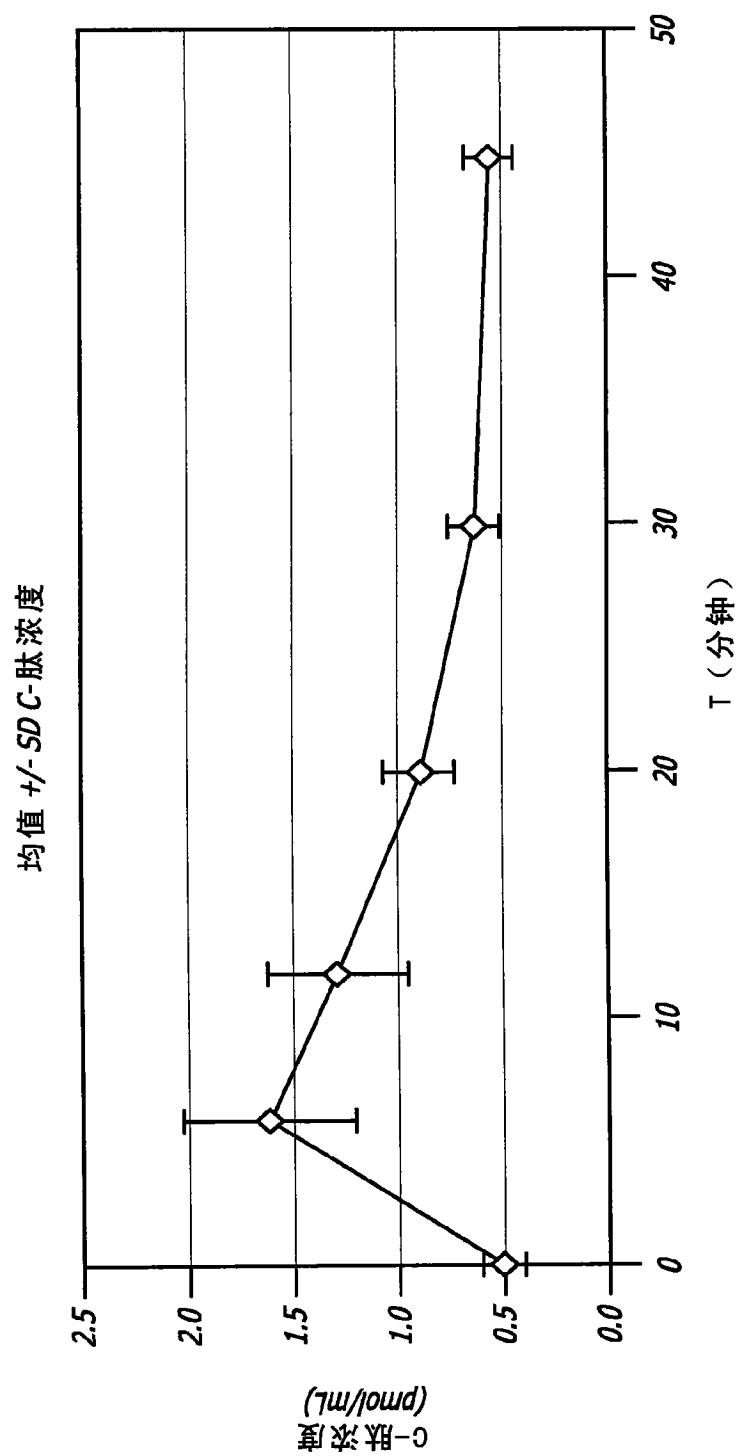


图 3

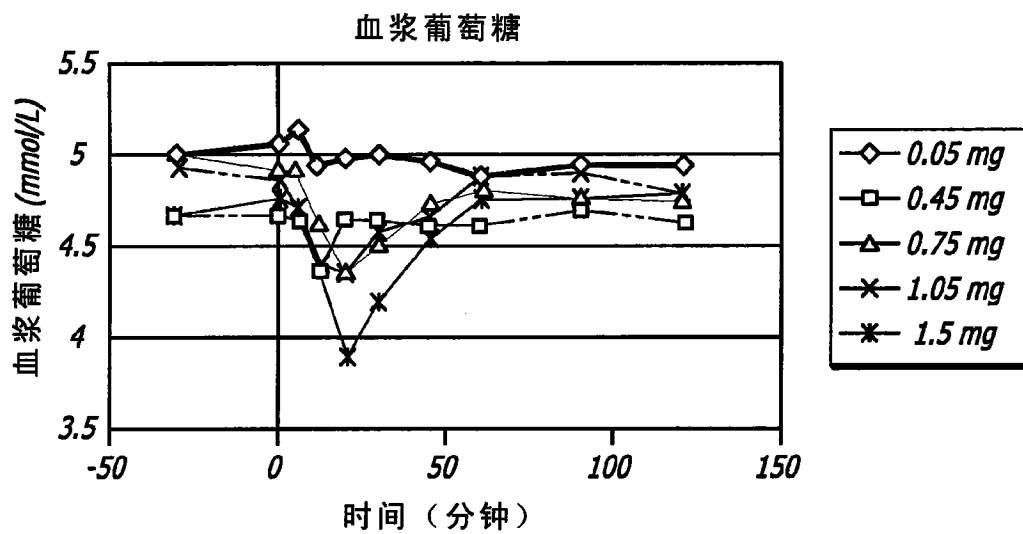


图 4

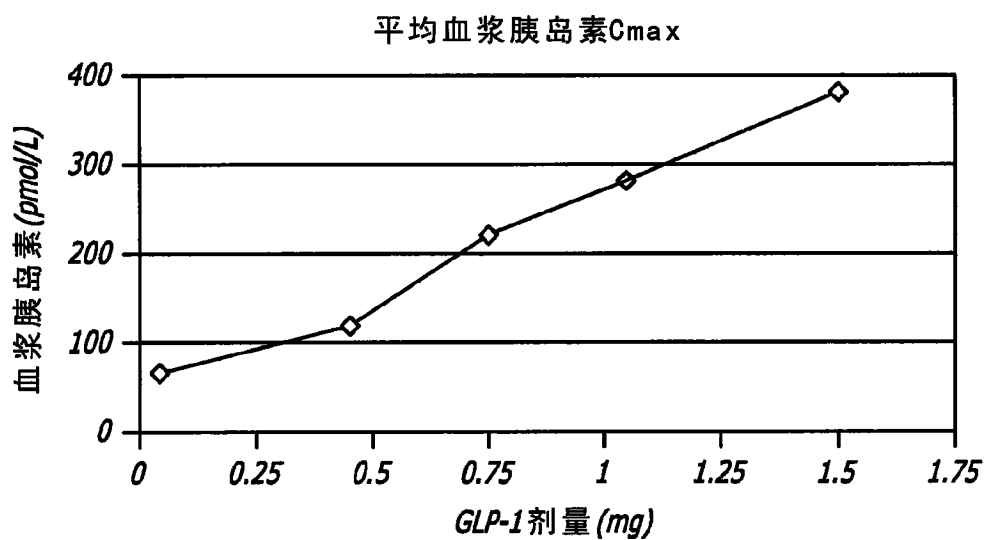


图 5

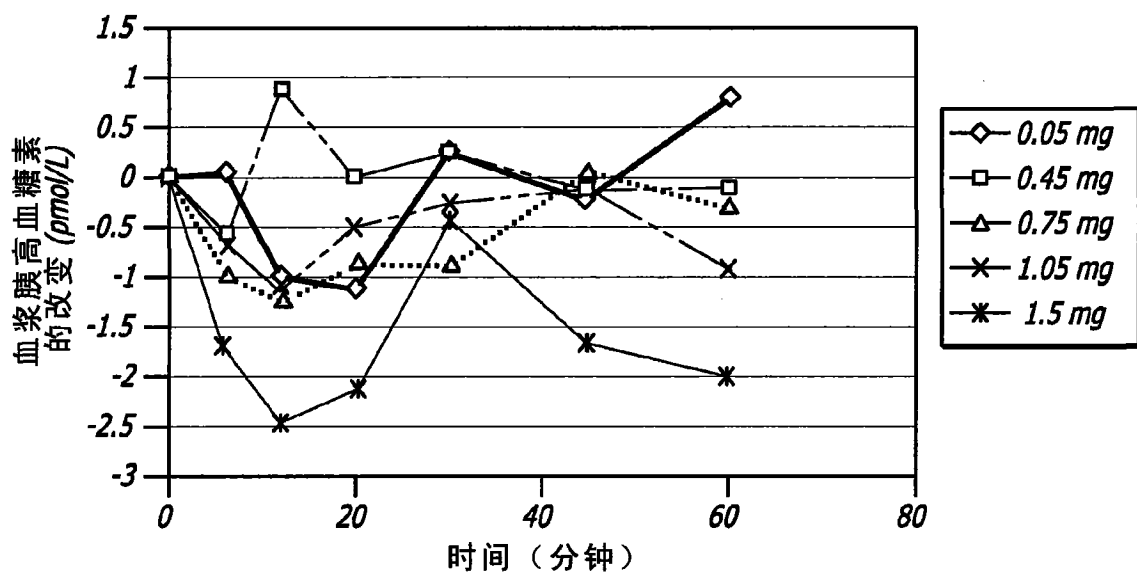


图 6

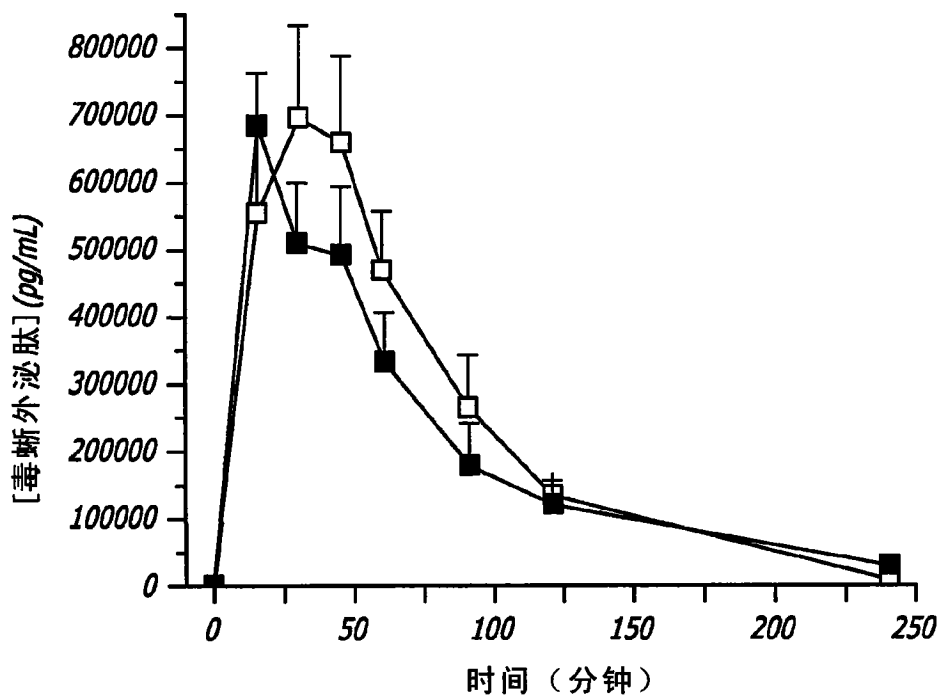


图 7

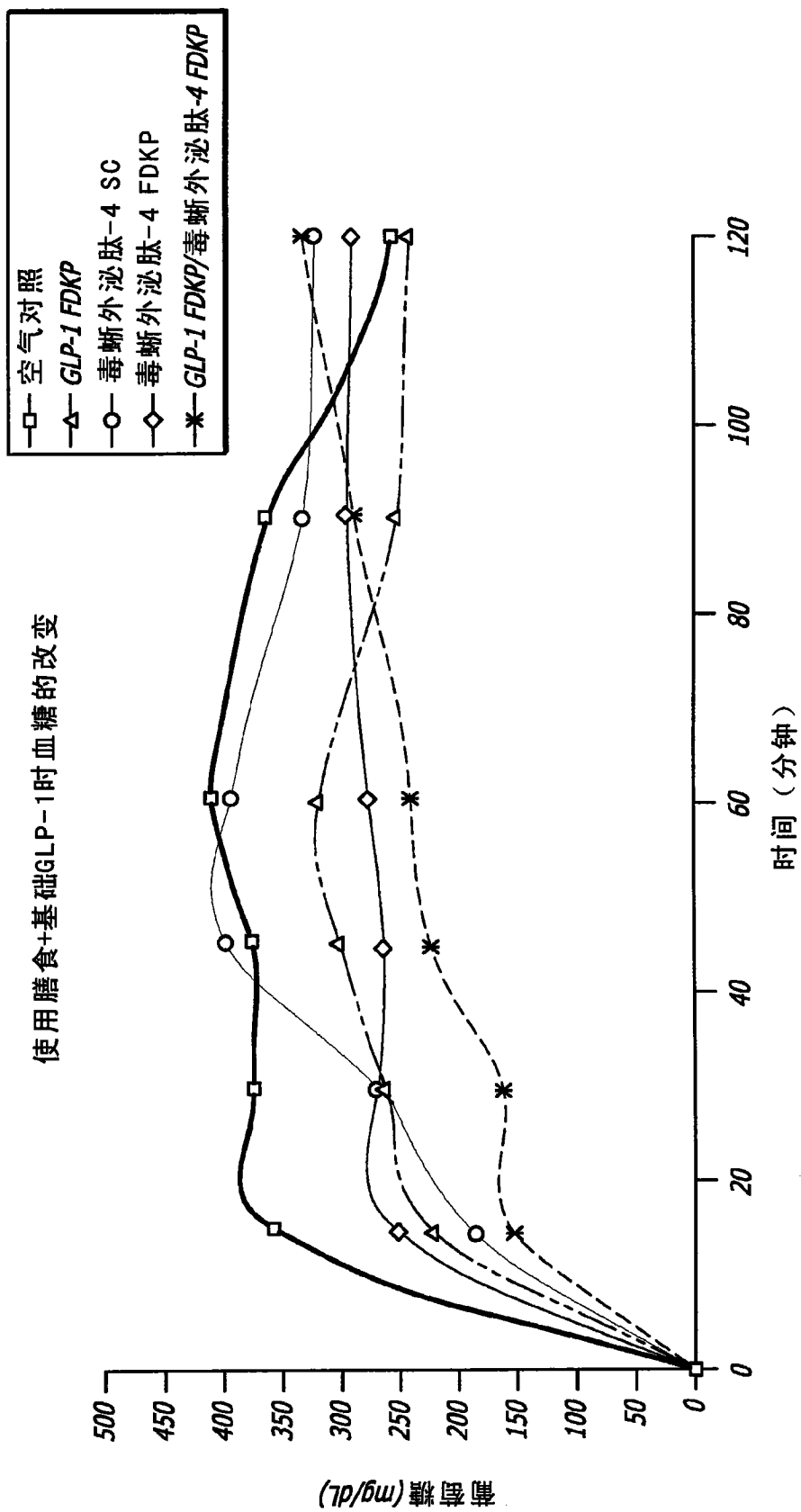


图 8

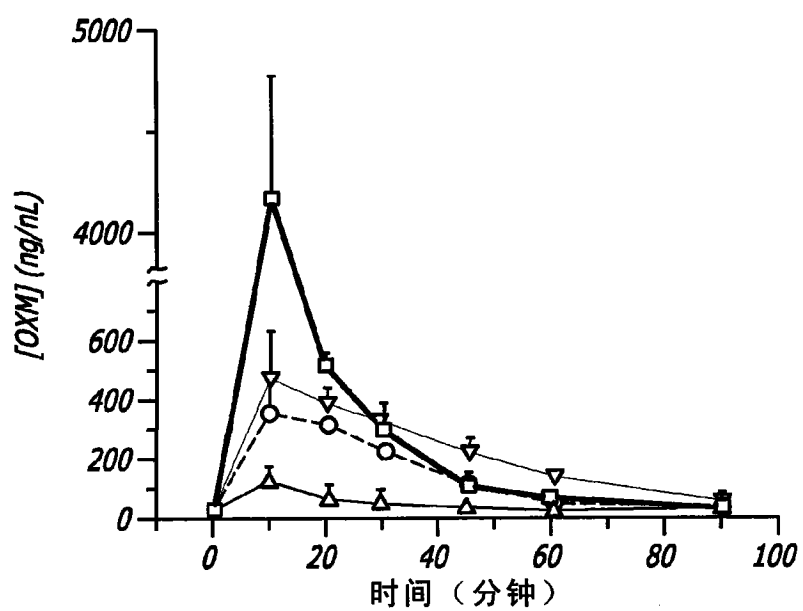


图 9A

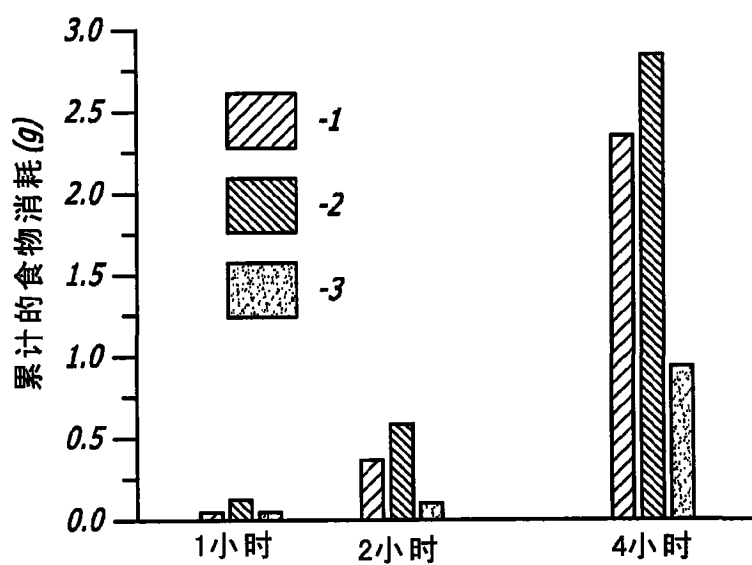


图 9B

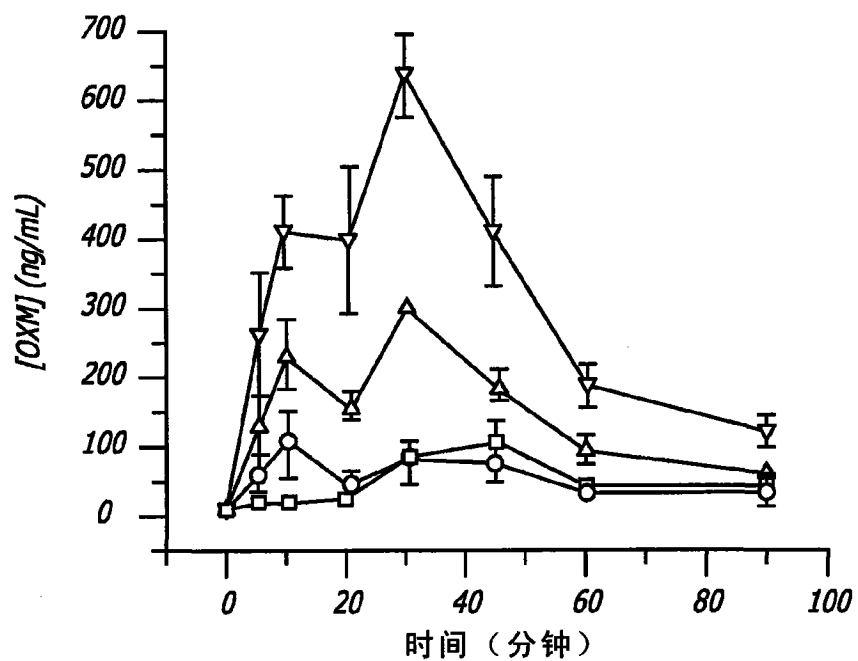


图 10A

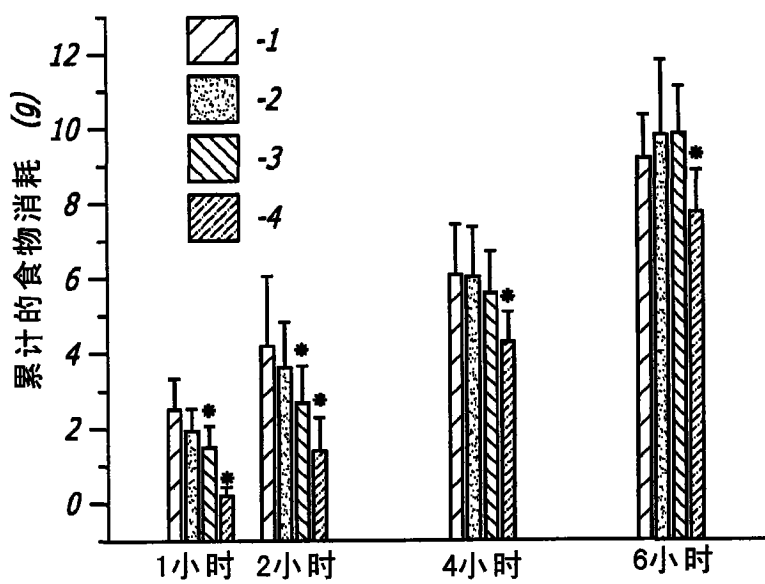


图 10B

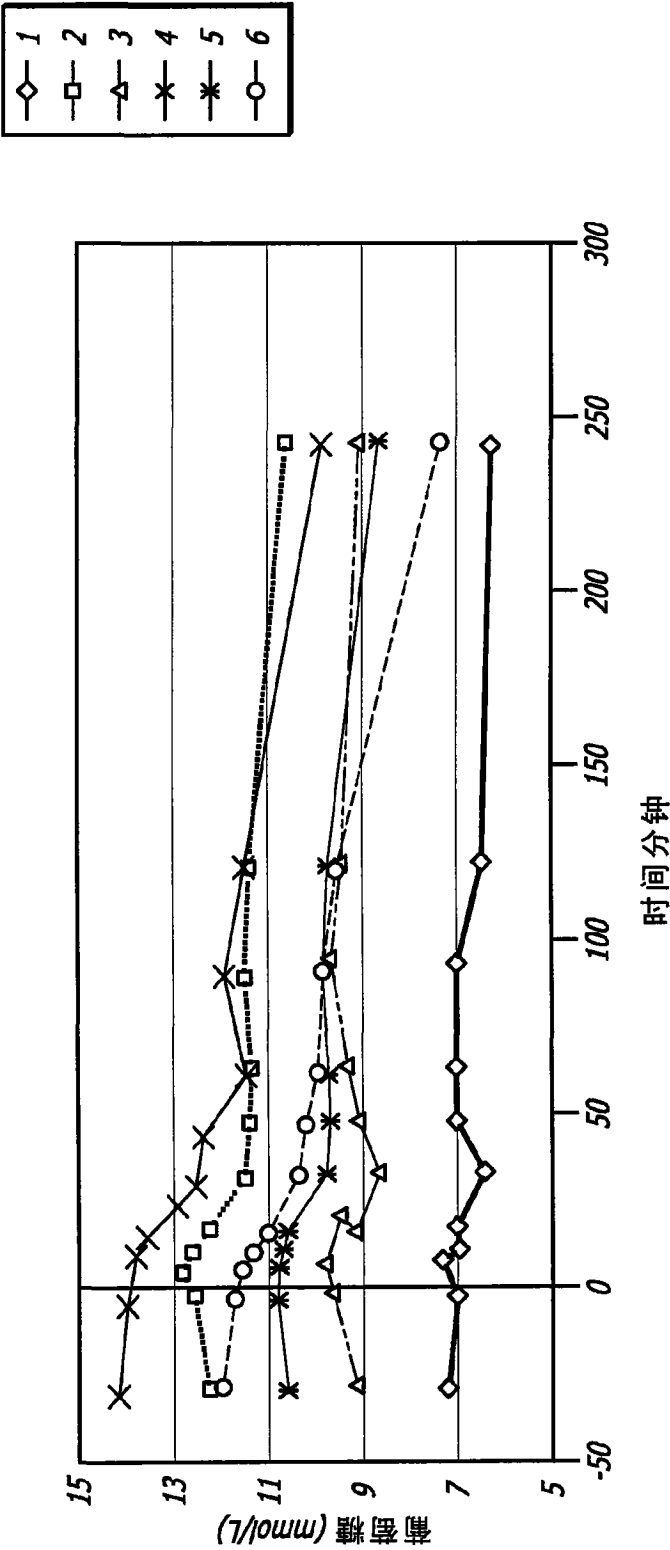


图 11

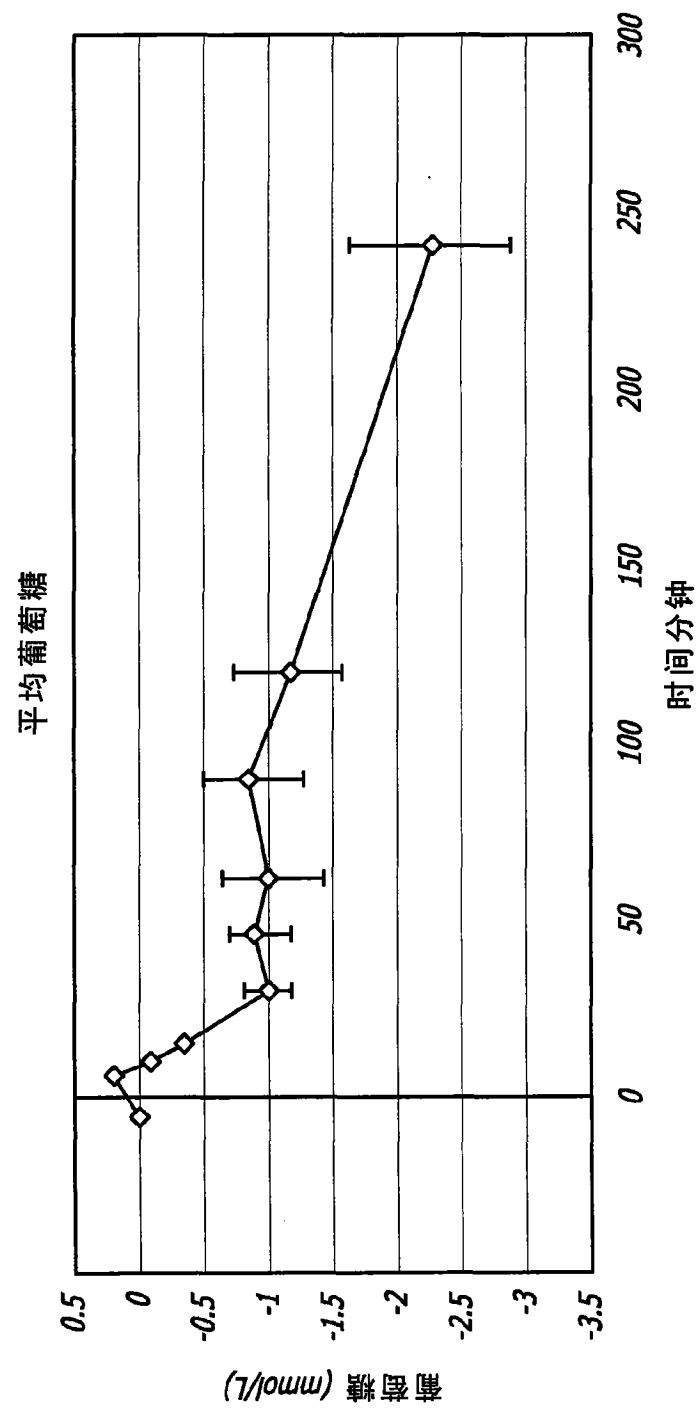


图 12

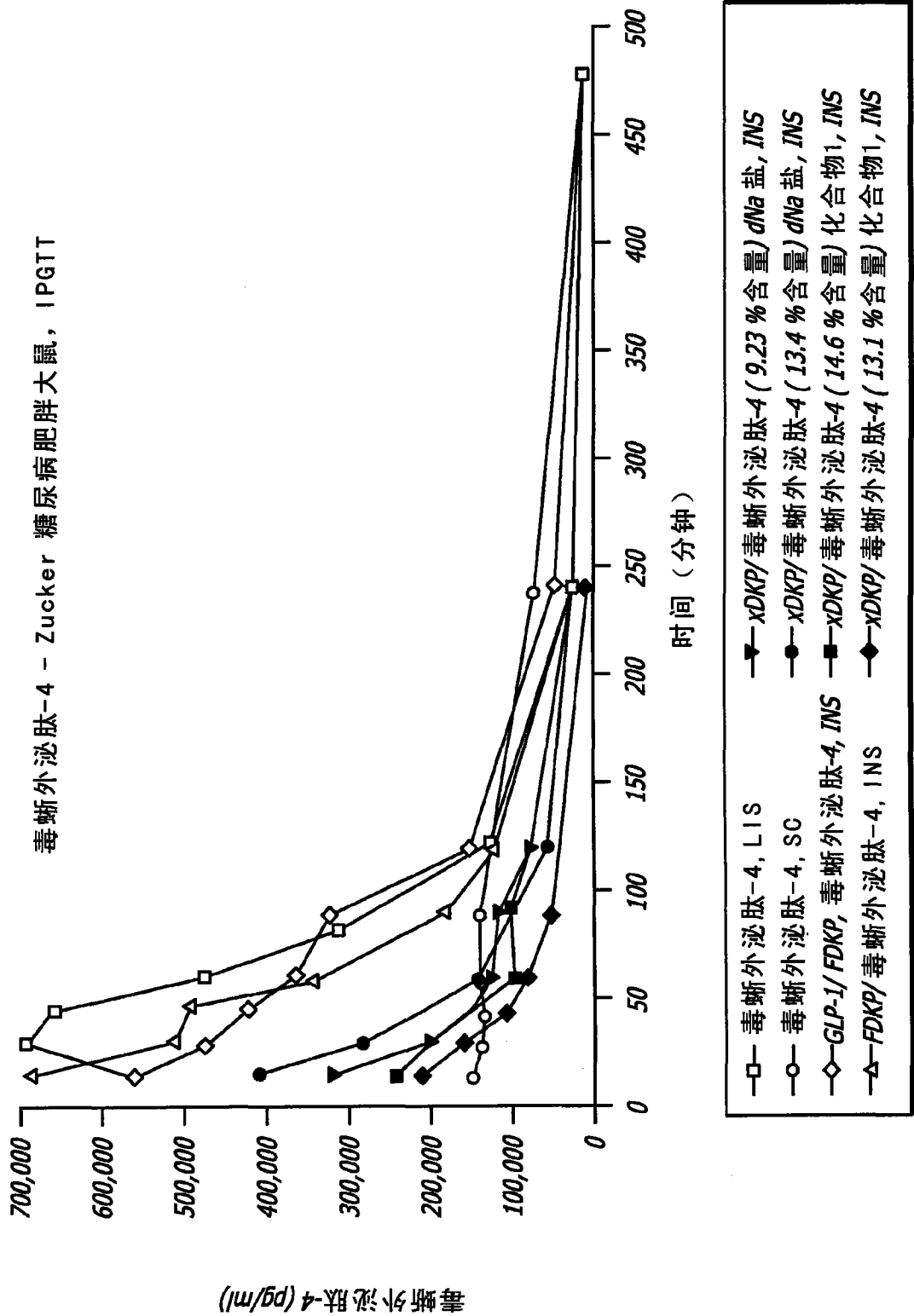


图 13

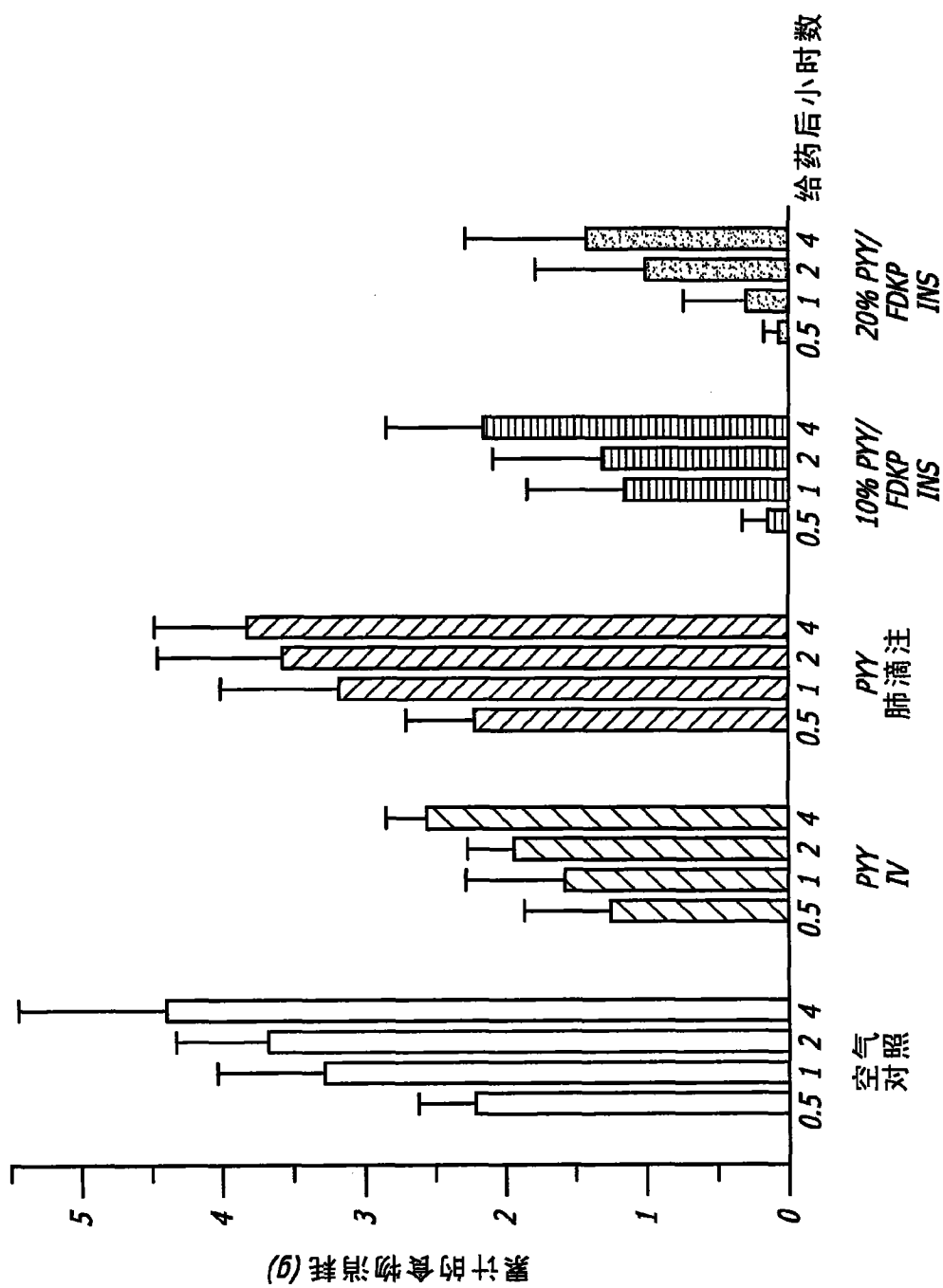


图 14

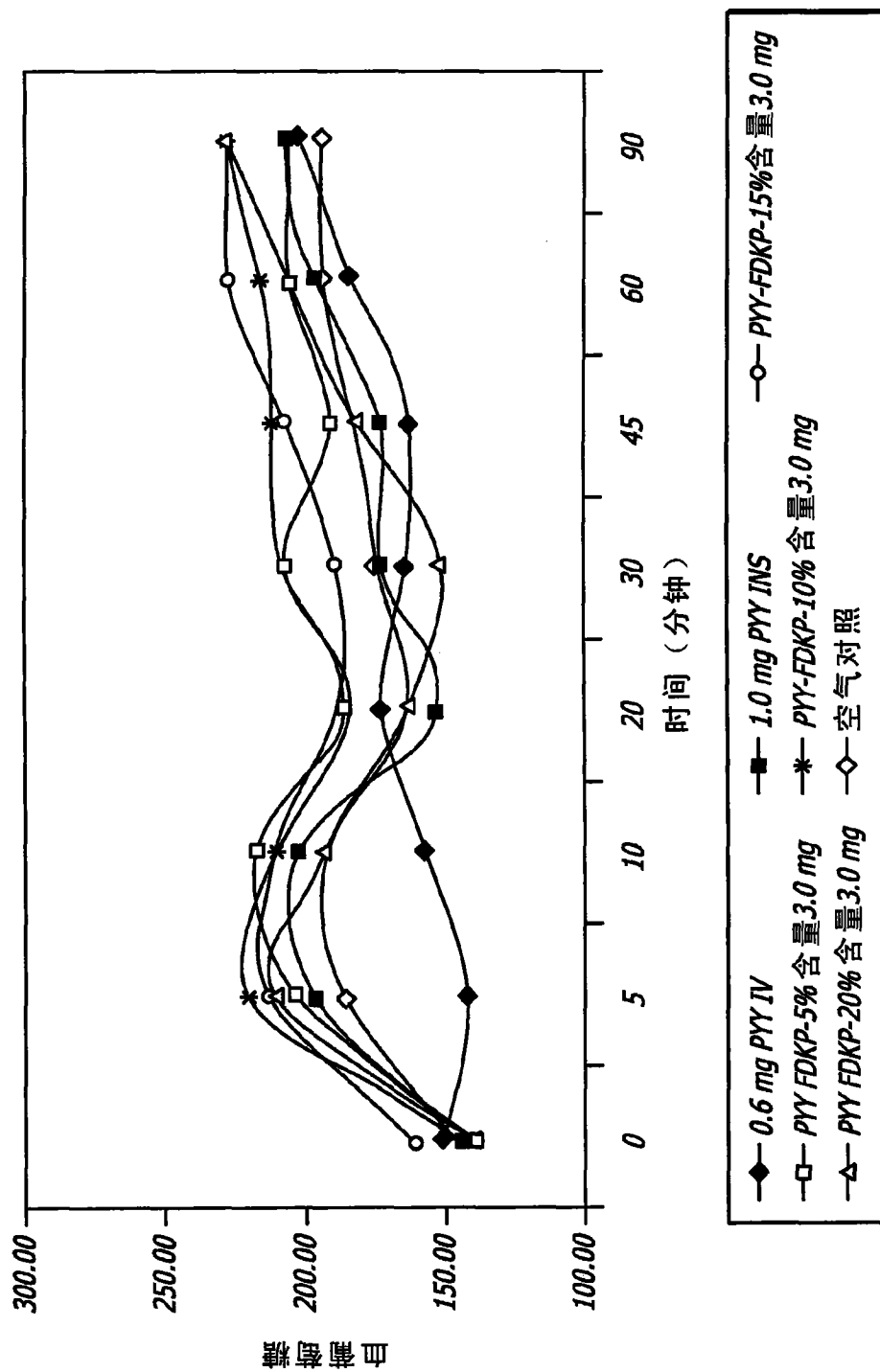


图 15

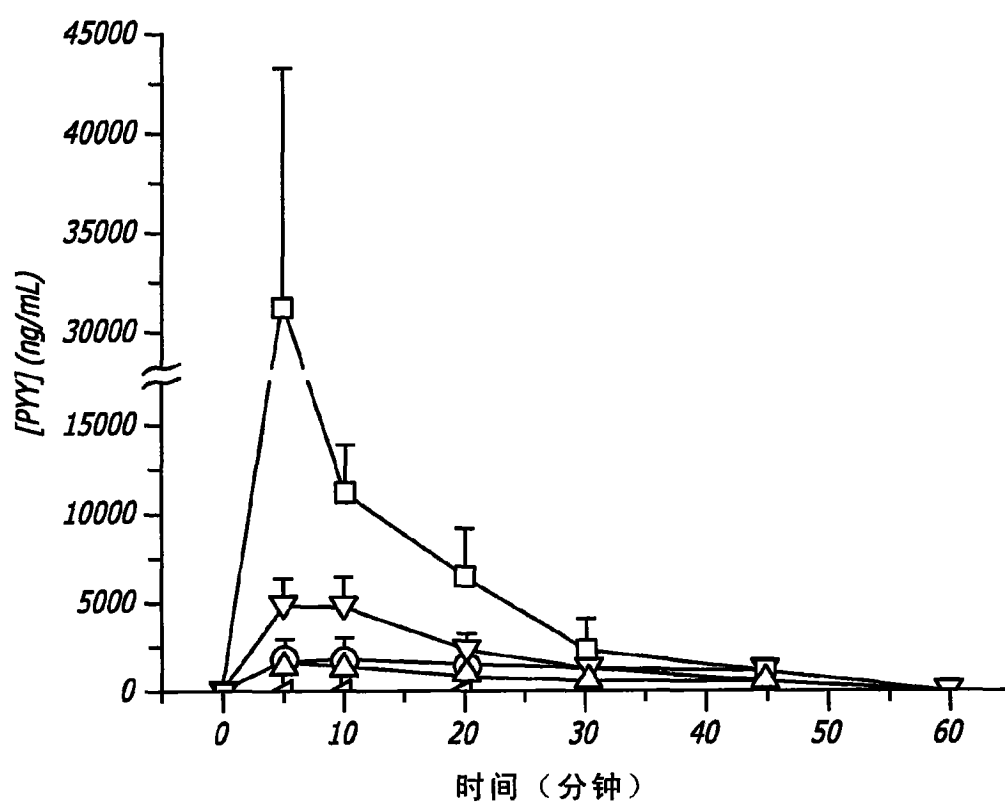


图 16

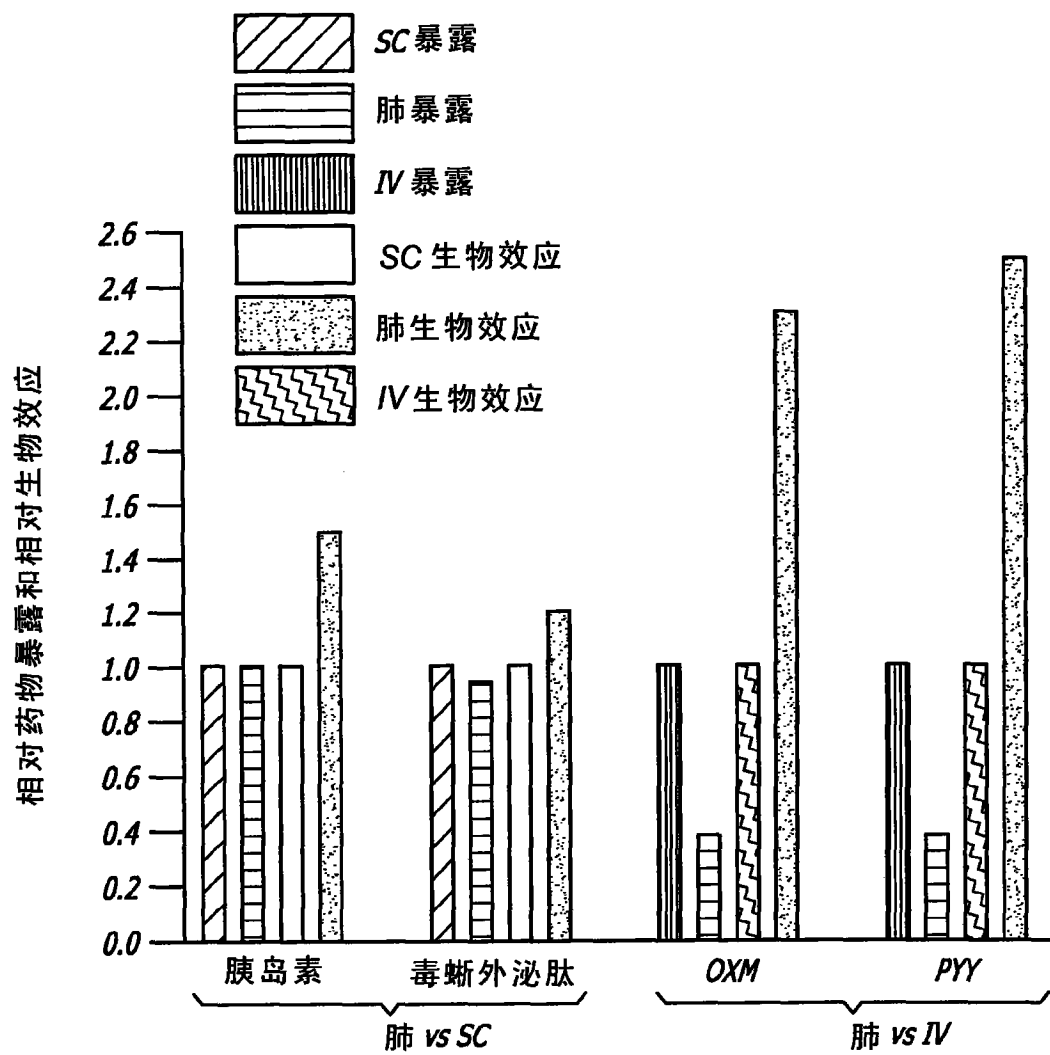


图 17

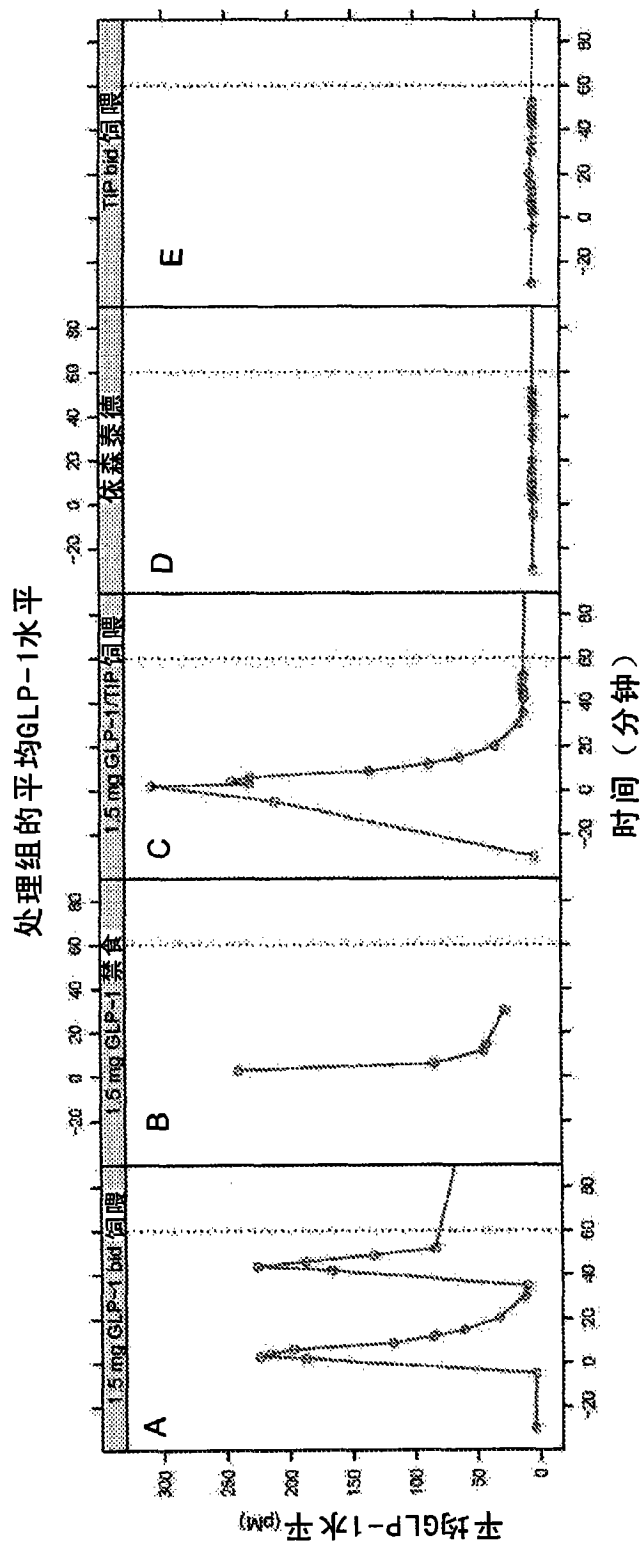


图 18

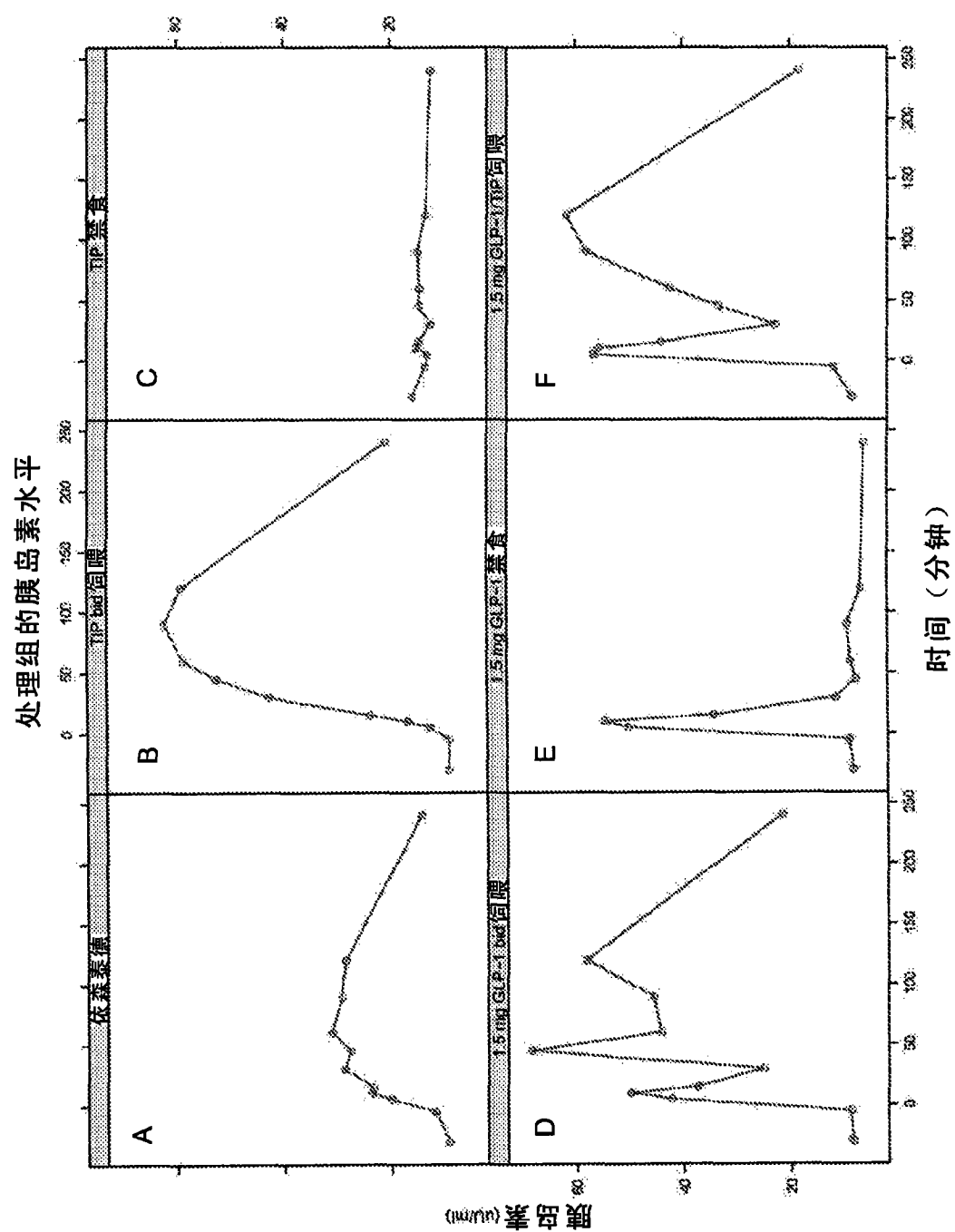


图 19

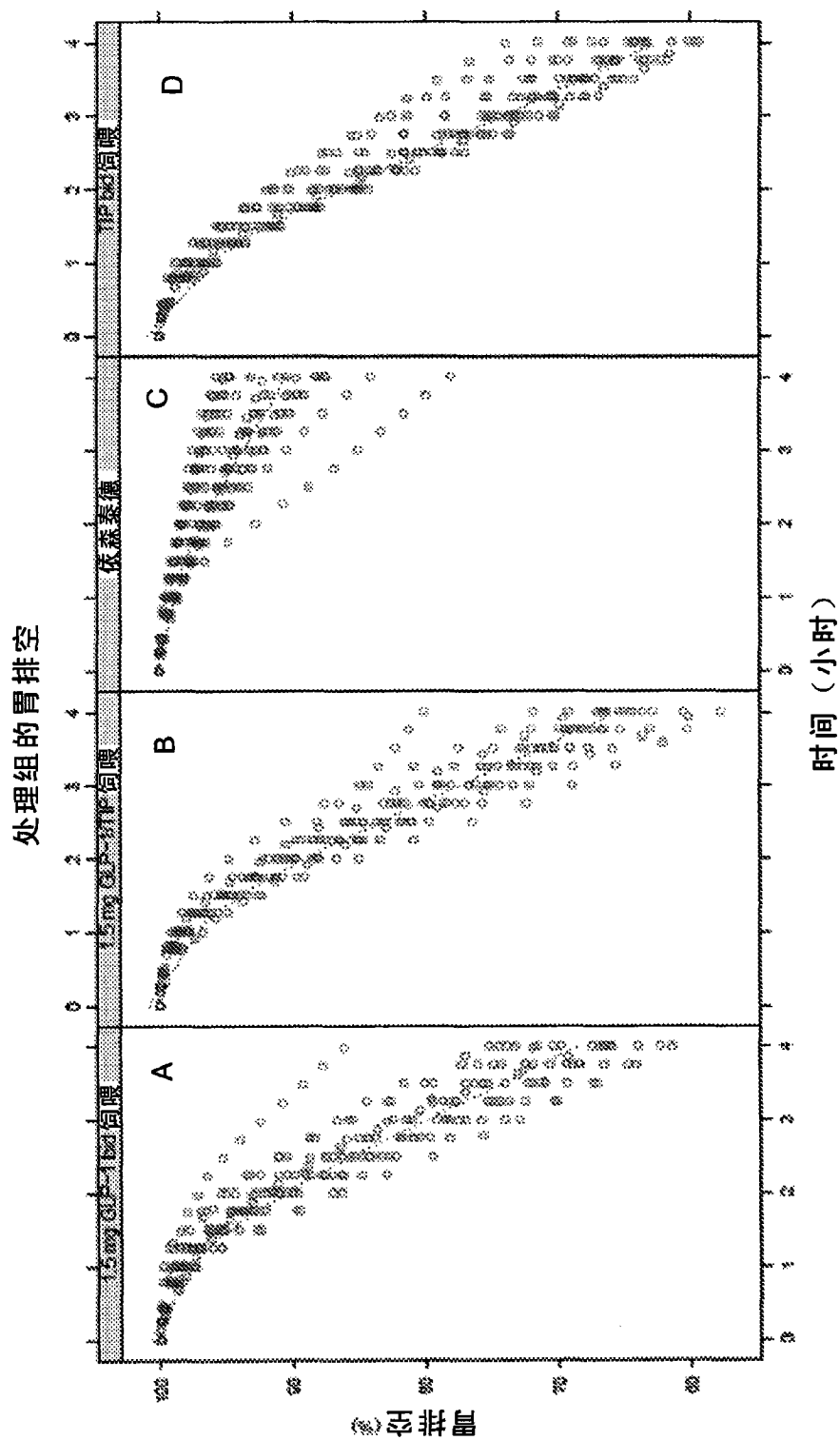


图 20