



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1997352 B

(45) 授权公告日 2010.12.01

(21) 申请号 200580024198.6

A61P 1/00(2006.01)

(续)

(22) 申请日 2005.06.16

(56) 对比文件

(30) 优先权数据

60/580,105 2004.06.17 US

JP 特开平 7-163348, 1995.06.27, 说明书  
实施例 1-6.

(85) PCT 申请进入国家阶段日

2007.01.18

CN 1435261 A, 2003.08.13, 权利要求 1-8.

JP 平 4-41434, 1992.02.12, 权利要求 1-3.

US 5302400 A, 1994.04.12, 权利要求 1, 说  
明书第 6 栏第 1-55 行和第 11 栏第 13-20 行.

(86) PCT 申请的申请数据

PCT/US2005/021252 2005.06.16

US 5458879 A, 1995.10.17, 权利要求 1-10,  
说明书第 2 栏 19-67 行, 说明书第 3 栏 60 行到第  
4 栏第 37 行.

(87) PCT 申请的公布数据

W02006/009764 EN 2006.01.26

A. Kumar et al. Type-Specific Separation  
of Animal Cells in Aqueous Two-Phase Systems  
Using Antibody Conjugates with Temperatur  
e-Sensitive Polymers. BIOTECHNOLOGY AND  
BIOENGINEERING 75 5. 2001, 75(5), 570-580.

(73) 专利权人 天野酶制品美国有限公司

地址 美国伊利诺斯

专利权人 天野酶制品株式会社

叶冬梅, 池洋才, 林红坚. 粘膜给药新  
剂型 - 生物粘附片的研究开发. 中国药房 13  
10. 2002, 13(10), 624-625.

(72) 发明人 J·F·乔利

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专  
利商标事务所 11038

代理人 袁志明

杜青, 平其能, 刘国杰. 影响卡波姆-羟丙基  
甲基纤维素粘附片粘附性质的因素考察. 中国医  
院药学杂志 22 12. 2002, 22(12), 709-711.

(51) Int. Cl.

A61K 9/00(2006.01)

A61K 47/32(2006.01)

A61K 47/38(2006.01)

A61K 38/46(2006.01)

A61K 38/47(2006.01)

A61K 38/48(2006.01)

A61K 35/74(2006.01)

A61K 36/064(2006.01)

A61K 39/395(2006.01)

A61K 39/42(2006.01)

Gupta, A et al. Interpolymer Complexation  
and Its Effect on bioadhesive Strength  
dissolution Characteristics of Buccal Drug  
Delivery Systems. DRUG DEVELOPMENT AND  
INDUSTRIAL PHARMACY 20 3. 1994, 20(3), 315-  
325.

审查员 卞志家

权利要求书 1 页 说明书 11 页 附图 5 页

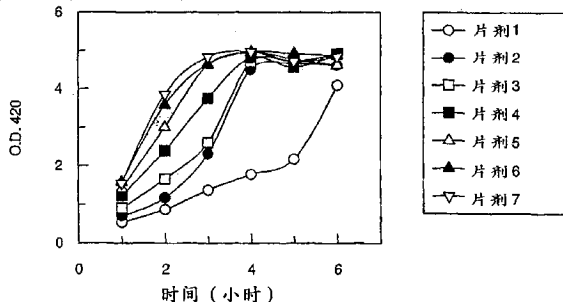
(54) 发明名称

含粘膜粘附性聚合物的酶、微生物和抗体的  
控释制剂

抗体, 和 / 或能够将酶、微生物或抗体包入水凝胶  
内, 它在长时间内有活性。

(57) 摘要

提供了包含至少一种能够形成水凝胶的粘膜  
粘附性聚合物、至少一种水溶性聚合物和一种或  
多种酶、微生物或抗体的组合物。该制剂在水溶液  
中形成水凝胶, 该水凝胶具有粘膜粘附性质, 并且  
能够在一段延长的时间内释放所述酶、微生物或



[ 转续页 ]

[ 接上页 ]

(51) Int. Cl.

*A61P 31/12* (2006.01)

1. 包含以下组分的组合物在制备用于帮助有此需要的受试者消化的药物中的用途：
  - (a) 至少一种能够形成水凝胶的粘膜粘附性聚合物，其中该粘膜粘附性聚合物选自聚丙烯酸酯和聚甲基丙烯酸酯聚合物；
  - (b) 至少一种水溶性聚合物；以及
  - (c) 治疗有效量的至少一种消化酶。
2. 根据权利要求 1 的用途，其中所述消化酶选自外切蛋白酶、内切蛋白酶、酸稳定的蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶、猕猴桃蛋白酶、内纤维素酶、葡聚糖酶、半纤维素酶、纤维素酶、果胶酶、脂肪酶、脂肪酶混合物、 $\alpha$ -淀粉酶、 $\beta$ -淀粉酶、淀粉葡萄糖苷酶、乳糖酶、蔗糖酶、麦芽糖酶、木聚糖酶、 $\alpha$ -半乳糖苷酶、甘露聚糖酶及其组合。
3. 根据权利要求 1 的用途，其中所述聚丙烯酸酯和聚甲基丙烯酸酯聚合物选自卡巴普和甲基丙烯酸酯的阴离子型聚合物。
4. 根据权利要求 1 的用途，其中所述水溶性聚合物选自纤维素、纤维素衍生物、脱乙酰壳多糖和右旋糖酐。
5. 根据权利要求 4 的用途，其中所述水溶性聚合物是纤维素衍生物。
6. 根据权利要求 5 的用途，其中所述纤维素衍生物是羟丙基纤维素。
7. 根据权利要求 1 的用途，其中所述组合物呈片剂的形式。
8. 根据权利要求 1 的用途，其中所述组合物呈颗粒状。
9. 根据权利要求 1 的用途，其中所述组合物呈有效平均大小为 2000nm 或更小的毫微粒的形式。
10. 根据权利要求 9 的用途，其中所述毫微粒的有效平均大小是 1000nm 或更小。
11. 根据权利要求 10 的用途，其中所述毫微粒的有效平均大小是 500nm 或更小。
12. 根据权利要求 1 的用途，其中所述受试者是人类。

## 含粘膜粘附性聚合物的酶、微生物和抗体的控释制剂

[0001] 本申请请求享有 2004 年 6 月 17 日提交的美国临时专利申请第 60/580, 105 号的权益。

[0002] 发明背景

[0003] 本发明一般地涉及配制成控释组合物的酶、微生物和抗体的领域。

[0004] 透粘膜递送药物是已建立得相当好的递送药物的方法,这主要是由于粘膜是相对可渗透的。结果是,膜允许药物迅速摄取到体循环中。一般而言,透粘膜递送药物方案和/或装置依赖于夹带药物并使药物粘附于粘膜的特定聚合物的粘膜粘附性质。该常规技术能使药物跨粘膜递送,但没有实现打算将药物停留在粘膜表面处或其上的情况。

[0005] 一子集重要的治疗剂是酶,例如消化酶。多种消化障碍酿成了将消化酶递送到消化道粘膜表面的常规方法。然而,为了有效治疗这些疾病,完整的酶必须在粘膜表面上或接近粘膜表面,并保持在粘膜表面上或接近粘膜表面足以导致有效治疗这些疾病的长时间。酶制剂的口摄食提高了酶将被胃内的胃酸降解的可能性。因此,例如美国专利第 5, 302, 400 号提出了用抗胃酸的聚合物包衣的消化酶的微球制剂。其它方法考虑在能够选择性释放酶的聚合物载体中固定酶。参见美国专利第 4, 975, 375 号。然而,这些酶制剂中没有一个满足了将酶保持在粘膜表面上,或提供延长或控制释放酶递送特征的需求。

[0006] 用常规方法递送酶的另一个问题是需要整天施用多个剂量的酶制剂。这个问题的出现是因为常规的酶制剂沿着消化道掠过,因此必须补足以表现出预期的治疗效果。另外,常规的消化酶制剂通常必须与每次膳食一起摄入。出于这些原因,患者的顺应性常常是个问题,尤其是儿科群体和老年群体。

[0007] 因此,在本领域中能对接触并保持在粘膜表面上或粘膜表面附近,以在粘膜表面上或粘膜表面附近提供治疗量的酶达一段延长的时间的酶制剂,存在着需求。

[0008] 发明概述

[0009] 本发明通过提供包含至少一种能够形成水凝胶的粘膜粘附性聚合物;至少一种水溶性聚合物;和治疗有效量的至少一种酶的组合物而满足了这些需求。在一些实施方案中,所述酶是消化酶,并且在其它实施方案中,所述酶是治疗性酶。

[0010] 本发明还提供了组合物,该组合物包含至少一种能够形成水凝胶的粘膜粘附性聚合物;至少一种水溶性聚合物;和可以生成治疗有效量的至少一种酶的至少一株微生物。示范性的微生物包括细菌和酵母。

[0011] 本发明另外提供了包含至少一种能够形成水凝胶的粘膜粘附性聚合物;至少一种水溶性聚合物;和治疗有效量的至少一种抗体的组合物。在一些实施方案中,所述抗体是抗肿瘤坏死因子  $\alpha$  单克隆抗体。

[0012] 还提供了使用本发明组合物的方法。一个实施方案是通过给受试者施用本发明组合物而将至少一种酶与需要这种酶的受试者的粘膜表面接触的方法。另一个实施方案是帮助需要该帮助的受试者消化的方法,它包括给受试者施用该组合物。又一个实施方案是防止受试者中碳水化合物消化的方法。再一个实施方案涉及刺激受试者中益生菌 (probiotic bacteria) 生长的方法。另一个实施方案是通过给受试者施用包含能生成根据本发明的酶

的微生物的组合物而将至少一种酶与需要这种酶的受试者的粘膜表面接触的方法。另一个实施方案提供了通过给受试者施用本文所述组合物,治疗患有胃肠障碍或胃肠相关障碍的受试者的方法。

[0013] 附图的简要说明

[0014] 图 1 是制剂 1-7 的水合作用体积随时间变化的图。

[0015] 图 2 显示了制剂 1-7 的乳糖酶释放(以 420nm 处的光密度 [OD] 变化测量的)的时间依赖性。

[0016] 图 3 显示了制剂 1-7 中每一个的上清液、分散水凝胶和完整水凝胶中的乳糖酶活性的分布。

[0017] 图 4 显示了包含果胶代替聚卡波非的制剂 1-7 的乳糖酶释放的时间依赖性。

[0018] 图 5 显示了包含阿拉伯胶代替聚卡波非的制剂 1-7 的乳糖酶释放的时间依赖性。

[0019] 图 6 显示了制剂 1-7 中每一个的上清液、分散水凝胶和完整水凝胶中的脂肪酶活性的分布。

[0020] 图 7 显示了制剂 1-7 中每一个的上清液、分散水凝胶和完整水凝胶中的蛋白酶活性的分布。

[0021] 图 8 显示了制剂 1-7 中每一个的粘膜粘附特征(粘附作用)。

[0022] 图 9 显示了以制剂 3 为基础的分别包含聚卡波非、果胶和阿拉伯胶的三个制剂的粘膜粘附特征(粘附作用)。

[0023] 详细说明

[0024] 除非另外定义,本文所用的术语打算具有它们在本领域中的通常含义。除非另外说明,“a”、“an”或“the”表示一个或多个,并且以单数形式使用的词语也表示复数。

[0025] “药物组合物”指的是一种或多种本文所述的酶、微生物或抗体或其生理学可接受的盐,与其它化学成分(如下述生理学可接受的载体和赋形剂)的混合物。药物组合物的目的是便于酶、微生物或抗体向生物给药。

[0026] 本发明提供了包含能够形成水凝胶的粘膜粘附性聚合物;水溶性聚合物;和治疗有效量的至少一种酶、微生物或抗体的组合物。

[0027] 在一个实施方案中,所述组合物是药物组合物。

[0028] 本发明人发现,可以制备形成水凝胶的组合物,其夹带酶、微生物或抗体,粘附到粘膜表面,还能在水凝胶内,或者通过释放酶、微生物或抗体而保留生物活性。发明人发现,该组合物能够夹带这些组分中的一种或多种,并使它们保持与粘膜表面接触或在粘膜表面附近。可以配制组合物,以将酶、微生物或抗体保持在粘膜表面上或在粘膜表面附近一段延长的时间。可选择地,可以配制该组合物,以在粘膜表面上或在粘膜表面附近释放酶、微生物或抗体。因此,例如组合物可粘附到粘膜表面,并允许酶、微生物或抗体基质进入,或者它可以受控制的方式在粘膜表面上或在粘膜表面附近释放酶、微生物或抗体。

[0029] 在一个实施方案中,组合物可包含任何酶或酶的混合物。一子集适当的酶是消化酶,它参与消化障碍或过程的治疗、预防、防止或操作。在一个实施方案中,消化酶是蛋白还原酶,包括例如蛋白酶和肽酶,如外切蛋白酶(exoprotease)、内切蛋白酶和酸稳定的蛋白酶;菠萝蛋白酶;木瓜蛋白酶;和猕猴桃蛋白酶(actinidin)。在另一个实施方案中,酶是纤维还原酶。示范性的纤维还原酶包括内纤维素酶、葡聚糖酶、半纤维素酶和果胶酶。在

其它实施方案中,酶是脂肪和 / 或油还原酶,例如脂肪酶或脂肪酶混合物。在另外的实施方案中,酶是淀粉还原酶,包括但不限于  $\alpha$ -淀粉酶、 $\beta$ -淀粉酶和淀粉葡糖苷酶。在进一步的实施方案中,酶是糖和 / 或牛奶 (dairy) 酶。这一类的示范性的酶包括乳糖酶、蔗糖酶 (invertase)、麦芽糖酶、木聚糖酶、 $\alpha$ -半乳糖苷酶和甘露聚糖酶。

[0030] 在该组合物中有用的其它酶包括例如纤维素酶。再其它酶包括转葡糖苷酶、呋喃果糖苷酶、蔗糖 6-果糖基转移酶,其将碳水化合物分解产物转化成不被肠吸收的寡糖。该组合物例如在前驱糖尿病的治疗、体重控制和支持有益肠细菌的生长方面是有用的。

[0031] 本发明还包括包含胆红素氧化酶的组合物,该酶将胆红素分解成可分泌的形式,该组合物例如在治疗黄疸中是有用的。

[0032] 本发明还包括包含纳豆激酶 (一种纤维蛋白溶酶) 的组合物。

[0033] 本发明还包括包含  $\alpha$ -半乳糖苷酶、植酸酶、草酸氧化酶、 $\beta$ -糖苷酶、胶原酶 (collagenase)、齿斑葡聚糖酶 (mutanase) 和葡聚糖酶的组合物。

[0034] 粘膜粘附性聚合物选自能够形成水凝胶的粘膜粘附性聚合物。根据本领域公认的含义,水凝胶是其中水是分散介质的胶态凝胶。因此,能够形成水凝胶的粘膜粘附性聚合物在水的存在下将会溶胀。在本发明上下文中,认为粘膜粘附性聚合物的作用是保持组合物与粘膜表面接触或在粘膜表面附近,同时认为聚合物具有形成水凝胶的能力,从而包入并因此固定组合物的一种或多种酶。

[0035] 在上述一般指导方针之内,可以形成水凝胶的任何粘膜粘附性聚合物都打算用于本组合物中。很多这样的聚合物是本领域已知的。优选的粘膜粘附性聚合物包括但不限于卡巴普、N-异丙基丙烯酰胺、聚乙烯醇 / 聚乙烯吡咯烷酮、右旋糖酐、甲基丙烯酸羟乙基酯 / 甲基丙烯酸、聚乙烯醇、聚丙烯酰胺、聚乙二醇 / 聚乳酸、羧甲基脱乙酰壳多糖和胶原。这方面的示范性聚合物是聚卡波非和其它丙烯酸酯 / 甲基丙烯酸酯聚合物。

[0036] 这方面的进一步示范性聚合物包括基于甲基丙烯酸酯的阴离子型聚合物,例如 **Eudragit<sup>®</sup>** (Degussa) 家族的聚合物,它形成水凝胶,该水凝胶在规定 pH 范围内,通常在约 pH 5.5 至约 pH 7.5 的范围内溶解,并由此可以释放出所夹带的酶。例如,这种在约 5.5 至约 6.0 的 pH 范围内溶解的聚合物适用于靶向十二指肠。在不断增大的 pH 下溶解的聚合物通常以肠的下部分为靶,该部分接近结肠,例如 pH 是约 6.5 至约 7.0。以这种方式,水凝胶中夹带的酶可以避免在 pH 低得多的胃内分解和 / 或释放。最后,还关注两种或更多种任何上述粘膜粘附性聚合物的组合。

[0037] 本发明组合物还包含水溶性聚合物。该聚合物当水合时可形成水凝胶,或在某种程度上可不形成水凝胶,但因此能溶于含水介质中。在本发明上下文中,认为该聚合物的作用是水解由粘膜粘附性聚合物形成的水凝胶。很多水溶性聚合物是本领域已知的。该方面适当的聚合物包括但不限于多元醇类和聚碳水化合物 (polycarbohydrate)。示范性的水溶性聚合物包括羟基化纤维素,例如羟丙甲基纤维素和羟甲基纤维素。其它适当的水溶性聚合物包括脱乙酰壳多糖、聚乙二醇、聚山梨酯 80、醋酸淀粉和聚乳酸。还关注两种或更多种水溶性聚合物的组合。

[0038] 认为粘膜粘附性聚合物和水溶性聚合物的混合物产生了组合物的有益性质。可调节这些聚合物的相对浓度和同一性,以适应组合物的多个性质或使其最优化,这些性质中的一些可能会相互竞争。这些性质包括例如组合物的粘膜粘附性,组合物中包含的酶的分

布和量,从组合物中释放的酶的量,和释放酶的速度。

[0039] 根据酶、微生物和抗体以及所治疗或预防的病况,可能希望提供能长时间保持酶的组合物。例如,乳糖酶通常是在肠壁内发现的,因此希望将组合物内的乳糖酶保持在肠壁粘膜表面上或其附近。另一方面,可能希望提供酶、微生物或抗体的一些释放。例如,一些蛋白酶被释放到肠液内。因此,可能希望从组合物中释放一些蛋白酶到肠液内。本领域技术人员可以很容易地测定想要的保留/释放特征,并且可以选择聚合物并调节它们的相对浓度,以获得想要的特征。

[0040] 本发明还提供了包含上述聚合物混合物和能够生成治疗有效量的至少一种酶的至少一种微生物的组合物。在本上下文中,组合物不仅产生了酶的控制释放,而且作为微生物持续生成酶的结果,还产生了酶的持续释放。在本领域中已知很多微生物表现出这种功能。示范性的微生物包括但不限于细菌和真菌。在该方面中有一些细菌是双歧杆菌和乳杆菌,例如乳双歧杆菌 (*Bifidobacterium lactis*) 和其它双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*) 物种、嗜酸乳杆菌 (*L. acidophilus*)、鼠李糖乳杆菌 (*L. rhamnosus*) 和植物乳杆菌 (*L. plantarum*)。真菌的例子包括酵母,例如布拉酵母菌 (*Saccharomyces boulardii*)。微生物和它们生成的酶的配对是本领域公知的。例如,已知凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) 是诸如核酸内切酶(美国专利第 5,200,336 号)、淀粉酶(美国专利第 4,980,180 号)、乳糖酶(美国专利第 4,323,651 号)和环麦芽糖糊精葡聚糖转移酶(美国专利第 5,102,800 号)等酶的来源。另外,本领域已知的各种乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 培养物生成乳糖酶(美国专利第 6,461,607 号和其中引用的文献)。

[0041] 以下所述的其它实施方案涉及使用本发明的酶组合物来刺激这类微生物生长的方法,这些微生物本身被公认为是治疗有益的,或者能够提供有益的酶。因此在本上下文中,实施方案是互补的,因为本发明组合物可以适于刺激现有微生物和有益微生物的生长,或提供微生物本身。在这两类实施方案中,有需要的受试者接受这两类方法的好处。

[0042] 本发明的其它实施方案提供了包含上述聚合物混合物和治疗量的至少一种抗体的组合物。抗体的同一性不是必需的,因此可以在本领域技术人员已知的抗体中进行选择。在以下一些实施方案中,根据抗体已知的对抗胃肠障碍或胃肠相关障碍的预防性质来选择抗体。因此,例如,在这些实施方案中有用的抗体包括但不限于抗肿瘤坏死因子  $\alpha$  单克隆抗体、抗白介素-12 抗体和抗轮状病毒抗体。抗肿瘤坏死因子  $\alpha$  单克隆抗体的具体实例是英夫利昔单抗。

[0043] 尽管聚合物浓度可以显著改变,但是粘膜粘附性聚合物或其混合物的量通常在约 1-约 99%、约 10-约 75%、约 15-约 67%、约 20-约 60%和约 25-约 50% (w/w 基于全部聚合物的重量) 的范围内。水溶性聚合物或其混合物的量可以在约 1-约 99%、约 20-约 90%、约 30-约 85%、约 40-约 80%和约 55-约 75% (w/w 基于全部聚合物的重量) 的范围内。

[0044] 本发明的说明性制剂包含作为水溶性聚合物的羟丙甲基纤维素,和作为粘膜粘附性聚合物的卡巴普。在本上下文中粘膜粘附性聚合物的示范性浓度范围包括约 1-约 50%、约 10-约 45%、约 15-约 40%和约 20-约 35% (w/w 基于全部聚合物的重量)。水溶性聚合物的示范性浓度范围包括约 45-约 99%、约 50-约 90%、约 55-约 85%和约 60-约 80% (w/w 基于全部聚合物的重量)。还请参见实施例的制剂 2-6。

[0045] 组合物可进一步包含其它组分,例如一种或多种药学可接受的粘合剂、润滑剂、助悬剂、甜味剂、矫味剂、防腐剂、缓冲剂、湿润剂、崩解剂、泡腾剂和其它赋形剂。这些赋形剂是本领域已知的。在一个实施方案中,本发明组合物与至少一种药学可接受的赋形剂混合、被赋形剂稀释、或被包封在载体内,所述载体可以是胶囊、小药囊、片剂、口腔含化剂、锭剂、纸或其它容器的形式。当赋形剂用作稀释剂时,它可为用作媒介物、载体或介质来平衡组合物的固体、半固体或液体物质。因此,组合物可以配制成片剂、丸剂、散剂、酏剂、混悬剂、乳剂、糖浆剂、胶囊(例如软明胶胶囊和硬明胶胶囊)、栓剂、锭剂、口腔含化剂型、无菌注射液和无菌包装粉末。

[0046] 粘合剂的实例是各种纤维素和交联聚乙烯吡咯烷酮,微晶纤维素,如 Avicel PH101 和 Avicel PH102,微晶纤维素,硅化微晶纤维素(SMCC),和甘露醇。

[0047] 适当的润滑剂(包括作用于待压缩的粉末制剂的流动性的物质)是诸如 Aerosil 200 等胶体二氧化硅、滑石粉、硬脂酸、硬脂酸镁、硬脂酸钙和硅胶。

[0048] 甜味剂的实例是任何天然甜味剂或人造甜味剂,例如蔗糖、木糖醇、糖精钠、环己氨磺酸盐、阿司帕坦和乙酰舒泛及其盐。矫味剂的实例是 Magnasweet (MAFCO 的商标)、泡泡糖香料和水果香料等。

[0049] 防腐剂的实例是山梨酸钾,对羟基苯甲酸甲酯,对羟基苯甲酸丙酯,苯甲酸及其盐,对羟基苯甲酸的其它酯,如对羟基苯甲酸丁酯,醇,如乙醇或苯甲醇,酚类化合物,如苯酚,或季铵化合物,如苯扎氯铵。

[0050] 适当的稀释剂包括药学可接受的惰性填充剂,如微晶纤维素、磷酸氢钙、糖和/或任何上述物质的混合物。稀释剂的实例包括微晶纤维素,如 Avicel PH101 和 Avicel PH102;磷酸氢钙,如 Emcompress;甘露醇;淀粉;山梨醇;蔗糖和葡萄糖。

[0051] 适当的崩解剂包括轻微交联的聚乙烯吡咯烷酮、玉米淀粉、马铃薯淀粉、玉米淀粉和改良淀粉、交联羧甲基纤维素钠、交联聚维酮、淀粉羟乙酸钠及其混合物。

[0052] 泡腾剂的实例是泡腾剂对,例如有机酸和碳酸盐或碳酸氢盐。适当的有机酸包括例如柠檬酸、酒石酸、苹果酸、富马酸、己二酸、琥珀酸、以及海藻酸和酞和酸盐。适当的碳酸盐和碳酸氢盐包括例如碳酸钠、碳酸氢钠、碳酸钾、碳酸氢钾、碳酸镁、甘氨酸钠碳酸酯(sodium glycine carbonate)、碳酸 L-赖氨酸和碳酸精氨酸。可选择地,可只存在泡腾剂对的酸组分。

[0053] 在一个实施方案中,组合物除了粘膜粘附性聚合物、水溶性聚合物、以及酶、微生物或抗体以外,还包含下列成分:一种或多种药学可接受的粘合剂和/或润滑剂。

[0054] 在本发明的一些实施方案中,组合物被制成口服给药的剂量单位形式。例如,聚合物和一种或多种酶、微生物或抗体可与固体粉状载体一起混合,例如山梨醇、甘露醇、淀粉、支链淀粉,纤维素衍生物或明胶,以及与抗摩擦剂一起混合,例如硬脂酸镁、硬脂酸钙和聚乙二醇蜡。然后将混合物压制成片。如果需要包衣片,那么以上制备好的片芯可用例如可包含阿拉伯胶、明胶、滑石粉、二氧化钛的糖的浓溶液包衣,或用溶于挥发性有机溶剂或溶剂混合物中的漆包衣。各种染料可加到该包衣中,以区分含不同活性化合物或含不同量活性化合物的片剂。

[0055] 也可制备软胶囊,例如包含聚合物和一种或多种酶、微生物或抗体的混合物,以及植物油或非水的、水可混溶的材料如聚乙二醇等的胶囊。硬胶囊可包含组合物结合固体粉



状载体,例如山梨醇、甘露醇、马铃薯淀粉、玉米淀粉、支链淀粉、纤维素衍生物或明胶的颗粒。

[0056] 可制备栓剂形式的用于直肠给药的剂量单位,它可包含酶和聚合物混合物与中性脂肪基质,或可将它们制成明胶-直肠胶囊的形式,它包含与植物油或石蜡油混合的制剂。

[0057] 在一个实施方案中,本发明关注本文所述的颗粒形式的组合物。颗粒形式在制备口服片剂中是有用的,并且它们通常按以下方式制备(尽管也可采用本领域公知的其它技术)。将固体物质轻轻地磨碎或过筛至想要的粒径,将所得物质轻轻地按压使其通过具有希望大小的不锈钢筛。然后在受控制的干燥设备中干燥混合物的层达确定的时间长度,以获得想要的粒径和一致性。将干燥的混合物颗粒轻轻地过筛,除去任何粉末。向该混合物中加入崩解剂、抗摩擦剂和抗粘着剂。最后,使用带有适当冲头和模具的机器将混合物压成片剂,以获得想要的片剂大小。技术人员可选择该机器的操作参数。

[0058] 锭剂和口腔含化剂型的制备可以用本领域普通技术人员已知的方法完成。

[0059] 当在本文规定的条件下使用时,本发明组合物可配制成在延长的时间内释放酶、微生物或抗体,例如在约 2- 约 16 小时之间。在一些实施方案中,酶、微生物或抗体在约 3- 约 12 小时之间释放。在另外的实施方案中,酶、微生物或抗体在约 4- 约 8 小时之间释放。组合物可配制成不释放所有的酶、微生物或抗体。在组合物中保留的酶、微生物或抗体显示生物活性至少 24 小时。因此,例如,本发明允许释放一定量的酶,还能将一定量的酶保留在粘膜表面上或粘膜表面附近。

[0060] 在一些实施方案中,本文所述的组合物还可配制成毫微粒的形式。毫微粒制剂的特征在于有效平均粒径小于约 2000nm。术语“有效平均粒径小于约 2000nm”指的是当用光散射或其它常规技术测量时,至少 50% 制剂颗粒的重均粒径小于约 2000nm。在一些实施方案中,至少 70% 制剂颗粒的平均粒径小于约 2000nm。在其它实施方案中,至少 90% 制剂颗粒的平均粒径小于约 2000nm。在其它实施方案中,至少约 95% 制剂颗粒的重均粒径小于约 2000nm。

[0061] 一些实施方案提供了有效平均粒径小于约 1000nm 的毫微粒制剂。在其它实施方案中,有效平均粒径小于约 500nm。

[0062] 本文关注的毫微粒制剂可以通过本领域技术人员已知的常规制剂技术制备。因此,例如,可以将本文所述的组合物溶于最小体积的水中。

[0063] 组合物可以多种多样的方式溶解。方法包括但不限于加热、声处理、高速剪切或高速搅拌。

[0064] 然后将反萃溶剂,通常是醇,引入组合物的水溶液。然后沉淀出组合物毫微粒。可以分离出毫微粒制剂,并干燥用于进一步的用途。该一般方法的变化形式和改编描述在例如美国专利第 6,824,791 号中。

[0065] 醇反萃溶剂的实例是:甲醇(甲基醇)、乙醇(乙基醇)、1-丙醇(正丙醇)、2-丙醇(异丙醇)、1-丁醇(正丁醇)、2-丁醇(仲丁醇)、2-甲基-1-丙醇(异丁醇)、2-甲基-2-丙醇(叔丁醇)、1-戊醇(正戊醇)、3-甲基-1-丁醇(异戊醇)、2,2-二甲基-1-丙醇(新戊醇)、环戊醇(环戊基醇)、1-己醇(正己醇)、环己醇(环己基醇)、1-庚醇(正庚醇)、1-辛醇(正辛醇)、1-壬醇(正壬醇)、1-癸醇(正癸醇)、2-丙烯-1-醇(烯丙醇)、苯甲醇(苄醇)、二苯基甲醇(二苯甲醇)、三苯基甲醇(三苯甲醇)、甘油、苯酚、2-甲氧乙

醇、2-乙氧乙醇、3-乙氧基-1,2-丙二醇、二(乙二醇)甲醚、1,2-丙二醇、1,3-丙二醇、1,3-丁二醇、2,3-丁二醇、1,4-丁二醇、1,2-戊二醇、1,3-戊二醇、1,4-戊二醇、1,5-戊二醇、2,3-戊二醇、2,4-戊二醇、2,5-戊二醇、3,4-戊二醇和3,5-戊二醇。反萃溶剂还可为选自上述组的醇的混合物。

[0066] 可以通过改变组合物组分的相对浓度、聚合物浓度和溶剂/反萃溶剂的体积比来控制粒径。后者的变化范围可以从约1:40到约1:1,000,000,通常是从约1:50到约1:200。

[0067] 不希望受限于任何特殊理论,发明人认为本发明的某些优点是由具有不同性质的聚合物的联用带来的。因此认为包含一种或多种仅仅具有粘膜粘附性质的聚合物的组合物在本文所规定的方法中会相对迅速地崩解。在这种情况下,一种或多种酶、微生物或抗体将会被患者消除,并且无论如何都不会包含在水凝胶内,由此使得本发明可能具有的控制释放治疗特性的主题被剥夺。另一方面,仅仅包含形成水凝胶的粘膜粘附性聚合物的组合物可固定酶、微生物或抗体到阻止这些活性剂与相关底物接触的程度。因此,本发明提供了组合物中的至少一种水溶性聚合物来平衡这种性质。在这点上,认为水溶性聚合物促进了酶、微生物或抗体的流出,以及底物进入由组合物形成的水凝胶内。

[0068] 本发明还提供了使用该组合物的方法。在一个实施方案中,提供了通过给受试者施用本发明组合物,将治疗有效量的至少一种酶、微生物或抗体与需要那些酶、微生物或抗体的受试者的粘膜表面接触的方法。本文所用的术语“治疗有效量”指的是所施用的酶、微生物或抗体的量,该量会在某种程度上缓解、治疗或预防所治疗的一种或多种障碍或该障碍的症状。

[0069] 酶的治疗有效量可根据目标酶和该酶的活性而显著改变。一般而言,酶的治疗有效量可以由本领域技术人员很容易地测定出来。下表给出了很多酶的说明生日剂量和给药方案(食品添加物(DS), AmanoEnzyme USA):

[0070]

酶	最小日剂量 (g)	最大日剂量 (g)	给药方案 (片剂数量 × 剂量 / 片 (g))
蛋白酶 DS	0.105	0.31	3 × 0.1
纤维素酶 S-DS	0.18	0.36	2 × 0.1
脂肪酶 DS	0.045	0.09	1 × 0.05
淀粉酶 DS	0.3	0.6	3 × 0.1
α-半乳糖苷酶 DS	0.15	0.3	2 × 0.1
乳糖酶 DS	0.3	0.6	3 × 0.1

[0071] 可以通过上述任何途径来给药。在酶、微生物或抗体与小肠粘膜表面接触的实施方案中,例如,可通过组合物的口服给药来进行施用。其它途径包括使组合物与目标粘膜表

面直接接触。

[0072] 示范性的粘膜表面包括但不限于角膜、结膜、鼻、颊、舌下、肺、胃、肠、子宫(uterus)、膀胱、直肠和阴道粘膜。适合于将酶、微生物或抗体与特定粘膜表面接触的组合物可以通过使用在粘膜表面上发现的范围内 pH 形成水凝胶的组合物来制备。因此,例如,与胃接触的组合物可以在大约 4 的 pH 配制形成水凝胶,而与肠接触的组合物可以在大约 6-8 的 pH 配制形成水凝胶。另外地或可选择地,通过直接应用到目标粘膜表面,例如应用到角膜、结膜、鼻、颊、舌下、子宫、膀胱、直肠和阴道粘膜表面,可使组合物接触。

[0073] 在一个特别的实施方案中,本发明提供了帮助受试者的消化的方法,它包括给该受试者施用包含一种或多种消化酶的本发明组合物。示范性的消化酶如上所列。本领域技术人员可以选择一种或多种酶来靶向具体的消化需求、消化疾病或消化病况。因此,例如,包含乳糖酶的组合物将适用于其中受试者表现出乳糖不耐受的方法中。

[0074] 在另一个实施方案中,本发明提供了防止受试者中碳水化合物消化的方法,它包括给该受试者施用包含例如转葡萄糖苷酶、蔗糖 6-果糖基转移酶、生物淀粉酶(biodiastase)或其混合物的本发明组合物。如上所讨论的,该方法在治疗前驱糖尿病受试者和用于体重控制中是有用的。

[0075] 在另一个实施方案中,本发明提供了治疗方法,它包括给受试者施用包含纳豆激酶的本发明组合物。

[0076] 在另一个实施方案中,提供了刺激受试者中益生菌生长的方法,它包括给该受试者施用本发明组合物。在该方法中可以用于刺激细菌的适当的酶包括但不限于转葡萄糖苷酶、蔗糖 6-果糖基转移酶、生物淀粉酶或其混合物。益生菌通常能有利地改变肠微生物区系平衡,抑制有害细菌生长,促进良好的消化作用,加强免疫功能,和增强对感染的抵抗力。示范性的益生菌包括但不限于加强免疫功能的双歧杆菌,如乳双歧杆菌;和用于保护性肠细菌的乳杆菌,如嗜酸乳杆菌、鼠李糖乳杆菌和植物乳杆菌。因此,该实施方案补充了上述组合物和应用,它提供了向有需要的受试者递送微生物本身,例如本文所述的细菌。

[0077] 如上所述的另一个实施方案提供了将至少一种酶与需要这种酶的受试者的粘膜表面接触的方法。在该实施方案中,可以通过给该受试者施用包含本文所述的聚合物混合物连同能够生成所述酶的微生物株的组合物而实现该方法。微生物从而生成了治疗有效量的将与粘膜表面接触的酶。

[0078] 另一个实施方案提供了治疗患有胃肠障碍或胃肠相关障碍的受试者的方法。该方法需要给该受试者施用包含本文所述抗体的组合物。尽管抗体的同一性不是紧要的,但应当根据用于治疗该障碍的已知治疗方案来选择抗体。因此,例如,一个实施方案涉及局限性回肠炎的治疗。现有技术已知英夫利昔单抗(一种抗肿瘤坏死因子  $\alpha$  单克隆抗体)在局限性回肠炎的治疗中是有用的。可以参照常规治疗方案类似地鉴定其它抗体-障碍配对。因此该实施方案通过将治疗性抗体放置并保持在受该障碍侵袭的部位而利用了本发明的一个优点。

[0079] 胃肠障碍和胃肠相关障碍打算包括在胃肠道内发生的或影响胃肠道的、或由其它障碍导致的或与其它障碍相关联以其它方式发生的那些障碍。可以在本上下文中治疗的障碍的具体实例是局限性回肠炎、溃疡性结肠炎、淋巴瘤和病毒性胃肠炎,如轮状病毒。抗体组合物在肠移植后遭受器官排斥反应痛苦的受试者的治疗中也是有用的。

[0080] 在上述方法中,受试者可以是具有粘膜表面的任何生物。根据本发明的一个方面,受试者是哺乳动物。根据本发明的另一个方面,受试者是人类。

[0081] \* \* \* \* \*

[0082] 下列实施例通过举例说明的方式打算进一步描述本发明,因此不应当将它们解释成以任何方式限制本发明的范围。包括专利在内的所有可公开获得的文件都被明确地引入,就像在本文中全文列出的那样。

[0083] 总则

[0084] 材料

[0085] 卡巴普 934(聚卡波非)获自 Noveon, Inc. (Cleveland OH);羟丙甲基纤维素(HPMC, Methocel K100M)获自 Dow Chemical Co. (Midland, MI);甘露醇、果胶和阿拉伯胶获自 Sigma Chemical Co.;和硬脂酸镁(FDA级)获自 Tabletpress.net (Athens, OH)。所有的酶都由 Amano Enzyme USA Co., Ltd. 提供。

[0086] 装置

[0087] 使用来自 Tabletpress.net (Athens, OH) 的 Benchtop 型单冲头压片机(TDP)制备片剂;用于结构分析的软件是来自 TextureTechnologies Corp. (Scarsdale, NY) 的 TA. Xtplus;和使用来自 LavalLab(Quebec, Canada) 的 Inversina Power 混料机混和制剂。

[0088] 制剂

[0089] 下表 1 中所示的每个片剂都是通过混料机中以速度 5 将每个片剂中作为粘合剂的 1.5mg 甘露醇、作为润滑剂的 0.3mg 硬脂酸镁、100mg 酶和 150mg 总聚合物混合 2 小时而制备的。然后用压片机手工压制各个混合物,得到片剂(8×3mm)。根据卡巴普 934 和羟丙甲基纤维素(HPMC)的浓度不同,各个制剂的聚合物组分也有所改变。

[0090] 表 1

制剂	HPMC		卡巴普 934	
	克	wt%	克	wt%
<b>1</b>	<b>1.50</b>	<b>100</b>	<b>0.00</b>	<b>0</b>
<b>2</b>	<b>1.25</b>	<b>80</b>	<b>0.25</b>	<b>20</b>
<b>3</b>	<b>1.00</b>	<b>67</b>	<b>0.50</b>	<b>33</b>
<b>4</b>	<b>0.75</b>	<b>50</b>	<b>0.75</b>	<b>50</b>
<b>5</b>	<b>0.50</b>	<b>33</b>	<b>1.00</b>	<b>67</b>
<b>6</b>	<b>0.25</b>	<b>25</b>	<b>1.25</b>	<b>75</b>
<b>7</b>	<b>0.00</b>	<b>0</b>	<b>1.50</b>	<b>100</b>

[0092] 实施例 1:片剂水合

[0093] 将每个片剂放在装有 20ml 预先加热的 PBS 缓冲液(37°C;pH 7.2)的塑料称量舟皿中,舟皿漂浮在 37°C 水浴表面上。以图 1 所示的每小时间隔,除去缓冲液,测量片剂的大小。测量以后,加入 20ml 预先加热的 PBS 缓冲液,并将称量舟皿再次放在水浴表面上。

[0094] 如图 1 所示,制剂 1 最初溶胀,然后逐渐溶解。制剂 2-7 显示出体积增大,含有最多聚卡波非的制剂(片剂 6 和 7)溶胀至多 7 倍于片剂的原体积。含聚卡波非的片剂形成了稳定超过 24 小时的水凝胶结构。

#### [0095] 实施例 2:乳糖酶释放

[0096] 用每片 100mg 乳糖酶 DS 制备与制剂 1-7 相应的制剂和片剂。将每种制剂中的一个片剂放到装有 10ml PBS 缓冲液(pH 7.2)的 50ml 锥形管内,并在 37.5°C 下孵育。以图 2 所示的每小时间隔,取出 10  $\mu$  l,并用乳糖酶的 FCCIV 测定程序分析乳糖酶活性(Institute of Medicine, Food Chemicals Codex, Fourth Edition, National Academy Press, Washington, D. C., 1996)。

[0097] 图 2 显示了制剂 1 的乳糖酶释放很快,并在 2 小时内完成。制剂 2-7 的乳糖酶释放随着聚卡波非的浓度增大而减小。观察到乳糖酶从制剂 2-4 中释放的时间增加到 6 小时。

#### [0098] 实施例 3:乳糖酶分布

[0099] 将制剂 1-7 的乳糖酶片剂各放 1 片到装有 5ml PBS 缓冲液的 50ml 锥形管内。锥形管在 37.5°C 下培养 16 小时。从各个锥形管中取出上清液,分析乳糖酶活性。用 3 $\times$ 5ml PBS 缓冲液洗涤剩余的水凝胶,然后在 5ml PBS 缓冲液中将其破坏,分析混悬液的乳糖酶。由于制剂 1 的片剂完全溶解,因此含制剂 1 的锥形管中的乳糖酶活性被看成片剂中的乳糖酶活性的 100%。

[0100] 图 3 中显示出了释放到缓冲液中的或保留在水凝胶内的乳糖酶活性的分布。可以看出,释放到缓冲液中的乳糖酶的量随着片剂中聚卡波非的量而显著减小(如上所述,片剂 1 中释放的乳糖酶的量被看成 100%)。相反地,水凝胶内固定的乳糖酶的量在片剂 2-7 所得的水凝胶中相对恒定。由于被固定的乳糖酶的浓度事实上是不变的,因此人们只需要通过选择想要的粘膜粘附性质和打算从制剂中释放的乳糖酶的量,就能制备出想要的制剂。至于这些保留性质中的两种,本文的其它实施例提示,制剂 2 和 3 的片剂是最佳的。

#### [0101] 对比实施例 4:乳糖酶释放(果胶片剂)

[0102] 按照实施例 9 中所述的操作,将包含 100mg Amano 乳糖酶,但用果胶代替卡巴普的制剂 1-7 的片剂用于乳糖酶释放实验中。果胶不形成水凝胶。

[0103] 图 4 显示,当聚卡波非被不形成水凝胶的粘膜粘附性聚合物(果胶)代替时,乳糖酶从片剂 2-7 中迅速释放,并且从片剂 1 中释放较不迅速(片剂 1 不包含任何果胶)。

#### [0104] 对比实施例 5:乳糖酶释放(阿拉伯胶片剂)

[0105] 按照实施例 9 中所述的操作,将包含 100mg Amano 乳糖酶和阿拉伯胶代替卡巴普的制剂 1-7 的片剂用于乳糖酶释放实验中。阿拉伯胶不形成水凝胶。

[0106] 图 5 显示,当聚卡波非被不形成水凝胶的另一种粘膜粘附性聚合物(阿拉伯胶)代替时,乳糖酶从片剂 2-7 中迅速释放,并且从片剂 1 中释放较不迅速(片剂 1 不包含任何阿拉伯胶)。

#### [0107] 实施例 6:

##### [0108] a. 脂肪酶分布

[0109] 按照实施例 3 中所述的操作,将包含 100mg Amano 脂肪酶 DS 的制剂 1-7 的片剂用于酶分布试验中。用脂肪酶试剂盒 S, Dainippon Pharmaceutical Co., Osaka, 日本测定脂肪酶活性。

[0110] b. 蛋白酶分布

[0111] 按照实施例 3 中所述的操作,将包含 100mg Amano 蛋白酶 DS 的制剂 1-7 的片剂用于酶分布试验中。用 Fungal 酸蛋白酶 FCCIV 法测定蛋白酶。当包含聚卡波非的片剂中的乳糖酶被脂肪酶或蛋白酶代替时,形成的缓冲液和水凝胶之间的酶分布类似于用乳糖酶发现的结果(图 6 和 7)。(注意:在这两种情况下,对于完整水凝胶中的酶来说酶活性测定比较不敏感。)

[0112] 实施例 7:粘膜粘附研究

[0113] a. 将制剂 1-7 的片剂用双面胶带粘在结构分析仪器(Texture Analysis Instrument)(TA.XT plus),Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY 的探头底部,并与显微镜载玻片表面上存在的 2%猪胃粘蛋白溶液接触。用所提供的 Texture Exponent 32 软件测定从粘蛋白表面移开片剂所需的粘附的作用。

[0114] 片剂 1(不含粘膜粘附性聚合物)的粘膜粘附非常低,而片剂 2 和 3 的粘膜粘附则在所获得的最大水平上(图 8)。随着粘膜粘附性聚合物的量进一步增加,片剂 4-7 的粘膜粘附迅速减小。

[0115] 结果表明,粘膜粘附需要聚卡波非的存在(片剂 1 中不含),还表明,聚卡波非的浓度非常重要,因为在更高水平的聚卡波非下,观察到了粘膜粘附的减小。这可能是由于粘膜粘附性聚合物形成水凝胶的性质所致,所述的粘膜粘附性聚合物在某种程度上可稀释其粘膜粘附性质。

[0116] b. 分别在 3 种片剂上进行三个一组的类似实验,这 3 种片剂分别采用制剂 3 及其 2 种变型:(i) 聚卡波非(原制剂),(ii) 聚卡波非被果胶代替,和 (iii) 聚卡波非被阿拉伯胶代替。粘膜粘附的时间过程表明,在 60 分钟之后获得了最大水平的粘膜粘附(图 9)。这些结果表明,随着高水平的粘膜粘附,片剂的水合作用开始了水凝胶的形成。相反,用果胶或阿拉伯胶配制的片剂的粘膜粘附并不是强粘膜粘附,很有可能是因为它们不形成水凝胶结构的原因。

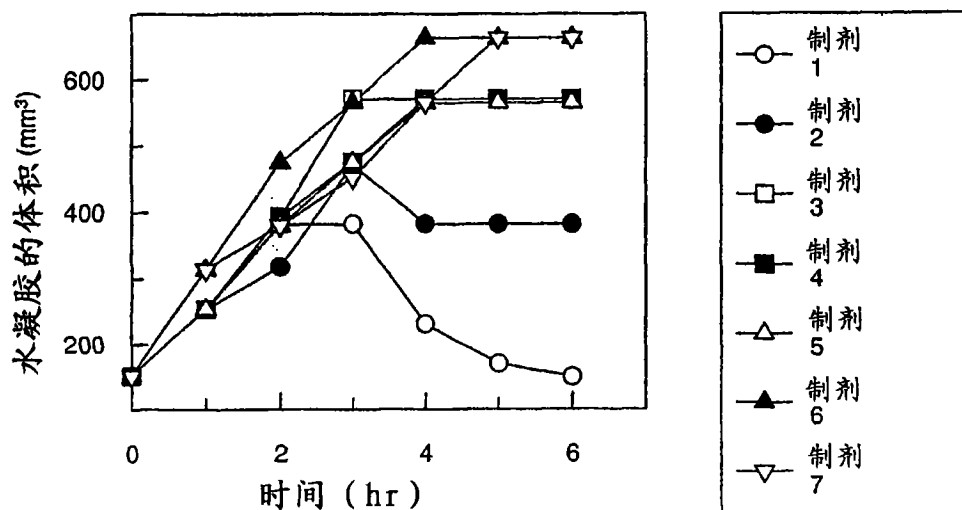


图 1

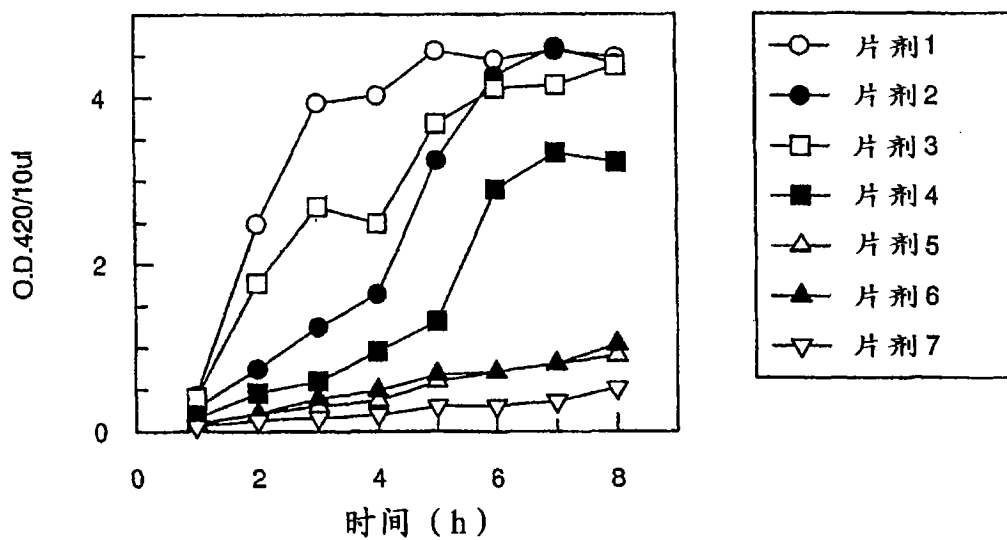


图 2

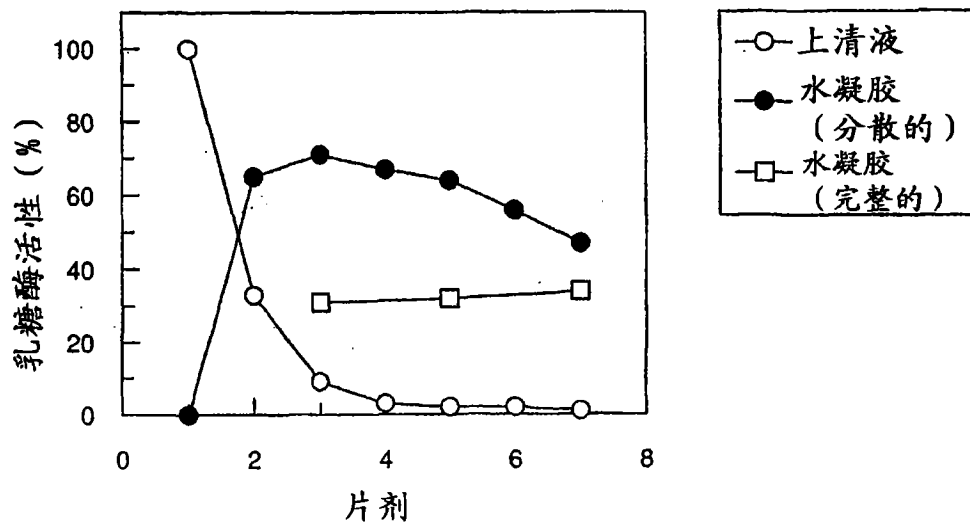


图 3

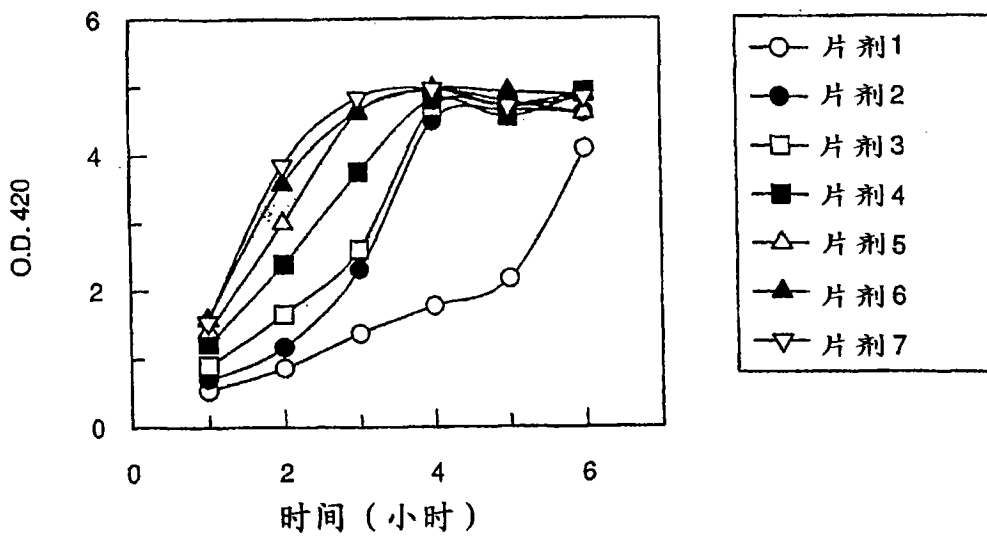


图 4



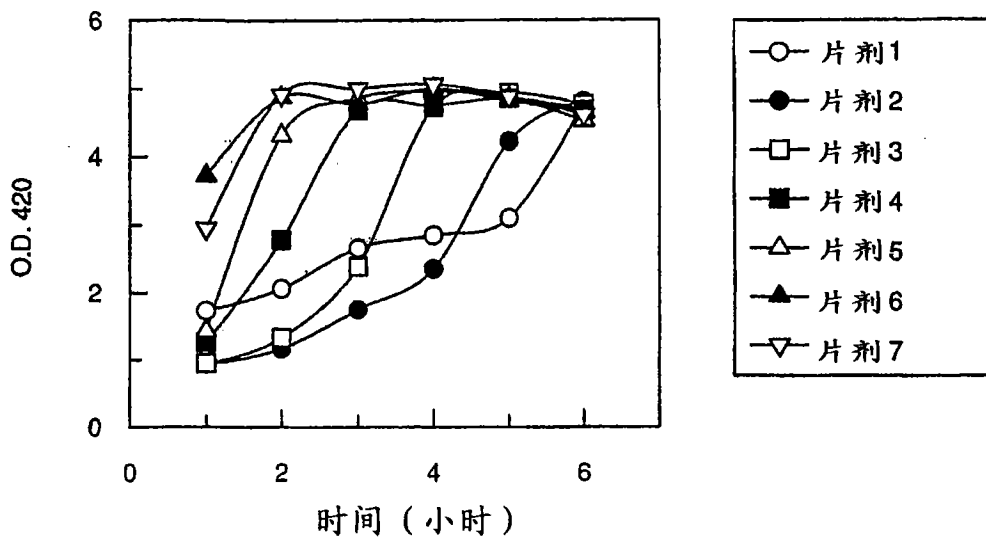


图 5

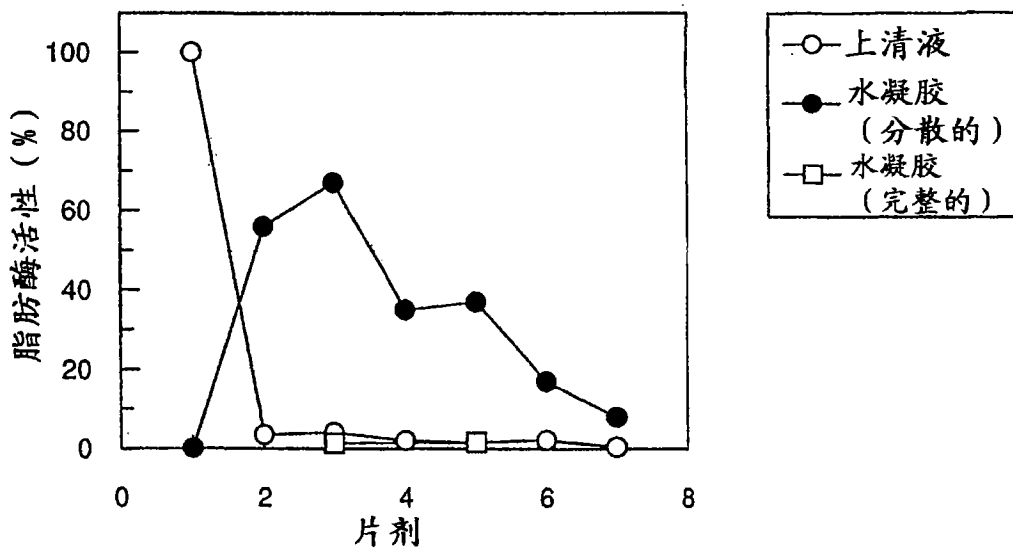


图 6

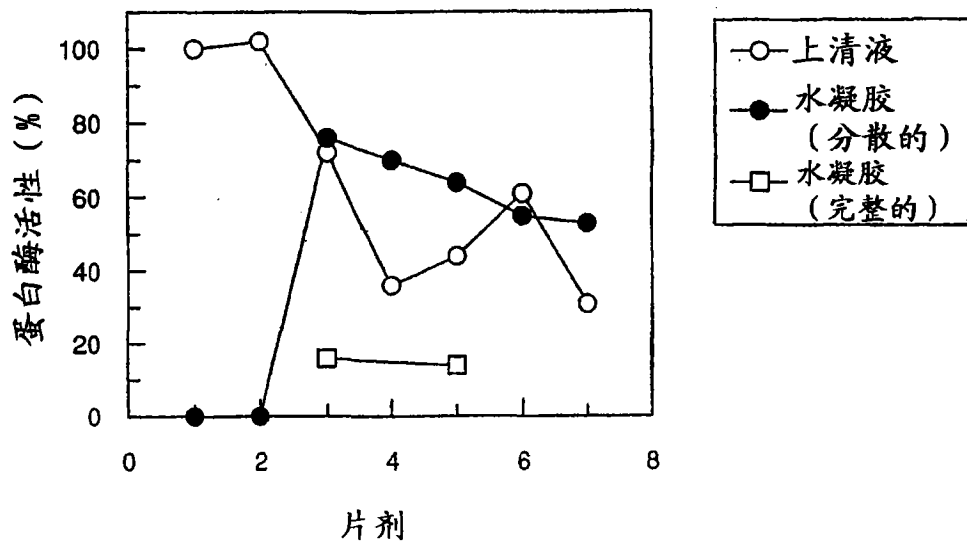


图 7

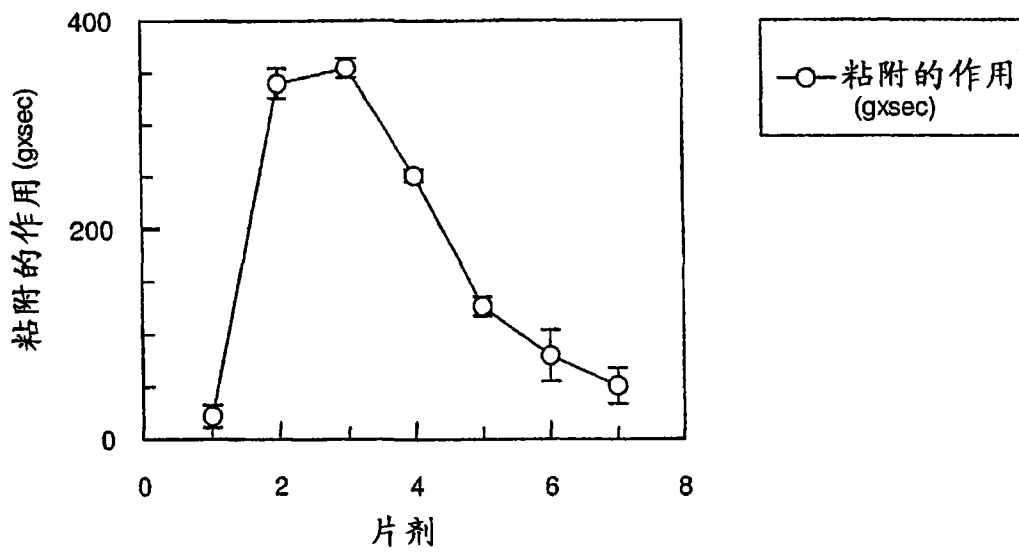


图 8

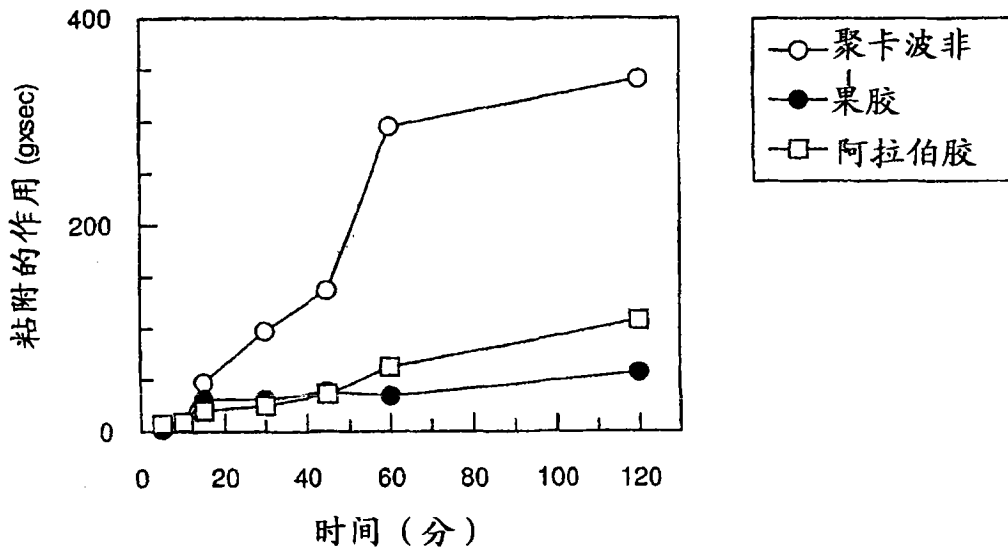


图 9