



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102292088 B

(45) 授权公告日 2014. 01. 29

(21) 申请号 201080007312. 5  
 (22) 申请日 2010. 01. 21  
 (30) 优先权数据  
 61/154, 712 2009. 02. 23 US  
 (85) PCT国际申请进入国家阶段日  
 2011. 08. 22  
 (86) PCT国际申请的申请数据  
 PCT/US2010/021684 2010. 01. 21  
 (87) PCT国际申请的公布数据  
 W02010/096231 EN 2010. 08. 26  
 (73) 专利权人 奈米瑞斯公司  
 地址 美国纽约查帕阔德沃广场 6 号  
 (72) 发明人 帕拉雅可泰·R·拉格哈湾  
 (74) 专利代理机构 宁波奥圣专利代理事务所  
 (普通合伙) 33226  
 代理人 程晓明

书,说明书第 [0012]、[0042]、[0045]、[0047]、  
 [0051]、[0053]、[0059]、[0085] 段。  
 US 20080206155 A1, 2008. 08. 28, 说明书第  
 [0011]、[0094]、[0097]、[0201] 段, 权利要求书。  
 US 20080207748 A1, 2008. 08. 28, 说明书第  
 [0006]、[0009]、[0049]、[0050] 段。  
 US 20050234025 A1, 2005. 10. 20, 说明书第  
 [0022] 段。  
 US 20080107638 A1, 2008. 05. 08, 说明书第  
 [0012]、[0028]、[0033]、[0035] 段。  
 US 20080227747 A1, 2008. 09. 18, 说明书第  
 [0005]、[0007] 段。  
 US 20070065497 A1, 2007. 03. 22, 说明书第  
 [0023]、[0028]、[0032]、[0207] 段。  
 US 20060148735 A1, 2006. 07. 06, 说明书第  
 [0069] 段。  
 US 20070281045 A1, 2007. 12. 06, 说明书第  
 [0013]、[0015]、[0043]、[0049] 段。

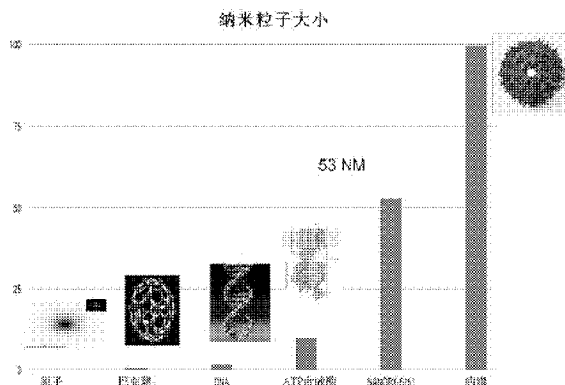
审查员 豆波建

(51) Int. Cl.  
 A61K 31/56 (2006. 01)  
 A61K 9/14 (2006. 01)  
 (56) 对比文件  
 WO 2007092509 A2, 2007. 08. 16, 权利要求  
 书,说明书第 [0022]、[0025]、[0026]、[0027]、  
 [0040]、[0044]、[0046] 段。  
 US 20050267091 A1, 2005. 12. 01, 权利要求

权利要求书2页 说明书30页 附图29页

(54) 发明名称  
 普利醇纳米粒子

(57) 摘要  
 本发明提供了普利醇纳米粒子、包括这些粒子的制剂以及使用所述粒子和制剂治疗和预防多种疾病和病症的方法。



1. 一种用于制备药物的普利醇的纳米粒子,其中所述纳米粒子包括:
  - (a) 普利醇部分,该普利醇部分含有 70%到 95%二十八烷醇;以及
  - (b) 稳定剂部分,该稳定剂部分含有生育酚聚乙二醇 1000 琥珀酸酯 TPGS,其中所述纳米粒子具有直径在 40nm-100nm 的尺寸,所述普利醇部分还包括三十烷醇和二十六烷醇,二十八烷醇:三十烷醇的比率为 9:1 到 15:1,二十八烷醇:二十六烷醇的比率为 16:1 到 20:1 的,所述普利醇部分和 TPGS 的比率 1:2.8。
2. 根据权利要求 1 所述的纳米粒子,其中所述纳米粒子具有直径为 60nm 的尺寸。
3. 多个根据权利要求 1 所述的纳米粒子。
4. 一种药物制剂,其包括根据权利要求 3 所述的多个纳米粒子和药学可接受的载体。
5. 一种单位剂量制剂,其包括 wt/vol 从 10mg/mL 到 30mg/mL 的根据权利要求 3 所述的多个纳米粒子。
6. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备增加受试者中血清维生素 C 水平的药物的应用,其包括:以足以增加受试者中的所述血清维生素 C 水平的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。
7. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备减少受试者中蛋白氧化的药物的应用,应用方法包括:以足以减少受试者中的所述蛋白氧化的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。
8. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备降低受试者血压的药物的应用,应用方法包括:以足以降低受试者的血压的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。
9. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备减小受试者的腰围的药物的应用,应用方法包括:以足以减小受试者的腰围的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。
10. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备调节受试者的极低密度脂质 VLDL 水平的药物的应用,应用方法包括:以足以调节受试者的极低密度脂质水平的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。
11. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备调节受试者的升高的白蛋白/球蛋白比率的药物的应用,应用方法包括:以足以调节受试者的所述升高的白蛋白/球蛋白比率的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。
12. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备治疗受试者的胰岛素抗性的药物的应用,应用方法包括:以足以治疗所述胰岛素抗性的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。
13. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备调节受试者的血糖水平的药物的应用,应用方法包括:以足以调节受试者的所述血糖水平的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。
14. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备治疗受试者的糖尿病的药物的应用,应用方法包括:以足以治疗受试者的糖尿病的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。
15. 根据权利要求 14 所述的应用,其中所述糖尿病是 II 型糖尿病。

16. 根据权利要求 14 所述的应用,其中所述糖尿病是 I 型糖尿病。

17. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备调节受试者的 C 反应蛋白水平的药物的应用,应用方法包括:以足以调节受试者中的所述 C 反应蛋白水平的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。

18. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备抑制受试者的 NF- $\kappa$ B 蛋白水平的药物的应用,应用方法包括:以足以调节受试者中 NF- $\kappa$ B 水平的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。

19. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备调节受试者的 PAI-1 水平的药物的应用,应用方法包括:以足以调节受试者中的所述 PAI-1 水平的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。

20. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备减低受试者的 ICAM-1 水平的药物的应用,应用方法包括:以足以减低受试者中的所述 ICAM-1 水平的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。

21. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备增加受试者的脂联素水平的药物的应用,应用方法包括:以足以增加受试者中的所述脂联素水平的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。

22. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备调节受试者一氧化氮水平的药物的应用,应用方法包括:以足以调节受试者中的所述一氧化氮水平的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。

23. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备减低受试者中的 TNF  $\alpha$  水平的药物的应用,应用方法包括:以足以减低受试者中的所述 TNF  $\alpha$  水平的量将根据权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。

24. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备调节受试者的单核球趋化蛋白 -1 (MCP-1) 水平的药物的应用,应用方法包括:以足以调节受试者中的所述单核球趋化蛋白 -1 (MCP-1) 水平的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。

25. 一种权利要求 1 的普利醇纳米粒子作为制备调节受试者的麸胺基硫水平的药物的应用,应用方法包括:以足以调节所述麸胺基硫水平的量将权利要求 4 所述的药物制剂施用于所述受试者。

26. 根据权利要求第 6 ~ 25 中的任一项所述的应用,其中所述受试者在其他情况下不需要用所述药物制剂治疗。

## 普利醇纳米粒子

[0001] 本申请要求 2009 年 2 月 23 日提交的美国临时专利申请第 61/154,712 号的优先权的权益,该申请在此处通过引用全文并入。

### 技术领域

[0002] 本发明涉及包括至少一种普利醇的纳米粒子组合物、新型纳米粒子状普利醇制剂及其用途。在许多实施方案中,纳米粒子状普利醇粒子具有小于约 100nm 的有效平均粒度。

### 背景技术

[0003] 普利醇是由植物来源如甘蔗衍生的浓缩长链 N-烷基醇的复杂混合物。在古巴的早期工作研究了普利醇对健康志愿者的血清脂质和脂蛋白水平的效果,指示在 2-40mg/d 的剂量下,施用普利醇减低了血清脂质和脂蛋白水平 (Hernandez 等人, *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.* 1992 ;51 :568), 并且减轻了高胆固醇血症 (Pons 等人, *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.* ;1992 ;52 :507)。然而,尽管有许多后来的研究,但古巴以外的研究人员未能证实与初始研究一道作出的断言。普利醇对血清脂质 / 胆固醇水平无效已经广泛记载于权威的、同行评审的杂志中。

[0004] 例如, Francini-Pesenti 及同事在具有高胆固醇血症的受试者中进行了双盲的、随机化、安慰剂对照的试验,且得出结论,10mg/d 和 20mg/d 剂量的普利醇未显示降脂效果 (*Complement Ther. Med.* ;2008 ;16(2) :61 ;以及 *Phytother. Res.* ;2008 ;22(3) :318)。在类似的盲法、安慰剂对照的研究中, Berthold 及同事揭示,10、20、40 和 80mg/d 的剂量的普利醇确实没有导致比在施用安慰剂的受试者中见到的血清脂质水平更低的血清脂质水平 (*JAMA* ;2006 ;295(19) :2262)。Dullens 等人发现,单种普利醇组成 (C24、C26、C28 或 C30) 和天然普利醇混合物 (所有组成,30mg/100g 饮食) 都没有降低 LDL 受体基因剔除小鼠中的血清胆固醇浓度 (*J. Lipid Res.* ;2008 ;49(4) :790)。Kassis 及同事研究了 10mg/d 剂量的古巴甘蔗普利醇用于治疗人类高胆固醇血症的效力,且得出结论,普利醇对于高胆固醇血症受试者的脂质指标没有有益效果 (*Am. J. Clin. Nutr.* ;2006 ;84(5) :1003)。Lin 及同事研究了 20mg/d 剂量的小麦胚芽普利醇对具有正常到轻度升高的血浆胆固醇的受试者的效果,且没有检测到血浆胆固醇的降低 (*Metabolism* ;2004 ;53(10) :1309)。Lukashevich 等人发现,每日施用的在片剂或软凝胶制剂中的蜂蜡普利醇 (10mg 或 40mg) 对具有轻度到中度高胆固醇血症的受试者中的血清脂质没有效果。 (*Circulation* ;2006 ;114 :892)。Murphy 等人发现,兔子饮食补充来自向日葵油的普利醇没有任何胆固醇降低效果。 (*J. Am. College Nutr* ;2008 ;27(4) :476)。

[0005] 因此,虽然有早期古巴研究的明显有前景的结果,但必须由当代盲法、安慰剂对照的研究得出的结论是:本领域公认的普利醇制剂对于调节血清脂质 / 胆固醇水平是无效的。

[0006] 关于普利醇制剂对其它代谢和生理参数的用途的研究已经产生了类似的负面结果。例如,已经表明普利醇对血糖水平、血糖控制 (Crespo 等人, *Int. J. Clin. Pharm. Res.* ;

1999 :117) 或糖尿病状态 (Shinbori 等人, Eur. J. Pharmacol ( ;2007 ;139-144) 没有效果。[0007] 在一段时间内关于用于古巴研究的普利醇的组合物或制剂是否造成了在古巴研究和其它工作人员的研究之间的不一致结果存在争议。该争议平息于开创性研究。(Kassis, British Journal of Nutrition(2007),97,381-388 ;Kassis, Lipids Health Dis. () (2008) ;7 :17 ;Kassis Appl. Physiol. Nutr. Metab ;(2008) ;33(3) :540 以及 Dullens, J. Lipid Res. (2008),49 :790)。他们研究了利用不同的甘蔗衍生的普利醇制剂,包括用于古巴研究的制剂。他们的研究得出结论,试验的普利醇制剂相对于对照没有一种显著改善了人或动物中的脂质参数。而且,LDL 氧化的体内评价没有显示相对于基线和对照在氧化型 LDL 浓度上的显著改变。因此,截至 2008 年年中,关于古巴甘蔗以及其它甘蔗普利醇制剂的血清脂质降低效应的争议在古巴以外被解决。

### 发明内容

[0008] 本发明提供了普利醇的纳米粒子和纳米粒子制剂以及用于制备这些纳米粒子和制剂的方法。本发明的普利醇制剂非常令人惊奇地降低了胆固醇和血清脂质,且降低了收缩压和舒张压。而且,本发明的制剂提供了抗氧化作用、减轻胰岛素抗性及其后果、升高维生素 C 水平和调节血糖水平。相应地,本发明还提供了通过将本发明的制剂施用于受试者来治疗疾病和调节代谢的方法。本发明还提供了调节代谢和治疗高血压、高胆固醇血症以及几种其它疾病的方法。例如,本发明的制剂用于控制体内蛋白氧化、调节血糖水平,且能够用于治疗 and 预防胰岛素抗性及其后果,例如糖尿病以及它们的有害下游效应。此外,本发明的制剂具有调节受试者体内维生素 C 水平的用途。

[0009] 因此,在许多实施方案中,本发明提供了普利醇的纳米粒子。本发明的代表性纳米粒子包括普利醇部分,该普利醇部分含有约 60%到 95%,例如约 70%到 95%二十八烷醇;以及稳定剂部分。在示例性实施方案中,所述稳定剂部分包括聚(乙二醇)酯。在许多实施方案中,所述稳定剂部分包括生育酚酯。所述稳定剂部分的示例性组成包括生育酚聚(乙二醇)酯,例如生育酚聚乙二醇(1000)琥珀酸酯(“TPGS”)。本发明的示例性纳米粒子具有小于约 100nm 的直径。

[0010] 本发明的其它目的、优点和实施方案在以下详细描述中阐明。

### 附图说明

[0011] 为了实现和能够详细理解本发明的上述特征、优点和目的以及其它将变得清楚的内容,以上简要总结的本发明的更具体的描述可以参考在附图中示例的某些实施方案来提供。这些图形成了说明书的一部分。然而,应该注意附图说明了本发明的优选实施方案,因此不被认为限制本发明的范围。

[0012] 图 1 为显示了相对于其他纳米粒子的本发明的粒子的尺寸。

[0013] 图 2 为显示了通过光散射测定的具有在约 48nm 处的峰的本发明纳米粒子的尺寸分佈。

[0014] 图 3 为显示了通过光散射测定的具有在约 55nm 处的峰的本发明纳米粒子的尺寸分佈。

[0015] 图 4 为显示了通过光散射测定的具有在约 53nm 处的峰的本发明纳米粒子的尺寸

分佈。

[0016] 图 5 为显示了未处理大鼠和用 1mg/kg 和 2mg/kg 本发明粒子处理的大鼠的胰岛素抗性的水平。

[0017] 图 6 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的脂联素 (adiponectin) 的血浆水平。

[0018] 图 7 为显示了未处理大鼠和用 1mg/kg 和 2mg/kg 本发明的粒子处理的大鼠的硷性磷酸酶的血液水平。

[0019] 图 8 为显示了未处理大鼠和用 1mg/kg 和 2mg/kg 本发明的粒子处理的大鼠的总胆固醇 /HDL 比率的水平。

[0020] 图 9 为显示了未处理大鼠和用 1mg/kg 和 2mg/kg 本发明的粒子处理的大鼠的 C 反应蛋白的血液水平。

[0021] 图 10 为显示了未处理大鼠和用本发明粒子处理的大鼠中的空腹血糖水平。

[0022] 图 11 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的麸胺基硫水平。

[0023] 图 12 为显示了在未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的糖基化血红蛋白 (HbA1c) 的水平。

[0024] 图 13 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的 HDL 水平。

[0025] 图 14 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的 ICAM-1 (细胞间粘附分子) 水平。

[0026] 图 15 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的 MCP-1 (单核球趋化蛋白 -1) 水平。

[0027] 图 16 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的血浆 H<sub>2</sub>S (硫化氢) 水平。

[0028] 图 17 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的 PAI-1 (纤溶酶原激活抑制剂) 水平。

[0029] 图 18 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的一氧化氮水平。

[0030] 图 19 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的蛋白氧化水平。

[0031] 图 20 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的随机葡萄糖水平。

[0032] 图 21 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的红血球脂质过氧化水平。

[0033] 图 22 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的 RBP-4 (视黄醛结合蛋白) 水平。

[0034] 图 23 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的 TNF- $\alpha$  (肿瘤坏死因子) 水平。

[0035] 图 24 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的总胆固醇水平。

[0036] 图 25 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的三酸甘油酯水平。

[0037] 图 26 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的维生素 C 水平。

[0038] 图 27 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠的根据蛋白印迹分析的 NF- $\kappa$ B (活化 B 细胞的核因子  $\kappa$  轻链增强蛋白) p50 和 p65 蛋白强度。

[0039] 图 28 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的 p-50-nf- $\kappa$ b/  $\beta$ -肌

动蛋白比率。

[0040] 图 29 为显示了未处理大鼠和用本发明的粒子处理的大鼠中的 p-50-nf-kb/ $\beta$ -肌动蛋白比率。

### 具体实施方式

[0041] 以下结合附图实施例对本发明作进一步详细描述。

[0042] 除非另有规定,这里使用的所有技术和科学术语一般具有本发明所属技术领域普通技术人员普遍理解的含义。

[0043] 术语“普利醇”(policosanol)是指浓缩 N-烷基醇的混合物。普利醇的示例性来源是甘蔗和蜂蜡。普利醇通过已知方法提取。普利醇中的长链醇主要是 1-二十八烷醇、1-三十烷醇、1-二十四烷醇和 1-二十六烷醇。典型的可商业获得的商品组合物包含 (a) 1-二十四烷醇:0-10%;(b) 1-二十六烷醇:2-15%;(c) 1-二十七烷醇:0-0.5%;(d) 1-二十八烷醇:55-70%;(e) 1-二十九烷醇:0-10%;(f) 1-三十烷醇:5-20%;(g) 1-三十二烷醇:0.1-10%;和 (h) 1-三十四烷醇:0.1-10%的最低 90%脂肪醇组成。

[0044] 术语“有效平均粒度”、“粒度”(particle size)和“尺寸”(size)可互换地使用。所述术语是指基本上对应于在使用光散射的粒度评价中产生的峰的顶点的粒度。确定本发明的粒子的尺寸的有效方法不限于光散射。

[0045] 所述方法和制剂可以用于预防或治疗目的。在一些实施方案中,术语任何疾病或病症的“治疗”(“treating”或“treatment”)是指改善疾病或病症(即阻止或减低疾病或者它的至少一个临床症状的发展)。在其他实施方案中,“治疗”是指改善至少一个生理参数,该物理参数可以被受试者觉察。在又其它的实施方案中,“治疗”是指抑制疾病或病症,在身体上(例如稳定或根除可觉察的症状)、在生理上(例如稳定或根除生理参数)或二者。在其他实施方案中,“治疗”是指延迟疾病或病症的发作。

[0046] 当参考本发明的方法时,“治疗有效量”在这里与“有效…的量”可互换地使用。当参考普利醇剂量来使用时,这些术语是指在需要这种治疗的大量受试者中施用的提供特定药理学反应的所述普利醇的剂量。要强调的是,在特定情况下施用于特定受试者的“治疗有效量”可以不是对于因为特定疾病而治疗的 100%患者有效,并且将不总是有效治疗这里所述的疾病,即使这种剂量被本领域技术人员认为是“治疗有效量”。进一步要理解的是,普利醇剂量在特定情况下按口服剂量测量,或者参考在血液中测量的药物水平来测量。

[0047] 这里所使用的术语“个体”、“受试者”和“患者”互换地用来指动物,例如哺乳动物,例如人。

#### [0048] A. 组合物

[0049] 在许多实施方案中,本发明提供了普利醇的纳米粒子。本发明的代表性纳米粒子包括普利醇部分,该普利醇部分含有约 70%到 90%二十八烷醇;以及稳定剂部分。在示例性实施方案中,所述稳定剂部分包括聚(乙二醇)酯。在许多实施方案中,所述稳定剂部分包括生育酚酯。稳定剂部分的示例性组成包括生育酚聚(乙二醇)酯,例如生育酚聚乙二醇(1000)琥珀酸酯(“TPGS”)。本发明的示例性纳米粒子具有小于约 100nm 的直径。还提供了包括许多本发明的纳米粒子的制剂,包括药物制剂。

[0050] 在许多实施方案中,所述纳米粒子包括普利醇部分,该普利醇部分包括至少约

70%二十八烷醇、至少约 71%二十八烷醇、至少约 72%二十八烷醇、至少约 73%二十八烷醇、至少约 74%二十八烷醇、至少约 75%二十八烷醇、至少约 76%二十八烷醇、至少约 77%二十八烷醇、至少约 78%二十八烷醇、至少约 79%二十八烷醇、至少约 80%二十八烷醇、至少约 81%二十八烷醇、至少约 82%二十八烷醇、至少约 83%二十八烷醇、至少约 84%二十八烷醇、至少约 85%二十八烷醇、至少约 86%二十八烷醇、至少约 87%二十八烷醇、至少约 88%二十八烷醇、至少约 89%二十八烷醇、或至少约 90%二十八烷醇。

[0051] 在许多实施方案中,所述纳米粒子包括普利醇部分,该普利醇部分包括不超过约 90%二十八烷醇、不超过约 89%二十八烷醇、不超过约 88%二十八烷醇、不超过约 87%二十八烷醇、不超过约 86%二十八烷醇、不超过约 85%二十八烷醇、不超过约 84%二十八烷醇、不超过约 83%二十八烷醇、不超过约 82%二十八烷醇、不超过约 81%二十八烷醇、不超过约 80%二十八烷醇、不超过约 79%二十八烷醇、不超过 78%二十八烷醇、不超过 77%二十八烷醇、不超过 76%二十八烷醇、不超过 75%二十八烷醇、不超过 74%二十八烷醇、不超过 73%二十八烷醇、不超过 72%二十八烷醇、或不超过 71%二十八烷醇。

[0052] 在示例性实施方案中,所述纳米粒子包括普利醇部分,该普利醇部分具有从约 70%到约 90%、从约 71%到约 89%、从约 72%到约 88%、从约 73%到约 87%、从约 74%到约 86%、从约 75%到约 85%、从约 76%到约 84%、从约 77%到约 83%、从约 78%到约 82%、从约 79%到约 81%或约 80%的范围内的二十八烷醇。

[0053] 在许多实施方案中,所述普利醇部分包括二十八烷醇和三十烷醇二者。在示例性实施方案中,使用的普利醇具有从约 8 : 1 到约 17 : 1、从约 9 : 1 到约 16 : 1、从约 10 : 1 到约 15 : 1、从约 11 : 1 到约 14 : 1、从约 12 : 1 到约 13 : 1、从约 8 : 1 到约 15 : 1、从约 8 : 1 到约 13 : 1、从约 8 : 1 到约 11 : 1 或从约 8 : 1 到约 9 : 1 的二十八烷醇与三十烷醇的比率。

[0054] 在许多实施方案中,所述普利醇部分包括二十八烷醇和二十六烷醇二者。在一个示例性实施方案中,使用的普利醇具有在从约 16 : 1 到约 50 : 1、从约 18 : 1 到约 45 : 1、从约 19 : 1 到约 40 : 1、从约 19 : 1 到约 35 : 1、从约 19 : 1 到约 30 : 1、从约 19 : 1 到约 25 : 1、从约 19 : 1 到约 22 : 1 或从约 19 : 1 到约 20 : 1 范围内的二十八烷醇 : 二十六烷醇比率。

[0055] 在许多实施方案中,所述普利醇部分包括三十烷醇和二十六烷醇二者。在示例性实施方案中,使用的普利醇具有至多约 1.5 : 1、至多约 1.3 : 1、至多约 1 : 1、至多约 0.8 : 1、至多约 0.6 : 1、至多约 0.4 : 1 或至多 0.2 : 1 的三十烷醇 : 二十六烷醇比率。在示例性实施方案中,所述纳米粒子包括普利醇部分和稳定剂部分,所述普利醇部分包括以约 9 : 1 到约 16 : 1 的比率与三十烷醇混合的从约 70%到约 95%二十八烷醇,所述稳定剂部分基本上完全由 TPGS 形成(例如至少约 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99% TPGS)。在许多实施方案中,所述普利醇部分和 TPGS 的比率约 1 : 2.8。

[0056] 本发明利用从任何适当来源获得或分离的普利醇或普利醇的组成。例如,美国专利第 5,663,156、5,856,316、6,197,832、6,225,354 和 6,596,776 公开了对于使用的起始原料和提取方法特异的普利醇组合物。在许多实施方案中,用于制备本发明的纳米粒子的普利醇包括至少约 80%二十八烷醇、至少约 81%二十八烷醇、至少约 82%二十八烷醇、至少约 83%二十八烷醇、至少约 84%二十八烷醇、至少约 85%二十八烷醇、至少约 86%二十八



烷醇、至少约 87% 二十八烷醇、至少约 88% 二十八烷醇、至少约 89% 二十八烷醇、或至少约 90% 二十八烷醇。在许多实施方案中,使用的普利醇包括在约 80% 和约 85% 之间的二十八烷醇。在示例性实施方案中,二十八烷醇的量是从约 82% 到约 83%。

[0057] 在本发明的纳米粒子及其制剂中用作稳定剂部分的各种示例性表面活性剂包括维生素 E TPGS(生育酚丙二醇琥珀酸酯,维生素 E 的水溶性形式)、去水山梨醇单月桂酸酯(Span 20)、去水山梨醇单软脂酸盐(Span 40)、泊洛沙姆、去水山梨醇单硬脂酸酯(Span 60)、去水山梨醇单油酸酯(Span 80)、聚氧乙烯(20)去水山梨醇单月桂酸酯(吐温 20,聚山梨醇酯 20)、聚氧乙烯(20)单软脂酸盐(吐温 40,聚山梨醇酯 40)、聚氧乙烯(20)单硬脂酸酯(吐温 60,聚山梨醇酯 60)、聚氧乙烯(20)三硬脂酸酯(吐温 65,聚山梨醇酯 65)、聚氧乙烯(20)单油酸酯(吐温 80,聚山梨醇酯 80)、蔗糖单肉豆蔻酸酯、蔗糖软脂酸盐/硬脂酸酯、蔗糖硬脂酸酯、二辛基磺基丁二酸钠盐、单甘油单油酸酯、单甘油单月桂酸酯、单甘油单软脂酸盐、卵磷脂、甘油二酯混合物、单甘油的柠檬酸酯、单甘油的乙酸酯、单甘油的乳酸酯、单甘油的二乙醯基酒石酸酯、脂肪酸的聚甘油酯、环糊精、脂肪酸的丙二醇酯、硬脂酰乳酸酯、C8-18 游离脂肪酸、PTS(美国专利第 6,045,826 号)或它们的组合。在许多实施方案中,所述稳定剂部分不包括环糊精。在其他实施方案中,所述稳定剂部分不包括聚氧乙烯去水山梨醇脂肪酸酯。

[0058] 本发明的纳米粒子能够包括提供具有小于或等于约 100nm 的直径的纳米粒子的普利醇部分与稳定剂部分的任何有用比率。在示例性实施方案中,普利醇部分:稳定剂部分的比率是从约 1:1 到约 1:4,例如从约 1:2 到约 1:3.5。类似地,在许多实施方案中,二十八烷醇:稳定剂的比率在从约 1:1.6 到约 1:2.8,例如从约 1:2 到从约 1:2.5 的范围内。在示例性实施方案中,所述比率是约 1:2.25。本发明的示例性纳米粒子中的三十烷醇:稳定剂的比率在从约 1:10 到约 1:40 的范围内,例如从约 1:11 到约 1:35 的范围内。在示例性实施方案中,所述稳定剂为维生素 E 的酯,例如 TPGS(d- $\alpha$ -生育酚聚乙二醇 1000 琥珀酸酯)。

[0059] 除了稳定剂部分以外,生产纳米粒子的混合物还能够包括表面活性剂。示例性表面活性剂是以上阐述的,且一般是本领域技术人员已知的,例如吐温 20、吐温 80、酯(例如棕榈酸的蔗糖酯和硬脂酸单酯)、果胶、琼脂以及类似物。

[0060] 所得到的纳米粒子普利醇制剂能够以固体或液体剂量制剂如液体分散体、凝胶、气溶胶、软膏、霜剂、控释制剂、快速溶解制剂(fast melt formulation)、冻晶制剂、片剂、胶囊、延迟缓释制剂(delayed release formulation)、延长释放制剂(extended release formulation)、脉冲控释制剂、混合即释制剂和控释制剂等使用。

[0061] 根据本发明的纳米粒子和药物制剂还可以包括一种或多种粘结剂、填充剂、润滑剂、悬浮剂、甜味剂、香味剂、防腐剂、缓冲剂、润湿剂、崩解剂、起泡剂和其他赋形剂。这种赋形剂是本领域中已知的。

[0062] 能够在纳米粒子或纳米粒子制剂中使用的示例性赋形剂包括,但不限于大豆卵磷脂、大豆卵磷脂衍生物、辛酰己酰聚乙二醇-8 甘油酯(caprylocaproyl macrogol-8glycerides)、中链三酸甘油酯、精制橄榄油、液体香料、聚氧乙烯去水山梨醇脂肪酸酯、糖酯、聚氧乙烯烷基醚、丙二醇、右旋泛醇、杏仁油、稻米油、葵花籽油、大豆油、芝麻油、甘油、硬脂酸棕榈酸甘油酯、甜杏仁油、油酸、聚甘油油酸酯、蔗糖、泊洛沙姆、聚乙二

醇-15 羟基硬脂酸酯、去水山梨醇脂肪酸酯、抗坏血酸软脂酸盐、聚乙二醇、ceralution F、ceralution H、ceralution C、月桂醯聚乙二醇-32 甘油酯、甘油酯、C12-C18 甘油一酯、甘油二酯和三酸甘油酯、硬脂酸甘油酯、丙二醇月桂酸酯、丙二醇辛酸酯、丙二醇二壬酸酯(dipergonate)。在一些实施方案中,所述制剂包括选自无水柠檬酸、山梨酸钾、苯甲酸钠和蔗糖月桂酸酯中的一种或多种赋形剂。

[0063] 填充剂的实例是乳糖一水合物、无水乳糖和各种淀粉;粘结剂的实例是各种纤维素和交联聚乙烯吡咯烷酮、微晶纤维素例如 Avicel.、PH101 和 Avicel. PH102、微晶纤维素和硅化微晶纤维素(ProSolv SMCC.)。

[0064] 适合的润滑剂,包括作用于要压缩的粉末的流动性的试剂,是胶体二氧化硅如 Aerosil™ 200、滑石、硬脂酸、硬脂酸镁、硬脂酸钙和硅胶。

[0065] 甜味剂的实例是任何天然或人工甜味剂,例如蔗糖、木糖醇、糖精钠、赛克拉美、阿斯巴甜和安赛蜜(acsulfame)。香味剂的实例是 Magnasweet. (MAFCO 的商标)、泡泡糖香料和水果香料以及类似物。

[0066] 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、对羟基苯甲酸的其他酯如对羟基苯甲酸丁酯、醇如乙醇或苄醇、酚类化合物如苯酚或四级化合物如氯化烷基二甲基苄基铵。示例性防腐剂包括,但不限于亚硝酸钾、亚硝酸钠、苯甲酸、苯甲酸钠、苯甲酸钾和苯甲酸钙。

[0067] 适合的稀释剂包括药学可接受的惰性填料,例如微晶纤维素、乳糖、磷酸氢钙、糖类和/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;乳糖如乳糖一水合物、无水乳糖和 Pharmatose. DCL21;磷酸氢钙如 Emcompress. ;甘露醇;淀粉、山梨醇;蔗糖;和葡萄糖。

[0068] 适合的崩解剂包括轻度交联的聚乙烯吡咯烷酮、玉米淀粉、马铃薯淀粉、玉米淀粉和改质淀粉,交联羧甲基纤维素钠、交联维酮、羟基乙酸淀粉钠和它们的混合物。

[0069] 起泡剂的实例是起泡偶(effervescent couples),例如有机酸和碳酸盐或碳酸氢盐。适合的有机酸包括例如柠檬酸、酒石酸、苹果酸、延胡索酸、己二酸、琥珀酸和海藻酸和酸酐和酸盐。适合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、甘氨酸钠碳酸盐、L-离胺酸碳酸盐和精胺酸碳酸盐。可选择地,可以存在起泡偶的仅碳酸氢钠组成。

[0070] 在许多实施方案中,本发明的组合物含有纳米粒子状普利醇纳米粒子,其具有小于约 100nm、小于约 90nm、小于约 80nm、小于约 70nm、小于约 60nm 或小于约 50nm 的平均粒度,通过光散射方法、显微镜检查或其他适当方法测定。

[0071] 在本发明的一个实施方案中,提供了制剂,其中当通过上述方法测定时,至少 99% 的所述普利醇粒子具有小于约 100nm、小于约 90nm、小于约 80nm、小于约 70nm、小于约 60nm 或小于约 50nm 的粒度。

[0072] 在本发明的一个实施方案中,提供了制剂,其中当通过上述方法测定时,至少 95% 的所述普利醇粒子具有小于约 100nm、小于约 90nm、小于约 80nm、小于约 70nm、小于约 60nm 或小于约 50nm 的粒度。

[0073] 在本发明的一个实施方案中,提供了制剂,其中当通过上述方法测定时,至少约 90% 的所述普利醇纳米粒子具有小于约 100nm、小于约 90nm、小于约 80nm、小于约 70nm、小

于约 60nm 或小于约 50nm 的粒度。

[0074] 在本发明的一个实施方案中,提供了制剂,其中当通过上述方法测定时,至少约 85% (例如从约 85%到约 99%、95%或 90%) 的所述普利醇纳米粒子具有小于约 100nm、小于约 90nm、小于约 80nm、小于约 70nm、小于约 60nm 或小于约 50nm 的粒度。

[0075] 在本发明的一个实施方案中,提供了制剂,其中当通过上述方法测定时,至少约 80% (例如从约 80%到约 99%、95%、90%或 85%) 的所述普利醇纳米粒子具有小于约 100nm、小于约 90nm、小于约 80nm、小于约 70nm、小于约 60nm 或小于约 50nm 的粒度。

[0076] 在本发明的一个实施方案中,提供了制剂,其中当通过上述方法测定时,至少约 75% (例如从约 75%到约 99%、95%、90%、85%或 80%) 的所述普利醇纳米粒子具有小于约 100nm、小于约 90nm、小于约 80nm、小于约 70nm、小于约 60nm 或小于约 50nm 的粒度。

[0077] 在本发明的一个实施方案中,提供了制剂,其中当通过上述方法测定时,至少约 70% (例如从约 70%到约 99%、95%、90%、85%、80%或 70%) 的所述普利醇纳米粒子具有小于约 100nm、小于约 90nm、小于约 80nm、小于约 70nm、小于约 60nm、或小于约 50nm 的粒度。

[0078] 在本发明的一个实施方案中,提供了制剂,其中当通过上述方法测定时,至少约 65% (例如从约 65%到约 99%、95%、90%、85%、80%、75%或 70%) 的所述普利醇纳米粒子具有小于约 100nm、小于约 90nm、小于约 80nm、小于约 70nm、小于约 60nm 或小于约 50nm 的粒度。

[0079] 在本发明的一个实施方案中,提供了制剂,其中当通过上述方法测定时,至少约 60% (例如从约 60%到约 99%、95%、90%、85%、80%、75%或 65%) 的所述普利醇纳米粒子具有小于约 100nm、小于约 90nm、小于约 80nm、小于约 70nm、小于约 60nm 或小于约 50nm 的粒度。

[0080] 在本发明的一个实施方案中,提供了制剂,其中当通过上述方法测定时,至少约 55% (例如从约 55%到约 99%、95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%或 60%) 的所述普利醇纳米粒子具有小于约 100nm、小于约 90nm、小于约 80nm、小于约 70nm、小于约 60nm 或小于约 50nm 的粒度。

[0081] 测定纳米粒子的尺寸的方法在本领域中是公知的。例如,可以使用光衍射(即光散射测量)技术。这些技术包括宽带散射测量(美国专利第 5,607,800 号;第 5,867,276 号和第 5,963,329 号)、光谱椭圆偏振测量法(美国专利第 5,739,909 号)以及光谱和单波长光束轮廓反射和光束轮廓椭圆偏振测量法(美国专利第 6,429,943 号)。另外,可以使用单波长激光 BPR 或 BPE 来获得关于孤立的线或孤立的通孔(vias)和台面结构(mesas)的 CD 测量(参见 2002 年 9 月 13 日提交的美国专利申请序列第 10/243,245 号)。

[0082] 在示例性实施方案中,本发明提供了含有治疗有效量的普利醇的本发明的普利醇纳米粒子的单位剂量制剂。在示例性实施方案中,单位剂量制剂是含有普利醇部分和稳定剂部分的纳米粒子的制剂,且所述单位剂量制剂包括从约 10mg 到约 100mg,例如从约 10mg 到约 50mg。在许多实施方案中,所述单位剂量是日剂量。普通技术人员将认识到,治疗有效量的普利醇可以经验上确定,并且能够以纯的形式使用,或者在存在这种形式时,以药学可接受的盐、酯或前药形式使用。本发明的纳米粒子组合物中的普利醇的实际剂量水平可以改变,以获得对于特定组合物和施用方法可有效获得期望的治疗反应的普利醇的量。选择

的剂量水平因此取决于期望的治疗效应、施用路径、施用的普利醇的效力、期望的治疗持续时间和其他因素。

[0083] 剂量单位组合物可以含有可以用来构成日剂量的它的这种量的这种分数。然而，应该理解，用于任何特定患者的特定剂量水平将取决于多个因素：要获得的细胞或生理反应的类型和程度；使用的特定药剂或组合物的活性；使用的特定药剂或组合物；患者的年龄、体重、一般健康、性别和饮食；药剂的施用时间、施用路径和排泄速率；治疗的持续时间；与特定药剂组合或同时施用的药物；以及医学领域公知的类似因素。

[0084] 在制备本发明的纳米粒子的示例性方法中，预选择量的稳定剂和普利醇在搅拌下一起熔化以确保均匀性。在升高的温度下将水或添加剂、防腐剂、赋形剂等的水溶液添加到该熔体中，且保持在期望的温度下，通常从约 60°C 到约 90°C 下，并同时搅拌。在示例性方法中，水与固体的混合物包括比固体更多的水，例如按重量计为大约 10 : 1。在冷却到室温的同时搅拌该混合物。在许多实施方案中，该方法产生了粒子的悬浮液。

[0085] A. 方法

[0086] 除了普利醇的纳米粒子和包括这些纳米粒子的制剂以外，本发明提供了使用这些纳米粒子和制剂来治疗和预防疾病以及调节代谢的方法。在许多实施方案中，本发明的纳米粒子用于调节高血压、胆固醇代谢和治疗高脂血症、高胆固醇血症、发炎等。在许多实施方案中，所述制剂用于调节或减少蛋白氧化。在示例性实施方案中，该制剂用于管理血糖水平、胰岛素抗性、糖尿病和其他与血糖水平相关的病症。在又进一步的实施方案中，该制剂用于调节，例如增加血浆维生素 C 水平和降低收缩压和舒张压。在其他实施方案中，所述制剂用于抑制 NF- $\kappa$ B 的活化。

[0087] 在示例性实施方案中，所述制剂以治疗有效量施用于受试者以治疗特定疾病或病症，且其中所述受试者在其他情况下不需要用普利醇治疗。在许多实施方案中，所述纳米粒子被施用来治疗单一疾病或者调节单一代谢因子。因此，在示例性实施方案中，本发明提供了在不需治疗高脂血症、高胆固醇血症、高血压等的受试者中治疗胰岛素抗性的方法。在示例性实施方案中，本发明提供了在不需治疗高脂血症、高胆固醇血症等的患者中调节血糖的方法。在许多实施方案中，本发明提供了在不需治疗高脂血症、高胆固醇血症等的受试者中治疗糖尿病（例如 II 型糖尿病）的方法。在许多实施方案中，本发明提供了在不需治疗高血压、高脂血症、高胆固醇血症等的受试者中减少或防止蛋白氧化的方法。在示例性实施方案中，本发明提供了在不需治疗高脂血症、高胆固醇血症等的受试者中增加血清维生素 C 水平的方法。在其他实施方案中，本发明提供了在不需治疗高脂血症、高胆固醇血症等的受试者中抑制 NF- $\kappa$ B 的活化的方法。以下阐述本发明的方法的非限制性实例。

[0088] 蛋白氧化

[0089] 本发明提供了在受试者中减少蛋白氧化且因此减小该氧化的不利后果的方法。该方法包括将治疗有效量的本发明的普利醇施用于受试者以减少受试者中的蛋白氧化。氧化逆境已经牵连到在许多病理生理条件如肝细胞毒素暴露、肝内胆汁淤积、酒精性肝损伤、肝缺血 / 再灌注损伤和病毒性肝炎中的急性和慢性疾病和损伤的发病机制 (Stehbens, *Exp. Mol. Pathol.* ;2003 ;75(3) :265 ;Jaeschke 等 人, *Toxicol. Lett.* ;2003 ;144(3) :279-88 ; McDonough, *Toxicology*. 2003 ;189(1-2) :89 ;Jaeschke 等 人, *J. Clin. Invest* ;1988 ;

81(4):1240)。在这些病理条件下活性氧类 (ROS) 和活性氮类 (RNS) 的过度产生以及抗氧化防御的显著降低通过脂质过氧化、蛋白氧化和核酸碱基氧化的过程损害各种细胞功能。脂质过氧化例如引起了细胞膜的物理和化学性能的改变,因此改变了它们的流动性和渗透性,导致膜信号转导和离子交换的损害,导致肿胀、细胞溶解,最终细胞死亡。蛋白和 DNA 的氧化还直接涉及细胞功能障碍和死亡 (Fang Y Z 等人, *Nutrition*. 2002 ;18(10) :872-9)。

[0090] 与蛋白氧化有关的疾病包括,但不限于类风湿关节炎 (IgG,  $\alpha$ -1-蛋白酶抑制剂)、缺血再灌注损伤、肺气肿 ( $\alpha$ -1-蛋白酶抑制剂,弹性蛋白酶)、神经变性疾病 (例如阿滋海默氏病、帕金森氏病)、肌肉萎缩,与衰老有关的疾病 (穀氨醯胺合成酶、碳酸酐酶 III、乌头酸酶)、急性胰腺炎、白内障 ( $\alpha$ -晶状体蛋白)、癌症、慢性乙醇摄取、成人呼吸窘迫症候群。本发明的制剂还能够用于治疗或改善红孩症病的效果 (Manory, *J. Pediatr* ;2000 ;137 :421)。

[0091] 示例性治疗相关剂量是导致蛋白氧化例如蛋白羧基化的标准临床标记物的减少的剂量。蛋白羧基含量 (PCC) 是最广泛使用的蛋白的氧化修饰的标记物。具有几种用于 PCC 的定量的方法;在许多普通方法中,允许 2,4-二硝基苯基肼与蛋白羧基反应,以形成相应的腙,它能够通过放射性计数或免疫组化来光学分析。参见例如 Yan 等人, *Arch. Biochem. Biophys.* 327 :330-334,1996。

[0092] 在许多实施方案中,本发明的纳米粒子口服施用。在示例性实施方案中,纳米粒子以从每天约 10mg 到约 100mg,例如每天从约 10mg 到约 50mg 的剂量施用。

[0093] 血清维生素 C 的增加

[0094] 本发明还提供了增加受试者血清维生素 C 的方法。该方法包括将治疗有效量的本发明的普利醇制剂施用于受试者以增加或调节受试者中的血清维生素 C 水平。

[0095] 因为胰岛素抗性和糖尿病伴有与在健康受试者中发现的水平相比降低的血清维生素 C 水平口服施用补充维生素 C 已经被推荐为包括血管内皮功能障碍的胰岛素抗性和糖尿病的后果的治疗。然而,发现补充维生素 C 在单独使用时是无效的 (Kaneto 等人, *Diabetes* ;1999 ;48(12) :2398),很可能是因为口服施用维生素 C 补充剂没有改善血管内皮功能障碍或者胰岛素抗性 (Chen 等人, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* ;2006 ;290(1) :H137)。

[0096] 本发明提供了调节内源性维生素 C 的方法和因此治疗胰岛素抗性、糖尿病和这些症候群后果的方法。

[0097] 示例性治疗相关剂量是导致血清维生素 C 浓度的标准临床标记物的增加的剂量,例如使用从 Fisher Thermo Scientific Co, Rockford, Ill 商业获得的试剂盒的夹心 ELISA 方法。例如参见 Washko 等人, *Anal. Biochem.* 1992 ;204 :1-14。

[0098] 在许多实施方案中,本发明的纳米粒子口服施用。在示例性实施方案中,纳米粒子以每天从约 10mg 到约 100mg,例如每天从约 10mg 到约 50mg 的剂量施用。

[0099] 胰岛素抗性

[0100] 本发明还提供了治疗胰岛素抗性和包括但不限于糖尿病的由胰岛素抗性引起的后果的方法。所述方法包括将足以治疗胰岛素抗性的量的本发明的粒子制剂施用于受试者。

[0101] 胰岛素抗性定义为胰岛素靶组织如骨骼肌、肝脏和脂肪组织对循环胰岛素的生理

效应的不充分的反应。在这三种组织中的损害的胰岛素敏感性的特征是降低的胰岛素刺激的葡萄糖摄取到骨骼肌中损害的胰岛素介导的肝脏中肝葡萄糖产生的抑制,以及降低的胰岛素抑制脂肪组织中脂肪分解的能力。事实上,胰岛素抗性是发生 II 型糖尿病的主要预测。

[0102] 在 II 型糖尿病中,已经广泛确定,胰岛素抗性是在外显的高血糖发生之前。胰岛素抗性的原因能够是遗传性的和 / 或后天性的。II 型糖尿病还易于引起患者的升高的胆固醇和心血管疾病。在西方文化中最常见的引起胰岛素抗性的后天性因素是肥胖、缺少运动的生活方式和衰老,所有这些是相互关联的。在对胰岛素抗性的稳健的补偿胰岛素分泌反应的存在下葡萄糖水平能够保持相对正常。然而当产生胰岛素的胰岛  $\beta$  细胞不再能够补偿降低的组织胰岛素敏感性时葡萄糖恒定性受到损害,且产生了损害的葡萄糖耐量和最终的 II 型糖尿病。

[0103] 遭受糖尿病的个体在血流中也具有降低的维生素 C 水平。研究已经发现糖尿病患者具有比正常个体低至少 30% 循环抗坏血酸水平。(Will 等人, *Nutr. Rev.* 54(7) : 193(1996))。然而,施用高剂量口服维生素 C 没有改善该缺陷。(Chen 等人, *J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* (, 290(1) :H137-45(2006))。但是,如在以下实施例见到的,本发明的施用解决了该缺陷。

[0104] 与胰岛素抗性相关的常见疾病或病症包括黑棘皮病、痤疮、过敏、哮喘、阿滋海默氏病、动脉粥样硬化、双相型障碍、乳腺癌、心血管疾病、白内障、子宫颈癌、抑郁症、糖尿病、血脂异常、脂肪肝、儿童 2 型糖尿病、慢性疲劳、结肠和直肠癌、头皮屑、甲状腺机能亢进 (Graves' disease)、心脏病、高 LDL 胆固醇、高三酸甘油酯、多毛症、低血糖症、甲状腺功能减退症、发炎、肾脏疾病、低 HDL 胆固醇、狼疮、神经病变、神经炎、骨质疏松症、胰腺癌、帕金森氏病、多囊卵巢症候群、前列腺癌、类风湿关节炎、硬皮病、皮脂溢出、中风和静脉曲张。

[0105] 除了上述疾病和障碍以外胰岛素抗性的一些主要后果包括,但不限于 2 型糖尿病、高血压、动脉粥样硬化、多囊卵巢症候群、非酒精性脂肪肝病、血管内皮功能紊乱、三酸甘油酯和胆固醇升高、凝血障碍、肾功能障碍、心律不齐、以及尿酸水平升高。

[0106] 示例性治疗相关剂量是导致血清胰岛素抗性的标准临床标记物降低的剂量,例如胰岛素和血浆中的胰岛素水平能够通过使用从 Fisher Thermo Scientific Co, Rockford, IL) 商业获得的试剂盒的夹心 ELISA 方法来测定。

[0107] 在许多实施方案中,本发明的纳米粒子口服施用。在示例性实施方案中,纳米粒子以每天从约 10mg 到约 100mg,例如每天从约 10mg 到约 50mg 的剂量施用。

[0108] 胆固醇相关疾病

[0109] 在许多实施方案中,本发明提供了治疗高胆固醇血症和 / 或调节受试者中脂质代谢的方法。该方法包括将足以治疗高胆固醇血症的量的本发明的纳米粒子制剂施用于受试者。

[0110] 高胆固醇血症、高脂血症和心血管疾病在西方工业社会中日益流行。这其中的原因没有完全被理解,但可部分涉及对这些病症的遗传倾向性以及部分涉及高饱和脂肪饮食还有日益缺少运动的生活方式,因为体力劳动日益变得不必要。高胆固醇血症和高脂血症是非常重要的,因为它们使个体易患心血管疾病,包括动脉粥样硬化、心肌梗塞 (心脏病发作和中风)。

[0111] 高脂血症的具体形式包括例如高胆固醇血症、家族性异常  $\beta$  脂蛋白血症 (dysbetalipoproteinemia)、糖尿病血脂异常、肾病血脂异常和家族性混合型高脂血症。高胆固醇血症的特征在于血清低密度脂蛋白-胆固醇和血清总胆固醇的升高。低密度脂蛋白 (LDL 胆固醇运输血液中的胆固醇。家族性异常  $\beta$  脂蛋白血症也称为 III 型高脂血症,其特征在于称为  $\beta$  VLDL 的极低密度脂蛋白-胆固醇 (VLDL-胆固醇) 粒子在血清中的积聚。与该病症还相关的是正常脂蛋白元 E3 被异常异构脂蛋白元脂蛋白元 E2 替代。糖尿病血脂异常的特征在于多种脂蛋白异常,例如 VLDL-胆固醇的过度产生、异常的 VLDL 三酸甘油酯脂肪分解、降低的 LDL-胆固醇受体活性和偶尔的 III 型高脂血症。肾病血脂异常与肾脏的功能障碍有关,其难以治疗,且常常包括高胆固醇血症和高三酸甘油酯血症。家族性混合型高脂血症的特征在于高脂血症的多个表型即 IIa、IIb、IV、V 型或高脱辅基  $\beta$  脂蛋白血症 (hyperapobetalipoproteinemia)。

[0112] 众所周知,如果能够降低血清脂质尤其是 LDL-胆固醇则能够减低心血管疾病的可能性。还众所周知,如果能够减低血清脂质则能够阻止动脉粥样硬化的进展或者能够诱导动脉粥样硬化的衰退。在这些情况下诊断了高脂血症或高胆固醇血症的个体应该考虑降脂治疗来阻止动脉粥样硬化的进展或者诱导动脉粥样硬化的衰退,用于减低他们心血管疾病特别是冠状动脉疾病的风险。这种治疗将减小中风和心肌梗塞以及其他后果的风险。另外被认为是正常血清脂质水平的某些个体能够发展心血管疾病。在这些个体中,其他因素如脂质过氧化和高水平的 Lp(a) 或脂蛋白 A 能够导致动脉粥样硬化,儘管其有相对正常的胆固醇和脂质水平。

[0113] 这里使用的“治疗有效量”的示例性标记物是指本发明制剂中的普利醇的量,用该量施用于(例如口服施用于)受试者时例证性地通过降低总胆固醇水平、降低 LDL 胆固醇、升高 HDL 胆固醇、降低总胆固醇/HDL 比率和/或降低三酸甘油酯保持了健康的血清脂质谱,或者有助于保持健康的体重。

[0114] 另一个示例性治疗相关剂量是导致降低 C 反应蛋白的剂量, C 反应蛋白是脂质代谢的标准临床标记物和心血管风险因子。

[0115] NF- $\kappa$  B 活化的抑制

[0116] 在许多实施方案中,本发明提供了抑制受试者中 NF- $\kappa$  B 的活化的方法。所述方法包括将足以抑制 NF- $\kappa$  B 的活化的量的本发明的纳米粒子制剂施用于受试者。

[0117] 转录因子的 NF- $\kappa$  B/Rel 家族包括形成了同二聚体和异二聚体的几种结构上相关的蛋白,且包括 p50/p105、p52/p100、RelA (p65)、c-Rel/NF- $\kappa$  B。哺乳动物中最常见的 Rel/NF- $\kappa$  B 二聚体含有 p50-RelA (p50/p65) 异二聚体,且特定地称为 NF- $\kappa$  B。它是存在于细胞质中的一个普遍因子,但在活化时它移位到核中,在那里它诱导了基因转录。NF- $\kappa$  B 与各种各样的疾病相关,因为大多数疾病由未调节的发炎引起。因此,能够抑制 NF- $\kappa$  B 活化的药剂具有预防或延迟 NF- $\kappa$  B 相关的疾病的发作或者治疗 NF- $\kappa$  B 相关的疾病的潜力。

[0118] NF- $\kappa$  B 被自由基、发炎刺激、致癌原、肿瘤促进剂、内毒素、 $\gamma$  辐射、紫外线 (UV) 和 X 射线活化 (B. B. Aggarwal 等人, Nuclear transcription factor-kappa B as a target for cancer drug development (作为癌症药物开发的靶的核转录因子- $\kappa$  B) Leukemia. 16 : 1053-68)。在活化时,NF- $\kappa$  B 诱导了超过 200 种基因的表现,已经表明这些基因抑制凋亡,诱导细胞转化、增殖、侵袭、转移、化学抗性、抗辐射性和发炎。参见 Kumar A 等人, 2004。

Nuclear factor- $\kappa$ B: Its role in health and diseases (核因子  $\kappa$ B: 它在健康和疾病中的作用), *J Mol Med.*, 82:434-448。

[0119] NF- $\kappa$ B 的活化形式已经牵涉到疾病和障碍, 包括但不限于癌症、过敏、头痛、疼痛、心肌梗塞、复合性区域疼痛症候群、心脏肥大、肌营养不良症 (2a 型)、肌肉萎缩、分解代谢疾病、1 型糖尿病、2 型糖尿病、肥胖、胎儿发育迟缓、高胆固醇血症、动脉粥样硬化、心脏病、慢性心衰、缺血 / 再灌注损伤、中风、脑动脉瘤、心绞痛、肺疾病、囊性纤维变性、酸相关性肺损伤、肺动脉高压、慢性阻塞性肺疾病 (COPD)、玻璃膜病、肾脏疾病、肾小球疾病、酒精性肝病、钩端螺旋体 (leptospirosis) 肾脏疾病、肠道疾病、腹腔子宫内膜异位症、皮肤病、鼻窦炎、间皮瘤、无汗性外胚层发育不良、贝切特病、色素失调症、结核病、哮喘、关节炎、克隆氏病、结肠炎 (大鼠)、眼过敏性、青光眼、阑尾炎、佩吉特氏病、胰腺炎、牙周炎、子宫内膜异位症、炎性肠病、炎性肺疾病、败血症、硅石诱发的疾病 (silica-induced)、睡眠呼吸暂停、后天性免疫不全症候群 (HIV-1)、自身免疫病、抗磷脂症候群 (antiphospholipid syndrome)、狼疮、狼疮性肾炎、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症 (Waldenstrom macroglobulinemia)、慢性疾病症候群、家族性地中海热、遗传性周期性发热症候群、心理压力疾病、神经病理性疾病、家族性淀粉样多发性神经病变、炎性神经病变、脑外伤、脊髓损伤、牛皮癣、脓毒性休克、帕金森病、多发性硬化症、风湿性疾病、阿滋海默氏病、肌萎缩性偏侧硬化症、杭丁顿氏症、视网膜疾病、白内障、及各种发炎疾病。本发明的制剂和方法展示了抑制 NF- $\kappa$ B 的活化的能力, 这进而能够治疗或预防与身体中的 NF- $\kappa$ B 活化有关的疾病。

#### [0120] 脂联素

[0121] 在许多实施方案中, 本发明提供了增加受试者中脂联素水平的方法。该方法包括将足以增加脂联素水平的量的本发明的纳米粒子制剂施用于受试者从而治疗与低脂联素水平有关的疾病。

[0122] 脂联素是调节许多代谢过程的蛋白激素, 包括葡萄糖调节和脂肪酸分解代谢。参见 Díez JJ, Iglesias P. "The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease" (新型脂肪细胞产生的激素脂联素在人类疾病中的作用). *Eur. J. Endocrinol.* 148(3):293-300, 2003。

[0123] 脂联素专门地从脂肪组织分泌到血流中, 且相对于许多其他激素在血浆中非常丰富。该激素的水平与成人中的身体脂肪百分率相反地关联。参见 Ukkola O, Santaniemi, "Adiponectin: a link between excess adiposity and associated co-morbidities (脂联素: 在过度肥胖和相关共存疾病之间的联系)" *J. Mol. Med.* 80(11):696-702, 2002。

[0124] 该激素在可以导致 2 型糖尿病、肥胖、动脉粥样硬化、非酒精性脂肪肝疾病 (NAFLD) 和代谢症候群的独立危险因子的代谢紊乱的抑制中起着重要作用。参见 Renaldi O. 等人, 2009 "Hypoadiponectinemia: a risk factor for metabolic syndrome (低脂联素血症代谢症候群的危险因子)" *Acta Med Indones* 41(1):20-4。

#### [0125] 纤溶酶原激活抑制剂

[0126] 在许多实施方案中, 本发明提供了调节, 例如降低, 受试者中的 PAI-1 蛋白水平的方法。该方法包括将足以减低受试者中 PAI-1 水平的量的本发明的纳米粒子制剂施用于受试者。PAI-1 是通过去活尿激酶型和组织型纤溶酶原激活物而抑制纤维蛋白分解的丝胺



酸蛋白酶抑制剂。血浆 PAI-1 活性在午夜 12 点和早晨 6 点之间是最高。(Kluft C 等人, *Thromb Haemost.* 1988 年 4 月 8 日 ;59(2) :329-32)。

[0127] PAI-1 在许多疾病状态下(例如许多形式的癌症)以及肥胖和代谢症候群中以增加的水平存在。它与具有这些疾患的患者中的血栓形成的增加发生率有关。(Mimuro J(1991) " [Type 1 plasminogen activator inhibitor:its role in biological reactions(1 型纤溶酶原激活物抑制剂它在生物反应中的作用)]" .*Rinsho Ketsueki* 32(5) :487-9.PMID 1870265.) ;Binder BR 等人 (2002). " Plasminogen activator inhibitor 1:physiological and pathophysiological roles(纤溶酶原激活物抑制剂 1:生理和病理生理作用)" .*News Physiol.Sci.* 17 :56-61.PMID 11909993 ;Hoekstra T 等人, (2004). " Plasminogen activator inhibitor-type 1:its plasma determinants and relation with cardiovascular risk(纤溶酶原激活物抑制剂 1 型:其血浆决定因子和与心血管危险的关系)" .*Thromb.Haemost.* 91(5) :861-72 ;Lijnen HR(2005). " Pleiotropic functions of plasminogen activator inhibitor-1(纤溶酶原激活物抑制剂 1 的多效功能)" .*J.Thromb.Haemost.* 3(1) :35-45 ;De Taeye B 等人, (2005). " Plasminogen activator inhibitor-1:a common denominator in obesity, diabetes and cardiovascular disease(纤溶酶原激活物抑制剂 -1:肥胖、糖尿病和心血管疾病中的共同标准)" .*Current opinion in pharmacology* 5(2) :149-54 ;Dellas C, Loskutoff DJ(2005). " Historical analysis of PAI-1 from its discovery to its potential role in cell motility and disease(PAI-1 的历史分析:从其发现到其在细胞运动和疾病中的潜在作用)" .*Thromb.Haemost.* 93(4) :631-40。

[0128] TNF  $\alpha$

[0129] 在许多实施方案中,本发明提供了调节,例如降低受试者中的 TNF  $\alpha$  水平的方法。所述方法包括将足以减低受试者中的 TNF  $\alpha$  水平从而治疗与升高的 TNF  $\alpha$  水平相关的疾病的量的本发明的纳米粒子制剂施用于受试者。肿瘤坏死因子(TNF  $\alpha$ ) 促进了发炎反应,这进而引起了与自身免疫病症有关的许多临床问题,所述自身免疫病症例如类风湿关节炎、僵直性脊椎炎、克隆氏病、牛皮癣、阿滋海默氏病和难治性哮喘。这些病症有时通过使用 TNF 抑制剂来治疗。TNF 产生的失调已经牵涉到许多人类疾病,包括阿滋海默氏病(Perispinal Etanercept for Treatment of Alzheimer's Disease(用于治疗阿滋海默氏病的抗阿发细胞坏死素)Edward Tobinick\**Current Alzheimer Research*, 2007, 4, 550-552) 以及癌症。参见 Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ(2001). " The TNF and TNF receptor super families:integrating mammalian biology(TNF 和 TNF 受体超家族:整合的哺乳动物生物学)" .*Cell(细胞)* 104(4) :487-501。

[0130] 肥胖的啮齿类动物和肥胖人类在脂肪组织中具有增加的 TNF  $\alpha$  的表现。脂肪组织中的 TNF  $\alpha$  表现因此与肥胖症和胰岛素抗性正关联(*Endocr Rev.* 2003 年 6 月 ; 24(3) :278-301)。慢性暴露于外源性 TNF  $\alpha$  在体内及体外诱导了胰岛素抗性。参见 *Endocrinology*. 1992 年 1 月 ;130(1) :43-52。在肥胖的啮齿动物中 TNF  $\alpha$  或其受体的基因缺失(fa/fa Zucker 大鼠改善胰岛素敏感性和循环 NEFA。 *Nature*. 1997 年 10 月 9 日 ; 389(6651) :610-4。

[0131] 在脂肪组织中, TNF  $\alpha$  抑制了牵涉 NEFA 和葡萄糖的摄取和储存以及脂肪生成的基

因。它还改变脂肪细胞分泌的因子如脂联素的表现 (Am J Physiol Endocrinol Metab. 2003 年 9 月 ;285(3) :E527-33。在肝脏中, TNF  $\alpha$  抑制了牵涉葡萄糖摄取和代谢以及脂肪酸氧化的基因的表现, 同时增加牵涉胆固醇和脂肪酸的从头合成的基因的表现。

[0132] 胰岛素信号传导通过增加的血清 NEFA 水平间接地被 TNF  $\alpha$  损害。已知噻唑烷二酮类改进了 TNF  $\alpha$  对胰岛素作用的抑制效果。参见 J Clin Invest. 1997 年 10 月 1 日 ; 100(7) :1863-9。此外已经发现体重损失导致了 TNF  $\alpha$  水平的降低。J Clin Invest. 1995 年 5 月 ;95(5) :2111-9。

[0133] 视黄醇结合蛋白

[0134] 在许多实施方案中, 本发明提供了调节, 例如降低受试者中 RBP-4 水平的方法。所述方法包括将足以减低受试者中的 RBP-4 水平从而治疗与升高的 RBP-4 水平有关的疾病的量的本发明的纳米粒子制剂施用于受试者。视黄醇结合蛋白 4 (RBP4) 最近已经被描述为有助于 AG4KO 小鼠模型中的胰岛素抗性的脂肪因子 (adipokine)。参见 Yang Q 等人, Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes (血清视黄醇结合蛋白 4 有助于肥胖和 2 型糖尿病中的胰岛素抗性)”, Nature 436(7049) :356-62. (2005)。RBP4 在发生糖尿病之前在血清中升高, 且显示确定了具有不同临床表现的受试者中的胰岛素抗性和相关的心血管危险因素。这些发现提供了目的在于降低血清 RBP4 水平的抗糖尿病治疗的基本原理。参见 Graham TE 等人, N Engl J Med. 2006 年 6 月 15 日 ;354(24) :2552-63。

[0135] 一氧化氮

[0136] 在许多实施方案中, 本发明提供了增加受试者中的一氧化氮水平的方法。该方法包括将足以增加受试者中的一氧化氮水平的量的本发明的纳米粒子制剂施用于受试者。

[0137] 内皮 NOS (eNOS), 还称为一氧化氮合成酶 3 (NOS3), 其在血管中产生 NO 且牵涉到调节血管功能和减低血压。参见 Alderton WK 等人, Biochem J. 2001 年 8 月 1 日 ;357(Pt 3) : 593-615。已知 NO 具有各种血管效果, 包括直接血管扩张 (流量依赖的和受体介导的); 通过抑制血管收缩药影响 (例如抑制血管收缩素 II 和交感性血管收缩) 的间接血管扩张、抗血栓效应 (抑制血小板粘附到血管内皮细胞)、抗炎效应 (抑制白血球粘附到血管内皮细胞)、清除超氧化物阴离子的能力; 以及抗增殖效果 (例如抑制平滑肌增生)。

[0138] 由于 NO 的上述作用它的受损的产生或者减低的生物利用度能够导致血管收缩 (例如冠状动脉痉挛, 全身血管阻力升高, 高血压); 由于血小板聚集和粘附到血管内皮细胞导致的血栓形成; 由于白血球和内皮细胞粘附分子的上调导致的发炎; 血管肥大和狭窄。参见 Nitric Oxide: Biology and Pathobiology (一氧化氮: 生物学和病理生物学); 作者: Louis J. Ignarro (编辑) ISBN-10 :0123738660 ; ISBN-13 :9780123738660 出版商: Academic Press-2009。与异常 NO 产生和生物利用度有关的疾病或疾患包括但不限于高血压肥胖; 血脂异常特别是高胆固醇血症和高三酸甘油酯血症; 糖尿病 (I 和 II 型); 心脏衰竭; 动脉粥样硬化; 以及与衰老有关的疾患。参见 Dessy, C 等人, (2004 年 9 月). ” Pathophysiological Roles of Nitric Oxide: In the Heart and the Coronary Vasculature (一氧化氮在心脏和冠状动脉血管中的病理生理学作用) ” 和 Current Medical Chemistry-Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (当代医学化学-药物化学中的抗炎和抗过敏药剂) (Bentham Science

Publishers Ltd.)3(3):207-216。

[0139] MCP-1(单核球趋化蛋白-1)

[0140] 在许多实施方案中,本发明提供了调节,例如降低受试者 MCP-1 水平的方法。所述方法包括将足以减低受试者中的 MCP-1 水平从而治疗与升高的 MCP-1 水平有关的疾病的量的本发明的纳米粒子制剂施用于受试者。MCP-1 是将单核球募集到发炎部位的趋化激素。MCP-1 由白色脂肪组织中的脂肪细胞和基质血管细胞(stromal vascular cell)表现和分泌。肥胖啮齿类动物具有更高的循环 MCP-1 水平以及增加的 MCP-1 脂肪组织表现。参见 J Biol Chem. 2003 年 11 月 21 日,278(47):46654-60。此外,MCP-1 通过降低胰岛素刺激的葡萄糖摄取和胰岛素诱导的胰岛素受体酪氨酸磷酸化能够直接有助于胰岛素抗性,并且能够降低脂肪生成基因的表现,以便抑制脂肪细胞生长和分化。将 MCP-1 施用于小鼠外围地增加了循环单核球,且增加了在具有新内膜形成的动脉中的单核球积聚,提示了 MCP-1 在动脉粥样化形成中的作用。参见 Cardiovasc Res. 2003 年 1 月 ;57(1):178-85。

[0141] 硫化氢

[0142] 在许多实施方案中,本发明提供了增加受试者中 H<sub>2</sub>S 水平的方法。所述方法包括将足以增加受试者中血清 H<sub>2</sub>S 水平从而治疗与低 H<sub>2</sub>S 水平有关的疾病的量的本发明的纳米粒子制剂施用于受试者。H<sub>2</sub>S 促进调节代谢、心脏功能和细胞存活的许多细胞信号。内源性 H<sub>2</sub>S 生物利用度受涉及半胱氨酸的生物合成的几种酶的调节。参见 Szabo C(2007). Hydrogen sulfide and its therapeutic potential(硫化氢及其治疗潜力). Nat Reviews6: 917-935。从健康人和具有 II 型糖尿病的男性患者中探取的血液样本中的 H<sub>2</sub>S 水平证明了糖尿病患者中显著降低的 H<sub>2</sub>S 的水平。较低的 H<sub>2</sub>S 水平与受损的微血管功能的临床标记物相关,提示该血压降低气体的损失能够是在具有糖尿病的患者中发展血管并发症的贡献因子。参见 Brancalione V 等人,(2008). Biosynthesis of H<sub>2</sub>S is impaired in non-obese diabetic (NOD) mice (H<sub>2</sub>S 的生物合成在非肥胖糖尿病 (NOD) 小鼠中受损); Br J Pharmacol 155:673-680; Lefer DJ(2007). A new gaseous signaling molecule emerges: cardio protective role of hydrogen sulfide(一种新的气体信号分子出现硫化氢的心脏保护作用); 以及 Proc Natl Acad Sci USA 104:17907-17908。

[0143] ICAM-1(细胞间粘附分子-1)

[0144] 在许多实施方案中,本发明提供了调节,例如减低受试者中升高的 ICAM-1 水平的方法。所述方法包括将足以减低受试者中的 ICAM-1 水平,从而治疗与升高的 ICAM-1 水平有关的疾病的量的本发明的纳米粒子制剂施用于受试者。ICAM-1 是引起普通感冒的绝大多数病毒所使用的相同受体分子。鼻病毒是普通感冒的常见原因。粘附分子在许多医学领域包括胚胎学、免疫学和恶性肿瘤中起着主要作用。

[0145] 许多生理过程需要细胞与其他细胞或细胞外基质紧密接触且粘附到其他细胞或细胞外基质。细胞-细胞和细胞-基质相互作用通过细胞间粘附分子或“ICAM”的几个家族来介导。参见 New Cell adhesion research(新的细胞粘附研究), Patrick Nott 及其他贡献者, ISBN-10:1606923781; ISBN-13:9781606923788 出版商: Nova Biomedical Books-2009-04。ICAM-1 因此在正常过程和病理生理过程中都起着重要作用 (Springer 等人, 1987, Ann. Rev. Immunol. 5:223-252)。因此已经开发了策略来通过阻断 ICAM-1 功能或表现来介导细胞粘附。这种策略典型地使用抗 ICAM-1 抗体,完全阻断 ICAM-1 结合的配体,

或者针对 ICAM-1mRNA 的反义核酸分子。然而,用于这些治疗的药剂仅仅产生了 ICAM-1 中的化学计量减低,且通常被病态或活化细胞异常大量产生的 ICAM-1 所压倒。

[0146] 以嗜中性球浸润为特征的疾病常常与其中 ICAM-1 或 VCAM-1 表现占主导的慢性疾患有关。参见 Adams DH, Shaw S 1994 Leukocyte endothelial interactions and regulation of leukocyte migration(白血球-内皮细胞相互作用和白血球迁移的调节). *Lancet* 343 :831-836。在包括动脉粥样硬化、脉管炎、关节炎、肾脏和肝脏疾病、缺血再灌注损伤、器官移植排斥、转移和许多其他病理状态的不同病理状态下已经报告了局部表现以及血清可溶性粘附分子的增加。参见 Bevilacqua MP 等人,1994 Endothelial leukocyte adhesion molecules in human disease(人类疾病中的内皮性白血球粘附分子). *Annu Rev Med* 45 :361-378。

[0147] 粘附分子在特定形式的发炎中可以是重要的。参见 Gorski A 1994 the role of cell adhesion molecules in immunopathology(细胞粘附分子在免疫病理学中的作用). *Immunol Today* 15 :251-255。因此,需要的是催化或亚化学计量的药剂,其选择性抑制 ICAM-1 的表现,以便有效降低或阻断 ICAM-1 介导的细胞粘附。

[0148] 抑制病毒感染的许多不同方式之一是阻止病毒结合到细胞。大多数鼻病毒血清型使用单一细胞受体,即细胞间粘附分子-1(ICAM-1),用于附着到细胞上。这能够导致在发现普通感冒的治疗剂的努力中开发该受体的阻断剂。

[0149] ICAM-1 的表现也已经与各种发炎皮肤疾病例如变应性接触性皮炎、固定性药物疹、扁平苔癣和牛皮癣有关。参见 Ho 等人,1990, *J. Am. Acad. Dermatol.* 22 :64-68; Griffiths 和 Nickoloff,1989, *Am. J. Pathology* 135 :1045-1053; Lisby 等人,1989, *Br. J. Dermatol.* 120 :479-484; 以及 Shiohara 等人,1989, *Arch. Dermatol.* 125 :1371-1376。另外,在具有类风湿关节炎的患者(Hale 等人,1989, *Arth. Rheum.* 32 :22-30); 糖尿病的胰岛 B 细胞(Campbell 等人,1989, *P. N. A. S. USA* 86 :4282-4286); 具有甲状腺机能亢进的患者的甲状腺滤泡细胞(Weetman 等人,1989, *J. Endocrinol.* 122 :185-191); 肾脏和肝脏同种异体移植排斥(Faul1 和 Russ,1989, *Transplantation* 48 :226-230; Adams 等人,1989, *Lancet* 1122-1125); 以及发炎性肠病(IBD) 组织(Springer T,1990, *Nature* 346 :425-34) 中检测到 ICAM-1 表现。

[0150] 通常在 I 型糖尿病中观察到的并发症也涉及 ICAM-1 的表现。例如,ICAM-1 介导的白血球在毛细血管内皮细胞上的粘附能够在糖尿病的某些组织如视网膜、周围神经和肾中引起微血管缺血。这导致这些组织的毛细血管无灌注,进而导致糖尿病性视网膜病变、神经病变或肾病,或者这导致经由细胞间粘附分子-1(ICAM-1) 在多型核白血球和内皮细胞之间的粘附诱导的血管生成。因此认为,ICAM-1 介导的白血球淤滞的抑制能够防止与糖尿病有关的视网膜异常。参见 Miyamoto K 等人(200), *Am. J. Pathol.* 156 :1733-1739; Miyamoto K 等人,(1999), *P. N. A. S. USA* 96 :10836-1084; Jude EB 等人(1998), *Diabetologia* 41 :330-6; Miyamoto 等人 1999, *P. N. A. S. USA* 96 :10836-10841; 以及 Yong Song Gho 等人 *Cancer Research* 59,5128-5132,1999 年 10 月 15 日。

[0151] 麸胺基硫

[0152] 在许多实施方案中,本发明提供了增加或调节受试者中的 GSH 水平的方法。所述方法包括将足以增加或调节受试者中的 GSH 水平的量的本发明的纳米粒子制剂施用于受

试者。

[0153] 麸胺基硫 (GSH) 的还原形式是动物细胞中最占优势的非蛋白硫醇。它的从头和补救合成用于保持还原的细胞环境,且所述三肽是许多胞质酶的辅因子,且还可以用作许多细胞蛋白中的重要转译后修饰。半胱氨酸硫醇在与外源性和内源性亲电物类的反应中用作亲核物质。结果,活性氧类 (ROS) 常常在自发反应和催化反应二者中被 GSH 作为目标。因为 ROS 在细胞信号传导事件中以及在人疾病病变中具有确定的作用,因此 GSH 和相关酶的表现不平衡已经在各种情况中牵涉。在 GSH 代谢和疾病如癌症、神经变性疾病、囊肿纤维化 (CF)、HIV 和衰老之间的因果联系已经被指明。在 GSH 恒定中牵涉的酶的多态表现影响这些疾患的易感性和进展。参见 Danyelle M. Townsend, \*, Kenneth D. Tew, Haim Tapiero *Biomedicine & Pharmacotherapy* (57 (2003) 145-155)。

[0154] 在许多实施方案中,本发明的纳米粒子口服给药。在示例性实施方案中,所述纳米粒子以每天从约 10mg 到约 100mg,例如每天从约 10mg 到约 50mg 的剂量施用。在本发明的各方法的许多实施方案中,包括上述示例性方法,用本发明的制剂治疗的受试者不需要补充维生素 E。在许多其他实施方案中,通过施用所述制剂调节的代谢参数或者治疗的疾病不是认为通过受试者补充维生素 E 可治疗或者已知可改善的参数或疾病。

[0155] 用于血液化学或代谢的改变的本领域接受的检测可用于证明本发明的粒子的治疗相关 (或其他) 剂量的效力。以下提供了说明能够用于分析在不同剂量下本发明的效力的仅仅一些常规检测的实施例。使用从 Fisher Thermo Scientific Co, Rockford, Ill 商业上获得的试剂盒,用于血浆中的细胞介素、胰岛素、脂质过氧化和维生素 C、CRP、MCP-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、瘦素、视黄醇结合蛋白和胰岛素水平的标准检测可以探取夹心 ELISA 方法的形式。氧化逆境可通过丙二醛与硫代巴比妥酸反应以测量丙二醛 (脂质过氧化的终产物) 来确定。参见 Jain, *J. Biol. Chem.* 264 :21340-21345, 1989 ;Jain 等人, *Diabetes* 38 : 1539-1543, 1989)。蛋白氧化能够通过 Yan 等人, *Arch. Biochem Biophys.* 327 :330-334, 1996 中公开的方法来测定。胰岛素抗性例如能够通过 HOMA 方法 (Yaturu 等人, *Cytokine* 34 :219-23, 2006) 来测定。血浆中的维生素 C 浓度能够通过 Nino 和 Shaw 的方法来测定。参见 Alan Wu (Ed). *Teitz Clinical Guide to Laboratory Tests* (Teitz 实验室检查临床指南) (第四版), Philadelphia, WB Saunders Co. 2006。糖基化血红蛋白可以使用从 Helena Laboratories (Beaumont, TX) 购买的 Glyco-Tek 亲和管柱试剂盒以及试剂 (cat#5351) 来测定。葡萄糖水平通过 Accu-check Advantage 血糖测量仪 (Boehringer Mannheim Corporation, Indianapolis, IN) 使用葡萄糖氧化酶来测定。

[0156] 给出以下示例来说明本发明。然而应该理解,本发明不限于这些示例中的具体条件或者细节。

[0157] 示例

[0158] 示例 1

[0159] 含有 1% 普利醇的液体制剂的制备

[0160] 1. 制备含有蔗糖月桂酸酯 (0.1-0.5%) 的水溶液 (100mL) 并在搅拌下加热至 80-85°C。

[0161] 2. 在烧杯中称量普利醇 (1g) 和至少一种赋形剂或稳定剂 (25g) 并在搅拌下加热至 80-85°C。

[0162] 3. 在强烈搅拌下将糖酯溶液倒入具有普利醇和赋形剂的烧杯中,并在搅拌下在 80-85℃下保持 5 分钟。当温度低于 50℃时,所述制剂变得透明。

[0163] 4. 关掉加热器,并在适中搅拌下保持,直到达到室温。

[0164] 5. 添加防腐剂(例如山梨酸钾、苯甲酸钠、无水柠檬酸)。

[0165] 6. 将该溶液装入瓶内。

[0166] 示例 2

[0167] 含有 1%普利醇的制剂

[0168]

组成	%
维生素 E TPGS	4
普利醇	1
糖酯	0.95
山梨酸钾	0.12
苯甲酸钠	0.2
无水柠檬酸	0.1
水	93.63

[0169] 含有 2%普利醇的制剂

[0170]

组成	%
维生素 E TPGS	6
普利醇	2
糖酯	0.92
甘油	0.12
山梨酸钾	0.12
苯甲酸钠	0.2
无水柠檬酸	0.1
水	90.54

[0171] 含有 3%普利醇的制剂

[0172]

组成	%
维生素 E TPGS	8
普利醇	3
糖酯	0.89
甘油	0.18
山梨酸钾	0.12
苯甲酸钠	0.2
无水柠檬酸	0.1
水	87.51

[0173] 示例 3

[0174] 使用具有 53nm 的粒度和 ~ 82-83% 二十八烷醇的普利醇 (10mg/mL) 的 1% 溶液的大鼠研究

[0175] 材料和方法

[0176] 从 Charles River Laboratories 购买五周龄的雄性 Zucker 糖尿病肥胖大鼠。将这些动物随机编号,且分别地收容到气候控制的动物设施中的塑料群体笼中。动物根据并使用普遍接受的委员会规程照看。让大鼠进行 2 天的环境和训练员处理的驯化。通过测定血糖浓度来测试大鼠的高血糖症。通过使用先进的 Accu-Chek. 血糖测量仪 (Boehringer Mannheim Corp., Indianapolis, IN) 通过尾部切口来测定血糖。将大鼠随机分为 3 组。使用 20G 喂饲针 (Popper and Sons, New Hyde Park, NY), 通过口服管饲法, 处理组中的每只大鼠每日补充适当剂量的本发明的纳米粒子状普利醇制剂持续 8 周。对照组补充载体-缓冲剂。每周监视重量, 以确定普利醇补充剂量。大鼠保持在标准居住条件下, 在  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  下, 具有 12:12-h 光/黑暗周期, 随意水和 Purina 5008 实验室饮食 (lab chow diet)。在 8 周结束时大鼠禁食过夜, 然后通过暴露于氟烷 (2-溴-2-氯-1,1,1-三氟乙烷) 来安乐死用于分析。通过用 19 规格针穿刺心脏和将血液抽取到含有肝素的注射器, 然后立即转移到 EDTA 采血管中来收集血液。

[0177] 具有三组 ZDF 大鼠: 1. 对照-ZDF; 2. 补充普利醇 (5mg/天/kg BW) 的 ZDF; 以及 (3) 在补充开始时的大鼠。这为我们提供了在 ZDF 大鼠血液中的全部参数的基线水平。类似年龄的 Spraug Dawley 大鼠用作以正常饮食饲养的正常年龄匹配的对照大鼠。大鼠用有或没有普利醇的 Purina 5008 饮食饲养 8 周。将血液样本收集到保持在冰桶中的预冷却的 EDTA 抗凝管中。EDTA 抗凝血用于 HbA1c 和 CBC 检测 (由临床血液病学实验室进行)。将 EDTA 抗凝血离心。使用 RBC 进行 GSH 和脂质过氧化检测。保存该透明血浆以便通过 ELISA 检测脂质过氧化和蛋白氧化产物以及 TNF- $\alpha$ 、IL-6、MCP-1、CRP、脂肪因子、胰岛素敏感性。所有分析在血液收集之后立即进行。用于氧化逆境标记物和促炎性细胞介素的样本储存

在  $-70^{\circ}\text{C}$  冰箱中。也进行包括 SGOT 和 SGPT 水平的完全化学图谱 (CMP2), 以揭示在普利醇补充过程中的任何毒性迹象。在细胞介素检测中, 在任何时候分析对照血清样本, 以便监视不同测试盘以及在细胞介素分析的不同天数的变化。如果不同天的对照血清值的变化大于 7%, 则重复检测。

[0178] 细胞介素、胰岛素、脂质过氧化和维生素 C 检测: 血浆中的 CRP、MCP-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、瘦素、视黄醇结合蛋白和胰岛素水平通过夹心 ELISA 方法使用从 Fisher Thermo Scientific Co, Rockford, Ill 商业获得的试剂盒来测定。使用由生产商的试剂盒规定的所有适当的对照和标准。在细胞介素试验中, 每次分析对照样品以检验在分析的不同天数的不同测试盘的变化。氧化逆境可通过丙二醛与硫代巴比妥酸 (1,2) 反应以测量丙二醛 (脂质过氧化的终产物) 来确定。参见 Jain “Hyperglycemia can cause membrane lipid peroxidation and osmotic fragility in human red blood cells. (高血糖症可引起人红血球中的膜脂过氧化和渗透脆性)” J Biol Chem 264 :21340-21345, 1989; 以及 Jain 等人, “Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes (糖尿病中的红血球膜脂过氧化和糖基化血红蛋白)” Diabetes 38 :1539-1543, 1989。蛋白氧化通过 Yan 等人在 “Efficacy of hypochlorous acid scavengers in the prevention of protein carbonyl formation (次氯酸清除剂在防止蛋白羰基形成中的效力)” Arch Biochem Biophys 327 :330-334, 1996 中的方法来测定。胰岛素抗性通过 HOMA 方法来测定。参见 Yaturu 等人, “Resistin and adiponectin levels in subjects with coronary artery disease and type 2 diabetes (在具有冠状动脉疾病和 2 型糖尿病的受试者中的抵抗素和脂联素水平)。” Cytokine 34 :219-23, 2006; 以及 Ismael 等人, “Blockade of sensory abnormalities and kinin B1 receptor expression by N-acetyl-L-cysteine and ramipril in a rat model of insulin resistance (在胰岛素抗性的大鼠模型中感觉异常和激肽 B1 受体表现被 N-乙酰基-L-半胱氨酸和雷米普利阻断)。” Eur J Pharmacol. 589 :66-72, 2008。血浆中的维生素 C 浓度通过 Nino 和 Shaw 的方法来测定。参见 Wu (ed). Teitz Clinical Guide to Laboratory Tests (Teitz 实验室检查临床指南) (第四版) Philadelphia, WB Saunders Co. 2006。GSH 通过 Beutler 在 Red Blood Cell Metabolism: A manual of Biochemical Methods (红血球代谢: 生物化学方法手册) Pub: Grune and Stratton, NY. 131-134, 1984 中的方法来测定。

[0179] 糖基化血红蛋白 (GHb)、葡萄糖和胰岛素抗性的测定:

[0180] 糖基化血红蛋白使用从 Helena Laboratories (Beaumont, TX) 购买的 Glyco-Tek 亲和管柱试剂盒以及试剂 (cat#5351) 来测定。葡萄糖水平通过 Accu-check Advantage 血糖测量仪 (Boehringer Mannheim Corporation, Indianapolis, IN) 使用葡萄糖氧化酶来测定。

[0181] 肝脏提取物的蛋白印迹分析: 从实验大鼠切除的组织立即使用液氮冷冻, 充分研磨成粉末并在  $-70^{\circ}\text{C}$  下冷冻直到进一步使用。冷冻的组织粉末 ( $< 150\text{mg}$ ) 通过再悬浮于 1mL 含有蛋白酶抑制剂的 PBS 来洗涤, 温和地涡旋, 并在 15,000rpm 在  $4^{\circ}\text{C}$  下离心 10 分钟。丢弃上清液, 细胞粒子如上所述再洗涤一次, 然后再悬浮于 500mL 的具有蛋白酶抑制剂的提取缓冲液 (25mM Tris, 0.5mM EDTA, PMSF 0.1mM, pH7.4), 使用均化器均化, 并进行温和的超声波处理。将所述管在 15,000rpm ( $4^{\circ}\text{C}$ 、30 分钟) 离心, 并收集上清液 (提取物)。收集



的提取物如上所述再次进行离心,并除去细胞碎片。提取物的蛋白含量使用 BCA 蛋白检测来估计。将来自各组的等量蛋白在与作为还原剂的巯基乙醇煮沸 5 分钟之后装载到 SDS-聚丙烯酰胺凝胶上。将分离的蛋白转移到硝基纤维素膜上,用在 T-PBS 中的 1% BSA 封闭并在 4°C 下用相应的一次抗体培养过夜。第二天膜用 T-PBS (8 分钟,4 个循环) 洗涤,并用二次抗体在室温下在 5% 无脂乳中培养 30 分钟。膜再次用 T-PBS (8 分钟,4 个循环) 洗涤,用化学发光试剂处理 2 分钟,并暴露于 X 射线片,该 X 射线片通过放射自显影术来显影。

[0182] 所有化学品从 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) 购买,除非另外指出。数据分析:数据用 Sigma Plot 统计学软件 (Jandel Scientific, San Rafael, CA) 使用在不同组之间的 ANOVA 来分析。小于 0.05 的 p 值被认为具有显著性。

[0183] 结果

[0184] 在不同处理组之间处死时发现体重没有差别。如在开始补充之后 5 和 7 周评价的各大鼠的每週饮食摄入在各组中是相似的。补充普利醇 8 周的雄性 Zucker 肥胖大鼠的体重和饮食摄入在下表 1 中提供。每一个值表示平均值  $\pm$  SE。

[0185] 表 I

[0186]

条目	N	体重 @ 处死	饮食摄入 5 周	饮食摄入 7 周
	单位	g	g/日	g/日
正常 (SD)	6	439.00 $\pm$ 7.35	26.90 $\pm$ .67	27.43 $\pm$ 1.02
糖尿病	7	370.57 $\pm$ 3.92	37.86 $\pm$ 0.73	38.18 $\pm$ 1.17
5mg/kilo 普利醇	5	368.80 $\pm$ 6.62	34.23 $\pm$ 2.28	37.94 $\pm$ 1.84

[0187] 在所有附图中,标记 ‘\*’ 的值与对照相比具有统计学意义 ( $p < 0.05$ )。第 30 图提供了关于补充大鼠的血液中的丙胺酸转胺酶 (ALT)、硷性磷酸酶 (AP)、天冬胺酸转胺酶 (AST)、血液尿素氮 (BUN)、肌酐和阴离子间隙 (anion Gap) 水平。结果分析证明,补充普利醇降低了葡萄糖、总胆固醇、三酸甘油脂、蛋白氧化、MCP-1 和 CRP 以及硷性磷酸酶的血液水平,且增加了维生素 C 的血液水平。虽然普利醇没有改变转胺酶的血液水平,但与糖尿病大鼠相比它确实降低了硷性磷酸酶水平。

[0188] 表 II 显示,补充普利醇没有影响糖尿病大鼠中的血红蛋白、血球比容或 RBC 计数,这排除了改变的红血球存活率对补充普利醇的 ZDF 大鼠中较低的糖基化血红蛋白水平的任何效应,且证实在补充普利醇的大鼠中没有任何毒性迹象。该数据证明,补充普利醇显示没有引起如由肝功能或肾功能试验所评价的任何毒性。

[0189] 表 II :普利醇对 Zucker 肥胖大鼠中的血液血红蛋白、血球比容和红血球计数的效应。每一个值表示平均值  $\pm$  SE

[0190]

条目	N	RBC	血红蛋白	血球比容
	单位	$10^6/\mu\text{L}$	g/dL	%
正常 (SD)	6	$7.99 \pm 0.13$	$15.27 \pm 0.20$	$44.48 \pm 0.61$
糖尿病	7	$9.48 \pm 0.13$	$15.96 \pm 0.23$	$48.54 \pm 0.78$
5mg/kilo 普利醇	5	$8.50 \pm 0.23$	$14.46 \pm 0.43$	$43.34 \pm 1.23$

[0191] 肝脏在葡萄糖代谢的调节中起着主要作用。参见Michael等人,“Loss of Insulin signaling in hepatocytes leads to severe insulin resistance and progressive hepatic dysfunction. (肝细胞中胰岛素信号传导的损失导致严重的胰岛素抗性和进行性肝功能异常)” *Mol Cell*. 6 :87-97, 2000。肝脏是葡萄糖、蛋白和维生素的储藏器官。糖原合成和糖质新生途径是血糖水平的主要调节者,它们是肝脏所独有的。几种激素,包括胰岛素、升糖素、生长激素、皮质醇和儿茶酚胺有助于葡萄糖代谢的肝脏调节。因此,我们检验了肝脏中NF $\kappa$ B活化的作用及其在补充普利醇的大鼠对葡萄糖代谢的潜在贡献。

[0192] 我们的研究结果显示,在与基线对照比较时,实验糖尿病诱导了NF $\kappa$ B在糖尿病Zucker大鼠的肝脏中的活化。参见Yerneni等人,“Hyperglycemia-induced activation of nuclear transcription factor kappaB in vascular smooth muscle cells(高血糖症诱导的血管平滑肌细胞中的核转录因子 $\kappa$ B的活化).” *Diabetes*. 48 :855-64, 1999。NF $\kappa$ B是已知的高血糖症的靶。参见Meng等人“Akt is a downstream target of NF $\kappa$ B(Akt是NF $\kappa$ B的下游靶).” *J Biol Chem* 277 :29674-29680。与糖尿病相关的氧化逆境是已知的NF $\kappa$ B的激活物,NF $\kappa$ B是由称为p50和p65的两个DNA结合次单元组成的异二聚体。NF $\kappa$ B以络合于称为抑制 $\kappa$ B(I $\kappa$ B)的抑制蛋白的形式存在于细胞质中。在活化之后,I $\kappa$ B从NF $\kappa$ B解离,并进行泛素化和降解。NF $\kappa$ B被释放,以进行核移位。在它的核移位时,NF $\kappa$ B在其p65次单元中在残基276进行丝胺酸磷酸化,且与周围的染色质组成结合。它随后与DNA结合,且促进促炎性细胞介素和已知的胰岛素抗性的媒介者(mediator)的转录。因此,NF $\kappa$ B的磷酸化p65次单元的测量是确定NF $\kappa$ B活化的有效工具。如第27图所示糖尿病大鼠表现了升高的NF $\kappa$ B活化。我们也发现,NF $\kappa$ B受到施用这里所描述的普利醇制剂的抑制。我们的结果显示,补充普利醇导致了糖尿病大鼠中的血糖过多的显著改进以及氧化逆境和促炎性细胞介素分泌的抑制的显著改进。

[0193] 总之,补充普利醇具有降低血糖和促炎性细胞介素水平且增加维生素C水平的潜力。该效果通过NF $\kappa$ B活化被普利醇抑制来介导。

[0194] 示例4

[0195] 临床试验研究

[0196] 在开放性标记单中心研究(open label single center study)中使用上述1%普利醇制剂来评价在糖尿病患者中降低血压的效力和耐受性作为主要终点,并且评价了其它关键的生物标记。研究的结果在以下实施例4.1中总结。

[0197] 示例4.1.

[0198] Homa% B( $\beta$  细胞功能 (% B)) 和胰岛素敏感性 (% S) 和胰岛素抗性使用 HOMA 计算器 v2.2.2(Diabetes Care 1998 ;21 :2191-92) 计算。该研究包括具有平均年龄 48+ 或 -22 岁的 14 位糖尿病受试者。糖尿病的平均持续时间为 13.5+ 或 -12.5 年。受试者服用 20mg(1mL, 每天 2 次) 持续 12 周。对于受试者的饮食没有控制。

[0199] 如以下表 III 所示, 在具有大于 28 的 BMI 的患者中的收缩压和舒张压、C 反应蛋白水平、极低密度脂蛋白水平 (VLDL)、血清白蛋白、血清球蛋白水平以及腰围减小具有统计学意义,  $p << 0.05$ 。结果显示它能够用于治疗高血压, 降低具有高 C 反应蛋白水平的患者中的心血管疾病风险, 降低 VLDL(LDL 的前体), 减小腰围, 以及改善肾功能。普利醇被患者极好地耐受, 没有不良事件报告。

[0200] 表 III

[0201]

条目	N	在基线下的平均值	标准偏差	在 21 周时的平均值	标准偏差	%变化	P 值
超过 28 的腰围	4	110.25	13.07	98.75	17.73	-10.4	0.0002

[0202]

(cm) BMI							
血清白蛋白 (g/dl)	14	4.4	0.28	3.82	0.37	-13.1	0.0003
收缩压 (mm)	14	141.71	22.94	121.07	12.16	-14.5	0.00074
白蛋白/球蛋白 比率	14	1.50	0.33	1.23	0.31	-16.6	0.003
血清白蛋白 (g/dl)	14	2.66	0.32	3.10	0.50	16.5	0.01
VLDL (极低密度 脂质) (mg/dl)	14	70.5	25.44	45.21	19.04	-49.2	0.0118
舒张压 (mm)	14	87.35	13.14	75.71	8.69	-12.98	0.0279
H <sub>s</sub> -CRP (C 反应 蛋白) mg/L	14	3.63	2.66	2.02	1.42	-35.8	0.05
空腹胰岛素 (mU/L)	14	15.07	8.80	11.77	5.31	-28.5	0.20
胰岛素抗性	14	2.6	2.13	1.9	0.84	-26.9	0.21
SGPT (U/L)	14	29.35	17.62	21.75	9.63	-26.06	0.26
腰围 (cm)	14	96.35	12.82	91.28	12.25	-5.26	0.31
维生素 C (mg%)	14	0.29	0.08	0.35	0.17	20.6	0.31
Homa%S	14	59.16	27.87	64.62	24.22	9.3	0.33
胆固醇/hdl 比 率	14	4.87	1.00	4.60	1.02	-5.27	0.35
腰臀比	14	0.95	0.075	0.93	0.086	-2.1	0.38
空腹葡萄糖 (mg%)	13	194.07	53.2	181.69	63.9	-6.36	0.38
SGOT (U/T)	14	22.1	9.49	19	5.05	-16.8	0.43
Hd (mg/dl)	14	39.78	7.475	40.78	7.36	2.5	0.4
总胆固醇	14	191	37.46	181.29	33.03	-5.03	0.47

[0203]

(mg/dl)							
臀 (cm)	14	100.42	17.32	97.71	16.32	-2.8	0.48
Homa%B	14	41.5	22.1	48.5	5.05	16.8	0.58
三酸甘油酯 (mg/dl)	14	208.78	137	191.50	105	-8.2	0.71
HbA1c % (糖基 血红蛋白)	14	9.54	1.87	9.29	2.27	-2.6	0.80
体重 (lb)	14	148.50	17.3	146.74	16.2	-0.1	0.99

[0204] 基于降低糖尿病患者收缩压的高度显著的结果,人们能够根据英国前瞻性糖尿病研究(UKPDS)来计算危险因子的减小。这种5000名患者的10年研究得出结论,在糖尿病的并发症和收缩压之间具有直接的风险关系。收缩压下降10mm减小危险因子10-20%。这在以下表IV中示出。参见“Systolic pressure lowers the risk of association of systolic blood pressure with macro-vascular and micro vascular complications of Type 2 diabetes:prospective observational study(收缩压降低了2型糖尿病的收缩压与大血管和微血管并发症关联的风险:前瞻性观察研究)”British Medical Journal(2000)321:412-419。

[0205] 表IV:UKPDS总结

[0206]

条目	基于收缩压降低的%风险降低
任何糖尿病相关的终点	12
糖尿病相关的死亡	17
全因死亡率	12
致死性和非致死性心肌梗塞	12
致死性和非致死性中风	19
微血管终点	13
源于外周心脏病的截肢或死亡	16
心脏衰竭	17

[0207] 表V:基于我们的人类研究的结果

[0208]

条目	基于收缩压降低的%风险降低
任何糖尿病相关的终点	33
糖尿病相关的死亡	47
全因死亡率	33
致死性和非致死性心肌梗塞	33
致死性和非致死性中风	19
微血管终点	36
源于外周心脏病的截肢或死亡	44
心脏衰竭	33

[0209] 应用 UKPDS 风险评估方法学,很清楚,在 12 周时,风险减少是显著的。人们可以推理,本发明的普利醇制剂用于减轻糖尿病患者以及那些具有高血压相关疾病的风险的患者中的危险因子。

[0210] 示例 4.2 :

[0211] 这里所描述的 1%普利醇制剂 (20mg/日) 给予在三岁时诊断为 I 型糖尿病的 26 岁男性。在治疗之前他每日的胰岛素摄取量为每天 30 单位,测定基线和 21 周期间的空腹胰岛素,结果在以下表 VI 中显示。

[0212] 表 VI

[0213]

周	空腹胰岛素水平 (mU/L)
0	0.19
3	0.33
6	0.45
12	31.75
15	16
18	22
21	16.6

[0214] 基于以上数据,普利醇制剂在增强内源性胰岛素产生、增强  $\beta$  细胞活性上对于 I 型糖尿病患者是有帮助的。

[0215] 示例 4.3 :

[0216] 诊断为肾病综合征的 4 岁女孩用 10mg/日的这里所描述的 1%普利醇制剂治疗。

肾病症候群是包括尿中蛋白（超过 3.5g/日）、低血液蛋白水平、高胆固醇水平和肿胀的一组症状。它是由损害肾脏，尤其肾小球的基底膜的各种病症引起。这立即引起了尿中蛋白的异常排泄。肾病症候群能够影响所有年龄组。在儿童中，最常见是从 2 岁到 6 岁。

[0217] 在基线处，没有尿道症状。她的尿的蛋白肌酐比率（UPCR）为 6.0。在用普利醇治疗 2 周之后，UPCR 比率降低至 1.6，在 4 周后降低至 0.6。基于以下数据，普利醇制剂能够用于治疗肾病，如实施例 4.1 中所示，其中白蛋白的降低具有统计学意义。

[0218]

	UPCR 比率
基线	6
2 周后	1.6
4 周后	0.6

[0219] 示例 4.4：

[0220] 一个在白天具有膝和关节疼痛并且在夜间具有关节麻木和疼痛的症状的 48 岁男性用 20mg/日的这里所描述的 1%普利醇制剂治疗，持续 3 个月。在基线处的维生素 C 的血浆水平是低的（在大约 0.15mg%），儘管通过饮食消耗了足够维生素 C。类风湿关节炎和骨关节炎通过 X 射线和 MRI 排除。RA 因子和尿酸水平是正常的。

[0221]

	血浆维生素 C mg%
基线	0.15
3 个月后	0.64

[0222] 百分率增加 = 326

[0223] 患者在白天的膝和关节疼痛被完全抑制，且他的夜间的疼痛减小至最小。

[0224] 示例 4.5：

[0225] 43 岁的男性 2 型糖尿病患者（在 38 岁诊断）具有在基线处的 0.27mg% 的很低水平的血浆维生素 C。关于本研究，他被给予 20mg/日的这里描述的 1%普利醇制剂，持续 6 个月。

[0226] 在 6 个月结束时，他的血浆维生素 C 水平已经改善至 3.82mg%。HbA1c 和空腹胰岛素水平的改善也被观察到。

[0227]

	维生素 C mg%	空腹胰岛素 mg/l	hs-C 反应蛋白 mg/L	hblac%
基线	0.27	11.79	3.9	7.4
6 个月时	3.82	5.67	0.87	6.2

[0228] 示例 4.6 :

[0229] 诊断为 II 型糖尿病和高胰岛素血症 (在 37 岁时诊断) 的 42 岁男性用 20mg/ 日的这里描述的 1% 普利醇制剂治疗, 持续 6 个月。如下表所示, 他在六个月结束时显示了空腹胰岛素水平的显著降低。

[0230]

	空腹胰岛素 mg/l
基线	34.38
6 个月时	4.59

[0231] 示例 4.7 :

[0232] 在 41 岁诊断为 2 型糖尿病的 47 岁女性患者用 20mg/ 日的这里描述的 1% 普利醇制剂治疗, 持续 6 个月。在 6 个月结束时, 发现了腰臀比、空腹葡萄糖水平和 hs-C 反应蛋白水平的显著降低。

[0233]

	腰臀比	空腹葡萄糖 mg/l	hs-C 反应蛋白 mg/L
基线	0.98	292	8.74
6 个月时	0.77	182	3.4

[0234] 示例 4.8 :

[0235] 具有在基线的极低 HDL 的、非糖尿病的、48 岁肥胖 (BMI > 30) 男性患者用 40mg/ 日的这里所描述的 1% 普利醇制剂治疗, 持续 8 周。结果显示了 HDL、LDL、CHOL/HDL (总胆固醇 /HDI) 比率的极大改善和体重减轻 6kg 以及 BMI 比率的改善。

[0236]

	总胆固醇 mg/dl	HDL mg/dl	LDL mg/dl	三酸甘油 酯	VLDL mg/dl	CHOL/HDL 比率	BMI
基线	200	24	120	278	55.6	8.33	30.3
@ 8 周	183	55	76	258	51.6	3.32	28.3
%变化	-8.5	129	-36.6	-7.2	-7.1	-60	-6.6

[0237] 示例 4.9 :

[0238] 诊断为高血压和 2 型糖尿病的 50 岁女性用 20mg/ 日的这里描述的 1% 普利醇制剂治疗。结果显示了在 6 个月时的极大改进的血压。

[0239]



	收缩压 mm Hg	舒张压 mm Hg
基线	183	112
6 个月时	130	80

[0240] 示例 4.10：

[0241] 10 岁女孩被诊断为肾感染，尿中具有白蛋白。她用 10mg/ 日的这里描述的 1% 普利醇治疗。10 天后的尿化验结果显示感染完全消退且尿中没有白蛋白痕迹。该结果证明本发明在治疗表现有白蛋白存在的肾感染中的有用性。

[0242] 应该理解，这里描述的示例和实施方案仅用于举例说明的目的，并且根据本发明的各种修饰或变化已暗示给本领域技术人员，并且包括在本申请的精神和范围以及所附申请专利范围的范围内。这里引用的所有出版物、专利和专利申请在此处为了所有目的通过引用而整体并入。

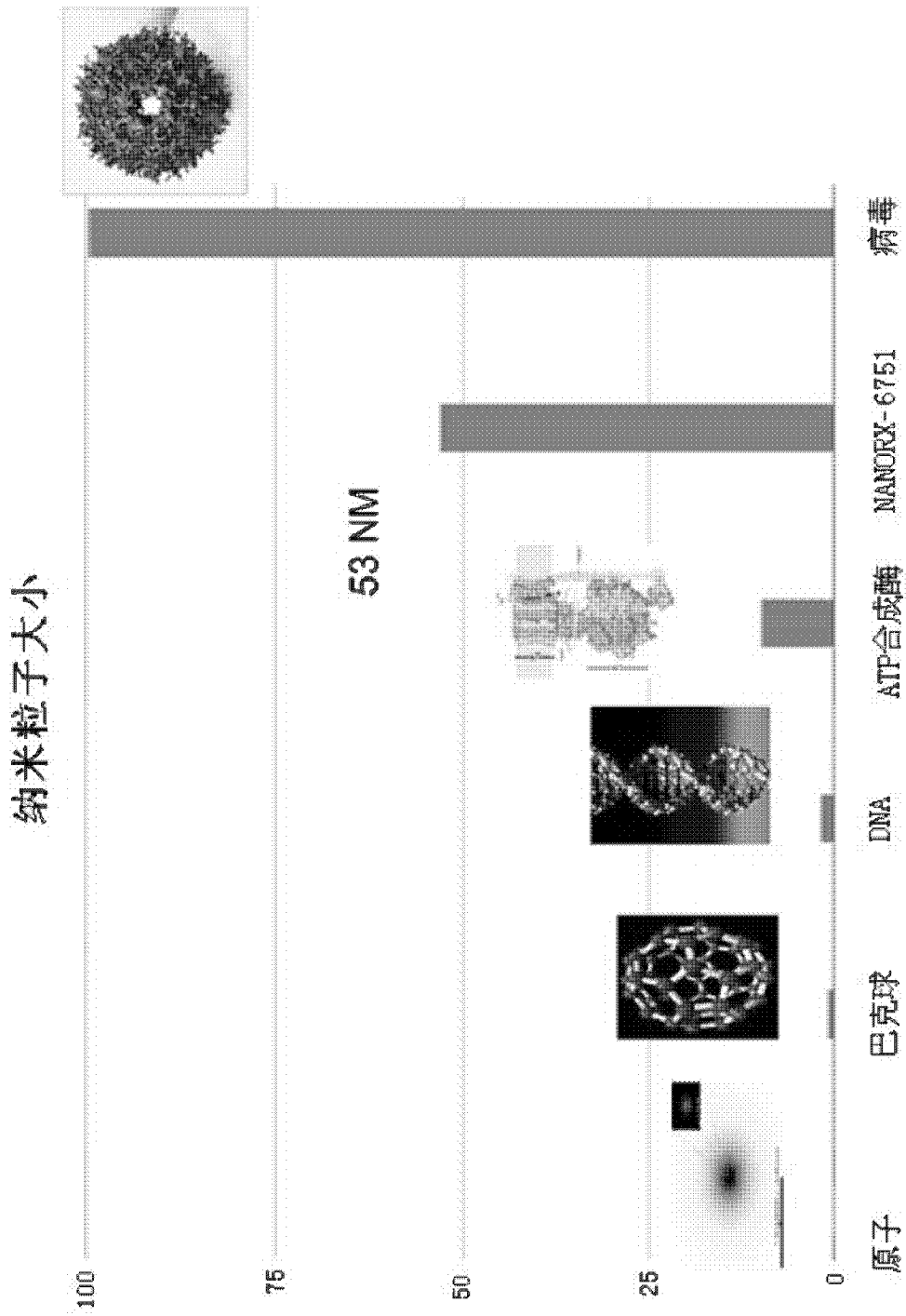


图 1

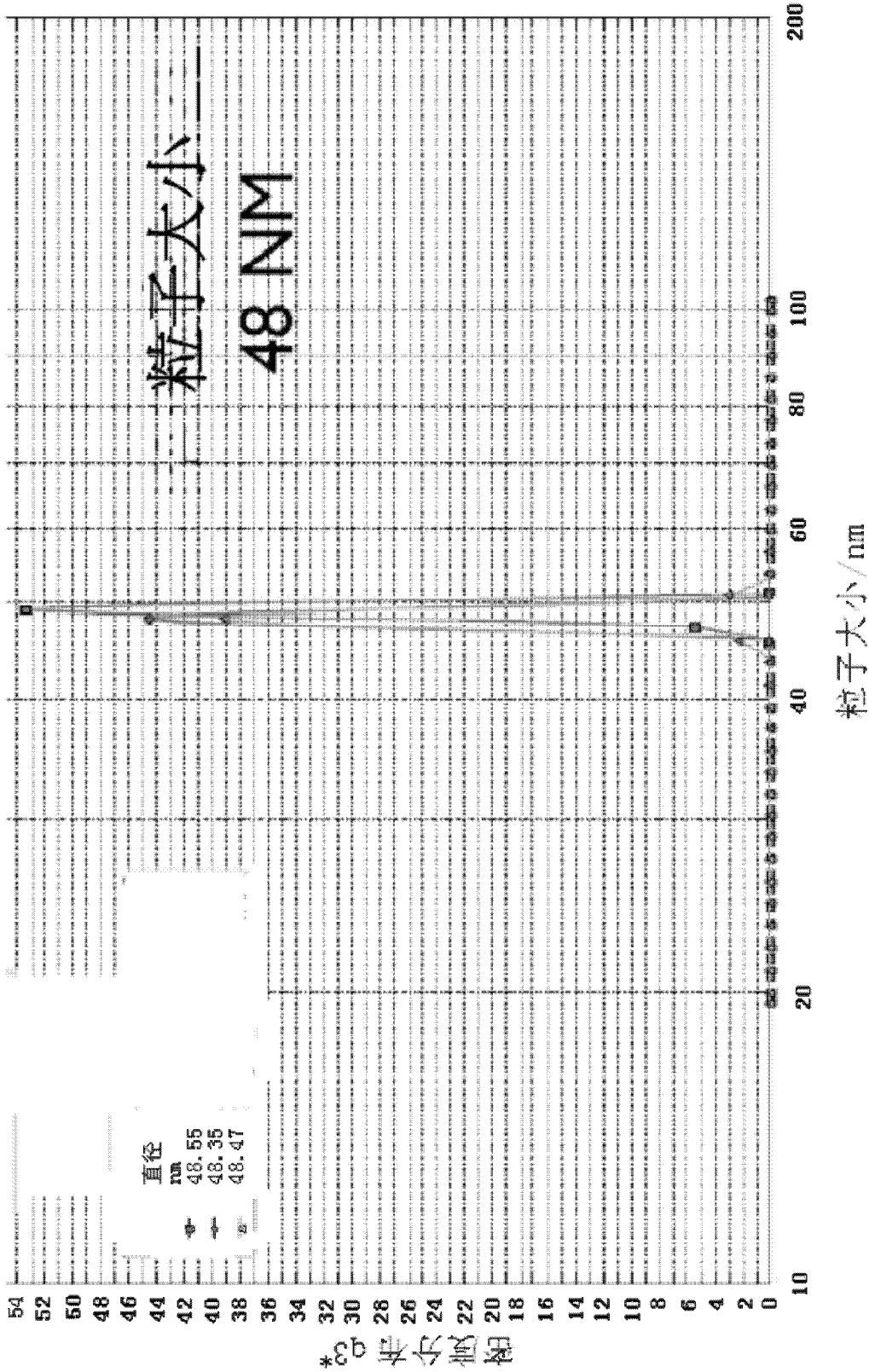


图 2

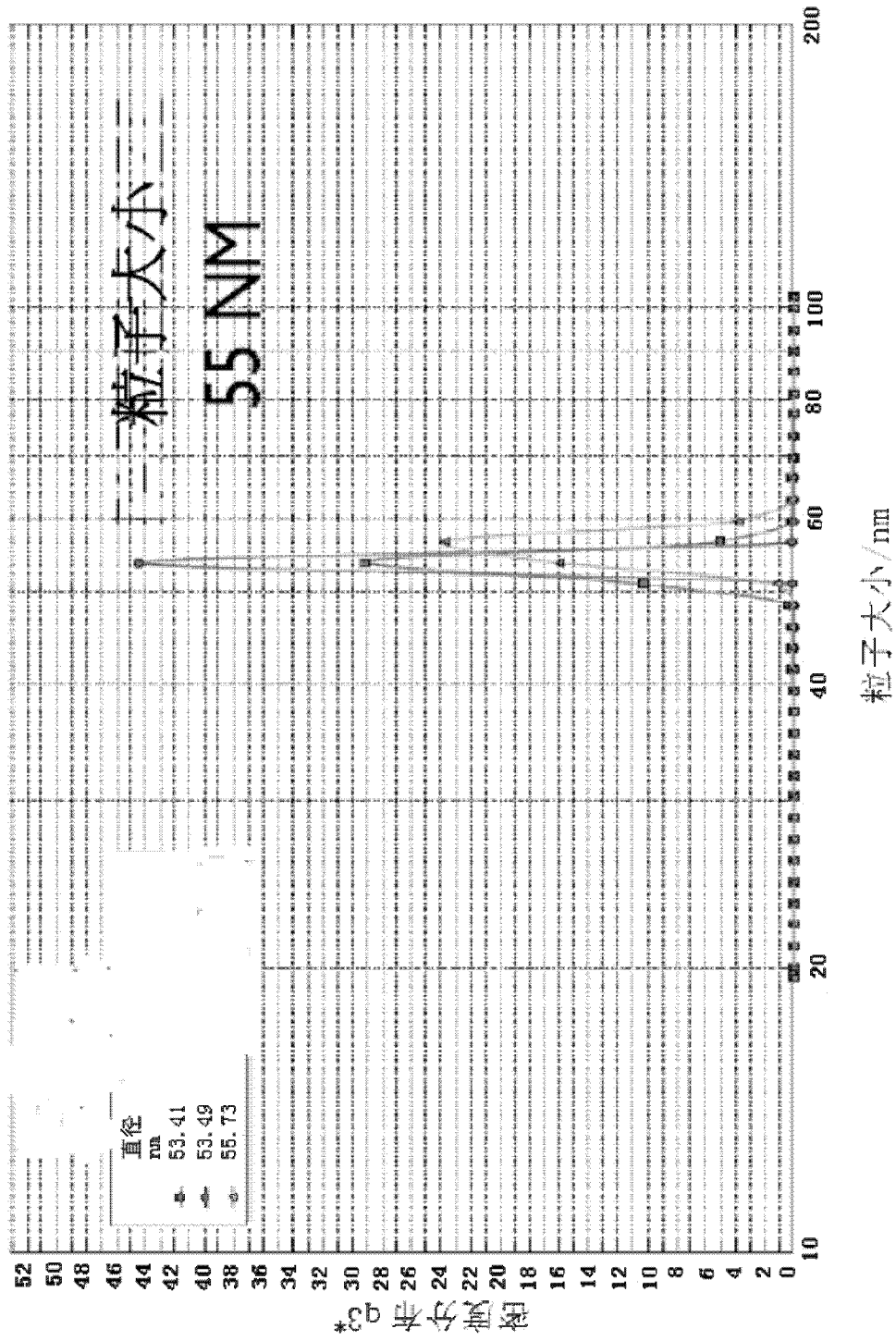


图 3

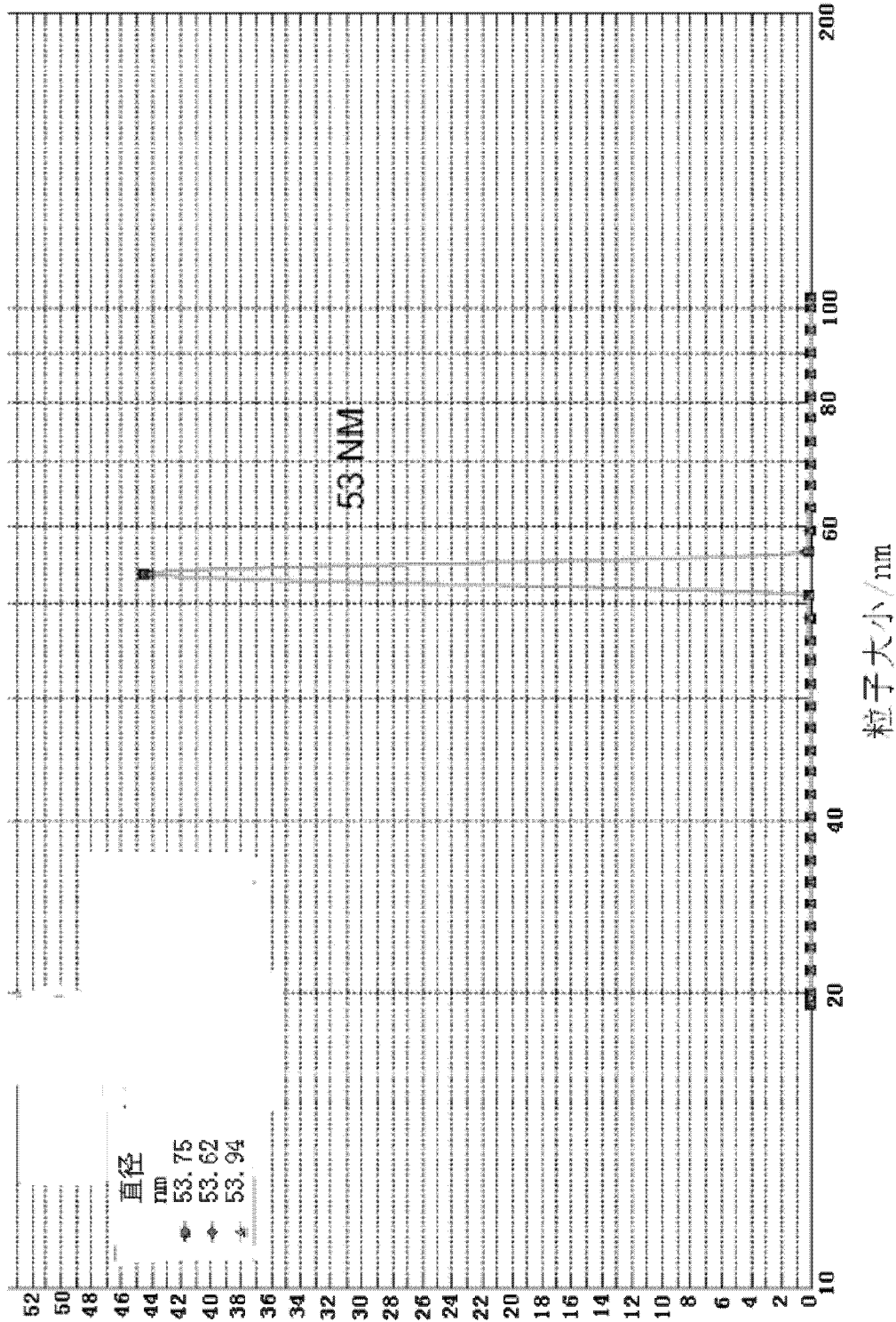


图 4

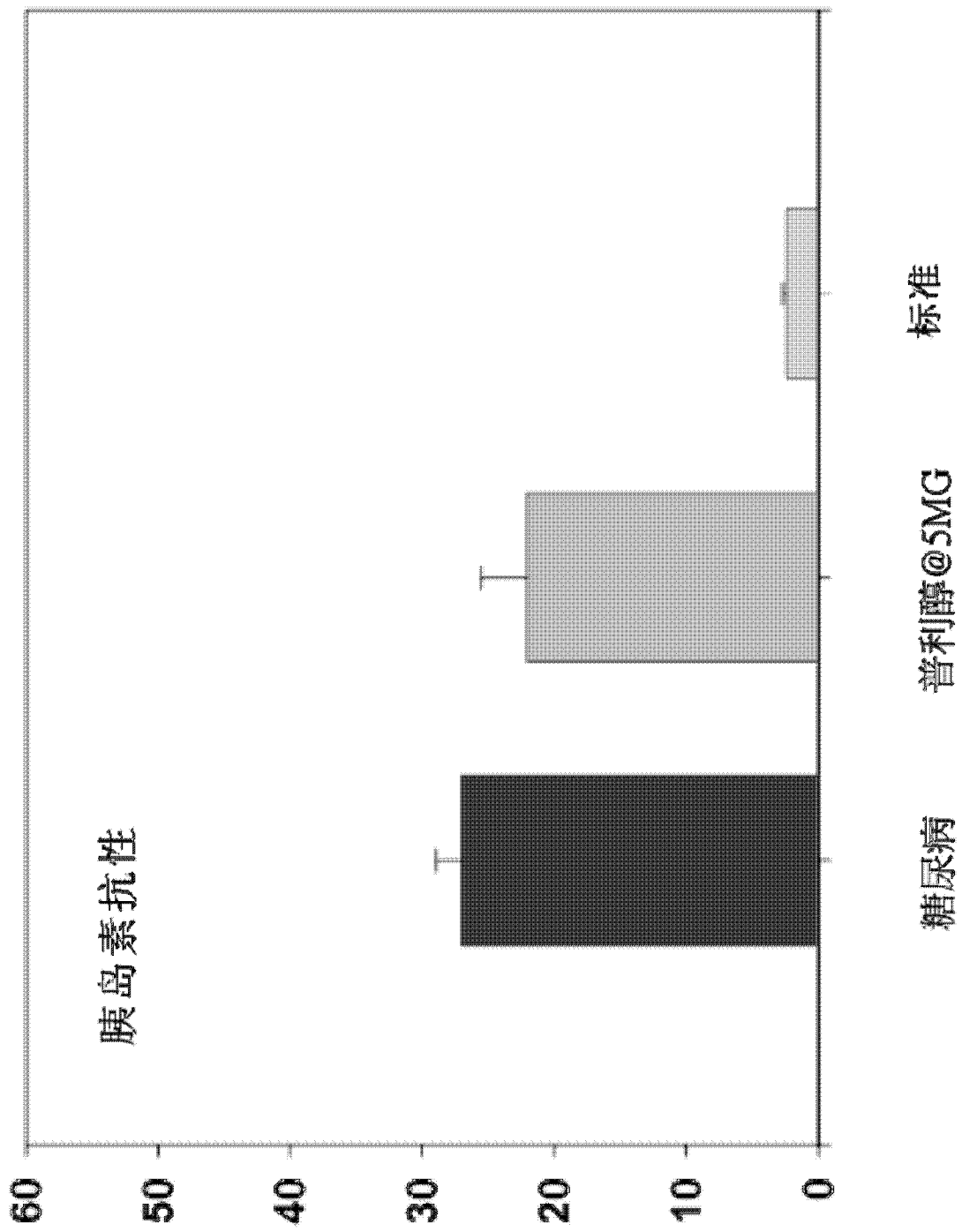


图 5

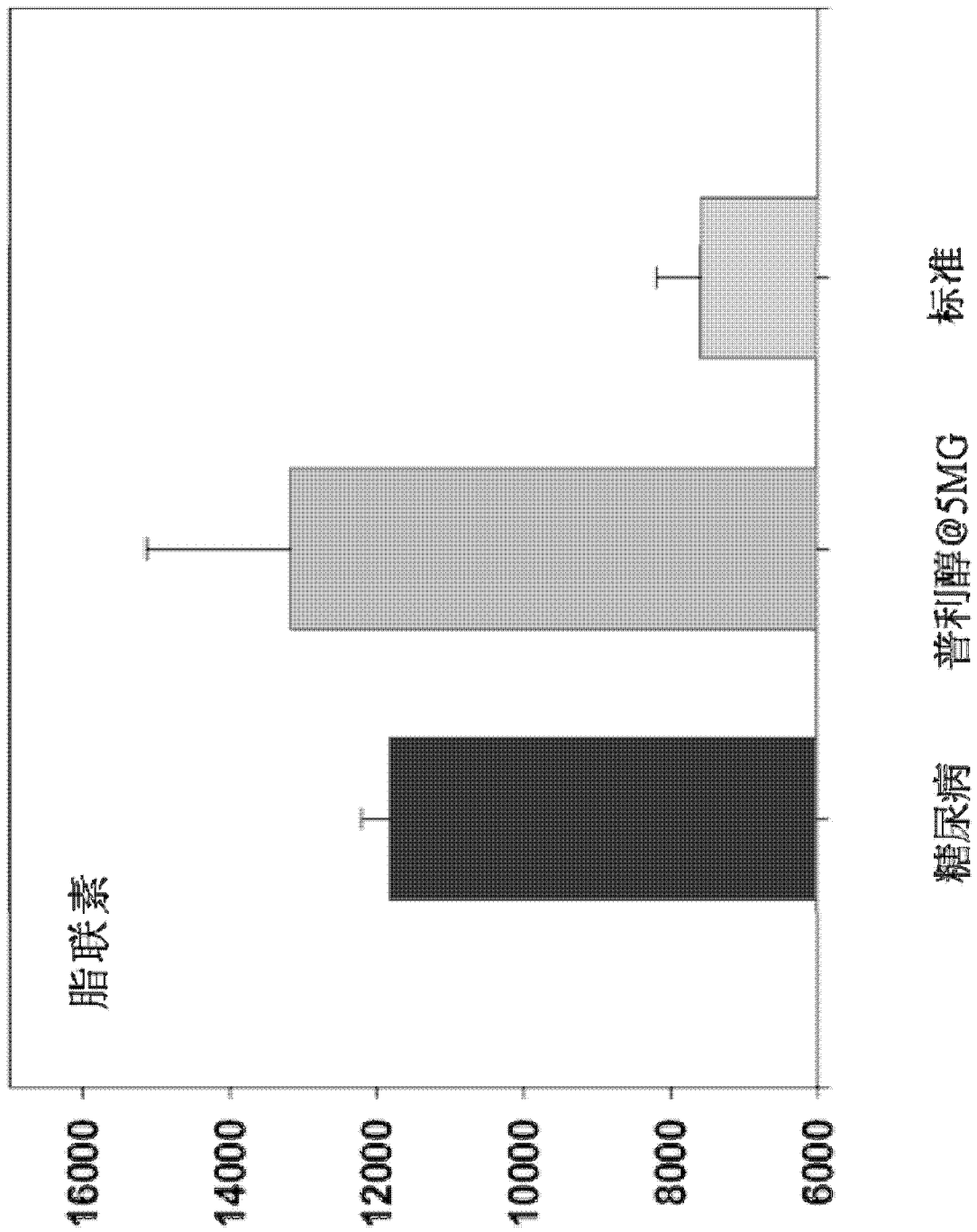


图 6

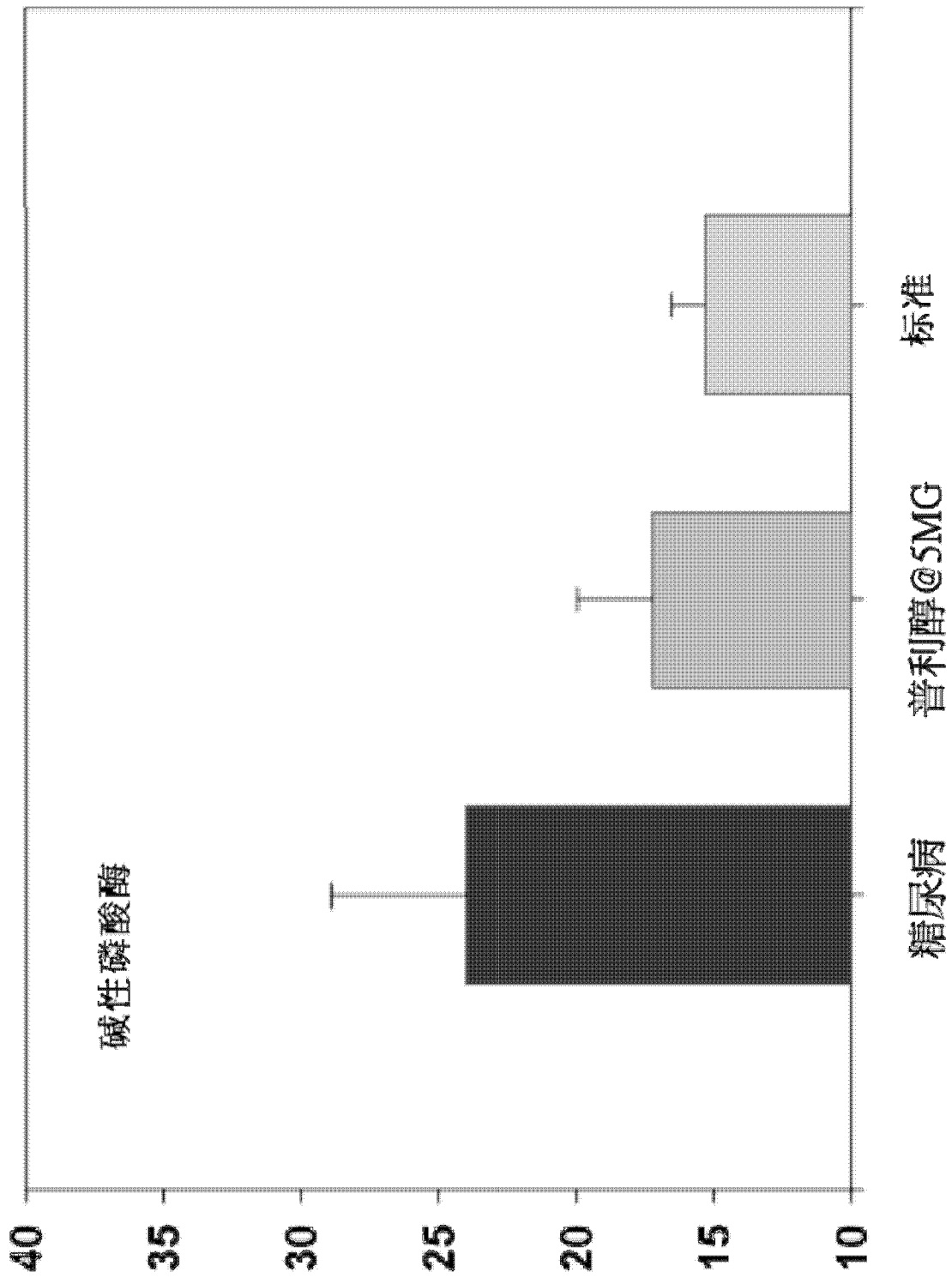


图 7



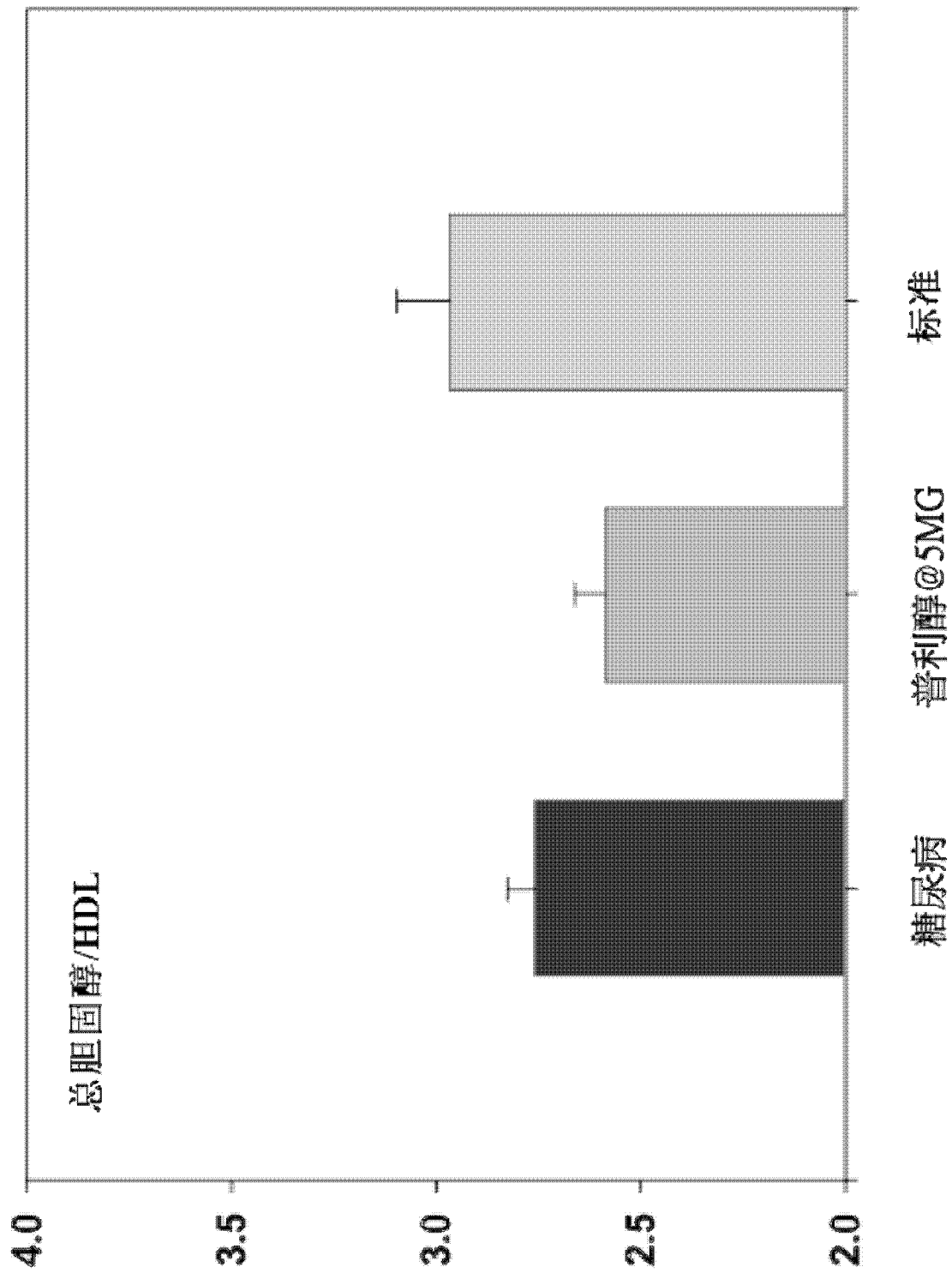


图 8

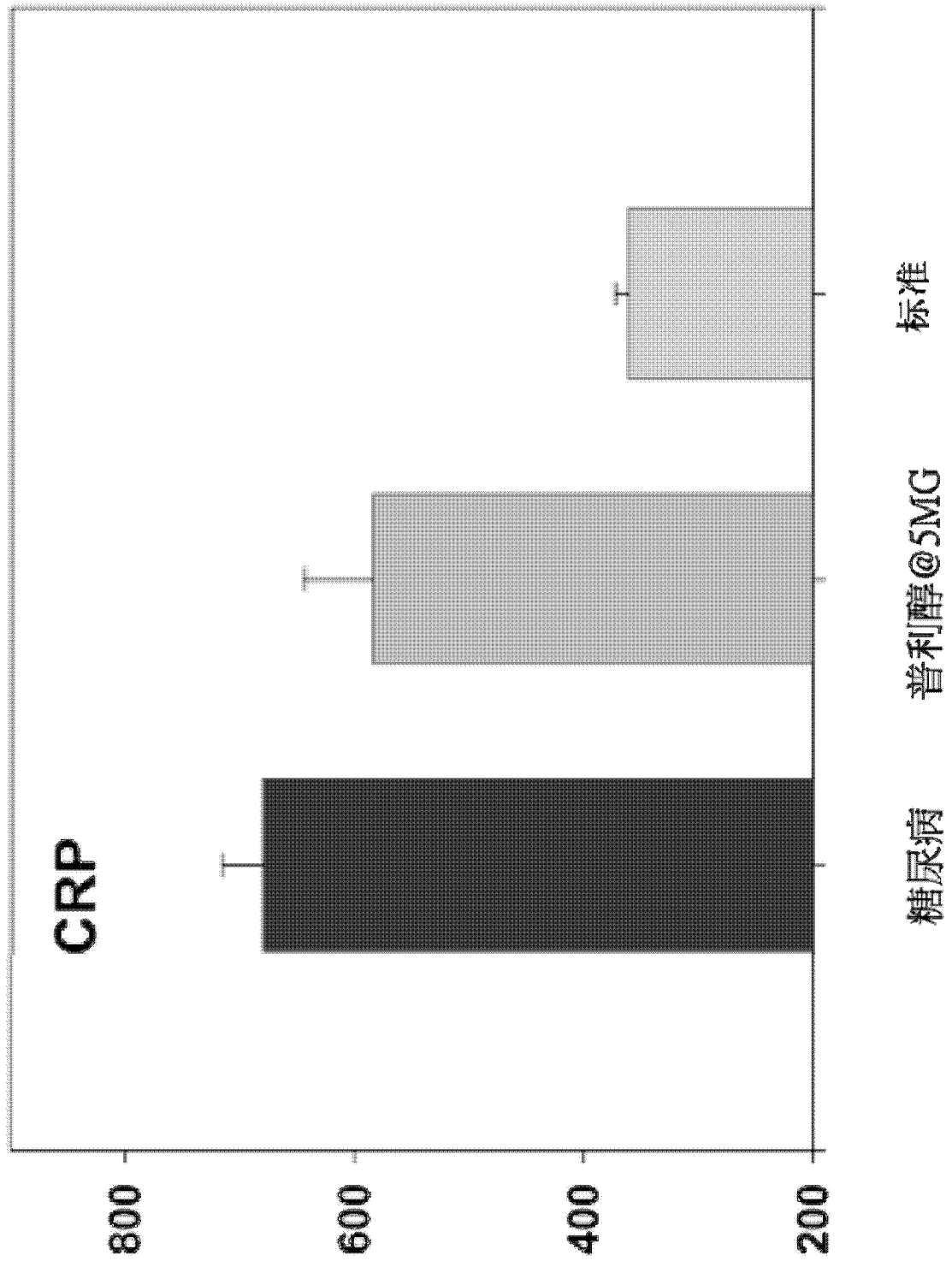


图 9

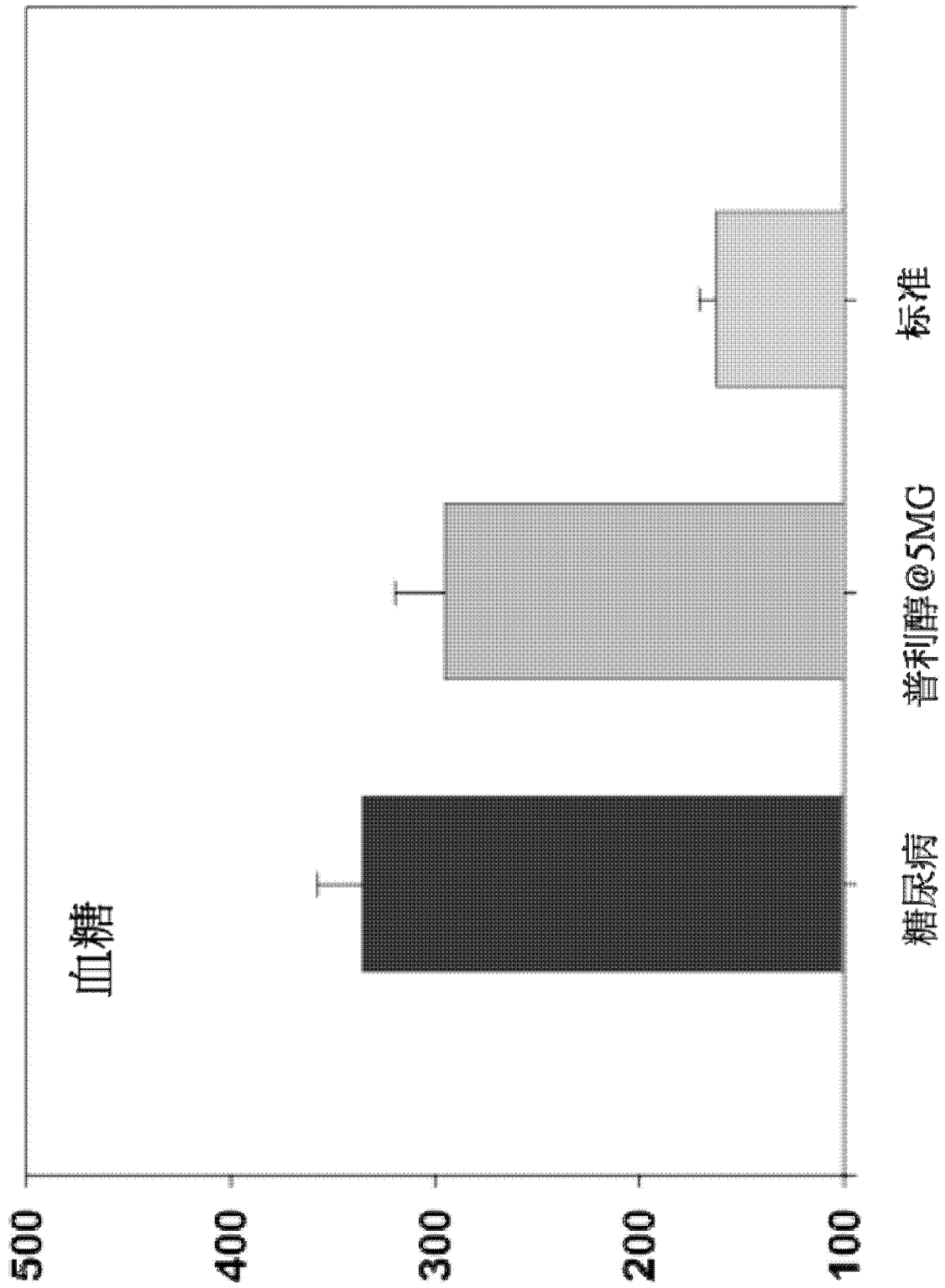


图 10

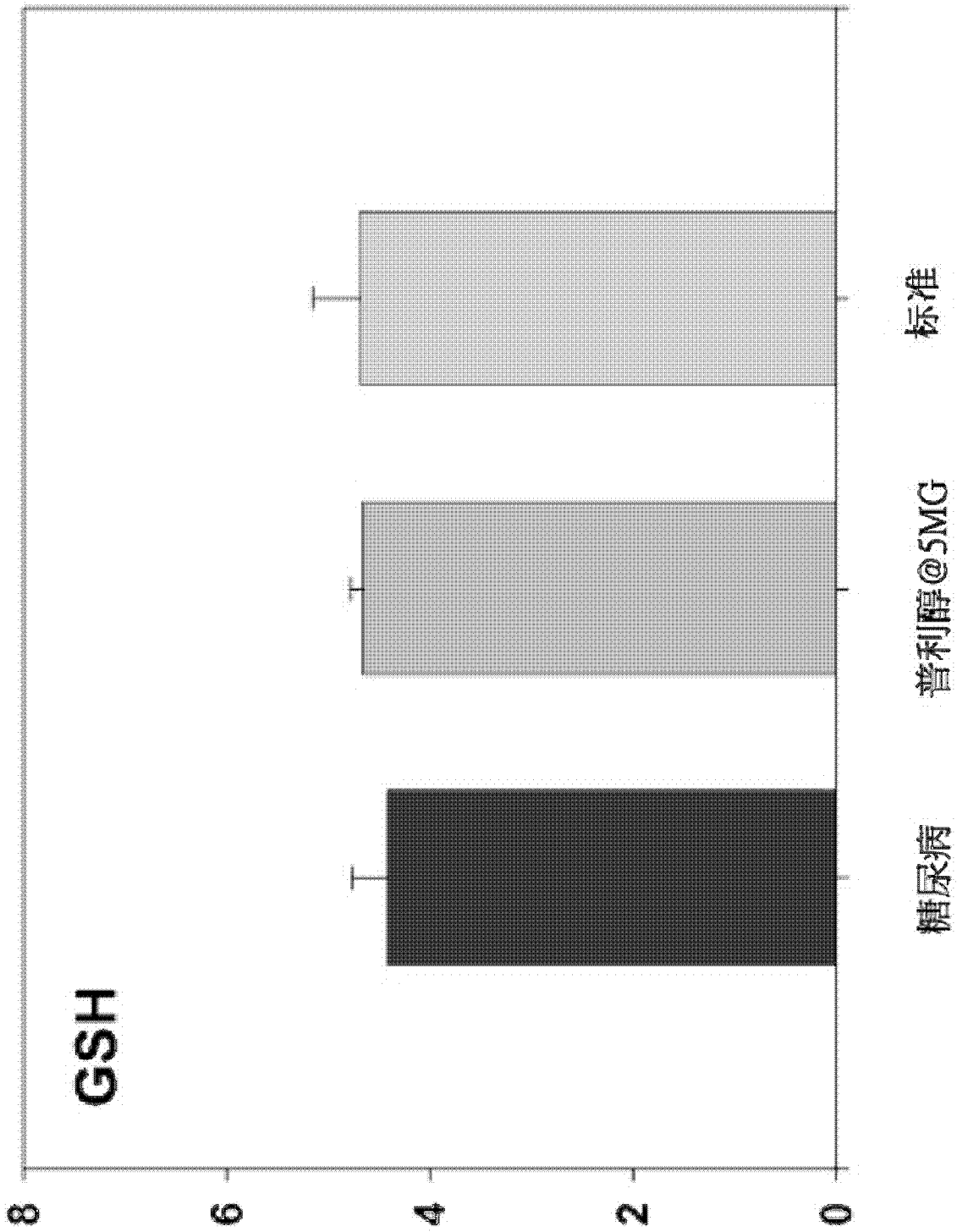


图 11

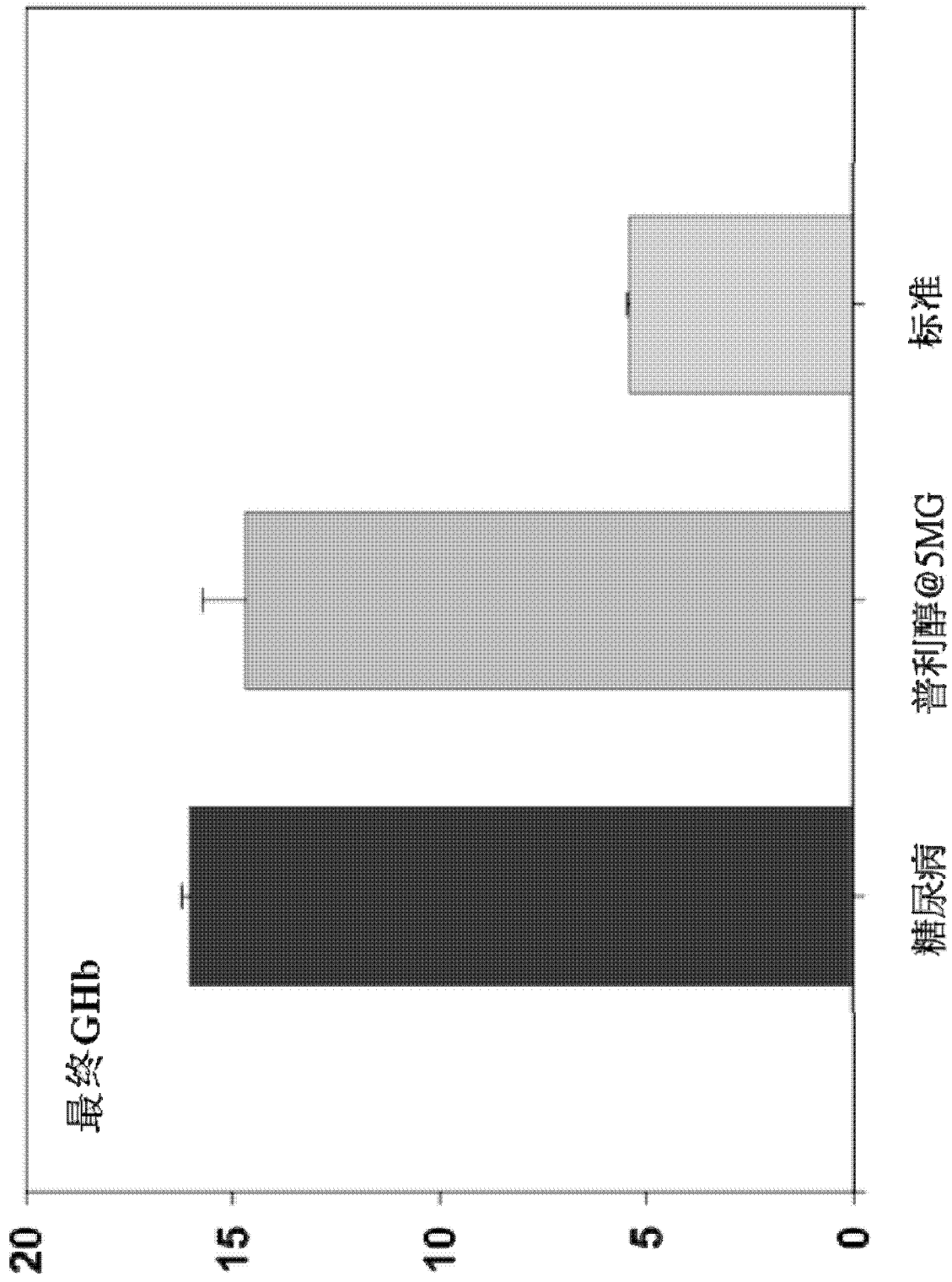


图 12

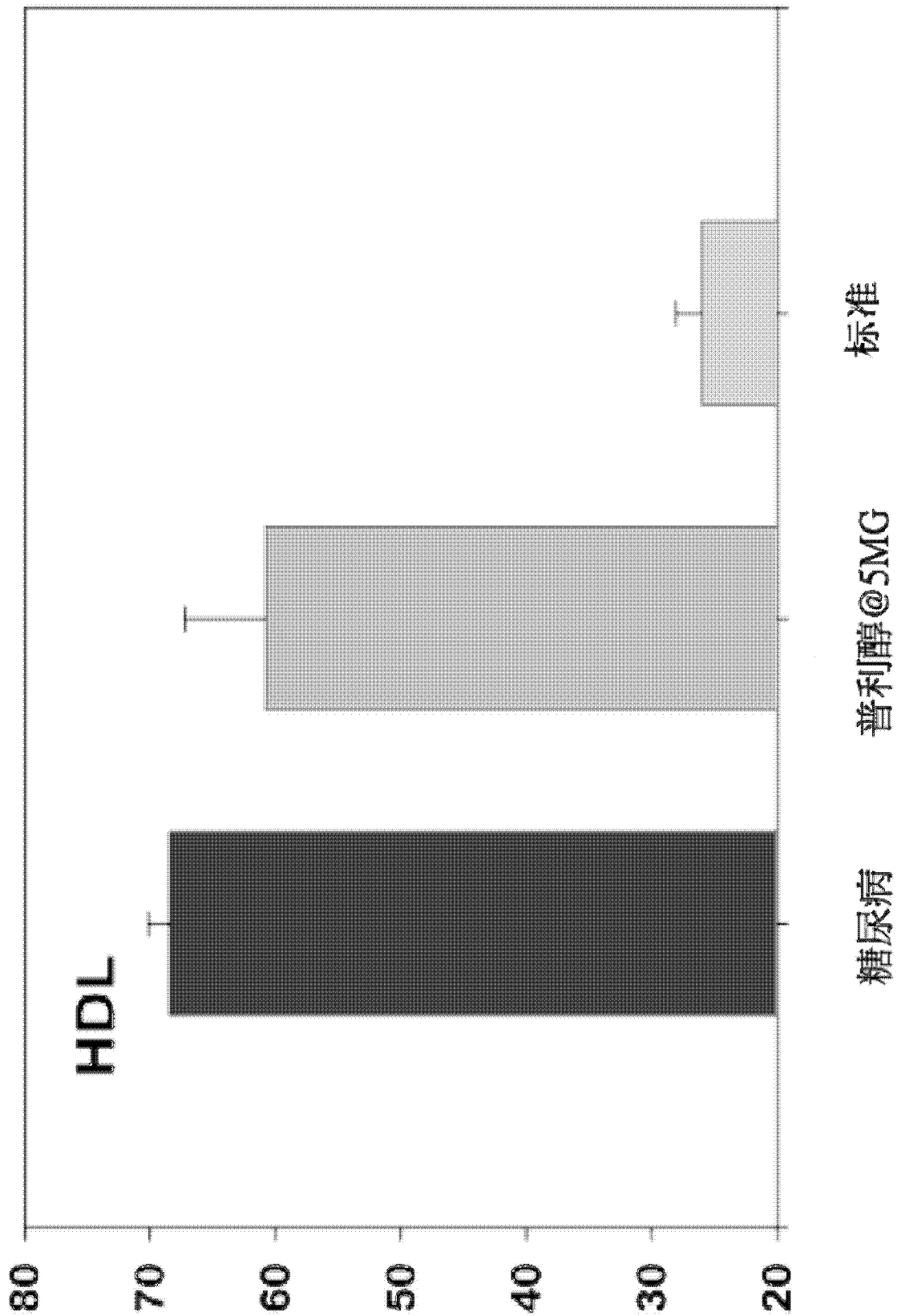


图 13

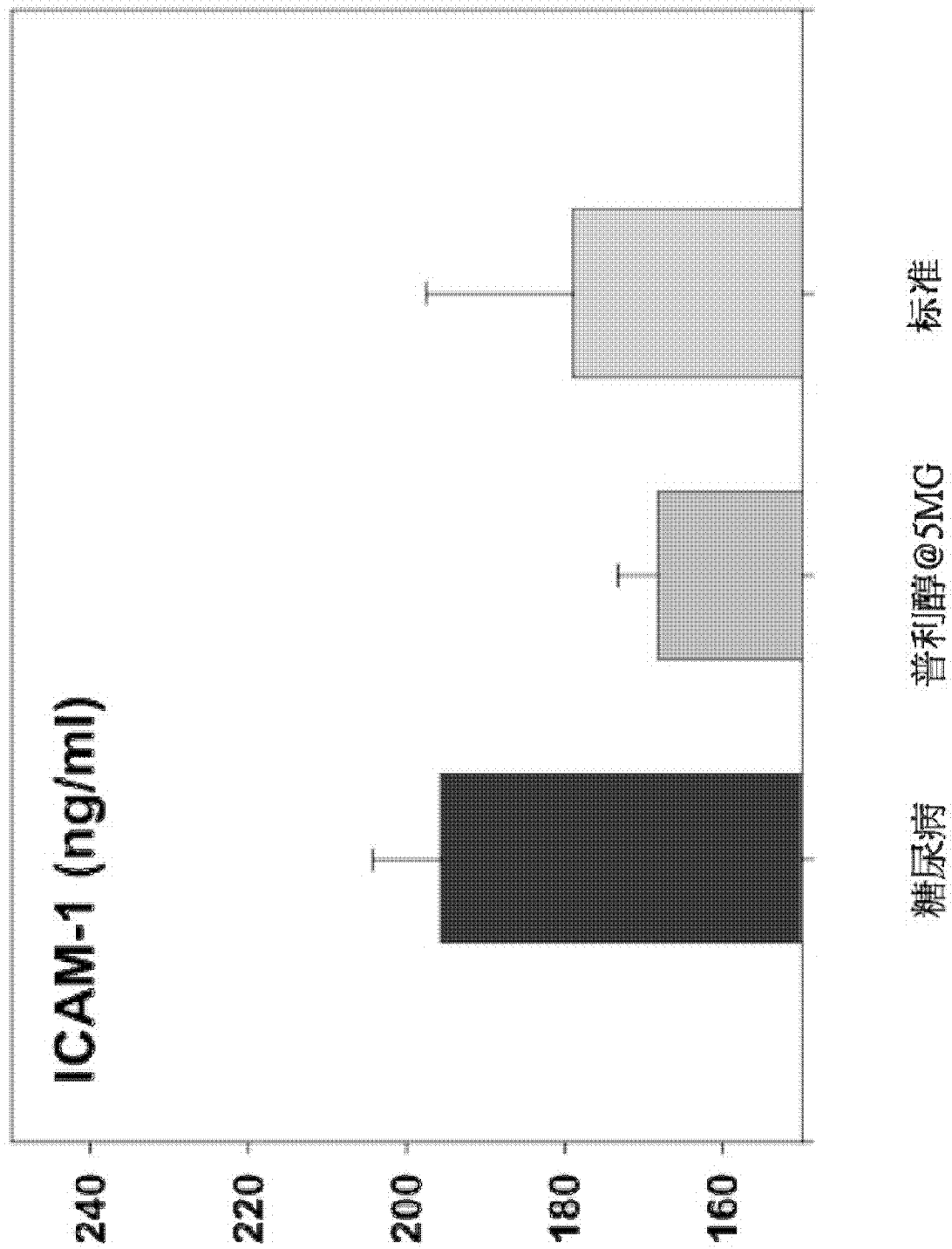


图 14

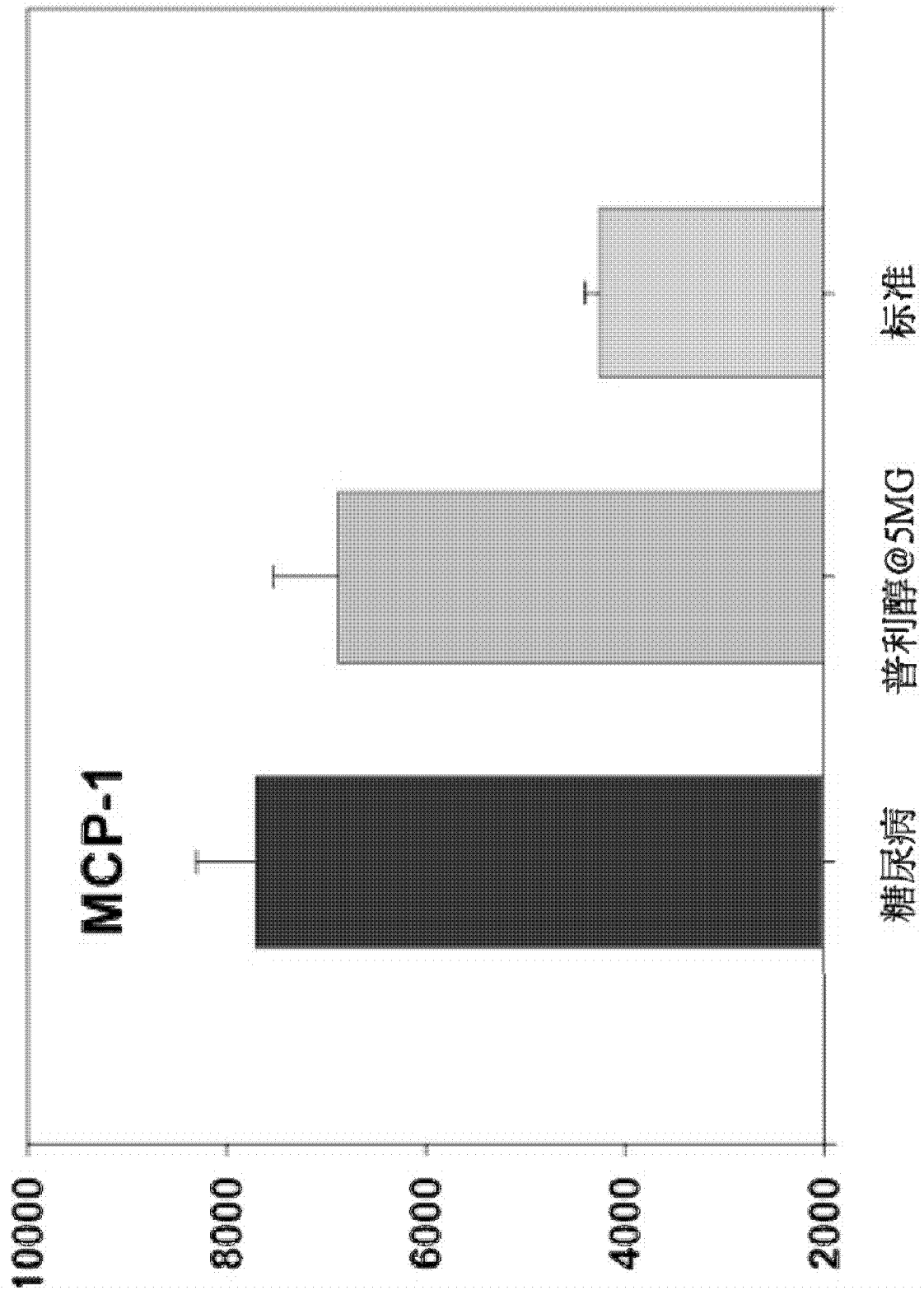


图 15



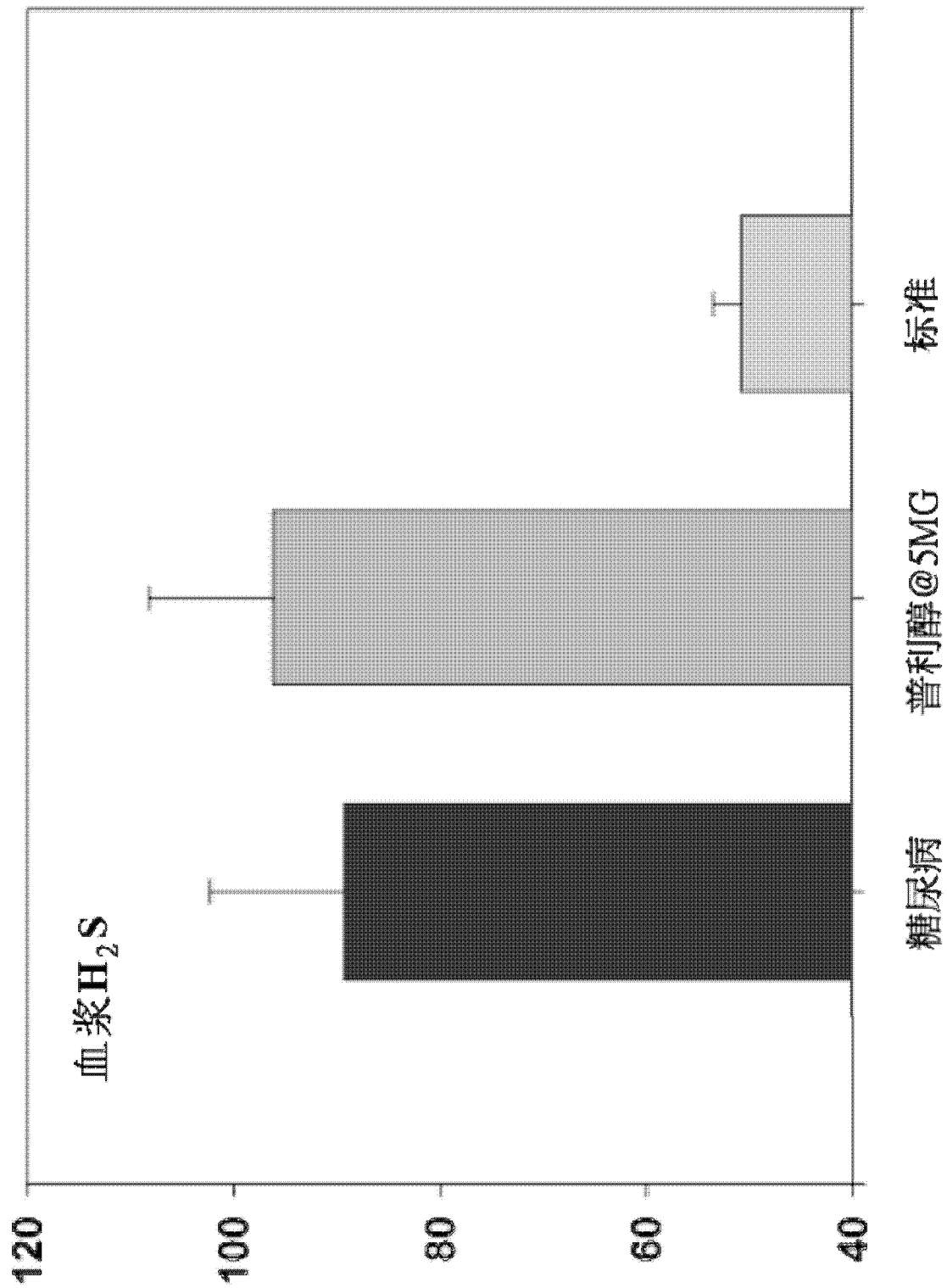


图 16

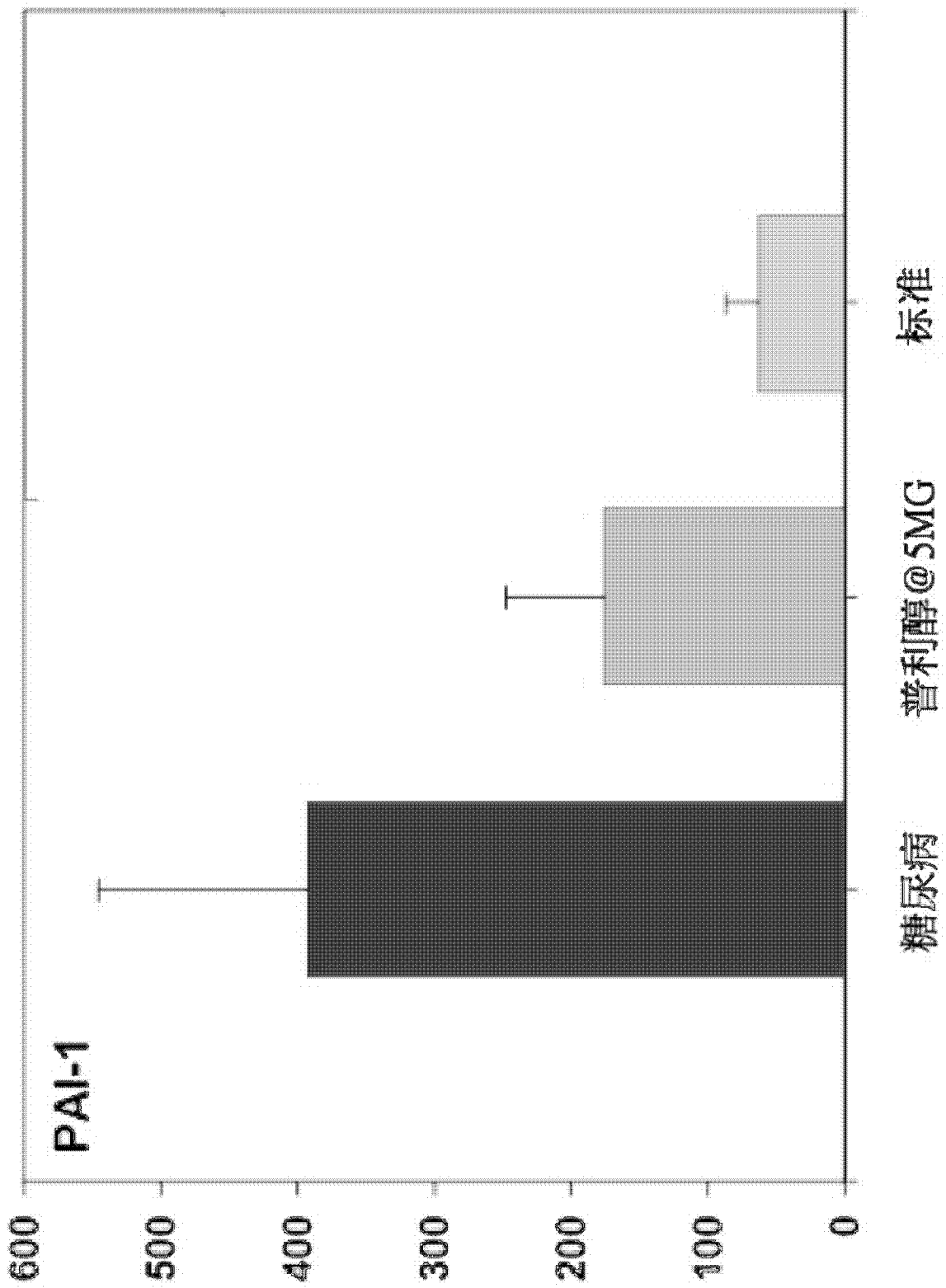


图 17

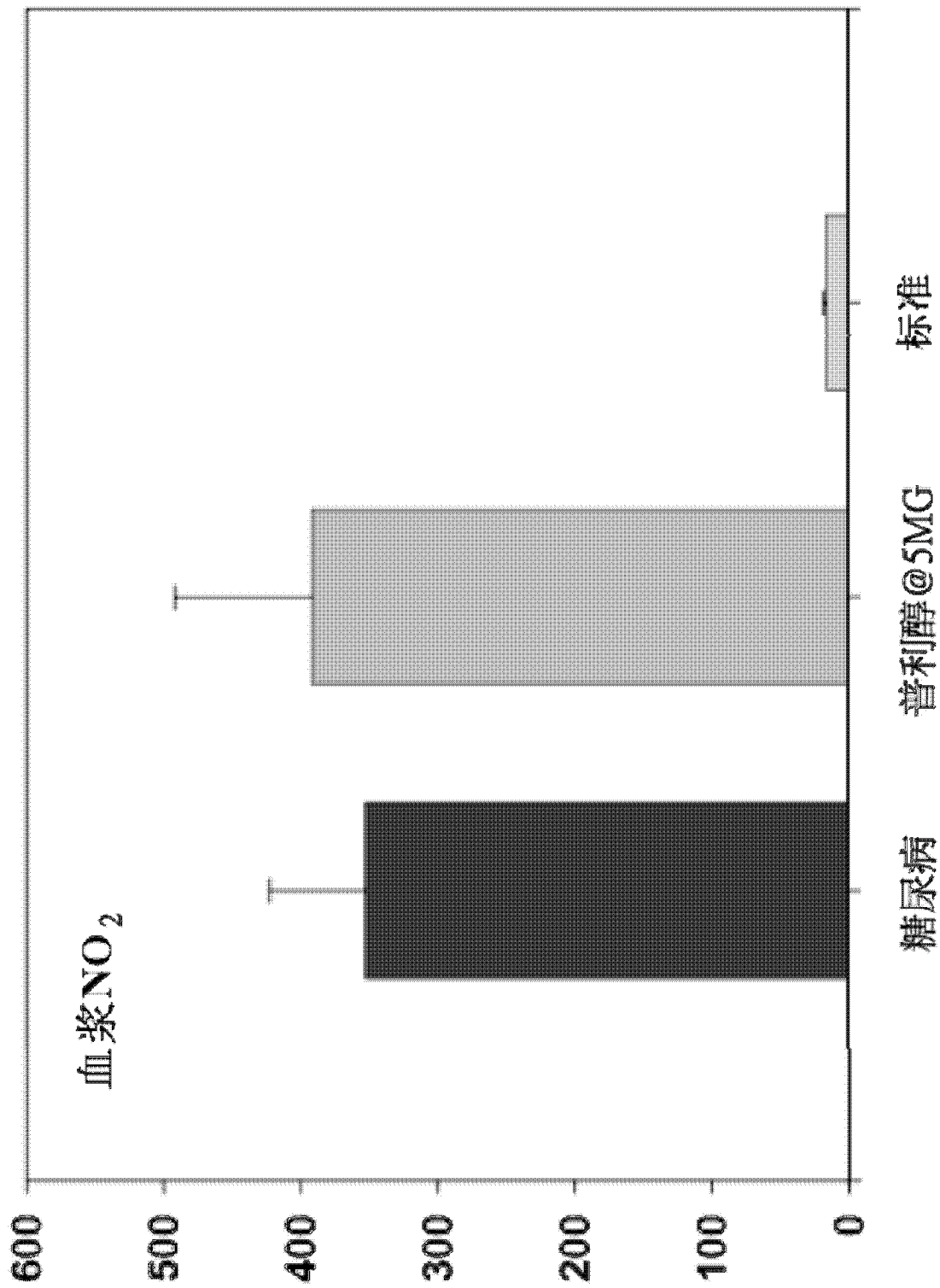


图 18

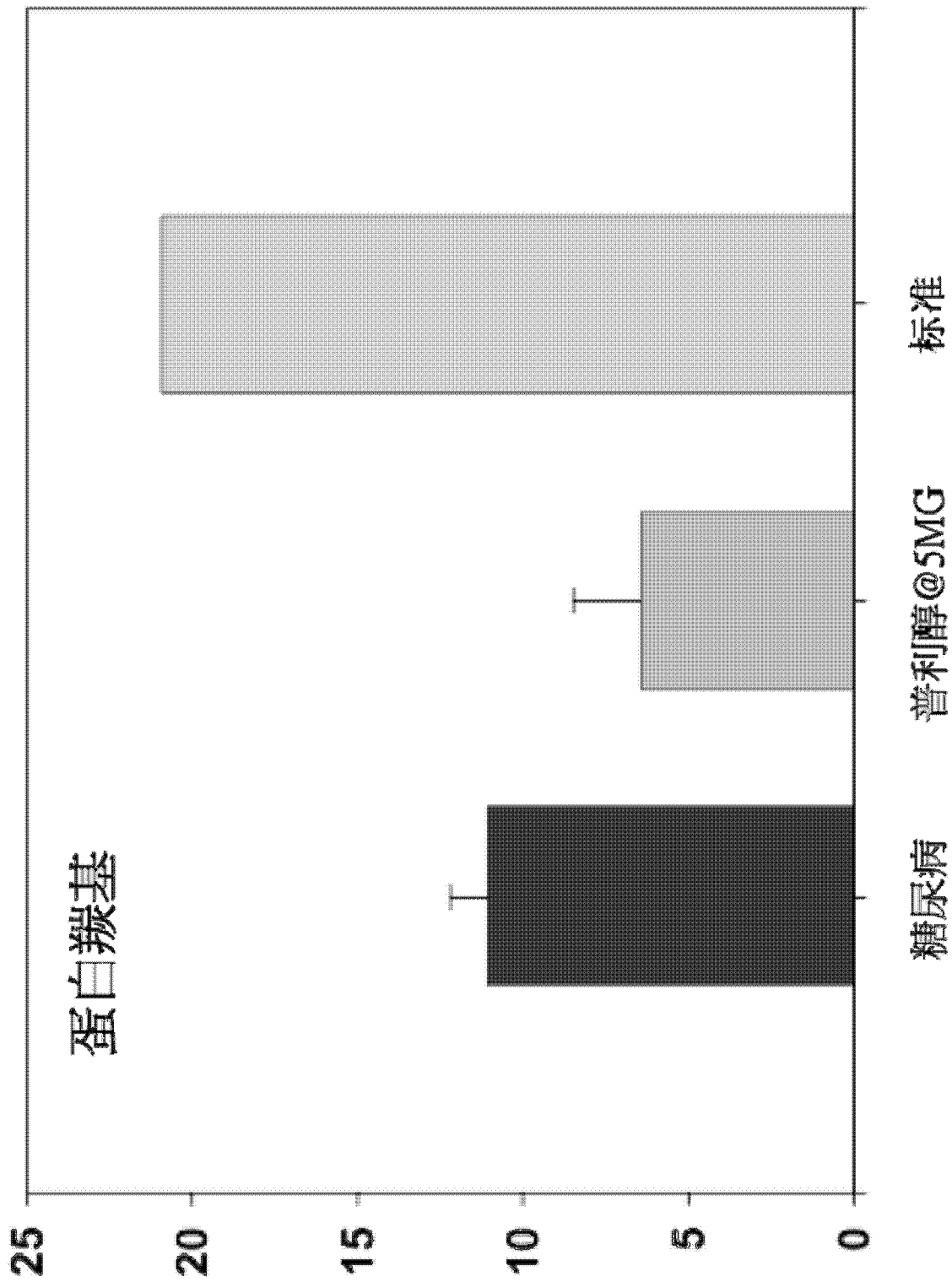


图 19

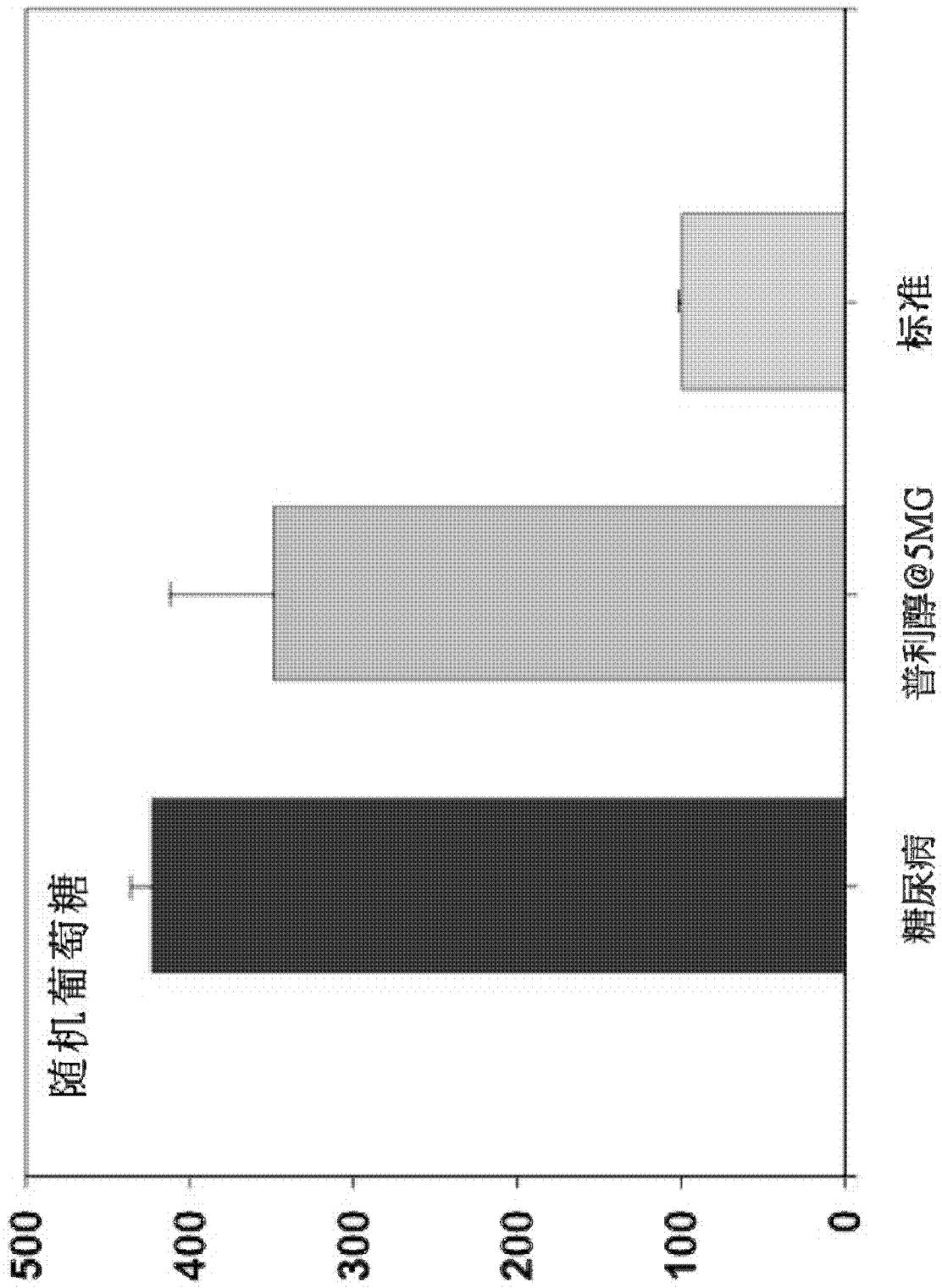


图 20

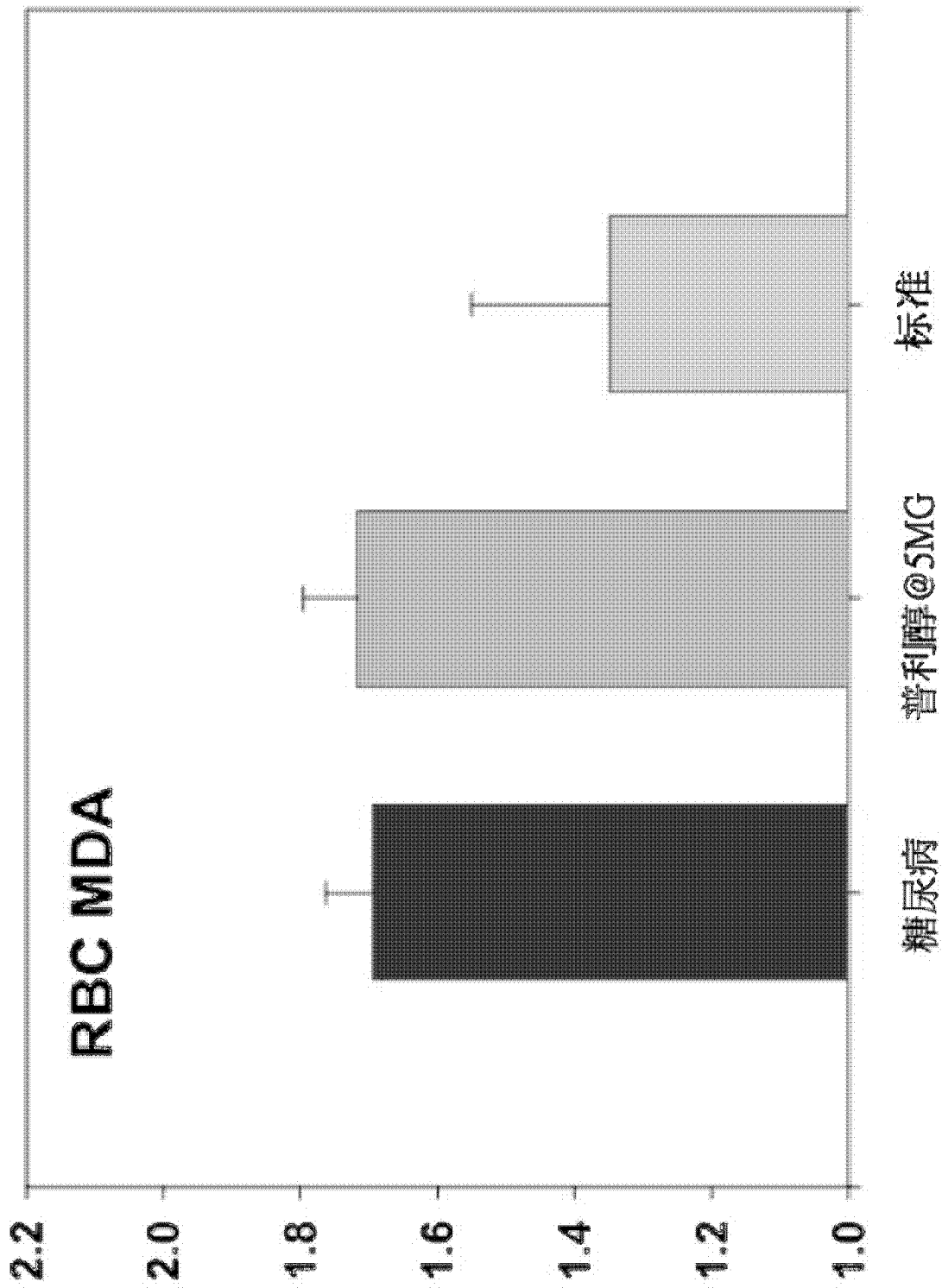


图 21

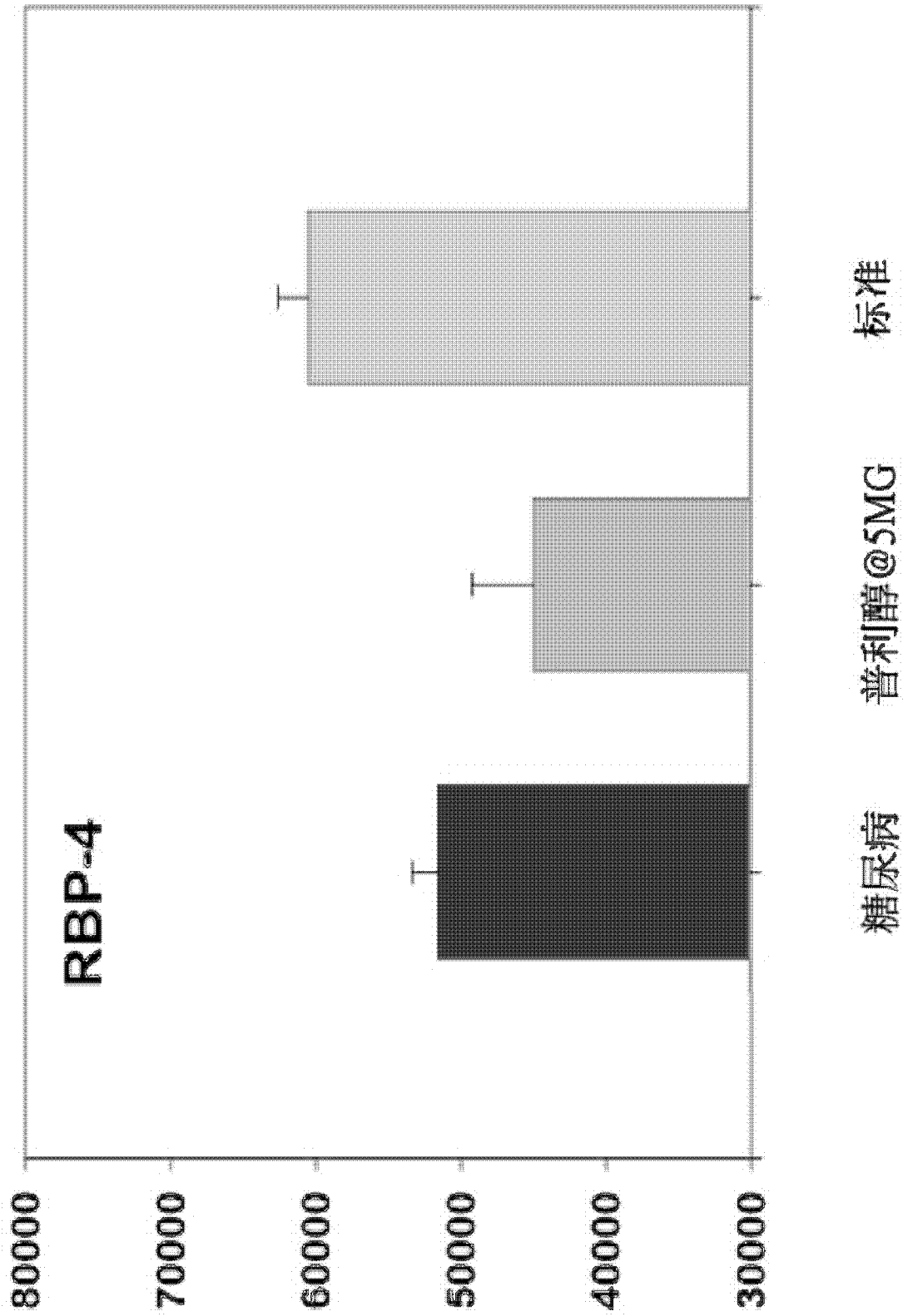


图 22

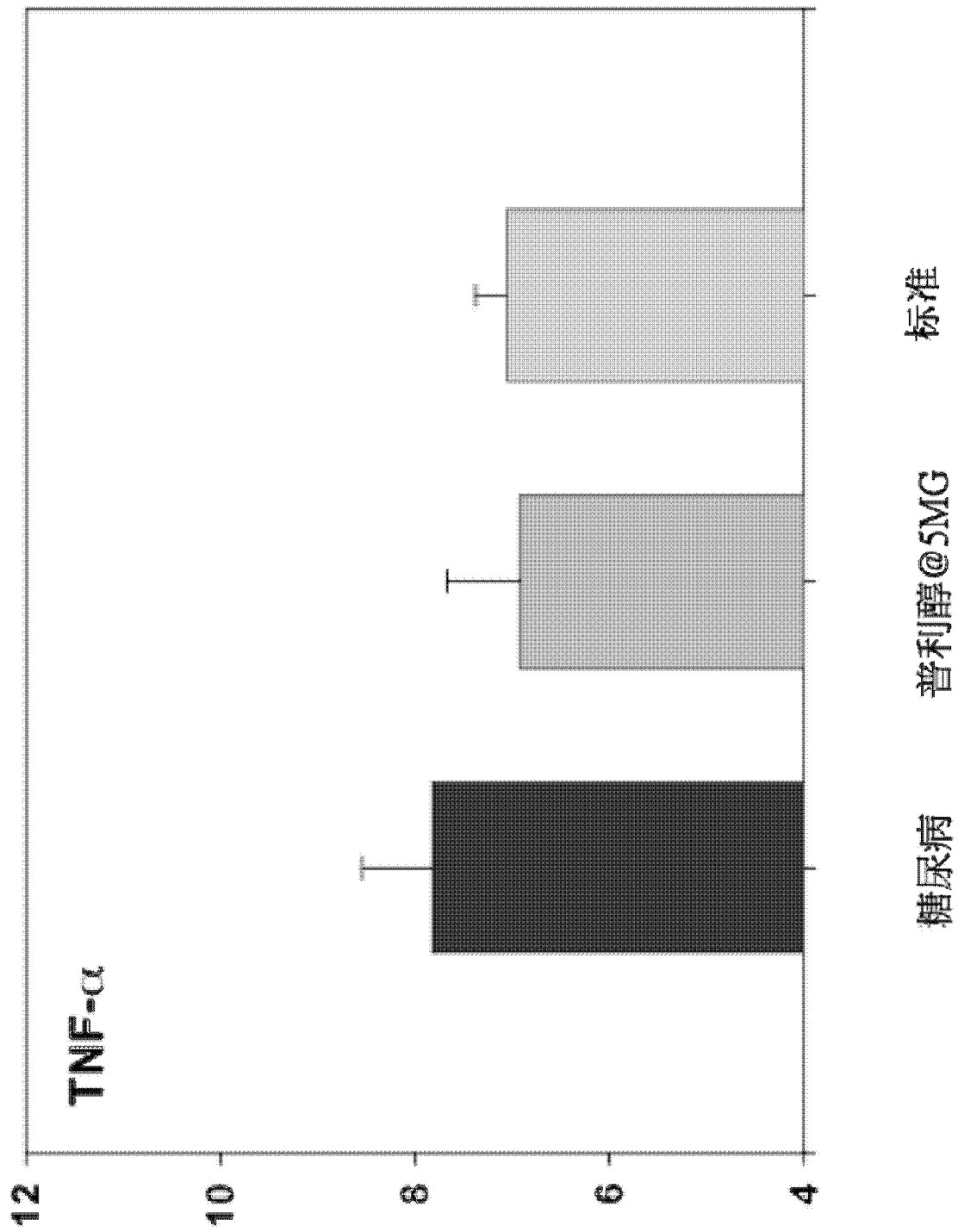


图 23



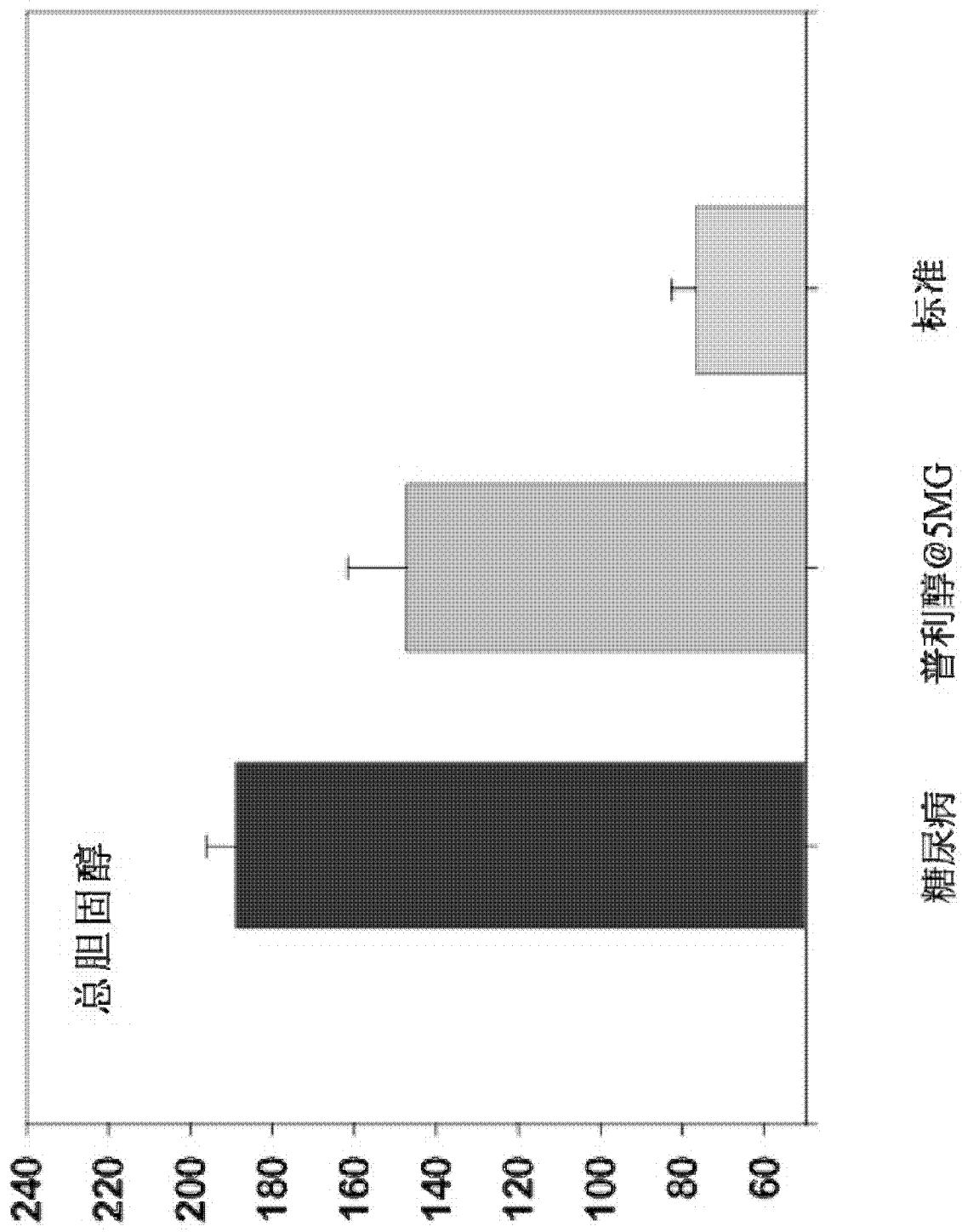


图 24

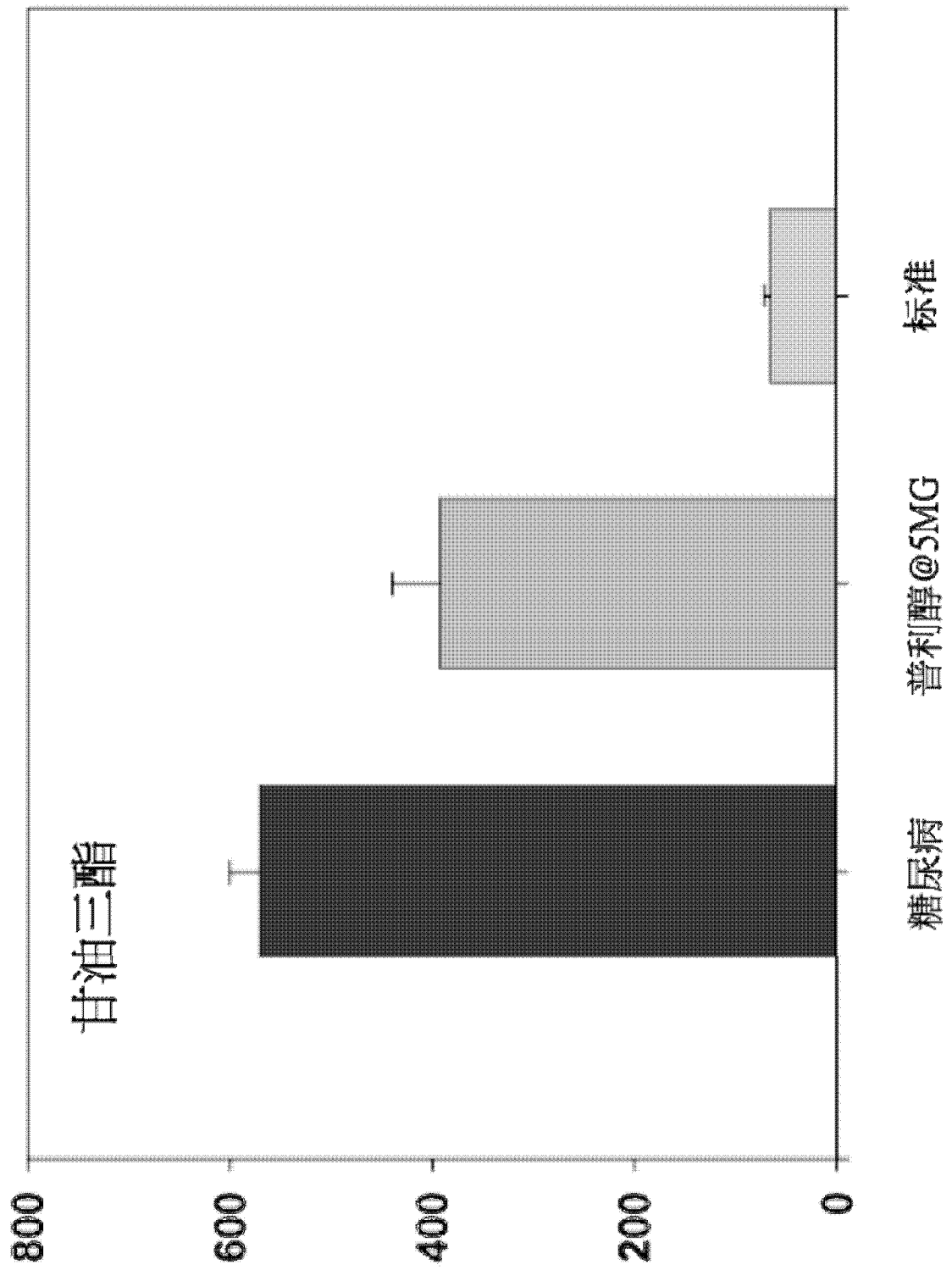


图 25

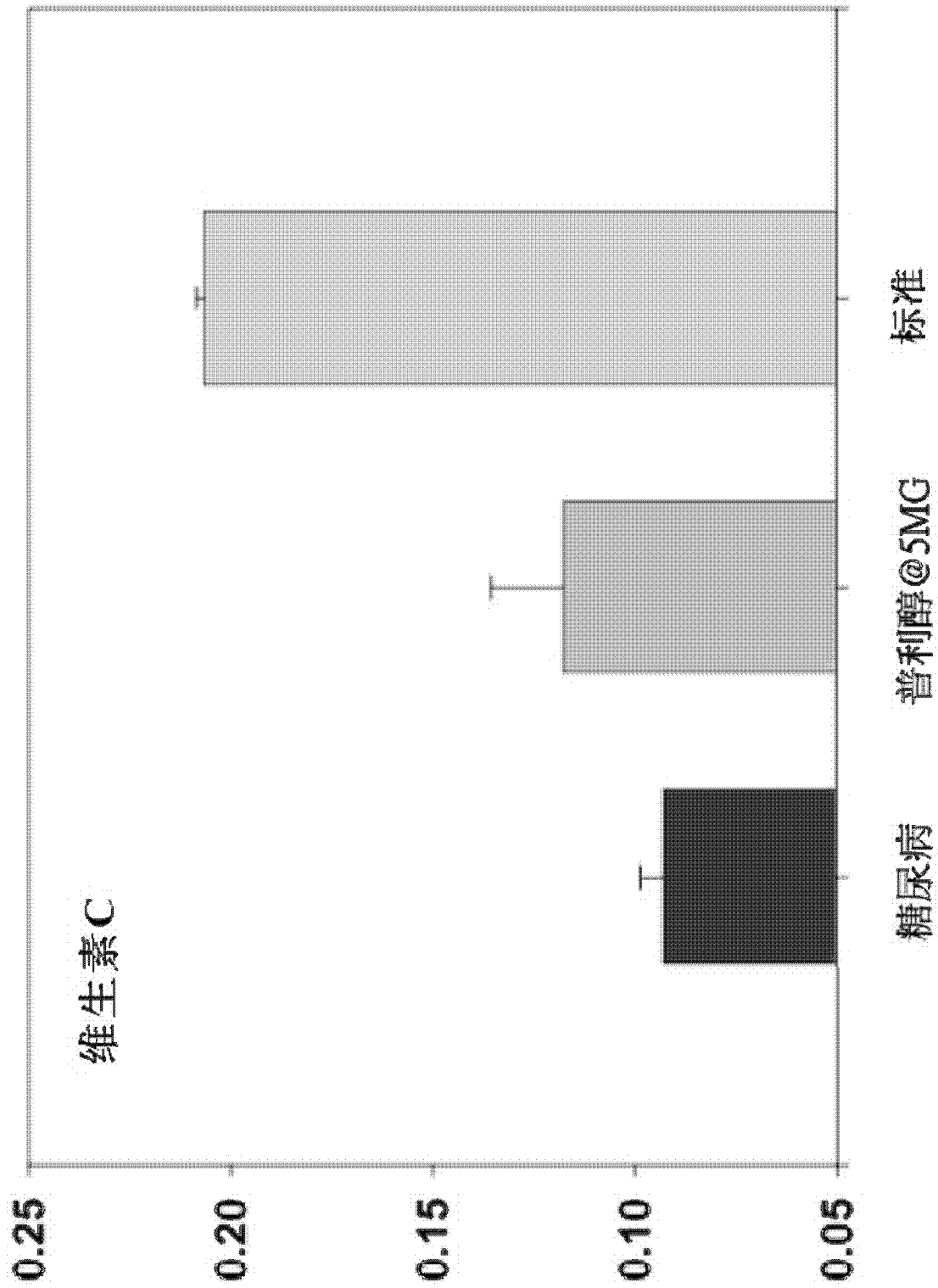


图 26

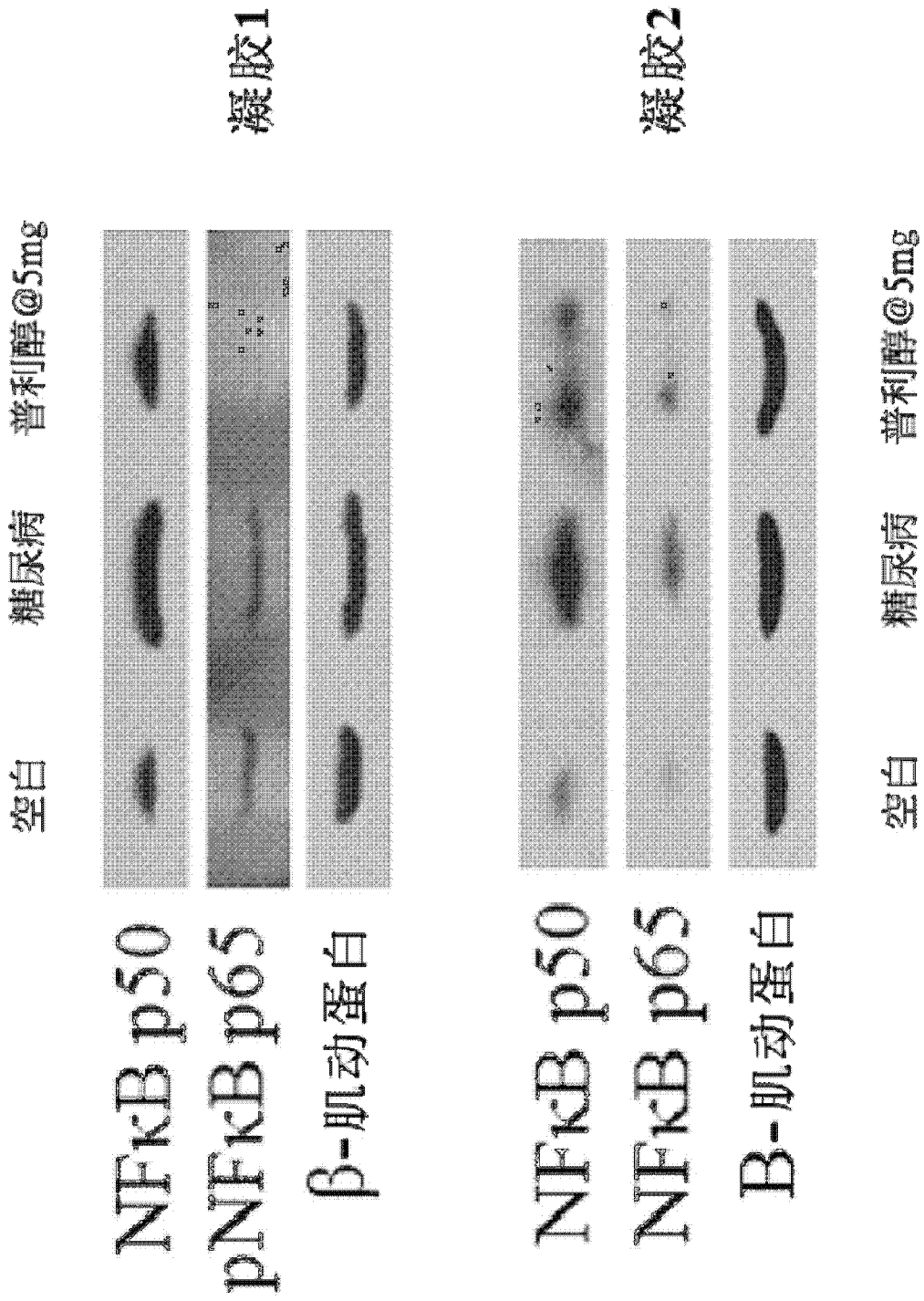


图 27

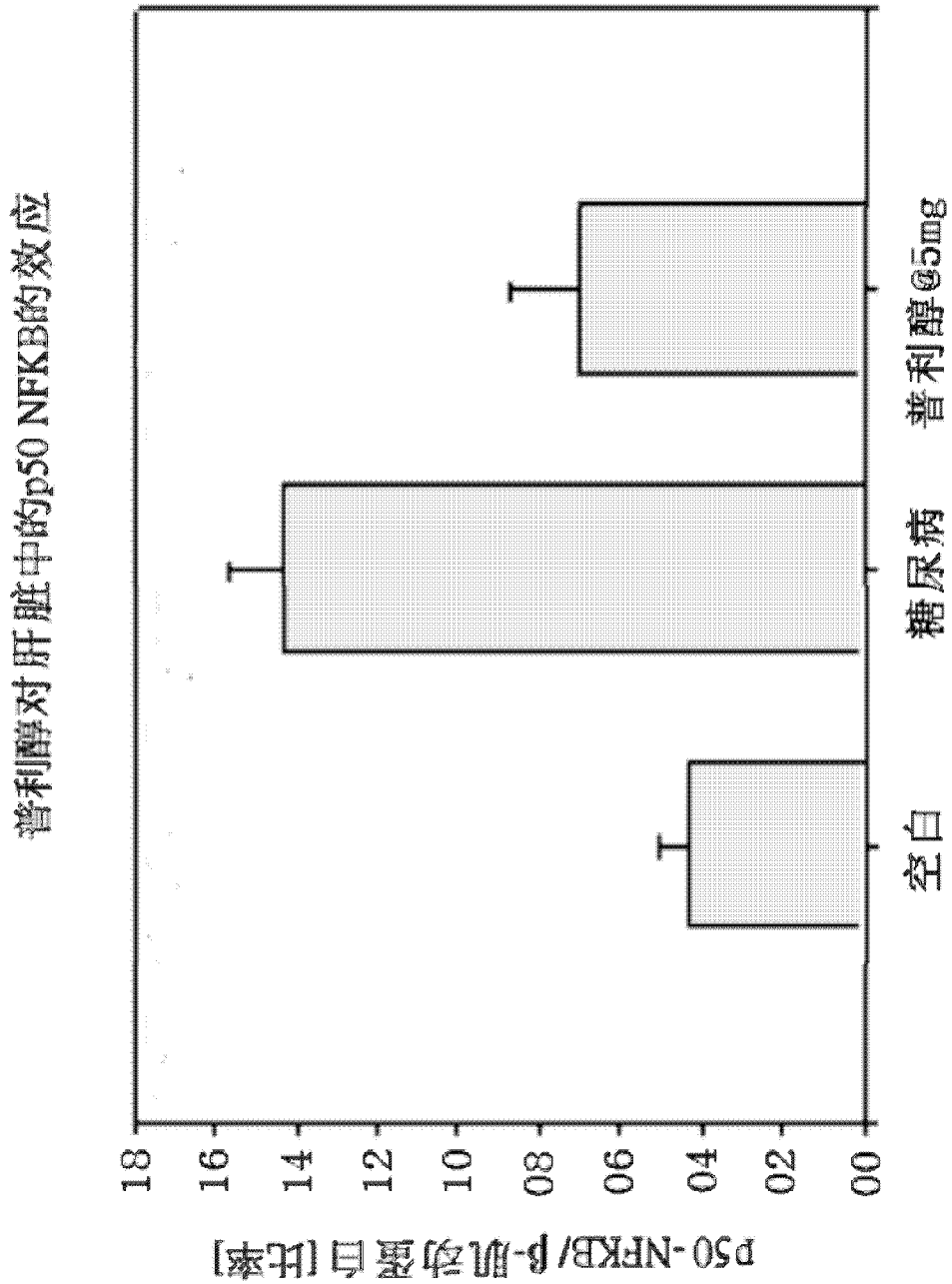


图 28

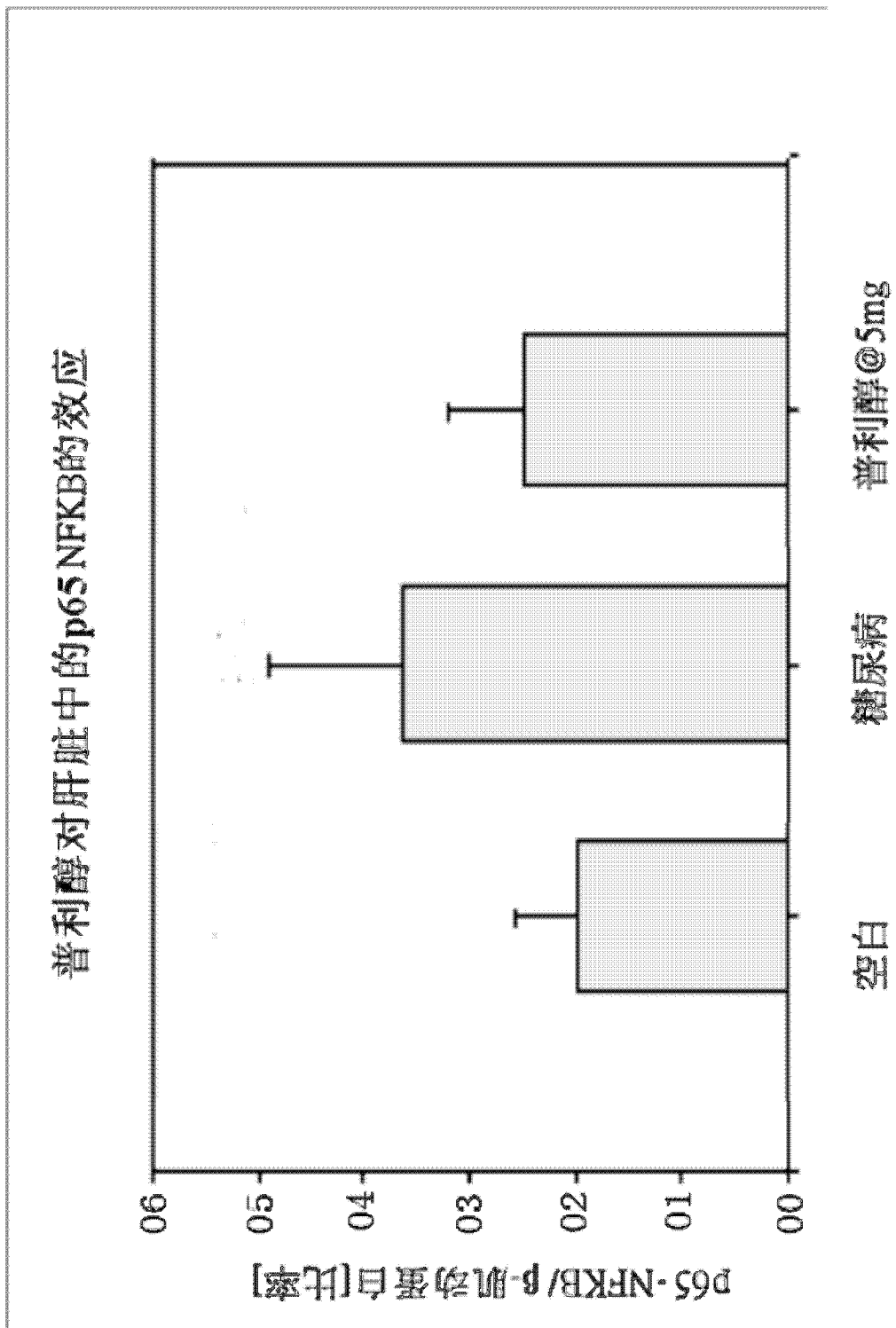


图 29