[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 9/06 (2006.01)

[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03810055.X

[45] 授权公告日 2010 年 1 月 27 日

[11] 授权公告号 CN 100584314C

[22] 申请日 2003.3.12 [21] 申请号 03810055.X

[30] 优先权

[32] 2002.3.12 [33] FR [31] 02/03059

[32] 2002.8.26 [33] US [31] 60/405,720

[86] 国际申请 PCT/FR2003/000797 2003.3.12

[87] 国际公布 WO2003/075885 法 2003.9.18

[85] 进入国家阶段日期 2004.11.3

[73] 专利权人 爱的发制药集团

地址 法国乌丹

共同专利权人 蒙特利尔大学

[72] 发明人 J·C·勒鲁 A-C·库芬-瓦罗

[56] 参考文献

CN1299290A 2001.6.13

WO9956726A1 1999.11.11

EP1063007A1 2000.12.27

审查员 豆波建

[74] 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司

代理人 程 伟

权利要求书 3 页 说明书 18 页 附图 9 页

[54] 发明名称

用于生物活性物质持续输送的具有凝胶化性能的组合物

[57] 摘要

本发明涉及包括有机疏水性液体、分子具有通过低能量键结合在一起的能力的有机凝胶化物质、和生物活性物质的液体形式的热敏感组合物，所述组合物在对动物身体，特别地是人类的给药期间，与生理溶液接触时变成有机凝胶形式。

1.一种液体形式的热敏感组合物，包含

-生物相容且与水不混溶的疏水性有机液体，其选自大豆油、玉米油、棉籽油、花生油、橄榄油、蓖麻油、芝麻油、杏仁油、红花油、油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯、甘油三酯、角鲨烯、苯甲酸苄酯、苄基氯或它们的混合物，或苯甲酸苄酯/苄醇混合物，

-相对于所述组合物的总重量为 0.5wt%-50wt%的有机凝胶化物质，其选自 N-月桂酰基-L-丙氨酸甲酯、N-月桂酰基-L-丙氨酸乙酯、N-硬脂酰基-L-丙氨酸甲酯或 N-硬脂酰基-L-丙氨酸乙酯，和

-生物活性物质，

当该组合物在对动物身体给药期间，与生理溶液接触时，变成有机凝胶形式。

2.根据权利要求 1 的组合物，其特征在于其中被给药的动物为人类。

3.根据权利要求 1 的组合物，其特征在于包含能够与有机凝胶化物质产生弱键的亲水性有机溶剂。

4.根据权利要求 1 的组合物，其特征在于当所述组合物不含亲水性有机溶剂而被给予时，该组合物具有低于施加部位温度的从液态到凝胶态的转变温度，和高于体温的从凝胶态到液态的转变温度。

5.根据权利要求 4 的组合物，其特征在于该组合物从液态到凝胶态的转变温度小于 30℃和从凝胶态到液态的转变温度大于+35℃。

6.根据权利要求 3-5 任一所述的组合物，其特征在于亲水性有机溶剂的比例小于所述组合物的 60wt%。

7.根据权利要求 6 所述的组合物，其特征在于亲水性有机溶剂的比例小于所述组合物的 20wt%。

8.根据权利要求 3-5 任一所述的组合物，其特征在于所述亲水性有机溶剂选自乙醇、甘油、苄醇、丙二醇、N-甲基吡咯烷酮、二甲亚砜(DMSO)、低分子量的聚(乙)二醇、氯丁醇、糠醛、N,N-二甲基乙酰胺、环亚甲基甘油醚、亚异丙基甘油、乳酸乙酯、乙酸或乳酸。

9.根据权利要求 8 的组合物，其特征在于所述亲水性有机溶剂是乙醇。

10.根据权利要求 1 的组合物，其特征在于所述疏水性有机液体是大豆油和油酸乙酯的混合物。

11.根据权利要求 1-5 任一所述的组合物，其特征在于所述生物活性物质选自蛋白质、肽、氨基酸、维生素、核酸或寡核苷酸。

12.根据权利要求 11 的组合物，其特征在于所述生物活性物质选自吗啡、α-干扰素、β-干扰素、生长抑素、肝素、白细胞介素、红细胞生成素、降钙素、人生长激素、促甲状腺激素和醋酸亮丙瑞林。

13.从根据权利要求 4-5 任一所述的组合物获得的有机凝胶，其特征在于其在施加温度和所述组合物的凝胶/液体转变温度之间保持稳定的凝胶化形式。

14.根据权利要求 1-5 任一所述的组合物在制造通过血管外胃肠外途径注入身体的药品中的应用。

15.根据权利要求 14 所述的组合物在制造药品中的应用，所述药品为皮下、皮内、腹膜内或肌内注射至开放性创伤或在手术期间给予，或者为眼内或阴道内给予至开放性创伤或在手术期间给予。

16.根据权利要求 1-5 任一所述的组合物在制造用作生物活性物质进入身体的持续释放的载体的药品中的应用。

17.一种制备权利要求 1 的组合物的方法，其特征在于将非必要地在水溶液中的生物活性物质加入到由有机凝胶化物质和疏水性有机液体组成的混合物中。

18.一种制备权利要求 3 的组合物的方法，其在于

-在亲水性有机溶剂中溶解有机凝胶化物质，并随后再引入生物活性和疏水性有机液体。

19.根据权利要求 18 的方法，其特征在于当生物活性物质少量地溶于或不溶于有机相时，采用搅拌将所述物质的水溶液分散进入由有机凝胶化物质和亲水性有机溶剂组成的有机相。

用于生物活性物质持续输送的具有凝胶化性能的组合物

本发明涉及包括疏水性有机溶剂、“有机凝胶化”物质和生物活性物质的热敏感化学组合物，为了生物活性物质的持续输送，希望将所述化合物给予活生物体。

一旦所述组合物与含水介质，且特别是与一种生理溶液接触放置时，该组合物具备自发或通过冷却形成有机凝胶的能力。所述形成的有机凝胶通过身体内的扩散和/或糜烂和/或逐渐生物降解，可以用作生物活性物质持续释放的载体。

本发明也覆盖在治疗领域中，和更特别地是在生物活性物质持续输送领域中组成此组合物的用途。

表述“热敏感组合物”表示作为温度的函数，能够从液态变到凝胶态的任何组合物，术语“有机凝胶”表示由有机溶剂组成液相的任何凝胶。

此外，表述“生物活性物质”表示具有对活生物体或其机能起防止、治愈、减轻或改进该有机体状况作用的物质。

表述“疏水性有机液体”表示其分子或分子的一部分具有对水分子一定程度的排斥力的有机溶剂或有机溶剂混合物。表述“亲水性溶剂”表示其分子与水分子之间建立相互吸引作用的溶剂。

由于凝胶特殊物理结构赋予它们的性质，凝胶长时间以来用于工业领域。

具体地，由于凝胶由固态成分和液态成分两者组成，所以凝胶处于物质的中间状态。固态成分形成三维结构或基体，成为相互连接分子的网络，此网络使通过液态形式存在的组分固定。

凝胶可以归为连接固态分子的一类键型的功能，或归为由其组成液相的有机或含水溶剂类型的功能。

“水凝胶”是其液相是水相的凝胶，以此区别于其液相是有机相的“有机凝胶”。

其基体由通过共价键连接在一起的分子组成的凝胶一旦形成，一般处于稳定和不可逆转的状态。相反，其固态基体由低能量键(如氢键，或者尤其是范德华键)获得的凝胶一般是可逆转凝胶，即凝胶可以作为周围条件(pH、温度、离子强度等)的函数，从凝胶态变到液态。

在热敏感凝胶中，观察到状态变化的温度称为转变温度。在特定的显示滞后状态的体系中，凝胶/液体转变温度不同于液体/凝胶转变温度。

因此，由于其具备保持生物活性分子的能力，凝胶特别用于制药工业，尤其是在活性物质的经皮肤给予的情况中。

此保持性性质可以另外研发用于凝胶作为药品持续输送的载体。

因此，专利 US3932624 描述了水凝胶希望用于肌丙抗增压素（saralasine）延迟输送的用途。在所述专利中，凝胶的制备是以明胶为基础的，该明胶通过在含有生物活性物质的生理盐水溶液中稀释，使其饱和以此形成可以通过皮下手术植入体内的凝胶化结构。植入后的凝胶通过逐渐糜烂逐渐释放所述凝胶包含的活性物质。

然而，这一类凝胶的使用需要一种预先形成凝胶的原位手术植入。因此此操作既昂贵，而且对患者又有限制。

为克服所说缺陷，原位形成的水凝胶一直在研发中。

因此，近来，专利申请 US No.20010007673 描述了体内形成的，希望用于生物活性分子，特别是蛋白质的延迟输送的水凝胶的使用。基于包括藻酸盐的亲水性聚合物、多价金属离子和所需活性物质的组合物以液体形式注射到体内，一旦注入身体，液体形式变成凝胶形式。此外，由于凝胶形式的组合物的触变本质，组合物可能通过凝胶的形式注射，例如通过施加某些量的压力使用注射器，其后组合物在身体内返回到凝胶形式。此水凝胶使得进入体液的生物活性物质的延迟扩散。

另外，专利 US5575815 描述了例如动脉内或静脉内的腔内植入的含水液体组合物，该组合物在体内转变或变粘成为水凝胶。由于活性物质的加入，此凝胶的使用特别地设想用于血管成形术。使用的水凝

胶由聚醚聚合物组成。

专利 US6344488 描述了凝胶的受温度控制和 pH 依赖性的形成，该凝胶包括壳聚糖/有机磷酸盐的含水混合物。向壳聚糖水溶液中加入多元醇的二元单磷酸盐或糖，导致受温度控制和 pH 依赖性的凝胶化。在凝胶化之前将药品引入所述凝胶。壳聚糖/有机磷酸盐溶液在低温下以溶液形式贮存，随着温度的增加，在皮下、腹膜内或肌内注射之后形成原位凝胶。这样形成的水凝胶可用于活性成分的释放。

专利申请 WO97/15287 描述了用于生物降解聚合物基体中，药品以液体形式向温血动物的胃肠外(肌内、腹膜内或皮下)给药的系统和方法，其为了药品的控制性释放，导致了凝胶沉积的形成。这种液体是能够溶解或分散以有效量包含在生物降解共聚物单元基体中的药品的溶液。该共聚物具有低于其给予的动物体温的反向胶凝化温度，并且是由疏水性聚合物单元和亲水性聚合物单元组成。

其它热凝胶化水溶液在文献中有所描述。这其中有泊洛沙姆（poloxamer）溶液(Johnston,T.P.等人,在菊糖/泊洛沙姆凝胶基体的肌内给药之后的菊糖处置,J.Parent.Sci.Technol.,vol.43,279,1989；Johnston,T.P.等人,泊洛沙姆 407 凝胶基体的白细胞介素-2 在鼠中腹膜内注射之后的持续输送,Pharm.Res.9,425,1992； Pec 等人,在鼠中腹膜内注射之后泊洛沙姆 407 中配制的脲酶的生物活性,J.Pharm.Sci.,vol.81,626,1992)和木葡聚糖溶液(Miyazaki,S.等人,作为直肠药物输送载体的热可逆木葡聚糖凝胶,J.Controlled Release,vol.56,75,1998)。

然而，这些水凝胶的主要缺点在于在长时间亲水性生物活性物质的输送方面的效率差。这主要是因为向它们提供高水平孔隙率的高比例的水使凝胶中存在的亲水性生物活性物质相对快速地在循环中被消除。小尺寸亲水性强的分子，例如某些亲水性药品或某些亲水性肽的扩散现象尤为明显，这些物质持续释放的效率因此降低。

本发明的目的是提供新颖的药物组合物，该组合物具有形成允许活性物质在长时间内释放的有机凝胶的能力。

此外，本发明的目的也是提供这样的延迟释放载体，该载体既是

生物相容的也是生物降解的，也允许其以液体形式给药，即容易、快速和便宜地给药。

有机凝胶已经用作活性成分延迟释放的载体。

本发明的目的是在以液体形式施加之后，体内产生的疏水性有机凝胶。这样的凝胶在现有技术中已经有所描述。

专利申请No.WO94/08623公开了包含卵磷脂和用于疏水性卵磷脂的溶剂的疏水性有机凝胶，该有机凝胶用于蛋白质的延迟释放。该凝胶是在注射期间，使用于肌内或皮下注射的溶液通过从间质介质中吸收水分而形成的。

相反，本发明的疏水性有机凝胶不是因为吸收周围的水分形成的。

本发明涉及具有凝胶化性能的热敏感液态组合物，该组合物包括疏水性有机液体、“有机凝胶化”物质和生物活性物质。

有机凝胶化物质由能够通过低能量键结合在一起的分子组成，在一定程度上这些分子的自组合体具备有利地热可逆性。

根据本发明的液体形式的热敏感组合物包含疏水性有机液体、物质分子具备可以通过低能量键结合的能力的有机凝胶化物质、和生物活性物质。当组合物进入动物身体，特别是人类的给药期间，特别地在注射入身体期间，例如使用常规注射器，通过血管外胃肠外或皮下肌内途径，与生理溶液接触时变成有机凝胶形式。

表述“血管外胃肠外途径”表示除消化途径和血管途径(静脉、动脉和血管)以外渗透入身体的任何途径。

本发明的组合物也可以在眼内、腔内或在其施加之前修复、阴道内的开放性创伤或在手术期间给予。

许多文献描述了包含卵磷脂基有机凝胶的局部使用的组合物(参见,例如US6306383)。卵磷脂是低分子量磷脂的混合物。卵磷脂是两性的，既溶于醇，也能与水形成乳液。卵磷脂有机凝胶已经被描述为用于促进低分子量分子渗透的载体(H.Willimann 等人,“Organogel lecithine comme matrice pour le transport transdermique des medicaments[作为药品经皮输送为基体的卵磷脂有机凝胶]”,J.Pharm.Sci.vol.81,1992)。卵磷脂有机凝胶通过向在有机溶剂中的卵磷脂溶液，例如棕榈酸异丙酯或环辛烷中加入少量水获得。在这些文献中，所需凝胶是通过加水形成

的，以至于有机凝胶在其施加到皮肤之前已经形成。

相反，本发明的有机凝胶在给予到活生物体时是液体形式，一旦与生理溶液接触，就成为凝胶形式。此外，卵磷脂并没有构成在本发明的情况中定义的有机凝胶化物质

表述“生理溶液”表示在动物身体中循环的任何流体，例如，淋巴流体、泪流体、脑脊髓流体、羊膜流体、胃肠外流体和血液。

对于保持生物活性分子，尤其是重量小于 100 000 道尔顿的有亲水性本质的分子，根据本发明的组合物形成的有机凝胶可以使其具备能够被设想在多于 3 天的时间内向身体内释放的能力。

最后，从根据本发明的组合物在身体内形成的所述有机凝胶具有通过对被植入身体没有毒性的逐渐糜烂和/或生物降解而缓慢除去的能力。

本发明的*原位*凝胶化的性质是通过使用构成该有机凝胶的有机相的疏水性有机液体，和通过构成该有机凝胶的固体基体的有机凝胶化物质得到的。

构成此有机凝胶化物质的分子特别为如下类型：氨基酸的脂肪酸酯衍生物，其具有自发地自组合形成固定所述疏水性有机液体的基体的能力。此分子的自组合体通过由有机凝胶化分子带有的醇基团(-OH)、酸基团(-COOH)和胺基团(-NH 或 NH_2)类型之间建立氢键完成的。

如必须，通过将组合物的施加部位冷却或由加入到本发明组合物中的亲水性有机溶剂的扩散，诱导液态组合物的凝胶化。

申请人选择能够与有机凝胶化物质的分子产生弱键(如:氢桥)，并且能够扩散到含水介质中生产出根据本发明的组合物的亲水性有机溶剂。

因此，引入到形成本发明组合物的混合物中的亲水性有机溶剂与有机凝胶化物质的分子发生竞争，形成防止该分子自组合成密集和统一网络的所述分子弱键(如:氢桥)。只要该亲水性有机溶剂的分子与有机凝胶化分子保持结合，根据本发明的组合物就保持液态形式。

所述亲水性有机溶剂一扩散到周围介质，弱键可逆性就根据本发明的使用有利地使得有机凝胶化基体再组合。

因此，例如，所述亲水性有机溶剂一与水溶液，更特别地是与如间质流体、淋巴或腹膜内流体的生理溶液接触时，由于它的亲水性，本发明组合物中存在的亲水性有机溶剂就扩散到所述的周围流体中。

该亲水性有机溶剂的扩散使得该有机凝胶化物质的分子自组合。通过产生结构网络，此自组合使得引起该组合物从液态变到凝胶态的该疏水性有机液体得到保留。

本发明因此提供用于自发的*原位*凝胶化和容易给药的简单体系。

另外，本发明基于由申请人观察到的对本发明的以有机凝胶化物质为基础的有机凝胶的滞后性能。术语“滞后”表示特别对于可凝胶的组合物观察到的在凝胶/液体转变温度和液体/凝胶转变温度之间存在的差异的物理现象。具体地，可以设想具有这些性能的液态的，并且因此在室温下(或在室温范围内的温度下)容易注射的本发明的组合物。此外，也可以制备具有这些性能的根据本发明的有机凝胶，其一旦在*体内*形成，在被考虑的有机体的体温下保持凝胶形式。之所以如此的原因在于这样由扩散或由简单冷却形成的有机凝胶具有高于注射或施加部位温度的凝胶/液体转变温度。因此，它在该有机体中是完全稳定的。

最后，本发明具有如下优点：提供药品或其它活性物质持续释放的载体。具体地，在有机体和根据本发明形成的有机凝胶中包括真正的组织基体结构，该结构对周围的含水介质具有较少亲合力，并且因此通过该有机凝胶的逐渐扩散、糜烂或生物降解允许活性物质的缓慢释放。

因此本发明提供在至少等于 1 天的时间内进入身体持续释放的，如生物活性物的物质和更特别地重量小于 100 000 道尔顿的疏水性本质分子的简单、有效和容易给予的载体。

此外，根据本发明的组合物具有在以下所述的制造方面和在包装、给药两个方面特别便宜的优点。

根据本发明的有机凝胶化物质是其分子具有通过低能量键，并且尤其是通过氢键结合形成热敏感基体的能力的物质。例如，这些分子尤其是含有酸(-COOH)或醇(-OH)或胺(-NH 或 NH_2)端基的低分子量的分子。

另外，这些物质优先地为生物相容的且在所述体内降解期间不产生对身体具有毒性的或有害的代谢物。

优选使用不仅仅显示良好的生物相容性和令人满意的有机凝胶力，而且主要向凝胶化体系提供滞后性能的氨基酸的衍生物或氨基酸如丙氨酸的脂肪酸酯衍生物。这些性能从所述组合物在一定温度下从液态到凝胶态的改变反映出来，而且这个温度与该组合物从凝胶形式到液体形式的改变期间观察到的温度是不同的。申请人有利地注意到在这两个转变温度之间的差异变化为如下参数的函数：使用的疏水性有机液体的类型，和使用的有机胶凝化物质的数量。

因此，申请人制备出可以通过对其转变温度和这些温度之间的差异的简单改进而对这两种参数进行调节的根据本发明的组合物。反映这些变化的结果见图 1-7。

在给予有机凝胶而没有亲水性有机溶剂的情况下，优选地选择这两个转变温度之间差异使得液体/凝胶转变温度小于被考虑的活生物体的体温，并且凝胶/液体转变温度高于上述温度。

因此，丙氨酸衍生物如 N-月桂酰基-L-丙氨酸(LA)或丙氨酸酯衍生物如 N-月桂酰基-L-丙氨酸甲酯(LAM)、N-月桂酰基-L-丙氨酸乙酯(LAE)、N-硬脂酰基-L-丙氨酸甲酯(SAM)或 N-硬脂酰基-L-丙氨酸乙酯(SAE)优选用作根据本发明的有机凝胶化物质。

有机凝胶化物质的数量取决于选择用于本发明有机凝胶的疏水性有机液体的类型。

然而，此物质有利地选择在 0.5wt%和 50wt%之间，相对于该组合物的总重量的比例。

申请人发现 N-月桂酰基-L-丙氨酸甲酯作为有机凝胶化物质的使用，使得所述组合物在通过简单冷却达到液体/凝胶转变阈值以下的情况下变成凝胶态，并且在大于液体/凝胶转变温度的温度下，特别地是在活生物体温度下保持凝胶态。

具体地，申请人注意到通过冷却形成的所述有机凝胶在液体/凝胶转变温度和凝胶/液体转变温度之间的温度范围内是稳定的。

此观察的结合引导申请人研发具有凝胶化性能的热敏感组合物，该组合物具有由简单局部冷却变到凝胶形式并在体温下保持凝胶态的

能力。在本发明的此特定情况下，由于该组合物是通过冷却而不是扩散该亲水性有机溶剂而进行凝胶化，所以亲水性有机溶剂的数量可以特别小，或甚至为零。

由于可以免除亲水性有机溶剂的存在，并且因此可以进一步简化根据本发明组合物的制备方法和也可以降低其成本价格，此实施方案是特别有利的。

因此，根据一个特定的实施方案，根据本发明的热敏感组合物包含一定比例的N-月桂酰基-L-丙氨酸甲酯，使得该组合物在与其进入身体的注射部位接触时，足以能够通过简单冷却从液态变到有机凝胶态。

这样的冷却必须足以导致以液体形式施加的该组合物变到其凝胶化形式。可以通过由冷物体如冰包的外部施加或冷敷布或注射部位周围的任何其它冷却措施进行的冷却必须使得局部冷却该组合物，使其温度小于其液体/凝胶转变温度。

因此根据本发明的组合物优选在施加部位的温度下为液体形式，其具有高于体温的凝胶/液体转变温度和低于被考虑的有机体温度或植入凝胶的区域温度的液体/凝胶转变温度。具体地，皮肤温度可以比有机体的通用温度低几度。

在一个优选的实施方案中，该组合物中N-月桂酰基-L-丙氨酸甲酯的含量足以使液体/凝胶转变温度低于体温(一般37℃)和使凝胶/液体转变温度高于体温(一般37℃)。

甚至更优选地是，根据本发明的组合物必须包括小于30℃的液体/凝胶转变温度和大于+35℃的凝胶/液体转变温度。

因此，优选根据本发明的组合物是其液体/凝胶转变温度和凝胶/液体转变温度之间的范围有利地是至少20℃，液体/凝胶转变温度优选地是+5℃~+36℃的组合物。

根据本发明的组合物的疏水性有机液体是疏水性有机溶剂或不同疏水性有机溶剂的混合物。

不同疏水性有机溶剂的混合物具有改进凝胶化情况或促进某些生物活性物质的溶解的优点。

可用于制备本发明组合物的疏水性有机溶剂属于在足够数量的上述“有机凝胶化”物质存在下能够产生有机凝胶类型结构的与水不互

溶的有机溶剂。

这些溶剂具有优选地生物相容性，即，被基质有机体接纳，并且引起较少或没有例如炎性或变应性类型的免疫反应。

最后，值得注意的是优选地使用在室温下为液体，能够使制造和给予本发明组合物的方法简化的疏水性有机溶剂。

优选地使用可以缓慢降解，即不被在注射部位的酶，特别地是脂酶快速代谢的有机溶剂。

因此，根据本发明的疏水性有机溶剂属于植物油、半合成油和某些脂肪酸酯，特别是甘油(特别是甘油二酯和甘油三酯)。

例如，因此可以设想使用生物相容性植物油如大豆油、玉米油、棉籽油、花生油、橄榄油、蓖麻油、芝麻油、杏仁油或红花油。

植物油，例如具有合适凝胶化行为、缓慢生物降解性和优异生物相容性的大豆油，优选地用作疏水性有机溶剂。

在可以用作根据本发明的疏水性有机溶剂的脂肪酸酯中，特别可以提及的例子包括油酸乙酯和肉豆蔻酸异丙酯。

更优选地使用甘油的脂肪酸酯，特别地甘油三酯。甚至更优选地使用包括两种 8-10 个碳原子的脂肪酸的中等链(小于 18 个碳原子)的，如 Labrafac CC®的甘油三酯。

在可以用于根据本发明的疏水性有机溶剂的合成或半合成溶剂中，特别可以提及的是角鲨烯、苯甲酸苄酯、苄基氯和苯甲酸苄酯/苄醇混合物或 Crodamol®GTCC-PN。

也可以使合成疏水性有机油和溶剂结合。

根据本发明，表述“亲水性有机溶剂”表示对含水介质具有高亲合力，即是与水互溶的溶剂。

可用于本发明的亲水性有机溶剂的类型是能够有利地用作有机凝胶去稳定剂，即能够与有机凝胶化分子产生弱键的溶剂。另外，这样的溶剂有利地具备生物相容性，即被身体接纳，使得它的扩散引起较少或没有例如炎性或变应性类型的免疫反应。因此批准用于胃肠外使用的溶剂优选地用于本发明的实施。

根据本发明的该亲水性有机溶剂的使用比例有利地是小于该组合物的 60wt%，更优选地是小于 20%。

可以提及的亲水性溶剂包括例如醇的溶剂，例如，乙醇、甘油、苄醇、丙二醇、低分子量的聚(乙)二醇、苯醇或氯丁醇、及其混合物。此外，可以设想其它水互溶性溶剂，如二甲亚砜(DMSO)、N-甲基吡咯烷酮、N,N-二甲基乙酰胺、糠醛、环亚甲基甘油醚、亚异丙基甘油、乳酸乙酯、乙酸或乳酸、或其混合物。

这些例子没有限制性，并且完全可以设想使用具有凝胶去稳定性能，即与本发明的有机凝胶化物质形成弱键的能力的其他亲水性有机化合物实施本发明。

可以从本发明的有机凝胶释放到身体的生物活性物质有利地是由于用于持续释放而难以包装的物质，如亲水性或亲水性本质强的低分子量分子。，该生物活性物质的使用比例有利地为本发明组合物的0.5wt%-70wt%。因此，申请人测试预先形成的有机凝胶中的通过荧光分子：FITC(异硫氰酸荧光素)标记的葡聚糖分子的释度。

通过测定荧光20天内*体外*监测葡聚糖的释放情况，如图8所示。荧光通过磷酸盐缓冲的盐水水溶液的规则取样测量的。

因此，对于特别具有治疗兴趣的如α-干扰素、β-干扰素、生长抑素、降钙素、肝素、白细胞介素或红细胞生成素的蛋白质，肽，氨基酸或维生素，释放周期都设计在3天以上。

这些例子决没有限制性，并且完全可以设想用于来自本发明有机凝胶的持续释放的其他类型分子，特别是其它蛋白质。

因此可以设想通过本发明的有机凝胶进入身体来释放分子，如某些激素，特别地是某些肽激素如人生长激素、促甲状腺激素和醋酸亮丙瑞林。

因此，可以设想将本发明用于核酸、寡核苷酸或特别地是核酸衍生物进入身体的持续释放。

相似地，完全可以设想以持续方式溶解并随后释放疏水性生物活性物质，即对于有机凝胶具有强亲合力和对于周围含水介质具有弱亲合力的物质为目的而实施本发明。

本发明可因此用于许多需要进入身体持续释放的治疗或医疗兴趣的物质。

通过例子，根据本发明的组合物可以采用如下方式制备。

扩散凝胶化体系的情况

首先自发地或通过在亲水性有机溶剂中加热和/或搅拌来溶解有机凝胶剂。

其后，将活性物质和疏水性有机溶剂引入此混合物，可因此呈现两种情况：

a)可能活性物质能够溶于有机相，因此形成：

在此情况下，将活性物质溶于形成的有机相。自发地或通过加热，采用或不采用搅拌进行溶解。

在此情况下，也可以设想将该活性物质直接溶于疏水性有机溶剂。

b)也可能活性物质少量地溶于或不溶于有机相：

在此情况下，首先活性物质可以通过在由亲水性有机溶剂和有机凝胶化物质形成的有机相中分散而变“潮湿”。在搅拌之后混合物中的活性物质悬浮液形成。然后可以将此悬浮液加入到本发明组合物的其它组分中。

也可以在微量的水中溶解活性物质。将该活性物质水溶液加入到由亲水性有机溶剂和有机凝胶化物质形成的有机相中。然后在有机相中由剧烈搅拌使有机相乳化。搅拌越剧烈，有机悬浮液中形成的含水粒子的尺寸越小，且乳液越稳定。然后此乳液可用于本发明组合物的制备。

然而，应当注意到使用乳液的该技术具有如下优点：使活性物质的络合分子保持含水微环境中，当经受环境的变化时，其极大地限制分子可易于发生的破裂倾向，特别地是物质变性的可能性。

然后将疏水性有机液体加入到先前获得的混合物中，任选地采用搅拌和/或适当加热直到获得均匀的混合物。

将根据本发明的此均匀混合物使用皮下注射的常规注射器通过血管外胃肠外途径注入活生物体中。在由所选制剂而定的延滞期之后，在注射部位观察到的形成的硬化区域是本发明有机凝胶*体内*形成的证明。

如果不手术除去，由其构成组分的尺寸和本质决定的有机凝胶会

在较长或较短周期内在身体内逐渐生物降解和/或糜烂。此逐渐生物降解会导致包含在根据本发明的有机凝胶中的活性物质的释放。

优选地制备其生物降解在长于3天的时间内进行的此类有机凝胶。

冷却凝胶化体系的情况

在此情况下，首先将具有滞后性能的有机凝胶化物质与疏水性有机液体混合。

其后，将活性物质引入此混合物中。如果活性物质具有有机溶解性，将其直接或采用轻微搅拌的方式在混合物中溶解。当活性物质仅具有少量有机溶解性或不具有有机溶解性，如前所述那样将该物质分散在有机相中或如前所述，在形成的有机相中制备活性物质预溶于水的稳定乳液。

这样形成的组合物是稳定的且在室温下优选为液体。通过例如血管外胃肠外途径注射该组合物。

在注射之后，立刻使冷物体(或任何其它冷却系统)与注射部位保持接触足够长的时间，以允许根据本发明的组合物的*原位*凝胶化。

当凝胶化完成时，除去冷却系统。然后注射部位返回到体温，根据本发明的有机凝胶在所述温度下保持稳定。

例如，根据本发明具有凝胶化性能的热敏感组合物可用于生物活性物质在长时间内，即在至少一天至多一周，一般大于 3 天的时间内的延迟释放。此组合物可因此用作任何类型物质，特别地具有治疗或医疗兴趣的物质延迟释放的载体。

因此可以设想使用根据本发明的热敏感组合物用于药品的延迟释放，该药品需要在血液中保持恒定水平。因此本发明证明特别有利于通常一天给药几次和希望在身体中保持有效治疗水平的药品。

因此可设想使用本发明用于如吗啡的治疗物质或用作心血管系统或神经系统调节剂的药品。

相似地，可以设想使用根据本发明的组合物可以达到克服身体中的某些缺乏，特别地维生素或激素缺乏的目的。因此，本发明可用作需要每日摄取而目前仍然在给予时带来疼痛和限制的注射给药的激素持续释放的载体。考虑到其容易给药，无害性和低成本，由有机凝胶制成的释放载体会消除患者的这些约束。

此组合物也可用于制造希望通过血管外胃肠外途径和特别地皮下、皮内、腹膜内或肌内注入身体，从眼内、血管内或阴道内注射到开放性创伤或在手术期间注射的药品。

另外，此化合物可以制造希望用作生物活性物质进入身体的持续释放的载体的药品。

附图

图 1 是在苯甲酸苄酯(圆)或苯甲酸苄酯/5%苄醇(三角形)存在下，N-月桂酰基-L-丙氨酸甲酯(LAM)的液体-凝胶转变温度(实线)和凝胶-液体转变温度(虚线)的图。

图 2 是在大豆油(菱形)或 Labrafac®CC(正方形)存在下，LAM 的液体-凝胶转变温度(实线)和凝胶-液体转变温度(虚线)的图。

图 3 是在大豆油存在下，N-月桂酰基-L-丙氨酸乙酯(LAE)(三角形)的液体-凝胶转变温度(实线)和凝胶-液体转变温度(虚线)的图。

图 4 是在油酸乙酯存在下，LAM(正方形)和 N-硬脂酰基-L-丙氨酸甲酯(SAM)(菱形)的液体-凝胶转变温度(实线)和凝胶-液体转变温度(虚线)的图。

图 5 是在玉米油中 LAM(正方形)，LAE(三角形)，SAM(圆)，N-硬脂酰基-L-丙氨酸乙酯(SAE)(十字)和 N-月桂酰基-L-丙氨酸(LA)(菱形)的凝胶-液体转变温度的图。

图 6 和 7 是分别在西番莲油和 Crodamol®GTCC-PN(甘油三酯)中 LAM(正方形)，LAE(三角形)，SAM(圆)，SAE(十字)和 LA(菱形)的凝胶-液体转变温度的图。

图 8 是在 37℃PBS 中，从由大豆油和 30%LAM 组成的凝胶的 FITC-葡聚糖(分子量=9500)在 20 天内体外释放情况的监测。

图 9 是根据实施例 5 的植入物在注射部位的照片。

实施例 1:从根据本发明的组合物的有机凝胶的体内形成

此实施例试图寻求根据本发明的组合物确实能够*体内*凝胶化。用鼠进行测试。

大豆油用作根据本发明的疏水性有机溶剂，乙醇用作根据本发明

的亲水性有机溶剂。

选择的有机凝胶化物质是 LAM(N-月桂酰基-L-丙氨酸甲酯)。

使用的比例总结于下表：

产物	功能	比例
LAM	有机凝胶剂	20% w/v
大豆油	疏水性有机溶剂	qs 100 ml
乙醇	亲水性有机溶剂	14% v/v

首先在乙醇中溶解有机凝胶剂。然后，在混合物中加入大豆油。搅拌和加热由此获得的混合物直到完全均匀。此混合物在室温下保持稳定和液体状态。

然后皮下注射由此获得的组合物。在背侧区域中使用皮下注射的常规注射器进行注射。在 2 小时之后，将动物杀死，并从注射部位提取凝胶展示有机凝胶的*体内*形成。

实施例 2:从根据本发明的组合物的有机凝胶的体内形成

大豆油用作根据本发明的疏水性有机溶剂，乙醇用作根据本发明的亲水性有机溶剂。

选择的有机凝胶化物质是 LAM(N-月桂酰基-L-丙氨酸甲酯)。

使用的比例总结于下表：

产物	功能	比例
LAM	有机凝胶剂	30% w/v
大豆油	疏水性有机溶剂	qs 100ml
乙醇	亲水性有机溶剂	18% v/v

注射过程与实施例 1 的相同，在注射 2 小时 30 分钟之后出现有机凝胶。

实施例 3:包含 FITC-葡聚糖的本发明组合物的制造

此组合物允许包含在预形成有机凝胶中的活性物质逐渐释放的*体外*测量。

FITC-葡聚糖用作活性成分，其允许通过测定结合的荧光来测量由本发明的有机凝胶释放的葡聚糖数量。

参见图 8。

每个点表示平均值+/-sd(n=3)。曝露的凝胶面积是 0.64mm^2。

产物	功能	比例
FITC-葡聚糖	活性物质	1.3% p/p
LAM	有机凝胶剂	30% w/v
大豆油	疏水性有机溶剂	qs 100 ml

首先在大豆油中热溶 LAM。然后，在使用研钵研磨它之后，在形成的有机相中热分散 FITC-葡聚糖，直到获得均匀的液体组合物。

然后此液体混合物通过在测试管中冷却引入凝胶化。向凝胶中加入磷酸盐缓冲的盐水的盐水溶液。

然后在 20 天的周期内取得围绕本发明有机凝胶的液体的样品。可以测定由这些样品发射的荧光并可因此确认 FITC-葡聚糖向周围介质的持续释放。在*体内*和根据本发明给予凝胶的情况下，应当加入如乙醇类型的有机溶剂抑制注射之前的凝胶化过程。

此测定的结果总结于图 8。

实施例 4:根据本发明的有机凝胶滞后性能的*体内*证明。没有亲水性溶剂的凝胶化实施例.

由如下组分制备有机凝胶化溶液：

产物	功能	比例
LAM	有机凝胶剂	40% w/v
苯甲酸苄酯/50%苄醇	疏水性有机溶剂	qs 100 ml

预先测定此有机凝胶的滞后性能，使得液体/凝胶转变温度小于 30℃和凝胶/液体转变温度大于 37℃。

首先通过加热使有机凝胶化溶液达到液态，然后将冷却到室温的 180μl 体积该溶液皮下注入鼠体内。一旦注射完成，在 4℃下对注射部位施加压布 3 分钟，以降低其温度并带来凝胶化。

在 2 小时 30 分钟之后，将注射过的动物杀死，进行植入物形式的目测观察。然后将植入物从注射部位提取并称重。

在此试验中，植入物具有盘形形状，直径为约 1cm 和重量为 130mg。

实施例 5:从由疏水性有机溶剂的混合物组成的基体的有机凝胶的*体内*形成

在此实施例中，需要检查由疏水性有机溶剂的混合物组成的有机凝胶体内有机凝胶剂凝胶化的能力。用鼠进行测试。

用于本发明的疏水性有机溶剂有：作为亲水性溶剂的大豆油、油酸乙酯和乙醇。

选择的有机凝胶化物质是 LAM(N-月桂酰基-L-丙氨酸甲酯)。

选择的生物活性物质是醋酸亮丙瑞林。在第一步中制备 0.67%w/v 的醋酸亮丙瑞林水溶液。

使用的比例总结于下表：

产物	功能	比例
LAM	有机凝胶剂	20% w/v
乙醇	亲水性有机溶剂	12% v/v
醋酸亮丙瑞林的 0.67w/v 溶液	包含生物活性物质的分散相	8% v/v
大豆油/油酸乙酯 (50/50v/v)	疏水性有机溶剂	qs 100 ml

首先在大豆油和油酸乙酯的温热混合物中溶解有机凝胶剂。然后，在此混合物中加入乙醇。将由此获得的混合物搅拌和加热直到完全均化。此混合物在室温下保持稳定和液体状态。将醋酸亮丙瑞林溶于蒸馏水和然后加入到液体混合物中。将此混合物搅拌之后，由超声粉碎乳化两分钟。

然后将由此获得的组合物进行皮下注射。使用皮下注射的常规注射器注射到鼠的背侧区域。在 2 小时之后，将动物杀死，并从注射部位提取凝胶，证明由疏水性有机溶剂的混合物组成的有机凝胶的体内

形成。图 9 显示在注射部位，根据此实施例中描述的组合物获得的植入物的形式。

实施例 6:包含在本发明的组合物中的含有生物活性物质的乳液的形成

寻求设计包含溶于水相的(分散相)如醋酸亮丙瑞林一样的亲水性生物活性物质的油包水(W/O)稳定乳液。

选择的生物活性物质是醋酸亮丙瑞林。以 7.62%w/v 的比例将它溶于水。

两种表面活性剂，聚山梨酸酯 20(Tween 20)和三油酸脱水山梨醇酯(Span 85)使乳液稳定，可以设计调节其每种比例来作为乳液亲水性/疏水性平衡的函数。

使用的比例总结于下表：

产物	比例(v/v)
醋酸亮丙瑞林的 7.62%w/v 溶液	12.2%
Tween 20 在水中的 10%w/v 溶液	7.8%
Span 85 在大豆油中的 10%w/v 溶液	2.2%
大豆油	77.8%

制备 10%w/v Span 85 的大豆油溶液和 10%w/v Tween 20 的水溶液。然后结合各个相并将混合物搅拌和加热直到完全均化。此混合物在室温下保持稳定和液体状态，直接加入到油、有机凝胶剂和 N,N-二甲基乙酰胺(DMAc)的混合物中(参见实施例 7)。

实施例 7:使用包含乳液和乙醇以外的亲水性有机溶剂的组合物的有机凝胶体内形成

在此实施例中，试图检查在室温下乙醇以外的亲水性有机溶剂抑制有机凝胶凝胶化的能力。

大豆油用作疏水性有机溶剂，N,N-二甲基乙酰胺(DMAc)用作亲水性有机溶剂。

选择的有机凝胶化物质是 LAM(N-月桂酰基-L-丙氨酸甲酯)。

使用的比例总结于下表：

产物	功能	比例
LAM	有机凝胶剂	18.4% w/v
N,N-二甲基乙酰胺	亲水性有机溶剂	18.4% w/v
W/O 乳液	生物活性物质的载体	8.2% v/v
大豆油	疏水性有机溶剂	qs 100 ml

首先在温状大豆油中溶解有机凝胶剂。然后，在此混合物中加入DMAc。搅拌和加热这样获得的混合物，然后加入乳液，搅拌混合物直到完全均化。此混合物保持稳定，并且在室温下为粘性的(相似于乳膏)且可以以此形式使用常规注射器皮下注射。注射此粘性制剂之后，凝胶形成。

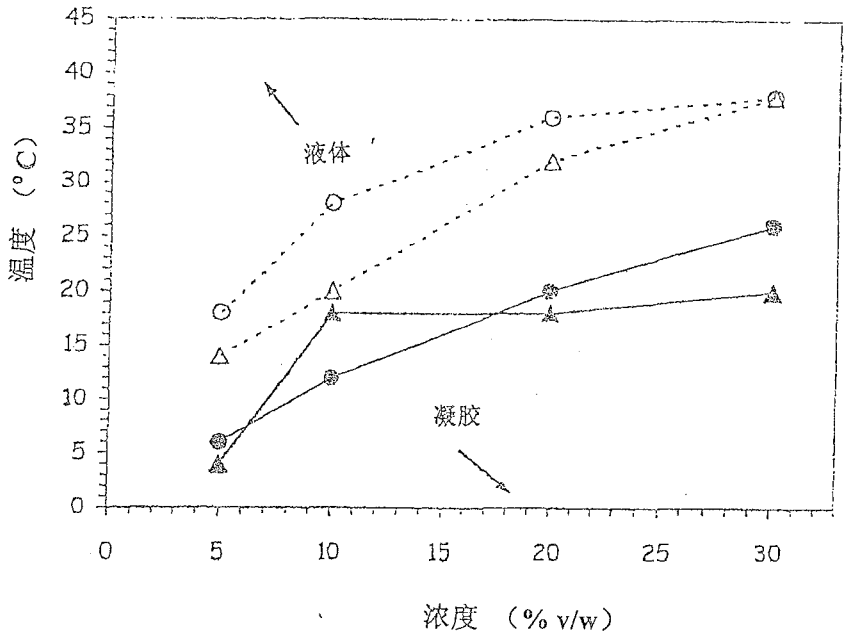

图 1

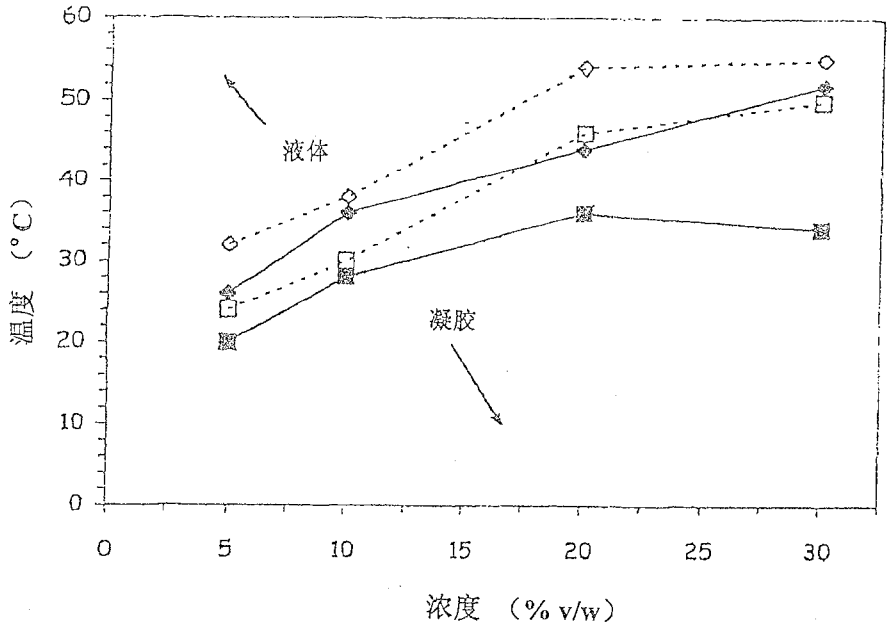

图 2

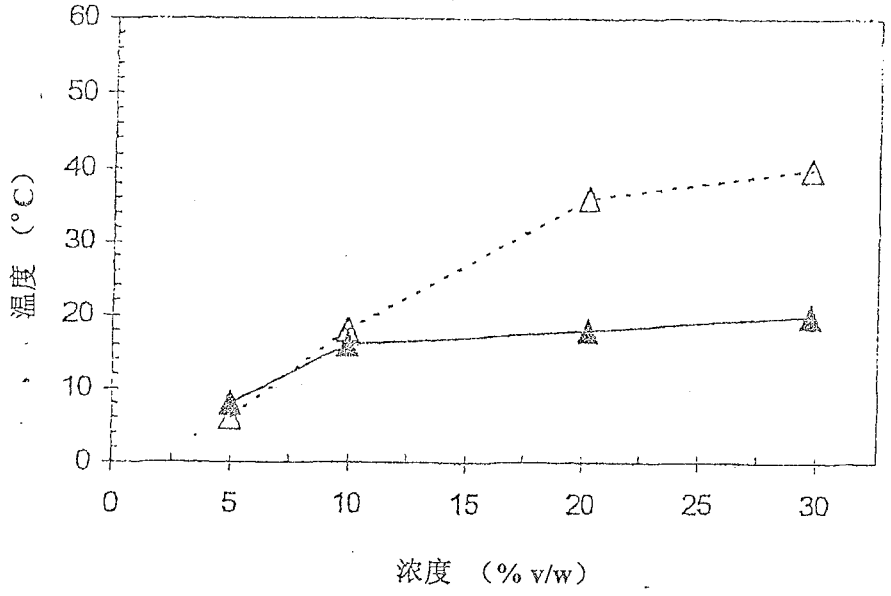

图 3

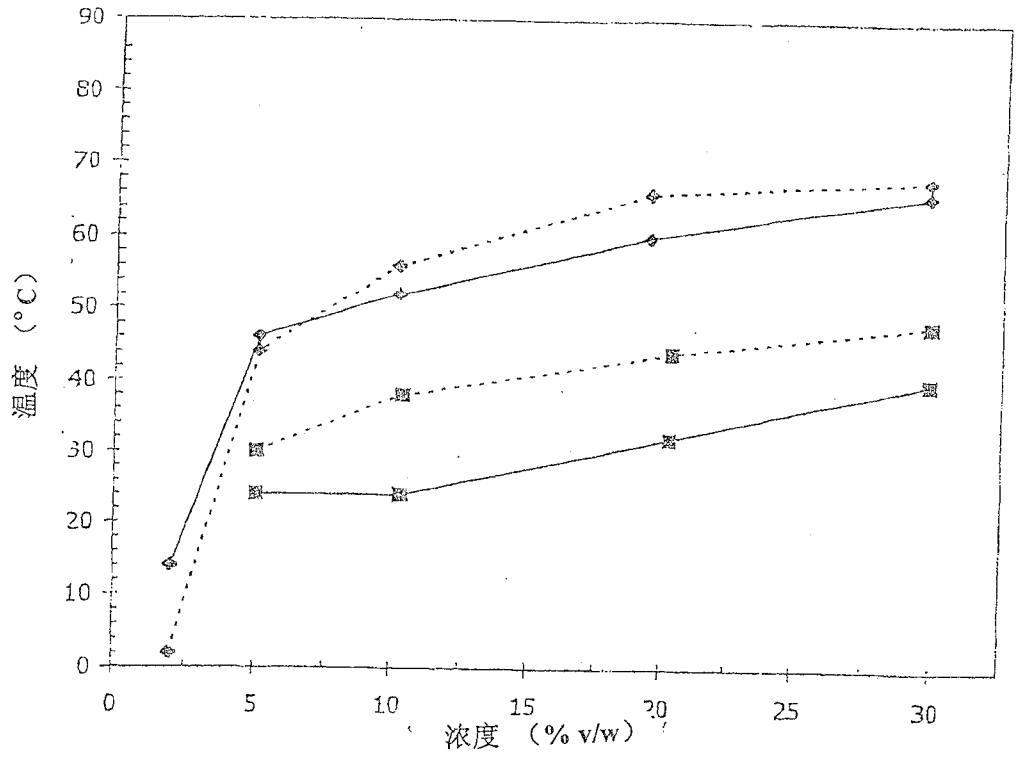

图 4

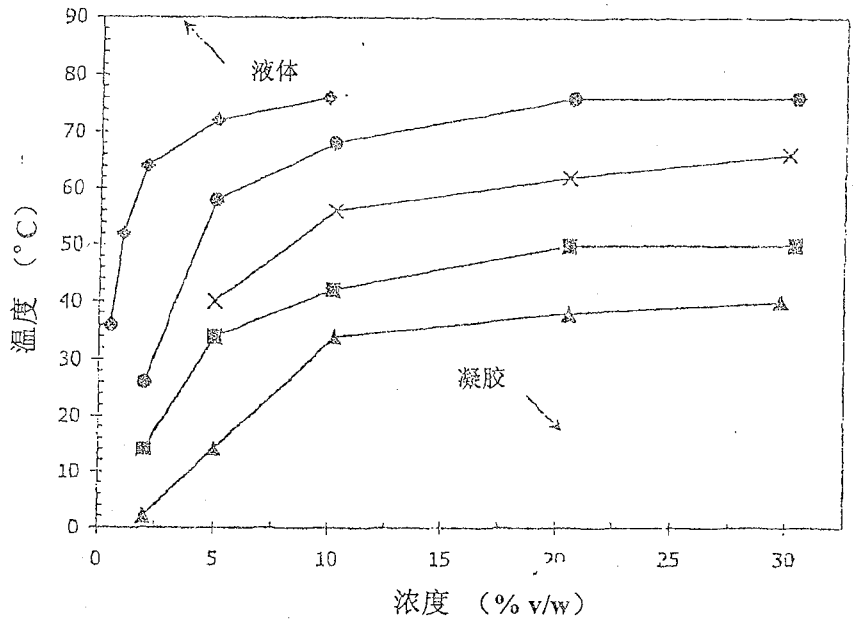

图 5

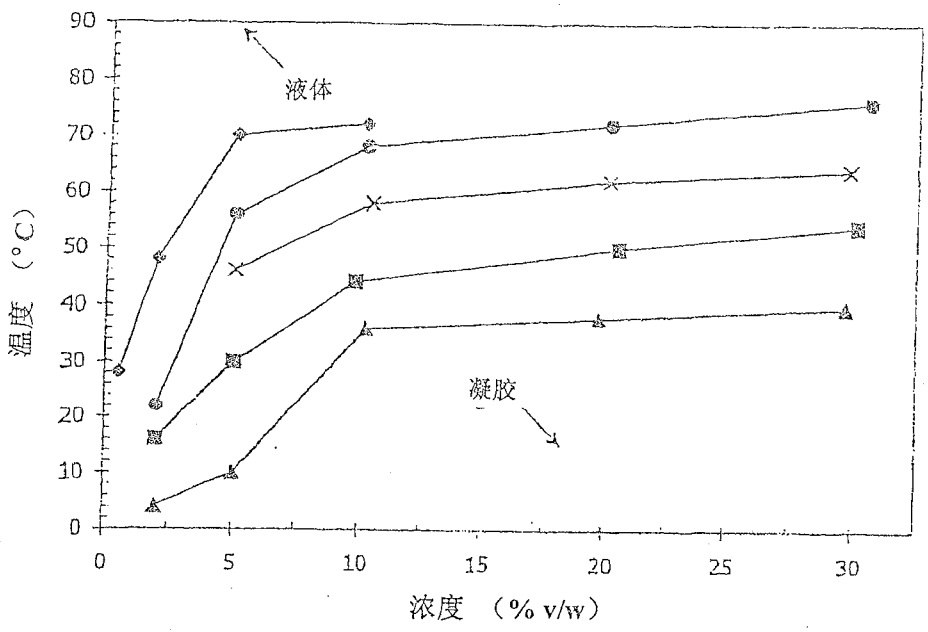

图 6

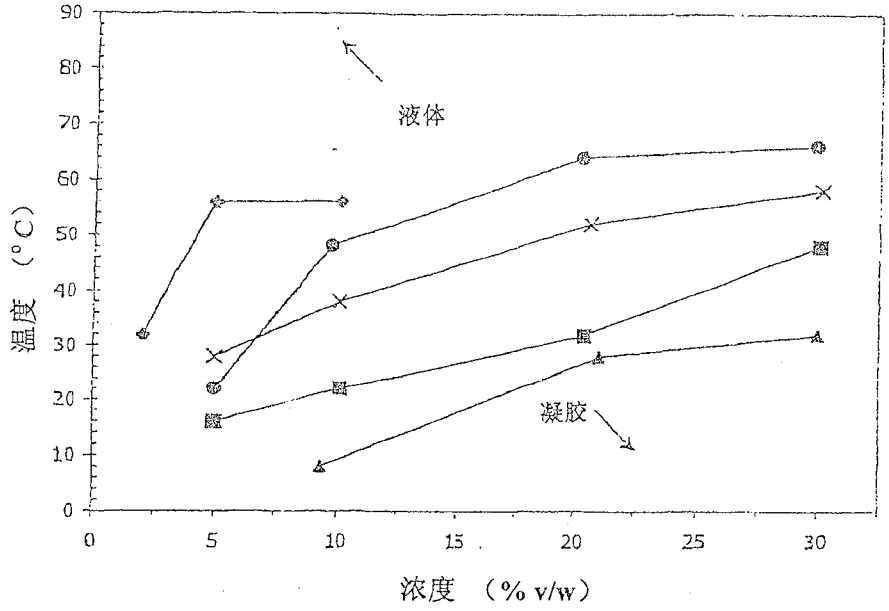

图 7

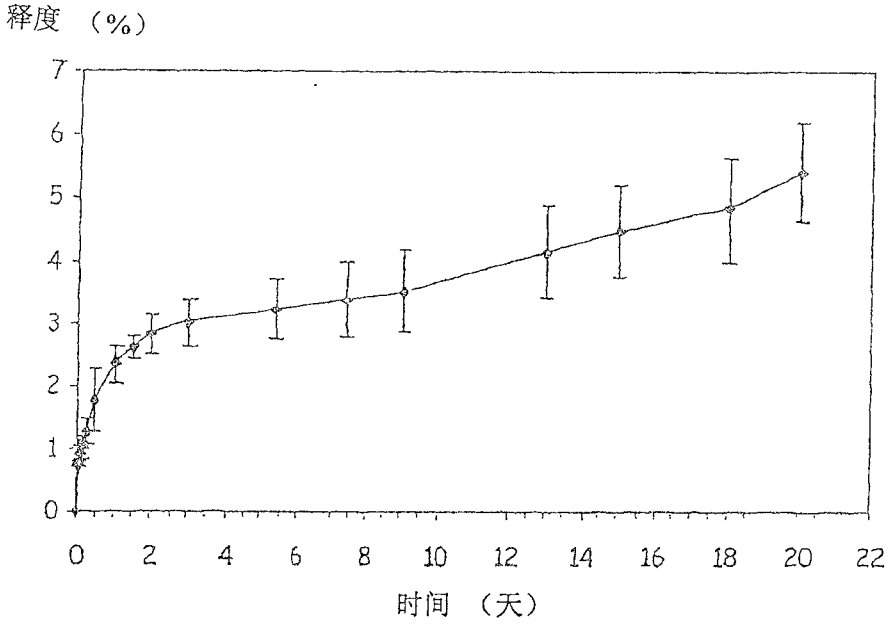

图 8

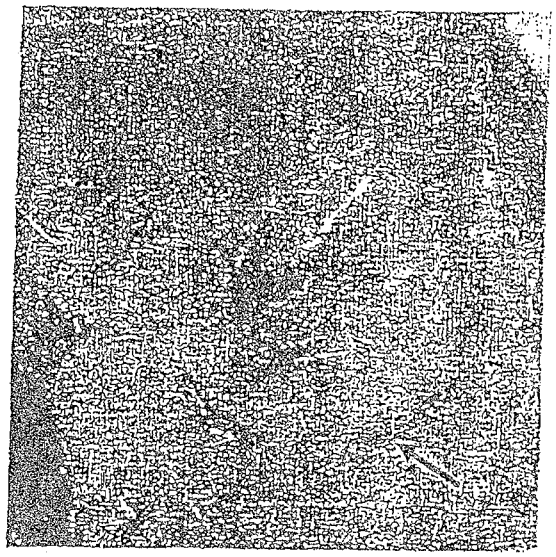

图 9