

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3641418号  
(P3641418)

(45) 発行日 平成17年4月20日(2005.4.20)

(24) 登録日 平成17年1月28日(2005.1.28)

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>

F I

A 6 1 K 9/52

A 6 1 K 9/52

A 6 1 K 9/113

A 6 1 K 9/113

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 47/02

A 6 1 K 47/02

A 6 1 K 47/14

A 6 1 K 47/14

請求項の数 10 (全 19 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-262542 (P2000-262542)  
 (22) 出願日 平成12年8月31日(2000.8.31)  
 (65) 公開番号 特開2002-20269 (P2002-20269A)  
 (43) 公開日 平成14年1月23日(2002.1.23)  
 審査請求日 平成12年8月31日(2000.8.31)  
 (31) 優先権主張番号 2000-36178  
 (32) 優先日 平成12年6月28日(2000.6.28)  
 (33) 優先権主張国 韓国(KR)

早期審査対象出願

(73) 特許権者 596016177  
 東國製薬株式会社▼  
 大韓民国 ソウル 特別市 江南區 大峙  
 3洞 997-8  
 (74) 代理人 100102842  
 弁理士 葛和 清司  
 (72) 発明者 朴 眞圭  
 大韓民国 134-070 ソウル特別市  
 江東區 明▼逸▲洞 54 漢陽アパー  
 ト 2-307  
 (72) 発明者 朴 木淳  
 大韓民国 306-050 大田市 大▲  
 徳▼區 中理洞 榮進ロヤルアパート 1  
 05-902

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

生分解性高分子が溶解された2種以上の油相に薬物をそれぞれ溶解又は分散させて2種以上の1次油相又はエマルジョンを製造する段階と、  
 製造された2種以上の1次油相又はエマルジョンを1種の水相に同時に又は連続的に分散させる段階と、

薬物が分散された微粒球から有機溶媒を除去して薬物封入微粒子を製造する段階とを含むことを特徴とする、多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法。

【請求項 2】

1次油相又はエマルジョンを1種の水相に分散させる手段として、2種以上の1次油相又はエマルジョンを同時に又は連続的に1種の水相に分散させるか、1次エマルジョン(DP 1)を水相に分散させた後、水相の物理的又は化学的要素を変化させた後、つぎの1次エマルジョン(DP 2)を分散させることを特徴とする、請求項1に記載の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法。

【請求項 3】

水相の物理的又は化学的要素を変化させる手段として、ミキサーの速度を100rpm～5,000rpm、水相の量は1次エマルジョン又は油相の20倍～1,000倍、水相に含有された乳化剤はポリソルベート(polysorbate)又はポリビニールアルコールで、1%～10%、添加剤はゼラチン(gelatin)、カルボキシメチルセルロース(carboxymethyl cellulose)、又はカルシウム(calcium)で、0.1%～5%、温度は5～40℃に調節

10

20

して分散させることを特徴とする、請求項 2 に記載の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法。

【請求項 4】

1 次油相又はエマルジョンを製造する手段として、水溶液に薬物を溶解させた薬物含有水溶液を生分解性高分子の含有された有機溶媒に分散させて 1 次エマルジョンを形成した後、これを水相に分散させる二重乳化蒸発法(W/O/W)、又は有機溶媒又は有機溶媒の混合物に薬物と生分解性高分子と一緒に溶解させた後、これを水相に分散させる単一乳化蒸発法(O/W)で製造することを特徴とする、請求項 1 に記載の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法。

【請求項 5】

生分解性高分子が、ポリラクチド高分子、ポリグリコライド高分子、ラクチドとグリコライドの高分子共重合体、又はこれらの混合体を含むことを特徴とする、請求項 1 に記載の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法。

【請求項 6】

生分解性高分子が、酢酸セルロース、酢酸セルロースプロピオネート、セルロースブチラート、セルロースプロピオネート、セルロースパラレート、クマロンインデンポリマー(cumaronelindene polymer)、ジブチルアミノヒドロキシプロピルエーテル、エチルセルロース、エチレン - ビニールアセテート共重合体、グリセロールジステアレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、2 - メチル - 5 - ビニールピリジンメタクリレート - メタクリル酸共重合体、ポリアミノ酸、ポリアンハイドリド、ポリカプロラクトン、ポリカーボネート、ポリブタジエン、ポリエステル、ポリヒドロキシブチリン酸、ポリメチルメタクリレート、ポリメタクリル酸エステル、ポリオルトエステル、ポリプロピレン、多糖類、ポリスチレン、ポリビニールアセタリジエチルアミノアセテート、ポリビニールアセテート、ポリビニールアルコール、ポリビニールブチラール、ポリビニールフォーマル、蛋白質、塩化ビニール - プロピレン - 酢酸ビニール共重合体、塩化ビニール - 酢酸ビニール共重合体、ワックス類、高分子脂肪酸類から選択されるどの 1 種以上を含むことを特徴とする、請求項 1 に記載の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法。

【請求項 7】

薬物が、生理活性ペプチド及び蛋白質、抗癌剤、抗生剤、解熱剤、鎮痛剤、抗炎症剤、去痰剤、鎮静剤、筋肉弛緩剤、癲癇治療剤、抗潰瘍剤、抗憂鬱症剤、抗アレルギー剤、強心剤、抗不整脈剤、血管拡張剤、低血圧性利尿剤、糖尿病治療剤、過脂質血症治療剤、抗凝固剤、溶血剤、抗結核剤、ホルモン、麻酔拮抗剤、骨吸収抑制剤、骨形成促進剤及び血管形成抑制剤を含む薬物で、これら薬物が塩の形態になっているものを含むことを特徴とする、請求項 1 に記載の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法。

【請求項 8】

1 次油相において、薬物の含量が 1 % ~ 50 %、高分子の濃度は 5 % ~ 50 %であることを特徴とする、請求項 1 に記載の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法。

【請求項 9】

薬物が酢酸ゴセレリン(goserelin acetate)、酢酸ナファレリン(nafarelin acetate)、酢酸ブセレリン(buserelin acetate)及び酢酸ロイプロレリン(Leuprorelin acetate)を含むことを特徴とする、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法。

【請求項 10】

生分解性高分子が、ラクチドとグリコライドのモル比が 45 : 55 ~ 55 : 45 であり、重量平均分子量が 6,000 ~ 10,000 及び 25,000 ~ 35,000 である高分子を同時に又は順次水相に分散させることにより、長期間持続的に薬物を放出することを特徴とする、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法。

10

20

30

40

50

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## 【発明の属する技術分野】

本発明は生分解性高分子からなる担体に薬物を封入し持続的に薬物の放出を調節し得る微粒球の製造方法に関するものである。

## 【0002】

## 【従来の技術】

従来の徐放型薬物伝達系(DDS; Drug Delivery System)製剤の一般的な製造方法としては、コアセルベーション法(coacervation)、乳濁液相分離法又は噴霧乾燥によるカプセル化及び有機又は水相中の溶媒蒸発法などが知られている。このような方法のなかでも水相中溶媒蒸発法が最も多く使用されており、これは大きく乳化蒸発法(W/O/W; Water/Oil/Water)と単一乳化蒸発法(O/W; Oil/Water)とに分類される。

10

## 【0003】

一般に、ペプチド又は蛋白質のような水溶性薬物の封入に主として使用されるW/O/W法は、水溶液に薬物を溶解して製造した薬物含有水溶液を生分解性高分子を含有する有機溶媒に分散させて1次エマルジョンを形成(water in oil)した後、これを水相に分散させる方法である。また、脂溶性薬物の封入に主として使用されるO/W法は、有機溶媒又は有機溶媒の混合物に薬物と生分解性高分子を共に溶解(oil)させた後、これを水相に分散させる方法である。両方法は共に、有機溶媒相の高分子が水相に分散される過程で、有機溶媒が抽出又は蒸発などにより除去されて、高分子の溶解度が減少することにより、固化され、その結果、微粒球を形成することになる。一般に、W/O/W法により製造された微粒球は、O/W法により製造された微粒球に比べて多孔性が増加するので、表面積が大きくなって、薬物の初期放出速度が相対的に高いという特徴がある。

20

## 【0004】

持続的な薬物放出の期間を決定する代表的な要素は、高分子の化学的組成、分子量、親水性、有機溶媒の組成、乳化剤又は添加剤の種類及び濃度によって決定される。このなかで最も重要な要素は、高分子の化学的組成、分子量及び親水性などである。例えば、ラクチドとグリコライドのモル比が異なる形態に構成される共重合体であるポリラクチド-コ-グリコライド(poly lactide-co-glycolides, PLGA)高分子の場合、ラクチドのモル比とその分子量が増加するほどに分解速度が遅くなる。したがって、もっと長い期間、薬物の持続的放出のための微粒球を製造するためには、ラクチドの含量が相対的にもっと多いか、分子量がもっと大きい高分子を使用する。しかし、もっと長い期間にわたって分解される高分子は、初期又は中間のどの部分で放出が殆ど行われないなどの問題点を有する。

30

## 【0005】

したがって、1種の高分子のみでは要求期間の間(例えば、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、6ヶ月など)持続的に薬物を放出し得る徐放性微粒子を製造することには多くの努力と時間が要求される。したがって、従来の製造方法は、分解速度の速い高分子と分解速度の遅い高分子を混合し、これに薬物を封入する方法に研究が進行されているが、このように製造された微粒球からの薬物の放出速度は、混合された個々の高分子に封入された微粒球から放出される薬物の量から正確に予測することができない。その理由としては、特性の異なる2種以上の高分子が1個の微粒球上に存在し、生体内での分解速度が速い高分子から由来した分解産物の影響により、分解速度の遅い高分子の分解が単独で存在する場合より速くなる傾向がある。その結果、薬物の生体内放出速度も分解速度の速い高分子の影響を受けることになり、それぞれの高分子に封入された薬物の放出速度の平均値とは違う結果をもたらすことになる。

40

## 【0006】

このような欠点を克服するために、薬物を分解速度の異なる2種以上の高分子にそれぞれ封入させて得た微粒球を適正比で混合して、所望期間、薬物が持続的に放出される微粒球(米国特許第4,897,268号)を得る方法があるが、このような方法では、1種の剤形の商品化のために、2以上の微粒球を製造する工程上の困難性があり、経済的にも非効

50

率である。

【 0 0 0 7 】

【 発明が解決しようとする課題 】

従って本発明の課題は、従来技術における欠点がなく、簡単な操作により、所望の期間、持続的に薬物を放出し得る徐放出性製剤であって、しかも従来法に比べ、放出期間の予測が容易な徐放出性製剤を製造することにある。

【 0 0 0 8 】

【 課題を解決するための手段 】

本発明者らは、前記の課題を解決すべく鋭意研究を重ねる中で、多重エマルジョン法を採用することにより、前記課題を解決する徐放出性製剤を製造できることを見出し、本発明を完成するに至った。

10

即ち、本発明は生分解性高分子が溶解された2種以上の油相に薬物をそれぞれ溶解又は分散させて2種以上の1次油相又はエマルジョンを製造する段階と、

製造された2種以上の1次油相又はエマルジョンを1種の水相に同時に又は連続的に分散させる段階と、

薬物が分散された微粒球から有機溶媒を除去して薬物封入微粒子を製造する段階とを含むことを特徴とする、多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法に関する。

【 0 0 0 9 】

また本発明は、1次油相又はエマルジョンを1種の水相に分散させる手段として、2種以上の1次油相又はエマルジョンを同時に又は連続的に1種の水相に分散させるか、1次エマルジョン(DP 1)を水相に分散させた後、水相の物理的又は化学的要素を変化させた後、つぎの1次エマルジョン(DP 2)を分散させることを特徴とする、前記の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法に関する。

20

【 0 0 1 0 】

さらに本発明は、水相の物理的又は化学的要素を変化させる手段として、ミキサーの速度を100rpm～5,000rpm、水相の量は1次エマルジョン又は油相の20倍～1,000倍、水相に含有された乳化剤はポリソルベート(polysorbate)又はポリビニールアルコールで、1%～10%、添加剤はゼラチン(gelatin)、カルボキシメチルセルロース(carboxymethyl cellulose)、又はカルシウム(calcium)で、0.1%～5%、温度は5～40℃に調節して分散させることを特徴とする、前記の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法に関する。

30

【 0 0 1 1 】

また本発明は、1次油相又はエマルジョンを製造する手段として、水溶液に薬物を溶解させた薬物含有水溶液を生分解性高分子の含有された有機溶媒に分散させて1次エマルジョンを形成した後、これを水相に分散させる二重乳化蒸発法(W/O/W)、又は有機溶媒又は有機溶媒の混合物に薬物と生分解性高分子と一緒に溶解させた後、これを水相に分散させる単一乳化蒸発法(O/W)で製造することを特徴とする、前記の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法に関する。

さらに本発明は、生分解性高分子が、ポリラクチド高分子、ポリグリコライド高分子、ラクチドとグリコライドの高分子共重合体、又はこれらの混合体を含むことを特徴とする、前記の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法に関する。

40

また本発明は、生分解性高分子が、ラクチドとグリコライドのモル比が45:55～55:45であり、重量平均分子量が6,000～10,000及び25,000～35,000である高分子を同時に又は順次水相に分散させることにより、長期間持続的に薬物を放出することを特徴とする、前記の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法に関する。

【 0 0 1 2 】

また本発明は、生分解性高分子が、酢酸セルロース、酢酸セルロースプロピオネート、セルロースブチレート、セルロースプロピオネート、セルロースパラレート、クマロンインデンポリマー(cumaroneindene polymer)、ジブチルアミノヒドロキシブピルエーテル

50

、エチルセルロース、エチレン - ビニールアセテート共重合体、グリセロールジステアレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、2 - メチル - 5 - ビニールピリジンメタクリレート - メタクリル酸共重合体、ポリアミノ酸、ポリアンハイドリド、ポリカプロラクトン、ポリカーボネート、ポリブタジエン、ポリエステル、ポリヒドロキシブチリン酸、ポリメチルメタクリレート、ポリメタクリル酸エステル、ポリオルトエステル、ポリプロピレン、多糖類、ポリスチレン、ポリビニールアセタリジエチルアミノアセテート、ポリビニールアセテート、ポリビニールアルコール、ポリビニールブチラール、ポリビニールフォーマル、蛋白質、塩化ビニール - プロピレン - 酢酸ビニール共重合体、塩化ビニール - 酢酸ビニール共重合体、ワックス類、高分子脂肪酸類から選択されるどの1種以上を含むことを特徴とする、前記の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法に関する。

10

#### 【0013】

さらに本発明は、薬物が、生理活性ペプチド及び蛋白質、抗癌剤、抗生剤、解熱剤、鎮痛剤、抗炎症剤、去痰剤、鎮静剤、筋肉弛緩剤、癲癇治療剤、抗潰瘍剤、抗憂鬱症剤、抗アレルギー剤、強心剤、抗不整脈剤、血管拡張剤、低血圧性利尿剤、糖尿病治療剤、過脂質血症治療剤、抗凝固剤、溶血剤、抗結核剤、ホルモン、麻酔拮抗剤、骨吸収抑制剤、骨形成促進剤及び血管形成抑制剤を含む薬物で、これら薬物が塩の形態になっているものを含むことを特徴とする、前記の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法に関する。

#### 【0014】

20

また本発明は、1次油相又はエマルジョンにおいて、薬物の含量は1%～50%、高分子の濃度は5%～50%であることを特徴とする、前記の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法に関する。

さらに本発明は、薬物が酢酸ゴセレリン(goserelin acetate)、酢酸ナファレリン(nafarelin acetate)、酢酸ブセレリン(buserelin acetate)及び酢酸ロイプロレリン(Leuprolin acetate)を含むことを特徴とする、前記の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法に関する。

#### 【0015】

また本発明は、生分解性高分子が、ラクチドとグリコライドのモル比が45:55～55:45であり、重量平均分子量が6,000～10,000及び25,000～35,000である高分子を同時に又は順次水相に分散させることにより、長期間持続的に薬物を放出することを特徴とする、前記の多重エマルジョン法による徐放出性微粒球の製造方法に関する。

30

#### 【0016】

本発明は、一定期間持続的に薬物を放出し得る徐放出性製剤の製造方法であり、従来の高分子混合法により製造された方法に比べて放出期間を易しく調節することができ、特に、全体放出期間を変化させなく、初期放出量を調節することができる。本発明は、適当な高分子の組成、分子量又は溶媒の組成及び濃度、添加剤などを1次油相又はエマルジョン段階でそれぞれ多様に調節することにより、1工程で徐放出性製剤を製造する方法で、その製造過程は次の3段階と要約できる。

40

(第1段階)薬物及び生分解性高分子の種類、組成又は濃度のうち、2種以上の物理的又は化学的性質の異なる1次油相又はエマルジョン(Oil又はwater in oil)を製造する。

(第2段階)製造された2種以上の1次油相又はエマルジョンを1種の水相に分散させる。

(第3段階)分散された微粒球から有機溶媒を除去して微粒子を得る。

前記第2段階において、2種以上の1次油相又はエマルジョンを1種の水相に分散させる方法をより具体的に説明すると、2種以上の1次油相又はエマルジョンを同時又は連続的に1種の水相に分散させるか、第1の1次エマルジョンを水相に分散させた後、水相の物理的又は化学的要素を変換させた後、第2の1次エマルジョンを分散させることができる。ここで、“水相の物理的又は化学的要素の変化”とは、ミキサーの速度又は水相の量、

50

水相に含有された乳化剤、添加剤の濃度、温度などを意味する。

【 0 0 1 7 】

【 発明の実施の形態 】

以下に本発明の実施の形態について詳細に説明する。

本発明に使用できる生分解性高分子化合物としては、酢酸セルロース (cellulose acetate)、酢酸セルロースプロピオネート (cellulose acetate propionate)、セルロースブチレート (cellulose butyrate)、セルロースプロピオネート (cellulose propionate)、セルロースパラレート (cellulose valerate)、クマロンインデンポリマー (cumaroneindene polymer)、ジブチルアミノヒドロキシプロピルエーテル (dibutylaminohydroxypropyl ether)、エチルセルロース (ethyl cellulose)、エチレン - ビニールアセテート (ethylene-vinyl acetate) 共重合体、グリセロールジステアレート (glycerol distearate)、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート (hydroxypropylmethyl cellulose phthalate)、2 - メチル - 5 - ビニールピリジンメタクリレート - メタクリル酸 (2-methyl-5-vinylpyridine methacrylate-methacrylic acid) 共重合体、

10

【 0 0 1 8 】

ポリアミノ酸 (polyamino acids)、ポリアンハイドリド (polyanhydrides)、ポリカプロラクトン (polycaprolactone)、ポリカーボネート (polycarbonate)、ポリブタジエン (polybutadiene)、ポリエステル (polyesters)、ポリヒドロキシブチリン酸 (polyhydroxybutyric acid)、ポリメチルメタクリレート (polymethyl methacrylate)、ポリメタクリル酸エステル (polymethacrylic acid ester)、ポリオルトエステル (polyorthoesters)、ポリプロピレン (polypropylene)、多糖類 (alginic acid, chitin, chitosan, chondroitin, dextrin, dextran, hyaluronic acid, heparin, keratan sulfate, starch)、ポリスチレン (polystyrene)、ポリビニールアセタールジエチルアミノアセテート (polyvinyl acetal diethylamino acetate)、ポリビニールアセテート (polyvinyl acetate)、

20

【 0 0 1 9 】

ポリビニールアルコール (polyvinyl alcohol)、ポリビニールブチラール (polyvinyl butyral)、ポリビニールフォーマル (polyvinyl formal)、蛋白質 (albumin, casein, collagen, fibrin, fibrinogen, gelatin, hemoglobin, transferrin, zein)、塩化ビニール - プロピレン - 酢酸ビニール (vinylchloride-propylene-vinylacetate) 共重合体、塩化ビニール - 酢酸ビニール共重合体 (vinylchloride -vinylacetate polymer)、ワックス類 (beef tallow, whale wax, bees wax, paraffin wax, castor wax)、高分子脂肪酸類 (myristic, palmitic, stearic, behenic acids) などがある。前記高分子のなかでも、更に好ましくは、ポリラクチド (polylactides)、ポリグリコライド (polyglycolides)、これらの共重合体であるポリラクチド - コ - グリコライド (polylactide-co-glycolides, PLGA) などの脂肪族ポリエステル系が使用できる。

30

【 0 0 2 0 】

前記生分解性高分子のうち、PLGA を例として本発明をより詳細に説明する。PLGA は生体内で最終的に乳酸 (lactic acid) とグリコール酸 (glycolic acid) の単量体に分解されるので、生体適合性が認められた物質で、無害であることがよく知られており、米国 FDA から許可された物質で、既に前立腺癌の治療剤として使用される LHRH 同族体と小児矮小症患者に投与される人間成長ホルモンの持続性薬物放出剤形として使用されている。PLGA は、単量体である乳酸とグリコール酸の比、分子量、親水性などの物理的特性によって、多様な種類が存在し、これらはそれぞれ生体内で短くは 2 週から長くは数ヶ月の期間にわたって分解される特性を有する。

40

【 0 0 2 1 】

本発明による微粒球の製造方法のうち、第 1 段階において、2 種以上の 1 次油相又はエマルジョンを製造する例として、第 1 の 1 次油相は、薬物と生体分解速度が比較的短い PLGA、つまり単量体比が 50 : 50、又は親水性の高い PLGA (例えば、末端にカルボキシ残基を含有する PLGA : RG502H, RG503H など)、又は分子量の小さい PLGA を有機溶媒に溶解させて製造し、第 2 の 1 次油相は薬物と生体分解速度が比較的長い PLG

50

A、つまり単量体比が75：25、又は親水性が低いPLGA(例えば、末端のカルボキシル基がドデシル基などで置換されたPLGA：RG502, RG503 など)、又は分子量の大きいPLGAを有機溶媒に溶解させることにより製造することができる。薬物が水溶性である場合には、前述した事項のうち、薬物を水溶液に溶解させ、それぞれの高分子が溶解された油相にエマルジョン状態に分散させることにより、2以上の1次エマルジョンを製造することができる。

#### 【0022】

更にほかの例としては、それぞれの1次油相又はエマルジョンを製造するとき、生分解性高分子は同一物質を使用するが、薬物の種類は相違し得る。具体的に、LHRH(Leutenizing Hormone Releasing Hormone)の同族体を、例えば、第1の1次油相では、LHRH同族体のなかで拮抗物質(antagonist)の1種を溶解させ、第2の1次油相では、LHRH同族体のなかで作用物質(agonist)の1種を溶解させることにより、2種の相違した1次油相を製造することができる。また、高分子の種類又は薬物の種類が互いに異なる2種を使用しなくても、1種の薬物と1種の高分子によっても物理的又は化学的性質の異なる2種以上の油相又はエマルジョンを製造することができる。例えば、2種の1次油相又はエマルジョンにおいて、薬物又は高分子の重量比、有機溶媒に対する薬物又は高分子の重量比、使用される有機溶媒の比(有機溶媒の混合物を使用する場合)、水溶液と有機溶媒の比(水溶性薬物の場合、つまりW/O/W法)などを異なるように調節することで可能なものである。

#### 【0023】

このような媒介変数の差により製造された微粒球は構造形態学的に互いに異なる特性を有し、一般に、薬物の放出速度も互いに異なる。例えば、通常、高分子の有機溶媒に対する重量比が増加すると1次油相又はエマルジョンの粘度が増加して薬物の封入率が増加し、微粒球の大きさも相対的に大きくなる。更にほかの例として、通常、薬物が水溶性である場合、薬物の含有率が高くなると生体内放出速度が増加し、脂溶性の場合、薬物の含有率が高くなると、放出速度が減少する傾向を示す。有機溶媒の混合物を使用する場合にも、それぞれの有機溶媒の水に対する溶解度又は沸点などの差により2次水相に分散されたエマルジョンでの有機溶媒の抽出又は蒸発速度が互いに異なるため、その結果、微粒球の特性が変化し、薬物の放出速度も影響を受けることになるものである。

#### 【0024】

本発明による微粒球の製造方法において、第2段階で製造された2種以上の1次油相又はエマルジョンを1種の水相に分散させる方法の具体的な例を挙げると次のようである。最も簡単な例としては、1種の水相に2種以上の1次油相又はエマルジョンを同時に分散させる方法、又は第1の1次油相又はエマルジョンを分散させ、直ちに第2の1次油相又はエマルジョンを分散させる方法である。通常、このような方法においては、水相の量を十分に使用することにより、全ての1次油相又はエマルジョンに存在する有機溶媒を十分に抽出又は蒸発させることができなければならない。

#### 【0025】

これとは異なり、第1の1次油相又はエマルジョンを水相に分散させた後、“水相の物理化学的要素”を変換させた後、第2の1次油相又はエマルジョンを水相に分散させる方法も使用できる。“水相の物理化学的要素”とは、前述したように、ミキサーの速度又は水相の量、水相に含有された乳化剤、添加剤の濃度、温度などを意味するもので、これらの変化による微粒球の特性変化を説明するとつぎのようである。

#### 【0026】

一般に、ミキサーの速度が増加するにしたがってエマルジョンの大きさが小さくなり、これにより微粒球の大きさも小さくなる。水相の量が増加すると、エマルジョンからの有機溶媒の抽出速度も速くなって、生分解性高分子の固化化が早く起こり、微粒球の大きさも大きくなる。水相の温度は有機溶媒の蒸発速度に影響を及ぼすので、温度が高くなるほど蒸発速度が速くなる。生分解性高分子の固化化速度、微粒子の大きさなどによって、究極的には薬物の放出速度も影響を受けることになる。

## 【 0 0 2 7 】

したがって、第1の1次油相又はエマルジョンを分散させた後、水相の量を増加させるか、温度を高くして、有機溶媒をどの程度除去すると、第2の1次油相又はエマルジョンに存在する有機溶媒を十分に抽出し得ることになるものである。したがって、2種以上の1次油相又はエマルジョンを1種の水相に分散させる際、それぞれの1次油相又はエマルジョンに存在する有機溶媒の種類、量などを考慮し、かつ水相の量又は温度なども顧慮して微粒球を製造すべきである。

本発明に提供し得る薬物としては、生理活性ペプチド及び蛋白質、抗癌剤、抗生剤、解熱剤、鎮痛剤、抗炎症剤、去痰剤、鎮静剤、筋肉弛緩剤、癲癇治療剤、抗潰瘍剤、抗憂鬱症剤、抗アレルギー剤、強心剤、抗不整脈剤、血管拡張剤、低血圧性利尿剤、糖尿病治療剤、過脂質血症治療剤、抗凝固剤、溶血剤、抗結核剤、ホルモン、麻酔拮抗剤、骨吸収抑制剤、骨形成促進剤及び血管形成抑制剤を含む。

10

## 【 0 0 2 8 】

生理活性ペプチドと蛋白質は2種以上のアミノ酸で、分子量が約200～100,000であり、これらペプチド及び蛋白質薬物の例としては、人間成長ホルモン、成長ホルモン放出ホルモン、成長ホルモン放出ペプチド、インターフェロン、コロニー刺激因子、インタールキン、マクロファージ活性因子、マクロファージペプチド、B細胞因子、T細胞因子、蛋白質A、アレルギー抑制因子、細胞怪死糖蛋白質、免疫毒素、リンホトキシン、腫瘍抑制因子、転移成長因子、アルファ-1アンチトリプシン、アルブミンとその断片ポリペプチド、アポリポ蛋白質-E、エリスロポイエチン、因子VII、因子VIII、因子IV、プラズミノゲン活性因子、ウロキナーゼ、ストレプトキナーゼ、蛋白質C、C-反応性蛋白質、レニン抑制剤、コラゲナーゼ抑制剤、スーパーオキシドディスムターゼ、血小板由来成長因子、表皮成長因子、カチリジ誘導因子、結合組織活性因子、濾胞刺激ホルモン、黄体形成ホルモン、黄体形成ホルモン放出ホルモン、神経成長因子、パラチオイドホルモン、レラキシン、シクレチン、ゾマトメジン、インシュリン-類似成長因子、アドレノコルチコトロフィックホルモン、グルカゴン、コロシストキニン、膵臓ポリペプチド、ガストリン放出ペプチド、コルチコトロピン放出因子、チロイド刺激ホルモン、各種ウィルス、バクテリア、毒素などに対する単クローン性又はポリクローン性抗体、各種ウィルス由来ワクチン抗原などを含む。

20

## 【 0 0 2 9 】

抗癌剤の例としては、ブレオマイシン(bleomycin)、メトトレキサート(methotrexate)、アクチノマイシンD(actinomycin D)、マイトマイシンC(mitomycin C)、ビンブラスチン硫酸塩(binblastin sulfate)、ピンクリスチン硫酸塩(bincristin sulfate)、ダウノルビシン(daunorubicin)、アドリアマイシン(adriamycin)、ネオカルチノスタチン(neocartinstatin)、シトシンアラビノシド(cytosinearabioside)、フルオロウラシル(fluorouracil)、テトラヒドロフリル-5-フルオロウラシル(tetrahydrofuryl-5-fluorouracil)、クレスチン(krestin)、ピシバニル(Picibanil)、レンチナン(lentinan)、レバミゾール(levamisole)、ベスタチン(bestatin)、アジメキソン(azimexon)、グリシリジン(glycyrrhizin)、ポリル類(polyI:C, polyA:U, polyICLC)などがある。

30

## 【 0 0 3 0 】

抗生剤の例としては、ゲンタマイシン(gentamicin)、ジベカシン(dibekacin)、カネンドマイシン(kanendomycin)、リビドマイシン(lividomycin)、トブラマイシン(tobramycin)、アミカシン(amikacin)、フラジオマイシン(fradiomycin)、シソマイシン(sisomycin)、テトラサイクリン塩酸塩(tetracycline hydrochloride)、オキシテトラサイクリン塩酸塩(oxytetracycline hydrochloride)、ロリテトラサイクリン(rolitetracycline)、ドキシサイクリン塩酸塩(doxycycline hydrochloride)、アンピシリン(ampicillin)、ピペラシリン(piperacillin)、チカルシリン(ticarcillin)、セファロシン(cefalothin)、セファロリジン(cefaloridine)、セフォチアム(cefotiam)、セフスロジン(cefsulodin)、セフメノキシム(cefmenoxime)、セフメタゾanalgesール(cefmetazole)、セファゾリン(cefazolin)、セフォタキシム(cefotaxime)、セフォペラゾン(cefoperazon)、セフチゾキシム(ceft

40

50



izoxime)、モキサラクタム(mochisalactam)、チエナマイシン(thienamycin)、スルファゼシン(sulfazecin)及びアズトレオナム(aztreonam)などがある。

【 0 0 3 1 】

解熱剤の例としては、アナルジーグ(analgesics)とサリチン酸を含有する抗炎症剤(anti-inflammatory agents include salicylic acid)、スルピリン(sulpyrine)、フルフェナム酸(flufenamic acid)、ジクロフェナク(diclofenac)、インドメタシン(indomethacin)、モルヒネ(morphine)、ペチジン塩酸塩(pethidine hydrochloride)、レボルファノールタートラート(levorphanol tartrate)及びオキシモルホン(oxymorphone)などがある。

【 0 0 3 2 】

鎮痛剤の例としては、エフェドリン塩酸塩(ephedrine hydrochloride)、メチルエフェドリン塩酸塩(methylephedrine hydrochloride)、ノスカピン塩酸塩(noscapine hydrochloride)、コデイン燐酸塩(codeine phosphate)、ジヒドロコデイン燐酸塩(dihydrocodeine phosphate)、アロクラミド塩酸塩(allocramide hydrochloride)、クロフェダノール塩酸塩(clofedanol hydrochloride)、ピコペリダミン塩酸塩(picoperidamine hydrochloride)、クロペラスチン(chloperastine)、プロトキロール塩酸塩(protokylol hydrochloride)、イソプロテレノール塩酸塩(isoproterenol hydrochloride)、スルブタモール硫酸塩(sulbutamol sulfate)及びテルブタリン硫酸塩(terbutaline sulfate)などがある。

【 0 0 3 3 】

鎮静剤の例としては、クロルプロマジン(chlorpromazine)、プロクロルペラジン(prochlorperazine)、トリフルチオペラジン(trifluoperazine)、アトロピン硫酸塩(atropine sulfate)及びメチルスコポラミンプロミド(methylscopolamine bromide)などがある。

筋肉弛緩剤の例としては、プリジノールメタンサルフォナート(pridinol methanesulfonate)、塩化ツボクラリン(tubocurarine chloride)及びパンクロニウムブロミド(pancuronium bromide)などがある。

抗癲癇剤の例としては、フェニトイン含有アンチピレプチック(antiepileptics include phenytoin)、エトスクシミド(ethosuximide)、アセタゾールアミドソジウムクロルジアゼポキシド(acetazolamide sodium chlordiazepoxide)などがある。

【 0 0 3 4 】

抗潰瘍剤の例としては、メトクロプラミド(metoclopramide)とヒスチジン塩酸塩(histidine hydrochloride)などがある。

抗憂鬱症剤の例としては、イミプラミン(imipramine)、クロミプラミン(clomipramine)、ノキシプチリン(noxiptiline)及びフェネルジン硫酸塩(phenerdine sulfate)などがある。

抗アレルギー剤の例としては、ジフェンヒドラミン塩酸塩(diphenhydramine hydrochloride)、クロルフェニラミンマレアート(chlorpheniramine maleate)、トリペレナミン塩酸塩(tripelenamine hydrochloride)、メスジラジン塩酸塩(methdilazine hydrochloride)、クレミゾール塩酸塩(clemizole hydrochloride)、ジフェニルピラリン塩酸塩(diphenylpyraline hydrochloride)及びメトキシフェナミン塩酸塩(methoxyphenamine hydrochloride)などがある。

【 0 0 3 5 】

強心剤の例としては、トランス - パイオキソカンファー(trans-paioxocamphor)、テオピロール(theophyllol)、アミノフィリン(aminophylline)とエチレフリン塩酸塩(etilefrine hydrochloride)などがある。

抗不整脈剤の例としては、プロプラノール(propranol)、アルブレノロール(alprenolol)、ブフェトロール(bufetolol)及びオキシプレノロール(oxoprenolol)などがある。

血管拡張剤の例としては、オキシフェドリン塩酸塩(oxyfedrine hydrochloride)、ジルチアゼム(diltiazem)、トラゾリン塩酸塩(tolazoline hydrochloride)、ヘキシベンジン(hexobendine)及びバメタン硫酸塩(bamethan sulfate)などがある。

【 0 0 3 6 】

10

20

30

40

50

低血圧性利尿剤の例としては、ヘキサメトニウムブロミド(hexamethonium bromide)、ペントリーウム(pentolinium)、メカミラミン塩酸塩(mecamylamine hydrochloride)、エカラジン塩酸塩(ecarazine hydrochloride)及びクロニジン(clonidine)などがある。

糖尿病治療剤の例としては、グリミジンソジウム(glymidine sodium)、グリピジド(glipizide)、フェンホルミン塩酸塩(fenformin hydrochloride)、ブホルミン塩酸塩(buformin hydrochloride)及びメトホルミン(metformin)などがある。過脂質血症治療剤の例としては、プラバスタチンソジウム(pravastatin sodium)、シンバスタチン(simvastatin)、クリノフィブレート(clinofibrate)、クロフィブレート(clofibrate)、シンフィブレート(simfibrate)及びベザフィブレート(bezafibrate)などがある。

#### 【 0 0 3 7 】

抗凝固剤の例としては、ヘパリンソジウム(heparin sodium)などがあり、溶血剤の例としては、トロンボプラスチン(thromboplastin)、トロンビン(thrombin)、メナジオン塩(menadione sodium hydrogen sulfite)、アセトメナフトン(acetomenaphthone)、トラネキサム酸(tranexamic acid)、カルバゾクロム硫酸塩(carbazochrome sodium sulfonate)及びアドレクロム塩(adrenochrome monoaminoguanidine methanesulfonate)がある。

#### 【 0 0 3 8 】

抗結核剤の例としては、イソニアジド(isoniazid)、エタンブトール(ethambutol)及びパラ-アミノサリチル酸(p-aminosalicylic acid)などがある。

ホルモンの例としては、プレドニゾロン及び塩(predonizolone, predonizolone sodium phosphate)、デキサメタゾン硫酸塩(dexamethasone sodium sulfate)、ベータメタゾンリン酸塩(betamethasone sodium phosphate)、ヘキセストロールリン酸塩(hexestrol phosphate)、ヘキセストロール酢酸塩(hexestrol acetate)及びメチマゾール(methimazole)がある。

#### 【 0 0 3 9 】

麻酔拮抗剤の例としては、レバルロファンタートラート(levallorphan tartrate)、ナロルフィン塩酸塩(nalorphine hydrochloride)及びナロキソン塩酸塩(naloxone hydrochloride)があり、骨吸収抑制剤の例としては、イプリフラボン(ipriflavone)などがあり、骨形成促進剤の例としては、ポリペプチド類(polypeptides、例えば BMP, PTH, TGF-beta 及び IGF-1)などがある。

血管形成抑制剤の例としては、ステロイド(steroid)、フマギリン(fumagillin)及びフマギロール(fumagillol)誘導体がある。

#### 【 0 0 4 0 】

生理活性薬物は薬理的に適用可能な塩の形態(例えば、生理活性薬物がアミン基のような塩基性基を持っている場合、塩酸、硫酸、硝酸のような無機酸から製造された塩及び炭酸、琥珀酸から製造された有機酸、生理活性薬物がカルボキシル基のような酸性基をもっている場合、ナトリウム、カリウムのような無機塩により形成された塩、3エチルアミン、アルギニンのような塩基性有機化合物から形成された塩)からなり得る。

#### 【 0 0 4 1 】

##### 【実施例】

本発明をつぎの実施例に基づいてより詳細に説明するが、これら実施例が本発明の技術的範囲を限定するものではない。

(実施例 1)二重エマルジョン法によるブリリアントブルー含有微粒球 / ローダミン含有微粒球 (1:1) 混合体の製造

\_\_\_ブリリアントブルー(Brilliant Blue) 0.1 g をメタノール 1.5 g に溶解した後、R G 5 0 2 H(Boehringer Ingelheim製) 0.5 g をメチレンクロライド 2.0 g に溶解した高分子溶液に分散して 1 次エマルジョン(DP1)を製造した。ローダミン(Rhodamin B) 0.1 g をメタノール 1.5 g に溶解した後、R G 5 0 2 H 0.5 g をメチレンクロライド 2.0 g に溶解した高分子溶液に分散して 1 次エマルジョン(DP2)を製造した。製造された 1 次エマルジョン(DP1)と 1 次エマルジョン(DP2)を順次、予め 25 に調節された 0.5 % ポリビニールアルコールを含有する 250 ml の蒸留水溶液に 3,500 rpm のホモゲナ

10

20

30

40

50

イザーで分散させた。ホモゲナイザーの速度を3,000 rpmに調節し、15分間エマルジョンを形成した後、40℃に温度を上昇させ、1時間有機溶媒を蒸発除去して、固形化された微粒球を製造した。図1aはこれの光学顕微鏡写真である。

【0042】

(比較例1)

A：ブリリアントブルー含有微粒球の製造

ブリリアントブルー0.2gをメタノール3gに溶解した後、RG502H 1gをメチレンクロライド2.0gに溶解した高分子溶液に分散して1次エマルジョンを製造した。製造された1次エマルジョンを、予め25℃に調節された0.5%ポリビニールアルコールを含有する250mlの蒸留水溶液に3,500 rpmのホモゲナイザーで分散させた。ホモゲナイザーの速度を3,000 rpmに調節し、15分間エマルジョンを形成した後、40℃に温度を上昇させ、1時間有機溶媒を蒸発除去して、固形化された微粒球を製造した。図1bはこれの光学顕微鏡写真である。

10

【0043】

B：ローダミン含有微粒球の製造

ローダミン0.2gをメタノール3gに溶解した後、RG502H 1gをメチレンクロライド2.0gに溶解した高分子溶液に分散して1次エマルジョンを製造した。製造された1次エマルジョンを、予め25℃に調節された0.5%ポリビニールアルコールを含有する250mlの蒸留水溶液に3,500 rpmのホモゲナイザーで分散させた。ホモゲナイザーの速度を3,000 rpmに調節し、15分間エマルジョンを形成した後、40℃に温度を上昇させ、1時間有機溶媒を蒸発除去して、固形化された微粒球を製造した。図1cはこれの光学顕微鏡写真である。

20

【0044】

C：高分子混合法によるブリリアントブルー/ローダミン(1:1)含有微粒球の製造

ブリリアントブルー0.1gとローダミン0.1gをメタノール3gに溶解した後、RG502H 1gをメチレンクロライド2.0gに溶解した高分子溶液に分散して1次エマルジョンを製造した。製造された1次エマルジョンを、予め25℃に調節された0.5%ポリビニールアルコールを含有する250mlの蒸留水溶液に3,500 rpmのホモゲナイザーで分散させた。ホモゲナイザーの速度を3,000 rpmに調節し、15分間エマルジョンを形成した後、40℃に温度を上昇させ、1時間有機溶媒を蒸発除去して、固形化された微粒球を製造した。図1dはこれの光学顕微鏡写真である。

30

【0045】

実施例1、比較例1A、比較例1B及び比較例1Cにより製造された微粒子に対する光学顕微鏡写真を図1a、図1b、図1c、図1dにそれぞれ示した。実施例1により製造された微粒子は、比較例1のAとBにより製造された微粒子が1:1で混合されている形態を取っていることを知り得る反面、比較例1Cの高分子混合法により製造された微粒子の場合には2色が混合された形態を取っている。

【0046】

(実施例2)最小28日持続的な放出のための酢酸ロイプロレリン含有生分解性微粒球の製造

40

A型：酢酸ロイプロレリン(leuprorelin acetate)62.5mgをメタノール0.28gに溶解した後、ラクチドとグリコライドが50:50で、平均分子量が8,600であるPLGA(RG502H, Boehringer Ingelheim)0.438gをメチレンクロライド1.125gに溶解した高分子溶液に分散して1次エマルジョン(DP1)を製造した。酢酸ロイプロレリン62.5mgをメタノール0.37gに溶解した後、ラクチドとグリコライドが50:50で、平均分子量が33,000であるPLGA(RG503H, Boehringer Ingelheim)0.438gをメチレンクロライド1.313gに溶解した高分子溶液に分散して1次エマルジョン(DP2)を製造した。製造された1次エマルジョン(DP1)と1次エマルジョン(DP2)を順次、予め25℃に調節された0.3%ポリビニールアルコールを含有する250mlの蒸留水溶液に3,500 rpmのホモゲナイザーで分散させた。ホモゲナイザーの速度を3,0

50

0 0 rpmに調節し、1 5 分間エマルジョンを形成した後、4 0 に温度を上昇させ、2 時間有機溶媒を蒸発除去して、固形化された微粒球を製造した。

【0 0 4 7】

本発明により製造された微粒球の走査電子顕微鏡写真を図 2 a (100倍拡大)及び図 2 b (80倍拡大)に示した。図 2 b の拡大された写真の右側に見える微粒球は多孔性を有するもので、D P 1 により 5 0 2 H 高分子から由来したものであり、左側は非多孔性を有するもので、D P 2 の 5 0 3 H から由来したものであることが確実に区分される。

B 型：酢酸ロイプロレリン(leuprorelin acetate) 7 5 mgをメタノール 0 . 2 7 g に溶解した後、R G 5 0 2 H 0 . 4 2 5 g をメチレンクロライド 1 . 9 0 3 g に溶解した高分子溶液に分散して 1 次エマルジョン(DP1)を製造した。酢酸ロイプロレリン 7 5 mgをメタノール 0 . 3 6 g に溶解した後、R G 5 0 3 H 0 . 4 2 5 g をメチレンクロライド 1 . 2 7 5 g に溶解した高分子溶液に分散して 1 次エマルジョン(DP2)を製造した。以下、実施例 2 の A 型と同様に行って微粒球を製造した。

【0 0 4 8】

(比較例 2 )

A：酢酸ロイプロレリンを含有する R G 5 0 2 H 微粒球の製造

酢酸ロイプロレリン 6 2 . 5 mgをメタノール 0 . 2 8 g に溶解した後、R G 5 0 2 H 0 . 4 3 8 g をメチレンクロライド 1 . 1 2 5 g に溶解した高分子溶液に分散して 1 次エマルジョンを製造した。製造された 1 次エマルジョンを、予め 2 5 に調節された 0 . 3 %ポリビニールアルコールを含有する 1 2 5 ml の蒸留水溶液に 3 , 5 0 0 rpm のホモゲナイザーで分散させた。以後は実施例 2 の A 型と同様に行って微粒球を製造した。

【0 0 4 9】

B：酢酸ロイプロレリンを含有する R G 5 0 3 H 微粒球の製造

酢酸ロイプロレリン 6 2 . 5 mgをメタノール 0 . 3 7 g に溶解した後、R G 5 0 3 H 0 . 4 3 8 g をメチレンクロライド 1 . 3 1 3 g に溶解した高分子溶液に分散して 1 次エマルジョンを製造した。製造された 1 次エマルジョンを、予め 2 5 に調節された 0 . 3 %ポリビニールアルコールを含有する 1 2 5 ml の蒸留水溶液に 3 , 5 0 0 rpm のホモゲナイザーで分散させた。以後は実施例 2 の A 型と同様に行って微粒球を製造した。

【0 0 5 0】

C：酢酸ロイプロレリンを含有する R G 5 0 2 H / R G 5 0 3 H (1:1)微粒球の製造

酢酸ロイプロレリン 1 2 5 mgをメタノール 0 . 6 5 g に溶解した後、R G 5 0 2 H 0 . 4 3 8 g と R G 5 0 3 H 0 . 4 3 8 g がメチレンクロライド 2 . 4 3 8 g に一緒に溶解された高分子溶液に分散して 1 次エマルジョンを製造した。製造された 1 次エマルジョンを、予め 2 5 に調節された 0 . 3 %ポリビニールアルコールを含有する 2 5 0 ml の蒸留水溶液に 3 , 5 0 0 rpm のホモゲナイザーで分散させた。以後は実施例 2 の A 型と同様に行って微粒球を製造した。

【0 0 5 1】

(試験例 1) In vitro 薬物放出試験

本発明の実施例 2 と比較例 2 で製造された微粒球と、対照群として市中に流通されているロイプリン(Leuplin; 日本国タケダ社製)とに対して in vitro 放出試験を比較するために、つぎのように実施した。それぞれ 5 mg の凍結乾燥された微粒球をそれぞれ 0 . 0 3 3 M 磷酸塩緩衝液(pH 7.0)が入っている 3 5 個の試験管に分散させた後、3 7 で放出した。試験日は 0 . 2 5、1、4、7、1 4、2 1、2 8 日とし、各試験日に、5 個の試験管から試料を採取した後、遠心分離して得た微粒球をメチレンクロライド/アセテート緩衝液(1:1, v/v)で抽出して、アセテート層に移行されたロイプロリドの量を H P L C により決定した。この際に、分析条件は 0 . 1 % 3 フッ素化アセト酸を含有する 2 8 % アセトニトリル水溶液を移動相として 2 8 0 nm で流速 1 . 0 ml/min で測定して図 3 に示した。

【0 0 5 2】

(試験例 2) ロイプロレリンの血中濃度試験

実施例 2 で製造された微粒球と対照群として市中に流通されているロイプリン(日本国タ

10

20

30

40

50

ケダ社製)とを比較するために、ネズミに投与した後、時間経過による血中濃度の変化を測定した。試験に使用された動物は、10匹のSD系雄性白ネズミが使用された。実施例2の微粒球とロイプリンをそれぞれ5匹のネズミに筋肉注射で投与した。投与量はネズミ当たり0.9mgとし、投与後、血中濃度を、1、3、7、14、21、28、35日に尻尾静脈から採取した血液から測定して図4に示した。

#### 【0053】

##### (試験例3)テストステロンの血中濃度試験

実施例2で製造された微粒球と流通されているロイプリン(日本国タケダ社製)とを比較するために、ネズミに投与した後、時間経過による血中濃度の変化を測定した。試験に使用された動物は、10匹のSD系雄性白ネズミが使用された。実施例2の微粒球とロイプリンをそれぞれ5匹のネズミに筋肉注射で投与した。投与量は体重1kg当たり3mgとし、投与後、血中濃度を、0.25、1、3、7、14、21、28、35日に尻尾静脈から採取した血液から測定して図4に示した。

10

#### 【0054】

##### (実施例3)最小2ヶ月持続的な放出のためのアドリアマイシン含有生分解性微粒球の製造

アドリアマイシン(adriamycin)20mgをメタノール0.563gに溶解した後、RG502H 0.875gをメチレンクロライド2.253gに溶解した高分子溶液に分散して1次エマルジョン(DP1)を製造した。アドリアマイシン15mgをメタノール0.735gに溶解した後、ラクチドとグリコライドのモル比が50:50で、平均分子量が14,500であるPLGA(RG502, Boehringer Ingelheim)0.875gをメチレンクロライド2.624gに溶解した高分子溶液に分散して1次エマルジョン(DP2)を製造した。製造された1次エマルジョンDP1とDP2を同時に、予め25に調節された0.3%ポリビニールアルコールを含有する500mlの蒸留水溶液に3,500rpmのホモゲナイザーで分散させた。以後は実施例2のA型と同様に行って微粒球を製造した。

20

#### 【0055】

##### (実施例4)最小3ヶ月持続的な放出のための酢酸ロイプロレリン含有生分解性微粒球の製造

A型: 酢酸ロイプロレリン62.5mgをメタノール0.282gに溶解した後、RG502H 0.438gをメチレンクロライド1.217gに溶解した高分子溶液に分散して1次エマルジョン(DP1)を製造した。酢酸ロイプロレリン187.5mgをメタノール0.492gに溶解した後、平均分子量が15,000であるポリラクチド(PLA0015, 日本国Wako社製)1.3gをメチレンクロライド1.97gに溶解した高分子溶液に分散して1次エマルジョン(DP2)を製造した。製造された1次エマルジョンDP1とDP2を順次、予め25に調節された0.3%ポリビニールアルコールを含有する500mlの蒸留水溶液に3,500rpmのホモゲナイザーで分散させた。以後は実施例2のA型と同様に行って微粒球を製造した。

30

#### 【0056】

B型: 酢酸ロイプロレリン125mgをメタノール0.328gに溶解した後、PLA0015 0.875gをメチレンクロライド1.3gに溶解した高分子溶液に分散して1次エマルジョンを製造した。製造された1次エマルジョン1/2を取り、予め10に調節された0.1%ポリビニールアルコールを含有する125mlの蒸留水溶液に3,500rpmのホモゲナイザーで分散させた。0.3%ポリビニールアルコールを含有する125mlの蒸留水溶液を徐々に加えた後、温度を25に調節し、残りの1次エマルジョンを分散させた。以後は実施例2のA型と同様に行って微粒球を製造した。

40

#### 【0057】

##### (実施例5)最小4ヶ月持続的な放出のための酢酸ロイプロレリン含有生分解性微粒球の製造

酢酸ロイプロレリン62.5mgをメタノール0.282gに溶解した後、RG502H 0.438gをメチレンクロライド1.127gに溶解した高分子溶液に分散して1次エマルジョン(DP1)を製造した。酢酸ロイプロレリン187.5mgをメタノール0.492

50

gに溶解した後、ラクチドとグリコライドのモル比が50：50で、分子量が14,500であるPLGA(RG502, Boehringer Ingelheim)1.3gをメチレンクロライド1.97gに溶解した高分子溶液に分散して1次エマルジョン(DP2)を製造した。製造された1次エマルジョンDP1及びDP2を順次、予め25に調節された0.3%ポリビニールアルコールを含有する500mlの蒸留水溶液に3,500rpmのホモゲナイザーで分散させた。以後は実施例2のA型と同様に行って微粒球を製造した。

【0058】

(実施例6)最小6ヶ月持続的な放出のための酢酸ロイプロレリン含有生分解性微粒球の製造

酢酸ロイプロレリン125mgをメタノール0.328gに溶解した後、PLA00150.875gをメチレンクロライド1.313gに溶解した高分子溶液に分散して1次エマルジョン(DP1)を製造した。酢酸ロイプロレリン125mgをメタノール0.735gに溶解した後、ラクチドとグリコライドのモル比が85：15で、分子量が220,000であるPLGA(RG858, Boehringer Ingelheim)0.875gをメチレンクロライド2.624gに溶解した高分子溶液に分散して1次エマルジョン(DP2)を製造した。製造された1次エマルジョンDP1及びDP2を順次、予め25に調節された0.3%ポリビニールアルコールを含有する500mlの蒸留水溶液に3,500rpmのホモゲナイザーで分散させた。以後は実施例2のA型と同様に行って微粒球を製造した。

【0059】

(実施例7)高分子の種類が異なる生分解性微粒球の製造

実施例2Aにしたがって、つぎのように生分解性高分子を取り替えて1次エマルジョンを形成して微粒球を製造した。

【0060】

【表1】

Lot No.	高分子(重量平均分子量)	
	DP1	DP2
DKLP134	ポリブタジエン(8000)	ポリラクチド(10000)
DKLP141	ポリヒドロキシブチレン(9000)	ポリビニールアセテート(12000)
DKLP146	ポリプロピレン(6000)	ポリブタジエン(15000)
DKLP153	ポリビニールアセテート(9000)	ポリプロピレン(18000)
DKLP155	ポリカプロラクトン(8500)	ポリブタジエン(13000)
DKLP162	ポリビニールブチラール(7000)	ポリスチレン(9000)
DKLP167	ポリスチレン(6000)	ポリヒドロキシブチレン(11000)

本発明は、以上の実施例、実験例、適用例から、つぎの表のように物理的又は化学的要素の異なる2種以上の1次エマルジョンを一定比で組合して所望期間持続的な放出を誘導し得る微粒子を製造することができる。つぎの表は高分子(分子量、親水性、高分子/有機溶媒、共重合体)、薬物、添加剤によるエマルジョンを単独で製造するときと理論的に組合するときの特徴を整理した。

【0061】

【表2】

10

20

30

40

物理的、化学的要素の変化による影響		エマルジョン単独製造時		理論組合
		エマルジョン1	エマルジョン2	
		放出速度速い	長期間放出、初期放出少ない	
高分子	分子量	小さい	大きい	全体的に 長期間持 続的に放 出
	親水性	高い	低い	
	高分子/有機溶媒	少ない	多い	
	ラクチド/グリコライド <sup>1)</sup>	少ない	多い	
薬物	薬物/高分子	多い	少ない	
添加剤 <sup>2)</sup>	含量	多い	少ない(又はない)	

10

<sup>1)</sup> ラクチド - グリコライド共重合体の場合

<sup>2)</sup>  $\text{Na}^+$  及び  $\text{Ca}^{++}$  などの塩、クエン酸(citric acid)、酒石酸(tartaric acid)などの酸類及びアミノ酸である。

#### 【0062】

前記において、組合は多様にでき、例えば、分子量の大きいもの、分子量の小さいもの、高分子と有機溶媒の比を変えたもの、添加剤を加えたものから4種の1次エマルジョンを製造し、水相に同時に又は順次分散させることにより、適当な期間の徐放性微粒球を製造することができる。

20

#### 【0063】

##### 【発明の効果】

以上説明したように、本発明は、単一工程により多様な薬物放出特性を有する微粒子の混合体を製造することにより、それぞれの放出特性がそのまま維持できる。したがって、各工程により製造された微粒子の薬物放出特性から理論的な組合により一定期間効果的に持続的な放出を誘導し得る微粒子製剤を提供することができる。

##### 【図面の簡単な説明】

【図1a】本発明の実施例1で製造された微粒球の光学顕微鏡写真である。

【図1b】比較例1Aで製造された微粒球の光学顕微鏡写真である。

【図1c】比較例1Bで製造された微粒球の光学顕微鏡写真である。

30

【図1d】比較例1Cで製造された微粒球の光学顕微鏡写真である。

【図2a】本発明の実施例2Aで製造された微粒球の100倍電子顕微鏡写真である。

【図2b】本発明の実施例2Aで製造された微粒球の800倍電子顕微鏡写真である。

【図3】本発明の実施例2と比較例2で製造された微粒球及びロイブリン製品のin vitro放出試験結果を示す図表である( - - : ロイブリン、 - - : 比較例2A、 - - : 実施例2A、 - - : 比較例2B、 - - : 実施例2B )

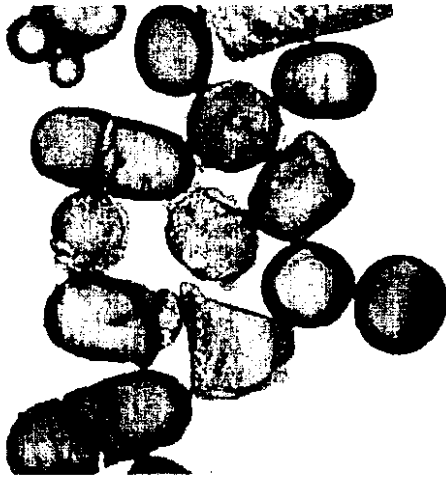
【図4】本発明の実施例2で製造された微粒球及びロイブリン製品のin vivo放出試験結果を示す図表である( - - : ロイブリン、 - - : 比較例2B、 - - : 実施例2A )

【図5】本発明の実施例2で製造された微粒球及びロイブリン製品によるin vivoテストステロン抑制結果を示す図表である( - - : 対照群、 - - : ロイブリン、 - - : 実施例2A、 - - : 実施例2B )

40

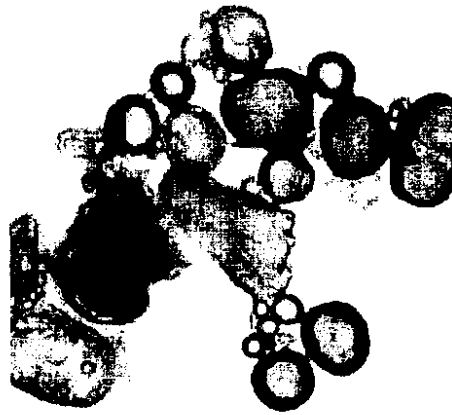
【図 1 a】

図 1a.



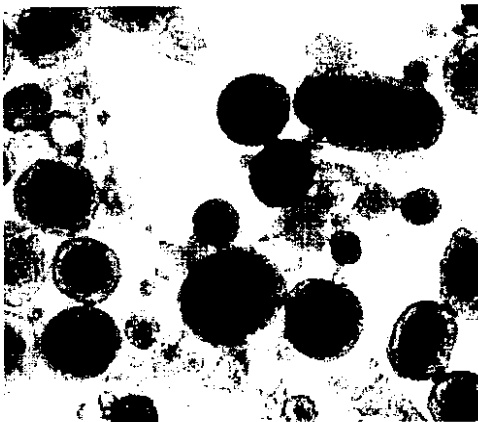
【図 1 b】

図 1b.



【図 1 c】

図 1c.



【図 1 d】

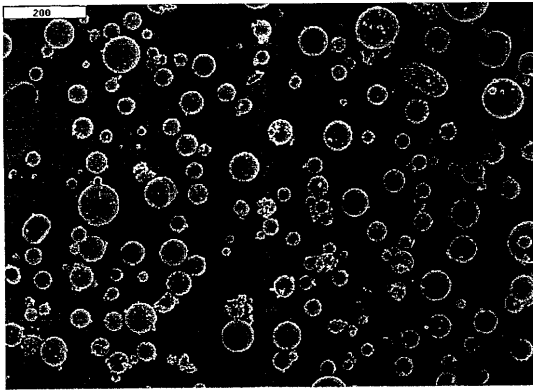
図 1d.





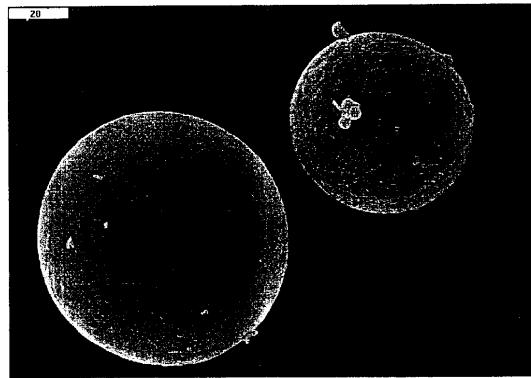
【図 2 a】

図 2a.



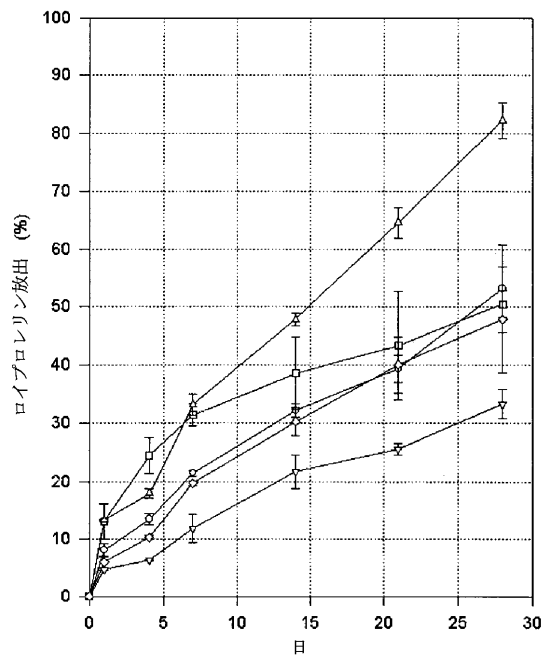
【図 2 b】

図 2b.



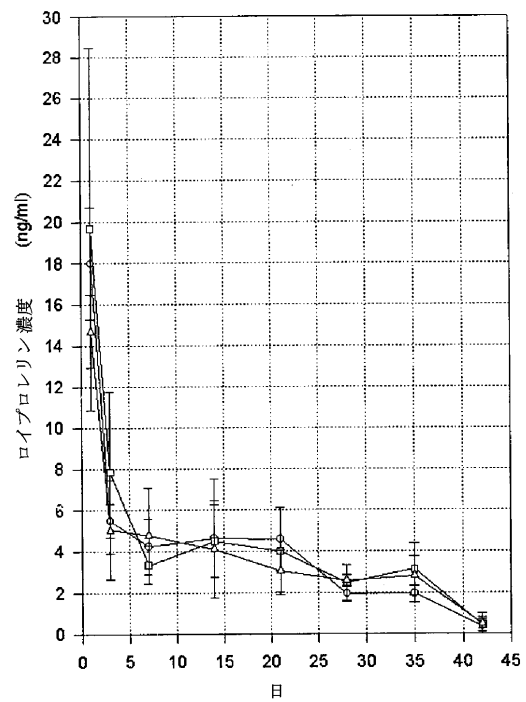
【図 3】

図 3.



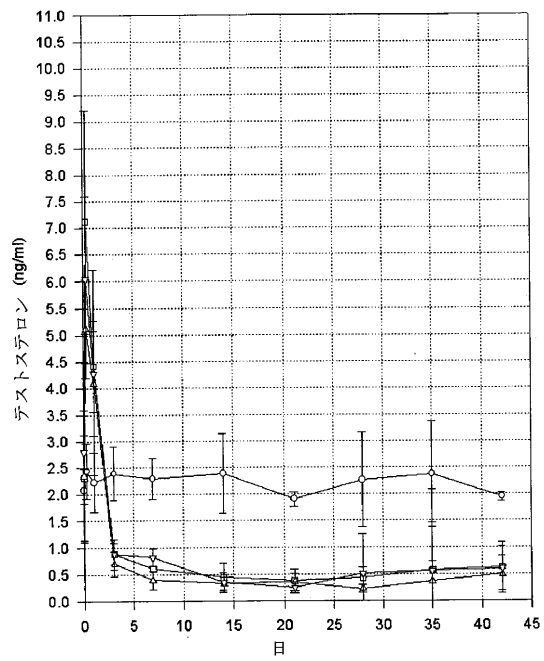
【図 4】

図 4.



## 【図 5】

図 5.



## フロントページの続き

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

F I

A 6 1 K 47/26

A 6 1 K 47/26

A 6 1 K 47/32

A 6 1 K 47/32

A 6 1 K 47/34

A 6 1 K 47/34

A 6 1 K 47/36

A 6 1 K 47/36

A 6 1 K 47/38

A 6 1 K 47/38

A 6 1 K 47/42

A 6 1 K 47/42

A 6 1 K 47/44

A 6 1 K 47/44

(72)発明者 金 東善

大韓民國 3 0 6 - 0 5 0 大田市 大 徳 区 中理洞 1 4 9 - 7

(72)発明者 林 一鎬

大韓民國 3 6 3 - 8 3 0 忠 清 北 道 清 原郡 文義面 頭毛里 6 5 6

(72)発明者 智 雄吉

大韓民國 1 3 7 - 0 3 0 ソウル特別市 西草区 蠶原洞 大林アパート 1 - 3 0 3

(72)発明者 明 平根

大韓民國 3 0 2 - 1 5 0 大田市 西区 萬年洞 6 9 - 3 0 1

(72)発明者 金 詳凡

大韓民國 5 7 3 - 3 2 0 全羅北 道 群山市 景岩洞 6 6 8 - 8

(72)発明者 鄭 求英

大韓民國 3 6 5 - 8 3 0 全羅北 道 鎭川郡 廣惠院面 廣惠院里 木花2次アパート 1  
6 0 1

審査官 伊藤 幸司

(56)参考文献 特開昭64 - 042420 ( J P , A )

特開平11 - 269094 ( J P , A )

特開平11 - 349688 ( J P , A )

(58)調査した分野(Int.Cl.<sup>7</sup> , D B名)

A61K9/00

A61K47/00