

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200480017777.3

[51] Int. Cl.

A61K 47/32 (2006.01)

A61K 47/10 (2006.01)

A61K 9/22 (2006.01)

A61K 9/70 (2006.01)

[45] 授权公告日 2009 年 7 月 8 日

[11] 授权公告号 CN 100509060C

[22] 申请日 2004.6.24

[21] 申请号 200480017777.3

[30] 优先权

[32] 2003.6.26 [33] IT [31] MI2003A001302

[86] 国际申请 PCT/EP2004/051226 2004.6.24

[87] 国际公布 WO2005/000277 英 2005.1.6

[85] 进入国家阶段日期 2005.12.23

[73] 专利权人 梅迪奥拉努姆制药有限公司

地址 爱尔兰都柏林

[72] 发明人 P·莫里亚克 P·玛丽昂

[56] 参考文献

US5520923A 1996.5.28

WO03041685A 2003.5.22

CN1329485A 2002.1.2

审查员 张玲玲

[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

代理人 黄革生 隗永良

权利要求书 2 页 说明书 9 页

[54] 发明名称

乙醇作为增塑剂来制备含分散于 PLGA 基质中的不耐热有效成分的皮下植入物的用途

[57] 摘要

使用乙醇作为增塑剂用于通过挤出方法制备含分散在基于 PLGA 的基质中的有效成分的皮下植入物可将通常高于 75℃ 的挤出温度降低到高于 PLGA 的 T_g 但是低于乙醇沸点而因此低于 70℃ 的温度。通过这种方式可以制备含不耐热有效成分(例如蛋白质)的皮下植入物。

1.用乙醇增塑的聚乳酸-乙醇酸，其用基本上由下列步骤组成的方法获得：

- a) 研磨聚乳酸-乙醇酸以获得研磨产物，其中颗粒大小低于 250 μm ；
- b) 在上阶段获得的研磨产物中加入浓度以与聚乳酸-乙醇酸的重量比为 5/1 到 20/1 份的乙醇，然后加热获得的混合物到 45-65°C 直到获得粘稠稳定的凝胶；
- c) 干燥步骤(b)获得的凝胶，直到聚乳酸-乙醇酸中乙醇浓度为按重量计占起始聚乳酸-乙醇酸重量的 10 到 30 % 之间
- d) 在 -20-+5°C 温度下研磨获得的干燥产物；
- e) 以 10:90 至 99:1 的重量比，-20-+5°C 之间的温度，任选地将来源于步骤 d) 的产物与按前述研磨到大小低于 250 μm 的聚乳酸-乙醇酸混合；
- f) 在 75°C 挤出来自步骤 e) 的混合物；
- g) 在 -20°C-+5°C 的温度下研磨挤出的产物。

2.权利要求 1 的增塑聚乳酸-乙醇酸，其含有占聚乳酸-乙醇酸重量 2-15 %浓度的乙醇。

3. 权利要求 2 的增塑聚乳酸-乙醇酸，其中所述乙醇浓度为聚乳酸-乙醇酸重量的 3-10%。

4. 权利要求 2 的增塑聚乳酸-乙醇酸，其中所述的浓度为聚乳酸-乙醇酸重量的 5-10%。

5.权利要求 1-4 中任一项的增塑乙醇，其中在阶段(b)以按重量计每份聚乳酸-乙醇酸 10 份乙醇的量加入乙醇。

6. 权利要求 1 的增塑乙醇，其中步骤(c)后所述的乙醇浓度按重量计为起始聚乳酸-乙醇酸重量的 20%。

7. 权利要求 6 的增塑乙醇，其中所述的干燥在 20-25°C 的气流下进行。

8. 权利要求 1 的增塑乙醇，其中(d)、(e)和(g)阶段研磨温度为 -10°C。

9. 权利要求 1 的增塑乙醇，其中阶段(e)中来源于阶段(d)的聚乳酸-乙

醇酸与所述经研磨的聚乳酸-乙醇酸的重量比为 16:84 至 40:60。

10. 通过挤出获得的皮下植入物，其含有分散于聚乳酸-乙醇酸中的治疗有效成分，其中聚乳酸-乙醇酸为如权利要求 1-10 中任一项的用乙醇增塑的聚乳酸-乙醇酸。

11. 权利要求 10 的皮下植入物，其中所述治疗有效成分是蛋白质。

12. 权利要求 10 的皮下植入物，其中所述治疗有效成分是疫苗。

13. 权利要求 10 的皮下植入物，其中所述治疗有效成分是抗体。

14. 权利要求 10 的皮下植入物，其中所述治疗有效成分是由于基因治疗的载体。

15. 制备权利要求 10-14 中任一项的皮下植入物的方法，其包含下列阶段：

i) 在 -20°C 至 $+5^{\circ}\text{C}$ 将有效成分与权利要求 1-10 中任一项的增塑聚乳酸-乙醇酸混合，

ii) 在低于 70°C 并且不低于 40°C 的温度下挤出来源于阶段(i)的研磨产物。

16. 权利要求 15 的方法，其中阶段(i)的温度为 -10°C 。

17. 权利要求 15 的方法，其中当阶段(i)使用含有占聚乳酸-乙醇酸重量 3-4 % 浓度的乙醇的增塑聚乳酸-乙醇酸时，阶段(ii)的温度为 40°C 到 60°C 。

18. 权利要求 15 的方法，其中当使用含有占聚乳酸-乙醇酸重量 5-10 % 浓度的乙醇的增塑聚乳酸-乙醇酸时，阶段(ii)的温度等于 40°C 。

乙醇作为增塑剂来制备含分散于 PLGA 基质中的不耐热有效成分的皮下植入物的用途

发明领域

本发明涉及乙醇作为增塑剂来制备含分散于 PLGA 基质中的不耐热有效成分的皮下植入物的用途。

背景技术

本领域目前水平中, PLGA 的挤出温度高于 75°C。通常, 挤出过程中的温度必须高于待挤出聚合物的 Tg 40-50°C。

用此类技术不可能制备含有分散于聚乳酸-乙醇酸(PLGA)基质中的不耐热有效成分的皮下植入物。

为用此种技术制备含此类型有效成分的皮下植入物, 必需降低挤出温度。通常为降低挤出温度会广泛使用在降低其 Tg 之后增加聚合物的柔性和可用性的增塑剂。聚合物中加入的增塑剂数量作为所需效果的函数变化。

增塑剂的基本要求为非挥发性的。当前的增塑剂为有机合成化合物。大多数情况下其为酯类如己二酸酯和邻苯二甲酸酯之类的酯。这些类型的产品不是生物适合的, 因此一般不能用作应用于人和哺乳动物的皮下植入物。

其他类型的增塑剂(如甘油三醋酸酯、N-甲基-2-吡咯酮、甘油和甲醛)对人和哺乳动物的毒性尚未完全确定。

在制备所述类型的皮下植入物中, 需要寻找不具有现有技术缺点并能降低 PLGA 挤出温度和无毒的增塑剂。

发明概述

本发明申请人特别发现乙醇作为挥发性物质在研磨的 PLGA 中以高

于 T_g 且低于乙醇沸点的温度和均一方式迅速扩散，因此可以制备用乙醇作为外部增塑剂的皮下植入物。

术语“外部增塑剂”指并非在通过挤出制备皮下植入物过程中使用，而是在该制备之前的阶段使用的增塑剂，或者在随后用于制备皮下植入物的“增塑”聚合物的制备阶段使用的增塑剂。

因此本发明的另一方面为含有乙醇作为增塑剂的增塑 PLGA。

因此使用下面方法制备增塑聚合物，其包括以下阶段：

- a) 研磨 PLGA 以获得研磨产物，其中颗粒大小低于 $250\ \mu\text{m}$ ；
- b) 在上阶段获得的研磨产物中加入浓度为 PLGA 重量的 5-20 份的乙醇，然后加热获得的混合物到 $45-65^\circ\text{C}$ 直到获得粘稠稳定的凝胶；
- c) 干燥步骤(b)获得的凝胶；
- d) 在 $-20-+5^\circ\text{C}$ 研磨来自步骤(c)的干燥产物；
- e) 以 10:90 至 99:1 的重量比， $-20-+5^\circ\text{C}$ 之间的温度，任选地将来源于前阶段的产物与按前述研磨到大小低于 $250\ \mu\text{m}$ 的 PLGA 混合；
- f) 在 75°C 挤出上述混合物；
- g) 在 $-20^\circ\text{C}-+5^\circ\text{C}$ 研磨挤出的产物以获得根据本发明用乙醇增塑的 PLGA。

本发明的另一方面为皮下植入物，其包含分散于基于 PLGA 的基质中的有效成分，所述 PLGA 根据本发明用乙醇增塑。

发明详述

本发明的增塑 PLGA 通常含有浓度占 PLGA 重量的 2-15%，优选 3-10%，甚至更优选 5-10% 的乙醇。

本发明申请人实际上发现通过使用含以重量计浓度为 2-3% 的乙醇的增塑 PLGA，聚合物的 T_g 和由其决定的挤出温度可降低到低于 70°C ；通过使用以重量计浓度高于 3-4% 的乙醇，此温度可降低到低于 60°C 的值。

本发明申请人也发现使用增塑聚合物重量的 5-10% 的乙醇可使挤出温度降低到 40°C （即与最不耐热的生物有效成分相容的温度）。

因此本发明的增塑聚合物在用于制备含不耐热有效成分的皮下植入物的组合物时, 优选含有浓度为 5-10% 的乙醇。

优选(b)阶段所加入的乙醇的数量为按重量计每份 PLGA 10 份乙醇。

在阶段(c), 干燥进行到乙醇在 PLGA 中的浓度达到 PLGA 重量的 10-30%, 优选 20% 时为止。步骤(c)的干燥优选地在 20-25°C 气流下进行。

(d)、(e)和(g)阶段研磨的温度优选为 -10°C, (e)阶段中来源于(d)阶段的 PLGA 与按前述阶段研磨的 PLGA 的重量比优选为 16:84-40:60。

通过在(e)阶段增加用乙醇处理的 PLGA 相对于未处理 PLGA 的重量比浓度, 降低了随后皮下植入物制备阶段的挤出温度。

本发明的另一方面是通过包含以下阶段的方法制备皮下植入物:

i) 在 -20-+5°C 将有效成分与本发明的增塑 PLGA 混合。

ii) 在低于 70°C (优选地低于 60°C) 挤出来源于(i)阶段的研磨产物。

如上所述, 当用于的(i)阶段的增塑聚合物含有 5-10% 的乙醇时, (ii) 阶段挤出温度约为 40°C。

在这种情况下, 前述方法特别适合制备包含不耐热有效成分的皮下植入物。术语“不耐热有效成分”是指必需低温储藏的有效成分, 尤其指蛋白质(激素、生长因子和酶等)、疫苗、抗体和用于基因治疗的载体。

根据本发明用乙醇增塑的聚合物也可用于制备含有非不耐热有效成分的皮下植入物, 然而无论如何注意不要使其温度迅速变化。

下文报道了制备本发明含乙醇的增塑聚合物和制备含用乙醇增塑的 PLGA 和不耐热有效成分的皮下植入物的一些说明性而非限制性的实施例。

实施例 1: 制备含重组人粒细胞集落形成刺激因子(r-Hu-G-CSF)的皮下植入物

a) 制备用乙醇增塑的 PLGA

PLGA 具有下列特性:

25°C 在氯仿中测量的固有粘度 0.19 dl/g ($c = 0.1$ g/dl),

丙交酯/乙交酯摩尔比: 53 / 47,

Tg: 40°C.

过量的乙醇中加入研磨产物直到所获得的乙醇中 PLGA 浓度为 0.12 g/ml 并放于 45°C 水浴中搅拌 1 分钟。乙醇扩散到聚合物中并形成粘稠的凝胶。凝胶在乙醇中保持 3 分钟。

然后在 20°C 干燥到 PLGA 所含乙醇其比重的 20%。

这样所获得的聚合物在 -10°C 以 40:60 的重量比与相同的未处理类型聚合物混合并在 75°C 挤出所述混合物。

然后在 -10°C 研磨挤出产物以获得 8% 质量/质量乙醇含量的增塑 PLGA。

b) 制备皮下植入物

由蛋白质 r-Hu-G-CSF 组成的有效成分和增塑聚合物(PLGA)在 -10°C 以 31:69 的重量比彻底混合, 其中所述的蛋白质 r-Hu-G-CSF 具有下列特性: 蛋白质含量(Bradford 比色法): 质量/质量 2.1-2.6 %, 生物效能(体外- Std WHO # 88/502): 每毫克蛋白质 $21-31 \times 10^6$ IU, 赋形剂:

甘露醇/聚山梨醇酯 80/磷酸二氢钠/十二水合磷酸氢二钠/ 人白蛋白 (质量/质量分别为 93.4% / 0.01% / 1.9 % / 0.5% / 1.9%)

在 40°C 挤出这样获得的粉末状混合物。然后将这样获得的挤出产物 (直径 1.5 mm) 切成 18 mm 长度以形成每个重 40 mg 并含有 6.6×10^6 IU 蛋白质的圆柱状沉积物。

实施例 2: 制备含重组人粒细胞集落形成刺激因子(r-Hu-G-CSF)的皮下植入物

a) 制备用乙醇增塑的 PLGA

研磨具有实施例 1 所述相同特性的 PLGA 到颗粒大小低于 250 μm 。

过量的乙醇中加入研磨产物直到所获得的乙醇中 PLGA 浓度为 0.12 g/ml 并放于 45°C 水浴中搅拌 1 分钟。乙醇扩散到聚合物中并形成粘稠的凝胶。凝胶在乙醇中保持 3 分钟。

然后在 20 °C 干燥到 PLGA 所含乙醇其比重的 20%。

这样所获得的聚合物在-10°C 以 32.5:67.5 的重量比与相同的未处理类型聚合物混合并在 75°C 挤出所述混合物。

然后在-10°C 研磨挤出产物以获得 6.5%质量/质量乙醇含量的增塑 PLGA。

b) 制备皮下植入物

由具有实施例 1 所述相同特性的蛋白质 r-Hu-G-CSF 组成的有效成分和增塑聚合物(PLGA)在-10°C 以 30:70 的重量比彻底混合。

在 50°C 挤出这样获得的粉末状混合物。然后将这样获得的挤出产物(直径 1.5 mm)切成 18 mm 长度以形成每个重 40 mg 并含有 6.6×10^6 IU 蛋白质的圆柱状沉积物。

实施例 3: 制备含重组人粒细胞集落形成刺激因子(r-Hu-G-CSF)的皮下植入物

a) 制备用乙醇增塑的 PLGA

研磨具有实施例 1 所述相同特性的 PLGA 到颗粒大小低于 250 μm 。

过量的乙醇中加入研磨产物直到所获得的乙醇中 PLGA 浓度为 0.12 g/ml 并放于 45°C 水浴中搅拌 1 分钟。乙醇扩散到聚合物中并形成粘稠的凝胶。凝胶在乙醇中保持 3 分钟。

然后在 20°C 干燥到获得含 20%质量/质量乙醇的 PLGA。

这样所获得的聚合物在-10°C 以 16:84 的重量比与相同的未处理类型聚合物混合并在 75°C 挤出所述混合物。

然后在-10°C 研磨挤出产物以获得 3.2%质量/质量乙醇含量的增塑 PLGA。

b) 制备皮下植入物

由具有实施例 1 所述相同特性的蛋白质 r-Hu-G-CSF 组成的有效成分和增塑聚合物(PLGA)在-10°C 以 30:70 的重量比彻底混合。

在 60°C 挤出这样获得的粉末状混合物。然后将这样获得的挤出产物(直径 1.5 mm)切成 18 mm 长度以形成每个重 40 mg 并含有 6.6×10^6 IU 蛋白质的圆柱状沉积物。

实施例 4: 制备含重组人生长激素(r-Hu-GH)的皮下植入物

a) 制备用乙醇增塑的 PLGA

研磨具有下列特性的 PLGA 到颗粒大小低于 250 μm :

25°C 在氯仿中测量的固有粘度 0.19 dl/g ($c = 0.1 \text{ g/dl}$),

丙交酯/乙交酯摩尔比: 53 / 47,

Tg: 40°C.

过量的乙醇中加入研磨产物直到所获得的乙醇中 PLGA 浓度为 0.12 g/ml 并放于 45°C 水浴中搅拌 1 分钟。乙醇扩散到聚合物中并形成粘稠的凝胶。凝胶在乙醇中保持 3 分钟。

然后在 20°C 干燥到获得含 20%质量/质量乙醇的 PLGA。

这样所获得的聚合物在-10°C 以 40:60 的重量比与相同的未处理类型聚合物混合并在 75°C 挤出所述混合物。

然后在-10°C 研磨挤出产物以获得 8%质量/质量乙醇含量的增塑 PLGA。

b) 制备皮下植入物

由蛋白质 r-Hu-GH 组成的有效成分和增塑聚合物(PLGA) 在-10°C 以 30:70 的重量比彻底混合, 其中所述的蛋白质 r-Hu-GH 具有下列特性:

相关的蛋白质(根据《the European Pharmacopoeia》第四版 Nr 0951 的专论“Somatropin”的液相色谱层析): 最大值 13% (峰面积),

高分子量二聚体和相关物质(《the European Pharmacopoeia》第四版 Nr 0951 的专论“Somatropin”的大小排阻层析): 最大值 6% (峰面积),

蛋白质含量(《the European Pharmacopoeia》第四版 Nr 0951 的专论“Somatropin”的大小排阻层析): 4.5 -5.3%质量/质量,

生物效能(《the European Pharmacopoeia》第四版 Nr 0951 的专论“Somatropin”的大小排阻层析): 每毫克蛋白质 2.7 -3.2 IU,

赋形剂:

甘氨酸/磷酸二氢钠/十二水合磷酸氢二钠

(质量/质量分别为 91.4% / 1.0% / 2.5%)

在 40°C 挤出这样获得的粉末状混合物。然后将这样获得的挤出产物（直径 1.5 mm）切成 18 mm 长度以形成每个重 40 mg 并含有 1.8 IU 蛋白质的圆柱状沉积物。

通过下列分析包检测沉积物中蛋白质的完整性：

相关蛋白质通过根据《the European Pharmacopoeia》第四版的专论“Somatropin” (Nr 0951) 的液相色谱层析检测，

高分子量二聚体和相关物质通过《the European Pharmacopoeia》第四版的专论“Somatropin” (Nr 0951) 的大小排阻层析检测，

通过大小排阻层析的测定根据《the European Pharmacopoeia》第四版 Nr 0951 的专论“Somatropin”。

实施例 5：制备含重组人生长激素(r-Hu-GH)的皮下植入物

a) 制备用乙醇增塑的 PLGA

研磨具有实施例 4 所述相同特性的 PLGA 到颗粒大小低于 250 μm。

过量的乙醇中加入研磨产物直到所获得的乙醇中 PLGA 浓度为 0.12 g/ml 并放于 45°C 水浴中搅拌 1 分钟。乙醇扩散到聚合物中并形成粘稠的凝胶。凝胶在乙醇中保持 3 分钟。

然后在 20°C 干燥到获得含 20% 质量/质量乙醇的 PLGA。

这样所获得的聚合物在 -10°C 以 32.5:67.5 的重量比与相同的未处理类型聚合物混合并在 75°C 挤出所述混合物。

然后在 -10°C 研磨挤出产物以获得 6.5% 质量/质量乙醇含量的增塑 PLGA。

b) 制备皮下植入物

由具有实施例 4 所述相同特性的蛋白质 r-Hu-GH 组成的有效成分和增塑聚合物(PLGA)在 -10°C 分别以 30:70 的重量比彻底混合。

在 50°C 挤出这样获得的粉末状混合物。然后将这样获得的挤出产物（直径 1.5 mm）切成 18 mm 长度以形成每个重 40 mg 并含有 1.8 IU 蛋白质的圆柱状沉积物。

沉积物中蛋白质的完整性通过实施例 4 所述的相同分析程序检测。

实施例 6: 制备含重组人生长激素(r-Hu-GH)的皮下植入物

a) 制备用乙醇增塑的 PLGA

研磨具有实施例 4 所述相同特性的 PLGA 到颗粒大小低于 250 μm 。

过量的乙醇中加入研磨产物直到所获得的乙醇中 PLGA 浓度为 0.12 g/ml 并放于 45°C 水浴中搅拌 1 分钟。乙醇扩散到聚合物中并形成粘稠的凝胶。凝胶在乙醇中保持 3 分钟。

然后在 20°C 干燥到获得含 20% 质量/质量乙醇的 PLGA。

这样所获得的聚合物在 -10°C 以 16:84 的重量比与相同的未处理类型聚合物混合并在 75°C 挤出所述混合物。

然后在 -10°C 研磨挤出产物以获得 6.5% 质量/质量乙醇含量的增塑 PLGA。

b) 制备皮下植入物

由具有实施例 4 所述相同特性的蛋白质 r-Hu-GH 组成的有效成分和增塑聚合物(PLGA) 在 -10°C 以 30:70 的重量比彻底混合。

在 60°C 挤出这样获得的粉末状混合物。然后将这样获得的挤出产物(直径 1.5 mm) 切成 18 mm 长度以形成每个重 40 mg 并含有 1.8 IU 蛋白质的圆柱状沉积物。

实施例 7: 制备含干扰素 α -2a 的皮下植入物

a) 制备用乙醇增塑的 PLGA

研磨具有下列特性的 PLGA 到颗粒大小低于 250 μm :

25°C 在氯仿中测量的固有粘度 0.19 dl/g ($c = 0.1$ g/dl),

丙交酯/乙交酯摩尔比: 53 / 47,

Tg: 40°C。

过量的乙醇中加入研磨产物直到所获得的乙醇中 PLGA 浓度为 0.12 g/ml 并放于 45°C 水浴中搅拌 1 分钟。乙醇扩散到聚合物中并形成粘稠的凝胶。凝胶在乙醇中保持 3 分钟。

然后在 20°C 干燥到获得含 20% 质量/质量乙醇的 PLGA。

这样所获得的聚合物在-10°C 以 40:60 的重量比与相同的未处理类型聚合物混合并在 75°C 挤出所述混合物。

然后在-10°C 研磨挤出产物以获得 8%质量/质量乙醇含量的增塑 PLGA。

b) 制备皮下植入物

由蛋白质干扰素 α -2a 组成的有效成分和增塑聚合物(PLGA) 在-10°C 以 25:75 的重量比彻底混合,其中所述的蛋白质干扰素 α -2a 具有下列特性:

相关蛋白质(根据《the European Pharmacopoeia》第四版 Nr 1110 的专论“Interferon alfa-2 Concentrated solution”的液相色谱层析): 最大值 5% (峰面积),

蛋白质含量: 1.8% 质量/质量

生物效能(根据《the European Pharmacopoeia》第四版 Nr 1110 的专论“Interferon alfa-2 Concentrated solution”的液相色谱层析): 每毫克蛋白质 2.3×10^8 IU,

赋形剂:

醋酸钠 /氯化钠 / 海藻糖 (质量/质量分别为 5.9% / 8.4% / 83.9%)

在 40°C 挤出这样获得的粉末状混合物。然后将这样获得的挤出产物 (直径 1.5 mm) 切成 18 mm 长度以形成每个重 40 mg 并含有 40×10^6 IU 蛋白质的圆柱状沉积物。

通过下列分析程序检测沉积物中蛋白质的完整性: 相关蛋白质通过根据 the European Pharmacopoeia 第四版(Nr 1110)的专论“Interferon alfa-2 Concentrated solution”的液相色谱层析检测。