

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6006225号  
(P6006225)

(45) 発行日 平成28年10月12日(2016.10.12)

(24) 登録日 平成28年9月16日(2016.9.16)

|                          |                |
|--------------------------|----------------|
| (51) Int.Cl.             | F I            |
| A 6 1 K 31/381 (2006.01) | A 6 1 K 31/381 |
| A 6 1 K 9/14 (2006.01)   | A 6 1 K 9/14   |
| A 6 1 K 47/04 (2006.01)  | A 6 1 K 47/04  |
| A 6 1 K 47/12 (2006.01)  | A 6 1 K 47/12  |
| A 6 1 K 47/34 (2006.01)  | A 6 1 K 47/34  |

請求項の数 20 (全 34 頁) 最終頁に続く

|               |                               |
|---------------|-------------------------------|
| (21) 出願番号     | 特願2013-540214 (P2013-540214)  |
| (86) (22) 出願日 | 平成23年11月25日(2011.11.25)       |
| (65) 公表番号     | 特表2013-543874 (P2013-543874A) |
| (43) 公表日      | 平成25年12月9日(2013.12.9)         |
| (86) 国際出願番号   | PCT/CN2011/001958             |
| (87) 国際公開番号   | W02012/068783                 |
| (87) 国際公開日    | 平成24年5月31日(2012.5.31)         |
| 審査請求日         | 平成26年9月26日(2014.9.26)         |
| 審判番号          | 不服2015-15559 (P2015-15559/J1) |
| 審判請求日         | 平成27年8月21日(2015.8.21)         |
| (31) 優先権主張番号  | 201010576447.5                |
| (32) 優先日      | 平成22年11月25日(2010.11.25)       |
| (33) 優先権主張国   | 中国 (CN)                       |

早期審査対象出願

|           |   |
|-----------|---|
| (73) 特許権者 | 513079591   |
|           | シャンドン リュイエ ファーマシューテ<br>ィカル カンパニー リミテッド<br>SHAN DONG LUYE PHAR<br>MACEUTICAL CO., LTD<br>.<br>中華人民共和国 シャンドン 26400<br>3, ヤantai, ライshan ディスト<br>リクト, バoユアン ロード, ナンバ<br>ー9<br>No. 9, Baoyuan Road<br>, Laishan District,<br>Yantai, Shandong 2<br>64003, P. R. China |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ロチゴチン、その誘導体、又はロチゴチン若しくはその誘導体の薬学的に許容可能な塩の組成物

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩と少なくとも1つのポリ(ラクチド-α-D-グリコリド)(PLGA)と少なくとも1つの炭素原子数8~24の脂肪酸とを含む組成物であって、

該少なくとも1つのPLGAの分子量が5000Da~100000Daであり、

該少なくとも1つのPLGAが、95:5~5:95の範囲のラクチド対グリコリドの重合比を有し、

該組成物の総重量に対して、該ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩が20重量%~40重量%であり、該少なくとも1つのPLGAが57.5重量%~72.5重量%であり、該少なくとも1つの脂肪酸が2.5重量%~7.5重量%である、ミクロスフェア組成物。

## 【請求項 2】

前記薬学的に許容可能な塩が無機酸又は有機酸とともに形成される、請求項1に記載のミクロスフェア組成物。

## 【請求項 3】

前記無機酸が塩酸、硫酸、リン酸及び硝酸から選ばれる、請求項2に記載のミクロスフェア組成物。

## 【請求項 4】

前記有機酸がクエン酸、フマル酸、マレイン酸、酢酸、安息香酸、乳酸、メタンスルホ

ン酸、ナフタレンスルホン酸及びトルエン - p - スルホン酸から選ばれる、請求項 2 に記載のミクロスフェア組成物。

【請求項 5】

前記有機酸が、グルタミン酸及びアスパラギン酸から選ばれる酸性アミノ酸である、請求項 2 に記載のミクロスフェア組成物。

【請求項 6】

前記組成物の総重量に対して、前記ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩が 20 重量% ~ 40 重量% であり、前記少なくとも 1 つの PLGA が 57.5 重量% ~ 72.5 重量% であり、前記脂肪酸が 2.5 重量% である、請求項 1 に記載のミクロスフェア組成物。

10

【請求項 7】

前記組成物の総重量に対して、前記ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩が 30 重量% であり、前記少なくとも 1 つの PLGA が 62.5 重量% ~ 67.5 重量% であり、前記脂肪酸が 2.5 重量% ~ 7.5 重量% である、請求項 1 に記載のミクロスフェア組成物。

【請求項 8】

前記少なくとも 1 つの PLGA が、75 : 25 ~ 25 : 75 の範囲のラクチド対グリコリドの重合比を有する、請求項 1 に記載のミクロスフェア組成物。

【請求項 9】

前記少なくとも 1 つの PLGA が第 1 の PLGA と第 2 の PLGA とを含み、該第 1 の PLGA が 42000 Da ~ 75000 Da の分子量を有し、該第 2 の PLGA が 15000 Da ~ 35000 Da の分子量を有し、該第 1 の PLGA と該第 2 の PLGA との重量比が 95 : 5 ~ 5 : 95 である、請求項 1 に記載のミクロスフェア組成物。

20

【請求項 10】

前記第 1 の PLGA が PLGA 7525 4A 及び PLGA 7525 5A から選ばれ、前記第 2 の PLGA が PLGA 5050 2.5A である、請求項 9 に記載のミクロスフェア組成物。

【請求項 11】

前記第 1 の PLGA と前記第 2 の PLGA との重量比が 50 : 50 である、請求項 9 に記載のミクロスフェア組成物。

30

【請求項 12】

前記組成物の総重量に対して、前記ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩が 20 重量% ~ 40 重量% であり、前記第 1 の PLGA 及び前記第 2 の PLGA の量が 57.5 重量% ~ 72.5 重量% であり、前記脂肪酸が 2.5 重量% ~ 7.5 重量% である、請求項 9 に記載のミクロスフェア組成物。

【請求項 13】

前記組成物の総重量に対して、前記ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩が 20 重量% ~ 40 重量% であり、前記第 1 の PLGA 及び前記第 2 の PLGA の量が 57.5 重量% ~ 72.5 重量% であり、前記脂肪酸が 2.5 重量% である、請求項 9 に記載のミクロスフェア組成物。

40

【請求項 14】

前記組成物の総重量に対して、前記ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩が 30 重量% であり、前記第 1 の PLGA 及び前記第 2 の PLGA の量が 62.5 重量% ~ 67.5 重量% であり、前記脂肪酸が 2.5 重量% ~ 7.5 重量% である、請求項 9 に記載のミクロスフェア組成物。

【請求項 15】

前記組成物の総重量に対して、前記ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩が 30 重量% であり、前記第 1 の PLGA 及び前記第 2 の PLGA の量が 67.5 重量% であり、前記脂肪酸が 2.5 重量% である、請求項 14 に記載のミクロスフェア組成物。

【請求項 16】

50

前記少なくとも1つの脂肪酸がステアリン酸、パルミチン酸、オレイン酸、デカン酸、オクタン酸及びリグノセリン酸から選ばれる、請求項1に記載のミクロスフェア組成物。

【請求項17】

前記少なくとも1つの脂肪酸がステアリン酸である、請求項16に記載のミクロスフェア組成物。

【請求項18】

パーキンソン病を治療するための医薬の製造における、請求項1～17のいずれか1項に記載のミクロスフェア組成物の使用。

【請求項19】

ドーパミン受容体に関連する疾患及び/又はパーキンソン病を治療するための医薬の製造における、請求項1～17のいずれか1項に記載のミクロスフェア組成物の使用。

10

【請求項20】

前記医薬が経口投与される、請求項19に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示はロチゴチン、その誘導体、又はロチゴチン若しくはその誘導体の薬学的に許容可能な塩の組成物に関する。

【0002】

20

本願は、2010年11月25日付で出願された中国特許出願第20101057644.7、5号の利益を主張するものである。

【背景技術】

【0003】

肝臓の初回通過効果のために、ロチゴチンの経口バイオアベイラビリティは低く(約1%～5%)、このためロチゴチンは経口投与に好適ではない。現在、パーキンソン病の治療用の最初の経皮パッチである、Schwarz Pharma AGによって開発されたNeupro(商標)という商標の経皮パッチが、ドイツ、イギリス、オーストラリア等で市販されている。しかしながら、結晶ロチゴチンがこの製品の使用中に形成される場合がある。この問題を解決するために、2～8の温度でのコールドチェーンによる貯蔵及び流通が採用され、患者がこの製品を使用する上での難しさを増すと考えられる結晶化を回避するためには、1回の処方では1ヶ月を超えるべきではない。

30

【0004】

特許文献1は、ロチゴチンと分解性ポリマー補助材料とを含むミクロスフェア配合物を開示している。特許文献1に開示されるロチゴチンミクロスフェア配合物は、長時間作用型持続放出の効果を達成し得るが、バースト放出の問題が生じる可能性がある。特許文献1の図17(8%の薬物担持率(drug-loading rate)によるin vivo試験)、図12(20%の薬物担持率によるin vivo試験)及び図20(40%の薬物担持率によるin vivo試験)に示されるように、薬物担持率が20%又は40%である場合、バースト放出効果は明らかである。特許文献1の図20(40%の薬物担持率によるin vivo試験)及び図19(40%の薬物担持率によるin vitro試験)から、in vitro試験におけるロチゴチンの1日の放出量が、in vivo試験における薬物のバースト放出と相関していることも見て取れる。同じ薬物担持率では、in vitro試験における放出量が大きくなるほど、より多くの薬物がin vivoでバースト放出される。

40

【0005】

加齢に伴う変性疾患として、パーキンソン病は患者の年齢とともに次第に悪化する。このため、投与量も治療の間で漸増させなくてはならない。進行期のパーキンソン病の患者を治療する場合、薬物の1日服用量(daily dose intake)を大幅に増大させる必要がある。このため、ロチゴチンミクロスフェアを用いて進行期のパーキンソン病の患者を治

50

療する場合、活性成分の薬物担持率は低すぎではない。言い換えると、薬物担持率がより高いミクロスフェアと同じ治療効果を達成するには、薬物担持率がより低いミクロスフェアを比較的多量に投与する必要がある、これは患者に痛みを与える場合がある。しかしながら、ミクロスフェアの薬物担持率が過度に高いと、患者に投与した際に薬物が急激に放出される可能性があり、これは薬物過剰摂取を引き起こす場合がある。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】中国特許出願公開第1762495号

【発明の概要】

10

【0007】

本開示は、ロチゴチンおよびその誘導体等の薬物、又はロチゴチン若しくはその誘導体の薬学的に許容可能な塩の組成物であって、薬物のバースト放出を十分に減少させる、組成物を提供する。組成物は、ロチゴチン、その誘導体、又はロチゴチン若しくはその誘導体の薬学的に許容可能な塩と、

少なくとも1つのポリ(ラクチド-co-グリコリド)(PLGA)と、

少なくとも1つの脂肪酸と、

を含み、上記の少なくとも1つの脂肪酸が、組成物の総重量に対して少なくとも約0.5重量%、例えば約1重量%~15重量%である。

【0008】

20

幾つかの実施の形態では、組成物はミクロスフェアの形態である。例えば、ミクロスフェアの粒径は約1ミクロン~250ミクロン、例えば約10ミクロン~200ミクロンであり得る。

【0009】

幾つかの実施の形態では、組成物はロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩である。

【0010】

幾つかの実施の形態では、ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩は、組成物の総重量に対して約20重量%~40重量%である。一例では、ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩は、組成物の総重量に対して約25重量%~35重量%、約25重量%~30重量%、約20重量%~30重量%、約20重量%~35重量%、約25重量%~40重量%、約30重量%~35重量%、約30重量%~40重量%、又は約35重量%~40重量%であり得る。別の例では、ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩は、組成物の総重量に対して約21重量%、22重量%、23重量%、24重量%、25重量%、26重量%、28重量%、29重量%、30重量%、31重量%、32重量%、33重量%、34重量%、35重量%、36重量%、37重量%、38重量%、39重量%又は40重量%であり得る。

30

【0011】

幾つかの実施の形態では、上記の少なくとも1つのPLGAは、組成物の総重量に対して約45重量%~79重量%である。上記の少なくとも1つのPLGAは、例えば分子量及び/又は重合比が異なり得る2つ、3つ、4つ又は5つの異なるタイプのPLGAポリマーを含んでいてもよい。一例では、上記の少なくとも1つのPLGAは、組成物の総重量に対して約47.5重量%~77.5重量%、約50重量%~77.5重量%、約52.5重量%~72.5重量%、約55重量%~72.5重量%、約55重量%~69重量%、約57.5重量%~72.5重量%、約57.5重量%~77.5重量%、約60重量%~72.5重量%、約60重量%~70重量%、約62.5重量%~67.5重量%、約45重量%~50重量%、約47.5重量%~60重量%又は約50重量%~60重量%である。別の例では、上記の少なくとも1つのPLGAは、組成物の総重量に対して約45重量%、約47.5重量%、約50重量%、約52.5重量%、約55重量%、約57.5重量%、約60重量%、約62.5重量%、約65重量%、約67.5重量%、約70重量%、約72.5重量%、約75重量%、約77.5重量%、約78重量%又は約79

40

50

重量%である。

【0012】

一部の実施の形態では、薬学的に許容可能な塩はロチゴチンと無機酸又は有機酸とによって形成される。無機酸は塩酸、硫酸、リン酸及び硝酸から選ぶことができる。有機酸はクエン酸、フマル酸、マレイン酸、酢酸、安息香酸、乳酸、メタンスルホン酸、ナフタレンスルホン酸及びトルエン-p-スルホン酸から選ばれる。例えば、有機酸はグルタミン酸及びアスパラギン酸等の酸性アミノ酸であってもよい。

【0013】

一部の実施の形態では、上記の少なくとも1つのPLGAの分子量は約5000Da～100000Daである。例えば、上記の少なくとも1つのPLGAの分子量は、約5500Da～99000Da、約6000Da～98000Da、約6500Da～97000Da、約7000Da～96000Da、約7500Da～95000Da、約8000Da～94000Da、約8500Da～93000Da、約9000Da～92000Da、約9500Da～91000Da、約10000Da～90000Da、約10500Da～89000Da、約11000Da～88000Da、約10500Da～87000Da、約11000Da～86000Da、約11500Da～85000Da、約12000Da～84000Da、約12500Da～83000Da、約13000Da～82000Da、約13500Da～81000Da、約14000Da～80000Da、約14500Da～79000Da、約15000Da～78000Da、約15500Da～77000Da、約16000Da～76000Da、約16500Da～75000Da、約17000Da～74000Da、約17500Da～73000Da、約18000Da～72000Da、約18500Da～71000Da、約19000Da～70000Da、約19500Da～69000Da、約20000Da～68000Da、約21000Da～67000Da、約22000Da～66000Da、約23000Da～65000Da、約24000Da～64000Da、約25000Da～63000Da、約26000Da～62000Da、約27000Da～61000Da、約28000Da～60000Da、約29000Da～60000Da、約30000Da～59000Da、約31000Da～58000Da、約32000Da～57000Da、約33000Da～59000Da、約34000Da～58000Da、約35000Da～57000Da、約36000Da～56000Da、約37000Da～55000Da、約38000Da～54000Da、約39000Da～53000Da、約40000Da～52000Da、約41000Da～51000Da、約42000Da～50000Da、約42000Da～49000Da、約43000Da～48000Da、約44000Da～47000Da又は約45000Da～46000Daであり得る。

【0014】

一部の実施の形態では、上記の少なくとも1つのPLGAは、約95:5～5:95の範囲のラクチド対グリコリドの重合比を有する。例えば、ラクチド対グリコリドの重合比は、約90:10～10:90、約85:15～15:85、約80:20～20:80、約75:25～25:75、約70:30～30:70、約65:35～35:65、約60:40～40:60、又は約55:45～45:55であり得る。別の例としては、ラクチド対グリコリドの重合比は約50:50であり得る。

【0015】

一部の実施の形態では、ラクチド対グリコリドの重合比は約75:25～25:75の範囲である。

【0016】

一部の実施の形態では、上記の少なくとも1つの脂肪酸は、炭素原子数8～24の脂肪酸から選ばれる。上記の少なくとも1つの脂肪酸はステアリン酸、パルミチン酸、オレイン酸、デカン酸、オクタン酸及びリグノセリン酸から選ぶことができる。例えば、上記の少なくとも1つの脂肪酸はステアリン酸であり得る。

## 【 0 0 1 7 】

一部の実施の形態では、上記の少なくとも1つの脂肪酸は、組成物の総重量に対して少なくとも0.5重量%である。例えば、上記の少なくとも1つの脂肪酸は、組成物の総重量に対して約1重量%～15重量%、約2重量%～15重量%、約3重量%～15重量%、約4重量%～15重量%、約5重量%～15重量%、約6重量%～15重量%、約7重量%～15重量%、約8重量%～15重量%、約9重量%～15重量%、約10重量%～15重量%、約11重量%～15重量%、約12重量%～15重量%、約13重量%～15重量%、約14重量%～15重量%、約1重量%～12.5重量%、約2重量%～12.5重量%、約3重量%～12.5重量%、約4重量%～12.5重量%、約5重量%～12.5重量%、約6重量%～12.5重量%、約7重量%～12.5重量%、約8重量%～12.5重量%、約9重量%～12.5重量%、約10重量%～12.5重量%、約11重量%～12.5重量%、約1重量%～10重量%、約2重量%～10重量%、約3重量%～10重量%、約4重量%～10重量%、約5重量%～10重量%、約6重量%～10重量%、約7重量%～10重量%、約8重量%～10重量%、約9重量%～10重量%、約1重量%～7.5重量%、約2重量%～7.5重量%、約3重量%～7.5重量%、約4重量%～7.5重量%、約5重量%～7.5重量%、約6重量%～7.5重量%、約1重量%～5重量%、約2重量%～5重量%、約3重量%～5重量%、約4重量%～5重量%、約1重量%～3重量%、約2重量%～3重量%、約2重量%～4重量%、約3重量%～4重量%である。別の例では、上記の少なくとも1つの脂肪酸は、少なくとも約1%、約1.5%、約2%、約2.5%、約3%、約3.5%、約4%、約4.5%、約5%、約5.5%、約6%、約6.5%、約7%、約7.5%、約8%、約8.5%、約9%、約10%、約10.5%、約11%、約11.5%、約12%、約12.5%、約13%、約13.5%、約14%、約14.5%又は約15%であり得る。

10

20

## 【 0 0 1 8 】

一部の実施の形態では、ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩は、組成物の総重量に対して約20重量%～40重量%であり、上記の少なくとも1つのPLGAは約57.5%～72.5%であり、上記の少なくとも1つの脂肪酸は約2.5%～7.5%である。

## 【 0 0 1 9 】

一部の実施の形態では、ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩は、組成物の総重量に対して約20重量%～40重量%であり、上記の少なくとも1つのPLGAは約57.5%～77.5%であり、上記の少なくとも1つの脂肪酸は約2.5%である。

30

## 【 0 0 2 0 】

一部の実施の形態では、ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩は、組成物の総重量に対して約30重量%であり、上記の少なくとも1つのPLGAは約55.5%～69%であり、上記の少なくとも1つの脂肪酸は約1%～15%である。

## 【 0 0 2 1 】

一部の実施の形態では、ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩は、組成物の総重量に対して約30重量%であり、上記の少なくとも1つのPLGAは約62.5%～67.5%であり、上記の少なくとも1つの脂肪酸は約2.5%～7.5%である。

40

## 【 0 0 2 2 】

一部の実施の形態では、組成物の総重量に対して、ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩は約30%であり、上記の少なくとも1つのPLGAは約67.5%であり、脂肪酸は約2.5%である。

## 【 0 0 2 3 】

一部の実施の形態では、上記の少なくとも1つのPLGAは第1のPLGAと第2のPLGAとを含み、第1のPLGAは約42000Da～75000Daの分子量を有し、第2のPLGAは約15000Da～35000Daの分子量を有し、第1のPLGAと第2のPLGAとの重量比は約95:5～5:95である。

## 【 0 0 2 4 】

50

一部の実施の形態では、第1のPLGAは約15000Da~30000Da、約15000Da~25000Da、約15000Da~20000Da、約20000Da~35000Da、約20000Da~30000Da、約20000Da~25000Da、約25000Da~35000Da、約25000Da~30000Da、又は約30000Da~35000Daの分子量を有する。

【0025】

一部の実施の形態では、第2のPLGAは約45000Da~70000Da、約50000Da~65000Da、約55000Da~60000Da、約45000Da~65000Da、約45000Da~60000Da、約45000Da~55000Da、約45000Da~50000Da、約50000Da~70000Da、約50000Da~65000Da、約60000Da~65000Da、約60000Da~70000Da、約45000Da~75000Da、約50000Da~75000Da、約55000Da~75000Da、約60000Da~75000Da、約65000Da~75000Da、又は約70000Da~75000Daの分子量を有する。

【0026】

一部の実施の形態では、第1のPLGAと第2のPLGAとの重量比は、約90:10~10:90、約85:15~15:85、約80:20~20:80、約75:25~25:75、約70:30~30:70、約65:35~35:65、約60:40~40:60、又は約55:45~45:55であり得る。

【0027】

一部の実施の形態では、第1のPLGAはPLGA(7525 4A)及びPLGA(7525 5A)から選ばれ、第2のPLGAはPLGA(5050 2.5A)である。

【0028】

一部の実施の形態では、第1のPLGAと第2のPLGAとの重量比は約50:50である。

【0029】

一部の実施の形態では、組成物の総重量に対して、ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩は約20%~40%であり、第1のPLGA及び第2のPLGAの量は約57.5%~72.5%であり、脂肪酸は約2.5%~7.5%である。

【0030】

一部の実施の形態では、組成物の総重量に対して、ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩は約20%~40%であり、第1のPLGA及び第2のPLGAの量は約57.5%~77.5%であり、脂肪酸は約2.5%である。

【0031】

一部の実施の形態では、組成物の総重量に対して、ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩は約30%であり、第1のPLGA及び第2のPLGAの量は約55%~69%であり、脂肪酸は約1%~15%である。

【0032】

一部の実施の形態では、組成物の総重量に対して、ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩は約30%であり、第1のPLGA及び第2のPLGAの量は約62.5%~67.5%であり、脂肪酸は約2.5%~7.5%である。

【0033】

一部の実施の形態では、組成物の総重量に対して、ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩は約30%であり、第1のPLGA及び第2のPLGAの量は約67.5%であり、脂肪酸は約2.5%である。

【0034】

本明細書に開示される組成物は、ロチゴチン等の化合物又はその薬学的に許容可能な塩の長時間作用型持続放出をもたらすことができる。例えば、ロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩とPLGAと脂肪酸とを含むミクロスフェア調製物は、ミクロスフェア調製

10

20

30

40

50

物を1日～4日間投与することで生じ得る低薬物放出効果を減少させることができ、一方で減少したバースト放出効果を有する。本明細書に開示されるように調製したミクロスフェアは、良好なバッチ間一貫性ももたらす。個々の動物間での血中薬物濃度の変動も、大幅に減少させることができる。

#### 【0035】

本明細書に開示される組成物は、とりわけロチゴチン等の化合物又はその薬学的に許容可能な塩が、組成物の総重量に対して20重量%を超える場合にバースト放出効果を減少させることができる。組成物の総重量に対するロチゴチン等の化合物又はその薬学的に許容可能な塩の重量パーセントは、本明細書で「薬物担持率」とも称される。

#### 【0036】

本明細書に開示される組成物は、薬物を顕著なバースト放出なしに長期にわたって安定して放出するため、長時間作用型持続放出の目的を達成する。

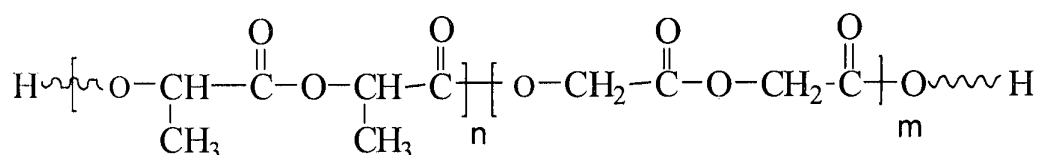
#### 【0037】

本明細書に開示されるPLGAは、ラクチド/グリコリドコポリマーであるポリ(ラクチド-co-グリコリド)としても知られる。ポリ(ラクチド-co-グリコリド)におけるラクチド対グリコリドの重合比は、任意の適切な比率であり得る。例えば、ラクチド対グリコリドの重合比は約95:5～5:95、例えば約75:25～25:75であり得る。

#### 【0038】

PLGAは以下の構造：

#### 【化1】



(式中、nはゼロ又は正の整数であり、mはゼロ又は正の整数であるが、n及びmが同時にゼロとはならない)によって表すことができる。本明細書に開示されるPLGAは、更に化学修飾されてもよい。

#### 【0039】

本明細書に開示されるミクロスフェアは、ポリマーマトリクス全体に均一に溶解及び/又は分散した薬物を含むマトリクスタイプである。

#### 【0040】

本明細書に開示されるミクロスフェアは、サイズが約1μm～250μm、例えば約10μm～240μm、約20μm～230μm、約40μm～210μm、約50μm～200μm、約60μm～190μm、約70μm～180μm、約80μm～170μm、約90μm～160μm、約100μm～150μm、約110μm～140μm、又は約120μm～130μmの範囲であり得る。例えば、本明細書に開示されるミクロスフェアは約10μm、20μm、30μm、40μm、50μm、60μm、70μm、80μm、90μm、100μm、110μm、120μm、130μm、140μm、150μm、160μm、170μm、180μm、190μm、200μm、210μm、220μm、230μm、240μm又は250μmであり得る。

#### 【0041】

本明細書に開示されるミクロスフェアは、噴霧乾燥法、溶媒揮発法又はスプレー抽出法を含むが、これらに限定されない当該技術分野の従来の任意の方法によって調製することができる。

#### 【0042】

ミクロスフェアを溶媒揮発法によって調製する場合、ロチゴチン等の化合物又はその薬学的に許容可能な塩とPLGAと脂肪酸とを初めに有機溶媒に溶解し、有機相を調製する。連続水相を水溶性医薬ポリマー補助材料から調製する。次いで、有機相を細い管を通し

10

20

30

40

50



て連続水相に注入して混合物を形成し、これを激しい機械的攪拌又は超音波攪拌下で乳化して、ミクロスフェアを形成する。次に、有機溶媒を蒸発させ、得られるミクロスフェアを濾過して乾燥させる。必要に応じて、ミクロスフェアを従来の方法に従って洗浄、選別等によって後処理し、真空乾燥又は凍結乾燥によって乾燥させ、最後に個包装することもできる。

#### 【 0 0 4 3 】

上記のプロセスでは、有機溶媒は揮発性が十分な低残留物かつ低沸点の溶媒であり得る。例えば、有機溶媒はジクロロメタン、クロロホルム、酢酸エチル、ジエチルエーテル又はそれらの任意の組合せであり得る。連続水相を形成するために使用される水溶性医薬ポリマー補助材料は、ポリビニルアルコール、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリビニルピロリジン、ポリメタクリル酸ナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム及びそれらの任意の組合せから選ぶことができるが、これらに限定されない。

10

#### 【 0 0 4 4 】

有機溶媒中のロチゴチン等の化合物又はその薬学的に許容可能な塩、ポリ(ラクチド - c o - グリコリド)及び脂肪酸の量は、それらを有機溶媒に溶解することができる限り特に限定されない。例えば、ポリ(ラクチド - c o - グリコリド)及び脂肪酸は、有機溶媒中に約 1 % ( w / v ) ~ 3 0 % ( w / v )、例えば約 5 % ( w / v ) ~ 2 5 % ( w / v ) 又は約 1 0 % ( w / v ) ~ 2 0 % ( w / v ) であり得る。

#### 【 0 0 4 5 】

連続水相がポリビニルアルコール、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリビニルピロリジン、ポリメタクリル酸ナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム又はそれらの任意の組合せから調製される場合、これらのポリマー補助材料の濃度には特別な限定はない。例えば、水相中でのこれらのポリマー補助材料の濃度は、それらの水への溶解度に基づき 0 . 0 1 % ( w / v ) ~ 1 2 . 0 % ( w / v )、例えば 0 . 0 1 % ( w / v ) ~ 1 0 . 0 % ( w / v )、例えば 0 . 1 % ( w / v ) ~ 5 % ( w / v ) であり得る。

20

#### 【 0 0 4 6 】

有機相を水相に注入し、激しく攪拌してミクロスフェアを形成する場合、水相対有機相の体積比は、有機相を水相に十分に分散させて、十分に小さな粒度かつ良好な均一性のミクロスフェアを形成することができるほど大きいものとする。ただし、水相の量が必要以上に多い場合、後処理が複雑となり、それによりコストが増加する場合がある。例えば、有機相対水相の体積比は約 1 : 4 ~ 1 : 1 0 0、例えば約 1 : 5、約 1 : 1 0、約 1 : 2 0、約 1 : 3 0、約 1 : 4 0、約 1 : 5 0、約 1 : 6 0、約 1 : 7 0、約 1 : 8 0、約 1 : 9 0 又は約 1 : 1 0 0 であり得る。

30

#### 【 0 0 4 7 】

ミクロスフェアは噴霧乾燥法によっても調製することができる。例えば、ロチゴチン等の化合物又はその薬学的に許容可能な塩、P L G A 及び他の賦形剤を有機溶媒に十分に溶解して、有機溶液を調製する。有機溶液を濾過し、従来の噴霧乾燥法によって乾燥させて、ミクロスフェアを形成する。必要に応じて、ミクロスフェアを従来の方法に従って洗浄、選別等によって後処理した後、個包装することもできる。

#### 【 0 0 4 8 】

ミクロスフェアを上記の噴霧乾燥法によって調製する場合、有機溶媒はジクロロメタン、クロロホルム、酢酸エチル、ジオキサン、ジエチルエーテル、アセトン、テトラヒドロフラン、氷酢酸及びそれらの任意の組合せから選ぶことができるが、これらに限定されない。

40

#### 【 0 0 4 9 】

有機相を調製する場合、P L G A を有機溶媒に溶解することができる限り、有機溶媒中の P L G A の量には特別な限定はない。例えば、P L G A の濃度は約 1 % ( w / v ) ~ 3 0 % ( w / v )、例えば約 5 % ( w / v ) ~ 2 5 % ( w / v ) 又は約 1 0 % ( w / v ) ~ 2 0 % ( w / v ) であり得る。

#### 【 0 0 5 0 】

50

ミクロスフェアはスプレー抽出法によっても調製することができる。ミクロスフェアをスプレー抽出法によって調製する場合、ロチゴチン等の化合物又はその薬学的に許容可能な塩、P L G A 及び他の賦形剤を有機溶媒 A（その中にロチゴチン等の化合物又はその薬学的に許容可能な塩、P L G A 及び脂肪酸を溶解することができる）に十分に溶解して、有機溶液を調製する。次いで、有機溶液を水又は有機溶媒 B（その中でロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩、P L G A 及び脂肪酸は限られた溶解度を有する）中に噴射し、抽出して、ミクロスフェアを形成する。必要に応じて、ミクロスフェアを従来の方法に従って洗浄、選別等によって後処理した後、個包装することもできる。

【 0 0 5 1 】

有機溶媒 A はジクロロメタン、クロロホルム、酢酸エチル、ジオキサン、ジエチルエーテル、アセトン、テトラヒドロフラン、ベンゼン、トルエン及び氷酢酸から選ばれる少なくとも 1 つであり得る。有機溶媒 B はメタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、石油エーテル、アルカン及び鉱物油から選ばれる少なくとも 1 つであり得る。

【 0 0 5 2 】

P L G A を有機溶媒 A に溶解することができる限り、有機溶媒 A 中の P L G A の量には特別な限定はない。例えば、有機溶媒 A 中の P L G A の濃度は約 1 % ( w / v ) ~ 3 0 % ( w / v )、例えば約 5 % ( w / v ) ~ 2 5 % ( w / v ) 又は約 1 0 % ( w / v ) ~ 2 0 % ( w / v ) であり得る。

【 0 0 5 3 】

形成されるミクロスフェアの粒度の均一性を改善するため、また取扱いの便宜のためには、噴霧乾燥法が溶媒揮発法及びスプレー抽出法よりも好ましい場合がある。しかしながら、初期放出を低下させるために溶媒揮発法が好ましい場合もある。

【 0 0 5 4 】

調製の後、所定の用量に従ってミクロスフェアの粒度選別、清浄化、乾燥及び個包装を行い、粉末注射剤を調製することができる。粒度が十分に均一である場合、粒度選別の工程は省いてもよい。

【 0 0 5 5 】

本開示は、本明細書に開示される組成物を用いて調製される粉末注射剤も提供する。粉末注射剤は使用時に *in situ* で注入剤に変換することができる。粉末注射剤を例えば本明細書に開示されるようなミクロスフェア形態の組成物から直接調製し、使用前に注射用のカルボキシルメチルセルロースナトリウムと均一に混合する。粉末注射剤は、組成物、例えば本明細書に開示されるようなミクロスフェア形態の組成物と適切な量のカルボキシルメチルセルロースナトリウム、マンニトール、グルコース等とを混合することによっても調製することができる。適切な量の精製水を使用前にそれに添加して、注射液を調製することができる。

【 0 0 5 6 】

本開示は、ドーパミン受容体に関連する疾患及び / 又はパーキンソン病を治療する方法であって、有効量の本明細書に開示される組成物を、それを必要とする被験体に投与することを含む、方法も提供する。例えば、該方法は、組成物の総重量に対して約 2 0 重量 % ~ 3 5 重量 % の量のロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩と組成物の総重量に対して約 2 . 5 重量 % ~ 1 0 重量 % の量の少なくとも 1 つの脂肪酸と組成物の総重量に対して約 5 5 重量 % ~ 7 7 . 5 重量 % の量の少なくとも 1 つの P L G A とを含む組成物を投与することを含むことができ、組成物はミクロスフェアの形態である。別の例では、該方法は、組成物の総重量に対して約 3 0 重量 % の量のロチゴチン又はその薬学的に許容可能な塩と組成物の総重量に対して約 2 . 5 重量 % の量の少なくとも 1 つの脂肪酸と組成物の総重量に対して約 6 7 . 5 重量 % の量の本明細書に開示される第 1 の P L A 及び第 2 の P L G A 等の少なくとも 1 つの P L G A とを含む組成物を投与することを含むことができ、組成物はミクロスフェアの形態である。

【 0 0 5 7 】

本明細書に開示される組成物は、それを必要とする被験体に非経口投与することができ

10

20

30

40

50

る。例えば、組成物は筋肉注射、皮下注射、皮内注射、腹腔内注射等によって投与することができる。投与を容易にするには、本明細書に開示される組成物を筋肉注射又は皮下注射によって投与することができる。

#### 【 0 0 5 8 】

本明細書に開示される組成物は、少なくとも約 2 週間、例えば約 3 週間、約 4 週間、約 5 週間等の間隔で投与することができる。

#### 【 図面の簡単な説明 】

#### 【 0 0 5 9 】

【図 1】実施例 1 において調製される単一の P L G A を含むマイクロスフェア（理論薬物担持率 2 0 %）の *i n v i t r o* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

10

【図 2】実施例 2 において調製される単一の P L G A を含むマイクロスフェア（理論薬物担持率 2 5 %）の *i n v i t r o* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 3】実施例 3 において調製される単一の P L G A を含むマイクロスフェア（理論薬物担持率 3 0 %）の *i n v i t r o* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 4】実施例 4 において調製される単一の P L G A を含むマイクロスフェア（理論薬物担持率 3 5 %）の *i n v i t r o* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

20

【図 5】実施例 5 において調製される単一の P L G A を含むマイクロスフェア（理論薬物担持率 4 0 %）の *i n v i t r o* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 6】実施例 3 及び実施例 8 において調製されるマイクロスフェアの *i n v i v o* 濃度曲線を示す図である。ここで、 は実施例 3 において調製されるマイクロスフェア（P L G A 7 5 2 5 4 A）の *i n v i v o* 放出薬物 - 時間曲線を表し、 は実施例 8 において調製されるマイクロスフェア（2 . 5 % のステアリン酸及び P L G A 7 5 2 5 4 A を含有する）の *i n v i v o* 放出薬物 - 時間曲線を表す。

【図 7】実施例 6 において調製される単一の P L G A 及びステアリン酸を含むマイクロスフェア（理論薬物担持率 2 0 %）の *i n v i t r o* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

30

【図 8】実施例 7 において調製される単一の P L G A 及びステアリン酸を含むマイクロスフェア（理論薬物担持率 2 5 %）の *i n v i t r o* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 9】実施例 8 において調製される単一の P L G A 及びステアリン酸を含むマイクロスフェア（理論薬物担持率 3 0 %）の *i n v i t r o* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 1 0】実施例 9 において調製される単一の P L G A 及びステアリン酸を含むマイクロスフェア（理論薬物担持率 3 5 %）の *i n v i t r o* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

40

【図 1 1】実施例 1 0 において調製される単一の P L G A 及びステアリン酸を含むマイクロスフェア（理論薬物担持率 4 0 %）の *i n v i t r o* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 1 2】実施例 1 1 において調製される 2 . 5 % のオクタン酸（C 8）を含むマイクロスフェアの *i n v i t r o* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 1 3】実施例 1 2 において調製される 2 . 5 % のリグノセリン酸（C 2 4）を含むマイクロスフェアの *i n v i t r o* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 1 4】実施例 1 3 において調製される 0 . 5 % のステアリン酸を含むマイクロスフェア

50

の *in vitro* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 15】実施例 14 において調製される 1 % のステアリン酸を含むマイクロスフェアの *in vitro* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 16】実施例 15 において調製される 5 % のステアリン酸を含むマイクロスフェアの *in vitro* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 17】実施例 16 において調製される 10 % のステアリン酸を含むマイクロスフェアの *in vitro* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 18】実施例 17 において調製される 15 % のステアリン酸を含むマイクロスフェアの *in vitro* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

10

【図 19】PLGA 5050 2.5A を含むマイクロスフェアの *in vivo* 薬物 - 時間曲線図である。

【図 20】実施例 18 において調製される、分子量の異なる 2 つの PLGA (7525 4A : 5050 2.5A = 95 : 5) を含むマイクロスフェアの *in vitro* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 21】実施例 19 において調製される、分子量の異なる 2 つの PLGA (7525 4A : 5050 2.5A = 50 : 50) を含むマイクロスフェアの *in vitro* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

20

【図 22】実施例 20 において調製される、分子量の異なる 2 つの PLGA (7525 4A : 5050 2.5A = 5 : 95) を含むマイクロスフェアの *in vitro* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 23】実施例 21 において調製される、ステアリン酸 (1 %) 及び分子量の異なる 2 つの PLGA (7525 4A : 5050 2.5A = 50 : 50) を含むマイクロスフェアの *in vitro* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 24】実施例 22 において調製される、ステアリン酸 (2.5 %) 及び分子量の異なる 2 つの PLGA (7525 4A : 5050 2.5A = 50 : 50) を含むマイクロスフェアの *in vitro* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

30

【図 25】実施例 23 において調製される、ステアリン酸 (7.5 %) 及び分子量の異なる 2 つの PLGA (7525 4A : 5050 2.5A = 50 : 50) を含むマイクロスフェアの *in vitro* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 26】実施例 24 において調製される、ステアリン酸 (10 %) 及び分子量の異なる 2 つの PLGA (7525 4A : 5050 2.5A = 50 : 50) を含むマイクロスフェアの *in vitro* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 27】実施例 25 において調製される、オクタン酸 (2.5 %) 及び分子量の異なる 2 つの PLGA (7525 4A : 5050 2.5A = 50 : 50) を含むマイクロスフェアの *in vitro* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

40

【図 28】実施例 26 において調製される、リグノセリン酸 (2.5 %) 及び分子量の異なる 2 つの PLGA (7525 4A : 5050 2.5A = 50 : 50) を含むマイクロスフェアの *in vitro* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図 29】実施例 27 において調製される、ステアリン酸 (2.5 %) 及び分子量の異なる 2 つの PLGA (7525 4A : 5050 2.5A = 95 : 5) を含むマイクロスフェアの *in vitro* 放出図である。ここで、 は 1 日放出量を表し、 は累積放出量

50

を表す。

【図30】実施例28において調製される、ステアリン酸(2.5%)及び分子量の異なる2つのPLGA(7525 4A:5050 2.5A=5:95)を含むマイクロスフェアのin vitro放出図である。ここで、 は1日放出量を表し、 は累積放出量を表す。

【図31】ステアリン酸(2.5%)及び種々の重量比の分子量の異なる2つのPLGAを含むマイクロスフェアのin vivo薬物-時間曲線図である。ここで、 はマイクロスフェア(7525 4A:5050 2.5A=50:50)(2.5%のステアリン酸)のin vivo薬物-時間曲線図を表し、 はマイクロスフェア(7525 4A:5050 2.5A=70:30)(2.5%のステアリン酸)のin vivo薬物-時間曲線図を表し、 - はマイクロスフェア(7525 4A:5050 2.5A=80:20)(2.5%のステアリン酸)のin vivo薬物-時間曲線図を表し、 はマイクロスフェア(7525 4A:5050 2.5A=90:10)(2.5%のステアリン酸)のin vivo薬物-時間曲線図を表す。

10

【図32】実施例22において調製されるロチゴチンマイクロスフェアのin vitro-in vivo相関図である。

【図33】実施例3において調製される5バッチのマイクロスフェアのin vitro放出図である。

【図34】実施例8において調製される5バッチのマイクロスフェアのin vitro放出図である。

20

【図35】実施例14において調製される5バッチのマイクロスフェアのin vitro放出図である。

【図36】実施例16において調製される5バッチのマイクロスフェアのin vitro放出図である。

【図37】実施例11において調製される5バッチのマイクロスフェアのin vitro放出図である。

【図38】実施例12において調製される5バッチのマイクロスフェアのin vitro放出図である。

【発明を実施するための形態】

【実施例】

30

【0060】

以下の非限定例な実施例を用いて本開示を更に説明する。

【0061】

実施例1 単一のPLGAを含むマイクロスフェア(理論薬物担持率20%)

0.3104gのロチゴチン及び1.2083gのPLGA 7525 4Aを秤量し、7.5mLのジクロロメタンに攪拌しながら溶解して、混合物を調製した。混合物を750mLの0.5%PVA水溶液に、攪拌(1200rpm~2000rpm)しながら蠕動ポンプ(100rpm)によって添加し、これを2分間乳化させた。次いで、攪拌速度を落とし、溶媒を5時間蒸発させた。得られた溶液を1200メッシュ篩で濾過して、マイクロスフェアを回収した。1200メッシュ篩に残ったマイクロスフェアを、精製水で3回~5回洗浄し、凍結乾燥し、100メッシュ篩で濾過して、最終マイクロスフェアを調製した。

40

【0062】

実施例2 単一のPLGAを含むマイクロスフェア(理論薬物担持率25%)

ロチゴチンマイクロスフェアを、0.3752gのロチゴチン及び1.1291gのPLGA 7525 4Aから実施例1の方法に従って調製した。

【0063】

実施例3 単一のPLGAを含むマイクロスフェア(理論薬物担持率30%)

ロチゴチンマイクロスフェアを、0.4522gのロチゴチン及び1.0511gのPLGA 7525 4Aから実施例1の方法に従って調製した。

50

## 【0064】

実施例4 単一のPLGAを含むマイクロスフェア（理論薬物担持率35%）

ロチゴチンマイクロスフェアを、0.5268gのロチゴチン及び0.9790gのPLGA 7525 4Aから実施例1の方法に従って調製した。

## 【0065】

実施例5 単一のPLGAを含むマイクロスフェア（理論薬物担持率40%）

ロチゴチンマイクロスフェアを、0.6043gのロチゴチン及び0.9019gのPLGA 7525 4Aから実施例1の方法に従って調製した。

## 【0066】

試験例1

in vitro放出試験を、実施例1～実施例5において調製したマイクロスフェアについてin vivo条件をシミュレートすることによって行った。

## 【0067】

試験条件：温度：37±0.5、回転速度：50rpm

## 【0068】

クロマトグラフ条件及びシステム適合性プロトコル：ステアリル結合シリカを充填剤として使用した。0.3%リン酸-アセトニトリル（66：34）を移動相として使用した。この場合の0.3%リン酸は、3mLのリン酸を最終容量1000mLまで水で希釈することによって調製したものである。カラム温度は35とした。検出波長は223nmとした。ロチゴチンピークと他のピークとの間の分解能は、要件を満たすものとする。ロチゴチンピークによって算出した理論段数は10000超であった。

## 【0069】

試験方法：薬物放出試験（中国薬局方2005年版第2巻付録XD）に従うアッセイ

6mgのマイクロスフェアの3つのアリコート、それぞれプラグ付き遠心分離管（10mL容）に入れた。この遠心分離管に、0.2%SDSを含有する9mLのリン酸緩衝液の放出媒体を添加した。振盪して懸濁させた後、各々の遠心分離管を37±0.5の水浴振盪機内に入れ、50±3rpmの速度で振動させた。3時間後、1日後、2日後、4日後、6日後、8日後、10日後、12日後、14日後、16日後、18日後及び20日後にそれぞれ遠心分離管を取り出した。5～8で、遠心分離管を3600rpmの回転速度で10分間遠心分離した。次いで、6mLの上清を各々の遠心分離管から取り出し、試験溶液として使用し、同じ温度の6.0mLのリン酸緩衝液の放出媒体を遠心分離管に添加した。振盪して懸濁させた後、遠心分離管を水浴振盪機内に戻し、振動させた。上記の試験溶液をHPLCによって分析し、累積放出量を外部標準法に従って算出した。pH7.4下のin vitro放出データを表1に示し、in vitro放出曲線を図1～図5に示す。

## 【0070】

10

20

30

【表 1】

表 1. 種々の理論薬物担持率の結果

| 薬物担持率<br>時間 (日) | 20%        |            | 25%        |            | 30%        |            | 35%        |            | 40%        |            |
|-----------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|                 | 累積放出量 ( %) | 1日放出量 ( %) | 累積放出量 ( %) | 1日放出量 ( %) | 累積放出量 ( %) | 1日放出量 ( %) | 累積放出量 ( %) | 1日放出量 ( %) | 累積放出量 ( %) | 1日放出量 ( %) |
| 0.125           | 1.33       | 1.33       | 1.63       | 1.63       | 2.00       | 2.00       | 3.24       | 3.24       | 4.97       | 4.97       |
| 1               | 5.24       | 5.24       | 7.19       | 7.19       | 9.53       | 9.53       | 13.65      | 13.65      | 20.45      | 20.45      |
| 2               | 8.87       | 3.63       | 10.18      | 2.99       | 13.53      | 4.00       | 18.47      | 4.82       | 31.14      | 10.69      |
| 4               | 23.61      | 7.37       | 19.55      | 4.69       | 22.90      | 4.68       | 27.1       | 4.32       | 42.30      | 5.58       |
| 6               | 40.39      | 8.39       | 35.48      | 7.97       | 40.65      | 8.88       | 37.44      | 5.17       | 62.32      | 10.01      |
| 8               | 65.91      | 12.76      | 61.06      | 12.79      | 63.87      | 11.61      | 53.3       | 7.93       | 77.80      | 7.74       |
| 10              | 86.91      | 10.50      | 80.66      | 9.80       | 75.85      | 5.99       | 67.32      | 7.01       | 86.18      | 4.19       |
| 12              | 91.18      | 2.14       | 90.72      | 5.03       | 86.74      | 5.44       | 80.8       | 6.74       | 90.86      | 2.34       |
| 14              | 95.63      | 2.22       | 97.85      | 3.57       | 94.75      | 4.01       | 86.18      | 2.69       | 93.79      | 1.47       |
| 16              | 96.22      | 0.30       | 97.99      | 0.07       | 98.74      | 2.00       | 92.86      | 3.34       | 94.56      | 0.38       |
| 18              |            |            |            |            |            |            | 96.79      | 1.97       |            |            |

0.125日及び1日でのロチゴチンの放出量は、*in vivo*での薬物のバースト放出と相関していた。*in vitro*での放出量が多いほど、*in vivo*でのバースト放出も大きくなる。

【0072】

表1及び図1～図5から、ミクロスフェアの薬物担持率を20%から40%に増加させると、0.125日でのロチゴチンの放出量が1.33%から4.97%に増大し、ロチゴチンの1日の累積放出量が5.24%から20.45%に増大したことが見て取れる。すなわち、0.125日及び1日の時点でのミクロスフェアの薬物放出が大幅に増大している。表1から、薬物担持率を増加させると、*in vivo*でのロチゴチンミクロスフェアのバースト放出が増大し得ることが見て取れる。

10

【0073】

試験例2 ロチゴチンミクロスフェアの*in vivo*放出試験

サンプル：実施例3において調製したミクロスフェア

【0074】

血漿サンプルの処理：100  $\mu$ Lの内部標準溶液（500 ng/mLのジアゼパム）、100  $\mu$ Lのアセトニトリル：水（75：25）、及び100  $\mu$ Lの1M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ を、ボルテックスアジテーターを用いて2分間アジテートした。3 mLの抽出試薬（*n*-ヘキサン：ジクロロメタン：イソプロパノール＝2：1：0.1）を混合物に添加し、ボルテックスアジテーターを用いて10分間アジテートし、10分間遠心分離した（3600 rpm）。上層の有機相を別の試験管に入れ、35の圧縮空気流下で乾燥させた。残留物を100  $\mu$ Lのアセトニトリル：水（1 mM酢酸アンモニウム）（75：25）に溶解した。10  $\mu$ Lの溶液をサンプル注射剤として採取し、クロマトグラムを記録した。

20

【0075】

クロマトグラフ条件：移動相（A）：（1 mM  $\text{NH}_4\text{Ac}$ ）水、（B）：アセトニトリル；0分～0.8分：B 70% 90%、0.8分～3.5分：B 90% 90%、3.5分～3.6分：B 90% 70%、3.6分～7.5分：B 70% 70%の勾配溶出（gradient elute）；流量：0.35 mL/分；カラム温度：35；サンプルサイズ：10  $\mu$ L。

【0076】

質量スペクトル条件

30

イオン源：イオンスプレーイオン化源；イオンスプレー電圧：5500 V；温度：500；GS1：50 psi；GS2：50 psi；源におけるカーテンガス（CUR）の圧力：15 psi；衝突ガス（CAD）の圧力：8 psi；カチオン検出モード；走査モード：多重反応モニタリング（MRM）；ロチゴチン及びジアゼパムのDP電圧は別個に50 V及び88 Vとする；CEは別個に36 V及び47 Vとする；CXPはどちらも10 Vとする；定量分析のためのイオン反応は別個に316.2/147.1（ロチゴチン）及び256.1/167.1（ジアゼパム）とする。

【0077】

検量線（work curve）の作成

0.2 mLのブランク血漿を、100  $\mu$ Lのロチゴチン標準溶液及び100  $\mu$ Lの内部標準（500 ng/mLのジアゼパム）に添加して、0.05 ng/mL、0.25 ng/mL、1.00 ng/mL、2.50 ng/mL、1.00 ng/mL、2.50 ng/mL、5.00 ng/mL及び12.5 ng/mLのそれぞれの血漿濃度に対応する血漿サンプルを調製した。血漿サンプルを中国薬局方2005年版第2巻の「血漿サンプルの分析方法（the analyzing method of the plasma sample）」に従って操作し、標準曲線を作成した。血漿中の検査対象の物質の濃度をx軸として用い、内部標準物質に対する検査対象の物質のピーク面積比をy軸として用いて、標準曲線の回帰計算を加重（ $W = 1/x^2$ ）最小二乗法に従って行い、標準曲線として一次回帰式を得た。

40

【0078】

試験方法

50



体重 9 kg ~ 11 kg の 3 匹 ( 雌 1 匹 及び 雄 2 匹 ) の 健 常 ビー グ ル 犬 に 飼 料 及 び 飲 料 水 を 自 由 に 摂 ら せ た 。 ロ チ ゴ チ ン 用 量 5 . 5 m g / k g の ミ ク ロ ス フ ェ ア を 、 ビー グ ル の 筋 肉 に 注 射 す る こ と に よ っ て 投 与 し 、 投 与 の 0 時 間 後 、 1 時 間 後 、 3 時 間 後 、 6 時 間 後 、 2 4 時 間 後 、 4 8 時 間 後 、 9 6 時 間 後 、 1 4 4 時 間 後 、 1 9 2 時 間 後 、 2 4 0 時 間 後 、 2 8 8 時 間 後 、 3 3 6 時 間 後 、 3 8 4 時 間 後 、 4 3 2 時 間 後 及 び 4 8 0 時 間 後 に 、 3 m L の 血 液 を ビー グ ル の 前 肢 静 脈 か ら サ ン プ リ ン グ し 、 ヘ パ リ ン 入 り 試 験 管 に 入 れ 、 6 0 0 0 r p m で 1 0 分 間 遠 心 分 離 し て 血 漿 を 分 離 し 、 - 2 0 で 保 管 し た 。 上 記 の 分 析 方 法 に 従 っ て 血 漿 を 分 析 し た 。 *i n v i v o* 放 出 を 図 6 に 示 す 。 表 1 に 示 さ れ る よ う に 、 実 施 例 3 に お い て 調 製 し た ミ ク ロ ス フ ェ ア の 0 . 1 2 5 日 及 び 1 日 の 累 積 放 出 量 は 、 そ れ ぞ れ 2 . 0 0 % 及 び 9 . 5 3 % で あ っ た 。 図 6 か ら 、 ビー グ ル の 体 内 で 明 ら か な ミ ク ロ ス フ ェ ア の バースト放出が見られた後、血中薬物レベルが低下し、96時間後に血中薬物レベルが上昇し、192時間後には血中薬物レベルが  $C_{max}$  まで上昇したことが見て取れる。0.125日及び1日での血中薬物レベルが  $C_{max}$  よりも高かったことから、実施例3において調製したミクロスフェアに明らかなバースト放出があったことが示される。

10

## 【 0 0 7 9 】

実施例 6 単一の P L G A 及びステアリン酸を含むミクロスフェア ( 理論薬物担持率 2 0 % )

ロチゴチンミクロスフェアを、0.3104 g のロチゴチン、1.1603 g の P L G A 7 5 2 5 4 A 及 び 0 . 0 3 7 0 g の ステアリン酸から実施例 1 の方法に従って調製した。

20

## 【 0 0 8 0 】

実施例 7 単一の P L G A 及びステアリン酸を含むミクロスフェア ( 理論薬物担持率 2 5 % )

ロチゴチンミクロスフェアを、0.3712 g のロチゴチン、1.0891 g の P L G A 7 5 2 5 4 A 及 び 0 . 0 3 7 9 g の ステアリン酸から実施例 1 の方法に従って調製した。

## 【 0 0 8 1 】

実施例 8 単一の P L G A 及びステアリン酸を含むミクロスフェア ( 理論薬物担持率 3 0 % )

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4522 g のロチゴチン、1.0136 g の P L G A 7 5 2 5 4 A 及 び 0 . 0 3 7 1 g の ステアリン酸から実施例 1 の方法に従って調製した。

30

## 【 0 0 8 2 】

実施例 9 単一の P L G A 及びステアリン酸を含むミクロスフェア ( 理論薬物担持率 3 5 % )

ロチゴチンミクロスフェアを、0.5258 g のロチゴチン、0.9790 g の P L G A 7 5 2 5 4 A 及 び 0 . 0 3 7 4 g の ステアリン酸から実施例 1 の方法に従って調製した。

## 【 0 0 8 3 】

実施例 1 0 単一の P L G A 及びステアリン酸を含むミクロスフェア ( 理論薬物担持率 4 0 % )

40

ロチゴチンミクロスフェアを、0.6083 g のロチゴチン、0.8619 g の P L G A 7 5 2 5 4 A 及 び 0 . 0 3 6 7 g の ステアリン酸から実施例 1 の方法に従って調製した。

## 【 0 0 8 4 】

試験例 3

*i n v i t r o* 放出試験を、実施例 6 ~ 実施例 1 0 において調製したミクロスフェアについて試験例 1 の方法に従って行った。*i n v i t r o* 放出データを表 2 に示し、*i n v i t r o* 放出曲線を図 7 ~ 図 1 1 に示す。

## 【 0 0 8 5 】

50

## 【 表 2 】

表2. ステアリン酸を含有する種々の理論薬物担持率のミクロスフェアのアッセイ結果

| 薬物担持率  | 20% (ステアリン酸2.5%) |           | 25% (ステアリン酸2.5%) |           | 30% (ステアリン酸2.5%) |           | 35% (ステアリン酸2.5%) |           | 40% (ステアリン酸2.5%) |           |
|--------|------------------|-----------|------------------|-----------|------------------|-----------|------------------|-----------|------------------|-----------|
| 時間 (日) | 累積放出量 (%)        | 1日放出量 (%) | 累積放出量 (%)        | 1日放出量 (%) | 累積放出量 (%)        | 1日放出量 (%) | 累積放出量 (%)        | 1日放出量 (%) | 累積放出量 (%)        | 1日放出量 (%) |
| 0.125  | 0.51             | 0.51      | 0.64             | 0.64      | 0.84             | 0.84      | 2.24             | 2.24      | 3.58             | 3.58      |
| 1      | 2.84             | 2.84      | 3.19             | 3.19      | 3.35             | 3.35      | 6.27             | 6.27      | 10.29            | 10.29     |
| 2      | 5.77             | 2.93      | 6.24             | 3.05      | 6.64             | 3.28      | 10.49            | 4.22      | 25.14            | 14.85     |
| 4      | 17.02            | 5.63      | 14.34            | 4.05      | 16.12            | 4.74      | 20.12            | 4.82      | 39.27            | 7.07      |
| 6      | 35.39            | 9.19      | 30.99            | 8.33      | 31.00            | 7.44      | 33.44            | 6.66      | 55.68            | 8.21      |
| 8      | 60.97            | 12.79     | 53.52            | 11.27     | 58.82            | 13.91     | 53.3             | 10        | 72.89            | 8.61      |
| 10     | 81.24            | 10.14     | 75.23            | 10.86     | 74.63            | 7.91      | 67.32            | 7.01      | 82.34            | 4.73      |
| 12     | 89.75            | 4.26      | 86.24            | 5.51      | 85.60            | 5.48      | 82.68            | 7.68      | 89.51            | 3.59      |
| 14     | 92.45            | 1.35      | 90.95            | 2.36      | 92.50            | 3.45      | 88.53            | 2.93      | 92.97            | 1.73      |
| 16     | 95.29            | 1.42      | 94.64            | 1.85      | 96.63            | 2.06      | 92.49            | 1.98      | 95.26            | 1.15      |
| 18     | 97.65            | 1.18      |                  |           | 98.20            | 0.79      | 95.28            | 1.40      | 96.34            | 0.54      |

表 2 のデータを表 1 のデータと比較した。ステアリン酸を用いると、薬物担持率 20 % ~ 40 % のロチゴチンミクロスフェアについては、0 . 1 2 5 日でのロチゴチンの放出量が 1 . 3 3 % ~ 4 . 9 7 % から 0 . 5 1 % ~ 3 . 5 8 % に減少し、ロチゴチンの 1 日の累積放出量が 5 . 2 4 % ~ 2 0 . 4 5 % から 2 . 8 4 % ~ 1 0 . 2 9 % に減少した。このことから、ステアリン酸の添加がバースト放出効果を効果的に減少させることができることが示される。

【 0 0 8 7 】

試験例 4 ロチゴチンミクロスフェアの *in vivo* 放出試験

サンプル：実施例 8 において調製したミクロスフェア

【 0 0 8 8 】

*in vivo* 薬物動態試験を試験例 2 の方法に従って行った。放出を図 6 に示す。図 6 から、ステアリン酸を添加するとバースト放出効果が減少するが、1 日 ~ 4 日での薬物放出量は低かったことが見て取れる。

【 0 0 8 9 】

実施例 1 1 オクタン酸及び単一の PLGA を含むミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0 . 4 5 2 0 g のロチゴチン、1 . 0 1 1 9 g の PLGA 7 5 2 5 4 A 及び 0 . 0 3 7 1 g のオクタン酸 ( 2 . 5 % ) から実施例 1 の方法に従って調製した。

【 0 0 9 0 】

実施例 1 2 リグノセリン酸及び単一の PLGA を含むミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0 . 4 4 8 9 g のロチゴチン、1 . 0 1 3 0 g の PLGA 7 5 2 5 4 A 及び 0 . 0 3 7 3 g のリグノセリン酸 ( 2 . 5 % ) から実施例 1 の方法に従って調製した。

【 0 0 9 1 】

試験例 5 ロチゴチンミクロスフェアの薬物放出に対する種々の炭素原子数を有する脂肪酸の影響

*in vitro* 放出試験を、実施例 1 1 ~ 実施例 1 2 において調製したミクロスフェアについて試験例 1 の方法に従って行った。*in vitro* 放出データを表 3 に示し、*in vitro* 放出曲線を図 1 2 ~ 図 1 3 に示す。

【 0 0 9 2 】

【表 3】

表 3 . 種々の炭素原子数を有する脂肪酸を含むロチゴチンミクロスフェアの結果

|           | 7 5 2 5 4 A 2 . 5 % オクタン酸 ( C 8 ) |              | 7 5 2 5 4 A 2 . 5 % リグノセリン酸 ( C 2 4 ) |              |
|-----------|-----------------------------------|--------------|---------------------------------------|--------------|
| 時間 ( 日 )  | 累積放出量 ( % )                       | 1 日放出量 ( % ) | 累積放出量 ( % )                           | 1 日放出量 ( % ) |
| 0 . 1 2 5 | 1 . 0 1                           | 1 . 0 1      | 1 . 1 4                               | 1 . 1 4      |
| 1         | 2 . 8 4                           | 2 . 8 4      | 4 . 0 2                               | 4 . 0 2      |
| 2         | 4 . 3 5                           | 1 . 5 1      | 6 . 2 5                               | 2 . 2 3      |
| 4         | 1 1 . 9 1                         | 3 . 7 8      | 1 3 . 2 3                             | 3 . 4 9      |
| 6         | 3 2 . 6 4                         | 1 0 . 3 6    | 2 7 . 5 0                             | 7 . 1 4      |
| 8         | 5 9 . 6 5                         | 1 3 . 5 1    | 5 2 . 8 9                             | 1 2 . 7 0    |
| 1 0       | 7 1 . 0 5                         | 5 . 7 0      | 7 4 . 4 7                             | 1 0 . 7 9    |
| 1 2       | 8 6 . 3 2                         | 7 . 6 4      | 9 0 . 8 7                             | 8 . 2 0      |
| 1 4       | 9 2 . 3 4                         | 3 . 0 1      | 9 4 . 6 6                             | 1 . 9 0      |
| 1 6       | 9 4 . 6 5                         | 1 . 1 6      | 9 6 . 4 8                             | 0 . 9 1      |
| 1 8       | 9 6 . 5 8                         | 0 . 9 6      | 9 9 . 8 2                             | 1 . 6 7      |

【 0 0 9 3 】

表 3 のデータを、表 1 のデータ ( 30 % の薬物担持率のもの ) と比較した。脂肪酸を含まないロチゴチンミクロスフェアと比較すると、オクタン酸 ( 炭素原子数 8 ) 及びリグノセリン酸 ( 炭素原子数 2 4 ) を含むロチゴチンミクロスフェアについては、0 . 1 2 5 日でのロチゴチンの放出量が 2 . 0 0 % から 1 . 0 1 % ~ 1 . 1 4 % に減少し、ロチゴチンの 1 日の累積放出量が 9 . 5 3 % から 2 . 8 4 % ~ 4 . 0 2 % に減少した。このことから、オクタン酸及びリグノセリン酸のどちらの添加も、バースト放出効果を効果的に減少させることができることが示される。表 2 ( 炭素原子数 1 8 のステアリン酸 ) 及び表 3 の結

10

20

30

40

50

果から、炭素原子数 8 ~ 24 の脂肪酸が全て、バースト放出効果を効果的に減少させることができることが見て取れる。

【0094】

実施例 13 単一の PLGA 及び 0.5% ステアリン酸を含むミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4528 g のロチゴチン、1.0432 g の PLGA 7525 4A 及び 0.0078 g のステアリン酸 (0.5%) から実施例 1 の方法に従って調製した。

【0095】

実施例 14 単一の PLGA 及び 1% ステアリン酸を含むミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4528 g のロチゴチン、1.0362 g の PLGA 7525 4A 及び 0.0158 g のステアリン酸 (1%) から実施例 1 の方法に従って調製した。

10

【0096】

実施例 15 単一の PLGA 及び 5% ステアリン酸を含むミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4528 g のロチゴチン、0.9751 g の PLGA 7525 4A 及び 0.0758 g のステアリン酸 (5%) から実施例 1 の方法に従って調製した。

【0097】

実施例 16 単一の PLGA 及び 10% ステアリン酸を含むミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4492 g のロチゴチン、0.9028 g の PLGA 7525 4A 及び 0.1532 g のステアリン酸 (10%) から実施例 1 の方法に従って調製した。

20

【0098】

実施例 17 単一の PLGA 及び 15% ステアリン酸を含むミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4528 g のロチゴチン、0.8261 g の PLGA 7525 4A 及び 0.2258 g のステアリン酸 (15%) から実施例 1 の方法に従って調製した。

【0099】

試験例 6

in vitro 放出試験を、実施例 13 ~ 実施例 17 において調製したミクロスフェアについて試験例 1 の方法に従って行った。

30

【0100】

in vitro 放出結果を表 4 及び図 14 ~ 図 18 に示す。

【0101】

【表 4】

表 4. 種々の含有率のステアリン酸を含むロチゴチンミクロスフェアの結果

| 時間 (日) | 0.5%ステアリン酸 |           | 1%ステアリン酸  |           | 5%ステアリン酸  |           | 10%ステアリン酸 |           | 15%ステアリン酸 |           |
|--------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|        | 累積放出量 (%)  | 1日放出量 (%) | 累積放出量 (%) | 1日放出量 (%) | 累積放出量 (%) | 1日放出量 (%) | 累積放出量 (%) | 1日放出量 (%) | 累積放出量 (%) | 1日放出量 (%) |
| 0.125  | 1.91       | 1.91      | 1.20      | 1.20      | 0.75      | 0.75      | 1.16      | 1.16      | 1.26      | 1.26      |
| 1      | 10.96      | 10.96     | 5.70      | 5.70      | 3.02      | 3.02      | 2.25      | 2.25      | 1.90      | 1.90      |
| 2      | 15.39      | 4.43      | 12.41     | 6.72      | 5.14      | 2.12      | 2.89      | 0.64      | 2.51      | 0.60      |
| 4      | 30.08      | 7.34      | 25.28     | 6.43      | 13.06     | 3.96      | 7.52      | 2.32      | 3.85      | 0.67      |
| 6      | 42.41      | 6.16      | 35.45     | 5.09      | 30.47     | 8.70      | 22.02     | 7.25      | 5.94      | 1.04      |
| 8      | 62.09      | 9.84      | 59.46     | 12.00     | 53.68     | 11.61     | 30.15     | 4.06      | 10.58     | 2.32      |
| 10     | 74.55      | 6.23      | 76.06     | 8.30      | 70.96     | 8.64      | 53.79     | 11.82     | 23.07     | 6.24      |
| 12     | 86.67      | 6.06      | 89.89     | 6.91      | 88.44     | 8.74      | 68.48     | 7.34      | 45.68     | 11.30     |
| 14     | 92.35      | 2.84      | 93.96     | 2.04      | 93.18     | 2.37      | 78.77     | 5.15      | 67.12     | 10.72     |
| 16     | 97.43      | 2.54      | 96.42     | 1.23      | 96.51     | 1.67      | 88.89     | 5.06      | 79.97     | 6.42      |
| 18     |            |           | 98.73     | 1.16      |           |           | 90.88     | 0.99      | 87.42     | 3.73      |
| 20     |            |           |           |           |           |           | 92.91     | 1.02      | 90.38     | 1.48      |

表4のデータと表1のデータとを比較することによって、ステアリン酸の含有率が0.5%である場合に、0.125日でのロチゴチンの放出量及びロチゴチンの1日の累積放出量がそれぞれ1.91%及び10.96%であり、実施例3において調製したステアリン酸を含まないミクロスフェアと比較して大幅には変化しなかったことが見て取れる。このことから、0.5%以下の含有率でのステアリン酸の添加がバースト放出効果を大幅には減少させることができないことが示される。ステアリン酸の含有率が0.5%超、例えば1%～15%である場合、1%～15%のステアリン酸を含むミクロスフェアの0.125日でのロチゴチンの放出量及びロチゴチンの1日の累積放出量は、それぞれ0.75%～1.26%及び1.90%～5.70%に減少し、したがって薬物のバースト放出は効果的に減少した。表4のデータ及び図14～図18に示されるように、ステアリン酸の量を増加させると、薬物の放出は遅くなった。

10

## 【0103】

試験例7 PLGA 5050 2.5Aを含むミクロスフェアのin vivo試験  
in vivo試験を、PLGA 7525 4Aの代わりにPLGA 5050 2.5Aを含み、それ以外は全て等しく又は一定にした実施例3において調製されるミクロスフェアについて、試験例2の方法に従って行った。結果を図19に示す。

## 【0104】

図19から、より初期の放出期間ではPLGA 5050 2.5Aミクロスフェアの放出速度がより速く、全放出期間がより短かったことが見て取れる。

20

## 【0105】

実施例18 分子量の異なる2つのPLGAの組合せ(95:5)を含むロチゴチンミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4504gのロチゴチン、及び0.9973gのPLGA 7525 4Aと0.0521gのPLGA 5050 2.5Aとの組合せ(重量比95:5)から実施例1の方法に従って調製した。

## 【0106】

実施例19 分子量の異なる2つのPLGAの組合せ(50:50)を含むロチゴチンミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4489gのロチゴチン、及び0.5261gのPLGA 7525 4Aと0.5256gのPLGA 5050 2.5Aとの組合せ(重量比50:50)から実施例1の方法に従って調製した。

30

## 【0107】

実施例20 分子量の異なる2つのPLGAの組合せ(5:95)を含むロチゴチンミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4508gのロチゴチン、及び0.0519gのPLGA 7525 4Aと0.9968gのPLGA 5050 2.5Aとの組合せ(重量比5:95)から実施例1の方法に従って調製した。

## 【0108】

試験例8 ミクロスフェアの薬物放出に対する種々の重量比でのポリマーの組合せの影響  
in vitro放出試験を、実施例18～実施例20において調製したミクロスフェアについて試験例1の方法に従って行った。in vitro放出結果を表5及び図20～図22に示す。

40

## 【0109】

【表 5】

表 5. 分子量の異なる 2 つの PLGA の組合せから調製したミクロスフェアの *in vitro* 放

出データ

|        | PLGA 7525 4A : PLGA 5050 2.5A = 95 : 5 |            | PLGA 7525 4A : PLGA 5050 2.5A = 50 : 50 |            | PLGA 7525 4A : PLGA 5050 2.5A = 5 : 95 |            |
|--------|--|------------|---|------------|--|------------|
| 時間 (日) | 累積放出量 (%)                              | 1 日放出量 (%) | 累積放出量 (%)                               | 1 日放出量 (%) | 累積放出量 (%)                              | 1 日放出量 (%) |
| 0.125  | 2.22                                   | 2.22       | 2.58                                    | 2.58       | 2.90                                   | 2.90       |
| 1      | 9.10                                   | 9.10       | 12.32                                   | 12.32      | 16.12                                  | 16.12      |
| 2      | 15.72                                  | 6.62       | 23.86                                   | 11.54      | 29.13                                  | 13.02      |
| 4      | 29.36                                  | 6.82       | 45.44                                   | 10.79      | 53.34                                  | 12.11      |
| 6      | 52.30                                  | 11.47      | 63.26                                   | 8.91       | 73.25                                  | 9.95       |
| 8      | 64.32                                  | 6.01       | 74.28                                   | 5.51       | 89.49                                  | 8.12       |
| 10     | 75.29                                  | 5.49       | 82.98                                   | 4.35       | 95.26                                  | 2.89       |
| 12     | 86.16                                  | 5.44       | 91.44                                   | 4.23       | 97.31                                  | 1.02       |
| 14     | 92.51                                  | 3.17       | 97.26                                   | 2.91       | 99.30                                  | 0.99       |
| 16     | 95.96                                  | 1.73       | 99.23                                   | 0.99       |  |            |
| 18     | 98.29                                  | 1.16       |   |            |  |            |

## 【0110】

表 5 及び図 20 ~ 図 22 から、ミクロスフェア中の PLGA 5050 2.5A の含有率を 5 % から 95 % に増大させた場合に、1 日 ~ 4 日でのロチゴチンの放出量が増大し、またロチゴチンの 1 日の累積放出量が 9.10 % から 16.12 % に増大し、ロチゴチンの 4 日間の累積放出量が 29.36 % から 53.34 % に増大したことが見て取れる。ミクロスフェアにおける PLGA 7525 4A 対 PLGA 5050 2.5A の重量比が 50 : 50 である場合、表 1 の実施例 3 のデータと比較すると、1 日 ~ 4 日でのロチゴチンの放出量が安定した放出期間を伴って増大し、ロチゴチンの 1 日の累積放出量が 9.53 % から 12.32 % に増大し、ロチゴチンの 4 日間の累積放出量が 22.90 % から 45.44 % に増大した。

## 【0111】

実施例 21 ステアリン酸 (1 %) 及び分子量の異なる 2 つの PLGA の組合せ (50 : 50) を含むロチゴチンミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4507 g のロチゴチン、0.5170 g の PLGA 7525 4A と 0.5177 g の PLGA 5050 2.5A との組合せ (重量比 50 : 50)、及び 0.0155 g のステアリン酸 (1 %) から実施例 1 の方法に従って調製した。

## 【0112】

実施例 22 ステアリン酸 (2.5 %) 及び分子量の異なる 2 つの PLGA の組合せ (50 : 50) を含むミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4491 g のロチゴチン、0.5060 g の PLGA 7525 4A と 0.5055 g の PLGA 5050 2.5A との組合せ (重量比 50 : 50)、及び 0.0371 g のステアリン酸 (2.5 %) から実施例 1 の方法に従って調製した。

## 【0113】

実施例 23 ステアリン酸 (7.5 %) 及び分子量の異なる 2 つの PLGA の組合せ (50 : 50) を含むミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4510 g のロチゴチン、0.4680 g の PLGA 7525 4A と 0.4701 g の PLGA 5050 2.5A との組合せ (重量比 50 : 50)、及び 0.1119 g のステアリン酸 (7.5 %) から実施例 1 の方法に従って調製した。

## 【0114】

実施例 24 ステアリン酸 (10 %) 及び分子量の異なる 2 つの PLGA の組合せ (50 : 50) を含むミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4503 g のロチゴチン、0.4479 g の PLGA 7525 4A と 0.4501 g の PLGA 5050 2.5A との組合せ (重量

10

20

30

40

50

比 50 : 50)、及び 0.1520 g のステアリン酸 (10%) から実施例 1 の方法に従って調製した。

【0115】

実施例 25 オクタン酸 (2.5%) 及び分子量の異なる 2 つの PLGA の組合せ (50 : 50) を含むミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4490 g のロチゴチン、0.5101 g の PLGA 7525 4A と 0.5091 g の PLGA 5050 2.5A との組合せ (重量比 50 : 50)、及び 0.0380 g のオクタン酸 (2.5%) から実施例 1 の方法に従って調製した。

【0116】

実施例 26 リグノセリン酸 (2.5%) 及び分子量の異なる 2 つの PLGA の組合せ (50 : 50) を含むミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4520 g のロチゴチン、0.5055 g の PLGA 7525 4A と 0.5062 g の PLGA 5050 2.5A との組合せ (重量比 50 : 50)、及び 0.0379 g のリグノセリン酸 (2.5%) から実施例 1 の方法に従って調製した。

【0117】

実施例 27 ステアリン酸 (2.5%) 及び分子量の異なる 2 つの PLGA の組合せ (95 : 5) を含むミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4507 g のロチゴチン、0.9621 g の PLGA 7525 4A と 0.0505 g の PLGA 5050 2.5A との組合せ (重量比 95 : 5)、及び 0.0369 g のステアリン酸 (2.5%) から実施例 1 の方法に従って調製した。

【0118】

実施例 28 ステアリン酸 (2.5%) 及び分子量の異なる 2 つの PLGA の組合せ (5 : 95) を含むミクロスフェア

ロチゴチンミクロスフェアを、0.4514 g のロチゴチン、0.0501 g の PLGA 7525 4A と 0.9610 g の PLGA 5050 2.5A との組合せ (重量比 5 : 95)、及び 0.0370 g のステアリン酸 (2.5%) から実施例 1 の方法に従って調製した。

【0119】

試験例 9 種々の含有率のステアリン酸及び分子量の異なる PLGA の組合せを含むロチゴチンミクロスフェアの *in vitro* 試験

*in vitro* 放出試験を、実施例 21 ~ 実施例 24 において調製したミクロスフェアについて試験例 1 の方法に従って行った。*in vitro* 放出結果を表 6 及び図 23 ~ 図 26 に示す。

【0120】

10

20

30



【表 6】

表 6. 種々の含有率のステアリン酸及び分子量の異なる2つのPLGAの組合せを含むミクロスフェアの in vitro 放出データ

| 時間 (日)   | 7 5 2 5   4 A : 5 0 5 0   2 . 5<br>A = 5 0 : 5 0<br>(1%ステアリン酸) |           | 7 5 2 5   4 A : 5 0 5 0   2 . 5<br>A = 5 0 : 5 0<br>(2.5%ステアリン酸) |           | 7 5 2 5   4 A : 5 0 5 0   2 . 5<br>A = 5 0 : 5 0<br>(7.5%ステアリン酸) |           | 7 5 2 5   4 A : 5 0 5 0   2 . 5<br>A = 5 0 : 5 0<br>(10%ステアリン酸) |           |
|----------|--|-----------|--|-----------|--|-----------|---|-----------|
|          | 累積放出量 (%)  | 1日放出量 (%) | 累積放出量 (%)  | 1日放出量 (%) | 累積放出量 (%)  | 1日放出量 (%) | 累積放出量 (%)   | 1日放出量 (%) |
| 0. 1 2 5 | 1. 9 6   | 1. 9 6    | 1. 0 2   | 1. 0 2    | 0. 9 1   | 0. 9 1    | 1. 1 3  | 1. 1 3    |
| 1        | 9. 1 9   | 9. 1 9    | 6. 3 2   | 6. 3 2    | 5. 1 8   | 5. 1 8    | 2. 8 7  | 2. 8 7    |
| 2        | 22. 8 0  | 13. 6 1   | 17. 7 8  | 11. 4 6   | 11. 4 6  | 6. 2 8    | 5. 7 8  | 2. 9 1    |
| 4        | 41. 5 3  | 9. 3 6    | 39. 1 7  | 10. 6 9   | 31. 8 3  | 10. 1 8   | 11. 2 4   | 2. 7 3    |
| 6        | 65. 4 9  | 11. 9 8   | 60. 0 0  | 10. 4 2   | 53. 1 5  | 10. 6 6   | 24. 4 5   | 6. 6 1    |
| 8        | 77. 7 4  | 6. 1 2    | 75. 3 7  | 7. 6 8    | 70. 4 1  | 8. 6 3    | 50. 4 7   | 13. 0 1   |
| 10       | 89. 9 0  | 6. 0 8    | 85. 7 1  | 5. 1 7    | 81. 1 2  | 5. 3 6    | 67. 7 6   | 8. 6 5    |
| 12       | 93. 0 4  | 1. 5 7    | 92. 6 1  | 3. 4 5    | 88. 7 7  | 3. 8 3    | 77. 4 9   | 4. 8 6    |
| 14       | 97. 3 8  | 2. 1 7    | 96. 1 4  | 1. 7 7    | 92. 8 5  | 2. 0 4    | 84. 6 4   | 3. 5 8    |
| 16       | 99. 5 6  | 1. 0 9    | 99. 2 2  | 1. 5 4    | 96. 2 6  | 1. 7 0    | 89. 7 9   | 2. 5 7    |
| 18       |  |           |  |           |  |           | 93. 6 7   | 1. 9 4    |
| 20       |  |           |  |           |  |           | 95. 8 2   | 1. 0 8    |

表 6 及び図 2 3 ~ 図 2 6 の結果と表 5 の実施例 1 9 の結果とを比較することによって、PLGA 7525 4A 対 PLGA 5050 2.5A の重量比が 50 : 50 であり、ミクロスフェア中のステアリン酸の含有率が 2.5 % ~ 7.5 % である場合に、バースト放出効果が大幅に減少し、累積薬物放出曲線がはるかに線形になることが見て取れる。  
【0122】

試験例 10 種々の分子量の脂肪酸及び分子量の異なる PLGA の組合せを含むロチゴチンミクロスフェアの *in vitro* 試験

*in vitro* 放出試験を、実施例 2 2、実施例 2 5 及び実施例 2 6 において調製したミクロスフェアについて試験例 1 の方法に従って行った。*in vitro* 放出結果を表 7 及び図 2 4、図 2 7 及び図 2 8 に示す。

【0123】

【表 7】

表 7. 種々の分子量の脂肪酸及び分子量の異なる PLGA の組合せを含むミクロスフェアの *in vitro* 放出データ

| 時間 (日) | 7525 4A:5050 2.5<br>A=50:50 (2.5%オク<br>タン酸) |            | 7525 4A:5050 2.5<br>A=50:50 (2.5%ステア<br>リン酸) |            | 7525 4A:5050 2.5<br>A=50:50 (2.5%リグノセ<br>リン酸) |            |
|--------|---|------------|--|------------|---|------------|
|        | 累積放出量 (%)                                   | 1 日放出量 (%) | 累積放出量 (%)                                    | 1 日放出量 (%) | 累積放出量 (%)                                     | 1 日放出量 (%) |
| 0.125  | 0.92  | 0.92       | 1.02   | 1.02       | 1.13  | 1.13       |
| 1      | 8.27  | 8.27       | 6.32   | 6.32       | 7.48  | 7.48       |
| 2      | 21.86                                       | 13.59      | 17.78  | 11.46      | 15.66   | 8.18       |
| 4      | 37.41                                       | 7.77       | 39.17  | 10.69      | 29.35   | 6.85       |
| 6      | 53.26                                       | 7.93       | 60.00  | 10.42      | 48.02   | 9.33       |
| 8      | 67.35                                       | 7.04       | 75.37  | 7.68       | 70.91   | 11.45      |
| 10     | 82.98                                       | 7.81       | 85.71  | 5.17       | 84.08   | 6.59       |
| 12     | 91.44                                       | 4.23       | 92.61  | 3.45       | 91.22   | 3.57       |
| 14     | 94.26                                       | 1.41       | 96.14  | 1.77       | 95.54   | 2.16       |
| 16     | 97.16                                       | 1.45       | 99.22  | 1.54       | 97.49   | 0.98       |

【0124】

表 7 及び図 2 4、図 2 7、図 2 8 の結果と表 5 の実施例 1 9 の結果とを比較することによって、含有率がそれぞれ 2.5 % のオクタン酸、ステアリン酸及びリグノセリン酸を配合物に添加した場合に、バースト放出が減少し、薬物放出曲線がより線形となる傾向があったことが見て取れる。このことから、炭素原子数 8 ~ 24 の脂肪酸が全て、安定した薬物放出の要件を満たすことができることが示される。

【0125】

試験例 11 ステアリン酸 (2.5 %) 及び種々の重量比の分子量の異なる PLGA の組合せを含むロチゴチンミクロスフェアの *in vitro* 試験

*in vitro* 放出試験を、実施例 2 2、実施例 2 7 及び実施例 2 8 において調製したミクロスフェアについて試験例 1 の方法に従って行った。*in vitro* 放出結果を表 8 及び図 2 4、図 2 9 及び図 3 0 に示す。

【0126】

【表 8】

表 8. ステアリン酸及び種々の重量比の分子量の異なる PLGA の組合せを含むミクロスフェアの *in vitro* 放出データ

| 時間 (日) | 7525 4A:5050 2.5<br>A=50:50 (2.5%ステ<br>アリン酸) |            | 7525 4A:5050 2.5<br>A=95:5 (2.5%ステ<br>アリン酸) |            | 7525 4A:5050 2.5<br>A=5:95 (2.5%ステ<br>アリン酸) |            |
|--------|--|------------|---|------------|---|------------|
|        | 累積放出量 (%)                                    | 1 日放出量 (%) | 累積放出量 (%)                                   | 1 日放出量 (%) | 累積放出量 (%)                                   | 1 日放出量 (%) |
| 0.125  | 1.02   | 1.02       | 0.96  | 0.96       | 1.24  | 1.24       |
| 1      | 6.32   | 6.32       | 5.19  | 5.19       | 11.18                                       | 11.18      |
| 2      | 17.78  | 11.46      | 10.46                                       | 5.27       | 24.13                                       | 12.95      |
| 4      | 39.17  | 10.69      | 25.47                                       | 7.50       | 50.45                                       | 13.16      |
| 6      | 60.00  | 10.42      | 44.25                                       | 9.39       | 70.25                                       | 9.90       |
| 8      | 75.37  | 7.68       | 66.29                                       | 11.02      | 84.49                                       | 7.12       |
| 10     | 85.71  | 5.17       | 79.25                                       | 6.48       | 93.26                                       | 4.39       |
| 12     | 92.61  | 3.45       | 88.19                                       | 4.47       | 96.10                                       | 1.42       |
| 14     | 96.14  | 1.77       | 94.51                                       | 3.16       | 99.28                                       | 1.59       |
| 16     | 99.22  | 1.54       | 98.80                                       | 2.14       |   |            |

【0127】

表 8 並びに図 2 9 及び図 3 0 から、ステアリン酸の含有率が 2.5 % であり、PLGA

7525 4A対PLGA 5050 2.5Aの重量比が95:5である場合に、1日～4日での薬物放出量が僅かに低くなり、PLGA 7525 4A対PLGA 5050 2.5Aの重量比が5:95である場合に、1日～4日での薬物放出量が僅かに高くなり、10日目には累積放出量が短い放出期間で93.26%に達し、PLGA 7525 4A対PLGA 5050 2.5Aの重量比が50:50である場合に、薬物放出がより安定となり、薬物を14日間にわたって持続的に放出することができたことが見て取れる。

【0128】

試験例12 或る薬物担持率でステアリン酸(2.5%)及び種々の重量比のPLGA 7525 4AとPLGA 5050 2.5Aとの組合せを含むマイクロスフェアのin vivo試験

10

マイクロスフェアを、90:10、80:20、70:30及び50:50というPLGA 7525 4A対PLGA 5050 2.5Aの種々の重量比を用いた以外は実施例8に従って調製した。in vivo放出試験をマイクロスフェアについて試験例2の方法に従って行った。結果を図31に示す。

【0129】

in vivo放出(図31)から、重量比の異なる2つのPLGAを種々の重量比で混合すると、PLGA 5050 2.5Aの含有率が増加するほど、1日～4日でのマイクロスフェアの薬物放出量が増大し、in vivo放出曲線がより安定となる傾向があり、PLGA 7525 4A対PLGA 5050 2.5Aの重量比が50:50である場合に、in vivo放出曲線が顕著なバースト放出効果なしに、より安定していたことが見て取れる。

20

【0130】

上記の結果から示されるように、重量比の異なる2つのPLGAを種々の重量比で混合することにより、単一のPLGAの欠点が効果的に克服された。すなわち、15000～30000の分子量を有するPLGA(PLGA 2.5A)は、1日～4日でのマイクロスフェアの薬物放出量を増大させることができ、42000～75000の分子量を有するPLGA(PLGA 4A)は薬物放出期間を延長することができるため、in vivo薬物放出がより安定したマイクロスフェアが得られる。

【0131】

30

試験例13 或る薬物担持率でステアリン酸(2.5%)及び種々の重量比のPLGA 7525 5AとPLGA 5050 2.5Aとの組合せを含むマイクロスフェアのin vitro試験

マイクロスフェアを、90:10、80:20及び70:30というPLGA 7525 5A対PLGA 5050 2.5Aの種々の重量比を用いた以外は実施例8に従って調製した。in vitro放出試験をマイクロスフェアについて試験例1の方法に従って行った。in vitro放出データを表9に示す。

【0132】

【表 9】

表 9. ステアリン酸及び分子量の異なる PLGA 7525 5A と PLGA 5050 2.5A との組合せを含むミクロスフェアの *in vitro* 放出データ

| 時間 (日) | 7525 5A:5050 2.5A=90:10 (2.5%ステアリン酸) |           | 7525 5A:5050 2.5A=80:20 (2.5%ステアリン酸) |           | 7525 5A:5050 2.5A=70:30 (2.5%ステアリン酸) |           |
|--------|--------------------------------------|-----------|--------------------------------------|-----------|--------------------------------------|-----------|
|        | 累積放出量 (%)                            | 1日放出量 (%) | 累積放出量 (%)                            | 1日放出量 (%) | 累積放出量 (%)                            | 1日放出量 (%) |
| 0.125  | 1.44                                 | 1.44      | 1.53                                 | 1.53      | 1.61                                 | 1.61      |
| 1      | 4.28                                 | 4.28      | 6.23                                 | 6.23      | 7.64                                 | 7.64      |
| 2      | 8.73                                 | 4.45      | 11.70                                | 5.47      | 15.74                                | 7.09      |
| 4      | 24.29                                | 7.78      | 28.96                                | 8.63      | 30.21                                | 7.74      |
| 6      | 42.41                                | 9.06      | 43.30                                | 7.17      | 47.89                                | 8.84      |
| 8      | 63.49                                | 10.54     | 65.68                                | 11.19     | 63.17                                | 7.64      |
| 10     | 75.38                                | 5.95      | 74.35                                | 4.33      | 72.48                                | 4.66      |
| 12     | 84.65                                | 4.64      | 80.81                                | 3.23      | 81.97                                | 4.75      |
| 14     | 90.45                                | 2.90      | 90.57                                | 4.88      | 89.30                                | 3.66      |
| 16     | 94.83                                | 2.19      | 95.78                                | 2.61      | 92.56                                | 1.63      |
| 18     | 97.87                                | 1.52      | 98.21                                | 1.22      | 94.65                                | 1.05      |
| 20     |                                      |           |                                      |           | 95.81                                | 0.58      |

## 【0133】

表 9 から、PLGA (7525 5A) 及び PLGA (5050 2.5A) を種々の重量比で混合すると、調製されるミクロスフェアの薬物放出特性が、PLGA (7525 4A) 及び PLGA (5050 2.5A) から調製されるミクロスフェアの薬物放出特性と同様になったことが見て取れる。ミクロスフェア中の PLGA (5050 2.5A) の含有率が増加するほど、1日～4日でのミクロスフェアの薬物放出量が相応して増大した。PLGA 7525 5A 対 PLGA 5050 2.5A の重量比を 90:10 から 70:30 に変更した場合、1日の累積放出量は 4.28% から 7.64% に増大し、4日間の累積放出量は 24.29% から 30.21% に増大した。これらのミクロスフェアは 2.5% のステアリン酸を含有するため、0.125 日及び 1 日でのミクロスフェアの放出量はより小さく、ミクロスフェアの *in vivo* パースト放出はより小さかったことが示される。

## 【0134】

試験例 14 ロチゴチンミクロスフェアの *in vitro* - *in vivo* 相関試験

図 32 に示されるように、実施例 22 において調製したミクロスフェアの *in vitro* 累積放出データ及び *in vivo* 放出データを用いて相関図をプロットした (一次方程式:  $y = 1.2137x - 3.7464$ ,  $r = 0.9943$ )。図 32 から、ロチゴチンミクロスフェアの *in vitro* 薬物放出時間と *in vivo* 吸収率とが良好な相関を有することが見て取れる。このことから、ミクロスフェアの *in vitro* 放出の評価に選択される *in vitro* 放出条件を、ミクロスフェアの *in vivo* 放出プロファイルを予測するために使用することができることが示される。

## 【0135】

試験例 15 PLGA の分子量の決定

装置及び試薬

Agilent 1100 高速液体クロマトグラフ (quaternary pump、カラムオープン、自動サンプラー、RID 検出器、及び GPC ソフトウェアを用いる HPLC Station を備える); クロマトグラフカラム: Styragel (商標) HT3 (7.8 × 300 mm、10 µm、分子量範囲: 500 ~ 30000)、Styragel (商標) 6E (7.8 × 300 mm、10 µm、分子量範囲: 5000 ~ 600000); テトラヒドロフラン (クロマトグラフ的に純粋 (chromatographic pure)、SK Chemical、G6EE3H); ポリスチレン分子量標準 (Fluka、1226627); サンプル: PLGA 7525 5A、PLGA 7525 4A、PLGA 5050 2.5A (Lakeshore Biomaterials, Inc.)。

## 【0136】

サンプルの分子量を、サイズ排除クロマトグラフィーを用いて決定した。ポリマー PLGA は脂溶性であり、紫外線吸収を有しないため、サンプルを示差屈折率検出器でテトラ

ヒドロフランを溶媒及び移動相として用いて試験した。ポリマー P L G A の分子量 ( $M_w$ ) は約 5 0 0 0 0 であるため、選択するクロマトグラフカラムの分子量範囲がこの範囲を含み、測定対象のサンプルの分子量分布範囲が選択するクロマトグラフカラムの分子量範囲の中央にあるものとした。S t y r a g e l ( 商 標 ) H T 3 ( 7 . 8 × 3 0 0 m m 、 1 0 μ m 、 分子量範囲 : 5 0 0 ~ 3 0 0 0 0 ) 及び S t y r a g e l ( 商 標 ) 6 E ( 7 . 8 × 3 0 0 m m 、 1 0 μ m 、 分子量範囲 : 5 0 0 0 ~ 6 0 0 0 0 0 ) を直列につないで使用した。P L G A の性質はポリスチレンと同様であるため、Fluka Chemical Corp. から入手可能なサンプルの分子量範囲を含むポリスチレン混合標準 ( 分子量範囲 : 5 0 0 ~ 2 5 0 0 0 0 0 ) を選択した。

【 0 1 3 7 】

10

決定方法

適切な量のサンプルを移動相に添加して、濃度約 1 m g / m l の溶液を調製し、振動させて、試験溶液を調製した。一連のポリスチレン分子量標準 ( 3 ボトル、各々のボトルは 4 つの標準分子量の混合標準を含む ) を移動相に添加して、濃度 1 . 0 m g / m l の溶液を参照溶液として調製した。試験は、示差屈折率検出器でサイズ排除クロマトグラフィー ( 中国薬局方 2 0 0 5 年版第 2 巻付録 V H ) に従って、ゲルクロマトグラフカラムを用い、テトラヒドロフランを移動相として用いて、カラム温度 3 0 、流量 1 . 0 m l / 分及び検出器温度 3 5 で行った。所要量のアセトニトリルを移動相で 5 0 0 倍に希釈した。2 0 μ l の希釈溶液を液体クロマトグラフに注入し、クロマトグラムを記録した。1 0 0 0 0 以上の理論段数がアセトニトリルピークに従って算出された。

20

【 0 1 3 8 】

各々 2 0 μ l の参照溶液を液体クロマトグラフに注入し、クロマトグラムを記録し、回帰方程式を G P C ソフトウェアによって算出した。2 0 μ l の試験溶液を同じ方法に従って測定し、サンプルの重量平均分子量、数平均分子量及び分子量分布を G P C ソフトウェアによって算出した。結果を表 1 0 、表 1 1 及び表 1 2 に示す。

【 0 1 3 9 】

【 表 1 0 】

表 1 0 . P L G A の分子量の結果

| 番号 | P L G A 5 0 5 0 2 . 5 A<br>( k D a ) | P L G A 7 5 2 5 4 A<br>( k D a ) | P L G A 7 5 2 5 5 A<br>( k D a ) |
|----|--------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 1  | 2 4                                  | 4 9                              | 6 7                              |
| 2  | 2 3                                  | 5 3                              | 6 6                              |
| 3  | 2 3                                  | 5 1                              | 6 7                              |

30

【 0 1 4 0 】

Lakeshore Biomaterials Inc. からの P L G A 試験報告の結果を表 1 1 に示す。

【 0 1 4 1 】

【 表 1 1 】

表 1 1 . P L G A 分子量試験報告

| 番号 | P L G A 5 0 5 0 2 . 5 A<br>( k D a ) | P L G A 7 5 2 5 4 A<br>( k D a ) | P L G A 7 5 2 5 5 A<br>( k D a ) |
|----|--------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 1  | 2 6                                  | 5 1                              | 6 7                              |
| 2  | 2 6                                  | 5 4                              | 6 8                              |
| 3  | 2 8                                  | 4 2                              | 7 2                              |

【 0 1 4 2 】

40

【 表 1 2 】

表 1 2 . P L G A の分子量分布

| P L G A                 | 分子量分布                 |
|-------------------------|-----------------------|
| P L G A 5 0 5 0 2 . 5 A | 1 5 0 0 0 ~ 3 5 0 0 0 |
| P L G A 7 5 2 5 4 A     | 4 2 0 0 0 ~ 5 8 0 0 0 |
| P L G A 7 5 2 5 5 A     | 5 5 0 0 0 ~ 7 5 0 0 0 |

【 0 1 4 3 】

或る特定の P L G A の分子量を表 1 2 に示す。

【 0 1 4 4 】

試験例 1 6 バッチ間一貫性

5 バッチのロチゴチンミクロスフェアを、実施例 3 、実施例 8 、実施例 1 1 、実施例 1

50

2、実施例 1 4 及び実施例 1 6 の方法に従って調製した。in vitro 放出試験をミクロスフェアについて試験例 1 の方法に従って行った。実施例 3 において調製した 5 バッチのミクロスフェアの in vitro 放出曲線を図 3 3 に示す。

【 0 1 4 5 】

実施例 8 において調製した 5 バッチのミクロスフェアの in vitro 放出曲線を図 3 4 に示す。

【 0 1 4 6 】

実施例 1 4 において調製した 5 バッチのミクロスフェアの in vitro 放出曲線を図 3 5 に示す。

【 0 1 4 7 】

実施例 1 6 において調製した 5 バッチのミクロスフェアの in vitro 放出曲線を図 3 6 に示す。

【 0 1 4 8 】

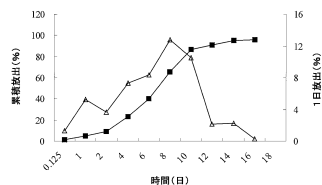
実施例 1 1 において調製した 5 バッチのミクロスフェアの in vitro 放出曲線を図 3 7 に示す。

【 0 1 4 9 】

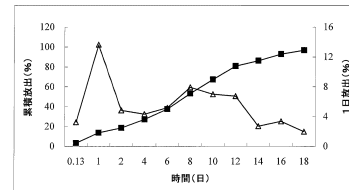
実施例 1 2 において調製した 5 バッチのミクロスフェアの in vitro 放出曲線を図 3 8 に示す。

10

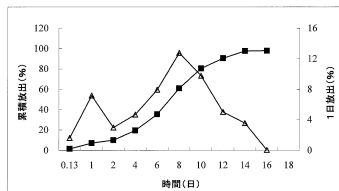
【 図 1 】



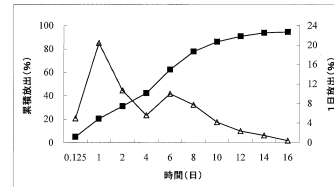
【 図 4 】



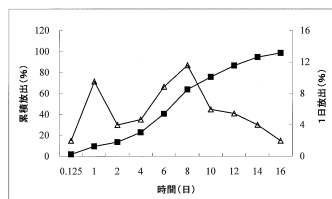
【 図 2 】



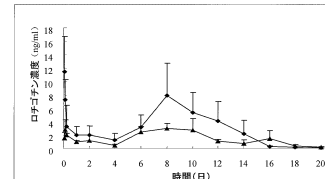
【 図 5 】



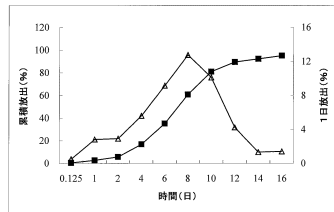
【 図 3 】



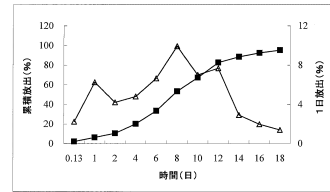
【 図 6 】



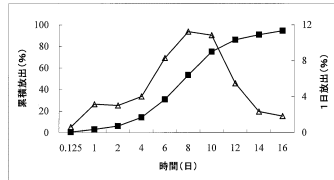
【図 7】



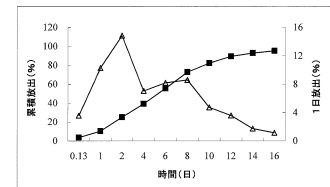
【図 10】



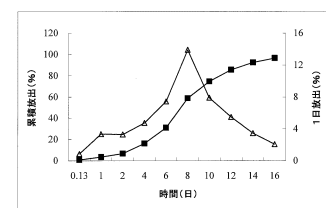
【図 8】



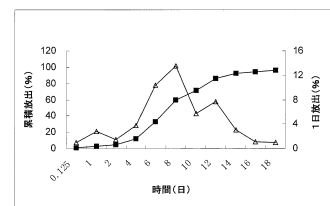
【図 11】



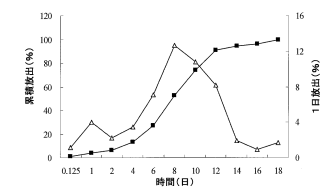
【図 9】



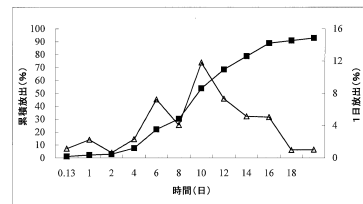
【図 12】



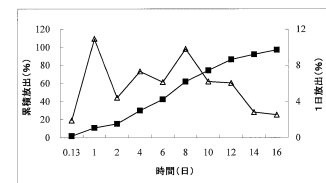
【図 13】



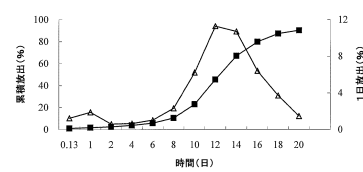
【図 17】



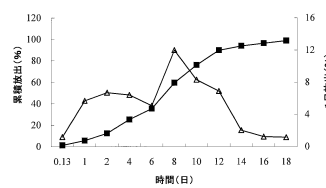
【図 14】



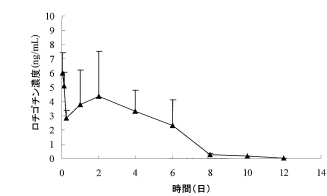
【図 18】



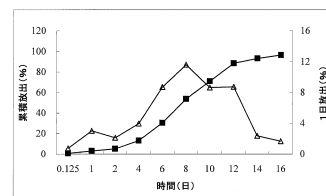
【図 15】



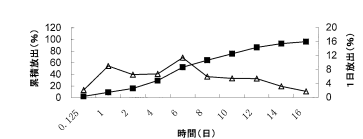
【図 19】



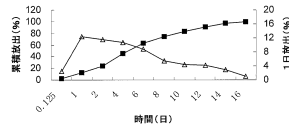
【図 16】



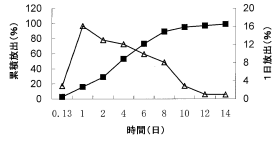
【図 20】



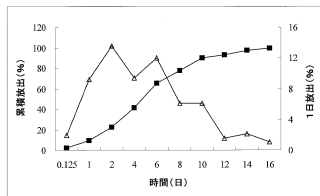
【図 2 1】



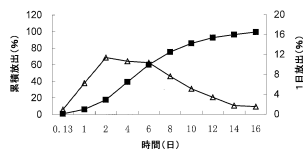
【図 2 2】



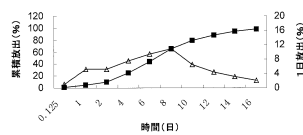
【図 2 3】



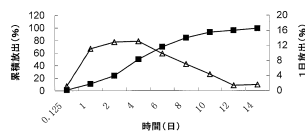
【図 2 4】



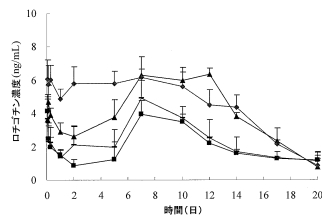
【図 2 9】



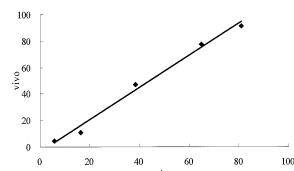
【図 3 0】



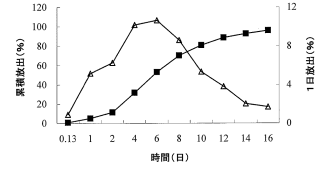
【図 3 1】



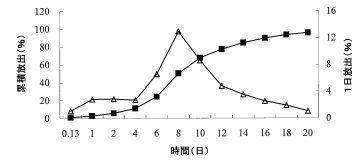
【図 3 2】



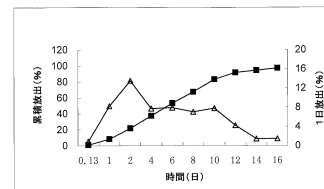
【図 2 5】



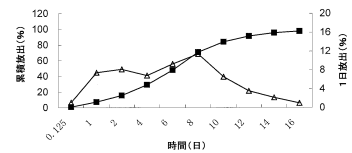
【図 2 6】



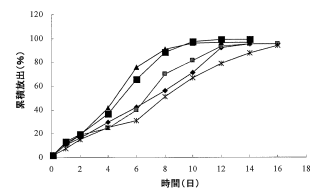
【図 2 7】



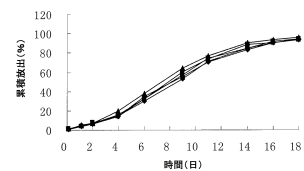
【図 2 8】



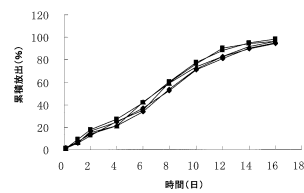
【図 3 3】



【図 3 4】

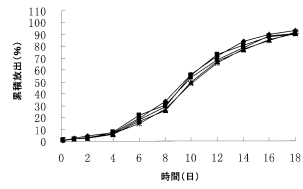


【図 3 5】

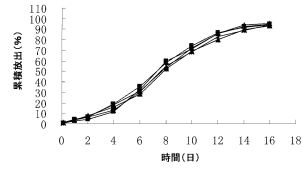




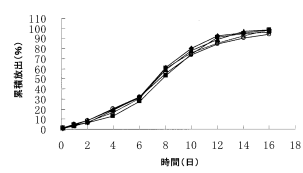
## 【図 36】



## 【図 37】



## 【図 38】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
 A 6 1 P 25/16 (2006.01) A 6 1 P 25/16

(74)代理人 100122471

弁理士 初井 孝文

(72)発明者 ワン, アイピン

中華人民共和国 シャンドン 264003, ヤンタイ, ライシャン ディストリクト, チンチュエン ロード ナンバー 32

(72)発明者 リ, ユウシン

ドイツ国 40764 ランゲンフェルト, リカルダ フッフ シュトラッセ 84

(72)発明者 リユウ, ワンファイ

中華人民共和国 シャンドン 264003, ヤンタイ, ライシャン ディストリクト, チンガアン ロード ナンバー 30, ヤンタイ ユニバーシティ ファミリー アコモデーション ジー7-1-1502

(72)発明者 サン, カオシャン

中華人民共和国 シャンドン 264003, ヤンタイ, ライシャン ディストリクト, インハイ ロード 566

(72)発明者 リ, ジュン

中華人民共和国 ベイジン 100027, チャオヤング ディストリクト, シュエン フウピン ストリート ナンバー3, ルーム 307

(72)発明者 サン, リファン

中華人民共和国 シャンドン 264003, ヤンタイ, ストリート 30-1, トンシロード ファイアン コミュニティ ファイチョング

## 合議体

審判長 服部 智

審判官 蔵野 雅昭

審判官 穴吹 智子

(56)参考文献 特表2008-513524号公報

特表2001-515862号公報

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K31/00-31/80

A61K9/00-9/72

A61K47/00-47/48

C A p l u s ( S T N )、M E D L I N E ( S T N )

E M B A S E ( S T N )、B I O S I S ( S T N )

R E G I S T R Y ( S T N )

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )