



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202120126 A

(43)公開日：中華民國 110 (2021) 年 06 月 01 日

(21)申請案號：109125750

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 07 月 30 日

(51)Int. Cl.：

*A61K47/02 (2006.01)**A61K47/12 (2006.01)**A61K47/32 (2006.01)**A61K47/34 (2017.01)**A61P27/16 (2006.01)*

(30)優先權：2019/07/31 日本

2019-140977

(71)申請人：日商安斯泰來製藥股份有限公司 (日本) ASTELLAS PHARMA INC. (JP)

日本

(72)發明人：吉田貴恒 YOSHIDA, TAKATSUNE (JP)；長田茉莉 OSADA, MARI (JP)；松田顯也 MATSUDA, TAKAYA (JP)；島田謙 SHIMADA, KEN (JP)；小島宏行 KOJIMA, HIROYUKI (JP)；長倉晃 NAGAKURA, AKIRA (JP)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：26 項 圖式數：5 共 86 頁

(54)名稱

耳內投予用之醫藥組成物

(57)摘要

本發明提供一種無需複雜的操作即可對耳內投予，而且具有藥物在耳內滯留及緩釋之機能的醫藥組成物。一種耳內投予用之醫藥組成物，其係含有 1 種或 2 種以上之藥物及聚合物，一邊使用流變儀以剪切應變 5% 且角頻率 50rad/秒之條件及使溫度自 25°C 以 1°C/10 秒的升溫速度升溫至 37°C，一邊測定該醫藥組成物的複數黏度時，具有在 25°C 之時間點為未達 1650mPa·s，且在達到 37°C 後過 10 分鐘之時間點為 1650mPa·s 以上且 100000mPa·s 以下的複數黏度特性。

Provided is a pharmaceutical composition that can be administered into the ear without any complicated operation and has a function of allowing a drug to be retained and slowly released in the ear. A pharmaceutical composition for otic administration, comprising one, or two or more drugs and a polymer, wherein when the complex viscosity of the pharmaceutical composition is measured using a rheometer under the conditions of a shear strain of 5% and an angular frequency of 50 rad/sec., while increasing the temperature from 25°C to 37°C at a heating rate of 1°C/10 sec., the complex viscosity is less than 1,650 mPa·s at 25°C, and is from 1,650 mPa·s to 100,000 mPa·s at 10 minutes after reaching 37°C.



202120126

【發明摘要】

【中文發明名稱】

耳內投予用之醫藥組成物

【英文發明名稱】

PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR OTIC ADMINISTRATION

【中文】

本發明提供一種無需複雜的操作即可對耳內投予，而且具有藥物在耳內滯留及緩釋之機能的醫藥組成物。一種耳內投予用之醫藥組成物，其係含有1種或2種以上之藥物及聚合物，一邊使用流變儀以剪切應變5%且角頻率50rad/秒之條件及使溫度自25℃以1℃/10秒的升溫速度升溫至37℃，一邊測定該醫藥組成物的複數黏度時，具有在25℃之時間點為未達1650mPa·s，且在達到37℃後過10分鐘之時間點為1650mPa·s以上且100000mPa·s以下的複數黏度特性。

【 英文 】

Provided is a pharmaceutical composition that can be administered into the ear without any complicated operation and has a function of allowing a drug to be retained and slowly released in the ear. A pharmaceutical composition for otic administration, comprising one, or two or more drugs and a polymer, wherein when the complex viscosity of the pharmaceutical composition is measured using a rheometer under the conditions of a shear strain of 5% and an angular frequency of 50 rad/sec., while increasing the temperature from 25°C to 37°C at a heating rate of 1°C/10 sec., the complex viscosity is less than 1,650 mPa·s at 25°C, and is from 1,650 mPa·s to 100,000 mPa·s at 10 minutes after reaching 37°C.

【 指 定 代 表 圖 】 無
【 代 表 圖 之 符 號 簡 單 說 明 】 無

【 特 徵 化 學 式 】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

耳內投予用之醫藥組成物

【英文發明名稱】

PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR OTIC ADMINISTRATION

【技術領域】

【0001】本發明係有關於一種無需複雜的操作即可對耳內投予，而且具有藥物在耳內滯留及緩釋之機能的醫藥組成物。

【先前技術】

【0002】目前耳部疾病的藥物治療法仍為數不多，而常需仰賴外科手術。此外，儘管已發現可達有效治療的藥物，但以口服投予或靜脈投予傳遞至全身時，仍有藥效減退或副作用等疑慮。因此，已有人開發出用以對耳部疾病部位或其附近局部投予藥物的藥劑或醫藥組成物。例如作為耳部黏膜等的抗發炎劑，有含有抗生素或類固醇劑的耳藥水或軟膏等。由於在冰冷狀態下對耳內投予藥劑時可能會引起眩暈，因此在投予耳藥水時，便要求用手掌握住藥劑容器使其溫熱至體溫程度。又，投予時係要求橫躺著朝耳部滴入醫囑次數並保持不動姿勢約5～10分鐘。常人耳朵具有由外耳道及中耳的耳咽管清除液體等異物之機能，

藉由吞嚥動作可促進清除率，因此在藥劑滲透至患部前患者需忍受保持穩靜並進行吞嚥動作。再者，使藥物傳遞至內耳時，由於存在血液內耳屏障，而需要使高濃度的藥劑局部持續作用的緩釋性。

【0003】專利文獻1(WO2001/068079)中報導，在手術處置期間或其結束時滴加屬黏彈劑之玻尿酸鈉，以使藥劑維持於耳中。玻尿酸為黏多醣類的一種，係生物體內主要的細胞外基質之構成成分，常廣用於作為生物材料。

【0004】專利文獻2(WO2014/186075)中報導一種治療法，其係使其含於殼聚糖及聚乳酸之交聯共聚物水凝膠而製作持續釋放凝膠，並使用注射筒使其滯留於鼓膜穿孔上。殼聚糖及屬水解性交聯劑之聚乳酸係具有藉由臨投予前或投予中的混合發生化學交聯，而於數分鐘以內轉變為交聯共聚物水凝膠之特性。

【0005】專利文獻3(WO2011/049958)中，作為不需要事先混合或特殊投予裝置之技術，其報導一種利用熱可逆性凝膠的持續釋放凝膠製劑。將以約14重量%～約21重量%溶有屬熱可逆性凝膠之構成成分的聚氧乙烯-聚氧丙烯三嵌段共聚物的溶液，經由注射針投予至圓窗膜上或其附近，則可於耳內加溫(非專利文獻1：James M Chamberlain et al., ANNALS OF EMERGENCY MEDICINE, 1995, 25(1), p.15-20中報導，外耳道內的溫度為約37℃～約38℃)而凝膠化，而滯留於圓窗膜上或其附近。由於前述持續釋放凝膠製劑係在較低的溫度下凝膠化，因此投予前之製劑需要

嚴謹的溫度管理。

【0006】已有人報導數種具有藥物在耳內滯留及緩釋之機能的醫藥組成物，但要提供一種無需將雙液在臨投予前或者投予中混合或進行嚴謹的溫度管理等複雜的操作即可對耳內投予，而且具有藥物在耳內滯留及緩釋之機能的醫藥組成物則仍有進一步探討的空間。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0007】

[專利文獻1]國際公開第2001/068079號

[專利文獻2]國際公開第2014/186075號

[專利文獻3]國際公開第2011/049958號

[非專利文獻]

【0008】

[非專利文獻1]James M Chamberlain et al., ANNALS OF EMERGENCY MEDICINE, 1995, 25(1), p.15-20

【發明內容】

[發明所欲解決之課題]

【0009】本發明之課題在於提供一種無需複雜的操作即可對耳內投予，而且具有藥物在耳內滯留及緩釋之機能的醫藥組成物。

[解決課題之手段]

【0010】本案發明人等針對無需複雜的操作即可對耳內投予，而且具有使藥物在耳內滯留及緩釋之機能的醫藥組成物致力進行研究的結果獲知一種含有1種或2種以上之藥物及聚合物，且具有特定的複數黏度特性的醫藥組成物。此外，本案發明人等獲知，透過聚合物使用聚乙烯基己內醯胺-聚乙烯乙酸-聚乙二醇接枝共聚物，可提供一種無需複雜的操作即可對耳內投予，而且具有藥物在耳內滯留及緩釋之機能的醫藥組成物，而終至完成本發明。

【0011】亦即，本發明係有關於：

[1]一種醫藥組成物，其係含有1種或2種以上之藥物及聚合物的耳內投予用之醫藥組成物，其特徵為，一邊使用流變儀以剪切應變5%且角頻率50rad/秒之條件及使溫度自25℃以1℃/10秒的升溫速度升溫至37℃，一邊測定該醫藥組成物的複數黏度時，在25℃之時間點為未達1650mPa·s，且在達到37℃後過10分鐘之時間點為1650mPa·s以上且100000mPa·s以下；

[2]如[1]之醫藥組成物，其係溶膠-凝膠轉移點為30℃～38℃；

[3]如[1]或[2]之醫藥組成物，其中聚合物為聚乙烯基己內醯胺-聚乙烯乙酸-聚乙二醇接枝共聚物；

[4]如[1]～[3]中任一項之醫藥組成物，其中進一步含有1種或2種以上之複數黏度調節劑；

[5]如[4]之醫藥組成物，其中複數黏度調節劑為選自由檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、檸檬酸三銨、琥珀酸二鈉、

碳酸鈉、酒石酸鈉、硫酸鈉、硫酸銨、檸檬酸二氫鈉、磷酸二氫鈉、檸檬酸氫二鈉、檸檬酸二氫鉀、檸檬酸氫二銨、四硼酸鈉、乙酸鈉及此等之水合物所成群組的1種或2種以上；

[6]如[4]或[5]之醫藥組成物，其中複數黏度調節劑為選自由檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、硫酸鈉及此等之水合物所成群組的1種或2種以上；

[7]如[1]～[6]中任一項之醫藥組成物，其中進一步含有溶劑；

[8]如[4]～[7]中任一項之醫藥組成物，其中聚乙烯基己內醯胺-聚乙烯乙酸-聚乙二醇接枝共聚物的濃度，相對於醫藥組成物為10%(w/w)～24%(w/w)；

[9]如[4]～[8]中任一項之醫藥組成物，其中複數黏度調節劑的濃度，相對於醫藥組成物為0.1%(w/v)～5.0%(w/v)；

[10]如[1]～[9]中任一項之醫藥組成物，其中將薄型半透明膜片所附嵌件嵌入裝有2mL之 $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 的磷酸緩衝生理食鹽水之多孔井盤中，使前述磷酸緩衝生理食鹽水分成上層及下層，在前述嵌件上置入0.5mL的醫藥組成物，並以前述磷酸緩衝生理食鹽水的液面產生晃動的速度搖晃前述多孔井盤使藥物溶出時，可緩釋藥物；

[11]如[1]～[10]中任一項之醫藥組成物，其中藥物為選自由低分子化合物、核酸及蛋白質所成群組的1種或2種以上；

[12]如[1]～[11]中任一項之醫藥組成物，其中藥物為提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物；

[13]如[12]之醫藥組成物，其中提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物係包含由序列編號1所示胺基酸序列所構成的蛋白質；

[14]一種耳內投予用之醫藥組成物，其係含有1種或2種以上之藥物及聚乙烷基己內醯胺-聚乙烯乙酸-聚乙二醇接枝共聚物；

[15]如[14]之醫藥組成物，其中進一步含有1種或2種以上之複數黏度調節劑；

[16]如[15]之醫藥組成物，其中複數黏度調節劑為選自由檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、檸檬酸三銨、琥珀酸二鈉、碳酸鈉、酒石酸鈉、硫酸鈉、硫酸銨、檸檬酸二氫鈉、磷酸二氫鈉、檸檬酸氫二鈉、檸檬酸二氫鉀、檸檬酸氫二銨、四硼酸鈉、乙酸鈉及此等之水合物所成群組的1種或2種以上；

[17]如[15]或[16]之醫藥組成物，其中複數黏度調節劑為選自由檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、硫酸鈉及此等之水合物所成群組的1種或2種以上；

[18]如[14]～[17]中任一項之醫藥組成物，其中進一步含有溶劑；

[19]如[15]～[18]中任一項之醫藥組成物，其中聚乙烷基己內醯胺-聚乙烯乙酸-聚乙二醇接枝共聚物的濃度，相對於醫藥組成物為10%(w/w)～24%(w/w)；

[20]如[15]～[19]中任一項之醫藥組成物，其中複數黏度調節劑的濃度，相對於醫藥組成物為0.1%(w/v)～5.0%(w/v)；

[21]如[14]～[20]中任一項之醫藥組成物，其中藥物為選自由低分子化合物、核酸及蛋白質所成群組的1種或2種以上；

[22]如[14]～[21]中任一項之醫藥組成物，其中藥物為提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物；

[23]如[22]之醫藥組成物，其中提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物係包含由序列編號1所示胺基酸序列所構成的蛋白質；

[24]一種耳內投予用之醫藥組成物，其係含有提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物、聚乙烷基己內醯胺-聚乙炔乙酸-聚乙二醇接枝共聚物及檸檬酸三鈉或其水合物；

[25]一種聚乙烷基己內醯胺-聚乙炔乙酸-聚乙二醇接枝共聚物之作為基劑的使用，其係用來製造含有1種或2種以上之藥物的耳內投予用之醫藥組成物；

[26]一種選自由檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、檸檬酸三銨、琥珀酸二鈉、碳酸鈉、酒石酸鈉、硫酸鈉、硫酸銨、檸檬酸二氫鈉、磷酸二氫鈉、檸檬酸氫二鈉、檸檬酸二氫鉀、檸檬酸氫二銨、四硼酸鈉、乙酸鈉及此等之水合物所成群組的1種或2種以上之作為複數黏度調節劑的使用，其係用來製造含有1種或2種以上之藥物及聚乙烷基己內醯胺

-聚乙炔乙酸-聚乙二醇接枝共聚物的耳內投予用之醫藥組成物。

[發明之效果]

【0012】根據本發明，可提供一種醫藥組成物，其係含有1種或2種以上之藥物及聚合物，尤為聚乙炔基己內醯胺-聚乙炔乙酸-聚乙二醇接枝共聚物的耳內投予用之醫藥組成物，其中，一邊使用流變儀以剪切應變5%且角頻率50rad/秒之條件及使溫度自25℃以1℃/10秒的升溫速度升溫至37℃，一邊測定該醫藥組成物的複數黏度時，在25℃之時間點為未達1650mPa·s，且在達到37℃後過10分鐘之時間點為1650mPa·s以上且100000mPa·s以下；其無需複雜的操作即可對耳內投予，而且具有藥物在耳內滯留及緩釋之機能。

又，根據本發明，可提供一種耳內投予用之醫藥組成物，其係含有1種或2種以上之藥物及聚乙炔基己內醯胺-聚乙炔乙酸-聚乙二醇接枝共聚物；其無需複雜的操作即可對耳內投予，而且具有藥物在耳內滯留及緩釋之機能。

再者，根據本發明，可提供一種對慢性鼓膜穿孔的治療性優良之耳內投予用之醫藥組成物，其係含有提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物、聚乙炔基己內醯胺-聚乙炔乙酸-聚乙二醇接枝共聚物及檸檬酸三鈉或其水合物；其無需複雜的操作即可對耳內投予，而且具有使提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物在耳內滯留

及緩釋之機能。

【圖式簡單說明】

【0013】

[圖1]為在試驗例3-1中所進行之基劑溶液的複數黏度測定中，針對部分基劑溶液顯示複數黏度隨時間經過的變化的圖形。

[圖2]為顯示試驗例5-3中所進行之溶膠-凝膠轉移點與試驗例5-2中所進行之達到37℃後達10分鐘之時間點的複數黏度的關係的圖形。

[圖3]為顯示試驗例7-4中所進行之乙醯胺酚之溶出試驗的溶出曲線的圖形。

[圖4]為顯示根據使用試驗例8中所進行之螢光色素的試驗所得之耳內滯留性的評估結果的圖形。

[圖5]為顯示根據試驗例9中所進行之正子造影所得之耳內滯留性的評估結果的圖形。

【實施方式】

[實施發明之形態]

【0014】本發明係有關於一種醫藥組成物，其係含有1種或2種以上之藥物及聚合物的耳內投予用之醫藥組成物，其中，一邊使用流變儀以剪切應變5%且角頻率50rad/秒之條件及使溫度自25℃以1℃/10秒的升溫速度升溫至37℃，一邊測定該醫藥組成物的複數黏度時，在25℃之時

間點為未達 $1650\text{mPa}\cdot\text{s}$ ，且在達到 37°C 後過10分鐘之時間點為 $1650\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以上且 $100000\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以下。又，本發明係有關於一種耳內投予用之醫藥組成物，其係含有1種或2種以上之藥物與聚乙烷基己內醯胺-聚乙基乙酸-聚乙二醇接枝共聚物。再者，本發明係有關於一種耳內投予用之醫藥組成物，其係含有肝素結合性上皮生長因子、聚乙烷基己內醯胺-聚乙基乙酸-聚乙二醇接枝共聚物及檸檬酸三鈉或其水合物。

【0015】耳部可分為外耳、中耳及內耳。外耳係由耳廓、外耳道及鼓膜外側的膜所構成。中耳係由鼓膜內側的膜、聽小骨(錘骨、砧骨、鐙骨)、鼓室、聽骨肌、耳咽管、乳突竇及乳突小房所構成。內耳則由卵圓(前庭)窗、前庭、半規管、橢圓囊、球囊、圓(耳蝸)窗、耳蝸等所構成。

【0016】本說明書中所稱「耳內投予」，典型上意指對外耳道內、鼓膜外側的膜附近、鼓膜上、鼓膜內側的膜附近、鼓室內、圓窗膜上或圓窗附近投予醫藥組成物，但不限制於此。較佳為對鼓膜外側的膜附近、鼓膜上、鼓膜內側的膜附近或鼓室內投予醫藥組成物。又，所稱「耳內投予用之」醫藥組成物，典型上意指供投予至外耳道內、鼓膜外側的膜附近、鼓膜上、鼓膜內側的膜附近、鼓室內、圓窗膜上或圓窗附近的醫藥組成物，但不限制於此。較佳為供投予至鼓膜外側的膜附近、鼓膜上、鼓膜內側的膜附近或鼓室內的醫藥組成物。

【0017】本發明之醫藥組成物的形態，典型上可舉出固體、粉末、溶液、懸浮液、糊膏或洗劑等，但不限制於此。較佳為溶液、懸浮液、糊膏或洗劑，更佳為溶液或懸浮液。此外，本說明書中，溶膠狀態及凝膠狀態可包含於溶液；溶膠狀態係指液體中分散有微粒子之狀態的膠體溶液，具有流動性。又，凝膠狀態係指溶膠狀態的黏度上升，流動性消失而轉變為固態之意。

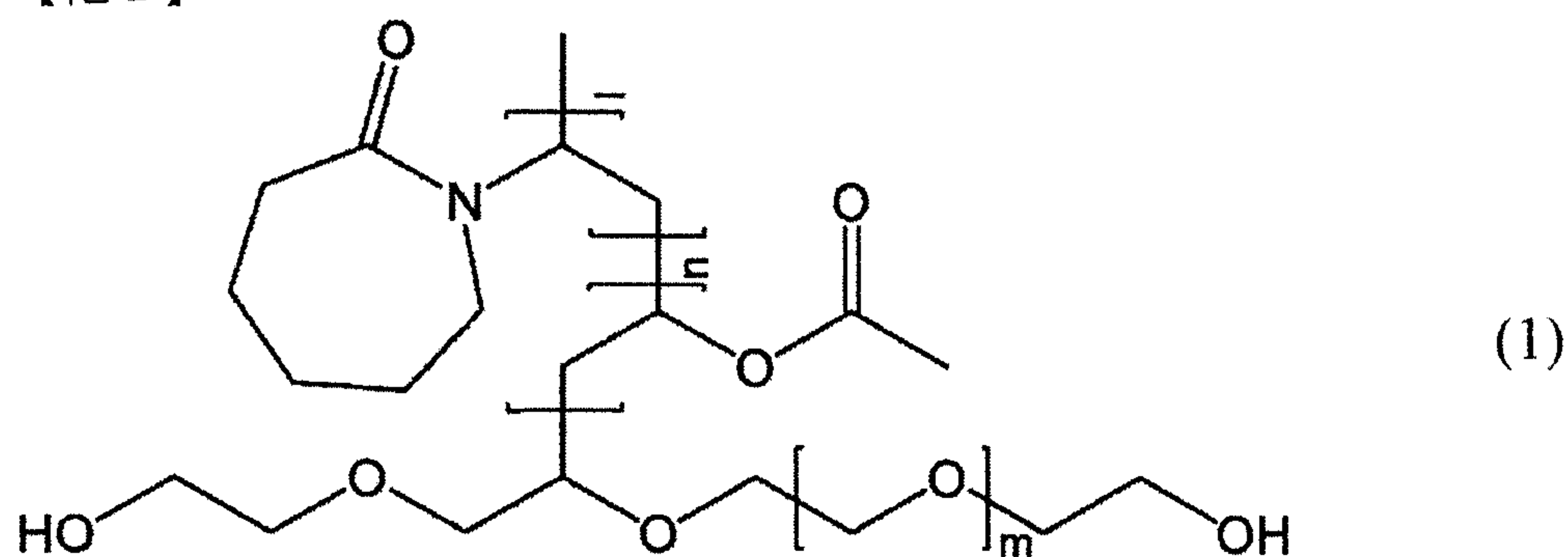
【0018】本發明之醫藥組成物所使用之「聚合物」係指使醫藥組成物產生黏性用之醫藥品添加物，典型上可舉出具有溫度響應性(亦稱熱感受性、熱可逆性或熱硬化性)的兩親媒性聚合物，但不限制於此。所稱兩親媒性聚合物，例如典型上可舉出聚乙烷基己內酯胺、聚乙二醇、聚環氧丙烷等親水嵌段(A)與聚乙基乙酸、環氧乙烷等疏水嵌段(B)經聚合而成的A-B-A型或B-A-B型嵌段共聚物，但不限制於此。較佳為A-B-A型嵌段共聚物，例如典型上可舉出聚乙烷基己內酯胺-聚乙基乙酸-聚乙二醇接枝共聚物、PEG-PLGA-PEG三嵌段共聚物等，但不限制於此。較佳為聚乙烷基己內酯胺-聚乙基乙酸-聚乙二醇接枝共聚物。

【0019】本發明之醫藥組成物所使用之「聚乙烷基己內酯胺-聚乙基乙酸-聚乙二醇接枝共聚物」亦有稱聚乙烷基己內酯胺-聚乙基乙酸-聚乙二醇接枝共聚物、聚乙烷基己內酯胺-聚乙基乙酸-聚乙二醇接枝共聚物或PVCap-PVAc-PEG，係式(1)之結構式所示之兩親媒性且具有

90,000-140,000的平均分子量(重量平均分子量； M_w)。其製品可舉出例如 SOLUPLUS(註冊商標)，但不限制於此。

【0020】

【化1】



[式中， l 、 m 及 n 各自獨立為約10~30000的範圍內]

【0021】使本發明之醫藥組成物所使用之「溶劑」或本發明之醫藥組成物溶解或分散用的溶劑，典型上可舉出純水、注射用水、其他製藥學上可容許的水、碳數1~7之烷醇等水混和性溶劑與水的混合物、右旋糖水溶液等，但不限制於此。較佳為純水、注射用水、其他製藥學上可容許的水。

【0022】本發明所使用之聚合物可於可達成本發明期望效果的範圍內添加。聚合物，尤為聚乙烷基己內醯胺-聚乙基乙酸-聚乙二醇接枝共聚物的濃度，若為溶液狀態則可利用高效液相層析(HPLC：high performance liquid chromatography)或吸光度計來測定。聚合物，尤為聚乙基己內醯胺-聚乙基乙酸-聚乙二醇接枝共聚物的濃度的下限，相對於醫藥組成物，典型上為19%(w/w)以上，較佳為

20%(w/w)以上，更佳為25%(w/w)以上，再更佳為27%(w/w)以上。此外，聚合物，尤為聚乙烷基己內醯胺-聚乙基乙酸-聚乙二醇接枝共聚物的濃度的上限為29%(w/w)。

【0023】當醫藥組成物中進一步含有複數黏度調節劑時，就聚合物，尤為聚乙烷基己內醯胺-聚乙基乙酸-聚乙二醇接枝共聚物的濃度，相對於醫藥組成物，典型上為10%(w/w)～24%(w/w)，較佳為11%(w/w)～23%(w/w)，更佳為13%(w/w)～21%(w/w)，再更佳為15%(w/w)～20%(w/w)。此外，前述上限與下限可視需求任意組合。

【0024】本說明書中所稱「複數黏度」，係指使用流變儀(黏彈性測定裝置)藉由動態測定所得的黏度(SI單位為Pa·s)。測定複數黏度之方法，可舉出例如使用Anton Paar製流變儀(MCR302)，以平板(MEASURING CONE CP25-2)、溫控上罩(H-PTD200)、間隙0.3mm之裝備，取0.3mL的試樣量，以剪切應變5%且角頻率50rad/秒、法向力0N、轉矩可信範圍為1μN·m以上之條件進行測定的方法，但不限制於此。此外，當醫藥組成物為固體或粉體等不具有流動性時，係使其溶解或分散於純水、注射用水、其他製藥學上可容許的水後再進行測定。

【0025】本發明之醫藥組成物係以無需複雜的操作即可對耳內投予為佳。亦即，係以典型上在常溫下(15℃～25℃)，較佳在室溫下(1～30℃)，醫藥組成物的複數黏度低至具有流動性的程度為佳。例如，一邊使用流變儀以剪

切應變 5% 且角頻率 50rad/秒之條件及使溫度自 25℃ 以 1℃ /10秒的升溫速度升溫至 37℃，一邊測定該醫藥組成物的複數黏度時，在 25℃ 時間點，典型上為未達 1650mPa·s，較佳為未達 1600mPa·s，更佳為未達 1500mPa·s，再更佳為未達 1400mPa·s，再更佳為未達 1200mPa·s，再更佳為未達 1000mPa·s。又，例如一邊使用流變儀以剪切應變 5% 且角頻率 50rad/秒之條件及使溫度自 25℃ 以 1℃ /10秒的升溫速度升溫至 37℃，一邊測定該醫藥組成物的複數黏度時，在 30℃ 時間點，典型上為未達 1650mPa·s，較佳為未達 1600mPa·s，更佳為未達 1500mPa·s，再更佳為未達 1400mPa·s，再更佳為未達 1200mPa·s，再更佳為未達 1000mPa·s。此外，複數黏度的下限為 0mPa·s。

【0026】本發明之醫藥組成物係以具有對耳內投予後可迅速地滯留之特徵為佳。亦即，係以對約 37℃ ~ 約 38℃ 的耳內投予後，醫藥組成物的複數黏度迅速提高至不具有流動性的程度為佳。例如，一邊使用流變儀以剪切應變 5% 且角頻率 50rad/秒之條件及使溫度自 25℃ 以 1℃ /10秒的升溫速度升溫至 37℃，一邊測定該醫藥組成物的複數黏度時，在達到 37℃ 後過 1分鐘之時間點、5分鐘之時間點或 10分鐘之時間點，典型上為 1650mPa·s 以上，較佳為 1800mPa·s 以上，更佳為 2000mPa·s 以上，再更佳為 2500mPa·s 以上，再更佳為 3000mPa·s 以上。此外，複數黏度過高時在投予後滯留物會脫離耳內的壁面等而有被清除之虞，因此 37℃ 下的複數黏度典型上為 100000mPa·s 以

下，較佳為 $90000\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以下，更佳為 $80000\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以下，再更佳為 $70000\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以下，再更佳為 $60000\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以下。此外，前述上限與下限可視需求任意組合。

【0027】如前述，本發明之醫藥組成物係以無需複雜的操作即可對耳內投予，且具有投予後藥物可滯留於耳內之機能為佳。亦即，較佳為在常溫及/或室溫下，醫藥組成物的複數黏度低至具有流動性的程度；而於耳內，則複數黏度高達不具有流動性的程度。例如，一邊使用流變儀以剪切應變 5% 且角頻率 $50\text{rad}/\text{秒}$ 之條件及使溫度自 25°C 以 $1^\circ\text{C}/10\text{秒}$ 的升溫速度升溫至 37°C ，一邊測定該醫藥組成物的複數黏度時，複數黏度典型上在 25°C 之時間點為未達 $1650\text{mPa}\cdot\text{s}$ 且在達到 37°C 後過 10 分鐘之時間點為 $1650\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以上且 $100000\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以下，較佳為在 25°C 之時間點為未達 $1600\text{mPa}\cdot\text{s}$ 且在達到 37°C 後過 10 分鐘之時間點為 $1800\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以上且 $100000\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以下，更佳為在 25°C 之時間點為未達 $1200\text{mPa}\cdot\text{s}$ 且在達到 37°C 後過 10 分鐘之時間點為 $2000\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以上 $80000\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以下，再更佳為在 25°C 之時間點為未達 $1000\text{mPa}\cdot\text{s}$ 且在達到 37°C 後過 10 分鐘之時間點為 $3000\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以上 $80000\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以下。

【0028】本說明書中所稱「溶膠-凝膠轉移點」，係指醫藥組成物由溶膠狀態轉變為凝膠狀態時的溫度。評估溶膠-凝膠轉移點之方法，可舉出例如使用流變儀等地方法，但不限制於此。本說明書中，例如使用 Anton Paar 製流變儀 (MCR302) 測定醫藥組成物的複數黏度時，係將固

體要素之儲存彈性模數(G')與液體要素之損失彈性模數(G'')同時數值化，惟可將 $G' < G''$ 視為溶膠狀態、 $G' > G''$ 視為凝膠狀態，並將 $G'=G''$ 之時間點的溫度視為溶膠-凝膠轉移點。此外，當醫藥組成物為固體或粉體等不具有流動性時，係使其溶解或分散於純水、注射用水、其他製藥學上可容許的水後再進行測定。較佳作為本發明中之醫藥組成物的溶膠-凝膠轉移點的範圍典型上為 $30^{\circ}\text{C} \sim 38^{\circ}\text{C}$ ，較佳為 $31^{\circ}\text{C} \sim 37^{\circ}\text{C}$ ，更佳為 $32^{\circ}\text{C} \sim 36^{\circ}\text{C}$ ，再更佳為 $32^{\circ}\text{C} \sim 35^{\circ}\text{C}$ 。此外，前述上限與下限可視需求任意組合。

【0029】本說明書中所稱「凝膠化」或「凝膠形成」，係指具有流動性的醫藥組成物或基劑其流動性消失，「凝膠形成能力」係指凝膠化之性質。若具有流動性，則有醫藥組成物的滯留率降低之虞，因此醫藥組成物或基劑係以經耳內投予後迅速形成凝膠形成為佳。評估有無凝膠形成或凝膠形成能力之方法，可舉出將0.3mL的醫藥組成物或基劑滴加至塑膠培養皿上或試管中並蓋上蓋子後，靜置於設定為 25°C 或 37°C 之水浴的水面上或使試樣靜置於調溫成 25°C 或 37°C 的加熱塊上，自靜置開始1分鐘後、5分鐘後、10分鐘後、15分鐘後或30分鐘後取出塑膠培養皿等，隨即予以倒置，以目視確認倒置起10秒之醫藥組成物或基劑的行為的方法(以下稱凝膠形成能力試驗)，但不限制於此。該凝膠形成能力試驗係以在設定為 25°C 之水浴的水面上靜置1分鐘、5分鐘、10分鐘、15分鐘或30分鐘的試樣典型上為在倒置起未達10秒內落下或朝橫向流

動，較佳為在倒置起未達5秒內落下或朝橫向流動為佳。又，該凝膠形成能力試驗係以在設定為37℃水浴之水面上靜置1分鐘或10分鐘的試樣典型上在倒置起未達5秒無法確認落下或朝橫向流動，較佳為在倒置起未達10秒無法確認落下或朝橫向流動，更佳為在倒置起10秒內皆無法確認落下及朝橫向流動為佳。

【0030】本說明書中所稱「基劑」，係指醫藥組成物的構成成分當中，具有主要賦予複數黏度之機能或具有使藥物在耳內滯留、緩釋之機能的醫藥品添加物。具體而言，本說明書中的基劑，典型上係指聚合物，較佳為聚合物及複數黏度調節劑，更佳為由醫藥組成物中排除藥物的其餘醫藥品添加物。

【0031】本說明書中所稱「複數黏度調節劑」，係指使醫藥組成物的複數黏度上升或下降的醫藥品添加物。本發明所使用之複數黏度調節劑，只要是製藥學上可容許，且不會對本發明之醫藥組成物所含有的1種或2種以上之藥物的緩釋性造成影響者，則不特別限制。典型上為檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、檸檬酸三銨、琥珀酸二鈉、碳酸鈉、酒石酸鈉、硫酸鈉、硫酸銨、檸檬酸二氫鈉、磷酸二氫鈉、檸檬酸氫二鈉、檸檬酸二氫鉀、檸檬酸氫二銨、四硼酸鈉、乙酸鈉或者此等之水合物或此等之組合，較佳為檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、檸檬酸三銨、琥珀酸二鈉、碳酸鈉、酒石酸鈉、硫酸鈉、硫酸銨、檸檬酸二氫鈉、磷酸二氫鈉、檸檬酸氫二鈉、檸檬酸二氫鉀、檸檬酸氫二銨、四

硼酸鈉或者此等之水合物或此等之組合，更佳為檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、檸檬酸三銨、琥珀酸二鈉、碳酸鈉、酒石酸鈉、硫酸鈉、硫酸銨、檸檬酸二氫鈉、磷酸二氫鈉或者此等之水合物或此等之組合，再更佳為檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、硫酸鈉或者此等之水合物或此等之組合，再更佳為檸檬酸三鈉或檸檬酸三鈉的水合物。此外，複數黏度調節劑的其他樣態可舉出二氯甲烷等有機溶劑，但不限制於此。

【0032】複數黏度調節劑可於能達成本發明期望效果的範圍內組合添加1種或2種以上。複數黏度調節劑在醫藥組成物中的濃度若為溶液狀態，則可使用HPLC或吸光度計等來測定，但不限制於此。複數黏度調節劑的濃度，相對於醫藥組成物，例如典型上為0.1%(w/v)~5.0%(w/v)，較佳為0.8%(w/v)~3.1%(w/v)，更佳為1.0%(w/v)~3.1%(w/v)，再更佳為1.0%(w/v)~2.5%(w/v)，再更佳為1.4%(w/v)~2.4%(w/v)，再更佳為1.5%(w/v)~2.2%(w/v)。此外，前述上限與下限可視需求任意組合。

【0033】本發明中之醫藥組成物的「滲透壓」較佳為對耳部無刺激性的範圍內。人體耳部之外淋巴液的滲透壓為約280mOsm~約300mOsm，若為高滲透壓則會伴隨副作用的風險，因此較佳低於外淋巴液的滲透壓。本發明之醫藥組成物的滲透壓，例如使用ARKRAY製自動滲透壓分析裝置OM-6050等測定時，典型上為50mOsm~300mOsm，較佳為90mOsm~300mOsm，更佳為180mOsm~300mOsm

，再更佳為 200mOsm ~ 300mOsm，再更佳為 220mOsm ~ 290mOsm。此外，前述上限與下限可視需求任意組合。

【0034】本發明中之醫藥組成物的「pH」較佳為對耳部無刺激性或不會影響醫藥組成物的穩定性的範圍內。本發明之醫藥組成物的 pH 典型上為 3.0 ~ 10.5，較佳為 4.5 ~ 9.0，更佳為 5.5 ~ 8.5，再更佳為 6.0 ~ 8.0，再更佳為 6.5 ~ 8.0。此外，前述上限與下限可視需求任意組合。又，所稱醫藥組成物的 pH，當醫藥組成物的形態為液體狀態時，係指液體狀態下的 pH；若為非液體狀態時，則指溶解於溶劑(例如純水、注射用水或其他製藥學上可容許的水)之液體狀態時的 pH。

【0035】本說明書中所稱「緩釋藥物」或「緩釋性」，係指投予醫藥組成物後，藥物持續溶出一段期間或持續溶出之性質。溶出速度不特別限制，以緩釋藥物為目的，藉由減少投予次數及/或使標的部位的药物濃度維持一定，可使藥效持續並減少副作用，因此緩釋藥物的速度係愈慢愈佳。

【0036】作為測定藥物的緩釋性之方法，於體外(in vitro)，可舉出例如以 Dose-dependent sustained release of dexamethasone in inner ear cochlear fluids using a novel local delivery Approach(Xiaobo Wang, 2009 Audiol Neurotol 14: 393-401)所記載之方法為參考所提出之將薄型半透明膜片所附嵌件嵌入裝有 2mL 之加溫至 37°C ± 2°C 的磷酸緩衝生理食鹽水(以下有稱為 PBS: Phosphate buffered

salts)之多孔井盤中，使前述PBS分成上層及下層，在前述嵌件上置入0.5mL的含有1種或2種以上之藥物的醫藥組成物，並以前述PBS的液面產生晃動的速度(例如以TAITEC製Microchamber M-600FN為100轉/分的速度)搖晃前述多孔井盤使藥物溶出的試驗(以下有稱為溶出試驗)，但不限制於此。此外，藥物的溶解係取決於pH，若無法適當地評估溶出性時，只要對應每種藥物使用合宜的試驗液(例如可溶有100%之固定量的藥物的溶劑等)來替代PBS即可，可舉出例如生理食鹽水等，但不限制於此。

【0037】要在溶出試驗中評估本發明之醫藥組成物的緩釋性，例如可藉由對試驗開始後1、6、24小時之時間點、試驗開始後1、4、8小時時間點或試驗開始後1、24、48小時之時間點的最低3個時間點定量井孔下側的藥物濃度，評估藥物的溶出率隨時間經過的變化來進行。藥物的定量方法不特別限制，只要採用最適合藥物的定量的分析方法即可；可舉出例如HPLC、螢光光度計等，但不限制於此。本說明書中所稱「緩釋藥物」，係指在上述溶出試驗中，例如溶出試驗開始後1小時之時間點的藥物的溶出率典型上為40%以下，較佳為30%以下，更佳為20%以下，再更佳為15%以下，再更佳為12%以下。又，意指例如溶出試驗開始後6小時之時間點的藥物的溶出率典型上為70%以下，較佳為60%以下，更佳為50%以下，再更佳為40%以下，再更佳為35%以下。再者，意指例如溶出試驗開始後24小時時間點之藥物的溶出率典型上為85%以

下，較佳為75%以下，再更佳為70%以下，再更佳為60%以下，再更佳為55%以下。此外，前述溶出試驗所使用的試驗液不限於磷酸緩衝液，只要對應每種藥物使用合宜的試驗液(例如可溶有100%之固定量的藥物的溶劑等)即可。

【0038】本說明書中所稱「滯留」或「滯留性」，係指避免投予至耳內的醫藥組成物在外耳或中耳被清除，而停留於投予部位或停留性質。評估滯留性之方法不特別限制，可舉出例如PET(Positron Emission Tomography)造影、SPECT(single photon emission computed tomography)造影、使用螢光色素之試驗、MRI(magnetic resonance imaging)等，但不限制於此。本說明書中所稱正子造影或SPECT造影，係指對人類或猿猴或者嚙齒類等模型動物的耳內投予部位投予包含標記有放射性同位素之藥物的醫藥組成物，並測定一段期間後之耳內的放射性同位素的殘留量之試驗，可由投予量與殘留量算出殘留率。本說明書中所稱使用螢光色素之試驗，係指例如對耳內投予含有封入或標記有螢光色素之藥物的醫藥組成物，並測定一段期間後之耳內的螢光色素殘留量之試驗，可由投予量與殘留量算出殘留率。

【0039】本發明之醫藥組成物的殘留率，其適當的殘留率係隨耳部疾病及/或藥物而異。於上述方法中評估本發明之醫藥組成物的滯留性時，例如投予後的殘留率達50%以下前的期間典型上為6小時以上，較佳為12小時以上，更佳為1日以上，再更佳為2日以上，再更佳為3日以

上，再更佳為5日以上，再更佳為6日以上，再更佳為7日以上，再更佳為10日以上，再更佳為12日以上，再更佳為14日以上。又，投予後的殘留率達20%以下前的期間典型上為6小時以上，較佳為12小時以上，更佳為1日以上，再更佳為2日以上，再更佳為3日以上，再更佳為5日以上，再更佳為6日以上，再更佳為7日以上，再更佳為10日以上，再更佳為12日以上，再更佳為14日以上，再更佳為21日以上，再更佳為28日以上。至少顯示上述之滯留性時，係本說明書中「具有滯留性」的情形，但不限制於此。

【0040】本發明之醫藥組成物的投予次數，其適當次數係隨耳部疾病及/或藥物而異。典型上為每日2次，較佳為每日1次，更佳為每2日1次，再更佳為每3日1次，再更佳為每4日1次，再更佳為每5日1次，再更佳為每6日1次，再更佳為每7日1次，再更佳為每10日1次，再更佳為每12日1次，再更佳為每14日1次，再更佳為每21日1次，再更佳為每28日1次，但不限制於此。

【0041】本發明之醫藥組成物的投予量，只要是可對人類投予者則不特別限制。於一樣態中較佳為為了提供與鼓膜之有用的接觸所需的量；於一樣態中較佳為可投予至鼓室內的量；於一樣態中較佳為為了提供與圓窗之有用的接觸所需的量。投予量典型上為 $1\mu\text{L} \sim 2000\mu\text{L}$ ，較佳為 $10\mu\text{L} \sim 1500\mu\text{L}$ ，更佳為 $20\mu\text{L} \sim 1250\mu\text{L}$ ，再更佳為 $30\mu\text{L} \sim 1000\mu\text{L}$ ，再更佳為 $50\mu\text{L} \sim 750\mu\text{L}$ ，再更佳為 $75\mu\text{L} \sim 600\mu\text{L}$ ，再更佳為 $100\mu\text{L} \sim 500\mu\text{L}$ ，再更佳為 $100\mu\text{L} \sim$

300 μ L。此外，前述上限與下限可視需求任意組合。

【0042】本發明之醫藥組成物係含有1種或2種以上之藥物。本發明所使用之「藥物」典型上為耳部疾病的治療所需之有效成分，較佳為低分子化合物、核酸或蛋白質。

【0043】低分子化合物係指具有未達500之分子量的化合物，代表性低分子化合物可舉出乙醯胺酚、塞來昔布、雙氯芬酸鈉等鎮痛藥、地塞米松、貝克每松等類固醇、阿奇黴素、阿莫西林、氧氟沙星、慶大黴素等抗菌藥，但不限制於此。核酸係指由鹼、糖與磷酸所構成的核苷酸以磷酸二酯鍵相連而成的高分子化合物，代表性核酸可舉出聚核苷酸、寡聚核苷酸、DNA(質體DNA、cDNA、基因體DNA或合成DNA)、RNA、實施化學修飾之核酸、腺病毒、反轉錄病毒等病毒等，但不限制於此。蛋白質係指L-胺基酸以鏈狀聚合而成的高分子化合物，代表性蛋白質可舉出酵素、對應標的受體之配體、受體本身、抗體、胜肽等，但不限制於此。較佳為對標的受體之配體，例如為提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物。

【0044】本發明所使用之提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物可舉出例如HB-EGF(Heparin-Binding Epidermal Growth Factor-like growth factor)、人類HB-EGF、重組人類HB-EGF等，但不限制於此。典型上為HB-EGF，較佳為人類HB-EGF，更佳為重組人類HB-EGF。

【0045】本發明所使用之提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物，典型上係含有與序列編號1所示胺

基酸序列之同一性為90%以上的胺基酸序列，且對角質細胞及纖維母細胞具有分裂促進作用及/或轉移促進效果的蛋白質。

【0046】本發明所使用之提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物典型上為以下的蛋白質：

a)含有序列編號1所示胺基酸序列，且對角質細胞及纖維母細胞具有分裂促進作用及/或者轉移促進效果的蛋白質，或

b)含有序列編號1所示胺基酸序列中有1～10個、1～5個、1～3個，或者1個胺基酸缺失、經取代、插入及/或者加成的胺基酸序列，且對角質細胞及纖維母細胞具有分裂促進作用及/或者轉移促進效果的蛋白質。

【0047】本發明所使用之提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物典型上為包含序列編號1所示胺基酸序列的蛋白質，較佳為由序列編號1所示胺基酸序列所構成的蛋白質。

【0048】本發明所使用之提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物可由本業者基於本說明書所揭示之蛋白質的序列資訊，使用該領域中所熟知的方法容易地製作。

【0049】肝素結合性上皮生長因子係屬EGF家族之蛋白質(Biochimica et Biophysica Acta, 1997, 1333, F179-F199)。肝素結合性上皮生長因子前驅物為膜錨定型蛋白質，已知藉由蛋白質分解的切斷，可釋出成熟可溶型肝素

結合性上皮生長因子。本發明所使用之 HB-EGF，只要對角質細胞及纖維母細胞具有分裂促進作用及/或轉移促進效果，則不拘膜型或者可溶型或前驅物或者成熟型，可選擇任意的適當 HB-EGF 或其突變體或者其改良物。某蛋白質是否對角質細胞及纖維母細胞具有分裂促進作用及/或轉移促進效果，能以例如 How to Choose a cell Health Assay.(Riss. T, January, 2014 tpub148)所記載的方法來確認。

【0050】本發明之醫藥組成物可使用於耳部疾病的治療，例如典型上可使用於急性外耳炎、慢性外耳炎、先天性耳裂、外傷性鼓膜損傷、慢性鼓膜穿孔等外耳或鼓膜之疾病；急性中耳炎、急性乳突炎、錐體炎、滲出性中耳炎、耳咽管開放症、慢性中耳炎、中耳珍珠瘤、耳原性顱內併發症、黏連性中耳炎、膽固醇肉芽瘤、嗜伊紅性中耳炎、聽小骨鏈離斷、球狀血管瘤等中耳部疾病；梅尼爾氏症、外淋巴瘻、老年失聰、藥物造成之內耳障害、腮腺炎失聰、良性陣發性頭位眩暈症等內耳部疾病，但不限制於此。較佳可使用於慢性鼓膜穿孔。

【0051】慢性鼓膜穿孔係指以鼓膜發生穿孔而出現傳導性失聰等症狀為特徵的疾病。鼓膜可能因中耳炎或外傷而發生穿孔。鼓膜穿孔大多會因鼓膜再生而封孔，而自然治癒。然而，因慢性中耳炎等細菌持續感染鼓膜而妨害鼓膜的再生治癒過程時，則穿孔不會封閉而經診斷為慢性鼓膜穿孔。對於主訴失聰等的患者則需進行外科手術。

【0052】提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物的「有效量」或「治療上有效的量」，係在某段期間應用時，供強化慢性鼓膜穿孔的治癒之用量。本發明之醫藥組成物中可含有之提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物的量的下限為約1ng/mL、約10ng/mL、約100ng/mL、約1μg/mL、約10μg/mL、約100μg/mL、約200μg/mL、約500μg/mL、約750μg/mL、約1mg/mL、約5mg/mL、約10mg/mL、約50mg/mL或約100mg/mL。又，本發明之醫藥組成物中可含有之HB-EGF的量的上限為約10mg/mL、約25mg/mL、約50mg/mL、約100mg/mL、約500mg/mL。此外，前述上限與下限可視需求任意組合。又，為了減少投予次數而延長提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物緩釋之期間的醫藥組成物，能以高於供重複投予之醫藥組成物的初始濃度提供。

【0053】在治療慢性鼓膜穿孔上，使提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物與慢性鼓膜穿孔部接觸的期間典型上為1日以上，較佳為3日以上，更佳為5日以上，再更佳為7日以上，再更佳為10日以上，再更佳為2週以上，再更佳為3週以上，再更佳為4週以上。

【0054】在治療慢性鼓膜穿孔上，提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物的緩釋性係指在實施上述溶出試驗時，例如溶出試驗開始後1小時之時間點的藥物的溶出率典型上為40%以下，較佳為30%以下，更佳為20%以下，再更佳為15%以下，再更佳為12%以下。又，意指

例如溶出試驗開始後6小時之時間點的藥物的溶出率典型上為70%以下，較佳為60%以下，更佳為50%以下，再更佳為40%以下，再更佳為35%以下。再者，例如溶出試驗開始後24小時之時間點的藥物的溶出率典型上為85%以下，較佳為75%以下，再更佳為70%以下，再更佳為60%以下，再更佳為55%以下。

【0055】在治療慢性鼓膜穿孔上，本發明之醫藥組成物中之提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物的殘留率，例如投予後的殘留率達50%以下前的期間典型上為6小時以上，較佳為12小時以上，更佳為1日以上，再更佳為2日以上，再更佳為3日以上，再更佳為5日以上，再更佳為6日以上，再更佳為7日以上，再更佳為10日以上，再更佳為12日以上，再更佳為14日以上。又，投予後的殘留率達20%以下前的期間典型上為6小時以上，較佳為12小時以上，更佳為1日以上，再更佳為2日以上，再更佳為3日以上，再更佳為5日以上，再更佳為6日以上，再更佳為7日以上，再更佳為10日以上，再更佳為12日以上，再更佳為14日以上，再更佳為21日以上，再更佳為28日以上。

【0056】使用提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物時，為了抑制提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物的凝聚或提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物的結構變化等，可於能發揮藥效的範圍內，以1種或組合2種以上適宜適量添加醫藥品添加物。

【0057】於本發明之醫藥組成物中，可視需求在可達成本發明期望效果的範圍內，以1種或組合2種以上適宜適量添加醫藥品添加物。醫藥品添加物可舉出例如甘露糖醇等賦形劑、PBS等緩衝劑、稀鹽酸、氫氧化鈉等pH調整劑、等滲壓劑、助溶劑、抗氧化劑、防腐劑、聚山梨醇酯20等界面活性劑等，但不限制於此。

【0058】PBS等緩衝劑可於調製藥物的步驟中，為了使藥物更穩定而添加。PBS的組成不特別限制，要調製pH為7.4的PBS，典型上可舉出以磷酸氫二鈉 1.44mg/mL、氯化鉀 0.20mg/mL、氯化鈉 8.00mg/mL、磷酸二氫鉀 0.24mg/mL的比例使其溶解於純水中的方法、以磷酸氫二鈉 1.15mg/mL、氯化鈉 8mg/mL、氯化鉀 0.2mg/mL、磷酸二氫鉀 0.2mg/mL的比例使其溶解於純水中的方法或以磷酸氫二鈉·12水合物 2.9mg/mL、氯化鉀 0.2mg/mL、氯化鈉 8.01mg/mL、磷酸二氫鉀 0.2mg/mL的比例使其溶解於純水中的方法等，但不限制於此。

【0059】界面活性劑可為了提升藥物的溶解度或抑制蛋白質的凝聚等而添加，但不限制於此。

【0060】以下針對本發明之醫藥組成物的製造方法加以說明，亦包含例如含有藥物的調製、基劑的溶解、pH調節、填充、滅菌、藥物的冷凍乾燥、藥物與基劑的最終混合、最終滅菌等步驟的週知方法。

【0061】

<藥物的調製步驟>

於藥物的調製步驟中，只要是可使藥物以一般製藥學方式溶解、懸浮或分散的方法，則裝置、手段皆不特別限制。可舉出例如使藥物溶解、懸浮或分散於作為溶劑之PBS等緩衝劑的方法，但不限制於此。又，當藥物為蛋白質等時，為了防止凝聚及/或防止其吸附於容器，有時會添加聚山梨醇酯20等界面活性劑，但不限制於此。

【0062】

< 基劑的溶解、pH調節步驟 >

於基劑的溶解步驟中，只要是可使聚合物，尤為聚乙炔基己內醯胺-聚乙烯乙酸-聚乙二醇接枝共聚物以一般製藥學方式溶解的方法，則裝置、手段皆不特別限制。可舉出例如藉由將聚合物，尤為聚乙炔基己內醯胺-聚乙烯乙酸-聚乙二醇接枝共聚物添加於純水等溶劑中，並在冷藏條件下(約4℃)使用攪拌機予以攪拌使其溶解，而得到基劑溶液的方法，但不限制於此。此外，添加該聚合物時，可視需求在可達成本發明期望效果的範圍內添加複數黏度調節劑，但不限制於此。又，可視需求在可達成本發明期望效果的範圍內添加稀鹽酸、氫氧化鈉等pH調整劑來調整pH，但不限制於此。

【0063】

< 填充、滅菌步驟 >

於填充步驟及滅菌步驟中，只要是一般製藥學上可容許之可進行填充及滅菌的方法，則裝置、手段皆不特別限制。可舉出例如將溶解之基劑溶液在冷藏條件下於攪拌容

器中進行加壓過濾滅菌，再填充於藥瓶等容器或裝置等的方法，但不限制於此。此外，為了抑制填充量參差不齊，可使用在 $0\sim 25^{\circ}\text{C}$ 的範圍進行溫度控制等適於定量填充的設備，但不限制於此。此外，於本說明書中，滅菌係指殺死或去除存在於醫藥組成物、容器或裝置等的微生物。滅菌方法可舉出例如乾熱滅菌、加熱滅菌、高壓蒸氣滅菌、藉由化學物質之滅菌、放射線滅菌或過濾滅菌，但不限制於此。

【0064】

< 藥物的冷凍乾燥步驟 >

溶解之藥物溶液可實施冷凍或冷凍乾燥。於藥物的冷凍乾燥步驟中，只要是一般製藥學上可進行冷凍乾燥的方法，則裝置、手段皆不特別限制。冷凍乾燥時，為提升固含量濃度而保持濾餅的狀態，可添加部分基劑溶液成分而進行冷凍乾燥，但不限制於此。

【0065】

< 藥物與基劑的最終混合步驟 >

本發明之醫藥組成物能以藥物與基劑經混合之狀態下的冷凍溶液、冷藏溶液或者冷凍乾燥品，或填充於不同容器之藥物的冷凍溶液、冷藏溶液，或者冷凍乾燥品與基劑溶液之形式提供，但不限制於此。藥物與基劑溶液以不同容器提供時，例如藉由對含有藥物的藥瓶添加基劑溶液並加以混合的方法，或由含有藥物或者基劑溶液的藥瓶各自向不同的空藥瓶添加並混合的方法，可製成本發明之醫藥

組成物，但不限定於此。

【0066】

< 最終滅菌步驟 >

本發明之醫藥組成物，於其製造步驟中，以提供不含會引起感染症的微生物或安全的醫藥組成物為目的，可包含最終滅菌步驟。滅菌方法可舉出例如乾熱滅菌、加熱滅菌、高壓蒸氣滅菌、藉由化學物質之滅菌、放射線滅菌或過濾滅菌，但不限制於此。較佳為過濾滅菌。此外，當藥物與基劑溶液以不同容器提供時，最終混合步驟及最終滅菌步驟或最終混合步驟有可能在醫療場域進行；而只要醫療場域的室內溫度為室溫(1~30℃)，則混合後不會立即凝膠化，因此未必有在臨投予前或投予中混合之必要。

【0067】 供填充本發明之醫藥組成物的容器可依據使用目的來選擇。本說明書中所稱容器，只要是可密封者則不特別限制。可舉出例如藥瓶、安瓿、瓶子等大容量形狀者、裝置等，但不限制於此。

【0068】 本發明之醫藥組成物可利用裝置傳遞至治療部位。本說明書中所稱裝置，係指將醫藥組成物傳遞至治療部位的醫療設備或裝置，可依治療部位來選擇。作為裝置，例如典型上可舉出對注射器(包含一次性注射器)等規定用量之形狀者填充醫藥組成物並安裝針、套管或導管者、微量吸量管、將2種溶液等填充於個別規定用量之形狀者並於耳內使該溶液等混合而使醫藥組成物形成的雙筒注射器、將2種溶液等填充於個別規定用量之形狀者並以

串接式使該溶液等混合而使醫藥組成物形成的雙筒注射器、可噴灑醫藥組成物而使其傳遞至治療部位之能以噴灑、泵浦式傳遞醫藥組成物的裝置等，但不限制於此。較佳為注射器安裝有針者。針、套管或導管的長度及粗細可依據治療部位或患者而選擇適當者；而在耳部疾病部位或附近局部投予藥物時以貫穿鼓膜之投予方法進行時，由於在投予後鼓膜會穿孔，因此係以選擇典型上為25～30G，較佳為27～30G的針、套管或導管為佳。

【0069】裝置亦可作為容器使用。可舉出例如對注射器預先填充溶液等，作成預充式注射器液體製劑或自動注射器液體製劑而提供。此等製劑在醫療場域不需要溶解操作等的操作，可更迅速地對應場域情況。

【0070】就容器或裝置等的材質，可舉出例如玻璃、塑膠等，但不限制於此。又，容器或裝置可進行表面處理，可實施二氧化矽塗覆處理、矽塗覆處理、硫處理、各種低鹼性處理等，但不限制於此。

【0071】本發明係包含：一種聚乙烷基己內醯胺-聚乙炔乙酸-聚乙二醇接枝共聚物之作為基劑的使用，其係用來製造含有1種或2種以上之藥物的耳內投予用之醫藥組成物，以及一種選自由檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、檸檬酸三銨、琥珀酸二鈉、碳酸鈉、酒石酸鈉、硫酸鈉、硫酸銨、檸檬酸二氫鈉、磷酸二氫鈉、檸檬酸氫二鈉、檸檬酸二氫鉀、檸檬酸氫二銨、四硼酸鈉、乙酸鈉或此等之水合物所成群組的1種或2種以上之作為複數黏度調節劑的使

用，其係用來製造含有1種或2種以上之藥物及聚乙烯基己內醯胺-聚乙烯乙酸-聚乙二醇接枝共聚物的耳內投予用之醫藥組成物。

【0072】就本發明的使用中所使用之「耳內投予用之」、「基劑」、「複數黏度調節劑」、「聚乙烯基己內醯胺-聚乙烯乙酸-聚乙二醇接枝共聚物」、「藥物」，可直接適用本發明之醫藥組成物中的該說明。

【0073】就本發明的使用中之各成分的摻混量、摻混方法，可直接適用本發明之醫藥組成物中的該說明。

[實施例]

【0074】以下根據實施例更詳細地說明本發明，惟本發明非由此等限定詮釋。

【0075】以下實施例中，聚乙烯基己內醯胺-聚乙烯乙酸-聚乙二醇接枝共聚物之SOLUPLUS(註冊商標)係使用BASF製、聚氧乙烯-聚氧丙烯三嵌段共聚物(泊洛沙姆)之Pluronic(註冊商標)F-127係使用BASF製、檸檬酸三鈉·二水合物(以下有稱為檸檬酸三鈉)係使用Merck製、檸檬酸氫二鈉·1.5水合物(以下有稱為檸檬酸氫二鈉)係使用關東化學製、檸檬酸二氫鈉係使用關東化學製、檸檬酸三鉀·單水合物(以下有稱為檸檬酸三鉀)係使用和光純藥工業製、檸檬酸二氫鉀係使用和光純藥工業製、檸檬酸三鉍係使用關東化學製、檸檬酸氫二鉍係使用和光純藥工業製、乙酸鉍係使用關東化學製、碳酸鉍係使用和光純藥工業製、

硫酸銨係使用關東化學製、琥珀酸二鈉係使用和光純藥工業製、乙酸鈉係使用關東化學製、碳酸鈉係使用關東化學製、磷酸二氫鈉·二水合物(以下有稱為磷酸二氫鈉)係使用關東化學製、酒石酸鈉·二水合物(以下有稱為酒石酸鈉)係使用和光純藥工業製、四硼酸鈉·十水合物(以下有稱為四硼酸鈉)係使用Merck製、氯化鈉係使用關東化學製、硫酸鈉係使用和光純藥工業製、氯化鉀係使用關東化學製、氯化鈣係使用關東化學製、聚山梨醇酯20(以下有稱為PS20)係使用Tween20(關東化學製)、FITC葡聚糖(10kDa)係使用Fluorescein isothiocyanate-dextran、average mol wt 10000，Sigma-Aldrich製、FITC葡聚糖(70kDa)係使用Fluorescein isothiocyanate-dextran、average mol wt 70000，Sigma-Aldrich製、FITC葡聚糖(150kDa)係使用Fluorescein isothiocyanate-dextran、average mol wt 150000，Sigma-Aldrich製、生理食鹽水係使用大塚製藥製、乙醯胺酚係使用山本化學工業製、雙氯芬酸鈉係使用FUJIFILM製、尼卡地平鹽酸鹽係使用東京化成工業製。PBS於本實施例中係使用3種，係根據在1×PBS (pH7.4) (Gibco製)(PBS的組成為磷酸氫二鈉·七水合物 0.795 mg/mL、氯化鈉 9mg/mL、磷酸二氫鉀 0.144mg/mL)、D-PBS(-)(FUJIFILM製)(PBS的組成為磷酸氫二鈉 1.15 mg/mL、氯化鈉 8mg/mL、氯化鉀 0.2mg/mL、磷酸二氫鉀 0.2 mg/mL)或純水中以磷酸氫二鈉·12水合物(Merck製)2.9mg/mL、氯化鉀(Merck製)0.2mg/mL、氯化鈉(Merck製

)8.01mg/mL及磷酸鉀(Merck製)0.2mg/mL的比例使其溶解的方法所調製的PBS。此外，於本實施例中，SOLUPLUS(註冊商標)亦稱Sol.，Pluronic(註冊商標)亦稱Plu.。又，於本實施例中，Sol.及Plu.的濃度所使用之「%」係指「%(w/w)」。例如18%Sol.係指18%(w/w) SOLUPLUS (註冊商標)。

【0076】

實驗1：基劑的探討

<調製例1-1> Sol.基劑溶液的調製

量取3g的Sol.，置入純水7g中，在約4℃條件下使Sol.溶解而調製成30%Sol.基劑溶液(實施例1)。以同樣方式，藉由變更Sol.的置入量，而調製成28%Sol.基劑溶液(實施例2)、25%Sol.基劑溶液(實施例3)、20%Sol.基劑溶液(實施例4)、18%Sol.基劑溶液(實施例5)、15%Sol.基劑溶液(實施例6)及10%Sol.基劑溶液(實施例7)。

【0077】

<調製例1-2> Plu.基劑溶液的調製

量取3.4g、3.0g或2.8g的Plu.，分別置入PBS16.6mL，在約4℃條件下使Plu.溶解而調製成17%Plu.-PBS基劑溶液(實施例8)、15%Plu.-PBS基劑溶液(實施例9)及14%Plu.-PBS基劑溶液(實施例10)。

【0078】

<試驗例1-1> 基劑溶液的凝膠形成能力試驗

針對調製例1-1及調製例1-2中所調製的基劑溶液(實施

例 1～10)，評估 25℃ 或 37℃ 下的凝膠形成能力。取各基劑溶液滴加 0.3mL 於塑膠培養皿 (1000-035、IWAKI 製) 上並蓋上蓋子後，使其靜置於設定為 25℃ 或 37℃ 之水浴 (TR-2A、AS ONE 製) 的水面上 10 分鐘 (N=2)。自靜置開始過 10 分鐘後取出各塑膠培養皿，隨即予以倒置，以目視確認倒置後 10 秒之基劑溶液的行為。評估係依以下 3 種模式之任一種進行，2 次皆為 (1) 時以「●」，若為 (1) 與 (2) 之組合時以「○」，2 次皆為 (2) 時以「▲」，若為 (2) 與 (3) 時以「△」，2 次皆為 (3) 時以「×」，未實施試驗時則以「—」之記號示於表 1。

(1) 10 秒內未看出「落下」及「朝橫向流動」任一者；

(2) 5 秒以上～未達 10 秒內看出「落下」及/或「朝橫向流動」；

(3) 剛倒置後～未達 5 秒內看出「落下」及/或「朝橫向流動」。

【0079】

< 試驗例 1-2 > 基劑溶液的複數黏度的確認

針對調製例 1-1 及調製例 1-2 中所調製的各基劑溶液 (實施例 1～10)，使用流變儀 (MCR302、Anton Paar 製)，以平板 (MEASURING CONE CP25-2)、溫控上罩 (H-PTD200)、間隙 0.3mm 之裝備，取 0.3mL 的試樣量，以剪切應變 5% 且角頻率 50rad/秒、法向力 0N、轉矩可信範圍為 1μN·m 以上之條件測定使試樣升溫時的歷時性複數黏度 (N=3)。超過

轉矩可信範圍時係視為未達定量極限 (LOQ：Limit of Quantitation)。以試樣溫度 25℃ 為開始測定複數黏度的時間點，自 25℃ 以 1℃ /10秒的升溫速度升溫至 37℃，達到 37℃ 後持續進行測定 10分鐘。結果皆以平均±標準差表示。

【 0080】

【表 1】

	基劑的種類 及濃度	凝膠形成能力		複數黏度 (mPa · s)			
		25℃	37℃	25℃	達到37℃後 過1分鐘	達到37℃後 過5分鐘	達到37℃後 過10分鐘
實施例 1	30% Sol.	●	●	2767±100	7394±238	11156±405	31664±6074
實施例 2	28% Sol.	▲	●	1437±70	4141±349	6268±930	13656±3281
實施例 3	25% Sol.	×	▲	538±13	1529±49	3510±180	6037±504
實施例 4	20% Sol.	—	×	116±2	185±22	857±148	1740±294
實施例 5	18% Sol.	—	×	<LOQ	<LOQ	285±44	614±107
實施例 6	15% Sol.	—	×	<LOQ	<LOQ	114±18	148±45
實施例 7	10% Sol.	—	×	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
實施例 8	17% Plu.	●	●	48081±4276	59101±4494	60693±3624	—
實施例 9	15% Plu.	— (30℃●)	●	—	—	—	—
實施例 10	14% Plu.	×	×	—	—	—	—

【 0081】將結果示於表 1(就實施例 8亦示於表 5)。就凝膠形成能力，25%Sol.基劑溶液(實施例 3)在 25℃ 未形成凝膠，在 37℃ 形成凝膠。28%Sol.基劑溶液(實施例 2)可看出在 25℃ 緩緩形成凝膠之傾向，30%Sol.基劑溶液(實施例 1)在 25℃ 形成凝膠。10～20%Sol.基劑溶液(實施例 4～7)在 37℃ 未形成凝膠。此外，就實施例 3及 4，使其靜置於設定為 37℃ 之水浴的水面上 30分鐘，形成了凝膠。

【 0082】就複數黏度，在 25℃，10～25%Sol.基劑溶

液(實施例3~7)的複數黏度未達 $1000\text{mPa}\cdot\text{s}$ ，28~30%Sol.基劑溶液(實施例1~2)為 $1000\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以上。在 37°C ，10~20%Sol.基劑溶液(實施例4~7)的複數黏度未達 $2000\text{mPa}\cdot\text{s}$ ，25~30%Sol.基劑溶液(實施例1~3)為 $2000\text{mPa}\cdot\text{s}$ 以上。

【0083】

實驗2：容許耳內投予之醫藥品添加物的探討

耳內投予用之醫藥組成物較佳為對耳部無刺激性者，因此，針對Sol.基劑溶液，進一步探討對耳部無刺激性的醫藥品添加物。

【0084】

<調製例2-1>鹽溶液(目標滲透壓 200mOsm)的調製

調製滲透壓為約 200mOsm 之濃度的鹽溶液。具體而言，係針對表2之「添加之鹽的種類」所記載的各種鹽，分別量取表2之「鹽的添加量(g)」一欄所記載的量，並使其溶解於純水 200mL 中，而調製成20種鹽溶液(實施例11~30)。此外，以下鹽溶液的濃度中「%」係指「%(w/v)」。

【0085】

<試驗例2-1>鹽溶液的滲透壓的測定

對調製例2-1中所調製的各鹽溶液(實施例11~30)，測定滲透壓。滲透壓的測定係使用自動滲透壓分析裝置(OM-6050、ARKRAY製)，以依循ARKRAY之校正基準值與藥事關係法的校正法來實施。

【0086】

【表 2】

	添加之鹽的種類	鹽的添加量 (g)	溶液濃度 (%)	滲透壓 (mOsm)
實施例 11	檸檬酸三鈉	4.2	2.1	203
實施例 12	檸檬酸三鉀	4.6	2.3	205
實施例 13	檸檬酸三銨	3.4	1.7	202
實施例 14	檸檬酸氫二鈉	4.4	2.2	200
實施例 15	琥珀酸二鈉	2.6	1.3	207
實施例 16	碳酸鈉	1.8	0.9	206
實施例 17	酒石酸鈉	3.8	1.9	201
實施例 18	硫酸鈉	2.4	1.2	202
實施例 19	硫酸銨	2.2	1.1	200
實施例 20	檸檬酸二氫鈉	4.8	2.4	200
實施例 21	檸檬酸二氫鉀	5.2	2.6	194
實施例 22	檸檬酸氫二銨	3.6	1.8	195
實施例 23	乙酸鈉	1.8	0.9	210
實施例 24	磷酸二氫鈉	3.4	1.7	200
實施例 25	四硼酸鈉	3.2	1.6	189
實施例 26	氯化鈉	1.2	0.6	195
實施例 27	氯化鉀	1.6	0.8	199
實施例 28	氯化鈣	1.8	0.9	202
實施例 29	乙酸銨	1.6	0.8	198
實施例 30	碳酸銨	1.2	0.6	187

【0087】將結果示於表2。各鹽溶液的滲透壓為187～210mOsm的範圍內。

【0088】

＜調製例2-2＞18%Sol.-鹽基劑溶液的調製

量取20g(或10g)的Sol.，置入調製例2-1中所調製的各鹽溶液80g(或40g)中，在約4℃條件下使Sol.溶解而調製成由20%Sol.-各鹽所構成的基劑溶液。其次，量取2mL之使PS20溶解於1×PBS(pH7.4)所調製而成的含0.05%(v/v)PS20之PBS，並由20%Sol.-鹽基劑溶液量取18mL後混合兩者，調製成表3所記載之含0.005%PS20之18%Sol.-鹽基劑溶液(實施例31～50)。同樣地調製由使用純水或1×PBS(pH7.4)替代上述鹽溶液之含0.005%PS20之18%Sol.基劑溶液(實施

例 51) 及 含 0.005%PS20 之 18%Sol.-PBS 所 構 成 的 基 劑 溶 液 (實 施 例 52)。

【 0089】

< 試 驗 例 2-2 > 18%Sol.-鹽 基 劑 溶 液 的 pH 的 測 定

測 定 調 製 例 2-2 中 所 調 製 的 各 基 劑 溶 液 (實 施 例 31 ~ 52) 的 pH。測 定 係 使 用 pH 計 (HM-25G、TOADKK 製)。將 結 果 記 載 於 表 3。各 基 劑 溶 液 的 pH 為 4 ~ 10.5 的 範 圍 內。

【 0090】

(2)

【表 3】

	添加於含0.005%PS20之18%Sol. 的鹽及濃度	pH
實施例 31	1.9% 檸檬酸三鈉	6.93
實施例 32	2.1% 檸檬酸三鉀	6.97
實施例 33	1.5% 檸檬酸三銨	6.77
實施例 34	2.0% 檸檬酸氫二鈉	5.05
實施例 35	1.2% 琥珀酸二鈉	6.73
實施例 36	0.8% 碳酸鈉	10.39
實施例 37	1.7% 酒石酸鈉	5.57
實施例 38	1.1% 硫酸鈉	4.24
實施例 39	1.0% 硫酸銨	4.25
實施例 40	2.2% 檸檬酸二氫鈉	3.89
實施例 41	2.3% 檸檬酸二氫鉀	3.92
實施例 42	1.6% 檸檬酸氫二銨	5.06
實施例 43	0.8% 乙酸鈉	6.36
實施例 44	1.5% 磷酸二氫鈉	4.37
實施例 45	1.4% 四硼酸鈉	9.32
實施例 46	0.5% 氯化鈉	4.18
實施例 47	0.7% 氯化鉀	4.22
實施例 48	0.8% 氯化鈣	4.11
實施例 49	0.7% 乙酸銨	6.32
實施例 50	0.5% 碳酸銨	9.22
實施例 51	無 (純水)	4.27
實施例 52	PBS	6.07

【 0091】

< 調 製 例 2-3 > 18%Sol.-鹽 基 劑 溶 液 的 調 製

對 表 4 之 「 添 加 於 18%Sol. 之 鹽 及 濃 度 」 所 記 載 的 各

鹽，分別量取表4之「鹽的添加量(mg)」一欄所記載的量並使其溶解於純水20mL，而調製成各鹽溶液。量取4.4g的Sol.，置入前述各鹽溶液中，在約4℃條件下使Sol.溶解，而調製成表4所記載之各18%Sol.-鹽的基劑溶液。同樣地使用純水或1×PBS(pH7.4)替代鹽溶液，調製成18%Sol.基劑溶液(實施例73)及由18%Sol.-PBS所構成的基劑溶液(實施例74)。

【0092】

<試驗例2-3> 18%Sol.-鹽基劑溶液的凝膠形成能力的評估
針對調製例2-3中所調製的各基劑溶液(實施例53～74)，評估37℃下的凝膠形成能力。試驗方法及評估方法係與試驗例1-1相同。將結果示於表4。

【0093】

【表 4】

	添加於18%Sol. 的鹽及濃度	鹽的添加量 (mg)	凝膠形成能力	
			25℃	37℃
實施例 53	1.9% 檸檬酸三鈉	380	—	●
實施例 54	2.1% 檸檬酸三鉀	420	—	●
實施例 55	1.5% 檸檬酸三鉍	300	—	●
實施例 56	2.0% 檸檬酸氫二鈉	400	—	▲
實施例 57	1.2% 琥珀酸二鈉	240	—	●
實施例 58	0.8% 碳酸鈉	160	—	●
實施例 59	1.7% 酒石酸鈉	340	—	●
實施例 60	1.1% 硫酸鈉	220	—	●
實施例 61	1.0% 硫酸鉍	200	—	●
實施例 62	2.2% 檸檬酸二氫鈉	440	—	●
實施例 63	2.3% 檸檬酸二氫鉀	460	—	×
實施例 64	1.6% 檸檬酸氫二鉍	320	—	△
實施例 65	0.8% 乙酸鈉	160	—	×
實施例 66	1.5% 磷酸二氫鈉	300	—	●
實施例 67	1.4% 四硼酸鈉	280	—	▲
實施例 68	0.5% 氯化鈉	100	—	×
實施例 69	0.7% 氯化鉀	140	—	×
實施例 70	0.8% 氯化鈣	160	—	×
實施例 71	0.7% 乙酸鉍	140	—	×
實施例 72	0.5% 碳酸鉍	100	—	×
實施例 73	無 (純水)	—	—	×
實施例 74	PBS	—	—	×

【 0094 】 18%Sol.基劑溶液(實施例 73)及由 18%Sol.-PBS所構成的基劑溶液(實施例 74)在 37℃ 未形成凝膠，而部分含有鹽溶液的基劑溶液則形成了凝膠(實施例 53～62、66～67)。就實施例 56，使其靜置於設定為 37℃ 之水浴的水面上 30分鐘，形成了凝膠。此外，由於可目視確認所有 18%Sol.基劑溶液在 25℃ 為溶膠狀態而具有流動性，故未實施凝膠形成能力試驗。

【 0095 】

實驗 3：18%Sol.-鹽基劑溶液的複數黏度測定

將醫藥組成物投予至耳內後，為使其在耳內滯留，係以黏度迅速上升為佳。因此，針對各基劑溶液評估複數黏

度。

【 0096】

< 試驗例 3-1 > 複數黏度的測定

針對調製例 2-3 中所調製的各基劑溶液(實施例 53～74)及調製例 1-2 中所調製的基劑溶液(實施例 8)，以與試驗例 1-2 同樣的試驗方法測定歷時性複數黏度(N=3)。將各基劑溶液在 25℃ 及 30℃，以及達到 37℃ 後過 1 分、5 分及 10 分鐘之時間點的複數黏度示於表 5。又，圖 1 中針對部分基劑溶液示出複數黏度的歷時變化。此外，圖 1 之誤差槓係指標準誤差。

【 0097】

【表 5】

	添加於18%Sol. 的鹽及濃度	複數黏度 (mPa · s)				
		25℃	30℃	達到37℃後		
				1分鐘	5分鐘	10分鐘
實施例 53	1.9% 檸檬酸三鈉	<LOQ	128 ±6	3748 ±274	6390 ±690	9733 ±605
實施例 54	2.1% 檸檬酸三鉀	<LOQ	123 ±4	3253 ±157	3997 ±129	—
實施例 55	1.5% 檸檬酸三銨	<LOQ	<LOQ	1052 ±85	2202 ±321	3511 ±809
實施例 56	2.0% 檸檬酸氫二鈉	<LOQ	<LOQ	1606 ±145	2442 ±323	—
實施例 57	1.2% 琥珀酸二鈉	<LOQ	<LOQ	1019 ±37	2070 ±149	3226 ±248
實施例 58	0.8% 碳酸鈉	108 ±3	109 ±1	1520 ±298	2627 ±1246	—
實施例 59	1.7% 酒石酸鈉	<LOQ	<LOQ	1800 ±44	3011 ±195	—
實施例 60	1.1% 硫酸鈉	<LOQ	109 ±3	2889 ±195	5663 ±1050	—
實施例 61	1.0% 硫酸銨	<LOQ	<LOQ	811 ±9	1842 ±105	—
實施例 62	2.2% 檸檬酸二氫鈉	123 ±15	122 ±16	447 ±40	1267 ±178	1901 ±352
實施例 63	2.3% 檸檬酸二氫鉀	<LOQ	<LOQ	440 ±51	1134 ±133	1630 ±158
實施例 64	1.6% 檸檬酸氫二銨	109 ±1	108 ±2	401 ±110	1102 ±384	1626 ±498
實施例 65	0.8% 乙酸鈉	<LOQ	<LOQ	238 ±83	1058 ±383	1453 ±543
實施例 66	1.5% 磷酸二氫鈉	<LOQ	<LOQ	617 ±49	1340 ±69	—
實施例 67	1.4% 四硼酸鈉	<LOQ	<LOQ	620 ±104	1442 ±692	—
實施例 68	0.5% 氯化鈉	<LOQ	<LOQ	<LOQ	365 ±120	598 ±217
實施例 69	0.7% 氯化鉀	<LOQ	<LOQ	114 ±4	422 ±56	667 ±142
實施例 70	0.8% 氯化鈣	<LOQ	<LOQ	<LOQ	291 ±37	429 ±56
實施例 71	0.7% 乙酸銨	<LOQ	<LOQ	<LOQ	105 ±5	177 ±66
實施例 72	0.5% 碳酸銨	<LOQ	<LOQ	111 ±6	122 ±8	194 ±37
實施例 73	無 (純水)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	305 ±89	665 ±221
實施例 74	PBS	<LOQ	<LOQ	<LOQ	138 ±21	338 ±121
實施例 8	17%Plu. -PBS	48081 ±4276	57619 ±5613	59101 ±4494	60693 ±3624	—

【 0098 】 試 驗 例 1-2 中 實 施 之 17%Plu.-PBS 基 劑 溶 液 在

25℃顯示超過5000mPa·s的複數黏度，隨著溫度升高複數黏度增加。另一方面，以Sol.為部分基劑的基劑溶液在25℃皆顯示約100mPa·s以下的複數黏度。隨著溫度升高，含有檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、檸檬酸三銨、檸檬酸氫二鈉、琥珀酸二鈉、碳酸鈉、酒石酸鈉或硫酸鈉的基劑溶液其複數黏度上升，在達到37℃後1分鐘之時間點，檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀及硫酸鈉為2000mPa·s以上。含有檸檬酸三銨、檸檬酸氫二鈉、琥珀酸二鈉、碳酸鈉或酒石酸鈉的基劑溶液在達到37℃後5分鐘之時間點複數黏度為2000mPa·s以上。針對部分基劑溶液，測定複數黏度至達到37℃後過10分鐘。18%Sol.基劑溶液及由18%Sol.-PBS所構成的基劑溶液在達到37℃後10分鐘之時間點仍為1000mPa·s以下。又，關於18%Sol.中含有氯化鈉、氯化鉀、氯化鈣、乙酸銨或碳酸銨的基劑溶液，達到37℃後10分鐘之時間點的複數黏度亦為1000mPa·s以下。

【0099】

< 試驗例3-2 > 37℃下之凝膠形成能力的評估

針對調製例2-3中所調製的各基劑溶液當中含有檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、檸檬酸三銨、檸檬酸氫二鈉、琥珀酸二鈉、碳酸鈉、酒石酸鈉或硫酸鈉的基劑溶液，評估在37℃靜置1分鐘時的凝膠形成能力。就試驗方法及評估方法，除了將靜置時間縮短為1分鐘以外係與試驗例1-1相同。

【0100】將結果示於表6。18%Sol.-1.9%檸檬酸三鈉

基劑溶液、18%Sol.-2.1%檸檬酸三鉀基劑溶液及18%Sol.-1.1%硫酸鈉基劑溶液此3種可看出凝膠形成。

【 0101】

【表 6】

	添加於18%Sol. 的鹽及濃度	凝膠形成能力
		於37°C靜置1分鐘
實施例 53	1.9% 檸檬酸三鈉	●
實施例 54	2.1% 檸檬酸三鉀	●
實施例 55	1.5% 檸檬酸三鉍	×
實施例 56	2.0% 檸檬酸氫二鈉	×
實施例 57	1.2% 琥珀酸二鈉	×
實施例 58	0.8% 碳酸鈉	×
實施例 59	1.7% 酒石酸鈉	×
實施例 60	1.1% 硫酸鈉	●

【 0102】

實驗 4：18%Sol.-鹽基劑溶液中之鹽的濃度範圍的探討

於實驗 2及實驗 3中，就鹽的濃度，以滲透壓成為約200mOsm的方式調製；調製滲透壓成為約300mOsm或約100mOsm之濃度的鹽溶液，並針對凝膠形成能力及複數黏度進行評估。

【 0103】

<調製例 4-1> 鹽溶液(目標滲透壓300mOsm)的調製

針對表 7所記載的各種鹽，分別量取表 7所記載之「鹽的添加量(g)」一欄所記載的量並使其溶解於純水100mL，而調製成實施例 75～91之鹽溶液。

【 0104】

<調製例 4-2> 鹽溶液(目標滲透壓100mOsm)的調製

針對表 7所記載的各種鹽，分別量取表 7所記載之「鹽

的添加量(g)」一欄所記載的量並使其溶解於純水100mL，而調製成實施例92～95之鹽溶液。

【 0105】

< 試驗例 4-1 > 鹽溶液的滲透壓的測定

針對調製例 4-1 及 4-2 中所調製的實施例 75～95 之鹽溶液測定滲透壓。滲透壓的測定方法係與試驗例 2-1 相同。將結果示於表 7。各鹽溶液的滲透壓為 281～304mOsm 的範圍內或 95～111mOsm 的範圍內。

【 0106】

【表 7】

	添加之鹽的種類	鹽的添加量 (g)	滲透壓 (mOsm)
實施例 75	3.0% 檸檬酸三鈉	3.0	281
實施例 76	3.4% 檸檬酸三鉀	3.4	297
實施例 77	2.5% 檸檬酸三鉍	2.5	288
實施例 78	3.3% 檸檬酸氫二鈉	3.3	292
實施例 79	2.8% 酒石酸鈉	2.8	289
實施例 80	1.7% 硫酸鉍	1.7	294
實施例 81	3.6% 檸檬酸二氫鈉	3.6	291
實施例 82	4.0% 檸檬酸二氫鉀	4.0	288
實施例 83	2.8% 檸檬酸氫二鉍	2.8	292
實施例 84	1.3% 乙酸鈉	1.3	304
實施例 85	2.6% 磷酸二氫鈉	2.6	297
實施例 86	3.0% 四硼酸鈉	3.0	301
實施例 87	0.9% 氯化鈉	0.9	288
實施例 88	1.2% 氯化鉀	1.2	298
實施例 89	1.3% 氯化鈣	1.3	289
實施例 90	1.2% 乙酸鉍	1.2	295
實施例 91	1.0% 碳酸鉍	1.0	294
實施例 92	1.1% 檸檬酸三鈉	1.1	111
實施例 93	0.6% 琥珀酸二鈉	0.6	97
實施例 94	0.9% 酒石酸鈉	0.9	100
實施例 95	0.5% 硫酸鉍	0.5	95

【 0107】

< 調製例 4-3 > 18% Sol.-鹽基劑溶液(目標滲透壓 300mOsm)

的調製

量取 2g 的 Sol.，置入調製例 4-1 中所調製的各鹽溶液 8g 中並在約 4℃ 條件下使 Sol. 溶解，而分別調製成 20% Sol.-鹽基劑溶液。相對於前述各 20% Sol.-鹽基劑溶液 1.8mL (或 1.35mL) 添加 0.2mL (或 0.15mL) 的純水，而調製成各種 18% Sol.-鹽基劑溶液 (實施例 96 ~ 105、110 ~ 116)。

【0108】

< 調製例 4-4 > 18% Sol.-鹽基劑溶液 (目標滲透壓 100mOsm) 的調製

量取 2g 的 Sol.，置入調製例 4-2 中所調製的各鹽溶液 8g 中並在約 4℃ 條件下使 Sol. 溶解，而分別調製成 20% Sol.-鹽基劑溶液。相對於前述各 20% Sol.-溶液 1.8mL (或 1.35mL) 添加 0.2mL (或 0.15mL) 的純水，而調製成各種 18% Sol.-鹽基劑溶液 (實施例 106 ~ 109)。

【0109】

< 試驗例 4-2 > 凝膠形成能力的評估

針對調製例 4-3 及 4-4 中所調製的各基劑溶液中的一部分 (實施例 96 ~ 109)，評估在 37℃ 有無形成凝膠 (N=2)。測定方法及評估方法係與試驗例 1-1 相同。將結果示於表 8。

【0110】

【表 8】

	添加於18%Sol. 的鹽及濃度	凝膠形成能力 (37℃)
實施例 96	3.2% 檸檬酸二氫鈉	●
實施例 97	3.6% 檸檬酸二氫鉀	●
實施例 98	2.5% 檸檬酸氫二鉍	●
實施例 99	1.3% 乙酸鈉	△
實施例 100	2.7% 四硼酸鈉	●
實施例 101	0.8% 氯化鈉	×
實施例 102	1.1% 氯化鉀	×
實施例 103	1.2% 氯化鈣	×
實施例 104	1.1% 乙酸鉍	×
實施例 105	0.9% 碳酸鉍	×
實施例 106	1.0% 檸檬酸三鈉	●
實施例 107	0.54%琥珀酸二鈉	×
實施例 108	0.8% 酒石酸鈉	×
實施例 109	0.45%硫酸鉍	×

【 0111 】 針 對 試 驗 例 2-3 中 不 易 形 成 凝 膠 的 基 劑 溶 液 ， 並 針 對 含 有 檸 檬 酸 二 氫 鈉 (實 施 例 96) 、 檸 檬 酸 二 氫 鉀 (實 施 例 97) 、 檸 檬 酸 氫 二 鉍 (實 施 例 98) 、 四 硼 酸 鈉 (實 施 例 100) 、 乙 酸 鈉 (實 施 例 99) 的 基 劑 溶 液 ， 藉 由 將 鹽 濃 度 提 升 至 等 滲 壓 附 近 ， 可 看 出 凝 膠 形 成 。 另 外 ， 含 有 氯 化 鈉 (實 施 例 101) 、 氯 化 鉀 (實 施 例 102) 、 氯 化 鈣 (實 施 例 103) 、 乙 酸 鉍 (實 施 例 104) 、 碳 酸 鉍 (實 施 例 105) 的 基 劑 溶 液 ， 即 使 將 鹽 濃 度 提 升 至 等 滲 壓 亦 無 法 形 成 凝 膠 形 成 。 此 外 ， 含 有 檸 檬 酸 三 鈉 的 基 劑 溶 液 (實 施 例 106) ， 即 使 降 低 鹽 濃 度 亦 可 看 出 凝 膠 形 成 。

【 0112 】

< 試 驗 例 4-3 > 複 數 黏 度 的 測 定

針 對 調 製 例 4-3 中 所 調 製 的 各 基 劑 溶 液 (實 施 例 96 ~ 105 、 110 ~ 116) ， 測 定 複 數 黏 度 (N = 3) 。 就 試 驗 方 法 ， 除 達 到 37℃ 後 的 測 定 時 間 以 外 係 與 試 驗 例 1-2 相 同 。

【 0113 】

【表 9】

	添加於18%Sol. 的鹽及濃度	複數黏度 (mPa · s)	
		25℃	達到37℃後 過5分鐘
實施例 96	3.2% 檸檬酸二氫鈉	<LOQ	5219±1567
實施例 97	3.6% 檸檬酸二氫鉀	125±9	4720±700
實施例 98	2.5% 檸檬酸氫二鉍	<LOQ	5351±109
實施例 99	1.3% 乙酸鈉	112±8	2043±268
實施例 100	2.7% 四硼酸鈉	<LOQ	2101±387
實施例 101	0.8% 氯化鈉	<LOQ	857±146
實施例 102	1.1% 氯化鉀	<LOQ	658±257
實施例 103	1.2% 氯化鈣	105±4	429±41
實施例 104	1.1% 乙酸鉍	<LOQ	541±118
實施例 105	0.9% 碳酸鉍	150±25	1210±311
實施例 110	2.7% 檸檬酸三鈉	386±60	27709±15743
實施例 111	3.1% 檸檬酸三鉀	216±10	44865±10156
實施例 112	2.3% 檸檬酸三鉍		7556±2070
實施例 113	3.0% 檸檬酸氫二鈉	121±10	15195±9494
實施例 114	2.5% 酒石酸鈉	113±11	7088±750
實施例 115	1.5% 硫酸鉍	107±9	6876±1110
實施例 116	2.3% 磷酸二氫鈉	<LOQ	4049±903

【 0114 】 將結果示於表 9 。 針對複數黏度較快速增加的基劑溶液，將 25℃ 及達到 37℃ 後過 5 分鐘之時間點的複數黏度示於表 9 。

【 0115 】 實施例 96 ～ 105 、 110 ～ 116 其 25℃ 時間點的複數黏度皆未達 500mPa · s ，就含有氯化鈉、氯化鉀、氯化鈣、乙酸鉍、碳酸鉍之基劑溶液以外的基劑溶液，在達到 37℃ 後過 5 分鐘之時間點複數黏度為 1650mPa · s 以下。含有檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀的基劑溶液在升溫至 37℃ 後過 5 分鐘後成為特別高的複數黏度。針對含有氯化鈉、氯化鉀、氯化鈣、乙酸鉍、碳酸鉍的基劑溶液測定複數黏度至達到 37℃ 後過 10 分鐘之時間點，皆為 3000mPa · s 以下。

【 0116】**實驗 5：Sol.濃度範圍的探討**

針對變更 Sol.的濃度時之基劑溶液的凝膠形成能力、複數黏度及溶膠-凝膠轉移點進行評估。

【 0117】**< 調製例 5 > 各濃度之 Sol.-檸檬酸三鈉基劑溶液的調製**

調製表 10 所記載之基劑溶液(實施例 117~134)。具體而言，係首先調製 1.0%、1.9%或 2.7%(w/v)的檸檬酸三鈉溶液，以成為表 10 所記載之重量比的方式量取並置入 Sol.，在約 4℃ 條件下使 Sol.溶解，調製成各濃度的 Sol.-檸檬酸三鈉基劑溶液。

【 0118】**< 試驗例 5-1 > 凝膠形成能力評估**

針對調製例 5 中所調製的基劑溶液，探討 37℃ 下的凝膠形成能力(N=2)。針對部分配方，亦探討 25℃ 下的凝膠形成能力。試驗方法係與試驗例 1-1 相同。

【 0119】**< 試驗例 5-2 > 複數黏度的測定**

針對調製例 5 中所調製的各基劑溶液測定複數黏度。試驗方法等係與試驗例 1-2 相同。

【 0120】**< 試驗例 5-3 > 溶膠-凝膠轉移點的測定**

針對部分調製例 5 及 1-1 中所調製的基劑溶液，測定溶膠-凝膠轉移點(N=3)。此外，針對測定溶膠-凝膠轉移點

之試樣，於測定前以基劑溶液的PS20濃度成為0.005%的方式添加含0.05%PS20之PBS溶液。溶膠-凝膠轉移點的測定係使用流變儀(MCR302、Anton Paar製)，平板採MEASURING CONE CP25-2、間隙取0.3mm、試樣量取0.3mL、剪切應變取5%且角頻率取50rad/秒，將試樣溫度25℃(或10℃)視為溶膠-凝膠轉移點的測定開始時間點，以每10秒上升1℃之條件最高加溫至45℃。

【0121】

【表10】

	Sol. (%)	檸檬酸 三鈉 (%)	凝膠形成能力		溶膠-凝膠 轉移點 (℃)	複數黏度 (mPa・s)	
			25℃	37℃		25℃	達到37℃後 過10分鐘
實施例 117	25	2.7	●	●	24.4±0.5	5612±259	235430±31956
實施例 118	20		▲	●	—	586±76	86238±37923
實施例 119	18		—	●	28.4±0.1	213±4	30637±1244
實施例 120	15		—	●	30.7±0.5	105±8	13515±406
實施例 121	10		—	●	—	<LOQ	2416±844
實施例 122	9		—	—	—	<LOQ	2451±1970
實施例 123	8		—	●	—	<LOQ	1425±547
實施例 124	5		—	△	—	<LOQ	190±9
實施例 125	25	1.9	▲	●	28.2±0.0	1566±47	180213±13156
實施例 126	20		—	●	31.4±0.1	162±9	32922±11899
實施例 127	18		—	●	32.4±0.1	<LOQ	24714±7670
實施例 128	15		—	●	34.5±0.5	<LOQ	7814±1896
實施例 129	10		—	●	37.7±0.0	<LOQ	1601±303
實施例 130	25	1.0	×	●	—	711±55	98685±52260
實施例 131	20		—	●	37.0±0.1	118±12	7890±95
實施例 132	18		—	●	37.1±0.1	98±0	4450±948
實施例 133	15		—	▲	—	<LOQ	950±144
實施例 134	10		—	×	44.5±0.5	<LOQ	120±6
實施例 3	25	—	×	▲	40.0±1.3	538±13	6037±504
實施例 5	18	—	—	×	39.6±0.2	<LOQ	614±107

【0122】將結果示於表10。Sol.濃度為10%且檸檬酸三鈉濃度為1.0%的基劑溶液(實施例134)在37℃未形成凝

膠，而將 Sol. 濃度提升至 15% 的基劑溶液 (實施例 133) 則可看出凝膠形成，複數黏度在達到 37℃ 後過 10 分鐘之時間點為約 950 mPa·s。

【0123】將試驗例 5-2 之達到 37℃ 後過 10 分鐘之時間點的複數黏度、試驗例 5-3 之溶膠-凝膠轉移點的關係示於圖 2。複數黏度及溶膠-凝膠轉移點係隨基劑溶液中的 Sol. 濃度及檸檬酸三鈉濃度而異。

【0124】

實驗 6：含有人類 HB-EGF 之醫藥組成物的複數黏度

評估藥物對醫藥組成物的複數黏度所造成的影響。具體而言，係評估 18% Sol. 基劑溶液或 18% Sol.-1.9% 檸檬酸三鈉基劑溶液中含有作為藥物之人類 HB-EGF 時的複數黏度。

【0125】

< 調製例 6-1 > 18% Sol. 基劑溶液及含 HB-EGF 之 18% Sol. 溶液的調製

量取 2g 的 Sol.，將 Sol. 置入純水 8g 中，在約 4℃ 條件下使 Sol. 溶解，調製成 20% Sol. 基劑溶液。對前述溶液 1.8 mL 添加純水 0.2 mL 或 HB-EGF 溶液 (含人類 HB-EGF 150 μg/mL 及 0.05% PS20 之 PS20/PBS 溶液、旭硝子製) 0.2 mL，調製成 18% Sol. 基劑溶液 (實施例 135) 及 15 μg/mL 含 HB-EGF 之 18% Sol. 溶液 (實施例 136)。此外，本調製所使用之 PBS 係根據以磷酸氫二鈉·12 水合物 2.9 mg/mL、氯化鉀 0.2 mg/mL、氯化鈉 8.01 mg/mL 及磷酸二氫鉀 0.2 mg/mL 的比例使其溶

解於純水的方法來調製。

【 0126】

< 調製例 6-2 > 18%Sol.-1.9%檸檬酸三鈉基劑溶液及含 HB-EGF 之 18%Sol.-1.9%檸檬酸三鈉溶液的調製

將 168mg 檸檬酸三鈉溶解於純水 8g，進一步量取 2g 的 Sol.並置入，在約 4℃ 條件下使 Sol.溶解，調製成 20%Sol.-2.1%檸檬酸三鈉基劑溶液。對前述溶液 1.8mL 添加純水 0.2mL 或 HB-EGF 溶液 0.2mL，調製成 18%Sol.-1.9%檸檬酸三鈉基劑溶液(實施例 137)及 15μg/mL 含 HB-EGF 之 18%Sol.-1.9%檸檬酸三鈉溶液(實施例 138)。

【 0127】

< 試驗例 6-1 > 複數黏度的測定

針對調製例 6-1 及 6-2 中所調製的各基劑溶液或各溶液測定複數黏度 (N=3)。試驗方法係與試驗例 1-2 相同。將結果示於表 11。

【 0128】

【表 1 1】

	基劑溶液或溶液	複數黏度 (mPa・s)				
		25℃	30℃	達到37℃後		
				1分鐘	5分鐘	10分鐘
實施例 135	18%Sol.	<LOQ	<LOQ	135 ±27	506 ±147	949 ±144
實施例 136	含 15 μ g/mL HB-EGF 之 18%Sol.	<LOQ	<LOQ	120 ±4	360 ±41	801 ±56
實施例 137	18%Sol.-1.9% 檸檬酸三鈉	122 ±20	240 ±8	5552 ±182	8706 ±157	13668 ±846
實施例 138	含 15 μ g/mL HB-EGF 之 18%Sol. -1.9% 檸檬酸三鈉	136 ±5	414 ±41	6043 ±609	8591 ±332	13934 ±1002

【0129】18%Sol.基劑溶液(實施例135)及15 μ g/mL含HB-EGF之18%Sol.溶液(實施例136)與18%Sol.-1.9%檸檬酸三鈉基劑溶液(實施例137)及15 μ g/mL含HB-EGF之18%Sol.-1.9%檸檬酸三鈉溶液(實施例138)，兩者的複數黏度皆未看出太大的差異。

【0130】

實驗7：耳內投予用醫藥組成物的藥物緩釋性的評估

針對Sol.基劑溶液或Sol.-鹽基劑溶液，利用多個模型藥物來評估藥物緩釋性。就模型藥物，作為蛋白質之藥物模型，係使用FITC葡聚糖(10kDa、70kDa、150kDa)(FITC葡聚糖以下亦稱FITC-DEX)；作為分配係數不同的酸性低分子藥物模型係使用乙醯胺酚及雙氯芬酸鈉；鹼性低分子藥物模型則使用尼卡地平鹽酸鹽。

【0131】

<調製例7-1>含FITC-DEX(10kDa)之溶液的調製

將FITC-DEX(10kDa)30mg溶解於含0.05%(v/v)PS20之PBS溶液調成3mL，而調製成1%(w/v)含FITC-DEX之溶液。

【0132】又，在22.2%Sol.-2.1%(w/v)檸檬酸三鈉基劑溶液1800 μ L中混合200 μ L的1%(w/v)FITC-DEX，調製成含0.1%(w/v)FITC-DEX之20%Sol.-1.9%檸檬酸三鈉溶液(實施例143)。同樣地在22.2%Sol.-1.1%檸檬酸三鈉基劑溶液、20%Sol.-2.1%檸檬酸三鈉基劑溶液、16.7%Sol.-2.1%檸檬酸三鈉基劑溶液、11.1%Sol.-2.1%檸檬酸三鈉基劑溶液或

1×PBS(pH7.4) 各 1800 μ L 中 混 合 200 μ L 的 1%(w/v)FITC-DEX，調製成表 12 之實施例 139～142 及 144 所記載之含 0.1%(w/v)FITC-DEX(10kDa)之溶液。

【0133】在以與調製例 2-2 同樣之方法所調製的 20%Sol. 基劑溶液 1350 μ L 中混合 150 μ L 的 1%(w/v)FITC-DEX，調製成含 0.1%(w/v)FITC-DEX 之 18%Sol. 溶液(實施例 145)。

【0134】針對調製例 2-1 中所調製之含有檸檬酸三銨、琥珀酸二鈉或檸檬酸二氫鈉的鹽溶液，分別調製含有 20%(w/w)之 Sol. 的 20%Sol.-各鹽溶液的基劑溶液。在前述基劑溶液 1350 μ L 中混合 150 μ L 的 1%(w/v)FITC-DEX，調製成含 0.1%(w/v)FITC-DEX 之 18%Sol.-各鹽溶液(實施例 146～148)。

【0135】量取 18.9g 的 Plu.，置入 PBS81.1g 中，在約 4℃ 條件下使 Plu. 溶解而調製成 18.9%Plu.-PBS 基劑溶液。在前述基劑溶液 2700 μ L 中混合 300 μ L 的 1%(w/v)FITC-DEX，調製成含 0.1%(w/v)FITC-DEX 之 17%Plu.-PBS 溶液(實施例 149)。

【0136】

< 試驗例 7-1 > 含 FITC-DEX(10kDa) 之溶液的溶出試驗

針對調製例 7-1 中所調製的各溶液實施溶出試驗(N=2)。溶出試驗係在 Trans well(6well、12mm diameter inserts、0.4 μ m pore size、Corning製)之井孔的下側裝入 2mL 的 1×PBS(pH7.4)，在設定為 37℃ 的層析室(M-600FN、

TAITEC 製)中將每個井孔加溫後，對井孔的上側投予 0.5mL之調製例 7-1中所調製的各溶液，並以 37℃ ±2℃、100轉/分搖晃來實施。於試驗開始後 1、2、4、6及 24小時之時間點，自井孔的下側採取 0.5mL，並對井孔的下側補充 0.5mL的 PBS。使用螢光平板讀數器(Spectra Max i3x、Molecular Devices 製)，以激發波長 494nm、測定波長 522nm測定試樣液的 FITC濃度。

【 0137】

【表 1 2】

	含FITC-DEX (10kDa)之溶液	溶出率 (%)		
		1小時	6小時	24小時
實施例 139	PBS (pH7.4)	76.3	96.4	99.8
實施例 140	10%Sol.-1.9% 檸檬酸三鈉	9.5	28.0	50.5
實施例 141	15%Sol.-1.9% 檸檬酸三鈉	6.3	19.2	35.5
實施例 142	18%Sol.-1.9% 檸檬酸三鈉	7.6	19.3	38.1
實施例 143	20%Sol.-1.9% 檸檬酸三鈉	5.5	15.5	28.4
實施例 144	20%Sol.-1.0% 檸檬酸三鈉	4.4	18.5	36.2
實施例 145	18%Sol.	11.5	32.5	49.6
實施例 146	18%Sol.-1.5% 檸檬酸三鉍	8.3	28.6	46.6
實施例 147	18%Sol.-1.2% 琥珀酸二鈉	10.5	27.7	50.4
實施例 148	18%Sol.-2.2% 檸檬酸二氫鈉	3.2	9.4	15.8
實施例 149	17%Plu.-PBS	14.6	48.9	59.7

【 0138】 將結果示於表 12。含有聚合物的所有溶液(實施例 140～149)可緩釋 FITC-DEX(10kDa)。含有 Sol.的溶液，隨著 Sol.的濃度上升，試驗開始後 1小時之時間點的溶出率可看出降低傾向(實施例 140～143)，但溶出率的差為 10%以下。檸檬酸三鈉的濃度差異(實施例 143及 144)所產生之溶出率的差亦為 10%以下。又，18%Sol.-鹽基劑溶液(實施例 142、146～148)，隨鹽溶液種類不同，溶出速

度多少有差異，但皆顯示緩釋性，其溶出速度較17%Plu.-PBS基劑溶液(實施例149)為慢。

【0139】

<調製例7-2>含FITC-DEX(70kDa)之溶液的調製

將FITC-DEX(70kDa)50mg溶解於D-PBS，調製成5mL的1%(w/v)FITC-DEX。在D-PBS1800 μ L中混合200 μ L的前述1%(w/v)FITC-DEX，調製成含0.1%(w/v)FITC-DEX之PBS溶液(實施例150)。

【0140】量取56.7g的Plu.，置入D-PBS243.3g中，在約4℃條件下使Plu.溶解而調製成18.9%Plu.-PBS基劑溶液。在前述基劑溶液1800 μ L中混合200 μ L的1%(w/v)FITC-DEX，調製成含0.1%(w/v)FITC-DEX之17%Plu.-PBS溶液(實施例151)。

【0141】量取60.0g的Sol.，置入純水240.0g中，在約4℃條件下使其Sol.溶解而調製成20%Sol.基劑溶液。在前述基劑溶液1800 μ L中混合200 μ L的1%(w/v)FITC-DEX，調製成含0.1%(w/v)FITC-DEX之18%Sol.溶液(實施例152)。

【0142】針對調製例2-1中所調製之含有檸檬酸三鈉或檸檬酸三銨的鹽溶液，分別調製20%Sol.-各鹽溶液的基劑溶液。在前述基劑溶液1800 μ L中混合200 μ L的1%(w/v)FITC-DEX，調製成含0.1%(w/v)FITC-DEX之18%Sol.-各鹽溶液(實施例153、154)。

【0143】

<試驗例7-2>含FITC-DEX(70kDa)之溶液的溶出試驗

針對調製例 7-2 中所調製的各溶液實施溶出試驗 (N=2)。就試驗條件，除溶出試驗液使用 D-PBS 以外，係與試驗例 7-1 相同；測定係使用螢光平板讀數器 (Infinite M1000PRO、TECAN 製)，以激發波長 494nm、測定波長 522nm 測定試樣液的 FITC 濃度。

【 0144 】

【表 1 3】

	含 FITC-DEX (70kDa) 之溶液	溶出率 (%)		
		1 小時	6 小時	24 小時
實施例 150	PBS	42.6	77.9	83.8
實施例 151	17%Plu.-PBS	15.2	58.3	69.6
實施例 152	18%Sol.	6.1	15.3	28.5
實施例 153	18%Sol.-1.9% 檸檬酸三鈉	5.8	13.4	24.6
實施例 154	18%Sol.-1.5% 檸檬酸三銨	5.0	11.0	17.4

【 0145 】 將結果示於表 13。與 FITC-DEX(10kDa) 相同，對於 FITC-DEX(70kDa)，含有 18%Sol. 的溶液 (實施例 152 ~ 154) 皆顯示緩釋性，溶出速度較 17%Plu.-PBS 溶液 (實施例 151) 為慢。

【 0146 】

< 調製例 7-3 > 含 FITC-DEX(150kDa) 之溶液的調製

將 FITC-DEX(150kDa)50mg 溶解於 D-PBS 調成 5mL，調製成 1%(w/v)FITC-DEX。在 D-PBS1800μL 中混合 200μL 的 1%(w/v)FITC-DEX，調製成含 0.1%(w/v)FITC-DEX 之 PBS 溶液 (實施例 155)。

【 0147 】 在以與調製例 7-2 同樣之方法所調製的 18.9%Plu.-PBS 基劑溶液 1800μL 中混合 200μL 的 1%(w/v)

FITC-DEX，調製成含 0.1%(w/v)FITC-DEX之 17%Plu.-PBS 溶液(實施例 156)。

【 0148 】 在以與調製例 7-2 同樣之方法所調製的 20%Sol. 基劑溶液 1800μL 中混合 200μL 的 1%(w/v)FITC-DEX，調製成含 0.1%(w/v)FITC-DEX之 18%Sol. 溶液(實施例 157)。

【 0149 】 針對調製例 2-1 中所調製之含有檸檬酸三鈉或檸檬酸三銨的鹽溶液，分別調製 20%Sol.-各鹽溶液的基劑溶液。在前述基劑 1800μL 中混合 200μL 的 1%(w/v)FITC-DEX，調製成含 0.1%(w/v)FITC-DEX之 18%Sol.-各鹽溶液(實施例 158、159)。

【 0150 】

< 試驗例 7-3 > 含 FITC-DEX(150kDa)之溶液的溶出試驗

針對調製例 7-3 中所調製的各溶液實施溶出試驗(N=2)。試驗條件係與試驗例 7-2 相同。測定係使用螢光平板讀數器(Infinite M1000PRO、TECAN製)，以激發波長 494nm、測定波長 522nm測定試樣液的 FITC 濃度。

【 0151 】

【表 1 4】

	含FITC-DEX (150kDa)之溶液	溶出率 (%)		
		1小時	6小時	24小時
實施例 155	PBS	26.7	74.6	88.5
實施例 156	17%Plu.-PBS	15.9	63.0	79.0
實施例 157	18%Sol.	8.4	20.5	37.3
實施例 158	18%Sol.-1.9% 檸檬酸三鈉	5.0	11.5	19.6
實施例 159	18%Sol.-1.5% 檸檬酸三銨	7.7	17.5	29.0

【0152】將結果示於表14。與FITC-DEX(10kDa)及FITC-DEX(70kDa)相同，含有18%Sol.的溶液(實施例157～159)皆顯示緩釋性，溶出速度較17%Plu.-PBS溶液(實施例156)為慢。

【0153】

<調製例7-4>含乙醯胺酚之溶液的調製

將乙醯胺酚100mg溶解於含0.05%(v/v)PS20之PBS溶液調成10mL，調製成1%(w/v)乙醯胺酚。在PBS1080 μ L中混合120 μ L的1%(w/v)乙醯胺酚，調製成含0.1%(w/v)乙醯胺酚之PBS溶液(實施例160)。

【0154】在調製例7-2中所調製的18.9%Plu.-PBS基劑溶液2700 μ L中混合300 μ L的1%(w/v)乙醯胺酚，調製成含0.1%乙醯胺酚之17%Plu.-PBS溶液(實施例161)。

【0155】在以與調製例2-2同樣之方法所調製的20%Sol.基劑溶液1080 μ L中混合120 μ L的1%(w/v)乙醯胺酚，調製成含0.1%(w/v)乙醯胺酚之18%Sol.溶液(實施例162)。

【0156】針對調製例2-1中所調製之含有檸檬酸三鈉、檸檬酸三銨、琥珀酸二鈉或檸檬酸二氫鈉的鹽溶液，分別調製20%Sol.-各鹽溶液的基劑溶液。在前述基劑溶液1080 μ L中混合150 μ L的1%(w/v)乙醯胺酚，調製成含0.1%(w/v)乙醯胺酚之18%Sol.-各鹽溶液(實施例163～166)。

【0157】

<試驗例7-4>含乙醯胺酚之溶液的溶出試驗

針對調製例 7-4 中所調製的各溶液實施溶出試驗 (N=2)。試驗條件係與試驗例 7-1 相同，測定係使用 HPLC (ESPRIMO D583/N、Waters 製)，以測定波長 254nm 測定試樣液的乙醯胺酚濃度。

【 0158 】

【表 1 5】

	含乙醯胺酚之溶液	溶出率 (%)		
		1小時	6小時	24小時
實施例 160	PBS	71.8	78.8	89.0
實施例 161	17%Plu.-PBS	28.1	82.1	100.0
實施例 162	18%Sol.	11.1	30.8	42.6
實施例 163	18%Sol.-1.9% 檸檬酸三鈉	8.5	24.0	36.8
實施例 164	18%Sol.-1.5% 檸檬酸三鈹	8.8	23.5	37.1
實施例 165	18%Sol.-1.2% 檸檬酸三鈉	8.8	28.1	41.1
實施例 166	18%Sol.-2.2% 檸檬酸二氫鈉	10.7	29.0	41.0

【 0159 】 將結果示於表 15 及圖 3。含有聚合物的所有溶液 (實施例 161～166) 可緩釋乙醯胺酚。含有 18%Sol. 的溶液 (實施例 162～166) 的溶出速度均較 17%Plu.-PBS 溶液 (實施例 161) 為慢。

【 0160 】

< 調製例 7-5 > 含雙氯芬酸鈉之溶液的調製

將雙氯芬酸鈉 50mg 溶解於 D-PBS 調成 5mL，調製成 1%(w/v) 雙氯芬酸鈉。在 D-PBS1800μL 中混合 200μL 的 1%(w/v) 雙氯芬酸鈉，調製成含 0.1%(w/v) 雙氯芬酸鈉之 PBS 溶液 (實施例 167)。

【 0161 】 在以與調製例 7-2 同樣之方法所調製的

18.9%Plu.-PBS基劑溶液1800μL中混合200μL的1%(w/v)雙氯芬酸鈉，調製成含0.1%(w/v)雙氯芬酸鈉之17%Plu.-PBS溶液(實施例168)。

【0162】在以與調製例7-2同樣之方法所調製的20%Sol.基劑溶液1800μL中混合200μL的1%(w/v)雙氯芬酸鈉，調製成含0.1%(w/v)雙氯芬酸鈉之18%Sol.溶液(實施例169)。

【0163】使用調製例2-1中所調製之檸檬酸三鈉的鹽溶液，調製20%Sol.-2.1%檸檬酸三鈉基劑溶液。在前述基劑溶液1800μL中混合200μL的1%(w/v)雙氯芬酸鈉，調製成含0.1%(w/v)雙氯芬酸鈉之18%Sol.-1.9%檸檬酸三鈉溶液(實施例170)。

【0164】

< 試驗例7-5 > 含雙氯芬酸鈉之溶液的溶出試驗

針對調製例7-5中所調製的各溶液實施溶出試驗(N=2)。試驗條件係與試驗例7-2相同，測定係使用HPLC(Waters Alliance e2695，Waters製)，以測定波長240nm測定試樣液的雙氯芬酸鈉濃度。

【0165】

【表16】

	含雙氯芬酸鈉之溶液	溶出率 (%)		
		1小時	6小時	24小時
實施例167	PBS	76.7	89.1	93.1
實施例168	17%Plu.-PBS	15.0	66.8	91.8
實施例169	18%Sol.	2.8	7.4	11.6
實施例170	18%Sol.-1.9% 檸檬酸三鈉	2.5	6.3	9.6

【0166】將結果示於表16。含有聚合物的所有溶液(實施例168~170)可緩釋雙氯芬酸鈉。含有18%Sol.的溶液(實施例169、170)的溶出速度均較17%Plu.-PBS溶液(實施例168)為慢。

【0167】

<調製例7-6>含尼卡地平鹽酸鹽之溶液的調製

將尼卡地平鹽酸鹽25mg溶解於純水調成5mL，調製成0.5%(w/v)尼卡地平鹽酸鹽。在生理食鹽水1800 μ L中混合200 μ L的0.5%(w/v)尼卡地平鹽酸鹽，調製成含0.05%(w/v)尼卡地平鹽酸鹽之生理食鹽水(實施例171)。

【0168】在以與調製例7-2同樣之方法所調製的18.9%Plu.-PBS基劑溶液1800 μ L中混合200 μ L的0.5%(w/v)尼卡地平鹽酸鹽，調製成含0.05%(w/v)尼卡地平鹽酸鹽之17%Plu.-PBS溶液(實施例172)。

【0169】在以與調製例7-2同樣之方法所調製的20%Sol.基劑溶液1800 μ L中混合200 μ L的0.5%(w/v)尼卡地平鹽酸鹽，調製成含0.05%(w/v)尼卡地平鹽酸鹽之18%Sol.溶液(實施例173)。

【0170】使用調製例2-1中所調製之含有檸檬酸三鈉的鹽溶液，調製20%Sol.-2.1%檸檬酸三鈉基劑溶液。在前述基劑溶液1800 μ L中混合200 μ L的0.5%(w/v)尼卡地平鹽酸鹽，調製成含0.05%(w/v)尼卡地平鹽酸鹽之18%Sol.-1.9%檸檬酸三鈉溶液(實施例174)。

【0171】

< 試驗例 7-6 > 含尼卡地平鹽酸鹽之溶液的溶出試驗

針對調製例 7-6 中所調製的各溶液實施溶出試驗 (N=2)。就試驗條件，除溶出試驗液使用生理食鹽水以外，係與試驗例 7-1 相同；測定係使用 HPLC(Waters Alliance e2695，Waters製)，以測定波長 254nm測定試樣液的尼卡地平鹽酸鹽濃度。

【 0172 】

【表 1 7】

	含尼卡地平鹽酸鹽之溶液	溶出率 (%)		
		1小時	6小時	24小時
實施例 171	生理食鹽水	77.0	84.7	86.2
實施例 172	17%Plu.-PBS	15.9	77.5	94.2
實施例 173	18%Sol.	4.6	7.7	10.4
實施例 174	18%Sol.-1.9% 檸檬酸三鈉	1.1	1.4	1.7

【 0173 】 將結果示於表 17。含有聚合物的所有溶液 (實施例 172～174)可緩釋尼卡地平鹽酸鹽。含有 18%Sol.之溶液 (實施例 173、174)的溶出速度均較 17%Plu.-PBS 溶液 (實施例 172)為慢。

【 0174 】

實驗 8：使用螢光色素之耳內滯留性的評估

使用以 Plu.或 Sol.為基劑之基劑溶液中含有作為模型藥物之 FITC-DEX(10kDa)的各基劑溶液來評估耳內滯留性。

【 0175 】

< 調製例 8 > 含 FITC-DEX(10kDa)之溶液的調製

使 FITC-DEX(10kDa)14mg 溶解於純水調成 1mL，調製成 1.4%(w/v)FITC-DEX 溶液。將前述溶液 100 μ L 與 1 $\times$ PBS(pH7.4)900 μ L 混合，調製成含 0.14%(w/v)FIT-DEX 之 PBS 溶液(實施例 175：圖 4 之 PBS)。

【0176】量取 13.6g 的 Plu.，置入 1 $\times$ PBS(pH7.4)66.4g 中，在約 4 $^{\circ}$ C 條件下使 Plu. 溶解而調製成 17%Plu.-PBS 基劑溶液。使 FITC-DEX14mg 溶解於前述 17%Plu.-PBS 基劑溶液調成 10mL，而調製成含 0.14%(w/v) FITC-DEX 之 17%Plu.-PBS 溶液(實施例 176：圖 4 之 17%Plu./PBS)。

【0177】量取 4g 的 Sol.，置入純水 16g 中，在約 4 $^{\circ}$ C 條件下使 Sol. 溶解而調製成 20%Sol. 基劑溶液。又，量取 20g 的 Sol.，置入 PBS80g 中，在約 4 $^{\circ}$ C 條件下使 Sol. 溶解而調製成 20%Sol.-PBS 基劑溶液。將 1.4%(w/v)FITC-DEX 溶液 100 μ L 與前述 20%Sol. 基劑溶液或 20%Sol.-PBS 基劑溶液 900 μ L 混合，而調製成含 0.14%(w/v)FITC-DEX 之 18%Sol. 溶液(實施例 177：圖 4 之 18%Sol.)及含 0.14%(w/v)FITC-DEX 之 18%Sol.-PBS 溶液(實施例 178：圖 4 之 18%Sol./PBS)。

【0178】

< 試驗例 8 > 使用螢光色素之耳內滯留性的評估

針對調製例 8 中所調製的各溶液，實施大鼠耳內的滯留試驗(N=4~6)。在異氟醚(Forane、Abbott製)吸入麻醉下使用 Rosen 氏探針(第一醫科製)將大鼠(Cr1：CD(SD)，7 週大)的鼓膜穿孔。使用微量吸量管(Reference2、Eppendorf製)自此孔投予各製劑 50 μ L。投予結束的同時中

止吸入麻醉，使大鼠清醒。24小時後在麻醉下對大鼠進行放血處理並切斷頭部，採取中耳腔。回收採取之中耳腔內的 FITC-DEX，使用螢光平板讀數器 (Spectra Max i3x、Molecular Devices製)測定耳內之 FITC-DEX 的殘留率。

【0179】將結果示於圖4。此外，圖4之誤差槓係指標準偏差。投予24小時後的殘留率，含0.14%(w/v) FITC-DEX之PBS溶液(實施例175)為未達10%，含0.14%(w/v) FITC-DEX之17%Plu.-PBS溶液(實施例176)為約14%，18% Sol.溶液(實施例177及實施例178)為40～60%左右。

【0180】

實驗9：根據正子造影之耳內滯留性的評估

為評估 Sol.基劑溶液或 Sol.-檸檬酸三鈉基劑溶液在耳內的滯留性，藥物係使用對大鼠 HB-EGF 標記 ^{89}Zr 的 ^{89}Zr -HB-EGF，並藉由正子造影來評估耳內滯留性。透過 Sol.基劑溶液、Sol.-檸檬酸三鈉基劑溶液、殼聚糖基劑溶液或 Plu.-PBS 基劑溶液中含有 ^{89}Zr 標記 HB-EGF 而調製各種溶液，並將前述各溶液投予至小鼠的外耳道，放置一段期間後進行正子造影。由所得 PET 影像定量 HB-EGF，並由算出之殘留量計算耳內之放射能的殘留率來評估耳內滯留性。

【0181】

<調製例9-1> 20% Sol.基劑溶液的調製

量取 4g 的 Sol.，置入純水 16g 中，在約 4℃ 條件下使 Sol.溶解而調製成 20% Sol.基劑溶液。

【0182】

＜調製例 9-2＞ 20% Sol.-2.1% 檸檬酸三鈉基劑溶液的調製

將檸檬酸三鈉 420mg 溶解於純水中，調製成檸檬酸三鈉溶液 20mL。量取 4g 的 Sol.，置入前述溶液 16g 中，在約 4℃ 條件下使 Sol. 溶解而調製成 20% Sol.-2.1% 檸檬酸三鈉基劑溶液。

【 0183 】

＜調製例 9-3＞ 18.9% Plu.-PBS 基劑溶液的調製

量取 3.78g 的 Plu.，置入 1×PBS(pH7.4)16.22g 中，在約 4℃ 條件下使 Plu. 溶解而調製成 18.9% Plu.-PBS 基劑溶液。

【 0184 】

＜調製例 9-4＞ 殼聚糖基劑溶液的調製

對殼聚糖 - 乳酸預聚物 (Auration(Stanford 大學)製))(Kim et al., J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2014 Oct;102(7):1393-1406.)455μL 添加纖維蛋白原 (Enzyme Research Lab 製)45μL 並予以混合，調製成殼聚糖基劑溶液。

【 0185 】

＜調製例 9-5＞ 含 0.2% PS20 之 PBS 溶液的調製

量取 40mg 的 PS20，添加 1×PBS(pH7.4)使其溶解，調製成含 0.2% PS20 之 PBS 溶液 20mL。

【 0186 】

＜調製例 9-6＞ DFO-HB-EGF 的調製

將大鼠 HB-EGF(cyt-170、Prospec 製)500μg 溶解於 0.1mol/L 碳酸氫鈉溶液 500μL 後，與將 p-SCN-Bn-

Deferoxamine (以 WO2008/124467 為參考於本公司合成) 以 DMSO(DMSO 為 Dimethyl sulfoxide 的縮寫) 溶解而得之 40mmol/L 的 p-SCN-Bn-Deferoxamine 溶液 10 μ L 混合，在設定為 37 $^{\circ}$ C 的恆溫槽 (ThermomixerC、Eppendorf 製) 內以 300 轉/分的速度搖晃 30 分鐘，而得到反應液。將反應液添加於 PD-10 管柱 (17085101、GE Healthcare 製) 後以 1 $\times$ PBS (pH7.4) 溶液溶出，各回收 500 μ L 的溶出液，並回收第 7 號及第 8 號之區分，調製成目標蛋白質之 DFO-HB-EGF。

【0187】

< 調製例 9-7 > 含 ^{89}Zr -HB-EGF 之 PBS 溶液及含 ^{89}Zr -HB-EGF 之 PS20-PBS 溶液的調製

對 [^{89}Zr]Zr-oxalate 的 1mol/L 草酸溶液 20 μ L (10.52-38.5MBq) 添加 1mol/L 碳酸鈉溶液 18 μ L 後，添加 0.5mol/L HEPES 溶液 (HEPES 係指羥乙基哌嗪乙磺酸) 88 μ L 並加以混合。進而添加調製例 9-6 中所調製的 DFO-HB-EGF (區分 7 或 8) 50 μ L，使用設定為 37 $^{\circ}$ C 的塊式恆溫槽 (BI-516s、ASTEC 製) 將其培養 30~60 分鐘，而使其反應。將反應液加入至超過濾膜 (AmiconUltra 3K、Amicon 製)，並進一步添加 PBS 進行超過濾純化，而得到目標之含 ^{89}Zr -HB-EGF 之 PBS 溶液 (5.80-9.09MBq)。進而，將所得溶液與含 0.2% PS20 之 PBS 溶液以 3:1 (v/v) 混合，而調製成含 ^{89}Zr -HB-EGF 之 PS20-PBS 溶液。

【0188】

< 調製例 9-8 > 含 ^{89}Zr -HB-EGF 之 18% Sol. 溶液的調製

將調製例9-7中所調製的含 ^{89}Zr -HB-EGF之PS20-PBS溶液10~100 μL 與調製例9-1中所調製的20%Sol.基劑溶液以1:9的比率混合，調製成含 ^{89}Zr -HB-EGF之18%Sol.溶液(實施例179)。前述溶液至臨投予前係於冰冷卻下保存。

【0189】

<調製例9-9>含 ^{89}Zr -HB-EGF之18%Sol.-1.9%檸檬酸三鈉溶液的調製

將調製例9-7中所調製的含 ^{89}Zr -HB-EGF之PS20-PBS溶液10~100 μL 與調製例9-2中所調製的20%Sol.-2.1%檸檬酸三鈉基劑溶液以1:9的比率混合，調製成含 ^{89}Zr -HB-EGF之18%Sol.-1.9%檸檬酸三鈉溶液(實施例180)。前述溶液至臨投予前係於冰冷卻下保存。

【0190】

<調製例9-10>含 ^{89}Zr -HB-EGF之17%Plu.-PBS溶液的調製

將調製例9-7中所調製的含 ^{89}Zr -HB-EGF之PS20-PBS溶液10 μL 與調製例9-3中所調製的18.9%Plu.-PBS基劑溶液以1:9的比率混合，調製成含 ^{89}Zr -HB-EGF之17%Plu.-PBS溶液(實施例181)。前述溶液至臨投予前係於冰冷卻下保存。

【0191】

<調製例9-11>含 ^{89}Zr -HB-EGF之殼聚糖溶液的調製

將調製例9-7中所調製的含 ^{89}Zr -HB-EGF之PBS溶液10 μL 與調製例9-4中所調製的殼聚糖基劑溶液90 μL 混合，調製成含 ^{89}Zr -HB-EGF之殼聚糖溶液。

【 0192 】

< 試驗例 9 > 正子造影

將小鼠(BALB/C，9～11週大)以異氟醚麻醉，對外耳道分別投予調製例9-8、9-9及9-10中所得之各溶液3 μ L(含 ^{89}Zr -HB-EGF之18%Sol.溶液：N=15，含 ^{89}Zr -HB-EGF之18%Sol.-1.9%檸檬酸三鈉溶液：N=15，含 ^{89}Zr -HB-EGF之17%Plu.-PBS溶液：N=9)。調製例9-11中所得之含 ^{89}Zr -HB-EGF之殼聚糖溶液係投予2.55 μ L，進而投予0.2mol/L焦亞硫酸鈉(Sigma-Aldrich製)0.45 μ L使含 ^{89}Zr -HB-EGF之殼聚糖溶液於耳內聚合(實施例182)(N=9)。於投予後0.15～0.31小時後、1日後及2日後分別在麻醉下以PET/CT造影裝置(PET：Clairvivo PET、島津製作所製、CT：Aquilion、TOSHIBA製)取得影像。由所得影像，算出相對於剛投予後的耳內放射能之投予1日後及2日後的放射能殘留率。

【 0193 】將結果示於圖5。此外，圖5之誤差槓係指標準誤差。於投予2日後，含 ^{89}Zr -HB-EGF之18%Sol.-1.9%檸檬酸三鈉溶液(實施例180)與其他3種溶液相比顯示較高的放射能殘留率。含 ^{89}Zr -HB-EGF之殼聚糖溶液(實施例182)，自投予1日後至投予2日後殘留率減少約50%，含 ^{89}Zr -HB-EGF之17%Plu.-PBS溶液(實施例181)自投予1日後至投予2日後殘留率減少約18%。含 ^{89}Zr -HB-EGF之18%Sol.溶液(實施例179)及含 ^{89}Zr -HB-EGF之18%Sol.-1.9%檸檬酸三鈉溶液(實施例180)，自投予1日後至投予2日後殘留率的減少係未達10%。

【 0194 】

實驗 10：採用慢性鼓膜穿孔模型之含 HB-EGF 之溶液的藥效評估

製作慢性鼓膜穿孔模型小鼠，評估投予含有小鼠 HB-EGF 之各溶液時對鼓膜穿孔之藥效。

【 0195 】

< 試驗例 10-1 > 慢性鼓膜穿孔模型小鼠的製作

在異氟醚 (Pfizer 製) 麻醉下以 Rosen 氏探針 (52-147-50、第一醫科製) 使小鼠 (公 CBA/CaJ 種，9～13 週大) 的鼓膜整個穿孔。於穿孔部留置浸漬有作為穿孔化劑之 10 mmol/L KB-R7785 溶液 (本公司合成) (Hirayama et al., Bioorg Med Chem. 1997, Apr;5(4)765-778) 的 Gelfoam (註冊商標) (Pfizer 製)。此外，前述 Gelfoam (註冊商標) 係裁切成可置入小鼠耳內的大小使用。以 1 日 1 次觀察耳內，當 Gelfoam (註冊商標) 消失時，重新留置浸漬有穿孔化劑的 Gelfoam (註冊商標)。如未消失而殘留時，則進行 10 mmol/L KB-R7785 溶液的追加投予。採穿孔化劑之處置係實施 1 週，其後放置約 3 個月，於顯微鏡下確認有穿孔。

【 0196 】

< 調製例 10-1 > 小鼠 HB-EGF 溶液的調製

HB-EGF 係使用小鼠 HB-EGF (cyt-068、Prospect 製)，以純水使其溶解，調製成小鼠 HB-EGF 溶液。

【 0197 】

< 調製例 10-2 > 殼聚糖溶液 (有/無小鼠 HB-EGF) 的調製

對殼聚糖-乳酸預聚物(Auration(Stanford大學)製))455 μ L添加纖維蛋白原(Enzyme Research Lab製)45 μ L並予以混合，製成殼聚糖基劑。將調製例10-1中所調製的小鼠HB-EGF溶液58.824 μ g/mL或純水與前述殼聚糖基劑以1：9的比例混合，而調製成殼聚糖溶液(有小鼠HB-EGF)(實施例183)或殼聚糖溶液(無小鼠HB-EGF)(實施例184)。此等溶液係於4 $^{\circ}$ C下保存。

【0198】

<調製例10-3> 20% Sol.溶液(有/無小鼠HB-EGF)的調製

量取6.7g的Sol.，置入純水23.3g中，於約4 $^{\circ}$ C使Sol.溶解而調製成22.3% Sol.基劑溶液。將調製例10-1中所調製的小鼠HB-EGF溶液50 μ g/mL或純水與22.3% Sol.基劑溶液以1：9的比例混合，調製成20% Sol.溶液(有小鼠HB-EGF)(實施例185)或20% Sol.溶液(無小鼠HB-EGF)(實施例186)。

【0199】

<調製例10-4> 18% Sol.-1.9%檸檬酸三鈉溶液(有/無小鼠HB-EGF)的調製

量取420mg檸檬酸三鈉，溶解於純水，調製成檸檬酸三鈉溶液20mL。量取2g的Sol.，置入前述溶液8g中，於約4 $^{\circ}$ C使Sol.溶解，調製成20% Sol.-2.1%檸檬酸三鈉基劑溶液。將調製例10-1中所調製的小鼠HB-EGF溶液50 μ g/mL或純水與20% Sol.-2.1%檸檬酸三鈉基劑溶液以1：9的比例混合，調製成18% Sol.-1.9%檸檬酸三鈉溶液(有小鼠HB-EGF)(實施例187)或18% Sol.-1.9%檸檬酸三鈉溶液(無小鼠HB-

EGF)(實施例 188)。

【 0200】

< 試驗例 10-2 > 慢性鼓膜穿孔的治療

對試驗例 10-1中所製作的慢性鼓膜穿孔模型小鼠，使用 MICROMAN E(M10E、Gilson製)將調製例 10-2～10-4中所調製的各溶液(實施例 183～188)5μL投予至其鼓膜上(N=13～14)。此外，殼聚糖溶液(有/無小鼠 HB-EGF)係分別在投予前回至室溫，於投予時使各殼聚糖溶液 4.25μL與 0.2mol/L焦亞硫酸鈉(Sigma-Aldrich製)0.75μL於耳內聚合(N=13)。具體而言，係首先使用 MICROMAN E自外耳道將殼聚糖溶液(有/無小鼠 HB-EGF)投予至鼓膜上，其後同樣地投予焦亞硫酸鈉，在製劑凝固前迅速自耳部抽離 MICROMAN E。

【 0201】投予 1個月後，採取包含鼓膜的周邊組織，去除殘渣後確認有無穿孔，由鼓膜穿孔耳數及鼓膜治癒耳數算出鼓膜穿孔治癒率。

【 0202】

【表 1 8】

	實施例 183	實施例 184	實施例 185	實施例 186	實施例 187	實施例 188
	殼聚糖溶液		20%Sol.溶液		18%Sol.-1.9% 檸檬酸三鈉溶液	
小鼠 HB-EGF (5μg/mL)	有	無	有	無	有	無
鼓膜穿孔耳數	4	11	4	12	2	11
鼓膜治癒耳數	9	2	9	1	12	3
治癒率 (%)	69	15	69	8	86	21

【0203】將結果示於表18。殼聚糖溶液(有小鼠 HB-EGF)(實施例 183)及 20% Sol. 溶液(有小鼠 HB-EGF)(實施例 185)的鼓膜穿孔治癒率為 69%。18% Sol.-1.9% 檸檬酸三鈉溶液(小鼠有 HB-EGF)(實施例 187)的鼓膜穿孔治癒率為 86%。

【0204】由以上結果，本發明之醫藥組成物於投予時無需混合，可提供一種在室溫下亦不會凝膠化，無需複雜的操作即可對耳內投予，而且具有藥物在耳內滯留及緩釋之機能的醫藥組成物。

[產業上可利用性]

【0205】根據本發明，可提供一種無需複雜的操作即可對耳內投予，而且具有藥物在耳內滯留及緩釋之機能的醫藥組成物。

以上既已依循特定樣態說明本發明，惟本業者應理解，其變更方式或改良係包含於本發明之範圍。

【序列表】

<110> 安斯泰來製藥股份有限公司

<120> 耳內投予用之醫藥組成物

<130> A20014-047

<150> JP 2019-140977

<151> 2019-07-31

 $\langle 160 \rangle$ 1

<170> PatentIn 版本 3.5

 $\langle 210 \rangle$ 1

<211> 86

<212> PRT

<213> 人類

 $\langle 400 \rangle$ 1

Asp Leu Gln Glu Ala Asp Leu Asp Leu Leu Arg Val Thr Leu Ser Ser
1 5 10 15

Lys Pro Gln Ala Leu Ala Thr Pro Asn Lys Glu Glu His Gly Lys Arg
20 25 30

Lys Lys Lys Gly Lys Gly Leu Gly Lys Lys Arg Asp Pro Cys Leu Arg
35 40 45

Lys Tyr Lys Asp Phe Cys Ile His Gly Glu Cys Lys Tyr Val Lys Glu
50 55 60

Leu Arg Ala Pro Ser Cys Ile Cys His Pro Gly Tyr His Gly Glu Arg
65 70 75 80

Cys His Gly Leu Ser Leu

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種醫藥組成物，其係含有1種或2種以上之藥物及聚合物的耳內投予用之醫藥組成物，其特徵為，一邊使用流變儀以剪切應變5%且角頻率50rad/秒之條件及使溫度自25℃以1℃/10秒的升溫速度升溫至37℃，一邊測定該醫藥組成物的複數黏度時，在25℃之時間點為未達1650mPa·s，且在達到37℃後過10分鐘之時間點為1650mPa·s以上且100000mPa·s以下。

【請求項2】如請求項1之醫藥組成物，其係溶膠-凝膠轉移點為30℃～38℃。

【請求項3】如請求項1之醫藥組成物，其中聚合物為聚乙烷基己內醯胺-聚乙稀乙酸-聚乙二醇接枝共聚物。

【請求項4】如請求項1之醫藥組成物，其中進一步含有1種或2種以上之複數黏度調節劑。

【請求項5】如請求項4之醫藥組成物，其中複數黏度調節劑為選自由檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、檸檬酸三銨、琥珀酸二鈉、碳酸鈉、酒石酸鈉、硫酸鈉、硫酸銨、檸檬酸二氫鈉、磷酸二氫鈉、檸檬酸氫二鈉、檸檬酸二氫鉀、檸檬酸氫二銨、四硼酸鈉、乙酸鈉及此等之水合物所成群組的1種或2種以上。

【請求項6】如請求項4之醫藥組成物，其中複數黏度調節劑為選自由檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、硫酸鈉及此等之水合物所成群組的1種或2種以上。

【請求項7】如請求項1之醫藥組成物，其中進一步含

有溶劑。

【請求項8】如請求項4之醫藥組成物，其中聚乙烯基己內醯胺-聚乙烯乙酸-聚乙二醇接枝共聚物的濃度，相對於醫藥組成物為10%(w/w)～24%(w/w)。

【請求項9】如請求項4之醫藥組成物，其中複數黏度調節劑的濃度，相對於醫藥組成物為0.1%(w/v)～5.0%(w/v)。

【請求項10】如請求項1之醫藥組成物，其中將薄型半透明膜片所附嵌件嵌入裝有2mL之 $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 的磷酸緩衝液之多孔井盤中，使前述磷酸緩衝液分成上層及下層，在前述嵌件上置入0.5mL的醫藥組成物，並以前述磷酸緩衝液的液面產生晃動的速度搖晃前述多孔井盤使藥物溶出時，可緩釋藥物。

【請求項11】如請求項1之醫藥組成物，其中藥物為選自由低分子化合物、核酸及蛋白質所成群組的1種或2種以上。

【請求項12】如請求項1之醫藥組成物，其中藥物為提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物。

【請求項13】如請求項12之醫藥組成物，其中提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物係包含由序列編號1所示胺基酸序列所構成的蛋白質。

【請求項14】一種耳內投予用之醫藥組成物，其係含有1種或2種以上之藥物及聚乙烯基己內醯胺-聚乙烯乙酸-聚乙二醇接枝共聚物。

【請求項15】如請求項14之醫藥組成物，其中進一步含有1種或2種以上之複數黏度調節劑。

【請求項16】如請求項15之醫藥組成物，其中複數黏度調節劑為選自由檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、檸檬酸三銨、琥珀酸二鈉、碳酸鈉、酒石酸鈉、硫酸鈉、硫酸銨、檸檬酸二氫鈉、磷酸二氫鈉、檸檬酸氫二鈉、檸檬酸二氫鉀、檸檬酸氫二銨、四硼酸鈉、乙酸鈉及此等之水合物所成群組的1種或2種以上。

【請求項17】如請求項15之醫藥組成物，其中複數黏度調節劑為選自由檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、硫酸鈉及此等之水合物所成群組的1種或2種以上。

【請求項18】如請求項14之醫藥組成物，其中進一步含有溶劑。

【請求項19】如請求項15之醫藥組成物，其中聚乙烯基己內醯胺-聚乙烯乙酸-聚乙二醇接枝共聚物的濃度，相對於醫藥組成物為10%(w/w)~24%(w/w)。

【請求項20】如請求項15之醫藥組成物，其中複數黏度調節劑的濃度，相對於醫藥組成物為0.1%(w/v)~5.0%(w/v)。

【請求項21】如請求項14之醫藥組成物，其中藥物為選自由低分子化合物、核酸及蛋白質所成群組的1種或2種以上。

【請求項22】如請求項14之醫藥組成物，其中藥物為提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物。

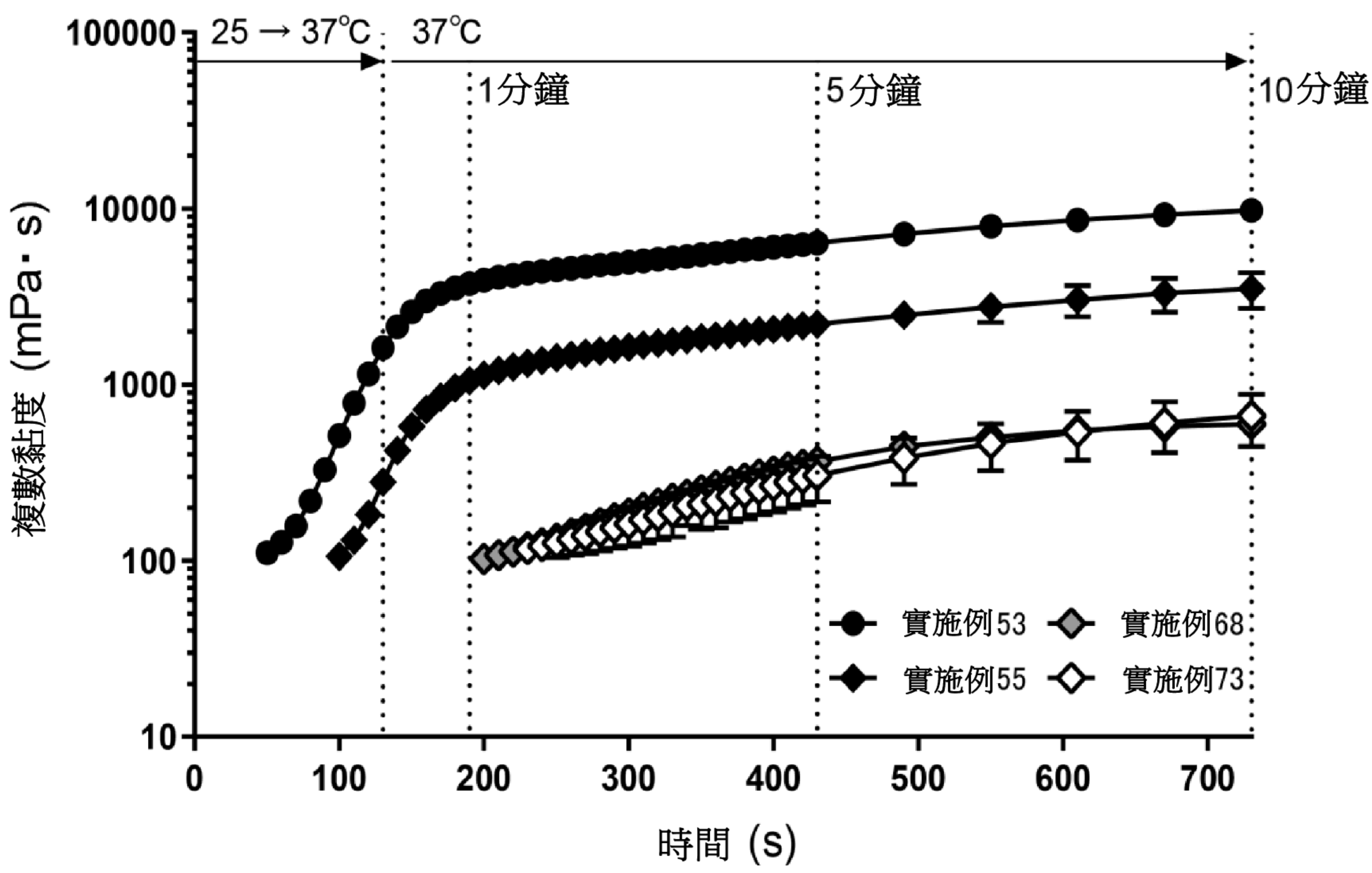
【請求項23】如請求項22之醫藥組成物，其中提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物係包含由序列編號1所示胺基酸序列所構成的蛋白質。

【請求項24】一種耳內投予用之醫藥組成物，其係含有提供肝素結合性上皮生長因子之生物活性的藥物、聚乙炔基己內醯胺-聚乙炔乙酸-聚乙二醇接枝共聚物及檸檬酸三鈉或其水合物。

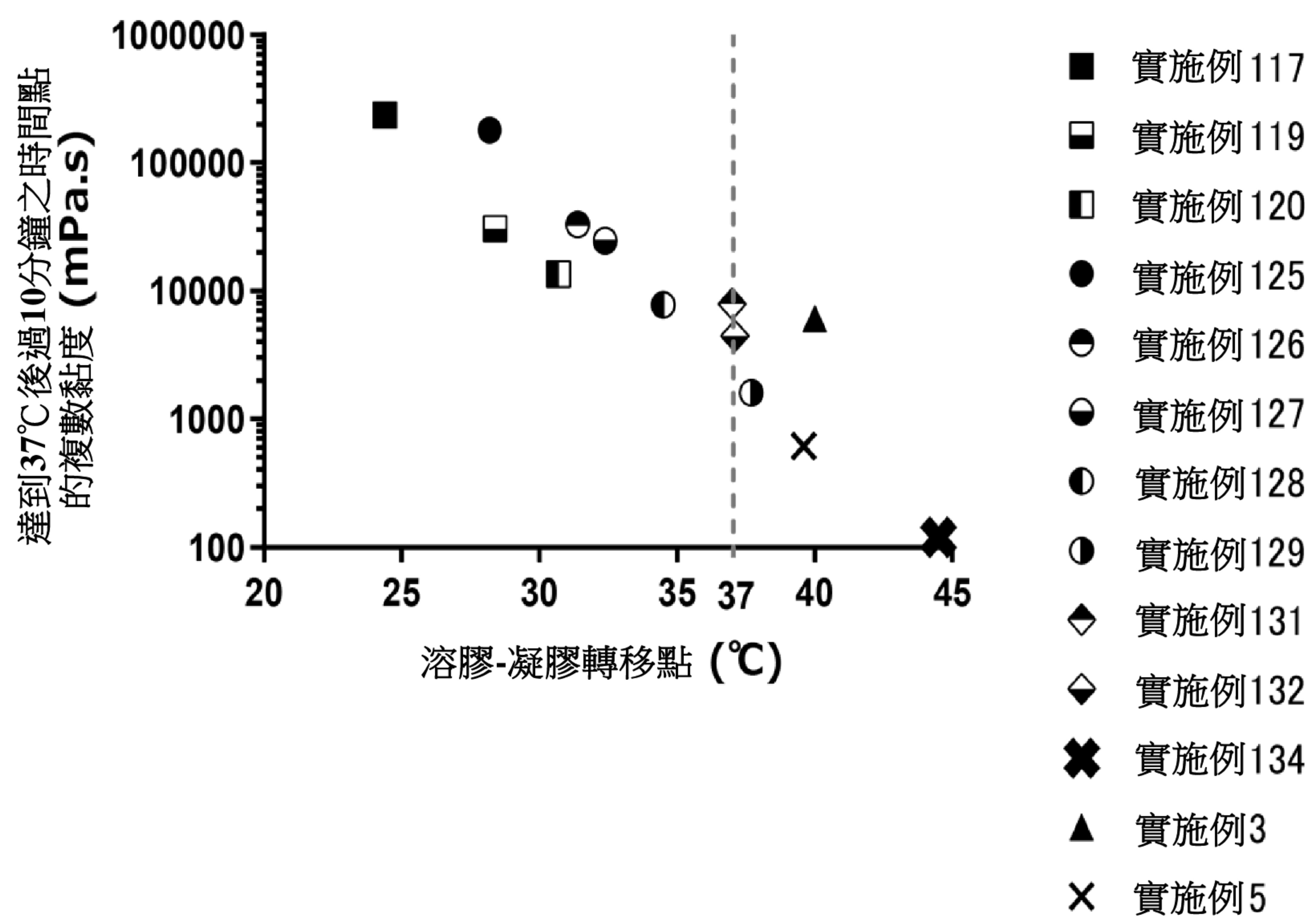
【請求項25】一種聚乙炔基己內醯胺-聚乙炔乙酸-聚乙二醇接枝共聚物之作為基劑的使用，其係用來製造含有1種或2種以上之藥物的耳內投予用之醫藥組成物。

【請求項26】一種選自由檸檬酸三鈉、檸檬酸三鉀、檸檬酸三銨、琥珀酸二鈉、碳酸鈉、酒石酸鈉、硫酸鈉、硫酸銨、檸檬酸二氫鈉、磷酸二氫鈉、檸檬酸氫二鈉、檸檬酸二氫鉀、檸檬酸氫二銨、四硼酸鈉、乙酸鈉及此等之水合物所成群組的1種或2種以上之作為複數黏度調節劑的使用，其係用來製造含有1種或2種以上之藥物及聚乙炔基己內醯胺-聚乙炔乙酸-聚乙二醇接枝共聚物的耳內投予用之醫藥組成物。

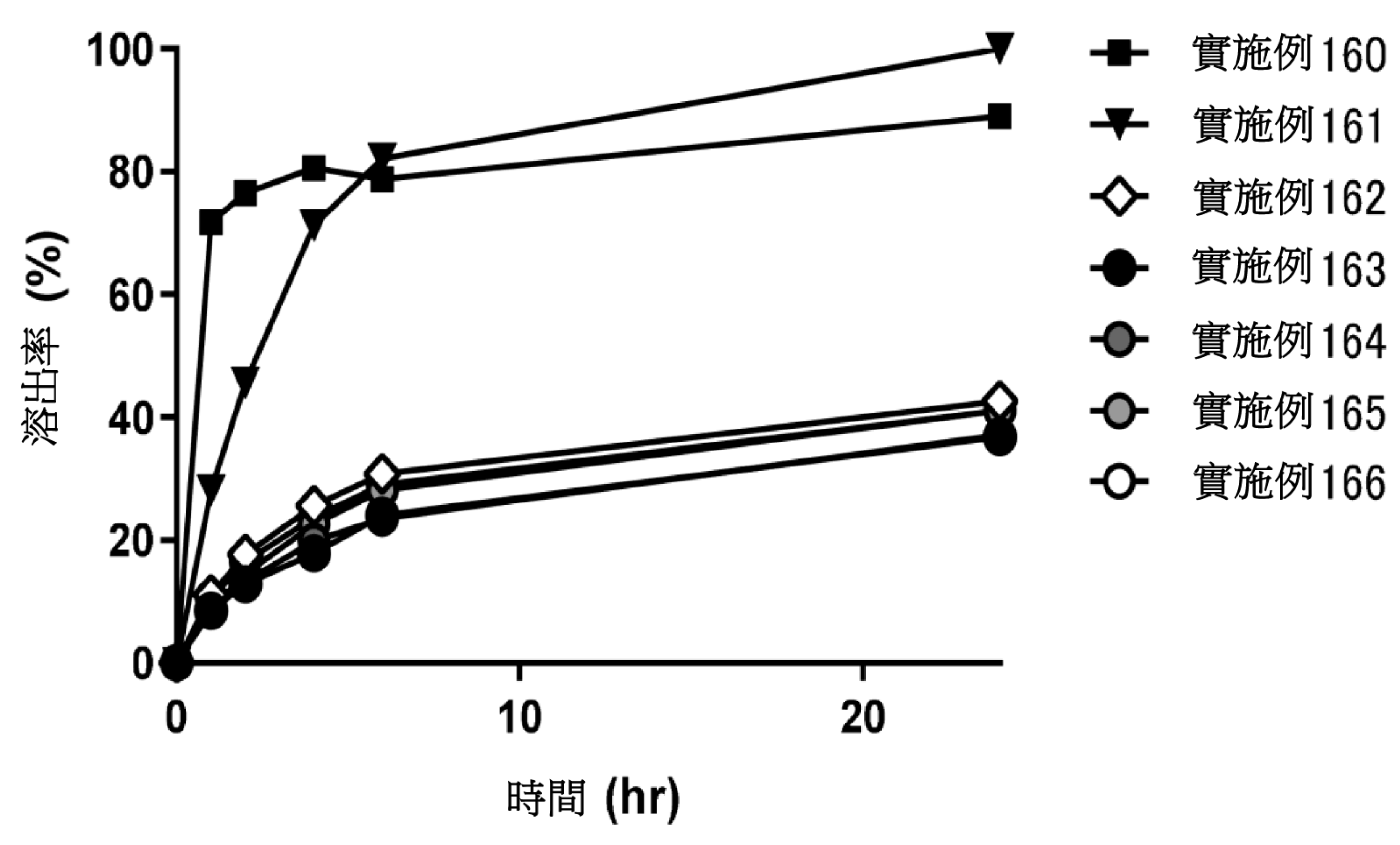
【發明圖式】



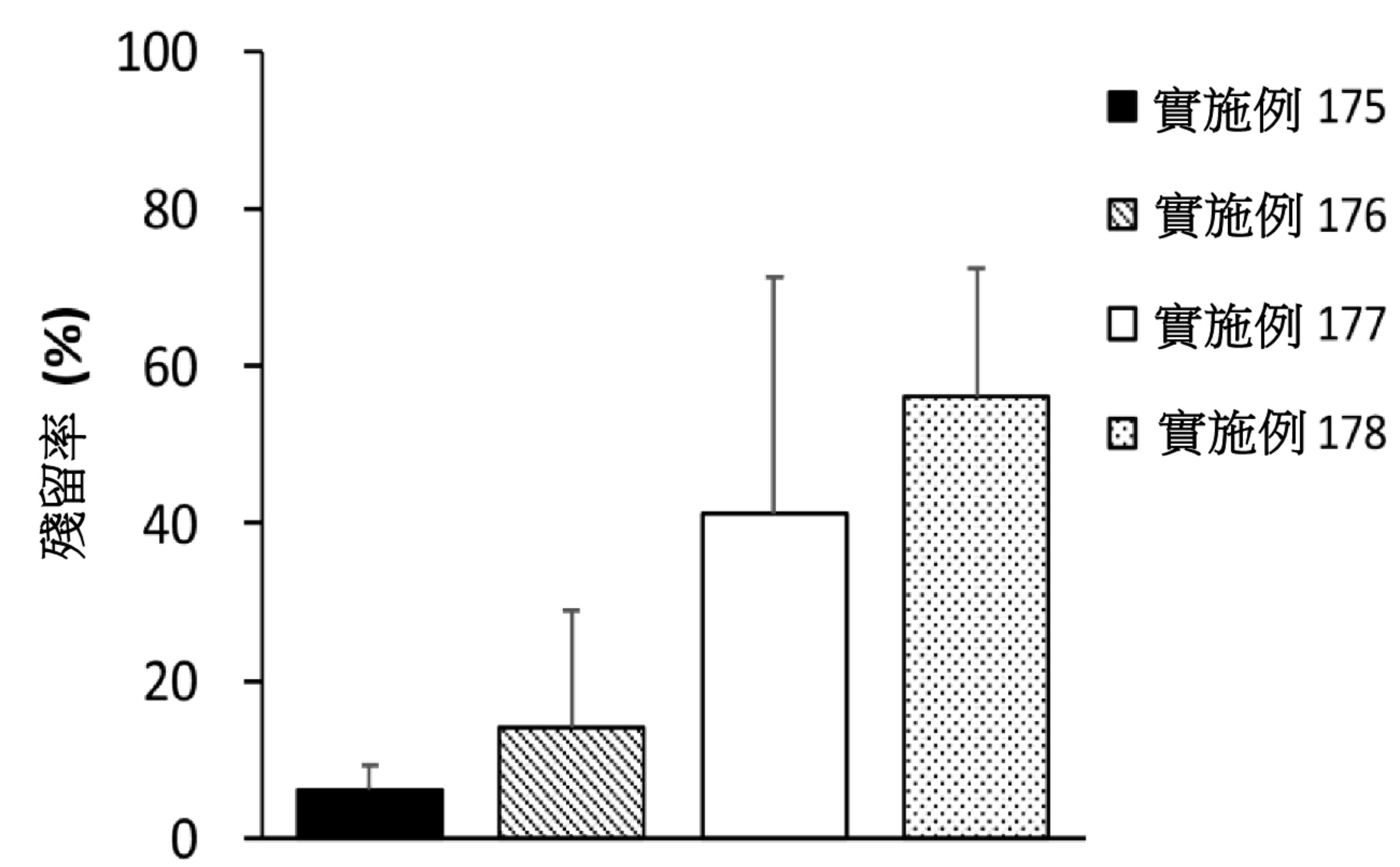
【圖 1】



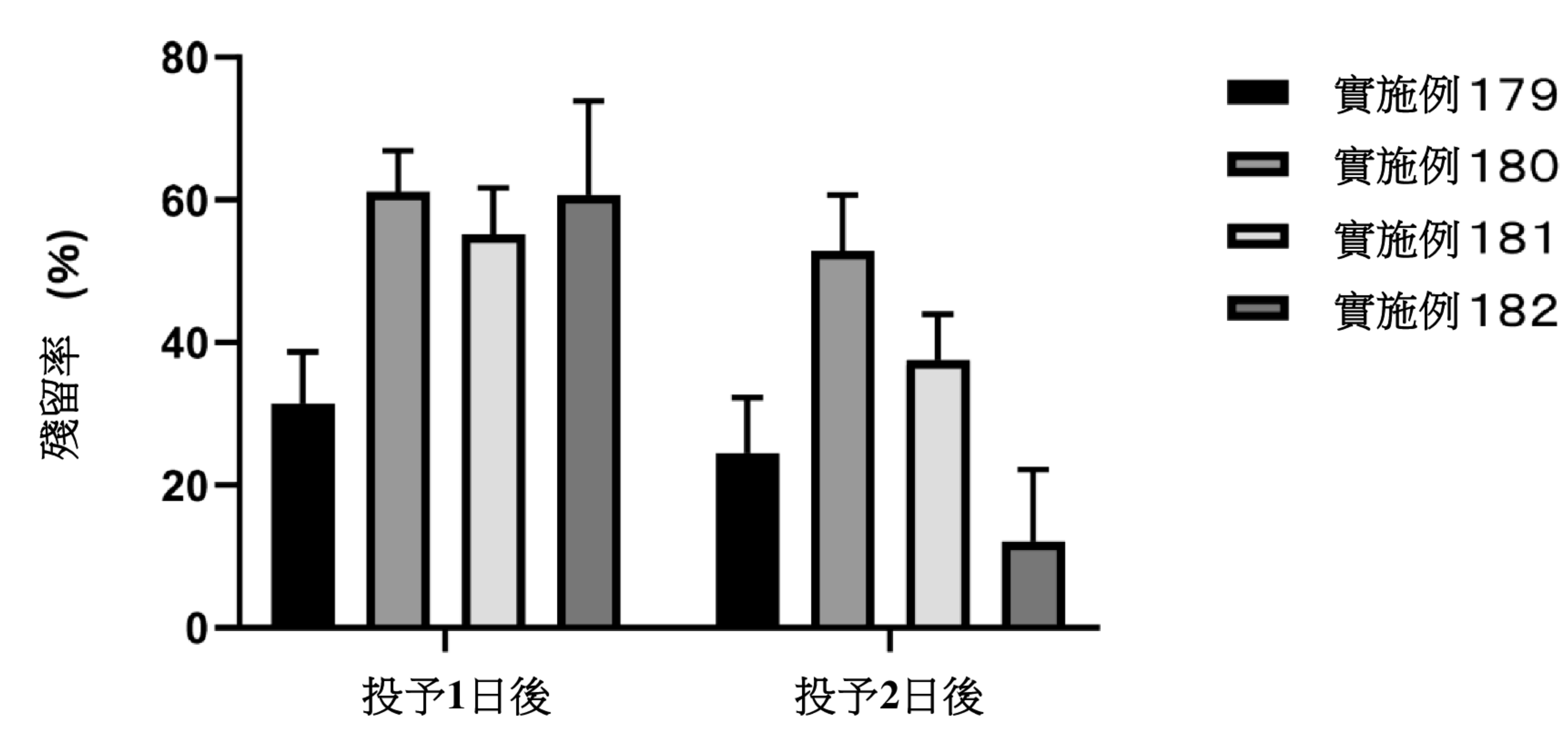
【圖 2】



【圖 3】



【圖 4】



【圖 5】