



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102755627 A

(43) 申请公布日 2012. 10. 31

(21) 申请号 201210021946. 7

(22) 申请日 2012. 01. 31

(71) 申请人 赛乐医药科技(上海)有限公司

地址 201210 上海市浦东新区张江高科技园  
区蔡伦路 781 号 707 室

(72) 发明人 王诺 田武 王成伟

(74) 专利代理机构 北京瑞恒信达知识产权代理  
事务所(普通合伙) 11382

代理人 曹津燕 张伟

(51) Int. Cl.

A61K 38/08(2006. 01)

A61K 9/00(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

A61P 15/00(2006. 01)

A61P 29/00(2006. 01)

权利要求书 2 页 说明书 16 页

(54) 发明名称

一种戈舍瑞林缓释植入剂的制备方法

(57) 摘要

本发明提供了一种制备戈舍瑞林缓释植入剂的方法,所述方法包括将乙酸和沸点低于乙酸的有机溶剂制成混合溶剂,从而溶解戈舍瑞林和药学上可接受的载体的步骤。采用本发明的方法制备的戈舍瑞林缓释植入剂,药物稳定、分布均匀,能够长时间稳定释放,并且制备方法耗时短,降低时间成本。此外,本发明还提供了根据所述方法制备的药用植入剂。

1. 一种制备戈舍瑞林缓释植入剂的方法,所述方法包括将乙酸和沸点低于乙酸的有机溶剂制成混合溶剂,以溶解戈舍瑞林和药学上可接受的载体的步骤。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述方法包括下述步骤:

1) 将乙酸和沸点低于乙酸的有机溶剂混合制成混合溶剂,然后将药学上可接受的载体和戈舍瑞林溶解于所述混合溶剂中;

2) 将经步骤1)得到的溶液经干燥去除溶剂,制得颗粒或细粉;

3) 将所述颗粒或细粉置于热熔挤出机中,挤压成条状物,切割成圆柱状物,灭菌;以及

4) 将经步骤3)得到的圆柱状物于洁净区中分装。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其特征在于,所述方法中沸点低于乙酸的有机溶剂选自水、乙醇、乙醚、四氯化碳中的一种或多种,优选乙醇。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的方法,其特征在于,所述药学上可接受的载体为生物相容性的生物降解性载体和/或不可降解性载体;

优选地,所述生物降解性载体选自下述的一种或多种:聚乙交酯-丙交酯、聚乙交酯、聚丙交酯、聚( $\beta$ -羟基丁酯)、聚乳酸-羟基乙酸共聚物与聚乙二醇共聚物、聚己内酯、聚二烷、聚-羟基丙烯酸乙酯、聚甲基丙烯酸乙酯和胶原蛋白复合物、聚氰基丙烯酸烷酯、聚氨基酸、聚羧酸酐类、聚磷腈、聚酰胺、聚原酸酯、聚磷酸酯、聚乳酸-羟基乙酸共聚物与聚乙烯醇的共混物、葡聚糖、单油酸甘油酯、醋酸异丁酸蔗糖酯、白蛋白、胶原蛋白、纤维蛋白原、明胶、骨胶、牛血清清蛋白、人血清清蛋白、海藻酸盐、壳聚糖、右旋糖酐、透明质酸盐、淀粉;所述不可降解性载体辅料为硅橡胶;

进一步优选地,所述药学上可接受的辅料为聚乙交酯-丙交酯。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的方法,其特征在于,以重量份数计,所述方法中的戈舍瑞林、药学上可接受的辅料和混合溶剂的份数为:

戈舍瑞林1份~80份,药学上可接受的辅料10份~200份,混合溶剂5份~400份;

优选地,所述份数为:

戈舍瑞林10份~60份,药学上可接受的辅料30份~100份,混合溶剂20份~300份。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的方法,其特征在于,所述混合溶剂中乙酸与沸点低于乙酸的有机溶剂的体积比为1:0.1~2.5,优选为1:0.2~1.55。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的方法,其特征在于,所述步骤2)中,所述干燥方式选自冷冻干燥、喷雾干燥、薄膜干燥中的一种或多种,优选冷冻干燥;

优选地,所述冷冻干燥包括:

将经步骤1)得到的溶液在-20℃预冻4小时,而后以1℃/小时的速度降温到-50℃,保持20个小时后,以20℃/小时的速度升温到常温,从而制得颗粒或细粉。

8. 根据权利要求1至7中任一项所述的方法,其特征在于,所述步骤3)中,将所述颗粒或细粉置于热熔挤出机中,在融化温度70℃,扭力100-130KN的条件下,挤压成条状物;然后将条状物切割成圆柱状物,灭菌;

优选地,所述灭菌方式选自钴-60辐射灭菌和/或伽马射线灭菌,优选钴-60辐射灭菌。

9. 根据权利要求1至8中任一项所述的方法,其特征在于,所述方法还包括步骤4):将经步骤3)得到的植入剂于洁净区中分装;

优选地,所述步骤 4) 中,将所述植入剂于 100 级或局部 100 级中的洁净区中分装到注射器中。

10. 根据权利要求 1 至 9 中任一项所述的方法制得的戈舍瑞林缓释植入剂。

## 一种戈舍瑞林缓释植入剂的制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于制药领域。具体而言,本发明涉及一种戈舍瑞林缓释植入剂的制备方法。

### 背景技术

[0002] 临床上有许多药物在体内的半衰期短,且很不稳定,其常规药物制剂给药时药物在体内停留时间短,只能频繁给药,使用不便;而且血药浓度峰谷效应明显,产生了严重的不良反应,甚至致使病情反复发作。因此,为了有效治疗疾病,需要提供适当的给药系统,以使给药后体内血药浓度长期保持相对稳定,且保持在最低治疗水平和中毒水平之间的范围内,从而提高药效和安全度,并减少用药的总剂量,使可用最小剂量达到最大药效。

[0003] 植入剂是一类由药物与辅料制成的供值入体内的无菌固体制剂。植入剂一般采用特制的注射器植入体内,也可以用手术切开植入。释放的药物经皮下吸收或腔道吸收直接进入血液循环起作用,因此避免了首过效应,生物利用度高,作用时间较长,甚至可达数年之久。

[0004] 戈舍瑞林(goserelin)是目前研究最广的治疗绝经前激素受体阳性乳腺癌患者的促性腺释放激素类似物(LHRH-A)。该药可起到药物去势的作用,使患者的雌激素降至绝经后的水平。戈舍瑞林适用于许多疾病,包括前列腺癌后期的单一缓解疗法,当睾丸切除术或服用雌激素对病人不适用或无法接受时,可作为一种替代疗法。戈舍瑞林还用于子宫内膜异位症的控制、疼痛减轻和缓解,及降低在治疗期间子宫内膜异位损伤。该药给药后能有效地减轻临床症状(痛经、性交性疼痛和骨盆疼痛)及子宫内膜异位的迹象并减少子宫内膜的损害,并且用于晚期乳腺癌的治疗。

[0005] 戈舍瑞林植入剂的商品名为诺雷得(醋酸戈舍瑞林),是一种长效的激素制剂,作用时间可维持1个月。诺雷得于1990年全球上市,1996年在中国上市,目前的销量在LHRHa制剂中世界排名第二。

[0006] 美国专利申请US5366734公布了戈舍瑞林植入剂的制备方法,其具体包括将戈舍瑞林和PLGA溶解于冰醋酸中,冷冻干燥除去溶剂,热熔挤出制成棒状植入剂。以冰醋酸为溶剂溶解戈舍瑞林和PLGA并采用冷冻干燥去除冰醋酸,虽有助于药物分散,保障热敏性药物稳定性,但也有干燥时间长,能耗大,生产能力低,生产成本高的缺点。冰醋酸沸点比水高18度,与以水为溶剂相比,在冷冻干燥过程中需要更高的真空度和更长的干燥时间去除冰醋酸。另外,冰醋酸残留会给植入剂带来注射疼痛、气味难闻的不良影响。

[0007] 因此,目前本领域存在对于戈舍瑞林植入剂的新的制备方法的需求。新制备方法要能够在保障药物均匀度的条件下,快速有效地完全去除溶剂。

### 发明内容

[0008] 针对上述技术问题,本发明的目的在于提供一种戈舍瑞林缓释植入剂的新型制备方法,该方法可以有效除去有机溶剂,克服现有戈舍瑞林植入剂溶剂残留的缺陷,并且溶剂

去除耗时短,从而降低时间成本。

[0009] 本发明的另一个目的是提供所制备的药用植入剂。

[0010] 用于实现上述目的的技术方案如下:

[0011] 一方面,本发明提供一种制备戈舍瑞林缓释植入剂的方法,所述方法包括将乙酸和沸点低于乙酸的有机溶剂制成混合溶剂,以溶解戈舍瑞林和药学上可接受的载体的步骤。

[0012] 具体而言,本发明的方法包括下述步骤:

[0013] 1) 将乙酸和沸点低于乙酸的有机溶剂混合制成混合溶剂,然后将药学上可接受的载体和戈舍瑞林溶解于所述混合溶剂中;

[0014] 2) 将经步骤 1) 得到的溶液经干燥去除溶剂,制得颗粒或细粉;

[0015] 3) 将所述颗粒或细粉置于热熔挤出机中,挤压成条状物,切割成圆柱状物,灭菌;

[0016] 4) 将经步骤 3) 得到的圆柱状物于洁净区中分装。

[0017] 其中,本发明方法中除采用乙酸外,还采用了沸点低于乙酸的有机溶剂,其与乙酸混合制成混合溶剂,用于溶解药用辅料和药物戈舍瑞林。所述沸点低于乙酸的有机溶剂选自水、乙醇、乙醚、四氯化碳中的一种或多种,优选乙醇;

[0018] 此外,本发明方法中采用的药学上可接受的载体为生物相容性的生物降解性载体和/或不可降解性载体;所述生物降解性载体优选自下述的一种或多种:聚乙交酯-丙交酯、聚乙交酯、聚丙交酯、聚( $\beta$ -羟基丁酯)、PLGA 与 PEG 共聚物、聚己内酯、聚二烷、聚-羟基丙烯酸乙酯、聚甲基丙烯酸乙酯和胶原蛋白复合物、聚氰基丙烯酸烷酯、聚氨基酸、聚羧酸酐类、聚磷腈、聚酰胺、聚原酸酯、聚磷酸酯、聚乳酸-羟基乙酸共聚物与聚乙烯醇的共混物、葡聚糖、单油酸甘油酯、醋酸异丁酸蔗糖酯、白蛋白、胶原蛋白、纤维蛋白原、明胶、骨胶、牛血清清蛋白、人血清清蛋白、海藻酸盐、壳聚糖、右旋糖酐、透明质酸盐、淀粉;所述不可降解性载体辅料优选为硅橡胶;

[0019] 进一步优选地,本发明方法中采用的药学上可接受的辅料为聚乙交酯-丙交酯。

[0020] 在本发明方法中,以重量份数计,采用的戈舍瑞林、药学上可接受的辅料和混合溶剂的份数为:

[0021] 戈舍瑞林 1 份~80 份,药学上可接受的辅料 10 份~200 份,混合溶剂 5 份~400 份;

[0022] 优选地,戈舍瑞林、药学上可接受的辅料和混合溶剂的份数为:

[0023] 戈舍瑞林 10 份~60 份,药学上可接受的辅料 30 份~100 份,混合溶剂 20 份~300 份。

[0024] 并且,在混合溶剂中,乙酸与沸点低于乙酸的有机溶剂的体积比为 1:0.1~2.5,优选为 1:0.2~1.55。

[0025] 本发明的方法具体包括下述操作:

[0026] 在步骤 2) 中,经适当的干燥方式去除混合溶剂。干燥方式可选自冷冻干燥、喷雾干燥、薄膜干燥中的一种或多种,优选冷冻干燥;所述冷冻干燥优选包括:

[0027] 将经步骤 1) 得到的溶液在 -20℃ 预冻 4 小时,而后以 1℃/小时的速度降温到 -50℃,保持 20 个小时后,以 20℃/小时的速度升温到常温,从而制得颗粒或细粉。

[0028] 在步骤 3) 中,将所述颗粒或细粉置于热熔挤出机中,在融化温度 70℃,扭力

100-130KN 的条件下,挤压成条状物;然后将条状物切割成圆柱状物,灭菌;灭菌方式可选自钴-60 辐射灭菌和/或伽马射线灭菌,优选钴-60 辐射灭菌;

[0029] 在步骤 4) 中,将所述植入剂于 100 级或局部 100 级中的洁净区中分装到注射器中。

[0030] 又一方面,提供根据上述方法得到的戈舍瑞林缓释植入剂。

[0031] 本发明人在研究中发现,现有戈舍瑞林植入剂的制备工艺(如美国专利申请 US5366734 公布)生产周期比较长、存在溶剂残留等缺陷的主要原因在于,采用的溶剂冰乙酸的沸点比较高,为 118.1℃,致使其难以快速、完全去除。为此,应该选择更易于去除的有机溶剂替换冰乙酸。

[0032] 本发明人研究,在不影响药物和药用辅料溶解性能的情况下,可以选择一些沸点比冰乙酸低的单一有机溶剂或者与冰乙酸制成混合溶剂,从而降低制备工艺过程所用冰乙酸的沸点,即利用低沸点有机溶剂更容易挥发的性能,加快了溶剂的挥发速度。经过大量实验,本发明人发现在有机制药领域采用的大量有机溶剂中,选择水、乙醇、乙醚、四氯化碳等溶剂与乙酸制成混合溶剂,用于溶解戈舍瑞林和药用载体,可以在植入剂的制备过程中有效提高溶剂去除速度,制得的戈舍瑞林植入剂具有溶剂去除迅速、彻底,并且药物分散均匀的优点。特别是选用乙醇和乙酸混合制成混合溶剂,从生产周期的角度考虑效果更为明显。

[0033] 因此,本发明基于现有技术中采用冷冻干燥法去除溶剂后制成的植入剂存在的质量风险和设备方面的缺陷,提供了一种有效且低成本制备戈舍瑞林植入剂的方法。与现有戈舍瑞林制备方法相比,该方法具有以下区别和优点:

[0034] 首先,本发明选择特定混合溶剂代替了专利申请 US5366734 中采用的乙酸,在不影响药物和药用辅料溶解性能的情况下,选择一些沸点比水低的有机溶剂与乙酸组成混合溶剂,降低了溶剂的沸点,通过低沸点有机溶剂的易挥发性能,加快了乙酸的挥发速度,有利于乙酸溶剂的去除,也确保了喷雾干燥这一干燥方式在低于乙酸正常沸点下得以应用,进而缩短了干燥所需时间,提高了生产效率。而且,实验表明在缩短生产时间、提高生产效率的同时,采用本发明选择的混合溶剂制备的产品的释放度、有关物质、含量均匀度、含量以及残留溶剂均符合质量要求,与现有技术中的产品相比未存在显著差异。

[0035] 其次,现有的戈舍瑞林植入剂制备方法,采用的是冷冻干燥法去除溶剂,喷雾干燥法并不多见,尤其是对于一些生物技术药物,分析其原因主要有二个方面:一是考虑到一些药物的稳定性问题;二是喷雾干燥一般采用的溶剂多为水溶液,对于一些沸点比水高的有机溶剂,其应用性受到一定的限制。混合溶剂沸点的降低,也使得喷雾干燥这一传统干燥方式在新型剂型中的应用成为可能。

## 具体实施方式

[0036] 下面结合具体实施方式对本发明进行进一步的详细描述,给出的实施例仅为了阐明本发明,而不是为了限制本发明的范围。

[0037] 下述实施例中的实验方法,如无特殊说明,均为常规方法。下述实施例中所用的试验材料,如无特殊说明,均为常规商店购买得到。

[0038] 实施例 1:低沸点溶剂的初筛

[0039] 常用的沸点比乙酸低的有机溶剂为:液氨、液态二氧化硫、甲胺、二甲胺、石油醚、

乙醚、戊烷、二氯甲烷、二硫化碳、溶剂石油脑、丙酮、1,1-二氯乙烷、氯仿、甲醇、四氢呋喃、己烷、三氟代乙酸、1,1,1-三氯乙烷、四氯化碳、乙酸乙酯、乙醇、丁酮、苯、环己烷、乙腈、异丙醇、乙二醇二甲醚、三氯乙烯、三乙胺、丙腈、庚烷,水、硝基甲烷、1,4-二氧六环、甲苯、硝基乙烷、吡啶、4-甲基-2-戊酮。

[0040] 结合戈舍瑞林和 PLGA 的理化性质,尤其是它们在上述溶剂中的溶解性,对上述溶剂进行初筛。

[0041] 在试验过程中发现:除水、乙醇、乙醚、四氯化碳之外,其余溶剂虽然能够降低混合溶剂的沸点,但是有部分溶剂与乙酸会产生分层现象,部分溶剂的加入又会使得 PLGA 或者戈舍瑞林析出,不利于将 PLGA 或者戈舍瑞林混合均匀。只要是出现分层现象或者是有物质析出,无论析出的是 PLGA 还是戈舍瑞林,含量均匀度都会出现问题,因此,最终确定水、乙醇、乙醚、四氯化碳这四种溶剂与其它溶剂相比,在保证药物的含量均匀度方面,具有比较明显的优势,为较佳溶剂。

[0042] 进一步选择水、乙醇、乙醚、四氯化碳四种溶剂进行试验。试验设计如下表 1:

[0043] 表 1 水、乙醇、乙醚、四氯化碳作为低沸点溶剂的筛选处方

[0044]

| 名称                       | 处方一      | 处方二      | 处方三      | 处方四      |
|--------------------------|----------|----------|----------|----------|
| 处方组分                     | mg/剂量    | mg/剂量    | mg/剂量    | mg/剂量    |
| 戈舍瑞林                     | 24.14 mg | 24.14 mg | 24.14 mg | 24.14 mg |
| 聚乙交酯-丙交酯<br>(PLGA 7502A) | 39.66 mg | 39.66 mg | 39.66 mg | 39.66 mg |
| 聚乙交酯-丙交酯<br>(PLGA 5002A) | 39.66 mg | 39.66 mg | 39.66 mg | 39.66 mg |
| 乙酸                       | 1 ml     | 1 ml     | 1 ml     | 1 ml     |
| 添加溶剂                     | 水        | 乙醇       | 乙醚       | 四氯化碳     |

[0045]

[0046] 试验步骤:

[0047] 1、溶解:按处方量准确称取 PLGA 7502A 和 PLGA 5002A,在搅拌的情况下,缓慢的加入到 1ml 乙酸中,完全溶解后,加入处方量的戈舍瑞林,继续搅拌使其充分溶解。

[0048] 2、滴加试验:按处方设定的添加溶剂,逐渐滴加到步骤 1 中制得的溶液中,直至澄清溶液出现有浑浊状或者固体物析出为止。记录所添加的用量。

[0049] 试验结果如下表 2:

[0050] 表 2 筛选结果

[0051]

| 名称  | 水 (g)  | 乙醇 (g) | 乙醚 (g) | 四氯化碳 (g) |
|-----|--------|--------|--------|----------|
| 处方一 | 0.1128 |        |        |          |

|     |  |        |        |        |
|-----|--|--------|--------|--------|
| 处方二 |  | 0.1217 |        |        |
| 处方三 |  |        | 0.0983 |        |
| 处方四 |  |        |        | 0.1054 |

[0052] 根据混合溶剂中,低沸点的有机溶剂占有的比例越大,沸点越低这一基本理论,四种溶剂中能够加入的溶剂最大量所占的比例也应该为最佳配比。

[0053] 实施例 2:混合溶剂与单一溶剂乙酸效果的比较

[0054] 鉴于戈舍瑞林植入剂制备工艺中采用的溶剂还对产品的释放度、有关物质、含量均匀度、含量以及残留溶剂有显著影响,对经实施例 1 初筛获得的混合溶剂与乙酸进行了实验比较。

[0055] 选择混合溶剂(乙酸和乙醇)与单一溶剂乙酸进行试验。试验设计如下表 3。

[0056] 表 3 混合溶剂与单一溶剂乙酸的比较试验处方

[0057]

| 名称                     | 处方五                               | 处方六         |
|------------------------|-----------------------------------|-------------|
| 处方组分                   | mg/剂量                             | mg/剂量       |
| 戈舍瑞林                   | 4.2 mg                            | 4.2 mg      |
| 聚乙交酯-丙交酯 (PLGA 7502A)  | 6.9 mg                            | 6.9 mg      |
| 聚乙交酯-丙交酯 (PLGA 5002A)  | 6.9 mg                            | 6.9 mg      |
| 溶剂(以 0.174 ml 的乙酸作为参考) | 204 mg (0.174 ml 乙酸 + 0.027ml 乙醇) | 0.174 ml 乙酸 |
| 干燥方式                   | 冷冻干燥法                             | 冷冻干燥法       |
| 总量                     | 18 mg                             | 18 mg       |

[0058] 制备工艺:

[0059] 1、溶解。称取处方量的戈舍瑞林、PLGA 5002A 和 PLGA 7502A 粉末或颗粒,按处方量加入适量的混合溶剂,在搅拌的作用下使其完全溶解成溶液;

[0060] 2、干燥。按处方设计中干燥法进行干燥,其中溶液采用冷冻干燥法去除溶剂的工艺参数为:在 -20℃ 预冻 4 小时,而后以 1℃ / 小时,下降速度下降到 -50℃,保存 20 个小时后,以 20℃ / 小时升温到常温状态,制得多孔的海绵状细粉;

[0061] 3、成型。将收集的颗粒或细粉,置热熔挤出机中,在融化温度 70℃,扭力 100-130KN 的条件下,挤压成型;

[0062] 4、切割。切割成直径为 1.5mm、重约 18mg 的圆柱状物;

[0063] 5、灭菌。将步骤 4 中所得的圆柱状物置于适当容器中,进行钴 -60 辐射灭菌;

[0064] 6、分装。于 100 级或局部 100 级中的洁净区中分装到注射器中。

[0065] 试验结果见表 4。

[0066] 表 4. 试验结果

[0067]

| 名称  | 所需要的生产周期（小时） |
|-----|--------------|
| 处方五 | 30           |
| 处方六 | 48           |

[0068]

[0069] 试验结果表明：采用 0.174ml 乙酸 +0.027ml 乙醇组成的混合溶剂替换乙酸，采用相同的制备工艺制成的戈舍瑞林植入剂，生产周期有比较显著的缩短，效果比较明显。

[0070] 为进一步评价采用 0.174ml 乙酸 +0.027ml 乙醇组成的混合溶剂替换乙酸，制得的戈舍瑞林植入剂的质量优劣，我们按照《英国药典》2010 年版戈舍瑞林植入剂公布的标准，分别对处方五和处方六的释放度、有关物质、含量均匀度、含量和残留溶剂醋酸进行了比较，具体试验情况和结果如下：

[0071] 一、释放度比较

[0072] 样品制备

[0073] 在 120 毫升带盖的平底罐中进行测试，温度控制在  $39^{\circ} \pm 0.5^{\circ}$ 。使用 50 毫升的 pH7.4 的缓冲液（制备方法：将 25.8 克无水磷酸二氢钠、1.92 克柠檬酸和 0.2g 叠氮化钠溶解于足量的蒸馏水，配制成 1000 毫升。使用无水磷酸氢二钠或柠檬酸调节 pH 值至 7.4；如有必要，通过标称孔径不大于 0.2 微米的无菌过滤器过滤至无菌容器）。

[0074] 在玻璃容器中放入 5 支植入剂，添加 50ml 缓冲液作为溶出介质至控温测试容器中。在表 5 中指定的时间，从控温测试容器中移出容器，冷却至室温。轻轻振摇涡旋确保溶液均匀，并取出 5mL 样品。用 5 毫升缓冲液中稀释，必要时过滤。根据《英国药典 2010 年版》附录 II B 测定相应溶液的平均吸收度，波长 275-285nm，在参比池中放入溶出介质，扣除溶出介质影响。在溶出容器中补入 5 毫升缓冲液，并将溶出介质放回水浴中。应重复 3 个分析样品。

[0075] 表 5.1 戈舍瑞林植入剂的测定时间和应溶解的量

[0076]

| 测定持续小时（天） | 溶解的量（每次重复测定） |
|-----------|--------------|
| 168(7)    | 2 至 20%      |
| 336(14)   | 25 至 55%     |
| 408(17)   | 35 至 75%     |
| 504(21)   | 65 至 90%     |
| 672(28)   | 85 至 105%    |

[0077] 样品测定

[0078] 通过溶出介质稀释得到合适量的戈舍瑞林标准品,测定吸收度值,计算溶解在缓冲液中的戈舍瑞林的含量。累计百分比应符合给定的标准。

[0079] 表 5.2 试验结果

[0080]

| 工 艺 | 测定结果 (%)     |                |               |               |                | 相 似 因 子 |
|-----|--------------|----------------|---------------|---------------|----------------|---------|
|     | 168 小时 (7 天) | 336 小 时 (14 天) | 408 小时 (17 天) | 504 小时 (21 天) | 672 小 时 (28 天) | 74.32   |
| 处方五 | 14.84        | 32.17          | 57.16         | 83.16         | 95.58          |         |
| 处方六 | 15.66        | 35.42          | 54.83         | 88.51         | 97.29          |         |

[0081] 从试验结果来分析,采用 0.174ml 乙酸+0.027ml 乙醇组成的混合溶剂替换乙酸,释放度测得的值稍微偏低一些,但均符合检测标准,从两个处方的相似因子来分析,相似因子大于五十,表明两种处方不存着显著性差异。

[0082] 二、有关物质比较

[0083] 1、杂质 (A)

[0084] 溶液的配制:

[0085] (1) 称重 10 支植入剂,超声条件下溶解在乙腈:水 (体积比 85 : 15) 中,得到 0.2% W/V 的戈舍瑞林溶液。

[0086] (2) 使用乙腈:水 (体积比 85 : 15) 将戈舍瑞林 EPCRS 配制成浓度为 0.002% W/V 的戈舍瑞林溶液。

[0087] (3) 使用乙腈:水 (体积比 85 : 15) 将 4-D-Ser 戈舍瑞林 EPCRS (购买于 BCN Peptides. SA) 和戈舍瑞林 EPCRS 配制成浓度均为 0.002% W/V 的溶液。

[0088] 色谱条件:

[0089] (a) 使用不锈钢柱 (25 厘米 × 4.6 毫米),充填为色谱用十八烷基硅烷硅胶 (5 微米) (Spherisorb ODS 适用);

[0090] (b) 使用等度洗脱,流动相:0.272% W/V 的磷酸二氢钾溶解在乙腈:水 (27 : 73) 中。使用磷酸将 pH 值调节至 3.0;

[0091] (c) 流速:1.8ml/min;

[0092] (d) 柱温:室温;

[0093] (e) 检测波长:220nm;

[0094] (f) 进样体积:5 μ L。

[0095] 系统适用性:

[0096] 溶液 (3) 得到的色谱图满足以下条件:

[0097] D-丝氨酸戈舍瑞林峰和戈舍瑞林峰之间的分离度至少是 4.5;

[0098] 戈舍瑞林峰的对称因子是低于 2.0。

[0099] 限度:

[0100] 在溶液 (1) 得到的色谱图中:

- [0101] 任何杂峰面积不高于溶液 (2) 色谱图中的主峰面积 (1%) ;
- [0102] 杂峰面积总和和不低于溶液 (2) 色谱图中主峰面积的 4 倍 (4%) ;
- [0103] 忽略低于溶液 (2) 色谱图中主峰面积 0.1 倍的任何一个杂峰 (0.1%) 。
- [0104] 测定方法 :液相色谱法, 参照《英国药典 2010 年版》附录 III D
- [0105] 测得结果 :
- [0106] 在溶液 (1) 得到的色谱图中 :
- [0107] 未见杂峰面积高于溶液 (2) 色谱图中的主峰面积 (1%) ;
- [0108] 杂峰面积总和和低于溶液 (2) 色谱图中主峰面积的 4 倍 (4%) ;
- [0109] 杂质 (B)
- [0110] 溶液的配制 :
- [0111] (1) 称重 10 支植入剂, 超声条件下溶解在乙腈 : 水 ( 体积比 85 : 15) 中, 得到 0.2% W/V 的戈舍瑞林溶液。
- [0112] (2) 使用乙腈 : 水 ( 体积比 85 : 15) 将戈舍瑞林 EPCRS 配制成浓度为 0.002% W/V 的戈舍瑞林溶液。
- [0113] (3) 使用乙腈 : 水 ( 体积比 85 : 15) 将 4-D-Ser 戈舍瑞林 EPCRS 和戈舍瑞林 EPCRS 配制成浓度均为 0.002% W/V 的溶液。
- [0114] 色谱条件 :
- [0115] (a) 使用不锈钢柱 (30 厘米 × 7.8 毫米), 充填色谱用亲水性硅胶 (5 微米), 并提供了相对约 4000 至 500000 分子量蛋白分离范围。(TSK-GEL-G2000 SWXL 适用) ;
- [0116] (b) 使用等度洗脱, 流动相 : 0.1M 高氯酸钠溶液 : 乙腈 = 8 : 92 ;
- [0117] (c) 流速 : 1ml/min ;
- [0118] (d) 柱温 : 室温 ;
- [0119] (e) 检测波长 : 280nm ;
- [0120] (F) 进样体积 : 5 μ L。
- [0121] 使用规定条件记录的色谱图中, 相对于戈舍瑞林 ( 保留时间约 40 分钟) 的保留时间是 : 杂质 11 = 约 0.93 ; 聚合物区域 = 约 0.1 至 0.6。
- [0122] 系统适用性 :
- [0123] 该测试是无效的, 除非溶液 (3) 得到的色谱图满足以下条件 :
- [0124] D- 丝氨酸戈舍瑞林峰和戈舍瑞林峰之间的分离度至少是 4.0 ;
- [0125] 戈舍瑞林峰的对称因子是低于 1.5。
- [0126] 限度 :
- [0127] 在溶液 (1) 得到的色谱图中 :
- [0128] 杂质 11 相应的任何杂峰面积不高于溶液 (2) 色谱图中的主峰面积的 2 倍 (2%) ;
- [0129] 聚合物区域对应的任何杂峰面积总和和不低于溶液 (2) 色谱图中主峰面积的 5.5 倍 (5.5%) ;
- [0130] 测定方法 : 分子排阻色谱法, 参照《英国药典 2010 年版》附录 III C
- [0131] 试验结果 :
- [0132] 在溶液 (1) 得到的色谱图中 :
- [0133] 未见杂质 11 相应的任何杂峰面积高于溶液 (2) 色谱图中的主峰面积 2 倍 (2%)

的色谱峰；

[0134] 聚合物区域对应的任何杂峰面积总和低于溶液 (2) 色谱图中主峰面积的 5.5 倍 (5.5%)。

[0135] 杂质 (C)

[0136] 溶液的配制：

[0137] (1) 称重 10 支植入剂，超声条件下溶解在乙腈：水（体积比 85：15）中，得到 0.2% W/V 的戈舍瑞林溶液。

[0138] (2) 使用乙腈：水（体积比 85：15）将戈舍瑞林 EPCRS 配制成浓度为 0.002% W/V 的戈舍瑞林溶液。

[0139] (3) 将 250  $\mu$ L 浓三氟乙酸溶液加入到 4 毫克戈舍瑞林 EPCRS 中，放置 24 小时。将其溶解在 20ml 乙腈：水（体积比 85：15）中，得到含 des-t- 丁基戈舍瑞林的溶液。

[0140] 色谱条件

[0141] (a) 使用不锈钢柱（30 厘米  $\times$  7.8 毫米），充填色谱用亲水性硅胶（5 微米），并提供了相对约 4000 至 500000 分子量蛋白分离范围。（TSK-GEL-G2000 SWXL 适用）；

[0142] (b) 使用等度洗脱，流动相：0.1M 高氯酸钠溶液：乙腈 = 12.5：87.5；

[0143] (c) 流速：2ml/ml；

[0144] (d) 柱温：室温；

[0145] (e) 检测波长：280nm；

[0146] (f) 进样体积：50  $\mu$ L。

[0147] 使用规定条件记录的色谱图中，相对于 des-t- 丁基戈舍瑞林（保留时间约 20 分钟）的保留时间是：杂质 13 = 约 1.1。

[0148] 系统适用性

[0149] 溶液 (3) 得到的色谱图满足以下条件：

[0150] des-t- 丁基戈舍瑞林保留时间是 19 至 22 分钟；

[0151] des-t- 丁基戈舍瑞林的对称因子小于 1.5。

[0152] 限度

[0153] 溶液 (1) 得到的色谱图中，杂质 13 相应峰面积不高于溶液 (2) 色谱图中的主峰面积的 2 倍 (2%)；

[0154] 测试 B 和 C 中的杂质总和不超过 10%。

[0155] 测定方法：分子排阻色谱法，参照《英国药典 2010 年版》附录 III C

[0156] 试验结果：

[0157] 溶液 (1) 得到的色谱图中，杂质 13 相应峰面积低于溶液 (2) 色谱图中的主峰面积的 2 倍 (2%)；

[0158] 测试 B 和 C 中的杂质总和不超过 10%。

[0159] 三、含量均匀度

[0160] 该喷雾干燥工艺植入剂符合《英国药典 2010 年版》附录 XII C 含量均匀度测试 A 向下描述的限度。采用以下方法进行分析。

[0161] 溶液的配制。

[0162] (1) 1 支植入剂，在超声条件下溶解在乙腈：水（体积比 85：15）中，得到 0.2%

W/V 的戈舍瑞林溶液。

[0163] (2) 使用乙腈：水（体积比 85 : 15）将戈舍瑞林 EPCRS 配制成浓度为 0.02% W/V 的戈舍瑞林溶液。

[0164] (3) 使用乙腈：水（体积比 1 : 4）将戈舍瑞林六肽 BPCRS 和戈舍瑞林 EPCRS 配制成浓度均为 0.02% W/V 的溶液。

[0165] 色谱条件：

[0166] (a) 使用不锈钢柱（25 厘米 × 4.6 毫米），充填为色谱用十八烷基硅烷硅胶（5 微米）（Spherisorb ODS 适用）。

[0167] (b) 使用等度洗脱，流动相：0.272% W/V 的磷酸二氢钾溶解在乙腈：水（体积比 27 : 73）中，使用磷酸将 pH 值调节至 3.0；

[0168] (c) 流速：1.8ml/min；

[0169] (d) 柱温：室温；

[0170] (e) 检测波长：220nm；

[0171] (f) 进样体积：5 μL。

[0172] 系统适用性：

[0173] 该测试是无效的，除非溶液（3）得到的色谱图满足以下条件：

[0174] 戈舍瑞林六肽峰和戈舍瑞林峰之间的分离度不低于 4.0；

[0175] 戈舍瑞林峰的对称因子小于 1.5。

[0176] 测定方法：液相色谱法，参照《英国药典 2010 年版》附录 III D

[0177] 试验结果：

[0178] 表 6. 含量均匀度测定结果（n = 10）

[0179]

| 样品号 | 戈舍瑞林含量（%） |       |
|-----|-----------|-------|
|     | 处方五       | 处方六   |
| 1   | 101.6     | 99.3  |
| 2   | 96.3      | 98.7  |
| 3   | 104.8     | 102.2 |
| 4   | 105.3     | 98.4  |
| 5   | 98.6      | 97.5  |
| 6   | 97.1      | 102.9 |
| 7   | 100.5     | 99.6  |
| 8   | 110.7     | 104.1 |
| 9   | 98.4      | 102.5 |
| 10  | 100.9     | 98.8  |

[0180] 根据中国药典附录含量均匀度计算方法, 计算结果见下表 7。

[0181] 表 7

[0182]

| 名称  | 含量平均值<br>(%) | 标准偏差<br>(S, %) | A    | 1.8S | A+1.8S |
|-----|--------------|----------------|------|------|--------|
| 处方五 | 101.42       | 4.19           | 1.42 | 7.54 | 8.96   |
| 处方六 | 100.04       | 2.29           | 0.04 | 4.12 | 4.16   |

[0183] 含量均匀度方面, 采用 0.174ml 乙酸 +0.027ml 乙醇组成的混合溶剂的偏差大些, 但是均符合药典规定  $A+1.8S \leq 15\%$  的要求。

[0184] 四、含量比较

[0185] 通过得到的色谱图并使用戈舍瑞林 EPCRS 标明的  $C_{59}H_{84}N_{18}O_{14}$  含量, 计算戈舍瑞林  $C_{59}H_{84}N_{18}O_{14}$  的总含量。

[0186] 溶液配制:

[0187] (1) 称重 10 支植入剂, 超声条件下溶解在乙腈: 水 (85 : 15) 中, 得到 0.2% W/V 的戈舍瑞林溶液。

[0188] (2) 使用乙腈: 水 (85 : 15) 将戈舍瑞林 EPCRS 配制成浓度为 0.2% W/V 的戈舍瑞林溶液。

[0189] (3) 使用乙腈: 水 (85 : 15) 将 4-D-Ser 戈舍瑞林 EPCRS 和戈舍瑞林 EPCRS 配制成浓度均为 0.2% W/V 的溶液。

[0190] 色谱条件

[0191] 使用有关物质的色谱测试 B 中描述的条件。

[0192] 系统适用性

[0193] D- 丝氨酸戈舍瑞林峰和戈舍瑞林峰之间的分离度至少是 4.0 ;

[0194] 戈舍瑞林峰的对称因子是低于 1.5。

[0195] 测定方法: 色谱法, 参照《英国药典 2010 年版》附录 III C。

[0196] 计算:

[0197] 通过得到的色谱图并使用戈舍瑞林 EPCRS 标明的  $C_{59}H_{84}N_{18}O_{14}$  含量, 计算戈舍瑞林  $C_{59}H_{84}N_{18}O_{14}$  的总含量。重复试验 3 次。

[0198] 表 8. 试验结果

[0199]

[0200]

| 名称  | 测定结果   | 平均值   | 评价标准       |
|-----|--------|-------|------------|
| 处方五 | 99.46  | 99.81 | 90% ~ 110% |
|     | 100.17 |       |            |
|     | 99.82  |       |            |
| 处方六 | 96.53  | 96.85 |            |
|     | 97.28  |       |            |
|     | 96.75  |       |            |

[0201] 五、残留溶剂醋酸的比较

[0202] 溶液的配制：

[0203] (1) 配制 2% v/v n-十六烷（内标）-二甲基甲酰胺溶液（溶液 A）。

[0204] (2) 在溶液 A 中溶解一定量的植入剂，并用足量的 DMF 稀释得到包含 2.8% w/v 戈舍瑞林和 0.1% v/v n-十六烷的溶液。

[0205] (3) 制备含有 0.625% W/V 的醋酸 - 二甲基甲酰胺溶液。在 10 毫升上述溶液加 5 毫升 A 溶液并用二甲基甲酰胺稀释至 100 毫升。

[0206] 色谱条件：

[0207] (a) 使用游离脂肪酸相毛细管柱（10 米 × 0.32 毫米），其中膜厚度为 0.2 至 0.3 微米（FFAP CB 适用）。

[0208] (b) 使用氦气作为载气，流速：1.3ml/min，弥补气体流速：30ml/min。

[0209] (c) 使用表 7 所示梯度。

[0210] (d) 使用具有 250° 的温度下火焰离子化检测器。

[0211] (e) 分流比 = 100 : 30。

[0212] (f) 注射液各 1 μL。

[0213] 表 9. 梯度条件

[0214]

| 时间（分钟）  | 温度        | 注释   |
|---------|-----------|------|
| 0 至 1   | 50℃       | 等温   |
| 1 至 6   | 50℃至 200℃ | 线性梯度 |
| 6 至 9   | 200℃      | 等温   |
| 9 至 10  | 200℃至 50℃ | 线性梯度 |
| 10 至 15 | 50℃       | 重新平衡 |

[0215] 系统适用性：

[0216] 溶液 (3) 得到的色谱图满足以下条件：

[0217] 乙酸峰和正十六烷峰间的分离度不小于 15；

[0218] 醋酸峰的对称因子低于 2.0。

[0219] 限度：

[0220] 溶液 (1) 得到的色谱图中,任何对应于醋酸的峰面积与内标峰面积之比不高于溶液 (2) 色谱峰中相应比例 (2.5%)。

[0221] 测定方法:气相色谱法,参照《英国药典 2010 年版》附录 III B。重复试验 3 次

[0222] 表 10. 测得结果

[0223]

| 名称  | 对应醋酸面积 | 内标面积     | 测定结果 | 平均值  | 评价标准   |
|-----|--------|----------|------|------|--------|
| 处方五 | 485.45 | 23432.14 | 2.07 | 2.06 | ≤ 2.5% |
|     | 470.84 |          | 2.01 |      |        |
|     | 491.58 |          | 2.10 |      |        |
| 处方六 | 530.67 |          | 2.26 | 2.26 |        |
|     | 560.13 |          | 2.39 |      |        |
|     | 498.96 |          | 2.13 |      |        |

[0224] 试验结果表明,采用 0.174ml 乙酸+0.027ml 乙醇组成的混合溶剂替换乙酸,制得的戈舍瑞林植入剂中乙酸的残留量较小,符合美国药典 (USP) 标准。

[0225] 实施例 3:采用混合溶剂(乙酸和乙醚)制备戈舍瑞林缓释植入剂

[0226] 处方：

[0227]

| 处方组分                    | 处方七                             |
|-------------------------|---------------------------------|
| 戈舍瑞林                    | 4.2 mg                          |
| 聚乙交酯-丙交酯 (PLGA 7502A)   | 6.9 mg                          |
| 聚乙交酯-丙交酯 (PLGA 5002A)   | 6.9 mg                          |
| 溶剂 (以 0.174 ml 的乙酸作为参考) | 200 mg (0.174 ml 乙酸+0.017ml 乙醚) |
| 干燥方式                    | 冷冻干燥法                           |
| 总量                      | 18 mg                           |

[0228] 制备工艺：

[0229] 1. 溶解。称取处方量的戈舍瑞林、PLGA 5002A 和 PLGA 7502A 粉末或颗粒，按处方量加入适量的混合溶剂，在搅拌的作用下使其完全溶解成溶液；

[0230] 2. 干燥。按处方设计中干燥法进行干燥，其中溶液采用冷冻干燥法去除溶剂的工艺参数为：在 -20℃ 预冻 4 小时，而后以 1℃ / 小时，下降速度下降到 -50℃，保存 20 个小时后，以 20℃ / 小时升温到常温状态，制得多孔的海绵状细粉；

[0231] 3. 成型。将收集的颗粒或细粉，置热熔挤出机中，在融化温度 70℃，扭力 100-130KN 的条件下，挤压成型；

[0232] 4. 切割。切割成直径为 1.5mm、重约 18mg 的圆柱状物；

[0233] 5. 灭菌。将步骤 4 中所得的圆柱状物置于适当容器中，进行钴 -60 辐射灭菌；

[0234] 6. 分装。于 100 级或局部 100 级中的洁净区中分装到注射器中。

[0235] 实施例 4：采用混合溶剂（乙酸和四氯化碳）制备戈舍瑞林缓释植入剂

[0236] 处方

[0237]

|                        |                                    |
|------------------------|------------------------------------|
| 处方组分                   | 处方八                                |
| 戈舍瑞林                   | 4.2 mg                             |
| 聚乙交酯-丙交酯（PLGA 7502A）   | 6.9 mg                             |
| 聚乙交酯-丙交酯（PLGA 5002A）   | 6.9 mg                             |
| 溶剂（以 0.174 ml 的乙酸作为参考） | 201 mg( 0.174 ml 乙酸+0.018ml 四氯化碳 ) |
| 干燥方式                   | 冷冻干燥法                              |
| 总量                     | 18 mg                              |

[0238] 制备工艺：

[0239] 1. 溶解。称取处方量的戈舍瑞林、PLGA 5002A 和 PLGA 7502A 粉末或颗粒，按处方量加入适量的混合溶剂，在搅拌的作用下使其完全溶解成溶液；

[0240] 2. 干燥。按处方设计中干燥法进行干燥，其中溶液采用冷冻干燥法去除溶剂的工艺参数为：在 -20℃ 预冻 4 小时，而后以 1℃ / 小时，下降速度下降到 -50℃，保存 20 个小时后，以 20℃ / 小时升温到常温状态，制得多孔的海绵状细粉；

[0241] 3. 成型。将收集的颗粒或细粉，置热熔挤出机中，在融化温度 70℃，扭力 100-130KN 的条件下，挤压成型；

[0242] 4. 切割。切割成直径为 1.5mm、重约 18mg 的圆柱状物；

[0243] 5. 灭菌。将步骤 4 中所得的圆柱状物置于适当容器中，进行钴 -60 辐射灭菌；

[0244] 6. 分装。于 100 级或局部 100 级中的洁净区中分装到注射器中。

[0245] 实施例 5：采用混合溶剂（乙酸和乙醇）制备戈舍瑞林缓释植入剂（缓释 56 天）

[0246] 处方

[0247]

| 处方组分                      | 处方九   |
|---------------------------|-------|
| 戈舍瑞林                      | 7.2mg |
| 聚乙交酯-丙交酯 (PLGA 5010A)     | 5.6mg |
| 聚乙交酯-丙交酯 (PLGA 5004A)     | 8.8mg |
| 混合溶剂乙酸和乙醇 (体积比 1 : 0.154) | 204mg |
| 总量                        | 18mg  |

[0248] 制备工艺：

[0249] 1. 溶解。称取处方量的戈舍瑞林、PLGA 5010A 和 PLGA 5004A 粉末或颗粒，加入适量的乙酸，在搅拌的作用下使其完全溶解成溶液；

[0250] 2. 干燥。按处方设计中干燥法进行干燥，其中溶液采用冷冻干燥法去除溶剂的工艺参数为：在 -20℃ 预冻 4 小时，而后以 1℃ / 小时，下降速度下降到 -50℃，保存 20 个小时后，以 20℃ / 小时升温到常温状态，制得多孔的海绵状细粉；

[0251] 3. 成型。将收集的颗粒或细粉，置热熔挤出机中，在融化温度 70℃，扭力 100-130KN 的条件下，挤压成型；

[0252] 4. 切割。切割成直径为 1.5mm、重约 21.6mg 的圆柱状物；

[0253] 5. 灭菌。将步骤 4 中所得的圆柱状物置于适当容器中，进行钴 -60 辐射灭菌；

[0254] 6. 分装。于 100 级或局部 100 级中的洁净区中分装到注射器中。即制成所需规格的植入剂。

[0255] 实施例 6：采用混合溶剂（乙酸和乙醇）制备戈舍瑞林缓释植入剂（缓释 84 天）

[0256] 处方

[0257]

| 处方组成                      | 处方十   |
|---------------------------|-------|
| 戈舍瑞林                      | 10.8g |
| 聚乙交酯-丙交酯 (PLGA 7502A)     | 13.8g |
| 混合溶剂乙酸和乙醇 (体积比 1 : 0.154) | 204mg |

[0258] 制备工艺：

[0259] 1. 溶解。称取处方量的戈舍瑞林和 PLGA 7502A 粉末或颗粒，加入适量的乙酸，在搅拌的作用下使其完全溶解成溶液；

[0260] 2. 干燥。按处方设计中干燥法进行干燥，其中溶液采用冷冻干燥法去除溶剂的工艺参数为：在 -20℃ 预冻 4 小时，而后以 1℃ / 小时，下降速度下降到 -50℃，保存 20 个小时后，以 20℃ / 小时升温到常温状态，制得多孔的海绵状细粉；

[0261] 3. 成型。将收集的颗粒或细粉，置热熔挤出机中，在融化温度 70℃，扭力 100-130KN 的条件下，挤压成型；

- [0262] 4. 切割。切割成直径为 1.5mm、重约 24.6mg 的圆柱状物；
- [0263] 5. 灭菌。将步骤 4 中所得的圆柱状物置于适当容器中，进行钴 -60 辐射灭菌；
- [0264] 6. 分装。于 100 级或局部 100 级中的洁净区中分装到注射器中。即制成所需规格的植入剂。