



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I859990 B

(45) 公告日：中華民國 113 (2024) 年 10 月 21 日

(21) 申請案號：112127201

(22) 申請日：中華民國 112 (2023) 年 07 月 20 日

(51) Int. Cl. : A61K47/36 (2006.01)

C08B37/08 (2006.01)

(30) 優先權：2022/07/20 日本

2022-115840

2022/09/09 日本

2022-143474

(71) 申請人：日商旭化成股份有限公司 (日本) ASAHI KASEI KABUSHIKI KAISHA (JP)  
日本

(72) 發明人：中井貴士 NAKAI, TAKASHI (JP)；藪内昂平 YABUUCHI, KOHEI (JP)

(74) 代理人：陳長文

(56) 參考文獻：

WO 2010053140A1

WO 2019098393A1

審查人員：藍羿軒

申請專利範圍項數：10 項 圖式數：10 共 83 頁

(54) 名稱

玻尿酸衍生物醫藥品組合物及醫藥品組合物

(57) 摘要

本發明之玻尿酸衍生物醫藥品組合物係包含懸浮於包含玻尿酸衍生物之水性載體中之有效成分者，上述有效成分係分子量為 100 g/mol 以上 8000 g/mol 以下之微粒子。上述微粒子較佳為微米粒子或奈米粒子。



I859990

## 【發明摘要】

### 【中文發明名稱】

玻尿酸衍生物醫藥品組合物及醫藥品組合物

### 【中文】

本發明之玻尿酸衍生物醫藥品組合物係包含懸浮於包含玻尿酸衍生物之水性載體中之有效成分者，上述有效成分係分子量為100 g/mol以上8000 g/mol以下之微粒子。上述微粒子較佳為微米粒子或奈米粒子。

### 【指定代表圖】

無

### 【代表圖之符號簡單說明】

無

## 【發明說明書】

### 【中文發明名稱】

玻尿酸衍生物醫藥品組合物及醫藥品組合物

### 【技術領域】

#### 【0001】

本發明係關於一種玻尿酸衍生物醫藥品組合物及醫藥品組合物。

本案基於在2022年7月20日向日本提出申請之日本專利特願2022-115840號、於2022年9月9日向日本提出申請之日本專利特願2022-143474號主張優先權，並將其內容引用至本文中。

### 【先前技術】

#### 【0002】

近年來，將蛋白質或肽、核酸作為活性成分之醫藥品即生物醫藥品被實用化，其數量每年持續增加。生物醫藥品能夠滿足先前之低分子醫藥未能滿足之未充足醫療需求。

#### 【0003】

然而，生物醫藥品存在不易自消化管及黏膜等吸收，並且於體內不穩定且血中半衰期較短之課題。因此，生物醫藥品必須藉由注射屢次投予，對患者與醫療關係者而言，負擔均較大。因此，需要能夠於無損藥理活性之情況下使生物醫藥品膠囊化並於活體內緩慢地釋放有效成分之藥物基材(緩釋性藥物遞送系統基材)。

#### 【0004】

根據此種背景，於專利文獻1中提出一種包含安全性優異之玻尿酸衍生物之緩釋性藥物遞送系統基材。

專利文獻1中所揭示之玻尿酸衍生物能夠於水溶液中自發性地聚集，且將藥物、尤其是生物醫藥品在維持其生物活性之情況下高效率地封入。藉此，於生理鹽水濃度下凝集(或亦於生理鹽水濃度下分散)，再者血中滯留性良好。尤其是於將生物醫藥品用作有效成分之情形時，該玻尿酸衍生物可用作能夠在維持藥理活性之情況下高效率地封入大量藥物之載體、及血中滯留性優異之血中緩釋載體以及標靶載體，亦可成為能夠持續性地緩釋藥物之局部(例如皮下等)緩釋載體。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

#### **【0005】**

[專利文獻1]國際公開第2010/053140號公報

#### **【發明內容】**

[發明所欲解決之問題]

#### **【0006】**

針對緩釋性之藥物基材，要求能夠於活體內更長期地維持有效成分之濃度且緩慢地釋放有效成分。此外，要求抑制初期釋放量異常(初期爆發)。

#### **【0007】**

本發明係鑒於上述情況而完成者，目的在於提供一種於活體內長期維持有效成分之濃度且初期釋放量異常(初期爆發)經減少之玻尿酸衍生物醫藥品組合物及醫藥品組合物。

[解決問題之技術手段]

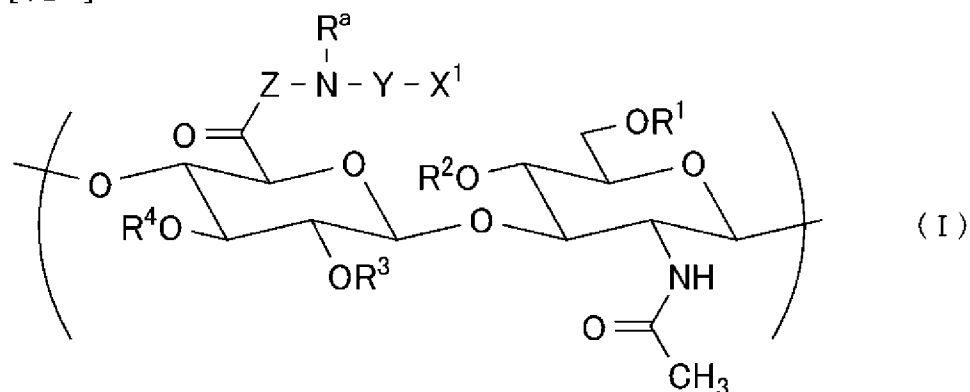
**【0008】** 即，本發明包含以下態樣。

[1]一種玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其包含懸浮於包含玻尿酸衍生物之水性載體中之有效成分，上述有效成分係分子量為100 g/mol以上8000 g/mol以下之微粒子。

[2]如[1]所記載之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其中上述微粒子係微米粒子或奈米粒子。

[3]如[1]或[2]所記載之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其中上述玻尿酸衍生物具有1個以上之下述通式(I)所表示之重複單元。

[化1]



(式中， $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、及 $R^4$ 分別獨立地為選自由氫原子、 $C_{1-6}$ 烷基、甲醯基及 $C_{1-6}$ 烷基羰基所組成之群中之基；Z表示直接鍵、或包含2個以上30個以下之任意胺基酸殘基之肽連接子；

$X^1$ 係選自由 $-NR^b-R$ 、 $-NR^b-COO-R$ 、 $-NR^b-CO-R$ 、 $-NR^b-CO-NR^c-R$ 、 $-COO-R$ 、 $-O-COO-R$ 、 $-S-R$ 、 $-CO-Y^a-S-R$ 、 $-O-CO-Y^b-S-R$ 、 $-NR^b-CO-Y^b-S-R$ 、及 $-S-S-R$ 所表示之基所組成之群中之基；

$R^a$ 、 $R^b$ 及 $R^c$ 分別獨立地為選自由氫原子、 $C_{1-20}$ 烷基、胺基 $C_{2-20}$ 烷基及羥基 $C_{2-20}$ 烷基所組成之群中之基； $R^a$ 、 $R^b$ 及 $R^c$ 之烷基部分可插入有選自由 $-O-$ 及 $-NR^f-$ 所組成之群中之基；

$R^f$ 係選自由氫原子、 $C_{1-12}$ 烷基、胺基 $C_{2-12}$ 烷基及羥基 $C_{2-12}$ 烷基所組

成之群中之基； $R^f$ 之烷基部分可插入有選自由-O-及-NH-所組成之群中之基。

R係疏水性基或親水性基；

Y係 $C_{2-30}$ 伸烷基或 $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2-$ 。此處，Y之伸烷基可插入有選自由-O-、-NR<sup>g</sup>-及-S-S-所組成之群中之基；

R<sup>g</sup>係選自由氫原子、 $C_{1-20}$ 烷基、胺基 $C_{2-20}$ 烷基及羥基 $C_{2-20}$ 烷基所組成之群中之基；R<sup>g</sup>之烷基部分可插入有選自由-O-及-NH-所組成之群中之基；

Y<sup>a</sup>係 $C_{1-5}$ 伸烷基；

Y<sup>b</sup>係 $C_{2-8}$ 伸烷基或 $C_{2-8}$ 伸烯基；

m為1以上100以下之整數)。

[4]如[3]所記載之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其中上述R係疏水性基。

[5]如[4]所記載之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其中上述疏水性基係膽固醇基。

[6]如[1]或[2]所記載之醫藥品組合物，其中上述玻尿酸衍生物於活體或生理條件下沈澱或鹽析。

[7]如[1]~[6]中任一項所記載之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其中上述有效成分係難水溶性之藥物。

[8]如[1]~[7]中任一項所記載之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其中上述有效成分係環狀肽。

[9]如[8]所記載之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其中上述環狀肽之環狀大小包含4至49個胺基酸。

[10]如[8]或[9]所記載之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其中上述環狀肽包含非天然胺基酸。

[11]如[8]~[10]中任一項所記載之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其中構成上述環狀肽之胺基酸為8種以上20種以下。

[12]如[1]~[11]中任一項所記載之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其投予部位為皮下、肌肉內、髓腔內、關節腔內、腦內、玻璃體內、眼表面、鼻、肺、口。

[13]如[1]~[12]中任一項所記載之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其投予方法為注射、滴眼或塗佈。

[發明之效果]

#### 【0009】

根據本發明，可提供一種於活體內長期維持有效成分之濃度且初期釋放量異常(初期爆發)經減少之玻尿酸衍生物醫藥品組合物及醫藥品組合物。

#### 【圖式簡單說明】

##### 【0010】

圖1係環孢素之X射線粉末繞射波峰。

圖2係表示環孢素懸浮製劑投予時之環孢素之血漿中濃度之推移之結果的圖。

圖3係表示環孢素懸浮製劑投予時之環孢素之血漿中濃度之推移之結果的圖。

圖4係表示玻璃體內之沈澱評價之結果之照片圖。

圖5係表示環孢素懸浮製劑投予時之環孢素之血漿中濃度之推移之結

果的圖。

圖6係表示環孢素懸浮製劑投予時之環孢素之血漿中濃度之推移之結果的圖。

圖7係表示環孢素懸浮製劑投予時之環孢素之血漿中濃度之推移之結果的圖。

圖8係表示環孢素懸浮製劑投予時之環孢素之血漿中濃度之推移之結果的圖。

圖9係表示環孢素懸浮製劑投予時之環孢素之血漿中濃度之推移之結果的圖。

圖10係表示環孢素懸浮製劑投予時之環孢素之血漿中濃度之推移之結果的圖。

#### 【實施方式】

##### 【0011】

以下，對本發明之實施方式(以下，稱為「本實施方式」)詳細地進行說明，但本發明並不限定於此，可於不脫離其主旨之範圍內進行各種變化。

##### 【0012】

以下，對本說明書中所使用之用語進行說明。

##### 【0013】

本說明書中所使用之「 $C_{1-20}$ 烷基」之用語意指碳數1以上20以下之直鏈狀或支鏈狀烷基，例如包含甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、第二丁基、異丁基、第三丁基等「 $C_{1-4}$ 烷基」，進而包含正戊基、3-甲基丁基、2-甲基丁基、1-甲基丁基、1-乙基丙基、正己基、4-甲基戊基、3-甲

基戊基、2-甲基戊基、1-甲基戊基、3-乙基丁基、2-乙基丁基等。C<sub>1-20</sub>烷基中亦包含碳數為1以上12以下之C<sub>1-12</sub>烷基、碳數為1以上6以下之C<sub>1-6</sub>烷基。

#### 【0014】

本說明書中所使用之「C<sub>1-6</sub>烷基羰基」之用語意指烷基部分為已經提過之C<sub>1-6</sub>烷基之烷基羰基，例如包含乙醯基、丙醯基、正丙基羰基、異丙基羰基、正丁基羰基、第二丁基羰基、異丁基羰基、第三丁基羰基等「C<sub>1-4</sub>烷基羰基」。

#### 【0015】

本說明書中所使用之「胺基C<sub>2-20</sub>烷基」之用語意指具有胺基作為取代基之碳數2以上20以下之直鏈狀或支鏈狀烷基，例如胺基亦可位於烷基末端之碳原子上。胺基C<sub>2-20</sub>烷基中亦包含碳數為2以上12以下之胺基C<sub>2-12</sub>烷基。

#### 【0016】

本說明書中所使用之「羥基C<sub>2-20</sub>烷基」之用語意指具有羥基作為取代基之碳數2以上20以下之直鏈狀或支鏈狀烷基，例如羥基亦可為於烷基末端之碳原子上。羥基C<sub>2-20</sub>烷基中亦包含碳數為2以上12以下之羥基C<sub>2-12</sub>烷基。

#### 【0017】

本說明書中所使用之「C<sub>2-30</sub>伸烷基」之用語意指碳數2以上30以下之直鏈狀或支鏈狀之二價飽和烴基，例如包含伸乙基、伸丙基等，包含碳數為2以上20以下之C<sub>2-20</sub>伸烷基、碳數為2以上8以下之C<sub>2-8</sub>伸烷基「-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-」(此處，n為2以上30以下，較佳為2以上20以下，更佳為2以上15

以下)。

**【0018】**

本說明書中所使用之「C<sub>1-5</sub>伸烷基」之用語意指碳數1以上5以下之直鏈狀或支鏈狀之二價飽和烴基，例如包含亞甲基、伸乙基、伸丙基等。

**【0019】**

本說明書中所提及之用語「C<sub>2-8</sub>伸烯基」意指碳數2以上8以下之直鏈狀或支鏈狀且包含1個以上之雙鍵之二價飽和烴基，例如包含-CH=CH-、-C(CH<sub>3</sub>)=CH-、2-丁烯-1,4-二基、庚-2,4-二烯-1,6-二基、辛-2,4,6-三烯-1,8-二基等。於存在幾何異構之情形時，亦包含各者之異構物及其等之混合物。

**【0020】**

< 玻尿酸衍生物醫藥品組合物 >

本實施方式係包含懸浮於包含玻尿酸衍生物之水性載體中之有效成分的玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

**【0021】**

《 包含玻尿酸衍生物之水性載體 》

於本說明書中，包含玻尿酸衍生物之水性載體係下述包含玻尿酸衍生物之水性載體。

於本說明書中，「水性載體」係藥學上所容許之載體，可例舉作為注射製劑之醫藥品添加物受醫藥品醫療設備綜合機構(PMDA)、美國食品醫藥品局(Food and Drug Administration ; FDA)認可之物質，或為了用於動物、詳細而言為人而作為注射製劑之醫藥品添加物收錄於日本藥典、美國藥典、其他一般辨識之藥典中之物質。

**【0022】**

具體而言，水性載體較佳為無菌液體，例如可為水或油，亦可為乳液(例如油/水、或水/油乳液等)。

**【0023】**

水包含水、注射用水、生理鹽水溶液、磷酸緩衝液、含蔗糖之磷酸緩衝液以及蔗糖水溶液、葡萄糖水溶液、麥芽糖水溶液、海藻糖水溶液、及甘油水溶液、含聚乙二醇之水溶液、含聚山梨糖醇酯之水溶液、含泊洛沙姆之水溶液、含環糊精之水溶液、含聚乙烷基吡咯啉酮之水溶液、含羧甲基纖維素之水溶液。

**【0024】**

油包含石油、動物、植物、合成來源之油，例如花生油、大豆油、礦物油、芝麻油等。

**【0025】**

於本實施方式中，水性載體較佳為選自由水、注射用水、生理鹽水溶液、水性緩衝液、磷酸緩衝液、含蔗糖之磷酸緩衝液以及蔗糖水溶液、葡萄糖水溶液、及甘油水溶液所組成之群中之1種或2種以上。其中，水性載體更佳為水、磷酸緩衝液、含蔗糖之磷酸緩衝液或蔗糖水溶液。

**【0026】**

水性載體亦可包含與化合物一起投予之稀釋劑、輔助劑、賦形劑、穩定劑、等張劑、緩衝劑、pH值調節劑、防腐劑、殺菌劑或抗菌劑、黏稠化劑等溶劑。

**【0027】**

於本說明書中，「包含懸浮於包含玻尿酸衍生物之水性載體中之有效

成分」意指有效成分之微粒子不會溶解於包含玻尿酸衍生物之水性載體中，而是粒子分散地浮游於包含玻尿酸衍生物之水性載體中之狀態。

於本說明書中，「懸浮」意指廣義下之懸浮，表示使分散物質分散於分散介質中。

懸浮之一態樣表示固體粒子分散於液體中之分散系統。

於本說明書中，分散物質可為固體、液體或氣體，分散介質可為液體。又，分散介質與作為液體之分散物質不會混合而是分散之液-液相分離亦設為懸浮之一態樣。

#### 【0028】

有效成分之微粒子可均勻地懸浮於水性載體中，亦可不均勻地懸浮於水性載體中，較佳為均勻地懸浮於水性載體中。

#### 【0029】

有效成分之微粒子是否懸浮於包含玻尿酸衍生物之水性載體中不僅依存於水性載體之溶解度之上限值，亦受微粒子之粒子尺寸影響。於因粒子較大而所有粒子瞬間(例如1秒以內)沈澱從而未浮游於水性載體中之情形時，不屬於「懸浮於水性載體中」。就更穩定地「懸浮於水性載體中」之觀點而言，微粒子之粒子尺寸較佳為1 nm~1000 μm之範圍，更佳為5 nm~100 μm，進而較佳為10 nm~10 μm，進而較佳為50 nm~10 μm，進而較佳為50 nm~5 μm，進而較佳為50 nm~1 μm，最佳為50 nm~500 nm。

#### 【0030】

又，作為醫藥品而言，有效成分「懸浮於水性載體中」之期間例如較佳為1年以上，即便暫時沈澱，但只要於投予前進行攪拌，藉此再次均

勻地分散而成為「懸浮於水性載體中」之狀態，則亦判斷為「包含懸浮於包含玻尿酸衍生物之水性載體中之有效成分」。

#### 【0031】

有效成分為固體例如可藉由目視觀察或顯微鏡觀察進行判別。與液體或氣體不同，可保持固定形狀。又，亦可根據固體不易變形來判別。

#### 【0032】

於本實施方式中，具體而言，是否包含懸浮於包含玻尿酸衍生物之水性載體中之有效成分可利用日本藥典中所記載之普通試驗法即濁度試驗法進行判定。作為濁度試驗法，可利用目視法或透射光測定法、散射光測定法、透射散射法等光電光度法進行判斷。於為懸浮狀態之醫藥品之情形時，例如記載於附件中。並無特別限定，記載為懸浮劑、懸浮性注射劑、水性懸浮注射液、懸浮性滴眼劑。

#### 【0033】

有效成分之微粒子更佳為於水性載體中不會沈澱。

#### 【0034】

若微粒子可於維持分散狀態之情況下於水性載體中浮游，則於投予至活體內時，於生理鹽水濃度下，玻尿酸衍生物凝膠化或沈澱，微粒子保持、擔載於玻尿酸衍生物凝膠內或沈澱物內，藉此，不會自投予部位擴散而是穩定地滯留。結果，有效成分之量及表面積被局部維持，發揮穩定之長期緩釋，從而可減少初期釋放量異常。

#### 【0035】

有效成分之微粒子較佳為於水性載體中不會沈澱而是均勻地維持，於玻尿酸衍生物在生理鹽水濃度下凝膠化、沈澱時，與玻尿酸衍生物一起

沈澱。

### 【0036】

例如於不使用玻尿酸衍生物而僅將有效成分之微粒子投予至活體內之情形時，投予後微粒子於活體內擴散，容易產生初期釋放量異常，無法發揮長期緩釋。又，無法維持微粒子之分散狀態而微粒子彼此凝集，表面積減小。結果，有效成分之溶解速度變小，不會達到充分之血中濃度，故無法獲得所期待之藥效。又，於不使用玻尿酸衍生物而投予之情形時，微粒子不會停留於投予部位，因此，每次投予之微粒子之存在狀態不同，而導致產生差異。

### 【0037】

作為先前之技術，已知有形成玻尿酸衍生物與有效成分之複合體之方法。「形成玻尿酸衍生物與有效成分之複合體」意指藉由玻尿酸衍生物之疏水性相互作用將有效成分保持於物理交聯區域中。

### 【0038】

於形成玻尿酸衍生物與有效成分之複合體之情形時，有效成分之擔載量相對於玻尿酸衍生物100質量份，限定為1質量份至至多100質量份。另一方面，本發明之玻尿酸衍生物醫藥品組合物並無限制，只要為有效成分懸浮於水性載體中之狀態即可。

### 【0039】

於形成玻尿酸衍生物與有效成分之複合體之情形時，由於有效成分可溶化且為液體狀態，故於投予至活體內後，即便玻尿酸衍生物凝膠化或沈澱，亦會相對快地釋放而轉移至血中。又，於因有效成分之相互作用而導致投予至活體內時玻尿酸衍生物之沈澱性降低，例如醫藥組合物中之玻

尿酸衍生物僅沈澱5%之情形時，與玻尿酸衍生物形成複合體之有效成分會迅速轉移至血中，即成為初期爆發之主要原因。另一方面，本發明之玻尿酸衍生物醫藥品組合物之有效成分處於固體狀態，不會損害將玻尿酸衍生物投予至活體內時之沈澱性能，並且於假設醫藥組合物中之玻尿酸衍生物僅沈澱5%之情形時，有效成分亦會於溶解度速率限制內緩慢地溶解並被吸收，從而可最大限度地抑制初期爆發。

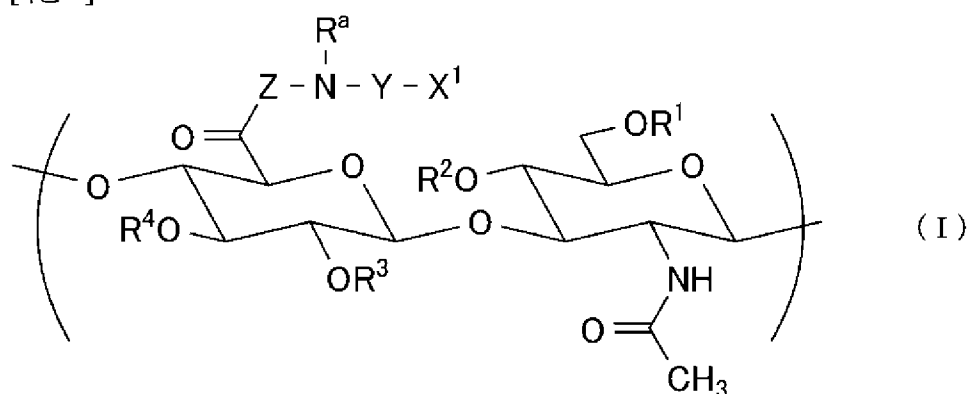
**【0040】**

《玻尿酸衍生物》

本實施方式所使用之玻尿酸衍生物較佳為具有1個以上之下述通式(I)所表示之重複單元之玻尿酸衍生物。

**【0041】**

[化2]



**【0042】**

(式中， $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、及 $R^4$ 分別獨立地為選自由氫原子、 $C_{1-6}$ 烷基、甲醯基及 $C_{1-6}$ 烷基羰基所組成之群中之基；

Z表示直接鍵或包含2個以上30個以下之任意胺基酸殘基之肽鏈子；

$X^1$ 係選自由 $-NR^b-R$ 、 $-NR^b-COO-R$ 、 $-NR^b-CO-R$ 、 $-NR^b-CO-NR^c-$

R、-COO-R、-O-COO-R、-S-R、-CO-Y<sup>a</sup>-S-R、-O-CO-Y<sup>b</sup>-S-R、-NR<sup>b</sup>-CO-Y<sup>b</sup>-S-R、及-S-S-R所表示之基所組成之群中之基；

R<sup>a</sup>、R<sup>b</sup>及R<sup>c</sup>分別獨立地為選自由氫原子、C<sub>1-20</sub>烷基、胺基C<sub>2-20</sub>烷基及羥基C<sub>2-20</sub>烷基所組成之群中之基；此處，R<sup>a</sup>、R<sup>b</sup>及R<sup>c</sup>之烷基部分可插入有選自由-O-及-NR<sup>f</sup>-所組成之群中之基；

R<sup>f</sup>係選自由氫原子、C<sub>1-12</sub>烷基、胺基C<sub>2-12</sub>烷基及羥基C<sub>2-12</sub>烷基所組成之群中之基；R<sup>f</sup>之烷基部分可插入有選自由-O-及-NH-所組成之群中之基；

R係疏水性基或親水性基；

Y係C<sub>2-30</sub>伸烷基或-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-；此處，Y之伸烷基可插入有選自由-O-、-NR<sup>g</sup>-及-S-S-所組成之群中之基；

R<sup>g</sup>係選自由氫原子、C<sub>1-20</sub>烷基、胺基C<sub>2-20</sub>烷基及羥基C<sub>2-20</sub>烷基所組成之群中之基；R<sup>g</sup>之烷基部分可插入有選自由-O-及-NH-所組成之群中之基；

Y<sup>a</sup>係C<sub>1-5</sub>伸烷基；

Y<sup>b</sup>係C<sub>2-8</sub>伸烷基或C<sub>2-8</sub>伸烯基；

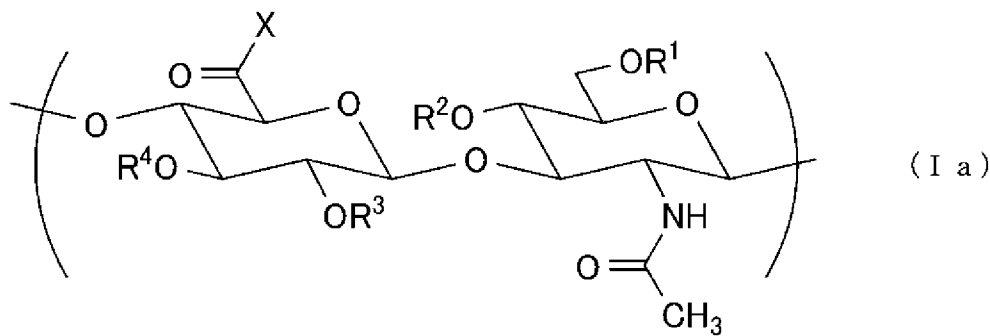
m為1以上100以下之整數)。

#### 【0043】

玻尿酸衍生物較佳為包含具有1個以上之下述通式(Ia)所表示之重複單元(以下，有時稱為「重複單元(Ia)」)之玻尿酸衍生物。

#### 【0044】

[化3]



## 【0045】

(式中， $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、及 $R^4$ 分別獨立地為選自由氫原子、 $C_{1-6}$ 烷基、甲醯基及 $C_{1-6}$ 烷基羰基所組成之群中之基；X係-NR<sup>a</sup>-Y-NR<sup>b</sup>-COO-R所表示之疏水性基；R<sup>a</sup>及R<sup>b</sup>分別獨立地為選自由氫原子及 $C_{1-6}$ 烷基所組成之群中之基；R係疏水性基或親水性基；Y係 $C_{2-30}$ 伸烷基或 $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2-$ ，m為1以上100以下之整數)。

## 【0046】

此處，於玻尿酸衍生物中分別包含2個以上之重複單元(I)或重複單元(Ia)之情形時，該重複單元可相同，亦可不同。

## 【0047】

玻尿酸衍生物於除重複單元(I)或重複單元(Ia)以外之位置可經修飾，例如羥基可被轉換成-O( $C_{1-6}$ 烷基)、-O(甲醯基)、-O( $C_{1-6}$ 烷基羰基)等，羧基可被轉換成醯胺或酯，亦可形成鹽。

## 【0048】

## [重複單元(I)]

通式(I)中之基「-Z-N(R<sup>a</sup>)Y-X<sup>1</sup>」包含選自由以下式： $-NH-(CH_2)_{m_z}-NH-R$ ； $-NH-(CH_2)_{m_z}-NH-COO-R$ ； $-NH-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2-NH-COO-R$ ； $-NH-(CH_2)_{m_z}-COO-R$ ； $-NH-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2-COO-R$ 、 $-NH-(CH_2)_{m_z}-O-COO-R$ ； $-NH-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2-O-COO-R$ 、 $-NH-$

$(\text{CH}_2)_{mz}-\text{S}-\text{R}$  ;  $-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{S}-\text{R}$  ;  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_{mz}-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}(\text{R}^8)-\text{CH}_2-\text{S}-\text{R}$  ;  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_{mz}-\text{NHCO}-\text{CH}(\text{R}^8)-\text{CH}_2-\text{S}-\text{R}$  ;  $-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{NHCO}-\text{CH}(\text{R}^8)-\text{CH}_2-\text{S}-\text{R}$  ;  $-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}(\text{R}^8)-\text{CH}_2-\text{S}-\text{R}$  ;  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_{mz}-\text{S}-\text{S}-\text{R}$  ; 及  $-\text{Z}-\text{NR}^a-\text{Y}-\text{NR}^b-\text{COO}-\text{R}$  (此處， $mz$ 為2以上30以下之整數， $\text{R}^8$ 為氫原子或甲基， $\text{R}$ 及 $m$ 如本說明書中已經定義所述)所表示之基所組成之群中之基。

### 【0049】

作為該基，較佳為選自由  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_{mz}-\text{NH}-\text{COO}-\text{R}$  ;  $-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{NH}-\text{COO}-\text{R}$  ; 及  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_{mz}-\text{S}-\text{S}-\text{R}$  (此處， $mz$ 、 $\text{R}$ 、及 $m$ 如本說明書中已經定義所述)所組成之群中之基。

### 【0050】

(Z)

於通式(I)中， $Z$ 較佳為直接鍵。又，於另一態樣中，於 $Z$ 為肽連接子之情形時， $X^1$ 較佳為  $-\text{NR}^b-\text{COO}-\text{R}$ 。進而，於另一態樣中， $Z$ 亦可為  $-\text{NH}-[\text{CH}(-\text{Z}^a)-\text{CONH}]_{n-1}-\text{CH}(-\text{Z}^a)-\text{CO}$  所表示之肽連接子，此處， $n$ 為2以上30以下之整數， $\text{Z}^a$ 分別獨立地表示以  $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(-\text{Z}^a)-\text{COOH}$  表示之 $\alpha$ -胺基酸中之取代基。該肽連接子於N末端鍵結於葡萄糖醛酸部分之羧基，於C末端鍵結於基  $-\text{N}(-\text{R}^a)-\text{Y}-\text{X}^1$ 。作為可用作該肽連接子之胺基酸殘基之胺基酸之例，可例舉 $\alpha$ -胺基酸，例如丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺(Asn)、天冬胺酸、半胱胺酸、麩醯胺、麩胺酸、甘胺酸(Gly)、組胺酸、異白胺酸、白胺酸(Leu)、離胺酸、甲硫胺酸、苯基丙胺酸(Phe)、脯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸、纈胺酸等天然型(L型)之胺基酸、其等之D體等，可使用包括合成之胺基酸在內之所有 $\alpha$ -胺基酸。即，作為 $\text{Z}^a$ ，例如可

例舉-CH<sub>3</sub>、H<sub>2</sub>NC(NH)NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-、H<sub>2</sub>NCOCH<sub>2</sub>-等。又，n個Z可相同，亦可不同。n為2以上30以下之整數，較佳為2以上10以下，更佳為2以上4以下。作為肽連接子之較佳例，例如可例舉-Gly-Phe-Leu-Gly-、-Asn-Phe-Phe-、-Phe-Phe-、Phe-Gly-等。

### 【0051】

此處所言之「連接子」可使用可藉由基因工程導入之任意肽連接子或合成化合物連接子，於本實施方式之(A)玻尿酸衍生物中，較佳為肽連接子。肽連接子之長度並無特別限定，業者可根據目的適當選擇，較佳長度為2個胺基酸以上(上限並無特別限定，通常為30個胺基酸以下，較佳為20個胺基酸以下)，尤佳為15個胺基酸。(A)玻尿酸衍生物中所包含之肽連接子可使用長度全部相同之肽連接子，亦可使用長度不同之肽連接子。

### 【0052】

(Y)

於通式(I)中，Y較佳為選自由-(CH<sub>2</sub>)<sub>n1</sub>-及-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>m1</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- (此處，n1為2以上20以下之整數，較佳為2以上15以下之整數，更佳為2以上12以下之整數，進而較佳為2以上6以下之整數；m1為1以上4以下之整數)所組成之群中之基。具體而言，較佳為-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-、或-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-。又，就於純水中或低鹽濃度下實現較高之溶解性，並且於生理鹽水濃度下顯示出較高之沈澱形成能力之觀點而言，Y較佳為選自由-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>-及-(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-所組成之群中之基，更佳為-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-。

### 【0053】

Y亦可為例如-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-S-S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-

$(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{-S-S-CH}_2\text{CH}_2\text{O-CH}_2\text{CH}_2\text{-}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O-CH}_2\text{CH}_2\text{-S-S-}$   
 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{-}$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{-S-S-}$  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{-}$   
 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-}$ 等。

**【0054】**

(Y<sup>a</sup>)

作為Y<sup>a</sup>，較佳為 $-\text{CH}_2\text{-}$ 或 $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$ 。

**【0055】**

(Y<sup>b</sup>)

作為Y<sup>b</sup>，較佳為 $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{-}$ 、2-丁烯-1,4-二基、庚-2,4-二烯-1,6-二基或辛-2,4,6-三烯-1,8-二基，更佳為 $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$ 或 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{-}$ 。

**【0056】**

作為基「 $-\text{Z-N}(\text{R}^a)\text{Y-X}^1$ 」之具體例，可例舉 $-\text{NH-}(\text{CH}_2)_2\text{-NH-CO-}$ 膽固醇基、 $-\text{NH-}(\text{CH}_2)_4\text{-NH-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH-COO-}$ 膽固醇基、 $-\text{NH-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH-}(\text{CH}_2)_4\text{-NH-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH-COO-}$ 膽固醇基、 $-\text{NH-}(\text{CH}_2)_4\text{-NH-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH-COO-}$ 膽固醇基、 $-\text{NH-}(\text{CH}_2)_4\text{-N-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2\text{-COO-}$ 膽固醇基、 $-\text{NH-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH-}(\text{CH}_2)_4\text{-N-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2\text{-COO-}$ 膽固醇基、 $-\text{NH-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH-}(\text{CH}_2)_4\text{-N-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2\text{-COO-}$ 膽固醇基、 $-\text{NH-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH-}(\text{CH}_2)_4\text{-N-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2\text{-COO-}$ 膽固醇基、 $-\text{NH-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH-}(\text{CH}_2)_4\text{-N-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2\text{-CO-NH-}$ 膽固醇基、 $-\text{NH-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH-}(\text{CH}_2)_4\text{-N-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2\text{-CO-}$ 膽固醇基、 $-\text{NH-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH-}(\text{CH}_2)_4\text{-N-}(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2\text{-}$ 膽固醇基等。作為較佳之基「 $-\text{Z-N}(\text{R}^a)\text{Y-X}^1$ 」，R<sup>a</sup>、R<sup>b</sup>及R<sup>c</sup>為氫原子，Y為直鏈狀之C<sub>2-30</sub>伸烷基或 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{-}$ ，Y<sup>a</sup>為直鏈狀之C<sub>1-5</sub>伸烷基或Y<sup>b</sup>為直鏈狀之C<sub>2-8</sub>伸烷基或直鏈狀之C<sub>2-8</sub>伸烯基。

**【0057】**

(R)

R係親水性基或疏水性基，較佳為疏水性基。

作為親水性基，可例舉具有聚乙二醇骨架之衍生物、具有聚乙烯亞胺骨架之衍生物、具有聚離胺酸骨架之衍生物、具有聚烯丙基胺骨架之衍生物、具有天然胺基酸骨架之衍生物、具有非天然胺基酸骨架之衍生物、具有聚二甲基矽氧烷骨架之衍生物。

**【0058】**

作為疏水性基，較佳為甾基。

**【0059】**

本說明書中所使用之「甾基」之用語並無特別限制，只要為具有類固醇骨架之基即可。此處，作為類固醇，具體而言，可例舉膽固醇、膽固醇醇、菜油固醇、麥角甾醇、豆固醇、糞甾醇、豆固醇、穀固醇、羊毛固醇、麥角固醇、西米杜鵑醇、膽汁酸、甾固酮、雌二醇、黃體素、皮質醇、可體松、醛固酮、皮質酮、脫氧皮質酮等。作為甾基，可例舉膽固醇基、豆固醇基、羊毛固醇基、麥角固醇基等，其中，較佳為膽固醇基(尤其是膽甾烷-5-烯-3 $\beta$ -基)。

**【0060】**

[重複單元(Ia)]

於通式(Ia)中，X較佳為-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NH-COO-膽固醇基、-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-NH-COO-膽固醇基、-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-NH-COO-膽固醇基或-NH-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NH-COO-膽固醇基，更佳為-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NH-COO-膽固醇基、-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-NH-COO-膽固醇基或-NH-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>-

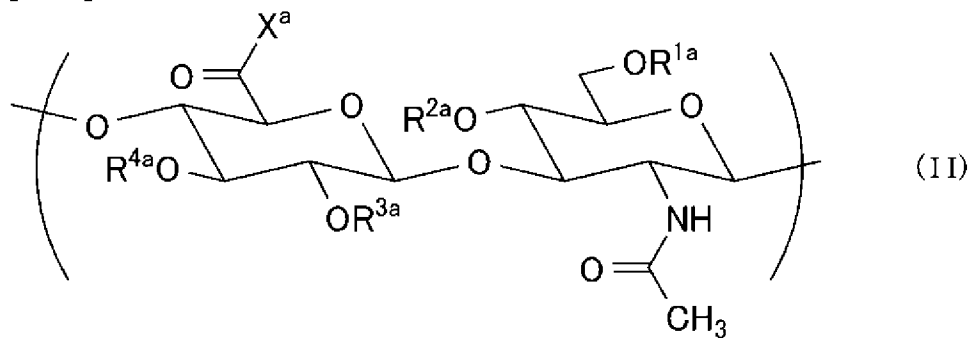
CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NH-COO-膽固醇基。

**【0061】**

玻尿酸衍生物除包含重複單元(I)以外，亦可進而包含通式(II)所表示之重複單元(以下，有時稱為「重複單元(II)」)。

**【0062】**

[化4]



**【0063】**

(式中，R<sup>1a</sup>、R<sup>2a</sup>、R<sup>3a</sup>、及R<sup>4a</sup>分別獨立地為選自由氫原子、C<sub>1-6</sub>烷基、甲醯基及C<sub>1-6</sub>烷基羰基所組成之群中之基；X<sup>a</sup>為選自由羥基及-O-Q<sup>+</sup>所組成之群中之基；Q<sup>+</sup>為抗衡陽離子)。

**【0064】**

此處，於玻尿酸衍生物中包含2個以上之重複單元(II)之情形時，該重複單元可相同，亦可不同。

於另一態樣中，玻尿酸衍生物亦可為實質上包含重複單元(I)、重複單元(Ia)及重複單元(II)之玻尿酸衍生物。

**【0065】**

[重複單元(II)]

於通式(II)中，Q<sup>+</sup>並無特別限定，只要為於水中與羧基形成鹽之抗衡陽離子即可，於二價以上之情形時，對應於價數與複數個羧基形成鹽。作

為抗衡陽離子之例，可例舉：鋰離子、鈉離子、銣離子、銇離子、鎂離子、鈣離子等金屬離子；式： $N^+R^jR^kR^lR^m$ (式中， $R^j$ 、 $R^k$ 、 $R^l$ 及 $R^m$ 分別獨立地選自由氫原子及 $C_{1-6}$ 烷基所組成之群中)所表示之銨離子等。其中， $Q^+$ 較佳為鈉離子、鉀離子、或四烷基銨離子(例如四正丁基銨離子等)。 $R^j$ 、 $R^k$ 、 $R^l$ 及 $R^m$ 較佳為選自由 $C_{1-6}$ 烷基所組成之群中之同一基，較佳為正丁基。

#### 【0066】

較佳為 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、及 $R^4$ 、以及 $R^{1a}$ 、 $R^{2a}$ 、 $R^{3a}$ 、及 $R^{4a}$ 全部為氫原子。又，較佳為 $R^a$ 及 $R^b$ 均為氫原子。

#### 【0067】

其中，玻尿酸衍生物較佳為實質上包含重複單元(I)及重複單元(II)之玻尿酸衍生物。玻尿酸衍生物之包含該衍生物中所含之D-葡萄糖醛酸及N-乙醯基-D-葡糖胺之二糖之重複單元中的例如80%以上、較佳為90%以上、更佳為95%以上為重複單元(I)及重複單元(II)。玻尿酸衍生物亦可僅由重複單元(I)及重複單元(II)構成。

#### 【0068】

於本實施方式之玻尿酸衍生物中，甾基對源自玻尿酸衍生物之二糖之重複單元之導入率(以下，有時簡稱為「甾基導入率」)較佳為0.1%以上且未達50%，更佳為5%以上且未達45%，進而較佳為10%以上40%以下，尤佳為15%以上35%以下。藉由使甾基導入率為上述範圍內，包含醫藥組合物中之有效成分之微粒子的玻尿酸衍生物醫藥組合物之製劑之穩定性提高，且於生理鹽水濃度下凝集、沈澱而能夠緩釋藥物。

#### 【0069】

甾基導入率可藉由 $^1\text{H-NMR}$ (Hydrogen-Nuclear Magnetic Resonance, 氫-核磁共振)測定進行測定。即,可使用玻尿酸衍生物成分之 $^1\text{H-NMR}$ 光譜中之源自玻尿酸衍生物之甾基之波峰之積分值及源自玻尿酸衍生物中所含之N-乙醯基-D-葡萄糖胺之乙醯基之波峰( $\text{COCH}_3$ 、1.6 ppm 以上2.0 ppm以下、3H)之積分值,並基於以下式計算。再者,式中, $n_{\text{H}}$ 表示與波峰對應之氫原子之數量。具體而言,例如可依據下述實施例所記載之方法進行測定。

**【0070】**

[甾基導入率](%)

$$= [(\text{源自甾基之波峰積分值} \times 3 / n_{\text{H}}) / (\text{源自N-乙醯基-D-葡萄糖胺之乙醯基之波峰積分值})] \times 100$$

**【0071】**

玻尿酸衍生物之重量平均分子量並無特別限定,就增加玻尿酸衍生物每1分子中之甾基導入數來與有效成分形成複合體之觀點,又,就提高分子之交聯、提高血中之滯留性之觀點而言,較佳為分子量相對較大之玻尿酸衍生物。

**【0072】**

作為此種玻尿酸衍生物之重量平均分子量,較佳為4000(4k)以上1,000,000(1,000k)以下,更佳為5k以上500k以下,進而較佳為7k以上300k以下,尤佳為7k以上100k以下。

**【0073】**

藉由使玻尿酸衍生物之重量平均分子量為上述下限值以上,可進一步提高分子之交聯,從而可進一步提高血中之滯留性。另一方面,藉由使

玻尿酸衍生物之重量平均分子量為上述上限值以下，可抑制黏度上升，從而可使更高濃度之玻尿酸衍生物溶解於醫藥組合物中。玻尿酸衍生物之重量平均分子量通常可藉由使用具有對應分子量之原料進行調節。

#### 【0074】

更詳細而言，就黏度或分散性之觀點而言，玻尿酸衍生物之重量平均分子量較佳為100k以下，進而較佳為50k以下，尤佳為20k以下，最佳為15k以下。分子量之單位為Da。

就玻尿酸衍生物之製造之觀點而言，較佳為4k至20k，尤佳為6k至16k，最佳為8k至12k。

#### 【0075】

就使玻尿酸衍生物明顯發揮作為玻尿酸之性質之觀點而言，例如為了被CD44受體明顯識別到，較佳為100k以上，尤佳為200k以上，最佳為300k以上。

#### 【0076】

就控制玻尿酸衍生物之黏度與沈澱速度之觀點而言，較佳為8k以上，尤佳為20k以上，最佳為30k以上。

#### 【0077】

此處所言之「玻尿酸衍生物之分子量」係藉由尺寸排除層析法多角度光散射檢測器(第二MALS)所確定之重量平均分子量。

#### 【0078】

[玻尿酸衍生物之製造方法]

玻尿酸衍生物只要為例如上述R導入有疏水性基之玻尿酸衍生物即可，可藉由國際公開第2010/053140號所記載之方法製造。於上述R導入

有親水性基之情形時，只要利用任意方法將胺基導入至具有親水性基之衍生物之末端，其後，使用DMT-MM(4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三吡啶-2-基)-4-甲基嗎啉鹽酸鹽)等縮合劑並藉由與玻尿酸之羧基(-COOH或-COONa)之縮合反應而製造即可。

此外，於欲導入之化合物之末端存在羥基(-OH)之情形時，只要使用任意縮合劑並藉由脫水縮合而製造即可。此外，亦可使玻尿酸之羥基與導入基所具有之官能基反應而形成化學鍵。作為縮合劑以外之導入方法，可例舉酵素反應、藉由熱之脫水縮合、使用金屬觸媒之方法等。

### 【0079】

於本說明書中，玻尿酸衍生物較佳為於活體或生理條件下沈澱或鹽析。

玻尿酸衍生物於活體或生理條件下是否會沈澱或鹽析可利用以下方法確認。

首先，將溶解成所需濃度之玻尿酸衍生物添加至磷酸緩衝液或含BSA(Bovine Serum Albumin，牛血清白蛋白)之PBS(Phosphate Buffered Saline，磷酸鹽緩衝液)中。其後，於37°C下培養，並進行離心分離，只要能夠固液分離，則判斷為玻尿酸衍生物於生理鹽水中沈澱或鹽析。培養時間可任意設定。

### 【0080】

所使用之磷酸緩衝液之濃度例如為最終濃度為1×PBS或含0.8%BSA之PBS。

離心分離時之離心條件可適當變更，作為一例，為9800 g。

### 【0081】

於本發明之一態樣中，向溶解成所需濃度之450  $\mu\text{L}$ 之玻尿酸衍生物中添加150  $\mu\text{L}$ 之4 $\times$ PBS，然後於上述條件下培養，進而利用尺寸排除層析法(Size Exclusion Chromatography; SEC)定量於離心分離中沈澱之玻尿酸衍生物之上清液，藉此，可定量於生理條件下沈澱、鹽析之玻尿酸衍生物之比率。

#### 【0082】

於本發明之一態樣中，亦可藉由實際投入至活體並確認沈澱、或者投予至所採集之組織並確認沈澱，來確認於生理鹽水條件下沈澱、鹽析之玻尿酸衍生物。

#### 【0083】

沈澱之比率較佳為所溶解之玻尿酸衍生物之總量中之10~100%，較佳為40%以上、50%以上、60%以上，更佳為70%以上，進而更佳為80%以上，最佳為90%以上。

#### 【0084】

若使用於活體或生理條件下沈澱或鹽析之玻尿酸衍生物，則投予至體內後凝膠化，藉此抑制醫藥品組合物中所含之有效成分之微粒子凝集或擴散，故容易提供於活體內長期無差異地維持有效成分之濃度、初期釋放量異常(初期爆發)經減少之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

#### 【0085】

《有效成分》

作為有效成分，並無特別限定，只要為分子量為100 g/mol以上8000 g/mol以下之微粒子即可。

微粒子之分子量較佳為200 g/mol以上8000 g/mol以下，更佳為200

g/mol以上5000 g/mol以下，進而較佳為300 g/mol以上4000 g/mol以下，進而更佳為500 g/mol以上4000 g/mol以下，尤佳為700 g/mol以上3000 g/mol以下，進而尤佳為900 g/mol以上3000 g/mol以下，更佳為1000 g/mol以上3000 g/mol以下，最佳為1000 g/mol以上2000 g/mol以下。

**【0086】**

若微粒子之分子量為上述範圍，則可形成奈米粒子或微米粒子，不會沈澱而可於水性載體中自由地浮游。

**【0087】**

於本說明書中，有效成分之微粒子之分子量係根據化合物之分子式而算出之值。

**【0088】**

於本實施方式中，微粒子較佳為微米粒子或奈米粒子。

微米粒子係指利用雷射繞射法所測得之粒徑為1  $\mu\text{m}$ 以上且未達1000  $\mu\text{m}$ 之大小之粒子。

奈米粒子係指利用動態光散射法(Dynamic Light Scattering 簡稱DLS)所測得之粒徑為1 nm以上且未達1000 nm之大小之粒子。

**【0089】**

作為可用於本實施方式之有效成分，並無特別限定，只要為上述微粒子即可，例如可例舉低分子化合物、中分子化合物、醫藥活性肽或蛋白質、核酸。其中，更佳為低分子化合物、中分子化合物、醫藥活性肽或蛋白質。更佳為低分子化合物、中分子化合物、醫藥活性肽。中分子化合物亦可為環狀肽。

**【0090】**

微粒子可為結晶，亦可為非晶質(amorphous)。

#### 【0091】

本實施方式之醫藥組合物之應用疾病並無特別限定，可廣泛應用於當前公知之疾病或將來會出現之疾病之預防或治療。可為慢性疾病，亦可為急性疾病。作為當前公知之疾病之例，可例舉癌症、感染症、免疫疾病、炎症性鬆弛、過敏疾病、皮膚疾病、高血壓症、糖尿病、神經疾病、遺傳性疾病、心血管疾病、腦血管疾病、呼吸器官疾病、眼疾病、耳疾病、骨關節疾病、疼痛等。

#### 【0092】

若本發明中之有效成分為難水溶性之藥物，則可更有效地利用本發明。

所謂難水溶性藥物，意指於第17修正日本藥典中之表示溶解性之用語中，被分類成極易溶解、容易溶解、略微容易溶解、略微難以溶解、難以溶解、極難溶解、幾乎不溶解中之略微容易溶解、略微難以溶解、難以溶解、極難溶解、或幾乎不溶解之藥物。

#### 【0093】

具體而言，可例舉有效成分對水之溶解度為1 mg/mL以下之難水溶性藥物。

本發明之醫藥組合物即便為此種難水溶性藥物，亦可不使用有機溶劑、減少毒性較高之界面活性劑之使用量或完全不使用毒性較高之界面活性劑而以高用量投予。

#### 【0094】

於本實施方式中，難水溶性之藥物可例舉難水溶性肽。難水溶性肽

可具有酸性胺基酸、鹼性胺基酸、中性胺基酸。可考慮到等電點而適當選擇水性載體之pH值。

#### 【0095】

於本實施方式中，有效成分較佳為環狀肽。作為環狀大小，較佳為由4至49個胺基酸構成之環狀肽，更佳為6至30個，最佳為8至25個。

環狀肽亦可包含天然胺基酸或非天然胺基酸。其中，較佳為包含非天然胺基酸。

構成環狀肽之胺基酸較佳為8種以上20種以下。

#### 【0096】

[低分子化合物]

作為低分子化合物，係分子量未達約500之化合物，例如可例舉制癌劑(例如烷基化劑、抗代謝物、生物鹼等)、免疫抑制劑、抗炎劑(類固醇劑、非類固醇劑系抗炎劑等)、抗風濕劑、抗菌劑( $\beta$ -內醯胺系抗生物質、胺基糖苷系抗生物質、大環內酯系抗生物質、四環素系抗生物質、新喹啉酮系抗生物質、磺胺劑等)等。

#### 【0097】

又，作為有效成分，於上述玻尿酸衍生物具備甾基之情形時，就可充分地發揮與甾基之相互作用之方面而言，亦可較佳地使用疏水性較高、即難水溶性者。再者，「難水溶性」於第17修正日本藥典中係指溶解溶質1g所需之水量必須為30 mL以上。

#### 【0098】

作為難水溶性且固體狀之有效成分，例如可例舉：瑞巴派特、布洛芬、苯甲酸、乙水楊胺、咖啡因、樟腦、奎寧、葡萄糖酸鈣、二巰丙醇、

磺胺、茶鹼、可可鹼、核黃素、美芬新、苯巴比妥、胺茶鹼、胺硫脲、槲皮素、芸香苷、水楊酸、茶鹼鈉鹽、匹拉比特魯、鹽酸奎寧、伊格比林、洋地黃毒苷、灰黃黴素、非那西汀等清熱鎮痛藥、神經系統醫藥、鎮靜催眠劑、肌肉鬆弛劑、血壓硬化劑、抗組胺劑等；乙醯螺旋黴素、安比西林、紅黴素、吉他黴素、氯黴素、三乙醯竹桃黴素、制黴素、硫酸黏桿菌素等抗生素；甲睾酮、甲基雄甾二醇、黃體素、苯甲酸雌二醇、乙炔雌甾二醇、乙酸脫氧皮質酮、乙酸可體松、氫化可體松、乙酸氫化可體松、潑尼松龍等類固醇激素劑；雙烯雌酚、己雌酚、己烯雌酚、二丙酸己烯雌酚、氯烯雌醚等非類固醇系蛋黃激素劑；其他脂溶性維生素類等「日本藥典」、「局外基」、「USP」、「NF」、「EP」所記載之醫藥品有效成分等。可使用選自該等有效成分中之1種，亦可將2種以上併用。

#### 【0099】

有效成分亦可為難水溶性之油狀或液狀者。作為難水溶性之油狀或液狀之有效成分，例如可例舉：替普瑞酮、吲哚美辛法尼酯、四烯甲萘醌、維生素K1、維生素A油、苯戊醇、維生素D、維生素E等維生素類；DHA(二十二碳六烯酸)、EPA(二十碳五烯酸)、肝油等高級不飽和脂肪酸類；輔酶Q類、甜橙油、檸檬油、胡椒薄荷油等油溶性香味料等「日本藥典」、「局外基」、「USP」、「NF」、「EP」所記載之醫藥品有效成分等。維生素E中存在各種同族體、衍生物，只要於常溫下為液狀即可，並無特別限定，例如可例舉dl- $\alpha$ -生育酚、乙酸dl- $\alpha$ -生育酚、d- $\alpha$ -生育酚、乙酸d- $\alpha$ -生育酚等。可使用選自該等有效成分中之1種，亦可將2種以上併用。

#### 【0100】

有效成分亦可為難水溶性之半固體形狀之有效成分。作為難水溶性

之半固體形狀之有效成分，例如可例舉：地龍、甘草、桂皮、芍藥、牡丹皮、纈草、山椒、生薑、陳皮、麻黃、天竺子、黃砒、遠志、桔梗、車前子、車前草、石蒜、美遠志、貝母、茴香、黃柏、黃連、莪朮、洋甘菊、龍膽、牛黃、獸膽、沙參、生薑、蒼術、丁香、陳皮、白術、竹節人參、胡蘿蔔、葛根湯、桂枝湯、香酥散、柴胡桂枝湯、小柴胡湯、小青龍湯、麥冬湯、半夏厚樸湯、麻黃湯等中藥或天然藥萃取物類；牡蠣肉萃取物、蜂膠及蜂膠萃取物、輔酶Q類等。可使用選自該等有效成分中之1種，亦可將2種以上併用。

### 【0101】

#### [中分子化合物]

於本說明書中，「中分子」既非低分子(分子量約500之前之有機化合物)亦非高分子(分子量1萬以上之蛋白質等)，而是指分子量約為500～5000左右之肽、大環內酯化合物及天然物或其等之衍生物。較佳為分子量500～2000左右之肽，即胺基酸殘基5～20左右之直鏈狀或環狀肽。作為肽，較佳為環狀肽，於下文中對其詳細內容進行說明。大環內酯化合物係大環狀內酯，係指環之員數為12或12以上之化合物之總稱。

例如可例舉FK506或雷帕黴素等。

### 【0102】

#### [核酸]

作為核酸，包含DNA(Deoxyribonucleic acid，去氧核糖核酸)、RNA(Ribonucleic acid，核糖核酸)，例如包含短鏈干擾RNA(siRNA)、雙鏈RNA(dsRNA)、小分子RNA(miRNA)、短髮夾RNA(shRNA)及核酸適體等。

**【0103】**

作為有效成分，可為Rho激酶抑制劑、內皮素A受體抑制劑、跨膜傳導控制因子(transmembrane conductance regulator)(CFTR)調節劑、TRPV1抑制劑、NK1受體抑制劑、嘌呤受體抑制劑、血管緊張素受體抑制劑、過氧化物酶體增植物活化受體、P2Y受體抑制劑、VEGF抑制劑等，亦可為同時具有2種該等抑制作用之活性成分。

**【0104】**

於本實施方式之醫藥組合物中，有效成分之含量雖亦取決於有效成分之結構，但相對於玻尿酸衍生物之100質量份，可設為0.001質量份以上10,000質量份以下，較佳為0.1質量份以上8000質量份以下，更佳為1.0質量份以上6000.0質量份以下，進而較佳為15質量份以上4000.0質量份以下，尤佳為30質量份以上2000質量份以下，最佳為100質量份以上1000質量份以下。

**【0105】**

或於本實施方式之醫藥組合物中，有效成分之含量並無特別限制，例如相對於醫藥組合物之100質量份，較佳為0.0001質量份以上30.0質量份以下，更佳為0.001質量份以上10質量份以下，進而較佳為0.01質量份以上3質量份以下。

**【0106】**

《其他添加劑》

本實施方式之醫藥組合物亦可單獨投予，或依據常用方法與藥理學上所容許之載體一起投予。於與藥理學上所容許之載體併用之情形時，例如可將上述玻尿酸衍生物及上述有效成分、以及視需要之佐劑與水或其以

外之生理學上可容許之溶液(例如生理鹽水、含水乙醇、磷酸緩衝生理鹽水(PBS))等進行混合，亦可包含生理學上可容許之緩衝液、賦形劑、媒劑、防腐劑、穩定劑、黏合劑、凍乾輔助劑等。

#### 【0107】

本實施方式之醫藥組合物亦可於水性載體中包含1種或複數種界面活性劑。其中，較佳為非離子性界面活性劑，適合用於本說明書中所記載之製劑之非離子性界面活性劑例如可自聚山梨糖醇酯、泊洛沙姆、聚氧乙烯蓖麻油衍生物(例如Cremophor EL、Cremophor RH60)、膽汁酸鹽、卵磷脂、12-羥基硬脂酸-聚乙二醇共聚物(例如Solutol HS 15)、泰洛沙泊等中選擇。

#### 【0108】

本實施方式之醫藥組合物可包含1種或複數種水溶性聚合物。水溶性聚合物係可溶解或分散於水中之藥學上所容許之聚合物。水溶性聚合物例如可具有強化懸浮液之黏度、或使微米粒子或奈米粒子之有效成分對於粒子凝集或來自其他製劑成分之潛在性有害作用穩定的功能。於本實施方式中，適合使用之水溶性聚合物例如可自植物橡膠、例如海藻酸鹽、果膠、瓜爾膠及三仙膠、化工澱粉、聚乙烯基吡咯啉酮(PVP)、羥丙甲纖維素(HPMC)、甲基纖維素及其他纖維素衍生物、例如羧甲基纖維素鈉、羥丙基纖維素等中選擇。本實施方式之醫藥組合物可包含泊洛沙姆188等泊洛沙姆作為水溶性聚合物。泊洛沙姆188可為聚合物，亦可為界面活性劑。於其他實施態樣中，本實施方式之醫藥組合物可包含聚乙烯吡咯啉K17作為水溶性聚合物。

#### 【0109】

本實施方式之醫藥組合物可包含1種或複數種纖維素系高分子，根據日本專利WO2022210784A1，可提供一種再分散性提高之水性懸浮液劑。進而，可提供一種藉由調配鋅鹽或銀鹽而再分散性進一步提高之水性懸浮液劑，只要自考慮到與藥物或其他添加劑之適配性之組合中適當選擇即可。「鋅鹽」係指包含鋅離子( $Zn^{2+}$ )作為構成離子之鹽(鋅與有機酸、與無機酸之化合物)、或鋅之氧化物。例如可例舉氯化鋅、溴化鋅或氟化鋅等鹵化鋅、硫酸鋅、乙酸鋅、磷酸鋅、碳酸鋅、氫氧化鋅、檸檬酸鋅、乳酸鋅、葡萄糖酸鋅、氧化鋅、或其等之水合物等。「銀鹽」係包含銀離子( $Ag^{+}$ )作為構成離子之鹽(銀與有機酸、與無機酸之化合物)、或銀之氧化物。例如可例舉硝酸銀、溴化銀、氧化銀、乙酸銀、碳酸銀、檸檬酸銀、乳酸銀、磷酸銀、草酸銀、硫代硫酸銀、蛋白銀、或其等之水合物等。

#### 【0110】

作為緩衝液，例如可例舉Tris(Tris(hydroxymethyl)aminomethane，三羥甲基胺基甲烷)、磷酸鈉、磷酸鉀、組胺酸、硼酸緩衝材、或檸檬酸等。

#### 【0111】

作為硼酸緩衝劑，並無特別限定，只要為藥學上所容許者即可，例如可例舉硼酸及硼酸之鹽之任一者或兩者。作為硼酸，並無特別限定，只要為藥學上所容許者即可，例如可例舉原硼酸、偏硼酸、四硼酸等。作為硼酸之鹽，並無特別限定，只要為藥學上所容許者即可，可例舉：鈉鹽、鉀鹽、鈣鹽、鎂鹽、鋁鹽等金屬鹽；三乙胺、三乙醇胺、咪啉、哌啶、吡咯啉等有機胺鹽等。硼酸或其鹽可單獨使用1種，亦可將2種以上組合使用。又，作為硼酸緩衝劑之較佳之一態樣，可例舉硼酸與硼砂之組合。

**【0112】**

作為將硼酸與硼砂組合使用之情形時之硼酸與硼砂之比率，並無特別限制，例如可例舉每100質量份硼酸中，硼砂為10~300質量份，較佳為10~250質量份，更佳為30~100質量份，尤佳為40~60質量份。

**【0113】**

作為防腐劑，例如可例舉氯化苄烷銨、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、氯丁醇、己二烯酸、烷基聚胺基乙基甘胺酸等。

**【0114】**

作為穩定劑，例如可例舉依地酸鈉水合物、聚乙烯基吡咯啉酮(聚乙烯吡咯啉)等。

**【0115】**

作為等張劑，例如可例舉慣用之氯化鈉、甘油、葡萄糖、甘露糖醇及山梨糖醇、蔗糖。其中，較佳為蔗糖。

**【0116】**

作為抗氧化劑，例如可例舉抗壞血酸、抗壞血酸鈉等抗壞血酸鹽、維生素E、亞硫酸鈉、亞硫酸鉀、亞硫酸鎂、亞硫酸鈣、重亞硫酸鈉、重亞硫酸鉀、重亞硫酸鎂、重亞硫酸鈣、偏重亞硫酸鈉、偏重亞硫酸鉀、偏重亞硫酸鈣、硫代硫酸鈉及亞硫酸氫鈉等亞硫酸鹽等。

**【0117】**

亦可含有纖維素衍生物或聚乙二醇(macrogol)等作為黏度調整劑。

**【0118】**

作為本實施方式之醫藥組合物，並無特別限制，只要為作為用作人造淚液之醫藥所容許之範圍內即可，亦可含有胺基乙基磺酸、硫酸軟骨素

鈉、L-天冬胺酸鉀、L-天冬胺酸鎂、L-天冬胺酸鉀-鎂(等量混合物)、碳酸氫鈉、碳酸鈉、氯化鉀、葡萄糖、丙二醇。

### 【0119】

作為本實施方式之醫藥組合物，亦可使用經製劑化而成者。作為製劑之形態，可製成固體、半固體或液體之形態。

於固體之情形時，可例舉粉末、顆粒、丸劑、顆粒物、片劑、膠囊等形態。其中，作為固體，較佳為凍乾粉末。

於半固體之情形時，可例舉凝膠等形態。

於液體之情形時，可例舉藉由水或磷酸緩衝生理鹽水(PBS)等緩衝液將粉末稀釋或懸浮所得之懸浮液等形態。

### 【0120】

例如，用以使注射用醫藥品製劑化之普通pH值範圍為約2至約12。本實施方式之一部分醫藥組合物之pH值可為藉由生理性pH值近似之範圍內。例如於特定之實施態樣中，本說明書中所記載之醫藥組合物以顯示出選自pH值4至10之範圍、及5至9之範圍中之pH值之方式製劑化。

### 【0121】

《醫藥組合物之製造方法》

本實施方式之醫藥組合物可藉由將上述玻尿酸衍生物與上述有效成分適當混合而製造，較佳為利用以下所示之方法製造。

### 【0122】

即，本實施方式之醫藥組合物之製造方法係含有玻尿酸衍生物及有效成分之醫藥組合物之製造方法，包括以下步驟。

使上述有效成分分散於注射用水或含有界面活性劑或高分子之水

中，製備含有上述有效成分之分散液之製備步驟；及

任意選擇上述分散液與含有上述玻尿酸衍生物之水相之混合比並加以混合之混合步驟。

### 【0123】

先前，因於有機溶劑中溶解有有效成分之油相與含有玻尿酸衍生物之水相之比率，玻尿酸衍生物因油相而導致甞基彼此之相互作用受到抑制或者局部凝集等，而難以維持玻尿酸衍生物之粒子尺寸。因此，存在醫藥組合物中僅包含粒子已粉碎之尺寸相對較小之玻尿酸衍生物、或包含局部凝集之粒子之玻尿酸衍生物與有效成分之複合體之情形。於本實施方式之醫藥組合物之製造方法中，亦可不使用油相，故可製備玻尿酸衍生物之聚集得以維持之製劑。於將製劑投予至活體內時，會穩定地凝膠化、沈澱，故作為原位凝膠化緩釋基材而言優異。

### 【0124】

繼而，針對本實施方式之醫藥組合物之製造方法之各步驟，以下進行詳細說明。

### 【0125】

[有效成分之微粒子製備步驟]

有效成分之製造方法可依據用以對微米粒子或奈米粒子進行精製之公知之方法進行調整。於本實施方式中，可依據公知之粉碎技術進行微米或奈米粉碎。

於本實施方式中，微米或奈米粉碎可使用1種或複數種公知之濕式粉碎技術、超臨界或者壓縮流體技術、高溫或者高壓均質化、乳化技術、蒸發沈澱、逆溶劑沈澱、微小沈澱、低溫技術、錯合物化技術、超音波處理

技術或固體分散技術來生成。為了單離水性或由溶劑分散技術產生之奈米粒子，可於處理後使用噴霧乾燥及冷凍乾燥、過濾分離。

#### 【0126】

於本實施方式中，關於獲得有效成分之微米粒子或奈米粒子之方法，可將有效成分添加至分散介質中，獲得經粗分散之粗分散液，並藉由濕式粉碎獲得有效成分之微米或奈米粒子之分散液，亦可預先將有效成分乾式粉碎，並添加至分散介質中，獲得有效成分之微米或奈米粒子之分散液。

分散液中之有效成分之微米或奈米粒子較佳為進行濕式粉碎所獲得之有效成分之奈米粒子。

#### 【0127】

作為用於濕式粉碎之裝置，並無特別限定，例如可例舉高壓均質機、具備複數個輓之輓磨機、膠體磨機、圓錐磨機、球磨機及珠磨機等。

#### 【0128】

珠磨機可為批量式裝置、循環式裝置及連續式裝置之任一者，亦可為該等之組合。批量式裝置係將要處理之溶液總量與粉碎用介質一起放入珠磨機用容器內進行粉碎之裝置。循環式裝置係使要處理之溶液於槽與珠磨機用容器之間循環來進行處理之裝置。連續式裝置係使要處理之溶液連續通過複數個珠磨機用容器之裝置。

#### 【0129】

珠磨機所使用之珠粒之直徑較佳為0.03 mm～5 mm，更佳為0.1 mm～3 mm，進而較佳為0.1 mm～1 mm，尤佳為0.1 mm～0.5 mm，更佳為0.1 mm～0.3 mm。

**【0130】**

若珠磨機所使用之珠粒之直徑為上述範圍，則濕式粉碎處理後之分散液與珠粒容易分離，可高效率地實施有效成分之微細化。

**【0131】**

作為珠粒之種類，可例舉玻璃珠粒、低鹼玻璃珠粒、無鹼玻璃珠粒、氧化鋯-二氧化矽系陶瓷珠粒、氧化釷穩定化氧化鋯珠粒、氮化矽珠粒、氧化鋁珠粒、高純度氧化鋁珠粒、二氧化鈦珠粒等，就對製造醫藥品之使用實績之觀點而言，較佳為氧化釷穩定化氧化鋯珠粒。

再者，氧化釷穩定化氧化鋯珠粒有時被簡稱為氧化鋯珠粒。

**【0132】**

於製備有效成分之微米或奈米粒子之分散液之情形時，可於分散介質中添加選自由界面活性劑、高分子及糖(包含糖醇)所組成之群中之1種以上，並向該溶液或懸浮液中添加有效成分，亦可於分散介質中添加有效成分後，添加選自由界面活性劑、高分子及糖(包含糖醇)所組成之群中之1種以上。

**【0133】**

於有效成分之微米或奈米粒子之分散液包含界面活性劑及高分子之一者或兩者之情形時，分散液中之有效成分與界面活性劑及高分子之一者或兩者之質量比以有效成分/界面活性劑/高分子計，較佳為1/1/1～1/0.01/0.01，更佳為1/0.75/0.75～1/0.1/0.1。

**【0134】**

有效成分亦可藉由濕式粉碎等製備微米或奈米粒子之共結晶。

**【0135】**

於本實施方式中，有效成分亦可懸浮於包含1種或複數種載體、賦形劑及稀釋劑之一者或兩者之懸浮介質中。

### 【0136】

就製造容易性之觀點而言，較佳為微米粒子。又，於期待於活體內不會被巨噬細胞等吞噬之情形時，較佳為微米粒子。就溶解速度之觀點而言，由於表面積較小，故可降低溶解速度。於化合物之溶解性較高而難以長期緩釋之情形時，有時可藉由使用微米粒子來延長緩釋期間。

### 【0137】

就分散穩定性或投予難易度之觀點而言，較佳為奈米粒子。一般而言，尺寸較小、分散性較高之奈米粒子與微米粒子相比，投予更簡便。就溶解速度之觀點而言，由於表面積較大，故可提高溶解速度。有時為了提高尤其是難水溶性化合物之溶解速度，較佳為奈米粒子。

### 【0138】

#### [水性載體之製備步驟]

本實施方式之水性載體之特徵在於包含玻尿酸衍生物。此時，玻尿酸衍生物以任意濃度溶解於藥學上所容許之介質中來使用。例如較佳為注射用水、磷酸緩衝液等上文中已說明過之緩衝液。作為緩衝劑，並無特別限制，只要為具有組合物之pH值為4~10之範圍之緩衝能力之化合物即可。作為緩衝劑之例，可例舉乙酸鈉等乙酸鹽、磷酸二氫鈉、磷酸氫二鈉、磷酸二氫鉀、磷酸氫二鉀磷酸鹽等磷酸鹽、 $\epsilon$ -胺基己酸、麩胺酸鈉等胺基酸鹽、硼酸及其鹽、以及該等之混合物。其中，尤佳為注射用水、磷酸緩衝液、含蔗糖之注射用水、含蔗糖之磷酸緩衝液。

### 【0139】

本實施方式之水性載體中亦可包含pH值調整劑，作為pH值調整劑，可例舉鹽酸、檸檬酸、磷酸、乙酸、酒石酸、氫氧化鈉氫氧化鉀、碳酸鈉及碳酸氫鈉等。

**【0140】**

亦可視需要調配有機酸或無機酸等酸。

又，該等pH值調整劑可單獨使用1種，亦可將2種以上任意組合使用。

**【0141】**

本實施方式之水性載體之pH值並無特別限制，只要為作為醫藥所容許之範圍內即可，例如為4.0~9.0、較佳為4.0~8.8、更佳為6.5~8.8之範圍。

**【0142】**

本實施方式之水性載體中亦可包含螯合化劑，作為螯合化劑，可例舉依地酸二鈉、依地酸三鈉、依地酸四鈉、二伸乙基胺五乙酸、及該等之混合物等。

**【0143】**

本實施方式之水性載體中亦可包含等張劑，可例舉慣用之氯化鈉、甘油、葡萄糖、甘露糖醇及山梨糖醇、蔗糖。等張劑亦可於懸浮有效成分後添加。

**【0144】**

作為其他等張劑，亦可例舉葡萄糖、乳糖、甘露糖醇、鈣或鎂化合物，例如CaCl<sub>2</sub>等。

據日本專利第4758893號公報所記載，藉由調配實質上設為等滲透壓

之濃度(2~2.5%(v/v))之甘油來提高抗菌防腐之效力。因此，不僅期待作為等張劑之功能，亦期待抗菌防腐之效果。甘油之含量例如為0.01~10%(w/v)，較佳為0.05~5%(w/v)，更佳為0.1~3.0%(w/v)，進而較佳為0.3~3.0%(w/v)，尤佳為0.3~2.5%(w/v)。

#### 【0145】

可視需要於本實施方式之水性載體中調配鹼。並無特別限制，只要為作為醫藥所容許之鹼即可，例如可例舉氫氧化鈉、氫氧化鉀、單乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、胺丁三醇、葡甲胺等。

#### 【0146】

可視需要於本實施方式之水性載體中進而調配1或2種以上之黏稠化劑，並無特別限制，只要為作為醫藥所容許者即可。

作為本發明中之水性載體之黏稠化劑，例如可例舉纖維素系高分子(甲基纖維素、乙基纖維素、羥乙基纖維素、羥基丙基甲基纖維素等)、乙烯系高分子(聚乙烯基吡咯啉酮、聚乙烯醇等)、糖類(玻尿酸、其鹽類等糖胺聚糖類、結冷膠、海藻酸鈉、葡聚糖、環糊精等多糖類)、氧伸烷基系高分子(聚氧乙烯聚氧丙烯嵌段共聚物)等。本發明中之黏稠化劑之分子量例如可自數量平均分子量 $0.5 \times 10^4 \sim 100 \times 10^4$ 左右之範圍中選擇。

#### 【0147】

可視需要於本實施方式之水性載體中進而調配1種或2種以上之防腐劑，並無特別限制，只要為作為醫藥所容許者即可。

作為本發明中之水性載體之防腐劑，例如使用氯化苄烷銨、苄索氯銨、葡萄糖酸洛赫西定、對羥基苯甲酸甲酯-對羥基苯甲酸乙酯等對羥基苯甲酸酯類、苄醇、苯乙醇、山梨酸或其鹽、硫柳汞、氯丁醇等。

**【0148】****[混合步驟]**

於混合步驟中，只要以製備步驟中所獲得之上述微粒子之分散液與含有上述玻尿酸衍生物之水相之混合比為任意比率進行混合即可。例如，上述微粒子之分散液與上述含有玻尿酸衍生物之水相之混合比較佳為0.01：100(v/v)~100：100(v/v)。上述含有玻尿酸衍生物之水相之比率越大，越不易產生有效成分於水性載體內之濃度梯度，從而越容易均勻地分散。上述微粒子之分散液之比率越大，越能夠提高有效成分之劑量。

**【0149】**

於混合步驟中，溶解於水相中之玻尿酸衍生物之濃度並無特別限定，相對於水相100質量份，玻尿酸衍生物之濃度較佳為0.01質量份以上10質量份以下，更佳為0.1質量份以上10質量份以下，進而較佳為0.5質量份以上5質量份以下。

**【0150】**

混合步驟後，本實施方式之醫藥組合物中之玻尿酸衍生物濃度並無特別限定，相對於醫藥組合物為100質量份，玻尿酸衍生物之濃度較佳為0.01質量份以上10質量份以下，更佳為0.05質量份以上7.5質量份以下，進而較佳為0.3質量份以上5質量份以下。

**【0151】**

於混合步驟中，溫度並無特別限制。就降低水性載體之黏度之觀點而言，較佳為以50℃以上實施，就有效成分之穩定性之觀點而言，較佳為將溫度設為50℃以下，更佳為設為10℃以上55℃以下，進而較佳為設為15℃以上40℃以下。或可根據有效成分之結構及特性適當設定最佳溫

度。此外，亦可包括例如將微粒子之分散液之溫度調整為15~25°C，將包含玻尿酸衍生物之水性載體之溫度調整為40~50°C，並將溫度不同之2種以上之溶液進行混合之步驟。

#### 【0152】

於混合步驟中，並不限定於批量方式。亦可利用流動法將有效成分之上述分散液及水性載體進行混合。

#### 【0153】

流動法中之反應器之材質及形狀並無特別限定，只要選擇可應用於本發明之製造方法之材質及形狀即可，例如上述分散液及水性載體分別通過之配管之內徑亦可為不同直徑。

#### 【0154】

流動法中之管之材質及形狀並無特別限定，只要選擇可應用於本實施方式之醫藥組合物之製造方法之材質及形狀即可，例如可例舉Teflon(註冊商標)製之管、不鏽鋼管、玻璃管、塑膠管等。

#### 【0155】

於混合步驟中，時間並無特別限定，例如可設為30分鐘以上90小時以下，可設為1小時以上80小時以下。

#### 【0156】

#### [乾燥步驟]

亦可於混合步驟之後進行對所獲得之包含有效成分與玻尿酸衍生物之溶液進行乾燥而獲得乾燥體之乾燥步驟。作為乾燥方法，可例舉與上述「玻尿酸衍生物之製造方法」中所例示之方法相同之方法。例如可例舉冷凍乾燥、噴霧乾燥、減壓乾燥機、超臨界乾燥。

**【0157】****<投予方法>**

投予本實施方式之醫藥組合物之對象可例舉被分類成包含人之哺乳類之動物(猴、絨猴、小鼠、大鼠、牛、馬、貓、狗、豬、羊、山羊、兔子等)。

**【0158】**

本實施方式之醫藥組合物之投予路徑並無特別限定，可根據目標用途或要治療之組織之位置等適當用於當前公知之投予路徑。

例如投予路徑可例舉皮下投予、肌肉內投予、靜脈內投予、動脈內投予、髓腔內投予、腦內投予、關節腔內投予、腹腔內投予、鞘內投予、囊內投予、直腸內投予、玻璃體內投予、眼周投予、皮內投予、腹腔內投予、鼻腔內投予、經支氣管投予、經肺投予、經皮投予、舌下投予、經口投予、口腔投予、滴眼投予。其中，較佳為皮下投予、肌肉內投予、玻璃體內投予、髓腔內投予、關節腔內投予。

又，作為局部投予，亦可製成散劑、霜、軟膏或滴眼藥。

作為藉由注射之投予，可例舉皮下注射、肌肉內注射、靜脈內注射、動脈內注射、髓腔內注射、關節腔內注射、腹腔內注射、玻璃體內注射、眼周注射、皮內注射腫瘤內注射等。

**【0159】**

投予部位較佳為皮下、肌肉內、髓腔內、關節腔內、腦內、玻璃體內、眼表面、鼻、肺、口。更佳為皮下、肌肉內、髓腔內、關節腔內、玻璃體內、眼表面。

**【0160】**

投予方法較佳為注射、滴眼或塗佈。

### 【0161】

於滴眼中，藉由使用玻尿酸衍生物，藥物之初期爆發減少，製劑保管過程中及投予後之藥物彼此可能會產生之凝集得到抑制，藥效差異減少，可於生理條件下沈澱並接著、滯留於角膜上皮，藉此，可更長期緩釋藥物，減少滴眼次數。進而亦想到藥物對角膜上皮細胞之組入得到促進、對結膜上皮細胞之組入得到促進等。又，可提供一種具有源自玻尿酸之較高之保濕性、黏性、生物相容性，可緩解製劑接觸時之炎症、疼痛、壓力、損傷等而安全性較高之製劑。根據以上，藉由有效率地引出藥物之效果，可提供一種淚液層穩定效果、角膜上皮障礙治療效果、瞼板腺功能不全治療效果、疼痛抑制效果優異之醫藥組合物。

### 【0162】

於膝關節內投予中，與潤滑液中所存在之玻尿酸之適配性較佳，且玻尿酸衍生物沈澱，藉此，可有效地抑制藥物之初期爆發。進而，藉由與OA(Osteoarthritis，骨關節炎)治療等所使用之已有醫藥品即高分子量之玻尿酸(ARTZ、SUVENYL等)一起投予，可使保持有藥物之玻尿酸衍生物之沈澱物更長期滯留於膝關節內。

### 【0163】

於本實施方式之醫藥組合物中，於非經口性投予之情形時，其投予量可考慮到投予對象之種類(亦包含年齡或性別等)等適當選擇，一般而言，例如於人(體重設為60 kg)之情況下，以有效成分之量計，每次可設為0.01  $\mu\text{g}$ 以上100 mg以下，可設為0.1  $\mu\text{g}$ 以上50 mg以下，可設為1  $\mu\text{g}$ 以上25 mg以下。

**【0164】**

關於投予次數，可為上述投予量之單次投予，亦可為將上述投予量每1週、2週、3週、4週、1個月、2個月、3個月或半年投予1次等、2次以上之複數次投予。或亦可於1次投予中投予2處以上。

**【0165】**

《其他實施方式》

於一實施方式中，本發明提供一種包括將上述醫藥組合物之有效量投予至患者或患畜之選自由癌症、感染症、免疫疾病、炎症性鬆弛、過敏疾病、皮膚疾病、高血壓症、糖尿病、神經疾病、遺傳性疾病、心血管疾病、腦血管疾病、呼吸器官疾病、眼疾病、耳疾病、骨關節疾病、疼痛疾病所組成之群中之1種以上之疾病之預防或治療方法。

又，此處所言之「有效量」包含對預防或治療有效之量，即適合上述疾病之發病預防或治療之量。

**【0166】**

於一實施方式中，本發明提供一種包含上述有效成分-玻尿酸衍生物複合體之組合物，該組合物用於選自由癌症、感染症、免疫疾病、炎症性鬆弛、過敏疾病、皮膚疾病、高血壓症、糖尿病、神經疾病、遺傳性疾病、心血管疾病、腦血管疾病、呼吸器官疾病、眼疾病、耳疾病、骨關節疾病、疼痛疾病所組成之群中之1種以上之疾病之預防或治療。

**【0167】**

於一實施方式中，本發明提供一種用於製造醫藥組合物之上述有效成分與玻尿酸衍生物混合物之用途。

**【0168】**

於一實施方式中，本發明提供一種於活體內或活體外長期緩釋有效成分之方法，該方法包括投予包含上述有效成分及玻尿酸衍生物之組合物。

#### 【0169】

本發明之一態樣係一種醫藥品組合物，其包含懸浮於包含在活體或生理條件下沈澱或鹽析之基材之水性載體中之有效成分，上述有效成分係分子量為200 g/mol以上5000 g/mol以下之微粒子。

#### 【0170】

「於活體或生理條件下沈澱或鹽析之基材」例如為玻尿酸衍生物、泊洛沙姆、未修飾幾丁聚糖或幾丁聚糖衍生物、肽類似物。

於本發明之一態樣中，於活體或生理條件下沈澱或鹽析之基材較佳為玻尿酸衍生物，較佳為包含懸浮於水性載體中之有效成分之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

若使用玻尿酸衍生物作為基材，則於投予部位不易產生炎症，生物相容性優異。進而，產生玻尿酸衍生物所具有之羧酸與活體內之二價鹽之離子交聯或經修飾之甾基彼此之高密度之交聯，藉此，相較於其他基材而言，可更穩定地保持藥物，帶來初期爆發抑制及長期之緩釋效果。

#### 【0171】

於本發明之一態樣中，是否為於活體或生理條件下沈澱或鹽析之基材可利用以下方法進行確認。

首先，將溶解成所需濃度之基材添加至磷酸緩衝液或含0.8%BSA之磷酸緩衝液中。其後，於37°C下培養並進行離心分離，若能夠固液分離，則判斷為基材於生理鹽水中沈澱或鹽析。培養之時間可任意選擇。

**【0172】**

磷酸緩衝液之濃度例如係最終濃度為1×PBS(大致10 mM PB，150 mM NaCl)。pH值接近中性，通常處於7.1~7.7之範圍內。

離心分離時之離心條件可適當變更，作為一例，為9800 g。

**【0173】**

於本發明之一態樣中，於溶解成所需濃度之450  $\mu$ L之幾丁聚糖或肽類似物中添加150  $\mu$ L之4×PBS(最終濃度1×PBS)，然後於上述條件下培養，進而利用尺寸排除層析法(Size Exclusion Chromatography；SEC)或逆相層析法(HPLC)定量於離心分離中沈澱之玻尿酸衍生物之上清液，藉此，可定量於生理條件下沈澱、鹽析之幾丁聚糖或肽類似物之比率。可利用SEC或HPLC之任一者進行定量，適當選擇便可。

**【0174】**

於本發明之一態樣中，於溶解成所需濃度之450  $\mu$ L之幾丁聚糖或肽類似物中添加150  $\mu$ L之含3.2%BSA之4×PBS(最終濃度含0.8%BSA之1×PBS)，然後於上述條件下培養，進而利用尺寸排除層析法(Size Exclusion Chromatography；SEC)或逆相層析法(HPLC)測定於離心分離中沈澱之玻尿酸衍生物之上清液，藉此，可測定於生理條件下沈澱、鹽析之幾丁聚糖或肽類似物之比率。可利用SEC或HPLC之任一者進行測定，適當選擇便可。

**【0175】**

於本發明之一態樣中，亦可藉由實際投予至活體中並確認沈澱或者投予至所採集之組織中並確認沈澱，來確認於生理鹽條件下沈澱、鹽析之玻尿酸衍生物。

**【0176】**

沈澱之比率較佳為所溶解之玻尿酸衍生物之總量中之10~100%，較佳為40%以上、50%以上、60%以上，更佳為70%以上，進而更佳為80%以上，最佳為90%以上。

**【0177】**

於活體或生理條件下沈澱或鹽析之基材於投予至體內後凝膠化。藉由該作用，醫藥品組合物中所含之有效成分之微粒子不易凝集或不易擴散。結果，容易提供一種可於活體內無差異地長期維持有效成分之濃度且初期釋放量異常(初期爆發)經減少之醫藥品組合物。

[實施例]

**【0178】**

以下，藉由實施例對本發明詳細地進行說明，但該等並無意圖將本發明之範圍限制於實施例。

**【0179】**

<實施例1>

利用以下方法製造玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

**【0180】**

[環孢素A懸浮液之製備]

稱量720 mg環孢素A((東京化成工業公司製造，商品編號：C2408))置於30 mL之玻璃小瓶中，並添加14.4 mL之0.01%聚山梨糖醇酯80。進而，添加0.2 mm ZrO<sub>2</sub>珠粒(Nikkato公司製造)10 g，並添加14.4 mL之1%聚山梨糖醇酯80。放入轉子，利用磁力攪拌器攪拌11天而進行微粉碎。利用注射器取出環孢素A之懸浮液並放入15 mL錐形管中，以10,000 g離心

60分鐘，去除上清液。進而，添加10倍量之注射用水，以10,000 g離心60分鐘，去除上清液，獲得環孢素之懸浮液。使用DLS裝置(大塚電子製造，ELSZ2000)測定利用0.05%聚山梨糖醇酯80水溶液將上述環孢素懸浮液稀釋200倍而奈米化之環孢素之粒徑，結果平均粒徑為171 nm，多分散指數為0.12。以下述條件定量環孢素濃度，結果為117.7 mg/mL。

### 【0181】

(逆相層析法分析條件)

HPLC裝置：日本分光HPLC-EXTREMA

[HPLC定量條件：逆相層析法分析條件]

管柱：InertSustain C18 粒徑5  $\mu\text{m}$ ×內徑4.6 mm×長度150 mm

管柱溫度：40°C

流動相：溶離液A 0.1%TFA(Trifluoroacetic acid，三氟乙酸)/乙腈

溶離液B 0.1%TFA/水

流動相比：溶離液A/溶離液B = 9/1

流速：1 mL/min

注入量：30  $\mu\text{L}$

檢測器：UV(Ultraviolet，紫外線)(210 nm)

### 【0182】

對上述所獲得之環孢素之懸浮液進行真空乾燥，將所獲得之粉末置於無反射試樣台之上，並以下述條件進行測定。將所獲得之X射線粉末繞射波峰示於圖1中。得知為結晶性。

### 【0183】

(XRD之測定條件)

測定裝置：Rigaku Ultima-IV

X射線源：Cu-K $\alpha$

激發電壓：電壓40 kV，電流40 mA

光學系統：集中光學系統

Cu-K $\beta$ 射線濾波器：鎳箔

吸收器：無

檢測器：Dtex(高感度檢測器)

測定方式： $\theta/2\theta$ 法

狹縫：DS = 1°，SS = 解放，RS = 解放，縱向狹縫 = 10 mm

2 $\theta/2\theta$ 掃描：2 $\theta$  = 2 ~ 65°(0.02°/步進、10°/分鐘)

#### 【0184】

上述所獲得之環孢素係分子量為1202.6 g/mol、粒徑為171 nm之奈米粒子。

#### 【0185】

[玻尿酸奈米凝膠之製備]

如國際公開第2010/053140號之實施例1及2所記載般，合成導入膽固醇基而成之玻尿酸奈米凝膠(重量平均分子量為35kDa，膽固醇基之導入率為19%)。有時將所合成之玻尿酸奈米凝膠記載為「HA衍生物」。

#### 【0186】

於溶解成濃度6 mg/mL之HA衍生物中添加磷酸緩衝液。其後，於37°C下培養並進行離心分離，結果能夠固液分離。因此，判斷HA衍生物於生理鹽水中沈澱或鹽析。

#### 【0187】

於上述[環孢素A懸浮液之製備]中所製備之環孢素A懸浮液中混合上述[玻尿酸奈米凝膠之製備]中所合成之HA衍生物(35k19)之12 mg/mL水溶液，進而添加10%蔗糖溶液。藉此，製造實施例1-1、1-2之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。將所製備之樣品示於表1中。下述表中，「CyA濃度」意指環孢素A之濃度。最終蔗糖濃度為8.7%。

**【0188】**

[表1]

	CyA濃度	35k19濃度
實施例1-1	懸浮	10 mg/mL
	10 mg/mL	
實施例1-2	懸浮	5 mg/mL
	10 mg/mL	

**【0189】**

<比較例1-1>

將環孢素A粉末以成為0.5 mg/mL之比率溶解於10% $\alpha$ 環糊精/10%蔗糖溶液中，製成比較例1-1。

**【0190】**

<比較例1-2>

將200 mg/mL之環孢素A之乙醇溶液與上述[玻尿酸奈米凝膠之製備]中所合成之HA衍生物(35k19)之12 mg/mL水溶液進行混合，並攪拌一夜。以粉末形式添加蔗糖，製成10%蔗糖溶液。最終環孢素濃度為1.0 mg/mL，35k19濃度為9 mg/mL。

**【0191】**

<比較例1-3>

於上述[環孢素A懸浮液之製備]中所製備之環孢素A懸浮液中混合1%聚山梨糖醇酯80水溶液、10%蔗糖溶液。最終環孢素濃度為10 mg/mL，

聚山梨糖醇酯80濃度為0.05%，蔗糖濃度為8.7%。

### 【0192】

<藥物動態試驗>

將實施例1中所製備之實施例1-1、實施例1-2及比較例1-1~1-3之各樣品以表2所示之用量，使用25G針之注射器投予至正常大鼠(SD、6週、雄)之皮下。

### 【0193】

[表2]

	CyA之形態及濃度	35k19濃度	CyA用量 (mg/kg)
比較例1-1	溶液	0 mg/mL	2.2 mg/kg
	0.5 mg/mL		
比較例1-2	溶液	9 mg/mL	5.0 mg/kg
	0.8 mg/mL		
比較例1-3	懸浮	0 mg/mL	25 mg/kg
	10 mg/mL		
實施例1-1	懸浮	10 mg/mL	25 mg/kg
	10 mg/mL		
實施例1-2	懸浮	5 mg/mL	25 mg/kg
	10 mg/mL		

### 【0194】

投予後，利用經時性地進行過肝素處理之注射器進行頸靜脈採血，添加EDTA-K<sub>2</sub>作為蛋白酶抑制劑。

### 【0195】

將所獲得之血液進行血漿分離，利用LC-MS/MS(Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry，液相色譜-質譜聯用儀)進行測定。將各種環孢素懸浮製劑投予時之環孢素之血漿中濃度推移分別示於圖2及圖3中。

### 【0196】

根據圖2，比較例1-1及比較例1-3確認到初期釋放量異常。另一方面，實施例1-1及實施例1-2未確認到初期釋放量異常。

進而，根據圖2，實施例1-1及實施例1-2即便投予後經過28天，亦維持10 ng/mL以上之血中濃度，確認到發揮出長期緩釋性。

#### 【0197】

另一方面，比較例1-3於投予後經過28天時，血中濃度降低至未達7 ng/mL，未能確認到長期緩釋效果。

根據本結果顯示出，即便有效成分懸浮，但於未懸浮於包含玻尿酸衍生物之水性載體中之情形時，有效成分之微粒子於活體內擴散，故容易產生初期釋放量異常，而無法發揮長期緩釋。

#### 【0198】

有效成分未懸浮且水性載體中不包含玻尿酸衍生物之比較例1-1於7天後，於血中未檢測到環孢素。即幾乎確認不到緩釋效果。根據本結果顯示出，於皮下投予後， $\alpha$ 環糊精於生理鹽水濃度下不會凝膠化、沈澱，故為了實現長期緩釋，需要如玻尿酸衍生物般原位凝膠化、沈澱。

#### 【0199】

又，根據圖3，有效成分與玻尿酸衍生物形成複合體且有效成分未懸浮之醫藥組合物即比較例1-2確認到初期釋放量異常，投予後經過10天時，血中濃度降低至未達7 ng/mL，未能確認到長期緩釋效果。

根據本結果，於有效成分未懸浮於包含玻尿酸衍生物之水性載體中之情形時，雖然玻尿酸衍生物以原位於生理鹽水濃度下凝膠化，但無法獲得長期緩釋效果。

#### 【0200】

於本說明書中，緩釋性係藉由平均滯留時間(MRT(Mean Residual Time))進行評價，更具體而言，於滿足下述式(A)之情形時，評價為「可於活體內長期維持有效成分之濃度」。

(玻尿酸衍生物醫藥品組合物之MRT(時間))÷(有效成分單獨之MRT(時間))≥1.2 . . . 式(A)

利用式(A)對緩釋性進行評價，結果明確，相對於比較例1-3，實施例1-1為3.8，相對於比較例1-3，實施例1-2為2.8，具有緩釋性。

### 【0201】

於本說明書中，初期釋放量異常(初期爆發)係藉由最高血中濃度C<sub>max</sub>進行評價，更具體而言，於滿足下述式(B)之情形時，評價為「可減少初期釋放量異常(初期爆發)」。

{(玻尿酸衍生物醫藥品組合物之最高血中濃度C<sub>max</sub>[ng/mL])÷(有效成分之用量[mg/kg])}÷{(有效成分單獨之C<sub>max</sub>[ng/mL])÷(有效成分之用量[mg/kg])}≤0.8 . . . 式(B)

### 【0202】

利用式(B)對初期爆發進行評價，結果明確，相對於比較例1-3，實施例1-1為0.21，實施例1-2為0.30，可減少初期釋放量異常。

### 【0203】

於上文中，下述藥物動態參數係藉由WinNonlin Ver.8.3(Pharsight公司製造)進行非室體解析，將其值示於表3中。

- 平均滯留時間(MRT)、單位：小時
- 半衰期(T<sub>1/2</sub>)、單位：小時
- 最高血中濃度(C<sub>max</sub>)、單位：ng/mL

**【0204】**

[表3]

	CyA用量 (mg/kg)	T1/2 (h)	MRT (h)	Cmax (ng/mL)
比較例1-1	2.2 mg/kg	20.1	26.9	211
比較例1-2	5.0 mg/kg	50.6	81.1	121
比較例1-3	25 mg/kg	184	183	200
實施例1-1	25 mg/kg	391	690	41.5
實施例1-2	25 mg/kg	311	518	59

**【0205】**

## &lt; 實驗例1：沈澱評價 &gt;

使用30G針之注射器將實施例1中所製備之實施例1-1、實施例1-2滴加至0.8%BSA/PBS溶液中，結果形成夾帶有固體狀態之環孢素之沈澱物。

另一方面，將比較例1-3中所製備之比較樣品1-3滴加至上述溶液中，結果均未形成沈澱物。

**【0206】**

## &lt; 實驗例2：沈澱評價 &gt;

對玻尿酸衍生物之種類之影響進行驗證。

**【0207】**

## [玻尿酸奈米凝膠之製備]

如國際公開第2010/053140號之實施例1及2所記載般，合成導入膽固醇基而成之玻尿酸奈米凝膠(重量平均分子量為10kDa，膽固醇基之導入率為30%)。

**【0208】**

於上述實施例1[環孢素A懸浮液之製備]中所製備之環孢素A懸浮液中混合上述[玻尿酸奈米凝膠之製備]中所合成之HA衍生物(10k30)之30

mg/mL水溶液，其後，利用注射用水以成為下表4之濃度之方式進行調整。藉此，製造實施例2-1之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。將所製備之樣品示於表4中。下述表中，「CyA濃度」意指環孢素A之濃度。

**【0209】**

[表4]

	CyA濃度	10k30濃度
實施例2-1	懸浮	20 mg/mL
	10 mg/mL	

**【0210】**

使用30G針之注射器將實施例2-1滴加至0.8%BSA/PBS溶液中，結果形成夾帶有固體狀態之環孢素之沈澱物。

**【0211】**

< 實驗例3：玻璃體內之沈澱評價 >

自豬眼球(Cosmo Bio公司)取出玻璃體液。使用注射器將實施例1中所製備之實施例1-1投予至玻璃體液中。將其結果示於圖4中。

如圖4所示，確認到形成夾帶有固體狀態之環孢素之沈澱物。

**【0212】**

< 實施例4：玻璃體內投予 >

利用以下方法製造玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

**【0213】**

[環孢素A懸浮液之製備]

利用與實施例1相同之方法製備，獲得環孢素之懸浮液。使用DLS裝置(大塚電子製造，ELSZ2000)進行測定，結果平均粒徑為171 nm，多分散指數為0.12。以下述條件定量環孢素濃度，結果為117.7 mg/mL。

**【0214】**

(逆相層析法分析條件)

HPLC裝置：日本分光HPLC-EXTREMA

[HPLC定量條件：逆相層析法分析條件]

管柱：InertSustain C18 粒徑5  $\mu\text{m}$ ×內徑4.6 mm×長度150 mm

管柱溫度：40°C

流動相：溶離液A 0.1%TFA/乙腈

溶離液B 0.1%TFA/水

流動相比：溶離液A/溶離液B = 9/1

流速：1 mL/min

注入量：30  $\mu\text{L}$

檢測器：UV(210 nm)

**【0215】**

[玻尿酸奈米凝膠之製備]

如國際公開第2010/053140號之實施例1及2所記載般，合成導入膽固醇基而成之玻尿酸奈米凝膠(重量平均分子量為35kDa，膽固醇基之導入率為19%)。

**【0216】**

於上述[環孢素A懸浮液之製備]中所製備之環孢素A懸浮液中混合上述[玻尿酸奈米凝膠之製備]中所合成之HA衍生物(35k19)之含10%蔗糖之12 mg/mL水溶液，進而添加10%蔗糖溶液。藉此，製造含有CyA濃度40 mg/mL之實施例4-1之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。最終蔗糖濃度為6.6%。

## 【0217】

## &lt;比較例4-1&gt;

使用上述[環孢素A懸浮液之製備]中所製備之環孢素A懸浮液，以CyA濃度成為40 mg/mL之比率與0.05%聚山梨糖醇酯水溶液進行混合，進而添加10%蔗糖溶液，製成比較例4-1。最終蔗糖濃度為6.1%。

## 【0218】

## &lt;比較例4-2&gt;

稱量1000kDa之玻尿酸(Kikkoman公司製造，FCH-120)之粉末置於滅菌小瓶中，並以10 mg/mL之濃度溶解於10%蔗糖水溶液中。使用所調整之1000kDa之玻尿酸(Kikkoman公司製造，FCH-120)水溶液、上述[環孢素A懸浮液之製備]中所製備之環孢素A懸浮液及10%蔗糖水溶液，以CyA濃度成為40 mg/mL、玻尿酸濃度成為6.6 mg/mL之比率進行混合，製成比較例4-2。最終蔗糖濃度為6.6%。

## 【0219】

## &lt;藥物動態試驗&gt;

使用28G針之注射器將實施例4中所製備之實施例4-1及比較例4-1～4-2之各樣品以0.8 mg/頭之用量投予至正常大鼠(SD、6週、雄)之玻璃體內。

## 【0220】

[表5]

	CyA之形態及濃度	35k19濃度
實施例4-1	懸浮	5 mg/mL
	40 mg/mL	
比較例4-1	懸浮	0 mg/mL
	40 mg/mL	
比較例4-2	懸浮	0 mg/mL
	40 mg/mL	

**【0221】**

投予後，利用經時性地進行過肝素處理之注射器進行頸靜脈採血，添加EDTA-K<sub>2</sub>作為蛋白酶抑制劑。

**【0222】**

將所獲得之血液進行血漿分離，利用LC-MS/MS進行測定。將各種環孢素懸浮製劑投予時之環孢素之血漿中濃度推移示於圖5中。又，分別將實施例4-1之製劑投予時之環孢素之血漿中濃度推移示於圖6中，將比較例4-1之製劑投予時之環孢素之血漿中濃度推移示於圖7中，將比較例4-2之製劑投予時之環孢素之血漿中濃度推移示於圖8中。

**【0223】**

根據圖5，比較例4-1及比較例4-2確認到初期釋放量異常。另一方面，實施例4-1未確認到初期釋放量異常。

進而，根據圖6~8之結果，於比較例4-1或比較例4-2中，於n=3中之所有群中，無法跨及長期間(28天)緩釋CyA，另一方面，於實施例4-1中，相對於n=3之所有投予群，不均較少，確認到長期緩釋。

**【0224】**

根據本結果得知，即便投予後有效成分懸浮，於玻尿酸中亦無法抑制初期釋放量。即便為如玻尿酸般高黏度之製劑，由於玻尿酸於生理鹽水濃度下不會凝膠化、沈澱，故為了實現長期緩釋，亦需要如玻尿酸衍生物般原位凝膠化、沈澱。

**【0225】**

繼而，以與實施例1相同之方法，藉由WinNonlin Ver.8.3(Pharsight公司製造)對下述藥物動態參數進行非室體解析，將其值示於表6中。

- 平均滯留時間(MRT)、單位：小時
- 半衰期(T1/2)、單位：小時
- 最高血中濃度(Cmax)、單位：ng/mL

## 【0226】

[表6]

	T1/2 (h)	MRT (h)	Cmax (ng/mL)
實施例4-1	178.7	343.8	10.7
比較例4-1	162.5	198.3	29.1
比較例4-2	140.9	158.5	36.4

## 【0227】

利用式(A)對緩釋性進行評價，結果明確，相對於比較例4-1，實施例4-1為1.7，相對於比較例4-2，實施例4-1為2.2，具有緩釋性。

## 【0228】

利用式(B)對初期爆發進行評價，結果明確，相對於比較例4-1，實施例4-1為0.37，相對於比較例4-2，實施例4-1為0.29，能夠減少初期釋放量異常。

## 【0229】

<實施例5：膝關節內投予>

於與實施例4相同之製劑中使用實施例5-1之玻尿酸衍生物醫藥組合物、比較例5-1之含聚山梨糖醇酯之醫藥組合物、作為比較例5-2之含玻尿酸之醫藥組合物。

## 【0230】

<藥物動態試驗>

使用28G針之注射器將實施例4中所製備之實施例5-1及比較例5-1～

5-2之各樣品以0.8 mg/頭之用量投予至正常大鼠(SD、6週、雄)之膝關節內。

### 【0231】

[表7]

	CyA之形態及濃度	35k19濃度
實施例5-1	懸浮	5 mg/mL
	40 mg/mL	
比較例5-1	懸浮	0 mg/mL
	40 mg/mL	
比較例5-2	懸浮	0 mg/mL
	40 mg/mL	

### 【0232】

投予後，利用經時性地進行過肝素處理之注射器進行頸靜脈採血，添加EDTA-K<sub>2</sub>作為蛋白酶抑制劑。

### 【0233】

將所獲得之血液進行血漿分離，利用LC-MS/MS進行測定。將各種環孢素懸浮製劑投予時之環孢素之血漿中濃度推移示於圖9中。

### 【0234】

根據圖5，比較例5-1及比較例5-2確認到初期釋放量異常。另一方面，實施例5-1未確認到初期釋放量異常。

進而，根據圖6~8之結果，於比較例4-1或比較例4-2中，於n=3中之所有群中，無法跨及長期間(28天)緩釋CyA，另一方面，於實施例4-1中，對於n=3之所有投予群，不均較少，確認到長期緩釋。

### 【0235】

根據本結果得知，即便投予後有效成分懸浮，玻尿酸亦無法抑制初期釋放量。顯示關於如玻尿酸般高黏度之製劑，亦由於玻尿酸於生理鹽水

濃度下不會凝膠化、沈澱，故如玻尿酸衍生物般原位凝膠化、沈澱對於實現長期緩釋為必需。

### 【0236】

繼而，以與實施例1相同之方法，藉由WinNonlin Ver.8.3(Pharsight公司製造)對下述藥物動態參數進行非室體解析，將其值示於表6中。

- 平均滯留時間(MRT)、單位：小時
- 半衰期(T1/2)、單位：小時
- 最高血中濃度(Cmax)、單位：ng/mL

### 【0237】

[表8]

	T1/2 (h)	MRT (h)	Cmax (ng/mL)
實施例5-1	151.6	185.6	26.1
比較例5-1	154.3	189.7	36.3
比較例5-2	160.0	159.2	42.5

### 【0238】

利用式(A)對緩釋性進行評價，結果，相對於比較例5-1，實施例5-1為1.2，相對於比較例5-2，實施例5-1為1.0，由於緩釋性均較高而幾乎未確認到差異。

### 【0239】

利用式(B)對初期爆發進行評價，結果，相對於比較例5-1，實施例5-1為0.61，相對於比較例5-2，實施例5-1為0.72，可知能夠減少初期釋放量異常。

### 【0240】

根據本結果得知，於膝關節內投予中，僅有使用玻尿酸衍生物之醫

藥組合物達成兼顧長期緩釋及抑制爆發。

**【0241】**

<實施例6：皮下投予>

利用以下方法製造玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

**【0242】**

[環孢素A懸浮液之製備]

以與實施例1相同之方法製備，獲得環孢素之懸浮液。使用DLS裝置(大塚電子製造，ELSZ2000)進行測定，結果，平均粒徑為157 nm，多分散指數為0.225。以下述條件定量環孢素濃度，結果為64.7 mg/mL。

**【0243】**

(逆相層析法分析條件)

HPLC裝置：日本分光HPLC-EXTREMA

[HPLC定量條件：逆相層析法分析條件]

管柱：InertSustain C18 粒徑5 μm×內徑4.6 mm×長度150 mm

管柱溫度：40℃

流動相：溶離液A 0.1%TFA/乙腈

溶離液B 0.1%TFA/水

流動相比：溶離液A/溶離液B = 9/1

流速：1 mL/min

注入量：30 μL

檢測器：UV(210 nm)

**【0244】**

[玻尿酸奈米凝膠之製備]

如國際公開第2010/053140號之實施例1及2所記載般，合成導入膽固醇基而成之玻尿酸奈米凝膠(重量平均分子量為35kDa，膽固醇基之導入率為19%)。

#### 【0245】

於上述[環孢素A懸浮液之製備]中所製備之環孢素A懸浮液中混合上述[玻尿酸奈米凝膠之製備]中所合成之HA衍生物(35k19)之含10%蔗糖之12 mg/mL水溶液，進而添加10%蔗糖溶液。藉此，製造含有CyA濃度10 mg/mL之實施例6-1之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。將所製備之樣品示於表9中。最終蔗糖濃度為8.5%。

#### 【0246】

##### <比較例6-1>

使用上述[環孢素A懸浮液之製備]中所製備之環孢素A懸浮液，以CyA濃度成為10 mg/mL之比率溶解於含0.05%聚山梨糖醇酯之10%蔗糖水溶液中，進而添加10%蔗糖溶液，製成比較例6-1。最終蔗糖濃度為8.5%。

#### 【0247】

##### <比較例6-2>

稱量35kDa之玻尿酸(Bloomage Biotech公司製造)之粉末置於滅菌小瓶中，並以12 mg/mL之濃度溶解於10%蔗糖水溶液中。使用所調整之含35kDa之玻尿酸之10%蔗糖水溶液、上述[環孢素A懸浮液之製備]中所製備之環孢素A懸浮液及10%蔗糖水溶液，以CyA濃度成為10 mg/mL、玻尿酸濃度成為5 mg/mL之比率進行混合，製成比較例6-2。最終蔗糖濃度為8.5%。

## 【0248】

## &lt;比較例6-3&gt;

稱量Poloxamer 338(Aldrich公司製造)之粉末置於滅菌小瓶中，並以150 mg/mL之濃度溶解於10%蔗糖水溶液中。使用所調整之含Poloxamer 338之10%蔗糖水溶液、上述[環孢素A懸浮液之製備]中所製備之環孢素A懸浮液及10%蔗糖水溶液，以CyA濃度成為10 mg/mL、Poloxamer 338濃度成為50 mg/mL之比率進行混合，製成比較例6-3。最終蔗糖濃度為8.5%。

## 【0249】

## &lt;藥物動態試驗&gt;

使用25G針之注射器將實施例6中所製備之實施例6-1及比較例6-1~6-3之各樣品以25 mg/kg之用量投予至正常大鼠(SD、6週、雄)之皮下。

## 【0250】

[表9]

	CyA之形態及濃度	35k19濃度
實施例6-1	懸浮	5 mg/mL
	10 mg/mL	
比較例6-1	懸浮	0 mg/mL
	10 mg/mL	
比較例6-2	懸浮	0 mg/mL
	10 mg/mL	
比較例6-3	懸浮	0 mg/mL
	10 mg/mL	

## 【0251】

投予後，利用經時性地進行過肝素處理之注射器進行頸靜脈採血，添加EDTA-K<sub>2</sub>作為蛋白酶抑制劑。

## 【0252】

將所獲得之血液進行血漿分離，利用LC-MS/MS進行測定。將各種環孢素懸浮製劑投予時之環孢素之血漿中濃度推移示於圖10中。

### 【0253】

根據圖10，比較例6-1、比較例6-2及比較例6-3確認到初期釋放量異常。另一方面，實施例6-1未確認到初期釋放量異常。

### 【0254】

根據本結果得知，即便投予後有效成分懸浮，於玻尿酸或溫度響應性高分子Poloxamer中亦無法抑制初期釋放量。實施例6-3所使用之50 mg/mL之Poloxamer 338係懸浮製劑Rekambys(Janssen Pharma公司)中所使用之添加劑，濃度亦相同。該等製劑於生理鹽水濃度下不會沈澱，故為了兼顧初期爆發抑制及長期緩釋，需要如玻尿酸衍生物般原位凝膠化、沈澱。

### 【0255】

繼而，以與實施例1相同之方法，藉由WinNonlin Ver.8.3(Pharsight公司製造)對下述藥物動態參數進行非室體解析，將其值示於表10中。

- 平均滯留時間(MRT)、單位：小時
- 半衰期(T1/2)、單位：小時
- 最高血中濃度(Cmax)、單位：ng/mL

### 【0256】

[表10]

	T1/2 (h)	MRT (h)	Cmax (ng/mL)
實施例6-1	485	760	56
比較例6-1	287	288	212
比較例6-2	695	897	191
比較例6-3	443	253	388

**【0257】**

利用式(A)對緩釋性進行評價，結果明確，相對於比較例6-1，實施例6-1為2.6，相對於比較例6-2，實施例6-1為0.8，相對於比較例6-3，實施例6-1為3.0，相對於比較例6-1及比較例6-3，具有極其長期之緩釋性。

**【0258】**

利用式(B)對初期爆發進行評價，結果明確，相對於比較例6-1，實施例6-1為0.26，相對於比較例6-2，實施例6-1為0.29，相對於比較例6-3，實施例6-1為0.14，藉由使用玻尿酸衍生物，能夠大幅減少初期釋放量異常。

**【0259】****<實施例7>**

利用以下方法製造伊曲康唑之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

**【0260】**

於96孔板中添加2.5 mg伊曲康唑((東京化成工業公司製造)，並添加0.05 mL之0.01%聚山梨糖醇酯80。進而添加0.2 mm之ZrO<sub>2</sub>珠粒(Nikkato公司製造)200 mg，並添加0.05 mL之1%聚山梨糖醇酯80。放入轉子，利用磁力攪拌器攪拌3天而進行微粉碎。採集一部分，並利用0.01%聚山梨糖醇酯80稀釋200倍後，使用DLS裝置(大塚電子製造，ELSZ2000)進行測定，結果平均粒徑為371 nm，多分散指數為0.21。於該伊曲康唑懸浮液0.05 mL中混合實施例1[玻尿酸奈米凝膠之製備]中所合成之HA衍生物(35k19)之12 mg/mL水溶液0.05 mL，製造伊曲康唑之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。將該醫藥品組合物滴加至皮下模擬液(包含0.8%BSA(牛血清白蛋白)之PBS溶液)中，結果確認到該玻尿酸衍生物醫藥品組合物凝膠化。

第二天可目視確認沈澱物，即便振盪，凝膠亦維持形狀。

### 【0261】

#### <邏輯性實施例1>

可利用以下方法製造大環狀肽MK-0616(Merck公司製造，分子量1616.0)之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

### 【0262】

稱量720 mg之MK-0616置於30 mL之玻璃小瓶中，並添加14.4 mL之0.01%聚山梨糖醇酯80。進而添加0.2 mm之ZrO<sub>2</sub>珠粒(Nikkato公司製造)10 g，並添加14.4 mL之1%聚山梨糖醇酯80。放入轉子，並利用磁力攪拌器攪拌3天而進行微粉碎。利用注射器取出MK-0616之懸浮液並放入15 mL錐形管中，以10,000 g離心60分鐘，去除上清液。

### 【0263】

進而，添加10倍量之注射用水，以10,000 g離心60分鐘，去除上清液，獲得MK-0616之懸浮液。於該MK-0616懸浮液1.0 mL中混合上述實施例1[玻尿酸奈米凝膠之製備]中所合成之HA衍生物(35k19)之12 mg/mL水溶液1.0 mL，製造MK-0616之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。若將該醫藥品組合物滴加至皮下模擬液(包含0.8%BSA(牛血清白蛋白)之PBS溶液)中，則可充分推定該玻尿酸衍生物醫藥品組合物會凝膠化、沈澱。

### 【0264】

#### <邏輯性實施例2>

可利用以下方法製造胰島素結晶(分子量5800)之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

### 【0265】

依據日本藥典(第十四修正)獲得結晶性胰島素鋅水性懸浮注射液。亦可依據Galenics of Insulin, Jens Brange, SpringerVerlag, 1987.代替日本藥典(第十四修正)所記載之方法來製備結晶性胰島素鋅水性懸浮注射液。於結晶性胰島素鋅水性懸浮注射液1.0 mL中混合上述實施例1[玻尿酸奈米凝膠之製備]中所合成之HA衍生物(35k19)之12 mg/mL水溶液1.0 mL，製造胰島素結晶之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。若將該醫藥品組合物滴加至皮下模擬液(包含0.8%BSA(牛血清白蛋白)之PBS溶液)中，則可充分推定該玻尿酸衍生物醫藥品組合物會凝膠化、沈澱。

### 【0266】

#### <邏輯性實施例3>

可利用以下方法製造卡巴氮平-糖精共結晶(卡巴氮平分子量236.3)之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

### 【0267】

依據日本專利特表2007-507554所記載之方法獲得卡巴氮平-糖精共結晶。稱量720 mg之卡巴氮平-糖精共結晶置於30 mL之玻璃小瓶中，並添加14.4 mL之0.01%聚山梨糖醇酯80。進而添加0.2 mm之ZrO<sub>2</sub>珠粒(Nikkato公司製造)10 g，並添加14.4 mL之1%聚山梨糖醇酯80。放入轉子，並利用磁力攪拌器攪拌3天而進行微粉碎。利用注射器取出卡巴氮平-糖精共結晶之懸浮液並放入15 mL錐形管中，以10,000 g離心60分鐘，去除上清液。進而，添加10倍量之注射用水，以10,000 g離心60分鐘，去除上清液，獲得卡巴氮平-糖精之懸浮液。於該卡巴氮平-糖精共結晶懸浮液1.0 mL中混合實施例1[玻尿酸奈米凝膠之製備]中所合成之HA衍生物(35k19)之12 mg/mL水溶液1.0 mL，製造卡巴氮平-糖精之玻尿酸衍生物

醫藥品組合物。若將該醫藥品組合物滴加至皮下模擬液(包含0.8%BSA(牛血清白蛋白)之PBS溶液)中，則可充分推定該玻尿酸衍生物醫藥品組合物會凝膠化、沈澱。

#### 【0268】

##### <邏輯性實施例4>

可利用以下方法製造伊曲康唑(分子量705.6)之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

#### 【0269】

稱量720 mg之伊曲康唑(東京化成工業公司製造)置於30 mL之玻璃小瓶中，並添加14.4 mL之0.01%聚山梨糖醇酯80。進而添加0.2 mm之ZrO<sub>2</sub>珠粒(Nikkato公司製造)10 g，並添加14.4 mL之1%聚山梨糖醇酯80。放入轉子，並利用磁力攪拌器攪拌3天而進行微粉碎。利用注射器取出伊曲康唑之懸浮液並放入15 mL錐形管中，以10,000 g離心60分鐘，去除上清液。進而，添加10倍量之注射用水，以10,000 g離心60分鐘，去除上清液，獲得伊曲康唑之懸浮液。有該伊曲康唑懸浮液1.0 mL中混合實施例2中所合成之HA衍生物(10k30)之40 mg/mL水溶液3.0 mL，製造伊曲康唑之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。若將該醫藥品組合物滴加至皮下模擬液(包含0.8%BSA(牛血清白蛋白)之PBS溶液)中，則可充分推定該玻尿酸衍生物醫藥品組合物會凝膠化、沈澱。

#### 【0270】

##### <邏輯性實施例5>

可利用以下方法製造大環狀肽MK-0616(Merck公司製造，分子量1616.0)之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

**【0271】**

稱量720 mg之MK-0616置於30 mL之玻璃小瓶中，並添加14.4 mL之0.01%聚山梨糖醇酯80。進而添加0.2 mm之ZrO<sub>2</sub>珠粒(Nikkato公司製造)10 g，並添加14.4 mL之1%聚山梨糖醇酯80。放入轉子，並利用磁力攪拌器攪拌3天而進行微粉碎。利用注射器取出MK-0616之懸浮液並放入15 mL錐形管中，以10,000 g離心60分鐘，去除上清液。進而，添加10倍量之注射用水，以10,000 g離心60分鐘，去除上清液，獲得MK-0616之懸浮液。於該MK-0616懸浮液1.0 mL中混合實施例2[玻尿酸奈米凝膠之製備]中所合成之HA衍生物(10k30)之40 mg/mL水溶液3.0 mL，製造MK-0616之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。若將該醫藥品組合物滴加至皮下模擬液(包含0.8%BSA(牛血清白蛋白)之PBS溶液)中，則可充分推定該玻尿酸衍生物醫藥品組合物會凝膠化、沈澱。

**【0272】**

## &lt;邏輯性實施例6&gt;

可利用以下方法製造胰島素結晶(分子量5800)之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

**【0273】**

依據日本藥典(第十四修正)獲得結晶性胰島素鋅水性懸浮注射液。亦可依據Galenics of Insulin, Jens Brange, SpringerVerlag, 1987.代替日本藥典(第十四改正)所記載之方法來製備結晶性胰島素鋅水性懸浮注射液。於結晶性胰島素鋅水性懸浮注射液1.0 mL中混合實施例2[玻尿酸奈米凝膠之製備]中所合成之HA衍生物(10k30)之40 mg/mL水溶液3.0 mL，製造胰島素結晶之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。若將該醫藥品組合物滴加至皮下

模擬液(包含0.8%BSA(牛血清白蛋白)之PBS溶液)中，則可充分推定該玻尿酸衍生物醫藥品組合物會凝膠化、沈澱。

#### 【0274】

##### <邏輯性實施例7>

可利用以下方法製造卡巴氮平-糖精共結晶(卡巴氮平分子量236.3)之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

#### 【0275】

依據日本專利特表2007-507554號公報獲得卡巴氮平-糖精共結晶。稱量720 mg之卡巴氮平-糖精共結晶置於30 mL之玻璃小瓶中，並添加14.4 mL之0.01%聚山梨糖醇酯80。進而添加0.2 mm ZrO<sub>2</sub>珠粒(Nikkato公司製造)10 g，並添加14.4 mL之1%聚山梨糖醇酯80。放入轉子，並利用磁力攪拌器攪拌3天而進行微粉碎。利用注射器取出卡巴氮平-糖精共結晶之懸浮液並放入15 mL錐形管中，以10,000 g離心60分鐘，去除上清液。進而，添加10倍量之注射用水，以10,000 g離心60分鐘，去除上清液，獲得卡巴氮平-糖精之懸浮液。於該卡巴氮平-糖精共結晶懸浮液1.0 mL中混合實施例2[玻尿酸奈米凝膠之製備]中所合成之HA衍生物(10k30)之40 mg/mL水溶液3.0 mL，製造卡巴氮平-糖精之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。若將該醫藥品組合物滴加至皮下模擬液(包含0.8%BSA(牛血清白蛋白)之PBS溶液)中，則可充分推定該玻尿酸衍生物醫藥品組合物會凝膠化、沈澱。

#### 【0276】

##### <邏輯性實施例8>

可利用以下方法製造乙醯胺酚(東京化成工業公司製造，分子量

151.2)之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

**【0277】**

稱量720 mg之乙醯胺酚置於30 mL之玻璃小瓶中，並添加14.4 mL之0.01%聚山梨糖醇酯80。進而添加0.2 mm之ZrO<sub>2</sub>珠粒(Nikkato公司製造)10 g，並添加14.4 mL之1%聚山梨糖醇酯80。放入轉子，並利用磁力攪拌器攪拌3天而進行微粉碎。利用注射器取出乙醯胺酚之懸浮液並放入15 mL錐形管中，以10,000 g離心60分鐘，去除上清液。

**【0278】**

進而，添加10倍量之注射用水，以10,000 g離心60分鐘，去除上清液，獲得乙醯胺酚之懸浮液。於該乙醯胺酚懸浮液1.0 mL中混合上述實施例1[玻尿酸奈米凝膠之製備]中所合成之HA衍生物(35k19)之12 mg/mL水溶液1.0 mL，製造乙醯胺酚之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。若將該醫藥品組合物滴加至皮下模擬液(包含0.8%BSA(牛血清白蛋白)之PBS溶液)中，則可充分推定該玻尿酸衍生物醫藥品組合物會凝膠化、沈澱。

**【0279】**

<邏輯性實施例9>

可利用以下方法製造乙醯胺酚(東京化成工業公司製造，分子量151.2)之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

**【0280】**

稱量720 mg之乙醯胺酚置於30 mL之玻璃小瓶中，並添加14.4 mL之0.01%聚山梨糖醇酯80。進而添加0.2 mm之ZrO<sub>2</sub>珠粒(Nikkato公司製造)10 g，並添加14.4 mL之1%聚山梨糖醇酯80。放入轉子，並利用磁力攪拌器攪拌3天而進行微粉碎。利用注射器取出乙醯胺酚之懸浮液並放入

15 mL錐形管中，以10,000 g離心60分鐘，去除上清液。

**【0281】**

進而，添加10倍量之注射用水，以10,000 g離心60分鐘，去除上清液，獲得乙醯胺酚之懸浮液。於該乙醯胺酚懸浮液1.0 mL中混合上述實施例2[玻尿酸奈米凝膠之製備]中所合成之HA衍生物(10k30)之40 mg/mL水溶液3.0 mL，製造乙醯胺酚之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。若將該醫藥品組合物滴加至皮下模擬液(包含0.8%BSA(牛血清白蛋白)之PBS溶液)中，則可充分推定該玻尿酸衍生物醫藥品組合物會凝膠化、沈澱。

[產業上之可利用性]

**【0282】**

根據本實施方式之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，可提供一種於活體內長期維持有效成分之濃度且初期釋放量異常(初期爆發)經減少之玻尿酸衍生物醫藥品組合物。

## 【發明申請專利範圍】

## 【請求項1】

一種玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其係包含懸浮於包含玻尿酸衍生物之水性載體中之有效成分者，

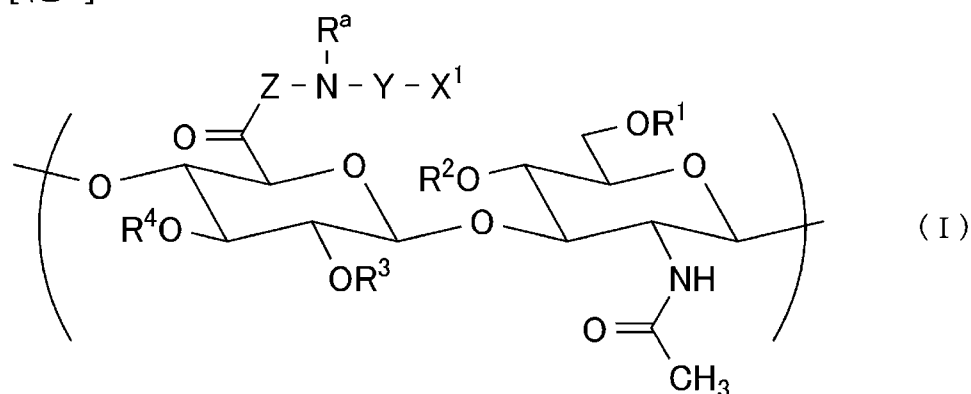
上述有效成分係分子量為100 g/mol以上8000 g/mol以下之微粒子，

上述微粒子係微米粒子或奈米粒子。

## 【請求項2】

如請求項1之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其中上述玻尿酸衍生物具有1個以上之下述通式(I)所表示之重複單元，

[化1]



(式中， $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、及 $R^4$ 分別獨立地為選自由氫原子、 $C_{1-6}$ 烷基、甲醯基及 $C_{1-6}$ 烷基羰基所組成之群中之基；Z表示直接鍵、或包含2個以上30個以下之任意胺基酸殘基之肽連接子；

$X^1$ 係選自由 $-NR^b-R$ 、 $-NR^b-COO-R$ 、 $-NR^b-CO-R$ 、 $-NR^b-CO-NR^c-R$ 、 $-COO-R$ 、 $-O-COO-R$ 、 $-S-R$ 、 $-CO-Y^a-S-R$ 、 $-O-CO-Y^b-S-R$ 、 $-NR^b-CO-Y^b-S-R$ 、及 $-S-S-R$ 所表示之基所組成之群中之基；

$R^a$ 、 $R^b$ 及 $R^c$ 分別獨立地為選自由氫原子、 $C_{1-20}$ 烷基、胺基 $C_{2-20}$ 烷基及羥基 $C_{2-20}$ 烷基所組成之群中之基； $R^a$ 、 $R^b$ 及 $R^c$ 之烷基部分可插入有選

自由-O-及-NR<sup>f</sup>-所組成之群中之基；

R<sup>f</sup>係選自由氫原子、C<sub>1-12</sub>烷基、胺基C<sub>2-12</sub>烷基及羥基C<sub>2-12</sub>烷基所組成之群中之基；R<sup>f</sup>之烷基部分可插入有選自由-O-及-NH-所組成之群中之基；

R係疏水性基，該疏水性基係膽固醇基；

Y係C<sub>2-30</sub>伸烷基或-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-；此處，Y之伸烷基可插入有選自由-O-、-NR<sup>g</sup>-及-S-S-所組成之群中之基；

R<sup>g</sup>係選自由氫原子、C<sub>1-20</sub>烷基、胺基C<sub>2-20</sub>烷基及羥基C<sub>2-20</sub>烷基所組成之群中之基；R<sup>g</sup>之烷基部分可插入有選自由-O-及-NH-所組成之群中之基；

Y<sup>a</sup>係C<sub>1-5</sub>伸烷基；

Y<sup>b</sup>係C<sub>2-8</sub>伸烷基或C<sub>2-8</sub>伸烯基；

m為1以上100以下之整數)。

### 【請求項3】

如請求項1或2之醫藥品組合物，其中上述玻尿酸衍生物於活體或生理條件下沈澱或鹽析。

### 【請求項4】

如請求項1或2之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其中上述有效成分係難水溶性之藥物。

### 【請求項5】

如請求項1或2之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其中上述有效成分係環狀肽。

### 【請求項6】

如請求項5之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其中上述環狀肽之環狀大小包含4至49個胺基酸。

**【請求項7】**

如請求項5之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其中上述環狀肽包含非天然胺基酸。

**【請求項8】**

如請求項5之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其中構成上述環狀肽之胺基酸為8種以上20種以下。

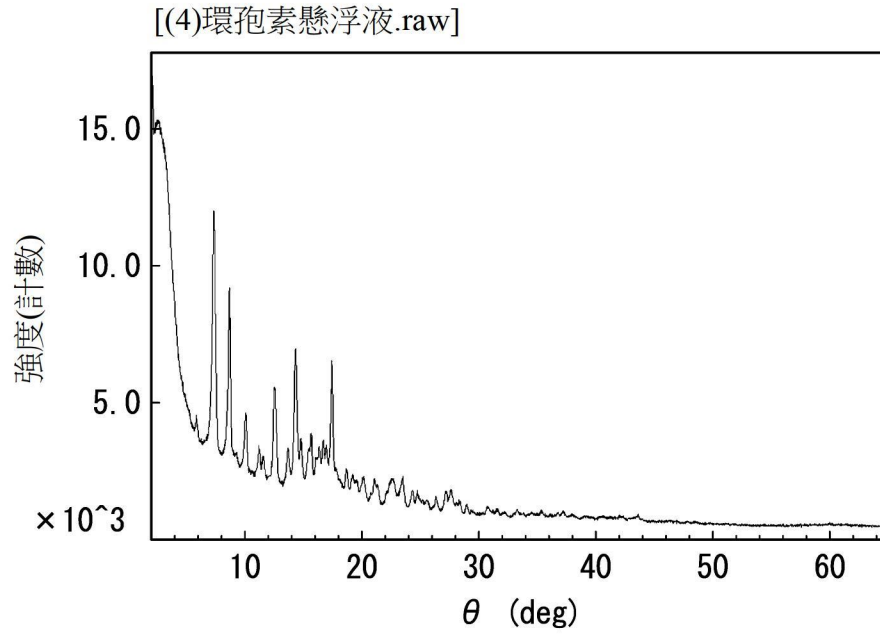
**【請求項9】**

如請求項1或2之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其投予部位為皮下、肌肉內、髓腔內、關節腔內、腦內、玻璃體內、眼表面、鼻、肺、口。

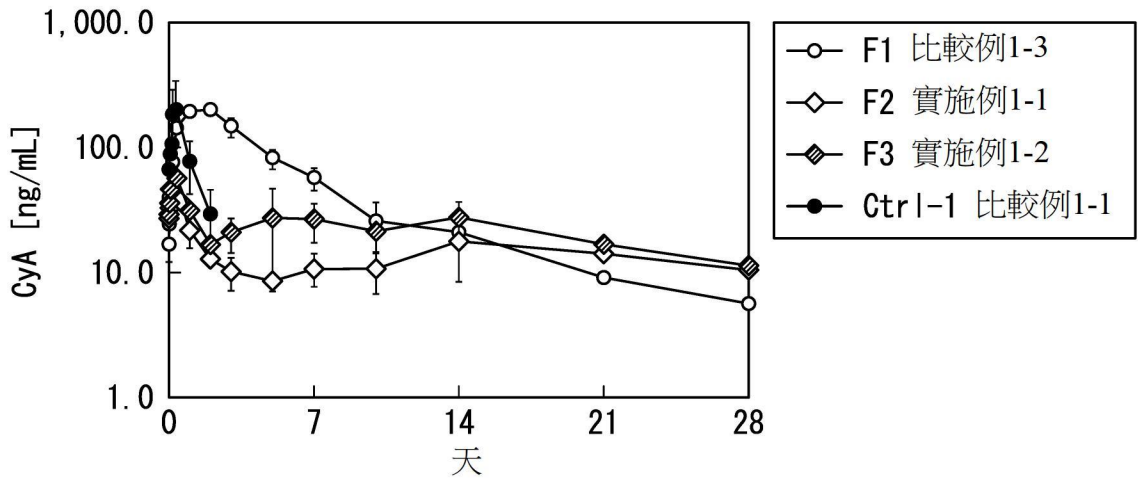
**【請求項10】**

如請求項1或2之玻尿酸衍生物醫藥品組合物，其投予方法為注射、滴眼或塗佈。

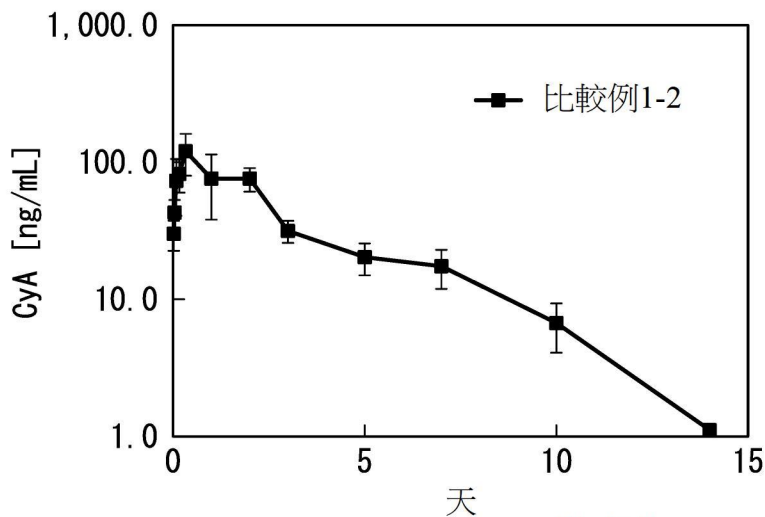
【發明圖式】



【圖1】



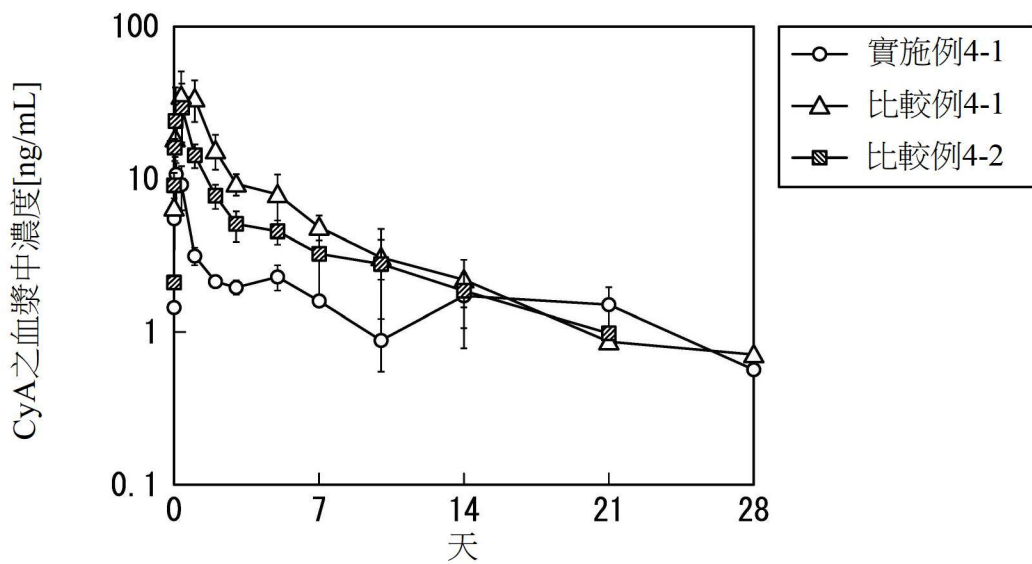
【圖2】



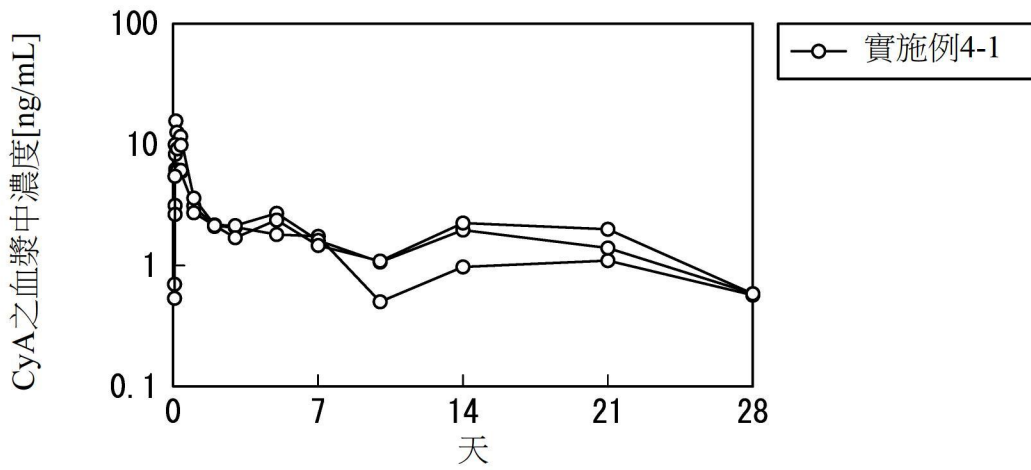
【圖3】



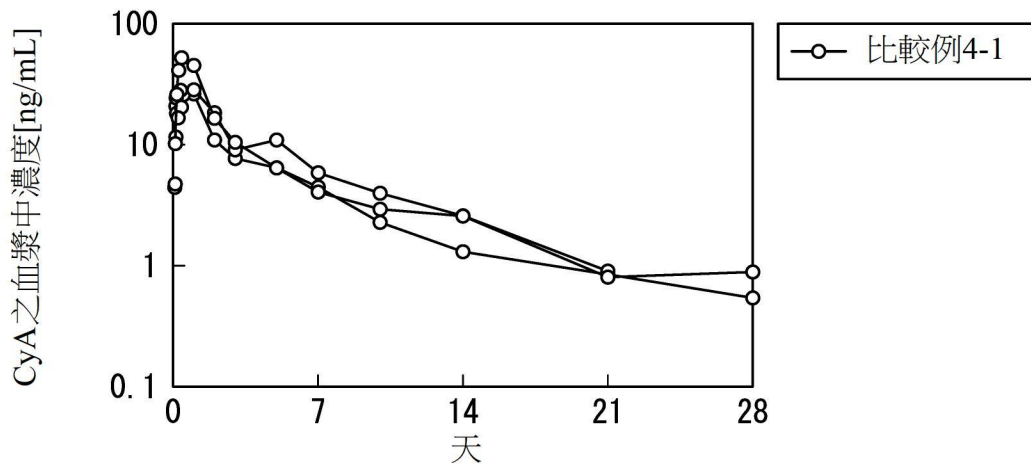
【圖4】



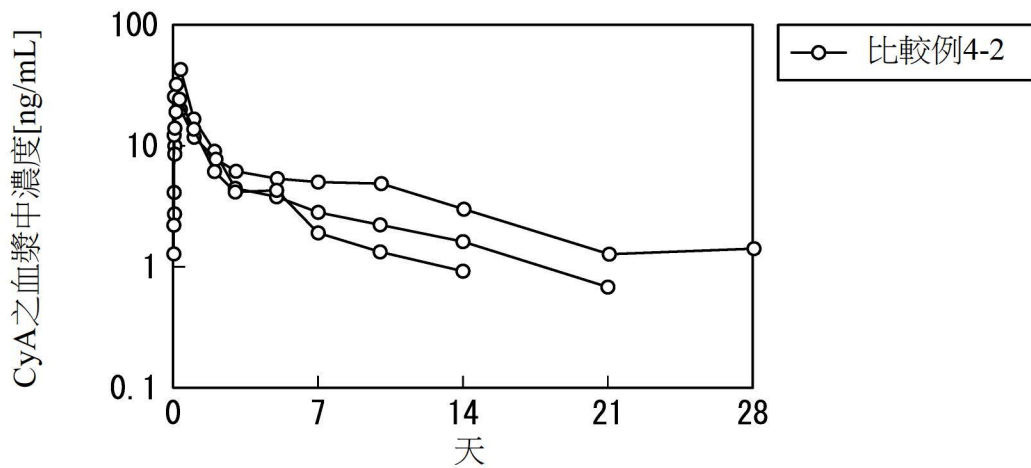
【圖5】



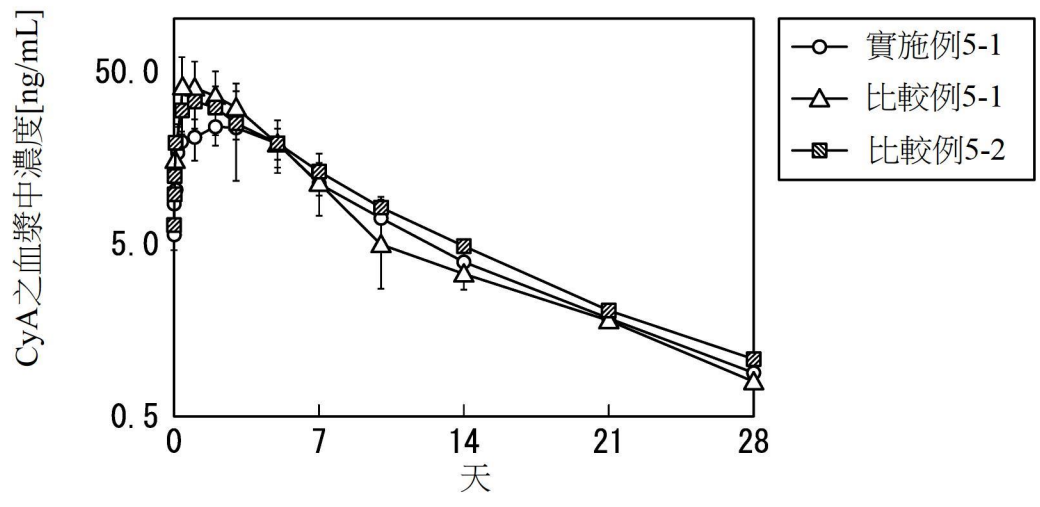
【圖6】



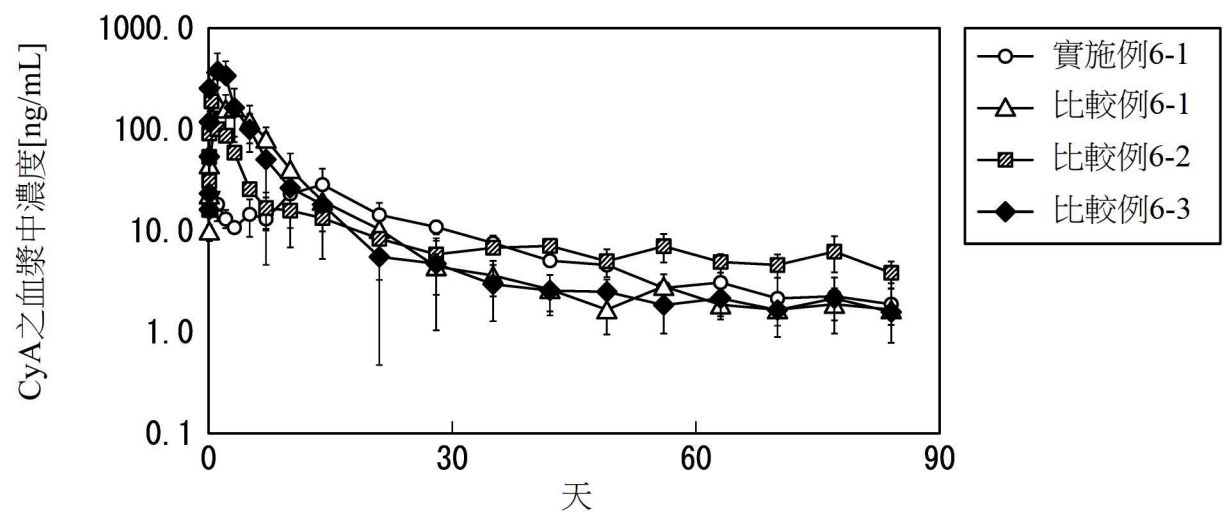
【圖7】



【圖8】



【圖9】



【圖10】