

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5681626号  
(P5681626)

(45) 発行日 平成27年3月11日 (2015. 3. 11)

(24) 登録日 平成27年1月16日 (2015. 1. 16)

(51) Int. Cl. F I  
**A 6 1 K 47/28 (2006. 01)**  
**A 6 1 K 47/22 (2006. 01)**  
**A 6 1 K 47/24 (2006. 01)**  
**A 6 1 K 47/34 (2006. 01)**  
**A 6 1 K 45/00 (2006. 01)**

A 6 1 K 47/28  
A 6 1 K 47/22  
A 6 1 K 47/24  
A 6 1 K 47/34  
A 6 1 K 45/00

請求項の数 22 (全 55 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2011-518059 (P2011-518059)  
(86) (22) 出願日 平成21年7月14日 (2009. 7. 14)  
(65) 公表番号 特表2011-528031 (P2011-528031A)  
(43) 公表日 平成23年11月10日 (2011. 11. 10)  
(86) 国際出願番号 PCT/IL2009/000701  
(87) 国際公開番号 W02010/007623  
(87) 国際公開日 平成22年1月21日 (2010. 1. 21)  
審査請求日 平成24年7月5日 (2012. 7. 5)  
(31) 優先権主張番号 61/080, 289  
(32) 優先日 平成20年7月14日 (2008. 7. 14)  
(33) 優先権主張国 米国 (US)  
(31) 優先権主張番号 61/154, 785  
(32) 優先日 平成21年2月24日 (2009. 2. 24)  
(33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 511012178  
ポリーベイド リミテッド  
POLYPID LTD.  
イスラエル国 74047 ネス ジョ  
ーナ ハマズメーラ ストリート 13  
(74) 代理人 100147485  
弁理士 杉村 憲司  
(74) 代理人 100119530  
弁理士 富田 和幸  
(74) 代理人 100144266  
弁理士 鈴木 一寿  
(72) 発明者 ノーム エマニエル  
イスラエル国 96954 エルサレム  
ハナメア ストリート 5

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 徐放性薬剤キャリア組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

a. ステロールおよびトコフェロールから選択される第1の脂質と非共有結合的に会合している生分解性ポリマーと、

b. DMPC、DMPE、DPPE、DSPC、DPPCおよびDOPCからなる群から選択される少なくとも1つのリン脂質を含む第2の脂質と、

c. 少なくとも1つの薬学的活性物質とを含む基質組成物であって、

該薬学的活性物質の少なくとも50%がゼロ次速度過程で該基質組成物から放出される、基質組成物。

【請求項 2】

前記基質組成物が、1質量%未満の水を含む請求項1に記載の基質組成物。

【請求項 3】

前記生分解性ポリマーが、PLA (ポリ乳酸)、PGA (ポリグリコール酸) およびPLGA (ポリ(乳酸-グリコール酸)) からなる群から選択された生分解性ポリエステルである請求項1または2に記載の基質組成物。

【請求項 4】

前記薬学的活性物質が、抗生物質、抗真菌薬、非ステロイド抗炎症薬、ステロイド、抗癌剤、骨形成因子および骨吸収抑制剤から選択される請求項1~3のいずれか1項に記載の基質組成物。

## 【請求項 5】

前記第1の脂質がステロールを含む請求項1～4のいずれか1項に記載の基質組成物。

## 【請求項 6】

全脂質対前記生分解性ポリマーの質量比が、1.5:1～9:1である請求項1～5のいずれか1項に記載の基質組成物。

## 【請求項 7】

前記基質組成物が均質である請求項1～6のいずれか1項に記載の基質組成物。

## 【請求項 8】

トコフェロールを更に含む請求項1～7のいずれか1項に記載の基質組成物。

## 【請求項 9】

スフィンゴ脂質；14以上の炭素原子を有する遊離脂肪酸；前記DMPC、DMPE、DPPE、DSPC、DPPCおよびDOPCからなる群から選択される少なくとも1つのリン脂質に対する追加のリン脂質であって、ホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロールおよびホスファチジイノシトールからなる群から選択される追加のリン脂質；並びに、コラーゲン分子、フィブリン分子およびヘパリンからなる群から選択される標的分子と相互作用可能な標的部分；からなる群から選択される化合物を更に含む請求項1～8のいずれか1項に記載の基質組成物。

## 【請求項 10】

ペグ化脂質を更に含む請求項1～9のいずれか1項に記載の基質組成物。

## 【請求項 11】

前記ステロールがコレステロールである請求項1～10のいずれか1項に記載の基質組成物。

## 【請求項 12】

前記コレステロールが前記基質組成物の総脂質含有量の5～50モル%の量で存在する請求項11に記載の基質組成物。

## 【請求項 13】

前記薬学的活性物質の少なくとも60%がゼロ次速度過程で前記組成物から放出される請求項1～12のいずれか1項に記載の基質組成物。

## 【請求項 14】

請求項1～13のいずれか1項に記載の基質組成物を含むインプラント。

## 【請求項 15】

請求項1～13のいずれか1項に記載の基質組成物を含む薬学的活性物質の徐放用の医薬組成物。

## 【請求項 16】

請求項1～13のいずれか1項に記載の基質組成物を含み、薬学的活性物質が抗生物質、抗真菌薬および非ステロイド抗炎症薬から選択される、歯周炎の治療用医薬組成物。

## 【請求項 17】

請求項1～13のいずれか1項に記載の基質組成物を含み、薬学的活性物質が骨原性因子および骨吸収抑制剤から選択される、骨増生の刺激用医薬組成物。

## 【請求項 18】

基板と、該基板の少なくとも一部分上に堆積させた生体適合性コーティングとを備え、該生体適合性コーティングが請求項1～13のいずれか1項に記載の基質組成物を含む医療装置。

## 【請求項 19】

前記生体適合性コーティングが多層を含む請求項18に記載の医療装置。

## 【請求項 20】

前記基板が、ヒドロキシアパタイト、ステンレス鋼、コバルトクロム、チタン合金、タンタル、セラミックおよびゼラチンからなる群から選択される少なくとも1つの材料を含む請求項18または19に記載の医療装置。

## 【請求項 21】

整形外科用爪、整形外科用ねじ、整形外科用ステーブル、整形外科用ワイヤ、整形外科用ピン、金属またはポリマーインプラント、骨充填材粒子、コラーゲンおよび非コラーゲンメンブレン、縫合材料、整形外科用セメント並びにスポンジから選択される基板のコーティング用の請求項1~13のいずれか1項に記載の基質組成物の使用。

【請求項22】

基質組成物を製造するに当たり、

a. 第1の揮発性有機溶媒に(i)生分解性ポリマーと、(ii)ステロールおよびトコフェロールから選択される第1の脂質とを混合するステップと、

b. 第2の揮発性有機溶媒に(i)少なくとも1つの薬学的活性物質と、(ii)DMPC、DMP E、DPPE、DSPC、DPPCおよびDOPCからなる群から選択される第2の脂質とを混合するステップと、

c. 該ステップ(a)および(b)で得られた生成物を混合して均質混合物を生成するステップと、

d. 該揮発性有機溶媒を室温以上60以下の温度にて蒸発させて均質基質組成物を生成するステップとを備え、該各ステップが水溶液の不在下で行われる請求項1~13のいずれか1項に記載の基質組成物の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、生分解性ポリマーを有する脂質ベース基質を含む活性成分の持続放出のための組成物を提供する。本発明はまた、基質組成物の製造方法および該基質組成物を用いて必要とする被検体における活性成分の制御放出を付与する方法を提供する。

【背景技術】

【0002】

脂質ベース薬剤送達システムは、薬学の技術分野で周知である。典型的には、これらのシステムを用いて、生体利用効率の低い若しくは毒性の高いまたはその両方を有する薬剤を処方する。広く受け入れられている剤形には、小さい単層ベシクル、多重膜ベシクルおよび他の多くのタイプのリポソームを含めた多くの異なるタイプのリポソーム；油中水型エマルジョン、水中油型エマルジョン、水中油中水型ダブルエマルジョン、サブミクロンエマルジョンおよびマイクロエマルジョンを含めた異なるタイプのエマルジョン；ミセルおよび他の多くの疎水性薬剤キャリアがある。これらのタイプの脂質ベース送達システムは、標的薬剤の送達、毒性の低減、代謝安定性の向上等を可能にするように特殊化することができる。数日間、数週間およびより長い期間にわたる持続放出は、一般に生体内の脂質ベース薬剤送達システムに関連するプロファイルではない。

【0003】

理想的な徐放性薬剤送達システムは、使用する特定の賦形剤のタイプおよび割合によって容易に制御される動力学的特性および他の特性を示すべきである。有利なことには、徐放性薬剤送達システムは親水性、両親媒性および疎水性薬剤向けの解決策を提供する。

【0004】

〔歯周炎〕

全身性ドキシサイクリンおよびNSAIDの併用療法への使用は、慢性歯周炎患者の歯肉の組織損傷を抑制することが分かっている。組織損傷は、病原菌の活動とホストマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)の活性とが相俟って引き起こされる。抗炎症薬物と併用した抗生物質治療がこれらの2つの経路を抑制する。これら薬物を制御下で局所的に放出させることにより、薬効の向上および治療による副作用の軽減を達成する。

【0005】

〔骨増生〕

骨増生を必要とする骨疾患には、良性および悪性骨腫瘍、骨内の癌、感染性骨疾患の他、内分泌学的要因、自己免疫的要因、栄養不足、遺伝学的要因および骨の成長と吸収の不均衡に関する病因による他の骨疾患がある。例えば、骨肉腫/骨の悪性線維性組織球腫(

10

20

30

40

50

PDQ)、骨肉腫、軟骨性肉腫、ユーイング肉腫、悪性線維性組織球腫、線維肉腫および悪性線維性組織球腫、骨巨細胞腫、脊索腫、リンパ腫、多発性骨髄腫、骨関節症、骨パジェット病、関節炎、退行性変化、骨粗鬆症、骨形成不全症、骨棘、腎性骨異栄養症、副甲状腺機能亢進症、骨髄炎、内軟骨腫、骨軟骨腫、大理石骨病、糖尿病に関連する骨および関節の異常といった疾患がある。

#### 【0006】

即時性および遅発性感染が整形外科の分野における主な合併症である。整形外科的処置後の合併症を低減することは整形外科的処置の効率化および成功をもたらし、場合によっては死亡率を低下させることになる。また、感染部位の処置可能性および感染部位の処置有効性も要求される。

10

#### 【0007】

整形外科または整形外科手術の分野における別の重要な側面は、修復および再生手順におけるソフトおよびハードな組織修復を迅速化する必要があることである。

#### 【0008】

[薬剤送達におけるリポソームおよび生分解性ポリマー]

これまで脂質と生体ポリマーの併用法が企図されてきたが、臨床現場への導入はまだ成功していない。

#### 【0009】

ボスウェル等の米国特許第3,773,919号には、乳酸、グリコール酸およびそれらのコポリマーを含めたヒドロキシカルボン酸由来のポリマーの使用、およびその徐放性製剤への使用が記載されている。かかるポリマーは緩徐な生分解性を示すが、典型的には薬剤保持能力を制限する。

20

#### 【0010】

リポソームがレンク等の米国特許第4,522,803号に記載されている。リポソームは、通常十分な薬剤送達薬剤保持能力を示すが、生体内半減期を比較的制限する。多くの異なるタイプのリポソームが特定の用途向けに開発された。その例は、とりわけ米国特許第5,043,166号、同第5,316,771号、同第5,919,480号、同第6,156,337号、同第6,162,462号、同第6,787,132号、同第7,160,554号で確認することができる。

#### 【0011】

シュナイダー等の米国特許第6,333,021号および同第6,403,057号には、気体コアを封入する生分解性膜を有するマイクロカプセルが開示されている。この膜は、空気または気体で充填されたコアを封入する最大75質量%の生分解性ポリマーを有する水不溶性脂質を含む。このマイクロカプセルは、非合着性、乾燥状態、且つ即時分散可能とすることができ、治療に有効な薬剤用の送達賦形剤および/または体器官撮像用の造影剤として有用である。該マイクロカプセルは、溶解脂質を含む有機溶液および界面活性剤を含有する水溶液から油中水型エマルションを作製する方法によって製造される。凍結乾燥させた混合物を水性担体中に再分散し、マイクロカプセルを乾燥する。該プロセス全体にわたって水が存在するため、耐水性の脂質飽和基質の形成が妨げられ、従って、これら材料が生体内でバルクタイプの分解に曝される。

30

#### 【0012】

サンカラムの米国特許第6,277,413号および同6,793,938号には、下記の工程で形成した生分解性の脂質/ポリマー含有組成物が開示されている：a) 第1の水相と、揮発性有機溶媒、有機溶媒に可溶性生分解性ポリマーもしくはコポリマー、および脂質を含む揮発性有機溶媒相とから油中水型エマルションを形成し、b) 「油中水型」エマルションを界面活性剤の無い第2の水相中に分散させて溶媒小球を形成し、c) 溶媒小球から揮発性有機溶媒を除去して第2の水相中に懸濁した微小球組成物を形成する。ここに記載された方法は、耐水性の脂質飽和基質の形成を妨げる水溶液を利用する。

40

#### 【0013】

チャンの米国特許第4,882,167号には、疎水性炭水化物ポリマー、例えばエチルセルロース、消化困難な可溶性成分、即ちワックス、例えばカルナウバワックス、脂肪酸材料ま

50

たは中性脂質の乾式直接圧縮によって生成した生物学的活性物質の錠剤またはインプラント用の放出制御基質が開示されている。ここで利用される炭水化物ポリマーは、注射または移植投与後数週間または数か月間のスケールでの放出には適さない。また、これらの組成物があらゆる溶媒（水性または有機）なしで生成されるため、均質な脂質飽和基質構造体の形成を妨げる。

#### 【 0 0 1 4 】

福平等の米国特許出願公開第2006/0189911号には、生分解性ポリマーとしてのポリ乳酸およびリン脂質とで形成したハニカムフィルムの抗接着膜が開示されている。送達システムとしての使用、例えば抗生物質またはNSAID薬に関する膜の修飾についての記載はない。また、ここで開示された膜は高湿度条件下で鑄造する必要があるため、耐水性の脂質飽和基質の形成を妨げ、従ってこれらのインプラントが生体内でバルクタイプの分解に曝される。

10

#### 【 0 0 1 5 】

ユースバーグ ヴァーレン等の米国特許出願公開第2006/0073203号には、ポリマー、脂質および生物活性物質の乾燥混合物を含む経口投与可能な組成物が開示されている。この組成物は、水または胃腸液との接触時に脂質および生物活性物質、随意選択で水も含む粒子を形成することが企図されている。ここで利用されるポリマーは、例えば1日未満の期間の消化過程において消化管内で分解される。かかる組成物は、注射または移植投与後数週間または数か月間のスケールでの放出にはまったく適さない。

#### 【 先行技術文献 】

20

#### 【 特許文献 】

#### 【 0 0 1 6 】

【 特許文献 1 】 米国特許第3,773,919号明細書

【 特許文献 2 】 米国特許第4,522,803号明細書

【 特許文献 3 】 米国特許第5,043,166号明細書

【 特許文献 4 】 米国特許第5,316,771号明細書

【 特許文献 5 】 米国特許第5,919,480号明細書

【 特許文献 6 】 米国特許第6,156,337号明細書

【 特許文献 7 】 米国特許第6,162,462号明細書

【 特許文献 8 】 米国特許第6,787,132号明細書

30

【 特許文献 9 】 米国特許第7,160,554号明細書

【 特許文献 1 0 】 米国特許第6,333,021号明細書

【 特許文献 1 1 】 米国特許第6,403,057号明細書

【 特許文献 1 2 】 米国特許第6,277,413号明細書

【 特許文献 1 3 】 米国特許6,793,938号明細書

【 特許文献 1 4 】 米国特許第4,882,167号明細書

【 特許文献 1 5 】 米国特許出願公開第2006/0189911号明細書

【 特許文献 1 6 】 米国特許出願公開第2006/0073203号明細書

#### 【 非特許文献 】

#### 【 0 0 1 7 】

40

【 非特許文献 1 】 Hynes, RO (1990). Fibronectins. New York: Springer-Verlag and in Yamada, KM and Clark, RAF (1996). Provisional matrix. In The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair (ed. R. A. F. Clark), pp.51-93. New York: Plenum Press

【 非特許文献 2 】 Khoshnoodi J et al (Molecular recognition in the assembly of collagens: terminal noncollagenous domains are key recognition modules in the formation of triple helical protomers. J Biol Chem. 281(50): 38117-21, 2006)

【 非特許文献 3 】 Valenick LV et al (Fibronectin fragmentation promotes alpha4beta1 integrin-mediated contraction of a fibrin-fibronectin provisional matrix. Exp Cell Res 309(1):48-55, 2005)

50

【非特許文献4】Mosesson MW (Fibrinogen and fibrin structure and functions. J Thromb Haemost 3(8):1894-904, 2005)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0018】

これら従来技術はいずれも、歯周または整形用途の脂質飽和ポリマー基質からの徐放若しくは計画放出または制御放出を達成するように構成された組成物を提供していない。上記の文献はいずれも、記載した組成物のNSAID化合物、抗生物質化合物若しくは骨増生に有用な化合物の送達への使用を証明していない。

【課題を解決するための手段】

【0019】

本発明は、生分解性ポリマーを含む脂質ベース基質を備える活性成分の持続放出用の組成物を提供する。本発明はまた、基質組成物の製造方法および該基質組成物を使用して必要とする被検体における活性成分の制御放出を付与する方法を提供する。

【0020】

一態様によれば、本発明は、(a)極性基を有する第1の脂質に関連する製薬学的に許容し得る生分解性ポリマーと、(b)少なくとも14の炭素からなる炭化水素鎖を有するリン脂質から選択される第2の脂質と、(c)薬学的活性物質とを含み、前記薬学的活性物質の徐放をもたらすのに適合する基質組成物を提供する。特定の実施形態によれば、前記ポリマーおよびリン脂質は、実質的に水の無い基質組成物を形成する。

【0021】

特定の実施形態によれば、前記生分解性ポリマーは、PLA(ポリ乳酸)、PGA(ポリグリコール酸)、PLGA(ポリ(乳酸-グリコール酸))、およびそれらの組合せからなる群から選択したポリエステルを含む。

【0022】

特定の実施形態によれば、前記極性基を有する第1の脂質は、ステロール、トコフェロールおよびホスファチジルエタノールアミンから選択される。特定の実施形態によれば、第1の脂質を前記生分解性ポリマーと混合して非共有結合会合体を形成する。

【0023】

いくつかの実施形態によれば、前記第2の脂質はホスファチジルコリンを含む。いくつかの実施形態によれば、第2の脂質はホスファチジルコリンの混合物を含む。いくつかの実施形態によれば、第2の脂質は、ホスファチジルコリンおよびホスファチジルエタノールアミンの混合物、または他の任意のタイプのリン脂質を含む。

【0024】

任意のタイプの薬剤分子を徐放および/または制御放出用の基質組成物に組み込むことができる。特定の実施形態によれば、前記薬学的活性物質を抗生物質、抗真菌薬、NSAID、ステロイド、抗癌剤、骨原性因子、骨吸収抑制剤からなる群から選択する。代替的な実施形態によれば、薬学的活性物質が疎水性作用物質、両親媒性作用物質、水溶性作用物質から選択される。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0025】

他の実施形態では、前記リン脂質が少なくとも14の炭素からなる脂肪酸部分を有するホスファチジルコリンである。他の実施形態では、前記組成物が更に少なくとも14の炭素からなる脂肪酸部分を有するホスファチジルエタノールアミンを含む。他の実施形態では、前記組成物が更にコレステロールを含む。他の実施形態では、前記基質組成物は均質である。他の実施形態では、前記基質組成物が形状および境界を生分解性ポリマーによって決定した脂質ベース基質の形態である。他の実施形態では、前記基質組成物がインプラントの形態である。

【0026】

いくつかの実施形態では、前記薬学的活性物質が基質組成物に組み込まれる抗生物質である。いくつかの実施形態では、前記抗生物質が低い水溶性を有する。他の実施形態では

10

20

30

40

50

、抗生物質が疎水性抗生物質である。他の実施形態では、前記抗生物質は両親媒性抗生物質である。他の実施形態では、組成物が更に非ステロイド抗炎症薬（NSAID）を含む。他の実施形態では、該NSAIDを基質組成物に組み込む。他の実施形態では、NSAIDは低い水溶性を有する。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0027】

特定の一実施形態では、本発明は、（a）生分解性ポリエステルと、（b）ステロールと、（c）少なくとも14の炭素からなる脂肪酸部分を有するホスファチジルエタノールアミンと、（d）少なくとも14の炭素からなる脂肪酸部分を有するホスファチジルコリンと、（e）抗生物質または抗真菌剤を含む基質組成物を提供する。他の実施形態では、該基質組成物が少なくとも50質量%の脂質を含む。他の実施形態では、基質組成物が均質である。他の実施形態では、基質組成物が形状および境界を生分解性ポリマーによって決定した脂質ベース基質の形態である。他の実施形態では、基質組成物がインプラントの形態である。

10

【0028】

代替の実施形態によれば、抗生物質または抗真菌薬を疎水性作用物質、両親媒性作用物質、水溶性作用物質から選択する。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0029】

他の実施形態では、本発明は、（a）生分解性ポリエステルと、（b）ステロールと、（c）少なくとも14の炭素からなる脂肪酸部分を有するホスファチジルエタノールアミンと、（d）少なくとも14の炭素からなる脂肪酸部分を有するホスファチジルコリンと、（e）非ステロイド抗炎症薬（NSAID）を含む基質組成物を提供する。他の実施形態では、該基質組成物が少なくとも50%の脂質を含む。他の実施形態では、NSAIDが低い水溶性を有する。他の実施形態では、NSAIDが疎水性NSAIDである。他の実施形態では、NSAIDが両親媒性NSAIDである。他の実施形態では、基質組成物が形状および境界を生分解性ポリマーによって決定した脂質ベース基質の形態である。他の実施形態では、基質組成物がインプラントの形態である。他の実施形態では、基質組成物が均質である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

20

【0030】

他の実施形態では、本発明は、（a）生分解性ポリエステルと、（b）ステロールと、（c）少なくとも14の炭素からなる脂肪酸部分を有するホスファチジルエタノールアミンと、（d）少なくとも14の炭素からなる脂肪酸部分を有するホスファチジルコリンと、（e）骨原性因子または骨吸収抑制剤を含む基質組成物を提供する。他の実施形態では、該基質組成物が少なくとも50%の脂質を含む。他の実施形態では、骨吸収抑制剤が低い水溶性を有する。他の実施形態では、骨吸収抑制剤が疎水性骨吸収抑制剤である。他の実施形態では、骨吸収抑制剤が両親媒性骨吸収抑制剤である。他の実施形態では、組成物が更にNSAIDを含む。他の実施形態では、NSAIDを基質組成物に組み込む。他の実施形態では、基質組成物が形状および境界を生分解性ポリマーによって決定した脂質ベース基質の形態である。他の実施形態では、基質組成物がインプラントの形態である。他の実施形態では、基質組成物が均質である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

30

【0031】

他の実施形態では、本発明は、（a）生分解性ポリエステルと、（b）ステロールと、（c）少なくとも14の炭素からなる脂肪酸部分を有するホスファチジルエタノールアミンと、（d）少なくとも14の炭素からなる脂肪酸部分を有するホスファチジルコリンと、（e）活性物質と、（f）標的細胞の表面分子と相互作用可能な標的化部分を含む基質組成物を提供する。他の実施形態では、活性物質をNSAID、抗生物質、抗真菌薬、ステロイド、抗癌剤、骨原性因子および骨吸収抑制剤からなる群から選択する。他の実施形態では、ポリマーおよびリン脂質が実質的に水の無い基質組成物を形成する。他の実施形態では、該基質組成物が放出される活性物質の質量の一部または全部を統合するベシクルに生体内で分解されることができる。他の実施形態では、基質組成物が活性物質および標的化部分を統合するベシクルを形成するように生体内で分解されることができる。各可能性は本発明

40

50

の別々の実施形態を表す。

【0032】

他の実施形態では、本発明は、本発明の基質組成物と、製薬学的に許容し得る賦形剤とを含む医薬組成物を提供する。他の実施形態では、基質組成物が微小球の形態である。他の実施形態では、本発明は、本発明の微小球と、製薬学的に許容し得る賦形剤とを含む医薬組成物を提供する。他の実施形態では、医薬組成物が非経口注射可能な形態である。他の実施形態では、医薬組成物が不溶解性の形態である。他の実施形態では、賦形剤が注射に適合する。他の実施形態では、賦形剤が点滴に適合する。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0033】

10

他の実施形態では、本発明の基質組成物が有機溶媒の蒸発後にインプラントの形態となる。他の実施形態では、インプラントが均質である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0034】

いくつかの実施形態では、本発明の生分解性ポリエステルをステロールと非共有結合によって結合する。いくつかの実施形態では、本発明の生分解性ポリエステルをステロールと水素結合によって結合する。

【0035】

他の実施形態では、本発明の組成物からインプラントを作成するプロセスは、(a) 本発明の方法に従って基質組成物をバルク材料の形態で作成するステップと、(b) 該バルク材料を所望の形状のモールドまたは固体容器に移すステップとを含む。

20

【0036】

ここでは本発明の組成物の製造方法およびその使用方法も提供する。

【0037】

別の態様によれば、医薬品の徐放用の基質組成物は、生分解性ポリマーおよび極性基を有する第1の脂質を含む揮発性有機溶媒の第1の溶液または分散液を提供するステップと、第2の揮発性有機溶媒、少なくとも1つのリン脂質を有する第2の脂質、および薬学的活性物質を含む第2の溶液または分散液を提供するステップと、前記第1および第2の溶液を混合して均質混合物を形成するステップと、前記揮発性溶媒を蒸発させて薬学的活性物質を含む均質なポリマーリン脂質基質を生成するステップとを含むプロセスによって生成される。特定の溶媒の選択は、特定の活性物質を取り込み、事前に計画した特定のレートおよび期間で放出することを企図した特定の製剤で使用される特定の薬剤および他の物質によって行われる。蒸発は、得られた溶液の特性によって決まる制御温度で実行される。

30

【0038】

本開示によれば、様々なタイプの揮発性有機溶液の使用およびプロセス全体にわたる水の欠如により、均質な耐水性の脂質ベース基質組成物の形成が可能となる。様々な実施形態において、前記第1および第2の溶媒は同一または異なることができる。いくつかの実施形態によれば、一方の溶媒が無極性で、他方が水混和性とするのが好ましい。

【0039】

他の実施形態では、本発明の方法および組成物における基質組成物は実質的に水が無い。「実質的に水の無い」とは、他の実施形態では1質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語は0.8質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語は0.6質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語は0.4質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語は0.2質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語は組成物の耐水性の特性に影響を及ぼす量の水が存在しないことを指す。他の実施形態では、この用語はあらゆる水性溶媒の使用なしに製造された組成物を指す。他の実施形態では、ここに記載するように、実質的に水の無いプロセスを使用して組成物を生成することにより脂質飽和が可能となる。脂質飽和は生体内でのバルク分解に耐える能力を基質組成物に付与する。従って、基質組成物は数日、数週間または数か月にわたる持続放出を媒介する能力を示す。

40

50



## 【0040】

他の実施形態では、基質組成物は本質的に水が無い。「本質的に無い」とは、0.1質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語は、0.08質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語は、0.06質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語は、0.04質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語は、0.02質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語は、0.01質量%未満の水を含有する組成物を指す。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

## 【0041】

他の実施形態では、基質組成物は水が無い。他の実施形態では、この用語は検出可能な量の水を含有しない組成物を指す。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

10

## 【0042】

他の実施形態では、本発明が基質組成物の製造方法を提供するもので、該方法が(a)無極性の揮発性有機溶媒に(i)生分解性ポリエステルおよび(ii)ステロールを混合するステップと、(b)水混和性の揮発性有機溶媒に(i)非ステロイド抗炎症薬(NSAID)、抗生物質、抗真菌薬、ステロイド、抗癌剤、骨原性因子、骨吸収抑制剤からなる群から選択した活性物質、(ii)ホスファチジルエタノールアミンおよび(iii)ホスファチジルコリンを混合するステップと、(c)上記ステップ(a)および(b)で得られた生成物を混合し均質化するステップとを含む。他の実施形態では、ホスファチジルエタノールアミンが前記水混和性の揮発性有機溶媒の代わりに無極性の揮発性有機溶媒に含まれる。他の実施形態では、生分解性ポリエステルをPLA、PGA、PLGAからなる群から選択する。他の実施形態では、生分解性ポリマーが当業界で既知の他の任意適当な生分解性ポリエステルである。他の実施形態では、前記無極性の有機溶媒を含有する混合物が混合有機溶媒との混合前に均質化される。他の実施形態では、前記水混和性有機溶媒を含有する混合物が無極性の有機溶媒を含有する混合物との混合前に均質化される。他の実施形態では、前記ステップ(a)の混合物中のポリマーが飽和脂質である。他の実施形態では、基質組成物が飽和脂質である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

20

## 【0043】

他の実施形態では、本発明の基質組成物を使用して様々な基板の表面の全体または一部を被覆することができる。他の実施形態では、被覆すべき基板が炭素繊維、ステンレス鋼、コバルトクロム、チタン合金、タンタル、セラミック、コラーゲンまたはゼラチンからなる群から選択した少なくとも1つの材料を含む。他の実施形態では、基板が整形外科手術で用いる整形外科用爪、整形外科用ねじ、整形外科用ステーブル、整形外科用ワイヤおよび整形外科用ピン、整形外科手術と歯周外科手術の両方で用いる金属またはポリマーインプラント、骨充填材粒子、並びに吸収性ゼラチンスポンジのようなあらゆる医療装置を含むことができる。骨充填材粒子は、同種骨片(すなわち人間由来)、異種骨片(すなわち動物由来)、人工骨片のいずれか1つとすることができる。他の実施形態では、被覆基板を用いる治療および被覆基板の投与は、類似の未被覆基板の治療および投与に関する当業界で既知の手順に従う。他の実施形態では、本発明の生分解性基質で被覆した骨充填材粒子を実質的に単一成分として投与する(他の成分との混合物の一部として投与されない)。或いはまた、被覆骨充填材粒子を投与前に他の任意の市販骨充填材粒子または自家骨と混合する。他の実施形態では、骨充填材粒子の混合物が非被覆粒子、薬学的活性物質を含む基質組成物で被覆した粒子、複数の薬学的活性物質を含む基質組成物で被覆した粒子、またはそれらの組合せのいずれか1つを含む。他の実施形態では、本発明の基質組成物を形成する成分の量、比率およびタイプが、ポリマー/脂質ベースを薬学的活性物質の生物物理学的/生化学的特性、薬学的活性物質の治療的有効投与量、および所望の徐放時間(典型的には数日~数か月の範囲)に合わせて調整するように変更される。

30

40

## 【0044】

本発明の組成物を使用した徐放期間は、下記の2つの主要因を考慮に入れて計画できることを強調しておく。(i)ポリマーと脂質、特に少なくとも14の炭素からなる脂肪酸

50

部分を有するリン脂質との含有量の質量比、および (ii) 生体ポリマーおよび脂質の生化学的および / または生物物理学的特性。具体的には、ポリマーの分解速度および脂質の流動性を考慮する必要がある。例えば、PLGA (85:15) ポリマーは PLGA (50:50) ポリマーよりも分解が遅い。ホスファチジルコリン (14:0) は、体温ではホスファチジルコリン (18:0) よりも流動性が高い (剛性および規則性は低い)。従って、例えば PLGA (85:15) およびホスファチジルコリン (18:0) を含む基質組成物に取り込まれた薬剤の放出速度は、PLGA (50:50) およびホスファチジルコリン (14:0) からなる基質に取り込まれた薬剤の放出速度よりも遅くなる。放出速度を決定する別の側面は、封入または含浸された薬剤の物理的特性である。また、薬剤の放出速度を、第2の溶液の製剤に他の脂質を添加することにより更に制御することができる。これは、ラウリン酸 (C 12:0)、膜活性ステロール (コレステロール等)、ホスファチジルエタノールアミンのような他のリン脂質等の異なる長さの脂肪酸を含むことができる。様々な実施形態によれば、活性物質が数日～数か月の所望の期間にわたって組成物から放出される。

#### 【0045】

以下の発明の詳細な説明を読めば、上記および他の本発明の特徴および利点の理解が深まり、より明確となるはずである。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0046】

【図1】 (AおよびB) 本発明の製剤に封入したドキシサイクリンハイクレート (DOX) が少なくとも3週間絶えず放出されることを示す図である。Aは、PLGA 85:15、コレステロール、アルファトコフェロールおよびDSPC (18:0) を含む基質から放出されるDOXを示し、Bは、PLGA 85:15、コレステロールおよびDSPC (18:0) を含む基質から放出されるDOXを示す。

【図2】 本発明の製剤に封入したDOXの大部分 (~70%) がゼロ次速度過程の後に放出される様子を示す図である。Y軸はDOXの放出速度を  $\mu\text{g/ml/hour}$  で表す。

【図3】 骨片のマクロ構造が本発明の製剤による被覆の影響を受けないことを示す図である。Aは骨片の原型構造を、BはDOXを封入している本発明の製剤で被覆した骨片を、Cは血清中での培養60日後のBの骨片を示す。

【図4】 骨片の表面を被覆する基質製剤が緩やかな表面分解を受ける様子を示す図である。Aは未処理の表面、Bは被覆骨片の表面、Cは10%のFBS中に37℃で1日置いた後の被覆骨片の表面、Dは10%のFBSに37℃で30日間置いた後の被覆骨片の表面、Eは10%のFBS中に37℃で60日間置いた後の被覆骨片の表面を示す。

【図5】 電子顕微鏡検査法 (18,000倍) で示された基質製剤 (PLGA (85:15)、DPPC (16:0)、コレステロール10%) の秩序構造を示す図である。ポリマーは明るい色の線で表され、脂質はポリマー材料間の影で表されている。

【図6】 本発明による製剤の特定のポリマー / 脂質組成物が所定の薬剤の放出速度を決定することを示す図である。製剤中のw/w%で示したラウリン酸 (LA) およびホスファチジルエタノールアミン (PE) の様々な濃度の取り込んだ薬剤の90%の放出期間に対する影響を示す。

【図7】 本発明の製剤中のジメチルホスファチジルエタノールアミン (DMPE) 対コレステロールの使用を示す図である。調製中に第1の有機溶液中のジメチルジミリストイルホスファチジルエタノールアミン (DMPE) (ひし形) を含む製剤と、同じ調製段階の骨片の水和 (37℃で5%血清) 後におけるコレステロール (四角) を含む製剤との被覆骨片に由来するDOXの放出プロファイルの比較。

【図8】 ポリマーおよびリン脂質の性質が取り込んだ薬学的活性物質の放出速度を決定することを示す図である。フルルビプロフェンがPLGA (50:50) およびDMPC (14:0) を含む基質から放出され、一方ドキシサイクリンハイクレートがPLGA (85:15) およびDSPC (18:0) を含む基質組成物から放出される。

【図9】 DOXを含有し同様の未被覆骨片と1:4の比率で混合した製剤で被覆した骨片に由来するDOXの放出プロファイル (ひし形) と、骨片の水和 (37℃で5%血清) 後に同量の未被

10

20

30

40

50

覆骨片と混合した遊離DOXの放出プロファイルとを比較した図である。

【図10】本発明の製剤で被覆した骨片の薬剤放出の継続期間が製剤質量に線形依存することを示す図である。骨片(12mg/試料)を、DOXを含有する異なる質量の製剤で被覆した(X軸はmg単位の製剤質量を示す)。骨片の水和後、製剤からのDOXの放出を観察した。Y軸は取り込んだDOXの蓄積放出量が全取り込み投与量の90%を超えた日数を示す。

【図11】チアベンダゾール(TBZ)(製剤の総質量の10%)を含有する製剤(PLGA 50:50、コレステロールおよびDMPC(14:0))で被覆した骨片からの抗真菌剤、TBZの放出プロファイルを示す図である。

【図12】本発明の基質製剤(PLGA 75:25、PC 16:0、コレステロール10%およびDOX10%)で被覆した吸収性ゼラチンスポンジ(Gelatamp. ROEKO)からの抗生物質の放出を示す図である。同様の薬剤投与量を有するDOX溶液で事前に湿潤した吸収性ゼラチンスポンジからのDOXの放出を対照として示す。

10

【図13】表面元素分析によって示された骨片被覆製剤の分解を示す図である。被覆骨片の水和後、被覆骨片表面上の炭素、カルシウムおよびリン酸塩原子の割合をSEMによって観察した。X軸は被覆骨試料の水和後の経過時間を示す。

【図14A】水和した骨片の上澄み溶液(5%血清)の濁度分析を示す図である。4種の異なるタイプの骨片、すなわち、(i)プレーンな未被覆骨片、(ii)DOXを薬学的活性物質として有する本発明の基質組成物で被覆した骨片、(iii)DPPCおよびDOXで被覆した骨片、(iv)PLGAで被覆した骨片を分析した。骨片を浸漬した上澄み液の濁度を37℃で水和の1時間後に測定した(A)。

20

【図14B】1時間の培養後、水和媒体を新しい媒体と置換し、37℃で23時間培養後に濁度を測定した(B)。

【図14C】本発明の基質製剤で被覆した骨片を浸漬した水和溶液の電子顕微鏡画像を37℃で水和の24時間後に撮った(C)。

【図14D】水和骨片から放出された材料のサイズ分布(D)を示す。

【図14E】水和骨片から放出された材料のおよびゼータ電位分析(E)を示す。

【図15】封入したDOXおよび蛍光的に標識付けしたホスファチジルコリン(NBD-PC)を、ゼロ次速度過程後に被覆骨片の表面から周囲媒体(37℃で5%のFBS)中に共放出させた結果を示す図である。

【図16】本発明の基質製剤(PLGA 85:15、DPPC 16:0、DOX)で被覆した骨片のX線小角散乱(SAXS)分析により基質が秩序構造を有することを示す図である。対照として、乾燥DOPS(18:1)粉体およびプレーンな未被覆骨片の散乱プロファイルを記録した。

30

【図17】Aは、示差走査熱量分析(DSC)の結果、コレステロールが加熱時のPLGAによる熱の取り込みを減少させることを示唆することを示す。Bは、酸化防止剤-トコフェロールのような他の脂質の存在下でPLGAの熱吸収の低下が確認されたが、鉱油(C12-C18の炭素鎖のアルカンを含有する)のような脂質では低下が確認されなかったことを示す。

【図18】PLGA(18:15)、DSPC(18:0)コレステロール10%および10% DOXを含む基質製剤で被覆したチタン製の金属歯科インプラントを示す図である。Aは、未被覆歯科インプラントを示す。Bは、被覆インプラントを示す。UV光下の被覆インプラントの明るい色は、DOXの蛍光発光によるものである。

40

【発明を実施するための形態】

【0047】

本発明は、生分解性ポリマーを含む脂質ベース基質からなる活性成分の持続放出用の組成物を提供する。本発明はまた、該基質組成物を製造する方法、および該基質組成物を用いて必要とする被検体内における活性成分の制御放出を付与する方法を提供する。

【0048】

「制御放出」という用語は、本発明の基質組成物によって送達される1つ(または複数)の薬学的活性物質の割合および/または量の制御を指す。制御放出は、連続的若しくは非連続的、および/または線形的若しくは非線形的とすることができる。

【0049】

50

「徐放」という用語は、薬学的活性物質をある延長期間にわたって放出することを意味する。

【0050】

本発明の特定の実施形態は、(a) 生分解性ポリエステルと、(b) 炭素数が少なくとも14の炭素からなる炭化水素部分を有するホスホグリセリドと、(c) 薬学的活性物質とを含む基質組成物を提供する。いくつかの実施形態によれば、この薬学的物質が抗生物質、抗真菌薬、NSAID、ステロイド、抗癌剤、骨原性因子、骨吸収抑制剤からなる群から選択される。

【0051】

特定の実施形態では、ホスホグリセリドはリン脂質である。いくつかの実施形態では、リン脂質が炭素数が少なくとも14の脂肪酸部分を有するホスファチジルコリンである。他の実施形態では、組成物が更に炭素数が少なくとも14の脂肪酸部分を有するホスファチジルエタノールアミンを含む。他の実施形態では、組成物が更にステロールを含む。いくつかの実施形態において、ステロールはコレステロールである。

【0052】

他の実施形態では、基質組成物が飽和脂質である。本明細書で使用する「飽和脂質」という用語は、任意の疎水性薬剤および基質中に存在する標的化部分と組合せたリン脂質、および他の存在し得る脂質を含む脂質での基質組成物のポリマーの飽和を指す。基質組成物は、どのような脂質が存在しても飽和する。本発明の脂質飽和基質は、ポリビニルアルコールのような合成乳化剤または界面活性剤を必要としない付加的な利点をもたらす。従って、本発明の組成物は通常実質的にポリビニルアルコールが無い。脂質飽和を得るためのポリマー対脂質の比を決定する方法、および基質の脂質飽和度を決定する方法を以下に説明する。

【0053】

他の実施形態では、基質組成物が均質である。他の実施形態では、基質組成物が形状および境界を生分解性ポリマーによって決定した脂質飽和基質の形態である。他の実施形態では、基質組成物がインプラントの形態である。好適には、ポリエステル、ホスファチジルエタノールアミンおよびステロールを基質組成物に組み込む。他の実施形態では、この基質組成物にホスファチジルコリンも組み込まれる。他の実施形態では、この基質組成物に抗生物質も組み込まれる。他の実施形態では、抗生物質が低い水溶性を有する。他の実施形態では、抗生物質が疎水性抗生物質である。他の実施形態では、抗生物質が両親媒性抗生物質である。他の実施形態では、組成物が更に非ステロイド抗炎症薬 (NSAID) を含む。他の実施形態では、NSAIDもこの基質組成物に組み込まれる。他の実施形態では、NSAIDが低い水溶性を有する。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0054】

本発明の一実施形態は、(a) 生分解性ポリエステルと、(b) ステロールと、(c) 炭素数が少なくとも14の脂肪酸部分を有するホスファチジルエタノールアミンと、(d) 炭素数が少なくとも14の脂肪酸部分を有するホスファチジルコリンと、(e) 抗生物質または抗真菌薬とを含む基質組成物を提供する。他の実施形態では、基質組成物が飽和脂質である。好適には、ポリエステル、ホスファチジルエタノールアミンおよびステロールが基質組成物に組み込まれる。他の実施形態では、ホスファチジルコリンも基質組成物に組み込まれる。他の実施形態では、抗生物質も基質組成物に組み込まれる。他の実施形態では、抗生物質が低い水溶性を有する。他の実施形態では、抗生物質が疎水性抗生物質である。他の実施形態では、抗生物質が両親媒性抗生物質である。他の実施形態では、組成物が更に非ステロイド抗炎症薬 (NSAID) を含む。他の実施形態では、NSAIDもこの基質組成物に組み込まれる。他の実施形態では、NSAIDが低い水溶性を有する。他の実施形態では、基質組成物が形状および境界に生分解性ポリマーの性質の影響を受けた脂質飽和基質の形態である。他の実施形態では、基質組成物がインプラントの形態である。他の実施形態では、基質組成物が均質である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0055】

本発明の他の実施形態は、(a) 生分解性ポリエステルと、(b) ステロールと、(c) 炭素数が少なくとも14の脂肪酸部分を有するホスファチジルエタノールアミンと、(d) 炭素数が少なくとも14の脂肪酸部分を有するホスファチジルコリンと、(e) 非ステロイド抗炎症薬 (NSAID) とを含む基質組成物を提供する。他の実施形態では、基質組成物が飽和脂質である。好適には、ポリエステル、ホスファチジルエタノールアミンおよびステロールが基質組成物に組み込まれる。他の実施形態では、基質組成物にホスファチジルコリンも組み込まれる。他の実施形態では、NSAIDも基質組成物に組み込まれる。他の実施形態では、NSAIDが低い水溶性を有する。他の実施形態では、NSAIDが疎水性NSAIDである。他の実施形態では、NSAIDが両親媒性NSAIDである。他の実施形態では、基質組成物が形状および境界を生分解性ポリマーによって決定した脂質飽和基質の形態である。他の実施形態では、基質組成物がインプラントの形態である。他の実施形態では、基質組成物が均質である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

10

## 【0056】

本発明の他の実施形態は、(a) 生分解性ポリエステルと、(b) ステロールと、(c) 炭素数が少なくとも14の脂肪酸部分を有するホスファチジルエタノールアミンと、(d) 炭素数が少なくとも14の脂肪酸部分を有するホスファチジルコリンと、(e) 骨原性因子または骨吸収抑制剤とを含む基質組成物を提供する。他の実施形態では、基質組成物が飽和脂質である。好適には、基質組成物にポリエステル、ホスファチジルエタノールアミンおよびステロールが組み込まれる。他の実施形態では、基質組成物にホスファチジルコリンも組み込まれる。他の実施形態では、基質組成物に骨吸収抑制剤も組み込まれる。他の実施形態では、骨吸収抑制剤が低い水溶性を有する。他の実施形態では、骨吸収抑制剤が疎水性骨吸収抑制剤である。他の実施形態では、骨吸収抑制剤が両親媒性骨吸収抑制剤である。他の実施形態では、組成物が更にNSAIDを含む。他の実施形態では、NSAIDも基質組成物に組み込まれる。他の実施形態では、基質組成物が形状および境界を生分解性ポリマーによって決定した脂質飽和基質の形態である。他の実施形態では、基質組成物がインプラントの形態である。他の実施形態では、基質組成物が均質である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

20

## 【0057】

本発明の他の実施形態は、(a) 生分解性ポリエステルと、(b) ステロールと、(c) 炭素数が少なくとも14の脂肪酸部分を有するホスファチジルエタノールアミンと、(d) 炭素数が少なくとも14の脂肪酸部分を有するホスファチジルコリンと、(e) 活性物質と、(f) 標的細胞の表面分子、標的分子または標的表面と相互作用可能な標的部分とを含む基質組成物を提供する。他の実施形態では、基質組成物が飽和脂質である。他の実施形態では、活性物質がNSAID、抗生物質、骨吸収抑制剤からなる群から選択される。他の実施形態では、ポリマーおよびリン脂質が実質的に水の無い基質組成物を形成する。他の実施形態では、活性薬剤および標的部分が脂質ベシクルに組み込まれる。他の実施形態では、基質組成物が形状および境界を生分解性ポリマーによって決定した脂質飽和基質の形態である。他の実施形態では、基質組成物がインプラントの形態である。他の実施形態では、基質組成物が均質である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

30

## 【0058】

他の実施形態では、本発明の方法および組成物における生分解性ポリエステルが水素結合を経てステロールと結合する。

40

## 【0059】

本明細書では、本発明の方法および組成物における基質組成物は、様々な厚さおよび形状の三次元構造に成形することができる。従って、生成した基質は、球体、立方体、棒、管、シートまたはストリングを含む特定の形状をとることができる。凍結乾燥の場合、前記形状は、任意の不活性材料からなり、球体または立方体であればすべての辺で、シートであれば限られた数の辺で基質と接触可能であるモールドまたは支持体の形状によって決定される。基質は、インプラント設計上必要となる体腔の形に成形することができる。基質の一部分を鋏、メス、レーザービームまたは他の任意の切開器具によって除去

50

することにより、三次元構造で必要となる任意の加工物を作成することができる。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0060】

有利なことに、本発明の基質組成物はエマルションの形成を必要としない方法によって調製され、水性媒体の使用をまったく回避することができる。その後乾燥させるエマルションの生成は、必然的にベシクルまたは微小球をもたらす。対照的に、水性媒体なしで生成した基質は、任意形状の三次元物品に成形または形成することができるか、または異なる基板の表面を被覆することができる均質な液体混合物を形成する。成形または被覆物品を生成するために、ポリマーと脂質と活性成分との混合物を適切に選択した揮発性有機溶媒内で使用して所望の表面を被覆するか、または所望の形状に適合させる。

10

【0061】

本発明の方法および組成物における基質組成物は、異なる基板の表面を被覆することができる。被覆すべき基板は、炭素繊維、ステンレス鋼、コバルトクロム、チタン合金、タンタル、セラミック、コラーゲンまたはゼラチンからなる群から選択した材料を含む。具体的には、基板が整形外科手術で用いる整形外科用爪、整形外科用ねじ、整形外科用ステープル、整形外科用ワイヤ、整形外科用ピン、整形外科手術と歯周外科手術の両方で使用される金属またはポリマーインプラント、骨充填材粒子および吸収性ゼラチンスポンジのような任意の医療デバイスを含むことができる。骨充填材粒子は、同種骨片（すなわち人間由来）、異種骨片（すなわち動物由来）、人工骨片のいずれかから選択することができる。

20

【0062】

いくつかの実施形態によれば、本発明の基質組成物が骨移植片材料として有用である。この用語は、新しい骨芽細胞および骨幹細胞の取付けを支持するか、または骨芽細胞に分化する未分化幹細胞若しくは骨幹細胞を含むことができる天然材料または合成材料を指す。他の実施形態では、骨移植片材料が同種骨移植片、無生物材料骨移植片、異種骨移植片および自己由来骨移植片からなる群から選択される。他の例では、本発明の脂質基質をコラーゲン膜またはコラーゲンスポンジまたはゼラチンスポンジ等と併せて使用することもできる。

【0063】

〔脂質〕

30

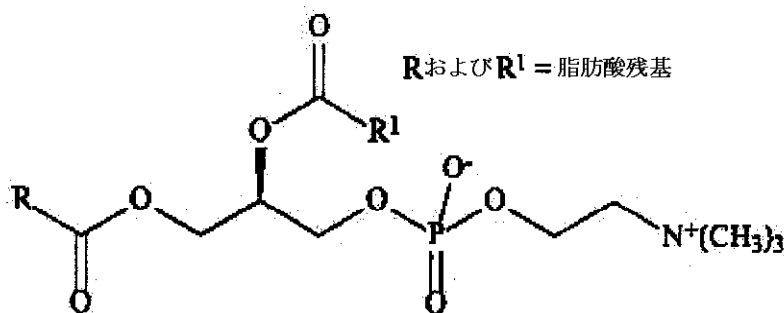
「リン脂質」は、グリセロール骨格上に単一のホスファチジル結合を有し、残りの2つの位置に脂肪酸を有するホスホグリセリドである。しかしながら、炭素数が少なくとも14のアルキル鎖、アルケニル鎖または他の任意の炭化水素鎖を含む脂肪酸残基以外の炭化水素鎖を有するホスホグリセリドも本発明の範囲に含まれることを明確に理解していただきたい。結合は、リン脂質に見られるアシル結合の代わりにエーテル結合であってもよい。

【0064】

「ホスファチジルコリン」は、ホスホリルコリン頭部基を有するホスホグリセリドを指す。ホスファチジルコリン化合物は、他の実施形態では下記の構造を有する。

【0065】

## 【化 1】



10

## 【0066】

RおよびR'部分は、脂肪酸、通常天然の脂肪酸または天然の脂肪酸の誘導体である。いくつかの実施形態では、脂肪酸部分が飽和脂肪酸部分である。いくつかの実施形態では、脂肪酸部分が不飽和脂肪酸部分である。「飽和」とは、炭化水素鎖において二重結合の欠如を指す。他の実施形態では、脂肪酸部分が少なくとも14の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が16の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が18の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が16～18の炭素原子を有する。他の実施形態では、生成する基質のゲル 液晶相転移温度が少なくとも40 となるような脂肪酸部分を選択する。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもパルミトイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもステアロイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもアラキドイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がパルミトイルおよびステアロイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がパルミトイルおよびアラキドイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がアラキドイルおよびステアロイルである。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

20

## 【0067】

他の実施形態では、ホスファチジルコリンが天然のホスファチジルコリンである。他の実施形態では、ホスファチジルコリンが合成ホスファチジルコリンである。他の実施形態では、ホスファチジルコリンが天然同位元素分布を含む。他の実施形態では、ホスファチジルコリンが重水素化されたホスファチジルコリンである。他の実施形態では、ホスファチジルコリンが他の任意の同位元素または標識で標識付けされる。ホスファチジルコリンは対称ホスファチジルコリン（すなわち、2つの脂肪酸部分が同一であるホスファチジルコリン）であることが好ましい。他の実施形態では、ホスファチジルコリンが非対称ホスファチジルコリンである。

30

## 【0068】

ホスファチジルコリンの非限定的な例としては、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン（DSPC）、ジオレオイルホスファチジルコリン（DOPC）、1-パルミトイル-2-オレオイルホスファチジルコリン、および先に列挙した脂肪酸部分のいずれかで修飾したホスファチジルコリンがある。他の実施形態では、ホスファチジルコリンをDSPC、DOPCおよび1-パルミトイル-2-オレオイルホスファチジルコリンからなる群から選択する。

40

## 【0069】

他の実施形態では、ホスファチジルコリンが当業界で既知の他の任意のホスファチジルコリンである。各ホスファチジルコリンは、本発明の別々の実施形態を表す。

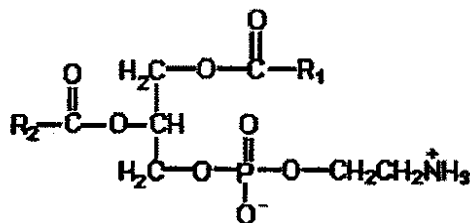
## 【0070】

「ホスファチジルエタノールアミン」は、ホスホリルエタノールアミン頭部基を有するホスホグリセリドを指す。ホスファチジルエタノールアミン化合物は、他の実施形態では下記の構造を有する。

## 【0071】

50

## 【化2】



## 【0072】

R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>部分は、脂肪酸、通常天然の脂肪酸または天然の脂肪酸の誘導体である。他の実施形態では、脂肪酸部分が飽和脂肪酸部分である。他の実施形態では、「飽和」とは炭化水素鎖において二重結合の欠如を意味する。他の実施形態では、脂肪酸部分が少なくとも14の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が少なくとも16の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が14の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が16の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が18の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が14～18の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が14～16の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が16～18の炭素原子を有する。他の実施形態では、生成する基質のゲル 液晶相転移温度が少なくとも40となるように脂肪酸部分を選択する。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもミリストイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもパルミトイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもステアロイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がミリストイルおよびステアロイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がミリストイルおよびパルミトイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がパルミトイルおよびステアロイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がアラキドイルおよびステアロイルである。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

## 【0073】

他の実施形態では、ホスファチジルエタノールアミンが天然のホスファチジルエタノールアミンである。他の実施形態では、ホスファチジルエタノールアミンが合成ホスファチジルエタノールアミンである。他の実施形態では、ホスファチジルエタノールアミンが重水素化されたホスファチジルエタノールアミンである。他の実施形態では、ホスファチジルエタノールアミンが他の任意の同位元素または標識で標識付けされる。他の実施形態では、ホスファチジルエタノールアミンが天然同位元素分布を含む。ホスファチジルエタノールアミンは対称ホスファチジルエタノールアミンであることが好ましい。他の実施形態では、ホスファチジルエタノールアミンが非対称ホスファチジルエタノールアミンである。

## 【0074】

ホスファチジルエタノールアミンの非限定的な例としては、ジメチルジミリストイルホスファチジルエタノールアミン(DMPE)、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン(DPPE)、および先に列挙した脂肪酸部分のいずれかで修飾したホスファチジルエタノールアミンがある。他の実施形態では、ホスファチジルエタノールアミンをDMPEおよびDPPEからなる群から選択する。

## 【0075】

他の実施形態では、ホスファチジルエタノールアミンが当業界で既知の他の任意のホスファチジルエタノールアミンである。各ホスファチジルエタノールアミンは、本発明の別々の実施形態を表す。

## 【0076】

一実施形態における「ステロール」は、A環の3位に水酸基を有するステロイドを指す。他の実施形態では、この用語は下記の構造を有するステロイドを指す。

10

20

30

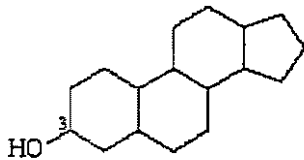
40

50



【 0 0 7 7 】

【 化 3 】



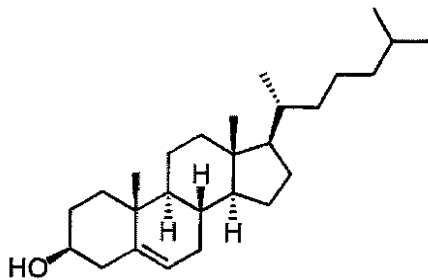
【 0 0 7 8 】

他の実施形態では、本発明の方法および組成物におけるステロールが動物ステロールである。他の実施形態では、ステロールが下記のコレステロールである。

10

【 0 0 7 9 】

【 化 4 】



20

【 0 0 8 0 】

他の実施形態では、ステロールが当業界で既知の他の任意の動物ステロールである。他の実施形態では、ステロールのモルが存在する全脂質のモルの40%までである。他の実施形態では、ステロールを基質組成物に組み込む。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【 0 0 8 1 】

他の実施形態では、コレステロールが基質組成物の脂質含有量の送質量の10～50%の量で存在する。他の実施形態では、質量パーセントが20～50%である。他の実施形態では、質量パーセントが10～40%である。他の実施形態では、質量パーセントが30～50%である。他の実施形態では、質量パーセントが20～60%である。他の実施形態では、質量パーセントが25～55%である。他の実施形態では、質量パーセントが35～55%である。他の実施形態では、質量パーセントが30～60%である。他の実施形態では、質量パーセントが30～55%である。他の実施形態では、質量パーセントが20～50%である。他の実施形態では、質量パーセントが25～55%である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

30

【 0 0 8 2 】

他の実施形態では、本発明の組成物がホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミンまたはステロール以外の脂質を更に含む。他の実施形態では、追加脂質がホスホグリセリドである。他の実施形態では、追加脂質をホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロールおよびホスファチジリンイノシトールからなる群から選択する。他の実施形態では、追加脂質をホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジリンイノシトールおよびスフィンゴミエリンからなる群から選択する。他の実施形態では、上記のうちの任意の2つ以上の追加脂質の組合せが存在する。他の実施形態では、ポリマー、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ステロールおよび1つ（または複数）の追加脂質をすべて基質組成物に組み込む。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

40

【 0 0 8 3 】

他の実施形態では、1つ（または複数）のホスファチジルコリン（PC）が基質組成物の総脂質含有量の少なくとも30%を構成する。他の実施形態では、PCが総脂質含有量の少な

50

くとも35%を構成する。他の実施形態では、PCが総脂質含有量の少なくとも40%を構成する。他の実施形態では、PCが総脂質含有量の少なくとも45%を構成する。他の実施形態では、PCが総脂質含有量の少なくとも50%を構成する。他の実施形態では、PCが総脂質含有量の少なくとも55%を構成する。他の実施形態では、PCが総脂質含有量の少なくとも60%を構成する。他の実施形態では、PCが総脂質含有量の少なくとも65%を構成する。他の実施形態では、PCが総脂質含有量の少なくとも70%を構成する。他の実施形態では、PCが総脂質含有量の少なくとも75%を構成する。他の実施形態では、PCが総脂質含有量の少なくとも80%を構成する。他の実施形態では、PCが総脂質含有量の少なくとも85%を構成する。他の実施形態では、PCが総脂質含有量の少なくとも90%を構成する。他の実施形態では、PCが総脂質含有量の少なくとも95%を構成する。他の実施形態では、PCが総脂質含有量の95%超を構成する。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

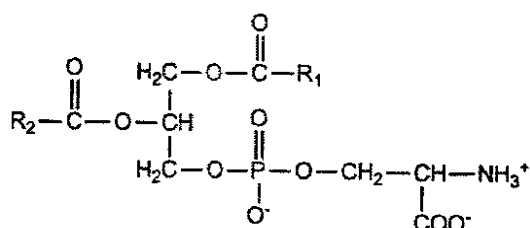
10

## 【0084】

他の実施形態では、本発明の組成物が更にホスファチジルセリンを含む。「ホスファチジルセリン」は、ホスホリルセリン頭部基を有するホスホグリセリドを指す。ホスファチジルセリン化合物は、他の実施形態では下記の構造を有する。

## 【0085】

## 【化5】



20

## 【0086】

$\text{R}_1$ および $\text{R}_2$ 部分は、脂肪酸、通常天然の脂肪酸または天然の脂肪酸の誘導体である。他の実施形態では、脂肪酸部分が飽和脂肪酸部分である。他の実施形態では、脂肪酸部分が少なくとも14の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が少なくとも16の炭素原子を有する。他の実施形態では、生成する基質のゲル 液晶相転移温度が少なくとも40 となるように脂肪酸部分を選択する。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもミリストイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもパルミトイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもステアロイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもアラキドイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がミリストイルおよびステアロイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分が上記の脂肪酸部分のうちの2つの組合せである。

30

## 【0087】

他の実施形態では、ホスファチジルセリンが天然のホスファチジルセリンである。他の実施形態では、ホスファチジルセリンが合成ホスファチジルセリンである。他の実施形態では、ホスファチジルセリンが重水素化されたホスファチジルセリンである。他の実施形態では、ホスファチジルセリンが他の任意の同位元素または標識で標識付けされる。他の実施形態では、ホスファチジルセリンが天然同位元素分布を含む。他の実施形態では、ホスファチジルセリンが対称ホスファチジルセリンである。他の実施形態では、ホスファチジルセリンが非対称ホスファチジルセリンである。

40

## 【0088】

ホスファチジルセリンの非限定的な例としては、先に列挙した脂肪酸部分のいずれかで修飾したホスファチジルセリンがある。他の実施形態では、ホスファチジルセリンが当業界で既知の他の任意のホスファチジルセリンである。各ホスファチジルセリンは、本発明の別々の実施形態を表す。

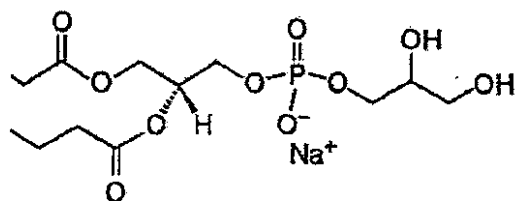
## 【0089】

50

他の実施形態では、本発明の組成物が更にホスファチジルグリセロールを含む。「ホスファチジルグリセロール」は、ホスホリルグリセロール頭部基を有するホスホグリセリドを指す。ホスファチジルグリセロール化合物は、他の実施形態では下記の構造を有する。

【0090】

【化6】



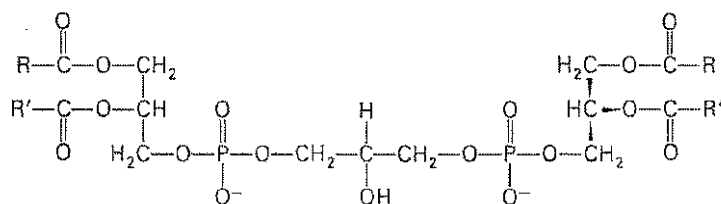
10

【0091】

左側の2つの結合が脂肪酸、通常天然の脂肪酸または天然の脂肪酸の誘導体に連結される。他の実施形態では、ホスファチジルグリセロールが天然のホスファチジルグリセロールである。他の実施形態では、ホスファチジルグリセロールが合成ホスファチジルグリセロールである。他の実施形態では、ホスファチジルグリセロールが重水素化されたホスファチジルグリセロールである。他の実施形態では、ホスファチジルグリセロールが他の任意の同位元素または標識で標識付けされる。他の実施形態では、ホスファチジルグリセロールが天然同位元素分布を含む。他の実施形態では、ホスファチジルグリセロールが対称  
20  
ホスファチジルグリセロールである。他の実施形態では、ホスファチジルグリセロールが非対称ホスファチジルグリセロールである。他の実施形態では、この用語は下記の構造を有するジホスファチジルグリセロール化合物を含む。

【0092】

【化7】



30

【0093】

RおよびR'部分は、脂肪酸、通常天然の脂肪酸または天然の脂肪酸の誘導体である。他の実施形態では、脂肪酸部分が飽和脂肪酸部分である。他の実施形態では、脂肪酸部分が少なくとも14の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が少なくとも16の炭素原子を有する。他の実施形態では、生成する基質のゲル 液晶相転移温度が少なくとも40  
40  
となるように脂肪酸部分を選択する。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもミリスティルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもパルミトイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもステアロイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもアラキドイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がミリスティルおよびステアロイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分が上記の脂肪酸部分のうちの2つの組合せである。

【0094】

ホスファチジルグリセロールの非限定的な例としては、先に列挙した脂肪酸部分のいずれかで修飾したホスファチジルグリセロールがある。他の実施形態では、ホスファチジルグリセロールが当業界で既知の他の任意のホスファチジルグリセロールである。各ホスファチジルグリセロールは、本発明の別々の実施形態を表す。

【0095】

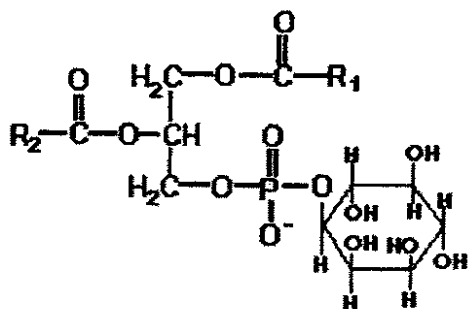
他の実施形態では、本発明の組成物が更にホスファチジルイノシトールを含む。「ホス

50

「ホスファチジルイノシトール」は、ホスホリルイノシトール頭部基を有するホスホグリセリドを指す。ホスファチジルイノシトール化合物は、他の実施形態では下記の構造を有する。

【0096】

【化8】



10

【0097】

R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>部分は、脂肪酸、通常天然の脂肪酸または天然の脂肪酸の誘導体である。他の実施形態では、脂肪酸部分が飽和脂肪酸部分である。他の実施形態では、脂肪酸部分が少なくとも14の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が少なくとも16の炭素原子を有する。他の実施形態では、生成する基質のゲル 液晶相転移温度が少なくとも40

となるように脂肪酸部分を選択する。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもミリストイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもパルミトイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもステアロイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がどちらもアラキドイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分がミリストイルおよびステアロイルである。他の実施形態では、脂肪酸部分が上記の脂肪酸部分のうちの2つの組合せである。

20

【0098】

他の実施形態では、ホスファチジルイノシトールが天然のホスファチジルイノシトールである。他の実施形態では、ホスファチジルイノシトールが合成ホスファチジルイノシトールである。他の実施形態では、ホスファチジルイノシトールが重水素化されたホスファチジルイノシトールである。他の実施形態では、ホスファチジルイノシトールが他の任意の同位元素または標識で標識付けされる。他の実施形態では、ホスファチジルイノシトールが天然同位元素分布を含む。他の実施形態では、ホスファチジルイノシトールが対称ホスファチジルイノシトールである。他の実施形態では、ホスファチジルイノシトールが非対称ホスファチジルイノシトールである。

30

【0099】

ホスファチジルイノシトールの非限定的な例としては、先に列挙した脂肪酸部分のいずれかで修飾したホスファチジルイノシトールがある。他の実施形態では、ホスファチジルイノシトールが当業界で既知の他の任意のホスファチジルイノシトールである。各ホスファチジルイノシトールは、本発明の別々の実施形態を表す。

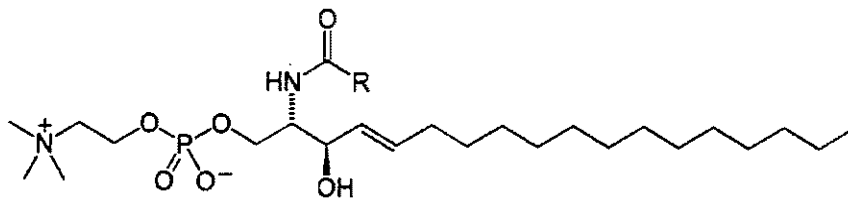
【0100】

他の実施形態では、本発明の組成物が更にスフィンゴ脂質を含む。他の実施形態では、スフィンゴ脂質がセラミドである。他の実施形態では、スフィンゴ脂質がスフィンゴミエリンである。「スフィンゴミエリン」は、スフィンゴシン由来のリン脂質を指す。スフィンゴミエリン化合物は、他の実施形態では下記の構造を有する。

40

【0101】

## 【化 9】



## 【0102】

R部分は、脂肪酸、通常天然の脂肪酸または天然の脂肪酸の誘導体である。他の実施形態では、スフィンゴミエリンが天然のスフィンゴミエリンである。他の実施形態では、スフィンゴミエリンが合成スフィンゴミエリンである。他の実施形態では、スフィンゴミエリンが重水素化されたスフィンゴミエリンである。他の実施形態では、スフィンゴミエリンが他の任意の同位元素または標識で標識付けされる。他の実施形態では、スフィンゴミエリンが天然同位元素分布を含む。

10

## 【0103】

他の実施形態では、本発明の方法および組成物におけるスフィンゴミエリンの脂肪酸部分が少なくとも14の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が少なくとも16の炭素原子を有する。他の実施形態では、生成する基質のゲル 液晶相転移温度が少なくとも40 となるように脂肪酸部分を選択する。

20

## 【0104】

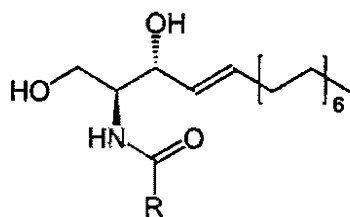
スフィンゴミエリンの非限定的な例としては、先に列挙した脂肪酸部分のいずれかで修飾したスフィンゴミエリンがある。他の実施形態では、スフィンゴミエリンが当業界手席地の他の任意のスフィンゴミエリンである。各スフィンゴミエリンは、本発明の別々の実施形態を表す。

## 【0105】

「セラミド」は、下記の構造を有する化合物を指す。

## 【0106】

## 【化 10】



30

## 【0107】

R部分は、脂肪酸、通常天然の脂肪酸または天然の脂肪酸の誘導体である。他の実施形態では、脂肪酸が長鎖 ( $C_{24}$  以上) である。他の実施形態では、脂肪酸が飽和脂肪酸である。他の実施形態では、脂肪酸がモノエン脂肪酸である。他の実施形態では、脂肪酸がn-9モノエン脂肪酸である。他の実施形態では、脂肪酸が2位に水酸基を有する。他の実施形態では、脂肪酸が当業界で既知の他の適切な脂肪酸である。他の実施形態では、セラミドが天然のセラミドである。他の実施形態では、セラミドが合成セラミドである。他の実施形態では、セラミドを基質組成物に組み込む。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

40

## 【0108】

各スフィンゴ脂質は、本発明の別々の実施形態を表す。

## 【0109】

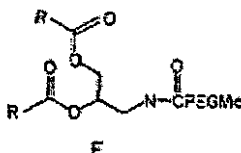
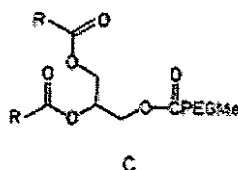
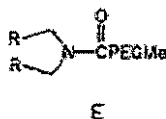
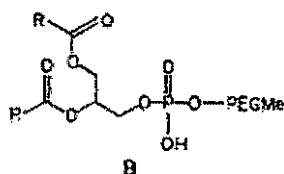
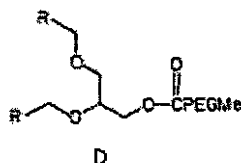
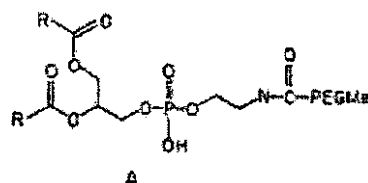
他の実施形態では、本発明の組成物が更にペグ化(pegylated)脂質を含む。他の実施形態では、PEG部分が500~5000ダルトンのMWを有する。他の実施形態では、PEG部分が他の

50

任意の適切なMWを有する。適切なPEG修飾脂質の非限定的な例としては、メトキシ末端基を有するPEG部分、例えば以下に示すようなPEG修飾ホスファチジルエタノールアミンおよびホスファチジン酸（構造AおよびB）、PEG修飾ジアシルグリセロールおよびジアシルグリセロール（構造CおよびD）、PEG修飾ジアシルアミン（構造E）、およびPEG修飾1,2-ジアシルオキシプロパン-3-アミン（構造F）が挙げられる。他の実施形態では、PEG部分が当業界で用いる他の任意の末端基を有する。他の実施形態では、ペグ化脂質をPEG修飾ホスファチジルエタノールアミン、PEG修飾ホスファチジン酸、PEG修飾ジアシルグリセロール、PEG修飾ジアシルグリセロール、PEG修飾ジアシルアミンおよびPEG修飾1,2-ジアシルオキシプロパン-3-アミンからなる群から選択する。他の実施形態では、ペグ化脂質が当業界で既知の他の任意のペグ化リン脂質である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0110】

【化11】



【0111】

ペグ化脂質は、基質組成物中に全脂質の10モル%未満の量で存在するのが好ましい。他の実施形態では、この割合が全脂質の9モル%未満である。他の実施形態では、この割合が8モル%未満である。他の実施形態では、この割合が7モル%未満である。他の実施形態では、この割合が6モル%未満である。他の実施形態では、この割合が5モル%未満である。他の実施形態では、この割合が4モル%未満である。他の実施形態では、この割合が3モル%未満である。他の実施形態では、この割合が2モル%未満である。他の実施形態では、この割合が1モル%未満である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

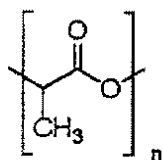
【0112】

〔ポリマー〕

本発明の方法および組成物における生分解性ポリエステルは、他の実施形態ではPLA（ポリ乳酸）である。「PLA」は、ポリ（L-ラクチド）、ポリ（D-ラクチド）およびポリ（DL-ラクチド）を指す。ポリ（DL-ラクチド）の代表的な構造を以下に示す。

【0113】

## 【化 1 2】



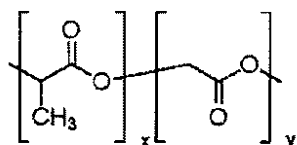
## 【 0 1 1 4】

他の実施形態では、ポリマーがPGA（ポリグリコール酸）である。他の実施形態では、ポリマーがPLGA（ポリ（乳酸-グリコール酸））である。PLGAに含まれるPLAは、当業界で既知の任意のPLA、例えば鏡像体またはラセミ混合物とすることができる。PLGAの代表的な構造を以下に示す。

10

## 【 0 1 1 5】

## 【化 1 3】



20

## 【 0 1 1 6】

本発明の方法および組成物におけるPLGAは、他の実施形態では1:1の乳酸／グリコール酸比率を有する。他の実施形態では、比率が60:40である。他の実施形態では、比率が70:30である。他の実施形態では、比率が80:20である。他の実施形態では、比率が90:10である。他の実施形態では、比率が95:5である。他の実施形態では、比率がここで定義するように生体内持続放出プロファイルに適した他の比率である。他の実施形態では、比率が50:50である。PLGAは、ランダムまたはブロックコポリマーであってもよい。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

## 【 0 1 1 7】

他の実施形態では、生分解性ポリエステルをポリカプロラクトン、ポリヒドロキシアルカノエート、ポリプロピレンフマレート、ポリオルトエステル、ポリ無水物、ポリアルキルシアノアクリレートからなる群から選択し、但しポリエステル水素結合アクセプター部分を含む。他の実施形態では、生物分解可能なポリエステルがPLA、PGA、PLGA、ポリカプロラクトン、ポリヒドロキシアルカノエート、ポリプロピレンフマレート、ポリオルトエステル、ポリ無水物、ポリアルキルシアノアクリレートからなる群から選択された任意の2つのモノマーの組合せを含むブロックコポリマーである。他の実施形態では、生分解性ポリエステルが先に列挙したモノマーのうちの任意の2つの組合せを含むランダムコポリマーである。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

30

## 【 0 1 1 8】

本発明の方法および組成物における生分解性ポリエステルの分子量（MW）は、他の実施形態では約10～40KDaである。他の実施形態では、MWが約5～50KDaである。他の実施形態では、MWが約15～40KDaである。他の実施形態では、MWが約20～40KDaである。他の実施形態では、MWが約15～35KDaである。他の実施形態では、MWが約10～35KDaである。他の実施形態では、MWが約10～30KDaである。他の実施形態では、MWが異なるPLGAポリマーの混合物を利用する。他の実施形態では、異なるポリマーがどちらも上記のいずれかの範囲のMWを有する。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

40

## 【 0 1 1 9】

## 〔抗生物質〕

本発明の方法および組成物における抗生物質は、他の実施形態ではドキシサイクリンで

50

ある。他の実施形態では、抗生物質が疎水性テトラサイクリンである。疎水性テトラサイクリンの非限定的な例としては、6-デメチル-6-デオキシテトラサイクリン、6-メチレンテトラサイクリン、ミノサイクリン（7-ジメチルアミノ-6-デメチル-6-デオキシテトラサイクリンとしても既知）、および13-フェニルメルカプト-a-6-デオキシ-テトラサイクリンがある。他の実施形態では、抗生物質がドキシサイクリン、テトラサイクリンおよびミノサイクリンからなる群から選択される。他の実施形態では、抗生物質を基質組成物に組み込む。

【0120】

他の実施形態では、抗生物質をアモキシシリン、アモキシシリン/クラバン酸、ペニシリン、メトロニダゾール、クリンダマイシン、クロルテトラサイクリン、デメクロサイクリン、オキシテトラサイクリン、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネオマイシン、ネチルマイシン、ストレプトマイシン、トブラマイシン、セファドロキシル、セファゾリン、セファレキシン、セファロチン、セファピリン、セフラジン、セファクロール、セファマンドール、セフメタゾール、セフォニシド、セフォetan、セフォキシチン、セフポドキシム、セフプロジル、セフロキシム、セフジニル、セフィキシム、セフォペラゾン、セフォタキシム、セフトジジム、セフチブテン、セフチゾキシム、セフトリアキソン、セフェピム、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、リンコマイシン、トロレアンドマイシン、バカンピシリン、カルベニシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、メチシリン、メズロシリン、ナフシリン、オキサシリン、ピペラシリン、チカルシリン、シノキサシン、シプロフロキサシン、エノキサシン、グレパフロキサシン、レボフロキサシン、ロメフロキサシン、ナリジキシン酸、ノルフロキサシン、オフロキサシン、スパルフロキサシン、スルフィソクサゾール、スルファシチン（sulfacycline）、サルファダイアジン、サルファメトキサゾール、スルフィソクサゾール、ダブソン、アズトレオナム、バシトラシン、カプレオマイシン、クロラムフェニコール、クロファジミン、コリスチメタート、コリスチン、シクロセリン、ホスホマイシン、フラゾリドン、メテナミン、ニトロフラントイン、ペンタミジン、リファブチン、リファンピン、スペクチノマイシン、トリメトプリム、グルクロン酸トリメトレキサート、バンコマイシンからなる群から選択する。

【0121】

他の実施形態では、生物学的活性成分がクロルヘキシジンのような防腐剤である。

【0122】

各抗生物質は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0123】

[NSAID]

任意の適切なNSAIDを徐放および/または制御放出のため基質組成物には組み込むことができる。本発明の方法および組成物におけるNSAIDは、一実施形態では、フルルビプロフェンである。他の実施形態では、NSAIDがイブプロフェンおよびフルルビプロフェンからなる群から選択される。他の実施形態では、NSAIDがイブプロフェン、フルルビプロフェン、アミノサリチル酸塩ナトリウム、トリサリチル酸コリンマグネシウム、サリチル酸コリン、ジクロフェナク、ジフルニサル、エトドラク、フェノプロフェン、インドメタシン、ケトプロフェン、ケトラクトロメタミン、サリチル酸マグネシウム、メクロフェナム酸、メフェナム酸、ナブメトン、ナプロキセン、オキサプロジン、オキシフェンブタゾン、ピロキシカム、サルサレート、スリダク、トルメチンからなる群から選択される。

【0124】

各NSAIDは、本発明の別々の実施形態を表す。

【0125】

[ステロイド]

他の実施形態では、本発明の方法および組成物における活性物質がステロイドである。一実施形態では、ステロイドがステロイド性抗炎症薬である。本発明の製剤で使用するべきステロイド性抗炎症薬（SAID）の非限定的な例は、必ずしもそれだけに限定されるわけで

10

20

30

40

50



はないが、下記のようなコルチコステロイドを含む：ベタメタゾン、吉草酸ベタメタゾン、コーチゾン、デキサメタゾン、デキサメタゾン21-リン酸、フルドロコルチゾン、フルメタゾン、フルオシノニド、フルオシノニドデソニド、フルオシノロン、フルオシノロンアセトニド、フルオコルトロン、ハルシノニド、ハロプレドン、ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾン17-吉草酸、ヒドロコルチゾン17-酪酸、ヒドロコルチゾン21-アセテートメチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、プレドニゾロン21-リン酸、プレドニゾン、トリアムシノロン、トリアムシノロンアセトニド、コルトドキシソン、フルオラセトニド、フルドロコルチゾン、ジフルオルゾンジアセテート、フルランドレノロンアセトニド、メドリゾン、アムシナフェル、アムシナフィド、ベタメタゾンおよびそのエステル類、クロロプレドニゾン、クロルコルテロン、デシノロン、デソニド、ジクロリゾン、ジフルプレドナート、フルクロロニド、フルメタゾン、フルニソリド、フルコルトロン、フルオロメサロン、フルペロロン、フルプレドニゾロン、メプレドニゾン、メチルメプレドニゾロン、パラメタゾン、酢酸コルチゾン、シクロペンチルプロピオン酸ヒドロコルチゾン、コルトドキシソン、フルセトニド、酢酸フルドロコルチゾン、フルランドレノロンアセトニド、メドリゾン、アムシナフェル、アムシナフィド、ベタメタゾン、安息香酸ベタメタゾン、酢酸クロロプレドニゾン、酢酸クロコルトロン、デシノロンアセトニド、デスオキシメタゾン、酢酸ジクロリゾン、ジフルプレドナート、フルクロロニド、ピバル酸フルメタゾン、酢酸フルニソリド、酢酸フルペロロン、吉草酸フルプレドニゾロン、酢酸パラメタゾン、プレドニゾラマート、プレドニバル、トリアムシノロンヘキサセトニド、コルチバゾール、ホルモコルタル、ニバゾール。

#### 【 0 1 2 6 】

##### [ 抗癌剤 ]

ここで使用する「抗癌剤」という用語は、癌および／または癌に関連する疾病の治療に使用可能な任意のタイプの薬物を指す。抗癌剤には、癌細胞（癌腫瘍）および癌腫瘍の成長および／または生存能力、および／または癌に関連する疾病および症状に直接または間接的に影響を及ぼす可能性がある任意の天然分子または合成生成分子が含まれる可能性がある。抗癌剤は、例えば天然のタンパクまたはペプチド、修飾タンパクまたはペプチド、組換えタンパク、化学合成したタンパクまたはペプチド、低経口生物学的利用能タンパクまたはペプチド、化学分子、合成化学分子、化学療法薬、生物学的治療薬等、またはそれらの組合せを含む可能性がある。抗癌剤は、癌細胞に対する細胞毒性（細胞にとって有毒であること）および／または細胞増殖抑制性（細胞成長を抑制すること）および／または抗増殖性を有することができ、またそれ自体の効果を癌細胞に対して直接且つ／または間接的に及ぼすことができる。いくつかの実施形態によれば、抗癌剤は単独および／または組み合わせで、および／または1つ以上の追加的な癌治療の前後に投与することができる。追加的な癌治療としては、必ずしもそれだけに限定されるわけではないが、化学療法（癌細胞に影響を及ぼす薬剤の使用）、放射線療法（癌細胞に影響を及ぼす様々なソースの高エネルギー放射線）、生物学的治療（免疫系の癌との戦いを助ける治療）、外科的処置（癌腫瘍の外科的除去）、遺伝子治療、骨髄移植、当技術分野で知られる他の任意の治療、またはそれらの任意の組合せ等を挙げることができる。

#### 【 0 1 2 7 】

抗癌剤および化学療法薬剤の非限定的な例としては、必ずしもそれだけに限定されるわけではないが、ドセタキセル、エトポシド、イリノテカン、パクリタキセル、テニポシド、トポテカン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシン等のアルカロイド類；それだけに限らないが、ブスルファン、インプロスルファン、ピボスルファン、ベンゾデバ、カルボコン、メツレデバ、ウレデバ、アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド、クロラムブシル、クロラナファジン、シクロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシドHCl、メルファラン、ノベメビキン、ペルホスファミド、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、セムスチン、ラニムスチン、ダカル

バジン、マノムスチン、ミトブロニトール、ミトラクトール、ピボプロマン、テモゾロミド等のアルキル化剤；それだけに限らないが、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アントラマイシン、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カルピシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ドキシソルピシン、エピルピシン、イダルピシン、メノガリル、マイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ピラルピシン、プリカマイシン、ボルフィロマイシン、ピューロマイシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ジノスタチン、ゾルピシン等の抗生物質および類似体；それだけに限らないが、デノプテリン、エダトレキサート、メトトレキサート、ピリトレキシム、プテロプテリン、トムデックス、トリメトレキサート、クラドリジン、フルダラビン、6-メルカプトプリン、ペントスタチン、チアミプリン、チオグアニン、アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ドキシフルリジン、エミテフル、フロクスウリジン、フルオロウラシル、ゲムシタビン、テガフル等の代謝拮抗物質；それだけに限らないが、カロプラチン、シスプラチン、ミボプラチン、オキサリプラチン等の白金錯体；それだけに限らないが、ブスルファン（Myleran（登録商標））、Busulfex（登録商標））、クロラムブシル（Leukeran（登録商標））、イホスファミド（MESNAの有無を問わない）、シクロホスファミド（Cytosan（登録商標））、Neosar（登録商標））、グルフォスファミド、メルファラン、L-PAM（Alkeran（登録商標））、ダカルバジン（DTIC-Dome（登録商標））およびテモゾルアミド（temozolamide）（Temodar（登録商標））を含むアルキル化剤；それだけに限らないが、ドキシソルピシン（Adriamycin（登録商標））、Doxil（登録商標）、Rubex（登録商標）、ミトキサントロン（Novantrone（登録商標））、イダルピシン（Idamycin（登録商標））、バルルピシン（Valstar（登録商標））およびエピルピシン（Ellence（登録商標））を含むアントラサイクリン；それだけに限らないが、ダクチノマイシン、アクチノマイシンD（Cosmegen（登録商標））、ブレオマイシン（Blenoxane（登録商標））、ダウノルピシンおよびダウノマイシン（Cerubidine（登録商標）、DanuoXome（登録商標））を含む抗生物質；それだけに限らないが、アナストロゾール（Arimidex（登録商標））およびレトロゾール（Femara（登録商標））を含むアロマターゼ阻害剤；それだけに限らないが、ゾレドロネート（Zometa（登録商標））を含むビスホスホネート；それだけに限らないが、セレコキシブ（Celebrex（登録商標））を含むシクロオキシゲナーゼ抑制剤；それだけに限らないが、タモキシフェン（Nolvadex（登録商標））およびフルベストラント（Faslodex（登録商標））を含むエストロゲン受容体調節剤；それだけに限らないが、メトトレキサートおよびトレメトレキサート（tremetrexate）を含む葉酸拮抗剤；それだけに限らないが、三酸化ヒ素（Trisenox（登録商標））を含む無機ヒ酸；それだけに限らないが、ピンクリスチン（Oncovin（登録商標））、ピンラスチン（Velban（登録商標））、パクリタキセル（Taxol（登録商標））、Paxene（登録商標）、ピノレルビン（Navelbine（登録商標））、エボチロンB若しくはDまたはいずれかの誘導剤、ディスコデルモライド若しくはその誘導剤、およびそれだけに限らないがプロカルバジン（Matulane（登録商標））、ロムスチン、CCNU（CeeBU（登録商標））、カルムスチン（BCNU、BiCNU（登録商標））、Gliadel Wafer（登録商標））およびエストラムスチン（Emcyt（登録商標））を含むニトロソ尿素を含む微小管阻害剤（例えばタキサン）；それだけに限らないが、メルカプトプリン、6-MP（Purinethol（登録商標））、フルオロウラシル、5-FU（Adrucil（登録商標））、チオグアニン、6-TG（Thioguanine（登録商標））、ヒドロキシ尿素（Hydrea（登録商標））、シタラビン（Cytosar-U（登録商標））、DepoCyt（登録商標）、フロキシウリジン（FUDR（登録商標））、フルダラビン（Fludara（登録商標））、ペントスタチン（Nipent（登録商標））、クラドリピン（Leustatin（登録商標））、2-CdA（登録商標）、ゲムシタビン（Gemzar（登録商標））およびカペシタビン（Xeloda（登録商標））を含むヌクレオシド類似体；それだけに限らないが、パミドロン酸（Aredia（登録商標））を含む破骨細胞抑制剤；それだけに限らないが、シスプラチン（Platinol（登録商標））およびカルボプラチン（Paraplatin（登録商標））を含む白金含有化合物；それだけに限らないが、トレチノ

10

20

30

40

50

イン、ATRA (Vesanoid (登録商標))、アリトレチノイン (Panretin (登録商標)) およびベキサロテン (Targretin (登録商標)) を含むレチノイド; それだけに限らないが、トポテカン (Hycamtin (登録商標)) およびイリノテカン (Camptostar (登録商標)) を含むトポイソメラーゼ1抑制剤; それだけに限らないが、エトポシド、VP-16 (Vepesid (登録商標))、テニポシド、VM-26 (Vumon (登録商標)) およびリン酸エトポシド (Etopophos (登録商標)) を含むトポイソメラーゼ2抑制剤; それだけに限らないが、イマチニブ (Gleevec (登録商標)) を含むチロシンキナーゼ抑制剤; モノクローナル抗体、ペプチドおよび酵素、例えばスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) やレプチンのような他の様々な分子を含む他の様々なタンパク; フラボノイド; またはそれらの任意の組合せを挙げることができる。

10

#### 【0128】

いくつかの実施形態に従って使用可能な抗癌剤および生物学的治療の非限定的な例としては、必ずしもそれだけに限定されるわけではないが、例えば腫瘍抗原、抗体、サイトカイン (例えばインターロイキン (例えばインターロイキン2、インターロイキン4、インターロイキン12等)、インターフェロン (例えばインターフェロンE1、インターフェロンD、インターフェロン)、腫瘍壊死因子 (TNF)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、マクロファージコロニー刺激因子 (M-CSF) および顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF))、腫瘍抑制遺伝子、ケモカイン、補体成分、補体成分受容体、免疫系アクセサリ分子、接着分子、接着分子受容体、細胞生体エネルギーに影響を及ぼす作用物質、またはそれらの任意の組合せからなる群から選択される分子等の免疫調節分子の投与を挙げることができる。

20

#### 【0129】

##### [骨原性因子]

他の実施形態では、本発明の方法および組成物における活性物質が骨の形成を誘導または刺激する化合物である。他の実施形態では、活性物質が骨原性因子である。他の実施形態では、骨原性因子が骨の形成を誘導または刺激する任意のペプチド、ポリペプチド、タンパク質、または他の任意の化合物若しくは組成物を指す。他の実施形態では、骨原性因子が骨芽細胞や骨細胞のような骨の細胞への骨修復細胞の分化を誘導する。他の実施形態では、骨原性因子がTGF-、BMPおよびFGFからなる群から選択される。他の実施形態では、骨原性因子が骨を形成する骨の細胞への骨修復細胞の分化を誘導するのに十分な濃度

30

#### 【0130】

##### [骨吸収抑制剤]

他の実施形態では、本発明の方法および組成物における活性物質が骨再生を支援するのに有用な化合物である。他の実施形態では、活性物質が骨吸収抑制剤である。他の実施形態では、活性物質が骨密度維持薬品である。他の実施形態では、化合物をオステオプロテゲリン (OPG)、BMP-2、BMP-4、血管内皮細胞成長因子 (VEGF)、アレンドロネート、エチドロン酸二ナトリウム、パミドロン酸、リセドロネート、チルドロネートからなる群から選択する。他の実施形態では、化合物がオステオプロテゲリン (OPG) (破骨細胞成熟および活性を阻害し、破骨細胞アポトーシスを誘導する、自然に隠れたおとり受容体) である。他の実施形態では、活性物質が骨再構築要素である。骨再構築要素の非限定的な例は、BMPペプチドである。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

40

#### 【0131】

他の実施形態では、化合物が骨形成タンパク質 (BMP) である。他の実施形態では、化合物が骨芽細胞活性を促進するBMP-2およびBMP-4からなる群から選択される。

#### 【0132】

他の実施形態では、化合物が血管内皮細胞成長因子 (VEGF) である。

#### 【0133】

他の実施形態では、化合物がエストロゲンである。他の実施形態では、化合物がビスホスホン酸誘導体からなる群から選択される。他の実施形態では、ビスホスホン酸誘導体が

50

アレンドロネート、エチドロネート、パミドロネート、リセドロネート、チルドロネートからなる群から選択される。

【0134】

各化合物は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0135】

〔抗真菌薬〕

他の実施形態では、生物学的活性成分が例えば下記の抗真菌剤である：アンホテリシンBコレステリル硫酸錯体、ナタマイシン、アムホテリシン、クロトリマゾール、ナスタチン、アンホテリシンB脂質錯体、フルコナゾール、フルシトシン、グリセオフルビン、イトラコナゾール、ケトコナゾール、安息香酸およびサリチル酸、ベタメタゾンおよびクロトリマゾール、ブテナフィン、石炭酸フクシン、シクロピロックス、クリオキノール、クリオキノールおよびヒドロコルチゾン、クロトリマゾール、エコナゾール、ゲンチアナバイオレット、ハロプロジン、ヨードキノールおよびヒドロコルチゾン、ケトコナゾール、ミコナゾール、ナフチフィン、ナスタチン、ナスタチンおよびトリアムシノロン、オキシコナゾール、チオ硫酸ナトリウム、スルコナゾール、テルビナフィン、トルナフテート、トリアセチン、ウンデシレン酸およびその誘導体、ブトコナゾール、クロトリマゾール、スルファニルアミド、テルコナゾールおよびチオコナゾール。

【0136】

〔標的部分〕

他の実施形態では、本発明の方法および組成物における基質組成が更に標的分子と相互に作用可能な標的部分を含む。標的分子をコラーゲン分子、フィブリン分子およびヘパリンからなる群から選択するのが好ましい。他の実施形態では、標的分子が標的細胞の細胞外基質（ECM）の一部を形成する別の表面分子である。ECMは細胞によって生成され局所的に組み立てられる。ECMの組立および維持に關与する最も重要な細胞は、線維芽細胞である。ECMは、GAGs（ムコ多糖）と呼ばれる多糖鎖および様々なタンパク繊維、例えばコラーゲン、エラスチン、フィブロネクチンおよびラミニンを含む。

【0137】

他の実施形態では、標的部分がフィブロネクチンペプチドである。フィブロネクチンは、コラーゲン、フィブリン、ヘパリン等のECM構成成分を結合する高分子量のグリコプロテインである。他の実施形態では、標的部分がコラーゲン分子、フィブリン分子、ヘパリンからなる群から選択される標的分子と相互作用可能な別の標的部分である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0138】

「フィブロネクチンペプチド」とは、他の実施形態では全長フィブロネクチンタンパクを指す。他の実施形態では、この用語はフィブロネクチンの断片を指す。他の実施形態では、この断片はコラーゲン結合領域を含む。フィブロネクチン分子のコラーゲン結合領域は当業界で周知であり、例えばHynes, RO (1990). Fibronectins. New York: Springer-Verlag and in Yamada, KM and Clark, RAF (1996). Provisional matrix. In The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair (ed. R. A. F. Clark), pp.51-93. New York: Plenum Pressに記載されている。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0139】

他の実施形態では、標的部分を基質組成物に組み込む。他の実施形態では、標的部分を脂質基質に組み込むことが可能となるように修飾する。他の実施形態では、この修飾が脂質部分との結合を含む。脂質部分の非限定的な例は、水素化ホスファチジルエタノールアミン（HPE）である。しかしながら、脂質基質への組み込みが可能であればどのような脂質部分でも適切である。他の実施形態では、標的部分を修飾なしに脂質基質に組み込むことができる。他の実施形態では、標的部分を本発明の基質組成物の表面に付着する。他の実施形態では、標的部分を基質組成物またはベシクルの表面に該標的部分と共有結合した疎水性アンカーによって結合する。他の実施形態では、標的部分を疎水性アンカーによって脂質ベシクルに結合する。他の実施形態では、標的部分を薬剤キャリアの調製中に包含

させて、該キャリアのより深い層に配置することが可能となる。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0140】

一実施形態では、標的分子がコラーゲンである。コラーゲンは当業界で周知であり、例えばKhoshnoodi J et al (Molecular recognition in the assembly of collagens: terminal noncollagenous domains are key recognition modules in the formation of triple helical protomers. J Biol Chem. 281(50): 38117-21, 2006)に記載されている。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0141】

一実施形態では、標的分子がフィブリンである。フィブリンは当業界で周知であり、例えばValenick LV et al (Fibronectin fragmentation promotes alpha4beta1 integrin-mediated contraction of a fibrin-fibronectin provisional matrix. Exp Cell Res 309(1):48-55, 2005)およびMosesson MW (Fibrinogen and fibrin structure and functions. J Thromb Haemost 3(8):1894-904, 2005)に記載されている。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0142】

一実施形態では、標的分子がヘパリンである。ヘパリンは当業界で周知であり、例えばMosesson MW (Fibrinogen and fibrin structure and functions. J Thromb Haemost 3(8):1894-904, 2005)に記載されている。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0143】

[ 追加成分 ]

他の実施形態では、本発明の方法および組成物における基質組成物が更に遊離脂肪酸を含む。他の実施形態では、遊離脂肪酸が -6脂肪酸である。他の実施形態では、遊離脂肪酸が -9脂肪酸である。他の実施形態では、遊離脂肪酸を -6脂肪酸および -9脂肪酸からなる群から選択する。他の実施形態では、遊離脂肪酸が14以上の炭素原子を有する。他の実施形態では、遊離脂肪酸が16以上の炭素原子を有する。他の実施形態では、遊離脂肪酸が16の炭素原子を有する。他の実施形態では、遊離脂肪酸が18の炭素原子を有する。他の実施形態では、遊離脂肪酸が16~22の炭素原子を有する。他の実施形態では、遊離脂肪酸が16~20の炭素原子を有する。他の実施形態では、遊離脂肪酸が16~18の炭素原子を有する。他の実施形態では、遊離脂肪酸が18~22の炭素原子を有する。他の実施形態では、遊離脂肪酸が18~20の炭素原子を有する。他の実施形態では、遊離脂肪酸がリノール酸である。他の実施形態では、遊離脂肪酸がリノレン酸である。他の実施形態では、遊離脂肪酸がオレイン酸である。他の実施形態では、遊離脂肪酸をリノール酸、リノレン酸およびオレイン酸からなる群から選択する。他の実施形態では、遊離脂肪酸が当業界で既知の他の適当な遊離脂肪酸である。他の実施形態では、遊離脂肪酸が基質組成物に柔軟性を付加する。他の実施形態では、遊離脂肪酸が生体内放出速度をおとす。他の実施形態では、遊離脂肪酸が生体内制御放出の整合性を改善する。いくつかの実施形態において、脂肪酸は不飽和である。他の実施形態では、遊離脂肪酸が飽和する。他の実施形態では、少なくとも14の炭素原子を有する飽和脂肪酸を組み込むことにより生成する基質組成物のゲル-流体相転移温度が上昇する。

【0144】

他の実施形態では、遊離脂肪酸が重水素化される。他の実施形態では、脂質アシル鎖を重水素化することによりゲル-流体相転移温度を低下する。

【0145】

他の実施形態では、遊離脂肪酸を基質組成物に組み込む。各タイプの脂肪酸は、本発明の別々の実施例を表す。

【0146】

他の実施形態では、本発明の方法および組成物における基質組成物が更にトコフェロールを含む。本発明の方法および組成物におけるトコフェロールは、他の実施形態ではE307 ( -トコフェロール ) である。他の実施形態では、トコフェロールは -トコフェロール

である。他の実施形態では、トコフェロールがE308（ $\alpha$ -トコフェロール）である。他の実施形態では、トコフェロールがE309（ $\gamma$ -トコフェロール）である。他の実施形態では、トコフェロールが $\alpha$ -トコフェロール、 $\beta$ -トコフェロール、 $\gamma$ -トコフェロールおよび $\delta$ -トコフェロールからなる群から選択される。他の実施形態では、トコフェロールを基質組成物に組み込む。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

#### 【0147】

他の実施形態では、本発明の方法および組成物における基質組成物が更に当業界で周知の生理的に許容し得る緩衝塩を含む。生理的に許容し得る緩衝塩の非限定的な例は、リン酸塩緩衝液である。リン酸塩緩衝液の典型例は、40部のNaCl、1部のKCl、7部の $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ および1部の $\text{KH}_2\text{PO}_4$ である。他の実施形態では、緩衝塩が当業界で既知の他の任意の生理的に許容し得る緩衝塩である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

10

#### 【0148】

##### [ 基質組成物の放出速度と一般特性 ]

本発明の基質組成物に関する活性成分の90%の生体内放出時間は、1週間～6ヶ月であるのが好ましい。他の実施形態では、放出時間が4日～6ヵ月である。他の実施形態では、放出時間が1週間～5ヵ月である。他の実施形態では、放出時間が1週間～5ヵ月である。他の実施形態では、放出時間が1週間～4ヵ月である。他の実施形態では、放出時間が1週間～3ヵ月である。他の実施形態では、放出時間が1週間～2ヵ月である。他の実施形態では、放出時間が2週間～6ヵ月である。他の実施形態では、放出時間が2週間～5ヵ月である。他の実施形態では、放出時間が2週間～4ヵ月である。他の実施形態では、放出時間が2週間～3ヵ月である。他の実施形態では、放出時間が3週間～6ヵ月である。他の実施形態では、放出時間が3週間～5ヵ月である。他の実施形態では、放出時間が3週間～4ヵ月である。他の実施形態では、放出時間が3週間～3ヵ月である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

20

#### 【0149】

生分解性ポリマーインプラント（脂質不存在）および薬剤含有ベシクル（生分解性ポリマー不存在）の放出速度を調整する方法は当業界で周知である。例えば、ポリマーの場合、PLGAの乳酸対グリコール酸の比率を増加させると放出時間が長くなる。薬剤含有ベシクルの場合、コレステロールの量を増加させると放出時間が長くなる。これら各方法を用いて本発明の基質組成物の放出速度を調整することができる。

30

#### 【0150】

ここで用いる「生分解性」という用語は、生理的pHの自然な生物学的プロセスによって分解可能な物質を指す。「生理的pH」とは、通常6～8の体組織のpHを指す。「生理的pH」は、胃液の強酸性pH、通常1～3を含まない。

#### 【0151】

脂質飽和を達成するための全脂質対ポリマーの質量比をここに記載したような多数の方法で決定することができる。他の実施形態では、本発明の組成物の脂質対ポリマーの質量比は、1:1～9:1である。他の実施形態では、この比が2:1～9:1である。他の実施形態では、この比が3:1～9:1である。他の実施形態では、この比が4:1～9:1である。他の実施形態では、この比が5:1～9:1である。他の実施形態では、この比が6:1～9:1である。他の実施形態では、この比が7:1～9:1である。他の実施形態では、この比が8:1～9:1である。他の実施形態では、この比が1.5:1～9:1である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

40

#### 【0152】

他の実施形態では説明のために、ポリマーが主として40KDaのPLGA（ポリ（乳酸-グリコール酸、1:1の比率）である場合、40KDaのPLGAに対する全脂質のモル比が通常20～100の範囲である。他の実施形態では、40KDaのPLGAに対する全脂質のモル比が20～200である。他の実施形態では、モル比が10～100である。他の実施形態では、モル比が10～200である。他の実施形態では、モル比が10～50である。他の実施形態では、モル比が20～50である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

#### 【0153】

50

他の実施形態では、本発明の基質組成物の融解温度 ( $T_m$ ) が少なくとも37 である。他の実施形態では、 $T_m$  が少なくとも40 である。他の実施形態では、 $T_m$  が少なくとも42 である。他の実施形態では、 $T_m$  が少なくとも44 である。他の実施形態では、 $T_m$  が少なくとも46 である。他の実施形態では、 $T_m$  が少なくとも48 である。他の実施形態では、 $T_m$  が少なくとも50 である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0154】

[インプラントおよび他の医薬組成物]

他の実施形態では、本発明の基質組成物が有機溶媒の蒸発後のインプラントの形態である。溶媒の蒸発を通常20~60 の温度で行う。

【0155】

他の実施形態では、インプラントが均質である。他の実施形態では、インプラントがモールド中の材料を凍結乾燥するステップを含むプロセスによって製造される。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0156】

本発明の他の実施形態は、本発明の抗生物質含有基質組成物を含むインプラントを提供する。本発明の他の実施形態は、本発明のNSAID含有基質組成物を含むインプラントを提供する。本発明の他の実施形態は、本発明の骨吸収抑制剤含有基質組成物を含むインプラントを提供する。本発明の他の実施形態は、抗生物質およびNSAIDを含有する本発明の基質組成物を含むインプラントを提供する。本発明の他の実施形態は、抗生物質および骨吸収抑制剤を含有する本発明の基質組成物を含むインプラントを提供する。本発明の他の実施形態は、骨吸収抑制剤およびNSAIDを含有する本発明の基質組成物を含むインプラントを提供する。本発明の他の実施形態は、抗生物質、NSAIDおよび骨吸収抑制剤を含有する本発明の基質組成物を含むインプラントを提供する。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0157】

他の実施形態では、本発明の組成物からインプラントを作成する方法が、(a) 本発明の方法に係る基質組成物をバルク材料の形で作成するステップと、(b) バルク材料を所望の形状のモールドまたは固体容器に移すステップと、(c) バルク材料を凍結するステップと、(d) バルク材料を凍結乾燥するステップとを備える。

【0158】

本発明の他の実施形態は、本発明の基質組成物および製薬学的に許容し得る賦形剤を含む医薬組成物を提供する。

【0159】

他の実施形態では、本発明の基質組成物が有機溶媒の蒸発後の微小球の形態である。他の実施形態では、微小球が均質である。他の実施形態では、微小球が噴霧乾燥ステップを含むプロセスによって製造される。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0160】

本発明の他の実施形態は、本発明の基質組成物で作成した微小球を提供する。本発明の他の実施形態は、本発明の微小球および製薬学的に許容し得る賦形剤を含む医薬組成物を提供する。他の実施形態では、医薬組成物が非経口注入可能な形態である。他の実施形態では、医薬組成物が不溶解性の形態である。他の実施形態では、賦形剤が注射に適合する。他の実施形態では、賦形剤が点滴に適合する。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0161】

他の実施形態では、本発明の微小球の粒径が約500~2000nmである。他の実施形態では、粒径が約400~2500nmである。他の実施形態では、粒径が約600~1900nmである。他の実施形態では、粒径が約700~1800nmである。他の実施形態では、粒径が約500~1800nmである。他の実施形態では、粒径が約500~1600nmである。他の実施形態では、粒径が約600~2000nmである。他の実施形態では、粒径が約700~2000nmである。他の実施形態では、これらの粒子がは製剤投与に適した他の任意のサイズである。各可能性は本発明の別々の実

10

20

30

40

50

施形態を表す。

【0162】

[治療法]

本発明の他の実施形態は、抗生物質を必要とする被検体に投与する方法を提供し、該方法は被検体に本発明の基質組成物を投与することにより抗生物質を必要とする被検体に投与するステップを含む。他の実施形態では、基質組成物を含む医薬組成物を投与する。他の実施形態では、基質組成物を含むインプラントを投与する。他の実施形態では、基質組成物を含む注射可能な製剤を注射する。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0163】

本発明の他の実施形態は、非ステロイド抗炎症薬（NSAID）を必要とする被検体に投与する方法を提供し、該方法は被検体に本発明の基質組成物を投与することによりNSAIDを必要とする被検体に投与するステップを含む。他の実施形態では、基質組成物を含む医薬組成物を投与する。他の実施形態では、基質組成物を含むインプラントを投与する。他の実施形態では、基質組成物を含む注射可能な製剤を注射する。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

10

【0164】

本発明の他の実施形態は、抗生物質を必要とする被検体に投与するための本発明の基質組成物を含む医薬組成物を提供する。他の実施形態では、医薬組成物がインプラントである。他の実施形態では、医薬組成物が注射可能な組成物である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

20

【0165】

本発明の他の実施形態は、NSAIDを必要とする被検体に投与するための本発明の基質組成物を含む医薬組成物を提供する。他の実施形態では、医薬組成物がインプラントである。他の実施形態では、医薬組成物が注射可能な組成物である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0166】

本発明の他の実施形態は、抗生物質およびNSAIDを必要とする被検体に共投与するための本発明の基質組成物を含む医薬組成物を提供する。他の実施形態では、医薬組成物がインプラントである。他の実施形態では、医薬組成物が注射可能な組成物である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

30

【0167】

本発明の他の実施形態は、必要とする被検体の歯周炎を治療する方法を提供するもので、該方法は本発明の基質組成物を前記被検体に投与することにより歯周炎を治療するステップを含む。「歯周炎」とは、歯を取り囲み支持する組織に影響を及ぼす炎症性疾患を指す。他の実施形態では、歯周炎が歯の周囲の歯槽骨の進行性消失を含み、未処置のまま放置すると歯が緩んで最終的に消失する恐れがある。場合によっては、歯周炎が細菌性の病因を有する。他の実施形態では、歯周炎が慢性歯周炎である。他の実施形態では、歯周炎が当業界で既知の他の任意のタイプの歯周炎である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0168】

本発明の他の実施形態は、必要とする被検体の骨増生を刺激する方法を提供するもので、該方法は本発明の基質組成物を被検体に投与することにより骨増生を刺激するステップを含む。他の実施形態では、被検体が骨肉腫／骨の悪性線維性組織球腫（PDQ）、骨肉腫、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、悪性線維性組織球腫、線維肉腫および悪性線維性組織球腫、骨巨細胞腫、脊索腫、リンパ腫、多発性骨髄腫、骨関節症、骨のパジェット病、関節炎、退行性変化、骨粗鬆症、骨形成不全症、骨棘、腎臓骨形成異常、副甲状腺機能亢進症、骨髄炎、内軟骨腫、骨軟骨腫、大理石骨病、糖尿病関連の骨もしくは関節障害からなる群から選択される疾患または障害を有する。他の実施形態では、基質組成物がインプラントの形態である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

40

【0169】

50



本発明の他の実施形態は、必要とする被検体の整形外科手術に由来する合併症の発生率を低下させる方法を提供するもので、該方法は被検体に本発明の基質組成物を投与することにより整形外科手術に由来する合併症の発生率を低下させるステップを含む。他の実施形態では、この整形外科手術が手の手術、肩および肘の手術、完全関節再建（関節形成）、小児整形外科、足部および足関節手術、脊椎手術、膝関節鏡視下手術、膝半月板切除術、肩関節鏡視下手術、肩減圧症手術、手根管解放、膝軟骨形成術、支持インプラントの除去、膝十字靱帯再建、膝関節置換術、大腿骨頸部骨折の修復、転子部骨折の修復、皮膚、筋肉または骨折の創面切除、膝半月軟骨の修復、股関節置換術、肩関節鏡視下手術／鎖骨遠位端切除術、鏡視下腱板縫合術、橈骨（骨）／尺骨骨折の修復、椎弓切除、足関節骨折（2踝部骨折型）の修復、肩関節鏡視下手術および創面切除、腰椎固定術、橈骨の末梢部骨折の修復、腰椎間板手術、指腱鞘切開術、足関節骨折（腓骨）の修復、大腿骨骨幹軸骨折の修復、転子骨骨折の修復からなる群から選択される。他の実施形態では、基質組成物がインプラントの形態である。他の実施形態では、インプラントが整形外科手術中に投与される。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

10

#### 【0170】

本発明の他の実施形態は、必要とする被検体における外科的再生処置の有効性を高める方法を提供するもので、該方法は被検体に本発明の基質組成物を投与することにより外科的再生処置の有効性を高めるステップを含む。他の実施形態では、外科的再生処置が歯周処置である。他の実施形態では、外科的再生処置がインプラントを投与すること（インプラント処置）を含む。他の実施形態では、インプラント処置がリッジまたはサイナスオーグメンテーションを対象とする。他の実施形態では、基質組成物がインプラントの形態である。他の実施形態では、インプラントが外科的処置中に投与される。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

20

#### 【0171】

本発明の他の実施形態は、必要とする被検体の骨髄炎を治療する方法を提供するもので、該方法は被検体に本発明の基質組成物を投与することにより骨髄炎を治療するステップを含む。他の実施形態では、基質組成物がインプラントの形態である。他の実施形態では、インプラントが骨髄炎の部位またはその近傍に投与される。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

#### 【0172】

30

他の実施形態では、本発明の基質組成物が整形外科による骨および軟部組織の回復を助けるために投与される。膝関節鏡視下手術および半月板切除術、肩関節鏡視下手術および肩減圧症手術、手根管解放、膝関節鏡視下手術および軟骨修復術、支持インプラントの除去、膝関節鏡視下手術および膝十字靱帯再建、膝関節置換術、大腿骨頸部骨折の修復、転子部骨折の修復、皮膚／筋肉／骨／骨折の創面切除、両半月板の膝関節鏡視下手術による修復、股関節置換術、肩関節鏡視下手術／鎖骨遠位端切除術、鏡視下腱板縫合術、橈骨（radius）／尺骨骨折の修復、椎弓切除、足関節骨折（2踝部骨折型）の修復、肩関節鏡視下手術および創面切除、腰椎固定術、橈骨の末梢部骨折の修復、腰椎間板手術、指腱鞘切開術、足関節骨折（腓骨）の修復、大腿骨骨幹軸骨折の修復、転子骨骨折の修復からなる群から選択される処置中または処置後に化合物が投与される。

40

#### 【0173】

他の実施形態では、本発明の基質組成物がスポンジおよび膜のような製品の使用により感染症を減らし、組織の癒着を回避するホメオスタシスのために投与される。

#### 【0174】

他の実施形態では、本発明の基質組成物が縫合材料周辺の炎症性反応を抑制するために投与される。

#### 【0175】

##### [ 基質組成物の作製方法 ]

本発明の組成物を得るために、任意の適切な方法を利用して耐水性基質へのポリマーおよび脂質の均一な分散をもたらすことができる。有利なことに、いくつかの実施形態に従

50

って利用される方法は、製造プロセスのいかなる段階でも水の使用を避ける。

【0176】

いくつかの実施形態によれば、ポリマーを選択された1つ（または複数）の適切な揮発性有機溶媒と個別に混合する一方、ポリマーと混合する前にリン脂質を薬学的活性物質と共に選択された適切な溶媒または複数の溶媒と混合する。

【0177】

特定の実施形態において、本発明は基質組成物を製造する方法を提供するもので、該方法は（a）第1の揮発性有機溶媒中で（i）生分解性ポリエステルおよび（ii）ステロールを混合するステップと、（b）第2の揮発性有機溶媒中で（i）活性物質、（ii）ホスファチジルコリンおよび（iii）随意選択のホスファチジルエタノールアミンを個別に混合するステップと、（c）前記ステップ（a）および（b）で得た生成物を混合、均質化するステップとを含む。

10

【0178】

他の実施形態では、ホスファチジルエタノールアミンがステップ（b）の揮発性有機溶媒に添加されるホスファチジルエタノールアミンの代わりにまたはそれに加えて、ステップ（a）の揮発性有機溶媒に含まれる。他の実施形態では、生分解性ポリエステルをPLA、PGA、PLGAからなる群から選択する。他の実施形態では、生分解性ポリエステルが当業界で既知の他の任意の適切な生分解性ポリエステルである。いくつかの実施形態では、第1の揮発性有機溶媒が無極性溶媒である。いくつかの実施形態では、第2の揮発性有機溶媒が水混和性溶媒である。活性物質がタンパクまたはペプチドである場合、タンパクの活性を修飾しないかまたは損なわない溶媒を選択することが重要となる。特定の実施形態では、活性物質をNSAID、抗生物質、抗真菌薬、ステロイド、抗癌剤、骨原性因子、骨吸収抑制剤、およびそれらの混合物からなる群から選択する。

20

【0179】

他の実施形態では、揮発性有機溶媒を含有するステップ（a）の混合物は、ステップ（b）の溶液と混合する前に均質化される。他の実施形態では、ステップ（a）で使用する揮発性有機溶媒または揮発性有機溶媒混合物は、ステップ（b）で使用する揮発性有機溶媒または有機溶媒混合物と同じであっても、異なってもよい。他の実施形態では、ステップ（b）の混合物は、ステップ（a）の混合物と混合する前に均質化される。他の実施形態では、ステップ（a）の混合物中のポリマーが飽和脂質である。他の実施形態では、基質組成物が飽和脂質である。ポリマーおよびホスファチジルコリンを基質組成物に組み込むのが好ましい。他の実施形態では、活性物質も基質組成物に組み込む。他の実施形態では、基質組成物が形状および境界を生分解性ポリマーによって決定した脂質飽和基質の形態である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

30

【0180】

他の実施形態では、本発明の方法および組成物におけるホスファチジルエタノールアミンが飽和脂肪酸部分を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が少なくとも14の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が14～18の炭素原子を有する。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0181】

他の実施形態では、本発明の方法および組成物におけるホスファチジルコリンが飽和脂肪酸部分を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が少なくとも14の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が少なくとも16の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が14～18の炭素原子を有する。他の実施形態では、脂肪酸部分が16～18の炭素原子を有する。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

40

【0182】

他の実施形態では、第1の揮発性有機溶媒中の全脂質とポリマーの質量比が、この混合物中のポリマーを脂質飽和するようなものである。他の実施形態では説明のために、ポリマーが主として50KDaのPLGA（ポリ（乳酸-グリコール酸）、1:1の比率）である場合、50KDaのPLGAに対する全脂質のモル比が通常10～50の範囲である。他の実施形態では、50KDa

50

のPLGAに対する全脂質のモル比が10～100である。他の実施形態では、モル比が20～200である。他の実施形態では、モル比が20～300である。他の実施形態では、モル比が30～400である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0183】

本発明の上記の方法および他の方法における各組成物は、本発明の基質組成物の対応する化合物と同じように定義される。

【0184】

他の実施形態では、前記製造方法のステップ(a)が揮発性有機溶媒にホスファチジルエタノールアミンを添加するステップを更に含む。他の実施形態では、ホスファチジルエタノールアミンがステップ(b)に含まれる同じホスファチジルエタノールアミンである。他の実施形態では、ホスファチジルエタノールアミンが当業界で既知の他の任意のホスファチジルエタノールアミンとし得る異なったホスファチジルエタノールアミンである。他の実施形態では、ホスファチジルエタノールアミンがステップ(b)のホスファチジルエタノールアミンおよび異なったホスファチジルエタノールアミンからなる群から選択される。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

10

【0185】

他の実施形態では、前記製造方法のステップ(a)が揮発性有機溶媒にトコフェロールを添加するステップを更に含む。

【0186】

他の実施形態では、前記製造方法のステップ(b)が揮発性有機溶媒に生理的に許容し得る緩衝塩を添加するステップを更に含む。生理的に許容し得る緩衝塩の非限定的な例は、リン酸塩緩衝液である。リン酸塩緩衝液の典型例は、40部のNaCl、1部のKCl、7部の $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、および1部の $\text{KH}_2\text{PO}_4$ である。他の実施形態では、緩衝塩が当業界で既知の他の任意の生理的に許容し得る緩衝塩である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

20

【0187】

他の実施形態では、前記製造方法のステップ(b)が揮発性有機溶媒にホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロール、スフィンゴミエリンおよびホスファチジリンノitolからなる群から選択したリン脂質を添加するステップを更に含む。

【0188】

他の実施形態では、前記製造方法のステップ(b)が揮発性有機溶媒にスフィンゴ脂質を添加するステップを更に含む。他の実施形態では、スフィンゴ脂質がセラミドである。他の実施形態では、スフィンゴ脂質がスフィンゴミエリンである。他の実施形態では、スフィンゴ脂質が当業界で既知の他の任意のスフィンゴ脂質である。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

30

【0189】

他の実施形態では、前記製造方法のステップ(b)が水溶性の揮発性有機溶媒に -6または -9遊離脂肪酸を添加するステップを更に含む。他の実施形態では、遊離脂肪酸が16以上の炭素原子を有する。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0190】

他の実施形態では、前記製造方法の各ステップが実質的に水溶液の無いものである。他の実施形態では、各ステップが実質的に水または任意の水溶液の不在である。ここに記載するように、実質的に水の無いプロセスで本発明の基質組成物を生成すると、脂質飽和が可能となる。

40

【0191】

ステップ(a)の混合物中でポリマーが脂質飽和しているので、混合すると均質混合物が形成される。他の実施形態では、均質混合物が均質液体の形態である。他の実施形態では、混合物を凍結乾燥または噴霧乾燥してベシクルを形成する。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0192】

他の実施形態では、前記製造方法がステップ(c)の生成物中に存在する溶媒を蒸発さ

50

せるステップを更に含む。他の実施形態では、蒸発が混合物の噴霧化を利用する。他の実施形態では、混合物を乾燥加熱空気中に噴霧する。典型的には、加熱空気へ噴霧化すると、すべての水分が直ちに蒸発し、後続の乾燥ステップの必要性を除去する。他の実施形態では、混合物を水の無い溶媒に噴霧する。他の実施形態では、蒸発を噴霧乾燥によって行う。他の実施形態では、蒸発を凍結乾燥によって行う。他の実施形態では、蒸発を液体窒素を用いて行う。他の実施形態では、蒸発を予めエタノールと混合した液体窒素を用いて行う。他の実施形態では、蒸発を当業界で既知の他の適切な技術を使用して行う。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0193】

他の実施形態では、本発明の方法が組成物を真空乾燥するステップを更に含む。他の実施形態では、真空乾燥ステップを蒸発ステップの後に行う。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0194】

他の実施形態では、本発明の方法がステップ(c)の生成物を加熱することによって有機揮発性溶媒を蒸発させるステップを更に含む。加熱は、溶媒がなくなるまで室温~60の典型的な温度で継続する。他の実施形態では、真空乾燥ステップを溶媒蒸発ステップの後に行う。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0195】

[脂質飽和およびその判別技法]

ここで用いる「飽和脂質」という用語は、基質中に存在する疎水性薬剤および標的部分並びに存在し得る他の脂質と結合するリン脂質による基質組成物のポリマーの飽和を指す。ここに記載するように、いくつかの実施形態では、本発明の基質組成物がホスファチジルコリン以外のリン脂質を含む。他の実施形態様において、基質組成物はリン脂質以外の脂質を含む。基質組成物は、どのような脂質が存在しても飽和する。「飽和」とは、基質に組み込み得るのに用いたタイプの最大量の脂質を基質が含有している状態を指す。脂質飽和を得るためのポリマー対脂質の比を決定する方法、および基質の脂質飽和度を決定する方法をここに記載する。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0196】

他の実施形態では、本発明の方法および組成物における基質組成物が実質的に水の無いものである。「実質的に水の無い」とは、他の実施形態では1質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語が0.8質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語が0.6質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語が0.4質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語が0.2質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語が組成物の耐水性の特性に影響を及ぼす量の水が存在しないことを指す。他の実施形態では、この用語がいかなる水性溶媒も使用せずに製造される組成物を指す。他の実施形態では、ここに記載するように、実質的に水の無いプロセスを使用して組成物を製造することにより、脂質飽和が可能となる。脂質飽和は、生体内のバルク分解に耐える能力を基質組成物に付与する。従って、基質組成物は数週間または数か月にわたる持続放出を媒介する能力を示す。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0197】

他の実施形態では、基質組成物が本質的に水の無いものである。「本質的に水の無い」とは、0.1質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語が0.08質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語が0.06質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語が0.04質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語が0.02質量%未満の水を含有する組成物を指す。他の実施形態では、この用語が0.01質量%未満の水を含有する組成物を指す。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0198】

他の実施形態において、基質組成物は水が無い。他の実施形態では、この用語が検出可

10

20

30

40

50

能な量の水を含有しない組成物を指す。各可能性は本発明の別々の実施形態を表す。

【0199】

他の実施形態では、基質組成物が乾燥状態である。「乾燥状態」とは、他の実施形態では検出可能な量の水または有機溶媒が無いことを指す。

【0200】

他の実施形態では、基質組成物の水透過性を最小化した。水透過性の「最小化」とは、ここに記載するように、基質組成物を有機溶媒中で添加した水の浸入に対する透過性を最小にするように決定した量の脂質の存在下で製造するプロセスを指す。ここに記載するように、脂質の必要量は、トリチウムでタグ付けした水を含有する溶液でベシクルを水和させることによって決定することができる。

10

【0201】

他の実施形態において、「脂質飽和」は脂質基質内でポリマー骨格の外部境界で画定されるような内部間隙（自由体積）の充填を指す。これらの間隙を、付加的な脂質部分を感知可能な程度で基質に組み込むことができなくなる程度まで、リン脂質と共に基質中に存在する他のタイプの脂質、疎水性薬剤および標的部分で充填する。

【0202】

一実施形態では、下記の方法を使用して脂質飽和度を決定する。

【0203】

製造後に、ベシクルを水和し、遠心分離または濾過によって分離する。ベシクルに取り込まれない脂質は遊離ミセルまたはリポソームを形成し、上澄み内に位置する。上澄みおよびベシクルの全脂質含有量を定量化する。このようにして、異なる脂質対ポリマーの比を含む様々な製剤に関する取り込み脂質対遊離脂質の含有量が当初から決定される。従って、実際の実験による最大脂質/ポリマー比が決定される。

20

【0204】

他の実施形態では、下記の方法を使用して脂質飽和度が決定される。

【0205】

製造後に、ベシクルをトリチウムでタグ付けした水を含有する溶液で水和し、トリチウムの無い溶液で洗浄し、遠心分離または濾過によって分離し、ポリマー質量当たりの取り込み水量を定量化する。ポリマーベシクル中の自由体積を飽和するのに必要な脂質の量を決定するために、この処理を異なる脂質対ポリマーの比で繰り返す。

30

【0206】

「ゼロ次放出速度」または「ゼロ次放出速度論」は、ポリマー基質からの薬学的活性物質の一定、線形的、連続的で徐放および制御放出速度を意味する、すなわち時間に対する薬学的活性物質の放出量のプロットが直線になる。

【0207】

[ 実験詳細 ]

使用する略語は、ホスホエタノールアミン = PE ; ホスファチジルコリン = PC ; 1,2-ジミリストイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン = DMPE ( 14:0 ) ; 1,2-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン = DPPE ( 16:0 ) ; 1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン = DSPC ( 18:0 ) ; 1,2-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン = DPPC ( 16:0 ) ; 1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン = DOPC ( 18:1 ) ; 1-パルミトイル-2-{6-[(7-ニトロ-2-1,3-ベンゾオキサジアゾール-4-イル)アミノ]ヘキサノイル}-sn-グリセロ-3-ホスホコリン = NBD-PCである。

40

【0208】

[ 実施例1 ] 薬剤キャリア組成物の製造用の基盤技術

【0209】

[ 概要 ]

脂質飽和ポリマー基質を生成するために2つの混合物を作成する。

1. 生分解性ポリマーと、ステロールおよび/またはリン脂質構成成分とを揮発性有機溶媒と混合して、示差走査熱量測定 ( DSC ) プロファイルによって測定される脂質飽和ポリマ

50

ー基質の溶液または懸濁液を得る。

2. 活性物質およびリン脂質構成成分を第2の揮発性有機溶媒と混合して第2の溶液または懸濁液を得る。

3. これら2つの溶液または懸濁液を一緒にし、平衡に達するまで混合し、その後有機溶媒を蒸発させて薬剤含有脂質飽和ポリマー基質を得る。

#### 【0210】

##### [例示的なプロトコル]

##### I. 第1の溶液の調製

ポリマー（PLGA、PGA、PLAまたはそれらの組合せ）と、ステロール（例えばコレステロール）および／または - または - トコフェロールおよび／またはホスファチジルエタノールアミンのような極性脂質とを揮発性有機溶媒（例えばクロロホルムを含む／含まない酢酸エチル）に混合する。この混合物を混合する。このプロセス全体を通常室温で行う。こうして第1脂質／ポリマー混合物が得られる。

10

#### 【0211】

##### II. 第2の溶液の調製

下記の材料を揮発性有機溶媒（典型的にはN-メチルピロリドン[NMP]、メタノール、酢酸エチルまたはそれらの組合せ）と混合する。

a. 活性化化合物。

b. ホスホコリンまたはホスファチジルコリン誘導体、例えば基質中の全脂質の30～90質量%として存在する1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン（DSPC）またはジオレオイル-ホスファチジルコリン（DOPC）、すなわち30～90質量%のリン脂質、ステロール、セラミド、脂肪酸等。

20

c. いくつかの実験では、ホスファチジルエタノールアミン、例えばジメチルジミリスチルホスファチジルエタノールアミン（DMPE）またはジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン（DPPE）、基質中の全脂質の0.1～50質量%として存在。

d. いくつかの実験では、標的部分、例えばフィブロネクチン-水素化ホスファチジルエタノールアミン（HPE）錯体が基質中の全脂質の0.1～10 mol%として含れる。この錯体を形成するために、コラーゲン結合領域を含むフィブロネクチンタンパクまたはその断片をHPEのアミン頭部基とチオエーテル結合によって結合させる。

e. いくつかの実験では、0.1～15質量%の遊離脂肪酸、例えばリノール酸（Ln）またはオレイン酸（OA）が基質中の全脂質の0.1～10質量%として含れる。

30

f. いくつかの実験では、リン酸塩のような塩が含れる。

#### 【0212】

この第2混合物を混合、均質化または超音波処理する。場合によっては、混合、均質化または超音波処理に先立って、無極性の揮発性有機溶媒、例えば酢酸エチルを混合物に含めて、30分間緩やかに攪拌する。一般に、このプロセス全体を室温で実行するが、高飽和脂質を使用するときは通常45℃までのより高い温度を用いる。

#### 【0213】

この混合物に水は必要ない。

#### 【0214】

##### III. ポリマーと薬剤／タンパク混合物との混合

第2懸濁液（または溶液）を攪拌下で第1の溶液に添加する。攪拌を最長5時間継続する。このプロセス全体は、特定の製剤、使用する脂質の性質および特定の薬剤に応じて室温～最高60℃で実行する。生成する混合物は均質にすべきである。

40

#### 【0215】

##### IV. 溶媒の蒸発

いくつかの実験では、段階IIIで得た溶液を乾燥した加熱空気中に噴霧する。

#### 【0216】

他の実験では、段階IIIの溶液を液体窒素で覆われたエタノールまたはエタノールの無い液体窒素のみ中に噴霧し、その後窒素および／またはエタノール（上記）を蒸発させる

50

。

【0217】

他の実験において表面被覆を行う場合、段階IIIの懸濁液を被覆すべき粒子またはデバイスとを混合し、その後揮発性有機溶媒を蒸発させる。この被覆プロセス全体を30～60の温度で実行する。

【0218】

V. 真空乾燥

被覆粒子および被覆デバイスを貯蔵用に真空乾燥する。

【0219】

[実施例2] ドキシサイクリンハイクレートの調製：骨感染症の治療（骨髄炎または外傷により生じた骨欠損部の充填）のための骨片充填製剤

10

【0220】

I. 第1の溶液の調製

酢酸エチルに下記の材料を混合する。

- ・ 50～75kDaのPLGA（ポリ（乳酸-グリコール酸）、85:15の比率）
- ・ コレステロール（対PLGA、50%～100% w/w）

【0221】

この混合物を混合する。このプロセス全体を室温で実行する。こうして脂肪/ポリマー配合基質が得られる。

【0222】

20

II. 第2の溶液の調製

下記の材料を揮発性有機溶媒（メタノールおよび酢酸エチル）と混合する。

a. 活性化化合物：抗生物質ドキシサイクリンハイクレート

b. PLGAに対し300～700% w/wとして存在する1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン（DSPC）

【0223】

この混合物を十分混合する。このプロセス全体を室温で実行する。長い飽和脂肪鎖を有するホスファチジルコリン（例えばDSPC）を使用する場合、このプロセスは通常約40～50のより高い温度で実行する。この混合物に水は必要ない。

【0224】

30

III. ポリマーと薬剤混合物との混合

第2の溶液または懸濁液を通常撹拌下で第1懸濁液に添加する。撹拌を1～5分間継続する。このプロセス全体を使用する脂質に応じて20～50の温度で実行する。

【0225】

IV. 表面被覆後の蒸発

骨充填材粒子を被覆するために、段階IIIの混合物に粒子を添加し、その後揮発性有機溶媒を蒸発させた。このプロセス全体を40～50の温度で実行する。

【0226】

段階IIIの混合物中の固体の体積および割合と骨片の質量との比率は、被覆粒子の水和後の薬剤放出期間を決定する。

40

【0227】

V. 真空乾燥

被覆骨片を貯蔵用に真空乾燥する。

【0228】

本発明の基質組成物で被覆した骨充填材粒子（商用ウシ由来異種移植片：BioOss（登録商標））の薬剤（ドキシサイクリンハイクレート）徐放能力を図1および図2に示す。本発明の基質組成物内に封入されたドキシサイクリンハイクレートの徐放速度を測定し、遊離DOX溶液（同量のDOXを有する）に浸漬した骨片からの薬剤の放出速度と比較した。薬剤は、ゼロ次速度過程（図2）後約3週間にわたり（図1Aおよび図1B）絶えず放出されることが分かった。図2に示した速度値は、被覆骨片が骨充填材として用いた骨片の総量

50

の20%のみを構成し、薬剤が放出されたときはそれらの薬剤が骨片間の自由体積に分散するという仮定に従って計算した。

【0229】

本発明の基質組成物による被覆前（図3A）および被覆後（図3Bおよび図3C）の骨片のマクロ構造を調査した。図3から分かるように、骨片の構造は被覆によって影響されない。更に、骨片のマクロ構造は血清中で60日間の培養後も維持された。

【0230】

本発明の基質組成物による被覆前（図4A）および被覆後（図4B～図4E）の骨片表面の構造をSEMによって調査した。基質組成物はDSPC、PLGA（85:15）、コレステロールおよび抗生ドキシサイクリンハイクレートを含有した。被覆骨片を10%のFBS中に37℃で2ヶ月間培養した。上記から分かるように、被覆物は均質且つ不透明であり、更に骨面の大部分を覆う。時間の経過と共に、この被覆物は表面腐食によって層毎に徐々に除去され、その間に薬剤が放出される。更に、図4Eを見ると、被覆物が60日間の培養後にほぼ完全に除去され、骨面は被覆のない初期形態のままであることが分かる。本発明の基質組成物の秩序構造を図5に示す。被覆骨片（PLGA（85:15）、DPPC（16:0）およびコレステロール（10%）を電子顕微鏡検査（18,000倍）およびネガティブ染色法によって分析した（データは図示せず）。ポリマーは明るい色の線で表され、脂質はポリマー材料間の影で表されている。

【0231】

所定薬剤の放出速度に対する様々なポリマー/脂質組成物の影響を、PLGA（75:25）、主要リン脂質としてのDPPCおよび炭素数が少なくとも14の飽和脂肪酸部分を有する様々な量のラウリン酸（LA）およびホスファチジルエタノールアミン（PE）を含む基質内に取り込まれたフルオレセインを使用して測定した。図6から分かるように、取り込まれた分子の90%の予想放出期間は、LA:PEの含有量によって著しい影響を受けた。LA:PE w/w%比率をそれぞれ10:10～0:0の間（製剤の総質量に対して）で変化させたとき、放出は約20～約110日間持続した。PEを含む基質製剤で被覆した骨片からの薬剤放出プロファイルと、コレステロールを含む基質製剤で被覆した骨片からのものを比較した。図7は、PEまたはコレステロールを含む被覆骨片からのDOXの放出プロファイルが同様に振舞うことを証明している。

【0232】

様々なポリマー/脂質組成物が放出速度に影響を及ぼす事実を利用して様々な臨床ニーズを満足させることができる。例えば、NSAIDによる抗炎症治療は、通常PLGA 50:50のような分解の早いポリマーと、DMPCのような14:0リン脂質とを使用することによる短期間処置（例えば数日）であり、薬剤の完全な放出を図8から分かるように10日以内に完了させることができる。対照的に、抗生物質、すなわちDOXをPLGA 85:15のような分解の遅いポリマーおよびDSPCのような18:0リン脂質と組合せた場合、薬剤の完全な放出が50日後以降に達成された（図8）。

【0233】

被覆骨片および非被覆骨片（商用ウシ由来異種移植片：BioOss）の混合物からのDOXの放出プロファイルを測定した。被覆片を同様のプレーン（非被覆）骨片と1:4の比率で混合した。対照として、本発明者らは、遊離薬剤に浸漬したプレーン（非被覆）骨片からの同様投与量の遊離DOXを放出させた。図9から分かるように、水和（37℃で5%血清）後の製剤からのDOXの放出は、非被覆粒子の存在によって影響されなかった。一方、DOXで浸漬した非被覆骨片からの薬剤の大部分が水和後まもなく放出された（同一期間中に被覆骨片から放出された約15%の薬剤と比較すると3時間で88%）。この調査の製剤はPLGA 75:25およびDPPCで構成した。

【0234】

本発明者らは更に、被覆骨片からの薬剤の放出持続期間が製剤質量によって直線的になることを発見した。異なる質量のDOX含有基質製剤で被覆した骨片（12mg/サンプル）からのDOX放出を比較した。水和（37℃で5%血清）に続いて、製剤の初期DOX量の90%の放出



の持続時間を観察した（図10）。薬剤放出の持続期間と被覆基質製剤の質量との間の線形依存性は、薬剤が基質の順次分解によって放出され、放出速度が製剤の総質量によって影響されないことを示唆する。

# 【0235】

[実施例3] 1,3-チアベンダゾール（TBZ）製剤の調製

# 【0236】

貯蔵溶液：

a. PLGA / 酢酸エチル、300mg/ml（SS1、1ml）：（i）4mlのガラスバイアルで300mgのPLGA（50:50、シグマ）を秤量し、（ii）1mlの酢酸エチルを加え、（iii）5分間渦動させ、（iv）室温（RT）で12～18時間攪拌し、（v）ポリマー粒子が完全に溶解したことを確認し、（vi）N<sub>2</sub>下で閉じ、アルミホイルで包んでRTで維持し、（vii）この溶液は1ヶ月間有効である。

b. コレステロール / 酢酸エチル、30mg/ml（SS2、1ml）：（i）4mlガラスバイアルで30mgのコレステロール（シグマ99%）を秤量し、（ii）1mlの酢酸エチルを加え、（iii）RTで5分間渦動させ、（iv）コレステロールが完全に溶解したことを確認する。そうでなければ更に2分間渦動させ、（v）N<sub>2</sub>下で閉じ、アルミホイルで包んでRTで維持し、（vi）この溶液は1ヶ月間有効である。

c. 酢酸エチル：メタノール1:1（SS2.1）：（i）20mlのガラスバイアル内に10mlの酢酸エチルを入れ、（ii）同バイアルに10mlのメタノールを加え、（iii）20秒間渦動させ、（iv）溶液をRTで維持し、（v）この溶液は1ヶ月間有効である。

d. チアベンダゾール（TBZ） / 酢酸エチル：メタノール1:1、10mg/ml（SS3、1ml）：（i）4mlガラスバイアルで10mgのTBZを秤量し、（ii）1mlのSS2.1貯蔵溶液を加え、（iii）RTで5分間渦動させ、（iv）TBZが完全に溶解したことを確認する。そうでなければ更に2分間渦動させる。溶液がある程度白濁したら、（v）N<sub>2</sub>下で閉じ、アルミホイルで包んでRTで維持し、（vi）この溶液は1ヶ月間有効である。

# 【0237】

溶液A（1.2ml）：

i. 1mlのSS2（CH-EA、30mgのCH）を0.2mlのSS1（PLGA/EA、60mgのPLGA）に添加して4mlガラスバイアルに入れる。

ii. RTで5分間渦動させる。

iii. 混合物が均一で澄んでいることを確認する。そうでなければiiに戻る。

iv. N<sub>2</sub>下で閉じ、アルミホイルで包んでRTで維持する。

v. この溶液は1ヶ月間有効である。

vi. 溶液Aの濃度：[CH]=25mg/ml；[PLGA]=50mg/ml

# 【0238】

溶液B（1ml）：

i. 4mlガラスバイアルで225mgのリン脂質（14:0）を秤量する。

ii. 0.75mlのSS3（TBZ/EA-MET、7.5mgのTBZ）を添加する。

iii. バイアル内に0.25mlの酢酸エチルを添加する。

iv. RTで2分間渦動させる。

v. N<sub>2</sub>下で閉じ、アルミホイルで包んでRTで維持する。

vi. この溶液は1ヶ月間有効である。

vii. 濃度：[リン脂質（14:0）]=225mg/ml、[TBZ]=7.5mg/ml

# 【0239】

溶液C（1ml）：

i. 0.4mlの溶液Bを4mlガラスバイアルに注入する。

ii. このバイアルに0.6mlの溶液Aを添加する。

iii. RTで2分間渦動させる。

iv. 検査：この溶液がRTで液体であり、やや濁った淡黄色である。

v. N<sub>2</sub>下で閉じ、アルミホイルで包む。

vi. 濃度：[CH]=15mg/ml；[PLGA]=30mg/ml；[14:0]=90mg/ml；[TBZ]=3mg/ml

【0240】

骨被覆の調製：

- i. 1.8ml ガラスバイアルで12.5 (±0.5) mgの骨片 (Bio-OssまたはEndoBon (登録商標)) を秤量する。
- ii. 骨を浄化水 (1/2mlのDDW) で洗浄する；マイクロピペットで水を吸い出した後、12～18時間真空下に置く。
- iii. 45℃に加熱した加熱ブロックを準備する。
- iv. 溶液Cを30秒間45℃に加熱する。溶液が完全に融解し、均一化することを確認する。
- v. 10～100 μlマイクロピペットで骨片に50 μlの溶液Cを加える。
- vi. 1.8mlのバイアルを封印せずに加熱ブロック (45℃) 内に30分間置く。
- vii. 加熱から取り出してストッパーで閉止する。
- viii. バイアル (半封止) を回転ポンプ ( $1 \times 10^{-1}$  Torr (13.3 Pa)) で12～18時間減圧する。
- ix. 融合骨片をスパーテルで緩やかに分離する。
- x. 乾燥状態の被覆骨片を新しい4mlガラスバイアルに移す。
- xi. N<sub>2</sub>下で閉じ、アルミホイルで包んでRTで維持する。
- xii. 被覆骨片は1ヶ月間有効である。

10

【0241】

水和 (37℃で5%血清) 後のTBZ含有基質組成物で被覆した骨片からのTBZの放出プロファイルは、図11で確認することができる。

20

【0242】

[実施例4] 本発明の徐放性製剤を含有する吸収性ゼラチンスポンジからの薬剤放出

【0243】

PLGA - 75:25、PC 16:0、コレステロール10%およびドキシサイクリンハイドロゲル (DOX) 10%を含有する溶液を吸収性ゼラチンスポンジフォームキューブ (Gelatamp (ROEKO社)) の中央に注射した。注射した製剤中のDOXの総含有量は、25 μl中380 μgであった。この溶媒を37℃の恒温器内で蒸発させ、その後一晩真空下に置いた。対照として、一般に使用される事前湿潤の同様投与量のDOX (380 μg) 溶液をゼラチンスポンジチューブに注射した。水和 (37℃で5%血清) 後に、ゼラチンスポンジキューブから周囲へのDOXの放出をHPLCによって検出し、定量化した。図12から分かるように、対照サンプルではDOXの総量が媒体中に直ちに放出されたが、一方PLGA / PC / コレステロール製剤に関連するDOXの約40%だけが水和直後に媒体中に放出され、残りの薬剤が7日より長い日数にわたって徐々に放出された。

30

【0244】

[実施例5] 被覆骨片のSEM元素分析：基質製剤 (PLGA 50:50、コレステロールおよびDP PC 16:0) で被覆した骨片および非被覆骨片をSEM元素分析によって分析した。被覆および非被覆の骨片表面の元素分析の概要を下記の表1および表2に示す。

【0245】

40

【表 1】

元素	Wt%	At%
CK	10.05	16.91
NK	02.27	03.28
OK	43.97	55.55
NaK	00.67	00.59
MgK	00.76	00.63
PK	11.59	07.57
CaK	30.68	15.47
基質	補正	ZAF

10

表1:非被覆骨片表面

【 0 2 4 6 】

【表 2】

20

元素	Wt%	At%
CK	42.28	55.73
NK	02.96	03.34
OK	30.90	30.57
NaK	00.46	00.32
MgK	00.39	00.25
PK	5.94	03.04
CaK	17.08	06.75
基質	補正	ZAF

30

表2:被覆骨片表面

【 0 2 4 7 】

元素分析は、炭素（表 1 および表 2 のCK）が本発明の製剤で被覆した骨片において優位な元素であることを示す。炭素は、製剤に用いたポリマー（PLGA 50:50）および脂質（DP PC 16:0）の両方の主元素である。対照的に、プレーン骨片（非被覆骨片）の優位な元素であるカルシウムおよびリン酸の含有量は、被覆骨片の表面では少なくとも2倍以下である。

40

【 0 2 4 8 】

本発明の骨片被覆製剤の水和後の順次分解をSEM元素分析によって調査した。被覆骨片の表面上の炭素、カルシウムおよびリン酸塩原子の質量パーセントをSEMによって観察した。図 1 3 から分かるように、被覆骨片の水和後、被覆骨片の表面上の炭素原子の割合は時間と共に減少しているが、カルシウムおよびリン酸塩の割合は時間と共に増加している。これらの結果から、被覆製剤の順次分解により骨片の表面が徐々に露出することが明らかとなる。

50

## 【0249】

〔実施例6〕本発明の製剤で被覆した骨片の上澄みの高い濁度が上澄み液中のベシクルの外観と相関する：

## 【0250】

ドキシサイクリンハイクレート(DOX)を含む本発明の製剤で被覆した骨片(商用のTCP人工代用骨)を5%の血清中37℃で水和した。1時間後、骨片を上澄み液から分離し、この上澄み液を520nmでの吸収度を観察することによって分析した。骨片を、5%の新鮮血清中37℃で更に23時間再培養した。23時間後、骨片を上澄み液から分離し、後者の上澄み液も前述のように分析した。

## 【0251】

結果：プレーン非被覆骨片から収集した上澄み液には顕著な汚濁はなかった。対照的に、1時間の水和後に被覆骨片の上澄み液に顕著な汚濁が確認された。下記の3種類の骨片コーティング、(i)抗生物質を含む本発明の製剤、(ii)DPPCおよび抗生物質コーティング、(iii)PLGAコーティングを試験した。PLGAで被覆した骨片は、DPPCで被覆した骨片( $OD_{520\text{ nm}} > 3$ )または本発明の製剤で被覆した骨片( $OD_{520\text{ nm}} \sim 2.0$ )と比較してよりも小さい濁度の増加( $OD_{520\text{ nm}} \sim 0.85$ )を示した(図14A)。同じ条件下で更に23時間の培養(水和)後、濁度は1時間後に測定したものよりずっと低く、脂質を含有する骨被覆製剤(製剤(i)および(ii))のみで示された(図14B)。

## 【0252】

2回目の23時間培養後のプレーン非被覆骨片および被覆骨片(上記(i)、(ii)、(iii))から取り出した上澄み液を、電子顕微鏡検査法(18,000倍)およびネガティブ染色法によって更に分析した。本発明の製剤(i)またはDPPC(ii)で被覆した骨片から得た上澄み液では、様々なサイズのベシクル構造が示された(図14C)。

## 【0253】

PLGA(85:15)、DPPC(16:0)および抗生物質(DOX)を含有する基質製剤で被覆した骨片からの放出材料の性質をサイズ分布計(Malvern Instruments社のDST ver.5)によって更に分析した。被覆骨片を5%血清で水和し、37℃で24時間培養した。24時間後に上澄み液を取り出し、分析した。放出材料は、550.3nmおよび4.2nmの平均サイズを有する2つの粒子集団によって特徴付けられた(図14D)。同じ計器を使用して測定した粒子のゼータ電位はゼロに近い(0.0225mV)ことが分かった(図14E)。放出材料の直径およびその中性電荷は、ベシクル様粒子が主として被覆基質製剤中に存在するDPPCで構成されることを示唆することができる。

## 【0254】

ここに記載した汚濁実験は、水和被覆骨片の上澄み液で見られる水和後の汚濁が主として製剤の脂質含有量によって制御されることを示唆する。初期の高い濁度に続くより緩慢な濁度上昇は、本発明の製剤で被覆した骨片からのDOX放出の動力学挙動(図2)、および初期のバースト放出に続く低速なゼロ次放出によって特徴付けられるNBD標識付け蛍光リン脂質放出の動力学挙動(図15)と相関する。

## 【0255】

〔実施例7〕本発明の基質組成物で被覆した骨片のX線小角散乱分析：

## 【0256】

本発明者らは、生体ポリマーPLGA 85:15、脂質DPPC 16:0、および抗生物質ドキシサイクリンハイクレート(DOX)を含む基質組成物で被覆した骨片(商用のTCP人工代用骨)の構造を分析した。乾燥骨片をガラスキャピラリーに装填し、X線小角散乱分析によって分析した。

## 【0257】

結果：上述した基質製剤で被覆した骨片の散乱プロファイルは、基質製剤が5nm~40nmの様々なサイズのいくつかのサブ構造を含む秩序構造を有することを示唆する(図16)。更に、乾燥リン脂質粉末の構造を分析すると、5nmより小さいサブ構造を有する秩序構造を有することが分かった。対照として、プレーン非被覆TCP骨片の構造を調査した結果

10

20

30

40

50

、この構造が1nm未満のサブ構造の存在によって特徴付けられないことが分かった。従って、被覆骨片の散乱プロファイルで観察されたサブ構造は、被覆材料自体に帰属し、プレーン非被覆骨片に帰属しないと考えることができる。

#### 【0258】

【実施例8】コレステロールの有無によるポリマー含有溶液（溶液A）の示差走査熱量分析（DSC）

#### 【0259】

真空乾燥したポリマー（PLGA（75:25））を示差走査式熱量計によって分析した。ポリマーの温度は、5 /分の割合でコレステロール（Cstrl）を含む場合と含まない場合とで異なるポリマー / コレステロール質量比（w/w）で上昇させた。PLGA（Cstrl無し）の典型的な熱量測定反応は、200 までの加熱中にPLGAの融解による熱の取り込みを示す。対照的に、コレステロールの添加は、ポリマーの投与量反応による熱の取り込みを熱の取り込みがほとんど示されないレベルまで減少する。約150 の狭い熱吸収は、この系の典型的な遊離コレステロールである（図17A）。コレステロールの効果は加熱速度の影響を受けなかった（データは図示せず）。アルファトコフェロールのような他の脂質をポリマーに導入したときは、同様であるが低い効果が示された。対照的に、加熱時のポリマーによる熱の取り込みは、鉱油（炭素鎖C 12~C18）のような脂肪酸の存在による影響は受けなかった（図17B）。

#### 【0260】

【実施例9】本発明の基質製剤による被覆金属インプラント。チタン製の歯科インプラントを、基質組成物を含有する最終溶液中に金属を浸漬することにより、基質製剤（PLGA 85:15、DSPC 18:0、コレステロール10%、DOX 10%）によって被覆した（実施例1のステップIII参照）。次いで溶媒を保温器中で37 で蒸発させ、その後一晩真空中で連続的に乾燥させた（図18）。

#### 【0261】

【実施例10】本発明の基質組成物の骨再生に関する前臨床試験

#### 【0262】

動物モデル：

A. ウサギの脛骨骨髓炎

B. バクテリア：黄色ブドウ球菌

#### 【0263】

すべての前臨床試験は、イスラエル国の動物実験規制ガイドラインに従い、研究機関の倫理委員会規定を遵守して実施した。

#### 【0264】

試験A：モデルの関連細菌負荷の判定：

1. 骨に外傷を負わせた（試験Aの判定どおり）（動物数：10）。
2. 空隙（骨の傷口）にリン酸三カルシウム（TCP）材料を充填し、ボーンワックスで封止した。
3. この部位に規定の量の細菌を注射によって装填した。
4. 期間：22日間。臨床徴候および体重を観察した（週3回）。
5. 培養時間終了時：動物から基本的な血液学的で生化学的な血液を採血した（試験終了前）。
6. 試験終了前（20日目まで）の脛骨のX線撮影を行った。
7. 試験を終了し、細菌学的試験のための脛骨を採取した。
8. 細菌を骨から抽出し、細菌濃度（後述）を判定した。

#### 【0265】

骨髓中の細菌濃度判定：骨髓および髄内管を大量培養の品質保証分析（gross culture analysis of quality assurance）のために滅菌綿棒でスワブした。予防接種したアブリケータを血液プレート上に縞状に塗り、次いで5mLの滅菌TSBに入れた。その後プレートおよび管を37 で24時間培養し、成長を記録した。

## 【 0 2 6 6 】

骨1グラム当たりの細菌濃度の判定：骨を滅菌した50mL遠心分離管に入れ、秤量した。次いで、骨を圧壊し、最終生成物を秤量した。無菌生理食塩水0.9%を3:1の比率（食塩水3 ml / 骨1g）で添加し、懸濁液を2分間渦動させた。各懸濁液の6種類の10倍希釈液を無菌生理食塩水（0.9%）で調製した。初期懸濁液を含む各希釈液のサンプル（20  $\mu$ L）を血液寒天平板上に3つずつ置き、37℃で24時間培養した。最大希釈度における脛骨サンプル毎のコロニー形成単位を計数した。CFU / 骨1gにおける黄色ブドウ球菌濃度を算出した。

## 【 0 2 6 7 】

## 【表 3】

## 試験A) モデルの関連細菌負荷の判定：

群		外傷	殺菌の添加	動物数	処置	期間
A	試験	ポジティブ	有り(L)	3	TCP ( 対照 )	22 日間
B	試験	ポジティブ	有り(M)	3	TCP ( 対照 )	22 日間
C	試験	ポジティブ	有り(H)	3	TCP ( 対照 )	22 日間
D	対照	ネガティブ	無し	1	TCP ( 対照 )	22 日間

10

20

## 【 0 2 6 8 】

試験B) 本発明の基質組成物の殺菌活性の判定：

1. 骨に外傷を負わせた（上述の試験Aの場合と同様）（動物数：13）。
2. 空隙（骨の傷口）にTCP材料を充填し、ボーンワックスで封止した。
3. この部位に規定の量の細菌を注射によって装填した（負荷は試験Aの結果が出次第判定される）。
4. 期間：22日間。臨床徴候および体重を観察した（週3回）。
5. 培養期間中：7日目および16日目に動物から基本的な血液学的で生化学的な血液パネルを採血した（試験終了前）。
6. 試験終了前、1（または2）日目～20日目までの脛骨のX線撮影を行った。
7. 実験を終了し、細菌学的試験のための脛骨を収集した。
8. 細菌を骨から抽出し、上述の試験Aに記載したように細菌濃度を判定した。
9. 局所的薬剤濃度を検定した。

30

## 【 0 2 6 9 】

## 【表 4】

## 試験B) 本発明の基質組成物の殺菌活性を判定する (BonyPid)：

群		外傷	殺菌の添加	動物数	処置	期間
A	試験	ポジティブ	有り	6	BonyPid	22 日間
B	試験	ポジティブ	有り	6	TCP ( 対照 )	22 日間
C	対照	ポジティブ	無し	1	TCP ( 対照 )	22 日間

40

## 【 0 2 7 0 】

試験C) 本発明の基質組成物の毒性：

1. 骨に外傷を負わせた（上述の試験Aの場合と同様）（動物数：24）。
2. 空隙（骨の傷口）にTCPを充填し、ボーンワックスで封止した。

50

3. この部位に規定の量の細菌を注射によって装填した（負荷は試験Aの結果が出次第判定される）。
4. 期間：45日。臨床徴候および体重を観察した（週3回）。終了時間は、培養時間中に得たX線撮影結果によって決定した。
5. 培養時間中：0、10、30および45日目に動物から基本的な血液学的で生化学的な血液パネルを採血した（試験終了前）。
6. 動物から1、3、10、16および30日目に血液薬剤濃度分析のために採血した。
7. 試験終了前、2、20、30および43日目の脛骨のX線撮影を行った。
8. 実験を終了し、組織学的試験のための脛骨を採取した。
9. 50%の動物（12匹）に対する負傷部位の組織学的試験。
10. 細菌を骨から抽出し、50%の動物（12匹の動物）の細菌濃度を上述のように判定した。

【 0 2 7 1 】

【表 5】

## 試験C) 本発明の基質組成物の毒性 (BonyPid) :

群		外傷	細菌の添加	動物数	処置	期間
A	試験	ポジティブ	有り	6	BonyPid	45日間
C	試験	ポジティブ	有り	6	BonyPid	45日間
D	対照	ポジティブ	無し	6	BonyPid	45日間
F	対照	ポジティブ	無し	6	BonyPid	45日間

【 0 2 7 2 】

[ 実施例12 ] 歯周炎動物モデルの前臨床試験 :

【 0 2 7 3 】

3段階調査により、ブタの辺縁下位置に配置した綿結紮糸を使用して実験的歯周炎を誘導した。この歯周炎をスケーリングルートプレーニング (SRP) と下記のいずれかの処置との組合せによって治療した :

- ・フルルビプロフェンおよびドキシサイクリンの超高投与量、高投与量、中投与量または低投与量（それぞれ30、15、5、1mg / アプリケーション部位、VH、H、M、Lと表記する）を含有する基質インプラントの局所塗布。

- ・上述の高、中、および低投与量を含む基質分量（負対照）に対応する基質分量での活性成分を含有しない基質インプラントの局所塗布。

- ・遊離薬剤として投与される上述の超高、高、中および低投与量に対応する投与量でのフルルビプロフェンおよびドキシサイクリンの局所塗布。

- ・上述の高、中、および低投与量に対応する投与量でのフルルビプロフェンおよびドキシサイクリンの1日2回の全身投与。これ（SRPと併せて）は、この動物モデルの歯周炎治療の参照基準と考える。

- ・無処置（追加的な負対照群）。

【 0 2 7 4 】

各群について下記のパラメータを毎日測定する :

- ・組織中のキャリアの生体内安定性を決定するためのキャリア標識レベル、
- ・塗布部位、周囲組織および血行におけるフルルビプロフェン、ドキシサイクリンおよびその既知の代謝物質のレベル、
- ・毒性試験。

これに加えて下記の有効性指標も判定する :

- ・探針深さ (PD)、臨床的アタッチメントレベル (CAL)、探針時の出血 (BOP) のよう

な臨床パラメータの改善、

・セメント エナメル接合部から歯槽骨頂までの距離のような放射線学的パラメータの改善、

・組織学的分析。

【 0 2 7 5 】

調査の各段階における各群のブタの数、調査期間および群を下記の表 1 ～ 3 に示す。

【 0 2 7 6 】

【表 6】

段階1			
実験群	投与量	数	日数
対照	-	2	42
遊離薬剤	VH	2	42
遊離薬剤	H	2	42
基質-薬剤無し	VH	2	42
基質-薬剤無し	H	2	42
基質-薬剤含有	VH	2	42
基質-薬剤含有	H	2	42

10

20

【 0 2 7 7 】

【表 7】

段階2			
実験群	投与量	数	日数
対照	-	2	42
遊離薬剤	M	2	42
遊離薬剤	L	2	42
基質-薬剤無し	M	2	42
基質-薬剤無し	L	2	42
基質-薬剤含有	M	2	42
基質-薬剤含有	L	2	42

30

【 0 2 7 8 】



【表 8】

段階3			
実験群	投与量	数	日数
対照	-	2	56
参照基準	H	3	56
参照基準	M	3	56
参照基準	L	3	56
遊離薬剤	H	3	56
遊離薬剤	M	3	56
遊離薬剤	L	3	56
基質-薬剤無し	H	3	56
基質-薬剤無し	M	3	56
基質-薬剤無し	L	3	56
基質-薬剤含有	H	3	56
基質-薬剤含有	M	3	56
基質-薬剤含有	L	3	56

## 【0279】

〔実施例13〕本発明の基質組成物の歯周炎に関する臨床試験

## 【0280】

下記の調査は、本発明の基質組成物をスケーリングルートプレーニング（SRP）の添加剤として使用する際の安全性および臨床的效果、放射線学的効果、微生物学的効果を試験するものである。

## 【0281】

スケーリングルートプレーニングは、歯周（歯肉）疾患の治療法の最も一般的且つ保守的な形態である。スケーリングは、歯面に付着した歯石および歯垢の除去である。このプロセスは特に歯根に沿った歯肉線下方の領域を標的とする。歯垢は粗面により粘着しやすい。このため、根面はルートプレーニングと呼ばれるプロセスで平滑化される。ルートプレーニングにより残留歯石が除去され、根面の凹凸領域が平滑化される。

## 【0282】

調査設計は長期間、無作為、単盲検化、被験者間とした。中等度から重度の慢性歯周炎または進行性歯周炎を有する20～65歳の男性および女性被験者を募集した。詳細な医科歯科既往歴を取得した。

## 【0283】

除外基準：1）複雑な全身状態、すなわち妊娠または糖尿病、2）過去3ヶ月以内の全身性抗生物質またはNSAID薬剤の使用、3）喫煙、4）基質組成物の成分に対するあらゆる既知のアレルギー、5）ベースラインの6ヶ月以内に歯周炎治療を受けたことがある。被験者はSRPを単独で、または（a）抗生物質＋NSAID薬剤を含有する基質インプラント、（b）活性成分を含有しない基質インプラント、（c）経口投与型の遊離抗生物質＋NSAID薬剤、もしくは（d）全身性抗生物質＋NSAID薬剤の投与と組合せて受けた。インプラントすなわち遊離抗生物質を口腔内の多部位に投与した。

## 【0284】

下記の臨床測定値をベースライン、1か月、3か月、6か月および9か月の各時点で記録した：探針深さ（PD）、臨床的アタッチメントレベル（CAL）、探針時の出血（BOP）、歯肉炎、歯垢および染色インデックス。

【0285】

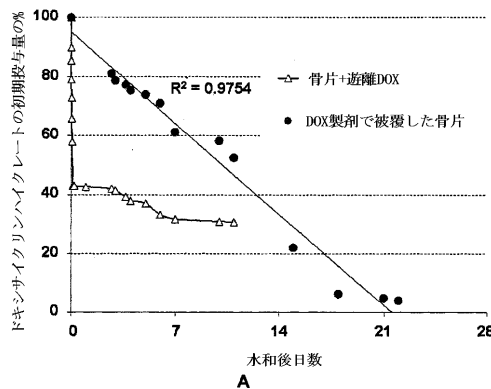
細菌培養およびN-ベンゾイル-DL-アルギニン-ナフチルアミド（BANA）試験を含む微生物学的試験を実施した。

【0286】

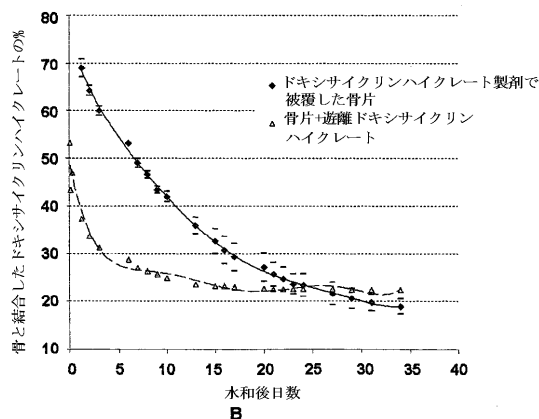
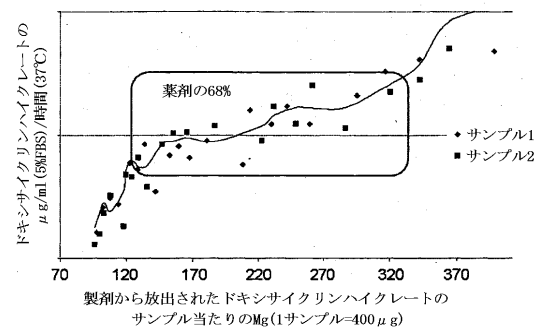
上記の特定の実施形態に関する説明を読めば、当業者が現在の知識を利用して不必要な実験を行わずに且つ本発明の一般概念から逸脱せずに、それらの特定の実施形態を様々な用途に合わせて修正および/または適合或いはその両方を行うことができる程度まで、本発明の一般的性質が当業者に理解されるはずである。本明細書で採用する表現または用語は限定ではなく説明のために使用していることを理解されたい。本明細書に開示する様々な機能を実現する手段、材料およびステップは、本発明の範囲から逸脱しない他の様々な形をとる可能性がある。

10

【図1】



【図2】



【図3A】

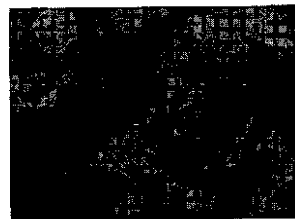


FIG. 3A

【図 3 B】



FIG. 3B

【図 3 C】

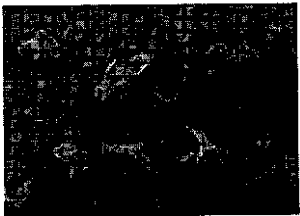


FIG. 3C

【図 4 A】

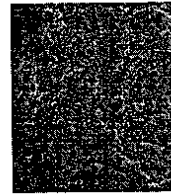


FIG. 4A

【図 4 B】



FIG. 4B

【図 4 C】

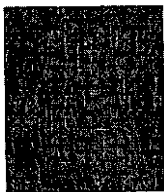


FIG. 4C

【図 4 D】

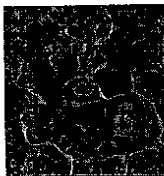


FIG. 4D

【図 4 E】

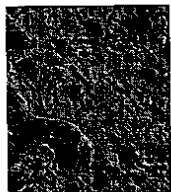
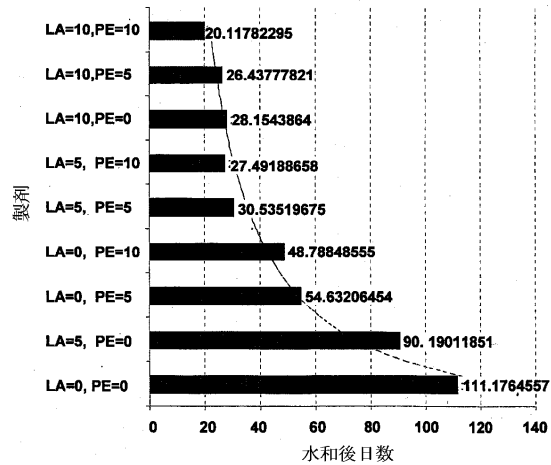


FIG.4E

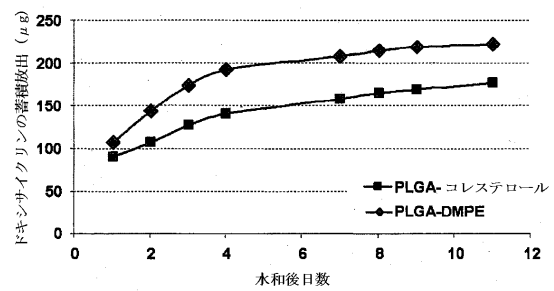
【図 5】



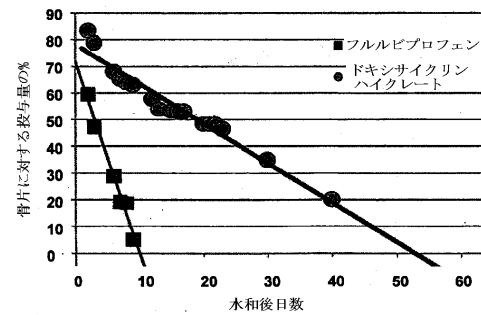
【図6】



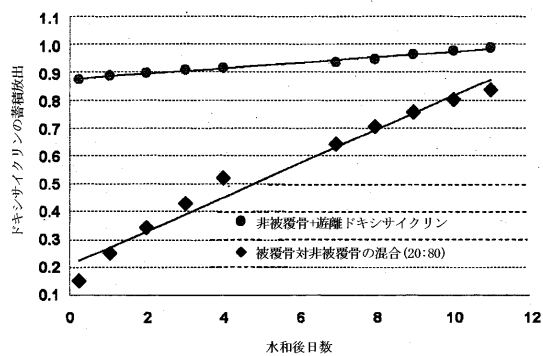
【図7】



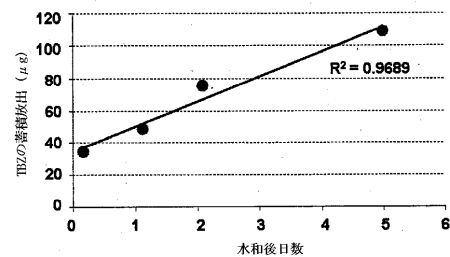
【図8】



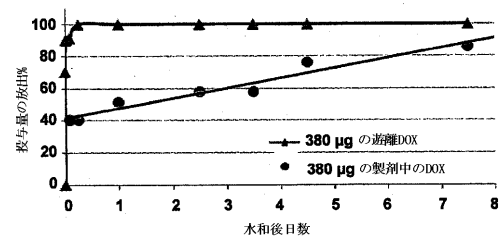
【図9】



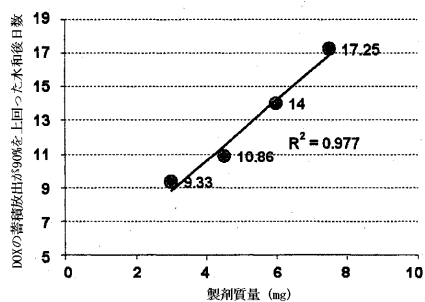
【図11】



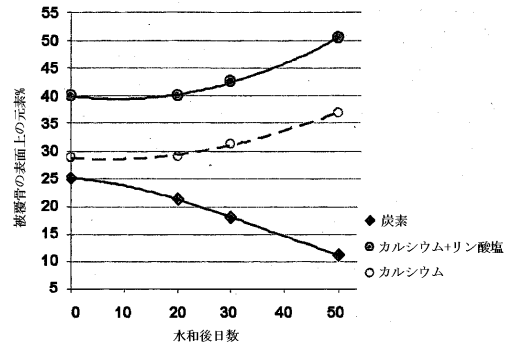
【図12】



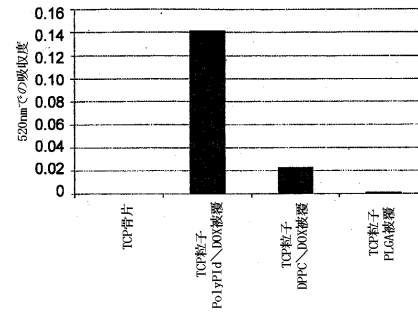
【図10】



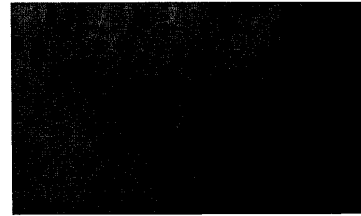
【図13】



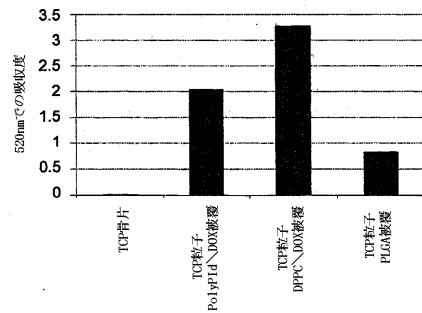
【図14B】



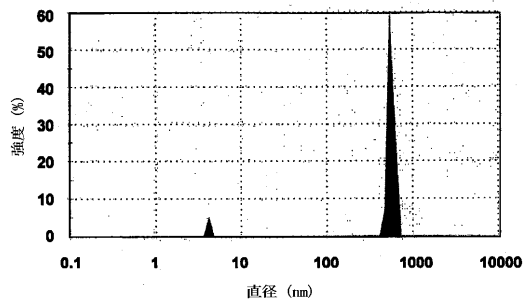
【図14C】



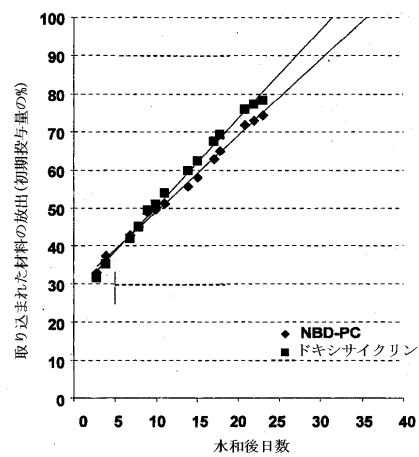
【図14A】



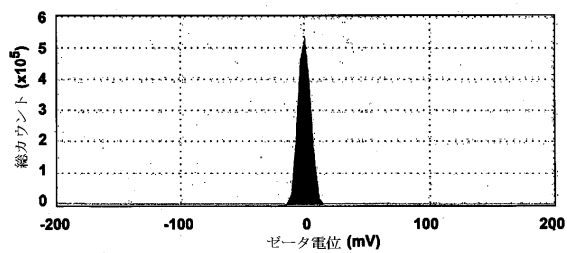
【図14D】



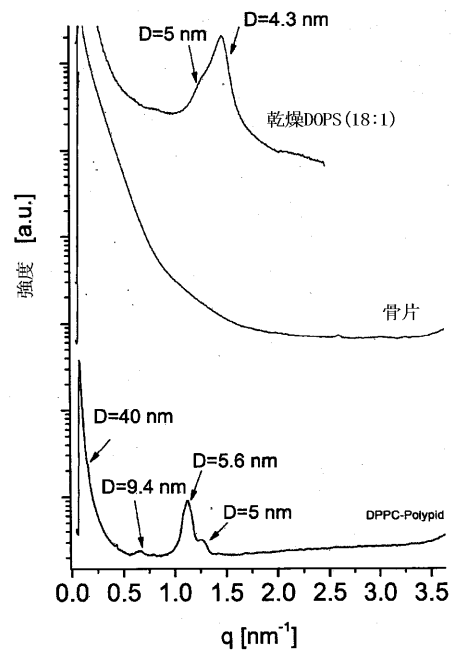
【図15】



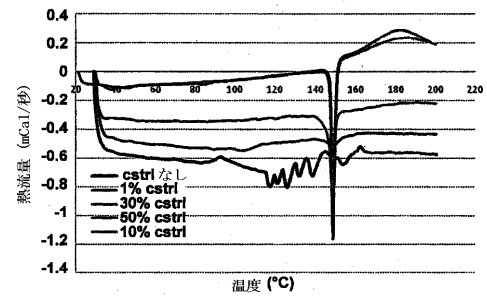
【図14E】



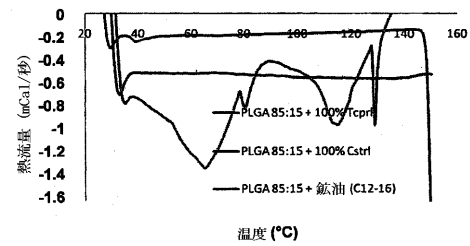
【図 16】



【図 17】



A



B

【図 18 A】



FIG. 18A

【図 18 B】

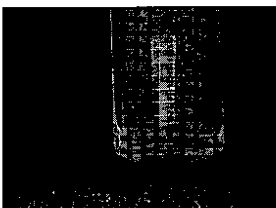


FIG. 18B

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		
A 6 1 P	1/02	(2006.01)	A 6 1 P	1/02	
A 6 1 P	19/00	(2006.01)	A 6 1 P	19/00	
A 6 1 L	27/00	(2006.01)	A 6 1 L	27/00	Z
A 6 1 L	17/00	(2006.01)	A 6 1 L	27/00	L
			A 6 1 L	27/00	V
			A 6 1 L	17/00	
(72)発明者	モシェ ノイマン				
	イスラエル国	5 2 3 3 1	ラマトガン	ハッドネス	ストリート 4 1
(72)発明者	シュロモ バラク				
	イスラエル国	6 9 4 9 7	テルアビブ	エルカチ	ストリート 3 2

審査官 光本 美奈子

- (56)参考文献 特表2002-520120(JP,A)  
 特表2008-502690(JP,A)  
 特表2002-513752(JP,A)  
 特表2008-507585(JP,A)  
 特表平09-511762(JP,A)  
 特表2006-503932(JP,A)  
 特開2005-154514(JP,A)  
 J Control Release, vol.160, p.353-361 (2012)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
 A 6 1 K 4 7 / 0 0 ~ 4 7 / 4 8  
 A 6 1 L 1 7 / 0 0 ~ 2 7 / 6 0  
 P u b M e d