



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101035512 B

(45) 授权公告日 2012. 01. 18

(21) 申请号 200580033716. 0

(22) 申请日 2005. 08. 11

(30) 优先权数据

60/600, 907 2004. 08. 12 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2007. 04. 03

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2005/028676 2005. 08. 11

(87) PCT申请的公布数据

W02006/017852 EN 2006. 02. 16

(73) 专利权人 昌达生物科技公司

地址 美国特拉华州

(72) 发明人 李雨华 本杰明·近

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任

公司 11021

代理人 王旭

(51) Int. Cl.

A61K 47/48 (2006. 01)

A61K 9/14 (2006. 01)

A61K 9/20 (2006. 01)

A61K 9/22 (2006. 01)

A61K 9/24 (2006. 01)

A61K 9/26 (2006. 01)

A61K 9/48 (2006. 01)

A61K 9/52 (2006. 01)

A61K 9/54 (2006. 01)

(56) 对比文件

US 20040018254 A1, 2004. 01. 29, 全文.

US 20040057970 A1, 2004. 03. 25, 全文.

审查员 张玲玲

权利要求书 2 页 说明书 20 页

(54) 发明名称

用于生物活性化合物可控制释放递送的药物组合物

(57) 摘要

本发明提供用于向受试者可控制释放递送一种或多种生物活性化合物的组合物和方法。具体地, 本发明提供用于向受试者可控制释放递送生物活性化合物的药物组合物, 其包括 :a) 生物活性化合物和衍生于六羟基环己烷的聚阴离子的复合物, 所述生物活性化合物具有至少一个碱性官能团, 聚阴离子具有至少两个负电荷官能团 ;和 b) 药用载体, 其包括可生物降解的、水不溶性的聚合物。通过将生物活性化合物与聚阴离子复合, 可以将牢固、稳定的复合物结合到长期作用的给药系统中, 所述给药系统具有比在现有技术中找到的更理想的药物随时间释放曲线。本发明还提供制备这样的组合物的方法 and 应用其的方法。

1. 一种药物组合物,其包括:

a) 生物活性化合物和聚阴离子的复合物,所述生物活性化合物具有至少一个碱性官能团,所述聚阴离子是被至少两个磷酸或硫酸基团酯化的六羟基环己烷;和

b) 药用载体,其包括可生物降解的、水不溶性的聚合物。

2. 权利要求1的药物组合物,其中所述六羟基环己烷选自自由顺-肌醇、表-肌醇、allo-inositol、新-肌醇、肌-肌醇、粘-肌醇、青蟹-肌醇、L-(-)-手性-肌醇和D-(+)-手性-肌醇组成的组。

3. 权利要求1的药物组合物,其中所述六羟基环己烷是肌-肌醇。

4. 权利要求1的药物组合物,其中所述聚阴离子是肌醇六磷酸。

5. 权利要求1的药物组合物,其中所述聚阴离子是肌醇六硫酸。

6. 权利要求1的药物组合物,其中所述生物活性化合物具有至少1个碱性氮。

7. 权利要求6的药物组合物,其中所述碱性氮是选自自由胺、亚胺和环氮组成的组。

8. 权利要求1的药物组合物,其中所述生物活性化合物选自自由小分子和大分子组成的组,其中所述大分子选自自由蛋白质和酶组成的组,所述小分子是肽。

9. 权利要求1的药物组合物,其中所述生物活性化合物选自自由酶、细胞因子、抗体、疫苗、抗生素和糖蛋白组成的组。

10. 权利要求1的药物组合物,其中所述生物活性化合物选自自由下列各项组成的组:多柔比星、多西环素、地尔硫草、环苯扎林、杆菌肽、诺斯卡品、红霉素、多粘菌素、万古霉素、去甲替林、奎尼丁、麦角胺、苯扎托品、维拉帕米、氟桂利嗪、丙咪嗪、庆大霉素、卡那霉素、阿莫西林、阿米卡星、阿贝卡星、班贝霉素、布替罗星、地贝卡星、二氢链霉素、福提霉素、异帕米星、微米星(micronimicin)、奈替米星、巴龙霉素、核糖霉素、雷帕霉素、西索米星、链霉素和妥布霉素、阿米卡星、链霉素和妥布霉素、乙胺嘧啶、纳曲酮、利多卡因、丙胺卡因、甲哌卡因、布比卡因、丁卡因、罗哌卡因、缩宫素、加压素、促肾上腺皮质激素(ACTH)、表皮生长因子(EGF)、血小板衍生生长因子(PDGF)、促乳素、黄体生成素、黄体生成素释放激素(LHRH)、LHRH激动剂、LHRH拮抗剂、生长素、生长素释放因子、胰岛素、促红细胞生成素、生长抑素、胰高血糖素、白细胞介素、干扰素- α 、干扰素- β 、干扰素- γ 、促胃液素、四肽胃泌素、五肽胃泌素、尿抑胃素、胰泌素、降钙素、脑啡肽、内啡肽、血管紧张素、促甲状腺素释放激素(TRH)、甲状旁腺素(PTH)、神经生长因子(NGF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、血管内皮生长因子(VEGF)、骨形态发生蛋白(BMP)、hANP、胰高血糖素样肽(GLP-1)、艾塞那肽、肽YY(PYY)、肾素、缓激肽、杆菌肽、多粘菌素、多粘菌素E、短杆菌酪肽、短杆菌肽、环孢素、促卵泡激素、高托尔芬、taftsin、胸腺生成素、胸腺素、胸腺刺激素、胸腺体液因子、血清胸腺因子、集落刺激因子、胃动素、铃蟾肽、dinorphin、神经降压素、蓝肽、尿激酶、血管舒缓素、P物质和拮抗剂、血管紧张素II、凝血因子VII和IX、溶菌酶、短杆菌肽、促黑激素、甲状腺激素释放激素、促甲状腺激素、促胰酶素、缩胆囊素、人胎盘催乳素、人绒毛膜促性腺素、蛋白合成刺激肽、胃抑制肽、血管活性肠多肽和血小板衍生生长因子。

10. 权利要求9的药物组合物,其中所述酶是肝素酶。

11. 权利要求9的药物组合物,其中所述细胞因子是肿瘤坏死因子。

12. 权利要求9的药物组合物,其中所述抗生素是新霉素。

13. 权利要求 9 的药物组合物,其中所述生长素是人、猪和牛的生长素。

14. 权利要求 9 的药物组合物,其中所述促红细胞生成素包括所有具有红细胞生成活性的蛋白。

15. 权利要求 8 的药物组合物,其中所述生物活性化合物选自由下列各项组成的组:多柔比星、雷帕霉素、纳曲酮、表皮生长因子(EGF)、LHRH 激动剂、LHRH 拮抗剂、生长素、生长素释放因子、奥曲肽、干扰素- α 、干扰素- β 、干扰素- γ 、降钙素、甲状旁腺素(PTH)、胰高血糖素样肽(GLP-1)和肽 YY(PYY)。

16. 权利要求 1 的药物组合物,其中所述生物活性化合物是多柔比星。

17. 权利要求 1 的药物组合物,其中所述生物活性化合物是胰高血糖素样肽 1(GLP-1)。

18. 权利要求 1 的药物组合物,其中所述生物活性化合物是奥曲肽。

19. 权利要求 1 的药物组合物,其中所述生物活性化合物是肽 YY(PYY)。

20. 权利要求 1 的药物组合物,其中所述可生物降解的、水不溶性聚合物是选自由下列各项组成的组:聚交酯、聚乙醇酸交酯、聚(丙交酯-共-乙交酯)、聚己酸内酯、聚二噁烷酮、聚碳酸酯、多羟基丁酸酯、聚亚烷基草酸酯、聚酐、聚酰胺、聚酰胺酯、聚氨基甲酸酯、聚缩醛、聚原碳酸酯、聚磷腈、多羟基戊酸酯、聚亚烷基琥珀酸酯、聚原酸酯、和共聚物以及它们的混合物。

21. 权利要求 20 的药物组合物,其中所述共聚物是嵌段共聚物,支化共聚物或三元共聚物。

22. 权利要求 1 的药物组合物,其中所述药用载体包括环境响应的聚合物或凝胶,其中所述环境响应的聚合物或凝胶是热敏性的、pH 敏性的或电敏性的。

23. 权利要求 1 的药物组合物,其以选自下列各项组成的组的形式存在:可注射的溶液或混悬液、颗粒、薄膜、圆柱体、圆盘、微胶囊、纳米球体、糯米纸囊剂和脂质体。

24. 权利要求 1 的药物组合物,其为微球体形式。

25. 权利要求 1 的药物组合物,其为微粒形式。

26. 权利要求 1 的药物组合物,其为微团形式。

27. 权利要求 1 的药物组合物,其为小球的形式存在。

用于生物活性化合物可控制释放递送的药物组合物

[0001] 本申请要求在 2004 年 8 月 12 日提交的美国临时专利申请系列号 60/600,907 的优先权。

[0002] 1. 发明领域

[0003] 本发明涉及生物活性化合物可控制释放递送的领域,并且涉及用于含有至少一个碱性基团的生物活性化合物的可控制释放递送的组合物和方法。

[0004] 2. 发明背景

[0005] 在一段时间内以可控方式递送生物活性化合物的能力一直是一种挑战。生物活性化合物的可控释放递送可以通过保护它们在体内免受降解而提高生物利用度,并且同时取代多次注射或者连续灌输,由于这些生物活性化合物短的半衰期,多次注射和连续灌输是必需的。减少施用频率可以提高患者的顺应性。可生物降解的聚合物在移植装置中用作药物载体已有三十多年 [Langer, R. 和 Chasin, M. (Eds) Polymers as Drug Delivery Systems, Marcel Dekker, New York, NY, 1990]。将可生物降解的聚合物用作生物活性化合物的持续递送载体的优点在于,由于它们被水解成为可溶的无毒寡聚物或单体,在递送它们的剂量后,它们不需要移除。生物降解速率取决于所述聚合物的物理化学特性,包括结晶度、疏水性、化学结构、分子量和分子量分配。理论上,可以设计或定制这些特征,以开发在需要的治疗持续时间内以可控释放方式的药物递送系统。

[0006] 现有技术已经描述了许多生物活性化合物,其与可生物降解聚合物组合,以在生理条件下通过使用适当的聚合物而获得延长的释放。在现有技术组合物中的生物活性化合物可以是不带电的分子、分子复合体、盐、醚、酯或酰胺的形式 [US 6,528,080, 5,739,176, 5,077,049 和 US 4,938,763]。用于可注射或可移植组合物的盐的具体实例包括醋酸盐、氯化物、柠檬酸盐、马来酸盐、磷酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐等。然而,这样的制剂的成功局限于一些稳定的并且具有广泛治疗性血液浓度范围的生物活性化合物,例如,亮丙立德、gosorelin 和 rhGH。如果生物活性化合物包含活性官能团,并且具有有限治疗性血液浓度范围,那么对于这样的生物活性化合物的可控释放递送系统的成功开发是十分有挑战性的。这主要是由于所述生物活性化合物在递送系统中的不稳定性,以及所述生物活性化合物从所述递送系统的不可控释放模式,例如,在释放的开始、中间和后期突发作用。对于使用可生物降解聚合物的可控释放递送系统的成功开发,一些包含碱性基团(包括伯胺、仲胺和叔胺)的生物活性化合物可以引起严重的障碍。所述化合物可以以不可控方式改变(或催化)聚合物载体的水解过程,和/或与所述聚合物或它们的降解产物反应以形成不需要的酰胺药物衍生物。这些衍生物的形成不但减少了实际递送的剂量,而且可以引起意外的副作用。生物活性化合物和聚合物载体之间的相互作用/反应可以发生在下列各项中: 1) 在配制过程中,将生物活性化合物结合在聚合物载体中,诸如装入微胶囊、注射成型、挤压成型、与聚合物溶液在有机溶剂中混合等; 2) 在保存过程中,和 3) 在生物降解过程中以及生物活性化合物体内释放过程中。

[0007] 在使用溶剂蒸发/萃取方法形成微粒过程中,报道了在含有碱性官能团(即,胺基)的生物活性化合物和聚合物之间的相互作用/反应,在所述微粒形成过程中,所述

生物活性化合物和聚合物被溶解 / 分散在有机溶剂中 [Krishnan M. 和 Flanagan DR., J Control Release. 2000 Nov 3 ;69(2) :273-81]。形成了显著量的酰胺部分。清楚地表明,通常用于制备可生物降解聚合物药物递送系统的溶剂可以允许生物活性化合物和聚合物之间的快速反应。在另外的研究中,报道了聚合物通过有机胺的加速降解 [Lin WJ, Flanagan DR, Linhardt RJ. Pharm Res. 1994 Jul ;11(7) :1030-4.]。还报道,发现含有简单药物盐例如盐酸表柔比星的聚合物基质的降解促进聚合物的降解,并且随后影响从这些微粒的释放行为 [Birnbaum DT, Brannon-Peppas L. Molecular weight distribution changes during degradation and release of PLGA nanoparticles containing epirubicin HCl. J Biomater Sci Polym Ed. 2003 ;14(1) :87-102]。Domb 等报道,在体外水性降解介质中,含有活性胺及其盐的药物也促进可生物降解聚合物的降解 [Domb AJ, Turovsky L, Nudelman R., Pharm Res. 1994 Jun ;11(6) :865-8]。对于生物活性化合物持续一段延长时间的可控释放递送,所述反应和催化的降解都是不需要的。

[0008] 当将可生物降解聚合物,诸如聚乳酸、聚羟基乙酸、聚羟基丁酸、聚原酸酯、聚缩醛等用作药物递送系统时,聚合物(诸如例如聚交酯和聚交酯-共-乙交酯)的生物降解引起水分吸收和水性通道或孔的产生,如果生物活性化合物变得水溶,它们可以从这些水性通道或孔渗漏(或扩散出来)。另外,聚合物降解产物的累积降低了正在降解的聚合物基质内的 pH,并且最近报道局部 pH 值在 1.5 和 4.7 之间 (Na DH, Youn YS, Lee SD, Son MO, Kim WA, DeLuca PP, Lee KC. Monitoring of peptide acylation insidedegrading PLGA microspheres by capillary electrophoresis and MALDI-TOF mass spectrometry. J Control Release. 2003 Oct 30 ;92(3) :291-9 ;和其中引用的参考文献)。聚合物基质内部的酸性微环境可以诱导一些不需要的化学降解反应,特别是对于含有活性胺基的生物活性化合物,诸如肽和蛋白。

[0009] 在文献 [Schwendeman SP., Recent advances in the stabilization of proteins encapsulated in injectable PLGA delivery systems. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. 2002 ;19(1) :73-98 ;Sinha VR, Trehan A., Biodegradable microspheres for protein delivery. J Control Release. 2003 Jul 31 ;90(3) :261-80] 中评论了现有技术中关于生物活性化合物和聚合物在配制、保存和体内释放过程中的不稳定性或反应 / 相互作用的更多的实例,所述文献通过参考完全结合于此。

[0010] 一些有机酸,诸如乙酸、柠檬酸、苯甲酸、琥珀酸、酒石酸、肝素、抗坏血酸及其非毒性盐,已在现有技术中得以描述,并且在许多可控释放的可生物降解系统中用作聚合物降解增强剂。(PCT- 专利申请 W093/17668(第 14 页,4-13 行) 和美国专利 4,675,189)(第 11 栏,5-19 行)。因此,不能期望这样的酸添加剂能够稳定所述聚合物。

[0011] 已经研究了各种其它途径,已获得对含有活性碱性基团的生物活性化合物的成功的可控释放递送。然而,尽管巨大的研究努力尝试,迄今为止 只有少量的用于生物活性化合物可控释放递送的产品可以商购。[参见,例如,US Pat. Nos. 4,728,721 (Leuprolide, Lupron Depot) ;4,938,763 (Leuprolide, Eligard) ;5,225,205 (Triptorelin Pamoate, Trelstar) ;4,767,628 (Goserelin Acetate, Zoladex) ;5,538,739 (Octreotide, SANDOSTATIN LAR) ;5,654,010 (recombinant human growth hormone, Nutropin Depot) ;4,675,189 ;5,480,656 ;4,728,721]。

[0012] 清楚地,存在对于开发新的和适宜的递送系统的需要,所述递送系统稳定生物活性化合物,控制聚合物的降解,限制突发作用,并且在治疗持续时间内的治疗限制内维持药物的释放。因此,本发明的目的是解决上文列举的现有技术中的不足,并且提供用于向受试者可控释放递送生物活性化合物的药物组合物,其包括:

[0013] a) 生物活性化合物和衍生于六羟基环己烷的聚阴离子的复合物,所述生物活性化合物具有至少一个碱性官能团,聚阴离子具有至少两个负电荷官能团;和

[0014] b) 药用载体,其包括可生物降解的、水不溶性的聚合物。

[0015] 本发明还提供用于生产这样的可控释放药物组合物的方法,和应用其的方法。

[0016] 发明概述

[0017] 本发明提供用于向受试者可控释放递送一种或多种生物活性化合物的组合物和方法。具体地,一种用于向受试者可控释放递送生物活性化合物的药物组合物,其包括:a) 生物活性化合物和衍生于六羟基环己烷的聚阴离子的复合物,所述生物活性化合物具有至少一个碱性官能团,聚阴离子具有至少两个负电荷官能团;和 b) 药用载体,其包括可生物降解的、水不溶性的聚合物。通过将生物活性化合物与聚阴离子复合,牢固、稳定的复合物可以被结合到长期作用的给药系统中,所述给药系统具有低起始突发释放,并且与在许多现有技术中发现的那些相比,具有更理想的药物释放-时间曲线。

[0018] 令人惊讶地发现,本发明的聚阴离子可以通过形成稳定的复合物而减少或防止含有碱性基团的生物活性化合物和聚合物或其降解产物之间的相互作用/反应。所述复合物可以在水中或生物流体中具有低溶解性。优选地,所述复合物还在用于制备剂型的溶剂中具有低的溶解性。通过减少或防止生物活性化合物和聚合物和/或其降解产物之间的相互作用/反应,这些特性不但可以在配制过程中,而且在释放过程中稳定生物活性化合物和减缓聚合物的降解。更重要地,这些特性可以引起生物活性化合物从可生物降解聚合物载体以高度理想的释放模式进行递送。它可以允许生物活性化合物向受试者在延长的时间段内的持续递送,例如,从几周到几个月,以使受试者受益。

[0019] 因此,本发明的目的是提供用于向受试者可控释放递送生物活性化合物的药物组合物,其包括:a) 生物活性化合物和衍生于六羟基环己烷的聚阴离子的复合物,所述生物活性化合物具有至少一个碱性官能团,聚阴离子具有至少两个负电荷官能团;和 b) 药用载体,其包括可生物降解的、水不溶性的聚合物。

[0020] 本发明的另一个目的是提供提供一组含有至少一个碱性官能团的生物活性化合物,其可以受益于持续可控释放递送系统。

[0021] 本发明的另一个目的是提供一组聚阴离子,其可以与生物活性化合物形成稳定的复合物。

[0022] 本发明的另一个目的是提供用于制备本发明的生物活性化合物和聚阴离子之间的复合物的方法。

[0023] 本发明的另一个目的是提供一种复合物,其不但在配制和保存过程中,而且在体内聚合物降解和药物释放过程中,可以减少或防止聚合物被生物活性化合物不必要地降解。

[0024] 本发明的另一个目的是提供一种复合物,其不但在配制和保存过程中,而且在体内聚合物降解和药物释放过程中,稳定生物活性化合物。

[0025] 本发明的另一个目的是提供一种药用载体,其包括可生物降解的水不溶性聚合物,所述聚合物使得表现出生物活性化合物的持续释放的生物活性化合物 / 聚阴离子复合物分散在其中。

[0026] 本发明的另一个目的是提供一种药用组合物,其使得生物活性化合物 / 聚阴离子复合物结合在其中,所述复合物可以释放保留其生物活性的生物活性化合物。

[0027] 本发明的另一个目的是提供一种用于医学应用诸如药物递送、接种、基因治疗等的药用组合物。

[0028] 本发明的另一个目的是提供一种药用组合物,其适于口服或肠胃外施用;黏膜施用;眼部施用;皮下、关节内、或肌内注射;通过吸入施用;和局部施用。

[0029] 读过下述公开实施方案的详述后,本发明的这些和其它目的将变得显而易见。

[0030] 发明详述

[0031] 本发明涉及用于向受试者可控释放递送生物活性化合物的药物组合物,其包括:
a) 生物活性化合物和衍生于六羟基环己烷的聚阴离子的复合物,所述生物活性化合物具有至少一个碱性官能团,聚阴离子具有至少两个负电荷官能团;和 b) 药用载体,其包括可生物降解的、水不溶性的聚合物,并且涉及制备和应用这样的组合物的方法。本发明的组合物可以通过本领域已知的方法以任何常规药物施用形式制备。本发明的组合物的非限制性实例为溶液、混悬液、分散体、乳剂、滴剂、气溶胶、膏剂、半固体、糊剂、胶囊、片剂、固体植入物、或微粒。本发明的药物组合物的优点包括生物活性化合物在体内的低突发和稳定的可控释放。它可以允许在延长的时间段内向受试者递送生物活性化合物,例如,从几天到几个月。

[0032] 术语“一 (a)”、“一种 (an)”和“一 (one)”,当用于本文时,意思可以解释为“一种或多种”和“至少一种”。

[0033] 术语“生物活性化合物”意欲包括具有诊断和 / 或治疗特性的任何物质,其包括,但不限于,小分子、大分子、肽、蛋白或酶。治疗特性的非限制性实例为抗代谢的、抗真菌的、消炎的、抗肿瘤的、抗感染的、抗生素的、营养的、激动剂和拮抗剂特性。

[0034] 更具体地,本发明的生物活性化合物可以是能够与衍生于六羟基环己烷的聚阴离子形成复合物的任何化合物,特别是含有电子供体碱性基团的化合物,所述电子供体碱性基团诸如碱性氮原子,例如,胺、亚胺或环氮。生物活性化合物优选地包含一个或多个暴露的可质子化胺官能团,特别优选多数这样的基团。用于制备本发明稳定的复合物的生物活性化合物包括,但不限于,多柔比星、多西环素、地尔硫 䇇、环苯扎林、杆菌肽、诺斯卡品、红霉素、多链丝霉素、万古霉素、去甲替林、奎尼丁、麦角胺、苯扎托品、维拉帕米、氟桂利嗪、丙咪嗪、庆大霉素、卡那霉素、新霉素、阿莫西林、阿米卡星、阿贝卡星、班贝霉素、不替罗星、地贝卡星、二氢链霉素、福提霉素、异帕米星、微米星 (micronimicin)、奈替米星、paromycin、核糖霉素、雷帕霉素、西索米星、链霉素和妥布霉素、阿米卡星、新霉素、链霉素和妥布霉素、乙胺嘧啶、纳曲酮、利多卡因、丙胺卡因、甲哌卡因、布比卡因、丁卡因、罗哌卡因、氧化毒素、加压素、促肾上腺皮质激素 (ACTH)、表皮生长因子 (EGF)、血小板衍生长因子 (PDGF)、促乳素、黄体生成素、黄体生成素释放激素 (LHRH)、LHRH 激动剂、LHRH 拮抗剂、生长素 (包括人、猪和牛的)、生长素释放因子、胰岛素、促红细胞生成素 (包括所有具有红细胞生成活性的蛋白)、促生长素抑制素、胰高血糖素、白细胞介素、干扰素 - α 、干扰素 - β 、

干扰素- γ 、促胃液素、四肽胃泌素、五肽胃泌素、尿抑胃素、分泌素、降钙素、脑啡肽、内啡肽、血管紧张素、促甲状腺素释放激素 (TRH)、肿瘤坏死因子 (TNF)、甲状旁腺素 (PTH)、神经生长因子 (NGF)、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、巨噬细胞集落刺激因子 (M-CSF)、肝素酶、血管内皮生长因子 (VEGF)、骨形态发生蛋白 (BMP)、hANP、胰高血糖素样肽 (GLP-1)、exenatide、肽 YY (PYY)、肾素、缓激肽、杆菌肽、多链丝霉素、多粘菌素 E、短杆菌酪肽、短杆菌肽、环孢素 (其包括合成的类似物及其药物活性片段)、酶、细胞因子、抗体、疫苗、抗生素、抗体、糖蛋白、促卵泡激素、高托尔芬、taftsin、胸腺生成素、胸腺素、胸腺刺激素、胸腺体液因子、血清胸腺因子、集落刺激因子、胃动素、铃蟾肽、dinorphan、神经降压肽、cerulein、尿激酶、血管舒缓素、P 物质类似物和拮抗剂、拮抗剂 II、凝血因子 VII 和 IX、溶菌酶、短杆菌素、促黑激素、甲状腺激素释放激素、促甲状腺激素、促胰酶素、缩胆囊素、人胎盘催乳素、人绒毛膜促性腺素、蛋白合成刺激肽、肠抑胃肽、血管活性肠肽、血小板衍生生长因子、以及它们的合成类似物和修饰和药物活性片段。

[0035] 当用于本文时,术语“聚阴离子”意欲包括含有至少 2 个或多个负电荷官能团的任何分子。本发明的聚阴离子衍生于六羟基环己烷,其通过与能够同生物活性化合物形成稳定复合物的磷酸或硫酸基团酯化而形成。肌-肌醇是六羟基环己烷九种已知的顺式异构体中的一种,一种在植物和动物中富含的 6-碳环结构。例如,肌醇六磷酸 (InP6, 植酸) 是一种天然膳食成分,并且组成了大多数谷物、豆类、坚果类、含油种子和大豆的 0.4-6.4% (w/w)。扩大的证据群体表明,如果不是全部的哺乳动物细胞,那么也是许多哺乳动物细胞含有具有 5 个或多个磷酸基团的肌醇多磷酸。例如,InP6 在大部分的哺乳动物细胞中发现,在细胞中它可以辅助调控各种重要的细胞功能。还表明,InP6 作用为抗氧化剂,其通过与多价阳离子诸如铜和铁螯合,防止负责细胞损伤和癌症发生的活性氧种类的产生。肌醇聚阴离子的一些其它实例包括,但不限于,更低的肌醇磷酸、(即,肌醇五磷酸、肌醇四磷酸、肌醇三磷酸、肌醇二磷酸)、和其它聚磷酸化的有机化合物,肌醇六硫酸 (InS6) 和更低的肌醇硫酸。所述聚阴离子可以以酸或以盐的形式存在。

[0036] 特别优选至少两个或多个负电荷基团的聚阴离子,特别地,肌醇六磷酸 (inositol hexaphosphate) (InP6, 植酸) 和肌醇六硫酸 (inositol hexasulphate) (InS6)。

[0037] 术语“稳定的复合物”意指物理和化学稳定的复合物,它们在将生物活性化合物和聚阴离子在这样的条件下,即,形成稳定的复合物的条件下正确组合时而形成,例如,将生物活性化合物和聚阴离子的水性溶液混合直到复合物形成。所述复合物可以以固体形式 (例如,糊剂、粒剂、粉剂或冷冻干燥剂),或者粉末形式的所述复合物可以被研磨得足够细碎,以便均一地分散在可生物降解聚合物载体中。这种复合物典型地采用沉淀物的形式,所述沉淀物在将生物活性化合物和聚阴离子的水性制剂组合时产生。任选地,可以将一种或多种药用赋形剂结合到所述复合物中。这样的赋形剂可以作用为生物活性化合物或其复合物的稳定剂。非限制性实例包括亚硫酸氢钠、对-氨基苯甲酸、硫脲、甘氨酸、甲硫氨酸、甘露醇、蔗糖、聚乙二醇 (PEG) 等。

[0038] 通过实例的方式,可以将可溶性抗生素 (例如,多柔比星) 溶解在水中,并且可以向其中加入 InP6 的溶液。药物:InP6 复合物沉淀出来。可以将所述沉淀物洗涤,然后通过离心或过滤而分离。将分离的复合物在真空中干燥。

[0039] 作为另一实例,可以向局部麻醉剂 (例如,盐酸丁卡因) 溶液中加入 InP6 的水性

溶液。药物 :InP6 复合物沉淀出来。

[0040] 作为另一实例,可以向肽(例如,胰高血糖素样肽 1(GLP-1))溶液中加入 InP6 的水性溶液。肽 :InP6 复合物沉淀出来。可以将所述沉淀物洗涤,然后通过离心或过滤而分离。将分离的复合物在真空中干燥。

[0041] 作为另一实例,可以向酶(例如,溶菌酶)溶液中加入 InP6 的水性溶液。酶 :InP6 复合物沉淀出来。可以将所述沉淀物洗涤,然后通过离心或过滤而分离。将分离的复合物在真空中干燥。

[0042] 本发明的生物活性化合物和聚阴离子的稳定的复合物可以任选地与一些赋形剂一起结合到药用载体中,所述药用载体包括可生物降解的水不溶性聚合物。术语“可生物降解的水不溶性聚合物”意欲包括可以在体内应用的任何生物相容的和 / 或可生物降解合成的以及天然的聚合物。“可生物降解的水不溶性聚合物”还意欲包括在 37℃ 时在水中或生物流体中不溶或变得不溶的聚合物。应用本领域已知的技术(例如,美国专利 4,728,721),可以将聚合物纯化,任选地,以移除单体和寡聚体。所述聚合物的一些非限制性实例是聚交酯、聚乙醇酸交酯、聚(丙交酯-共-乙交酯)、聚己酸内酯、polydioxanones、聚碳酸酯、多羟基丁酸酯、聚亚烷基草酸酯、聚酞、聚酰胺、聚酰胺酯、聚氨基甲酸酯、聚缩醛、聚原碳酸酯、聚磷腈、多羟基戊酸酯、聚亚烷基琥珀酸酯、和聚原酸酯、和共聚物、嵌段共聚物、支化共聚物、三元共聚物以及它们的组合物和混合物。

[0043] 此外,可生物降解的水不溶性聚合物可以包括末端封端的、末端未封端的、或者末端封端的及末端未封端的聚合物的混合物。末端封端的聚合物通常定义为具有封端的羧基末端基团。未封端的聚合物如在本领域内经典定义的那样,特别具有自由的羧基末端基团。

[0044] 聚合物适当的分子量可以由本领域的普通技术人员确定。当确定分子量时,可以考虑的因素包括,所需要的聚合物降解速率、力学强度和聚合物在溶剂中的溶解速率。典型地,聚合物适当范围的分子量是约 2,000 道尔顿到约 150,000 道尔顿,具有 1.1-2.8 的多分散性,除了其它因素,这取决于选用的是哪一种聚合物。

[0045] 当用于本文时,术语“药用载体”意欲包括具有环境响应特性(例如,热敏性的、pH 敏性的、电敏性的等)的任何载体,可注射溶液或混悬液、颗粒、薄膜、小球、圆柱体、圆盘、微胶囊、微球体、纳米球体、微粒、糯米纸囊剂、微团、脂质体、和其它已知的用于药物递送的聚合物构型。

[0046] 用于配制各种药用聚合物载体的方法在本领域内是公知的。例如,在美国专利 : 6,410,044 ;5,698,213 ;6,312,679 ;5,410,016 ;5,529,914 ;5,501,863 ;和 PCT 公布号 WO 93/16687 ;4,938,763 ;5,278,201 ;5,278,202 ;EP 0,058,481 中描述了许多方法和材料,这些专利和公布通过参考全部结合于此。

[0047] 按照本发明,当生物活性化合物 / 聚阴离子复合物分散在聚合物基质中形成可以注射或移植到受试者的固体移植物时,可以生成组合物。应用常规的聚合物熔融-加工技术,诸如,但不限于,挤压、压缩和注射成型法,其中高温(优选地低于 100℃)用于在移植物制备中的聚合物基质熔融,这些移植物可以从本发明的生物活性化合物 / 聚阴离子复合物进行制备,任选地含有药用赋形剂。这样的移植物的制备可以在无菌条件下进行,或者备选地通过辐射照射进行末期灭菌,辐射灭菌使用但不限于,γ 射线或电子束灭菌。

[0048] 按照本发明的一个实施方案,生物活性化合物 / 聚阴离子复合物和聚合物的均一

混合物可以通过在任何适宜的仪器例如在球磨机中,和在室温下或者甚至在更低的温度,例如 $< 10^{\circ}\text{C}$,进行干混合而制备。粉末成分的比例可以在宽范围内变化,例如,对于生物活性化合物 0.1-30 重量%,这取决于所需要的治疗效果。生物活性化合物 / 聚阴离子复合物和聚合物的均一混合物还可以通过将所述复合物分散在处于有机溶剂中的聚合物溶液中,接着通过蒸发作用或冻干作用移除有机溶剂而制备。得到的固体可以被研磨成细碎的粉末。

[0049] 按照本发明,一旦所给的混合物被充分匀浆,它可以应用本领域已知的技术进行塑模。例如,在塑模之前,它可以通过渐进地加热而被渐进地压缩。压缩比例可以取决于各种因素而不同,诸如仪器的几何形状或粉末混合物的颗粒大小。当混合进行时,它所经历的预先加热的控制和变化的控制是更加重要的:这取决于要被处理的产物(共聚物、生物活性化合物)的性质,进行的每一份努力都是维持温度梯度不超过大约 100°C 。粉末混合物经受的初始温度可以是 25°C ,取决于环境可以更低或更高。

[0050] 塑模温度应该保持尽可能低,优选地,不超过 100°C ,并且温度的上限由生物活性化合物的性质决定,所述生物活性化合物不应该经受变质。充分的压力和充分的温度促进成分最好地均一化,并且特别地,复合物贯穿共聚物实体的均一分布可以容易地通过简单的试验而确定。

[0051] 备选地,均一化的粉末可以在室温下压模,与 FTIR 小球的制备相似。

[0052] 在本发明的一个实施方案中,将具有 50/50 摩尔比例的 D, L- 丙交酯对乙交酯的 D, L- 丙交酯和乙交酯的共聚物溶解在二氯甲烷中。向这一溶液中加入丁卡因肌醇六磷酸,并且用高剪切力搅拌器分散。将得到的混合物置于旋转式蒸发器中,并且在真空下将大部分的二氯甲烷去除。将得到的稠分散体倒入玻璃平板中以形成薄膜。将这样得到的薄膜熔融,并且压模成约 0.5mm 厚的薄膜。

[0053] 按照本发明,备选地,可以将均一化的粉末熔融,并且挤压或者注模成本领域已知的不同形状的固体移植物。实际挤压可以通过标准形状和尺寸的喷嘴方式进行。挤压产物的冷却通过任何适当的方式实现,诸如冷的无菌空气或气体或者简单地通过自然热量散发。

[0054] 按照本发明,这些固体剂型,例如,纤维、棒状、薄膜或糯米纸囊剂,可以通过粉碎或研磨变成微粒形状。然后,将上文所述的充分冷却的挤压或塑模产物在低温下,优选地在低于 0°C 的温度,或者甚至更低,例如 -20°C 下,研磨成粉。然后,这样研磨成粉的产品可以进行筛选以获得需要的颗粒大小。优选的颗粒大小可以在 $1\ \mu\text{m}$ - $500\ \mu\text{m}$ 范围,并且这些微粒递送系统可以悬浮在适宜的常规药用注射赋形剂中。

[0055] 按照本发明的另一方面,生物活性化合物的特别有效的和有效的肠胃外药物制剂还可以在药用溶剂中制备成聚合物的液体或混悬液形式,其包含分散的或溶解的药物 / 聚阴离子复合物。通过与聚阴离子复合,生物活性化合物中的活性基团不能与溶液中的聚合物相互作用。因此,本发明组合物中的生物活性化合物的稳定性通过与本发明的聚阴离子复合而得到提高。

[0056] 因此,然而,按照本发明,提供了一种包括与聚阴离子和聚合物复合的生物活性化合物的药物组合物,其用于长期释放生物活性化合物,其特征在于所述组合物以可注射溶液 / 混悬液的形式存在,其包括:

[0057] (a) 生物活性化合物和六羟基环己烷衍生物的复合物,所述生物活性化合物具有至少一个碱性官能团,聚阴离子具有至少两个负电荷官能团;和

[0058] (b) 可生物降解的、水不溶性的聚合物;

[0059] (c) 药用有机溶剂,其为所述聚合物的溶剂。

[0060] 适当的生物活性化合物和聚阴离子是上文定义的那些,并且特别优选的聚阴离子是如上文所定义那样含有至少 2 个磷酸或硫酸基团的那些,更优选地是 InP6 和 InS6。

[0061] 按照生物活性化合物和聚阴离子的性质,和需要的肽药物释放的时间,复合物中生物活性化合物与聚阴离子的摩尔比例从 0.1 : 1 到 1 : 0.1 不等。

[0062] 可以应用任何适当的可生物降解聚合物,条件是所述聚合物在 37°C 在水性介质或体液中不溶或者变得不溶。适当的可生物降解聚合物是上文定义的那些。

[0063] 所述组合物中存在的可生物降解聚合物的类型、分子量和量可以影响生物活性化合物从可控释放移植物释放的时间长度。为了获得可控释放移植物的需要的特性,可以由本领域的普通技术人员对在所述组合物中存在的可生物降解聚合物的类型、分子量和量进行选择。

[0064] 适当的药用有机溶剂包括,但不限于,N-甲基-2-吡咯烷酮、N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜、碳酸异丙酯、己内酰胺、三醋精、苯甲酸苄酯、苯甲醇、乳酸乙酯、甘油三乙酸酯、柠檬酸酯、和聚乙二醇、烷氧基聚乙二醇和聚乙二醇乙酸酯等,或者它们的任何组合。

[0065] 对于可生物降解聚合物的有机溶剂的标准是,它们是药用的并且易混合以分散在水性介质或体液中。合适的有机溶剂能扩散到体液中,以便液体组合物凝结或凝固在适当位置形成移植物。可以应用这样的溶剂的单一的和/或混合物,这样的溶剂的适用性可以通过简单的试验而容易地确定。

[0066] 本发明的药物组合物典型地含有 0.1-40% w/v 范围的生物活性化合物。一般地,最理想的药物装载取决于需要的释放时间和生物活性化合物的功效。明显地,对于低功效和的更长释放时间的生物活性化合物,可能需要更高水平的结合。

[0067] 本发明的溶液组合物的黏度由所用的聚合物和有机溶剂的分子量决定。例如,当使用聚(丙交酯-共-乙交酯)时,在 NMP 中的聚酯溶液具有比在 mPEG350 中更低的黏度。典型地,当使用相同的溶剂时,聚合物的分子量和浓度越高,黏度就越高。优选地,溶液中聚合物的浓度低于 70 重量%。更优选地,溶液中聚合物的浓度在 20-50 重量%之间。

[0068] 优选地,所述复合物应该在所用的有机溶剂中具有低溶解度。生物活性化合物的活性基团结合到聚阴离子上,并且因此不易于与聚合物或溶剂相互作用/反应。这极大地减小了与聚合物和其降解产物的不利相互作用/反应的风险。

[0069] 按照本发明的一个实施方案,将简单的盐,丁卡因氯化物,与在 NMP 中具有羧基末端基团的 50/50 聚(DL-丙交酯-共-乙交酯)溶液混合。对于体外研究,将小滴的混合物(约 100mg)添加到磷酸缓冲的盐溶液中。将接收的流体在选定的时间点用新鲜溶液替换,并且使用适当的分析方法,分析移出的 PBS 溶液的药物浓度。

[0070] 按照本发明的另一实施方案,将丁卡因肌醇六磷酸与在 NMP 中具有羧基末端基团的 50/50 聚(DL-丙交酯-共-乙交酯)溶液混合。将药物复合物均一地分散在聚合物溶液中。对于体外研究,将小滴的混合物(约 100mg)添加到磷酸缓冲的盐溶液中。将接收的流体在选定的时间点用新鲜溶液替换,并且使用适当的分析方法,分析移出的 PBS 溶液的

药物浓度。

[0071] 按照本发明的另一实施方案,将抑生长肽肌醇六磷酸和抑生长肽乙酸盐(octretide acetate)与在NMP中和甲氧基聚乙二醇350中具有羧基末端基团的50/50聚(DL-丙交酯-共-乙交酯)溶液混合。将药物复合物均一地分散在聚合物溶液中。将组合物保存在室温,并且通过HPLC分析,随着时间监测组合物中抑生长肽的稳定性。抑生长肽与肌醇六磷酸的复合显著地提高了抑生长肽在组合物中随时间的稳定性。

[0072] 按照本发明的另一实施方案,将抑生长肽肌醇六磷酸和抑生长肽乙酸盐(octretide acetate)与在NMP中和甲氧基聚乙二醇350中具有羧基末端基团的50/50聚(DL-丙交酯-共-乙交酯)溶液混合。将药物复合物均一地分散在聚合物溶液中。在Sprague-Dawley雄性大鼠中皮下施用所述组合物以在适当的位置形成移植物。通过在施用后预先确定的时间间隔取回移植物并且分析在移植物中剩余的抑生长肽,而确定抑生长肽的最初的释放。还评估了抑生长肽在配制和释放过程中的稳定性。抑生长肽与肌醇六磷酸的复合显著地降低了抑生长肽最初的释放,并且提高了抑生长肽在释放过程中随着时间的稳定性。

[0073] 生物活性化合物从这些在适当的位置形成的移植物的释放将遵循对于药物从单一聚合物装置释放的相同的基本原则。生物活性化合物的释放可以受到下列各项的影响:移植物的尺寸和形状、生物活性化合物在移植物内的装载、包括生物活性化合物和具体的聚合物的渗透因素和聚合物的降解。取决于对于递送所选的生物活性化合物的用量,上述参量可以由药物递送领域的技术人员调整以给出需要的释放速率和持续时间。

[0074] 施用的可注射溶液组合物的用量将典型地决定于可控释放移植物的需要的特性。例如,可注射溶液组合物的用量可以影响所述生物活性化合物从可控释放移植物释放的时间长度。

[0075] 按照本发明的另一方面,微球形式的组合物通过将在聚合物载体中的生物活性化合物/聚阴离子复合物包封而制备。生物活性化合物/聚阴离子复合物可以使用具有独特特性的各种生物相容性和/或可生物降解聚合物而包封,所述聚合物适用于递送到不同的生物环境或者适用于实现特异的功能。因此,溶解速率和生物活性化合物的递送由具体的包封技术、聚合物组合物、聚合物交联、聚合物稠度、聚合物溶解度、生物活性化合物/聚阴离子复合物的大小和溶解度所决定。

[0076] 将要包封的生物活性化合物/聚阴离子复合物悬浮在有机溶剂的聚合物溶液中。聚合物溶液必须充分浓缩,以便当将它们添加到所述溶液后,足以完全包被所述生物活性化合物/聚阴离子复合物。这样的用量是,即,其提供生物活性化合物/聚阴离子复合物与聚合物的重量比例在约0.01和约50之间,优选地在约0.1和约30之间。当它们通过与所述聚合物接触而被包被时,生物活性化合物/聚阴离子复合物应该保持混悬并且不允许聚集。

[0077] 优选地,所述复合物应该在所用的有机溶剂中具有非常低的溶解度。生物活性化合物的活性基团应该结合到聚阴离子上,并且因此不易于与聚合物或溶剂相互反应。这极大地减少了与聚合物不利的相互反应的风险。

[0078] 因此,生物活性化合物/聚阴离子复合物的聚合物溶液可以经受各种微胶囊技术包括喷雾干燥、喷雾凝结、乳化、溶剂蒸发乳化。

[0079] 按照本发明的一个实施方案,将所述生物活性化合物 / 聚阴离子复合物悬浮在有机溶剂的聚合物溶液中。将悬浮的复合物或微粒与所述聚合物和有机溶剂一起转移到含有乳化剂的更大体积的水性溶液中。在所述水性溶液中,将悬浮的复合物浸没在水相中,在水相中有机溶剂从聚合物挥发或者扩散掉。固化的聚合物包封生物活性化合物 / 聚阴离子复合物而形成组合物。在加工的硬化阶段,乳化剂帮助减少系统中各相物质之间的界面表面张力。备选地,如果包封的聚合物具有某些内在的表面活性,可能不需要加入独立的表面活性剂。

[0080] 用于制备按照本发明的包封的生物活性化合物 / 聚阴离子复合物的乳化剂包括本文示例性的 poloxamers 和聚乙烯醇、表面活性剂和其它表面活性化合物,它们可以减少包封生物活性化合物 / 聚阴离子复合物的聚合物和溶液之间的表面张力。

[0081] 用于制备本发明的微球的有机溶剂包括乙酸、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯、氯仿和其它无毒性的溶剂,它们将取决于所述聚合物的特性。应该选择溶解所述聚合物并且基本上 (ultimately) 无毒的溶剂。

[0082] 本发明的一个优选实施方案是,在包封过程中保持生物活性化合物 / 聚阴离子复合物的完整性。在悬浮过程中,通过使用生物活性化合物 / 聚阴离子复合物在其中具有非常低的溶解度的有机溶剂而保持复合。随后,一旦将包被的复合物转移到水性溶剂中,在先前步骤中聚合物载体的快速硬化和生物活性化合物 / 聚阴离子复合物的充分包封防止所述复合物分解。

[0083] 用于包封所述生物活性化合物 / 聚阴离子复合物的聚合物可以是上文所述的均聚物或共聚物。

[0084] 在另一实施方案中,双壁聚合物包被的微球可以是有利的。双壁聚合物包被的微球可以通过在可以溶解所述聚合物的二氯甲烷或其它溶剂中制备 2 种独立的聚合物溶液而制备。[参见 Pekarek, K. J. ;Jacob, J. S. 和 Mathiowitz, E. Double-walled polymer microspheres for controlled drug release, *Nature*, 1994, 367, 258-260]。将所述生物活性化合物 / 聚阴离子复合物添加到上述溶液之一中并且分散。这里,生物活性化合物 / 聚阴离子复合物用第一种聚合物包被。然后,将含有第一种聚合物包被的生物活性化合物 / 聚阴离子复合物的溶液与第二种聚合物溶液合并。现在,第二种聚合物包封第一种聚合物,所述第一种聚合物包封生物活性化合物 / 聚阴离子复合物。理想地,然后将这种溶液滴入更大体积的含有表面活性剂或乳化剂的水性溶液中。在所述水性溶液中,溶剂从两种聚合物溶液挥发,并且所述聚合物沉淀下来包封所述复合物。

[0085] 尽管上述制剂主要是用于可注射的或可移植途径施用的那些,但是本发明的生物活性化合物 / 聚阴离子复合物还可以用于口服、鼻内、或局部施用制剂的制备。

[0086] 因此,按照本发明,含有所述生物活性化合物 / 聚阴离子复合物的组合物可以施用给需要持续可控释放递送所述生物活性化合物的受试者。当用于本文时,术语“受试者”意欲包括温血动物,优选地哺乳动物,更优选地是人。

[0087] 当用于本文时,术语“施用给受试者”意欲指将组合物(例如,药物制剂)通过任何适用于将所述组合物递送到受试者需要的位置的途径而分散、递送或应用到受试者,所述递送途径包括通过口服,通过鼻,通过皮下、肌内、腹膜内、皮内、静脉内、动脉内或鞘内注射和 / 或移植,通过施用到黏膜来递送,或者通过原位递送,以便基于使用所述生物活性化

合物治疗各种医学病况的已知参量而提供需要剂量的生物活性化合物。

[0088] 当用于本文,术语“可控释放递送”意欲指在施用后一段时间,优选地至少几天到几周或几个月,药剂在体内的连续递送。药剂的持续可控释放递送可以通过,例如,所述药剂随时间的连续治疗效果而证明(例如,对于 GLP-1,肽的持续递送可以由随时间连续的 A1c 减少而证明)。备选地,所述药剂的持续递送可以通过检测所述药剂随时间在体内的存在而证明。

[0089] 本文所参考的所有书籍、文献和专利都通过参考而完全结合。

[0090] 实施例

[0091] 下述实例举例说明本发明的组合物和方法。下述实例不应该视为限制,而应该只是教导怎样制备有效的药物递送系统。

[0092] 实施例 1 制备多柔比星肌醇六磷酸(DOX-PA)

[0093] 制备 2mg/mL 在水中的盐酸多柔比星(MW 578.98)溶液(3.45mM)和 20mg/mL 在水中的肌醇六磷酸二钾盐(MW 736.22)溶液(27.2mM)。在搅拌溶液的同时,向 100mL 盐酸多柔比星溶液中加入 2.1mL 肌醇六磷酸溶液。肌醇六磷酸与多柔比星的期望比例是 1 : 6。将混合物离心。将沉淀用水洗涤 4 次,然后冻干。产量是 187mg(88.5%)。

[0094] 在去离子水、磷酸缓冲盐(PBS,pH 7.4)、二甲亚砜(DMSO)、二甲基乙酰胺(DMAC)、N-甲基-2-吡咯烷酮(NMP)和甲氧基聚乙二醇 350(mPEG)中测定多柔比星肌醇六磷酸的溶解度。结果在下表中显示:

[0095]

溶剂	溶解度(□ g/mL)
H ₂ O	4.5
PBS(pH 7.4)	11.2
DMSO	可溶
DMAC	50
NMP	50
mPEG	0

[0096] 实施例 2 制备含有 DOX-PA 和 DOX-HCl 的微球

[0097] 将 121mg DOX-PA 复合物分散在二氯甲烷(DCM)中的 PLGA(DL5050 3A,Alkermes)溶液中。将上面的有机相在冰箱中(~4°C)预冷的 500mL 1.0%(w/v)PVA 溶液中乳化。在 RT 下将乳化液继续搅拌 3h 以挥发 DCM。通过轻轻倒出上层清液而收集硬化的微球,将其用去离子水洗涤 3 次,然后冷冻干燥。得到微红色的微球。当用 HPLC 确定时,微球中的药物含量为~5.1%。

[0098] 通过使用 DOX-HCl 代替 DOX-PA,应用相同的上述步骤,而制备含有 DOX-HCl 的微球。

[0099] 实施例 3- 制备包封的多柔比星肌醇六磷酸

[0100] 使用双重乳化方法,将实施例 1 中制备的多柔比星肌醇六磷酸包封在聚丙交酯-共-乙交酯(polylactic-co-glycolic acid)(PLGA)中。将 1.4mg 多柔比星肌醇六磷酸添加到含有 PLGA 的二氯甲烷中(0.6g PLGA/ml 溶剂;20ml)。使用具有微细尖端的匀浆仪,将混合物在 3,000rpm 匀浆 30sec。将得到的混悬液转移到含有 1%聚(乙烯醇)(PVA)和二氯甲烷(4.5ml)的搅拌槽(2000ml)中。将溶液在 1,000rpm 搅拌 1min。通过浸没在蒸馏水中而将在 PVA 溶液中的微球沉淀出来,洗涤并且过滤。然后,将所述微球用含有 0.1%

吐温的蒸馏水洗涤,以减少凝聚,并且用氮气在 4℃干燥 2 天。

[0101] 实施例 4- 制备丁卡因肌醇六磷酸

[0102] 将 1.0g 丁卡因盐酸 (3.33mmol) 溶解在 40mL 水中,并且有力地搅拌。加入 20.5mL 实施例 1 的肌醇六磷酸溶液。再搅拌 30min 后,将沉淀离心并且用水洗涤。终产物是白色粉末的形式。所述复合物在不同溶剂中的溶解度显示如下:

[0103]

溶剂	溶解度 (mg/mL)
PBS (pH 7.4)	7.5
H ₂ O (~ pH 6.0)	4.5
乙酸缓冲液 (pH 4.5)	2.7

[0104] 实施例 5- 制备含有丁卡因的聚合物微球

[0105] 通过油-在-水 (O/W) 单一乳化技术,而制备聚合物 (例如,聚 (丙交酯-共-乙交酯) (PLGA)) 微球。PLGA 溶解在二氯甲烷 (DCM) 中。为了将丁卡因包封,将所述药物与在 DCM 中的 PLGA 溶液混合。将混合的溶液或悬浮液在 4℃冰箱预冷的 500mL 0.5-1% (w/v) PVA (PVA, 88% 水解, 平均分子量 31,000-50,000, Sigma-Aldrich) 溶液中乳化。将乳化液在 RT 连续搅拌 3h 以使 DCM 挥发掉。收集硬化的微球,用去离子水洗涤 3 次,然后冷冻干燥。

[0106] 在制备含有丁卡因肌醇六磷酸 (TCPA) 的微球的情形中,将 210mg TCPA 悬浮在 5mL PLGA 溶液中。将混悬液超声 10min。在搅拌的同时,将这一悬浮液缓慢地加入到在 4℃预冷的连续相 (1% PVA 溶液) 中。将乳化液在室温下连续搅拌 3h 以使 DCM 挥发掉。收集硬化的微球,用去离子水洗涤 3 次,然后冷冻干燥。丁卡因负载约 3.2%。

[0107] 通过用 TC-HCl 代替 TCPA 以相似的方式制备含有丁卡因盐酸 (TC-HCl) 的聚合物微球。

[0108] 实施例 6- 制备含有丁卡因肌醇六磷酸的小球

[0109] 通过压模方法制备含有丁卡因肌醇六磷酸的可移植小球。使用研钵和研棒,将 249mg PLGA 粉末与 25.7mg 丁卡因肌醇六磷酸彻底混合。然后,使用 Delta Press 将 ~50mg 混合物塑模以形成小球。还制备了含有丁卡因盐酸的小球用于比较。

[0110] 实施例 7- 制备含有丁卡因肌醇六磷酸的移植物

[0111] 将 2.56g 聚 (丙交酯-共-乙交酯) (PLGA) (RG504H, 来自 Boehringer-Ingelheim) 溶解在 7.73 克的二氯甲烷中。向这一溶液中加入 256mg 丁卡因肌醇六磷酸,并且用高剪切力混合器分散。

[0112] 将得到的混合物置于旋转蒸发器中,并且在真空下将大部分二氯甲烷去除。将得到的稠分散体倒入玻璃平板中,并且设置为 0.7mm 的可调刀片涂抹。

[0113] 将这样获得的薄膜在 80℃熔融并且压模,以给出约 0.5mm 厚的薄膜。在 pH 7.4 和 37℃下,将所述薄膜在磷酸缓冲盐 (含有 0.02% 叠氮化钠) 中温育,并且将缓冲溶液用 UV 周期性地检测,以确定释放的丁卡因的量。

[0114] 使用含有至少一个碱性官能团的其它生物活性化合物代替丁卡因,可以制备相似塑模的移植物。

[0115] 实施例 8- 丁卡因肌醇六磷酸的可注射制剂及其体外释放

[0116] 通过将 160mg PLGA (RG503H, 来自 Boehringer-Ingelheim) 溶解在 0.4mL NMP 中,而制备在 NMP 中的具有羧基末端基团的 40% (w/v) 聚 (DL-丙交酯-共-乙交酯) (PLGA)

溶液。通过注射器冲洗,将 39.9mg 丁卡因肌醇六磷酸与所述聚合物溶液混合。将小滴混合物(约 100mg)添加到 pH 7.4 的磷酸缓冲盐溶液中。将接收的流体在选定的时间点用新鲜溶液替换,并且使用 280nm 的 UV 检测分析移出的 PBS 溶液的药物浓度。

[0117] 实施例 9- 制备利多卡因与肌醇六磷酸的复合物

[0118] 将 1.0g 利多卡因盐酸 (3.69mmol) 溶解在 400mL 水中,并且有力地搅拌。加入 28.8mL 实施例 1 的肌醇六磷酸溶液。30min 后,将 pH 用 0.1N HCl 溶液调整到 3.5。再搅拌 30min 后,将沉淀过滤并且用水洗涤 4 次。将终产物冻干。

[0119] 实施例 10- 制备阿莫西林与肌醇六磷酸的复合物

[0120] 将 1.0g 阿莫西林盐酸 (2.74mmol) 溶解在 400mL 水中,并且有力地搅拌。加入 21.3mL 实施例 1 的肌醇六磷酸溶液。30min 后,将 pH 用 0.1N HCl 溶液调整到 3.5。再搅拌 30min 后,将沉淀过滤并且用水洗涤 4 次。将终产物冻干。

[0121] 通过用含有至少一个碱性基团的其它化合物代替阿莫西林盐酸,可以制备相似的复合物。

[0122] 实施例 11- 制备抑生长肽与肌醇六磷酸的复合物

[0123] 通过将 215mg 抑生长肽溶解在 10.75mL 水中而制备 20mg/mL 的抑生长肽溶液。将 5mL 这一溶液与 1.45mL pH 3.12 的 PA 溶液 (1%, w/v) 混合。将混合物振荡 1min,然后将所述混合物置于旋转器中在混合 1 小时。复合物通过离心分离并且用水润洗一次。将沉淀的产物冷冻干燥 48h。得到白色粉末形式的终产物。

[0124] 实施例 12- 抑生长肽在可注射制剂中的稳定性

[0125] 通过将抑生长肽分散在适当溶剂中的聚合物溶液,而制备抑生长肽的可注射的制剂。例如,将具有 50/50 比例的丙交脂:乙交酯 (PLG DL2.5A, 来自 Alkermes) 的聚 (DL- 丙交脂- 共- 乙交酯) (PLGA) 溶解在 N- 甲基-2- 吡咯烷酮 (NMP) 或甲氧基聚乙二醇 (mPEG)、或聚乙二醇二甲醚 (PEGDM), 以给出 40 重量% 的溶液。通过将抑生长肽肌醇六磷酸或乙酸分散在所述聚合物溶液中而制备可注射的制剂。将混合物彻底搅拌直到得到均一的混悬液或溶液。制备了 6 种可注射的制剂,显示如下。

[0126]

聚合物溶液	目标负载	盐形式	药物 (mg)	PLGA/Sol. (mg)
40% 5050DL2.5A/60% NMP	50 mg/ml	乙酸盐	20	455
40% 5050DL2.5A/60% NMP	50 mg/ml	肌醇六磷酸盐	20	445
40% 5050DL2.5A/60% mPEG	50 mg/ml	乙酸盐	20	450
40% 5050DL2.5A/60% mPEG	50 mg/ml	肌醇六磷酸盐	20	430
40% 5050DL2.5A/60% PEGDM	50 mg/ml	乙酸盐	20	445
40% 5050DL2.5A/60% PEGDM	50 mg/ml	肌醇六磷酸盐	20	440

[0127] 注 :mPEG :甲氧基聚乙二醇 350 ;NMP :N- 甲基吡咯烷酮 ;

[0128] PEGDM :聚乙二醇二甲醚

[0129] 通过 HPLC 监测室温下上述可注射制剂中的抑生长肽的稳定性,并且结果在下表中显示。抑生长肽与肌醇六磷酸的复合完全防止了抑生长肽在 mPEG 和 PEGDM 中的 PLGA 溶液中的降解和 / 或酰化作用,而在室温下随着时间在 NMP 中的 PLGA 溶液中观察到轻微的抑生长肽降解。当应用抑生长肽乙酸盐时,在室温下 3 天后,有显著量的抑生长肽降解或反应。在 NMP 中的 PLGA 溶液的情形中,几乎有 100% 的抑生长肽降解或酰化。因此,抑生长肽肌醇六磷酸将是制备含有所述肽的稳定制剂的优选形式。

[0130]

时间 (h)	% 完好的抑生长肽					
	NMP	NMP	mPEG	mPEG	PEGD	PEGD
	/Ac	/Pa	/Ac	/Pa	M /Ac	M /Pa
0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
0.5	95.5	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
1	92.4	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
3	90.0	99.0	100.0	100.0	100.0	100.0
5	58.0	100.0	100.0	100.0	95.0	100.0
24	15.4	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
72	0.8	80.4	40.2	100.0	69.9	100.0
120	0.0	81.5	64.0	100.0	32.7	100.0
168	0.0	85.0	32.5	100.0	58.8	100.0
288	0.0	81.1	53.9	100.0	24.4	100.0

[0131] 注 :mPEG :甲氧基聚乙二醇 350 ;NMP :N- 甲基吡咯烷酮 ;PEGDM :聚乙二醇二甲醚 ;/Ac :乙酸盐形式的抑生长肽 ;/Pa :肌醇六磷酸盐形式的抑生长肽。

[0132] 实施例 13- 抑生长肽在可注射制剂中的稳定性

[0133] 将具有 50/50 比例的丙交脂 :乙交酯 (DL2.5A, 来自 Alkermes) 的聚 (DL- 丙交脂 - 共 - 乙交酯) (PLGA) 溶解在 N- 甲基 -2- 吡咯烷酮 (NMP) 或甲氧基聚乙二醇 (mPEG) 中, 以给出 40 重量%的溶液。通过将抑生长肽肌醇六磷酸盐或乙酸盐或柠檬酸盐分散而制备可注射的聚合物溶液。将混合物彻底搅拌直到得到均一的混悬液或溶液。可注射的制剂按下文所示进行制备。

[0134]

制剂	目标负载	盐形式	药物 (mg)	PLGA/Sol (mg)
40% 5050DL2.5A/60% NMP	50 mg/ml	肌醇六磷酸盐	20	445
40% 5050DL2.5A/60% NMP	50 mg/ml	乙酸盐	20	455
40% 5050DL2.5A/60% NMP	50 mg/ml	柠檬酸盐	24	455
40% 5050DL2.5A/60% PEG350	50 mg/ml	肌醇六磷酸盐	20	450

[0135] 注 :mPEG :甲氧基聚乙二醇 350 ;NMP :N- 甲基吡咯烷酮。

[0136] 通过 HPLC 监测室温下上述可注射制剂中的抑生长肽的稳定性,并且结果在下表中显示。看起来抑生长肽的盐形式和溶剂都影响抑生长肽的稳定性。关于抑生长肽的稳定性, mPEG 比 NMP 更优选,并且抑生长肽的肌醇六磷酸盐复合物形式比抑生长肽的乙酸盐和柠檬酸盐更优选。

[0137]

时间点 (h)	%完好的抑生长肽			
	NMP/Ac	mPEG/Ac	NMP/Ca	mPEG/Pa
0	100.0	100.0	100.0	100.0
1	79.8	100.0	94.9	100.0
5	43.7	100.0	57.7	
24	16.1	82.2	41.5	100.0
72	0.0	68.2	24.8	
168	0.0	54.5	13.5	100.0
336	0.0	37.4	0.0	100.0
504	0.0	28.5	0.0	100.0

[0138] 注 :mPEG :甲氧基聚乙二醇 350 ;NMP :N- 甲基吡咯烷酮 ;/Ac :乙酸盐

[0139] 形式的抑生长肽 ;/Ca :柠檬酸盐形式的抑生长肽 ;/Pa :肌醇六磷酸盐

[0140] 形式的抑生长肽。

[0141] 实施例 14- 抑生长肽在大鼠体内的初始释放

[0142] 将聚 (DL- 丙交脂 - 共 - 乙交酯) (PLGA) 溶解在 N- 甲基 -2- 吡咯烷酮 (NMP) 或甲氧基聚乙二醇 (mPEG) 中,以给出 40 重量%的溶液。通过将抑生长肽肌醇六磷酸盐或乙酸盐分散而制备可注射的制剂。将混合物彻底搅拌直到得到均一的混悬液或溶液。制备的可注射制剂显示在下表中。将这些抑生长肽制剂 (大概约 100 μ L) 皮下施用到 Sprague-Dawley 雄性大鼠的背部。通过在施用后预定的时间间隔 (组 G 30min,组 A-F 24h) 回收移植物并且分析在所述移植物中剩余的抑生长肽而确定抑生长肽的释放。还评估了抑生长肽在制剂中和释放过程中的稳定性。

[0143]

ID#	制剂	药物含量 (%)	收集时间 (h)	降解(%)	平均释放 (%)
A	在 40% 5050 DL2.5A/60% mPEG 中的 OCT/Pa	4.36	24	0.00	10.82±7.10
B	在 40% 5050 DL2.5A/60% mPEG 中的 OCT/Ac	4.16	24	20.60±1.53	47.01±6.91 (34.47±8.51)*
C	在 40% 5050 DL3A/60% mPEG 中的 OCT/Pa	4.37	24	0.00	62.08±10.94
D	在 40% 5050 DL3A/60% NMP 中的 OCT/Pa	4.36	24	12.67±2.52	75.52±3.06
E	OCT/Pa 40% 5050 DL2.5A/60% NMP	4.35	24	10.00	63.41±5.97
F	在 40% 5050 DL2.5A/60% NMP 中的 OCT/Ac	4.26	24	28.81±3.45	28.82±5.02 (44.12±3.94)*
G	在 40% 5050 DL2.5A/60% mPEG 中的 OCT/Pa	4.60	0.5	0.00	3.29±7.73

[0144] 注 :mPEG :甲氧基聚乙二醇 350 ;NMP :N- 甲基吡咯烷酮 ;OCT :抑生长肽 ;OCT/Ac :抑生长肽乙酸盐 ;OCT/Pa :抑生长肽肌醇六磷酸盐。* 包括降解峰

[0145] 制剂 A 和 G 相似,G 具有稍高的药物含量,但是在不同的时间点收集动物和回收移植植物。结果似乎表明抑生长肽随时间逐渐释放。在施用后 0.5 小时组 G 中从所述移植植物释放的抑生长肽约 3.29±7.73%,在施用后 24 小时组 A 中从所述移植植物释放的抑生长肽约 10.82±7.10%。与制剂 B 相比较,抑生长肽与肌醇六磷酸的复合显著地提高了初始释放和所述肽在制剂中和释放过程中的稳定性。结果还表明,根据抑生长肽的稳定性,mPEG 是优

于 NMP 的溶剂。对于抑生长肽和 PLGA, NMP 似乎是更好的溶剂, 其可以促进抑生长肽和 PLGA 或其降解产物之间的酰化反应。

[0146] 在 PLGA/NMP 赋形剂中关于抑生长肽稳定性的结果与在体外获得的那些结果 (参考实施例 13 和 14) 有关。然而, 降解 / 反应速率似乎在体内低于在体外 (24 小时后 30% 对 85%)。这种差异可以由这样的事实解释, 即, 施用后通过将溶剂 NMP 分散在动物的周围组织中而快速地形成移植物。溶剂分散将导致赋形剂的黏度增加或者 PLGA 的固化, 这引起抑生长肽和 PLGA 或其降解产物之间的更低的反应速率。然而, 由于在施用后 24 小时在移植物中仍然可以检测到显著量的 NMP (多达 35%), 所以溶剂的分散是一个缓慢的过程。这表明, 剩余的溶剂可以比需要久得多地截留在移植物中。因此, 以其更稳定形式的生物活性化合物的应用对于研发有利的制剂是非常重要的。

[0147] 实施例 15- 抑生长肽在大鼠体内的释放

[0148] 通过将抑生长肽肌醇六磷酸盐分散在 mPEG350 中的聚 (DL- 丙交脂 - 共 - 乙交酯) (PLGA) 溶液中, 而制备可注射的制剂。将混合物彻底搅拌直到得到均一的混悬液。制备的可注射制剂显示在下表中。将这些抑生长肽制剂 (大概约 100 μ L) 皮下施用到 Sprague-Dawley 雄性大鼠的背部。通过在施用后预定的时间间隔回收移植物并且分析在所述移植物中剩余的抑生长肽而确定抑生长肽的释放。还评估了抑生长肽在制剂中和释放过程中的稳定性。

[0149]

ID#	制剂	药物含量 (%)	收集时间 (h)	平均释放 (%)	标准偏差 (%)
A	在 40% 5050 DL2.5A/60% mPEG 中的 OCT/Pa	3.9	24	11.1	1.7
B	在 35% 5050 DL2.5A/65% mPEG 中的 OCT/Ac	3.9	24	14.0	4.2
C	在 50% RG752S /50% mPEG 中的 OCT/Pa	10.8	24	0.4	2.0
D	在 45% RG752S/55% mPEG 中的 OCT/Pa	10.7	24	1.5	2.7
E	OCT/Pa 40% RG752S/60% mPEG	10.8	24	3.8	4.5

[0150] 注 :mPEG :甲氧基聚乙二醇 350 ;NMP :OCT :抑生长肽 ;OCT/Pa :抑生长肽肌醇六磷酸。5050DL2.5A :具有 50% 来自 Alkermes 的丙交酯的聚 (丙交酯 - 共 - 乙交酯) ;RG752S :具有 75% 来自 Boehringer-Ingelheim(BI) 的丙交酯的聚 (丙交酯 - 共 - 乙交酯)。

[0151] OCT 从制剂 A 和 B 的初始释放分别为 $11.1 \pm 1.7\%$ 和 $14.0 \pm 4.2\%$, 而从制剂 C、D 和 E 的释放分别为 $0.4 \pm 2.0\%$ 、 $1.5 \pm 2.7\%$ 和 $3.8 \pm 4.5\%$ 。尽管差异不是统计学显著的, 但是似乎存在这样的趋向, 即, OCT 的初始释放随着聚合物浓度的减少而增加。另外, 在这些制剂中, 在配制过程和体内释放过程中, OCT 是稳定的。

[0152] 实施例 16- 制备胰高血糖素样肽 1 (GLP-1) 与肌醇六磷酸的复合物

[0153] 将 50mg GLP-1 乙酸盐 (Mw 3297.7, 0.0152mmol) 溶解在 5mL 水中, 并且有力地搅拌, 加入 1.01mL pH 3.2 的 1% 肌醇六磷酸溶液 (摩尔比 GLP-1 : 肌醇六磷酸 = 1 : 1)。再搅拌 30min 后, 将混合物离心。将上层清液轻轻倒掉, 并且将沉淀物用水润洗 2 次, 然后冷冻干燥。终产物是白色粉末形式。

[0154] 实施例 17- 制备胰高血糖素样肽 1 (GLP-1) 与肌醇六硫酸 (InS6) 的复合物

[0155] 将 50mg GLP-1 乙酸盐 (Mw 3297.7, 0.0152mmol) 溶解在 5mL 水中, 并且有力地搅拌, 加入 1.35mL pH 1.0 的 1% 肌醇六硫酸钾 (InS6) 溶液 (摩尔比 GLP-1 : InS6 = 1 : 1)。再搅拌 30min 后, 将混合物离心。将上层清液轻轻倒掉, 并且将沉淀物用水润洗 2 次, 然后冷冻干燥。终产物是白色粉末形式。

[0156] 实施例 18- 制备 PYY 与肌醇六磷酸的复合物

[0157] 将 1.0g PYY 乙酸盐 (0.247mmol) 溶解在 100mL 水中, 并且有力地搅拌, 加入 11.5mL 实施例 1 制备的肌醇六磷酸溶液 (摩尔比 PYY : 肌醇六磷酸 = 1 : 1)。再搅拌 30min 后, 将沉淀物滤出, 并且用水洗涤 4 次。将终产物冻干。

[0158] 实施例 19- 制备溶菌酶肌醇六磷酸

[0159] 将 100mg 溶菌酶 (7.1 μ mol) 溶解在 40mL 水中, 并且有力地搅拌, 加入 3.1 μ L 实施例 1 制备的肌醇六磷酸溶液。再搅拌 30min 后, 将沉淀物滤出, 并且用水洗涤 4 次, 并且冻干。得到白色粉末形式的终产物。

[0160] 通过利用天然存在的肽 / 蛋白质或它们的合成类似物代替溶菌酶, 可以制备相似的复合物。