



(21) 申请号 202111110779.9  
(22) 申请日 2016.10.14  
(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 113827704 A  
(43) 申请公布日 2021.12.24  
(30) 优先权数据  
62/242,412 2015.10.16 US  
(62) 分案原申请数据  
201680067420.9 2016.10.14  
(73) 专利权人 瑞泽恩制药公司  
地址 美国纽约  
(72) 发明人 H·陈 E·施莱辛格  
(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所  
有限公司 11038  
专利代理师 张小勇

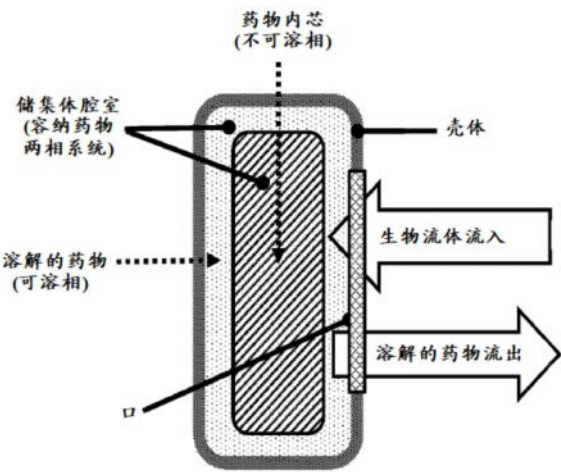
(51) Int.Cl.  
A61K 38/17 (2006.01)  
A61K 47/10 (2006.01)  
A61K 47/34 (2017.01)  
A61P 27/02 (2006.01)  
(56) 对比文件  
Sandra Herrmann et al.New Insight  
into the Role of Polyethylene Glycol  
Acting as Protein Release Modifier in  
Lipidic Implants.Pharmaceutical  
Research.2007,第24卷(第8期),第1530页右栏  
第1段,第1531页左栏图3下数第2段,第1532页左  
栏图5下数第2段至右栏第1段,第1533页右栏第3  
段,第1534页左栏倒数第3段,图7,第1534页图9  
下数第1段,第1528页左栏第3段,第1533页左栏  
图7下数第1段至右栏第2段,第1529页右栏第2段  
和图1.

审查员 陈城

权利要求书2页 说明书21页 附图12页

(54) 发明名称  
稳定蛋白质组合物

(57) 摘要  
本发明公开稳定的医药制剂和药物递送装置。在某些实施方案中,所述药物递送装置容纳储集体,所述储集体在植入于患者体内时与组织环境部分接触。所述储集体经由所述递送装置的壳体中的多孔结构与所述环境保持接触。所述储集体容纳治疗性生物分子与第二分子的组合,所述第二分子用于使所述治疗性生物分子稳定并限制所述治疗性生物分子的溶解度,由此控制治疗性生物分子溶解的量。所述可溶性治疗性生物分子的浓度或所述多孔结构的表面积的大小控制所述治疗性生物分子递送到靶组织的速率。



1. 一种两相医药制剂, 包括:

25mg/mL至150mg/mL的包含聚乙二醇 (PEG) 的沉淀剂赋形剂, 其中沉淀剂赋形剂造成蛋白质从液相沉淀为固相;

至少100mg/mL的阿柏西普, 其中沉淀剂赋形剂的浓度用于控制治疗性蛋白质的溶解度, 其中两相医药制剂的阿柏西普的总量的少于50%与PEG一起存在于液相中, 并且剩余的阿柏西普存在于与液相平衡的固相中, 其中固相中的阿柏西普是被PEG从液相去除的; 以及半透膜, 其中半透膜包围液相和持留PEG同时允许阿柏西普通过膜扩散,

其中阿柏西普处于生理温度下在液相中至少30天具有至少80%的天然构象、结构或功能, 并且其中液相具有恒定的预定阿柏西普浓度, 直到固相耗尽, 并且液相通过半透膜进入具有较低浓度的阿柏西普的环境。

2. 如权利要求1所述的两相医药制剂, 其中阿柏西普的浓度是在100mg/mL与1400mg/mL之间。

3. 如权利要求1或2所述的两相医药制剂, 其中PEG的浓度是在25mg/mL与95mg/mL之间。

4. 如权利要求1或2所述的两相医药制剂, 其中阿柏西普的浓度是在100mg/mL与500mg/mL之间。

5. 如权利要求1或2所述的两相医药制剂, 其中液相包括0.05mg/mL与50mg/mL之间的阿柏西普。

6. 如权利要求1或2所述的两相医药制剂, 其中阿柏西普的分子量是25kD至160kD。

7. 如权利要求1或2所述的两相医药制剂, 其中如通过尺寸排阻色谱法确定的, 液相中的阿柏西普的至少85%在处于生理温度下60天时具有天然分子量。

8. 如权利要求1或2所述的两相医药制剂, 其中液相中的阿柏西普比无PEG或在封闭两相系统中的相等浓度的液相更稳定。

9. 如权利要求1所述的两相医药制剂, 其中环境是生理环境。

10. 一种提供延长释放的医药制剂的方法, 包括:

将25mg/mL至150mg/mL的固态的包含聚乙二醇 (PEG) 的沉淀剂赋形剂与100mg/mL至1400mg/mL的喷干阿柏西普组合, 形成干的混合物;

从多孔聚合物形成圆柱体, 并且密封圆柱体的一端而使圆柱体的另一端敞开;

将干的混合物通过敞开端装到圆柱体中, 然后密封敞开端以生产延长释放的医药制剂, 其中当延长释放的医药制剂施用到患者的玻璃状液中时, 以40 $\mu$ g/天 $\pm$ 10 $\mu$ g/天的释放速率释放阿柏西普。

11. 如权利要求10所述的方法, 其中多孔聚合物包括聚己酸内酯。

12. 如权利要求10所述的方法, 其中PEG包括PEG 3350。

13. 根据权利要求1-9中任一项所述的两相医药制剂在制备具有延长释放功效的药物中的用途。

14. 根据权利要求10-12中任一项所述的方法制备的延长释放的医药制剂在制备具有延长释放功效的药物中的用途。

15. 根据权利要求10所述的方法, 其中PEG的浓度是25mg/mL至95mg/mL。

16. 根据权利要求10所述的方法, 其中阿柏西普的浓度是100mg/mL至500mg/mL。

17. 根据权利要求10所述的方法, 其中阿柏西普的分子量是25kD至160kD。

18. 根据权利要求12所述的方法, 其中PEG 3350的浓度为70mg/ml。
19. 根据权利要求12所述的方法, 其中PEG 3350的浓度为80mg/mL $\pm$ 20mg/mL。
20. 根据权利要求10所述的方法, 其中以每天0.03mg至0.055mg的释放速率释放阿柏西普。
21. 根据权利要求10所述的方法, 其中阿柏西普的浓度是60mg/mL至210mg/mL。

## 稳定蛋白质组合物

[0001] 本申请是CN201680067420.9的分案申请。

### 技术领域

[0002] 本发明大体上涉及用于制作在延长的时间段内稳定的蛋白质的组合物和方法。本发明尤其涉及用于制作在生理温度下保持稳定以实现治疗性蛋白质的延释的治疗性蛋白质制剂的组合物和方法。

### 背景技术

[0003] 对于治疗躯体疾病,诸如癌症、心血管疾病、血管疾病、整形外科疾患、牙科疾患、伤口、自身免疫性疾病、肠胃疾患和眼科疾病,朝向生物学相关的标靶对治疗性蛋白质的延释递送将是所要的。用于药物的控释和延释递送的生物相容和生物可降解的聚合物和其它可植入递送装置已用了数十年。举例来说,在一些基于聚合物的递送装置中,在聚合物随着时间过去而降解时,缓慢地释放治疗性药物。

[0004] 就患者依从性来说,延释可能是所要的。明确地说,减少注射次数可能是有益的,尤其是在要求医生进行注射时,诸如在眼内治疗的情况中。延释制剂的未被满足的医疗需求是用尽可能少的注射来在长时间内有效地递送药物。在其它疾病(例如,癌症和炎症疾病)的情况中,需要含有稳定且有效的蛋白质治疗药物的、经过改进的可植入延释制剂。

[0005] 治疗性大分子,诸如抗体和受体Fc-融合蛋白质,必须以不仅使所述分子适合于投与患者而且还在存放期间以及在处于投药现场时维持其稳定性的方式来配制。举例来说,液体溶液中的治疗性蛋白质(例如,抗体)易于发生降解、聚集和/或非所要的化学改性,除非所述溶液经过恰当地配制。液体制剂中的蛋白质治疗药物的稳定性不仅取决于制剂中使用的赋形剂的种类和那些赋形剂相对于彼此的量和比例,而且还取决于可溶性蛋白质的浓度。在制备治疗性蛋白质制剂时,还必须考虑除了稳定性之外的考虑因素。此类额外考虑因素的实例包括溶液的粘度和给定制剂可适应的抗体的浓度。因此,在配制用于延释的治疗性蛋白质时,必须要花费很多心力来获得一种制剂,所述制剂随着时间过去并且在存放和生理温度下保持稳定、含有适当浓度的抗体以及拥有使所述制剂能够方便地投与患者的其它性质。

[0006] 虽然小分子制剂可以使用PEG,但是就较大蛋白质来说,已知PEG会造成沉淀。PEG用于使蛋白质沉淀以有助于净化、浓缩和更换缓冲液。PEG还用于使蛋白质结晶以进行生理物理分析。还使用少量(例如,大体上不多于3%w/v)的PEG作为赋形剂以保护蛋白质免受搅动应力的影响。还已知PEG使蛋白质沉淀会使蛋白质聚集并且有损蛋白质功能。

### 发明内容

[0007] 在一个方面中,本发明提供一种两相医药制剂,所述两相医药制剂含有至少25mg/mL的聚乙二醇(PEG)和至少100mg/mL的蛋白质,其中少于50mg/mL的所述蛋白质是在可溶相中,并且其余的蛋白质是在不可溶相中。可溶相与不可溶相中的蛋白质在生理温度

下稳定至少30天,并且可溶相蛋白质能够进入具有较低浓度的所述蛋白质的环境。在一个实施方案中,半透膜或其它多孔结构提供使所述蛋白质进入所述环境的通路。

[0008] 在一个方面中,本发明提供一种两相医药制剂,所述两相医药制剂含有至少25mg/mL的聚乙二醇(PEG)和在0.1mg/mL与1400 mg/mL之间或更多的蛋白质,其中少于总量50%的所述蛋白质是在可溶相中,并且其余的蛋白质是在不可溶相中。可溶相与不可溶相中的蛋白质在生理温度下稳定至少30天,并且可溶相蛋白质能够进入具有较低浓度的所述蛋白质的环境。在一个实施方案中,半透膜或其它多孔结构提供使所述蛋白质进入所述环境的通路。

[0009] 在一个方面中,本发明提供一种用于药物的延长递送的药物递送装置,所述药物在生理温度下在延长的时段内保持稳定。本发明的药物递送装置包括:稳定的两相医药制剂;储集体腔室,所述储集体腔室容纳所述稳定的两相医药制剂;壳体,所述壳体包围所述储集体腔室;以及所述壳体中的半透膜或其它多孔结构,所述半透膜或多孔结构准许所述药物从所述储集体腔室扩散到外部水环境。在这个方面中,所述稳定的两相医药制剂含有至少25mg/mL的聚乙二醇(PEG);在0.1mg/mL与1,400mg/mL之间或更多的蛋白质,所述蛋白质是药物;可溶相,所述可溶相含有少于50%的所述蛋白质和一定量的所述PEG;以及不可溶相,所述不可溶相含有不在所述可溶相中的其余量的所述蛋白质。在本发明的这个方面中,可溶相与不可溶相中的蛋白质在生理温度下稳定至少30天。

[0010] 在一个方面中,本发明提供一种提供药用蛋白质的延释的方法。根据这个方面,将蛋白质与聚乙二醇(PEG)组合而达到至少100 mg/mL蛋白质和至少50mg/mL PEG的最终浓度以形成两相混合物。在一个实施方案中,将蛋白质与固态的PEG组合,使得蛋白质的最终浓度表示每总体积蛋白质的质量。所述两相混合物含有呈不可溶形式和可溶形式的蛋白质。在一个实施方案中,少于总量50%的蛋白质与一定量的PEG呈可溶形式。根据这个方面,可溶性蛋白质能够进入具有较低浓度的蛋白质的外部环境。在一个实施方案中,半透膜或其它多孔结构提供使所述蛋白质进入所述外部环境的通路。随着时间过去,蛋白质通过半透膜或其它多孔结构扩散到周围水环境中,并且两相混合物中的蛋白质的总浓度最终减小到100mg/mL以下。然而,可溶相将具有恒定的预定蛋白质浓度,直到不可溶相耗尽并且可溶相中的蛋白质的浓度掉落到溶解度极限以下为止。可溶相中的预定蛋白质浓度是基于在存在PEG时蛋白质的溶解度和储集体中的PEG浓度。

[0011] 在一个方面中,本发明提供一种用于治疗需要组成药物的患者的两相医药制剂。本发明还提供一种通过将所述两相医药制剂投与需要组成药物的患者来治疗所述患者的方法。在一个实施方案中,所述两相医药制剂容纳于储集体装置中,所述储集体装置被植入于患者体内。在一个实施方案中,所述两相医药制剂含有至少25mg/mL的PEG和至少100mg/mL的组成药物,所述组成药物是蛋白质。少于50%的所述药物以及一定量的PEG是在可溶相中。其余的所述药物是在不可溶相中。可溶性药物能够通过其它多孔结构的半透膜进入具有较低浓度的药物的环境(例如,所述装置外部的患者组织或房水)并扩散到其在患者体内的靶。在容纳于储集体装置中的两相医药制剂的一些实施方案中,可溶性药物能够通过口(诸如半透膜)进入所述环境。根据这个方面,所述药物在生理条件下稳定至少30天,并且在药物从所述两相医药制剂扩散时,所述制剂中的药物的量减小到其初始浓度以下。

## 附图说明

[0012] 图1是绘示各种赋形剂对可溶性蛋白质浓度的作用的线图。X轴 绘示以毫克每毫升 (mg/mL) 为单位的赋形剂浓度。开放正方形 (□) 表示 右旋糖酐6000赋形剂;开放菱形 (◇) 表示右旋糖酐40000赋形剂;封闭菱形 (◆) 表示聚乙二醇3,350MW (PEG3350) 赋形剂;封闭正方形 (■) 表示PEG8000赋形剂;并且封闭三角形 (▲) 表示PEG20000赋形剂。Y轴绘示以mg/mL为单位的蛋白质浓度的对数。

[0013] 图2是绘示以mg/mL为单位的聚乙二醇浓度 (X轴) 对用mg/mL 表达的蛋白质溶解度 (Y轴) 的作用的线图。

[0014] 图3是绘示各种分子量形式的PEG赋形剂对可溶性蛋白质浓度 的作用的线图。X轴 绘示以毫克每毫升 (mg/mL) 为单位的赋形剂浓度。实线表示PEG3350赋形剂;点线表示PEG8000赋形剂;并且短划线 表示PEG20000赋形剂。Y轴绘示以mg/mL为单位的蛋白质浓度的 对数。

[0015] 图4是绘示在存在80mg/mL的不同分子量形式的PEG时处于 4.5mg/mL水浓度 (30mg/ml的总浓度) 的两相蛋白质的稳定性随着在 磷酸盐缓冲盐水 (pH 7.2) 中处于37°C 下的培养时间而变的线图。实线 表示PEG3350赋形剂;短划线表示PEG8000赋形剂;并且点线表示 PEG20000赋形剂。X轴绘示以周为单位的培养时间。Y轴绘示具有 天然构象 (预计流体力学半径) 的蛋白质的相对百分比。

[0016] 图5是绘示在存在不同量的PEG3350时可溶性蛋白质的稳定性 随着处于37°C下的培养时间而变的线图。实线和已填充正方形 (■) 表 示具有4.5mg/mL蛋白质并且无PEG的对照物;实线和已填充圆形 (●) 表示具有10mg/mL蛋白质并且无PEG的对照物;短划线和已填充三 角形 (▲) 表示80mg/mL PEG3350和4.5mg/mL可溶性蛋白质;并且 短划线和已填充正 方形 (■) 表示65mg/mL PEG3350和10mg/mL可溶 性蛋白质。X轴绘示以周为单位的培养时 间。Y轴绘示具有天然构象 (预计流体力学半径) 的蛋白质的相对百分比。

[0017] 图6A是绘示在存在PEG3350时单相可溶性蛋白质和两相可溶性 蛋白质的稳定性 随着处于37°C下的培养时间而变的线图。具有已填 充正方形 (■) 的数据点表示具有 4.5mg/mL蛋白质并且无PEG的对照 样本;具有已填充三角形 (▲) 的数据点表示处于4.5mg/ mL的浓度的单相可溶性蛋白质和约80mg/mL的PEG3350;具有已填充圆形 (●) 的数据点表示处于4.5mg/mL的浓度的两相可溶性蛋白质、约80 mg/mL的PEG3350和25.5mg/mL的两相不可溶蛋白质。X轴绘示以 周为单位的培养时间。Y轴绘示具有天然构象 (预计流体力学半径) 的 蛋白质的相对百分比。

[0018] 图6B是绘示在存在PEG3350时单相可溶性蛋白质和两相可溶性 蛋白质的稳定性 随着处于37°C下的培养时间而变的线图。具有已填 充圆形 (●) 的数据点表示具有10mg/mL 蛋白质并且无PEG的对照样 本;具有已填充正方形 (■) 的数据点表示处于10mg/mL的浓度的 单相可溶性蛋白质和约65mg/mL的PEG3350;具有已填充菱形 (◆) 的数据 点表示处于 10mg/mL的浓度的两相可溶性蛋白质、约65mg/mL的 PEG3350和20mg/mL的两相不可溶蛋白 质。X轴绘示以周为单位的 培养时间。Y轴绘示具有天然构象 (预计流体力学半径) 的蛋白质的相 对百分比。

[0019] 图7是绘示在存在150mg/ml的PEG3350时不可溶蛋白质的稳 定性随着处于37°C下 的培养时间而变的线图。在存在150mg/mL的 PEG3350时30mg/mL的不可溶蛋白质是由具有

封闭菱形(◆)的短的短划线表示。在存在150mg/mL的PEG3350时60mg/mL的不可溶蛋白质是由具有封闭正方形(■)的实线表示。在存在150mg/mL的PEG3350时120mg/mL的不可溶蛋白质是由具有封闭三角形(▲)的点线表示。X轴绘示以周为单位的培养时间。Y轴绘示相对于总蛋白质具有高分子量的蛋白质的百分比。在37°C下培养2周之后,不可溶蛋白质未完全复原,并且无法确定聚集的准确程度。

[0020] 图8是绘示蛋白质浓度对蛋白质聚集率和高分子量物种的形成的作用和预计作用的线图。X轴绘示以mg/mL为单位的蛋白质浓度。Y轴绘示每周高分子量物种形成的百分比变化。

[0021] 图9绘示储集体装置的示意图,所述储集体装置包括外壳体,所述外壳体环绕(围绕)容纳两相制剂的储集体腔室。所述壳体具有口以允许药物从储集体流出。

[0022] 图10绘示用mg/ml表达的阿柏西普(VEGF trap)的溶解度随着PEG 3350浓度而变。开放圆形(○)表示重组的固体(干的)阿柏西普(包含蔗糖)加上干的PEG的溶解度,所述阿柏西普和PEG随后进行水合。封闭圆形(●)表示PEG和无蔗糖的阿柏西普的液体制剂的溶解度。

[0023] 图11绘示用log (mg/ml)表达的阿柏西普的溶解度随着PEG 3350 浓度而变。正方形(□)表示干的阿柏西普(包含蔗糖)加上干的PEG的组合,所述组合随后进行水合。菱形(◇)表示PEG溶液与无蔗糖的阿柏西普溶液的组合。

[0024] 图12绘示每天每平方毫米的多孔结构表面积所释放的用毫克表达的阿柏西普的释放速率随着可溶性阿柏西普的浓度而变。

[0025] 图13绘示每天每mg/ml的可溶性阿柏西普所释放的用毫克表达的阿柏西普的释放速率随着多孔结构的表面积而变。

[0026] 图14绘示用毫克表达的阿柏西普的累积释放(菱形[◇])以及通过尺寸排阻色谱法确定的被表达为百分比天然构象的阿柏西普的稳定性(正方形[□])在生理温度和pH下随着时间而变。图片A绘示了对于100(±3)mg/ml PEG 3350(n=2)的结果。图片B绘示了对于70(±3) mg/ml PEG 3350(n=4)的结果。

[0027] 图15绘示所释放的阿柏西普的稳定性随着时间而变。X轴绘示以处于生理温度的天数为单位的时间。Y轴绘示保持于样本中的天然阿柏西普的相对量(百分比纯度)。封闭三角形(▲)表示从含有80 mg/mL ± 20mg/mL PEG3350的制剂中释放的阿柏西普。封闭圆形(●)表示从仅含有蔗糖(无PEG)的制剂中释放的阿柏西普。

## 具体实施方式

[0028] 本发明不限于所描述的特定方法和实验条件,因为此类方法和条件可以改变。还应理解,本文中使用的术语仅用于描述特定实施方案,并且不希望为限制性的,因为本发明的范围由权利要求书界定。

[0029] 除非另外界定,否则本文中使用的所有科技术语都具有与本发明所属领域的普通技术人员一般所理解的含义相同的含义。虽然可以使用与本文中描述的那些方法和材料类似或等效的任何方法和材料来实践或检验本发明,但是现在要描述特定的方法和材料。提到的所有公开案特此以引用方式并入。

[0030] 两相系统



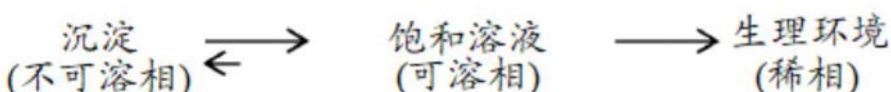
[0031] 配制高浓度的蛋白质生物治疗药物对生物制药产业产生重大挑战。高浓度(例如, >50mg/mL)的蛋白质倾向于不稳定并且易于增加聚集率。对于需要高水平药物的延释制剂来说, 这尤其成问题。由于延释制剂被设计成在生理环境中在长时段内释放药物, 因此所述药物在该延长时段期间必须要稳定并且具有生物活性。

[0032] 本发明包括将聚乙二醇(PEG)与蛋白质组合以提供与所述蛋白质的液体饱和和可溶形式平衡的呈固体沉淀形式的稳定蛋白质, 其中所述可溶相能够进入具有较低浓度的所述蛋白质的环境, 即, 所述系统是开放而非封闭的。虽然不受限于任何机制, 但是在理论上, 蛋白质在两个相中都稳定, 并且不可溶相中的蛋白质馈入可溶相, 可溶相又驱动蛋白质扩散通过半透膜。蛋白质稳定性是指扩散出储集体的蛋白质。在一个方面中, 开放两相系统允许半透膜或其它多孔结构优先持留PEG, 同时允许蛋白质的扩散。

[0033] 开放系统的实例是具有多孔壁的装置, 所述装置允许所述蛋白质的可溶形式能够进入外部环境并且允许所述蛋白质的可溶形式随着时间过去而释放。在一些实施方案中, 可溶相能够通过口(诸如半透膜或其它多孔结构)进入环境中。本发明的半透膜允许水和蛋白质从中自由通过。在一些实施方案中, 所述半透膜包括纳米孔和/或微孔。在一些实施方案中, 所述半透膜是纳米孔和/或微孔聚合物膜。

[0034] 在一些实施方案中, PEG的最终浓度是25mg/mL或更大。在一些实施方案中, 呈未溶解和溶解形式的蛋白质的浓度是100mg/mL或更大。在一些实施方案中, 蛋白质以固体形式与PEG组合, 诸如冻干蛋白质或喷干蛋白质。

[0035] 本发明包括用于稳定药物的长期递送的两相系统。两相是指药物以两种相存在: 不可溶(沉淀)相或固相和可溶相或液相。不可溶相用作药物储集体, 并且可溶相用作扩散到生理系统中并接触生理标靶的药物的活性形式。在封闭两相系统中, 如在小药瓶中, 可溶相是与沉淀物平衡的药物的饱和溶液。然而, 在开放两相系统中, 由于已进入外部水性环境中的可溶性药物从饱和可溶相扩散出, 因此沉淀药物的一部分溶化并且进入饱和可溶相以取代已扩散到环境中的可溶性药物。沉淀相中的蛋白质缓慢地溶化以与饱和相维持平衡, 即, 沉淀相补充可溶相, 并且可溶相扩散到生理系统中以结合药物标靶(方程式1)。通过控制沉淀剂赋形剂(即, PEG)的浓度, 控制处于饱和可溶相的药物的可溶性浓度。

[0036] 方程式1: 

[0037] 在一个实施方案中, 将两相系统植入到标靶生理环境中。举例来说, 在药物标靶组织是视网膜、黄斑或其它内部眼睛结构的那些情况中, 可以将所述两相系统递送到玻璃状液中。对于其它标靶, 可以将所述系统植入皮肤下、真皮下或腹膜内。

[0038] 所述两相系统部分围封在屏障内。部分围封是指屏障允许已溶化药物从两相系统扩散。屏障允许药物扩散出两相系统并接触标靶, 但防止沉淀剂赋形剂快速地扩散出。屏障可以经过设计和调整以允许药物的特定释放速率。举例来说, 屏障可以是含有准许药物通过的小孔的膜。小孔的数目和/或大小或架构以及半透膜或其它多孔结构的总面积可以经过设计以调节药物的释放速率。

[0039] 可以基于药物洗脱装置的规格来从已知蛋白质沉淀剂中选择沉淀剂赋形剂。一般的沉淀剂包括诸如硫酸铵的感胶离子盐、如丙酮的混相溶剂以及如右旋糖酐和PEG的非离子型大分子。如在围封屏障的情况中, 沉淀剂的选择取决于药物的溶解度和处于可溶相



的药物的所要浓度。举例来说,右旋糖酐虽然据称用于使蛋白质沉淀,但是在与PEG相同的赋形剂浓度范围中并未限制蛋白质的溶解度。图1绘示PEG 3350(封闭菱形[◆])、PEG 8000(封闭正方形[■])、PEG 20000(封闭三角形[▲])、右旋糖酐6000(开放正方形[□])和右旋糖酐40000(开放菱形[◇])对蛋白质溶解度的作用的比较。请注意,相较于处于类似赋形剂浓度的PEG,两种分子量形式的右旋糖酐使更多蛋白质留在可溶相中。需要较高浓度的右旋糖酐来获得与较低浓度的PEG所获得的相同水平的蛋白质沉淀。在一个实施方案中,PEG更偏向于与大储集体形成两相制剂以在较长的时间段内实现药物的较小剂量的延释。

[0040] 在一个实施方案中,PEG被选为长期的可植入开放两相治疗性蛋白质制剂的沉淀剂赋形剂。可以通过调整PEG的浓度来控制所述两相系统的可溶相内的蛋白质的浓度。举例来说,将约16mg/mL的150 kDa蛋白质与约25mg/mL至约150mg/mL的PEG组合提供为约14mg/mL至小于1mg/mL的、可溶部分中的蛋白质的浓度范围(图2)。PEG对蛋白质溶解度的此作用取决于PEG的质量浓度,而不取决于PEG的摩尔浓度。换句话说,对于相同质量量的PEG 3350、PEG 8000和PEG 20000,可以观察到对蛋白质溶解度(即,饱和可溶相中的蛋白质的浓度)的相同作用(图3)。也就是说,80mg/mL的PEG 20000与80mg/mL的PEG 3350对相同的蛋白质具有相同的作用。

[0041] 虽然可溶相中的药物的浓度取决于赋形剂浓度并且独立于总的药物含量,但是不可溶相中的药物的量包括超出饱和可溶相中的药物之外的所有药物。因此,不可溶相中的药物的量取决于PEG浓度与药物的总量或最终浓度。

[0042] PEG预计不仅影响蛋白质溶解度,而且还影响蛋白质稳定性。虽然特定分子量种类的PEG对单相系统中的完全溶解的蛋白质的稳定性具有很少影响或无影响,但是确实对两相系统中的完全溶解的蛋白质的稳定性具有影响。较低分子量的PEG(例如PEG 3350)比较高分子量种类的PEG(例如PEG 8000或PEG 20000)对两相系统的可溶相中的100kDa-150kDa蛋白质的稳定性具有较少的负面影响(图4)。

[0043] 尽管PEG 3350比较高分子量形式对可溶相中的蛋白质稳定性具有较少负面影响,但其在封闭系统中仍会使蛋白质不稳定。如图5中所示,在完全溶解的单相系统中,相对于无PEG,在存在PEG3350时,蛋白质稳定性减小。PEG的蛋白质不稳定作用在封闭两相系统中更明显(图6A和图6B),表明在封闭系统中在保持于不可溶相时相对于在保持于溶解相时,蛋白质稳定性减小,但在所示浓度,在完全溶解或两相系统中都毫无作用。

[0044] 当PEG浓度在封闭系统中增加时,如通过聚集率的增加来测量,不可溶相中的蛋白质的稳定性减小(参见图4至图7)。当PEG以将蛋白质溶解度限制为小于0.1mg/mL的浓度存在时,观察到不可逆的蛋白质沉淀。在本发明的一个方面中,所述系统的不可溶相中的聚集比封闭系统中的溶解相中多。

[0045] 封闭系统的可溶相中的高蛋白质浓度使无PEG制剂与含PEG制剂中的蛋白质稳定性降低(图6A和图6B)。举例来说,在均一条件下在单相系统中仅有蔗糖(无PEG)的情况下,100kDa至150kDa蛋白质在浓度约4.5mg/mL时聚集率是约0.35%HMW/wk,在浓度约120 mg/mL时聚集率是约2.7%HMW/wk,并且在预计浓度500mg/mL时预期的聚集率是约10.2%HMW/wk(图8)。对于高浓度蛋白质制剂的医药应用,此高聚集率是不可接受的。

[0046] 与封闭系统大不相同,在开放两相系统中,PEG的添加提高了高浓度蛋白质的稳

定性。举例来说,在含有65mg/mL PEG的为10 mg/mL的封闭单相系统中饱和可溶性蛋白质的聚集率可以是约1.3% HMW/wk。在含有10mg/mL可溶相蛋白质和20mg/mL不可溶相蛋白质以及含有65mg/mL PEG的封闭两相系统中,聚集率可以是约2.5%HMW/wk,在含有10mg/mL可溶相蛋白质和110mg/mL不可溶相蛋白质以及含有65mg/mL PEG的封闭两相系统中,聚集率可以是约10%HMW/wk,但在含有75mg/mL PEG和>100mg/mL的总蛋白质的开放两相系统中,聚集率可以是约0.8%HMW/wk。

[0047] 在封闭系统中,诸如在小药瓶中,不释放蛋白质,并且蛋白质质量不会从不可溶相转移到可溶相。在开放系统中,例如,在将两相系统植入于生理系统中的情况下,不可溶相中的蛋白质的浓度(即,沉淀物中的蛋白质的总质量)减小,因为在来自饱和相的蛋白质扩散到生理环境中时,蛋白质从不可溶相转移到饱和可溶相。假定蛋白质从不可溶相到可溶相的不间断转移,动态开放两相系统中的蛋白质比封闭系统或单相溶液更稳定,在动态开放两相系统中,可溶性蛋白质会移出两相储集体。

[0048] 除了组合起来以制作两相系统的PEG和蛋白质的量之外,PEG对蛋白质溶解度和相分离的作用还部分取决于特定蛋白质属性,诸如,例如,蛋白质大小和/或等电点。表1绘示各种量的PEG对受体Fc-融合蛋白质(trap)、免疫球蛋白(IgG)、人血清白蛋白(HSA)和纤维蛋白原的溶解度的预计或实际的作用。Atha等人发表在J.of Bio. Chem.256(23):12108-12117(1981)上的“Mechanism of Precipitation of Proteins by Polyethylene Glycols”以引用方式并入本文中,以获得其中关于PEG对IgG#2、HSA和纤维蛋白原的溶解度的作用的描述。

[0049] 表1

[0050]	蛋白质	% w/v PEG	蛋白质溶解度(mg/mL)	% w/v PEG	蛋白质溶解度(mg/mL)
	Trap	3.0	47	10	1.6
	IgG#1	3.0	98	12	0.2
	IgG#2	8.0	8	18	0.1
	HSA	28	11	35	0.8
	纤维蛋白原	2.5	10	7.5	0.1

[0051] 储集体装置

[0052] 在一些实施方案中,用于将生物分子、治疗性生物分子或其它药物递送给患者的开放两相系统容纳于储集体装置内。本发明的储集体装置向环境部分开放,并且可以调整可溶相药物从两相系统扩散或移动的速率。在一些实施方案中,将两相的装有药物的储集体装置系统植入于患者体内,诸如通过皮下递送。本发明的装置可以与生理微环境接触,并且已溶化药物从所述装置流出并以预定速率扩散到生理微环境中。除了溶液中蛋白质的浓度之外,此释放速率还由装置的性质决定,可以调整所述性质以改变递送速率。那些可调整的性质是尺寸、储集体装置的结构、孔隙度、过滤器尺寸等。参见以下各者:W.Mark Saltzman在Topics in Chemical Engineering,1st Edition,Oxford University Press, New York,2001上发表的Drug Delivery:Engineering Principles for Drug Therapy; Desai等人的在2008年9月12日公布的国际专利申请公布No.W02008109886A1;Desai等人的在2012年10月18日公布的国际专利申请公布No.W02012142318A1;Desai等人的在2014

年6月6日公布的美国专利申请公布No.20140170204A1；以及Desai等人的在2015年8月6日公布的美国专利申请公布No. US20150216829A1,以上各案特此以引用方式并入以获得关于递送速率和用于实现所述递送速率的装置性质的描述。

[0053] 递送微环境会影响储集体装置的尺寸、形状和组成材料。举例来说,用于递送到内膜的储集体装置可以被设定大小和形状以安装于支架的壁内,所述支架将通过导管来递送。两相的装有药物的装置可以局部地递送给患者-例如皮肤贴片型装置,经肠道递送给患者-例如胶囊或栓剂,或不经肠道递送给患者-例如植入装置。示例性微环境包括肠胃系统、中枢神经系统(例如,硬膜外、大脑内、脑室内、鞘内)、羊膜-胎儿系统(例如,羊膜外)、黄斑、视网膜或其它眼睛结构(例如,玻璃体内、眼内)、静脉-动脉系统(例如,动脉内)、骨头和关节系统(例如,骨内、关节内)、肌肉、皮下、皮肤、腹膜、粘膜等。

[0054] 在本发明的一个实施方案中,所述储集体装置包括“腔室”(“储集体腔室”)和围绕所述腔室的“壳体”。所述壳体包括一个或多个开口、口、窗、小孔、多孔结构或可渗透或半透材料(统称为“多孔结构”)。“多孔结构”准许药物流出储集体装置,并且在一些实施方案中准许生理溶剂和溶质流入。在一些实施方案中,整个壳体包括多孔结构。在其它实施方案中,所述多孔结构仅包括所述壳体的一部分以用作其它不可渗透壳体中的类窗结构。所述药物两相系统保持于储集体腔室内。在一些实施方案中,不可溶相提供药物芯,而可溶相提供药物皮层。图9绘示示例性储集体装置的示意图。

[0055] 本发明的储集体装置可以由任何材料制成并且可以是任何尺寸以适应特定标靶。举例来说,所述装置在一些情况中可以穿戴在体外,诸如胰岛素泵,并且因此可能是相对较大的。所述装置可以植入于体内,例如,皮下或玻璃体内放置,这要求所述装置为小的。举例来说,玻璃体内装置可以具有约1 $\mu$ l至50 $\mu$ l的体积。

[0056] 在本发明的实施方案中,植入于生理系统中的储集体装置可以由生物相容材料制成,所述生物相容材料的实例包括:金属,包括硅、钛、不锈钢和镍-钛合金;和聚合物,包括聚乳酸(PLA)、聚谷氨酸(PGA)、聚己酸内酯(PCL)、聚原酸酯、聚酸酐、聚羟基丁酸酯、聚羟基戊酸酯、聚氨基酸、胶原蛋白、醋酸纤维素、尼龙、聚碳酸酯、聚四氟乙烯(PTFE)、聚醚砜、聚偏二氟乙烯(PVDF)、丙烯酸酯、聚丙烯酸酯、甲基丙烯酸甲酯、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、聚腈基丙烯酸酯、硅氧烷、聚碳酸酯、聚醚醚酮(PEEK)、聚乙烯、聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)、聚酰亚胺、聚酰胺酰亚胺、聚丙烯、聚砜、聚氨酯和聚偏乙烯。

[0057] 本发明的储集体装置可以是坚硬或柔性的、一次性的或可再装的。为了了解用于将眼科药物递送到眼睛的坚硬和可再装的生物相容的玻璃体内储集体装置(例如, FORSIGHT™版本4装置),美国专利申请第2015/0250647号、第2011/046870号、第2013/0324942号和 美国专利第9,033,911号和第8,623,395号以引用方式并入本文中。在一个实施方案中,本发明的装置由钛制成并且是可再装的。作为可再装装置,所述装置可以容纳位于储集体装置的近端处或附近的可穿透屏障,穿过所述屏障经由插管来放置药物。在此类实施方案中,多孔结构包括烧结金属。

[0058] 本发明的柔性装置的壳体材料可以是聚合物,并且半透膜或其它多孔结构可以是含有微孔、纳米孔或其它通道的聚合物膜。柔性且一次性的聚合物装置及其制作方法在Bernards(2012)、美国专利申请公布No.2014/0170204和2015/0119807以及EP专利申请No. EP2164425A1中公开。US 2015/0119807 A1以引用方式并入本文中,以获得关于薄膜

夹层结构的描述,所述薄膜夹层结构包括纳米多孔聚己内脂(PCL)膜或微孔PCL与可以在本发明的装置中使用的无孔背衬 的组合。在此类实施方案中,将原料药装在两个聚合物膜层之间,接着对所述聚合物膜层进行热密封。小孔的尺寸和架构以及半透膜或其它多孔结构的表面积控制药物从装置洗脱的速率。可以通过针插管将卷起的装有药物的装置注射至(例如)玻璃体中。

[0059] 术语“纳米孔”描述了屏障中的小孔或通道开口的一般直径,所述 一般直径允许在小孔一侧(例如,内部环境)的材料进入在小孔另一侧(例如,外部或外侧环境)的材料。直径约100nm或以下的小孔一般被视为纳米孔。

[0060] 本发明的储集体装置的纳米孔的直径是约0.2nm至约100nm之 间。在一些实施方案中,纳米孔的直径是在约0.2nm与约2nm之间、在约2nm与约50nm之间或在约50nm与约100nm之间。在一些实施方案中,本发明的储集体装置的纳米孔的直径是约10nm、约11 nm、约12nm、约13nm、约14nm、约15nm、约16nm、约17nm、约18nm、约19nm、约20nm、约21nm、约22nm、约23nm、约 24nm、约25nm、约26nm、约27nm、约28nm、约29nm或约30 nm。

[0061] 本发明的微孔膜含有微孔。本发明的微孔的截面直径是约1微米 至约2微米、约2微米至约5微米、约1微米、约1.1微米、约1.2 微米、约1.3微米、约1.4微米、约1.5微米、约1.6微米、约1.7微 米、约1.8微米、约1.9微米或约2微米。在一些实施方案中,微孔 的直径小于约10微米。在一些实施方案中,微孔的互连小孔尺寸小于约1微米。

[0062] 本发明的储集体装置可以是可植入的、自动调节的机械化学泵。此类装置使用嵌有酶的柔性膜,所述酶对微环境的改变作出响应。那 些改变使所述膜膨胀并且因此打开其小孔以允许可溶性蛋白质进入 外部环境并且因此流出可溶性药物。举例来说,交联水凝胶膜可以被 设计成在聚合物侧链的胺基质子化时膨胀,使所述装置能够响应于微环境的pH变化而打开。药物随后从储集体腔室“泵出”并且进入生理 系统中。使特定化学品还原或氧化的酶可以嵌入膜中以用作质子的源 或汇(sink)。关于机械化学装置的实例,参见Kost等人的J.Biomed. Mater.Res.19,1117-1133(1985)、Albin等人的J.Controlled Release 6, 267-291(1987)、Ishihara等人的Polymer J.16,625-631(1984)以及De Juan等人的在2015年5月19日颁布的美国专利No.9,033,911。

[0063] 定义

[0064] 本发明包括相对于单相溶液在延长的时段内使蛋白质溶解度增 加的制剂。在另一个方面中,本发明提供一种用于药物的延长递送的 药物递送装置,所述药物在生理温度下在延长的时段内保持稳定。还 提供一种制作用于此类递送装置的所述药物制剂的方法,以及(iii)使用所述制剂或装置来治疗需要所述组成药物的患者。本发明的药物制 剂包括含有“第一分子”和“第二分子”的两相系统,所述第一分子是以 可溶相和不可溶相存在,所述第二分子是降低第一分子的有效溶解度 的赋形剂。在一些实施方案中,所述两相系统容纳于储集体腔室内,所述储集体腔室可以被壳体围起以形成储集体装置。“第一分子”大体 上是具有治疗效用或其它药物或原料药的生物分子。

[0065] 术语“两相”是指以固体沉淀相和饱和可溶相共存的分子的状态。分子的两相混合物处于平衡状态。在封闭系统中(例如,如在小药瓶 或未与生理系统接触的其它容器中)的两相混合物中,每一相中的分 子的总量保持相对恒定。在开放系统中的两相混合物中,其中分子的 可溶形式可以扩散离开所述两相混合物(例如,在被植入或者与生理 系统或

其它系统连通时),两相系统中的分子的量将随着时间过去而减少。在开放系统中,分子的不可溶部分用作分子的储备形式。举例来说,被同一蛋白质的饱和溶液包围的沉淀蛋白质是“两相系统”,并且所述蛋白质是“两相的”。

[0066] 术语“生物分子”表示生物分子,所述生物分子包括大分子,诸如蛋白质、碳水化合物、脂类、核酸和合成复合分子(诸如适体),以及小分子,诸如初级代谢产物、次级代谢产物以及在生物系统中产生的产物。生物分子尤其包括蛋白质、多肽、肽和氨基酸、适体、脂类、核苷、核苷酸和核酸,以及碳水化合物。生物分子可以是天然存在的,即,在天然存在的有机体、病毒和环境中产生,或可以是人工的,即,通过合成化学手段或在含有重组或异位核酸的生物系统中产生。在一些特定实施方案中,生物分子是治疗性生物分子。治疗性生物分子是“药物”或“原料药”。在一些实施方案中,所述装置的“第一分子”是蛋白质。

[0067] 术语“蛋白质”表示具有多于约50个的经由酰胺键共价连接的氨基酸的任何氨基酸聚合物。蛋白质含有一个或多个氨基酸聚合物链,在本领域中一般被称作“多肽”。蛋白质可以含有一个或多个多肽以形成单一功能的生物分子。“多肽”一般含有50个以上的氨基酸,而“肽”一般含有50个或更少的氨基酸。

[0068] 如本文中使用的,“蛋白质”可以包括以下任一者:生物治疗性蛋白质、在研究或治疗中使用的重组蛋白质、trap蛋白质和其它嵌合受体 Fc-融合蛋白质、嵌合蛋白质、抗体、单克隆抗体、多克隆抗体、人型抗体和双特异抗体。在另一个方面中,蛋白质可以包括抗体片段、纳米抗体、重组抗体嵌合体、细胞因子、趋化因子、肽类激素等。蛋白质可以使用基于重组细胞的生产系统来生产,诸如昆虫杆状病毒系统、酵母系统(例如,毕赤氏酵母属)、哺乳动物系统(例如,CHO细胞和CHO衍生物,如CHO-K1细胞)。关于讨论生物治疗性蛋白质以及其生产的最新综述,参见Ghaderi等人的“Production platforms for biotherapeutic glycoproteins.Occurrence,impact,and challenges of non-human sialylation”28Biotechnol Genet Eng Rev.147-75(2012)。在一些实施方案中,蛋白质含有修饰、加合物和其它共价连接的基团(moieties)。那些修饰、加合物和基团包括(例如)亲和素、链霉亲和素、生物素、多糖(例如,N-乙酰半乳糖胺、半乳糖、神经氨酸、N-乙酰葡萄糖胺、岩藻糖、甘露糖以及其它单糖)、PEG、多聚组氨酸、FLAG-标记、麦芽糖结合蛋白质(MBP)、几丁质结合蛋白质(CBP)、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)myc-表位、荧光标签和其它染料等。

[0069] 抗体通常用作治疗性生物分子。如本文中使用的,术语“抗体”包括免疫球蛋白分子,所述免疫球蛋白分子包括四个多肽链、通过二硫键互连的两个重(H)链和两个轻(L)链。

[0070] 短语“含Fc蛋白质”包括抗体、双特异抗体、免疫粘附素以及至少包括免疫球蛋白CH2和CH3区的功能部分的其它结合蛋白质。“功能部分”是指可以结合Fc受体(例如,Fc $\gamma$ R;或FcRn,即,新生儿Fc受体)和/或可以参与到补体的活化中的CH2和CH3区。如果CH2和CH3区含有缺失、替代和/或插入或使得其无法结合任何Fc受体并且也无法活化补体的其它修饰,那么CH2和CH3区不是功能性的。

[0071] 含Fc蛋白质可以包括在免疫球蛋白功能区中的修饰,包括其中所述修饰影响结合蛋白质的一个或多个效应子功能(例如,影响Fc $\gamma$ R结合、FcRn结合并且因此影响半衰期和/或CDC活性的修饰)。

[0072] VEGF拮抗剂包括抑制VEGF刺激酪氨酸激酶的小分子,包括(例如)拉帕替尼、舒尼替尼、索拉非尼、阿西替尼和帕唑帕尼(Yadav, 2015)。VEGF的大分子抑制剂包括单克隆抗体贝伐珠单抗、Fab片段 兰尼单抗、trap阿柏西普、trap康柏西普和聚乙二醇化适体派加他尼。

[0073] 根据一些实施方案,第二分子(也被称作两相系统的“降低溶解度 的分子”)降低第一分子(即,生物治疗药物或其它药物或生物分子)的 溶解度。虽然“溶解度”通常是指给定溶剂中的溶质的固有物理性质,但是取决于诸如温度、压力和pH等变量,此处,“溶解度”具有较广泛的含义。如本文中使用的,“溶解度”表示溶剂中的溶质的浓度。因而,溶解度受其它试剂的增加或减除所影响,所述试剂尤其是诸如盐、额外溶剂、和/或非离子型大分子或用于去除溶剂并且有效地减少可用于溶解所述溶质的溶剂的量的其它大分子。

[0074] 在本发明的实施方案中,“降低溶解度的分子”包括“非离子型大 分子”(也被称作“水可溶非离子型聚合物”)。这些分子部分通过去除溶 剂和减少可用于蛋白质溶剂化的水的总量来起作用。非离子型大分子 包括(例如)聚乙二醇(PEG)、右旋糖酐、藻酸盐、果胶酸盐、羧甲基纤维素或淀粉、羟乙基纤维素或淀粉、羟丙基纤维素或淀粉、甲基纤维素或淀粉、聚丙烯酸和聚甲基丙烯酸、聚乙烯亚胺、聚丙烯酰胺、聚氧乙烯、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、FICOLL®、PERCOLL®等。

[0075] “聚乙二醇”或“PEG”是指可用作降低生物分子的溶解度的分子的非离子型大分子的一个实例。PEG是常用于食物、医药和化妆品中的 环氧乙烷的聚醚聚合物。市场上能买到具有在300g/mol至10,000,000 g/mol的范围中的不同分子量的PEG。在本发明的一个方面中,PEG 20000、PEG 8000和PEG 3350是可用的。在本发明中更偏向使用分子量是3350克/摩尔的PEG(PEG3350)。PEG可采取不同的几何形状,包括直线形、分支的(附接至中央内芯的3至10个链)、星形(附接至 中央内芯的10至100个链)和梳形的(附接至聚合物主链的多个链)。

[0076] “右旋糖酐”是可以用作降低生物分子的溶解度的分子的另一个 非离子型大分子示例。右旋糖酐是通常尤其用作容量扩充剂的支链葡 聚糖。右旋糖酐一般被认为是安全的并且在其它应用中用于使蛋白质 稳定。

[0077] 在一些实施方案中,第一分子在与第二分子组合时以两种溶解度 状态存在,即,(1)溶解中和(2)不溶解。术语“溶解的”、“溶质”、“可 溶的”、“溶化的”、“可溶部分”、“可溶性部分”、“可溶相”、“饱和溶 液”各自是指第一分子的总体中在溶解中的部分。术语“固体”、“沉淀 物”、“非可溶部分”、“非可溶性部分”、“不可溶部分”、“不可溶的”、“不可溶相”各自是指第一分子的总体中不溶解的部分。

[0078] 在开放两相系统的一个方面中,用PEG降低药物的溶解度会增 强第一分子的总体长期稳定性。术语“稳定性”是指第一分子在放置到 生理相关的环境(诸如储集体腔室的可溶部分)中之后随着时间过去其 物理结构(胶状的、天然的)、化学结构或生物功能保持的可接受程度。尽管第一分子在存放或放置了经界定量的时间之后并未100%维持其 结构或功能,但第一分子仍可能是稳定的。在某些情形下,如果第一 分子的约80%、约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%具有天然构象、结构或功能,那么可溶部分中的蛋白质和制 剂可以被为认为是“稳定的”。

[0079] 可以尤其通过确定制剂在经界定的温度下存放或放置了经界定 量的时间之后其

中保留的天然分子的百分比来测量稳定性。可以尤其通过尺寸排阻色谱法(例如,尺寸排阻高效液相色谱法[SE-HPLC])来确定天然分子的百分比,使得天然表示无聚集和无降解。在某些实施方案中,在放置(例如,植入)之后在经界定的温度下或在生理条件下在经界定量的时间之后,可以在制剂中检测到至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的天然形式的第一分子。在其后测量稳定性的经界定的时间量可以是约14天、约28天、约1个月、约2个月、约3个月、约4个月、约5个月、约6个月、约7个月、约8个月、约9个月、约10个月、约11个月、约12个月、约18个月、约24个月或更长时间。在测定稳定性时容纳第一分子和第二分子的装置可以保持于的温度可以是约-80°C至约45°C的任何温度,例如,在约-80°C、约-30°C、约-20°C、约0°C、约4°C至8°C、约5°C、约25°C、约35°C、约37°C或其它生理温度、或约45°C下存放。举例来说,如果在生理条件下在3个月之后,在可溶部分中通过SE-HPLC或其它尺寸排阻或尺寸确定方法检测到大于约75%、80%、85%或90%的天然分子,那么第一分子可以被视为稳定的。“生理温度”包括任何脊椎动物的体温。举例来说,人类的生理温度是约37°C。在本发明的一些实施方案中,生理温度是在约25°C与约45°C之间。在一些实施方案中,生理温度是约25°C、约26°C、约27°C、约28°C、约29°C、约30°C、约31°C、约32°C、约33°C、约34°C、约35°C、约36°C、约37°C、约38°C、约39°C、约40°C、约41°C、约42°C、约43°C、约44°C和约45°C。

[0080] 可以尤其通过在经界定的温度下在经界定量的时间之后确定在存在第二分子(诸如PEG)时在储集体装置内形成聚集体(即,高分子量物种)的第一分子(诸如蛋白质)的百分数来测量稳定性,其中稳定性与在可溶部分中形成的百分比高分子量(HMW)物种成反比。蛋白质的稳定性可以是在存在第二分子(诸如PEG)时蛋白质从其所处的开放两相系统释放之后进行测量。如上文所描述,可以尤其通过尺寸排阻色谱法来确定可溶部分中的第一分子的HMW物种的百分数。如果在处于生理条件下三个月之后检测到呈HMW形式的小于约15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%的第一分子,那么医药制剂也可以被视为稳定的。

[0081] 可以尤其通过在处于经界定的温度下经界定量的时间之后确定在存在第二分子(即,PEG)时第一分子(诸如蛋白质)从其所处的开放两相系统释放之后发生降解或者作为低分子量(LMW)物种而被发现的第一分子(诸如蛋白质)的百分数来测量稳定性。稳定性与在可溶部分中形成的百分比LMW物种成反比。如上文所描述,可以尤其通过尺寸排阻色谱法来确定可溶部分中的第一分子的LMW物种的百分数。如果在处于生理条件下三个月之后检测到呈LMW形式的小于约15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%的第一分子,那么医药制剂也可以被视为稳定的。

[0082] 在一些实施方案中,开放两相药物系统容纳于“储集体装置”内。术语“储集体装置”包含容纳两相药物、将两相药物与周围环境部分隔离并且准许可溶性药物通过口以预定速率流出的任何容器。储集体装置表示包括两相系统的开放且受调节的系统。封闭两相系统可以容纳在非储集体装置的另一个容器中。举例来说,在不与另一种溶液接触的小药瓶中的两相系统是封闭系统,因为可溶性分子无法扩散离开。两相药物在长时间内的稳定性在开放系统中可能比在封闭系统中大。

[0083] 在本发明的一些实施方案中,两相系统含有额外成分或赋形剂。“赋形剂”包括用于各种目的的各种物质,所述目的包括对药物缓冲、增溶、稳定和/或保护以及维持或调整



制剂的渗透度。保护剂防止热 应力和/或物理应力,如搅动。缓冲液在本领域中是众所周知的。

[0084] 在一些实施方案中,在本发明的两相制剂中包含缓冲液。在一些 实施方案中,本发明的两相制剂含有处于约1mM至约100mM、约 5mM至约50mM或约10mM至约20mM的浓度的缓冲液。在一些 实施方案中,缓冲液是以以下浓度包含在本发明的两相制剂中:5mM  $\pm$  0.75mM至15mM $\pm$ 2.25mM;6mM $\pm$ 0.9mM至14mM $\pm$ 2.1mM; 7mM $\pm$ 1.05mM至13mM $\pm$ 1.95mM;8mM $\pm$  1.2mM至12mM $\pm$ 1.8 mM;9mM $\pm$ 1.35mM至11mM $\pm$ 1.65mM;10mM $\pm$ 1.5mM;或约 10mM。在一些实施方案中,缓冲液是组氨酸、磷酸盐、碳酸盐、琥珀酸盐和/或醋酸盐。

[0085] 在一些实施方案中,缓冲液是选自能够大致在约3至约9的pH 范围内或在约3.7至约8.0的pH范围内起到缓冲作用的化学品。举例来说,两相制剂的pH可以是约3.4、约3.6、约3.8、约4.0、约4.2、约4.4、约4.6、约4.8、约5.0、约5.2、约5.4、约5.6、约5.8、约 6.0、约 6.2、约6.4、约6.6、约6.8、约7.0、约7.2、约7.4、约7.6、约7.8或约8.0。

[0086] 缓冲液可以是单种缓冲液的组合,诸如,例如,组氨酸与醋酸盐 的组合(组氨酸-醋酸盐缓冲液)。在一个实施方案中,缓冲液具有约3.5至约6、或约3.7至约5.6的缓冲范围,诸如通过醋酸盐缓冲的范围。在一个实施方案中,缓冲液具有约5.5至约8.5、或约5.8至约8.0的缓冲范围,诸如通过磷酸盐缓冲的范围。在一个实施方案中,缓冲液具有约5.0至约8.0、或约5.5至约7.4的缓冲范围,诸如通过 组氨酸缓冲的范围。

[0087] 赋形剂包括稳定剂。如本文中使用的,可以向本发明的两相制剂添加稳定剂以使蛋白质稳定以免发生聚集或其它降解。可以包含在本发明的两相制剂中的稳定剂包括多元醇、糖、盐(例如氯化钠)、氨基酸等。在一些情况中,稳定剂还可以用作渗透压调节剂,所述渗透压调节剂调整两相制剂的渗透压使之匹配两相制剂放置于其中的生理环境的渗透压。举例来说,氯化钠和蔗糖各自起到渗透压调节剂的作用。各种单独的稳定剂可以单独地或与一种或多种其它稳定剂结合使用,以实现最佳的稳定或渗透压调节作用。举例来说,多元醇可以与糖结合、糖与氨基酸结合、多元醇与氨基酸结合、盐与糖结合、盐与氨基酸结合、盐与多元醇结合等。

[0088] 多元醇是具有一个以上羟基(-OH)的有机分子。多元醇包括单体 以及聚合物。糖醇是多元醇糖醇的子群,糖醇可以用作可用稳定剂,包括甘露醇、木糖醇、山梨醇、异麦芽酮糖醇、赤藓糖醇、麦芽糖醇 和甘油。其它单体多元醇包括乙二醇、丙二醇和季戊四醇。聚合物多元醇可以是多元醇子单元的聚酯或聚醚。可用的示例性聚合物多元醇 包括聚丙二醇、聚乙二醇和聚四亚甲基醚二醇。

[0089] 糖,如海藻糖和蔗糖,可以用作本发明的两相制剂中的稳定剂。在一些实施方案中,糖是以约0.5% (w/v) 至约25% (w/v) 的浓度包含 在本发明的两相制剂中。在一个实施方案中,糖是以以下浓度包含在 本发明的两相制剂中:约0.5% (w/v)、约1% (w/v)、约 1.5% (w/v)、约2% (w/v)、约2.5% (w/v)、约3% (w/v)、约3.5% (w/v)、约4% (w/v)、约 4.5% (w/v)、约5% (w/v)、约6% (w/v)、约7% (w/v)、约8% (w/v)、约9% (w/v)、约10% (w/v)、约11% (w/v)、约12% (w/v)、约13% (w/v)、约14% (w/v)、约15% (w/v)、约16% (w/v)、约 17% (w/v)、约18% (w/v)、约19% (w/v)、约20% (w/v)、约21% (w/v)、约22% (w/v)、约23% (w/v)、约24% (w/v) 或约25% (w/v)。

[0090] 在本发明的两相制剂中还可以包含氨基酸,作为稳定剂或渗透压 调节剂。可用的

氨基酸包括甘氨酸、精氨酸、丙氨酸和脯氨酸。在一些实施方案中,精氨酸用作稳定剂和降粘剂。

[0091] 在一些情况中,一种或多种表面活性剂可以用作本发明的两相制剂中的赋形剂。表面活性剂通过减少蛋白质-蛋白质疏水相互作用并且因此形成高分子量物种(即,聚集体)来提供额外的稳定性。可以包含在本发明的两相制剂中的示例性非离子型表面活性剂包括(例如)烷基聚环氧乙烷、烷基聚葡萄糖苷(例如,辛基葡萄糖苷和癸基麦芽糖苷)、脂肪醇(诸如鲸蜡醇和油醇)、椰油酰胺MEA、椰油酰胺DEA和椰油酰胺TEA。可以包含在前冻干水溶液(或后重组溶液)中的特定非离子型表面活性剂包括(例如)聚氧乙烯失水山梨醇酯(也被称作聚山梨醇酯),诸如聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯28、聚山梨醇酯40、聚山梨醇酯60、聚山梨醇酯65、聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯81和聚山梨醇酯85;泊洛沙姆,诸如泊洛沙姆188、泊洛沙姆407;聚乙二醇-聚丙二醇;或聚乙二醇(PEG)。聚山梨醇酯20也被称作TWEEN 20、失水山梨醇单月桂酸酯和聚氧乙烯失水山梨醇单月桂酸酯。聚山梨醇酯80也被称作TWEEN 80、失水山梨醇单油酸酯和聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯。

[0092] 在一些实施方案中,聚山梨醇酯20或聚山梨醇酯80可以以约0.001%(w/v)至约0.5%(w/v)的浓度包含在本发明的两相制剂中。在一些实施方案中,本发明的两相制剂含有约0.001%;约0.0015%;约0.002%;约0.0025%;约0.003%;约0.0035%;约0.004%;约0.0045%;约0.005%;约0.0055%;约0.006%;约0.0065%;约0.007%;约0.0075%;约0.008%;约0.0085%;约0.009%;约0.0095%;约0.01%;约0.015%;约0.016%;约0.017%;约0.018%;约0.019%;约0.02%;约0.021%;约0.022%;约0.023%;约0.024%;约0.025%;约0.026%;约0.027%;约0.028%;约0.029%;约0.03%;约0.031%;约0.032%;约0.033%;约0.034%;约0.035%;约0.036%;约0.037%;约0.038%;约0.039%;约0.04%;约0.041%;约0.042%;约0.043%;约0.044%;约0.045%;约0.046%;约0.047%;约0.048%;约0.049%;约0.05%;约0.051%;约0.052%;约0.053%;约0.054%;约0.055%;约0.056%;约0.057%;约0.058%;约0.059%;约0.06%;约0.061%;约0.062%;约0.063%;约0.064%;约0.065%;约0.066%;约0.067%;约0.068%;约0.069%;约0.07%;约0.071%;约0.072%;约0.073%;约0.074%;约0.075%;约0.076%;约0.077%;约0.078%;约0.079%;约0.08%;约0.081%;约0.082%;约0.083%;约0.084%;约0.085%;约0.086%;约0.087%;约0.088%;约0.089%;约0.09%;约0.091%;约0.092%;约0.093%;约0.094%;约0.095%;约0.096%;约0.097%;约0.098%;约0.099%;约0.10%;约0.15%;约0.20%;约0.25%;约0.30%;约0.35%;约0.40%;约0.45%;或约0.50%的聚山梨醇酯20或聚山梨醇酯80。

#### [0093] 实施方案

[0094] 在一个方面中,本发明提供一种含有生物分子以及限制所述生物分子的溶解度的分子的稳定两相医药制剂。所述生物分子在制剂中以两相系统的形式存在,其中所述生物分子中的一些呈可溶形式(溶解的)并且一些呈不可溶形式(沉淀的)。在一个实施方案中,所述制剂可以是封闭系统,其中可溶性生物分子无法进入外部水环境,或可以处于开放系统中,其中可溶性生物分子能够进入具有较低浓度的所述生物分子的环境。在开放系统的一些实施方案中,组合物容纳于储集体腔室内,所述储集体腔室容纳于储集体装置中

并且被多孔结构容纳。储集体装置经由半透膜或其它多孔结构向环境开放,并且可以植入于患者体内以将治疗有效量的生物分子递送到患者体内的治疗靶。

[0095] 在一个方面中,本发明提供一种两相医药制剂,所述两相医药制剂含有至少约25mg/mL的聚乙二醇(PEG)、至少100mg/mL的蛋白质、含有少于总量50%的蛋白质和一定量的PEG的可溶相以及包括不可溶蛋白质的不可溶相。所述可溶相蛋白质在生理温度下稳定至少30天,并且通过半透膜或其它多孔结构进入具有较低浓度的蛋白质的环境(即,开放系统)。

[0096] 在一些实施方案中,将所述两相医药制剂投与患者或以其它方式放置于外部环境中,其中随着时间过去,可溶性蛋白质顺着浓度梯度通过多孔结构扩散并且进入所述环境中。本发明的两相医药制剂中的蛋白质的总量因此随着时间过去而减少并且最终被耗尽。因此,在一些实施方案中,所述制剂中的蛋白质的量小于最初的100mg/mL或更大的量,这取决于所述制剂已进入具有较低蛋白质浓度的环境多久。在一些实施方案中,在本发明的装置在患者体内使用的使用期限内,本发明的两相医药制剂中的蛋白质的总量将是在0.1mg/mL与500mg/mL之间的蛋白质。

[0097] 在一些实施方案中,本发明的两相医药制剂的蛋白质的分子质量是约10kD(即,10,000道尔顿或10,000克/摩尔)至约200kD、约25kD至约160kDa、约10kD至约15kD、约15kD至约20kDa、约20kD至约25kDa、约25kD至约30kDa、约30kD至约35kDa、约35kD至约40kDa、约40kD至约45kDa、约45kD至约50kDa、约50kD至约55kDa、约55kD至约60kDa、约60kD至约65kDa、约65kD至约70kDa、约75kD至约80kDa、约80kD至约85kDa、约85kD至约90kDa、约90kD至约95kDa、约95kD至约100kDa、约100kD至约105kDa、约105kD至约110kDa、约110kD至约115kDa、约115kD至约120kDa、约120kD至约125kDa、约125kD至约130kDa、约130kD至约135kDa、约135kD至约140kDa、约140kD至约145kDa、约145kD至约150kDa、约150kD至约155kDa、约155kD至约160kDa、约160kD至约165kDa、约165kD至约170kDa、约170kD至约175kDa、约175kD至约180kDa、约180kD至约185kDa、约185kD至约190kDa、约190kD至约195kD、或约195kD至约200kD。在一些实施方案中,蛋白质是分子量为约12kD至15kD的纳米抗体或类似大小的蛋白质。在一些实施方案中,蛋白质是分子量为约50kD的抗体片段(诸如Fab)或类似大小的蛋白质。在一些实施方案中,蛋白质是分子量为约25kD的单链可变区片段(scFv)或类似大小的蛋白质。在一些实施方案中,蛋白质是分子量是在约90kD与110kD之间的受体-Fc-融合蛋白质或类似大小的蛋白质。在一些实施方案中,蛋白质是分子量是在约150kD与约160kD之间的抗体或类似大小的蛋白质。

[0098] 在一些实施方案中,蛋白质是为trap分子的VEGF拮抗剂,诸如阿柏西普;是为抗体的兰尼单抗和贝伐珠单抗。在一些实施方案中,所述生物分子是PDGF拮抗剂,所述PDGF拮抗剂可以是(例如)小分子抑制剂、可溶性受体、trap分子或其它融合蛋白质、抗PDGF抗体、RNA或适体。在一些实施方案中,所述生物分子是Ang2拮抗剂,所述Ang2拮抗剂可以是(例如)小分子抑制剂、可溶性受体、trap分子或其它融合蛋白质、抗Ang2抗体、RNA或适体。

[0099] 在一些实施方案中,本发明的两相医药制剂中的蛋白质的总浓度是在约25mg/mL与1,400mg/mL之间或更大。在一些实施方案中,干的蛋白质(例如,冻干的或喷干的)与PEG组合。可以装在给定容积内的蛋白质的总量取决于所述混合物中固体蛋白质的密度和与蛋白质一起包括的PEG和其它赋形剂的量。美国专利申请No. 2013/0324942以引用方式并

入,以了解装置中药物的剂量和浓度。装置中可用的容积将在一定程度上限制可以放入装置中的蛋白质浓度。上限将由蛋白质粉末的密度以及关于可以装到储集体容积中的量的限制(所述限制将取决于蛋白质制剂)界定。美国专利No.8,623,395以引用方式并入本文中,以便了解装置容积和蛋白质含量,诸如VEGF拮抗剂,包括阿柏西普。

[0100] 在一些实施方案中,蛋白质的总浓度可能超过1,400mg/mL。在一些实施方案中,总的蛋白质或其它生物分子浓度是约25mg/mL、约26mg/mL、约27mg/mL、约28mg/mL、约27mg/mL、约30mg/mL、约35mg/mL、40mg/mL、约45mg/mL、50mg/mL、约55mg/mL、60mg/mL、约65mg/mL、70mg/mL、约75mg/mL、约80mg/mL、约85mg/mL、90mg/mL、约95mg/mL、100mg/mL、110mg/mL、约120mg/mL、约130mg/mL、约140mg/mL、约150mg/mL、约160 mg/mL、约170mg/mL、约180mg/mL、约190mg/mL、约200mg/mL、约210mg/mL、约220mg/mL、约230mg/mL、约240mg/mL、约250mg/mL、约260mg/mL、约270mg/mL、约280mg/mL、约290mg/mL、约300mg/mL、约310mg/mL、约320mg/mL、约330mg/mL、约340 mg/mL、约350mg/mL、约360mg/mL、约370mg/mL、约380mg/mL、约390mg/mL、约400mg/mL、约410mg/mL、约420mg/mL、约430 mg/mL、约440mg/mL、约450mg/mL、约460mg/mL、约470mg/mL、约480mg/mL、约490mg/mL、约500mg/mL、约510mg/mL、约520mg/mL、约530mg/mL、约540mg/mL、约550mg/mL、约560mg/mL、约570mg/mL、约580mg/mL、约590mg/mL、约600mg/mL、约610 mg/mL、约620mg/mL、约630mg/mL、约640mg/mL、约650mg/mL、约660mg/mL、约670mg/mL、约680mg/mL、约690mg/mL、约700 mg/mL、约710mg/mL、约720mg/mL、约730mg/mL、约740mg/mL、约750mg/mL、约760mg/mL、约770mg/mL、约780mg/mL、约790mg/mL、约800mg/mL、约810mg/mL、约820mg/mL、约830mg/mL、约840mg/mL、约850mg/mL、约860mg/mL、约870mg/mL、约880 mg/mL、约890mg/mL、约900mg/mL、约910mg/mL、约920mg/mL、约930mg/mL、约940mg/mL、约950mg/mL、约960mg/mL、约970 mg/mL、约980mg/mL、约990mg/mL、约1000mg/mL、约1025 mg/mL、约1050mg/mL、约1075mg/mL、约1100mg/mL、约1125 mg/mL、约1150mg/mL、约1175mg/mL、约1200mg/mL、约1225 mg/mL、约1250mg/mL、约1275mg/mL、约1300mg/mL、约 1325mg/mL、约1350mg/mL、约1375mg/mL、约1400mg/mL或约 1425mg/mL。在一些实施方案中,总的蛋白质浓度大于1400mg/mL。

[0101] 在一些实施方案中,本发明的两相医药制剂的可溶相中的蛋白质的浓度是约0.05mg/mL至约100mg/mL。在一些实施方案中,可溶相中的蛋白质或其它生物分子的浓度是约0.05mg/mL、约0.06 mg/mL、约0.07mg/mL、约0.08mg/mL、约0.09mg/mL、约0.1mg/mL、约0.5mg/mL、约1mg/mL、约1.5mg/mL、约2mg/mL、约2.5mg/mL、约3mg/mL、约3.5mg/mL、约4mg/mL、约4.5mg/mL、约5mg/mL、约5.5mg/mL、约6mg/mL、约6.5mg/mL、约7mg/mL、约7.5mg/mL、约8mg/mL、约8.5mg/mL、约9mg/mL、约9.5mg/mL、约10mg/mL、约11mg/mL、约12mg/mL、约13mg/mL、约14mg/mL、约15mg/mL、约16mg/mL、约17mg/mL、约18mg/mL、约19mg/mL、约20mg/mL、约21mg/mL、约22mg/mL、约23mg/mL、约24mg/mL、约25mg/mL、约26mg/mL、约27mg/mL、约28mg/mL、约29mg/mL、约30mg/mL、约31mg/mL、约32mg/mL、约33mg/mL、约34mg/mL、约35mg/mL、约36mg/mL、约37mg/mL、约38mg/mL、约39mg/mL、约40mg/mL、约41mg/mL、约42mg/mL、约43mg/mL、约44mg/mL、约45mg/mL、约46mg/mL、约47mg/mL、约48mg/mL、约49mg/mL、约50mg/mL、约51mg/mL、约52mg/mL、约53mg/mL、约54mg/mL、约55mg/mL、约56mg/mL、约57mg/mL、约58mg/mL、约59mg/mL、约60mg/mL、约61mg/mL、约62mg/mL、约63mg/mL、约64mg/mL、约65mg/mL、约66mg/mL、约67mg/mL、约68mg/mL、约69mg/mL、约70mg/mL、约71mg/mL、约72mg/mL、约73mg/

mL、约74mg/mL、约75mg/mL、约76mg/mL、约77mg/mL、约78mg/mL、约79mg/mL、约80mg/mL、约81mg/mL、约82mg/mL、约83mg/mL、约84mg/mL、约85mg/mL、约86mg/mL、约87mg/mL、约88mg/mL、约89mg/mL、约90mg/mL、约91mg/mL、约92mg/mL、约93mg/mL、约94mg/mL、约95mg/mL、约96mg/mL、约97mg/mL、约98mg/mL、约99mg/mL或约100 mg/mL。在一些实施方案中,可溶相中的蛋白质或其它生物分子可以大于100mg/mL。

[0102] 在两相制剂的一些实施方案中,可溶相中的蛋白质相对于两相制剂中的蛋白质的总量(可溶相与不可溶相)的比例是小于50%。在一些实施方案中,可溶相中的蛋白质相对于两相制剂中的蛋白质的总量的比例是约50%、约49%、约48%、约47%、约46%、约45%、约44%、约43%、约42%、约41%、约40%、约39%、约38%、约37%、约36%、约35%、约34%、约33%、约32%、约31%、约30%、约29%、约28%、约27%、约26%、约25%、约24%、约23%、约22%、约21%、约20%、约19%、约18%、约17%、约16%、约15%、约14%、约13%、约12%、约11%、约10%、约9%、约8%、约7%、约6%、约5%、约4%、约3%、约2%、约1%、在约0.1%与约1%之间或小于0.1%。

[0103] 在一些实施方案中,PEG是以约25mg/mL至约150mg/mL的浓度存在于组合物中。在一些实施方案中,组合物中的PEG的浓度是约25mg/mL、约30mg/mL、约35mg/mL、约40mg/mL、约45mg/mL、约50mg/mL、约60mg/mL、约65mg/mL、约70mg/mL、约75mg/mL、约80mg/mL、约85mg/mL、约90mg/mL、约95mg/mL、约100mg/mL、约105mg/mL、约110mg/mL、约115mg/mL、约120mg/mL、约125mg/mL、约130mg/mL、约135mg/mL、约140mg/mL、约145mg/mL或约150mg/mL。

[0104] 在一些实施方案中,蔗糖是以约0.5% (w/v) 至约25% (w/v) 的浓度包含在本发明的两相制剂中。在一个实施方案中,蔗糖是以以下浓度包含在本发明的两相制剂中:约0.5% (w/v)、约1% (w/v)、约1.5% (w/v)、约2% (w/v)、约2.5% (w/v)、约3% (w/v)、约3.5% (w/v)、约4% (w/v)、约4.5% (w/v)、约5% (w/v)、约6% (w/v)、约7% (w/v)、约8% (w/v)、约9% (w/v)、约10% (w/v)、约11% (w/v)、约12% (w/v)、约13% (w/v)、约14% (w/v)、约15% (w/v)、约16% (w/v)、约17% (w/v)、约18% (w/v)、约19% (w/v)、约20% (w/v)、约21% (w/v)、约22% (w/v)、约23% (w/v)、约24% (w/v)或约25% (w/v)。

[0105] 在另一个方面中,本发明提供一种用于药物的延长递送的药物递送装置,所述药物在生理温度下在延长的时段内保持稳定。本发明的药物递送装置含有本发明的稳定两相医药制剂、容纳所述稳定两相医药制剂的储集体腔室、包围所述储集体腔室的壳体以及所述壳体中的半透膜或其它多孔结构,所述半透膜或多孔结构准许可溶相蛋白质进入具有较低浓度的所述蛋白质的环境。

[0106] 在一个实施方案中,本发明的药物递送装置的容积是约5 $\mu$ l至约50 $\mu$ l、约10 $\mu$ l至约25 $\mu$ l、约5 $\mu$ l、约6 $\mu$ l、约7 $\mu$ l、约8 $\mu$ l、约9 $\mu$ l、约10 $\mu$ l、约11 $\mu$ l、约12 $\mu$ l、约13 $\mu$ l、约14 $\mu$ l、约15 $\mu$ l、约16 $\mu$ l、约17 $\mu$ l、约18 $\mu$ l、约19 $\mu$ l、约20 $\mu$ l、约21 $\mu$ l、约22 $\mu$ l、约23 $\mu$ l、约24 $\mu$ l、约25 $\mu$ l、约26 $\mu$ l、约27 $\mu$ l、约28 $\mu$ l、约29 $\mu$ l、约30 $\mu$ l、约31 $\mu$ l、约32 $\mu$ l、约33 $\mu$ l、约34 $\mu$ l、约35 $\mu$ l、约36 $\mu$ l、约37 $\mu$ l、约38 $\mu$ l、约39 $\mu$ l、约40 $\mu$ l、约41 $\mu$ l、约42 $\mu$ l、约43 $\mu$ l、约44 $\mu$ l、约45 $\mu$ l、约46 $\mu$ l、约47 $\mu$ l、约48 $\mu$ l、约49 $\mu$ l或约50 $\mu$ l。

[0107] 在一个实施方案中,本发明的储集体腔室容纳约0.1mg与约10 mg之间的本发明的蛋白质。在一些实施方案中,所述储集体腔室容纳的蛋白质总量是约0.1mg、约0.2mg、约0.3mg、约0.4mg、约0.5mg、约0.6mg、约0.7mg、约0.8mg、约0.9mg、约1mg、约2 mg、约3mg、约

4mg、约5mg、约6mg、约7mg、约8mg、约9 mg或约10mg。

[0108] 在一些实施方案中,本发明的储集体腔室具有准许所述装置插入 眼睛的玻璃体或其它容纳组织中的尺寸。

[0109] 在一些实施方案中,本发明的储集体腔室具有准许所述装置经皮 下放置于患者体内的尺寸。

[0110] 在一个实施方案中,本发明的药物递送装置的容积是约25 $\mu$ l至 约150 $\mu$ l、约25 $\mu$ l、约30 $\mu$ l、约35 $\mu$ l、约40 $\mu$ l、约45 $\mu$ l、约50 $\mu$ l、约55 $\mu$ l、约60 $\mu$ l、约65 $\mu$ l、约70 $\mu$ l、约75 $\mu$ l、约80 $\mu$ l、约85 $\mu$ l、约90 $\mu$ l、约95 $\mu$ l、约100 $\mu$ l、约105 $\mu$ l、约110 $\mu$ l、约115 $\mu$ l、约120 $\mu$ l、约125 $\mu$ l、约130 $\mu$ l、约135 $\mu$ l、约140 $\mu$ l、约145 $\mu$ l或约 150 $\mu$ l。

[0111] 在一个实施方案中,本发明的储集体腔室容纳约25mg与约180 mg之间的本发明的蛋白质。在一些实施方案中,所述储集体腔室容 纳的蛋白质总量是约25mg、约30mg、约35mg、约40mg、约45mg、约50mg、约55mg、约60mg、约65mg、约70mg、约75mg、约 80mg、约85mg、约90mg、约95mg、约100mg、约105mg、约 110mg、约115mg、约120mg、约125mg、约130mg、约135mg、约140mg、约145mg、约150mg、约155mg、约160mg、约165mg、约170mg、约175mg或约180mg。

[0112] 实施例

[0113] 通过以下实施例来说明本发明。本发明不限于这些实施例的具体 细节。

[0114] 实施例1:蛋白质与PEG (两相) 混合物中的蛋白质的释放和稳定性

[0115] 开发出含有在37°C下在>3个月内保持稳定的100mg/ml至300 mg/ml的蛋白质的阿柏西普制剂。将水溶液中总浓度变化的阿柏西普 蛋白质与溶液中浓度变化的分子量是3,350克/摩尔的聚乙二醇 (PEG3350) 组合。在一个实施例中,将5mg/ml至50mg/mL的阿柏西普与45mg/ml至150mg/ml的PEG3350组合。对照PEG3350浓度来 标示液体阿柏西普组合物的溶解度(封闭圆形)(图10)。对照PEG3350 浓度来标示液体阿柏西普的对数溶解度(封闭菱形,图11)。如图10 中呈现,所有浓度的阿柏西普产生基本上相同的溶解度曲线。

[0116] 在另一个实验中,将冻干的阿柏西普与干的PEG3350 (包含蔗糖) 组合,并且接着重组以获得实验性PEG3350浓度。在图10 (开放圆 形)和图11 (封闭正方形)中绘出结果,展示了阿柏西普溶解度随着PEG浓度增加而降低。重组固体蛋白质(图11中的封闭正方形)与 初始液体蛋白质(图11中的封闭菱形)之间的斜率(即,溶解度)差异很可 能是由于蔗糖含量的差异所致并且不是由于为固体或液体的起始蛋 白质的物理状态所致。固体阿柏西普包含蔗糖,而液体阿柏西普不包 含蔗糖。在30mg/ml的PEG3350时,阿柏西普的溶解度不受 影响(例 如,为至少45mg/ml)。确定可溶性阿柏西普的浓度以及总阿柏西普 中保持其天然构象的部分。如通过超高效尺寸排阻色谱法(UP-SEC) 所确定,在具有30mg/ml与150mg/ml之间的PEG3350的所有溶液 (液体和固体重组)中,阿柏西普纯度保持大于95%。

[0117] 为了试验沉淀的(液体制剂实验)或从溶液去除(重组实验)的阿柏 西普随后是否可以溶解并保持天然构象,将阿柏西普/PEG混合物从 150mg/ml PEG稀释到30mg/ml PEG,之前确定30mg/ml PEG不会限制阿柏西普溶解度。此处,基本上复原所有的阿柏西普,其中 多于 98%具有天然构象(表2)。

[0118] 表2

[0119]

概述	%HMW	%天然	%LMW	%复原
----	------	-----	------	-----

液体	1.14	98.86	0	103
重组	1.34	98.66	0	109

#### [0120] 实例2:控释型储集体装置

[0121] 由可渗透薄膜聚己酸内酯(PCL)制造用于蛋白质的控释的储集体装置。所述装置的壳体含有无孔PCL(所述无孔PCL无法透过抗体或受体-Fc-融合二聚体)以及包括纳米通道或微孔的多孔PCL的条带。通过制模来形成通道或通过使用PEG作为成孔剂来形成曲孔来制作多孔膜。

[0122] 在以下各者中描述在膜中制造小孔的方法:Bernards等人的“Nanostructured thin film polymer devices for constant-rate protein delivery”12NanoLett 5355-61(2012);He等人的“Use of a nanoporous biodegradable miniature device to regulate cytokine release for cancer treatment”151(3)J.Control Release 239-45(2011);Gin和Noble的“Designing the Next Generation of Chemical Separation Membranes”332 Science 674-676(2011);Wirtz等人的“Transport properties of template synthesized gold and carbon nanotube membranes”1(3,4)Int.J.Nanoscience 255(2002);以及Li等人的“Preparation and characterization of chitosan nanopores membranes for the transport of drugs”420(2)Int.J.Pharm.371-7(2011)。

[0123] 纳米通道多孔PCL膜(“纳米PCL”)包括约20nm直径的小孔并且流延成型为约500nm的厚度。将纳米PCL膜施加至微孔背衬层以实 现结构完整性。微孔膜(“mpPCL”)含有截面直径是约1微米至2微米 的小孔,其中互连小孔尺寸估计<1微米。参见Bernards,2012。

[0124] 通过对无孔PCL膜与多孔PCL膜流延成型来制作mpPCL薄膜 储集体装置。接着通过对接头进行热密封来将多孔膜的条带粘接在多 孔膜的两个区段之间。使用棒状模板将所得复合膜(即,含有多孔条 带的无孔膜)卷到圆柱体(管)上并且对一端进行热密封,而使另一端为 敞开的。将原料药(见下文)装到敞开端中,并接着对敞开端进行热密 封。使用电热镍铬丝对PCL膜进行热密封,所述电热丝是通过电源 控制、嵌入于聚二甲硅氧烷之内或之间。

[0125] 在一个装置中,将3mg至4mg的阿柏西普蛋白质装到直径是约 1mm至1.5mm并且长度是约8mm至10mm的PCL管中。

[0126] 测试影响蛋白质从装置释放的速率的参数。那些参数包括膜设计(即,纳米PCL对mpPCL)、膜厚度(28 $\mu$ m、63 $\mu$ m和106 $\mu$ m)和多孔 表面积(23mm<sup>2</sup>对60mm<sup>2</sup>)。mpPCL设计在50天内的释放速率比纳 米PCL设计快了大约一个数量级。此外,多孔“窗”的表面积显著影 响释放速率。具有60mm<sup>2</sup>面积的多孔结构并且装有3mg阿柏西普的 装置每天释放约105 $\mu$ g的阿柏西普。具有23mm<sup>2</sup>面积的多孔结构并 且装有3mg阿柏西普蛋白质的装置每天释放约42 $\mu$ g的阿 柏西普。

[0127] 虽然窗的表面积影响释放速率,但是膜厚度不会影响释放速率。因此,通过更改多孔结构的表面积,可以独立于装置尺寸来控制蛋白 质的释放速率。在这个实施例,将阿柏西普的溶解度限制为 10mg/mL会使储集体浓度保持恒定,允许通过操纵有孔面积来控制蛋白质释放速率。

#### [0128] 实施例3:蛋白质从储集体装置的释放



[0129] 蛋白质从PCL储集体装置释放的速率取决于可溶性蛋白质的浓度和多孔结构的表面积。将装有PEG3350/阿柏西普两相组合物的PCL装置暴露于水环境中。随着时间过去测量从所述装置释放的阿柏西普。

[0130] 在一个实验中,可溶相中的阿柏西普的浓度取决于PEG3350的浓度而在约5mg/ml至约45mg/ml之间变化。多孔结构的表面积保持恒定,为约23mm<sup>2</sup>。此处,当阿柏西普的可溶相浓度是约6mg/ml时,释放速率是约0.32μg/天-mm<sup>2</sup>。当阿柏西普的可溶相浓度是约46mg/ml时,释放速率是约3.3μg/天-mm<sup>2</sup>(图12)。

[0131] 在另一个实验中,在PEG3350的浓度是70mg/ml时,可溶相阿柏西普的浓度保持恒定,为约7mg/ml;并且多孔结构的表面积是在约13mm<sup>2</sup>至约45mm<sup>2</sup>之间变化。此外,当多孔窗的表面积是约13mm<sup>2</sup>时,蛋白质是以约0.49μg/天每mg/ml的速率释放。当多孔窗的表面积是约45mm<sup>2</sup>时,蛋白质是以约4.9μg/天每mg/ml的速率释放(图13)。

[0132] 在经缓冲的生理等渗性溶液中以37℃下在一个时段内测定PCL装置中的两相阿柏西普混合物中的可溶性阿柏西普的稳定性和释放速率。PCL装置具有约30mm<sup>2</sup>至45mm<sup>2</sup>的多孔结构面积。每一装置装有约2.7mg至3.7mg的阿柏西普。在一个实验中,PEG3350的浓度是约100mg/ml,并且可溶相阿柏西普的浓度是约2mg/ml(图14A)。

[0133] 在另一个实验中,PEG3350的浓度是约70mg/ml,并且可溶相阿柏西普的浓度是约7mg/ml(图14B)。在处于模型生理条件下35天之后观察不到70mg/ml PEG储集体与100mg/ml PEG储集体的释放速率之间有明显差异。两组实验的平均释放速率是约40μg/天±10μg/天(图14A和图14B)。

[0134] 在另一个实验中,PEG3350的浓度是80mg/mL±20mg/mL,并且阿柏西普的总浓度(可溶加不可溶)是在约60mg/mL与约210mg/mL之间。可溶性阿柏西普从所述装置释放的速率是约0.03mg至约0.055mg每天(表3)。通过量化在每一时间点样本中剩余的阿柏西普单体的相对量来测定随着时间过去从所述装置释放的可溶性阿柏西普的稳定性。单体阿柏西普的相对量在图15中呈现为百分比(%)纯度。通过高效尺寸排阻色谱法来确定单体的数量。将从含有PEG3350(80mg/mL±20mg/mL)的装置释放的阿柏西普的百分比纯度与从仅含有蔗糖并且无PEG的装置释放的阿柏西普的百分比纯度进行比较。在61天时从所述装置释放的阿柏西普的约85%保持为单体的。在图15中绘出结果。

[0135] 表3

[0136]	PEG 载量(mg)	药物载量(mg)	装置面积(mm <sup>2</sup> )	水合体积(ml)	有孔面积(mm <sup>2</sup> )	mg/ml PEG	mg/ml 药物	mg/天药物的释放
	1.2	3.7	66	0.018	33	67	206	0.032
	2.9	3.2	90	0.042	45	69	76	0.045
	2.9	2.8	80	0.046	40	63	61	0.031
	4	3.0	75	0.040	38	99	74	0.055
	3.3	2.9	82	0.032	41	104	91	0.038

[0137] 实施例4:含有纳米孔/微孔装置的两相制剂

[0138] 使用热密封将一片微孔或纳米孔PCL膜粘接于两片纳米孔PCL膜之间。通过将所

述膜在嵌入于两块聚二甲硅氧烷 (PDMS) 之间的镍 铬丝上方对准来完成热密封。通过使电流通过所述丝来对所述丝加热。接着将所述膜卷在圆柱形模具上,基于标靶装置尺寸来选择所述 圆柱形模具的直径。接着沿着所述圆柱体的纵轴并且在所述圆柱体上 的一端上对所述膜进行热密封以产生具有一个敞开端的空心圆柱体。将冻干蛋白质压缩成圆柱形小丸并且通过敞开端装到储集体中。同样 将PEG3350压缩成丸并且通过圆柱体的敞开端装载。

[0139] 在每一装载步骤之前和之后,对所述装置称重以确定所装载的质 量。接着使用相同的热密封方法沿着敞开端对所述装置密封。基于所 装载的质量和 水合体积来计算 PEG3350载量,水合体积是通过计算 水合之前和之后的装置重量的差值来确定。

[0140] 在37°C的pH 7.2的类平衡盐溶液 (类BSS) 中培养已装载装置。在 每一时间点,将所述装置从类BSS介质移除并且接着放置于类BSS 介质的新鲜部分中并再进行培养。保留所述装置从中移除的释放介质以进行分析。在每一时间点,通过UP-SEC对样本进行分析以量化蛋 白质释放的量以及蛋白质的%纯度。在图15中绘示了所释放的蛋白 质的%纯度。蛋白质释放的速率与可溶性蛋白质浓度直接相关(图12)。

[0141] 随着PEG浓度增加,蛋白质的溶解度减小,并且蛋白质的稳定 性增加到约0.05mg/mL的最低可溶性浓度。通过限制装置储集体中 的蛋白质的溶解度,PEG限制扩散的驱动力,即,降低储集体中的可 溶相蛋白质浓度使生理环境与制剂之间的蛋白质浓度差减小,并且降 低蛋白质从装置储集体释放的速率。通过限制溶解度,PEG还在装置 储集体中维持恒定的蛋白质浓度,直到剩余蛋白质的总量小于蛋白质 的溶解度的极限为止。

[0142] 实施例5:受体-Fc-融合蛋白质的活体内释放

[0143] 将装有PEG和约1.6毫克的两相阿柏西普的微孔PCL装置植入 非洲绿猴的玻璃体内(组2)。对照猴子接收不含有阿柏西普的微孔 PCL装置(组1)。在植入后的不同天数时从对照组(组1)和实验组(组 2)收集组织样本。使用具有VEGF的ELISA作为俘获分子来确定每 一样本中的阿柏西普的量。

[0144] 在从接收无药物装置的动物(组1)收集的血浆样本中或在从随后 接收装有阿柏西普的装置的动物(组2)收集的基线血浆样本中未检测 到自由或结合阿柏西普。在从组2动物收集的至少一个血浆样本中检 测到自由阿柏西普。在从四个组2动物中的三个动物收集的 血浆样本 中检测到结合阿柏西普,表明活性蛋白质从所述装置释放并且能够结合到 标靶组织中的内源性VEGF。

[0145] 在从组2中的所有四个动物收集的眼房水样本中检测到自由阿 柏西普。在玻璃体中,在组2动物中的至少一者中检测到结合阿柏西 普,而在至少一个组2动物的脉络膜和视网膜样本中检测到自由阿柏 西普。在从组1动物收集的眼房水、脉络膜、视网膜或玻璃体样 本中未检测到自由阿柏西普。

[0146] 这些结果表明阿柏西普在眼睛中在活体内释放并且从装有两相 阿柏西普的微孔装置移动到标靶环境中。

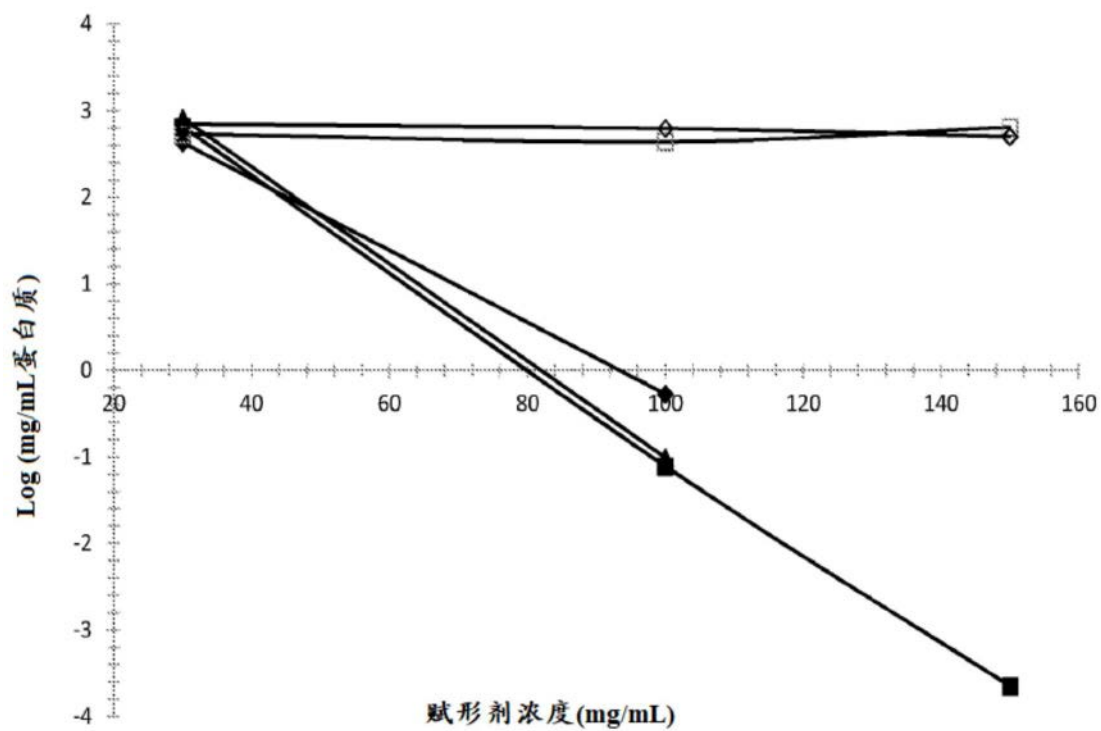


图1

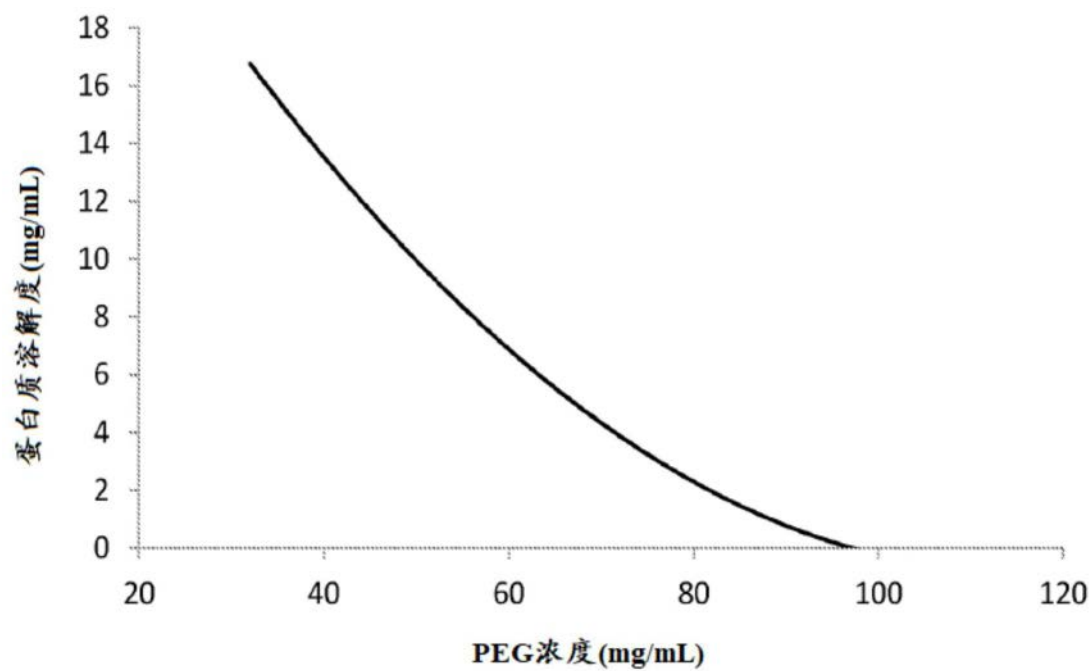


图2

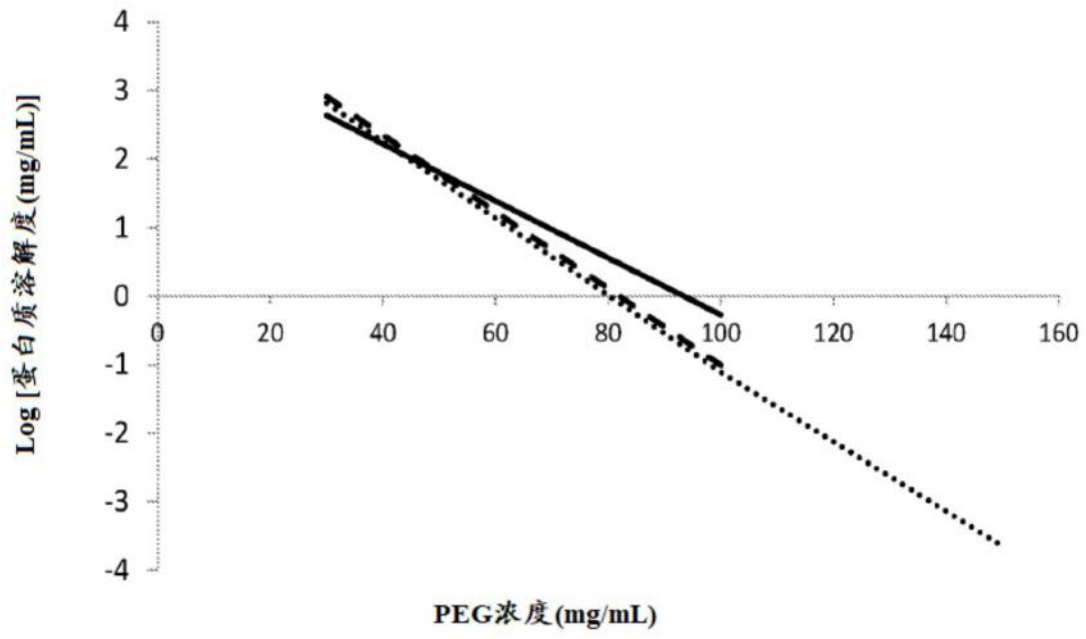


图3

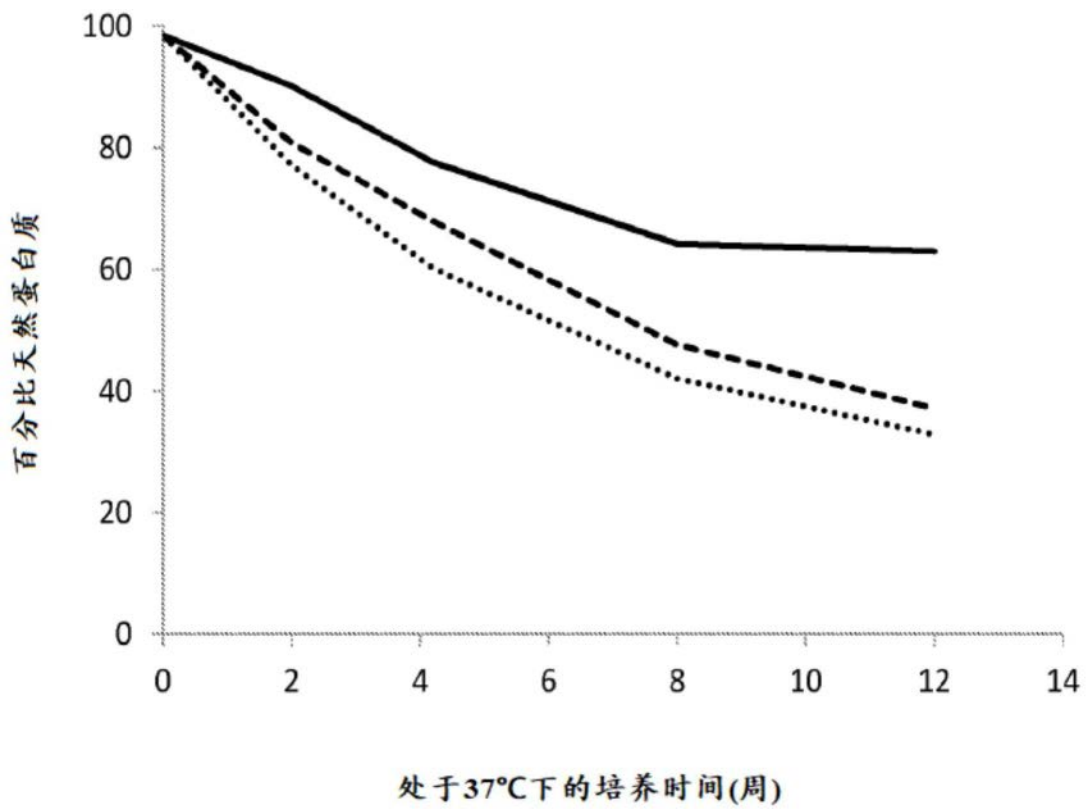


图4

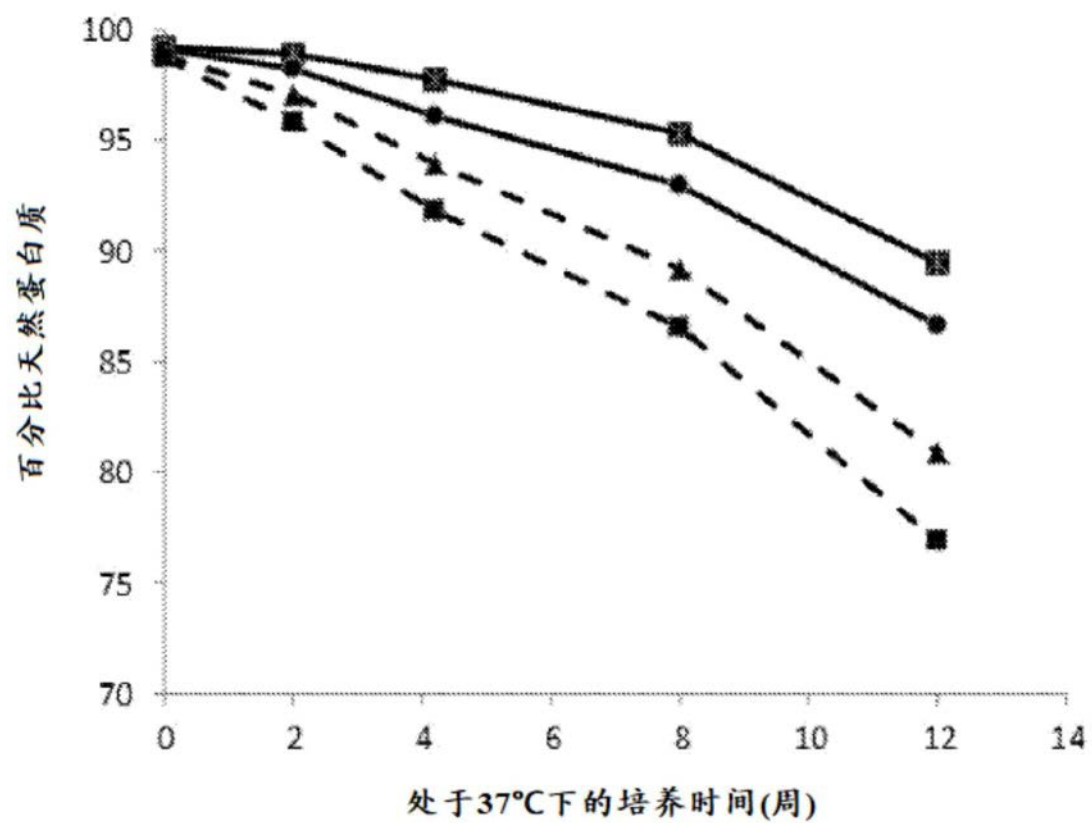


图5

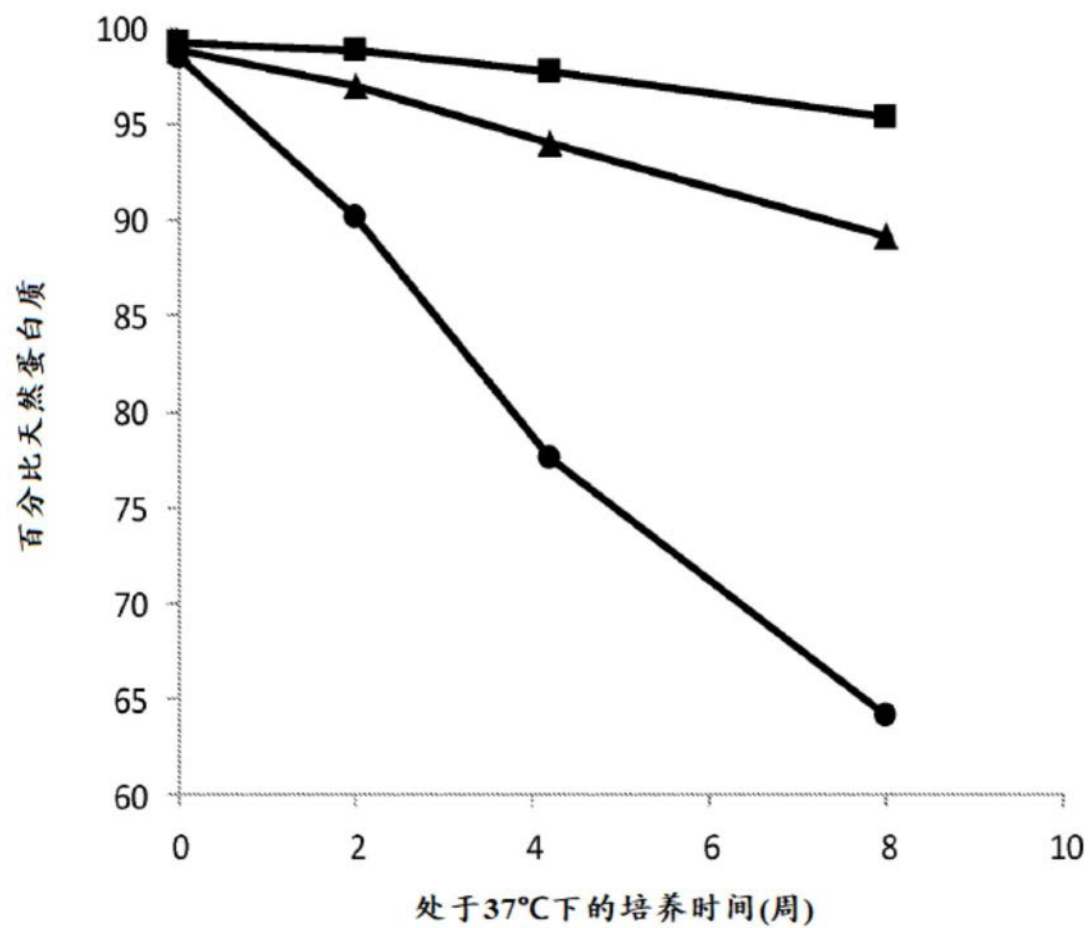


图6A

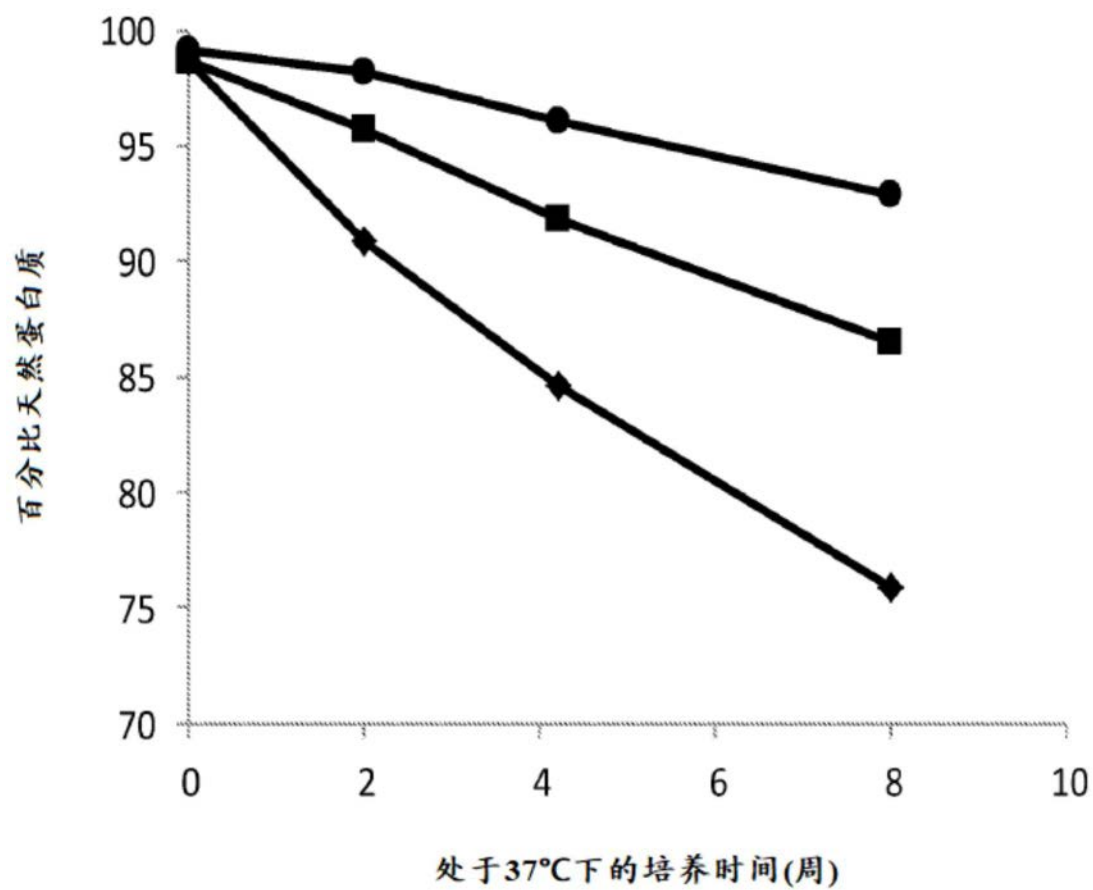


图6B



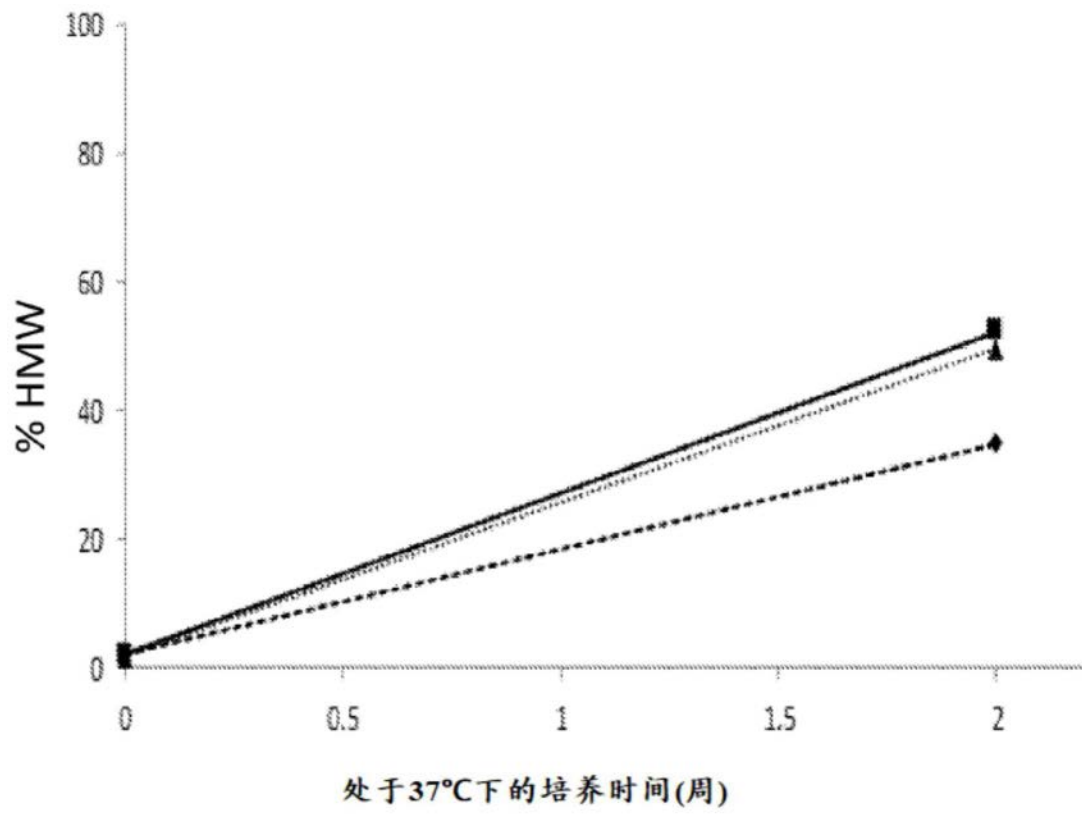


图7

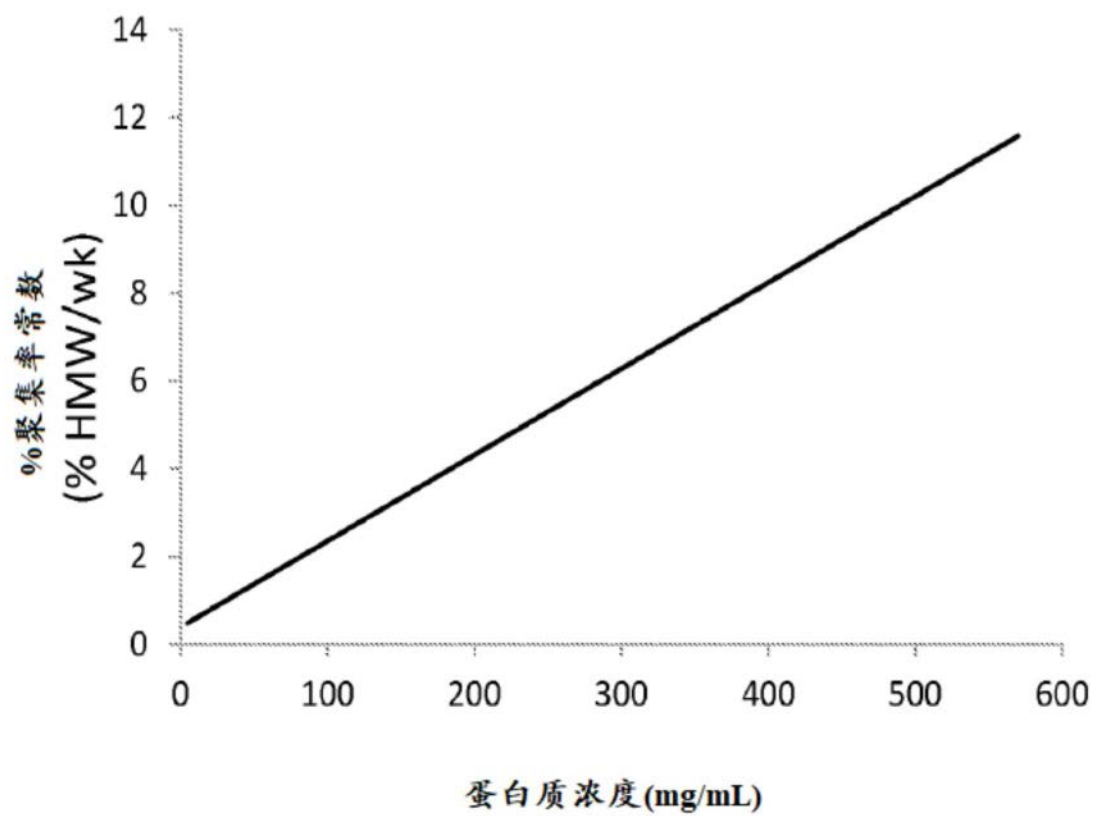


图8

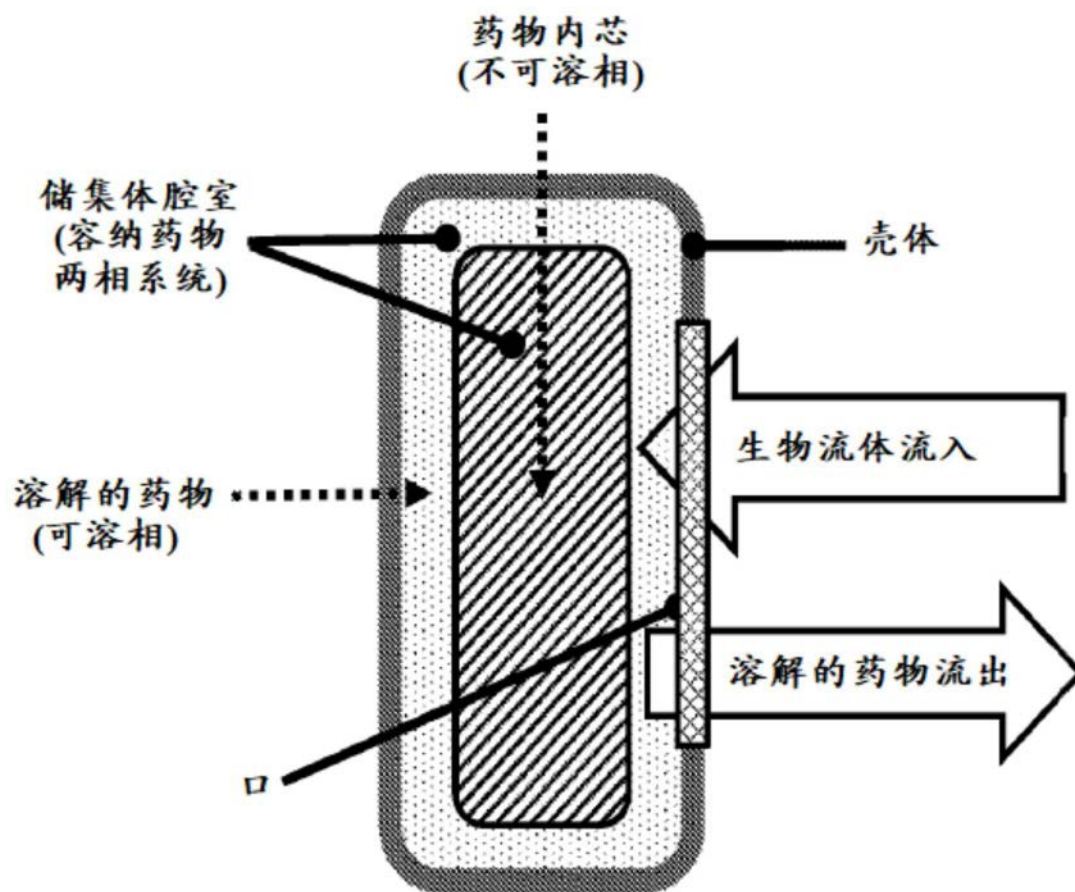


图9

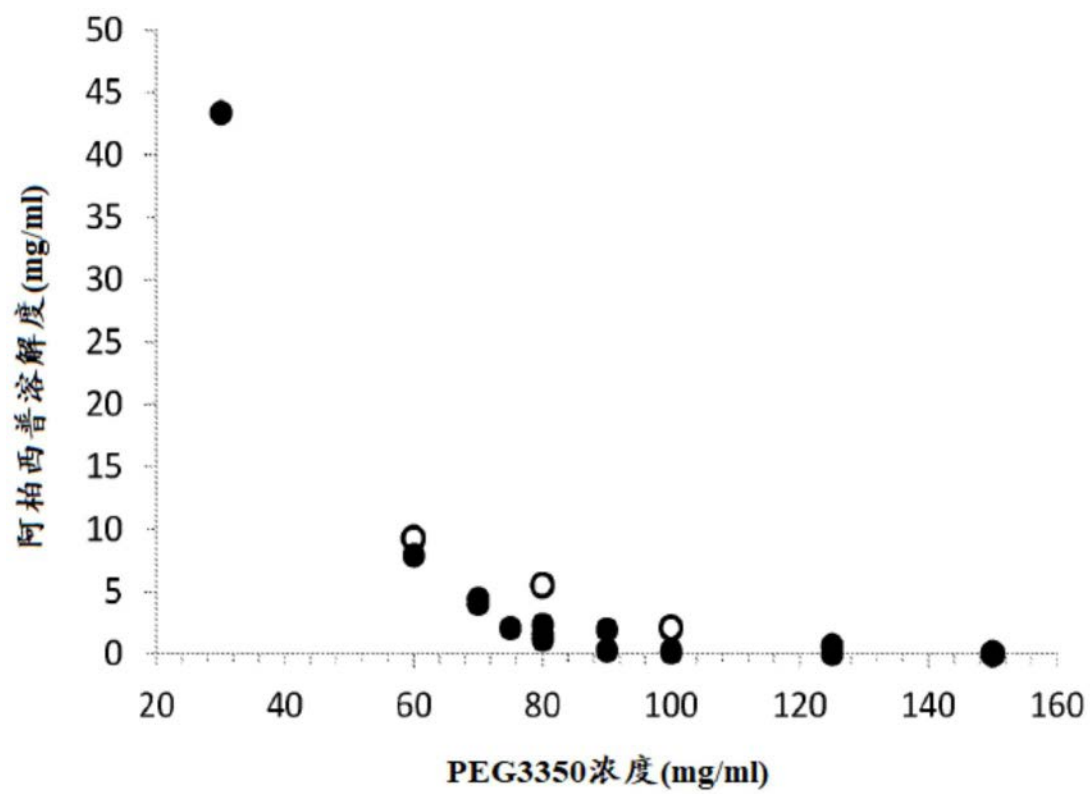


图10

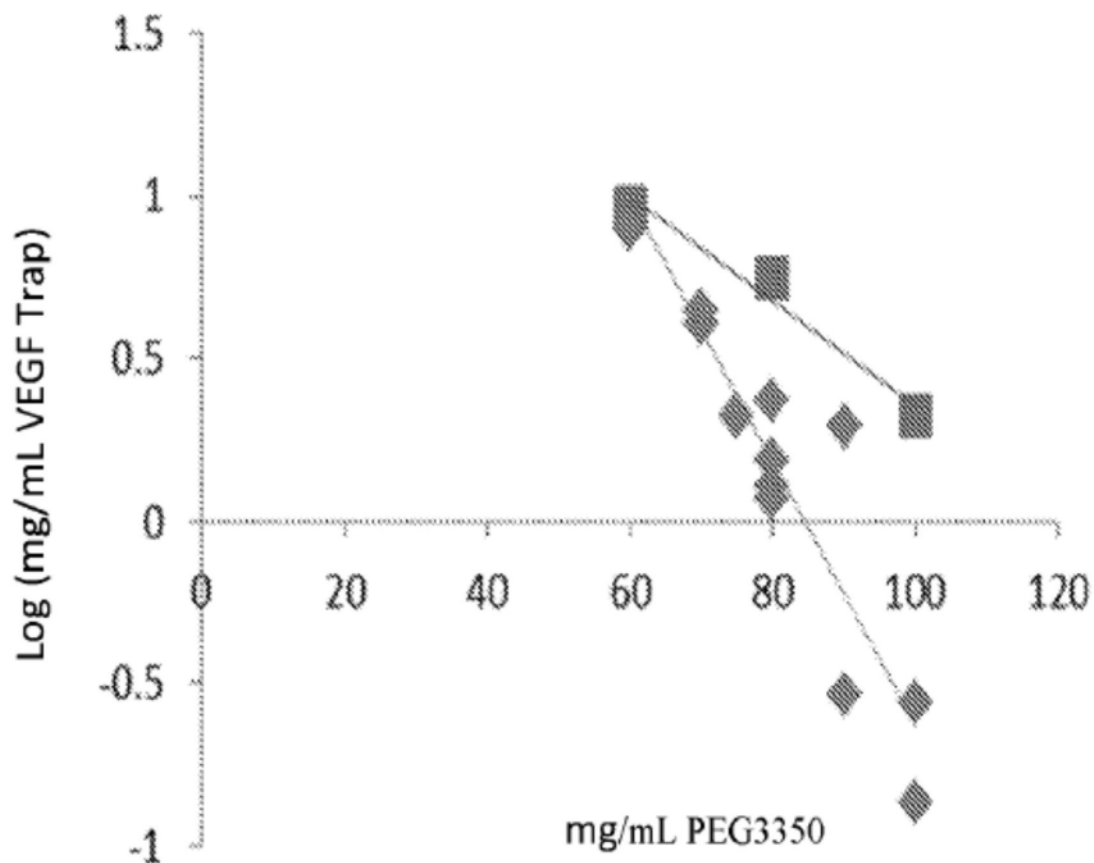


图11

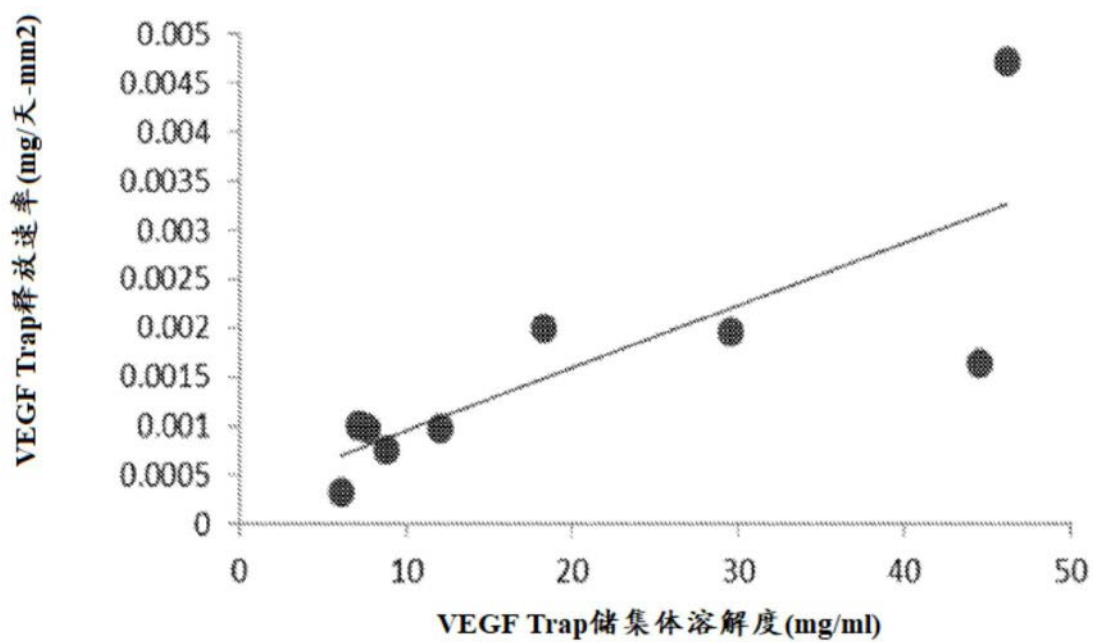


图12

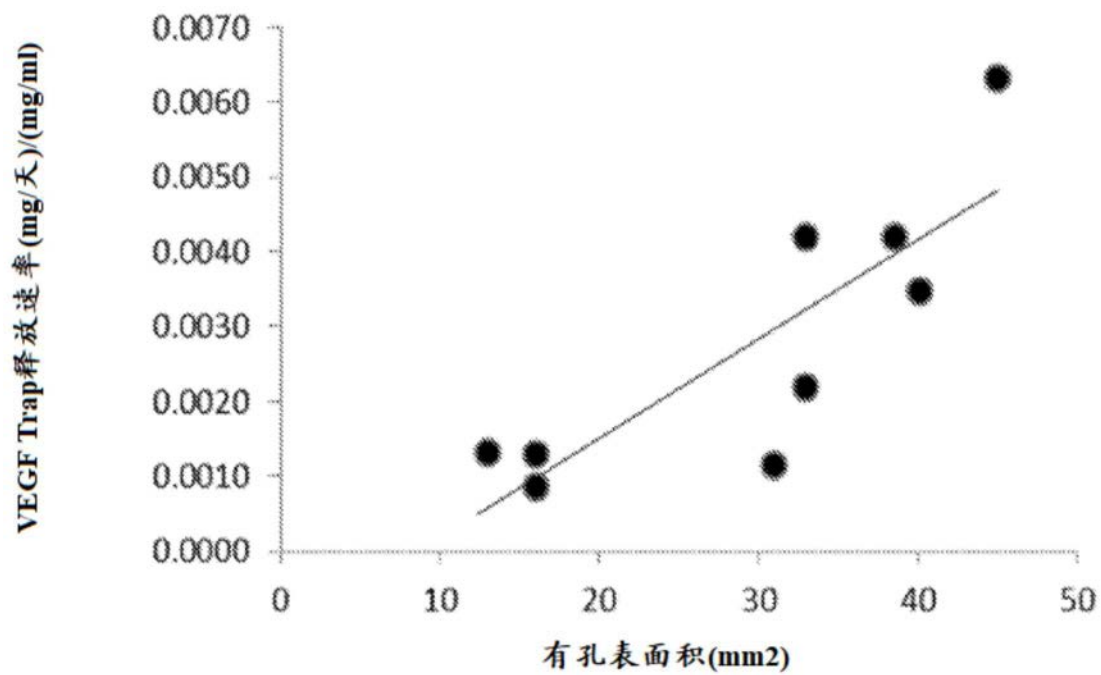


图13

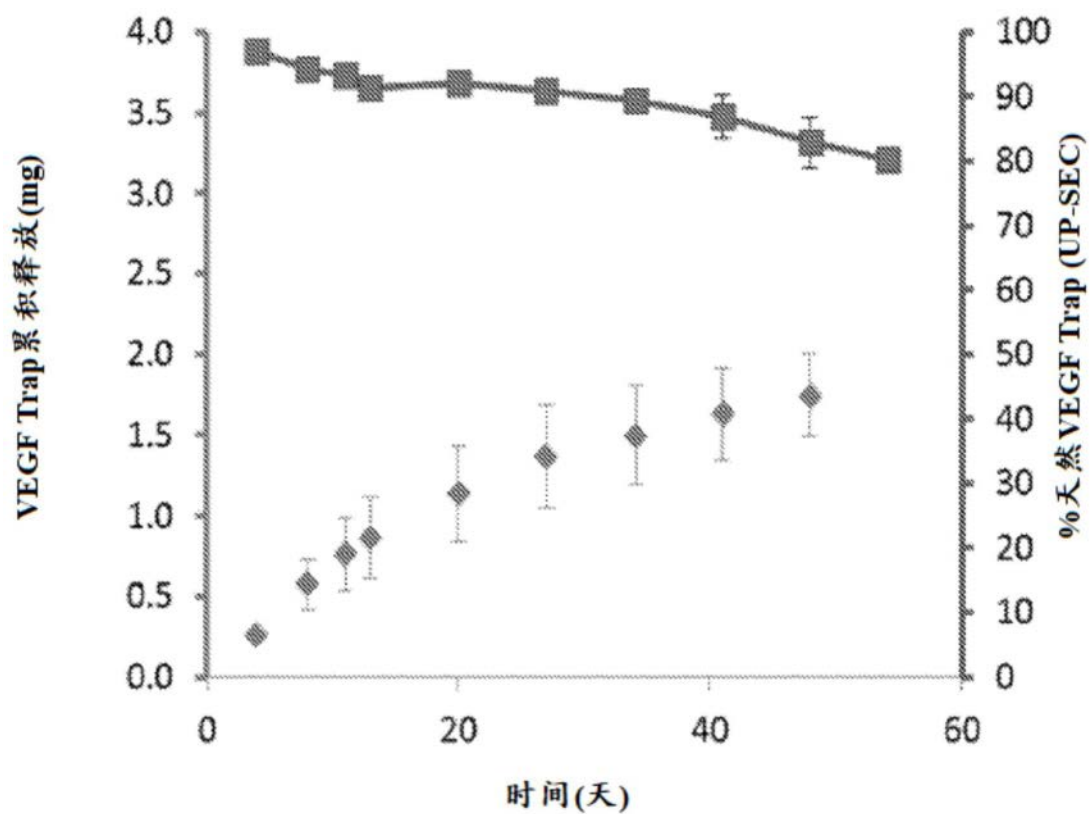


图14A

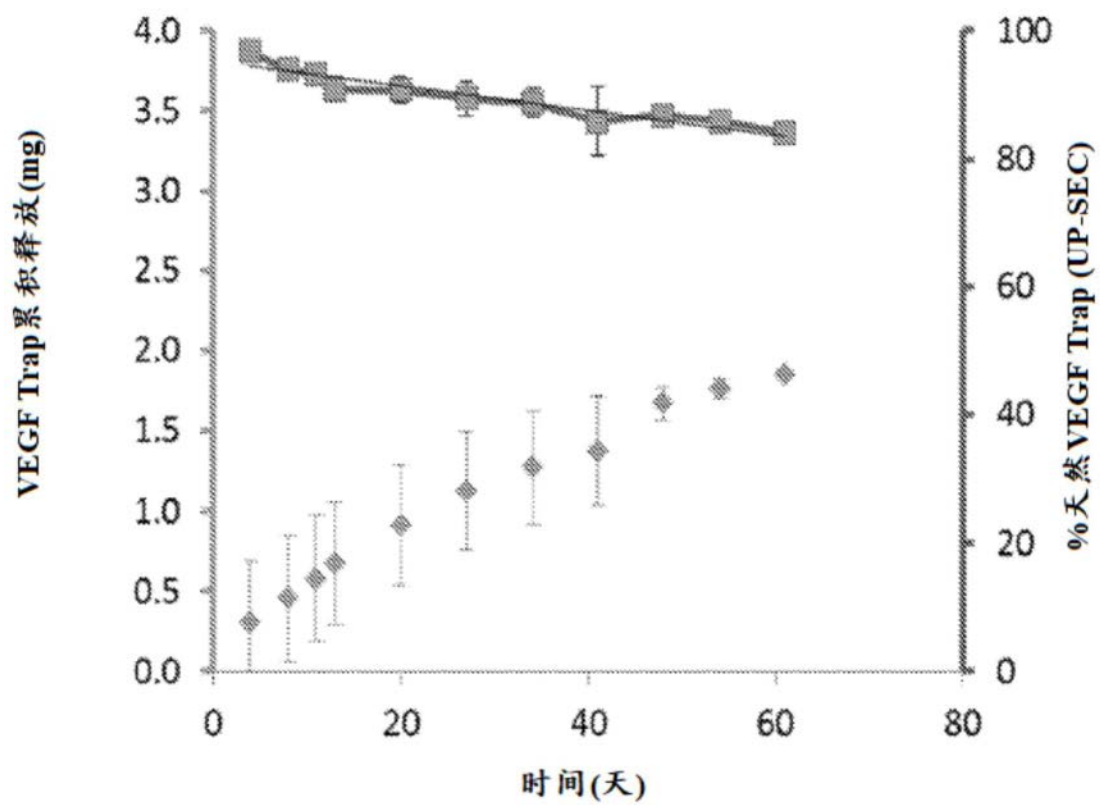


图14B

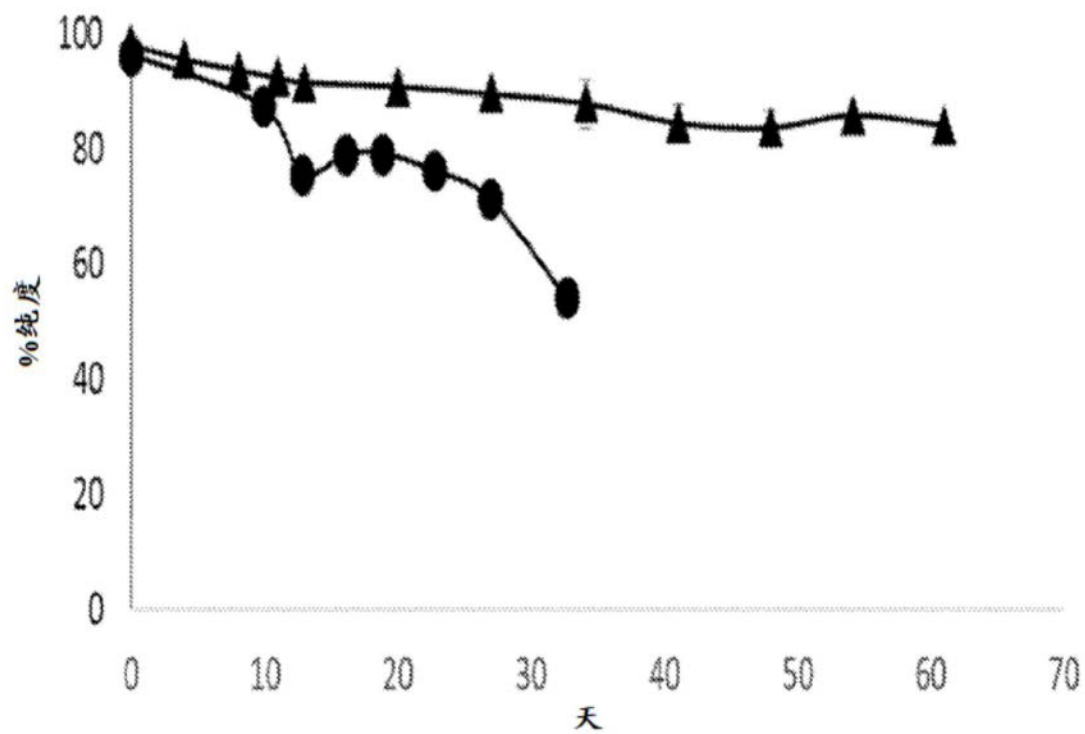


图15