



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101925347 A

(43) 申请公布日 2010.12.22

(21) 申请号 200880125488.3

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2008.11.26

A61K 8/73 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 9/10 (2006.01)

60/991,524 2007.11.30 US

A61K 31/715 (2006.01)

12/323,251 2008.11.25 US

A61K 47/36 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010.07.23

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2008/084841 2008.11.26

(87) PCT申请的公布数据

W02009/073508 EN 2009.06.11

(71) 申请人 阿勒根公司

地址 加利福尼亚

(72) 发明人 A·泰泽尔 M·R·罗宾逊

(74) 专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司 11285

代理人 张广育 吴晓萍

权利要求书 2 页 说明书 11 页

(54) 发明名称

多糖凝胶组合物及持续递送药物的方法

(57) 摘要

公开了一种制备具有持续释放性质的生物相容多糖凝胶组合物的方法。还公开了一种具有持续释放性质的生物相容多糖凝胶组合物,一种使用本发明的生物相容多糖凝胶组合物来治疗疾病或病症的方法,以及一种控制至少一种目标溶质从所述生物相容多糖凝胶组合物释放的速率的方法。包含本发明的生物相容多糖凝胶组合物的药物组合物也被公开。

1. 一种用于制备具有持续释放性质的生物相容多糖凝胶组合物的方法,包括通过至少一种目标溶质与一种多糖的共价连接,将所述至少一种目标溶质接枝至所述多糖上。
2. 权利要求1的方法,其中所述共价连接是由所述多糖的一个或多个羟基和/或羧基实现。
3. 权利要求1的方法,其中所述多糖是交联的。
4. 权利要求1的方法,其中所述多糖选自透明质酸、硫酸葡聚糖、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、壳聚糖、硫酸角蛋白、肝素、硫酸肝素以及藻酸盐。
5. 权利要求1的方法,其中所述多糖是透明质酸。
6. 权利要求1的方法,其中所述至少一种目标溶质是一种药物。
7. 权利要求6的方法,其中所述药物是去炎松羧丙酮。
8. 一种制备生物相容多糖凝胶组合物的方法,包括将至少一种目标溶质囊封于一种多糖凝胶的多孔网络中。
9. 权利要求8的方法,其中所述多糖是交联的。
10. 权利要求8的方法,其中所述多糖选自透明质酸、硫酸葡聚糖、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、壳聚糖、硫酸角蛋白、肝素、硫酸肝素以及藻酸盐。
11. 权利要求8的方法,其中所述多糖是透明质酸。
12. 权利要求8的方法,其中所述至少一种目标溶质是一种药物。
13. 权利要求12的方法,其中所述药物是去炎松羧丙酮。
14. 一种具有持续释放性质的生物相容多糖凝胶组合物,所述组合物含有至少一种目标溶质,所述至少一种目标溶质通过与一种多糖的共价连接而接枝至所述多糖上。
15. 权利要求14的生物相容多糖凝胶组合物,其中所述多糖是交联的。
16. 权利要求14的生物相容多糖凝胶组合物,其中所述多糖选自透明质酸、硫酸葡聚糖、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、壳聚糖、硫酸角蛋白、肝素、硫酸肝素以及藻酸盐。
17. 权利要求14的生物相容多糖凝胶组合物,其中所述多糖是透明质酸。
18. 权利要求14的生物相容多糖凝胶组合物,其中所述至少一种目标溶质是一种药物。
19. 权利要求18的生物相容多糖凝胶组合物,其中所述药物是去炎松羧丙酮。
20. 一种具有持续释放性质的生物相容透明质酸凝胶组合物,所述组合物包含去炎松羧丙酮,所述去炎松羧丙酮通过与透明质酸的共价连接而接枝至所述透明质酸上。
21. 一种治疗疾病或病症的方法,包括将治疗有效量的权利要求14的组合物给予需要其的哺乳动物。
22. 权利要求21的方法,其中所述疾病或病症为眼部病症。
23. 一种控制至少一种目标溶质从权利要求14的生物相容多糖凝胶组合物释放的速率的方法,包括调节多糖基质的孔隙率的步骤。
24. 权利要求23的方法,其中所述调节步骤包括改变所述多糖的浓度、交联程度、分子量分布,以及交联剂。
25. 权利要求23的方法,其中所述调节步骤包括改变所述多糖的交联程度。
26. 权利要求23的方法,其中所述调节步骤包括改变所述多糖的分子量分布。
27. 权利要求23的方法,其中所述调节步骤包括改变在交联过程中影响所述基质的孔

隙率的反应条件。

28. 一种药物组合物,包含权利要求 14 的生物相容多糖凝胶制剂和一种药用载体。

多糖凝胶组合物及持续递送药物的方法

[0001] 相关申请的交互引用

[0002] 本申请要求 2007 年 11 月 30 日提交的流水号为 60/991,524 的美国临时申请以及 2008 年 11 月 25 日提交的流水号为 12/323,251 的美国非临时申请的优先权。上述申请的全部内容通过引证的方式纳入本文。

技术领域

[0003] 本文总体而言公开了用于美容及医疗用途且具有持续释放性质的生物相容多糖凝胶组合物和使用该组合物的产品及使用及制造该组合物的有关方法。

背景技术

[0004] 多糖是较复杂的糖类。它们是由许多单糖通过糖苷键连接在一起而形成的聚合物。因此,多糖是大的、经常带有支链的大分子。多糖填充剂——尤其是透明质酸填充剂——已用于美容及医疗应用方面。这类填充剂被用于例如软组织扩增。

[0005] 透明质酸存在于胞外空间,由于其具有独特的可延展物理性质及极好的生物相容性,因此可起到空间填充、结构稳定及细胞保护分子的作用。透明质酸基质极富粘弹性,同时保有高水合程度。皮肤中水含量与真皮组织中透明质酸的水平之间存在密切关联。当人皮肤老化时,已知在透明质酸含量和新陈代谢方面均有变化。由于这些变化,皮肤在力学性质方面会有明显劣化。似乎年轻的皮肤与胞间基质中存在强大的透明质酸网络有关。

[0006] 透明质酸(也称玻璃质酸或透明质酸盐)是一种遍布于结缔组织、上皮组织和神经组织中的非硫酸化的糖胺聚糖。它是胞外基质的主要组分之一,对于细胞增殖和迁移有重要作用,还可能与某些恶性肿瘤的发展有关。一般 70-kg 的人在其体内含有大约 15g 透明质酸,其中有三分之一每天都要发生转换(被降解及合成)。

[0007] 透明质酸天然存在于机体内的多种组织中,例如皮肤、软骨及玻璃体液中。因而透明质酸非常适合用于靶向这些组织的生物医学应用中。最早的透明质酸生物医学产品 **Healon®** 开发于二十世纪七十年代和八十年代,并被批准在眼外科手术(即角膜移植、白内障手术、青光眼手术及修复视网膜脱落的手术)中使用。

[0008] 透明质酸也被用于治疗膝盖的骨关节炎。这类治疗被称为粘液补充(viscosupplementation),是通过注射方法给药至膝关节中,被认为可补充关节流体的粘度,从而润滑关节、缓冲关节,并产生止痛的效果。还有人认为透明质酸对软骨细胞具有积极的生物化学作用。但一些安慰剂对照研究对透明质酸注射的有效性提出了质疑,透明质酸主要被建议用作替代外科手术的不得已的选择。已有建议将透明质酸口服应用。目前,一些初步临床研究表明,透明质酸的口服给药对于骨关节炎具有积极的效果。

[0009] 由于透明质酸的高生物相容性以及其通常存在于组织的胞外基质中,透明质酸还作为一种生物材料支架在组织工程研究中得到普遍采用。在一些癌症中,透明质酸水平与恶性肿瘤及较差的预后有很强的关联。因而透明质酸常被用作前列腺癌和乳腺癌的肿瘤标识。其也可用于监控疾病的发展。透明质酸也可手术后使用以诱发组织愈合,尤其是在白

内障手术后。目前的伤口愈合模型提出,较大的透明质酸聚合物分子会出现在愈合早期,以在机体上为介导免疫应答的白细胞制造空间。

[0010] 透明质酸或皮质类固醇的治疗用途是已知的。因此,治疗和美容用透明质酸(也称透明质多糖(hyaluronan)和透明质酸钠)制剂是已知的。由于透明质酸在体内以聚阴离子而非质子酸形式存在,因而其最常被称为透明质多糖。美国专利4,636,524、4713,448、5,009,013和5,143,724公开了具体的透明质多糖或透明质酸及其制备方法。另外,在关节内使用透明质酸(即,作为粘性补充剂)或抗炎类固醇是已知的。参见例如Kopp S. et al., The short-term effect of intra-articular injections of sodium hyaluronate and corticosteroid on temporomandibular joint pain and dysfunction, J Oral Maxillofac Surg 1985 Jun; 43(6): 429-35; Grecomoro G., et al., Intra-articular treatment with sodium hyaluronate in gonarthrosis: a controlled clinical trial versus placebo, Pharmatherapeutica. 1987; 5(2): 137-41; Adams M., An analysis of clinical studies of the use of crosslinked hyaluronan, hylan, in the treatment of osteoarthritis, J Rheumatol Suppl. 1993 August; 39: 16-8; 以及 Jones, A. et al., Intra-articular hyaluronic acid compared to intra-articular triamcinolone hexacetonide in inflammatory knee osteoarthritis, Osteoarthritis Cartilage. 1995 December; 3(4): 269-7。

[0011] 市售的透明质酸制剂包括 Juvederm™ (Allergan), 其为一种由交联的透明质酸构成的可注射的皮肤填充剂。还已知的有 **Orthovisc®** (Anika)、**Durolane** (Smith & Nephew)、**Hyalgan®** (Sanofi)、**Hylastan®** (Genzyme)、**Supartz®** (Seikagaku/Smith & Nephew)、**Synvisc®** (Genzyme)、**Euflexxa®** (Ferring), 它们都被用作治疗骨关节炎性关节疼痛的可注射(关节内)透明质酸粘度补充剂, 它们具有不同的透明质酸交联度和不同的分子量。

[0012] 含高分子量透明质酸和一种或多种活性剂的治疗用或美容用组合物已被公开。参见, 例如流水号为 11/039,192、11/695,527、11/742,350、10/ % 6,764、11/354,415 和 11/741,366 的美国专利申请。

[0013] 某些皮质类固醇(例如去炎松(triamcinolone))可具有抗炎性质。因此,关节内皮质类固醇已被用于治疗多种关节疾病。参见,例如 Zulian F., et al., triamcinolone acetonide and hexacetonide intra-articular treatment of symmetrical joints in juvenile idiopathic arthritis: a double-blind trial, Rheum 2004; 43: 1288-1291 (使用 2mg 至 80mg 去炎松羧丙酮(triamcinolone acetonide)); 以及 Hertzberger-ten Cate R. et al., Intra-articular steroids in pauciarticular juvenile chronic arthritis, type I, Eur J Ped 1991; 150: 170-172 (关节内使用 20mg 去炎松来治疗幼年型关节炎)。去炎松已用来治疗关节僵硬(Clark D. et al., The influence of triamcinolone acetonide on joint stiffness in the rat, J Bone Joint Surg Am 1971; 53: 1409-144)。

[0014] 另外,在患者可通过使用口服类固醇治疗急性病症前,一直使用肌肉类固醇,例如哮喘(Mancinelli L. et al., Intramuscular high-dose triamcinolone acetonide in the treatment of severe chronic asthma, West J Med November 1997: 167(5);

322-329[每日向患者给予最多 360mg 去炎松, 给药持续 3 天])。皮下及真皮内给予类固醇并非优选的给药途径, 因为可能导致真皮萎缩。肌肉注射给药时, 可通过在深层近臀肌区域进行注射及防止类固醇制剂泄露到真皮中来降低由类固醇造成的真皮萎缩的风险。

[0015] 遗憾的是, 外周使用的已知粘性制剂及已知皮质类固醇制剂存在明显的缺点和缺陷。例如, 治疗外周病症时可能需要多次(五次或更多次)外周给予透明质酸。另外, 去炎松的皮质类固醇水性制剂可能会从外周给药位点快速清除(扩散掉和/或通过一种或多种主动运输机制除去)。快速清除就需要频繁地重复给药(重新给药)以提供有效的治疗。另外, 治疗用皮质类固醇由于其水溶性低, 经常以较大的不规则形状晶体(颗粒)的水性悬浮液形式给药。以所述类固醇颗粒给药时可能会引起炎性应答。这可能是由于给药位点的巨噬细胞不能(通过吞噬作用)除去具有较大形态和不规则几何形状的一类固醇颗粒而造成的。事实上, 这类颗粒可能对巨噬细胞有毒性并导致细胞死亡。巨噬细胞的死亡又会导致可引起急性和慢性炎症的促炎细胞因子的释放。由颗粒引起的毒性的临床实例包括痛风性关节炎, 其中 5-20 微米的尿酸盐晶体可导致关节炎。参见, 例如 Helliwell P, Use of an objective measure of articular stiffness to record changes in finger joints after intra-articular injection of corticosteroid, *Ann Rheum Dis* 1997; 56:71-73(关节内皮质类固醇注射可能导致晶体滑膜炎)。

[0016] 因此, 已知巨噬细胞在吞噬导致炎性应答的尿酸盐晶体时会受到损伤。值得注意的是, 用降低巨噬细胞活性的药物例如秋水仙碱治疗的患者, 其关节炎有显著的改善。对巨噬细胞有损伤的形状不规则的较大晶体在关节沉积的另一临床实例为假性痛风。此处, 关节炎是由于脱水焦磷酸钙在患有甲状旁腺功能亢进的患者体内沉积造成的。与注入药物颗粒相关的关节炎的一个实例为晶体引发的滑膜炎, 其中 1-2% 的关节内注射过 Lederspan、Kenalog 或其它皮质类固醇储库制剂(depot formulation)的患者在注射之后关节炎会加重(McCarty D., et al., Inflammatory reaction after intrasynovial injection of microcrystalline adrenocorticosteroid esters, *Arthritis and Rheumatism*, 7(4);359-367(1964))(关节内注射皮质类固醇可能引起无菌性炎症, 也称为注射后红肿(post-injection flare))。也可参见 Selvi E. et al., *Arthritis induced by corticosteroid crystals*, *J Rheumatology* 2004;31:3(关节内注射 4 mg 丙酮羧去炎松己酸酯(triamcinolone hexaacetonide)治疗的骨关节炎患者由于注射了去炎松晶体而引发了急性关节炎)。这些制剂中的颗粒平均超过 10 微米并具有不规则形状, 与痛风或假性痛风患者关节中的尿酸盐晶体很相似。

[0017] 商品名为 **Kenalog®** (Bristol-Myers-Squibb, Princeton N.J.) 的去炎松药物组合物已用于通过肌肉或关节内(囊内使用)给药来治疗多种病症。每毫升(ml) **Kenalog®** 40 组合物含 40 毫克(mg) 去炎松羧丙酮、氯化钠(张度剂)、10mg (0.99%) 苄醇(防腐剂)、7.5mg (0.75%) 羧甲基纤维素钠和 0.4mg (0.04%) 聚山梨酯 80 (再悬浮助剂)。防腐剂苄醇和/或聚山梨酯 80 可能对某些敏感组织具有潜在的毒性。因此, 含防腐剂的皮质类固醇制剂与硬膜外注射之后加重患者背部疼痛的粘连性蛛网膜炎的情况有关。参见, 例如 Hurst, E. W., Adhesive Arachnoiditis and Vascular Blockage caused by Detergents and Other Chemical Irritants: an Experimental Study. *J. Path. Bact.*, 1955. 70: p. 167; DeLand, F. H., Intrathecal toxicity studies with benzyl alcohol.

Toxicol Appl Pharmacol, 1973. 25 (2) :p. 153 ;以及 Hetherington, N. J. and M. J. Dooley, Potential for patient harm from intrathecal administration of preserved solutions. Med J Aust, 2000. 173 (3) :p. 141。

[0018] 值得注意的是, **Kenalog®** 中的去炎松羧丙酮会与制剂中其它组分快速分离并沉淀出来。例如, 如果将 **Kenalog®** 放置短至约 5 至 10 分钟, 就会发生去炎松羧丙酮沉淀与制剂中其它组分的显著分离。遗憾的是, 去炎松的这种快速沉降在其它已知的基于盐水的去炎松悬浮液 (含有或不含防腐剂和稳定剂) 中也会发生。在以悬浮液给药时, 基本均一的悬浮液 (其不是以 Kenalog 或其它基于盐水的去炎松悬浮液提供的) 对于提供稳定而准确的剂量将是有利的。此外, 再悬浮处理需要使用上述再悬浮助剂, 其可能影响敏感组织。

[0019] 此外, 给予皮质类固醇例如去炎松的已知制剂时会产生变应性或炎性反应, 这可能是由于去炎松从该已知制剂中释放时的高释放速率或突释速率所致。如上所述, 该反应也可能是由所给予的尺寸大及形状不规则的不溶性皮质类固醇颗粒引起或加剧。

[0020] 多年来, 已开发出了对需要药物治疗的哺乳动物递送治疗性药物的方法。理想的是, 可生物降解的载体是生物相容性的, 从而可实现目标溶质或药物的按需释放。目标溶质的按需释放常为持续释放。因此, 需要一种新的生物相容多糖凝胶组合物, 其可提供目标溶质例如药物的持续递送; 还需要可进行外周给药以治疗外周病状的制剂, 其不会具有下述不利特性: 制剂中存在有毒的防腐剂或表面活性剂、大部分或全部活性剂快速释放, 此外, 该制剂中的活性剂在外周给药位点会具有较长的停留时间, 并且该制剂可包括非免疫原性制剂或低免疫原性制剂。

发明内容

[0021] 上述以及其它目的通过本发明的组合物及方法得以实现, 本发明的一个宽泛方面提供了新的生物相容多糖凝胶组合物以及实现目标溶质或药物的持续递送的相关方法。根据本发明的范围及教导, 通过将目标溶质或药物接枝或囊封于多糖基质可形成实现控释的生物相容多糖凝胶组合物。将至少一种目标溶质例如药物接枝至一种多糖例如透明质酸, 可通过将所述的至少一种目标溶质或药物与所述多糖共价连接来实现。在一个宽泛方面, 至少一种目标溶质和多糖之间的共价连接可通过利用位于多糖例如透明质酸上的一个或多个羟基和 / 或羧基进行。所形成的共价键比现有技术的方法中连接药物与透明质酸的非共价键相互作用更强。但所述强的共价键可以断裂, 从而将至少一种目标溶质释放至患者体内。键可通过切断共价键的反应而断裂, 例如水解反应。

[0022] 共价键的形成及后来的断裂显著改善了所需释放特性, 并获得了出色的持续释放。任何具有可共价连接的合适的官能团的目标溶质均可用来与多糖基质键合。可使用形成键的反应例如酸-碱化学反应。本领域技术人员知晓将至少一种目标溶质与多糖例如具有连接所需官能团的透明质酸进行共价连接的反应和反应条件。

[0023] 本发明组合物中所使用的优选的透明质酸 (“HA”) 具有下述特征。首先, 该 HA 粘度高, 但也具有高切变率, 意味着其具有可通过 25-30 规格针的灌注性质。其次, HA 是多种哺乳动物组织胞外基质的天然组分, 因此提供了一种生物相容的粘性诱导组分。第三, 该 HA 是一种组织粘附剂, 以至于当 HA 被注入组织例如肌肉中时, HA 在面部平面的扩散和迁移作用被最小化。参见, 例如 Cohen et al. Biophys J. 2003 ;85 :1996-2005。粘附性差的聚合

物例如硅酮可穿越组织进行迁移。参见,例如Capozzi et al. *Plast Reconstr Surg.* 1978 ; 62 :302-3。含 HA 的制剂的组织粘附以及因此而产生的低组织迁移特性使得制剂可大部分保持在注射位置处。因此,皮质类固醇-HA 制剂将具有扩散出外周区域 -- 例如关节内区域 -- 的程度低的有利特征(即,治疗小面关节关节炎)。此外,肉毒毒素-HA 制剂也将具有扩散出外周区域 -- 例如肌内区域 -- 的程度低的有利特征(即,进入小的轮匝肌肌肉以治疗偏侧面肌痉挛)。因此,在制剂中使用 HA 能够限制药物以生物学方式暴露于周围或者邻近的非目标组织中,从而限制副作用(在近眼部的肉毒毒素给药时)例如上睑下垂或视力缺陷。

[0024] 第三,为了使药物从载体释放或使活性剂(即,类固醇晶体)溶解,需要与水接触。所使用的优选的 HA 通过被水合(吸水)的能力来提供与水的接触。

[0025] 第四,所使用的 HA 是可交联至不同程度的聚合物,从而使得可改变特性,例如外周给药位置处 HA 迁移的速率、活性剂扩散及迁移出 HA 载体的速率。

[0026] 一种可共价连接至多糖例如透明质酸,并以生物相容多糖凝胶组合物形式递送至患者的具体药物是去炎松羧丙酮。在一个实施方案中,本发明凝胶组合物中的去炎松颗粒通过粘性诱导组分 -- 透明质酸或聚合的透明质多糖 -- 基本均匀地悬浮。

[0027] 本发明一般还涉及一种通过将至少一种目标溶质例如药物囊封于多糖凝胶的多孔网络中来生产生物相容多糖凝胶组合物的方法。根据本发明的范围和教导,所述囊封过程是将待递送的药物与可交联或不可交联的多糖例如透明质酸相联的另一种有用方式。

[0028] 本发明的另一方面涉及通过给予治疗有效量的如本文所述的生物相容组合物来治疗疾病或病症的方法。多种病症可通过本发明的方法治疗,包括但不限于,眼部病症、骨关节炎、神经根病、脊椎炎和椎关节强硬。根据一个实施方案,所述组合物可由某一位置 -- 例如外周位置 -- 注入患者体内。

[0029] 根据一个实施方案,至少一种目标溶质例如去炎松羧丙酮的释放速率可以通过调节多糖基质的孔隙率来控制。所述调节步骤包括,但不限于,改变多糖的浓度、交联程度、分子量分布或交联剂。所述参数可单独调节,也可一起调节。此外,影响交联过程中多糖基质的孔隙率的反应条件可以进行调节,以获得不同的释放速率或所需的释放速率。

[0030] 本发明还涉及包含所述新的生物相容多糖凝胶制剂和药用载体的药物组合物。

[0031] 本文所公开的本发明组合物的优点和特征通过参阅详细说明和随附的权利要求而更清楚。

具体实施方式

[0032] 本发明的一个实施方案涉及一种生产具有持续释放性质的生物相容多糖凝胶组合物的方法,包括通过至少一种目标溶质与一种多糖的共价连接,将所述至少一种目标溶质接枝至所述多糖上。共价连接为一种化学键合形式,其特征是原子间、或者原子和其它共价键之间共享成对电子。简言之,已知共价键合时会在共享电子的原子间形成吸引-排斥稳定性。

[0033] 共价键合包括多种相互作用,包括 σ -键合、 π -键合、金属-金属键合、agostic 作用,以及三中心两电子键。术语共价键起源于 1939 年。前缀共-意指共同、作用相关、配伍程度更低等;因此“共价键”主要指原子共享“价”,例如价键理论中所论述的。在分子 H_2

中,两个氢原子通过共价键合而共享两个电子。在相似电负性的原子间共价性是最大的。因此,共价键合不一定要求两个原子为相同的元素,而只要它们具有相当的电负性即可。由于共价键合必须共享电子,因此需离域化。此外,与静电作用相比(“离子键”),共价键的强度取决于多原子分子内原子间的角度关系。

[0034] 在本发明中接枝通过共价连接实现。目标溶质可通过用于这种连接的反应而被接枝至多糖网络中。所述反应可以是基于酸碱化学的反应,通过官能团例如羟基和羧基进行。敏感的键包括多糖(例如透明质酸二糖)的羟基和/或羧基。在一个实施方案中,这些键的断裂使得可有利地控制及持续释放至少一种目标溶质。

[0035] 多糖例如透明质酸为聚合物,并具有可用于所述连接的羟基和羧基官能团。至少一种目标溶质或药物的共价连接,例如可通过这些基团和至少一种目标溶质例如去炎松羧丙酮上的敏感官能团的酸/碱反应来完成。

[0036] 可用于实现共价连接的反应的一个实例是缩合。缩合反应为两个分子或部分(官能团)结合而形成分子,同时失去一个小分子的化学反应。当该小分子为水时,缩合反应被称为脱水反应;其它可能失去的小分子有氯化氢、甲醇或乙酸。当两个独立的分子反应时,称该缩合反应为分子间缩合反应。一个简单的实例为两个氨基酸缩合形成蛋白质所特有的肽键。该反应实例与水解是相对的,水解反应是通过极性水分子的作用来将一个化学实体分割为两个部分,水分子本身分割为氢氧根离子和氢离子。如果结合是在同一分子内的原子或基团之间发生,则称该反应为分子内缩合反应,在许多情况下会形成环。一个实例是 Dieckmann 缩合反应,其中单个二酯分子的两个酯官能团彼此反应,失去一个小的醇分子,形成一个 β -酮酸酯产物。

[0037] 在分子化学中,可发生一系列的缩合反应,从而使单体或单体链增加至彼此上而形成更长的链。这可被称为“缩聚”或“逐步增长聚合”。其以 A-B 单体均聚或两种共聚单体 A-A 和 B-B 聚合的形式发生。通常释放出小分子缩合物,这与加聚反应不同,在加聚反应中不释放小分子。按照 Carothers 方程,需要高转化率来获得高分子量。通常,缩聚物形成较加聚物更慢,常常需要加热。缩聚物的分子量通常也更低。单体在反应早期被消耗;末端官能团在整个反应过程中保持活性并且短链结合而形成更长的链。双官能的单体会形成直连(因而是热塑性聚合物),但当单体的官能团超过两个时,产物为热固性聚合物。

[0038] 例如缩合等反应的使用,在本发明将至少一个目标溶质例如去炎松羧丙酮共价连接至多糖例如透明质酸的教导和范围内。去炎松羧丙酮是一种合成的具有抗炎作用的糖皮质激素皮质类固醇,化学名为 9-氟-11,21-二羟基-16,17-[1-甲基乙叉双(氧)]孕甾-1,4-二烯-3,20-二酮。通常通过玻璃体腔注射递送,去炎松羧丙酮的眼部适应症包括交感性眼炎、颞动脉炎、葡萄膜炎,及对局部皮质类固醇不响应的眼炎性病症。这些均为可能导致视力丧失的炎性病症。

[0039] 其它皮质类固醇也可用作至少一种目标溶质。可用的皮质类固醇的实例包括,但不限于,可的松、泼尼松龙、去炎松、去炎松羧丙酮、氟甲龙、地塞米松、甲羟松、氯替泼诺,其衍生物及其混合物。本文中使用的术语“衍生物”指如下的任何物质:该物质与被识别作为其衍生物的材料在结构上十分相似,以至于当使用该物质替代所述材料时,具有与所述材料基本相似的功能或活性,例如治疗效果。

[0040] 至少一种目标溶质可共价连接至一种多糖例如透明质酸或透明质多糖,如上所

述。使用其它具有必需的官能团以将至少一种目标溶质例如药物与其共价连接的多糖也在本发明的教导和范围内。这些包括但不限于硫酸葡聚糖、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、壳聚糖、硫酸角蛋白、肝素、硫酸肝素和藻酸盐。

[0041] 所使用的多糖,例如透明质酸盐,可以是交联的或非交联的。交联可进行至不同程度,从而使得可改变特征例如外周给药位置的 HA 迁移率、活性剂扩散及迁移出 HA 载体的速率。交联程度较高的透明质酸将在目标区域停留较长的时间。此外,尽管去炎松羧丙酮(**Trivaris®**)中的聚合透明质多糖优选为非交联的透明质酸盐(以便在对用于给予**Trivaris®**的注射器活塞施加力时,能够获得高切变率,从而相对容易通过 27-33 规格针头注射**Trivaris®**),但透明质酸盐也可以是具有明显较低粘度(即,在约 25℃,约 0.1/秒的切变率时,具有约 5,000cp 的粘度)的交联的透明质酸盐(以形成真水凝胶)。这种交联的透明质酸盐可具有相同或类似优异的**Trivaris®**皮质类固醇悬浮性,并且具有透明质酸盐在外周区域中滞留时间更长(即,以更慢的速率生物降解)的额外优点,同时,由于该交联透明质酸盐聚合基质中的皮质类固醇颗粒在外周滞留的时间更长,导致该交联的透明质酸盐制剂在外周区域的标称免疫原性延长。交联及非交联的透明质多糖也可以不同比例掺杂,以优化灌注性质,同时减缓生物降解并促进在炎性组织中的长期滞留,例如在治疗骨关节炎时。此外,除交联的透明质酸盐外,也可使用其它交联的聚合物,例如聚卡波非。

[0042] 通过将至少一种目标溶质与透明质酸连接可使至少一种目标溶质得以持续释放。HA 可包围嵌入在其基质内的至少一种目标溶质。如文中所述,本发明的将至少一种目标溶质与一种多糖例如透明质酸的新的共价连接引入了另一个控制参数。所形成的共价键可通过反应例如水解而断裂。共价键的断裂释放目标溶质,使得目标溶质可以在患者机体内发挥所需的药学功能。

[0043] 水解是一种化合物通过与水的反应而被破坏的化学反应或过程。这是一种用于破坏聚合物的反应。在该反应中要加入水。在有机化学中,水解可被认为是与缩合相反或相对的反应,在缩合反应中每产生一个水分子会将两个分子片段相结合。由于水解可以是可逆反应,因而缩合和水解可以同时进行,平衡位置决定了各种产物的量。

[0044] 在涉及使酯键断裂的水解反应中,一种水解产物含有羟基官能团,而另一种产物含有羧酸官能团。氢氧根离子(或水分子,其快速地去质子化)进攻羰基。形成的四面体中间体分解。烷氧化物片段从碳四面体脱落并通过质子化而成为醇,留下酰基片段以及进攻的羟基而形成羧酸。这是酯化反应的逆反应,又形成原来的醇和羧酸。在碱性溶液中,所述羧酸去质子化,使得碱性水解不可逆,而酸性水解则不然。

[0045] 有两种主要的水解酯的方法,碱性水解及酸催化。酸催化水解中,使用一种稀酸来质子化羰基以使其活化而被水分子亲核进攻。但更常用的酯水解方法是用碱例如 NaOH 或 KOH 的水溶液使酯回流。一旦反应完成,即将羧酸盐酸化而释放出游离羧酸。

[0046] 此外,可接枝至少一种目标溶质的多糖为交联的或非交联的。多糖的交联例如可通过酸碱化学反应来完成。用于使多糖例如透明质酸交联的交联试剂包括 1,4 丁二醇二缩水甘油醚或二乙烯基砜。对于本发明所公开的制备生物相容多糖凝胶的方法,所述多糖可包括例如,但不限于,透明质酸、硫酸葡聚糖、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、壳聚糖、硫酸角蛋白、肝素、硫酸肝素,以及藻酸盐。

[0047] 与所述多糖接枝的至少一种目标溶质可为例如一种药物。所述药物可为,但不限

于,去炎松羧丙酮。药物,广义地讲,为下述任何化学物质:当其被吸收到活的生物活体体内时,可改变正常机体功能。其作为一种用于治疗、治愈、预防或诊断疾病,或者用于促进身体或精神健康的化学物质。

[0048] 本文中所述的持续释放包括缓慢溶出的延时释放(ER、XR或XL)、定时缓释、控释(CR)或连续释放(CR)的制剂。持续释放制剂随时间而释放至少一种目标溶质或药物。持续释放制剂的优点是,其与同一药物的速释制剂相比,常常可减少给予的频次,并且可保持血液中更稳定的药物水平。持续释放制剂被制成使活性成分嵌入不溶物(各种各样的:有些为丙烯酸树脂,甚至为几丁质)基质中的形式,从而使溶解的药物必须通过基质内的孔洞释出。在一些持续释放制剂中,基质物理性溶胀直至形成凝胶,从而使药物首先必须溶解在基质中,然后穿过外层表面而离开。

[0049] 控释与持续释放之间的差异在于,控释为最佳的零级释放,即药物随时间释放而与浓度无关。另一方面,持续释放隐含了药物在一段时间内的缓慢释放。其可以是控释,也可以不是控释。

[0050] 本发明的另一方面涉及生产生物相容多糖凝胶组合物的方法,包括将至少一种目标溶质囊封至多糖凝胶的多孔网络中。多孔网络可能与多糖有关。如果多糖为一种通过糖苷键将许多单糖结合在一起形成的聚合物,则其可能具有用于囊封目标溶质的空隙。多糖的多孔网络使得囊封于该多糖内的至少一种目标溶质可持续释放。例如,至少一种目标溶质,如去炎松羧丙酮,可被囊封于透明质酸颗粒中。持续释放可通过所述至少一种目标溶质通过所多孔网络行进来实现。

[0051] 对于该包括将至少一种目标溶质囊封于多糖凝胶的多孔网络中的制造生物相容多糖凝胶组合物的方法而言,所述多糖可以是例如,但不限于,透明质酸、硫酸葡聚糖、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、壳聚糖、硫酸角蛋白、肝素、硫酸肝素和藻酸盐。此外,在本文中,将至少一种目标溶质囊封于其中的多糖可以是交联的或不交联的。存在用于交联多糖例如透明质酸的交联试剂。所述交联试剂包括例如1,4丁二醇二缩水甘油醚或二乙烯基砒。

[0052] 此外,适合囊封于多糖内的药物可以是,但不限于,去炎松羧丙酮。本发明的另一方面涉及一种具有持续释放性质的生物相容多糖凝胶组合物,所述组合物包含至少一种目标溶质,所述至少一种目标溶质通过与一种多糖的共价连接而接枝至所述多糖。这也适用于相关的用于制造本发明的生物相容多糖凝胶组合物的方法,所使用的多糖可以是交联的或不交联的。此外,所使用的多糖可选自透明质酸、硫酸葡聚糖、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、壳聚糖、硫酸角蛋白、肝素、硫酸肝素和藻酸盐。一个优选的实施方案是使用透明质酸。所述至少一种目标溶质可以是药物,例如去炎松羧丙酮。

[0053] 或者,根据本发明的教导和范围,一种优选的生物相容组合物为具有持续释放性质的生物相容透明质酸凝胶组合物,所述组合物包含去炎松羧丙酮,所述去炎松羧丙酮通过与透明质酸的共价连接而接枝至所述透明质酸。对于由包括将至少一种目标溶质囊封于一种多糖凝胶的多孔网络中的方法所制得的生物相容凝胶组合物而言,所述多糖可以是,例如:透明质酸、硫酸葡聚糖、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、壳聚糖、硫酸角蛋白、肝素、硫酸肝素和藻酸盐。接枝至所述多糖的所述至少一种目标溶质可以是例如药物。本文中药物指的是用于治疗、治愈、预防或诊断疾病,或者用于促进身体或精神健康的化学物质。所述药物可以是,但不限于,去炎松羧丙酮。

[0054] 本发明的另一方面涉及一种治疗疾病或病症的方法,包括给予治疗有效量的本发明的生物相容多糖凝胶组合物制剂。疾病或病症的实例为眼部病症,例如可用**Trivaris®**治疗的炎性眼部病症。在本发明的教导和范围内的其它眼部病症的实例包括交感性眼炎、颞动脉炎以及葡萄膜炎。

[0055] 本发明范围和教导内有可能进行治疗的视网膜疾病包括干型及湿型老年性黄斑变性 (AMD)、糖尿病黄斑水肿,以及视网膜静脉闭塞相关的黄斑水肿。尤其是用于脉络膜新生血管 (CNV) 的活性药物成分包括但不限于抗-VEGF 化合物例如**Avastin®**、**Lucentis®**或其它全长单克隆抗体或抗体片段。其它包括抗-VEGF 适体(例如**Pegaptanib®**)、可溶性重组诱捕受体(例如 VEGF 陷阱)、皮质类固醇、降低 VEGFR 或 VEGF 配体表达的小干扰 RNA、酪氨酸激酶抑制剂的后-VEGFR 阻断、MMP 抑制剂、IGFBP3、SDF-1 阻断剂、PEDF、 γ -分泌酶、 δ 样配体 4、整联蛋白拮抗剂、HIF-1 α 阻断剂、蛋白激酶 CK2 阻断,以及通过使用血管内皮钙粘附素 (CD-144) 和基质衍生因子 (SDF)-1 抗体而寄居于新血管形成位点的干细胞(即内皮祖细胞)抑制。也可使用具有抗 CNV 活性但不一定是抗 VEGF 化合物的试剂,其包括抗炎药物、雷帕霉素、环孢霉素、抗 TNF 剂,以及抗补体剂。抗补体剂对于治疗全部形式的干型 AMD 包括地图状萎缩 (geographic atrophy) 可能也是非常有用的。可使用具有神经保护性并且可潜在减轻干型黄斑变性的发展的药剂,例如称为‘神经类固醇’类的药物。这些包括药物例如脱氢表雄酮 (DHEA) (商标名:**Prastera®**和**Fidelin®**)、硫酸脱氢表雄酮以及硫酸孕烯醇酮。其它神经保护剂也可使用,例如溴莫尼定及其它 α 激动剂,以及 CNTF。在本发明的教导和范围内,所有这些成分或药物或化合物均可作为一种或多种目标溶质。

[0056] 本文还公开了控制至少一种目标溶质从本发明所公开的生物相容多糖凝胶组合物中释放的速率的方法,包括调节多糖基质的孔隙率的步骤。释放速率可通过改变某些参数调整位阻效应来调节凝胶基质的孔隙率进而进行调整。所述参数包括多糖(例如透明质酸)浓度、交联度、交联剂化学、原料多糖(例如透明质酸)的分子量分布,以及在交联过程中对多糖凝胶基质的总的孔隙率有直接影响的反应条件。例如,在本发明的凝胶组合物中使用或使其含有足够浓度的高分子量透明质酸钠可形成用于给药的粘性凝胶塞。

[0057] 本发明的另一方面涉及包含本发明的生物相容多糖凝胶制剂和一种药物载体的药物组合物。所述药物组合物任选可包含一种或多种试剂例如,但不限于,乳化剂、润湿剂、甜味剂或矫味剂、张度调节剂、防腐剂、缓冲剂或抗氧化剂。可用于本发明的药物组合物中的张度调节剂包括,但不限于,盐类例如乙酸钠、氯化钠、氯化钾,甘露醇或甘油,以及其它药学上可接受的张度调节剂。可用于本发明的药物组合物中的防腐剂包括,但不限于,苯扎氯铵、氯代丁醇、硫柳汞、苯乙酸汞和苯硝酸汞。多种调节 pH 的缓冲剂及手段都可用于制备药物组合物,包括但不限于,乙酸盐缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液和硼酸盐缓冲液。同样,可用于药物组合物中的抗氧化剂是本领域已知的,包括例如偏亚硫酸氢钠、硫代硫酸钠、乙酰半胱氨酸、丁化苯甲醚以及丁化羟基甲苯。应理解的是,这些以及药物领域中已知的其它物质均可包含于本发明的药物组合物中。参见例如, Remington's Pharmaceutical Sciences Mac Publishing Company, Easton, PA 16th Edition 1980。

[0058] 本文中使用的“载体”、“惰性载体”以及“可接受的载体”可相互交换使用,其指代可与本发明所公开的多糖凝胶结合使用以提供所需的组合物的载体。本领域普通技

术人员可认识到多种熟知的用于制备具体医疗药物组合物的载体。

[0059] 本发明组合物可包含一种或多种其它组分,其量足以为本发明组合物有效提供一种或多种有用性质和/或益处。例如,尽管本发明组合物可以基本不含添加的防腐组分,但在另一些实施方案中,本发明组合物包含有效量的防腐组分,优选所述组分与苜醇相比,与放置有本发明组合物的组织有更好的相容性或对其更友好。所述防腐组分的实例包括,但不限于,苯扎氯铵、氯己定、PHMB(聚六亚甲基双胍)、对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸乙酯、海克替啶(hexetidine)、亚氯酸盐成分例如稳定的二氧化氯,金属亚氯酸盐等,其它眼用防腐剂类等,以及它们的混合物。本发明组合物中如果存在防腐剂成分,则其浓度为可有效保存所述组合物的浓度,并且常在组合物的约0.00001%至约0.05%或约0.1%(w/v)范围内。

[0060] 此外,本发明组合物可包含有效量的再悬浮成分,以有效促进本发明组合物中皮质类固醇组分颗粒的悬浮或再悬浮。如上所述,在某些实施方案中,本发明组合物不含添加的再悬浮成分。在本发明的另一些实施方案中,使用有效量的再悬浮组分来例如根据需要进行进一步确保使皮质类固醇组分颗粒维持悬浮状态,和/或如果需要再悬浮,可相对容易地使皮质类固醇组分颗粒再悬浮于本发明的组合物中。有利地,如果根据本发明使用所述再悬浮组分,则对其进行选择,使其与聚山梨酯80相比,与放置有本发明组合物的组织有更好的相容性或对其更友好。

[0061] 本发明可使用任何合适的再悬浮组分。所述再悬浮组分的实例包括,但不限于,表面活性剂例如poloxane类,例如以商标名Pluronic.RTM.出售的;泰洛沙泊;肌氨酸盐;聚乙氧基化蓖麻油,其它表面活性剂等,以及它们的混合物。

[0062] 一类极有用的再悬浮组分为选自维生素衍生物的那些再悬浮组分。尽管所述物质之前已被建议用作组合物中的表面活性剂,但发现其在本发明组合物中可有效用作再悬浮组分。可用的维生素衍生物的实例包括,但不限于,维生素E生育酚聚乙二醇琥珀酸酯类,例如维生素E生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯(Vitamin E TPGS)。其它可用的维生素衍生物包括,同样并不限于,其中聚乙二醇和琥珀酸之间的酯键被酰胺基团替代的维生素E生育酚聚乙二醇琥珀酰胺,例如维生素E生育酚聚乙二醇1000琥珀酰胺(Vitamin E TPGSA)。

[0063] 本发明可用的再悬浮组分在本发明的组合物中如果存在,则以有效促进颗粒在本发明组合物中的悬浮——例如在所述组合物的制备过程中或其后——的量存在。所使用的再悬浮组分的具体量可在一个宽范围内变化,其取决于例如所使用的特定再悬浮组分、使用了再悬浮组分的特定组合物等因素。本发明组合物中如果存在所述再悬浮组分,则其合适浓度常在所述组合物的约0.01%至约5%范围内,例如约0.02%或约0.05%至约1.0%(w/v)。

[0064] 除非另有指出,在说明书及权利要求书中使用的表示成分数量、性质例如分子量、反应条件等的所有数值,应理解为在所有情形中都以词语“约”进行修饰。因而,除非另外指出不同,否则说明书及所附权利要求书中所提到的数值参数均为约数,其可随本发明想要获得的所需性质而变。至少,并且不试图限制将等同原则用于解释权利要求的范围,每个数值参数至少应根据所报道的有意义的数字的值,并应用常规的近似方法来理解。尽管陈述本发明的宽泛范围的数值范围和参数为约数,但对具体实施例中所提到的数值作尽可能精确的报道。但是,任何数值都固然包含一定的由它们各自的测试过程所存在的标准偏差

而必然导致的误差。

[0065] 在描述本发明时（尤其是在所附的权利要求书上下文中）使用的词语“一”、“一个”、“该”以及类似的指代对象，应理解为包括单个和多个，除非文中另有指出，或与上下文意思明显相悖。文中引述值的范围仅意在作为一种对落在所述范围内的每个单独值逐个提及的简便方法。除非文中另有指出，每个单独值均被纳入说明书中，如同逐个引述一般。文中所述的所有方法可以任何合适的顺序实施，除非文中另有指出或与上下文意思明显相悖。文中使用的任何及所有实例，或示例性语言（如，“例如”）仅意在更好地阐明本发明，并不对本发明所要求保护的范围进行限制。说明书中任何语言均不应被理解为表示对于实施本发明所必需但不要求保护的要素。

[0066] 文中所公开的发明的可选择要素或实施方案的分组不应被理解为限制性的。每个组内要素可单个被提及和被主张，或者以与该组内的其它要素或文中出现的其它要素的任意组合的形式被提及和被主张。可以预见，出于简便和 / 或可专利性的原因，一个或多个要素可被囊括于组内，或自组内删除。当出现任何这类囊括或删除时，说明书应被认为包含所修改的组，从而满足随附权利要求书中使用的所有马库什组的书面说明。

[0067] 本发明的某些实施方案在文中作了描述，包括发明人已知的实施本发明的最佳方式。当然，所述实施方案的变型对本领域技术人员而言，在其阅读前面的说明后将会变得很清楚。发明人预期本领域技术人员可以适当地使用所述变型，并且发明人也想使发明以与文中所具体描述的不同的方式来实施。因此，本发明包括所附权利要求中记载的主题的所有变化及等同形式，正如适用的法律所许可的。此外，上述要素在其所有可能的变型中的任意组合均涵盖于本发明之内，除非文中另有指出或与上下文含义明显相悖。

[0068] 此外，说明书通篇提到了多篇专利及出版物文献。上述文献及出版物中的每一篇的全文均通过引证的方式纳入本说明书。

[0069] 最后，应理解的是，文中所公开的发明的实施方案是示例说明本发明的原理。可使用的其它变化方案也在本发明的范围内。因此，例如，但不限于，可根据本文教导使用本发明的替代构型。因而，本发明不限于具体示出及描述的方案。