

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02813061.8

[51] Int. Cl.

A61K 47/12 (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)
A61P 5/06 (2006.01)
A61P 15/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 1 月 3 日

[11] 授权公告号 CN 1292796C

[22] 申请日 2002.6.28 [21] 申请号 02813061.8

[30] 优先权

[32] 2001.6.29 [33] JP [31] 199484/2001

[32] 2001.11.6 [33] JP [31] 340993/2001

[86] 国际申请 PCT/JP2002/006527 2002.6.28

[87] 国际公布 WO2003/002092 英 2003.1.9

[85] 进入国家阶段日期 2003.12.29

[73] 专利权人 武田药品工业株式会社

地址 日本大阪府

[72] 发明人 山本一路 山田明子 畑善夫

[56] 参考文献

WO0105380A 2001.1.2 A61K9/52

审查员 王志超

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 张平元 赵仁临

权利要求书 2 页 说明书 36 页

[54] 发明名称

控释组合物及其制备方法

[57] 摘要

本发明提供了一种控释组合物，该组合物包含高含量的生理活性物质，可抑制活性物质的初始过度释放，实现长期的稳定释放速率。控释组合物包含(1)生理活性物质或其盐，约占组合物总重的14%(w/w)~约24%(w/w)，(2)羟基萘甲酸，选自3-羟基-2-萘甲酸及1-羟基-2-萘甲酸或其盐，及(3)乳酸聚合物或其盐，其具有15000~50000的重均分子量，其中分子量为5000或更小的聚合物的含量为约5%重量或更小，其中该羟基萘甲酸或其盐与所述生理活性物质或其盐的摩尔比为3:4~4:3。

1. 一种控释组合物，包括生理活性物质或其盐，及具有 15000~50000 的重均分子量的乳酸聚合物或其盐，其中分子量为 5000 或更小的聚合物的含量为约 5%重量或更小。

2. 权利要求 1 中所述的控释组合物，包括(1)一种生理活性物质或其盐，约占组合物总重的 3%(w/w)~约 24%(w/w)，(2)一种乳酸聚合物或其盐，其具有 15000~50000 的重均分子量，其中分子量为 5000 或更小的聚合物的含量为约 5%重量或更小。

3. 权利要求 1 或 2 所述的控释组合物，其中乳酸聚合物中分子量为 3000 或更小的聚合物的含量为约 1.5%重量或更小。

4. 权利要求 1 或 2 所述的控释组合物，其中乳酸聚合物分子量为 1000 或更小的聚合物的含量为约 0.1%重量或更小。

5. 权利要求 1 或 2 所述的控释组合物，其中乳酸聚合物分子量为 15000~40000。

6. 权利要求 1 或 2 所述的控释组合物，其中乳酸聚合物重均分子量为 17000~26000。

7. 权利要求 1 或 2 所述的控释组合物，其中生理活性物质为具有生理活性的肽。

8. 权利要求 7 所述的控释组合物，其中生理活性物质为 LH-RH 衍生物。

9. 权利要求 8 所述的控释组合物，其中 LH-RH 衍生物为下式所示的肽：

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z

[其中，Y 表示 DLeu、DAla、DTrp、DSer(tBu)、D2Nal 或 DHis(ImBzl)，且 Z 表示 NH-C₂H₅ 或 Gly-NH₂]，或其盐。

10. 权利要求 8 所述的控释组合物，其中 LH-RH 衍生物或其盐占控释组合物总重的 3%(w/w)~24%(w/w)。

11. 权利要求 1 或 2 所述的控释组合物，其为用于注射的组合物。

12. 一种制备权利要求 1 所述的控释组合物的方法，包括自生理活性物质或其盐及乳酸聚合物或其盐的混合溶液中除去溶剂，该乳酸聚合物或其盐具有 15000~50000 的重均分子量，其中分子量为 5000 或更小的聚合物的含量约 5%重量或更小。

13. 一种包含权利要求 1 或 2 所述的控释组合物的药物。

14. 一种预防或治疗前列腺癌、前列腺肥大、子宫内膜异位、子宫肌瘤、子宫纤维瘤、性早熟、痛经或乳腺癌的药物或避孕药物，包括权利要求8所述的控释组合物。

15. 一种预防绝经前乳腺癌术后乳腺癌复发的药物，包括权利要求8所述的控释组合物。

控释组合物及其制备方法

技术领域

本发明涉及一种生理活性物质的控释组合物及其制备方法，及其作为药物的用途等。

背景技术

具有控释特性的生物可降解聚合物可用作诸如微囊等的基质(base)材料，用以包含生理活性物质。已知可用的生物可降解聚合物包括聚乳酸、乳酸及甘醇酸共聚物等(JP-A No.11-269094 等)。

目前使用的生物可降解聚合物以传统合成方法制备、原形使用的聚合物，然而，发现这些聚合物自身由于末端羧基含量低无法用作控释的基质材料。因而，在用作控释制剂的基质材料之前，研究了将上述较高分子量的生物可降解聚合物水解以将其重均分子量控制在合适水平。

然而，以水解或水洗得到的聚合物易致生理活性物质的初始崩解，即使其重均分子量及末端羧基含量合适，也不适于用作基质控释材料。因而有必要改进目前这种状况。

JP-A No.7-97334 公开了一种控释制剂，及其制备方法，该制剂由具有生理活性的肽或其盐及包含末端游离羧基的生物可降解聚合物组成。

GB2209937、GB2234169、GB2234896、GB2257909 及 EP626170A2 公开了一种组合物及其制备方法，该组合物包含一种用作基质材料的生物可降解聚合物，包含一种水溶性盐，例如分别制备的肽及蛋白的 pamoates。

W095/15767 公开了一种西曲瑞克(LH-RH 拮抗剂)的 embonate(pamoate)及其制备方法，并同时描述，即使该 pamoate 包封在生物可降解聚合物中，该肽的释放性质与单用 pamoate 相同。

发明目的

本发明的目的是提供一种新颖组合物，该组合物包含大量的生理活性物质，并通过抑制可药用物质的初始过度释放实现长期的稳定释放速度，及其

制备方法。

发明概述

为解决上述难题，本发明的发明人通过深入研究，最终成功地制备一种乳酸聚合物或其盐，通过降低生物可降解聚合物中较低分子量的乳酸聚合物的含量，特别是重均分子量为 5000 或更小的聚合物的含量，不易导致物质的初始过度释放，并且发现，包含该乳酸聚合物或其盐的控释制剂可以意想不到的含量包括生理活性物质，并且通过抑制活性物质的初始过度释放，实现长期的稳定释放速度。

本发明的发明人进一步发现，组合物若包含大量生理活性物质，通过将生理活性物质与羟基萘甲酸共存形成组合物，然后将两者以乳酸聚合物或其盐包被，则，生理活性物质的释放速率与其在不含乳酸聚合物或其盐情况下自仅由其与羟基萘甲酸的组合物中释放的速率不同，其释放速度由生物可降解聚合物的性质以及羟基萘甲酸的加入量控制，即使以高含量存在时，初始释放速率也可被有效抑制，并实现长期的缓释。

基于该认识，本发明的发明人进一步研究并最终完成了本发明。

即，本发明提供了

(1). 一种控释组合物，包括(1)一种生理活性物质或其盐，约占组合物总重的 14%(w/w)~约 24%(w/w)，(2)选自 3-羟基-2-萘甲酸及 1-羟基-2-萘甲酸或其盐的羟基萘甲酸，及(3)一种乳酸聚合物或其盐，具有 15000~50000 的重均分子量，其中分子量为 5000 或更小的聚合物的含量为约 5%重量或更小，其中该羟基萘甲酸或其盐与生理活性物质或其盐的摩尔比为 3:4~4:3，

(2). 根据(1)中所述的控释组合物，其中乳酸聚合物的重均分子量为 15000~30000，

(3). 根据(1)中所述的控释组合物，其中生理活性物质为 LH-RH 衍生物，

4). 根据(3)中所述的控释组合物，其中 LH-RH 衍生物为下式所示的肽：
5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z
[其中，Y 表示 Dleu、Dala、DTrp、DSer(tBu)、D2Nal 或 DHis(ImBzl)，且 Z 表示 NH-C₂H₅ 或 Gly-NH₂]，或其盐，

(5). 根据(1)中所述的控释组合物，其中生理活性物质或其盐为下式所示的 LH-RH 衍生物：

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-NH-C₂H₅,
或其乙酸盐, 且羟基萘甲酸为 3-羟基-2-萘甲酸或 1-羟基-2-萘甲酸,

(6). 一种包括(1)中所述的控释组合物的药物,

(7). 一种预防或治疗前列腺癌、前列腺肥大、子宫内膜异位、子宫肌瘤、子宫纤维瘤、性早熟、痛经或乳腺癌的药物或一种避孕药物, 包括(3)中所述的控释组合物,

(8). 一种预防绝经前乳腺癌术后乳腺癌复发的药物, 包括(3)中所述的缓释组合物,

(9). 一种预防或治疗前列腺癌、前列腺肥大、子宫内膜异位、子宫肌瘤、性早熟、痛经、乳腺癌的方法或避孕的方法, 包括对哺乳动物施用有效量的(3)中所述的控释组合物,

(10). 一种预防绝经前乳腺癌术后乳腺癌复发的方法, 包括对哺乳动物施用有效量的(3)中所述的缓释组合物,

(11). 一种控释组合物, 包括生理活性物质或其盐, 及具有 15000~50000 的重均分子量的乳酸聚合物或其盐, 其中分子量为 5000 或更小的聚合物的含量为约 5%重量或更小,

(12). 一种控释组合物, 包括生理活性物质或其盐, 及羟基萘甲酸或其盐, 其具有 15000~50000 的重均分子量, 其中分子量为 5000 或更小的聚合物的含量为约 5%重量或更小,

(13). 根据(11)中所述的控释组合物, 包括(1)一种生理活性物质或其盐, 约占组合物总重的 3%(w/w)~约 24%(w/w), 以及(2)一种乳酸聚合物或其盐, 其具有 15000~50000 的重均分子量, 其中分子量为 5000 或更小的聚合物的含量为约 5%重量或更小,

(14). 根据(11)~(13)中任何一项所述的控释组合物, 其中乳酸聚合物中分子量为 3000 或更小的聚合物的含量为约 1.5%重量或更小,

(15). 根据(11)~(13)中任何一项所述的控释组合物, 其中乳酸聚合物中分子量为 1000 或更小的聚合物的含量为约 0.1%或更小,

(16). 根据(11)~(15)中任何一项所述的控释组合物, 其中乳酸聚合物重均分子量为 15000~40000,

(17). 根据(11)~(15)中任何一项所述的控释组合物, 其中乳酸聚合物重均分子量为 17000~26000,

- (18). 根据(12)中所述的控释组合物,其中羧基萘甲酸为 3-羧基-2-萘甲酸或 1-羧基-2-萘甲酸,
- (19). 根据(11)或(13)中所述的控释组合物,其中生理活性物质为具有生理活性的肽,
- (20). 根据(12)中所述的控释组合物,其中生理活性物质为具有生理活性的肽,
- (21). 根据(19)中所述的控释组合物,其中生理活性物质为 LH-RH 衍生物,
- (22). 根据(20)中所述的控释组合物,其中生理活性物质为 LH-RH 衍生物,
- (23). 根据(21)或(22)中所述的控释组合物,其中 LH-RH 衍生物为下式所述的肽: 5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z
[其中, Y 表示 Dleu、Dala、DTrp、DSer(tBu)、D2Nal 或 DHis(ImBzl), 且 Z 表示 NH-C₂H₅ 或 Gly-NH₂], 或其盐,
- (24). 根据(21)中所述的控释组合物,其中 LH-RH 衍生物或其盐在控释组合物中的含量为 3%(w/w)~24%(w/w),
- (25). 根据(22)中所述的控释组合物,其中羧基萘甲酸或其盐与 LH-RH 衍生物或其盐的摩尔比为 3:4~4:3,
- (26). 根据(22)所述的控释组合物,其中 LH-RH 衍生物或其盐在控释组合物中的含量为 14%(w/w)~24%(w/w),
- (27). 根据(11)~(13)中任何一项所述的控释组合物用作注射剂,
- (28). 一种制备(11)中所述的控释组合物的方法,包括自生理活性物质或其盐及乳酸聚合物或其盐的混合溶液中除去溶剂,该聚合物或其盐具有 15000~50000 的重均分子量,其中分子量为 5000 或更小的聚合物的含量为约 5%重量或更小,
- (29). 一种制备(12)中所述的控释组合物的方法,包括自生理活性物质或其盐、羧基萘甲酸或其盐及乳酸聚合物或其盐的混合溶液中除去溶剂,该聚合物或其盐具有 15000~50000 的重均分子量,其中分子量为 5000 或更小的聚合物的含量约 5%重量或更小,
- (30). 根据(29)中所述的控释组合物的制备方法,包括混合及分散生理活性物质或其盐于包含羧基萘甲酸或其盐以及乳酸聚合物或其盐的有溶剂中

并除去溶剂，乳酸聚合物或其盐具有 15000~50000 的重均分子量，其中分子量为 5000 或更小的聚合物的含量为约 5%重量或更小，

(31). 一种制备(30)中所述的控释组合物的方法，其中生理活性物质或其盐为包含生理活性物质或其盐的水溶液，

(32). 一种制备(30)中所述的控释组合物的方法，其中生理活性物质的盐为与游离碱或酸形成的盐，

(33). 一种包含(11)~(13)中任何一项所述的控释组合物的药物，

(34). 一种预防或治疗前列腺癌、前列腺肥大、子宫内膜异位、子宫肌瘤、子宫纤维瘤、性早熟、痛经或乳腺癌的药物或避孕的药物，包括(21)或(22)中所述的控释组合物，

(35). 一种预防绝经前乳腺癌术后乳腺癌复发的药物，包括(21)或(22)所述的控释组合物，

(36). 一种预防或治疗前列腺癌、前列腺肥大、子宫内膜异位、子宫肌瘤、性早熟、痛经、乳腺癌的方法或避孕的方法，包括对哺乳动物施用有效量的(21)或(22)中所述的控释组合物，及

(37). 一种预防绝经前乳腺癌术后乳腺癌复发的方法，包括对哺乳动物施用有效量的权利要求 21 或 22 所述的控释组合物。

此外，本发明还提供了

(38). 根据(12)所述的控释组合物，其中以 1mol 具有生理活性的肽或其盐为基准，羟基萘甲酸或其盐的量约 1~约 7mol，优选地约 1~约 2mol，

(39). 根据(29)中所述的制备控释组合物方法，包括制备一种 W/O 型乳液，其中包含生理活性物质或其盐的液体为内层水相，包含乳酸聚合物或其盐及羟基萘甲酸或其盐的溶液为油相，然后，除去溶剂，

(40). 根据(29)中所述的制备控释组合物方法，包括制备一种 W/O 型乳液，其中，包含羟基萘甲酸或其盐的液体为内层水相及包含生理活性物质或其盐及乳酸聚合物或其盐的溶液为油相，然后，除去溶剂，及

(41). 根据(39)或(40)中所述的制备控释组合物的方法，其中除去溶剂的方法为带水干燥(in-water drying)等。

发明详述

用于本发明的生理活性物质并不受具体局限，只要其可药用，可为非肽

化合物或肽化合物。合适的非肽化合物实例包括激动剂、拮抗剂及具有酶抑制活性的化合物。另外，肽化合物为例如，优选具有生理活性的肽。具有生理活性的肽具有约 300 ~ 约 40000 的分子量，优选约 400 ~ 约 30000，更优选约 500 ~ 约 20000。

具有生理活性的肽的实例包括促黄体素释放激素(LH-RH)、胰岛素、抑生长激素、生长激素、促生长激素释放激素(GH-RH)、催乳素、促红细胞生成素、肾上腺皮质激素、促黑素细胞激素、促甲状腺激素释放激素、促甲状腺激素、促黄体素、促卵泡激素、加压素、催产素、降钙素、胃泌素、肠泌素、促胰酶素、缩胆囊肽、血管紧张素、人胎盘催乳素、人绒毛膜促性腺素、脑啡肽、内啡肽、京都啡肽(kyotrophin)、促吞噬肽、胸腺生成素、胸腺素 thymotimurin、胸腺体液因子、血液胸腺因子、肿瘤坏死因子、促集落形成因子、促胃动素、强啡肽、铃蟾肽、神经降压肽、蛙皮素(cerulein)、缓激肽、心钠素、神经生长因子、细胞生长因子、神经营养因子、具有拮抗内啡肽(endoserine)活性的肽及其衍生物，及其片段及片段衍生物等。

本发明使用的生理活性物质可为其自身或其可药用盐。

当生理活性物质含有碱性基团，如氨基，该类盐的实例包括与无机酸(也即游离的无机酸)(例如，碳酸、碳酸氢盐、盐酸、硫酸、硝酸、硼酸等)及有机酸(也即游离的有机酸)(例如，琥珀酸、乙酸、丙酸、三氟乙酸等)等形成的盐。

当生理活性物质含有酸性基团，如羧基等，该类盐的实例包括与无机碱(也即游离的无机碱)(例如，碱金属如钠、钾等，碱土金属如钙、镁等)，及有机碱(也即游离的有机碱)(例如，有机胺如三乙胺等，碱性氨基酸如精氨酸等)形成的盐。此外，具有生理活性的肽可形成金属络合物(例如，铜络合物、锌络合物等)。

具有生理活性肽的优选实例包括 LH-RH 衍生物或其盐，其可有效治疗激素依赖性疾病，特别是性激素依赖性癌症(例如，前列腺癌、子宫癌、乳腺癌、垂体腺瘤等)，性激素依赖性疾病，如前列腺肥大、子宫内膜异位、子宫肌瘤、性早熟、痛经、无月经、经前综合征、多房卵巢综合征等，避孕(或者，应用药物停用后的反弹活性，不孕)，以及绝经前乳腺癌术后乳腺癌复发。实例还包括可有效治疗良性或恶性肿瘤的 LH-RH 衍生物或其盐，这些肿瘤不依赖于性激素，但对 LH-RH 敏感。

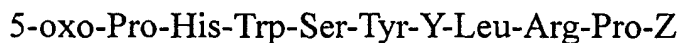
LH-RH 衍生物或其盐的具体实例包括肽，其如 Treatment with GnRH analogs: Controversies and perspectives [Parnon Publishing group Ltd.,1996 出版]及日本专利申请国家公开(公开文本)No. 3-503165、JP-A No.3-101695、A7-97334 及 8-259460 等所述。

LH-RH 衍生物的实例包括 LH-RH 激动剂及 LH-RH 拮抗剂。LH-RH 拮抗剂的实例使用如下式[I]所示的具有生理活性的肽：



[其中分别地 X 指 N(4H₂-furoyl)Gly 或 NAc, A 指选自 NheTyr、Tyr、Aph(Atz) 及 NMeAph(Atz)的残基, B 指选自 DLys(Nic)、Dcit、DLys(azaglyNic)、DLis(azaglyFur)、DhArg(Et₂)、DAph(Atz)及 DhCi 的残基, 及 C 分别指 Lys(Nisp)、Arg 或 hArg(Et₂)], 或其盐等。

LH-RH 激动剂的实例, 使用如下式[II]所示的具有生理活性的肽：



[其中 Y 指选自 Dleu、Dala、DTrp、DSer(tBu)、D2Nal 及 DHis(ImBzl)的残基, 及 Z 分别指 NH-C₂H₅或 Gly-NH₂]或其盐等。特别是, 合适的肽为其中 Y 指 DLeu 及 Z 指 NH-C₂H₅(即, 5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-NH-C₂H₅表示的肽 A; Leuproline)的肽或其盐(例如, 乙酸盐)。

这些肽可以上述文献或公开的方法或类似方法进行制备。

本说明书使用的简称的意义如下

简称	命名
N(4H ₂ -furoyl)Gly	N-四氢呋喃甲酰基甘氨酸残基
NAc	N-乙酰基
N2Nal	D-3-(2-萘基)丙氨酸残基
D4ClPhe	D-3-(4-氯)苯丙氨酸残基
D3Pal	D-3-(3-吡啶基)丙氨酸残基
NMeTyr	N-甲基酪氨酸残基
Aph(Atz)	N-[5'-(3'-氨基-1'H-1',2',4'-三唑基)]苯丙氨酸残基

NMeAph(Atz)	N-甲基-[5'-(3'-氨基-1'H-1',2',4'-三唑基)]苯丙氨酸残基
DLys(Nic)	D-(e-N-烟酰基)赖氨酸残基
Dcit	D-瓜氨酸残基
DLys(azaglyNic)	D-(氮杂甘氨酸烟酰基)赖氨酸残基
DLys(azaglyFur)	D-(氮杂甘氨酸呋喃基)赖氨酸残基
DhArg(Et ₂)	D-(N,N'-二乙基)高精氨酸残基
DAph(Atz)	D-N-[5'-(3'-氨基-1'H-1',2',4'-三唑基)苯丙氨酸残基
DhCi	D-高瓜氨酸残基
Lys(Nisp)	(e-N-异丙基)赖氨酸残基
hArg(Et ₂)	(N,N'-二乙基)高精氨酸残基

关于其它氨基酸的简称，基于 IUPAC-IUB 生物化学命名委员会的规定 (European Journal Biochemistry, Vol.138, pp.9-37(1984)) 或本领域常规的简称。此外，当氨基酸具有光学异构体时，除非另外说明，其指 L-氨基酸。

本发明使用的羟基苯甲酸的制备为以一个羟基及一个羧基与苯上不同碳原子成键。因而，一共存在 14 个异构体，羟基的位置视羧基在苯环 1 位及 2 位的位置而定。可使用任何异构体及其任意比例的混合物。如后所述，优选酸离解常数较大或 pKa 值 ($pK_a = -\log_{10}K_a$, K_a 表示酸离解常数) 小的异构体。优选微溶于水的异构体。

进一步优选可在醇里 (例如，乙醇、甲醇等) 溶解的异构体。术语 "可溶于醇" 表示在甲醇中溶解度为 10g/L 或更大。

至于上述羟基苯甲酸异构体的 pKa 值，仅知 3-羟基-2-苯甲酸的值 ($pK_a = 2.708$, Chemical Handbook, Base II, Chemical Society of Japan, 1969 年 9 月 25 日)，然而，通过比较羟基苯甲酸的三种异构体的 pKa 值可获得一些有益的知识。也即，间羟基苯甲酸及对羟基苯甲酸为 4 或更大，然而邻羟基苯甲酸 (水杨酸) 的 pKa 极小 ($= 2.754$)。因而，在上述 14 种异构体中，优选 3-羟基-2-苯甲酸、1-羟基-2-苯甲酸及 2-羟基-1-苯甲酸，其中，羧基及羟基与

萘环上相邻碳原子成键。此外，3-羟基-2-萘甲酸也合适，其中，羟基与萘环的3位碳原子成键，羧基与萘环2位碳原子成键。

羟基萘甲酸可为盐。盐的实例如与无机碱(例如，碱金属如钠、钾等，碱土金属如钙、镁等)，及有机碱(例如，有机胺如三乙胺等，碱性氨基酸如精氨酸等)形成的盐，或与过渡金属形成的盐及络合物(例如，锌、铁、铜络合物等)等。

下面例举了一种为生理活性物质制备羟基萘甲酸盐的方法。

(1)将羟基萘甲酸的含水有机溶剂的溶液通过弱碱性离子交换树脂柱吸附，并饱和。然后，将过量的羟基萘甲酸通过用含水有机溶剂的溶液洗脱除去，然后，通过生理活性物质或其盐的含水有机溶剂溶液进行离子交换，可便利地自所得洗脱液中除去溶剂。含水有机溶剂的有机溶剂实例，如可以使用醇(例如，甲醇、乙醇等)、乙醚、四氢呋喃，二甲基甲酰胺等。清除溶剂以沉积盐的方法可采用已知或类似的方法。例如，可采用控制真空度以旋转蒸发器及其它方法浓缩溶剂。

(2)强碱性离子交换树脂柱上的离子交换可预先交换成氢氧根离子，然后通过生理活性物质或其盐的含水有机溶剂溶液进行离子交换，将碱性基团交换成氢氧型基团。加入不超过等当量的羟基萘甲酸，使溶于收集的洗脱液中，浓缩后得到沉淀的盐，必要时以水洗涤并干燥。

用于本发明的乳酸聚合物(此后，在部分情况下简称为本发明乳酸聚合物)，包括仅包含乳酸聚合物或乳酸及其它单聚体(例如，甘醇酸等)的共聚物，其中通常分子量为5000或更小的聚合物含量为约5%重量或更小，优选地分子量为5000或更小的聚合物含量为约5%重量或更小及分子量为3000或更小的聚合物含量为约1.5%或更小，进一步优选地分子量为5000或更小的聚合物含量为约5%重量或更小，分子量为3000或更小的聚合物含量为约1.5%或更小的聚合物，分子量为1000或更小的聚合物含量为约0.1%或更小的。

本发明乳酸聚合物的重均分子量通常为15000~50000，优选15000~30000，更优选17000~26000，特别优选17500~25500。

此外，当本发明控释制剂不含羟基萘甲酸时，本发明乳酸聚合物重均分子量通常为15000~50000，优选15000~40000。

本发明乳酸聚合物的原材料的高分子量的乳酸聚合物，可可购得商品或可以已知方法聚合的聚合物，其重均分子量通常为15000~500000，优选

30000 ~ 100000。此处提及的已知聚合方法的实例如，其中将乳酸及必要时的甘醇酸缩聚的方法；例如，在催化剂如路易斯酸或金属盐，例如二乙基锌、三乙基铝、辛基锡(tinocylate)等存在的条件下，将丙交酯以及必要的时候与乙交酯一起开环聚合的方法；以及进一步采用前述方法(例如，国际专利公开 WO00/35990 等)，在羧基被保护的羟基羧酸衍生物存在的情况下，将丙交酯开环聚合；另外，在加热条件下向丙交酯中加入催化剂引起开环聚合的方法(例如，J. Med. Chem., 16, 897(1973)等)；例如，丙交酯及乙交酯共聚的方法及其它方法。

至于聚合模式，列举了由溶解丙交酯并进行聚合反应的大规模聚合，及将丙交酯等溶于合适的溶剂并进行溶液聚合，其中，从工业生产角度考虑，本发明的乳酸聚合物以溶液聚合提供原材料。

溶液聚合中溶解丙交酯的溶剂实例如，芳香烃例如苯、甲苯、二甲苯等、萘烷、二甲基甲酰胺等。

上述得到的高分子量的乳酸聚合物的水解方法，可采用已知方法，例如，有利地将高分子量乳酸聚合物溶于合适的溶剂，然后将水及必要时加入酸诱导反应。

用于溶解高分子量乳酸聚合物的溶剂有利地是能溶解 10 倍或更小重量百分比的乳酸聚合物，具体而言，卤代烃，例如氯仿、二氯甲烷等，芳香烃例如甲苯、邻二甲苯、间二甲苯、对二甲苯等，环醚例如四氢呋喃等，丙酮、N,N-二甲基甲酰胺等。使用可用于聚合高分子量乳酸聚合物的溶剂为可用于高分子量乳酸聚合物的水解的溶剂时，聚合与水解操作可依次地进行而不必分离聚合的高分子量乳酸聚合物。

以溶质乳酸聚合物为基准，溶解高分子量乳酸聚合物的溶剂用量通常为 0.1 ~ 100 倍，优选 1 ~ 10 倍。

以高分子量乳酸聚合物为基准，加入的水量通常为其重量百分比的 0.001 ~ 1 倍，优选地 0.01 ~ 0.1 倍。

必要时加入酸，例如，无机酸，例如盐酸、硫酸、硝酸等，有机酸，例如乳酸、乙酸、三氟乙酸等，优选乳酸。

以高分子量乳酸聚合物为基准，加入的酸通常为其重量百分比的 0 ~ 10 倍，优选地 0.1 ~ 1 倍。

水解反应的温度通常为 0 ~ 150℃，优选地 20 ~ 80℃。

水解反应的时间视高分子量乳酸聚合物的重均分子量及反应温度而定，通常为10分钟~100小时，优选地1~20小时。

水解处理的终点时刻基于水解产物的重均分子量进行判断。即，在水解处理过程中通过适当的取样分析，样品中水解产物的重均分子量以凝胶渗透色谱(GPC)分析，若确定分子量为15000~50000，优选地约15000~30000，更优选地约17000~26000，特别优选地17500~25500可停止水解处理。

从包括得到的水解产物的溶液中沉淀所得的预期乳酸聚合物的方法包括，将该含水解产物的溶液与能够沉淀预期的乳酸聚合物的溶剂相接触，以及其它方法，水解产物的溶液为将高分子量乳酸聚合物进行以如上所述的水解操作。

包含水解产物溶液的优选实施方案如，通过溶解约10~50wt%的乳酸聚合物于能够溶解高分子量乳酸聚合物溶剂中得到，该聚合物的重均分子量为15000~50000，优选为15000~30000，更优选为17000~26000，特别优选为17500~25500，所述溶剂如卤代烃，例如氯仿、二氯甲烷等，芳香烃例如甲苯、邻二甲苯、间二甲苯、对二甲苯等，环醚例如四氢呋喃等，丙酮、N,N-二甲基甲酰胺、二氯甲烷、二甲苯等。当本发明控释组合物不含羟基苯甲酸时，包含约10~50wt%已溶的乳酸聚合物，其重均分子量为15000~50000，优选地为15000~40000。

可沉积包含在水解溶液中预期乳酸聚合物的溶剂的实例，如醇，例如甲醇、乙醇等，链醚例如异丙醚等，脂肪烃例如己烷等，水等。

以含水解产品溶液中的溶剂为基准，用来沉积预期乳酸聚合物的溶剂用量通常为其重量百分比的0.1~100倍，优选重量百分比的1~10倍。

这些溶剂及其用量的优选具体实例，如在含水解产物的溶液中，以溶质为基准，二氯甲烷的用量为其重量百分比的1~5倍，以该二氯甲烷用量为基准，用于降低溶解度的异丙醚的用量为其重量百分比的2~10倍，及其它实施方案。

当将沉积预期乳酸聚合物溶质的溶剂与含水解产物的溶液接触时，溶剂温度通常为-20~60℃，优选地0~40℃，及含水解产物的溶液的温度通常为0~40℃，优选地10~30℃。

含水解产物的溶液与溶剂接触方法的实例，包括将含水解产物的溶液一次性加入溶剂中的方法；将包含水解产物的溶液滴加入溶剂中的方法；将溶

剂一次性加入包含水解产物的溶液中的方法；将溶剂滴加入包含水解产物的溶液中的方法等。

如上述得到的乳酸聚合物，由于末端羧基的量在控释组合物的基质材料的合适范围之内，本发明乳酸聚合物适用于控释组合物的基质材料。

本发明组合物中生理活性物质的重量比视生理活性物质种类、预期的药效及其持续时间等而定，当为具有生理活性的肽或其盐时，以总组合物为基准，为约 0.001 ~ 约 50%重量，优选约 0.02 ~ 约 40%重量，更优选约 0.1 ~ 约 30%重量，更优选约 0.1 ~ 约 24%重量，最优选约 3 ~ 约 24%重量，当生理活性物质不是肽或其盐时，为约 0.01 ~ 约 80%重量，优选约 0.1 ~ 约 50%重量。

包含羟基萘甲酸或其盐的本发明组合物的生理活性物质重量比视生理活性物质种类、预期的药效及其持续时间等而定，当控释组合物包含生理活性物质或其盐、羟基萘甲酸或其盐以及乳酸聚合物或其盐，以三种组分的总量为基准，其比为约 0.001 ~ 约 50%重量，优选约 0.02 ~ 约 40%重量，更优选约 0.1 ~ 约 30%重量，最优选自约 14 ~ 约 24%重量，当生理活性物质为非肽或其盐时，重量比为约 0.01 ~ 约 80%重量，优选约 0.1 ~ 约 50%重量。

即使包含生理活性物质羟基萘甲酸盐，也使用同样的重量比例。当控释组合物包含具有生理活性的肽(暂称为(A))的盐及羟基萘甲酸(暂称为(B))，以(A)及(B)的盐为基准，(A)的比通常约 5 ~ 约 90%重量，优选约 10 ~ 约 85%重量，更优选约 15 ~ 约 80%重量，特别优选约 30 ~ 约 80%重量。

当控释组合物包含生理活性物质或其盐、羟基萘甲酸或其盐及乳酸聚合物或其盐时，以 1mol 生理活性物质或其盐为基准，羟基萘甲酸或其盐的量为约 1/2 ~ 约 2mol，约 3/4 ~ 约 4/3mol，特别优选约 4/5 ~ 约 6/5mol。

下面将描述本发明组合物的设计，控释组合物包括生理活性物质、羟基萘甲酸及乳酸聚合物，其中生理活性物质为碱性的。在该种情况下，用作碱的生理活性物质及用作酸的羟基萘甲酸在组合物中共存，它们在组合物中或以游离体的形式结合，或以盐的形式结合，在制备组合物的某一确定点时，在有水或微量水的条件下达到离解平衡。由于羟基萘甲酸生成的盐微溶于水，生理活性物质据信微溶于水，尽管后者视生理活性物质的性质而定，离解平衡移向生成微溶于水的盐的一侧。

为制备含高含量的碱性生理活性物质的组合物，从上述离解平衡的角度考虑，理想地绝大多数生理活性物质皆质子化生成上述微溶于水的盐。为此，

理想地将至少一种生理活性物质或其盐与大致等当量的羟基萘甲酸或其盐相混合。

其次，下面将描述组合物中生理活性物质的控释机制。在上述组合的组合物中，绝大多数生理活性物质皆质子化，并与相反离子共存。绝大多数相反离子为羟基萘甲酸(优选，羟基萘甲酸)。当组合物施用于有机体后，乳酸聚合物解离形成寡聚体及单聚体，然而当聚合物为乳酸-甘醇酸聚合物时，产生的寡聚体(乳酸-甘醇酸寡聚体)及单聚体(乳酸或甘醇酸)必须地含有一个羧基，其也可为生理活性物质的反离子。生理活性物质的释放并不伴随电荷的移动，也即其是以保持反离子的盐的形式释放，作为可移动的反离子，有如羟基萘甲酸、乳酸-甘醇酸寡聚体(可移动的分子量)及单聚体(乳酸或甘醇酸)，如上所述。

当多种酸共存时，强酸盐通常为存在形式，尽管这视组成的比例而异。至于羟基萘甲酸的pKa，例如3-羟基-2-萘甲酸的pKa为2.708(CHEMICAL HANDBOOK, BASIC BOOK II, Chemical Society of Japan, 1969年9月25日出版)。另一方面，尽管不知乳酸-甘醇酸寡聚体羧基的Ka，可基于乳酸或甘醇酸的pKa(=3.86或3.83)推算，可根据原则“遵循添加法则引入的取代基可近似改变自由能”。已发现取代基对离解常数的贡献并可应用("pKa Prediction for Organic acids and bases"中的表4，D.D.Perrin, B.Dempsey和E.P.Serjeant, 1981)。由于羟基及酯键的pKa分别为 $\Delta pK_a(\text{OH})=-0.90$ 及 $\Delta pK_a(\text{酯键})=-1.7$ ，计算出乳酸-甘醇酸寡聚体羧基的pKa，最靠近离解基团的酯键的贡献如下： $pK_a=pK_a(\text{乳酸或甘醇酸})-\Delta pK_a(\text{OH})+\Delta pK_a(\text{酯键})=3.06$ 或3.03。结果，由于羟基萘甲酸的酸性强于乳酸(pKa=3.86)、甘醇酸(pKa=3.83)以及乳酸-甘醇酸寡聚体。可进一步推测在上述组合物中，主要形成羟基萘甲酸及生理活性物质的盐，该盐的性质主要地决定了组合物中生理活性物质的控释性质。上述生理活性物质的实例，为如上述列出的生理活性物质等。

在此，盐由羟基萘甲酸与生理活性物质生成，该盐微溶于水而非水溶性，且优选对控释机制发挥作用。即，如上述酸离解常数所示，羟基萘甲酸该酸酸性强于上述乳酸-甘醇酸寡聚体及单聚体的盐，在释放的初始阶段主要以生理活性物质的可水解的盐的形式存在，结果，该盐在体内组织的溶解度及分配性质成为生理活性物质释放速度的决定因素，因而，药物的初始释放模式可以羟基萘甲酸结合的量控制。然后，随着羟基萘甲酸的减少及通过水解

乳酸聚合物产生的寡聚体及单聚体的增加，以寡聚体及单聚体作为反离子的生理活性物质的释放机制逐渐成为主导形式，并且即使"组合物"中羧基萘甲酸基本上消失后，生理活性物质仍保持稳定速度释放。此外，也解释了在制备控释组合物时生理活性物质的结合效率的增强，以及应用生理活性物质后对初始过度释放的抑制能力。

上述机制还可解释羧基萘甲酸在包含具有生理活性肽的羧基萘甲酸盐控释组合物中的作用。

该说明书中的术语"不溶于水"表示在40℃或更低温度的蒸馏水搅拌4小时，在1L该溶液中溶解25mg或更小的物质的情形。

该说明书中的术语"微溶于水"表示在上述条件下溶解的重量超过25mg及5g或更小。当上述物质为生理活性物质的盐时，生理活性物质的重量用于在上述定义的操作。

尽管该说明书中控释组合物的形式没有特别限制，优选微粒(fine particle)及特别优选微球(microsphere)(当控释组合物包含乳酸聚合物时，也称作微囊(microcapsule))。术语微球表示一种可注射的微小颗粒，呈球状，可分散于溶液中。其形式可验证，例如，以扫描电镜观察。

下面举例说明为制备控释组合物(例如，微囊)的方法，该组合物包含本发明生理活性物质或其盐及本发明乳酸聚合物或其盐。

在下述的制备方法中，可加入支持药物的物料(例如，明胶，水杨酸等)，必要时可采用已知方法。

(I)带水干燥方法

(i)O/W方法

在本方法中，首先制备本发明乳酸聚合物(此后，在本发明部分地方描述为生物可降解聚合物)的有机溶剂溶液。用于制备本发明控释组合物的有机溶剂的沸点优选为120℃或更低。

有机溶剂的实例，如卤代烃(例如，二氯甲烷、氯仿、二氯乙烷、三氯乙烷、四氯化碳等)，醚(例如，乙醚、异丙醚等)，脂肪酸酯(例如，乙酸乙酯、丁酸乙酯等)，芳香烃(例如，苯、甲苯、二甲苯等)，醇(例如，乙醇、甲醇等)，及乙醚等。其中，优选卤代烃，二氯甲烷特别适合，可使用其适当比例的混合溶剂，此时，优选卤代烃及醇的混合溶液，特别是优选二氯甲烷与乙醇的混合溶剂。

本发明可生物降解厄聚合物在有机溶剂中的浓度随本发明生物可降解聚合物分子量及有机溶剂而定。例如，当以二氯甲烷作为有机溶剂时，例如，其浓度通常约 0.5 ~ 约 70%重量，更优选浓度约 1 ~ 约 60%重量，特别优选为约 2 ~ 约 50%重量。

当乙醇用作与二氯甲烷有机混合溶剂时，两种有机溶剂的比例通常为约 0.01 ~ 约 50%(v/v)，更优选约 0.05 ~ 约 40%(v/v)，特别优选约 0.1 ~ 约 30%(v/v)

将生理活性物质加入到得到的本发明生物可降解聚合物的有机溶剂溶液中，溶解或分散。在该过程中，控制生理活性物质的加入量，生理活性物质与本发明生物可降解聚合物重量比至多为约 1:1，优选至多为约 1:2。

随后，将包括生理活性物质或其盐及本发明生物可降解聚合物的有机溶液加入至水相，形成 O(油相)/W(水相)乳液，然后将油相中的溶剂经蒸发制得微囊。在此种情况下，水相体积通常为约 1 ~ 约 10,000 倍，更优选约 5 ~ 50,000 倍，特别优选约 10 ~ 2,000 倍油相体积。

可向上述外层水相加入乳化剂。只要可形成稳定 O/W 乳液的乳化剂，皆可使用。具体而言，例如，使用阴离子表面活性剂(油酸钠、硬脂酸钠、月桂硫酸钠等)，非离子表面活性剂(聚氧乙烯山梨醇脂肪酯(吐温 80，吐温 60，Atlas Powder 制造)，聚氧乙烯蓖麻油衍生物(HCO-60，HCO-50，Nikko Chemical K.K 制造)、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇、羧甲基纤维素、卵磷脂、明胶及透明质酸。其可单用或联用。其使用浓度优选约 0.0001 ~ 10%重量，更优选浓度约 0.001 ~ 5%重量。

可向上述水相加入渗透压调节剂。任何当制备成水溶液后可产生渗透压的渗透压调节剂皆可使用。

渗透压调节剂的实例包括多羟基醇、单羟基醇、单糖、二糖、寡糖及氨基酸或其衍生物。

多羟基醇实例，如优选使用三羟基醇，如甘油等，五羟基醇，如阿糖醇、木糖醇、核糖醇等，及六羟基醇，如甘露醇、山梨醇、己六醇等。优选六羟基醇，特别是甘露醇合适。

上述单羟基醇的实例包括甲醇、乙醇及异丙醇等，其中，优选乙醇。

单糖的实例，例如，使用戊糖，如阿拉伯糖、木糖、核糖、2-脱氧核糖等，及己糖，如葡萄糖、果糖、半乳糖、甘露糖、山梨糖、鼠李糖、海藻糖等，其中，优选己糖。

寡糖的实例，例如，使用三糖，如麦芽三糖、棉子糖等，及四糖，如水苏糖等，其中，优选三糖。

单糖、二糖及寡糖衍生物的实例，例如，使用葡糖胺、半乳糖胺、葡萄糖醛酸及半乳糖醛酸。

氨基酸的实例，可使用任何L-氨基酸，例如甘氨酸、亮氨酸及精氨酸。其中，优选L-精氨酸。

渗透压调节剂可单用或混用。

这些渗透压调节剂的使用浓度，为在外部水相产生的渗透压为生理盐水的渗透压的约1/50~约5倍，优选约1/25~约3倍。当甘露醇用作渗透压调节剂，其浓度优选为0.5%~1.5%。

除去有机溶剂可采用已知的方法或类似方法。这些方法的实例包括，在保持螺旋状搅拌器、磁力搅拌器搅拌下，常压或逐渐减压蒸发有机溶剂的方法，以旋转蒸发器控制一定的真空度情况下蒸发有机溶剂的方法。

离心或过滤得到微囊，然后，游离的生理活性物质或其盐、乳化剂以及吸附在微囊表面的其他物质可用蒸馏水反复洗涤几次，然后再分散于蒸馏水中，冻干。

在制剂过程中，可加入阻凝剂以防止颗粒相互凝聚。阻凝剂的实例，如水溶性多糖，如甘露醇、乳糖、葡萄糖及淀粉(例如，玉米淀粉等)，氨基酸如甘氨酸，及蛋白质如血纤蛋白及胶原质。其中，优选甘露醇。

以微囊总重为基准，阻凝剂例如甘露醇等的加入量通常为0~约24%重量。

冻干后，必要时可在不引起胶囊相互融溶的条件下减压加热除去胶囊中的水及有机溶剂。优选地加热温度为或略高于微囊的中点玻璃转换温度(intermediate point glass transition temperature)，其可通过示差扫描热量计测定，温度升高的速度为每分钟10~20℃。更优选地，在微囊的中点玻璃转换温度附近或在中点玻璃转换温度到中点玻璃转换温度高30℃的范围加热。具体而言，当使用乳酸甘醇酸聚合物作为生物可降解聚合物时，更优选地，在中点玻璃转换温度到中点玻璃转换温度高10℃的范围之间的温度加热。更优选地，在中点玻璃转换温度到中点玻璃转换温度高5℃的范围之间的温度加热。

尽管加热时间可视胶囊的量等而定，在胶囊自身达到规定温度之后，通

常加热约 12 小时~168 小时, 优选约 24 小时~120 小时, 特别优选约 48 小时~96 小时。

只要微囊是均一地加热, 其加热方法无特别限制。

加热干燥的实例如, 在恒温室, 流化室, 移动槽或炉(kiln)中加热及干燥的方法, 以及微波加热的方法。其中, 优选恒温室加热的方法。

(ii)W/O/W 方法

首先, 制备本发明生物可降解聚合物的有机溶剂溶液。

有机溶剂的实例, 如卤代烃(例如, 二氯甲烷、氯仿、二氯乙烷、三氯乙烷、四氯化碳等), 醚(例如, 乙醚、异丙醚等), 脂肪酸酯(例如, 乙酸乙酯、乙酸丁酯等), 芳香烃(例如, 苯、甲苯、二甲苯等), 醇(例如, 乙醇、甲醇等), 及乙醚等。其中, 优选卤代烃, 二氯甲烷特别适合。可使用其适当比例的混合溶剂。此时, 优选卤代烃及醇的混合溶液, 特别是优选二氯甲烷与乙醇的混合溶剂。

本发明可生物降解的聚合物在有机溶剂中的浓度视分子量及有机溶剂而定。例如, 当以二氯甲烷作为有机溶剂时, 浓度通常为约 0.5~约 70%重量, 更优选约 1~约 60%重量, 特别优选约 2~约 50%重量。

随后, 将包括生理活性物质或其盐 [溶剂的实例如, 水、水及醇 (例如, 甲醇、乙醇等) 的混合溶液] 的溶液加入至本发明生物可降解聚合物的有机溶液(油相)中。以已知方法如匀浆器或超声等乳化形成 O(油相)/W(水相)乳液。

相对于内层水相的体积, 将要混合的油相体积为约 1~约 1000 倍, 优选 2~100 倍, 更优选约 3~10 倍。

在 12~25℃下, 所得 W/O 乳液的粘度范围一般为约 10~10,000cp, 优选约 100~5,000cp, 特别优选约 500~2,000cp。

然后, 将由生理活性物质及乳酸-甘醇酸聚合物组成的 W/O 乳液加入水相中生成 W(内层水相)/O(油相)/W(外层水相), 将油相溶剂经蒸发制得微囊。制备时, 外层水相的体积一般为约 1 倍~约 10,000 倍, 更优选约 5 倍~约 50,000 倍, 特别优选约 10 倍~约 2,000 倍油相体积。

还可加入上述提及的乳化剂及渗透压调节剂, 随后制剂方法同上部分 (I)(i)所述。

(II)相分离方法

当以本方法制备微囊时，在搅拌条件下，将凝聚剂(coacervation agent)逐渐加入到包含组合物的有机溶剂溶液中，所述组合物由(I)带水干燥的方法中所述的生理活性物质以及本发明生物可降解聚合物组成，以沉淀并固化微囊。凝聚剂的量为约 0.01 ~ 1,000 倍，优选约 0.05 ~ 500 倍，特别优选约 0.1 ~ 200 倍的油相体积。

凝聚剂的选择无特别的限制，只要其选自聚合物系列、矿物油系列或植物油系列化合物，这些化合物可溶于有机溶剂，但不溶解本发明生物可降解聚合物。使用的具体实例如，硅油、芝麻油、豆油、玉米油、棉籽油、椰子油、亚麻籽油，矿物油、正己烷或正庚烷等。可使用两种或多种混合溶剂。

分离所得微囊，然后以庚烷反复洗涤以从组合物除去凝聚剂等，以及不是生理活性物质以及可生物降解聚合物组成的组合物的其他物质等。将残留物经减压干燥。或者，以上述(I)(i)所述的带水干燥的方法洗涤，然后冻干后再进一步加热干燥。

(III)喷雾干燥方法

当以本方法制备微囊时，以喷雾干燥器(机)的喷嘴将包含组合物的有机溶液或分散溶液喷入干燥室中，在极短时间内挥发精细分散的有机液滴中的溶剂制得微囊，所述组合物由可生物降解聚合物以及生理活性物质组成，如上述部分(I)中带水干燥方法所述。喷嘴的实例如双流体喷嘴型、压力喷嘴型、转盘型。此后，必要时，可以上述部分(I)带水干燥方法中同样的方式洗涤微囊，然后，冻干及进一步加热干燥。

至于除上述的微囊以外其它的物质形式，将包含组合物的有机溶剂溶液或分散液应用通旋转蒸发器控制真空度过蒸发有机溶剂或水干燥至固体，然后，再以喷气磨等碾碎得精细粉末(微粒)，该组合物由微囊制备方法(I)带水干燥方法中所述的生理活性物质及本发明生物可降解聚合物组成。

此外，将碾碎的精细粉末可以微囊制备方法(I)所述的带水干燥方法洗涤，冻干及进一步加热干燥。

下面例举了一种制备控释组合物(例如，微囊)的方法，该组合物包含生

理活性物质或其盐,羟基萘甲酸或其盐及本发明的乳酸聚合物或其盐,然而,也可在不含羟基萘甲酸或其盐的情况下,以同样方式制备。

(I)带水干燥方法

(i)O/W 方法

在本方法中,首先制备羟基萘甲酸或其盐以及乳酸聚合物或其盐的有机溶剂。用于制备控释组合物的本发明有机溶剂的沸点为优选 120°C 或更低。

有机溶剂的实例,如卤代烃(例如,二氯甲烷、氯仿、二氯乙烷、三氯乙烷、四氯化碳等),醚(例如,乙醚、异丙醚等),脂肪酸酯(例如,乙酸乙酯、乙酸丁酯等),芳香烃(例如,苯、甲苯、二甲苯等),醇(例如,乙醇、甲醇等),及乙醚等。用于乳酸-甘醇酸聚合物或其盐等的有机溶剂,优选二氯甲烷。

优选醇作为羟基萘甲酸或其盐有机的溶剂。既可于混合前分别溶解,也可将两种物质溶解于一种以合适比例混合的有机溶剂中。其中,混合溶液优选卤代烃及醇,特别优选二氯甲烷及乙醇混合溶液。

当乙醇与二氯甲烷用作有机混合溶剂时,乙醇在两种有机溶剂的比例通常约 0.01 ~ 约 50%(v/v),更优选约 0.05 ~ 约 40%(v/v),特别优选约 0.1 ~ 约 30%(v/v)

乳酸聚合物在有机溶液中的浓度视乳酸聚合物分子量及有机溶剂的种类而定,例如,当以二氯甲烷作为有机溶剂,浓度通常为约 0.5 ~ 约 70%重量,更优选约 1 ~ 约 60%重量,特别优选约 2 ~ 约 50%重量。

羟基萘甲酸或其盐在有机溶液中的浓度,当以二氯甲烷和乙醇的混合物作为有机溶剂,其浓度通常为约 0.01 ~ 约 10%重量,更优选约 0.1 ~ 约 5%重量,特别优选约 0.5 ~ 约 3%重量。

将生理活性物质或其盐加入并溶解或分散于如上得到的羟基萘甲酸或其盐以及乳酸聚合物的有机溶液中。随后,将得到的有机溶液加入到水相以形成 O(油相)/W(水相)乳液,将油相中的溶剂蒸发或分散于水相中形成微囊,所述的有机溶剂包含组合物,所述的组合物由生理活性物质或其盐、羟基萘甲酸或其盐以及乳酸聚合物或其盐。在这种情况下,水相体积通常为约 1 ~ 约 10,000 倍,更优选约 5 ~ 50,000 倍,特别优选约 10 ~ 2,000 倍油相体积。

可上述向外层水相加入乳化剂。乳化剂只要为可形成稳定 O/W 乳液的任何化合物。具体而言,例如,使用阴离子表面活性剂(油酸钠、硬脂酸钠、

月桂硫酸钠等), 非离子表面活性剂(聚氧乙烯山梨醇脂肪酸酯(吐温 80、吐温 60, Atlas Powder 制造), 聚氧乙烯蓖麻油衍生物(HCO-60、HCO-50, Nikko Chemical K.K 制造)、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇、羧甲基纤维素、卵磷脂、明胶及透明质酸。其可单用或联用。使用浓度范围为约 0.001~10%重量, 更优选为约 0.05~5%重量。

可向上述外层水相加入渗透压调节剂。任何当制备成水溶液后可产生渗透压的渗透压调节剂皆可使用。

渗透压调节剂的实例包括多羟基醇、单羟基醇、单糖、二糖、寡糖及氨基酸及其衍生物等。

多羟基醇实例, 如三羟基醇, 如甘油等, 五羟基醇, 如阿糖醇、木糖醇、核糖醇等, 及六羟基醇, 如甘露醇、山梨醇、己六醇等。优选六羟基醇, 特别优选甘露醇。

上述单羟基醇的实例包括甲醇、乙醇及异丙醇等, 其中, 优选乙醇。

单糖的实例, 例如, 使用戊糖, 如阿拉伯糖、木糖、核糖、2-脱氧核糖等, 及己糖, 如葡萄糖、果糖、半乳糖、甘露糖、山梨糖、鼠李糖、海藻糖等, 其中, 优选己糖。

寡糖的实例, 例如, 使用三糖, 如麦芽三糖、棉子糖等, 及四糖, 如水苏糖等, 其中, 优选三糖。

单糖、二糖及寡糖衍生物的实例, 例如, 使用葡糖胺、半乳糖胺、葡萄糖醛酸及半乳糖醛酸。

氨基酸的实例, 可使用任何 L-氨基酸, 例如甘氨酸、亮氨酸及精氨酸。其中, 优选 L-精氨酸。

渗透压调节剂可单用或混用。

这些渗透压调节剂的使用浓度, 为在外部水相产生的渗透压为生理盐水的渗透压的约 1/50~约 5 倍, 优选约 1/25~约 3 倍。当甘露醇用作渗透压调节剂, 其浓度优选为 0.5%~1.5%。

除去有机溶剂可采用已知的方法或类似方法。这些方法的实例包括, 在保持螺旋状搅拌器、磁力搅拌器或超声波发生装置搅拌下, 常压或逐渐减压蒸发有机溶剂的方法, 以旋转蒸发器保持一定的真空度情况下蒸发有机溶剂的方法, 以及使用渗析膜逐渐除去有机溶剂的方法。

离心或过滤得到微囊, 然后, 将游离的生理活性物质或其盐、羟基萘甲

酸或其盐、支持药物的物料，吸附在微囊表面的乳化剂等反复以蒸馏水洗涤几次，然后在分散于蒸馏水等中，并冻干。

在制剂过程中，可加入阻凝剂以防止颗粒相互凝聚。阻凝剂的实例，如水溶性多糖，如甘露醇、乳糖、葡萄糖及淀粉(例如，玉米淀粉等)，氨基酸如甘氨酸，及蛋白质如血纤蛋白及胶原质。其中，优选甘露醇。

以微囊总重为基准，阻凝剂例如甘露醇等的加入量通常为 0 ~ 约 24% 重量。

冻干后，必要时可在不引起胶囊相互融溶的条件下减压加热除去胶囊中的水及有机溶剂。优选地加热温度为或略高于微囊的中点玻璃转换温度，其可通过示差扫描热量计测定，温度升高的速度为每分钟 10 ~ 20℃。更优选地，在微囊的中点玻璃转换温度附近或在中点玻璃转换温度到中点玻璃转换温度高 30℃ 的范围加热。具体而言，当使用乳酸甘醇酸聚合物作为生物可降解聚合物时，更优选地，在中点玻璃转换温度到中点玻璃转换温度高 10℃ 的范围之间的温度加热。更优选地，在中点玻璃转换温度到中点玻璃转换温度高 5℃ 的范围之间的温度加热。

尽管加热时间可视胶囊的量等而定，在胶囊自身达到规定温度之后，通常加热约 12 小时 ~ 168 小时，优选约 24 小时 ~ 120 小时，特别优选约 48 小时 ~ 96 小时。

只要微囊是均一地加热，其加热方法无特别限制。

加热干燥的实例如，在恒温室，流化室，移动槽或炉中加热及干燥的方法，以及微波加热的方法。其中，优选恒温室加热的方法。

(ii) W/O/W 方法(1)

首先，制备乳酸聚合物或其盐的有机溶剂溶液。

有机溶剂溶液中的有机溶剂及乳酸聚合物或其盐的浓度与上述部分(I)(i)相同。当使用混合有机溶剂时，两种物质的比例如上述部分(I)(i)中一样。

将生理活性物质或其盐溶解或分散于如上得到的乳酸聚合物或其盐的有机溶液中。然后，向包含组合物的有机溶液加入有机溶液(油相)中，加入羟基苯甲酸或其盐的溶液[溶剂的实例，如水、醇(例如，甲醇、乙醇等)的水溶液、吡啶水溶液、二甲基乙酰胺水溶液等]，该组合物包含生理活性物质或其盐及乳酸聚合物或其盐。然后将该混合物以已知方法，如匀浆器或超声

等形成 W(水相)/O(油相)乳液。

然后,将所得包含生理活性物质或其盐、羟基萘甲酸或其盐及乳酸聚合物或其盐的 W/O 乳液加入到水相以形成 W(内层水相)/O(油相)/W(外层水相)的乳液,油相溶剂经蒸发制得微囊。在此操作中,外层水相体积通常为约 1~约 10,000 倍,更优选约 5~5,000 倍,特别优选约 10~2,000 倍油相体积。

可向外层水相加入上述乳化剂、渗透压调节剂,随后的制剂方法与部分 (I)(i)相同。

(iii)W/O/W 方法(2)

首先,制备羟基萘甲酸或其盐及乳酸聚合物或其盐的有机溶液,所得的溶液称为油相。制剂方法与上述的部分(I)(i)相同。或者,将羟基萘甲酸或其盐及乳酸聚合物于混合前分别制成有机溶液。有机溶剂溶液中乳酸聚合物的浓度依据乳酸聚合物的分子量及有机溶剂类型而定,例如,当使用二氯甲烷为有机溶剂时,浓度通常为约 0.5~约 70%重量,更优选约 1~约 60%重量,特别优选约 2~约 50%重量。

其次,制备生理活性物质或其盐的溶液或分散液[溶剂的实例,如水,水及醇(例如,甲醇,乙醇等)混合液等]。

生理活性物质或其盐的加入浓度通常为 0.001mg/ml~10g/ml,更优选 0.1mg/ml~5g/ml,进一步优选 10mg/ml~3g/ml。

当生理活性物质含有碱性基团,如氨基,盐的实例包括与无机酸(也即游离的无机酸)(例如,碳酸、碳酸氢盐、盐酸、硫酸、硝酸、硼酸等)及有机酸(也即游离的有机酸)(例如,琥珀酸、乙酸、丙酸、三氟乙酸等)形成的盐。

当生理活性物质含有酸性基团,如羧基等,盐的实例包括与无机碱(也即游离的无机碱)(例如,碱金属如钠、钾等,碱土金属如钙、镁等)及有机碱(也即游离的有机碱)(例如,有机胺如三乙胺等,碱性氨基酸如精氨酸等)形成的盐。具有生理活性的肽可进一步形成金属络合物(例如,铜络合物、锌络合物等)。当生理活性物质为 LHRH 衍生物时,特别优选加入乙酸。

可使用已知的增溶剂及稳定剂。为溶解或分散生理活性物质或添加剂,可在不影响活性的情况下加热、振摇及搅拌以得到称为内层水相的水溶液。

内层水相以及上述的油相可用已知方法如匀浆及超声波生成 W/O 乳液。混合的油相体积为其约 1~约 1000 倍,优选 2~100 倍,更优选约 3~

10 倍的内层水相体积。

在约 12~25℃，所得 W/O 乳液的粘度通常为约 10~10000cp，优选约 100~5000cp，更优选约 500~2000cp。

将包括生理活性物质或其盐、羟基萘甲酸或其盐及乳酸聚合物或其盐的 W/O 乳液加入水相以生成 W(内层水相)/O(油相)/W(外层水相)的乳液，油相溶剂经浓缩或分散于外层水相制得微囊。在该操作，外层水相的体积一般为约 1 倍~约 10,000 倍，更优选约 5 倍~约 50,000 倍，特别优选约 10 倍~约 2,000 倍油相体积。

可向外层水相中加入上述乳化剂、渗透压调节剂，并且及随后的制剂方法与部分(I)(i)相同。

(II)相分离方法

当以本方法制备微囊时，搅拌的同时将凝聚剂逐渐加入到含组合物的有机溶剂溶液中，以使沉淀并固化胶囊，所述的组合物由生理活性物质或其盐及乳酸-甘醇酸聚合物或其盐组成，如以上述(I)所述的带水干燥的方法中所述。凝聚剂的体积为约 0.01~1,000 倍，优选约 0.05~500 倍，特别优选约 0.1~200 倍油相体积。

凝聚剂的选择无特别限制，只要其为聚合物系列、矿物油系列或植物油系列化合物，这些化合物可与有机溶剂相容，但不溶解生理活性物质或其盐、羟基萘甲酸或其盐及乳酸聚合物或其盐。具体的实例如，硅油、芝麻油、豆油、玉米油、棉籽油、椰子油、亚麻籽油，矿物油、正己烷或正庚烷。或其中 2 种或多种的混合物。

分离所得微囊，然后以庚烷反复洗涤以从组合物除去凝聚剂等，以及不是生理活性物质以及可生物降解聚合物组成的组合物的其他物质等。将残留物经减压干燥。或者，以上述(I)(i)所述的带水干燥的方法洗涤，然后冻干后再进一步加热干燥。

(III)喷雾干燥方法

当以本方法制备微囊时，以喷雾干燥器(机)的喷嘴将有机溶剂溶液喷入干燥室中，在极短时间内挥发精细分散的有机液滴中的溶剂制得微囊，所述有机溶剂溶液含生理活性物质或其盐、羟基萘甲酸或其盐以及乳酸聚合物或

其盐，如上述部分(I)中带水干燥方法所述。喷嘴的实例如双流体喷嘴型、压力喷嘴型、转盘型。此后，必要时，可以上述部分(I)带水干燥方法中同样的方式洗涤微囊，然后，冻干及进一步加热干燥。

至于除上述的微囊以外其它的物质形式，将有机溶剂溶液应用通旋转蒸发器控制真空度过蒸发有机溶剂或水干燥至固体，然后，再以喷气磨等碾碎得精细粉末(微粒)，该有机溶剂溶液包含由微囊制备方法(I)带水干燥方法中生理活性物质或其盐、羟基苯甲酸或其盐以及乳酸聚合物或其盐。

此外，将碾碎的精细粉末可以微囊制备方法(I)所述的带水干燥方法洗涤，冻干及进一步加热干燥。

如上得到的微囊或精细粉末可提供相应于所用的乳酸聚合物或乳酸-甘醇酸聚合物降解速度的药物释放。

然后，下面举例说明制备包含羟基苯甲酸盐控释组合物的方法，该盐为本发明中生理活性物质。在该制备方法中，具有生理活性的肽优选用作生理活性物质。

(IV)二步法

将生理活性物质或其盐加入羟基苯甲酸或其盐的有机溶剂溶液中，以使上述的生理活性物质的结合量的重量比满足，以制得包含生理活性物质羟基苯甲酸盐的有机溶剂溶液。

该有机溶剂溶液与上述部分(I)(i)相同。当使用混合有机溶剂时，两种溶剂的比例如上述部分(I)(i)一样。

除去包含羟基苯甲酸盐的组合物中的有机溶剂的方法实例，该盐为生理活性物质，可为已知的方法或类似方法。例如，可控制真空度采用旋转蒸发仪等蒸发有机溶剂。

再制备如上得到的包含为生理活性物质的羟基苯甲酸盐组合物的有机溶剂溶液，及控释组合物(微小颗粒的微球)。

有机溶剂的实例，如使用卤代烃(例如，二氯甲烷、氯仿、二氯乙烷、三氯乙烷、四氯化碳等)，醚(例如，乙醚、异丙醚等)，脂肪酸酯(例如，乙酸乙酯、乙酸丁酯等)，芳香烃(例如，苯、甲苯、二甲苯等)等。可使用其适当比例的混合溶剂。其中，优选卤代烃，二氯甲烷特别适合。

然后,将所得包含含生理活性物质羟基萘甲酸盐组合物的有机溶液加入水相以形成 O(油相)/W(水相)乳液,然后,将油相溶剂蒸发制得微囊。在这种情况下,水相体积通常为约 1~约 10,000 倍,更优选约 5~5,000 倍,特别优选约 10~2,000 倍油相体积。

可将上述乳化剂、渗透压调节剂加入外层水相,并且随后的制剂方法与部分(I)(i)相同。

除去有机溶剂可采用已知的方法或类似方法。例如,在保持螺旋状搅拌器或磁力搅拌器搅拌的情况下,在常压或逐渐减压下蒸去有机溶剂的方法;在蒸去有机溶剂的时候保持一定的真空度,可采用旋转蒸发仪的方法等或其它方法。

以离心或过滤方法分离所得微球,然后,以蒸馏水反复洗涤几次附着于微球表面上游离的生理活性物质、羟基萘甲酸、乳化剂等,再分散于蒸馏水等中并冻干。

在制剂过程中,可加入阻凝剂以为防止颗粒相互凝聚。阻凝剂的实例,如水溶性多糖,如甘露醇、乳糖、葡萄糖及淀粉(例如,玉米淀粉等),氨基酸如甘氨酸,及蛋白质如血纤蛋白及胶原质。其中,优选甘露醇。

冻干后,必要时,可在不引起微球相互融溶的情况下进一步减压升温除去微球中的水及有机溶剂。

尽管加热时间依微球的量等而异,在微球本身达到给定的温度后,通常约 12 小时~168 小时,优选约 24 小时~120 小时,特别优选约 48 小时~96 小时。

只要微囊是均一地加热的,其加热方法无特别限制。

加热及干燥的实例如,在恒温室、流化室、移动槽或炉中加热及干燥的方法,以及微波加热的方法。其中,优选恒温室加热的方法。生成的微球呈相对均一的球形,不妨碍注射,不会堵塞针孔。由于使用纤细的针头,患者疼痛更小。

(V)一步法

将生理活性物质或其盐加入到羟基萘甲酸或其盐的有机溶剂溶液中,以符合上述的生理活性物质的结合量定义中显示的重量比,以制得包含生理活

性物质羧基萘甲酸盐的有机溶剂溶液，以及控释组合物(微小颗粒的微球)。。

该有机溶剂溶液与上述部分(I)(i)相同。当使用混合有机溶剂时，两种溶剂的比例如上述部分(I)(i)一样。

然后，将所得包含具有生理活性物质羧基萘甲酸盐的有机溶剂溶液加入水相以形成 O(油相)/W(水相)乳液，然后，油相溶剂经浓缩制得微囊。在此种情况下，水相体积通常为约 1~约 10000 倍，更优选约 5~5000 倍，特别优选约 10~2000 倍油相体积。

可将上述乳化剂、渗透压调节剂加入外层水相，并且随后的制剂方法与部分(I)(i)相同。

本发明控释组合物可为任何形式，如微球、微囊或微小颗粒(微粒)等，优选微囊。

本发明缓释组合物可原样使用，或以其作为原料制成给药前的各种剂型，作为注射剂或可置入静脉内、皮下及器官内给药，以及用于鼻腔、直肠或子宫给药经粘膜吸收药物、口服制剂(例如，胶囊(例如，硬胶囊、软胶囊等))，固体制剂如颗粒、粉末等，或液体制剂如糖浆、乳剂、混悬剂等。

例如，将本发明控释组合物制成注射剂时，其可制成水悬液，可一起加入的有分散剂(例如，表面活性剂如吐温 80、HCO-60 等，及多糖如透明质酸钠、羧甲基纤维素、精氨酸钠等)，防腐剂(例如，羧苯甲酸甲酯及羧苯甲酸丙酯)，等张调节剂(氯化钠、甘露醇、山梨醇、葡萄糖及脯氨酸)，或将其与植物油，如芝麻油或玉米油分散于油悬液中得到可实际使用的控释注射剂。

当本发明控释组合物用作注射混悬剂时，其颗粒直径应满足一定的分散度及具有较好的穿透性质。例如，平均颗粒直径约 0.1~300 μm ，优选约 0.5~150 μm ，更优选约 1~100 μm 。

为将本发明缓释组合物制成无菌制剂，可以使用在制剂中保持各步无菌操作的方法，以 γ 射线消毒的方法及添加防腐剂的方法等，但是无菌方法不限于这些。

由于本发明控释组合物毒性低，其可安全用于哺乳动物(例如，人、牛、猪、狗、猫、小鼠、大鼠、兔等)。

本发明控释组合物的剂量视生理活性物质的类型及含量、剂型、生理活

性物质释放时间、疾病类型及研究的动物及其有效剂量而定，优选地为有效量的生理活性物质。生理活性物质的每次给药剂量优选约 0.01mg ~ 10mg/kg，更优选约 0.05mg ~ 5mg/kg 成人体重，当使用控释期为六个月的制剂。

控释组合物单位剂量优选约为 0.05mg ~ 50mg/kg，更优选约 0.1mg ~ 30mg/kg 成人体重。

合适的给药频率视生理活性物质的类型及含量、剂型、生理活性物质释放时间、疾病类型及研究的动物而定，如数周一次、每月一次、数月（例如，3月、4月、6月）一次等。

本发明控释组合物视生理活性物质的类型可预防或治疗多种疾病疾病，例如，当生理活性物质为 LH-RH 衍生物时，其可用于预防或治疗激素依赖性疾病，特别是，性激素依赖性癌症（例如，前列腺癌、子宫癌、乳腺癌、垂体腺瘤等）、前列腺肥大、子宫内膜异位、子宫肌瘤、性早熟、痛经、无月经、经前综合征、多室子宫综合征等，作为绝经前乳腺癌术后乳腺癌复发的预防药物。作为阿尔茨海默病或自身免疫疾病的预防或治疗药物，及作为避孕药（或者，当药物停用后所致的活性反弹，预防和治疗不孕）等。此外，本发明控释组合物也可用作良性或恶性肿瘤的预防药物或治疗药物，这些肿瘤不依赖于性激素，但是 LH-RH 依赖性的。

因而，可预防或治疗激素依赖性疾病，特别是，性激素依赖性癌症（例如，前列腺癌、子宫癌、乳腺癌、垂体腺瘤等），性激素依赖性疾病如前列腺肥大、子宫内膜异位、子宫肌瘤、性早熟、痛经、无月经、经前综合征、多室子宫综合征等；以及根据本发明，对哺乳动物使用有效量的预防或治疗药物预防怀孕，预防绝经前乳腺癌术后乳腺癌复发。

随后的实施例及参考例将对本发明进行举例说明，但不对本发明的范围有任何限制。

[实施例]

在下述实施例以及参考实施例中的重均分子量及数均分子量指以凝胶渗透色谱(GPC)测定的分子量，在使用聚苯乙烯的情况下，用单一分散聚苯乙烯作为标准物质，聚合物的含量由此推算。以高效 GPC 仪器(Toso 公司制造，HLC-8120GPC)及 Super H 4000X2 及 Super H 2000(所有的色谱柱皆为

Toso 公司制造) 进行测定, THF 作为流动相, 流速为 0.6ml/分钟。检测方法基于差视折射率。

参考实施例 A1: 高分子量乳酸聚合物的合成

将 4.1mL 的 1.0mol/L 二乙基锌己烷溶液、1.35g 乳酸叔丁酯及 230g 的 DL-丙交酯加入至 230mL 无水二甲苯中, 在 120~130℃ 聚反应约 2 小时。反应结束后, 将 120mL 二氯甲烷倾入反应溶液中, 再向其中加入 230mL 三氟乙酸进行脱保护反应。反应结束后, 再向反应液加入 300mL 二氯甲烷, 然后将反应液倾入 2800mL 异丙醚中得到预期物质的沉淀, 再以二氯甲烷/异丙醚反复沉淀, 得到重均分子量约为 40000 的乳酸聚合物。

参考实施例 B1

将参考实施例 A1 聚合物溶于 600mL 二氯甲烷中, 以水洗至中性, 加入 70g 的 90%乳酸水溶液并于 40℃ 反应。当溶于反应液的重均分子量达到 20000 时, 将反应液冷至室温, 倾入 600mL 二氯甲烷以终止反应, 反应液以水洗至中性。水洗后, 浓缩干燥得到乳酸聚合物。所得乳酸聚合物的末端羧基的量约为 80 μ mol/g 聚合物, 分子量为 5000 或更小的聚合物的含量为 7.29wt%。

参考实施例 C1

将参考实施例 A1 中的聚合物溶于 600mL 二氯甲烷中, 以水洗至中性, 加入 70g 的 90%乳酸水溶液并于 40℃ 反应。当溶于反应液的重均分子量达到 20000 时, 将反应液冷至室温, 倾入 600mL 二氯甲烷以终止反应, 反应液以水洗至中性, 然后将反应液滴加入 2800mL 异丙醚中产生预期乳酸聚合物的沉淀。将滗出的沉淀溶于 600mL 二氯甲烷中, 溶液经浓缩干燥得 160g 乳酸聚合物。所得乳酸聚合物的末端羧基的量约 70 μ mol/g 聚合物。使用的高分子量乳酸聚合物的重均分子量, 水解处理后的乳酸聚合物重均分子量, 所得的预期乳酸聚合物的重均分子量以及分子级分如表 1 所示。

参考实施例 C2~6

本发明乳酸聚合物的获取方式如参考实施例 C1。使用的高分子量乳酸

聚合物的重均分子量，水解处理后的乳酸聚合物重均分子量，所得的预期乳酸聚合物的重均分子量以及分子级分如表 1 所示。

[表 1]

		参考实施例 C					
		1	2	3	4	5	6
高分子量乳酸聚合物的分子量		40500	43600	40400	43300	38600	55000
水解后分子量		22200	22200	22700	22200	18600	27200
得到的乳酸聚合物分子量		22900	22200	21900	22300	19400	28200
分子量级分 (%)	1-1000	0.03	0.07	0.00	0.01	0.08	0.04
	1-3000	0.95	1.12	0.87	0.09	1.45	0.62
	1-5000	3.86	4.17	3.89	3.92	4.89	2.50

由表 1 可知，本发明方法所得的本发明乳酸聚合物含有约 5%重量或更小的分子量为 5000 或更小的聚合物级分，约 1.5%重量或更小的分子量为 3000 或更小的聚合物级分，约 0.1%重量或更小的分子量为 1000 或更小的聚合物。

[实施例 A]包含羟基萘甲酸的组合物

实施例 A1

将 144.4g 的 DL-乳酸聚合物(重均分子量: 22500, 标记量化法确定的羧基量: 66.7 μ mol/g)溶于 111.7g 二氯甲烷中得到溶液, 与取自将 7.5g 的 3-羟基-2 萘甲酸溶于 175.1g 二氯甲烷及 13.5g 乙醇中形成的溶液中的 147.2g 溶液相混合, 并控制在 28.7 $^{\circ}$ C。然后从中称出 274.4g 有机溶剂溶液并与水溶液进行混合, 所述的水溶液为将 24.89g 肽 A 乙酸盐溶于 23.47g 蒸馏水溶液中并加热到 54.5 $^{\circ}$ C 形成的, 将该混合液搅拌 5 分钟得到粗乳液, 然后以均浆器于 10046rpm 条件下乳化 5 分钟形成 W/O 乳液。然后, 将该 W/O 乳液冷却至 15.0 $^{\circ}$ C, 倾入 25L 的 0.1%(w/w)聚乙烯醇(EG-40, Nippon Syntic Chemical Industry Co., Ltd.制造)水溶液中, 该水溶液预先在 15.0 $^{\circ}$ C 控制 3 分钟 26 秒, 并用 HOMOMIC LINE FLOW(Tokushu Kika K.K.制造)在 7000rpm 搅拌得到 W/O/W 乳液。该 W/O/W 乳液于 15 $^{\circ}$ C 控温 30 分钟, 然后, 在无控温下搅拌 2 小时 30 分钟蒸发二氯甲烷及乙醇或将二氯甲烷及乙醇驱散到外层水相中,

使油相固化，过 75 μ m 筛，以离心分离器(H600S, Kokusanenshinki 制造)于 2000rpm 下持续地沉淀微囊，并将沉淀的微囊收集。将收集的微囊再分散于少量蒸馏水中并过 90 μ m 筛，向其中加入 15.4g 甘露醇使其溶解，将溶液冻干得粉末。微囊粉末的回收重量为 101.6g，回收率为 72.7%，肽 A 含量为 15.88%，3-羟基-2-萘甲酸含量为 2.82%。

实验实施例 A1

将实施例 A1 所述的 45mg 微囊分散于 0.3mL 分散介质(含 0.15mg 羧甲基纤维素的蒸馏水，0.3mg 聚山梨醇酯 80 及 15mg 甘露醇溶于其中)中，然后以 22G 注射针头施用于 7 周龄 SD 雄性大鼠背部皮下。在给药后的给定时间，处死大鼠并清除给药部位残留微囊，将其中包含的肽 A 定量后除以初始给药量，得到的残留率如表 2 所示。

[表 2]

残留率：肽 A	
1 天后	92.1%
1 周后	87.4%
2 周后	78.1%
4 周后	64.8%
8 周后	51.5%
12 周后	38.7%
16 周后	25.6%
20 周后	11.8%
26 周后	2.0%

由表 2 可知，通过加入 3-羟基-2-萘甲酸制备的实施例 A1 微囊，即使是在 125g 规模下制备也可包含大量的生理活性物质，并可极其有效地抑制生理活性物质的初始过度释放。此外，微囊使生理活性物质在较长时期内以恒速释放。

[实施例 B]不含羟基萘甲酸的组合物

实施例 B1

将 4.00g 地 DL-乳酸聚合物(重均分子量：18300，标记量化法确定的羧

基量: 86 μ mol/g)溶于 6.77g 二氯甲烷中制备得到溶液。该溶液经称重后, 与下述溶液混合, 所述的溶液为将 1.04g 肽 A 乙酸盐溶于 0.92g 蒸馏水并加热到 60 $^{\circ}$ C, 然后以匀浆器在 25000rpm 乳化 20 秒形成 W/O 乳液。将该 W/O 乳液倾入 1L 的 0.1%(w/w) 聚乙烯醇(EG-40, Nippon Syntic Chemical Industry Co., Ltd.制造)水溶液中, 该水溶液预先在 18.0 $^{\circ}$ C 控制 20 秒, 以 homomixer(Tokushu Kika K.K.制造)在 7000rpm 搅拌生成 W/O/W 乳液。该 W/O/W 乳液于室温搅拌 3 小时, 蒸发二氯甲烷及乙醇或将二氯甲烷及乙醇驱散到外层水相中, 使油相固化, 过 75 μ m 筛, 并以纯净水洗涤, 以离心分离器(05PR-22: HITACHI)于 2500rpm 下 5 分钟沉淀微囊, 收集沉淀的微囊。将微囊再分散于少量蒸馏水中, 向其中加入 0.50g 甘露醇使其溶解, 将溶液冻干得粉末。微囊粉末的回收重量为 2.12g, 回收率为 38.2%, 肽 A 含量为 12.98%。

实验实施例 B2

将 4.40g 的 DL-乳酸聚合物(重均分子量: 18300, 标记量化法确定的羧基量: 86 μ mol/g)溶于 7.40g 二氯甲烷中制备得到溶液。该溶液经称重后, 并与水溶液相混合, 所述的水溶液为将 0.60g 肽 A 乙酸盐溶于 0.552g 蒸馏水中并加热至 60 $^{\circ}$ C 形成, 然后以匀浆器于 25000rpm 乳化 20 秒形成 W/O 乳液。将该 W/O 乳液倾入 1L 的 0.1%(w/w)的聚乙烯醇(EG-40, Nippon Syntic Chemical Industry Co., Ltd.制造)水溶液中, 该水溶液预先在 18.0 $^{\circ}$ C 控制 20 秒, 以 homomixer(Tokushu Kika K.K.制造)于 7000rpm 搅拌生成 W/O/W 乳液。该 W/O/W 乳液于室温搅拌 3 小时, 蒸发二氯甲烷及乙醇或将二氯甲烷及乙醇驱散到外层水相中, 使油相固化, 过 75 μ m 筛, 并以纯净水洗涤, 以离心分离器(05PR-22: HITACHI)于 2500rpm 下离心 5 分钟沉淀微囊, 将沉淀的微囊收集。将微囊再分散于少量蒸馏水中, 向其中加入 0.50g 甘露醇使其溶解, 将溶液冻干, 在约 50 $^{\circ}$ C 真空干燥 48 小时得粉末。微囊粉末的回收重量为 3.04g, 回收率为 55.3%, 肽 A 含量为 9.21%。

实验实施例 B3

将 8.10g 的 DL-乳酸聚合物(重均分子量: 21900, 标记量化法确定的羧基量: 75.8 μ mol/g)溶于 14.15g 二氯甲烷中制备得到溶液。该溶液经称重后,

并与水溶液相混合,所述的水溶液为将 0.93g 肽 A 乙酸盐溶于 0.95g 蒸馏水中并加热至 60℃ 形成,然后以匀浆器于 25000rpm 乳化 20 秒形成 W/O 乳液。将该 W/O 乳液倾入 1L 的 0.1%(w/w)的聚乙烯醇(EG-40, Nippon Syntic Chemical Industry Co., Ltd.制造)水溶液中,该水溶液预先在 18.0℃ 控制 20 秒,以 homomixer(Tokushu Kika K.K.制造)于 7000rpm 搅拌生成 W/O/W 乳液。该 W/O/W 乳液于室温搅拌 3 小时,蒸发二氯甲烷及乙醇或将二氯甲烷及乙醇驱散到外层水相中,使油相固化,过 75 μ m 筛,并以纯净水洗涤,以离心分离器(05PR-22: HITACHI)于 2500rpm 离心 5 分钟沉淀微囊,将沉淀微囊收集。将微囊再分散于少量蒸馏水中,向其中加入 1.00g 甘露醇使其溶解,将溶液冻干,约 50℃ 下真空干燥 30 小时得粉末。微囊粉末的回收重量为 5.44g,表示回收率为 54.17%,肽 A 含量为 8.03%。

实验实施例 B4

将 205.5g 的 DL-乳酸聚合物(重均分子量: 21400, 标记量化法确定的羧基量: 76.1 μ mol/g)溶于 354.3g 二氯甲烷中,所得溶液减压下以 0.2 μ m 滤纸(EMFLOW, DFA4201FRP)过滤,并将温度控制在 28.8℃。称取 380.4g 该溶液,并与水溶液相混合,所述的水溶液为将 16.11g 肽 A 乙酸盐溶于 16.22g 蒸馏水中并加热至 60℃ 形成,搅拌混合液 1 分钟得到粗乳化液,然后以 minimixer 于 10150rpm 乳化 2 分钟形成 W/O 乳液,将该 W/O 乳液冷却至 18℃,倾入 25L 的 0.1%(w/w)聚乙烯醇(EG-40, Nippon Syntic Chemical Industry Co., Ltd.制造)水溶液中,该水溶液预先在 18.7℃ 控制 3 分钟 10 秒,以 HQMOMOMIC LINE FLOW(Tokushu Kika K.K.制造)7001rpm 搅拌生成 W/O/W 乳液。该 W/O/W 乳液于 18.5℃ 控温 30 分钟,不控温搅拌 2 小时 30 分钟,以蒸发二氯甲烷及乙醇或将二氯甲烷及乙醇驱散到外层水相中,使油相固化,过 75 μ m 过筛,以离心分离器(H600S, Kokusanenshinki 制造)于 2000rpm 持续地沉淀微囊,将沉淀微囊收集。将微囊再分散于少量蒸馏水中并过 90 μ m 筛,向其中加入 18.85g 甘露醇使其溶解,将溶液冻干得粉末。微囊粉末的回收重量为 117.6g,表示回收率为 68.54%,肽 A 含量为 7.76%。

实验实施例 B5

将 4.80g 的 DL-乳酸聚合物(重均分子量: 28800, 标记量化法确定的羧

基量: 78.1 μ mol/g)溶于 7.8g 二氯甲烷中制备得到溶液。该溶液经称重后, 并与水溶液相混合, 所述的水溶液为将 1.20g 肽 A 乙酸盐溶于 1.2g 蒸馏水中并加热至 60℃ 形成, 然后以匀浆器于 25000rpm 乳化 20 秒形成 W/O 乳液。然后, 将该 W/O 乳液倾入 1.2L 的 0.1%(w/w)的聚乙烯醇(EG-40, Nippon Syntic Chemical Industry Co., Ltd.制造)水溶液中, 该水溶液预先在 15.0℃ 控制 20 秒, 以 homomixer(Tokushu Kika K.K.制造)于 7000rpm 搅拌生成 W/O/W 乳液。该 W/O/W 乳液于室温搅拌 3 小时, 蒸发二氯甲烷及乙醇或将二氯甲烷及乙醇驱散到外层水相中, 使油相固化, 过 75 μ m 筛, 并以纯净水洗涤, 以离心分离器(05PR-22: HITACHI)于 2200rpm 离心 5 分钟沉淀微囊, 将沉淀微囊收集。将微囊再分散于少量蒸馏水中, 向其中加入 0.30g 甘露醇使其溶解, 将溶液冻干成粉状物。微囊粉末的回收重量为 3.42g, 回收率为 53.56%, 肽 A 含量为 11.08%。

实验实施例 B1

将实施例 B1 所述的约 69mg 微囊分散于 0.3mL 分散介质(包含 0.15mg 羧甲基纤维素、0.3mg 聚山梨醇酯 80 及 15mg 甘露醇的蒸馏水溶液)中, 然后以 22G 注射针头对 7 周龄 SD 雄性大鼠经背部皮下给药。在给药后给定的时间, 处死大鼠并清除给药部位残留微囊, 将其中包含的肽 A 定量后除以初始给药量, 得到如表 3 所示的残留率。

[表 3]

残留率: 肽 A	
一天后	89.7%

由表 3 可知, 通过加入过量肽 A 制备的实施例 B1 微囊, 可包含大量生理活性物质, 同时, 并可极其有效地抑制生理活性物质的初始过度释放。此外, 从另一批同样的制剂可以看出, 该微囊实现了生理活性物质在较长期内的恒速释放。

实验实施例 B2

将实施例 B2 所述的约 73mg 微囊分散于 0.3mL 分散介质(包含 0.15mg 羧甲基纤维素、0.3mg 聚山梨醇酯 80 及 15mg 甘露醇的蒸馏水溶液)中, 然后以 22G 注射针头对 7 周龄 SD 雄性大鼠经背部皮下给药。在给药后给定的

时间，处死大鼠并清除给药部位残留微囊，将其中包含的肽 A 定量后除以初始给药量，得到如表 4 所示的残留率。

[表 4]

残留率：肽 A	
一天后	95.2%
2 周后	86.2%

由表 4 可知，仅混合肽 A 制备的实施例 B2 微囊，可包含生理活性物质，可充分抑制生理活性物质的初始过度释放，并长期以近似恒速释放药物。

实验实施例 B3

将实施例 B3 所述的约 112mg 微囊分散于 0.3mL 分散介质(包含 0.15mg 羧甲基纤维素、0.3mg 聚山梨醇酯 80 及 15mg 甘露醇的蒸馏水溶液)中，然后以 22G 注射针头对 7 周龄 SD 雄性大鼠经背部皮下给药。在给药后给定的时间，处死大鼠并清除给药部位残留微囊，将其中包含的肽 A 定量后除以初始给药量，得到如表 5 所示的残留率。

[表 5]

残留率：肽 A	
一天后	87.7%

由表 5 可知，仅混合肽 A 制备的实施例 B3 微囊，可包含生理活性物质，可充分抑制生理活性物质的初始过度释放，并长期以近似恒速释放药物。

实验实施例 B4

将实施例 B4 所述的约 116mg 微囊分散于 0.3mL 分散介质(包含 0.15mg 羧甲基纤维素、0.3mg 聚山梨醇酯 80 及 15mg 甘露醇的蒸馏水溶液)中，然后以 22G 注射针头对 7 周龄 SD 雄性大鼠经背部皮下给药。在给药后给定的时间，处死大鼠并清除给药部位残留微囊，将其中包含的肽 A 定量后除以初始给药量，得到如表 6 所示的残留率。

[表 6]

残留率：肽 A	
一天后	84.7%

由表 6 可知，仅混合肽 A 制备的实施例 B4 微囊，可包含生理活性物

质,可充分抑制生理活性物质的初始过度释放,并长期以近似恒速释放药物。

实验实施例 B5

将实施例 B5 所述的 48.7mg 微囊分散于 0.3mL 分散介质(包含 0.15mg 羧甲基纤维素、0.3mg 聚山梨醇酯 80 及 15mg 甘露醇的蒸馏水溶液)中,然后以 22G 注射针头对 7 周龄 SD 雄性大鼠经背部皮下给药。在给药后的给定时间,处死大鼠并清除给药部位残留微囊,将其中包含的肽 A 定量后除以初始给药量,得到如表 7 所示的残留率。

[表 7]

残留率: 肽 A	
1 天后	83.1%
2 周后	73.0%
4 周后	65.3%
8 周后	49.1%
12 周后	37.5%
16 周后	25.7%
20 周后	13.6%
26 周后	2.4%
28 周后	1.4%

由表 7 可知,仅混合肽 A 制备的实施例 B5 微囊,可包含生理活性物质,并合适地抑制生理活性物质的初始过度释放,并且该微囊实现了生理活性物质地长期恒速释放。

参考实施例 C7

将 206.6g 的 DL-乳酸聚合物(重均分子量: 21900, 标记量化法确定的羧基量: 66.7 μ mol/g)溶于 354.8g 二氯甲烷中得到溶液,将形成的溶液温热并保持在 30 $^{\circ}$ C。称出 381.5g 该溶液,并下述溶液混合,该溶液为将 15.8g 亮丙瑞林(leuproreline)乙酸盐溶入 16.6g 冰乙酸溶液(0.6g 冰乙酸溶于 31.75g 蒸馏水中)中并加热至约 55 $^{\circ}$ C 形成。然后以 minimixer(转速: 约 10,000rpm) (Tokushu Kika K.K.制造)乳化形成 W/O 乳液。然后,将该 W/O 乳液冷却至 18.0 $^{\circ}$ C,倾入 25L 预先控制在 18.0 $^{\circ}$ C 的含 0.1%(w/w)聚乙烯醇(EG-40, Nippon

Syntic Chemical Industry Co., Ltd.制造)及 1% 甘露醇溶液中, 然后以 HOMOMIC LINE FLOW(Tokushu Kika K.K.制造)乳化生成 W/O/W 乳液(涡轮转速: 约 7,000 rpm; 循环泵转速: 约 2,000rpm)。该 W/O/W 乳液带水干燥 3 小时, 过 75 μ m 标准筛, 然后以离心分离器(H-600S, 国产离心机) (转速: 约 2,000rpm; 流速: 约 600ml/分钟)持续地沉淀微囊, 并将沉淀微囊收集。将微囊再分散于少量蒸馏水中并过标准 90 μ m 筛, 向其中加入 18.9g 甘露醇使其溶解, 以冻干机(TRIOMASTER, Kyouwa Sinkuu K. K. 制造)将溶液冻干得粉末(微囊粉末)。微囊的亮丙瑞林乙酸盐含量为 8.2%, 回收率为 75%。添加乙酸可成功地获得 W/O 乳液, 向外层水相加入甘露醇可提高微囊的可分散性。

实验实施例 C1

将参考实施例 C7 得到约 110mg 微囊分散于 0.3mL 分散介质(包含 0.15mg 羧甲基纤维素、0.3mg 聚山梨醇酯 80 及 15mg 甘露醇的蒸馏水溶液)中, 然后以 22G 注射针头对 7 周龄 SD 雄性大鼠经背部皮下给药。在给药后的给定时间, 处死大鼠并将清除给药部位残留的微囊, 将其中包含的肽 A 定量后除以初始给药量, 得到如表 8 所示的残留率。

[表 8]

残留率: 肽 A	
一天后	96.6%
2 周后	89.8%
4 周后	84.1%

由表 2 可知, 仅加入肽 A 制备的参考实施例 C7 微囊, 可以高捕获效率包含生理活性物质, 并具有良好的分散性, 还可抑制生理活性物质的初始过度释放, 此外, 该微囊在长期内以恒速释放生理活性物质。

工业适用性

本发明的控释组合物可包含大量的生理活性物质, 可抑制活性物质的初始过度释放, 并实现在长时间内以稳定的速率释放。