



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 111902129 A

(43) 申请公布日 2020. 11. 06

(21) 申请号 201980017710.6

(22) 申请日 2019.03.07

(30) 优先权数据

62/640394 2018.03.08 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.09.07

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2019/000234 2019.03.07

(87) PCT国际申请的公布数据

W02019/171173 EN 2019.09.12

(71) 申请人 康特伦英国斯温顿捷迪斯有限公司

地址 英国韦特郡

(72) 发明人 Y·T·黄 K·希尔哈尼 A·鲍威

S·斯图尔特

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 童春媛 黄登高

(51) Int.Cl.

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/42 (2017.01)

A61K 9/19 (2006.01)

B01J 41/12 (2017.01)

B01J 47/014 (2017.01)

B01J 47/12 (2017.01)

C09H 3/02 (2006.01)

权利要求书2页 说明书17页 附图9页

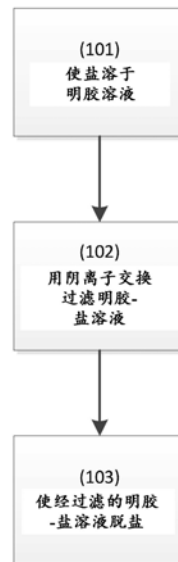
(54) 发明名称

减少明胶中内毒素的方法

(57) 摘要

本公开涉及用于降低明胶中内毒素水平的方法和所得的具有低内毒素含量的明胶。方法包括使盐溶于明胶溶液,并用阴离子交换过滤明胶-盐溶液,以降低内毒素水平。在降低明胶-盐溶液的内毒素水平后,使低内毒素明胶-盐溶液脱盐,以去除盐,从而产生低内毒素明胶溶液。

100



1. 一种减少明胶中内毒素的方法,所述方法包括:
使盐溶于包含明胶和溶剂的明胶溶液,以形成明胶-盐溶液,其中明胶的内毒素含量为至少6,000EU/g;
通过阴离子交换吸附器过滤明胶-盐溶液,使得滤液明胶-盐溶液具有小于2,500EU/g的内毒素含量;并且
使滤液明胶-盐溶液脱盐,以形成内毒素含量小于2,500EU/g的低内毒素明胶溶液。
2. 权利要求1的方法,其中明胶-盐溶液中的盐浓度为75-300mM。
3. 权利要求2的方法,其中明胶-盐溶液的盐浓度为约145-155mM。
4. 权利要求1至3中任一项的方法,其中明胶溶液为1-20%w/w明胶溶液。
5. 权利要求1至4中任一项的方法,其中盐为氯化钠。
6. 权利要求1至5中任一项的方法,其中明胶为鱼明胶。
7. 权利要求1至6中任一项的方法,其中使盐溶于明胶溶液包括将明胶溶液加热到50-70°C。
8. 权利要求1至7中任一项的方法,其中溶剂为水。
9. 权利要求1至8中任一项的方法,其中明胶-盐溶液和低内毒素明胶溶液的内毒素含量小于1,000EU/g。
10. 权利要求1至9中任一项的方法,其中通过阴离子交换吸附器过滤明胶-盐溶液可使该溶液的内毒素含量降低至少95%。
11. 权利要求1至10中任一项的方法,其中在通过阴离子交换吸附器过滤明胶-盐溶液后,至少约85%的明胶内容物回收在滤液明胶-盐溶液中。
12. 权利要求1至11中任一项的方法,其中使滤液明胶-盐溶液脱盐通过渗滤过程实行。
13. 权利要求12的方法,其中渗滤过程包括用第二溶剂稀释滤液明胶-盐溶液,并过滤经稀释滤液明胶-盐溶液,以形成经稀释滤液明胶溶液。
14. 权利要求13的方法,其中过滤经稀释滤液明胶-盐溶液,直至经稀释滤液明胶溶液的电导率在明胶溶液的电导率的小于25%内。
15. 权利要求13至14中任一项的方法,其中滤液明胶-盐溶液与第二溶剂之比为1:1-1:4。
16. 权利要求13至15中任一项的方法,其中从经稀释滤液明胶溶液去除第二溶剂,以形成低内毒素明胶溶液。
17. 权利要求16的方法,其中从经稀释滤液明胶溶液去除第二溶剂,直至经稀释滤液明胶溶液的重量在滤液明胶-盐溶液的重量的小于5%内。
18. 权利要求13至17中任一项的方法,其中第二溶剂包括水。
19. 权利要求1至18中任一项的方法,所述方法还包括从低内毒素明胶溶液去除溶剂,以形成内毒素含量小于2,500EU/g的低内毒素明胶。
20. 一种通过以下方法制备的低内毒素明胶溶液,所述方法包括:
使盐溶于包含明胶和溶剂的明胶溶液,以形成明胶-盐溶液,其中明胶的内毒素含量为至少6,000EU/g明胶;
通过阴离子交换吸附器过滤明胶-盐溶液,使得滤液明胶-盐溶液具有小于2,500EU/g的内毒素含量;

使滤液明胶-盐溶液脱盐,以形成内毒素含量小于2,500EU/g的低内毒素明胶溶液。

21.一种包含溶剂和明胶的低内毒素明胶溶液,其中明胶的内毒素含量小于2,500EU/g。

22.一种制备用于递送药物活性成分的剂型的方法,所述方法包括:

使盐溶于包含明胶和溶剂的明胶溶液,以形成明胶-盐溶液,其中明胶的内毒素含量为至少6,000EU/g;

通过阴离子交换吸附器过滤明胶-盐溶液,使得滤液明胶-盐溶液具有小于2,500EU/g的内毒素含量;

使滤液明胶-盐溶液脱盐,以形成内毒素含量小于2,500EU/g的低内毒素明胶溶液;

将包含低内毒素明胶溶液的制剂定量投料到预成形模具中;并且

冻干低内毒素明胶溶液,以形成剂型。

23.一种通过以下方法制备的用于递送药物活性成分的剂型,所述方法包括:

使盐溶于包含明胶和溶剂的明胶溶液,以形成明胶-盐溶液,其中明胶的内毒素含量为至少6,000EU/g;

通过阴离子交换吸附器过滤明胶-盐溶液,使得滤液明胶-盐溶液具有小于2,500EU/g的内毒素含量;

使滤液明胶-盐溶液脱盐,以形成内毒素含量小于2,500EU/g的低内毒素明胶溶液;

将包含低内毒素明胶溶液的制剂定量投料到预成形模具中;并且

冻干低内毒素明胶溶液,以形成剂型。

减少明胶中内毒素的方法

[0001] 相关申请引用

本申请主张2018年3月8日提交的美国临时专利申请号62/640,394的权益,其全部内容通过引用结合到本文中。

[0002] 公开的领域

本公开涉及减少明胶中内毒素的方法。更具体地讲,本公开涉及减少明胶中内毒素的方法,所述方法通过用阴离子交换过滤明胶-盐溶液,并使经过滤的明胶-盐溶液脱盐。

[0003] 背景

疫苗传统上通过经由肌间、真皮间或皮下途径的肠胃外递送来递送。然而,作为引起局部和远距离抗体免疫反应以及全身免疫反应的手段,粘膜疫苗递送(经由颊、舌下、鼻、口或阴道粘膜)已引起越来越多的关注。另外,通过固体剂型(例如颊/舌下片剂、口服片剂或胶囊、阴道插入剂)的粘膜疫苗递送提供若干优点,例如大规模免疫的潜力以及不依赖冷链的能力。此外,粘膜疫苗递送可适用于有注射恐惧症的患者,并且患者可自我施用疫苗。颊/舌下途径用于将药物和小分子递送到血流已有很多年,但其作为疫苗的粘膜递送手段的应用却很少受到关注。

[0004] 粘膜疫苗递送的主要考虑因素之一是药物组合物中存在的内毒素水平。内毒素是在革兰氏阴性细菌的外膜中发现的复杂脂多糖(“LPS”),其在细胞死亡或裂解后释放。内毒素可引起人体的生理变化,从而可影响器官系统,并破坏人的体液和细胞介导系统。对于肠胃外递送产品,对内毒素含量有严格的限制,因为人体只能耐受血液中少量的内毒素。

[0005] 然而,由于口腔被需氧和厌氧细菌定殖,在摄入包含高内毒素水平的颊/舌下产品时,通常有很小的安全问题。例如,一个有良好口腔卫生的健康成年人,其源自口腔微生物群的内毒素平均水平为约2个内毒素单位(EU)/ml唾液(1ng=10EU)。因此,对有良好口腔卫生的健康成年人而言,内毒素的日产量大于1000EU/天。然而,就疫苗递送而言,内毒素可根据粘膜部位而消除、关闭或增强免疫反应。

[0006] 发明概述

用于疫苗接种(尤其针对感染)的颊/舌下产品中的内毒素水平可积极或消极地影响免疫反应。另外,对于粘膜递送,通常添加佐剂,以改善免疫反应。内毒素的存在可消极或积极地掩盖给定佐剂的益处。此外,已提出内毒素在舌下水平诱导对抗原的耐受,这可抵消佐剂的免疫刺激作用。因此,诸如颊/舌下片剂(用于粘膜疫苗递送以治疗感染)的剂型应具有低内毒素含量。

[0007] 许多剂型用基质成形剂来提供口服分散性能。明胶是主要的基质成形剂之一。明胶从酸性或碱性条件下胶原蛋白的水解得到。由于为天然来源的产品,因此它不定地含有大量的内毒素。例如,在鱼明胶中,内毒素水平可在6000-30,000EU/克明胶的范围内。其它明胶的内毒素含量可以为至少约3,000EU/g、约4,000EU/g、约5,000EU/g、约6,000EU/g、约10,000EU/g、约12,000EU/g、约14,000EU/g、约15,000EU/g、约20,000EU/g、约25,000EU/g或约30,000EU/g。

[0008] 因此,为了制备由具有低内毒素含量的明胶制成的剂型,申请人发现了减少明胶

中内毒素的量的方法。然后,可用所得的低内毒素明胶作为基质成形剂来产生各种剂型。此外,低内毒素明胶可用于多种其它领域,例如棒状包装颗粒和软胶囊。

[0009] 本文提供了降低明胶中内毒素水平的方法和所得的具有低内毒素含量的明胶。方法包括使盐溶于明胶溶液,并用阴离子交换过滤明胶-盐溶液,以降低内毒素水平。在降低明胶-盐溶液的内毒素水平后,使低内毒素明胶-盐溶液脱盐,从而产生低内毒素明胶溶液。低内毒素明胶溶液可用于包括疫苗的各种药物组合物。

[0010] 在一些实施方案中,减少明胶中内毒素的方法包括使盐溶于包含明胶和溶剂的明胶溶液,以形成明胶-盐溶液,其中明胶的内毒素含量为至少6,000EU/g;通过阴离子交换吸附器过滤明胶-盐溶液,使得滤液明胶-盐溶液具有小于2,500EU/g的内毒素含量;使滤液明胶-盐溶液脱盐,以形成内毒素含量小于2,500EU/g的低内毒素明胶溶液。在一些实施方案中,明胶-盐溶液中的盐浓度为75-300mM。在一些实施方案中,明胶-盐溶液中的盐浓度为约145-155mM。在一些实施方案中,明胶溶液为1-20%w/w明胶溶液。在一些实施方案中,盐为氯化钠。在一些实施方案中,明胶为鱼明胶。在一些实施方案中,使盐溶于明胶溶液包括将明胶溶液加热到50-70℃。在一些实施方案中,溶剂为水。在一些实施方案中,明胶-盐溶液和低内毒素明胶溶液的内毒素含量小于1,000EU/g。在一些实施方案中,通过阴离子交换吸附器过滤明胶-盐溶液可使溶液的内毒素含量降低至少95%。在一些实施方案中,在通过阴离子交换吸附器过滤明胶-盐溶液后,至少约85%的明胶内容物回收在滤液明胶-盐溶液中。在一些实施方案中,方法还包括从低内毒素明胶溶液去除溶剂,以形成内毒素含量小于2,500EU/g的低内毒素明胶。

[0011] 在一些实施方案中,使滤液明胶-盐溶液脱盐通过渗滤过程实行。在一些实施方案中,渗滤过程包括用第二溶剂稀释滤液明胶-盐溶液,并过滤经稀释滤液明胶-盐溶液,以形成经稀释滤液明胶溶液。在一些实施方案中,过滤经稀释滤液明胶-盐溶液,直至经稀释滤液明胶溶液的电导率在明胶溶液电导率的小于25%内。在一些实施方案中,滤液明胶-盐溶液与第二溶剂之比为1:1-1:4。在一些实施方案中,从经稀释滤液明胶溶液去除第二溶剂,以形成低内毒素明胶溶液。在一些实施方案中,从经稀释滤液明胶溶液去除第二溶剂,直至经稀释滤液明胶溶液的重量在滤液明胶-盐溶液的重量的小于5%内。在一些实施方案中,第二溶剂包括水。

[0012] 在一些实施方案中,通过以下方法制备低内毒素明胶溶液,该方法包括使盐溶于包含明胶和溶剂的明胶溶液,以形成明胶-盐溶液,其中明胶的内毒素含量为至少6,000EU/g;通过阴离子交换吸附器过滤明胶-盐溶液,使得滤液明胶-盐溶液具有小于2,500EU/g的内毒素含量;使滤液明胶-盐溶液脱盐,以形成内毒素含量小于2,500EU/g的低内毒素明胶溶液。在一些实施方案中,低内毒素明胶溶液包含溶剂和明胶,其中明胶的内毒素含量小于2,500EU/g。

[0013] 在一些实施方案中,制备用于递送药物活性成分的剂型的方法包括,使盐溶于包含明胶和溶剂的明胶溶液,以形成明胶-盐溶液,其中明胶的内毒素含量为至少6,000EU/g;通过阴离子交换吸附器过滤明胶-盐溶液,使得滤液明胶-盐溶液具有小于2,500EU/g的内毒素含量;使滤液明胶-盐溶液脱盐,以形成内毒素含量小于2,500EU/g的低内毒素明胶溶液;将包含低内毒素明胶溶液的制剂定量投料到预成形模具中;并且冻干低内毒素明胶溶液,以形成剂型。

[0014] 在一些实施方案中,通过以下方法制备用于递送药物活性成分的剂型,所述方法包括,使盐溶于包含明胶和溶剂的明胶溶液,以形成明胶-盐溶液,其中明胶的内毒素含量为至少6,000EU/g;通过阴离子交换吸附器过滤明胶-盐溶液,使得滤液明胶-盐溶液具有小于2,500EU/g的内毒素含量;使滤液明胶-盐溶液脱盐,以形成内毒素含量小于2,500EU/g的低内毒素明胶溶液;将包含低内毒素明胶溶液的制剂定量投料到预成形模具中;并且冻干低内毒素明胶溶液,以形成剂型。

[0015] 通过以下详述,另外的优点将对本领域技术人员容易显而易见。本文中的实例和描述应认为本质上是说明性,而不为限制性的。

[0016] 本申请中提及的所有出版物,包括专利文件、科学文章和数据库,出于所有目的全文通过引用结合到本文中,达到如同各单独出版物通过引用单独结合的相同程度。如果本文中提出的定义与通过引用结合到本文的专利、申请、公开申请和其它出版物中提出的定义相反或不一致,则本文中提出的定义胜过通过引用结合到本文的定义。

[0017] 附图简述

以下参考附图描述示例性实施方案,其中:

图1示出本文公开的减少明胶中内毒素的方法的流程图。

[0018] 图2示出产生明胶-盐溶液的步骤的流程图。

[0019] 图3示出本文公开的使用阴离子交换过滤明胶-盐溶液以去除内毒素的步骤的流程图。

[0020] 图4为示出明胶-盐溶液中盐浓度对内毒素去除影响的试验结果的图表。

[0021] 图5示出本文公开的使经过滤明胶-盐溶液脱盐的步骤的流程图。

[0022] 图6为样品级分中的内毒素相对于在实施例1中过滤的明胶-盐溶液的累积体积的绘图。

[0023] 图7为样品级分中的内毒素相对于在实施例2中过滤的明胶-盐溶液的累积体积的绘图。

[0024] 图8为样品级分中的内毒素相对于在实施例3中过滤的明胶-盐溶液的累积体积的绘图。

[0025] 图9A为完全润湿片剂的示意图与照片。

[0026] 图9B为具有硬团块的片剂的示意图与照片。

[0027] 图9C为具有塌缩制剂基质的膜的片剂的示意图与照片,该膜形成在冻干片剂的表面(皮)。

[0028] 在附图中,除非另外说明,相似的参考数字对应相似的组分。另外,附图未按比例绘制。

[0029] 发明详述

本文公开的方法可产生具有低内毒素水平的明胶。然后,低内毒素明胶可用于多种应用,包括但不限于作为药物剂型中的基质成形剂。图1示出减少明胶中内毒素的方法100的流程图。

[0030] 明胶-盐溶液的制备

第一步骤101可包括通过使盐溶入明胶溶液来制备明胶-盐溶液。图2示出使盐溶入明胶溶液的步骤101的流程图。初始明胶溶液的内毒素含量可与该溶液中明胶的相当。另外,

明胶-盐溶液还将具有与初始明胶溶液相当的内毒素含量。

[0031] 步骤101可包括使明胶溶于溶剂,以形成明胶溶液。优选使明胶完全溶于溶剂。可通过搅拌和/或加热溶液来帮助明胶溶于溶剂。在一些实施方案中,可将明胶溶液加热到约40-80°C、约50-70°C、约55-65°C、约58-62°C或约60°C,以促进明胶溶于溶剂中。在明胶完全溶于溶剂后,可使明胶溶液冷却至室温。

[0032] 在一些实施方案中,明胶可以为非胶凝明胶、胶凝明胶(包括鱼明胶、牛明胶、猪明胶、鸡明胶)或其组合。虽然以下公开的实施例用鱼明胶作为模型明胶,但为本文所公开的方法建立的原理也适用于其它明胶类型以及每种明胶类型内可用的相应明胶等级。在一些实施方案中,溶剂可以为水(包括纯净水)。

[0033] 明胶溶液中的明胶浓度可根据明胶的最终用途而变。因此,明胶的具体量和所用溶剂的具体量可根据所需的明胶浓度而变。在一些实施方案中,明胶溶液中的明胶浓度可以为约1-20%w/w、约2-15%w/w、约3-12%w/w、约5-12%w/w、约8-12%w/w或约10-12%w/w。

[0034] 在将盐加入明胶溶液之前,可测定明胶溶液的电导率。在比较脱盐过程后的最终低内毒素明胶溶液时,这种加盐前的电导率测定可能有用。另外,还可在内毒素减少步骤之前测定明胶-盐溶液的电导率。

[0035] 如图2中所示,明胶可完全溶于溶剂,以形成明胶溶液。可通过搅拌和加热明胶溶液来帮助明胶溶解。可使盐溶于明胶溶液,以形成明胶-盐溶液。

[0036] 在一些实施方案中,盐可以为氯化钠、氯化钾、氯化锂、氯化钙、其它氯化物盐或其组合。

[0037] 如下更详细描述,申请人发现,在用于从明胶去除内毒素的步骤102中的阴离子交换过程中,明胶-盐溶液中盐的浓度起关键作用。具体地讲,申请人发现,在明胶溶液中进行阴离子交换而不使用盐会导致明胶阻塞/堵塞在步骤102中的阴离子交换过程中使用的滤器。

[0038] 此外,如下面在步骤102的描述中解释,申请人发现,特定盐浓度对内毒素去除步骤有直接影响。如此,明胶-盐溶液中的盐浓度可以为约50-500mM、约75-300mM、约100-200mM、约125-175mM、约140-160mM、约145-155mM或约150 mM。

[0039] 通过用阴离子交换过滤明胶-盐溶液来减少内毒素

在制备明胶-盐溶液后,可在步骤102中从明胶去除内毒素。图3示出用阴离子交换(“AEX”)过滤明胶-盐溶液的步骤102的流程图。申请人发现,使用阴离子交换色谱法的原理,可从明胶溶液去除内毒素。阴离子交换色谱法涉及将分子基于它们的电荷分离。具体地讲,阴离子交换色谱法使用带正电荷的离子交换树脂,该树脂对具有净负表面电荷的分子具有亲和力。内毒素分子具有净负电荷。因此,内毒素可结合到带正电荷的离子交换树脂,并从明胶-盐溶液去除。

[0040] 如上所述,申请人发现,在减少内毒素期间,没有盐的明胶溶液可阻塞/堵塞阴离子交换装置的滤器。不受理论束缚,申请人相信,明胶溶液中的盐可使明胶分子上的电荷改变到足够水平,从而减少明胶对阴离子交换装置的粘着力。如此,明胶-盐溶液可作为滤液通过阴离子交换装置,而内毒素保留在后。

[0041] 阴离子交换器可以为薄膜吸附器的形式(例如,来自Sartorius Stedim的可购得Sartobind Q,来自Pall Life Sciences的Mustang E)或树脂的形式(例如来自Merk

Millipore的可购得Fractogel EMD TMAE Hicap (M) 树脂和Eshmuno Q树脂)。另外,薄膜吸附器可以各种不同的尺寸获得。例如,Sartobind Q有若干尺寸,包括1mL、7mL、75mL、159mL、1.2L和5L床体积。吸附器尺寸的选择可基于要过滤的体积、要处理的溶液的内毒素穿透点和/或各种处理条件。

[0042] 虽然内毒素可与阴离子交换装置中带正电荷的离子交换树脂结合,但申请人发现,明胶溶液的盐浓度可极大影响通过阴离子交换装置的内毒素去除。为了确定盐浓度对内毒素去除的影响,申请人制备了具有不同氯化钠浓度的10%w/w鱼明胶-纯净水溶液,并用Sartobind Q 1mL Nano(床体积1mL)过滤它们。然后,在过滤之前和之后,申请人测定明胶-盐溶液中的内毒素含量及明胶含量。盐浓度对明胶-盐溶液中内毒素去除的影响的结果显示于以下表1和图4中。

[0043] 表1

过滤前/后的溶液	内毒素含量(EU/g)	明胶含量(%w/w)
(10%明胶)	7000	10.5; 10.4
过滤前 (10%明胶 + 150mM NaCl)	4140	10.3; 10.3
过滤后 (10%明胶 + 150mM NaCl)	191	10.1; 10.1
过滤前 (10%明胶 + 250mM NaCl)	5760	10.0; 10.2
过滤后 (10%明胶 + 250mM NaCl)	464	10.6; 10.7
过滤前 (10%明胶 + 300mM NaCl)	4610	10.3; 10.6
过滤后 (10%明胶 + 300mM NaCl)	441	10.5; 10.4

如以上表1和图4中所示,申请人发现,当鱼明胶-NaCl溶液的盐浓度为约150mM时,滤器可最大地降低溶液中的内毒素含量。当盐浓度远高于150mM时,可去除较少的内毒素。此外,盐浓度远低于150mM可能导致明胶堵塞/阻塞阴离子交换装置。

[0044] 在内毒素减少后,可测定滤液明胶-盐溶液的电导率。在一些实施方案中,内毒素减少步骤可使明胶溶液的内毒素含量降低至少约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约98%或约99%。

[0045] 在一些实施方案中,滤液明胶-盐溶液中的内毒素水平可小于约3000EU/g、约2500EU/g、约2000EU/g、约1500EU/g、约1000EU/g、约750EU/g、约500EU/g、约250EU/g、约200EU/g、约150EU/g或约100EU/g。在一些实施方案中,在内毒素减少步骤后,回收初始明胶含量的至少约85%、约90%、约95%、约98%或约99%。这可通过比较阴离子交换过滤之前和之后的明胶浓度来评估。

[0046] 经过滤明胶-盐溶液的脱盐

在明胶-盐溶液中内毒素已减少后,需要在步骤103中去除或减少在步骤101中加入的盐。图5示出本文公开的使经过滤明胶-盐溶液脱盐的步骤的流程图。其中可从明胶-盐溶液

去除盐的一种方法为通过渗滤。渗滤是一种方法,涉及使用微分子可渗透滤器,基于分子大小从溶液去除盐。为了帮助渗滤,可用水进一步稀释明胶-盐溶液,以减小其粘度;特别是在溶液具有高明胶含量时。随后可通过浓缩步骤去除所加的水。在一些实施方案中,可在不用水稀释明胶-盐溶液的情况下去除盐,因此不需要随后的浓缩步骤;例如,对于具有较低明胶含量的明胶-盐溶液而言。

[0047] 可将经过滤的明胶-盐溶液插入渗滤系统。渗滤系统的实例包括但不限于来自 Sartorius Stedim 的 Sartoflow Advanced 交叉流过滤系统、来自 Spectrum Labs (Repligen) 的 KMPi TFF 系统或来自 Merck 的 Cogent M1 TFF 系统。可在渗滤前测定经过滤明胶-盐溶液的重量和电导率。

[0048] 在一些实施方案中,来自内毒素减少步骤的滤液明胶-盐溶液可用溶剂稀释。在一些实施方案中,溶剂可以为水(包括纯净水)。滤液明胶-盐溶液与溶剂之比可以为约1:1-1:6、约1:1-1:5、约1:1-1:4、约1:1-1:3、约1:1-1:2或约2:1-1:1。在一些实施方案中,滤液明胶-盐溶液与溶剂之比可取决于滤液明胶-盐溶液中明胶的浓度。明胶-盐溶液和溶剂混合物可搅拌和/或加热,以确保充分混合。

[0049] 可在渗滤开始时测定混合物的电导率。另外,可连续监测电导率,并且可在整个渗滤过程中连续搅拌混合物。在混合物的电导率达到与步骤101中加盐之前的初始明胶溶液相对相同或相当的电导率值时,可停止渗滤。相对相同或相当的值可以是,当该值在初始值的小于约25%、约20%、约15%、约10%、约5%、约2%或约1%之内时的值。

[0050] 在盐去除后,经稀释明胶溶液可经过浓缩过程。浓缩过程可去除在渗滤前稀释期间加入的过量溶剂。浓缩过程可通过浓缩系统来实行。浓缩系统的实例包括但不限于来自 Sartorius Stedim 的 Sartoflow Advanced 交叉流过滤系统、来自 Spectrum Labs (Repligen) 的 KMPi TFF 系统或来自 Merck 的 Cogent M1 TFF 系统。在经稀释明胶溶液的重量达到与稀释前滤液明胶-盐溶液相对相同或相当的重量时,可停止经稀释明胶溶液的浓缩。相对相同或相当的值可以是,当该值在初始值的小于约25%、约20%、约15%、约10%、约5%、约2%或约1%之内时的值。

[0051] 渗滤后,留下低内毒素明胶溶液。另外,该所得低内毒素经脱盐明胶溶液的明胶浓度或含量可具有与内毒素减少步骤后的经过滤明胶-盐溶液相对相同或相似的明胶浓度/含量。相对相同或相当的值可以是,当该值在初始值的小于约25%、约20%、约15%、约10%、约5%、约2%或约1%之内时的值。低内毒素明胶溶液的内毒素含量可小于约3000EU/g、约2500EU/g、约2000EU/g、约1500EU/g、约1000EU/g、约750EU/g、约500EU/g、约250EU/g、约200EU/g、约150EU/g或约100EU/g。如此,在渗滤过程中可保持内毒素去除步骤后的内毒素含量。

[0052] 在一些实施方案中,在脱盐步骤后,回收初始明胶含量的至少约85%、约90%、约95%、约98%或约99%。这可通过比较渗滤之前和之后的明胶浓度来评估。在一些实施方案中,在内毒素减少和脱盐步骤二者之后,回收初始明胶含量的至少约85%、约90%、约95%、约98%或约99%。

[0053] 在一些实施方案中,可去除内毒素减少的明胶溶液中的溶剂。例如,可随后使内毒素减少的明胶溶液干燥成具有低内毒素含量的固体明胶。这种低内毒素明胶可以为粉末形式,并且可在包括药品在内的多种应用中用作原料。在一些实施方案中,低内毒素明胶中的

内毒素水平可小于约3000EU/g、约2500EU/g、约2000EU/g、约1500EU/g、约1000EU/g、约750EU/g、约500EU/g、约250EU/g、约200EU/g、约150EU/g或约100EU/g。

[0054] 在药物组合物中的使用

低内毒素明胶溶液可用于各种药物组合物。例如，本文中制备的低内毒素明胶或明胶溶液可以用于美国专利号4,371,516、4,305,502和4,758,598及GB专利号1548022和211423中所述的剂型，所述专利通过引用结合到本文中。

[0055] 在一些实施方案中，制造用于递送药物活性成分(“API”)的溶解性剂型的方法可包括以下步骤：(a) 将包含明胶的制剂定量投料到预成形模具中；(b) 冻干制剂，以形成溶解性剂型。

[0056] 本文所用“定量投料(dosed)”是指预定等分部分的溶液或悬浮液的存放。本文所用“预成形模具”是指可在其中存放水溶液或悬浮液且随后在其内冻干的任何适合的容器或隔室；在本公开的某些优选实施方案中，预成形模具为具有一个或多个泡罩袋的泡罩包装。

[0057] 步骤(a)的制剂可包括基质成形剂。基质成形剂可以为任何常规的非胶凝基质成形剂。适合的非胶凝基质成形剂包括但不限于非胶凝明胶(包括根据上述方法制备的低内毒素明胶)、改性淀粉、普鲁兰多糖、非胶凝鱼明胶、麦芽糖糊精、低分子量葡聚糖、淀粉醚、低至中分子量的纤维素胶及其组合。基质成形剂也可以为任何常规的胶凝基质成形剂。适合的胶凝基质成形剂包括但不限于胶凝明胶(包括根据上述方法制备的低内毒素明胶)、角叉菜胶、透明质酸、果胶、淀粉、羧甲基纤维素钠、琼脂、结冷胶、瓜耳胶、黄蓍胶、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、卡波姆、泊洛沙姆、聚丙烯酸、聚乙烯醇、藻酸盐和聚乙醇酸及其组合。在一些实施方案中，基质成形剂可以为非胶凝基质成形剂和胶凝基质成形剂的组合。如果需要，本领域的普通技术人员可容易地确定这些基质成形剂的适合量。

[0058] 步骤(a)的制剂通常为溶液或悬浮液的形式。因此，在制剂中也存在溶剂。一旦已知制剂的最终组成，即要存在的药物活性成分、赋形剂等，本领域的普通技术人员就可容易地选择适合的溶剂。优选的溶剂包括乙醇、异丙醇、其它低级链烷醇和水，且更优选水。

[0059] 步骤(a)的制剂还可包含另外的药学上可接受的试剂或赋形剂。此类另外的药学上可接受的试剂或赋形剂包括但不限于糖(例如甘露糖醇、右旋糖和乳糖)、无机盐(例如氯化钠和硅酸铝)、哺乳动物来源的明胶、鱼明胶、改性淀粉、防腐剂、抗氧化剂、表面活性剂、粘性增强剂、着色剂、调味剂、pH调节剂、甜味剂、掩味剂及其组合。适合的着色剂包括红色、黑色和黄色氧化铁以及FD & C染料(例如FD & C Blue No. 2和FD & C Red No. 40)及其组合。适合的调味剂包括薄荷、覆盆子、甘草、柑橘、柠檬、葡萄柚、焦糖、香草、樱桃和葡萄香料以及它们的组合。适合的pH调节剂包括柠檬酸、酒石酸、磷酸、盐酸、马来酸和氢氧化钠及其组合。适合的甜味剂包括阿斯巴甜、乙酰舒泛钾和索马甜及其组合。适合的掩味剂包括碳酸氢钠、离子交换树脂、环糊精包合物、吸附质或微囊化活性物及其组合。如果需要，本领域的普通技术人员可容易地确定这些各种另外的赋形剂的适合量。甘露糖醇，具有式(C₆H₈(OH)₆)的有机化合物，并且是本领域的技术人员通常已知的，为优选的另外的药学上可接受的试剂。

[0060] 步骤(a)的制剂还可包含药物活性成分。本文所用“药物活性成分”是指可用于诊断、治愈、缓解、治疗或预防疾病的药品。任何药物活性成分都可用于本公开的目的。当然，

本领域的普通技术人员将容易地理解, 相比与例如步骤 (b) 的胶凝基质成形剂一起, 某些药物活性成分更适合与步骤 (a) 的制剂的非胶凝基质成形剂一起使用。适合的药物活性成分包括但不限于: 止痛剂和抗炎剂、抗酸剂、驱肠虫剂、抗心律不齐剂、抗细菌剂、抗凝剂、抗抑郁剂、抗糖尿病剂、止泻剂、抗癫痫剂、抗真菌剂、抗痛风剂、抗高血压剂、抗疟剂、抗偏头痛剂、抗毒蕈碱剂、抗肿瘤剂和免疫抑制剂、抗原生动物剂、抗风湿剂、抗甲状腺剂、抗病毒剂、抗焦虑剂、镇静剂、催眠剂和神经安定剂、 β 受体阻滞剂、心脏正性肌力剂、皮质类固醇、止咳剂、细胞毒素、减充血剂、利尿剂、酶、抗帕金森病剂、胃肠药、组胺受体拮抗剂、脂质调节剂、局麻剂、神经肌肉药、硝酸酯和抗心绞痛剂、营养剂、阿片类镇痛剂、口服疫苗、蛋白质、肽和重组药物、性激素和避孕药、杀精剂和兴奋剂、及其组合。这些活性成分的具体实例列举可发现于美国专利号6,709,669, 该专利通过引用结合到本文中。存在时, 药物活性成分以显现出临床研究确定的所需生理作用所必需的量存在于步骤 (a) 的制剂中。本领域的普通技术人员可容易地确定在根据本公开制备的剂型中包括的活性成分的适合量。

[0061] 步骤 (a) 的制剂可通过任何常规方法制备, 这些方法通过引用结合到本文中。最典型地, 基质成形剂、溶剂和任选成分可在给定温度下混合在一起以形成溶液。在一些实施方案中, 基质成形剂和溶剂可以为根据上述方法制备的低内毒素明胶溶液。可将任何任选成分与该明胶溶液混合。然后可冷却溶液, 可在此时加入活性成分。

[0062] 同样, 步骤 (a) 的定量投料可通过任何已知的方法或设备来实行, 包括WO 2011/115969中所述的顺序定量投料。

[0063] 在步骤 (b) 中, 冻干在步骤 (a) 中定量投料的制剂, 以形成溶解性剂型。通常, 预成形模具中的定量投料制剂通过在本领域已知的任何方法冷冻, 例如, 使它们通过液氮通道, 优选约1至约10分钟。本领域的普通技术人员将容易地了解使它们通过通道的速度。预成形模具中的定量投料制剂然后可在低压 (即真空) 下冻干。

[0064] 本公开的剂型为溶解性剂型, 因此具有更快崩解时间的明显优点。施用途径可以为经口、阴道或鼻, 虽然优选为经口。一旦置于口腔并与唾液接触, 剂型就可在约1至约180秒内、约1至约120秒内、约1至约60秒内、优选约1至约30秒内、更优选约1至约10秒内、最优选小于约5秒内崩解。

[0065] 在一些实施方案中, 所述剂型可具有小于约200EU/剂型、小于约150EU/剂型、小于约125EU/剂型、小于约100EU/剂型、小于约90EU/剂型、小于约75EU/剂型或小于约50EU/剂型。

实施例

[0066] 首先, 应根据需要清洁和消毒用于制造明胶-盐溶液的所有容器和实验室物品, 以最大程度地减少生物负荷和/或引入额外的内毒素。

[0067] 实施例1

将一定量包含约7000EU/g明胶的鱼明胶加到一定量的纯净水中, 并使其完全溶解 (借助于加热到约60°C, 以促进明胶溶解), 产生10%w/w鱼明胶溶液。然后将溶液冷却到室温, 并取参比样品用于电导率测定。接下来, 向明胶溶液加入一定量氯化钠 (“NaCl”), 以得到在明胶-NaCl溶液中150mM的NaCl浓度。然后测定明胶-NaCl溶液的电导率。

[0068] 在内毒素去除前, 准备阴离子交换装置 (Sartobind Q Single Sep mini - 7mL滤

器)。根据预处理程序进行阴离子交换装置和相关管的使用前准备。用1M氢氧化钠(“NaOH”)溶液对系统进行清洁和消毒,随后用1M NaCl溶液冲洗系统,以去除NaOH溶液。用明胶-NaCl溶液灌注吸附器,以去除用于使用前准备的1M NaCl溶液。然后用蠕动泵装载明胶-NaCl溶液,并驱使其通过Sartobind Q Single Sep mini - 7mL滤器。设定泵保持恒定压力,以便以最小的背压积累驱使溶液通过吸附器。在洁净的容器中收集经过滤明胶-NaCl溶液,并测定该经过滤溶液的电导率。

[0069] 通过Sartobind Q Single Sep mini - 7mL滤器过滤约435g明胶-NaCl溶液(分多个30g级分)。通过以规则的时间间隔收集滤液的级分并评估内毒素含量和明胶测定含量,来评估滤器相对于内毒素的结合能力和穿透点。结果总结于以下表2和图6中。

[0070] 表2

	经过滤明胶溶液的累积重量(g)	内毒素含量(EU/g)	明胶测定含量(%w/w)
步骤 101: 明胶溶液制备			
10%明胶溶液	0	未检	未检
具有 150mM NaCl 的 10%明胶溶液	0	6440	10.3; 10.3
步骤 102: 内毒素减少			
灌注	30	N/A	N/A
经过滤级分 1	60	<100	10/5; 10.2
经过滤级分 2	90	未检	未检
经过滤级分 3	120	112	10.6; 10.4
经过滤级分 4	150	未检	未检
经过滤级分 5	180	122	10.4; 10.5
经过滤级分 6	210	未检	未检
经过滤级分 7	240	129	10.4; 10.4
经过滤级分 8	270	未检	未检
经过滤级分 9	300	144	10.3; 10.5
经过滤级分 10	330	未检	未检
经过滤级分 11	360	138	10.7; 10.5
经过滤级分 12	390	未检	未检
经过滤级分 13	420	未检	未检
经过滤级分 14	435	149	10.6; 10.6

表2证明通过Sartobind Q滤器装置减少了明胶中的内毒素。数据还显示,在已过滤300g溶液后(级分9后)内毒素水平达到稳定水平,且装置最终在级分14阻塞,此时由于吸附器的阻塞,只收集了15mL。这表明,在约300g明胶-盐溶液已通过时,在试验的吸附器中达到平衡条件。内毒素在滤器装置上的持续积累导致装置最终阻塞,而不是内毒素穿透。

[0071] 也对过滤前和过滤后的明胶-盐溶液样品进行紫外光谱测定,并得到相同的测定含量,证实在过滤过程中未去除明胶。

[0072] 实施例2

将一定量包含约14,600EU/g明胶的鱼明胶加到一定量的纯净水中,并使其完全溶解

(借助于加热到约60°C,以促进明胶溶解),产生12%w/w鱼明胶溶液。然后将溶液冷却到室温,并取参比样品用于电导率测定。接下来,向明胶溶液加入一定量氯化钠(“NaCl”),以得到在明胶-NaCl溶液中150mM的NaCl浓度。然后测定明胶-NaCl溶液的电导率。

[0073] 在内毒素去除前,准备阴离子交换装置(Sartobind Q 75mL囊)。根据预处理程序进行阴离子交换装置和相关管的使用前准备。用1M氢氧化钠(“NaOH”)溶液对系统进行清洁和消毒,随后用1M NaCl溶液冲洗系统,以去除NaOH溶液。用明胶-NaCl溶液灌注吸附器,以去除用于使用前准备的1M NaCl溶液。然后用蠕动泵装表明胶-NaCl溶液,并驱使其通过Sartobind Q 75mL。设定泵保持恒定压力,以便以最小的背压积累驱使溶液通过吸附器。在洁净的容器中收集经过滤明胶-NaCl溶液,并测定该经过滤溶液的电导率。

[0074] 通过Sartobind Q 75mL滤器过滤约3000g明胶-NaCl溶液。通过以规则的时间间隔收集滤液的级分并评估内毒素含量和明胶测定含量,来评估滤器相对于内毒素的结合能力和穿透点。结果总结于以下表3和图7中。

[0075] 表3

	经过滤明胶溶液的累积重量(g)	电导率(mScm)	内毒素含量(EU/g 明胶)	明胶测定含量(%w/w)
步骤 101: 明胶溶液制备				
12%明胶溶液	0	(0.8 -0.9)*	14600	未检
具有 150mM NaCl 的 12% 明胶溶液, 过滤前	0	未检	13600	12.4; 12.2
步骤 102: 内毒素减少				
灌注	224	-	-	-
在级分 1 前过滤	312	-	-	-
经过滤级分 1*	335	-	<100	12.1;12.3
级分 2 前过滤	588	-	-	-
经过滤级分 2*	611	-	未检	未检
级分 3 前过滤	937	-	-	-

经过滤级分 3*	960	-	148	12.4; 12.6
级分 4 前过滤	1230	-	-	-
经过滤级分 4*	1253	-	未检	未检
级分 5 前过滤	1623	-	-	-
经过滤级分 5*	1648	-	188	12.2; 12.2
级分 6 前过滤	1905	-	-	-
经过滤级分 6*	1927	-	未检	未检
级分 7 前过滤	2184	-	-	-
经过滤级分 7*	2203	-	175	12.2; 12.3
级分 8 前过滤	2419			
经过滤级分 8*	2437	-	未检	未检
级分 9 前过滤	2604			
经过滤级分 9*	2617	-	158	12.3; 12.3
收集的总过滤级分(级分 1-9)	188	-	-	-
收集的总经过滤明胶溶液(级分 1-9 除外)	2429	13.4	119; < 100	未检

*收集的样品级分各为约20g。

[0076] 表3证明,Sartobind Q 75mL有能力降低初始内毒素水平相当于14,600EU/g明胶的一批明胶中的内毒素水平至小于200EU/g明胶。如此,可用75mL囊过滤约2.5kg的12%w/w明胶-盐溶液,其中,已过滤约1.6kg 12%w/w/明胶-盐溶液后(级分5之后),内毒素水平开始达到稳定水平,表明达到平衡状态。未观察到穿透点。

[0077] 溶液的明胶测定表明,在过滤之前和之后的明胶溶液之间的测定含量没有明显变化,证实明胶没有损失到阴离子交换薄膜吸附器。

[0078] 实施例3

将一定量包含约14,600EU/g明胶的鱼明胶加到一定量的纯净水中,并使其完全溶解(借助于加热到约60°C,以促进明胶溶解),产生12%w/w鱼明胶溶液。然后将溶液冷却到室温,并取参比样品用于电导率测定。接下来,向明胶溶液加入一定量氯化钠(“NaCl”),以得到在明胶-NaCl溶液中150mM的NaCl浓度。然后测定明胶-NaCl溶液的电导率。

[0079] 在内毒素去除前,准备阴离子交换装置(Sartobind Q 75mL囊)。根据预处理程序进行阴离子交换装置和相关管的使用前准备。用1M氢氧化钠(“NaOH”)溶液对系统进行清洁和消毒,随后用1M NaCl溶液冲洗系统,以去除NaOH溶液。用明胶-NaCl溶液灌注吸附器,以去除用于使用前准备的1M NaCl溶液。然后用蠕动泵装表明胶-NaCl溶液,并驱使其通过Sartobind Q 75mL。设定泵保持恒定压力,以便以最小的背压积累驱使溶液通过吸附器。在洁净的容器中收集经过滤明胶-NaCl溶液,并测定该经过滤溶液的电导率。

[0080] 通过Sartobind Q 75mL滤器过滤约5000g明胶-NaCl溶液。取各约20克的十五(15)个经过滤级分用于检验。在连续的级分之间,过滤通过约300g明胶溶液。

[0081] 将最初2000克经过滤明胶-盐溶液转移到渗滤系统(Sartorius Sartoflow Advanced),以通过渗滤和浓缩过程去除盐。根据操作说明设置渗滤系统。然后根据操作说明进行渗滤系统的使用前准备,以清洁和消毒系统。用1M NaOH溶液对系统进行清洁和消毒,随后用纯净水冲洗系统,以去除NaOH溶液。在渗滤系统上进行使用前净水流通,以核实

交叉流滤器(盒)是清洁的且按要求运行。随后在渗滤开始之前优化设置参数(压力和流速)。

[0082] 可将经过滤的明胶-盐溶液装载入渗滤系统的罐中。记录装载入罐的溶液的重量,并用电导率探头测定装载的溶液的电导率。装载的经过滤明胶-盐溶液用纯净水稀释(根据明胶的浓度,经过滤明胶-盐溶液与水之比为2:1或1:1或1:2或1:3或1:4)。搅拌混合物确保混合物充分混合。

[0083] 然后设置渗滤系统以在恒定体积下渗滤。一旦系统被稳定,就开始渗滤以去除盐。记录在渗滤开始时溶液的电导率。监测电导率,并在整个渗滤过程中不断搅拌混合物。在电导率达到与参比明胶溶液样品的电导率相同的值时,停止渗滤过程。

[0084] 然后设置渗滤系统,以通过去除为了稀释添加的过量水来浓缩经稀释的经脱盐明胶溶液,直至经脱盐明胶溶液的重量与稀释前经过滤明胶-盐溶液的重量相同。完成时,清洁渗滤系统,然后进行使用后净水流通,以核实交叉流滤器(盒)被清洁。

[0085] 继续过滤剩余的明胶-盐溶液(约3000g),直至结束。通过以规则的时间间隔收集滤液的级分并评估内毒素含量和明胶测定含量,来评估滤器相对于内毒素的结合能力和穿透点。结果总结于以下表4和图8中。

[0086] 表4

	经过滤明胶溶液的累积重量(g)	电导率(mScm)	内毒素含量(EU/g 明胶)	明胶测定含量(%)
步骤 101: 明胶溶液制备				
12%明胶溶液	0	(~-0.9)*	14,600	
具有 150mM NaCl 的 12%明胶溶液	0	13.2	14000	12.4; 12.6
步骤 202: 内毒素减少				
灌注	(224)	-	N/A	N/A
级分 1 前过滤	524	-	-	-
经过滤级分 1*	540		134	12.6; 12.6
级分 2 前过滤	840	-	-	-
经过滤级分 2*	857	-	未检	未检
级分 3 前过滤	1157	-	-	-
经过滤级分 3*	1177	-	269	未检

级分 4 前过滤	1476	-	-	-
经过滤级分 4*	1494		未检	未检
级分 5 前过滤	1794	-	-	-
经过滤级分 5*	1810	-	697	12.4; 12.4
级分 6 前过滤	2110	-	-	-
经过滤级分 6*	2127	-	未检	未检
*转移收集的经过滤明胶溶液用于渗滤(~累积体积 2L)				
级分 7 前过滤	2427	-	-	-
经过滤级分 7	2449	-	3780	未检
级分 8 前过滤	2748	-	-	-
经过滤级分 8	2771	-	未检	未检
级分 9 前过滤	3071	-	-	-
经过滤级分 9	3092	-	未检	12.3; 12.5
级分 10 前过滤	3392	-		-
经过滤级分 10	3412	-	未检	未检
级分 11 前过滤	3712	-		
经过滤级分 11	3732	-	3480	未检
级分 12 前过滤	4032			
经过滤级分 12	4051		未检	未检
级分 13 前过滤	4351			
经过滤级分 13	4366		2160	12.9; 12.4
级分 14 前过滤	4666			
经过滤级分 14	4690		未检	未检
级分 15 前过滤	4990			
经过滤级分 15	5002		1010	12.3; 12.4
步骤 103: NaCl 去除				
*收集的经过滤明胶 /渗滤前	N/A	-	未检	未检
*收集的经过滤明胶 溶液/渗滤后	N/A	1.2	405	11.6; 11.4

*电导率作为单独的参比样品而确定。

[0087] 表4证明,对于大约最初2kg 12%w/w/明胶-盐溶液,Sartobind Q 75mL有能力降低内毒素水平相当于14/600EU/g明胶的一批明胶中的内毒素水平至小于1000EU/g明胶。在通过渗滤系统处理该物质时,内毒素水平保持。对于接下来的3kg经过滤明胶-盐溶液,内毒素水平继续增加,随后降低。这表明,在用Sartobind Q 75mL过滤2千克体积后内毒素的穿透。

[0088] 关于明胶含量,与过滤前的样品相比,内毒素减少的经过滤样品在明胶测定中未显示实质差异。这证实(与前面的实施例一样),明胶在过滤期间不与阴离子交换吸附器薄膜结合。对于渗滤后样品,该样品显示相当的明胶测定含量。此外,经脱盐样品的电导率测定结果显示与加盐前的样品相当的电导率值,证实脱盐过程是成功的。

[0089] 实施例4

对于实施例4,使用图2、3和5中所述的三个步骤,用内毒素减少的鱼明胶水溶液制造一批冻干片剂。用于实施例4的纯净水的内毒素水平小于0.1EU/ml。

[0090] 如图2和附随段落中所述地制备包含9%w/w鱼明胶和150mM NaCl的3kg鱼明胶-氯化钠水溶液。将鱼明胶加到纯净水中,并使其完全溶解(借助于加热到约60°C),以产生鱼明胶溶液。使溶液冷却到室温,并将NaCl加到鱼明胶溶液。测定所得明胶-盐溶液的内毒素水平,报告为1,100EU/g。

[0091] 为了减少明胶-盐溶液中的内毒素,如关于图3和附随段落所述,通过阴离子交换装置(Sartobind Q 75mL囊)过滤溶液。过滤前,通过使用蠕动泵将1M氢氧化钠溶液泵送通过系统,对Sartobind Q囊和相关的管进行清洁和消毒。随后,将纯净水泵送通过系统,以去除氢氧化钠溶液。然后,通过将1M NaCl溶液泵送通过该系统来灌注该系统,随后泵送一部分明胶-盐溶液以去除NaCl溶液。弃去这部分明胶-盐溶液。

[0092] 通过Sartobind Q过滤器过滤明胶-盐溶液的剩余部分,以降低其内毒素含量。收集的滤液明胶-盐溶液约为2.3kg。然后将滤液明胶-盐溶液转移到渗滤系统(Sartorius Sartoflow Advanced),以通过渗滤和浓缩过程去除盐,如图5和附随段落中所述。

[0093] 在开始脱盐/浓缩过程之前,用1M NaOH溶液对渗滤系统进行清洁和消毒,随后用纯净水冲洗。还对系统进行使用前净水流通。然后用10kDa交叉流过滤器(盒)设置系统的最佳压力和流速。

[0094] 然后设置渗滤系统以在恒定体积下渗滤。监测溶液的电导率,在电导率达到目标值(在本实施例中小于 $0.5\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)时,停止渗滤过程。然后设置渗滤系统,以将经过滤经脱盐明胶溶液浓缩到12%w/w(10-14%范围)的目标明胶浓度。完成时,测定所得明胶溶液(经过滤-经脱盐/经浓缩)的明胶和内毒素含量。所得溶液的明胶含量为11%w/w,内毒素水平为83EU/g。收集约1.8kg的所得明胶溶液。

[0095] 以下表5总结了实施例5的具有低内毒素明胶的冻干片剂的制造。

[0096] 表5

成分	% w/w	定量投料的 500mg 等分部分 的量(mg)	冻干后的量(mg)
缓冲溶液(模拟液体疫苗 制剂)	25%	125 mg	~ 2.6mg **
低内毒素鱼明胶(在目标 12%w/w 鱼明胶溶液中)	50%	250mg(包含 30mg 鱼明胶)	30mg **
甘露糖醇	8%	40 mg	40mg
海藻糖	0.75%	3.75 mg	3.74mg
pH 调节剂	qs pH 范围 6.5 - 7.8	~ 1.3mg	~ 0.04 mg **
水(用于制备水性基质混 合物)	qs 100%	~ 73.5 mg	水被去除

**在冻干期间水被去除后。

[0097] 在该实施例中制备1kg的模拟疫苗制剂混合物,用于冻干片剂的制造。制剂混合物包含50%w/w内毒素减少的经过滤鱼明胶溶液(即,在制造中使用以上制备的0.5kg经过滤鱼明胶溶液)。通过将甘露糖醇和海藻糖加入并溶于13-17°C之间温度的经过滤鱼明胶溶液,来制备制剂。用pH调节剂(例如3%NaOH溶液)将pH调节到7.4的目标pH。然后加入模拟液体疫

苗制剂(在这种情况下为缓冲溶液),并核实pH仍在设定的pH范围内。接下来添加水,使其达到批量大小。

[0098] 将制剂按重量(湿剂量)定量投料到预成形泡罩包装的袋中。在这种情况下,将500mg的等分部分定量投料到预成形泡罩上的每个袋中。一旦定量投料,就使泡罩包装通过液氮冷冻通道,在其中将混合物中的水在泡罩袋内冷冻。在离开冷冻通道时,将产品在冻干前冷冻保存在冷藏柜中。将所需的冷冻保持时间(也称为退火时间)应用于经冷冻片剂,以使片剂退火。在这种情况下,使用6小时的冷冻保持时间。然后将经冷冻片剂装载到冻干机的架上,在那里通过在低压下升华从经冷冻片剂去除冰晶。所得经冻干片剂具有非常高的孔隙率,这允许快速崩解。这由室内分散时间试验(润湿和离解时间)表征。试验五种所得经冻干片剂的样品,发现这些通常少于10秒。结果总结于表6中。在一些实施方案中,在需要较慢的片剂分散/崩解分布时,也认为最多60秒的分散时间对产品是可接受的。还评估所得经冻干片剂的内毒素含量。发现这平均小于75EU/片剂。

[0099] 表6

片剂润湿时间		片剂离解时间	
范围(n=5)	平均时间(n=5)	范围(n=5)	平均时间(n=5)
秒	秒	秒	秒
< 2 - < 4	< 3	< 5 - < 7	< 6

测定方法

电导率测定:使用电导率仪测定溶液的电导率。电导率仪测定溶液中带电荷粒子或离子的量。导致电导率的离子来自溶于水中的电解质。盐(如氯化钠)、酸和碱均为电解质。电导率值与电解质的浓度成比例。电导率探头用电导率校准溶液校准。然后测定溶液的电导率。在本公开中,在步骤101中将盐加到明胶溶液,随后在步骤103通过脱盐过程去除。为了完成脱盐过程,经脱盐明胶溶液的电导率应与原始明胶溶液(加盐前)相当。明胶有一些残留离子,因此测定明胶溶液(不含盐)的电导率,以建立基线电导率。然后用这个电导率值设置渗滤系统。进行溶液的渗滤,直至电导率达到该基线。一旦达到该值,就开始浓缩过程,并保持电导率。

[0100] 内毒素含量测定:根据药典方法“EP2.6.14/USP<81>细菌内毒素-方法D显色动力学”确定溶液中的内毒素含量。使用来自鲎(*Limulus polyphemus*或*Tachypleus tridentatus*)的变形细胞裂解物,用细菌内毒素(BET)试验检测或量化来自革兰氏阴性菌的内毒素。用于该试验的技术为显色技术,它基于合成肽-色原复合物裂解后颜色的显现。在实践中,制备该产品的样品以获得10mg/mL样品浓度,并使用预定稀释度(1:1000)用标准曲线测试内毒素含量,以进行比较。

[0101] 明胶测定含量测定:用UV光谱分析来确定本文公开的溶液的明胶含量。通过在220nm波长下测定校准样品(浓度范围在0.006和0.26mg/ml之间)的UV吸光度来建立明胶测定含量校准曲线。对于试验样品,将适量称入100ml容量瓶,并用DI水补足至体积,以使这些溶液的理论浓度为约0.05mg/ml。测定样品在220nm下的UV吸光度,由此确定明胶的实际浓度(mg/ml)。基于这个值,计算试验样品中的%明胶含量。

[0102] 盐浓度测定:可通过电导率(即,使用电导率仪)确定盐浓度。可通过对一系列盐浓

度测定盐溶液的电导率来获得校准曲线图。明胶可有一些残留电解质；因此，例如，基线浓度可以为~ 0.8-1mScm。在将盐加到明胶溶液时，可测定电导率（这归因于残余电解质+所加的盐。例如，~ 13mScm）。可在渗滤期间监测所加的盐的去除，直至它再次达到基线值。此时，可假定去除全部所加的盐。

[0103] 在制备明胶溶液时，在盐已加入明胶溶液形成明胶-盐溶液后，以及在整个渗滤过程中，可测定盐浓度或电导率。

[0104] 分散特性测定(体外试验)：分散特性(体外试验)：测试最少5个片剂。首先，准备烧杯，该烧杯包含 $20^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 下的约200mL的纯净水。然后将每个片剂从泡罩包装取出，并将片剂基底向下地放置在水表面上。取的时间为每个片剂完全润湿或离解所需的时间。润湿为该单元完全润湿所需的时间。片剂的润湿可分小块地发生，最终合并在一起，从而使整个单元润湿。当单元的中心为润湿的物质时，认为分散试验完成。因此，从单元中心湿透时取润湿时间，因为这是单元的最厚部分。记录五个片剂各自的润湿时间。每次试验的最长时间为60秒。比这更长的时间可简单地写为大于60秒。离解=单元裂开所需的时间。当单元在边缘处开始散开时，可取此时间。记录五个片剂各自的离解时间。每次试验的最长时间为60秒。比这更长的时间可写为大于60秒。在此时间限内，单元偶尔不会完全润湿或全部离解。有时，单元里可能有硬团块；有时它可能根本没有在表面上润湿。另外，整个单元可能覆盖在硬皮里。如果发生这种情况，则在说明中注明，适当时提及“硬团块”或“皮残留”。“硬团块”和/或“皮”的形成可为冻干期间微结构坍塌的指示。图9A-C示出三种可能的非分散状态的简化表示，以及单元在它们出现在水中时的侧视图和俯视图。图9A-C中的相片显示了相同类别的一些代表性单元。分散特性试验的标准为，是否可在60秒或更短的时间内使5个片剂完全润湿和/或离解成明显可知的物质，而不存在硬团块和皮。在一些实施方案中，本文公开的剂型可在60秒或更短的时间内完全润湿和/或离解成明显可知的物质，而不存在硬团块和/或皮。

[0105] 定义

除非另外定义，否则本文所用的所有技术术语、符号以及其它技术和科学术语或专有名词旨在具有与所要求保护主题所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。在某些情况下，为了清楚和/或易于参考，在本文中定义了具有通常理解含义的术语，并且在本文中包括这样的定义不应必然地解释为表示与在本领域通常理解的有实质区别。

[0106] 在本文中对“约”值或参数的提及包括(并描述)针对那个值或参数本身的变化。例如，提及“约X”的描述包括“X”的描述。另外，提及短语“小于”、“大于”、“至多”、“至少”、“小于或等于”、“大于或等于”或其它类似的短语，后接一串值或参数，是指将该短语应用于这串值或参数中的每个值或参数。例如，溶液浓度为至少约10mM、约15mM或约20mM的陈述意在表示该溶液的浓度为至少约10mM、至少约15mM或至少约20mM。

[0107] 除非上下文另外清楚地指明，否则本文所用单数形式“一”、“一个”和“该”也旨在包括复数形式。还应理解，本文所用术语“和/或”是指并且包括一个或多个相关所列项目的任何和所有可能的组合。应进一步了解，在本文中使用时，术语“包括”、“含有”和/或“包含”规定所述特征、整体、步骤、操作、元素、组分和/或单元的存在，但不排除一个或多个其它特征、整体、步骤、操作、元素、组分、单元和/或其组的存在或加入。

[0108] 本申请在文本和附图中公开了几个数值范围。公开的数值范围自然地支持所公开

数值范围内的任何范围或值,包括端点,即使在说明书中没有逐字陈述精确的范围限度,因为可在整个公开的数值范围实践该公开内容。

[0109] 以上描述是为了使本领域的技术人员能够进行和使用本公开而提出,并且在特定应用及其要求的背景下提供。对优选实施方案的各种修改对本领域的技术人员容易显而易见,在不脱离本公开的精神和范围下,本文中限定的通用原理可适用于其它实施方案和应用。因此,本公开不旨在限于所示的实施方案,而是与符合本文公开原理和特征的最宽范围相一致。

100

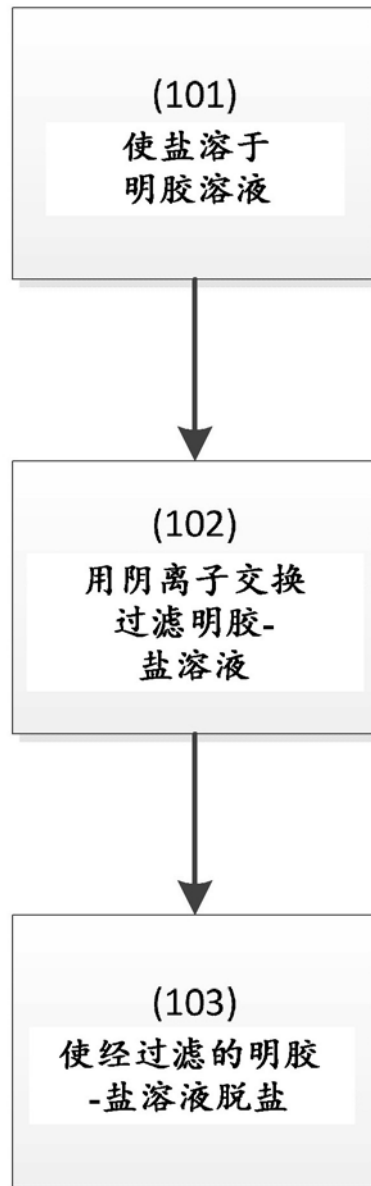


图 1

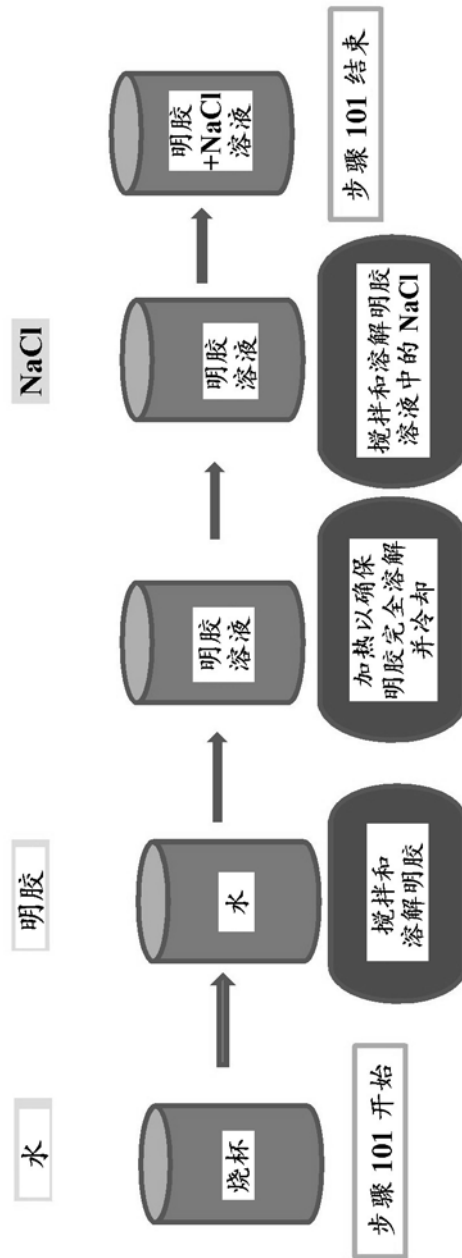


图 2

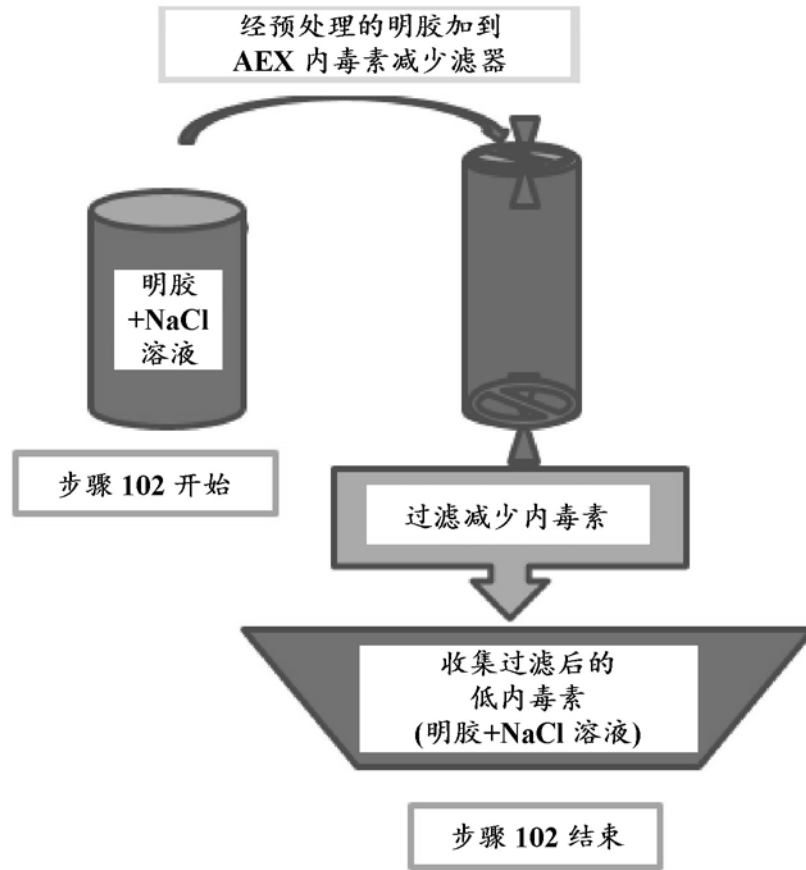


图 3

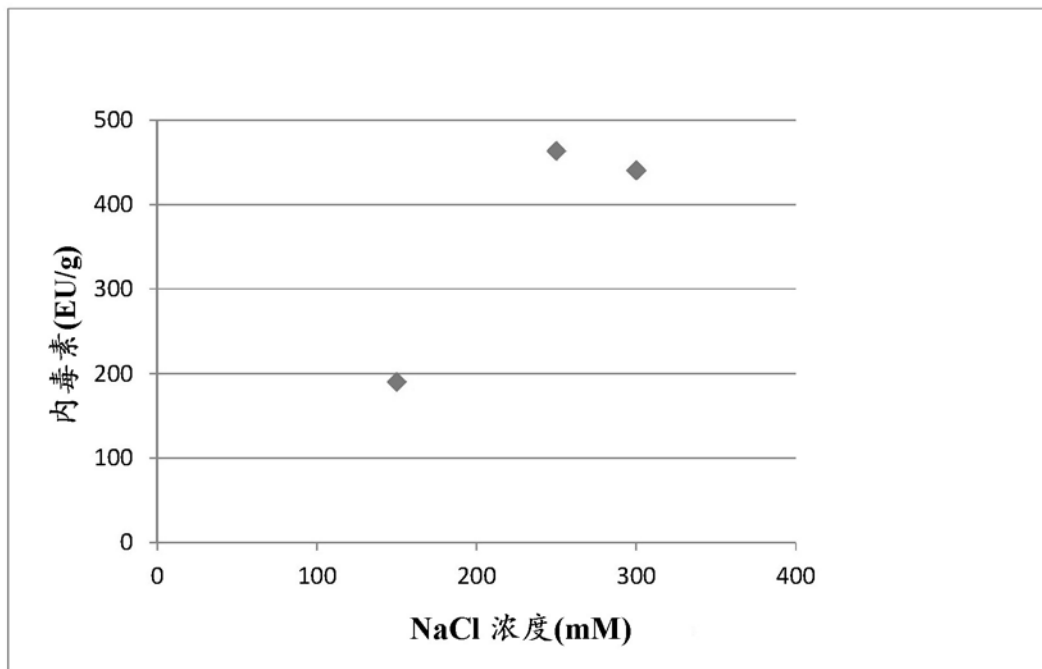


图 4

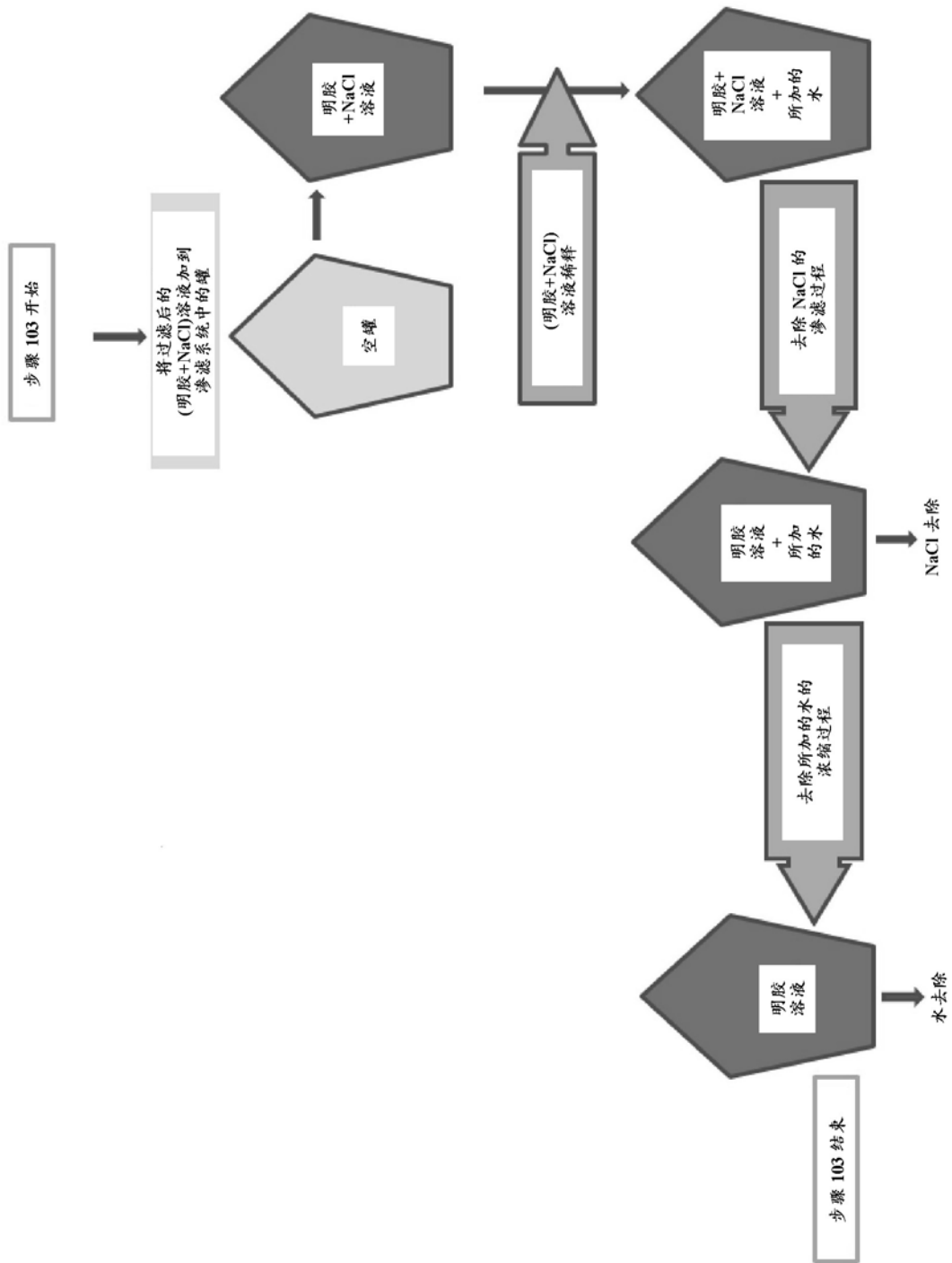


图 5

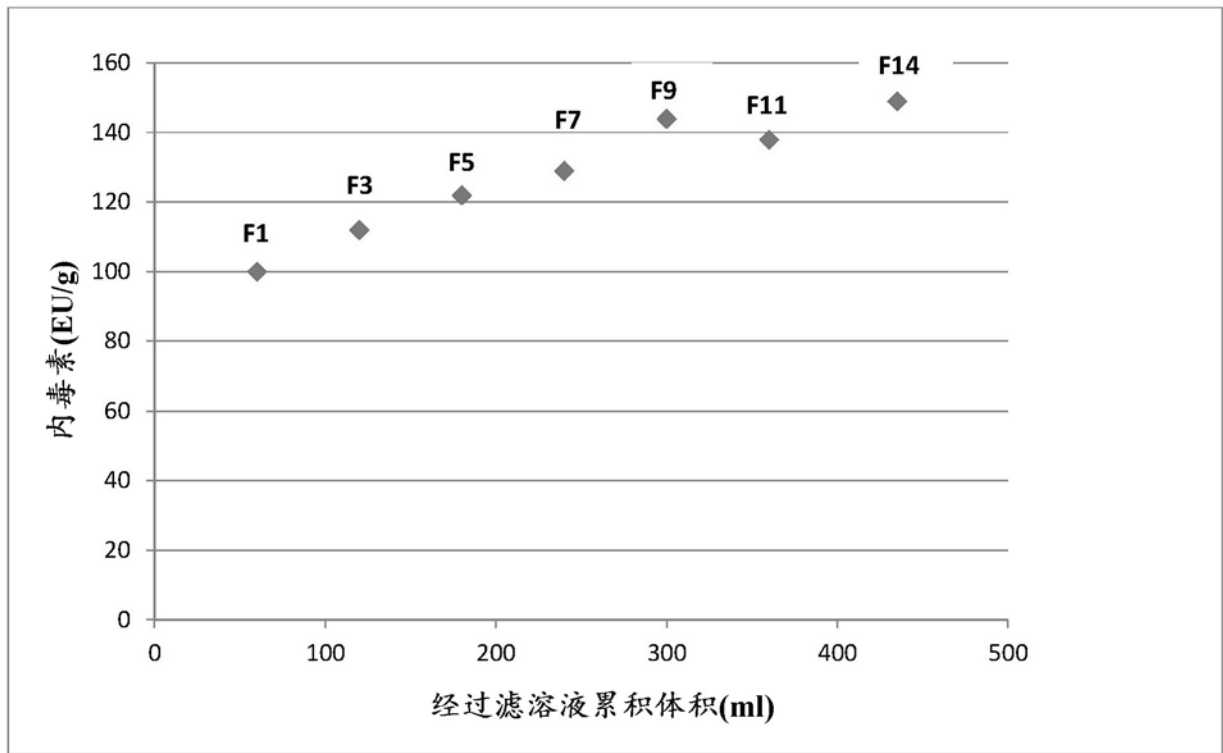


图 6

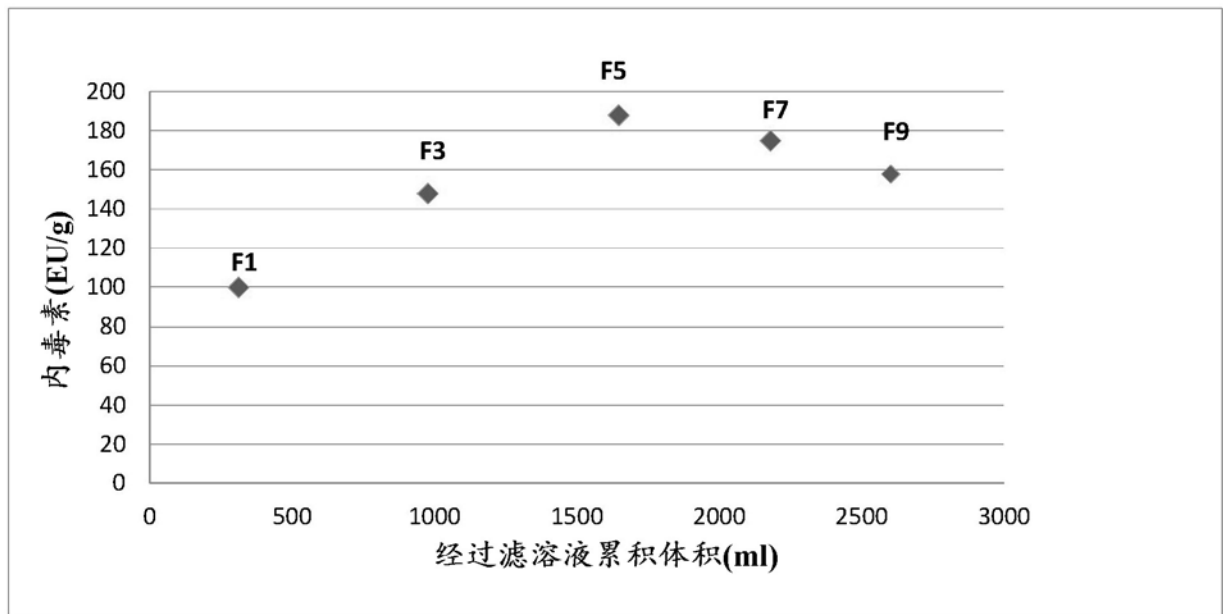


图 7

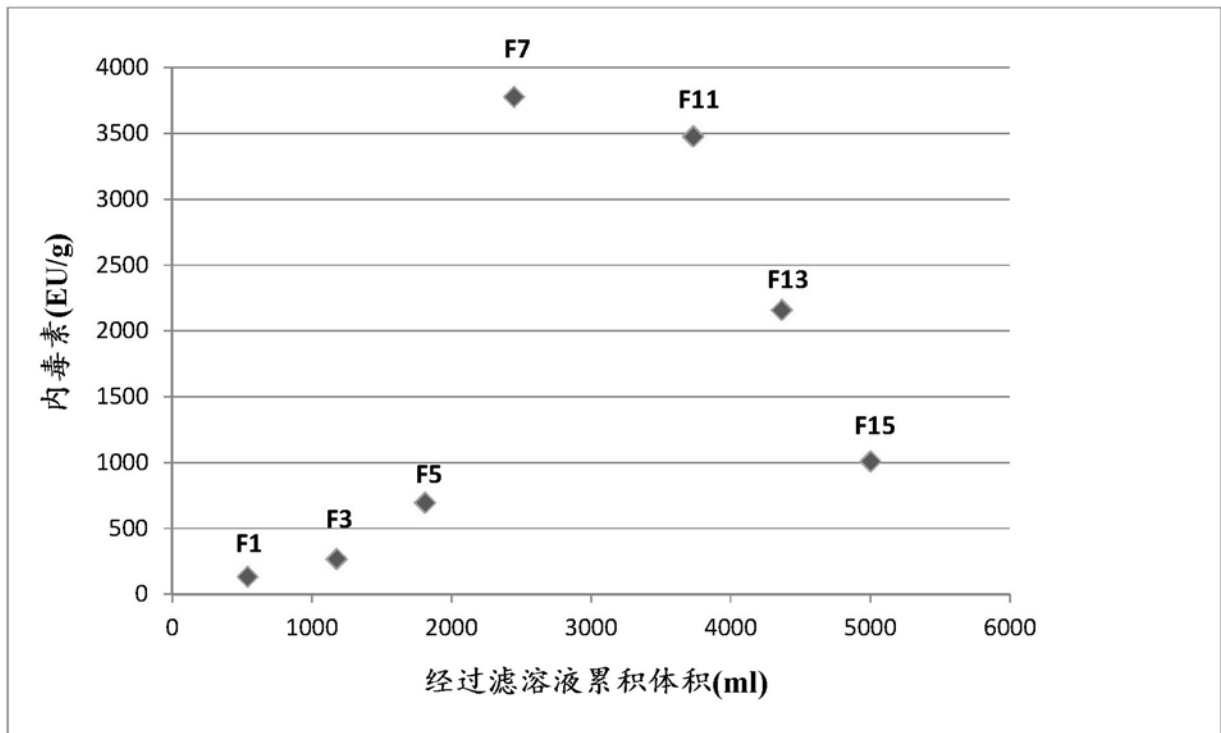
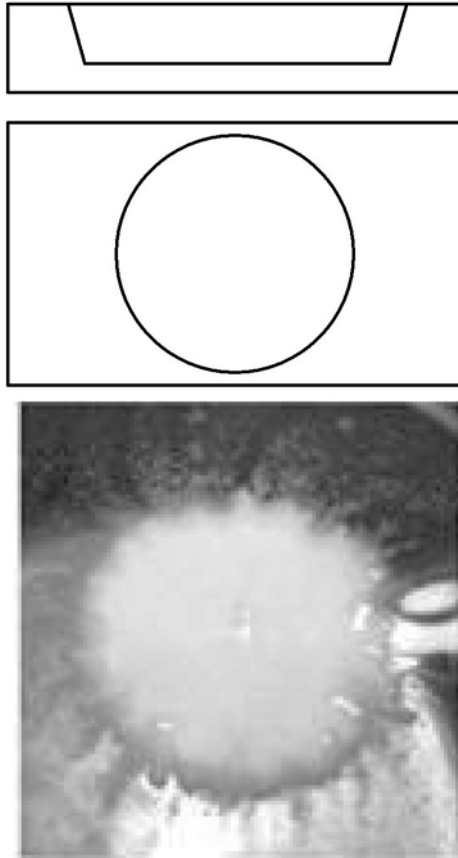
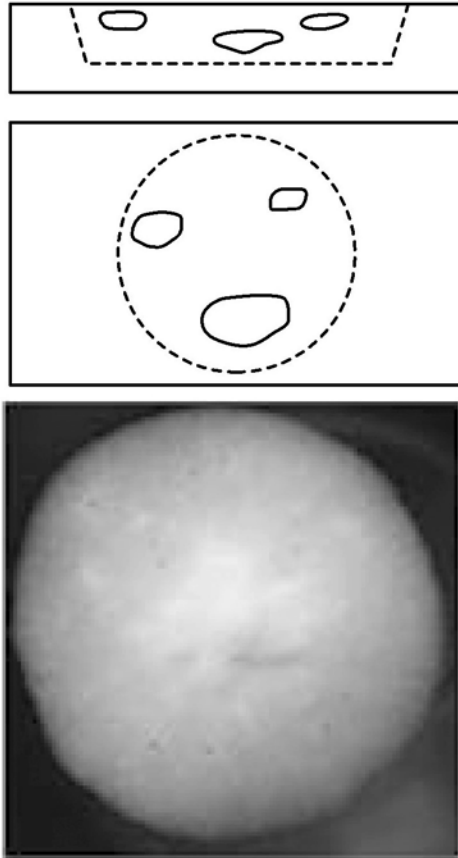


图 8



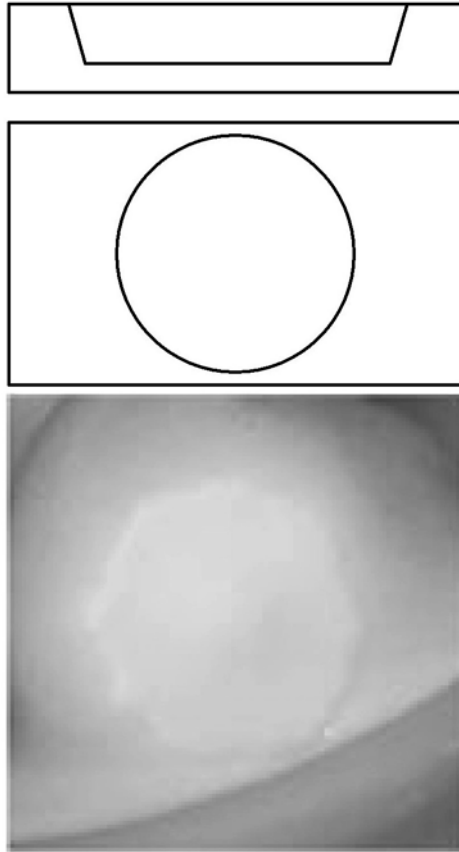
完全润湿

图 9A



团块

图 9B



皮残留

图 9C