

公 告 本

申請日期	12th, JAN. 1999
案 號	88100396
類 別	A61K 38/27

A4
C4

9815086N

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書		522016
一、發明 名稱	中 文	含有人生長激素之水性醫藥組成物
	英 文	HUMAN GROWTH HORMONE-CONTAINING AQUEOUS PHARMACEUTICAL COMPOSITION
二、發明 創作人	姓 名	1. 辰巳正史 2. 井上 桂 3. 梶原淳一
	國 籍	1-3 皆屬日本
	住、居所	1. 兵庫縣神戶市東灘區本山北町3-11-25-101 2. 兵庫縣明石市花園町3-1-502 3. 兵庫縣神戶市西區樫野台5-2-D810
三、申請人	姓 名 (名稱)	日本化學研究股份有限公司 (日本ケミカルリサーチ株式會社)
	國 籍	日本
	住、居所 (事務所)	兵庫縣芦屋市春日町3番19號
	代 表 人 姓 名	芦田 信

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

裝 訂 線

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大類：
IPC分類：

A6
B6

本案已向：

日本 國(地區) 申請專利，申請日期： 案號： ， 有 無主張優先權
1998年2月4日特願平10-39609號

有關微生物已寄存於： ，寄存日期： ，寄存號碼：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明(1)

發明之領域

本發明為有關含有人生長激素之針劑，尤其溶液形之醫藥製劑。

發明之背景

人生長激素(簡稱hGH)為單鏈多肽激素，其天然型包含191胺基酸殘基。hGH常以生物學活性單體形態發生，但在其醫藥製劑振盪等機械或溫度窘迫下聚集成二聚物乃至多聚物，而喪失生物學活性(Becker, G.W. et al.(1987)Biotechnol. Appl. Biochem., 9, p478)。

他方面，已知長期貯存hGH水溶液引起漸漸產生脫氨品而較少形成hGH之聚合產物。脫氨之hGH其生物學活性雖不變(Becker, G.W. et al. (1988)Biotechnol. Appl. Biochem., 10, p326)但予人降低品質之印象而使醫藥產品不佳，故常附說明其內容無虞。

又知hGH由聚集之變質主要在物理窘迫下發生，而由脫氨之變質主要在化學窘迫下發生。

由於這些問題，hGH之最適水性製劑從未開發，故一般為注射前溶解之凍乾製劑。

侏儒需長年hGH治療，故容許自行注射，從開始投與一般在家施行。用hGH之凍乾製劑時，溶在添附之溶劑後，由病人本身(常為小孩)或其家人來皮下或肌肉內注射。故病人或其家人進行凍乾製劑之溶解。此須由醫師給予適當之指導如何溶解，以免形成聚集產物導致hGH生物學活性之下降。其產品也包括hGH應以緩和之圓形

五、發明說明(2)

運動來溶解之注意及解說。

聚集也在凍乾製劑之生產步驟形成，故有種種嘗試抑制聚集之形成。但仍殷望開發更容易操作，比用前溶解之習用劑型更安定之製劑。近年採用附針筒之套組型製劑。但構造複雜，故凍乾hGH之溶解係在針筒施行，須特別小小及充分說明給病人或其家人如何使用。又無法預知之錯誤操作之危險也難以清除。

因hGH常在家由病人或其家人注射，故消除溶解程序之水性hGH製劑會增進方便性。如此適當之水性製劑因無需用前需溶解之習知二管型，如包括凍乾hGH及分裝溶劑之筆型製品等習用構造複雜裝置，故可減輕病人及其家人之負擔。

對hGH水性製劑之主要專利申請案如下。

在未審查專利公報508156/1994，CABI(以下稱CABI公報)記載hGH或其活性同類物之可注射組成物，以2~50mM檸檬酸為緩衝劑調為pH5~7.5，又記載磷酸鹽比檸檬酸鹽可得更佳之安定性而pH約6.0~7.0較佳。

上述CABI公報揭示至少安定12個月之製劑，但其所謂之「安定」乃其中單體量維持不低於起初之85%。惟單體量一般須不低於90%，故CABI之製劑難謂充分安定。

經本發明者們研究改良品質及安定性，與上述CABI不同地發現，在製造溶液型hGH製劑時pH為重要因子，能維持適宜之pH5~7，尤宜pH5.5~6.5之緩衝劑之使用，及這種緩衝劑以如檸檬酸鹽有效(未審查專利公報92125

五、發明說明(3)

/1996)。

Genentech 公司在未審查專利公報 509719/1995(以下稱 Genentech 公報)記載含有 hGH, 甘露醇, 緩衝劑及非離子界面活性劑之 hGH 液形製劑, 其中以檸檬酸鹽緩衝劑為適例。

在未審查專利公報 507497/1993, Nova Nordisk 記載有二價陽離子如鋅之存在下加丙酮或乙醇使 hGH 先結晶後, 凍乾而放入含有如磷酸鹽, 乙酸鋅, 甘油及苯醇之 pH6.1~6.2 懸浮液中來製成之製劑。經於 22~24℃ 6 個月之安定性試驗, 以離子交換 HPLC 供脫氨及分解之式樣, 及以 GPC 供二聚合物及多聚合物之含量試驗由 hGH 結晶製成之懸浮液。結果甚至 6 個月後, 製劑中脫氨產物之含量為 5.0%, 二脫氨產物 1.8%, 二聚合物 1.2% 及多聚合物 0.3%, 均低於從習用凍乾製劑構成之溶液之安定性試驗結果。該公報也記述鋅離子對獲得大結晶很重要。此外, 如丙酮或乙醇等水溶性溶劑雖為 hGH 結晶所須, 但從無提及在懸浮液中 hGH 結晶之二次或更高結構之改變, 故留下未清之點。

丙酮及乙醇為常用於蛋白質之精製, 俾在製劑獲得。此方法利用蛋白質對有機溶劑之低溶解性。在該公報中這種有機溶劑之濃度低於用以製造蛋白質沈澱, 但適合投與人之醫藥製劑。

鑑此, 本發明者們更研究改良之 hGH 水性製劑。在我們研究之方法, 依上述由本發明者們之專利公報及 CABI

五、發明說明(4)

公報用檸檬酸鹽緩衝液製造液態之種種 hGH 水性製劑，而在種種期間試驗其安定性。然後注意任何製劑呈現稍可見細粒，此與聚集體可分別。此細粉可用 $0.22 \mu m$ 濾器去除，但長期貯存後或在如振盪之窘迫下可能再出現。形成這種細粒可成為醫藥產物之品質問題，在開發新水性製劑時須抑制這種粒之形成。

檸檬酸鹽廣泛用於針劑，在稍或弱酸性條件下當作緩衝劑，故此溶液作皮下或肌肉內注射時，如 hGH 之情形（未審查專利公報 510031/94）會引起疼痛。本發明者們也依本身之上述未審查專利公報及 CABI 公報製造之製劑來試驗，結果發現含檸檬酸鹽之 hGH 針劑輸液時引起實質疼痛。

不像製劑之安定性問題，輸液時之疼痛，從製劑之品質而言並非重要問題。但考量 hGH 製劑為長期頻頻注射日病人為小孩，及為消除疼痛用時確保病人之順從性，當然希望注射液體本身無痛。至今仍無輸液時無痛之實際用於治療之製劑。故在輸液時疼痛而言，上述 CABI 公報及 Genentech 公報（後者記載檸檬酸鹽緩衝劑較佳），及由本發明者們前述公報之製劑尚有改良之餘地。疼痛之消除或降低對病人有利。

本發明之第一目的為解決 hGH 水性製劑之前述安定性問題，即提供安定之 hGH 水性製劑，其脫氨，聚合及聚集充分被抑制，前述細粒之形成也被抑制。

本發明之另一目的為提供 hGH 水性製劑，其在皮下或

五、發明說明(5)

肌肉注射當中由於組成物之疼痛被消除或降低。

在凍乾前不強力保持貯存之種種 hGH 製劑，本發明者們發現將 hGH 溶在以馬來酸鹽或丁二酸鹽緩衝劑維持 pH 6 之水溶液，比以檸檬酸鹽緩衝液維持同時 pH 之溶液(未審查專利 92125/1996)安定，且不產生二聚合物或多聚合物，也不產生脫氨產物。所施行之試驗及 hGH 品質之最佳反映變化為用無大小高速液體層析(SE-HPLC)測定單體含量，用逆相柱高速液體層析測定脫氨產物之含量，觀察 pH 測定之一般狀態。水性製劑在生產當中，在熱窘迫下及冷處貯存 6 個月後，進行密集研究之結果，從丙酮酸鹽，乙酸鹽，磷酸鹽，檸檬酸鹽，丁二酸鹽及馬來酸鹽等緩衝劑選出馬來酸鹽，丁二酸鹽及檸檬酸鹽等緩衝劑有適當緩衝能力。

用這些適當緩衝劑再確認在稍或弱酸性 pH 可達成 hGH 之安定。但若製劑在稍~弱酸性條件下作成時，接近觀察可偵測散光性稍可見細粒而可與聚集體區別。故就抑制細粒形成之方法檢查一些化合物。結果發現低濃度氯化苄乙氧銨能有效抑制細粒之形成。據此發現更加研究得知脫氨，聚合，聚集及抑制細粒形成之安定 hGH 水性製劑可用水性製劑之某處方依 hGH 溶在調為稍~弱酸性 pH 而含氯化苄乙氧銨之溶液來調製。終於完成本發明。

就此稍~弱酸性水性製劑更進一步研究而意外發現當作此 pH 範圍之緩衝劑之檸檬酸鹽皮下注射時引發痛，但類似之多元羧酸鹽，如馬來酸鹽或丁二酸鹽卻幾乎無痛

五、發明說明 (6)

。據此發現成功地調製適宜之含 hGH 水性醫藥組成物，安定性佳而幾乎無毒。

發明之要旨

故本發明提供溶在含氯化苄乙氧銨之稍～弱酸性緩衝液之 hGH 注射用水性醫藥組成物。

此稍～弱酸性 pH 宜等於或大於 5 而低於 7，尤宜 5.5～6.5，更宜 5.75～6.25，最好約 pH 6。

從安定性而言，含在本發明組成物中之氯化苄乙氧銨含量只要在製造時及長期貯存中抑制細粒形成則可廣泛決定。但皮下或肌肉注射用醫藥製劑容許 0.002～0.03，宜 0.005～0.02mg/ml。

至於緩衝劑宜調 pH 低於 7 宜不大於 6.5，能維持 pH 在上述低限之緩衝能力則不致於 hGH 沈澱。宜用有 H5～7，尤宜 5.5～6.5 之緩衝作用之緩衝劑。其適例包括馬來酸鹽，丁二酸鹽及檸檬酸鹽。

只要能維持此緩衝能力之緩衝劑之濃度則無特定，一般宜 1～100mM，尤宜 1～50mM，更宜 2～20mM，在本文中「濃度」等為關於緩衝劑時，乃指構成緩衝劑之自由有機酸及由其初或進一步溶解形成之所有共軛鹼而成之化學品之總濃度。

在這些緩衝劑中，尤宜馬來酸鹽及丁二酸鹽，蓋皮下或肌肉內注射本發明組成物時幾乎無痛。尤其馬來酸鹽當作皮下及肌肉內注射用緩衝劑有豐富之經驗。

故本發明更提供含有人生長激素之注射用水性醫藥組

五、發明說明(7)

成物，其中人生長激素乃溶在含有氯化苄乙氧銨之稍～弱酸性緩衝溶液，而宜以馬來酸鹽或丁二酸鹽，尤宜以馬來酸鹽為緩衝劑，使該組成物輸液時甚少疼痛。這種組成物不但保持 hGH 之較高安定性，且各投與時病人大大減少疼痛，故有更多優點。

詳細說明

在本發明，「人生長激素」或其簡寫「hGH」包括 191 胺基酸之天然型 hGH，其來源不限定，可經如基因重組技術或從腦下垂體萃取等任何途徑來獲得，更包括生理活性型具有 N-末端甲硫胺酸及 192 胺基酸者，係得自基因重組及其他變法，其中若干胺基酸被刪除，取代或添加，但具有與天然型人生長激素幾乎相當之活性。

本發明組成物中人生長激素之含量無特定，故其上限可為能溶在所用緩衝液之最大量，而下限可為此製劑中任何通常量。hGH 之量宜達這些製劑常用量約 10mg/ml。

製造本發明組成物時，氯化苄乙氧銨可用液體或固體者，只要作為醫藥製品之添加容容級者均可用。

注射劑之滲透壓在皮下及肌肉內注射尤其重要，故須注意。若低或高滲透壓，則注射時會引發痛。一般推薦之注射液之相對滲透壓為與生理食鹽水相當之 0.9～1.6，尤宜 1.0～1.4。

D-甘露糖醇及中性鹽可單獨或併用，俾本發明組成物調至此相對滲透性。D-甘露糖醇可調相對滲透壓為 0.9～1.6，宜 1.0～1.4，但其在本發明組成物之量為 30～100

五、發明說明 (8)

mg/ml。又可加中性鹽，如氯化鈉，使相對滲透壓為0.9~1.6，宜1.0~1.4，但其在本發明組成物之量為5~20 mg/ml。

因用於醫藥製品之hGH劑量目前調為0.5[IU]/公斤體重/週，故其凍乾製劑有時分多次注射。因此，為免貯存當中被細菌等污染而常加防腐劑。

防腐劑之容許量為不影響hGH之品質而呈現防腐效果。一般，苯甲酸鈉為本發明首推適當之防腐劑，但也可用苯甲酸，酚等。苯醇，間甲酚及對羥苯甲酸甲酯一般用於前須溶解之凍乾hGH製劑，而不推薦於本發明組成物，蓋與苯甲酸鈉，苯甲酸或酚相較，會加速脫氨產物之形成。

防腐劑之用量宜參照注射劑中常用量來調整。對於苯甲酸鈉，本發明組成物中可用如0.1~5，宜0.5~3mg/ml。

本發明之組成物可含非離子界面活性劑，如聚山梨酸酯20或80，若在本發明組成物中添加量為0.5~5mg/ml，尤宜1~2mg/ml，則可加強安定性。

本發明組成物之製造可依如下習用水性注射劑之製法。本發明之組成物宜保持冷藏，尤其2~8℃。

本發明之組成物因係為水溶液，故比用前須溶解之習用製劑更方便，其裝入供給容器可依製造單液型注射劑之常法進行。為減少貯存當中振盪之影響以確保安定性，宜裝填後不留氣泡。

五、發明說明(9)

〈安定性試驗〉

二聚物，多聚物及脫氨產物之形成為習知發生於 hGH 之變化。前兩者可由無大小高速液體層析 (SE-HPLC)，而後者由逆相高速層析 HPLC (RP-HPLC)。此外，用與已知生物學活性之參考標準作其含量之生化測定為對 hGH 生物分析之適當變化測定，蓋 hGH 之 SE-HPLC 測出之單體之峰面積與其生物活性之間有相關 (Yuki 等，醫藥品研究，25:383 (1994))。故用此二種 HPLC 評價 hGH 不但能評價單體及脫氨產物，也能測定 hGH 之生物活性。

本發明者們由這些測定方法檢查本發明 hGH 水性製劑之安定性。結果雖檢出脫氨產物之漸次形成，但以 30~40℃ 貯存後之結果為計算基礎，則在 4℃，pH 5.5~6.5 之貯存條件下一年後脫氨產物之量限於 12% 內，此外，也顯示在 4℃ 貯存 1 年後，單體含量維持 98% 以上。這些結果表示本發明之 hGH 水性醫藥組成物可在冷處貯存之條件下無需習用製品所需之凍乾也能以製品供應。詳細安定性研究如下。

(測定方法)

依 Yuki 等之醫藥品研究，25:383 (1994) 之方法施行 SE-HPLC 及 RP-HPLC。

1. SE-HPLC 用下列柱及條件：

- (1) 柱：TSK 凝膠 G3000SW (7.8mm × 30cm)
- (2) 溶離液：0.2M 磷酸鈉緩衝劑 (pH 6.5)，0.2M 氯化鈉
- (3) 流速：0.6ml/分，柱溫：室溫，偵測波長：280nm

五、發明說明(10)

2. RP-HPLC用下列柱及條件：

(1) 柱：Vydac 214TP 54(4.6mm×25cm)

(2) 溶離液：50mM Tris-HCl緩衝劑(pH7.5)：正丙醇 =
71:29

(3) 流速：0.5ml/分，柱溫：45℃，偵測波長280nm

<試驗例1>

[緩衝液1]

20mM檸檬酸鹽緩衝液，每ml含0.02mg氯化苄乙氧銨及
100mg D-甘露糖醇(pH6.0)。

[緩衝液2]

20mM檸檬酸鹽緩衝液，每ml含100mgD-甘露糖醇(pH
6.0)。

[緩衝液3]

20mM馬來酸鹽緩衝液，每ml含0.02mg氯化苄乙氧銨及
100mg D-甘露糖醇(pH6.0)。

[緩衝液4]

20mM馬來酸鹽緩衝液，每ml含100mgD-甘露糖醇(pH
6.0)。

[緩衝液5]

20mM丁二酸鹽緩衝液，每ml含0.02mg氯化苄乙氧銨及
100mg D-甘露糖醇(pH6.0)。

[緩衝液6]

20mM丁二酸鹽緩衝液，每ml含100mgD-甘露糖醇(pH
6.0)。

五、發明說明 (11)

於上列 6 種緩衝液各加等容量 6.8mg/ml 天然型 hGH 水溶液而緩和地混合，各得水性組成物 1-6 (最後 pH6)。次各通過孔徑 0.22 μ mm 之濾器而抽入注射器各 1ml，去除氣泡而密封得樣品。

上述水性製劑各取出部分，在 2~8℃ 水平振盪 (振幅 20mm，220 循環/分) 24 小時，結果如表 1。

水性製劑 2，4 及 6 均不含氯化苄乙氧銨，分配至注射器而密封當中形成微量細粒且隨振盪而增量。反觀添加氯化苄乙氧銨之水性製劑 1，3 及 5，在分配至注射器而密封當中不見細粒形成且甚至激烈振盪也抑制細粒之形成。單體由 SE-HPLC 或脫氨產物由 RP-HPLC 來定量，振盪前後不見差異，添加氯化苄乙氧銨也不引起差異。結果顯示氯化苄乙氧銨為在含 hGH 水性製劑抑制細粒形成之有效安定性。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(12)

表 1

安定性與在緩衝液中有氯化苄乙氧銨存在之關係

水性 製 劑	分散及封閉時			24小時振盪後		
	單體 含量 (%)	脫氨 品量	一般外觀	單體 含量 (%)	脫氨 品量	一般外觀
1	99.1	2.9	無色，清澄 無細粒	99.1	3.0	無色，清澄 無細粒
2	99.2	2.9	無色，清澄 稍有細粒	99.2	3.1	無色，清澄 細粒增加
3	99.2	2.8	無色，清澄 無細粒	99.2	2.9	無色，清澄 無細粒
4	99.2	2.8	無色，清澄 稍有細粒	99.2	2.9	無色，清澄 細粒增加
5	99.1	2.5	無色，清澄 無細粒	99.1	2.7	無色，清澄 無細粒
6	99.2	2.4	無色，清澄 稍有細粒	99.1	3.0	無色，清澄 細粒增加

五、發明說明 (13)

< 試驗例 2 >

於 20mM 檸檬酸鹽緩衝劑 (pH6.0) 及馬來酸鹽緩衝劑 (pH 6.0) 均含氯化苄乙氧銨 0.002~0.1mg/ml 及 D-甘露糖醇 100mg/ml, 各加等容量 6.8mg/ml 天然型 hGH 水溶液而緩和地混合 (最後 pH6.0), 次各通過孔徑 0.22 μ m 之濾器而抽入注射器各 1ml, 去除氣泡而密封。各依一般外觀評價而測定有效抑制細粒形成所需之氯化苄乙氧銨之量。結果如表 2。當每 ml 製劑中氯化苄乙氧銨之量為 0.002~0.03mg 時有效抑制。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (14)

表 2

氯化苄乙氧銨濃度與抑制細粒形成之關係

氯化苄乙氧銨 (mg/ml)	檸檬酸鹽緩衝液	馬來酸鹽緩衝液
	一般外觀	一般外觀
0.05	稍濁	無色，清澄 無細粒
0.03	無色，清澄 無細粒	無色，清澄 無細粒
0.02	無色，清澄 無細粒	無色，清澄 無細粒
0.01	無色，清澄 無細粒	無色，清澄 無細粒
0.005	無色，清澄 無細粒	無色，清澄 無細粒
0.002	無色，清澄 無細粒	無色，清澄 無細粒
0.001	無色，清澄 有細粒	無色，清澄 有細粒
0	無色，清澄 有細粒	無色，清澄 有細粒

五、發明說明 (15)

< 試驗例 3 >

將試驗例 1 之各水性製劑 1, 3 及 5 在保溫箱作 40℃ 及 50℃ 貯存 0, 3, 7, 10, 14 及 21 日後, 去除密封而在 RP-HPLC 及 SE-HPLC 分析。結果如表 3。依安定性評估式計算 RP-HPLC 之結果, 顯示雖發生脫氨產物之漸次形成, 但若脫氨產物之上限設在 12% 時, 這些製劑至少一年安定。另從 SE-HPLC 之結果, 即使在 2~8℃ 貯存 1 年後, 單體含量可維持等於或大於 98%。從貯存期採樣之比較, 也從這些 HPLC 測定之結果, 這些型緩衝液無差別。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (16)

表 3

在 40℃ 及 50℃ 貯存後，水性製劑 1，3 及 5 之安定性

水性製劑	貯 存 在 40℃							
	單體量 (%) (SE-HPLC)				單體量 (%) (RP-HPLC)			
	初日	7 日	14日	21日	初日	7 日	14日	21日
1	99.1	99.1	99.1	99.0	2.9	13.4	22.7	28.9
3	99.2	99.3	99.2	99.0	2.8	13.5	22.6	28.9
5	99.1	99.0	98.8	98.8	2.5	13.3	23.0	28.7
水性製劑	貯 存 在 50℃							
	單體量 (%) (SE-HPLC)				單體量 (%) (RP-HPLC)			
	初日	7 日	14日	21日	初日	7 日	14日	21日
1	99.1	98.8	98.5	98.3	2.9	29.7	36.3	38.9
3	99.2	99.0	98.9	98.6	2.8	29.9	36.5	39.1
5	99.1	98.8	98.3	97.5	2.5	30.0	36.5	39.0

五、發明說明 (17)

< 試驗例 4 >

[緩衝液 7]

20mM檸檬酸鹽緩衝液，每ml含0.02mg氯化苄乙氧銨及100mg D-甘露糖醇 (pH6.0)。

[緩衝液 8]

20mM馬來酸鹽緩衝液，每ml含0.02mg氯化苄乙氧銨及100mg D-甘露糖醇 (pH6.0)。

[緩衝液 9]

20mM丁二酸鹽緩衝液，每ml含0.02mg氯化苄乙氧銨及100mg D-甘露糖醇 (pH6.0)。

於上列3種緩衝液各加等容量6.8mg/ml天然型hGH水溶液而緩和地混合，各得水性組成物7~9(最後pH6)。次各通過孔徑0.22 μ m之濾器而抽入注射器各1ml，去除氣泡而密封得樣品。各水溶液在2~8 $^{\circ}$ C貯存6個月而貯存0, 1, 3及6個月後之單體含量，脫氨產物之量及一般外觀變化加以檢查。結果如表4。任何這些水性製劑均無細粒形成。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (18)

表 4

水性製劑 7~9 在 2~8℃ 貯存 6 個月之結果

水性製劑	單體量 (%) (SE-HPLC)				單體量 (%) (SE-HPLC)			
	初日	1 個月	3 個月	6 個月	初日	初日	3 個月	6 個月
7	99.0	99.0	99.0	99.1	2.4	2.4	3.7	4.2
8	99.2	99.3	99.1	99.0	2.3	2.3	3.6	4.0
9	99.1	99.0	98.9	98.8	2.4	2.5	3.7	4.3

< 試驗 5 > 輸液時疼痛試驗

為評價由於組成物皮下注射之疼痛，於檸檬酸鹽，馬來酸鹽或丁二酸鹽緩衝液（最後 pH6.0）各加適量 D-甘露糖醇足以得與生理食鹽水相當之相對滲透壓 1.1 來製造注射器。但為試驗而不加 hGH，俾檢查由於緩衝型之疼痛。適當說明試驗目的後，對 10 名健康男性志願者試驗注射下列三製劑時之疼痛強度。這些製劑乃予以育試。疼痛強度以 (++) 極痛，(+) 痛，(±) 可能痛，(-) 無痛

五、發明說明 (19)

來表示。

處方 1: 10mM 檸檬酸鹽緩衝液 + D-甘露糖醇 (pH6.0)

處方 2: 10mM 馬來酸鹽緩衝液 + D-甘露糖醇 (pH6.0)

處方 3: 10mM 丁二酸鹽緩衝液 + D-甘露糖醇 (pH6.0)

表 5

輸液時疼痛與緩衝液型之關係 (每組 10 名)

處 方	(++)	(+)	(±)	(-)
處方 1	10	0	0	0
處方 2	0	0	0	10
處方 3	0	0	1	9

結果如表 5。表中數值乃指呈對應評價人數。檸檬酸鹽之製劑 10 名均為「極痛」，馬來酸鹽之製劑 10 名均為無痛，丁二酸鹽之製劑則 9 名「無痛」而 1 名「可能痛」。這些結果顯示，馬來酸鹽或丁二酸鹽之製劑甚少或無痛，反觀檸檬酸鹽之製劑則有強痛。

< 試驗例 6 >

[緩衝液 10]

20mM 檸檬酸鹽緩衝液，每 ml 含 0.02mg 氯化苄乙氧銨及 50mg D-甘露糖醇，5mg 氯化鈉及 2mg 苯甲酸鈉 (pH6.0)。

[緩衝液 11]

20mM 馬來酸鹽緩衝液，每 ml 含 0.02mg 氯化苄乙氧銨及

五、發明說明 (20)

50mgD-甘露糖醇，5mg 氯化鈉及2mg 苯甲酸鈉 (pH6.0)。

[緩衝液 12]

20mM丁二酸鹽緩衝液，每ml含0.02mg氯化苄乙氧銨及50mgD-甘露糖醇，5mg 氯化鈉及2mg 苯甲酸鈉 (pH6.0)。

於上列3種緩衝液各加等容量6.8mg/ml天然型hGH水溶液而緩和她混合，各得水性組成物10~12(最後pH6)。次各通過孔徑0.22 μ mm之濾器而抽入注射器各1ml，去除氣泡而密封得樣品。各水溶液在40 $^{\circ}$ C及50 $^{\circ}$ C貯存，21日後打開而在RP-HPLC及SE-HPLC分析，結果如表6。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (21)

表 6
水性製劑 10~12 之分析結果

水性 製 劑	單體量 (%) (SE-HPLC)				單體量 (%) (SE-HPLC)			
	40℃		50℃		40℃		50℃	
	初日	21日後	初日	21日後	初日	21日後	初日	21日後
10	99.2	99.1	99.2	98.5	2.3	28.0	2.3	38.1
11	99.4	99.2	99.4	98.5	2.3	27.9	2.3	37.9
12	99.2	98.9	99.2	98.0	2.4	28.0	2.4	38.3

在 40 及 50℃ 貯存 21 日後，單體量變化極少，如試驗例 3 長期安定性足夠一年。

< 試驗例 7 >

[緩衝液 13]

20 mM 馬來酸鹽緩衝液，每 ml 含 0.02 mg 氯化苄乙氧銨及 100 mg D-甘露糖醇 (pH 6.0)。

五、發明說明(22)

於上列緩衝液 13 加等容量 20.4 mg/ml 天然型 hGH 水溶液而緩和地混合，得水性製劑 13 (最後 pH6)。次通過孔径 0.22 μ mm 之濾器而抽入注射器各 1 ml，去除氣泡而密封得樣品。水性製劑在 40℃ 及 50℃ 貯存，21 日後打開而在 RP-HPLC 及 SE-HPLC 分析，結果如表 7。

表 7

水性製劑 13 之安定性

水 性 製 劑	單體量 (%) (SE-HPLC)				單體量 (%) (SE-HPLC)			
	40℃		50℃		40℃		50℃	
	初日	21日後	初日	21日後	初日	21日後	初日	21日後
13	99.2	98.8	99.2	97.1	2.2	28.5	2.2	39.6

在 40 及 50℃ 貯存 21 日後，單體量變化極少，如試驗例 1 長期安定性足夠一年。

下面參照範例說明本發明。但本發明不限於此。所列各成分可增減量或濃度，一種以上成分可以其他成分代

五、發明說明 (23)

替，或包括追加成分。

<例 1 >

依下列處方混合成緩衝液後，加下述 hGH 溶液，過濾消毒而得注射劑（最後 pH6.0）。

[緩衝液]

氯化苄乙氧銨	0.02mg
D-甘露糖醇	
20mM檸檬酸鹽緩衝液	適量
共	1ml (pH6.0)

[hGH 溶液]

6.8ml/ml天然型 hGH 水溶液 1ml

<例 2 >

仿例 1（最後 pH6.0）依下列處方而得注射劑（最後 pH 6.0）。

[緩衝液]

氯化苄乙氧銨	0.02mg
D-甘露糖醇	100mg
20mM馬來酸鹽緩衝液	適量
共	1ml (pH6.0)

[hGH 溶液]

6.8ml/ml天然型 hGH 水溶液 1ml

<例 3 >

仿例 1（最後 pH6.0）依下列處方而得注射劑（最後 pH 6.0）。

五、發明說明(24)

[緩衝液]

氯化苳乙氧銨	0.02mg
D-甘露糖醇	100mg
20mM丁二酸鹽緩衝液	適量
共	1ml (pH6.0)

[hGH 溶液]

6.8ml/ml天然型hGH水溶液.....1ml

<例4>

仿例1(最後pH6.0)依下列處方而得注射劑(最後pH6.0)。

[緩衝液]

氯化苳乙氧銨	0.02mg
D-甘露糖醇	50mg
苯甲酸鈉	2mg
氯化鈉	5mg
20mM檸檬酸鹽緩衝液	適量
共	1ml (pH6.0)

[hGH 溶液]

6.8ml/ml天然型hGH水溶液.....1ml

<例5>

仿例1(最後pH6.0)依下列處方而得注射劑(最後pH6.0)。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (25)

[緩衝液]

氯化苄乙氧銨	0.02mg
D-甘露糖醇	50mg
苯甲酸鈉	2mg
氯化鈉	5mg
20mM馬來酸鹽緩衝液	適量
共	1ml (pH6.0)

[hGH 溶液]

6.8ml/ml天然型hGH水溶液.....1ml

<例 6 >

仿例 1 (最後 pH6.0)依下列處方而得注射劑(最後 pH 6.0)。

[緩衝液]

氯化苄乙氧銨	0.02mg
D-甘露糖醇	50mg
苯甲酸鈉	2mg
氯化鈉	5mg
20mM丁二酸鹽緩衝液	適量
共	1ml (pH6.0)

[hGH 溶液]

6.8ml/ml天然型hGH水溶液.....1ml

<例 7 >

仿例 1 (最後 pH6.0)依下列處方而得注射劑(最後 pH 6.0)。

五、發明說明 (26)

[緩衝液]

氯化苄乙氧鎂	0.02mg
D-甘露糖醇	100mg
20mM馬來酸鹽緩衝液	適量
共	1ml (pH6.0)

[hGH 溶液]

6.8ml/ml天然型 hGH 水溶液 1ml

< 例 8 >

仿例 1 (最後 pH6.0) 依下列處方而得注射劑 (最後 pH 6.0)。

[緩衝液]

氯化苄乙氧鎂	0.02mg
D-甘露糖醇	100mg
20mM馬來酸鹽緩衝液	適量
共	1ml (pH6.0)

[hGH 溶液]

6.8ml/ml天然型 hGH 水溶液 1ml

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

四、中文發明摘要(發明之名稱：

含有人生長激素之水性醫藥組成物)

提供含有人生長激素之水性醫藥組成物，其中人生長激素乃溶在氯化苄乙氧銨，最好以馬來酸鹽緩衝為稍弱酸性溶液。此組成物充分安定，可以液態供給而可製成無痛組成物。

英文發明摘要(發明之名稱：

HUMAN GROWTH HORMONE-CONTAINING)
AQUEOUS PHARMACEUTICAL COMPOSITION

Provided is an aqueous pharmaceutical composition comprising human growth hormone wherein said human growth hormone is dissolved in a benzalkonium chloride-containing, slightly to weakly acidic solution buffered, most preferably, with maleate. The composition is sufficiently stable to be supplied in liquid state and can be prepared as a less painful composition.

991

六、申請專利範圍

第 88100396 號「含有人生長激素之水性醫藥組成物」專利案
(89年9月1日修正)

申請專利範圍：

1. 一種含有人生長激素之注射用水性醫藥組成物，其中人生長激素乃溶在含有氯化苄乙氧銨之稍弱酸性緩衝液內，其中該人生長激素的容量於 1mℓ 該組成物中達至 10mg，氯化苄乙氧銨的容量於 1mℓ 該組成物中為 0.002~0.03mg，且該組成物以 1~100mM 馬來酸鹽緩衝。
2. 如申請專利範圍第 1 項之組成物，其中 pH 為等於或大於 5 而低於 7。
3. 如申請專利範圍第 1 或 2 項之組成物，其中組成物更含 30~100mg/mℓ D-甘露糖醇及 / 或 5~20 mg/mℓ 中性鹽。
4. 如申請專利範圍第 1 或 2 項之組成物，其中含防腐劑，係選自苯甲酸鈉，苯甲酸及酚。
5. 如申請專利範圍第 4 項之組成物，其中防腐劑為 0.1~5mg/mℓ 苯甲酸鈉。
6. 如申請專利範圍第 1 或 2 項之組成物，其中含有非離子界面活性劑。
7. 如申請專利範圍第 6 項之組成物，其中非離子界面活性劑乃選自聚山梨酸酯 20 及聚山梨酸酯 80。
8. 如申請專利範圍第 6 項之組成物，其中每 mℓ 該組成物含 0.5~5mg 非離子界面活性劑。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂
線