

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480032978.0

[51] Int. Cl.

A61K 38/18 (2006.01)

A61L 24/00 (2006.01)

[43] 公开日 2006年12月13日

[11] 公开号 CN 1878565A

[22] 申请日 2004.9.10

[21] 申请号 200480032978.0

[30] 优先权

[32] 2003.9.12 [33] US [31] 60/502,493

[86] 国际申请 PCT/US2004/029560 2004.9.10

[87] 国际公布 WO2005/025595 英 2005.3.24

[85] 进入国家阶段日期 2006.5.9

[71] 申请人 惠氏公司

地址 美国新泽西州

共同申请人 埃特克斯公司

[72] 发明人 黎宏美 H·西赫尔曼 金贤东

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 刘 玥

权利要求书9页 说明书22页 附图2页
按照条约第19条的修改10页

[54] 发明名称

用于递送成骨蛋白的注射型磷酸钙固体小棒
剂和糊剂

[57] 摘要

成骨蛋白可通过注射型固体小棒剂或可硬化糊剂来递送。该制剂包含磷酸钙材料、成骨蛋白以及任选的添加剂和活性成分,例如骨吸收抑制剂。同时公开了注射型药物组合物的制备方法和使用该成骨性组合物治疗骨缺损的方法。

1. 一种成骨蛋白注射递药用组合物，所述组合物包含：
成骨蛋白；
5 磷酸钙材料，
其中所述组合物呈固体小棒型。
2. 权利要求 1 的组合物，其中所述成骨蛋白选自骨形态发生蛋白家族成员。
3. 权利要求 2 的组合物，其中所述成骨蛋白选自 BMP-2、
10 BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、BMP-10、BMP-12 和 BMP-13。
4. 权利要求 3 的组合物，其中所述成骨蛋白是 BMP-2。
5. 权利要求 1 的组合物，其中所述成骨蛋白占所述组合物重量的约 1%至约 90%。
6. 权利要求 5 的组合物，其中所述成骨蛋白占所述组合物重量的约 15%至约 40%。
15
7. 权利要求 1 的组合物，所述组合物还包含骨吸收抑制剂。
8. 权利要求 7 的组合物，其中所述骨吸收抑制剂是二膦酸盐。
9. 权利要求 8 的组合物，其中所述二膦酸盐选自阿仑膦酸盐、西马膦酸盐、氯膦酸盐、EB 1053、依替膦酸盐、伊班膦酸盐、奈立
20 膦酸盐、奥帕膦酸盐、帕米膦酸盐、利塞膦酸盐、替鲁膦酸盐、YH 529、唑来膦酸盐及其药物可接受的盐、酯、酸和混合物。
10. 权利要求 1 的组合物，其中所述磷酸钙材料包括选自以下的材料：无定形磷灰石磷酸钙、低级结晶磷灰石磷酸钙、羟基磷灰石、磷酸三钙、氟磷灰石和它们的组合。
- 25 11. 权利要求 10 的组合物，其中所述磷酸钙材料包括低级结晶磷灰石磷酸钙。
12. 权利要求 11 的组合物，其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的钙与磷酸盐的比例小于 1:1.5。

13. 权利要求 12 的组合物，其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的钙与磷酸盐的比例约为 1:1.4。
14. 权利要求 1 的组合物，其中所述磷酸钙材料占所述组合物重量的约 10%至约 99%。
- 5 15. 权利要求 14 的组合物，其中所述磷酸钙材料占所述组合物重量的约 40%至约 60%。
16. 权利要求 1 的组合物，所述组合物还包含选自以下的添加剂：药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合。
- 10 17. 权利要求 16 的组合物，其中所述添加剂选自羧甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、聚交酯、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚氧乙烯氧化物、羧基乙烯基聚合物、聚乙烯醇、右旋糖酐硫酸酯和它们的组合。
18. 权利要求 16 的组合物，其中所述添加剂占所述组合物重量的约 1%至约 90%。
- 15 19. 权利要求 18 的组合物，其中所述添加剂占所述组合物重量的约 20%至约 40%。
20. 权利要求 1 的组合物，所述组合物还包含骨吸收抑制剂和选自以下的添加剂：药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合。
- 20 21. 权利要求 1 的组合物，其中所述小棒是圆柱形的，所述圆柱形小棒的直径介于约 0.1mm 和 3.0mm 之间。
22. 权利要求 1 的组合物，其中所述小棒的长度介于约 1.0mm 和 5.0cm 之间。
- 25 23. 一种成骨蛋白注射递药用组合物，所述组合物包含：
成骨蛋白；
磷酸钙材料，
其中所述组合物呈可硬化糊剂形式。

24. 权利要求 23 的组合物, 其中所述成骨蛋白选自骨形态发生蛋白家族成员。

25. 权利要求 24 的组合物, 其中所述成骨蛋白选自 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、BMP-10、BMP-12 和 BMP-13。

5 26. 权利要求 25 的组合物, 其中所述成骨蛋白是 BMP-2。

27. 权利要求 23 的组合物, 其中所述成骨蛋白占所述组合物重量的约 0.01% 至约 2%。

28. 权利要求 27 的组合物, 其中所述成骨蛋白占所述组合物重量的约 0.03% 至约 1%。

10 29. 权利要求 23 的组合物, 所述组合物还包含骨吸收抑制剂。

30. 权利要求 29 的组合物, 其中所述骨吸收抑制剂是二膦酸盐。

31. 权利要求 30 的组合物, 其中所述二膦酸盐选自阿仑膦酸盐、西马膦酸盐、氯膦酸盐、EB 1053、依替膦酸盐、伊班膦酸盐、奈立膦酸盐、奥帕膦酸盐、帕米膦酸盐、利塞膦酸盐、替鲁膦酸盐、YH 529、
15 唑来膦酸盐及其药物可接受的盐、酯、酸和混合物。

32. 权利要求 23 的组合物, 其中所述磷酸钙材料包括选自以下的材料: 无定形磷灰石磷酸钙、低级结晶磷灰石磷酸钙、羟基磷灰石、磷酸三钙、氟磷灰石和它们的组合。

33. 权利要求 32 的组合物, 其中所述磷酸钙材料包括低级结晶
20 磷灰石磷酸钙。

34. 权利要求 33 的组合物, 其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的钙与磷酸盐的比例小于 1:1.5。

35. 权利要求 34 的组合物, 其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的钙与磷酸盐的比例约为 1:1.4。

25 36. 权利要求 23 的组合物, 其中所述磷酸钙材料占所述组合物重量的约 30% 至约 70%。

37. 权利要求 36 的组合物, 其中所述磷酸钙材料占所述组合物重量的约 45% 至约 55%。

38. 权利要求 23 的组合物, 所述组合物还包含选自以下的添加剂: 药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合。

5 39. 权利要求 38 的组合物, 其中所述添加剂选自羧甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、聚交酯、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚氧乙烯氧化物、羧基乙烯基聚合物、聚乙烯醇、右旋糖酐硫酸酯和它们的组合。

40. 权利要求 38 的组合物, 其中所述添加剂占所述组合物重量的约 1%至约 90%。

10 41. 权利要求 40 的组合物, 其中所述添加剂占所述组合物重量的约 10%至约 20%。

42. 权利要求 23 的组合物, 所述组合物还包含骨吸收抑制剂和选自以下的添加剂: 药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合。

15 43. 一种制备成骨蛋白注射递药用组合物的方法, 所述组合物包含成骨蛋白和磷酸钙材料, 所述方法包括下述步骤:

(a) 将干的成骨蛋白与干的磷酸钙材料混合制成干混合物;

(b) 通过添加含水缓冲液重建所述干混合物形成糊状物;

(c) 将所述糊状物模制成棒状组合物;

20 (d) 干燥步骤(c)的棒状组合物制成成骨蛋白注射递药用棒状组合物。

44. 权利要求 43 的方法, 其中所述成骨蛋白选自骨形态发生蛋白家族成员。

25 45. 权利要求 44 的方法, 其中所述成骨蛋白选自 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、BMP-10、BMP-12 和 BMP-13。

46. 权利要求 45 的方法, 其中所述成骨蛋白是 BMP-2。

47. 权利要求 43 的方法, 其中按所述组合物的重量计, 将用量介于约 1%至约 90%范围之间的成骨蛋白和所述磷酸钙载体混合。

48. 权利要求 47 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 15%至约 40%范围之间的成骨蛋白和所述磷酸钙载体混合。
49. 权利要求 43 的方法，其中所述组合物还包含骨吸收抑制剂，并且其中将干的所述骨吸收抑制剂混合在所述干混合物中。
- 5 50. 权利要求 49 的方法，其中所述骨吸收抑制剂是二膦酸盐。
51. 权利要求 50 的方法，其中所述二膦酸酯选自阿仑膦酸盐、西马膦酸盐、氯膦酸盐、EB 1053、依替膦酸盐、伊班膦酸盐、奈立膦酸盐、奥帕膦酸盐、帕米膦酸盐、利塞膦酸盐、替鲁膦酸盐、YH 529、唑来膦酸盐及其药物可接受的盐、酯、酸和混合物。
- 10 52. 权利要求 43 的方法，其中所述磷酸钙材料包括选自以下的材料：无定形磷灰石磷酸钙、低级结晶磷灰石磷酸钙、羟基磷灰石、磷酸三钙、氟磷灰石和它们的组合。
53. 权利要求 52 的方法，其中所述磷酸钙材料包括低级结晶磷灰石磷酸钙。
- 15 54. 权利要求 53 的方法，其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的钙与磷酸盐的比例小于 1:1.5。
55. 权利要求 54 的方法，其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的钙与磷酸盐的比例约为 1:1.4。
56. 权利要求 43 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 10%至约 99%范围之间的磷酸钙材料和所述成骨蛋白混合。
- 20 57. 权利要求 56 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 40%至约 60%范围之间的磷酸钙材料和所述成骨蛋白混合。
58. 权利要求 43 的方法，其中所述组合物还包含选自以下的添加剂：药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合，并且其中将干的添加剂混合在所述干混合物中。
- 25 59. 权利要求 58 的方法，其中所述添加剂选自羧甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、聚交酯、聚乙二醇、聚乙烯吡咯

烷酮、聚氧乙烯氧化物、羧基乙烯基聚合物、聚乙烯醇、右旋糖酐硫酸酯和它们的组合。

60. 权利要求 58 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 1%至约 90%范围之间的添加剂混合在所述干混合物中。

5 61. 权利要求 60 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 20%至约 40%范围之间的添加剂混合在所述干混合物中。

62. 权利要求 43 的方法，其中所述组合物还包含骨吸收抑制剂和选自以下的添加剂：药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合。

10 63. 权利要求 43 的方法，其中所述含水缓冲液选自磷酸缓冲盐溶液、盐水、基于甘氨酸的缓冲液和它们的组合。

64. 权利要求 43 的方法，其中含水缓冲液与干混合物的比例介于约 0.5:1 至约 2:1。

15 65. 权利要求 43 的方法，其中模制法是使用选自以下的方法来完成的：制模、挤压、压制、钻孔和它们的组合。

66. 权利要求 43 的方法，所述方法还包括在步骤(d)之前或之后切割所述棒状组合物的步骤。

67. 权利要求 43 的方法，其中所述棒状组合物是圆柱形的，所述圆柱形棒状组合物的直径介于约 0.1mm 和 3.0mm 之间。

20 68. 权利要求 43 的方法，其中所述棒状组合的长度介于约 1.0mm 和 5.0cm 之间。

69. 一种制备成骨蛋白注射递药用组合物的方法，所述组合物包含成骨蛋白和磷酸钙材料，所述方法包括下述步骤：将干的所述磷酸钙材料和含成骨蛋白的含水缓冲液混合制成糊剂。

25 70. 权利要求 69 的方法，其中所述成骨蛋白选自骨形态发生蛋白家族成员。

71. 权利要求 70 的方法，其中所述成骨蛋白选自 BMP-2、BMP-4、EMP-5、BMP-6、BMP-7、BMP-10、BMP-12 和 BMP-13。

72. 权利要求 71 的方法，其中所述成骨蛋白是 BMP-2。

73. 权利要求 69 的方法，其中所述成骨蛋白占所述糊剂重量的约 0.01% 至约 2%。

5 74. 权利要求 73 的方法，其中所述成骨蛋白占所述糊剂重量的约 0.03% 至约 1%。

75. 权利要求 69 的方法，其中所述组合物还包含骨吸收抑制剂，并且其中将干的所述骨吸收抑制剂混合在所述糊剂中。

76. 权利要求 75 的方法，其中所述骨吸收抑制剂是二膦酸盐。

10 77. 权利要求 76 的方法，其中所述二膦酸盐选自阿仑膦酸盐、西马膦酸盐、氯膦酸盐、EB 1053、依替膦酸盐、伊班膦酸盐、奈立膦酸盐、奥帕膦酸盐、帕米膦酸盐、利塞膦酸盐、替鲁膦酸盐、YH 529、唑来膦酸盐及其药物可接受的盐、酯、酸和混合物。

15 78. 权利要求 69 的方法，其中所述磷酸钙材料包括选自以下的材料：无定形磷灰石磷酸钙、低级结晶磷灰石磷酸钙、羟基磷灰石、磷酸三钙、氟磷酸钙和它们的组合。

79. 权利要求 78 的方法，其中所述磷酸钙材料包括低级结晶磷灰石磷酸钙。

80. 权利要求 79 的方法，其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的钙与磷酸盐的比例小于 1:1.5。

20 81. 权利要求 80 的方法，其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的钙与磷酸盐的比例约为 1:1.4。

82. 权利要求 69 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 30% 至约 70% 范围之间的磷酸钙材料和所述含水缓冲液混合。

25 83. 权利要求 82 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 45% 至约 55% 的磷酸钙材料和所述含水缓冲液混合。

84. 权利要求 69 的方法，其中所述组合物还包含选自以下的添加剂：药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合，并且其中将干的添加剂混

合在所述糊剂中。

85. 权利要求 84 的方法，其中所述添加剂选自羧甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、聚交酯、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚氧乙烯氧化物、羧基乙烯基聚合物、聚乙烯醇、右旋糖酐硫酸酯和它们的组合。

86. 权利要求 84 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 1%至约 90%范围之间的添加剂混合在所述糊剂中。

87. 权利要求 86 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 10%至约 20%范围之间的添加剂混合在所述糊剂中。

88. 权利要求 69 的方法，其中所述组合物还包含骨吸收抑制剂和选自以下的添加剂：药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合。

89. 权利要求 69 的方法，其中所述含水缓冲液选自磷酸缓冲盐溶液、盐水、基于甘氨酸的缓冲液和它们的组合。

90. 权利要求 69 的方法，其中含水缓冲液与磷酸钙材料的比例介于约 0.5:1 至约 2:1。

91. 一种治疗患有骨缺损的哺乳动物的方法，该方法包括给予所述骨缺损部位有效量的权利要求 1 的成骨蛋白注射递药用组合物。

92. 权利要求 91 的方法，其中所述骨缺损是骨质疏松的骨。

93. 一种治疗患有骨缺损的哺乳动物的方法，该方法包括下述步骤：

(a) 给予所述骨缺损部位有效量的权利要求 1 的成骨蛋白注射递药用组合物；

(b) 给予所述骨缺损部位有效量的骨吸收抑制剂。

94. 权利要求 93 的方法，其中步骤(a)在步骤(b)之前进行。

95. 权利要求 93 的方法，其中步骤(b)在步骤(a)之前进行。

96. 权利要求 93 的方法，其中步骤(a)和步骤(b)同时进行。

97. 一种治疗患有骨缺损的哺乳动物的方法，该方法包括给予所

述骨缺损部位有效量的权利要求 23 的成骨蛋白注射递药用组合物。

98. 一种治疗患有骨缺损的哺乳动物的方法，该方法包括下述步骤：

5 (a) 给予所述骨缺损部位有效量的权利要求 23 的成骨蛋白注射递药用组合物；

(b) 给予所述骨缺损部位有效量的骨吸收抑制剂。

99. 权利要求 98 的方法，其中步骤(a)在步骤(b)之前进行。

100. 权利要求 98 的方法，其中步骤(b)在步骤(a)之前进行。

101. 权利要求 98 的方法，其中步骤(a)和步骤(b)同时进行。

用于递送成骨蛋白的注射型磷酸钙固体小棒剂和糊剂

5 相关申请

本申请要求 2003 年 9 月 12 日申请的美国临时申请号 60/502,493 的优先权，所述临时申请通过引用结合到本文中。

发明领域

10 本发明涉及成骨蛋白及其药物制剂领域。

相关背景技术

特发性骨质疏松症是一种病因不明的疾病，其特征在于骨质的进行性丢失和不断增长的脆性，从而导致了骨折易感性的显著增加。在所有的肌骨骼疾病中，骨质疏松症是最普遍的，45 岁以上妇女中有 56% 罹患该病。Praemer 等，“Musculoskeletal Conditions in the United States”，Amer. Acad. of Orthopaedic Surgeons, Park Ridge, IL (1992)。由于骨质疏松症的发病率是随着年龄的增长而增加，因此随着老年人口百分率的持续增长，骨质疏松症将会变得越来越普遍。骨质疏松症难以治疗，目前还没有已知的治愈病例。最后，最重要的是，骨质疏松症与发病率和死亡率有实质性的联系。骨质疏松症导致的最严重的骨折是髌关节部位的近股骨的骨折。由于每年要发生超过 300,000 例，因此目前髌部骨折是老年人中最常见的骨折。每六个白种妇女中，就会有一个在她的一生中经历一次髌部骨折(Cummings 等, Arch. Intern. Med., 第 149 卷, 第 2455-2458 页(1989))，如果这些妇女都活到 90 岁，那么该数字就会变成 1/3。

除了治疗骨质疏松的骨骼，还需要治疗或预防与骨质疏松症有关的骨折的方法，例如通过局部给予成骨蛋白。成骨蛋白就是那些能够诱导，或者是帮助诱导软骨和/或骨形成的蛋白质。很多这种成

骨蛋白是最近几年才被分离和鉴定的，其中的一些已经通过重组方法进行生产。

此外，已经开发把成骨蛋白递送到诱导骨形成所需部位的各种制剂。

- 5 但是不管在这个领域做出了多大的努力，还是需要一种修复和/或治疗骨质疏松骨和骨质减少骨的有效的方法，以使骨质疏松症引起的骨折的发生或严重性减到最小或有所降低。

发明概述

- 10 本发明涉及成骨蛋白注射递药用组合物，即：成骨性组合物。这种组合物可以呈固体小棒型(the form of a solid rod)，优选圆柱形固体小棒型，或者是可硬化糊剂形式。所述组合物包含成骨蛋白和磷酸钙材料。

- 在本发明的一些优选实施方案中，所述成骨蛋白是骨形态发生蛋白家族中的一员，更优选是 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、BMP-10、BMP-12 和 BMP-13 的其中之一，最优选是 BMP-2。如果以本发明的固体小棒剂的重量计，那么成骨蛋白的含量优选介于约 1%至约 90%的范围之间，更优选介于约 15%至约 40%的范围之间，如果以本发明的糊剂的重量计，那么成骨蛋白的含量介于约
15 0.01%至约 2%的范围之间，更优选介于约 0.03%至约 1%的范围之间。

- 在本发明的一些优选实施方案中，所述磷酸钙材料包括选自以下的材料：无定形磷灰石磷酸钙、低级结晶(poorly crystalline)磷灰石磷酸钙、羟基磷灰石、磷酸三钙、氟磷灰石和它们的组合。最优选磷酸钙材料是低级结晶磷灰石磷酸钙。如果以棒状成骨性组合物
25 (rod-shaped osteogenic composition)的重量计，那么磷酸钙材料的含量优选介于约 10%至约 99%的范围之间，更优选介于约 40%至约 60%的范围之间，如果以可硬化糊剂成骨性组合物的重量计，那么磷酸钙材料的含量优选介于约 30%至约 70%的范围之间，更优选介于约

45%至约 55%的范围之间。

本发明另外的实施方案涉及也包含骨吸收抑制剂的成骨性组合
物。这种骨吸收抑制剂优选是选自以下的二膦酸盐：阿仑膦酸盐、
西马膦酸盐(cimadronate)、氯膦酸盐、EB 1053、依替膦酸盐、伊班
5 膦酸盐、奈立膦酸盐、奥帕膦酸盐、帕米膦酸盐、利塞膦酸盐、替
鲁膦酸盐、YH 529、唑来膦酸盐及其药物可接受的盐、酯、酸和混
合物。

本发明另外的实施方案涉及成骨性组合物，该成骨性组合物也
包含选自以下的添加剂：药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨
10 基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合，更优
选选自以下的添加剂：羧甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤
维素、聚交酯、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚氧乙烯氧化物、羧
基乙烯基聚合物、聚乙烯醇、右旋糖酐硫酸酯和它们的组合。如果
以棒状成骨性组合物的重量计，那么添加剂的含量优选介于约 1%至
15 约 90%的范围之间，更优选介于约 20%至约 40%的范围之间，如果
以可硬化糊剂成骨性组合物的重量计，那么添加剂的含量优选介于
约 1%至约 90%的范围之间，更优选介于约 10%至约 20%的范围之间。

当本发明的成骨性组合物为固体圆柱形小棒型时，圆柱形小棒
的直径优选介于约 0.1mm 和 3.0mm 之间，更优选约 1.0mm，优选圆
20 柱形小棒的长度介于约 0.5cm 和 5.0cm 之间。

本发明另外的实施方案涉及制备成骨蛋白注射递药用棒状组合
物的方法，所述组合物包含成骨蛋白和磷酸钙材料，所述方法包括
下述步骤：(a)将干的成骨蛋白与干的磷酸钙材料混合制成干混合物；
(b)通过添加含水缓冲液重建所述干混合物形成糊状物；(c)将所述糊
25 状物模制成棒状组合物；(d)干燥步骤(c)的棒状组合物制成成骨蛋白
注射递药用棒状组合物。在优选的实施方案中，所述含水缓冲液选
自磷酸缓冲盐溶液、盐水、基于甘氨酸和谷氨酸的缓冲液和它们的
组合。含水缓冲液与干混合物的体积重量(ml:g)比介于约 0.5:1 至约 2:1

的范围之间。优选通过制模、挤压、压制、钻孔(boring)或其组合来完成模制法。在一些优选的实施方案中，所述棒状组合物是在步骤(d)之前或之后进行切割。

5 本发明的又一个实施方案涉及制备成骨蛋白注射递药用糊剂组合物的方法，所述组合物包含成骨蛋白和磷酸钙材料，所述方法包括将干的磷酸钙材料与含有成骨蛋白的含水缓冲液混合制成糊剂的步骤。在本发明优选的实施方案中，所述含水缓冲液选自磷酸缓冲盐溶液、盐水、基于甘氨酸和谷氨酸的缓冲液和它们的组合。含水缓冲液与磷酸钙材料的比例介于约 0.5:1 至约 2:1 的范围之间。

10 本发明的另一些实施方案还涉及治疗患有骨缺损的哺乳动物的方法，所述方法包括给予所述骨缺损部位有效量的本文中要求保护的成骨蛋白注射递药用组合物。本发明的另一些实施方案还涉及治疗患有骨缺损的哺乳动物的方法，所述方法包括下述步骤：(a)给予所述骨缺损部位有效量的本文中要求保护的成骨蛋白注射递药用组合物；(b)给予所述骨缺损部位有效量的骨吸收抑制剂。给予骨吸收抑制剂步骤可以在步骤(a)之前、步骤(a)之后或者与步骤(a)同时进行。

附图简述

20 图 1 显示使用 125I-rhBMP-2 作为示踪物，来自 α -BSM 小棒剂的 rhBMP-2 的体外释放动力学的曲线图。

图 2 显示使用 125I-rhBMP-2 作为示踪物，来自 α -BSM 小棒剂的 rhBMP-2 的体内局部保留的曲线图。

发明详述

25 一般而言，本发明的方法和组合物涉及骨组织的再生以及骨质、骨密度和骨强度的同时增加。更具体地讲，本发明涉及注射型固体小棒剂和糊剂，所述注射型固体小棒剂和糊剂包含成骨蛋白、磷酸钙载体和任选的添加剂及活性剂，例如骨吸收抑制剂；本发明也涉

及制备这种成骨性组合物的方法和使用这种成骨性组合物进行治疗的方法。本发明的磷酸钙固体小棒剂和可硬化糊剂适合于成骨蛋白的骨内递药。通过使用本发明的方法和组合物，能够有助于减轻骨质疏松症的严重程度或减少骨质疏松损害的发生，最终减少骨折的发生。其它的临床应用包括骨折修复、软骨修复、骨不连合缺损修复和脊柱融合。在使用美国临时申请号 60/502,526, “Promotion of Bone Ingrowth in Joint Replacement Implants Using Osteogenic Proteins”中描述的关节置换植入物时，本发明的注射型固体小棒剂和可硬化糊剂也可以用来促进所需的骨生长；这个临时申请的主题内容通过引用全部结合到本文中。

本发明的第一个实施方案涉及成骨蛋白注射递药用棒状组合物，所述组合物包含成骨蛋白和磷酸钙材料。本发明第一个实施方案的组合物可以任选地包含其它添加剂(粘合剂、赋形剂)和/或活性剂，例如骨吸收抑制剂。

这种固体棒状组合物适合于局部的骨内递药，因此可直接注射到骨质疏松部位或骨质减少部位以有效地诱导骨形成和/或骨保持。而且，当以这种方式递药时，所述注射用棒状组合物显示出一种持续释放成骨蛋白的特征。本发明的固体小棒剂呈圆柱形，其直径优选介于约 0.1mm 至约 3.0mm 的范围之间，更优选约 1.0mm，便于用 16 号针递药。此外，优选固体小棒的长度介于约 1.0mm 至约 5.0cm 的范围之间。

和现有的注射型制剂不同，本发明第一个实施方案的成骨性组合物是以固体剂型方式给予，从而避免了液体制剂或粘性制剂中所固有的不足。例如，使用液体制剂或凝胶制剂，在达到骨促进效果之前，成骨性药物可能被体液过早地稀释了。通过使用可在体内缓慢降解的固体载体，本发明排除了稀释影响，从而使活性剂缓慢而且持续释放。而且，不同于可能从给药部位移开的液体制剂或粘性制剂，本发明的固体组合物可在骨生长所需的部位固定和保持以发

挥促进骨生长的活性。它们也使得固体小棒剂在低骨质部位的注射位置更加准确。典型的是，所述组合物应该在所需部位保持约 5 天至约 2 个月。如果组合物过早地分散，那么所需的骨生长促进效果就不会发生或者所形成的骨也不会有所需的强度。最后，虽然本发明这个实施方案的成骨性组合物是以固体剂型给予，但还是优选圆柱形小棒剂，从而既适用于注射又适用于植入到体内。当然，如需要也可以使用其它小棒形状，例如六角形、正方形或半圆形等小棒形状。此外，通过使用固体小棒(相对于液体或凝胶体)，将极大地减轻在骨内注射手术中所诱发的众所周知的外科手术并发症——栓塞。因为所注射的高浓缩固体小棒剂的容积与用液体或凝胶体配制的相似剂量的容积相比要小得多，所以由于加压注射大容量的液体/凝胶载体而引起的潜在的骨内骨碎片移位、脂肪或栓塞都减少了。所述组合物可以用任何方便的方式施用到骨生长所需的部位，包括经普通的皮下注射针或注射器导入。

本发明的第二个实施方案涉及制备成骨蛋白注射递药用固体棒状组合物的方法。在第一个步骤中，将干的成骨蛋白与干的磷酸钙材料混合制成干混合物。换句话说，就是为了制备干混合物，一开始就要使用粉状或干的成骨蛋白和磷酸钙材料。当添加剂和/或附加活性剂被加到组合物里时，这些材料也可以是干的或粉状的，加到干混合物中时亦然。

在第二个步骤中，通过添加含水缓冲液重建所述干混合物制成糊剂。合适的含水缓冲液包括但不限于磷酸缓冲盐溶液、盐水、基于甘氨酸的缓冲液和它们的组合。当使用 BMP-2 作为成骨蛋白时，优选，基于甘氨酸的缓冲液的 pH 约为 4.5 适用；更优选，使用其组成如下的基于甘氨酸的缓冲液：5mmol L-谷氨酸、2.5%甘氨酸、0.5%蔗糖、5mmol NaCl 和 0.01%聚山梨脂 80。

含水缓冲液与干混合物的容积重量(ml:g)比介于约 0.5:1 至约 2:1 的范围之间。然而，对这个重量比下限定限，是因为要给干混合

物中加入足够的液体，方能形成通过注射器或其它方法注射的糊剂。此外，对这个重量比上限的限定，是因为给干混合物中不要加入过多的液体，一俟干燥后，所得的几何形状，即棒状不会被损坏；换句话说讲，如果加入了太多的液体，那么在干燥成骨性化合物时，此方法第三个步骤中所形成的棒状就会遭到损坏。

在大体能够均匀混合的条件下进行该步骤。混合使各种成分结合，混合也可以用来控制各种成分间相互反应的程度。如果干混合物中优选已经包含了所有所需的成分，那么也有可能，在混合开始前或混合完成前，立即加入添加剂或其它的活性剂。优选这种添加剂或附加活性剂是干的；然而，也可以给糊剂加入添加剂或附加活性剂的水合形式。

本发明方法的第三个步骤中，糊剂被模制成棒状组合物。模制或定形可以用任何一种已知的技术例如制模、挤压、压制、钻孔和/或切割来完成。在本发明的一个优选实施方案中，将糊剂装入皮下注射用的注射器中，并从注射针头的接口端挤出。在这种情况下，给注射器插入注塞，用足够大的压力将一段连续的糊剂挤到干燥的表面上。然后用切割工具，例如剃刀、外科手术刀、小刀等切开，制成注射用棒状组合物。切割可在下述的干燥步骤之后进行。或者，可以将糊剂装入圆柱形模子、导管、空气或气体可透过的管子(例如硅橡胶管或特氟隆®/FEP)、或任何其它挤压型装置内。

在最后一步中，将从前一步骤所获得的棒状组合物干燥或硬化制成本发明(第一个实施方案)的成骨蛋白注射递药用棒状组合物。干燥可以通过风干，或者是在高温，即至少 37℃下保温来完成。干燥温度仅由成骨蛋白是否会降解来限定，它典型地发生在 55℃和 60℃的范围之间。当在 37℃烘箱内进行干燥时，至少干燥约 1 小时，优选干燥过夜。优选棒状组合物的残留水分小于 10%。

本发明的第三个实施方案涉及成骨蛋白注射递药用可硬化糊剂组合物，该组合物包含成骨蛋白和磷酸钙材料。本发明第三个实施

方案的组合物可以任选地包含其它添加剂(粘合剂、赋形剂)和/或活性剂,例如骨吸收抑制剂。

5 这种糊剂适合于局部的骨内递药,因此可直接注射到骨质疏松部位或骨质减少部位,糊剂在此部位硬化成固体状并有效地诱导骨形成和/或保持。因为糊剂一旦注射到至少 37°C 的环境时就会硬化,即注射到哺乳动物体内时就会硬化,所以避免了许多因使用液体或凝胶组合物而产生的缺点。与上述固体棒状注射用组合物相似,所述硬化糊剂组合物显示出能够持续释放成骨蛋白的特性。通过将糊剂冷藏,可以延长可硬化糊剂的可注射期限。

10 本发明的第四个实施方案涉及制备成骨蛋白注射递药用糊剂组合物的方法。在这个方法中,将干的磷酸钙材料与含有成骨蛋白的含水缓冲液混合制成糊剂。当组合物里包含了添加剂和/或附加活性剂时,可以用这些干的材料与干的磷酸钙材料预先混合,或者用水合形式的这些材料与含水缓冲液和磷酸钙材料直接混合。在大体能够均匀混合的条件下进行混合。混合使各种成分结合,并且可用来控制各成分间相互反应的程度。

15 合适的含水缓冲液包括但不限于磷酸缓冲盐溶液、盐水、基于甘氨酸的缓冲液和它们的组合。当使用 BMP-2 作为成骨蛋白时,优选基于甘氨酸的缓冲液的 pH 约为 4.5 适用;更优选,使用其组成如下的基于甘氨酸的缓冲液: 5mmol L-谷氨酸、2.5%甘氨酸、0.5%蔗糖、5mmol NaCl 和 0.01%聚山梨脂 80。含水缓冲液与干磷酸钙的重量比介于约 0.5:1 至约 2:1 的范围之间。

20 或者,将干的成骨蛋白与干的磷酸钙材料混合制成干混合物,然后通过添加含水缓冲液重建所述干混合物制成糊剂。除了含水缓冲液与干磷酸钙的重量比介于约 0.5:1 至约 2:1 的范围之间外,这些步骤与上述(第二个实施方案)制备固体棒状组合物的方法中第一个和第二个步骤完全相同。

有关本发明适用的活性剂、载体、添加剂和骨吸收抑制剂的细

节见下文。

活性剂

5 优选本发明的成骨性组合物中的活性剂选自蛋白质家族，如称为转化生长因子- β (TGF- β)的蛋白质超家族。这个家族包括活化素、抑制素和骨形态发生蛋白(BMP)。这些 BMP 包括 BMP 蛋白 BMP-2、BMP-3、BMP-4、BMP-5、BMP-6 和 BMP-7，公开在例如美国专利号 5,108,922、5,013,649、5,116,738、5,106,748、5,187,076 和 5,141,905，BMP-8，公开在 PCT WO 91/18098，BMP-9，公开在 PCT WO
10 93/00432，BMP-10，公开在 PCT WO 94/26893，BMP-11，公开在 PCT WO 94/26892，BMP-12 和 BMP-13，公开在 PCT WO 95/16035，BMP-15，公开在美国专利号 5,635,372，BMP-16，公开在美国专利号 6,331,612。其它在本发明中可以用作活性剂的 TGF- β 蛋白包括 Vgr 2，Jones 等，Mol. Endocrinol.，第六卷，第 1961、1968 页(1992)，以及任何生长分化因子(GDF)，包括以下专利中描述的那些：PCT WO
15 94/15965、WO 94/15949、WO 95/01801、WO 95/01802、WO 94/21681、WO 94/15966、WO 95/10539、WO 96/01845、WO 96/02559 等等。在本发明中也有用的可以是 BIP，公开在 WO 94/01557，HP00269，公开在 JP 7 250688，MP52，公开在 PCT WO 93/16099。上述所有公
20 开的专利、杂志出版物和公开的国际申请都通过引用结合到本文中。

优选，所述活性剂包括至少一种选自通常称为 BMP 的蛋白亚类的蛋白质，这种 BMP 蛋白已被公开具有成骨活性和其它生长分化型活性。目前优选用于本发明中的 BMP 的亚型包括 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、BMP-10、BMP-12 和 BMP-13，最优选
25 BMP-2，其序列公开在美国专利号 5,013,649 中，该专利文献的公开内容通过引用结合到本文中。

这种活性剂可以从蛋白质组合物中重组生产或纯化。活性剂，如果是 TGF- β ，例如 BMP 或其它二聚体蛋白，那么它和其它 BMP (例

如由 BMP-2 和 BMP-6 中各自的一个单体构成的异源二聚体), 或者和其它 TGF- β 超家族中的其它成员, 例如活化素、抑制素和 TGF- β 1 (例如由 BMP-和 TGF- β 超家族中相关成员各自的一个单体构成的异源二聚体)可以是同源二聚体的或者是异源二聚体的。异源二聚体蛋白的实例描述于例如 PCT WO 93/09229 中, 该专利文献的公开内容通过引用结合到本文中。所述活性剂可以包括编码 BMP 的 DNA 和用编码 BMP 蛋白的基因转导或转染的细胞。

所述活性剂还可以包括其它成分, 例如 Hedgehog 蛋白、Frazzled 蛋白、索蛋白(Chordin)、头蛋白(Noggin)、Cerberus 蛋白和促滤泡素抑制素蛋白。这些蛋白质的家族通常描述于 Sasai 等, Cell, 第 79 卷, 第 779-790 页(1994) (索蛋白); PCT WO 94/05800 (头蛋白); Fukui 等, Dev. Biol., 第 159 卷, 第 131-139 页(1993) (促滤泡素抑制素)。Hedgehog 蛋白描述于 PCT WO 96/16668、WO 96/17924 和 WO 95/18856。蛋白质的 Frazzled 家族是新近发现的蛋白质家族, 与名为 Frizzled 受体蛋白家族的胞外结合域有高度同源性。基因和蛋白质的 Frizzled 家族描述于 Wang 等, J. Biol. Chem., 第 271 卷, 第 4468-4476 页(1996)。所述活性剂也可以包括其它可溶性受体, 例如描述于 PCT WO 95/07982 中的截短的可溶性受体。根据 WO 95/07982 的教导, 本领域技术人员将会知道, 截短的可溶性受体能够从许多其它受体蛋白制备。本发明也包含这项内容。上述出版物通过引用结合到本文中。

本文所用的活性剂的量, 是指有效刺激现有的或浸润的祖细胞(成骨细胞前体细胞)的或其它细胞的成骨活性提高的量(在下文称为“有效量”), 并取决于待治疗缺损处的大小和性质, 以及所使用的磷酸钙载体的组成。通常, 如果以成骨性组合物的重量计, 那么本发明固体棒状成骨性组合物中的成骨蛋白的含量介于约 1%至约 90%的范围之间, 更优选介于约 15%至约 40%的范围之间。通常, 如果以成骨性组合物的重量计, 那么本发明可硬化糊剂成骨性组合物中的成骨蛋白的含量介于约 0.01%至约 2%的范围之间, 更优选介于约

0.03%至约 1%的范围之间。

载体

5 本发明所有的实施方案都使用磷酸钙材料作为载体。本文所用的“磷酸钙材料”是指以磷酸钙作为主要成分，即钙和/或磷酸盐至少占 90% (重量)的任何合成骨替代材料。本发明的磷酸钙材料可以是任何生物相容的、本领域已知的磷酸钙材料。合适的磷酸钙材料可以通过不同方法中的任一种并用合适的原料成分来制备，或者可以是市售的。

10 在本发明的某些优选实施方案中，以本发明的固体棒状成骨性组合物的重量计，磷酸钙材料的含量介于约 10%至约 99%的范围之间，更优选介于约 40%至约 60%的范围之间。在本发明的某些其他优选实施方案中，以本发明的可硬化糊剂成骨性组合物的重量计，磷酸钙材料的含量介于约 30%至约 70%的范围之间，更优选介于约 15 45%至约 55%的范围之间。优选使用干的，即粉末状的磷酸钙材料或载体。

适用于本发明的磷酸钙类型包括但不限于无定形磷灰石磷酸钙 (ACP)、低级结晶磷灰石磷酸钙(PCA)、羟基磷灰石(HA)、磷酸三钙和氟磷灰石。在一个优选的实施方案中，磷酸钙材料是低级结晶磷 20 灰石磷酸钙固体，它所具有的钙与磷酸盐(Ca/P)的比例与天然骨矿物质的相似，更优选钙与磷酸盐的比例小于约 1:1.5，最优选约 1:1.4。

合适 PCA 材料可以通过下述步骤进行鉴定：结合 PCA 前体，用限量的水进行水合(以便形成糊状物或油灰)，模制成圆柱形小棒型，使模制材料硬化成 PCA 材料。所需前体在湿润环境中，在体温 25 或接近体温的温度下，能在 5 小时内，优选 10-30 分钟内硬化。

根据本发明，磷酸钙载体可以包括任何骨替代材料，所述骨替代材料含有一种上述类型的磷酸钙(作为其主要成分)，即至少重量的 90%为钙和/或磷酸盐。骨替代材料可以单独包含上述类型的磷酸钙

中的一种，含或不含其它成分；骨替代材料可以包含上述类型的磷酸钙的组合，含或不含其它成分。此外，一种或多种上面提到的各类磷酸钙都可用来制备适用于本发明的磷酸钙材料。这些材料的制备方法是本领域众所周知的。然而，任何可以获得干磷酸钙材料即粉末状材料的方法都适合。

本文所用的“无定形”是指材料具有显著性无定形特征。显著性无定形特征应有大于 75% 的无定形物，优选大于 90% 的无定形物，以宽谱带、无特征性 X-射线衍射图谱为特征。

本文所用的术语“低级结晶磷灰石磷酸钙”、“PCA 磷酸钙”和“PCA 材料”，描述的是合成的低级结晶磷灰石磷酸钙。只要具有特征性 X-射线衍射(XRD)和傅里叶变换红外(FTIR)图谱，低级结晶磷灰石(PCA)材料就不一定局限于单磷酸钙相。PCA 磷酸钙具有与骨大体相同的 XRD 谱。XRD 谱的特征为，在 20-35E 区仅有两个宽峰，其中一个中心位于 26E，而另一个中心位于 32E。FTIR 谱的特征为，各峰位于 563cm^{-1} 、 1034cm^{-1} 、 1638cm^{-1} 和 3432cm^{-1} ($\pm 2\text{cm}^{-1}$)；明显的肩峰在 603cm^{-1} 和 875cm^{-1} 可观察到，具畸峰的双重峰位于 1422cm^{-1} 和 1457cm^{-1} 。本发明优选使用的 PCA 材料描述于美国专利号 5,650,176、5,683,461 和 6,214,368 中，所述各专利文献通过引用结合到本文中。合适的材料在一组相关申请中也有描述，题目是“Delivery Vehicle”、“Conversion of Amorphous Calcium Phosphate to Form a Novel Bioceramic”、“Orthopedic and Dental Ceramic Implants”和“Bioactive Ceramic Composites”，所述各申请都于 1997 年 10 月 16 日申请并转让给 ETEX 公司(Cambridge, MA)，所述专利文献通过引用结合到本文中。鉴于上述这些专利文件中每一份说明书的篇幅，因此合适的 PCA 材料的生产细节不在此详述。PCA 特征的概要就足够了。PCA 材料的特征在于它的生物再吸收能力及其最小结晶度。它的结晶特征与天然骨的大体相同。PCA 材料也是生物相容的，且对宿主无害。

结晶羟基磷灰石(HA)描述于例如美国专利案卷号: 33,221 和 33,161, 这两篇专利文献都通过引用结合到本文中。这些专利公开了磷酸钙再矿化组合物的制备方法以及精细结晶、非陶瓷、逐渐可吸收的基于相同磷酸钙组成的羟基磷灰石载体的制备方法。一种类似的磷酸钙系统由磷酸四钙(TTCP)、磷酸一钙(MCP)或其一水合物形式(MCPM)组成; 描述于美国专利号 5,053,212 和 5,129,905 中, 这两篇专利文献均通过引用结合到本文中。其它的结晶 HA 材料(通常是指碳磷灰石(dahllite))描述于美国专利号 5,962,028 中, 该专利文献的公开内容通过引用结合到本文中。

10

添加剂

添加剂可以用于本发明的成骨性组合物中。许多增加粘结性的粘合剂、稳定和/或调节活性成分释放的赋形剂在制剂领域中已众所周知。合适的添加剂包括但不限于药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物和/或表面活性剂。有用的聚合物包括例如在美国专利号 5,171,579 中描述的那些, 该专利的全部公开内容通过引用结合到本文中。优选的添加剂包括纤维素类材料, 例如羧甲基纤维素(CMC)、羟丙基甲基纤维素(HPMC)和甲基纤维素(MC), 合成聚合物, 例如聚交酯和聚乙二醇, 例如聚交酯/聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙二醇(PEG)、聚氧乙烯氧化物、羧基乙烯基聚合物和聚乙烯醇(PVA)和右旋糖酐硫酸酯和它们的组合。其它有用的添加剂包括但不限于海藻酸钠、壳聚糖、胶原、明胶、透明质烷和各种肽、蛋白质和氨基酸。那种有泡腾作用的添加剂不适用于本发明。

15

20

25

在本发明的一个优选实施方案中, 使用干的或粉末状的添加剂与活性剂、载体和含水液体混合以便制备本发明的注射型组合物。在本发明的某些优选实施方案中, 如果以固体小棒剂成骨性组合物的重量计, 那么添加剂的含量介于约 1%至约 90%的范围之间, 更优

选介于约 20%至约 40%。在本发明的某些优选实施方案中，如果以可硬化糊剂成骨性组合物的重量计，那么添加剂的含量介于约 1%至约 90%的范围之间，更优选介于约 10%至约 20%。

5 附加活性剂

本发明的注射用成骨性组合物也可以包含一种附加活性剂或多种附加活性剂。虽然这种附加活性剂的水合形式也适用，但优选干的，附加活性剂可以与所述活性剂、载体和含水液体混合以便制备本发明的注射用成骨性组合物。或者，这类附加活性剂可以和本发明
10 的成骨性组合物共同给药，既可以序贯给药也可以同时给药(在下文称为“共同给药计划”)。附加活性剂可用来达到其它所需的效果，在某些情况下，可以用于对付潜在的不良反应，例如感染、炎症和一过性吸收。

例如，虽然关于 TGF- β 蛋白的成骨的可能性已经了解很多，但
15 最近的报道指出，局部给予某种骨诱导剂，例如 BMP-2，可以刺激给药部位的瞬时破骨细胞活性(局部骨吸收部位)。这种反应有时会发生在 BMP 所诱导的新骨形成之前，称为“瞬时吸收现象”。因此，已知的抑制骨吸收的药物可以同 BMP 一起局部给药，在延迟或减少初期骨吸收中起重要作用，而不会抑制其后的骨形成。

因此，在本发明的优选实施方案中，骨吸收抑制剂是用作注射
20 用成骨性组合物中的附加活性剂，或是骨内递送的活性剂例如 BMP 和注射用成骨性组合物共同给予，以便防止或最大限度地减少初期的骨吸收。本文所用的术语“抑制骨吸收”是指防止骨丢失，特别是通过直接或间接改变破骨细胞形成或活性，抑制除去已存在的骨。
25 因此，本文所用的术语“骨吸收抑制剂”是指通过直接或间接改变破骨细胞形成或活性防止或抑制骨丢失的药物。

在某些优选实施方案中，所述骨吸收抑制剂是二膦酸盐。本文所用的术语“二膦酸盐”是指相关的二膦酸和二膦酸盐，以及各种

晶形和非晶形的二膦酸盐。临床上，二膦酸盐疗法已经显著地降低了骨转换指标，增加了骨矿物质密度，并且在骨质减少的妇女中，降低了髌骨和脊柱骨折的危险(参见例如 H. Fleisch, Bisphosphonates in Bone Disease, from the Laboratory to the Patient, 第三版, Parthenon Publishing (1997), 所述文献通过引用结合到本文中)。

适用于本发明的二膦酸盐包括但不限于阿仑膦酸盐、西马膦酸盐、氯膦酸盐、EB 1053、依替膦酸盐、伊班膦酸盐、奈立膦酸盐、奥帕膦酸盐、帕米膦酸盐、利塞膦酸盐、替鲁膦酸盐、YH 529、唑来膦酸盐及其药物可接受的盐、酯、酸和混合物。二膦酸盐的有效量，实为任何骨吸收抑制剂的量，是不时伴随着成骨蛋白例如 BMP 的局部给药，通过直接或间接地改变破骨细胞形成或活性，有效地防止或抑制瞬时骨丢失的有效量(在下文称为“有效量”)。所需的准确剂量取决于待治疗骨缺损的大小和性质，以及成骨性药物的给药量。通常，二膦酸盐的给药量按每立方厘米的材料计优选为约 0.1mg 至约 3000mg，更优选约 10mg 至约 1000mg，最优选约 10mg 至约 500mg。

当应用本发明的共同给药计划时，骨吸收抑制剂通常用合适的载体进行给药。载体可以是任何药物可接受的载体，本领域众所周知且容易获得的各种载体(参见例如 Martin, E.W., Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub. Co., 最新版), 所述文献通过引用结合到本文中)。目前，已将优选的载体制成固体小棒剂或糊剂，如本文其它地方所述。

在共同给药计划中，骨吸收抑制剂可以与本发明的注射型固体小棒剂或糊剂组合物序贯给予，也可以在前或在后或同时给予。此外，骨吸收抑制剂除了可以应用到其它胃肠外部位，例如肌内或皮下或口服摄入或静脉注射(作系统给药)，也可以局部应用(骨内应用)。优选骨吸收抑制，例如二膦酸盐经系统给药，即口服或静脉注射，可以在本发明的注射型固体小棒剂或糊剂组合物之前或同时给予。

进一步讲，骨吸收抑制剂可以用外科植入法植入到待治疗部位。应该注意的是，姑且不论它们的治疗效果，口服时，二膦酸盐在胃肠道内的吸收有限。为克服这个不尽人意的生物利用度问题，已经起用了静脉内注射给药；然而，已经发现由于用药的持续时间和频率，这种方式昂贵且不方便。因此，通过在本发明的注射用成骨性组合

5 物中加入二膦酸盐，局部直接地递送到所需的作用部位，本发明就能够克服这个不足。

上述有关骨吸收抑制剂给药的描述通常涉及到任何附加活性剂的给药。其它合适的附加活性剂包括但不限于其它成骨蛋白、抗生素、抗炎药、生长因子、肽、蛋白质、细胞因子、寡核苷酸、反义寡核苷酸、DNA 和聚合物。在本发明的制备方法中，优选加入这些

10 干的化合物，通过混合制成糊剂。

给药

本发明提供了治疗患有骨缺损的患者的方法和组合物。本文所用的术语“骨缺损”包括骨质疏松的骨、骨质减少的骨、骨折、软骨缺损及任何其它与骨或软骨有关的病症，通过刺激骨或软骨生长可以被改善或矫正。因此，本发明的第五个实施方案涉及治疗患有骨缺损的哺乳动物的方法，该方法是给予所述骨缺损部位有效量的

15 本发明的注射型小棒剂或糊剂组合物。

本发明相关的第六个实施方案涉及治疗患有骨缺损的哺乳动物的方法，该方法是给予所述骨缺损部位有效量的本发明的注射型小棒剂或糊剂组合物以及给予有效量的骨吸收抑制剂。骨吸收抑制剂除了可以通过一些其它途径给药，即胃肠外、外科植入法、口服、

20 静脉注射等途径给药外，也可以给药到骨缺损的部位。此外，骨吸收抑制剂的给药可以在本发明的注射型小棒剂或糊剂组合物的给药之前、同时或之后进行。

最普通的是，本发明提供治疗有骨质疏松症或骨质减少症状，

包括有骨质疏松的骨损伤的患者的方法和组合物。这类患者的鉴定由本领域通晓的程序完成。这个程序给临床医师提供了骨质疏松的或骨质减少的骨损伤的位置和严重程度的信息。临床医师除了用这些信息确定要治疗的损伤部位，还可以用这些信息给患者选择适当的给药方式和骨诱导剂的剂量。有用的诊断程序包括测定骨质量/密度，使用的是双能X射线吸收测定法(DEXA), Kilgus等, *J. Bone & Joint Surgery*, 第 75 B 卷, 第 279-287 页(1992); Markel 等, *Acta Orthop. Scand.*, 第 61 卷, 第 487、498 页(1990); 定量计算机体层摄影术(QCT), Laval Jeantet 等, *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 第 17 卷, 第 915-921 页(1993); Markel, *Calcif. Tissue Int.*, 第 49 卷, 第 427-432 页(1991); 单光子吸收测定法, Markel 等, *Calcif. Tissue Int.*, 第 48 卷, 第 392-399 页(1991); 超声波透射速度(UTV); Heaney 等, *JAMA*, 第 261 卷, 第 2986-2990 页(1989); Langton 等, *Clin. Phys. Physiol. Meas.*, 第 11 卷, 第 243-249 页(1990); 射线照相评价, Gluer 等, *J. Bone Min. Res.*, 第 9 卷, 第 671-677 页(1994)。有骨折危险的患者的其它鉴定方法包括评价与年龄有关的因素, 例如认知力(cognisance), 以及前次因骨质疏松症发生的骨折。Porter 等, *BMJ*, 第 301 卷, 第 638-641 页(1990); Hui 等, *J. Clin. Invest.*, 第 81 卷, 第 1804-1809 页(1988)。上述出版物通过引用结合到本文中。

具体的给药方案将由待消除的临床适应症、以及不同患者的变数(例如体重、年龄、性别)和临床表现(例如损伤程度、损伤部位等等)来确定。

本发明的注射用成骨性组合物可以用任何临床上可接受的注射方式给予。许多市售的注射器可适合在本发明中使用, 用于给予本发明的组合物。这类注射器包括但不限于 Calasept®注射器(JS Dental Manufacturing, Ridgefield CT); Henke-Ject®抽吸注射器和 Hypo®牙科注射器/针(Smith & Nephew MPL, Franklin Park, IL); 骨内针, 得自 MPL, Inc., Chicago IL; Luer-Lok®注射器(Becton Dickinson, Franklin

Lakes, NJ)。任何能够保持和递送糊剂或注射型小棒剂和/或能够用 obdurator 挤出的注射器都适用。

5 在本发明的一个实施方案中，在所选择的组织部位，采用经皮或经外科手术预先置入的适当大小和类型的皮下注射针，骨内给予所述固体棒状组合物。皮下注射针的经皮放置可以通过人工触诊已知的组织标记来完成，用或不用荧光镜检查目测位置。荧光镜检查也可以在放置皮下注射针之前和/或同时，和外科植入法结合使用。

10 在一个优选实施方案中，导线(通常称作“k 线”)作为皮下注射针的导向装置，首先经皮插入所需的组织部位。将皮下注射针经导线插入，随后取出导线，只留下皮下注射针在原位。然后将固体棒状组合物插入皮下注射针头的接口端。装好组合物后，将第二根导线插入针里，这根导线用来把固体组合物推进到针尖。然后取出针，留下导线，把组合物固定在骨内所需的位置上。最后，取出导线，只留下固体组合物在原位。在另一个实施方案中，将发明的固体棒状组合物预置在针筒里。在放置到所需的组织部位后，将注射器的注塞推进到针筒里，随之拔出装置，把固体棒状组合物留在所需位置。

20 本发明的组合物可使治疗有效量的成骨蛋白递送到软骨和/或骨形成需要的损伤部位。这些制剂可以作为自体骨移植物的代用品，用于新骨折、骨不连合骨折、脊柱融合及矫形外科领域的骨缺损修复、颅/上颌面重建、骨髓炎的骨再生、牙科领域中牙槽嵴、牙周膜缺损和拔牙槽的增强。

25 以下的实施例仅用来说明本发明，而不是以任何方式限制本发明。修改、变动和少量增加是本发明允许的，但在本发明的范围之内进行。

实施例

在这些实施例中所使用的所有材料都是药用级的。磷酸钙材料

是市售的骨替代材料(在下文称为“ α -BSM”), 商品名是 CEREDEx™, 由 Etex 公司销售, 公司地址: 38 Sydney Street, Cambridge MA 02139, 详细内容描述于美国专利号 5,683,461、6,117,456 和 6,214,368 以及 PCT WO 98/16209 中。作为活性剂使用的成骨蛋白是重组人骨形态发生蛋白-2 (rhBMP-2)。rhBMP-2 的生产和表征是众所周知的。Wang 等, Proc. Nat'l Acad. Sci. U.S.A., 第 87 卷, 第 2220-2224 页(1990)。

实施例 1 - 制剂

制备 α -BSM、rhBMP-2, 以及羧甲基纤维素(CMC)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和右旋糖酐硫酸酯之一的各种注射型固体小棒剂(A-E)。干粉状的各组分在无菌混合器中混合并重建成为硬油灰, 是通过添加基于甘氨酸的含水缓冲液, 缓冲液的 pH 约为 4.5, 并包含 5mmol L-谷氨酸、2.5%甘氨酸、0.5%蔗糖、5mmol NaCl 和 0.01%聚山梨脂 80, 按特定的液体(ml)与粉(g)的比例(L/P), 捏合 1 分钟形成糊状物。所使用的各组分的含量以及具体的 L/P 比率见下表 1。

表 1

小棒剂	α -BSM (WT%)		rhBMP-2 (WT%)	L/P 比率
		CMC (WT%)		
A	68	17	15	1.0
B	56	29	15	1.2
C	45	40	15	1.5
		PVP (WT%)		
D	45	40	15	0.6
		右旋糖酐硫酸酯 (WT%)		
E	45	40	15	0.6

将各糊状物装入注射器中, 然后挤出形成圆柱形小棒, 小棒的直径约 1mm, 长约 5cm。然后将这些长 5cm 的小棒切成所需长度以

备下述试验所用。

接下来是成型，在模拟体内条件下，即在 37℃ 恒温箱内，过夜，使小棒硬化成固体块。若小棒在较低温度，即约 4℃ 存放，硬化过程可能会延迟几小时。

- 5 理论上，A-E 各小棒剂中的 rhBMP-2 剂量是每毫克小棒剂 150 微克 rhBMP-2。所有小棒看上去应该是光滑的、致密的、有粘性的和不易碎的，可以通过 16 号针进行注射。

实施例 2 - 体外表征

- 10 已经发现添加剂含量和颗粒形成之间有相关性。含有较高百分比添加剂(即 C-E 小棒剂，分别为 40% CMC、40% PVP 或 40% 右旋糖酐硫酸酯)的小棒剂，一俟浸入实施例 1 所描述的基于甘氨酸的含水缓冲液中 14 天，就会很快即 1 天内分散成更小的颗粒，比中等含量的添加剂(29% CMC，即 B 小棒剂)和低含量的添加剂(17% CMC，
15 即 A 小棒剂)快。低含量添加剂(17% CMC，即 A 小棒剂)的小棒剂与高含量 CMC 的对应物相比，可以更长地保持它们的棒状结构，即从数天到数周。

- 此外，使用 125I-rhBMP-2 作为示踪物，对 rhBMP-2 自含有 17% CMC (A 小棒剂)、29% CMC (B 小棒剂)或是 40% CMC (C 小棒剂)的
20 α-BSM 进行体外释放动力学。与总的观察结果相似，高百分比含量 CMC 的小棒剂释放 rhBMP-2 的速度要比低百分比含量 CMC 的小棒剂的速度快，如图 1 所示。

实施例 3 - 大鼠生物相容性和功效研究

- 25 在大鼠模型中，对基于磷酸钙的注射用棒状组合物(按实施例 1 所述制备)的骨内和异位生物相容性和功效进行评价。

 通过外科手术，建立了六只雄性 CD 大鼠的远端股骨中的骨内核心缺损。将这六只大鼠，三只为一组，分为两组(A 和 B)。每只大

鼠的一侧肢体上接受长度 2mm 的试验小棒剂(磷酸钙/rhBMP-2/赋形剂), 而其对侧的肢体上接受长度 2mm 的对照小棒剂(磷酸钙/赋形剂)。A 组的大鼠接受实施例 1 的 A 小棒剂(68/17/15 (w/w) % ACP/CMC/rhBMP-2)作为试验小棒剂, 而 B 组的大鼠接受实施例 1 的 B 小棒剂(56/29/15 (w/w) % ACP/CMC/rhBMP-2)作为试验小棒剂。此外, 将一个 10mm 小棒剂皮下植入胸腹部中线两侧, 其中, 中线的一侧接受试验小棒剂, 而另一侧接受对照小棒剂。再者, A 组的大鼠接受实施例 1 的 A 小棒剂(68/17/15 (w/w) % ACP/CMC/rhBMP-2)作为试验小棒剂, 而 B 组的大鼠接受实施例 1 的 B 小棒剂(56/29/15 (w/w) % ACP/CMC/rhBMP-2)作为试验小棒剂。

在两周时, 处死动物, 对这些处死的动物进行包括 faxitron 放射照片和组织形态学测定的结果鉴定。两周的远端股骨外植块的放射照片和组织学显示, 与用安慰剂治疗的相比, 用 rhBMP-2 治疗的一侧有全面增长的骨痂形成。特别是, 高含量 CMC 的(B)小棒剂形成了中等到大的骨痂, 比较之下, 低含量 CMC 的(A)小棒剂形成的是小到中等大小的痂。皮下植入物的放射照片和组织学也显示, 与用安慰剂治疗的相比, 用 rhBMP-2 治疗一侧有骨形成。特别是, 与低含量 CMC 的(A)小棒剂比较, 高含量 CMC 的(B)小棒剂形成更强的异位骨反应。因此在所有组中都观察到良好的生物相容性, 对植入物无炎症反应。

实施例 4- 兔子骨内局部生物分布的研究

用带 16 号针的 14 号导管, 将实施例 1 的 A-D 小棒剂经皮注射到兔子远端股骨的骨内间隙(n=每组 4 个部位)。特别是, 用了长 10mm 的含约 μCi 125I-rhBMP-2 的 A-D 小棒剂。用 Capintec 剂量核准器, 在注射前, 测定合成小棒剂中的放射性的量。4 周后, 用 γ 闪烁照相术监测到局部 rhBMP-2 保留。局部的体内生物分布数据显示小棒剂持续释放 rhBMP-2, 与较低百分比含量添加剂的小棒剂比较, 较高

百分比含量添加剂的小棒剂显示出更快的体内释放，如图 2 所示。

实施例 5- 制剂

5 每 ml 糊剂中 1mg rhBMP-2 或是每 ml 糊剂中 4.5mg rhBMP-2 的可硬化糊剂的配制，是通过将 2ml 含有适当浓度的 rhBMP-2 溶液的实施例 1 的基于甘氨酸的含水缓冲液加入到 2.5g α -BSM 中。然后将所得混合物在无菌球瓶中捏合 1 分钟形成可硬化糊剂。

实施例 6- 猕猴(Cynomologous monkey)-糊剂的骨内注射

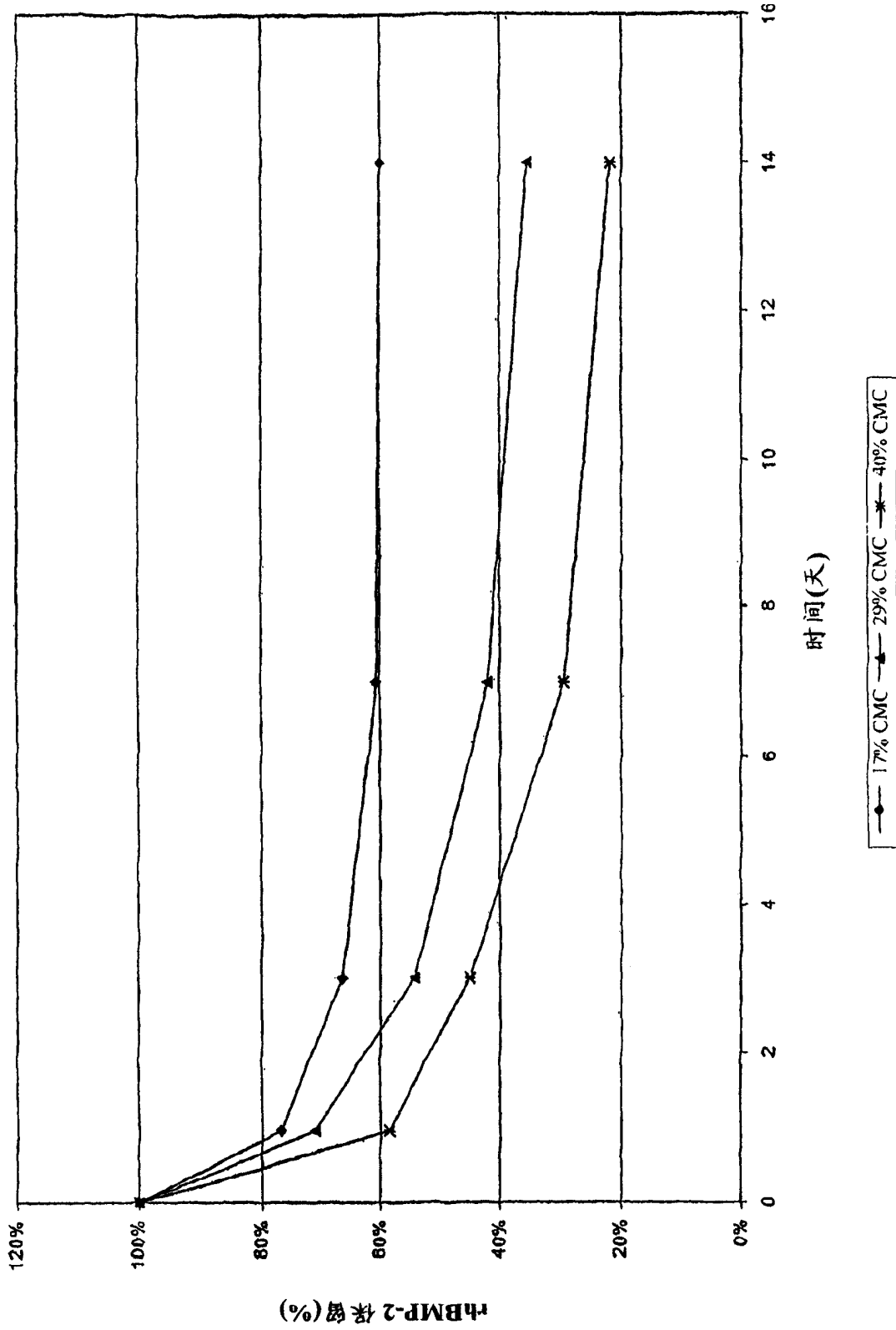
10 用装了 18 号针的 3ml 注射器，从无菌球瓶中取出实施例 5 的 1mg/ml 和 4.5mg/ml 的可硬化糊剂，然后在荧光镜检查控制下，将可硬化糊剂注射到猕猴的不同骨内部位。各部位包括远端股骨、近端股骨、远端桡骨、近端胫骨。1 个月后，在注射过 rhBMP-2 的局部位位置上观察到明显的新骨。

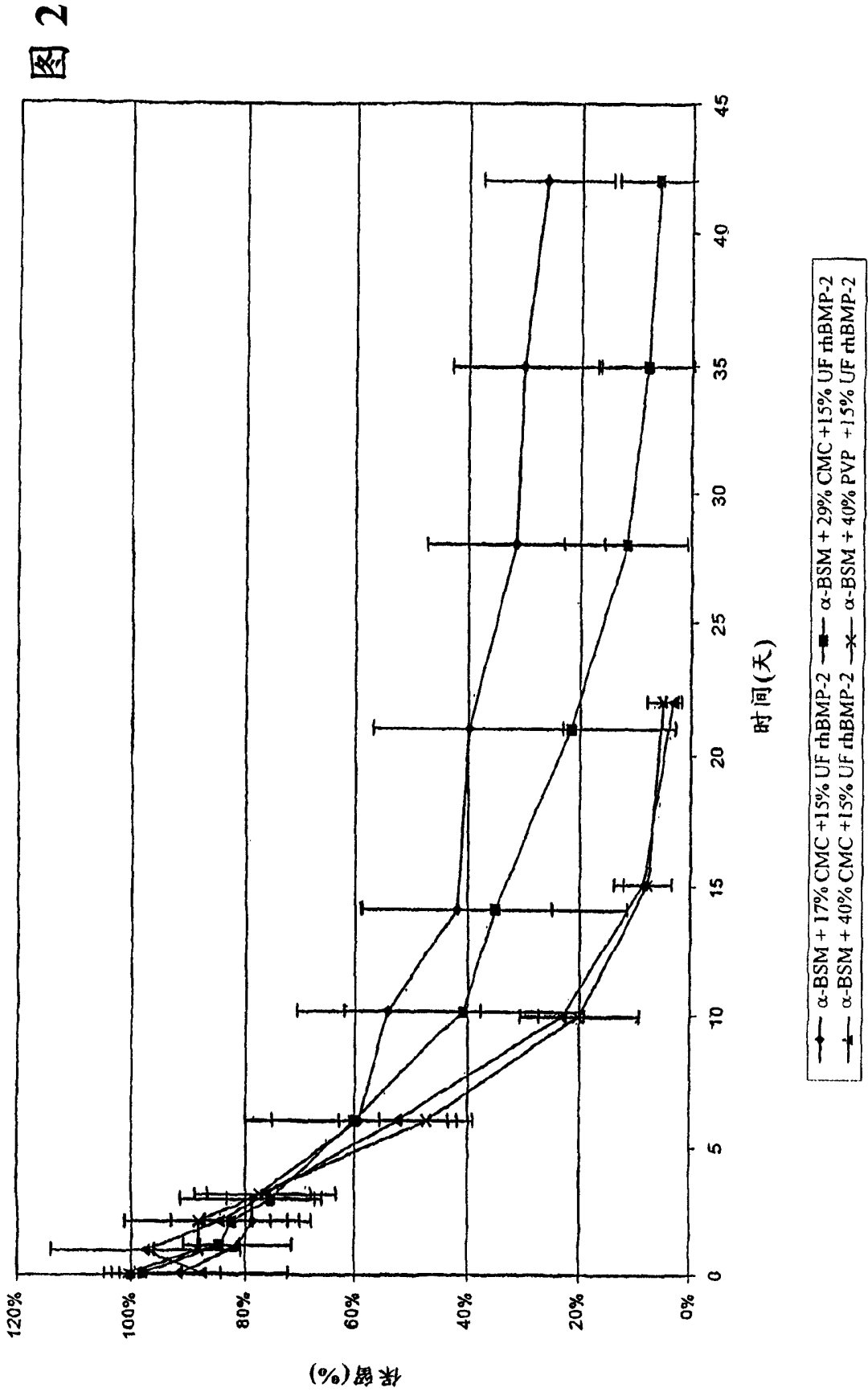
15

尽管用一些优选实施方案和具体的实施例描述了发明，但是本领域技术人员将会认识到，通过常规实验，在不偏离本发明的精神和范围的情况下，可以对本发明进行各种变化和修改。因此，应当理解为，本发明不受上述详细描述的限制，而只是受所附权利要求书及其等同实施方案的限制。

20

图1





1. 一种成骨蛋白注射递药用组合物, 所述组合物包含成骨蛋白和磷酸钙材料, 其中所述组合物呈固体小棒型。
- 5 2. 权利要求 1 的组合物, 其中所述成骨蛋白选自骨形态发生蛋白(BMP)家族成员。
3. 权利要求 1 的组合物, 其中所述成骨蛋白选自 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、BMP-10、BMP-12、BMP-13 和 MP52。
- 10 4. 权利要求 1 的组合物, 其中所述成骨蛋白是 BMP-2。
5. 权利要求 1 的组合物, 其中所述成骨蛋白是 BMP-12。
6. 权利要求 1 的组合物, 其中所述成骨蛋白是 BMP-13。
7. 权利要求 1 的组合物, 其中所述成骨蛋白是 MP52。
8. 权利要求 1 的组合物, 其中所述成骨蛋白占所述组合物重量的
15 的约 1%至约 90%。
9. 权利要求 1 的组合物, 其中所述成骨蛋白占所述组合物重量的约 15%至约 40%。
10. 权利要求 1 的组合物, 所述组合物还包含骨吸收抑制剂。
11. 权利要求 10 的组合物, 其中所述骨吸收抑制剂是二膦酸盐。
- 20 12. 权利要求 11 的组合物, 其中所述二膦酸盐选自阿仑膦酸盐、西马膦酸盐、氯膦酸盐、EB 1053、依替膦酸盐、伊班膦酸盐、奈立膦酸盐、奥帕膦酸盐、帕米膦酸盐、利塞膦酸盐、替鲁膦酸盐、YH 529、唑来膦酸盐及其药物可接受的盐、酯、酸和混合物。
13. 权利要求 1 的组合物, 其中所述磷酸钙材料包括选自以下的
25 材料: 无定形磷灰石磷酸钙、低级结晶磷灰石磷酸钙、羟基磷灰石、磷酸三钙、氟磷灰石和它们的组合。
14. 权利要求 13 的组合物, 其中所述磷酸钙材料包括低级结晶

磷灰石磷酸钙。

15. 权利要求 14 的组合物, 其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的钙与磷酸盐的比例小于 1:1.5。

5 16. 权利要求 14 的组合物, 其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的钙与磷酸盐的比例约为 1:1.4。

17. 权利要求 1 的组合物, 其中所述磷酸钙材料占所述组合物重量的约 10%至约 99%。

18. 权利要求 17 的组合物, 其中所述磷酸钙材料占所述组合物重量的约 40%至约 60%。

10 19. 权利要求 1 的组合物, 所述组合物还包含选自以下的添加剂: 药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合。

20. 权利要求 19 的组合物, 其中所述添加剂选自羧甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、聚交酯、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚氧乙烯氧化物、羧基乙烯基聚合物、聚乙烯醇、右旋糖酐硫酸酯和它们的组合。

21. 权利要求 19 的组合物, 其中所述添加剂占所述组合物重量的约 1%至约 90%。

20 22. 权利要求 21 的组合物, 其中所述添加剂占所述组合物重量的约 20%至约 40%。

23. 权利要求 1 的组合物, 所述组合物还包含骨吸收抑制剂和选自以下的添加剂: 药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合。

25 24. 权利要求 1 的组合物, 其中所述小棒是圆柱形的, 所述圆柱形小棒的直径介于约 0.1mm 和 3.0mm 之间。

25. 权利要求 1 的组合物, 其中所述小棒的长度介于约 1.0mm 和 5.0cm 之间。

26. 一种成骨蛋白注射递药用组合物, 所述组合物包含成骨蛋白和磷酸钙材料, 其中所述组合物呈可硬化糊剂形式。
27. 权利要求 26 的组合物, 其中所述成骨蛋白选自骨形态发生蛋白(BMP)家族成员。
- 5 28. 权利要求 26 的组合物, 其中所述成骨蛋白选自 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、BMP-10、BMP-12、BMP-13 和 MP52。
29. 权利要求 26 的组合物, 其中所述成骨蛋白是 BMP-2。
30. 权利要求 26 的组合物, 其中所述成骨蛋白是 BMP-12。
- 10 31. 权利要求 26 的组合物, 其中所述成骨蛋白是 BMP-13。
32. 权利要求 26 的组合物, 其中所述成骨蛋白是 MP52。
33. 权利要求 26 的组合物, 其中所述成骨蛋白占所述组合物重量的约 0.01%至约 2%。
34. 权利要求 26 的组合物, 其中所述成骨蛋白占所述组合物重量的约 0.03%至约 1%。
- 15 35. 权利要求 26 的组合物, 所述组合物还包含骨吸收抑制剂。
36. 权利要求 35 的组合物, 其中所述骨吸收抑制剂是二磷酸盐。
37. 权利要求 36 的组合物, 其中所述二磷酸盐选自阿仑膦酸盐、西马膦酸盐、氯膦酸盐、EB 1053、依替膦酸盐、伊班膦酸盐、奈立膦酸盐、奥帕膦酸盐、帕米膦酸盐、利塞膦酸盐、替鲁膦酸盐、YH 529、唑来膦酸盐及其药物可接受的盐、酯、酸和混合物。
- 20 38. 权利要求 26 的组合物, 其中所述磷酸钙材料包括选自以下的材料: 无定形磷灰石磷酸钙、低级结晶磷灰石磷酸钙、羟基磷灰石、磷酸三钙、氟磷灰石和它们的组合。
- 25 39. 权利要求 26 的组合物, 其中所述磷酸钙材料包括低级结晶磷灰石磷酸钙。
40. 权利要求 39 的组合物, 其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的

钙与磷酸盐的比例小于 1:1.5。

41. 权利要求 40 的组合物, 其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的钙与磷酸盐的比例约为 1:1.4。

42. 权利要求 26 的组合物, 其中所述磷酸钙材料占所述组合物重量的约 30%至约 70%。

43. 权利要求 42 的组合物, 其中所述磷酸钙材料占所述组合物重量的约 45%至约 55%。

44. 权利要求 26 的组合物, 所述组合物还包含选自以下的添加剂: 药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合。

45. 权利要求 44 的组合物, 其中所述添加剂选自羧甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、聚交酯、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚氧乙烯氧化物、羧基乙烯基聚合物、聚乙烯醇、右旋糖酐硫酸酯和它们的组合。

46. 权利要求 44 的组合物, 其中所述添加剂占所述组合物重量的约 1%至约 90%。

47. 权利要求 44 的组合物, 其中所述添加剂占所述组合物重量的约 10%至约 20%。

48. 权利要求 26 的组合物, 所述组合物还包含骨吸收抑制剂和选自以下的添加剂: 药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合。

49. 一种制备成骨蛋白注射递药用组合物的方法, 所述方法包括下述步骤:

- (a) 将干的成骨蛋白与干的磷酸钙材料混合制成干混合物;
- (b) 通过添加含水缓冲液重建所述干混合物形成糊状物;
- (c) 将所述糊状物模制成棒状组合物;
- (d) 干燥步骤(c)的棒状组合物制成成骨蛋白注射递药用棒状组合

物。

50. 权利要求 49 的方法, 其中所述成骨蛋白选自骨形态发生蛋白家族成员。

51. 权利要求 49 的方法, 其中所述成骨蛋白选自 BMP-2、
5 BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、BMP-10、BMP-12、BMP-13 和
MP52。

52. 权利要求 49 的方法, 其中所述成骨蛋白是 BMP-2。

53. 权利要求 49 的方法, 其中所述成骨蛋白是 BMP-12。

54. 权利要求 49 的方法, 其中所述成骨蛋白是 BMP-13。

10 55. 权利要求 49 的方法, 其中所述成骨蛋白是 MP52。

56. 权利要求 49 的方法, 其中按所述组合物的重量计, 将用量
介于约 1% 至约 90% 范围之间的成骨蛋白和所述磷酸钙载体混合。

57. 权利要求 56 的方法, 其中按所述组合物的重量计, 将用量
介于约 15% 至约 40% 范围之间的成骨蛋白和所述磷酸钙载体混合。

15 58. 权利要求 49 的方法, 其中所述组合物还包含骨吸收抑制剂,
并且其中将干的所述骨吸收抑制剂混合在所述干混合物中。

59. 权利要求 58 的方法, 其中所述骨吸收抑制剂是二膦酸盐。

60. 权利要求 59 的方法, 其中所述二膦酸酯选自阿仑膦酸盐、
西马膦酸盐、氯膦酸盐、EB 1053、依替膦酸盐、伊班膦酸盐、奈立
20 膦酸盐、奥帕膦酸盐、帕米膦酸盐、利塞膦酸盐、替鲁膦酸盐、YH 529、
唑来膦酸盐及其药物可接受的盐、酯、酸和混合物。

61. 权利要求 49 的方法, 其中所述磷酸钙材料包括选自以下的
材料: 无定形磷灰石磷酸钙、低级结晶磷灰石磷酸钙、羟基磷灰石、
磷酸三钙、氟磷灰石和它们的组合。

25 62. 权利要求 49 的方法, 其中所述磷酸钙材料包括低级结晶磷
灰石磷酸钙。

63. 权利要求 62 的方法, 其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的钙

与磷酸盐的比例小于 1:1.5。

64. 权利要求 63 的方法，其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的钙与磷酸盐的比例约为 1:1.4。

5 65. 权利要求 49 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 10%至约 99%范围之间的磷酸钙材料和所述成骨蛋白混合。

66. 权利要求 65 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 40%至约 60%范围之间的磷酸钙材料和所述成骨蛋白混合。

10 67. 权利要求 49 的方法，其中所述组合物还包含选自以下的添加剂：药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合，并且其中将干的添加剂混合在所述干混合物中。

15 68. 权利要求 67 的方法，其中所述添加剂选自羧甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、聚交酯、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚氧乙烯氧化物、羧基乙烯基聚合物、聚乙烯醇、右旋糖酐硫酸酯和它们的组合。

69. 权利要求 67 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 1%至约 90%范围之间的添加剂混合在所述干混合物中。

70. 权利要求 69 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 20%至约 40%范围之间的添加剂混合在所述干混合物中。

20 71. 权利要求 49 的方法，其中所述组合物还包含骨吸收抑制剂和选自以下的添加剂：药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合。

72. 权利要求 49 的方法，其中所述含水缓冲液选自磷酸缓冲盐溶液、盐水、基于甘氨酸的缓冲液和它们的组合。

25 73. 权利要求 49 的方法，其中含水缓冲液与干混合物的比例介于约 0.5:1 至约 2:1。

74. 权利要求 49 的方法，其中模制法是使用选自以下的方法来

完成的：制模、挤压、压制、钻孔和它们的组合。

75. 权利要求 49 的方法，所述方法还包括在步骤(d)之前或之后切割所述棒状组合物的步骤。

76. 权利要求 49 的方法，其中所述棒状组合物是圆柱形的，所述圆柱形棒状组合物的直径介于约 0.1mm 和 3.0mm 之间。

77. 权利要求 49 的方法，其中所述棒状组合的长度介于约 1.0mm 和 5.0cm 之间。

78. 一种制备成骨蛋白注射递药用组合物的方法，所述方法包括下述步骤：将干的所述磷酸钙材料和含成骨蛋白的含水缓冲液混合制成糊剂。

79. 权利要求 78 的方法，其中所述成骨蛋白选自骨形态发生蛋白家族成员。

80. 权利要求 78 的方法，其中所述成骨蛋白选自 BMP-2、BMP-4、EMP-5、BMP-6、BMP-7、BMP-10、BMP-12、BMP-13 和 MP52。

81. 权利要求 78 的方法，其中所述成骨蛋白是 BMP-2。

82. 权利要求 78 的方法，其中所述成骨蛋白是 BMP-12。

83. 权利要求 78 的方法，其中所述成骨蛋白是 BMP-13。

84. 权利要求 78 的方法，其中所述成骨蛋白是 MP52。

85. 权利要求 78 的方法，其中所述成骨蛋白占所述糊剂重量的约 0.01%至约 2%。

86. 权利要求 85 的方法，其中所述成骨蛋白占所述糊剂重量的约 0.03%至约 1%。

87. 权利要求 78 的方法，其中所述组合物还包含骨吸收抑制剂，并且其中将干的所述骨吸收抑制剂混合在所述糊剂中。

88. 权利要求 87 的方法，其中所述骨吸收抑制剂是二膦酸盐。

89. 权利要求 88 的方法，其中所述二膦酸盐选自阿仑膦酸盐、

西马膦酸盐、氟膦酸盐、EB 1053、依替膦酸盐、伊班膦酸盐、奈立膦酸盐、奥帕膦酸盐、帕米膦酸盐、利塞膦酸盐、替鲁膦酸盐、YH 529、唑来膦酸盐及其药物可接受的盐、酯、酸和混合物。

5 90. 权利要求 78 的方法，其中所述磷酸钙材料包括选自以下的材料：无定形磷灰石磷酸钙、低级结晶磷灰石磷酸钙、羟基磷灰石、磷酸三钙、氟磷酸钙和它们的组合。

91. 权利要求 78 的方法，其中所述磷酸钙材料包括低级结晶磷灰石磷酸钙。

10 92. 权利要求 91 的方法，其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的钙与磷酸盐的比例小于 1:1.5。

93. 权利要求 92 的方法，其中所述低级结晶磷灰石磷酸钙的钙与磷酸盐的比例约为 1:1.4。

94. 权利要求 78 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 30%至约 70%范围之间的磷酸钙材料和所述含水缓冲液混合。

15 95. 权利要求 94 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 45%至约 55%的磷酸钙材料和所述含水缓冲液混合。

20 96. 权利要求 78 的方法，其中所述组合物还包含选自以下的添加剂：药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合，并且其中将干的添加剂混合在所述糊剂中。

97. 权利要求 96 的方法，其中所述添加剂选自羧甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、聚交酯、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚氧乙烯氧化物、羧基乙烯基聚合物、聚乙烯醇、右旋糖酐硫酸酯和它们的组合。

25 98. 权利要求 96 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量介于约 1%至约 90%范围之间的添加剂混合在所述糊剂中。

99. 权利要求 98 的方法，其中按所述组合物的重量计，将用量

介于约 10%至约 20%范围之间的添加剂混合在所述糊剂中。

100. 权利要求 78 的方法, 其中所述组合物还包含骨吸收抑制剂和选自以下的添加剂: 药物可接受的盐、多糖、肽、蛋白质、氨基酸、合成聚合物、天然聚合物、表面活性剂和它们的组合。

5 101. 权利要求 78 的方法, 其中所述含水缓冲液选自磷酸缓冲盐溶液、盐水、基于甘氨酸的缓冲液和它们的组合。

102. 权利要求 78 的方法, 其中含水缓冲液与磷酸钙材料的比例介于约 0.5:1 至约 2:1。

10 103. 一种治疗患有骨缺损的哺乳动物的方法, 该方法包括给予所述骨缺损部位有效量的权利要求 1 的成骨蛋白注射递药用组合物。

104. 权利要求 103 的方法, 其中所述骨缺损是骨质疏松的骨。

105. 一种治疗患有骨缺损的哺乳动物的方法, 该方法包括下述步骤:

15 (a) 给予所述骨缺损部位有效量的权利要求 1 的成骨蛋白注射递药用组合物;

(b) 给予所述骨缺损部位有效量的骨吸收抑制剂。

106. 权利要求 105 的方法, 其中步骤(a)在步骤(b)之前进行。

107. 权利要求 105 的方法, 其中步骤(b)在步骤(a)之前进行。

108. 权利要求 105 的方法, 其中步骤(a)和步骤(b)同时进行。

20 109. 一种治疗患有骨缺损的哺乳动物的方法, 该方法包括给予所述骨缺损部位有效量的权利要求 26 的成骨蛋白注射递药用组合物。

110. 一种治疗患有骨缺损的哺乳动物的方法, 该方法包括下述步骤:

25 (a) 给予所述骨缺损部位有效量的权利要求 26 的成骨蛋白注射递药用组合物;

(b) 给予所述骨缺损部位有效量的骨吸收抑制剂。

111. 权利要求 110 的方法, 其中步骤(a)在步骤(b)之前进行。
112. 权利要求 110 的方法, 其中步骤(b)在步骤(a)之前进行。
113. 权利要求 110 的方法, 其中步骤(a)和步骤(b)同时进行。
114. 有效量的权利要求 1 的组合物在制备用于治疗患有骨缺损的哺乳动物的药物中的用途, 其中所述用途包括给予所述骨缺损部位有效量的权利要求 1 的成骨蛋白注射递药用组合物。
115. 有效量的权利要求 1 的组合物在制备用于治疗患有骨缺损的哺乳动物的药物中的用途, 其中所述用途包括下述步骤:
- (a) 给予所述骨缺损部位有效量的权利要求 1 的成骨蛋白注射递药用组合物;
- (b) 给予所述骨缺损部位有效量的骨吸收抑制剂。
116. 权利要求 115 的用途, 其中步骤(a)在步骤(b)之前进行。
117. 权利要求 115 的用途, 其中步骤(b)在步骤(a)之前进行。
118. 权利要求 115 的用途, 其中步骤(a)和步骤(b)同时进行。
119. 有效量的权利要求 26 的组合物在制备用于治疗患有骨缺损的哺乳动物的药物中的用途, 其中所述用途包括给予所述骨缺损部位有效量的权利要求 26 的成骨蛋白注射递药用组合物。
120. 有效量的权利要求 26 的组合物在制备用于治疗患有骨缺损的哺乳动物的药物中的用途, 其中所述用途包括下述步骤:
- (a) 给予所述骨缺损部位有效量的权利要求 26 的成骨蛋白注射递药用组合物;
- (b) 给予所述骨缺损部位有效量的骨吸收抑制剂。
121. 权利要求 120 的用途, 其中步骤(a)在步骤(b)之前进行。
122. 权利要求 120 的用途, 其中步骤(b)在步骤(a)之前进行。
123. 权利要求 120 的用途, 其中步骤(a)和步骤(b)同时进行。