

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2024 年 6 月 13 日 (13.06.2024)



(10) 国际公布号
WO 2024/119375 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 9/16 (2006.01) **A61P 35/00** (2006.01)
A61K 47/34 (2017.01) **A61P 37/02** (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01) **A61P 9/00** (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/136978

(22) 国际申请日: 2022 年 12 月 6 日 (06.12.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(71) 申请人: 苏州大学 (SOOCHOW UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省苏州市相城区济学路 8 号, Jiangsu 215137 (CN)。

(72) 发明人: 曹青日 (CAO, Qingri); 中国江苏省苏州市相城区济学路 8 号, Jiangsu 215137 (CN)。 吴欣虹 (WU, Xinhong); 中国江苏省苏州市相城区济学路 8 号, Jiangsu 215137 (CN)。

(74) 代理人: 苏州创元专利商标事务所有限公司 (SUZHOU CREATOR PATENT AND TRADEMARK AGENCY, LTD); 中国江苏省苏州市姑苏区干将西路 93 号 5 楼孙周强, Jiangsu 215002 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚

(54) Title: JAK INHIBITOR LONG-ACTING MICROSPHERES, PREPARATION METHOD THEREFOR, AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种 JAK 抑制剂长效微球及其制备方法与应用

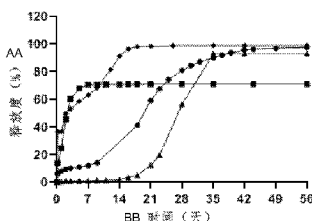


图 3

AA Release rate (%)
BB Time (days)
CC Example 2
DD Comparative Example 1
EE Comparative Example 2
FF Comparative Example 3

(57) Abstract: JAK inhibitor long-acting sustained-release microspheres, a preparation method therefor, and use thereof. A JAK inhibitor and a biocompatible polymer (containing a surfactant) are separately dissolved in an organic solvent, and then mixed to serve as a dispersed phase, an aqueous solution of polyvinyl alcohol serves as a continuous phase, and the dispersed phase is injected into the continuous phase under stirring to form an oil-in-water emulsion; then the organic solvent is stirred to be volatilized, the oil-in-water emulsion is then injected into the aqueous solution of polyvinyl alcohol for curing, finally washing is carried out using distilled water, and microspheres are collected and freeze-dried to obtain the JAK inhibitor long-acting microspheres. The microspheres stably encapsulating high-content JAK inhibitors can be effectively prepared, achieving industrialization; the prepared JAK inhibitor microspheres can ensure the stable and effective drug concentration in vivo, and prolong the action time of drugs, thereby meeting the requirements of clinical application.

(57) 摘要: 一种 JAK 抑制剂长效缓释微球及其制备方法与应用。将 JAK 抑制剂与生物相容性聚合物 (含表面活性剂) 分别溶于有机溶剂后混合作为分散相, 聚乙烯醇的水溶液作为连续相, 并在搅拌下将分散相注入连续相中, 形成水包油型乳液; 然后搅拌使有机溶剂挥发, 再将水包油型乳液注入聚乙烯醇水溶液中固化, 最后用蒸馏水冲洗并收集微球, 冷冻干燥得到 JAK 抑制剂长效微球。其能有效制备稳定包封高含量的 JAK 抑制剂微球, 实现产业化, 且制备所得 JAK 抑制剂微球可保证体内稳定有效药物浓度, 并延长药物作用时间, 可满足临床应用的需求。

(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

一种JAK抑制剂长效微球及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明涉及药物制剂技术领域，具体涉及一种JAK抑制剂的长效微球的制备方法。

背景技术

[0002] JAK是一种非受体型酪氨酸蛋白激酶，可介导细胞因子产生的信号，并通过JAK-STAT信号通路传递下去。JAK共有JAK1、JAK2、JAK3、TYK2四种亚型，亚型之间有重叠的结合对象。目前JAK1已成为炎症、癌症、免疫等疾病的靶点；JAK2是血液系统相关疾病的靶点；JAK3主要是自身免疫性疾病的热门靶点。目前，国内已有5款JAK抑制剂获批上市，分别为诺华的芦可替尼、礼来的巴瑞替尼、辉瑞的托法替尼、艾伯维的乌帕替尼、辉瑞的阿布昔替尼，适应症主要覆盖类风湿关节炎、骨髓纤维化、特应性皮炎等。

[0003] 托法替尼、芦可替尼、巴瑞替尼、乌帕替尼和阿布昔替尼作为JAK抑制剂治疗类风湿性疾病，能有效抑制JAK1和JAK3的活性，从而阻断多种炎症细胞因子的信号转导，有效抑制炎症的发生。与传统的抗风湿药物相比，JAK抑制剂不仅能减轻症状，甚至能停止疾病对机体的损害。可用于器官移植，类风湿关节炎、溃疡性结肠炎、银屑病等多种炎症相关疾病的治疗。

[0004] 现有JAK类抑制剂的剂型主要以片剂为主。例如，枸橼酸托法替尼片剂目前已在美国获批，每片含8mg枸橼酸托法替尼，每日两次，用以治疗类风湿关节炎等。因其治疗疗程较长，患者服药顺应性较差，同时考虑对肝脏有一定的毒性，因此研制JAK抑制剂的长效微球具有非常重要的意义。目前，国内上市的JAK抑制剂的剂型主要是片剂，缓释制剂的开发较少。其中，CN113384544A中采用乙基纤维素作为缓释包衣材料，加入促渗剂、助悬剂、粘合剂和润滑剂等多种辅料制成托法替尼缓释片剂，其缓释效果只能达到8小时，因其制备过程加入多种辅料成分，托法替尼的含量为6%~12%，含药量偏低。所以研制缓释时间更长、药物含量高的新型缓释制剂—JAK抑制剂的长效微球有更为广泛的应用场景。而

且，目前在市场上，关于JAK抑制剂的长效微球制剂并未被开发，同时微球作为药物的新型载体，具有较大的发展优势，因此，为进一步制备出能更加有效地抑制非受体型酪氨酸蛋白激酶类药物，需要研制开发出一种更长效的缓释制剂。

发明概述

技术问题

[0005] 本发明的目的是提供一种JAK抑制剂的长效缓释微球制备方法，简单高效、封装率高，能够有效解决游离药物不稳定、传统缓释制剂缓释时间较短等问题。

问题的解决方案

技术解决方案

[0006] 为实现上述目的，本发明提供了如下的技术方案。

[0007] 一种JAK抑制剂长效微球的制备方法，包括以下步骤：将JAK抑制剂溶液与含有表面活性剂以及生物相容性聚合物的溶液混合，得到油相；再将油相滴加入第一水相，搅拌倒入第二水相，然后搅拌、洗涤、干燥，得到JAK抑制剂长效微球。

[0008] 本发明中，油相中，有机溶剂为苯甲醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、二甲基亚砜、四氢呋喃或甲醇中的一种或几种，优选的，有机溶剂为苯甲醇、二氯甲烷和乙酸乙酯；所述生物相容性聚合物为聚乳酸-羟基乙酸共聚物（PLGA）、聚乳酸（PLA）、聚乳酸-聚乙二醇（PLA-PEG）和聚己内酯（PCL）中的一种或几种；优选的，所述生物相容性聚合物为聚乳酸-羟基乙酸共聚物，其相对分子质量为12000~150000g/mol，其中，丙交酯与乙交酯的摩尔比为85:15~50:50。优选的，PLGA丙交酯与乙交酯的摩尔比为75:25~50:50，更优选为75:25。所述表面活性剂为泊洛沙姆、聚乙二醇、聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯、蓖麻油聚氧乙烯醚或十二烷基苯磺酸钠的一种或几种。

[0009] 本发明中，所述JAK抑制剂、生物相容性聚合物、表面活性剂的重量比为1：（1~50）：（0.05~5），优选为1：（2~5）：（0.1~1）；JAK抑制剂溶液的浓度为1%~20%（w/v），优选为1%~10%，溶剂为乙酸乙酯、二氯甲烷或苯甲醇的一种或几种；含有表面活性剂以及生物相容性聚合物的溶液中，生物相容性

聚合物的浓度为1%~50% (w/v)，优选为1%~25% (w/v)，溶剂为乙酸乙酯、二氯甲烷或苯甲醇的一种或几种。

[0010] 本发明中，油相与第一水相的体积比为1:1~50，优选1:2~15，进一步优选1:3~10；所述第二水相与第一水相的体积比为2~20:1，优选2~15:1，进一步优选3~10:1；优选的，水相为聚乙烯醇水溶液。

[0011] 本发明将油相滴加入第一水相，常规搅拌0.5~2小时，再倒入第二水相，继续搅拌0.5~1小时，再洗涤、冷冻干燥20~100小时，得到JAK抑制剂长效微球。优选的，本发明将油相滴加入第一水相，搅拌0.5~1小时，再倒入第二水相，然后搅拌0.5~1小时，再洗涤、冷冻干燥30~60小时，得到JAK抑制剂长效微球。

[0012] 本发明公开了上述JAK抑制剂长效微球在制备缓释药物中的应用。

[0013] 本发明通过将JAK抑制剂与生物相容性聚合物溶于有机溶剂作为分散性，聚乙烯醇水溶液作为连续相，形成O/W乳液，有机溶剂充分挥发，再注入聚乙烯醇水溶液中一定时间，得到JAK抑制剂长效微球。JAK抑制剂与生物相容性聚合物共溶于有机溶剂中，可以降低药物损失，并提高载药量与包封率；采用合理的工艺，可以控制微球具有适宜的粒径；此外，用聚乙烯醇水溶液进一步处理，可使微球更加坚硬，避免微球的收集过程中发生变形，微球形态良好。

发明的有益效果

有益效果

[0014] 本发明具有以下优点。

[0015] (1) 本发明以JAK抑制剂、生物相容性聚合物、表面活性剂为原料制备含药聚合物溶液，调节了JAK抑制剂长效微球的释放速度，实现JAK抑制剂微球的长效释放。

[0016] (2) 本发明选择原料比例以及制备工艺，所制备的JAK抑制剂长效微球包封率较高，粒径适宜，形态圆整，4h释放度为8%，没有突释现象，后续长效释放，可缓慢释放二周至一个月，有效提高患者顺应性。

[0017] (3) 本发明的制备方法简单高效，适合工业生产。

[0018] 上述说明仅是本发明技术方案的概述，为了能够更清楚了解本发明的技术手段

，并可依照说明书的内容予以实施，以下以本发明的较佳实施例并配合附图详细说明如后。

对附图的简要说明

附图说明

- [0019] 图1为常规JAK抑制剂的化学结构式。
- [0020] 图2为实施例2制备的JAK抑制剂长效微球扫描电镜图（400×）。
- [0021] 图3为实施例2和对比例1-3的JAK抑制剂长效微球的37℃（0.02%TW20-PBS溶液）体外释放曲线。
- [0022] 图4为实施例2和对比例1-3的JAK抑制剂长效微球37℃（0.02%TW20-PBS溶液）前三天的释放曲线。

发明实施例

本发明的实施方式

- [0023] 微球是通过将药物溶解或分散在生物相容性聚合物中形成的骨架型的实体小球，其粒径范围在1~250 μm之间。药物制成微球以后有以下特点：掩盖药物不良气味，提高药物的稳定性，减少对胃的刺激或减少药物在胃内的失活，使液态药物固态化便于贮存或再制成其他剂型，控制药物释放速率等。本发明制备JAK抑制剂长效微球的方法如下。
- [0024] （1）将JAK抑制剂与生物相容性聚合物（含表面活性剂）、有机溶剂混合作为分散相，聚乙烯醇水溶液作为连续相，在常规磁力搅拌下将分散相滴加入连续相中，形成水包油型乳液。
- [0025] （2）搅拌挥发乳液中的部分有机溶剂，将所得分散系统注入聚乙烯醇水溶液。
- [0026] （3）用蒸馏水冲洗并收集微球，冷冻干燥（冷冻干燥机型号：FDU-2110）得到JAK抑制剂长效微球。
- [0027] JAK抑制剂为托法替尼、芦可替尼、巴瑞替尼、乌帕替尼、阿布昔替尼，化学结构式如图1所示。下面结合附图和实施例，对本发明的具体实施方式作进一步详细描述。本发明采用的原料为现有产品，具体制备操作以及测试为常规技术，比如搅拌为常规技术，搅拌挥发有机溶剂，油相连续滴加至聚乙烯醇水溶液

中，利用0.22 μm 滤膜过滤。以下实施例用于说明本发明，但不用来限制本发明的范围。本发明中，溶液浓度中，w/v表示每100 ml溶液中含溶质的质量（以g表示），比如40 mg托法替尼溶于1.5 ml苯甲醇，溶液的浓度为2.7%。

[0028] 实施例1。

[0029] 称取40 mg托法替尼溶于1.5 ml苯甲醇，得到药物溶液；取200 mg PLGA（羧封端丙交酯与乙交酯的摩尔比=75:25， $M_w=90$ kDa）和86 mg泊洛沙姆407溶于2.5 ml乙酸乙酯中，得到聚合物溶液；将药物溶液与聚合物溶液相互混合，涡旋分散，作为油相。再将油相滴加至20 ml聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌40 min，再将分散体系倒入100 ml聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌2 h，过滤后用水洗涤3次，放入 -80°C 冰箱预冻8 h后，冷冻干燥48 h，得到微球粉末。

[0030] 实施例2。

[0031] 称取40 mg托法替尼溶于1.5 ml苯甲醇，得到药物溶液；取200 mg PLGA（羧封端丙交酯与乙交酯的摩尔比=75:25， $M_w=90$ kDa）和20 mg泊洛沙姆407溶于2.5 ml乙酸乙酯中，得到聚合物溶液；将药物溶液与聚合物溶液相互混合，涡旋分散，作为油相。再将油相滴加至20 ml聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌40 min，再将分散体系倒入100 ml聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌2 h，过滤后用水洗涤3次，放入 -80°C 冰箱预冻8 h后，冷冻干燥48 h，得到微球粉末。

[0032] 实施例3。

[0033] 称取40 mg托法替尼溶于1.5 ml苯甲醇，得到药物溶液；取200 mg PLGA（羧封端丙交酯与乙交酯的摩尔比=75:25， $M_w=90$ kDa）和10 mg泊洛沙姆407溶于2.5 ml乙酸乙酯中，得到聚合物溶液；将药物溶液与聚合物溶液相互混合，涡旋分散，作为油相。再将油相滴加至20 ml聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌40 min，再将分散体系倒入100 ml聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌2 h，过滤后用水洗涤3次，放入 -80°C 冰箱预冻8 h后，冷冻干燥48 h，得到微球粉末。

[0034] 实施例4。

[0035] 称取40 mg巴瑞替尼溶于1.5 ml苯甲醇，得到药物溶液；取200 mg PLGA（羧封端丙交酯与乙交酯的摩尔比=75:25， $M_w=90$ kDa）和10 mg泊洛沙姆407溶于2.5

ml 乙酸乙酯中，得到聚合物溶液；将药物溶液与聚合物溶液相互混合，涡旋分散，作为油相。再将油相滴加至20 ml 聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌40 min，再将分散体系倒入100 ml 聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌2 h，过滤后用水洗涤3次，放入-80℃冰箱预冻8 h后，冷冻干燥48 h，得到微球粉末。

[0036] 实施例5。

[0037] 称取40 mg 芦可替尼溶于1.5 ml 苯甲醇，得到药物溶液；取200 mg PLGA（羧封端丙交酯与乙交酯的摩尔比=75:25，Mw=90 kDa）和10 mg 泊洛沙姆407溶于2.5 ml 乙酸乙酯中，得到聚合物溶液；将药物溶液与聚合物溶液相互混合，涡旋分散，作为油相。再将油相滴加至20 ml 聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌40 min后，将分散体系倒入100 ml 聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌2 h，过滤后用水洗涤3次，放入-80℃冰箱预冻8 h后，冷冻干燥48 h，得到微球粉末。

[0038] 实施例6。

[0039] 称取40 mg 乌帕替尼溶于1.5 ml 苯甲醇，得到药物溶液；取200 mg PLGA（羧封端丙交酯与乙交酯的摩尔比=75:25，Mw=90 kDa）和10 mg 泊洛沙姆407溶于2.5 ml 乙酸乙酯中，得到聚合物溶液；将药物溶液与聚合物溶液相互混合，涡旋分散，作为油相。再将油相滴加至20 ml 聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌40 min后，将分散体系倒入100 ml 聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌2 h，过滤后用水洗涤3次，放入-80℃冰箱预冻8 h后，冷冻干燥48 h，得到微球粉末。

[0040] 实施例7。

[0041] 称取40 mg 阿布昔替尼溶于1.5 ml 苯甲醇，得到药物溶液；取200 mg PLGA（羧封端丙交酯与乙交酯的摩尔比=75:25，Mw=90 kDa）和10 mg 泊洛沙姆407溶于2.5 ml 乙酸乙酯中，得到聚合物溶液；将药物溶液与聚合物溶液相互混合，涡旋分散，作为油相。再将油相滴加至20 ml 聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌40 min后，将分散体系倒入100 ml 聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌2 h，过滤后用水洗涤3次，放入-80℃冰箱预冻8 h后，冷冻干燥48 h，得到微球粉末。

[0042] 实施例8。

[0043] 称取40 mg 托法替尼溶于1.5 ml 苯甲醇，得到药物溶液；取200 mg PLGA（羧封

端丙交脂与乙交酯的摩尔比=75:25, $M_w=90$ kDa) 和20 mg泊洛沙姆188溶于2.5 ml乙酸乙酯中, 得到聚合物溶液; 将药物溶液与聚合物溶液相互混合, 涡旋分散, 作为油相。再将油相滴加至25 ml聚乙烯醇水溶液(1wt%)中, 搅拌40 min, 再将分散体系倒入100 ml聚乙烯醇水溶液(1wt%)中, 搅拌0.5 h, 过滤后用水洗涤3次, 放入-80℃冰箱预冻8 h后, 冷冻干燥48 h, 得到微球粉末。

[0044] 实施例9。

[0045] 称取40 mg托法替尼溶于1.5 ml苯甲醇, 得到药物溶液; 取200 mgPLGA(羧封端丙交脂与乙交酯的摩尔比=75:25, $M_w=90$ kDa) 和15mg泊洛沙姆338溶于2.5 ml乙酸乙酯中, 得到聚合物溶液; 将药物溶液与聚合物溶液相互混合, 涡旋分散, 作为油相。再将油相滴加至20 ml聚乙烯醇水溶液(1wt%)中, 搅拌30 min, 再将分散体系倒入100 ml聚乙烯醇水溶液(1wt%)中, 搅拌45分钟, 过滤后用水洗涤3次, 放入-80℃冰箱预冻8 h后, 冷冻干燥48 h, 得到微球粉末。

[0046] 实施例10。

[0047] 称取50 mg托法替尼溶于1.5 ml苯甲醇, 得到药物溶液; 取200 mgPLGA(酯封端丙交脂与乙交酯的摩尔比=75:25, $M_w=90$ kDa) 和10 mg泊洛沙姆407溶于2.5 ml乙酸乙酯中, 得到聚合物溶液; 将药物溶液与聚合物溶液相互混合, 涡旋分散, 作为油相。再将油相滴加至30 ml聚乙烯醇水溶液(1wt%)中, 搅拌40 min, 再将分散体系倒入100 ml聚乙烯醇水溶液(1wt%)中, 搅拌1 h, 过滤后用水洗涤3次, 放入-80℃冰箱预冻8 h后, 冷冻干燥48 h, 得到微球粉末。

[0048] 对比例1。

[0049] 称取40 mg托法替尼溶于1.5 ml苯甲醇, 得到药物溶液; 取200 mgPLGA(羧封端丙交脂与乙交酯的摩尔比=75:25, $M_w=12$ kDa) 溶于2.5 ml乙酸乙酯中, 得到聚合物溶液; 将药物溶液与聚合物溶液相互混合, 涡旋分散, 作为油相。再将油相滴加至20 ml聚乙烯醇水溶液(1wt%)中, 搅拌40 min后, 将分散体系倒入100 ml聚乙烯醇水溶液(1wt%)中, 搅拌2 h, 过滤后用水洗涤3次, 放入-80℃冰箱预冻8 h后, 冷冻干燥48 h, 得到微球粉末。

[0050] 对比例2。

[0051] 称取40 mg托法替尼溶于1.5 ml苯甲醇, 得到药物溶液; 取200 mgPLGA(羧封

端丙交酯与乙交酯的摩尔比=75:25, Mw=90 kDa) 溶于2.5 ml 乙酸乙酯中, 得到聚合物溶液; 将药物溶液与聚合物溶液相互混合, 涡旋分散, 作为油相。再将油相滴加至20 ml 聚乙烯醇水溶液 (1wt%) 中, 搅拌40 min后, 将分散体系倒入100 ml 聚乙烯醇水溶液 (1wt%) 中, 搅拌2 h, 过滤后用水洗涤3次, 放入-80℃冰箱预冻8 h后, 冷冻干燥48 h, 得到微球粉末。

[0052] 对比例3。

[0053] 称取40 mg托法替尼溶于1.5 ml 苯甲醇, 得到药物溶液; 取200 mgPLGA (羧封端丙交酯与乙交酯的摩尔比=75:25, Mw=90 kDa) 溶于2.5 ml 乙酸乙酯中, 得到聚合物溶液; 将药物溶液与聚合物溶液相互混合, 涡旋分散, 作为油相。再将油相滴加至20 ml 聚乙烯醇水溶液 (1wt%) 中, 搅拌40 min后, 将分散体系倒入100 ml 聚乙烯醇水溶液 (1wt%, 含1mg/ml氯化钠) 中, 搅拌2 h, 过滤后用水洗涤3次, 放入-80℃冰箱预冻8 h后, 冷冻干燥48 h, 得到微球粉末。

[0054] 对比例4。

[0055] 称取40 mg托法替尼溶于1.5 ml 苯甲醇, 得到药物溶液; 取200 mgPLGA (羧封端丙交酯与乙交酯的摩尔比=75:25, Mw=90 kDa) 溶于2.5 ml 乙酸乙酯中, 得到聚合物溶液; 将药物溶液与聚合物溶液相互混合, 涡旋分散, 作为油相。再将油相滴加至20 ml 聚乙烯醇水溶液 (1wt%) 中, 搅拌40 min后, 将分散体系倒入100 ml 聚乙烯醇水溶液 (1wt%, 加入氢氧化钠调节pH至10) 中, 搅拌2 h, 过滤后用水洗涤3次, 放入-80℃冰箱预冻8 h后, 冷冻干燥48 h, 得到微球粉末。

[0056] 对比例5。

[0057] 称取40 mg托法替尼溶于1.5 ml 苯甲醇, 得到药物溶液; 取200 mgPLA (羧封端, Mw=90 kDa) 和10mg泊洛沙姆407溶于2.5 ml 乙酸乙酯中, 得到聚合物溶液; 将药物溶液与聚合物溶液相互混合, 涡旋分散, 作为油相。再将油相滴加至20 ml 聚乙烯醇水溶液 (1wt%) 中, 搅拌40 min后, 将分散体系倒入100 ml 聚乙烯醇水溶液 (1wt%) 中, 搅拌2 h, 过滤后用水洗涤3次, 放入-80℃冰箱预冻8 h后, 冷冻干燥48 h, 得到微球粉末。

[0058] 对比例6。

[0059] 称取40 mg托法替尼溶于1.5 ml苯甲醇，得到药物溶液；取200 mgPCL（羧封端，Mw=90 kDa）和10mg泊洛沙姆407溶于2.5 ml乙酸乙酯中，得到聚合物溶液；将药物溶液与聚合物溶液相互混合，涡旋分散，作为油相。再将油相滴加至20 ml聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌40 min后，将分散体系倒入100 ml聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌2 h，过滤后用水洗涤3次，放入-80℃冰箱预冻8 h后，冷冻干燥48 h，得到微球粉末。

[0060] 对比例7。

[0061] 称取40 mg托法替尼溶于1.5 ml苯甲醇，得到药物溶液；取200 mgPLGA（羧封端丙交酯与乙交酯的摩尔比=75:25，Mw=90 kDa）和10mg氧乙烯（80）失水山梨醇单油酸酯溶于2.5 ml乙酸乙酯中，得到聚合物溶液；将药物溶液与聚合物溶液相互混合，涡旋分散，作为油相。再将油相滴加至20 ml聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌40 min后，将分散体系倒入100 ml聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌2 h，过滤后用水洗涤3次，放入-80℃冰箱预冻8 h后，冷冻干燥48 h，得到微球粉末。

[0062] 对比例8。

[0063] 称取40 mg托法替尼溶于1.5 ml苯甲醇，得到药物溶液；取200 mgPLGA（羧封端丙交酯与乙交酯的摩尔比=75:25，Mw=90 kDa）和10 mg蓖麻油聚氧乙烯35醚溶于2.5 ml乙酸乙酯中，得到聚合物溶液；将药物溶液与聚合物溶液相互混合，涡旋分散，作为油相。再将油相滴加至20 ml聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌40 min后，将分散体系倒入100 ml聚乙烯醇水溶液（1wt%）中，搅拌2 h，过滤后用水洗涤3次，放入-80℃冰箱预冻8 h后，冷冻干燥48 h，得到微球粉末。

[0064] 测试例。

[0065] 微球形态。取实施例2制备的微球，用扫描电镜测定微球形态，结果见图2，可见托法替尼长效微球粒度适宜，微球圆整，形态良好。

[0066] 微球粒径：取上述制备的微球，各用水混悬，用激光粒度分布仪测定微球粒径，结果见表1，所得的微球粒径（特指中位径）小于100 μm，适合注射使用。
微球载药量与包封率：分别称取10mg上述制备的微球，加入乙腈溶解微球后，

加入pH=4.2, 0.02%PBS-TW20定容至50ml, 取上清, 12500rpm离心, 取700 μ l进行HPLC分析, 测得总药物浓度。称取10mg的微球, 加入pH=4.2, 0.02%PBS-TW20定容至50ml, 取上清液, 进行HPLC分析, 测得游离药物浓度。总药物量-游离药物量为包载药物量, 结果见表1。载药量与包封率的计算公式如下。

[0067]

$$\text{载药量} = \frac{\text{微球中所含药量}}{\text{微球总质量}} \times 100\%$$

$$\text{包封率} = \frac{\text{微球中包封的药量}}{\text{微球中包封与未包封的总药量}} \times 100\%$$

。

[0068]

表1 微球粒径、载药量与包封率

试样	平均中位径 (μm) $\pm$ SD	载药量 (%)	包封率 (%)
实施例1	76.69 $\pm$ 0.39	6.90	89.71
实施例2	98.36 $\pm$ 0.46	12.07	93.63
实施例3	82.27 $\pm$ 0.12	10.61	91.70
实施例4	77.54 $\pm$ 0.06	10.48	87.50
实施例5	74.97 $\pm$ 0.15	10.58	89.01
实施例6	79.88 $\pm$ 0.14	5.89	54.89
实施例7	94.23 $\pm$ 0.18	2.74	23.79
实施例8	87.32 $\pm$ 0.11	11.82	90.22
实施例9	85.77 $\pm$ 0.13	11.91	91.49
实施例10	89.21 $\pm$ 0.10	11.77	89.56
对比例1	59.84 $\pm$ 0.09	17.21	98.36
对比例2	96.65 $\pm$ 0.14	12.27	96.02
对比例3	71.52 $\pm$ 0.28	10.25	81.56
对比例4	63.26 $\pm$ 0.37	11.04	91.03
对比例5	77.25 $\pm$ 0.06	4.78	44.89
对比例6	86.02 $\pm$ 0.12	5.82	52.44
对比例7	85.42 $\pm$ 0.22	5.47	50.09
对比例8	80.42 $\pm$ 0.51	4.28	48.09

[0069] 本发明通过在油相中添加适量表面活性剂制备微球较于在水相加入氢氧化钠或氯化钠致孔的方法，制备所得的托法替尼微球包封率更高，均大于85%。表明表面活性剂不仅致孔能有效调节微球释放，还能保证微球较高的包封率。另外相较于PLA和PCL而言，采用PLGA制备所得微球包封率更高，均大于85%。说明采用PLGA大分子聚合物制备所得微球包封率更高。综上所述，本发明制备所得微球，包封率较高，而且还能够有效调节托法替尼微球释放，使托法替尼能在一个月之内缓慢释放。

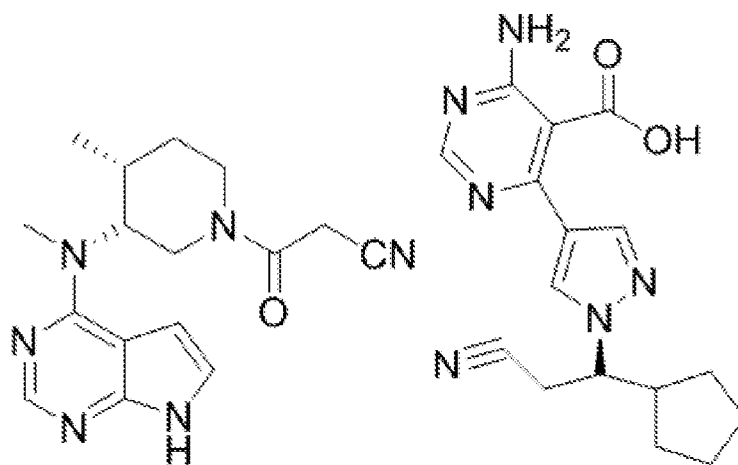
- [0070] 微球的体外释放曲线。
- [0071] 将6.8 g磷酸氢二钾和0.79 g氢氧化钠溶解于1000 mL水中，加入0.5% (w/v) 吐温20，得到释放介质PBS-吐温20溶液。
- [0072] 将6.8 g磷酸氢二钾和0.79 g氢氧化钠溶解于1000 mL水中，得到释放介质PBS溶液。
- [0073] 分别称取20mg实施例2和对比例1-2制备的托法替尼缓释微球于50mL 具塞锥形瓶中，加入50mL 0.02% TW20-PBS溶液，放入恒温37℃摇床（50 rpm），分别于4 h、1 d、3 d、7 d、14 d等不同时间点取样1ml，离心，取上清0.7ml用于HPLC分析，剩下微球用新鲜介质重新混悬继续放样，计算累积释放百分率，绘制累积释放百分率-时间的释放曲线图，结果见图3、图4。可以看出，托法替尼缓慢从微球中释放出来，释放曲线平缓，可持续释放一个月。其中，实施例2通过在大分子量的PLGA（90 kDa）加入表面活性剂调节释放度，药物能在一个月之内缓慢释放。如果未在油相中添加适量表面活性剂，采用小分子量PLGA（12 kDa）致孔制备所得托法替尼微球第一天释放24.78%（突释较大），而采用大分子量PLGA（90 kDa）制备所得的托法替尼微球前两周基本不释放。还可以看出，通过在油相中添加适量表面活性剂制备微球较于在固化相加入氯化钠使微球致孔的方法，以表面活性剂作为致孔剂，不仅能提高包封率而且还能显著改善托法替尼长效微球的释放度，即明显改善了托法替尼长效微球前期突释较大或者前期基本不释放的现象，满足临床用药需求。
- [0074] 本发明采用PLGA大分子聚合物结合在油相中加入表面活性的方法，制备所得的微球包封率较高且药物能在一个月之内缓慢释放，而且还能保证制备所得托法替尼微球具有较高包封率。
- [0075] 以上所述仅是本发明的优选实施方式，并不用于限制本发明，应当指出，对于本技术领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明技术原理的前提下，还可以做出若干改进和变型，这些改进和变型也应视为本发明的保护范围。

权利要求书

- [权利要求 1] 一种JAK抑制剂长效微球的制备方法，其特征在于，包括以下步骤：
将JAK抑制剂溶液与含有表面活性剂以及生物相容性聚合物的溶液混合，得到油相；再将油相滴加入第一水相，搅拌后倒入第二水相，然后搅拌、洗涤、干燥，得到JAK抑制剂长效微球。
- [权利要求 2] 如权利要求1所述JAK抑制剂长效微球的制备方法，其特征在于，油相中，有机溶剂为苯甲醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、二甲基亚砜、四氢呋喃或甲醇中的一种或几种；所述生物相容性聚合物为聚乳酸-羟基乙酸共聚物、聚乳酸、聚乳酸-聚乙二醇、聚己内酯中的一种或几种；所述表面活性剂为泊洛沙姆、聚乙二醇、氧乙烯失水山梨醇单油酸酯、蓖麻油聚氧乙烯醚或十二烷基苯磺酸钠的一种或几种。
- [权利要求 3] 如权利要求1所述JAK抑制剂长效微球的制备方法，其特征在于，所述JAK抑制剂、生物相容性聚合物、表面活性剂的重量比为1：（1~50）：（0.05~5）。
- [权利要求 4] 如权利要求1所述JAK抑制剂长效微球的制备方法，其特征在于，JAK抑制剂溶液的浓度为1%~20%；含有表面活性剂以及生物相容性聚合物的溶液中，生物相容性聚合物的浓度为1%~50%。
- [权利要求 5] 如权利要求1所述JAK抑制剂长效微球的制备方法，其特征在于，油相与第一水相的体积比为1：1~50；所述第二水相与第一水相的体积比为2~20：1。
- [权利要求 6] 如权利要求1所述JAK抑制剂长效微球的制备方法，其特征在于，水相为聚乙烯醇水溶液。
- [权利要求 7] 如权利要求1所述JAK抑制剂长效微球的制备方法，其特征在于，将油相滴加入第一水相，搅拌0.5~2小时，再倒入第二水相，然后搅拌0.5~1小时，再洗涤、干燥，得到JAK抑制剂长效微球。
- [权利要求 8] 如权利要求1所述JAK抑制剂长效微球的制备方法，其特征在于，干燥为冷冻干燥。
- [权利要求 9] 如权利要求1所述JAK抑制剂长效微球的制备方法制备的JAK抑制剂长

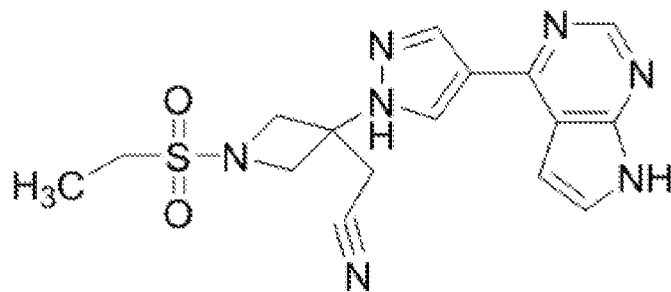
效微球。

[权利要求 10] 权利要求9所述JAK抑制剂长效微球在制备缓释药物中的应用。

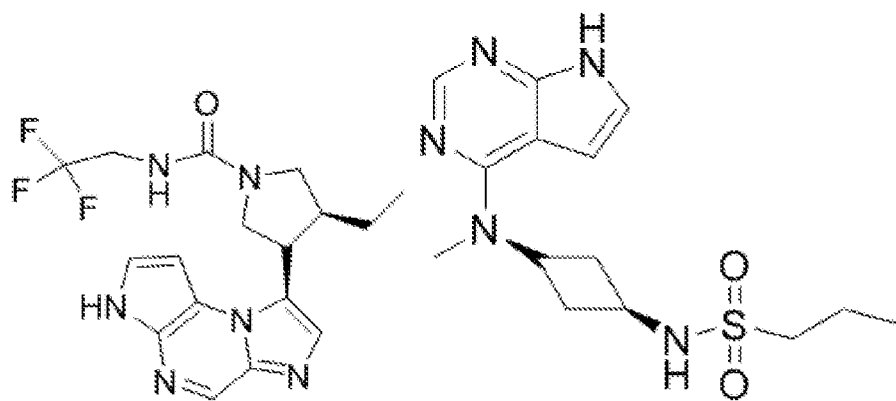


托法替尼

芦可替尼



巴瑞替尼



乌帕替尼

阿布昔替尼

图 1

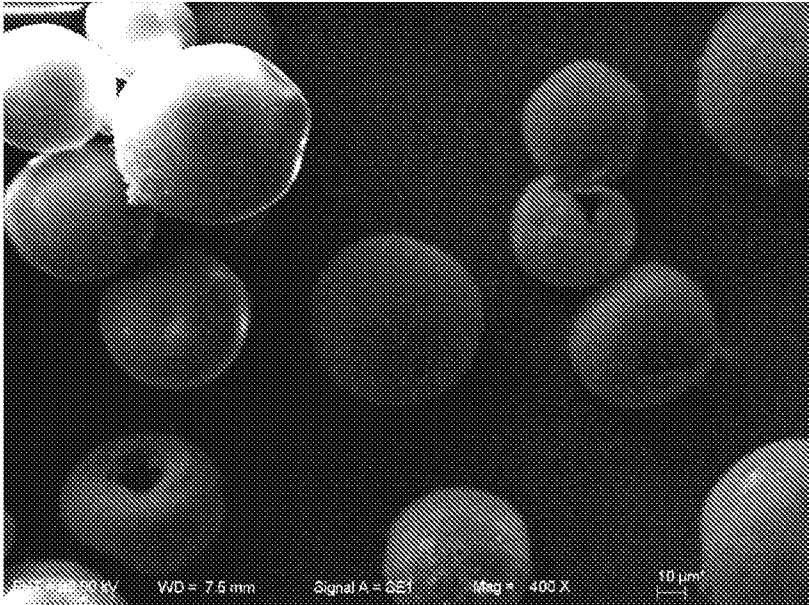


图 2

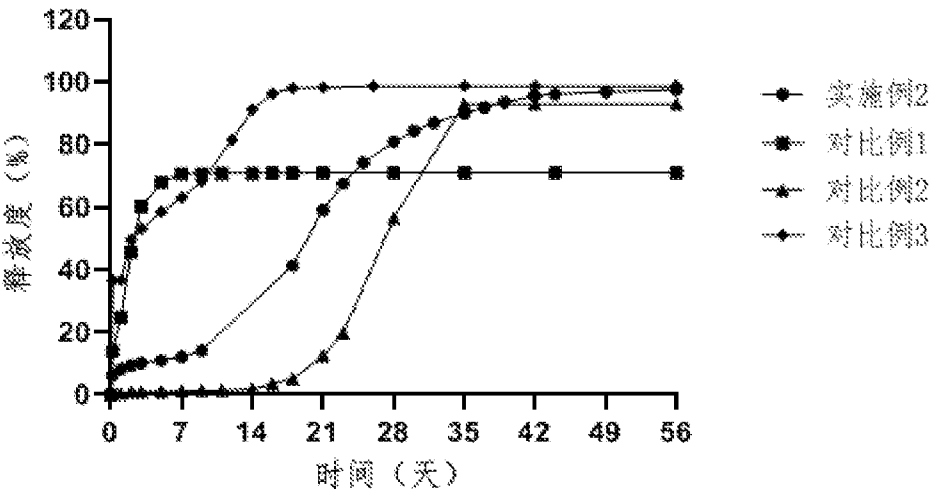


图 3

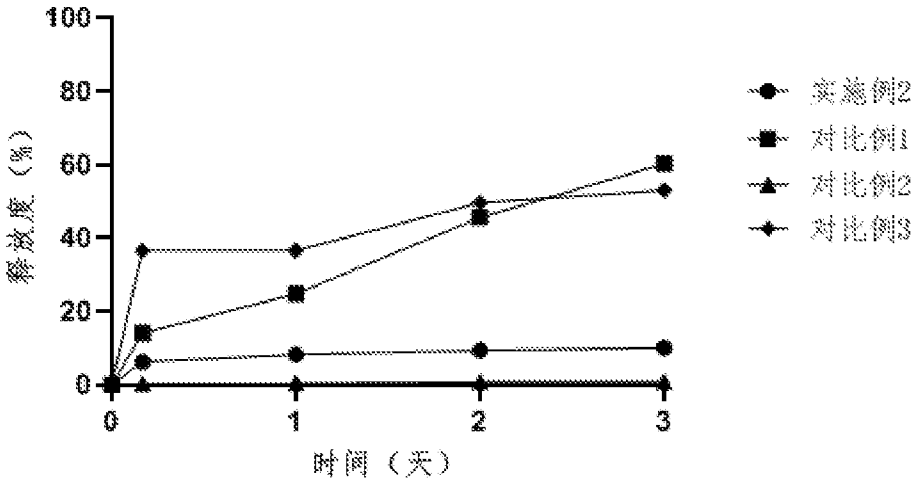


图 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/136978

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 9/16(2006.01)i; A61K 47/34(2017.01)i; A61K 45/00(2006.01)i; A61P 29/00(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i;
A61P 37/02(2006.01)i; A61P 9/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNPAT, 中国期刊网全文数据库, Chinese Journal Full-text Database, DWPI, VEN: JAK, 微球, 表面活性剂, 乳化剂, 聚合物, 油相, 水相, 分散相, 缓释, 长效, 抑制剂, 蛋白激酶, 替尼, microsphere, inhibitor, long acting, sustained release, surfactant, oil in water, dispersion phase

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	CN 115969796 A (SOOCHOW UNIVERSITY) 18 April 2023 (2023-04-18) claims 1-10	1-10
X	CN 103536537 A (XING RONG) 29 January 2014 (2014-01-29) description, paragraphs 0006-0007	1-10
X	CN 113384537 A (SOOCHOW UNIVERSITY) 14 September 2021 (2021-09-14) description, paragraphs 0008-0028	1-10
A	CN 114870016 A (SHANGHAI SCIENPHARM BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 09 August 2022 (2022-08-09) description, paragraphs 0007-0029	1-10
A	CN 102728287 A (SOUTHEAST UNIVERSITY) 17 October 2012 (2012-10-17) description, paragraphs 0006-0018	1-10
A	KR 20190125940 A (GENUV INC. et al.) 07 November 2019 (2019-11-07) entire description	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 “D” document cited by the applicant in the international application
 “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
 “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

07 July 2023

Date of mailing of the international search report

24 July 2023

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District,
Beijing 100088

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/136978

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN	115969796	A	18 April 2023	None	
CN	103536537	A	29 January 2014	None	
CN	113384537	A	14 September 2021	None	
CN	114870016	A	09 August 2022	None	
CN	102728287	A	17 October 2012	None	
KR	20190125940	A	07 November 2019	KR 102235011 B1	01 April 2021

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/136978

A. 主题的分类

A61K 9/16(2006.01)i; A61K 47/34(2017.01)i; A61K 45/00(2006.01)i; A61P 29/00(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 37/02(2006.01)i; A61P 9/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A61K, A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNPAT, 中国期刊网全文数据库, DWPI, VEN: JAK, 微球, 表面活性剂, 乳化剂, 聚合物, 油相, 水相, 分散相, 缓释, 长效, 抑制剂, 蛋白激酶, 替尼, microsphere, inhibitor, long acting, sustained release, surfactant, oil in water, dispersion phase

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
E	CN 115969796 A (苏州大学) 2023年4月18日 (2023 - 04 - 18) 权利要求1-10	1-10
X	CN 103536537 A (邢蓉) 2014年1月29日 (2014 - 01 - 29) 说明书第0006-0007段	1-10
X	CN 113384537 A (苏州大学) 2021年9月14日 (2021 - 09 - 14) 说明书第0008-0028段	1-10
A	CN 114870016 A (上海博悦生物科技有限公司) 2022年8月9日 (2022 - 08 - 09) 说明书第0007-0029段	1-10
A	CN 102728287 A (东南大学) 2012年10月17日 (2012 - 10 - 17) 说明书第0006-0018段	1-10
A	KR 20190125940 A (GENUV INC. 等) 2019年11月7日 (2019 - 11 - 07) 说明书全文	1-10

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“D” 申请人在国际申请中引证的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2023年7月7日

国际检索报告邮寄日期

2023年7月24日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

授权官员

周文

电话号码 (+86) 010-53962200

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/136978

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	115969796	A	2023年4月18日	无	
CN	103536537	A	2014年1月29日	无	
CN	113384537	A	2021年9月14日	无	
CN	114870016	A	2022年8月9日	无	
CN	102728287	A	2012年10月17日	无	
KR	20190125940	A	2019年11月7日	KR 102235011 B1	2021年4月1日