



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101791396 A

(43) 申请公布日 2010.08.04

(21) 申请号 200910207704.5 *A61K 47/34* (2006.01)
(22) 申请日 2006.01.06 *A61P 1/16* (2006.01)
(30) 优先权数据 *A61P 31/20* (2006.01)
05075043.9 2005.01.07 EP *A61P 31/14* (2006.01)
(62) 分案原申请数据 *A61P 35/02* (2006.01)
200680007430.X 2006.01.06 *A61P 35/00* (2006.01)

(71) 申请人 佰莱克斯医疗公司
地址 美国北卡罗来纳

(72) 发明人 A·C·贝切特
R·范迪杰克胡伊岑-拉德尔斯玛
M·斯蒂格特尔 J·M·拜泽梅尔

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司
72002
代理人 王磊 过晓东

(51) Int. Cl.
A61K 38/21 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 17 页 附图 1 页

(54) 发明名称

基于 PEGT/PBT 嵌段共聚物的控制释放组合物

(57) 摘要

本发明公开了一种用于控制释放相对有毒的活性化合物的药物组合物,特别是用于来自干扰素类的生物活性蛋白。所述组合物包含由聚(乙二醇)对苯二甲酸酯(PEGT)和聚(对苯二甲酸丁二醇酯)(PBT)构建的生物可降解的嵌段共聚物。该组合物以可注射的微粒、可具有自凝胶特性的可注射的液体、或固体植入物形式提供。本发明进一步提供包含所述组合物的药盒、用于制备所述组合物的方法及其相关的药物用途。

1. 制备用于控制释放的药物组合物的方法,所述药物组合物包含可生物降解的聚合物和一种或多种选自干扰素类的活性化合物,其中所述可生物降解的聚合物为由聚(乙二醇)对苯二甲酸酯(PEGT)和聚(对苯二甲酸丁二醇酯)(PBT)构建的嵌段共聚物,所述组合物包括包含所述活性化合物和所述嵌段共聚物的微粒,所述方法包括以下步骤:

(a) 制备乳剂,其包括

(aa) 包含所述活性化合物的水内相,和

(ab) 包含所述可生物降解的聚合物和至少一种有机溶剂的有机外相;

(b) 从步骤(a)中制备的乳剂中除去至少一部分有机溶剂,由此将可生物降解的聚合物固化成微粒;

(c) 收集和干燥步骤(b)中形成的微粒。

2. 制备用于控制释放的药物组合物的方法,所述药物组合物包含可生物降解的聚合物和一种或多种选自干扰素类的活性化合物,其中至少约80%的所述活性化合物以单体、非聚集的形式释放,所述组合物包括包含所述活性化合物和所述嵌段共聚物的微粒,所述方法包括以下步骤:

(a) 制备乳剂,其包括

(aa) 包含所述活性化合物的水内相,和

(ab) 包含所述可生物降解的聚合物和至少一种有机溶剂的有机外相;

(b) 从步骤(a)中制备的乳剂中除去至少一部分有机溶剂,由此将可生物降解的聚合物固化成微粒;

(c) 收集和干燥步骤(b)中形成的微粒。

3. 如权利要求1或2所述的方法,其中所述干扰素选自 α -干扰素类,且优选地选自IFN- α 、IFN- α -2a、IFN- α -2b、IFN- α 1facon-1、PEG化的IFN- α -2a、PEG化的IFN- α -2b、截短的IFN- α -2a、截短的IFN- α -2b、IFN- α 和白蛋白的融合蛋白及它们的功能性衍生物。

4. 如前述权利要求之一所述的方法,其中所述干扰素为遗传工程细胞或生物体生成的重组干扰素,其中所述细胞或生物体优选地选自哺乳动物、昆虫、细菌、酵母菌、真菌和高等植物细胞或生物体。

5. 如前述权利要求之一所述的方法,其中所述组合物适合于在至少7天、优选地在至少10天的时期内释放所述活性化合物。

6. 如前述权利要求之一所述的方法,其中单位剂量的组合物适合于在14天的时期内释放至少约5MIU(百万国际单位)的所述活性化合物,所述时期从给药所述单位剂量的时间开始。

7. 如前述权利要求之一所述的方法,其中所述组合物为无菌的,且被配制成为适于肠胃外给药,特别地适于皮下或肌肉注射或植入。

8. 如前述权利要求之一所述的方法,其中大多数的所述微粒基本上不含直径超过约 $5\mu\text{m}$ 的孔。

9. 如前述权利要求之一所述的方法,其中所述嵌段共聚物包含从约50至约95重量% PEGT,优选地从约70至约85重量% PEGT。

10. 如前述权利要求之一所述的方法,其中所述PEGT嵌段的PEG链段的平均分子量为

从约 600 至约 3,000, 优选地从约 1,000 至约 2,000。

11. 如前述权利要求之一所述的方法, 其中所述组合物包含至少两种由聚对苯二甲酸乙二醇酯 (PEGT) 和聚对苯二甲酸丁二醇酯 (PBT) 构建的嵌段共聚物, 其中所述至少两种嵌段共聚物在其 PEGT 和 PBT 的相对含量和 / 或 PEGT 嵌段的 PEG 链段的平均分子量方面彼此不同。

12. 如前述权利要求之一所述的方法, 其中所述微粒的重均直径为从约 25 至约 200 μm , 优选地从约 50 至约 150 μm 。

13. 如前述权利要求之一所述的方法, 其中干扰素在所述微粒中的含量为从约 0.1 至约 20 重量%, 优选从约 0.2 至约 10 重量%。

14. 如前述权利要求之一所述的方法, 其中所述组合物进一步包含一种或多种选自以下组中的赋形剂: 填充剂、增量剂、表面活性剂、防腐剂、酸、碱、盐、糖、糖醇、氨基酸、稳定剂、抗氧化剂、聚合物、缓冲剂、多元醇、蛋白质如人血清白蛋白、和增塑剂。

15. 如前述权利要求之一所述的方法, 其中步骤 (b) 是通过如下方式进行的: 将步骤 (a) 中制备的乳剂在粘着的水相中乳化, 获得 w/o/w 双乳剂。

16. 如权利要求 15 所述的方法, 其中所述 w/o/w 双乳剂的粘着的水相包含选自表面活性剂和水溶性聚合物的稳定剂。

17. 如权利要求 15 或 16 所述的方法, 其中所述粘着的水相的同渗质量摩尔浓度为至少与所述 w/o/w 双乳剂的内部水相同样高。

18. 如前述权利要求之一所述的方法, 其中所述组合物成型为宏观的固体植入物, 所述方法包括以下步骤:

(a) 混合所述嵌段共聚物、所述活性化合物和任选地其它赋形剂, 和其后

(b) 通过熔融挤出法形成粘着的固体条, 接着

(c) 将所述粘着的固体物品分离成固体植入物。

19. 如权利要求 18 所述的方法, 其中所述固体植入物成型为棒状。

20. 可通过前述权利要求之一所述的方法获得的用于控制释放的药物组合物, 所述药物组合物包含可生物降解的聚合物和一种或多种选自干扰素类的活性化合物, 其中所述可生物降解的聚合物为由聚(乙二醇)对苯二甲酸酯 (PEGT) 和聚(对苯二甲酸丁二醇酯) (PBT) 构建的嵌段共聚物。

基于 PEGT/PBT 嵌段共聚物的控制释放组合物

[0001] 本申请是 2006 年 1 月 6 日提交的第 200680007430.X 号发明名称为“基于 PEGT/PBT 嵌段共聚物的控制释放组合物”的中国专利申请的分案申请。

发明领域

[0002] 本发明涉及用于控制释放活性化合物的药物组合物。所述组合物为聚合微粒、原位凝胶或固体植入物的形式。它们为基于可生物降解的聚合物，且特别地可用于控制递送治疗性蛋白质或肽。而且，本发明涉及包含在所述组合物中的聚合微粒及制备这些微粒的方法。在进一步的方面，本发明涉及包含所述组合物的药盒，及该药盒的用法。

[0003] 发明背景

[0004] 已经开发了具有缓慢药物释放性质的肠胃外剂型以满足改善药物物质治疗用途的需要，由于所述药物的物理化学性质，其不能口服给药，且因为其具有相对短半衰期，所以必须频繁地注射。频繁的注射对患者是不舒服的，如果必须由医生或护士进行注射，它们也相当昂贵。不适和疼痛的感觉可导致患者的不顺从性并危害治疗的成功。

[0005] 目前，不能通过方便的口服途径给药的药物物质的数量增加了，主要是由于药物领域生物技术的新发展，其已导致高度有效的肽和蛋白质药物的数量增加。然而，可能除了某些较小的肽外，这些化合物在胃肠液中相对不稳定，更重要的是，作为可以实质性的程度通过肠粘膜吸收的物质，这些化合物过于大且亲水。对于这些药物物质中的某些，正在研究可注射的或可植入的控制释放剂型，以降低给药频率，从而减少患者不适并获得高水平的顺应性和治疗成功性。

[0006] 肠胃外控制释放剂型通常为宏观 (macroscopic)、固体单一单位或多单位植入物 (如聚合棒 (polymeric rods) 和糯米纸囊剂)、微粒混悬液的形式，最近也可以为凝胶剂形式，包括原位形成的凝胶剂。载有药物的固体植入物为作为不可降解的聚合、陶瓷或金属设备获得，其在指定的药物作用期后必须手术除去，或者可作为可生物降解的聚合形式获得，其不需要除去。不可降解的植入物的一个实例为 Bayer 的 **Viadur**[®]，其在一年期间释放肽药物、亮丙立德。可生物降解的植入物的一个实例为 AstraZeneca 的 **Zoladex**[®]，其为分别能在一个月和三个月期间释放肽药物戈舍瑞林的聚合棒。

[0007] 在市场引入第一种可生物降解的植入物之后不久，控制释放微粒面世，如 Takeda 的 **Lupron**[®] 储库制剂，其分别在一个月、三个月和四个月期间释放亮丙立德。为了注射这种微粒，必须将它们悬浮在水性载体中。然而，为了稳定性的原因，储库微粒通常不能作为含水混悬液储存，但是它们必须由干燥粉末重构。

[0008] 载有药物的微粒的多种设计和其制备方法描述在 E. Mathiowitz 等, *Microencapsulation, in: Encyclopedia of Controlled Drug Delivery* (ed. E. Mathiowitz), Vol. 2, p. 493-546, John Wiley & Sons (1999) 中, 将其引入本文作为参考。

[0009] 为了能够通过特定的细针注射药物递送系统以提供增加的患者舒适性，近年来，药物递送科学家开始研发能形成皮下或肌肉储库的可注射的凝胶剂。在其中一种构思中，凝胶制剂设计成其为高度地剪切稀化的和触变的。通过在给药前施加剪切力，大幅降低了

这些凝胶剂的粘度,使能用相对小的针注射,而凝胶强度在给药后慢慢地恢复。根据另一种构思,将液体组合物配制成在给药后能响应其环境,如 pH、温度、离子强度变化形成凝胶。根据第三种方法,注射包括非水溶剂的液态聚合物制剂。在给药时,溶剂自注射部位扩散,导致聚合颗粒沉积或形成凝胶。

[0010] 可生物降解的可注射的凝胶剂已经详细地由 A.Hatefi 等在 Journal of Controlled Release 80(2002),9-28 中论述了,将其引入本文作为参考。

[0011] 已经用一些活性化合物如亮丙立德、戈舍瑞林、布舍瑞林和曲普瑞林证实了用于控制释放的几种聚合载体的治疗有效性,所述载体特别是乳酸和乙醇酸的聚合物和共聚物,所述活性化合物全都为具有非常大的治疗指数的肽,即甚至在远高于治疗有效浓度的水平下也具有非常低的毒性。相反,耐受性较低的活性化合物如红细胞生成素和干扰素还没有成功地研究出控制释放剂型,而其精确控制的递送对于获得治疗效果而没有不可耐受的副作用是必需的。主要的困难为在较早成功的产品中使用的可生物降解的聚合载体显然不能提供零级或接近零级释放曲线(profile)。相反,在给药时,它们产生非常不理想的初始突释。而且,乳酸和乙醇酸聚合物和共聚物的自催化的降解也可在药物释放后期导致剂量倾泻。另一方面,已经作为用于治疗化合物的改善的控制释放载体讨论的其它新的聚合物不具有聚(丙交酯)和聚(乙交酯)的安全记录。

[0012] 因此,存在新的聚合递送系统的需要,其具有证实的生物相容性,但是其也能比之前使用的载体更好地控制相对有毒的治疗化合物的释放。

[0013] 因此,本发明的一个目的是提供新的控制释放组合物,其包括一种或多种具有优良的生物相容性的聚合载体和不能经由口服途径给予的相对有毒的治疗化合物,如蛋白质。

[0014] 本发明的另一个目的是提供微粒、植入物和凝胶组合物,其包括以控制速率释放的活性化合物。而且,本发明的一个目的是提供包含这种组合物的药盒,及其药物用途。进一步目的将根据下述说明书和专利权利要求书变得显而易见。

[0015] 发明概述

[0016] 本发明提供一种用于控制释放干扰素的药物组合物。更特别地,本发明提供的组合物包括可生物降解的聚合物和选自干扰素的活性化合物。所述可生物降解的聚合物为由聚(乙二醇)对苯二甲酸酯(PEGT)和聚(对苯二甲酸丁二醇酯)(PBT)构建的嵌段共聚物。优选的活性化合物为选自 α -干扰素族的干扰素。

[0017] 在一个进一步的实施方案中,本发明的组合物被设计成包括包含嵌段共聚物和至少包含在组合物中的某些干扰素的微粒。这些组合物特别地可用于可以肌肉注射或皮下注射的肠胃外控制释放制剂。

[0018] 在另一个实施方案中,本发明提供药盒,其包括第一和第二个密封室,其中第一室包含基本上无水形式的这种微粒基组合物,其中第二室包括用于将所述组合物重构成可注射的微粒混悬液的水性液体载体。

[0019] 在一个进一步的实施方案中,本发明的组合物成型为固体植入物。

[0020] 进一步的实施方案包括用于制备所述组合物的方法及其药物用途。

附图说明

[0021] 图 1 表示在体外和在仓鼠中干扰素从共聚物微粒中的释放。

[0022] 图 2 表示在体外和在猴子中干扰素从共聚物微粒中的释放。

[0023] 发明详述

[0024] 在导致本发明的发现过程中,已经发现许多已经被建议作为活性化合物的控制释放药剂的聚合物如乳酸和 / 或乙醇酸的聚合物非常不适于递送相对有毒的活性化合物如干扰素。特别地,释放性质似乎难以控制,尤其是当所述聚合物形成微粒或凝胶时。例如,当使用常规聚合载体时,似乎难于避免给所谓的突释,即,药后不久即快速释放相当数量的所包括的活性化合物。取决于各活性化合物的治疗指数,这种突释在患者中可产生相当大的中毒效应。

[0025] 相反,出人意外地发现 PEGT 和 PBT 的嵌段共聚物能以更好地受控制的方式混入和释放干扰素(上述的化合物),具有很少或基本上不存在突释效果,如将在本说明书中进一步讨论的。

[0026] 因此,本发明提供用于控制释放的药物组合物,其包含可生物降解的聚合物和选自干扰素的活性化合物,其中所述可生物降解的聚合物为由聚(乙二醇)对苯二甲酸酯(PEGT)和聚(对苯二甲酸丁二醇酯)(PBT)构建的嵌段共聚物。

[0027] 发明人还发现如上所述嵌段聚合物可以出人意外地形成用于混合用于控制释放施用的干扰素的适宜基质。特别地,它们可以混合大量干扰素而无生物活性的损失。

[0028] 特定共聚物为特别适宜的另一个原因为,取决于特定的治疗用途,它们能在很宽范围的被认为是理想的释放曲线内控制混入的干扰素的释放。聚合载体可以开发成各种剂型方案,如微粒、薄膜、凝胶剂和固体植入物,并可包括一系列分子量和亲水程度,其可以与剂型或其单位的几何形状一起获得干扰素释放的不同持续时间,和多种类型的释放曲线。

[0029] 药物组合物定义为能典型地用于治疗或诊断目的或用于健康和预防疾病的组合物。虽然许多药物组合物被设计和配制为用于混入的活性化合物的速释,但也存在具有控制释放特征以便提供延长功效的持续时间的组合物。某些术语已经用于描述多种类型的控制释放特征。如本文使用的,控制释放指任意改进的活性化合物释放,如延迟释放、持久释放(prolonged release)、恒定或零级释放、延长释放(extended release)、持续释放(sustained release)、缓慢释放、双相释放(biphasic release)等。

[0030] 所述组合物包括可生物降解的聚合物。根据 IUPAC 命名法,聚合物定义为由高分子组成的物质。反过来,高分子又为高相对分子质量的分子,其结构实质上包括多重重复的大量构成单元。然而,在通用语言中,聚合物和其包含的高分子之间的区别并不总是存在。对于本说明书这也是真实的,本说明书将严格说来应归于高分子的特征归于聚合物。

[0031] 可生物降解能力(biodegradability)可以定义为物质在生理条件下在生理环境中或通过酶促作用被化学降解的能力。在本发明的上下文中,优选的是可生物降解的聚合物为在生理环境如在体温下的生理性液体中甚至是在不存在酶的条件下可降解的,且大量降解发生在几小时、几天、几周、数月或几年的过程内。所述降解可包括各种的化学机制,包括水解或氧化。为了避免误解,可生物降解能力并非指所述可生物降解的聚合物必须降解为相应的单体单元。只要降解过程产生可溶性分子种类,而所述分子种类可通过如肾或肝脏排泄的过程从生物体清除即已足够。在本发明中,所述聚合物典型地充当活性化合物的

载体和释放控制剂。

[0032] 而且,所述可生物降解的聚合物选自自由聚(乙二醇)对苯二甲酸酯(PEGT)和聚(对苯二甲酸丁二醇酯)(PBT)构建的嵌段共聚物。共聚物定义为由多于一种单体衍生的聚合物。在嵌段共聚物(或嵌段聚合物)中,构成型(constituent)高分子具有不同构成的相邻嵌段,即,相邻嵌段包含的结构单元源自不同种类单体或源自相同种类但具有不同组分或结构单元序列分布的单体。嵌段可以定义为包括大量结构单元的高分子的一部分,所述部分具有至少一种在相邻部分中不存在的特征。

[0033] 大量包括 PEGT 和 PBT 的嵌段共聚物已经描述在现有技术中,例如 J. M. Bezemer 等(J. Control Release 1999,62(3),393-405;J. Biomed. Mater. Res. 2000,52(1),8-17;J. Control Release 2000,66(2-3),307-320;J. Control Release 2000,67(2-3),249-260;J. Control Release 2000,67(2-3),233-248;J. Control Release 2000,64(1-3),179-192), R. Dijkhuizen-Radersma 等(Biomaterials 2002,23(24),4719-4729;J. Biomed. Mater. Res. 2004,71A(1),118;Biomaterials 2002,23(6),1527-1536;Pharm. Res. 2004,21(3),484-491;Int. J. Pharm. 2002,248(1-2),229-237;Eur. J. Pharm. Biopharm. 2002,54(1),89-93) 和 J. Sohler 等(J. Control Release 2003,87(1-3),57-68;Eur. J. Pharm. Biopharm. 2003,55(2),221-228) 和在 WO 93/21858, EP 0 830 859 A2 和 EP 1 090 928 A1 所描述的,所有文件均全文并入此处。

[0034] 这些共聚物可以理解为由亲水性聚(乙二醇)(PEG)和疏水性聚(对苯二甲酸丁二醇酯)(PBT)的重复嵌段组成。这些聚(醚酯)典型地为由 PEG、丁二醇和对苯二甲酸二甲酯缩聚制备。或者,它们可以理解为由聚(乙二醇)对苯二甲酸酯(PEGT)和 PBT 的重复嵌段组成。这些共聚物通常具有热塑性弹性体的性质。在水性环境中,它们形式水凝胶或水凝胶样聚合网状结构,其中聚合物链不是化学交联的而是物理交联的。人们相信交联通过“硬的”PBT 链段组合成结晶域实现,而包括“软的”PEG 链段和一些 PBT 的无定形区域是在水中的膨胀性质的原因。与化学交联相比,这些物理交联在升温下或在适当的溶剂中为可逆的。

[0035] 根据本发明,所述活性化合物选自干扰素。干扰素表示天然存在的源自人类细胞并参与免疫系统各种功能如抗击病毒感染的蛋白质。若干种干扰素已经开发成为药品,并在今天可作为用于治疗白血病、肝炎、多发性硬化症及其它严重疾病中的遗传工程产品而获得。

[0036] 与若干已经成功地开发为控释制剂的其它活性肽和蛋白质相比,干扰素类具有相对小的治疗指数。换言之,它们在高于治疗有效浓度的水平下显示出实质性的毒性。因此,它们的精确控制递送对于获得治疗效果而不产生不可耐受的副作用而言是必需的。

[0037] 一种主要的干扰素种类为 α -干扰素(IFN- α)。 α -干扰素包括大量具有类似分子量和官能团的天然的和修饰的蛋白质(参见 D. J. A. Crommelin 等, Pharmaceutical Biotechnology, Harwood Academic Publishers(1997),219-222)。白细胞为这些人类蛋白质的一个主要来源。IFN- α 的至少 23 种不同的天然亚型和一些修饰型是已知的,其中一些为可在药物产品中获得的。例如,若干种源自被感染的人白细胞的天然 IFN- α 亚型的混合物已经商业开发。IFN- α 组目前最主要的成员为 IFN- α -2a 和 IFN- α -2b 的重组变体。在治疗中使用的另一种重组 IFN- α 为 IFN- α 1。

[0038] 这些干扰素的基本功能为上调免疫系统,如刺激能识别并直接或间接破坏癌细胞或病毒的免疫细胞。 α -干扰素的治疗适应症为(慢性)乙型肝炎、(慢性)丙型肝炎、毛细胞白血病、(慢性)骨髓性白血病、多发性骨髓瘤、滤泡性淋巴瘤、类癌瘤、恶性黑色素瘤、生殖器疣、膀胱癌、宫颈癌、肾细胞癌、喉乳头状瘤病、mycosis fungoides、尖锐湿疣、SARS和(AIDS-相关的)卡波济(氏)肉瘤。事实上,根据本发明目前最优选的为选自 α -干扰素的活性化合物。

[0039] α -干扰素的天然成员具有的分子量为19-26kDa之间,其由长度为156-166和172个氨基酸的蛋白质组成。所有的IFN- α 亚型在氨基酸位置115-151之间具有共同的保守序列区域,而氨基末端为可变的。许多IFN- α 亚型的序列仅在一个或两个位置不同。天然存在的变体也包括在羧基末端截去10个氨基酸的蛋白质。

[0040] 另一个主要的干扰素类型为 β -干扰素(IFN- β),目前治疗中最重要的代表为IFN- β -1a和IFN- β -1b。这些干扰素可例如用于处理例如某些形式的多发性硬化症,特别是复发形式的多发性硬化症,以减慢残疾的累积和降低临床恶化的频率。其中效能已经得到证实的患有多发性硬化症的患者包括具有第一临床事件(episode)和具有符合多发性硬化症的MRI特征的患者。

[0041] 治疗使用的另一种干扰素类型为 γ -干扰素(IFN- γ)类型。这些干扰素具有抗病毒、抗增生和免疫调节活性。 γ -干扰素的一名成员IFN- γ -1b的为目前市售的,其用于治疗与慢性肉芽瘤疾病相关的严重感染。

[0042] 最近,发现和描述了某些另外类型的干扰素,包括IFN- ϵ 、IFN- κ 和IFN- λ (参见P. Kontsek等,Acta Virol. 2003;47(4):201-15)。

[0043] 特别地,根据本发明的如下组合物具有非常好的性质:其中所述干扰素选自 α -干扰素,且优选地选自IFN- α 、IFN- α -2a、IFN- α -2b、IFN-alfacon-1、PEG化的IFN- α -2a、PEG化的IFN- α -2b、截短的IFN- α -2a、截短的IFN- α -2b、IFN- α 和白蛋白的融合蛋白及其功能性衍生物(functional derivative)。在此上下文中, α -干扰素也可表示多种 α -干扰素变体的混合物,如很难或不需要分离和纯化的天然 α -干扰素的混合物。所述干扰素可以从活体或分离的细胞或细胞培养物中提取。所述自其中获得干扰素的细胞和/或生物体可以是修饰的,例如通过感染修饰,以产生想要的干扰素。

[0044] 根据本发明的如下组合物具有特别好的性质,其中所述干扰素为遗传工程细胞或生物体生成的重组干扰素,其中所述细胞或生物体优选地选自哺乳动物、昆虫、细菌、酵母菌、真菌和高等植物细胞或生物体。

[0045] 用于实施本发明的一种特别适宜的干扰素为截短的版本的IFN- α -2b,或任选地多于一种截短的版本的IFN- α -2b的混合物。例如,包括其中N-末端的最后5至10个氨基酸被删除的IFN- α -2b氨基酸序列的分子可通过目前可获得的遗传工程方法制备。在一个进一步的实施方案中,其中截去7或8个N-末端氨基酸的IFN- α -2b的变体为优选的。

[0046] 优选的是本发明的组合物显示出活性化合物在至少约7天的时期内释放。更优选地,所述干扰素在至少约10天,或至少约14天内释放。在进一步的实施方案中,所述释放分别发生在至少约3周、4周、6周和2个月内。目前更优选的是在约10天至1个月的期间内释放。应当选择的聚合物的等级和用于获得这样释放持续时间的进一步的特定特征至少部分取决于所选择的剂型方案,并将在下文进一步详细描述。

[0047] 本发明还涉及用于控制释放的药物组合物,其包括可生物降解的聚合物和一种或多种选自干扰素的活性化合物,其中基于活性化合物的总重量至少约 80% 的活性化合物以单体、非聚集的形式释放。根据本发明的该实施方案,所述可生物降解的聚合物优选为但不限于如本文定义的嵌段共聚物,其由聚乙二醇对苯二甲酸酯 (PEGT) 和聚对苯二甲酸丁二醇酯 (PBT) 构建。发明人已发现如上所述的嵌段聚合物可以出人意外地形成用于混合用于控制释放施用的干扰素的适宜基质。特别地,它们可以混合大量的干扰素而没有生物活性的损失,并且它们似乎能够保存单体的、非聚集态的所混合的干扰素。由于已知干扰素对各种聚合物和制备条件敏感,并特别易于聚集,所述聚集通常与失活相关。相反,将本文规定的嵌段聚合物用于干扰素有可能实现大部分所混合的干扰素以单体形式释放。

[0048] 优选地,应当选择聚合物等级和加工条件以保证至少约 80% 的混合的活性成分即干扰素以单体、非聚集的形式释放。更加优选地,至少约 90% 的干扰素作为单体释放,或者根据进一步的实施方案,分别为至少约 95%、97% 和 98%。这些百分数为以重量计,且基于所混合的活性成分的总重量。

[0049] 根据本发明的组合物的进一步优选的形式如下所述。

[0050] 单位剂量的组合物为每次给药的组合物的量,其优选地包括相当于 1 百万国际单位 (MIU) 的相应干扰素的量的活性化合物。当然,所包括的精确量取决于组合物的释放曲线和特定患者应接受的每日或每周剂量。

[0051] 在一个实施方案中,所述组合物适于在 14 天内,即在给药后第一个 14 天内释放至少约 5MIU 的干扰素。在另一个实施方案中,其包括约 10 至约 150MIU 的剂量,该剂量在约 10 天至约 1 个月的期间内,特别是在约 14 天的期间内释放。还优选的是其包括并在相同的时期内释放约 20 至约 100MIU 剂量的组合物。如果活性成分为 α -干扰素如 IFN- α -2b 或其衍生物,这种组合物为特别优选的。

[0052] 按给药后干扰素释放时期内的日平均计算,所述组合物优选地适于释放约 0.5 至 20MIU 的相应干扰素,或从约 1 至 10MIU 的量。根据释放曲线的形状,有可能的是在给药后第一天内释放的活性成分的量高于 10 或 20MIU,但平均每日释放量仍可在优选的范围内。

[0053] 本发明的组合物可以被设计、配制和加工以便适于各种治疗用途和给药方式如局部、口服、直肠、阴道或眼部给药;然而优选地,其适于肠胃外给药。如本文使用的,肠胃外给药包括任意侵入性给药途径,如皮下 (subdermal)、真皮内、皮下 (subcutaneous)、肌内、局部 (locoregional)、瘤内、腹膜内、间隙内 (interstitial)、损伤内部,以及在本发明的上下文某些次优选的如静脉内、动脉内等。所述组合物的非常优选的给药途径为皮下注射和肌内注射或植入。

[0054] 适于肠胃外给药特别地是指所述组合物优选地为无菌的,且符合目前药典有关内毒素的含量、渗透压等的要求。优选地选择用于肠胃外给药的安全和可耐受的赋形剂。在进一步的方面,所述组合物配制成相对等渗的,如约 150 至 500mOsmol/kg 范围内,优选在约 250 至 400mOsmol/kg 范围内。而且,为了避免在注射时的疼痛和局部不耐受,pH 应当大致在生理学范围内。优选地,组合物的 pH 为在约 4 至 8.5 范围内,更优选在约 5.0 至 7.5 范围内。

[0055] 可以设计和配制本发明的组合物以包括微粒,所述微粒又包括可生物降解的嵌段共聚物和所述活性化合物,或至少相当部分的存在于所述组合物中的活性化合物。在这种情况下,所给药的组合物的剂型典型地为包括微粒和液体粘着 (coherent) 载体的可注射

的混悬液。

[0056] 在本发明的上下文中,微粒应当理解为具有直径在约 0.1 至约 500 μm 范围内的固体或半固体颗粒,与其形状或内部结构无关。例如,微粒也应当包括微球体和微胶囊。在一个更优选的实施方案中,所述微粒具有的直径为从约 1 至约 300 μm 。而且已经发现,对于加入到通过光子关联能谱法测定体积平均直径为约 25 至约 200 μm 的基于 PEGT/PBT 嵌段共聚物的微粒中的干扰素获得了最佳的理想的释放性质。选择这些粒径还将确保这些微粒的混悬液为非常适于注射器注射的 (well-syringeable),且可容易地和方便地经由肌内或皮下注射给药。

[0057] 在该粒径范围内,对于特定产品应用或适应特定的干扰素,可以进一步使直径最佳化。例如,在——任选地截短的——干扰素 - α -2a 和干扰素 - α -2b 的情况下,目前最优选择的体积平均微粒直径为从约 30 至约 175 μm 。在进一步优选的实施方案中,平均直径为约 50 至约 150 μm 。

[0058] 优选地,所述微粒应当具有相对低的孔隙率。特别地,发现当大量地避免存在较大气孔时,可以最好地实现 α - 干扰素控制释放施用的理想的释放曲线。在上下文中,较大孔可以定义为具有的直径为约 5 μm 或更大的孔。因此,在一个优选的实施方案中,大多数微粒基本上不含直径为约 5 μm 或更大的孔。在另一个实施方案中,大多数微粒基本上不含直径为约 2 μm 或更大的孔。

[0059] 任选地,可以用不含药的聚合物层包衣所述微粒。该实施方案可用于防止所包括的活性化合物的初始突释,或者如果需要甚至可用于获得预定的滞后时间直至释放开始。

[0060] 所述微粒为基于 PEGT 和 PBT 的嵌段共聚物,其被用作载体和控制释放剂。然而已经发现,并非所有的 PEGT 和 PBT 共聚物都对制备用于控制释放所有干扰素的微粒同样有用。而且,预定的释放时间或效果的持续时间对于选择嵌段共聚物很重要。在 α - 干扰素的情况下,已经发现所述共聚物应优选地包括从约 50 至约 95 重量% PEGT,和从约 5 至约 50 重量% PBT。在另一个实施方案中,所述共聚物包括从约 70 至约 95 重量% PEGT。根据更进一步优选的实施方案,所述共聚物包含从约 70 至约 85 重量% PEGT。

[0061] 为了进一步说明共聚物的化学组成,PEGT 组分的 PEG 链段的分子量为重要的参数。已经发现 α - 干扰素非常易于加入到共聚物微粒中,当 PEG 的平均分子量为从约 600 至约 3,000 时,其释放曲线可以在可用的范围内调节。更优选地,PEG 的平均分子量为从约 1,000 至约 2,000。

[0062] PEG 的平均分子量的选择也可考虑平均粒径。如果例如选择相对小的粒径,例如由于加工原因,如低于约 100 μm ,或者甚至低于约 75 μm ,则优选地选择具有相对低的亲水性的嵌段聚合物,即具有相对低平均分子量的 PEG,如约 1,500 或更小,或约 1,000 或更少,尤其是如果想要两周或更长的释放持续时间。或者或而且,低亲水度也可通过选择相对低含量如不超过约 75 重量%的 PEGT 链段来实现。

[0063] 相反,可能有理由选择相对大的平均粒径,如高于约 100 μm ,例如基于加工考虑或为了获得所需的体内行为。在这种情况下,目前优选选择 PEG 平均分子量为约 1,000 至约 3,000,或者至少约 1,500,和 / 或相对高含量的 PEGT,如至少约 75 重量%。

[0064] 而且,为了制备具有最佳释放行为的微粒,混合两种或多种不同的 PEGT/PBT 嵌段共聚物可能是有用的。所述两种或多种嵌段共聚物可以例如在其相对 PEGT 含量方面不同,

或者它们可以在 PEG 的平均分子量方面不同,或者它们可以在这两个参数方面都不同。例如,对于制备以 α 干扰素作为活性剂的微粒,有用的聚合物的掺合物 (blends) 可包括两种均具有约 80 重量% PEGT 含量,但平均 PEG 分子量分别为约 1,000 和约 2,000 的聚合物。另一种有用的掺合物包括两种具有约 80 重量%的 PEGT 含量和平均 PEG 分子量分别为约 1,000 和约 1,500 的聚合物。所述两种或多种不同的聚合物可以以多种比例混合,如 50 : 50, 75 : 35, 或 75 : 25。

[0065] 已经发现本发明的组合物适于混合 α -干扰素,并获得约 1 至约 8 周的释放时间。例如,通过选择适当的嵌段共聚物,可调节释放曲线以在从约 10 天或 2 周至约 4 周期间内提供药效,所述时期为目前最优的释放时间。释放时间或释放的持续时间应当理解为其中至少约 80 重量%和更优选至少 90 或 95 重量%的所包括的活性化合物的释放时间。所述释放曲线没有显示出任何明显的突释效果,即初始释放(在 4 小时内)不超过约 10%所包括的剂量,更优选不超过约 7%所包括的剂量。

[0066] 使用如上所述的嵌段共聚物,有可能制备包括治疗有效量的干扰素的微粒。例如已经发现,根据优选的实施方案选择的聚合物可以包括含量为相对于微粒的总重量约 0.1 至约 20 重量%的 α -干扰素。更优选地,微粒的干扰素含量分别为从约 0.2 至约 10 重量%,或者从 0.5 至约 5 重量%。在这些范围内,干扰素与所述聚合物基质相容,聚集倾向很小或没有聚集的倾向。同时,所述活性物质的浓度足够高以允许方便地给药相对少量的要注射的微粒混悬液。

[0067] 典型地,取决于如患者的状况、疾病的类型和严重性,特别是自微粒中释放的持续时间,每次注射的 α -干扰素的含量将为约 3 至 2,400 百万国际单位 (MIU)。如果所述微粒设计成分别在约 2 或 4 周内释放干扰素,则剂量将通常为约 10 至约 150MIU。实际上,在一个优选的实施方案中,本发明的组合物包括干扰素- α -2a、干扰素- α -2b 或其片段,浓度为每注射体积约 10 至约 150MIU。更优选地,所述组合物的浓度为每次注射约 20 至约 100MIU。

[0068] 为了使患者舒适,注射体积不应当非常高,如对于优选的给药途径肌肉注射或皮下注射而言不超过约 3ml。在皮下给药的情况下,更优选注射体积不超过约 2ml。另一方面,非常小体积的高浓度的注射剂难于精确地给药,因此,优选每次注射体积为至少约 0.1ml,更优选至少约 0.3ml。目前最优的范围为从 0.5ml 至约 2ml。

[0069] 尽管微粒组合物的肌肉注射或皮下注射为优选的给药途径,但理所当然地,在某些患者或疾病的情况下,通过其它途径给药所述组合物是可能的和有利的。这些路线更典型地为肠胃外途径,也可以是肺部、经鼻、口腔粘膜——如舌下或含服——或其它途径。除了肌肉和皮下注射外有用的肠胃外途径特别地为瘤内、损伤内、局部、动脉、间隙内和腹膜内注射。

[0070] 用于注射的微粒及其混悬液适用于肠胃外给药,这意味着配制和加工它们使其满足肠胃外剂型的要求。这些要求例如在主要的药典中列出的。在一个方面,所述组合物或其预混合物或在给药前所述组合物自其中制备的药盒必须为无菌的。在另一个方面,必须选择对肠胃外给药安全和可耐受的赋形剂。在进一步的方面,将所述组合物配制成相对等渗的,如在约 150 至 500mOsmol/kg 的范围内,优选在约 250 至 400mOsmol/kg 的范围内。而且,为了避免在注射时的疼痛和局部不耐受,pH 应当大致在生理学范围内。优选地,组合

物的 pH 为在约 4 至 8.5 的范围内,更优选地在约 5.0 至 7.5 的范围内。

[0071] 通常通过将所述微粒混悬在适当的、生理学可接受的液体载体中使其成为可注射的,所述液体载体优选地基于水,但可存在其它生物相容性溶剂,如乙醇、甘油、丙二醇、聚乙二醇或其它有机溶剂。在一个更优选的实施方案中,所述液体载体的液体组分为水性的,且基本上不含有有机溶剂。另一方面,加入其它药物赋形剂可以是有用的,或者最佳化制剂的性质如可耐受性、在药物释放方面的性质和稳定性所需要的。对于微粒本身和液体载体两者而言均如此。任一相均可包含一种或多种生理学可耐受的添加剂。

[0072] 典型地,将所述微粒再混悬在液体载体中形成固体颗粒含量为约 1 至 20 重量%、更优选从约 3 至 10 重量%的混悬液。优选地选择液体载体的粒径和粘度以使能用相对细的针,如用 20 至 22G 针注射。在另一个优选的实施方案中,所述液体载体的粒径和粘度适于使用 23 至 25G 针进行皮下注射或肌肉注射。

[0073] 任选地,将所述微粒设计成用于使用注射用无菌等渗氯化钠溶液重构。

[0074] 用稳定赋形剂或赋形剂的组合如一种或多种盐、糖、糖醇、氨基酸、肽、蛋白质、聚合物、表面活性剂、防冻剂、渗透剂、缓冲盐、酸或碱稳定干扰素是有用的。这些赋形剂中的某些也可用于其它的药理学原因,如改善微粒的可耐受性或其悬浮液。为了调节聚合载体的性质或改善其稳定性,进一步地加入一种或多种增塑剂、造孔剂、释放调节剂或抗氧化剂是有用的。

[0075] 为了避免当将微粒混悬在水性载体中时发生聚结,水性载体也可包含一种或多种生理学可接受的表面活性剂。事实上,根据实际的剂型,需要的赋形剂如表面活性剂可以加入水性载体或加入包含所述微粒的干燥组合物中。选择适当的表面活性剂也有助于保证微粒快速地和容易地重构,如在不超过约 3 分钟内,优选地在约 60 秒内,更优选在不超过约 30 秒内。可能有用的表面活性剂的实例包括泊洛沙姆、聚山梨醇酯、磷脂和维生素 E-TPGS。

[0076] 在进一步的实施方案中,本发明提供一种药盒,其包括如上所述的微粒。在此上下文中,药盒可以定义为一套至少两种用于被混合并用于特定的治疗、预防或诊断目的的组合物。在目前的情况下,所述药盒包括第一和第二密封室,其可以为具有相同的或两种不同的初级包装的构件(member)。第一室包括基本上无水形式的权利要求 1 的组合物,而第二室包括用于将该干燥的组合物重构为可注射的微粒混悬液的水性液体载体。任选地,所述药盒包含两套或多套的第一和第二室。

[0077] 典型地,包括在第一室中的基本上无水的组合物类似于一个要注射的单独剂量,而且通常第二室也容纳有重构第一室成分所需要的体积的液体载体。目前较少优选包含多于一个要在一次注射的剂量的室。因此,优选的是在第一室中干扰素的含量为从约 10 至约 150MIU,而且在第二室中可以用针除去的水性液体载体的量为从 0.3ml 至约 3ml,特别是从约 0.5ml 至约 2ml。

[0078] 所述药盒进一步提供适于容纳成套的第一和第二室的第二种包装。

[0079] 所述第一和第二室可代表单个设备或单个初级包装的不同的室。例如,它们可以是双室注射器的两个室。预填充的双室注射器的优点为制备和给药为安全和方便的,因为不需要在无菌条件下处理若干容器。这种注射器的缺点之一为提供它们的费用昂贵,且其不总是能够完全地和可靠地重构。

[0080] 或者,一套的两个室可以是两种不同的初级容器或包装的构件。例如,包括基本上

干燥的微粒组合物的第一室可以以适当的玻璃或塑料制成的密封瓶或小瓶的形式提供,且所述水性液体载体可以在瓶子、小瓶或安瓿中提供。在一个进一步的实施方案中,第一室为注射器的室,第二室作为瓶子、小瓶或安瓿提供。

[0081] 任选地,所述容器之一设计成用于自动注射装置的药筒(cartridge)。在混合所述干燥的组合物和水性液体载体时,将即用式液体悬浮液保存在所述药筒中,且可以装载入自动注射器中。

[0082] 再次,应当强调的是或者在第一室中基本上干燥的组合物或水性液体载体,或者两者都可包括一种或多种其它赋形剂,如填充剂、增量剂、表面活性剂、防腐剂、酸、碱、盐、糖、糖醇、氨基酸、稳定剂、抗氧化剂、聚合物、缓冲剂、多元醇、蛋白质如人血清白蛋白和增塑剂。

[0083] 包括所述微粒的干燥的组合物和所述水性液体载体适于获得适用于注射的重构的混悬液,即,其为无菌的、相对等张和等渗的、且基本上不含当肠胃外给药时有毒的成分。粘度应当足够低,以允许使用 17 号或较高号的针,更优选使用 20 号或较高号的针,或者甚至用 22 号的针。如本文使用的被给药的能力指流变性质,其能使用规定的针型号注射,而不需要多于约 25N 的注射力。更优选地,为了使给药也能由不是特别强壮的医生、护士或患者进行,调节流变性质和选择针号以使注射力为不超过约 20N,且更优选地注射力不超过约 15N。当然,用于这些针号的另一前提为所述微粒的直径足够小,且所述微粒在重构后不会聚集。如上所述,大多数微粒的重均直径不应高于约 200 μm ,更优选地在约 30 至约 175 μm 的范围内。

[0084] 本发明的微粒可以通过任意从两亲性聚合物制备微粒的已知方法制备,如通过喷雾干燥、凝聚、超声液滴形成(acoustic droplet formation)和随后去溶剂化、喷雾冷冻干燥等。然而,更优选地,所述微粒通过乳剂基方法制备,所述方法包括以下步骤:(a) 制备包括水性内相和有机外相的乳剂,所述水性内相包含活性成分,所述有机外相包含可生物降解的聚合物和至少一种有机溶剂;(b) 通过从步骤(a)中制备的乳剂中除去至少一部分有机溶剂来将可生物降解的聚合物固化成微粒;以及(c)收集和干燥步骤(b)中形成的微粒。基本的处理方案为例如由 JM. Bezemer 等在 J. Control Release 2000, 67(2-3), 233-248 和 249-260, 和 J. Control Release 2000, 66(2-3), 307-320 中描述的,在本文中将其公开的内容引入作为参考。

[0085] 一般而言,所述微粒由有机聚合物溶液形成,其为在水相或亲水相中分散的液滴。为了固化成颗粒,必须至少部分地从分散相中除去有机溶剂。这可通过溶剂萃取或溶剂蒸发或两者结合的步骤完成。溶剂萃取指使连续的水相改性至其能够溶解或萃取相当部分的分散相的有机溶剂的程度。例如,如果所述有机溶剂具有中等的水混溶性,水相的稀释或体积增加已可实现有机相的一定的相当的(substantial)萃取。或者,外相的组合物可通过加入一种或多种有机溶剂来改性,所述有机溶剂为能与水混溶的,但是其能够起溶解和萃取分散相有机溶剂的助溶剂的作用。例如乙醇、甲醇、丙酮、异丙醇可用作这种助溶剂。

[0086] 另一方面,溶剂蒸发不需要加入直接影响有机相的组成和性质的任意组分,但是可使用比水相更高的分散相有机溶剂的蒸气压:通过施加真空和/或加热,可蒸发有机溶剂。当有机相中达到某一聚合物浓度时,聚合物固化,形成微粒。重要的是应注意分散相的任意溶剂蒸发将通常也包括溶剂萃取机制的存在。

[0087] 为了将亲水性活性化合物加入所述微粒中,用活性成分直接来填充有机相可能不是最好的。首先,这可导致较差的掺入效率(incorporation efficiency),因为当乳剂形式时,亲水性化合物将分配进入水相中。第二,许多感兴趣的化合物,尤其是根据本发明将包括的肽和蛋白质如干扰素,可能对有机溶剂相当敏感,并可变成灭活的。因此,优选的是将干扰素以水溶液形式加入,将所述水溶液乳化进入嵌段共聚物的有机溶液中形成“油包水型”乳剂,接着将其乳化进入另一种水相中形成“水包油包水型”(w/o/w)双乳剂。当如上所述进行溶剂萃取或溶剂蒸发步骤时,包含干扰素的内水相被包囊进入聚合微粒中。

[0088] 一种目前优选的能溶解嵌段共聚物并提供 o/w 乳剂或 w/o/w 双乳剂的有机相的有机溶剂为二氯甲烷。有机相的聚合物含量可根据实际上使用的特定聚合物组合物和有机溶剂改变,其可在约 1 至约 300mg/ml 范围内。更优选地,在二氯甲烷用作溶剂的情况下,聚合物含量应当在约 50 至约 250mg/ml 范围内,或者甚至在从约 100 至约 150mg/ml 范围内。

[0089] 优选地,将活性成分即干扰素以水溶液形式加入,将所述水溶液乳化进入有机聚合物溶液。水性干扰素溶液可以通过赋形剂稳定,如通过酸、碱或缓冲盐来获得和保持某一 pH 值,或者通过渗透剂如一种或多种盐、糖、糖醇、氨基酸等。这些赋形剂中的某些也可对不与同渗质量摩尔浓度相关的稳定效果很重要。然而,已经发现使用 w/o/w 双乳化技术可容易地掺入干扰素,特别是 α -干扰素,所述乳化技术使用简单的水性干扰素溶液作为不包含其它赋形剂的最内部的乳相。

[0090] 内水相的干扰素含量将明显地影响微粒的干扰素含量,并因此可根据所需的微粒性质来选择。例如,在 α -干扰素的情况下,所述含量可在约 1 至约 100mg/ml,更优选在约 10 至约 50mg/ml 范围内。

[0091] 内水相体积与有机相体积之比也对所述微粒的活性成分含量有影响。而且,其可影响颗粒的其他重要性质,如其孔隙率和释放曲线。因此,在每种单独情况下,应当细心地调节所述比例以达到所需的产品特征。如果内水相和有机相的特征是根据上述讨论的优选选项进行选择,已经发现约 1 : 3 至约 1 : 15 的体积比(内水相:有机相)是有用的。根据一个优选的实施方案,所述体积比选自约 1 : 5 至约 1 : 10。

[0092] 为了稳定 w/o/w 双乳剂,在外水相中加入一种或多种具有表面活性剂性质的稳定剂可能是有用的。有用的稳定剂可以是小的双亲性分子,如离子或非离子型表面活性剂或清洁剂或表面活性聚合物。例如,已经发现聚乙烯醇为能稳定乳剂而对制备方法或最终产品不具有任何实质有害影响的有用的添加剂。有用的聚乙烯醇可具有从约 10,000 至约 1 百万范围内的平均分子量,且具有从约 80 至约 99%,更优选地从约 85 至约 90%的水解度。或者,可使用聚乙烯基吡咯烷酮或表面活性多糖。稳定剂在外相中的含量取决于其化学性质,以及分散的有机相的性质和相对体积。例如,在聚乙烯醇的情况下,其可以在约 0.1 至约 10 重量%,更优选地从约 0.5 至约 5 重量%的范围内。在聚乙烯基吡咯烷酮的情况下,有用的范围为从约 1 至约 30 重量%,更优选地从约 5 至约 25 重量%。

[0093] 外水相也可包含其它赋形剂,如缓冲剂、渗透剂或助溶剂。助溶剂如乙醇或甲醇可用于调节水相亲水性和改善任意准备过程的溶剂萃取步骤。例如,渗透剂可选自盐、糖、糖醇、低聚糖、二醇、其它的醇和氨基酸。在一个优选的实施方案中,氯化钠用作渗透剂。应注意,存在于外相中的任意缓冲系统也将引起一定的渗透压。

[0094] 调节外相的同渗质量摩尔浓度至等于、或高于双乳剂的最内部水相的值可能是有

用的。用这种方法,可大量地避免水从外部水相由渗透压驱动扩散进入内水相中。已经发现该扩散过程可增加在随后步骤中由溶剂萃取和 / 或溶剂蒸发形成的微粒的孔隙率。更优选地,调节外部水相的同渗质量摩尔浓度使其实质地超过最内部水相的,如通过加入约 3 至约 6 重量%水平的氯化钠。

[0095] 必须选择外相的相对体积使其高于用于结合两个其它相需要的最小体积,因此,其也取决于所有相特别是有机相和外水相的性质和组成。高于最小体积,主要考虑到随后的溶剂萃取和 / 或溶剂蒸发过程,水性外相的实际容积是很重要的。通常,外水相的体积大于包括在其中的 w/o 乳剂的。例如,其可以为 w/o 乳剂体积的至少两倍大。更优选地,其为约 5 至约 40 或 50 倍大。

[0096] 如果活性成分对剪切力相对稳定,内 w/o 乳剂的制备可使用常规的高剪切设备进行,如高速转子-定子设备,例如 Ultra-Turrax 类型。为了将该乳剂在包括表面活性化合物的水相中乳化,可不需要施加高剪切或搅拌:常规的搅拌设备可以是足够的。w/o 和 w/o/w 乳剂的制备优选地在室温下,或在低于室温的温度下,如在约 0°C 至约 25°C 和在正常压力下下进行。显然,使用的乳化法可影响产生的分散相的平均直径和分布及微粒的粒径和粒径分布。影响这些参数的其它因素为相应相的组成,特别是外相中有机溶剂的性质和表面活性稳定剂的类型和含量。

[0097] 溶于有机相中的聚合物的固化以形成微粒可通过溶剂蒸发作为主要机制来诱导。这可通过在搅拌下升高 w/o/w 双乳剂的温度和 / 或通过施加真空来完成。

[0098] 然而,更优选地,微粒形成为通过包括溶剂萃取的步骤诱导。为了进行这一点, w/o/w 双乳剂的外相可用另外的水溶液稀释,其可任选地与所述外水相的组成相似或甚至完全相同。如果外水性乳相的稳定剂含量足够高,加入用于诱导溶剂萃取法的水溶液可不需要包含任意其它的稳定剂。另一方面,推荐加入的水溶液包含渗透活性成分,如一种或多种盐、糖、糖醇、低聚糖、二醇、其它的醇和氨基酸,以便保持双乳剂的内水相和外水相之间的任意渗透梯度,和避免水扩散进入内相。任选地,要加入的水溶液也可包含助溶剂如甲醇或乙醇或缓冲剂。

[0099] 加入到双乳剂中的水溶液的体积典型地为至少与进行溶剂萃取步骤前乳剂的体积同样大。更优选地,其体积为约双乳剂体积的 1 至 5 倍。最好在恒定搅拌下缓慢地加入溶液以避免容器内的局部不均匀性。任选地,可提高温度和 / 或施加一定的真空来除去某些萃取的有机溶剂。在加入水溶液后,可继续搅拌一段时间以使从有机相中更彻底地萃取溶剂,且也可使水从乳剂的内水相扩散进入外部相。

[0100] 在所述微粒固化后,可以如通过离心、过滤或过筛收集它们。在将所述微粒再悬浮在某些新鲜水溶液如缓冲剂后,应当进行重复的离心、过滤或过筛以除去基本上所有剩余的有机溶剂和所有在所述微粒中不希望存在的可溶性化合物。任选地,可过筛所述微粒以分离所需的粒径部分。

[0101] 洗涤后,可干燥所述微粒用于储存。优选的干燥方法为冷冻干燥。例如,可在液氮中冷冻所述微粒,接着在真空下干燥以升华残留水。通常,干燥处理包括在低于 0°C 的温度下进行第一干燥阶段,然后在环境温度或者甚至更高的温度下进行第二干燥阶段。

[0102] 可以将干燥的微粒与其它如上所述的任选的赋形剂混合以获得本发明的组合物。例如,包括所述微粒和一种或多种固态赋形剂的粉末混合物可代表根据权利要求 1 的组合

物,所述赋形剂选自表面活性剂、再悬浮剂、渗透剂和缓冲剂。优选地,所述微粒和所述赋形剂以无菌形式提供,混合为无菌进行。这些粉末混合物可以无菌地填充入瓶子或小瓶中。如上所述,所述瓶子或小瓶可以与水性液体载体混合,以用药盒重构所述粉末。

[0103] 在一个进一步的实施方案中,本发明的组合物以可注射的液体制剂形式提供。在该实施方案中,将干扰素和嵌段共聚物溶解或分散在应当为生理学可接受的液体载体中。当肠胃外给药时,聚合物溶液或分散体将在肌肉或皮下组织中形成储库,干扰素从其中缓慢地释放。该实施方案是基于发现了本发明组合物的嵌段共聚物实际上能在生理环境中形成宏观的凝胶。

[0104] 优选地,液体制剂被组成且调节至在注射后能形成凝胶。凝胶可依据其流变性质来定义。如本文使用的凝胶为半固体物质,其在选用低剪切力时具有类似固体的性质,当剪切力高于定义为屈服点的阈值时具有类似粘稠流体的性质。换言之,凝胶为具有有限的,通常相当小的屈服力的系统。

[0105] 作为控制释放剂型的可注射的凝胶和原位形成的凝胶已经由 A. Hatefi 等在 J. Control. Rel. 80 (2002), 9-28 中进行了描述,将其引入本文作为参考。存在几种制备可注射的凝胶的通用方法,其中大部分是基于使用形成凝胶的聚合载体。例如,某些聚合物可形成凝胶,所述凝胶对环境的某些条件敏感,如 pH 或温度。例如,已经描述了溶胶-凝胶系统,其在相对低的 pH 或在室温下以溶胶(粘稠的胶质液体溶液)存在。当注射时,pH 被生理性液体缓慢地缓冲至更中性的值,导致固化和凝胶形成。在温度敏感的系统,注射后温度升高至生理学水平,导致系统的胶凝。

[0106] 然而,更优选地,可注射的溶液包括非水的、生物相容性有机溶剂或助溶剂,其在体外提供液体溶液或混悬液,但是在注射后,其缓慢地扩散离开嵌段共聚物,所述嵌段共聚物在水性环境中不溶但能形成凝胶。

[0107] 所述有机溶剂或助溶剂可选自能溶解所述嵌段共聚物的那些有机溶剂,且考虑到要给药的体积和给药频率,可被认为是生物相容性的。这些溶剂的实例包括苯甲醇、苯甲酸苄酯、二醋精、三丁酸甘油酯、柠檬酸三乙酯、柠檬酸三丁酯、乙酰基柠檬酸三乙酯、乙酰柠檬酸三丁酯、甘油三乙酯、磷酸三乙酯、邻苯二甲酸二乙酯、酒石酸二乙酯、聚丁烯、甘油、乙二醇、聚乙二醇、辛醇、乳酸乙酯、丙二醇、碳酸丙烯酯、碳酸乙二酯、丁酸内酯、氧化乙烯、氧化丙烯、N-甲基-2-吡咯烷酮、2-吡咯烷酮、甘油甲羧醛(glycerol formal)、乙酸甲酯、乙酸乙酯、甲基乙基酮、二甲基甲酰胺、二甲亚砜、四氢呋喃、己内酰胺、癸基甲基亚砜、油酸、1-十二烷基氮杂环庚烷-2-酮及其混合物。

[0108] 在一个优选的实施方案中,所述非水溶剂为 DMSO、NMP、苯甲醇、四氢呋喃、乙酸乙酯和苯甲酸苄酯中的一种或多种成员。

[0109] 液体可注射组合物的嵌段共聚物的含量典型地为从约 5 重量%至约 60 重量%,主要取决于实际上使用的准确聚合物。更优选地,聚合物的含量为从约 15 至约 45 重量%。

[0110] 用于进行本发明的该方面特别适宜的嵌段共聚物包括相对高平均 PEGT 含量,如从约 70 至约 98 重量%,更优选从约 75 至约 95 重量%。目前最优选的为具有平均 PEGT 含量为从约 80 至约 90 重量%的嵌段共聚物。PEGT 嵌段的 PEG 链段的平均分子量典型地为从约 300 至约 6,000,更优选地从约 6,00 至约 2,000。

[0111] 任选地,所述组合物可包括另外的两种或一种嵌段共聚物,其在它们的 PEGT 含量

方面、在 PEG 链段的分子量方面、或者在这两个参数方面都不同。在一个优选的实施方案中,所述组合物包括一种或两种嵌段共聚物。

[0112] 而且,所述组合物可包括一种或多种其它赋形剂,如一种或多种助溶剂、表面活性剂、防腐剂、酸、碱、盐、糖、糖醇、氨基酸、稳定剂、抗氧化剂、渗透剂和聚合物。加入这些赋形剂中任一种的基本原理可能与上述在微粒基组合物的上下文中进一步讨论的相同。或者,所述赋形剂可起典型地与液体可注射的制剂相关的任意功能。

[0113] 典型地,液体制剂的体积为从每个注射剂量约 0.3 至约 3ml,更优选从约 1 至约 2ml。

[0114] 本发明的可注射的制剂典型地设计成肌内或皮下注射。这些给药途径需要某些对于肠胃外产品通常需要的品质相关的性质,如无菌。因此,优选的是可注射的液体制剂为无菌的,满足所有肠胃外剂型必要的条件,如在各大药典如目前的美国药典 (USP) 中说明的。

[0115] 可注射的液体制剂可以通过任选地在升温下,将嵌段共聚物溶解在非水的生物相容性溶剂中制备。所述活性化合物,即干扰素可以在搅拌下,以干燥粉末如冷冻干燥粉末的形式加入到该聚合物溶液中。优选地,为了避免在制剂中存在水,所述干扰素不能以水溶液形式加入。

[0116] 作为进一步的实施方案,本发明提供宏观的固体植入物形式的权利要求 1 的组合物。植入物可以定义为不同于微粒的固体、基本干燥的剂型,所述不同之处在于植入物典型地在单剂量单位内或在仅很少单位内包含单剂量的活性成分。通常,植入物的最大尺寸为在几毫米或更大的范围内,而微粒以多单位给药,且具有的尺度低于毫米级。

[0117] 在一个优选的实施方案中,所述植入物成型为棒状。就“更少侵入性”的给药而言,这是特别有利的,可大量避免组织损伤。而且,聚合棒状产品可以通过熔融挤出法,接着将挤出物切成棒来高效地制备。为了进行这样的挤压,嵌段共聚物、干扰素和其他赋形剂应当以干燥粉末或颗粒的形式提供,且应当混合均匀。接着,将所述混合物饲入挤压机中,如单螺杆或双螺杆挤压机,挤压成粘着的固体条,之后,将其切成单独的棒。

[0118] 可以如在上述微粒的上下文进一步讨论的选择嵌段共聚物的组成。一种在植入物中特别有用的赋形剂为增塑剂,其可以降低聚合物的熔化范围或玻璃转化点至不会对包括的干扰素的稳定性具有不利影响的温度。可能有用的增塑剂包括甘油、丙二醇和聚乙二醇。

[0119] 与所述组合物是否以微粒基制剂、可注射的液体或凝胶或固体植入物的形式提供无关,药物学用途为用于处理疾病或病症的药物产品的制备,所述疾病或病症可以通过给药干扰素,最优选地通过给药 α -干扰素来治疗或防止或减慢其发展。这些疾病和病症的实例包括急性和慢性乙型肝炎、急性和慢性丙型肝炎、毛细胞白血病、急性和慢性髓样白血病、多发性骨髓瘤、滤泡性淋巴瘤、类癌瘤、恶性黑色素瘤、尖锐湿疣、SARS 和卡波济(氏)肉瘤如 AIDS 相关的卡波济(氏)肉瘤。

[0120] 本发明的组合物提供优于常规用于注射的干扰素制剂的优点,其注射频率可以凭借其控制释放特征极大地减少,如减少至每 2 或 4 周注射一次代替每周注射几次。结果,提高了患者舒适性和顺应性,可减少与频繁注射相关的花费。就与用于注射或植入的其它聚合控制释放系统而言,本发明提供与干扰素优良的相容性、改善的释放控制,而没有突释效果、剂量倾泻或自催化的聚合物降解和溶蚀(erosion)。而且,本发明的递送系统为生理学良好耐受的,不产生任何显著的载体相关的副作用。

[0121] 不希望受到特定理论的约束,本发明的递送系统的良好释放行为似乎与活性化合物主要通过扩散而不是与许多目前已知的聚(丙交酯)-和/或聚(乙交酯)-基递送系统一样通过溶蚀释放的事实相关。使用两亲性嵌段共聚物,在释放过程中不涉及自催化的聚合物降解。与已知的递送系统相比,嵌段共聚物不会产生对敏感的生物化学化合物不利的酸性微环境。另一方面,嵌段共聚物的亲水性嵌段可能提供亲水性微环境,其增加了该敏感的生物化学化合物的原位稳定性。特别地,似乎干扰素、尤其是 α 族的干扰素在本发明的载体系统中在两亲性嵌段共聚物提供的微环境中以非聚集态被稳定。

[0122] 特别是在微粒的情况下,也相信由嵌段共聚物形成的颗粒的相对低的孔隙率为在本发明的组合物中观察到的低突释效果的原因之一。

[0123] 进一步的实施方案,本发明的应用和优点将根据下述非限定性的实施例变得显而易见,或者可以由药物传递领域的技术人员根据本说明书很容易地得出。

[0124] 实施例 1:包含干扰素- α -2b 的 w/o/w 双乳剂的制备

[0125] 获得蛋白质浓度为约 10mg/ml 的水溶液形式的非糖基化的重组干扰素- α -2b (IFN- α -2b),所述 IFN- α -2b 为由 165 个氨基酸组成的蛋白质,具有约 19,000Da 的分子量和约 6.0 的等电点。PEG 链段具有平均分子量为 1,500 的 80 重量% PEGT 和 20 重量% PBT 的嵌段共聚物得自 IsoTis, Bilthoven, The Netherlands。制备在 7ml 二氯甲烷中的 1g 聚合物溶液。为了制备 w/o 乳剂,在搅拌下,将 1ml 的 IFN- α -2b 溶液加入到聚合物溶液中,接着以 19,000rpm Ultra turrax 匀浆化约 30 秒。

[0126] 两种不同的 w/o/w/ 双乳剂为在以 700rpm 搅拌下,通过将如上所述制备的两种 w/o 乳剂分别倾入 50ml 的下列溶液中制备的:(a) 水性 PBS 缓冲剂中,所述缓冲剂包含 4% PVA(w/v) (MW 约 130,000,水解度约 87%),或 (b) 水性氯化钠溶液 (5% w/v),也包含 4% PVA(w/v)。

[0127] 实施例 2:通过溶剂萃取和蒸发进行微粒的制备

[0128] 为了制备微粒,进一步处理根据实施例 1 制备的双乳剂。向两种双乳剂的每个中,在 700rpm 的连续搅拌下缓慢地加入 100ml 的水性 PBS 缓冲剂。加入的 PBS 溶液引起双乳剂的外水相膨胀。随后,继续搅拌约 1 小时以将大部分的二氯甲烷萃取进入外水相中,并在有机相中固化聚合物。接着,在 2,500rpm 和在室温下离心固化微粒。弃去上清液,将微球再悬浮在新的 PBS 缓冲剂中,再次离心。重复该步骤三次。最后,将微粒在液氮中冷冻,并冷冻干燥约 12-24 个小时。对于来自外相包含 5%氯化钠的 w/o/w 双乳剂的微粒,测定其封装率为约 85%,其它批为约 25%。通过电子显微技术 (SEM) 检查微粒,发现其是大致球形的,粒径主要在约 50 至约 120 μ m 范围内。

[0129] 实施例 3:干扰素- α -2b 在体外从微粒的释放

[0130] 为了测定它们的释放行为,将根据实施例 2 制备的约 15mg 每批的微粒置入 1.5ml 烧瓶中称重,一式三份。向每个烧瓶加入 1ml 的 PBS 缓冲剂。将烧瓶保存在 37°C 下的水浴中。在取样时间,将微粒在室温下以 1,000rpm 离心 2 分钟。取出 700 μ l 的样品,用新的 PBS 缓冲剂代替。用 Micro bichinchonic 酸总蛋白试验测定每个样品中 IFN- α -2b 的量。

[0131] 发现两批都清楚地证实了缓释释放特征。从外相包含 5%的氯化钠的 w/o/w 双乳剂获得的批次显示出初始突释效果小于约 10%,而另一批具有的突释效果为约 20%。两批都在约 3-4 天内释放其中干扰素含量的 50%,在约 7-8 天内释放 75%。在 14 天后,释放约

85-90%所包括的剂量。

[0132] 实施例 4:包括掺有截短的 IFN- α -2b 的微粒的组合物的制备

[0133] 如下使用无菌条件制备含微粒的组合物。称重 6g77 重量% PEGT 和 23 重量% PBT 的无菌嵌段共聚物,将其溶于 54g 无菌二氯甲烷中,所述嵌段共聚物具有的 PEG 链段平均分子量为 1,500。将有机聚合物溶液与 5.5ml 的无菌水溶液混合,所述水溶液包括 N-末端截短的 INF- α 2b 分子混合物,所述 INF- α -2b 分子具有的平均长度为约 158 个氨基酸残基,比活度为约 0.25 至 0.35MIU 每 μ g,所述干扰素的浓度为约 10mg/ml。使用 ultraturrax 设备获得均匀的油包水型乳剂。

[0134] 接着,在搅拌下,将所述乳剂与 445g 的聚乙烯醇无菌水溶液 (4% w/v) 混合,所述水溶液也包含氯化钠 (5% w/v)。从而,获得 w/o/w 双乳剂,其中聚乙烯醇溶液形成外水相。

[0135] 微粒在下一步中形成,并通过从有机相除去溶剂硬化,去溶剂通过溶剂萃取和溶剂蒸发的组合来完成。某些溶剂萃取为通过将无菌 PBS 缓冲剂加入到双乳剂的连续相中进行,通过以约 5-10L/ 分钟的流速在双乳剂的表面吹无菌氮气约 24 小时来蒸发另一部分的二氯甲烷。

[0136] 收集微粒,并用无菌甘露醇溶液 (26.7g/L) 洗涤,再悬浮在适当量的甘露醇溶液中,以调节同渗质量摩尔浓度至生理学可耐受的值,并能在升华干燥时形成足够的饼状物。将混悬液的等分试样装入无菌玻璃小瓶中,冷冻干燥,形成白色冷冻干燥物。用塑料塞和铝帽密封小瓶。

[0137] 分析试验表明微粒的数均直径为约 83 μ m,根据干扰素的含量得出包封率高于约 90%。剩余的二氯甲烷远低于 600ppm。微粒的电子显微照片显示出很小的孔隙率;特别地,大部分的颗粒没有直径大于约 2-5 μ m 的孔。

[0138] 实施例 5:包括截短的 IFN- α -2b 的微粒的体内试验

[0139] 在仓鼠和猴子中测定按照类似于实施例 4 制备的包括微粒的组合物的体内性质。将所述固体冷冻干燥组合物悬浮在羧甲基纤维素钠的无菌水溶液中 (0.1% w/v),任选地进一步包含甘露醇以调节液相的渗透压同渗质量摩尔浓度。基于要给药的活性成分的量 and 剂量,计算水溶液的量,获得每单次给药注射体积为 0.5 至 1.0ml。十只仓鼠的每只每 7 天接受通过 s. c. 注射给药 0.99mg/kg 的活性化合物,另十只仓鼠每 7 天接受 3.46mg/kg。在选定的间隔从动物获取血清样品,将该样品以冷冻形式保存,用于随后分析其干扰素含量。所有的动物似乎都能较好地耐受治疗。

[0140] 基于血清曲线计算活性化合物的体内释放曲线。在单独的实验中,如在实施例 3 中描述的测定体外释放曲线。体内和体外释放曲线的比较表明相应的曲线间就形状和释放的持续时间而言具有良好的相关性,而且体外释放行为似乎是所述组合物体内性质的良好预测。在体内或体外不存在明显的突释效果。

[0141] 图 1 显示了低剂量仓鼠组、高剂量组的所计算的平均体内释放曲线,和相应的体外释放曲线,标准化为 100%总释放量。

[0142] 在另一组实验中,将相同组合物的样品皮下给药至雄性或雌性猴子。活性成分的剂量为每只动物 180 μ g,使用相同的重构液体将所述组合物分散成每次注射 0.5 至 1.0ml 的体积。从注射时开始,在 14 天时间内,在选定的时间间隔获得血清样品。再次,使用血清浓度计算体内释放曲线,然后将其与根据在实施例 3 中描述的方法从相同批次的组合物的

其它样品测定的体外释放曲线进行比较。

[0143] 结果,相应释放曲线之间的相关性是显著的。在体外和在体内实验中,组合物似乎在 14 天时期内稳定地释放其干扰素含量,而没有任何实质性的突释。

[0144] 图 2 显示了所计算的平均体内释放曲线和相应的体外释放曲线,标准化为 100% 总释放量。

[0145] 实施例 6:释放的干扰素的纯度

[0146] 通过高效分子排阻色谱分析如从实施例 4 和 5 中描述的体外释放试验中获得的释放的干扰素样品,以测定以单体形式释放的干扰素的部分。显著地,尽管已知 α -干扰素易于聚集,发现少于 1% 释放的活性化合物为二聚物或更大的聚集体的形式。因此,微粒组合物明显地有助于实质性地稳定干扰素。

[0147] 实施例 7:掺有嵌段共聚物和干扰素- β 的薄膜组合物的制备

[0148] 称重 0.5g 量的 80 重量% PEGT 和 20 重量% PBT 的嵌段共聚物并溶于 3.5ml 二氯甲烷中,所述嵌段共聚物的 PEG 链段具有的平均分子量为 2,000。使用 ultraturrax 将 1.94mg 冷冻干燥的干扰素- β 分散在所述溶液中。使用可调节的薄膜涂敷器将所述分散体涂在玻璃平皿上。蒸发二氯甲烷后,获得薄膜,且将其从玻璃平皿上剥离。进一步在通风橱中干燥该薄膜几小时。

[0149] 从该薄膜上切下约 1.77cm² 的样品,在振摇水浴中,在 37°C 和在水性乙酸酯缓冲溶液 pH 3.5(1ml) 中温育。每温育 24 小时后,更换全部体积的释放介质,进一步培养样品。取出等分试样的缓冲剂用于 HP-SEC 分析,表明约 83% 所包括的 β -干扰素以单体、非聚集的形式释放。释放的持续时间取决于所述薄膜的厚度。

[0150] 实施例 8:包含 IFN- α -2a 的自胶凝嵌段共聚物溶液的制备和释放性质

[0151] 获得干燥形式的干扰素- α -2a 和 PEGT/PBT 嵌段共聚物,其包含 85 重量% PEGT,且 PEG 链段具有的平均分子量为约 1,000。将所述聚合物以 20 重量% 的浓度溶于苯甲酸苄酯和苯甲醇 (98 : 2) 的混合物中。加入浓度为 4 重量% 的粉末形式的干扰素,将其与聚合物溶液充分混合。将得到的混合物用针装入注射器中,并注入 37°C 的 PBS 缓冲溶液中。在注射时,不规则的凝胶慢慢沉淀出。将所述凝胶在连续搅拌下保存在 37°C。在适当的时间间隔取出样品,用新的 PBS 缓冲溶液替代。分析样品中 IFN- α -2b 的含量,证实释放时间多于约 14 天 (90% 释放)。

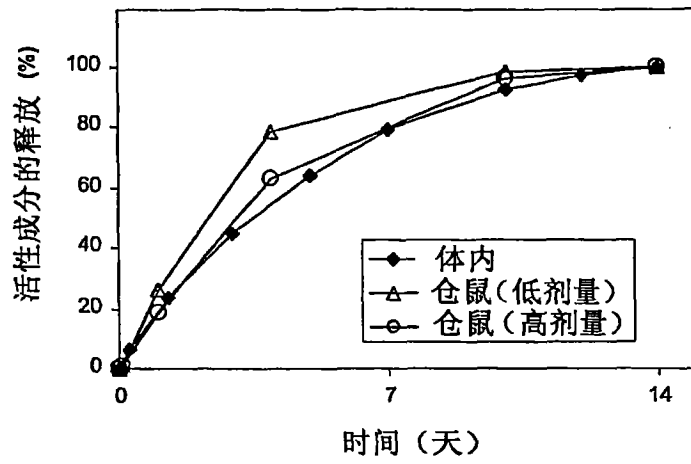


图 1

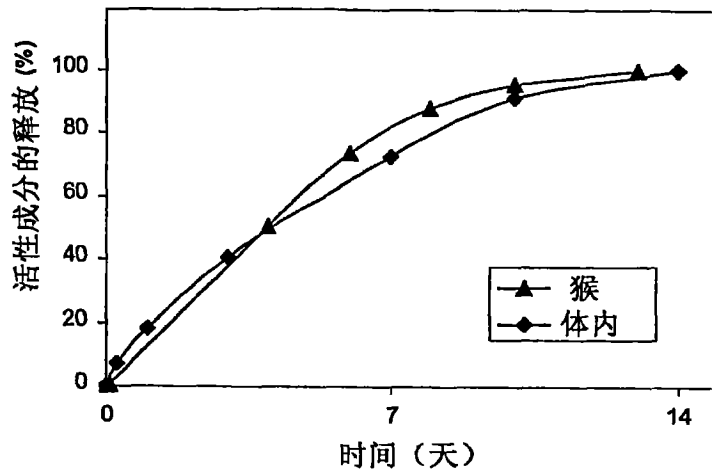


图 2