



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101511347 B

(45) 授权公告日 2012. 11. 28

(21) 申请号 200780031857. 8

(22) 申请日 2007. 08. 31

(30) 优先权数据

10-2006-0083648 2006. 08. 31 KR

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009. 02. 26

(86) PCT申请的申请数据

PCT/KR2007/004200 2007. 08. 31

(87) PCT申请的公布数据

W02008/026894 EN 2008. 03. 06

(73) 专利权人 SK 化学株式会社

地址 韩国京畿道

专利权人 梨花女子大学校产学协力团

(74) 专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司 11285

代理人 刘文君 钟守期

(51) Int. Cl.

A61K 9/50(2006. 01)

审查员 李广科

(72) 发明人 史洪基

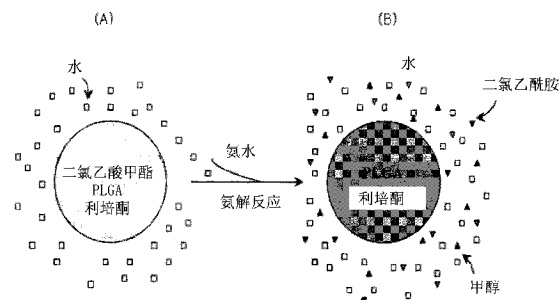
权利要求书 1 页 说明书 13 页 附图 12 页

(54) 发明名称

含药物微球的制造方法及由该方法制造的含药物微球

(57) 摘要

本发明涉及一种含药物高分子微球的制造方法以及由该方法制造的含药物高分子微球,具体而言,涉及这样一种含药物高分子微球的制造方法以及由该方法制造的含药物高分子微球,所述方法包括步骤:a) 将包括高分子化合物、药物以及水不溶性有机溶剂的分散相添加到分散溶剂,制造 O/W(oil-in-water) 型或 O/O(oil-in-oil) 型乳剂,或将溶解有药物的水溶液在溶解有高分子化合物的水不溶性有机溶剂中进行乳化,制造 W/O(water-in-oil) 型乳剂后,再将其添加到再分散溶剂,制造 W/O/W(water-in-oil-in-water) 型乳剂;以及 b) 上述 a) 步骤中制造的乳剂中添加氨溶液,将上述的水不溶性有机溶剂转变成水溶性溶剂。按照上述的本发明方法,就可以用少量的水在短时间内简便地制造所需的含药物高分子微球。



1. 一种含药物高分子微球的制造方法,包括以下步骤:

a) 将包括高分子化合物、药物以及水不溶性有机溶剂的分散相添加到分散溶剂中,制造 O/W 水包油型或 O/O 油包油型乳剂,或者,将溶解有药物的水溶液在溶解有高分子化合物的水不溶性有机溶剂中进行乳化,制造 W/O 油包水型乳剂,再将其添加到分散溶剂中,制造 W/O/W 水包油包水型乳剂;以及

b) 在 a) 步骤中制造的乳剂中添加氨溶液,将上述水不溶性有机溶剂转变成水溶性溶剂;

其中所述高分子化合物选自聚乳酸、聚丙交酯、聚乳酸-共-羟基乙酸、聚丙交酯-共-乙交酯、聚磷嗪、聚亚氨基碳酸酯、聚磷酸酯、聚酸酐、聚原酸酯、乳酸和己内酯的共聚物、聚己内酯、聚羟戊酸酯、聚羟丁酸酯、聚氨基酸、乳酸和氨基酸的共聚物、及其混合物;

其中所述水不溶性有机溶剂具有任意一种选自羧酸酯、羧酰胺、酸酐、磷酸酯以及磷酸酐的骨架;并且其中所述水不溶性有机溶剂不会与水混合,但与氨反应时被分解而转换成水溶性溶剂;

其中所述分散溶剂是聚乙烯醇水溶液或其共溶剂的水性分散溶剂,或者是选自含山梨糖醇酯类的硅油、植物油、甲苯以及二甲苯的非水性分散溶剂。

2. 根据权利要求 1 所述的含药物高分子微球的制造方法,其中 a) 步骤的水不溶性有机溶剂是水不溶性有机溶剂和一种以上的其他有机溶剂混合而成的共溶剂。

3. 根据权利要求 1 所述的含药物高分子微球的制造方法,其中所述水不溶性有机溶剂选自二氯乙酸甲酯、氯乙酸甲酯、氯乙酸乙酯、二氯乙酸乙酯、氟乙酸甲酯、二氟乙酸甲酯、氟乙酸乙酯、二氟乙酸乙酯、乙酸乙酯、乙酸甲酯、甲酸甲酯、甲酸乙酯、甲酸异丙酯和甲酸丙酯。

4. 根据权利要求 3 所述的含药物高分子微球的制造方法,其中所述水不溶性有机溶剂选自二氯乙酸甲酯、氯乙酸甲酯、氯乙酸乙酯以及氟乙酸乙酯。

5. 根据权利要求 1 所述的含药物高分子微球的制造方法,其中 a) 步骤的高分子化合物以药物 1 重量份为基准,混合 1 ~ 500 重量份。

6. 根据权利要求 1 所述的含药物高分子微球的制造方法,其中 a) 步骤的乳剂中含有的高分子化合物的浓度为 3 ~ 30%,按重量/体积比。

7. 根据权利要求 1 所述的含药物高分子微球的制造方法,其中 a) 步骤的分散相或 W/O 油包水型乳剂和分散溶剂的体积比为 1 : 1-100。

8. 根据权利要求 1 所述的含药物高分子微球的制造方法,其中 a) 步骤中溶解有药物的水溶液和溶解有高分子化合物的水不溶性有机溶剂的体积比为 1 : 1-50。

9. 根据权利要求 1 所述的含药物高分子微球的制造方法,其中 b) 步骤所含的氨溶液的摩尔数比水不溶性有机溶剂的摩尔数更多。

10. 根据权利要求 1-9 之一的方法制造的含药物高分子微球。

含药物微球的制造方法及由该方法制造的含药物微球

技术领域

[0001] 本发明涉及一种含药物高分子微球的制造方法以及由该方法制造的含药物高分子微球,具体而言,本发明涉及这样一种含药物高分子微球的制造方法以及由该方法制造的含药物高分子微球,所述制造方法包括以下两个步骤:将包含高分子化合物、药物和水不溶性有机溶剂的分散相添加到分散溶剂,制造乳剂;以及在制成的乳剂中添加氨溶液,将上述水不溶性有机溶剂转换成水溶性溶剂。

背景技术

[0002] 溶液剂、混悬剂和乳剂等传统的注射剂型在肌肉或皮下注射后快速从体内去除,因此治疗慢性疾病时需要频繁注射给药。为了解决上述问题而提出的微胶囊化(microencapsulation)是指,将药物封包到由高分子化合物构成的微球(microsphere,以下的叙述中微球包括超微球(nanosphere))剂型中的制造工序。微球通常具有 μm 单位的大小,所以能注射给药到人体或动物的肌肉或皮下,可以制作成各种不同的药物释放速度,可控制药物传递时间。因此,只要一次给药就能长时间维持药物有效治疗浓度,最大限度降低治疗所需的药物的总给药量,提高患者对药物治疗的顺应度,所以目前全世界一流的制药公司都非常关注含药物高分子微球的制造。

[0003] 通过微胶囊化制造高分子微球时,最常用作高分子化合物的是聚-D,L-丙交酯-共-乙交酯(poly-D,L-lactide-co-glycolide, PLGA)。PLGA是在生物体内水解后转换为无毒性的乳酸(lactic acid)和乙醇酸(glycolic acid)的亲生物体性高分子化合物。因此,制药行业都致力于使用PLGA的药品剂型的开发。目前,市场中销售的利用PLGA制造的微球产品的实例有,利培酮(Risperdal Consta)、善龙(长效善宁 Sandostatin LAR)、纳曲酮注射用缓释混悬剂(Vivitrol)以及醋酸亮丙瑞林长效混悬注射剂(Lupron Depot)等。这些产品在一次注射给药后,分别将利培酮(risperidone)、醋酸奥曲肽(octreotide acetate)、纳曲酮(naltrexone)以及醋酸亮丙瑞林(leuprolide acetate)的释放时间控制在2周到四个月不等。

[0004] 制造这些含药物高分子微球时通常采用,利用二氯甲烷以及乙酸乙酯等有机溶剂的溶剂蒸发法或溶剂萃取法。

[0005] 首先,简单介绍溶剂蒸发法(见美国专利第6,471,996号、第5,985,309号以及第5,271,945号),在溶解了高分子化合物的有机溶剂相中分散或溶解药物后,在水等分散介质中进行乳化,制造水包油型(O/W,水包油)乳剂,利用分散介质扩散乳剂中所含的有机溶剂,通过空气/水的界面蒸发掉有机溶剂,由此形成含药物高分子微球。此时,为了促进有机溶剂向分散介质的扩散,采用减压、升温、使用过量水的有机溶剂萃取法等技术。为了溶解PLGA高分子化合物,通常采用的分散有机溶剂是二氯甲烷,这是因为二氯甲烷易溶解具有多种分子量和丙交酯:乙交酯比的PLGA共聚物,水溶解度只有1.32重量%,不易与水混合,所以比较适合制造水包油型的乳剂。而且,沸点只有 39.8°C ,所以从乳剂液滴扩散到水里的少量的二氯甲烷分子等很容易通过水和空气的界面蒸发掉。通过持续反复这种过程,

二氯甲烷从乳剂液滴中去除,由此制成微球。最后,由于沸点低,所以优点是很容易通过干燥法去除残留在微球中的二氯甲烷。图 1 显示,溶剂蒸发法中乳剂液滴转换成微球的模式图。图 1 的 (A) 中由 PLGA/ 药物 / 二氯甲烷构成的分散相以水包油乳剂形态存在于水等外相 (溶解在水中的二氯甲烷用 Δ 表示),随着部分二氯甲烷扩散到水中并蒸发的过程重复时,如 (B) 所示,乳剂液滴转换成微粒子。

[0006] 如上所述,尽管二氯甲烷具有强烈的挥发性,不容易与水混合,沸点远比水的沸点低等优点,是制造乳剂的最佳有机溶剂,但是具有下列严重问题:(a) 它是实验证明的致癌物质;(b) 破坏大气的臭氧层,引起环境毒性,所以增加人体皮肤癌的发病率;(c) 美国保健福利部下属的毒性物质与疾病登记署 (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) 规定的最危险的 38 种毒性有害物质之一;(d) 水溶解度低,约为 1.32 重量%,因此所使用的二氯甲烷的总量中只有极小部分溶解到水中蒸发,所以乳剂液滴中所含的二氯甲烷要彻底清除,需要花费相当长的时间。例如,美国专利第 6,884,435 号中,为了从乳剂中清除二氯甲烷,整晚搅拌乳剂,并且为了缩短微球制造时间,采用提高反应槽 (reactor) 的温度或引入减压条件等措施 (见美国专利第 3,691,090 号、第 3,891,570 号、第 6,270,700 号以及第 6,572,894 号)。

[0007] 另一方面,含药物高分子微球的制造中采用的溶剂萃取法是使用大量的可溶化溶剂有效萃取乳剂液滴中所含的有机溶剂的方法。有机溶剂从乳剂液滴萃取后,原本溶解的高分子化合物立即硬化,乳剂液滴转换为微球。通常使用的可溶化溶剂是水,所以,有机溶剂的水溶解度的大小对所需的水量产生很大的影响。例如,以二氯甲烷为例,水溶解度为 1.32 重量%,所以需要极其大量的水才能萃取乳剂中所含的二氯甲烷。但是,这种情况下会大量产生含二氯甲烷的废水,这种废水的处理也是一个难题。因此,溶剂萃取法中主要采用水溶解度比二氯甲烷高的乙酸乙酯。乙酸乙酯的水溶解度为 8.7 重量%,与二氯甲烷相比萃取需要的水量较少,而且另一优点是非卤化有机溶剂。但是,乙酸乙酯的沸点达 77℃,远高于二氯甲烷的沸点 39.8℃,所以缺点是干燥时清除残留溶剂的难度相对高。并且,具有特定分子量和丙交酯:乙交酯比的 PLGA 高分子化合物显示出不易溶解在乙酸乙酯中这一性质。

[0008] 由此,美国专利第 4,389,840 号、第 4,530,840 号、第 6,544,559 号、第 6,368,632 号以及第 6,572,894 号等公开了同时采用溶剂蒸发法和溶剂萃取法的技术。即,制造乳剂后,部分有机溶剂通过蒸发过程去除,残留的有机溶剂采用溶剂萃取法清除。例如,美国专利第 4,389,840 号公开了将药物和 PLGA 高分子化合物溶解到二氯甲烷后,在水中进行乳化制造水包油型乳剂,通过蒸发过程去除 40 ~ 60 重量%的二氯甲烷,用大量的水萃取残留的二氯甲烷的方式制造微球的方法。

[0009] 但是,上述的现有方法中采用的有机溶剂的水溶解度都没有足够的高,所以需要使用极其过量的水 (有机溶剂的水溶解度 $\times 10$ 倍以上)。为此,需要极其大量的反应槽,产生大量的含有机溶剂的废水,处理废水的附加费用增加,面临效率低下的问题。并且,还有微球内残留的有机溶剂很难有效地清除这一问题。

[0010] 本发明人为了解决上述问题,在反复研究简便地制造含药物高分子微球的方法的过程中,发现了水不溶性有机溶剂中溶解高分子化合物和药物来制造乳剂后,通过氨解反应转换成水溶性溶剂,将乳剂液滴硬化成微球,就可以简便地制造含药物高分子微球的事

实,由此完成了本发明。

发明内容

[0011] 【技术课题】

[0012] 因此,本发明的目的是提供,不需要现有的溶剂蒸发或溶剂萃取工序的含药物高分子微球的制造方法以及由该方法制造的含药物高分子微球。

[0013] 【技术解决方法】

[0014] 为了实现上述目的,本发明提供一种含药物高分子微球的制造方法,包括以下步骤:

[0015] a) 将包括高分子化合物、药物和水不溶性有机溶剂的分散相添加到分散溶剂中,制造水包油(O/W,水包油)型或油包油(O/O,油包油)型乳剂,或者在溶解有高分子化合物的水不溶性有机溶剂中乳化溶解有药物的水溶液,制造油包水(W/O,油包水)型乳剂,再将其添加到分散溶剂中,制造水包油包水(W/O/W,水包油包水)型乳剂;以及

[0016] b) 在上述a)步骤中制造的乳剂中添加氨溶液,将上述水不溶性有机溶剂转换成水溶性溶剂。

[0017] 并且,本发明提供按上述方法制造的含药物高分子微球。

[0018] 下面对本发明进行更加详细的说明。

[0019] 本发明制法的特征在于,通过在乳剂中添加氨溶液产生的氨解反应(ammonolysis),将存在于乳剂中的水不溶性有机溶剂转换成水溶性溶剂,从而使乳剂液滴立即硬化成微球,获得所需的含药物高分子微球。

[0020] 下面分步骤具体说明本发明的高分子微球的制法。

[0021] a) 步骤:制造乳剂的步骤

[0022] 将含有高分子化合物、药物以及水不溶性有机溶剂的分散相添加到分散溶剂中,制造水包油(O/W,水包油)型或油包油(O/O,油包油)型乳剂,或者,在溶解有高分子化合物的水不溶性有机溶剂中乳化溶解有药物的水溶液,制造油包水(W/O,油包水)型乳剂,再将其添加到分散溶剂中,制造水包油包水(W/O/W,水包油包水)型乳剂。

[0023] 本发明中使用的分散溶剂包括含有乳化剂的水性分散溶剂或非水性分散溶剂,制造O/W型以及W/O/W型乳剂时使用水性分散溶剂,制造O/O型乳剂时使用非水性分散溶剂。水性分散溶剂可以使用亲水性乳化剂,例如,含有聚乙烯醇或吐温(Tween)系列乳化剂的水溶液或其共溶剂(cosolvent)。非水性分散溶剂可以使用亲油性乳化剂,例如,含有山梨糖醇酯类(Span)系列乳化剂的硅油、植物油、甲苯或二甲苯。上述分散介质中含有的乳化剂的浓度可为0.05至15%(w/v)。

[0024] 本发明中使用的水不溶性有机溶剂通常不会与水混合,但是与氨反应时被分解,都可以转换成水溶性溶剂。具体地说,优选具有从羧酸酯(carboxylic esters)、羧酰胺(carboxylic amides)、酸酐(anhydrides)、磷酸酯(phosphoric esters)和磷酸酐(phosphoric anhydrides)组成的群中选出的任意一种骨架(backbone)的水不溶性有机溶剂。更具体地说,优选从由二氯乙酸甲酯(methyl dichloroacetate)、氯乙酸甲酯(methylchloroacetate)、氯乙酸乙酯(ethyl chloroacetate)、二氯乙酸乙酯(ethyldichloroacetate)、氟乙酸甲酯(methyl fluoroacetate)、二氟乙酸甲酯

(methyl difluoroacetate)、氟乙酸乙酯 (ethyl fluoroacetate)、二氟乙酸乙酯 (ethyl difluoroacetate)、乙酸乙酯 (ethyl acetate)、乙酸甲酯 (methylacetate)、甲酸甲酯 (methyl formate)、甲酸乙酯 (ethyl formate)、甲酸异丙酯 (isopropyl formate)、甲酸丙酯 (propyl formate) 组成的群中选出的水不溶性有机溶剂。

[0025] 上述水不溶性有机溶剂的沸点通常较高,所以现有的微球制法中无法作为有机溶剂使用,但是在本发明的高分子微球制造方法中,与氨反应后转换为水溶性溶剂,所以可优选使用。具体而言,本发明的实施例中使用的二氯乙酸甲酯 (methyl dichloroacetate) 或氯乙酸甲酯 (methylchloroacetate) 的沸点 (142.5℃, 129.5℃) 远高于现有的溶剂蒸发法或溶剂萃取法中常用的二氯甲烷以及乙酸乙酯的沸点,在现有的微球制法中根本不能作为有机溶剂使用,但是在本发明中与氨反应时,在很短的时间内转换成可完全溶解于水的二氯乙酰胺 (dichloroacetamide) 和甲醇或氯乙酰胺 (chloroacetamide) 和甲醇,所以可优选使用。根据需要,使用上述二氯乙酸甲酯 (methyl dichloroacetate) 或氯乙酸甲酯和一种以上的其他有机溶剂混合而成的共溶剂,由此可以调节包封到微球的药物溶解度,或适当地控制乳剂液滴的硬化速度。

[0026] 本发明中使用的高分子化合物的代表性实例有,聚乳酸、聚丙交酯 (polylactide)、聚乳酸-共-羟基乙酸 (poly(lactic-co-glycolic acid))、聚丙交酯-共-乙交酯 (Poly-(lactide-co-glycolide), PLGA)、聚膦嗪 (Polyphosphazene)、聚亚氨基碳酸酯 (polyiminocarbonate)、聚磷酸酯 (Polyphosphoester)、聚酸酐 (Polyanhydride)、聚原酸酯 (poly(orthoesters), POE)、乳酸和己内酯 (Caprolactone) 的共聚物、聚己内酯 (polycaprolactone)、聚羟戊酸酯 (Polyhydroxyvalerate, PHV)、聚羟丁酸酯 (Polyhydroxybutyrate)、聚氨基酸、乳酸和氨基酸的共聚物以及他们的混合物,优选使用聚丙交酯-共-乙交酯 (PLGA)。

[0027] 本发明中使用的药物总共包括亲水性药物和疏水性药物。药物的代表性实例有,孕酮 (progesterone)、氟哌啶醇 (haloperidol)、氨砒噻吨 (thiothixene)、奥氮平 (olanzapine)、氯氮平 (clozapine)、溴哌利多 (bromperidol)、哌咪清 (pimozide)、利培酮 (risperidone)、齐拉西酮 (ziprasidone)、地西泮 (diazepam)、氯氟卓乙酯 (ethyl loflazepate)、阿普唑仑 (alprazolam)、奈莫必利 (nemonapride)、氟西汀 (fluoxetine)、舍曲林 (sertraline)、文拉法辛 (venlafaxine)、多奈哌齐 (donepezil)、他克林 (tacrine)、加兰他敏 (galantamine)、利凡斯的明 (rivastigmine)、司来吉兰 (selegiline)、罗匹尼罗 (ropinirole)、培高利特 (pergolide)、苯海索 (trihexyphenidyl)、溴麦角隐亭 (bromocriptine)、苯扎托品 (benztropine)、秋水仙素 (colchicine)、去甲西泮 (nordazepam)、依替唑仑 (etizolam)、溴西泮 (bromazepam)、氯噻西泮 (clotiazepam)、美沙唑仑 (mexazolam)、丁螺环酮 (buspirone)、醋酸高锡林 (goserelin acetate)、生长激素 (somatotropin)、醋酸亮丙瑞林 (leuprolide acetate)、奥曲肽 (octreotide)、西曲瑞克 (cetorelix)、善宁 (sandostatin acetate)、促性腺素 (gonadotropin)、氟康唑 (fluconazole)、伊曲康唑 (itraconazole)、咪唑立宾 (mizoribine)、环孢菌素 (cyclosporin)、他克莫司 (tacrolimus)、纳洛酮 (naloxone)、纳曲酮 (naltrexone)、克拉屈宾 (cladribine)、苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、维A酸 (tretinoin)、卡莫司汀 (carmustine)、阿那格雷 (anagrelide)、阿霉素 (doxorubicin)、阿

那曲唑 (anastrozole)、依达比星

[0028] (idarubicin)、顺铂 (cisplatin)、更生霉素 (dactinomycin)、多烯紫杉醇 (docetaxel)、紫杉醇 (paclitaxel)、雷替曲塞 (raltitrexed)、表柔比星 (epirubicin)、来曲唑 (letrozole)、甲氟喹 (mefloquine)、伯氨喹 (primaquine)、奥昔布宁 (oxybutynin)、托特罗定 (tolterodine)、烯丙雌醇 (allylestrenol)、洛伐他汀 (lovastatin)、辛伐他汀 (simvastatin)、普伐他汀 (pravastatin)、阿托伐他汀 (atrovastatin)、阿仑膦酸盐 (alendronate)、鲑降钙素 (salcatonin)、雷洛昔芬 (raloxifene)、氧雄龙 (Oxandrolone)、结合雌激素 (conjugated estrogen)、雌二醇 (estradiol)、戊酸雌二醇 (estradiol valerate)、苯甲酸雌二醇 (estradiol benzoate)、炔雌醇 (ethinyl estradiol)、依托孕烯 (etonogestrel)、左炔诺孕酮 (levonorgestrel)、替勃龙 (tibolone)、炔诺酮 (norethisterone) 等, 优选使用利培酮 (risperidone) 或孕酮 (Progesterone)。

[0029] 使用疏水性药物时, 可以将高分子化合物和疏水性药物溶解到水不溶性有机溶剂后, 在水性分散溶剂或非水性分散溶剂中进行混悬, 制造 O/W 型或 O/O 型乳剂。使用亲水性药物时, 首先将亲水性药物溶解于水中, 将溶解有药物的水溶液在溶解有高分子化合物的有机溶剂中乳化, 第一步制作 W/O 型乳剂, 将该乳剂混悬到水性分散溶剂, 第二步制造 W/O/W 型乳剂。

[0030] 上述高分子化合物的使用量以药物 1 重量份为基准, 可为 1 ~ 500 重量份, 优选使用量为 1 ~ 50 重量份, 乳剂中含有的高分子化合物的浓度可以为 3 ~ 30% (w/v)。

[0031] 并且, 上述分散相或 W/O (油包水) 型乳剂和分散溶剂的体积比可为 1 : 1-100, 优选为 1 : 3-15 范围。还有, 溶解有药物的水溶液和溶解有高分子化合物的水不溶性有机溶剂的体积比可为 1 : 1-50, 优选 1 : 2-20 范围。

[0032] b) 步骤: 将水不溶性有机溶剂转换成水溶性溶剂的步骤

[0033] 在上述 a) 步骤中制造的 O/W 型、W/O/W 型或 O/O 型乳剂中添加氨溶液, 通过氨解反应将上述水不溶性有机溶剂转换成可完全溶解于水的溶剂, 使乳剂液滴硬化成微球, 从而制造所需的含药物高分子微球。此时, 由于乳剂液滴的快速硬化, 乳剂液滴粒子之间的相互作用受抑制不产生凝聚, 因此可获得所需的微球。

[0034] 图 2 显示, 作为本发明的一个实施方案, 含药物 (利培酮) 高分子微球的生成过程的示意图。图 2 的 (A) 中, 由 PLGA/ 利培酮 (risperidone)/ 二氯乙酸甲酯组成的分散相以液滴状态乳化在外相水 (□) 中, 通过氨解反应在 (B) 中将二氯乙酸甲酯转换成和水完全混合的二氯乙酰胺 (▼) 和甲醇 (▲), 从而生成所需的微球。本发明中使用的氨溶液最好含有比水不溶性有机溶剂的摩尔数更多的氨。

[0035] 图 7 中显示, 作为本发明的另一个实施方案, 含药物 (孕酮) 高分子微球的生成过程的示意图。图 7 中, 由 PLGA/ 孕酮 / 氯乙酸甲酯组成的分散相以液滴状态乳化在外相水中, 通过氨解反应使氯乙酸甲酯转换成和水完全混合的氯乙酰胺和甲醇, 从而生成所需的微球。

[0036] 按照上述本发明方法制造的高分子微球具有 0.1 ~ 3500 μm 的平均粒径, 优选具有 10 ~ 350 μm 的平均粒径, 并且根据需要可以含有不同重量的药物。

[0037] 如上所述, 本发明方法不需要现有的溶剂蒸发或溶剂萃取工序, 使用少量的水最

大限度减少废水量,在短时间内简便地制造含药物高分子微球。

【0038】 【有利效果】

【0039】 如上所述,按照本发明方法不需要现有的溶剂蒸发或溶剂萃取工序,使用少量的水减少废水发生量,在短时间内简便地制造含药物的高分子微球。

附图说明

【0040】 图 1 为按照现有的溶剂蒸发法,将乳剂液滴转换成微球的过程的示意图;

【0041】 图 2 为作为本发明的一个实施方案,含药物(利培酮(risperidone))高分子微球的生成过程的示意图;

【0042】 图 3 以及图 4 分别为本发明一个实施方案的实施过程中产生的二氯乙酰胺的¹H-NMR 以及电雾离子化质谱图(ESI-MS);

【0043】 图 5 为本发明一个实施方案的实施过程中,在存在酚酞的条件下生成的、含氯乙酸甲酯的氨溶液的吸光度与时间关系的曲线图;

【0044】 ●:不存在氯乙酸甲酯时;

【0045】 ○:存在氯乙酸甲酯时;

【0046】 图 6 为本发明一个实施方案的实施过程中生成的氯乙酰胺的¹H-NMR(图 6A) 以及电雾离子化质谱图(ESI-MS)(图 6B);

【0047】 图 7 为通过氨解过程生成微粒子的过程的模式图;

【0048】 图 8 为本发明一个实施方案中制造的含药物(利培酮(risperidone))高分子微球的热重分析曲线;

【0049】 图 9 为本发明一个实施方案中制造的含药物(利培酮(risperidone))高分子微球的外部(图 9a) 以及内部(图 9b 至 9d) 形状的扫描电子显微镜(scanning electron microscope) 图像;

【0050】 图 10 为本发明一个实施方案中制造的 MCA 微球的药物(孕酮)包封率与 DCM 微球包封率的比较曲线图;

【0051】 图 11 为本发明一个实施方案中制造的含药物(孕酮)MCA 微球的热重(图 11B) 与 DCM 微球热重(图 11A) 的比较曲线图;

【0052】 图 12 为本发明一个实施方案中制造的含药物(孕酮)MCA 微球的表面形状(图 12B) 与 DCM 微球表面形状(图 12A) 进行比较的扫描电子显微镜(scanning electron microscope) 图像;

【0053】 图 13 为本发明一个实施方案中制造的含药物(孕酮)MCA 微球的内部形状(图 13B) 与含药物(孕酮)DCM 微球(图 13A) 的内部形状进行比较的扫描电子显微镜(scanning electron microscope) 图像;

【0054】 图 14 为本发明一个实施方案中制造的含药物(孕酮)PLGA 微球的表面形状(图 14B) 与不含药物(孕酮)的 PLGA 微球的表面形状(图 14A) 进行比较的扫描电子显微镜(scanning electron microscope) 图像;

【0055】 图 15 为本发明一个实施方案中制造的含药物(孕酮)PLGA 微球的表面形状(图 15B) 与不含药物(孕酮)PLGA 微球的表面形状(图 15A) 进行比较的扫描电子显微镜(scanning electron microscope) 图像。

具体实施方式

[0056] 下面结合下述实施例进一步详细说明本发明。但,下面的实施例只是示例性说明本发明,本发明的范围并不限定在下列实施例。

[0057] <实施例 1>

[0058] 利用二氯乙酸甲酯 (methyl dichloroacetate) 的氨解反应

[0059] <1-1> 二氯乙酸甲酯 (methyl dichloroacetate) 的氨解反应

[0060] 本发明人为了确认通过氨解反应,水不溶性有机溶剂是否能转换为与水完全混合的溶剂,使用水不溶性有机溶剂二氯乙酸甲酯 (methyldichloroacetate) 实施了如下的实验。

[0061] 含 1% 聚乙烯醇 (PVA ;polyvinylalcohol) (分解程度为 88%, 分子量为 25,000) 的 40ml 水中添加 3ml 二氯乙酸甲酯 (methyl dichloroacetate) 后,以 550rpm 的速度搅拌制造了乳剂。搅拌三分钟后,乳剂中添加了 3ml 氨水 (浓度约 30%)。经过五分钟以上,分散在水中的二氯乙酸甲酯 (methyldichloroacetate) 液滴粒子完全消失,乳剂转变成单相 (one phase) 溶液。这种结果显示,二氯乙酸甲酯 (methyl dichloroacetate) 经过氨解反应后转换为二氯乙酰胺和甲醇,与水完全混合。(作为参考,二氯乙酰胺的水溶解度为 71g/L)。

[0062] <1-2> 二氯乙酸甲酯 (methyl dichloroacetate) 的分解产物二氯乙酰胺的分离

[0063] 上述 <1-1> 中获得的透明溶液中添加过量的 NaCl,将溶解的二氯乙酸甲酯 (methyl dichloroacetate) 的分解产物进行盐析 (salting-out)。在此添加乙酸乙酯,将盐析的分解产物转移到乙酸乙酯相中,从水层分离出来。添加无水 MgSO_4 去除存在于乙酸乙酯中的水,进行过滤后使用旋转蒸发器 (Eyela Model N-1000) 蒸发去除了乙酸乙酯。为了清除残留物中的乙酸乙酯,利用 CHCl_3 洗涤一次后,进行真空干燥获得了白色粉末。

[0064] <1-3> 通过 NMR 以及 MS 实验进行二氯乙酰胺的鉴定

[0065] 对上述 <1-2> 中获得的白色粉末,实施了如下所示的 NMR 以及 MS 实验。将白色粉末溶解于丙酮- d_6 后,使用 NMR 分光光度计观察 ^1H -NMR 光谱,显示在图 3。此时,将四甲基硅烷作为参考测定了 ^1H 化学移动。如图 3 所示,在 δH 7.46 和 7.08 中观测到了两个酰胺质子信号。另外,附在具有两个氯基的碳的质子信号出现在 δH 6.30。并且,使用 Q-tof™ 2 质量分析仪,观察电雾离子化质谱图 (ESI-MS),显示在图 4。如图 4 所示,分别在 m/z 149.93 中出现 $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 峰,在 m/z 151.93 中出现 $[\text{M}+2+\text{Na}^+]$ 峰,以及 m/z 153.93 中出现了 $[\text{M}+4+\text{Na}^+]$ 峰。在具有两个氯基的化合物的情况下, $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 、 $[\text{M}+2+\text{Na}^+]$ 以及 $[\text{M}+4+\text{Na}^+]$ 峰值的强度理论上应达到 100,65.3 以及 10.6%,本实验的测定值与这些理论值完全吻合。上述 ^1H -NMR 以及 ESI-MS 的实验结果,可以确认二氯乙酸甲酯 (methyl dichloroacetate) 通过氨解反应转变成了二氯乙酰胺。

[0066] 根据上述的实验结果,可以确认水不溶性有机溶剂二氯乙酸甲酯 (methyl dichloroacetate) 通过氨解反应转变成水溶性有机溶剂二氯乙酰胺和甲醇。

[0067] <实施例 2>

[0068] 利用氯乙酸甲酯的氨解反应

[0069] <2-1> 氯乙酸甲酯的氨解反应

[0070] 为了确认水不溶性有机溶剂通过本发明的氨解反应是否可以转变成完全与水混合的溶剂,使用水不溶性有机溶剂氯乙酸甲酯(水溶解度 25℃中为 46g/L)实施了如下的实验。

[0071] 40ml 水中添加 4ml 氯乙酸甲酯后使用加热搅拌机(400 HPS/VWRScientific)制造乳剂,搅拌三分钟后,乳剂中添加了 4ml 氨水(浓度约 30%)。过十分钟后,分散在水中的氯乙酸甲酯液滴粒子完全消失,乳剂转变为单相(one phase)溶液。

[0072] 另外,40ml 水中添加 4ml 氨水的水溶液中,添加 100ul 甲醇酚酞溶液,混合了 4ml 氯乙酸甲酯。之后,取 1ml 上述混合液,使用 U-3000UV/Vis 分光计(岛津公司,日本京都),在 550nm 处测定各个时间段的吸光度,显示在图 5 中。如图 5 所示,未添加氯乙酸甲酯的情况下没有吸光度的变化,但是添加氯乙酸甲酯的情况下吸光度急剧下降。通过上述结果可以确认,氯乙酸甲酯经过氨解反应转变为氯乙酰胺和甲醇,完全混合与水中。

[0073] <2-2> 氯乙酸甲酯的分解产物氯乙酰胺的分离

[0074] 上述<2-1>中获得的透明溶液中添加过量的 NaCl,通过盐析(salting out)使氯乙酰胺沉淀,再分 3 次、每次 30ml 加入乙酸乙酯,使氯乙酰胺转移到乙酸乙酯相从而从水层分离出。在上述乙酸乙酯溶液中加入无水 MgSO_4 ,去除乙酸乙酯中存在的水,通过硅藻土过滤后,减压蒸发乙酸乙酯,获得了白色粉末。

[0075] <2-3> 通过 NMR 以及 MS 实验进行氯乙酰胺的鉴定

[0076] 对上述<2-2>中获得的白色粉末,实施了如下的 NMR 以及 MS 实验。在重氢化的三氯甲烷(CDCl_3)中溶解白色粉末后,使用 NMR 分光光度计观察 ^1H -NMR 光谱,显示在图 6a。此时,将四甲基硅烷作为参考测定了 ^1H 化学移动。如图 6a 所示, δH 6.55 和 6.04 中观测到了两个酰胺质子信号。另外,附在具有一个氯基的碳的质子信号出现在 δH 4.05。

[0077] 并且,使用 Q-tof™ 2 质量分析仪观察电雾离子化质谱图(ESI-MS),显示在图 6b。如图 6b 所示,分别在 m/z 116.01 处出现 $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 峰、 m/z 118.01 处出现了 $[\text{M}+2+\text{Na}^+]$ 峰。上述两个峰值比 3 : 1 的与 ^{37}Cl 的自然存在比吻合。

[0078] 通过上述 ^1H -NMR 以及 ESI-MS 实验结果可以确认,氯乙酸甲酯通过氨解反应转变成氯乙酰胺($\text{C}_2\text{H}_4\text{ClNO}$)。具体而言,可以确认,水不溶性有机溶剂氯乙酸甲酯通过氨解反应转变成水溶性有机溶剂氯乙酰胺和甲醇(见图 7)。

[0079] <实施例 3>

[0080] 利用二氯乙酸甲酯(methyl dichloroacetate)的 PLGA 微球

[0081] <3-1> 利用二氯乙酸甲酯(methyl dichloroacetate)的 PLGA 微球制造

[0082] 作为形成微球的高分子化合物,采用了丙交酯:乙交酯比为 75 : 25 的聚-D,L-丙交酯-共-乙交酯(CHCl_3 中的固有粘度 0.67dL/g;下面简称为 PLGA)。作为包封到微球的疏水性药物,采用了利培酮(risperidone)(从中国常州联新化工有限公司采购)。将 PLGA(250mg)完全溶解于 3ml 二氯乙酸甲酯(methyl dichloroacetate)后,放入利培酮(risperidone)(125,175 或 225mg)进行溶解。将由 PLGA、利培酮(risperidone)和二氯乙酸甲酯(methyl dichloroacetate)组成的分散相,放入 40ml 的 1% 聚乙烯醇(分子量 = 25,000;水解程度 = 88%)水溶液进行了乳化。此时,为了制造乳剂使用了磁力搅拌机,磁力搅拌速度维持在 550rpm。开始搅拌三分钟后,乳剂中添加 3ml 的氨水(氨水浓度约 30%),然后继续搅拌十五分钟。之后,形成的微球混悬液通过 425 μm 大小的筛。然后,通

过过滤取微球,在 100ml 的 0.1%聚乙烯醇水溶液中分散。过四十五分钟后,对微球进行过滤分离,再次分散到 100ml 的 0.1%聚乙烯醇水溶液中,然后搅拌两个小时。通过过滤取得的微球在真空状态下整夜干燥。确认了干燥后的微球具有良好的流动性,这说明干燥过程中微球之间的凝聚现象不严重。并且,观测到的微球收率在 76.4%到 86.4%,这样的结果表明,通过本发明可以有效地制造微球。

[0083] <3-2> 热重 (thermogravimetric) 分析

[0084] 以使用 250 毫克 PLGA 和 125 毫克利培酮 (risperidone) 制造微球为对象,使用热重分析仪 TGA 2050 (美国 TA 仪器 (Instruments) 公司制造) 分析热重,结果在图 8 中显示。此时,利用氮气测定温度每分钟上升 10℃时的微球重量变化。如图 8 所示,二氯乙酸甲酯 (methyldichloroacetate) 的沸点 142.9℃以上没有观察到急剧的重量变化。这样的结果表明,制造微球时,二氯乙酸甲酯 (methyldichloroacetate) 转变成可溶于水的二氯乙酰胺和甲醇,从乳剂液滴有效去除,形成了微球。

[0085] <3-3>HPLC 药物分析

[0086] 药物分析中采用了岛津 (Shimadzu) HPLC 系统。选择长 15cm 的 Symmetry C18 的 5 μm 柱作为分析柱。移动相选用了 10mM 乙酸氨和甲醇的混合溶液 (6 : 4 体积比),移动相的流速维持在 1ml/分钟。在 UV 波长 260nm 测定了从 HPLC 分析柱流出的药物。利用四种药物浓度绘制标准测量曲线,并以此为基准算出了测量目标的药物浓度。

[0087] <3-4> 利培酮 (risperidone) 包封率 (encapsulation efficiency) 的测定

[0088] 精确称量部分含利培酮 (risperidone) 的 PLGA 微球后,完全溶解于 4ml 的四氢呋喃 (tetrahydrofuran)。在此添加 16ml 的甲醇,利用空隙大小为 0.45 μm 的尼龙过滤器进行过滤,去掉 PLGA 沉淀物,制备过滤液。将部分过滤液 (20 μl) 注入到 HPLC,测定了药物的浓度。根据下面的数学式 1 至 3,求药物的理论负载量 (%) 以及实际负载量 (%),将该百分率定义为药物的包封率 (%)。

[0089] 【数学式 1】

[0090] 理论负载量% = $100 \times (\text{药物用量 (mg)}) / (\text{PLGA 用量 (mg)} + \text{药物用量 (mg)})$

[0091] 【数学式 2】

[0092] 实际负载量% = $100 \times (\text{存在于微粒子的药物量 (mg)}) / (\text{测定负载量时使用的微粒子量 (mg)})$

[0093] 【数学式 3】

[0094] 药物包封率% = $100 \times \text{实际负载量} \% / \text{理论负载量} \%$

[0095] 使用 250 毫克 PLGA 和 125 毫克利培酮 (risperidone) 时,包封率为 $97.0 \pm 2.1\%$ 。固定 PLGA 的量,将利培酮 (risperidone) 的使用量分别增加到 175 和 225mg 时,包封率分别是 94.5 ± 2.0 和 $92.7 \pm 3.2\%$ 。这样的结果表明,按照本发明方法制造微球时,可以将大部分的利培酮 (risperidone) 包封到 PLGA 微球内。

[0096] <3-5> 微球形状的观察

[0097] 使用 JSM-5200 扫描电子显微镜 (scanning electron microscope),观察按照本发明方法制造的微球的内部和外部形状,显示在图 9a 至 9d。图 9a 显示微球的外部形状,可见是分散良好的球状形态。图 9b 至 9d 显示切断的微球内部的图像,图中可见与利培酮 (risperidone) 的负载量无关,显示相似的形状,并且观察到了基质内的小空洞 (cavity)。

综上所述,按照本发明方法可以制造无凝聚现象的分散良好的微球。

[0098] <比较例>

[0099] 利用溶剂蒸发法(solvent evaporation method)制造 DCM 微球

[0100] 本发明人为了比较利用现有的溶剂蒸发法制造的 PLGA 微球和按照本发明方法制造的 PLGA 微球,用下列方法制造了微球。将 PLGA(250mg)完全溶解于 4ml 的二氯甲烷后,加入孕酮(60、100、160、200 或 250mg)进行溶解。将 PLGA、孕酮以及二氯甲烷组成的分散相,加入到 40ml 的 0.5%聚乙烯醇水溶液进行了乳化。此时,为了制造乳剂使用了磁力搅拌机,磁力棒的搅拌速度维持在 550rpm。搅拌五个小时后形成微球混悬液,通过 425 μ m 大小的筛。然后经过过滤获得微球,在真空状态下整夜干燥,制造了 PLGA 微球。通过上述过程制造的 PLGA 微球以下称之为“DCM 微球”。

[0101] <实施例 4>

[0102] 利用氯乙酸甲酯的 PLGA 微球(以下称“MCA 微球”)

[0103] <4-1> 利用氯乙酸甲酯制造 MCA 微球

[0104] 作为形成微球的高分子化合物,采用了实施例<3-1>中使用的 PLGA。作为包封到微球的疏水性药物,使用了孕酮。将 PLGA(250、300 或 350mg)完全溶解于 4ml 的氯乙酸甲酯后,加入孕酮(60、100、160、200 或 250mg)溶解。由 PLGA、孕酮以及氯乙酸甲酯组成的分散相,添加到 40ml 的 0.5%聚乙烯醇水溶液进行了乳化。此时,为了制造乳剂使用了磁力搅拌机,磁力棒的搅拌速度维持在 550rpm。搅拌开始三分钟后,乳剂中添加 4ml 的氨水(氨浓度 28%)继续搅拌十分钟后,加入 40ml 的水再搅拌了五分钟。之后形成的微球混悬液通过 425 μ m 大小的筛。然后,经过过滤获得微球,分散到了 80ml 的 0.1%聚乙烯醇水溶液中。两个小时后再次过滤分离微球,将获得的微球在真空状态下整夜干燥,制造了 PLGA 微球。通过上述过程制造的 PLGA 微球以下称之为“MCA 微球”。

[0105] <4-2> 孕酮包封率(encapsulation efficiency)的测定

[0106] 使用 Mastersizer 2000(Malvern Instruments, Worcestershire, 英国)精确测量含孕酮的上述实施例<4-1>的微球(“MCA”微球)的粒径(median size)后,完全溶解于 4ml 的四氢呋喃。其中添加 24ml 的甲醇后,用空隙大小为 0.45 μ m 的尼龙过滤器过滤,去除 PLGA 沉淀物,获得过滤液。将部分过滤液(20 μ l)注入到 HPLC 测定药物的浓度,然后利用实施例<3-4>中记载的数学式计算药物的包封率(%),利用下面的数学式 4 计算微球的产率,并将其结果记录到了表 1。

[0107] 【数学式 4】

[0108] 产率 = $100 \times \text{回收的微粒子重量} / (\text{PLGA 用量} + \text{孕酮用量})$

[0109] 表 1:

[0110] MCA 微球的孕酮的包封率,微球的产率及直径

[0111]

微球的组成比(mg)		孕酮的包封率 (%)	微球的产 率 (%)	微球的粒 径 (μm)
PLGA	孕酮			
250	160	68.9 ± 1.4	76.8 ± 6.4	167.2 ± 10.3
300	160	67.1 ± 1.3	81.3 ± 4.4	178.9 ± 19.6
350	160	65.9 ± 1.44	83.6 ± 5.0	181.1 ± 10.6

[0112] 另外,测定上述实施例<4-1>中制造微球“MCA微球”(限于PLGA投入量为250mg的情况)和上述比较例中制造微球“DCM微球”的孕酮投入量对应的包封率,记录到了图10。如图10所示,MCA微球的情况下,随着孕酮投入量的增加,包封率也逐渐增加,到孕酮投入量达到250mg时,包封率达到 $72.8 \pm 0.3\%$ 。DCM微球的包封率为 $75.2 \pm 3.8\%$ 至 $78.6 \pm 3.1\%$ 。因此,随着孕酮的投入量增多,MCA微球的包封率与DCM微球的包封率几乎一致。

[0113] 因此,采用氯乙酸甲酯的氨解反应来制造的MCA微球,孕酮的投入量越多,其包封率越优秀,可见能作为有用的含药物高分子微球使用。

[0114] <4-3> 热重 (thermogravimetric) 分析

[0115] 与实施例<4-1>相同的方法制造的孕酮12.4、27.4以及36.4%的MCA微球和与比较例相同的方法制造的孕酮15.2、29.4以及38.6%的DCM微球为对象,使用热重分析仪TGA 2050(美国TA仪器公司制造)分析热重后,将其结果显示在图11。此时,使用了氮气,测定了温度每分钟上升 10°C 时微球等的重量变化。

[0116] 如图11a所示,DCM微球等情况下, 150°C 的条件下由于二氯甲烷的蒸发,原重量损失了 $0.5 \sim 2.3\%$,这与典型的溶剂蒸发过程中产生的现象一致(Benoit, T. S.; Courteille, F.; Thies, C. Int. J. Pharm. 1986, 29, 95-102)。只是如图11b所示,MCA微球等的原重量损失了 $1.6 \sim 3.5\%$,在氯乙酸甲酯的沸点 129.5°C 时没有急剧的重量损失。这样的结果表示,氨解反应可以从乳剂液滴有效去除分散溶剂。

[0117] <4-5> 微球形状的观察

[0118] 使用JSM-5200扫描电子显微镜(scanning electron microscope)观察了通过实施例<4-1>以及比较例相同的方法制造微球等的表面和内部形状。

[0119] 按照实施例<3-4>中记载的数学式2,将孕酮实际负载量为15.2、21.7、29.4以及38.6%的微球的表面形状,分别图示在图12A的a、b、c和d。如图12A所示,可以确认,DCM微球中孕酮含量增加时,形成孕酮结晶体,微球的表面受损。

[0120] 并且,将孕酮的实际负载量为12.4、18.7、27.4和36.4%的MCA微球表面形状,分别图示在图12B的a、b、c和d。如图12B所示,可以确认,随着孕酮含量的增加,缺点反而消失,形成球形的微球,DCM微球中出现的结晶体(drug crystal)形成受到抑制。

[0121] 并且,孕酮的实际负载量为15.2、21.7、29.4和38.6%的DCM微球的内部形状,分别图示在图13A的a、b、c和d。如图13A所示,可以确认,DCM微球中孕酮含量增加时,出现孕酮结晶,加速孕酮和PLGA聚合物之间的相分离现象,最终微球的内部基质扭曲。

[0122] 并且,孕酮的实际负载量为12.4、18.7、27.4和36.4%的MCA微球的表面形状,分别图示在图13B的a、b、c、d。如图13B所示,虽然基质内观察到了小的空洞(cavity),但

是与 DCM 微球比较时,没有发现孕酮含量增加相关的明显的变化。

[0123] 因此可知,即使孕酮投入量增多,MCA 微球仍维持其表面和内部形态,能作为有用的含药物高分子微球使用。

[0124] < 实施例 5>

[0125] 利用氯乙酸乙酯的 PLGA 微球

[0126] <5-1> 利用氯乙酸乙酯制造 PLGA 微球

[0127] 作为形成微球的高分子化合物,使用了实施例 <3-1> 中采用的 PLGA。作为包封到微球的疏水性药物,采用了孕酮。将 250mg 的 PLGA 完全溶解于 4ml 的氯乙酸乙酯后,加入孕酮 (60, 100, 160, 200, 或 250mg) 再次进行溶解。之后,将上述溶剂加入到 40ml 的 0.5% 聚乙烯醇水溶液中,以 550rpm 的速度搅拌三分钟后,乳剂内加入 9 毫升氨水 (28%) 继续搅拌六十分钟,然后与实施例 <4-1> 相同的方法制造了 PLGA 微球。

[0128] <5-2> 孕酮包封率 (encapsulation efficiency) 的测定

[0129] 使用 Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Worcestershire, 英国) 精确测量含孕酮的上述实施例 <5-1> 的微球粒径 (median size) 后,完全溶解于 4ml 的四氢呋喃中。其中添加 24ml 的甲醇,通过空隙大小为 $0.45\ \mu\text{m}$ 的尼龙过滤器进行过滤去除 PLGA 沉淀物,获得过滤液。将部分过滤液 ($20\ \mu\text{l}$) 注入到 HPLC,测定药物浓度,然后利用实施例 <3-4> 中记载的数学式,计算药物的包封率 (%),并将其结果显示在表 2 中。

[0130] 【表 2】

[0131] PLGA 微球的孕酮包封率

[0132]

微球的组成比(mg)		孕酮的包封率(%)
PLGA	孕酮	
250	60	87.96 ± 1.22
250	100	87.06 ± 1.24
250	160	84.77 ± 0.75
250	200	85.01 ± 1.27
250	250	86.22 ± 1.60

[0133] 如上表 2 所示,利用氯乙酸乙酯的氨解反应制造的 PLGA 微球的孕酮包封率达到 84.77 ± 0.75 至 87.96 ± 1.22 ,可见上述 PLGA 微球可以作为有用的含药物高分子微球使用。

[0134] <5-3> 微球形状的观察

[0135] 使用 JSM-5200 扫描电子显微镜 (scanning electron microscope),比较观察了与实施例 <5-1> 相同的方法制造的、孕酮的实际负载量为 43.1% 的 PLGA 微球表面形状 (图 14B) 和不含孕酮的 PLGA 微球 (图 14A) 的表面形状。

[0136] 如图 14 所示,即使投入孕酮,PLGA 微球仍维持其表面形态,可见能作为有用的含药物高分子微球使用。

[0137] < 实施例 6>

[0138] 利用氟乙酸乙酯的 PLGA 微球

[0139] <6-1> 利用氟乙酸乙酯制造 PLGA 微球

[0140] 作为形成微粒子的高分子化合物,采用了实施例<3-1>中使用的 PLGA。作为包封到微球的疏水性药物,采用了孕酮。将 250mg 的 PLGA 完全溶解于 4ml 的氟乙酸乙酯 (Ethyl fluoroacetate) 后,加入孕酮 (60, 100, 160, 200, 或 250mg) 再溶解,按实施例<5-1>的方法制造了 PLGA 微球。

[0141] <6-2> 孕酮包封率 (encapsulation efficiency) 的测定

[0142] 使用 Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Worcestershire, 英国) 精确测量含孕酮的上述实施例<6-1>的微球粒径 (median size) 后,完全溶解于 4ml 的四氢呋喃中。其中添加 24ml 的甲醇,通过空隙大小为 $0.45\ \mu\text{m}$ 的尼龙过滤器过滤去除 PLGA 沉淀物,获得过滤液。将部分过滤液 ($20\ \mu\text{l}$) 注入到 HPLC,测定药物浓度,根据实施例<3-4>中记载的数学式计算药物的包封率 (%),并将其结果记录到表 3。

[0143] 【表 3】

[0144] PLGA 微球的孕酮包封率

[0145]

微球的组成比(mg)		孕酮的包封率(%)
PLGA	孕酮	
250	60	81.16 ± 2.40
250	100	81.42 ± 1.90
250	160	82.82 ± 1.36
250	200	84.01 ± 2.31
250	250	84.56 ± 2.02

[0146] 如上表 3 所示,利用氟乙酸乙酯的氨解反应制造的 PLGA 微球的孕酮包封率达到 81.16 ± 2.40 至 84.56 ± 2.02 ,可见上述 PLGA 微球可作为有用的含药物高分子微球使用。

[0147] <6-3> 微球形状的观察

[0148] 使用 JSM-5200 扫描电子显微镜 (scanning electron microscope) 比较观察了,按实施例<6-1>的方法制造的、孕酮的实际负载量为 42.3% 的 PLGA 微球表面形状 (图 15B) 和不含孕酮的 PLGA 微球 (图 15A) 的表面形状。

[0149] 如图 15 所示,即使投入孕酮,PLGA 微球仍维持其表面形态,可见能作为有用的含药物高分子微球使用。

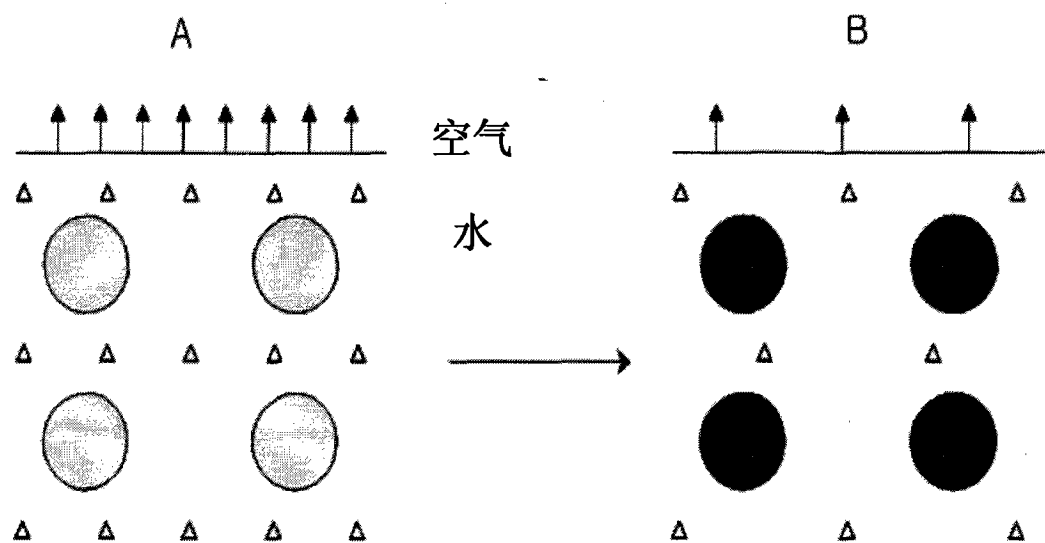


图 1

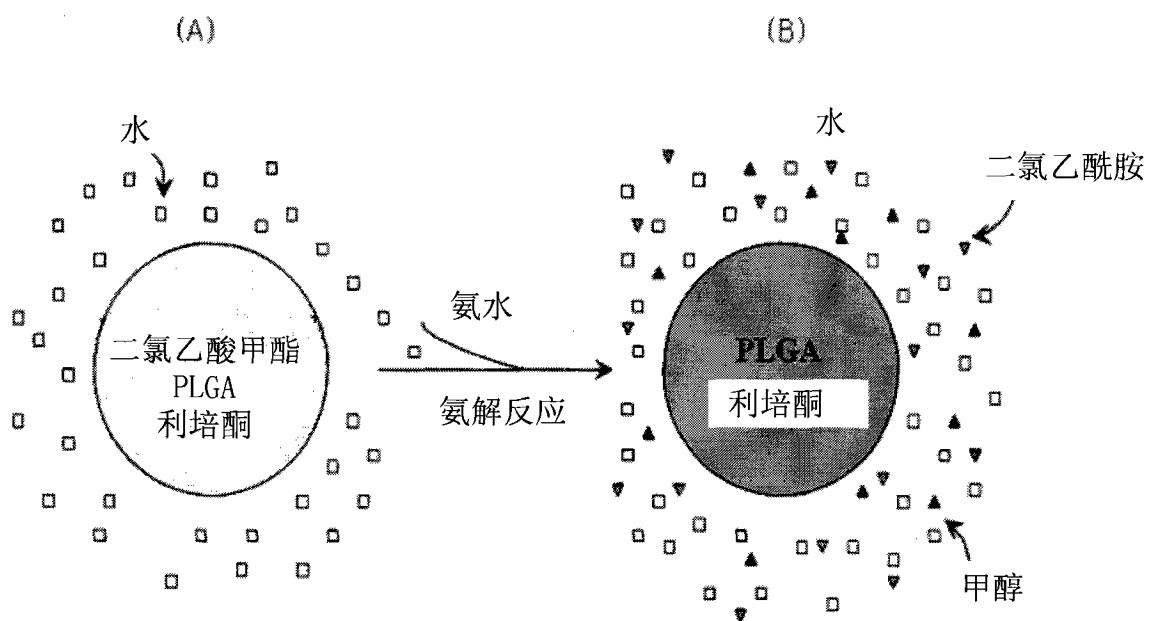


图 2

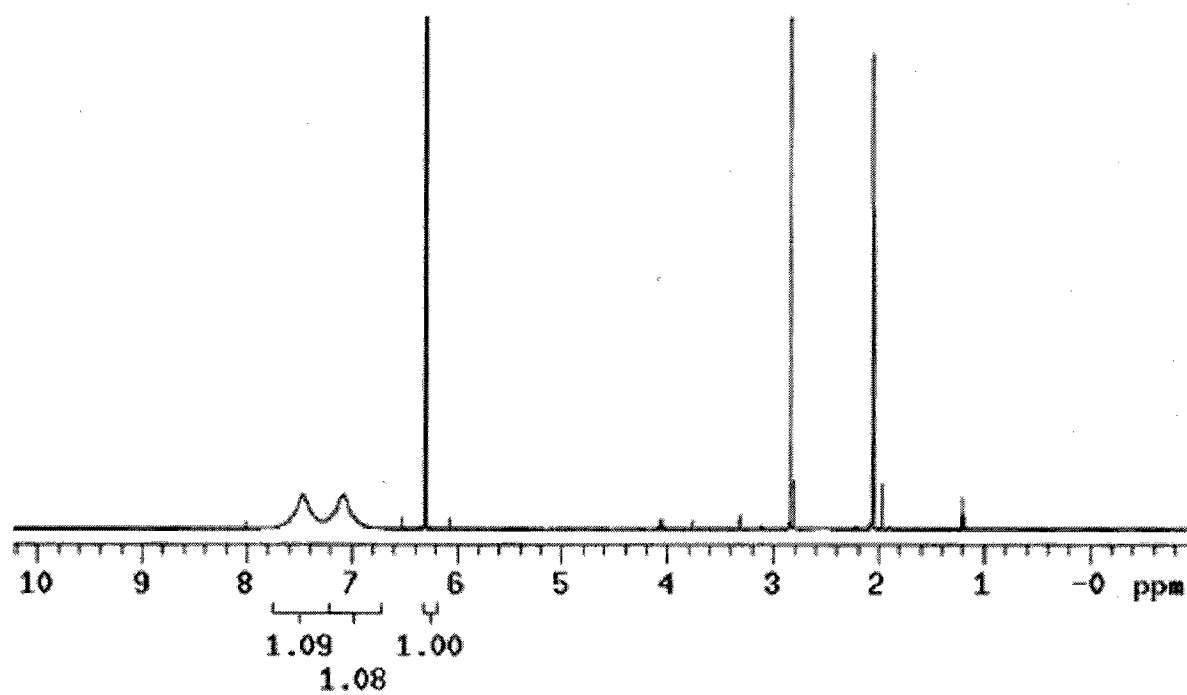


图 3

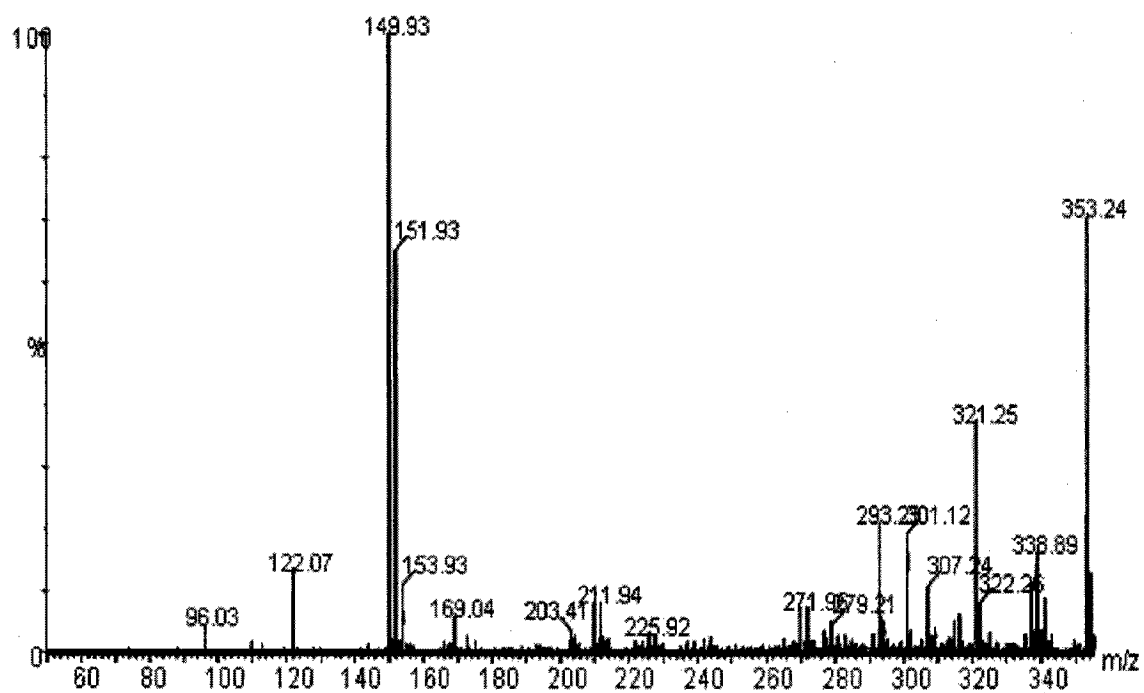


图 4

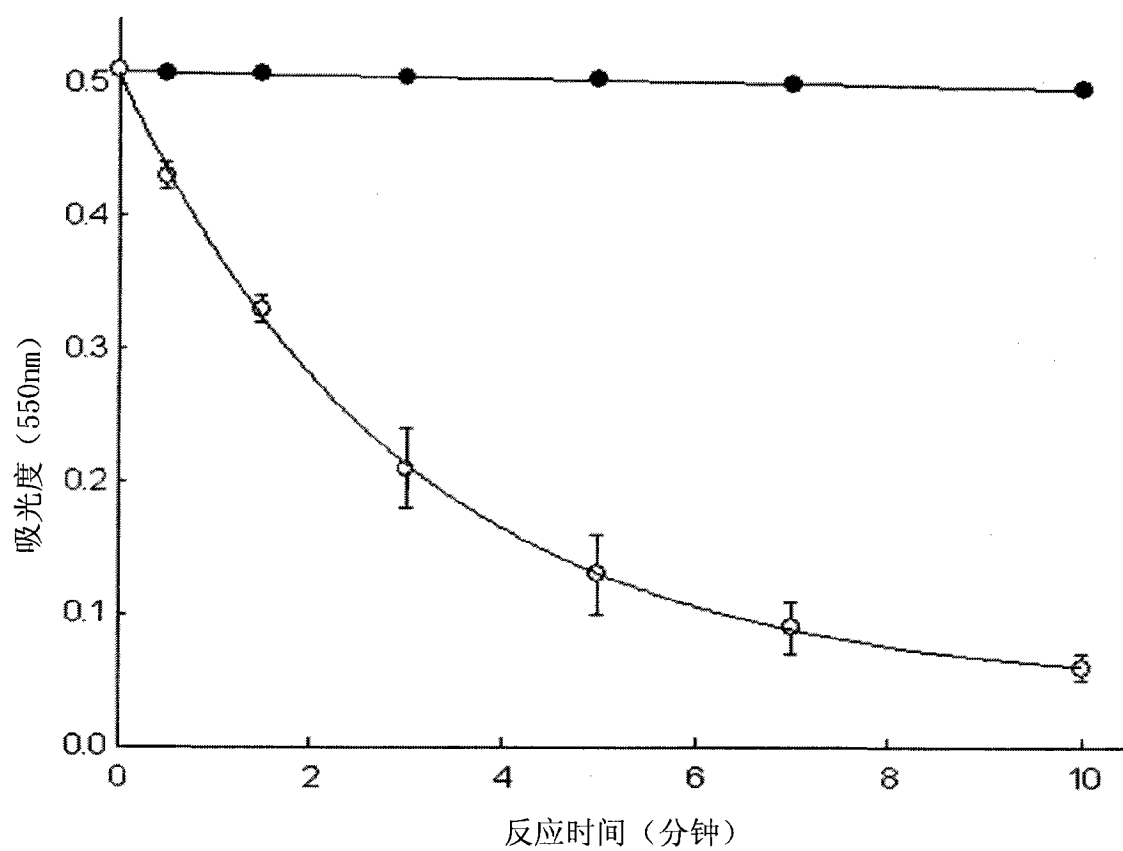


图 5

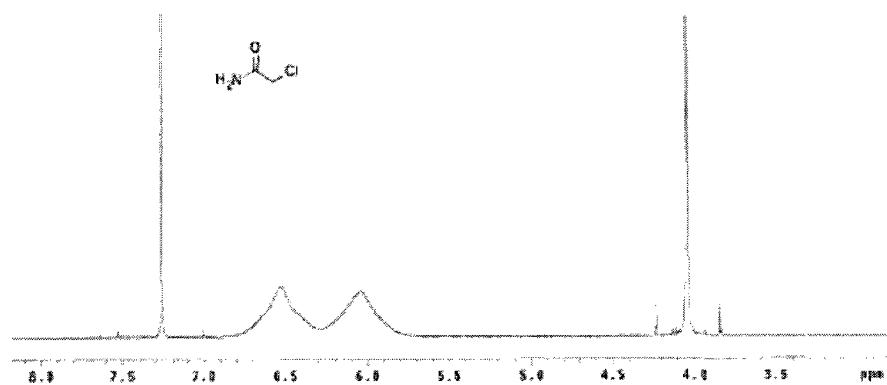
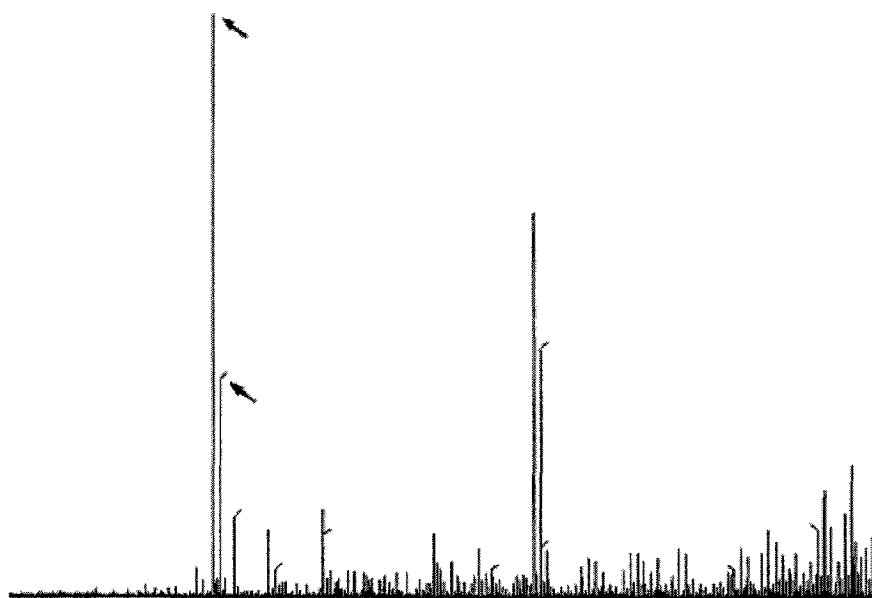
A**B**

图 6

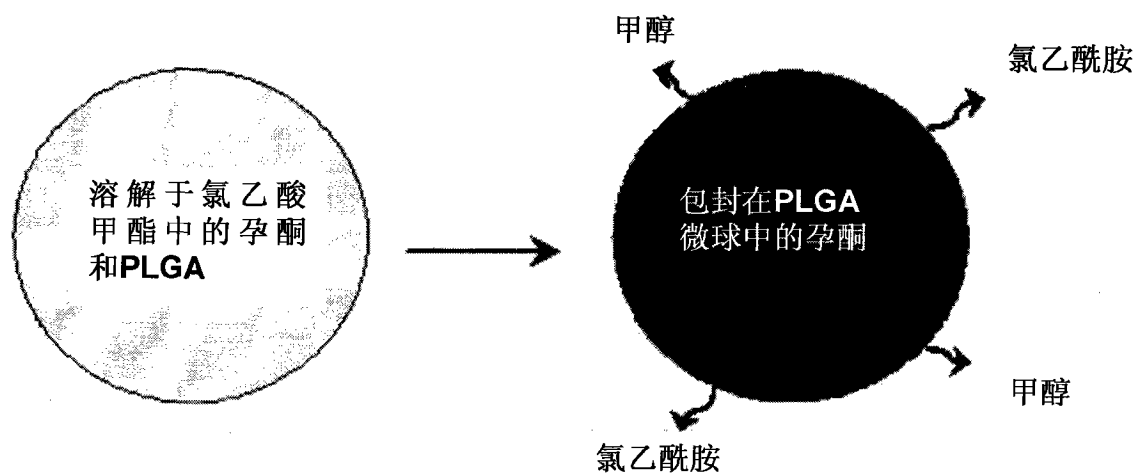


图 7

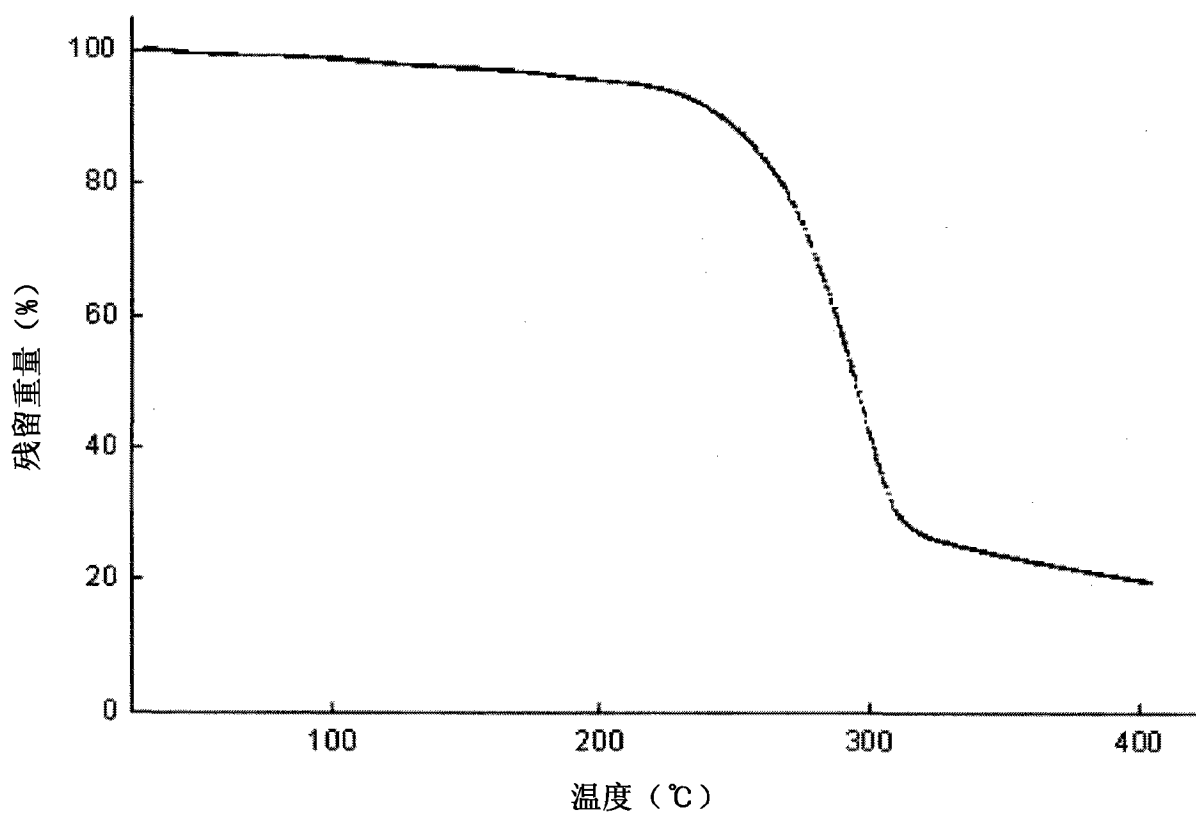


图 8

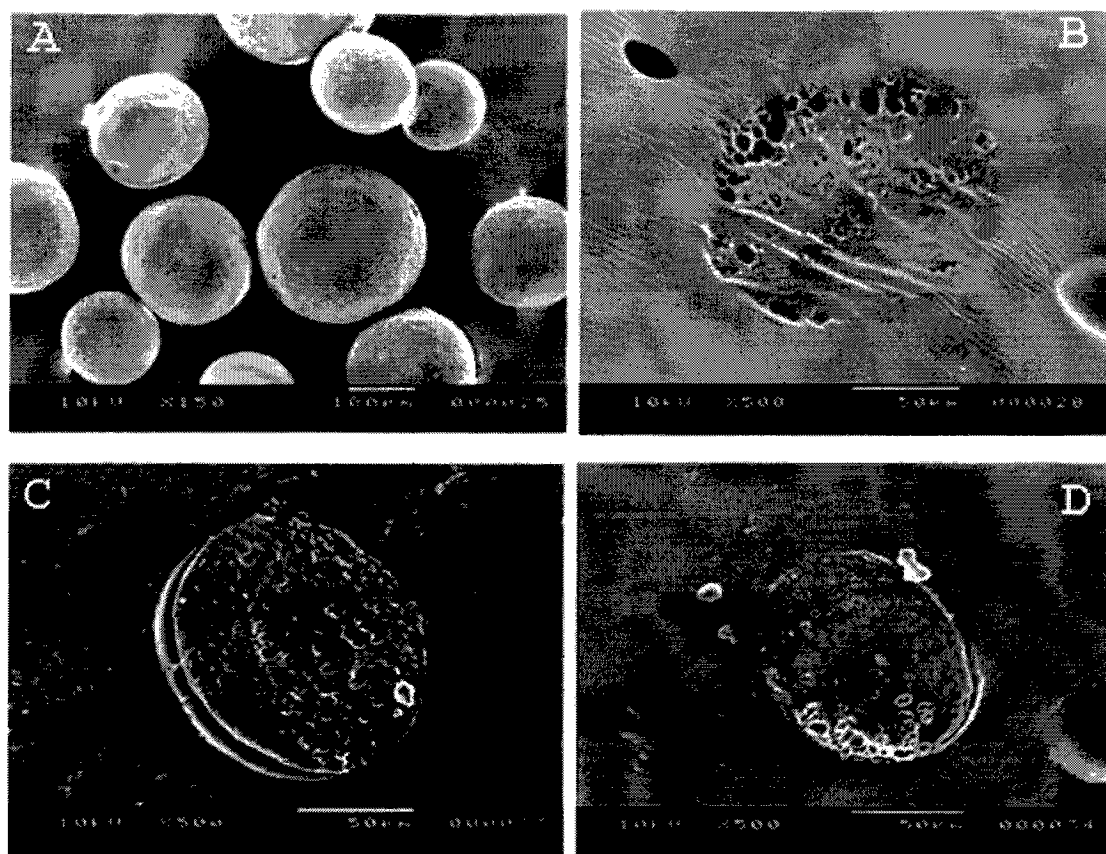


图 9

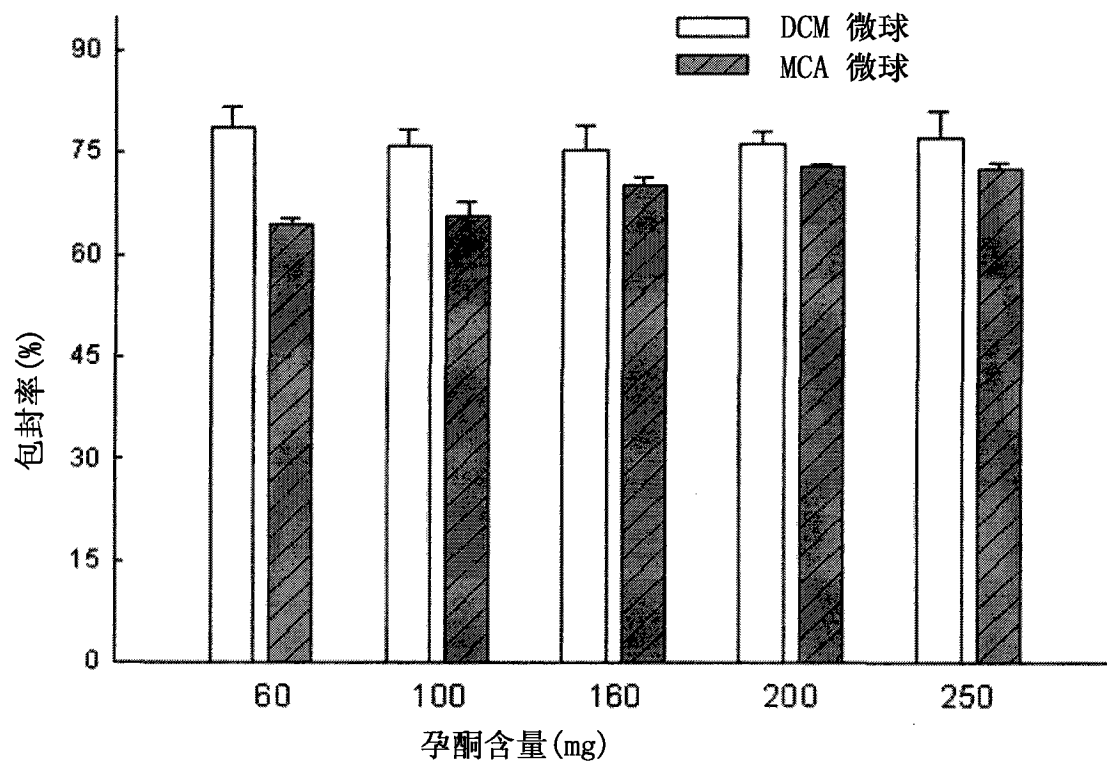


图 10

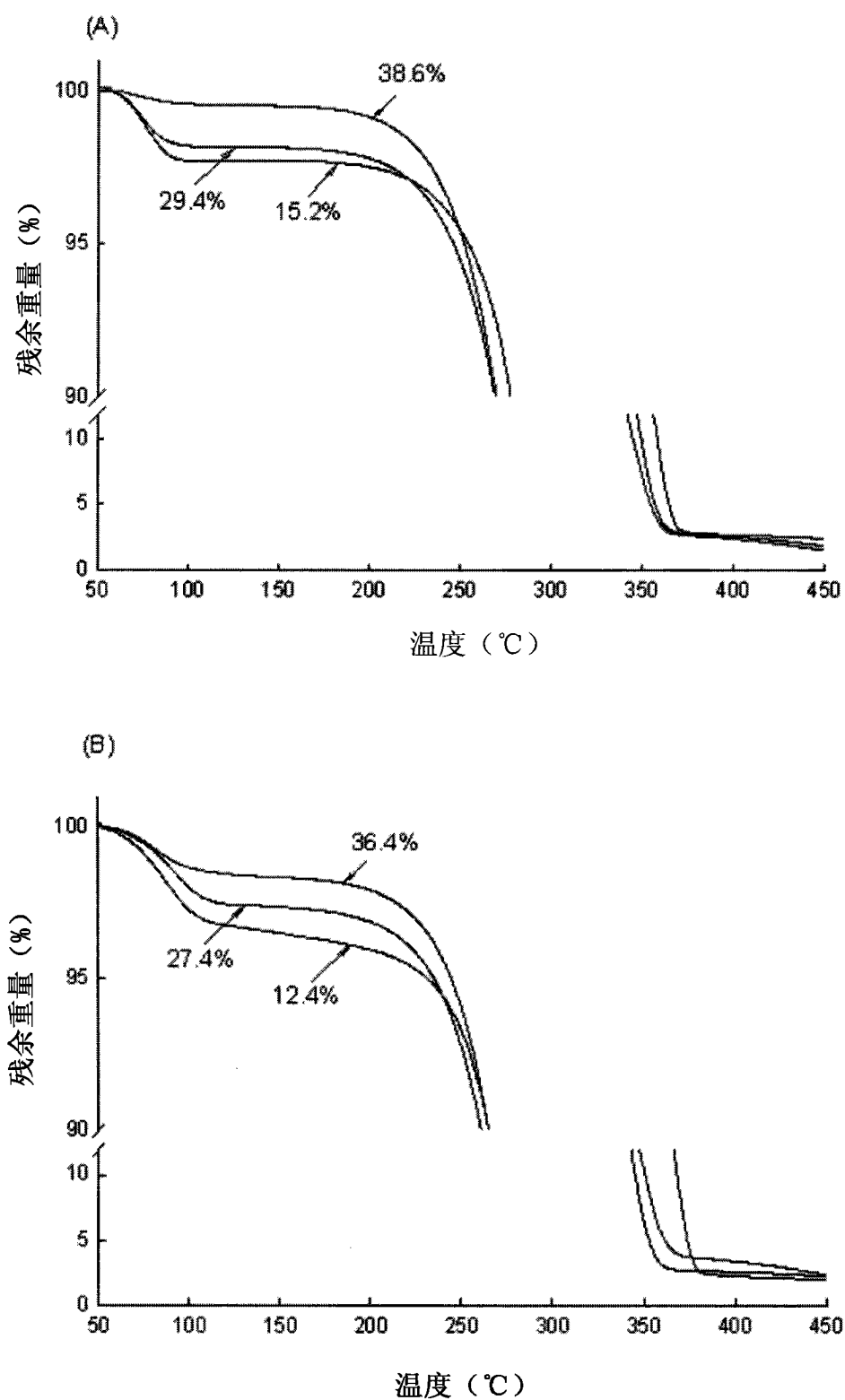


图 11

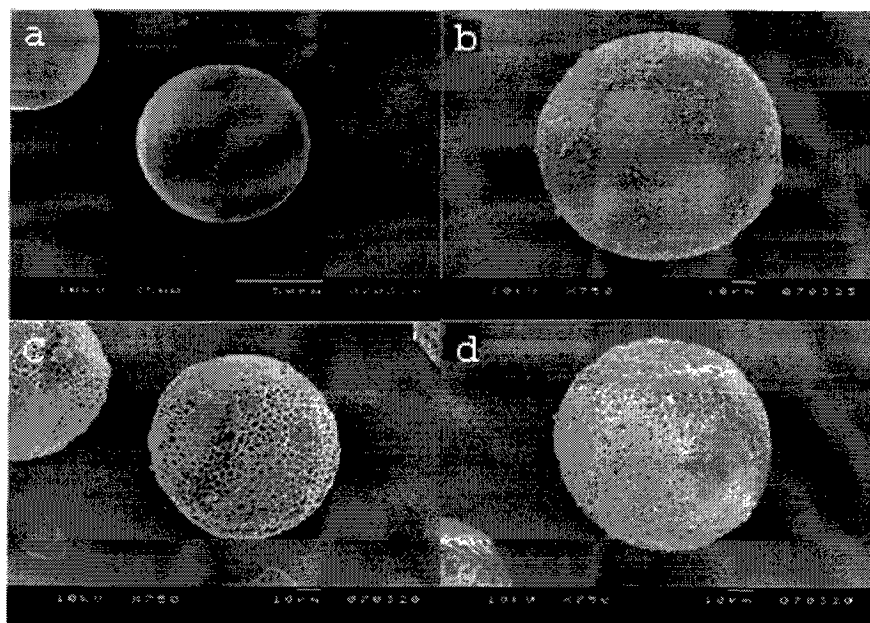
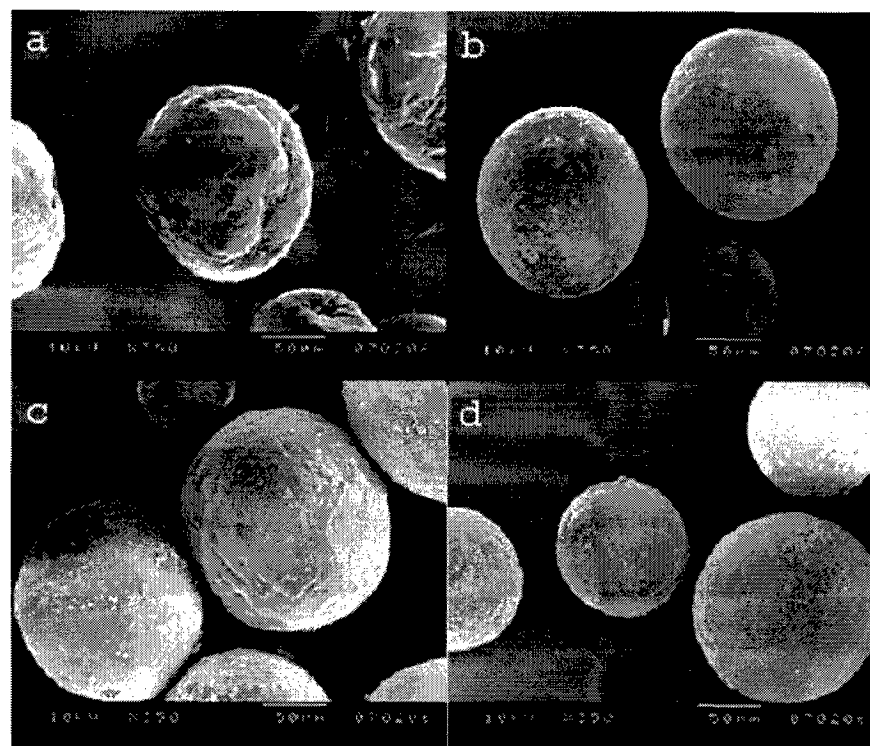
A**B**

图 12

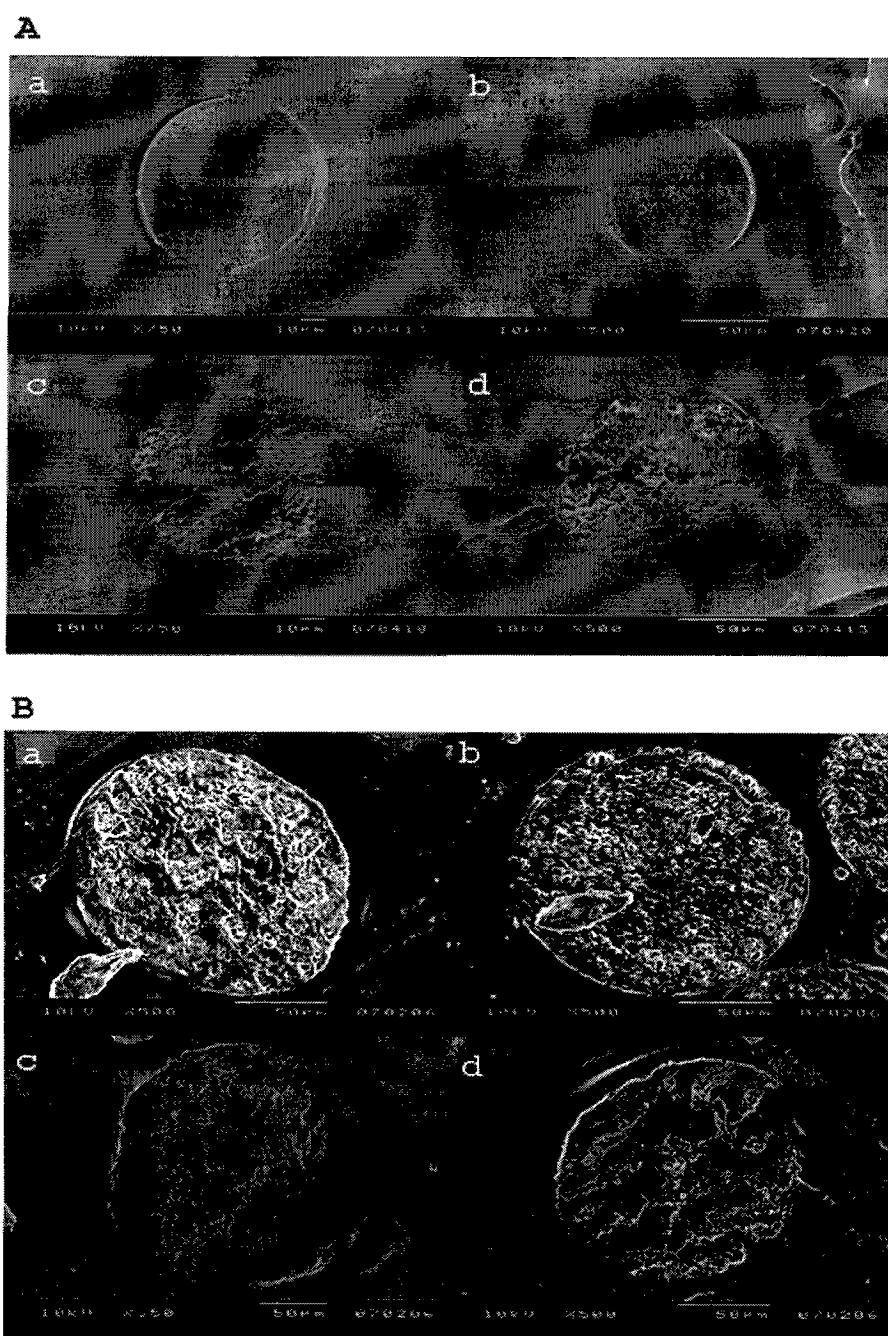


图 13

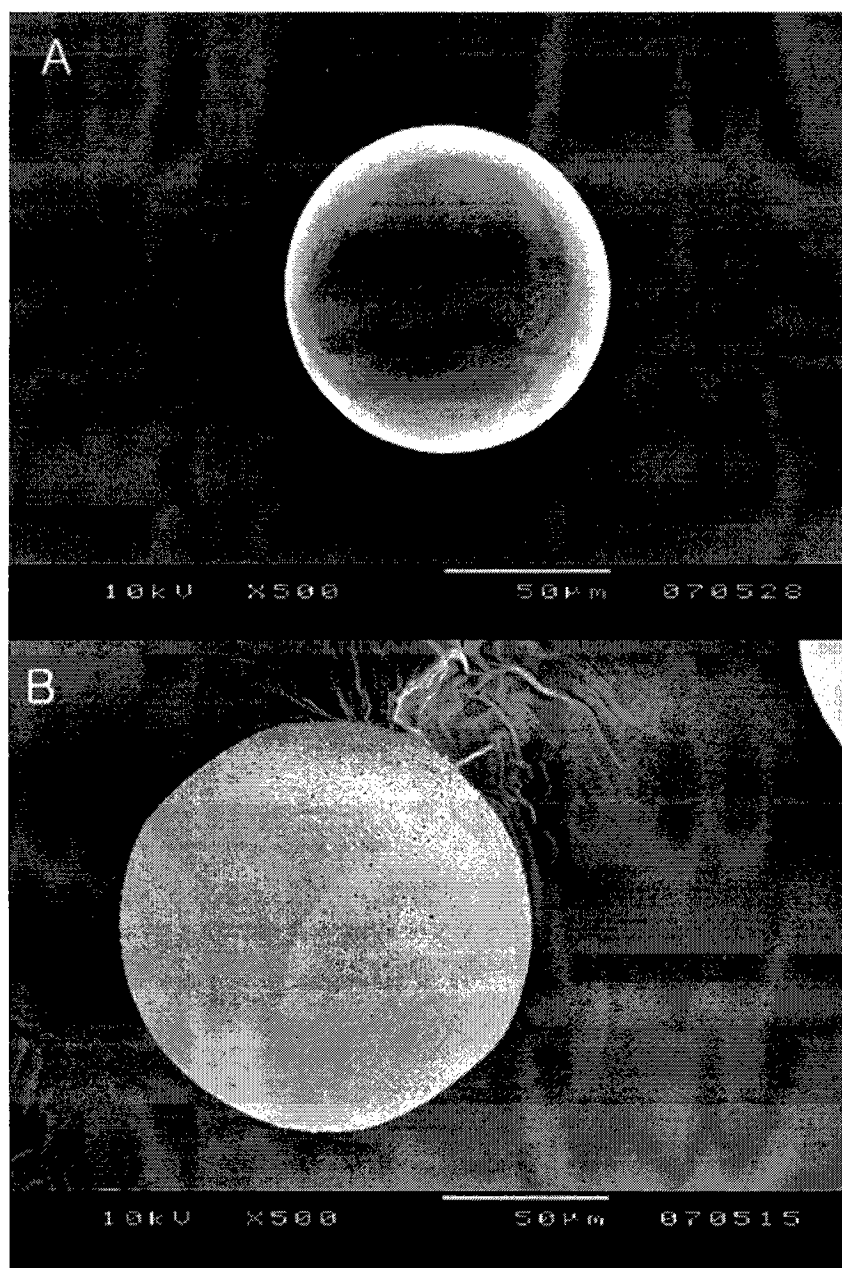


图 14



图 15