



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202108128 A

(43)公開日：中華民國 110 (2021) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：109115921

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 05 月 13 日

(51)Int. Cl.：

*A61K9/19 (2006.01)**A61K31/728 (2006.01)**A61K38/01 (2006.01)**A61L27/26 (2006.01)**A61L27/54 (2006.01)*

(30)優先權：2019/05/13

歐洲專利局

19174129.7

(71)申請人：比利時商布恩醫療公司 (比利時) BONE THERAPEUTICS SA (BE)

比利時

(72)發明人：斯特里旺特 納迪亞 STRICWANT, NADIA (BE)；迪代雷斯 尚 DIDELEZ, JEAN

(BE)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：17 項 圖式數：2 共 75 頁

(54)名稱

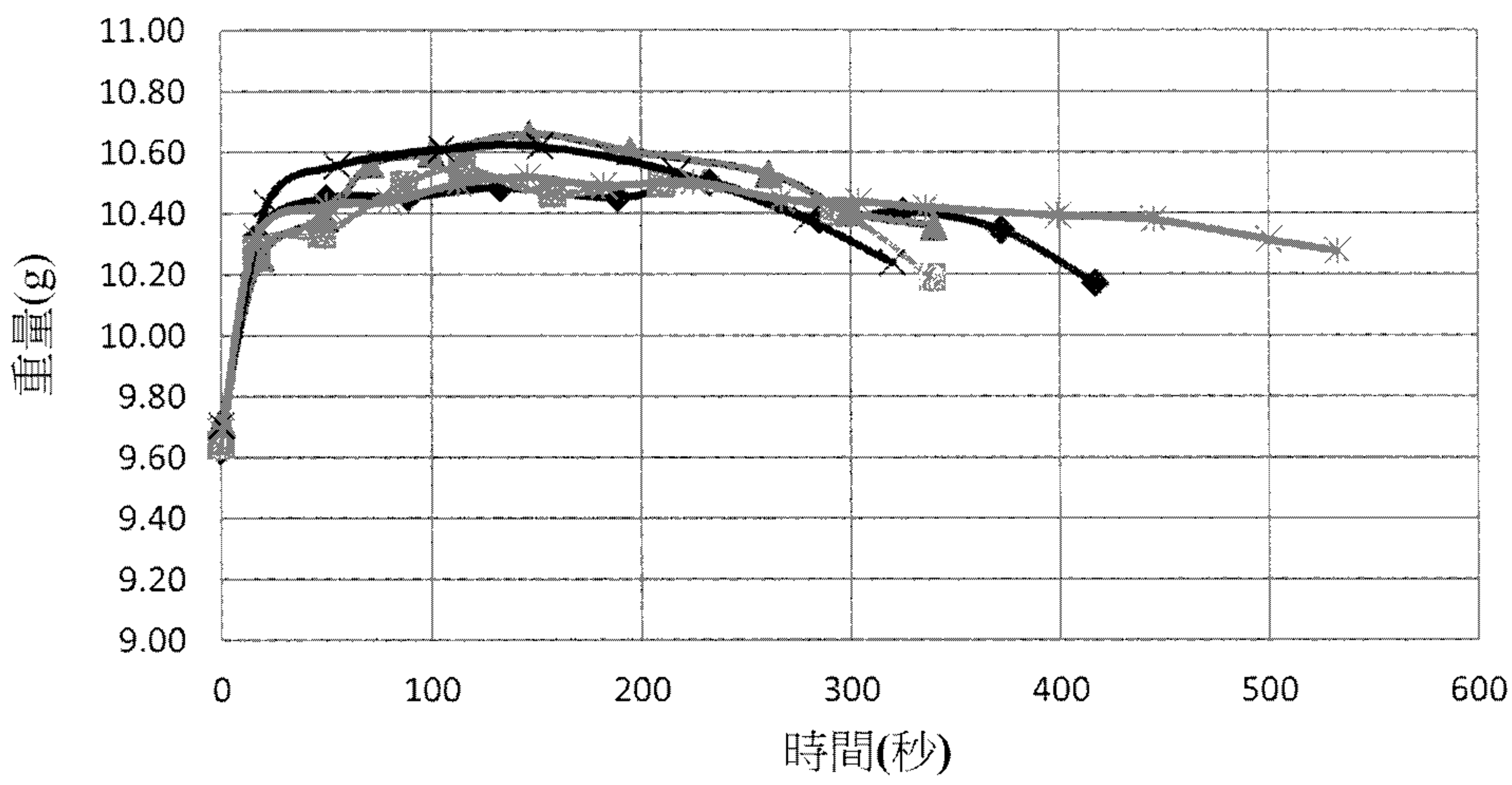
經改良之與玻尿酸與血漿蛋白有關之冷凍乾燥調配物及其用途

(57)摘要

本發明係關於冷凍乾燥醫藥調配物，其包含血漿蛋白或其衍生物、玻尿酸或其衍生物及視情況選用之一或多種其他醫藥活性成分，諸如可樂定(clonidine)或其衍生物，其中該等冷凍乾燥醫藥調配物之特徵在於復原時間小於 15 分鐘。本發明進一步係關於用於製備此等調配物之方法及其用於治療諸如骨或關節疾病之肌肉骨骼疾病的用途。

The invention concerns lyophilized pharmaceutical formulations comprising plasmatic proteins or derivatives thereof, hyaluronic acid or a derivative thereof, and optionally one or more other pharmaceutically active ingredients, such as clonidine or a derivative thereof, wherein the lyophilized pharmaceutical formulations are characterized by a reconstitution time of less than 15 minutes. The invention further relates to methods for preparing these formulations, and their use for treating musculoskeletal diseases such as bone or joint diseases.

指定代表圖：



【圖2】



202108128

【發明摘要】

【中文發明名稱】

經改良之與玻尿酸與血漿蛋白有關之冷凍乾燥調配物及其用途

【英文發明名稱】

IMPROVED LYOPHILIZED FORMULATIONS INVOLVING
HYALURONIC ACID AND PLASMATIC PROTEINS, AND USES
THEREOF

【中文】

本發明係關於冷凍乾燥醫藥調配物，其包含血漿蛋白或其衍生物、玻尿酸或其衍生物及視情況選用之一或多種其他醫藥活性成分，諸如可樂定(clonidine)或其衍生物，其中該等冷凍乾燥醫藥調配物之特徵在於復原時間小於15分鐘。本發明進一步係關於用於製備此等調配物之方法及其用於治療諸如骨或關節疾病之肌肉骨骼疾病的用途。

【英文】

The invention concerns lyophilized pharmaceutical formulations comprising plasmatic proteins or derivatives thereof, hyaluronic acid or a derivative thereof, and optionally one or more other pharmaceutically active ingredients, such as clonidine or a derivative thereof, wherein the lyophilized pharmaceutical formulations are characterized by a reconstitution time of less than 15 minutes. The invention further relates to methods for preparing these formulations, and their use for treating musculoskeletal diseases such as bone or joint diseases.

【指定代表圖】

圖2

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

經改良之與玻尿酸與血漿蛋白有關之冷凍乾燥調配物及其用途

【英文發明名稱】

IMPROVED LYOPHILIZED FORMULATIONS INVOLVING
HYALURONIC ACID AND PLASMATIC PROTEINS, AND USES
THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明之態樣廣泛地處於醫療治療領域且更特定言之，係關於醫藥調配物或組成部分之套組及其用於治療疾病，諸如肌肉骨骼疾病且更特定言之骨或關節疾病的用途。

【先前技術】

【0002】 肌肉骨骼疾病為一組影響骨、肌肉、軟骨、肌腱、韌帶及其他結締組織之疾病。此等病症可隨時間推移而發展或為過度使用肌肉骨骼系統或來自創傷之結果。近年來，已集中於研發用於局部遞送且特定言之骨內或骨周圍或關節內或關節周圍遞送醫藥活性成分以避免全身性副作用的液體調配物(WO2014/049063)。此等液體調配物可包含經溶劑/清潔劑處理之血漿及葡糖胺聚糖。在投藥之後，調配物可顯示凝膠稠度，從而保持醫藥活性成分且將其逐漸釋放。

【0003】 因此，在注射期間達成降低之調配物黏度且原位恢復黏度為具有挑戰性之態樣。若干種調配物在水性環境中為不穩定的，甚至在暴露時持續較短時間且因此需要以粉末或冷凍乾燥狀態封裝、儲存及運送來使產物在其存放期期間保持穩定。然而，目前適合於局部投與之冷凍乾燥

醫藥調配物的特徵在於復原時間長，使得繁瑣之復原過程並不最佳地適用於臨床實踐。另外，緩慢復原帶來以下風險：投與經部分復原之調配物會導致醫藥活性成分之不符合要求的濃度存在於身體之受影響部位中。

【0004】 因此，存在對具有較快復原時間之其他及/或經改良之冷凍乾燥醫藥調配物之持續需求。

【發明內容】

【0005】 如說明本發明之某些代表性實施例之實例中所證明，本發明係關於具有短復原時間(≤ 15 min)之經改良冷凍乾燥醫藥調配物，其解決此項技術中上文所提及之問題中之一或多者。研究結果為未預期的，尤其係因為在冷凍乾燥此項技術中已知用於治療肌肉骨骼疾病之包含玻尿酸及血漿蛋白的醫藥調配物後，獲得冷凍乾燥產物，其特徵在於復原時間長，使得其在常規實踐中使用麻煩。

【0006】 本發明人發現與目前技術相比，本發明之調配物、方法及套組提供一或多種優勢。本發明允許顯著改良冷凍乾燥調配物，尤其用於治療肌肉骨骼疾病之冷凍乾燥調配物之復原時間。投與此等調配物之醫療人員在其實踐中不再受長復原時間限制且因此對患者及醫療人員二者而言，使用本發明之調配物、方法及套組之便利性得以改良。此外，較短復原時間確保向患者供應最佳活性之醫藥劑量，因為具有較長復原時間之調配物存在僅向患者投與部分復原之調配物之風險。

【0007】 本發明之第一態樣提供一種冷凍乾燥醫藥調配物，其包含血漿蛋白或其衍生物及玻尿酸或其衍生物，其中調配物在水溶液中復原時具有15分鐘或更短之復原時間。

【0008】 較佳地，本發明提供一種冷凍乾燥醫藥調配物，其包含冷

凍乾燥血漿及玻尿酸或其衍生物，其中調配物在水溶液中復原時具有15分鐘或更短之復原時間且經設計以用於注射。

【0009】 本發明之另一態樣提供一種組成部分之套組，其包含(a)如本文中所描述之冷凍乾燥醫藥調配物；(b)包含水溶液之注射器；及(c)較佳地，至少一個針。在某些實施例中，注射器可為雙注射器，其包含一個隔室中之如本文中所描述之冷凍乾燥醫藥調配物及第二隔室中之水溶液。

【0010】 本發明之另一態樣提供一種用於製備如本文中所描述之冷凍乾燥醫藥調配物的方法，其包含以下步驟：

(a) 將血漿蛋白或其衍生物、玻尿酸或其衍生物及水溶液混合，藉此獲得主體混合物，該主體混合物具有濃度為20 mg/ml至50 mg/ml之血漿蛋白或其衍生物及濃度為4 mg/ml至8 mg/ml之玻尿酸或其衍生物；

(b) 藉由蒸汽滅菌或過濾滅菌將主體混合物滅菌，藉此獲得無菌混合物；及

(c) 使無菌混合物冷凍乾燥，藉此獲得冷凍乾燥醫藥調配物。

【0011】 較佳地，本發明提供一種用於製備如本文中所描述之冷凍乾燥醫藥調配物的方法，其包含以下步驟：

(a) 將血漿及玻尿酸或其衍生物混合，藉此獲得主體混合物；

(b) 藉由蒸汽滅菌或過濾滅菌將主體混合物滅菌，藉此獲得無菌混合物；及

(c) 使無菌混合物冷凍乾燥，藉此獲得冷凍乾燥醫藥調配物；

其中步驟(a)包含以下步驟：(a1)將玻尿酸或衍生物溶解於水溶液中，藉此獲得第一溶液；(a2)製備包含血漿及視情況選用之 α -2腎上腺素受體促效劑之第二溶液；及(a3)將第一溶液及第二溶液混合以獲得主體混

合物。

【0012】 本發明之另一態樣係關於一種可藉由如本文中所描述之方法獲得或藉由其獲得之冷凍乾燥醫藥調配物。

【0013】 本發明之另一態樣提供如本文中所描述之用於治療肌肉骨骼疾病之冷凍乾燥醫藥調配物，較佳地其中冷凍乾燥醫藥調配物在投與之前與水溶液混合。

【0014】 本發明之上述及其他態樣以及較佳實施例描述於以下章節及隨附申請專利範圍中。隨附申請專利範圍之主題特定地併入於本說明書中。

【圖式簡單說明】

【0015】

圖1.包含根據本發明之一實施例之冷凍乾燥醫藥調配物之三個小瓶的視覺外觀。

圖2.圖式表示說明針對根據本發明之一實施例之5種冷凍乾燥醫藥調配物，重量隨時間變化的代表性水合作用曲線，該等冷凍乾燥醫藥調配物藉由包含將第一溶液及第二溶液以1:1 (v/v)之比率混合且與中等分子量HA混合之方法來製備。

【實施方式】

【0016】 如本文中所使用，除非上下文另外明確規定，否則單數形式「一(a/an)」及「該(the)」包括單數個及複數個參考物二者。

【0017】 如本文中所使用之術語「包含(comprising/comprises)」及「由...組成(comprised of)」與「包括(including/includes)」或「含有(containing/contains)」同義，且為包括性或開放性的，並且不排除其他

未敘述成員、元素或方法步驟。術語亦涵蓋「由...組成(consisting of)」及「基本上由...組成(consisting essentially of)」，其在專利術語中享有公認含義。

【0018】 藉由端點敘述之數值範圍包括包含於各別範圍內之所有數字及分數，以及所敘述端點。此應用於數值範圍，無論其是否由表達「自...至...(from...to...)」或表達「在...與...之間(between...and...)」或其他表達引入。

【0019】 在提及諸如參數、量、時距及其類似者之可量測值時，如本文中所使用之術語「約」或「大約」意謂涵蓋所指定值之變化及自所指定值之變化，諸如所指定值之 $\pm 10\%$ 或更小、較佳地 $\pm 5\%$ 或更小、更佳地 $\pm 1\%$ 或更小且再更佳地 $\pm 0.1\%$ 或更小的變化及自所指定值之變化，就此而言，此等變化適合於在本發明中執行。應理解，修飾詞「約」或「大致」所指之值自身亦為特定且較佳揭示的。

【0020】 鑒於術語「一或多個(種)」或「至少一個(種)」(諸如一組成員中之一或多個成員或至少一個成員)藉助於其他範例而使得本身為清楚的，該術語尤其涵蓋以下參考：該等成員中之任一者或該等成員中之任何兩者或更多者，諸如該等成員之任何 ≥ 3 、 ≥ 4 、 ≥ 5 、 ≥ 6 或 ≥ 7 等，及至多所有該等成員。在另一實例中，「一或多個」或「至少一個」可指1、2、3、4、5、6、7個或更多個。

【0021】 包括本文中對本發明之背景的論述以解釋本發明之上下文。此並不視為承認所提及之任何材料截至任何申請專利範圍之優先權日期，為任何國家之公共常識的公佈、已知或部分。

【0022】 在整個本發明中，藉由鑑別引用參考各種公開案、專利及

所公開之專利說明書。本說明書中所引用之所有文獻皆以全文引用之方式併入本文中。特定言之，本文中特定提及之此等文獻之教示內容或章節以引用之方式併入。

【0023】 除非另外定義，否則用於揭示本發明之所有術語(包括技術及科學術語)具有如一般熟習本發明所屬技術者通常所理解之含義。藉助於進一步指導，包括術語定義以更好地瞭解本發明之教示內容。當結合本發明之特定態樣或本發明之特定實施例定義特定術語時，除非另外定義，否則此等註解或含義意謂在整個本說明書中，亦即，亦在本發明之其他態樣或實施例之上下文中應用。

【0024】 在以下段落中，更詳細地定義本發明之不同態樣或實施例。除非相反地明確指示，否則如此定義之各態樣或實施例可與任何其他態樣或實施例組合。特定言之，指示為較佳或有利之任何特徵可與指示為較佳或有利之任何其他一或多個特徵組合。

【0025】 在整個本說明書中，提及「一個實施例」或「一實施例」意謂結合實施例所描述之特定特性、結構或特徵包括於本發明之至少一個實施例中。因此，在整個本說明書之不同位置中出現的片語「在一個實施例中」或「在一實施例中」未必皆指同一實施例，但可指同一實施例。此外，如熟習此項技術者將由本發明顯而易見，在一或多個實施例中，特定特性、結構或特徵可以任何適合方式組合。此外，如熟習此項技術者將理解，當本文中所描述之一些實施例包括一些特性而非包括於其他實施例中之其他特性時，不同實施例之特性之組合意謂在本發明之範疇內且形成不同實施例。舉例而言，在隨附申請專利範圍中，所主張之實施例中之任一者可以任何組合形式使用。

【0026】 冷凍乾燥早期研發之包含血漿蛋白及玻尿酸之液體醫藥調配物(尤其用於治療肌肉骨骼疾病(WO2014049063))之特徵在於復原時間長，此不便於臨床實踐中之常規使用。如說明本發明之某些代表性實施例之實例中所證明，本發明人已研發經改良之冷凍乾燥醫藥調配物及獲得具有較短復原時間(≤ 15 min)之該等調配物的方法，由此解決此項技術中上文所提及之問題中之一或多者。

【0027】 術語「冷凍乾燥(lyophilized/freeze-dried)」可在本文中互換使用，且係指藉由冷凍乾燥方式獲得之樣品、調配物或產物之條件及/或狀態。冷凍乾燥(Lyophilisation) (亦已知為冷凍乾燥(freeze-drying/cryodesiccation))為涉及使產物冷凍而不破壞物質之物理結構的脫水方法。冷凍乾燥包含至少一冷凍步驟及一昇華步驟。昇華步驟可包含乾燥之兩個階段：初次乾燥步驟及二次乾燥步驟。冷凍乾燥可用於醫藥產品及其中間物之製造中。在冷凍期間，將材料冷卻至其中可存在材料之固相、液相及氣相的溫度。活性醫藥產品成分(Active pharmaceutical product ingredient；API)可經冷凍乾燥以達成化學穩定性，從而允許室溫儲存。此與使用加熱蒸發水之習知方法不同。冷凍乾燥之優勢可為(但不限於)經改良之無菌操作、增強之乾粉穩定性、水之移除而無需產物之過度加熱及增強產物在乾燥狀態下之穩定性。大體而言，再水合之冷凍乾燥產物之品質為極佳的且並不展示比非冷凍乾燥產物較差之(治療性)特徵。

【0028】 術語「醫藥調配物」、「醫藥組合物」或「醫藥製劑」可在本文中互換使用。同樣地，術語「調配物」、「組合物」或「製劑」可在本文中互換使用。在整個本說明書中，除非另外明確陳述，否則如本文中所

提及之絕對數量對應於一次投藥劑量中存在之量。

【0029】 較佳地，冷凍乾燥醫藥調配物為可溶或可溶解之調配物。冷凍乾燥醫藥調配物在水溶液中復原時宜溶解，例如全部或基本上全部，諸如至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、至少99.5%或100%之冷凍乾燥醫藥調配物在復原時經溶解(dissolved/solubilized)。

【0030】 如本文中所使用，「復原」係指藉由將溶劑添加至冷凍乾燥物質中，允許冷凍乾燥物質再水合，隨後攪拌溶劑及冷凍乾燥物質之混合物而使乾燥、冷凍乾燥、脫水或濃縮之物質恢復至其原始或液體狀態的方法。經復原物質可為產物、調配物、樣品、原料或任何生物材料或可為其之一部分，但必然不限於屬於此等術語之共同定義之物質。可用肉眼來視覺評估復原。當觀測到均勻溶液時，認為冷凍乾燥物質復原。特定言之，具有混濁外觀之溶液被視為適當地復原。

【0031】 替代地，可由基於阻抗之方法評估復原。在此等方法中，由於固體材料在復原或溶解過程期間溶解，偵測到復原介質之阻抗之較小變化。雙電極針注入於稀釋劑中，且於所添加之稀釋劑中連續地監測阻抗信號變化。其測定濃度水準，因為阻抗視允許電流流動之離子載體之數目及遷移率而定。由含有單電荷離子(singly charged ion)之液體傳導的電流(I)可表示為： $I = N_{q\mu} U / L^2$ ，其中N作為液體中之離子之數目，q為基本電荷， μ 為平均離子遷移率，U為所施加之電勢，且L為導電路徑之長度。電阻可表示為 $R = L^2 / N_{q\mu}$ 。電阻表示阻抗信號(Z)之實部，其亦視電抗(X)而定，而電抗(X)視所施加之AC頻率(f)及溶液容量(c)而定： $Z = \sqrt{R^2 + X^2}$ ，其中 $X = 1/(\pi f c)$ 。在復原期間溶解之冷凍乾燥物之所有組分將有助於阻抗信

號變化。在小於1歐姆之阻抗變化持續至少7秒處定義復原之終點。

【0032】術語「水溶液」係指包含水或溶劑為水之任何溶液。此外，「水溶液」用於描述與水或水溶液顯示共同性之溶液，不限於諸如外觀、氣味、顏色、味道、黏度、pH、吸光度或在特定溫度下之物理狀態的特徵。

【0033】術語「重量百分比」、「質量百分比」、「重量百分比(%)」、「重量%」或「wt%」指示物質之質量比調配物之總質量(亦即，質量分數)，其中分母為100。除非另外指示，否則本文提供與冷凍乾燥醫藥調配物之總重量相比的wt%。

【0034】如本文中可互換使用之術語「緩衝組分」、「緩衝溶液」或「緩衝液」係指包含弱酸及其共軛鹼之混合物之水溶液或反之亦然。緩衝溶液之特徵在於當將有限量之強酸或強鹼添加至溶液中時，其保持溶液之pH幾乎恆定的方式。可在顯著pH變化發生之前向緩衝溶液中添加之強酸或強鹼的量視所使用之特定緩衝溶液而定，且通常被稱作緩衝能力。緩衝溶液之pH可使用熟習此項技術者已知之亨德森-哈塞爾巴爾赫方程式(Henderson-Hasselbalch equation)來估算。

【0035】如本文中所定義，調配物之pH可使用如熟習此項技術者已知之各種方法來量測。可使用藉由攝取或釋放H⁺離子而變色之pH指示劑，其中其所得顏色指示一定pH值。替代地，可使用量測pH電極與參考電極之間的電位差之pH計。電位差係關於溶液之酸性或pH。

【0036】本發明之第一態樣提供一種冷凍乾燥醫藥調配物，其包含血漿蛋白或其衍生物及玻尿酸或其衍生物，其中調配物在水溶液中復原時具有15分鐘或更短、較佳地10分鐘或更短、更佳地5分鐘或更短之復原時

間。在特定實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含冷凍乾燥血漿及玻尿酸或其衍生物，其中調配物在水溶液中復原時具有15分鐘或更短、較佳地10分鐘或更短、更佳地5分鐘或更短之復原時間。

【0037】 因此，一態樣係關於一種冷凍乾燥醫藥調配物，其包含冷凍乾燥血漿及玻尿酸或其衍生物，其中調配物在水溶液中復原時具有15分鐘或更短、較佳地10分鐘或更短、更佳地5分鐘或更短之復原時間。

【0038】 術語「冷凍乾燥醫藥調配物」、「冷凍乾燥調配物」、「冷凍乾燥餅狀物」、「餅狀物」及「調配物」在本文中可互換使用，且係指如本文中所教示之冷凍乾燥醫藥調配物。

【0039】 在實施例中，本發明提供一種冷凍乾燥醫藥調配物，其包含血漿蛋白或其衍生物及玻尿酸或其衍生物，其中調配物包含約30重量%至約80重量%之血漿蛋白或其衍生物，其中調配物在水溶液中復原時具有15分鐘或更短之復原時間，且經設計以用於注射。

【0040】 如本文中所定義之「血漿蛋白」係指血漿衍生之蛋白質或血漿中可存在及/或偵測之蛋白質。除非在整個本文檔中明確陳述，否則血漿蛋白不限於人類血漿蛋白。醫藥調配物中所包含之血漿蛋白可包含天然起源於血漿中之任何蛋白質或經修飾蛋白質。如本文中所使用，術語「血漿蛋白」亦包括合成之血漿蛋白或血漿蛋白衍生物。

【0041】 如本文中所描述之敘述「血漿蛋白衍生物」或「血漿蛋白之衍生物」係指來源於血漿之單個蛋白質，諸如如本文中所列之血漿蛋白中之任何單個蛋白質。

【0042】 在某些實施例中，血漿蛋白或其衍生物可來源於血漿。在某些實施例中，血漿蛋白或其衍生物可來源於冷凍乾燥血漿。在某些實施

例中，血漿蛋白或其衍生物可為冷凍乾燥血漿之一部分。在某些實施例中，冷凍乾燥血漿包含血漿蛋白或其衍生物。

【0043】 如習知定義術語「血漿」。血漿可為如習知定義之任何血漿，諸如新鮮血漿、新鮮冷凍血漿、所解凍之冷凍血漿或冷沈澱物、來自冷凍血漿之冷上清液或濃縮物以及其稀釋產物。術語「血漿」亦包括富含血小板之血漿(platelet-enriched plasma；PRP)或血漿取代物。血漿通常獲自具備抗凝血劑(例如肝素、檸檬酸鹽、草酸鹽或EDTA)或與其接觸之全血樣品。隨後，藉由適當技術，通常藉由離心將血液樣品之細胞組分與液體組分(血漿)分離。因此，術語「血漿」係指不形成人體或動物體之一部分之組合物。在某些實施例中，血漿可來源於溫血動物，諸如哺乳動物動物(諸如人類)。

【0044】 術語「富含血小板之血漿(PRP)」係指已富含有血小板之血漿。通常，PRP可含有約 1.0×10^6 個血小板/微升，而全血中之血小板濃度可為約 1.5×10^5 至 3.5×10^5 個/ μL 。因此，如本文中所預期之血漿可含有小於約 1.5×10^5 至 1.0×10^6 個血小板/微升。

【0045】 在實施例中，血漿不為富含血小板之血漿。在實施例中，在用於如用於製備冷凍乾燥醫藥調配物之本文中所教示之方法中之前，血漿不經受進一步富集或分級處理(fractioning)步驟。在實施例中，血漿可具有與以習知方式，例如如上文所描述來獲得之血漿實質上相同之組合物。

【0046】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含冷凍乾燥血漿。在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含冷凍乾燥血漿，而冷凍乾燥血漿包含血漿蛋白或其衍生物。在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物

包含冷凍乾燥之經溶劑/清潔劑處理(S/D)之血漿。在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含血漿蛋白，其為經溶劑/清潔劑處理(S/D)之血漿蛋白。在某些實施例中，S/D血漿蛋白來源於溫血動物，諸如哺乳動物動物(諸如人類)。

【0047】 在某些實施例中，血漿可為S/D血漿。在某些實施例中，血漿蛋白為經溶劑/清潔劑處理(S/D)之血漿蛋白，較佳地人類S/D血漿蛋白。

【0048】 在某些實施例中，血漿蛋白或其衍生物可來源於S/D血漿。在某些實施例中，血漿蛋白或其衍生物可為冷凍乾燥S/D血漿之一部分。在某些實施例中，冷凍乾燥S/D血漿包含血漿蛋白或其衍生物。

【0049】 術語「經溶劑/清潔劑處理之血漿」、「經S/D處理之血漿」或「S/D血漿」通常係指可藉由包含以下步驟之方法獲得或藉由其獲得之去細胞化血漿：(a)用溶劑及清潔劑處理血漿及(b)過濾經溶劑/清潔劑處理之血漿。

【0050】 在步驟(a)中待處理之血漿可為如習知定義之任何血漿，諸如新鮮血漿、新鮮冷凍血漿、所解凍之冷凍血漿或冷沈澱物、來自冷凍血漿之冷上清液或濃縮物以及其稀釋產物。通常自全血之樣品或自藉由血球分離術獲得之樣品獲得血漿。

【0051】 用於製備S/D血漿之溶劑較佳為二烷基磷酸酯或三烷基磷酸酯，其均具有含有1至10個碳原子，特別言之2至10個碳原子之烷基。溶劑之說明性實例可包括三-(正丁基)磷酸酯、三-(第三丁基)磷酸酯、三-(正己基)磷酸酯、三-(2-乙基己基)磷酸酯或三-(正癸基)磷酸酯。較佳溶劑為三-(正丁基)磷酸酯。用於處理步驟(a)中之溶劑，諸如二烷基磷酸酯或

三烷基磷酸酯較佳以在約0.01 mg/ml至約100 mg/ml且較佳地約0.1 mg/ml至約10 mg/ml範圍內之量採用。換言之，用於處理步驟(a)中之二烷基磷酸酯或三烷基磷酸酯較佳以在約0.001% w/v至約10% w/v且較佳地約0.01% w/v至約1% w/v範圍內之量採用。

【0052】 用於製備S/D血漿之清潔劑較佳為無毒性清潔劑。所涵蓋之非離子型清潔劑包括當將每100毫升溶液1公克清潔劑引入其中時，在主導溫度下將至少0.1重量%之脂肪分散於含有清潔劑之水溶液中的彼等。清潔劑之說明性實例可包括脂肪酸之聚氧乙烯衍生物、山梨糖醇酸酐之偏酯(例如商業上已知為「Tween[®] 80」、「Tween[®] 20」及「聚山梨醇酯 80」之彼等產物)及非離子型油可溶性水清潔劑，諸如商業上以商標「Triton[™] X 100」出售之彼清潔劑(氧乙基化烷基酚)。亦涵蓋去氧膽酸鈉以及「兩性洗滌劑(Zwittergent)」，其為已知為「磺基甜菜鹼(sulfobetaine)」之合成兩性離子清潔劑，諸如N-十二基-N,N-甲基-2-胺基-1乙烷磺酸鹽及其同類物；或非離子型清潔劑，諸如辛基-β-D-葡萄糖吡喃糖苷。清潔劑之量可在約0.001% v/v至約10% v/v，較佳地約0.01% v/v至1.5% v/v之範圍內。

【0053】 在-5°C與70°C之間、較佳在0°C與60°C之間的溫度下，較佳實行利用溶劑及清潔劑之處理。此類處理(接觸)之時間為至少1分鐘，較佳為至少1小時且通常為4至24小時。處理通常在大氣壓下為有效的，儘管亦可採用次大氣壓及超大氣壓。

【0054】 通常，在處理之後，移除諸如三烷基磷酸酯之溶劑及清潔劑。溶劑及清潔劑可藉由適用於自血漿分離溶劑及清潔劑之任何技術來移除。當採用具有諸如三烷基磷酸酯之溶劑之非離子型清潔劑時，其可藉由

以下來移除：(1)使用保留血漿蛋白之微孔膜(諸如TEFLON)來透濾；(2)在層析或親和力層析支撐物上吸收所需血漿組分；(3)沈澱，例如藉由鹽析血漿蛋白；(4)冷凍乾燥等。可如下移除溶劑(諸如二烷基磷酸酯或三烷基磷酸酯)：(a)抗血友病因子(antihemophilic factor；AHF)之移除可藉由沈澱具有2.2莫耳(M)甘胺酸及2.0 M氯化鈉之AHF來實現；(b)纖維結合蛋白之移除可藉由將纖維結合蛋白結合於不溶解明膠之管柱上且洗滌不含試劑之經結合纖維結合蛋白來實現。

【0055】 過濾步驟(b)通常用1 μm 過濾器執行以移除細胞及碎片，隨後使用0.2 μm 過濾器進行無菌過濾。

【0056】 在某些實施例中，S/D處理包含至少一個使用油之溶劑及/或清潔劑萃取步驟。較佳地，油為大豆油或蓖麻油。在某些實施例中，血漿藉由在S/D處理之前或之後的額外方法進一步處理。在其他實施例中，此等方法可包含單獨或與光化學活性劑組合之紫外線(UV)輻射。UV輻射可選自包含以下之群：UVA (波長在約315 nm與約400 nm之間)、UVB (波長在約280與約315 nm之間)、UVC (波長在100 nm與280 nm之間)。光化學活性劑可選自包含補骨脂素(psoralen)，例如阿莫托侖(amotosalen)及核黃素之群。在某些實施例中，血漿可由如熟習此項技術者所已知且在整個文獻中所描述之INTERCEPT系統處理(Update on pathogen inactivation treatment of plasma, with the INTERCEPT Blood System: Current position on methodological, clinical and regulatory aspects. Irsch J., Transfus. Apher. Sci., 2015)。

【0057】 術語「S/D血漿」涵蓋包含降低濃度或活性之纖維蛋白溶酶抑制劑，諸如等於或低於0.60 IU/ml或等於或低於0.50 IU/ml之纖維蛋

白溶酶抑制劑含量(例如在0.20與0.30 IU/ml之間，更特定言之在0.22與0.25 IU/ml之間的纖維蛋白溶酶抑制劑含量)之血漿。

【0058】 當與新鮮冷凍血漿(fresh frozen plasma；FFP)相比較時，S/D血漿可包含降低量及/或活性之以下中之一或多者：纖維蛋白溶酶抑制劑、蛋白S、因子XI、因子V、因子VIII、因子X、 $\alpha 2$ 抗纖維蛋白溶酶、抗胰蛋白酶、血管性血友病因子(von Willebrand factor；vWF)及亦已知為具有1型凝血栓蛋白基元之解整合素及金屬蛋白酶的血管性血友病因子裂解蛋白酶(von Willebrand factor-cleaving protease；VWFCP)、成員13(ADAMTS-13)、腫瘤壞死因子- α (TNF α)、介白素-8 (IL-8)、介白素-10 (IL-10) (Benjamin 及 McLaughlin, 2012, Svae 等人, 2007；Beeck 及 Hellstern, 1998；Doyle 等人, 2003；Mast 等人, 1999, Theusinger 等人, 2011)且/或可包含量及/或活性增大之因子VII (Doyle 等人, 2003)。

【0059】 血漿(諸如S/D血漿)可如此項技術中所已知來熱滅活，尤其係移除補體。當本醫藥調配物採用與待治療之個體具有自體性(autologous)之血漿(諸如S/D血漿)時，可不必使血漿(諸如S/D血漿)熱滅活。當血漿(諸如S/D血漿)與待治療之個體為至少部分地同種異體時，可能有利的係使血漿(諸如S/D血漿)熱滅活。血漿(諸如S/D血漿)可與待治療之個體具有自體性。關於血漿(諸如S/D血漿)之術語「自體性」表示血漿(諸如S/D血漿)獲自待與血漿(諸如S/D血漿)接觸或待用其處理之相同個體。替代地或另外，血漿(諸如S/D血漿)亦可與待治療之個體「同源」或「同種異體」，亦即獲自一或多個(經匯合)個體而非待與血漿(諸如S/D血漿)接觸或待用其處理之個體。有利地，同種異體血漿(諸如S/D血漿)為可商購的且因此為不受限制之血漿來源。在某些實施例中，血漿(諸如S/D血

漿)可來源於溫血動物，諸如哺乳動物動物(諸如人類)。

【0060】 在某些實施例中，一或多種血漿蛋白可屬於由以下組成之非限制性群：白蛋白、球蛋白、血纖維蛋白原、調節蛋白及凝血因子。在其他實施例中，血漿蛋白可為以下中之一或多者：前白蛋白(甲狀腺素運載蛋白)、 α 1抗胰蛋白酶、 α 1酸糖蛋白、 α 1胎蛋白、 α 2巨球蛋白、 γ 球蛋白、 β 2微球蛋白、結合球蛋白(haptoglobin)、血漿銅藍蛋白(ceruloplasmin)、補體組分3、補體組分4、C反應蛋白(C-reactive protein；CRP)、脂蛋白(乳糜微粒、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白及極低密度脂蛋白)、運鐵蛋白、凝血酶原、甘露糖結合凝集素(Mannose-binding lectin)、甘露聚糖結合凝集素(mannan-binding lectin；MBL)或甘露聚糖結合蛋白(mannan-binding protein；MBP)。在其他實施例中，天然存在之血漿蛋白組合物可按原樣維持且用作醫藥調配物中之組分。血漿蛋白之血漿組成及濃度範圍為熟習此項技術者所熟知。在其他實施例中，可自一批待包括於調配物中之血漿蛋白分離一種血漿蛋白或一組血漿蛋白。在其他實施例中，可自一批待自醫藥調配物中排除之血漿蛋白分離一種血漿蛋白或一組血漿蛋白。

【0061】 血漿或血漿蛋白可來源於單個血液供體。在其他實施例中，血漿或血漿蛋白可來源於至少兩個供體之血漿蛋白之混合物。在其他實施例中，血漿可藉由額外蛋白補充。在其他實施例中，一或多種血漿蛋白含有轉譯後修飾。在又其他實施例中，在自血漿之細胞組分分離後，已引入對一或多種血漿蛋白之轉譯後修飾。在其他實施例中，在自細胞組分分離之前或之後，已更改至少一種血漿蛋白之相對濃度。在某些實施例中，血漿蛋白來源於屬於特定年齡之血液供體。在另一實施例中，血漿蛋

白來源於具有已知基因型之血液供體。在其他實施例中，血漿蛋白來源於血清或包含血清蛋白。舉例而言，就接受調配物之個體而言，血清可為同種異體或自體性的。較佳地，血清可為人類血清，使得進一步包含人類血清之醫藥調配物尤其適合於向人類個體投與。在某些實施例中，可自經溶劑/清潔劑處理之血漿獲得血清。S/D血漿可經適當地處理以對抗抗凝血劑之作用，以便允許將血纖維蛋白原轉化成纖維蛋白且形成凝塊。在某些實施例中，血清可來源於溫血動物，諸如哺乳動物動物(諸如人類)。

【0062】 在實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含冷凍乾燥血清。因此，在特定態樣或實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含冷凍乾燥血清及玻尿酸或其衍生物，其中調配物在水溶液中復原時具有15分鐘或更短、較佳地10分鐘或更短、更佳地5分鐘或更短之復原時間。

【0063】 因此，一態樣係關於一種冷凍乾燥醫藥調配物，其包含冷凍乾燥血漿及/或冷凍乾燥血清及玻尿酸或其衍生物，其中調配物在水溶液中復原時具有15分鐘或更短、較佳地10分鐘或更短、更佳地5分鐘或更短之復原時間。在實施例中，調配物經設計以用於注射。

【0064】 在某些實施例中，調配物包含約70重量%至約99.9重量%之冷凍乾燥血漿及/或冷凍乾燥血清。在某些實施例中，調配物包含約70重量%至約99重量%之冷凍乾燥血漿及/或冷凍乾燥血清，較佳地約75重量%至約99重量%或約80重量%至約97重量%之冷凍乾燥血漿及/或冷凍乾燥血清。舉例而言，調配物包含約70重量%至約95重量%或約70重量%至約90重量%之冷凍乾燥血漿及/或冷凍乾燥血清。

【0065】 在某些實施例中，冷凍乾燥血清包含血漿蛋白或其衍生物。

【0066】 在某些實施例中，調配物包含至少約30重量%之血漿蛋白或其衍生物，諸如至少約40重量%、至少約50重量%、至少約60%、至少約70重量%、至少約80重量%或至少約90重量%之血漿蛋白或其衍生物。在某些實施例中，調配物包含約30重量%至約90重量%之血漿蛋白或其衍生物。在某些實施例中，調配物包含約30重量%至約80重量%之血漿蛋白或其衍生物，約40重量%至約75重量%、尤其約50重量%至約70重量%或約55重量%至約60重量%之血漿蛋白或其衍生物。舉例而言，調配物包含約40重量%至約70重量%或約45重量%至約65重量%之血漿蛋白或其衍生物。較佳地，血漿蛋白為經溶劑/清潔劑處理(S/D)之血漿蛋白，特定言之人類S/D血漿蛋白。在某些實施例中，血漿蛋白或其衍生物以約30 wt%至約80 wt%、較佳地約40 wt%至約75 wt%、更佳地約50 wt%至約70 wt%，諸如約55 wt%至約65 wt%之重量百分比包含於醫藥調配物中。

【0067】 術語「玻尿酸(hyaluronic acid)」或「HA」可與「玻尿酸(hyaluronan)」、「玻尿酸鹽」或「玻尿酸鈉」互換使用。術語「玻尿酸」係指由D-葡萄糖醛酸及N-乙醯基-D-葡萄糖胺構成之雙醣之陰離子非硫酸化聚合物，其經由交替 β -1,4及 β -1,3糖苷鍵來連接。玻尿酸及衍生物屬於葡萄糖胺聚糖之群。特定言之，冷凍乾燥醫藥調配物包含玻尿酸纖維或其衍生物。

【0068】 術語「葡萄糖胺聚糖」或「黏多醣」係指由重複雙醣單元組成之未分支極性多醣。由於其吸水特性，其可充當潤滑劑或減震器(shock absorber)。如本文中所使用，潤滑劑藉由減少相互接觸之表面之間的摩擦來起作用。

【0069】 在某些實施例中，玻尿酸之衍生物為玻尿酸之鹽、玻尿酸

與脂族、雜環或環脂族系列之醇的酯或玻尿酸之硫酸鹽化形式。

【0070】 玻尿酸衍生物包括(但不限於)玻尿酸鹽之鹽(諸如玻尿酸鈉)或玻尿酸與脂族、雜環或環脂族系列之醇的酯或玻尿酸之硫酸鹽化形式或包含玻尿酸之藥劑之組合。在無限制之情況下，適合之衍生物可為玻尿酸之鹽，諸如較佳地玻尿酸鈉。

【0071】 在如本文中所教示之調配物或方法之某些實施例中，玻尿酸或其衍生物包含以下、基本上由以下組成或由以下組成：具有0.2 MDa至4.5 MDa、較佳地0.5 MDa至1.5 MDa或0.5 MDa至1.2 MDa之分子量之纖維。

【0072】 術語「(相對)分子質量」及「分子量」可在本文中互換使用且係指分子之質量。

【0073】 在特定實施例中，玻尿酸或其衍生物可具有範圍介於約0.2 MDa至約8 MDa或更大，諸如範圍介於約0.2 MDa至約6 MDa或範圍介於約0.4 MDa至約6 MDa之分子質量。在其他特定實施例中，玻尿酸或其衍生物可具有範圍介於0.2 MDa至約4.5 MDa或範圍介於約0.4 MDa至約4.5 MDa之分子質量。在又其他特定實施例中，玻尿酸或其衍生物可具有範圍介於約0.2 MDa至約2.0 MDa，更特定言之範圍介於0.4 MDa至約1.5 MDa，甚至更特定言之範圍介於約0.5 MDa至約1.2 MDa之分子質量。在某些實施例中，玻尿酸或其衍生物可具有範圍介於約0.6 MDa至約1.0 MDa之分子質量。有利地，包含具有範圍介於約0.5 MDa至約1.2 MDa、較佳地約0.6 MDa至約1.0 MDa之分子質量之玻尿酸或其衍生物的冷凍乾燥醫藥調配物在復原時允許獲得均質調配物以用於注射。另外，經復原調配物具有令人滿意之黏度以供注射且在投藥之後，原位提供足夠之黏度。

【0074】 因此，另一態樣提供一種冷凍乾燥醫藥調配物，其包含冷凍乾燥血漿及玻尿酸或其衍生物，其中玻尿酸或其衍生物包含具有0.5 MDa至1.2 MDa之分子量之纖維，其中調配物在水溶液中復原時具有15分鐘或更短之復原時間。較佳地，玻尿酸或其衍生物包含具有0.6 MDa至1.0 MDa之分子量之纖維。此等冷凍乾燥醫藥調配物允許在復原之後獲得均質調配物以用於注射。

【0075】 較佳地，HA或其衍生物具有較低多分散性指數(polydispersity index；PDI)，其為聚合物群體之均一性之量測或(換言之)分子量於聚合物群體中之分佈，且如熟習此項技術者所已知，藉由聚合物之重量平均值與數目平均分子量的比率來計算。更特定言之，HA或其衍生物具有約1.50或更小，諸如約1.40或更小、約1.30或更小、約1.20或更小或1.10或更小之多分散性指數。

【0076】 在某些實施例中，使用單一聚合物形式之玻尿酸或其衍生物。在其他實施例中，不同長度之玻尿酸或其衍生物可以各種相對濃度用於較佳調配物中。在其他實施例中，玻尿酸之不同衍生物存在於調配物中。在某一實施例中，在製備醫藥調配物期間，對玻尿酸或其衍生物進行修飾。

【0077】 在某些實施例中，玻尿酸可與至少一種玻尿酸衍生物組合存在於醫藥調配物中。玻尿酸及衍生物之組合可包括但不限於玻尿酸及例如玻尿酸鹽、例如玻尿酸酯、例如脂族醇、例如玻尿酸之雜環或環脂族系列、例如玻尿酸之任何硫酸鹽化形式。在某些實施例中，超過兩種玻尿酸衍生物可存在於醫藥調配物中。

【0078】 進一步預期的係結合至任何玻尿酸細胞受體之玻尿酸衍生

物，該等玻尿酸細胞受體包括但決不限於CD44受體、HA介導之運動性受體(receptor for HA-mediated motility；RHAMM)及細胞間黏附分子-1(ICAM-1)。

【0079】 在某些實施例中，對應於一次投藥劑量之冷凍乾燥醫藥調配物包含1 mg至100 mg之玻尿酸或其衍生物。舉例而言，對應於一次投藥劑量之調配物可包含2 mg至90 mg或5至75 mg之玻尿酸或其衍生物，較佳地2 mg至50 mg之玻尿酸或其衍生物，更佳地5 mg至45 mg、5 mg至40 mg、5 mg至35 mg、5 mg至30 mg或5 mg至25 mg之玻尿酸或其衍生物。

【0080】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含約5.0重量%至約20.0重量%之玻尿酸或其衍生物。舉例而言，冷凍乾燥醫藥調配物包含約7.5重量%至約15.0重量%或約10.0重量%至約12.5重量%之玻尿酸或其衍生物。

【0081】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含至少一種額外葡糖胺聚糖，其中葡糖胺聚糖係選自由以下組成之群：玻尿酸及其衍生物、蛋白聚糖及其衍生物、硫酸軟骨素(chondroitin sulfate)、硫酸角質素、聚葡萄糖胺糖及其衍生物、甲殼素及其衍生物。在其他實施例中，超過一種額外葡糖胺聚糖可存在於調配物中。

【0082】 術語「硫酸軟骨素」係指由N-乙醯基半乳糖胺及葡糖醛酸構成之雙醣之聚合物，其中之每一者可以可變位置及數量進行硫酸化。硫酸軟骨素可選自軟骨素-4-硫酸鹽、軟骨素-6-硫酸鹽、軟骨素-2,6-硫酸鹽、軟骨素-4,6-硫酸鹽。

【0083】 如本文中所設想之冷凍乾燥調配物通常為淡白黃色餅狀物。如本文中所設想之冷凍乾燥調配物為無菌餅狀物。

【0084】如本文中所使用之「復原時間」係指將水溶液添加至冷凍乾燥調配物中(例如添加於冷凍乾燥調配物之上方、內部或下方)時與獲得均質之復原產物時之間的時間。復原較佳藉由將水溶液添加至冷凍乾燥調配物中，等待直至冷凍乾燥調配物進行水合且在其之後混合再水合調配物以獲得均質化復原產物來執行。可藉由輪動小瓶(例如在手之間或機械地)或藉由上下振盪小瓶(例如人工地或機械地)來執行混合。較佳地，當全部或基本上全部，諸如至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、至少99.5%或100%之冷凍乾燥調配物已吸收水溶液時，冷凍乾燥調配物經水合。

【0085】在某些實施例中，藉由將冷凍乾燥調配物與水溶液，諸如適用於注射之水混合來獲得復原。在其他實施例中，可藉由攪拌溶劑-冷凍乾燥調配物混合物，諸如藉由攪拌、振盪、傾析、翻轉、倒置或旋轉包含醫藥調配物之小瓶來促進復原。在其他實施例中，在將調配物投與至患者之前立即進行復原。在甚至更佳之實施例中，至少一種額外操作先於投藥。在又另一實施例中，在注射器中至少部分獲得復原。

【0086】在無限制之情況下，冷凍乾燥醫藥調配物之復原時間可為約15分鐘(min)或更短、約12 min或更短、約10 min或更短、約8 min或更短、約7 min或更短、約6 min或更短、約5 min或更短、約4.5 min或更短、約4 min或更短、約3.5 min或更短、約3 min或更短、約2.5 min或更短、約2 min或更短、約1.5 min或更短或約1 min或更短。復原時間在本文中被稱作將水溶液添加至冷凍乾燥調配物中之時刻與溶解整個冷凍乾燥產物之時刻之間的時間，如藉由用肉眼或阻抗量測評估來推斷。在其他實施例中，復原時間可藉由物理攪動包含醫藥調配物之小瓶來進一步改良。

【0087】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物之復原時間可為約2秒至約15分鐘、約10秒至約15分鐘、約30秒至約10分鐘、約1分鐘至約8分鐘、約2分鐘至約8分鐘、約4分鐘至約8分鐘或約4分鐘至約6分鐘。

【0088】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物具有介於0.04 g/cm³與0.08 g/cm³之間或介於0.05 g/cm³與0.07 g/cm³之間的密度，諸如0.062 g/cm³之密度。

【0089】 冷凍乾燥醫藥調配物之密度可藉由將冷凍乾燥醫藥調配物之重量除以冷凍乾燥醫藥調配物之體積來確定(例如計算)。可藉由自含有冷凍乾燥餅狀物之小瓶之重量減去空小瓶之重量來計算重量。可藉由量測冷凍乾燥餅狀物之尺寸且計算體積來測定體積。舉例而言，冷凍乾燥餅狀物可具有圓柱形形狀，且可藉由量測冷凍乾燥餅狀物之高度及直徑並且計算體積來測定體積。

【0090】 在實施例中，玻尿酸或其衍生物可具有範圍介於約0.5 MDa至約1.2 MDa之分子質量，且冷凍乾燥醫藥調配物可具有介於0.04 g/cm³與0.08 g/cm³之間的密度。在某些實施例中，玻尿酸或其衍生物可具有範圍介於約0.6 MDa至約1.0 MDa之分子質量，且冷凍乾燥醫藥調配物可具有介於0.04 g/cm³與0.08 g/cm³之間的密度。在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含約30重量%至約80重量%之血漿蛋白及約5.0重量%至約20.0重量%之玻尿酸或其衍生物，玻尿酸或其衍生物具有範圍介於約0.5 MDa至約1.2 MDa之分子質量，且冷凍乾燥醫藥調配物具有介於0.04 g/cm³與0.08 g/cm³之間的密度。在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含約30重量%至約80重量%之血漿蛋白及約5.0重量%至約20.0重量%之玻尿酸或其衍生物，玻尿酸或其衍生物具有範圍介於約0.6 MDa至約1.0

MDa之分子質量，且冷凍乾燥醫藥調配物具有介於 0.04 g/cm^3 與 0.08 g/cm^3 之間的密度。此等冷凍乾燥醫藥調配物具有令人滿意之復原時間，例如約15分鐘(min)或更短、約10 min或更短、約5 min或更短或約2 min或更短之復原時間，而同時具有復原後之黏度，此均使得容易藉由注射投藥且在投藥之後提供足夠之潤滑作用。

【0091】 因此，一態樣係關於一種冷凍乾燥醫藥調配物，其包含冷凍乾燥血漿及玻尿酸或其衍生物，其中玻尿酸或其衍生物具有範圍介於約0.5 MDa至約1.2 MDa之分子質量，尤其範圍介於約0.6 MDa至約1.0 MDa之分子質量，且調配物具有介於 0.04 g/cm^3 與 0.08 g/cm^3 之間的密度。在實施例中，調配物包含約30重量%至約80重量%之血漿蛋白及約5.0重量%至約20.0重量%之玻尿酸或其衍生物。

【0092】 在某些實施例中，在冷凍乾燥之後調配物之殘餘水分之百分比為約5.0%或更小、約4.0%或更小、約3.0%或更小、約2.5%或更小。

【0093】 在如本文中所設想來復原冷凍乾燥調配物後，經復原調配物為黃色、無菌、非熱解(non-pyrogenic)、黏彈性均質溶液。術語「非熱解」係指不存在調配物之發熱誘導或熱產生特性。「黏彈性(viscoelastic/viscoelasticity)」為當經受變形時展現黏稠及彈性特徵兩者之材料之特性。在某一實施例中，經復原醫藥調配物可進一步由約100 cP或更大、約200 cP或更大、約250 cP或更大，諸如介於200 cP與500 cP之間或250 cP與400 cP之間的黏度表徵。此類黏度有利地使得容易藉由注射投藥，同時在投藥之後提供足夠之潤滑作用。

【0094】 因此，另一態樣提供一種冷凍乾燥醫藥調配物，其包含冷凍乾燥血漿及玻尿酸或其衍生物，其中調配物在水溶液中復原時具有15分

鐘或更短之復原時間，且其中經復原醫藥調配物之特徵在於黏度在200 cP與500 cP之間；較佳地黏度在250 cP與400 cP之間。在復原之後，此等冷凍乾燥醫藥調配物有利地使得容易藉由注射投藥，同時在投藥之後提供足夠之潤滑作用。

【0095】 術語「黏度」係指在既定速率下流體對變形具有阻力之量測值。

【0096】 可由黏度計測定黏度。舉例而言，可根據供應商之方法，使用microVISC™黏度計(RheoSense，CA，USA)評估黏度。舉例而言，感測器筒(例如HB02)可置放於黏度計中。接著，樣品可裝載至另外安裝於黏度計上之拋棄式吸液管中。改進參數可為以下中之一或多者：剪切速率=111.6 s⁻¹；量測體積=30 μl；預充體積(Priming volume) =15 μl；暫停時間=5 s；且感測器之範圍=60至5000 cP。由於溫度為影響黏度之熟知參數，較佳地必須在25.0±0.1℃下執行各量測。在每次使用microVISC™之前，可量測參考油之黏度以評估設備之校準。

【0097】 量測晶片可含有由硼矽酸鹽玻璃構成之具有均勻橫截面積之矩形狹縫流動通道。樣品可以恆定流動速率經由流動通道注入，在該流動通道中安裝於基底內之多個壓力感測器監測入口至出口之壓降。壓降可能與邊界壁處之剪應力相關。剪切速率及剪應力可能與矩形狹縫之幾何形狀及允許黏度量測之流動速率直接相關。舉例而言，VROC®晶片可藉由量測液體流動穿過其矩形狹縫微流體通道時之壓降來評估黏度。黏度資料可導出至microVISC™控制2.0軟體中。

【0098】 在實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物可以約10毫升至約14毫升水溶液/公克調配物復原於水溶液中。在實施例中，冷凍乾燥醫藥調配

物可以約11毫升至約13毫升水溶液/公克調配物復原於水溶液中。舉例而言，冷凍乾燥醫藥調配物可以約12毫升水溶液/公克調配物復原於水溶液中。冷凍乾燥醫藥調配物之單位劑量(例如通常約190 mg至約230 mg)可通常復原於2.4 ml體積之水溶液中。在復原冷凍乾燥調配物之後，可測定經復原調配物之黏度。

【0099】在實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物當以約10毫升至約14毫升水溶液/公克調配物復原於水溶液中時，其特徵在於黏度在200 cP與500 cP之間；較佳地黏度在250 cP與400 cP之間。在實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物當以約11毫升至約13毫升水溶液/公克調配物復原於水溶液中時，其特徵在於黏度在200 cP與500 cP之間；較佳地黏度在250 cP與400 cP之間。在實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物當以約12毫升水溶液/公克調配物復原於水溶液中時，其特徵在於黏度在200 cP與500 cP之間；較佳地黏度在250 cP與400 cP之間。

【0100】在某些實施例中，醫藥調配物可由約200毫滲克分子(mOsm)/公斤或更大、約220 mOsm/kg或更大、約240 mOsm/kg或更大、約260 mOsm/kg或更大、約280 mOsm/kg或更大或約300 mOsm/kg或更大之滲透壓度(osmolality)表徵。

【0101】在某些實施例中，冷凍乾燥調配物進一步包含 α -2腎上腺素受體促效劑，較佳地其中 α -2腎上腺素受體促效劑為可樂定(clonidine)或其衍生物。

【0102】在特定實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物進一步包含 α -2腎上腺素受體促效劑，較佳地其中 α -2腎上腺素受體促效劑係選自由以下組成之群：可樂定及其衍生物。

【0103】術語「 α -2腎上腺素受體促效劑(alpha-2 adrenergic receptor agonist/ α -2 adrenergic receptor agonist)」係指介導腺苷醯環化酶活性抑制之藥劑。 α -2腎上腺素受體促效劑對於 α -2腎上腺素受體具有至少部分地選擇性。在某些實施例中， α -2腎上腺素受體可不為藥劑之唯一目標。在其他實施例中，醫藥調配物含有超過一種 α -2腎上腺素受體促效劑。在又其他實施例中，不同 α -2腎上腺素受體促效劑具有協同效應。在又其他實施例中， α -2腎上腺素受體促效劑為與任何天然 α -2腎上腺素受體配體相比對 α -2腎上腺素受體具有改良親和力之合成化合物。在某些實施例中， α -2腎上腺素受體促效劑與 α -2腎上腺素受體進行共價相互作用。在又其他實施例中， α -2腎上腺素受體促效劑實體上不與 α -2腎上腺素受體相互作用及/或藉由與天然 α -2腎上腺素受體配體相互作用及/或影響其細胞表現量而起作用。 α -2腎上腺素受體促效劑經由止痛及抗炎性效果來減少疼痛。如本文中所定義「止痛」係指疼痛殺死、疼痛減少或疼痛減輕特性。止痛組分或化合物用於達成止痛、減輕疼痛。

【0104】在某些實施例中， α -2腎上腺素受體促效劑可選自由以下組成之群：可樂定及其衍生物，包括2,6-二甲基可樂定、4-疊氮基可樂定、4-羧基可樂定-甲基3,5-二氯酪胺酸、4-羥基可樂定、4-碘代可樂定、烯丙尼定(alinidine)、阿拉可樂定(apraclonidine)、氯乙可樂定(chlorethylclonidine)、可樂定4-異硫氰酸酯、可樂定4-甲基異硫氰酸酯、可樂定受體、可樂定置換物質(clonidine-displacing substance)、羥基苯乙醯基胺基可樂定(hydroxyphenacetyl aminoclonidine)、N,N'-二甲基可樂定、對胺基可樂定及噻美尼定(tiamenidine)；咪唑啉類(imidazolidines)，包括咪唑啉、英普咪定(impromidine)、地托咪定

(detomidine)、美托咪啉(medetomidine)、右美托咪啉(dexmedetomidine)、左旋咪唑(levamisole)、洛沙坦(losartane)、洛菲西定(lofexidine)、咪康唑(miconazole)、蔡唑啉、硝噻唑唑(niridazole)、硝基咪唑(nitroimidazole)、昂丹司瓊(ondansetron)、羥甲唑啉(oxymetazoline)、酚妥拉明(phentolamine)、四咪唑、甲巯咪唑(thiamazole)、替紮尼定(tizanidine)、妥拉唑啉(tolazoline)、樟磺咪芬(trimetaphan)；咪唑類，包括4-(3-丁氧基-4-甲氧基苯甲基)咪唑啉-2-酮、尿刊酸(urocanic acid)、胺基-咪唑甲醯胺、安他唑啉(antazoline)、生物素(biotine)、雙(4-甲基-1-單哌嗪基硫羰基)二硫化物、甲亢平(carbimazole)、西咪替丁(cimetidine)、克黴唑(clotrimazole)、肌酐、達卡巴嗪(dacarbazine)、右美托咪啉、益康唑(econazole)、依諾昔酮(enoximone)、乙斯咪唑(ethymizol)、依託咪酯(etomidate)、法屈唑(fadrozole)、氟司必林(fluspirilène)、咪唑克生(idazoxan)、米伐西醇(mivazerol)；胍類，包括胍丁胺(agmatine)、倍他尼定(betanidine)、雙胍類(biguanides)、西咪替丁、肌酸、加貝酯(gabexate)、胍乙啶(guanethidine)、硫酸胍乙啶、胍氯芳(guanclofine)、胍法新(guanfacine)、胍、胍諾沙苳(guanoxabenz)、英普咪定、碘-3苯甲基胍、甲胍(methylguanidine)、米托胍脞(mitoguazone)、亞硝基胍類(nitrosoguanidines)、吡那地爾(pinacidil)、氯苯胍(robenidine)、磺胺胍(sulfaguanidine)、紮那米韋(zanamivir)； α -甲基諾爾福林(alpha-methylnorephrine)、氮卓克唑(azepexole)、5-溴-6-(2咪唑啉-2-基胺基)喹啉、反丁烯二酸福莫特羅(formoterol fumarate)、吲哚拉明(indoramin)、6-烯丙基-2-胺基-5,6,7,8-四氫4H-噻唑并[4,5-d]氮呋二鹽酸

鹽、麥角溴菸酯 (nicergoline)、利美尼定 (rilmenidine) 及賽拉嗪 (xylazine)。

【0105】在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物可含有可樂定。在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含可樂定及至少一種可樂定衍生物。在其他實施例中，可樂定可添加至調配物中或作為鹽酸可樂定存在於調配物中。

【0106】在又其他實施例中，可樂定作為包含以下之非限制性群中之一或多者存在於調配物中：氨咖敏(Arkamin)、阿魯克寧(Aruclonin)、阿特西納(Atensina)、卡他平(Catapin)、可樂寧(Catapres)、血壓得平(Catapresan)、卡他普桑(Catapressan)、降達(Chianda)、氯壓定(Chlofazoline)、氯非唑啉(Chlophazolin)、克尼德-歐非塔(Clond-Ophtal)、可樂定(Clonidin)、克尼地納(Clonidina)、克尼地納(Clonidinã)、可樂定、鹽酸可樂定(Clonidine hydrochloride)、可樂定鹽酸鹽(Clonidinhydrochlorid)、克尼地尼(Clonidini)、克尼地寧(Clonidinum)、克尼根(Clonigen)、克尼塔達(Clonistada)、克尼瑞特(Clonnirit)、莫克沙寧(Clophelinum)、迪沙瑞特(Dixarit)、杜拉隆(Duraclon)、艾多格魯(Edolglau)、哈米通(Haemiton)、海破定(Hypodine)、瑞泛壓化定(Hypolax)、艾破銳(Iporel)、艾搜格勞肯(Isoglaucon)、傑洛嘎(Jenloga)、卡普維(Kapvay)、克洛菲利洛(Klofelino)、科查寧(Kochaniin)、梅爾津(Melzin)、梅諾格蘭尼(Menograin)、諾莫定(Normopresan)、帕西芬(Paracefan)、平沙尼定(Pinsanidine)、潤瑞(Run Rui)及溫血壓(Winpress)。

【0107】在某些實施例中，對應於一次投藥劑量之冷凍乾燥醫藥調

配物可包含1 μg 至500 μg 之 α -2腎上腺素受體促效劑或25至400 μg 或50至250 μg 之 α -2腎上腺素受體促效劑。在某些實施例中，冷凍乾燥調配物可包含50 μg 至150 μg ，例如約60 μg 、約70 μg 、約80 μg 、約90 μg 、約100 μg 、約110 μg 或約120 μg 之 α -2腎上腺素受體促效劑。較佳地，對應於一次投藥劑量之調配物包含2 μg 至250 μg 之 α -2腎上腺素受體促效劑，更佳地5 μg 至125 μg 之 α -2腎上腺素受體促效劑。

【0108】 在某些實施例中，對應於一次投藥劑量之調配物可包含：

- 1 mg至100 mg之玻尿酸或其衍生物，較佳地2 mg至50 mg之玻尿酸或其衍生物，更佳地5 mg至40 mg之玻尿酸或其衍生物；及
- 視情況選用之1 μg 至500 μg 之 α -2腎上腺素受體促效劑，較佳地2 μg 至250 μg 之 α -2腎上腺素受體促效劑，更佳地5 μg 至125 μg 之 α -2腎上腺素受體促效劑。

【0109】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物可包含約0.01重量%至約0.1重量%之 α -2腎上腺素受體促效劑，諸如可樂定或其衍生物。舉例而言，冷凍乾燥醫藥調配物可包含約0.05重量%至約0.1重量%之 α -2腎上腺素受體促效劑，諸如可樂定或其衍生物。

【0110】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物進一步包含至少一種鹽。在某些實施例中，鹽為鈣鹽。在某些實施例中，鹽可為(二)氯化鈣(CaCl_2)。

【0111】 Ca^{2+} 可添加至本醫藥組合物中，例如以增強其原位凝固及/或凝膠化(例如,在發現或預期在投藥位點處所存在之 Ca^{2+} 濃度不足以單獨促進組合物之凝固/凝膠化時)或在投藥之前或之後活體外達成一定程度之凝固/凝膠化(例如，以改良注射容量及/或產物之完整性)。在此等實施例

中，通常可將 Ca^{2+} 以在約0.1與5 wt%之間、較佳在約0.5 wt%與約3.0 wt%之間、更佳在約0.5 wt%與2.0 wt%之間的濃度(以鈣相對於調配物之總重量之形式)添加於醫藥組合物中。

【0112】 Ca^{2+} 可經由向醫藥組合物中添加適含量之醫藥學上可接受鈣鹽，較佳地可溶性鈣鹽而適當地包括於醫藥組合物中。可與無機酸或有機酸形成此等 Ca^{2+} 鹽。此等鹽之實例包括(二)氯化鈣(CaCl_2)、甘油磷酸鈣、磷酸鈣、碳酸氫鈣、檸檬酸鈣、硫酸鈣、乳酸鈣、葡糖酸鈣、抗壞血酸鈣及其混合物。尤其較佳為 CaCl_2 ，其顯示有利之良好溶解度且在可注射溶液中耐受性很好。

【0113】 本文中所預期之對應於一次投藥劑量之醫藥調配物可包括介於約1 mg與約10 mg之間的 CaCl_2 ，較佳地約2 mg至8 mg之間、較佳地約3 mg與約7 mg之間的 CaCl_2 。在某些實施例中，意欲用於關節內或關節周圍投藥之產物可包括介於約1 mg與約10 mg之間的 CaCl_2 ，較佳介於約2 mg與約7 mg之間、更佳地約5 mg的 CaCl_2 。在某些其他實施例中，意欲用於骨內或骨周圍投藥之產物可包括介於約1 mg與約10 mg之間的 CaCl_2 ，較佳介於約2 mg與約7 mg之間、更佳地約5 mg的 CaCl_2 。

【0114】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物可包含約1.5重量%至約3.0重量%之鹽，特定言之鈣鹽，諸如氯化鈣。舉例而言，冷凍乾燥醫藥調配物可包含約2.0重量%至約3.0重量%之鹽，特定言之鈣鹽，諸如氯化鈣。

【0115】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物進一步包含至少一種緩衝溶液，其包含弱酸及其共軛鹼或反之亦然(亦即，弱鹼及其共軛酸)以緩衝組合物之pH。

【0116】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物進一步包含至少一種緩衝組分，特定言之經設計以安全用於醫藥應用中之緩衝組分。在某些實施例中，緩衝液可為酸性緩衝液。在替代實施例中，緩衝液可為鹼性緩衝液。在又其他替代實施例，緩衝液可為磷酸鹽緩衝液，諸如磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。

【0117】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物可包含約0.1重量%至約2.0重量%之緩衝組分。舉例而言，冷凍乾燥醫藥調配物可包含約0.5重量%至約1.0重量%之緩衝組分。

【0118】 在某些實施例中，緩衝組分可選自包含以下之實例之非限制性群：4-(環己胺基)-1-丁磺酸(CABS)、N-環己基-3-胺基丙烷磺酸(CAPS)、2-胺基-2-甲基-1-丙醇(AMP)、N-環己基-2-羥基-3-胺基丙烷磺酸(CAPSO)、N-環己基-2-胺基乙烷磺酸(CHES)、N-(1,1-二甲基-2-羥乙基)-3-胺基-2-羥基丙磺酸(AMPSO)、N-參(羥甲基)甲基-4-胺基丁烷磺酸(TABS)、2-胺基-2-甲基-1,3-丙二醇(AMPD)、[參(羥甲基)甲胺基]丙磺酸(TAPS)、N-(2-羥乙基)哌嗪-N'-(4-丁磺酸) (HEPBS)、2-(雙(2-羥乙基)胺基)乙酸(二甘胺酸(bicine))、N-(2-羥基-1,1-雙(羥甲基)乙基)甘胺酸(麥黃酮(tricine))、3-[4-(2-羥乙基)哌嗪-1-基]丙烷-1-磺酸(EPPS)、三乙醇胺(TEA)、哌嗪-1,4-雙(2-羥基丙磺酸)二水合物(POPSO)、N-(羥乙基)哌嗪-N'-2-羥基丙磺酸(HEPPSO)、參(羥甲基)胺基甲烷(三羥甲基胺基甲烷(trizma))、3-[[1,3-二羥基-2-(羥甲基)丙-2-基]胺基]-2-羥基丙-1-磺酸(TAPSO)、4-(N-嗎啉基)丁磺酸(MOBS)、3-雙(2-羥乙基)胺基-2-羥基丙-1-磺酸(DIPSO)、4-(2-羥乙基)-1-哌嗪乙磺酸(HEPES)、2-[[1,3-二羥基-2-(羥甲基)丙-2-基]胺基]乙磺酸(TES)、3-(N-嗎啉基)丙磺酸(MOPS)、2-

[雙(2-羥乙基)胺基]乙磺酸(BES)、雙參丙烷(bis-tris propane)(BTP)、3-(N-嗎啉基)羥基丙磺酸(MOPSO)、哌嗪-N,N'-雙(2-乙磺酸)(PIPES)、N-(2-乙醯胺基)-2-胺基乙烷磺酸(ACES)、2-[(2-胺基-2-側氧基乙基)-(羧甲基)胺基]乙酸(ADA)、2-[雙(2-羥乙基)胺基]-2-(羥甲基)丙烷-1,3-二醇(Bis-Tris)、2-(N-嗎啉基)乙磺酸(MES)。此等緩衝溶液之組合物及其製備方法描述於此項技術中且因此為熟習此項技術者所已知。

【0119】 在某些實施例中，緩衝組分經酸性組分，諸如鹽酸(HCl)置換。

【0120】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物進一步包含至少一種酸性組分。

【0121】 在某些實施例中，酸性組分為鹽酸(HCl)。

【0122】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物可包含約0.1重量%至約2.0重量%之酸性組分，諸如HCl。舉例而言，冷凍乾燥醫藥調配物可包含約0.5重量%至約1.0重量%之酸性組分，諸如HCl。

【0123】 在實施例中，調配物可進一步包含至少一種鹽，較佳地其中鹽為鈣鹽，更佳地其中鹽為氯化鈣；及/或可進一步包含至少一種緩衝組分或酸性組分，較佳地其中酸性組分為鹽酸。

【0124】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含S/D血漿蛋白及玻尿酸。在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含S/D血漿蛋白、玻尿酸及可樂定或其衍生物。在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含S/D血漿蛋白、玻尿酸及視情況選用之可樂定或其衍生物、(二)氯化鈣及/或鹽酸。

【0125】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含S/D血漿蛋

白、玻尿酸、可樂定或其衍生物、(二)氯化鈣及鹽酸。

【0126】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含約30重量%至約80重量%之血漿蛋白或其衍生物；及約5.0重量%至約20.0重量%之玻尿酸或其衍生物。在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含約30重量%至約80重量%之血漿蛋白或其衍生物；約5.0重量%至約20.0重量%之玻尿酸或其衍生物；及約0.01重量%至約0.1重量%之 α -2腎上腺素受體促效劑。

【0127】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含約30重量%至約80重量%之血漿蛋白或其衍生物；及約5.0重量%至約20.0重量%之玻尿酸或其衍生物；及視情況選用之約0.01重量%至約0.1重量%的 α -2腎上腺素受體促效劑；約1.5重量%至約3.0重量%之鹽；及/或約0.1重量%至約2.0重量%之緩衝組分或酸性組分。在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含：約40重量%至約75重量%之血漿蛋白或其衍生物；及約5.0重量%至約20.0重量%之玻尿酸或其衍生物；及視情況選用之約0.01重量%至約0.1重量%的 α -2腎上腺素受體促效劑；約1.5重量%至約3.0重量%之鹽；及/或約0.1重量%至約2.0重量%之緩衝組分或酸性組分。在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含約40重量%至約75重量%之血漿蛋白或其衍生物；及約10.0重量%至約12.5重量%之玻尿酸或其衍生物；及視情況選用之約0.05重量%至約0.1重量%的 α -2腎上腺素受體促效劑；約2.0重量%至約3.0重量%之鹽；及/或約0.5重量%至約1.0重量%之緩衝組分或酸性組分。在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含約50重量%至約70重量%之血漿蛋白或其衍生物；及約10.0重量%至約12.5重量%之玻尿酸或其衍生物；及視情況選用之約0.05重量%至約0.1重量%的 α -2腎上腺素受體促效劑；約2.0重量%至約3.0重量%之鹽；及/或約0.5重量%至約1.0重量%

之緩衝組分或酸性組分。

【0128】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含約30重量%至約80重量%之血漿蛋白或其衍生物；約5.0重量%至約20.0重量%之玻尿酸或其衍生物；約0.01重量%至約0.1重量%的 α -2腎上腺素受體促效劑；約1.5重量%至約3.0重量%之鹽；及約0.1重量%至約2.0重量%之緩衝組分或酸性組分。

【0129】 在特定實施例中，根據本發明之冷凍乾燥調配物包含30 wt%至約80 wt%之間的血漿蛋白或其衍生物、介於5.0與20.0 wt%之間的玻尿酸或其衍生物及較佳介於0.01與0.1 wt%之間的如本文中所設想之 α -2腎上腺素受體促效劑，較佳地可樂定或可樂定衍生物；及/或介於1.0與5.0 wt%之間的鹽，較佳地鈣鹽(如本文中所設想)，更佳地氯化鈣，其中wt%相對於冷凍乾燥調配物之總重量。更特定言之，冷凍乾燥調配物包含30 wt%至70 wt%之間的血漿蛋白或其衍生物、介於5.0與15.0 wt%之間的玻尿酸或其衍生物及較佳介於0.05與0.1 wt%之間的如本文中所設想之 α -2腎上腺素受體促效劑及/或介於1.5與3.0 wt%之間的鹽，較佳地鈣鹽(如本文中所設想)，其中wt%相對於冷凍乾燥調配物之總重量。

【0130】 在其他實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物進一步包含一或多種其他醫藥活性成分或可與一或多種其他醫藥活性成分共投與。

【0131】 如本文中所提及之「醫藥活性成分」或「API」根據世界衛生組織(World Health organization)對術語之定義解釋為：用於成品藥(finished pharmaceutical product；FPP)中之物質，其意欲供給藥理學活性或另外在疾病之診斷、治癒、緩解、治療或預防中具有直接效果或對恢復、校正或修飾人類之生理功能具有直接效果。

【0132】在某些實施例中，在冷凍乾燥之前，將至少一種活性醫藥成分添加至調配物中。在此情況下，各活性成分之釋放可相同或不同，諸如在兩種活性成分組合之情況下，第一種活性成分以立即釋放形式呈現且第二種活性成分以控制釋放形式呈現。類似地，對於相同活性成分，亦可獲得立即釋放及控制釋放形式之組合，以便提供快速且持續之效果。在其他實施例中，在復原期間添加至少一種活性醫藥成分。在又其他實施例中，在向患者投藥之前，立即添加額外的活性醫藥調配物。在某些實施例中，醫藥調配物包含至少兩種額外的醫藥活性成分。在其他實施例中，在製造醫藥調配物期間，在不同時間點添加不同額外醫藥活性成分。

【0133】在其他實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物進一步包含一或多種其他醫藥活性成分或可與一或多種其他醫藥活性成分共投與，其中一或多種醫藥活性成分各自獨立地選自由以下組成之群：細胞組合物、醫藥活性化合物、蛋白質、肽及有機小分子。

【0134】本發明之適用性不限於任何醫藥活性成分或醫藥活性成分之類別。醫藥活性成分本身可為藥理學活性的或可在體內藉由化學或酶促方法轉化成藥理活性物質，亦即，醫藥活性成分可為前藥。本醫藥調配物可能尤其適用於穩定性不佳之醫藥活性成分。穩定性不佳之醫藥活性成分之說明性非限制性實例包括肽及蛋白質(諸如生長因子、肽樣活性成分、抗體及疫苗)、小干擾RNA (siRNA)、DNA、激素等。

【0135】如本文中所使用之術語「生長因子」係指單獨或在藉由其他物質調節時影響各種細胞類型之增殖、生長、分化、存活及/或遷移且可影響生物體之發育、形態及功能變化的生物活性物質。生長因子可通常藉由回應於生長因子作為配位體結合至存在於細胞中的受體(例如表面或

胞內受體)而起作用。本文中之生長因子可尤其為包含一或多個多肽鏈之蛋白質實體。藉助於實例而非限制，術語「生長因子」涵蓋以下之成員：纖維母細胞生長因子(FGF)家族、骨形態生成蛋白(BMP)家族、血小板衍生之生長因子(PDGF)家族、轉型生長因子 β (TGF β)家族、神經生長因子(NGF)家族、表皮生長因子(EGF)家族、類胰島素生長因子(IGF)家族、生長分化因子(GDF)家族、肝細胞生長因子(HGF)家族、造血生長因子(HeGF)、血小板衍生之內皮細胞生長因子(PD-ECGF)、血管生成素、血管內皮生長因子(VEGF)家族、糖皮質激素及其類似者。

【0136】 術語「醫藥活性成分」亦涵蓋標題化合物或物質之任何藥理活性鹽、酯、N-氧化物或前藥。

【0137】 特定言之，冷凍乾燥醫藥調配物可進一步包含一或多種具有成骨性或軟骨形成、骨或軟骨誘導及/或骨或軟骨傳導特性之物質。在較佳實施例中，此等物質可選自包含以下或由以下組成之群：纖維母細胞生長因子(FGF)，較佳地FGF-2；轉型生長因子 β (TGF β)，較佳地TGF β -1；血小板衍生生長因子(PDGF)；介白素-8 (IL-8)；骨形態生成蛋白(BMP)，例如BMP-2、BMP-4、BMP-6及BMP-7中之任何一或多者；甲狀旁腺激素(parathyroid hormone；PTH)；甲狀旁腺激素相關蛋白(parathyroid hormone-related protein；PTHrp)；VEGF及幹細胞因子(SCF)。任一個此類物質可以在投與個體時足以達成其所需成骨性、骨誘導性及/或骨傳導性作用，同時儘可能避免非所要副作用之濃度包括於醫藥組合物中。

【0138】 通常但不限制，任一種此類物質可以介於0.01 ng/mg與1 mg/mg之間，例如0.1 ng/mg至100 μ g/mg，例如1 ng/mg至50 μ g/mg的濃

度包含於醫藥調配物中。

【0139】術語「骨誘導性(osteo-inductive)」係指組分(諸如肽生長因子)募集諸如幹細胞、MSC之未成熟細胞且刺激彼等細胞分化成前骨母細胞(pre-osteoblast)及成熟骨母細胞，藉此形成骨組織之能力。本醫藥組合物可進一步包含具有骨誘導特性之組分，諸如骨誘導性蛋白質或肽，例如骨形態生成蛋白，諸如BMP-2、BMP-7或BMP-4；水凝膠或生物聚合物，諸如玻尿酸或其衍生物、膠原蛋白、血纖維蛋白原、黏骨素或骨鈣化素。較佳地，醫藥組合物可進一步包含玻尿酸或其衍生物、膠原蛋白或血纖維蛋白原。

【0140】術語「骨傳導性(osteo-conductive)」係指組分充當骨架之能力，在該骨架上骨細胞可附接、遷移、生長且產生新骨。醫藥組合物可進一步包含具有骨傳導特性之組分，例如骨傳導性骨架或基質或表面，諸如(但不限於)磷酸三鈣、羥基磷灰石、羥基磷灰石/磷酸三鈣粒子(HA/TCP)之組合、明膠、聚乳酸、聚乳酸乙醇酸(poly-lactic glycolic acid)、玻尿酸、聚葡萄糖胺糖、聚-L-離胺酸或膠原蛋白。

【0141】根據本發明之醫藥調配物可進一步包括以下或與以下共投與：互補生物活性因子或骨誘導性蛋白質，諸如骨形態生成蛋白，諸如BMP-2、BMP-7或BMP-4，或任何其他生長因子。其他潛在伴隨組分包括適合於輔助骨再生之鈣或磷酸鹽之無機源(WO 00/07639)。若需要，則可在載劑基質或材料上投與細胞製劑以提供改良之組織再生。舉例而言，材料可為水凝膠或生物聚合物，諸如明膠、膠原蛋白、玻尿酸或其衍生物、黏骨素、血纖維蛋白原或骨鈣化素。可根據標準技術合成生物材料(例如，Mikos等人，Biomaterials 14:323, 1993；Mikos等人，Polymer

35:1068, 1994 ; Cook等人, J. Biomed. Mater. Res. 35:513, 1997)。

【0142】 通常，冷凍乾燥醫藥調配物在投藥之前與至少一種水溶液混合，較佳地其中水溶液為注射用水。

【0143】 如本文中所定義之「注射用水(Water for injection/aqua ad iniectabilia/aqua ad injectionem/WFI/aqua ad ini.)」係指適合於向個人注射之不含任何顯著污染之水。如本文中所定義，水視為無菌的及/或添加其他物質以使得溶液大致等滲。在某些實施例中，水溶液可為生理鹽水或等滲鹽水溶液。

【0144】 鹽水為氯化鈉於水中之混合物，且在藥物中具有熟習此項技術者已知之許多用途。常用鹽水溶液含有約9公克無菌鹽/公升溶液。在某些實施例中，每公升之鹽量可不同。

【0145】 在某些實施例中，在與冷凍乾燥醫藥調配物混合之前，將額外活性醫藥成分添加至水溶液中。在其他實施例中，水溶液含有至少一種藥用賦形劑。在其他實施例中，水溶液可具有約10℃至約37℃之溫度。

【0146】 在某些實施例中，用於復原冷凍乾燥醫藥調配物之水溶液可包含生物材料。藉助於指導而非限制，此生物材料可為細胞組合物，其可包含間質幹細胞(mesenchymal stem cell ; MSC)、骨祖細胞、骨母細胞(osteoblastic cell)、骨細胞、軟骨母細胞(chondroblastic cell)及/或軟骨細胞。因此，醫藥調配物允許遞送此等細胞組合物。本醫藥調配物之此黏稠品質可確保經遞送細胞之局部遞送及適合支援環境。

【0147】 如本文中所使用，術語「間質幹細胞」或「MSC」係指能夠產生具有間質譜系，通常具有兩種或更多種間質譜系，例如骨細胞

(骨)、軟骨細胞(軟骨)、肌細胞(肌肉)、腱細胞(肌腱)、纖維母細胞(結締組織)、脂肪細胞(脂肪)及基質生成(stromogenic) (骨髓基質)譜系的細胞之成體中胚層衍生之幹細胞。可自例如骨髓、小樑骨、血液、臍帶、胎盤、胎兒卵黃囊、皮膚(真皮) (特定言之胎兒及青年皮膚)、骨膜及脂肪組織分離MSC。人類MSC、其分離、活體外擴張及分化已描述於例如美國專利第5,486,359號；美國專利第5,811,094號；美國專利第5,736,396號；美國專利第5,837,539號；或美國專利第5,827,740號中。描述於此項技術中且藉由此項技術中描述之任何方法分離的任何MSC可適用於本醫藥調配物。

【0148】 術語MSC亦涵蓋MSC之子代，例如藉由自動物或人類個體之生物樣品獲得之MSC之活體外或離體增殖(繁殖)而獲得的子代。

【0149】 較佳之MSC具有產生至少具有成骨性(骨)譜系之細胞，諸如(例如)骨祖細胞及/或前骨母細胞及/或骨母細胞及/或骨細胞等或至少具有軟骨形成(軟骨)譜系之細胞，諸如(例如)軟骨形成細胞及/或軟骨母細胞及/或軟骨細胞等的潛能。

【0150】 術語「幹細胞」通常係指不特定或相對較不特定且增殖勝任細胞，其能夠自我更新，亦即可在無分化之情況下增殖，且其或其子代可產生至少一種相對較特定之細胞類型。術語涵蓋能夠實質上無限自我更新之幹細胞，亦即其中幹細胞或其至少部分之子代實質上保持不特定或相對較不特定表型、分化潛能及母體幹細胞之增殖能力；以及顯示有限自我更新之幹細胞，亦即其中子代或其部分用於進一步增殖及/或分化之能力與母體細胞相比明顯降低。藉助於實例而非限制，幹細胞可產生後代，該等後代可沿一或多種譜系分化以產生相對愈來愈多的特定細胞(其中此等

後代及/或相對愈來愈多的特定細胞自身可為如本文中所定義之幹細胞)，或甚至產生可為有絲分裂後的端分化細胞，亦即完全特定細胞。

【0151】 如本文中所使用之術語「成體幹細胞(adult stem cell)」係指存在於處於胎兒階段或在出生後(諸如在達至成年之後)之生物體中或自其獲得(諸如自其分離)之幹細胞。

【0152】 如本文中所使用，「骨祖細胞」可尤其包含早期及晚期骨祖細胞。「骨母細胞」可尤其涵蓋前骨母細胞、骨母細胞及骨細胞，且術語可更佳地表示前骨母細胞及骨母細胞。所有此等術語本身為熟知的且如本文中所使用，通常可指具有成骨表型並且可有助於或能夠發育為可有助於形成骨材料或骨基質之細胞的細胞。

【0153】 藉助於進一步指導而非限制，骨祖細胞及骨母細胞以及包含骨祖細胞及/或骨母細胞之細胞群體可顯示以下特徵：

a)細胞包含Runx2之表現，該Runx2為一種調節骨母細胞分化及許多細胞外基質蛋白基因在骨母細胞分化期間之表現的多功能性轉錄因子；

b)細胞包含以下中之至少一者之表現：鹼性磷酸酶(ALP)，更特定言之骨-肝-腎臟類型之ALP；且更佳地，亦包含一或多種額外骨標記物(諸如骨鈣化素(OCN)、原膠原1型胺基端前肽(P1NP)、黏骨素(ON)、骨橋蛋白(OP)及/或骨唾液蛋白(BSP))及/或一或多個額外骨基質蛋白(諸如核心蛋白聚醣及/或骨保護素(OPG))之表現；

c)細胞實質上不表現CD45 (例如，少於約10%、較佳地少於約5%、較佳地少於約2%之細胞可表現CD45)；

d)細胞展示礦化外部環境或合成含鈣胞外基質之能力的證據(例如在暴露於成骨性培養基時；參見Jaiswal等人，J Cell Biochem, 1997, 第64

卷, 295-312)。細胞內部之鈣積聚及至基質蛋白中之沈積可習知地例如藉由以下來量測：在 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 中培養，洗滌及再培養，且隨後測定細胞內部存在的或沈積至胞外基質中的任何放射性(US 5,972,703)或使用基於茜素紅(Alizarin red)之礦化分析(參見例如 Gregory 等人，Analytical Biochemistry, 2004, 第329卷, 77-84)；

e)細胞實質上未朝向脂肪細胞譜系之細胞(例如脂肪細胞)或軟骨細胞譜系之細胞(例如軟骨細胞)分化。朝向此類細胞譜系之分化的缺失可使用此項技術中建立之標準分化誘導條件(例如參見Pittenger等人，Science, 1999, 第284卷, 143-7)及分析方法(例如當誘導時，脂肪細胞通常用油紅色O染色，從而展示脂質積聚；軟骨細胞通常用艾爾遜藍(alcian blue)或番紅O染色)來測試。實質上缺乏脂肪生成及/或軟骨形成分化之傾向可通常意謂當應用於各別測試時，小於20%、或小於10%、或小於5%、或小於1%之所測試細胞將展示脂肪生成或軟骨形成分化之跡象。

【0154】 細胞可進一步包含一或多種細胞募集因子，諸如IL6及/或VEGF之表現。

【0155】 如本文中所使用，「軟骨母細胞」可尤其包含軟骨母細胞，亦即，在胞外基質之分泌中活躍之幼小(未成熟(not matured/immature))軟骨細胞。軟骨母細胞被認為藉由自間質幹細胞分化而產生。更特定言之，術語「軟骨細胞」係指用於維持軟骨基質所必需之成熟軟骨細胞。此等術語本身為熟知的且如本文中所使用，通常可指具有軟骨形成表型並且可有助於或能夠發育為可有助於形成軟骨或軟骨基質之細胞的細胞。

【0156】 其中認為細胞對特定標記物呈陽性(或表現特定標記物或包

含特定標記物之表現)，此意謂與適合之對照相比，當進行適當量測時，熟習此項技術者將推斷出彼標記物之相異信號(例如可藉由逆轉錄聚合酶鏈反應偵測或藉由其偵測的抗體)的存在或證據。當方法允許定量評定標記物時，陽性細胞可平均產生與對照顯著不同之信號，例如(但不限於)比由對照細胞產生之此信號高至少1.5倍，例如高至少2倍、至少4倍、至少10倍、至少20倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍或甚至更高。

【0157】 上述細胞特異性標記物之表現可使用此項技術中已知之任何適合免疫技術(諸如免疫細胞化學或親和吸附、西方墨點分析、FACS、ELISA等)或藉由酶活性(例如對於ALP)之任何適合生物化學分析或藉由量測標記物mRNA數量之任何適合技術(例如諾瑟雜交(Northern blot)、半定量或定量RT-PCR等)來偵測。本發明中所列之標記物之序列資料為已知的且可自公開資料庫，諸如GenBank獲得(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)。

【0158】 細胞組合物之細胞可為動物細胞，較佳為溫血動物細胞，更佳為哺乳動物細胞(諸如人類細胞或非人類哺乳動物細胞)且最佳為人類細胞。在某些實施例中，醫藥調配物作為一部分提供於組成部分之套組中。組成部分之套組可包含如本發明之任何實施例中所定義之冷凍乾燥醫藥調配物，該冷凍乾燥醫藥調配物含於一或多個容器或儲存小瓶中(尤其在各小瓶對應於一次治療劑量之情況下)；包含水溶液之注射器。較佳地，組成部分之套組進一步包含至少一個針。組成部分之套組可含有如本文中所描述之如任何實施例中所定義之醫藥調配物。

【0159】 在某些實施例中，可根據含於儲存小瓶中之冷凍乾燥醫藥調配物之量調整注射器及/或針之量。在某些實施例中，套組可額外包含消毒劑及/或抗炎性組分。抗炎性組分可選自包含以下之群：治療流體、

噴霧劑、洗劑、乳膏、軟膏、凝膠、膠狀物、繃帶、真皮貼片、膏藥。已在整個目前技術中描述抗炎性組分。在其他實施例中，套組可包含復原冷凍乾燥調配物之說明書及/或投藥之說明書。在又另一實施例中，冷凍乾燥調配物含於雙室注射器中且於注射器中完全復原。在另一實施例中，冷凍乾燥調配物含於多室注射器，諸如包含一個隔室中之冷凍乾燥醫藥組合物及第二隔室中之水溶液的雙注射器中。

【0160】 在又另一實施例中，組成部分之套組可包含多於一個小瓶。在某一實施例中，套組包含具有不同冷凍乾燥醫藥調配物之小瓶，其中玻尿酸或其衍生物及/或血漿蛋白或其衍生物在不同調配物之間有所不同。在其他實施例中，小瓶的不同之處在於冷凍乾燥醫藥調配物包含不同的 α -2腎上腺素受體促效劑及/或鹽及/或緩衝組分或酸性組分。在某些實施例中，套組包含允許測試復原程度之額外組分。在又另一實施例中，套組包含至少一個繃帶、真皮貼片或膏藥。

【0161】 另一態樣係關於一種用於製備如本文中所教示之冷凍乾燥醫藥調配物之方法，其包含以下步驟：

(a) 將血漿蛋白或其衍生物、玻尿酸或其衍生物及水溶液混合，藉此獲得主體混合物，該主體混合物具有濃度為20 mg/ml至50 mg/ml之血漿蛋白或其衍生物及濃度為4 mg/ml至8 mg/ml之玻尿酸或其衍生物；

(b) 藉由蒸汽滅菌或過濾滅菌將主體混合物滅菌，藉此獲得無菌混合物；及

(c) 使無菌混合物冷凍乾燥，藉此獲得冷凍乾燥醫藥調配物。

【0162】 較佳地，一態樣提供一種用於製備如本文中所定義之冷凍乾燥醫藥調配物之方法，其包含以下步驟：

(a) 將血漿(諸如S/D血漿)及玻尿酸或其衍生物混合，藉此獲得主體混合物，該主體混合物具有濃度為20 mg/ml至50 mg/ml之血漿蛋白及濃度為4 mg/ml至8 mg/ml之玻尿酸或其衍生物；

(b) 藉由蒸汽滅菌或過濾滅菌將主體混合物滅菌，藉此獲得無菌混合物；及

(c) 使無菌混合物冷凍乾燥，藉此獲得冷凍乾燥醫藥調配物。

【0163】 在另一態樣中，本發明提供一種用於製備冷凍乾燥醫藥調配物之方法(process/method)，其包含以下步驟

(a) 將血漿蛋白或其衍生物(較佳地S/D血漿蛋白)、玻尿酸或其衍生物及水溶液混合，藉此獲得主體混合物；

(b) 將主體混合物滅菌，藉此獲得無菌混合物；及

(c) 使無菌混合物冷凍乾燥，藉此獲得冷凍乾燥醫藥調配物。

【0164】 因此，一態樣提供一種用於製備冷凍乾燥醫藥調配物之方法，其包含以下步驟：

(a) 將血漿(較佳地S/D血漿)及玻尿酸或其衍生物混合，藉此獲得主體混合物；

(b) 將主體混合物滅菌，藉此獲得無菌混合物；及

(c) 使無菌混合物冷凍乾燥，藉此獲得冷凍乾燥醫藥調配物。

【0165】 此外，一態樣提供一種用於製備冷凍乾燥醫藥調配物之方法，其包含以下步驟：

(a) 將血漿(較佳地S/D血漿)及玻尿酸或其衍生物混合，藉此獲得主體混合物；

(b) 將主體混合物滅菌，藉此獲得無菌混合物；及

(c) 使無菌混合物冷凍乾燥，藉此獲得冷凍乾燥醫藥調配物；

其中步驟(a)包含以下步驟：(a1)將玻尿酸或衍生物溶解於水溶液中，藉此獲得第一溶液；(a2)製備包含血漿及視情況選用之 α -2腎上腺素受體促效劑之第二溶液；及(a3)將第一溶液及第二溶液混合以獲得主體混合物。

【0166】 在實施例中，主體混合物具有濃度為20 mg/ml至50 mg/ml之血漿蛋白及濃度為4 mg/ml至8 mg/ml之玻尿酸或其衍生物。

【0167】 玻尿酸或其衍生物之混合通常藉由將玻尿酸及/或其衍生物與水溶液攪拌、振盪、傾析、翻轉、倒置、攪動或旋轉來獲得。在實施例中，第一溶液可包含約1.0至30 mg/ml玻尿酸或其衍生物，較佳地約2.0至20 mg/ml、更佳地約4.0至16.0 mg/ml玻尿酸或其衍生物，諸如約8.0至12.0 mg/ml玻尿酸或其衍生物。主體混合物尤其包含約1.0至15 mg/ml玻尿酸或其衍生物，較佳地約2.0至10 mg/ml、更佳地約4.0至8.0 mg/ml玻尿酸或其衍生物。

【0168】 在某些實施例中，血漿蛋白，較佳地S/D血漿蛋白以S/D血漿形式提供。較佳地，主體混合物包含醫藥調配物中約70重量%至約99.9重量%之S/D血漿，較佳約75重量%至約99重量%或較佳約80重量%至約97重量%之S/D血漿。較佳地，第二溶液包含約70重量%至約100重量%之血漿蛋白(諸如S/D血漿蛋白)，較佳約75重量%至約99重量%或較佳約80重量%至約97重量%之血漿蛋白(諸如S/D血漿蛋白)。主體混合物尤其包含介於20 mg/ml與50 mg/ml之間的血漿蛋白或血漿蛋白衍生物。

【0169】 在實施例中，第二溶液可包含約20% (v/v)至約100% (v/v)之血漿，諸如S/D血漿。舉例而言，第二溶液可包含約40% (v/v)至約99%

(v/v)、約50% (v/v)至約98% (v/v)、約60% (v/v)至約97% (v/v)、約70% (v/v)至約96% (v/v)或約80% (v/v)至約95% (v/v)之血漿，諸如S/D血漿。

【0170】 在實施例中，主體混合物可包含至多50% (v/v)之血漿，諸如S/D血漿。在實施例中，主體混合物可包含約10% (v/v)至約50% (v/v)之血漿，諸如S/D血漿。舉例而言，主體混合物可包含約20% (v/v)至約49% (v/v)、約25% (v/v)至約48% (v/v)、約30% (v/v)至約47% (v/v)、約35% (v/v)至約46% (v/v)或約40% (v/v)至約45% (v/v)之血漿，諸如S/D血漿。

【0171】 在某些實施例中，主體混合物進一步包含以下中之一或多者：

- 如本文中所描述之 α -2腎上腺素受體促效劑，較佳地可樂定或其衍生物；
- 鹽，較佳地鈣鹽，諸如二氯化鈣；及/或
- 緩衝組分或酸性組分，較佳地HCl。

【0172】 因此，在某些實施例中，步驟(a)進一步包含以下步驟：將 α -2腎上腺素受體促效劑(較佳地可樂定)及/或鹽(較佳地鈣鹽)及/或緩衝組分或酸性組分(較佳地HCl)混合，藉此獲得主體混合物，其中 α -2腎上腺素受體促效劑，較佳地如本文中所設想之可樂定或可樂定衍生物的濃度在20 $\mu\text{g/ml}$ 與35 $\mu\text{g/ml}$ 之間且/或其中鹽，較佳地鈣鹽，更佳地二氯化鈣之濃度在0.5 mg/ml與1.5 mg/ml之間。

【0173】 在某些實施例中，步驟(a)可進一步包含將 α -2腎上腺素受體促效劑、鹽及/或緩衝組分或酸性組分混合，藉此獲得主體混合物，該主體混合物具有濃度為20 $\mu\text{g/ml}$ 至35 $\mu\text{g/ml}$ 之 α -2腎上腺素受體促效劑、

濃度為0.5 mg/ml至1.5 mg/ml之鹽及/或濃度為0.05 mg/ml至3.0 mg/ml之緩衝組分或酸性組分。

【0174】 在某些實施例中，主體混合物進一步包含一或多種其他組分，包括(但不限於)醫藥賦形劑、血清及/或其他血液組分；選自包含以下之群的其他活性醫藥成分：醫藥活性化合物、蛋白質、肽及有機小分子。

【0175】 在某些實施例中，步驟(a)包含以下步驟：(a1)將玻尿酸或衍生物溶解於水溶液中，藉此獲得第一溶液；(a2)製備包含血漿蛋白之第二溶液；及(a3)將第一及第二溶液混合以獲得主體混合物。

【0176】 在某些實施例中，步驟(a)包含步驟：(a1)將玻尿酸或衍生物溶解於水溶液中，藉此獲得第一溶液；(a2)製備包含血漿蛋白及 α -2腎上腺素受體促效劑之第二溶液；及(a3)將第一及第二溶液混合以獲得主體混合物。

【0177】 在某些實施例中，步驟(a)包含以下步驟：(a1)將玻尿酸或衍生物溶解於水溶液中，藉此獲得第一溶液；(a2)製備包含血漿及/或血清之第二溶液；及(a3)將第一及第二溶液混合以獲得主體混合物。

【0178】 在某些實施例中，步驟(a)包含以下步驟：(a1)將玻尿酸或衍生物溶解於水溶液中，藉此獲得第一溶液；(a2)製備包含血漿及/或血清及 α -2腎上腺素受體促效劑之第二溶液；及(a3)將第一及第二溶液混合以獲得主體混合物。

【0179】 在某些實施例中，步驟(a)包含以下步驟：將玻尿酸或衍生物溶解於水溶液中，藉此獲得第一溶液。在某些實施例中，在與第二溶液混合之前，首先將玻尿酸或其衍生物溶解於水溶液中，從而獲得第一溶液。將玻尿酸或衍生物溶解於水溶液中之步驟可持續至少10小時，諸如至

少12小時、至少14小時、至少16小時或至少18小時。此步驟使得玻尿酸或其衍生物完全水合。

【0180】 在某些實施例中，步驟(a)包含以下步驟：製備包含血漿蛋白之第二溶液。在某些實施例中，步驟(a)包含以下步驟：製備包含血漿及/或血清之第二溶液。在某些實施例中，第二溶液進一步包含諸如上文所描述之非限制性實例的額外組分，包括如本文中所描述之 α -2腎上腺素受體促效劑(較佳地可樂定或其衍生物)、鹽及酸性組分。因此，在某些實施例中，方法包含(a2)製備包含血漿蛋白、如本文中所描述之 α -2腎上腺素受體促效劑(較佳地可樂定或其衍生物)、鹽及酸性組分之第二溶液。在某些實施例中，將包含玻尿酸或其衍生物之第一溶液與第二溶液混合，該第二溶液包含：血漿蛋白，較佳地S/D血漿；如本文中所描述之 α -2-腎上腺素受體促效劑，較佳地可樂定或其衍生物；鹽；及酸性組分。在實施例中，方法包含(a2)製備包含血漿及/或血清、如本文中所描述之 α -2腎上腺素受體促效劑(較佳地可樂定或其衍生物)、鹽及酸性組分之第二溶液。在某些實施例中，將包含玻尿酸或其衍生物之第一溶液與第二溶液混合，該第二溶液包含：血漿及/或血清，較佳地S/D血漿；如本文中所描述之 α -2-腎上腺素受體促效劑，較佳地可樂定或其衍生物；鹽；及酸性組分。鹽可為(但不限於)鈣鹽，諸如二氯化鈣(CaCl_2 或 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。酸性組分可為(但不限於)鹽酸(HCl)。應理解，合併上文所描述之第一及第二溶液以獲得主體混合物。

【0181】 在某些實施例中，步驟(a)包含以下步驟：混合第一及第二溶液以獲得主體混合物。在某些實施例中，以至少1:1 (v/v)之比率，諸如以1.5:1、2:1、3:1、4:1 (v/v)或更大之比率混合第一溶液及第二溶液。在

某些實施例中，以1:1 (v/v)之比率混合第一溶液及第二溶液。因此，所得冷凍乾燥醫藥調配物具有令人滿意之密度，從而使得快速且均質復原冷凍乾燥醫藥調配物。

【0182】 片語「以1:1 (v/v)之比率混合第一溶液及第二溶液」係指混合相等體積之第一溶液及第二溶液。有利地，混合相等體積之第一及第二溶液。

【0183】 在某些實施例中，滅菌之方法為過濾滅菌。如本文中所使用，術語「過濾滅菌(filter sterilization/filtration sterilization)」或「微孔過濾」係指以樣品、混合物或調配物之滅菌為目標之方法。在某些實施例中，膜用於獲得過濾，從而允許基於大小排除組分及/或生物體。

【0184】 進一步預期的係過濾方法，其中所使用之過濾材料可包括耐綸、聚碳酸酯、纖維素、乙酸酯、聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride；PVDF)及聚醚砜(PES)。此等材料之特徵在於蛋白質滯留、流動速率及可浸出材料存在之差異。

【0185】 在某些實施例中，滅菌之方法為利用蒸汽之滅菌。在本文中，調配物在高溫，例如約121°C至約134°C下暴露於飽和蒸汽。藉助於指導而非限制，蒸汽滅菌可藉由使用高壓釜(autoclave)來達成。在某些實施例中，蒸汽滅菌之溫度為約125至約130°C。在某些實施例中，可組合不同之滅菌方法。在其他實施例中，依次執行不同之滅菌方法。在某些實施例中，調配物經歷蒸汽滅菌條件約3至約30分鐘。在某些實施例中，調配物經歷蒸汽滅菌條件約10至約20分鐘。

【0186】 如本文中所使用之術語「高壓釜」係指能夠實現不同於大氣壓之高溫及高壓之壓力室。達成滅菌所需之滅菌時間可視多個參數，諸

如需要殺菌之材料之量及性質而變化。熟習此項技術者已知蒸汽滅菌時間可與所使用之蒸汽滅菌溫度呈負相關。

【0187】 藉助於進一步指導而非限制，可根據以下步驟執行冷凍乾燥：用等分試樣之主體溶液填充個別無菌容器且在無菌條件下將容器部分加塞；將部分加塞之容器轉運至冷凍乾燥器且在無菌條件下裝載至腔室中；藉由將部分加塞之容器置放於冷凍乾燥室中之冷卻貨架上來冷凍溶液或在另一腔室中預冷凍；向腔室施加真空且加熱貨架以便使水自冷凍狀態蒸發；且最後藉由可安裝於冷凍乾燥裝置中之液壓或螺旋桿加塞機械裝置將小瓶完全加塞。在某些實施例中，在冷凍乾燥製程開始時不對樣品進行部分加塞且在冷凍乾燥之後執行完全加塞。

【0188】 術語「塞子」係指小瓶抑制冷凍乾燥調配物漏出小瓶及/或使得小瓶之內部含有無菌環境之密封。替代術語可為帽蓋、蓋、密封件、捲曲密封件或使得小瓶閉合之任何構件。

【0189】 藉由組合或藉由額外步驟，冷凍乾燥之步驟可能使用各種參數，重複該等參數。冷凍乾燥製程中之單個或多個冷凍步驟之溫度及/或持續時間可經調整以在昇華之前獲得特定大小之冰晶體。在可介於約0.1毫巴至0.005毫巴或約0.1毫巴至約0.01毫巴之範圍內之減壓下執行乾燥階段。

【0190】 在其他實施例中，在冷凍乾燥之前將主體混合物等分以使得所得小瓶含有對應於單次投藥劑量之調配量。在替代實施例中，在冷凍乾燥之後執行等分。在其他實施例中，未進行等分且含有醫藥調配物之所得小瓶對應於超過一次投藥劑量。在又其他實施例中，所得小瓶含有比對應於自然數目個投藥劑量之體積更高的體積，以預測經復原調配物與小

瓶、注射器或塞子之壁的黏著效果。在其他實施例中，此額外體積可為自然數目個投藥劑量所需的體積之約20%、所需體積之約15%、所需體積之約10%、所需體積之約5%、所需體積之約2%、所需體積之約1%。

【0191】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物可藉由如本文中所定義之方法獲得(obtainable/obtained)。

【0192】 另一態樣係關於可藉由本文中所描述之方法之任何實施例獲得或藉由其獲得之冷凍乾燥醫藥調配物。

【0193】 在某些實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物包含玻尿酸或其衍生物、血漿蛋白及 α -2腎上腺素受體促效劑。在另一實施例中，冷凍乾燥醫藥調配物由以下組成或主要由以下組成：玻尿酸、血漿蛋白、可樂定、氯化鈣及緩衝組分或酸性組分(諸如鹽酸)。在尤其較佳實施例中，醫藥調配物包含約30 wt%至約80 wt%血漿蛋白；包含介於5.0與20.0 wt%之間的分分子量為約0.2 MDa至4.5 MDa，特定言之約0.5 MDa至約1.2 MDa的玻尿酸纖維或其衍生物；具有介於約0.04與0.08 mg/ml之間的密度且具有約9至約30之膨脹度；且進一步包含介於0.01與0.1 wt%之間的可樂定或可樂定衍生物及/或介於1.5與3.0 wt%之間的鈣鹽，特定言之氯化鈣。

【0194】 有關態樣涉及一種如上文所描述之冷凍乾燥醫藥調配物，其用作藥劑。

【0195】 有關態樣涉及一種如上文所描述之冷凍乾燥醫藥調配物，其用於肌肉骨骼疾病之治療(包括貫穿本說明書之治療性及/或預防性量測)中。較佳地，該肌肉骨骼疾病可為骨疾病或關節疾病。

【0196】 如本文中所定義之「關節(joint/articulation)」或「關節面」係指身體內將骨骼系統連接成功能性整體的骨之間的連接。使用醫藥

調配物以進行治療之適合關節可選自包含以下之群：單關節性關節、少關節性(oligoarticular/pauciarticular)關節及多關節性關節。如本文中所定義之關節可與包含以下之功能分類群中之一或多個成員有關：纖維關節、軟骨關節、滑膜關節或小面關節(facet joint)。關節可選自由以下組成之群：手關節、肘關節、腕關節、腋窩關節(axillary articulation)、胸鎖關節、椎骨關節、顳下頷關節、骺髌關節、髌關節、膝關節或腳關節。

【0197】 另一態樣提供一種治療需要此類治療之個體之肌肉骨骼疾病的方法，其包含向個體投與治療有效量之如本文中所教示之冷凍乾燥醫藥調配物，其中冷凍乾燥醫藥調配物在投藥之前與水溶液混合。

【0198】 另一態樣提供一種如本文中所教示之冷凍乾燥醫藥調配物的用途，其用於製造用於治療個體之肌肉骨骼疾病之藥劑。

【0199】 如本文中所使用，術語「肌肉骨骼疾病」係指任何類型之骨疾病、肌肉疾病、關節疾病或軟骨營養不良，其治療可得益於向患有該疾病之個體投與本醫藥調配物。術語亦涵蓋影響肌腱及/或韌帶之疾病。特定言之，此等疾病可藉由以下表徵：例如，骨及/或軟骨形成減少或骨及/或軟骨再吸收過度；骨中存在之骨母細胞或骨細胞及/或軟骨中存在之軟骨母細胞或軟骨細胞之數目、存活率或功能減少；個體之骨質及/或軟骨質量減小；骨變薄；骨強度或彈性受損等。

【0200】 肌肉骨骼疾病之非限制性實例可包括局部或全身性病症，諸如任何類型之骨質疏鬆或骨質減少，例如原發性停經後老年皮質類固醇誘導型、雙膦酸鹽誘導型及放射療法誘導型；任何繼發性單位點或多位點骨壞死；任何類型之骨折，例如不癒合、畸形癒合、延遲癒合骨折或壓縮、需要骨融合(例如，脊柱融合及重建)之病狀、頷面部骨折、先天性骨

骼缺陷、骨重構(例如在創傷性損傷或癌症手術之後)及顱面部骨重構；創傷性關節炎、局灶性軟骨及/或關節缺陷、局灶性退化性關節炎；骨關節炎、退化性關節炎、膝關節病及髖關節炎；成骨不全(osteogenesis imperfecta)；溶骨性骨癌；佩吉特氏病(Paget's Disease)、內分泌紊亂、低磷酸鹽血症(hypophosphatemia)、低鈣血症、腎性骨營養不良(renal osteodystrophy)、骨質軟化、無力性骨疾病(adynamic bone disease)、副甲狀腺高能症(hyperparathyroidism)、原發性副甲狀腺高能症、繼發性副甲狀腺高能症；牙周病；戈勒姆-斯托特氏病(Gorham-Stout disease)及馬科恩-亞百特氏症候群(McCune-Albright syndrome)；類風濕性關節炎；脊椎關節病，包括僵直性脊椎炎、牛皮癬性關節炎、腸病性關節病及未分化脊椎關節炎及反應性關節炎；全身性紅斑狼瘡及相關症候群；硬皮病及相關病症；休格連氏症候群(Sjogren's Syndrome)；全身性血管炎，包括巨大細胞動脈炎(霍頓氏病(Horton's disease))、高安氏動脈炎(Takayasu's arteritis)、風濕性多肌痛、ANCA相關血管炎(諸如韋格納氏肉芽腫病(Wegener's granulomatosis))、顯微多血管炎及徹奇-斯全司症候群(Churg-Strauss Syndrome)、白塞氏症候群(Behcet's Syndrome)及其他多動脈炎及相關病症(諸如結節性多動脈炎、科根氏症候群(Cogan's Syndrome)及柏格氏病(Buerger's disease)；伴隨其他全身性發炎疾病之關節炎，包括澱粉樣變性及類肉瘤病；晶體關節病，包括痛風、焦磷酸鈣二水合物疾病、與磷酸鈣或草酸鈣晶體之關節沈積相關的病症或症候群；軟骨鈣質沉著病及神經病性關節病；費耳蒂氏症候群(Felty's Syndrome)及萊特爾氏症候群(Reiter's Syndrome)；萊姆病(Lyme disease)及風濕熱。

【0201】 在實施例中，肌肉骨骼疾病可為骨關節炎。

【0202】如本文中所使用，諸如「需要治療之個體」之片語包括將得益於既定病狀，特定言之肌肉骨骼疾病之治療之個體。此等個體可包括(但不限於)已診斷患有該病狀之個體、易於罹患該病狀之個體及/或該病狀已得到預防之個體。

【0203】術語「治療(treat/treatment)」涵蓋已發展之疾病或病狀之治療性治療(諸如已發展之肌肉骨骼疾病之療法)以及防治性或預防性量測兩者，其中目的為預防或減輕不合需要的病痛之發病率，以便預防肌肉骨骼疾病之發生、發展及進展。有益或所需臨床結果可包括(但不限於)減少一或多種症狀或一或多個生物學標記、減輕疾病程度、穩定(亦即，未惡化)疾病之狀態、延緩或減緩疾病進展、改善或緩和疾病病況及其類似者。「治療」亦可意謂與不接受治療之預期存活期相比，延長了存活期。

【0204】術語「預防有效量」係指如研究人員、獸醫、醫療醫生或其他臨床醫師所尋求的在個體中抑制或延緩病症發作之活性化合物或醫藥劑的量。

【0205】如本文中所教示之調配物及方法允許在將得益於此類治療之患有肌肉骨骼疾病的個體中投與治療有效量之醫藥活性成分。如本文中所使用之術語「治療有效量」係指在個體中引起外科醫生、研究人員、獸醫、醫療醫生或其他臨床醫師所尋求之生物或藥物反應(其可尤其包括緩解正治療之疾病或病狀之症狀)的活性化合物或醫藥劑之量。

【0206】醫藥活性化合物或醫藥活性成分於本調配物中之適當的治療有效量可由合格醫師結合醫藥活性化合物或醫藥活性成分之性質、疾病病狀及嚴重程度以及患者之年齡、大小及病狀來確定。

【0207】在某些實施例中，肌肉骨骼疾病可影響肌腱及/或韌帶。在

某些實施例中，如本文中所描述之醫藥調配物可為組合療法策略之一部分，但不限於例如熟習此項技術者已知之其他藥物療法或例如運動療法。在其他實施例中，冷凍乾燥調配物用作防止症狀產生之量測。在其他實施例中，骨或關節疾病可分類為進行性骨疾病或進行性關節疾病。在又其他實施例中，骨疾病或關節疾病為遺傳病症或疾病。在又其他實施例中，骨疾病或關節疾病為年齡有關之疾病。在又其他實施例中，使用冷凍乾燥調配物之目的僅為症狀性的。

【0208】 進一步預期的係一種用於治療需要此類治療之個體之肌肉骨骼疾病之方法，其包含向該個體投與治療或預防有效量的如上文所描述之醫藥調配物。在某些實施例中，在多個時間點投與醫藥調配物。在其他實施例中，不同投藥由規律之時間間隔彼此隔開。在其他實施例中，根據某一多樣性增加不同投藥之間的時間間隔。在又其他實施例中，不同投藥之間的時間間隔以指數方式增加。在某些實施例中，經由單獨注射入口位置投與一次治療劑量之等分試樣。

【0209】 本申請案亦提供如以下陳述中所闡述之態樣及實施例：

陳述1. 一種冷凍乾燥醫藥調配物，其包含血漿蛋白或其衍生物及玻尿酸或其衍生物，其中該調配物在水溶液中復原時具有15分鐘或更短之復原時間。

陳述2. 如陳述1之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該調配物進一步包含 α -2腎上腺素受體促效劑，較佳地其中該 α -2腎上腺素受體促效劑為可樂定或其衍生物。

陳述3. 如陳述1或2之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該調配物包含約30重量%至約80重量%之該等血漿蛋白或其衍生物。

陳述4. 如陳述1至3中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該等血漿蛋白為經溶劑/清潔劑處理(S/D)之血漿蛋白，較佳地人類S/D血漿蛋白，且/或其中玻尿酸之衍生物為玻尿酸之鹽、玻尿酸與脂族、雜環或環脂族系列之醇的酯或玻尿酸之硫酸鹽化形式。

陳述5. 如陳述1至4中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該玻尿酸或其衍生物包含具有0.2 MDa至4.5 MDa、較佳地0.5 MDa至1.2 MDa之分子量之纖維。

陳述6. 如陳述1至5中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其進一步包含至少一種鹽，較佳地其中該鹽為鈣鹽，更佳地其中該鹽為氯化鈣；及/或其進一步包含至少一種緩衝組分或酸性組分，較佳地其中該酸性組分為鹽酸。

陳述7. 如陳述1至6中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其進一步包含一或多種醫藥活性成分。

陳述8. 如陳述7之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該一或多種醫藥活性成分各自獨立地選自由以下組成之群：細胞組合物、醫藥活性化合物、蛋白質、肽及有機小分子。

陳述9. 如陳述8之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該細胞組合物包含間質幹細胞(MSC)、骨祖細胞、骨母細胞、骨細胞、軟骨母細胞及/或軟骨細胞。

陳述10. 如陳述8之冷凍乾燥醫藥調配物，其中醫藥活性蛋白或肽為生長因子，較佳地選自由以下組成之群之生長因子：纖維母細胞生長因子(FGF)、轉型生長因子 β (TGF β)、血小板衍生之生長因子(POGF)、介白素-8 (IL-8)、骨形態-20生成蛋白(BMP)、甲狀旁腺激素(PTH)、甲狀旁腺

激素相關蛋白(PTHrp)及幹細胞因子(SCF)；更佳地選自由以下組成之群之生長因子：FGF-2、TGF β -1、POGF、IL-8、BMP-2、BMP-4、BMP-6、BMP-7、PTH、PTHrp及SCF。

陳述11. 如陳述1至10中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其進一步包含至少一種葡萄糖胺聚糖。

陳述12. 如陳述11之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該等額外葡萄糖胺聚糖中之一者為硫酸軟骨素。

陳述13. 如陳述1至12中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其進一步包含血清，較佳地人類血清。

陳述14. 如陳述1至13中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其進一步包含全血之蛋白質或全血之分級組分之蛋白質，較佳地其中該全血為人類全血。

陳述15. 如陳述1至14中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其中對應於一次投藥劑量之該調配物包含：

- 1 mg至100 mg之該玻尿酸或其衍生物，較佳地2 mg至50 mg之該玻尿酸或其衍生物，更佳地5 mg至40 mg之該玻尿酸或其衍生物；及
- 視情況選用之1 μ g至500 μ g之該 α -2腎上腺素受體促效劑，較佳地2 μ g至250 μ g之該 α -2腎上腺素受體促效劑，更佳地5 μ g至125 μ g之該 α -2腎上腺素受體促效劑。

陳述16. 如陳述1至15中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該調配物包含：

- 約30重量%至約80重量%之該等血漿蛋白或其衍生物；及
- 約5.0重量%至約20.0重量%之該玻尿酸或其衍生物；及視情況

- 約0.01重量%至約0.1重量%之該 α -2腎上腺素受體促效劑；
- 約1.5重量%至約3.0重量%之鹽；及/或
- 約0.1重量%至約2.0重量%之該緩衝組分或該酸性組分。

陳述17. 如陳述1至16中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該冷凍乾燥調配物具有9至30之膨脹度。

陳述18. 如陳述1至17中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其經設計以在復原後用於非經腸投藥，較佳地在復原後用於骨內、骨周圍、關節內或關節周圍投藥或用於肌腱內、肌腱周圍、韌帶內或韌帶周圍投藥。

陳述19. 一種組成部分之套組，其包含：

- 如陳述1至18中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物；
- 包含水溶液之注射器；及
- 較佳地，至少一個針。

陳述20. 一種用於製備如陳述1至18中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物之方法，其包含以下步驟：

(a) 將血漿蛋白或其衍生物、玻尿酸或其衍生物及水溶液混合，藉此獲得主體混合物，該主體混合物具有濃度為20 mg/ml至50 mg/ml之該等血漿蛋白或其衍生物及濃度為4 mg/ml至8 mg/ml之該玻尿酸或其衍生物；

(b) 藉由蒸汽滅菌或過濾滅菌將該主體混合物滅菌，藉此獲得無菌混合物；及

(c) 使該無菌混合物冷凍乾燥，藉此獲得該冷凍乾燥醫藥調配物。

陳述21. 如陳述20之方法，其中步驟(a)進一步包含將 α -2腎上腺素受體促效劑、鹽及/或緩衝組分或酸性組分混合，藉此獲得具有濃度為20

$\mu\text{g/ml}$ 至35 $\mu\text{g/ml}$ 之該 α -2腎上腺素受體促效劑、濃度為0.5 mg/ml 至1.5 mg/ml 之該鹽及/或濃度為0.05 mg/ml 至3.0 mg/ml 之該緩衝組分或該酸性組分的主體混合物。

陳述22. 如陳述20或21之方法，其中該玻尿酸或其衍生物包含具有0.2 MDa至4.5 MDa、較佳地0.5 MDa至1.2 MDa之分子量之纖維。

陳述23. 一種可藉由如陳述20至22中任一項之方法獲得或藉由其獲得之冷凍乾燥醫藥調配物，其較佳為可藉由如陳述20至22中任一項之方法獲得或藉由其獲得的如陳述1至18中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物。

陳述24. 如陳述1至18或23中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其用於肌肉骨骼疾病之治療中，較佳地其中該冷凍乾燥醫藥調配物在投藥之前與水溶液混合。

陳述25. 如陳述24之供使用之冷凍乾燥醫藥調配物，較佳地其中該肌肉骨骼疾病為骨疾病或關節疾病。

【0210】 雖然已結合本發明之特定實施例描述本發明，但顯而易見的係鑒於前文描述，許多替代、修改及變化對熟習此項技術者將為清楚的。因此，意欲涵蓋如隨附申請專利範圍之精神及廣泛範疇中所遵循之所有此等替代、修改及變化。

【0211】 藉由以下非限制性實例進一步支援本文中所揭示之本發明之態樣及實施例。

【0212】

實例

實例1-用於獲得根據本發明之一實施例之冷凍乾燥醫藥組合物的方法

【0213】 藉由將5公克HA纖維(0.6-1 MDa)、500 ml水、1.25 ml可

樂定HCl (20 mg/ml)、476.25 ml S/D血漿、10 ml HCl (1 M)及12.5 ml CaCl₂ (80 mg/ml)混合來製備主體混合物。

【0214】 所得主體混合物藉由過濾來殺菌。在以下步驟中，儲存小瓶填充有5 ml之經殺菌主體混合物且隨後經冷凍乾燥。在冷凍乾燥階段之後，將小瓶加塞。圖1展示包含根據本發明之一實施例之冷凍乾燥醫藥調配物的三個小瓶。冷凍乾燥調配物為淡白黃色餅狀物。在向需要其之患者注射之前，將儲存小瓶中之醫藥調配物復原於2.4 ml水中。

【0215】

實例2-根據某些實施例之對應於一次投藥劑量之經復原的冷凍乾燥醫藥調配物之組成

玻尿酸	25 mg
S/D血漿(經冷凍乾燥之S/D血漿)	188 mg
可樂定	125 µg
CaCl ₂	5 mg
HCl	1.9 mg

【0216】

實例3-對應於某些實施例之冷凍乾燥醫藥調配物之特徵

蛋白材料之重量百分比	61%
密度	0.062

【0217】

實例4.根據某些實施例之不同調配物之復原時間

4.1不同分子量之HA

【0218】 產生具有不同分子量之HA（高分子量(molecular weight；MW)：3.5-4.5 MDa，中等MW：0.6-1 MDa，低MW：小於0.6 MDa)及不同稀釋因子之玻尿酸(參見下文4.2)的組合物。

【0219】

4.2不同稀釋之主體混合物

製備三種不同主體混合物：將玻尿酸纖維(1g)與95.25 ml S/D血漿、5 mg可樂定HCl (0.25 ml之20 mg/ml溶液)、200 mg CaCl₂ (2.5 ml之80 mg/ml溶液)、72.92 mg HCl (2 ml之1 M溶液)混合，以獲得第一主體混合物(未稀釋，被稱作「1×」)。

【0220】此外，將玻尿酸纖維(1g)與100 ml H₂O混合以獲得第一溶液A。亦將玻尿酸纖維(1g)與200 ml H₂O混合以獲得第一溶液B。藉由將95.25 ml S/D血漿、5 mg可樂定HCl (0.25 ml之20 mg/ml溶液)、200 mg CaCl₂ (2.5 ml之80 mg/ml溶液)及72.92 mg HCl (2 ml之1 M溶液)混合來製備第二溶液。將第一溶液A (100 ml)與第二溶液(100 ml)以1:1 (v/v)之比率混合以獲得被稱作「2×」之主體混合物。將第一溶液B (200 ml)與第二溶液(100 ml)以2:1 (v/v)之比率混合以獲得被稱作「3×」之主體混合物。

【0221】

4.3冷凍乾燥餅狀物

將針對每個HA MW及稀釋之主體混合物轉移至小瓶以進行冷凍乾燥。由比率餅狀物重量/餅狀物體積測定冷凍乾燥產物之密度。藉由空瓶重量與含有冷凍乾燥餅狀物之小瓶之重量的減法運算獲得餅狀物重量。使用下式計算餅狀物體積： $\pi \times R^2 \times h$ ，其中R為餅狀物之半徑且h為餅狀物高度。

【0222】乾燥餅狀物之密度在冷凍乾燥之前根據增大主體混合物之稀釋而降低：密度(1×)>密度(2×)>密度(3×) (表1)。藉由稀釋製備之冷凍

乾燥醫藥調配物具有介於0.04 g/cm³與0.08 g/cm³之間的密度。密度不受HA分子量影響(表1)。

表1：根據本發明之實施例之冷凍乾燥醫藥調配物的重量(g)、體積(cm³)及密度(g/cm³) (*n* = 15)；在冷凍乾燥之前調配物之主體混合物：1×、2×或3×

		HA低MW			HA中等MW			HA高MW		
		重量	體積	密度	重量	體積	密度	重量	體積	密度
1×	平均值	0.194	1.856	0.105	0.197	2.013	0.098	0.198	1.775	0.111
	SD	0.013	0.039	0.009	0.018	0.073	0.008	0.006	0.025	0.004
2×	平均值	0.199	3.488	0.057	0.190	3.431	0.055	0.194	3.205	0.061
	SD	0.009	0.177	0.004	0.004	0.144	0.002	0.004	0.071	0.001
3×	平均值	0.188	4.059	0.046	0.199	4.572	0.043	0.194	4.293	0.045
	SD	0.006	0.169	0.002	0.006	0.156	0.002	0.004	0.148	0.002

【0223】 藉由涉及稀釋(例如主體混合物2×及3×)之方法製備的冷凍乾燥醫藥調配物具有復原之最佳密度。鑒於此，由包含稀釋(2×或3×)之方法製備之冷凍乾燥醫藥調配物為較佳的，以便獲得具有令人滿意之密度之餅狀物。

【0224】

餅狀物吸收能力

藉由隨時間推移量測餅狀物重量來評估不同冷凍乾燥產物之吸收能力。簡言之，將9.6 ml水添加於冷凍乾燥餅狀物上，從而確保其完全浸沒。接著移除額外的水。僅在已移除額外的水之後，量測重量。重複該過程若干次。

【0225】 表示重量隨時間變化之水合作用曲線展示根據本發明之實施例的冷凍乾燥醫藥調配物在30秒內完全水合。圖2提供說明針對根據本

發明之一實施例之五種冷凍乾燥醫藥調配物，重量隨時間變化之代表性水合作用曲線，該等冷凍乾燥醫藥調配物藉由將第一溶液與第二溶液以1:1 (v/v) (2×)之比率混合且與中等分子量HA混合來製備。冷凍乾燥醫藥調配物在小於30秒內完全水合(0秒後之第一時間點在17秒至22秒之範圍內)。

【0226】 當根據HA分子量(HA低、中等及高MW)比較冷凍乾燥醫藥調配物之吸收能力時，具有中等及高MW HA之冷凍乾燥醫藥調配物的水合能力高於含有低MW HA之冷凍乾燥醫藥調配物之水合能力(資料未展示)。

【0227】 冷凍乾燥醫藥調配物之水合能力隨著增大HA分子量而增大：吸收能力_{HA高MW} ≥ 吸收能力_{HA中等MW} > 吸收能力_{HA低MW}。水合能力隨著冷凍乾燥醫藥調配物之密度降低而增大：吸收能力_{3x} > 吸收能力_{2x} > 吸收能力_{1x}。

【0228】

乾燥餅狀物之復原時間(在水中)

將2.4 ml注射用水使用注射器(總體積為0.1 ml)添加至各冷凍乾燥樣品中。在整個餅狀物水合之後，在手之間藉由輪動(2至4個混合輪次)或人工地上下振盪來混合小瓶。混合僅持續約30秒。使用計時器評估復原時間。復原時間僅在添加水之後開始且在使產物完全再懸浮之後停止。藉由目視檢查評估復原。經復原產物為淺黃色至黃色、混濁且略微黏稠之溶液。溶液有時由於振盪而含有氣泡。

【0229】 資料展示針對高分子量HA，對於所有冷凍乾燥醫藥調配物，均質復原係不可能的。因此，僅對含有低MW HA及中等MW HA之冷凍乾燥醫藥調配物執行復原時間之分析。

表2：根據本發明之實施例之冷凍乾燥醫藥調配物的水合時間(分鐘:秒)、混合時間(分鐘:秒)及復原時間(分鐘:秒) ($n = 5$)；在冷凍乾燥之前調配物之主體混合物：1×、2×或3×

		HA低MW			HA中等MW		
		水合作用時間	混合時間	復原時間	水合作用時間	混合時間	復原時間
1×	平均值	01:43	00:39	02:22	06:49	05:19	12:08
	SD	00:26	00:33	00:06	01:34	04:11	05:10
2×	平均值	00:57	00:32	01:29	00:55	00:51	01:47
	SD	00:01	00:05	00:06	00:03	00:10	00:10
3×	平均值	00:42	00:27	01:09	00:43	00:51	01:34
	SD	00:11	00:06	00:10	00:08	00:03	00:10

【0230】 資料展示主體之稀釋減少了復原時間。當藉由將第一溶液及第二溶液以1:1 (v/v) (「2×」)或2:1 (v/v) (「3×」)之比率混合來製備主體混合物時，獲得類似的復原時間(表2)。

【0231】 鑒於上述資料，利用低或中等分子量HA且藉由將第一溶液及第二溶液以1:1 (v/v) (「2×」)之比率混合來製備之冷凍乾燥醫藥調配物為較佳的，以便獲得用於注射之均質調配物以及令人滿意之復原時間。

【0232】

4.4用水復原之餅狀物

調配物之黏度

【0233】 根據供應商之方法，使用 microVISC™ 黏度計 (RheoSense，CA，USA)評估黏度。

【0234】 在每次使用microVISC™之前，量測參考油之黏度以評估設備之校準。

【0235】 首先，將感測器筒HB02置放於黏度計中。接著，將400 μl

樣品裝載至另外安裝於黏度計上之拋棄式吸液管中。

【0236】 改進參數為：

- 剪切速率=111.6 s⁻¹
- 量測體積=30 μl
- 預充體積=15 μl
- 暫停時間=5 s
- 感測器之範圍=60至5000 cP

【0237】 由於溫度為影響黏度之熟知參數，必須在25.0±0.1℃下執行各量測。

【0238】 量測晶片含有由硼矽酸鹽玻璃構成之具有均勻橫截面積之矩形狹縫流動通道。以恆定流動速率經由流動通道注入樣品，在該流動通道中安裝於基底內之多個壓力感測器監測入口至出口之壓降。壓降與邊界壁處之剪應力相關。剪切速率及剪應力與矩形狹縫之幾何形狀及允許黏度量測之流動速率直接相關。

【0239】 VROC[®]晶片藉由量測測試液體流動穿過其矩形狹縫微流體通道時之壓降來評估黏度。基於哈根-泊蕭葉流動(Hagen-Poiseuille flow)，其為流變原理之熟知應用(K. Walters, Rheometry, Chapman and Hall, London, 1975)，該應用亦列於美國藥典(US Pharmacopeia)中。

【0240】 黏度資料經導出至microVISC[™]控制2.0軟體中。

【0241】 此黏度量測之結果提供於表3中。

表3：根據本發明之實施例之冷凍乾燥醫藥調配物的黏度(cP)、比例(%)及 R^2 ($n = 5$)；在冷凍乾燥之前調配物之主體混合物：1×、2×或3×

		HA低MW			HA中等MW			HA高MW		
		黏度	比例	R^2	黏度	比例	R^2	黏度	比例	R^2
1×	平均值	11.277	0.7	0.982	314.4	18.3	1.000	725.0	58.920	0.995
	SD	3.865	0.1	0.015	39.6	2.3	0.000	115.8	9.356	0.004
2×	平均值	8.085	0.5	0.989	278.9	16.2	1.000	863.1	75.900	0.999
	SD	0.292	0.2	0.007	7.4	0.1	0.001	58.0	7.105	0.001
3×	平均值	6.944	0.4	0.992	266.1	15.7	1.000	763.2	67.020	0.993
	SD	1.332	0.1	0.009	7.9	0.5	0.000	121.8	13.283	0.007

【0242】 黏度隨著增大HA MW重量而增大：黏度_{HA高MW}>黏度_{HA中等MW}>黏度_{HA低MW}。對於含有中等分子量HA之經復原調配物，發現介於200 cP至500 cP之間的注射用最佳黏度。

【0243】 黏度不受其他參數，諸如主體混合物之稀釋影響。

【0244】 總之，含有中等分子量HA且藉由將第一溶液及第二溶液以1:1 (v/v) (「2×」)之比率混合來製備的冷凍乾燥醫藥調配物具有令人滿意之復原時間，而同時具有復原後之黏度，此均使得容易藉由注射投藥且在投藥之後提供足夠之潤滑作用。

【0245】

蛋白質含量

藉由比色分析，基於製造商之建議使用商業套組(來自Biorad之清潔劑相容性蛋白質分析套組，參考編號500-0116)來測定蛋白質含量。簡言之，執行具有蛋白質標準溶液稀釋液(Biorad，快速啟動牛血清白蛋白標準物(Quick Start Bovin Serum Albumin Standard)，#500-020)之標準曲

線。將五微升標準物及經復原餅狀物溶液置放於潔淨且乾燥之微量盤之孔中，且添加25微升/孔之試劑A。接著，添加200 μl之試劑B且將微量盤攪拌5秒。在培育15分鐘之後，盤在620 nm下為紅色。

【0246】 蛋白質濃度量測之結果提供於表4中。

表4：根據本發明之實施例之冷凍乾燥醫藥調配物的蛋白質濃度(mg/ml) (*n* = 5)；在冷凍乾燥之前調配物之主體混合物：1×、2×或3×

		HA低MW	HA中等MW	HA高MW
1×	平均值	53.16	53.95	48.35
	SD	1.87	9.22	3.27
2×	平均值	50.43	45.24	40.59
	SD	1.20	2.20	3.27
3×	平均值	48.99	50.08	50.70
	SD	2.07	3.53	2.38

【0247】 血漿蛋白之濃度平均為50 mg/ml。因此，各冷凍乾燥調配物含有約120 mg之血漿蛋白(亦即，50 mg/ml×2.4 ml復原體積)。冷凍乾燥調配物之總重量為約200 mg，且因此各小瓶含有約60 wt%之血漿蛋白。

【0248】 樣品與樣品及不同條件之間的可變性可能與實驗本身有關(例如，起始材料之重量)。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種冷凍乾燥醫藥調配物，其包含冷凍乾燥血漿及玻尿酸或其衍生物，其中該調配物在水溶液中復原時具有15分鐘或更短之復原時間且經設計以用於注射。

【請求項2】

如請求項1之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該經復原醫藥調配物之黏度在200 cP與500 cP之間；較佳地黏度在250 cP與400 cP之間。

【請求項3】

如請求項1或2之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該調配物進一步包含 α -2腎上腺素受體促效劑，較佳地其中該 α -2腎上腺素受體促效劑為可樂定(clonidine)或其衍生物。

【請求項4】

如請求項1至3中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該調配物包含約30重量%至約80重量%之血漿蛋白。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該等血漿蛋白為經溶劑/清潔劑處理(S/D)之血漿蛋白，較佳地人類S/D血漿蛋白，且/或其中該玻尿酸之衍生物為玻尿酸之鹽、玻尿酸與脂族、雜環或環脂族系列之醇的酯或玻尿酸之硫酸鹽化形式。

【請求項6】

如請求項1至5中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該玻尿酸或其衍生物包含具有0.2 MDa至4.5 MDa、較佳地0.5 MDa至1.2 MDa、更佳

地0.6 MDa至1.0 MDa之分子量之纖維。

【請求項7】

如請求項1至6中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其進一步包含至少一種鹽，較佳地其中該鹽為鈣鹽，更佳地其中該鹽為氯化鈣；及/或其進一步包含至少一種緩衝組分或酸性組分，較佳地其中該酸性組分為鹽酸。

【請求項8】

如請求項1至7中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其中對應於一次投藥劑量之該調配物包含：

1 mg至100 mg之該玻尿酸或其衍生物，較佳地2 mg至50 mg之該玻尿酸或其衍生物，更佳地5 mg至40 mg之該玻尿酸或其衍生物；及

視情況選用之1 μg 至500 μg 之該 α -2腎上腺素受體促效劑，較佳地2 μg 至250 μg 之該 α -2腎上腺素受體促效劑，更佳地5 μg 至125 μg 之該 α -2腎上腺素受體促效劑。

【請求項9】

如請求項1至8中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該調配物包含：

約30重量%至約80重量%之血漿蛋白；及

約5.0重量%至約20.0重量%之該玻尿酸或其衍生物；及視情況

約0.01重量%至約0.1重量%之該 α -2腎上腺素受體促效劑；

約1.5重量%至約3.0重量%之鹽；及/或

約0.1重量%至約2.0重量%之該緩衝組分或該酸性組分。

【請求項10】

如請求項1至9中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物，其中該冷凍乾燥調

配物具有介於 0.04 g/cm^3 與 0.08 g/cm^3 之間的密度。

【請求項11】

一種組成部分之套組，其包含：

如請求項1至10中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物；

包含水溶液之注射器；及

較佳地，至少一個針。

【請求項12】

一種用於製備如請求項1至10中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物之方法，其包含以下步驟：

(a) 將血漿及玻尿酸或其衍生物混合，藉此獲得主體混合物；

(b) 藉由蒸汽滅菌或過濾滅菌將該主體混合物滅菌，藉此獲得無菌混合物；及

(c) 使該無菌混合物冷凍乾燥，藉此獲得該冷凍乾燥醫藥調配物；

其中步驟(a)包含以下步驟：(a1)將該玻尿酸或衍生物溶解於水溶液中，藉此獲得第一溶液；(a2)製備包含該血漿及視情況選用之 α -2腎上腺素受體促效劑之第二溶液；及(a3)將該第一溶液及該第二溶液混合以獲得該主體混合物。

【請求項13】

如請求項12之方法，其中該主體混合物具有濃度為 20 mg/ml 至 50 mg/ml 之血漿蛋白及濃度為 4 mg/ml 至 8 mg/ml 之該玻尿酸或其衍生物。

【請求項14】

如請求項12或13之方法，其中步驟(a)進一步包含將 α -2腎上腺素受體促效劑、鹽及/或緩衝組分或酸性組分混合，藉此獲得具有濃度為 20

$\mu\text{g/ml}$ 至35 $\mu\text{g/ml}$ 之該 α -2腎上腺素受體促效劑、濃度為0.5 mg/ml 至1.5 mg/ml 之該鹽及/或濃度為0.05 mg/ml 至3.0 mg/ml 之該緩衝組分或該酸性組分的主體混合物。

【請求項15】

如請求項12至14中任一項之方法，其中該玻尿酸或其衍生物包含具有0.2 MDa至4.5 MDa、較佳地0.5 MDa至1.2 MDa、更佳地0.6 MDa至1.0 MDa之分子量之纖維。

【請求項16】

一種可藉由如請求項12至15中任一項之方法獲得或藉由其獲得之冷凍乾燥醫藥調配物，其較佳為可藉由如請求項12至15中任一項之方法獲得或藉由其獲得的如請求項1至10中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物。

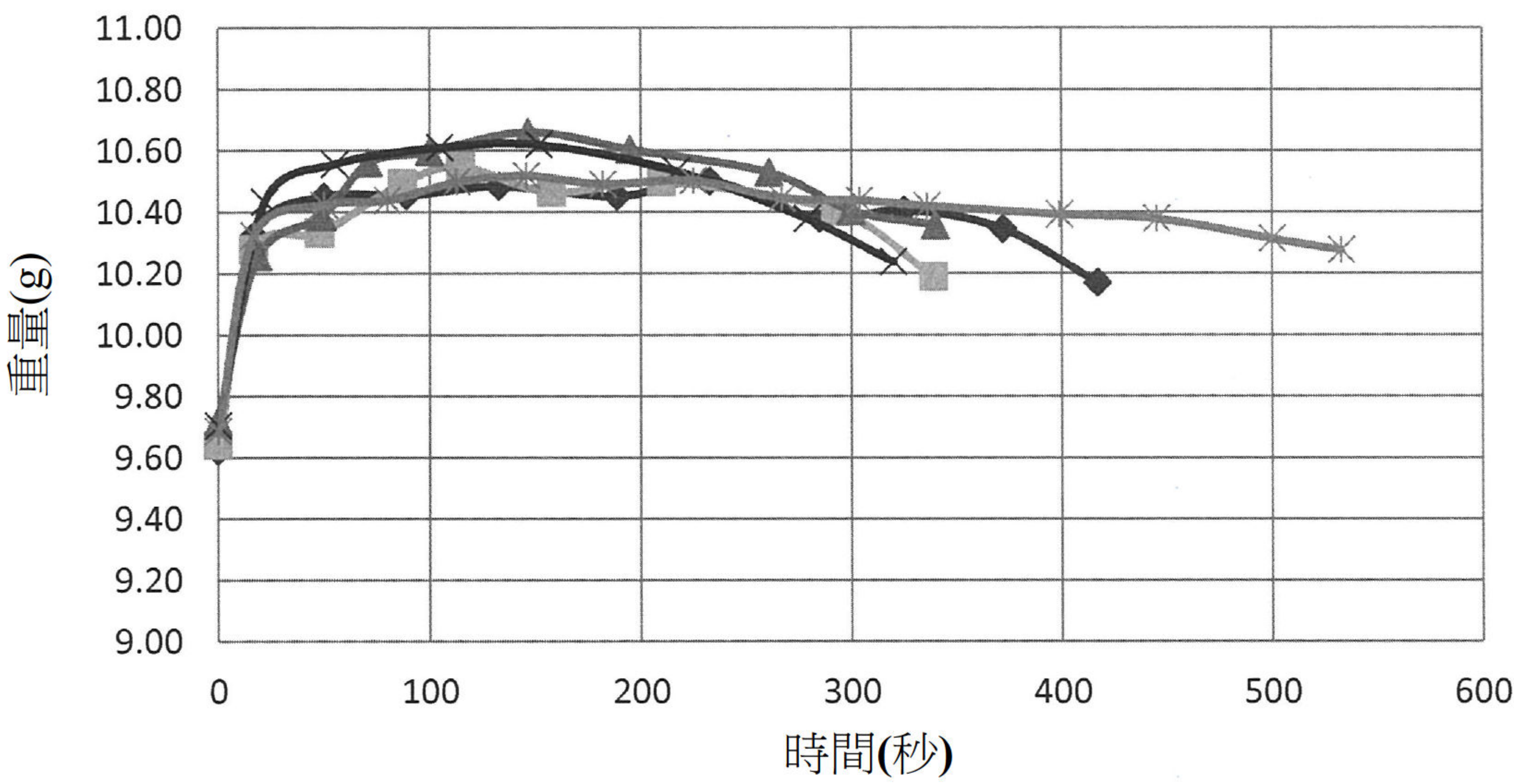
【請求項17】

一種如請求項1至10或16中任一項之冷凍乾燥醫藥調配物之用途，其用於製造用於治療個體之肌肉骨骼疾病之藥劑，較佳地其中該冷凍乾燥醫藥調配物在投與之前與水溶液混合。

【發明圖式】



【圖1】



【圖2】